

최 중
연구보고서

제주 당근의 장기 저장기술과 고품질 유통을
위한 세척 및 포장기술 개발

Long-term Storage and Development of New Washing and
Packaging Methods for Carrot Cultivating in Jeju

연구기관

상명대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “제주 당근의 장기 저장기술과 고품질 유통을 위한 세척 및 포장기술 개발”과
제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 8월 9 일

주관연구기관명 : 상 명 대

총괄연구책임자 : 양 용 준

연 구 보 조 원 : 유 미 란

협동연구기관명 : 순천향대학교

요 약 문

I. 제 목

제주 당근의 장기 저장기술과 고품질 유통을 위한 세척 및 포장기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정하여 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성과 초음파에 의한 chitosan 분해 양상을 조사하고 분자량별 chitosan 코팅제를 제조하며, chitosan-laurate의 합성, 제막 및 항균활성 조사한 뒤 당근에 적합한 chitosan-항균제 함유 코팅제 제조한다. 또한 당근의 수확 후 생리적, 병리적 특성을 조사하고, 장기저장에 적합한 적정 저장온도와 습도조건, 당근에 적합한 적정 MA 조건, 당근의 항균성 세척처리기술, 당근 유통에 적합한 소포장 기술, 당근의 항균성 코팅피막제 처리기술 등을 개발하여 제주 당근의 상품성을 향상함으로써 농가의 소득증대에 이바지 하고자 함.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정
- 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성 조사
- 당근에 적합한 chitosan 코팅제의 제조 최적 기술 확립
- 당근 유통에 적합한 코팅 피막제 개발
- 수확 후 생리적, 병리적 특성 구명
- 당근의 장기저장에 적합한 적정 저장온도와 습도 조건 구명
- 당근에 적합한 가스 환경 구명과 적정 MA 조건 구명
- 당근의 항균성 세척처리 기술 개발
- 당근의 장기저장에 적합한 적정 저장온도와 습도 조건 실증 적용
- 당근 유통에 적합한 소포장 기술 개발
- 항균성 코팅피막제 처리기술 개발

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

제주 당근의 장기 저장기술과 고품질 유통을 위한 세척 및 포장기술을 개발하기 위하여 연구를 수행하였으며, 연구결과를 요약하면 다음과 같다.

○ 세척당근의 수확 후 생리적 특성변화를 조사하기 위하여 호흡율과 에틸렌 발생량을 조사한 결과 에틸렌은 저장기간 동안 검출되지 않았다. 호흡률은 무포장 당근이 저장기간 중 가장 높았던 반면 LDPE 필름(30 μ m) 포장에서 낮게 나타났고 PEPP 필름(50 μ m)에서 거의 검출되지 않았다. 흙당근에서의 호흡률은 무포장에서 가장 높았고, PEPP 필름 그리고 LDPE에서는 검출되지 않아 세척당근에서의 결과와 다르게 나타났다.

○ 당근 과피의 a의 값은 무포장 세척당근에서 저장 중 가장 높게 나타났고, PEPP 필름(50 μ m) 으로 포장된 흙당근과 세척당근 그리고 LDPE 필름(30 μ m)으로 포장된 흙당근에서의 a값은 저장 95일 동안 크게 변화하지 않았다. 저장 중 흙당근과 세척당근의 pH 변화는 지속적으로 증가하는 경향이었고, LDPE로 포장된 세척당근에서 증가한 반면 PEPP 흙당근에서는 낮게 유지되었으나 그 차이는 크지 않았다. 흙당근은 저장 60일째 일부 멍아(씩)형성이 되었고 세척당근에서는 발근되는 개체가 조금 확인되었다. 흙당근과 세척당근의 LDPE 필름 포장이 PEPP에서 보다 상품성이 좋았다. PEPP 포장된 당근은 포장 파레트 내 습기 통기성이 낮은 이유로 곰팡이 발생이 확인되었다. 파레트 단위로 포장하는 경우 흙당근 상태로 장기 저장이 가능하였으며 흙당근은 파레트 LDPE 포장이 가장 효과가 좋았다. 본 연구 결과 당근의 장기저장에는 적정 저장온도(-0.5 $^{\circ}$ C ~ +0.5 $^{\circ}$ C)에서 상대 습도는 포장재를 이용하여 95% r.H. 이상이 유지되어야 하는 것으로 나타났다.

○ 포장 재료, 포장 단위, 그리고 active MA에 따른 세척당근의 저장성을 조사한 결과, 혼합 가스의 효과는 다른 포장재료와 같이 5% CO₂ + 3% O₂에서 가장 좋았고, 500g 단위에서는 LDPE 필름 30 μ m와 50 μ m가 다른 포장재료에 비하여 우수한 품질유지 효과를 나타내었으며 CDF+BOPP 필름에서도 비슷한 결과였다. 포장 단위가 1kg일 경우 500g에 비하여 저장성이 떨어지는 경향을 보였고, 특히 PEPP 필름과 PP 필름의 대조구에서는 발효와 부패 현상이 확인되었다.

○ 당근의 세척제 중 수돗물 처리에서 생체중 감소가 가장 컸고, 2% thiabendazole in 80% DMF과 5% sodium hypochlorite처리가 생체중 유지에 가장 효과적이었으며, 이와 같은 세척제 처리가 과피 a값에서도 저장초기와 비슷한 값을 유지하였다. 당근의 저온저장 중 세

척용액의 효과는 2% thiabendazole과 5% sodium hypochlorite처리가 다른 처리에 비하여 외관적 품질유지에 가장 효과적이었다.

○ 코팅제는 키토산을 분자량(10CPS, 50CPS, 100CPS) 별로 1.5% 희석해서 1분간 침지 후 10개체씩 8반복 한 후 3℃에 저장한 결과, 코팅제 처리로 당근의 시장성은 연장되었고, 처리된 코팅제 중 키토산 50CPS가 가장 효과적이었다. 저장 당근의 감소율 조사에서 키토산 10CPS에서 저장 중 열근현상이 확인되었다.

○ 세척액은 2% thiabendazole in DMF와 5% sodium hypochlorite이 세척효과가 뛰어났고 이 용액을 1/10 농도로 희석하여 세척한 후 여러 농도의 키토산 용액으로 코팅 처리한 결과, 키토산 50CPS가 가장 효과가 좋았다.

○ 무게감량은 무포장에서 저장동안 포장재료와 active MA 조건에 상관없이 가장 크게 감소하였다, 경도는 10% CO₂ + 3% O₂ 조건에서 감소 없이 높게 유지하였으며 그 다음으로 5% CO₂ + 3% O₂ 조건이 효과적이었으나 그들 간 유의적인 차이는 없었다. 포장재료는 LDPE 0.05mm가 0.03mm 필름에서 포장한 경우 보다 경도유지 효과가 상대적으로 좋았다.

○ 당근 과즙의 SSC(%)와 pH는 저장기간 동안 감소하였고 active MA 처리 중에는 10% CO₂ + 3% O₂ 조건이 저장 당근의 초기 값을 오래 유지시키는 조건으로 나타났다. 당근 표피의 L값은 저장 60일 동안 저장 초기값과 비교할 때 변화가 적었으며 포장재료와 가스처리에 의한 통계적인 차이는 없었다.

○ 저온저장 동안 당근의 상품성비교에서는 표피건조, 멍아형성(씩), 발근, 부패율 등을 조사한 결과 포장재료는 0.05mm LDPE 필름에서 그리고 active MA 처리는 5% CO₂ + 3% O₂ 조건이 가장 효과적이었다.

○ 포장재료 별 active MA 가스처리 결과 저장당근의 acetaldehyde 함량은 대조구(무포장)와 0.03mm PE 필름포장, 그리고 0.05mm BOPP 필름 내 10% CO₂ +3% O₂ 처리에서 가장 높았고 다른 포장재료와 가스처리에는 비교적 낮았다. 에탄올 함량은 대조구(무포장)와 0.05mm BOPP 필름 내 10% CO₂ +3% O₂에서 다른 처리에서 보다 높게 나타나 아세트알데하이드에서와 같은 결과로 나타났으며, 이와 같은 결과는 저온저장 동안 당근의 품질이 나빠질수록 이들 함량이 높아지는 결과로 외관품질조사에서와 같은 결과였다.

○ 당근에 적합한 chitosan-laurate 필름을 chitosan 및 lauric acid 농도별로 제조하여 당근의 선도유지에 미치는 효과는, 16가지의 처리 중 초음파 처리한 키토산 2% (0.5% acetic acid에 용해) + 0.5% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100 처리와 초음파 처리한 키토산 2%(0.5% acetic acid에 용해) +0.5% potassium sorbate + 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100의 두 가지 처리가 건조, 부패, 선택 등 종합적인 상품성 관점에서 가장 효과가 좋았다.

○ Chitosan-laurate 필름을 이용한 당근의 저온저장 중 아세트알데히드와 에탄올 함량을 조사한 결과, 아세트알데히드 함량은 초음파 처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid +1.0% lauric acid + 1.0% Triton X-100 처리에서 가장 높게 나타났고, 에탄올 함량에서도 같은 결과였다. 두 가지 처리(키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate +0.5% lauric acid + 10% Triton X-100 와 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 1.0% lauric acid +10% Triton X-100)에서 아세트알데히드와 에탄올 함량이 가장 낮게 조사되었고 상품성 평가에서도 외관 품질이 가장 우수한 것으로 조사되어 분석결과와 같은 경향이였다.

○ 2004년 성산농협 현지실험의 결과, 무피복인 경우 56.3%표피건조와 57.1%의 부패율을 나타낸 반면, 0.03 LDPE film과 PEPP film으로 포장한 경우 표피건조와 부패율이 표피건조와 건조율이 현저히 억제되었다. 그러나 맹아형성은 0.03 LDPE film에서 가장 효과적으로 억제된 반면 PEPP film에서는 오히려 대조구에서 보다 높게 나타났다. 또한 발근된 개체는 다른 처리구에서 보다 무피복에서 오히려 가장 적게 나타나 저장환경이 높은 습도일수록 발근은 촉진되었고 흙당근을 이용한 실험에서도 같은 경향이였다

○ 2005년 성산농협 현지에서 흙당근을 5% sodium hypochlorite으로 세척하여 지하수로 세척한 대조구와 저온저장 중 품질을 비교한 결과, 항균 세척제인 sodium hypochlorite 처리로 부패율은 지하수로 세척한 무처리와 비교할 때 현저히 억제되었으나 수확 후 생리작용의 결과로 나타나는 맹아와 발근억제에는 효과를 보이지 않았다. 이것으로 당근의 세척제로서 전년도 연구결과에서 가장 효과적이었던 5% sodium hypochlorite 처리가 부패율 억제에 좋은 결과를 보였지만 상품성 유지를 위해서는 맹아 및 발근억제제를 혼용하여 사용해야 하는 것으로 판단된다.

○ 당근의 병반 부위에서 분리된 균종을 확인하기 위하여 세균으로 생각되는 Ca-1균의 chromosomal DNA를 분리 후 16srDNA를 제조된 primer를 이용하여 PCR로 증폭하였다.

1.5% agarose gel에 분리한 증폭 DNA band를 칼로 잘라 Gene clean kit로 purify한 후 sequencing하여 균종을 생리적, 생화학적 검증결과를 전자현미경으로 확인한 결과 *Erwinia carotovora*와 동일한 것으로 나타났다<위탁과제>.

○ 곰팡이로 생각되는 균종은 PDA배지에 키워 광학 현미경으로 직접 관찰하고 균총의 색, 기균사의 발달 유무, 색소의 생산 유무, 생육 속도, 균락의 표면 구조 등을 조사하여 KACC의 표준 균종과 비교한 결과, Ca-2균은 *Rhizopus oryzae* (KACC 4093)균과 유사하고 Ca-s-3균은 *Phomopsis mali* (KACC 40839)와 유사하였다.

○ Thiabendazole, sodium hypochlorite, calcium hypochlorite, potassium sorbate, potassium phosphate, potassium hydrogen phosphate의 부패 미생물에 대한 항균 활성을 agar diffusion assay 방법으로 조사하였는데, 세균 (Ca-1)에 대해서는 thiabendazole과 sodium hypochlorite가 가장 효과적인 것으로 나타났으며, 곰팡이류(Ca-2, Ca-s-3)에 대해서는 thiabendazole과 potassium sorbate가 가장 효과적이었다<위탁과제>.

○ Chloramphenicol을 함유한 PDA배지에 28°C에서 5일간 배양하여 조사한 결과 2% thiabendazole의 경우 처리하지 않은 대조구와 비교 시 총균수와 곰팡이 포자수가 현저히 감소되었다<위탁과제>.

○ 초음파에 의한 chitosan의 분해 양상을 비교하기 위하여 chitosan의 농도를 1%, 2%, 초음파 처리액의 부피를 250 ml와 500 ml로 나누고 처리 시간은 각 30분, 1시간, 2시간, 3시간으로 나누어 비교하였으며. 초음파 처리 후 agar diffusion assay법으로 항균 활성을 비교하였다. 이 결과 각 균에 대한 항균력은 2% chitosan을 250ml로 2시간 이상 초음파 처리한 경우가 가장 활성이 큰 것으로 나타났다<위탁과제>.

○ 초음파 처리한 키토산 용액의 겔보기 정도는 Brookfield 점도계(Brookfield Engineering Labs DV-III)를 사용하여 측정하였으며 Table 1.에서 보는 바와 같이 0.5% - 2% 용액에서 측정한 결과 30 - 57 cps로 나타났다.

○ 초음파 분해로 제조한 키토산의 점도 평균분자량을 Ostwald 점도계를 이용하여 점도법으로 측정하여 Mark-Houwink식을 이용하여 점도 평균분자량을 추정한 결과 50,000으로 조사되었다.

○ Thiabendazole, sodium hypochlorite, potassium sorbate등을 농도 별로 초음파 처리한 chitosan에 첨가하여 항균력을 조사한 결과, 0.5%로 첨가된 potassium sorbate가 Ca-1, Ca-2 및 Ca-s-3균에 가장 활성이 높은 것으로 나타났다.

○ Thiabendazole을 녹인 용매 DMF나 chitosan을 녹인 용매 0.5% acetic acid자체는 Ca-3균에 대한 항균력이 거의 없는 것으로 관찰되었으며 초음파 처리한 키토산 용액에 0.3% thiabendazole을 첨가한 용액이 Ca-3균에 대한 항균력이 높은 것으로 조사되었다.

○ Ca-s-3 균에 대한 항균력은 초음파로 처리한 키토산에 첨가한 0.3%thiabendazole, 0.5% potassium sorbate와 0.5% sodium hypochlorite는 이들을 첨가하지 않은 키토산보다 항균력이 높은 것으로 관찰되었다.

○ PEG(Poly ethylene glycol)400을 함유한 초음파 처리 키토산 용액으로 Ca-1, Ca-2, Ca-s-3 균에 대한 항균력조사에서, 세균 Ca-1균에서는 ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (4 : 1) 용액이 항균력이 가장 높게 나타났으며 fungi인 Ca-2와 Ca-s-3균에서는 ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (2 : 1) 용액이 활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 Ca-1, Ca-2 와 Ca-s-3균은 각각 *Erwinia carotovora*, *Rhizopus oryzae*, 그리고 *Phomopsis mali*로 확인되었다.

○ 항균제를 농도별로 첨가한 chitosan-laurate 필름을 합성하여 항균력을 조사한 결과, Ca-1균에 대한 항균력에서 0.5% potassium sorbate를 함유한 ultrasonicated chitosan (2%)와 1.0% lauric acid(E)가 가장 활성이 높은 것으로 나타났다.

○ Ca-2와 Ca-s-3균에 대한 항균력은 0.5% potassium sorbate와 1.0% lauric acid를 함유한 초음파 처리 chitosan (2%)이 가장 활성이 높았다.

○ Ca-2 균에 대한 chitosan의 항진균력이 단량체인 glucosamine에 의한 것인지 조사하기 위하여 glucosamine을 첨가한 PDA배지에 Ca-2균을 배양한 결과 첨가하지 않은 배지에서 배양한 것과 균체 생육이 거의 비슷한 것으로 관찰되었다.

○ 초음파 처리한 키토산과 0.5 % potassium sorbate를 첨가한 용액을 함유한 배지에 배양한 Ca-2 균의 포자를 전자 현미경으로 관찰한 결과, 포자가 팽윤되고 찌그러져 있는 등 기형적인 형태를 보여주었으며 정상적으로 신장하지 못하는 것으로 관찰되었다.

SUMMARY

This study was carried out to develop the washing and packaging technology available effectively for maintaining the high quality and a long-term storage to minimize the postharvest losses of carrot. The summarized results were as follows;

- Ethylene evolution was not detected in washed carrot during cold storage. Respiration rate was higher found in not-packaged carrot while its lowest value was produced in packaged carrot with LDPE film(30 μ m).
- The peel a value was not greatly changed during storage of raw carrot before washing. There was an increasing trend of the pulp pH value in stored carrot packaged with different kinds of film and their thickness.
- Sprouting and rooting were found in carrot after 60 cold storage days, and the market quality was better maintained in packaged carrot with LDPE film than samples with PEPP due to the increasing decay incidence.
- For a long-term storage, we concluded that the best storage environment of carrot should contain the range of temperature at $-0.5^{\circ}\text{C} \sim +0.5^{\circ}\text{C}$ and the relative humidity at least more than 95% r.H.
- The active MA(5% CO_2 + 3% O_2) has led to the good result of holding the market quality with the packaging unit of 500g packages compared to 1000g sizes independent upon packaging materials.
- Carrot lost most its weight in case of washing with tap water while 2% thiabendazole in 80% DMF and 5% sodium hypochlorite showed the better maintaining effect of the initial weight. And two compounds of 2% thiabendazole and 5% sodium hypochlorite showed better fungicide effects on maintaining external market quality of carrot.

○ Coating material made with kitosan molecular weight of 50CPS was the best effective for retaining overall quality of stored carrot.

○ In a second research term, the firmness, SSC and pH value were a little well maintained in an active MA condition of 10% CO₂ + 3% O₂ combination compared to the 5% CO₂ + 3% O₂ that was reported as the best condition among all gas treatments in 2004. But their difference of effectiveness was not statistically accepted.

○ Considering on peel drying, sprouting, rooting and decay incidence, the active MA condition of 5% CO₂ + 3% O₂ combination showed the best market quality in packaged carrot with 0.05mm LDPE film.

○ Acetaldehyde and ethanol contents were the most investigated in a not-packaged carrot and in a active MA(10% CO₂ +3% O₂) packaged with 0.05mm BOPP film, and their results showed same analytical trends with overall external quality evaluation in stored carrot.

○ Two compounds of A(ultrasonicated kitosan 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100) and B(ultrasonicated kitosan 2% in 0.5% acetic acid +0.5% potassium sorbate + 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100) represented the best result of holding the overall market quality related with drying, decay, peel color.

○ In comparison of chitosan-laurate film depending upon different concentrations of chitosan and lauric acid, two treatments of A (chitosan 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100) and B (chitosan 2% in 0.5% acetic acid + 1.0% lauric acid +10% Triton X-100) maintained low contents of acetaldehyde and ethanol throuthout the cold storage of carrot.

○ After results from Songsan Nonghyup in 2004, the pallet covering with 0.03 LDPE film and PEPP film represented no evident peel drying and decay incidence

compared to the carrot in not-covered pallet. And sprouting and rooting were greatly inhibited by 0.03mm LDPE packing while they were rather promoted in PEPP packing due to the high humidity inside in both of washed and raw carrot.

○ After results from Songsan Nonghyup in 2005, 5% sodium hypochlorite showed the marked inhibition of decay incidence except physiological processes such as sprouting and rooting. It could be concluded that another treatment together with 5% sodium hypochlorite be used to keep carrot fresh for long-term storage because of sprouting and rooting.

○ To identify the bacterium Ca-1, which was isolated from th decayed carrot, chromosomal DNA purified from Ca-1 was amplified with 16srDNA primers by PCR. Ca-1 was identified as *Erwinia carotovora* from the result of sequence homology of the amplified DNA fragment. This result was confirmed by the physiological and biochemical tests and electron microscopy.

○ Ca-2 and Ca-s-3 isolated from decayed carrot were identified by the morphological, physiological and chemotaxonomical characteristics as *Rhizophus oryzae* and *phomopsis mali*, respectively.

○ Antimicrobial activity of thiabendazole, sodium hypochlorite and calcium hypochlorite, potassium phosphate, and potassium hydrogen phosphate against Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3 were determined by agar diffusion assay. Thiabendazole and sodium hypochlorite were most effective against Ca-1, ca-2 and Ca-s-3.

○ Total number of microorganism and the spore number of fungi were decreased in the carrots, which were dipped in 2% thiabendazole solution for 10 seconds in compared to control carrots, which were not treated with that solution.

○ The best conditions for ultrasonication of chitosan were 2h ultrasonication of 250 ml of 2% chitosan solution.

○ Viscosity and molecular weight of ultrasonicated 2% chitosan were 57 CPS and 50,000, respectively.

○ Antimicrobial activities against Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3 were determined for 2% ultrasonicated chitosan solution added with thiabendazole, sodium hypochlorite and potassium sorbate in different concentrations. 2% ultrasonicated chitosan solution added with 0.5% potassium sorbate was most effective on the growth inhibition of Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3.

○ Antimicrobial activities against Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3 were determined for 2% ultrasonicated chitosan solution added with PEG 400. 2% ultrasonicated chitosan solution added with PEG 400 in the ratio of 4 : 1 was most effective on the growth inhibition of Ca-1. In case of Ca-2 and Ca-s-3, 2% ultrasonicated chitosan solution added with PEG 400 in the ration of 2 : 1 was most effective.

○ Antimicrobial activities against Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3 were determined for 2% ultrasonicated chitosan solution added with lauric acid and potassium sorbate in different concentrations. 2% ultrasonicated chitosan solution added with 1% lauric acid and 0.5% potassium sorbate was most effective on the growth inhibition of Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3.

○ It was investigated about antimicrobial activity of chitosan monomer, glucosamine against Ca-2. The growth of Ca-2 on the PDA added with glucosamine was not inhibited in compared to that on the PDA without glucosamine.

○ Morphological character of Ca-2 treated with ultrasonicated chitosan added with potassium sorbate was examined by electron microscopy. Swelling of spore and irreglular morphological character were examined.

CONTENTS

Chapter I Introduction

Section 1 Background and objectives

Section 2 Scope of research development

Chapter II Inland and abroad technology background

Chapter III Research results

Section 1 Long-term storage and development of new washing and packaging methods for carrot

1. Introduction

2. Materials and methods

1) Samples and experiment treatment

2) Analysis and cloning of microorganism

3. Results and discussion

Section 2 Development of antimicrobial ultrasonicated chitosan coating materials for long-term storage in carrot

1. Introduction

2. Materials and methods

3. Results and discussion

Chapter IV. Achievement and contribution

Chapter V. Apply plan of acquired research results

Chapter VI. International research information

Chapter VI References

목 차

- 제 1 장 연구개발과제의 개요
 - 제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성
 - 제 2 절 연구개발의 범위
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과
 - 제 1 절 당근의 장기저장 기술과 세척 및 포장기술 개발
 - 1. 서론
 - 2. 재료 및 방법
 - 가. 시료 및 실험처리
 - 나. 분석방법과 미생물의 순수분리 및 균주 동정
 - 3. 결과 및 고찰
 - 가. 당근의 수확 후 생리적, 병리적 특성 및 적정 저장온도와 습도조건 구명
 - 나. 당근에 적합한 소포장 및 적정 MA 조건 구명
 - 다. 당근의 항균성 세척처리 및 코팅피막제 처리기술 개발
 - 라. 선발된 당근 포장지별 최적 active MA 조건 구명
 - 마. 분자량별 chitosan 및 lauric acid 농도 처리별 당근의 저장력 조사
 - 바. 당근의 장기저장을 위한 현지 실증연구(성산농협)
 - 제 2 절 당근의 장기저장, 유통에 적합한 항균성 피막 코팅제의 개발(위탁과제)
 - 1. 서론
 - 2. 재료 및 방법
 - 3. 결과 및 고찰
 - 가. 당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정
 - 나. 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성 조사
 - 다. 분자량별 chitosan 코팅제의 제조 및 항균력 조사
 - 라. 당근에 적합한 chitosan 코팅제의 제조기술 개발
 - 마. Chitosan-laurate의 합성 및 제막 및 항균활성 조사
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발결과의 활용계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 기술적 측면

○ 제주도의 월동당근은 겨울을 노지에서 보내고 이듬해 1~3월에 출하됨. 제주지역 노지월동 당근의 재배면적이 전국 당근 재배면적의 약 50%를 점유. 3월에 제주산 당근의 점유비율은 가락동 도매시장 총 반입량의 95% 정도로 추정됨.

○ 육지산 당근이 출하되기 전인 4월 초부터 5월 중순까지의 출하를 위하여 1~2월 사이에 수확과 동시에 일부 저장되어 5월까지 출하되고 있음.

○ 봄당근이 출하되는 시기는 7월 이후로써, 5월 하순부터 7월까지 2개월 정도의 공백기간 발생하므로 이 기간 동안 고품질 당근의 유통을 위한 저장기술 개발이 필수적임.

○ 봄당근의 경우, 당근이 생산되는 시기에 기온이 높아 수확과 동시에 품질열화가 쉽게 발생하고 다른 지방에서 생산되는 당근과의 경쟁도 피할 수 없는 상황이므로 따라서 월동 당근의 장기저장법 개발을 통해서만 경쟁력을 제고할 수 있음.

○ 현지에서는 흙당근 상태로 저장고에 입고하였다가 일손이 한가한 시점(저장중간)에 세척한 뒤 포장하여 저장하는 형태로, 부패율이 매우 높아 저장성이 2개월을 넘지 못함.

○ 제주 성산농협외의 경우, 당근을 흙이 묻은 채 망사에 담아 출하하는 기존의 흙당근 유통방식을 지양하고, 당근을 세척하여 유통함으로써 대도시 소비자들에게 큰 호응을 얻음.

○ 당근을 수확한 후 저장 유통시에는 토양에서 오염된 부패균 (Gray mold {*Botrytis rot*}, Watery rot {*Sclerotinia rot*}, Bacterial soft rot {*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*})을 제거하는 것이 중요한데, 현재 지하수만을 사용한 단순 세척법이 사용되고 있으며 매년 6월 이후 약 50%에 가까운 감모율로 인하여 커다란 매출 손실의 원인임. 따라서 인체에 무해하며, 살균 및 품질보전에 효과가 높은 세척제의 개발이 시급한 실정임.

○ 당근을 저온 저장고내 아무 처리 없이 저장 할 경우 약 15일 이내에 건조에 의한 중량 감소 및 과피 쪼개짐 현상이 10% 이상 발생하며, 장기저장 시 부패에 의한 경제적 손실이 막대하게 발생하고 있음. 따라서 장기 저장 중 중량감소 및 부패를 방지할 수 있는 경제적인 포장법 및 피막제의 개발이 시급함.

○ 10kg, 20kg 등으로 한정된 현재의 당근 포장실태로는 소포장을 원하는 소비자들의 달라진 구매욕구를 충족시키지 못하고 있으며, 일부 시작단계에 있는 소포장 형태를 소비자의 기호에 맞는 보다 다양하고 기능적인 포장법으로 개선할 필요가 절실히 요구됨

○ 항공 필름 소재로 이용되는 키토산의 기능적 특성은 키토산의 분자량에 크게 영향을 받기 때문에 키틴에서 생산되는 고분자량 키토산을 용도에 따라 특정 분자량으로 조절하는 방법으로 산, 알칼리 분해 또는 효소에 의한 분해방법이 사용되고 있음.

○ 그 중 산, 알칼리 분해방법은 환경문제를 유발시키고, 효소분해 방법은 수율이 낮고 분자량별 분리가 어려운 단점을 가지고 있어 실제로 산업체에 적용되고 있지 못하기 때문에 환경문제를 초래하지 않으며 수율이 높은 효율적인 분해 방법의 개발이 요구되고 있음.

○ 키토산 필름은 많은 탄수화물 고분자 필름들과 같이 가스의 선택적 투과도는 높지만 농산물의 증산적용에 의해 발생하는 수분이 쉽게 투과되어 수분 손실이 많고 필름의 표면이 뿌옇게 흐려지는 현상이 나타남. 따라서 이를 보완할 수 있는 기능성 소재의 개발이 시급함. 따라서 소수성을 나타내는 지방산의 Lauric acid를 도입하여 키토산 유도체를 합성하여 MA상태를 유지할 수 있는 기능성 소재를 개발할 수 있을 것임.

○ 현재까지 당근의 수확 후 선도유지를 위하여 일부 연구기관을 중심으로 실험적 차원에서 수냉 처리, 키토산을 이용한 피막제 처리, PE 필름 포장연구, 절단당근에서의 PE 필름 포장에 관한 부분적 연구가 수행된 바 있음.

○ 효과적이라고 보고된 수확 후 처리 및 조건들도 실제로 현장에서 적용되지 못하고 있는 실정임. 따라서 제주 당근의 고품질 유통을 위한 세척과 피막제 개발, 소포장 및 장기 저장 기술 개발과 같은 일련의 종합적 수확 후 관리기술의 연결된 시스템 구축이 필수적임.

2. 경제·산업적 측면

○ 현재 제주 생산 지역내에서만 당근 30,000톤 중 3,000톤을 세척하여 유통시키고 있으며, 흙당근에서 세척당근으로 유통전환 했을 때 약 3배의 판매가격 상승효과를 얻을 수 있음.

구분 품목별	단위	수량	매입원가 (원물대+ 작업비용+ 출하비용)		예상판매대금		예상순수익
			단가(원)	금액(원)	단가(원)	금액(원)	
세척당근	10kg 상자	331상자	6,473	2,144,040	6,800	2,252,160	108,120
흙당근	20kg 상자	87상자	10,279	900,508	10,500	919,800	19,292

○ 제주도에서 현재 4~5월까지 저장되는 당근을 2개월 연장시켰을 때 성산, 표선, 구좌 등 주변지역에서 30~40억원의 부가가치 창출이 가능함.

○ 피막제, 소포장 및 장기 저장 기술개발은 기술 그 자체로 귀중한 산업적 자원이 될 뿐 아니라 전국적으로 기술보급 시 홍수출하 방지를 통한 가격 안정화 및 계획적인 상품의 수급조절로 큰 경제적 파급효과를 기대할 수 있음.

○ 현재 진행되고 있는 제주산 무공해 청정 당근의 일본지역 수출의 활성화를 위해서는 세척, 포장 등의 당근 출하기술 개선이 시급한 것으로 확인됨.

3. 사회·문화적 측면

○ 제주당근의 브랜드로 년중 유통 가능하며, 새로운 저장 및 유통기술의 개발은 당근의 품질고급화를 가져와 국내 소비자의 인식변화에 따른 수요의 저변확대에 기여함.

○ 당근의 선도유지 기술 개발은 기타 많은 작물에 응용되어 국내 저장 유통산업의 경쟁력 강화에 이바지 할 수 있음.

○ 당근의 수확 후 유통관리 기술을 체계화함으로써 상품의 품질향상을 도모하여 농가 수입을 증대할 수 있음.

제 2 절 연구개발의 범위

당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정하여 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성과 초음파에 의한 chitosan 분해 양상을 조사하고 분자량별 chitosan 코팅제를 제조하며, chitosan-laurate의 합성, 제막 및 항균활성 조사한 뒤 당근에 적합한 chitosan-항균제 함유 코팅제 제조한다. 또한 당근의 수확 후 생리적, 병리적 특성을 조사하고, 장기저장에 적합한 적정 저장온도와 습도조건, 당근에 적합한 적정 MA 조건, 당근의 항균성 세척처리기술, 당근 유통에 적합한 소포장 기술, 당근의 항균성 코팅피막제 처리기술 등을 개발하는 것이 연구범위이다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내기술현황

당근을 이용한 지금까지의 국내 연구 결과들은 수냉처리와 키토산 그리고 세척 후 PE 필름 포장 연구들이고 당근의 장기저장 수명 연장을 위한 연구가 아니라 대부분 단기저장이나 유통조건 조건에서의 연구결과였다. 또한 효과적이라고 보고된 수확 후 처리 및 조건들도 부분적으로 실용화되어 왔다.

냉수냉각에 위한 당근 저장 중 품질변화에 관한 연구는 한국식품연구원에서 연구하여 직접 설계한 냉각조, 침지조 및 살수조를 갖춘 냉수냉각 시스템에서 수냉각에 의한 냉각 특성 실험을 함으로써 향후 시스템 제작에 필요한 기초자료를 제공하였고, 키토산 처리에 의한 당근의 유통기간 연장연구를 아주대에서 수행하였으며, 원예연구소에서는 유공 및 무공 필름에 포장 후 저온저장 할 경우 이에 따른 품질변화를 밝히기 위하여 수확 후 지하수 세척에 의한 저장 중 부패를 감소시키고 PE 필름포장에 의한 수분손실률을 조사한 바 있다. 또한 외식산업에 사용되는 채소로서 절단 당근, 절단오이, 절단마늘, 풋고추로 구성된 혼합채소의 호흡특성을 측정하고 이를 PE 필름의 투과성과 결합시켜 혼합채소의 단위로 연구를 수행하였다.

제 2 절 국외기술현황

미국과 유럽에서는 농산물에 대한 안전성 인증 (예, clean carrot) 으로 소비자의 호평을 얻을 수 있고, 당근의 장기저장법 개발로 인하여 홍수출하를 막고 계절별 분산출하하고 있으

며, 관행에서 탈피하여 소비자의 믿음을 살 수 있는 규격화된 소포장, 규격농산물 생산에 주력하고 있다.

제 3 절 국내기술의 취약성

○ 아직까지 당근의 장기저장(저장 6-7개월) 및 유통기술이 개발되지 못하여 실제로 현장에서 적용되지 못하고 있는 실정임. 또한 당근의 관행적인 저장온도인 3~4℃와 비교적 낮은 상대습도 조건에서 저장되므로 당근의 최대 저장수명기간이 구명되지 못함

○ 현재까지 당근세척을 위해 지하수만을 이용한 단순 세척법이 사용되고 있음. 따라서 인체에 무해하며, 살균 및 품질보전에 효과가 높은 세척제의 개발이 시급한 실정임.

○ 당근의 장기저장 시 중량감소 및 부패를 방지할 수 있는 경제적인 포장법 및 피막제의 개발이 시급함.

○ 고분자량 키토산을 용도에 따라 특정 분자량 키토산으로 조절하는 방법으로는 산. 알칼리 분해 또는 효소에 의한 분해방법이 사용되고 있는데 그 중 산. 알칼리 분해방법은 환경문제를 유발시키고, 효소분해 방법은 수율이 낮고 분자량별 분리가 어려운 단점을 가지고 있음.

○ 키토산 필름은 농산물의 증산작용에 의해 발생하는 수분이 쉽게 투과되어 수분 손실이 많고 필름의 표면이 뿌옇게 흐려지는 현상이 나타남. 따라서 이를 개선할 수 있는 기능성 소재의 개발이 필요함.

○ 소비자의 기호에 맞는 소포장 방법의 개발 및 신선상태 유지를 위한 포장방법에 대한 연구가 시급히 필요함.

○ 제주 당근의 고품질 유통을 위한 세척과 피막제 개발, 소포장 및 장기 저장 기술 개발과 같은 일련의 종합적 수확 후 관리기술의 연결된 시스템 구축이 필수적임.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 당근의 장기저장 기술과 세척 및 포장기술 개발

1. 서 론

본 연구에서는 당근의 수확 후 생리적, 병리적 특성을 조사하고, 장기저장에 적합한 적정 저장온도와 습도조건, 당근에 적합한 적정 MA 조건, 당근의 항균성 세척처리기술, 당근 유통에 적합한 소포장 기술, 당근의 항균성 코팅피막제 처리기술 등을 개발하여 제주 당근의 상품성을 향상시키는 데 목적이 있다.

2. 재료 및 방법

가. 실험처리 및 분석방법

1) 실험재료

제주 흙당근과 세척당근(*Daucus carota* L.)은 제주 성산농협 관내에서 수확하였으며 수확 즉시 대학 실험실로 수송하여 건전시료(sound sample)와 상처시료(injured sample)를 분리한 뒤 크기가 일률적으로 비슷한 건전시료를 실험에 사용하였다.

2) 실험처리

가) 당근의 수확 후 생리적, 병리적 특성 및 적정 저장온도와 습도조건 구명

제주에서 수확된 흙당근과 세척당근을 선별한 뒤 0.03mm LDPE 필름, PEPP 필름, PE (바깥, 25 μ m, 방담 12.5%)+PP(안쪽, 25 μ m, 방담 12.5%)으로 포장하여 대조구인 무포장과 생리적, 병리적 특성을 저장동안 조사하였으며 이 때 저장온도는 0 $^{\circ}$ C ~ 0.5 $^{\circ}$ C였다.

나) 당근에 적합한 소포장 및 적정 MA 조건 구명

흙당근과 세척당근을 이용하여 500g과 1kg단위로 포장하였으며, active MA 처리(적정 가스농도 및 처리시간, active MA를 위한 효과적인 포장재 탐색)를 위하여 대조구(무처리), 0% CO₂ + 21% O₂ + N₂ balance, 1% CO₂ + 1% O₂ + N₂ balance, 5% CO₂ + 3% O₂ + N₂ balance 처리를 하였다. 또한 당근에 적합한 포장재의 선택을 위하여 0.03mm와

0.05mm LDPE 필름, PEPP 필름; PE(바깥, 25 μ m, 방담12.5%) + PP(안쪽, 25 μ m, 방담 12.5%), PP film(50 μ m, 방담 12.5%), CDF + BOPP film; CDF(안쪽, 30 μ m, 방담 5%) + BOPP(바깥, 20 μ m, 방담 5%) 등의 포장재를 실험에 사용하였다. 저장온도는 0.5 $^{\circ}$ C였다.

다) 당근의 항균성 세척처리 및 코팅피막제 처리기술 개발

- 1) 온도 : 저장온도(-0.5 $^{\circ}$ C와 3 $^{\circ}$ C)
- 2) 가식성 코팅제 처리 (적정 코팅제 종류, 코팅 농도, 코팅법 구명)
 - 코팅제: 키토산 분자량 별로 10CPS, 50CPS, 100CPS 처리
 - 코팅 농도: 1.5%로 희석해서 사용
 - 코팅시간: 60초
- 3) 세척제 처리
 - 세척제: 2% thiabendazole in 80% DMF, 5% sodium hypo-chlorite, 5% Na₂CO₃, 5% Potassium-sorbate, 5% KH₂PO₄ + 5% NaHCO₃, 5% K₂HPO₄, 2% chitosan in 2% HAC
 - 세척시간: 15초
- 4) 세척제 처리한 후 코팅처리
 - 세척제: 2% thiabendazole in 80% DMF, 5% sodium hypo-chlorite, 5% Na₂CO₃, 5% Potassium-sorbate, 5% KH₂PO₄+5% NaHCO₃, 5% K₂HPO₄, 2% chitosan in 2% HAC 처리
 - 세척 농도: 10%로 희석해서 사용
 - 세척 시간: 15초
 - 코팅제: 키토산 분자량 별로 10CPS, 50CPS, 100CPS 처리
 - 코팅 농도: 1.5배로 희석
 - 코팅 시간: 60초

라) 선발된 당근 포장지별 최적 active MA 조건 구명

전년도 연구에서 효과적으로 밝혀진 포장재료인 LDPE 0.03mm와 0.05mm, 그리고 0.05mm CDF + BOPP film; CDF(안쪽, 30 μ m, 방담 5%) + BOPP(바깥, 20 μ m, 방담 5%)의 포장재에 0% CO₂ + 21% O₂, 5% CO₂ + 3% O₂, 10% CO₂ + 3% O₂ 가스처리를 하였고 대조구인 무포장과 그 효과를 비교하였다. 가스처리는 포장초기 1회 각각 주입하였다. 실험재료는 500g, 1kg, 2kg 단위로 포장되었고, 흙당근의 세척제로 NaOCL 50ppm, NaOCL 100ppm, NaOCL 200ppm 및 대조구로 수돗물을 사용하였다. 처리된 당근은 저장온도 0.5 $^{\circ}$ C에 5개월 동안 저장되었고 저장 중 4회 품질분석을 수행하였다.

마) 분자량별 chitosan 및 lauric acid 농도 처리별 당근의 저장력 조사

위탁과제팀(순천향대)에서 개발한 항균제를 농도별로 첨가한 chitosan-laurate film을 합성하여 항균력을 조사하였다. 필름의 제조는 Potassium sorbate, thiabendazole, sodium

hypochlorite 등 기존의 항균보존제를 함유한 키토산 용액에 laurate를 0.5%, 1% 농도로 첨가하여 chitosan-laurate film을 합성하였다. 또한 0.5% acetic acid 에 chitosan이 최종 농도가 2%(w/v) 되도록 용해한 후 초음파 처리하고 Whatman No.4 filter로 여과하여 불용성 물질을 제거하였다. 여과된 chitosan 용액에 PEG(Poly Ethylene Glycol 400)을 chitosan total weight에 여러 가지 비율로 첨가하여 잘 혼합시켜 전체적으로 충분히 균질화시켰다. 잘 교반된 chitosan solution을 유리판에 기포가 생기지 않도록 잘 부어 실온에서 3일간 건조기를 이용하여 건조시킨 후 60°C에서 24시간 건조시켜 실험용 필름으로 사용하였다.

본 연구에 사용된 항균성 피막코팅제의 구성성분은 다음과 같이 제조되었다;

- 1) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid : PEG 400 = 1 : 1
- 2) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid : PEG 400 = 1 : 2
- 3) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid : PEG 400 = 2 : 1
- 4) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid : PEG 400 = 4 : 1
- 5) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.1% potassium sorbate
- 6) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate
- 7) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.03% thiabendazole
- 8) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.3 % thiabendazole
- 9) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid
- 10) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% lauric acid + 1% Triton X-100
- 11) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 1.0% lauric acid + 1% Triton X-100
- 12) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.1% potassium sorbate
+ 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100
- 13) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.1% potassium sorbate
+ 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100
- 14) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate
+ 0.5% lauric acid +10% Triton X-100
- 15) 초음파처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate
+ 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100
- 16) 수돗물(대조구)

저온저장 중 chitosan-laurate film이 당근의 신선도유지에 미치는 효과를 구명하기 위하여 당근을 세절한 뒤 농도별로 10초 동안 침지 처리하였으며, 10°C 온도에서 3주간 저장하

면서 품질을 조사하였다.

바) 당근의 장기저장을 위한 현지 실증연구(성산농협)

① 흙당근과 세척당근의 유통품질비교 (1차년도)

흙당근과 세척당근을 적재하여 무포장, 0.03mm LDPE 필름과 PEPP 필름 (상명대와 동일)으로 포장하여 0.5℃에 저장하였다.

② 흙당근을 5% sodium hypochlorite에 세척 후 지하수로 세척한 대조구와 저온저장 중 품질비교 (2차년도)

3) 분석방법

무게감량 : 저장전 과실의 중량을 기준으로 저장 후 감소된 무게를 백분율(%)로 환산하여 표시하였다.

경도(Firmness) : 과실경도계(Atago 5kg, Japan)를 사용하여 방울토마토의 최대 크기에 이르는 중앙 부위를 과피를 관통할 때 측정되는 최대값을 택하였으며 이 때 diameter가 0.8mm인 원형의 관통침(plunger)을 사용하였다. 위탁과제에서의 경도측정은 Texture analyser(TA-XT2, Stable Micro System, Haslemere, England)가 사용하였고 측정 조건은 5mm인 probe를 이용하여 깊이 10mm 까지 test speed 5.0mm/s의 속도로 관입시킬 때 얻어지는 최대 값을 측정하고 이를 경도로 표시하였다.

수용성 고형분(당도) : 방울토마토의 과육을 blender로 파쇄한 다음 얻은 상등액을 과즙으로 당도계 (Hand Refractometer, Atago, Japan)를 이용하여 측정하였으며 당도의 표시는 °Brix로 나타내었다.

색도 : 과피의 색도 측정은 Chromameter(CR-200, Minolta, Japan)을 사용하였으며 표준광원 상태에서 방울토마토의 b값을 측정하였다.

pH 측정 : 시료의 pH 측정은 10g의 방울토마토의 과육에 증류수 10ml을 첨가하여 blender로 파쇄한 후 고형물을 pH meter로 3회 반복 측정하였다.

호흡률 : 각 처리별로 3개체를 선별하여 7L 부피의 아크릴 용기에 옮겨 24시간 동안 밀폐하였다. 이때 생성된 이산화탄소를 용기의 상단으로부터 1ml씩 취하여 gas

chromatography (TCD, SHIMADZU model 8APF)를 이용하여 분석하였다.

외부에틸렌, 아세트알데히드, 에탄올발생량 : 호흡 측정을 위한 시료 채취 1시간 경과 후 아크릴 용기의 상단으로부터 1ml씩 취하여 gas chromatography(FID, SHIMADZU model 17A)를 이용하여 분석하였다. 분석조건으로서 Column은 Chrompack(Varian model, Poraplot Q-HT Plot FS 25x32mm CP7557)을 사용하였으며, detector 온도는 100℃, column 온도는 120℃로 설정하였으며, 운반기체로 헬륨을 사용하였다.

품질평가 : 5명의 panelist가 일정한 시간간격으로 방울토마토의 상품성, 부패율, 열과발생율, 저온장해 등을 아래와 같은 방법으로 평가하였다.

- 부패율 ; 총 개체 중 눈으로 확인 가능한 곰팡이 발생 개체가 차지하는 비율(%)
- 멍아 및 발근율 ; 총 개체 중 눈으로 확인 가능한 멍아 및 발근이 발생한 개체가 차지하는 비율(%)
- 상품성 지수 ; 5단계 지수
(1=very poor, 2=poor, 3=moderate, 4=good, 5=very good)

3. 결과 및 고찰

가. 당근의 수확 후 생리적, 병리적 특성 및 적정 저장온도와 습도조건 구명

세척당근의 수확 후 생리적 특성변화를 조사하기 위하여 호흡율과 에틸렌 발생량을 조사한 결과 에틸렌은 저장기간 동안 검출되지 않았다. 호흡율은 무포장 당근이 저장기간 중 가장 높았던 반면 LDPE 필름(30 μ m) 포장에서 낮게 나타났고 PEPP 필름(50 μ m) 에서 거의 검출되지 않았다. 흙당근에서의 호흡률은 무포장에서 가장 높았고, PEPP 필름 그리고 LDPE에서는 검출되지 않아 세척당근에서의 결과와 다르게 나타났다(Fig. 1, 2).

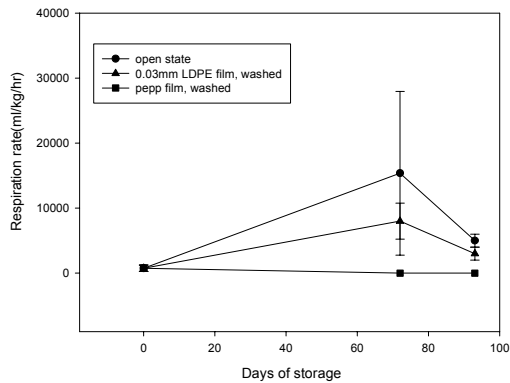


Fig. 1. Effect of pepp film packaging on fruit respiration rate during cold storage(0.5°C) of washed carrot.

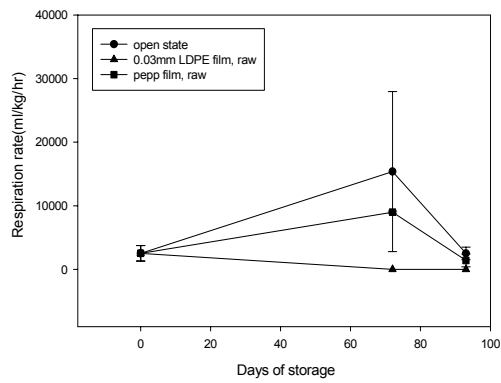


Fig. 2. Effect of pepp film packaging on fruit respiration rate during cold storage(0.5°C) of raw carrot.

흙당근과 세척당근을 성산농협에서 즉시 수확 후 상명대 실험실로 수송하여 처리하였다. 처리 단위는 파레트 단위로 하였고 저온저장 중 흙당근과 세척당근의 적정 처리온도를 설정 하였으며 적정 습도조건 구멍을 위하여 포장조건과 무포장을 처리하였다. 과피의 a의 값은 무포장 세척당근에서 저장 중 가장 높게 나타났고, PEPP 필름(50 μ m) 으로 포장된 흙당근과 세척당근, 그리고 LDPE 필름(30 μ m)으로 포장된 흙당근에서의 a값은 저장 95일 동안 크게 변화하지 않았다(Fig. 3).

저장 중 흙당근과 세척당근의 pH 변화는 지속적으로 증가하는 경향이었고, LDPE로 포장 된 세척당근에서 증가한 반면 PEPP 흙당근에서는 낮게 유지되었으나 그 차이는 크지 않았다(Fig. 4). 흙당근은 저장 60일째 일부 멍아(썩)형성이 되었고 세척당근에서는 발근되는 개체가 조금 확인되었다. 흙당근과 세척당근의 LDPE 필름 포장이 PEPP에서 보다 상품성이 좋았다. PEPP 포장된 당근은 포장 파레트 내 습기 통기성이 낮은 이유로 곰팡이 발생이 확인되었다. 파레트 단위로 포장하는 경우 흙당근 상태로 장기 저장이 가능하였으며 흙당근은 파레트 LDPE 포장이 가장 효과가 좋았다(Fig. 5).

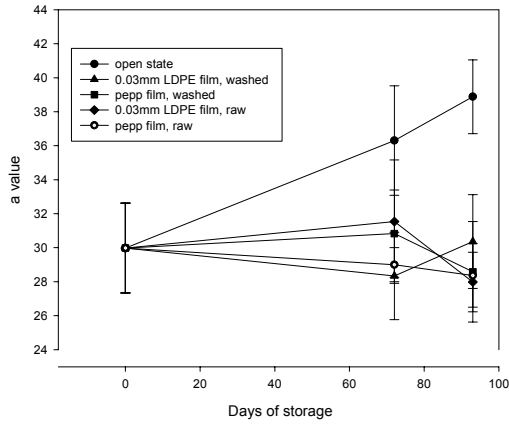


Fig. 3. Effect of pepp film packaging on fruit peel a value during cold storage(0.5°C) of raw and washed carrot.

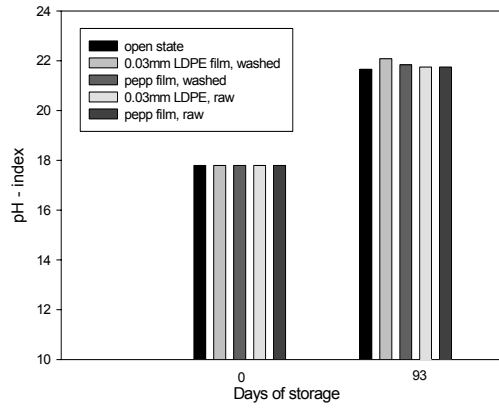


Fig. 4. Effect of pepp film packaging on fruit pH during cold storage(3°C) of raw and washed carrot.

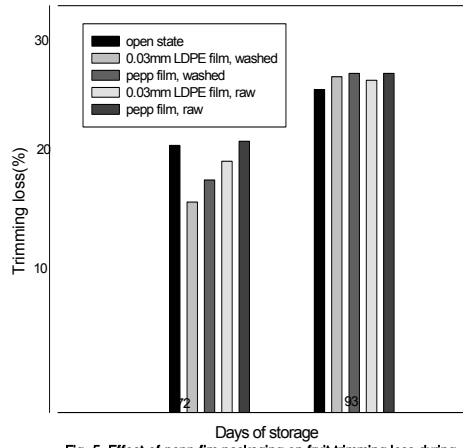


Fig. 5. Effect of pepp film packaging on fruit trimming loss during cold storage(0.5°C) of raw and washed carrot.



사진 1. 0.03mm LDPE 필름과 PEPP 필름으로 포장한 후 저장중인 당근

나. 당근에 적합한 소포장 및 적정 MA 조건 구명

세척당근의 생체중은 무포장에서 저온저장중 감소가 제일 컸고, LDPE 필름(30 μ m, 50 μ m), PEPP 필름(50 μ m), PP 필름(50 μ m), CDF+BOPP 필름(50 μ m)의 혼합가스에 따른 차이는 없었고 밀봉된 상태에서는 생체중 감소가 거의 없었다(Fig. 6, 7, 8).

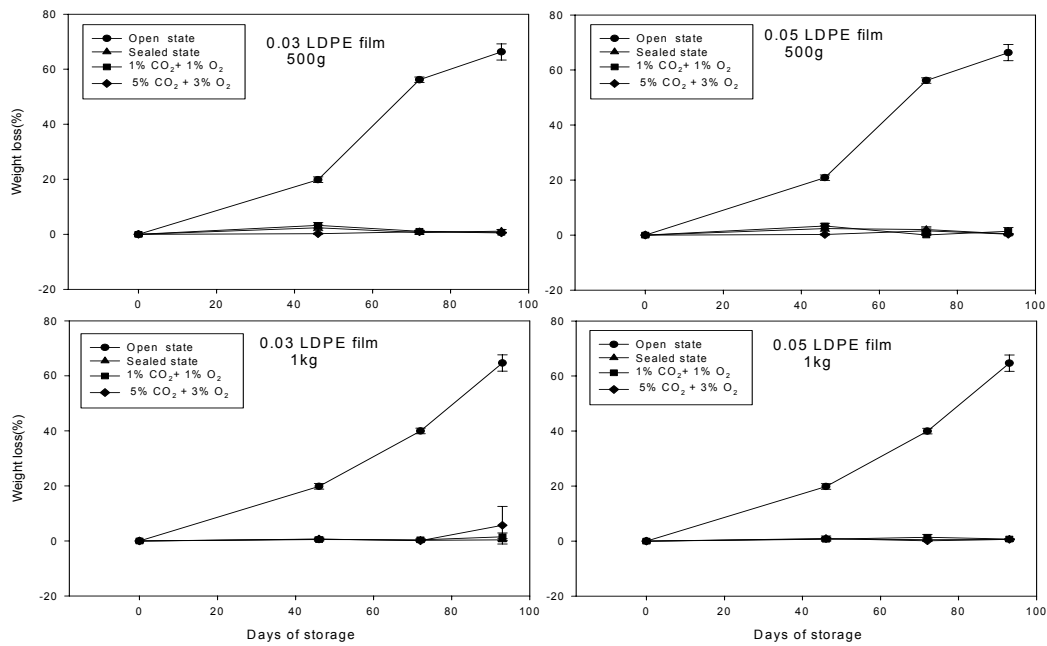


Fig. 6. Effect of active MA treatment within two different packaging sizes on fruit weight loss during cold storage(0.5°C) of carrot.

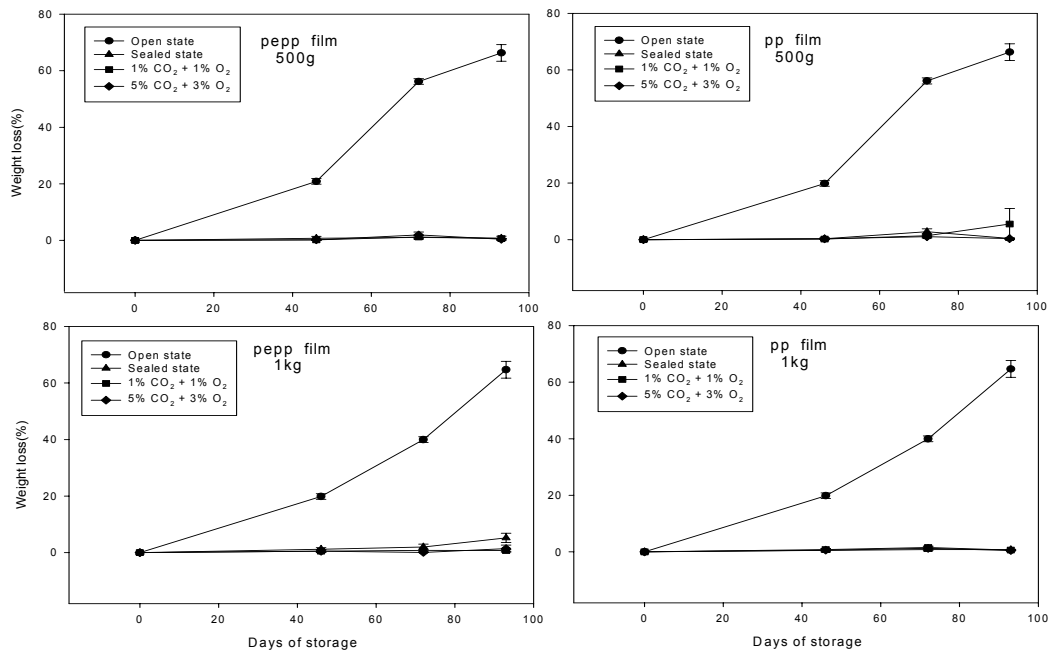


Fig. 7. Effect of active MA treatment within two packaging sizes and different packaging films on fruit weight loss during cold storage(0.5°C) of carrot.

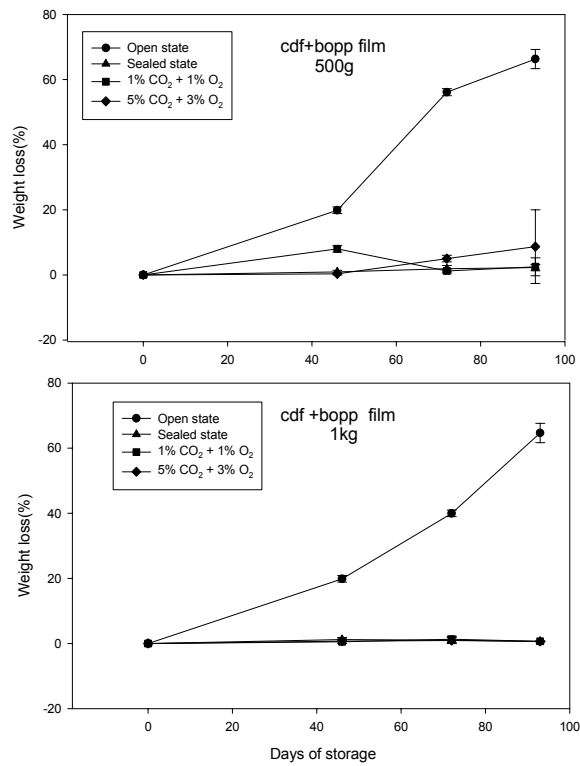


Fig. 8. Effect of active MA treatment and different packaging films on fruit weight loss during cold storage(0.5°C) of carrot.

당근의 저장중 과피 a값은 무포장에서 크게 증가하였고, 포장 단위별 차이는 없었으며 5% CO₂ + 3% O₂의 처리에서 저장 초기와 비슷한 값을 보였다. LDPE필름의 두께에 따른 비교에서도 포장단위에서의 결과와 같은 경향이였다(Fig. 9).

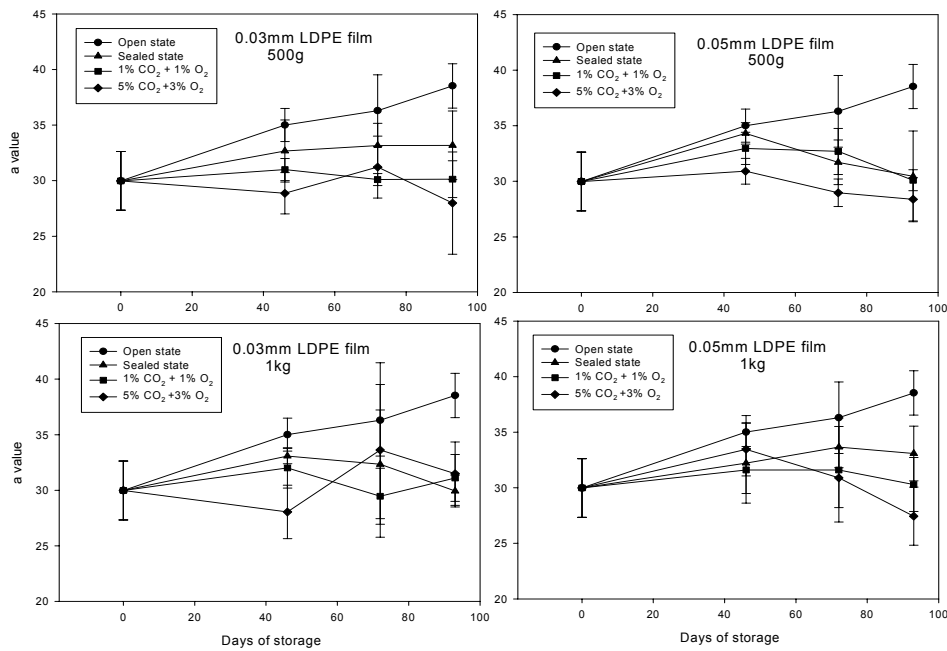


Fig. 9. Effect of active MA treatment within two different packaging sizes on fruit peel a value during cold storage(0.5°C) of carrot.

PEPP와 PP 필름을 이용한 active MA 포장한 결과, 무처리에서 a값이 크게 증가하였고, 5% CO₂ + 3% O₂에서 가장 낮은 값을 유지하였으나 포장단위와는 차이가 없었다. CDF+BOPP 필름에서의 결과도 PEPP와 PP필름에서와 같았다(Fig. 10, 11). LDPE 필름 두께에 따른 당근의 경도 변화는 30µm가 50µm보다 빠르게 나타났고 포장 단위는 1kg에서 컸다. 당근의 경도 유지에 미치는 혼합가스의 효과는 5% CO₂ + 3% O₂처리에서 가장 좋았다(Fig. 12).

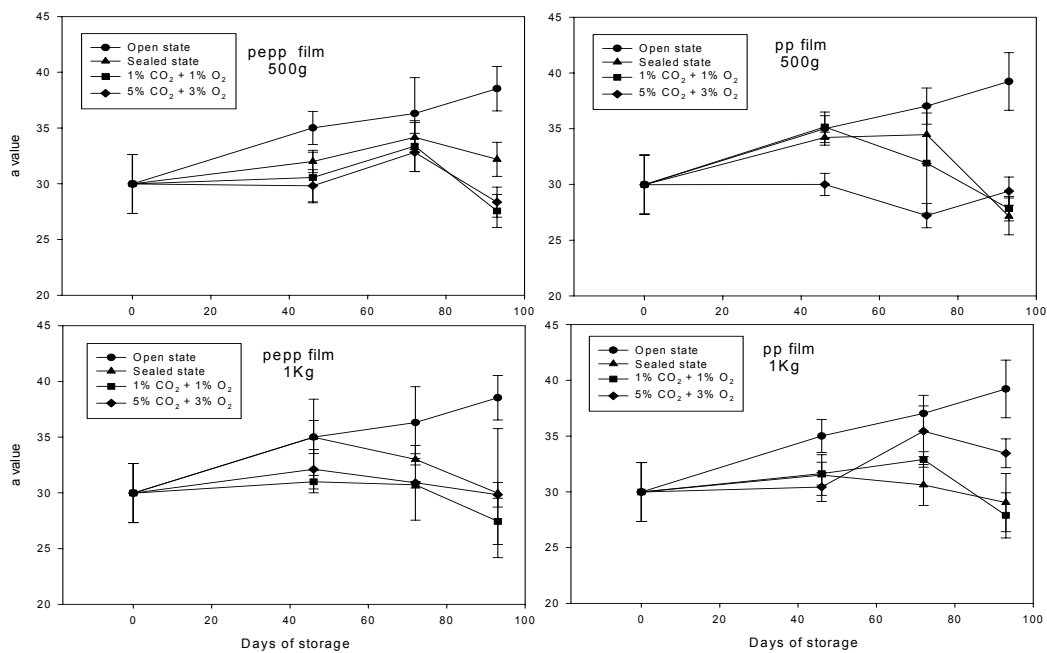


Fig. 10. Effect of active MA treatment within two packaging sizes and different packaging films on fruit peel a value during cold storage(0.5°C) of carro

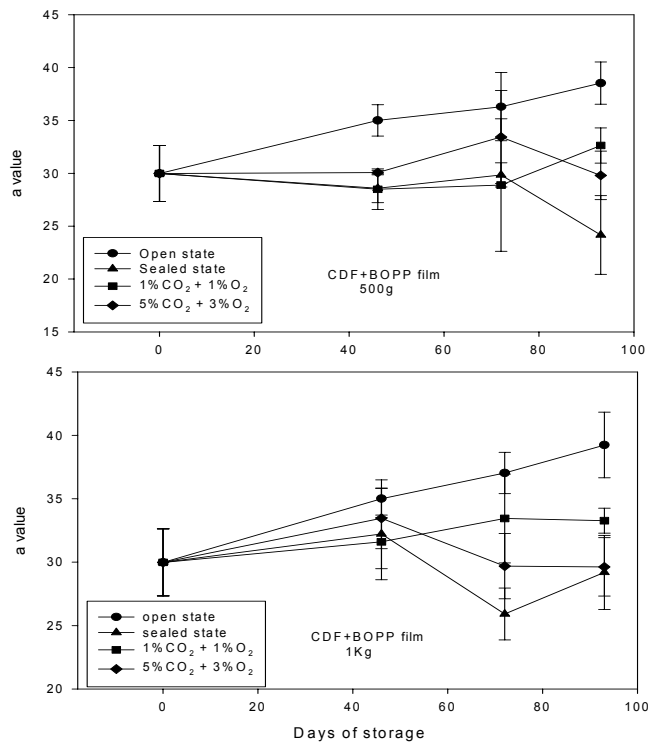


Fig. 11. Effect of active MA tretment and different packaging films on fruit peel a value during cold storage(0.5°C)of carrot.

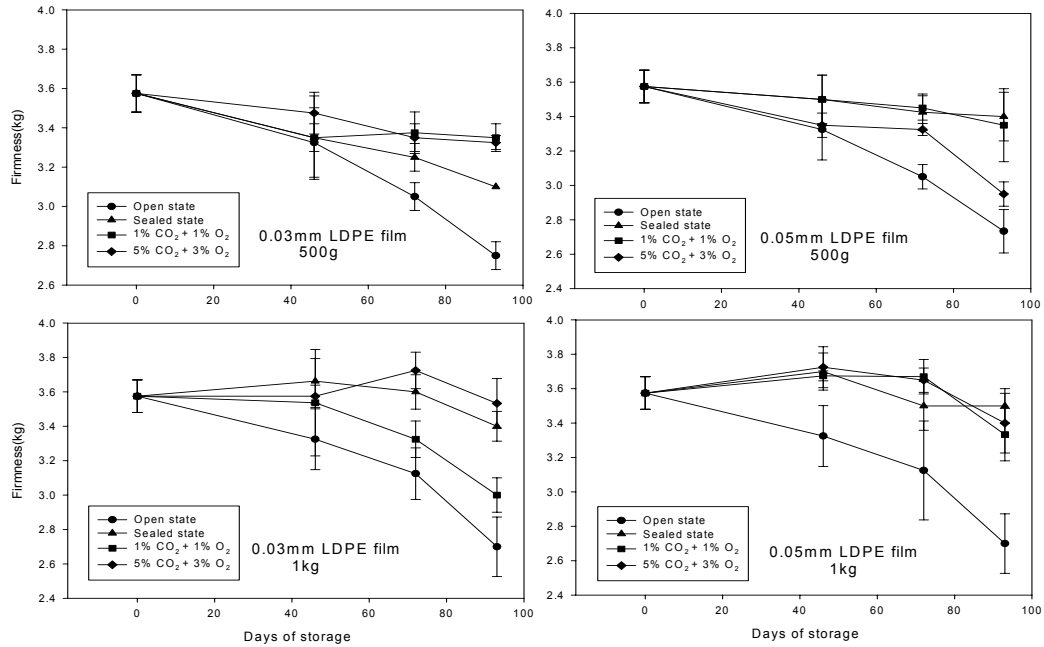


Fig. 12. Effect of active MA treatment within two different packaging sizes on fruit firmness during cold storage(0.5°C) of carrot.

PEPP와 PP 필름포장에 따른 당근의 경도 변화는 PP보다는 PEPP에서 감소가 적었고, 포장 단위는 1kg에서 보다 500g에서 적었으며 혼합가스의 효과는 다른 포장재료와 같이 5% CO₂ + 3% O₂에서 가장 좋았다. CDF+BOPP 필름에서의 결과는 PEPP와 PP 필름에서와 같았다(Fig. 13, 14). 당근의 저온저장 중 pH의 변화는 저장 95일 후 무포장에서 가장 높게 증가한 반면 LDPE 필름의 두께와 포장단위 그리고 혼합가스의 종류에 따라 차이는 거의 없었다(Fig. 15). PEPP와 PP 필름에서의 pH 변화는 당근의 저온 저장 중 무포장에서 가장 높게 증가하였고, 다음은 밀봉포장 순이었다. 두가지 혼합가스 처리로 과육 pH는 저장 중 낮게 유지 되었는데 이들 처리 간 차이는 없었다(Fig. 16). 당근의 pH는 무포장에서 가장 크게 증가하였고, PEPP, PE, CDF+BOPP 필름 내 가스 처리 중 5% CO₂ + 3% O₂처리에서 가장 적었다(Fig. 17).

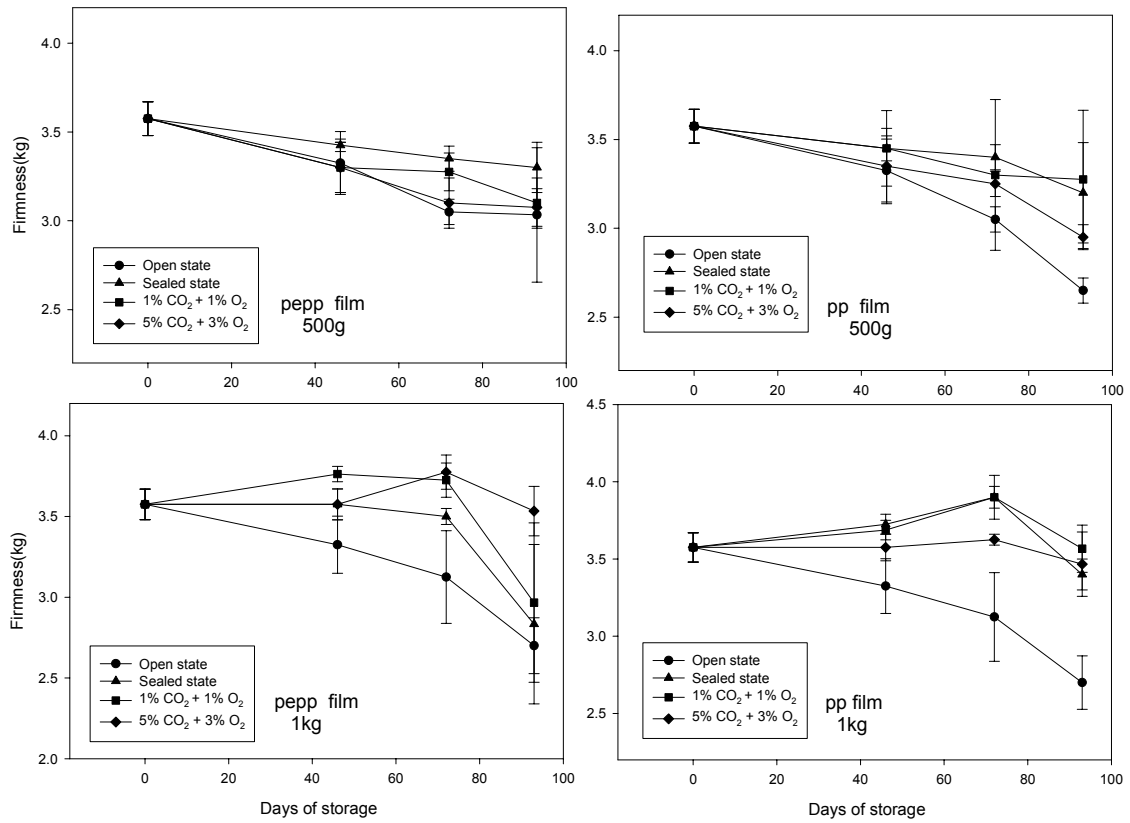


Fig. 13. Effect of active MA treatment within two packaging sizes and different packaging films on fruit firmness during cold storage(0.5°C) of carrot.

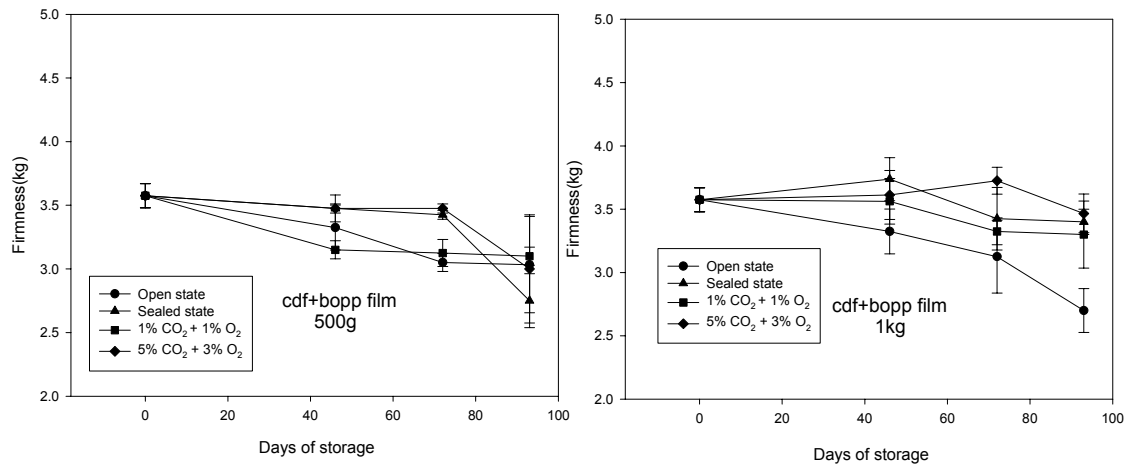


Fig. 14. Effect of active MA treatment and different packaging films on fruit firmness during cold storage(.5°C)of carrot.

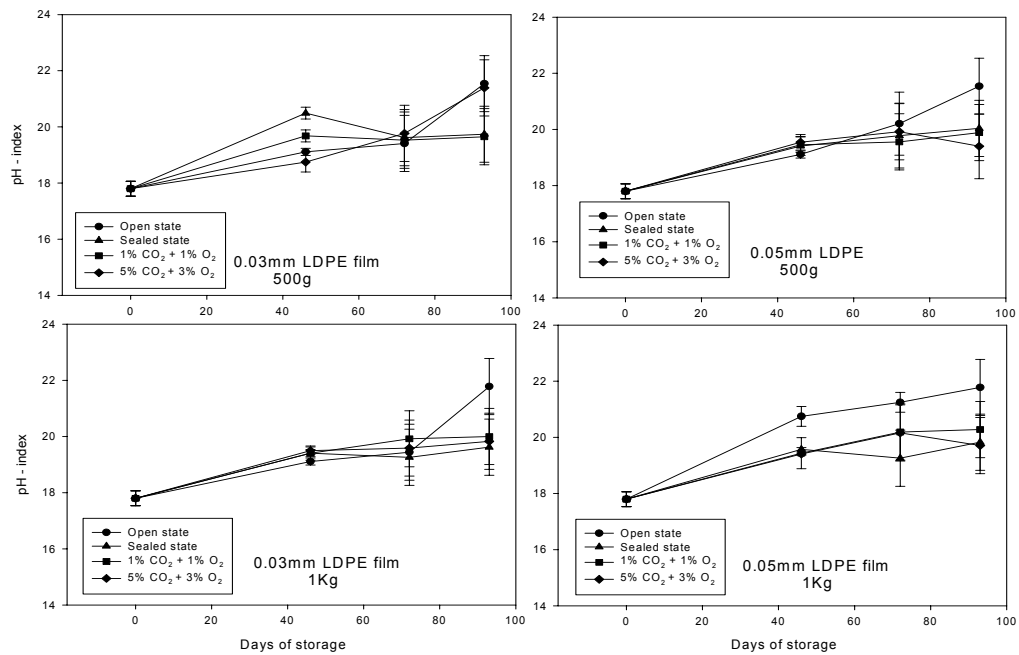


Fig. 15. Effect of active MA treatment within two different packaging sizes on fruit pH during cold storage(0.5°C) of carrot.

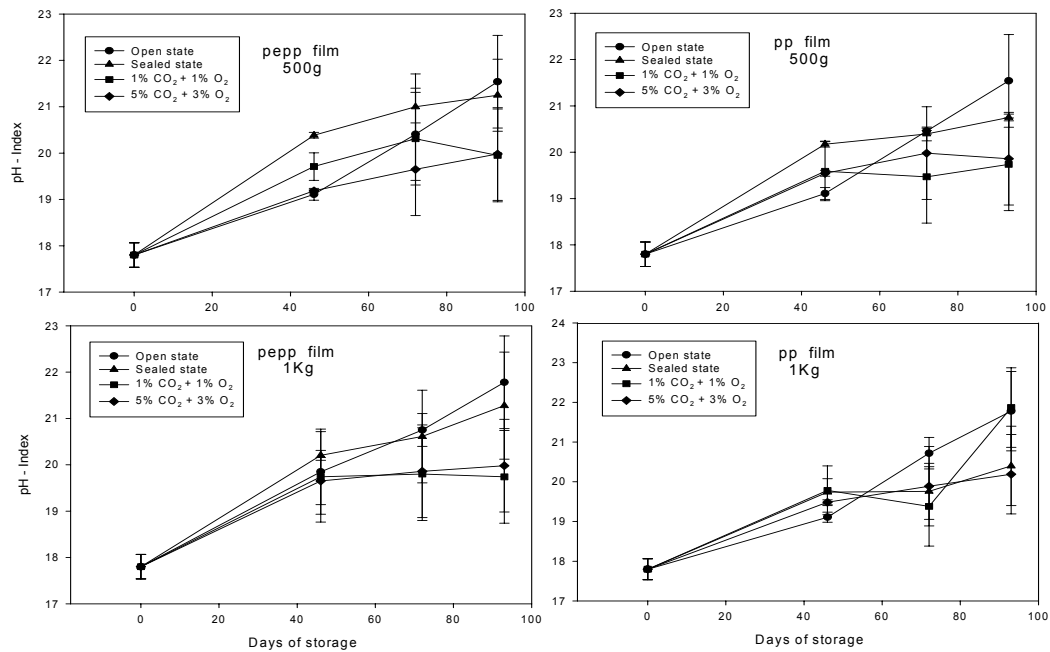


Fig. 16. Effect of active MA treatment within two packaging sizes and different packaging films on fruit pH during cold storage(0.5°C) of carrot.

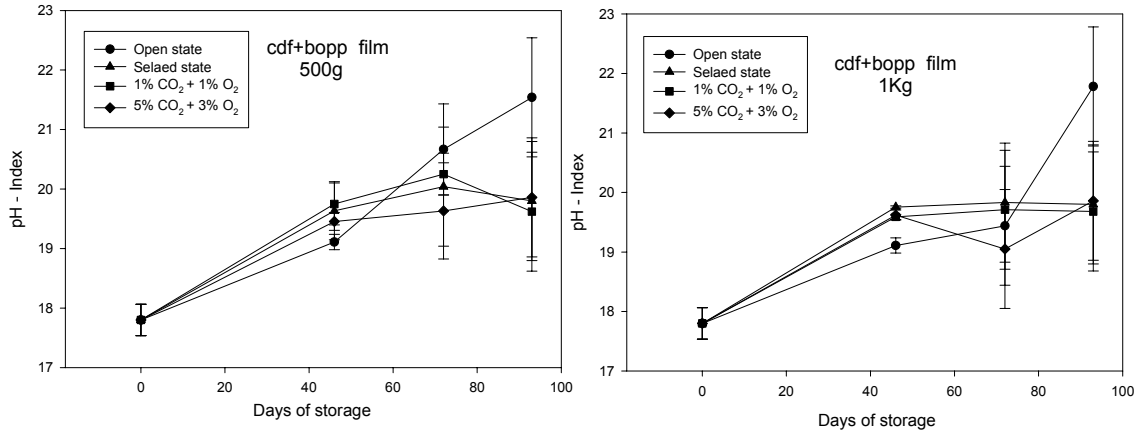


Fig. 17. Effect of active MA treatment different packaging films on fruit pH during cold storage(0.5⁰C) carrot.

당근의 SSC(%)는 무포장에서 가장 크게 증가한 반면 다른 LDPE 포장에서는 포장두께와 포장크기에 상관없이 저장초기와 비슷하게 유지하였고, 혼합가스처리로 SSC함량은 저장 중 낮게 유지되었다(Fig. 18). PEPP, PP, CDF+BOPP 필름 포장내 당근의 SSC(%)는 무포장에서 가장 크게 증가하였고 다른 혼합가스 처리한 비교에서는 차이가 크지 않았다(Fig. 19, 20).

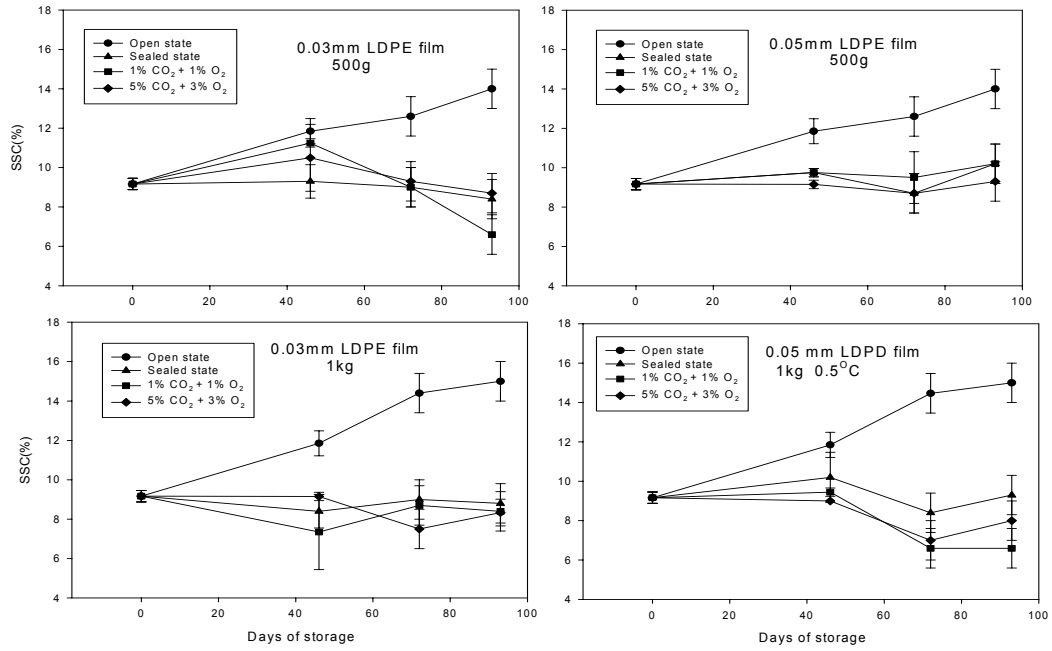


Fig. 18. Effect of active MA treatment within two different packaging sizes on fruit SSC during cold storage(0.5°C) of carrot.

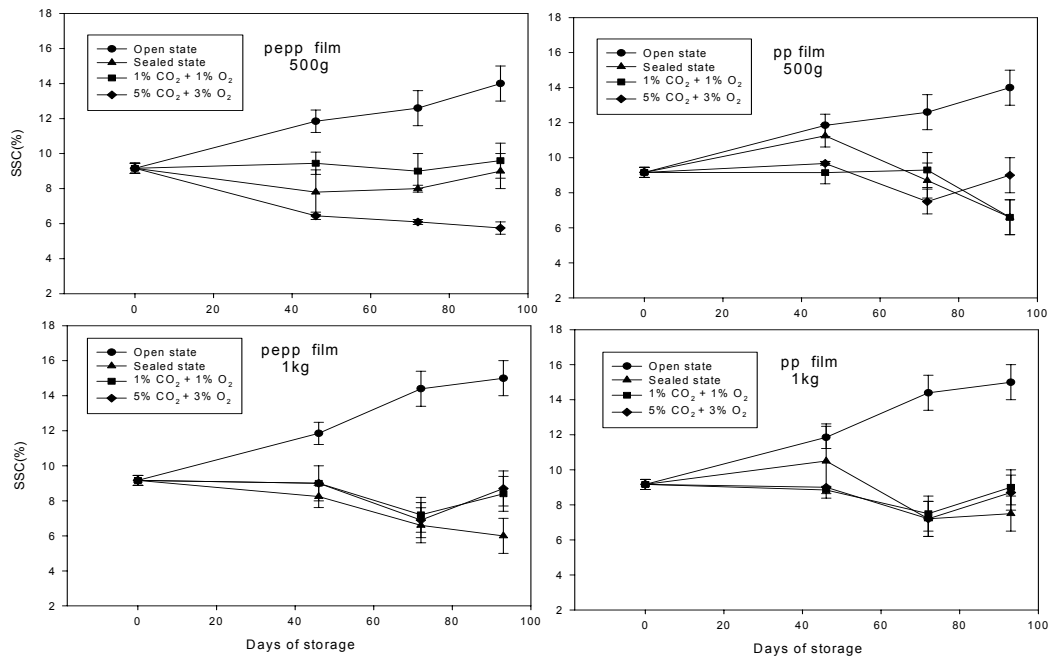


Fig. 19. Effect of active MA treatment within two packaging sizes and different packaging films on fruit SSC during cold storage(0.5°C) of carrot.

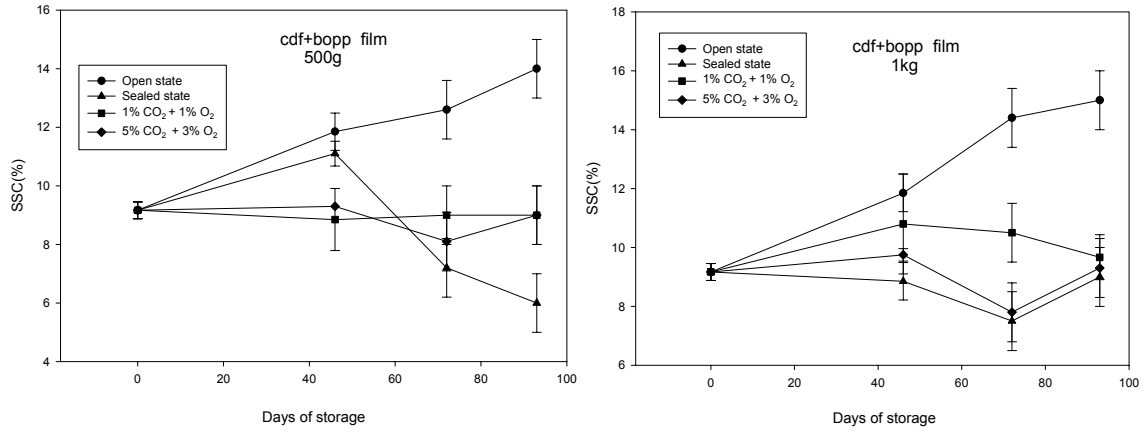


Fig. 20. Effect of active MA treatment and different packaging films on fruit SSC during cold storage (0.5°C) of carrot.

포장 단위 중 1kg단위에서의 호흡률이 500g 단위보다 적게 유지되었고, 30 μ m와 50 μ m LDPE 필름간 차이는 없었으며 또한 혼합가스간 처리의 차이도 미미하였다(Fig. 21). PEPP와 PP 필름에서도 호흡률의 변화는 LDPE 필름에서의 결과와 같았으나 호흡률의 증가는 상대적으로 가장 큰 것으로 확인되었다(Fig. 22). 호흡률은 저장 45일 후까지 측정되지 않다가 저장 75일경 크게 증가하였고, 이후 거의 분석되지 않았다. 500g 포장단위가 1kg에서 보다 높게 나타났고, 무포장에서 호흡률이 가장 컸다. 이와 같은 경향은 다른 포장재료에서도 비슷한 결과였다(Fig. 23).

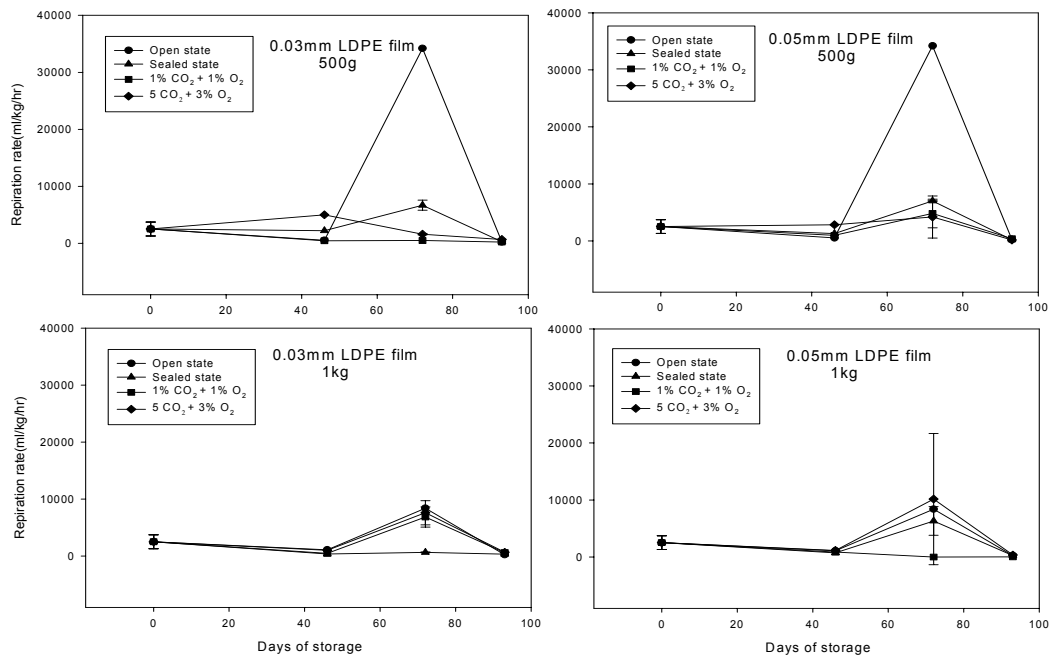


Fig. 21. Effect of active MA treatment within two different packaging sizes on fruit respiration rate during cold storage(0.5°C) of carrot.

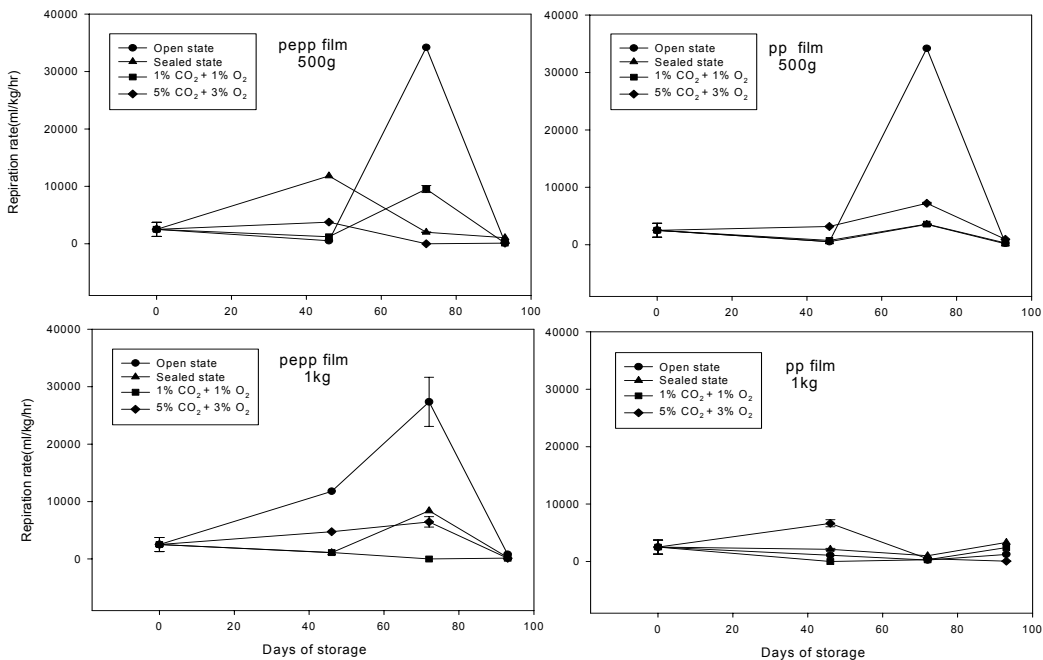


Fig. 22. Effect of active MA treatment within two packaging sizes and different packaging films on fruit respiration rate during cold storage(0.5°C) of carrot.

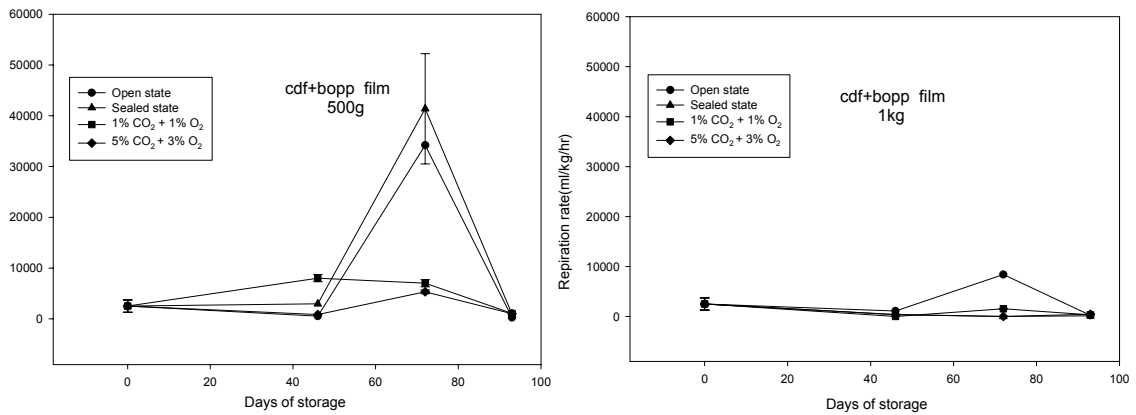


Fig. 23. Effect of active MA treatment and different packaging films on fruit respiration rate during cold storage(0.5°C) of carrot.

포장 재료, 포장 단위, 그리고 active MA에 따른 세척당근의 저장성을 조사한 결과, 500g 단위에서는 LDPE 필름 30 μ m와 50 μ m가 다른 포장재료에 비하여 우수한 품질유지 효과를 나타내었으며 CDF+BOPP 필름도 비슷한 결과였다. 포장 단위가 1kg일 경우 500g에 비하여 저장상이 떨어지는 경향을 보였고, 특히 PEPP 필름과 PP 필름의 대조구에서는 발효와 부패 현상이 확인되었다(Table 1).

표 1. 포장재료, 포장크기, MA 조건에 따른 당근의 저온저장(0.5℃) 중 신선도 연장효과

	Active MA(500g)			Active MA(1kg)		
	(%CO ₂ /%O ₂)	Storage life(days)	Remark	(%CO ₂ /%O ₂)	Storage life(days)	Remark
Cold storage		14			14	
PE film (30μm)	0/21	95		0/21	80	
	1/1	80		1/1	65	
	5/3	85		5/3	70	
PE film (50μm)	0/21	90		0/21	75	
	1/1	95		1/1	85	
	5/3	95		5/3	90	
pepp film (50μm)	0/21	75		0/21	60	fermentation
	1/1	85		1/1	70	
	5/3	80		5/3	65	
pp film (50μm)	0/21	80		0/21	65	decay
	1/1	85		1/1	70	
	5/3	85		5/3	70	
CDF+ BOPP (50μm)	0/21	80	decay	0/21	65	
	1/1	95		1/1	80	
	5/3	95		5/3	80	



사진 2. 여러 가지 필름으로 포장 후 active MA처리된 당근

다. 당근의 항균성 세척처리 및 코팅피막제 처리기술 개발

2003년 12월 16일 제주 성산 농협에서 수송된 흙당근을 여러 세척제에 15 sec. 침지 처리한 뒤 완전히 건조시킨 다음 3°C 저온고에 저장하였다. 당근의 세척제 중 수돗물 처리에서 생체중 감소가 가장 컸다. 2% thiabendazole in 80% DMF과 5% sodium hypochlorite처리가 생체중의 유지에 가장 효과적이었고, 이와 같은 세척제 처리가 과피 a값에서도 저장초기와 비슷한 값을 유지하였다(Fig. 24, 25). 당근의 저온저장 중 세척용액의 효과는 2% thiabendazole과 5% sodium hypochlorite처리가 다른 처리에 비하여 외관적 품질유지에 가장 효과적이었다(Fig. 26).

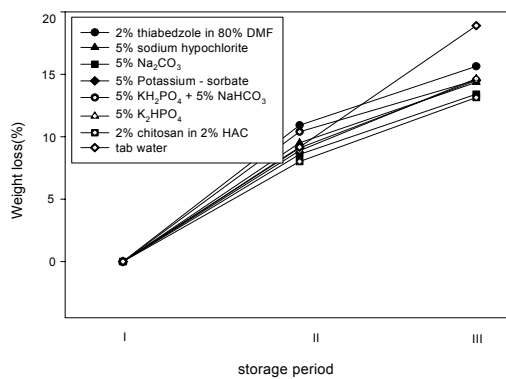


Fig. 24. Effect of post harvest treatments with different cleaning solutions on weight loss during cold storage(3°C) of carrot.

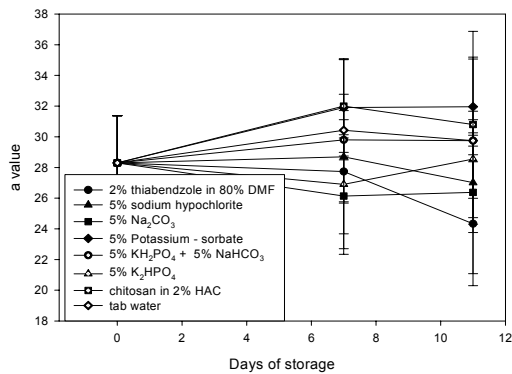


Fig. 25. Effect of post harvest treatments with different cleaning solutions on peel a value during cold storage(3°C) of carrot.

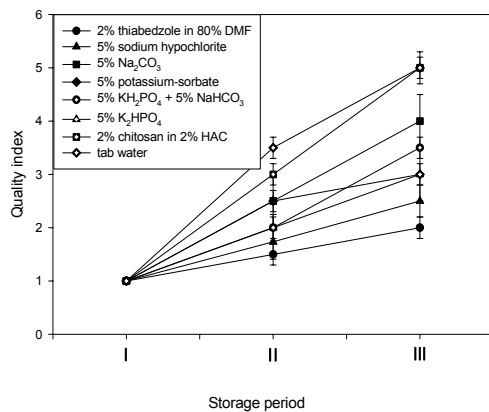


Fig. 26. Effect of post harvest treatments with different cleaning solution quality index during cold storage(3°C) of carrot. (*Quality index was evaluated as follows; 1=best, 10=very poor)

코팅제는 키토산을 분자량(10CPS, 50CPS, 100CPS) 별로 1.5% 희석해서 1분간 침지 후 10 개체씩 8반복 한 후 3°C에 저장하였다. 세척당근을 분자량이 다른 코팅처리한 결과로 키토산 50CPS와 수돗물처리에서 가장 좋았다(Fig. 27). 당근과육의 경도는 키토산 100CPS로 가장 크게 감소하였고, 키토산 50CPS처리로 감소가 크게 지연된 것으로 나타났다(Fig. 28). 코팅용액에 따른 당근의 SSC 함량은 키토산 10CPS에서는 뚜렷하게 증가하면서 품질저하와 같은 경향을 보인 반면 수돗물과 키토산 50CPS에서는 저장 초기와 비슷하게 유지되었다(Fig. 29). 당근의 호흡률은 코팅처리로 저장기간 동안 낮게 유지되었고, 대조구인 수돗물처리와 큰 유의차는 없었다(Fig. 30). 코팅제 처리로 당근의 시장성은 효과적으로 지연되었고, 처리된 코팅제 중 키토산 50CPS가 가장 효과적이었다(Fig. 31). 저장 당근의 감소율 조사에서 키토산 10CPS에서 저장 중 열근현상이 확인되었다(Fig. 32).

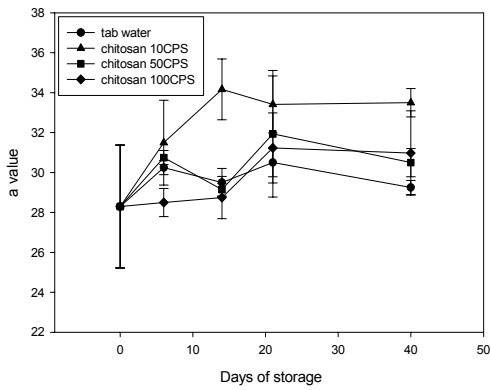


Fig. 27. Effect of coating treatment for 60 seconds on fruit A value during cold storage(3°C) of carrot.

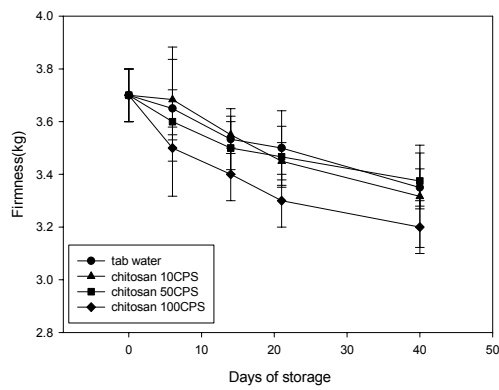


Fig. 28. Effect of coating treatment for 60 seconds on fruit firmness during cold storage(3°C) of carrot.

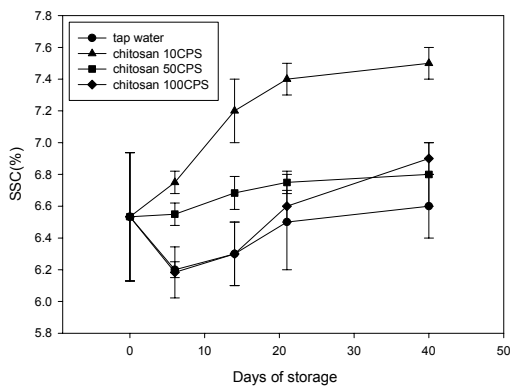


Fig. 29. Effect of coating treatment for 60 seconds on fruit SSC during cold storage(3°C) of carrot.

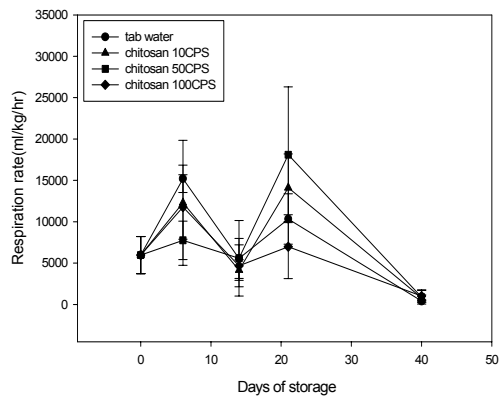


Fig. 30. Effect of coating treatment for 60 seconds on fruit respiration rate during cold storage(3°C) of carrot.

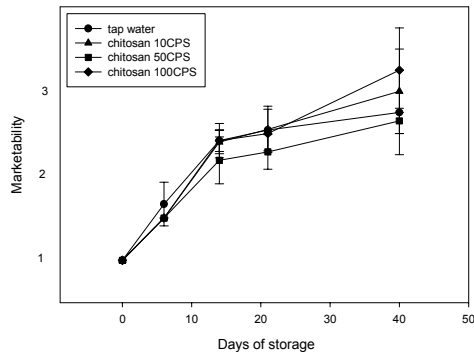


Fig. 31. Effect of coating treatment for 60 seconds on fruit marketability during cold storage(3°C) of carrot. (*Marketability was evaluated as follows; 1 = best, 5 = very poor)

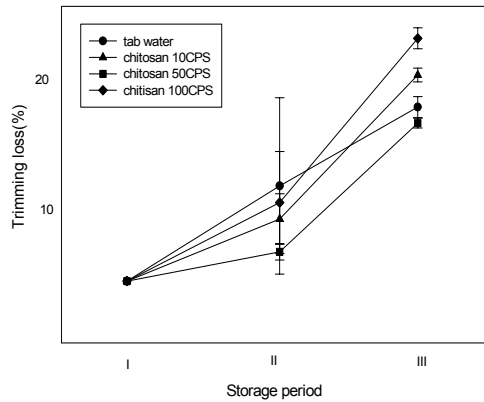


Fig. 32. Effect of coating treatment for 60 seconds on fruit trimming loss during cold storage(3°C) of carrot.

혹당근 세척제를 1/10배로 희석하여 세척한 후 분자량별로 키토산 코팅 처리하였다. 코팅제를 처리한 결과 저장기간 동안 키토산 50CPS 처리가 가장 좋았고 그 다음이 수돗물처리로 나타났다. 세척제 중 세척효과가 뛰어난 것으로 나타난 세척액은 2% thiabendzole in DMF와 5% sodium hypochlorite이었는데, 이 용액을 1/10 농도로 희석하여 세척한 후 여러 농도의 키토산 용액으로 코팅 처리하였다. 이 결과는 키토산 50CPS가 가장 효과가 좋았으며 다음으로 수돗물 처리로 나타났다(Fig. 33, 34).

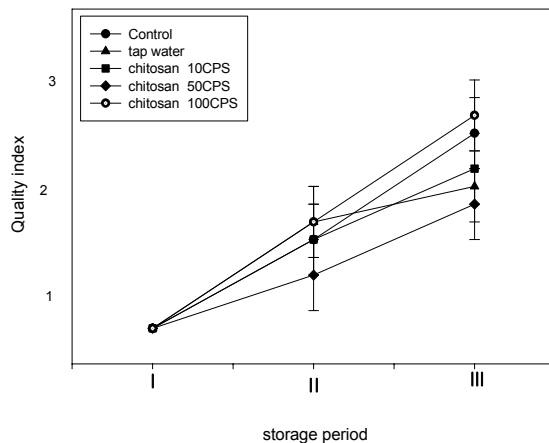


Fig. 33. Effect of coating after cleaning(2% thiabendzole in DMF, 1/10 dil.) on quality index during cold storage(0.5°C) of carrot. (*Quality index was evaluated as follows; 1=best, 10=very poor)

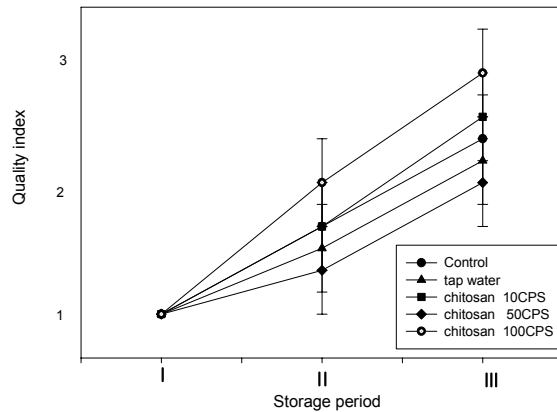


Fig. 34. Effect of coating after cleaning(5% sodium hypochlorite, 1/10 dil.) on quality index during cold storage(0.5°C) of carrot.
 (*Quality index was evaluated as follows; 1=best, 10=very poor)

라. 선발된 당근 포장지별 최적 active MA 조건 구명

전년도 연구결과에서 당근의 신선도 유지에 효과적으로 밝혀진 포장 필름 3종류 LDPE 0.03mm와 0.05mm, 그리고 0.05mm CDF + BOPP film; CDF(안쪽, 30 μ m, 방담 5%) + BOPP(바깥, 20 μ m, 방담 5%)>를 2차년도 당근의 포장재로 사용하였고 active MA 조건은 전년도 조건에서 달리 10% CO₂ + 3% O₂ 가스처리를 추가하여 이 외 0% CO₂ + 21% O₂과 5% CO₂ + 3% O₂ 조건을 두어 대조구인 무포장과 그 결과를 비교하였다.

무게감량은 무포장에서 저장동안 포장재료와 active MA 조건에 상관없이 가장 크게 감소하였다(Fig. 35). 경도는 10% CO₂ + 3% O₂ 조건에서 가장 감소 없이 높게 유지하였으며 그 다음으로 5% CO₂ + 3% O₂ 조건이 효과적이었으며 그 유의적인 차이는 없었다. 포장재료는 LDPE 0.05mm에서 0.03mm 필름에서 포장한 경우 보다 경도유지 효과가 상대적으로 좋았으며, 0.05mm CDF + BOPP 필름은 전년도 연구에서와 같이 뚜렷한 효과를 보이지 않았다(Fig. 36).

당근 과즙의 SSC(%)와 pH는 저장기간 동안 감소하였고 active MA 처리 중에는 10% CO₂ + 3% O₂ 조건이 저장 당근의 초기 값을 오래 유지시키는 조건으로 나타났으며(Fig. 37과 38), 포장재료는 0.05mm와 0.03mm LDPE 필름에서 효과적이었다. 또한 당근 표피의 L값은 그림 39에서와 같이 저장 60일 동안 저장 초기값과 비교할 때 변화가 적었으며

포장재료와 가스처리에 의한 통계적인 차이는 인정되지 않았다.

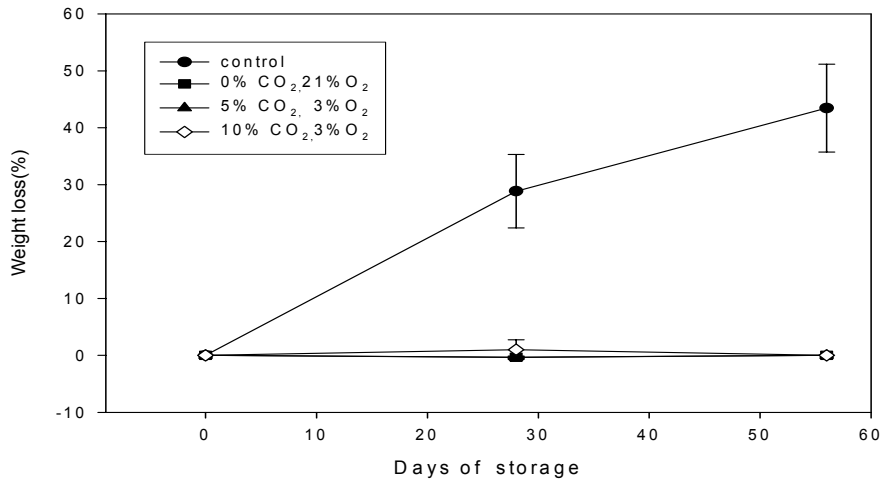


Fig. 35. Effect of packaging material and CA conditions on weight loss during cold storage of carrot

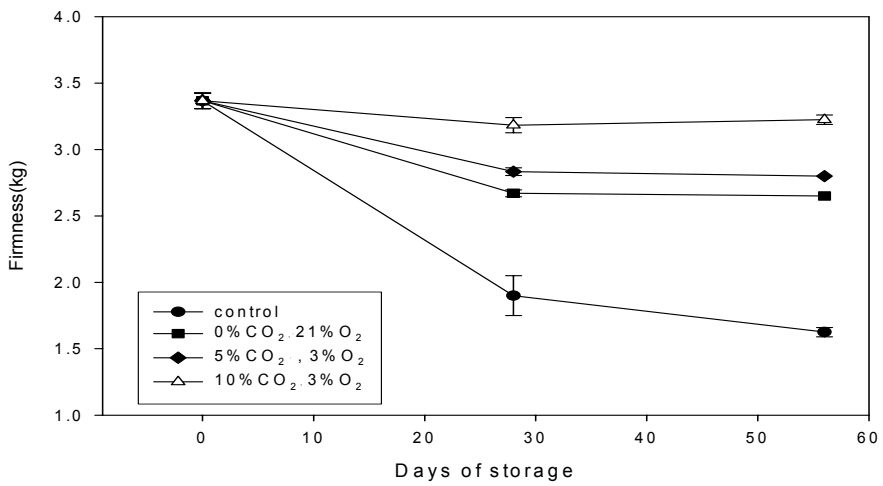


Fig. 36. Effect of packaging material and CA conditions on firmness during cold storage of carrot

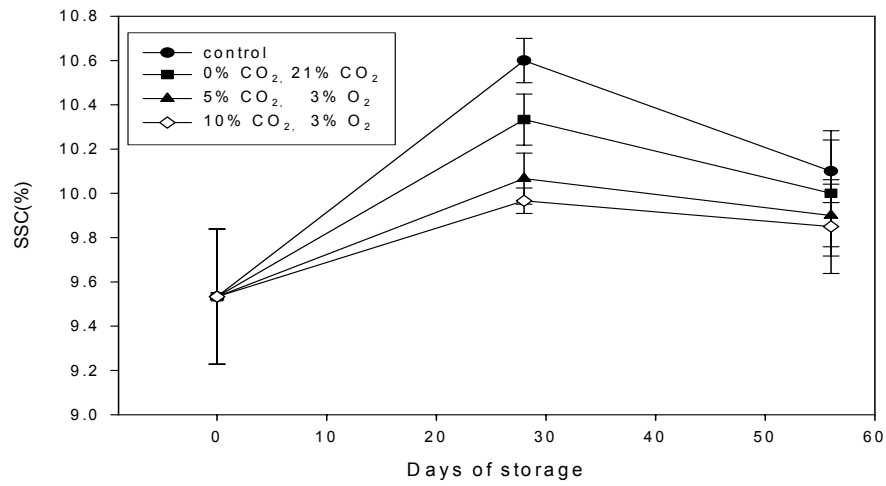


Fig. 37. Effect of packaging material and CA conditions on SSC during cold storage of carrot

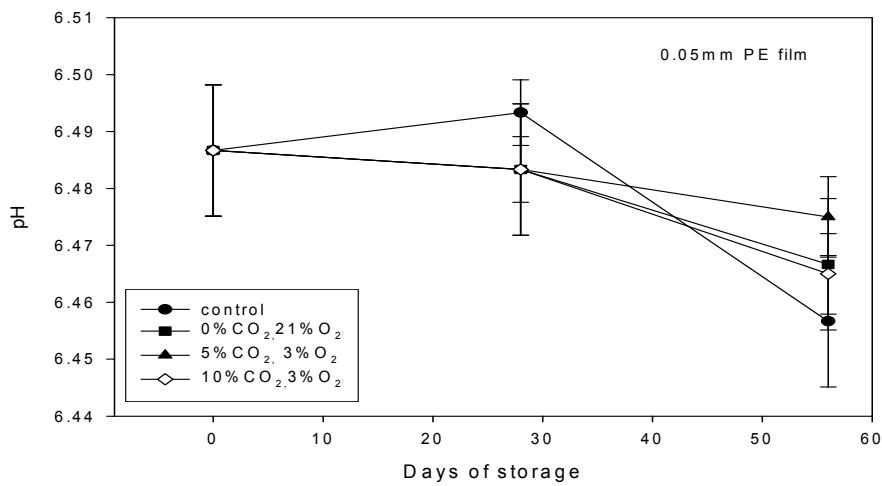


Fig. 38. Effect of packaging material and CA conditions on pH during cold storage of carrot

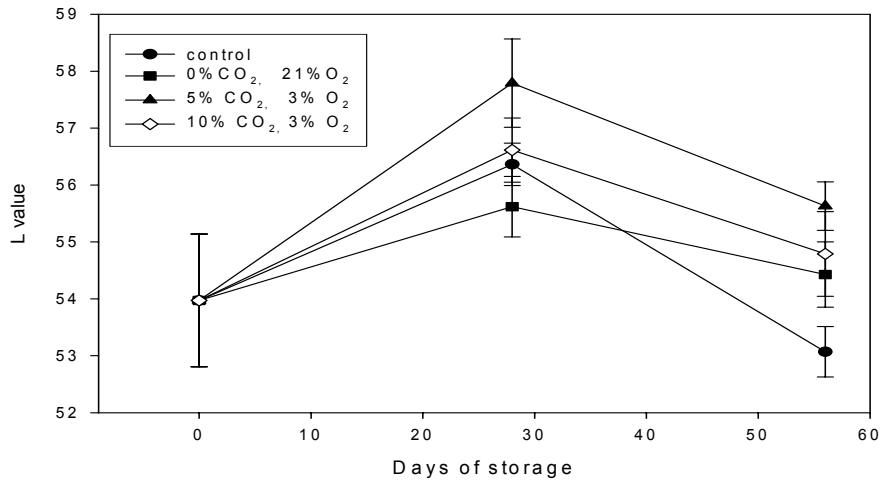


Fig. 39. Effect of packaging material and CA conditions on L value during cold storage of carrot

저온저장 동안 당근의 상품성비교에서는 표피건조, 멩아형성(씩), 발근, 부패율 등을 조사한 결과 포장재료는 0.05mm LDPE 필름에서 그리고 active MA 처리는 5% CO₂ + 3% O₂ 조건이 가장 효과적인 것으로 나타났다(표 1).

포장재료 별 active MA 가스처리 결과 저장당근의 acetaldehyde 함량은 대조구(무포장)와 0.03mm PE 필름포장, 그리고 0.05mm BOPP 필름 내 10% CO₂ + 3% O₂ 처리에서 가장 높았고 다른 포장재료와 가스처리에는 비교적 낮았다(그림 40). 에탄올 함량은 대조구(무포장)와 0.05mm BOPP 필름 내 10% CO₂ + 3% O₂에서 다른 처리에서 보다 높게 나타나 아세트알데하이드에서와 같은 결과로 나타났으며(그림 41), 이와 같은 결과는 저온저장 동안 당근의 품질이 나빠질수록 이들 함량이 높아지는 결과로 외관품질조사에서와 같은 결과였다.

표 2. 포장필름 및 MA 조성가스에 의한 당근의 상품성유지 효과 (단위: %)

포장 처리	0.03mm PE			0.05mm PE			0.05mm BOPP		
	0%CO ₂ + 21% O ₂	5%CO ₂ + 3% O ₂	10% C O ₂ + 3% O ₂	0% CO ₂ + 21%O ₂	5%CO ₂ + 3% O ₂	10%CO ₂ + 3% O ₂	0% CO ₂ + 21%O ₂	5%CO ₂ + 3% O ₂	10% C O ₂ + 3% O ₂
조사항목									
표피건조	0	0	0	0	0	0	0	0	0
부패	18.6	4.7	13.9	13.6	4.9	9.5	23.9	11.0	37.8
맹아	58.2	28.0	41.8	47.7	20.5	45.2	71.7	68.8	68.8
발근	65.0	25.6	48.8	38.6	19.5	47.6	76.0	64.4	66.6

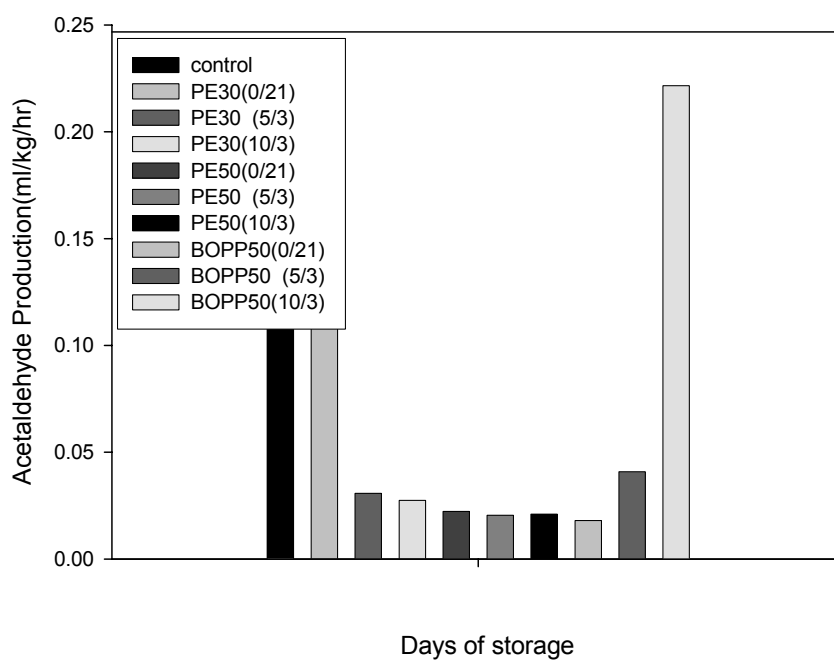


Fig 40. Effect of packaging materials and active MA on production of acetaldehyde of carrot stored at 0.5°C for 128days.

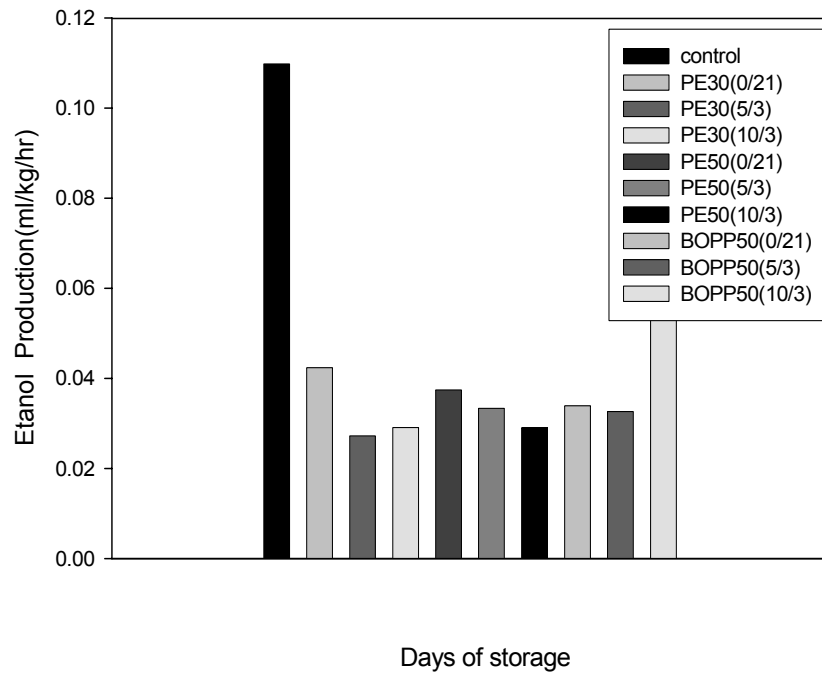


Fig 41. Effect of packaging materials and active MA on production of ethanol of carrot stored at 0.5°C for 128days.

마. 분자량별 chitosan 및 lauric acid 농도 처리별 당근의 저장력 조사

당근에 적합한 chitosan-laurate 필름을 chitosan 및 lauric acid 농도별로 제조하여 당근의 선도유지에 미치는 효과를 조사한 결과(표 3), 16가지의 처리 중 초음파 처리한 키토산 2% (0.5% acetic acid에 용해) + 0.5% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100 처리와 초음파 처리한 키토산 2%(0.5% acetic acid에 용해) + 0.5% potassium sorbate + 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100의 두 가지 처리가 건조, 부패, 색택 등 종합적인 상품성 관점에서 가장 효과가 좋은 것으로 나타났다.

표 3. Chitosan-laurate 포장에 당근의 선도유지에 미치는 효과

Number	Chitosan-laurate film	건조 ^z	부패 ^y	색택 ^x	표피색
1	A : PEG 400=1:1	2	2	4	연주황
2	A : PEG 400=1:2	2	3	5	연주황(얼룩)
3	A : PEG 400=2:1	2	5	5	연주황(얼룩)
4	A : PEG 400=4:1	2	4	5	연주황(얼룩)
5	A + 0.1% potassium sorbate	2	5	5	연주황(얼룩)
6	A + 0.5% potassium sorbate	2	2	4	연주황
7	A + 0.03% thiabendazole	2	4	5	연주황
8	A + 0.3% thiabendazole	1	1	3	연주황

9	A	2	2	3	연주황
10	A + 0.5% lauric acid + 1% Triton X-100	2	2	3	연주황
11	A + 1.0% lauric acid + 1.0% Triton X-100	2	4	5	연주황
12	A + 0.1% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100	2	3	4	연주황
13	A + 0.1% potassium sorbate + 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100	2	3	4	연주황
14	A + 0.5% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100	1	1	2	연주황
15	A + 0.5% potassium sorbate + 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100	1	1	2	연주황
16	Tap Water	5	1	5	연주황

A: 초음파 처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid

^{z,y,x} : 1. 매우 좋음 2. 좋음 3. 보통 4. 나쁨 5. 매우 나쁨

당근에 적합한 chitosan-laurate 필름을 chitosan 및 lauric acid 농도별로 제조하여 저온 저장 중 당근의 선도유지와 관련하여 아세트알데히드와 에탄올 함량을 조사한 결과, ac한 에 미치는 효과를 조사한 결과포장재료 별 active MA 가스처리 결과 저장당근의 acetaldehyde 함량은 초음파 처리한 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 1.0% lauric acid + 1.0% Triton X-100 처리에서 가장 높게 나타났으며(그림 42). 이와 같은 결과는 에탄올 함량에서도 같은 결과였다(그림 43). 이와 반대로 대조구에서 이들 함량이 가장 낮았는데 이는 당근저장의 건조와 색택의 변화로 조직의 위축과 변색에 기인한 것으로 판단된다. 두 가지 처리 (키토산 2% in 0.5% acetic acid + 0.5% potassium sorbate + 0.5% lauric acid + 10% Triton X-100 와 키토산 2% in 0.5% acetic acid + 1.0% lauric acid + 10% Triton X-100)에서 아세트알데히드와 에탄올 함량이 가장 낮게 조사되었고 상품성 평가에서도 외관 품질이 가장 우수한 것으로 조사되어 분석결과와 같은 경향이였다.

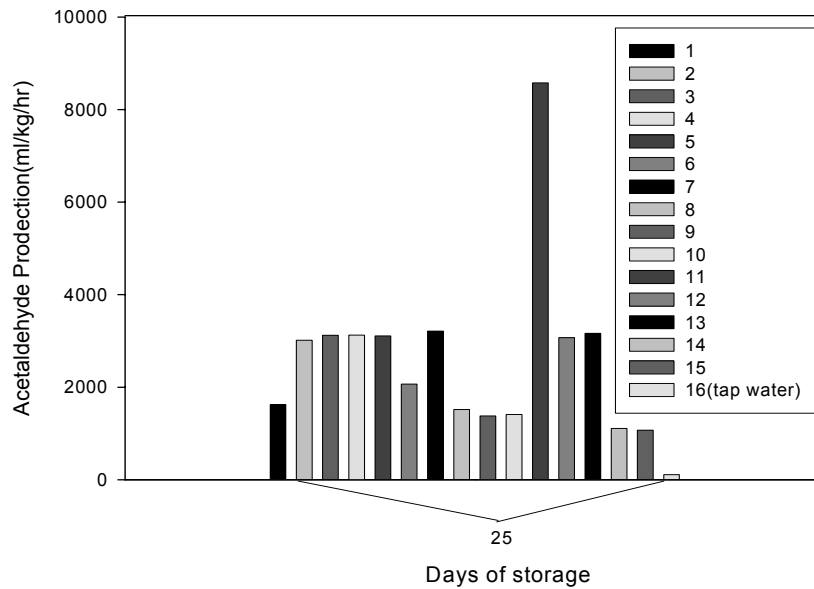


Fig 41. Effect of chitosan–laurate film on acetaldehyde production of sliced carrot stored at 10°C.
(see the treatment on pages of materials and methods)

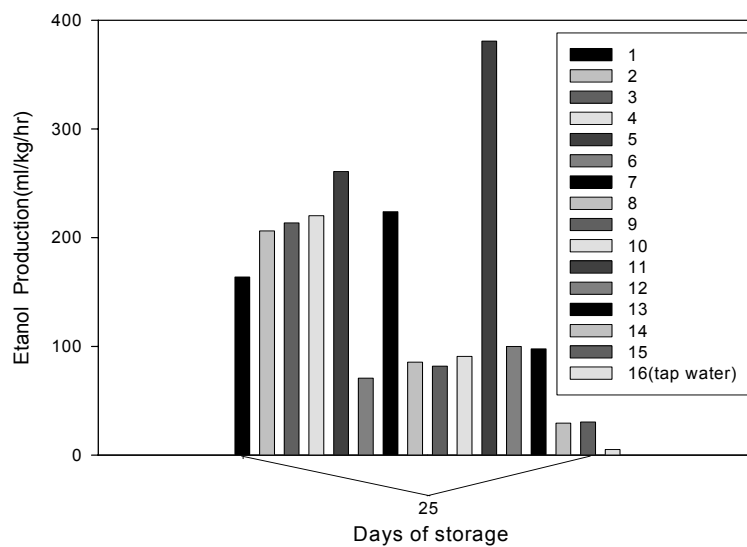


Fig 42. Effect of chitosan–laurate film on ethanol production of sliced carrot stored at 10°C.
(see the treatment on pages of materials and methods)

바. 당근의 장기저장을 위한 현지 실증연구(성산농협)

참여기업(제주 성산농협): 흙당근과 세척당근의 유통품질비교

연구책임자: 현용행, 당해년도 소요예산: 20,000(천원) - 현물

○ 흙당근과 세척당근의 유통품질비교 <1차년도>

2004년 1차년도 성산농협 현지에서 세척당근으로 실험을 수행한 결과<사진 1-2>, 무피복인 경우 56.3% 표피건조와 57.1%의 부패율을 나타낸 반면, 0.03 LDPE film과 PEPP film으로 포장한 경우 표피건조와 부패율이 표피건조와 건조율이 현저히 억제되었다(표 4). 그러나 멍아형성은 0.03 LDPE film에서 가장 효과적으로 억제된 반면 PEPP film에서는 오히려 대조구에서 보다 높게 나타났다. 또한 발근된 개체는 다른 처리구에서 보다 무피복에서 오히려 가장 적게 나타나 저장환경이 높은 습도일수록 발근은 촉진되는 것으로 밝혀졌다. 이와 같은 경향은 흙당근을 이용한 실험에서도 같은 경향이었다(표 5).

표 4. 포장재료에 따른 세척당근의 저온저장 중 상품성 비교(성산농협, 2004) (단위: %)

	무피복		0.03 LDPE film		PEPP film	
	72	127	72	127	72	127
저장일수	72	127	72	127	72	127
표피건조	15	56.3	5	0	5	0
부패		57.1	1.6	8.1	0	2
곰팡이 발생		1.7		3.2		1.3
싹이름		14.2		3.6		42.3
잔뿌리		8		65.5		48.3

z: 저장조건: 0-1°C, 95% r.H.

표 5. 포장재료에 따른 흙당근의 저온저장 중 상품성 비교(성산농협, 2004) (단위: %)

	무피복		0.03 LDPE film		PEPP film	
저장일수	72	127	72	127	72	127
표피건조	10	0	3	0	3	0
부패		10	0	0.8	1.4	0
곰팡이 발생		15.5		9.4		5.8
싹이름		25.6		31.8		64.7
잔뿌리						10.2

z: 저장조건: 0-1°C, 95% r.H.



사진 3-4. 성산농협 저장고에서 4개월 저장한 세척당근과 흙당근

○ 흙당근을 5% sodium hypochlorite에 세척 후 지하수로 세척한 대조구와 저온저장 중 품질비교 <2차년도>

2005년 2차년도 성산농협 현지에서 흙당근을 5% sodium hypochlorite으로 세척하여 지하수로 세척한 대조구와 저온저장 중 품질을 비교한 결과(사진 5와 6), 항균 세척제인 sodium hypochlorite 처리로 부패율은 지하수로 세척한 무처리와 비교할 때 현저히 억제되었으나 수확 후 생리작용의 결과로 나타나는 맹아와 발근억제에는 효과를 보이지 않았다. (표 6). 이것으로 당근의 세척제로서 전년도 연구결과에서 가장 효과적이었던 5% sodium hypochlorite 처리가 부패율 억제에 좋은 결과를 보였지만 상품성 유지를 위하여는 위해서

는 बैा 및 발근억제제를 혼용하여 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다(사진 7-8).



사진 5-6. 성산농협에서 흙당근을 5% sodium hypochlorite에 세척한 당근과 지하수로 세척한 대조구

표 6. 세척제(5% sodium hypochlorite)에 의한 당근의 상품성 유지 효과(성산농협, 2005)

조사항목	무처리구	처리구
처리수	637	638
표피건조	0	0
부패(표피)	1	5
부패(절단부)	549(86.2%)	149(23.4%)
맹아	625(98.1%)	559(87.6%)
발근	629(98.7%)	621(97.3%)
색택	선홍색(퇴색)	선홍색(광택유지)

z: 저장조건: 0-1C, 4개월 저장기간



지하수 세척



세척제 세척

사진 7-8. 성산농협에서 흙당근을 5% sodium hypochlorite에 세척 후 지하수로 세척한 대조구와 4개월 저온저장 중 품질비교

제 2 절 당근의 장기저장, 유통에 적합한 항균성 피막 코팅제의 개발 <위탁과제: 순천향대학교>

1. 서론

본 연구에서는 당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정하여 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성과 초음파에 의한 chitosan 분해 양상을 조사하고 분자량별 chitosan 코팅제를 제조하며, chitosan-laurate의 합성, 제막 및 항균활성 조사한 뒤 당근에 적합한 chitosan-항균제 함유 코팅제를 제조하는 데 목적이 있다.

2. 재료 및 방법

1) 실험재료

제주 흙당근과 세척당근(*Daucus carota* L.)을 생산농협 관내에서 수확한 후 대학 실험실로 옮겨 실험에 사용하였다.

2) 방법

가) 당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정

병원균 분리 : 저장 중 병반이 육안으로 확인된 제주 흙 당근 및 세척 당근의 병반 부위를 멸균 면봉으로 취하여 Potato Dextrose Agar (PDA) 배지와 malt extract (ME, Difco, USA) 한천 배지에 올려 놓고 28° C에서 2-3일간 배양하였다. 시료로부터 곰팡이균주의 분리에 있어서는 세균의 증식을 억제하기 위하여 chloramphenicol을 첨가하고 Rhizopus속과 Mucor속 곰팡이의 빠른 기균사 생육을 억제하여 다른 곰팡이의 분리를 용이하게 하기 위하여 rose bengal을 첨가한 rose bengal chloramphenicol agar (RBC)배지를 사용하였으며 균체를 순수 분리하기 위하여 위와 같이 배양된 균체를 tween 20을 0.02% 함유한 구연산 완충액 (50 mM, pH 4.8)에 현탁시키고 독립 균락을 취하였다. 순수 분리 여부를 계대 배양으로 확인하였다.

균주의 동정을 위하여 한국 농업과학기술원 농업미생물 보존 센터(KACC)로부터 기증받은 균주들과 비교하여 집락의 모양, 현미경으로 관찰한 균체의 미세 구조와 배양 특성을 조사하였다. 세균으로 생각되는 균주의 경우는 그람 염색 후 광학 현미경 관찰, 전자 현미경 관찰, 생리적, 생화학적 test (catalase, oxidase test, MR-VP test, 당 이용 여부, nitrate

reduction, H₂S 발생 여부)등을 행하였다.

균주확인용 PCR : 16srRNA primer (forward와 reverse primer)를 이용하여 Ca-1균의 chromosomal DNA를 PCR기법으로 증폭한 후 agarose gel에 run하여 증폭된 DNA를 잘라 gene clean kit(Qiagen kit)로 분리한 다음 DNA sequencing을 의뢰하여 sequence homology를 조사하여 균주를 identify하였다.

forward primer : 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3'

reverse primer : 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA -3'

각 primer 10 pmol, Ca-1 균의 chromosomal DNA 20 ng을 DNA용 물을 첨가한 Bioneer의 PCR premix 15 μ L에 첨가한 후 다음 조건으로 PCR을 수행하였다.

01: 94°C, 1 min

02: 01, 94°C, 1 min

02, 51°C, 1 min

03, 72°C, 1 min

30 cycle

03: 72°C, 7 min

PCR product를 1.5% agarose gel에 run후 크기를 확인 후 gene clean kit(Qiagen kit)로 purify하여 DNA sequencing을 의뢰하여 sequence homology를 조사하여 균주를 identify하였다.

분리균의 형태적 특성 조사 :

곰팡이로 생각되는 분리균의 균사 생장을 조사하기 위하여 PDA 배지위에 분리균의 절편(지름 4 mm)을 접종하여 28°C에서 4일간 배양하여 균사의 생장을 조사하였다. 또한 균총의 색, 기균사의 발달 유무, 색소의 생산 유무, 생육 속도, 균락의 표면 구조 등을 조사하였다.

나) 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성 조사

분리된 당근의 부패 미생물에 대하여 세척제의 억제 활성을 다음과 같은 방법으로 조사하였다. Thiabendazole, sodium hypochlorite, calcium hypochlorite, potassium sorbate, potassium phosphate, potassium hydrogen phosphate의 부패 미생물에 대한 항균 활성을 농도별로 아래의 방법으로 조사하였다

-Agar diffusion assay 법-

세척제가 병원균의 생장억제에 미치는 정도를 paper disc method 법을 이용하여 조사하였다. 균사조각(직경 5mm)을 PDA에 접종하여 28°C에서 7일간 배양후 멸균하여 조제된 250ml 삼각 flask 의 PDB배지에 직경 5mm 균사 조각을 5개 넣어 28°C shaking incubator에서 7일간 배양하였다. 배양된 균사체는 무균상 안에서 멸균된 blende로 마쇄한 후 40-50°C 의 PDA 배지 250 ml당 마쇄한 균사 용액 5ml씩을 넣고 잘 희석하여 petri dish에 분주하여 굳혔다. 약제는 DMF(dimethylformamide)나 멸균수로 녹여 paper disc (thick, 8mm)당 50µl씩 넣고 말린 후 병원균이 접종된 배지에 올려 놓고 28°C에서 2일간 배양 후 저지원의 직경을 조사하였다.

- 균사생장 억제

균총의 균사 선단으로부터 떼어낸 직경 8.5mm의 균사조각을 chitosan 함유배지 중앙에 올려 놓고 28°C에서 배양한 후 균총의 직경을 조사하였다.

- 세척제 처리 후 저장 당근의 미생물수 측정

세척제에 10초간 침지한 당근을 선풍기에 말린 후에 25일간 저장하면서 다음 표피에서 5mm 깊이까지 무작위로 잘라서 10g을 멸균 증류수에 넣어 균질화하였다. 이것을 단계 희석하여 PCA(plate counting agar, Difco Lab)에 35°C에서 24 - 48시간 배양하여 시료 1g당 총균수를 조사하였고, fungi수는 chloramphenicol을 함유한 PDA배지에 28°C에서 5일간 배양하여 조사하였다.

- 초음파에 의한 chitosan 분해 양상 조사

세척제에 10초간 침지한 당근을 선풍기에 말린 후에 25일간 저장하면서 다음 표피에서 5mm 깊이까지 무작위로 잘라서 10g을 멸균 증류수에 넣어 균질화하였다. 이것을 단계 희석하여 PCA(plate counting agar, Difco Lab)에 35°C에서 24 - 48시간 배양하여 시료 1g당 총균수를 조사하였고, fungi수는 chloramphenicol을 함유한 PDA배지에 28°C에서 5일간 배양

하여 조사하였다.

다) 분자량별 chitosan 코팅제의 제조 및 항균력 조사

- 키토산의 겔보기 점도 측정

초음파 처리한 키토산 용액의 겔보기 정도는 Brookfield 점도계(Brookfield Engineering Labs DV-III)를 사용하여 측정한다. 즉, 각 시간별로 키토산 용액을 측정용기에 넣어 25°C로 유지된 항온조에 5분간 방치하고, 이 용액의 점도를 Spindle No.1을 사용하여 200 rpm에서 측정하였다.

- 평균분자량 측정

초음파 분해로 제조한 키토산의 점도평균분자량을 Ostwald 점도계를 이용하여 점도법으로 측정한다. 충분히 건조한 키토산을 0.2M 초산-0.1M 염화나트륨- 4M 요소 수용액에 0.4w/v%로 용해한 후 이 용액을 2배, 4배, 8배, 16배로 희석하여 서로 다른 농도의 희석용액을 제조한다. 이 용액들을 냉암소에 24시간 방치하여 평형화시킨 후 항온조의 온도를 25°C 유지하여 용액의 점도를 측정하고, Mark-Houwink식을 이용하여 점도평균분자량을 추정하였다.

- 항균보존제는 기존의 개발된 것을 활용

Thiabendazole, sodium hypochlorite, potassium sorbate등을 농도 별로 chitosan에 첨가하여 항균력을 조사하였다.

라) 당근에 적합한 chitosan 코팅제의 제조기술 개발

0.5% acetic acid 에 chitosan이 최종 농도가 2% (w/v) 되도록 용해한 후 초음파 처리하고 Whatman No.4 filter로 여과하여 불용성 물질을 제거하였다. 여과된 chitosan 용액에 PEG (Poly Ethylene Glycol 400)을 chitosan total weight에 여러 가지 비율로 첨가하여 잘 혼합시켜 전체적으로 충분히 균질화시켰다. 잘 교반된 chitosan solution을 유리판에 기포가 생기지 않도록 잘 부어 실온에서 3일간 건조기를 이용하여 건조시킨 후 60°C에서 24시간 건조시켜 실험용 필름으로 사용하였다.

마) Chitosan-laurate의 합성 및 제막

초음파 처리 후 동결 건조한 키토산 분말 2g을 0.5% acetic acid 100ml에 용해시켜 2%

키토산 용액을 제조하였다. 환류 냉각기가 부착된 반응 플라스크에 위에서 제조한 2% 키토산 용액과 lauric acid를 0.5%, 1.0% 되게 혼합하여 100°C에서 2시간 동안 질소기류 하에서 반응시켰다. 제조된 균일한 반응액을 실온까지 냉각시켜 Plexiglass에 일정한 두께로 제막하고 40°C에서 건조시켰다. 건조가 끝나면 필름과 Plexiglass를 2% NaOH 수용액에 침지시켜 분리하고 분리된 막에 남아 있는 NaOH를 제거하기 위해 증류수로 수회 세척하여 40°C에서 진공 건조시켰다.

항균제를 농도별로 첨가한 chitosan-laurate film을 합성하여 항균력을 조사하였다. Potassium sorbate, thiabendazole, sodium hypochlorite를 함유한 키토산 용액에 laurate를 0.5%, 1% 농도로 첨가하여 항균력을 조사하였다.

바) Agar diffusion assay 법과 균사생장 억제

세척제 함유 키토산 용액이 병원균의 생장억제에 미치는 정도를 paper disc method 법을 이용하여 조사하였다. 균사조각(직경 5mm)을 PDA에 접종하여 28°C에서 7일간 배양후 멸균하여 조제된 250ml 삼각 flask 의 PDB배지에 직경 5mm 균사 조각을 5개 넣어 28°C shaking incubator에서 7일간 배양하였다. 배양된 균사체는 무균상 안에서 멸균된 blende로 마쇄한 후 40-50°C 의 PDA 배지 250 ml당 마쇄한 균사 용액 5ml씩을 넣고 잘 희석하여 petri dish에 분주하여 굳혔다. 약제는 DMF(dimethylformamide)나 멸균수로 녹여 paper disc (thick, 8mm)당 50µl씩 넣고 말린 후 병원균이 접종된 배지에 올려 놓고 28°C에서 2일간 배양 후 저지원의 직경을 조사하였다.

균총의 균사선단으로부터 떼어낸 직경 8.5mm의 균사조각을 chitosan 함유배지 중앙에 올려 놓고 28°C에서 배양한 후 균총의 직경을 조사하였다. 억제율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{억제율 (\%)} = \frac{\{ \text{무처리구의 균총 직경(mm)} - \text{처리구의 균총 직경 (mm)} \} \times 100}{\text{무처리구의 균총 직경(mm)} - 8.5}$$

사) 초음파에 의한 chitosan 분해

0.5%의 아세트산수용액에 키토산을 완전히 용해시키고 250 ml의 키토산 용액을 냉각장치가 달린 스테인레스 용기에 넣어 1/2 Ni-Cr 합금 probe를 장착한 초음파 발생기(Branson Co, VCX400)를 이용하여 키토산 용액을 15kHz, 30W에서 2시간 초음파 처리하였다. 고온

에 의한 키토산의 변성을 방지하기 위해 냉각수 공급장치(Jeio Tech Co., HX-03)로 용액을 냉각시켰다. 초음파 분해 후 여과한 키토산 용액을 48시간 동안 냉동, 건조한 다음 0.5%의 아세트산 수용액에 2% 농도로 녹여 50 μ l을 paper disc에 묻혀 부패균에 대한 항균력 및 항진균력을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 당근 저장 시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정

당근의 병반 부위에서 분리된 균종을 확인하기 위하여 세균으로 생각되는 Ca-1균의 chromosomal DNA를 분리후 16srDNA를 제조된 primer를 이용하여 PCR로 증폭하였다 (Fig.1) 1.5% agarose gel에 분리한 증폭 DNA band (화살표)를 칼로 잘라 Gene clean kit로 purify한후 sequencing을 하여 균종을 확인한 결과 *Erwinia carotovora*와 동일한 것으로 나타났다. 이 균의 생리적, 생화학적 test를 한 결과(Table 1)와 전자현미경(Fig. 2)으로 관찰하여 이 균종을 최종 확인하였다.

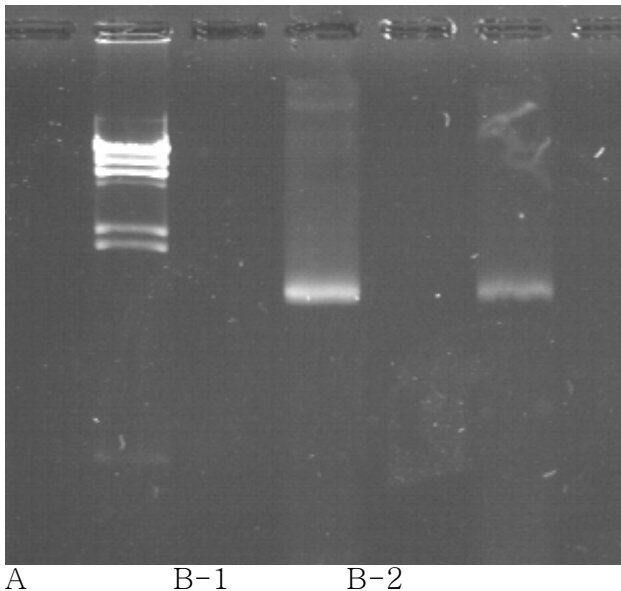


Fig. 1 Gel electrophoresis of PCR reaction mixture of Ca-1 genomic DNA (A: DNA marker, B-1, B-2: Ca-1 PCR reaction mixture)
(Arrow is designated amplified DNA fragment)

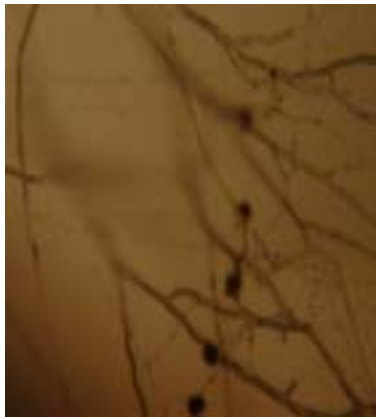
Table 1. Taxonomical Characteristics of the strain Ca-1

Test	Result	
	Ca-1	<i>Erwinia carotovora</i>
Gram stain	-	-
Shape	rod	rod
Indole test	+	+
Catalase	+	+
Oxidase	+	+
Methyl-Red test	-	+
Voges-Proskauer test	-	-
Urease		
Hydrolysis of Starch	-	-
Degradation Test : Casein		
Gelatin Liquefaction	-	-
H ₂ S Formation	-	-
Optimal Temp.	28°C	28°C
Optimal pH	7.0	7.0
Acid production from		
Glucose	+	+
Lactose	-	+
Maltose	+	-
Sucrose	+	+

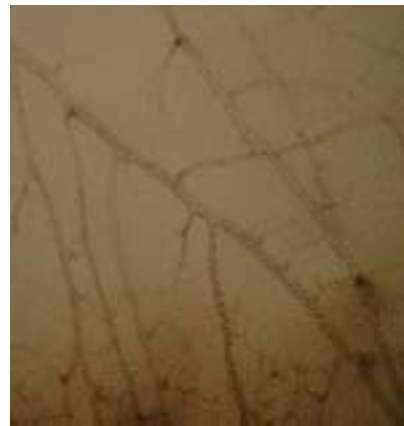


Fig.2. Electron microscopy of Ca-1

곰팡이로 생각되는 균종은 PDA배지에 키워 광학 현미경으로 직접 관찰하고 균종의 색, 기균사의 발달 유무, 색소의 생산 유무, 생육 속도, 균락의 표면 구조등을 조사하여 KACC의 표준 균종과 비교한 결과 Ca-2균(Fig.3)은 *Rhizopus oryzae* (KACC 4093)균과 유사하고 Ca-s-3균(Fig. 4)은 *Phomopsis mali* (KACC 40839)균과 유사한 것으로 조사되었다 (Table 2).



A



B

Fig.3. Morphology of the pathogenic fungi isolated from carrot (A: Ca-2) and standard fungi, *Rhyizopus oryzae*(KACC 40936) obtained from KACC (B).



Fig.4. Morphology of the pathogenic fungi isolated from carrot (A: Ca-S-3) and standard fungi, *Phomopsis mali* (KACC 40839) obtained from KACC (B).

Table 2. Identity of bacterium and mold isolates from carrot

Isolate	identity
ca-1	<i>Erwinia carotovora</i>
Ca-2	<i>Rhizopus oryzae</i>
Ca-s-3	<i>Phomopsis mali</i>

나. 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성 조사

Thiabendazole, sodium hypochlorite, calcium hypochlorite, potassium sorbate, potassium phosphate, potassium hydrogen phosphate의 부패 미생물에 대한 항균 활성을 농도별로 agar diffusion assay 방법으로 조사하였다(Table 3). 세균 (Ca-1)에 대해서는 thiabendazole과 sodium hypochlorite가 가장 효과적인 것으로 나타났으며 곰팡이류 (Ca-2, Ca-s-3)에 대해서는 thiabendazole과 potassium sorbate가 가장 효과적인 것으로 나타났다.

Table 3. Antimicrobial effect of wash solutions as observed by agar diffusion test

Wash solution	Concentration (%)	Test organisms		
		Ca-1	Ca-2	Ca-s-3
Thiabendazole	0.5	+	+	+
	1.0	++	++	++
	2.0	+++	+++	+++
Sodium hypochlorite	0.5	+	-	-
	1.0	+	+	+
	2.0	++	+	+
Calcium hypochlorite	0.5	-	-	-
	1.0	-	-	+
	2.0	+	+	+
Potassium sorbate	0.5	-	+	+
	1.0	-	++	++
	2.0	+	++	+++
Potassium phosphate	0.5	-	-	-
	1.0	-	-	-
	2.0	-	-	-
Potassium hydrogen phosphate	0.5	-	-	-
	1.0	-	-	-
	2.0	-	-	-

-: no reaction, + : clear zone, 10 mm, ++: clear zone, 11-14 mm
 +++: clear zone 15 > mm
 (film diameter : 8 mm)

세척제 처리 후 저장 당근의 미생물수를 측정하였는데, Agar diffusion assay에서 가장 효과가 좋은 것으로 조사된 thiabendazole에 10초간 침지한 당근을 선풍기에 말린 후에 25일간 저장하면서 다음 표피에서 5 mm 깊이까지 무작위로 잘라서 10g을 멸균 증류수에 넣어 균질화하였다. 이것을 단계 희석하여 PCA(plate counting agar, Difco Lab)에 35°C에서 24 - 48 시간 배양하여 시료 1 g 당 총균수를 조사하였고 fungi수는 chloramphenicol을 함유한 PDA배지에 28°C에서 5일간 배양하여 조사한 결과 2% thiabendazole 의 경우 처리하지 않은 control과 비교 시 총 균수 (Fig. 5)와 곰팡이 포자수(Fig. 6)가 현저히 감소되었다.

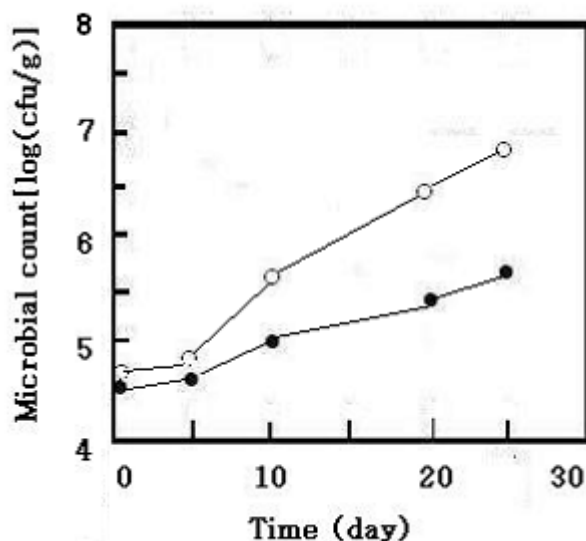


Fig. 5. Changes in total microbial counts on the carrots dipped in 2% thiabendazole and stored at 4°C. ○-○: Control(no treat), ●-●: Treated with TBZ

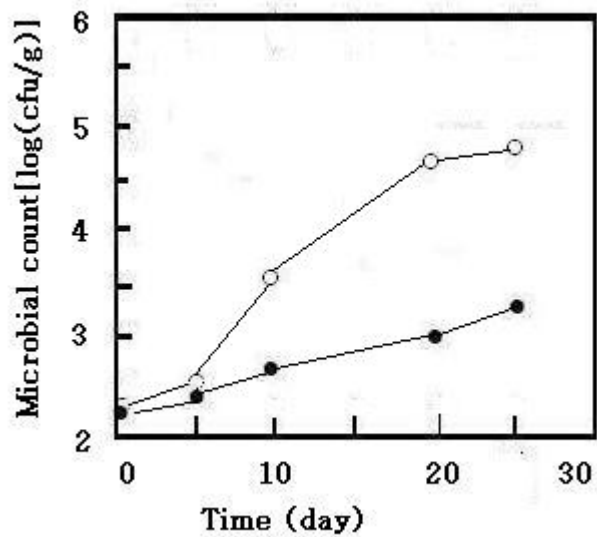


Fig.6. Changes in fungal counts on the carrots dipped in 2% thiabendazole and stored at 4°C. ○-○: Control(no treat), ●-●: Treated with TBZ

다. 분자량별 chitosan 코팅제의 제조 및 항균력 조사

1) 초음파에 의한 chitosan 분해 양상 조사

초음파에 의한 chitosan의 분해 양상을 비교하기 위하여 chitosan의 농도를 1%, 2%, 초음파 처리액의 부피를 250 ml과 500 ml로 나누어 처리하였다(Table 4.).처리 시간은 각 30분, 1시간, 2 시간과 3시간으로 나누어 비교하였다. 초음파 처리 후 agar diffusion assay법으로 항균 활성을 비교하였다(Table 5). Table 5에서 보는 바와 같이 각 균에 대한 항균력은 2% chitosan을 250ml로 2시간 이상 초음파 처리한 경우가 가장 활성이 큰 것으로 나타났다.

Table 4. Ultrasonic Treatment Conditions* of Chitosan

Sample Nr.	Conc. of chitosan (%)	Solution volume (ml)
1.	1	250
2	1	500
3	2	250
4	2	500

*) Each solution was sonicated using a probe system operating at 15kHz and 30W in 0.5% v/v% of acetic acid solution.

Table 5. Antimicrobial action of ultrasonicated chitosan as observed by agar diffusion test.

Sample Nr*.	Ca-1	Ca-2	Ca-s-3
1-30min	+	+	+
1-1h	+	+	+
1-2h	++	+	+
1-3h	++	++	++
2-30min	+	+	+
2-1h	+	+	+
2-2h	+	+	+
2-3h	++	++	++
3-30min	+	+	+
3-1h	++	++	++
3-2h	+++	+++	+++
3-3h	+++	+++	+++
4-30min	+	+	+
4-1h	+	+	++
4-2h	++	++	++
4-3h	++	+++	++

-: no reaction, + : clear zone, 10 mm, ++: clear zone, 11-14 mm

+++: clear zone 15 > mm

(film diameter : 8 mm)

*Sample Nr is the same as that of Table 3. (time is the ultrasonic treated time)

2) 초음파 처리 chitosan의 농도별 균사생장 억제 조사

균총의 균사 선단으로부터 떼어낸 직경 8.5mm의 균사조각을 chitosan 함유배지 중앙에 올

려 놓고 28° C에서 배양한 후 균총의 직경을 조사하였다(Fig 7과 8).



Fig. 7. Inhibition of Ca-2 by ultrasonicated chitosan (A: control, B:0.5% C: 1%, D: 2% chitosan)

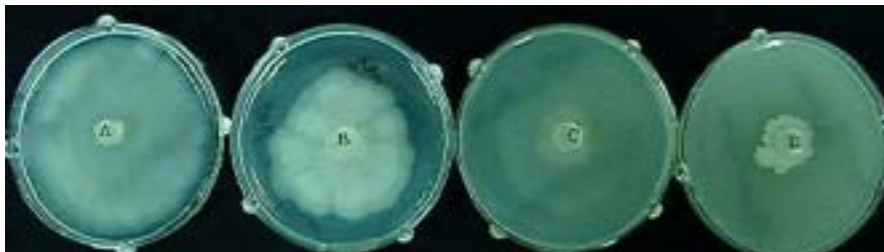


Fig.8. Inhibition of Ca-s-3 by ultrasonicated chitosan (A: control, B:0.5%, C: 1%, D: 2% chitosan)

3) 초음파 처리 chitosan의 분자량에 따른 항균력 비교

초음파 처리한 chitosan 용액을 분자량 별로 나누어 agar diffusion assay 한 결과(Fig. 9),



Fig. 9. Ca-2 (*Rhizopus oryzae*)균에 대하여 초음파 처리한 chitosan 용액을 분자량 별로 나누어 agar diffusion assay 한 결과

1	100 kDa 이상	1.8cm
2	50~100 kDa	2cm
3	30~50 kDa	2cm
4	10~30 kDa	1.9cm
5	3~10 kDa	1.8cm



Fig. 10. Ca-s-3 (*Phomopsis mali*) 균에 대하여 초음파 처리한 chitosan 용액을 분자량 별로 나누어 agar diffusion assay 한 결과

1	100 kDa 이상	1.8cm
2	50~100 kDa	2cm
3	30~50 kDa	2cm
4	10~30 kDa	1.9cm
5	3~10 kDa	1.8cm

초음파 처리한 chitosan 용액을 분자량 별로 나누어 agar diffusion assay 결과 위와 같은 균주에서 활성을 나타냈으며, clear zone의 직경이 매우 비슷한 것으로 보아, 초음파 처리한 경우 분자량과 활성과의 관련은 없는 것으로 나타났다(Fig. 10). 따라서 분자량 별로 ultrafiltration 하는 과정을 생략하고 초음파 처리한 chitosan 용액을 일반 filter 후 사용하여도 무관할 것이라는 결과를 얻었다.

4) 키토산의 겔보기 점도 측정

초음파 처리한 키토산 용액의 겔보기 정도는 Brookfield 점도계(Brookfield Engineering Labs DV-III)를 사용하여 측정하였으며 Table 6.에서 보는 바와 같이 0.5% - 2% 용액에서 측정한 결과 30 - 57 cps로 나타났다.

Table 6. Viscosity of ultrasonicated chitosan

Concentration of chitosan (%)	Viscosity (cps)
0.5	30
0.75	35
1.0	42
1.5	50
2.0	57

5) 평균분자량 측정

초음파 분해로 제조한 키토산의 점도 평균분자량을 Ostwald 점도계를 이용하여 점도법으로 측정하여 Mark-Houwink식을 이용하여 점도 평균분자량을 추정한 결과 50,000으로 조사되었다. 초음파 처리후에 ultrafiltration으로 분자량에 따라 분리하여 항균력을 조사한 결과 1차년도의 결과에 따르면 거의 유사한 항균력이 나와 2차년도에는 ultrafiltration을 하지 않고 초음파 처리 후 불용성 물질만 filter하여 사용하였다.

라. 당근에 적합한 chitosan 코팅제의 제조기술 개발

1) 초음파 처리한 키토산 용액에 첨가된 항균 세척제의 종류 및 농도별 항균력 비교

Thiabendazole, sodium hypochlorite, potassium sorbate등을 농도 별로 초음파 처리한 chitosan에 첨가하여 항균력을 조사한 결과 Table 7.에서 보는 바와 같이 0.5%로 첨가된 potassium sorbate가 Ca-1, Ca-2 및 Ca-s-3군에 가장 활성이 높은 것으로 나타났다.

Table 7. Antimicrobial effect of ultrasonicated chitosan[#] containing various concentration of wash solutions by agar diffusion assay

Wash solution	concentration (%)	Test organisms		
		Ca-1	Ca-2	Ca-s-3
Potassium sorbate				
	0.1	++	++	++
	0.5	+++	+++	+++
Thiabendazole				
	0.1	+	++	++
	0.3	++	+++	+++
Sodium hypochlorite				
	0.1	+	+	+
	0.5	++	++	++

-: no reaction, + : clear zone, 10 mm, ++: clear zone, 11-14 mm

+++: clear zone 15 > mm

(paper disk diameter : 8 mm)

: Ultrasonicated chitosan was used on the concentration of 2%.

Ca-1, Ca-2 and Ca-s-3 were identified as *Erwinia carotovora*, *Rhizopus oryzae*, and *Phomopsis mali*, respectively.

Fig. 11. 에서 보는 바와 같이 thiabendazole을 녹인 용매 DMF나 chitosan을 녹인 용매 0.5% acetic acid 자체는 Ca-3균에 대한 항균력이 거의 없는 것으로 관찰되었다. 초음파 처리한 키토산 용액에 0.3% thiabendazole을 첨가한 용액이 Ca-3균에 대한 항균력이 높은 것으로 조사되었다.

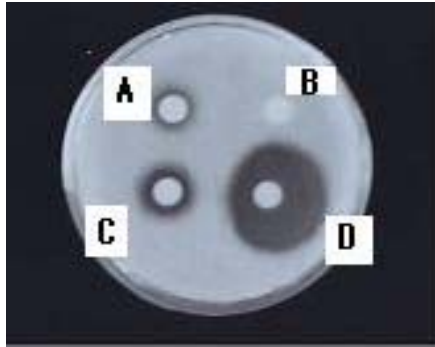


Fig. 11. Antimicrobial test of ultrasonicated chitosan containing thiabendazole on Ca-3 by agar diffusion assay.

A: DMF(control solvent) B: 0.5% acetic acid (control solvent)
 C: 2% ultrasonocated chitosan D: 2% ultrasonicated chitosan containing 0.3% thiabedazole.

Ca-s-3 균에 대한 항균력을 조사한 결과 Fig. 12에서 보는 바와 같이 초음파 처리한 키토산에 첨가한 0.3%thiabendazole, 0.5% potassium sorbate와 0.5% sodium hypochlorite는 이들을 첨가하지 않은 키토산 보다 항균력이 높은 것으로 관찰되었다.

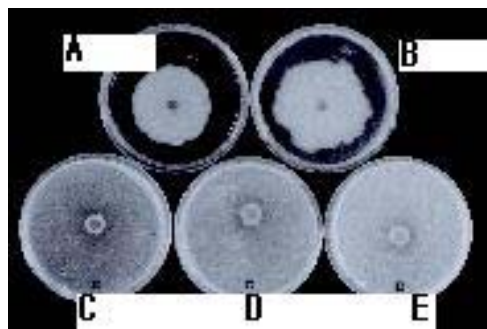


Fig. 12. Inhibition of microbial growth of Ca-s-3 by ultrasonicated chitosan containing potassium sorbate and lauric acid on PDA

A: PDA containing 0.2% ultrasonicated chitosan
 B: PDA (control)
 C: PDA containing 2% ultrasonicated chitosan and 0.3%thiabendazole
 D: PDA containing ultrasonicated chitosan and 0.5% potassium sorbate
 E: PDA containing ultrasonicated chitosan and 0.5% sodium hypochlorite

2) PEG 함유 비율에 따른 초음파 처리 키토산의 항균력 비교

PEG(Poly ethylene glycol)400을 함유한 초음파 처리 키토산 용액으로 Ca-1, Ca-2, Ca-s-3 균에 대한 항균력을 조사한 결과 Table 8.에서 보는 바와 같이 세균 Ca-1균에서는 ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400(4: 1)용액이 항균력이 가장 높게 나타났으며 fungi인 Ca-2와 Ca-s-3균에서는 ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (2 : 1) 용액이 활성이 가장 높은 것으로 나타났다. Ca-1, Ca-2 와 Ca-s-3균은 각각 *Erwinia carotovora*, *Rhizopus oryzae*, and *Phomopsis mali* 로 확인되었다.

Table 8. Antimicrobial action of ultrasonicated chitosan + PEG as observed by agar diffusion test

Sample Nr.#	Test organisms		
	Ca-1	Ca-2	Ca-s-3
A	+	+	+
B	++	+++	+++
C	+++	++	++
D	++	+	+
E	++	++	++

-: no reaction, + : clear zone, 10 mm, ++: clear zone, 11-14 mm

+++: clear zone 15 > mm

(paper disk diameter : 8 mm)

: A: ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (1 : 1)

B: ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (2 : 1)

C: ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (4 : 1)

D: ultrasonicated chitosan (2%) : PEG 400 (1 : 2)

E: ultrasonicated chitosan (2%)

마. Chitosan-laurate의 합성 및 제막 및 항균활성 조사

1) Chitosan-laurate의 합성 및 항균활성 조사

항균제를 농도별로 첨가한 chitosan-laurate film을 합성하여 항균력을 조사한 결과 Ca-1균에 대한 항균력은 Fig. 13에서 보는 바와 같이, ultrasonicated chitosan (2%) containing 0.5% potassium sorbate and 1.0% lauric acid (E)가 가장 활성이 높은 것

으로 나타났다.

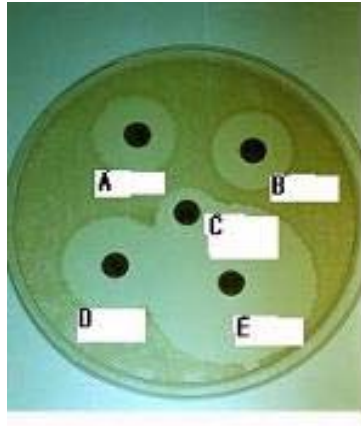


Fig. 13. Agar diffusion assay of ultrasonicated chitosan containing potassium sorbate and lauric acid on Ca-1 spreaded NA medium.

- A: ultrasonicated chitosan (2%) containing 0.1% potassium sorbate and 0.5% lauric acid
- B: ultrasonicated chitosan (2%) containing 0.1% potassium sorbate and 1.0% lauric acid
- C: ultrasonicated chitosan (2%)
- D: ultrasonicated chitosan (2%) containing 0.5% potassium sorbate and 0.5% lauric acid
- E: ultrasonicated chitosan (2%) containing 0.5% potassium sorbate and 1.0% lauric acid, 각 용액에 Triton X-100을 10% 되게 첨가

Table 9.에서 보는 바와 같이, Ca-2와 Ca-s-3균에 대한 항균력은 0.5% potassium sorbate 와 1.0% lauric acid를 함유한 초음파 처리 chitosan (2%)이 가장 활성이 높은 것으로 나타났다.

Table 9. Inhibitional effect on mycelial growth of Ca-2 and Ca-s-3¹⁾ by chitosan²⁾ containing lauric acid and potassium sorbate.

lauric acid (%)	potassium sorbate (%)	inhibition rate of mycelial growth (%)	
		Ca-2	Ca-s-3
0.5	0.1	80	82
0.5	0.5	80	85
1.0	0.1	87	90
1.0	0.5	90	95
0	0	70	72

1) Ca-2 and Ca-s-3 was incubated for 4 days at 28C on PDA media containing various concentration of lauric acid and potassium sorbate.

2) Ultrasonicated chitosan was used on the concentration of 2%.

2) 키토산의 작용 기작

Ca-2 균에 대한 chitosan의 항진균력이 단량체인 glucosamine에 의한 것인지 조사하기 위하여 glucosamine을 첨가한 PDA배지에 Ca-2균을 배양한 결과 첨가하지 않은 배지에서 배양한 것과 균체 생육이 거의 비슷한 것으로 관찰되었다 (Fig. 14). 이러한 결과로 미루어 볼때 chitosan에 의한 항진균력은 고분자 상태의 chitosan에 의한 것이며 단량체인 glucosamine에 의한 영향은 아님을 알 수 있었다.

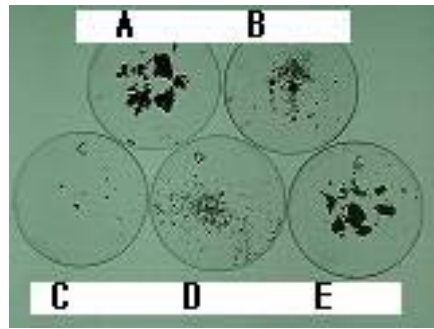


Fig. 14. Effect of glucosamin and ultrasonicated chitosan on the growth of Ca-2

A : PDA control medium

B : Ultrasonicated chitosan containing PDA medium (2%)

C : Ultrasonicated chitosan, potassium sorbate and laurate containing PDA medium (2%, 0.5% and 1.0%, respectively)

D : Ultrasonicated chitosan and potassium sorbate containing PDA medium (2% and 0.5%, respectively)

E : glucosamine containing PDA medium (2%)

초음파 처리한 키토산과 0.5 % potassium sorbate를 첨가한 용액을 함유한 배지에 배양한 Ca-2 균의 포자를 전자 현미경으로 관찰한 결과 Fig. 15.에서 보는 바와 같이 포자가 팽윤되고 찌그러져 있는 등 기형적인 형태를 보여주었으며 정상적으로 신장하지 못하는 것으로 관찰되었다.

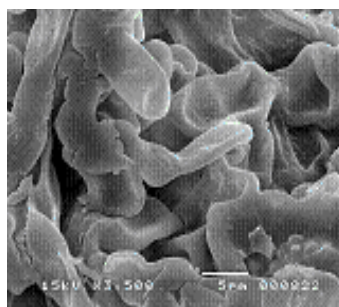


Fig. 15. Electron microscope of Ca-2 treated with ultrasonicated chitosan containing 0.5 % potassium sorbate.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	연구 개발 목표	달성도	기술발전에의 기여도
1차년도 (2003)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 당근 저장시 부패 미생물의 순수 분리 및 균주 동정 ○ 분리된 부패 미생물에 대한 항균세척제의 억제 활성 조사 ○ 초음파에 의한 chitosan 분해 양상 조사 ○ 분자량별 chitosan 코팅제의 제조 ○ 수확후 생리적, 병리적 특성 구명 ○ 당근의 장기저장에 적합한 적정 저장온도와 습도 조건 구명 ○ 당근에 적합한 가스 환경과 적정 MA 조건 구명 ○ 당근의 항균성 세척처리기술 개발 ○ 흙당근과 세척당근의 유통품질비교 	수행완료됨	<ul style="list-style-type: none"> 당근 부패 미생물의 분리 및 균주 동정 분자량별 chitosan 코팅제의 제조 생리적, 병리적 특성 구명 Active MA기술
2차년도 (2004)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 당근에 적합한 chitosan 코팅제의 제조 기술 개발 ○ chitosan-laurate의 합성,제막 및 항균활성 조사 ○ chitosan-항균제 함유 코팅제 제조 및 항균 활성 조사 ○ 당근 유통에 적합한 소포장 기술 개발 ○ 당근의 항균성 코팅피막제 처리기술 개발 ○ 당근의 장기저장을 위한 현지 실증연구 ○ 항균 코팅 피막처리된 당근의 유통실태와 소비자 반응 조사 	수행완료됨	<ul style="list-style-type: none"> chitosan 코팅제의 제조기술 chitosan-항균제 함유 코팅제 제조기술 소포장 기술 항균성 코팅피막제 처리기술

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구로 당근에 적합한 장기저장 시스템 구축을 위한 온·습도 관리기술, 소포장 내 적정 MA 조건, 당근의 항균성 세척처리기술, 당근 유통에 적합한 소포장 기술, 당근의 항균성 코팅피막제 처리기술 등이 개발됨으로써 수출국에서의 우리 농산물에 대한 이미지 제고에 기여하여 수출 확대에 이바지하고 수출농가들의 소득증가에 이바지할 것으로 판단된다. 또한 당근을 주품목으로 생산하는 지역단위 농협에게 당근의 장기저장 기술과 소포장기술을 이전하고, 본 연구에서 개발된 기술을 다른 과실에 적용함으로써 기술개발에 따른 시간 및 경제적 절감효과가 클 것이다.

본 연구결과를 토대로 당근의 수확 후 관리기술이 산업화되기 위하여 친환경적 세척처리 기술과 경제성 있는 항균성 코팅피막제 처리기술 등이 개발되도록 지속적으로 연구해야 하며, 특히 소비자 맞춤형 소포장 유통체계 정립 및 active MA 처리를 이용한 상품화 기술은 세절당근의 신선도유지와 안전성확보 및 이에 따른 수요 확대를 위해서도 반드시 산업화기술로 정착되어야 할 것이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

미국, 독일과 네덜란드 등에서는 근채류에서 침지 및 살수 검용장치에 의한 냉수냉각기술을 적용하고 있으며, 이 때 당근 수확지로부터 오염된 당근의 멸균을 위해서 살균제를 포함하여 사용하고 있다. 또한 세절된 당근의 선도유지 및 고품질화를 위해 항균성 피막코팅제를 일부 사용하고 있으며 이 분야에 대해서는 반가공채소 산업의 급속한 신장에 영향을 받아 지속적으로 새로운 기술을 연구 개발하는 중이다.

당근의 소포장을 위한 기능성포장지는 지속적으로 개발되고 있으며 또한 소포장 내 주입되는 active MA packaging(환경기체조절 포장) 기술은 유통 및 식품산업에서 널리 이용되고 있는 실정이다.

향후 시선 농산물의 유통시장에서 비교우위를 확보하려면 당근의 소포장 및 절단채소로서의 이용 시 적용이 가능한 고품질 유지기술 개발이 지속적으로 이루어질 전망이다.

제 7 장 참고문헌

- 1 Lee. K.S Woo K L and Lee D S(1994) Modified atmosphere packaging for green chili peppers Packaging Technol and Sci 7, 51-58
2. 양용준, 이경아, 김경자, 김종기 (2002) β -glucosidase 억제제에 의한 저장중인 감귤의 수확후 생리적 특성과 품질변화. 한국원예학회지, 43: 621-625
3. Kader, A.A. Zagore, D, and Kerbel, E, L (1989) Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28, 1-30
- 4 . 박우포, 유재일, 조성환(1998) 포장용 필름에 따른 풋고추의 저장 중 품질 변화. 한국농산물저장유통학회지, 5, 207-210
5. 정순경, 조성환 (2000) 식물성 향균소재를 이용한 침지 및 포장처리가 오이의 선도에 미치는 영향 한국농산물 저장 유통학회지, 7, 8-11
6. 정순경, 조성환 이동성 (1998) 향균성 플라스틱 필름을 이용한 딸기의 환경기체조절포장. 한국식품과 학회지, 30, 1140-1145
7. 정순경, 조성환 이동선 (1998) 향균성 포장필름이 딸기의 저장성에 미치는 영향. 산업식품공학 2, 157-161
8. 정순경 이숙지 정윤정 박우포 이동선 조성환 (1998) 시설채소산물의 선도유지를 위한 한국산약용 식물추출물의 향균특성. 농산물저장유통학회지, 5, 13-21
9. Kim, K.J. and Y.J. Yang (2002). Production of α -glucosidase inhibitor from *Bacillus lentimorbus* producing β -glucosidase inhibitor. J. Microbiol. Biotechnol. 12(5):895-900.
10. Kim, K.J. and Y.J. Yang (2003). Purification and characterization of chitinase from *Streptomyces sp.* M-20. J. Biochem. Mol. Biol. 36(2):185-189 .
11. 조성환 이상열 김재원 고경혁 서일원 (1995) Grapefruit 종자 추출물로부터 광범위 향균제 개발 및 응용에 관한 연구. Grapefruit 종자추출물의 향균력 검색- 한국 식품위생안전

성학회지, 10, 33-39

12. A, O, A, C (1984) Official Methods of Official Analytical chemists, Inc, U,S,A p 844-845

13. 정순경 이동선 조성환 (1999). 수확한 포도의 선도유지를 위한 향균성 포장필름. 한국농산물 저장유통학회지 6, 43-47

14. 양용준. 2004. 착색단고추의 CA 저장중 탄성도, 경도, 비타민 C 및 탄수화물의 변화. 원예과학기술지. 22(3):305-309.

15. 양용준. 2004. 토마토의 수확 후 관리기술. 부민사.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.