

## 사과과실 엽록체의 초미세구조 변화에 미치는 감압저장의 영향

하 영 선 · 손 태 화\*

대구대학교 식품공학과, \*경북대학교 식품가공학과  
(1985년 9월 12일수리)

### Effects of Subatmospheric Pressure Storage on Ultrastructural Changes in the Chloroplasts of Apple Fruit

Young-Sun Ha and Tae-Hwa Sohn\*

Department of Food Technology, Taegu University, \*Department of Food  
Science and Technology, Kyungpook National University, Taegu, Korea

#### Abstract

Ultrastructural changes in the chloroplast of apple fruits was examined with *Malus Pumila* Mill var. *Fugi* harvested during preclimacteric stage under the subatmospheric pressure storage condition at 380mmHg, 20°C. Electron micrographs obtained from the fruits stored at 760mmHg, 20°C indicated that the initiation of ultrastructural changes is in parallel with the onset of respiratory climacteric. Chloroplast of the apple fruits stored for 25 days is vacuolated and the lamellar system are a little disorganized. Chloroplast of the apple fruits stored for 50 days is showing extensive vacuolation, the lamellar system are completely disorganized and the plasma membrane has pulled away from the cell wall. In the case of subatmospheric pressure storage caused to delay the onset of ultrastructural changes in chloroplast such as vacuolation, disorganization of lamellar system and dispersal of stroma lamella about 2 months. These results suggested that ripening of apple fruits is correlated not only to the activity of respiration but to the involvement of ultrastructural changes in fruit cells. The evidences obtained here led to the conclusion that subatmospheric pressure treatment extends storage life of apple fruits by inhibiting ultrastructural changes of cell organelles in concomitance with respiratory activity.

#### 서 론

사과 · 서양배 · 토마토 · 바나나 · 아보카도 · 망고 · 파파야 등의 과실은 보편적으로 호흡의

climacteric현상과 아울러 숙성현상이 나타나며, 이때 숙성을 특징짓는 여러가지 변화가 일어나는 것으로 잘 알려져 있다<sup>1)</sup>. 성숙된 식물세포의 엽록체는 stroma lamella와 grana lamella로 이루어진 lamellar system을 형성하고 있으며, 이곳

에 구연산회로계 효소, 지방산합성효소 등을 함유하고 있다. 또한 광합성을 영위하는 엽록소도 이 lamellar system에 내포되어 있는데, 식물의 종류, 성숙단계 또는 생리조건 등에 따라서 그 형태 및 기능이 변하는 것으로 알려져 있다.

지금까지 호흡의 climacteric현상의 機作에 대한 많은 가설이 제시되었으나<sup>1-4)</sup>, 그 당시에는 organization resistance에 대한 초미세구조적 근거가 제시되지 않았았기 때문에 이 가설들이 경시되어 온 경향이 있었다. 그러나 최근에 전자현미경이 식물조직의 초미세구조연구에 이용되어 식물세포가 수많은 막으로 경계된 정교한 소기관들을 내포하고 있다는 것이 밝혀지게 되어<sup>2-4)</sup>, “膜透過性的變化”에 근거를 둔 가설에 대한 관심이 재개되게 되었으며, 호흡의 climacteric rise와 아울러 일어나는 일련의 생리화학적 변화를 해명하기까지 이르렀다.

한편 과실의 생리작용을 억제함으로써 저장기간을 연장시키기 위하여 저온저장, CA(controlled atmosphere)저장 등이 널리 행하여지고 있으며, 또한 Burg등<sup>5)</sup>이 바나나 과실을 감압하에서 저장한 결과 착색이 지연되었다고 보고한 이래, 청과물의 감압저장에 관한 연구<sup>6-9)</sup>가 활발히 행하여져 현재 미국 등지에서는 실용적인 감압저장고가 개발되어 과실저장에 실용화되고 있는 실정이다. 그러나 사과과실세포의 초미세구조변화에 미치는 감압저장의 영향에 대한 연구보고는 아직까지 찾아 볼 수 없었다.

따라서 본 연구에서는 수확후의 감압처리가 과실의 저장기간을 연장시키는 효과를 규명하고자 사과과실을 380mmHg, 20°C에서 감압저장하고 호흡의 climacteric rise의 각 단계별로 시료를 채취하여 전자현미경적으로 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험에서는 경상북도 농촌진흥원 소재 과원에서 재배한 중량 300g정도의 사과과실 (*Malus Pumila* Mill var. *Fuji*)을 preclimacteric 단계에 수확하여 孫등<sup>10)</sup>의 방법에 따라 380mmHg, 20°C에서 일정기간 감압저장한 후 전자현미경용 시료로 사용하였다.

### 전자현미경용 표본의 제작

전자현미경용 표본의 제작은 먼저 바탕색 부위

의 과피조직을 1mm<sup>3</sup>정도의 크기로 cutting한 후, 4.2% glutaraldehyde에 2시간 pre-fixation을, 1% O<sub>5</sub>O<sub>4</sub>로서 4시간 fixation을 하였으며, 固定液의 緩衝 및 水洗에는 sucrose와 CaCl<sub>2</sub>를 최종농도로 각각 0.4M<sup>10)</sup> 및 0.4mM<sup>11)</sup>이 되도록 첨가한 0.07M phosphate buffer solution(pH 7.4)<sup>12)</sup>을 사용하였다. ethyl alcohol series로 dehydration을, 그리고 Luft의 방법<sup>13)</sup>에 의하여 Epon-812로 embedding을 행한 후 hypodermis cell부위를 trimming하여 Porter-Blum MT-2B ultramicrotome에 의해 glass knife로 60~90nm의 두께로 절단하였다. 이 超薄切片을 chloroprene rubber로 接着處理를 행한 200mesh copper grid에 mounting하여 Reynolds의 방법<sup>14)</sup>에 따라 uranyl acetate와 lead citrate로 二重電子染色을 행한 후, Hitachi HU-11C electron microscope로 75KV에서 관찰하였다.

## 결 과

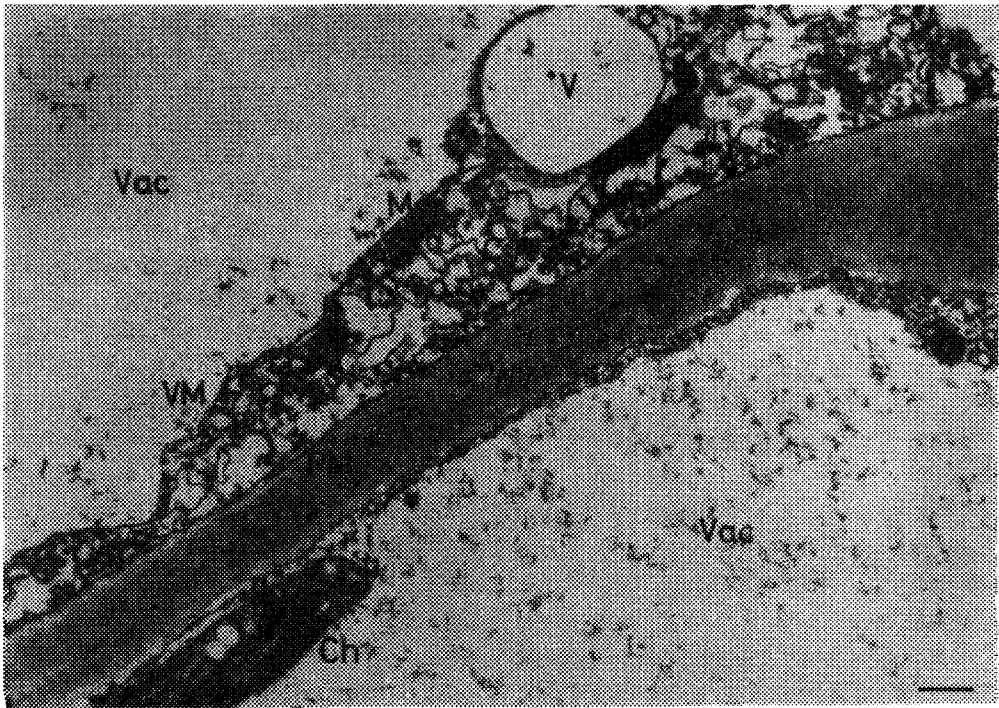
### Preclimacteric 단계의 초미세구조

사과과실은 성숙되는 동안 protoplast의 대부분이 液胞로 차게 되어 세포질은 부위에 따라 1.0 μm이상의 폭을 가진 곳도 있었으나 보편적으로 세포벽을 따라가면서 0.1~0.3 μm정도의 얇은 폭으로 형성되어 있었으며, 엽록체, 미토콘드리아 등의 세포내 소기관들은 폭이 넓은 부위에서 관찰되었다(Fig. 1).

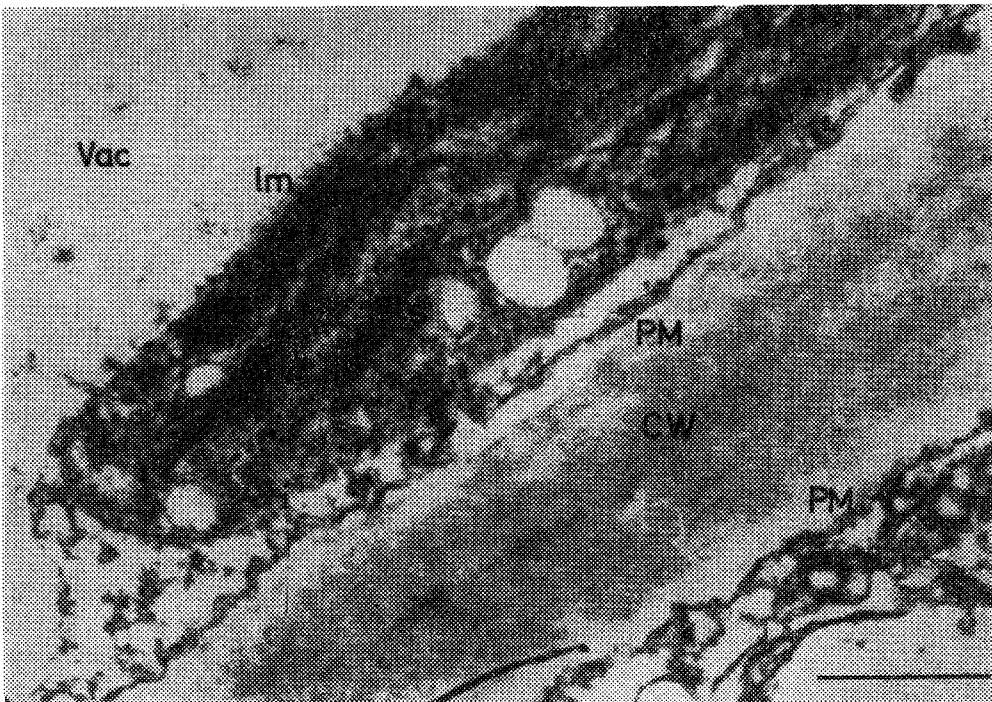
엽록체의 초미세구조는 원반상의 타원형으로 단경이 0.7~1.5 μm, 장경이 3.0~6.0 μm였으며, 때로는 장경이 10 μm정도인 것도 있었으며, 이중막으로 된 單位膜이 표면을 둘러싸고 있었다. stroma는 전자밀도가 중간정도인 미립상의 기질로 채워져 있었으며, lamella구조가 장축과 평형을 이루어 잘 형성되어 있었다. 즉 lamella구조는 자루모양의 thylakoid膜이 모여 전자밀도가 높은 grana lamella와 전자밀도가 낮은 stroma lamella를 형성하고 있었으며, lamella간의 간격은 0.01~0.1 μm였다(Fig. 2).

### 상압저장과실의 초미세구조

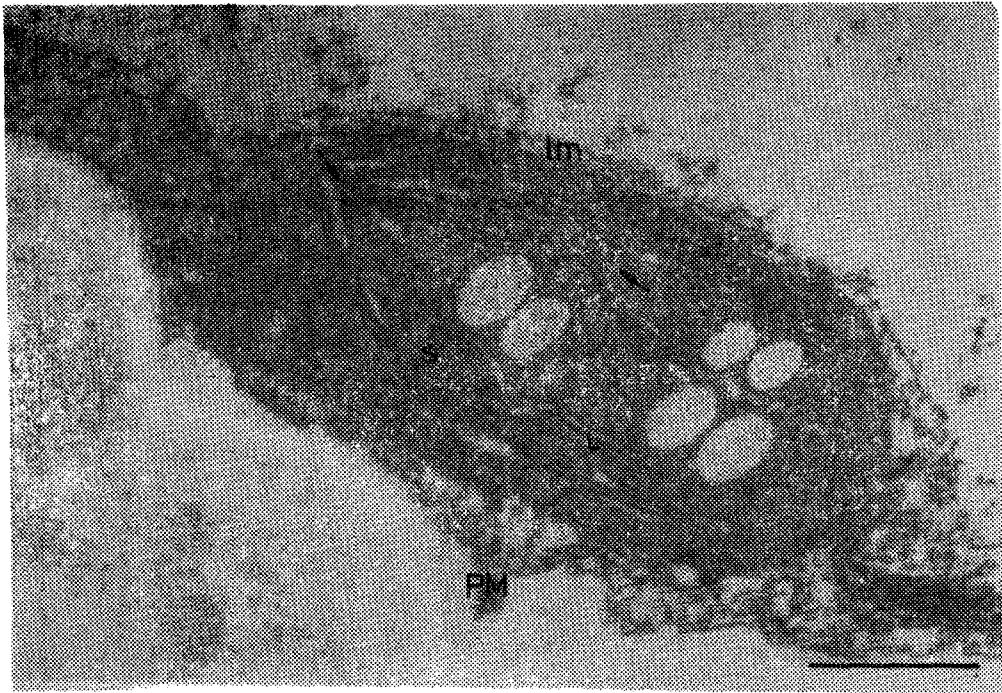
760mmHg, 20°C의 공기 중에서 저장한 사과과실의 엽록체는 25일째에 이미 상당한 초미세구조 변화가 나타났다. 즉, 공포화현상으로 인하여 grana lamella의 상실등 lamella구조의 瓦解現象이 관찰되었을 뿐만 아니라 空胞化現象으로 인하



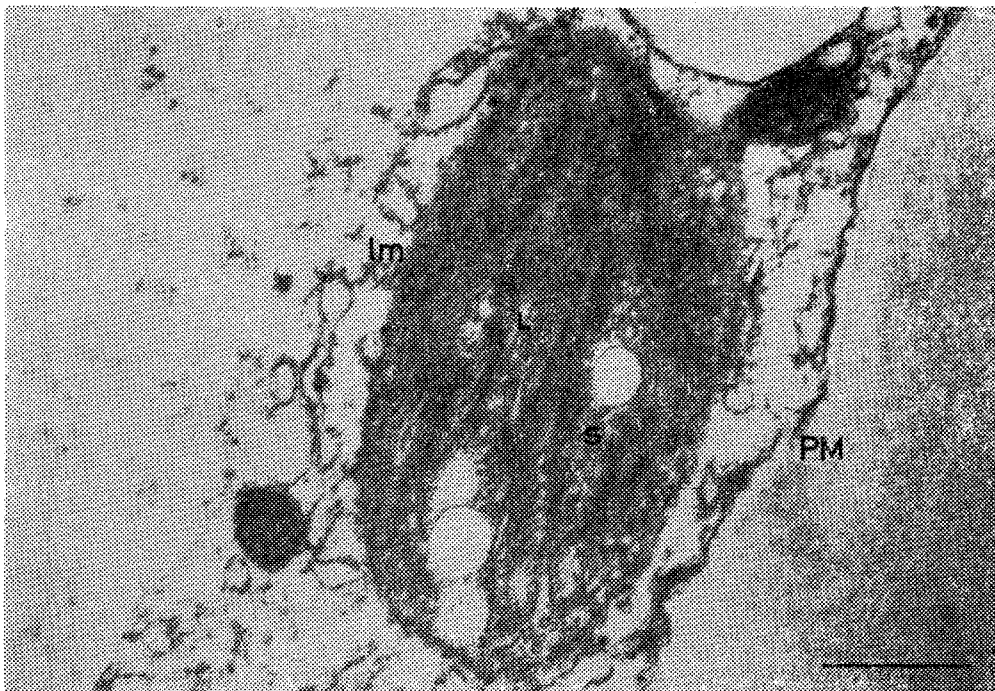
**Fig. 1.** Ultrastructure of preclimacteric apple fruits cell. The cytoplasm(Cyt), plasma membranes(PM), vacuolar membranes(VM), cell wall(CW), chloroplast(Ch) and mitochondria (M) are comparative clearly visible; bar=0.5 $\mu$ m



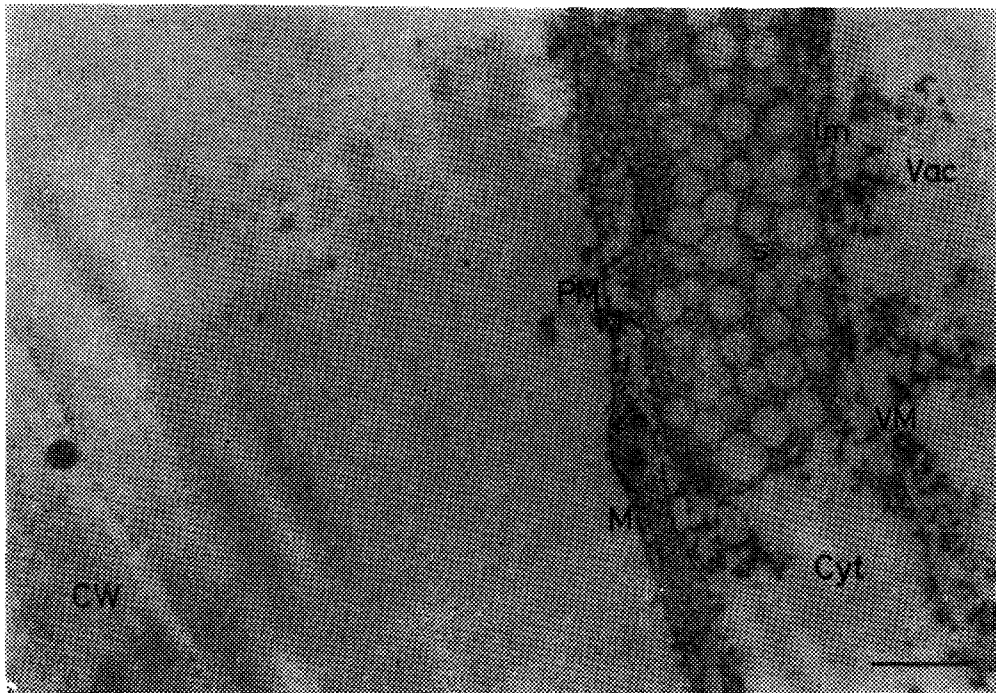
**Fig. 2.** Ultrastructure of preclimacteric apple fruits chloroplast. The chloroplast(Ch) is made up of more or less parallel lamella(L) in the stroma (S); bar=0.5 $\mu$ m



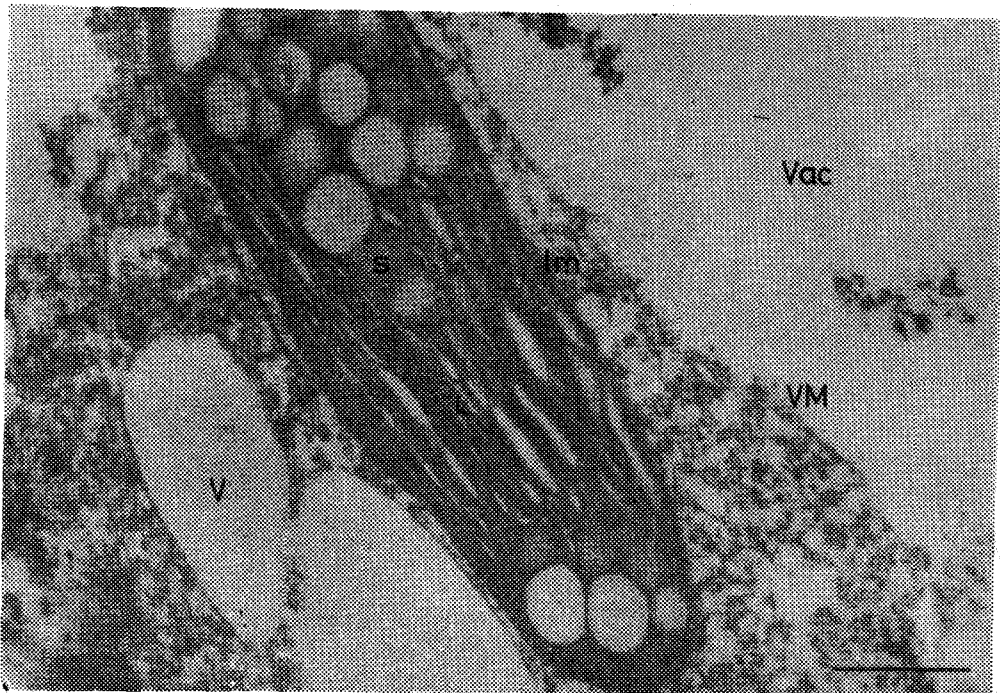
**Fig. 3.** Ultrastructure of apple fruits chloroplast stored at 20°C for 25 days in air (760mmHg). The chloroplast is vacuolated and the lamellar system(L) are a little disorganized ;bar=0.5 $\mu$ m



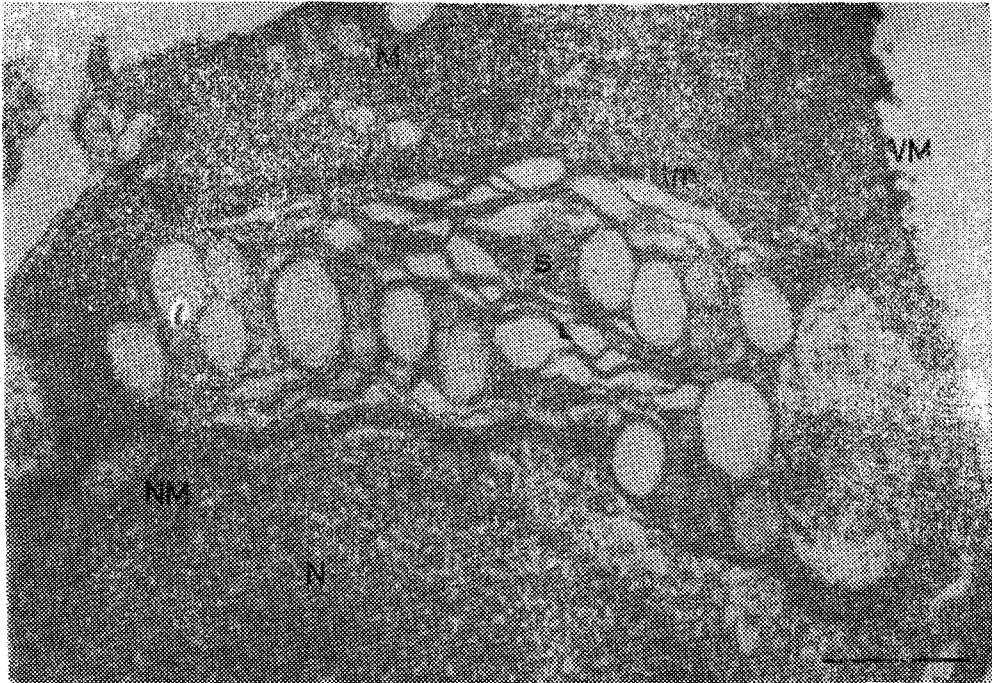
**Fig. 4.** Ultrastructure of apple fruits chloroplast stored at 20°C for 25 days in subatmospheric pressure(380mmHg); bar=0.5 $\mu$ m



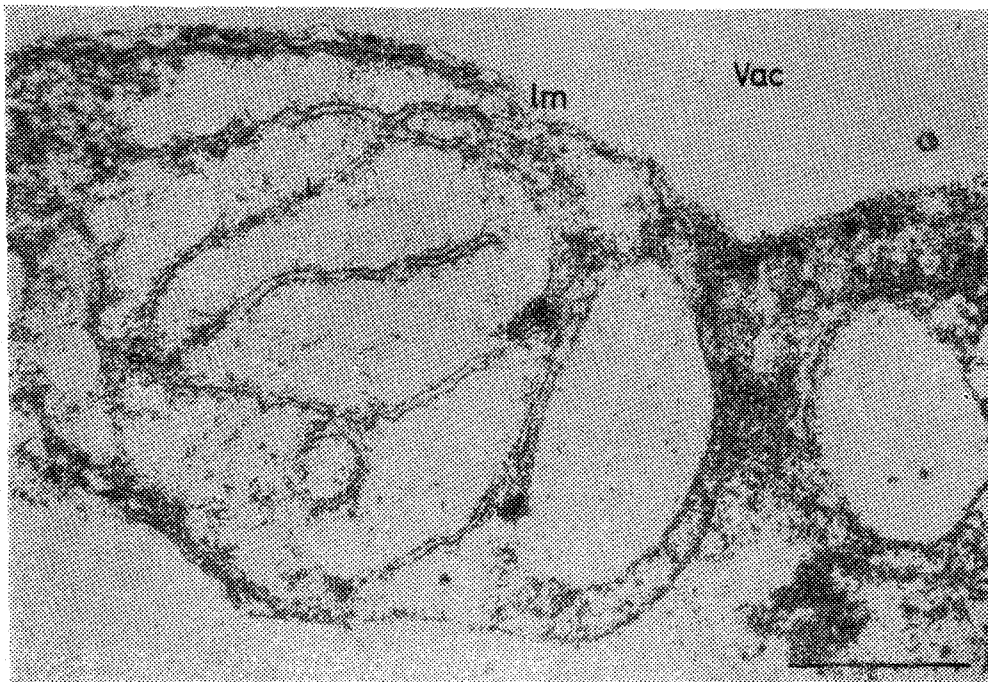
**Fig. 5.** Ultrastructure of apple fruits chloroplast stored at 20°C for 50 days in air(760mmHg). The chloroplast is showing extensive vacuolation and the lamellar system(L) are completely disorganized. The plasma membrane(PM) has pulled away from the cell wall(CW) bar=0.5 $\mu$ m



**Fig. 6.** Ultrastructure of apple fruits chloroplast stored at 20°C for 50 days in subatmospheric pressure(380mmHg). The chloroplast are showing considerable vacuolation. The lamellar system(L), however, are not disorganized; bar=0.5 $\mu$ m



**Fig. 7.** Ultrastructure of apple fruits chloroplast stored at 20°C for 75 days in subatmospheric pressure(380mmHg). The chloroplast is considerably vacuolated and the lamellar system are showing considerable disorganization. The stroma lamella(L), however, are comparative clearly visible. Nucleus membrane(NM) are still recognizable; bar=0.5 $\mu$ m



**Fig. 8.** Ultrastructure of apple fruits chloroplast stored at 20°C for 103 days in subatmospheric pressure(380mmHg). The chloroplast are showing extensive vacuolation and the lamellar system are considerably disorganized. The stroma lamella(L) and limiting membrane (LM), however, are still recognizable; bar=0.5 $\mu$ m

여 stroma lamella간의 간격이 넓어져 partition gap이 빈번히 관찰되었으며 stroma는 전반적으로 전자밀도가 상당히 낮아졌다(Fig. 3). Postclimacteric단계인 50일째에는 심한 공포화현상으로 인하여 lamella구조가 완전히 상실되었으며, stroma는 대부분이 전자밀도를 상실한 공허한 상태로 관찰되었다(Fig. 5).

한편 감압저장과실의 초미세구조는 상압저장과실에 비하여 매우 건전한 상태로 관찰되었다. 즉 25일째까지는 별다른 변화를 찾아볼 수 없었고(Fig. 4), 50일째에는 액포가 수적으로 증가되어 stroma는 미립상의 기질이 거의 상실된 공허한 상태로 관찰되었으나 lamella구조는 비교적 건전한 상태로 관찰되었으며, 표면막도 비교적 건전한 상태를 유지하고 있었다(Fig. 6). Postclimacteric단계인 75일째에는 심한 공포화현상으로 인하여 lamella구조가 상당히 와해되었으나(Fig. 7), stroma lamella를 형성하고 있는 thylakoid막은 103일째까지도 비교적 건전한 상태로 관찰되었다(Fig. 8).

### 고 찰

Bain등<sup>15)</sup>, Fuller<sup>16)</sup>의 보고에 의하면 사과, 서양배 및 토마토 과실의 엽록체는 호흡의 climacteric rise의 초기단계에 이미 膜透性的의 變化로 인한 空胞化現象으로 인하여 stroma부위의 전자밀도가 낮아지고 lamella구조가 와해되며 partition gap이 확장되는 등의 초미세구조변화가 상당히 일어나며, 또한 climacteric rise가 진전됨에 따라서 광범위한 breakdown현상으로 인하여 stroma부위의 전자밀도상실, lamella구조상실 등의 초미세구조변화가 심하게 나타난다. 한편, Frenkel등<sup>17)</sup>, Fuller<sup>16)</sup>의 보고에 의하면 수확후 적당한 농도의 calcium 또는 CO<sub>2</sub>로 처리하면 엽록체의 초미세구조변화가 억제된다.

본 실험에서는 상압저장과실은 Bain등<sup>15)</sup>, Fuller<sup>16)</sup>의 연구결과에서와 마찬가지로 25일간의 저장으로 이미 막투과성의 변화로 인한 공포화현상으로 인하여 stroma 부위의 전자밀도가 낮아지고 lamella구조가 상당히 와해되었으며, 50일간의 저장에서는 광범위한 breakdown현상으로 인하여 stroma부위의 전자밀도상실, lamella구조상실 등의 초미세구조변화가 매우 심하게 나타났으며 저장 75일 이후부터는 엽록체의 관찰이 불가능하였

다.

한편 감압저장과실은 Frenkel등<sup>17)</sup>, Fuller<sup>16)</sup>의 연구에서와 처리방법은 다르지만 엽록체의 초미세구조변화가 상압저장과실에 비하여 크게 억제되어 저장기간이 2개월정도 연장되었다. 특히 thylakoid막은 climacteric rise가 진전되어 공포화현상이 심하게 나타나 lamella구조가 완전히 와해되었을 경우에도 비교적 건전한 상태로 유지되었다.

이와 같은 엽록체의 초미세구조변화를 억제하는 감압저장의 효과는 수확후 감압처리로 인하여 과실세포의 막투과성변화가 억제되었기 때문인 것으로 판단되며, 이는 감압저장으로 인하여 과실의 저장기간이 연장되는 주요한 요인 중의 하나라고 생각된다.

### 요 약

사과과실(*Malus Pumila* Mill var. *Fuji*)을 preclimacteric단계에 수확하여 380mmHg, 20°C의 조건에서 감압저장하고 climacteric rise의 각 단계별로 전자현미경적으로 관찰한 결과, 사과저장 중 감압처리가 엽록체의 초미세구조변화에 미치는 영향과 이로 인한 저장기간 연장효과를 규명하였다.

760mmHg, 20°C의 조건에서 저장한 상압저장과실은 25일간의 저장으로 이미 막투과성의 변화로 인한 공포화현상으로 인하여 엽록체의 초미세구조에 상당한 변화가 일어나 stroma부위의 전자밀도가 낮아지고, lamellar system이 와해되었으며, 50일간의 저장에서는 광범위한 breakdown현상으로 인하여 stroma부위의 전자밀도상실, lamella system상실 등의 초미세구조변화가 매우 심하게 나타나 저장성이 상실되었다.

한편 380mmHg, 20°C의 조건에서 저장한 감압저장과실은 상압저장과실에 비하여 엽록체의 초미세구조변화가 크게 억제되었다. 특히 thylakoid 막은 climacteric rise가 진전되어 공포화현상이 심하게 나타나서 lamella구조가 완전히 와해되었을 경우에도 비교적 건전한 상태로 유지되어 저장기간이 2개월정도 연장되었는데, 저장 중의 감압처리로 인하여 막투과성변화가 억제되어 사과과실의 숙성 및 연화가 지연됨으로써 저장기간이 연장된 것으로 판단되었다.

## 참 고 문 헌

1. 小林章 : 果樹의 良品生産技術, 誠文堂 新光社, 東京, pp. 289~294(1962).
2. F.F. Blackman and P. Parija: Proc. Roy. Soc. B., 103 : 412(1928).
3. F. Kidd and C. West: Great Britain Dept. Sci. & Indus. Res., Food Invest. Bd.Rept., 1925/26 : 41(1927).
4. F. Kidd and C. West: Rep. Food Invest. Bd. Rept., 55(1932).
5. S.P. Burg and E.A. Burg: Plant Physiol., 37 : 179(1962).
6. 손태화 · 최종욱 · 김성달 : 한국식품과학회지, 4 : 13(1972).
7. 梶浦一郎 : 日本食工誌, 20 : 331(1973).
8. D.K. Salunkhe and M.T.Wu: J. Amer. Soc. Hort. Sci., 98(1) : 113(1973).
9. 上田悦範, 中本昌利, 緒方邦安 : 日本食工誌, 27(3) : 149(1980).
10. M.R. Shipway and W.J. Blamlage: Plant Physiol., 51 : 1095(1973).
11. S.A. Bencosme and V. Tsutsumi: Laboratory Invest., 23(4) : 447(1970).
12. Y.S. Ha: Rehabilitation & Science, 2(1) : 59(1980).
13. 串田 弘 : 超薄切片法, 文光堂, 東京, pp. 90~107(1976).
14. E.S. Reynold: J. Cell Biol., 17 : 208(1963).
15. J.M. Bain and F.V. Mercer: Aust. J. Biol. Sci., 17 : 78(1964).
16. M.M. Fuller: Ann. Appl. Biol., 83 : 299(1976).
17. C. Frenkel and M.E. Patterson: Hort. Science, 9(4) : 338(1974).