

사과의 수출애로 해충방제와 품위개선을 위한  
생체 임계온도에서의 열처리 기술개발

Technology Development for Insect Control and Quality  
Enhancement of Apples by Mild Heat Treatment

연 구 기 관  
한 국 식 품 연 구 원

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “사과의 수출애로 해충방제와 품위개선을 위한 생체 임계온도에서의 열처리 기술개발” 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2005 년 10 월 14 일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

총괄연구책임자 : 김 동 만

세부연구책임자 : 박 형 우

세부연구책임자 : 최 정 희

연 구 원 : 정 문 철

연 구 원 : 김 동 철

연 구 원 : 진 재 순

연 구 원 : 홍 석 인

연 구 원 : 서 자 영

연 구 원 : 김 은 정

위탁연구기관명 : 충남대학교

위탁연구책임자 : 유 승 헌

연 구 원 : 윤 영 남

위탁연구기관명 : 목포대학교

위탁연구책임자 : 함 경 식

연 구 원 : 문 상 미

연 구 원 : 김 민 정

# 요 약 문

## I. 제 목

사과의 수출애로 해충방제와 품위개선을 위한 생체 임계온도에서의 열처리 기술개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

사과는 우리나라 과일 중 대표적인 품목으로 1996년을 정점으로 생산량이 계속 감소하는 추세에 있다. 이와 같은 추세는 과일 1인당 소비량이 감소한 측면보다는 먹을 수 있는 과일의 종류가 다양하고, 1년 내내 신선한 과일을 구입할 수 있음에 따라 나타난 현상으로 판단된다. 특히 농산물의교역이 자유화됨에 따라 외국산 열대과일이 증가하고 있으며 증가량은 가속화되어감에 따라 사과의 소비량 감소는 지속될 것으로 예상된다.

이와 같은 상황에서 사과산업의 육성을 위해서 최근 생산, 유통 및 대소비자 측면의 많은 노력이 이루어지고 있다. 이의 일환으로 키 낮은 사과원 사업을 통하여 생산방식의 개선과 생산의 질적 향상을 유도하고 소비자의 사과에 대한 의식 개선, 신 소비성향의 조성을 유도하고 있다. 이러한 노력과 더불어 사과 생산 및 가격의 안정화를 위하여서 우리 사과의 해외 수출에도 많은 노력을 기울이고 있다.

우리나라의 사과 수출량을 보면 1992년, 1996년 및 2002년을 정점으로 하여 등락을 반복하는 추세를 보이고 있으며 최대 수출량은 1992년의 8,100톤이었다. 지난 5년간 우리 사과의 수출국은 대만, 일본, 인도네시아, 말레이시아, 싱가포르, 태국, 네덜란드, 괌, 미국, 북마리아나 군도, 스페인, 홍콩, 필리핀이며 2004년의 경우 대만으로의 수출량이 전체 수출량의 약 96%를 점하였다. 따라서 사과 산업의 안정화를 위하여서는 수출량 증대와 더불어 해외시장의 다변화가 필요하다.

사과수출에 있어 문제로는 수출경쟁국들에 비해 과실의 규격화미흡, 포장재불량 등을 들고 있으며 수출 대상국의 통관조건을 충족시키지 못하고 있는 점도 원인으로 제기되고 있다. 통관조건은 자국의 농업환경여건에 따라 매우 다양한데 미국의 과일 및 채소류에 적용하고 있는 검역제도의 원칙은 상대국가의 전체 식물을 금지품으로 결정한 뒤, 개별품목별로 병해충 위험도(Pest Risk Analysis)를 평가하여, 수입 허용하도록 되어 있는데 자국의 농업보호를 위하여 검역제도를 강화하여 가고 있는 추세이다.

통관 조건 중 시스템관리 방식인 재배 중 병충해 관리방안은 과일의 재배 생산 지역을 청정 지역화하여 생산단계에서 무병충해 과일을 생산하여야 한다는 조건인데, 도시화, 산업화가 급속히 진행되는 우리의 실정으로 볼 때 이러한 방법의 적용에는 한계가 있는 것으로 판단된다. 또한 수확 후 처리 방식으로 저온 저장 후 methyl bromide 처리방법은 처리자체의 번잡스러움과 처리 후 품질상의 문제 뿐만 아니라 인체 및 환경오염에 대한 문제로 인하여 Montreal 협정에 의거 점차적으로 사용량을 줄여나가며, 2010년에는 전 세계적으로 사용을 금지하는 것으로 정하여져 있다. 이에 따라 현재 국내에서도 광범위하게 사용되고 있는 methyl bromide의 대체를 위한 기술개발이 절실하다.

한편 국내 소비 확대를 통한 사과산업의 안정화를 위하여서는 우선적으로 고품질 안전 사과의 유통을 위한 기술개발이 필요하다. 최근 일부 농협 등에서는 사과의 소비 확대를 위해 껍질 채 먹을 수 있는 세척사과에 관하여 많은 관심을 보이고 있다. 이는 사과의 세척을 통해 위생과 안전성을 소비자에게 인식시키며, 사과의 품질차별화를 통해 소비촉진 및 소비의식을 개선키 위한 새로운 방안이다. 이를 위하여서는 사과의 세척처리가 철저하게 관리가 되어야 하는데 기존의 수확 후 처리기술로서는 사과에 잔류하는 미생물 및 해충류, 농약 및 잔류 이물질 등을 소비자의 신뢰를 구축할 수 있는 수준까지 제거하기에는 개선의 여지가 크다.

따라서 우리 사과의 수출경쟁력을 제고하고 국내시장에서의 기반을 강화하기 위

하여서는 사과와 수확에 장애가 되고 있는 검역처리, 수확 후 품질유지 및 품위 개선을 위한 새로운 처리기술의 개발이 절실하다. 이에 본 연구는 사과와 수확 후 처리기술로 환경친화형 열처리기술을 개발하여 수확 시 장애가 되는 병·해충을 제어하고, 사과와 품위 및 저장성을 개선하여 국내 소비 및 수출확대에 기여함을 최종 목적으로 하였다.

### Ⅲ. 연구내용 및 범위

열처리기술을 이용하여 사과와 병·해충을 제어하고 품위 및 저장성을 개선을 위한 연구내용으로 사과와 열처리 시 기본이 되는 임계 열처리 조건의 확립을 위하여 처리온도 및 시간에 따른 품질을 평가하였다. 또한 이 임계조건에서 병·해충과 관련된 대상 병원균 및 해충의 제어정도를 평가하였으며 잔류농약 및 이물질제거 등 부수적인 처리효과도 조사하였다. 이를 바탕으로 수확 후 병충해 방제 및 품위개선을 위한 효과적인 열처리방법을 확립하고, 경제적이고 효과적인 열처리 시스템을 구축하고자 하였다.

수행한 연구내용 및 범위를 구체적으로 열거하면 사과와 품질에 악영향을 미치지 않는 열처리 조건을 설정키 위해 수확시기 및 저장기간이 다른 사과를 이용하여 온도 및 시간을 달리 처리한 후, 처리 직후 및 저장 중 생리적, 이화학적 및 관능적 품질을 분석하여 하였다.

또한 수확 후 사과표면 미생물 및 해충류의 오염실태를 조사하고 저장 및 검역 시 문제가 되는 병원균 및 해충을 사과에 인위적으로 접종한 후 열처리 매체 및 열처리 조건에 따른 이들의 제어정도를 평가하였으며, 아울러 선발된 열처리 조건에서 사과에 자연적으로 존재하는 해충의 사멸정도도 평가하였다.

한편 열처리 시스템구축을 위한 기본 자료를 마련코자 물 및 공기를 열매체로 하여 매체에 따른 처리온도별 과피 및 과심부위의 품온 변화를 조사하였고, 열처

리속도를 향상시키기 위한 처리방법별 효과를 분석하였으며 냉각방법별 품온의 변화를 조사하였다. 아울러 사과 품질개선을 위하여 열처리 및 부가적인 처리 방법을 병용하여 사과 표면 잔류 농약 및 꼭지 부위 등의 세척 효과를 조사하였다.

최종적으로 단계별 연구결과를 종합하여 사과의 병해충제어 및 품질개선을 위한 효과적인 열처리 조건을 확립하였고 이를 바탕으로 현장 적용이 가능한 열처리 시스템을 구축하였다.

#### IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

사과의 열처리 기술의 적용을 통한 병·해충제어 및 품질개선을 위해 우선적인 연구로 처리 시 사과의 품질에는 악영향을 미치지 않는 온도 및 시간 설정을 위한 연구를 수행하였다. 수확년도, 수확시기 및 저장기간이 다른 후지 사과를 이용하여 40~65℃범위에서 시간을 달리하여 열처리한 후 처리 직후 및 냉각, 저장하면서 처리조건에 따른 저장 중 생리적, 이화학적 및 관능적 품질을 분석하였다. 실험결과 후지 사과의 임계열처리조건은 수확시기 및 저장기간에 따라 처리온도 및 시간이 차이를 보였는데 저장 2개월 후까지는 40℃에서 3시간, 45℃에서 1시간, 50℃에서 25분, 55℃에서 3분, 60℃에서 1분, 65℃에서 20초 이내가 사과의 품질에 영향을 미치지 않는 열처리 한계 조건이었다.

사과의 열처리에 따른 기능성 및 생리적 특성연구로 페놀물질, 항산화 활성, 식물방어단백질인 endo-β-1,3-glucanase 및 열충격단백질(heat-shock protein)의 변화 등을 조사하였다. 열처리에 의한 단백질 변화를 조사기 위해 조단백질의 SDS-PAGE를 한 결과 모든 시료 군에 차이가 없었으며 monoclonal antibody를 이용한 immunoblotting 분석을 한 결과 heat-shock protein의 변화가 관찰되지 않았다.

수확 후 사과표면 미생물 및 해충류의 오염실태를 조사하였던 바 부패병 발생을

은 조사 시기에 따라 차이가 있었으나 최대 24.7%에 달하였으며 그 중 우점종은 *Penicillium expansum*이었다. 저장중인 사과와 증체 발견율은 조사 시기에 따라 차이를 보여 8~20%였으며 주로 응애류, 나방류, 깍지벌레류가 관찰되었고, 일부에서는 진딧물도 관찰되었다. 사과와 열수 처리에 따른 부패병 방제 효과를 조사하였던 바 *P. expansum*에 의한 부패병 방제는 40~60℃의 전 처리구에서 초기 발병억제 효과가 있었고 특히 40℃ 60분 처리와 45℃ 5분, 10분 처리의 효과가 우수하였다. 해충제어를 위한 열처리로 열풍 및 열수를 사용하여 해충 방제 효과를 조사하였던바 열수 처리가 열풍처리에 비하여 효과가 우수하였으며 45℃ 이상에서 열수에서 사과를 처리 시 응애 및 진딧물은 생존하지 못하였다.

효과적인 열처리 시스템 구축을 위한 연구로 물 및 공기를 열매체로 하여 매체에 따른 과피 및 과심부위의 열전달속도를 조사하였던바 공기에 비하여 물이 열처리 속도 향상에 효과적이었으며, 처리에 따른 품질 및 미생물 제어 효과도 우수하였다. 한편 열처리 후 냉각처리 시에도 공기보다는 물로 냉각시키는 것이 효과적이었으며, 냉각속도에 따른 품질 이상은 발생하지 않았다.

열처리 매체를 물을 사용하는 것이 효과적임에 따라 열수처리 시 품위개선효과를 조사하였던바 미생물의 제어 효과가 기존의 다른 세척처리에 비하여 비교적 우수한 것으로 나타났으며, 특히 고온에서 단시간 처리 시에는 열수에 침지 처리하는 것보다 열수를 고압으로 분사하는 것이 보다 효과적이었다. 이러한 처리효과를 보다 향상시키기 위해 열수에 세척 보조제를 함께 처리할 경우 표면 세척에 시너지효과를 보였으며 특히, 사과와 꺾지 및 꽃 반침부위의 미생물 및 이물질 제거에 매우 효과적이었다.

단계별 연구결과를 종합하여 사과와 병해충 제어를 위한 효과적인 열처리 조건으로 병해충의 오염도가 높을 경우 40-45℃에서 한계시간까지 장시간 처리하는 침지식 열처리방법이 효과적이며, 오염도가 비교적 낮을 경우에는 단위 시간당 처리량 및 소요 에너지 측면에서 60℃의 열수를 10 kg/cm<sup>2</sup>압력으로 단시간 고압 분사 처리하는 방법이 효과적인 것으로 평가되었다. 또한 병해충의 오염도 저감

및 표면세척효과를 보다 증진키 위한 조건으로는 60℃의 열수에 불용성 미립소재를 현탁시킨 후 10 kg/cm<sup>2</sup>압력으로 고압 분사 처리하는 방법이 효과적인 것으로 평가되었다. 한편 이와 같이 평가된 열처리 조건을 토대로 하여 현장에서 효과적으로 사과에 오염 병해충을 제어하고 품위를 개선할 수 있는 열처리 시스템을 구축하였다.

이상과 같은 연구를 통하여 사과 수확 후 처리기술로 병·해충을 제어하고, 품위를 개선할 수 있는 환경친화형 열처리 기본기술을 개발하였다. 후속 연구로서 개발 기술의 산업화를 위한 scale up 연구, 처리 공정의 표준화 및 시설의 최적화가 필요하며 이를 통하여 사과산업의 기반을 강화시킬 수 있을 것이다. 개발기술은 연구과제 참여기업에 우선적으로 전수하며 희망 생산자단체 및 관련 조합에 기술을 이전하여 연구결과의 현장 활용을 통한 실용화를 추진 할 계획이다.



# SUMMARY

## I. Title

Technology development for insect control and quality enhancement of apples by mild heat treatment

## II. Purpose and Importance

Apple is one of the major fruits in Korea. The production quantity was more than 0.5 million ton, but the consumption quantity of apple per capita is decreasing year by year owing to increase of opportunity to take other fruits. For enhancement of apple industry, quality improvement to meet demands of consumer in domestic and abroad is very important. In domestic market, consumer has great concern on residual fungicide and other contaminants of apple. To solve this problems, apple washed with water have been appeared in market recently.

Export of apple is an other way to stabilized apple industry. For export of apple, quality control is also an essential factor to satisfy the consumer's need and the quarantine guide-line of importing country. Quarantine treatment is a measure to eliminate unacceptable pest found in the commodity. The quarantine treatments can be divided into 4 categories; chemical, physical cultural and combined treatments. For exporting of apple to Canada, cultural treatment system is employed. In spite of the advantages, such as no environment contamination, no chemical residue, and no commodity damage, this treatment is not easy to implement as a sole method to provide the quarantine security. For USA, combined treatment, cold treatment plus fumigation is employed. Apples are cold treated at 1.1 °C for 40 days, and then fumigated with methyl bromide. This treatment is also not favorable to implement in the field because of impractical measure and unfavorable impact on the quality after

treatment. Furthermore use of methyl bromide for the treatment will be banned by environmental pollution as ethylene dibromide was prohibited in the 1980s.

This research aimed to investigate possibility of mild heat treatment for quality improvement and for replacement of the combined treatment for apple as a quarantine treatment

### III. Contents and Scope

To improve the quality and to control the microorganism and insect of apple, critical mild heat treatment conditions were investigated, and response of apples to heat treatment at the condition was measured in the aspect of physiology and quality. The mild heat treatment effect on the reduction of plant pathological microorganism and insect were also evaluated at the condition. Effect of heat treatment method was investigated to enhance the effectiveness of mild heat treatment. For improvement of quality of apple, reduction of residual agricultural chemicals and contaminants on surface of apple was carried out to get additional synergistic effects of mild hot water treatment method. Procedure for the treatment was optimized with the results obtained from experiment.

### IV. Results and Suggestion

To improve the quality and to control the microorganism and insect of Fuji apple, critical mild heat treatment conditions were investigated at the range of 40~65°C. The critical conditions without damage in peel and flesh of the apple at 0°C for 1 month after treatment were 180 min at 40°C, 60min at 45°C, 25min at 50°C, 3min at 55°C, 1min at 60°C and 20sec at 65°C, respectively. These conditions were slightly changed by harvesting year and

time and storage period of Fuji apple.

We have investigated whether heat treatment increases expressions of proteins using SDS-PAGE. We could not see any differences in protein profiles between heat treated apples and control apple. We also studied whether heat treatments increase  $\beta$ -1,3-glucanase that is a well known defense protein in plants. It appeared that  $\beta$ -1,3-glucanase activity were present in small quantity compared to other plant tissues and decreased after heat treatment, indicating that  $\beta$ -1,3-glucanase is not involved in shelf-life extension of fruit.

From market survey, maximal decay rate of Fuji apples by microorganism was 24.7% and dominant microorganism found in the decayed apples was *Penicillium expansum*. Occurring rate of insect in the apples was 8-20% depending on survey period. The insects found from the survey were mites, moths, scale insect and aphid. In the experiment for control of microorganism in model system with mild hot water, growth of *P. expansum* was repressed at 40~60°C. especially at 40°C for 60min. and at 45°C for 5-10 min. To control the insect by mild heat treatment, the apples was inoculated with mites, moths and aphid and kept at 40 and 45°C air and 40-60°C water. The killing effect by mild hot water treatment was higher than by hot air treatment. Survival rate of mites and aphid in the system was 0% at higher than 45°C.

To make practical system for mild heat treatment, the velocity of heat transfer was compared with air and water. Water was not only higher in the velocity but also more effective in quality enhancement and in reducing microorganism of apple than air during heat treatment. In cooling internal temperature of apple treat with mild hot water, water is better than air for

cooling, and physiological damage was not developed by cooling velocity.

In comparison of the effectiveness of mild hot water treatment with other anti-microbial treatments, the effect of mild hot water treatment was relatively superior to other treatments. Especially, pressured hot water treatment was more effective in anti-microbial activity than hot water immersion treatment within short time at high temperature. Combined treatment with insoluble fine particles in hot water could enhance the effectiveness of pressured water treatment only in surface cleaning. This treatment was powerful measure for cleaning and elimination of remains around stem end and calyx of apple.

From the result obtained through experiment, the effective condition for mild heat treatment was immersion at 40-45°C for apples somewhat severely contaminated by insect and microorganism. For apples with low level of contamination by insect and microorganism, the effective condition was 60°C mild hot water spray at 10kg/cm<sup>2</sup> for 5 sec with insoluble fine particles in hot water. The treatment systems to be implemented were designed according to the above the condition.

Through 3 years experiment, fundamental information regarding mild heat treatment was obtained to be applied for quality improvement and development of technology to replace the combined treatment of apple as a quarantine treatment. Provided with possible subsequent research grant, standard heat treatment process for apple can be accomplished to operate on site in a local packinghouse through a technology transfer to apple growers association and cooperatives in anticipation.

# CONTENTS

SUMMARY .....	0
<b>Chapter 1 Outline of Research Project .....</b>	<b>0</b>
Section 1 Purpose of Research .....	0
Section 2 Necessity of Research .....	0
Section 3 Content and Scope of Research .....	0
<b>Chapter 2 State of the Art Report .....</b>	<b>0</b>
Section 1 Outbreak of Insect in Apple .....	0
Section 2 Disease in Stored Apple .....	0
Section 3 Integrated Pest Management .....	0
Section 4 Quarantine Treatment of Apple .....	0
Section 5 Heat Treatment Technology of Fresh Produce .....	0
<b>Chapter 3 Research Performed and Results .....</b>	<b>0</b>
Section 1 Experimental Materials and Methods .....	0
Section 2 Analysis of Collected Information .....	0
Section 3 Critical Mild Heat Treatment Condition and Its Effect .....	0
Section 4 Expression and Effects of HSP on Apple Quality .....	0
Section 5 Effects of Mild Heat Treatment on Insect and Microbial .....	0
Section 6 Mild Heat Treating Methods .....	0
Section 7 Mild Heat Treatment System .....	0
<b>Chapter 4 Research Attainments and Contributions to Related Fields .....</b>	<b>0</b>
<b>Chapter 5 Application Plans for Research Results .....</b>	<b>0</b>
<b>Chapter 6 Science and Technology Information from Abroad .....</b>	<b>0</b>
<b>Chapter 7 References .....</b>	<b>0</b>

# 목 차

요 약 문 .....	0
<b>제 1 장 연구개발과제의 개요 .....</b>	<b>0</b>
제 1 절 연구개발의 목적 .....	0
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	0
제 3 절 연구개발의 내용과 범위 .....	0
<b>제 2 장 국내외 기술개발현황 .....</b>	<b>0</b>
제 1 절 사과해충발생상 .....	0
제 2 절 저장병 .....	0
제 3 절 사과병충해 종합관리 .....	0
제 4 절 사과의 검역처리 .....	0
제 5 절 열처리 기술 .....	0
<b>제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 .....</b>	<b>0</b>
제 1 절 실험재료 및 방법 .....	0
제 2 절 관련자료 수집분석 .....	0
제 3 절 사과의 임계열처리조건 및 처리 영향 .....	0
제 4 절 열처리가 사과의 HSP 발현과 품질에 미치는 영향 .....	0
제 5 절 열처리에 의한 사과의 부패미생물 및 해충류 제어 효과 .....	0
제 6 절 사과의 열처리 방법 및 처리효과 .....	0
제 7 절 열처리시스템 구축 .....	0
<b>제 4 장 연구목표 달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>0</b>
<b>제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....</b>	<b>0</b>
<b>제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....</b>	<b>0</b>
<b>제 7 장 참고문헌 .....</b>	<b>0</b>

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발의 목적

본 연구는 사과 수확 후 처리기술로 환경친화형 열처리기술을 개발하여 수출 시 가장 큰 장애가 되는 병·해충을 제어하고, 품위 및 저장성을 개선하여 사과의 국내 소비 및 수출확대에 기여함을 최종 목적으로 하였다. 이를 위하여 사과의 열처리 시 사과의 생체 임계온도를 확립하고, 이 임계온도 내에서 병·해충과 관련된 대상 병원균 및 해충의 제어 정도를 구명함과 아울러 수확 후 병충해방제 및 품위개선을 위한 효과적인 열처리방법을 확립하고, 경제적이고 효과적인 열처리 시스템 구축하고자 하였다.

### 제 2 절 연구개발의 필요성

사과는 우리나라 과일 중 대표적인 품목으로 1996년을 정점으로 생산량이 계속 감소하는 추세에 있다. 이와 같은 추세는 과일 1인당 소비량이 감소한 측면보다는 먹을 수 있는 과일의 종류가 다양하고, 1년 내내 신선한 과일을 구입할 수 있음에 따라 나타난 현상으로 판단된다. 특히 농산물의 교역이 자유화됨에 따라 외국산 열대과일이 증가하고 있으며 증가량은 가속화되어감에 따라 사과의 소비량 감소는 지속될 것으로 예상된다.

이와 같은 상황에서 사과산업의 육성을 위해서 최근 생산, 유통 및 대소비자 측면의 많은 노력이 이루어지고 있다. 생산방식전환을 위해 현재 키 낮은 사과원 사업을 통하여 생산방식의 개선과 생산의 질적 향상을 유도하고 소비자 사과에 대한 의식 개선, 신 소비성향의 조성 및 계층의 형성을 유도하고 있다. 이러한 노력과 더불어 사과 생산 및 가격의 안정화를 위하여서는 우리 사과의 해외 수출이 필요하다.

우리나라의 사과 수출량을 보면 1992년, 1996년 및 2002년을 정점으로 하여 등락을 반복하는 추세를 보이고 있으며 최대 수출량은 1992년의 8,100톤이었다. 지난 5년간 사과수출국은 대만, 일본, 인도네시아, 말레이시아, 싱가포르, 태국, 네덜란드

드, 괌, 미국, 북마리아나 군도, 스페인, 홍콩, 필리핀이며 2004년의 경우 대만으  
로의 수출량이 전체 수출량의 약 96%를 점하였다. 따라서 사과 산업의 안정화를  
위하여서는 해외시장의 다변화를 위한 적극적인 노력이 필요하다.

사과수출에 있어 문제로는 수출경쟁국들에 비해 과실의 규격화미흡, 포장재불량  
등을 들고 있으며 수출 대상국의 검역조건을 충족시키지 못하고 있는 점도 원인  
으로 제기되고 있다. 사과의 수출증진을 위해서는 수출 대상국의 사과에 규격,  
포장재 등의 선호도를 파악하여 그에 적합하도록 개선하여야 함은 물론 수출대  
상국의 검역조건에 따르거나 과학적이고 합리적인 검역처리방법을 제시하여 검  
역조건을 개선할 필요가 있다.

사과 수출이 정체되고 있는 주원인 중에는 수출대상국이 제시한 사전 검역조건  
이 까다로워 이를 따르기 어렵다는 점도 있다. 대표적인 사례로서 미국 및 캐나  
다 등지에 사과를 수출하고 있지 못한 실정인데 그 이유로는 이들 국가가 제시  
한 사전 검역조건이 매우 까다롭고, 검역처리 후에는 사과의 품질이 저하됨으로  
서 수출이 곤란하다는 점이다.

검역제도는 자국의 농업환경여건에 따라 매우 다양한데 미국의 과일 및 채소류  
에 적용하고 있는 검역제도의 원칙은 상대국가의 전체 식물을 금지품으로 결정  
한 뒤, 개별품목별로 병해충 위험도(Pest Risk Analysis)를 평가하여, 수입 허용  
하도록 되어 있는데 자국의 농업보호를 위하여 검역제도를 강화하여 가고 있는  
추세이다.

각국은 자국의 농업 및 기타 산업을 위하여 규제하고 있는 관심 해충이 다른데  
북미의 경우를 보면 캐나다는 우리 사과에 대하여 복숭아명나방, 복숭아순나방,  
사과적성병, 과수균핵병 등을 우려 병·해충으로 규정하고 있으며 국내산 사과의  
캐나다 반입 조건으로 재배 중 병충해 관리방안과 『저온처리』 + 『MB훈증처  
리』 방법을 채택하고 있다.

『저온처리』 + 『MB훈증처리』 방법은 사과를 저온에서 일정기간 동안 저장  
한 후 훈증처리를 하는 방법으로 이 처리를 하기 위하여서는 저온저장 후 상온  
에 사과를 방치하여 처리하여야함으로서 처리 후 사과의 품질이 열악하여지고  
이에 따라 수출을 하는데 많은 애로가 있다. 따라서 사과를 캐나다에 수출하기  
위해서는 재배 중 병충해 관리방안을 적용하고 있다. 미국의 경우 미국 측에서



우려하는 충해는 복숭아심식나방, 복숭아명나방, 벗나무응애, 간자와응애이며, 캐나다와는 달리 『MB혼증처리』 + 『저온처리』만을 허용하고 있으며, 국립식물검역소에서는 현재 배와 감귤에 적용하고 있는 수출단지지정+봉지씌우기+재배지 검사 및 응애예찰 +합동수출검사 방법의 적용을 미국 측에 제안하여 놓은 상태이다.

재배중 병충해 관리방안은 과일의 재배 생산지역을 청정 지역화하여 생산단계에서 무병충해 과일을 생산하여야 한다는 조건인데, 도시화, 산업화가 급속히 진행되는 우리의 실정으로 볼 때 이러한 방법의 적용에는 한계가 있을 것으로 판단된다. 현재 그나마 처리가 허용되어 있는 methyl bromide(MB)는 인체 및 환경오염에 대한 문제로 인하여 Montreal 협정에 의거 점차적으로 사용량을 줄여나가며, 2010년에는 전 세계적으로 사용이 금지되는 것으로 정하여져 있다. 이에 따라 현재 국내에서도 광범위하게 사용되고 있는 MB의 대체 기술이 절실히 필요로 되고 있다.

한편 수출 주품종은 후지로 맛, 저장성이 우수 한편이나 수확 및 수확 후 관리기술 미흡으로 과실의 품질 및 신선도가 저하되므로 수출에 많은 문제점이 제기되고 있다. 따라서 사과의 수출증진을 위해서는 수출 대상국의 사과 색상, 맛, 조직감 등에 대한 선호도를 파악하여 그에 적합하도록 사과의 품질을 높여야 한다. 수확한 사과의 저장 중에는 부패미생물번식, 생리장해, 저온장해 발생, 조직감 저하 등으로 인하여 질적인 손실은 물론 양적으로도 큰 손실이 발생하고 있으며 이러한 손실은 수확 후 품질관리 기술의 낙후에 기인된다.

또한 사과의 수확 전 살포한 농약이 수확 후에도 잔존함으로써 잔류농약에 대한 소비자의 불신이 상존하고 있다. 국내 소비 확대를 통한 사과산업의 안정화를 위하여서는 우선적으로 고품질 안전 사과의 유통을 위한 기술개발이 필요하다. 사과는 주로 생과로 소비되는데 사과 이외의 다른 과일생산이 급증함에 따라 사과에 대한 선호도가 낮아지고 이에 따라 사과농업이 위축을 받고 있다. 최근 일부 지역에서는 사과의 소비 확대를 위해 껍질 채 먹을 수 있는 사과의 수확후 처리 기술에 관하여 많은 관심을 보이고 있다. 세척사과는 성인병을 예방할 수 있는 폴리페놀화합물 등 각종 유효성분이 주로 사과 껍질에 많이 존재하는데도 불구하고 수확 전 처리한 농약의 잔류에 대한 불안감으로 인해 껍질을 깎아 먹는 소

비자의 오랜 관습과 고정관념을 개선키 위한 방편으로 사과와 세척을 통해 위생과 안전성을 인식시키며, 사과와 품질차별화를 통해 소비촉진 및 소비의식 개선키 위한 새로운 방안이다. 이를 위하여서는 사과와 세척처리가 철저하게 관리가 되어야 하는데 기존의 수확 후 처리기술로서는 사과에 잔류하는 미생물 및 해충류, 농약 및 잔류 이물질 등을 소비자의 신뢰를 구축할 수 있는 수준까지 제거하기에는 개선의 여지가 크다.

따라서 우리 사과와 수출경쟁력을 제고하고 국내시장에서의 기반을 강화하기 위하여서는 사과와 수출에 장애가 되고 있는 검역처리, 수확 후 품질유지 및 품위 개선을 위한 새로운 처리기술의 개발이 절실하다.

### 제 3 절 연구개발의 내용과 범위

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위	
1차 년도 ( 2002 )	사과의 열처리 시 생체임계온도와 병·해충의 사멸 임계온도를 설정 하고 열처리 방법 별 효과를 조사함	세부1	-사과의 열처리 임계온도 조사: · 열처리온도에 따른 사과표면의 현상학적 특성 분석 · 열처리온도에 따른 사과 내부의 현상학적, 생리적 특성분석 · 사과의 임계열처리온도조사 · 사과의 저장기간과 열처리 임계온도와 관계조사
		세부2	-기존관련자료 수집분석 · 수출업체자료수집 및 분석 · 경북도 관련자료수집 및 분석 · 동남아국가의 규제사항조사 -열처리방법 연구 · 열처리시 열 매체에 따른 품온상승 속도 비교 · 열처리 온도 및 시간과 품온상승 속도 분석 · 열처리후 냉각 방법에 따른 냉각속도비교
		세부3	-열처리방법 및 조건에 따른 효과분석 · 해충류 사멸 · 병해 미생물 제어 · 잔류농약 · 저장중 저온 장해방지 · 과피 및 과육의 선택 및 조직감
		위탁1	-수확 후 사과표면 미생물 및 해충류의 오염실태 조사 · 사과 표면미생물 및 해충류의 분리, 동정 -사과오염 부패 미생물 및 해충류 제어를 위한 임계 열처리 온도 조사
		위탁2	-열처리 후 PAL(phenylalanine ammonia lyase) activity 변화 조사 -페놀물질의 변화와 여러 생리활성 변화 조사 · Total phenolic compound의 변화조사 · 항산화력, ACE-inhibitor 활성 등 생리활성의 변화 조사 -열처리에 의한 대사변화 조사: 유기산, 당함량 변화 조사 -heat-shock protein 발현의 시간에 따른 변화조사

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위	
2차 년도 (2003)	수확후 병충해방제 및 품위개선을 위한 효과적인 열처리방법 확립	세부1	<ul style="list-style-type: none"> <li>-사과의 속도에 따른 임계 열처리 온도구명</li> <li>· 사과의 수확시 속도 임계열처리온도조사</li> <li>· 사과의 저장기간과 임계열처리온도와 관계 조사</li> </ul>
		세부2	<ul style="list-style-type: none"> <li>-열처리속도 증진방법연구</li> <li>· 습식열처리시 열매체의 진동처리효과조사</li> <li>· 건식열처리 열매체의 순환처리효과분석</li> <li>-열처리효과 증진방법연구</li> <li>· 열처리전 품온과 열처리후 냉각온도가 사과의 품질에 미치는 영향 조사</li> <li>· 열처리시 칼슘첨가효과 조사</li> <li>· Hot water shower와 brushing처리효과</li> <li>· Hot air shower처리효과</li> <li>-열처리후 표면응축 수분제거 방법 연구</li> </ul>
		세부3	<ul style="list-style-type: none"> <li>-열처리 및 처리후 냉각 방법 및 조건에 따른 효과 재검증</li> <li>· 해충류 사멸</li> <li>· 병해 미생물 제어</li> <li>· 잔류농약</li> <li>· 저장중 저온 장해방지</li> <li>· 과피의 선택 및 조직감</li> </ul>
		위탁1	<ul style="list-style-type: none"> <li>-열처리 방법 및 조건에 따른 효과분석</li> <li>· 부패 미생물 제어효과 분석</li> <li>· 해충류 제어효과 분석</li> <li>· 열처리 방법(35~55℃)에 따른 부패 미생물 사멸및 제어 효과분석:사과표면, 꼭지 부위 및 배꼽 부위에 검무늬썩음병균, 푸른곰팡이병균, 잿빛곰팡이병균을 인공적으로 접종.</li> <li>· 각종 열처리를 한 후 사멸정도 및 제어효과 분석</li> <li>· 열처리 방법에 따른 주요 해충류 사멸 및 제어 효과분석: 사과의 꼭지부위와 배꼽부위에 인위적으로 접종하고 각종 열처리를 한 후 사멸정도 및 제어효과 분석</li> </ul>
		위탁2	<ul style="list-style-type: none"> <li>-HSP 발현이 생리장해 관련 단백질의 발현에 미치는 영향</li> <li>· polyphenol oxidase 발현에 미치는 영향</li> <li>· 갈변에 미치는 영향</li> <li>-HSP 발현이 plant defense protein 발현에 미치는 영향</li> <li>· β-1,3-glucanase 등의 발현에 미치는 영향</li> <li>-열처리가 경도 변화에 미치는 영향 연구 (I)</li> </ul>

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용	
3차년도 (2004)	열처리기술 개발 시스템 구축	세부2	<ul style="list-style-type: none"> <li>-효과적인 열처리 온도 및 조건 확립               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 열처리전 온도 및 조건 확립</li> <li>· 열처리시온도 및 holding time 확립</li> <li>· 열처리후 냉각조건확립</li> </ul> </li> <li>-열처리시스템구축               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 열전달 매체의 재활용을 위한 정화방법연구</li> <li>· 열처리 라인구축</li> <li>· 열처리방법 별 경제성분석</li> </ul> </li> <li>-개발된 열처리 시스템의 종합적 효과분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 열처리 방법 및 조건에 따른 효과 분석</li> </ul> </li> </ul>
		세부3	<ul style="list-style-type: none"> <li>-열처리 및 처리후 냉각 방법에 따른 효과 재검증               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 사과의 수확시 및 저장시기에 따른 해충류사멸</li> </ul> </li> <li>· 처리방법에 따른 해충류 사멸               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 병해 미생물 제어</li> <li>· 잔류농약</li> </ul> </li> </ul>
		위탁1	<ul style="list-style-type: none"> <li>-개발된 열처리 시스템의 종합적 효과분석(미생물, 해충)               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 열처리 방법 및 조건에 따른 효과 분석</li> <li>· 열처리 방법에 따른 부패 미생물 사멸 및 제어 효과분석</li> <li>· 열처리후 미생물사멸정도 및 제어효과 분석</li> <li>· 열처리 방법에 따른 주요 해충류 사멸 및 제어 효과분석</li> </ul> </li> </ul>
		위탁2	<ul style="list-style-type: none"> <li>-열처리가 경도 변화에 미치는 영향 연구(II)               <ul style="list-style-type: none"> <li>· 연화 현상에 관계되는 단백질의 발현조사</li> </ul> </li> <li>-HSP 발현이 연화, 저온장해 미생물 번식 등에 미치는 영향 조사</li> <li>-주관 연구기관의 열처리방법 및 조건, 시스템 개발 등의 진행 일정과 연계하여 주관 연구기관에 최적 열처리 조건 확립을 위한 정보를 제공</li> </ul>

## 제 2 장 국내외기술개발현황

### 제 1 절 사과해충 발생상

우리나라에서 사과해충으로 알려진 종류는 1988년 현재 총 312종으로 과수류중 가장 많으며, 이중 나비목이 169종으로 가장 많고 딱정벌레목, 매미목 순이다. 그러나 이들 모두가 방제를 해야 될 정도로 문제가 되는 것은 아니고 대부분은 경제적인 피해를 주지 않는 것들이다. 발생량도 많고 실제 피해도 문제되므로 방제해야 하는 해충으로는 사과응애, 점박이응애, 사과혹진딧물, 조팝나무진딧물, 복숭아심식나방, 복숭아순나방, 사과굴나방, 은무늬굴나방, 사과애모무늬잎말이나방, 사과무늬잎말이나방 등 10여 종이다.

#### 1. 주요 해충의 발생상

대구사과연구소에서 1992년부터 경남북지역의 사과주산단지 관행사과과원을 대상으로 주요해충의 발생상황을 조사한 결과, 사과응애는 해에 따라 차이는 있으나 발생과원과 발생정도가 감소하는 추세이고 일부의 사과원에서만 발생이 문제되고 있다. 반면에 점박이응애는 대부분의 사과원에서 발생하고 있으며, 발생밀도도 적지 않고 매년 피해를 받는 사과원이 있었다. 사과혹진딧물은 극소수의 사과원에서 발생이 확인되었으며 피해를 받는 경우도 거의 없었지만, 조팝나무진딧물은 매년 모든 사과원에서 발생하여 문제가 되고 있는데 주로 5월말~6월에 최고밀도에 이른다.

관행방제 사과원에서 과실을 가해하는 심식나방류와 잎말이나방류의 발생을 볼 때, 점차 발생과원율이 증가하는 경향이었고, 피해과율은 대부분 1%내외였으나 역시 점차 증가하고 있어서 보다 효율적으로 방제대책을 강구할 필요가 있을 것으로 생각된다. 은무늬굴나방은 1990년대 초반부터 발생과원율이 확대되어 현재는 거의 모든 사과원에서 발생을 하고 있다. 교미한 암컷 성충으로 사과과원 주변 창고 등 추위와 건조를 견딜 수 있는 시설물 틈새에서 월동한다. 최근 이상난동이 이들의 생존율을 높였기 때문에 다발할 수도 있으나, 근본적인 원인은 수세가 왕성하여 연중 신초생장이 계속됨으로서 은무늬굴나방이 가해할 수 있는 먹

이가 지속적으로 유지되기 때문이라고 생각한다. 반면에, 1980년대 말에 일부 사과원에서 다발생하여 문제를 일으켰던 사과굴나방은 점차 발생이 감소하는 경향이다. 사과굴나방은 10년 주기로 다발 한다는 보고도 있는데 앞으로의 발생동태를 주목해 볼 만하다.

표 2-1. 연도별 사과 주요해충의 발생 및 피해정도

해충명	발생 및 피해정도					
	1992	1994	1996	1997	1998	1999
사과응애	151	13	32	4	96	57
점박이응애	182	134	79	96	160	49
사과혹진딧물	0.1	2.5	0.5	0	0.7	1
조팝나무진딧물	793	886	919	756	337	275
심식나방류	0.05	0.1	0.3	0.3	3.1	0.2
잎말이나방류	0.2	0.1	0.9	1.1	3.0	0.1
은무늬굴나방	0.4	9.8	2.1	3.0	4.9	1.1
사과굴나방	10.1	3.0	1.7	0.5	0.5	0.3

주 : 1) 경북 5~6지역 20~30개 사과원의 후지품종에서 조사

2) 진딧물은 40신초당 마리수, 응애는 잎당 마리수, 굴나방은 40신초당 피해 잎수, 잎말이나방과 심식나방은 피해과율(%)임.

피해정도를 조사한 결과만을 놓고 볼 때는 과실을 가해하는 심식나방류와 잎말이나방류의 발생이 일부 사과원에 국한된 것으로 생각하기 쉽다. 그러나 이들 나방류의 발생상황을 발생예찰용 성페로몬 트랩을 설치하여 조사한 결과를 보면 문제가 심각함을 알 수 있다. 5종의 조사대상 나방류 모두가 모든 사과원에서 발생하고 있으며, 복숭아순나방은 년 4~5세대 발생하므로 4월부터 9월까지 지속적으로 다발하고 있었다. 복숭아심식나방은 년 2세대 발생하므로 6월~8월에 다발하였으나, 연간 발생량은 복숭아순나방보다 훨씬 적었다. 이들 중 6~7월에 발생한 성충이 낳은 세대의 유충은 주로 쓰가루와 같은 조중생종에 피해를 주고 8월 이후 발생한 성충이 낳은 세대의 유충은 후지 등 만생종에서 문제가 되었다. 잎말이나방류는 사과무늬잎말이나방이 사과에모무늬잎말이나방보다 발생량이 많은 것으로 조사되었다. 사과무늬잎말이나방은 월동세대 유충과 5~7월에 발생한 성충이 낳은 세대의 유충이 신초나 잎을 가해하는 경향이 많았다. 반면에 사과에모무늬잎말이나방은 8~9월 발생한 성충이 낳은 세대의 유충이 수확전 과실에 집중적으로 피해를 주기 때문에 사과무늬잎말이나방보다 오히려 문제가 심각하였

다. 과실에 피해를 주는 유충은 많은데 성페로몬 트랩에 유살되는 성충의 수가 적은 원인을 구명하여 발생예찰 효율을 높여야 할 것으로 생각한다. 한편, 사과 굴나방은 다른 나방류와 비교가 안될 정도로 4월부터 9월까지 많은 수가 유인되었는데, 실제 피해엽 율은 거의 무시해도 될 정도로서 성페로몬트랩을 이용하여 방제여부를 결정시 고려해야 한다.

## 2. 최근 새롭게 문제되는 해충

사과 재배지가 산지로 확대되면서 삼림의 수목이나 초본식물에서 어린벌레 시기를 보내는 흡수나방류와 노린재류의 성충이 사과과원으로 날아와서 과실을 흡즙하여 피해를 주는 경우가 많아지고 있고, 유해 조류에 의한 과실 피해도 심각한 문제로 제기되고 있다. 또한, 하천변 사과원에서는 왕풍뎅이가 뿌리를 가해하여 피해가 큰 경우가 있었고, 매미류가 어린가지에 산란을 하여 고사시키거나 배설물을 분비하여 피해를 준다. 또한, 중북부 지역의 산지 사과원에서 사과유리나방의 어린벌레가 주간부 줄기를 가해하는 것이 관찰되었는데, 복숭아유리나방이 복숭아나무를 가해할 때와 같이 한 나무에 여러 마리가 집중 가해함으로써 사과나무를 고사시키는 점에서 주의해야 할 해충이다. 최근 초생재배가 확산되고 광범위 살충제 사용이 감소하면서 장님노린재류가 신초에 구멍을 뚫어 피해를 주는 사례가 새롭게 발견되면서 점차 피해정도가 증가하고 있다.

수출 사과의 경우에는 대상국에 따라 검역대상이 되는 복숭아심식나방, 복숭아순나방, 잎말이나방류 및 벗나무응애 등은 발생하지 않아야 하기 때문에 이들에 대한 방지대책이 중요시되고 있다. 점박이응애는 전 세계에 발생하지만, 월동성충이 사과의 꽃받침 부위로 이동하여 모이는 습성 때문에 수출시 이를 제거하는데 어려움이 많으므로 과실로 이동하기 전에 철저히 방제를 해야하는 문제가 제기되고 있다. 앞으로, 저수고 고밀식 왜화재배 체계가 확산됨에 따라, M.9대목에서 사과면충의 발생이 증가되고 어린 유목의 줄기에 나무좀류의 피해가 문제될 수 있다. 한편, 외국에서 사과가 수입될 경우에 국내에는 발생하지 않는 코드링나방이 침입하여 피해를 줄 위험이 매우 높다.

사과수출단지내의 사과과원 및 주변작물에 발생하는 응애류와 심식나방류의 발생상황을 정밀 조사하여 수출상대국의 검역규제해소를 위한 기초자료로 활용코



자 실시한 조사로 (김인수, 사과수출단지 검역규제해충 조사, 농과원 해외병해충과 해충연구실)로 수출 사과과원 4농가(문경)와 일반 사과과원 8개 농가(문경, 예천, 충주, 예산)에서 응애류 및 심식충류를 조사한 결과 수출사과원에서 조사된 해충과 검역대상해충은 각각 9~16종, 6~8종이었고, 일반사과원은 각각 10~20종, 6~10종이 조사되었다. 사과과일을 수확후 수거하여 조사된 해충은 수출사과원에서 사과응애 등 1종과 일반사과원에서는 점박이응애, 복숭아순나방 등 6종이 조사되었는데, 검역대상해충인 차응애는 평균 0.3%, 복숭아순나방과 복숭아명나방은 1.1%, 복숭아심식나방 0.4%로 일반사과원에서만 확인되었다.

수출사과원의 주변작물에서 조사된 응애류는 점박이응애 등 3종이 뽕나무 등 15종의 기주식물에서 확인되었고, 일반사과원은 클로버응애 등 6종이 환삼덩쿨 등 39종의 기주식물에서 확인되었음. 사과에 발생하는 응애류 밀도는 사과과원 주변 잡초에 발생하는 응애류 밀도와 정의 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

표 2-2. 수확후 사과과일의 해충 발생조사

조사과원		발생과율 (%)			피해과율 (%)		
		점박이응애	사과응애	차응애	복숭아순나방	복숭아명나방	복숭아심식나방
수출사과원	I	0	0	0	0	0	0
	II	0	0.5	0	0	0	0
	III	0	0.5	0	0	0	0
	IV	0	0	0	0	0	0
평균		0	0.3	0	0	0	0
일반사과원	V	0	8.0	0	4.0	3.0	0
	VI	0	0.5	0	0	0.5	0
	VII	0	20.0	0	0	0	0
	VIII	0	45.0	0	0	0	0
	IX	0	2.0	0	0	0	0.5
	X	1.0	43.0	2.0	0	1.0	2.0
	XI	0	35.0	0	3.0	4.0	1.0
XII	0	30.0	0	2.0	0	0	
평균		0.1	22.9	0.3	1.1	1.1	0.4

\* 조사일 : 11월 7일 \* 조사과일수 : 200과

## 제 2 절 저장병(貯藏病)

저장병해란 농산물 수확 후 수송, 저장 및 유통 중에 나타나는 병원균에 의한 피해와 생리장해를 통칭하는 것으로 특히 저장 중에 발생하는 피해를 말한다.

대부분의 병해는 과수원에서 병원균에 의해 직접 침입을 받아 이병, 잠복 감염된 상태로 저장되거나, 과일표면에 부생적으로 존재하다가 바람, 농작업이나 수송 및 유통 중 과일에 상처가 났을 때 침입하여 피해를 준다. 과일 저장병을 일으키는 병원균은 크게 4가지 부류로 구분될 수 있다.

○사과 검무늬썩음병처럼 수확 전부터 과수원에서 감염되어 잠복하다가 저장고의 관리가 소홀하여 온도가 높아질 경우나 출고되어 유통될 때 심하게 발병되는 경우

○사과 속썩음병과 같이 외관상으로는 건전하나 수확 전에 이미 감염되어 저장기간이 증가되면 피해가 심하게 진전되는 경우

○수확 전에 잠재감염하고 있다가 저장기간이 증가됨에 따라 과일조직 연해지면 피해를 주는 경우

○푸른곰팡이병원균이나 잿빛곰팡이병원균처럼 수확 전에는 과일 상에서 부생적으로 존재하거나 공중에 부유하여 날아다니다가 상처 난 과일과 접촉되면 침입하여 병을 일으키는 경우로 이들 두 병원균은 5℃ 정도의 저온에서도 잘 자라고 많은 양의 병원균 포자를 만들므로 사과 저장 중에 큰 피해를 준다.

### 1. 사과 저장병해의 발생실태

사과 저장병해의 발생정도는 농가, 저장기간, 저장조건별로 차이가 매우 크다. 2개월 이상 저장한 저장고를 중심으로 조사해 본 바에 따르면 저장병해를 줄일 목적으로 선과부터 유통과정까지 상처 난 것이나 병에 이병된 과일을 골라내고 저장온도와 습도를 낮추는 등 비교적 잘 관리한 농가의 저장고에서는 병의 피해가 1%미만이였다. 반면에 일손부족이나 저장 병에 대해서 잘 모르기 때문에 관리를 소홀히 한 농가에서는 그 피해가 80%에 이르기도 한다.

과일 저장병해의 발생정도는 저장기간이 증가됨에 따라 현저하게 증가되는데 *Penicillium*이나 *Botrytis*와 같은 병원균은 저온조건에서도 잘 자라므로 장기저

장 시 피해가 크다. 저장조건별로 볼 때 상온저장을 할 경우 품질의 저하뿐만이 아니라 많은 병원균이 자랄 수 있는 환경조건이 되므로 짧은 기간 저장하는 경우를 제외하고는 상온저장을 지양하는 것이 좋다.

0~5℃에서 저온 저장을 할 경우 대부분의 저장 병원균들은 잘 자라지 못하나 푸른곰팡이병균, 잿빛곰팡이병균, 일부 *Alternaria*균들은 잘 자라므로 많은 피해를 주기도 한다. 특히 이들 병원균은 생육기 중에는 거의 문제가 되지 않으므로 생육기중 약제방제 시 소홀히 하게 되어 저장 중에 심한 피해를 준다. 사과에는 국내에서 대량생산되고 생산량의 대부분을 저장하고 있으나 저장조건이 불량하거나 저장기간이 길 경우 피해가 커 심할 경우 과일 부패율이 47%에 이르기도 한다.

사과 저장중에 주로 피해를 주는 병으로 국내에서는 겹무늬썩음병, 푸른곰팡이병, 잿빛곰팡이병, 검은썩음병(가칭, *Alternaria rot*), 흰색썩음병(가칭, *Fusarium rot*) 등 10여종이 관여하는 것으로 알려져 있다. 이들 병원균 중 푸른곰팡이병, 검은썩음병, 잿빛곰팡이병은 생육기 중에는 병을 일으키지 않거나 발생이 경미하나 수확 시 또는 수확 후 관리 시에 상처가 나고 저장 중에 온도나 습도가 적당할 경우 큰 피해를 준다. 저온저장의 경우에 저온저장고내 공기순환이 불량하여 부분적으로 5℃ 정도가 유지되는 저장위치에 있는 사과상자에서 피해가 많다.

표 2-3. 사과 저장 중 발생하는 병원균의 종류, 분리빈도 및 병원성 (1996, 농과원)

병원균	분리빈도(%)	병원성**
검은썩음병 ( <i>Alternaria spp.</i> )	33	++ (+/- ~ ++)
겹무늬썩음병 ( <i>Botryosphaeriadothidea</i> )	22	+/-
잿빛곰팡이병 ( <i>Botrytis cinerea</i> )	15	++++
푸른곰팡이병 ( <i>Penicillium spp.</i> )	7	++ (+ ~ +++)
흰색썩음병 ( <i>Fusarium spp.</i> )	8	+++
기 타*	15	+ (+/- ~ ++++)

\* 낮은 빈도로 분리된 역병균(2균주)과 잿빛무늬병(2균주)의 경우 병원성이 높았음

\*\* 병원성이 +/- : 경미, + : 약, ++ : 보통, +++~++++ : 강

### 제 3 절 사과 병해충 종합관리

사과 병해충 종합관리(IPM: Integrated Pest Management)는 한마디로 작물·병해충·천적에 대한 지식을 기초로 각종 방제기술을 상호 모순되지 않는 형태로 사용하여 병해충 발생을 경제적 피해수준 이하로 감소시키거나 유지하기 위한 관리 체계라고 정의할 수 있다. 다시 말해서 IPM은 첫째, 병해충의 근절을 목표로 하는 것이 아니며 천적을 보호하기 위해 해충도 허용 가능한 수준이하로 발생하는 것이 필요하다.

둘째, 각각의 방제기술은 장점과 단점이 있기 때문에 이들을 잘 조화시켜서 상승 효과를 거두고 자연적인 방제요인을 최대한으로 활용하자는 것이다.

셋째, 특정 병해충만을 방제하는 것이 목적이 아니고, 사과과원과 주변에 존재하는 잠재병해충이나 천적과의 관계도 고려한 방제체계이다.

넷째, 방제체계 수립 시 농약에 대한 병해충의 저항성과 농산물 잔류 등 장기적이고 사회적인 문제도 고려하여 최대한 선택성농약을 사용한다.

끝으로, 최대 수량을 생산하는 것을 목표로 하지않고 방제비용·이익·위험정도를 비교하여 순수익의 최대화를 지향하는 방제체계이다.

사과 IPM은 생산비 절감을 위해 농약사용을 줄이고 천적 등 자연적인 해충의 밀도조절 수단에 좀 더 의존하려 했던 1942년 캐나다의 조화방제에서 시작되었다. 1960년대에는 농약만을 사용한 응애류 방제에 부적절함이 제기되면서 응애류의 천적을 보호할 수 있는 선택성농약이 사용된다면 다른 해충은 살충제로 방제하고 응애류는 천적에 의해서 피해를 막을 수 있다는 결과가 제시되었다. 특히, 미국에서는 과실을 가해하는 심식나방류를 대상으로 사용하는 유기인계 살충제에 대하여 응애 천적인 이리응애류가 저항성을 획득함으로써 1960년대 후반부터 응애류를 중심으로 사과IPM이 본격적으로 시작되었다.

1970년대 이후 농약의 등록규제가 강화되고 인축과 환경에 대한 문제가 대두되면서 응애 뿐 아니라 전체 병해충에 대한 농약사용 절감을 목표로 사과IPM의 연구와 실천운동이 확산되기에 이르렀다. 1980년대에는 유럽 각국에서 자국의 환경보전을 목적으로 사과재배 농업인에게 IPM을 의무적으로 실천토록 하였을 뿐 아니라 유럽에 사과를 수출하는 다른 나라에까지도 IPM을 준수하도록 권장하는 추세이다.

특히, 1992년 국제환경회의에서 합의한 리오선언에 따라 각국은 환경농업 실천을 위하여 농약사용을 50% 이상 절감하는 방안을 마련하여 제시하고 실천하여야 한다. 우리나라는 2004년까지 1993년 기준으로 농약사용을 50% 절감한다는 목표를 설정하였고, 이러한 목표달성을 위한 방안으로 IPM을 제시함으로써 우리가 IPM을 시작하게 된 계기가 되었다.

IPM은 농업의 생산성 향상을 위해 과도하게 투입되는 농약사용을 줄임으로서 토양오염, 수질오염 등 환경에 나쁜 영향을 경감시킴과 동시에 자연환경 보전을 목적으로 한다. 다시 말해서 IPM은 농약에 주로 의존하던 방제에서 한걸음 더 나아가 재배환경을 개선하여 병해충 발생을 적게 하고 천적의 정착과 증식이 가능하도록 선택성 농약을 활용함으로써 자연생태계와 조화를 이루는 환경농업 실천방안인 것이다.

## 제 4 절 사과와 검역처리

사과의 수출을 위하여서는 품질향상 및 브랜드화 등을 통한 경쟁력제고 노력이 필요하지만 이와 더불어 수출대상국의 검역규제를 벗어 날 수 있는 기술개발이 선행되어야 한다. 식물검역과 관련된 규제는 수입국의 병해충 발생 실태에 따라 다르므로 수출을 위하여서는 대상국의 관련 규제에 대한 정보 및 이에 대비키 위한 수출 전 관리 및 처리가 선행되어야 한다. 사과에 수출입에 관련된 검역처리방법은 크게 2가지로 분류할 수 있는데 첫 번째는 재배 시 부터 수출 전 단계 까지 위해 병원균 및 해충으로부터 사과를 안전하게 관리하는 하는 방식이다. 이를 위해 재배과정에서의 봉지 씌우기 등 예방대책은 물론 수출과수원 및 재배농가·선과장 등을 지정 관리하여야 하며, 이를 수입국 정부에 사전 통보해야 한다. 또한 수입국 검역관 참석 하에 재배지·선과장·저온창고 등에 대한 현장 확인 등을 필요로 한다.

최근 대만 정부는 복숭아심식나방 유입 차단을 이유로 한국산 생과실에 대해 코드린나방 발생 국가의 수입검역 요건에 준하는 고강도의 예방책으로 코드린나방 발생국가가 대만에 수출하는 사과 수입검역 요건을 참고해 선과장을 관리하고 대만 식물방역관이 매년 1회 수출개시 시기에 방한해 수출 시스템을 확인할 것을 요구하는 경우가 발생하였다.

이를 그대로 수용할 경우 재배과정에서의 봉지 씌우기 등 예방대책은 물론 수출 과수원 및 재배농가·선과장 등을 지정, 대만 정부에 통보해야 한다. 또 대만 검역 관 참석 하에 재배지·선과장·저온창고 등에 대한 현장 확인을 받고, 선과장 출입 구에는 에어 커튼을 설치하는 등 해충 침입을 막기 위한 시설을 강화해야 하는 상황에 이를 수도 있다. 이와 같은 경우가 발생하면 사과 생산 및 비용이 증가하고, 처리비용이 증가됨에 따라 수출에 제동이 걸리게 된다.

두 번째 방법으로는 사과의 수출 전 수입국에서 설정한 처리기준에 의거 사과를 처리하는 방법으로 화학적 훈증처리와 물리적 처리 방법이 있다. 화학적 훈증처리제로는 메틸브로마이드(methyl bromide), 인화늄(phosphine), 하이드로젠시 아나이드(hydrogen cyanide) 등이 있다. 이중 대표적인 처리제는 메틸브로마이드로 사과의 경우 저온(1.1℃)에서 40일간 저장 후 10℃이상에서 48g/m<sup>3</sup>농도로 2시간 처리하는 방법이다. 이와 같은 방식에 의해 사과를 처리할 경우 처리 후 사과의 품질에 악영향을 미칠 수 있다. 더욱이 훈증처리제로 사용하는 메틸브로마이드가 인체 및 환경에 나쁜 영향을 미칠 수 있으므로 세계환경기구 등에서는 메틸브로마이드를 한시적으로 허용하고 있으며 2010년에는 사용이 금지하도록 권장하고 있다. 따라서 많은 나라에서는 메틸브로마이드 훈증처리를 대체할 수 있는 처리 기술 개발에 많은 노력을 기울이고 있다.

과일의 검역처리를 위한 물리적 처리 방법으로 방사선 조사방법이 개발되고 있는데 방사선중 미국의 FAD로부터 식품 조사용으로 <sup>60</sup>Co과 <sup>137</sup>Cs 이 1000 gy 까지 처리가 허용되어 있다. 이에 미국의 Animal and Plant Health Inspectin Service(APHIS) 는 하와이산 파파야의 경우 과일파리처리를 위해 처리를 허용 (2002)한 바 있다.

또 다른 물리적 처리방법으로 열처리 방법이 있는데 이 방법은 열 매체에 따라 공기 및 물을 사용하는 방법으로 나누어진다. 일부 과일 품목의 경우는 검역처리로서 실용화 되고 있는데 국내에서 적용하고 있는 처리조건을 보면 리찌의 VHT (Vapor Heat Treatment) 조건은 포화수증기를 이용하여 심부의 온도가 2시간 이내 46.2℃에 도달시키며 이 상태에서 2시간을 유지시킨다. 온도센서는 처리실의 위치에 따라 하부, 중부 및 상부의 과일 내부의 중앙부위와 처리실의 일정부위에 설치하며 습도센서는 처리실 내 1곳 이상에 설치한다. 가열증기처리를 한

과일은 심부의 온도를 6시간 이내에 0-2℃까지 낮추며 이 온도에서 42시간 동안 유지시킨다. 망고에 적용되는 VHT 조건은 포화 수증기를 이용하여 심부의 온도를 46.5℃까지 상승시킨 후 이 온도에서 30분간을 유지시킨다. 이후 가능한 빨리 샤워를 이용하여 품온을 낮춘다. 온도센서는 처리실의 위치에 따라 하부, 중부 및 상부의 과일 내부의 중앙부위와 처리실의 일정부위에 설치하며 습도센서는 처리실 내 1곳 이상에 설치한다. 가열증기처리를 한 과일은 심부의 온도를 6시간 이내에 0-2℃까지 낮추어야 하며 이 온도에서 42시간 동안 유지 한다.

미국에서는 VHT처리이외 열처리방법으로 열수침지와 강제송풍열처리 방법도 적용하고 있다 (APHIS 2002). 하와이산 리찌의 경우 지중해성 및 오리엔탈 과일과 리찌리를 위하여 리찌를 49℃의 처리수에 수면으로부터 4인치 아래에 20분간 침지하는데 이때 처리수는 순환 시켜준다. 이때 처리시간은 처리수의 온도가 49℃에 도달한 이후부터 계산된다. 열수 침지 방법은 망고나 paasion fruit의 경우에도 적용이 가능하다.

강제송풍열처리 과일과리가 감염된 멕시코산 오렌지 등에 적용할 수 있다.(USA APHIS, 2002) 이를 위하여 상자 내 가장 큰 과일의 중심부에 온도센서를 꼽고 적어도 90분 이내에 품온이 44℃에 도달시키며 이 온도이상에서 100분간 방치한다. 처리 시 과일 품온은 2분 간격으로 측정하며 열처리 후 품온을 낮춘다. 처리 온도는 과일의 종류에 따라 다른데 하와이산 오렌지류는 47.2℃, 멕시코산 망고는 50℃, 칠레산 mountain 파파야와 하와이산 파파야는 47.2℃를 적용한다.

이와 같은 열처리 방법은 환경친화적이며 특히, 침지 및 살수 처리 시 과일의 표면에 오염되어 있는 이물질을 제거할 수 있는 부수적인 효과도 얻을 수 있다. 따라서 열 처리 기술은 현재 검역에 널리 쓰이고 있는 메틸브롬마이드 훈증 처리를 대체할 수 있는 가능성이 매우 높은 실용적인 처리기술이라 할 수 있다. 이를 위하여서는 대상 과일의 열처리에 따른 생리적 특성이 고려되어야 하고 감염 병원균 및 해충의 특성이 고려된 적절한 처리조건 및 방법 등이 개발되어야한다.

표2-4. 훈증제의 여러 특성비교

메칠브로마이드	인화늄	하이드로젠시아나이드
1. 일반사항 및 농도별 반응		
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 무색, 무취, 비가연성</li> <li>· 물에 극소량 용해</li> <li>· 대기압 상태에서 빠르고 깊게 침투하며, 확산이 빠름</li> <li>· 공기보다 3배 무거움으로 물품 적재 상단부에 처리 순환 시킴</li> <li>· 가압시 쉽게 액화</li> <li>· 황 함유물(천연고무 새의 깃털 등)과 반응</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 무색, 무취, 불순물 혼입시 마늘냄새가 남</li> <li>· 강한 침투성 및 확산성이 있으므로 두께 0.2mm이상의 비닐, 폴리에틸렌 사용</li> <li>· 공기와 비슷한 무게</li> <li>· 물에 거의 녹지 않음</li> <li>· 구리 및 구리합금과 반응하여 부식시킴</li> <li>· 공기중 농도 1.7%이상인 경우 폭발성임</li> <li>· 포스파인은 알루미늄 포스파이드</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 무색, 지독한 아몬드의 강한 냄새(2-5ppm 범위 사람의 취각으로 검출가능)</li> <li>· 침투력이 약하며 물에 쉽게 녹음</li> <li>· 공기와 비슷한 무게</li> <li>· 약산성이지만 부식성 거의 없음</li> <li>· 액체상인 것은 유기화합물에 대해 강력한 용매역할 프라스틱 고무 등을 녹임</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 습기가 많은 경우 알미늄, 마그네슘, 철등의 금속부식</li> <li>· 액체 메칠브로마이드는 강력한 용매</li> <li>· 5ppm 직업적 노출의 권고 한계</li> <li>· 35ppm 장기간 흡입시 식욕 부진, 두통이 있지만 신선한 공기를 흡입하면 증상이 없어짐</li> <li>· 10,000ppm 곱팡이 냄새가 약간 나며 눈, 코를 자극</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 공기중 수분에 의해 서서히 분해하여 발생하며 인화알미늄 3g에서 1g의 포스파인이 발생</li> <li>· 0.3ppm 보건위생기준</li> <li>· 100-200 중독한계(30-60분)</li> <li>· 300-400 사망위험(노출60분)</li> <li>· 400-600 사망가능(노출30-60분)</li> <li>· 2,000 치사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 가연성, 폭발성이 있어 가연성 한계이상에서는 폭발우려가 있으므로 방화 방폭시설에서 취급사용</li> <li>· 10ppm 허용한계농도(건강한계)</li> <li>· 25 " 만성적 중독</li> <li>· 50 " 심한 불안(노출30-60분)</li> <li>· 100" 위험 치명적 가능성</li> <li>· 200" 급사</li> </ul>
2. 인체에 미치는 영향		
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 뇌, 신경조직에 위해하고 신장에도 위해가능성 있음</li> <li>· 피부에 접촉시 수포, 발진 등 화학적 화상을 입음</li> <li>· 호흡작용에서 해당 및 TCA 회로의 SH효소 활성 저해</li> <li>· 두통, 눈아픔, 식욕부진, 복통(경미한 중독)</li> <li>· 폐수종, 경련, 의식불명(심한 중독)</li> <li>· 특별한 해독제가 없으나 Cysteine이 복용약제로 유익한 것으로 알려져 있음.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 피부를 통하여 흡수되지 않음</li> <li>· 인체에 대한 축적독(만성독)은 중요하지 않음</li> <li>· 호흡작용의 전자전달계에서 cytochrome oxidase의 활동저해</li> <li>· 신경자극전달효소(코린에스테라제)의 활성 저해(일부학자 주장)</li> <li>· 구토, 설사, 두통(경미한 중독)</li> <li>· 폐수종, 흉통(심한 중독)</li> <li>· 특별한 해독제가 없으며, 혈액 순환촉진제, 수혈 및 이소토낙셀린 또는 포도당 주사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 강력한 급성독성작용</li> <li>· 피부와 접촉시 체내 흡수 중독</li> <li>· 호흡작용의 전자전달계에서 cytochrome oxidase의 활동저해</li> <li>· 수족허약, 호흡곤란, 두통, 현기증, 구토 등(경미한 중독)</li> <li>· 심한 호흡장애, 무의식(심한 중독)</li> <li>· 해독제로서 Cobalt edetate (Kelocyanor) 주사</li> </ul>
3. 잔류허용기준		
(Br기준)	(PH <sub>3</sub> 기준)	(CN기준)
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 한국 쌀, 보리, 옥수수: 50ppm</li> <li>· 감자, 고구마, 오렌지: 30 "</li> <li>· 바나나, 파파야, 망고: 20 "</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 한국 쌀, 보리, 옥수수: 0.1ppm</li> <li>· 두류: 0.01 "</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 미국 조곡, 감귤류 :75ppm</li> <li>· 두류: 25 "</li> <li>· 일본 과일, 채소류: 5 "</li> </ul>
4. 사용가능한 경우		
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 훈증처리를 4일 이내에 실시하여야 하는 경우</li> <li>· 대부분의 검역처리의 경우</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 훈증처리를 7일 이내에 실시하지 않아도 되는 경우</li> <li>· MB처리가 허용되지 않은 경우</li> <li>· 발아상태에 있는 식물</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 빠른 처리가 필요한 경우(공중 24시간, 쥐 2시간)</li> <li>· 농산물 상대습도가 60%미만인 경우</li> <li>· MB의 오염 과다한 잔류가 우려되는 경우</li> </ul>
5. 사용이 불가능한 경우		
<ul style="list-style-type: none"> <li>(공통) ○ 작업장, 주거지역 및 누출의 위험이 있는 곳</li> <li>○ 보호장비를 갖춘 방제기술자 및 작업주인이 없는 경우</li> </ul>		



Table 2-5. 하와이에서 미국본토로 운송되는 과일의 방사선조사

Target fruits	Abiu, atemoya, carambola, longan, litchi, papaya, rambutan, sapodilla
Target insects	Mediterranean fruit fly, melon fly, Oriental fruit fly
Treatment procedure (T105-a-1)	The minimum absorbed dose of gamma irradiation shall be 250 Gray (25 krad), but shall not exceed 1000-gray (100 krad) limit imposed by Food and Drug Administration regulations. Documentation of the dosage shall accompany the shipment. Dose mapping is required for each commodity and/or size. Different configurations, packaging, and /or mixed commodities should also be dose mapped. These shipments must be accompanied by a limited permit (PPQ Form 530).

\*Treatment manual (APHIS, 2002)

## 제 5 절 열처리기술

수확 후 과일의 품질유지와 병충해의 억제, 검역처리기술로서의 열처리에 대하여 많은 연구가 진행 중에 있다. 열수에 담그거나 씻어내는 방법, 열풍처리법과 같은 열처리 방법은 일부에서는 상업적으로 이용되고 있으며, 과실 및 채소, 병원성 곰팡이균류, 곤충 등에 대한 고열처리나 신기술, 기존의 열처리법 등에 대해 연구가 진행되고 있다. 또한 열처리가 과일 및 채소의 수확 후 품질에 미치는 영향과 숙성중의 수확 후 열처리 효과와 내열성 발달에 대한 연구도 진행되고 있으며 열에 의한 손상과 냉해를 방지하기 위해 열처리에 의해 내열성을 갖게 되는 가능한 반응 메커니즘 뿐 만 아니라 저온과 고온에 대한 내열성을 유도하는 열처리효과에 대한 연구결과도 보고되고 있다. 이에 수확 후 과일 및 채소류의 품질유지와 병충해의 억제 등을 위한 열처리효과 및 열처리에 대한 생체 내 반응을 살펴보면 다음과 같다.

최근 해충억제와 곰팡이에 의한 부패병 방지, 작물상품의 극한 온도에 대한 반응과 숙성에 주는 영향을 보기위해 수확 후 열처리에 대한 관심이 증대되어왔다. 이는 병원균 및 해충방지를 위한 화학물질의 사용감소에 대한 요구가 증가되었기 때문이다. 열처리는 화학적 예방책을 대신할 수 있는 안전한 물리적 처리법이다.

열처리의 방법에는 열수, vapor heat, 열풍에 의한 세 가지 방법이 있다. 열수는

원래 곰팡이 억제를 위해 사용되었으나 해충 방지용으로까지 사용되어지고 있다. Vapor heat는 특히 해충방지를 위해 개발되었으며 hot air는 곰팡이와 해충 두 가지 모두 억제하기 위함과 고온에 대한 작물상품의 반응을 연구하기위해 사용되어왔다. Vapor heat과 열풍에 의한 방법은 때로는 공기가 상대적으로 정적이고 때로는 공기의 흐름이 거세다는 점에서 세부 구분된다. 더군다나 열풍은 습도를 조절 할 수도 있다. 이런 모든 교환(permutation)이 열처리 시 품목별 반응에 영향을 받는데 바람직한 효과를 위해 필요한 노출시간의 길이가 영향을 준다.

### 1. 열처리와 미생물제어

수확 후 열처리는 병원균의 수준과 질병의 발달을 줄이는데 바람직한 효과를 가지고 있다. Hot water brushing(Fallik, Israel)같은 물리적인 처리방법을 추가한 열처리법은 아주 미세한 상처와 cuticular 부분에 폐색을 가져올 수 있기 때문에 우세한 상처 병원균으로부터 보호가 필요하다(Schirra, Italy; Schirra et al., 2000). 이러한 결과는 hot water처리와 hot water brushing 처리에서 모두 cuticular wax의 용융과 관계있는 것처럼 보인다.

곰팡이 병원균에 대한 열처리의 직접적인 효과는 광범위하게 연구되어오지 않았는데 주된 효과는 균의 발아를 지연 혹은 억제 시키거나 포자를 사멸시킴으로써 접종물의 크기와 연이은 병변의 전개를 효과적으로 줄이는 것이다.

병원균에 대한 직접적인 효과는 배제하고 열처리가 병해 감소에 효과를 보이는 다른 주된 방법은 방어 메커니즘을 유도하는 것이다. 과실이 병원균 및 해충을 방지할 만한 다층으로 구성된 메커니즘이 있는 것처럼 보인다(Ben-Yehoshua et al., 1997). 예로 병원균 침해 방지로써 구조상 항곰팡이 제제가 작용하고 lignin 같은 polymers의 생산이나 phytoalexins의 합성, chitinase같이 몇몇 병원균과 관련된 단백질의 생물발생설(biogenesis)에 의해 수동적 장막의 형성과 같은 추가적인 메커니즘이 유도된다.

사과의 phytoalexins생성 유도에 있어 열처리의 직접적인 영향과 관련된 두 가지 실험에서 불일치하는 결과를 보였다. Fallik은 3일 동안 hot air 처리한 Golden Delicious 사과에서 이러한 생성이 유도 되었다고 제안하였으나 Conway(US)는 유사한 처리 후 Gala사과에서 phytoalexin유도 생성물을 발견하지 못했다. 이와

유사하게, citrus fruits에서의 결과는 열처리가 phytoalexin의 생성을 유도하지 않는 것으로 나타났다. Ben-Yehoshua 등 (1998)은 만약 과실이 이전에 *P. digitatum*에 의해 접종되어지지 않았다면 hot air과 hot water에 의한 열처리는 단독으로 phytoalexins scoparone와 scopoletin의 생성을 유도하지 않는다고 보고하였다. 열처리와는 달리 UV조사는 scoparone과 scopoletin의 더 많은 생성을 유도한다.

열처리는 상처와 균의 접종이 없다면 열처리 자체에 의해 lignin같은 물질의 생성은 유도되지 않는다. 이렇게 조합된 처리법은 여러 오렌지류에 있는 병원균 *P. digitatum*의 발달을 예방하고 이전에 인용된 모든 방어 메커니즘의 유도에 효과적이다. 대안적으로, Porat (Israel; Porat et al., 2000)는 brushing을 이용하는 hot water 처리는 자체적으로 Star Ruby grapefruit에 있는 병원균과 관련된 단백질인 chitinase와  $\beta$ -1,3 glucanase의 생물발생설(biogenesis)을 유도하고 *Penicillium digitatum*에 대항할만한 저항력도 부여한다고 제시하고 있다. 이것은 열처리가 처리된 commodity에 있는 하나 이상의 병원균에 알맞은 방법일 것이다 (Rodovl).

열처리가 해충 억제를 위해 CA저장과 같은 다른 처리법과 병행하여 사용되는 것처럼(Nevins, 2000; Shellie and Mangan, 2000), 여러 방법을 조합한 처리법이 병원균에 대해 연구되고 있다. Conway (US; Leverentz et al., 2000)는 *Pseudomonas syringae*같은 병원균 길항제와 같이 38°C에서 4일간 같이 처리하면 Gala사과에 있는 *Pseudomonas syringae*가 적절히 억제됨을 보였다.

## 2. 열처리와 해충방제

해충 억제를 위한 열처리의 발달은 단독의 열처리 적용과 일정한 온도(Step Function) 또는 급격히 증가하는 온도(Ramp Function)과 연관되어있다. Ramped Function에서 온도의 느린 변화에 대한 해충의 반응은 다르며 heating rate도 예견되는 치사율을 고려해야만 한다 (Neven, US; Neven, 2000). 다양한 열처리 동안 해충의 내열성에 대한 변화는 검역 열처리 발달에 고려되어 오지 않았다. 30-42°C의 온도에 해충을 노출시키면 치명적인 온도(42°C 이상)에서 잘 견딜 수 있다.

일정한 온도에 노출시킨 해충 치사율의 측정은 commodity의 온도가 상승하는 ramped heating 에 따르는 치사율을 예견하지 못하는 반면, Step Functions에서 응답한 data는 어떤 형태의 Ramp Function이든 해충 치사율에 대한 견본으로 사용될 수 있다 (Waddell (NZ), and Laidlaw (US); Waddell et al., 2000). Waddell et al. (2000)는 목표한 heating dose가 어떻게 도달하는가에 문제점을 정확히 설명하였다. Queensland fruit fly(*Bactrocera tryoni*)가 32-42°C에서 오래 머물러 있을수록 46°C에서 LT 99에 도달하게 위해 걸리는 시간이 길어진다. 열 처리는 목표로 하는 과실의 중심온도에서 현재의 특정 시간과는 대조적으로 치명적인 stress를 동반하는 heating rate의 조합으로써 정의된다. Step Function을 이용한 열처리에 반응하는 modeling insect는 load factor (heating rate)와는 상관없이 어떠한 대상물에 대해서도 열처리에 대한 치사율을 예견할 수 있다. Conditioning온도와 치사온도의 영향도 이 model내에 포함된다. 만약 광범위한 Step Function data가 중요한 검역 테스트에 유용하다면 이것은 상당한 실험을 하지 않아도 되도록 할 수 있다. 유사한 modelling은 열처리한 과실의 내성 측정에도 사용되었었다 (Raham et al., 2000).

Heat stress에 대한 반응으로 해충이 HSPs를 생성한다는 사실은 많은 해 동안 알려져 왔으나 해충의 생리학적인 면에서 고온에 대한 전체적인 영향은 설명된 것이 없다 (Neven, 2000). 열에 대한 해충의 반응은 대사적 반응과 신경체계의 반응, 내분비의 영향, 발육상의 반응, 호흡의 변화를 포함한다. 식물은 heat shock에 노출됨에 의해 저온에 대한 내성이 조절 될 수 있으나 연구들은 해충이 다수의 stresses에 대해 내성(cross-resistance)을 갖지 않는다고 보고하고 있다.

Conditioning의 영향은 시간이 감에 따라 손실되고 손실율은 식물과 해충사이에 차이가 있다. 고온의 heat stress로부터 보호하기 위해 conditioning한 후 Queensland fruit flies는 25도에서 10시간 후에 conditioning효과의 80%를 잃는다( Waddell, New Zealand). 아보카도의 경우 유사한 conditioning이 15°C에서 5 일까지 과실이 보존되었다. Conditioning후의 온도는 앞선 예와는 다르지만 부패율의 큰 차이는 해충의 내성 강화 없이 대상물의 내성을 강화하기 위한 방법으로써의 잠재성을 나타낸다.

Commodity의 열처리에 사용되는 media는 대상물의 내성과 해충의 치사율에 영

향 한다. 열수처리에 요구되는 heat load는 열풍에 의한 열처리 보다 적다. 그러나 물의 열전달속도가 더 빠른 이유는 명확히 설명할 수 없다. 열수처리 동안 대상물의 내부대기조성의 변화는 열처리의 영향을 높인다 (Shellie, US). 수증기로 포화된 forced air 또는 열수로부터 일정량의 heat doses로 처리했을 때 오렌지류의 내부 O<sub>2</sub>와 CO<sub>2</sub> 수준과 fruit fly 유충의 치사율(hot water로 처리한 것이 치사율이 높음)에 상당한 차이가 날 수 있다. 열전달은 열처리 기술과 관련되어 고려되어야 하는 다른 인자이다 (Shellie (US); Shellie and Mangan, 2000). 고온의 CA처리는 해충에 두 배의 stress를 부과한다. MA는 노출된 열에 적응된 해충에 영향을 준다 (Neven, 2000).

검역을 위해 열처리를 발달시킨 연구자들은 이러한 처리가 상업적으로 효과가 있는지 검증하기 위해 모든 예방수단을 갖추어야만 하며 (Hallman, 2000) 실험들도 상업적인 현실에 가깝게 이행되어야 한다.

### 3. 열처리 방법

#### 가. 열수침지 및 살수

열수침지 방법은 곰팡이성 병원균 억제에 효과적이다 이는 곰팡이 포자와 잠복기의 병해가 과실과 채소의 표면이나 껍질의 바로 아래 세포층에 있기 때문이다. 썩음방지를 위해 대상물 내부에 있는 병충해를 죽이기 위해 설정된 처리온도 이상의 온도에서 단 몇 분 동안만 침지하는데 이는 오직 대상물의 표면에만 열처리가 요구되기 때문이다. 많은 과실과 채소는 50-60 °C의 물에서 10분정도 노출 대해 내성이 있으나 같은 온도에서 좀 더 짧은 시간동안 노출 시 수확 후 많은 병원균들을 조절할 수 있다 ( Barkai-Golan and Phillips, 1991). 이와는 대조적으로 46°C에서는 90분이 요구되는 경우도 있다.

살균효과는 열수에 살균제 병용 사용에 의해 강화된다. 따라서 화학물질의 양을 줄여도 효과적으로 곰팡이를 억제할 수 있다. 이것은 특히 항 곰팡이 약제로 thiabendazole 와 imazalil을 사용하는 citrus의 경우에서 효과적이다 ( McDonald et al., 1991; Wild, 1993; Schirra and Mulas, 1995a,b). 게다가, GRAS화합물이 곰팡이 방지 효과를 향상시키기 위해 열수에 사용되어옴으로서 그 효과가 인정되었다. Sulfer dioxide, ethanol 또는 sodium염 용액의 열수처리( 45 °C)은

citrus fruits에 있는 green mold (*Penicillium digitatum*) 억제를 위해 사용되어 왔다 (Smilanick et al., 1995, 1997). 이러한 화합물은 인공적으로 접종한 진균류 (fungus) 억제를 위해 25°C의 imazalil용액에 침지하는 것만큼 효과가 있다 (Smilanick et al., 1995)

최근 열처리의 확산이 열수살수장치의 개발을 가져왔다(Fallik et al., 1996a). 이것은 대상물을 brush roller로 이동시켜 일정한 압력으로 분무되는 열수를 통과시키는 기술이다. Brushes의 속도와 물을 분사시키는 노즐(nozzle)을 변화시킴에 의해 대상물은 10-60초 동안 고온에 노출될 수 있다. 물은 재순환되거나 사용되는 온도가 50-70°C이기 때문에 작물에서 씻겨진 미생물 및 해충류는 생존하지 못한다. 이 장치는 망고(Prusky et al., 1997)와 고추(Fallik et al., 1996b) 같은 과실과 채소에 존재하는 병원균을 감소시키고 씻어내기 위해 사용되고 있다. 이스라엘에서는 멜론과 옥수수뿐만 아니라 이러한 대상물에 이 기기를 사용하는데 대한 프리미엄을 주고 있다.

열수침지 방법은 해충방지에도 사용되어왔다 (Couey, 1989). 열수가 열풍보다 더 효과적인 열전달 매개체이기 때문에 많은 과실이 순환될 때 처리조 안은 일정온도가 유지된다. 병충해 방지를 위해서는 곰팡이류의 억제보다 좀 더 긴 처리법이 요구된다. 과실의 표면이 아닌 과실 전체에 적절한 온도에 도달하여야 하기 때문이다. 이러한 처리 과정들은 여러 종류의 병충해로부터 다수의 열대 및 아열대 과실을 방지하기 위해 발전되어왔다. 침지 시간은 향곰팡이 처리를 위해 50°C 이상에서는 단 몇 분 처리 하는 것과는 대조적으로 50°C 이하에서는 1시간 또는 그 이상 되는 경우도 있다.

#### 나. Vapor heat

Vapor heat는 출하하기 전에 검역처리로서 해충의 알과 유충을 죽이기 위해 40-50°C에서 수증기로 포화된 공기로 과실을 열처리하는 방법이다 (Animal and Plant Health Inspection Service, 1985). 열전달은 차가운 과실표면에 있는 수증기의 응축에 의한다. 처음에는 송풍이 안 되는 처리실에서 Mediterranean (*Ceratitidis capitata* Wiedemann) 과 Mexican (*Anastrephaludens* Loew) fruit fly를 죽이는데 사용되었다 (Hawkins, 1932; Baker, 1952). 그러나 ethylene

dibromide 와 methyl bromide가 저렴한 화학적 훈증제로 사용되어지면서 vapor heat처리는 중단되었으나 1984년 ethylene dibromide의 금지와 더불어 2010년 methyl bromide의 사용금지가 vapor heat을 다시 부활케 했다 ( Gaffney et al., 1990). 그러나 vapor heat는 pallets을 통하여 순환하는 forced air을 동반하고 이는 forced air을 동반하지 않는 vapor heat보다 빨리 대상물을 가온시킨다. 이와 같은 장치는 망고나 파파야 같은 아열대 과실에 대해 여러 나라에서 상업적 설비로 이용되고 있다 (Paull, 1994). 최근 다양한 병충해로부터 과실과 채소의 해충방지를 위해 vapor 또는 moist forced air의 사용에 대해 연구가 진행되어왔다 (Shellie and Mangan, 1993; Shellie et al., 1993; Shellie and Mangan, 1994b).

열처리는 warming period, holding period, cooling down period로 구성되어있다. Warming period는 고온에 대한 대상물의 민감도에 따라 저속 또는 고속으로 원하는 온도까지 도달하는 기간으로 approach time이라고도 한다. 다음으로 holding time은 처리하고자 하는 과실의 내부온도가 해충을 죽이기 위해 요구되는 시간동안 바람직한 온도에 도달하는 시간을 말하고 cooling down time은 공기에 의해 천천히 진행되는 공냉과 물에 의해 빠르게 진행되는 수냉이 있다. 따라서 열처리는 대상물에 손상을 주지 않으면서 병충해를 박멸시키기 위해 최상의 조건으로 조합할 수 있게 여러 조성으로 되어있다.

#### 다. 열풍처리

열풍은 환기팬이 설치된 열처리실내에 과실과 채소를 넣어 처리하거나 빠르게 순환하는 공기로 정확하게 조절되는 forced hot air를 적용하는 방법이다. 비록, forced hot air가 일반적인 열 처리실보다 빠르게 열을 전달하지만 강제적이건 비 강제적이건 열풍은 forced vapor heat나 열수에 침지하는 방법보다 더 천천히 열이 전달된다. Hot air chamber는 주로 과실과 채소의 열에 대한 반응을 생리학적인 측면에서 발생하는 변화를 연구하기 위해 이용되어왔다 (Klein and Lurie, 1991, 1992a).

그러나, forced hot air는 검역처리기술로 개발되었는데(Gaffney and Armstrong, 1990) 그중 한 가지 이유는 vapor heat내의 많은 습기가 때로는 처리되어진 과실에 손상을 주는 반면 낮은 습도의 forced hot air 로 열처리시간은 느린 반면 그

손상의 발생을 낮출 수 있기 때문이다. 파파야에 있는 Mediterranean fruit fly, melon fly, oriental fruit fly를 박멸키 위해 고온의 열풍에 의한 검역 처리법이 개발되어왔다 (Armstrong et al., 1989; Hansen et al., 1990). Forced hot air로 오렌지류를 처리할 때 과실에 대한 손상을 막기 위해 열처리 후 빠른 냉각이 요구된다 (Sharp and Gould, 1994; Sharp and McGuire, 1996). 최근에는 파파야에 대한 열처리가 수냉이 필수적이지 않도록 하기위해 변형되어왔다 (Armstrong et al., 1995). 이 방법은 감과 같은 다른 대상에 대하여 연구되었다 (Dentener et al., 1996).

고온의 forced 또는 static air에 노출되면 곰팡이류의 감염도 감소한다. Forced air없이 단순한 heating 으로도 사과에 있는 *Botrytis cinerea*와 *Penicillium expansum*에 의한 썩음을 감소시킬 수 있다 (Fallik et al., 1996c; Klein et al., 1993). 이 경우 사용된 처리법은 38- 46 °C의 온도에서 12- 96시간 정도로 그 처리시간이 길어 상업적으로 볼 때 처리법으로는 적합치 않다. 그러나 대상물의 생리적인 면에서 이로운 영향을 주는 수단으로서 만이 아니라 동시에 해충과 곰팡이류를 방지하는 방법으로써 열풍처리법이 갖는 잠재력으로 인하여 앞으로도 처리법의 수요가 지속 될 것이다.

#### 4. 열처리에 따른 품목별 반응

식용할 수 없는 꽃들은 다른 작물처럼 화학적 잔존물의 제한을 받지 않는다. 한편 국제무역의 증가와 더불어 다른 대상물들과 마찬가지로 해충에 있어서 국제적인 제약을 받게 되었다. 현재 수확 후 처리기술은 손으로 제거하는 방법과 살충제에 침지하거나 훈증하는 방법, 생물학적 억제제, 열처리 등이 있다.

열수 침지 방법과 forced vapor heat법 모두 꽃에 있는 해충을 죽이기 위해 사용되어왔다. 꽃이나 잘린 잎에 대한 열처리는 42°C이하에서 몇 시간정도 처리하거나 46°C이상에서 몇 분간 처리 한다 (Animal and Plant Health Inspection Service, 1992). 붉은 생강에 있는 진딧물은 자체의 손상 없이 47°C의 수조에서 5분간 처리하면 사멸된다 (Hansen et al., 1991) Hara et al. (1993)는 bird of paradise flowers에 있는 magnolia white scale (*Pseudaulacaspis cockerelli* Cooley)은 49°C에서 10분간 처리 시 검역적으로는 안전하였으나 처리시간의 정



도에 따라 화병에서의 수명은 1일 또는 2일까지 감소되었다. 열수는 꽃과 잎, 뿌리에 있는 해충들에 대해 49℃에서 5-12분간 처리 시 방지효과를 갖는다 (Hara et al., 1997). 꽃들은 계절에 따라 열처리에 의한 손상이 쉽게 발생하며 열수처리가 이러한 계절별 차이를 제거하기 위하여 39℃의 열수에서 2-4시간 동안 예비 처리한다 (Hara et al., 1997).

열수 침지방법은 곰팡이병원균을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 40℃ 근처에서 몇 시간동안 열수로 처리하는 법은 병충해 방지를 위해 구근(bulb), 씨, 및 식물의 다른 부위에 적용되어왔다 (Gratwick and Southey, 1985). 50℃에서 30분 동안 침지한 장미는 *Botrytis cinerea* 방지에 효과적 이었다 (Elad and Volpin, 1991). *Botrytis*는 또한 절단된 부위에서 마름병을 야기시키며 온실의 묘상에 hot forced air를 간헐적으로 처리함으로써 질병 발생율을 감소시켰다 (hausbeck et al., 1996a,b).

Forced vapor heat는 전체적인 해충의 치사율에 요구되는 처리시간의 길이에 의해 비록 꽃병에서의 수명은 감소되지만 열대 꽃과 엽상(잎)에 있는 해충 등을 억제하는데 효과적이다 (Hansen et al., 1992). 과일 및 채소의 경우 식물조직에는 해를 주지 않으면서 해충이나 곰팡이 병원균을 박멸하기 위해서는 적절한 시간-온도 조건이 적용되고 있는 것과는 같이 꽃에 대해서도 같은 제한들이 적용된다. 과실이나 채소와는 달리 꽃병에서의 수명을 향상시킬 수 있는 열처리법에 대한 연구는 없었다.

## 6. 열처리와 과일의 후숙

대부분의 climacteric 과실의 숙성은 과육의 연화와 당과 산의 비율, 색의 변화, 호흡율과 에틸렌 생성의 증가에 의해 그 특성이 기술된다. 고온에 노출된 과실은 이러한 특성 중 몇 가지는 감소하고 다른 몇 가지는 증가한다. 숙성 시 일어나는 이러한 이례적인 현상은 열처리를 하지 않은 과실보다는 열처리한 과실에서 보다 확연히 나타나는 반면 20℃에서 저장동안 이들의 품질이 더 오랫동안 유지된다.

열처리에 의한 숙성 억제는 열이 숙성호르몬에 영향을 미치기 때문이라 생각되어진다. 35-40℃도의 열풍처리는 사과와 토마토에서 몇 시간 동안 에틸렌의 합성

을 억제한다 (Biggs et al., 1988; Klein, 1989). 비록 상승된 온도에서 과실을 오랫동안 방치하거나 온도를 더 상승시키는 것은 ACC를 억제하거나 (Klein, 1989; Atta Aly, 1992), 35-38°C의 온도는 에틸렌의 감소와 더불어 사과와 토마토조직에 endogenous ACC를 축적시킨다 (Yu et al., 1980; Atta Aly, 1992). 42-46°C의 열수에 몇 시간동안 침지한 과실에서 ACC oxidase activity 의 빠른 손실이 발생한다(Chan, 1986a,b; Dunlap et al., 1990; Paull and Chen, 1990). 이것은 우선적으로 효소합성의 중지와 ACC oxidase mRNA가 감소 때문이다 (Lurie et al., 1996b). 대부분의 연구에서는 ACC synthase는 열에 쉽게 변하나 ACC oxidase 보다 열에 덜 민감하다고 지적하고 있다 (Klein, 1989; Att Aly, 1992). 에틸렌 형성의 억제는 과실이 열처리에서 해제 되면 정상으로 회복되는데 (Field, 1984; Biggs et al., 1988; Dunlap et al., 1990; Paull and Chen, 1990; Chan, 1991) 종종 비열처리 과실에 비하여 에틸렌 상승정도가 훨씬 크다 (Klein and Lurie, 1990; Lurie and Klein, 1992b). 이러한 회복은 단백질 합성 (Biggs et al., 1988)을 요구하며 mRNA와 ACC oxidase의 단백질 모두가 38°C의 열풍 처리로부터 해제되는 동안 축적됨을 보였다 (Lurie et al., 1996b).

열처리동안 내부의 에틸렌 합성이 저해될 뿐만 아니라 외부의 에틸렌 생산도 저해된다 (Seymour et al., 1987; Yanfg et al., 1990). 이것은 에틸렌 수용체가 손실되거나 불활성 되고 또는 숙성을 유도하는 연속적인 시스템들에 대한 전이가 불활성 되었음을 나타낸다. 열에 대한 에틸렌 수용체의 반응에 대한 유용한 정보는 없다. 그러나 토마토 숙성 genes expression이 고온에 의해 억제되었음이 알려져 왔다 (Picton and Grierson, 1988). 숙성과정과 연관되어있는 특정 mRNAs는 38°C의 열풍을 처리동안 사라짐이 밝혀졌으며, 열처리 제거에 의해 다시 나타났다(Lurie et al., 1996b). 이것은 ACC oxidase, polygalacturonase, lycopene 합성과 연관이 있다.

38 또는 40°C 열풍 처리된 과실은 종종 비열처리 과실보다 느리게 연화된다. 비록 50°C에서 4시간동안 hot forced air 로 처리한 망고와 파파야는 처리 후 빠른 연화를 유도하지만 (Shellie and Mangan, 1994a) 열풍처리한 과실의 경도가 지속적인 유지되는 경향을 보인다. 자두(Tsuji et al., 1984), 배 (Manie et al., 1974), 아보카도(Eaks, 1978), 토마토 (Biggs et al., 1988)는 20°C보다 30 - 40°C사이의

온도에서 지속적으로 저장했을 때 연화가 느리게 진행된다. 열처리 된 과실의 연화율은 20℃로 옮겨졌을 때 증가되나 여전히 비열처리과실에 비하여 낮은 값을 보인다. 0℃에서 6개월간 저장하고 20℃에서 7일간 저장한 후 조차도 38℃에서 3-4일 동안 예비 저장한 사과는 비열처리 과실에 비하여 10N 더 단단하다 (Porritt and Lidster, 1978; Klein and Lurie, 1990; Klein et al., 1990; Sams et al., 1993; Conway et al., 1994). 저장 후 열풍으로 처리된 사과의 조직은 비열처리 과실과 질적·양적인 면에서 다른 양상을 보인다. Compression test를 사용한 Conway et al.(1994)는 열처리 된 과실이 더 단단함을 발견한 반면, Lurie and Nussinovich(1996)는 Instron compression 와 shearing measurements을 이용하여 열처리 사과가 비열처리 사과보다 아삭거림을 발견했다.

사과의 세포벽 연구에서는 비열처리 한 과실보다 4일 동안 38℃의 열풍에 노출시킨 사과가 불용성 펙틴이 많고 수용성 펙틴이 적음을 보고되었다. 이것은 uronic acid 분해가 억제되었음을 나타낸다(Klein et al., 1990; Ben-Shalom et al., 1993, 1996). 열처리 된 과실은 수용성 펙틴에 존재하는 칼슘의 양이 적고 세포벽에 보다 많이 존재하며 (Lurie and Klein, 1992a). 이것은 칼슘과 결합하고 있는 pectin esterase의 활성 때문이다. 그러나 열처리와 비열처리 과실 모두 비슷한 정도의 esterification을 나타낸다(Klein et al., 1995) 열처리 동안 arabinose 와 galactose 함량은 uronic acid 의 변화 없이 감소한다 (Ben-Shalom et al., 1993) 열처리동안 neutral suger의 side chains의 손실은 펙틴사슬구조를 강하게 하도록 유도하고 저장중과 저장 후에 효소에 의한 파괴를 방해한다.

연화율의 감소는 polygalacturonase같은 세포벽 분해효소(Chen et al., 1981; Yoshida et al., 1984; Lazan et al., 1989)와  $\alpha$ -와 $\beta$ -galactosidase (Sozzi et al., 1996)의 합성을 저해하기 때문이다. 토마토는 polygalacturonase 에 대한 mRNA 가 38℃에서 1-3일동안 열처리되면 과실 내에서 소실되며, 그리고 열처리 제거 시 다시 회복된다(Lurie et al., 1996b) 처리시간에 따라 열처리 된 토마토는 비열처리 토마토와 같은 정도로 연화되거나 (Lurie and Klein, 1992b). 열처리하지 않은 토마토에 비해 좀 더 단단해진다 (Mitcham and McDonald, 1992).

열처리는 과실의 flavor에도 영향을 준다. 38℃에서 3 또는 4일 동안 열처리된 사과의 산도는 감소하는 반면 수용성 고형물의 농도는 영향을 받지 않는다 (Liu,

1978; Porritt and Lidster, 1978; Klein and Lurie, 1990). 해충방지를 위해 41-46°C에서 1-2일간 hot forced air 처리한 넥타린(Lay-Yee and Rose, 1994)과 썩음방지를 위해 35, 45, 55°C에서 15분간 열수에 침지한 딸기(Garcia et al., 1995a)에서도 같은 양상을 보인다. 38°C에서 2-3일동안 열풍으로 열처리한 토마토(Lurie and Klein, 1991, 1992b; Lurie and Sabehat, 1997)와 43.5°C에서 4.5시간동안 forced hot air로 처리한 grapefruit (Miller and McDonald, 1992)의 산도와 수용성 고형물의 함량은 열에 의한 영향을 받지 않았다. 그러나 다른 연구에서는 토마토와 grapefruit의 산도가 감소하는 것으로 나타났다 (Dhallevin et al., 1994; Garcia et al., 1995b; Shellie and Mangan, 1996). 이렇게 별개의 결과가 나온 이유는 열처리조건의 차이나 과일 품종의 차이 때문이라 여겨진다.

일부 대상물에서는 열처리에 의해 당의 함량이 바람직한 방향으로 영향 받는다. 예로써, 머스크메론을 저온 저장하기 전에 45°C에서 3시간 동안 처리하면 저장 중 비열처리과실에서 일어나는 sucrose의 손실을 막을 수 있다 (Lingle et al., 1987). 과즙의 sucrose 함량은 저장 전에 30°C에서 공기에 방치함으로써 증가할 수 있다 (Bycroft et al., 1997). 이렇게 열처리된 과즙음료는 관능 패널들에 의해 좀 더 당도가 높은 것으로 식별되었다. 열처리된 토마토는 관능패널들의 평가결과 비열처리된 토마토와 차이가 없었으나 38°C에서 4일 동안 열처리된 Golden Delicious 사과를 비열처리 한 것보다 더 아삭거리고 더 달며 전체적으로 품질이 우수한 것으로 평가되었다 (Klein et al., 1997a). 이 경우 단맛은 당 함량의 증가보다는 산도의 감소 때문이었다.

휘발성 생성물 또한 42°C에서 60분 동안 열수에 침지하거나 38°C에서 2일 동안 열풍에 의한 열처리에 의해 영향을 받을 수 있다 (McDonald et al., 1996). 사과에 있는 휘발성 성분은 38°C의 열풍 처리동안 강화되고 처리직후 즉시 억제되며 그 후에 다시 회복된다 (Fallik et al., 1997). 비휘발성 성분도 변화된다. 숙성 초기단계(green stage)에서 열처리되고 숙성전 13°C에서 저장된 토마토는 숙성된 토마토 중 가장 휘발성 성분의 많다 (McDonald et al., 1996).

열처리는 사과의 degreening 율도 가속화 시킨다 (Liu, 1978; Klein et al., 1990). 사과 껍질과 바나나의 껍질, 토마토의 과피에 있는 chlorophyll함량은 35-40°C에서 열풍으로 처리할 동안 감소한다(Seymour et al., 1987; Lurie and Klein, 1990,

1991). 45℃의 열수에 침지하는 방법은 에호박을 45℃에서 30분 동안 forced vapor heat처리한 것과 같이 (Jacobi et al., 1996) 오이가 노란 빛을 띠게 유도할 수 있다 (Chan and Linse, 1989). 파파야의 과피와 과육의 색깔변화는 42℃의 열수에 30분간 침지한 후 49℃에서 90분간 침지에 의해 영향을 받지 않고 (Paull and Chen, 1990) 바나나의 degreening 을 자극하는 같은 열풍처리는 다른 종류의 바나나 degreening 에는 효과적이지 않았다 (Seymour et al., 1987). 43-55℃에서 10분까지 브로컬리를 열수에 침지하면 노랗게 변하는 것은 지연시킬 수 있다 (Forney, 1995; Tian et al., 1996, 1997). 다른 대상물의 반응차이는 색변화에 영향하기 위해 새로운 효소가 합성되어야만 하는지 아닌지를 나타낸다. 사과와 경우 chlorophyll 의 저하가 이미 존재하고 있는 carotenoids 의 노란빛을 드러낸다. 반면 다른 과실은 carotenoids의 합성을 요구한다. 예를 들면, 38℃ 이상의 열풍은 토마토에서 lycopene의 합성을 억제한다 (Cheng et al., 1988). Lycopene의 억제는 lycopene합성 효소에 대한 mRNA의 전사와 합성경로의 주요 효소가 열처리 제거 후 회복을 억제하기 때문이다 (Lurie et al., 1996b). 바나나의 경우 열처리동안 degreening 의 억제는 껍질에 있는 chlorophyll 보존의 결과를 가져오는 chlorophyll oxidase 효소의 결여 때문인 것으로 보인다 (Blackbourn et al., 1989).

호흡율은 35-40℃에서 처음 1 또는 2일 동안에는 증가되지만 (Lurie and Klein, 1990, 1991) 고온에서 장시간 일수록 그율은 감소한다 (Cheng et al., 1988; Inaba and Chachin, 1989; Lurie and Klein, 1991). 35℃에서 처리시간이 증가함에 따라 cyanide insensitive pathway로부터의 호흡 비율이 커진다 (Inaba and Chachin, 1989). 과실이 실온으로 돌아오면 종종 호흡은 비열처리한 과실보다 낮아진다 (Klein and Lurie, 1990). 온도와 노출시간에 좌우되는 열처리는 처리후 climacteric peak을 지연시키거나 앞당길 수 있을 뿐 아니라 이 peak을 증가 또는 감소시킬 수 있다 (Eaks, 1978; Klein and Lurie, 1990). 특정한 과실 및 채소의 반응은 수확 전 환경조건, 대상물의 생리학적 속도, 노출 시간과 온도, 대상물이 열처리로부터 저장까지 이동되는지 숙성온도까지 이동되는지, 열처리가 손상을 야기시키는지 등의 여러 요소들의 조합의 결과이다.

## 7. 내열성

열처리가 에틸렌 합성의 저해와 세포벽을 붕괴하는 효소 등과 같이 과실 숙성에서 변화를 일으키는 메커니즘은 gene expression과 단백질 합성의 변화와 관련이 있다. 고온처리동안 과실 숙성 gene의 mRNA는 사라지고 heat shock proteins (HSP)의 mRNA는 축적된다 (Picton and Grierson, 1988; Lurie et al., 1996b). 일반적으로 35°C 이상의 고온에 대한 즉각적인 반응은 polyribosomes의 해리와 부분적인 ribosomes들이 HSP의 mRNA를 우선적으로 전사시키는 polyribosomes의 재결합이다 (Ferguson et al., 1994). 이 반응은 mRNA의 감소없이 normal 단백질 합성을 저해하고 HSP합성을 촉진한다. HSP의 합성은 heat stress에 대한 모든 유기체의 반응의 일부이다 (Lindquist, 1986). 많은 유기체를 가지고 행해진 연구들은 치사량에 가까운 온도에 대한 노출이 치명적인 온도에 잠시 노출시킴으로써 유기체를 보호할 수 있는 내열성을 유도한다고 입증하고 있다. 내열성의 발달은 HSP의 합성과 연관되어 왔으며 HSP의 사라짐이 내열성의 손실과 관련이 있다 (Vierling, 1991). 또한 내열성의 발달은 단백질 합성에 좌우된다. 단백질 합성 저해제를 다루는 고추의 조직(disc)은 내열성을 나타내지 않았다 (Liu et al., 1996).

따라서, 열에 대한 가혹한 노출은 내열성 반응을 완화할 것이다. 내열성의 발달은 노출되는 온도에 좌우된다. 노출 온도는 HSP의 합성을 개시하기에 충분하나 HSP의 전사와 유전정보를 번역할 만큼 뜨겁지는 않다. 35-40°C의 온도가 대상물에 따라 효과적이라고 밝혀졌으며 42°C 이상에서는 HSP의 합성이 약해지고 대상물은 열 손상을 보다 많이 받을 것이다 (Ferguson et al., 1994).

해충 및 병원균을 사멸시키는 동안 고온의 heat stress로부터 대상물이 손상을 입는 것을 예방하기 위한 처리법을 개선시키기 위해 heat stress 매개체의 성질이 이용되어 왔다. 두 단계에 걸친 열수 침지법은 42°C에서 30분간 처리 후 49°C의 물에 침지하는 방법으로 과파야의 해충방지를 위해 진전되었다 (Couey and Hayes, 1986). 과파야의 내열성 유도는 Paull 등에 의해 연구보고 되었다 (Paull et al., 1986; Paull and Chen, 1990). 38-42°C에서 1시간동안 방치한 과실은 49°C에서 70분간 침지한 후 damage가 감소한다. 유사한 방법으로 46 또는 47°C의 열수에서 해충방지 전에 37 또는 39°C에서 한 conditioning은 아보카도와 망고에

대한 손상을 줄인다 (Joyce and Shorter, 1994; Jacobi et al., 1995a, b). 이러한 conditioning의 이점은 아보카도 (Woolf and Lay-Yee, 1997)와 오이 (Chan and Linse, 1989)에서도 밝혀졌다.

#### 8. 냉해에 대한 내성

HSP와 내열성의 상관관계는 많은 유기체에서 확립되었으나 최근 heat stress는 식물체가 저온에 내성을 갖도록 할 수 있다고 밝혀지고 있다. 저온에 노출하기 전에 38-42℃의 열수에서의 몇 시간 노출이 토마토 조직(discs)(Salveit, 1991)과 녹두의 배축 (Collins et al., 1993), 오이 잎과 씨 (Lafuente et al., 1991; Jennings and Saltveit, 1994)의 chilling sensitivity에 영향을 준다. 38℃의 공기로 2-3일간 토마토에 열처리 시 저온에 대한 sensitivity가 감소되었고 냉해없이 2℃에서 1개월까지도 저장되었다 (Lurie and Klein, 1991; Sabehat et al., 1996; Lurie and Sabehat, 1997). 저온 장애에 대한 내성은 HSP의 존재에 좌우됨이 발견되었다 (Lafuente et al., 1991; Sabehat et al., 1996). 아보카도 조직을 가지고 한 연구에서 최대의 HSP 생산은 38℃에서 4시간 후에 관찰되고 열처리가 냉해로부터 상당한 보호능력을 준다 (Florissen et al., 1996). 이러한 반응은 아보카도 (Woolf et al., 1995), citrus (Wild, 1993; Rodov et al., 1995; Schirra and Mulas, 1995a), 오이 (McCollum et al., 1995), 망고 (McCollum et al., 1993), 고추 (Mencarelli et al., 1993), 감 (Burmeister et al., 1997; Lay-Yee et al., 1997; Woolf et al., 1997), 애호박 (Wang, 1994)를 포함한 다른 여러 대상물들에서 발견되었다. 그러나 몇몇 경우에는 이 반응이 특정한 품종에서만 나타났다. 예로 Whitaker (1994)는 Rutgers tomato fruit에서는 이점이 없었다.

냉해에 대한 sensitivity를 줄이는데 열처리가 효과적인 다른 예는 냉해 없이 과일 병충해로부터 아보카도를 보호하기 위해 저온 격리와 더불어 38℃의 열풍으로 12-18시간 열처리하는 방법이다 (Sanxter et al., 1994; Nishijima et al., 1995). 열처리가 살균제적인 열수침지 방법으로 주어질 때 썩고 부패되는 것도 억제된다 (Jessup, 1991).

과실의 냉해에 대한 sensitivity의 감소는 단지 HSP의 존재 때문은 아니다. 냉해는 오래전부터 세포막 손상의 시발이라 생각되어왔고 (Lyons, 1973), 35-40℃의

열처리하는 세포막의 변형을 야기할 것이다. 고온(35-40℃)은 세포막의 누출을 증가시키나 (Inaba and Chachin, 1988; Lurie and Klein, 1990, 1991) heat stress 제거 시 세포조직은 회복되고 누출도 20℃에서 방치된 조직에서 발견되는 정도까지 회복 된다 (Lurie and Klein, 1990). 냉해에 대한 측정 인자로서 세포막의 누출(membrane leakage)을 이용한 Saltveit (1991)는 37℃에서 4시간 동안 conditioning한 토마토 조직의 누출은 조직이 냉해 온도에 저장되었을 때 감소했다. 사과 세포막의 지질 구성을 조사한 결과 38℃ 공기로 4일간 열처리하고 4개월 동안 0℃에서 저온 저장한 후 비열처리 사과보다 열처리 사과의 지방산의 불포화도가 높고 인지질도 많았다 (Lurie et al., 1995). 사과의 총 지방에 주목한 Whitaker et al. (1997)는 동일한 방법으로 열처리된 과실의 인지질 함량은 더 많지는 않았으나 지방산의 불포화도가 더 많다는 것을 발견하였다. 이는 conditioning 온도에 노출시킨 후 과실의 세포막이 더 유동적이고 conditioning된 과실과 채소 조직으로부터 무작위적인 누출이 낮음을 의미한다. 지질 구성에 대한 이러한 변화는 저장 전 38℃의 hot air로 2일간 또는 46-48℃의 물에 2-3분간 침지로 열처리한 토마토를 2℃에서 저장한 후에 또한 관찰되며 이는 열에 대한 잠깐의 노출이 저온에 대한 조직의 적응성을 이끌어내는 과정의 자극할 수 있다 (Lurie et al., 1997)

사과는 일반적으로 저온에 민감하지 않은 과실이라고 생각되고 있지만 표면의 물컹짐은 냉장장에 형태의 생리학적 저장 장애이다 (Bramlage and Meir, 1990). 이것이 껍질의 갈변을 야기시키는 산화과정이며, 사과왁스의 구성성분이  $\alpha$ -farnesene의 산화와 상관관계가 있다 (Huelin and Coggiola, 1970). 저장 전 38℃에서 3-4일간 열처리한 사과는 0℃에서 1개월 동안  $\alpha$ -farnesene 축적의 억제와 산화 생성물의 감소에 의해 저온장애가 억제 된다 (Lurie et al., 1990). 억제 효과는 부패나 물러지는 일 없이 3-4개월 동안 유지된다. (Lurie et al., 1990; Combrink et al., 1994)  $\alpha$ -farnesene의 전체적인 감소는 얇은 왁스 층과 열처리 후 왁스 표면의 구조변화 때문이다.

## 9. 열에 의한 손상

열처리가 대상물에 긍정적인 효과를 줄 수 있으나 조직의 손상을 발생시킬 위험



이 있다. 이에 따라 대상물에 손상을 주지 않으면서도 해충방지 및 미생물 제어를 하기 위해 다양한 처리법이 개발되고 있다. 열처리 시 손상은 내부적, 외부적으로 모두 발생 할 수 있다. 일반적으로 외부적인 것은 껍질의 갈변 (Kerbel et al., 1987; Klein and Lurie, 1992b; Shellie et al., 1993; Lay-Yee and Rose, 1994); Woolf and Laning, 1996), pitting ( Miller et al., 1988; Jacobi and Gowanlock, 1995), 에호박(Jacobi et al., 1996)이나 오이 (Chan and Linse, 1989) 같은 녹색채소의 yellowing을 의미한다. 열처리에 의한 조직의 손상은 썩는 현상이 증가 때문이다 (Jacobi and Wong, 1992; Jacobi et al., 1993; Lay-Yee and Rose, 1994). 내부적인 손상은 과육의 색이 나빠지거나, 비정상적인 연화, 내부 공동(cavity)의 발달, 비정상적인 전분분해와 같은 증상이다 (An and Paull, 1990; Jacobi and Wong, 1992; Mitchan and McDonald, 1993; Paull, 1995). 이에 더하여, 과실은 빠르게 연화될 수 있고 과육의 다른 부분이 연화되는 반면 일부는 단단히 남아있던 부위가 이례적으로 연화됨을 보일 수 있다 (Paull and Chen, 1990). 다른 과실의 경우 내부의 손상은 리찌와 복숭아의 과육이 검게 되는 현상도 포함한다 (Jacobi et al., 1993; Lay-Yee and Rose, 1994). 만약 과실과 채소가 열처리 후 저온에서 저장된다면 열에 의한 손상과 증상이 비슷한 냉해와 혼동될 수 있다.

#### 10. 열처리 기술의 경제성

해충 및 미생물제어를 위한 열처리 기술 및 방법은 대상 품목에 따라 다양하게 적용되어야함에 따라 경제성을 논하는 데에는 어려움이 있다. 열수 및 열풍처리 시스템은 일부 품목의 과일 처리를 위하여 여러 나라에서 적용되고 있다. 이러한 현장 실용화는 대상과일을 열처리하는 것이 경제성이 있음을 간접적으로 보여주는 사례이다.

망고의 전형적인 열처리 시스템을 보면 전체적으로 한꺼번에 8처리를 위해 각각 네 줄로 처리를 할 수 있게 두개의 탱크 설비를 갖추고 있다. 과실의 크기에 따라 처리시간은 70에서 90분으로 범위이며 처리 후 대상물은 대략 46℃이다. 냉각 시간은 대상물의 온도가 원래의 실온( 26-27℃)으로 돌아가게 하기 위해 35와 45분 사이가 요구된다. 두개의 처리탱크와 4줄 시스템을 갖추고 90분간 열 처리시

한 처리 batch가 약 900kg되고 전체적으로는 약 3200-3600 kg/h된다. 따라서 하루에 8시간 안에 생산량은 25,600kg이 되고, 1일당 12시간 가동 시 45,500kg이 된다.

대안적인 controlled atmosphere temperate treatment (CATT) 시스템은 forced hot air를 이용하며 (Black, US; Nevens, US). 시스템에 의해 측정되는 매개변수는 온도와 이슬점, 공기의 유속, 산소와 이산화탄소가 포함한다. 서미스터는 과실의 중심 온도를 측정하기 위해 사용되며 온도는  $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 를 넘지 않도록 조절한다. 처리 시  $40^{\circ}\text{C}$ 까지 가열시킨  $20^{\circ}\text{C}$ 의 대상농산물은 28 kilowatt/ hr/ton로 전력이 공급되며 냉각 시에도 같은 양의 전력이 공급된다. 10과 20ton chamber에 대한 사과와 배의 처리 시간은 최종온도가  $46^{\circ}\text{C}$ 에 이를 때 까지  $12^{\circ}\text{C/hr}$ 의 가열속도로 3시간 처리한다. 총 처리 시간은 loading time과 unloading time, purge time을 포함시키면 4시간이 된다. 따라서 12시간 작업 시에는 세 번의 처리가, 24시간 작업 시에는 6번의 처리가 가능하다. CA는 진공에 의한 제거와 질소의 발생, 액상  $\text{CO}_2$ 에 의해 조절된다.

최근 열처리 기술로 (US; Tang et al., 2000)로 Hot water와 hot air처리의 한계를 라디오 주파수(RF)에 의해 극복하는 새로운 열처리기술이 연구되고 있다. 이 기술은 가열처리 시 준비단계의 시간을 줄이고 고온과 단시간에 지속적으로 처리하는데 적합하다. 한 예로  $54^{\circ}\text{C}$ 에서 몇 분간 처리로 코들링 나방(사과, 배를 파먹는 나방의 일종)을 효과적으로 사멸시킬 수 있으며  $44^{\circ}\text{C}$ 에서 좀 더 긴 시간 처리하는 것보다 대상물에 손상을 덜 준다. 과실과 해충의 유전적 성질은 최상의 라디오 주파수와 가열처리 형태의 선택에 중요한 인자가 된다. 이런 형태의 열처리법의 이점은 온라인으로 지속적인 처리를 가능하며 매우 열처리시간이 짧다는 점이다.

## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절 실험 재료 및 방법

#### 1. 사과와 열처리조건 및 영향조사

##### 가. 사과 시료

경북 거창에서 2002년-2005년 생산된 후지 품종과 쓰가루 품종의 사과를 구입하여 처리 전까지의 품질변화를 억제하고자  $0.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 유지되는 저온저장고(KUC-SO50L, Kyungdong Co., Korea,  $80\pm 5\%$  RH)에 보관하면서 필요시 선별 후 사용하였다.

##### 나. 사과와 열처리 임계 온도 조사

#### 1) 열처리 온도에 따른 사과 표면의 현상학적 특성

계획된 온도 범위 45, 50, 55 및  $65^{\circ}\text{C}$ 에서 각 처리 당 10개의 사과에 가장 붉은 부위와 가장 노란 부위를 표시한 후, 처리전과 처리 후 색차를 비교하였다. 과피 색은 색차계(CR 200, Minolta Co., Japan)로 측정하여 과피의 변색 정도를 나타내었다.

#### 2) 열처리 온도에 따른 사과 내부의 현상학적, 생리적 특성 분석

##### ○ 에틸렌, 탄산가스 및 산소가스 농도 측정

사과 내부의 탄산가스, 산소가스 및 에틸렌가스 농도 측정을 위하여 Gas tight syringe(MR-GT, SGE Co., Australia)를 대기 중에서 사과의 꽃받침으로부터 중심 공극까지 삽입한 후, 이를 수증기로 옮겨 내부공기를  $200\ \mu\text{L}$  취하였다. 채취한 내부 공기는 Fallik 등의 방법을 변형하여 측정하였는데, 탄산가스와 산소가스 측정을 위한 GC (GC-14A, Shimadzu, Japan)의 분석조건은 column: CRT-I(Alltech Co. USA), detector: TCD, column temp.:  $35^{\circ}\text{C}$ , detector temp.:  $60^{\circ}\text{C}$ , carrier gas: He( $50\ \text{mL}/\text{min}$ )이었고, 에틸렌 측정을 위한 GC(HP5890, HP Co., USA)의 분석조건은 column: HP-PLOT 5(HP Co., USA), detector: FID,

column temp.: 170°C, detector temp.: 210°C, carrier gas : He(10 mL/min) 이었다. 산소, 탄산가스 및 에틸렌 가스의 정량은 각 표준가스를 이용하여 정량 곡선을 작성하고 이를 기준으로 농도를 산출하였다.

### 3) 사과 열처리 온도 조사

열처리 임계 조건은 사과를 각 조건에서 열처리한 직후 및 처리 후 1개월 저장 시까지 사과 과피에서 갈변이 발생치 않는 점으로 설정하였다.

사과를 설정온도 $\pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지되는 항온조 (Water bath DW 101, 도성과학)에 전체가 잠기도록 담근 후 40, 45, 50, 55, 60 및 65°C에서 일정시간 간격별로 처리하였다. 40°C에서 처리시간은 60, 120, 180 및 240분이었고 45°C에서는 30, 60, 90 및 120분, 50°C에서는 5, 15, 25, 35 및 45분이었다. 55°C에서 처리시간은 1, 3, 5 및 7분, 60°C에서는 1, 2, 3 및 4분, 65°C에서는 10, 20, 30, 40 및 50초였다. 각각의 조건에서 처리한 사과는 상온에서 1시간 건조시키고 남은 물기를 닦아 낸 다음, 지름 5 mm 크기의 구멍이 5 cm간격으로 난 폴리에틸렌 지퍼 백에 담아 0.0 $\pm$ 0.5°C 저온저장고에 보관하면서 외관 조사에 사용하였다. 외관검사 시 과피의 갈변 발생유무는 5명의 평가원에 의해서 육안으로 판정하였으며 대조구로는 열처리하지 않은 사과를 사용하였다.

### 다. 열처리 조건에서의 품질변화

앞의 실험에서 설정된 열처리 조건에서 사과를 열처리 한 후 이를 저장하면서 품질의 상태를 조사하였다. 각각 40, 45, 50, 55, 60, 65°C $\pm 1$ 로 유지되는 항온조 (Water bath DW 101, 도성과학)에서 일정시간으로 처리된 사과는 저장 60일까지 0°C $\pm 2$  항온실에 보관하였다.

### 1) 중량감소 및 과피 색 측정

중량 감소율은 처리 전 초기 값에 대한 중량에서 처리 후 각 저장 시기별 측정 중량을 뺀 초기 값에 대한 백분율(%)로 나타내었다. 과피 색은 각 처리 당 10개의 사과에 가장 붉은 부위와 가장 노란 부위를 표시한 후, 저장 60일까지 과피의 변색 정도를 측정하였다.

## 2) 과피의 경도

사과의 과피로 부터 1.5cm× 1.5cm× 1.5cm로 절단한 사과를 Texture Analyzer(TA-10, Stable Micro Systems Ltd.)로 분석하였다. 분석 조건은 2.5 mm/s의 속도였으며, probe는 3mm 직경인 stainless steel probe, Load cell은 25kg이었다. 과피의 경도는 first bite의 maximum peak인 hardness로 나타내었다.

## 3) 항산화 활성도 측정

사과의 과육과 과피를 분리한 뒤, 과육 50g, 과피 15g에 메탄올을 가하여 Blender(Jam-505, 제우전자)로 과육은 1분, 과피는 2분정도 분쇄한 뒤, 상온에서 12시간 추출하고 각각 250ml과 100ml로 정용하여 Whatman No.1.으로 여과하였다. 이는 다시 0.45 $\mu$ m의 syringe filter로 여과하여 측정시료로 사용하였다. 항산화 활성도는 시료 200 $\mu$ l에 0.5mM-DPPH 1ml을 가하여 10초간 진탕하고, 10분간 반응 후에 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 4) 사과 과육과 과피의 Free phenol함량 분석

사과의 과육과 과피를 분리한 뒤, 과육 50g, 과피 15g에 메탄올을 가하여 Blender (Jam-505, 제우전자)로 과육은 1분, 과피는 2분정도 분쇄한 뒤, 상온에서 12시간 추출하고 각각 250ml과 100ml로 정용하여 Whatman No.1.으로 여과하였다. 이는 다시 0.45 $\mu$ m의 syringe filter로 여과하여 측정시료로 사용하였다. Free phenol의 함량 분석은 시료 100 $\mu$ l를 메탄올 900 $\mu$ l로 희석한 뒤, Folin-Ciocalteu's 용액 500 $\mu$ l, 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 2.5ml를 혼합하여 원심분리하고 상온에서 20분 방치한 뒤, 735nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 5) 사과 과육과 과피의 Bound phenol함량 분석

사과의 과육과 과피를 분리한 뒤, 과육 50g, 과피 15g에 1%HCl-메탄올을 가하여 Blender (Jam-505, 제우전자)로 과육은 1분, 과피는 2분정도 분쇄한 뒤, 82℃에서 환류추출하고 각각 250ml과 100ml로 정용하여 Whatman No.1.으로 여과하였다. 이는 다시 0.45 $\mu$ m의 syringe filter로 여과하여 측정시료로 사용하였다. Bound

phenol의 함량 분은 시료 100 $\mu$ l를 1%HCl-메탄올 900 $\mu$ l로 희석한 뒤, Folin-Ciocalteu's 용액 500 $\mu$ l, 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 2.5ml를 혼합하여 원심분리하고 상온에서 20분 방치한 뒤, 735nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 6) 기타 성분 분석

열처리에 따른 사과와 배의 적정 산도, pH 및 가용성 고형분 함량 변화를 측정하였다. 분석시료는 경도를 측정하고 남은 나머지 사과 절편을 mixer (Jam-505, 제우전자)로 마쇄한 후 일정량을 취해 사용하였다. 적정산도는 시료 10 g을 증류수 20g 으로 희석한 액에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.2가 될 때까지 소비된 양을 malic acid로 환산하여 나타내었다. 가용성 고형분 함량은 굴절 당도계 (PR-32, Atago Co., Japan)로 측정하여 °Brix로 나타내었고, pH는 pH meter(MP-220, Metler Toledo Co., Switzerland)로 측정하였는데, 각 항목의 값은 3회 반복 측정치의 평균값으로 나타내었다.

## 2. 열처리에 따른 생리변화

### 가. 실험재료 및 제조

저장사과를 열처리 했을 경우 품질에 미치는 변화를 보기위해 경북에서 수확한 후지사과를 약 4개월 냉장 저장한 것을 대형할인마트에서 구입하여 사용하였으며 45°C에서 30분간 침지시킨 다음 풍건한 후 4°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 또한 사과와 품종을 달리하였을 때 열처리가 미치는 영향을 보기위해 조생종인 쓰가루 사과와 후지 사과를 실험에 사용하였다. 쓰가루 사과의 경우에는 경북 영주에서 수확한 사과를 후지사과의 경우에는 2003년 경북 안동에서 수확한 사과를 각각 대형할인시장에서 냉장 저장하지 않은 상태의 신선한 상태의 사과를 구입하여 사용하였으며 쓰가루 사과의 경우 45°C에서 3시간, 45°C에서 5시간, 60°C에서 1분간 침지시킨 다음 풍건한 후 4°C에서 저장하면서 실험에 사용하였고 후지사과의 경우 45°C에서 30분, 45°C 90분, 60°C 1분간 침지시킨 다음 풍건한 후 4°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다.

주관기관에서 설정한 최적열처리 조건에서 일어나는 변화를 보기위해 실험에 사용한 사과는 대구에서 수확한 후 약 6개월 냉장 저장한 후지사과를 할인마트

에서 구입하여 사용하였다. 사과를 45°C, 30 min 침지하여 heat treatment 한 후 slice하여 시간별로 방치한 후 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

#### 나. 실험방법

##### 1) 열처리한 사과의 기능성 물질의 변화

##### ○ 기능성분 분석을 위한 추출액의 제조

열처리한 사과의 여러 가지 기능성 물질 중 total phenolic compound, 항산화력, ACE 저해능력, 아질산염 소거 능력을 측정하기 위한 추출액은 Fig. 3-1-1과 같은 방법으로 제조하여 실험에 사용하였다.

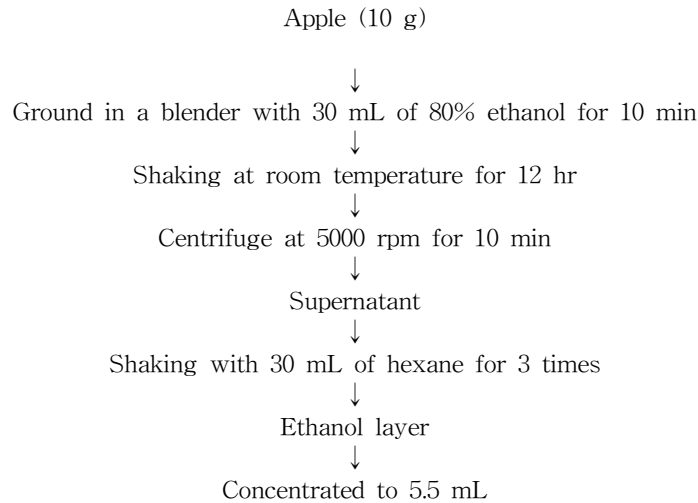


Fig. 3-1-1. Extraction of phenolic compounds from apple.

##### ○ Total phenolic compounds

Total phenolic compound는 Fig. 3-1-1의 방법에 의해 제조된 사과 추출액 100  $\mu\text{L}$ 에 증류수 900  $\mu\text{L}$ , 2 N Folin-Ciocalteau reagent 500  $\mu\text{L}$ , 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2.5 mL를 넣어 혼합한 후 원심 분리하여 염을 제거한 다음 25°C에서 20분간 incubation시킨 후 735 nm에서 흡광도를 측정하였다.

##### ○ 항산화력측정

Fig. 3-1-1의 방법에 의해 제조된 사과 추출액 200  $\mu\text{L}$ 와 100 mM Tris-HCl

buffer (pH 7.4) 800  $\mu$ L를 혼합한 후 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 1 mL를 넣어 최종 농도가 0.25 mM이 되도록 하였다. 이 반응액을 vortexing 시킨 다음 암소에서 20분간 정치시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### ○ Angiotensin I -converting enzyme (ACE) 저해능측정

ACE 저해활성은 Cushman와 Cheung의 방법을 변형하여 실험하였다. 사과 추출액 50  $\mu$ L에 300 mM NaCl을 함유한 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 100  $\mu$ L를 넣은 반응액에 기질인 5 mM Hippuryl-Histidyl-Leucine 50  $\mu$ L를 넣고 37°C에서 10분간 pre-incubation 시킨 후 ACE 조효소액 100  $\mu$ L 을 넣어 37°C에서 30분간 incubation 시킨 다음 1 M HCl 200  $\mu$ L를 넣어 반응을 정지시킨 후 ethyl acetate 2 mL를 넣어 15초간 vortexing하였다. Vortexing한 액을 1,000 rpm에서 5분간 centrifuge한 후 ethyl acetate층을 1.5 mL 취하여 끓는 물에 증탕으로 휘발시킨 후 1N NaCl 1 mL를 넣고 vortexing하여 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### ○ 아질산염 소거 능력

아질산염 소거능력은 Gray 등의 방법을 이용하여 실험하였다. 사과 추출액 500  $\mu$ L와 1 mM NaNO<sub>2</sub> 1 mL를 넣은 반응액에 0.1 N HCl 8.8 mL를 넣어 37°C에서 1시간 반응을 시킨 후 반응액 1 mL에 2% acetic acid 4 mL를 넣어 반응을 중지시킨 후 Griess reagent 400  $\mu$ L를 넣어 실온에서 15분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2) 열처리에 의한 대사변화 조사

#### ○ 산도 변화

산도를 측정하기 위하여 mixer를 이용하여 사과 착즙액을 얻은 후 0.1N NaOH로 중화 적정하여 NaOH 소비량을 사과산으로 환산하여 나타내었다.



○ 유리당 변화

유리당 측정은 Somogyi-Nelson method를 이용하여 640 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 포도당을 사용하였으며 유리당은 glucose equivalent로 나타내었다.

○ PAL(phenylalanine ammonia lyase) 활성변화

열처리한 사과에 PAL의 변화를 알아보기 위하여 조효소액은 Fig. 3-1-2와 같은 방법으로 제조하여 실험에 사용하였다.

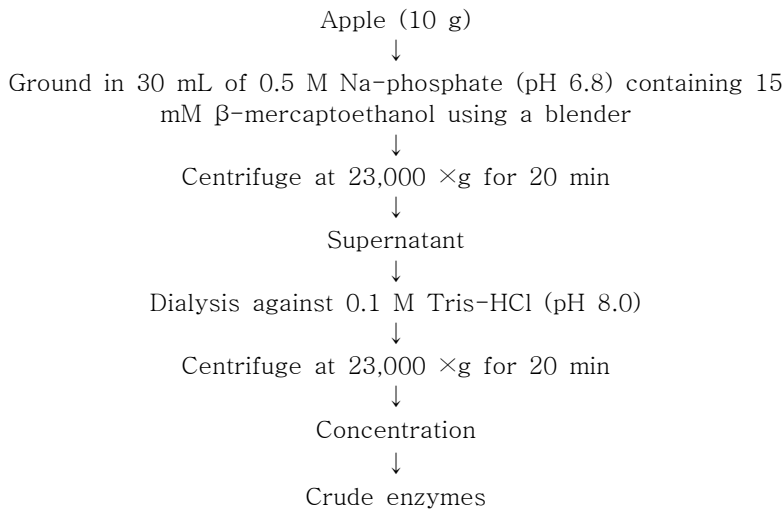


Fig. 3-1-2. Preparation of crude enzyme solution from apple.

PAL활성은 다음의 방법을 사용하였다. 열처리 한 사과에서 추출된 효소액 1 mL에 0.05 M Sodium borate (pH 8) 2mL를 가한 후 0.01 M phenylalanine 1 mL를 넣어 37 °C에서 3시간 반응시킨 후 6 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 이에 생성된 cinamic acid를 ethyl ether 5 mL를 가하여 혼합한 후 ether layer에 옮겨서 추출을 하였으며 0.05 M NaOH 4 mL에 용해하여 268 nm에서 흡광도를 측정하였다.

○ 열처리가 갈변에 미치는 영향조사

여러 가지 stress조건하에서 갈변원인 효소인 polyphenoloxidase의 발현은 증가

하는 경향을 보인다. 그러므로 열처리가 갈변에 영향을 끼치는지를 보기 위해 사과를 45°C, 30min 동안 heat treatment 한 후 풍건한 다음 slice하였다. Heat treatment 전, 직후 (0 hr), 1 hr 후, 5 day 후 Hunter values를 측정하였고 각각의 sample마다 cutting 직후, 1 hr 후, 3 hr 후, 6 hr 후, 24 hr 후 Hunter values를 측정하였다.

○ 열처리 후 시간에 따른 Heat-shock protein 등 단백질 발현 변화

• SDS-PAGE

열처리한 사과에서 시간에 따른 heat-shock protein를 비롯한 단백질 발현 변화를 보기 위하여 실시한 SDS-PAGE는 Laemmli의 방법에 따라 12.5% running gel과 5% stacking gel을 제조하여 실시하였으며 SDS-PAGE를 실시한 후 silver staining 하였다. Molecular mass를 측정하기 위하여 bovine  $\alpha$ -lactalbumin (14.4 kDa), soybean trypsin inhibitor (20.5 kDa), carbonic anhydrase (30 kDa), ovalbumin (45 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), phosphorylase b (97.4 kDa)를 표준물질로 하여 실시하였다.

• Heat-shock protein의 Western blotting analysis

열처리한 사과에서 시간에 따른 heat-shock protein의 변화를 보기 위하여 heat-shock protein 중에서 많이 연구되고 생명체 간에 conserved 되어 있다고 알려진 HSP70에 대한 antibody를 구입하여 이를 primary antibody로 이용하여 Western blotting analysis를 Ham 등의 방법에 따라 시도하였다. 45°C에서 30분 열처리한 사과에서 조단백질을 시간에 따라 제조하여 조단백질을 nitrocellulose membrane (0.2  $\mu$ m pore size)에 Bio-Rad Immuno-Blot kit의 cassette를 이용하여 transfer하였다. Transfer 후 Blocking은 5% Bovine serum albumin 용액에서 30 min 동안 실시하였고 primary antibody는 Monoclonal anti-heat shock protein 70 (HSP 70) clone BRM-22(Sigma.USA) 1000배 희석 용액을 사용하고 Secondary antibody는 Anti-mouse IgG (whole molecule) alkaline phosphatase conjugated (Sigma.USA) 2000배 희석 용액을 사용하였다. 발색은 alkaline phosphatase를 이용한 NBT/BCIP developing system을 사용하여 확인하였다.

- $\beta$ -1,3-glucanase activity 활성

$\beta$ -1,3-glucanase는 식물이 여러 스트레스 조건에서 발현을 증가시키는 단백질로 잘 알려져있다.  $\beta$ -1,3-glucanase는 식물에서 병에 대한 저항성을 증가시켜주는 방어단백질로 많이 연구되어있다. 열처리 후 저장성이 증가된 이유가 열처리와 같은 스트레스에 의해  $\beta$ -1,3-glucanase활성이 증가되었기 때문인가 하여  $\beta$ -1,3-glucanase활성을 조사하였다. 방법은 Ham의 방법을 따랐다. 열처리 후  $\beta$ -1,3-glucanase효소액의  $\beta$ -1,3-glucanase activity를 측정하기 위한 효소의 기질은 laminarin[1 mg/ml in 50 mM sodium acetate (pH 5.2)]을 사용하였다. 기질 용액 0.5 ml에 효소액을 첨가하여 37°C, 30 min 반응한 후 유리된 환원당을 Somogyi-Nelson법으로 측정하였다.

### 3. 열처리에 의한 병·해충제어효과 실험

가. 저장 중인 사과의 부패에 관여하는 부패 미생물의 동정과 특징

#### 1) 저장 중인 사과의 부패율 조사

수확 후 저온 저장고에서 저장 중인 사과를 수집하여 사과의 부패율과 부패에 관여하는 병원균의 종류를 조사하였다. 공시 사과는 대전 농산물 도매 시장의 저온 저장고 (5°C)에 저장 중인 사과 (품종: 후지)를 3-4상자씩 구입하여 시료로 하였다.

#### 2) 부패 미생물의 분리

저장고에 저장중인 사과의 병든 시료를 수집하여 병반부로부터 병원균을 분리하였다. 사과에서 병원균의 분리는 수침 상 또는 갈색인 병반을 습실 처리하여 병반부에 발생한 균사와 포자를 멸균수에 현탁하거나, 자연병반에 발생한 균사와 포자를 멸균수에 현탁하여 항생제를 첨가한 water agar 배지에 약 100 $\mu$ l의 현탁액을 도말하여 단 콜로니 분리를 실시하였다. 분리한 균주들은 CYA(czapeck yeast extract agar), MEA(malt extract agar), G25N(25% glycerol nitrate agar) 배지에 접종하여 5, 25, 37°C 배양기에서 암상태로 7일간 배양한 후 균총의 특징 및 형태적인 특성을 조사하였다.

### 3) 부패미생물의 배양적 특징 조사

분리한 *Penicillium* 균주들의 배양적 특징을 조사하기 위하여, CYA(czapek yeast extract agar)에 접종하여 5, 25, 37℃ 배양기에서 암상태로 7일간 배양하였으며, MEA(malt extract agar)와 G25N(25% glycerol nitrate agar)에 접종하여 25℃ 배양기에서 암상태로 7일간 배양하여 균총의 형태, 색소의 형성, 냄새, 성장속도 등을 조사하였다.

### 4) 부패미생물의 형태적 특징 조사

현미경적 특징을 조사하기 위하여 분리한 *Penicillium* 균주들을 CYA 배지에 접종하여 25℃ 배양기에서 암상태로 7일간 배양하였으며 공시균주들의 분생자경의 구조와 phialide, metulae, ramuli, stipe 및 분생포자의 크기를 복합현미경으로 관찰하였다.

### 5) 부패미생물의 병원성 조사

병원성 검정에는 사과에서 분리한 *Penicillium aurantigriseum*, *P. expansum*, *P. solitum*, *P. crustosum*, *P. spinulosum* 균주를 이용하였다.

공시균주는 PDA에 접종하여 25℃ 배양기에서 암상태로 7일간 배양 후 형성된 분생포자를  $10^5$  spores/ml의 농도로 포자현탁액을 만들었다. 실험에 이용한 사과는 흐르는 물에 세척하여 건조시킨 후 70% 에탄올로 표면소독 하여 과일 당 4곳에 직경 7mm, 깊이 2mm의 상처를 내어 실험에 이용하였다. 분생포자 현탁액  $20\mu\text{l}$ 를 각 과일의 상처에 점 접종하여, 20℃, 상대습도 95%의 항온 항습기에 넣어 5일 후 병반의 형성유무와 병반의 직경을 조사하고, 각 *Penicillium*에 의한 병징의 특징을 관찰하였다. 병원성 조사는 균주 당 5개의 과일에 3반복으로 실시하였다.

## 나. 사과 오염 부패 미생물의 제어를 위한 임계 열처리 온도 조사

### 1) 균 분리

사과 부패 원인 미생물인 *Penicillium expansum* (푸른곰팡이병균)과 *Botrytis cinerea* (젓빛곰팡이병균)를 부패한 사과에서 분리하였다.

## 2) 균 배양 및 포자 현탁액 조제

*P. expansum* 과 *B. cinerea*를 각각 CYA와 V-8 juice agar배지에 접종하여 NUV광이 12시간씩/1일 조사되는 25℃와 20℃의 항온기에서 10일간 배양한 후 균총에 형성된 분생포자를 모아 분생포자 현탁액(포자농도 10<sup>6</sup>/ml)을 조제하였다.

## 3) 열수 처리 및 조사 방법

*P. expansum*과 *B. cinerea*의 분생포자 현탁액을 Effendorp tube에 1.0ml씩 넣고 이 tube를 40-65℃의 수조에 일정시간 침지한 후 꺼내어 PDA 배지에 streaking 한 후 분생포자의 발아율을 1일, 2일 및 5일 후에 조사하였다.

## 다. 사과 열수처리에 따른 사과 부패병 억제 효과

부패 미생물이 오염된 사과의 열처리 방법(40~65℃)에 따른 부패 방제 효과를 분석하였다. 사과 표면에 상처를 준 후 푸른곰팡이병균 (*P. expansum*), 잿빛곰팡이병균 (*B. cinerea*) 및 겹무늬썩음병균 (*Botryosphaeria dothidea*)을 인공적으로 접종하였다. 푸른곰팡이병균 및 잿빛곰팡이병균의 분생포자 현탁액(포자농도 10<sup>6</sup>/ml)을 사과 상처 부위에 20ml씩 접종하였다. 겹무늬썩음병균을 균총 접종을 하였다. 접종한 사과는 25℃ 습실에 24시간 두어 감염을 유도한 후, 40-60℃의 온도 범위에서 열수 처리한 후 상온에 8일간 두면서 부패병 발생 및 진전 상황을 조사하였다.

## 라. 저온 저장 사과의 충과 식흔 조사

시중에 판매되는 저온 저장 사과를 대전의 농수산물시장과 시중의 유통시장에서 6상자씩 수집하여 상자 안의 사과에 존재하는 충과 충에 의한 식흔을 3차례 조사했다.

## 마. 사과의 열수 처리에 의한 해충류 사멸 임계 온도

### 1) 온도별, 시간별 사과 열수 처리에 의한 응애의 생존율 조사

열수처리에 의한 응애의 생존율을 조사하기 위하여 응애를 사과에 각 100마리씩

접종한 후 1시간동안 정착하기를 기다린 후에 각각의 온도(40, 45, 50, 55, 60, 65℃)에 맞는 물에 각각 1분, 3분, 5분, 10분, 30분(55℃ 이상에서는 10초추가)을 담가놓고 꺼낸 후에 응애의 생존을 확인하였다.

2) 온도별, 시간별 열수 처리에 의한 진딧물의 생존을  
사과의 열수 처리 방법은 상기의 응애의 방법과 같다.

3) 온도별, 시간별 열수 처리에 의한 파밤나방 유충의 생존을  
사과의 열수 처리 방법은 상기의 응애의 방법과 같다.

바. 온도별 열풍 처리에 의한 해충의 생존율

1) 온도별, 시간별 사과 열풍 처리에 의한 응애의 생존율 조사  
응애를 사과에 각 100마리씩 접종한 후 1시간동안 정착하기를 기다린 후에 40~50℃의 드라이오븐에 넣어 두고 시간별 사망개체수를 조사하여 생존율을 조사하였다.

2) 온도별 열풍처리에 의한 진딧물의 생존율  
상기의 응애의 방법과 같다

#### 4. 열처리 방법 연구 및 효과연구

가. 열처리시 열처리 매체, 온도 및 시간과 품온 상승 속도 분석  
물을 열매체로한 열수 처리 실험에서는 사과를 설정온도 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 로 유지되는 항온조(DW101, 도성과학)에 전체가 잠기도록 담근 후 40, 45, 50, 55, 60 및 65℃의 온도 범위를 적용하였다. 공기를 열매체로 한 실험에서는 40, 45 및 50℃의 온도 범위를 적용하였다.

나. 열처리 후 냉각 방법에 따른 효과비교

냉각방법으로는 냉수냉각, 냉공기 냉각방법을 사용하고 냉각 최종온도는 0℃이었다. 냉수냉각은 침지식율, 냉공기냉각은 대류식을 적용하였다.

## 5. 열처리 속도 증진 방법 조사

### 가. 습식 열처리시 열매체의 진동처리 효과 조사

열매체의 순환 및 진동 처리가 단순 열처리와 비교하여 열처리 속도 및 중량감소, 과피색, 관능적 품질, 미생물 제어에 미치는 영향을 조사하였다.

각각 단순 열수 처리는 항온조 (DW101, 도성과학), 순환 열수 처리는 circulator (DC1, HAAKE), 진동 열수처리는 Sonicator (RK 510H, Bandelin)를 이용하여 처리하였으며, 처리 된 사과는  $0\pm 2^{\circ}\text{C}$  항온실에 보관하면서 저장 30일까지 실험에 사용하였다.

나. 건식 열처리 시 열매체의 순환처리 효과 분석 공기를 매체로 한 건식 열처리 시 열전달 매체의 흐름을 개선하여 줌으로서 열전달 속도를 향상시키고자 가열 공기의 순환처리 효과를 분석하였다. 열처리는  $40^{\circ}\text{C}$ 로 고정된 방에서 대류의 흐름이 없는 단순 열처리와 대류의 흐름이 있는 순환 열처리로 하였다. 처리 된 사과는  $0\pm 2^{\circ}\text{C}$  항온실에 보관하면서 저장 30일까지 실험에 사용하였다.

### 다. Hot water shower와 brushing처리

각각  $40, 45, 50, 55, 60, 65^{\circ}\text{C} \pm 1$ 로 유지되는 항온조 (Water bath DW101)에서 일정시간 처리된 사과는 처리 직후 미생물 측정에 사용하였다. 브러쉬 처리는 열처리 중의 사과에 멸균된 브러쉬로 꼭지와 받침에 각각 20초간 처리하여 미생물 측정에 사용하였다. 또한, 대조구로는 20초간 브러쉬한 처리(B)와 물에 20초간 담금처리하면서 브러쉬한 경우(WB)이었다. 처리효과의 분석항목은 총균수와 곰팡이이었으며 실험방법은 세부 1의 방법을 준용하였다.

### 라. 처리시 순간 고전압 처리 효과 조사

열처리시 열매체에 순간적으로 고전압을 처리하였을 때 오염 미생물 및 사과의 품질에 미치는 영향을 조사하였다. 정지된 물에 5초간 담근 사과를 High frequency generator(Model BD-20, U.S.A)를 이용하여 사과의 꼭지와 꽃받침에 각각 30초, 1분, 2분씩 처리한 뒤, 각 부위의 총균수와 곰팡이수를 측정하였다.

마. 열처리 후 표면 응축 수분제거 방법 연구

고압의 공기를 이용한 열처리 후 표면의 응축 수분 제거 방법을 조사하였다.

고압 공기 처리는 충분한 시간 물에 담근 사과를 고압 공기 4kg과 6kg으로 표면 수분을 제거한 후 제거 전 사과의 무게와 비교하여 그 차이를 제거율로 나타내었다.

바. 열매체의 열전달 속도 측정

Thermo meter(TR-52, Japan)를 이용하여 사과의 과심과 과육 내부에 열전달 속도를 측정하였다.

6. 열처리 효과 증진방법 조사

가. 열처리시 칼슘첨가 효과 조사

염화칼슘용액처리에 따른 사과 조직내 칼슘함량축적 정도를 조사하였고 처리 후 저장 중 품질을 비교하였다.

Treatment
무처리구
3% CaCl <sub>2</sub> 용액(상온)에 20분 동안 담금 처리
3% CaCl <sub>2</sub> 용액(45℃)에 20분 동안 담금 처리

위 처리구들을 처리 후 2일 동안 5℃에서 방치한 다음, 과피를 얇게 제거하여 과육 부분을 AA분석 시료로 사용하였다.

칼슘처리가 저장 중 품질에 미치는 영향 연구로 위의 처리구와 열처리구를 0℃ 항온실에 저장하면서 호흡률 및 에틸렌 생성율, 중량감소 및 과피색, 과육 갈변도, 경도, 적정 산도, pH, 가용성 고형분 분석 시료로 사용하였다.

나. 미립 소자를 이용한 사과의 세척

열수 처리와 브러쉬 처리 외에 미립 소자를 이용한 세척 효과를 조사하였다. 적용한 미립소자로는 Cellite, Zeolite, Baking soda 등이었으며 처리에 따른 세척율을 조사하였다.

처리방법으로는 Cellite, Zeolite, Baking soda등을 각각 1, 2, 3%의 농도로 만든 후, 고압의 water spray(7kg)에 연결하고 사과의 꼭지에서 약 10cm 떨어진 지점에서 일정량을 분사한 후, 10초간 고압의 물을 분사하였다.



### 1) 열처리와 세척 보조제병행처리효과

미립 소자 세척시 가장 높은 세척도를 나타냈던 zeolite처리와 열처리, 일반적으로 세척에 사용되는 pH처리, 염소수, 과산화수소수, 오존수, 고압수 처리가 사과 의 꼭지 미생물에 미치는 영향을 조사하였다.

고압수 처리는 30초간 6kg의 고압공기에 물을 연결하여 처리하였으며, Zeolite처리는 3%의 농도로 6kg의 압력에서 20초간 분사한 뒤 10초간 고압의 물을 분사하였다. 열처리는 45℃에서 20분간, pH처리는 pH2.3의 용액에 사과를 약 1분간 침지하고 tap water에 1분간 처리하였다. 또한 각각 200ppm염소수, 3% 과산화수소수, 3ppm 오존수로 1분간 처리한 뒤 tap water에 1분간 침지하였다.

### 2) 미립소자 및 세척 보조제를 이용한 복합 처리

처리의 효율을 최대화하기 위하여, 위의 실험에서 높은 미생물 제어 효과를 나타냈던 zeolite처리와 열처리, pH처리, 브러쉬 처리를 복합 처리하였을 때 효과를 조사하였다.

각각의 처리는 45℃에서 20분간 열처리한 사과를 3%-Zeolite는 20초간, pH2.3의 용액에 1분간, 브러쉬로 20초간 처리한 뒤, 고압의 물로 10초간 분사하였다.

### 3) 세척도

각 처리와 시간당 3개의 사과를 1일 건조 후, 자연광이 절제된 방의 동일 위치에서 디지털 카메라(Nikon, 3100)로 사진을 찍었다. 이는 컴퓨터상의 Photo shop program을 이용하여 Hunter L값으로 분석하였다. 세척도는 사과 꼭지 부위의 처리전과 처리 후 delta L값과 관능적 측정값으로 나타내었다.

### 7. 침지열처리 후 폐수의 특성

사과를 열처리한 후 남는 폐수의 재활용을 위하여 사과 침지 열수의 물리적 특성을 조사하였으며 이를 바탕으로 처리수의 재활용방안을 강구하였다. 이를 위하여 1차 적으로 3농가의 저장사과와 시판 세척 사과를 수집하여 그 오염도를 측정하였다. 측정 항목은 사과를 세척한 후 남은 침지 열수의 광 투과도, 비가용성 고형분, 총균 수와 곰팡이 수를 조사하였다.

### 가. 처리 및 분석

3개 농장에서 재배되어 저장된 사과와 시판세척사과를 45°C의 물을 사과개당 2 ℓ 비율로 침지 처리한 후 남은 폐액의 특성을 조사하였다. 투과도는 Spectrophotometer (Jasco, V-530, Japan) 로 %T 를 측정하였고 비가용성 고형분은 폐침지 열수를 membrane filter (Millipore 0.45m)로 여과하여 건조시킨 후 무게를 측정하였다. 총균 수와 곰팡이 수는 3M Petrifilm을 사용하여 측정하였다.

사과를 열처리한 후 남은 폐수를 재활용하기 위하여서는 1차적으로 정화 처리가 필요하였다. 이를 위하여 1단계실험에서 적합한 사과/세척수 비율로 사과를 대량으로 열처리한 남은 폐수를 100메쉬의 금속 망을 사용하여 입도가 큰 잔사를 제거하고 이를 입도가 고운 모래, 20-60메쉬의 granular형 활성탄 및 0.45 $\mu$ m의 공경을 갖는 microfilter에 순차적으로 처리하였다. 모래 및 활성탄처리를 위해서는 길이 1m 내경 4cm인 유리관에 80%되게 각각을 충전한 후 폐 열수를 통과시켰다.

### 나. 고압열수 처리 폐수의 특성 및 정화처리

사과의 미생물 및 해충제어를 위한 열처리 방법 중 고온 열수처리 시 (High Temperature Short Time Treatment, HTST) 사과를 열처리한 후 남은 처리수의 재활용을 위하여 사과 세척수의 물리적 특성을 조사하였다. 이를 위하여 사과를 60°C의 열수를 10 bar의 압력을 가하여 5초간 처리한 후 폐수를 수집하였고 이를 100메쉬의 금속 망을 사용하여 입도가 큰 잔사를 제거하고 이를 입도가 고운 모래, 20-60메쉬의 과립형 활성탄 및 0.45 $\mu$ m의 공경을 갖는 microfilter에 순차적으로 처리하였다. 모래 및 활성탄처리를 위해서는 길이 1m 내경 4cm인 유리관에 80%되게 각각을 충전시킨 후 열수를 통과시켰다.

### 다. 고압열수와 세척보조제 병행처리 폐수의 처리

사과의 미생물 및 해충제어 효과증진과 더불어 사과꼭지 및 꽃받침 부위의 청결도를 높이기 위해 고온 열수처리 시 불용성 미립소자를 처리(3%, W/V)한 경우 폐수처리를 위해 60°C의 열수를 10 bar의 압력을 가하여 5초간 처리하고 표면에 남은 미립소자를 제거키 위해 3 bar의 압력으로 상온수를 분사하였다.

## 제 2 절 관련자료 수집분석

### 1. 수출관련기준 자료 수집분석

#### 가. 사과산업의 현황

사과는 우리나라 과일 중 대표적인 품목으로 1996년을 정점으로 생산량이 계속 감소하는 추세에 있다. 이와 같은 추세는 과일 1인당 소비량이 감소한 측면보다는 먹을 수 있는 과일의 종류가 다양하고, 1년 내내 신선한 과일을 구입할 수 있음에 따라 나타난 현상으로 판단된다. 특히 농산물의 교역이 자유화됨에 따라 외국산 열대과일이 증가하고 있으며 증가량은 가속화되어감에 따라 사과의 소비량 감소는 지속될 것으로 예상된다.

사과 산업이 처해있는 현황을 재배, 유통, 소비측면으로 구분하여 보면 생산적 측면에서는 재배양식을 전환하여 생산원가 최소화를 통한 경쟁력보강과 수지 개선을 도모하려는 왜화 고밀식재배체계의 확산, 고품질 브랜드화, 품종의 개발과 시장확보 등의 방법들로 유통의 초기 구조를 조성하고 있다.

유통구조면에서는 수집, 분산, 가격과 공급체계의 주도를 통해 소비자와 생산자의 욕구를 동시에 만족하게 하여 새로운 유통구조를 형성하려는 신 물류 유통조직의 확산, 수요 공급 조절기능과 상품성 보존에 필요한 저장 및 유통시설구조의 증가, 이들 조직들의 점포망 확대 및 계열화, 외국유통업체나 할인 매장과 같은 비경매 직거래형의 유통조직들의 활성화로 유통구조 주체 간 양상이 구분되고 있다.

소비적 측면에서는 건강과 관련된 식·의학적 기능성 농산품의 수요층 증가, 신선과실의 연중구입과 선호품목의 다양화 욕구, 안전성과 기호도가 높은 품종의 지속적인 구입이 가능한 유통체계의 조성 등으로 소비구조가 점차 균형지고 있다.

이와 같은 상황에서 사과산업의 육성을 위해서 최근 생산, 유통 및 대소비자 측면의 많은 노력이 이루어지고 있다. 생산방식전환을 위해 현재 키 낮은 사과원 사업을 통하여 생산방식의 개선과 생산의 질적 향상을 유도하고 소비자 사과에 대한 의식 개선, 신 소비성향의 조성과 계층의 형성을 유도하고 있다.

개별농가, 지역별로 세분화하여 제각기 고유 브랜드를 만들어 유통함에 따라 본

래의 의도가 퇴색되고 오히려 역효과가 발생함에 규격화, 소포장화, 공동상표의 이용, 품질인증품 등을 통하여 소비자 신뢰도 향상, 사과에 대한 대국민 홍보와 사과의 품질 및 품위를 개선코자하는 시도가 되고 있다.

수입과일로 인해서 국산과일의 소비위축 및 가격 하락을 견지하고, 외국과일과의 차별화를 이룰 수 있음에도 불구하고 홍보부족으로 인하여 성과가 미흡했던 부분의 보완과 사과의 품질차별화를 통해 소비촉진 및 소비의식 개선을 위한 대표적인 사례가 세척사과이다. 이는 사과의 세척을 통해 위생과 안전을 도모하며 사과의 성분과 인체에 효능을 갖는 껍질까지 먹을 수 있게 함으로서 사과의 소비촉진을 방안으로 시도되고 있다.

이러한 노력과 더불어 사과 생산 및 가격의 안정화를 위하여서는 우리 사과의 해외 수출이 필요하다. 우리나라의 사과 수출량을 보면 1992년, 1996년 및 2002년을 정점으로 하여 등락을 반복하는 추세를 보이고 있으며 최대 수출량은 1992년의 8,100톤이었다.

지난 5년간 사과수출국은 대만, 일본, 인도네시아, 말레이시아, 싱가포르, 태국, 네덜란드, 괌, 미국, 북마리아나 군도, 스페인, 홍콩, 필리핀이며 2004년의 경우 대만으로의 수출량이 전체 수출량의 약 96%를 점하였다.

대만의 경우 우리 최대 사과수출국으로 최근 사과 수출 재개로 국내 사과수출량이 크게 늘고 있으나 수출방식은 낙후된 예전 그대로여서 마케팅과 상표 개발 등 수출 부가가치를 높이기 위한 노력이 절실하다. 수출 관련업체와 농가에 따르면 현재 대만에 수출되는 외국산의 경우 품질과 가격을 차별화해 유통시키고 있으나, 국내산의 경우 포장상자에 등급은 없이 가격만 표시된 채 수출되고 수출가격도 거의 비슷한 수준이다. 특히, 지금까지 국내산 사과의 대만 현지 브랜드가 제대로 개발돼 있지 않고 단순히 물량만 맞추는 형식으로 수출이 이뤄지다보니 국내산 사과의 대만 수출가격이 일본산의 40%에 불과한 실정이다. 사과의 수출을 위하여서는 수출국의 적극적인 개발이 절실하며, 수입국 소비자의 선호에 맞는 품질 규격화와 포장의 개선이 관해 많은 노력이 필요하다.

한편 최근 대만 정부가 복숭아심식나방 유입 차단을 이유로 한국산 생과실에 대해 해충 발생 국가의 수입검역 요건에 준하는 고강도의 예방책을 요구할 것으로 알려짐에 따라 수출국 확대가 어려운 우리의 실정에서 사과수출업계에 주름을

주고 있다. 따라서 사과의 수출을 위하여서는 품질향상 및 브랜드화 등을 통한 경쟁력제고 노력이 필요하지만 이와 더불어 수출대상국의 검역규제를 벗어 날 수 있도록 대상국의 관련 규제에 대한 정보 및 이에 대비키 위한 수출 전 관리 및 처리가 선행되어야 한다.

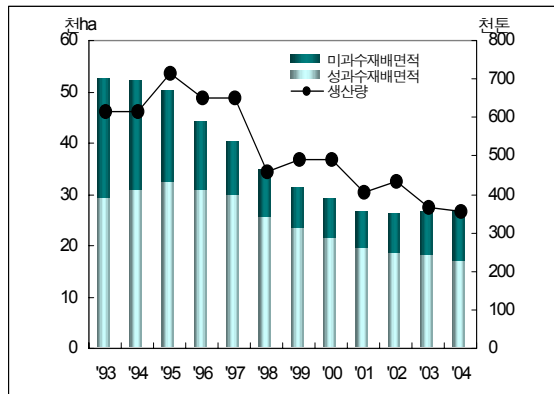


그림. 3-2-1. 사과의 연도별 생산량 추이

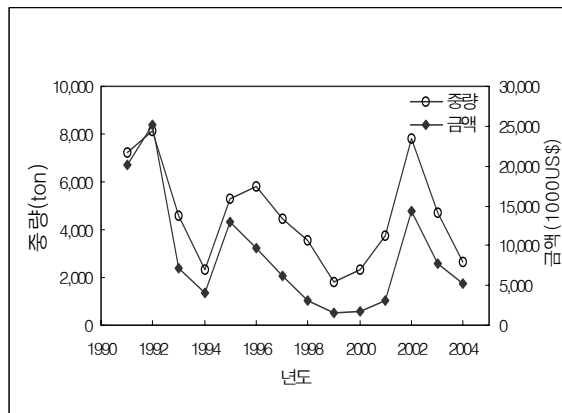


그림. 3-2-2. 사과의 연도별 수출량 추이

표. 3-2-1. 사과와 감의 국가별별 수출량 (단위 kg)

국가명	2000년	2001년	2002년	2003년	2004년
대만	-	463,900	7,590,110	4,444,976	2,531,200
일본	343,260	1,643,783	-	-	53,367
인도네시아	445,614	388,440	16,520	109,040	6,870
말레이시아	509,250	141,910	15,000	24,300	-
싱가포르	334,820	342,280	-	-	-
태국	260,120	137,500	-	11,000	-
네덜란드	171,500	202,736	46,600	32,500	-
괌	18,989	31,238	33,612	16,779	10,335
미국	4,450	85,642	37,890	14,605	11,692
북마리아나 군도	-	-	7,140	5,270	5,447
스페인	-	-	-	14,000	-
홍콩	-	-	-	-	21,025
필리핀	-	-	-	-	1,000
총계	2,088,003	3,437,429	7,746,872	4,672,470	2,640,936

표. 3-2-2. 사과와 감의 국가별별 수출액 (단위 1000US\$)

국가명	2000년	2001년	2002년	2003년	2004년
대만	-	719	13,914	7,393	4,890
일본	378	1,226	-	-	165
인도네시아	346	241	22	112	18
말레이시아	332	93	15	21	-
싱가포르	209	206	-	-	-
태국	170	79	-	18	-
네덜란드	109	137	51	39	-
괌	72	106	81	31	28
미국	12	78	25	17	11
북마리아나 군도	-	-	18	14	15
스페인	-	-	-	20	-
홍콩	-	-	-	-	39
필리핀	-	-	-	-	2
총계	1628	2885	14126	7665	5168

## 나. 수출업체 분석

조사된 국내사과 주요수출업체로는 그린나라, 남선, 경북무역, 중앙농산, JCAPPLE, 농협, 청주무역, 충북농산물협동조합, 튜올립무역, 태봉, 대창무역, Pacific Rim International Brokerage Inc., 신미, 명성상사, (주)전남무역 (민·관 공동 종합무역회사), 예천농업협동조합 등 16개 업체이었다.

이 업체들의 수출시 포장상자재질은 골판지이었고, 크기를 조사한 결과 단위포장은 5kg, 10kg이 대부분이었으며, 날개를 PP net로 포장하는 경우도 있다. 수출을 위한 컨테이너는 20ft 또는 40ft reefer container이었다.

수출용 사과의 품질 중 크기는 대부분 LL, L, M, S, SS과 같이 5등급으로 구분하고 있으며, 품질표시로 당도, 색상, 날개무게 등을 적용하고 있다.

수출시 주 애로사항으로는 수송도중 컨테이너 안의 습기를 포장재가 흡습함에 따라 구조훼손 및 내용물 손상발생이 문제로 지적되었고, 품질의 불균일성 등도 주요 수출애로 사항이었으며 수출대상국의 검역 등 통관에 대비한 관련정보의 부족도 애로요인으로 지적되었다.

## 다. 경북도 관련자료 수집 및 분석

경북도의 사과의 병해충과 관련하여 자료를 조사하였다. 현재 경북도에서 수행하고 있는 사업의 내용은 수확 전 재배시 병충해발생을 방제하는 수확전 처리기술 및 활동이었다. 이 내용을 살펴보면 경북도는 현재 사과의 병해충 발생을 방지하기 위하여 Intergrated pest Management (IPM)를 권장하고 있으며, 경북지역의 IPM은 주로 대구사과연구소가 중심이 되어 실시하고 있다. 현재 추진 중인 IPM은 사과 병해충종합관리라는 Guide book을 만들어 농가단위, 지역단위에 보급하고 있다(Ref. 이순원· 이동혁· 김동아· 최경희, 사과 병해충종합관리, 대구사과연구소).

또한 대구사과연구소는 새로운 병해충 발생 증가, 천적 및 유용생물 격감 추세, 환경 및 수요 변화에 따른 합리적 병해충 종합관리체계 확립 절실, 수출대상국에 따른 병해충 부착방지 및 방제체계 기술개발 미흡 등을 개선키 위하여 친환경 농업을 위한 사과원 병해충 종합관리 체계화를 추진하고 있다. 이를 위하여

- 사과 병해충 발생예찰 모델개발 및 장기예측 체계 연구

- 병해충 종합관리(IPM) → 과실종합생산(IFP) 체계로 확대 발전
- 수출확대를 위한 검역병해충 대책 연구를 수행하고 있다

이 중 병해충 종합관리(IPM) 실용화 부문에서는

- 농약 50% 절감, 과실종합생산(IFP)체계로 발전
- 광범위 농약위주  
→ 선택성 농약 + 천적 + 성페로몬 등 실용화
- 농약 부착율 향상 및 방제기술 개선을 목표로 하고 있고

수출 검역 병해충 대책부문에서는

- 응애류 조사법 및 과실 부착방지 방안 확립
- 수출 대상국 적용 농약 선발 및 조사요령 설정을 목표로 사업을 진행하고

있다.

또한 농림특정 사업으로 “사과 병해 IPM기술개발과 관련된 저농약 고효율 사과 병 방제체계 실증시험 (과수용 정전대전 농약살포 시스템 개발)“과, 과수용 정전 대전 농약살포시스템 방제효과 비교시험을 수행 중에 있다.

라. 동남아국가를 비롯한 수출대상국의 규제사항

주요 국가의 한국산 사과(생과일)에 대한 수입검역 세부요건

- 미국
  - 수입요건
    - 한국에서 저온처리+MB훈증(미국 식물검역관 입회)
      - 저온처리 : 1.1℃에서 40일간
      - MB훈증 : 48g / m<sup>3</sup> / 10℃ 이상 / 12시간 등
    - 한국의 식물검역증 첨부
- 캐나다
  - 캐나다측 우려병해충예찰
    - 수출 단지 주변에 관리되지 않는 복숭아속식물 및 향나무속식물 제거
    - 봉지 씌우기를 하여 재배. 다만, 봉지 씌우기를 하지 않고 재배한 과실은 MB훈증 + 저온처리실시



- EU회원국(15개국)

- 한국의 식물검역증만 첨부하면 수입가능

- 호주

- 수입금지품임

- 뉴질랜드

- 절대금지품: 감귤류, 포도, 사과, 배, 모과, 복숭아, 자두, 양벚

- 일본

- 우리나라산 농산물중 수입을 금지 또는 제한하는 농산물은 없음

- 모든 농산물은 한국의 식물검역증만을 첨부하면 수입가능

- 대만

- 한국농산물중 수입을 금지 또는 제한하는 농산물은 없음

- 한국의 식물검역증만 첨부하면 수입가능

- 중국

- 모든 수입식물 가능

- 말레이시아

- 모든 식물(다만, 아래의 특정 물품은 제외)

- 사전 수입허가 필요

- 식물검역증 첨부

- 태국

- 한국의 식물검역증을 첨부

- 필리핀

- 다음과 같은 특정조건하에서만 수입가능

- 필리핀 식물산업 국장에게 수출업체 등록

- 필리핀 식물산업 국장으로부터 사전 수입허가 취득

- 한국 식물검역소에서 필리핀 식물산업국 식물검역과장에게 식물검역증의 사본을 FAX 로 통보

- 컨테이너의 봉인

- 한국의 식물검역증 첨부 등

- 싱가포르

- 제한 규정없음. 도착시 수입검사만 실시

표. 3-2-3. 주요 국가의 한국산 농산물에 대한 수입검역요건 및 수출 가능한 품목

국가별	수입검역규정	수출가능품목
미국	과실 및 채소류에 대해서는 원칙적으로 수입금지	사과(저온처리 + MB처리 조건), 배, 감귤, 참다래, 딸기, 양파, 냉이 등
캐나다	품목별로 수입가능 여부 고시	사과(IPM, 저온처리 + MB처리 조건), 배, 감귤, 감, 참다래, 메론, 호박, 토마토
아르헨티나	모든 식물류에 대해 원칙적으로 수입 금지	종자류(수박, 배추, 양배추, 상추, 당근, 시금치, 토마토, 오이, 양파, 메론, 박초이)
칠레	모든 식물류에 대해 원칙적으로 수입 금지	사과, 배
이스라엘	대부분의 생식물에 대해서 수입금지	-
남아공	대부분의 생식물에 대해서 수입금지	사과, 배
스페인, 네덜란드, 이탈리아	감귤류를 제외한 생과실 및 채소류에 대해서 규제하는 품목이 없음	감귤류를 제외한 생과실 및 채소류
일본, 대만, 태국, 말레이시아	규제 대상 품목이 없음	모든 식물류
중국	소나무속 식물류를 제외하고는 규제하는 품목이 없음	소나무속 식물류를 제외한 식물류
호주, 뉴질랜드	대부분의 생식물에 대해서 수입금지	배

## 제 3 절 사과 의 임계 열처리 조건 및 처리 영향

열처리 방법을 이용한 사과의 병해충제어를 위해서는 처리 조건 및 방법이 최종 목적으로 하는 병원균 및 해충의 제어조건 설정에 앞서 우선적으로 사과의 품질에 악영향을 미치지 않는 조건 내에서 설정되어야 한다. 열에 대한 내성은 과일의 종류, 품종 및 수확시기에 따라서도 큰 차이를 보이 것으로 보고되어 있다. 따라서 본 장에서는 사과의 열처리 시 사과의 품질에 영향을 미치지 않는 임계 열처리 조건을 설정하기 위하여 처리 가능한 온도 범위를 설정하고 설정된 각 온도에서 처리시간을 달리 하여 사과를 처리 시 나타나는 현상과 이를 저장하면서 품질에 미치는 영향을 조사하였다.

### 1. 열처리에 따른 사과 표면의 현상학적 특성

열처리를 통한 사과의 병해충제어 및 품질개선을 위한 1차적인 실험으로 사과의 열처리온도 및 시간에 따른 현상학적인 변화를 조사하였다. 열처리온도로 범위로 계획된 온도범위 내인 45-65℃에서 사과를 열처리하였을 때 일정시간이후부터는 사과의 표면에 갈변현상이 발생하였는데 Hunter color value중 'a'값이 정상과에 비해 큰 차이를 보였으며 이에 따라 delta E 값도 큰 차이를 보였다. 부위별로 갈변 발생정도 차이가 명확하였는데 과피의 붉은 부위보다는 녹색을 띠는 부위에서 색상의 변화 정도가 확연하였다. 갈변현상이 발생한 사과의 표면을 현미경 하에서 관찰하여 보면 정상적인 과피에 피해 굴곡이 완만하여지고 수확 전 손상 부위가 아문 현상을 보였다. 과피부위의 Texture profile (TP)을 비교하였던 바 정상과에 비해 puncture시 소요되는 힘이 55-62%정도 낮은 값을 보였다. 특이한 현상으로는 과피부위의 견고성은 약화되었지만 과피 아래부위 과육의 견고성은 열처리 정도에 따라 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3-3-1~Fig. 3-3-4).

### 2. 열처리에 따른 사과 내부의 현상학적 특성

사과의 열처리시 처리시 일정 시간까지는 내부적으로 변화를 보이지 않았지만 일정시간이 경과하면서부터 갈변되는 현상이 나타났다. 이러한 현상은 씨방 부위와 꽃받침 부위를 중심으로 발생하여 처리시간이 경과함에 따라 과육전반으로



Fig. 3-3-1. Appearance of *Fuji* apples by heat treatment condition, top, left: non-treated, top, right: heat treated-sound, bottom, left: slightly browned in peel, bottom, right: dark browned in peel



Fig. 3-3-2 Magnified peel appearance of *Fuji* apples.  
top: heat treated-sound, bottom: heat treated-dark browned in peel

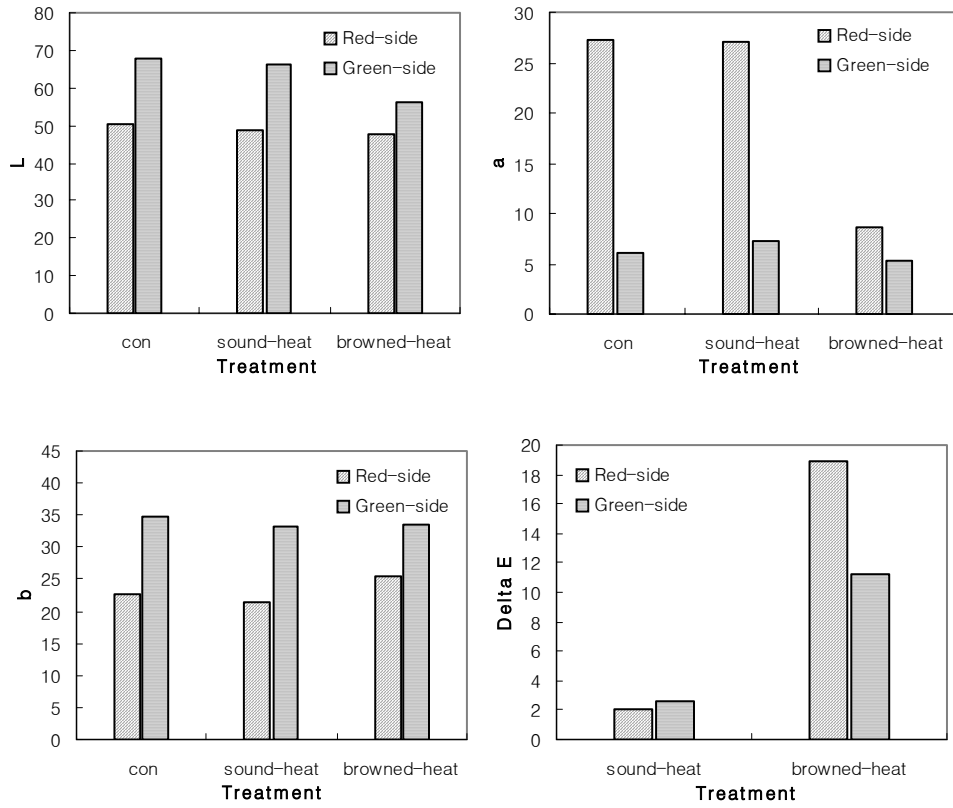


Fig. 3-3-3. Peel color of *Fuji* apples by progress of heat treatment

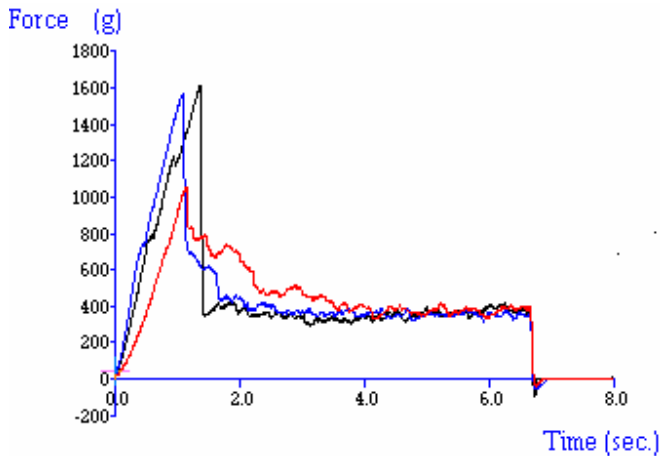


Fig. 3-3-4. Texture profile from peel to flesh of *Fuji* apples by progress of heat treatment

\* Black line: non-treated, blue line: under critical point, red line: upper critical point

변지는 양상을 보였다. 이러한 현상은 씨방 및 꽃받침부위의 호흡량이 다른 부위에 비해 크지만 이에 요구되는 산소의 양이 적었기 때문일 것으로 사료된다. 과육의 색상을 비교하여 보면  $\Delta E$  값이 열처리를 하였다 해도 갈변이 발생치 않은 정상과에 비해 매우 높은 값을 나타내었다. 과육의 갈변은 과피에서 갈변이 발생한 이후 발견되는데 갈변이 발생한 과피의 하층부위 과육에서도 갈변이 진행되는 것으로 나타났으나 그 정도는 과육 내부에 비하여 덜 하였다. 한편 갈변이 발생한 과육을 미시적으로 살펴보면 도관에서 주로 갈변이 발생하였다. 이는 도관 및 세포벽에 폴리페놀화합물이 많이 분포되어 있고, 이들 화합물이 열처리 시 조직 내 환경이 적합지 않아짐에 따라 산화됨으로서 나타난 현상으로 추정된다. 이와 같은 추정은 갈변이 발생한 사과과육으로부터 추출한 세포벽의 색이 건전한 사과에 비해 갈색을 많이 띠고 있음에 따라 더욱 확실시 된다. 또한 갈변이 발생한 과육으로부터 추출한 과즙을 spectrophotometer를 이용하여 scanning 시 갈변과육은 253nm에서 4.93, 283nm에서 2.18, 325nm에서 1.69이었고, 건전한 과육은 해 254nm에서 1.93, 282nm에서 2.31, 325nm에서 1.72로 253nm부근의 UV범위에서의 차이는 매우 컸다(Fig. 3-3-5~Fig. 3-3-8).

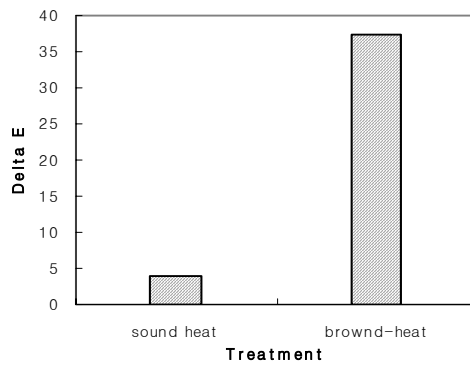


Fig. 3-3-5 Inner views and delta E value of *Fuji* apples

\* Photo top: apples treated with heat under critical condition, middle and bottom: apples treated with heat upper critical conditions.



A

B

C

Fig. 3-3-6. Magnified views of flesh of *Fuji* apples treated with heat.

\* A: under critical condition, B; critical condition, C; over critical condition.



A

B

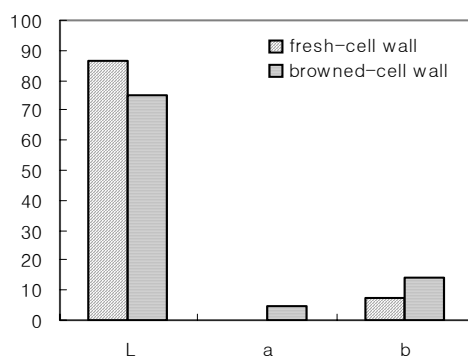


Fig. 3-3-7. Crude cell wall extracted from *Fuji* apples  
 \*A: under critical condition, B: upper critical condition.

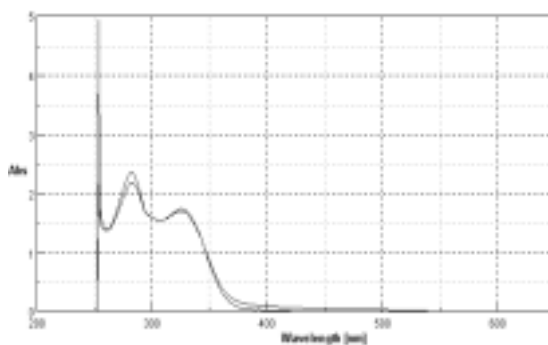


Fig. 3-3-8. Spectrum of 85% ethanol extract from *Fuji* apples  
 \* Fresh : 254nm-1.93 282nm-2.31 325nm-1.72, browned : 253nm-4.93 283nm-2.18 325nm-1.69).



### 3. 열처리온도에 따른 사과의 생리적 특성 분석

열처리가 사과의 조직 내 미치는 생리특성 연구로 조직 내 CO<sub>2</sub> 및 O<sub>2</sub>농도와 에틸렌 농도의 변화를 조사하였다. 열처리 사과의 조직 내 CO<sub>2</sub>농도를 보면, 처리 직후 40℃, 45℃, 50℃에서 급격한 증가 경향을 보였으며 처리 1일후 다시 감소하였다. 반면 55℃, 60℃, 65℃의 경우 약간의 증감 경향을 보이다가 고른 평형 상태를 유지하였다(Fig. 3-3-1~Fig. 3-3-4).

조직 내 O<sub>2</sub> 농도는 처리 직후 40℃, 45℃, 50℃에서 급격히 감소한 후 다시 증가하였다. 이후 저장 7일까지 40℃ 3시간 처리를 제외하고는 평형 상태를 유지하였다. 반면 55℃, 60℃, 65℃의 경우 처리 직후부터 저장 7일 후까지 고른 평형 상태를 유지하였다. 열처리가 사과 조직 내 에틸렌 생성에 어떠한 영향을 미치는지 영향을 조사한 결과 처리 직후 사과 내부의 에틸렌은 40℃, 45℃, 50℃에서 급격히 상승하였다가 저장 1일후부터 control, 55℃, 60℃, 65℃보다 낮은 농도로 관찰되었다. 55℃, 60℃, 65℃의 경우 저장 1일후부터 처리별로 상승되었다가 저장 7일 이후 다소 감소되는 경향이 관찰되었다(Fig. 3-3-9~Fig. 3-3-11).

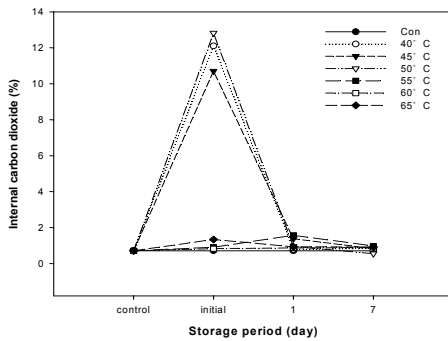


Fig.3-3-9. Effect of storage conditions on internal carbon dioxide concentration of heated *Fuji* apples.

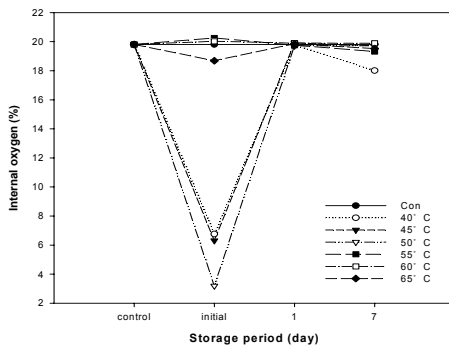


Fig.3-3-10. Effect of storage conditions on internal oxygen concentration of heated *Fuji* apples.

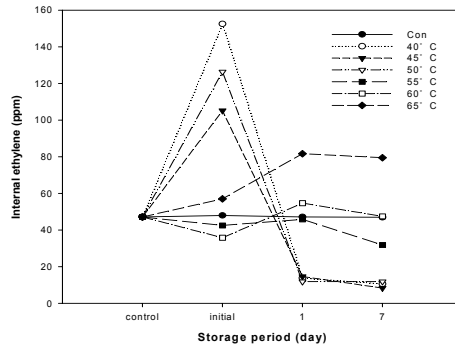


Fig. 3-3-11. Changes in ethylene concentration of heated *Fuji* apples during storage.

#### 4. 사과와 임계처리조건연구

##### 가. 열처리 조건 설정을 위한 기본연구

사과 열처리 시 외관상 품질에 영향을 미치지 않는 임계열처리 조건에 관한 연구를 주 대상시료인 후지사과를 사용하여 수행하였다. 열처리 사과의 품질에 따라 반응이 다를 것으로 추정하여 사과의 수확년도, 수확시기, 저장기간 등으로 구분하여 연구를 수행하였고, 1차년도 연구에서는 열처리 방법으로 열수 및 열풍 처리 방법을 병행하였다. 1차 실험의 열수처리 경우 각 온도로 고정된 항온조에 사과를 완전히 담근 후, 일정시간을 간격으로 처리하여 0°C에 저장하면서 사과의 외관상 품질 변화를 관찰하였다. 훈련된 5명의 패널로 하여금 사과의 붉은 색상이 상실된 것을 고르도록 하였으며, 그 결과 처리 후 저장까지 처리구별로 시간에 따른 갈변의 진행 정도를 관찰할 수 있었다. Table 1은 2003년 4월 실시한 사과의 열처리 시 외관상 품질 변화로 40°C 3시간, 45°C 1시간, 50°C 25분, 55°C 3분, 60°C 1분, 65°C 15초까지는 과피의 갈변 발생 등 이상 증세를 보이지 않았으며, 그 외 높은 온도와 과다 시간 처리에서는 과피의 갈변이 심하게 진행된 것을 관찰할 수 있었다. 또한 사과의 가열처리를 열수 대신 열풍을 사용하였던 바 40°C에서는 48시간, 45°C에서는 6시간까지는 과피에는 이상이 없어 보이나 9시간이후부터는 내부에 60-70%가 변색이 발생하여 24시간 후에는 표면과 내부에 완전한 변색되었다. 열풍은 장시간 처리로 열수 처리시 발생한 사과의 표면적 현상보다 내부의 갈변에 중점적인 관찰이 필요한 것으로 판단되었다(Table 3-3-1~Table 3-3-2).

Table 3-3-1. Development of peel browning of *Fuji* apples during heat treatment in water

Temp.	Time	Storage period				
		After treatment	2days	4days	7days	1month
40°C	1h	-	-	-	-	-
	2h	-	-	-	-	-
	3h*	-	-	-	-	-
	4h	+++	++++	++++	+++++	+++++
45°C	30min	-	-	-	-	-
	60min*	-	-	-	-	-
	90min	++++	++++	+++++	+++++	+++++
	120min	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
50°C	5min	-	-	-	-	-
	15min	-	-	-	-	-
	25min*	-	-	-	-	-
	35min	-	-	+	+++	++++
55°C	1min	-	-	-	-	-
	3min*	-	-	-	-	-
	5min	-	-	+	+	+
	7min	-	+++	++++	+++++	+++++
60°C	1min*	-	-	-	-	-
	2min	-	-	-	++	++
	3min	+	+	++	+++	+++
	4min	+	++	+++	++++	++++
65°C	10sec	-	-	-	-	-
	20sec*	-	-	-	-	-
	30sec	-	-	-	+	++
	40sec	-	-	-	++	+++

+ : Degree of peel browning \* : Selected condition for the further experiment

Table 3-3-2. Development of peel browning of *Fuji* apples during heat treatment in air

Temp.	Time	Storage period			
		after treatment	2 days	4days	7days
40℃	12h	-	-	-	-
	24h	-	-	-	-
	48h	-	-	-	-
45℃	3h	-	-	-	-
	6h	-	-	-	-
	9h	+	++	+++	++++
	12h	++	+++++	+++++	+++++
50℃	3h	-	-	-	-
	6h	+	+	++	+++
	9h	++++	++++	++++	+++++
	12h	+++++	+++++	+++++	+++++

나. 사과속의 숙도 및 저장기간에 따른 임계 열처리 온도구명

사과의 수확시기 및 저장기간이 임계열처리 온도에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 온도별로 처리된 사과를 상온에 저장하면서 외관 품질의 변화를 조사해 보았다(Table 3-3-3~Table 3-3-4).

각 온도에서의 수확시기에 따른 임계열처리 시간은 숙도가 높을수록 단축되는 경향을 보였다. 사과를 0℃에 저장하면서 저장기간에 따른 열처리 임계점을 조사하였다. 관찰 시기는 11월부터 1개월 간격이었으며, 각 온도에서 열처리 된 사과는 상온에서 7일간 저장하면서 외관품질 검사를 위해 사용하였다. 저장기간에 따라서도 각 온도에서의 임계처리 시간은 다소 단축되는 경향을 보였는데, 저장 6개월 후인 2004년 4월에는 40℃의 경우 180분까지 대조구와 비교하여 차이가 없었으며, 45℃, 50℃, 55℃, 60℃, 65℃에서 각각 40분, 5분, 1.33분, 0.5분, 0.1분까지 처리시 외관상 대조구와의 차이가 발견되지 않았다.

Table 3-3-3. Critical heat treatment conditions of *Fuji* apples by harvesting time

(Unit: min)

Temperature	Premature	Mature	Over-mature
40℃	200	180	180
45℃	70	60	60
50℃	50	45	45
55℃	8	8	8
60℃	4	3	3
65℃	1	1	1

Table 3-3-4. Critical heat treatment conditions of *Fuji* apples by storing period

(Unit: min)

Temperature	Storage period, month				
	0	1	2	3	6
40℃	180	180	180	180	180
45℃	60	60	60	60	40
50℃	45	45	25	15	5
55℃	8	7	3	2	1.33
60℃	3	2	1	1	0.5
65℃	1	0.83	0.33	0.33	0.1

한편 사과와 저장 시 사과의 함유된 성분의 소실 및 기타 생체로서의 가능성이 저하되는데 이러한 현상이 사과와 열처리에 대하여서는 어떠한 영향을 미치는지 조사하기 위하여 저장 초기 및 저장 중기 사과를 앞에서 실험한 온도 및 처리조건 간격에서 열처리한 후 일정기간 저온에 방치한 후 과피 및 과육색의 갈변발생유무를 조사하였던바 저장 기간이 경과함에 따라 임계열처리 시간이 단축되는 되는 것으로 나타났다. 사과의 수확시기, 저장기간 및 재배년도에 따라 다르게 조사된 온도에 따른 임계처리시간을 도표를 나타낸바 Fig. 3-3-12와 같으며 제일

열악한 열처리 조건만을 선정하여 나타낸 처리온도별 임계처리시간은 Fig. 3-3-13과 같다. 사과 열처리를 위하여서는 Fig. 3-3-13에서의 조건을 기본조건으로 하여 수확시기, 저장기간 및 재배년도에 따라 품질의 상태를 고려하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.

Table 3-3-5. Critical heat treatment conditions of *Fuji* apples by harvesting year

(Unit: min)

Temperature	Experimental date		
	2003/4	2004/4	2005/4
40℃	180	180	180
45℃	60	40	30
50℃	25	5	3
55℃	3	1.33	1
60℃	1	0.5	0.33
65℃	0.25	0.1	0.1

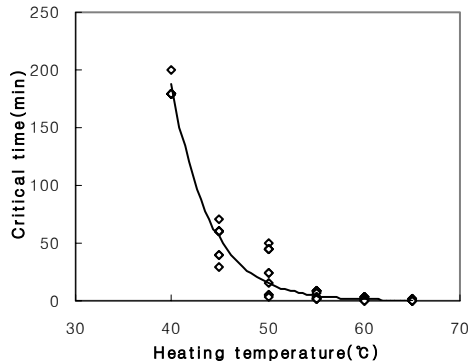


Fig. 3-3-12. Variation of critical conditions by harvesting season and year and storing period of apple for mild hot water treatment

$$y = 4E+06e^{-0.2498x}$$

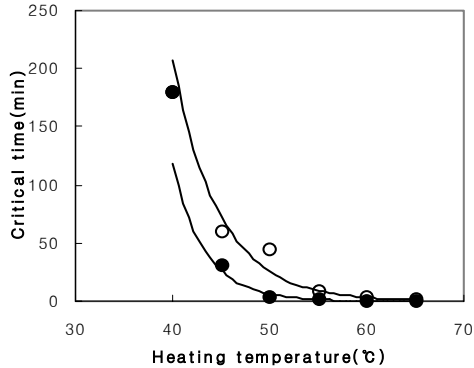


Fig. 3-3-13. Range of critical conditions for mild hot water treatment of apple

Maximum:  $y = 905066e^{-0.2096x}$ , Minimum:  $y = 2E+07e^{-0.2977x}$

다. 열처리방법 및 조건에 따른 효과분석

사과의 열처리 방법으로 물과 공기를 매체로 사용하여 열처리 시 설정된 임계조건 중 열수처리방법을 적용하여 열처리가 사과의 저장 중 품질에 미치는 영향을 조사하였다.

임계점에서 열처리 된 사과의 저장 중 중량 감소율을 관찰하였던 바 대조구와 각 처리간 뚜렷한 차이 없이 저장 30일 저장 60일 까지 최대 1.27%의 중량 감소율을 관찰할 수 있었다(Fig. 3-3-14). 열처리 사과의 호흡율은 40°C, 45°C, 50°C의 경우, 저장 7일 후 control보다 약간 낮아지다가 저장 30일과 60일에는 control과 차이가 없었다. 50°C, 55°C, 60°C의 경우 저장 1일째 control보다 다소 높은 값을 보이다가 저장 7일에는 control보다 낮았고, 저장 30일과 60일에는 약간 높아진 경향을 관찰할 수 있었다(Fig. 3-3-15).

열처리 사과의 외부 에틸렌 생성율은 40°C, 45°C, 50°C의 경우 저장 1일후부터 60일까지 현저히 낮아진 값을 관찰할 수 있었다. 반면, 50°C, 55°C, 60°C의 경우는 control과 같은 경향의 에틸렌 생성 변화를 나타내었다(Fig. 3-3-16).

열처리 사과 과육의 경도를 보면 40°C, 45°C, 50°C처리의 경우 저장 1일후 40°C, 45°C에서 control보다 각각 23.8kg.f, 21kg.f 등 현저히 높은 값의 경도를 관찰할 수 있었다. 저장 30일, 60일에는 저장이 진행되면서 약간의 감소 경향을 보이기

는 했으나, 40℃의 경우 control보다 높은 값의 경도가 관찰되었다. 55℃, 60℃, 65℃에서는 저장 1일후 55℃에서 control보다 33kg.f 높은 값의 경도를 나타내었다. 저장 30일에도 저장이 진행되면서 다소의 감소 경향을 보이기는 했으나 55℃에서 control보다 높은 값의 경도를 나타내었다. 그러나 저장 60일에는 55℃, 60℃, 65℃의 처리 모두 Control보다 낮은 값의 경도를 나타내었다(Fig. 3-3-17).

열처리 사과와 과육 갈변도를 보면 40℃, 45℃, 50℃에서 저장 30일에 control보다 약간 증가된 갈변도를 관찰할 수 있었고, 저장 60일에는 40℃, 50℃가 control보다 약간 높은 값을 나타내었으나 뚜렷한 증감현상은 관찰할 수 없었다. 55℃, 60℃, 65℃에서 저장 30일과 60일에 control보다 낮은 값의 갈변도가 관찰되었으나, 주목할 만한 뚜렷한 차이는 관찰할 수 없었다. 저장 60일후 control과 각 처리구의 과피를 관찰한 결과를 보면 L값의 경우 Green-side에서 50℃, 55℃, 60℃, 65℃가 control, 40℃, 45℃보다 약간 낮은 L값을 나타내었고, a값의 경우 50℃, 65℃가 control과 다른 처리구에 비하여 red-side에서는 낮은 값을 Green-side에서는 높은 값을 나타내었다. b값의 경우 각 처리구에서 red-side, Green-side 모두 뚜렷한 차이는 관찰할 수 없었다(Fig. 3-3-18, Fig. 3-3-19).

열처리 사과와 가용성 고형분, pH, 적정산도, electrolyte leakage등을 관찰해 보았다(Fig. 3-3-20~Fig. 3-3-25)). 가용성 고형분의 경우 control과 각 처리구에서 저장 초기부터 저장 60일까지 12.7-14.7 °Brix 범위의 가용성 고형분을 나타내었다. 저장 7일에 40℃, 45℃, 50℃, 60℃가 control보다 낮은 값의 가용성 고형분을 보였으나, 저장이 진행되면서 control과 처리간 차이는 관찰할 수 없었다. 적정산도의 경우 0.22~0.29의 범위였으며, 처리간 저장간 유의적 차이는 발견할 수 없었다. electrolyte leakage의 경우 저장 1일에 40℃, 45℃, 50℃에서 control보다 다소 높은 값을 관찰할 수 있었으나, 저장이 진행되면서 대조구와 처리간, 저장 기간에 따른 뚜렷한 차이는 보이지 않았다.



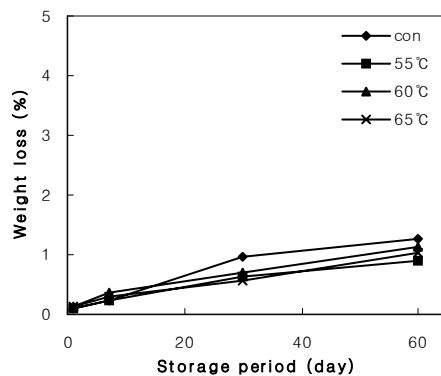
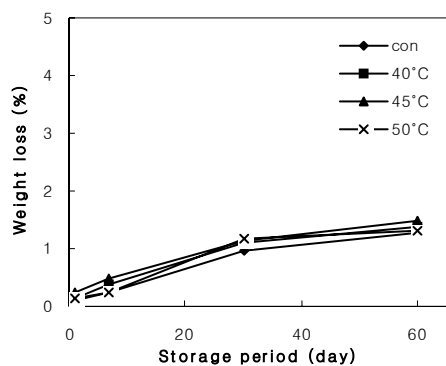


Fig. 3-3-14. Changes in weight loss of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

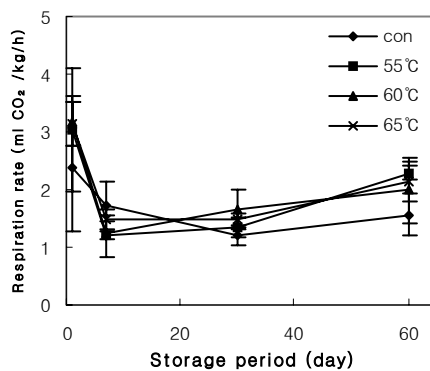
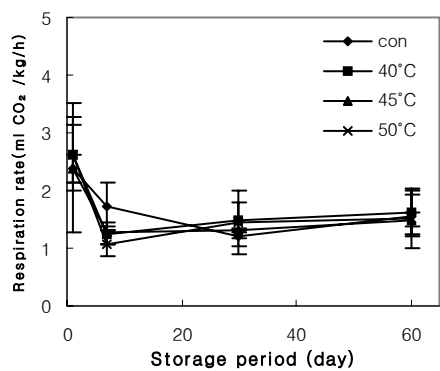


Fig. 3-3-15. Changes in respiration rate of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

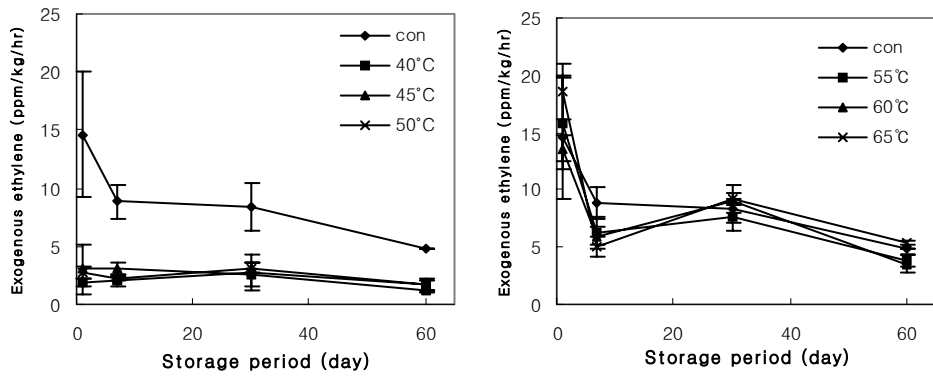


Fig. 3-3-16. Changes in exogenous ethylene of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

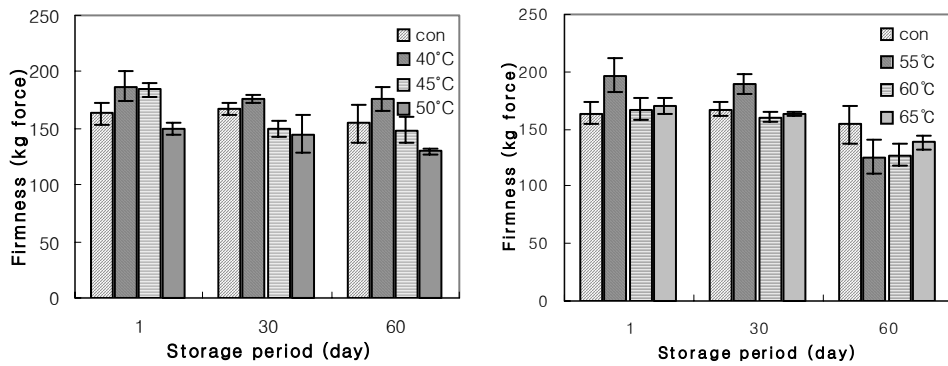


Fig. 3-3-17. Changes in firmness of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

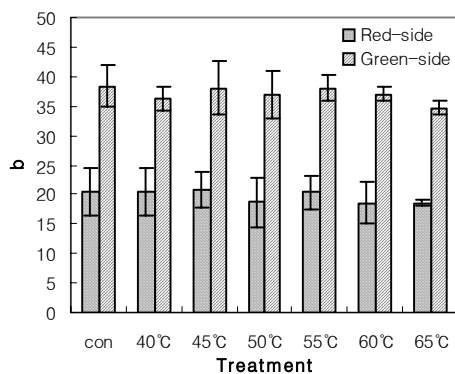
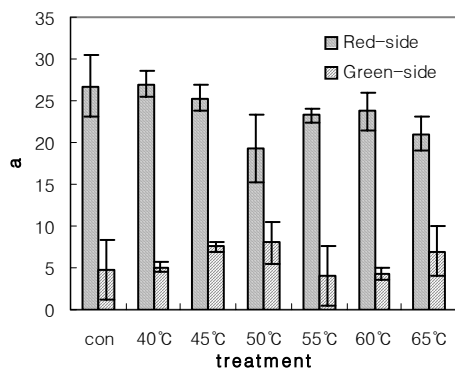
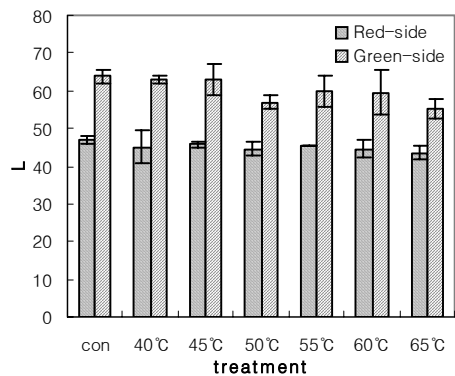


Fig. 3-3-18. L, a and b values of mild hot water treated *Fuji* apple peel on different treatment after 60days.

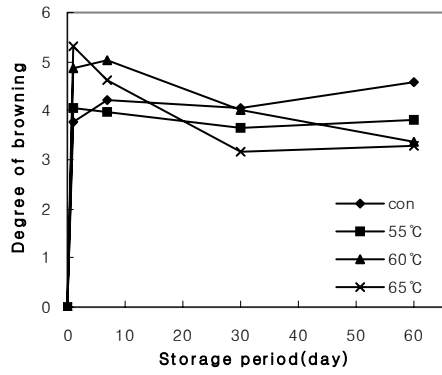
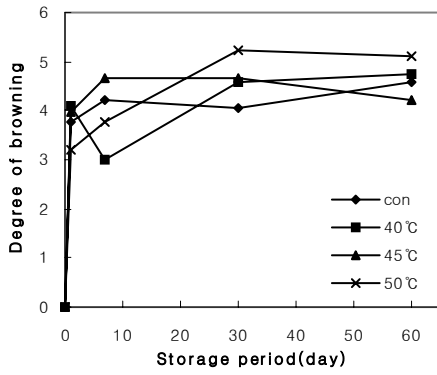


Fig. 3-3-19. Changes in degree of browning of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

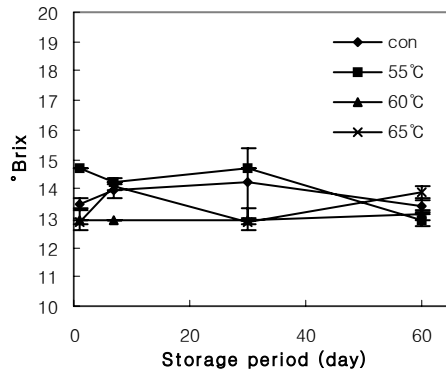
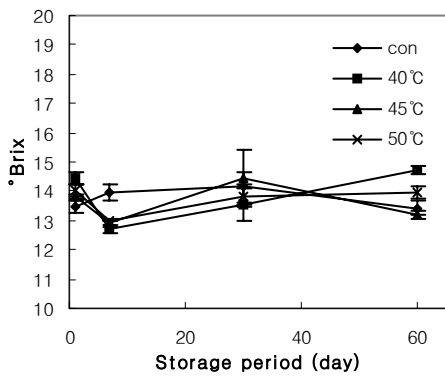


Fig. 3-3-20. Changes in soluble solids content of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

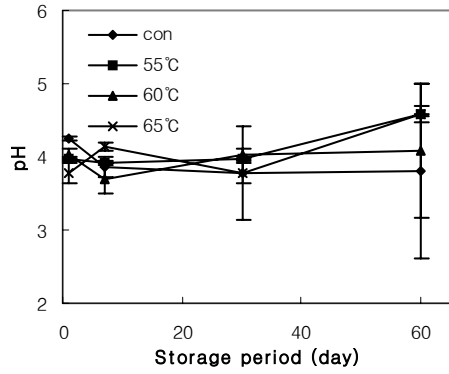
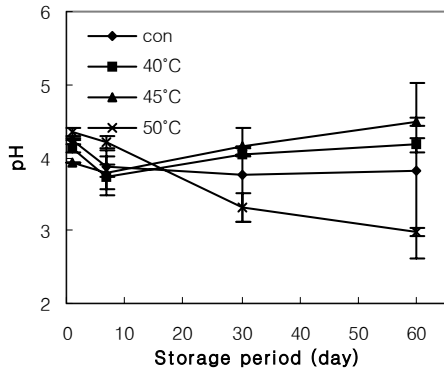


Fig. 3-3-21. Changes in pH of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

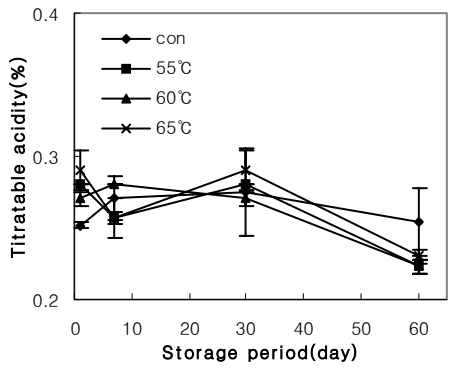
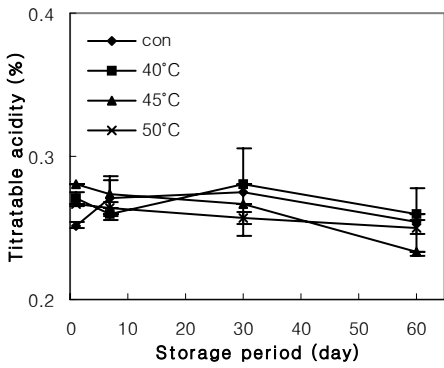


Fig. 3-3-22. Changes in titratable acidity of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

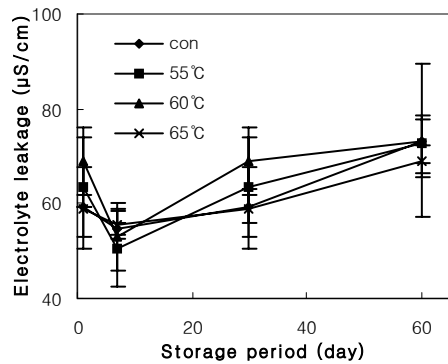
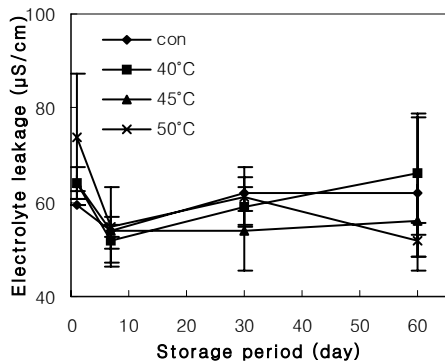


Fig. 3-3-23. Changes in electrolyte leakage of mild hot water treated *Fuji* apples during storage.

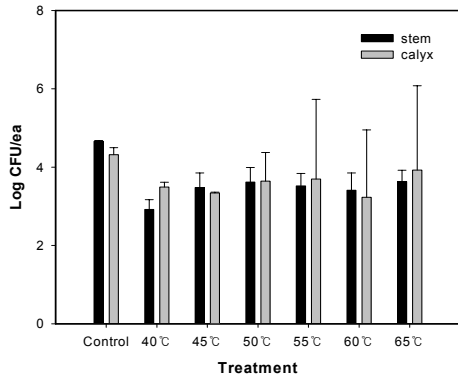
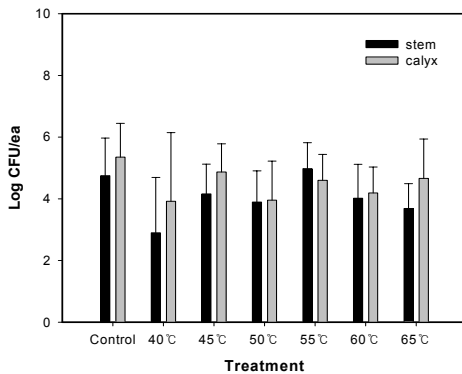


Fig. 3-3-24. Effect of mild hot water treatment on number of total microorganisms of *Fuji* apples at different conditions<sup>1)</sup>.

Fig. 3-3-25. Effect of mild hot water treatment on number of molds of *Fuji* apples at different conditions.

라. 임계열처리 설정 조건에서의 열처리가 사과 품질에 미치는 효과 재검증  
 임계열처리 조건이 사과의 수확시기 및 저장기간 등에 따라 차이를 보임에 따라 그  
 동안의 실험결과를 취합 정리하여 사과의 열처리 시 변질이 발생치 않을 안전 조건  
 을 설정한 후 이 조건에서 사과를 열처리한 후 열처리가 품질에 미치는 영향을 조사  
 하였다.

각 임계초리 조건에서 사과를 처리한 후 저장 중 품질변화를 조사하였다. 중량  
 감소율의 경우 처리구 모두 대조구와 차이 없이 저장 60일에 1.0-1.3%의 점차적

으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3-3-26). 호흡율의 경우 대조구와 처리구 모두 저장 1일에 1.9-2.6 ml CO<sub>2</sub>/kg hr이었으며 저장기간이 경과되면서 감소하는 경향을 나타내어 저장 60일에는 0.9-1.9 ml CO<sub>2</sub>/kg hr 범위였다(Fig. 3-3-27). 에틸렌 생성율, 적정산도, 가용성 고형분의 경우도 처리에 따라 다소 차이는 있으나 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 3-3-28~9). 과육 갈변도의 경우 저장 1일에 55℃에서 2.05로 가장 낮은 값을, 대조구가 4.49로 가장 높은 값을 보였다. 저장중 처리별로 갈변발생을 보면 다소의 증감현상을 보이다가 저장 60일에는 60℃가 4.5로 가장 높은 값을 65℃가 1.6으로 가장 낮은 값을 보였다(Fig. 3-3-30). 저장 중 사과의 Red-side에서 과피의 갈변을 보면, 65℃가 대조구에 비해 낮은 갈변도를 보였으며, Yellow-side는 모든 처리구가 대조구에 비해 높은 갈변도를 나타내었다. 처리구별로 볼 때 40℃, 45℃ 장시간 처리가 50℃, 55℃, 60℃, 65℃에 비해 다소 높은 갈변을 나타내었다. 저장 기간 중 열처리 사과의 과피와 과육의 경도를 조사한 결과 과피의 경도는 대조구와 차이가 없었으나, 과육의 경도는 저장 30일과 60일에 1.6-22.45 kg force, 10.25-33.1 kg force의 범위로 각각 대조구에 비해 높은 값을 보였다(Fig. 3-3-31). 열처리 사과의 과육과 과피에서 항산화 활성도를 측정한 결과 과육의 경우 저장 60일에 대조구가 36.9%, 60℃가 44.51%로 저장 기간 중 가장 높은 항산화 활성도를 보였다. 과피의 경우, 저장 1일에 65℃가 대조구보다 4.1%높은 항산화 활성도를 보였으며, 저장 30일에 대조구와 처리구 모두 높은 항산화 활성도를 보이다가 60일에 감소되는 경향을 보였다(Fig. 3-3-32). 저장 중 열처리 사과의 과육과 과피에서 free phenol의 함량을 측정하였던바 과육의 경우 대조구는 저장 중 증감 현상을 관찰하기 어려웠으나, 처리구의 경우 저장이 진행되면서 점차 증가되는 경향을 보였다. 과피의 경우 대조구에서는 점차 감소하는 경향을 볼 수 있었고, 처리구의 경우 저장 1일에 대조구 보다 낮은 free phenol을 함유하다가 저장 30일에 다소 높은 함량을 보이고 저장 60일에 감소되는 것을 관찰할 수 있었다. Bound phenol은 대조구의 경우 저장이 진행되면서 감소하는 경향을 보였고, 저장 60일에는 처리구가 대조구보다 최대 6.5mg정도 높았다(Fig. 3-3-33). Ascorbic acid의 경우 대조구와 처리구 저장이 진행되면서 모두 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3-3-34). 처리별 미생물을 관찰한 결과 40℃, 45℃에서 곰팡이수가 다소 감소된 결과를 볼 수 있었다(Fig. 3-3-31).

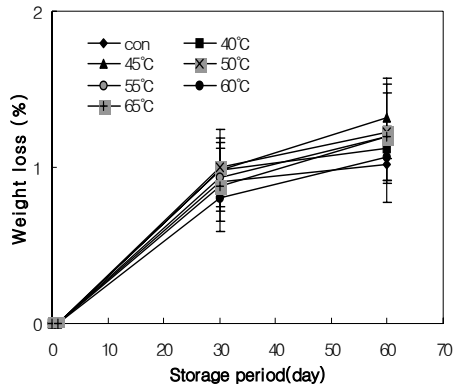


Fig. 3-3-26. Changes in weight loss of mild hot water treated apples during storage.

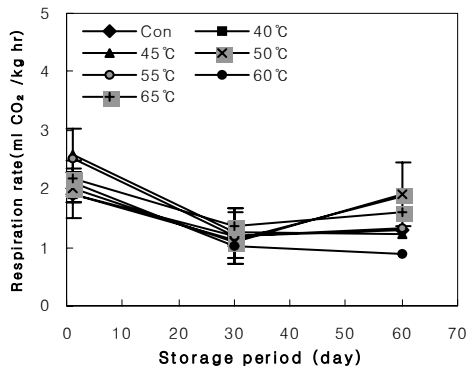


Fig. 3-3-27. Changes in respiration rate of mild hot water treated apples during storage.

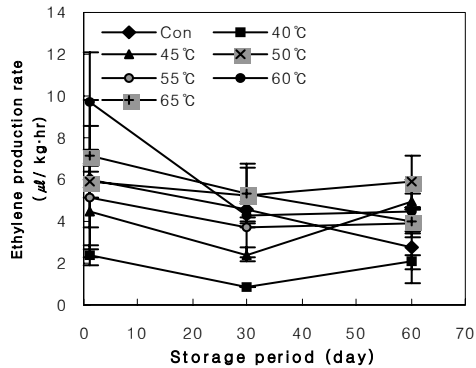


Fig. 3-3-28. Changes in ethylene production rate of mild hot water treated apples during storage.



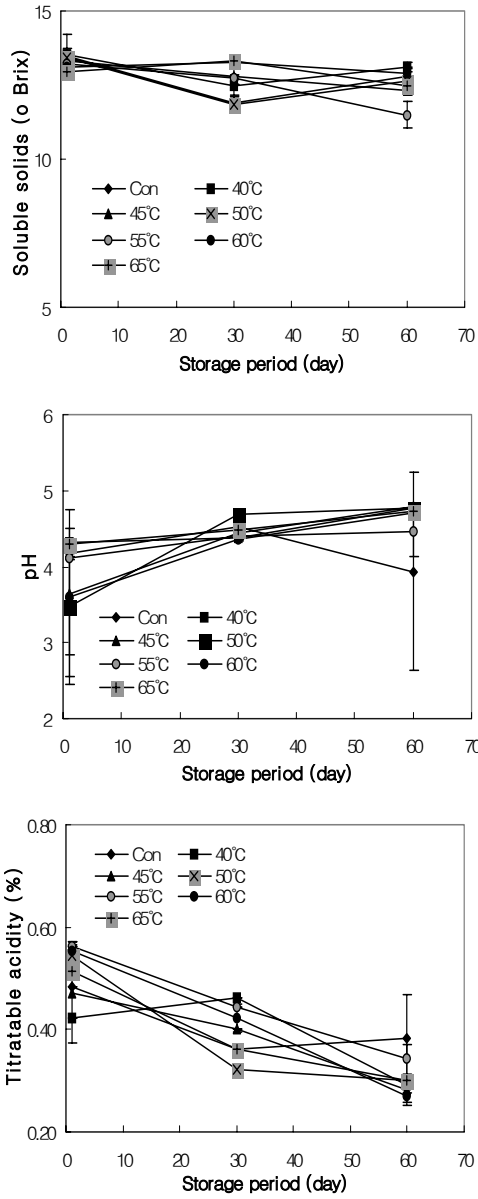


Fig. 3-3-29. Changes in soluble solids content, pH and titratable acidity of mild hot water treated apples during storage.

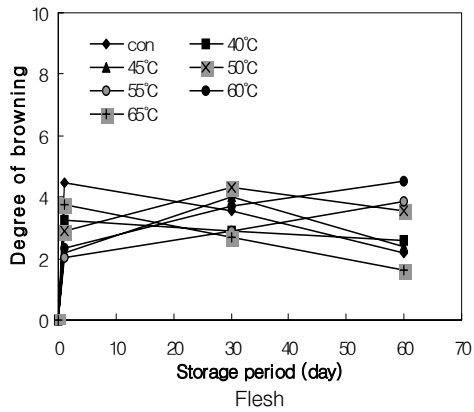
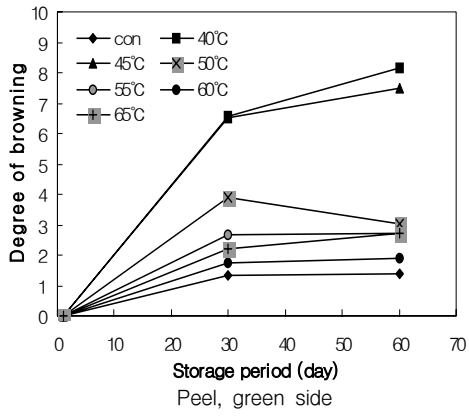
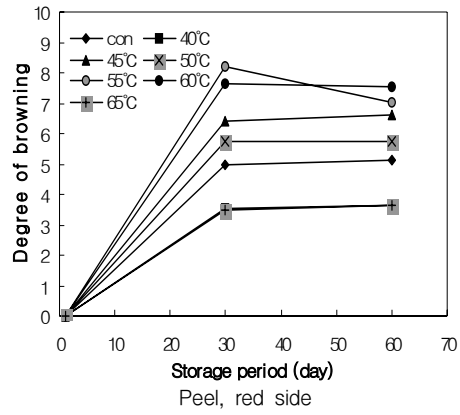


Fig. 3-3-30. Changes in degree of browning of mild hot water treated apples during storage.

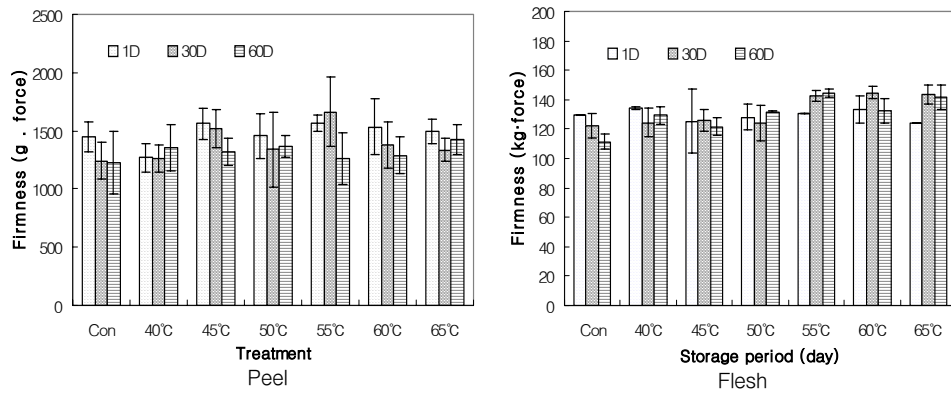


Fig. 3-3-31 Changes in firmness of mild hot water treated apples during storage.

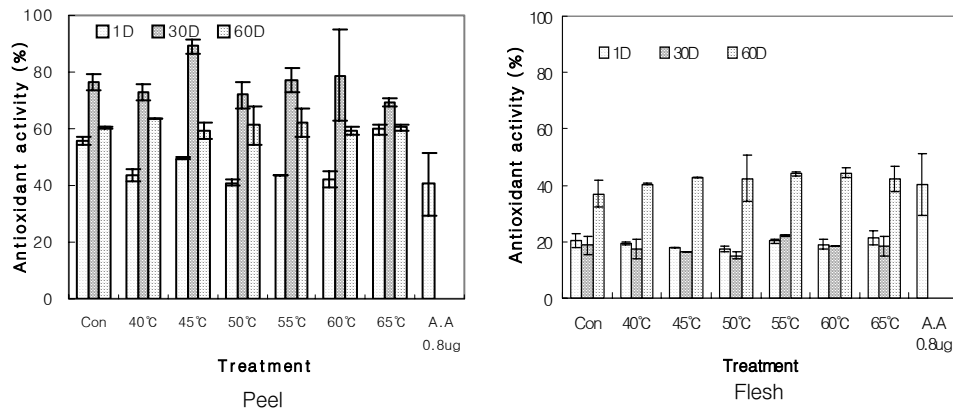


Fig. 3-3-32. Changes in antioxidant activity of mild hot water treated apples during storage.

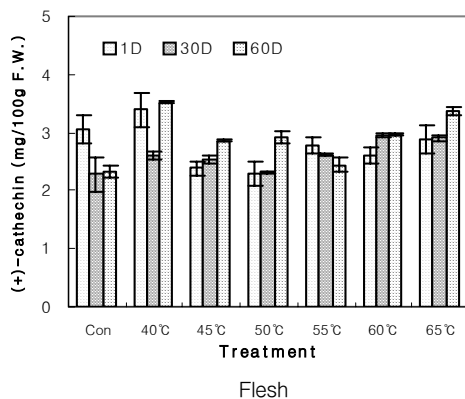
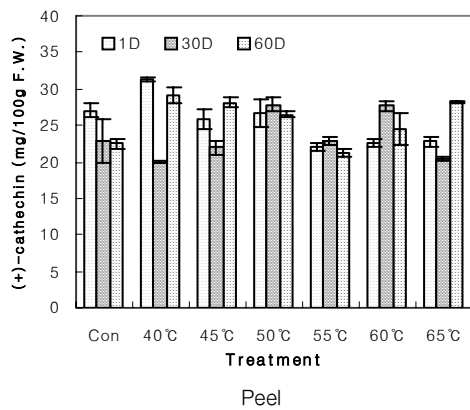


Fig. 3-3-33. Changes in content of bound phenolic compounds of mild hot water treated apples during storage.

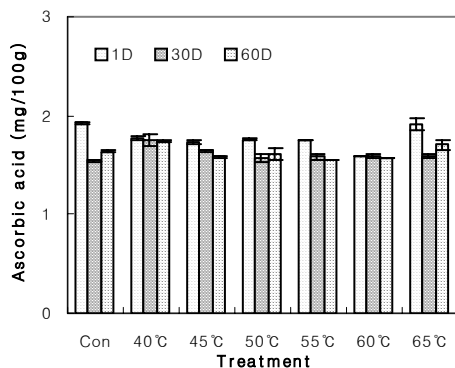


Fig. 3-3-34. Changes in ascorbic acid content of mild hot water treated apples during storage.

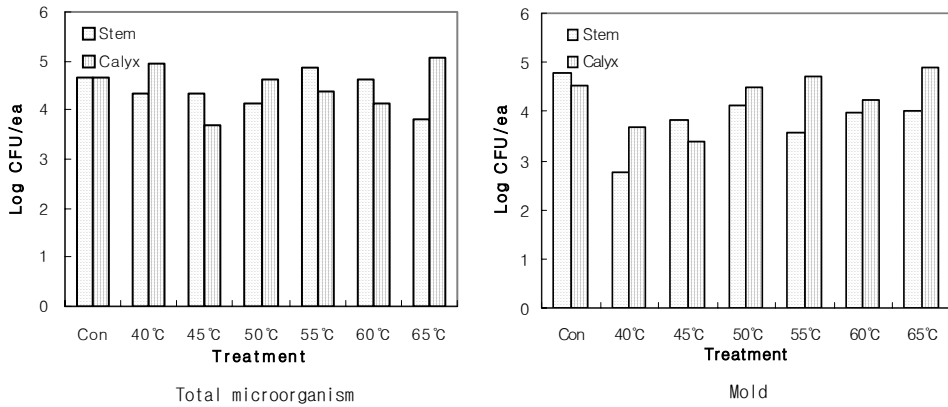


Fig. 3-3-35. Changes in population of microorganisms of mild hot water treated apples during storage.

##### 5. 후지 이외 품종의 임계열처리조건 및 열처리에 따른 품질변화

후지 사과 이외 사과의 품종에 따른 임계열처리조건 및 설정 조건에서의 품질 변화 조사로 2003년 8월 구입한 ‘쓰가루’ 사과를 사용하여 각 온도별 임계 처리 시간을 적용하여 처리 시 외관 및 내부 품질 변화를 조사하였다. 8월 중순 시험 시의 열처리 임계조건으로는 40°C; 420분, 45°C; 240분, 50°C; 65분, 55°C; 9분, 60°C; 2분, 65°C; 0.67분 이었으나 동일 사과를 사용하여 8월 하순경 재 실험하였던 바 40°C; 420분, 45°C; 180분, 50°C; 65분, 55°C; 9분, 60°C; 1분, 65°C; 0.67분으로 처리 온도에 따라 약간의 차이를 보였다. 이러한 조건은 후지사과와 차이를 보이는 것으로 타 품종의 경우 효과적인 열처리기술의 적용을 위해서는 품종에 따른 고려도 필요한 것으로 판단된다(Table 3-3-6, Fig. 3-3-36).

‘쓰가루’ 사과의 열처리시 내부 품질 변화를 알아보기 위하여, 최종 설정된 조건에서 사과를 처리 한후 저장하면서 저장 기간중 중량 감소율, 호흡율, 에틸렌 생성율, 가용성 고형분, pH, 과육 갈변도, 과피색, 과피경도, 과육 경도를 조사하였다. 중량 감소율의 경우, 저장이 진행되면서 점차 증가하는 경향이었으며, 저장 30일에 0.26-0.47%정도, 저장 60일에 0.46-0.70%정도의 감소율을 보였다(Fig. 3-3-37). ‘쓰가루’ 사과의 열처리 후, 저장 초기 호흡율을 보면 40°C의 경우 5.8 CO<sub>2</sub>/kg · hr로 2.04-2.87CO<sub>2</sub>/kg · hr의 다른 처리구보다 높은 호흡율을 보였고, 저

장시기가 지나면서 감소하다가 저장 60일에 다소 증가하는 경향을 나타내었다 (Fig. 3-3-38). 가용성 고형분은 저장 초기 11.5-13 °Brix로 저장 15일에 약간의 증가 현상을 보이다가 저장 30일에 11.1-12.8 °Brix의 범위로 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 3-3-40). ‘쓰가루’ 사과와의 처리 후 저장 초기 pH는 3.7-4.12의 범위였으며, 저장 30일에 3.7-4.17로 pH의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 3-3-41). 과육 갈변도는 저장 초기 1.2-3.1의 범위였으며, 저장 15일에는 증감현상이 없다가 저장 30일에 50℃, 55℃에서 4.2, 3.2로 다른 처리구 2.2-3.0보다 약간 높은 갈변도를 보였다. 과피색의 L값은 대조구와 처리구에서 저장기간별 차이를 볼 수 없었다(Fig. 3-3-42~43). 과피의 경도는 저장 초기 1133-1238 g force 범위였으며, 대조구와 처리구 모두 저장이 진행되면서 감소되는 경향이었으나, 50℃의 경우 초기 1186g force에서 1208, 1296g force증가하는 경향을 나타내었다. 과육의 경도는 저장 초기 40℃, 45℃, 50℃가 대조구보다 64.2-78.9kg force정도 높은 경향을 나타내었으며, 50℃의 경우는 과피의 경우와 마찬가지로 저장 30일까지 대조구보다 높은 경도를 유지하였다(Fig. 3-3-44).

Table 3-3-6. Critical heat treatment conditions of Tsugaru apples by harvesting time

(Unit: min)

Treatment	2003/8/ middle	2003/8/end
40℃		420
45℃	240	180
50℃	65	65
55℃	9	9
60℃	2	1
65℃	0.67	0.67

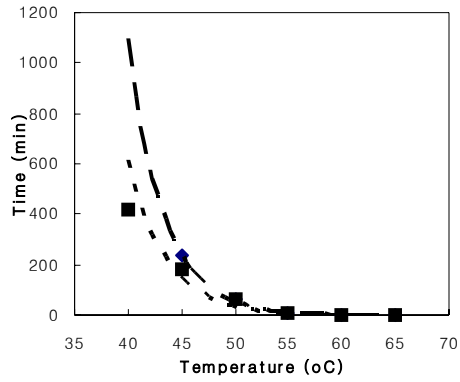


Fig. 3-3-36. Changes in critical condition for heat treatment of 'Tsugaru' apple by harvesting time

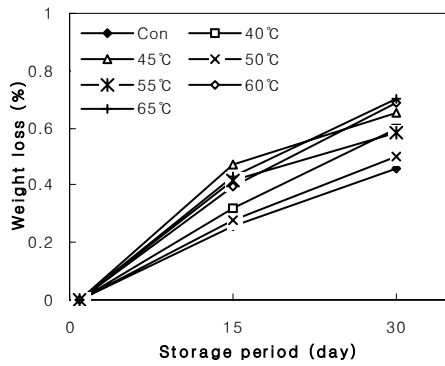


Fig. 3-3-37. Changes in weight loss of mild hot water treated Tsugaru apples during storage.

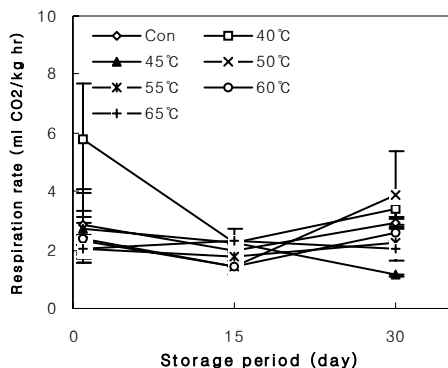


Fig. 3-3-38. Changes in respiration rate of mild hot water treated Tsugaru apple during storage

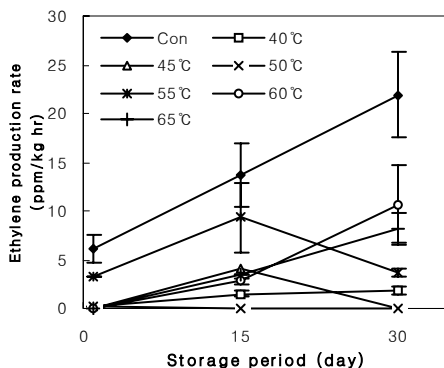


Fig. 3-3-39. Changes in ethylene production rate of mild hot water treated Tsugaru apple during storage

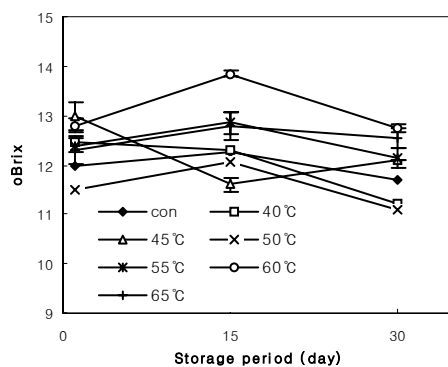


Fig. 3-3-40. Changes in soluble solids content of mild hot water treated Tsugaru apple during storage

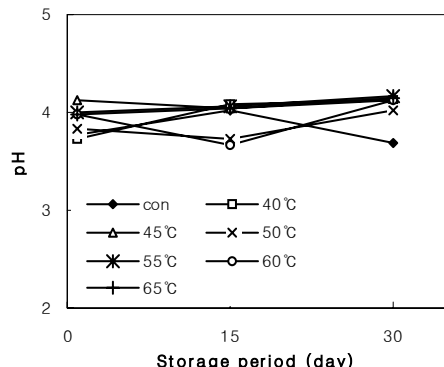


Fig.3-3-41. Changes in pH of mild hot water treated Tsugaru apple during storage



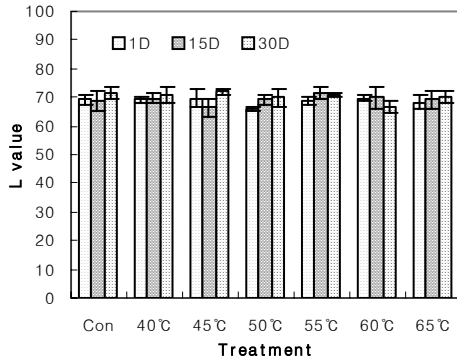


Fig. 3-3-42. Changes in L value of mild hot water treated Tsugaru apple during storage

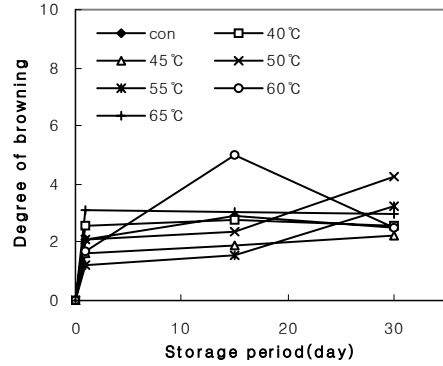


Fig. 3-3-43. Changes in degree of browning of mild hot water treated Tsugaru apple during storage

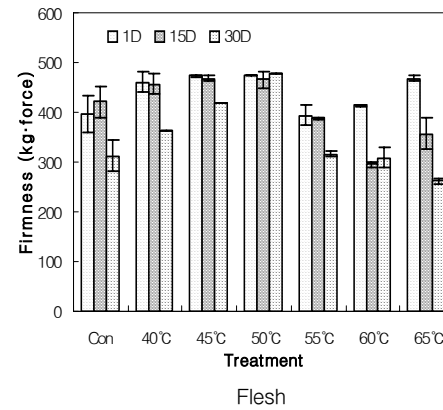
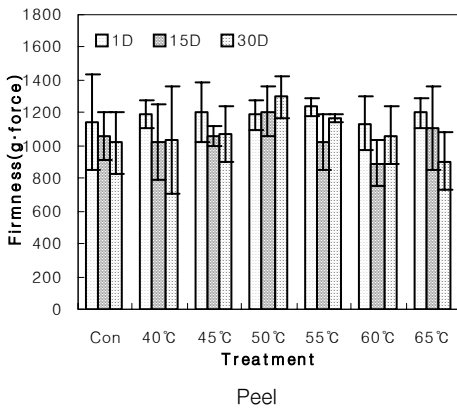


Fig. 3-3-44. Changes in firmness of mild hot water treated Tsugaru apple during storage

## 제 4 절 열처리가 사과에 heat-shock protein 발현과 품질에 미치는 영향

우리나라 사과는 재배 면적의 감소로 인한 생산량의 감소와 과실의 규격화, 포장재 및 저장 사과의 품질 미흡으로 인해 수출량이 감소하고 있는 실정이다. 이러한 문제점 중 사과의 저장 중에는 부패미생물의 증식, 생리장해에 의한 호흡률의 증가 및 ethylene 발생, 저온 장해, 조직감 저하 등으로 인하여 저장 기간이 단축되어 경쟁력 약화의 요인이 된다. 저장사과의 해충구제 및 품질을 개선하기 위하여 methyl bromide(MB) 훈증처리, CA 저장, 저온 처리 등에 의한 방법들이 사용되고 있지만 MB의 경우 급성 및 만성중독에 의한 위장장애, 호흡기장애, 신경장애 등 인체 및 환경오염에 의한 문제로 사용하는데 한계가 있다. 그 중 한 방법이 열처리에 의하여 과일 표면의 미생물 및 해충을 제거하여 저장성을 증가시키는 방법으로 최근에 여러 나라에서 사용되며 연구되고 있다. 그러나 저장에 대한 열처리효과에 관련한 많은 연구가 되어있음에도 불구하고 이런 열처리를 받은 과일이 기존의 과일과 몸에 미치는 영향에 있어 어떻게 다른지 연구가 거의 없는 실정이다. 그래서 본 연구에서는 이런 열처리 조건에서 과일 안에서 일어나는 생화학적 변화 특히 건강기능성분에 어떤 변화가 생기는지를 조사하는게 목적이고 더 나아가 일부 품질에 관련된 인자의 변화를 연구하는데 목적을 두었다. 또한 열처리가 표면에 존재하는 미생물의 제거와 해충제거를 통하여 효과가 발현되는 것으로 알려져 왔는데 과일 내부에서 방어에 관련된 가 있는지 등을 조사하는 것을 부수적인 목적으로 하고 있다. 본 연구에서는 열처리 방법을 사과에 적용하여 사과 안에서 일어나는 여러 생화학적 변화를 구명하는데 목적을 두었다.

1. 저장사과(후지)를 열처리하였을 때 일어나는 변화

가. 저장사과(후지)를 열처리하였을 때 기능성 물질의 변화

1) 총 페놀성 화합물의 측정

식물은 스트레스를 받으면 페놀물질의 합성을 증가시킨다. 이 들 페놀물질은 식물의 외부 병원균에 대한 방어능력을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 또한 많

은 페놀물질이 인간에서 항산화활성 등 여러 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 그러므로 열처리 후 저장성이 증가된 이유가 페놀물질의 증가 때문이 아닌가 하는 이유와 식품으로서의 영양적가치가 어떻게 변했나 알아보기위하여 페놀물질함량을 측정하였다. 4개월 냉장 저장된 후지사과를 45℃에서 30분간 열처리하여 풍건한 후 4℃에서 보관하면서 사과 내부의 total phenolic compound 성분의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3-4-1과 같다. Total phenolic compound는 일정시간 동안 함량이 증가하였다 감소하는 경향을 보였으며 열처리를 하였을 경우 무처리구에 비해 더 높은 수치를 나타내었다.

## 2) 항산화 효과

사과를 45℃에서 30분간 열처리하여 풍건한 후 4℃에서 보관하면서 사과 내부의 항산화 효과의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3-4-2와 같다. 항산화 효과의 경우 무처리구는 증가하였다 감소하는 경향을 보였으나 열처리 한 경우 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 Fig. 3-4-2와에서 보듯이 그 차이가 2%이하이어서 항산화효과에 있어서는 열처리 후 차이가 거의 없다고 할 수 있다.

## 3) ACE inhibition activity

많은 페놀물질이 ACE 저해활성을 갖고 있는 것으로 밝혀지고 있어 열처리 후 ACE저해활성의 변화가 없는지를 조사하였다. 사과를 45℃에서 30분간 열처리하여 4℃에서 보관하면서 사과 내부의 ACE inhibition activity의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3-4-3과 같다. ACE inhibition activity는 일정시간 동안 함량이 증가하였다 감소하는 경향을 보였으며 열처리를 하였을 경우 무처리구에 비해 더 높은 수치를 나타내었다.

## 4) 아질산염소거 능력

아질산염은 사람의 위에 들어가 nitrosoamine등의 발암물질을 생성한다. 식물의 일부 페놀물질이 이를 제거하는 능력이 있는 것으로 알려져 열처리를 하였을 경우 이 들 활성의 변화가 어떻게 되는지를 조사하였다. 사과를 45℃에서 30분간

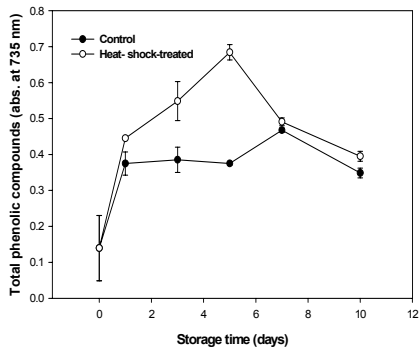


Fig.3-4-1. Changes of total phenolic compounds of heat-shock treated apple.

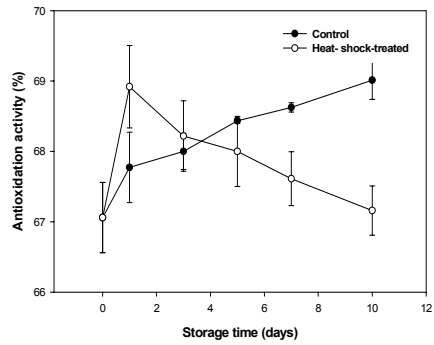


Fig.3-4-2. Changes of antioxidation activity of heat-shock treated apple.

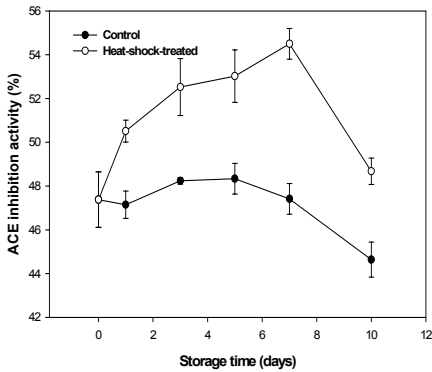


Fig.3-4-3. Changes of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibition activity of heat-shock treated apple.

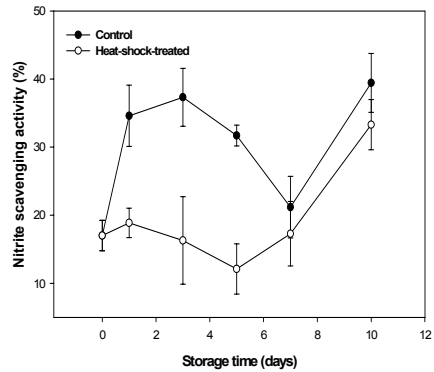


Fig.3-4-4. Changes of nitrite-scavenging activity of heat-shock treated apple.

\*Fuji apple stored for four months was purchased and treated for 30 min at 45°C. The heat-shock treated apple was stored at 4°C before analysis.

열처리하여 풍건한 후 4℃에서 보관하면서 사과 내부의 아질산염소거 능력의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3-4-4와와 같다. 아질산염소거 능력의 경우 무처리구가 더 높은 효과를 나타내었다.

나. 저장 후지사과를 열처리 하였을 때의 대사변화 조사

#### 1) 산도의 변화

열처리 후 저장 시간에 따른 산도의 변화를 측정한 결과는 Fig. 3-4-5와에서와 같이 예상한대로 시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 보였으나 무처리구가 처리구에 비해 산도의 변화가 적은 것으로 나타났다. 처리구의 산도가 감소하는 경향은 열처리에 의한 stress 때문에 대사속도가 빠르기 때문이 아닌가 생각된다.

#### 2) 유리당의 변화

열처리 후 저장 시간에 따른 시간에 따른 유리당의 변화를 측정한 결과는 Fig.3-4-6과에 나타난 바와 같이 무처리구, 처리구 모두 감소하는 경향을 나타내었으나, 열처리를 하였을 때 유리당의 감소가 무처리구에 비해 빠름을 알 수 있다.

#### 3) PAL activity 변화

식물이 스트레스를 받았을 때 페놀화합물의 함량의 변화가 생기는데 이 것은 phenylpropanoid pathway의 key regulatory enzyme인 phenylalanine ammonia lyase (PAL)의 발현이 증가했기 때문인 것으로 알려지고 있다. 그래서 열처리를 하였을 때도 PAL 활성의 변화가 있는지를 확인하였다. 그 결과 무처리구와 처리구에서 상이한 변화를 보이지 않았다(data not shown).

#### 4) 열처리 후 시간에 따른 단백질 발현 변화

일반적으로 생물체에서 heat-shock을 받으면 Heat-shock protein의 발현은 과량으로 일어난다. 그래서 heat-shock protein 각자를 조사하는 것보다 전체적 단백질 발현의 변화를 보기위하여 4개월 저장된 후지사과를 45℃에서 30분 열처리를 한 후 시간경과에 따라 처리된 사과에서 조단백질을 추출한 후 조단백질에

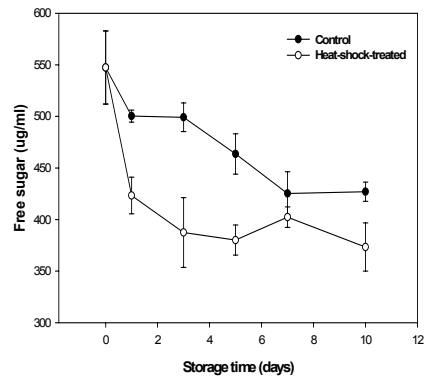
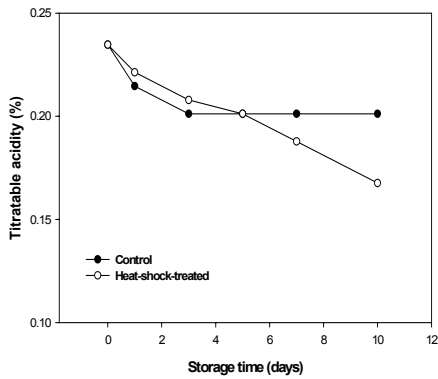


Fig.3-4-5. Changes in the titratable acidity of heat-shock treated apple.

Fig.3-4-6. Changes of free sugar in the heat-shock treated apple of heat-shock treated apple.

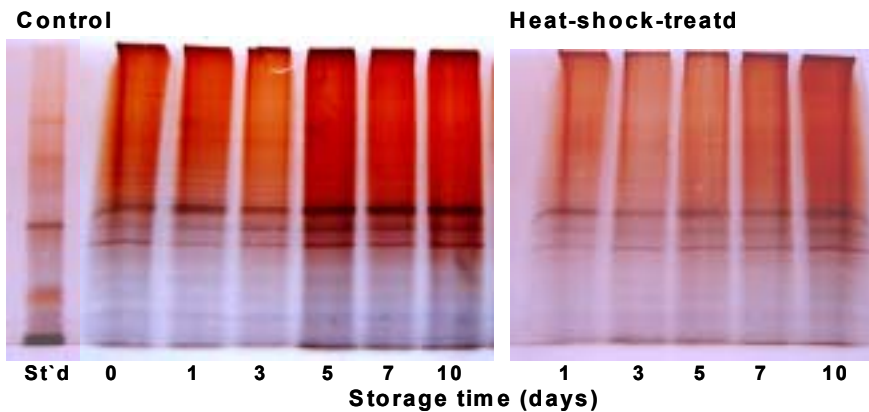


Fig. 3-4-7. Changes of SDS-PAGE of heat-shock treated apple.

Fuji apple stored for four months was purchased and treated for 30 min at 45°C. The heat-shock treated apple was stored at 4°C before analysis. Crude proteins were extracted from heat-shock treated apples. SDS-PAGE of crude proteins was performed by the method of Laemmli on 12.5% running gel and 5% stacking gel. The proteins were stained with silver as described elsewhere. Molecular mass standards are in lane 1 and were composed of phosphorylase b (97.4 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), ovalbumin (45 kDa), carbonic anhydrase (30 kDa), soybean trypsin inhibitor (20.5 kDa), and α-lactalbumin (14.4 kDa).

대한 SDS-PAGE를 수행하였다. 그 결과 Fig.3-4-7과 같이 처리구와 무처리구에서 시간에 따른 별다른 변화를 보이지 않았다.

## 2. 사과 품종과 열처리 조건을 달리하였을 때 일어나는 변화 가. 쓰가루사과

### 1) PAL activity 변화

PAL 효소는 식물의 방어관련 대사 과정에 관여하는 효소로서 식물이 갖고 있는 많은 종류의 Phenylpropanoid 산물합성의 첫단계인 phenylalanine을 trans-cinnamic acid로 전환하는 반응을 촉매한다. cinnamic acid는 다시 몇 단계의 반응을 거쳐 식물의 세포벽을 형성하는 lignin, suberin 등의 식물생장에 기본적으로 필요한 물질 뿐만 아니라 병원균 또는 elicitor처리 시 생성되는 phytoalexin, UV 조사 시 방어물질로 생성되는 flavonoid 등을 합성한다. 이미 알려진 예로 상처, 병원균의 침입, 빛의 조사 등의 자극을 가하였을 때 PAL 효소의 합성은 크게 증가한다고 알려져 있다. PAL은 phenylpropanoid 대사과정에 있어서 key regulatory 효소로 알려져 있고 대체로 식물이 stress를 받을 때 합성이 증가하는 효소로 알려져 있어 사과에서도 열처리를 하였을 때 PAL activity가 증가하는지를 조사하였다. Fig. 3-4-8에서 보듯이 무처리 사과의 경우 PAL activity의 변화에 있어서 거의 변화가 없었지만 45°C 3시간 열처리한 사과의 경우에 있어 열처리 후 저장 1일째 급격히 증가함을 보여 주었다. 또한 60°C 1분간 처리한 열처리 사과의 경우는 처리 후 바로 (0 hr), 그리고 저장 1일째 PAL의 함량이 급격히 증가하였으나 그 이후에는 PAL의 변화에 있어서 완만한 감소를 나타내었으며 저장 15일 이후 급격히 감소하는 경향을 보였다. 45°C 5시간 열처리한 쓰가루 사과의 경우 PAL activity의 변화가 거의 나타나지 않았을 뿐만 아니라 PAL 활성이 무처리에 비해 많이 낮아진 것을 알 수 있었다. 이것은 장시간 열처리를 받아 세포가 외부 stress에 반응하는 능력을 거의 소실하여 활성의 변화가 없을 뿐만 아니라 활성이 낮아진 것은 장시간의 가열처리에 의해 활성의 소실이 있지 않았나 생각된다. 60°C에서 1 분 동안 처리한 사과의 경우 처리 직후는 활성이 대조구에 비해 낮았으나 그 다음에 활성이 급격하게 증가함을 알 수 있었다. 이 것은 처음에 고온에 의해 PAL활성의 손실이 있으나 짧은 열처리

(1 분)이기 때문에 내부의 조직은 열 스트레스에 반응하여 PAL 활성이 급격히 증가하지 않았나 생각한다.

## 2) 열처리한 사과와 기능성 물질의 변화

열처리를 하였을 경우 주로 phenolic compound인 2차 대사산물이 생성되어 여러 가지 생리활성 기능이 증가될 것으로 예상되어 조생종 쓰가루 사과를 45℃에서 3시간, 5시간, 60℃에서 1분간 열처리하여 풍건한 후 4℃에서 보관하면서 사과 내부의 일부 기능성 성분의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3-4-9~12와 같다.

### 가) 총 페놀성 화합물의 변화

Fig. 3-4-9에서 보는 바와 같이 total phenolic compound는 무처리구와 모든 처리구에서 저장 1일째 증가하였다 차츰 감소하는 경향을 보였으며, 45℃에서 3시간 열처리한 쓰가루 사과의 경우 다른 처리구의 쓰가루 사과보다 total phenolic compound의 함량이 일정기간동안 대조구보다 높은 함량을 유지하나 그 후 원인을 알 수 없지만 급격히 감소하는 경향을 보여 저장 15일째 이후부터는 오히려 무처리구보다 total phenolic compound 함량이 더 낮음을 알 수 있었다. 무처리구 사과에서 페놀물질의 변화는 열처리를 안했지만 플라스틱백에 넣는 등 사과를 다룰 때의 물리적 충격에 의해서 일 것이라 추측된다.

### 나) Antioxidation activity

Antioxidation activity는 Fig. 3-4-10에서 보는 바와 같이 45℃ 3시간 열처리한 쓰가루 사과만이 열처리 후 저장 7일째까지 증가하다 그 이후 감소하는 경향을 보였으나 활성의 증가량이 2% 정도로 적은 수치 증가하였으며, 45℃ 5시간, 60℃ 1분 처리구와 무처리구에서는 열처리 후 감소하는 경향을 보였으나 그 차이가 1-2%로 극히 작은 수치이어서 Antioxidation activity는 열처리에 의하여 크게 영향을 안 받는 것으로 판단된다.

### 다) ACE inhibition activity

Angiotensin converting enzyme (ACE)은 angiotensin I을 혈관수축작용을 통한 강한 혈압상승작용기능을 갖는 angiotensin II로 변환시킬 뿐만 아니라 혈관확장



작용을 하는 bradykinin을 분해하는 작용을 함으로 인하여 혈압상승에 관여하는 효소이다. 이런 ACE가 동식물의 peptide 뿐만 아니라 phenolic compound에 의해 저해된다는 보고가 있어 열처리한 사과와 ACE inhibition activity를 측정한 결과 Fig. 3-4-11과 같이 무처리 사과의 경우 저장 1일째 감소하였다 그 이후 활성이 증가하는 경향을 보였으나 열처리한 사과의 경우 시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 보였다. 이 경향은 사과의 종류를 달리하여 후지사과를 이용하여 열처리하였을때도 ACE 저해 활성의 변화는 비슷한 경향을 보였다. 그러나 약 4개월 냉장 저장된 후지사과의 경우 열처리 후 며칠 동안은, 열처리를 45℃에서 짧은 시간 한 시료의 경우 ACE 저해활성이 좀 높은 값을 가졌지만 그 다음은 약간 다른 경향을 보였다 (Fig 3-4-3참조).

#### 라) 아질산염 소거 능력

Gray등에 의해 phenolic 화합물인 tannic acid 유도체를 식품 보존료 및 N-nitrosamine 형성 저해제로 사용한다 있어 열처리에 의한 phenolic compound가 증가할 것으로 보고 아질산염 소거 능력에 대한 실험을 한 결과 Fig. 3-4-12에서와 같이 열처리를 한 경우보다 무처리구가 아질산염소거 능력이 더 높았다. 이 결과는 저장된 후지사과를 사용하였을 때와 유사하였다 (Fig. 3-4-3 참조). 무처리구에서 15일까지 증가하다 그 이후 감소하는 경향을 보였다. 이 것은 실험을 위해 다룰 때 물리적 스트레스에 기인한 것이 아닌가 생각된다. 하지만 45℃ 3시간, 60℃에서 1분간 열처리한 경우에는 시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 보였다. 또한 45℃에서 5시간 열처리하였을 때는 약간 감소하는 경향을 보이나 활성의 감소량에 있어서 저장시간에 따른 아질산염 소거능은 별다른 변화를 보이지 않는 것으로 나타났다.

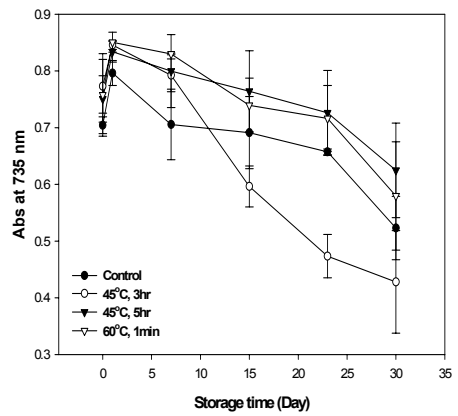
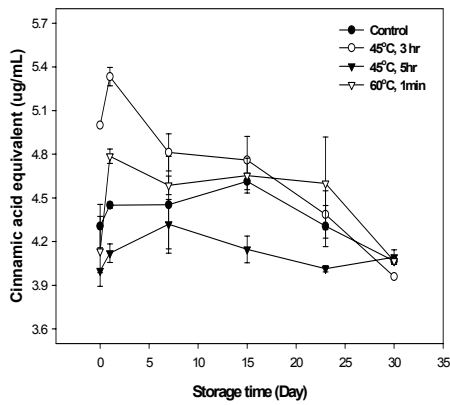


Fig. 3-4-8. Changes of PAL activity in the heat-treated Tsugaru apples.

Fig. 3-4-9. Changes of total phenolic compounds in the heat-treated Tsugaru apples.

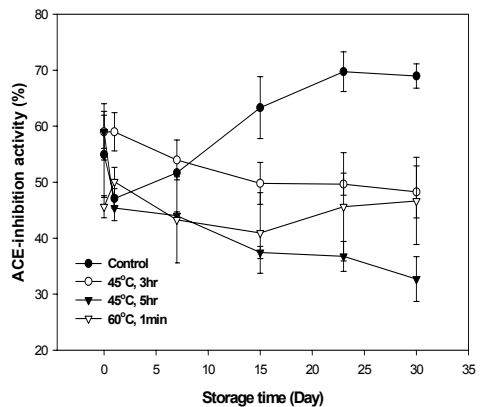
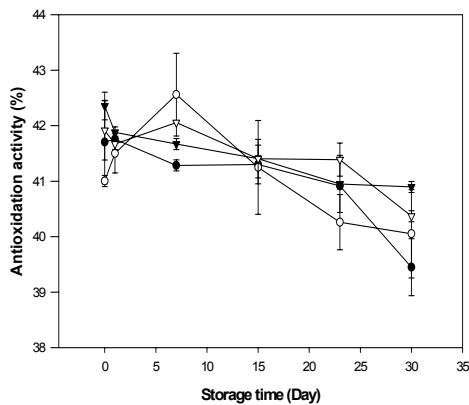


Fig. 3-4-10. Changes of antioxidation activity in the heat-treated Tsugaru apples.

Fig. 3-4-11. Changes of ACE inhibition activity in the heat-treated Tsugaru apples.

\*The fresh Tsugaru apples were heat-treated at 45°C for 3 hr, at 45°C for 5 hr, or at 60°C for 1 min, respectively. The heat-treated apples were stored at 4°C before analysis.

마) 기능성 성분의 전체적 변화

위의 Fig. 3-4-9~Fig. 3-4-12 결과와 같이 쓰가루 사과에서 기능성분을 측정할 결과 열처리 후 대체적으로 모든 기능성분에 있어서 거의 변화가 없거나 감소하는 경향을 보였다.

3) 열처리 한쓰가루 사과에서 유리당 변화 조사

각각의 열처리 후 저장 시간에 따른 유리당의 변화를 조사하기 위해 환원당의 변화를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 3-4-13에 나타낸 바와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 무처리구, 45°C 3시간 처리구는 열처리 후 저장 7일까지는 증가하였다 차츰 감소하는 경향을 보였으며 60°C 1분 처리구는 저장 시간이 증가할수록 환원당의 함량도 증가하는 경향을 보였다. 그러나 45°C에서 5시간 처리구는 환원당 함량에 있어서 가장 낮은 함량을 나타내었으며 거의 시간에 따른 변화가 없었다. 아마 오랜 열처리 조건에 의해 세포의 활성이 떨어져 그런 것이 아닌가 생각된다.

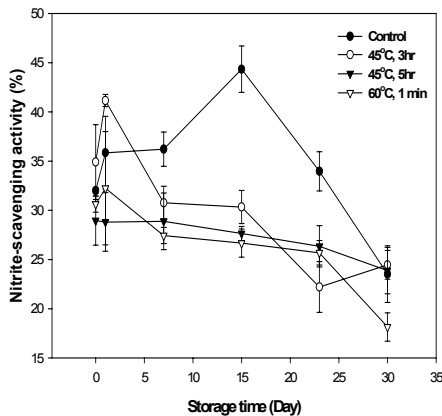


Fig.3-4-12. Changes of nitrite-scavenging activity of heat treated apples.

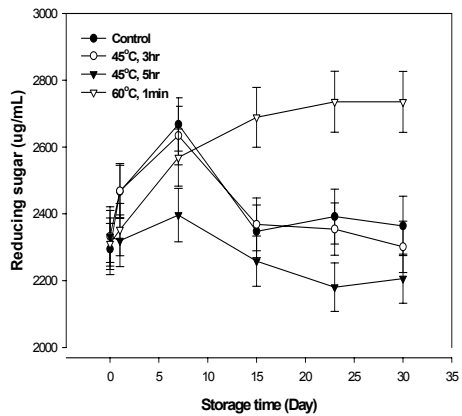


Fig. 3-4-13. Changes of free sugars in the heat-treated Tsugaru apples.

나. 후지사과

1) PAL activity 변화

식물이 스트레스를 받을 때 증가한다고 알려져 있는 Phenylalanine ammonia lyase(PAL)가 열처리 후 어떻게 변하는지를 조사하였다. 이 효소는 phenyl propanoid pathway의 key regulatory enzyme으로 식물생리에서도 중요하지만 건강기능성물질의 변화를 조사하는데 있어서도 중요하다. 이번에는 전번 쓰가루 사과의 실험결과를 주관기관과 의논한 결과 열처리 조건이 너무 길다는 평가가 있어 주관기관에서 제시한 열처리 조건에서 실험을 수행하였다. 신선한 후지사과를 45°C에서 30, 90분, 60°C에서 1분 열처리를 한 후 PAL 효소활성변화를 조사하였으며 그 결과는 Fig. 3-4-14와 같다. 그림에서 보듯이 무처리 사과의 경우 PAL activity의 변화에 있어서 거의 변화가 없었지만 45°C 30분간 열처리한 사과의 경우에 있어 열처리 후 저장 1일째 급격히 증가함을 보여 주었다. 또한 45°C 90분, 60°C 1분간 처리한 열처리 사과의 경우도 저장 1일째 PAL activity가 증가하였다 차츰 감소하는 경향을 보였는데 특히 45°C에서 30분간 열처리하였을 경우 특히 증가하였다 감소하는 경향을 보였다. 이 결과는 쓰가루 사과의 결과 (Fig. 3-4-8)와 비교할 때 처리시간 조건이 달라 비교하기가 어려운 면이 있지만 유사성을 보이는 것으로 판단된다.

2) 열처리한 후지사과의 기능성 물질의 변화

열처리를 하였을 경우 생리활성물질 변화를 조사하였으며 그 결과를 Fig. 3-4-15~Fig. 3-4-20에 나타내었다.

가) 총 페놀성 화합물 측정

Fig. 3-4-15에서 보듯이 Total phenolic compound는 45°C 30분과 60°C 1분간 열처리한 시료와 무처리구에서 저장 1일째 증가하였다 차츰 감소하는 경향을 보였으며, 45°C에서 90분간 열처리한 사과에서는 열처리 후 감소하는 경향을 보였다. 그러나 45°C에서 30분간 열처리하였을 때 가장 높은 total phenolic compound의 증가를 나타내었으며 45°C 90분 열처리 하였을 경우 오히려 total phenolic compound의 큰 감소가 나타났는데 이것은 쓰가루 사과에서 45°C 3 hr 열처리 하였을 경우와 비슷한 경향이다. 60°C에서 1분간 열처리하였을 때는 처음에 약

간 상승하는 경향이 있으나 나중에 다시 감소하는데 이것은 쓰가루 사과에서도 비슷한 경향이였다. 이것은 쓰가루사과의 경우와 마찬가지로 60℃에서 1분의 열처리에 의해 세포손상이 진행되어 세포가 외부충격에 반응하는 능력이 많이 떨어져서 그런 것이라 생각된다. 신선한 Fuji 사과로 실험한 경우와 4개월 저장한 사과의 경우 비슷한 경향을 보이는 것으로 판단된다.

#### 나) Antioxidation activity

Antioxidation activity는 Fig. 3-4-16에서 보는 바와 같이 45℃ 30분, 45℃ 90분 열처리한 처리구에서 열처리 후 감소하는 경향을 보였으며 무처리구가 처리구보다 더 높은 활성을 보이는 것으로 나타났다. 그러나 60℃에서 1분간 열처리한 사과에서는 저장시간이 지남에 따라 항산화활성이 쓰가루 사과와 달리 소폭 증가함을 보였다. 쓰가루사과의 경우 antioxidation activity가 처리구에서 감소하는 경향을 보이지만 그 정도가 작은데 비해 후지사과의 경우 변화가 큰 것을 알 수 있다. 또한 4개월 저장된 후지사과를 열처리하였을 때도 변화가 소폭인데 비해 신선한 후지사과의 경우 변화가 큼을 알 수 있었다.

#### 다) ACE inhibition activity

Angiotensin-converting enzyme (ACE)의 저해활성변화를 Fig. 3-4-17에 나타내었다. 무처리 사과의 경우 저장 10일째부터 그 활성이 유지되는 경향을 보였으나 열처리한 사과의 경우 시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 보였다. 이 경향은 쓰가루 사과의 경우와 매우 비슷하였다. 저장4개월 된 후지사과를 45℃ 30분 열처리 하였을 때도 열처리한 사과의 경우 무처리구보다 처음 약 10일 동안 더 높은 값을 갖으나 7일 쯤부터 급격한 감소를 보이는데 신선한 후지사과의 경우 ACE 저해 활성이 감소하는 시점이 더 빠른 것으로 판단된다.

#### 라) 아질산염 소거 능력

아질산염 소거 능력 실험 결과 Fig. 3-4-18에서와 같이 열처리를 한 경우보다 무처리구가 저장시간 25일 쯤까지 더 높은 효과를 나타내었으나 그 이후 급격히 감소하는 경향을 보였으나 열처리한 사과 중 45℃ 30분, 90분 처리 경우에는

시간이 지남에 따라 감소하는 경향이 많이 완만하였다. 또한 60℃에서 1분간 열처리하였을 때는 저장시간에 따른 아질산염 소거능은 별다른 변화를 보이지 않았는데 이것은 세포에 대한 손상 때문에 반응능력이 떨어졌기 때문이라 생각된다. 이런 경향은 품종이 다른 쓰가루 사과와 경우도 비슷한 경향을 보였다. 4개월 저장된 사과를 비롯하여 조사된 모두의 경우 열처리를 함으로써 아질산염 소거능력은 감소하는 경향을 보이고 있다.

#### 마) 기능성 성분의 전체적 변화

Fuji사과에서 기능성분을 측정할 위의 Fig. 3-4-15~Fig. 3-4-18에서의 결과, 열처리 후 대체적으로 모든 기능성분에 있어서 거의 감소하는 경향을 보였다.

#### 3) 열처리에 의한 유리당 변화 조사

후지사과의 유리당 변화를 조사하기위해 각각의 열처리 후 저장 시간에 따른 환원당의 변화를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 3-4-19에 나타낸 바와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 무처리구, 45℃ 30분 처리구는 열처리 후 저장 10일까지는 증가하였다 차츰 감소하는 경향을 보였으며 무처리구의 유리당 함량이 열처리구보다 대체로 높게 나타났다. 45℃ 90분 처리구는 처리가 더 길어짐에도 불구하고 45℃ 30분 처리보다 유리당 함량이 높았다. 4개월 저장된 후지사과를 열처리한 경우도 무처리구의 유리당 함량이 열처리구보다 높았으나 신선한 후지사과를 이용한 경우는 10일 까지 유리당 함량이 증가하는 경향이 있는데 비해 4개월 저장된 후지사과의 경우 유리당함량이 감소하였다. 쓰가루 사과를 60℃ 1분 처리한 경우 후지사과와 달리 환원당이 계속 증가하였는데 이 결과는 열처리에 대한 품종간의 차이가 있음을 나타낸다.

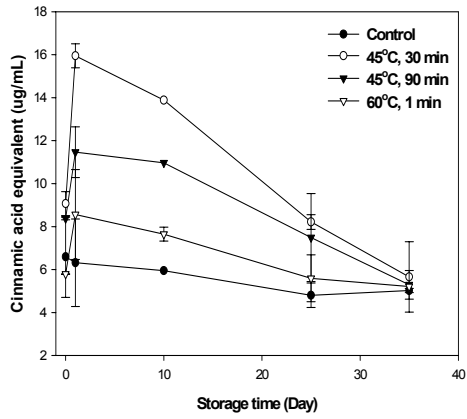


Fig.3-4-14. Changes of PAL activity of heat-treated Fuji apples.

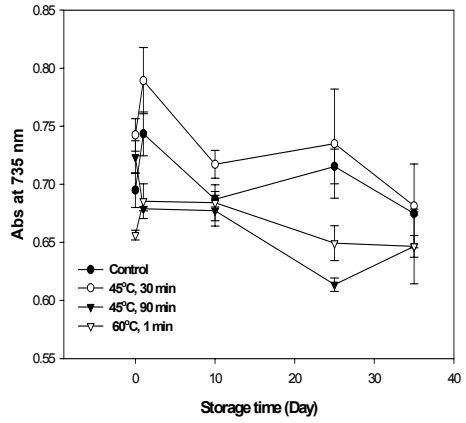


Fig. 3-4-15. Changes of total phenolic compounds in the heat-treated Fuji apples.

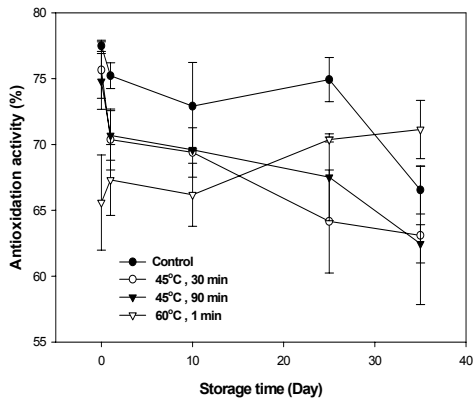


Fig. 3-4-16. Changes of antioxidation activity in the heat-treated Fuji apples.

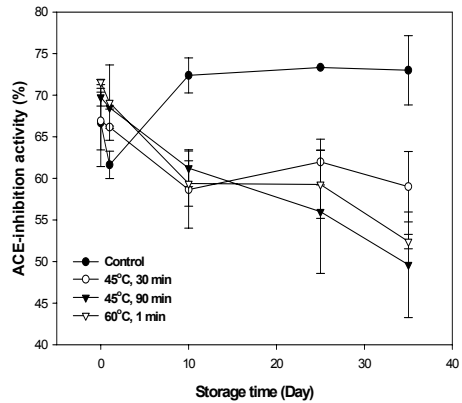


Fig. 3-4-17. Changes of angiotensin ACE inhibition activity in the heat-treated Fuji apples.

\* The fresh Fuji apples were heat-treated at 45°C for 3 hr, at 45°C for 5 hr, or at 60°C for 1 min, respectively. The heat-treated apples were stored at 4°C before analysis.

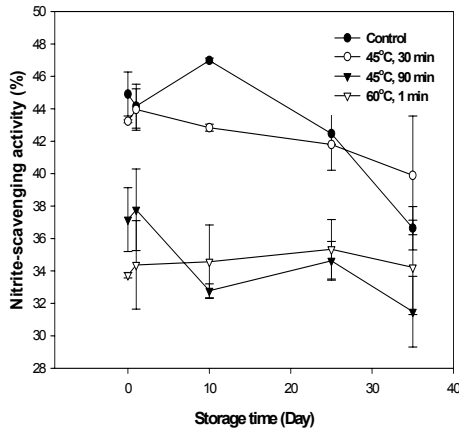


Fig.3-4-18. Changes of nitrite-scavenging activity in the heat-treated Fuji apples.

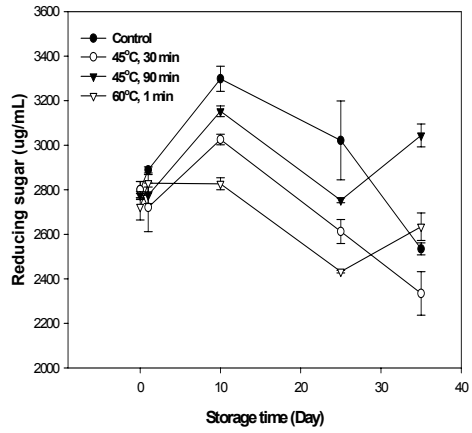


Fig. 3-4-19. Changes of free sugar in the heat-treated Fuji apples.

3. 최적열처리 조건에서 열처리가 heat-shock protein 발현 및 생리적 변화에 미치는 영향

가. 열처리가 갈변에 미치는 영향조사

식물이 보통 스트레스를 받으면 갈변의 원인 효소인 polyphenol oxidase 등의 활성이 증가되면서 식물은 갈변에 더욱 민감하게 되는 경우가 많다. 그래서 열처리를 하였을 경우 혹시 갈변에 영향이 있지 않을까하여 Fuji 사과를 45°C에서 30분 열처리를 하여 Hunter 비색계로 L, a, b 값을 측정하였다. 열처리구와 무처리구의 갈변현상 실험 결과는 Table 3-4-1과 같다. 밝기를 나타내는 L을 비교하면 열처리 후 0, 1 시간, 5 일 지난다음 절단하였을 때 열처리 후 시간이 지남에 따라 초기밝기가 증가하였다. 그러나 절단 후 시간이 지남에 따라 밝기의 감소는 zjs지는 경향을 보였다. 황색의 정도를 나타내는 b 값을 비교하면 열처리 후 시간이 지남에 따라 갈변이 소폭 증가하는 경향이 관찰되었다. 전체적으로 값의 변화가 뚜렷하지 않아 경향을 알기가 어려웠다.



Table 3-4-1. Hunter color index of sliced apple after heat treatment

after cutting	before heat treatment			after cutting	after heat treatment (0 hr)		
	L	a	b		L	a	b
(0 hr)	70.08±1.90	-0.18±0.84	26.83±4.01	(0 hr)	69.51±2.87	-1.44±1.34	24.64±4.06
1 hr	66.54±3.55	1.17±1.47	26.39±2.48	1 hr	67.98±2.51	-1.22±1.91	25.33±2.92
3 hr	64.75±5.75	0.50±1.30	26.66±2.32	3 hr	63.88±3.95	0.58±1.70	26.95±4.43
6 hr	70.21±1.91	-0.89±0.46	25.24±2.01	6 hr	66.32±8.14	-0.09±2.44	25.14±4.21
24 hr	63.39±6.37	-0.08±0.92	26.44±2.83	24 hr	66.31±2.28	-1.18±1.22	25.58±3.47

after cutting	after heat treatment (1 hr)			after cutting	after heat treatment (5 day)		
	L	a	b		L	a	b
(0 hr)	74.47±2.85	-2.95±0.74	24.01±2.50	(0hr)	75.94±3.31	-3.63±0.41	23.04±4.20
1 hr	67.83±3.87	-0.18±1.81	26.64±3.82	1hr	69.62±3.77	-0.51±1.47	25.16±2.71
3 hr	68.88±2.07	-0.37±0.93	25.35±3.06	3hr	69.11±2.75	-0.35±1.47	25.40±3.92
6 hr	67.82±3.65	-0.78±0.98	25.86±3.30	6hr	68.48±2.84	-0.82±0.78	25.58±2.25
24 hr	68.88±3.43	-1.20±0.82	23.81±2.08	24hr	67.23±2.87	-0.42±0.88	24.94±2.52

L: brightness, a: red saturation index, b: yellow saturation index

나. 열처리 후 시간에 따른 Heat-shock protein 등 단백질 발현 변화

### 1) SDS-PAGE

모든 생명체는 heat-shock을 받으면 heat-shock proteins을 과량으로 생성한다. 사과를 열처리 하였을 경우 발현이 바뀌는 단백질 등이 존재하는가 확인하기 위하여 후지사과를 45℃에서 30분 열처리 하여 시간에 따라 조단백질을 추출하여 SDS-PAGE를 수행하였다(Fig. 3-4-20). 그 결과 예상했던 것과 달리 처리구와 무처리구에 있어 단백질 패턴의 변화가 보이지를 않았다. 이 결과는 4개월 저장한 후지사과의 조단백질을 분석하였을 때와 같은 결과를 보여준다. 그러나 본 연구에서는 못하였지만 2-Dimensional gel 로 분석하면 단백질 패턴의 차이를 볼 가능성은 존재한다.

### 2) Western blotting analysis

열 처리구와 무처리구의 단백질을 SDS-PAGE를 실시하여 비교한 결과 변화를 확인할 수 없어 시간별 처리구에서 추출한 조단백질을 인간 heat-shock protein

70 (HSP 70)에 대하여 생쥐의 세포를 이용하여 만든 monoclonal anti-heat shock protein 70(HSP 70) antibody를 이용하여 western blotting analysis를 통해 비교해 보았다. HSP 70를 쓴 이유는 이 단백질이 여러 생명체에 걸쳐 매우 conserved 되어 있기 때문이다. 그 결과 Fig. 3-4-21과 같이 비처리구와 처리구 모두 약 25 kDa, 35 kDa정도의 위치에서 anti-heat shock protein 70(HSP 70)antibody와 cross-react하는 단백질이 관찰되었다. 이 들 단백질은 분자량이 70 kDa 주위가 아니어서 그냥 단순히 HSP 70와 유사성이 있는 단백질일 수가 있고 또는 HSP 70 분해산물이 아닌가 생각한다. 그런데 이 들 단백질은 무처리구에도 나타나는데 이 것은 열처리를 하기 전에 사과시료를 한동안 냉장고에 보관하였다가 열처리를 위해 상온으로 옮겼을 때 발생할지도 모르는 열충격때문인가 아닌가 생각된다. 좀 더 깊이 있는 조사가 이루어져야 할 것이다. 이 번 결과에서는 희미하지만 Fig. 3-4-21의 lane 4&5 즉 열처리 후 30분, 1 시간 후에 약 70 kDa 주위에 anti-HSP 70 antibody와 cross-react하는 희미한 밴드가 보이는데 이것이 사과에서 열처리 후 발생하는 HSP 70와 유사한 단백질일 가능성이 있다.

### 3) $\beta$ -1,3-glucanase activity

식물의  $\beta$ -1,3-glucanase는 병원균으로부터 식물을 보호하는 등 많이 알려진 방어단백질로 여러 스트레스에 의해서도 발현이 증가한다. 한편 열처리한 식물의 경우 저장성이 증가하는 경우가 많아 열처리에 의해  $\beta$ -1,3-glucanase의 발현이 올라가고 이 것이 저장성 증가의 원인일 수가 있으므로 열처리에 따른  $\beta$ -1,3-glucanase activity 변화를 확인하였다. Fuji 사과를 45°C에서 30 분 열처리한 후 시간별로 조단백질을 추출하여  $\beta$ -1,3-glucanase activity를 측정 한 결과를 Fig. 3-4-22에 나타내었다. 그림에서 보는바와 같이 열처리 후 시간이 지남에 따라  $\beta$ -1,3-glucanase activity는 전체적으로 감소하는 경향을 보여 예상과 달리 열처리가  $\beta$ -1,3-glucanase activity 증가에 긍정적인 영향을 미치는 것은 아닌 것으로 생각된다. 그리고 일반적인 식물조직에 존재하는  $\beta$ -1,3-glucanase 활성보다 많이 적은 것을 알 수 있는데 이것이 일반 조직이 아닌 과일이라서 그런 것인지 아니면 사과자체의 특성인지는 좀 더 연구해보아야 할 것이다.

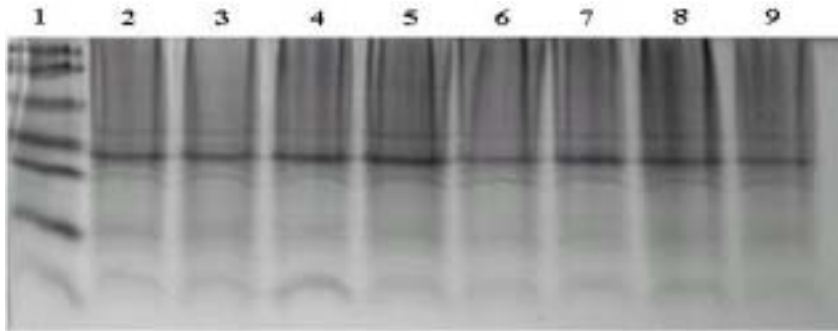


Fig. 3-4-20. SDS-PAGE of the crude proteins obtained from Fuji apple after heat treatment at 45°C for 30 min.

SDS-PAGE was performed by the method of Laemmli on 12.5% running gel and 5% stacking gel. The proteins were stained with Coomassie brilliant blue as described by Ham et al. Molecular mass standards are in lane 1 and were composed of phosphorylase b (97.4 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), ovalbumin (45 kDa), carbonic anhydrase (30 kDa), soybean trypsin inhibitor (20.5 kDa), and  $\alpha$ -lactalbumin (14.4 kDa).

lane 1: prestained protein standard, lane 2: before heat treatment, lane 3: 0 hr after heat treatment, lane 4: 30 min after heat treatment, lane 5: 1 hr after heat treatment, lane 6: 5 hr after heat treatment, lane 7: 24 hr after heat treatment, lane 8: 6 days after heat treatment, lane 9: 13days after heat treatment

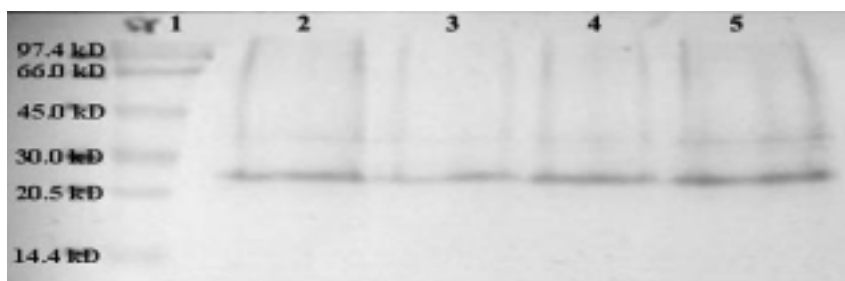


Fig. 3-4-21. Western blotting analysis of crude proteins obtained from Fuji apple after heat treatment.

Fuji apple was heat-treated at 45°C for 30 min and then proteins were extracted. The proteins were separated by SDS-PAGE and analyzed using immunoblotting technique after transferring to nylon membrane (0.2  $\mu$ m pore size, Bio-Rad Co.) following the procedures described by Ham et al.. The primary antibody used was monoclonal antibody raised against human heat shock protein 70 (HSP 70) using mouse cell. Secondary antibody used was alkaline phosphatase-conjugated polyclonal antibody raised against mouse immunoglobulin G. Both antibodies were purchased from Sigma Co. (USA).

lane 1: prestained protein standard, lane 2: before heat treatment, lane 3: 0 hr after heat treatment, lane 4: 30 min after heat treatment, lane 5: 1 hr after heat treatment

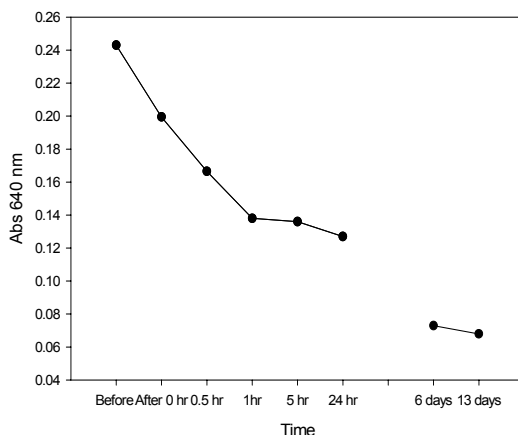


Fig. 3-4-22. Changes of the  $\beta$ -1,3-glucanase activity in Fuji apple after heat treatment.

\*Fuji apple was heat-treated at 45°C for 30 min and then proteins were extracted. The  $\beta$ -1,3-glucanase activity was determined by the procedures described by Ham et al. Laminarin was used as substrate and reducing sugar was measured by Somogi-Nelson method

## 제 5 절 열처리에 의한 사과와 부패미생물 및 해충류 제어 효과

사과의 저장 기간 및 저장 사과의 시장성은 수확 후 발생하는 저장 병해충의 영향을 크게 받는다. 사과에 발생하는 주요 저장병으로는 *Penicillium expansum*에 의한 푸른곰팡이병과 *Botrytis cinerea*에 의한 잿빛곰팡이병이 보고되어 있으며 그 피해가 큰 것으로 알려져 있으나 정확한 피해 상황 및 피해 정도에 관한 조사 보고는 없다. 저장병해충의 발생은 사과의 품질 및 시장성에 영향을 미칠 뿐 아니라 사과의 수출에도 큰 장애요인이 됨으로 그 대책이 필요하다. 사과의 저장병 및 해충의 피해를 줄이기 위한 방법으로 살균제의 이용 및 저온저장이 권장되고 있으나 뚜렷한 효과를 보지 못하는 경우가 많다.

본 연구에서는 수확 후 사과의 부패에 관여하는 미생물 및 해충류 제어처리 기술 개발을 위하여 ① 저장중 사과의 부패율 조사 및 부패에 관여하는 미생물 및 해충의 종류와 특징을 조사하였고, ② 열수 처리가 부패 미생물 및 해충 제어에 미치는 효과를 분석하기 위하여 실시하였다.

### 1. 저장 중인 사과의 부패에 관여하는 부패 미생물의 동정과 특징

#### 가. 저장중인 사과의 부패율 조사

##### ○ 1차년도 조사

수확 후 저장중인 사과의 부패율을 조사하였던 바 1차 조사인 4월 20일에는 12.6%였고, 2차 조사인 6월 20일에는 20%, 3차 조사인 7월 20일에는 22.7%로 저장기간이 길어짐에 따라 그 피해가 증가하였다.(그림 3-5-1)

사과부패에 관여하는 병원균은 *Penicillium expansum*, *P. crustosum*, *P. aurantiogriseum*, *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Botryosphaeria dothidea*, *Alternaria sp.* 등이었으며 그 중 *Penicillium*의 피해가 65~75%에 달하였으며 특히 *P. expansum*의 피해가 가장 심하였다(표 3-5-1, 그림 3-5-2).

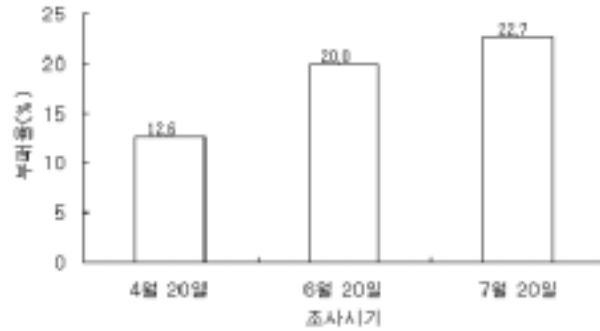


그림 3-5-1. 저온 저장고에 저장 중인 사과 부패율의 경시적 변화(2003년)

표 3-5-1. 수확 후 사과의 부패증상에 관여하는 병원균의 종류와 분리율

조사 시기	조사 사과수 (개)	부패 사과수 (개)	부패 병원균의 분리율 <sup>a</sup> (%)							
			Pe	Pc	Pa	Ps	Bc	Bd	As	기타
4월 20일	159	20	50.0	5.0	10.0	10.0	5.0	5.0	5.0	10.0
6월 20일	185	37	40.5	8.1	5.4	10.8	13.5	8.1	5.4	8.2
7월 20일	172	39	43.6	5.1	7.7	10.3	15.4	5.1	-	12.8

<sup>a</sup> Pe=*Penicillium expansum*, Pc=*P. crustosum*, Pa=*P. aurantiogriseum*, Ps=*Penicillium* sp., Bc=*Botrytis cinerea*, Bd=*Botryosphaeria dothidea*, As=*Alternaria* sp.



그림 3-5-2. 저장 중인 사과의 부패병 증상 (A: *Penicillium* 에 의해 부패, B: *Botrytis* 에 의해 부패)

○ 2차년도 조사

수확 후 저온 저장중인 사과의 부패율은 1차 조사인 5월 25일 조사에서는 20%, 2차 조사인 6월 25일 조사에서는 25%였다. 부패 미생물은 *Penicillium* spp.가 68~73%, *Botrytis cinerea*가 9~12%였으며 기타 미생물이 15~23%였다(표 3-5-2).

표 3-5-2. 저장중인 사과의 부패율 및 부패에 관여하는 미생물

조사시기	조사 사과수 (개)	부패 사과수 (개)	부패율 (%)	부패 미생물의 분리율(%)		
				<i>Penicillium</i>	<i>Botrytis</i>	기타
5월 25일	250	51	20.4	68	9	23
6월 25일	230	57	24.7	73	12	15



그림 3-5-3. *Penicillium* 부패



그림 3-5-4. *Botrytis* 부패

표 3-5-3. 사과 부패 병반에서 분리된 *Penicillium* spp.의 분리율

<i>Penicillium</i> species	분리균주수	
	1차조사(5/25)	2차조사(6/25)
<i>P. aurantiogriseum</i>	2	5
<i>P. brevicampactum</i>	4	3
<i>P. crustosum</i>	4	3
<i>P. expansum</i>	18	23
<i>P. solitum</i>	10	8
<i>P. spinulosum</i>	2	3
Total	40	45

수확 후 사과 부패병에 관여하는 *Penicillium* spp.의 분리율을 조사하였다. 수확 후 부패병이 발생한 사과에서 *P. expansum*, *P. crustosum*, *P. brevicampactum*, *P. solitum*, *P. aurantiogriseum*, *P. sipcelosum* 등 6종의 *Penicillium*이 검출되었으며, 그 중 *P. expansum*이 우점종 이었다(표 3-5-3).

사과와 배의 수확 후 저장병에 관여하는 *Penicillium*으로 외국에서는 *P. aurantiogriseum*, *P. brevicampactum*, *P. crustosum*, *P. diversum*, *P. expansum*, *P. funiculosum*, *P. puberulum*, *P. rugulosum*, *P. spinulosum*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum* 등 11종이 보고되어 있으나(Rosenberger, 1990), 본 연구에서는 6종이 검출되었으며, *P. expansum*을 제외한 5종은 국내에서는 사과에서 최초의 보고이다.

나. 사과 부패에 관여하는 *Penicillium*의 종류와 특징

사과 부패에 관여하는 *Penicillium* 으로 6종이 분리되었다. 이중 국내에서 보고된 것은 *P. expansum*뿐이며 기타 5종의 *Penicillium*은 국내 최초로 사과 부패미생물로 보고한다. 사과 부패에 관여하는 6종의 *Penicillium*의 균학적 특징을 기술하면 다음과 같다



○ *Penicillium spinulosum* Thom(그림 3-5-5)

Bull. Bur. Anim. Ind. US Dep. Agric 118: 76 1910.

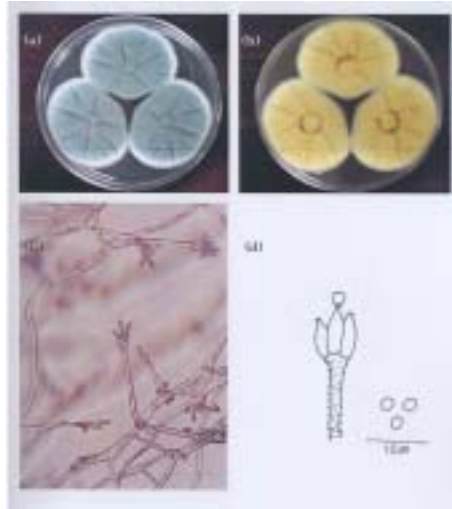


그림 3-5-5. *Penicillium spinulosum*. Colonies on CYA after 7days of incubation: a) obverse, green; b) reverse, pale brown; c) to d) conidiophores and conida

**CYA** 배지에서 균총의 직경은 35~48 mm이며, 균총 조직은 조밀하고, 방사상의 홈을 형성한다. 균사는 흰색이며 균총의 색은 초기에는 밝은 녹색이었다가 차차 짙은 녹색 또는 푸른빛의 녹색으로 된다. 뒷면은 무색 또는 옅은 갈색이며, 삼출물이나 색소는 생성하지 않는다. 5℃에서는 2-7 mm 성장하며, 37℃에서는 성장하지 못한다. **MEA** 배지에서 균총의 직경은 35-50 mm이며, 방사상의 홈을 형성하고, 균사는 흰색이다. 균총의 중심은 양털모양과 같은 기중균사를 형성하고, CYA 배지에서보다 밝은 녹색의 포자를 형성하며, 뒷면은 밝은 갈색이다. **G25N** 배지에서 균총의 직경은 15-20 mm이며, 방사상의 홈을 형성하며, 균사는 흰색이고, 균총의 색은 CYA 배지에서와 비슷하며, 뒷면은 무색이다. **분생자경**은 stipe에 phialide가 형성되는 monoverticillate를 형성하며, stipe의 크기는 100-150×2.5-3 µm이고, 표면은 거칠다. phialide는 앰플형이며 stipe에 3-8개 형성되고 크기는 7-9×2-3 µm이다. **분생포자**는 공모양으로 직경은 3-4 µm 이다.

○ *Penicillium expansum* Link(그림 3-5-6)

Obs. mycol. 1: 16, 1809

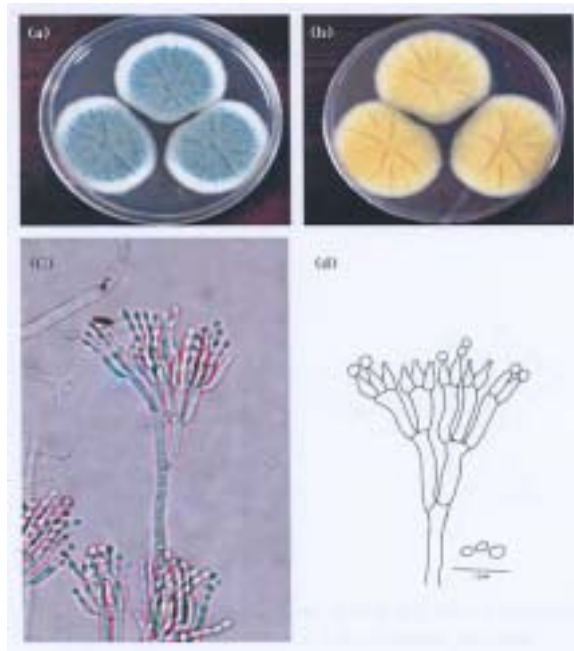


그림 3-5-6. *Penicillium expansum*. Colonies on CYA after 7days of incubation: a) obverse, green; b) reverse, yellowsh brown; c) to d) conidiophores and conida

**CYA**에 접종하여 25℃에서 7일간 배양하면 균총의 직경은 32-44 mm이고 굴용의 표면은 양털과 같은 모양으로 방사형의 홈을 형성한다. 때때로 윤문의 coremia를 형성한다. 균사는 흰색이며 삼출물은 거의 형성하지 않고 균총의 뒷면은 무색이거나 노란색 또는 노란빛의 갈색을 띤다. 또한 배지에 색소를 형성하는 경우가 있는데, 옅은 갈색 또는 노란색을 띤다. 마치 사과향 같은 향기로운 과일향 또는 구연산의 냄새가 난다. 5℃에서는 미약한 균사만 형성하거나 때때로 2-5 mm 성장하고, 37℃에서는 성장하지 못한다. **MEA**배지에서는 배양속도가 다양하여 균총의 직경은 20-40 mm이며, 균총의 표면은 평편하고 뒷면은 무색 또는 오렌지색의 색소를 낸다. **G25N** 배지에서 균총의 직경은 15-21 mm이고 방사상의 홈을 형성하며 뒷면은 무색이다. 분생자경은 두 번에서 세 번 정도 분지하여 biverticillat

또는 terverticillat penicilli를 형성하며, 서로 엉켜있다. Stipe은 표면이 매끄럽고, metulae는  $12-15 \times 2-3 \mu\text{m}$ 이고 5-8개정도의 phialide가 형성된다. phialide는 원주형으로 다른 *Penicillium* 보다 짧은 편으로  $8-11 \times 2-3 \mu\text{m}$ 이다. 분생포자는 공모양으로 직경이  $3 \mu\text{m}$ 정도이고 녹색을 띄며 표면은 매끄럽다.

○ *Penicillium aurantiigriseum* Dierckx(그림 3-5-7)

Annls Soc. Sci. Brux. 25: 88 1901.

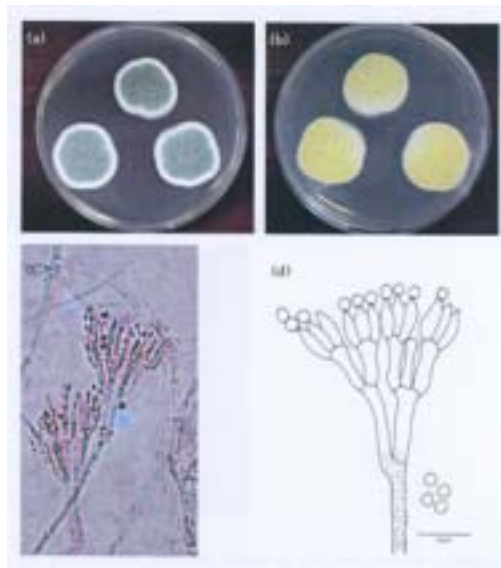


그림 3-5-7. *Penicillium aurantiigriseum*. Colonies on CYA after 7days of incubation: a) obverse, green; b) reverse, pale yellow; c) to d) conidiophores and conida

**CYA** 배지에 접종하여  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 7일간 배양 후 균총의 직경은 30-35 mm이며, 방사상의 홈이 패이고, 균총의 표면은 고운가루가 뿌려진 것 같으며, 중심부는 양털과 같은 기중균사가 생성되는 경우가 있고, 가장자리에는 흰색의 균사를 형성한다. 분생포자는 일반적으로 많고, 연한 녹색에서 점차 짙어진다. 균총의 위에는 삼출물을 형성하는데 투명하거나 옅은 갈색을 띤다. 뒷면의 색은 무색 또는 옅은 노란색이거나 밝은 오렌지색 또는 붉은빛의 갈색을 나타낸다.  $5^{\circ}\text{C}$ 에서는 균총의 직경은 2-5 mm이며,  $37^{\circ}\text{C}$ 에서는 성장하지 않는다. **MEA** 배지에서의 균총의 직경

은 25-35 mm로 균총의 표면은 평편하다. 포자의 색은 짙은 녹색 짙은 녹색 또는 푸른빛을 띠는 녹색이며 삼출물은 생성하지 않고 뒷면은 무색 또는 오렌지색이거나 붉은빛의 갈색을 띤다. **G25N** 배지에서는 직경이 20-24 mm이고, 방사상의 홈을 형성하며, 삼출물과 색소는 형성하지 않는다. 포자는 중심부터 생성하기 시작하여 짙은 회색빛의 녹색을 띠며, 균총의 가장자리 부분의 균사는 흰색이다. 균총 뒷면의 색은 무색 이거나 노란색 또는 옅은 갈색을 띤다. **분생자경**은 terverticillate 또는 biverticillate penicilli를 형성하며, stipe은 200-400  $\mu\text{m}$ 로 표면은 거칠다. Rami는 15-23 $\times$ 3-4  $\mu\text{m}$ 이고, metulae는 길이가 10-13  $\mu\text{m}$ 로 하나의 metulae에 5-8개의 phialide를 생성하며 앰플형으로 9-10 $\times$ 2-3  $\mu\text{m}$ 이다. **분생포자**는 구형으로 직경 3-4  $\mu\text{m}$ 이다.

○ *Penicillium crustosum* Thom(그림 3-5-8)

Penicillia : 399, 1930

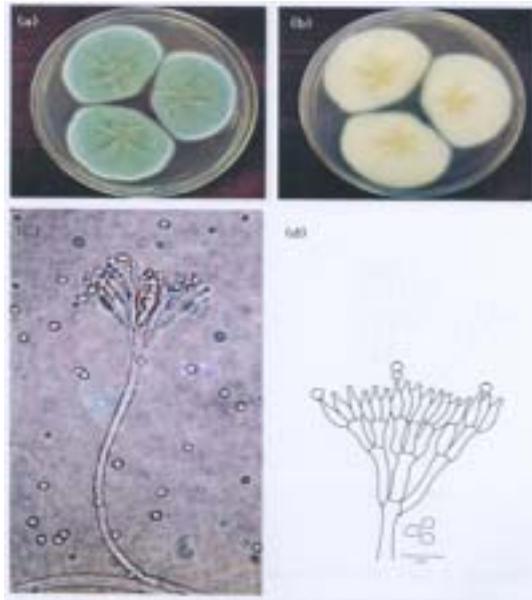


그림 3-5-8. *Penicillium crustosum*. Colonies on CYA after 7days of incubation: a) obverse, green; b) reverse, pale; c) to d) conidiophores and conida

**CYA** 배지에 접종하여 25℃에서 7일간 배양한 결과 균총의 직경은 35-44 mm였다. 균총에는 방사상의 홈을 형성하고 균총의 표면은 벨벳 같거나, 가루를 뿌려 놓은 듯하다. 균총의 색은 진한 녹색으로 뒷면은 무색이거나 옅은 노란색 또는 오렌지색을 띠는 갈색이다. 무색의 투명한 삼출물을 형성하고, 색소는 형성하지 않는다. 포자의 형성이 매우 많다. 자극적인 냄새를 생성하며, 5℃에서는 미약한 균사만 형성하고, 37℃에서는 성장하지 않는다. **MEA** 배지에서의 성장속도의 변이가 심하여 균총의 직경은 20-40 mm이다. 균총의 표면은 녹색이며, 삼출물이나 색소는 형성하지 않는다. **G25N** 배지에서 균총의 직경은 15-21 mm이며, 균총의 조직은 매우 조밀하다. 방사상의 홈을 형성하며, 균총의 색은 **CYA** 배지에서와 유사하며, 균총의 뒷면은 무색이거나 옅은 노란색이다. 삼출물은 형성하지 않으며, 배지에 노란색의 색소를 생성한다. **분생자경**은 세 번 또는 네 번 분지하여, terverticillate 또는 quaterverticillate penicilli를 형성하며, 주로 stipe은 terverticillate penicilli를 형성한다. Rami는 1-2번 분지하고 15-20×3-4 μm이다. metulae는 하나의 rami에 3-5개가 형성되며 12-15×3 μm로 이다. 하나의 metulae에 5-8개의 phialide가 형성되며 애플형으로 8-11×2-3 μm이다. **분생포자**는 타원형으로 직경 3-4×2.5-3 μm이다.

○ *Penicillium brevicompactum* Dierckx(그림 3-5-9)

Annl. Soc. Sci. Brux. 25: 88, 1901.

**CYA** 배지에 접종하여 25℃에서 7일간 배양시 균총의 직경은 20-25 mm이며 균총이 아주 조밀하고 깊이가 얇은 방사상의 홈을 형성한다. 균총의 표면은 마치 벨벳 같으며, 균총 가장자리의 균사는 회색이다. 분생포자의 생성은 중간정도이고 색은 짙은 녹색이거나 푸른빛의 녹색을 띠며, 무색투명한 삼출물을 균총 위에 형성하고, 때때로 배지에 색소를 형성한다. 균총 뒷면의 색은 무색이거나, 붉은 빛의 갈색을 나타낸다. **MEA** 배지에서 균총의 직경은 10-23 mm이며 균총의 표면은 평편하고 균사는 흰색으로 분생포자는 중간정도 생성한다. 분생포자의 색은 짙은 녹색에서 어두운 녹색으로 되며 삼출물은 처음엔 무색투명하지만 후에 붉은 빛의 갈색을 나타내며, 균총의 뒷면은 무색이거나 갈색을 띤다. 5℃에서는 균사가 미약하게 성장하며, 37℃에서는 성장하지 않는다. **G25N** 배지에서는 균총의

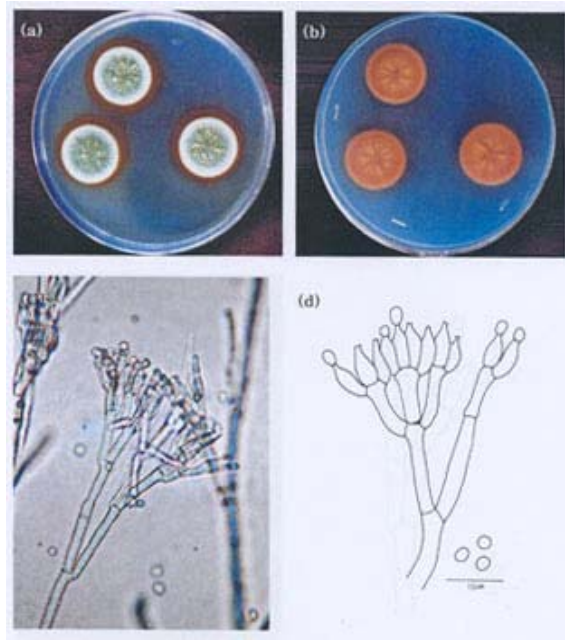


그림 3-5-9. *Penicillium brevicampactum*. Colonies on CYA after 7days of incubation: a) obverse, green; b) reverse, raddish brown; c) to d) conidiophores and conida

직경이 12-22 mm이며, 균총의 표면은 평편하고 방사상의 홈을 형성한다. 무색투명한 삼출물을 형성하고, 균총의 뒷면은 무색이다. **분생자경**은 biverticillate 또는 terverticillate penicilli를 형성하고, stipe의 길이는  $300-500 \times 4-6 \mu\text{m}$ 로 표면은 매끄럽고 크다. metulae는  $9-15 \times 4-6 \mu\text{m}$ 이며, phialides는 플라스크 모양으로  $6-9 \times 3-3.5 \mu\text{m}$ 이다. **분생포자**는 구형으로 직경  $3-4 \mu\text{m}$ 이다.

○ *Penicillium solitum* Westling(그림 3-5-10)

Ark. Bot. 11: 52. 1911

**CYA** 배지에서 균총의 직경은 25-30 mm이며, 균총의 표면은 벨벳 같고, 방사상의 홈을 형성하며 균사는 흰색으로 균총의 가장자리에서만 보인다. 균총의 조직은 매우 조밀하며, 색은 짙은 녹색으로 균총의 뒷면은 무색이거나 옅은 노란색을 띤다. 삼출물이나 색소는 형성하지 않는다.  $5^{\circ}\text{C}$ 에서는 미약한 균사만 형성하거나

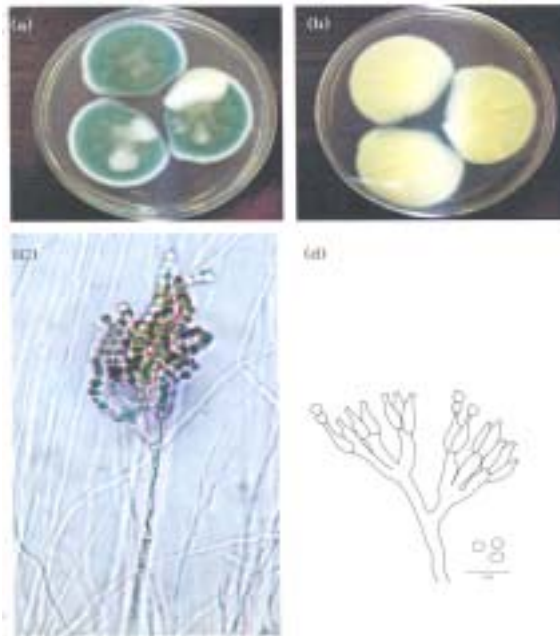


그림 3-5-10. *Penicillium solitum*. Colonies on CYA, 7days, 25°C: a) obverse, green; b) reverse, pale; c) to d) conidiophores and conida

4-5 mm의 균총을 형성하며, 37°C에서는 성장하지 못한다. **MEA** 배지에서 균총의 직경은 25-30 mm이며 균총의 표면은 평편하고, 균사는 흰색이며, 균총의 색은 CYA 배지에서와 비슷하고, 균총의 뒷면은 오렌지색이거나 갈색을 나타낸다. **G25N** 배지에서 균총의 직경은 15-23 mm이며 균총의 조직은 CYA 배지에서와 같이 치밀하다. 균사는 흰색이고 방사상의 홈을 형성하며, 균총의 뒷면은 밝은 노란색을 나타낸다. **분생자경**은 두 번 또는 세 번 분지하는 biverticillate 또는 terverticillate penicilli를 형성하며, 주로 terverticillate penicilli를 형성하고 표면은 매끄럽다. metulae는 원통형으로 10-12×2-2.5 μm이고, phialides는 앰플형으로 9-12×2-2.5 μm이다. **분생포자**는 공모양으로 사슬을 형성하며, 직경은 3-4 μm이다 (표 3-5-4).

3-5-4. Morphological and cultural characteristics descriptions of *Penicillium* species

Species	Penicillus <sup>a</sup>	NO. of rami	Length( $\mu$ m)				Diameter (mm)	Exudate	Sulcate	Reverse	Soluble pigment
			Metula	Phialide	Conidia						
<i>P. spinulosum</i>	Mono	-	15~30×4~5	7~9×2~3	3~4	35~48	-	+	Brown	-	
<i>P. expansum</i>	Ter	1	8~12×2~2.5	8~11×2~3	3	32~44	-	+	Brown	Yellow	
<i>P. aurantiogriseum</i>	Ter	1~2	12~15×3	9~10×2~3	3~4	30~35	Yellow	+	Orange	Brown	
<i>P. crustosum</i>	Ter	1	10~12×2~2.5	8~11×2~3	3~4×2.5~3	35~44	Clear	+	Brown	-	
<i>P. brevicampactum</i>	Ter	1~2	10~15×3~4	6~9×3~3.5	3~4	20~25	Clear	+	Red	Red	
<i>P. solitum</i>	Ter	1	10~12×2~2.5	9~12×2~2.5	3~4	20~30	-	+	Pale	-	

<sup>a</sup> mono: monoverticillate; bi: biverticillate; ter: terverticillate



다. 사과에서 분리한 *Penicillium* spp.의 병원성 검정

사과에서 분리한 *Penicillium* spp.의 병원성 검정을 실시하였던바 *Penicillium expansum*의 병원성이 가장 강하였고 그 다음 *Penicillium spinulosum*, *Penicillium crustosum*의 순이었으며, *Penicillium solitum*, *Penicillium aurantiogriseum*의 병원성은 약하였다(표 3-5-5).

사과에서의 *Penicillium*의 병징은 공통적으로 갈색의 병반을 형성하며, 상처부위에 균사와 포자를 형성하였다(Fig 3-5-11). *Penicillium*의 종별 병징의 특징을 살펴보면, *P. expansum*은 외부에 열린 윤문의 갈색병반을 형성하고 직경은 50-60 mm 정도였다. 과일의 내부도 갈색으로 물러지며 상처부위에 균사와 포자를 형성하였다(Fig 3-5-11). 특히 다른 종과 차이점은 상처부위 외의 병반을 균사가 뚫고 나와 분생포자 또는 분생자경속을 형성하는 것이었다(Fig 3-5-11). *P. crustosum*은 직경 20-40 mm의 윤문이 흐리게 나타나는 갈색병반을 형성하였고, 상처부위에서만 *P. expansum* 보다 옅은 색의 포자를 형성하였다(Fig 3-5-11). *P. spinulosum*에 의한 병반은 직경이 41-45 mm 정도이며, 윤문이 갈색병반을 형성하였고 옅은 녹색의 포자와 무색의 기중균사를 상처부위에서만 형성하였다(Fig 3-5-11). *P. solitum*은 균주에 따른 병원성의 차이가 다양하여 10-35 mm의 병반을 형성하였다. 갈색, 수침상 병반을 형성하고 상처부위에만 옅은 녹색의 포자와 흰색의 균사를 형성하였다(Fig 3-5-11). *P. aurantiogriseum*은 직경 10-20 mm의 병반을 형성하였고, 외부 병징은 다른 *Penicillium*과 마찬가지로 갈색의 병반을 형성하지만 내부에는 갈색의 스포지 간은 건조한 병징을 나타내었다(Fig 3-5-11). 또한 상처부위에만 짙은 녹색의 포자를 형성하였다.

표 3-5-5. Pathogenicity of *Penicillium* spp. isolated from decayed fruits of apples on apple fruits by artificial inoculation

Species	Diameter of lesions (mm) <sup>a</sup>
<i>P. expansum</i>	52.4 ± 2.87 a
<i>P. crustosum</i>	30.4 ± 1.49 c
<i>P. spinulosum</i>	41.0 ± 1.89 b
<i>P. solitum</i>	21.2 ± 1.60 d
<i>P. aurantiigriseum</i>	14.6 ± 2.57 d

<sup>a</sup> Measurement was made 7 days after inoculation of conidial suspension. Values in column according to LSD at P=0.01

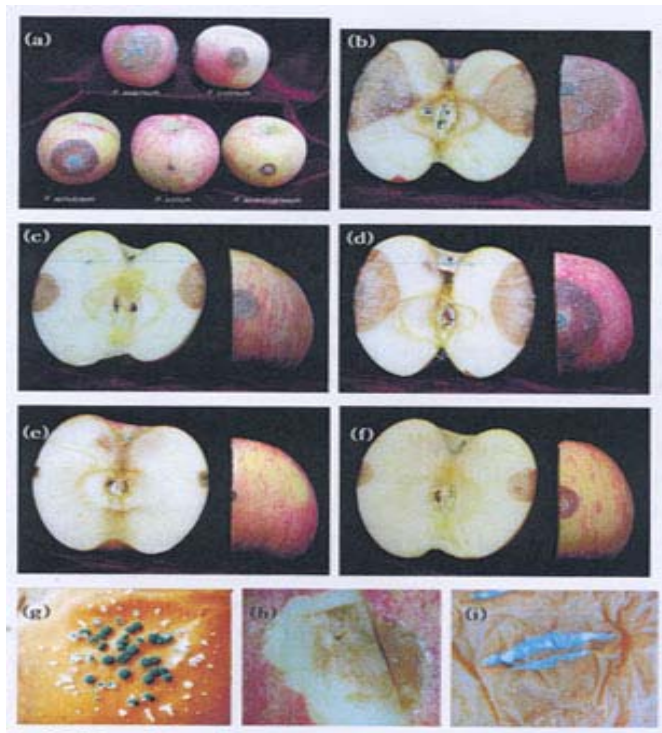


그림 3-5-11. Pathogenicity of *Penicillium* spp. in apples. (a) External and internal fruits symptoms of blue mold. (b) *P. expansum*. (c) *P. crustosum*, (d) *P. spinulosum*, (e) *P. aurantiigriseum*, (f) *P. solitum*. (g) symptom of *P. expansum*, (h) *P. aurantiigriseum* and (i) *Penicillium* spp.

## 2. 사과 오염 부패 미생물의 제어를 위한 임계 열처리 온도 조사

가. 푸른곰팡이병균(*Penicillium expansum*)의 열수처리 효과

### ○ 1차년도 조사

*P. expansum*의 분생포자는 40~65℃의 전 열수 처리구에서 사멸되지 않았다. 단 열수 처리의 경우 병원균의 초기발아를 지연시키는 효과가 있었다. 특히 40~50℃처리 온도에서는 처리시간에 관계없이 모두 24시간 후의 발아율이 20%(18~24%)전후로 낮았으며 60℃처리 온도에서는 처리시간에 따라 발아 억제효과에 차이가 있었으며 5분 처리의 억제효과가 가장 좋았다. 그러나 55℃와 65℃처리 온도에서는 발아 억제효과가 없었다(표 3-5-6).

### ○ 2차년도 조사

*P. expansum*의 분생포자의 열수처리 효과는 45℃, 20~3분 처리와 60℃ 3초~30초 처리 구간에서는 발아억제 효과가 없었으며 45℃에서 5분, 10분 처리구에서 초기발아억제 효과가 있었다. 즉 45℃에서 5분, 10분 처리할 경우 24시간 후의 발아율이 9~11%로 매우 낮았으며 시간이 경과함에 따라 발아율이 점차 회복되었으나 3일 후에도 발아율이 62~69%로 다른 처리구의 발아율 100%에 비하여 낮았다(표 3-5-7).

나. 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)의 열수처리 효과

*B. cinerea*의 분생포자는 전 열수 처리구에서 발아억제 및 사멸 효과가 있었으며, 처리 온도 및 처리시간에 따라 차이가 있었다. 40℃에서는 240분 처리로 포자가 사멸하였으며 45℃ 및 50℃에서는 전 처리구, 55℃온도에서는 3분 이상, 60℃에서는 2분 이상, 65℃에서는 50초 이상을 처리해야 포자가 사멸하였다(표 3-5-8).

표 3-5-6. *P. expansum* 분생포자의 *in vitro* 열수 처리가 포자 발아에 미치는 영향

처리온도	처리시간	포자 발아율(%)		
		1일 후	2일 후	5일 후
40℃	60 min	18	98	100
	120 "	19	100	100
	180 "	20	97	100
	240 "	21	100	100
45℃	30 min	20	100	100
	60 "	20	99	100
	90 "	22	100	100
	120 "	21	99	100
50℃	15 min	19	100	-
	30 "	22	100	-
	45 "	21	100	-
	60 "	24	100	-
55℃	1 min	98	100	-
	3 "	97	100	-
	5 "	99	100	-
	7 "	98	100	-
	9 "	98	100	-
60℃	1 min	98	100	100
	2 "	40	97	100
	3 "	15	65	100
	4 "	-	-	-
	5 "	0	98	100
65℃	10 sec	100	-	-
	20 "	100	-	-
	30 "	100	-	-
	40 "	100	-	-
	50 "	100	-	-
무처리		100	100	100

표 3-5-7. 푸른곰팡이병균(*P. expansum*) 분생포자의 *in vitro* 열수처리가 포자발아에 미치는 영향

처리온도	처리시간	포자 발아율(%)	
		1일 후	3일 후
45℃	20 sec	98.3	100
	40 sec	97.1	100
	1 min	98.0	100
	3 min	85.0	100
	5 min	10.9	69.3
	10 min	9.2	62.4
60℃	3 sec	89.2	100
	7 sec	90.1	100
	10 sec	92.4	100
	20 sec	91.7	100
	30 sec	90.3	100
무처리		95.8	100

표 3-5-8. *Botrytis cinerea* 분생포자의 *in vitro* 열수 처리가 포자 발아에 미치는 영향

처리 온도	처리시간	포자 발아율(%)		
		1일 후	2일 후	5일 후
40℃	60 min	0	65	100
	120 "	0	15	60
	180 "	0	8	40
	240 "	0	0	0
45℃	30 min	0	0	0
	60 "	0	0	0
	90 "	0	0	0
	120 "	0	0	0
50℃	15 min	0	0	0
	30 "	0	0	0
	45 "	0	0	0
	60 "	0	0	0
55℃	1 min	0	87	100
	3 "	0	0	0
	5 "	0	0	0
	7 "	0	0	0
	9 "	0	0	0
60℃	1 min	0	7	40
	2 "	0	0	0
	3 "	0	0	0
	4 "	0	0	0
	5 "	0	0	0
65℃	10 sec	78	100	100
	20 "	0	0	100
	30 "	0	0	100
	40 "	0	0	100
	50 "	0	0	0
무처리		100	100	100

### 3. 사과 열수처리에 따른 사과 부패병 억제 효과

#### 가. 사과 열수처리의 *Penicillium* 부패병 억제 효과

##### ○ 1년차 조사

푸른곰팡이병균(*P. expansum*)을 사과에 인공 접종한 후 40~60℃ 온도 범위에서 열수 처리한 경우 전 처리구에서 초기 발병 억제가 인정되었다. 40℃ 열수 처리의 효과가 가장 높았으며 특히 40℃-60분 처리 효과가 가장 좋았다(그림 3-5-12 과 그림 3-5-13).

##### ○ 2차년도 조사

푸른곰팡이병균(*P. expansum*)을 사과에 인공 접종한 후 40~60℃ 온도 범위에서 열수 처리한 경우 전 처리구에서 초기 발병 억제가 인정되었다. 40℃ 열수 처리의 효과가 가장 높았으며 특히 40℃-60분 처리 효과가 가장 좋았다(표 3-5-9, 그림 3-5-14~그림 3-5-16).

##### ○ 3차년도 조사

푸른곰팡이(*P. expansum*)을 사과에 인공접종한 후 45℃와 60℃에서 열수 처리한 경우 전처리구에서 초기 발병억제효과가 인정되었으나 특히 45℃에서 5분, 10분 처리한 경우 발병억제 효과가 가장 높았다. 즉 45℃에서 5분, 10분 처리한 경우 7일 후에도 부패율이 7~10%에 불과하였다(표 3-5-10과 그림 3-5-17).

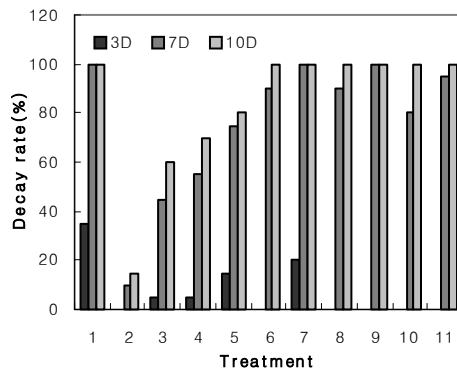


그림 3-5-12. 푸른곰팡이병균(*Penicillium*)을 인공접종한 사과의 각종 열수 처리 효과

1: control, 2:40℃-60min, 3: 40℃-120min, 4: 40℃-180min, 5: 40℃-240min, 6: 45℃-60min, 7: 45℃-120min, 8: 50℃-30min, 9: 50℃-60min, 10: 55℃-9min, 11: 60℃-5min



그림 3-5-13. 열수 처리한 사과에 *Penicillium* 부패병 억제효과(A,무처리; B,40°C 60분처리)

표 3-5-9. 푸른곰팡이병균(*P. expansum*)에 감염된 사과의 열수처리 효과

열수 온도(°C)	처리 시간(분)	사과 부패율(%)		
		2일 후	4일 후	8일 후
40	60	0	0	10
	120	0	10	45
45	60	0	20	90
	120	11	23	100
50	30	0	27	95
	60	0	35	100
55	9	0	42	100
60	5	0	50	100
무처리		36	55	100





Fig 3-5-14. 사과 열수처리의 *Penicillium* 부패 억제 효과(A, 무처리; B, 40°C, 60분처리)



Fig 3-5-15. 사과 열수처리의 *Penicillium* 부패 억제 효과(A, 무처리; B, 40°C, 120분처리)



Fig 3-5-16. 사과 열수처리의 *Penicillium* 부패 억제 효과(A, 무처리; B, 45°C, 60분처리)

표 3-5-10. 푸른곰팡이병균(*P. expansum*)에 감염된 사과의 열수처리 효과

열수온도	처리시간	3일 후		7일 후	
		병반직경(mm)	부패율(%)	병반직경(mm)	부패율(%)
45°C	20 sec	3.9	40.0	24.3	86.7
	40 sec	7.8	83.3	30.1	96.7
	1 min	4.9	40.0	20.2	76.7
	3 min	0.9	10.0	17.5	66.7
	5 min	0	0	0.5	6.7
	10 min	0.3	3.3	1.1	10.0
60°C	3 sec	2.9	30.0	13.1	50.0
	7 sec	6.9	66.7	24.7	76.7
	10 sec	3.7	40.0	15.2	53.3
	20 sec	1.8	26.7	17.4	70.0
	30 sec	7.4	70.0	27.0	83.3
무처리		9.8	100	37.2	100



그림 3-5-17. 사과 열수처리의 *Penicillium* 부패 억제 효과(A, 45°C, 5분처리; B, 무처리)

#### 나. 사과 열수처리의 *Botrytis* 부패병 억제 효과

##### ○ 1차조사(2004년)

잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에 감염된 사과의 열수처리 효과를 조사하였던 바 열수처리가 오히려 부패를 촉진시켰다. 40°C 열수처리에서만 초기감염이 약간 억제되었을 뿐 기타 전 열수처리구에서 부패율이 증가하였는데 이는 사과의 열수처리가 부생성이 강한 *B. cinerea*의 사과 감염을 촉진시킴을 나타내는 것이다(표 3-5-11).

##### ○ 2차 조사(2005년)

잿빛곰팡이병균에 감염된 사과를 45°C와 60°C의 열수에 짧은 시간 처리한 후 부패병 억제 효과를 조사하였던바 45°C 처리에서 초기 발병 억제 효과가 있었고, 특히 45°C에서 5분~10분 처리한 경우 가장 효과가 높았다. 그러나 60°C 처리에서는 억제 효과가 없었다(표 3-5-12).

표 3-5-11. 잿빛곰팡이병균(*B. cinerea*)에 감염된 사과 의 열수처리 효과

열수 온도(℃)	처리 시간(분)	사과 부패율(%)		
		2일 후	4일 후	8일 후
40	60	15	50	100
	120	30	60	100
45	60	32	80	100
	120	35	85	100
50	30	40	100	100
	60	55	100	100
55	9	50	100	100
60	5	55	100	100
무처리		25	55	100

표 3-5-12. 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerica*)에 감염된 사과 의 열수처리 효과

열수 온도	처리 시간	3일 후		7일 후	
		부패율(%)	병반직경(mm)	부패율(%)	병반직경(mm)
45℃	20 sec	60	5.9	90	17.4
	40 sec	67	1.6	50	5.9
	1 min	80	9.2	93	19.9
	3 min	40	2.3	93	25.7
	5 min	53	1.5	60	6.4
	10 min	27	1.2	43	3.8
60℃	3 sec	100	21.9	100	40.2
	7 sec	100	16.3	100	38.0
	10 sec	97	13.3	97	30.0
	20 sec	83	18.8	83	30.1
	30 sec	83	21.8	100	41.2
무처리		100	21.6	100	43.2

다. 사과 열수처리의 겹무늬썩음병균 부패억제 효과

사과겹무늬썩음병균(*B. dothidia*)을 인공 접종한 후 열수 처리한 경우는 40℃에서 240분 처리구와 45℃에서 60분 처리구의 효과가 좋았다. (그림 3-5-18).

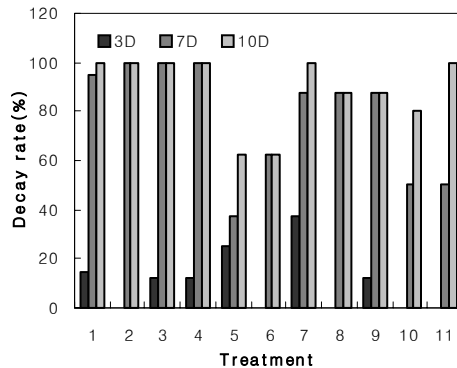


그림 3-5-18. 열수 처리한 사과의 *B. dothidia* 부패병 억제효과

#### 4. 사과의 해충류 식흔 조사

##### ○ 1년차 조사

시중에 판매되고 있는 저온저장사과를 농수산물시장과 시중 유통시장에서 3상자씩 표본을 추출하여 기간별로 조사하여 49개들이 상자안의 사과에 존재하는 총과 충에 의한 식흔을 조사한 결과, 조사한 3번 모두 응애류나 진딧물의 알, 각피흔적 등을 관찰할 수 있었으며, 나방류에 의한 식흔, 과실의 꽃자리부근이나 꼭지부분 등에 각지벌레 군락등을 관찰할 수 있었다. 이들의 생존여부는 아직까지 확인되지 않았고, 특히 응애류나 진딧물류의 알 상태를 관찰하기 어려웠기 때문에 차후의 조사가 필요하겠다. 생존여부와 함께 다른 과실로의 유입에 의한 피해 또한 조사되어야하며, 저장기간별 조사 또한 필요할 것으로 사료된다(표 3-5-13).

표 3-5-13. 저장사과에서 총체조사

발생해충류	1차 2003. 5. 11	2차 2003. 6. 12	3차 2003. 7. 18
응애류	+	+	+
진딧물류	-	-	+
나방류	+	+	+
각지벌레류	+	+	+
기 타	-	-	-
총체발견율(%)	8.2%	20.4%	8.2%

○ 2년차 조사

시중에 판매되고 있는 저온저장사과를 농수산물시장과 시중 대형 유통매장에서 1상자씩 5곳에서 구입한 5상자를 표본을 추출하여 기간별로 조사하였다. 49개들이 상자안의 사과에 존재하는 총과 충에 의한 식흔을 조사한 결과, 조사한 5번 모두 응애류나 진딧물의 알, 각피 흔적 등을 관찰할 수 있었으며, 나방류에 의한 식흔, 과실의 꽃자리부근이나 꼭지부분 등에 각지벌레 군락 등을 관찰할 수 있었다(표 3-5-14).

표 3-5-14. 저장사과에서 총체 및 식흔 조사

발생해충류	1차 2004. 3. 12	2차 2004. 4. 16	3차 2004. 5. 14	4차 2004. 6. 18	5차 2004. 7. 16
응애류	+	-	+	-	+
진딧물류	-	+	-	+	-
나방류	+	+	+	+	+
각지벌레류	+	+	+	+	+
기 타	-	-	-	-	-
총체 및 식흔 발견율(%)	13.5±3.1%	14.3±5.2%	13.5±8.6%	24.1±5.3%	17.6±4.7%

## 5. 사과와 열수 처리에 의한 해충류 사멸 시험

### 가. 응애의 생존율

#### ○ 1년차 조사

응애를 접종한 사과 열수처리의 경우 40℃ 처리온도를 제외하고 45℃이상의 온도조건에서는 침지하는 동시에 응애가 죽거나 떨어지는 현상을 확인하였으며, 40℃의 열수처리에서 1분간 침지를 했을 경우에는 약 20%정도의 생존율을 보였으나 45℃에서는 생존하는 개체를 찾아볼 수 없었다. 물론 45℃이상의 온도에서는 모든 응애가 모두 사망하였다. 따라서 45℃에서 1분 이상을 처리해야 살충효과가 있음이 확인되었다. 또한 열수처리과정에서 사과 과피나 꼭지, 배꼽부위로부터 떨어져나간 응애의 경우 다시 붙는다해도 정착하지 않았다(표 3-5-15).

표 3-5-15. 열수처리시 온도와 처리시간에 따른 응애의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 min	23.3
	3 min	6.7
	5 min	6.7
	10 min	6.7
	30 min	0.0
45℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
50℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
55℃	10 sec	0.0
	1 min	0.0
60℃	10 sec	0.0
65℃	10 sec	0.0

### ○ 2년차 조사

열수처리에 의한 응애의 생존률을 조사하기 위하여 응애를 저장 후에 판매하고 있는 사과에 각 50마리씩 인위적으로 접종한 후 1시간동안 정착하기를 기다린 후에 각각의 온도(40, 43, 45, 50, 53, 55, 60, 63, 65℃)에 맞는 물에 각각 1분, 3분, 5분, 10분, 30분(55℃ 이상에서는 10초 추가)을 담가놓고 꺼낸 후에 응애의 생존을 확인하였다.

그 결과, 응애를 접종한 사과 열수처리의 경우 40℃ 처리온도를 제외하고 43℃ 이상의 온도조건에서는 침지하는 동시에 응애가 죽거나 떨어지는 현상을 확인하였으며, 40℃의 열수처리에서 1분간 침지를 했을 경우에는 약 22%정도의 생존율을 보였으나 43℃에서는 38%로 생존율이 증가하였다. 그러나 45℃이상의 온도에서는 모든 응애가 모두 사망하였다. 따라서 45℃에서 1분 이상을 처리해야 살충효과가 있음이 확인되었다. 또한 열수처리과정에서 사과 과피나 꼭지, 배꼽부위로 부터 떨어져나간 응애의 경우 다시 붙는다해도 정착하지 않았다(표 3-5-16).

### ○ 3년차 조사

1년차, 2년차의 실험과 같은 방법으로 응애를 접종한 사과를 열수 처리한 결과 45℃ 20초~10분, 60℃ 20초~10분의 전처리 구간에서 응애가 죽거나 떨어짐으로서 처리 후 생존율 0%를 나타내었다(표 3-5-17).

## 나. 진딧물의 생존율

### ○ 1년차 조사

응애의 방법과 마찬가지로 진딧물을 접종한 사과 열수처리의 경우 응애의 경우와 같이 40℃ 처리온도를 제외하고 45℃이상의 온도조건에서는 0%의 생존율을 나타냈으며, 40℃의 열수처리시 30분 이상을 처리해야 50% 이상의 사망률을 확인하였다. 열수처리과정에서 사과과피나 꼭지, 꽃자리부근으로부터 떨어져나간 진딧물의 경우 다시 붙는다해도 정착하지 않았다. 따라서 사과의 수확시에 붙어 있는 응애나 진딧물의 성충을 사멸시키는데는 45℃에서 1분간 열수처리가 적당할 것으로 사료된다(표 3-5-18).



표 3-5-16. 열수처리시 온도와 처리시간에 따른 응애의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 min	22.0
	3 min	8.0
	5 min	6.0
	10 min	6.0
	30 min	0.0
43℃	1 min	38.0
	3 min	30.0
	5 min	16.0
	10 min	2.0
45℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
50℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
53℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
55℃	10 sec	0.0
	1 min	0.0
60℃	10 sec	0.0
63℃	10 sec	0.0
65℃	10 sec	0.0

표 3-5-17. 열수 처리에 따른 응애(사과에 인위적 접종)의 알 및 성충의 생존율

처리온도	처리시간	처리 후 생존율(%)	
		알	성충
45℃	20 sec	0	0
	40 sec	0	0
	1 min	0	0
	3 min	0	0
	5 min	0	0
	10 min	0	0
60℃	20 sec	0	0
	40 sec	0	0
	1 min	0	0
	3 min	0	0
	5 min	0	0
	10 min	0	0

○ 2년차 조사

응애의 처리방법과 동일한 방법으로 진딧물을 접종한 사과를 열수처리 하였을 경우 응애의 경우와 같이 40℃와 43℃에서 처리한 것을 제외하고는 45℃이상의 온도조건에서는 0%의 생존율을 나타냈으며, 40℃의 경우에는 열수처리시 30분 이상을 처리해야 50% 이상의 사망률을 확인하였다. 열수처리과정에서 사과 과피나 꼭지, 꽃자리부근으로부터 떨어져나간 진딧물의 경우 다시 붙는다해도 정착하지 않았다. 따라서 사과의 수확시에 붙어있는 응애나 진딧물의 성충을 사멸시키는 데는 45℃에서 1분간 열수처리가 적당할 것으로 사료된다(표 3-5-19).

표 3-5-18. 열수처리시 온도와 처리시간에 따른 진딧물의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 min	87.5
	3 min	91.0
	5 min	90.4
	10 min	70.7
	30 min	43.5
45℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
50℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
55℃	10 sec	0.0
	1 min	0.0
60℃	10 sec	0.0
65℃	10 sec	0.0

표 3-5-19. 열수처리시 온도와 처리시간에 따른 진딧물의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 min	86.0
	3 min	88.0
	5 min	86.0
	10 min	74.0
	30 min	46.0
43℃	1 min	74.0
	3 min	66.0
	5 min	42.0
	10 min	26.0
45℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
50℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
53℃	1 min	0.0
	3 min	0.0
	5 min	0.0
	10 min	0.0
55℃	10 sec	0.0
	1 min	0.0
60℃	10 sec	0.0
60℃	10 sec	0.0
65℃	10 sec	0.0

○ 3년차 조사

3년차 조사 결과는 표 20에서와 같이 45℃, 60℃의 전처리구간에서 진딧물 성충의 생존율이 0%였다(표 3-5-20).

표 3-5-20. 열수 처리시 온도와 처리시간에 따른 진딧물 성충의 생존율

처리온도	처리시간	처리 후 생존율(%)
		성충
45℃	20 sec	0
	40 sec	0
	1 min	0
	3 min	0
	5 min	0
	10 min	0
	60℃	20 sec
40 sec		0
1 min		0
3 min		0
5 min		0
10 min		0

다. 파밤나방 유충의 생존율(3년차 조사)

파밤나방 유충을 접종한 사과 열수 처리의 경우 45℃, 60℃의 전 처리구에서 유충의 생존율은 0%였다(표 3-5-21).

표 3-5-21. 열수처리시 온도와 처리시간에 따른 과밤나방의 생존률

처리온도	처리시간	처리 후 생존율(%)
		유충
45℃	20 sec	0
	40 sec	0
	1 min	0
	3 min	0
	5 min	0
	10 min	0
	60℃	20 sec
40 sec		0
1 min		0
3 min		0
5 min		0
10 min		0

라. 수확직후 및 저장사과의 열처리후 해충류 발생유무 조사

수확직후 사과 및 저장시판 사과를 설정된 임계열처리 조건 내에서 열수에 침지 처리한 후 상온에 방치하여 해충류 생존 가능여부를 조사하였던 바 처리된 사과로부터 생존한 해충은 발견되지 않았다(표 3-5-22).

표 3-5-22. 수확직후 및 저장시판사과의 열처리 후 해충류 생존율

발생예상해충류	45℃, 10분		60℃, 10초	
	수확직후	저장	수확직후	저장
응애류	-	-	-	-
진딧물류	-	-	-	-
나방류	-	-	-	-
각지벌레류	-	-	-	-
기 타	-	-	-	-
생존총체 발견율(%)	0%	0%	0%	0%

## 6. 사과와 건조처리에 의한 해충류 사멸 시험

### 가. 응애의 생존율

#### ○ 1년차 조사

상기한 방법으로 응애를 사과에 접종한 후, 각각의 온도에 맞게 드라이오븐에 넣어 두고 시간별 사망개체수를 조사하였다. 그 결과 사과 건조처리의 경우 40℃로 처리했을 때는 2시간 이상 처리해야 효과가 있었으며, 실제로 1일 이상의 처리는 무처리의 경우도 생존율이 19.4%로 나타났기 때문에 부득이 처리할 필요가 없었다. 따라서 건조 처리의 경우 최소한 24시간을 처리해야만 전 개체가 사망하여 장시간 처리해야 하는 어려움이 있다(표 3-5-23).

#### ○ 2년차 조사

열수처리의 방법으로 응애를 사과에 접종한 후, 40, 43, 45, 50 55℃조건에서 드라이오븐에 넣어 두고 시간별 사망개체수를 조사하였다. 그 결과 사과 건조처리의 경우 40℃로 처리했을 때는 2시간 이상 처리해야 효과가 있었으며, 실제로 1일 이상의 처리는 무처리의 경우도 생존율이 19.4%로 나타났기 때문에 부득이 처리할 필요가 없었다. 따라서 건조 처리의 경우 최소한 24시간을 처리해야만 전 개체가 사망하여 장시간 처리해야 하는 어려움이 있다(표 3-5-24).

표 3-5-23. 건조처리시 온도와 처리시간에 따른 응애의 생존율

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 hr	80.0
	2 hr	75.5
	1 day	1.2
45℃	1 hr	69.1
	2 hr	38.3
	1 day	0.0
50℃	1 hr.	8.3
	2 hr	6.7
	1 day	0.0

표 3-5-24. 건조처리시 온도와 처리시간에 따른 응애의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 hr	86.0
	2 hr	84.0
	4 hr	76.0
	8 hr	26.0
	1 day	10.0
43℃	1 hr	74.0
	2 hr	80.0
	4 hr	54.0
	8 hr	12.0
	1 day	0.0
45℃	1 hr	66.0
	2 hr	50.0
	4 hr	8.0
	8 hr	0.0
	1 day	0.0
50℃	1 hr	4.0
	2 hr	6.0
	4 hr	2.0
	8 hr	0.0
	1 day	0.0
55℃	1 hr	6.0
	2 hr	0.0
	4 hr	0.0
	8 hr	0.0
	1 day	0.0



## 나. 진딧물류의 생존율

### ○ 1년차 조사

진딧물을 사과에 접종한 후 1시간 정착시간을 주고 건조처리에 의한 결과는 진딧물의 경우, 40℃이상의 처리에서는 2시간 이상을 처리해야 효과가 있었으며, 45℃의 경우에는 응애와는 달리 1시간을 처리해도 80%정도의 사망률을 보였다. 또한 사과 과피로부터 떨어져나가 죽는 경우가 대부분이었다. 건조처리의 경우 생존했다 하더라도 활력이 떨어져, 재부착 후의 피해염려는 없을 것으로 생각된다(표 3-5-25).

### ○ 2년차 조사

진딧물을 사과에 접종한 후 1시간 정착시간을 주고 40, 43, 45, 50 55℃에서 건조처리에 의한 결과는 진딧물의 경우, 40℃이상의 처리에서는 2시간 이상을 처리해야 효과가 있었으며, 45℃의 경우에는 응애와는 달리 1시간을 처리해도 80%정도의 사망률을 보였다. 또한 사과 과피로부터 떨어져나가 죽는 경우가 대부분이었다. 건조처리의 경우 생존했다 하더라도 활력이 떨어져, 재부착 후의 피해염려는 없을 것으로 생각된다(표 3-5-26).

표 3-5-25. 건조처리시 온도와 처리시간에 따른 응애의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 hr	58.5
	2 hr	55.6
	1 day	1.2
45℃	1 hr	11.0
	2 hr	4.0
	1 day	0.0
50℃	1 hr	0.0
	2 hr	0.0
	1 day	0.0

표 3-5-26. 건조처리시 온도와 처리시간에 따른 응애의 생존률

처리온도	처리시간	처리후 생존율(%)
40℃	1 hr	62.0
	2 hr	58.0
	4 hr	54.0
	8 hr	28.0
	1 day	4.0
43℃	1 hr	66.0
	2 hr	48.0
	4 hr	38.0
	8 hr	10.0
	1 day	0.0
45℃	1 hr	12.0
	2 hr	0.0
	4 hr	2.0
	8 hr	0.0
	1 day	0.0
50℃	1 hr	0.0
	2 hr	0.0
	4 hr	0.0
	8 hr	0.0
	1 day	0.0
55℃	1 hr	0.0
	2 hr	0.0
	4 hr	0.0
	8 hr	0.0
	1 day	0.0

## 제 6 절 사과 열처리 방법 및 처리 효과 연구

사과의 열처리를 위한 방법연구로 열매체에 따른 품온의 상승속도와 열처리 후 냉각 방법에 따른 품온의 변화를 조사하였다. 또한 열처리 시 처리속도를 향상시키기 위한 연구로 열매체의 순환방법에 따른 효과를 조사하였으며 열처리 효과 증진 방법으로 물을 매체로 한 열처리 시 칼슘염의 복합처리 효과와 brushing 처리 효과 등을 조사하였다.

### 1. 열처리방법연구

열처리 방법연구로 열처리 시 열매체에 따른 사과의 품온 변화를 조사하여 열처리 온도 및 시간에 따른 품온 상승속도와 열처리 후 냉각방법에 따른 품온 변화를 분석하였다. 열처리 시 열 매체에 따른 품온 상승속도 비교를 위하여 열매체로는 물과 공기를 적용하였고 열처리온도 및 시간에 따른 품온 상승 속도조사로 열수는 40℃, 45℃, 50℃, 55℃, 60℃, 65℃를 적용하였고 측정시간은 앞장에서 설정된 각 온도에서의 임계시간까지이었다. 열풍처리는 40℃, 45℃를 적용하였으며 과일의 내부 품온이 각각의 처리온도에 도달할 때까지 열처리한 후 곧 바로 냉각시켰다. 열처리 후 냉각방법에 따른 사과 품온의 냉각속도 비교를 위하여 각 조건에서 열처리한 직후의 사과를 2℃ 냉수 또는 공기에 방치하면서 온도의 변화를 조사하였다. 사과의 열처리 및 열처리 후 냉각 처리 시 품온은 과피 아래부와 사과의 중심부에 열전대를 삽입, 고정한 후 측정하였는데 그 결과는 Fig. 3-6-1~Fig. 3-6-6과 같다. 온도의 상승 및 강하는 매체에 따라 큰 차이를 보여 물에서 가열 및 냉각시킨 것이 공기로 가열 또는 냉각시킨 것에 비하여 변화의 속도가 빨랐다. 처리온도에 따른 과피 아래 부위와 과육 중심부의 온도 차이를 보면 처리온도가 높을수록 차이 큰 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 임계처리시간 범위 내에서는 처리온도 중 낮은 온도에서 처리시에는 내부의 품온이 과피의 품온과 유사하게 유지되며 이로서 열처리 효과가 보다 향상될 수 있을 것으로 판단된다. 한편 열처리시간과 냉각시간과의 관계를 비교하여 보면 Fig. 3-6-7~Fig. 3-6-9에서와 같이 저온에서 저장하였던 시료의 경우 상온 저장하였던 시료에 비해서 낮았고, 냉각 온도에 따라서는 저온에서 1단계 냉각처리하는 경우가 단계별 냉각처리한 경우에 비해 빨랐다.

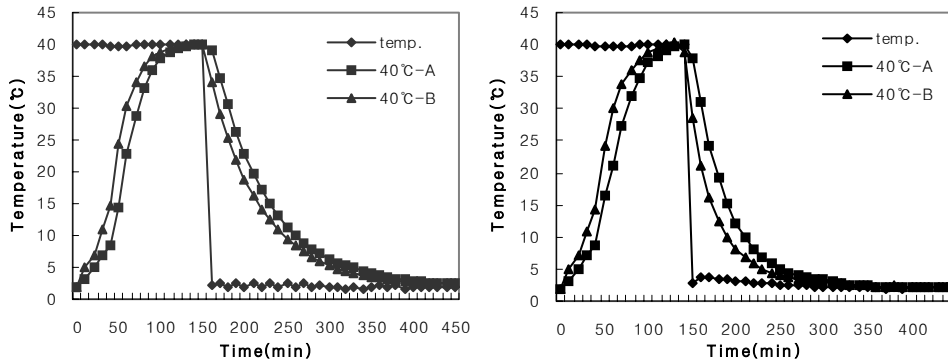


Fig. 3-6-1. Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in water at 40°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

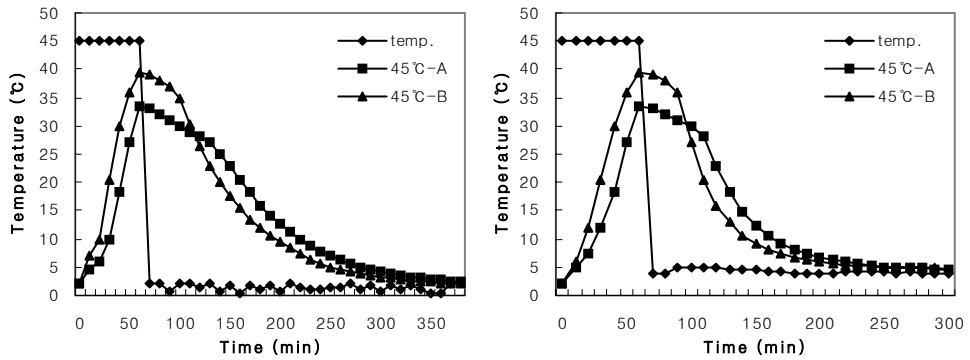


Fig. 3-6-2 Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in water at 45°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

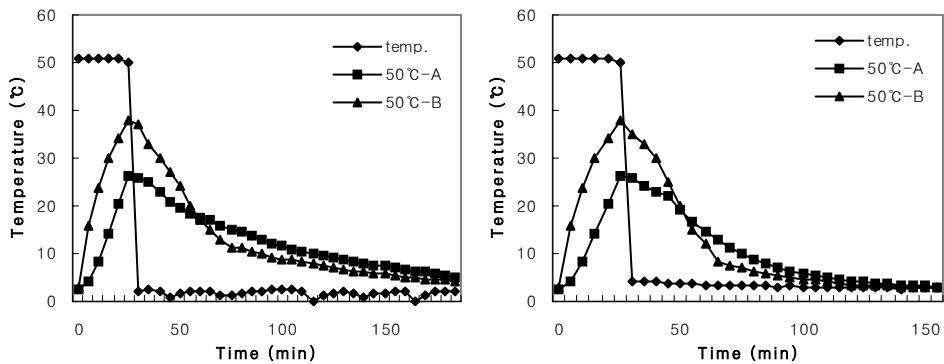


Fig. 3-6-3. Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in water at 50°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

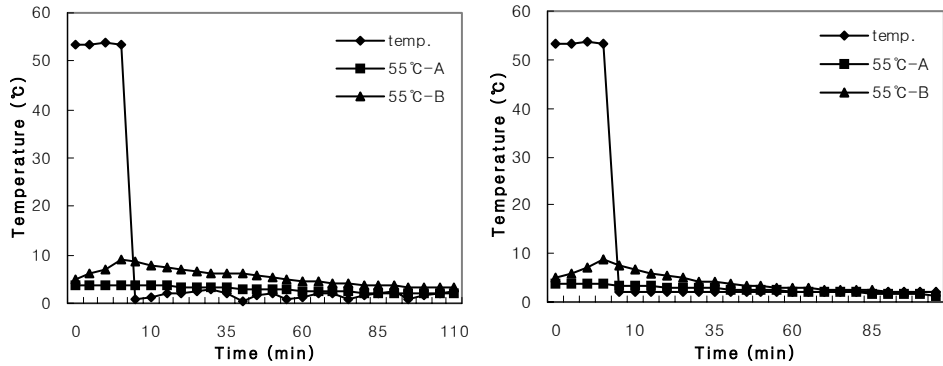


Fig. 3-6-4. Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in water at 55°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

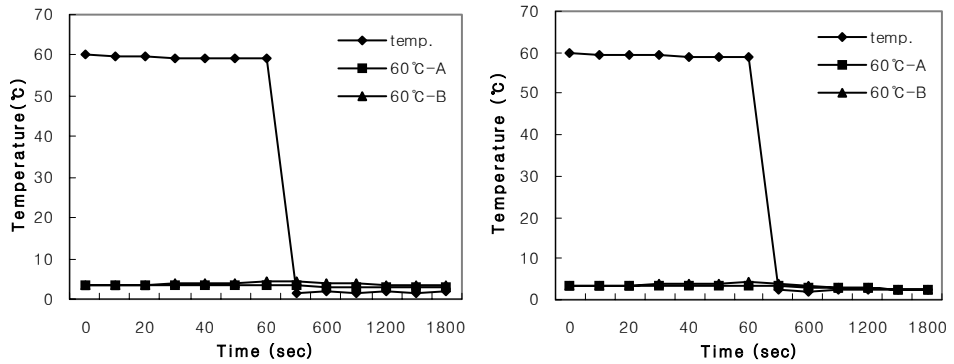


Fig. 3-6-5. Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in water at 60°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

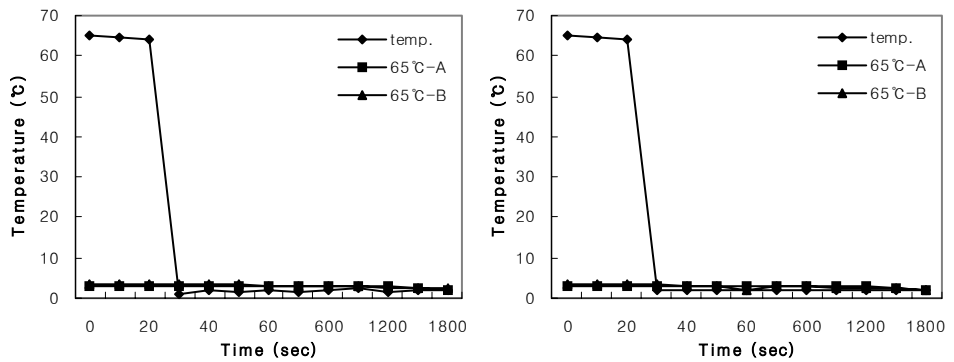


Fig. 3-6-6. Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in water at 65°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

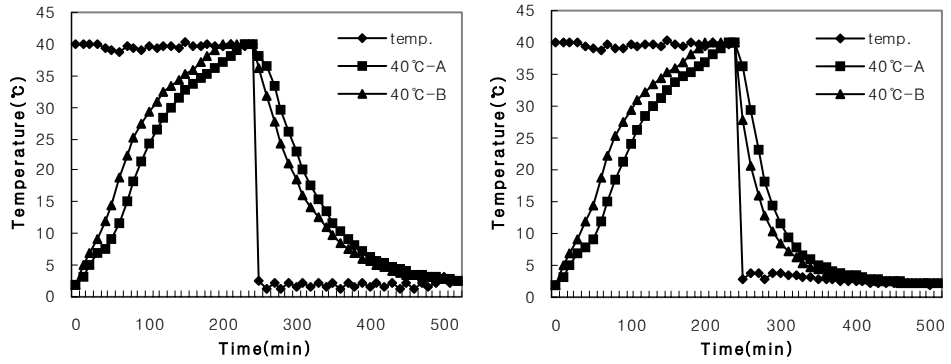


Fig. 3-6-7. Changes in temperature of apple (A: under peel, B: middle) during heating in air at 40°C and cooling in air(left) and water(right) at 2°C.

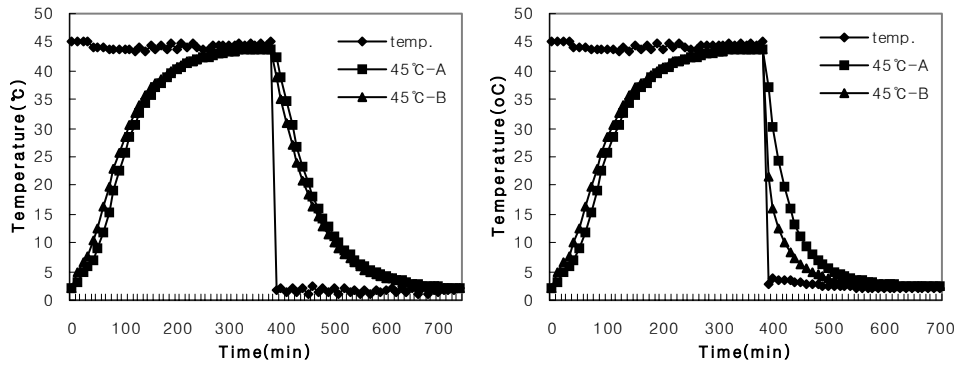
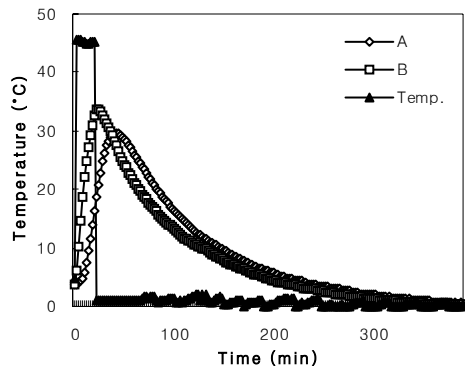
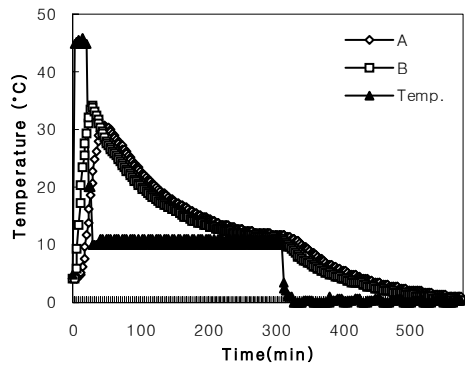


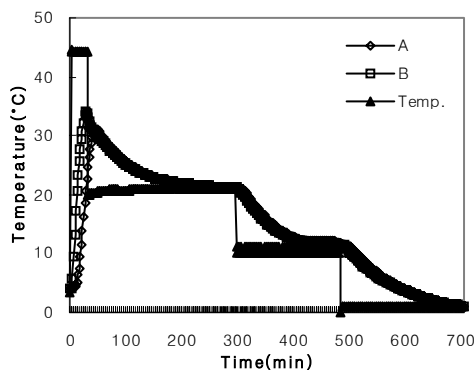
Fig. 3-6-8. Changes in temperature of apple(A: under peel, B: middle) during heating in air at 45°C and cooling in air(left) and water (right) at 2°C.



Cooling at 0°C



Cooling at 10°C-> 0°C



Cooling at 20°C->10°C-> 0°C

Fig. 3-6-9. Changes in inner temperature (A: Center, B: middle) of cold stored apple during mild hot water treatment at 45 °C and cooling at different conditions

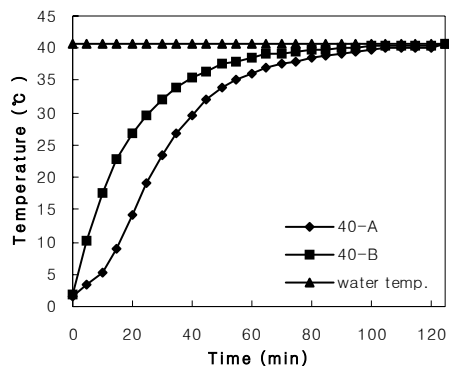
## 2. 열처리 속도 증진방법 연구

### 가. 열수처리 시 열매체의 순환처리 효과

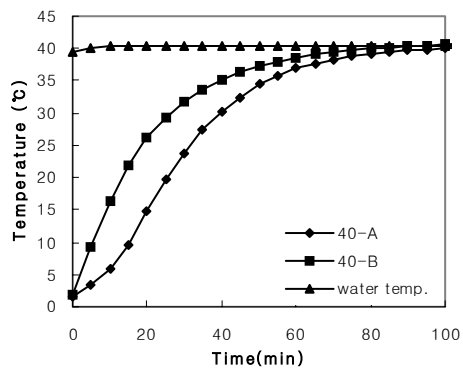
열수 처리 시 열전달 속도를 향상시키기 위해 정체된 열수, 순환 열수, 진동 열수처리효과를 비교하였다. 각 처리별 열 전달속도를 비교하여 보면 정체된 열수, 순환 열수, 진동 열수 처리가 과심까지 처리 온도인 40℃에 도달하는 시간은 각각 125분, 100분, 85분으로 처리방법에 따라 온도 상승속도가 다른 것으로 나타났다(Fig. 3-6-10). 열수처리 시 물의 순환 방식이 열처리한 사과와 저온 저장시 품질에 미치는 영향을 조사하던 바 그 결과는 Fig. 3-6-11~Fig. 3-6-13와 Table 3-6-1과 같다. 중량 감소율은 대조구의 경우 저장 30일에 2.2%까지 꾸준한 감소를 보인 반면 열 처리구의 경우 저장 30일에 1.5~1.6%의 대조구에 비해 낮은 중량 감소율을 보였으며 열처리시 물의 순환방식에 따른 차이는 뚜렷하지 않았다. 과피의 갈변도 측정부위를 시료의 붉은 쪽(red side)과 푸른 쪽(green side)으로 구분하여 조사하였던 바 red-side에서 단순 열수가 저장 중 갈변이 빠르게 진행되었으며, green-side의 경우, 순환열수가 빠른 갈변도를 보였다. 반면 진동 열수 처리의 경우 red-side 및 green-side 두 면에서 모두 대조구와 큰 차이를 보이지 않았다. 열수 처리 시 물의 순환 방식을 달리하여 처리한 후 사과에 존재하는 곰팡이수와 총균수를 측정된 결과, 곰팡이 수는 처리구가 대조구에 비해 꼭지와 받침에서 그 감소율이 높았고, 총균수의 경우 꽃받침부위에서는 열처리구가 대조구와 차이가 없는 반면, 꼭지 부위에서의 제거율은 순환, 진동, 단순 열수 순으로 높았다.

사과를 물의 순환방식을 달리하여 열처리하여 30일간 저장한 후 각 처리구와 대조구에 대한 관능검사를 실시한 결과, 과피의 색은 열수처리시 물을 진동처리한 경우가 5.1, 대조구가 4.6으로 두 처리에서 차이가 관찰되지 않았으며, 정체상태의 물로 처리한 경우와, 물을 순환시키며 열처리한 경우 각각 3.8 및 3.1로 과피의 색에 유의적 차이를 보였다. 과육의 색, 과육의 향, 단맛, 신맛, 조직감 및 종합적 관능 평가 항목에서 처리구는 대조구와 유의적 차이를 보이지 않았다.

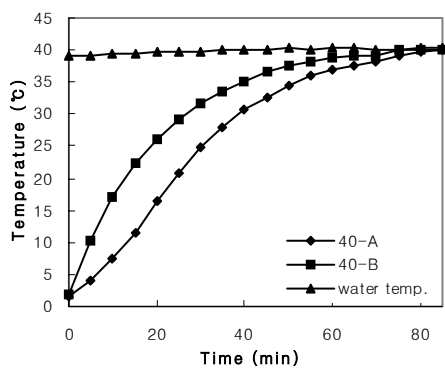




Static



Circulating



Vibrating

Fig. 3-6-10. Changes in inner temperature of apple (A: Center, B: middle) during mild hot water treatment at 40°C

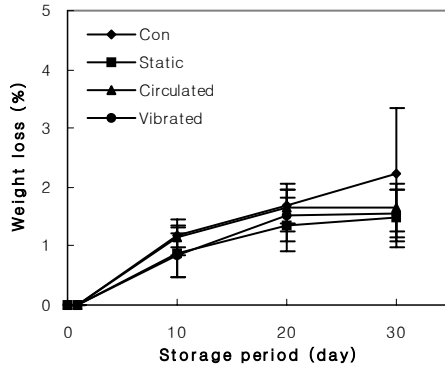


Fig. 3-6-11. Changes in weight loss of apple treated with different heating methods in water during storage

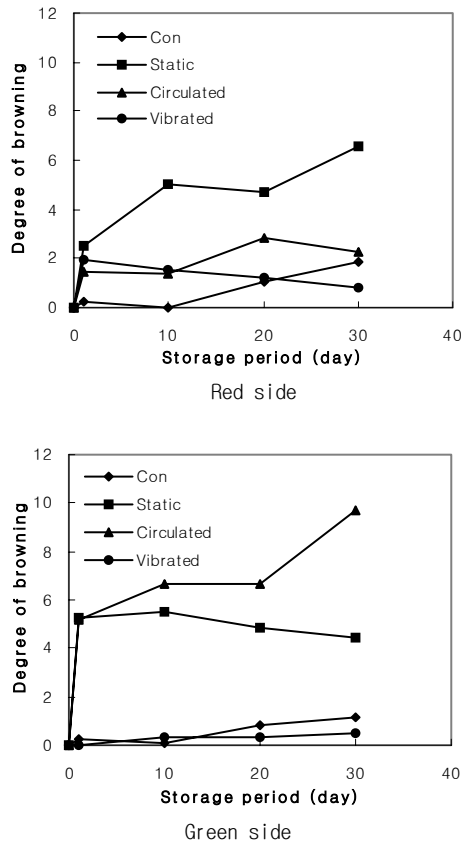


Fig. 3-6-12. Changes in browning of degree of apple treated with different heating methods in water during storage

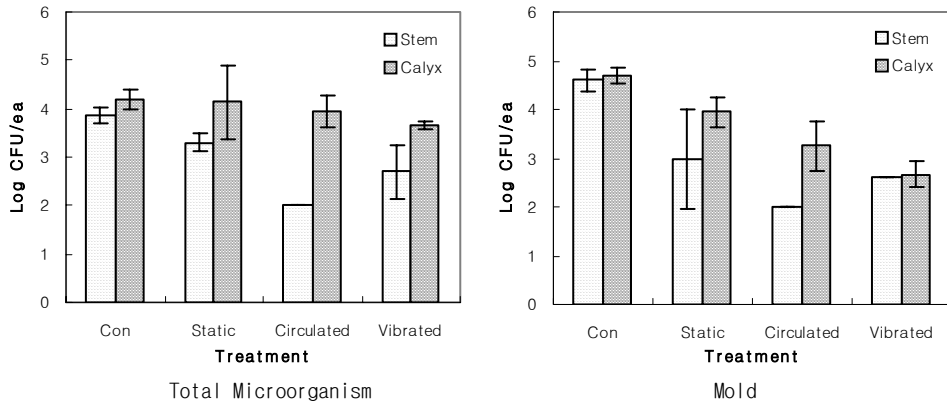


Fig. 3-6-13. Effects of water circulation methods for heat treatment on population of microorganism of apple

Table 3-6-1. Sensory quality of apple treated in mild hot water circulated by different methods after 30 days

Treatment	Color, peel	Color, flesh	Flavor	Sweetness	Sourness	Texture	Over all quality
Control	4.6 ab	5.9 a	5.4 a	5.8 a	3.5 a	4.2 a	4.8 a
Static	3.8 ab	5.2 a	5.1a	5.5 a	3.1 a	4.6 a	5.0 a
Circulated	3.1 b	5.4 a	4.6 a	5.6 a	2.8 a	3.9 a	4.5 a
Vibrated	5.1 a	5.0 a	5.2 a	4.3 a	3.6 a	4.1 a	4.9 a

a, b : Superscript letters indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

#### 나. 열풍 열처리 시 공기의 순환처리 효과 분석

열풍처리 시 열풍의 흐름에 따른 사과와 품온변화를 비교하였고, 처리후 저장 중 품질변화 양상을 조사하였다.

처리별 과육의 열전달 속도를 측정된 결과 처리실의 온도에 도달하는 시간이 정 체식 가열 공기처리의 경우 225분이었다. 또한 열처리 시 공기를 순환시키는 경 우 처리실의 온도에 도달하는 시간이 150분으로 공기를 순환시켜줌으로서 75분 정도 빠른 열전달 효과를 보였다(Fig. 3-6-14). 중량 감소율은 저장 초기 열 처리 구가 열처리를 하지 않았던 구에 비해 높은 값을 보였으나, 저장이 진행되면서

감소율이 줄어들어 저장 30일후에는 0.73-0.79%로 대조구와의 차이를 나타내지 않았다. 열풍처리 방법에 따른 중량감소율 변화를 비교하여 보면 순환식 열풍처리구가 정체식 열풍처리구에 비해 다소 큰 것으로 나타났다. 열처리 방법에 따른 저장중 과피의 갈변도를 사과와 부위에 따라 red-side와 green-side로 구분하여 조사한 결과 정체식 열풍처리구가 순환식 열처리구에 비해 높은 것으로 조사되었다. 열처리 방법에 따른 저장중 미생물 변화를 보면 순환 가열공기처리의 경우 꼭지와 꽃받침에서 곰팡이수가 다소 줄어든 경향이 있었고, 총균수의 경우 대조구 및 정체식 열풍처리구와 차이를 보이지 않았다. 열풍처리 방법에 따른 저장중 관능적 품질을 비교하였던 바 과피 색과 종합적인 기호도 평가에서 순환가열공기 처리구와 대조구는 차이가 없었고, 정체식 가열공기구와 대조구, 순환가열공기와는 유의적 차이를 나타내었다. 또한, 단맛의 경우 순환가열공기가 6.3으로 대조구와 가열공기보다 유의적으로 높은 값을 보였다. 과육색, 과육향, 신맛 조직감은 대조구와 처리구가 유의적 차이를 보이지 않았다(Fig. 3-6-15~Fig. 3-6-17, Table 3-6-2).

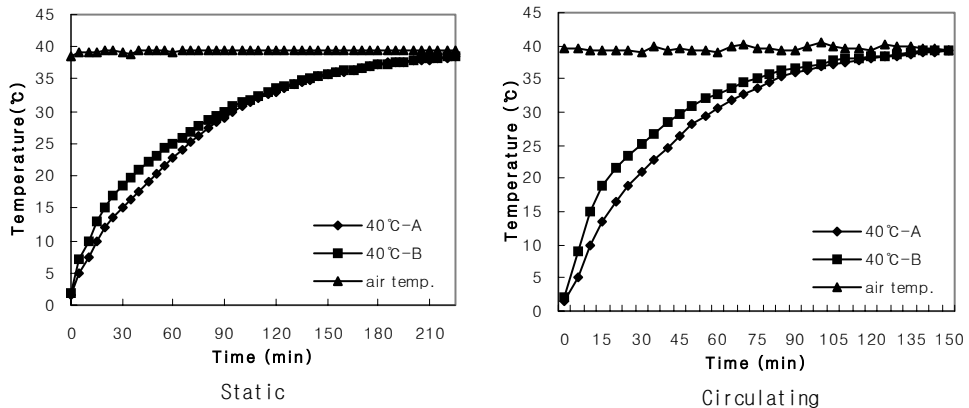


Fig. 3-6-14. Changes in inner temperature of apple (A: Center, B: middle) during different heat treatment at 40°C in air

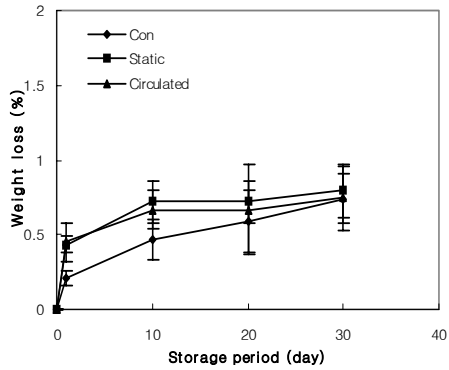


Fig. 3-6-15. Changes in weight loss of apple treated with 40°C hot air at different conditions during storage

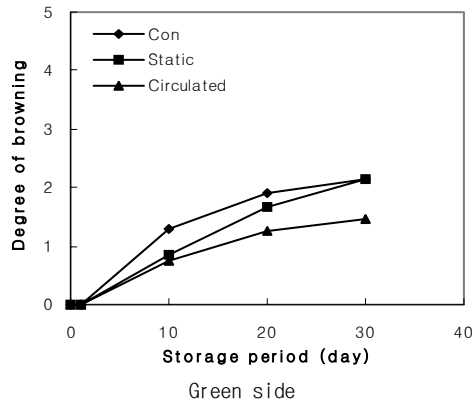
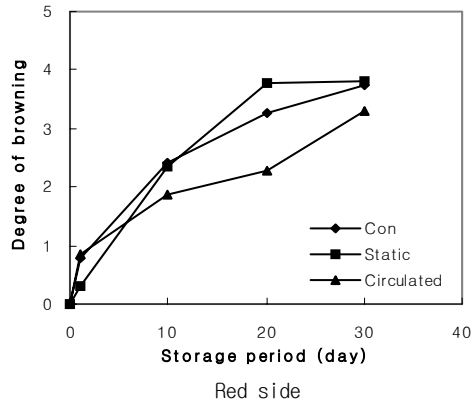


Fig. 3-6-16. Changes in degree of browning of apple treated with 40°C hot air at different conditions during storage

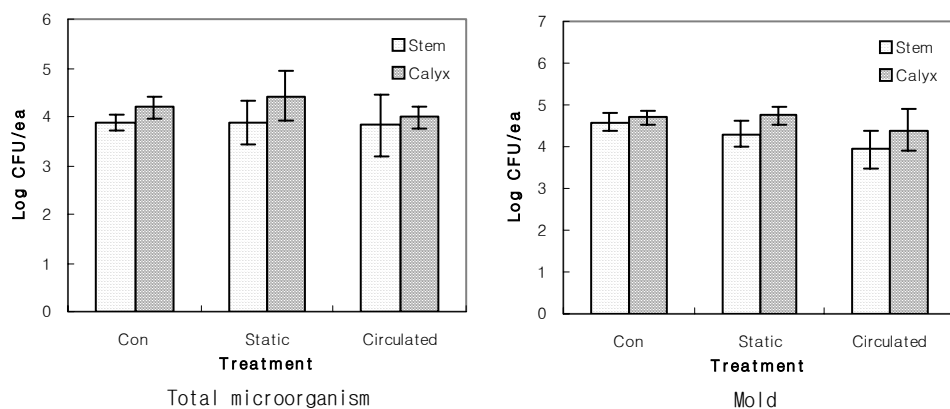


Fig. 3-6-17. Population of microorganism of apple treated with 40°C hot air at different conditions

Table 3-6-2. Sensory quality of apple treated with 40°C hot air at different conditions after 30 days

Treatment	Color, peel	Color, flesh	Flavor	Sweetness	Sourness	Texture	Over all quality
Control	4.6 ab	6.0 a	5.4 a	5.3 b	4.4 a	4.7 a	4.8 ab
Static	3.6 b	5.3 a	5.8 a	4.5 b	3.4 a	3.9 a	3.9 b
Circulated	5.6a	5.8 a	5.2 a	6.3 a	3.4 a	4.7 a	5.1 a

a, b : Superscript letters indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

### 3. 열처리 효과증진 방법연구

사과의 열처리 시 처리효과를 증진시키기 위한 연구로 열처리 전 품온과 열처리 후 냉각온도가 사과의 품질에 미치는 영향을 조사하였고, 세척효과를 높이기 위해 물로 처리 시 hot water shower와 brushing의 병행처리와 hot air shower처리 효과를 조사하였다. 아울러 순간 고전압 처리에 관한 연구를 수행하였다.

가. 열처리 전 품온과 열처리 후 냉각온도가 사과의 품질에 미치는 영향 조사  
열처리 전 품온과 열처리 후 냉각온도가 사과의 내부 품온 및 중량 감소, 호흡율, 에틸렌 생성률, 오염된 미생물에 미치는 영향과, 처리에 따른 사과의 선택 및 조직감을 비교하였다.

열처리 전 상온 및 저온에 저장하였던 사과를 동일한 조건에서 열처리 하였을 때 사과의 과육 및 과심부위의 품온 상승속도를 조사하였고, 열처리 후 동일한 온도에서 냉각 시 부위에 따른 냉각 속도를 비교하였다. 열처리 전에 상온에 저장하였던 사과의 경우 45℃의 열수에서 임계시간 내에 상승한 중심부온도는 36-37℃이었고, 저온 저장하였던 사과의 경우는 상온 저장하였던 사과의 경우에 비해 낮은 29-32℃ 범위로 열처리 전 사과의 품온이 열처리 시 효과에 미치는 영향이 큰 것으로 나타났다.

열처리 후 냉각온도가 사과의 저장 중 품질에 미치는 영향을 조사하였던 바 그 결과를 Fig. 3-6-18~Fig. 3-6-27에 나타내었다.

냉각온도에 따른 저장중 중량감소를 보면 상온에서 저장한 후 열처리하였던 사과의 경우 냉각온도에 따라 큰 차이를 보이지 않았으나 저온 저장한 후 열처리 하여 온도를 달리 냉각한 경우 냉각온도에 따라 차이를 보였는데 그 감소율은 냉각온도가 높을수록 컸다. 호흡율 및 에틸렌의 경우 열처리전 저장 온도에 따라 다소 차이를 보였으며 냉각온도에 따라서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 열처리 후 냉각온도에 따른 미생물 변화를 보면 총균수의 경우 냉각온도에 따른 차이가 뚜렷하지 않았으며, 곰팡이의 경우 상온 저장 사과를 열처리한 후 냉각온도에 따라 약간의 차이를 보였으나 처리구 간의 차이는 뚜렷하지 않았다. 열처리 후 냉각 온도에 따른 저장 중 붉은 쪽 과피의 갈변 발생정도를 보면 열처리 전 상온 저장사과가 저온 저장 사과에 비해 처리 후 갈변정도가 컸다. 열처리 후 냉각

방법에 따른 저장 중 갈변 정도를 보면 10℃ 및 20℃에서 냉각시켰던 경우 상호 간에 큰 차이를 보이지 않았으나 0℃에서 냉각한 경우 다른 냉각처리구보다 변화가 적은 것으로 나타났다. 또한 열처리 후 냉각 온도에 따른 저장 중 과란 쪽 과피의 갈변 발생정도를 보면 열처리 후 냉각방법에 따라 갈변진행정도가 차이를 보였는데 냉각온도가 낮을수록 변화가 적었다. 한편 열처리 후 냉각방법에 따른 저장 중 경도변화를 보면 처리 구간에 약간의 차이를 보였지만 그 정도는 유의적이지 않았다.

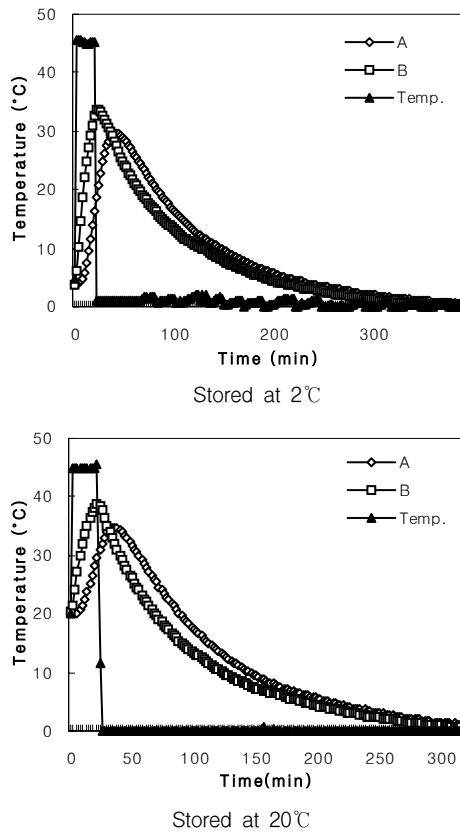


Fig. 3-6-18. Changes in inner temperature(A: Center, B: middle) of apple stored at 2 and 20℃ during mild hot water treatment at 45℃ and cooling at 0℃



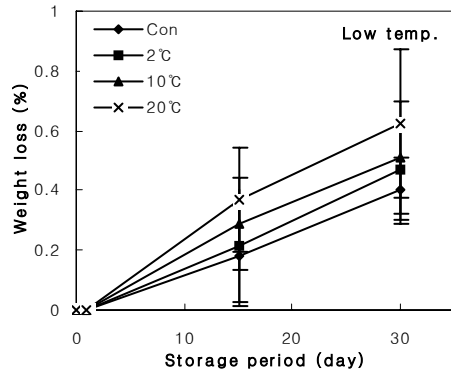
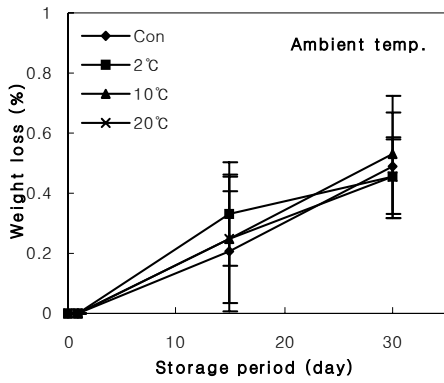


Fig. 3-6-19. Changes in weight loss of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage

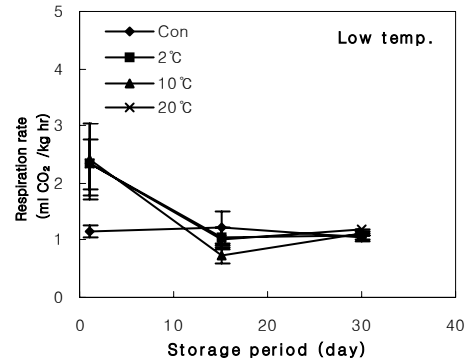
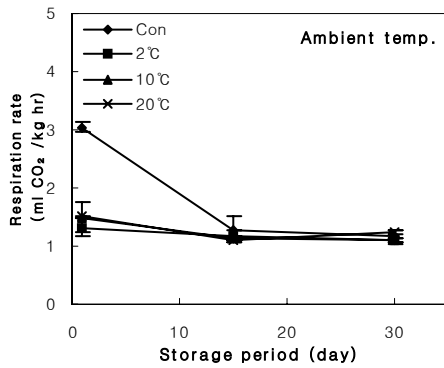


Fig. 3-6-20. Changes in respiration rate of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage

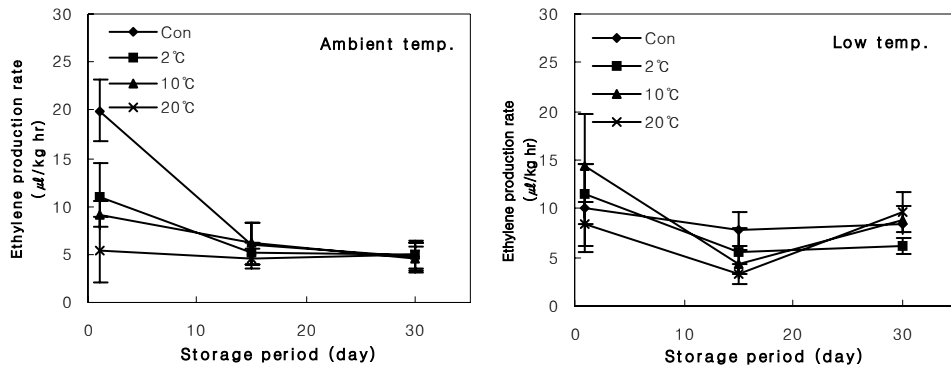


Fig. 3-6-21. Changes in ethylene production rate of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage

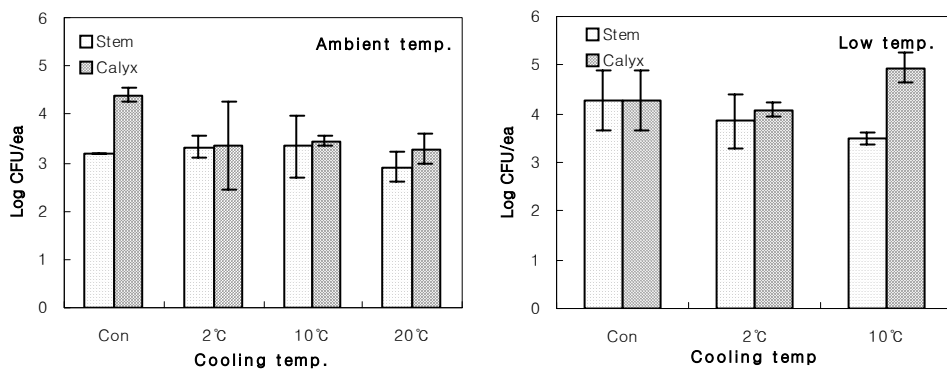


Fig. 3-6-22. Changes in number of total microorganism of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions

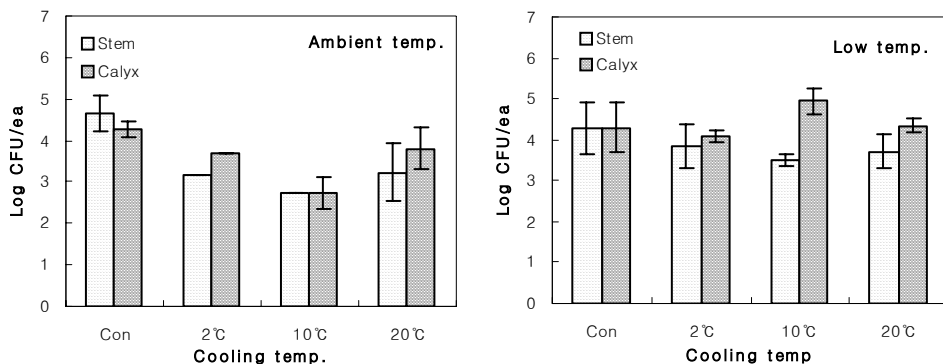


Fig. 3-6-23. Changes in colony of mold of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions

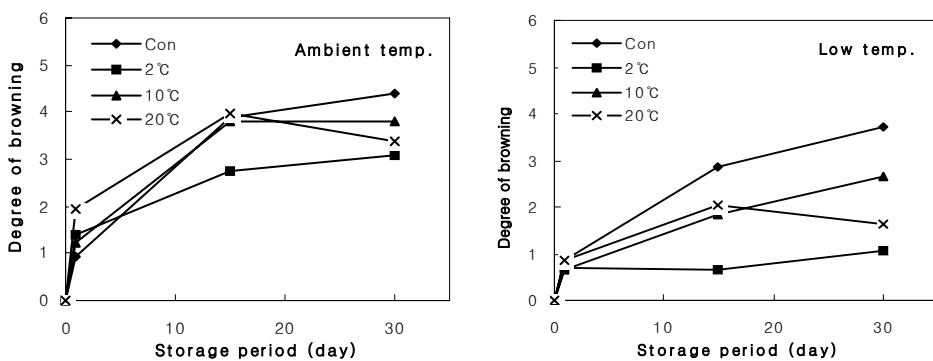


Fig. 3-6-24. Changes in degree of browning of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage (red-side)

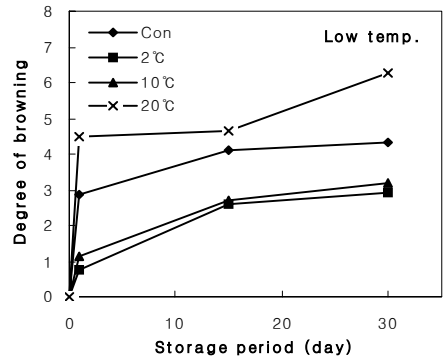
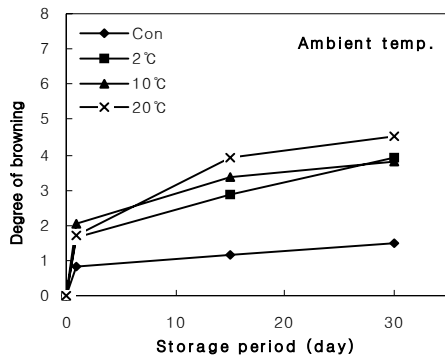


Fig. 3-6-25. Changes in degree of browning of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage (green-side)

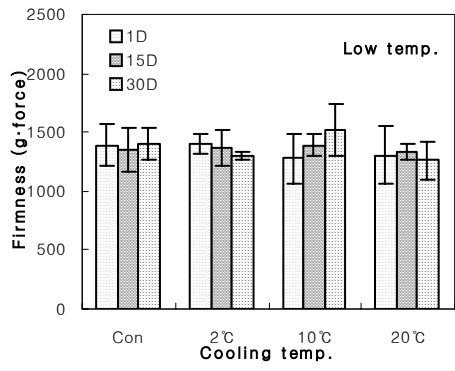
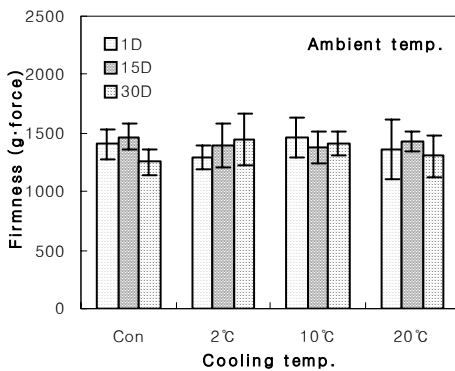


Fig. 3-6-26. Changes in firmness of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage (peel)

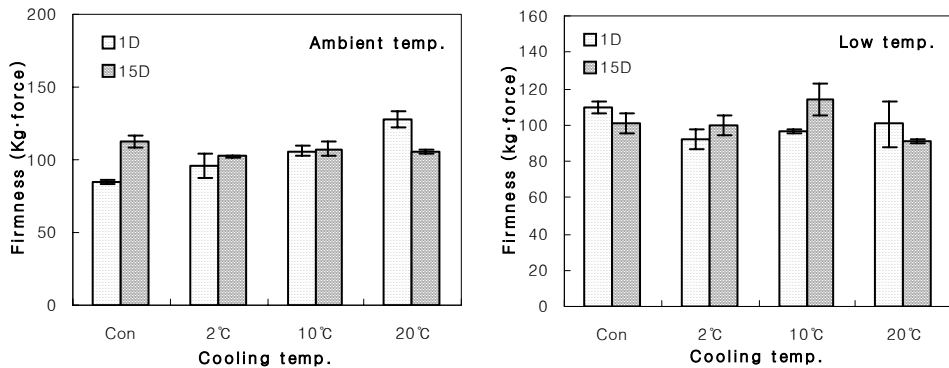


Fig. 3-6-27. Changes in firmness of apple stored at different temperature and treated in water at 45°C and then cooled at various conditions during storage (flesh)

#### 나. Hot water shower와 brushing처리 효과

각 처리 온도에서 미생물 제어 효과를 조사하고자 온도별 처리 시 꼭지와 받침에서의 총균수를 조사하였다. 또한, 각 온도에서 처리 중 브러쉬 처리를 병행하였을 때 꼭지와 받침에서의 미생물 제어 효과를 조사하였다.

각 온도별 열처리시 꼭지와 받침에서의 총균수는 꼭지에서 0.5-2 log CFU/ea, 받침에서 0.5-4 log CFU/ea의 감소율을 보였다. 열처리와 브러쉬 처리를 병행한 경우, 40°C와 45°C, 50°C의 경우 열수만 단독으로 처리한 경우와 차이가 없었고, 55°C, 60°C, 65°C의 경우 높은 미생물 제거율을 보였다(Fig. 3-6-28).

#### 다. Hot air shower처리 효과

사과의 열처리 효과 증진 방법의 일환으로 열풍을 shower처리하는 방법을 적용하여 그 효과성을 조사하였다. 사과의 열풍처리 온도로는 55, 60 및 65°C이었으며 처리시간은 열수의 임계처리 조건을 적용하여 각각 1분 20초, 20초 및 6초이었다. 열풍을 꼭지 부위를 위주로 분사한 후 처리에 따른 미생물 제어 정도를 비교하였다. Fig. 3-6-29은 40°C에서 임계처리 시간까지 열풍을 처리하였을 때와 55, 60 및 65°C의 열풍을 처리하였 때의 사과 꼭지 부위의 총균수 및 곰팡이 수

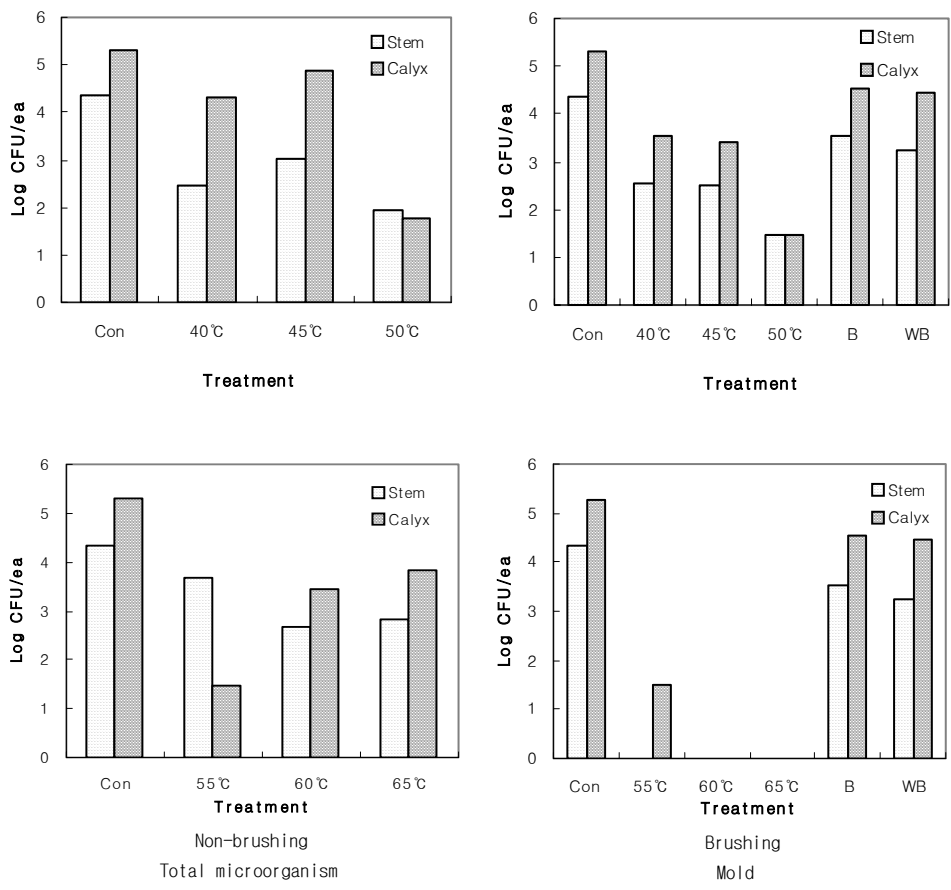


Fig. 3-6-28. Changes in population of total microorganism of apple by mild hot water treatment with brushing

를 비교한 것으로 곰팡이의 경우 40°C에서 임계시간까지 처리 시에는 대조구에 비해 다소 줄어드는 것으로 나타났으나 총균수는 차이를 보이지 않았다. 사과를 55, 60 및 65°C의 열풍으로 분사시에는 열풍 처리구와 대조구간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았는데 이는 처리시간이 짧기 때문에 나타난 결과로 판단하며 이러한 결과는 침지식 열수 처리방법에 비하여서도 효과가 적은 것으로 판단되었다.

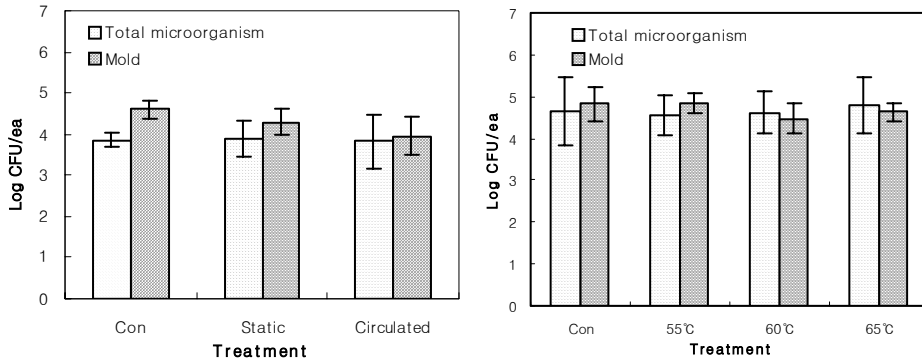


Fig. 3-6-29. Effect of hot air shower on population of microorganism in stem end portion of apples, Left: hot air 40°C

#### 라. 순간 고전압 처리 효과 조사

사과의 새로운 열처리 방법으로 고전압의 활용가능성을 조사코자 고전압을 사과에 순간 처리하였을 때 사과표피의 오염 미생물 및 사과의 품질에 미치는 영향을 조사하였다. 고전압 처리 시간에 따른 총균수와 곰팡이 수는 대조구와 비교하여 유의적 차이를 보이지 않았다(Fig. 3-6-30). 한편, 저장이 진행되면서 순간 고전압을 처리하였던 사과는 처리 부위 조직의 손상이 관찰되었다. 이와 같은 결과로 고전압 순간 살균방법은 사과의 표면 미생물제어에 효과적인 방법이 아니 것으로 판단되었다.

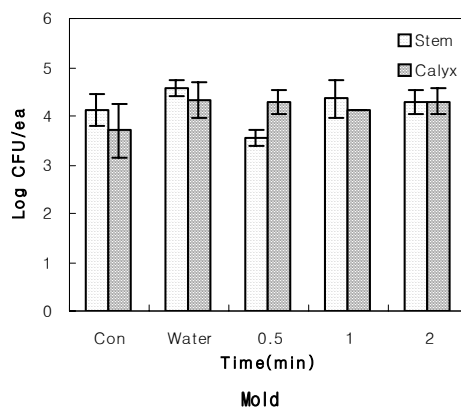
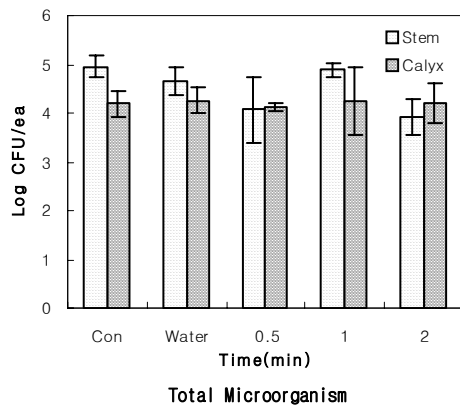


Fig. 3-6-30. Changes in appearance and population of microorganism of apple by electric shock at high voltage



#### 4. 열처리 후 표면 응축 수분제거 방법 연구

열수 처리한 사과 표면에 남아 있는 수분의 제거를 위하여 효과적인 처리방법을 구상하였다. 수분의 제거 방법으로는 처리 후 공기 순환식 저온 저장고에 방치하여 수분을 제거하는 방법과 저장고 입고 전 열풍을 이용하여 제거하는 방법, 고압공기를 분사하여 제거하는 방법 등을 고려하였는데 처리 방법 및 효율성을 감안하여 고압의 공기를 이용한 열처리 후 표면의 응축 수분 제거 방법을 적용하여 그 효과를 조사하였다. Fig. 3-6-31에서와 같이 6 kg의 고압 공기로 수분을 제거한 경우 초기 10초에 68.4%의 수분이 제거되고 70초에 수분 제거율 100%였다. 4 kg의 고압 공기로 수분을 제거한 경우는 초기 10초에 12.5%에서 20초에 75%였으며 처리 90초에 100%의 수분 제거율을 보였다.

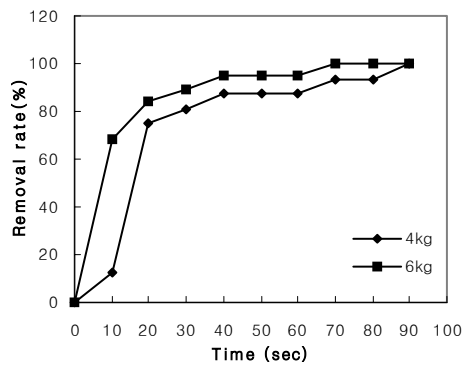


Fig. 3-6-31. Removal of free water on surface of apple treated in mild hot water by pressured air steam

#### 5. 기타 열처리에 따른 효과

##### 가. 열처리 시 칼슘첨가 효과 조사

사과의 품질을 개선키 위한 칼슘염 처리 시 칼슘이온의 과육 조직내 침투속도를 향상시키기 위한 열처리효과를 조사하였다. 칼슘염처리로서 후지 및 쓰가루 품종의 사과를 3%의 염화칼슘용액에 20분간 침지하였으며 침지액의 온도는 상온과 45℃로 달리 하였다. 대조구 및 처리한 사과는 5℃에서 1일간 보관한 후 박피, 제심, 절단처리를 하고 각 부위별로 일정량씩을 고루 나눈 후 일부를 취하여 과

육 내 칼슘함량을 분석하였다. 또한 나머지 사과 절편은 처리구별로 PE필름봉지에 담아 5℃에 저장하면서 주기적으로 호흡율, 에틸렌발생정도, 경도 및 표면색 변화 등을 조사하였다.

칼슘염을 처리한 *Tsugaru*와 *Fuji*종 사과의 조직 내 칼슘 함량을 Fig. 3-6-32에 나타내었다. *Tsugaru*종 사과의 경우는 상온 처리 시 대조구에 비해 4.6%, 열수 처리 시에는 28.3%의 칼슘함량을 나타내었다. *Fuji*종 사과의 경우는 상온 처리 시 대조구에 비해 50%, 열수 처리 시에는 124%의 높은 칼슘함량을 나타내었는데, 이는 45℃에서의 열수처리가 사과로의 칼슘염 침투를 강화시킨 것으로 판단된다.

칼슘염 처리 후 절단 박피한 사과의 저장 중 호흡율을 Fig. 3-6-33에 나타내었다. *Tsugaru*종 사과의 경우는 처리 직후에 상온과 45℃ 칼슘염 처리구가 4.4-4.5 mL CO<sub>2</sub>/kg hr, 대조구가 4.4 mL CO<sub>2</sub>/kg hr이었으며, 이는 저장 15일후에도 상온과 45℃ 칼슘염 처리구가 3.1-3.5 mL CO<sub>2</sub>/kg hr, 대조구가 3.6 mL CO<sub>2</sub>/kg hr으로 처리 직후부터 저장 15일까지 유사한 수준을 나타내었다. 그러나, 45℃ 열수로만 처리한 사과의 경우는 처리 직후에 3.6 mL CO<sub>2</sub>/kg hr, 저장 15일후에는 2.8 mL CO<sub>2</sub>/kg hr로 대조구나 다른 처리구에 비해 낮은 수준의 호흡율을 나타내었다. *Fuji*종 사과의 경우는 처리 직후에 45℃ 열수 처리구, 상온 및 45℃ 칼슘염 처리구가 2.7-2.8 mL CO<sub>2</sub>/kg hr의 범위로 대조구 2.0 mL CO<sub>2</sub>/kg hr보다 다소 높은 값을 나타내었으나 저장 5일과 10일에는 모든 처리구가 대조구와 차이를 나타내지 않았고 저장 15일 후에는 처리구가 2.7-3.4 mL CO<sub>2</sub>/kg hr, 대조구가 4.7 mL CO<sub>2</sub>/kg hr로 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었다.

칼슘염 처리 후 절단 박피한 사과의 저장 중 경도변화를 Fig. 3-6-34에 나타내었다. 저장 중 칼슘염 처리 사과의 경도는 처리 조건에 따라 차이를 보였는데, *Tsugaru*종 사과의 경우는 45℃ 칼슘염 처리구가 저장 5, 10 및 15일에 99.4, 97.1 및 93.2%의 높은 경도를 나타내었으며, 대조구가 저장 5, 10 및 15일에 86.8, 86.0 및 86.6%의 가장 낮은 경도를 나타내었다. *Fuji*종 사과의 경우도 45℃ 칼슘염 처리구가 저장 5, 10 및 15일에 75.9, 69.4 및 65.6%로 상온 처리구보다 높은 경도를 나타내었으며, 대조구의 경우 저장 5, 10 및 15일에

61.3, 52.7 및 42.2%로 45°C 열수 처리 사과보다 낮은 경도를 나타내었다.

Fig. 3-6-35는 칼슘염 처리 후 절단 박피한 *Tsugaru*와 *Fuji*종 사과의 저장 중 과육 갈변도를 나타낸 것이다. *Tsugaru*종 사과의 경우는 저장 1일후에 대조구와 처리구 모두 0.029-0.031%, 저장 15일후에는 0.037-0.052%의 범위로 저장 중 처리에 따른 차이는 유의적이지 않았다. *Fuji*종 사과의 경우는 저장 1일후에 대조구와 처리구 모두 2.6-3.5%범위의 급격한 갈변 정도를 나타내었고 저장 15일후에는 4.8-6.3%의 갈변정도를 나타내어 저장 중 처리에 따른 차이는 유의적이지 않았으며, 전반적으로 *Tsugaru*종 사과에 비해 *Fuji*종 사과가 높은 갈변 정도를 나타내었다.

Fig. 3-6-36은 칼슘염을 처리한 *Tsugaru*와 *Fuji*종 사과의 중량 감소율을 나타낸 것으로 *Tsugaru*종 사과의 경우는 저장 5일후에 중량이 0.08-0.09%, 저장 15일후에 0.23-0.28%로 처리간 유의적 차이는 나타나지 않았다. *Fuji*사과의 경우도 처리구와 대조구 모두 저장 5일후에 중량이 0.17-0.24%정도 감소되었으며, 저장 15일후에 처리구가 0.38-0.43%, 대조구가 0.54%로 처리구에 비해 다소 높은 값을 보였으나 유의적 차이는 나타나지 않았으며, *Fuji*종이 *Tsugaru*종 사과에 비해 다소 높은 중량 감소 정도를 보였다. Fig. 3-6-37은 칼슘염 처리 후 절단 박피한 사과의 가용성 고형분 함량을 나타낸 것이다. *Tsugaru*종 사과의 경우는 대조구와 처리구 모두 처리 직후에 12.50-13.40 °Brix를 나타내었으며, 저장 5일과 10일에 10.85-12.30 °Brix로 다소 감소하는 경향을 보이다가 저장 15일후에 12.55-13.25 °Brix를 나타내었다. *Fuji*종 사과의 경우는 대조구와 처리구가 저장 초기에 12.30-13.30 °Brix범위, 저장 15일후에 12.10-13.20 °Brix의 범위로 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 칼슘염 처리 후 절단 박피한 사과의 저장 중 pH변화를 보면 자료로서 나타내지 않았지만 *Tsugaru*종 사과의 경우는 처리직후에 3.90-3.98의 범위에서 저장 5일부터 15일까지 4.05-4.22의 범위로 다소 증가되는 경향을 나타내었다. *Fuji*종 사과의 경우도 처리 직후부터 저장 5일까지 대조구와 처리구 모두 4.72-4.82의 범위였다가, 저장 10일과 15일에 4.85-4.94의 범위로 증가하는 경향을 보였으며, 처리 간 유의적 차이는 나타나지 않았다. 칼슘염 처리 후 절단 박피한 사과의 저장 중 적정산도는 *Tsugaru* 사과의 경우 처리직후에 대조구와 처리구가

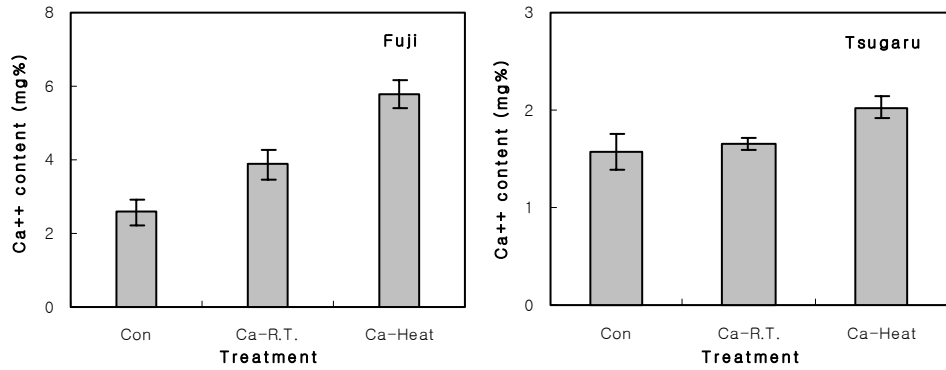


Fig. 3-6-32. Calcium content in flesh of *Tsugaru* and *Fuji* apple by calcium chloride treatment in mild hot water.

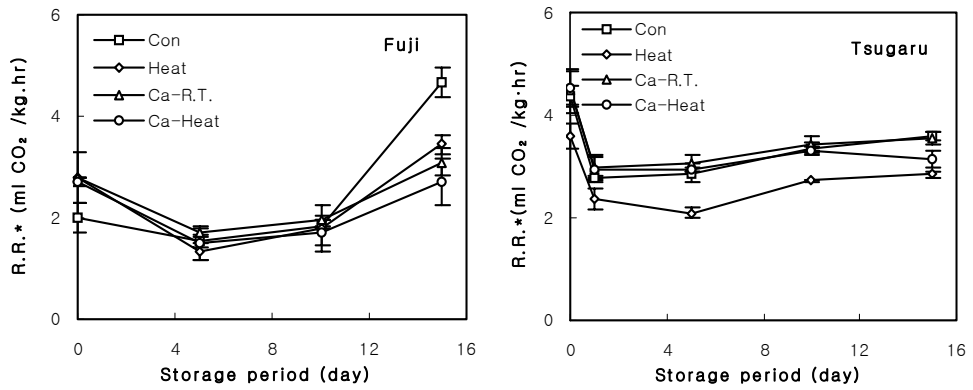


Fig. 3-6-33. Changes in respiration rate of *Tsugaru* and *Fuji* apple by calcium chloride treatment in mild hot water during storage.

\*Respiration rate

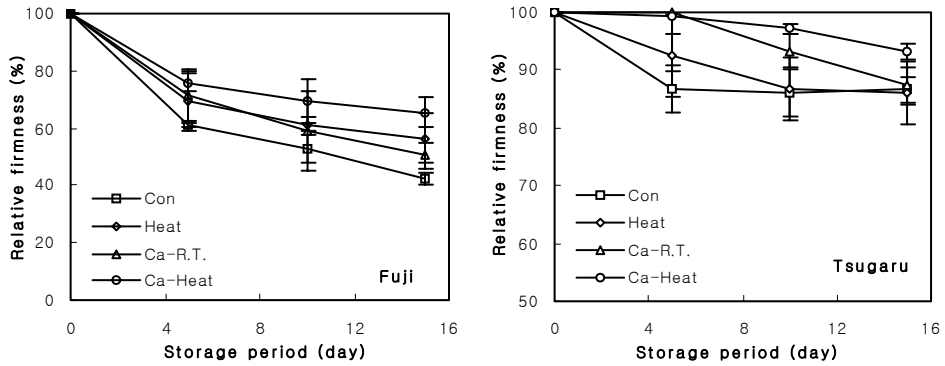


Fig. 3-6-34. Changes in firmness of *Tsugaru* and *Fuji* apple by calcium chloride treatment in mild hot water during storage.

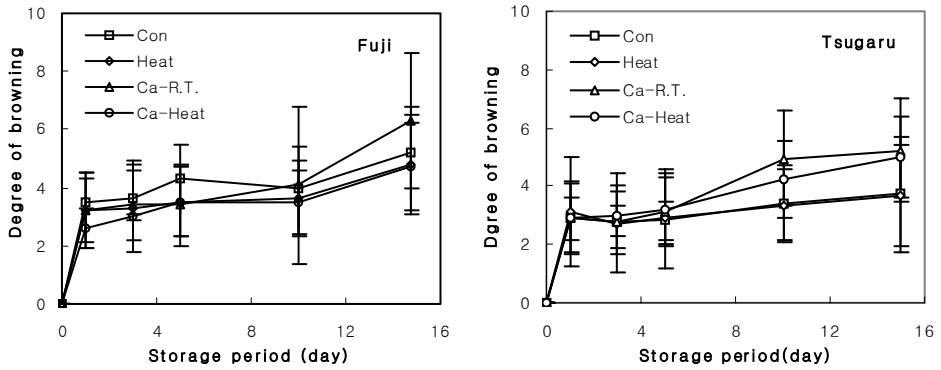


Fig. 3-6-35. Changes in degree of browning of *Tsugaru* and *Fuji* apple by calcium chloride treatment in mild hot water during storage.

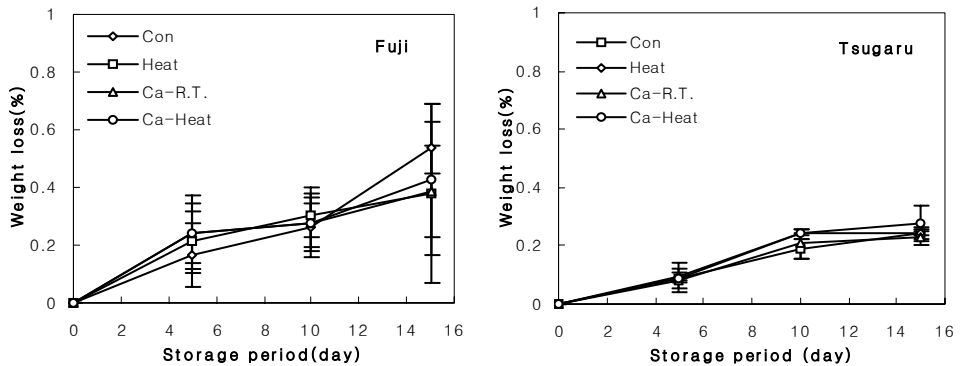


Fig. 3-6-36. Changes in weight loss of *Tsugaru* and *Fuji* apple by calcium chloride treatment in mild hot water during storage.

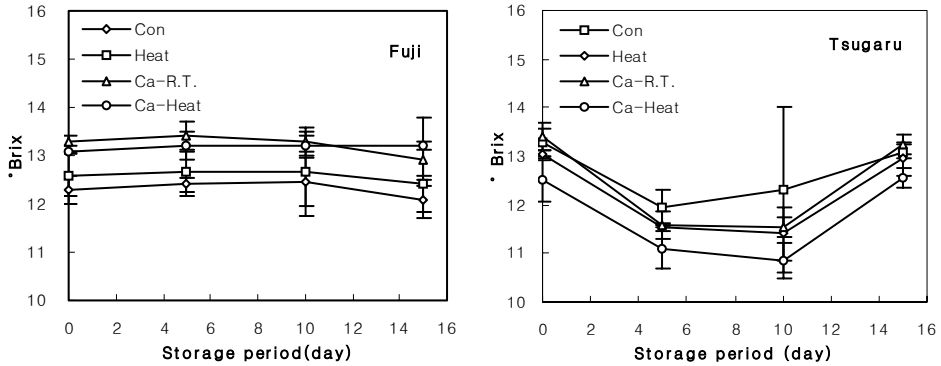


Fig. 3-6-37. Changes in soluble solids of *Tsugaru* and *Fuji* apple by calcium chloride treatment in mild hot water during storage.

0.65-0.82%의 범위를 나타내었으며, 저장 15일 후에 대조구와 처리구 모두 0.65-0.74% 범위로 감소되는 경향을 나타내었다. *Fuji*종 사과와 Fuji의 경우는 저장초기에 0.34-0.38%의 범위를 나타내었으며, 저장 5일과 10일에 감소 경향이었고 저장 15일에서 대조구 0.39%를 제외한 모든 처리구에서 0.27-0.29%로 *Tsugaru*종 사과의 경우와 유사하게 감소되는 경향을 나타내었다.

#### 나. 저장중 저온 장해 방지

사과 저장중 발생하는 생리장해는 기생균에 의한 병해와는 달리 저장기간 중 공기 조성, 온습도 및 영양 불균형 등의 조건이 적절하지 못하여 과실내부의 생리적 변화로 발생하는 저장장해를 말한다. 이와 같은 저장장해는 과실의 품질저하는 물론이고 장해 발생부위에서 2차적으로 기생균이 침입하여 과실이 부패할 수 있다.

본 조사에서는 열처리가 사과의 저장중 저온장해 촉발 또는 억제 효과가 있는지를 조사하기 위해 앞에서 수행한 임계처리조건연구에서 설정된 40~65℃에서 처리된 사과를 저온저장하면서 품질변화와 더불어 저온장해현상 등의 발생 및 진행 정도를 조사하였던 바 저장중 겹무늬썩음병에 의한 변질발생 외 저온장해 및 생리장해는 발생치 않았다.

#### 다. 잔류농약제거효과

열수처리의 부가적인 효과 증진방법으로 열수처리가 사과 과피에 묻어 있는 농약의 제거효과를 조사하였다. 시료는 저온 저장고에서 꺼내어 1일 동안 상온에 방치한 후 대표적 살균제인 캡탄 8g과 살충제인 테부펜피라이드 2g을 물 4L의 비율로 배합한 처리액에 10초 동안 담근 후 플라스틱 그물 바구니에 걸치지 않게 담아 3일 동안 통풍이 잘되는 상온, 그늘에서 건조시켰다. 이 시료를

- ① Control: 20분 동안 수처리
- ② Dipping in hot water: 45℃에서 20분 동안 열수처리
- ③ Circulating in hot water: 와류하는 45℃의 열수에 20분 동안 침치 처리
- ④ Water spray: 고압(6kg/cm<sup>2</sup>)의 수돗물로 시료의 4방에 30초 동안 분사 처리
- ⑤ 3%-Zeolite spray: 고압(6kg/cm<sup>2</sup>)의 3%-zeolite액으로 시료의 4방에 20초 동안 분사 처리한 후 같은 압력의 수돗물로 동일한 방법으로 10초 동안 분사 처리

처리후 시료는 세척 처리 후 플라스틱 그물 바구니에 걸치지 않게 담아 1일 동안 통풍이 잘되는 상온, 그늘에서 건조시켰다. 시료를 8등분하여 두 번에 나눠 과피를 얇게 취하였고, 이를 믹서기로 마쇄하여 이 중 50g을 ECD 분석시료로 사용하였다.

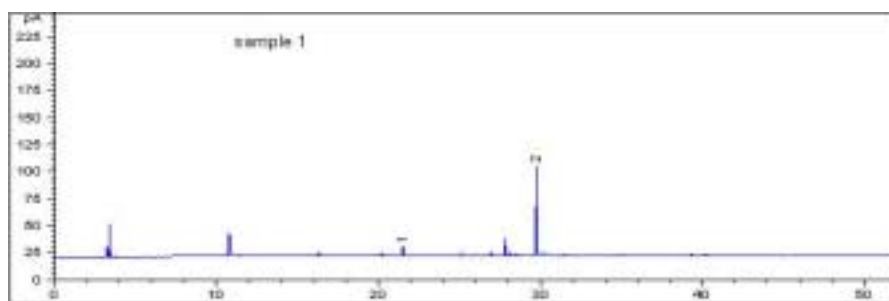


Fig. 3-6-38. 실험에 사용한 농약의 크로마토그램

1. 캡탄, 2. 테부펜피라이드

Table 3-6-3. 처리방법에 따른 사과표면의 잔류농약 제거율

항목 시료	Captan(mg.kg)		Tebufenpyrad(mg/kg)	
	잔류량	제거율	잔류량	제거율
처리구①	2.15	0	2.05	0
처리구②	0.19	91.2	1.83	10.7
처리구③	0.17	92.1	1.78	13.2
처리구④	0.07	96.7	1.61	21.5
처리구⑤	0.07	96.7	1.49	27.3

수화제인 캡탄의 경우 열수처리구는 대조구에 비하여 90% 이상의 제거율을 보였다. 열수처리방법에 따라서 제거율을 보면 정채식보다는 와류식이 다소 효과가 높았다. 열수처리전 고압의 물세척을 하여 줌으로서 그 제거율을 높일 수 있을 것으로 판단되었다. 테부펜피라이드의 처리구에 따른 제거 경향은 캡탄의 경우와 유사하게 나타났는데 제거율 자체는 캡탄에 미치지 못하였다. 이는 이 농약의 경우 유제로서 사과에 처리시 사과표면에 붙어 있는 전착도 정도가 높은 특성을 갖고 있기 때문인 것으로 판단되었다(Fig. 3-6-38, Table 3-6-3).

열수 침지처리시 사과표면에 처리하였던 농약류의 제거효과가 상온수에 처리하였던 경우에 비하여 높았으나 물을 고압으로 분사하여 세척하는 경우에 비하여서는 낮았다. 이를 개선키 위해 미생물 및 해충의 오염도가 적은 경우를 위하여 설정된 60℃의 열수를 10 kg/cm<sup>2</sup>의 압력을 가하여 5초씩 분사하였던 바 캡탄의 경우는 거의 완벽한 수준까지 도달하였으며, 테부펜피라이드의 경우 제거율이 67%까지 향상되었다. 한편 60℃의 열수를 10 kg/cm<sup>2</sup>의 압력을 가하여 분사 시 제올라이트를 분산시켜 처리하였던 경우 테부펜피라이드의 제거율은 83%까지 향상되었다(Table 3-6-4).

Table 3-6-4. 처리방법에 따른 사과표면의 잔류농약 제거율

항목 시료	Captan(mg./kg)		Tebufenpyrad(mg/kg)	
	잔류량	제거율(%)	잔류량	제거율(%)
냉수침지	2.43	0	2.52	0
열수분사	0.01	99.5	0.82	67.3
Z함유 열수분사	-	100	0.43	82.8



라. 열수와 미립 소자의 병행처리에 의한 사과와 세척

○저장 및 시판사과의 표면 품질

일반 저장사과 및 시판 세척사과의 표면 품질실태를 조사하였다. 1차적으로 5농가에서 출하한 일반사과와 시판 세척사과를 수집하여 일정량의 수돗물에 담귀 브러쉬로 표면을 깨끗이 닦은 후 남은 물의 특성을 분석하였다. 일반 사과 세척 후 남은 물의 탁도는 1.5-2배정도 높았고, 불용성고형물 함량도 이와 유사한 수준이었다. 세척후 남은 물에 존재하는 미생물수를 보면 일반사과의 총균수는 최고  $2.3 \times 10^5$  CFU까지 관찰되었고, 곰팡이의 경우 최고  $7.4 \times 10^4$  CFU까지 관찰되었으며 세척시판사과의 경우 저장사과와 유의적인 차이는 보이지 않았다(Fig. 3-6-39, Fig. 3-6-40).

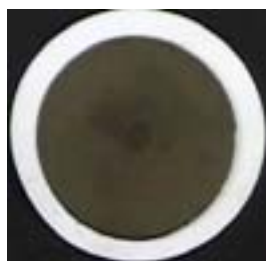


Fig. 3-6-39. Filtered residue in waste water used for cleaning of apple surface

저장사과 및 시판 세척사과의 표면 품질실태에 대한 2차 조사를 하였던 바 세척수의 탁도는 농가에 따라 큰 차이를 보이지 않았으며 시판세척사과의 경우 일반사과보다는 훨씬 낮은 값을 보였다. 불용성고형물함량의 경우 일반사과이더라도 농가에 따라 큰 차이를 보였으며 농가에 따라서는 그 함량이 매우 낮은 세척사과와도 유사한 수준을 보였다. 사과 세척 후 남은 물의 총균수 및 곰팡이수를 분석하였던 바 1차년에서와 유사하게 일반사과와 세척사과의 차이가 뚜렷하지 않았으며 이를 재확인키 위해 일반사과와 세척사과의 미생물수 재조사결과에서도 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 3-6-41, Fig. 3-6-42). 이와 같은 결과는 세척사과의 경우 세척과정을 통하여 표면의 이물질 오염물정도는 일반 사과에 비해 현저히 감소시켰지만, 미생물이 많이 존재하는 사과의 꼭지 및 꽃 발침 부위의 세척이 충분치 않았거나, 세척 후 포장을 함으로서 포장 내 습도가 높음에 따라 미생물의 번식이 진행되었기 때문일 것으로 판단된다.

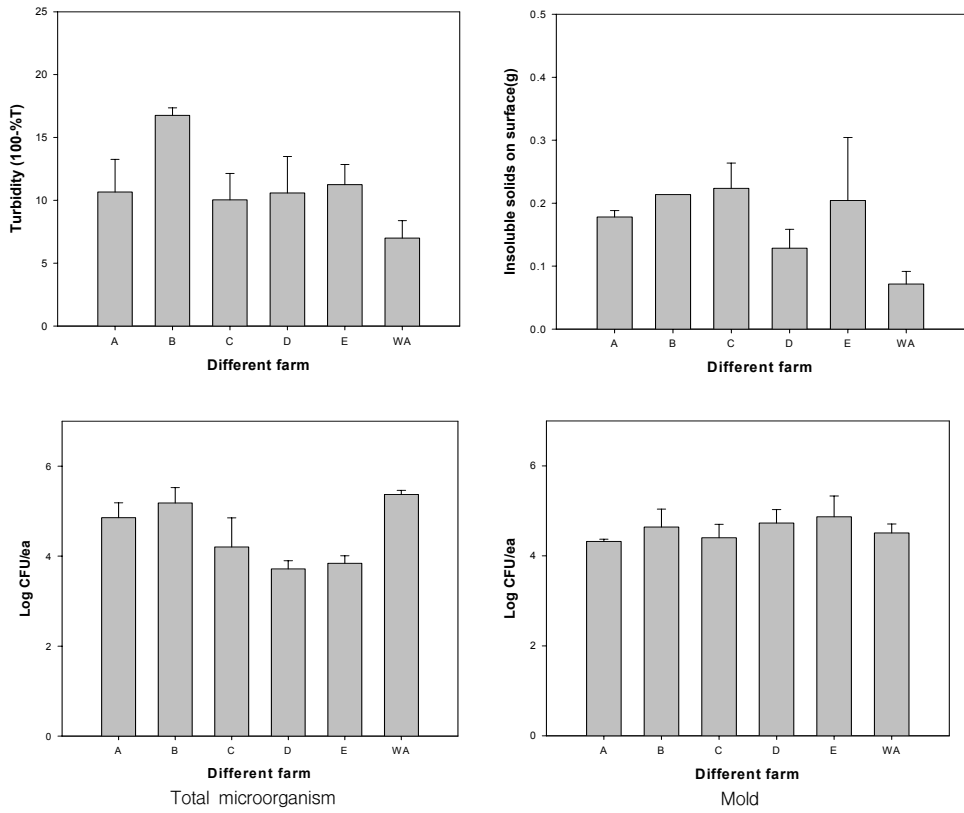


Fig. 3-6-40. Quality of waste water used for cleaning of apples purchased from market (1st ex.)

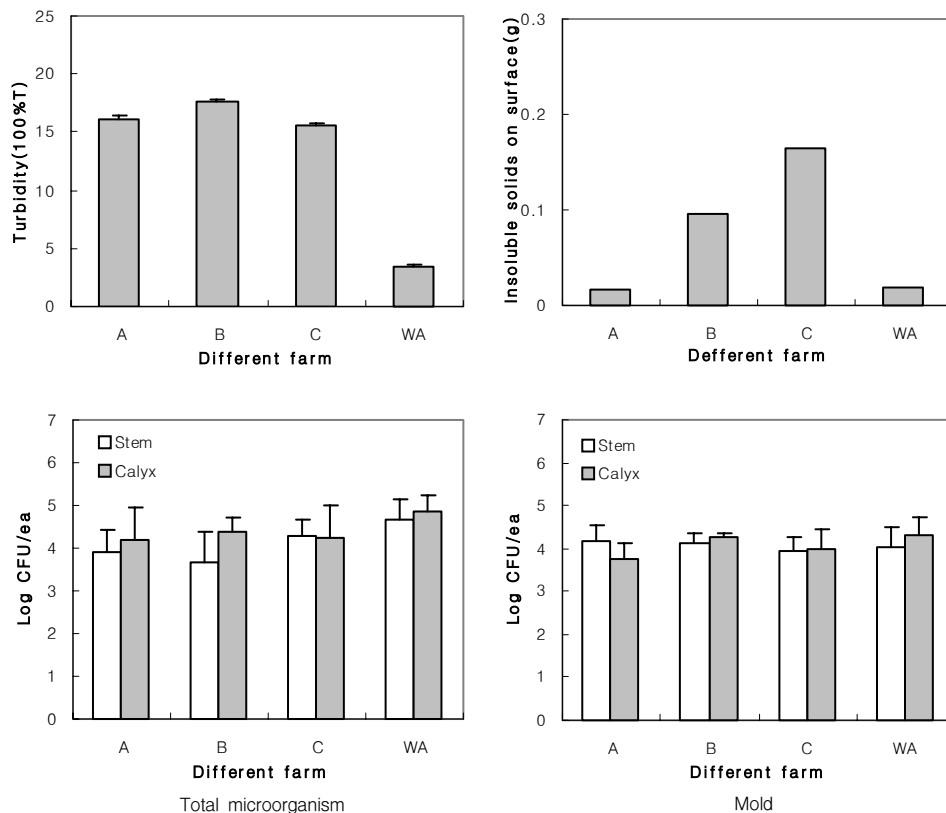


Fig. 3-6-41. Quality of waste water used for cleaning of apples purchased from market (2nd ex.)

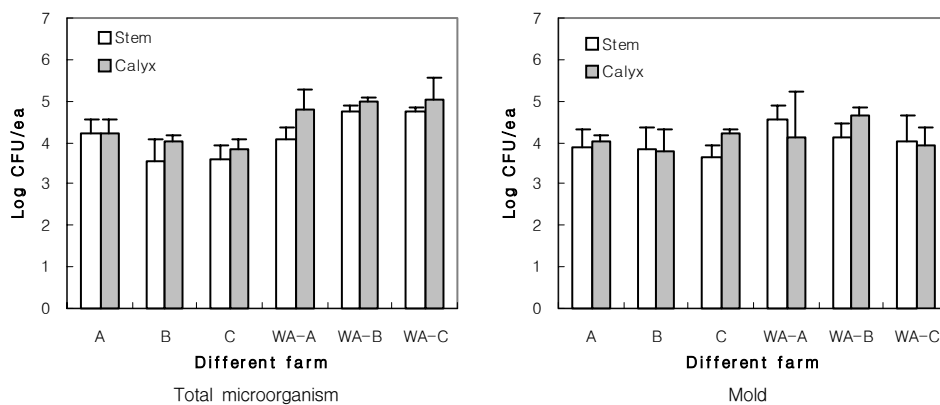


Fig. 3-6-42. Number of microorganism in waste water used for cleaning of apples purchased from market (3rd ex.)

#### ○ 미립소자 처리효과

열수 처리와 브러쉬 처리 외에 미립 소자를 이용한 사과꼭지부위의 세척효과를 비교코저, Cellite, Zeolite, Baking soda 등 세척 보조제를 이용한 사과의 세척율을 조사하였다(Table 3-6-5).

세척 보조제를 사용하지 않은 단순 고압수 처리의 경우 10, 20, 30초간 처리시 시간대별로 0.10, 0.14, 0.19의 세척도를 보였다. Cellite를 사용한 세척에서는 처리 10초에 각 농도에서 0.24-0.32의 세척도를 보였고, 농도 5%처리 30초에 0.43의 세척도를 보였다. 반면, Zeolite의 경우 3%의 농도 처리 20초에 0.51의 높은 세척도를 보였다. Sodium bicarbonate처리의 경우 5%농도 30초 처리에 0.52의 세척도를 보였다.

#### ○ 열처리와 세척 보조제 병행처리효과

미립 소자를 이용한 세척시 가장 높은 세척도를 나타냈던 zeolite처리와 열처리, 일반적으로 세척에 사용되는 산성수(pH 2.3)처리, 염소수, 과산화수소수, 오존수, 고압수 처리가 사과의 꼭지 미생물에 미치는 영향을 조사하였다. 미립소자 및 일반 세척 보조제를 이용한 처리에서 zeolite 처리는 총균수와 곰팡이수에서 높은 제거율을 보였다. 산성수(pH 2.3)의 용액에 담금 처리한 경우도 총균수에서 높은 제거율을 보였다(Table 3-6-6).

#### ○ 열처리와 세척보조제를 이용한 복합 처리시 사과의 미생물 수

처리의 효율을 최대화하기 위하여, 위의 실험에서 미생물 제어 효과가 높게 나타냈던 zeolite처리와 열처리, 산성수처리, 브러쉬 처리를 복합 처리시 그 효과를 조사하였던 바 총균수 제어 측면에서는 열수+zeolite+고압수와 열수처리가 비교적 우수한 효과를 보였으며, 곰팡이제어 측면에서는 열수+산성처리+고압수가 비교적 효과적인 것으로 나타났다(Table 3-6-7, Fig. 3-6-43).

Table 3-6-5. Effects of type of insoluble material and concentration in pressured water on degree of cleaning of apple

Treatment	Concentration(%)	Time(sec)			
		0	10	20	30
Water		0	0.10	0.14	0.19
Celite	1	0	0.32	0.41	0.41
	3	0	0.24	0.30	0.40
	5	0	0.27	0.43	0.43
Zeolite	1	0	0.26	0.29	0.33
	3	0	0.23	0.51	0.50
	5	0	0.50	0.51	0.55
Sodium bicarbonate	1	0	0.20	0.27	0.33
	3	0	0.40	0.46	0.49
	5	0	0.36	0.48	0.52

Table 3-6-6. Effects of cleaning treatment on population of microorganism in stem end area of apple

(Unit: Log CFU/ea)

Treatment	Total microorganism	Mold
Control	4.92±0.63	5.83±0.11
Water	4.49±0.88	5.35±0.00
Pressured water, PW	3.51±0.72	3.46±0.51
Zelolite in PW	2.83±0.49	2.93±0.33
Chlorine	3.14±0.59	4.83±0.22
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3.61±0.61	4.04±0.66
Acidic water(pH2.3)	2.78±0.00	4.72±0.32
O <sub>3</sub>	4.31±0.43	4.79±0.11

Table 3-6-7. Effects of complex cleaning treatment on population of microorganism in stem end area of apple

(Unit: Log CFU/ea)

Treatment	Total microorganism	Mold
Control	4.87±0.21	5.52±0.19
Water	4.26±0.12	5.35±0.08
Pressured water, PW	3.75±0.49	3.18±0.15
Zelolite in PW, ZPW	3.53±0.27	3.65±0.23
Acidic water(pH2.3), AW	3.69±0.16	3.91±0.80
Mild hot water, MH	2.75±0.38	3.49±0.22
Brushing, B	3.58±0.13	3.84±0.26
MH+AW	3.86±0.14	3.18±0.20
MH+B+PW	3.25±0.32	3.29±0.45
MH+ZPW	2.65±0.00	3.48±0.56



Fig. 3-6-43. 미립소재를 함유한 열수의 고압처리에 따른 사과 품질

왼쪽: 처리 전, 오른쪽: 처리 후

## 제 7 절 열처리시스템 구축

### 1. 열처리 라인 구축

사과의 열처리를 위해 개발된 기술을 사과의 오염정도 및 사용 목적을 고려하여 구분하면 침지식 열처리방법과 고압분사식 열처리방법으로 대별할 수 있다. 사과에 오염된 미생물 및 해충의 제어 정도는 열처리 방법에 따라 차이를 보이는데 해충 및 미생물의 제어에는 중온의 열수에서 장시간 침지 처리하는 것이 효과적이었다. 특히 해충이 사과의 씨방부위 등 내부에까지 침투되어있을 경우에는 특히 장시간 중온 침지 처리하는 것이 바람직하였다.

그러나 미생물 및 해충의 감염정도가 미약할 경우 고온의 열수에서 단시간 처리(High Temperature Short Time Treatment, HTST) 하는 것이 처리량 측면에서 바람직한 것으로 판단된다. 특히 열수를 고압으로 처리 시에는 미생물 및 해충의 제어뿐만 아니라 표면 세척 효과까지 얻을 수 있는 장점이 있다. 현재 유통되고 있는 세척사과의 표면에 부착된 이물질의 양은 이러한 처리없이 유통되는 사과에 비하여 적었지만 미생물 측면에서 보면 개선할 여지가 많은 것으로 조사되었다. 일반 유통되고 있는 사과의 경우 과피의 이물질 오염도가 세척사과에 비해 매우 높고, 특히 과일 꼭지 및 꽃받침부가 생육기간 동안 달라붙은 이물질에 의하여 매우 불량한 상태를 보이는 경우가 많다. 또한 세척 사과로 출하키 위한 사과는 유대 재배를 하여 과피에 이물질이 적게 오염되도록 하며 특히 꼭지 및 꽃받침 부위에 녹이 슬지 않도록 재배하고 있는데 이를 위한 노동력이나, 비용이 경제적 압박요인으로 작용하고 있다. 이러한 문제는 고온 고압 열수처리 시 열수에 불용성 소립소재를 첨가하여 처리함으로써 완벽하게 해결할 수 있었다.

따라서 그동안의 연구 결과를 토대로 사과의 열처리 라인을 열수침지처리, 고온·고압처리, 불용성 소립소재를 이용하는 고온·고압처리 시스템으로 구분하여 구축하면 다음과 같다(Fig. 3-7-1, Fig. 3-7-2).

#### 가. 열수 침지처리

열수침지처리 방식은 사과 과피는 물론 사과의 씨방부위 등 심부에 까지 감염되어 있는 미생물 및 해충 제어를 위하여 적용할 수 있는 열처리 방법으로 처리속

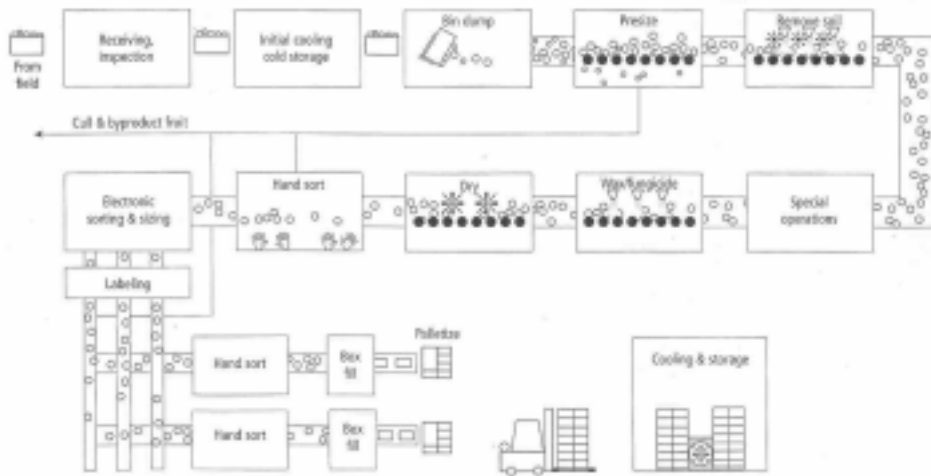


Fig. 3-7-1. Schematic of typical unit operation in a mechanized packinghouse for fruits

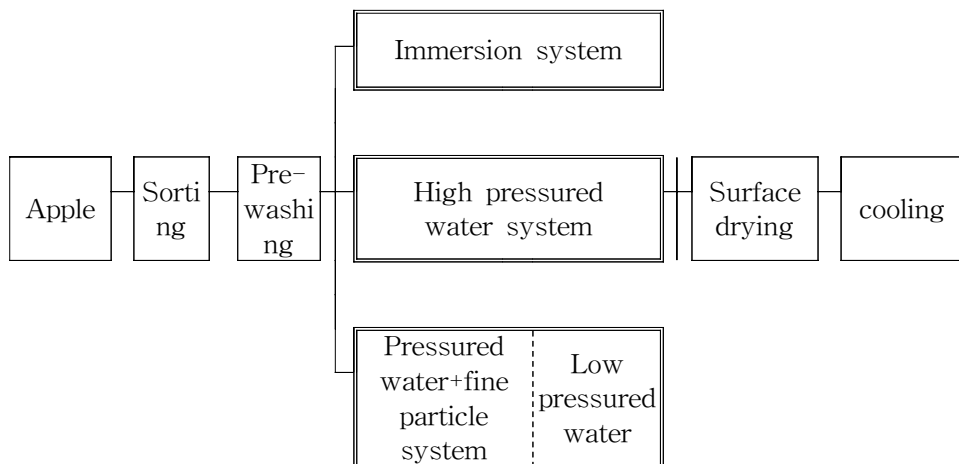


Fig. 3-7-2. Flow sheet of mild hot water treatment system for apple



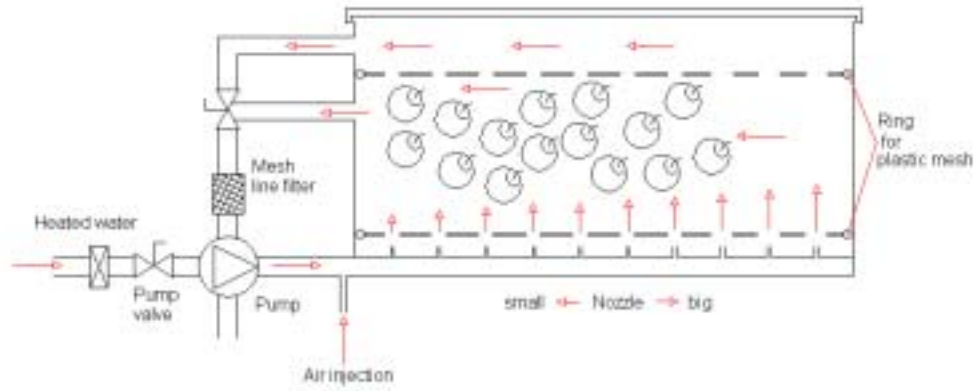


Fig. 3-7-3. Schematic of mild hot water immersion system for apple

도에 따라 탱크에 처리하는 batch식과 flume을 이용한 연속식으로 처리시설을 적용할 수 있다. 사과를 선과하여 부패 및 변질과를 제거하고 이에 물을 분사하여 사과표면에 부착된 이물질을 제거한 후 열수처리 침지탱크로 이송한다. 사과의 열수처리 시 물의 온도는 45℃이며 사과의 중심온도가 45℃에 도달한 후부터 이 상태에서 30분간 침지한다. 이때 물은 열수탱크로부터 온도를 적절히 조절하여 처리조 내로 이송시키며, 균일한 열처리를 위해 사과는 수면으로부터 최소 20 cm 아래에 잠기도록 하고 처리조 내 물의 온도를 균일하게 유지할 수 있도록 교반시켜 준다. 열처리 온도센서는 처리조의 위치에 따라 하부, 중부 및 상부의 과일 내부의 중앙부위에 설치하여 처리 중 온도를 일정 수준으로 유지시킨다. 열처리 동안 사과의 표면에 묻어 있던 이물질 등이 침지수의 품질에 영향을 미칠 수 있으므로 침지처리수의 품질의 일정 수준 이상으로 유지키 위해 필요시 처리조 내의 물을 외부로 끌어내어 여과 처리한 후 재 유입시킬 수 있는 on-line 식 정수 장치를 설치한다. 열처리가 끝난 사과는 꺼내어 표면의 수분을 제거하는데 이때 고압의 공기를 분사하여 제거한다. 표면수분을 제거한 사과는 저온 저장고에 방치하여 냉각시킨다. 사과의 냉각 시 사과의 품질에 영향을 미치지 않는 적정저장온도 이상에서는 온도가 낮을수록 냉각속도는 빠르나 냉각 시 표면의 수분증발에 의한 품질 저하가 발생하며 이로 인하여 부분적으로는 과냉각에 의한 냉해를 받을 수 있으므로 0-2℃ 범위에서 처리한다(Fig. 3-7-3).

#### 나. 열수고압처리

고압열수처리 방법은 사과와 꺾임 및 꽃받침 등 굴곡부위를 비롯하여 표면부위에 주로 오염되어 있는 미생물 및 해충류의 제어에 적합한 방법이다.

사과에 존재하는 미생물 해충제어를 위해 1차적으로 사과를 선과하여 부패 및 변질과를 제거하고 이에 물을 분사한다. 사과표면에 부착된 이물질을 냉수 분사처리에 의해 제거한 후 고압으로 열수를 하는데 처리 규모에 따라 작업자의 손으로 처리하는 수동식과 컨베이어를 이용한 연속식을 적용할 수 있다.

열처리 조건으로 물의 온도는 60℃이며, 처리압력은 10 kg/cm<sup>2</sup>, 처리시간은 5초이다. 처리 방법은 사과의 꺾임 부위와 꽃받침 부위를 중심으로 각각 5초간 열수를 분사하여 주는데 열수분사에 사용되는 노즐의 각도는 15 도이다.

수동식으로 처리하는 경우 작업자가 손으로 사과의 중앙 부위를 잡고 열수 분사총으로 꺾임 부위와 꽃받침 부위를 중심으로 각각 5초간 열수를 분사한다. 이 처리 방식은 처리량이 적은 경우 적용이 가능한 경제적인 방법이다.

컨베이어를 이용한 연속식 처리 방법은 사과를 이동하는 컨베이어 위에 놓고 열수를 분사하는 방식으로 열수 분사노즐 위치에 사과가 도달하면 자동으로 정지하여 5초간 열수를 처리한 후 다시 이동되도록 시스템을 고안하였다. 이때 컨베이어는 벨트식이 아닌 반구형 트레이 식으로 사과 꺾임 및 꽃받침 부위가 노즐에서 분사되는 열수를 맞기에 적합토록 고안된다. 사과의 위치를 열수처리에 적합토록 안치시키기 위해서는 열수처리 단계이전의 1차 냉각수 세척처리 후 수작업으로 사과를 반구형 트레이위에 사과의 꺾임 부위가 위를 향하도록 안치시킨다. 열처리 단계에서는 꺾임 부위와 꽃 받침 부위를 구분하여 열수를 분사하는 방식과 이 두 부위에 열수를 동시에 분사하는 방식을 택할 수 있다. 꺾임 부위와 꽃받침 부위를 구분하여 열수를 분사하는 방식은 꺾임 부위를 열처리한 후 수작업으로 사과의 꽃받침 부위가 노즐위치에 맞도록 위치는 전환시켜 준다. 이 작업은 반자동식으로 수동식에 비해 처리량 많은 반면 노동력이 적게 소요되며 설비 자체가 간단한 것이 장점이다(Fig. 3-7-4~Fig. 3-7-6).



Fig. 3-7-4. Experimental apparatus of pressured mild hot water treatment system for apple

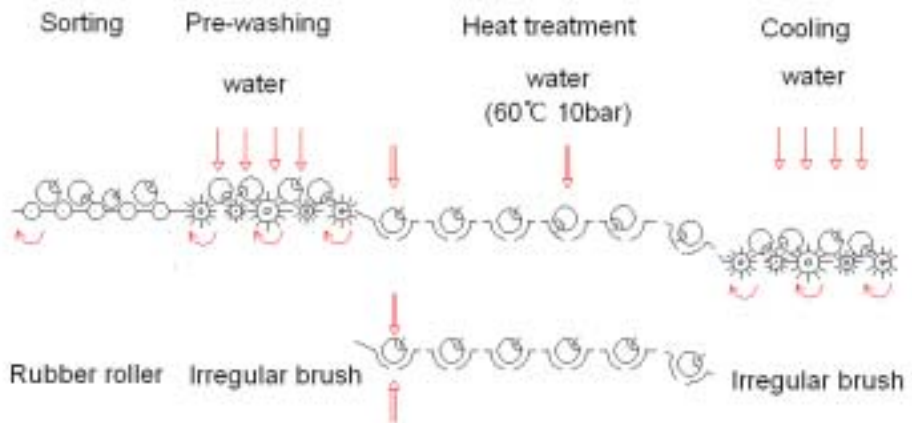


Fig. 3-7-5. Schematic of pressured mild hot water treatment system for apple

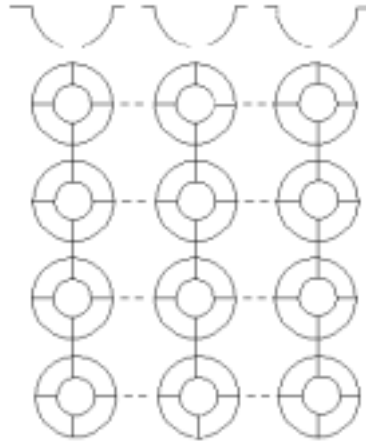


Fig. 3-7-6. Schematic of conveyor in pressured mild hot water treatment system for apple

#### 다. 미립소재함유 열수고압처리

고압열수처리 방법은 사과와 꺾지 및 꽃받침 등 굴곡부위를 비롯하여 표면부위에 주로 오염되어 있는 미생물 및 해충류를 효과적으로 제어할 수 있는 방법이다. 사과의 병해충에 대한 우려 이외 사과표면에 존재하는 비위생적인 이물질에 대한 우려가 매우 높은 실정이다. 고압열수 처리 시 사과 표면 특히, 꺾지 및 꽃받침 부위에 존재하는 미생물 및 해충류는 효과적으로 제어할 수 있는데 이 부위에 하얗게 묻어 있는 이물질 등은 어느 정도 남아 있어 사과의 상품성 제고를 위한 처리 기술이 필요하였다. 이를 위하여 고압열수처리 시 세척효과를 높이기 위해 세척 보조제로 미립소재를 함께 분사하는 방식을 고안하였다.

사과 재배 시 사과표면에 먼지나 흙, 농약, 미생물 및 해충 등의 오염물질이 부착 또는 잔류하고 있어 이러한 상태의 사과는 상품성을 제고하기 위하여서는 수확 후 유통 전 표면세척 처리가 필수적이다. 특히 사과의 꺾지, 꽃받침 부위는 먼지나 흙, 농약, 미생물 및 해충 등의 오염물질이 부착 또는 잔류할 가능성이 높기 때문에 보통의 과일표면 보다 더욱 표면세척처리가 필요하다. 현재까지 사용되고 있는 사과 세척방법을 보면 과일을 세척하더라도 꺾지 및 꽃받침 부위에 견고히 도포되어 있는 오염물질을 제거하기는 매우 어려워 소비자에게는 구매 시 위생 및 품질 상 불만 요인으로 작용되고, 생산자 측면에서는 과일 판매 시



Fig. 3-7-7. Schematic of pressured mild hot water with insoluble fine particles treatment system for apple

소비자로부터 품질이 낮게 평가됨으로 인한 경제적 손실이 발생하고 있다.

사과의 표면오염물질 제거를 위해서는 물을 주로 이용하고 있는데 오염 미생물 제어를 위해 염소수, 오존수 및 전해산화수를 사용하는 한편, 기타 오염물질의 제거를 위해 중성 액상 비누 등 계면활성제를 사용하는 경우가 있으나 효과 면이나 산업적 활용 측면에서는 개선할 점이 많다. 과일의 표면 오염물질 제거를 위하여 수작업이나 기계적인 방법으로 과일의 표면을 솔질하는 경우가 있는데 이때, 꼭지가 있는 과일은 꼭지 부위에 소정의 깊이를 가지고 있어 솔질 처리가 곤란하며, 또한 무리하게 솔질 처리를 하는 경우 과일의 꼭지 부위와 꼭지 부위 주변의 표면이 손상됨으로 인하여 처리 후 과일의 품위에 악영향을 미칠 수 있다. 한편 압축공기를 이용한 세척방법이 연구된 바 있는데 먼지 등 일부 표면에 단순히 묻어 있는 오염물질의 제거는 가능하지만 과일표면이나 꼭지 및 꽃받침 부위 등의 특정부위에 단단히 도포되어 있는 흙, 잔류농약, 미생물 및 해충 등의 제거에는 한계가 있다.

본 연구에서 개발한 미립소재함유 열수고압처리방법은 사과의 꼭지 및 꽃받침 부위 등의 과일의 굴곡부위와 다른 특정부위에 존재하는 미생물 및 해충의 제어는 물론 과피 및 꼭지 및 꽃받침 등 특정부위에 단단히 붙어 있어 기존의 방법으로는 처리하기 어려운 미세한 흙, 먼지, 잔류농약 등의 제거를 위하여 적용할

수 있다. 이 처리 방법은 사과와 꺾임 및 꽃받침 부위를 포함한 표면세척에 있어서, 원료사과를 일반 용수로 과일의 굴곡부위를 포함하는 과일표면에 분사하는 단계, 미립소재를 분산시킨 열수를 과일의 굴곡부위를 포함하는 표면에 분사하는 단계, 처리한 미립소재의 제거를 위해 냉수를 과일의 굴곡부위를 포함하는 과일 표면에 분사하는 단계로 구성되어 있다. 처리 방법을 상세히 살펴보면 고압열수 처리와 같이 선별한 사과에 냉수를 분사 처리하여 표면의 이물질을 1차 제거한 후 열수를 고압 처리한다. 열처리 조건으로 물의 온도는 60℃이며, 처리압력은 10 kg/cm<sup>2</sup>, 처리시간은 5초이다. 이때 열수에는 1-3%의 불용성 미립소재를 현탁시켜 사용하는 것이 고압열수 처리와의 차이이다. 열수처리 시 처리 규모에 따라 작업자의 손으로 처리하는 수동식과 컨베이어를 이용한 연속식을 적용할 수 있으며 처리방법은 고압열수처리방법과 동일하나 장치 상으로 보면 불용성 미립소재가 열처리 비산 또는 분산되는 것을 방지하기 위한 차단 설비가 필요하다.

컨베이어 위의 사과는 불용성 미립소재가 함유된 열수를 고압으로 분사하는 노즐을 통과 한 후 사과의 표면에 묻어 있는 불용성 미립소재를 제거하고 최종적으로 과일에 존재하는 흙, 먼지와 같은 이물질을 제거하기 위해 일반 용수를 고압으로 분사하는 노즐을 통과한다. 이때 용수의 분사조건으로 처리압력은 3kg/cm<sup>2</sup> 처리시간은 5초이며 이 조건은 사과의 표면 상태에 따라 다르게 적용할 수 있다(Fig. 3-7-7).

## 2. 열처리 방법 별 경제성분석

열처리 방법은 출하하기 전에 검역처리로서 40-50℃에서 수증기를 이용하여 해충의 알과 유충을 죽이기 위해 개발된 대표적인 방법이다. 이 방법은 1900년대 중반 Mediterranean (*Ceratitis capitata* Wiedemann)과 Mexican (*Anastrepha ludens* Loew) 과일 파리를 죽이는데 사용되기 시작하였다(Hawkins, 1932; Baker, 1952). 그러나 ethylene dibromide와 methyl bromide가 저렴한 화학적 훈증제로 사용되어지면서 vapor heat처리가 중단되었다. 그러나 세계환경기구 등에서는 이 훈증제가 인체 및 환경에 나쁜 영향을 미칠 수 있으므로 1984년 ethylene dibromide의 사용을 금지시켰고 2010년에는 methyl bromide의 사용이 금지되므로 methyl bromide 훈증처리를 대체할 수 있는 처리 기술 개발이 필요하다.

현실적으로 보면 수출용 사과와 감역처리로 methyl bromide를 처리할 경우 사과를 저온(1.1℃)에서 40일간 저장 후 10℃이상에서 48 g/m<sup>3</sup>농도로 2시간 처리하는 방법으로 처리 비용이 컨테이너 당 12만 원정도로 매우 저렴하다. 그러나 이와 같은 방식에 의해 사과를 처리할 경우 과일 표면에 결로 발생 등으로 인하여 처리 후 사과와 품질에 악영향을 미칠 수 있다. 따라서 methyl bromide 훈증처리를 대체할 수 있는 처리 기술로 열처리기술이 다시 부활케 되었으며 (Gaffney et al., 1990) 망고나 파파야 같은 아열대 과실에 대해 여러 나라에서 상업적으로 열처리 기술이 이용되고 있다(Paull, 1994).

최근 다양한 병충해로부터 과실과 채소의 해충방지를 위해 각 품목에 적합한 수증기처리, 가열공기를 이용하는 열처리 및 열수를 이용하는 열처리 방법에 대하여 많은 연구가 진행되고 있다. 해충 및 미생물제어를 위한 열처리 기술 및 방법은 대상 품목에 따라 다양하게 적용되어야함에 따라 경제성을 논하는 데에는 어려움이 있다. 열수침지 및 열풍처리시스템은 일부 품목의 과일 처리를 위하여 여러 나라에서 적용되고 있다. 이러한 현장 실용화는 열처리를 이용하는 해충제어 기술이 경제성이 있음을 간접적으로 보여 주는 사례이다.

열처리 방법은 열매체에 따라 가열 수증기, 가열 공기 및 열수를 이용하는 방법으로 나뉘는데 각 매체에 따른 적용기술의 경제성을 비교하여 보면 기술개발 초기에는 수증기를 이용하는 방법이 적용되었지만 열효율 및 열 전달속도가 빠르지 않아 처리에 장시간이 소요되는 단점이 있다. 가열공기를 이용하는 방식의 경우 설비는 비교적 간단한 장점이 있지만 처리시간이 38-46℃의 온도에서 12-96시간 정도로 길어 상업적으로 볼 때 처리법으로는 적합하지 않다. 열풍처리방법은 주로 과실과 채소의 열에 대한 반응을 생리학적인 측면에서 발생하는 변화를 연구하기 위해 이용되어 왔다. 또한 대상물의 생리적인 면에서 이로운 영향을 주는 수단으로서 뿐만이 아니라 동시에 해충과 곰팡이류를 방지하는 방법으로써 열풍처리법이 갖는 잠재력이 크므로 향후 이 처리법의 수요가 있을 것으로 판단된다.

열수침지처리는 물을 사용하므로 수증기나 열풍보다 더 효과적인 열을 전달시킬 수 있어 처리시간이 짧고, 일시에 많은 양을 처리할 수 있는 잇점이 있다. 이와 더불어 열수침지는 처리가 간편하고, 과일과 물의 온도를 쉽게 측정할 수 있어

온도관리가 용이하며 필요시 항균제를 함께 사용하여 처리 효과를 높일 수 있는 점이 장점이다. 또한 시설 측면에서 보면 열수침지 방식은 현재 상업적으로 이용되는 가열수증기 처리에 비해 10% 이상 저렴한 것으로 알려져 있다.

최근 침지식 열처리방법의 장점을 더욱 향상시킨 열수분사방법이 개발되고 있다. 이 기술은 가열처리 시 준비단계의 시간을 줄이고 고온과 단시간에 연속적으로 처리하는데 적합하다. 이런 형태의 열처리법의 이점은 온라인으로 지속적인 처리를 가능하며 매우 열처리시간이 짧다는 점이다(Table 3-7-1, Table 3-7-2).

Table 3-7-1. Estimated cost of postharvest alternatives for quarantine treatment of apple Unit: US\$/ton

Treatment	Methyl bromide	Gamma Irradiation (port owner)	Gamma Irradiation (processor owner)	Controlled atmosphere	Cold storage
Apple	32.01	60.47	130.00	39.12	29.74

Table 3-7-2. General comparison of quarantine disinfestation treatments

Treatment	Cost Competitiveness	Effectiveness on quarantine pest	Logistics	Tolerance of host commodities	Residues
Irradiation, 1)	Good	Excellent	Fair	Very Good	Nil
Vapour Heat	Fair	Mainly fruit flies	Fair	Good	Nil
Hot Air	Fair	Mainly fruit flies	Fair	Good	Nil
Hot Water	Good	Mainly fruit flies	Good	Good	Nil
Cold Air, 2)	Poor	Good	Good	Fair	Nil
Fumigation, 3)	Good	Good	Very Good	Very Good*	Yes

1): Only method available for mango seed weevil

2): Not applicable to many fruits

3): Depending on fumigant used



가. 열처리방법에 따른 소요 용수량 및 에너지

○ 침지처리 방법

침지처리조건:

사과 1톤 처리시 용수 소요량: 3톤

(사과/물비율: 1:3, 사과 1톤/ 물 3톤)

처리조의 크기

전체 부피 4톤

처리탱크 가로 x 세로 x 높이; 2 x 2 x 1.5 (0.5 m 여유 공간)

사과 1톤 처리시 에너지 소요량

-용수의 가열을 위한 에너지량

열소요량/톤/물(지하수기준, 15℃, 목표온도 45℃)

$(45^{\circ}\text{C} - 15^{\circ}\text{C}) \times 1,000\text{kg} = 30,000 \text{ Kcal}$

사과 1톤 가열침지처리 시 용수(3톤)의 가열을 위해 필요한 열소요량=

90,000 Kcal

-사과 1톤 가열을 위한 에너지량

(사과의 처리전 품온 15℃, 처리온도 45℃, 사과 비열 0.90)

$(45^{\circ}\text{C} - 15^{\circ}\text{C}) \times 1,000\text{kg} \times 0.9 = 27,000 \text{ Kcal}$

-냉각처리시 소요에너지

(사과의 품온 45℃, 냉각최종온도 2℃, 사과 비열 0.90)

$(45^{\circ}\text{C} - 2^{\circ}\text{C}) \times 1,000\text{kg} \times 0.9 = 38,700 \text{ Kcal}$

-침지 열처리 에너지 + 냉각처리에너지= 155,700 Kcal

○ 고압열수처리방법

처리조건: 온도 60℃, 압력 10 kg/cm<sup>2</sup>, 시간 5초

소요 용수량

사과 개체 당 소요 용수량(노즐 수: 컨베이어 상하 2개): 620 mL

톤당 용수량(후지사과 1개의 평균무게 0.28 kg)

$$(1,000 \text{ kg} \div 0.28) \times 0.62 = 2.21 \text{kl} = 2.21 \text{톤}$$

사과 1톤 처리시 소요 에너지량

-용수의 가열을 위한 에너지량

열소요량/톤/물(지하수기준, 15°C, 목표온도 45°C)

$$(45^\circ\text{C} - 15^\circ\text{C}) \times 2,210 \text{kg} = 66,300 \text{ Kcal}$$

-사과 1톤 가열을 위한 에너지량: 0

-냉각처리시 소요에너지

(사과의 품온 15°C, 열처리시 품온 상승 1°C 내외, 냉각최종온도 2°C, 사과

비열 0.90)

$$(16^\circ\text{C} - 2^\circ\text{C}) \times 1,000 \text{kg} \times 0.9 = 12,600 \text{ Kcal}$$

-고압열수처리 에너지 + 냉각처리에너지 = 78,900 Kcal

○ 미립소재를 함유한 열수의 고압처리방법

처리조건: 온도 60°C, 압력 10 kg/cm<sup>2</sup>, 시간 5초

소요 용수량

-열처리 시

사과 개체 당 소요 용수량(노즐 수: 컨베이어 상하 2개): 620 mL

톤당 용수량(후지사과 1개의 평균무게 0.28 kg)

$$(1,000 \text{ kg} \div 0.28) \times 0.62 = 2.21 \text{kl} = 2.21 \text{톤}$$

-처리 후 세척 시

사과 개체 당 소요 용수량(노즐 수: 컨베이어 상하 2개): 620 mL

톤당 용수량(후지사과 1개의 평균무게 0.28 kg)

$$(1,000 \text{ kg} \div 0.28) \times 0.62 = 2.21 \text{kl} = 2.21 \text{톤}$$

열처리 시 + 처리 후 세척 시 = 4.42톤

사과 1톤 처리 시 소요 에너지 량

-용수의 가열을 위한 에너지 량

열소요량/톤/물(지하수기준, 15℃, 목표온도 45℃)

$(45^{\circ}\text{C} - 15^{\circ}\text{C}) \times 2,210\text{kg} = 66,300 \text{ Kcal}$

-사과 1톤 가열을 위한 에너지 량: 0

-처리 후 세척 시 소요 에너지: 0

-냉각처리 시 소요에너지

(사과의 품온 15℃, 열처리 시 품온 상승 1℃ 내외, 처리 후 세척 시 품온 지하 1℃ 내외, 냉각 최종온도 2℃, 사과 비열 0.90)

$(15^{\circ}\text{C} - 2^{\circ}\text{C}) \times 1,000\text{kg} \times 0.9 = 11,700 \text{ Kcal}$

-고압열수처리 에너지 + 냉각처리에너지 = 78,000 Kcal

Table 3-7-3. Energy and water needed for heat treatment of 1 tone of apples

Treatment	Dipping in mild hot water	Spraying of pressured mild hot water	Spraying of pressured mild hot water with insoluble particles
Energy, Kcal	155,700	78,900	78,000
Water, ton	3	2.21	4.42

### 3. 열전달 매체의 재활용을 위한 정화방법

#### 가. 정화방법

사과를 열수처리 한 후 남는 폐수의 효율적인 활용을 위한 재처리기술을 검토하였다. 국내·외 관련 유사기술 현황을 살펴 본 바 과일의 세척처리 시 폐수 처리 및 재활용 기술에 관한 자료는 조사 결과 전무한 실정이다. 국내·외 식품공장에서 현재 사용할 수 있는 폐수처리 방법으로는 폐수 중에 함유된 고체와 액체를 분리하는 처리로 조부유물 제거, 침강분리, 부상분리, 간이여과 방식이 이용되고 있다. 폐수 중 분리된 액체상의 폐수는 용해물 및 소립의 부유물을 제거할 목적으로 중화, 산화환원, 흡착, 이온교환수지흡착, 포말분리, 역삼투 분리, 전기투석 분리, 탈 이온, 탈 질소 처리 등의 방법이 적용될 수 있다. 또한 생물화학적 처리는 용해성·현탁성 유기물의 분해, 제거, 감량 및 안정화를 목적으로 활성오니, 살수여상, 혐기성 소화, 탈질 처리가 이용되고 있으며 기타의 처리방법으로 회석, 지하주입, 지하관개 방법 등이 적용되고 있다. 이와 같이 폐수처리 기술은 매우 다양하며 폐수의 특성에 따라 선택적으로 조합하여 사용되고 있다.

본 연구에서 배출되는 폐 열수는 배추의 세척 시 발생하는 폐수와 같이 폐수 내 오염물질의 함량이 매우 낮은 특성을 갖고 있다. 따라서 폐 열수 처리를 위하여 폐수의 특성이 유사한 김치공장 폐수 처리 방법을 살펴보았다. 현재 김치공장의 폐수처리 방식은 식품공장에서 일반적으로 적용하고 있는 일반적인 폐수처리 방식인 물리화학적 처리를 하거나 이에 생물화학적 처리를 아울러 병행하는 경우도 있다. 김치 제조 시 배출되는 폐수 중에는 소량의 가용성 물질인 소금과 원료로부터 유출된 당류 등 매우 적은 양의 가용성 물질이 함유되어 있는데 이를 기존의 폐수처리 방식을 적용하여 정화시키기 위하여 설비, 운영 등 여러 면으로 볼 때 매우 불합리한 것으로 판단된다.

사과의 열처리 후 남는 폐 열수는 미량의 비가용성고형물과 적은 수의 미생물만을 함유하고 있음에 따라 배추절임염수의 재활용위해 본 연구팀이 개발한 물리적 여과처리 방법 (배추절임염수와 세척수 처리 방법 및 장치, 한국특허, 03-381913)을 개량하여 열수의 재활용을 시도하는 것이 적합할 것으로 판단되었다.

김치 절임 염수 및 폐수의 효율적 처리 및 재활용을 위하여 개발된 처리 장치의 구성을 보면 절임 시 발생하는 폐수와 절임 배추의 세척 시 대량으로 발생하는 세척수를 별도로 각각 분리 회수하여 눈의 크기가 다른 3종의 금속 망을 단계적으로 처리하는 금속 망 처리 조와 모래 조 및 활성탄 조를 순차적으로 통과시킨 후 이를 예비필터로 정수 처리하여 절임 염수 및 세척수로 재활용하거나 이 처리수를 다시 오존발생장치를 통과시켜 절임 염수 및 세척수를 다시 재활용할 수 있도록 고안되어있다.

이러한 원리를 응용하여 폐 열수에 적용한 처리방법을 살펴보면 폐열수를 그물 망 눈의 크기순으로 부착된 3 층의 금속 여과 체를 통과시켜 입고가 큰 물질을 1차 제거한 후 모래, 활성탄을 처리한다. 이 처리를 거친 폐 열수는 0.45  $\mu\text{m}$ 의 필터로 재처리한 후 염소 살균처리 한다. 이 공정을 거친 각각의 처리액은 온도를 재조정한 후 세척원수 탱크로 이송되어 세척수로 재활용하는 개념의 시스템을 구상하였다.

#### 나. 정화처리

사과의 열수처리후 방출되는 폐 열수를 수자원 및 열 에너지 측면에서 재활용하기 위하여 여과에 의한 처리 효과를 분석하였다. 이 처리에는 45  $^{\circ}\text{C}$ 에서 침지 열 처리 시 발생하는 열 폐수와 및 60 $^{\circ}\text{C}$ 의 열수를 고압분사 처리 시 발생하는 폐열수를 시료로 사용하였다(Fig. 3-7-8).

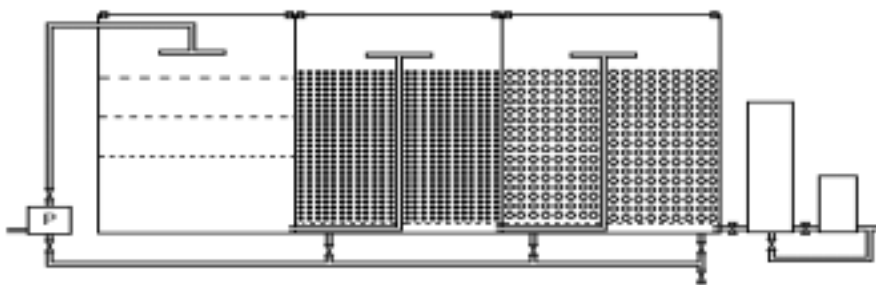


Fig. 3-7-8. Schematic of mild hot water immersion system for apple from front: metallic mesh, sand, active carbon, microfilter, heater

다. 침지열처리 후 폐수의 특성

사과를 열처리한 후 남은 폐수의 재활용을 위하여 사과 침지 열수의 물리적 특성을 조사하였으며 이를 바탕으로 처리수의 재활용방안을 강구하였다. 이를 위하여 1차적으로 세 농가의 저장사과와 시판 세척 사과를 수집하여 그 오염도를 측정하였다. 측정 항목은 사과를 세척한 후 남은 침지 열수의 광 투과도, 비가용성 고형분, 총균 수와 곰팡이 수를 조사하였다.

사과세척액의 투과도는 92.75-97.01% 범위로 재배농가에 따라 차이를 보였는데 시판 세척 사과(WA)가 가장 낮은 값을 나타내었다. 비가용성 고형물의 경우 개당 0.002-0.016g 수준을 나타내었으나 농가간의 차이는 없었으며, 시판 세척 사과가 가장 낮은 값을 나타내었다. 가용성 고형물 함량은 거의 검출 되지 않을 정도로 낮은 수준이었다. 저장 및 시판사과의 총균 수는 개당 최고 2.86 log CFU까지 관찰되었고, 곰팡이의 경우 최고 2.19 log CFU까지 관찰되었다(표 3-7-4).

라. 침지 열처리 폐수의 정화처리

사과를 개당 2 L의 비율로 45℃에서 침지 처리한 경우 물의 광 투과도는 93.96%이었고 이를 고운 모래 관에 통과 시 97.43%로 증가하였으며, 연속하여 활성탄을 처리한 후에는 99.32%까지 증가하였다(Table 3-7-5).

또한 처리에 따른 미생물 변화를 보면 처리전의 폐수에서는 총균수가 2.17 log CFU 이었고 이 폐수를 모래층에 통과시켰을 때에는 2.01 log CFU로 다소 감소하였으며, 활성탄 처리 시에는 1.83 log CFU, microfiltration 시에는 1.67 log CFU로 감소하였다. 이 정도의 수질은 식용수의 일반세균(표준한천 배지 내에서 성장하여 집락을 형성할 수 있는 중온성균을 말한다, 1 mL/중 100CFU를 넘지 아니할 것) 기준 이하이다(Table 3-7-6).

Table 3-7-4. Characteristics of waste water after immersion heat treatment of apples

Sample	Transmittance (%)	Non-soluble solid	Total microorganism (log CFU)	Mold (log CFU)
A	93.96	0.00176	2.17	2.02
B	93.41	0.00965	2.36	1.80
C	92.75	0.01648	2.21	2.19
WA	97.01	0.00188	2.86	2.11

Table 3-7-5. Transmittance of waste water used for heat treatment of apples by mediums for clarification

Treatment	Initial	Sand, fine	Active carbon 100 mesh	Micrifiltration 0.45 $\mu\text{m}$
Transmittance(%)	93.96	97.43	99.32	100

Table 3-7-6. Effect of mediums for clarification on total microbial count of waste water used for heat treatment of apples

Treatment	Total microorganism(log CFU/ml)
Non-treated	2.17
Sand, fine	2.01
Active carbon, 100mesh	1.83
Micrifiltration 0.45	1.67

마. 고압열수 처리 폐수의 특성 및 정화처리

사과의 미생물 및 해충제어를 위한 열처리 방법 중 고온 열수처리 시(High Temperature Short Time Treatment, HTST) 사과를 열처리한 후 남은 처리수의 재활용을 위하여 사과 세척수의 물리적 특성을 조사하였다. 이를 위하여 사과를 60℃의 열수로 10 bar의 압력을 가하여 5초간 처리한 후 폐수를 수집하였고 이를 100메쉬의 금속 망을 사용하여 입도가 큰 잔사를 제거하고 이를 입도가 고운 모래, 20-60메쉬의 과립형 활성탄 및 0.45  $\mu\text{m}$ 의 공경을 갖는 microfilter에 순차적으로 처리하였다. 모래 및 활성탄처리를 위해서는 길이 1 m 내경 4 cm인 유리관에 80%되게 각각을 충전시킨 후 열수를 통과시켰다.

수집한 폐수의 광 투과도는 84.72%로 침지처리 시 발생한 폐수에 비하여 낮은 값을 보였다. 이는 고압처리에 의해 과일 꼭지 및 과피 부위에 부착되었던 이물질의 탈리 정도가 침지처리에 비해 컸기 때문이며 수집된 폐수 중 공기의 분산 정도가 컸던 점도 이러한 결과의 원인으로 생각된다. 이 폐수를 고온 모래로 처리 시 95.32%, 활성탄을 재처리한 후에는 98.25%로 증가하였고 이를 다시 micrifiltration처리 시에는 완전한 상태를 나타내었다(Table 3-7-7).

또한 처리에 따른 미생물 변화를 보면 처리전의 폐수에서는 총균 수가 2.32 log CFU 이었고 이 폐수를 모래층에 통과시켰을 때에는 2.38 log CFU로 폐수 원액

Table 3-7-7. Transmittance of waste water used for heat treatment of apples by mediums for clarification

Treatment	Initial	Sand, fine	Active carbon 100 mesh	Microfilter 0.45 $\mu\text{m}$
Transmittance(%)	84.72	95.32	98.25	100

Table 3-6-8. Effect of mediums for clarification on total microbial count of waste water used for heat treatment of apples

Treatment	Total microbial count(log CFU/ml)
Non-treated	2.32
Sand. fine	2.38
Active carbon, 100mesh	2.12
Microfilter 0.45	1.98

과 큰 차이를 보이지 않았으며, 활성탄 처리 시에는 2.12 log CFU, microfiltration 시에는 1.98 log CFU로 감소하였다(Table 3-6-8).

#### 바. 고압열수와 세척보조제 병행처리 폐수의 처리

사과의 미생물 및 해충제어 효과증진과 더불어 사과꼭지 및 꽃받침 부위의 청결도를 높이기 위해 고온 열수처리 시 불용성 미립소자를 처리(3%, W/V)한 경우 발생하는 폐수처리를 위해 60°C의 열수를 10 bar의 압력을 가하여 5초간 처리하고 표면에 남은 미립소자를 제거키 위해 3 bar의 압력으로 상온수를 분사하였다. 이 혼합 폐수를 수집하여 이전 실험과 동일하게 1차적으로 100메쉬의 금속 망을 처리하였던 바 투과속도가 매우 느려 다음 단계의 정화처리에 지장을 주었다. 따라서 이 경우는 폐수 내 불용성 미립소자의 자연 침강법을 적용하여 제거한 후 상등액 만을 분리하여 정화 처리하는 방법이 효과적일 것으로 판단되었다. 또한 미립소자를 재활용하기 위해서는 침강법에 의해 분리된 미립소자의 수분 및 이에 오염된 미생물 등을 제어하기 위해 고온 열풍건조처리 등의 적용이 가능하나 경제성 등을 고려한다면 이를 토양개량제로 활용하는 방안의 고려도 필요할 것으로 사료된다.



## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분	연구개발목표	달성도 (%)	관련분야에의 기여도
1차년도 (2002)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 사과와 열처리 시 생체임계온도와 병·해충의 사멸 임계온도를 설정</li> <li>◦ 열처리 방법 별 효과를 조사</li> </ul>	100	매우 큼
2차년도 (2003)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 수확후 병충해방제 및 품위개선을 위한 효과적인 열처리방법 확립</li> </ul>	100	매우 큼
3차년도 (2004)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 효과적인 열처리 온도 및 조건 확립</li> <li>◦ 열처리기술 개발 시스템 구축</li> </ul>	100	매우 큼

열처리기술을 이용하여 사과의 병·해충을 제어하고 품위 및 저장성 개선을 연구목표로 사과와 열처리 시 기본이 되는 임계 열처리 조건의 확립을 위하여 처리온도 및 시간에 따른 품질을 평가하였다. 또한 이 임계조건에서 병·해충과 관련된 대상 병원균 및 해충의 제어정도를 평가하였으며 잔류농약 및 이물질제거 등 부수적인 처리효과도 조사하였다. 이를 바탕으로 수확 후 병충해 방제 및 품위개선을 위한 효과적인 열처리방법을 확립하고, 경제적이고 효과적인 열처리 시스템을 구축하고자 하였다.

사과의 열처리 기술의 적용을 통한 병·해충제어 및 품위개선을 위한 우선적인 연구로 처리 시 사과의 품질에는 악영향을 미치지 않는 온도 및 시간 설정을 위한 연구를 수행하였다. 수확시기 및 저장기간이 다른 후지 사과를 이용하여 40~65℃범위에서 시간을 달리하여 열처리한 후 처리 직후 및 냉각, 저장하면서 처리 조건에 따른 저장 중 생리적, 이화학적 및 관능적 품질을 분석하여 하였다. 실험 결과 후지 사과의 임계열처리조건은 수확시기 및 저장기간에 따라 처리온도 및 시간이 차이를 보였는데 저장 2개월 후까지는 40℃에서 3시간, 45℃에서 1시간, 50℃에서 25분, 55℃에서 3분, 60℃에서 1분, 65℃에서 20초 이내가 사과의 품위에 영향을 미치지 않는 열처리 한계 조건이었다.

수확 후 사과표면 미생물 및 해충류의 오염실태를 조사하였던 바 부패병 발생율은 조사 시기에 따라 차이가 있었으나 최대 24.7%에 달하였으며 그 중 우점종은 *Penicillium expansum*이었다. 저장중인 사과의 총체 발견율은 조사 시기에 따라

차이를 보여 8~20%였으며 주로 응애류, 나방류, 각지벌레류가 관찰되었고, 일부에서는 진딧물도 관찰되었다. 사과의 열수 처리에 따른 부패병 방제 효과를 조사하였던 바 *P. expansum*에 의한 부패병 방제는 40~60℃의 전 처리구에서 초기 발병억제 효과가 있었고 특히 40℃ 60분 처리와 45℃ 5분, 10분 처리의 효과가 우수하였다. 해충제어를 위한 열처리로 열풍 및 열수를 사용하여 해충 방제 효과를 조사하였던바 열수 처리가 열풍처리에 비하여 효과가 우수하였으며 45℃ 이상에서 열수에서 사과를 처리 시 생존한 응애 및 진딧물은 발견되지 않았다.

열처리 시스템 구축을 위한 연구로 물 및 공기를 열매체로 하여 매체에 따른 과피 및 과심부위의 열전달속도를 조사하였던바 공기에 비하여 물이 열처리 속도 향상에 효과적이었으며, 처리에 따른 품질 및 미생물 제어 효과도 우수하였다. 한편 열처리 후 냉각처리 시에도 공기보다는 물로 냉각시키는 것이 효과적이었으며, 냉각속도에 따른 품질 이상은 발생하지 않았다.

열처리 매체를 물을 사용하는 것이 효과적임에 따라 열수처리 시 품위개선효과를 조사하였던바 미생물의 제어 효과가 기존의 다른 세척처리에 비하여 비교적 우수한 것으로 나타났으며, 특히 열수에 침지 처리하는 것보다 열수를 고압으로 분사하는 것이 보다 효과적이었다. 이러한 처리효과를 보다 향상시키기 위해 열수에 세척 보조제를 함께 처리할 경우 표면 세척에 시너지효과를 보였으며 특히, 사과의 꼭지 및 꽃 받침부위의 미생물 및 이물질 제거에 매우 효과적이었다. 단계별 연구결과를 종합하여 사과의 병해충 제어를 위한 효과적인 열처리 조건으로 병해충의 오염도가 높을 경우 40-45℃에서 한계시간까지 장시간 처리하는 침지식 열처리방법이 효과적이며, 오염도가 비교적 낮을 경우에는 단위 시간당 처리량 및 소요 에너지 측면에서 60℃의 열수를 10kg/cm<sup>2</sup>압력으로 단시간 고압 분사 처리하는 방법이 효과적인 것으로 평가되었다.

또한 병해충의 오염도 저감 및 표면세척효과를 보다 증진키 위한 조건으로는 60℃의 열수에 불용성 미립소재를 현탁시킨 후 10kg/cm<sup>2</sup>압력으로 5초간 고압 분사 처리하는 방법이 효과적인 것으로 평가되었다. 한편 이와 같이 평가된 열처리 조건을 토대로 하여 현장에서 효과적으로 사과의 오염 병해충을 제어하고 품위를 개선할 수 있는 열처리 시스템을 구축하였다. 이상의 연구결과는 최종연구개발 목표에 충분히 달성하였다고 판단되며 관련 분야 기술발전에도 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### ○ 타 연구에의 응용

중온 열처리기술은 사과이외 다른 신선 농산물의 품위개선에 적용할 수 있는 기술로서 응용범위가 매우 넓다. 연구개발을 통해 축적된 기술과 실험실적인 규모나마 구축된 열처리시스템 등을 활용하여 타 품목의 미생물 및 해충제어와 품위 개선을 위한 경제적이고 환경친화적인 기술 개발연구에 응용할 계획이다.

### ○ 실용화 추진 방안

본 연구를 통하여 사과의 수확 후 처리기술로 병·해충을 제어하고, 품위를 개선할 수 있는 환경친화형 열처리 기본기술을 개발하였다. 개발기술은 연구과제 참여기업에 우선적으로 전수하며, 희망 생산자단체 및 관련 조합에도 기술을 이전하여 연구결과의 현장 활용을 통한 실용화를 추진 할 계획이다.

연구개발 기술 중 사과 꼭지 부위 등 기존 방법으로는 세척 및 청결처리가 어려운 부분을 해결하여 산업적 응용이 크게 예상되는 고압열수처리 방법에 관하여 2 건의 특허를 출원 한 바 있다.

후속 연구로서 개발 기술의 산업화를 위한 scale up 연구, 처리 공정의 표준화 및 시설의 최적화가 필요하며 이를 통하여 사과산업의 기반을 강화시킬 수 있을 것이다.

사과산업 활성화를 위하여 사과의 고품위와 안전성을 확보할 수 있는 새로운 수확후 처리기술로서의 열처리효과에 대하여 대중 매체를 이용하여 홍보함으로써 사과 표면의 잔류농약 및 기타 이물질 오염에 대한 소비자의 불신과 우려를 개선하는데 일조한다.

열처리기술을 이용한 사과의 병해충 제어 및 품위개선에 관련된 연구결과를 국내외 학술회의 저명 학술지에 지속적으로 발표하여 수확후 처리기술로서 연구의 활성화에 기여한다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

*Japan - Measures Affecting the Importation of Apples (WT/DS245)*

Recourse by the United States to Article 21.5 of the DSU  
Executive Summary of the Written Submissions and Oral Statements  
of the United States of America to Date November 15, 2004

*Japan – Measures Affecting the Importation of Apples (WT/DS245)*  
*Recourse by the United States to Article 21.5 of the DSU*

**Executive Summary  
of the Written Submissions and Oral Statements  
of the United States of America  
to Date**

November 15, 2004

## FIRST WRITTEN SUBMISSION

### INTRODUCTION

1. On December 10, 2003, the Dispute Settlement Body (“DSB”) adopted its recommendations and rulings in *Japan - Measures Affecting the Importation of Apples*. The DSB found that Japan’s phytosanitary measure on imported U.S. apples was inconsistent with Articles 2.2 and 5.1 of the *Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures* (“SPS Agreement”). Central to these findings were two sets of conclusions about the scientific evidence. The first set of conclusions is that the scientific evidence does not establish that *mature, symptomless* apple fruit:

- a) will be infected by fire blight;
- b) harbor endophytic populations of the fire blight-causing bacteria, *Erwinia amylovora*; or
- c) harbor epiphytic populations of bacteria capable of transmitting fire blight.

2. The second set of conclusions is that the scientific evidence does not establish that apple fruit – *whether mature or immature* – would serve as a means or pathway of introduction of fire blight to a fire blight-free area.

3. Although the reasonable period of time for Japan to comply with its obligations expired on June 30, 2004, Japan has not brought its phytosanitary measure into conformity with the DSB’s recommendations and rulings. To the contrary, Japan issued a set of phytosanitary measures remarkably similar to the elements of its previous WTO-inconsistent apple import regime. To address Japan’s continuing breach of its SPS Agreement obligations, the United States requested that this Panel be convened pursuant to Article 21.5 of the *Understanding on Rules and Procedures Governing the Settlement of Disputes* (“DSU”).

### JAPAN’S REVISED MEASURES

4. On June 30, 2004, the date the reasonable period of time expired in this matter, Japan amended one of the measures establishing its import regime for U.S. apple fruit, entitled “The Detailed Rules for Plant Quarantine Enforcement Regulation Concerning Fresh Fruit of Apple Produced in the United States of America” (“Detailed Rules”). The Detailed Rules are one of four measures comprising Japan’s import regime for U.S. apple fruit. The remaining three measures are unchanged.

#### A. Elements of Japan’s Revised Measures

5. Japan’s revised measures impose several restrictions on imported U.S. apple fruit in connection with fire blight or the disease-causing bacteria, *E. amylovora*. First, fruit must be produced in fire blight-free orchards designated by the United States Department of Agriculture (“USDA”). Designation may only be made for orchards in the U.S. States of Washington and Oregon; Second, each export orchard must be free of trees infected with fire blight; Third, the fire blight-free orchard must be surrounded by a 10-meter buffer zone that is also free of fire

blight; Fourth, export orchards and buffer zones must be inspected at least once a year, at the early fruitlet stage, for the presence of fire blight; Any detection of fire blight in an export orchard or buffer zone will disqualify the orchard from exporting its apple fruit to Japan; Fifth, harvested apple fruit must be treated with a surface disinfectant; Sixth, the interior of the packing facility must be disinfected with a chlorine treatment; Seventh, fruit intended for export to Japan must be kept separated post-harvest from other fruit; Eighth, U.S. plant protection officials must certify or declare that apple fruit is free of quarantine pests, not infected or infested with fire blight, and has been treated with chlorine; Ninth, Japanese officials must confirm that U.S. officials have made the necessary certifications and that chlorine treatments and orchard designations were made properly. Japanese officials also inspect the disinfestation and packing facilities as well as each shipment of apple fruit on entry into Japan.

#### **B. Comparison Between Japan's Original Measure and Its Revised Measures**

6. Japan's original, WTO-inconsistent measure consisted of 10 elements. Instead of opting to bring its measure into conformity with the DSB's recommendations and rulings, Japan merely chose to alter certain restrictions and eliminate only one of the measure's several elements.

#### **LEGAL ARGUMENTS**

7. The fact that this Panel has been established under Article 21.5 of the DSU carries with it certain consequences. Of most immediate relevance to the legal arguments of the parties is the consequence that, as the Appellate Body has made clear, an Article 21.5 panel "conduct[s] its work against the background of the original proceedings, and with full cognizance of the reasons provided by the original panel. The original determination and original panel proceedings, as well as the redetermination and the panel proceedings under Article 21.5, form part of a continuum of events." It is well established that adopted panel and Appellate Body reports "are treated as a final resolution to a dispute between the parties to that dispute."

#### **A. Japan's Revised Measures Are Maintained Without Sufficient Scientific Evidence in Breach of Article 2.2 of the SPS Agreement**

8. The United States is unaware of any scientific evidence regarding apple fruit and fire blight that contradicts, draws into question or in any way alters the evidence examined by the panel two years ago, or the conclusions drawn from that evidence. That evidence and those conclusions remain equally valid in this proceeding. As before, the scientific evidence does not establish that mature, symptomless apple fruit will either be infected with or harbor endophytic populations of *E. amylovora*, nor does it establish that mature, symptomless apple fruit will be epiphytically infested with populations of *E. amylovora* bacteria capable of transmitting fire blight. Further, the scientific evidence does not establish that apple fruit would serve as a pathway for introduction of fire blight into Japan. To the contrary, despite the billions of apple fruit shipped internationally (the vast majority of which were shipped without SPS measures for fire blight) there is no evidence of apple fruit having introduced fire blight into a fire blight-free

area. Accordingly, the panel's findings are as sound today as they were almost two years ago.

9. In making its findings, the panel analyzed the scientific evidence relating to apple fruit and fire blight. Its analysis was based in part on the written and oral statements of a panel of scientific experts on the scientific evidence on fire blight and apple fruit. The scientific experts concluded that: there is no scientific evidence that mature apple fruit harbor endophytic populations of fire blight bacteria or that *E. amylovora* occurs as an endophyte in healthy-looking fruit; scientific evidence does not establish that a mature apple fruit could be infected with fire blight; scientific evidence demonstrates that even apple fruit that were harvested very close to sources of inoculum were not infested with significant populations of epiphytic bacteria; there is no scientific evidence that, in the rare event that a mature fruit is infested with bacteria in the calyx that the inside of the apple fruit will subsequently be infected; there is no scientific evidence that calyx-infested apple fruit will transmit fire blight; there is no scientific evidence that mature apple fruit has ever been the means of introduction of fire blight into an area free of the disease; and the scientific evidence does not establish that any pathway for introduction of fire blight via apple fruit, whether mature or immature, will be completed.

10. Japan's new measures subject imported U.S. apple fruit to numerous restrictive conditions in order to be eligible for import into Japan. Each of these restrictions is maintained without sufficient scientific evidence because there is no rational relationship between each restriction and the scientific evidence, *i.e.*, that mature, symptomless apple fruit will not harbor populations of *E. amylovora* bacteria capable of transmitting fire blight or serve as a pathway for introduction of fire blight. Therefore, each of these measures is maintained in violation of Article 2.2.

11. There is no new scientific evidence that would in any way affect the panel's findings since it and the experts examined the relevant scientific data and studies. Examined in light of those findings, Japan's revised measures, as described in paragraph 5 above, fail to implement the DSB's recommendations and rulings and remain inconsistent with Japan's SPS Agreement obligations.

**B. Japan's Revised Measures Are Inconsistent With Article 5.6 of the SPS Agreement Because They Are More Trade-Restrictive Than Required to Achieve Japan's Appropriate Level of Protection**

12. Japan's fire blight measures are more trade-restrictive than required to achieve its appropriate level of protection. An alternative measure exists that is significantly less trade-restrictive than the nine measures currently applied by Japan on imported U.S. apple fruit, is reasonably available taking into account technical and economic feasibility, and achieves Japan's appropriate level of protection: the restriction of imports to mature apple fruit. In light of the existence of this less trade-restrictive alternative, Japan maintains its current import regime in breach of Article 5.6 of the SPS Agreement.



13. First, a measure restricting imports to Japan to mature U.S. apple fruit is reasonably available taking into account technical and economic feasibility. The U.S. apple industry already employs a series of quality controls on apple fruit that ensure their maturity in order to meet the requirements of U.S. laws and regulations, as well as to meet the demanding standards of export markets. Because these measures are already in effect and regularly applied to U.S. apple fruit exports, a measure restricting exports to mature fruit is reasonably available and technically and economically feasible.

14. Second, a measure restricting apple fruit imports to mature U.S. apple fruit more than achieves Japan's appropriate level of protection because, as the panel has found, scientific evidence does not establish that mature, symptomless apple fruit would be infected with or harbor endophytic populations of *E. amylovora*; that mature, symptomless apple fruit would be infested with epiphytic populations of *E. amylovora* capable of transmitting fire blight; or that apple fruit, regardless of its maturity, would serve as a pathway for the introduction of fire blight into Japan.<sup>1</sup> Therefore, a measure requiring shipments be mature U.S. apple fruit would meet Japan's appropriate level of protection.

15. Third, a restriction of imports to mature U.S. apple fruit would be significantly less trade-restrictive than the nine-measure import regime currently maintained by Japan. Under the proposed alternative of restricting trade to mature U.S. apple fruit, entire orchards will no longer be disqualified for discovery of a single fire blight strike on a tree or in a buffer zone, and all mature apple fruit would be eligible for export to Japan. If imports were restricted to mature apple fruit, American apple growers would financially be able to compete to fill orders for export to Japan. The fact that Japan's fire blight measures are more trade-restrictive than required is further evidenced by the range of alternative measures that are both less trade-restrictive and would more than achieve Japan's appropriate level of protection. For example, Japan might require the import of mature apple fruit coupled with a phytosanitary certificate or mature fruit coupled with a chlorine dip.

**C. Japan's Revised Measures on Imported U.S. Apple Fruit Are Inconsistent With Article 5.1 of the SPS Agreement Because They Are Not Based on a Risk Assessment**

16. In addition to breaching Articles 2.2 and 5.6 of the SPS Agreement, Japan's measures on imported U.S. apple fruit are not based on a risk assessment, and are therefore maintained in violation of Article 5.1 of the SPS Agreement. The panel found, and the Appellate Body upheld the panel's findings, that Japan's 1999 Pest Risk Analysis ("PRA") was not a risk assessment within the meaning of Article 5.1 of the SPS Agreement, and that Japan's measures were therefore not based on a risk assessment. Japan has not conducted any new risk assessments relating to fire blight and apple fruit that the United States is aware of, and continues to base its

---

<sup>1</sup> Japan's appropriate level of protection is the level of protection that would allow Japan to prevent the introduction of fire blight and maintain its fire blight-free status.

measures on the 1999 PRA, which does not satisfy the definition of a risk assessment for purposes of the SPS Agreement. Accordingly, Japan’s revised measures violate Article 5.1 because they are not based on a risk assessment.

17. The panel found, and Appellate Body confirmed, that Japan’s 1999 PRA is not a risk assessment for purposes of Article 5.1 and paragraph 4 of Annex A because, *inter alia*, it fails to evaluate the likelihood of introduction of fire blight in Japan and it fails to evaluate the likelihood of introduction of fire blight in Japan according to measures that might be applied. Because Japan has not produced – nor, in light of the absence of scientific evidence of any risk from mature fruit, could Japan produce – any new, appropriate analysis of the risk of introduction of fire blight into Japan via apple fruit, Japan’s revised measures are not based on a risk assessment as required by Article 5.1 of the SPS Agreement.

**D. Japan’s SPS Measures Are Non-Tariff Barriers Maintained in Breach of Article XI of GATT 1994 and Article 4.2 of the Agreement on Agriculture**

18. Finally, Japan’s measures are not legitimate SPS measures. Instead, they are non-tariff trade barriers in breach of Article XI of the *General Agreement on Tariffs and Trade 1994* (“GATT 1994”) and Article 4.2 of the *Agreement on Agriculture*.

**CONCLUSION**

19. The United States respectfully requests that the Panel find that Japan has acted inconsistently with its obligations under Articles 2.2, 5.1, and 5.6 of the SPS Agreement, Article XI of GATT 1994 and Article 4.2 of the Agreement on Agriculture. The United States further requests that the Panel recommend that Japan bring its measures into conformity with its obligations under the SPS Agreement and the recommendations and rulings of the DSB.

**PRELIMINARY RULING REQUEST**

**I. Introduction**

1. Japan’s Operational Criteria are not within the Panel’s terms of reference for several reasons. First, they are not a measure – they are at most a proposed measure not yet in effect; “Japan intends to adopt” them. Moreover, since the Criteria are not currently in effect, they were not “taken” by the time of the establishment of the Panel and so could not be within the Panel’s terms of reference.

**II. The Operational Criteria Are Not a Measure Taken to Comply and Are Therefore Not Within the Terms of Reference of the Panel in This DSU Article 21.5 Proceeding**

2. The DSU provides a means to resolve disputes arising from “*measures taken* by another Member.” More particularly, Article 21.5 proceedings are to address “disagreement[s] as to the existence or consistency of *measures taken* to comply with the recommendations and rulings [of the DSB].” No GATT or WTO panel, or the Appellate Body, has ever issued findings on a proposed measure, nor, under the DSU, is there any authority for a panel to make such “advisory rulings”. As the panel in *United States - Lumber Preliminary Determinations* stated with respect to a request to make findings on an event which had yet to occur, “The WTO dispute settlement system allows a Member to challenge a law as such or its actual application in a particular case, but not its possible future application.”

3. The Criteria were not among the “measures taken to comply with the recommendations and rulings” which Japan notified to the WTO, nor did Japan refer to them in its July 29 request for arbitration under Article 22.6 of the DSU nor in its July 30 DSB statement. Notwithstanding that Japan apparently intended to discuss and agree to the Criteria with the United States, it did not do so, and the United States first learned of the Criteria when it received Japan’s first submission. Further, Japan presently only “intends to adopt” the Operational Criteria.

### III. Conclusion

4. The purpose of this proceeding is not to consider whether potential future measures might comply with Japan’s WTO obligations; it is to determine whether the measures Japan has already taken to comply - as set forth in the U.S. panel request, are consistent with the provisions of the WTO Agreement cited in that request. Therefore, the United States requests that the Panel find that the Operational Criteria are not a measure subject to dispute settlement, and are not within the terms of reference of the Panel in this Article 21.5 proceeding.

## SECOND WRITTEN SUBMISSION

### I. INTRODUCTION

1. Japan’s first written submission narrows the focus of this dispute. In its attempt to justify its revised measures on U.S. apple fruit in that submission, Japan relies entirely on new “evidence” relating to apple fruit and fire blight. Japan’s failure to draw support for its measures from the substantial record of scientific evidence in the original proceeding and the original panel findings on that evidence reinforces the argument set out by the United States at the outset of this proceeding - Japan’s measures are not based on the scientific evidence relating to apple fruit and fire blight.

2. Japan’s failure to find support for its measures in the scientific evidence and the original panel’s findings is not surprising given the nature of those findings, in particular that the scientific evidence does not establish that mature, and therefore symptomless, apple fruit will be infected with or harbor endophytic populations of *E. amylovora*; that mature, and therefore

symptomless, apple fruit will harbor epiphytic populations of *E. amylovora* capable of transmitting fire blight; or that apple fruit would serve as the pathway for introduction of fire blight into Japan.

3. In its attempt to construct a justification for its revised measures, Japan again posits a theory that there exists such a thing as a “mature, symptomless yet latently infected apple fruit.” Yet the original panel considered this argument, and rejected it. Japan also has failed to identify any new scientific evidence that alters the scientific record on fire blight and apple fruit or that undermines the clear findings by the original panel on that scientific evidence. Japan has similarly failed to cast any doubt on the fact that there is no scientific evidence that, despite the billions of apple fruit shipped world-wide (the vast number of which were shipped without SPS measures for fire blight) apple fruit have ever introduced fire blight into a fire blight-free area.

4. Instead, Japan has submitted four new studies and a September 2004 Pest Risk Analysis (“2004 PRA”) revised on the basis of those studies in its attempt to demonstrate that the science relating to apple fruit and fire blight has changed. However, the studies contain no new scientific evidence – at most repeating 50-year old results achieved under artificial conditions – and are no more supportive of Japan’s revised measure than the already extensive scientific record examined by the original panel.

5. In sum, despite Japan’s attempts to prove otherwise, the scientific evidence relating to apple fruit and fire blight does, in fact, remain unchanged. Japan’s revised measures therefore continue to be unsupported by that scientific evidence, and thus fail to comply with the recommendations and rulings of the Dispute Settlement Body (“DSB”) and with Japan’s obligations under the SPS Agreement.

## II. JAPAN’S REVISED MEASURES

6. For the reasons set forth in the U.S. preliminary ruling request of September 27, 2004, the Operational Criteria which Japan submitted for the first time with its first written submission are not a measure within the terms of reference of this dispute, and should be disregarded. However, even were the Panel to consider the Operational Criteria, it would not change the analysis of Japan’s measures. Notwithstanding Japan’s argument that the Operational Criteria are designed to prevent exportation from a “severely-blighted orchard,” they in fact enforce “fire blight-freedom,” the requirement set forth in the June 30, 2004 Detailed Rules.

7. Further, the United States notes that Japan has presented its revised measures as consisting of only six elements: “(i) designation of an export orchard (1(1)A), (ii) a 10-meter border zone surrounding the orchard (1(1)B), (iii) one annual inspection of the orchard and the border zone, (iv) surface sterilization (5(1)C), (v) sterilization of packing facilities (3(2)) and (vi) sampling and export/import inspection (4(1), 5(2)B, 5(3), 8(1)).” Japan’s assessment of the number of elements of the measure at issue in this proceeding is inconsistent with the actual amendments it has made to its import regime for U.S. apple fruit, and noticeably fails to include

the requirement that apple fruit destined for Japan be segregated from other fruit post-harvest. The only element that has been entirely eliminated from Japan's original import regime is the requirement that packing materials be sterilized, thereby leaving nine of the ten elements of the original measure in place. And, by failing to address post-harvest separation of apple fruit in its submission, Japan has failed to rebut the *prima facie* case raised by the United States that the post-harvest separation requirement is maintained without sufficient scientific evidence for purposes of Article 2.2 of the SPS Agreement.

### III. LEGAL ARGUMENTS

#### A. Japan's Revised Measures Are Maintained Without Sufficient Scientific Evidence in Breach of Article 2.2 of the SPS Agreement

8. As noted by the United States in its first written submission, Japan's revised measures are maintained without sufficient scientific evidence in breach of Article 2.2 of the SPS Agreement. Each of the restrictions comprising Japan's import regime for U.S. apples is maintained without sufficient scientific evidence because there is no rational or objective relationship between each restriction and the scientific evidence.

##### 1. Japan's New Studies Do Not Change the Scientific Evidence Relating to Fire Blight and Mature, Symptomless Apple Fruit

9. Japan's first written submission is useful in confirming that its original and revised measures were not and are not supported by the scientific evidence as evaluated by the original panel; Japan does not attempt to justify its measures based on the panel findings and the scientific evidence in the original panel proceeding. Rather, Japan relies on "new evidence" in the form of new studies in an attempt to show that its import regime for U.S. apple fruit is rationally or objectively related to the scientific evidence.

10. Japan attempts to contradict the clear findings of the original panel and the long history of scientific study of fire blight and apple fruit by arguing that certain new "evidence" supplementing, and purportedly changing, the scientific evidence originally examined by the panel "has a rational relationship with the new *measure*."

11. In conducting new studies on the scientific issues in this dispute, Japan appears to have directed its efforts at supporting a conclusion, rather than drawing a conclusion from its research. The conclusion Japan seeks to support, as noted above, is that apple fruit should not be exported from severely blighted orchards. Japan refers to statements by some of the experts as "advising" this result, ignoring the very same views of those experts on the scientific evidence, and the ultimate panel findings on that evidence.

12. In the absence of any existing scientific evidence supporting its "severely blighted orchard" rationale, Japan submits four new studies on apple fruit and fire blight in its first

written submission. Based on these studies, Japan has revised its 1999 Pest Risk Analysis (“1999 PRA”) as recently as September 2004. The linchpins to the new, intertwined studies are the following concepts: (1) mature, symptomless apple fruit can be latently infected with *Erwinia amylovora*, and (2) a potential pathway exists for introduction of fire blight into Japan from this latently-infected apple fruit.

13. However, the new studies fail to contradict or amend the reams of peer-reviewed and time-tested science on apple fruit and fire blight. As a result, they also fail to establish that there is such a thing as a mature, symptomless yet latently infected apple fruit or that a pathway for the introduction of fire blight via apple fruit exists; fail to demonstrate that Japan’s revised measures are not maintained without sufficient scientific evidence; and fail to alter in any way the scientific evidence and previous findings on that evidence in this proceeding.

A. The Process of Fruit Infection Japan Describes Does Not and Would Not Occur In Nature, and Japan’s Studies Do Not Demonstrate Otherwise

14. The Azegami *et al.* study accomplishes nothing more than to repeat a stab-inoculation study conducted over fifty years ago, in which *E. amylovora* bacteria were artificially introduced into wounded fruit.<sup>2</sup> Yet Japan relies on the Azegami *et al.* paper to support the hypothesis that a previously undiscovered commodity – mature, symptomless, yet latently infected fruit – exists. However, Japan itself is careful not to claim that such a commodity has ever been observed in nature; it states, “the risk of latent infection of ‘mature, symptomless’ apple fruit through pedicels is not theoretical but real, *at least under the experimental conditions.*” In fact, the Azegami study appears to confirm that it is *only* under the experimental conditions of the study that *E. amylovora* bacteria can be isolated inside apple fruit, and that the original panel was correct in finding that this will not occur in mature, symptomless apples grown, harvested and packed under real-world conditions.

15. Central to the Azegami study, and its shortcomings, is its treatment of the apple pedicel (stem) and the pedicel’s abscission layer, which is located at the tip of the stem where it is attached to the fruiting spur (a short branch of the tree that flowers and produces fruit) and which acts as a natural barrier to desiccation (drying up) and invasion of apple fruit by microorganisms. The fundamental flaw of the Azegami paper is its assertion that the results of the experiment demonstrate that *E. amylovora* would invade and colonize mature apple fruit. Yet, according to its own data, the Azegami study instead demonstrates that inoculation of (a) fruit pedicels that were cut (wounded) more than four days after harvest, or (b) fruit-bearing twigs with mature fruit still attached, and therefore having uninjured fruit pedicels, *did not result in the movement of E. amylovora* into the stems or fruit cortex of mature apples. *Only by removing the abscission*

---

<sup>2</sup> See Anderson, H.W., “Maintaining Virulent Cultures of *Erwinia Amylovora* and Suggestion of Overwinter Survival in Mummied Fruit”, *Plant Disease Reporter*, Vol. 36, No. 7 (July 15, 1952) (Exhibit USA-18) (demonstrating that under artificial experimental conditions (*i.e.*, stab-inoculating pears with high concentrations of *E. amylovora*) it is possible to infect pear fruit).

layer from the distal end (situated at the furthest point of the pedicel from the apple fruit) of fruit pedicels and *then placing high levels of inoculum on the cut end* of the pedicel were the researchers able to demonstrate bioluminescence, and therefore the presence of the marked strain of *E. amylovora*, within the stem and fruit.

16. The abscission layer acts as a natural barrier to desiccation and invasion of the fruit by microorganisms. The effectiveness of the abscission layer as a barrier is demonstrated in the “Results and Discussion” sections of the Azegami paper, where it is reported that, for the 60 fruit still attached to the (wound inoculated) fruiting spurs, “a luminous area was observed *on the abscission layer* of one fruit eight days after inoculation (Fig. 1F) but *not on any fruit*” and that “pathogen progress *stopped at this layer* in the experiment.” One can only conclude from these results that, because the apple fruit were mature with intact abscission layers, the abscission zone acted as a physical barrier to the movement of *E. amylovora* into the apple fruit. Inexplicably, however, the paper concludes that “the possibility that the pathogen may pass through the layer cannot be excluded,” a conclusion contradicted by the study’s own data.

17. Further, the Azegami paper purports to demonstrate (as a consequence of artificial wounding of apple fruit and application of high levels of inoculum to those wounds) the “invasion” of fire blight bacteria into the fruit. The paper overstates this fundamental conclusion because, in fact, rather than the apple fruit having been actively *invaded by* bacteria through the cut pedicels, it is just as likely that the bacterial inoculum deposited on the cut pedicel was *drawn into the vascular elements of the stem* and then distributed within the fruit by *transpiration*. To illustrate this point, U.S. researchers deposited dye on a cut-pedicel (as inoculum was similarly placed on a cut-pedicel in Azegami *et al.*). The dye, which contains no active bacteria capable of “invading” fruit, spread into apple fruit in an identical fashion to the bioluminescence in Azegami, thereby demonstrating that spread of either bioluminescence or dye into apple fruit is as likely a consequence of the cut-pedicel method and transpiration as a result of active colonization and invasion by bacteria.

18. The Tsukamoto (I) study is a derivative of Azegami *et al.*, in that it employs the cut-pedicel method to inoculate apple fruit. Although it cites Azegami *et al.* in support of its findings and conclusions, Tsukamoto (I) makes repeated reference to the inoculum being deposited on the fruit pedicel in the Azegami study *without referencing the fact that the abscission layer of the pedicel had been artificially removed*. Accordingly, Tsukamoto (I)’s conclusion that “[t]his investigation showed that *E. amylovora* can infect mature apple fruit from pedicels and can survive more than six months at 5C” is a misstatement, as is evident from a review of the Azegami study, which only succeeded in “demonstrating” bioluminescence inside apple fruit by removing the abscission layer from the distal end of the pedicel and subsequently inoculating the fruit with a high level of bacteria.

B. The New Studies Attempt to Demonstrate a Process For the Spread of Fire Blight That Does Not and Would Not Occur In Nature

19. The Tsukamoto (II) paper entitled "Transmission of *Erwinia amylovora* from blighted mature apple fruit to host plants via flies" does not succeed in demonstrating the very phenomenon advertised in its title because it fails to employ an experimental protocol that evaluates if flies will sequentially visit apple fruit infected with fire blight, acquire the bacteria and transmit the bacteria to a host, and whether fire blight infection will result. Instead, the authors succeed in demonstrating that: (1) they can contaminate flies by: (a) sedating them with CO<sub>2</sub> and then soaking them in a very heavy suspension of *E. amylovora*; or (b) putting the flies in a beaker (the volume of which is not recorded) for six hours with an apple fruit infected with fire blight; and (2) that flies contaminated by method (1)(a) (but not (1)(b)) transferred the bacterium to host tissues, resulting in fire blight disease when both (a) the host tissues were mechanically wounded with needles or the fruit had been peeled and (b) the flies and the host tissues were forced to cohabit a small plastic enclosure.

20. Tsukamoto (II) fails to demonstrate that: (1) greenbottle flies acquired cells of *E. amylovora* from infected fruit of their own volition, *i.e.*, that they acquire bacteria when not artificially forced to associate with infected apple fruit; (2) the flies directly or indirectly vectored *E. amylovora* from the *infected fruit* to the susceptible host material; and (3) infection and disease development was a result of a natural interaction between the flies and the host material (*i.e.*, feeding injury), and was not dependent on artificial mechanical injury. In short, as noted above, there is a stark disparity between what the authors purport to accomplish in the title and introduction of the study, and what was actually accomplished in the study. The methods employed in the study are so far removed from what might actually take place under production orchard conditions that the resulting data is not useful in assessing the risk of transmission of fire blight or determining a probabilistic estimate of a real world event.

21. The Kimura study on long-distance dissemination of disease purports to refute the scientific evidence and findings of the original panel as they relate to the long-distance spread of fire blight. However, the Kimura paper is only able to reach a conclusion that apple fruit pose a risk of introducing fire blight into Japan by mischaracterizing previous studies and relying on the Azegami and Tsukamoto studies discussed above. In particular, the Kimura study characterizes Azegami's work as demonstrating that mature fruit are easily infected through a "small bruise" or "minute scars" on the fruit as well as "the possibility of infection of fruit from pedicels through fruit bearing branches." In fact, Azegami's method was to either cut off the abscission layer of the apple fruit pedicel or to make multiple wounds (10 and 2) on the shoulder or calyx in the presence of high inoculum doses. Further, the Kimura paper concludes that "even at a stage where apple fruit get ripe, it is likely enough that *E. amylovora* in fruit bearing branches will infect the inside of apples." This conclusion clearly assumes that infection is occurring through the tissues of the pedicel. As noted above, the Azegami paper did not demonstrate that such infection (through the pedicel/abscission layer of a mature apple fruit) is possible. In fact, the Azegami study appears to demonstrate just the opposite by noting that bioluminescence did not



penetrate the pedicels of mature apple fruit.

22. Further, Kimura *et al.* cites Tsukamoto (II) for the proposition that *E. amylovora* was recovered from the “flesh” of apple fruit and not from the core, alleging that previous studies (e.g., Roberts *et al.* (1989)) only sampled core tissues and therefore failed to identify *E. amylovora* in the apple fruit. However, it is an anatomical fact that the vascular bundles in which *E. amylovora* was detected in the Tsukamoto (II) study are contiguous with the vascular tissues of the apple fruit core. Furthermore, Kimura *et al.* mischaracterizes the results of previous studies, as Roberts *et al.* (1989) in fact reported that “[c]ore and cortex [i.e., flesh] tissues, including the stem, if present, and the entire calyx were removed by passing an ethanol-flamed cork borer through the vertical axis of each fruit.” Therefore, the studies discussed in Azegami, Tsukamoto, and Kimura. The reason that *E. amylovora* was not detected in the Roberts study is that it was not present in the apple fruit. As noted above, the results presented in Roberts *et al.* (1989), i.e., that *E. amylovora* was not present in mature apple fruit even when harvested from branches or fruiting spurs with fire blight disease, is unequivocally supported by the results in Azegami *et al.*, which demonstrated that *E. amylovora* did not move into mature apple fruit if the abscission layer of the pedicel was left intact (not cut off).

23. Interestingly, by arguing that previous studies have failed to identify *E. amylovora* in apple fruit because it was, according to Japan, in fact located in vascular bundles, or “flesh” rather than apple cores, the Kimura study contradicts its own findings. In fact, the Kimura study argues that the pathway for introduction of fire blight will consist of either discarded apple cores or apple peels because Japanese consumers consume the flesh (cortex) of the apple fruit. However, Japan acknowledges that *E. amylovora* will not be isolated in the cores of mature, symptomless apple fruit.

24. Further, Kimura *et al.* mischaracterizes the results of Tsukamoto (II) by stating that greenbottle flies “gathered” to blighted fruit. Rather, according to the methodology described in Tsukamoto (II), flies were imprisoned with blighted fruit inside a small enclosure, and were not allowed to forage freely. Kimura *et al.* further mischaracterizes the Tsukamoto (II) study by noting that the greenbottle flies “feasted” on infected apple fruit and then flew to pear fruitlets. Instead, greenbottle flies were sedated and immersed in a suspension of inoculum before being exposed to wounded pear fruitlets. Moreover, the flies that were trapped in an enclosed space with infected fruit did not transfer bacteria to host tissue.

25. In addition, Kimura’s high probability estimate of introduction of fire blight by apple fruit (once every 565 years) reflects the unrealistic and unsupported assumptions on which his analysis is based, such as the assumed infection rate of imported apple fruit (100%), to the number of apple cores discarded out of doors by Japanese families (according to the study, 10% of the total household garbage in Japan that is thrown out of doors consists of apple cores – this seems to be a very high estimate for a commodity that is not a staple of the Japanese diet, but is instead considered a specialty item).

26. The results of the Kimura analysis also appear to suggest that apple fruit now pose a much greater risk of introducing fire blight than nursery stock (historically recognized as a potential pathway for the disease). Kimura *et al.* estimates the risk of nursery/root stock introducing fire blight into Japan at once every 1,898 years, once every 1,781 years in scions or buds, and “once every 565 years or so in fruit.” Not only does this probability estimate attempt to demonstrate that apple fruit presents approximately four times the risk of introducing fire blight as nursery stock, it contradicts the study’s own conclusion that “[a]ccording to our estimation of probabilities of establishment of fire blight, the *descending order of magnitude* is as follows. Nursery stock and/or rootstocks > Scions and/or buds > Fruit.”

## 2. Japan’s Revised Measures Impose Restrictions Unsupported By Scientific Evidence

27. Japan provides several explanations for its measures in an attempt to refute the arguments set out in the first written submission of the United States. As demonstrated below, none of Japan’s explanations or arguments finds support in the scientific evidence at issue in this dispute or the original panel’s findings on that evidence. Therefore, Japan has not successfully rebutted the U.S. arguments regarding Japan’s revised measures.

### A. Prohibition of Fruit From Orchards in Which Fire Blight is Detected

28. Japan has attempted to include in its revised measures certain Operational Criteria which ostensibly amend Japan’s “fire blight-free orchard” requirement to one of disqualification of an export orchard if a severely blighted tree is identified in a visual inspection. As noted by the United States, the Operational Criteria are not a part of the measure properly before the Panel in this proceeding. However, even were the Panel to consider the Operational Criteria, it would not change the analysis of Japan’s measure because the inspection requirement set out by the Criteria effects nothing less than a requirement of a fire blight-free orchard.

29. In its first written submission, the United States demonstrated that, because the scientific evidence relating to fire blight and apple fruit does not establish that mature, symptomless fruit will be infected with, harbor endophytically, or be epiphytically-infested with populations of *E. amylovora* capable of transmitting fire blight and because that same evidence does not establish that apple fruit will act as a pathway for introduction of fire blight, the requirement of a fire blight-free orchard is maintained without sufficient scientific evidence within the meaning of Article 2.2 of the SPS Agreement. Japan has not raised any new scientific evidence on apple fruit and fire blight that in any way alters this conclusion.

30. Further, the same scientific evidence that does not support a requirement of fire blight-freedom in orchards does not support a measure restricting fruit from severely blighted orchards. For example, even if, on a rare occasion, an apple fruit harvested from a severely blighted

orchard possesses epiphytic bacteria in its calyx, the scientific evidence does not establish that those bacteria will be present in populations capable of transmitting fire blight. Similarly, because the apple fruit harvested from the orchard will be mature, symptomless fruit, the scientific evidence does not establish that they will be infected with or harbor endophytic populations of *E. amylovora*.

B. Prohibition of Fruit From Orchards in Which Fire Blight is Detected in a 10-Meter Buffer Zone Surrounding the Orchard

31. As noted in the first written submission of the United States, a measure requiring a fire blight-free buffer/border zone (or any border zone at all for that matter) bears no rational or objective relationship to the scientific evidence relating to apple fruit and fire blight. Nevertheless, Japan's revised measures include a requirement that every export orchard be surrounded by a ten-meter wide, fire blight-free, buffer zone. The requirement of a fire blight-free buffer zone appears to contradict Japan's subsequent argument that export orchards be inspected for severe or heavy blight. While the United States does not intend to suggest that the scientific evidence justifies either requirement, it notes that it is impossible for the scientific evidence to support both propositions, by permitting a certain amount of fire blight in an export orchard, yet none in the zone surrounding the orchard.

32. Japan's argument fails to rebut the *prima facie* case established by the United States that a fire blight-free buffer/border zone requirement is not rationally related to the scientific evidence, because it disregards the scientific evidence relating to fire blight and apple fruit, which does not establish that mature, symptomless fruit will be infected with, harbor endophytically, or be epiphytically-infested with populations of *E. amylovora* capable of transmitting fire blight and because that same evidence does not establish that apple fruit will act as a pathway for introduction of fire blight.

C. Requirement That Surface of Apple Fruit be Disinfested with Sodium Hypochlorite (Chlorine)

33. Japan argues that surface disinfestation of apple fruit is necessary to eliminate the incidence of epiphytic bacteria on apple fruit, and deactivate the bacteria in the washing process. As noted in the first written submission of the United States, the scientific evidence does not establish that mature, symptomless apple fruit will harbor epiphytic populations of fire blight-causing bacteria capable of transmitting the disease. Further, Japan has failed to raise any arguments that contradict the scientific evidence relating to mature apple fruit and epiphytic populations of *E. amylovora*. Therefore, there is no need to disinfest the surface of apple fruit to mitigate the hypothetical risk of exported apple fruit harboring epiphytic populations of fire blight-causing bacteria capable of disseminating the disease.

D. Prohibition of Imported Apple Fruit From U.S. States Other Than Washington and Oregon

34. Japan's measure restricting eligible apple fruit to fruit produced in orchards in Washington and Oregon States is maintained without sufficient scientific evidence within the meaning of Article 2.2 of the SPS Agreement. In its first written submission, Japan argues that its geographical restriction on U.S. apple exports is consistent with the SPS Agreement because it is "based on a procedural requirement" and that "[a]s long as the United States provides appropriate documentation of other quarantine pests and diseases" for other U.S. States, those States may begin exporting apple fruit to Japan. However, Japan's rebuttal fails to address the U.S. argument regarding the restriction of eligible apple fruit to fruit from Oregon and Washington States premised on hypothetical fire blight concerns. The need for paperwork on other pests or diseases does not support or justify a fire blight-specific measure that restricts eligibility to apple growers from Washington and Oregon.

35. Insofar as Japan's measure purports to mitigate hypothetical fire blight concerns, it must, in light of the scientific evidence, permit apple growers from every apple-producing State to export mature, symptomless apple fruit to Japan. By failing to demonstrate that the scientific evidence on apple fruit and fire blight rationally or objectively relates to a measure geographically-restricting eligible growers to Washington and Oregon States, Japan has failed to rebut the United States' *prima facie* case that such a restriction is maintained in breach of Article 2.2 of the SPS Agreement.

E. Prohibition of Imported Apples Unless Other Production,  
Harvesting, and Importation Requirements Are Met

36. Japan argues that various post-harvest measures, namely sterilization of packing facilities handling apples for export to Japan, and export and import inspection are consistent with Article 2.2 of the SPS Agreement based on the fact that the original panel did not reach an analysis of these measures due to its exercise of judicial economy. The absence of a finding by the panel on Japan's post-harvest measures does not, *ipso facto*, mean that the measures are maintained with sufficient scientific evidence within the meaning of Article 2.2 of the SPS Agreement, and only highlight the need – recognized by Japan – for findings on each of the specific elements of Japan's import regime for U.S. apple fruit at issue in this proceeding.

37. In addition, Japan attempts to rebut U.S. arguments that certain of the post-harvest measures are maintained without sufficient scientific evidence by noting that one measure, sterilization of packing facilities, is a "normal requirement in any process" that "can be easily met," and that another measure, export and import inspection, is "procedural in nature." Regardless of whether facility sterilization is or is not a "normal requirement", at issue in this proceeding is whether or not facility sterilization premised on fire blight concerns is a requirement that bears a rational or objective relationship to the scientific evidence regarding fire blight and apple fruit. As noted in detail in the first submission of the United States, it does not. Similarly, a measure requiring import and export inspections must bear a rational relationship to the same scientific evidence, and may not be premised on an assertion that it is merely "procedural in nature."

**B. Japan's Revised Measures Are Inconsistent With Article 5.6 of the SPS Agreement Because They Are More Trade-Restrictive Than Required to Achieve Japan's Appropriate Level of Protection**

38. Japan argues that the United States has failed to establish a *prima facie* case of inconsistency of Japan's revised measures with Article 5.6 of the SPS Agreement. However, Japan appears to address only one element of the U.S. claim – whether the U.S.-proposed alternative measure meets Japan's appropriate level of protection – and then does so only by mischaracterizing the U.S.-proposed alternative measure in an effort to address its own argument, rather than the actual U.S. argument.

39. Japan begins its cursory analysis by asserting that the U.S. does not clearly define what it proposes as the alternative measure. It then ignores the U.S.-defined alternative measure – a Japanese “restriction of imports to mature apple fruit” – and focuses instead on only one of several elements of the U.S. *argument* as to why the alternative measure meets the requirements of Article 5.6; namely, the fact that U.S. export standards require that fruit at least meet “US No. 1 Grade.” This is not the U.S. proposed alternative measure. The proposed alternative measure in an Article 5.6 argument is by necessity a measure to be implemented by the responding party due to the fact that the WTO-consistency of the responding party's original measure is being challenged. As noted, the United States proposed the very measure – a Japanese measure requiring that imported apple fruit be mature, and therefore symptomless – that is supported by both the original panel's findings and the voluminous scientific evidence on fire blight and apple fruit.

40. The application of U.S. Federal Grade standards is only one of the numerous layers of industry and regulatory practices and requirements which U.S. growers apply when growing, harvesting, packing and exporting apple fruit. These practices and requirements have assured that exported fruit is mature – and, contrary to Japan's suggestion in paragraph 83 of its submission that there could be sorting errors – there is no evidence that U.S. growers have ever shipped anything other than mature, symptomless apple fruit. Indeed, there is no evidence that the billions of apple fruit shipped internationally (a vast number of which were shipped without SPS measures for fire blight) have ever introduced fire blight into a fire blight-free area.

41. Japan also suggests that the U.S. relies entirely on the original panel's finding that the scientific evidence does not establish that the pathway will be completed in support of its Article 5.6 argument. This is not correct. As already explained, there is no evidence that the United States has ever exported anything other than mature, symptomless apple fruit, and there are numerous requirements and practices in place which assure this. This is the reason to conclude that the alternative measure is technically feasible. To be clear, the U.S. statements referred to by Japan are only for the purpose of making the point that, even if immature fruit were somehow, hypothetically exported, the scientific evidence does not establish that the pathway would be completed. This only provides additional assurances against a hypothetical scenario.

**C. Japan’s Revised Measures Are Inconsistent With Article 5.1 of the SPS Agreement Because They Are Not Based on a Risk Assessment**

42. As noted in the first written submission of the United States, Japan’s revised measures on imported U.S. apple fruit are not based on a valid risk assessment, and are therefore maintained in breach of Article 5.1 of the SPS Agreement. Japan has submitted a revised PRA, dated this month, September 2004, in support of its measures, implemented three months ago, and in an attempt to rebut the Article 5.1 arguments set out by the United States in its first written submission one month ago. Revisions of the PRA are ostensibly based on the four new studies put forward by Japan in its first written submission. In fact, the first step in Japan’s revised pathway assumes the harvest of “[m]ature, apparently healthy apple fruit which have fire blight bacteria inside,” and that the “latently infected” fruit are then sold on the Japanese market. As already demonstrated in detail by the United States, the four studies do not alter in any way the original panel’s clear findings and the scientific evidence on apple fruit and fire blight. The studies do not establish that such a thing as a latently-infected mature fruit exists in nature or that a vector exists to complete the pathway. In short, the studies and, as a result the 2004 PRA, do not establish that a pathway for introduction of fire blight from mature apple fruit exists.

43. Accordingly, Japan’s revised measures cannot be “based on” its September 2004 PRA within the meaning of Article 5.1. Measures premised on the existence of “mature, symptomless but latently infected apples” and a non-existent pathway for introduction, establishment and spread of fire blight do not rationally relate to a risk assessment that fails to identify any scientific evidence that such a commodity has ever been found in nature or could exist in nature, or that the pathway would be completed. In the absence of any scientific evidence of a fire blight-risk posed by mature, symptomless apple fruit, any risk analysis which concludes otherwise will not “take into account available scientific evidence,” and will not meet the requirements for a risk assessment under Article 5.1. Therefore, despite Japan’s attempt to validate its revised measures through the production of this new PRA, it fails to do so, thus its revised measures are not based on a risk assessment and are maintained in breach of Article 5.1 of the SPS Agreement.

44. In addition, Japan’s September 2004 PRA does not meet the requirements of Article 5.1 for many of the same reasons identified by the original panel. For example, the original panel found that Japan’s PRA failed to evaluate the likelihood of introduction of fire blight in Japan. It reached this conclusion in part because Japan’s 1999 PRA was “not sufficiently specific to the matter at issue” in failing to examine the risk from apple fruit. Japan’s September 2004 PRA suffers from the same flaw by failing to address the commodity actually exported by the United States – mature, symptomless apple fruit – and instead relying on the existence of a commodity that does not exist in nature – mature, symptomless, yet latently infected apple fruit. In fact, if anything, the 2004 PRA recognizes that mature, symptomless fruit do not pose a risk of introducing fire blight. Because Japan appears to recognize that mature, symptomless apple fruit do not pose a risk of introducing fire blight, the revised 2004 PRA instead examines the risk from a non-existent commodity – mature, symptomless, but latently infected fruit – relying on

the contention that “[o]n the other hand”, Azegami *et al.* (and a recurring reference to the late September van der Zwet *et al.* fruit which in fact does little more than reiterate that nearly mature apple fruit can be epiphytically-infested with insignificant populations of *E. amylovora*) somehow refutes the scientific evidence on apple fruit and fire blight that has come before it. The Azegami study does not succeed in doing so. As a result, the 2004 PRA fails to examine the actual risk – as established by the scientific evidence – from mature, symptomless apple fruit.

45. Japan’s 2004 PRA attempts to address the shortcomings of the original PRA, particularly those concerning the pathway for introduction of fire blight into Japan via apple fruit, by relying on the four flawed scientific studies discussed in detail above. As a result, the 2004 PRA fails to provide any (new) evidence that the hypothetical pathway will be completed. The missing elements of the pathway (*e.g.*, non-existence of infected mature apple fruit, failure to demonstrate that fire blight would be transmitted from infected fruit by some kind of vector) remain unaddressed in Japan’s 2004 PRA insofar as Japan relies on the laboratory results generated in the Azegami, Tsukamoto (I), Tsukamoto (II) and Kimura studies to demonstrate its new pathway and presents these studies’ results as being typical of events in U.S. apple production areas. Although Azegami *et al.* purports to demonstrate the existence of a mature, symptomless, yet latently infected fruit, it fails to establish that such a thing exists. Similarly, while Tsukamoto (II) concludes that flies are a vector of *E. amylovora*, it only achieves this result by failing to address real world, and real orchard, conditions; in fact, the flies inoculated with *E. amylovora* as a result of entrapment with blighted fruit *failed* to vector the inoculum to host plants. Further, although Kimura *et al.* purports to illustrate the probability of introduction of fire blight via apple fruit, it can only do so by relying on the Azegami and Tsukamoto studies, and even then its results contradict its conclusions. In short, Japan cannot prove that the hypothetical pathway will be completed by relying on its new studies which, as demonstrated by the United States do not augment or change in any way the conclusions of existing scientific evidence on fire blight and apple fruit.

**D. Japan’s SPS Measures Are Non-Tariff Barriers Maintained in Breach of Article XI of GATT 1994 and Article 4.2 of the Agreement on Agriculture**

46. Japan’s only rebuttal to the U.S. claims with respect to Article XI of the GATT 1994 and Article 4.2 of the *Agreement on Agriculture* is that Japan’s revised measures are consistent with the SPS Agreement. Because they are not, and for the reasons set forth in the U.S. first written submission, Japan’s revised measures are inconsistent with GATT 1994 Article XI and Agriculture Agreement Article 4.2.

**IV. SCIENTIFIC EXPERTS**

47. As noted in detail in the U.S. discussion of Japan’s four new studies relating to apple fruit and fire blight, the studies fail to introduce any new scientific evidence relating to either fire blight disease or the commodity at issue in this proceeding - mature, symptomless apple fruit exported from the United States. Because Japan’s studies do not support the central

assumptions on which Japan's revised PRA and measures are based, and do not amend, clarify or alter the scientific evidence at issue in this dispute, there is no need to re-consult experts. However, in the event that the Panel were to decide to consult experts in this proceeding, any such consultation should be limited to an evaluation of Japan's new studies rather than a reevaluation of science previously reviewed. As noted by the United States, Japan's argument hinges entirely on this new "science" rather than seeking support for its revised measures in the already extensive scientific record and the original panel's findings on that evidence.

## V. CONCLUSION

48. The United States respectfully requests that the Panel find that Japan has acted inconsistently with its obligations under Articles 2.2, 5.1, and 5.6 of the SPS Agreement, Article XI of GATT 1994 and Article 4.2 of the Agreement on Agriculture. The United States further requests that the Panel recommend that Japan bring its measures into conformity with its obligations under the SPS Agreement and the recommendations and rulings of the DSB.

## ORAL STATEMENTS

49. Despite Japan's attempts to develop scientific studies during the course of this Article 21.5 proceeding, Japan has failed to present any new scientific evidence that affects or augments the discussion of and findings on the real world biology and epidemiology of fire blight and apple fruit set out by the original panel in its report. Put simply, as was the case two years ago, the scientific evidence does not establish that mature apple fruit will introduce fire blight into a fire blight-free area.

50. Japan's revised measures are premised solely on its new studies, and not on the decades-worth of studies originally examined by the panel. Those earlier studies fail to establish that mature, symptomless apple fruit will endophytically harbor let alone be infected with fire blight, or that the pathway for introduction of fire blight via apple fruit will be completed; rather, they strongly support the opposite conclusions. Japan does not contest the evidence in those studies, but is suggesting that its new studies somehow change the conclusion that its revised measures – which are little different from the original measures – are maintained without sufficient scientific evidence. Thus, the scientific focus of this dispute is narrow, and the question is simply whether Japan's new studies require that the DSB's ruling that Japan's measure does not rationally relate to the scientific evidence be revisited.

51. As demonstrated by the United States in its second submission, Japan's studies fail to demonstrate anything "new" regarding fire blight and apple fruit in two respects. They fail to present results that have any bearing on the real world study of the epidemiology and biology of fire blight and apple fruit. They also fail to demonstrate anything new in the laboratory. The infection study in particular merely demonstrates a proposition that scientists have been aware of since 1923 – that by artificially wounding or stab-inoculating apple fruit, you can infect the fruit



with fire blight and later recover bacteria from the infected fruit. Further, in several instances that will be highlighted in this statement, Japan's studies simply do not contain the results necessary to support Japan's conclusions drawn from the studies.

#### Article 2.2

52. First, Japan's revised measures continue to be maintained without sufficient scientific evidence in breach of Article 2.2 of the SPS Agreement. Except for previously discredited arguments on the van der Zwet study, Japan does not seek support for its revised measures in the decades-worth of scientific literature and experiments reviewed by the original panel. Instead, Japan puts forward four "new" studies. Unfortunately, these studies do not accomplish anything "new" that in any way affects or augments previous findings on the real world epidemiology and biology of fire blight and apple fruit. As before, the scientific evidence fails to establish that mature apple fruit will endophytically harbor let alone be infected with fire blight, that such fruit will be infested with epiphytic bacteria in populations capable of initiating the disease, or that a vector exists to transmit bacteria from apple fruit to host materials.

53. Japan suggests that, "[c]learly, the new evidence casts fresh, different light on the issues." Japan argues that its new studies point to a "real risk" of introduction of fire blight into Japan, and that as a result its revised measures are no longer maintained without sufficient scientific evidence within the meaning of Article 2.2. In fact, Japan's studies fail to demonstrate the central themes they set out to establish – that mature apple fruit will be infected with fire blight or that the pathway for introduction of fire blight into Japan from a hypothetically infected fruit will be completed.

54. We do not discount the Japanese results because they are experimental, as Japan suggests; rather, we discount the conclusions to be drawn from these very artificial experiments because one cannot extrapolate from them conclusions regarding the real world biology and epidemiology of fire blight.

55. The first study is the Azegami study, through which Japan hopes to demonstrate that mature, symptomless apple fruit can be latently infected by the flow of bacterium through an apple fruit's pedicel or through wound-inoculating the fruit. Without this, the first step in Japan's proposed pathway – the presence of a mature, symptomless yet hypothetically infected apple fruit in Japan – fails. However, the Azegami study only succeeds in introducing bacteria into the fruit by *artificially cutting the pedicel off the fruit* and by *artificially wounding the fruit in several places* and then placing a suspension of *Erwinia amylovora* on the various wounds or cut pedicel.

56. In fact, this concept was introduced vis-a-vis apple fruit in the 1920s by the Canadian scientist McLarty, who stab-inoculated mature apple fruit and later recovered bacteria from the fruit. What can be artificially accomplished in the laboratory, however, does not demonstrate, in the case of fire blight and apple fruit, what occurs in the orchard or under real world conditions.

57. Despite the more than eighty years that have passed between when McLarty first demonstrated that it was possible to artificially wound inoculate a fruit and when Azegami confirmed McLarty's findings in its own artificial wound inoculation study, not a single experiment has isolated fire blight bacteria from the internal tissues of mature, symptomless apple fruit in the orchard – even when those fruit are harvested from a severely blighted tree. In fact, Japan itself appears to acknowledge that latently-infected mature apple fruit are a product of the laboratory and not nature, stating that “a latently infected mature fruit is found only under experimental conditions.”

58. Japan presented the results of just such a cut-pedicle study at the meeting with the experts in the original panel proceeding. The experts unanimously dismissed the study because it was irrelevant to an analysis of fire blight and apple fruit. They concluded this because the pedicels had been artificially removed and a suspension of bacteria placed directly on the cut surface of the pedicel, whereas in nature the pedicels would be intact.

59. Contrary to Japan's intent, the Azegami study's results bolster the United States' argument and previous scientific findings that mature, symptomless apple fruit will not endophytically harbor, let alone be internally infected with fire blight. As noted by Dr. Smith, results demonstrating infection caused by fire blight bacteria passing into an apple fruit through an intact pedicel attached to a branch or stem would come closer to approximating real orchard conditions. Yet the Azegami study's results clearly indicate that fire blight bacteria did not pass through the pedicels of mature fruit with intact pedicels (that is, pedicels still attached to the branch) – as apple fruit would be found in an actual orchard. Thus, Japan's conclusion that mature apple fruit “can be easily infected through pedicels” is not even factually supported by the Azegami study's results.

60. Japan also appears to offer the undemonstrated supposition that bacterium could enter apple fruit prior to maturity and prior to the full development of the abscission layer in the pedicel, and that those bacteria would then remain in the apple fruit throughout the maturation process. However, Japan's study does not demonstrate that this phenomenon could occur, and of greater significance is the fact that no study, other than artificial wound inoculation studies such as Azegami and its predecessor McLarty, has isolated *Erwinia amylovora* from the inside of mature, symptomless apple fruit, even those fruit harvested directly from heavily-blighted trees.

61. Japan asserts that previous studies failed to isolate internal bacteria because they didn't examine the part of the fruit where the bacteria were hidden, the flesh. However, earlier studies, including Roberts (1989), examined the “core and cortex [*i.e.*, flesh] tissues, including the stem, if present, and the entire calyx” of apple fruit harvested from and near severely blighted trees, and failed to recover any *Erwinia amylovora*. Similarly, the 1974 Dueck study, which found that *Erwinia amylovora* is not internally-isolated in mature apple fruit, even when harvested from severely infected trees, sampled the internal and external parts of 60 mature apples from three

severely blighted trees. This included three cylinders “from the cortex [*i.e.*, flesh] of each apple”, the stem, the calyx and the core.

62. Further, we note that Japan’s Tsukamoto infection experiment, an off-shoot of the Azegami study, does nothing more than demonstrate that fire blight bacteria can be isolated from artificially, wound-inoculated fruit after a period of storage. For these reasons, Japan fails to demonstrate that the first step of its proposed pathway exists – that is, that “Mature, apparently healthy apple fruit which have fire blight bacteria inside are harvested in the United States” – making its proposed pathway nothing more than a hypothetical one.

63. The second study central to Japan’s argument is the Tsukamoto greenbottle fly vector study, which purports to complete the sixth part of Japan’s hypothetical pathway by demonstrating that a fly will transmit fire blight bacteria from an infected fruit to susceptible host material. Like Azegami, the Tsukamoto study fails to demonstrate that such an event could actually occur, demonstrating instead infection of host materials only under the most artificial of conditions. As with Azegami, Tsukamoto only bolsters the U.S. argument that Japan’s measures are maintained without sufficient scientific evidence, and that Japan’s proposed pathway is nothing more than hypothetical because the study fails to demonstrate that flies that obtain bacteria from infected fruit in fact transfer the bacteria to host materials. Japan itself recognizes this significant shortcoming, noting in its second submission that “the flies contaminated in a beaker (in other words, the flies exposed to infected fruit) did not directly become the source of infection of the pear fruit observed.”

64. Despite this disconnect in the study, Japan draws the following conclusion from the study’s results: “it is only logical to conclude” that the experiment’s results demonstrate that there is a risk of completion of the pathway, and that the study demonstrates that “under plausible ecological conditions, the pathway of the disease will be completed.”

65. Japan defends the artificial conditions and results of the vector study. In support of its methodology, Japan asserts that the United States failed to identify any other study whose methods better represent natural or real world conditions. To the contrary, the United States referenced a recent study by Taylor *et al.* as an example of how an experiment can seek to realize real world conditions and, by contrast, how Japan’s greenbottle fly vector study fails to do so. A 1996 study by Hale *et al.* further highlights the artificial construct of Japan’s vector study.

66. However, Tsukamoto’s paper suffers from a more fundamental flaw. It fails to present any evidence that a vector exists that would transfer fire blight bacteria from apple fruit to host materials not only under real world or orchard conditions *but also* in the contrived, artificial setting of the laboratory. It fails to accomplish the very feat described in its title - “Transmission of *Erwinia amylovora* from blighted mature fruit to host plants via flies”. Therefore, there is no scientific evidence that a critical element of the sixth step of Japan’s hypothetical pathway will be completed, *i.e.*, that a vector exists to introduce fire blight from apple fruit to host materials.

67. The discussion of hypothetical vectors for fire blight is not complete, however, without addressing two other vectors proposed by Japan in its Pest Risk Analysis – crows and “jungle crows.” It is unclear from the PRA whether these crows are one and the same or two separate species. Together or apart, however, Japan neither produces nor cites any scientific evidence to support its conclusions that the crows will feed on and disperse infected apple fruit from garbage dumps or that “jungle crows” will peck through garbage bags to pull out infected fruit because they are attracted to the color red, the color of many (but not all) apple peels.

68. In sum, Japan’s new studies do not affect the analysis of how fire blight and apple fruit interact in a real world environment. Japan’s revised measures therefore continue to be maintained without sufficient science within the meaning of Article 2.2 of the SPS Agreement.

69. Japan’s Operational Criteria propose nothing new at all vis-a-vis the level of fire blight that is necessary to disqualify an orchard, retaining in effect a fire-blight-free inspection requirement. This point can be illustrated by comparing Japan’s description of the new “heavily blighted” requirement to the statements of the two MAFF officials who inspected orchards under a fire blight-free regime. Japan’s PRA describes the Operational Criteria’s new, severe blight inspection program as being “conducted from the officials in the inspecting car; a tree will be presumed to be ‘(severely) infected’ when readily observable symptoms are found on the tree exterior, as seen from the officials in the inspecting car.”

#### Article 5.1

70. Japan also purports to have fixed the flaws in its Pest Risk Analysis. Japan claims that the United States has failed to demonstrate shortcomings in the PRA’s methodology, and as a result has failed to demonstrate that Japan’s measures are not based on a proper risk assessment for purposes of Article 5.1 of the SPS Agreement. However, constructing a framework of a risk analysis that touches on the benchmarks and deficiencies highlighted by the original panel and the experts, does not, in and of itself, mean that Japan has completed a risk analysis that evaluates the likelihood of entry, establishment, or spread of a pest or disease within Japan’s territory within the meaning of Article 5.1 and Annex A of the SPS Agreement. As noted by the Appellate Body in *EC – Hormones*, for measures to be “based on” a risk assessment, the risk assessment “must sufficiently warrant – that is to say, reasonably support – the SPS measure.” Further, a risk assessment must evaluate the “likelihood” of introduction of fire blight via mature apple fruit, thereby requiring that there be a “probability” of entry, establishment or spread of the disease, not a mere “possibility.”

71. However, in this instance, the probability of introduction of fire blight via imported mature U.S. apple fruit is essentially zero because the scientific evidence does not demonstrate that mature, symptomless apple fruit have ever introduced fire blight into a fire blight free area, despite, in many cases, unrestricted trade in apple fruit. Neither does the evidence establish that mature apple fruit will harbor endophytic populations of fire blight bacterium or be infected by fire blight, or that mature apple fruit will harbor epiphytic populations of bacteria capable of

initiating the disease. When, as is the case with mature apple fruit and fire blight, the scientific evidence confirms that imported U.S. apple fruit do not pose a risk to plant life or health in Japan, and when that scientific evidence fails to demonstrate a likelihood or probability of introduction of fire blight via mature apple fruit, the result of the risk assessment cannot reasonably support, or sufficiently warrant, Japan's revised fire blight measures.

72. In its second submission, Japan asserts that its PRA does not merely address the risk posed by latently infected mature fruit but that it also addresses the risk inherent in the hypothetical failure of U.S. quality controls, leading to "erroneous shipment[s] of infected apple fruit." Japan then attempts to meet its burden of demonstrating that such an "erroneous" shipment may occur by claiming that the *United States* has failed to demonstrate how it could prevent such an occurrence.

73. There is no evidence that the United States has ever exported anything other than mature, symptomless apple fruit. To the contrary, the United States has reviewed relevant databases and confirmed with relevant officials that no shipments of U.S. apple fruit have been rejected by foreign importers due to either immaturity or symptoms of fire blight. Specifically, we performed a search of the Foreign Notification of Non-compliance database, containing non-compliance statements collected by the United States Department of Agriculture from IPPC contact points, and checked with Federal, State and industry representatives responsible for overseeing apple export programs. Further, Japan has been unable to present any evidence of the failure of U.S. quality controls on apple fruit and fire blight, as even the Appellate Body noted.

74. It is Japan that has failed to present any evidence that an "erroneous shipment" has or will occur. Japan apparently rests its argument on the Panel's statement that errors of handling or illegal actions are risks that "may be, *in principle*, legitimately considered by Japan," improperly inferring that this statement grants Japan a free pass to assume that U.S. quality controls would and will fail. In noting that it is a risk that may be considered, however, neither the original panel nor the Appellate Body absolved Japan from its obligation to present evidence that the risk of failure of U.S. apple fruit quality controls is more than just hypothetical. In fact, the Appellate Body was careful to observe that the original panel's and experts' discussion of export controls was a discussion of those controls "in general," rather than an evaluation of the specific controls for apple fruit in place in the United States.

75. Japan's Pest Risk Analysis gives, at best, short shrift to U.S. quality controls in its analysis, ignoring for the most part U.S. pre-harvest and post-harvest procedures. The PRA summarizes the controls as follows: "as apples are generally judged 'mature' or 'symptomless' by *visual sorting*, there is always a risk that something other than mature, symptomless apple fruit may be . . . present in the shipment." By failing to address actual U.S. practices and to dispute the effectiveness of those practices, Japan has failed to take into account, pursuant to *International Standards for Phytosanitary Measures* ("ISPM") Number 11.

#### Article 5.6

76. Because the scientific evidence relating to fire blight and mature apple fruit remains unchanged since that evidence was originally examined by the panel two years ago, there is a measure that is not more trade restrictive than required in achieving Japan's appropriate level of protection – a Japanese measure restricting imported U.S. apple fruit to mature apple fruit.

77. Japan argues that the United States has failed to “define its alternative measure,” and that it does not provide “the specifics of the ‘mature, symptomless’ specifications.” This ignores our explanation that the alternative measure is precisely what we stated, a requirement that apple fruit imported into Japan be mature and therefore symptomless. Further, while Japan pays lip service to the fact the original panel found, based in part on the OECD specifications and the clear views of the experts, that maturity is an objective concept, it ignores the fact that this is the specification for determining fruit maturity.

#### *Conclusion*

78. The United States requests that the Panel find that Japan's revised measures are inconsistent with its WTO obligations under the SPS Agreement, the Agreement on Agriculture and the GATT 1994. Further, we reiterate our request that, pursuant to our preliminary ruling request, the Panel find that Japan's Operational Criteria are not a measure subject to dispute settlement, and are not within the terms of reference of the Panel in this Article 21.5 proceeding.

79. On a procedural note, Japan has indicated that it intends to submit new evidence in its answers to Panel questions. The United States is surprised that Japan intends to provide evidence at this late date. The Working Procedures are clear that evidence should be provided no later than during the substantive meeting. We are also surprised that Japan would submit its new scientific evidence in response to questions that do not yet exist. Responses to questions do not grant Japan *carte blanche* to provide new evidence. Japan should appreciate the Working Procedures in this context.

## 제 7 장 참고문헌

- 김명호, 2003, 사과 마케팅 차별화 방안, 대구경북농업협동조합
- 김용기, 2005, 사과의 저장병해, <http://www.iloveapple.co.kr/hospital/sickness/b22.htm>
- 김인수, 이순원, 이명렬, 1992, 식물검역해충 분류동정 연구 -사과수출단지 검역 규제해충 조사, 농과원시험보고서
- 김영일, 김종원, 이호기, 우창남, 2000, 수출용 황금배의 저온저장 후 검역병해충 발생조사, 식물검역정보, 91, 3
- 국립식물검역소, 2000, 한국산 사과 및 배 생과실의 대캐나다 수출검역 요령(제 2002-3호)
- 국립식물검역소, 2003, 품목별 현장검사방법과 실험실검사방법 개정 (국립식물검역소 고시 제2003-1호)
- 관세청, 2005, 특정품목(HSK 0808100000 사과)의 국가별 수출입, [http://www.customs.go.kr/hp/cms/pc\\_\\_\\_000/stat/pcfe\\_000/pcfe\\_030/pcfe\\_030.html](http://www.customs.go.kr/hp/cms/pc___000/stat/pcfe_000/pcfe_030/pcfe_030.html)
- 농민신문, 2005년 03월 14일, 한국산 배·사과·복숭아 대만, 수입금지 추진
- 박홍섭, 박준근, 1998, “고품질 및 저공해 사과 생산기술 개발에 관한 연구”, 농림특정연구사업보고서, 전남대학교
- 신용화, 2000, 훈증제 메칠브로마이드(MB), 인화늄, 하이드로젠시아나이드의 특성 비교, 식물검역정보, 91, 3
- 이동혁, 최경희, 이순원, 엄재열, 김순경, 2005, (개정판) 사과 병해충 종합관리 길잡이, 원예연구소 사과시험장, 사과사랑동호회
- 이영욱, 강창식, 류갑희, 류재기, 이정운, 1993, 수출유망과수 병충해 방제체계 연구, 사과 배 저장병해 방제기술 개발, 농진청연구보고서
- Abu-Kpawoh, J.C., Xi, Y.F., Zhang, Y.Z., Jin, Y.F., 2002. Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in 'Friar' plum fruit. J. Food Sci. 67, 2649-2653.
- An, J.F., Paull, R.E., 1990. Storage temperature and ethylene influence on ripening of papaya fruit. J. Am. Soc. Hort. Sci. 115, 949-953.
- Animal and Plant Health Inspection Service. 1985. Section III,9 and section VI-T106. Plant protection and quarantine manual. US Dept. Agric., Wash. DC.
- Animal and Plant Health Inspection Service. 1992. Schedules for propagative plant material T200d. Dipping. PQQ Treatment Manual. US Dept. Agric.,

Wash., DC.

Armstrong, J.W., Hansen, J.D., Hu, B.K.S., Brown, S.A., 1989. High-temperature, forced-air quarantine treatment for papayas infested with Tephritid fruit flies (*Diptera: Tephritidae*). J. Econ. Entomol. 82, 1667-1674.

Armstrong, J.W., Hu, B.K.S., Brown, S.A., 1995. Single-temperature forced hot-air quarantine treatment to control fruit flies (*Diptera: Tephritidae*) in papaya. J. Econ. Entomol. 88, 678-682.

Atta Aly, M.A., 1992. Effect of high temperature on ethylene biosynthesis by tomato fruit. Postharv. Biol. Technol. 2, 19-24.

Baker, A.G., 1952. The vapor-heat process. U.S. Dept. Agric. Yearbook, U.S. Govt. Printing Office, Wash., DC.

Barkai-Golan, R., Phillips, D.J., 1991. Postharvest heat treatment of fresh fruits and vegetables for decay control. Plant Dis. 75, 1085-1089.

Ben-Shalom, N., Hanzon, J., Klein, J.D., Lurie, S., 1993. A postharvest heat treatment inhibits cell wall degradation in apples during storage. Phytochemistry 34, 955-958.

Ben-Shalom, N., Hanzon, J., Pinto, R., Lurie, S., 1996. Cell wall changes and partial prevention of fruit softening in prestorage heat treated 'Anna' apples. J. Sci. Food Agric. 72, 231-234.

Ben-Yehoshua S., Peretz J., Rodov V., Nafussi, B., Yekutieli, O., Regev, R., Weiseblum, A. 1997. Commercial application of hot water treatments to reduce decay incidence in Kumquat fruit. Alon Hanotea 52, 348-352 (in Hebrew).

Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., Peretz, J., 1998. Constitutive and induced resistance of citrus fruit against pathogens. In: Johnson, G.I., Highly, E., Joyce, D.C. (Eds.), Disease Resistance in Fruit. ACIAR Proceedings No. 80, Canberra, Australia, pp. 78-92.

Ben Yehoshua, S., Peretz, J., Rodov, V., Nafussi, B., Yekutieli, O. Weiseblum, A., Regev, R., 2000. Postharvest application of hot water treatment in citrus fruit: the road from the laboratory to the packinghouse. Acta Hort. 518, 19-28.

Biggs, M.S., Woodson, W.R., Handa, A.K., 1988. Biochemical basis of high temperature inhibition of ethylene biosynthesis in ripening tomato fruits. Physiol. Plant. 72, 572-578.



Blackbourn, H., John, P., Jeger, M., 1989. The effect of high temperature on degreening in ripening bananas. *Acta Hort.* 258, 271-278.

Bramlage, W., Meir, S. 1990. Chilling injury of temperate crops. In: Wang C.W. (Ed.), *Chilling Injury of Horticultural Crops*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 37-53.

Burmeister, D., Ball, S., Green, S., Woolf, A.B., 1997. Interaction of hot water treatments and controlled atmosphere storage on quality of 'Fuyu' persimmons. *Postharv. Biol. Technol.* 12, 71-82.

Bycroft, B., Corrigan, V., Boulton, G., 1997. Sweetening squash with heat treatments. In: PH'96 Int. Postharvest Sci. Conf., Taupo, New Zealand, p. 148.

Cantwell, M.I., Hong, G., Suslow, T.V., 2001. Heat treatments control extension growth and enhance microbial disinfection of minimally processed green onions. *HortScience* 36, 732-737.

Chan, H.T., 1986a. Effects of heat treatments on the ethylene forming enzyme system in papaya. *J. Food Sci.* 51, 581-583.

Chan, H.T., 1986b. Heat inactivation of the ethylene forming enzyme system in cucumber. *J. Food Sci.* 51, 1491-1493.

Chan, H.T., 1991. Ripeness and tissue depth effects on heat inactivation of papaya ethylene forming enzyme. *J. Food Sci.* 56, 996-998.

Chan, H.T., Linse, E., 1989. Conditioning cucumbers for quarantine heat treatments. *HortScience* 24, 985-989.

Chan, H.T., Tam, S.Y.T., Seo, S.T., 1981. Papaya polygalacturonase and its role in thermally injured ripening fruit. *J. Food Sci.* 46, 190-197.

Cheng, T.S., Floros, J.D., Shewfelt, R.L., Chang, C.J., 1988. The effect of high temperature stress on ripening of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *J. Plant Physiol.* 132, 459-464.

Coates, L.M., Johnson, G.I., 1993. Effective disease control in heat-disinfected fruit. *Postharv. News Infor.* 4, 35N-40N.

Collins, G.G., Nie, X., Saltveit, M.E. Jr., 1993. Heat shock increases chilling tolerance of mung bean hypocotyl tissue. *Physiol. Plant.* 89, 117-124. Combrink, J.C., Benic, L.B., Lotz, E., Truter, A.B., 1994. Integrated management of

postharvest fruit quality. *Acta Hortic.* 368, 657-666.

Conway, W.S., Sams, C.E., Wang, C.Y., Abbott, J.A., 1994. Additive effects of postharvest calcium and heat treatment on reducing decay and maintaining quality in apples. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119, 49-53.

Couey, H.M., 1989. Heat treatment for control of postharvest diseases and insect pests of fruits. *HortScience.* 24, 198-201.

Couey, H.M., Hayes, C.F., 1986. A quarantine system for papayas using fruit selection and a two stage hot water treatment. *J. Econ. Entomol.* 79, 1307-1314.

Dentener, P.R., Alexander, S.M., Lester, P.J., Petry, R.J., Maindonald, J.H., McDonald, R.M., 1996. Hot air treatment for disinfestation of lightbrown apple moth and longtailed mealy bug on persimmons. *Postharv. Biol. Technol.* 8, 143-152.

D'hallewin, G., Arras, G., Castia, T., Piga, A., 1994. Reducing decay of Avana mandarin fruit by the use of UV, heat and thiabendazole treatments. *Acta Hortic.* 368, 387-394.

Dunlap, J.R., Lingle, S.E., Lester, G.E., 1990. Ethylene production in netted muskmelon subjected to postharvest heating and refrigerated storage. *HortScience* 25, 207-209.

Eaks, I.L., 1978. Ripening, respiration, and ethylene production of 'Hass' avocado fruits at 20 to 40°C. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 103, 576-578.

Elad, Y., Volpin, H., 1991. Heat treatment for the control of rose and carnation grey mould (*Botrytis cinerea*). *Plant Pathol.* 40, 278-286.

Fallik, E., Klein, J.D., Grinberg, S., Lomaniec, E., Lurie, S., Lalazar, A., 1993. Effect of postharvest heat treatment of tomatoes on fruit ripening and decay caused by *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.* 77, 985-988.

Fallik, E., Aharoni, Y., Yekutieli, O., Wiseblum, A., Regev, R., Beres, H., Bar Lev, E., 1996a. A method for simultaneously cleaning and disinfecting agricultural produce. Israel Patent Application No. 116965.

Fallik, E., Grinberg, S., Alkalai, S., Yehutiele, O., Wiseblum, A., Regev, R., Beres, H., Bar Lev, E., 1996b. A unique method for simultaneously cleaning and disinfecting sweet pepper using a hot water wash and brushes. *Gan HaSadeh V'Meshek* 10, 38-42.

Fallik, E., Grinberg, S., Gambourg, M., Klein, J.D., Lurie, S., 1996c. Prestorage heat treatment reduces pathogenicity of *Penicillium expansum* in apple fruit. *Plant Pathol.* 45, 92-97.

Fallik, E., Archbold, D.D., Hamilton-Kemp, T.R., Loughrin, J.H., Collins, R.W., 1997. Heat treatment temporarily inhibits aroma volatile compound emission from Golden Delicious apples. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4038-4041.

Fallik, E., Aharoni, Y., Copel, A., Rodov, R., Tuvia-Alkalai, S., Horev, B., Yekutieli, O., Wiseblum, A., Regev, R., 2000. A short hot water rinse reduces postharvest losses of 'Galia' melon. *Plant Pathol.* 49, 333-338.

Fallik, E., Tuvia-Alkalai, S., Copel, A., Wiseblum, A., Regev, R., 2001a. A short water rinse with brushing reduces postharvest losses-4 years of research on a new technology. *Acta Hort.* 553, 413-416.

Fallik, E., Tuvia-Alkalai, S., Feng, X., Lurie, S., 2001b. Ripening characterization and decay development of stored apples after a short prestorage hot water rinsing and brushing. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 2, 127-132.

Fallik, E., Ilic, Z., Tuvia-Alkalai, S., Copel, A., Polevaya, Y. 2002. A short hot water rinsing and brushing reduces chilling injury and enhance resistance against *Botrytis cinerea* in fresh harvested tomato. *Adv. Hortic. Sci.* 16, 3-6.

Ferguson, I.B., Lurie, S., Bowen, J.H., 1994. Protein synthesis and breakdown during heat shock of cultured pear (*Pyrus communis* L.) cells. *Plant Physiol.* 104, 1429-1437.

Ferguson, I.B., Ben-Yehoshua, S., Mitcham, E.J., McDonald, R.E., Lurie, S., 2000. Postharvest heat treatments: introduction and workshop summary. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 1-6.

Field, R.J., 1984. The effect of temperature on ethylene production by plant tissue. In: Roberts, J.A., Tucker, G.A. (Eds.), *Ethylene and plant development*. Butterworths, London, pp. 47-69.

Fleischman, G.J., Bator, C., Merker, R., Keller, S.E., 2001. Hot water immersion to eliminate *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of whole apples: thermal effects and efficacy. *J. Food Prot.* 64, 451-455.

Florissen, P., Ekman, J.S., Blumenthal, C., McGlasson, W.B., Conroy, J., Holford, P., 1996. The effects of short heat treatments on the induction of

chilling injury in avocado fruit (*Persea americana* Mill). Postharv. Biol. Technol. 8, 129-141.

Follett, P.A., Sanxter, S.S., 2000. Comparison of rambutan quality after hot forced-air and irradiation quarantine treatments. HortScience 35, 1315-1318.

Follett, P.A., Sanxter, S.S., 2001. Hot water immersion to ensure quarantine security for *Cryptophlebia* spp. (*Lepidoptera tortricidae*) in lychee and longan exported from Hawaii. J. Econ. Entomol. 94, 1292-1295.

Follett, P.A., Sanxter, S.S., 2002. Longan quality after hot-water immersion and X-ray irradiation quarantine treatments. HortScience 37, 571-574.

Forney, C.F., 1995. Hot water dips extend the shelf life of fresh broccoli. HortScience 30, 1054-1057.

Gaffney, J.J., Armstrong, J.W., 1990. High-temperature forced-air research facility for heating fruits for insect quarantine treatments. J. Econ. Entomol. 83, 1959-1964.

Gaffney, J.J., Hallman, G.J., Sharp, J.L., 1990. Vapor heat research unit for insect quarantine treatments. J. Econ. Entomol. 83, 1965-1971.

Garcia, J.M., Aguilera, C., Albi, M.A., 1995a. Postharvest heat treatment on Spanish strawberry (*Fragaria X ananassa* cv Tudla). J. Agric. Food Chem. 43, 1489-1492.

Garcia, J.M., Ballesteros, J.M., Albi, M.A., 1995b. Effect of foliar applications of CaCl<sub>2</sub> on tomato stored at different temperatures. J. Agric. Food Chem. 43, 9-12.

Gonzalez-Aguilar, G.A., Gayosso, L., Cruz, R., Fortiz, J., Baez, R., Wang, C.Y., 2000. Polyamines induced by hot water treatments reduce chilling injury and decay in pepper fruit. Postharvest Biol. Technol. 18, 19-26.

Gratwick, M., Southey, J.F., 1985. Hot Water Treatment of Plant Material. Min. Agric. Fish. Food, London, 64 pp.

Hansen, J.D., Hara, A.H., 1994. A review of posthrvest disinfestation of cut flowers and foliage with special reference to tropicals. Postharv. Biol. Technol. 4, 193-212.

Hansen, J.D., Armstrong, J.W., Hu, B.K.S., Brown, S.A., 1990. Thermal death of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) third instars in developing

quarantine treatments for papayas. *J. Econ. Entomol.* 83, 160-167.

Hansen, J.D., Hara, A.H., Tenbrink, V.L., 1991. Recent progress in the control of insect pests on tropical floral commodities. In: Leonhardt, K.W., Evans, D.O., Halloran, J.M. (Eds.), *Univ. Hawaii Res. Exten. Ser.* 124, pp. 54-60

Hansen, J.D., Hara, A.H., Tenbrink, V.L., 1992. Vapor heat: a potential treatment to disinfest tropical cut flowers and foliage. *HortScience* 27, 139-143.

Hara, A.H., Hata, T.Y., Hu, B.K.S., Tenbrink, V.L., 1993. Hot water immersion: a potential quarantine treatment against an armored scale *Pseudaulacaspis cockerelli* (Cooley). *J. Econ. Entomol.* 86, 1167-1170.

Hara, A.H., Hata, T.Y., Hu, B.K.S., Tsang, M.C.C., 1997. Hot-air induced thermotolerance of red ginger flowers and mealybugs to postharvest hot water immersion. *Postharv. Biol. Technol.* 12, 101-108.

Hausbeck, M.K., Pennypacker, S.P., Stevenson, R.E., 1996a. The effect of plastic mulch and forced heated air on *Botrytis cinerea* on geranium stock plants in a research greenhouse. *Plant Dis.* 80, 170-173.

Hausbeck, M.K., Pennypacker, S.P., Stevenson, R.E., 1996b. The use of forced heated air to manage *Botrytis* stem blight of geranium stock plants in a commercial greenhouse. *Plant Dis.* 80, 940-943.

Hawkins, L.A., 1932. Sterilization of citrus fruit by heat. *Citriculture* 9, 21-22.

Hofman, P.J., Stubbings, B.A., Adkins, M.F., Meiburg, G.F., Woolf, A.B., 2002. Hot water treatments improve 'Hass' avocado fruit quality after cold disinfestation. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 183-192.

Huelin, F.E., Coggiola, I.M., 1970. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. V. Oxidation of  $\alpha$ -farnesene and its prevention by diphenylamine. *J. Sci. Food Agric.* 21, 44-48.

Ilic, Z., Plevaya, Y., Tuvia-Alkalai, S., Copel, A., Fallik, E., 2001. A short prestorage hot water rinse and brushing reduces decay development in tomato, while maintaining its quality. *Trop. Agric. Res. Ext.* 4, 1-6.

Inaba, M., Chachin, K., 1988. Influence of and recovery from high temperature stress on harvested mature green tomatoes. *HortScience* 23, 190-192.

Inaba, M., Chachin, K., 1989. High-temperature stress and mitochondrial

- activity of mature green tomatoes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114, 809–814.
- Jacobi, K.K., Gowanlock, D., 1995. Ultrastructural studies of 'Kensington' mango (*Mangifera indica* Linn.) heat injuries. *HortScience* 30, 102–103.
- Jacobi, K.K., Wong, L.S., 1992. Quality of 'Kensington' mango (*Mangifera indica* Linn.) following hot water and vapour-heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 1, 349–359.
- Jacobi, K.K., Wong, L.S., Giles, J.E., 1993. Lychee (*Lichi chinensis* Sonn.) fruit quality following vapour heat treatment and cool storage. *Postharv. Biol. Technol.* 3, 111–119.
- Jacobi, K.K., Giles, J., MacRae, E., Wegrzyn, T., 1995a. Conditioning 'Kensington' mango with hot air alleviates hot water disinfection injuries. *HortScience* 30, 562–565.
- Jacobi, K.K., Wong, L.S., Giles, J.E., 1995b. Effects of fruit maturity on quality and physiology of high humidity hot air treated 'Kensington' mango (*Mangifera indica* Linn.). *Postharv. Biol. Technol.* 5, 149–159.
- Jacobi, K.K., Wong, L.S., Giles, J.E., 1996. Postharvest quality of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) following high humidity hot air disinfection treatments and cool storage. *Postharv. Biol. Technol.* 7, 309–316.
- Jacobi, K.K., MacRae, E.A., Hetherington, S.E., 2001a. Effect of fruit maturity on the response of 'Kensington' mango fruit to heat treatment. *Aust. J. Exp. Agric.* 41, 793–803.
- Jacobi, K.K., MacRae, E.A., Hetherington, S.E., 2001b. Postharvest heat disinfection treatments of mango fruit. *Sci. Hortic.* 89, 171–193.
- Jaroenkit, T., Paull, R.E., 2003. Postharvest handling of Heliconia, red ginger, and bird-of-paradise. *HortTechnology* 13, 259–266.
- Jennings, P., Saltveit, M.E., 1994. Temperature and chemical shocks induce chilling tolerance in germinating *Cucumis sativus* (cv. Poinsett 76) seeds. *Physiol. Plant.* 91, 703–707.
- Jessup, A.J., 1991. High temperature dip and low temperatures for storage and disinfection of avocados. *HortScience* 26, 1420.
- Joyce, D.C., Shorter, A.J., 1994. High temperature conditioning reduces hot water treatment injury of 'Kensington Pride' mango fruit. *HortScience* 29,

1047-1051.

Kerbel, E.L., Mitchell, G., Mayer, G., 1987. Effect of postharvest heat treatment for insect control on the quality and market life of avocados. *HortScience* 22, 92-94.

Klein, J.D., 1989. Ethylene biosynthesis in heat treated apples. In: Clijsters, H., de Proft, M., Marcelle, R., van Pouche, M. (Eds.), *Biochemical and Physiological Aspects of Ethylene Production in Lower and Higher Plants*. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 184-190.

Klein, J.D., Lurie, S., 1990. Prestorage heat treatment as a means of improving poststorage quality of apples. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115, 255-259.

Klein, J.D., Lurie, S., 1991. Postharvest heat treatment and fruit quality. *Postharv. News Info.* 2, 15-19.

Klein, J.D., Lurie, S., 1992a. Heat treatments for improved postharvest quality of horticultural crops. *HortTechnology* 2, 316-320.

Klein, J.D., Lurie, S., 1992b. Prestorage heating of apple fruit for enhanced postharvest quality: interaction of time and temperature. *HortScience* 27, 326-328.

Klein, J.D., Lurie, S., Ben-Arie, R., 1990. Quality and cell wall components of 'Anna' and 'Granny Smith' apples treated with heat, calcium and ethylene. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115, 954-958.

Klein, J.D., Hanzon, J., Irwin, P.L., Ben-Shalom, N., Lurie, S., 1995. Pectin esterase activity and pectin methyl esterification in heated Golden Delicious apples. *Phytochemistry* 39, 491-494.

Klein, J.D., Abbott, J.A., Basker, D., Conway, W.S., Fallik, E., Lurie, S., 1997a. Sensory evaluation of heated and calcium treated fruits. In: *PH'96 Int. Postharvest Sci. Conf.*, Taupo, New Zealand, p. 85.

Klein, J.D., Conway, W.S., Whitaker, B.D., Sams, C.E., 1997b. *Botrytis cinerea* decay in apples is inhibited by postharvest heat and calcium treatments. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 122, 91-94.

Lafuente, M.T., Belver, A., Guye, M.G., Saltveit, M.E. Jr., 1991. Effect of temperature conditioning on chilling injury of cucumber cotyledons. *Plant Physiol.* 95, 443-449.

Larrigaudiere, C., Pons, J., Torres, R., Usall, J., 2002. Storage performance of clementines treated with hot water, sodium carbonate and sodium bicarbonate dips. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 77, 314-319.

Lay-Yee, M., Rose, K.J., 1994. Quality of 'Fantasia' nectarines following forced air heat treatments for insect disinfestation. *HortScience* 29, 663-666.

Lay-Yee, M., Ball, S., Forbes, S.K., Woolf, A.B., 1997. Hot water treatment for insect disinfestation and reduction of chilling sensitivity of 'Fuyu' persimmon. *Postharv. Biol. Technol.* 10, 81-87.

Lazan, H., Ali, Z.M., Liang, K.S., Yee, K.L., 1989. Polygalacturonase activity and variation in ripening of papaya fruit with tissue depth and heat treatment. *Physiol. Plant.* 77, 93-98.

Lichter, A., Dvir, O., Rot, I., Akerman, M., Regev, R., Wiseblum, A., Fallik, E., Zauberman, G., Fuchs, Y., 2000. Hot water brushing: an alternative method to SO<sub>2</sub> fumigation for color retention of litchi fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 18, 235-244.

Lindquist, S., 1986. The heat shock response. *Annu. Rev. Biochem.* 55, 1151-1191.

Lingle, S.E., Lester, G.E., Dunlap, J.R., 1987. Effect of postharvest heat treatment and storage on sugar metabolism in polyethylene-wrapped muskmelon fruit. *HortScience* 22, 917-919.

Li, Q.-B., Haskell, D.W., Guy, C.L., 1999. Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperatures in spinach and tomato. *Plant Mol. Biol.* 39, 21-34.

Liu, F.W., 1978. Modification of apple quality by high temperature. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 103, 730-732.

Liu, X., Anderson, J.A., Maness, N.O., Martin, B., 1996. Protein synthesis inhibitors block high temperature acclimation in bell pepper. *HortScience* 31, 160-161.

Lurie, S., Klein, J.D., 1990. Heat treatment of ripening apples: differential effects on physiology and biochemistry. *Physiol. Plant.* 78, 181-186.

Lurie, S., Klein, J.D., 1991. Acquisition of low temperature tolerance in tomatoes by exposure to high temperature stress. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 116,



1007-1012.

Lurie, S., Klein, J.D., 1992a. Calcium and heat treatments to improve storability of 'Anna' apple. *HortScience* 27, 36-39.

Lurie, S., Klein, J.D., 1992b. Ripening characteristics of tomatoes stored at 1 °C and 2°C following a prestorage heat treatment. *Scientia Hort.* 51, 55-64.

Lurie, S., Nussinovich, A., 1996. Compression characteristics, firmness, and texture perception of heat treated and unheated apples. *Int. J. Food Sci. Technol.* 31, 1-5.

Lurie, S., Sabehat, A., 1997. Prestorage temperature manipulations to reduce chilling injury in tomatoes. *Postharv. Biol. Technol.* 11, 57 - 62.

Lurie, S., Klein, J.D., Ben-Arie, R., 1990. Postharvest heat treatment as a possible means of reducing superficial scald of apples. *J. Hort. Sci.* 65, 503 - 509.

Lurie, S., Othman, S., Borochoy, A., 1995. Effects of heat treatment on plasma membrane of apple fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 5, 29 - 38.

Lurie, S., Fallik, E., Klein, J.D., 1996a. The effect of heat treatment on apple epicuticular wax and calcium uptake. *Postharv. Biol. Technol.* 8, 271 - 277.

Lurie, S., Handros, A., Fallik, E., Shapira, R., 1996b. Reversible inhibition of tomato fruit gene expression at high temperature. *Plant Physiol.* 110, 1207 - 1214.

Lurie, S., Laamim, M., Lapsker, Z., Fallik, E., 1997. Heat treatments to decrease chilling injury in tomato fruit. Effects on lipids, pericarp lesions and fungal growth. *Physiol. Plant.* 100, 297 - 302.

Lurie, S., 1998. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 14, 257-269.

Raham, A.S.A., Chan, H.T., Laidlaw, W.G., 2000. Analysis of residual ACC oxidase in excised papaya sections subjected to heat. Abstracts of Fourth International Conference Postharvest Science, 26-31 March, 2000, Jerusalem, Israel, p. 11.

Lyons, J.M., 1973. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24, 445 - 466.

- Marquenie, D., Lammertyn, J., Geeraerd, A.H., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Nicolai, B.M., Michiels, C.W., 2002. Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. *Int. J. Food Microbiol.* 74, 27-35.
- Maxie, E., Mitchell, G., Sommer, N., Snyder, G., Rae, H., 1974. Effects of elevated temperatures on ripening of 'Bartlett' pear. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 99, 344 - 349.
- McCollum, T.G., D'Aquino, S., McDonald, R.E., 1993. Heat treatment inhibits mango chilling injury. *HortScience* 28, 197 - 198.
- McCollum, T.G., Doostdar, H., Mayer, R.T., McDonald, R.E., 1995. Immersion of cucumber fruit in heated water alters chilling-induced physiological changes. *Postharv. Biol. Technol.* 6, 55 - 64.
- McDonald, R.E., Miller, W.R., McCollum, T.G., Brown, G.E., 1991. Thiabendazole and imazalil applied at 53°C reduce chilling injury and decay of grapefruit. *HortScience.* 26, 397 - 399.
- McDonald, R.E., McCollum, T.G., Baldwin, E.A., 1996. Prestorage heat treatments influence free sterols and flavor volatiles of tomatoes stored at chilling temperature. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121, 531 - 536.
- Mencarelli, F., Ceccantoni, B., Bolini, A., Anelli, G., 1993. Influence of heat treatment on the physiological response of sweet pepper kept at chilling temperature. *Acta Hortic.* 343, 238 - 243.
- Miller, W.R., McDonald, R.E., 1992. Postharvest quality of early season grapefruit after forced air vapor heat treatment. *HortScience* 27, 422 - 424.
- Miller, W.R., McDonald, R.E., Hatton, T.T., Ismail, M., 1988. Phytotoxicity to grapefruit exposed to hot water immersion treatment. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 101, 192 - 195.
- Mitcham, E.J., McDonald, R.E., 1992. Effect of high temperature on cell wall modifications associated with tomato fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 1, 257 - 264.
- Mitcham, E.J., McDonald, R.E., 1993. Respiration rate, internal atmosphere, and ethanol and acetaldehyde accumulation in heat treated mango fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 3, 77 - 86.

Nafussi, B., Ben-Yehoshua, B., Rodov, V., Peretz, J., Ozer, B.K., D'Hallewin, G., 2001. Mode of action of hot-water dip in reducing decay of lemon fruit. *J Agric. Food Chem.* 49, 107-113.

Nishijima, K.A., Chan, H.T., Sanxter, S.S., Linse, E.S., 1995. Reduced heat shock period of 'Sharwil' avocado for cold tolerance in quarantine cold treatment. *HortScience* 30, 1052 - 1053.

Paull, R.E., 1990. Postharvest heat treatments and fruit ripening. *Postharv. News Info.* 1, 355 - 363N.

Paull, R.E., 1994. Response of tropical horticultural commodities to insect disinfestation treatments. *HortScience* 29, 988 - 996.

Paull, R.E., 1995. Preharvest factors and the heat sensitivity of field grown ripening papaya fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 6, 167 - 175.

Paull, R.E., Chen, N.J., 1990. Heat shock response in field grown ripening papaya fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115, 623 - 631.

Paull, R.E., McDonald, R.E., 1994. Heat and cold treatments. In: Paull, R.E., Armstrong, J.W. (Eds.), *Insect Pests and Fresh Horticultural Products*. CAB Int., Wallingford, Oxon. pp. 199 - 222.

Paull, R.E., Chen, N.J., van Gorsel, H., 1986. Ripening response of papaya fruit previously exposed to high temperatures. *HortScience* 21, 811.

Paull, R.E., Chen, N.J., 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 21-38.

Pavoncello, D., Lurie, S., Droby, S., Porat, R., 2001. A hot water treatment induces resistance to *Penicillium digitatum* and promotes the accumulation of heat shock and pathogenesis-related proteins in grapefruit flavedo. *Physiol. Plant.* 111, 17-22.

Picton, S., Grierson, D., 1988. Inhibition of expression of tomato ripening genes at high temperature. *Plant Cell Envir.* 11, 265 - 272.

Porat, R., Daus, A., Weiss, B., Cohen, L., Fallik, E., Droby, S., 2000a. Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 18, 151-157.

Porat, R., Pavoncello, D., Peretz, Y., Weiss, B., Cohen, L., Ben-Yehoshua, S.,

Fallik, E., Droby, S., Lurie, S., 2000b. Induction of resistance against *Penicillium digitatum* and chilling injury in Star Ruby grapefruit by a short hot water brushing treatment. J. Hort. Sci. Biotechnol. 75, 428-432.

Porritt, S.W., Lidster, P.D., 1978. The effect of prestorage heating on ripening and senescence of apples during cold storage. J. Am. Soc. Hort. Sci. 103, 584 - 587.

Prusky, D., Fallik, E., Kobiler, I., Fuchs, Y., Zauberman, G., Pesis, E., Ackerman, M., Roth, I., Weksler, A., Yekutiely, O., Waisblum, A., Keinan, A., Ofek, G., 1997. Hot water brush: a new method for the control of postharvest disease caused by *Alternaria* rot in mango fruits. Phytoparasitica 25, 52.

Rodov, V., Ben-Yehoshua, S., Albagli, R., Fang, D.Q., 1995. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. Postharv. Biol. Technol. 5, 119 - 127.

Romanzzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Salerno, M., 2001. Effect of short hypobaric treatments on postharvest rots of sweet cherries, strawberries and table grapes. Postharvest Biol. Technol. 22, 1-6.

Roy, S., Conway, W.S., Watada, A.E., Sams, C.E., Erbe, E.F., Wergin, W.P., 1994. Heat treatment affects epicuticular wax structure and postharvest calcium uptake in 'Golden Delicious' apples. HortScience 29, 1056 - 1058.

Sabehat, A., Weiss, D., Lurie, S., 1996. The correlation between heat-shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit. Plant Physiol. 110, 531 - 537.

Sala, J.M., Lafuente, M.T., 2000. Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruit to chilling. Postharvest Bio. Technol. 20, 81-89.

Saltveit, M.E. Jr., 1991. Prior temperature exposure affects subsequent chilling sensitivity. Physiol. Plant. 82, 529 - 536.

Sams, C.E., Conway, W.S., Abbott, J.A., Lewis, R.J., Ben-Shalom, N., 1993. Firmness and decay of apples following postharvest pressure infiltration of calcium and heat treatment. J. Am. Soc. Hort. Sci. 118, 623 - 627.

Sanxter, S.S., Nishijima, K.A., Chan, H.T. Jr., 1994. Heat treating 'Sharwil' avocado for cold tolerance in quarantine cold treatments. HortScience 29, 1166 - 1168.

Sapers, G.M., 2001. Efficacy of washing and sanitizing methods. Food

Technol. Biotechnol. 39, 305-311.

Schirra, M., Mulas, M., 1995a. Influence of postharvest hot water dip and imazalil-fungicide treatments on cold-stored 'Di Massa' lemons. *Adv. Hort. Sci.* 1, 43 - 46.

Schirra, M., Mulas, M., 1995b. Improving storability of 'Tarocco' oranges by postharvest hot-dip fungicide treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 6, 129-138.

Schirra, M., D'hallewin, G., Ben-Yehoshua, S., Fallik, E., 2000. Host-pathogen interaction modulated by heat treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 71-85.

Seymour, G.B., John, P., Thompson, A.K., 1987. Inhibition of degreening in the peel of bananas ripened at tropical temperatures. II. Role of ethylene, oxygen and carbon dioxide. *Ann. Appl. Biol.* 110, 153-161.

Sharp, J.L., Gould, W.P., 1994. Control of Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in grapefruit by forced hot air and hydrocooling. *J. Econ. Entomol.* 87, 131-133.

Sharp, J.L., McGuire, R.G., 1996. Control of Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in navel orange by forced hot air. *J. Econ. Entomol.* 89, 1181-1185.

Shellie, K.C., Mangan, R.L., 1993. Disinfestation of subtropical commodities with hot forced air. *Acta Hort.* 343, 367-370.

Shellie, K.C., Mangan, R.L., 1994a. Disinfestation: effect of non-chemical treatments on market quality of fruit. In: Champ, B.R. (Ed.), *Postharvest Handling of Tropical Fruits*. ACIAR Proceedings. pp. 304-310.

Shellie, K.C., Mangan, R.L., 1994b. Postharvest quality of 'Valencia' orange after exposure to hot, moist forced air for fruit fly disinfestation. *HortScience* 29, 1524-1527.

Shellie, K.C., Mangan, R.L., 1996. Tolerance of red fleshed grapefruit to a constant of stepped emperature, forced air quarantine heat treatment. *Postharv. Biol. Technol.* 7, 151-159.

Shellie, K.C., Firko, M.J., Mangan, R.L., 1993. Phytotoxic response of 'Dancy' tangerine to high temperature, moist, forced air treatment for fruit fly disinfestation. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 118, 481-485.

Shellie, K.C., Mangan, R., 2002. Hot water immersion as a quarantine

treatment for large mangoes: artificially versus cage infestation. J. Am. Soc. Hort. Sci. 127, 430-434.

Smilanick, J.L., Margosan, D.A., Henson, D.J., 1995. Evaluation of heated solutions of sulfur dioxide, ethanol, and hydrogen peroxide to control postharvest green mold of lemons. Plant Dis. 79, 742-747.

Smilanick, J.L., Mackey, B.E., Reese, R., Usall, J., Margosan, D.A., 1997. Influence of concentration of soda ash, temperature, and immersion period on the control of postharvest green mold of oranges. Plant Dis. 80, 79-83.

Smilanick, J.L., Sorenson, D., Mansour, M., Aieyabei, J., Plaza, P., 2003. Impact of a brief postharvest hot water drench treatment on decay, fruit appearance, and microbe populations of California lemons and oranges. HortTechnol. 13, 333-338.

Smith, K.J., Lay-Yee, M., 2000. Response of 'Royal Gala' apples to hot water treatment for insect control. Postharvest Biol. Technol. 19, 111-122.

Sozzi, G.O., Cascone, O., Frascina, A.A., 1996. Effect of a high temperature stress on endo- $\beta$ -mannanase and  $\alpha$ - and  $\beta$ -galactosidase activities during tomato fruit ripening. Postharv. Biol. Technol. 9, 49-63.

Tian, M.S., Woolf, A.B., Bowen, J.H., Ferguson, I.B., 1996. Changes in color and chlorophyll fluorescence of broccoli florets following hot water treatment. J. Am. Soc. Hort. Sci. 121, 310-313.

Tian, M.S., Islam, T., Stevenson, D.G., Irving, D.E., 1997. Color, ethylene production, respiration, and compositional changes in broccoli dipped in hot water. J. Am. Soc. Hort. Sci. 122, 112-116.

Tsuji, M., Harakawa, H., Komiyama, Y., 1984. Changes in shelf life and quality of plum fruit during storage at high temperatures. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 52, 469-473.

USA Code of Federal Regulations, 1994, Title 7 Agriculture PART 319-FOREIGN QUARANTINE NOTICES Subpart-Fruits and Vegetables Quarantine, §319.56 - 2cc Administrative instructions governing the entry of Fuji variety apples from *Japan and the Republic of Korea*, 59 FR 42154, Aug. 17

Vierling, E., 1991. the roles of heat shock proteins in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42, 579-620.

Wang, C.Y., 1994. Combined treatment of heat shock and low temperature

conditioning reduces chilling injury in zucchini squash. *Postharv. Biol. Technol.* 4, 65–73.

Whitaker, B.D., 1994. A reassessment of heat treatments as a means of reducing chilling injury in tomato fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 4, 75–83.

Whitaker, B.D., Klein, J.D., Conway, W.S., Sams, C.E., 1997. Influence of prestorage heat and calcium treatments on lipid metabolism in 'Golden Delicious' apples. *Phytochemistry* 45., 465–472.

Wild, B.L., 1993. Reduction of chilling injury in grapefruit and oranges stored at 1°C by prestorage hot dip treatments, curing, and wax application. *Aust. J. Exp. Agric.* 33, 495–498.

Woolf, A.B., Laing, W.A., 1996. Avocado fruit skin fluorescence following hot water treatments and pretreatments. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121, 147–151.

Woolf, A.B., Lay-Yee, M., 1997. Pretreatments at 38°C of 'Hass' avocado confer thermotolerance to 50°C hot water treatments. *HortScience* 32, 705–708.

Woolf, A.B., Watkins, C.B., Bowen, J.H., Lay-Yee, M., Maindonald, J.H., Ferguson, I.B., 1995. Reducing external chilling injury in stored 'Hass' avocados with dry heat treatments. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 120, 1050–1056.

Woolf, A.B., Ball, S., Spooner, K.J., Lay-Yee, M., Ferguson, I.B., Watkins, C.B., Gunson, A., Forbes, S.K., 1997. Reduction of chilling injury in the sweet persimmon 'Fuyu' during storage by dry air heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 11, 155–164.

Yang, R.F., Cheng, T.S., Shewfelt, R.L., 1990. The effect of high temperature and ethylene treatment on the ripening of tomatoes. *J. Plant Physiol.* 136, 368–372.

Yoshida, O., Nakagawa, H., Ogura, N., Sato, T., 1984. Effect of heat treatment on the development of polygalacturonase activity in tomato fruit during ripening. *Plant Cell Physiol.* 25, 505–509.

Yu, Y.B., Adams, D.O., Yang, S.F., 1980. Inhibition of ethylene production by 2,4-dinitrophenol and high temperature. *Plant Physiol.* 66, 286–290.

Zhu, S.J., Ji, Z.L., Lu, W.J., Zhang, Z.Q., 2003. The link between heat-induced polypeptides and chilling tolerance in mangoes (*Mangifera indica* L.), with evidence from the same fruit partially heated. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 78, 523–527

