

온주밀감의 저장 중 성분과 펙틴분해효소의 변화

강문장 · 김지용 · 고정삼*

제주대학교 원예생명과학부

초 록 : 감귤의 성숙과 저장 중에 일어나는 연화(softening)가 품질에 미치는 영향을 검토하기 위하여 궁천조생 온주밀감을 3°C, 85% RH에서 저장하면서 저장 중 경도, 펙틴분해효소의 활성 등의 변화를 측정하였다. 저장기간이 경과함에 따라 부패율은 저장 90일에 18.8%이었으며, 그 이후 급속히 증가하였다. 저장기간에 따른 중량감소는 24.5%까지 계속하여 완만하게 증가하였다. 경도는 2 mm probe에서 538.9 g-force에서 336.9 g-force까지로 저장 중에 조금씩 감소하는 경향이였다. 수분 함량은 저장기간에 따라 과피에서 75.8%에서 72.6%까지로, 과육에서 90.3%에서 88.3%까지로 각각 약간 감소하였다. 성숙 중 경도는 1,176.8 g-force에서 503.6 g-force로 급속히 감소하였고, 수분 함량은 과피와 과육이 각각 75.3%에서 74.9%로, 91.8%에서 90.7%로 약간 감소하였다. 세포벽 분해효소인 exo-polygalacturonase의 경우 저장 90일까지 과피에서는 326.0 units/100 g에서 534.9 units/100 g까지로, 과육에서는 63.1 units/100 g에서 81.0 units/100 g까지로 증가를 하다가 그 후 저장 150일까지 각각 394.0 units/100 g, 38.0 units/100 g으로 감소하는 경향이였다. Pectinesterase 활성은 저장 60일까지 과피에서는 14.4 µmol에서 38.8 µmol까지로 증가하다가, 그 이후에 6.0 µmol로 크게 감소하는 경향이였다. 과육에서는 저장 60일까지 26.0 µmol에서 39.0 µmol까지로 증가를 하다가 8.2 µmol로 크게 감소하는 경향이였다. (2000년 5월 4일 접수, 2000년 6월 14일 수리)

서 론

1960년대부터 급성장하기 시작한 제주감귤산업은 연평균 생산량이 60만톤에 이르면서 생산연도에 따라서는 처리에 어려움을 겪고 있다. 1970년대 중반부터 국내 음료회사들에 의해 이루어졌던 감귤가공산업은 1994년 이후 오렌지와 오렌지주스의 수입자유화에 의해 거의 중단된 상태이다. 이에 따라 제주감귤산업은 감귤의 생산량 증가에 비하여 소비 확대가 이루어지지 않아, 물량 조절을 위한 저장, 가공, 유통 등 생산에서 소비까지 종합적이고 효율적인 체제로의 개선이 요구되고 있다. 특히 소비자의 기호에 알맞은 감귤을 장기간 공급함으로써 물량조절을 이룰 수 있는 저온저장 기술의 확립과 실용화는 더욱 시급한 일이 될 것이다.

과일의 연화(softening)는 세포벽 분해효소의 작용에 의하여 세포벽 성분이 분해되어 일어나며, 세포벽 구성성분의 조성형태, 세포벽 분해효소의 종류, 칼슘의 함량, pH 등에 영향을 받는다.¹⁾ 식물조직 내에는 polygalacturonase(PGase)와 pectin-methylesterase(PEase)가 있다. PGase는 유리카르복시기가 존재하는 펙틴 물질을 분해하여 직접적으로 식물조직을 연화시키는 것으로, 이 효소는 펙틴 중의 메톡시기를 분리시켜 유리 카르복시기를 형성하는 역할을 한다. 따라서 식물조직의 연화를 방지하려면 PGase의 작용을 억제시키고 PEase를 활성화시킴으로써, 펙틴이 Ca²⁺ 이온과 cross-linkage를 형성시켜야 하는 것으로 알려져 있다.²⁾ 과일의 연화에 관여하는 효소에는 PGase, PEase, cellulase, glycosidase 등이 있으며, 이들 효소는 과일의 성숙과 후숙하는 동안에 활성이 증가한다. 특히 PGase는 세포

벽 중 middle lamella의 구성성분인 펙틴질을 분해시켜 유리시킴으로써 불용성 펙틴질은 감소하고 가용성 펙틴질이 증가하게 되며, 이 때 세포벽의 middle lamella가 용해되어 연화를 촉진한다.³⁾

본 연구는 감귤에 함유되어 있는 펙틴분해효소들이 성숙과 저장 중에 일어나는 연화현상에 미치는 영향을 알아보고자 온주밀감의 경도, 펙틴분해효소의 활성의 변화 등을 검토하였다.

재료 및 방법

저장조건

저장용 감귤시료는 제주도 남원읍 한남리에서 1999년 11월에 생산된 55 mm~70 mm인 중간 크기의 궁천조생(*Citrus unshiu* Marc. var. *miyagawa*)을 시료로 사용하였다. 감귤을 인다센(유효성분 4-chlorophenyl-butyl nitrile 1.5%와 ethylene bis dithiocarbamate 65%) 1,300배(유효농도 기준 0.05%) 용액에 2분간 침지 처리한 다음 풍건하였다. 결점과를 선별한 후 감귤을 용량이 26 L인 플라스틱 컨테이너에 약 12 kg씩 넣고, 저온저장고에 입고하기 전에 30°C에서 24시간 저장전 처리를 하였다. 내부공간이 160×190×235 cm인 농촌진흥청 감귤시험장의 저온저장고에서 저장 중 내부온도를 3±0.5°C, 분사식 노즐로 상대습도를 85±5%가 되도록 조절하였다. 분석시료는 12월부터 5월까지 저장하면서 15일 간격으로 반복 처리구마다 감귤을 각각 4~5개씩을 선정하여 일부분석을 고루 취하여 혼합한 다음 분석시료로 사용하였다.

분석방법

저장기간 중 발생하는 부패율은 임의로 선정한 2~3상자에 대한 총과실수당 부패과 발생량을 백분율로 나타내었다. 과실

찾는말 : 온주밀감, 성숙, 저장, 펙틴분해효소

*연락처 : Tel : 82-64-754-3343; Fax : 82-64-756-3351

E-mail : jskoh@cheju.cheju.ac.kr

의 중량감소는 반복당 10개의 과실을 선정하여 각각의 중량을 15일 간격으로 측정하였고, 초기의 중량에서 매회 측정된 중량을 뺀 수치를 초기 중량에 대한 총 감소중량을 백분율로 나타내었다.

과실의 경도는 직경이 각각 2 mm probe가 부착된 texture analyzer(TA-XT2, UK)를 사용하여 중간 부위의 경도를 측정 후, 최대값과 최소값을 제외한 평균값으로 나타내었다. 과피율은 조사시기별로 과피와 과육을 분리한 다음 각각의 중량을 측정하여 과실 중량에 대한 백분율로 표시하였으며, 수분 함량은 각 시료를 일정량 취하여 105°C 건조법에 의해 측정하였다.

과즙의 가용성고형물은 Abbe굴절계(RA-510, Kyoto Electronic, Japan)로 측정하였으며, 과즙의 pH는 pH meter(Orion 310, USA), 산 함량은 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 정량한 다음 구연산으로 환산하였다.⁴⁾ 총산 함량과 당도와의 관계를 당산비(Brix/acid ratio)로 나타내었다. 총당은 과육을 homogenizer로 분쇄한 다음 0.7 N HCl로 가수분해한 용액을 0.7 N NaOH로 중화한 다음 정용한 후 여과한 여액을 Somogyi-Nelson 방법⁵⁾으로 정량하였다. 비타민 C는 시료 10 g을 5% metaphosphoric acid 50 ml를 가한 후 마쇄하여 감압여과하고 찌꺼기는 소량의 물로 세척하여 추가로 추출한 후 100 ml로 한 다음 2,4-dinitrophenyl hydrazine 비색법⁶⁾에 준하여 분석하였다.

효소의 추출

효소의 추출은 손 등¹⁾이 행한 방법에 따라 시료 200 g에 증류수 400 ml를 가하여 균질화한 다음 여기에 1 M이 되도록 NaCl를 가하고 pH 6으로 맞추어 3시간 동안 추출한 후 miracloth로 여과하였다. 여과액에 85% (NH₄)₂SO₄로 염석하여 원심분리하고, 침전물을 0.15 N NaCl 용액에서 48시간 투석한 다음, 12,000 rpm으로 원심분리한 상정액을 조효소액으로 하였다. 모든 효소의 추출 조작은 4°C에서 이루어졌다.

Exo-polygalacturonase의 활성

Exo-polygalacturonase의 활성 측정은 손 등¹⁾의 방법에 준하였다. 즉, 효소반응은 1% PGase 용액 200 µl와 증류수 100 µl의 혼합액에 효소액 100 µl를 가하여 30°C에서 30분간 반응시킨 다음, 100 mM borate 용액 2 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 1% 2-cyanoacetamide 용액 400 µl를 가하여 잘 혼합하고, 10분간 끓인 후 냉각하여 276 nm에서 흡광도를 측정하였다. 30°C에서 30분 동안에 1 µmol의 환원당을 생성하는 효소량을 1 unit로 하였으며, 다음 식에 의해 효소활성을 계산하였다.

$$\text{효소활성(units/100g)} = A \times B \times 100 / C \times 1,000$$

A: 표준곡선에서 구한 효소액 0.1 µl 중의 무수 galacturonase의 양(µl)

B: 희석배수

C: 효소추출에 사용한 감귤의 무게(g)

Pectinmethylesterase의 활성

Pectinmethylesterase(PEase)의 활성 측정은 허 등⁷⁾의 titrimetric assay법을 수정한 방법으로 하였다. 즉, 0.1 M NaCl을 포함하는 1% pectin 용액 10 ml에 추출한 조효소 1 ml를 가하여 1시간 동안 40°C에서 반응을 시킨 다음 10분간 가열하여 반응을 정지시켰다. Blank와 조효소액을 pH 8까지 0.02 N NaOH로 적정하였다. Blank는 반응을 시키지 않은 용액을 사용하여 같은 방법으로 측정하였으며, PEase의 활성단위는 40°C에서 1시간 동안 반응시킨 카르복시기에 20을 곱하여 계산한 값을 1 µmol로 하였다.

결과 및 고찰

저장 중 감귤성분의 변화

Table 1은 궁천조생 온주밀감의 저장 중 가용성고형물(°Brix), pH, 산 함량, 당산비, 총당, 환원당과 비타민 C의 변화를 나타내었다. 고 등⁸⁾은 궁천조생의 평균 가용성고형물이 10.7 °Brix라고 보고하였으며, 본 실험에서도 저장 중 가용성고형물이 9.47~11.37 °Brix로서 저장기간 중 큰 차이가 없었다. pH와 산 함량의 경우 저장 90일 동안 각각 3.49~3.63과 0.88%~0.77%로서 큰 변화를 보이지 않았으나, 그 이후에는 산 함량이 급속히 감소함을 알 수 있었다. 총당은 7.75%에서 9.38%까지로 점차 증가하였으며, 이는 증산작용에 의한 중량감소로 주스 중 당 함량의 농축효과에 기인하는 것으로 여겨졌다. 비타민 C는 저온저장에서 큰 변화없이 유지되고 있음을 알 수 있었다.

부패율과 중량감소

궁천조생의 부패율 및 중량감소는 Fig. 1과 같다. 감귤의 부패는 저장 30일 후부터 나타나기 시작하였다. 발생 원인으로서는 미숙과, 미생물에 오염된 감귤이나 수확 중 또는 전처리 과정 중에 물리적인 손상에 의한 영향 등이 주요 요인이라고 할 수 있다. 저장 45일부터는 미생물에 의한 부패과가 발생하기 시작하였으며, 90일 이후부터 급속히 증가하였다. 이는 감귤조직의 연화와 더불어 미생물 발육에 알맞은 습도를 유지하게 되어 부

Table 1. Physicochemical properties of Satsuma mandarin during storage

Storage days	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Soluble solids(°Brix)	9.47	9.63	10.21	10.24	9.85	9.61	9.76	10.64	9.99	11.37
pH	3.49	3.62	3.87	3.46	3.68	3.63	3.89	3.94	4.19	4.23
Acid content (%)	0.88	0.79	0.70	0.80	0.76	0.77	0.53	0.53	0.57	0.38
Brix/acidratio	10.76	12.19	14.59	12.80	12.96	12.48	18.42	20.08	17.53	8.95
Total sugar (%)	7.75	7.57	7.98	8.37	7.55	7.73	8.15	9.02	8.09	9.38
Reducing sugar (%)	2.73	2.71	2.75	2.85	2.22	2.41	2.72	2.61	2.56	2.57
Ascorbic acid (mg/100g)	38.97	40.52	47.68	47.78	49.24	44.08	40.43	ND*	41.49	44.76

*ND : Not determined.

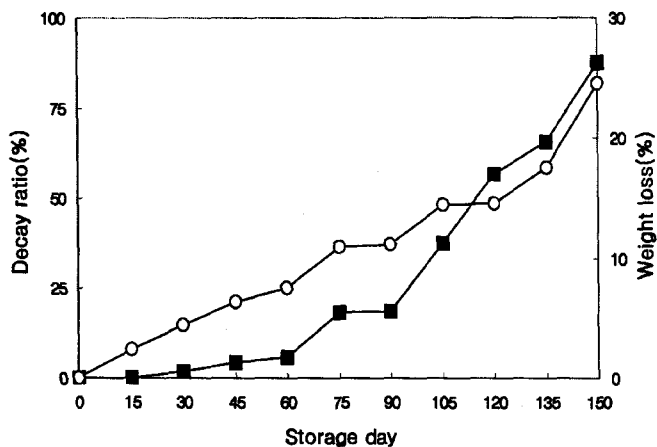


Fig. 1. Changes in decay ratio and weight loss of Satsuma mandarin during storage. -○-; Weight loss, -■-; Decay ratio.

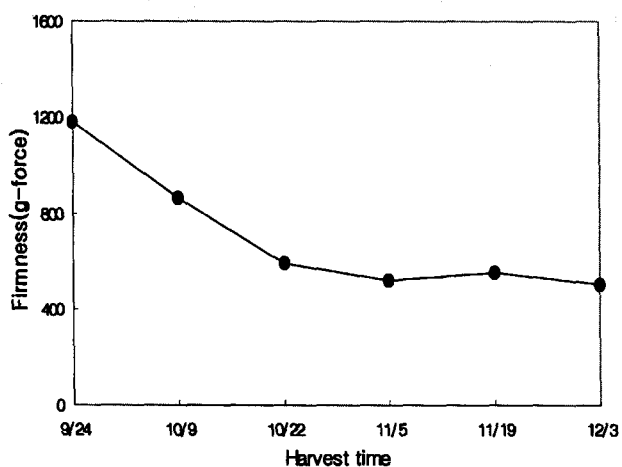


Fig. 2. Firmness changes of Satsuma mandarin during maturation(g-force).

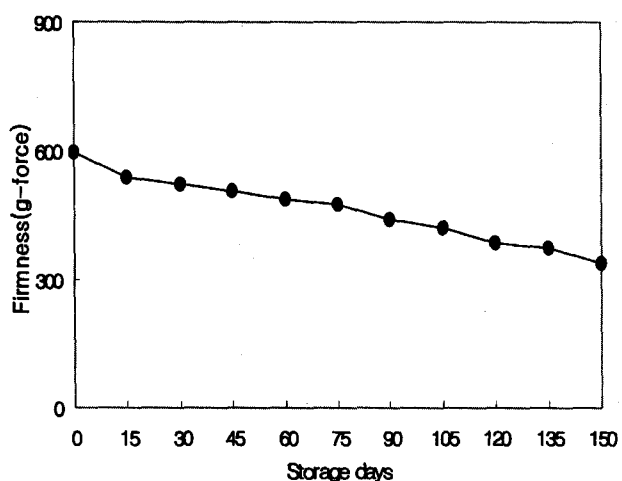


Fig. 3. Firmness changes of Satsuma mandarin during storage.

패과 발생이 일어나기 시작한 것으로 판단된다. 저장기간에 따른 중량감소는 저장 15일에 2.34%에서 저장 150일에 24.50%까지 계속하여 완만하게 증가하였다.

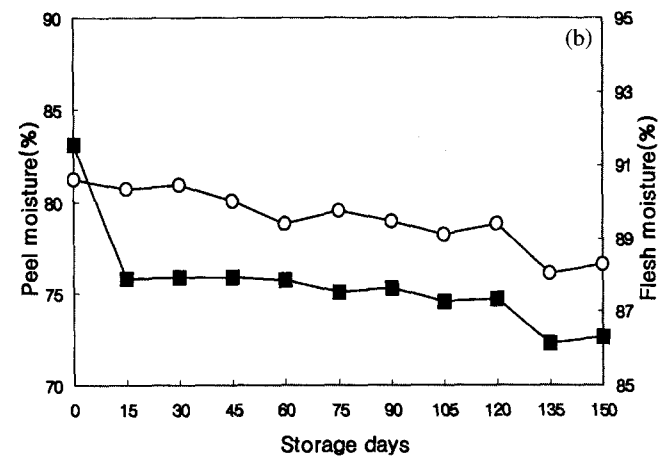
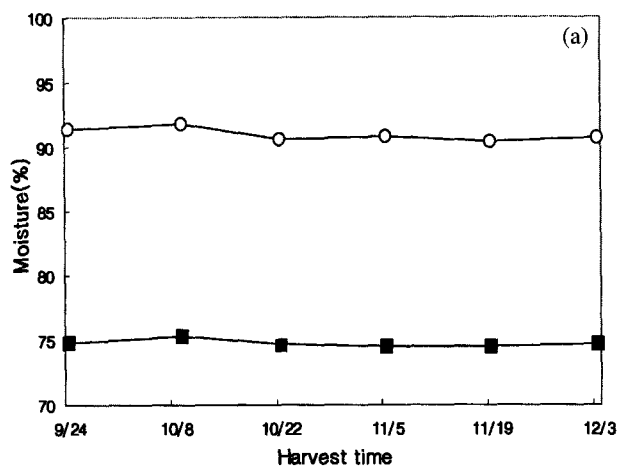


Fig. 4. Moisture content changes of Satsuma mandarin during maturation(a) and storage(b). -○-; Flesh, -■-; Peel.

경도와 수분 함량

Fig. 2는 성숙 중 감귤의 경도변화를, 그리고 Fig. 3은 저장 중 경도변화를 나타내었다. 성숙 중에는 2mm probe로 측정된 경도 값이 1,176.8 g-force에서 503.6 g-force로 과일이 비대하면서 급속히 감소하였다. 또한, 경도변화는 저장기간이 길어질수록 538.9 g-force에서 336.9 g-force까지로 완만하게 낮아졌다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 부패율이 증가하는 것과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 경도가 낮아지는 것은 일치하고 있어서 감귤의 생리적 작용에 의하여 껍질조직이 물러지고 있음을 알 수 있었다.

Fig. 4는 성숙과정과 저장 중 껍질과 과육 부위에 대한 수분 함량의 변화를 나타내었다. 성숙 중 감귤의 과피와 과육의 수분 함량은 각각 75.3%에서 74.9%로, 91.8%에서 90.7%로 약간 감소하였다. 그리고 저장감귤에서는 저장용 감귤의 저장전 처리로 인하여 초기에 과피에서 감소되었던 수분은 저장기간에 따라 과피와 과육의 수분 함량이 각각 75.8%에서 72.6%까지로, 90.3%에서 88.3%까지로 약간 감소하였다. 감귤은 수확 후에도 계속되는 호흡작용으로 내용성분의 변화와 더불어 과육에서부터 과피로 수분이 이동되고, 표면에서의 수분증발이 일어나 저장기간 중 중량감소가 지속되는 것으로 판단된다.⁹⁾

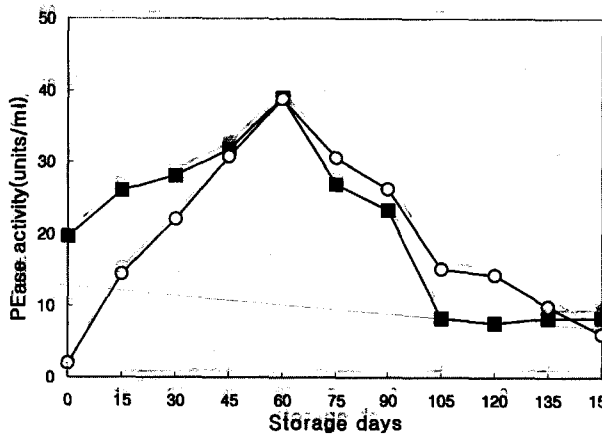


Fig. 5. Changes in pectinmethylesterase activity of Satsuma mandarin during storage. ○-; Flesh, -■-; Peel.

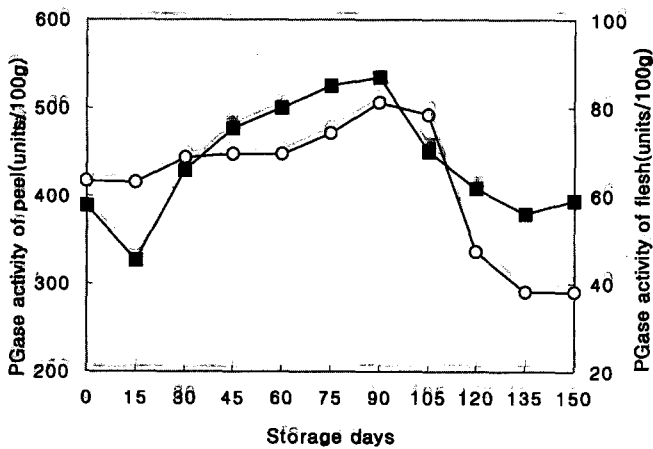


Fig. 6. Changes in exo-polygalacturonase activity of Satsuma mandarin during storage. ○-; Flesh, -■-; Peel.

Pectinmethylesterase의 활성

PEase는 고등식물에 널리 분포되어 있으며, 펙틴의 메틸기를 유리시키는 효소로서 연화 초기에 중요한 역할을 한다.¹⁰⁾ 과일의 PEase의 활성은 성숙 중에 증가한 후 일정하게 유지되거나 감소하며, 다른 효소들과 함께 과실의 연화에 관여하는 것으로 보고되고 있다.³⁾ PEase는 PGase와 같이 많은 과실에서 여러 isoenzyme 형태로 존재한다. 미숙과에서 PEase의 출현과 높은 활성은 연화와 관련이 없는 다른 세포벽 대사에 관여하는 것이라고 하였다.³⁾ PEase는 세포벽의 polygalacturonan의 methoxyl기를 제거하여 PGase의 작용을 쉽게 해주는 역할을 한다.

Fig. 5는 감귤 저장 중에 PEase 활성의 변화를 나타내었다. 과피에서 저장 60일에는 14.4 μmol에서 39.0 μmol까지로, 과육은 26.0 μmol에서 38.8 μmol까지로 각각 증가하였다. 그러나 이후 감소하기 시작하여 저장 150일에는 8.2 μmol과 6.0 μmol로 각각 감소하였다. 신 등³⁾의 보고에 의하면 과일 세포벽에서의 pectin methylation의 정도는 연화 중에 일정하게 유지된다고 하였으나, 본 실험 결과와는 다소 차이가 있었다.

Exo-polygalacturonase 활성의 변화

호흡상승형 과실의 주된 연화효소로 알려져 있는 PGase는 세

포벽의 middle lamella를 구성하는 pectin질을 분해하여 저분자의 polyuronide를 유리시켜 연화를 초래한다. 불용성 pectin질이 가용성 pectin질로 전환되며, 가용성 pectin질에는 중성 당류의 비율이 낮다고 하였다.³⁾ PGase의 활성은 미숙과에서 매우 낮거나 거의 나타나지 않으나, 과일의 성숙으로 급격히 증가하여 연화되는 시기 동안에 가장 높게 나타난다. 연화 중 PGase의 활성 증가는 세포벽 단백질의 유리와 관련이 있다고 보고되고 있다.¹¹⁾

Fig. 6은 감귤의 저장 중 연화에 영향을 미치는 세포벽 분해 효소인 exo-polygalacturonase 활성 변화를 나타내었다. exo-polygalacturonase 활성은 과피에서 326.0 units/100g에서 저장 90일에 534.9 units/100g까지로, 과육에서 63.1 units/100g에서 81.0 units/100g까지로 각각 증가를 하다가 저장 후 150일에는 39.4 units/100g과 38.0 units/100g으로 급속히 감소하였다. 조생 온주밀감의 경우 저장 90일까지 효소활성이 증가하다가, 그 이후 감소하는 것으로 미루어 신선도를 유지할 수 있는 기간은 90일 정도가 알맞을 것으로 판단되었다.

감사의 글

이 논문은 1999년 농림기술관리센터 현장애로기술개발 연구비에 의해 이루어진 결과의 일부로서, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Son, M. A., Seo, C. H., Kim, M. H., Shin, S. R., Kim, J. N. and Kim, K. S. (1995) Changes in the cell wall components and cell wall-degrading enzyme activities of jujube fruits during maturation. *Kor. J. Post-Harvest Sci. Technol. Agric. Products* 2(1), 185-193.
2. Lui, Y. C., Kwon, K. and Park, K. H. (1996) Infusion of pectinesterase for preventing softening of Kimchi tissue. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28(2), 393-395.
3. Shin, S. R. and Kim, K. S. (1996) Changes in cell wall components and cell wall-degrading enzymes during softening of fruits. *Kor. J. Post-Harvest Sci. Technol. Agric. Products* 3(1), 93-104.
4. Gohara, T. (1973) In 'Food Analysis Handbook,' pp. 334-335, Kenpakusha, Japan.
5. Hatanaka, C. and Kobara, Y. (1980) Determination of glucose by a modification of Somogyi-Nelson method. *Agric. Biol. Chem.* 44, 2943-2949.
6. Chu, H. K. (1995) In 'Food Analysis,' pp. 355-359, Hak Moon Pub. Co., Seoul.
7. Hou, W. N., Kim, M. H. and Go, E. K. (1998) Partial purification of fig pectinesterase and characterization of its in situ activity. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 30(5), 1169-1178.
8. Koh, J. S. and Kim, S. H. (1995) Physicochemical properties and chemical compositions of citrus fruits produced in Cheju. *Agric. Chem. Biotechnol.* 38(6), 541-545.
9. Koh, J. S., Yang, Y. T., Song, S. C., Kim, S. H. and Kim, J. Y. (1997) Cold storage characteristics of early variety of *Citrus unshiu* produced in Cheju with various treatments. *Agric. Chem. Biotechnol.* 40(2), 117-122.

10. Seo, C. H., Shin, S. R., Jeung, Y. J. and Kim, K. S. (1997) Changes in polygalacturonase during softening of persimmon and jujube fruits. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**(2), 180-185.
11. Lee, K. H., Kim, K. S., Kim, M. H., Shin, S. R. and Yoon, K. Y. (1998) Studies on the softening of strawberry during circulation and storage, (1) Changes of cell wall components, protein and enzymes during ripening. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**(1), 29-36.

Changes in Pectin-degrading Enzymes activity during Storage of Satsuma Mandarin

Moon-Jang Kang, Ji-Yong Kim and Jeong-Sam Koh*(*Faculty of Horticultural and Life Science, Cheju National University, Ara-Dong, Cheju 690-576, Korea*)

Abstract : Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. var. *miyagawa*) was stored at 3°C and 85% relative humidity, and then the changes of firmness, pectin-degrading enzymes activity and other physicochemical properties of citrus fruits during storage were investigated. Firmness of fruits with 2 mm probe was decreased quickly from 1,176.8 g-force to 503.6 g-force, and moisture of peel and flesh were decreased from 75.3% to 74.9%, and from 91.8% to 90.7% during maturation, respectively. Decay ratio was increased to 18.75% after 90 days' storage, and after then it was increased rapidly. Weight loss was increased gradually to 24.5% during long-term storage. Firmness with 2 mm probe were decreased from 538.9 g-force to 336.9 g-force gradually during storage. Peel moisture was decreased from 75.8% to 72.6%, and flesh moisture was also decreased gradually from 90.3% to 88.3% during storage. Exopolygalacturonase activity of peel and flesh were increased from 326.0 units/100 g to 534.9 units/100 g, and from 63.1 units/100 g to 81.0 units/100 g at 90 day's storage, respectively. After then, the enzyme activities were decreased from 394.0 units/100 g and 38.0 units/100 g, respectively. Pectinesterase activity of peel and flesh were increased from 14.4 μ mol to 38.8 μ mol, and from 26.0 μ mol to 39.0 μ mol at 60 days' storage, respectively. After then, the enzyme activities were decreased to 6.0 μ mol and 8.2 μ mol, respectively.

Key words : Satsuma mandarin, citrus, enzyme, maturation, storage

*Corresponding author