

Blueberry의 호흡량에 미치는 환경기체조절 포장의 영향

김 현 구
(표준화연구부)

I. 서 론

Blueberry는 온화한 기후의 토양조건에서 성장하는 계절성 과실로서 세계 여러 지역에서 이 과실의 수요가 꾸준히 증가하고 있다. 해외시장에 생체 blueberry로 수출하는 경우 shelf life가 주요 관심사로 대두되고 있으며, 미국 동해안에서 유럽 항구까지 해상교통에 일반적으로 요구되는 12~14일 정도로 shelf life를 연장할 경우 이 과실의 해외시장성은 상당히 증가할 것으로 추정되었다(Ceponis 등, 1985).

Blueberry의 변질은 주로 곰팡이에 의한 부패와 생리적 변화에 기인한다(Cappellini 등, 1982). 생체 blueberry의 수확후 부패를 제어할 수 있는 가장 효과적인 방법은 살균제의 사용이나, 이 경우 살균제로 인한 잠재적인 독성위험을 내포하고 있다. Ceponis 등 (1983)과 Smittle 등(1988)은 높은 CO₂ 농도의 환경기체에서 저장한 blueberry는 살균제 처리가 없어도 수확후 부패를 저지하는데 효과적인 방법이라고 보고하였다. 따라서 CA(controlled atmosphere)저장 또는 MAP(modified atmosphere packaging)방법은 생체 blueberry의 shelf life를 연장할 수 있는 효율적인 방법으로 사용될 수 있다.

CA저장과 MAP방법은 포장제안에 있는 생체산물의 호흡량을 줄이고 조직감 연화와 생리적 장애를 지연시키기 위한 환경기체조성(일반적으로 감소된 O₂농도 및 상승된 CO₂농도)를 사용한

다. MAP 방법은 환경기체내의 가스조성을 조절하는데 CA저장에 사용되는 값비싼 설비가 없어도 가능하다는 장점을 지니고 있다. 포장제내의 가스조성을 일정하게 유지하기 위하여 MAP는 포장의 투기도와 생체산물의 호흡량의 관계를 조절한다. MAP를 디자인하려면 생체산물의 적정 가스조성과 호흡량, 포장제의 표면적과 투기도, 포장재질의 두께, 저장온도 및 상대습도와 같은 요소들에 대한 정보가 필요하다. 생체산물의 품질은 화학적 분석이나 관능검사를 이용하여 O₂와 CO₂농도의 적정범위를 판단할 수 있다. 호흡량은 Haggar 등(1992)이 보고한 closed system 방법을 이용하여 측정할 수 있으며, 적정가스조성, 호흡량 및 저장조건을 설정한 후 포장재질의 조건은 모델방정식으로 부터 예측할 수 있다.(Hayakawa 등 1975, Lee 등 1992)

Blueberry의 MAP는 이 과실의 호흡에 대한 자료부족으로 이의 MAP에 대한 연구는 거의 없는 형편이다. 최근에 Lee 등(1992)은 O₂ 및 CO₂ 농도에 따른 생체과실 및 야채의 호흡량을 예측하기 위한 Michaelis-Menten type 호흡모델을 개발하였으며, 이 호흡 모델은 여러 생체산물의 실험치를 이용하여 증명되었다(Lee 등, 1992). 따라서 본 연구의 목적은 O₂, CO₂ 농도 및 온도에 따라서 blueberry의 품종별 호흡량을 밝히고자 하였다. 또한 blueberry 호흡량 데이터의 Michaelis-Menten type 호흡모델 적용가능성을 연구하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

Coville, Blueray 및 Jersey 등의 3가지 blueberry 품종(*Vaccinium corymbosum* L.)은 New Jersey Blueberry & Cranberry Research Center에서 수확하였다. Blueberry는 7월초 과실표면의 약 90%가 'blue'이고 꼭지주위의 약 10%가 'pink'인 성숙단계에서 수확하였다(Windus 등, 1976). Coville, Blueray 및 Jersey 품종의 한개당 평균무게는 각각 1.61g, 1.57g, 1.67g 이었고 한개당 너비는 0.604, 0.589, 0.622 inch 이었다. Blueberry시료는 본실험 시작전 각 실험온도에서 3시간 동안 평형시켰다.

2. Closed system에서 호흡량 측정

각 실험온도(5°C, 15°C, 25°C)에서 O₂ 및 CO₂ 농도에 따라서 호흡량을 측정하기 위하여 closed system(Haggar 등 1992, Lee 1987)을 이용하였다. 약 265g의 blueberry를 넣은 1리터 유리병은 금속뚜껑으로 밀폐시켰으며 호흡량 측정 샘플링을 위하여 그 뚜껑 일부에 구멍을 내어 실리콘으로 입혔다. 시료유리병은 온도를 ±0.5°C 이내로 제어할 수 있는 냉장고에 즉시 저장하였다. 시료병 headspace의 가스는 일정한 시간간격으로 샘플링하였고 이의 가스조성은 Hewlett Packard 5890A 기체 크로마토그래피를 이용하여 분석하였다. 칼럼은 Alltech CTR I column(Alltech Associ-

ates, Inc., Deerfield IL.)을 사용하였다. 운반기체는 분당 65ml의 flow rate로 helium을 사용하였고 칼럼온도는 30°C로 유지하였다.

시료병 headspace의 가스분석은 CO₂ 농도가 20%에 이르거나 O₂ 농도가 1.5%에 이를때 종결시켰는데, 이 호흡모델은 호기적 호흡에만 유효하기 때문이다(Lee 등, 1992). Blueberry의 품종에 따른 시료무게와 시료병내의 빈 용적(free volume)은 Table 1에 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

1. 호흡량

Figure 1은 5°C, 15°C 및 25°C에서 시간에 따른 blueberry 시료병내 headspace의 O₂와 CO₂ 농도 변화를 나타내었다. Haggar 등(1992)의 방법에 따라서 비선형회귀분석(nonlinear regression analysis)을 수행하기 위하여 Software Kaleidagraph(Synergy Software, 1990)를 이용하여 (1) (2)식에 호흡량 데이터를 curve fitting 하였다. 각 온도에서 저장시간이 경과함에 따라서 O₂ 농도는

$$[O_2] = 21 - \frac{t}{(A_1 t + B_1) C_1} \quad (1)$$

$$[CO_2] = \frac{t}{(A_2 t + B_2) C_2} \quad (2)$$

감소하고 CO₂ 농도는 증가하였다. 5°C에서 Coville 품종은 호흡속도가 가장 빨랐고 그 다음 Blueray, Jersey 품종의 순이었다. 15°C 및 25°C로 온도가 증가함에 따라 가스조성 변화는 5°C와 유사한 경향이었으나 15°C 및 25°C에서는 5°C와 유사한 수준의 O₂ 및 CO₂ 농도에 이르는데 각각 60시간 및 30시간이 소요되어 5°C 150시간에 비하여 호흡의 온도 의존성이 크게 나타나고 있음을 알 수 있었다.

(1) (2)의 회귀방정식 모두 호흡량 데이터에 매우 잘 맞았고 결정계수 r²은 0.99 이상이었다. 예측된 방정식의 파라미터(parameter)는 Table 2에 나타내었다. 회귀방정식 (1)과 (2)의 도함수인 (3), (4)식은 O₂ 소비 및 CO₂ 방출등의 호흡량 실측치를 얻는데 사용되었다.

Table 1. Measured free volume(ml) and sample weight(kg) of different cultivars of blueberry at 5, 15, and 25°C.

Temp.(°C)	Cultivars	Free Volume (ml)	Sample weight(kg)
5	Coville	720.0	0.2652
	Blueray	733.0	0.2641
	Jersey	717.5	0.2650
15	Coville	735.0	0.2645
	Blueray	730.0	0.2652
	Jersey	717.0	0.2640
25	Coville	718.0	0.2653
	Blueray	726.0	0.2647
	Jersey	718.0	0.2652

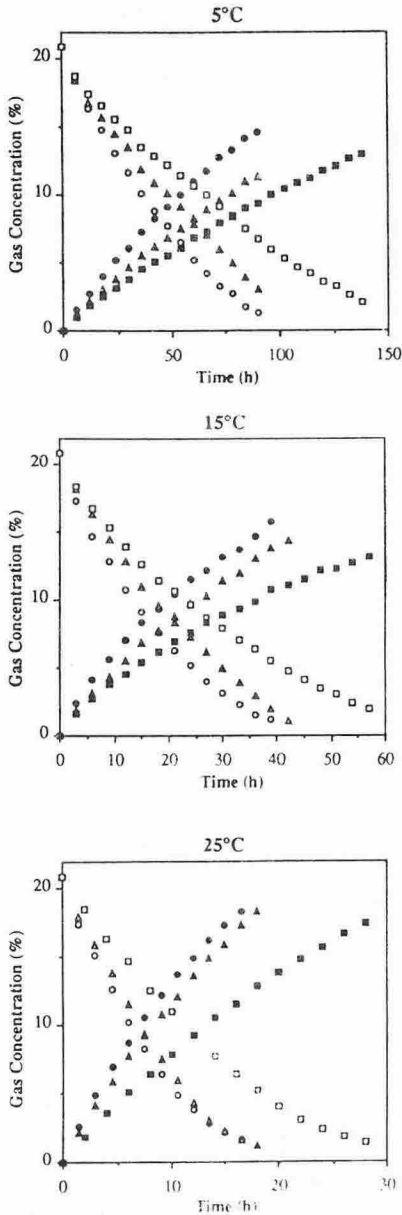


Fig.1 : Plots of O₂ and CO₂ concentration changes inside the closed jars containing blueberries at 5, 15 and 25°C. Consumption of O₂ : Coville (●), Blueray (■), Jersey (▲) ; Evolution of CO₂ : Coville (○), Blueray (□), Jersey (△)

$$r_{O_2} = -\frac{d[O_2]}{dt} \left(\frac{M_{O_2}PV}{100RWT} \right) \quad (3)$$

$$r_{CO_2} = \frac{d[CO_2]}{dt} \left(\frac{M_{CO_2}PV}{100RWT} \right) \quad (4)$$

일례로서 Figure 2는 15°C에서 시간에 따른 호흡량의 실험치와 예측치가 잘 맞고 있음을 보여 주고 있다.

Table 2. Estimated parameter values of Eq.(1) and (2) at 5, 15 and 25°C, determined by nonlinear regression analysis.

Cultivars	Temp (°C)	R ²			
Parameters for O ₂		A ₁	B ₁	C ₁	
Change curve :					
Coville	5	0.0372	3.0531	0.8188	0.9998
	15	0.0595	0.6017	0.6049	0.9997
	25	0.0131	0.7195	2.5699	0.9993
Blueray	5	0.0159	3.2016	1.0694	0.9978
	15	0.0828	1.2164	0.4910	0.9998
Jersey	5	0.0269	0.2522	0.5257	0.9983
	15	0.0132	3.3812	1.2146	0.9976
	25	0.1074	1.3860	0.5458	0.9997
Parameters for CO ₂		A ₂	B ₂	C ₂	
Change curve :					
Coville	5	0.0921	9.6523	0.6226	0.9998
	15	0.1233	1.2956	0.5166	0.9999
	25	0.0265	0.4024	0.6660	0.9999
Blueray	5	0.0249	6.6946	0.9314	0.9996
	15	0.3475	3.7248	0.3647	0.9998
Jersey	5	0.0240	0.5301	0.6284	0.9999
	15	0.0200	6.4490	1.0678	0.9997
	25	0.2912	3.6571	0.4847	0.9997
	25	0.0533	1.0844	0.4777	0.9999

2. 호흡모델

측정된 호흡량은 Lee 등(1992)이 최근에 제시한 효소 kinetics에 기초한 호흡모델에 적용하기 위하여 사용되었고, 이를 (5)식으로 나타낼 수 있다.

$$r = \frac{V_m [O_2]}{K_m + (1 + [CO_2]/K_i)[O_2]} \quad (5)$$

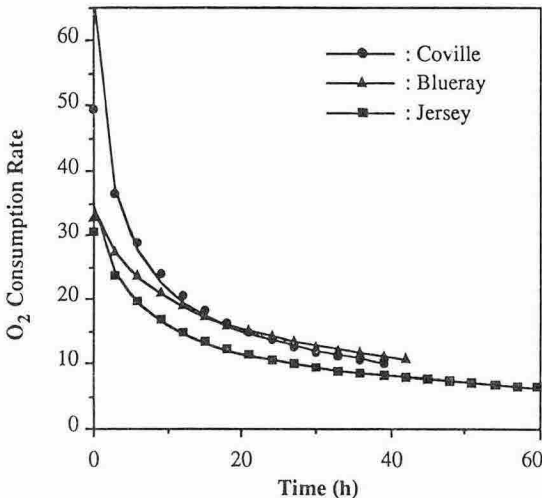
이 때 (5)식은 (6)식과 같이 직선형으로 정리할 수 있다.

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[O_2]} + \frac{1}{K_i V_m} [CO_2] \quad (6)$$

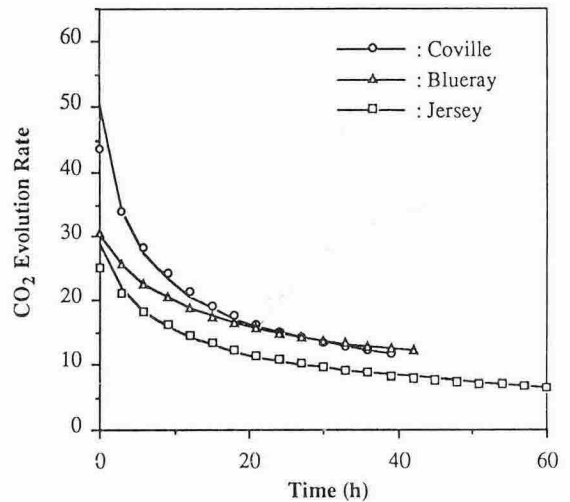
V_m , K_m , K_i 값을 예측하기 위하여 (6)식을 이용한 multiple linear regression 분석을 수행하기 위하여 JMP(SAS Institute Inc., 1991) 프로그램을 사용하였다. 예측된 파라미터 값과 결정계수 r^2 은 Table 3에 나타내었다. 15°C에서 CO₂ 방출에 대한 Blueray 품종의 K_m 값 -0.014를 제외하고 얻어진 모든 값은 양수였다. 그러나 Blueray 품종의 K_m 은 0에 아주 가까운 값이었다. 이 모델의 적용성을 확인하기 위하여 예측된 호흡량은 예측된 파라미터 값으로 부터 얻어졌고 이는 실험치와 비교하였다. Figure 2는 15°C에서 예측치와 실험치가 서로 잘 맞고 있음을 보여주었으며 5°C와 25°C에서도 비슷한 현상을 나타내었다. 따라서 CO₂의 비경쟁적 저해에 기초한 효소 kinetics 모델은 blueberry에 매우 잘 맞고 있음을 알 수 있었다.

Table 3. Estimated values for V_m , K_m and K_i at 5, 15 and 25°C using multiple linear regression of Eq.(6). R^2 is the coefficient of determination.

Cultivars	Temp (°C)	V_m	K_m	K_i	R^2
Parameters for O ₂ Consumption curve :					
Coville	5	16.602	1.488	7.417	0.996
	15	68.006	0.444	2.914	0.991
	25	127.356	5.200	6.684	0.990
Blueray	5	11.802	1.593	11.725	0.998
	15	34.670	0.130	6.783	0.999
	25	76.247	0.100	11.044	0.999
Jersey	5	9.863	2.106	7.606	0.994
	15	35.868	0.678	3.296	0.996
	25	51.285	0.411	9.361	0.996
Parameters for CO ₂ evolution curve :					
Coville	5	12.539	0.429	15.486	0.998
	15	51.046	0.177	4.896	0.995
	25	99.032	0.520	13.502	0.996
Blueray	5	8.956	0.705	19.648	0.999
	15	30.203	-0.104	9.441	0.999
	25	76.049	0.125	19.057	0.997
Jersey	5	7.347	0.797	12.693	0.995
	15	29.942	0.784	4.449	0.998
	25	48.234	0.101	16.701	0.999



(a)



(b)

Fig. 2 : Experimental and predicted respiration rates at 15°C ; (a) O₂ consumption rate, (b) CO₂ evolution rate. The symbols are experimental data obtained from Eq. (3) and (4), and the solid lines are predicted values from Eq. (6).

3. 호흡량 및 Vm에 미치는 온도의 영향

각 온도 (5°C, 15°C, 25°C)에서 (6)식과 Table 3에 나타난 값을 이용하여 3가지 선발된 O₂ 및 CO₂ 농도에 대하여 호흡량을 계산하였다.

Arrhenius식은 호흡량 데이터를 분석하는데 사용되었고 Figure 3 및 4와 같이 아주 잘 일치하고 있음을 보여주었다. 여기서 계산된 활성화 에너지(Ea)는 품종에 따라서 비슷한 경향이였다. O₂ 소비에 대한 평균 활성화에너지는 35.2±1.2 Kcal/mole이었고, CO₂ 방출에 대한 평균 활성화 에너지는 39.0±1.6 Kcal/mole 이었다. 이와같은 사실은 생체산물의 여러 품종에 대하여 오직 하나의 활성화 에너지를 사용하는 것이 가능하리라고 제시한 Haggar 등(1992)의 결과를 뒷받침하고 있다.

모델 파라미터 Vmax는 온도가 증가함에 따라서 상승하였다. Vmax는 최대 호흡량의 물리적 의미를 갖으며, Figure 5에서 Vmax에 대한 Arrhenius plot는 비선형(nonlinear)으로서 2개의 영역으로 구분되었다.

이와 같은 현상은 Haggar 등의 결과(1992)에서도 관찰되었다. 이같은 결과는 높은 CO₂ 수준은 succinic dehydrogenase, cytochrome oxidase, phosphofructokinase와 같은 어느 효소에 의하여 저해됨으로써 호흡을 억제한다는 사실로서 설명될 수 있다(Kubo 등, 1990). 예를 들면 CO₂ 농도를 증가시킴에 따라 phosphofructokinase(PFK) 활성의 감소는 PFK 합성의 저해 또는 기존의 PFK의 불활성화로부터 기인된다(Kerbel 등, 1990). 이와같이 효소 촉매반응에 있어서 Vmax는 여러가지 반응상수에 좌우되는데, 이들 각각의 상수는 온도변화에 따라서 Vmax에 상이하게 영향을 미친다(Segel, 1976). 반응단계는 온도에 따라 변화하므로 결과적으로 Arrhenius plot의 기울기도 변화한다. 비록 정확한 변이온도를 결정하기 어렵지만 약 15°C에서 반응속도가 약간 변화하였다. 그러므로 예측된 활성화에너지는 겉보기값 또는 평균값으로 판단되었다.

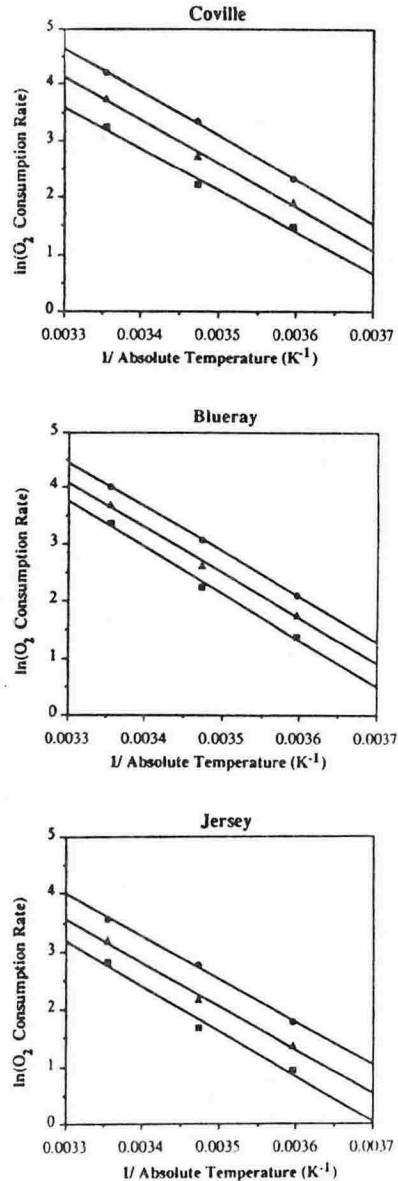


Fig. 3 : Effect of temperature on O₂ consumption rates under three different gas concentrations. (●) 18% O₂, 4% CO₂; (■) 10% O₂, 10% CO₂; (▲) 4% O₂, 18% CO₂.

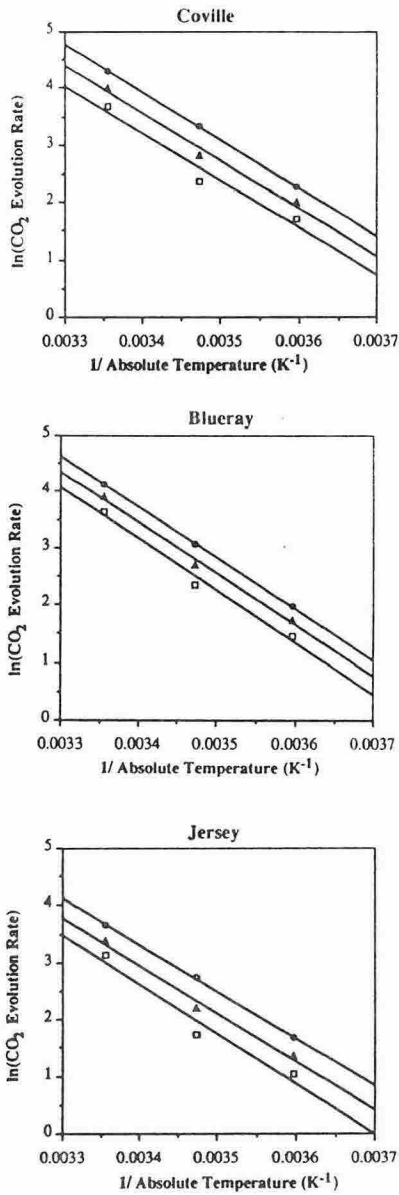


Fig. 4 : Effect of temperature on CO₂ evolution rates under three different gas concentrations. (○) 18% O₂, 4% CO₂; (□) 10% O₂, 10% CO₂; (△) 4% O₂, 18% CO₂.

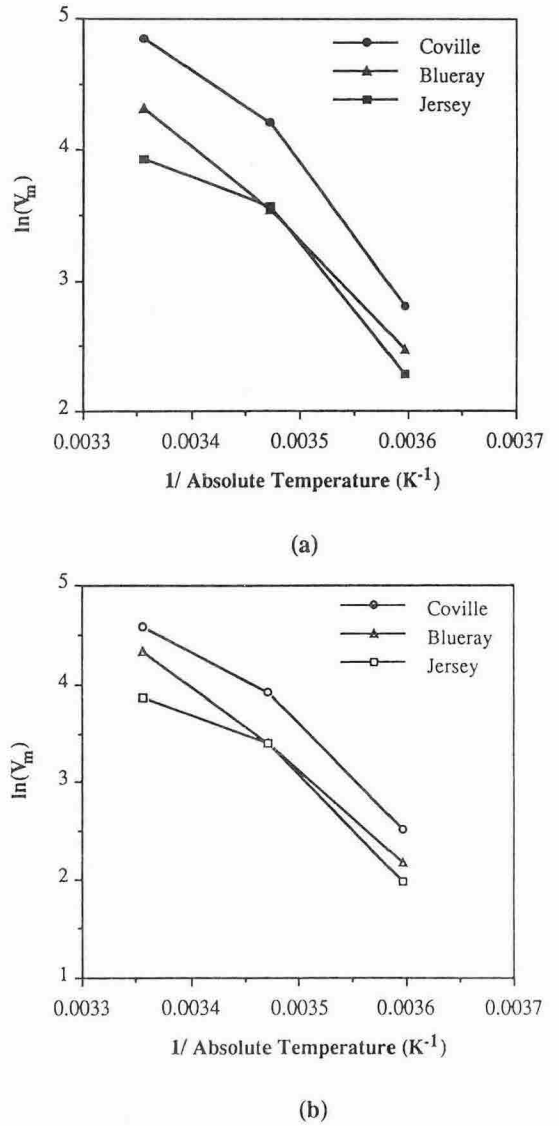


Fig. 5 : Arrhenius plots for the model parameter V_m; (a) O₂ consumption and (b) CO₂ evolution.

4. 모델예측

모델 방정식과 파라미터 값은 여러 선별된 조건하에서 blueberry의 호흡을 예측하기 위하여 사용되었다. Figure 6은 15°C에서 4%, 10%, 18%의 O₂ 농도에 따른 CO₂대 호흡량의 변화를 나타내었

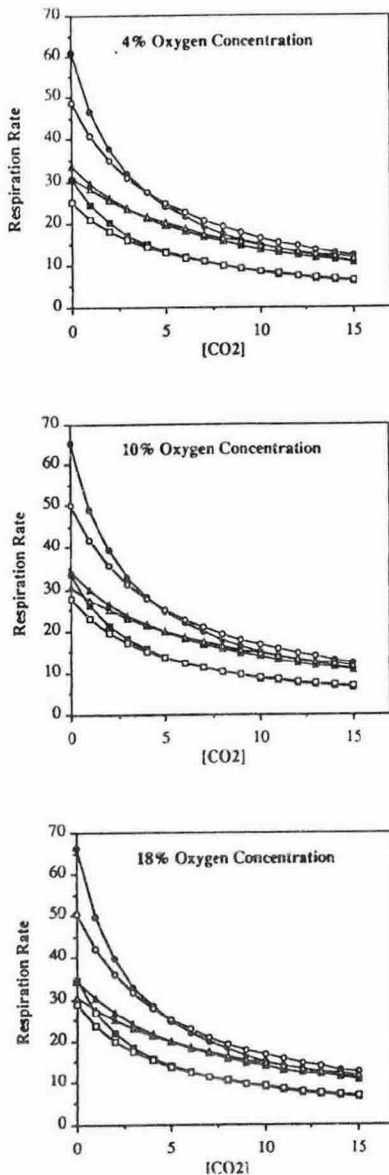


Fig. 6 : The model predictions of respiration rates versus CO₂ at 15°C for three levels of O₂ (4, 10, and 18%). Consumption of O₂ : Coville (●), Blueray (■), Jersey (▲); Evolution of CO₂ : Coville (○), Blueray (□), Jersey (△).

다. 호흡량은 CO₂ 농도가 증가함에 따라 감소하였지만 O₂ 변화에 따라서는 거의 영향을 받지 않았다. 일반적으로 Coville 품종은 호흡량이 가장 빨랐고 그다음 Blueray, Jersey 품종의 순이었다. 그러나 CO₂가 증가함에 따라서 3가지 품종간의 호흡량 차이는 감소하였다. 3품종 모두 호흡계수 (RQ)는 CO₂ 농도 4%까지 1.0보다 컸고, 4% 이상의 CO₂ 농도에서는 거의 1.0에 가까웠다.

IV. 요약

품종별 blueberry의 호흡량은 closed system에서 O₂, CO₂ 및 온도에 따라서 측정하였다. CO₂의 비경쟁적 저해에 기초한 효소 kinetics 호흡모델은 3가지 blueberry 품종의 호흡 데이터와 매우 잘 맞고 있음이 발견되었다. 모델 예측은 Coville 품종의 호흡량이 가장 빨랐고 그다음 Blueray, Jersey 품종의 순이었다. CO₂의 감소는 호흡량을 크게 감소시킬 수 있었지만 O₂의 변화는 호흡에 영향이 적었다. 호흡의 온도 의존성은 Arrhenius 관계를 보였다. Vmax에 대한 Arrhenius plot는 비선형이며, 이 파라미터는 몇가지 효소 반응에 의해서 제어되거나 이들 반응의 반응계수는 온도 변화에 따라서 상이하게 영향을 미칠 가능성이 있다. 실용적인 측면에서 본 연구에서 예측된 파라미터에 따른 모델은 blueberry의 MAP를 디자인 하는데 사용할 수 있었다.

기 호 설 명

- [O₂] : 산소 농도(%)
- [CO₂] : 이산화탄소 농도(%)
- A₁, B₁, C₁ : O₂농도 변화곡선의 파라미터
- A₂, B₂, C₂ : CO₂농도 변화곡선의 파라미터
- K_m : Michaelis-Menten 상수(% O₂)
- M_{O₂} : O₂의 분자량(kg/mole)
- M_{CO₂} : CO₂의 분자량(kg/mole)
- P : 호흡 chamber 또는 포장재의 압력(Pa)
- R : 기체 상수(8.314 J/mol·K)
- r : 호흡량(mg/kg·h)
- r_{O₂} : 호흡량(O₂ 소비)(mg/kg·h)
- r_{CO₂} : 호흡량(CO₂ 방출)(mg/kg·h)

V : 빈 용적(ml)
 Vm : 최대 호흡량(mg/kg·h)
 t : 시간(h)
 T : 절대온도(K)
 W : blueberry의 중량(kg)

V. 참고문헌

- Cappellini, R.A. and M.J. Ceponis. 1982. Nature and extent of losses in consumer-grade samples of blueberries in greater New York. *Hortiscience* 17(1) : 55-56.
- Ceponis, M.J. and R.A. Cappellini. 1983. Control of postharvest decays of blueberries by carbon dioxide-enriched atmospheres. *Plant Disease* 67(2) : 169-170.
- Ceponis, M.J. and R.A. Cappellini. 1985. Reducing decay in fresh blueberries with controlled atmospheres. *Hortiscience* 20(2) : 228-229.
- Haggar, P.E., D.S. Lee, and K.L. Yam. 1992. Application of an enzyme kinetics based respiration model to closed system experiments for fresh produce. *J.Food Proc. Eng.*(in press).
- Hayakawa, K., Y.S. Henig, and S.G. Gilbert. 1975. Formulae for predicting gas exchange of fresh produce in polymeric film package. *J. Food Sci.* 40 : 186-191.
- Kerbel, E. L., A.A. Kader, and R.J.Romani. 1990. Respiratory and glycolytic response of suspension-cultured 'Passe Crassane' pear fruit cells to elevated CO₂ concentrations. *J.Amer. Soc. Hort. Sci.* 115(1) : 111-114.
- Kubo Y., A. Inaba, and R. Nakamura. 1990. Respiration and C₂H₄ production in various harvested crops held in CO₂ enriched atmospheres. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115(6) : 975-978.
- Lee, D.S., P.E. Haggar, J. Lee, and K.L. Yam. 1992. Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *J. Food Sci.* 56(6) : 1580-1585.
- Lee, J. 1987. The design of controlled or modified packaging systems for fresh produce. In *Food Product-Package Compatibility, Proceedings*, (Ed.) J.I. Gray, B.R. Harte, and J.Miltz. P.157. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA.
- SAS Institute Inc. 1991. *JMP : software for statistical visualization, version 2*. Cary, North Carolina.
- Segel, I.H. 1976. Biochemical calculations. Ch. 4. In *Enzymes*(2nd Ed), p.277-279. Marcel John Wiley & Sons Inc., New York, NY.
- Smittle, D.A. and W.R. Miller. 1988. Rabbiteye blueberry storage life and fruit quality in controlled atmospheres and air storage. *J.Amer. Soc. Hort. Sci.* 113(5) : 723-728.
- Synergy Software. 1990. *KaleidaGraph*, version 2.1. Reading, Pennsylvania.
- Windus, N.D., V.G. Shutak, and R.E. Gough. 1976. CO₂ and C₂H₄ evolution by highbush blueberry fruit. *Hortiscience* 11 : 515-517.