

최 종
연구보고서

GOVP1200611041

N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의
품질저하 방지 기술개발

Development of technology in keeping
quality of postharvest agricultural produce
using nitrous oxide and nitric oxide gas
treatments

덕성여자대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지
기술개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 8월 12일

주관연구기관명 : 덕성여자대학교

총괄연구책임자 : 김 건 희

세부연구책임자 : 김 건 희

연 구 원 : 조 순 덕

연 구 원 : 최 미 희

연 구 원 : 김 연 경

연 구 원 : 홍 은 영

연 구 원 : 강 은 진

연 구 원 : 박 주 연

협동연구기관명 : 서울대학교

협동연구책임자 : 이 승 구

연 구 원 : 이 현 주

연 구 원 : 엄 향 란

연 구 원 : 박 나 영

연 구 원 : 조 정 은

연 구 원 : 이 동 민

요 약 문 - 1

I. 제 목

N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지 기술개발에 관한 연구
(세부과제 : 국내산 채소류의 고품질화를 위한 N₂O 및 NO 최적처리조건 확립)

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 들어 과실 및 채소류의 건강 및 기능성에 대한 기대와 함께 신선·고품질 농산물에 대한 소비자의 선호도가 급격히 높아지고 있다. 이러한 변화에 따라 소비자의 대형유통업체들은 상품성, 신선도, 안전성 (safety) 등을 갖춘 질 높은 농산물을 연중 균일하게 공급하기 위해 이에 알맞은 원료를 공급해 줄 것을 생산자 및 공급자에게 요구하고 있다. 따라서, 농산물의 저장기간 및 고품질화 유지를 연장하면서 인간에게 유해하지 않으며, 환경 독성문제를 야기하지 않는 수확 후 관리 기술의 연구 개발이 절실히 필요하다. Nitrous Oxide (N₂O) 및 Nitric Oxide (NO)에 대한 연구는 주로 의약학 분야에서 주요 연구과제로 수행되어왔고, 특히 NO에 대해서는 우리나라 의약학계에서도 이에 대한 연구가 활성화되고 있다. 최근 들어, 과실 및 채소류 등의 원예산물도 살아 있는 생명체이고 NO를 생성한다는 면에서, 인체에 대한 연구와 더불어 NO가 식물체에 대한 senescence inhibition에 대한 효과에 대한 관심이 증폭되고 있다. 국내에서는 원예산물에 대한 N₂O 및 NO효과에 대한 연구가 전혀 이루어지고 있지 않고 있으며, 식물세포에 대한 N₂O 및 NO를 통한 고품질 유지 기술 확립은 학술적인 면 뿐 아니라, 국내산 농산물의 고품질 유지로 고부가 창출을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구과제의 최종 연구 목표는 N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 국내산 농산물의 품질저하 방지기술 개발로 연구 내용으로는 1) 처리 농산물에 대한 Nitrous Oxide

(N₂O)의 최적 유효 조건 확립, 2) 처리 농산물에 대한 Nitric Oxide (NO)의 최적 유효 조건 확립, 3) N₂O 및 NO와 ethylene의 작용에 대한 기작 구명, 및 이를 이용한 4) 산지 및 저장 유통단계에서는 적용 최적 조건확립을 위해 연구를 수행하였다. 본 연구에서는 국내산 주요 과실 (딸기, 키위) 및 채소류 (브로컬리, 양송이버섯, 양상치, 양파)를 대상으로 품질저하 요인의 주요원인으로 ethylene을 주목하고, N₂O 및 NO의 anti-ethylene activity에 주요 focus를 두고 연구를 수행하였다. 따라서 본 연구에서는 국내산 주요 농산물을 대상으로 N₂O 및 NO gas form으로 fumigation처리 후 국내의 생산 농산물의 특성 및 저장고 등의 유통 장비 등을 고려해 활용도가 높은 상온 및 냉장온도 (20℃ 및 4℃) 조건하에서 각 농산물 특성에 맞는 고품질 유지 최적조건을 확립하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

가. 채소류의 N₂O 최적조건 확립

다양한 농도의 N₂O와 O₂를 혼합하여 시간별, 온도별로 국내에서 선호도가 높은 채소류인 양파, 양송이, 브로컬리, 양상치에 처리함으로써 채소류의 저장력 및 선도를 증진시킬 수 있는 최적의 조건을 찾는데 그 주안점을 두었다. 다양한 조건으로 처리한 후 중량감모율, 경도, 색도, 관능검사 등의 품질변화양상 측정을 통하여 최적의 N₂O와 O₂의 적용 조건을 제시할 수 있었다. 현재 N₂O 작용 기작의 근거로 제시되고 있는 ethylene과의 관계를 조사함으로써 채소류에서 N₂O 작용에 대한 기작을 구명하고자 했다. 이에 따라 N₂O 처리 후 호흡률 및 ACC oxidase (Ethylene forming enzyme) activity, ACC 함량을 측정하여 대조구와 비교함으로써 N₂O 60% + O₂ 40%와 N₂O 80% + O₂ 20% 처리가 채소류의 고품질 유지 및 저장 수명 연장에 효과적임을 알 수 있었다.

나. 채소류의 NO 최적조건 확립

국내에서 소비 선호도가 높은 채소류인 양파, 양송이, 브로컬리, 양상치에 다양한 농도의 NO를 시간별, 온도별 처리함으로써 채소류의 저장력 및 선도를 증진시킬 수 있는 최적의 조건을 찾는데 그 주안점을 두었다. 다양한 조건으로 처리한 후 중량감모율, 경도, 색도, 관능검사 등의 품질변화양상 측정을 통하여 최적의 NO 적용 조건을 제시할 수 있었다. 현재 NO 작용 기작의 근거로 제시되고 있는 ethylene과의 관계를 조사함으로써 채소류에서 NO 작용에 대한 기작을 구명하고자 했다. 이에 따라 NO 처리 후 호흡률 및 ACC oxidase (Ethylene forming enzyme) activity, ACC 함량을 측정하여 대조구와 비교하였고 양파에서

는 NO 100ppm 과 NO 1000ppm, 양송이는 NO 100ppm, 브로컬리는 NO 1000ppm, 양상치는 NO 50ppm 처리가 채소류의 고품질 유지 및 저장 수명 연장에 효과적임을 알 수 있었다.

2. 연구활용에 대한 건의

본 연구의 핵심기술은 N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지기술 개발로 그 활용방안은 다음과 같다.

- 본 연구는 농산물 수입화 개방에 대응하기 위한 국내산 농산물의 고품질 유지신기술로 효율적으로 활용될 수 있음.
- 국내의 농산물 저장 유통 및 원예산물의 품질관리 분야에서의 식물체내의 N₂O 및 NO효과에 대한 연구확립으로 새로운 연구영역 확대 및 이 분야 연구의 세계화 동참에 활용될 수 있음.
- 본 연구는 3년간의 연구과제로 계획되었으나 2년 연구과제로 축소되어 수행되어 각 과실 및 채소류에 대한 광범위한 적용연구에 있어 시간적 제약을 받아 연구에 어려움을 겪었음. 따라서 본 연구과제에 대한 후속과제 여건이 주어지면 좀 더 활용도가 높은 결과를 기대할 수 있을 것임.
- 본 연구의 결과를 바탕으로 Nitrous oxide 및 Nitric oxide의 gas form 사용에서 일반화 및 실용도가 높은 고체 형태의 분말화를 위한 추가기술 개발연구를 추진하고자 함.

요 약 문 - 2

I. 제 목

N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지 기술개발에 관한 연구
(협동과제: 국내산 딸기와 키위, 복숭아 저장의 효율성 증대를 위한 N₂O 및 NO 최적 조건 확립)

II. 연구 개발의 목적 및 필요성

과실은 수확과 동시에 수체로부터 양분이나 수분공급이 중단되면서 과실 내 호흡량 증가로 각종 유기물이 소비되어 품질이 급속히 저하된다. 일반적으로 과실류는 저장 후 유통과정을 거쳐 소비되며 이러한 과정에서 품질은 수확 당시 과실의 성숙도, 수확 후 저장조건과 유통 과정 중 품질관리에 크게 영향을 받는데 현재 까지 유통 과정에서 저장은 상온 또는 냉장고를 이용한 저온저장에 의존해 오고 있다. 특히 상온에서와 같이 높은 온도에서의 저장은 과실로부터 많은 호흡량과 에틸렌을 발생시켜, 과실의 신선도를 현저히 떨어뜨림으로써 저장기간을 단축시킨다. 본 연구에 이용되는 복숭아, 키위 그리고 딸기는 수확 후에도 살아있는 유기체로서 물질대사와 일반 생리작용이 계속 유지되므로 조직의 변화가 일어난다. 수확 후 품질변화는 생리적으로 호흡작용과 증산작용에 큰 영향을 미치며, 유해물질 생성과 향미성분 상실, 조직의 붕괴와 연화로 과육이 물러지게 되므로 호흡작용과 증산작용을 억제시켜야 한다. 특히 딸기와 복숭아는 타 작물보다 호흡량이 많으므로 온도가 높을수록 호흡작용에 의한 과실 내 양분의 소모가 많아져서 신선도가 급격히 떨어지거나 쉽게 과육이 물러지므로 호흡을 최대한 억제시키는 것이 중요하다. 따라서 본 연구는 복숭아, 키위 그리고 딸기의 수확 후 선도를 유지하기 위해서 의학에서 인간을 대상으로 많은 연구를 해온 N₂O 및 NO 가스를 선정하여 이 가스를 외생적으로 처리함으로써 수확 후 농산물의 품질저하를 방지하는 기술을 개발하고자 한다. 이미 선행 연구를 통해 일부 농산물에 대한 효과를 확인하였고, 이를 좀더 과학적인 차원에서 접근 연구하여 농산물 종류에 따른 적절 유효 조건을 확립하고자 한다.

III. 연구 개발 내용 및 범위

1. N₂O 관련 연구

가. N₂O의 최적 조건 확립

다양한 농도의 N₂O와 O₂를 혼합하여 처리 시간과 온도 조건을 변화하면서 최적 조건을 확립하였다. 이때 저장 기간에 따른 품질 변화 양상을 조사하였다.

나. N₂O 작용에 대한 기작 구명

N₂O 처리 후 호흡률 및 에틸렌 발생량을 측정함으로써 과일 종류에 따라 N₂O가 과실에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 복숭아 유통 중 중요 문제점인 압상에 관해 N₂O의 효과를 조사하고, 곰팡이 발생 억제에 미치는 효과에 관하여 연구하였다.

다. N₂O 처리 실용화 방안 모색

실험실에서 도출된 N₂O의 최적 처리조건을 토대로 현재 유통되는 포장 단위형태를 이용하여 딸기에서 N₂O 효과를 관찰하였다.

2. NO 관련 연구

가. NO 처리조건 확립

복숭아, 키위 그리고 딸기에 NO 처리 실험에 앞서, 산소와 결합하면 쉽게 NO₂로 변환되는 NO의 산화 현상을 막기 위한 챔버 제작 및 최적조건을 확립하였다. 또한 챔버 내 산소 제거를 위한 N₂ 및 NO의 최적 처리시간을 조사하였다.

나. 복숭아 품종에 따른 NO 처리 효과

품종별 NO의 효과를 비교하기 위하여 복숭아 ‘창방조생’과 ‘미백도’ 품종에 따라 NO를 처리하여 그 효과를 확인하였다. 복숭아 저장 전 · 후에 NO 처리를 통한 유통 중 품질유지를 위한 적정 처리시기를 결정하였으며, 저장 시일 경과에 따른 품질 변화 및 생리적 변화를 조사하였다.

다. ‘미백도’ 복숭아의 성숙 시기에 따른 NO 처리효과

성숙단계와 미성숙단계의 과실을 수확하여 성숙 단계에 따른 NO 처리 효과를 확인함으로써 시장 출하 시 경쟁력 가능한 적정 수확시기를 제시하고자 하였다.

라. 키위과실의 저장기간에 따른 비교

유통 중 에틸렌에 민감한 키위과실의 NO 처리 가능성을 확인하고자 저장 시기를 달리하여 저장 일수에 따른 NO 반응성을 확인하였으며, 저장 중 품질 변화 조사 및 곰팡이 발생에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 저장 중 발생하는 에틸렌과 호흡에 대한 반응성을 조사하였다.

마. '육보' 딸기에 미치는 NO의 영향

처리농도를 저농도에서 고농도로 높여가면서 적정 농도확인 및 품질 조사를 하였다. 처리시간을 단계적으로 증가시키면서 최상의 품질유지를 위한 처리시간을 조사하였다. 딸기 유통 중 문제가 되는 꽃받침의 갈변에 미치는 NO의 영향을 조사하였다.

IV. 연구 개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. N₂O 관련 연구

아산화질소(N₂O)가 원예 작물의 품질에 미치는 영향과 그 작용 기작을 구명하기 위하여 복숭아, 키위 그리고 딸기를 대상으로 연구를 수행하였다. 품질 변화에 있어서는 4℃에서 80% N₂O를 48시간 동안 처리한 것이 가장 큰 효과가 있었다. N₂O의 처리 농도가 높고 처리 시간이 길수록, 그리고 온도가 낮을수록 효과가 있었으나 90% N₂O를 처리하였을 때에는 산소 부족으로 인한 발효로 중량 감소와 식미가 오히려 악화되는 양상을 나타내었다. 당도와 경도에서는 유의적 상관관계가 없었으나, 외관상으로는 N₂O를 처리하였을 때가 처리하지 않았을 때보다 뚜렷한 품질 유지 효과를 보였다. 이러한 외관상 효과를 좀 더 자세히 구명하기 위해서 N₂O의 갈변 억제와 부패 억제에 관한 조사가 수행되었다. 그 결과 인위적으로 상처를 가한 과실에 N₂O를 처리하였을 때 갈변이 크게 억제되었다. 부패 억제와 관련하여 복숭아 과실에 수확 후 병을 일으키는 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)을 분리하여 직접 N₂O를 처리하였을 때 곰팡이 성장을 12일까지 약 80% 억제시키는 것으로 나타났다. 이는 N₂O가 곰팡이에 직접적으로 영향을 미치는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 N₂O는 과실의 유통 중 품질 유지 및 부패 억제 등의 방식으로 저장 기간을 연장시킬 수 있다.

2. NO 관련 연구

NO의 처리는 continuous flow system을 이용하였으며, 3l min⁻¹ 유속으로 N₂를 20분간 챔버로 보낸 후 25분간 NO를 처리하였다. 키위과실을 넣고 NO 처리 시 챔버 내부의 공기조성은 산소, 이산화탄소 각각 0.4%, 0.3% 이었다. 복숭아 품종별 NO 처리를 비교해보면, '창방조생' 복숭아에서는 NO 처리시기에 따라 품질에 미치는 영향은 없었다. 그러나 '미백도' 복숭아는 대조구에 비해서 NO 처리가 품질유지에 좋았으며, 처리 시기별 차이를 보면 0℃ 저장 후 NO를 처리하는 것이 과실의 고유의 색택 유지와 경도 유지 면에서 더 효과가 좋았다. 그러나 두 품종 모두 에틸렌과 NO 처리와의 상관관계는 보이지 않았다. 성숙시기에 따른 생리적 대사 작용에 따라 호흡이나 에틸렌 발생이 차이를 보이지만, 품질에서는 수확기

가 영향을 미치지 않았다. 하지만 NO 처리에 따른 차이는 확연하였다. NO 처리는 특히 호흡량을 감소시켰으며, 과피 색이 품질을 결정짓는 ‘미백도’ 품종에서는 대조구가 붉게 변하는 반면 처리구에서는 ‘미백도’ 고유의 색을 유지하였다. 따라서 ‘미백도’ 품종에 NO를 처리할 경우에는 과실의 유통기간을 연장시키기 위해서 수확적기보다 조금 이른 시기인 과피의 백색부가 70% 정도 일 때 수확하여 NO 처리한 다음 유통시키면 좀더 경쟁적이라 생각한다. 키위과실에 NO를 적용시킬 때는 3달 저온 저장된 과실보다 1달 저온 저장된 시료를 이용하는 것이 에틸렌의 발생을 억제하는데 효과적이다. 하지만 장기 저온 저장된 시료일지라도 시장으로 출하하기 전에 처리하면 에틸렌 발생 및 호흡을 감소시키고, 연화까지 막을 수 있다. NO 처리 시에는 적정 농도를 찾는 것이 중요한데 본 실험결과 NO의 적정 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO를 기준으로 너무 낮거나 높으면 NO의 효과가 줄어들어 저장 효율성을 저하시킨다. 딸기에 NO를 처리하면 저장력 증진에 효과적이며, 적정 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO이고 처리 시간은 5시간을 처리하는 것이 효율적이다. 또한 딸기에 NO 처리 시 가장 효과를 볼 수 있었던 것은 호흡과 꽃받침의 갈변을 억제한 것이다. 본 연구에서는 NO의 딸기에의 적용성만을 검증하는 실험이 수행되었으나, 다음 연구에서는 호흡과 갈변 억제의 생리적 기작에 대한 연구가 요구된다.

SUMMARY - 1

Establishment of optimal conditions of domestic vegetables for keeping quality using N₂O and NO treatments

There are a lot of consumers who are interested in their health and the functional effects of vegetables, as well as they have expected the freshness and the high quality of vegetables in these days. Recently there has been a great interest in the potential benefits of using nitrous oxide (N₂O) or nitric oxide (NO) gases for keeping quality of vegetables after harvest. The shelf-life of agricultural produce can be extended by reducing the concentration of ethylene. It has been reported that N₂O and NO gases are the anti-ethylene compounds. The objective of this study was to establish optimal conditions for keeping quality of vegetables during storage and distribution using N₂O and NO treatments. Therefore, this experiment was examined the beneficial effect of N₂O and NO on quality of some vegetables during storage.

1. Effect of nitrous oxide (N₂O) on quality of onion, mushroom, broccoli and lettuce

It was reported N₂O has shown a significant anti-ethylene activity by extending the lag phase of ethylene production in fruit but there are a few reports about application of N₂O in vegetables.

This experiment was investigated to maintain high quality of some vegetables which were popular in Korea market, using N₂O treatment. The N₂O 60% + O₂ 40% and 80% + O₂ 20%) treatments for 12 hours were effective to prolong the shelf life of onion, mushroom, broccoli and lettuce. N₂O treatment prevented weight loss of vegetables used. Respiration rate was inhibited by N₂O treatment in vegetables. There were no significant differences in total chlorophyll contents in broccoli and lettuce.

2. Effect of nitrous oxide (NO) on quality of onion, mushroom, broccoli and lettuce

It was reported that nitric oxide gas appears to be a natural plant growth regulator.

This experiment was investigated to maintain high quality of onion, mushroom, broccoli and lettuce using NO treatment. Various NO concentration were applied to find out the optimal concentration that is able to keep high quality in each vegetables used in this study. The NO 100ppm and NO 1000ppm for onions, NO 100ppm for mushrooms, NO 1000ppm for broccolis and NO 50ppm for lettuces were desirable conditions for extending shelf life. NO treatment prevented weigh loss of samples. Respiration rate was inhibited by NO treatment in vegetables. Ascorbic acid content of samples might independent of NO concentration. There were no significant differences in total chlorophyll contents in broccoli and lettuce.

It was not enough to examine the mechanism how ethylene was inhibited by N_2O and NO in this study. However application of N_2O and NO which are potential gases to control the postharvest decay of agricultural produce, can extend the shelf-life of some vegetables. It can be useful treatments to maintain high quality during storage and distribution of agricultural produce.

SUMMARY - 2

Responses of strawberry, kiwifruit and peach to nitrous oxide or nitric oxide after harvest

Postharvest senescence is a major limitation to the marketing of many species of horticultural crops, and considerable effort has been devoted to developing postharvest treatments to extend the marketing period. The postharvest life can be extended by reducing respiration rate and by minimizing the concentration of ethylene in the atmosphere around fruit. The objective of this study was to evaluate the responses of strawberry, kiwifruit and peach to nitrous oxide (N₂O) or nitric oxide (NO).

1. Effect of nitrous oxide (N₂O) on the postharvest life of peach, strawberry and kiwifruit

This experiment was conducted to find out the effects and mode of action of nitrous oxide (N₂O) on the quality of peach, strawberry and kiwifruit. The treatment of 80% N₂O for 48 h at 4°C was most effective to prolong the shelf life of peach, strawberry and kiwifruit. N₂O was dose and time dependent but the treatment of 90% N₂O had negative effects on the weight loss and taste because of anaerobic fermentation. No significant difference was noted on soluble sugar contents and firmness. However, N₂O maintained good appearance of fruits longer compared to the control. Effect of N₂O on inhibition of browning and rotting was also investigated. In result, N₂O largely inhibited the development of browning of artificially wounded fruits. *Botrytis cinerea* was isolated from peach and strawberry fruits and directly exposed to N₂O and cultured at 20°C. The growth of fungi was inhibited 80% of control during 12 days. It seemed that N₂O directly affected the growth of *B. cinerea*. Our results showed that N₂O could extend the shelf life of peach, strawberry and kiwifruit through the inhibition of browning and rotting during storage.

2. Effect of nitric oxide (NO) on the postharvest life of peach, strawberry and kiwifruit

In peaches (*Prunus persica*), the objectives of the study were to evaluate the effects of NO on 'Changbang Josaeng' and 'Mibaekdo' peach quality after storage, and to investigate the efficacy of NO treatments according to harvest period in 'Mibaekdo' peach. After or before 7 days storage at 0°C, 'Changbang Josaeng' and 'Mibaekdo' peaches were treated with 100 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr, then stored at 18°C. In 'Changbang' peach, there were no significant effects of NO on weight loss, firmness and ethylene production. However, NO treatment before 0°C storage was effective on quality. In 'Mibaekdo' peach, exogenous application of NO could reduce the weight loss. It is explained that NO could then stimulate horticultural produce to act in a way that reduces transpiration. NO treatment in 'Mibaekdo' improved firmness and color retention. According to harvest period, especially early harvested fruits had effects on carbon dioxide production, ethylene production and color retention rather than moderately harvested fruits. Overall, the results indicate that NO has tremendous potential for maintaining peach, especially 'Mibaekdo', quality during storage, but its efficacy can be affected by treatment concentration as well as by peach cultivar.

Kiwifruit (*Actinidia deliciosa* (A Chev) Liang et Ferguson cv Hayward) was harvested at the mature stage and stored at 0°C. After 1 month or 3 months of cold storage, fruits were treated with NO at concentrations of 100, 200, or 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr under oxygen free atmosphere, respectively. Treated fruits were transferred to 18°C to investigate physiology and quality characteristics during shop holding periods. Ripening of fruits treated with NO was delayed not only ethylene production but also softening in all experiments. The colony diameter of fungi of 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO treatment was smaller than control and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO. The best concentration of NO for postharvest quality maintenance is 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO. NO application is more beneficial for fruits stored for 1 month than those stored for 3 months. The use of NO is a method to extend postharvest life as an inhibitor of ethylene production in kiwifruit.

NO was tested of its potential to control the postharvest quality of 'Yukbo' strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruit. 'Yukbo' strawberries were exposed to 0, 50, 100, 200 and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO at 15°C in air, then stored at 1 8°C. Strawberry quality declines rapidly after storage. The treatment of 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO results in reduced respiration rate and ethylene production. These physiological responses affect fruit quality including firmness, weight loss, and senescent decay. The treated fruit showed higher firmness and lower weight loss and senescent decay than the control. The treatment of 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO protect the calyx tissue during storage. At higher NO concentration the extension in postharvest life was not as great. Strawberries fumigated with 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO showed no significant increase in postharvest life. The factor limiting postharvest life at 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO was development of browning around the calyx. Fruit treated with 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO had a 5-day shelf-life compared with 2 days for 50, 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO and control, respectively, and 3 days for fruit treated with 100 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO. Fruit treated with 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO were commercially unacceptable. Application of NO at suitable concentrations could extend shelf-life, by enhancing marketing and consumer expectations without compromising strawberry quality.

● 총괄과제명 : N_2O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의
품질저하 방지 기술개발에 관한 연구

1. 세부과제 : 국내산 채소류의 고품질화를 위한 N_2O
및 NO 최적처리조건 확립

CONTENTS

I. Introduction	17
II. Current Development of Related Technology	24
III. Research Data: approaches, results, and discussion	26
IV. Achievement Evaluation	112
V. Practical Application of the Results	113
VI. Scientific Information Collected through the Project	114
VII. Literature Cited	116

목 차

제 1장 연구개발과제의 개요	17
제 2장 국내외 기술개발 현황	24
제 3장 연구개발수행 내용 및 결과	26
제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	112
제 5장 연구개발결과의 활용계획	113
제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	114
제 7장 참고문헌	116

제 1장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 필요성

최근 들어 과실 및 채소류의 건강 및 기능성에 대한 기대와 함께 신선·고품질 농산물에 대한 소비자의 선호도가 급격히 높아지고 있다. 이러한 변화에 따라 소비자의 대형유통업체들은 상품성, 신선도, 안전성(safety) 등을 갖춘 질 높은 농산물을 연중 균일하게 공급하기 위해 이에 알맞는 원료를 공급해 줄 것을 생산자 및 공급자에게 요구하고 있다. 따라서, 농산물의 저장기간 및 고품질화 유지를 연장하면서 인간에게 유해하지 않으며, 환경 독성문제를 야기하지 않는 수확 후 관리 기술의 연구 개발이 절실히 필요하다. 수확 후 농산물의 품질저하의 주요한 요인으로 저장, 수송 판매등 유통기간중의 산물에 의해 발생하는 ethylene (C_2H_4)의 축적(accumulation) 및 이에 의한 chlorophyllase의 활성화에 따른 엽록소의 파괴와 polygalacturonase의 활성화 등에 따른 다양한 품질저하 (quality deterioration) 및 노화 (senescence)축진이다. 따라서 수확 후 농산물의 고품질 유지 및 저장수명 연장을 위해 ethylene 작용을 저해시키는 기술개발이 다양하게 연구되어오고 있다. 지금까지는 에틸렌 활성을 저해시키는 기술로 화학약품을 많이 사용해 왔으나, 인체 및 환경독성 문제로 전 세계적으로 점차 사용이 제한되어 오고 있어 이를 대체시키는 기술개발이 매우 필요한 실정이다. 최근 들어 의학계에서 환자들에게 진통, 마취용으로 사용하는 Nitrous Oxide (N_2O) 및 모든 생물체 내에서 생성되어 적절한 농도에서 인체의 각종 세포의 생리적 기능을 조절하여 생명현상 유지에 꼭 필요한 것으로 확인되고 있는 Nitric Oxide (NO)가 anti-ethylene compounds로 보고되면서 이를 이용한 수확 후 농산물에 대한 고품질유지에 대한 관심이 시작되고 있다. Nitrous oxide는 자연적으로 발생하는 atmospheric gas이다. N_2O 의 primary source는 흙속에 존재하는 호기적인 탈질소 세균 (aerobic denitrifying bacteria)이다. N_2O 는 상온에서 불활성이며, 안정되고, 화학적으로 중성이다. 의학에서는 진통 (analgesic) 및 마취 (anaesthetic) 목적으로 사용되고 있으며 특히, 치과 치료의 마취에 널리 사용되고 있다. 고등 식물에서의 N_2O endogenous occurrence에 대해서는 보고된바가 없으나, exogenous N_2O 를 처리했을 때 잎과 종자의 mitochondria의 호흡이 가역적으로 저해되었고, 저장수명이 연장되었다는 보고가 있다. 지금까지 N_2O 가스를 식물체에 적용하여 연구된바는 별로 없으나, 지금까지 연구결과로는 N_2O 가 지방 및 단백질을 bind하여 mitochondria particles의 cytochrome c oxidase의 activity를 저해하는 것으로 알려져 있다. 또한, N_2O 는 에틸렌 생산의 lag phase를 연장시켜 유의적인 anti-ethylene activity를 나타내는 것으로 보고 되고 있다. Nitric Oxide(NO)는 질소와 산소원자가 결합된 아주 작은 가스분자로서 지구상의 거의 모든 생물체내

에서 생성된다. NO는 세포막을 자유스럽게 통과하여 다양한 형태의 산화-환원형으로 변할 수 있고, 세포의 기능을 결정하는 다양한 물질들과 결합해 안정을 찾으려는 비교적 불안정한 유리기 (free radical)이다. NO의 생성과 작용에 대해서는 최근 들어 전 세계적으로 폭발적인 관심 하에 이루어진 연구결과로 NO는 적절한 농도에서 인체의 각종 세포의 생리적 기능을 조절하여 생명현상 유지에 꼭 필요한 것으로 확인되고 있다. NO가 비정상적으로 과소 또는 과다하게 생성될 때에는 세포의 기능을 마비시키거나 사멸시켜 다양한 질병을 유발하는 양면적인 signal 혹은 sensor로 작용할 수 있다. N₂O 및 NO에 대한 연구는 주로 의약학 분야에서 주요 연구과제로 수행되어왔고, 특히 NO에 대해서는 우리나라 의약학계에서도 이에 대한 연구가 활성화되고 있다. 최근 들어, 과실 및 채소류 등의 원예산물도 살아 있는 생명체이고 NO를 생성한다는 면에서, 인체에 대한 연구와 더불어 NO가 식물체에 대한 senescence inhibition에 대한 효과에 대한 관심이 증폭되고 있다. 국내에서는 원예산물에 대한 N₂O 및 NO효과에 대한 연구가 전혀 이루어지고 있지 않고 있으며, 식물세포에 대한 N₂O 및 NO를 통한 고품질 유지 기술 확립은 학술적인 면 뿐 아니라, 국내산 농산물의 고품질 유지로 고부가 창출을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

1. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

국내 농산물은 수확 후에 관리기술의 미흡으로 신선도 저하 및 부패 등의 품질저하 현상이 발생하여 감모율 (postharvest loss)이 많이 발생되고 있기 때문에 신선도 유지 및 상품성 향상을 위한 품질저하 방지 기술의 개발이 시급히 필요할 실정이다. 또한, 농산물의 수입개방으로 많은 과일과 채소가 수입되어, 국내 농산물이 품질적인 면에서 경쟁력을 제고할 중요한 시점이기도 하다. 따라서, 본 연구에서는 국내산 주요 농산물을 대상으로 인간 및 환경독성면에서 안전한 처리조건을 개발하여 수확물 산물의 고품질 유지 기간을 연장시키는 기술을 개발하고자 한다. 이를 위해 의학에서 인간을 대상으로 많은 연구를 해온 N₂O 및 NO gas를 선정하여 이 gas를 exogenous하게 application하여 수확 후 농산물의 품질저하를 방지하는 기술을 개발하고자 한다. 이미 선행 연구를 통해 일부 농산물에 대한 효과를 확인하였고, 이를 좀더 과학적인 차원에서 접근 연구하여 농산물 종류에 따른 적절 유효 조건을 확립하고자 한다.

나. 경제·산업적 측면

최근 들어 소비자들의 건강식품에 대한 관심이 증가되고 있고, 과실 및 채소류에 대한 생리활성 효과가 보고 되면서 신선하고, 안전성 (safety)이 확보된 고품질의 농산물에 대한 요구가 증가되고 있다. 따라서, 농산물의 고품질 유지를 위한 인간 및 환경에 안전한 수확 후 처리기술의 연구 개발이 매우 필요하다. 이러한 기술

은 곧 농산물의 저장수명 (postharvest life)을 연장시키게 되고, 이에 따른 농가소득의 증대 효과를 가져온다. 현재 우리나라의 사정을 살펴볼 때, 국내의 양파나 마늘과 같은 양념 채소류의 경우 국내 저온저장고 (약 30만평)의 거의 50%를 차지하고 있는데, 부적절한 수확 후 관리기술 등으로 곰팡이의 번식과 이로 인한 부패로 매년 30%이상 폐기되고 있다. 따라서 본 연구에서는 N_2O 및 NO 처리를 각 농산물의 생리특성에 맞는 수확 후 관리기술의 개발로 생산자에게는 고품질 연장으로 인한 소득증대, 소비자에게는 안전한 농산물 공급을, 또한 국내 유통업자들에게는 새로운 수확 후 관리기술을 공급해 이 분야의 산업창출의 기회를 제공할 수 있다.

다. 사회·문화적 측면

소비자들은 건강한 식생활을 위해 기능적 영양소가 풍부한 신선한 농산물의 소비 증가와 함께 안전하게 수확 후 처리 관리되어 공급되길 바라는 요구도 아울러 증대되고 있다. 수입개방 후 세계 각지로부터 수입되어오는 농산물들에 대한 안전성 견지에서 불신이 높아져 가고 있으며, 종종 사회적 문제로 대두되고 있기도 하다. 따라서 품질적인 면에서 세계경쟁력을 갖추고 또한, 안전하게 처리되어 소비자에게 공급되는 수확 후 농산물의 품질저하 방지 기술은 이러한 사회적 요구에 부응되는 기술개발로 사료된다. 또한, 농산물을 대상으로 N_2O 및 NO에 대한 연구 방법을 확립하여 국내 기존 연구자 및 차세대 연구자들의 연구과제로서 활발히 참여할 수 있는 동기를 유발시켜 이 분야에 대한 과학발전을 이룰 수 있는 계기가 될 수 있을 것으로 전망된다.

제 2절 연구개발의 목표 및 범위

1. 연구개발 목표와 내용

본 연구과제의 최종 연구 목표는 N_2O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 국내산 농산물의 품질저하 방지기술 개발로 연구 내용으로는 1) 처리 농산물에 대한 Nitrous Oxide (N_2O)의 최적 유효 조건 확립, 2) 처리 농산물에 대한 Nitric Oxide(NO)의 최적 유효 조건 확립, 3) N_2O 및 NO와 ethylene의 작용에 대한 기작 구명, 및 이를 이용한 4)산지 및 저장 유통단계에서는 적용 최적 조건확립을 위해 연구를 수행할 예정이다. 본 연구에서는 국내산 주요 과일 및 채소류를 대상으로 품질저하 요인의 주요원인으로 ethylene을 주목하고, N_2O 및 NO의 anti-ethylene activity에 주요 focus를 두고 연구방법을 계획하였다. Ethylene은 모든 식물에서 자연적으로 생산되는 호르몬과 같은 growth regulator이다. Ethylene은 종자발아 (seed germination)에서부터 노화 (senescence)에 이르기까지 0.01 $\mu\text{l/liter}$ 와 같은 저 농도에서도 다양한 효과를 발휘하고 있으며, 이러한 효과는 농산물의 품질에 지대

한 영향력을 유익하게 혹은 불리하게 작용하고 있다. Climacteric 과채류에 있어서는 ripening을 주도하지만, 화훼류나 non-climacteric 과채류에 있어서는 노화를 촉진시켜 저장수명을 단축시키는 결정적인 역할을 하고 있다. 수확 후 농산물은 스스로 발생하는 ethylene, 또는 다양한 저장유통경로에 의해 ethylene축적에 의한 품질저하 위험에 노출되어 있다. 본 연구에서 추구하는 N₂O 및 NO가 anti-ethylene 작용에 대한 구멍을 위한 ethylene 합성의 경로는 Fig. 1과 같다.

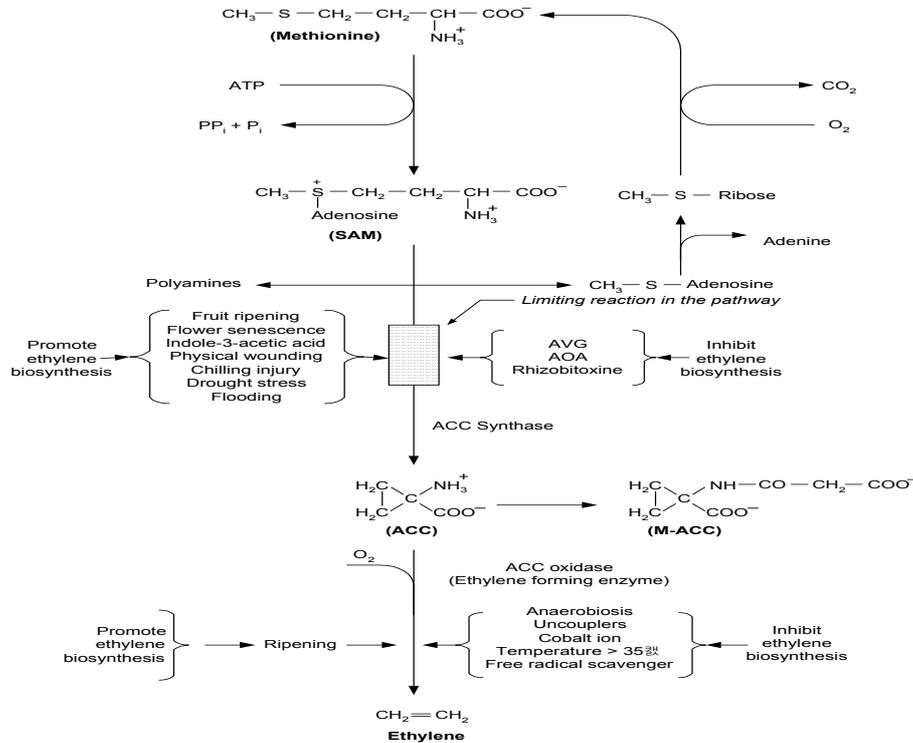


Fig. 1 Ethylene biosynthesis and its regulation (Modified from Yang 1985, Taiz and Zeiger, 1991).

N₂O는 ethylene production의 lag phase를 연장시켜 anti-ethylene activity를 나타내는 것으로 알려져 있다 (Gouble et al., 1995). 그러나 아직 각 농산물에 대해 어떤 형태로 작용하는지에 대해서는 많은 연구를 필요로 하고 있다. NO에 대한 anti-ethylene activity는 Leshem and Haramaty (1996)에 의해 NO를 첨가했을 때 ethylene 생산이 현격히 감소되는 현상을 보고하여 NO의 ethylene inhibition 작용에 대해 보고하였다. 이 결과는 pea foliage에 대한 것으로 본격적인 농산물 각 산물에 대한 연구보고는 아직 보고되지 않고 있다. NO의 합성경로는 Fig 2와 같다.

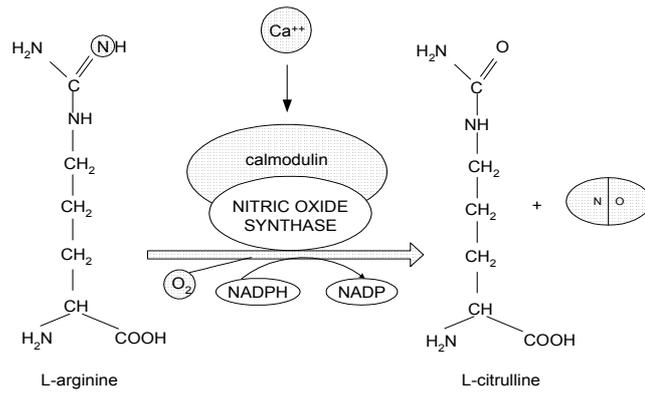


Fig. 2 Mode of Nitric Oxide synthesis (Adapted from Leshem and Wills, 1998).

따라서 본 연구에서는 국내산 주요 농산물을 대상으로 N₂O 및 NO gas form으로 fumigation 처리를 다양한 실험조건하에서 연구를 수행한 후 각 농산물 특성에 맞는 고품질 유지 최적조건을 확립하고자 한다. 국내의 생산 농산물의 특성 및 저장고등의 유통장비 등을 고려해 활용도가 높은 상온 및 냉장온도(20 및 4℃)조건하에 중점을 두고 연구를 수행하고자 한다.

2. 연차별 연구개발 목표와 내용

○ 세부과제 - 채소류 : 브로컬리, 양송이버섯, 양상치, 양파

가. 1차년도 (2003)

구 분	연구개발목표	연구개발내용
<p>세부과제 : 국내산 채소류의 고품질화를 위한 N₂O 및 NO 최적처리조건 확립</p>	<p>· 처리 농산물에 대한 N₂O의 최적 유효조건 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 유효 처리조건 범위 설정을 위해 각 농산물별로 예비 실험 수행하여 일정 처리 농도 범위 설정 후 실험 적용 가능한 범위를 확립함. - N₂O는 gas형태로 다양한 농도 (0, 20, 40, 60, 80 100% N₂O + oxygen) 및 시간 (0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24 시간)에서 fumigation 처리 후 20 및 4℃에 저장하여 처리 농산물의 품질 (appearance, texture, flavor 및 nutrition 품질 factors에 대한 physicochemical methods 및 sensory evaluation을 실시)을 일정한 기간별 (1일/20℃, 3-4일/4℃)로 조사함. - 모든 실험 처리군에 대한, CO₂ 및 O₂를 일정한 기간별 (1일/20℃, 3-4일/4℃)로 gas chromatograph로 측정하여 그 변화 pattern을 조사함. - 모든 실험처리군을 실제 시중 유통에서 조성된 ethylene 조건인 0.1µl/liter의 ethylene system하에 각기 저장한 후 일정기간 간격으로 품질변화 및 기체조성을 조사하여 비 처리군과 비교조사함.
	<p>· N₂O와 ethylene 작용에 대한 기작 구명</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 모든 처리군에 대한 각 농산물의 조건별 respiration 측정함. - N₂O 농도 및 fumigation time에 따른 ethylene 작용에 대한 inhibition pattern을 각 처리 농산물별로 저장기간, 온도 (20℃ 및 4℃)에 따른 ethylene 및 ethylene forming enzyme (1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase) levels을 gas chromatograph 및 기기분석을 통해 조사하여 품질변화 함께 그 상관관계를 조사함.
	<p>· N₂O 처리에 대한 현장 실증 실험 및 조건 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 실험실 범위 내에서 조사된 최적 유효 N₂O 처리 조건을 농산물의 산지에서 적용실험을 수행해 산지에서 활용될 수 있는 최적 조건을 확립. - 농산물 수확 후 소비자에게 공급되는 각 유통단계에서의 N₂O 처리 조건의 유효성을 검증하여, 실제 적용 가능한 조건을 확립.

나. 2차년도 (2004)

구 분	연구개발목표	연구개발내용
<p>세부과제 : 국내산 채소류의 고품질화를 위한 N₂O 및 NO 최적처리조건 확립</p>	<p>• 처리 농산물에 대한 NO 최적 유효조건 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 유효 처리조건 범위 설정을 위해 각 농산물별로 예비실험 수행하여 NO 처리 농도 및 fumigation time 범위 설정 후 실험 가능한 범위를 확립함. - NO는 gas형태로 다양한 농도 (1-100, 100-1000, 1000-10,000 ppm) 및 시간 (0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24 시간)에서 fumigation 처리 후 상온에서 24시간 pulse treatment한 후 처리간의 전반적인 외관 품질을 조사함. - 24 시간 pulse treatmentgn 처리 농산물을 20℃ 및 4℃의 0.1 μl/liter의 ethylene system에 저장한 후 일정한 기간별 (1일/ 20℃, 3-4일/4℃)로 처리 농산물의 품질 (appearance, texture 및 flavor, 및 nutrition 품질 factors등에 대한 physicochemical methods 및 sensory evaluation을 실시)을 조사함. - 모든 실험 처리군에 대한 NO, CO₂ 및 O₂를 일정한 기간별 (1일/ 20℃, 3-4일/4℃)로 그 변화 pattern을 조사함.
	<p>• NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 모든 처리군에 대한 각 농산물의 조건별 respiration 측정함 - NO의 ethylene 작용에 대한 inhibition pattern을 각 처리 농산물별로 저장기간에 따른 ethylene 및 ethylene forming enzyme(ACC oxidase) levels을 gas chromatograph 및 기기분석을 통해 조사하고, 처리농산물의 이화학적인 품질변화도 아울러 조사하여 그 상관관계를 조사함.
	<p>• NO처리에 대한 현장 실증 실험 및 조건 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 실험실 범위 내에서 조사된 최적 유효 NO 처리 조건을 농산물의 산지에서 적용실험을 수행해 산지에서 활용될 수 있는 최적 조건을 확립. - 농산물 수확 후 소비자에게 공급되는 각 유통단계에서의 NO 처리 조건의 유효성을 검정하여, 실제 적용 가능한 조건을 확립.

제 2장 국내외 기술개발 현황

제 1절 국내기술개발 현황

N_2O 및 NO 에 대한 연구는 국내에서 의·약학분야에서 연구에 대한 관심이 고조되어 있어 인체의 각종 세포의 생리적 기능을 조절하여 신약 개발 (예: 협심증에 쓰이는 니트로 글리세린)에 대한 연구를 수행하고 있다. 그러나, 농산물과 관련해서는 전혀 소개되고 있지 않고 있는 실정이다. 국내에서는 수확 후 관리 기술 수준이 농업 선진국에 비하여 매우 낙후된 점을 감안 할 때 이러한 동향을 국내의 원예산물의 수확후 관리기술의 개발에 있어 활용할 필요성 및 가치가 높다고 사료된다.

제 2절 국외기술개발현황

농업 선진국에서는 지난 수십년간 농산물의 수확 후 손실을 줄이고 고품질을 유지하기 위하여 농산물의 저장, 포장 및 운송, 그리고 관련기술을 발전시켜 왔으며, 저장이나 유통 중 부패로 인한 감모율을 줄이기 위하여 다양한 화학약제를 개발·사용하여 왔다. 그러나 최근 들어 WHO/FAO 및 EU 국가 등에서 인간 및 환경 독성 문제로 점차 이들 화학약제들에 대한 금지조치 및 사용제한을 하고 있어, 이들 화학제제를 대신하여 친환경적이며 인체에 무독성한 것으로 대체시키는 연구들이 한참 진행 중에 있다. 그 대표적인 것으로 N_2O 및 NO gas를 들 수 있으며, 이 분야에 대해서는 의학분야에서 먼저 연구가 이루어졌으며 최근 들어 식물에 적용시키려는 움직임이 있다.

N_2O 는 흙속에 존재하는 호기적인 탈질소 세균에 의해 자연적으로 발생하는 atmospheric gas로 의학에서는 진통 및 마취 목적으로 사용되고 있다. 식물체내의 N_2O 내부 발생에 대한 연구는 보고된 바가 없으나, 외부적으로 N_2O 를 처리했을 때 저장수명이 연장되는 것으로 알려져 있다. N_2O 는 에틸렌 생산의 lag phase를 연장시켜 유의적인 anti-ethylene activity를 나타내고 있으나, 과일 및 채소 산물에 대해 적용시킨 연구는 거의 없는 편이다. 2001년 이후 일본 및 이스라엘, 호주, 미국등지에서 연구를 진행하고 있는 것으로 알려져 있다.

NO 는 1981년 포유류 (mammalian) 대사 (metabolism)의 주요한 생성물로 발견된 이래, 1990년 이후 인체의 생물 화학적인 면에서 가장 주목받는 연구topic으로 부상되어 기초의학분야에서 활발한 연구가 수행되어 왔다. 의학적인 면에서는 세포의 노화방지에 주축을 둔 인체의 다양한 조직 및 세포에 대한 정상적인 NO 생성

과 작용에 대한 신약개발이 진행 중에 있다.

한편, 식물세포에 대한 연구는 의학 분야보다 10년 뒤인 2000년대에 들어서 이스라엘의 과학자 Professor Ya'acov Y. Leshem (Bar-Ilan University)에 의해 수행되어 그 유효성이 입증된 이래 원예산물을 대상으로 한 다양한 연구들이 이제 막 수행되기 시작하였다. 호주의 과학자 Prof. Ron Wills와 Dr. Vivian Ku의 연구 결과에 의하면 strawberry (품종에 따라 다름)는 10 ppm, broccoli는 4,000 ppm, 그리고 white carnation은 1 ppm fumigation treatment에 의해 저장 수명 연장효과가 보고되고 있다. 과일 및 채소, 화훼류는 각 산물마다 생리적 특성이 달라 그 효과에 대해서는 실험대상에 따라 최적 조건이 다르다. 아직 이 분야의 연구는 세계적으로 기초단계에 있기 때문에 많은 연구자들의 관심과 노력이 필요하다.

제 3장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 실험적 접근방법

1. 국내산 채소류의 고품질화를 위한 N₂O 및 NO 최적 처리 조건확립

본 연구에서는 농산물의 저장기간 및 고품질화 유지를 연장하면서 인간에게 유해하지 않으며, 환경 독성문제를 야기하지 않는 수확 후 관리 기술을 개발하기 위한 일환으로 국내산 주요 채소류인 양파, 양송이, 브로컬리, 양상치를 대상으로 N₂O 처리와 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지 기술을 개발하고자 하였다. 처리 N₂O 농도는 N₂O 0%+O₂ 100%, N₂O 20%+O₂ 80%, N₂O 40%+O₂ 60%, N₂O 60%+O₂ 40%, N₂O 80%+O₂ 20%, N₂O 100%+O₂ 0% 6가지로 하였으며, fumigation time은 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 24시간으로 하였다. NO 처리는 문헌조사를 통해 유효하다고 여겨지는 농도를 각각 선정하였는데 양파의 경우 NO 0ppm, NO 100ppm, NO 500ppm, NO 1000ppm 4가지로 하였고, 양송이의 경우 NO 0ppm, NO 10ppm, NO 50ppm, NO 100ppm 4가지로 하였으며, 브로컬리의 경우 NO 0ppm, NO 1000ppm, NO 2000ppm, NO 3000ppm으로 하고 양상치의 경우 NO 0ppm, NO 5ppm, NO 50ppm, NO 100ppm으로 한 후 fumigation time은 1시간, 2시간, 4시간으로 선정하였다. 위와 같은 다양한 조건으로 처리한 후 중량 감모율, 색도, 관능평가 등의 품질변화 양상 측정을 통하여 최적의 N₂O와 NO의 적용 조건을 제시할 수 있었다.

가. 1차 실험 : 농산물에 대한 N₂O의 최적 유효조건 확립

1) 실험재료

본 실험에 사용된 양파(터보, 5kg망)는 전남 무안에서, 양송이(*Agaricus bisporus* 2kg 상자)는 충남 부여에서, 브로컬리(중만생종 엔데바, 8kg상자)는 제주도 북제주군에서, 양상치 (사쿠라멘트, 10kg상자)는 경남 하동에서 생산된 것을 가락시장에서 구입하여 사용하였다.

2) N₂O 가스 처리 및 저장

양파, 양송이, 브로컬리, 그리고 양상치는 각각 N₂O 농도(Air, N₂O 0%+O₂ 100%, N₂O 20%+O₂ 80%, N₂O 40%+O₂ 60%, N₂O 60%+O₂ 40%, N₂O 80%+O₂ 20%, N₂O 100%+O₂ 0%)와 시간(30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 24시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 넣고 밀봉하여 가스처리를 한 후 20℃ 저장고에 저장하면서 품질변화를 관찰하였다.

N₂O gas 처리 시 flushing time은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Flushing time (min)} = \frac{\text{Desired concentration} \times \text{volume of container (L)}}{\text{N}_2\text{O flow rate (L/min)} \times \text{standard N}_2\text{O concentration}}$$

N₂O gas 처리는 Fig.1.에 그려진 바와 같이 N₂O gas로 fumigation하기 전에 nitrogen gas로 저장 용기를 flushing한 후 set up된 농도의 N₂O를 inject하여 처리하였다.

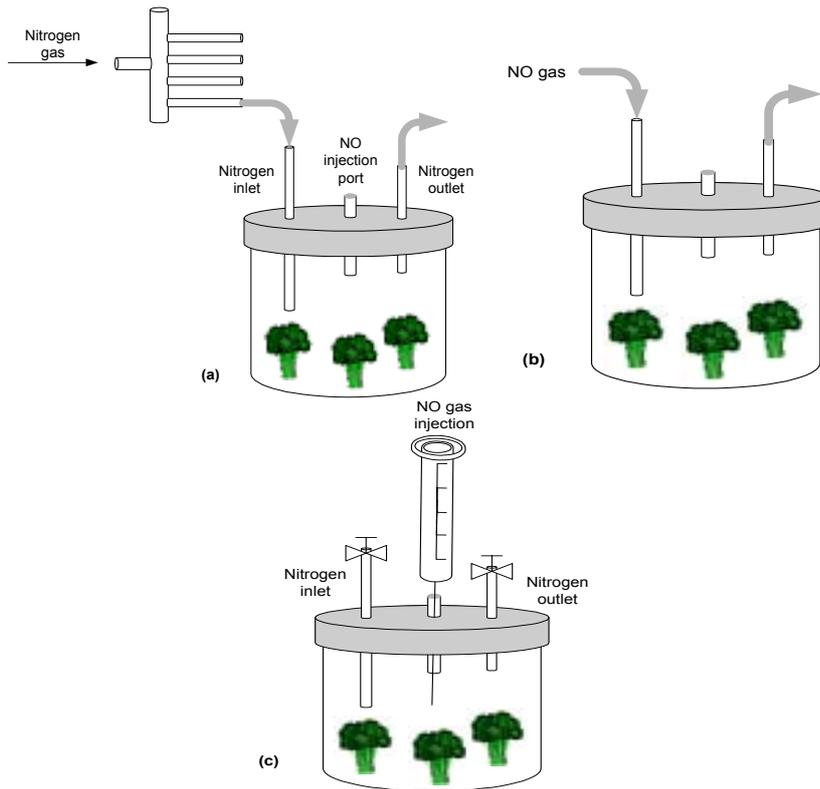


Fig. 1. Apparatus for fumigation produce with N₂O gas. (a) Place produce in container, replace oxygen with nitrogen and seal. (b) Flush container with N₂O gas directly or (c) inject N₂O through the injection port (Adapted from Ku and Wills, 2000).

3) 농산물별 품질특성 조사

가) 양파

가스 처리 후 20℃에 60일간 저장하면서 5일 간격으로 맹아율과 부패율을 조사하여 적합한 N₂O의 농도와 fumigation 시간을 선정하였다.

나) 양송이

가스 처리 후 20℃에 저장하면서 2일 간격으로 품질특성을 조사하였다.

(1) 중량감모율(weight loss %)은 양송이 10개를 하나의 단위로 보고 스티로폼 접시에 담아 저장 하면서 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 색도는 양송이 10개의 갓의 중앙부위를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

$$\text{Total color difference } (\Delta E) = [(L - \text{초기치}L)^2 + (a - \text{초기치}a)^2 + (b - \text{초기치}b)^2]^{1/2}$$

(3) Cap opening : 양송이 버섯의 속도 지표가 되는 저장 중 갓의 개열 정도는 Guthrie의 속도지표(Table 1)를 기준으로 10개의 버섯을 조사하였다.

Table1. Classification of stages in sporophore development

Stage	Description
1	Veil intact (tight)
2	Veil intact (stretched)
3	Veil partially broken (<half)
4	Veil partially broken (>half)
5	Veil completely broken
6	Cap open, gills well exposed
7	Cap open, gill surface flat

다) 브로컬리

가스 처리 후 20℃에 6일간 저장하면서 2일 간격으로 품질특성을 조사하였다.

(1) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 색도는 각 처리구별로 미리 지정한 5개의 브로컬리의 중앙부위에 대해 그 변화 정도를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

$$\text{Total color difference } (\Delta E) = [(L - \text{초기치}L\text{값})^2 + (a - \text{초기치}a\text{값})^2 + (b - \text{초기치}b\text{값})^2]^{1/2}$$

라) 양상치

가스 처리 후 20℃에 8일간 저장하면서 2일 간격으로 품질특성을 조사하였다.

(1) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 양상치의 표면 색택(surface color)은 각 처리구별로 미리 지정한 5개의 양상치의 일정한 부위에 대해 그 변화 정도를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

$$\text{Total color difference } (\Delta E) = [(L - \text{초기치}L\text{값})^2 + (a - \text{초기치}a\text{값})^2 + (b - \text{초기치}b\text{값})^2]^{1/2}$$

나. 2차 실험 : 농산물별 N₂O와 ethylene 작용에 대한 기작 구명

1) 양파

가) 실험재료

본 실험에 사용된 양파(터보, 10kg망)는 전남 무안에서 2003년에 재배되어 저온저장고(0~-0.6℃)에서 6개월간 저장되었던 양파를 운남농업협동조합을 통해 구입하여 사용하였다. 선별과정을 통해 양파의 일부가 파손되었거나 부패한 것은 제외시키고, 중량이 350-430g 범위의 것을 실험에 사용하였다.

나) N₂O 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 N₂O 농도(N₂O 60%+O₂ 40%, N₂O 80%+O₂ 20%)와 fumigation 시간(12시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양파를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서 20℃는 10일 간격으로, 4℃는 15일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 N₂O 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 12시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (W_1 : \text{초기중량}, W_2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 경도 측정은 직경 3mm의 탐침이 부착된 rheometer (Sun Rheo Meter Model CR-100D, Sun scientific Co., Ltd. Japan)를 이용하여 hardness를 측정하였다. 각각의 처리구에서 시료를 취한 다음 양파의 껍질을 제거하여 plate위에 올려놓고 탐침이 60mm/m의 속도로 표면을 뚫고 들어갈 때 소요되는 압력을 kg/cm²로 나타내었다.

(3) 호흡률 (respiration rate) 조사

1L 호흡측정용기에 양파를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(4) 유리당 분석

양파 한 개를 분쇄기에 넣고 마쇄한 후 10g을 취하여 증류수 30mL로 희석한 것을 4℃에서 15000rpm으로 22분간 원심분리하였다. 상등액은 sep-pak C18과 0.45 μm PVDF syringe filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

(5) 유기산 분석

양파 한 개를 분쇄기에 넣고 마쇄한 후 10g을 취하여 증류수 30mL로 희석한 것을 4℃에서 15000rpm으로 22분간 원심분리하였다. 상등액은 sep-pak C18과 0.45 μm PVDF syringe filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

(6) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정
3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25°C에서 4시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene 분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석
시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4°C에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotary evaporator를 이용하여 40°C에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 2mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30°C, injector temp.: 250°C, detector temp.: 250°C, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

2) 양송이

가) 실험재료

본 실험에 사용된 양송이(*Agaricus bisporus*, 스카이)는 충남 부여에서 2004년 5월 수확 직후 2kg 상자에 포장한 것을 석성농업협동조합에서 구입하였으며, 구입 즉시 양송이버섯의 일부조직이 파손된 것을 제외하고 갓의 지름 4~5cm, 중량이 30g±5g인 것을 선별하여 실험에 사용하였다.

나) N₂O 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 N₂O 농도(N₂O 60%+O₂ 40%, N₂O 80%+O₂ 20%)와 fumigation 시간(12시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 4kg의 양송이를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20°C와 4°C에 저장하면서, 20°C와 4°C 모두 2일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 N₂O 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 12시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 수분함량(%)은 105°C 상압가열건조법을 이용하여 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{시료 중의 수분함량 (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100$$

(W₀ : 칭량병의 무게 W₁ : 시료와 칭량병의 무게 W₂ : 건조 후 시료와 칭량병의 무게)

(2) 경도 측정은 직경 3mm의 탐침이 부착된 rheometer (Sun Rheo Meter Model CR-100D, Sun scientific Co., Ltd. Japan)를 이용하여 hardness를 측정하였다. 각각의 처리구에서 10개의 시료를 취하여 plate위에 올려놓고 탐침이 60mm/m의 속도로 갖의 중앙부위 표면을 뚫고 들어갈 때 소요되는 압력을 kg/cm^2 로 나타내었다.

(3) 색도 측정은 양송이 10개의 갖의 중앙부위를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b값을 측정 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

$$\text{Total color difference } (\Delta E) = [(L - \text{초기치}L)^2 + (a - \text{초기치}a)^2 + (b - \text{초기치}b)^2]^{1/2}$$

(4) 호흡률 (respiration rate) 조사

1L 호흡측정용기에 양송이(150g±10)를 넣어 저장 온도인 20°C와 4°C에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30°C, injector temp.: 250°C, detector temp.: 250°C, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(5) 유리당 분석

양송이 5개를 분쇄기에 넣고 마쇄한 후 10g을 취하여 증류수 30mL로 희석한 것을 4°C에서 15000rpm으로 22분간 원심분리하였다. 상등액은 sep-pak C18과 0.45 μm PVDF syringe filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

(6) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25°C에서 4시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4°C에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotary evaporator를 이용하여 40°C에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 2mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q

(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

3) 브로컬리

가) 실험재료

본 실험에 사용된 브로컬리(*Brassica oleracea var.italica*)는 제주도에서 2004년 7월 수확직후 8kg 상자에 포장한 것을 북제주군 한림농업협동조합을 통해 구입하여 사용하였다. 선별과정을 통해 브로컬리의 일부가 파손된 것은 제외시키고 중량이 220-360g 범위의 것을 실험에 사용하였다.

나) N₂O 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 N₂O 농도(N₂O 60%+O₂ 40%, N₂O 80%+O₂ 20%)와 fumigation 시간(12시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 브로컬리를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서, 20℃는 2일 간격으로, 4℃는 4일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 N₂O 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 12시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (W_1 : \text{초기중량}, W_2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 색도 측정은 각 처리구별로 미리 지정한 5개의 브로컬리 중앙 4부위에 대해 그 변화 정도를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b 값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

(3) 호흡률 (respiration rate) 조사

1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 브로컬리를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(4) 비타민 C 분석

시료 25g을 Warring blender로 3분간 마쇄한 후 6% metaphosphric acid 50ml에 녹인 후 암소에서 1.5시간 흔들어서 추출하였다. 이를 Whatman No.1 여과지로 1차 감압여과한 후 0.45 μ m PVDF syringe filter를 이용하여 2차 여과하여 시료액을 만든 후 HPLC로 분석하였다.

(5) 엽록소 분석

동결건조한 시료 10g을 85% Aceton 50ml 넣고 냉암소에서 하룻밤 방치 시킨 후 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 85% Aceton 용액으로 재추출한 후 여액을 100ml volumetric flask에 옮기고 85% Aceton 용액을 가하여 정용한다. 분액 깔대기에 여액 20ml과 ethyl ether 50ml을 흔들어서 섞은 후 정지한 다음 물층을 분리한 후 상층에 모인 에테르 용액을 100ml volumetric flask에 옮기고 에테르를 가하여 정용한 후 추출 용액을 660nm와 642.5nm에서의 흡광도를 각각 측정하여 총 엽록소(Total chlorophyll)양을 산출하였다.

(6) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25 $^{\circ}$ C에서 4시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene 분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4 $^{\circ}$ C에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotary evaporator를 이용하여 40 $^{\circ}$ C에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 2mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m \times 0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30 $^{\circ}$ C, injector temp.: 250 $^{\circ}$ C, detector temp.: 250 $^{\circ}$ C, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

4) 양상치

가) 실험재료

본 실험에 사용된 양상치(*Lactuca sativa var. capitata*)는 강원도에서 2004년 10월 수확 직후 8kg 상자에 포장한 것을 사용하였다. 선별과정을 통해 양상치의 일부가 파손되거나 부패한 것은 제외시키고 중량이 400-800g 범위의 것을 실험에 사용하였다.

나) N₂O 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 N₂O 농도(N₂O 60%+O₂ 40%, N₂O 80%+O₂ 20%)와 fumigation 시간(12시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양상치를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서, 20℃는 2일 간격으로, 4℃는 8일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 N₂O 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 12시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 색도 측정은 각 처리구별로 미리 지정한 5개의 양상치 표면의 4부위에 대해 그 변화 정도를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b 값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

(3) 호흡률 (respiration rate) 조사

1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양상치를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(4) 비타민 C 분석

시료 25g을 Warring blender로 3분간 마쇄한 후 6%metaphosphric acid 50ml에 녹인 후 암소에서 1.5시간 흔들어서 추출하였다. 이를 Whatman No.1 여과지로 1차 감압여과한 후 0.45 μ m PVDF syringe filter를 이용하여 2차 여과하여 시료액을 만든 후 HPLC로 분석하였다.

(5) 엽록소 분석

동결건조한 시료 10g을 85% Aceton 50ml 넣고 냉암소에서 하룻밤 방치시킨 후 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 85% Aceton 용액으로 재추출한 후 여액을 100ml volumetric flask에 옮기고 85% Aceton용액을 가하여 정용한다. 분액 깔대기에 여액 20ml과 ethyl ether 50ml을 흔들어 섞은 후 정치한 다음 물층을 분리한 후 상층에 모인 에테르 용액을 100ml volumetric flask에 옮기고 에테르를 가

하여 정용한 후 추출 용액을 660nm와 642.5nm에서의 흡광도를 각각 측정하여 총 엽록소(Total chlorophyll)양을 산출하였다.

(6) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25℃에서 4시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene 분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4℃에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotary evaporator를 이용하여 40℃에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 2mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

다. 1차 실험 : 농산물에 대한 NO의 최적 유효조건 확립

1) 실험재료

본 실험에 사용된 양과는 경북 함양에서, 양송이는 충남 보령에서, 브로컬리는 제주도 북제주군에서, 양상치 (사쿠라멘트, 10kg상자)는 의령군 부림면에서 생산된 것을 가락시장에서 구입하여 사용하였다.

2) NO 가스 처리 및 저장

양과는 NO농도를 NO 0ppm, NO 100ppm, NO 500ppm, NO 1000ppm으로 하여 fumigation time은 1시간, 2시간, 4시간으로 선정하였고, 양송이는 NO농도를 NO 0ppm, NO 10ppm, NO 50ppm, NO 100ppm 4가지로 하여 fumigation time은 1시간, 2시간, 4시간으로 선정하였으며, 브로컬리의 경우 NO 0ppm, NO 1000ppm, NO 2000ppm, NO 3000ppm으로 하고 양상치의 경우 NO 0ppm, NO 5ppm, NO 50ppm, NO 100ppm으로 한 후 fumigation time은 각각 1시간, 2시간, 4시간으로 선정하여 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 넣고 밀봉하여 가스처리를 한 후 20℃ 저장고에 저장하면서 관능 검사를 통해 품질변화를 관찰하였다.

NO gas 처리 시 flushing time은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Flushing time (min)} = \frac{\text{Desired concentration} \times \text{volume of container (L)}}{\text{NO flow rate (L/min)} \times \text{standard NO concentration}}$$

NO gas 처리는 Fig.1.에 그려진 바와 같이 N₂O gas로 fumigation하기 전에 nitrogen gas로 저장 용기를 flushing한 후 set up된 농도의 NO를 inject하여 처리하였다.

관능 검사는 외관에 대해 각각 5단계로 나누어 스코어링하였다 (5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor).

라. 2차 실험 : 농산물별 NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명

1) 양파

가) 실험재료

본 실험에 사용된 양파는 전남 무안에서 2005년 5월에 수확된 것을 구입하여 선별과정을 통해 양파의 일부가 파손되었거나 부패한 것은 제외시키고, 중량이 200-330g 범위의 것을 실험에 사용하였다.

나) NO 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 NO 농도(NO 100ppm, NO 1000ppm)와 fumigation 시간(2시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양파를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서 20℃는 20일 간격으로, 4℃는 15일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 NO 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 2시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(2) 경도 측정은 직경 3mm의 탐침이 부착된 rheometer (Sun Rheo Meter Model CR-100D, Sun scientific Co., Ltd. Japan)를 이용하여 hardness를 측정하였다. 각각의 처리구에서 시료를 취한 다음 양파의 껍질을 제거하여 plate위에 올려놓고

탐침이 60mm/m의 속도로 표면을 뚫고 들어갈 때 소요되는 압력을 kg/cm²로 나타내었다.

(3) 호흡률 (respiration rate) 조사

1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양파를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(4) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25℃에서 4시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(5) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4℃에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotory evaporator를 이용하여 40℃에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 4mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada 와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

2) 양송이

가) 실험재료

본 실험에 사용된 양송이(*Agaricus bisporus*)는 충남 부여에서 2005년 3월 수확 직후 2kg 상자에 포장한 것을 석성농업협동조합에서 구입하였으며, 구입 즉시 양송이버섯의 일부조직이 파손된 것을 제외하고 갓의 지름 4~5cm, 중량이 30g±5g인 것을 선별하여 실험에 사용하였다.

나) NO 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 NO 농도(NO 10ppm, NO 100ppm)와 fumigation 시간(1시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양송이를 넣고 밀봉

하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서, 20℃는 2일, 4℃는 4일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 NO 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 1 시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 관능 검사는 외관에 대해 각각 5단계로 나누어 스코어링하여 (5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor) 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다.

(2) 수분함량(%)은 105℃ 상압가열건조법을 이용하여 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{시료 중의 수분함량 (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100$$

(W₀ : 칭량병의 무게 W₁ : 시료와 칭량병의 무게 W₂ : 건조 후 시료와 칭량병의 무게)

(3) 경도 측정은 직경 3mm의 탐침이 부착된 rheometer (Sun Rheo Meter Model CR-100D, Sun scientific Co., Ltd. Japan)를 이용하여 hardness를 측정하였다. 각각의 처리구에서 10개의 시료를 취하여 plate위에 올려놓고 탐침이 60mm/m의 속도로 갖의 중앙부위 표면을 뚫고 들어갈 때 소요되는 압력을 kg/cm²로 나타내었다.

(4) 색도 측정은 양송이 10개의 갖의 중앙부위를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

$$\text{Total color difference } (\Delta E) = [(L - \text{초기치}L)^2 + (a - \text{초기치}a)^2 + (b - \text{초기치}b)^2]^{1/2}$$

(5) 호흡률 (respiration rate) 조사

1L 호흡측정용기에 양송이(150g±5)를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(6) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25℃에서 4시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene 분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4℃에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotory evaporator를 이용하여 40℃에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 4mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

3) 브로컬리

가) 실험재료

본 실험에 사용된 브로컬리(*Brassica oleracea var.italica*)는 이천에서 2005년 5월 수확직후 8kg 상자에 포장한 것을 구입하여 선별과정을 통해 브로컬리의 일부가 파손된 것은 제외시키고 중량이 130-240g 범위의 것을 실험에 사용하였다.

나) NO 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 NO 농도(NO 1000ppm, NO 2000ppm)와 fumigation 시간(4시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 브로컬리를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서, 20℃는 2일 간격으로, 4℃는 7일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 NO 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 4시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 관능 검사는 외관에 대해 각각 5단계로 나누어 스코어링하여 (5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor) 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다.

(2) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(3) 색도 측정은 각 처리구별로 미리 지정한 5개의 브로컬리 중앙 4부위에 대해 그 변화 정도를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b 값을 측정한 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

(4) 호흡률 (respiration rate) 조사

1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 브로컬리를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(5) 비타민 C 분석

시료 25g을 Warring blender로 3분간 마쇄한 후 6%metaphosphoric acid 50ml에 녹인 후 암소에서 1.5시간 흔들어 추출하였다. 이를 Whatman No.1 여과지로 1차 감압여과한 후 0.45 μ m PVDF syringe filter를 이용하여 2차 여과하여 시료액을 만든 후 HPLC로 분석하였다.

(6) 엽록소 분석

시료 10g을 85% Aceton 50ml 넣고 냉암소에서 하룻밤 방치 시킨후 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 85% Aceton 용액으로 재추출 한 후 여액을 100ml volumetric flask에 옮기고 85% Aceton용액을 가하여 정용한다. 분액 깔대기에 여액 20ml과 ethyl ether 50ml을 흔들어 섞은 후 정지한 다음 물층을 분리한 후 상층에 모인 에테르 용액을 100ml volumetric flask에 옮기고 에테르를 가하여 정용한 후 추출 용액을 660nm와 642.5nm에서의 흡광도를 각각 측정하여 총엽록소 (Total chlorophyll)양을 산출하였다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25℃에서 4 시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(8) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4℃에서

15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotary evaporator를 이용하여 40℃에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 2mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

4) 양상치

가) 실험재료

본 실험에 사용된 양상치(*Lactuca sativa var. capitata*)는 지리산에서 2005년 3월 수확직후 구입하여 선별과정을 통해 양상치의 일부가 파손되거나 부패한 것은 제외시키고 중량이 400-800g 범위의 것을 실험에 사용하였다.

나) NO 가스 처리 및 저장

1차 실험을 통해 선정된 NO 농도(NO 5ppm, NO 50ppm)와 fumigation 시간(2시간)에 따라 1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양상치를 넣고 밀봉하여 가스 처리한 후 20℃와 4℃에 저장하면서, 20℃는 2일 간격으로, 4℃는 7일 간격으로 품질 특성을 조사하였다. 대조구로는 NO 처리대신 air 상태에서 아크릴 용기에 2시간 동안 밀봉 처리한 것을 사용하였다.

다) 품질특성조사

(1) 관능 검사는 외관에 대해 각각 5단계로 나누어 스코어링하여 (5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor) 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다.

(2) 중량감모율(weight loss %)은 저장 후 무게를 측정하여 초기 중량에 대한 감량 정도를 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{중량감모율 (\%)} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (W1 : \text{초기중량}, W2 : \text{저장 후 중량})$$

(3) 색도 측정은 각 처리구별로 미리 지정한 5개의 양상치 표면 4부위에 대해 그 변화 정도를 chromameter CR200 (Minolta, Japan)를 이용하여 CIE L, a, b값을 측정 후 초기 색도에 대한 저장 중의 색도 변화의 정도를 알아보기 위해 아래의 식을 이용하여 total color difference (ΔE)로 나타내었다.

(4) 호흡률 (respiration rate) 조사

1cm 두께의 아크릴상자(33cm×33cm×38cm)에 양상치를 넣어 저장 온도인 20℃와 4℃에서 1시간동안 밀봉한 후 용기 내부에 조성되어진 가스를 1mL gas-tight syringe로 뽑아 CO₂를 분석하였다. GC(HP 5890 series, USA)의 분석 조건은 detector: TCD, column: GS-Q(30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

(5) 비타민 C 분석

시료 25g을 Warring blender로 3분간 마쇄한 후 6%metaphosphric acid 50ml에 녹인 후 암소에서 1.5시간 흔들어서 추출하였다. 이를 Whatman No.1 여과지로 1차 감압여과한 후 0.45μm PVDF syringe filter를 이용하여 2차 여과하여 시료액을 만든 후 HPLC로 분석하였다.

(6) 엽록소 분석

시료 10g을 85% Aceton 50ml 넣고 냉암소에서 하룻밤 방치 시킨후 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 85% Aceton 용액으로 재추출 한 후 여액을 100ml volumetric flask에 옮기고 85% Aceton용액을 가하여 정용한다. 분액 깔대기에 여액 20ml과 ethyl ether 50ml을 흔들어 섞은 후 정지한 다음 물층을 분리한 후 상층에 모인 에테르 용액을 100ml volumetric flask에 옮기고 에테르를 가하여 정용한 후 추출 용액을 660nm와 642.5nm에서의 흡광도를 각각 측정하여 총엽록소 (Total chlorophyll)양을 산출하였다.

(7) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity 측정

3mm 두께의 시료 조직 discs 1.5g을 취하여 0.1mM ACC(0.3M Sucrose, pH 5.9) 4mL 용액에 25℃에서 4 시간 침지하여 외생 ACC를 흡수시킨 후 주사기로 1mL 가스 샘플을 취하여 discs가 외생 ACC로 부터 생성하는 에틸렌의 양을 GC로 분석하였다. Ethylene분석을 위한 GC의 조건은 위와 동일하다.

(8) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content 분석

시료 5g을 액체질소에 넣고 마쇄한 다음 80% 에탄올 20mL을 넣어 4℃에서 15,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액은 rotory evaporator를 이용하여 40℃에서 감압농축하여 에탄올을 증발시킨 후 2mL로 농축하여 분석에 사용하였다. Lizada와 Yang의 방법으로 ACC를 ethylene으로 전환시킨 후 GC를 이용하여 측정하였으며, 시료 중 ACC의 정량은 내부표준물질 검량법에 의하였다. Ethylene 분석을 위한 GC(HP5890 series, USA)의 조건은 detector: TCD, column: GS-Q (30m×0.53mm ID, J&W Scientific, USA), oven temp.: 30℃, injector temp.: 250℃, detector temp.: 250℃, split ratio: 1:10, carrier gas: He(mL/min)이다.

제 2절 연구수행 내용 및 결과

1. 국내산 채소류의 고품질화를 위한 N₂O 최적 처리 조건확립

가. 양파에 대한 N₂O 최적 처리 조건확립

1차 실험결과 양파는 N₂O 농도가 높을수록, fumigation 시간이 길수록 저장에 효과적인 것으로 나타났다. 부패과와 멍아과를 제외하고 남은 양파를 대상으로 감모율을 조사한 결과 N₂O 60%와 80%처리가 각각 21.4%, 14.3%로 다른 처리구에 비해 감모율이 낮게 나타났고, fumigation 시간도 8시간 이상의 장시간 처리가 효과가 있는 것으로 나타났으며 그 중에서도 12시간 fumigation 처리 양파의 상태가 가장 양호하였다. 따라서 N₂O와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 N₂O 60%와 80%농도로 12시간 가스 처리한 시료를 대상으로 조사하였다.

Table 1. 20℃에서 60일 저장 후 양파의 감모율(%)

	air	control	0%	20%	40%	60%	80%	100%
30 min		1	-	2	2	-	2	1
1hr		1	1	1	-	2	2	1
2 hr		-	-	1	1	2	1	-
4 hr	4	-	1	1	-	2	2	1
8 hr		2	2	-	1	2	2	1
12 hr		2	2	2	2	2	1	1
24 hr		2	1	1	2	1	2	1
남은갯수	4	8	7	8	8	11	12	6
감모율 (%)	(60.0)	(42.9)	(50.0)	(42.9)	(42.9)	(21.4)	(14.3)	(57.1)

2차 실험에서는 N₂O 60%와 80%농도로 12시간 가스 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 품질특성을 조사하였다. 20℃ 저장의 경우 중량감모율을 보면 저장 시간이 지날수록 중량감모율은 증가하였고 저장 20일 이후부터는 대조구에 비해 N₂O 60%와 80%처리가 대조구보다 낮은 중량감모율을 보였고 4℃의 경우 N₂O 60%와 80% 처리간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 2). 저장 중 경도변화는 20℃ 저장의 경우 세 처리구 모두 서서히 감소하고 유의적인 차이는 보이지 않았으며 4℃의 경우 대조구와 N₂O 가스처리구간에 큰 차이를 보이지 않았으나 저장 40일 이후부터 대조군에 비해 N₂O 가스처리구가 약간 높게 나타남을 알 수

있다(Fig. 3). 저장 중 호흡률 변화를 살펴보면 20℃ 저장의 경우 N₂O 80%처리가 N₂O 60%처리와 대조구에 비해 현저히 억제 되었음을 알 수 있었고 4℃의 경우 대조구와 N₂O 가스처리구간의 유의적 차이를 나타내지 않았다(Fig. 4). 유리당 함량 변화는 20℃ 저장의 경우 세처리간의 유의적 차이를 나타내지 않았고 4℃의 경우 저장 20일에 급격히 감소하다가 서서히 증가함을 알 수 있었다(Fig. 5). 유기산 함량의 경우 20℃ 저장에서 N₂O 80%처리구에서 서서히 증가하였고 다른 처리구에 비해 다소 높게 나타났으며 4℃의 경우 유리당 함량과 마찬가지로 저장 20일에 급격히 감소하다가 다시 증가하는 경향을 보였다(Fig. 6). ACC oxidase activity (EFE activity)는 20℃ 저장의 경우 서서히 감소하는 경향을 나타내는데 N₂O 80%처리구에서 약간 억제됨을 알 수 있었고 4℃ 저장의 경우 서서히 감소하다가 저장 80일경에 증가 후 저장 말기에 다시 감소하는 경향을 나타내었는데 대조구에 비해 N₂O 가스처리구에서 활성이 억제되었음을 알 수 있었다(Fig. 7). ACC 함량은 20℃ 저장의 경우 서서히 감소하는 경향을 나타내었고 대조구의 경우 저장 20일 이후에 급격히 상승하였는데 이는 저장일수가 증가 할수록 시료의 부패율이 증가하고 중량이 급격히 감소중량 감모율이 급격히 증가하는 현상과 비교해 볼 때 ACC 함량의 증가가 시료의 노화에 영향을 미친 것으로 사료된다. 4℃ 저장의 경우 ACC 함량이 서서히 증가하다가 저장 40일 이후에 다시 서서히 감소하는 경향을 나타내었는데 대조구의 경우 20℃ 저장과 마찬가지로 저장 말기에 급격히 증가하여 시료의 노화에 영향을 미친 것으로 사료된다(Fig. 8).

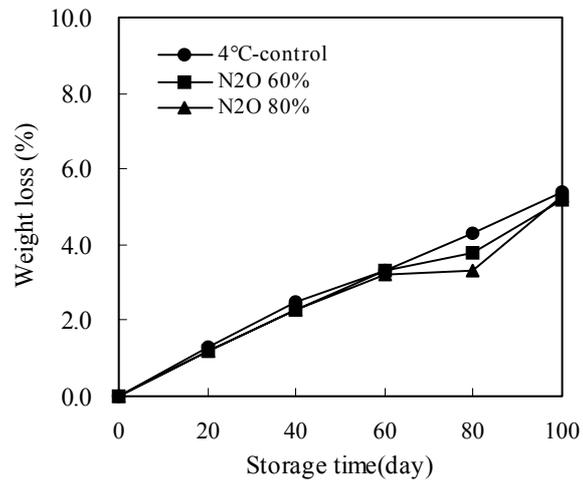
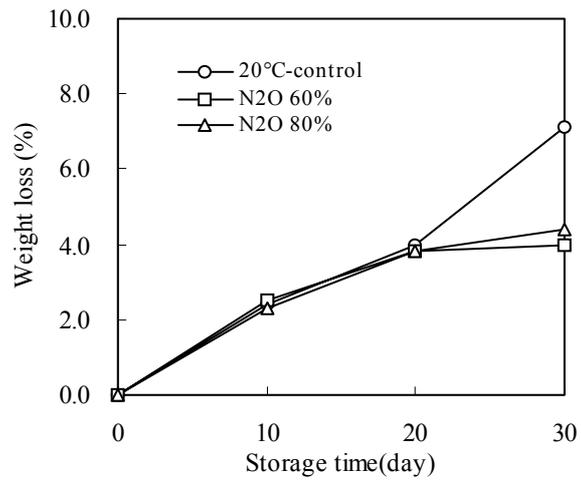


Fig. 2. Changes in weight loss(%) of onions during storage at 20°C and 4°C.

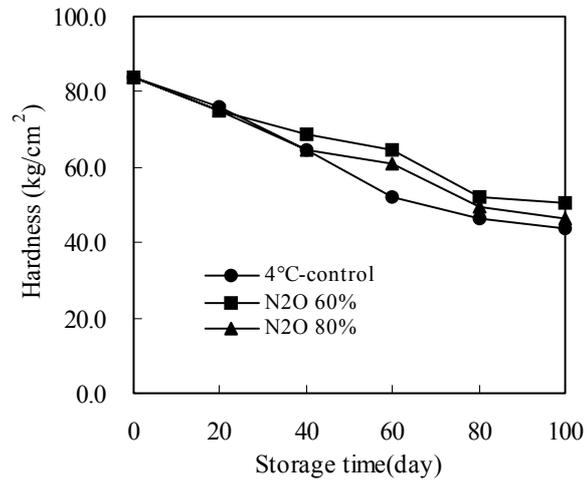
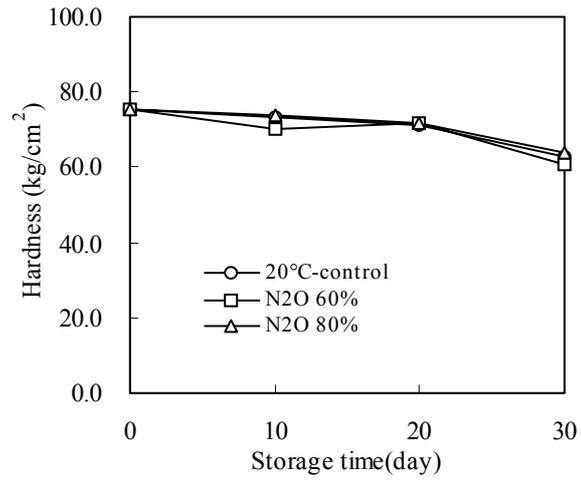


Fig. 3. Changes in hardness(kg/cm²) of onion during storage at 20°C and 4°C.

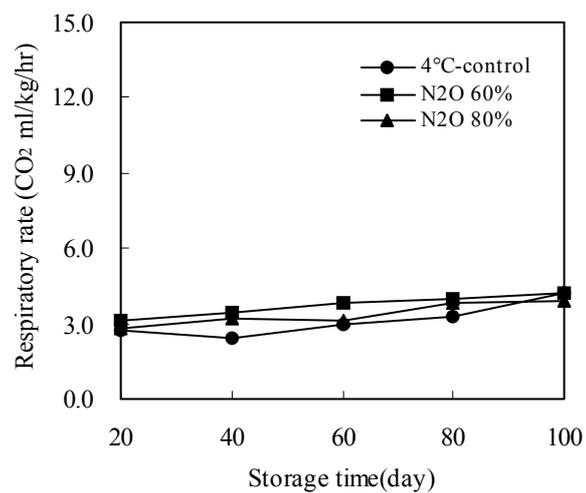
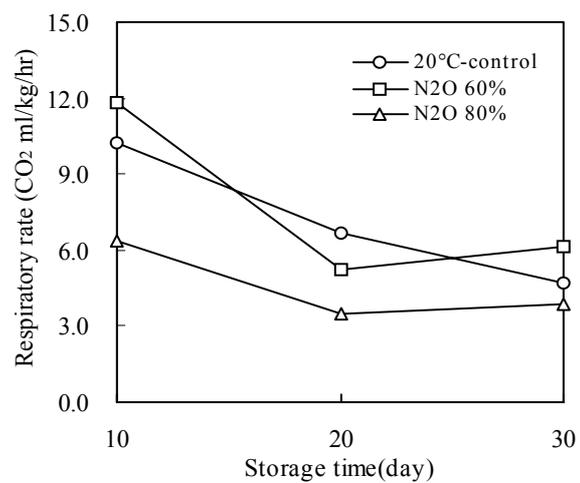


Fig. 4. Changes in respiratory rate (CO_2 ml/kg/hr) of onion during storage at 20°C and 4°C.

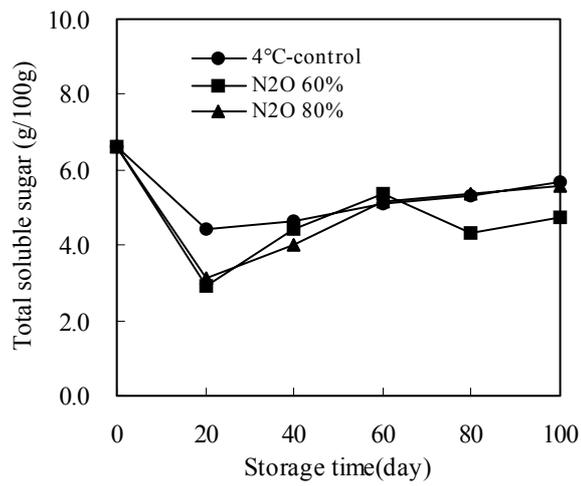
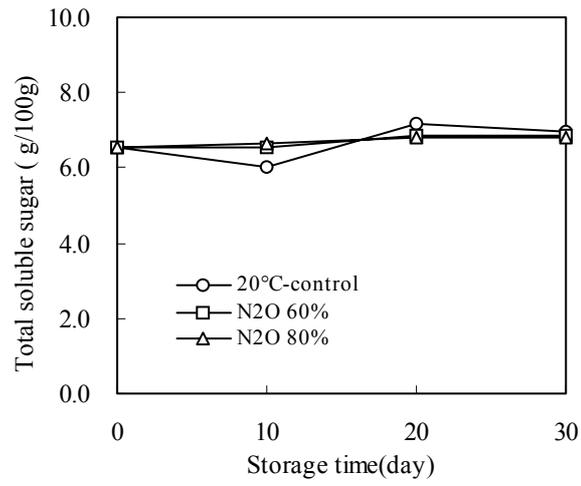


Fig. 5. Changes in total soluble sugar (g/100g) of onion during storage at 20°C and 4°C .

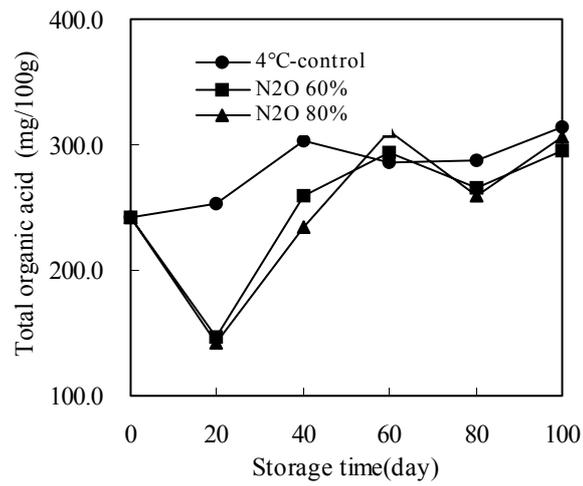
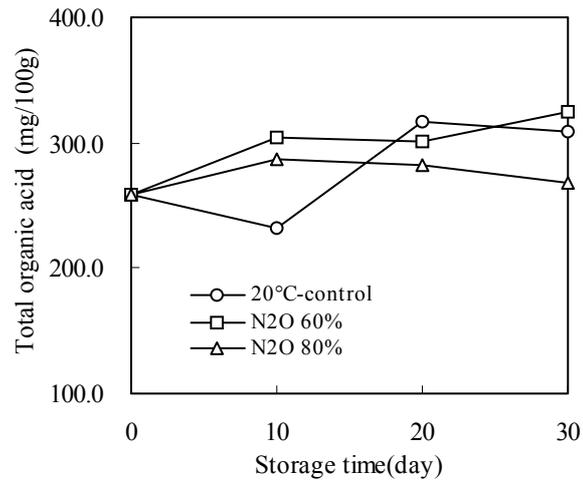


Fig. 6. Changes in total organic acid (mg/100g) of onion during storage at 20°C and 4°C.

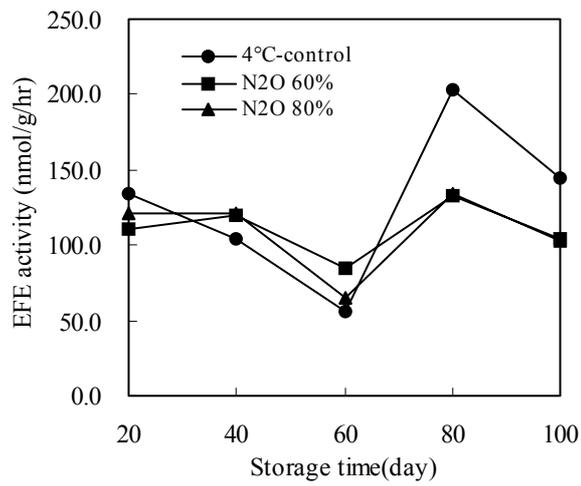
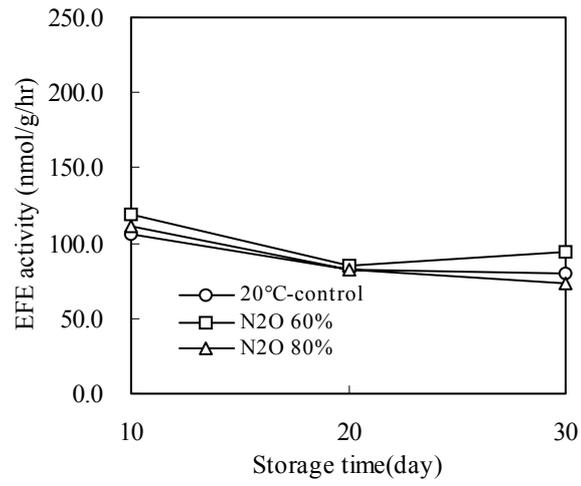


Fig. 7. Changes in EFE activity (nmol/g/hr) of onion during storage at 20°C and 4°C .

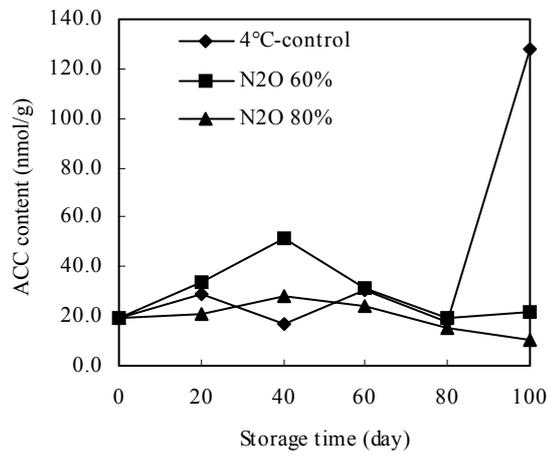
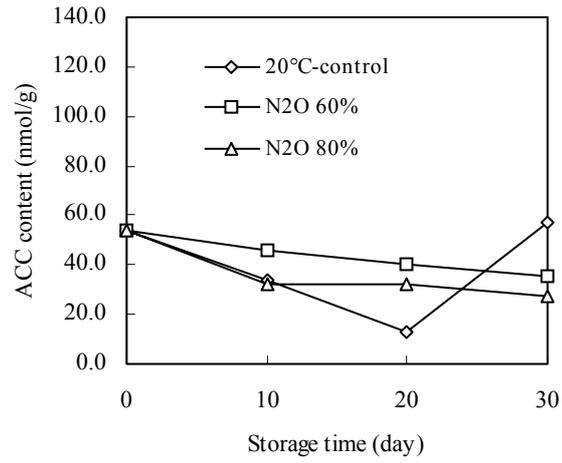


Fig. 8. Changes in ACC content (nmol/g) of onion during storage at 20°C and 4°C .

나. 양송이에 대한 N₂O 최적 처리 조건확립

1차 실험결과, 가스농도와 fumigation 시간에 따른 중량 감모율은 저장 시간이 지날수록 증가하였으며 N₂O 가스 농도가 높을수록, fumigation 시간은 길수록 효과적인 것으로 나타났다. N₂O 가스 농도 60%, 80%, 100%와 fumigation time 8시간, 12시간 처리가 효과적인 것으로 나타났다. 저장중의 색도변화를 나타내는 total color difference를 살펴보면 저장 중 크게 증가하였는데 중량감모율과는 달리 60%, 80%와 더불어 20%, 40%와 같은 낮은 N₂O 농도도 효과적인 것으로 나타났다. Fumigation time은 중량감모율에서와 마찬가지로 8시간, 12시간이 효과적인 것으로 나타났으며, 모든 N₂O가스 농도에서 12시간 처리가 더 효과적이었다. 양송이의 저장 중 성숙지표가 되는 cap opening을 조사한 결과는 N₂O 농도에 따라서는 거의 차이가 없었으나, 8시간, 12시간, 24시간과 같이 fumigation time이 길수록 cap opening도 지연시키고 부패율도 낮게 나타남을 알 수 있었다. 따라서 N₂O와 ethylener 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 양파와 마찬가지로 N₂O 60%와 80%, fumigation time 12시간 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 살펴보았다.

2차 실험에서는 N₂O 60%와 80%농도로 12시간 가스 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 품질특성을 조사하였다. 가스 처리 후 골판지 상자에 넣어 수분함량변화를 살펴 본 결과 20℃의 경우 대조구의 수분함량은 크게 감소하여 저장 5일 후에는 표피수축 등에 의한 외관손상이 크게 일어난 반면, N₂O 가스 처리를 한 양송이의 수분함량은 20℃와 4℃에서 큰 차이를 보이지 않았다. 4℃의 경우 저장 3일만에 수분함량이 급격히 감소하였고, N₂O 가스 농도에 따른 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았다(Fig. 9). 경도는 저장온도에 상관없이 저장 중에 서서히 감소하였다. 20℃에서 경도 변화는 더 크게 나타났는데 이러한 hardness의 감소는 호흡에 의해 조직이 연화되거나 또는 부분적인 조직의 wilting에 의한 것으로 사료된다. 4℃에 저장 한 경우 경도유지에 더 효과적이었으며 N₂O 가스 처리구의 경도가 대조구보다 더 높게 유지됨을 알 수 있었다(Fig. 10). 저장 초 양송이 버섯의 색을 기준으로 저장 기간 동안 양송이 버섯의 색변화 정도를 나타내는 색도차(ΔE)를 살펴보면, 저장 온도가 높을수록 단위시간에 따른 색도변화가 크게 나타나 20℃는 저장 5일만에 ΔE값이 10에 가까운 값을 보여 색도 변화가 크게 나타남을 알 수 있었다. 반면 4℃는 저장 기간 동안 서서히 증가하여 저장 15일 후에 6.0의 값을 보였으며 N₂O 60% 처리구의 색도변화가 약간 적게 나타났음을 알 수 있었다(Fig. 11). 20℃의 경우 저장 중 양송이의 호흡률은 약간 감소하였다 증가하였으며, N₂O 가스 처리가 양송이의 호흡률을 억제하여 대조구보다 낮은 호흡률을 보였다. 4℃의 저온은 양송이의 호흡을 효과적으로 억제하여 저장 기간 동안 낮은 호흡률을 보였으며, N₂O 처리구의 호흡률이 대조구보다 낮게 나타나 N₂O

가스 처리가 호흡률 억제에 효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 12). 유리당은 저장 기간 동안 온도에 상관없이 서서히 감소하였는데 20°C 대조구의 경우 수분함량이 급격히 감소하면서 단위중량에 따른 유리당 함량이 상대적으로 높게 나타났다. 4°C저장의 경우 20°C저장 했을때의 유리당 함량과 큰차이를 나타내지 않았고 처리구간의 차이를 나타내지 않았다(Fig. 13). EFE activity는 저장 온도에 따른 차이는 크게 나타나지는 않았으며 저장 기간 중 서서히 증가하다가 저장 말기에 급격히 감소하였다. 통계적으로 유의적인 차이는 보이지 않았으나 4°C의 경우 N₂O 80% 처리구의 EFE 활성이 약간 높게 나타났으며 N₂O 60% 처리구의 활성이 약간 낮게 나타났다(Fig. 14). 20°C 저장에서 대조구의 ACC함량은 서서히 감소하는데 이는 수분손실과 색도변화에 영향을 미친 것으로 사료되며 N₂O 80% 처리구는 감소하다가 3일 이후에 증가하는데 이는 대조구에 비해 저장 초기에 품질이 우수하게 유지되다가 3일 이후에 노화가 시작되는데 영향을 미칠 것으로 사료된다. 4°C 저장의 경우 N₂O 60% 처리구를 제외한 두 처리구에서는 일정 수준이 유지 되지 않았다. 수분손실율과 호흡율의 결과를 결부 시켜 볼 때 4°C에서 ACC 함량의 급변화가 시료의 품질 저하에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다(Fig. 15).

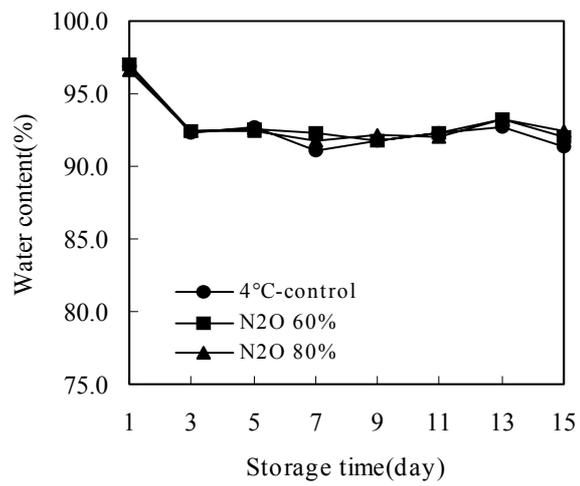
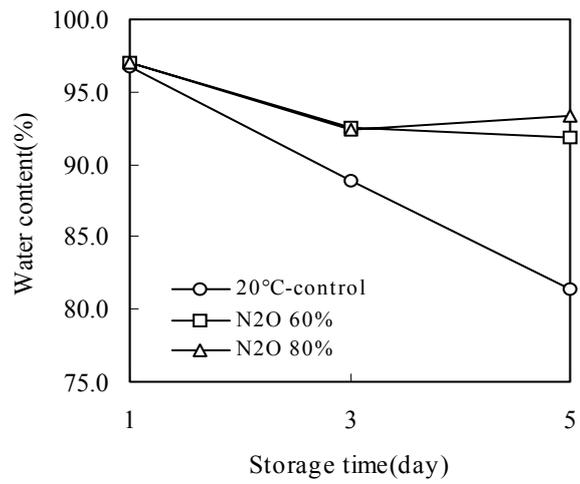


Fig. 9. Changes in weight content (%) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

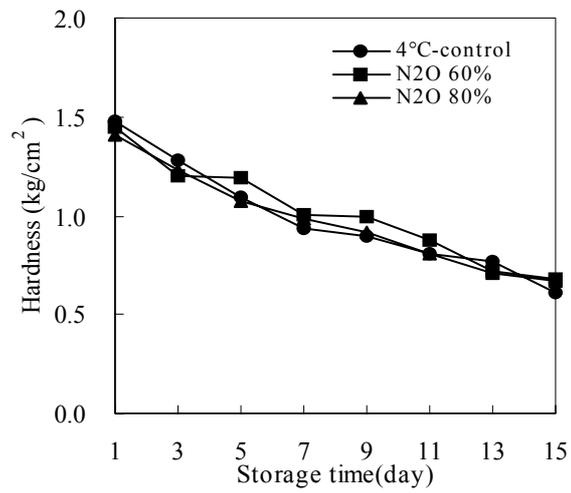
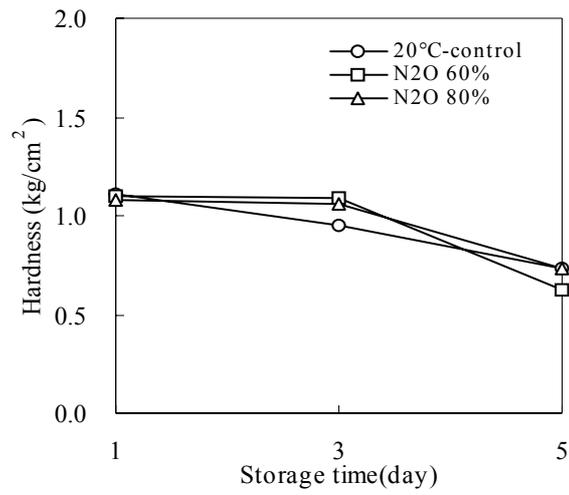


Fig. 10. Changes in hardness (kg/cm²) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

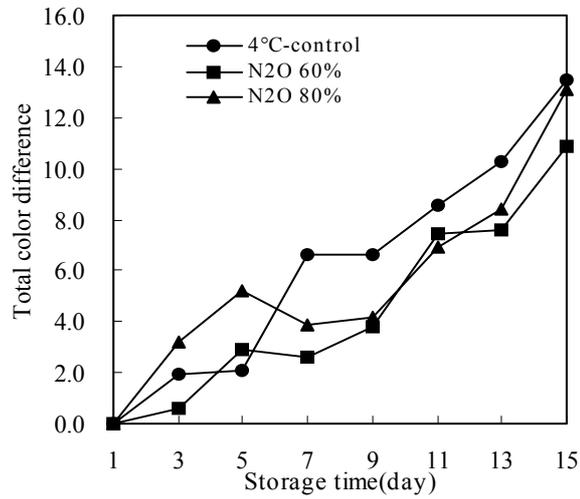
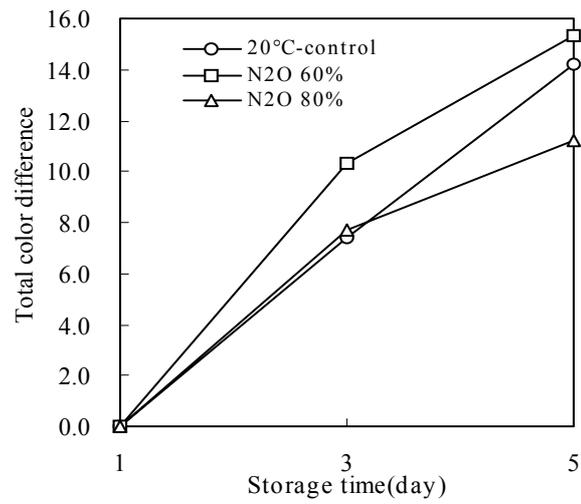


Fig. 11. Changes in total color difference (ΔE) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

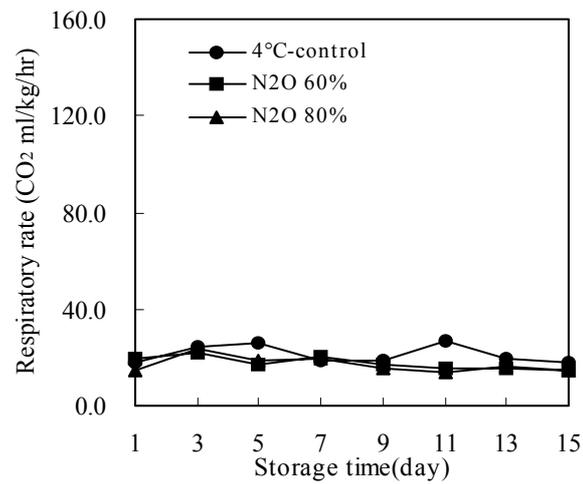
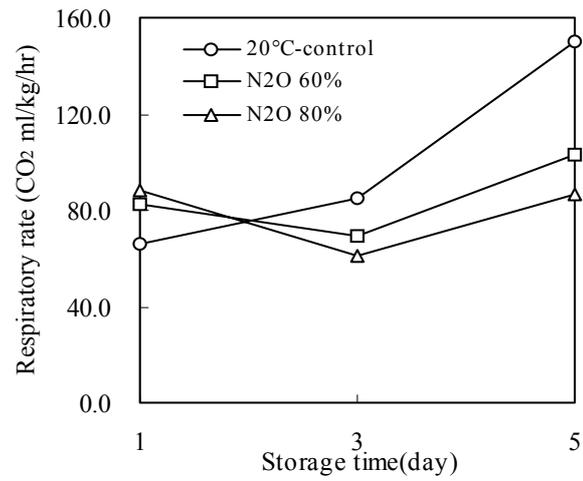


Fig. 12. Changes in respiratory rate (CO₂ ml/kg/hr) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

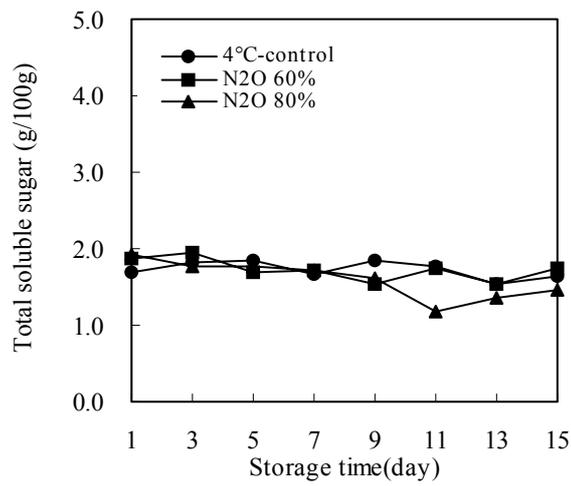
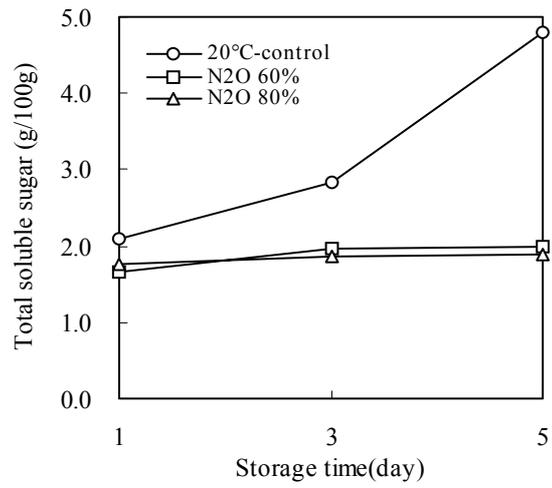


Fig. 13. Changes in total soluble sugar (g/100g) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

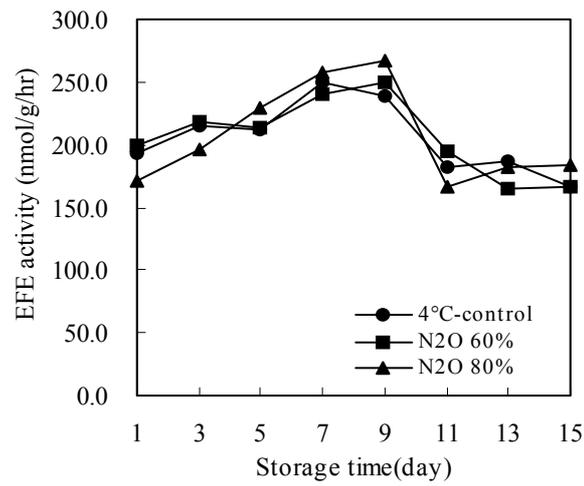
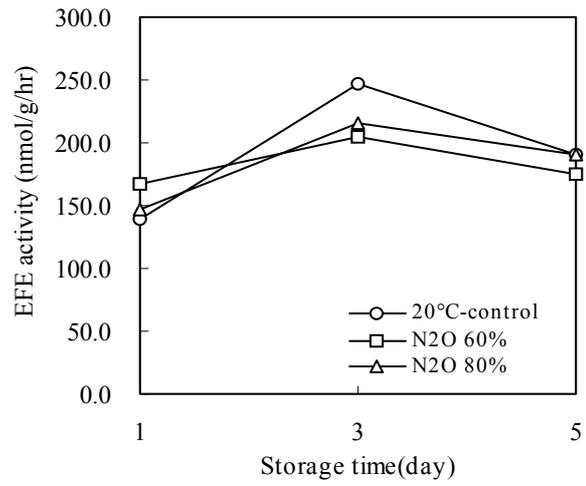


Fig. 14. Changes in EFE activity (nmol/g/hr) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

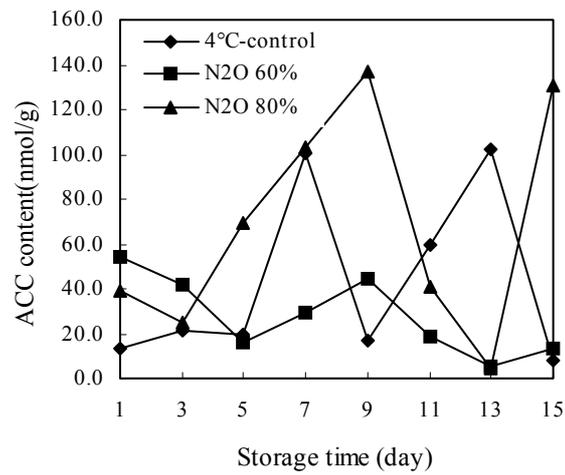
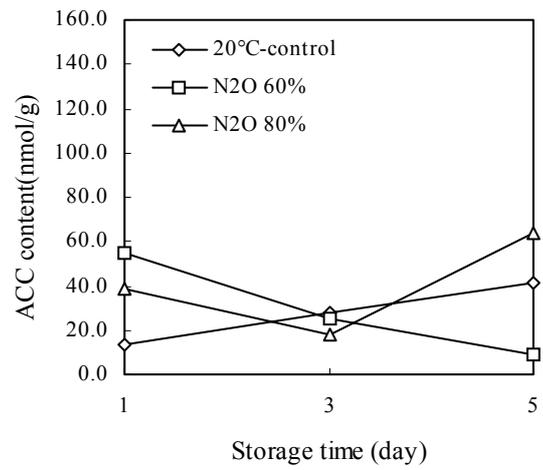


Fig. 15. Changes in ACC content (nmoleg) of mushrooms during storage at 20°C and 4°C.

다. 브로컬리에 대한 N₂O 최적 처리 조건확립

1차 실험 결과 중량감모율은 저장 시간이 경과함에 따라 큰 폭으로 증가하였으며, N₂O 농도 40%, 60%, 80%의 증가폭이 상대적으로 적게 나타났고, 그 중에서도 N₂O 80%의 중량감모율이 현저하게 낮게 나타났다. Total color difference는 CIE b값과 상관관계가 높아 황색도가 증가할수록 total color difference도 증가함을 알 수 있었다. 색도변화는 fumigation time에 따라서는 일정한 경향을 나타내지 않았으나, N₂O 농도가 높을수록 낮은 농도에 비해 색도변화의 폭이 작게 나타남을 알 수 있었다. 따라서 N₂O와 ethylener 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 양파, 양송이와 마찬가지로 N₂O 60%와 80%, fumigation time 12시간 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 살펴보았다.

2차 실험에서는 N₂O 60%와 80%농도로 12시간 가스 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 품질특성을 조사하였다. 가스 처리 후 골판지 상자에 넣어 감모율 변화를 살펴 본 결과 20℃의 경우 대조구의 감모율이 가스 처리구에 비해 높고 특히 저장 말기 대조구의 감모율이 25.2%인 것에 비해 N₂O 60% 처리구의 감모율은 17.4%으로 나타났다. 4℃저장에서는 대조구와 N₂O 60% 처리구의 감모율이 15%이상인 것에 비해 N₂O 80% 처리구의 감모율은 10%이하로 N₂O가스 처리가 감모율 저하 억제에 긍정적인 영향을 미친 것으로 사료된다(Fig. 16). 색도 변화는 20℃저장에서 서서히 증가하는 경향을 나타냈고 N₂O 80% 처리구의 색도변화가 다른 두 처리구의 변화에 비해 적게 나타났음을 알 수 있었다. 4℃저장의 경우 세 처리구간의 큰 차이는 나타나지 않았다(Fig. 17). 20℃저장의 경우 저장 중 브로컬리의 호흡률은 서서히 감소하다가 저장 2일 이후 급격히 상승한후 다시 감소하는 경향을 나타내었으며 4℃저온 저장에서 호흡율을 특이적으로 억제시켰음을 알 수 있었으나 세 처리간의 유효한 차이는 나타나지 않았다(Fig. 18). 비타민 C 함량의 경우 20℃저장에서 저장초기 급격히 감소하다가 다시 증가하였는데 N₂O가스처리가 비타민 C 함량 변화에 영향을 끼치지 않은 것으로 사료되고 4℃저장에서는 저장 초기 비타민 C 함량이 급격히 감소하다가 일정하게 유지 되었으며 세처리간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 19). 엽록소 함량 변화를 살펴 본 결과 20℃저장에서 N₂O 80% 처리구를 제외한 두 처리구에서 서서히 감소하였고 4℃저장에서는 저장 8일 까지 증가하다가 8일 이후에 감소 후 12일 이후에 다시 증가하는 경향을 보였는데 세 처리간의 차이는 나타나지 않았다(Fig. 20). EFE activity는 20℃저장에서 서서히 증가하다가 저장 4일 이후에 급격히 감소하였는데 이는 호흡률 변화에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 4℃저장의 경우 20℃저장에서와 마찬가지로 서서히 증가하다가 저장 4일 이후에 감소됨을 알 수 있었는데 EFE의 활성으로 인해 저장 4일경 색도의 급격한 변화와 호흡률의 증가에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다(Fig. 21). ACC 함량분석의 경우 20℃저장에서

함량이 감소하다가 증가하였는데 ACC의 함량 증가로 인해 색도변화와 호흡률 증가등 시료의 품질 저하에 영향을 미친 것으로 사료되고 4℃저장에서의 경우 ACC 함량이 급격히 감소하다가 N₂O 60%처리구를 제외한 두 처리구에서 8일 이후에 다시 급상승하는 것을 알 수 있었다. 특히 대조구의 ACC 함량이 저장 말기로 갈수록 증가하였는데 이는 시료의 품질 저하에 큰 영향을 미쳤을 것으로 사료된다 (Fig. 22).

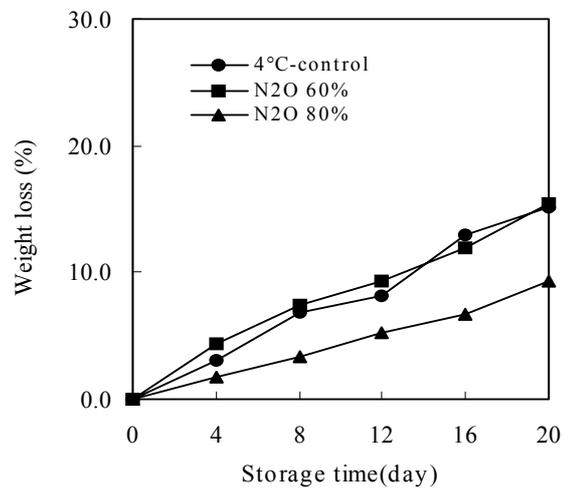
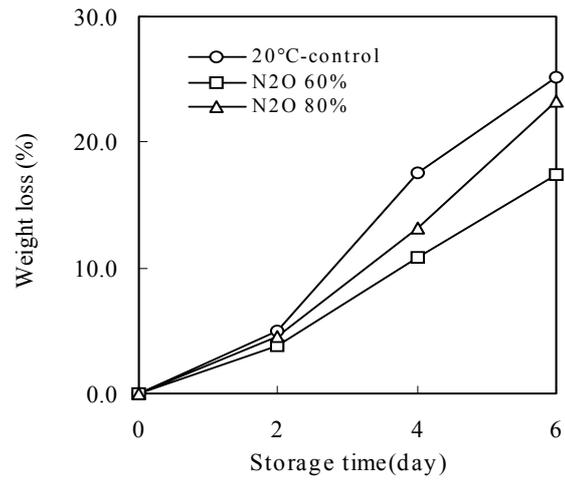


Fig. 16. Changes in weight loss (%) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

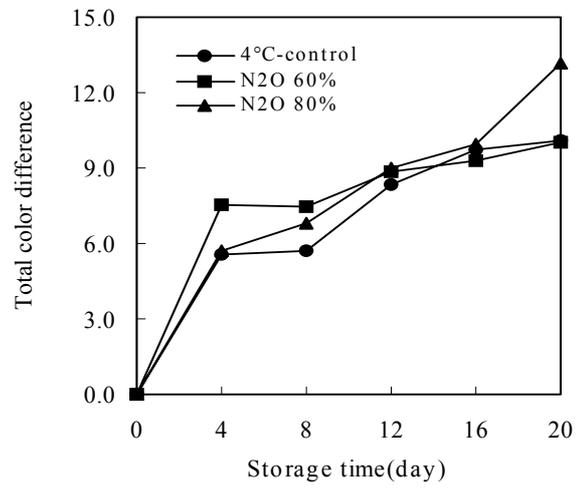
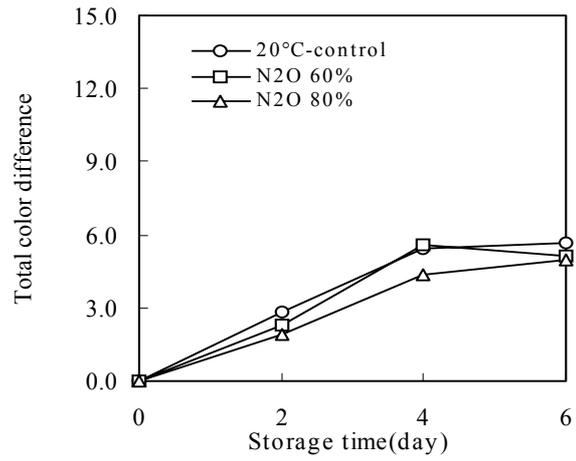


Fig. 17. Changes in total color difference (ΔE) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

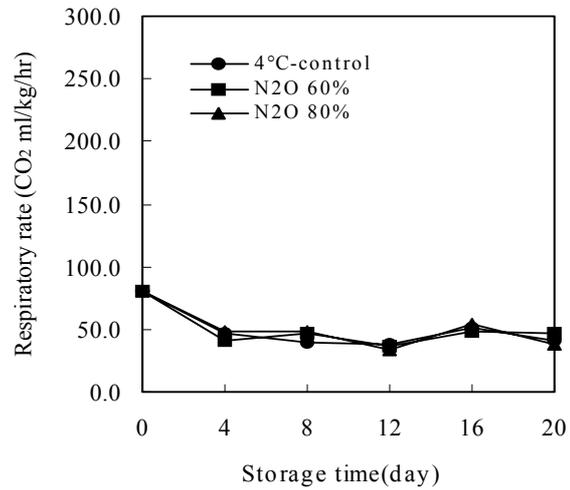
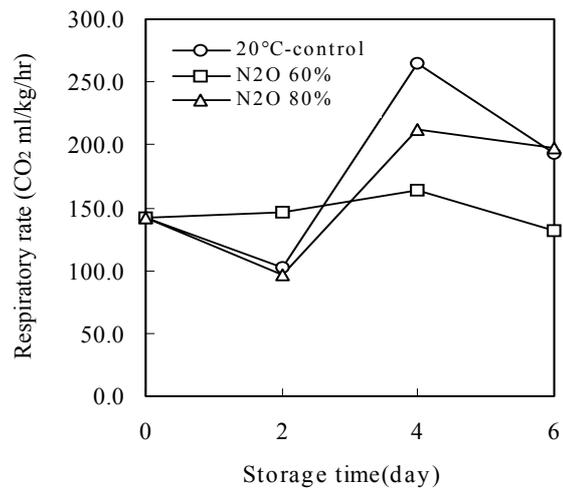


Fig. 18. Changes in respiratory rate (CO₂ ml/kg/hr) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

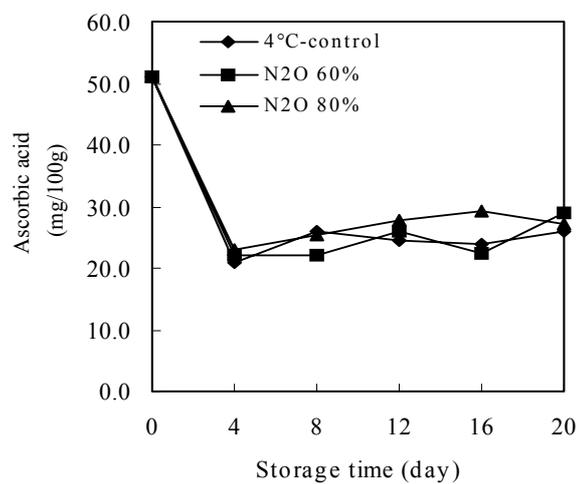
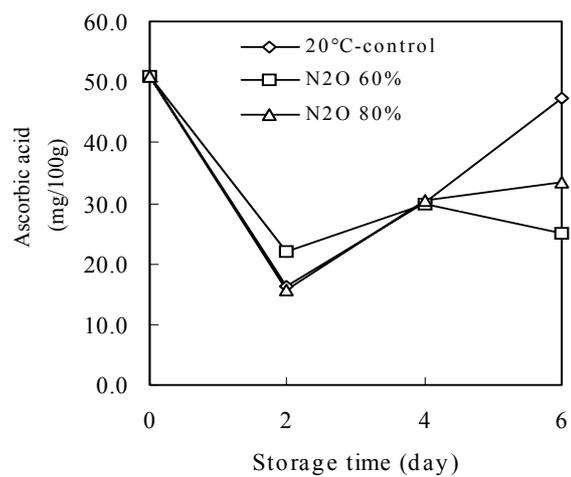


Fig. 19. Changes in ascorbic acid(mg/100g) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

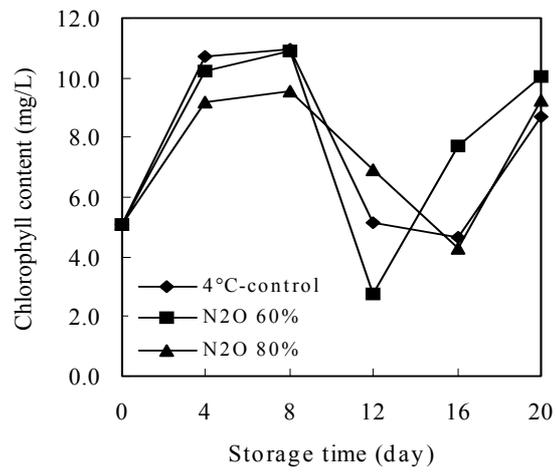
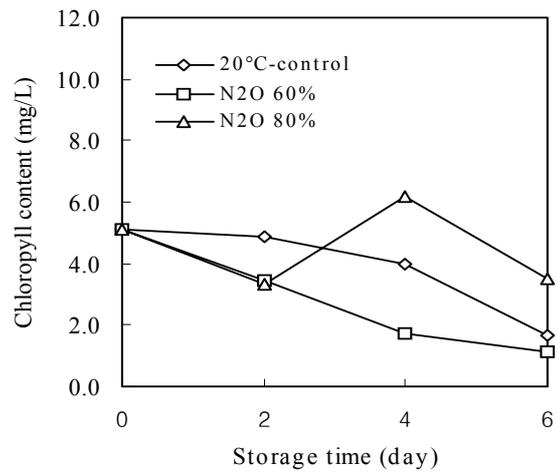


Fig 20. Changes in chlorophyll content(mg/L) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

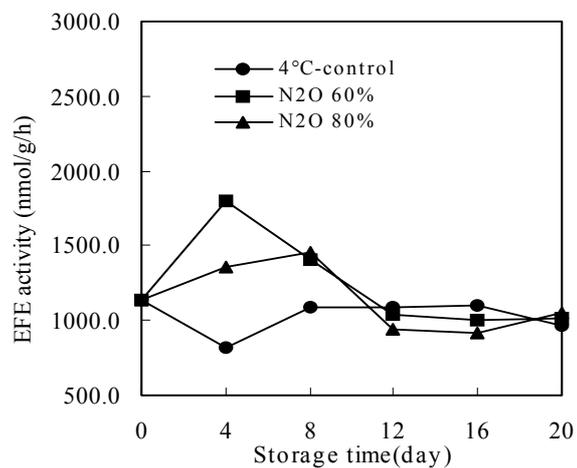
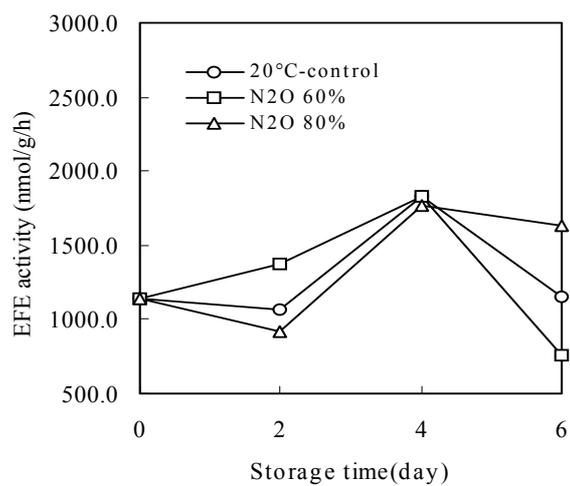


Fig. 21. Changes in EFE activity (nmol/g/h) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

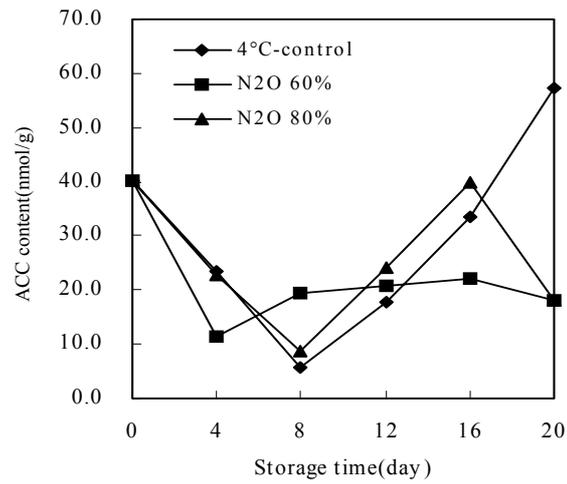
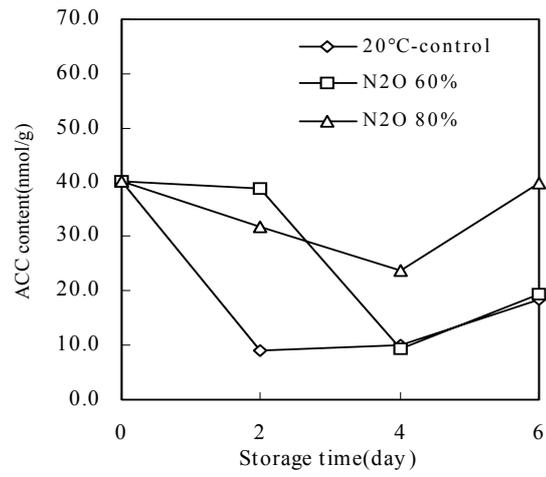


Fig. 22. Changes in ACC content (nmol/g) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

라. 양상치에 대한 N₂O 최적 처리 조건확립

중량감모율은 16-20% 정도로 N₂O 농도에 따른 차이는 크게 나타나지 않았으나, N₂O 80%와 100% 처리구에서 약간 낮게 나타났고, fumigation time에 따른 차이는 뚜렷한 경향을 보이지 않았다. 색도변화는 N₂O 농도가 높을수록 낮은 농도에 비해 색도변화의 폭이 작게 나타나 N₂O 60%, 80%, 100%처리가 효과적임을 알 수 있었다. Fumigation time에 따라서는 일정한 경향을 나타내지는 않았으나 모든 N₂O 처리구에서 8시간, 12시간이 효과가 있음을 알 수 있었다.

2차 실험에서는 N₂O 60%와 80%농도로 12시간 가스 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 품질특성을 조사하였다. 가스 처리 후 골판지 상자에 넣어 감모율의 변화를 살펴 본 결과 20℃저장의 경우 세 처리구 모두 저장일수에 따라 증가하였는데 N₂O 80% 처리구가 다른 처리구에 비해 다소 효과적이었음을 알 수 있었다. 4℃저장에서는 세 처리구의 감모율이 저장 24일 까지 서서히 증가하다가 24일 이후 감소하였는데 N₂O 60%처리구의 감모율변화가 다른 두 처리구에 비해 억제되었음을 알 수 있었다(Fig. 23). 저장 초 양상치의 색을 기준으로 저장 기간 동안 양상치의 색변화 정도를 나타내는 색도차(ΔE)를 살펴보면, 20℃ 저장의 경우 저장 기간동안 서서히 증가하는데 N₂O 80% 처리구의 색도변화가 약간 적게 나타났음을 알 수 있었다. 4℃는 저장 기간 동안 서서히 증가하였으며 세처리구 간의 큰 차이는 나타나지 않았다(Fig. 24). 20℃의 경우 저장 중 양상치의 호흡률은 서서히 감소하였는데 N₂O 60%처리구 호흡률이 저장 4일 이후에 급격히 상승하였다. 4℃는 저장 초기 N₂O 가스 처리가 호흡을 효과적으로 억제하여 대조구보다 낮은 호흡률을 보였고 저장 일수가 증가함에 따라 호흡률이 서서히 증가하였다(Fig. 25). 비타민 C 함량의 경우 20℃와 4℃ 저장에서 대조구의 함량이 더 높게 나타나 N₂O 가스 처리가 비타민 C 함량에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다(Fig. 26). 엽록소 함량 변화를 살펴본 결과 20℃ 저장에서 N₂O 60% 처리구가 엽록소 함량 유지에 영향을 미쳐 높게 나타났고 4℃ 저장에서는 엽록소함량이 저장 초기 급격히 감소하다가 저장 16일 이후에 증가 한 후 저장 말기에 다시 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 27). EFE activity는 20℃ 저장에서 저장 일에 따라 감소하였는데 N₂O 60% 처리구에서 약간 억제되었음을 알 수 있었고 4℃ 저온저장한 경우 EFE 활성을 억제하는데 더욱 효과적인 것을 알 수 있었으며 처리구간의 차이는 크게 나타나지 않았다(Fig. 28). ACC 함량 변화의 경우 20℃ 저장에서는 N₂O 가스 처리의 효과가 나타나지 않았고 4℃ 저장에서는 N₂O 60% 처리구에서 서서히 증가함을 알 수 있었고 대조구와 N₂O 80% 처리구에서는 서서히 증가하다가 저장 말기에 급격히 증가 후 다시 감소하였는데 이는 시료의 감모율 변화에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다(Fig. 29).

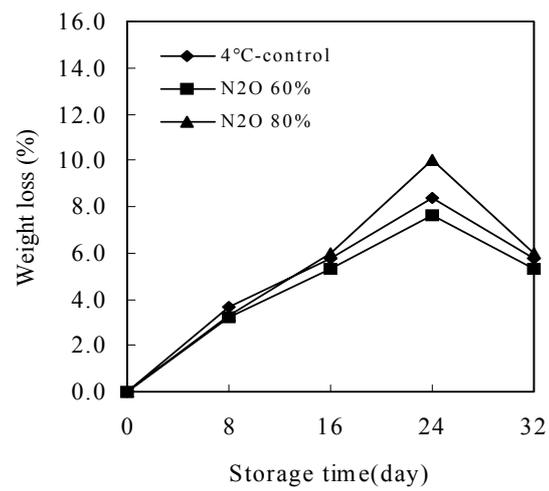
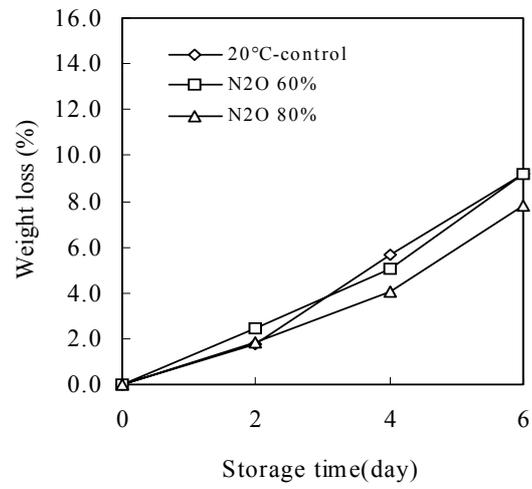


Fig. 23. Change in weight loss (%) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

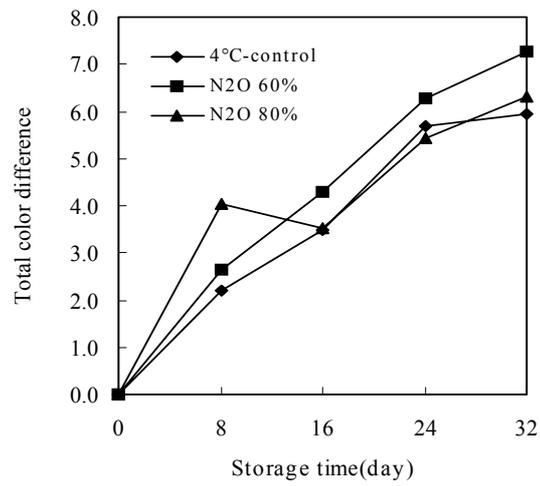
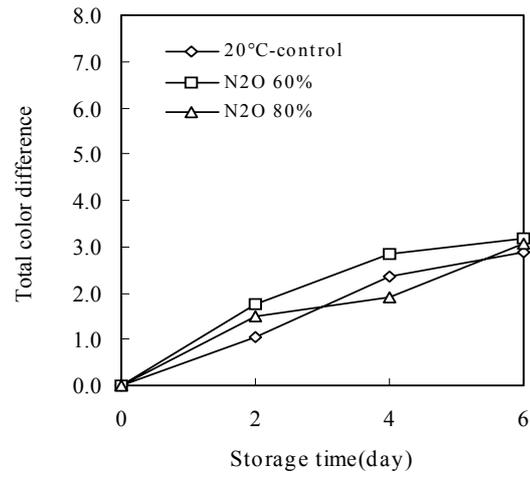


Fig. 24. Changes in total color difference(ΔE) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

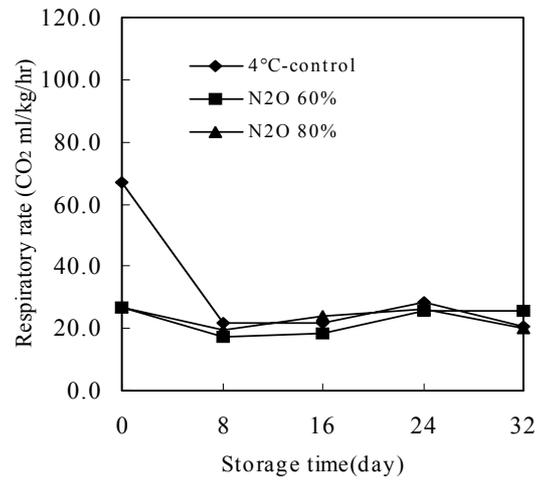
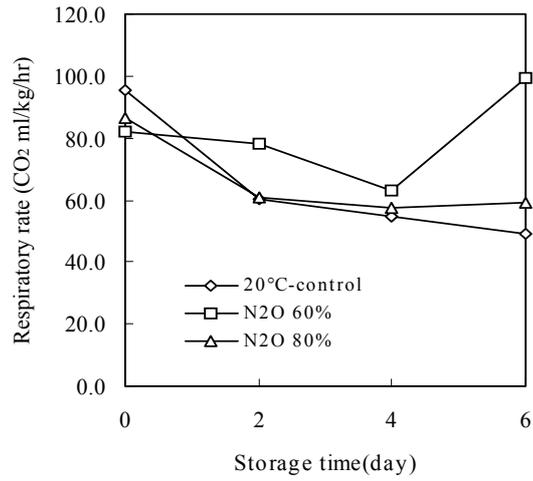


Fig. 25. Changes in respiratory rate (CO_2 ml/kg/hr) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

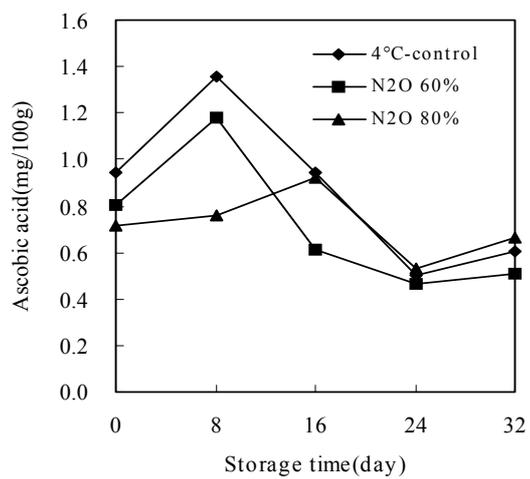
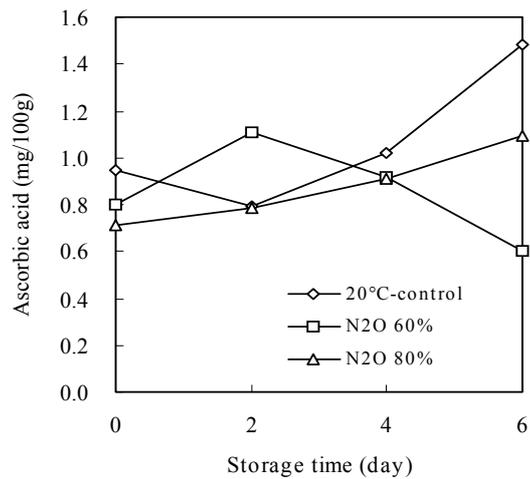


Fig. 26. Changes in ascorbic acid(mg/100g) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

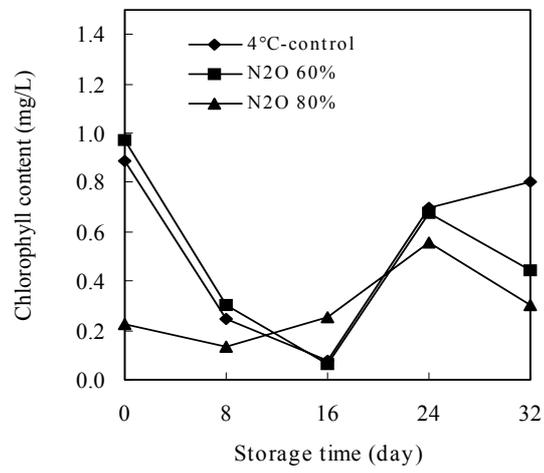
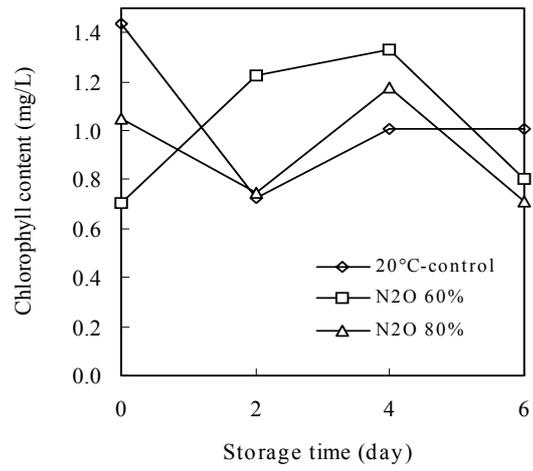


Fig. 27. Changes in chlorophyll content(mg/L) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

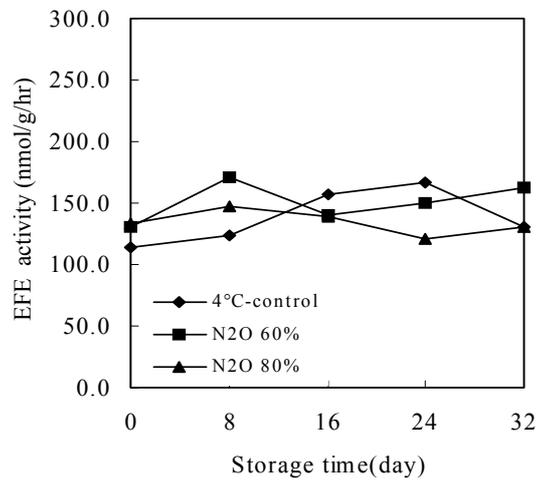
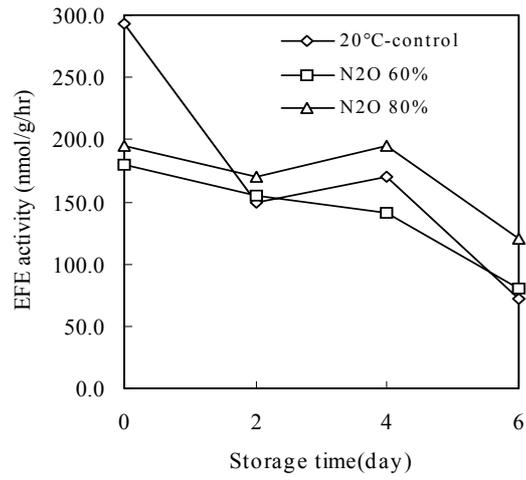


Fig. 28. Changes in EFE activity(nmol/g/hr) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

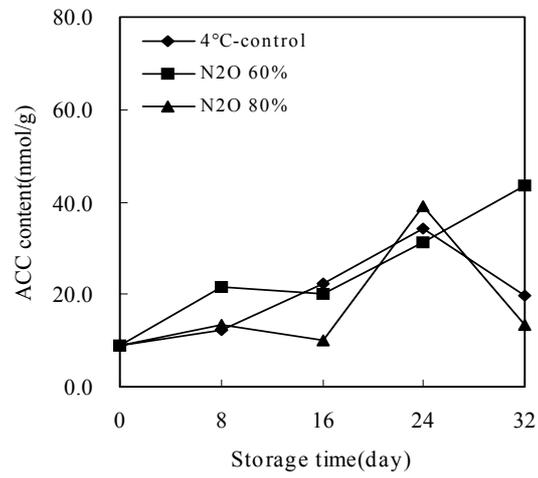
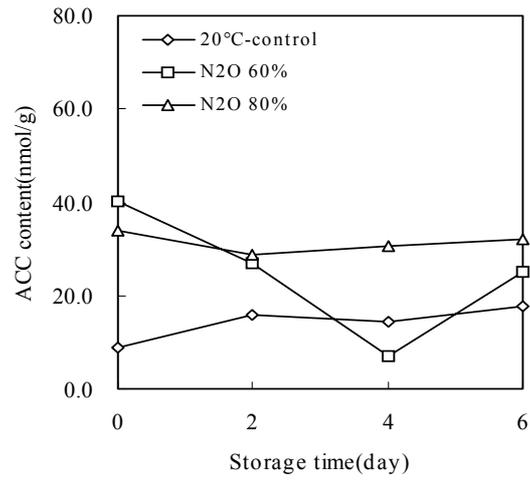


Fig. 29. Changes in ACC content(nmol/g) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

2. 국내산 채소류의 고품질화를 위한 NO 최적 처리 조건확립

가. 양파에 대한 NO 최적 처리 조건확립

1차 실험에서는 양파의 품질 유지에 유효하게 영향을 미치는 최적의 NO 농도를 알아 내기 위해 다양한 처리를 한 후 관능검사를 실시하여 스코어링을 하였는데 스코어가 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다. 그 결과 양파에 유효하게 영향을 미치는 NO 농도는 100ppm, 1000ppm 이고 fumigation time은 2시간이 효과적인 것으로 판단되어져 NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 NO 100ppm과 NO 1000ppm, fumigation time 2시간 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 살펴보았다.

가스 처리 후 판매 상태와 비슷한 조건을 갖추게 하기 위해 시료를 땅에 넣어 보관하고 저장 기간 중의 감모율을 조사해본 결과 20℃ 저장에서 저장초기 급격히 증가하고 저장 중기부터 서서히 증가함을 알 수 있었다. 4℃ 저온 저장한 경우 중량 유지에 더욱 효과적이었다(Fig. 30). 경도는 저장 온도에 상관없이 저장 중에 서서히 감소하였다. 20℃ 저장의 경우 NO 처리구의 경도가 대조구 보다 더 높게 유지됨을 알 수 있었다. 4℃ 저장에서도 20℃ 저장과 마찬가지로 대조구에 비해 경도가 약간 높게 유지됨을 알 수 있었다(Fig. 31). 20℃의 경우 양파의 호흡률은 서서히 감소하다가 저장 40일 이후 약간 증가하였는데 NO처리가 대조구에 비해 약간 높았으며 4℃ 저장에서는 NO 1000ppm 처리구가 대조구와 NO 100ppm 처리구에 비해 호흡률이 다소 억제되었음을 알 수 있었다(Fig. 32). EFE activity의 경우 20℃ 저장에서 저장초기 급격히 감소하다가 저장 20일 이후에 약간 증가하였고 4℃ 저장에서는 저장 중반부 까지 NO 1000ppm처리구가 다른 두 처리구에 비해 억제 되었고 저장 말기에는 NO 처리구의 활성이 대조구에 비해 높게 나타났다(Fig. 33). ACC 함량의 경우 20℃ 저장에서 저장 초기 급격히 증가하다가 다시 서서히 감소하였고 4℃ 저장에서는 NO 1000ppm 처리구가 다른 처리구에 비해 다소 일정하게 유지되면서 다른 처리구에 비해 ACC 함량이 적었음을 알 수 있었다(Fig. 34).

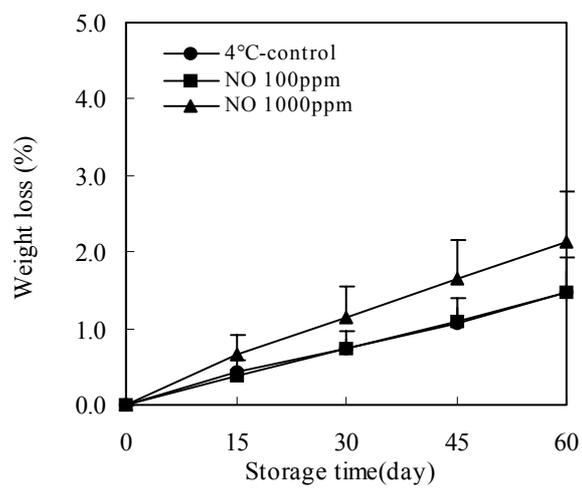
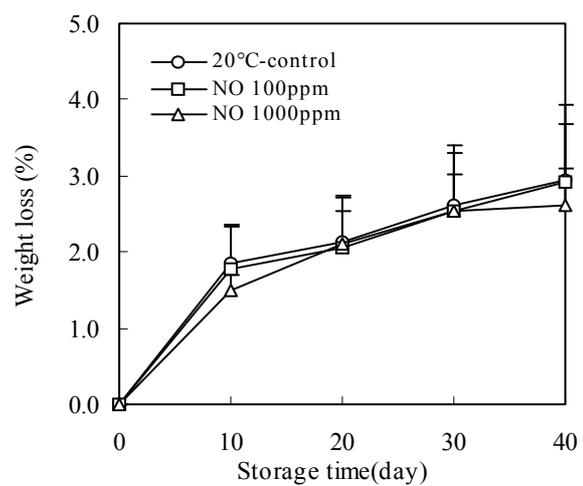


Fig. 30. Changes in weight loss (%) of onion during storage at 20°C and 4°C.
Data represent mean \pm SE.

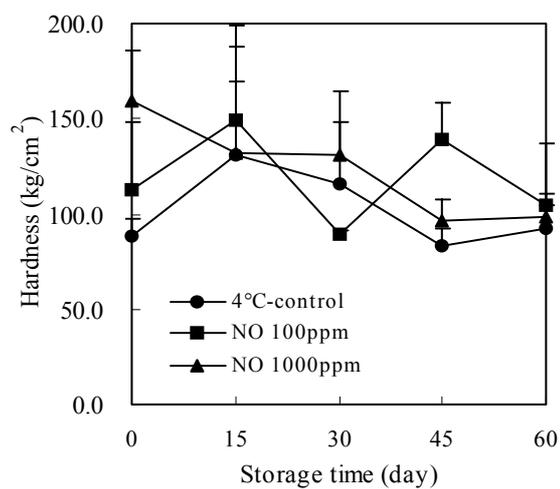
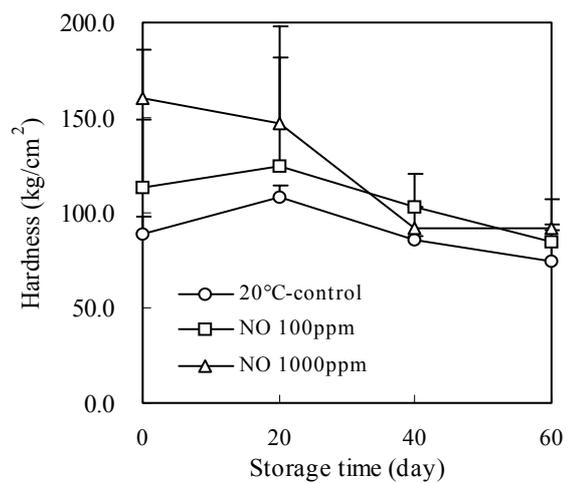


Fig. 31. Changes in hardness(kg/cm²) of onion during storage at 20°C and 4°C.
Data represent mean \pm SE.

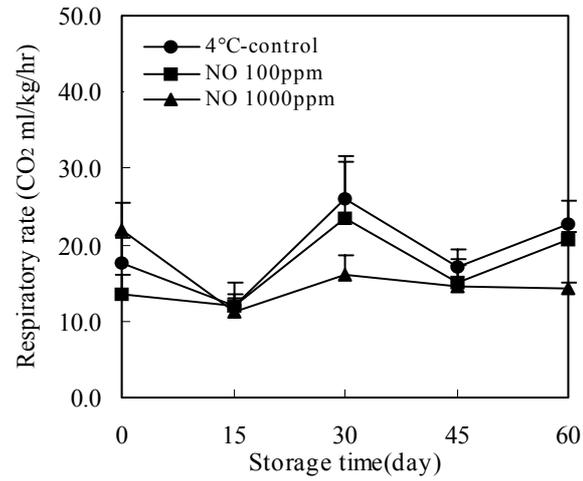
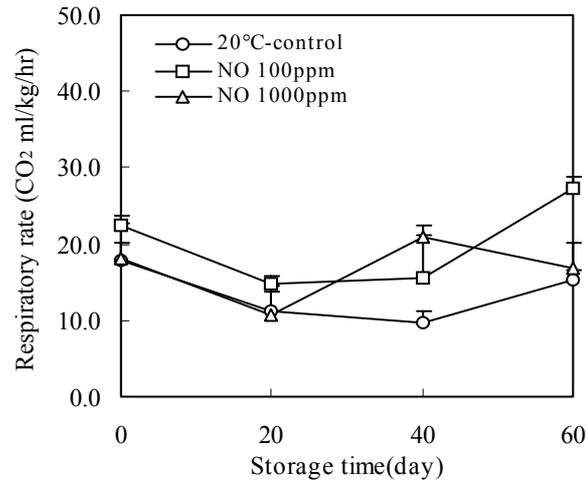


Fig. 32. Changes in respiratory rate (CO₂ ml/kg/hr) of onion during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean ± SE.

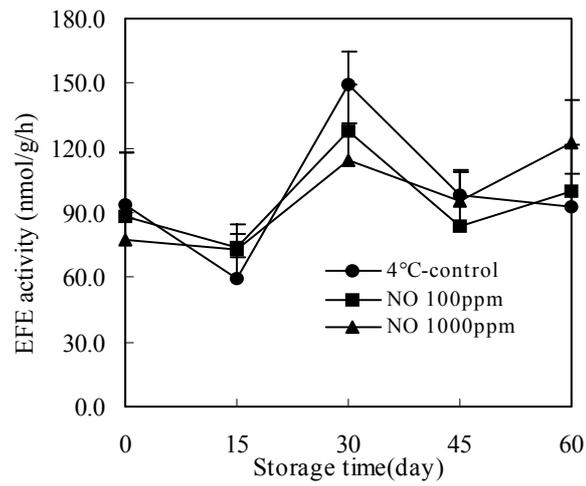
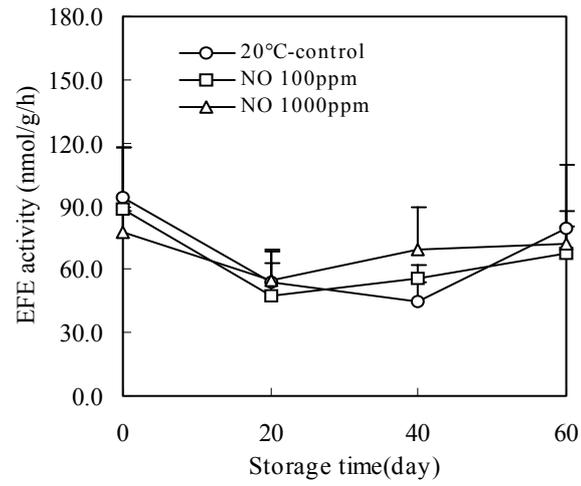


Fig. 33. Changes in EFE activity (nmol/g/h) of onion during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

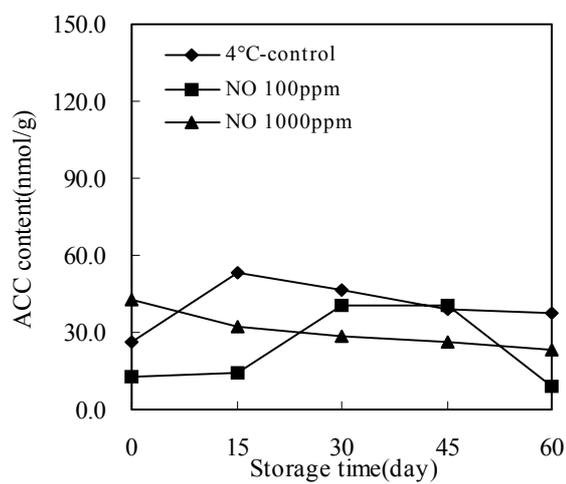
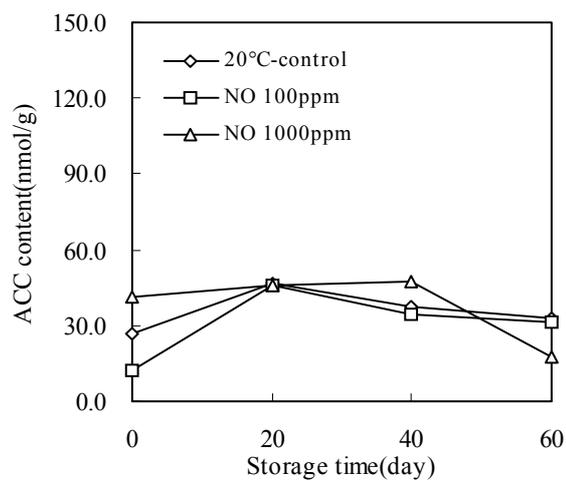


Fig. 34. Changes in ACC content (nmol/g) of onion during storage at 20°C and 4°C.

나. 양송이에 대한 NO 최적 처리 조건확립

1차 실험에서는 양송이의 품질 유지에 유효하게 영향을 미치는 최적의 NO 농도를 알아 내기 위해 다양한 처리를 한 후 관능검사를 실시하여 스코어링을 하였는데 스코어가 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다. 그 결과 양송이에 유효하게 영향을 미치는 NO 농도는 10ppm, 100ppm 이고 fumigation time은 1시간이 효과적인 것으로 판단되어져 NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 NO 10ppm과 NO 100ppm, fumigation time 1시간 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 살펴보았다.

외관에 대해 관능검사를 하여 Storage time을 알아 본 결과 20℃와 4℃에서 NO 100ppm처리구의 신선도가 가장 잘 유지되었다(Table 2, Fig. 35). 가스 처리 후 골판지 상자에 넣어 수분함량 변화를 살펴 본 결과 20℃의 경우 처리간의 차이는 크지 않았고 저장 2일 이후에 수분 함량이 급격히 감소하여 품질의 선도에 영향을 미친 것으로 사료된다. 4℃의 경우 처리간의 큰 차이를 나타내지는 않지만 저장 중기 이후에 NO 가스 처리구 양송이의 수분 함량이 대조구에 비해 다소 높게 유지 되고 있음을 알 수 있었다(Fig. 36). 경도는 저장온도에 상관없이 저장 중 서서히 감소하였다. 20℃에서는 처리구간의 차이가 나타나지 않았고 4℃에서는 NO 100ppm 처리구의 경도가 다소 높게 나타났다(Fig. 37). 색변화 정도를 나타내는 색도차(ΔE)를 살펴보면, 저장 온도가 높을 수록 단위시간에 따른 색도변화가 크게 나타나 20℃는 저장 4일만에 ΔE 값이 8.0에 가까운 값을 보였으며 대조구와 NO 10ppm 처리구에 비해 NO 100ppm 처리구에서 색도 변화가 유의적으로 억제 되었음을 알 수 있었다. 4℃저장의 경우 저장 16일경에 ΔE 값이 8.0에 가까웠으며 대조구에 비해 NO 처리구에서 색변화가 억제 되었음을 알 수 있었다(Fig. 38). 20℃ 저장 중 양송이의 호흡률은 서서히 증가하였는데 NO 처리구의 양송이 호흡률이 대조구의 호흡률에 비해 억제되었음을 알 수 있었고 4℃저온 저장의 경우 20℃저장에 비해 호흡률을 억제 시키는데 효과적임을 알 수 있었으며 세처리구 모두 저장 초기 급격히 감소하다가 일정 상태로 유지하거나 약간 증가하였는데 저장 말기 대조구에 비해 NO 100ppm 처리구의 호흡률이 다소 억제 되었음을 알 수 있었다(Fig. 39). EFE activity는 20℃저장에서 서서히 감소하였는데 NO 10ppm 처리구 양송이의 EFE 활성은 저장 2일까지 다른 처리구에 비해 낮게 나타내다가 급격히 증가하였고 4℃저장에서는 EFE 활성이 서서히 감소하다가 저장 중기에 급상승하고 다시 감소함을 알 수 있었다(Fig. 40). ACC 함량변화를 살펴보면 20℃ 저장에서는 NO 10ppm 처리구가 ACC 발생을 억제시키는데 효과적이었고 4℃ 저장에서는 저장 8일 이후에 ACC 발생량이 증가하여 시료의 품질 저하에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다(Fig. 41).

Table 2. Storage life of mushroom at 20°C and 4°C

Temperature	20°C			4°C		
Treatment	Control	NO10ppm	NO100ppm	Control	NO10ppm	NO100ppm
Storage life	4.48	4.48	4.57	12.97	15.09	16.91



Fig. 35. Effect of NO treatment in cap-opening of mushrooms after 4days storage at 4°C. A, treated with air; B, treated with NO 10ppm; C, treated with NO 100ppm.

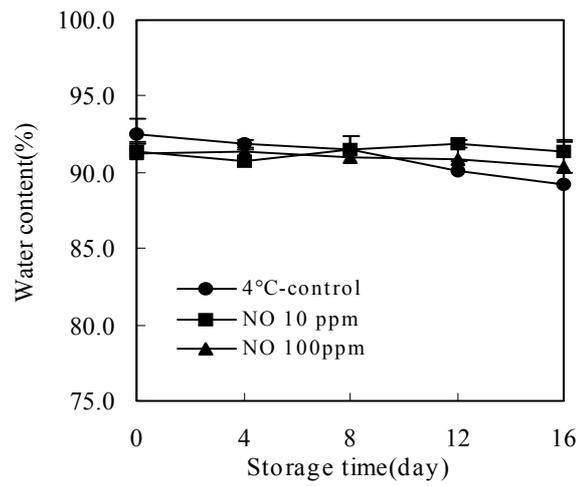
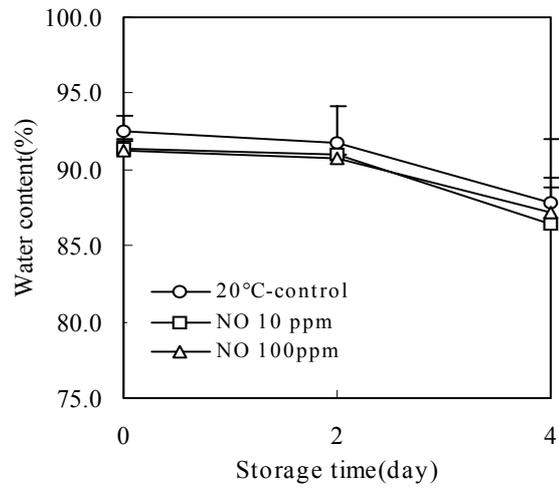


Fig. 36. Changes in water content (%) of mushroom during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

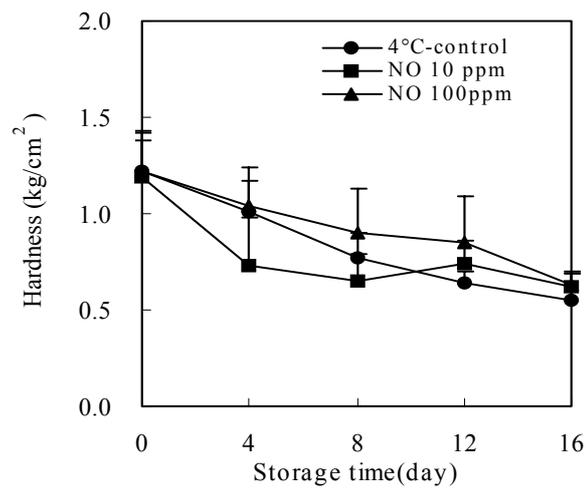
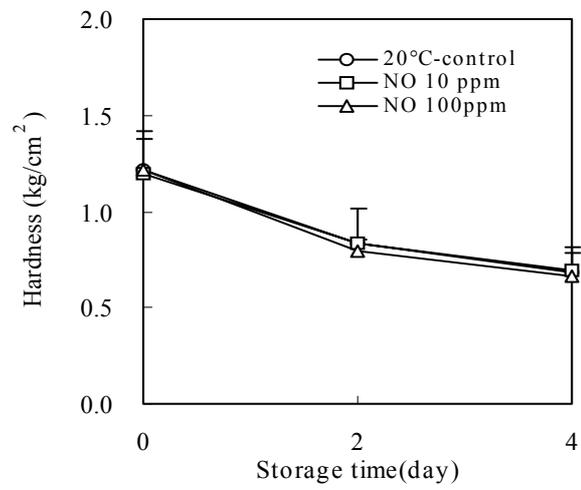


Fig. 37. Changes in hardness(kg/cm²) of mushroom during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean ± SE.

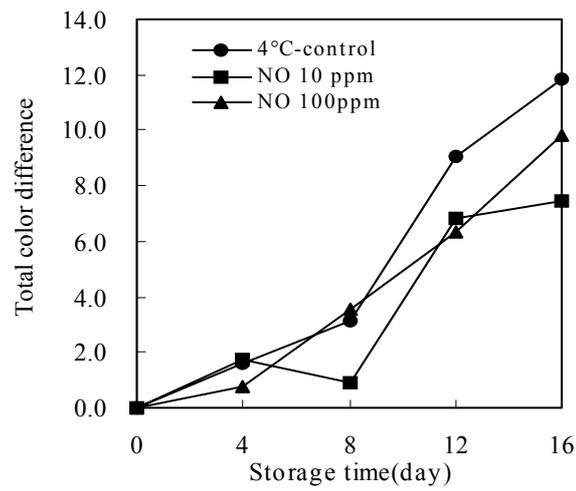
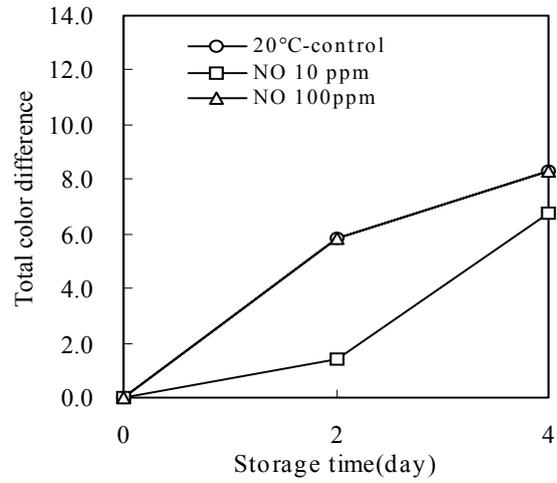


Fig. 38. Changes in total color difference (ΔE) of mushroom during storage at 20°C and 4°C.

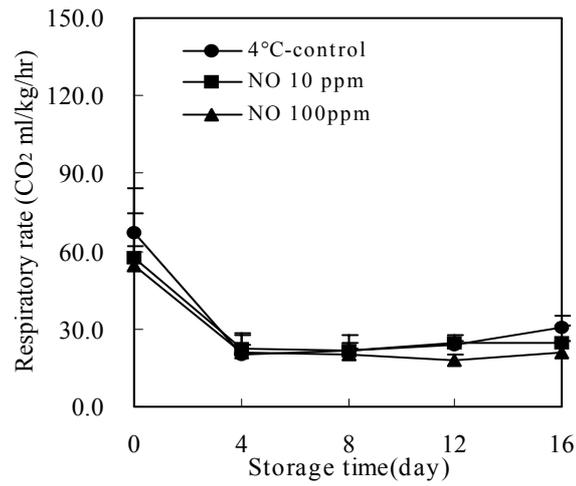
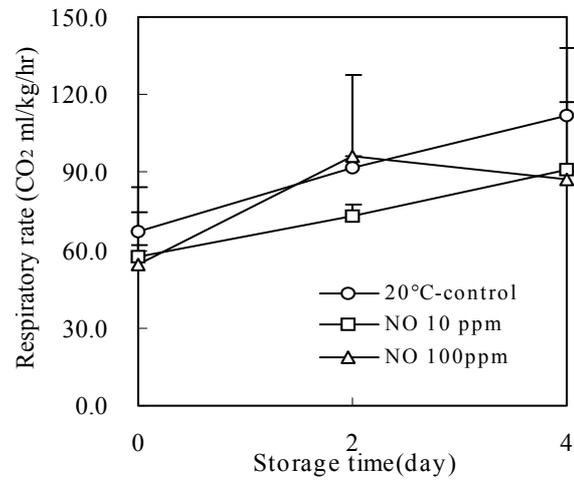


Fig. 39. Changes in respiratory rate (CO₂ ml/kg/hr) of mushroom during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean ± SE.

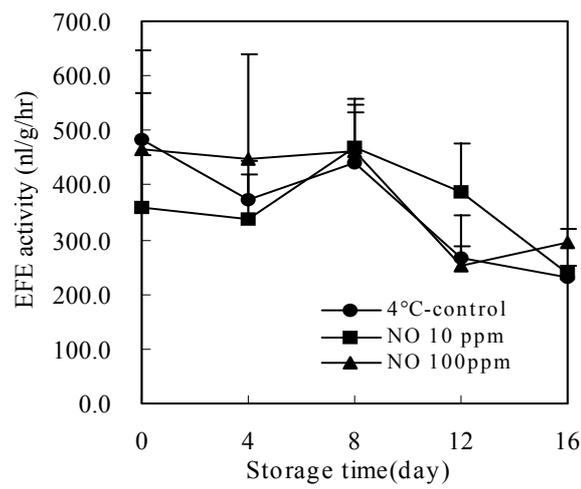
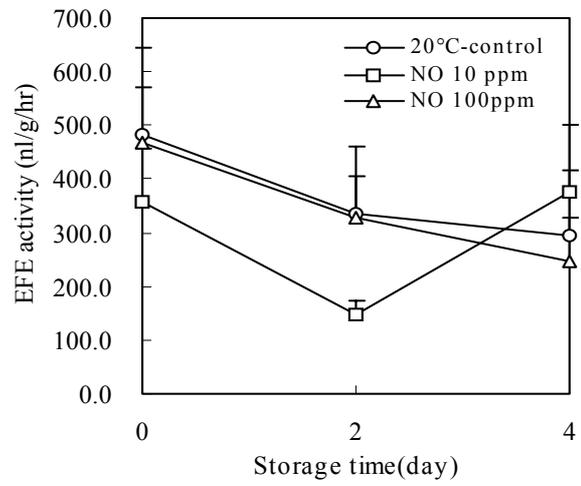


Fig. 40. Changes in EFE activity (nmol/g/hr) of mushroom during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

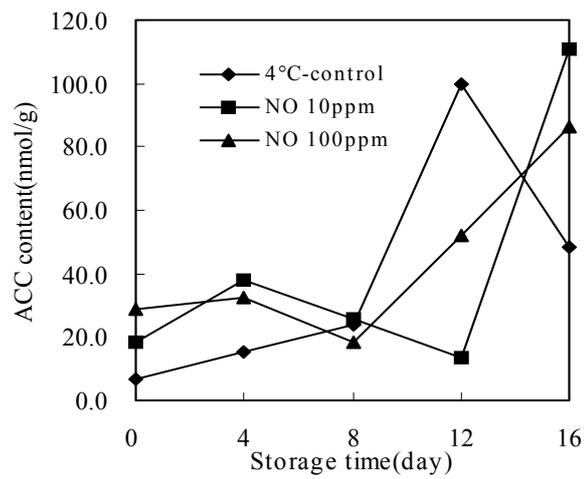
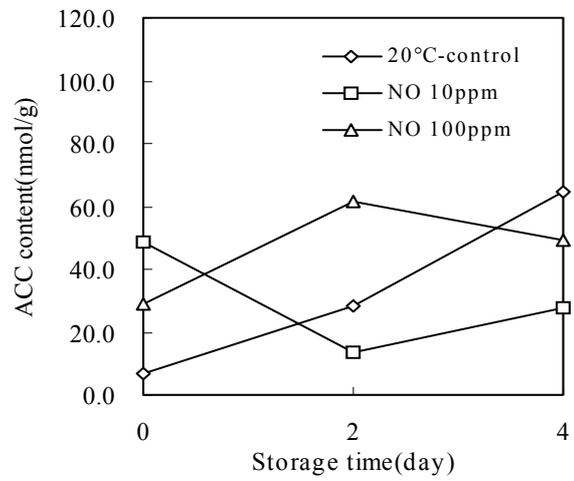


Fig. 41. Changes in ACC content (nmol/g) of mushroom during storage at 20°C and 4°C.

다. 브로컬리에 대한 NO 최적 처리 조건확립

1차 실험에서는 브로컬리의 품질 유지에 유효하게 영향을 미치는 최적의 NO 농도를 알아 내기 위해 다양한 처리를 한 후 관능검사를 실시하여 스코어링을 하였는데 스코어가 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다. 그 결과 브로컬리에 유효하게 영향을 미치는 NO 농도는 1000ppm, 2000ppm 이고 fumigation time은 4시간이 효과적인 것으로 판단되어져 NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 NO 1000ppm과 NO 2000ppm, fumigation time 4시간 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 살펴보았다.

외관에 대해 관능검사를 하여 Storage time을 알아 본 결과 20℃와 4℃에서 NO 1000ppm처리구의 신선도가 가장 잘 유지되었다(Table 3 , Fig. 42, Fig 43). 브로컬리의 저장 중 감모율에 대해 알아 본 결과 20℃에서는 세처리간의 유의적인 차이가 나타나지 않았고 4℃저장의 경우 대조구와 NO 1000ppm 처리구간의 차이가 크지 않았으나 저장 말기에 대조구의 감모율이 급격히 상승하였다(Fig. 44). 저장 초 브로컬리의 색을 기준으로 저장 기간 동안의 색변화 정도를 나타내는 색도차(ΔE)를 살펴보면 저장온도가 높을수록 색도 변화가 크게 나타났음을 알 수 있었고 20℃저장에서 NO 가스 처리구가 대조구에 비해 색도 변화 억제가 효과적임을 알 수 있었다. 4℃ 저온 저장에서는 NO 2000ppm 처리구에서 색도 변화가 거의 일어나지 않았음을 알 수 있었다(Fig. 45). 호흡률은 20℃저장에서보다 저온저장인 4℃에서 억제 효과가 컸음을 알 수 있었고 20℃저장에서는 급격히 감소하다가 서서히 증가하였는데 NO 1000ppm 처리가 대조구에 비해 낮게 나타나 호흡률을 억제시켜 품질 저하를 방지하는데 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 4℃저장의 경우 호흡률이 서서히 증가하였는데 세처리간의 차이는 발견되어지지 않았다(Fig. 46). 비타민 C 함량변화를 알아본 결과 20℃저장에서는 대조구에 비해 NO 처리구의 함량이 다소 낮게 나와 NO 가스 처리가 비타민 C 함량 변화에 크게 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다. 4℃저장에서는 저장 중기까지는 NO 가스 처리가 유효하게 영향을 미치는 것 같으나 저장 말기에 대조구에 비해 NO 가스 처리구의 함량이 약간 낮게 검출 되어 NO 처리가 비타민 C 함량 변화에 직접적으로 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다(Fig. 47). 엽록소 함량은 20℃저장에서 급격히 감소하였는데 이는 색도차(ΔE)가 급격하게 상승하는 것과 결부 시켜 생각해 볼 수 있겠다. 4℃저장에서는 대조구의 함량이 가장 높았는데 저온저장에서 NO 처리가 엽록소 함량 유지에 직접적인 영향을 미치지 못한 것으로 사료된다(Fig. 48). 20℃저장에서 EFE activity는 대조구의 활성이 높아 시료의 상품 가치를 빠르게 저하시킨 것으로 사료되고 4℃저장에서도 20℃저장과 마찬가지로 저장 말기 대조구의 활성이 급격히 높아서 품질 저하에 직접적으로 영향을 미쳤을 것으로

사료된다(Fig. 49). ACC 함량변화를 알아본 결과 20℃저장에서 NO 2000ppm 처리구에서 억제 되었음을 알 수 있었고 4℃저장에서는 저장 중기까지 NO 가스 처리구의 함량이 대조구에 비해 현저히 낮음을 알 수 있었다(Fig. 50).

Table 3. Storage life of broccoli at 20℃ and 4℃

Temperature	20℃			4℃		
Treatment	Control	NO 1000ppm	NO 2000ppm	Control	NO 1000ppm	NO 2000ppm
Storage life	2.17	2.38	2.27	24.01	32.21	29.67



Fig. 42. Effect of NO treatment in quality of broccolis after 4days storage at 20℃. A, treated with air; B, treated with NO 1000ppm; C, treated with NO 2000ppm.



Fig. 43. Effect of NO treatment in quality of broccolis after 28days storage at 4°C. A, treated with air; B, treated with NO 1000ppm; C, treated with NO 2000ppm.

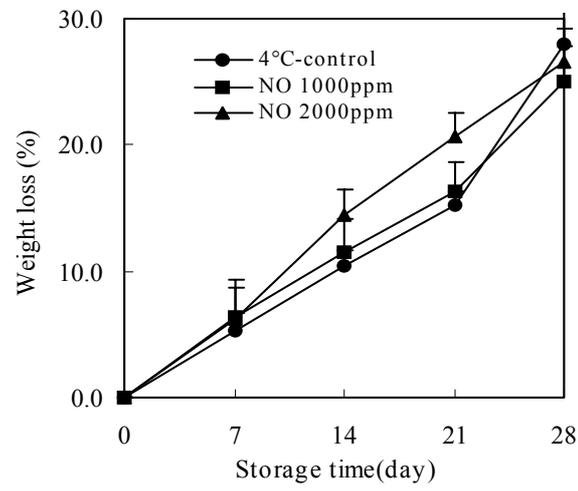
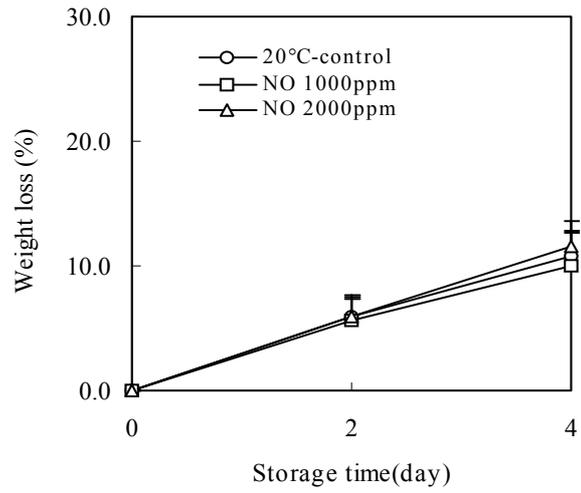


Fig. 44. Changes in weight loss (%) of broccoli during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

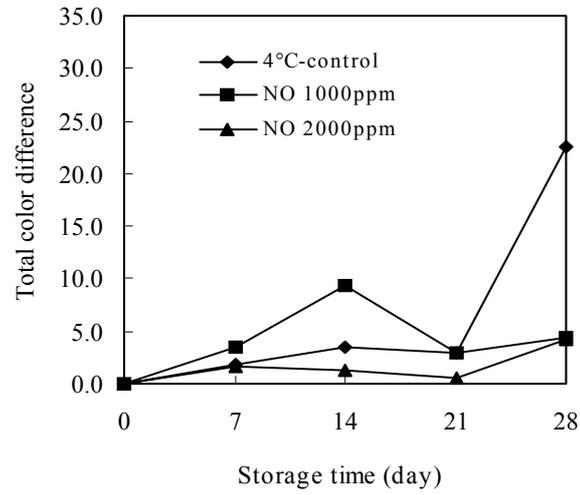
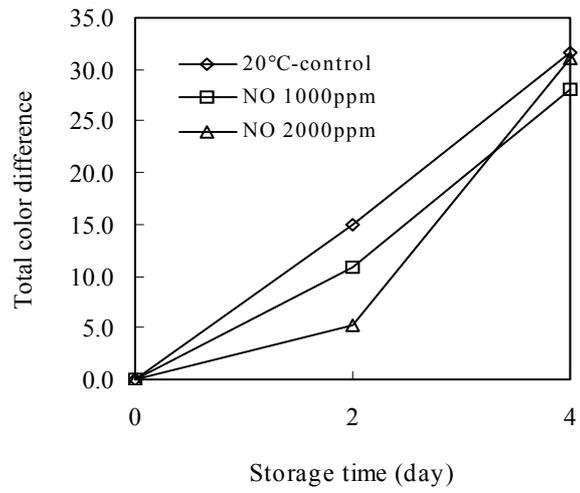


Fig. 45. Changes in total color difference (ΔE) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

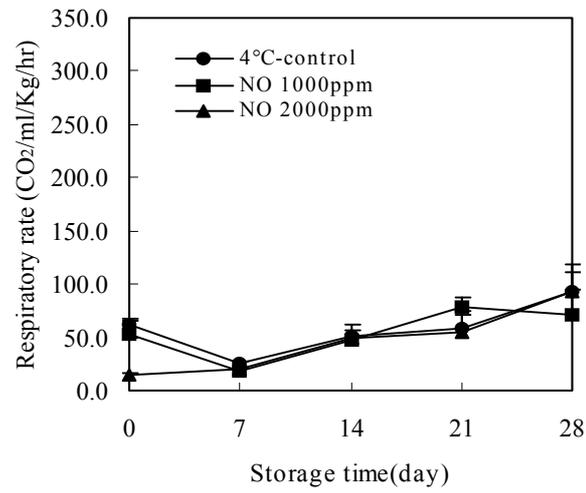
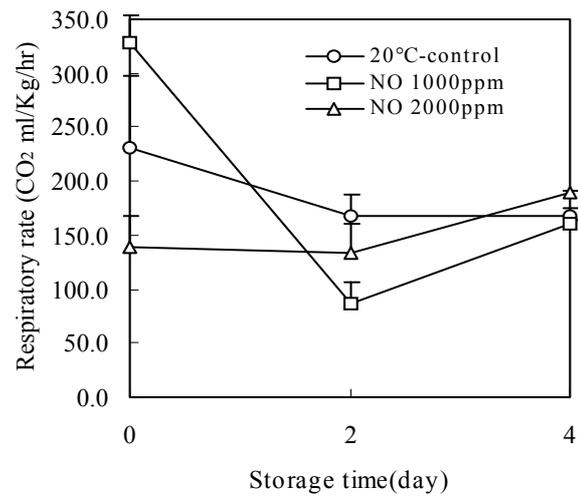


Fig. 46. Changes in respiratory rate (CO₂ ml/kg/hr) of broccoli during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean ± SE.

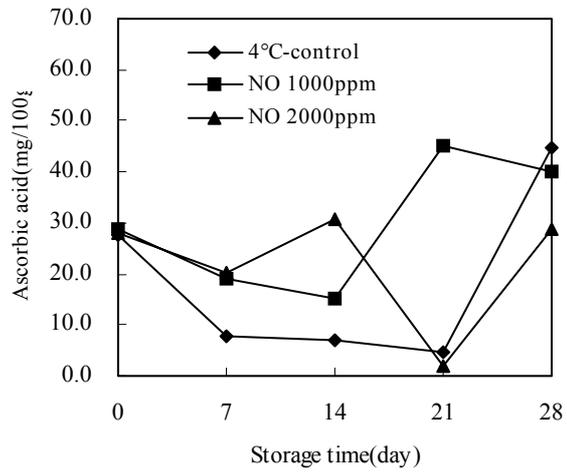
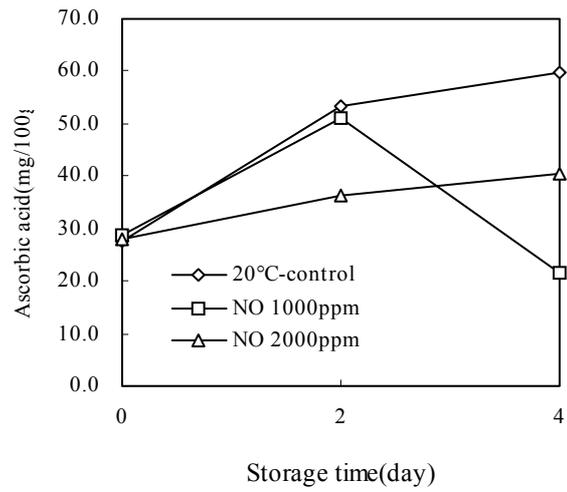


Fig. 47. Changes in ascorbic acid (mg/100g) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

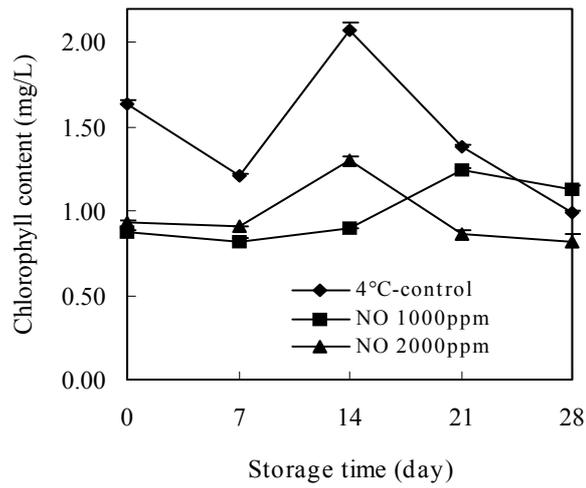
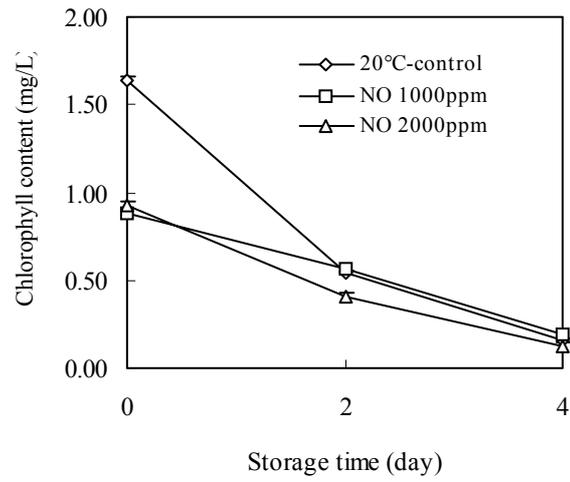


Fig. 48. Changes in chlorophyll content (mg/L) of broccoli during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

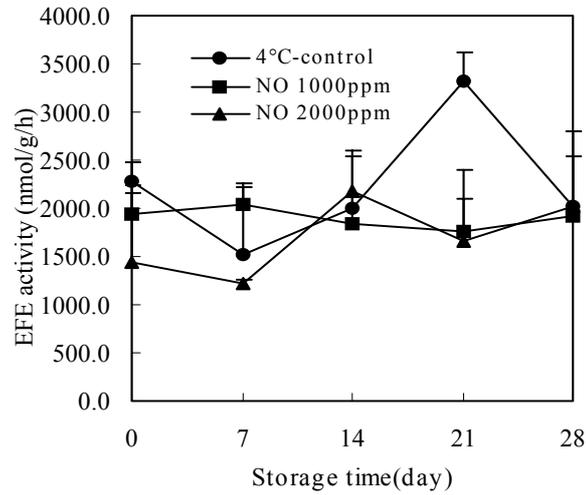
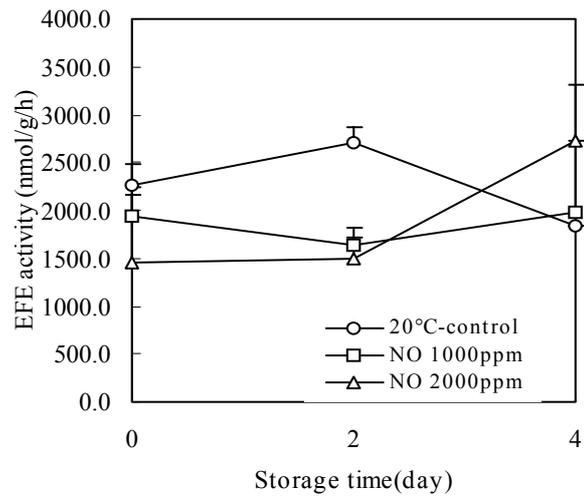


Fig. 49. Changes in EFE activity (nmol/g/h) of broccoli during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

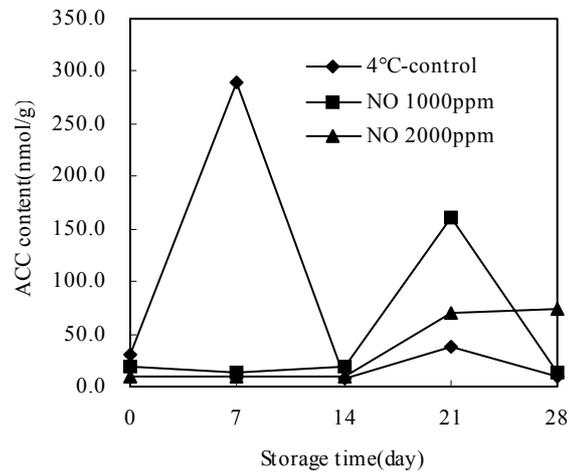
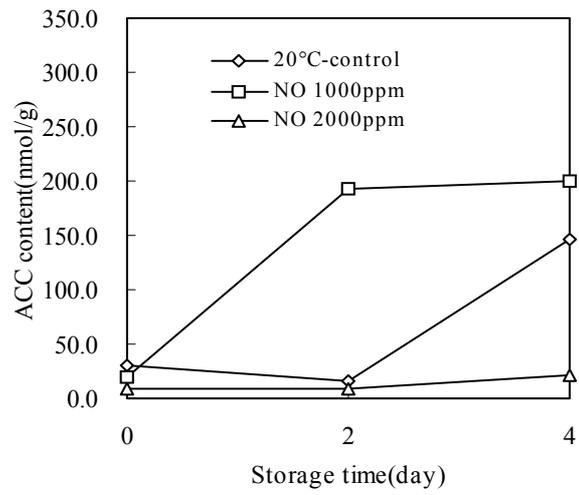


Fig. 50. Changes in ACC content (nmol/g) of broccoli during storage at 20°C and 4°C.

라. 양상치에 대한 NO 최적 처리 조건확립

1차 실험에서는 양상치의 품질 유지에 유효하게 영향을 미치는 최적의 NO 농도를 알아 내기 위해 다양한 처리를 한 후 관능검사를 실시하여 스코어링을 하였는데 스코어가 3(=fair)이 되는 시점까지를 상품 가치가 있다고 판단하여 Storage life로 간주하였다. 그 결과 양상치에 유효하게 영향을 미치는 NO 농도는 5ppm, 50ppm 이고 fumigation time은 2시간이 효과적인 것으로 판단되어져 NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 실험에서는 NO 5ppm과 NO 50ppm, fumigation time 2시간 처리한 시료를 20℃와 4℃에 저장하면서 살펴보았다.

외관에 대해 관능검사를 하여 Storage time을 알아 본 결과 20℃와 4℃에서 NO 50ppm처리구의 신선도가 가장 잘 유지되었다(Table 4, Fig. 51). 양상치의 저장 중 중량 감모율에 대해 알아 본 결과 20℃에서는 저장일수의 증가에 따라 감모율이 서서히 증가하였고 4℃저온 저장에서도 서서히 증가하였으며 NO 50ppm 처리구의 중량 감모율이 억제되어 품질 유지에 다소 영향을 미쳤을 것으로 사료되고 중량 감모율은 저온 저장에서 효과적으로 억제 되었음을 알 수 있었다(Fig. 52). 저장 초 양상치의 색을 기준으로 저장 기간 동안 양상치의 색변화 정도를 나타내는 색도차(ΔE)를 살펴보면 20℃저장에서 저장 초기 색도 변화가 급격하게 상승한후 저장 말기까지 서서히 상승하였고 대조구에 비해 NO 50ppm의 색도 변화가 적었음을 알 수 있었다. 4℃의 경우 20℃저장에 비해 색도변화가 적게 나타났음을 알 수 있었다(Fig. 53). 호흡률은 20℃의 저장에서 초기에 급격히 감소하였다가 급격히 상승하였는데 NO 50ppm 처리구의 호흡률이 대조구에 비해 억제되었음을 알 수 있었다. 4℃의 경우 20℃저장과 마찬가지로 저장 초기에 호흡률이 감소되었다가 다시 증가하였다(Fig. 54). 비타민 C 함량은 20℃에서 서서히 증가하다가 다시 감소하였고 4℃에서는 서서히 증가하였는데 대조구에 비해 NO 가스 처리구의 비타민 C 함량이 높았다(Fig. 55). 엽록소 함량은 20℃에서 서서히 증가했다가 감소하였고 4℃에서는 대조구의 경우 감소하다가 급상승하며 NO 가스 처리구는 일정 수준을 유지하다가 저장 말기에 서서히 증가하였는데 양상치의 엽록소 함량 변화에 NO가스가 특이적으로 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다(Fig. 56). EFE activity는 20℃에서 저장 초기 급격히 감소하다가 다시 상승하였고 4℃에서는 저장 초기 감소하다가 일정 수준을 유지하였는데 NO 50ppm 처리구의 활성이 대조구에 비해 억제되었음을 알 수 있었다(Fig. 57). 20℃저장에서 No 5ppm 처리구의 ACC 함량이 낮게 나타났고 저장 말기 대조구의 함량이 급격히 증가하였는데 이러한 이유로 시료의 wilting과 조직 연화 현상이 급격히 일어나 품질 저하를 일으킨 것으로 사료된다. 4℃저장의 경우 세처리간의 큰 차이는 보이지 않았고 NO 5ppm 처리구에서 ACC 함량이 다소 낮았음을 알 수 있었다(Fig. 58).

Table 4. Storage life of lettuce at 20°C and 4°C

Temperature	20°C			4°C		
Treatment	Control	NO 5ppm	NO 50ppm	Control	NO 5ppm	NO 50ppm
Storage life	5.67	6.21	7.24	21.34	26.11	26.81



Fig. 51. Effect of NO treatment in quality of lettuces after 28days storage at 4°C. A, treated with air; B, treated with NO 5ppm; C, treated with NO 50ppm.

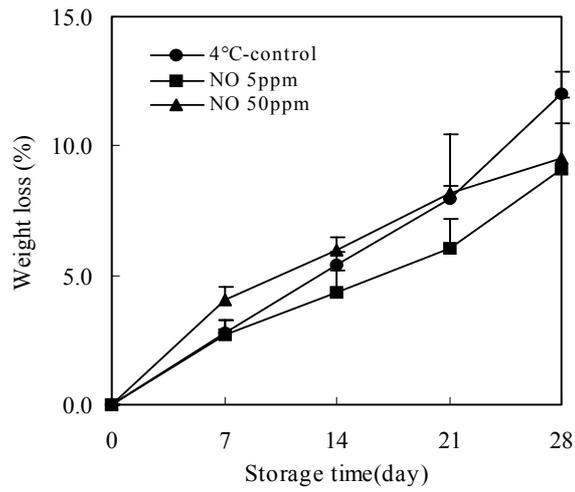
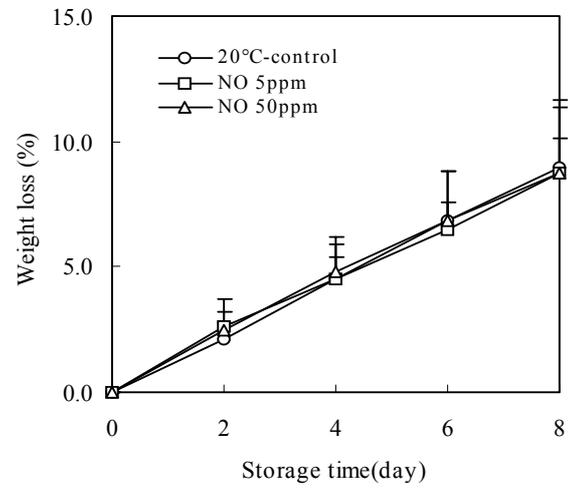


Fig. 52. Changes in weight loss (%) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.
Data represent mean \pm SE.

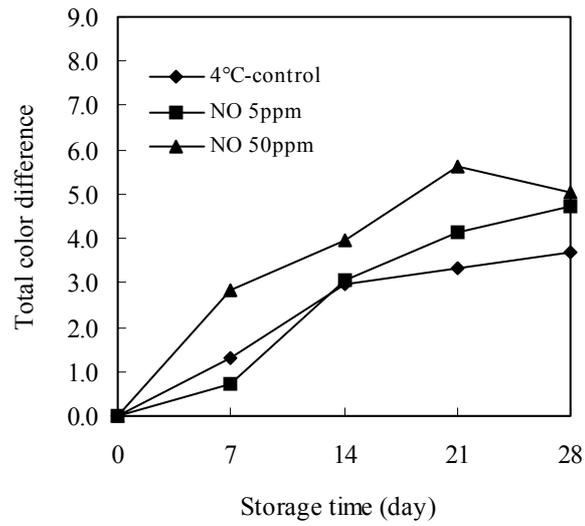
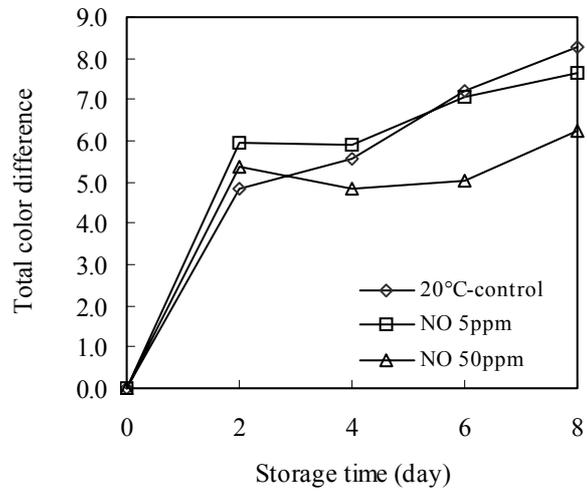


Fig. 53. Changes in total color difference (ΔE) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

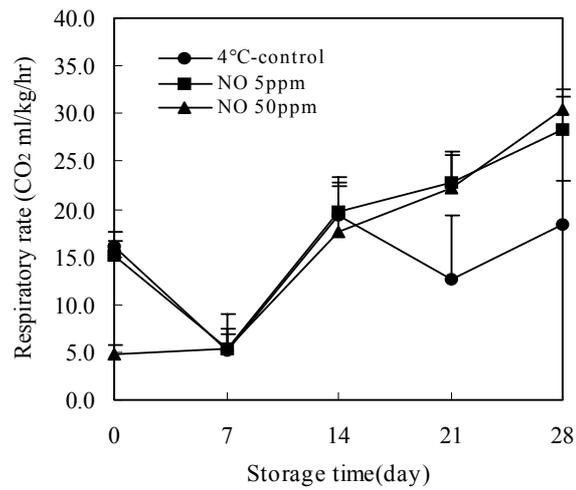
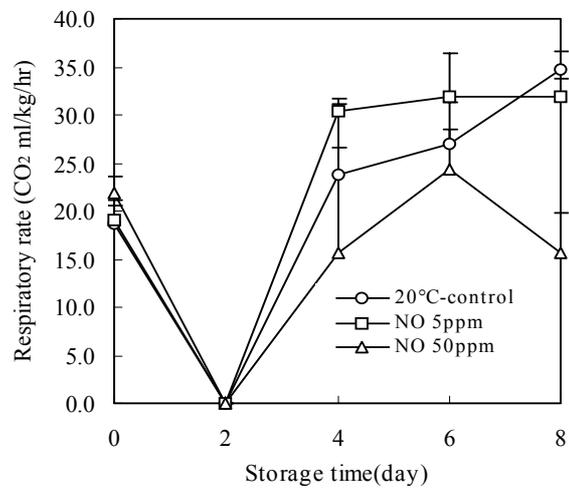


Fig. 54. Changes in respiratory rate (CO₂ ml/kg/hr) of lettuce during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean ± SE.

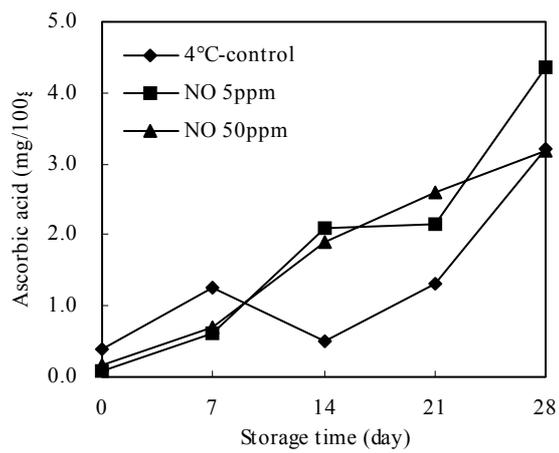
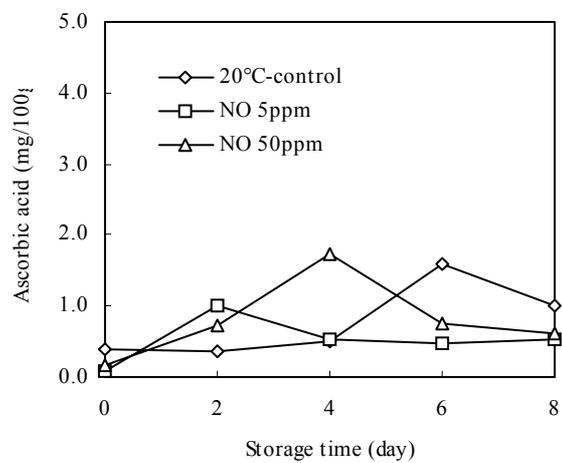


Fig. 55. Changes in ascorbic acid (mg/100g) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

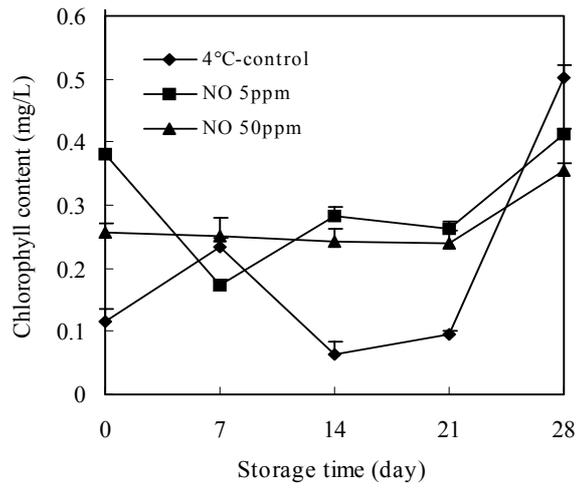
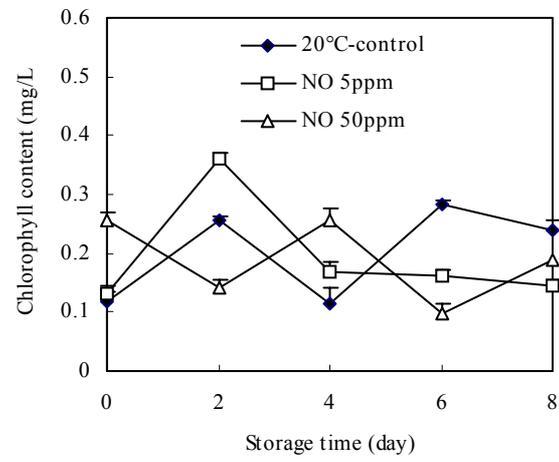


Fig. 56. Changes in chlorophyll content (mg/L) of lettuce during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

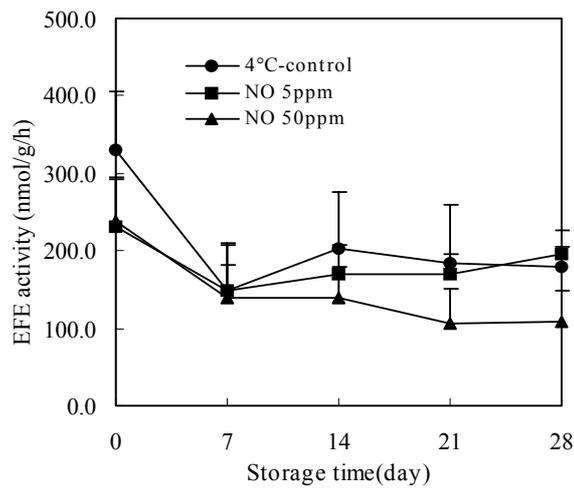
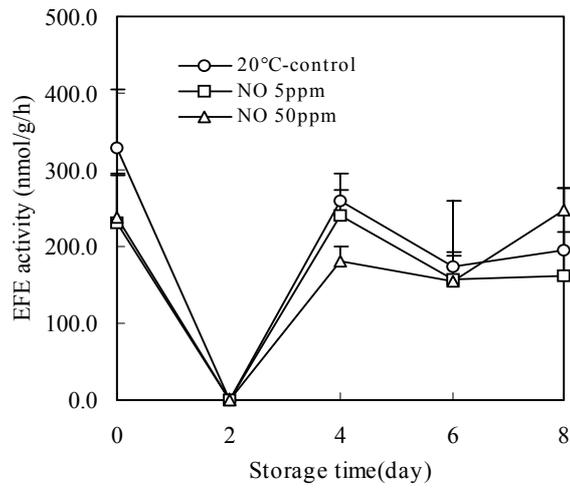


Fig. 57. Changes in EFE activity (nmol/g/h) of lettuce during storage at 20°C and 4°C. Data represent mean \pm SE.

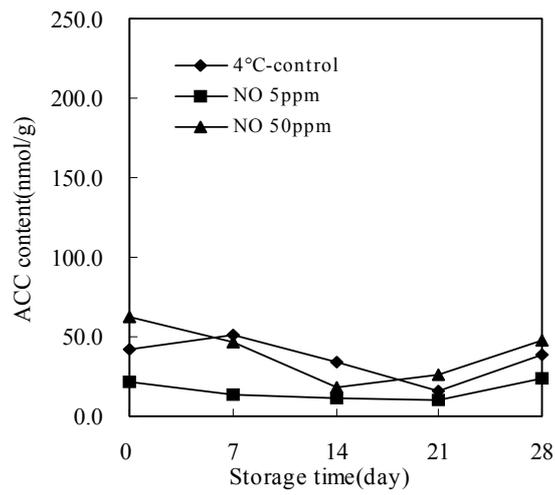
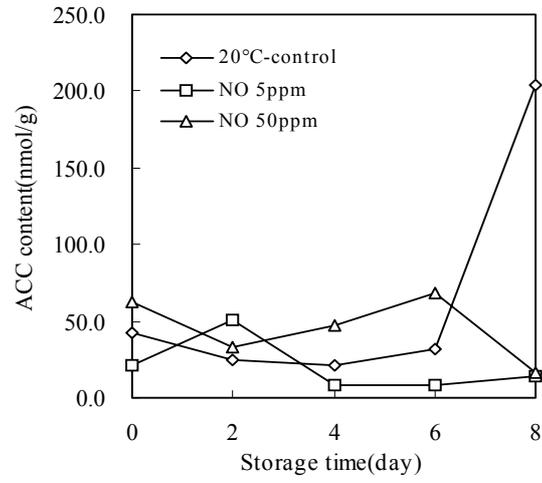


Fig. 58. Changes in ACC content (nmol/g) of lettuce during storage at 20°C and 4°C.

제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연구목표	목표 달성도 및 기여도
<ul style="list-style-type: none"> • 처리 농산물에 대한 N₂O의 최적 유효조건 확립 	<p>다양한 농도의 N₂O와 O₂를 혼합하여 시간별로 처리하고 저장 온도 조건 변화를 통해 최적의 환경을 조사하여 농산물의 저장 및 유통 중 품질 안정화에 기여</p>
<ul style="list-style-type: none"> • N₂O와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 	<p>N₂O 처리 후 호흡, ACC oxidase (Ethylene forming enzyme) activity, ACC 함량 및 농산물의 품질 특성을 조사하여 대조구에 비해 수확 후 농산물의 저장 수명 연장에 효과적임을 밝힘</p>
<ul style="list-style-type: none"> • N₂O 처리에 대한 현장 실증 실험 및 조건 확립 	<p>실험실에서 도출된 N₂O의 최적 처리조건을 토대로 현재 유통되는 포장 형태 적용 후 농산물의 저장성 및 선도 연장에 기여</p>
<ul style="list-style-type: none"> • 처리 농산물에 대한 NO 최적 유효조건 확립 	<p>다양한 농도의 NO를 시간별로 처리하고 저장 온도 조건 변화를 통해 최적의 환경을 조사하여 농산물의 저장 및 유통 중 품질 안정화에 기여</p>
<ul style="list-style-type: none"> • NO와 ethylene 작용에 대한 기작 구명 	<p>NO 처리 후 호흡, ACC oxidase (Ethylene forming enzyme) activity, ACC 함량 및 농산물의 품질 특성을 조사하여 대조구에 비해 수확 후 농산물의 저장 수명 연장에 효과적임을 밝힘</p>
<ul style="list-style-type: none"> • NO처리에 대한 현장 실증 실험 및 조건 확립 	<p>실험실에서 도출된 NO의 최적 처리조건을 토대로 현재 유통되는 포장 형태 적용 후 농산물의 저장성 및 선도 연장에 기여</p>

제 5장 연구개발결과의 활용계획

본 연구의 핵심기술은 N_2O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지기술 개발로 그 활용방안은 다음과 같다.

- 본 연구는 농산물 수입화 개방에 대응하기 위한 국내산 농산물의 고품질 유지기술로 효율적으로 활용될 수 있음.
- 국내의 농산물 저장 유통 및 원예산물의 품질관리 분야에서의 식물체내의 N_2O 및 NO 효과에 대한 연구확립으로 새로운 연구영역 확대 및 이 분야 연구의 세계화 동참에 활용될 수 있음.
- 본 연구는 3년간의 연구과제로 계획되었으나 2년 연구과제로 축소되어 수행되어 각 과실 및 채소류에 대한 광범위한 적용연구에 있어 시간적 제약을 받아 연구에 어려움을 겪었음. 따라서 본 연구과제에 대한 후속과제 여건이 주어지면 좀 더 활용도가 높은 결과를 기대할 수 있을 것임.
- 본 연구의 후속 과제로 Nitrous oxide 및 Nitric oxide의 gas form 사용에서 일반화 및 실용도가 높은 고체 형태의 분말화를 위한 추가기술 개발을 계획하고 있음.

제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1절 원예분야에서 N₂O 관련 연구

N₂O를 식물에 적용한 예는 극히 드물다. 초기에 이루어진 연구들은 대부분 원예학적 관점에서보다 마취의 원리에 기초하여 식물에서도 유사한 작용이 일어날 것인가에 관한 것들이었다. Sowa 등(1987, 1991)은 소의 심장과 강낭콩의 미토콘드리아를 각각 N₂O + O₂ 혼합 가스로 포화시켰을 때 모두 산소 이용도가 감소하였으며 특히 N₂O의 농도가 80%의 고농도일 때 가장 낮았다고 보고하였다. N₂O는 매우 안정한 기체이기 때문에 특히 대표적인 불활성 가스인 아르곤과 함께 혼합하여 채소에 처리함으로써 효소의 작용을 억제하여 특히 호흡을 억제할 수 있다는 보고가 있으며(Brian, 1998; Chervin 등, 1992; Ferguson, 1987; Spencer, 1995), 이와 같은 내용은 미국과 유럽에 특허로도 등록된 바 있다(Fath 등, 1992). Ozdemir 등(2004)은 버섯과 사과에 N₂O를 비롯한 헬륨, 아르곤, 네온, 질소 등을 각각 처리했을 때 혐기성 이화 작용에는 큰 영향을 미치지 못했음을 보고하는 등 N₂O의 불활성을 이용한 연구는 최근까지 진행되고 있다. 한편 Girardon(1994)은 N₂O가 에틸렌의 길항 물질로서 성숙을 지연시키고 *Botrytis*, *Rysopos*, 그리고 *Penicillium*을 억제시켜서, 호흡급등형 과실에 적용했을 때 저장 기간을 2일에서 8일까지 연장시킬 수 있음을 제시했다. 이후 Gouble 등(1995)은 N₂O를 토마토와 아보카도에 처리하여 각각 에틸렌, ACC, ACC 산화 효소, ACC 합성 효소 등의 변화를 측정함으로써 N₂O의 항에틸렌 효과를 밝히고자 하였다. 이에 따르면 N₂O는 에틸렌 최대 발생 시점을 5일정도 지연시켰으며 아보카도에서 ACC 합량과 ACC 합성 효소의 활성 증가를 억제하는 경향을 나타내었다. 이는 N₂O가 CO₂와 유사한 성질을 가지고 있기 때문이라고 할 수 있다(Gouble 등, 1995). 그러나 과실의 품질과 관련한 연구가 이루어지지 않아 N₂O의 작용에 대한 설명에 미흡한 점이 있다. 이후 양파를 이용한 N₂O 효과 연구에서, 썩어 발생 억제에는 효과가 없었으나 부패 억제는 뚜렷한 효과를 나타내었다는 보고가 있다(Benkeblia 등, 2001; Benkeblia 등, 2003). N₂O의 살균제 작용에 관한 연구도 수행되었는데, 딸기에 잿빛곰팡이병균을 감염시키고 N₂O를 처리한 결과 10일 이상 병 발생을 억제시킬 수 있었으며 이는 N₂O의 처리 농도가 높고 처리 기간이 길수록 효과가 크다고 보고 되었다(Shoun, 1992; Qadir와 Hashinaga, 2001a). 또한 곰팡이를 배양하여 직접 N₂O를 처리하였을 때에도 유사한 결과를 얻었으며, 곰팡이의 종에 따

라 N_2O 의 감응 정도가 다르게 나타난다는 사실이 밝혀졌다(Qadir와 Hashinaga, 2001b).

제 2절 원예분야에서 NO 관련 연구

NO는 free radical gas로써 식물체에서 NO의 존재의 유무와 특성에 관련된 연구는 Leshem(1996, 1998)과 Leshem 과 Haramaty(1996)에 의해서 완두 잎에서 처음 소개되었다. 완두 잎은 에틸렌보다도 더 많은 양의 NO를 방출한다. 에틸렌 전구체인 aminocyclopropane-1-carboxylic acid(ACC)의 처리는 NO와 에틸렌 둘다의 발생을 촉진시켰으며, 이러한 증거로 성장하고 있는 식물체에서 에틸렌의 생성은 NO에 의해서 조절될 수 있다는 것을 의미한다(Leshem와 Haramaty, 1996; Leshem 등. 1998). 가뭄, 열, 염분과 같은 자연 스트레스 하에 식물체가 놓이게 되면 NO의 생성이 두드러지는데 이것은 NO가 자연 스트레스의 대처 물질로써 작용한다는 것을 의미한다(Leshem와 Haramaty, 1996). 결과적으로 NO는 식물체에서 환경 스트레스에 대처하기 위한 반응인 'general adaptation syndrome (GAS)'반응의 요인일 수 있다는 것을 제시한다. 과일, 채소 그리고 꽃등에서 생성되는 NO는 성숙된 과실보다는 미숙과에서 발생량이 높다가, 에틸렌 발생이 많아지는 시점에 NO의 생성량이 감소된다(Leshem 등, 1998). 외생 NO의 처리는 호흡급등형 과실과 비호흡급등형 과실 모두에서 성숙을 지연시켰으며, 일반적인 노화시기도 늦추었다. NO의 또 다른 작용중에 하나는 엽록소 파괴를 막는다는 것이다. NO는 분자량이 작으며 확산속도가 빠른 기체물질이다. 이러한 성질 때문에 빠른 시간 내에 세포내로 쉽게 확산되어가는 특징을 가지고 있다. 또한 세포속에서 미토콘드리아와 같은 세포내 소기관들에 영향을 미친다. 그래서 결과적으로 미토콘드리아의 작용을 저해시켜 호흡에 영향을 미친다(Laxalt 등, 1997). 병원균에 감염된 감자 잎은 엽록소가 쉽게 파괴되지만, NO 발생 물질인 sodium nitroprusside(SNP)가 처리된 감자잎은 녹색으로 유지되었다(Laxalt 등, 1997). 하지만 NO의 원예작물 적용 실험에서 가장 큰 문제점은 NO_2 로의 빠른 산화이다(Snyder, 1992). 따라서 NO 처리 시에는 산소가 없는 조건하에서 처리를 해야 한다.

제 7장 참고문헌

- Anderson L.S. and Mansfield T.A. (1979). The effects of nitric oxide pollution on the growth of tomato. *Environ. Pollut.* 20: 113-121.
- Bredt D.S. and Snyder S.H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu. Rev. Biochem.* 63: 175-195.
- Delledonne M., Xia Y., Dixon R.A. and Lamb C. (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Letter to Nature.* 394: 585-588
- Feldman P.L., Griffith O.W. and Stuehr D.J. (1993). The surprising life of nitric oxide. *Chem. Eng. News.* 20: 26-38
- Gouble H., Fath D., Pierre S. (1995). Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 5: 311-321
- Haramaty E. and Leshem Y.Y. (1996). Ethylene regulation by the nitric oxide (NO) free radical: a possible mode of action of endogenous NO. In *Biology and biotechnology of the plant hormone ethylene.* Kanellis A.K., Chang C., Kende H. and Grierson D. (eds.). London: Kluwer Academic Publisher. p. 253-258.
- Hausladen A. Stamler J.S. (1998). Nitric oxide in plant immunity. *Proc. Nat. Amer. Sci. USA.* 95: 10345-10347
- Leshem Y.Y. (1996). Nitric oxide in biological systems. *Plant Growth Regul.* 18: 155-159
- Leshem Y.Y. and Haramaty E. (1996). The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. *Foliage. J. Plant Physiol.* 148: 258-263.
- Leshem Y., Haramaty E., Iluz D., Malik Z., Sofer Y., Roitman L. and Leshem Y. (1997). Effect of stress nitric oxide (NO): Interaction between chlorophyll fluorescence, galactolipid fluidity and lipoxygenase activity. *Plant Physiol. Biochem.* 35: 573-579.
- Leshem Y.Y. and Wills R.B.H. (1998). Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. *Biol. Plant.* 41: 1-10
- Leshem Y. Y., Wills R.B.H. and Ku V.V.V. (1998). Evidence for the function of the free radical gas nitric oxide (NO) as an endogenous maturation and senescence regulation factor in higher plants. *Plant Physiol. Biochem.* 36: 825-833.

- Moneada S., Palmer R.M.J. and Higgs F.A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43: 109–142.
- Nathan C. and Hibbs J.B. (1991). Role of nitric oxide synthesis macrophage antimicrobial activity. *Curr. Opin. Immunol.* 3: 65–70.
- Neighbour E.A., Pearson M. and Mehlhorn H. (1990). Purafil filtration prevents the development of ozone-induced frost injury: a potential role for nitric oxide. *Atmos. Environ.* 24A:711–715.
- Noritake T., Kawakita K. and Doke N. (1996). Nitric oxide induces phytoalexin accumulation in potato tuber tissues. *Plant & Cell Physiol.* 37: 113–116.
- Qadir A., Hashinaga F (2001). Inhibition of postharvest decay of fruits by nitrous oxide. *Postharvest Biol. Technol.* 22: 279–283.
- Rodrigo J., Springall D.R., Uttenthal O., Bentura M.L., Abadia-Molina F., Riveros-Moreno V., Martinez-Murillo R., Polak J.M. and Moncada S. (1994). Location of nitric oxide synthase in the adult rat brain. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 345: 175–221.
- Schumann E. and Madison D.V. (1994). Nitric oxide and synaptic function. *Ann Rev. Neurosci.* 17: 158–183.
- Snyder S.H. (1992). Nitric oxide: first in a new class of neurotransmitters. *Science* 257: 494–496.

- 총괄과제명 : N₂O 및 NO 처리를 이용한 수확 후 농산물의 품질저하 방지 기술개발에 관한 연구

2. 협동과제 : 국내산 딸기와 키위, 복숭아 저장의 효율성 증대를 위한 N₂O 및 NO 최적 조건 확립

CONTENTS

I. Introduction	121
II. Current Development of Related Technology	126
III. Research Data: approaches, results, and discussion	129
IV. Achievement Evaluation	198
V. Practical Application of the Results	202
VI. Scientific Information Collected through the Project	204
VII. Literature Cited	206

목 차

제 1장 연구개발과제의 개요	121
제 2장 국내외 기술개발 현황	126
제 3장 연구개발수행 내용 및 결과	129
제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	198
제 5장 연구개발결과의 활용계획	202
제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	204
제 7장 참고문헌	206

제 1장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 필요성

국내 농산물은 수확 후에 관리기술의 미흡으로 신선도 저하 및 부패 등의 품질 저하 현상이 발생하여 감모율(postharvest loss)이 많이 발생되고 있기 때문에 신선도 유지 및 상품성 향상을 위한 품질저하 방지 기술의 개발이 시급히 필요한 실정이다. 또한, 농산물 수입개방으로 많은 과일이 수입되어, 국내 농산물이 품질 면에서 경쟁력을 높여야 할 중요한 시점이기도 하다. 따라서 본 연구에서는 국내 산 딸기, 키위, 복숭아를 대상으로 인간 및 환경독성 면에서 안전한 처리조건을 개발하여 수확물 산물의 고품질 유지 기간을 연장시키는 기술을 개발하고자 한다.

본 실험에 이용되는 복숭아, 키위과실 그리고 딸기는 수확 후에도 살아있는 유기체로서 물질대사와 일반 생리작용이 계속 유지되므로 조직의 변화가 일어난다. 수확 후 품질변화의 주 요인은 생리적으로 호흡작용과 증산작용에 큰 영향을 받으며, 유해물질 생성과 향미성분 상실과 과육의 붕괴와 연화로 과육이 물러지게 되므로 호흡작용과 증산작용을 억제시켜야 한다. 특히 딸기와 복숭아는 타 작물보다 호흡량이 많으므로 온도가 높을수록 호흡작용에 의한 과실 내 양분의 소모가 많아져서 신선도가 급격히 떨어지거나 쉽게 과육이 물러지므로 호흡을 최대한 억제시키는 것이 중요하다. 본 연구에서는 복숭아, 키위과실 그리고 딸기의 수확 후 선도를 유지하기 위해서 의학에서 인간을 대상으로 많은 연구를 해온 N_2O 및 NO gas를 선정하여 이 가스를 외생적으로 처리하여 수확 후 농산물의 품질저하를 방지하는 기술을 개발하고자 한다. 이미 선행 연구를 통해 일부 농산물에 대한 효과를 확인하였고, 이를 좀더 과학적인 차원에서 접근 연구하여 농산물 종류에 따른 적절 유효 조건을 확립하고자 한다.

제 2절 연구개발의 목표 및 범위

<복숭아, 키위 그리고 딸기 저장의 효율성증대를 위한 N₂O 최적조건 확립>

1. 복숭아, 키위 그리고 딸기에 대한 N₂O의 최적 조건 확립

가. 연구 목표

다양한 농도의 N₂O와 O₂를 혼합하여 다양한 처리 시간과 온도 조건을 변화하면서 최적 조건을 확립하고자 한다.

나. 연구 범위

- 1) 복숭아, 키위과실 그리고 딸기에 대해서 N₂O 처리 최적 조건을 확인
- 2) 저장 기간에 따른 품질변화 조사

2. 과실류에서 N₂O 작용에 대한 기작 구명

가. 연구 목표

N₂O 처리 후 호흡률 및 에틸렌 발생량을 측정함으로써 과실 종류에 따라 N₂O가 과실에 미치는 영향을 조사하고자 한다. 복숭아 압상 시 발생하는 갈변에 페놀 화합물이 미치는 영향을 조사하고, 곰팡이 발생과 N₂O의 상관관계를 조사하고자 한다.

나. 연구 범위

- 1) 키위과실의 N₂O 처리 후 에틸렌 및 호흡에 미치는 영향 조사
- 2) 복숭아 과실 압상으로 인한 갈변 시 페놀 화합물의 산화 반응 조사
- 3) 곰팡이 배양을 통한 병 발생 제한을 위한 효과 확인

3. 실증 실험을 통한 N₂O 처리 실용화 방안 모색

가. 연구 목표

실험실에서 도출된 N₂O의 최적 처리조건을 토대로 현재 유통되는 포장 형태를 이용하여 딸기에서 N₂O 효과를 관찰하였다. 복숭아 유통 중 중요 문제점인 압상에 대하여 과 곰팡이 발생과 N₂O 처리조건과의 상관관계를 조사하고자 한다.

나. 연구 범위

- 1) 현재 유통 중이 딸기의 포장단위로 저장하여 N₂O 효과 조사
- 2) 복숭아 압상 시 과실의 갈변에 미치는 영향

<복숭아, 키위 그리고 딸기 저장의 효율성증대를 위한 NO 최적조건 확립>

1. NO 처리조건 확립

가. 연구 목표

복숭아, 키위과실 그리고 딸기에 NO 처리 실험에 앞서 산소와 결합하면 쉽게 NO₂로 변환되는 NO의 산화 현상을 막기 위한 챔버 제작 및 최적조건 확립 및 챔버 내 산소 제거를 위한 N₂ 및 NO의 최적 처리시간을 확립하고자 하였다.

나. 연구 범위

- 1) NO 처리 시점 확인
- 2) NO 처리 중 챔버 내부 가스 조성 변화

2. 복숭아 품종에 따른 NO 처리 효과

가. 연구 목표

품종별 NO의 효과를 비교하기 위하여 복숭아 ‘창방조생’과 ‘미백도’의 품종에 따라 NO를 처리 그 효과를 확인하고, 복숭아 저온저장 전·후에 NO 처리를 통

한 유통 중 품질유지를 위한 적정 처리시기를 결정하여 복숭아 저장에 이용가능성을 확인하고자 하였다.

나. 연구 범위

- 1) 복숭아 품종을 달리하여 NO 처리효과 확인
- 2) 저온 저장 전·후로 NO를 처리하여 처리 시점별 과실에 미치는 영향조사

3. ‘미백도’ 복숭아의 성숙 시기에 따른 NO 처리효과

가. 연구 목표

성숙단계와 미성숙단계의 과실을 수확하여 성숙 단계에 따른 NO 처리 효과를 확인함으로써 시장 출하 시 경쟁력 가능한 적정 수확시기를 제시하고자 하였다.

나. 연구 범위

- 1) 성숙 단계에 따른 NO 처리효과 확인
- 2) 저장 기간에 따른 품질변화 조사

4. ‘Hayward’ 키위과실의 저장기간에 따른 비교

가. 연구 목표

유통 중 에틸렌에 민감한 키위과실의 NO 처리 가능성을 확인하고자 저장 시기를 달리하여 저장 일수에 따른 반응성을 확인하고, 저장 중 품질 변화 조사 및 곰팡이 발생에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 또한 저장 중 발생하는 에틸렌과 호흡에 대한 반응성을 조사함으로써 농산물에 NO 처리 가능성을 확인하고자 하였다.

나. 연구 범위

- 1) 키위과실에 NO 최적조건 확인
- 2) 저장 기간에 따른 품질변화 조사
- 3) 에틸렌과 호흡에 대한 반응성 조사
- 4) 곰팡이 발생에 미치는 영향 조사

5. '육보' 딸기에 미치는 NO의 영향

가. 연구 목표

처리농도와 처리시간을 단계적으로 증가시키면서 최상의 품질 유지를 위한 처리조건을 확립하고자 하였으며, 농산물 저장에 NO 적용 시 기본 자료로써 활용하고자 하였다.

나. 연구 범위

- 1) 처리 농도별, 처리 시간별 비교를 통한 최적 조건 확립
- 2) 꽃받침 갈변과 NO 처리 농도에 따른 상관관계

제 2장 국내외 기술개발 현황

제 1절 복숭아, 키위 그리고 딸기 저장에 관한 연구

과실류는 저장 후 유통과정을 거쳐 소비되며 이러한 과정에서 품질은 수확 당시 과실의 성숙도, 수확 후 저장조건과 유통 과정 중 품질관리에 크게 영향을 받는데 현재까지 유통과정에서 저장은 상온 또는 냉장고를 이용한 저온저장에 의존해 오고 있다.

복숭아는 소비자의 높은 선호도와 품질에도 불구하고 저장에 대한 연구가 제한적이며 실제로 생산자와 유통업자 모두 저장을 하고 있지 않아 생산량의 대부분이 수확 직후 소비되고 있다. 그 이유는 다른 과실에 비해 과피조직이 약하여 수확이후 연화가 급속히 일어나기 때문이다. 또한 수확 후 취급 과정 중 기계적 상처를 받으면 과실표피에 갈색 또는 검은색 반점이 나타나며, 이 상처부위를 통해 곰팡이의 침입을 쉽게 받아 부패되므로 많은 주의를 기울여야한다(Choi와 Lee, 1999). 복숭아는 저온 저장을 실시하더라도 저온장해발생에 주의해야 한다(Choi와 Lee, 2003). 저온장해는 8℃ 이하의 저온에 2-3주 방치되면 발생하는 것으로, 증상은 조직갈변, woolliness, 과육의 투명화, 정상적인 색으로 전환 불가능 등이 있다(Lill 등, 1989; Choi와 Lee, 1999). 또한 복숭아 저장 중 곰팡이를 제거하기 위해서 hot water 처리, 에탄올 처리 등의 연구가 수행되어 왔다(Margosan 등, 1997).

키위과실은 과실류 중 저장력이 우수한 과실이나 저장 중 연화과나 부패과가 발생하면 저장력이 현저히 감소된다. 저장 중 발생하는 부패과는 수확 전이나 수확 시 상처 부위를 통해 병원균이 감염되기 때문이다(Bautista-Banos 등, 1997). 키위과실은 저농도의 산소 조건(2-3%)과 이산화탄소 조건(3-5%)에서 연화를 지연시킬 수 있으며 저장기간도 3-4개월까지 증가시킬 수 있으며, 저장 중 에틸렌의 제거는 중요한 요인이다(Arpaia 등, 1987; Stow 등, 2000). 비록 대부분의 climacteric 형 과실일지라도 저온 저장 중 에틸렌은 적은 농도로 유지되지만, 키위과실에서는 11-14.8℃ 이하에서는 0에 가깝게 유지된다(Antunes 등, 2000). 키위과실에서 연화의 정도는 시간, 온도, 외생 에틸렌 그리고 과실의 숙성도에 의존한다(MacRae 등, 1989). 그러나 연화가 급속히 진전된 다음 키위과실의 내생 에틸렌의 증가가 이루어지기 때문에 내생 에틸렌은 연화에 영향을 미치지 않는다

(Hertog 등, 2004; Ritenour 등, 1999)

딸기는 과육이 연약하기 때문에 수확, 선별, 유통과정에서 연화가 급격히 일어나는 작물로써 호흡량이 높고 곰팡이에 의한 부패와 연화로 인해 상품성이 저하된다(Tian 등, 1997). 최근에는 딸기의 유통력 증진을 위하여 PE 필름을 이용한 MA 포장법(Yang 등, 1994), 일시적 고농도 CO₂ 처리(Smith와 Skog, 1992), CA 저장(Smith, 1992) 등과 같은 다양한 방법을 통하여 딸기의 저장력을 향상시키려는 연구가 수행되고 있다.

제 2절 N₂O 및 NO에 관한 연구

N₂O 및 NO에 대한 연구는 의·약학 분야에서 연구에 대한 관심이 고조되어 있고 각종 세포의 생리적 기능을 조절하여 신약 개발에 대한 연구를 수행하고 있다. 그러나 농산물과 관련해서는 NO를 복숭아 저장에 처리한 논문(Chung 등, 2002)을 제외한 거의 소개되어 있지 않다. 국내에서는 수확 후 관리 기술 수준이 농업 선진국에 비하여 매우 낙후된 점을 감안 할 때 이러한 동향을 국내의 수확 후 관리기술의 개발에 활용할 필요성 및 가치가 높다고 사료된다.

농업 선진국에서는 지난 수십 년간 농산물의 수확 후 손실을 줄이고 고품질을 유지하기 위하여 농산물의 저장, 포장 및 운송, 그리고 관련기술을 발전시켜 왔으며, 저장이나 유통 중 부패로 인한 감모율을 줄이기 위하여 다양한 화학약제를 개발·사용하여 왔다. 그러나 최근 들어 WHO/FAO 및 EU 국가 등에서 인간 및 환경 독성 문제로 점차 이들 화학약제들에 대한 금지조치 및 사용제한을 하고 있어, 이들 화학제제를 대신하여 친환경적이며 인체에 무독한 것으로 대체시키는 연구들이 진행 중에 있다. 그 대표적인 것으로 N₂O 및 NO gas를 들 수 있으며, 이 분야에 대해서는 의학 분야에서 먼저 연구가 이루어졌으며 최근 들어 식물에 적용시키려는 움직임이 있다.

N₂O는 흙 속에 존재하는 호기적인 탈질소 세균에 의해 자연적으로 발생하는 대기가스로 의학에서는 진통 및 마취 목적으로 사용되고 있다(Dong 등, 1994). 식물체내의 N₂O 내부 발생에 대한 연구는 보고 된바가 없으나, 외부적으로 N₂O를 처리했을 때 저장수명이 연장되는 것으로 알려져 있다(Sowa 등, 1987; Sowa와 Towill, 1991). N₂O는 에틸렌 발생의 lag phase를 연장시켜 유의적인 anti-ethylene activity를 나타내고 있으나, 과실 및 채소 산물에 대해 적용시킨 연

구는 거의 없는 편이다. 2001년 이후 일본 및 이스라엘, 호주, 미국등지에서 연구를 진행시키고 있는 것으로 알려져 있다.

NO는 1981년 포유류 대사작용의 주요한 생성물로 발견된 이래, 1990년 이후 인체의 생물 화학적인 면에서 가장 주목받는 연구주제로 부상되어 기초의학분야에서 활발한 연구가 수행되어 왔다. 의학적인 면에서는 세포의 노화방지에 주축을 둔 인체의 다양한 조직 및 세포에 대한 정상적인 NO 생성과 작용에 대한 신약개발이 진행 중에 있다. 식물세포에 대한 연구는 의학 분야 보다 늦은 1996년 이후에 이스라엘의 과학자 Leshem(Bar-Ilan University)에 의해 수행되어 그 유효성이 입증된 이래 원예산물을 대상으로 한 다양한 연구들이 이제 막 수행되기 시작하였다. Wills 등(2000)의 연구 결과에 의하면 딸기는 10ppm, broccoli는 4,000ppm, 그리고 white carnation은 1ppm fumigation treatment에 의해 저장 수명 연장효과가 보고 되고 있다. 과실 및 채소, 화훼류는 각 산물마다 생리적 특성이 달라 그 효과에 대해서는 실험대상에 따라 최적 조건이 다르다. 아직 이 분야의 연구는 세계적으로 기초단계에 있기 때문에 많은 연구자들의 관심과 노력이 필요하다.

제 3장 연구개발수행 내용 및 결과

<복숭아와 키위, 딸기의 N₂O의 최적 처리 조건 확립>

제 1절 복숭아와 키위, 딸기의 N₂O 최적 조건 확립

1. 재료 및 방법

복숭아는 2003년 경기도 이천시 장호원지역에서 생산된 ‘장호원황도’ 품종을 이용하였고, 키위과실은 2003년 경상남도 남해지역에서 생산된 ‘Hayward’ 품종을 이용하였다. 딸기는 2004년 전라남도 담양 지역에서 생산된 ‘육보’ 품종을 이용하였다. 각각의 과실은 수확 직후의 것을 구입하여 각각 0, 4, 15, 20℃ 저장고에 6-7시간 방치한 후, 꺼내어 상온에서 20 L 용기에 넣고 유량계를 사용하여 N₂O와 O₂를 혼합하여 주입한 후 밀폐시키고 다시 같은 온도의 저장고에 두었다. 이후, 조건에 따라 각각 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후에 개봉하여 복숭아와 딸기는 처리 온도와 같은 온도에서 저장하였으며 키위과실은 모두 20℃ 저장고로 옮겨 저장하였다. 저장 기간이 비교적 짧은 딸기의 경우, 용기를 개봉하지 않고 밀폐된 상태로 계속 저장하는 처리구를 더하였다.

모든 과실은 기본적으로 문헌에 소개된 바 있는 N₂O 80% + O₂ 20%의 비율로 처리했다. 그밖에 복숭아에서는 N₂O 70% + O₂ 20% + Air 10%, N₂O 90% + O₂ 10%의 처리가 더해졌고, 키위과실에서는 N₂O 30% + O₂ 20% + Air 50%, N₂O 50% + O₂ 20% + Air 30% 처리를 더해주었으며 딸기에서는 N₂O 100%로도 처리해주었다. 각 처리구의 기체조성은 Porapak Q column을 이용하여 gas chromatography로 확인하였다.

복숭아와 딸기는 N₂O 처리 후 처리 온도와 같은 온도에서 계속 저장하면서 기간별로 품질변화를 측정하였는데, 키위과실은 0℃에서 처리한 후 20℃로 옮겨 품질변화를 측정하였다. 중량 감모율은 저장 초기의 중량에 대한 저장 중의 감량분을 %로 나타내었다. 당도는 Atago refractometer를 사용하여 °Brix 단위로 나타내었다. 경도 측정에는 Stable Micro Systems TA-XT2 Texture Analyzer를 사용하였다. 복숭아와 키위과실은 과실의 적도부위 과피를 제거하고 5 mm의 flat probe를 1.0 mm/s 속력으로 침투시켜서 경도를 측정했으며, 관능검사는 딸기에

대해 시행되었고 식미와 외관에 대해 각각 5 단계로 나누어 스코어링하였다 (5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor). 저장 기간 동안 딸기의 외부 색변화를 관찰하기 위하여 Minolta CR200 colorimeter를 사용하였으며 lightness (L*), chroma, hue angle로 나타내었다. 저장 중 부패한 과실은 측정하지 않고 저장고에서 제거했다. 모든 처리구는 3반복 실시하였다.

2. 연구 결과

최근 climacteric 원예작물에 N₂O를 적용하려는 노력이 시도되고 있다. N₂O는 무독성의 안정한 기체로, 현재 병원의 응급실과 치과 병원에서 마취제로 상용되고 있으며 미국에서는 FDA의 승인을 받아 식품의 추진체로도 쓰이고 있다. 이러한 N₂O를 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 토마토와 아보카도에 계속 흘려주었을 때 ethylene 발생을 지연시켰다는 보고가 있으며(Gouble 등, 1995), 고농도의 N₂O 처리는 곰팡이 생장을 억제한다는 보고도 있다 (Qadir 등, 2001a).

그러나 지금까지 알려진 바로는 그 처리 조건이 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도에 국한되어 있어 실제 수확 후 관리에 적용하기에는 미흡한 점이 있으며, 따라서 좀 더 다양한 처리 조건에 대한 연구가 필요하다. 그리고 실질적인 수확 후 관리에 적용하기 위해서는 N₂O 처리에 따른 품질 변화 조사가 반드시 수반되어야 하는데 이 같은 연구 보고는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

그러므로 본 연구는 다양한 조건의 N₂O 처리 후, 품질 변화를 조사하여 최적의 N₂O 처리 조건을 확립하는데 그 목적이 있다. 이에 따라 현재 알려져 있는 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도 처리 조건을 모든 과실에 기본적으로 적용하여 품질 변화를 조사하였고, 그 외에 과실에 따라 N₂O 농도와 시간, 처리온도를 달리하며 각각의 품질을 조사하였다.

가. 중량 감모율 변화 조사

15°C에서 ‘장호원황도’ 복숭아에 N₂O의 농도를 달리하여 처리했을 때 중량 감모율은 유의적인 차이를 보이지는 않았다. N₂O 농도가 70%와 80%일 때는 air를 처리했을 때와 차이가 없었으며 N₂O 농도가 90%일 때에는 오히려 air를 처리했을 때보다 중량 감모율이 4-5% 높게 나타났다. 이는 저산소 상태로 인한 스트레스 때문인 것으로 생각되며 이 때에는 이취도 발생하였다(Fig. 1). ‘육보’ 딸기에서도 15°C에서 처리했을 때에는 N₂O를 처리한 것과 air를 처리한 것 사이에 중량

감모율의 차이가 크지 않았으며 N₂O를 같은 농도로 각각 24시간, 48시간 처리한 것 사이에도 중량 감모율의 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 2).

이와는 달리 복숭아에서는 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도를 6시간, 12시간, 24시간, 48시간의 각기 다른 시간으로 처리했을 때 그 차이가 드러났으며, 48시간 처리한 것이 최대 약 7%로 가장 낮은 중량 감모율을 나타내는 것으로 조사되었다. 그리고 이 조건에서 저장기간은 4일 더 길었는데, 나머지 처리구는 부패로 인해 모두 제거되었다(Fig. 3).

복숭아를 4°C에서 처리하며 저장했을 때에는 15°C에서 처리하며 저장했을 때보다 중량 감모율이 14일 지연되었다. 그리고 4°C에서 air를 처리한 것에 비해 N₂O를 처리한 것은 중량 감모율이 약 8% 낮았다(Fig. 4). 이는 15°C에서 처리하는 것과 비교해봤을 때, N₂O는 기체이므로 저온에서 용해도가 높고 따라서 흡수율도 더 높았기 때문이라고 생각된다.

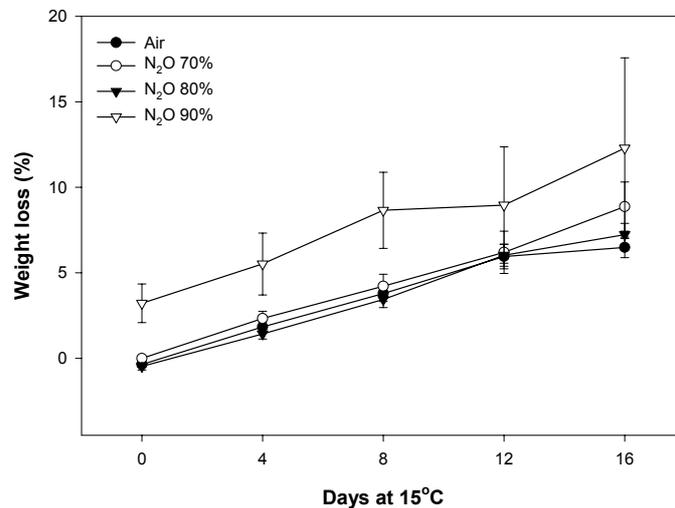


Fig. 1. Effect of 48-h N₂O treatment on weight loss of peach at 15°C. Bars represent ±SE.

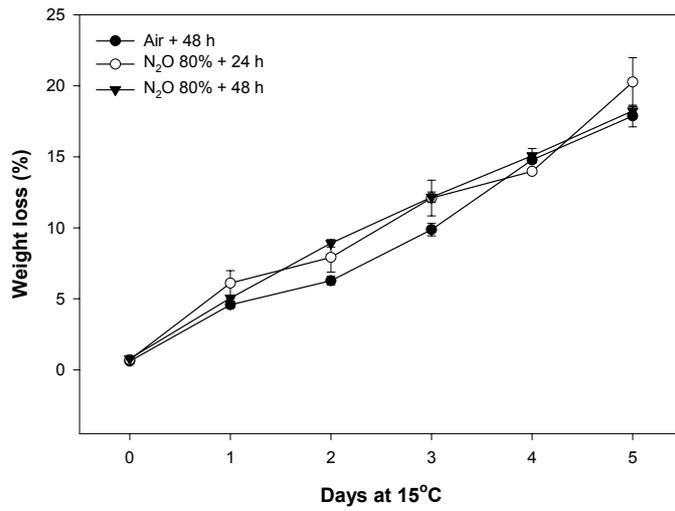


Fig. 2. Effect of N₂O treatment on weight loss of strawberry at 15°C. Bars represent ±SE.

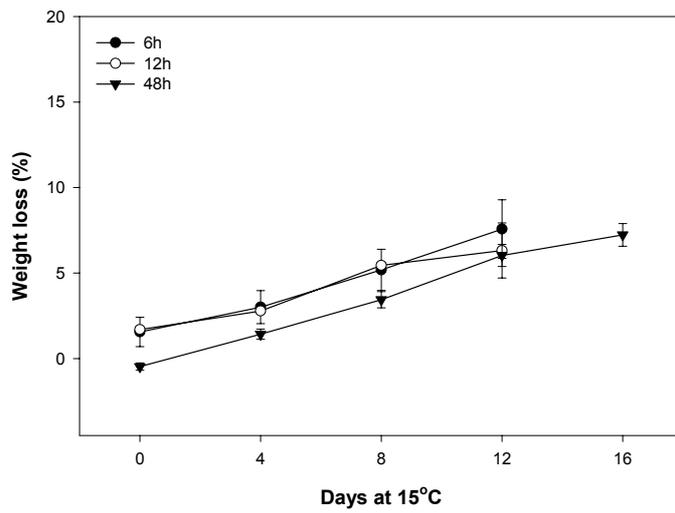


Fig. 3. Effect of treatment time to N₂O 80% + O₂ 20% on weight loss of peach at 15°C. Bars represent ±SE.

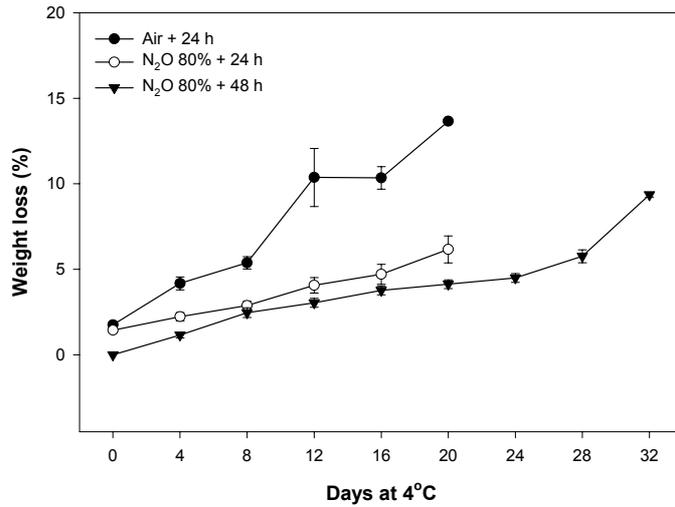


Fig. 4. Effect of N₂O treatment on weight loss of peach at 4°C. Bars represent ±SE.

나. 경도의 변화 조사

15°C에서 복숭아와 딸기에 처리 농도와 처리 시간을 달리하여 N₂O를 각각 처리하였을 때 경도 변화 차이는 크지 않았다. 다만 Fig. 7(upper)에서 air를 처리한 경우 4일 후에 경도가 증가한 것은 수분 손실로 인해 딸기의 내부 조직이 치밀해졌기 때문으로 생각되는데, 이는 Fig. 7(lower)에서 가스로 밀폐된 용기를 개봉하지 않고 그대로 계속 저장하였을 경우에는 air를 처리한 것이 오히려 경도가 낮음을 미루어 유추할 수 있다. N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 48시간 처리했을 때 경도의 변화가 완만한 모습을 관찰할 수 있었으나 통계적 유의성은 크지 않다 (Fig. 5, 6, 7). 반면 0°C에서 'Hayward' 키위과실에 N₂O를 48시간 동안 처리한 후에 20°C의 저장고로 옮겨 저장했을 경우에는 농도가 높을수록 경도도 높게 유지되어 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 처리한 것이 20°C 저장고로 옮긴 이후에도 16일까지 12.7N의 경도를 나타내어 상품성을 유지하고 있었으며 그 이후에 급격히 감소하였다. 이는 역시 낮은 온도에서 N₂O가 키위과실에 더 잘 흡수되었기 때문이라고 생각된다(Fig. 8).

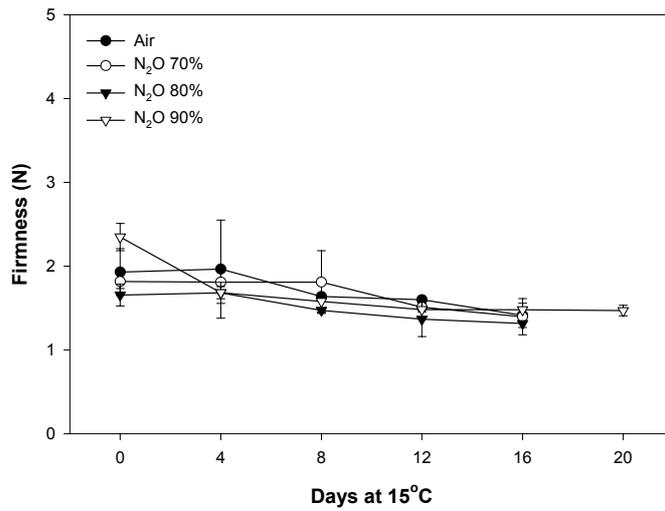


Fig. 5. Effect of 48-h N₂O treatment on firmness of peach at 15°C. Bars represent ±SE.

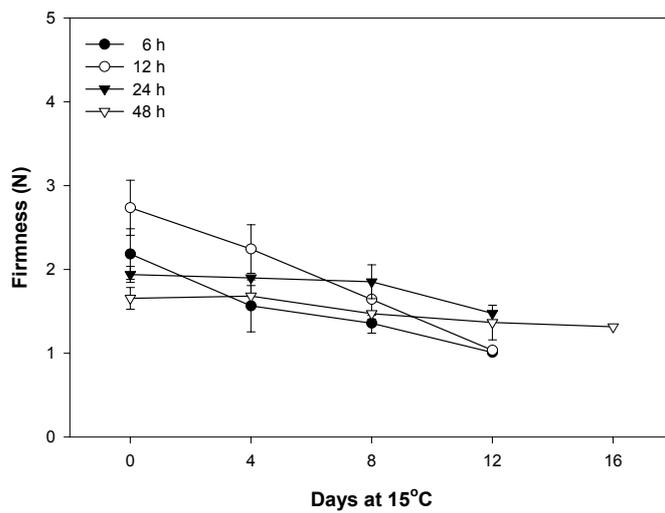


Fig. 6. Effect of treatment time to N₂O 80% + O₂ 20% on firmness of peach at 15°C. Bars represent ±SE.

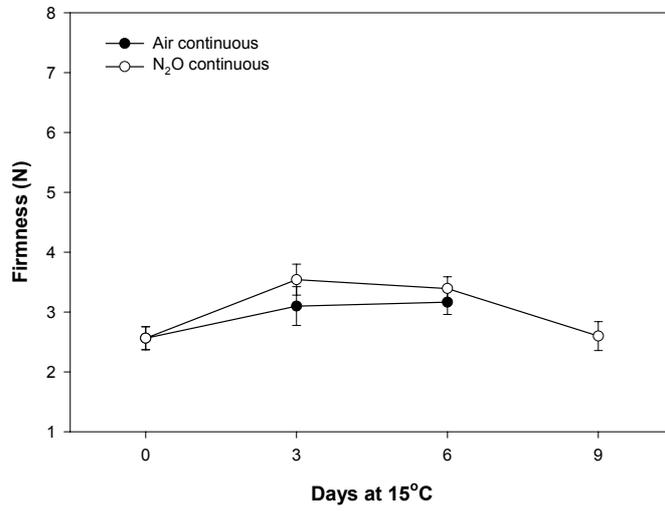
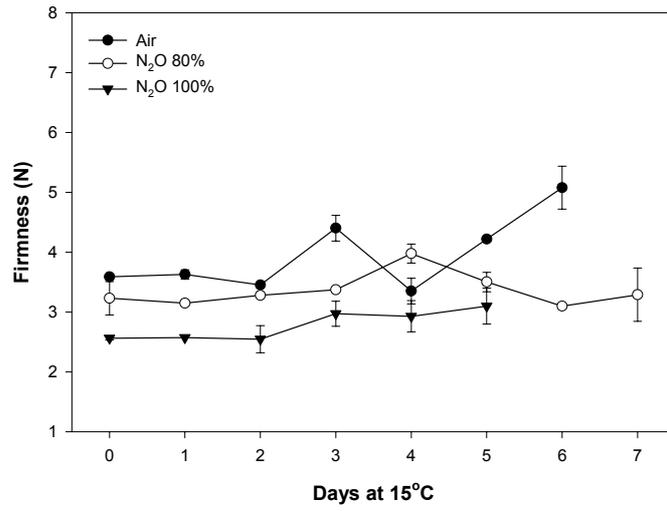


Fig. 7. Effect of 48-h N₂O treatment (upper) and continuous N₂O treatment (lower) on firmness of strawberry at 15°C. Bars represent ±SE.

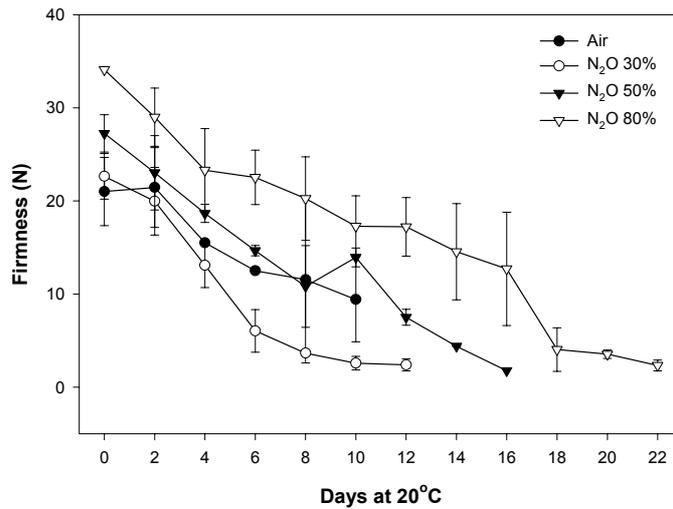


Fig. 8. Changes in firmness of kiwifruit at 20°C after treatment of 48-h N₂O at 0°C. Bars represent ±SE.

다. 당도의 변화 조사

당도의 변화도 저온에서 처리했을 때 더 뚜렷한 차이를 나타내었다. 0°C에서 키위과실에 O₂ 20%와 함께 N₂O를 각각 30, 50, 80% 처리한 후 20°C로 옮겨 저장했을 때 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 처리한 것은 16일째에도 8N 이상의 경도를 유지하면서 당도도 높게 나타나 대조구에 비해 효과가 있는 것으로 나타났다. 이와 함께 저장 기간도 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도를 처리했을 때 가장 길었다. Air를 48시간 동안 처리한 것은 8일 이후부터는 부패율이 높아 모두 제거된 반면 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 48시간 동안 처리한 것은 저장 기간이 20일 까지 유지되었다(Fig. 9).

복숭아를 15°C에서 처리한 후 같은 온도에 저장했을 때 당도 변화는 큰 차이가 없었다(Fig. 10). 딸기에서도 15°C에서 처리했을 때에는 큰 변화가 없었으나 딸기에 N₂O 100%를 48시간 동안 처리했을 때에는 당도의 변화가 1°Brix 미만으로 작은 변화를 나타내었다(Fig. 11). 딸기에서는 N₂O 80% + O₂ 20%를 주입하고 계속 밀폐시켜 저장한 경우에 시간이 지날수록 당도가 감소했는데 이는 호흡으로 인해 당 소비가 증가한 것으로 보인다(Fig. 12).

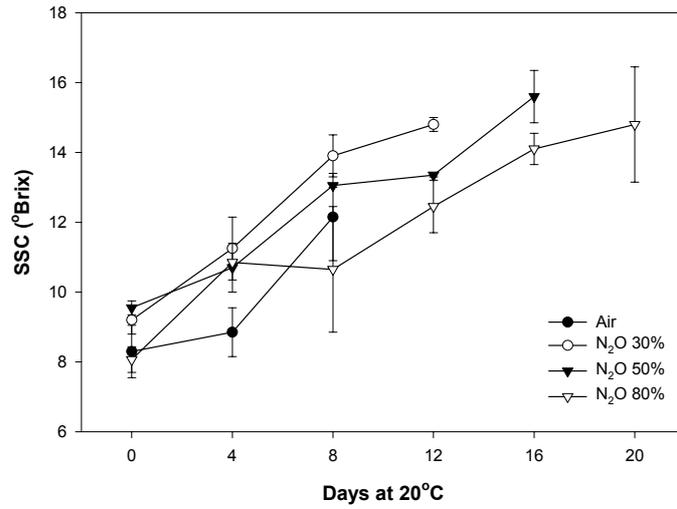


Fig. 9. Changes in soluble solids contents of kiwifruit at 20°C after treatment of 48-h N₂O at 0°C. Bars represent ±SE.

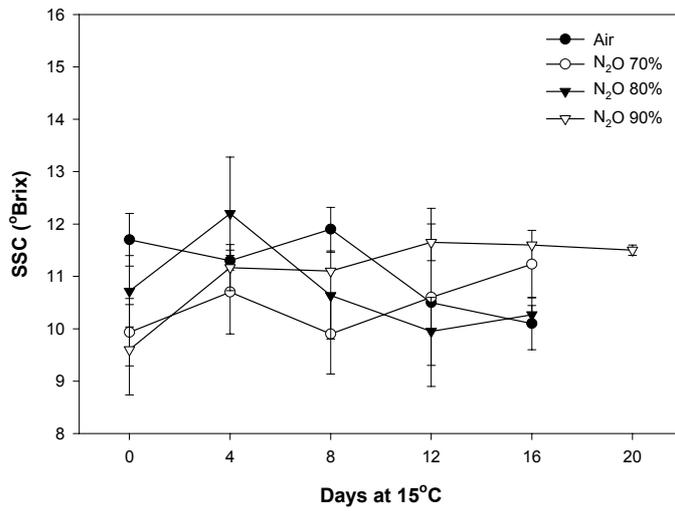


Fig. 10. Effect of 48-h N₂O treatment on soluble solids contents of peach at 15°C. Bars represent ±SE.

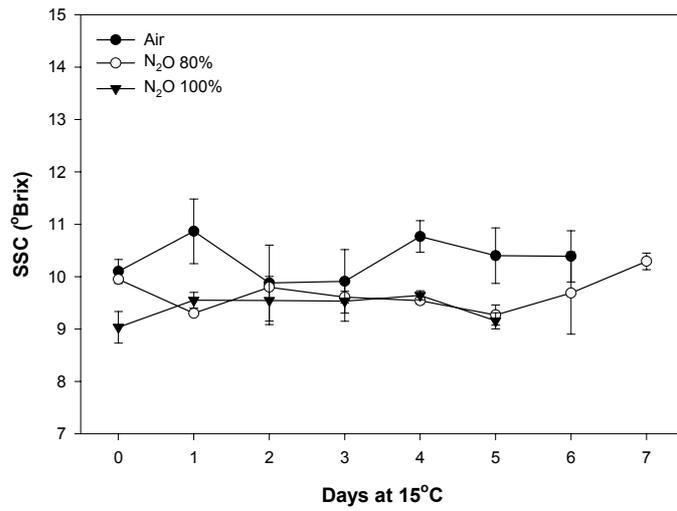


Fig. 11. Effect of 48-h N₂O treatment on soluble solids contents of strawberry at 15°C. Bars represent ±SE.

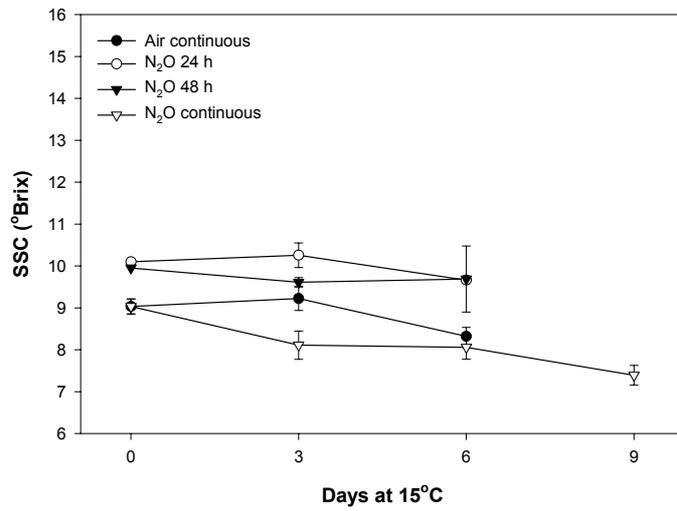


Fig. 12. Effect of N₂O treatment on soluble solids contents of strawberry at 15°C. Bars represent ±SE.

라. 부패율 조사

표피 조직이 붕괴되어 외관상 움푹 들어간 증상이 보이는 것을 부패과로 정의하고(Fig. 13) 표피가 가장 약한 딸기를 이용하여 부패율을 조사하였다. 하나의

트레이 안에 발생한 부패과의 개수를 백분율로 표시하였는데, N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 48시간 동안 처리한 것은 다른 처리구에 비해 50% 이상 부패율이 낮았다(Fig. 14). 또한 처리 시간이 길어질수록 그 효과가 큰 것을 알 수 있었다. N₂O 80% + O₂ 20% 농도로 48시간 동안 처리한 것이 24시간 동안 처리한 것보다 20% 정도 부패율이 낮았다. 또한 20 L 저장 용기에 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 공기 조성을 한 뒤 9일까지 계속 밀폐시키면서 부패율을 조사한 결과 6일째에는 부패율이 40% 미만이었으며 9일째에도 부패율을 50% 이하로 유지시킬 수 있었다(Fig. 15).

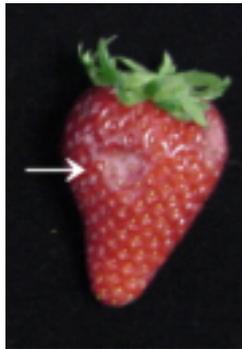


Fig. 13. The feature of decay of strawberry during storage at 15°C.

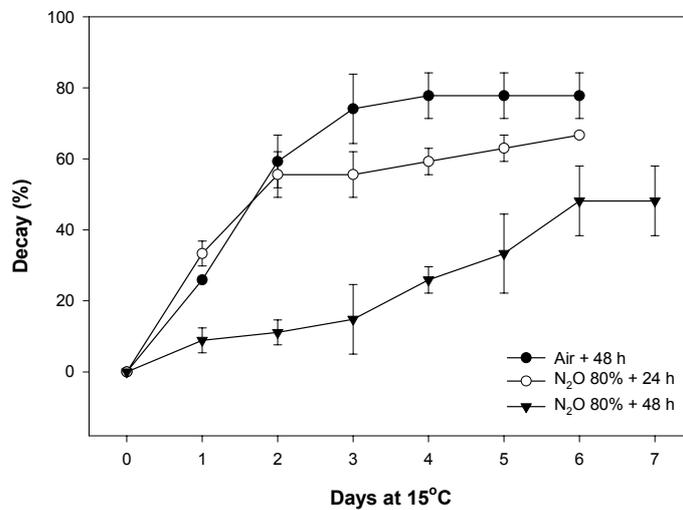


Fig. 14. Effect of N₂O treatment on development of decay of strawberry at 15°C. Bars represent ±SE.

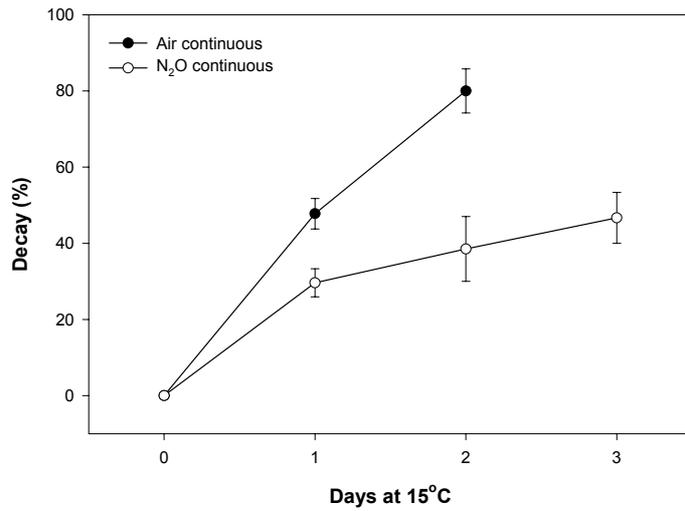


Fig. 15. Effect of continuous N₂O treatment on development of decay of strawberry during storage at 15°C. Bars represent ±SE.

마. 색변화 조사

딸기의 상품성은 외관의 색이 큰 영향을 미친다. 색차계를 사용하여 N₂O 처리에 따른 딸기의 외부 색변화를 살펴보았다. N₂O 80% + O₂ 20% 농도로 48시간 동안 처리한 것이 L값 (lightness)의 감소가 작아, 상대적으로 밝은 색을 유지하고 있다는 것을 알 수 있으며 N₂O 처리 후 저장 4일째에는 chroma값과 hue angle도 처리 간에 차이가 드러나 air를 처리한 것이 더 검붉게 변했다는 것을 알 수 있다(Fig. 16). 따라서 N₂O 처리는 딸기의 외부 색변화를 억제할 수 있다.

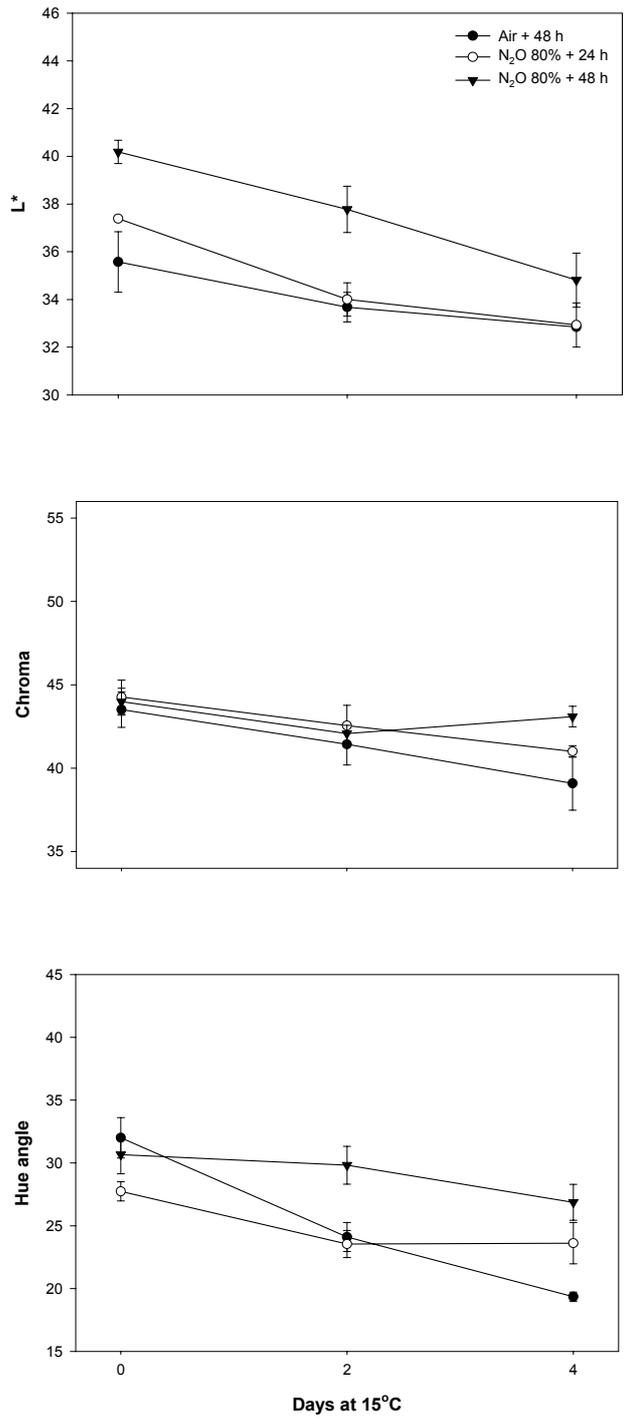


Fig. 16. Effect of N₂O treatment on skin color of strawberry at 15°C. Bars represent ±SE.

바. 외관과 식미 변화 조사

딸기에서 겉보기의 상태는 N₂O의 처리 농도가 높을수록, 처리시간이 길수록 더 좋은 결과를 얻었다. N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 처리한 것에 비해 N₂O 100% 농도로 처리했을 때에는 저장 5일 후에도 4 (=good)에 가까웠다. 그리고 N₂O 80% + O₂ 20%의 공기 조성으로 계속 밀폐시켜 저장했을 경우에는 9일째에도 3 (=fair) 이상을 유지하는 모습을 관찰할 수 있었다(Table 1).

그러나 겉보기의 상태가 식미 유지와 직접적으로 관련되지는 않았다. Table 2에서 보듯이 15°C에서 딸기에 N₂O 100% 농도를 처리했을 때 식미는 2일째에 곧바로 3 (=fair)으로 떨어졌다. 이는 산소가 부족한 상태에서 발효가 일어났기 때문이며 N₂O 100% 농도를 48시간 동안 처리한 후 용기를 개봉하였을 때부터 이취가 발생했었다. 계속 밀폐 저장한 경우에도 9일째의 식미는 2 (=poor)으로 상품성이 없다. 계속 밀폐 저장하면 6일째까지는 외관과 식미가 각각 4 (=good)과 3 (=fair)으로 상품성을 유지했으나 이때부터 한 두 개체에서는 이취가 발생하기 시작했다.

Table 1. Effect of N₂O treatment on appearance of strawberry at 15°C.

Storage time (Days)	Treatments				
	Air+48h	80%+48h ^Z	80%+24h ^Y	100%+48h ^X	Continuous ^W
1	4.11±0.78	4.67±0.50	4.11±0.78	4.13±0.64	-
2	2.89±0.78	4.44±0.53	3.33±0.50	4.22±0.44	-
3	2.67±0.70	3.44±1.01	3.00±0.50	4.13±0.35	4.00±0.72
4	2.44±0.73	2.67±0.50	3.33±0.70	4.00±0.71	-
5	1.97±0.50	2.75±0.46	2.85±0.50	3.89±0.78	-
6	1.46±0.78	2.44±0.88	2.11±0.78		4.11±0.81
7					-
8					-
9					3.72±0.75

^Z N₂O 80% + O₂ 20% treatment for 48 hours.

^Y N₂O 80% + O₂ 20% treatment for 24 hours.

^X N₂O 100% treatment for 48 hours.

^W Continuous treatment of N₂O 80% + O₂ 20%.

Table 2. Effect of N₂O treatment on taste of strawberry at 15°C.

Storage time (Days)	Treatment				
	Air+24h	80%+48h ^Z	80%+24h ^Y	100%+48h ^X	Continuous ^W
1	4.56±0.53	3.69±0.79	4.44±0.53	3.00±0.00	-
2	3.44±0.73	3.69±0.63	4.33±0.87	2.55±0.53	-
3	3.56±0.73	3.56±1.01	3.78±0.83	1.50±0.53	4.00±0.65
4	3.22±0.44	2.80±0.63	3.67±0.70	1.00±0.00	-
5	2.17±0.50	3.22±0.83	2.54±0.50	1.00±0.00	-
6	2.00±0.76	2.14±0.69	2.11±0.60		3.31±0.87
7					-
8					-
9					2.18±0.73

^Z N₂O 80% + O₂ 20% was treated for 48 hours.

^Y N₂O 80% + O₂ 20% was treated for 24 hours.

^X N₂O 100% was treated for 48 hours.

^W Continuous treatment of N₂O 80% + O₂ 20%.

이상의 결과를 종합해 보면, N₂O의 효과는 농도가 높을수록, 처리시간이 길수록, 처리온도가 낮을수록 더 높다. 그러나 저산소 상태로 인한 발효와 이에 따른 이취발생을 막기 위해서는 산소 20%가 반드시 필요하므로 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도가 가장 적절하다. 그리고 처리 시간이 과도하게 길어지면 내부의 CO₂ 축적으로 인해 역시 장애를 받을 수 있으므로 주의해야 한다(Fig. 17).

과실류에 대한 N₂O의 작용은 전반적인 대사 저해로 보여진다. 경도와 당도가 air를 처리한 것에 비해 뛰어난 것은 아니나 그 변화 정도가 크지 않았으므로 결과적으로 저장 기간을 연장하는 효과를 가져왔다. 또한 저장 중 딸기의 외부색이 어두워지는 것을 지연시켰으며 부패율을 크게 감소시키는 등 다양한 효과를 보였다. 그에 반해 N₂O 처리로 인한 장애는 발견된 것이 없었다.

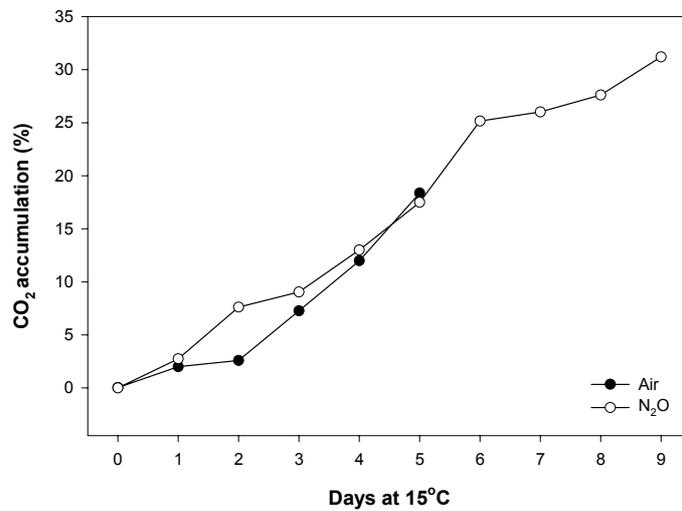


Fig. 17. Effect of continuous N₂O treatment on CO₂ accumulation of strawberry during storage at 15°C

제 2절 과실류에서 N₂O 작용에 대한 기작 구명

1. 재료 및 방법

키위과실에 각 조건별로 처리를 한 후 기간별로 호흡률과 ethylene 발생량을 측정하였다. N₂O 80% + O₂ 20% 처리구, N₂O 30% + O₂ 20% + Air 50% 처리구, N₂O 50% + O₂ 20% + Air 30% 처리구를 0°C에서 처리하였으며 이후에 20°C 저장고로 옮겨 저장하면서 2일마다 각각 호흡률과 ethylene 발생량을 gas chromatography로 측정하였다.

딸기의 경우에는 20L 용기에 N₂O 80%+O₂ 20%의 비율로 기체조성을 한 후 밀폐시켜 15°C 온도의 저장고에서 개봉하지 않고 계속 저장시키면서 이산화탄소의 축적량과 N₂O의 변화 양상을 측정하였다. N₂O도 gas chromatography를 사용하여 측정하였다.

복숭아의 polyphenol oxidase(PPO) 활성 측정은 Cheng과 Crisosto (1995)의 방법에 따라 실시하였다. 5개의 과실 조직에서 각각 시료를 채취해 PPO를 추출하였으며 PPO 추출물 0.5mL에 2.3mL 0.1M phosphate 완충 용액(pH 6.2)과 복숭아 과실에 가장 많은 페놀인 1mM chlorogenic acid 0.2mL를 혼합한 후 각각 Air와 100% N₂O, 100% N₂를 각각 10, 20, 30, 40, 50, 60분 동안 불어 넣은 후 25°C에서 파장 420nm의 흡광 분광 분석기(8453 UV-Vis, Agilent, USA)로 흡광도를 측정하여 Air 처리구에 대한 백분율로 N₂O와 N₂의 PPO 억제를 표현하였다.

감염된 키위과실의 곰팡이는 20°C에서 PDA 배지에 분리배양하였으며 petri dish에 직접 N₂O 80% + O₂ 20%를 처리해주었으며 그밖에 Air와 N₂ 100%로 각각 처리했다.

2. 연구 결과

가. N₂O와 ethylene과의 상호작용

현재까지 원예작물에 대한 N₂O 작용에 대해 밝혀진 바는 거의 없다. 토마토와 아보카도 등의 climacteric 과실에 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도를 처리했을 때 ethylene 발생의 피크를 5일 정도 늦출 수 있었다는 정도의 보고가 있으며 이에 따르면 N₂O는 CO₂와 유사한 구조 때문에 ethylene의 antagonist로 작용했을 것이

라고 한다. 따라서 이에 근거하여 ethylene 발생량이 많고 ethylene에 민감하게 반응하는 키위과실을 이용, N₂O와 ethylene의 상호작용을 조사해보았다.

그 결과, Air를 처리한 것에 비해 N₂O를 처리한 경우 ethylene 발생량이 약 17% 정도 감소하였음을 확인할 수 있었다(Fig. 18). Air로 48시간 동안 처리한 대조구의 경우에는 밀폐로 인한 스트레스 때문에 ethylene의 피크가 조금 더 빨리 발생한 것으로 보인다. 그러나 N₂O의 농도에 따른 ethylene 발생량의 차이는 거의 없었다. 저장 14일째에는 결과적으로 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도를 처리한 것이 다소 낮은 ethylene 발생량을 보였으나 air를 처리한 것이 피크를 보인 8일째에는 처리 농도 간 차이를 발견할 수 없었다.

같은 시기에 CO₂ 발생량도 함께 측정하였는데, 이것은 N₂O의 농도에 따라 차이를 보인다. N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 처리한 경우 처리 8일 후에는 air를 처리한 것에 비해 CO₂ 발생량이 5-6%에 불과한 모습을 보여주기도 하였다(Fig. 19). 따라서 과실류에서 N₂O 작용은 ethylene 작용 억제에 국한되어 있지 않을 것이라고 생각된다.

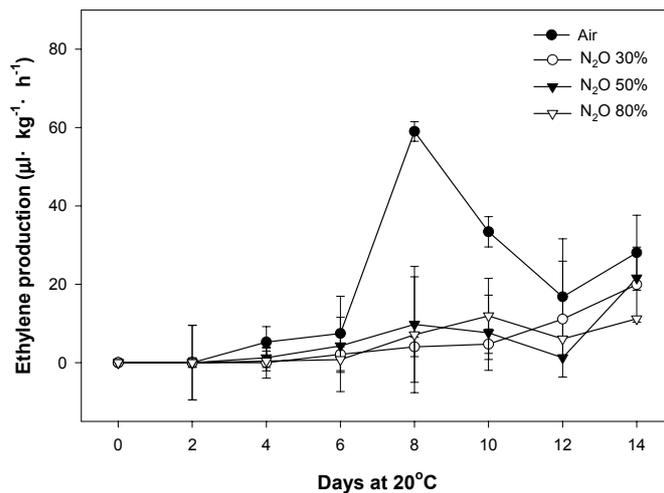


Fig. 18. Ethylene production of kiwifruit at 20°C after treatment of 48-h N₂O at 0°C. Bars represent ±SE.

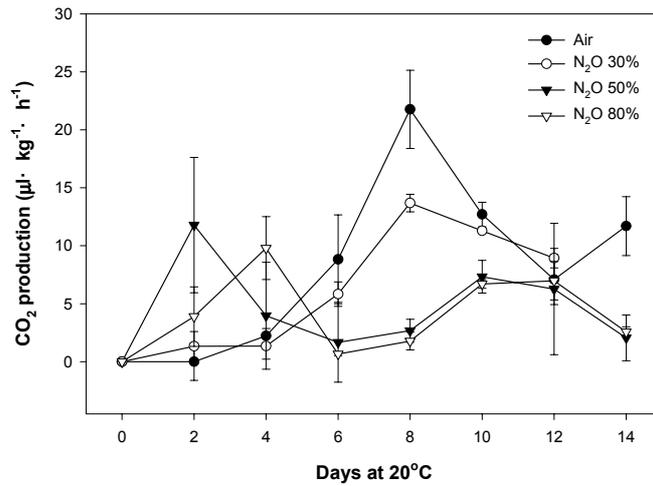


Fig. 19. CO₂ production of kiwifruit at 20°C after treatment of 48-h N₂O at 0°C. Bars represent ±SE.

나. PPO 활성 억제

타박상이나 압상으로 인한 과실의 갈변은 페놀 화합물들의 산화 반응 때문이다 (Cheng과 Crisosto, 1995). 구획화된 과실 세포에서 페놀 화합물들은 산화 반응을 일으키는 PPO와 만남으로써 변색된다.

N₂O가 갈변에 직접적으로 영향을 미치는지 알아보기 위하여 복숭아에서 분리한 PPO에 N₂O를 처리하고 흡광도를 측정하였다. 그 결과 Air로 처리한 것을 100%로 보았을 때 N₂O는 PPO의 활성을 50% 이상 억제하는 것으로 나타났다 (Fig. 20). 10분 동안 N₂O를 처리하였을 때 이미 대조구의 약 52%로 PPO 활성이 감소하였고, 처리 시간이 길어질수록 PPO 활성은 계속 감소하여 60분 동안 처리하였을 때에는 약 22%까지 활성이 떨어졌다. 따라서 N₂O가 페놀 산화 반응에 직접적으로 관여하여 갈변을 억제한다는 사실을 알 수 있다.

반면 N₂ 역시 PPO의 활성을 감소시키는 결과를 나타내었다. 그러나 처리 시간에 따른 영향은 없었다. 이는 N₂를 비롯한 아르곤, 헬륨 등의 불활성 기체가 물에 녹아 효소의 산화 작용 부위에서 그 작용을 방해하기 때문일 것으로 생각하고 있다 (Behnke 등, 1969; Ozdemir 등, 2004; Spencer, 1995). N₂O 역시 매우 안정한 기체로, 이와 유사한 방식으로 효소의 작용을 방해하는 것으로 기대되기도 하나, 의생화학 분야에서는 N₂O를 동물의 cytochrome c oxidase 등에 처리한 후 적외

선 흡광 분광 분석기로 측정한 결과, 단순한 산화 반응의 방해가 아니라 단백질 구조 자체의 변화가 일어남을 보이는 연구가 다수 존재한다(Dong 등, 1994; Einarsdottir와 Caughey, 1988). 따라서 N₂O는 PPO와도 직접적으로 작용할 것으로 예상된다.

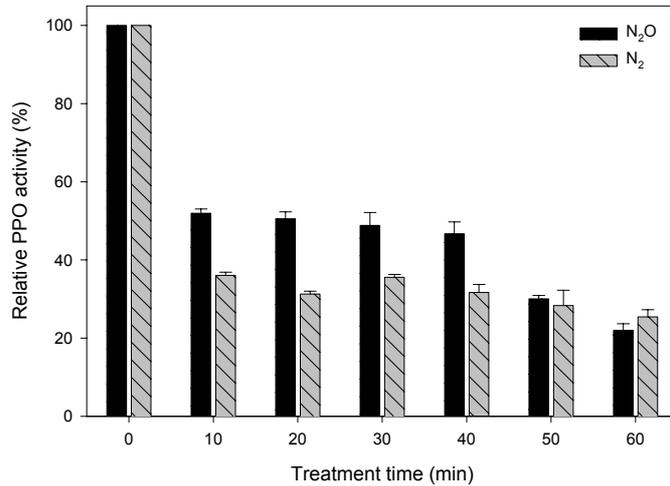


Fig. 20. Inhibition of PPO activity by 100% N₂O and N₂. The substrate was 1 mM chlorogenic acid (pH 6.5). Vertical bars present standard errors of the means.

다. 곰팡이 발생 억제

현재 알려진 N₂O의 기능 중 대표적인 것이 곰팡이 발생 억제이다. 사과와 귤, 딸기 등에서 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도로 노출시켰을 때 곰팡이에 의한 발병을 억제시켰다는 보고가 있으며 딸기에 *Botrytis cinerea*를 직접 접종하여 N₂O를 처리하였을 때에도 N₂O의 농도가 높을수록 그리고 처리 시간이 길수록 곰팡이 발병률을 억제했다는 보고가 있다(Sowa와 Towill, 1991; Shoun 등, 1992; Kepczynska, 1994).

본 연구에서도 딸기에서 같은 효과를 확인할 수 있었으나(Fig. 21) 키위과실에서는 저장 중 곰팡이 발생을 억제하는 효과를 나타내지 않았다(Fig. 22). 이에 따라 감염된 키위과실에서 병원균을 분리, PDA 배지에 배양하여 현미경 관찰을 통해 *Phoma* spp.의 한 증임을 확인하고(Fig. 23), 이 곰팡이에 직접 N₂O 80% + O₂

20%를 처리하였으나 곰팡이 성장 억제를 거의 하지 못하는 결과를 얻었다(Fig. 24). 아무 처리도 하지 않은 control의 colony 크기를 100%로 기준했을 때 N₂O 80% + O₂ 20% 처리는 곰팡이의 성장 억제율이 10% 이하였다. 그리고 100%의 N₂O를 처리했을 때에는 오히려 control보다 성장률이 10% 이상 증가했다. 따라서 N₂O는 곰팡이의 종류에 따라 성장 억제 정도가 다를 수 있었으며, 역시 N₂O에 의해 생장이 억제되지 않는 *Alternaria alternata*의 경우는 *Botrytis cinerea*와 마찬가지로 ethylene이 생장에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있는 바, N₂O의 작용이 ethylene의 antagonist에 머물러 있지 않음을 알 수 있다.

이상의 결과들을 종합해보면, N₂O는 과실에서 ethylene 발생량을 감소시키는 양상을 보여주었으나 N₂O 농도와는 직접적인 관련이 없었고 오히려 CO₂ 발생량이 농도에 따라 달랐다. 그 이외에 변색 반응 억제나 곰팡이 종류에 따른 성장 억제 차이 등을 고려해 보았을 때 N₂O의 작용 기작은 ethylene과의 상호작용에 국한되어 있지 않을 것이라고 생각해 볼 수 있다.

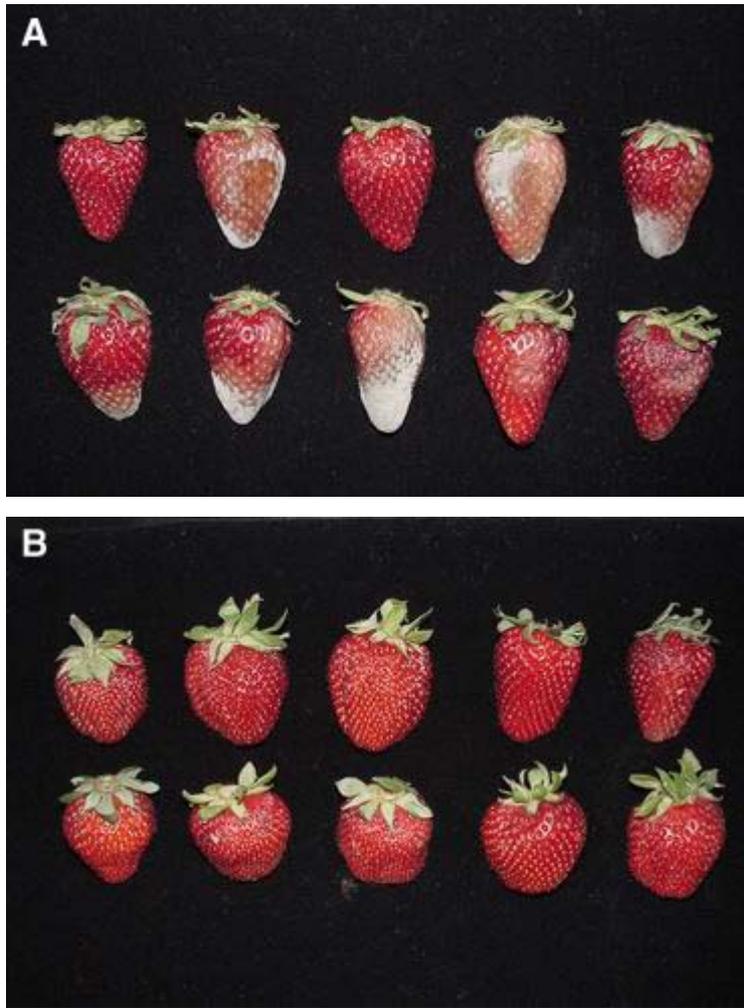


Fig. 21. Effect of N₂O treatment on rotting of strawberry after 6 days at 15°C. A, treated with air for 48 h; B, treated with N₂O 80% + O₂ 20% for 48 h.



Fig. 22. Symptoms of infected kiwifruit after N₂O treatment at 20°C.

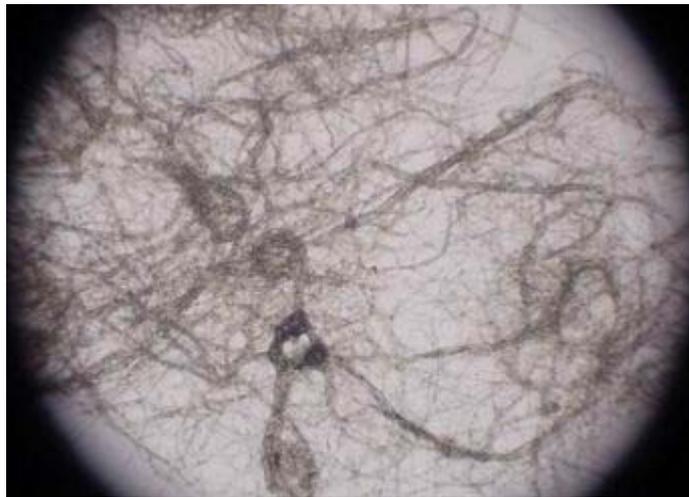


Fig. 23. Light microscope observations on pycnidia and conidia of isolated fungi *Phoma* spp. from kiwifruit.

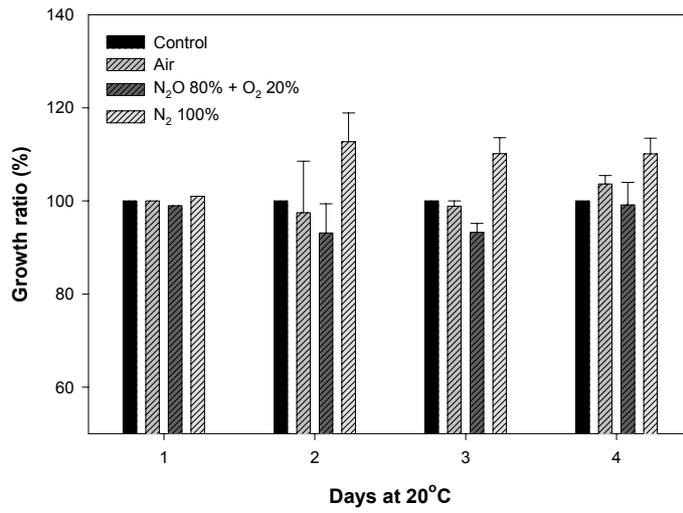


Fig. 24. Percentage of inhibition of fungal colony growth isolated from kiwifruit with N₂O 80% + O₂ 20% treatment at 20°C. Bars represent ±SE.

제 3절 실증실험을 통한 N₂O 처리 실용화 방안 모색

1. 재료 및 방법

매장에서 구입한 딸기의 1kg 단위 PETE 소재 포장용기를 그대로 사용하여 20 L 챔버에 넣고 N₂O를 처리하였다. 포장용기 내의 딸기는 복층으로 쌓아져 있는 상태로 이용하였다.

복층아의 압상에 대한 N₂O의 효과를 알아보기 위하여 지름 2.54 cm의 쇠구슬을 30 cm 높이에서 떨어뜨려 인위적으로 압상을 내고 그 크기를 측정하였다. 압상을 내기 전에 N₂O를 처리한 것과 압상을 낸 후에 N₂O를 처리한 것으로 나누었으며 대조구는 아무 처리도 하지 않은 것과 압상을 낸 후 Air로 처리한 것으로 나누었다.

2. 연구 결과

연구개발의 결과를 토대로 도출된 N₂O와 O₂의 최적 처리조건을 매장에서 실제 유통되고 있는 포장형태와 유통조건에 적용하여 실증 실험하는 것이 그 목적이다. 딸기의 경우는 구입할 당시의 1kg 포장용기를 그대로 이용하여 실험을 수행함으로써 간접적으로 실증하고자 하였다. 현재 시중에 유통되고 있는 딸기의 1kg 단위 플라스틱 포장용기에는 모두 천공이 되어 있으므로 N₂O를 처리하여 과실에 흡수시키는 데에는 아무런 문제가 없었다. 그러나 실제 포장에서는 용기 내에 딸기를 2단으로 쌓아서 포장하므로 이전 실험에 비해서는 압상의 발생이 증가하였다.

복층아는 외부의 충격에 매우 약하며 압상이나 타박상을 받은 부분은 쉽게 변색되어 상품성을 잃게 되는 문제점이 있다. 그런데 복층아에서 N₂O를 처리했을 때 가장 큰 효과를 보인 것은 압상이나 타박상으로 인한 변색 부위 발달이 진전되지 않아 외관상 큰 문제를 보이지 않는다는 점이었다(Fig. 25). 따라서 N₂O가 과실류의 변색 반응에 영향을 미칠 것이라고 생각하고 표준화된 방법에 따라 지름 2.54cm의 쇠구슬을 30cm 높이에서 복층아에 떨어뜨려 충격을 가한 후 N₂O 처리를 하면서 타박상 크기의 변화를 관찰하였다. 충격을 가한 후 곧바로 N₂O 80% + O₂ 20%의 농도를 48시간 동안 처리한 것은 다른 처리구들에 비해 타박상 크기가 현저히 억제되는 모습을 확인할 수 있었으며(Fig. 26), 먼저 N₂O 80% +

O₂ 20%의 농도로 48시간 동안 처리를 한 후에 충격을 준 경우에는 저장 10일째 까지 타박상 크기를 억제하였으나 그 이후에는 air를 처리한 것과 비슷한 정도로 타박상 크기가 급격히 발전하였다(Fig. 27). 따라서 복숭아에 N₂O를 실제 적용하였을 때 복숭아 상품성의 가장 큰 취약점인 갈변을 상당부분 개선시킬 수 있을 것으로 예상되며, N₂O는 일정 시간 뒤 회복되는 특징이 있으므로 MA 포장 등을 통해 처리 효과가 지속될 수 있는 방법을 좀 더 모색해야 할 것이다.

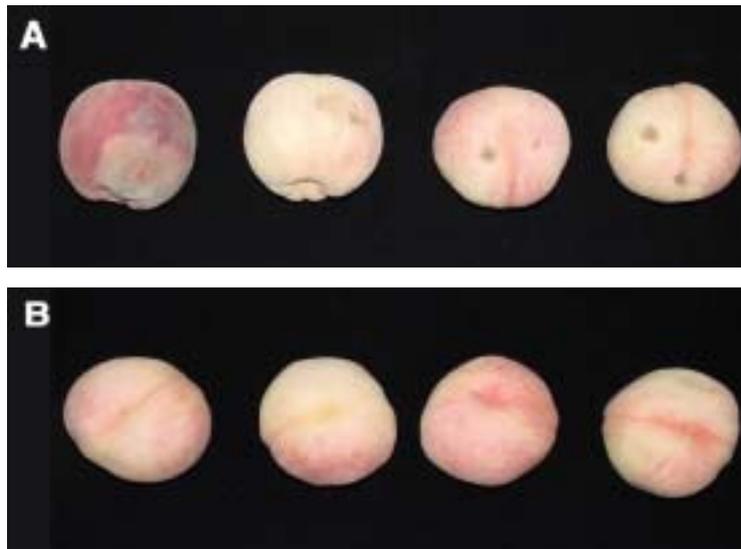


Fig. 25. Bruise development of peach after 3 days storage at 15°C. A, treated with air; B, treated with N₂O 80% + O₂ 20% for 48 h.

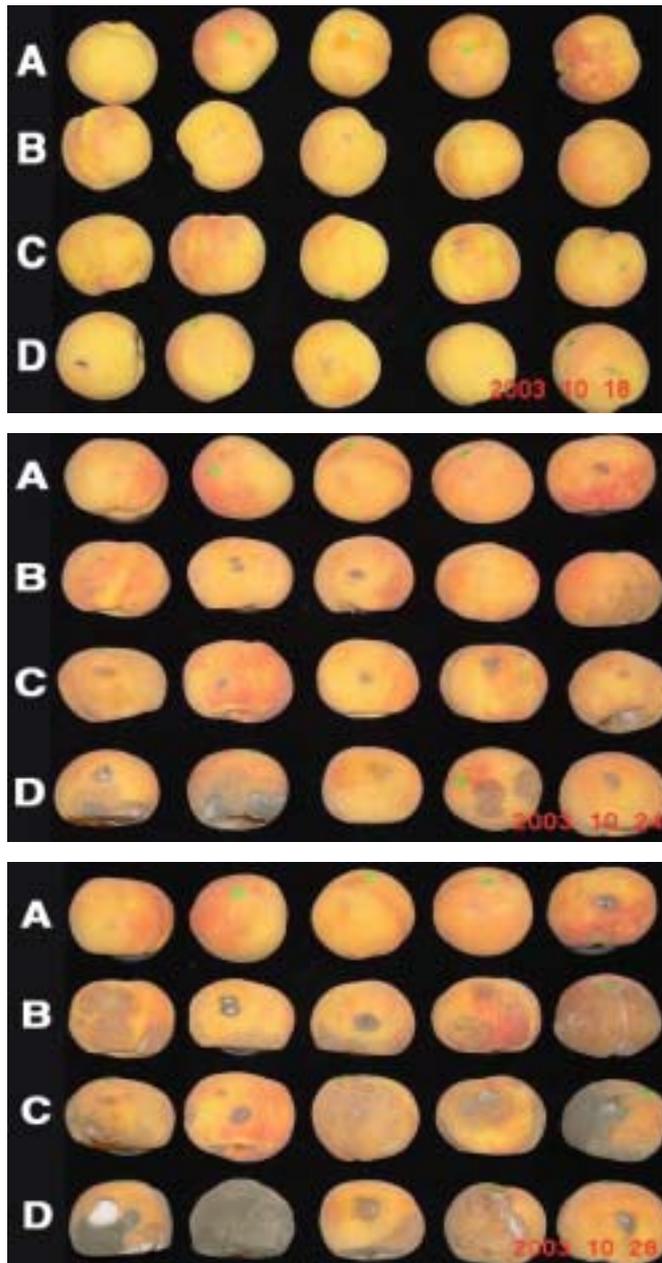


Fig. 26. Development of bruise after impact with a steel ball. A, treated with N₂O after impact; B, treated with N₂O before impact; C, treated with air after impact; D, without impact treatment.

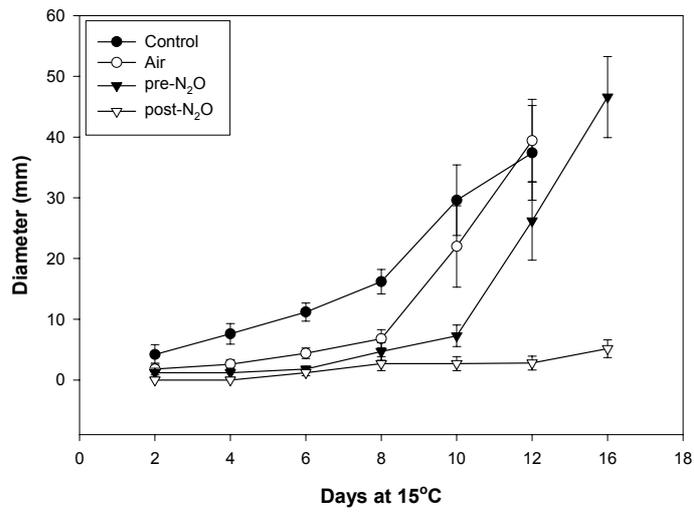


Fig. 27. Effect of N₂O treatment on impact bruising of peach during storage at 15°C. pre-N₂O, treated with N₂O before impact; post-N₂O, treated with N₂O after impact; Air, treated with air after impact; control, without treatment. Bars represent ±SE.

<복숭아와 키위, 딸기의 NO 최적 처리 조건 확립>

제 1절 NO 처리 조건 확립

1. 재료 및 방법

가. 공시 재료

본 실험에 재료는 전라남도 해남군의 ‘한국참다래 유통사업단’으로부터 구입한 키위과실을 이용하였다.

나. 조사 항목

1) NO 처리 시점 확인

NO는 산소와 접할 경우 쉽게 NO₂로 산화가 이루어진다. 그렇기 때문에 과실에 처리 시 NO의 영향인지 아니면 산화된 형태인 NO₂의 작용인지를 명확히 하기 위해서 실시하였다. 15l 챔버를 먼저 질소를 이용하여 유속 3l min⁻¹ 속도로 순환 시킨 후 챔버 내부의 산소 농도를 0.3% 이하로 유지시킨 다음, 200μl l⁻¹ NO를 처리하였다.

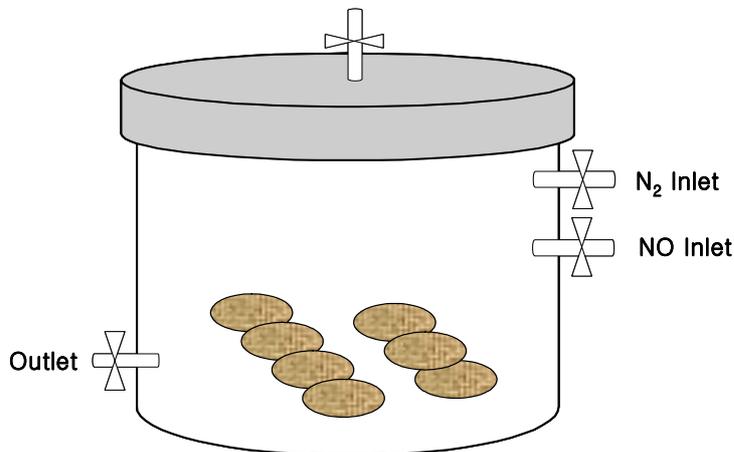


Fig. 1. Scheme of the gas treatment.

2) NO 처리 중 챔버 내부 가스 조성 변화

15l 챔버에 키위과실 20개를 넣고 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리 후 20°C 저장고에서 시간 경과에 따른 챔버 내부의 가스 조성 변화를 관찰하였다.

2. 연구 결과

가. NO 처리 시점 확인

각 가스를 처리할 경우 모두 continuous flow system을 이용하였다. 먼저 N_2 를 이용하여 챔버 내부를 순환 시켰다. 초기 챔버 내부 산소 농도가 19.9%였던 것이 시간이 경과됨에 따라 점차 줄어, 25분이 경과 되면 내부 산소농도는 0.3% 이하로 감소되었다. 본 실험을 통해서 NO처리 시점을 N_2 로 챔버 내부를 순환시킨 다음 20분경과 후로 정하였다.

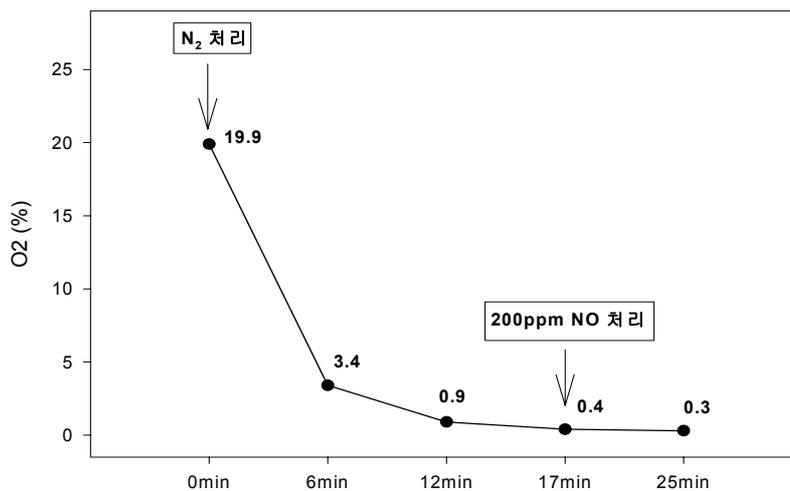


Fig. 2. Application of N_2 and NO.

나. NO 처리 중 챔버 내부 가스 조성 변화

챔버에 키위과실 20개를 넣고 5시간 경과 후 NO 처리구와 대조구의 내부 공기

조성을 확인하였다. 대조구는 NO를 처리하지 않고 공기를 넣고 밀폐하였다. 밀폐 5시간 후 NO 처리구의 챔버 내부의 공기 조성은 산소, 이산화탄소 각각 0.4%, 0.3% 이었다. 반면 대조구는 18.8%, 0.1%를 나타내었다. NO 처리구에서는 시간이 경과되어도 챔버 내부의 산소가 적기 때문에 NO의 산화형태인 NO₂로 변할 가능성은 적다는 것을 보여준다.

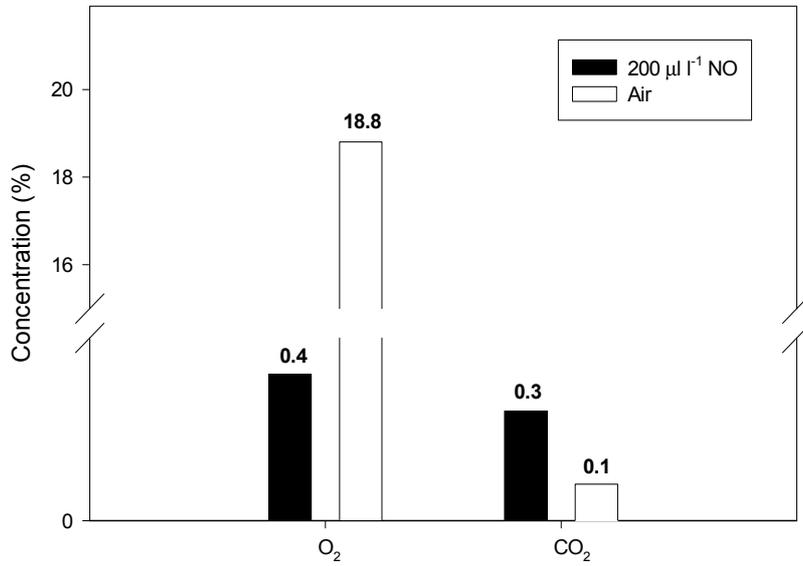


Fig. 3. Inside atmosphere of the chamber after 5 hr 200 µl l⁻¹ NO.

제 2절 복숭아 품종에 따른 NO 처리 효과

1. 재료 및 방법

본 연구에 이용된 복숭아는 ‘미백도’ 품종과 ‘창방조생’ 품종이다. 복숭아는 경기도 이천시 장호원읍 ‘창원농장’으로부터 당일 수확된 복숭아를 공급받았다. 본 실험은 NO 처리 시점에 따라서 두 가지 방법으로 실시되었으며, 관행적으로 복숭아 저장 시 이용되는 온도인 0°C에서 7일 보관 전·후에 NO를 처리한 다음 25°C, 18°C에서 각각 저장하였다. 복숭아는 약 3.5kg 씩 각각 15l 챔버에 넣고 NO를 처리하였다. 먼저 챔버 내부의 산소를 제거하기 위해서 continuous flow system으로 유속 3 l min^{-1} N_2 를 20분간 공급한 다음 $100\mu\text{ l l}^{-1}$ NO를 25분간 공급하였다. NO를 처리한 후 챔버의 밸브를 막고 밀폐시켜 15°C 저장고에서 5시간 방치하였다. NO 처리된 미백도와 창방조생 복숭아는 25°C와 18°C에 각각 저장하면서 품질 변화를 관찰하였다. 품질변화와 관련되어 조사된 항목은 품종별 무게손실률, 경도 변화, 색도변화, 에틸렌 발생량 등을 관찰하였다. 무게변화는 저장기간동안 초기 무게에 대한 감량분을 백분율로 나타내었으며, 경도는 과피를 벗겨낸 후 적도부위를 경도계(TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologist)를 이용하여 측정하였다. 색도는 복숭아 과피의 적도부위 4군데를 colorimeter(Minolta CR 200)를 이용하여 측정하였으며, 에틸렌은 과실 1개를 1l 밀폐용기에 넣어 3시간 밀폐시킨 후 내부에 축적된 가스를 gas chromatography(GC)를 이용하여 측정하였다.

2. 연구 결과

본 연구는 현재 국내에서 소비자들의 선호도가 높은 ‘미백도’ 복숭아와 ‘창방조생’ 복숭아를 이용하여 NO 적용 시 품종에 따른 비교를 확인하기 위해서 실행하였다. 복숭아는 수확 직후 출하되기도 하지만, 수익성을 고려하여 일주일 정도 0°C에서 저장한 후에 출하된다. 복숭아는 저장성이 약하기 때문에 장기 저장이 불가능하다.

가. '미백도' 품종

'미백도' 품종은 우리나라 사람들이 가장 선호하는 복숭아이다. 그러나 다른 복숭아들에 비해서 특히 짧은 유통기간으로 인해 유통 기술 개발이 요구되는 복숭아 품종이다. 본 실험에서는 0℃에서 7일 저장된 과실을 대조구로 하고, 처리구는 0℃ 7일 저장 전·후에 NO를 100 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO를 처리하였다. 저장일수 경과에 따른 무게손실률을 살펴보면 0℃ 저장 전 NO 처리구와 대조구에서는 저장 2일부터 무게손실이 2%를 초과하여 0℃ 저장 전 NO 처리구에서는 8일 경과 후 6%까지 증가되었다. 반면 0℃ 저장 후 NO 처리구에서는 무게손실률이 가장 적었으며 8일 경과 후에도 3% 내외의 감소를 보였다(Fig. 4). 처리구별 경도를 살펴보면 무게손실과 비슷한 결과를 보였다. 0℃ 저장 전 NO 처리구와 대조구에서는 25℃에서 6일 경과 후 급격히 경도가 감소되는 반면 0℃ 저장 후 NO 처리구에서는 10일까지 유지되는 것을 확인할 수 있다(Fig. 5). 에틸렌 발생량에는 저장 2일 경과 후에는 대조구에서 가장 높게 나타났으나, 6일경과 후에는 오히려 0℃ 저장 전 NO 처리구보다 높게 나타났다. 0℃ 저장 후 NO 처리구는 대조구와 유의적 차이를 보이지 않았다(Fig. 6).

'미백도' 복숭아는 다른 품종과는 달리 복숭아의 과피와 과육 색이 상아색이다. 따라서 과실의 색을 상아색으로 유지하는 것이 고품질을 유지시키는 비결이다. NO 처리에 따라 과피 색을 Hunter value를 이용하여 비교해 보았다. 대조구에 비해서 NO 처리구에서는 lightness가 높게 유지되는 것을 확인할 수 있다. 이는 대조구에서는 저장 일수가 경과됨에 따라 색이 탁해지는 반면 NO 처리구에서는 초기의 고유의 빛을 유지한다는 것을 의미한다(Fig. 7). Hunter a value는 red-greenness를 나타내는 것으로 대조구에서는 저장일수가 경과되면 과피와 과육의 색이 붉게 변하였다. 반면 NO 처리구에서는 Hunter a value를 낮게 유지하여 품질유지에 효과적인 것을 알 수 있다(Fig. 8).

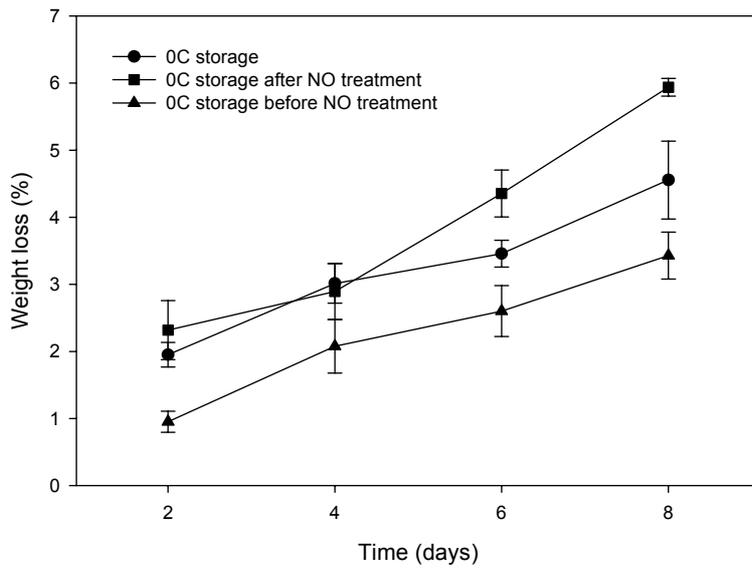


Fig. 4. Changes in weight loss of 'Mibaekdo' peach at 25C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

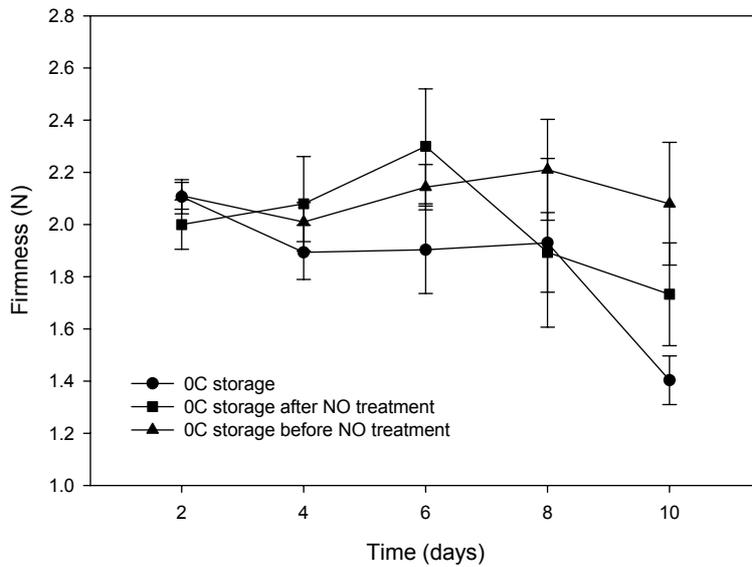


Fig. 5. Changes in firmness of 'Mibaekdo' peach at 25C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

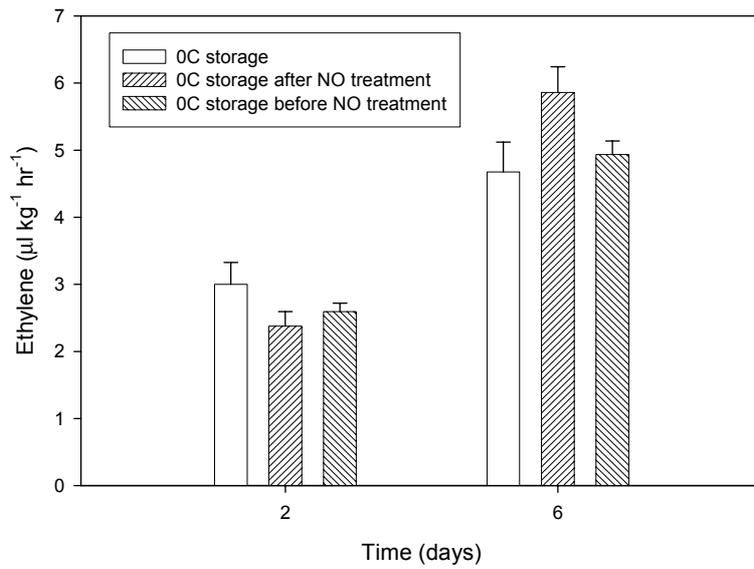


Fig. 6. Changes in ethylene production of 'Mibaekdo' peach at 25C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

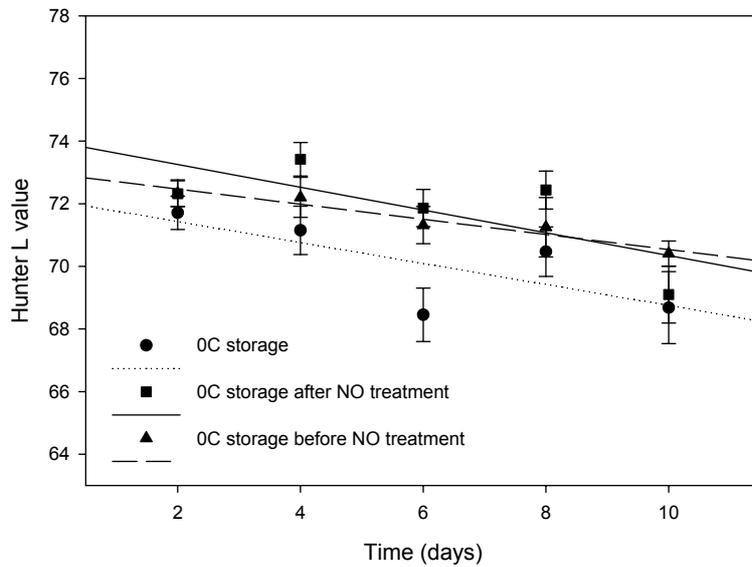


Fig. 7. Changes in Hunter L value of flesh of 'Mibaekdo' peach at 25C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

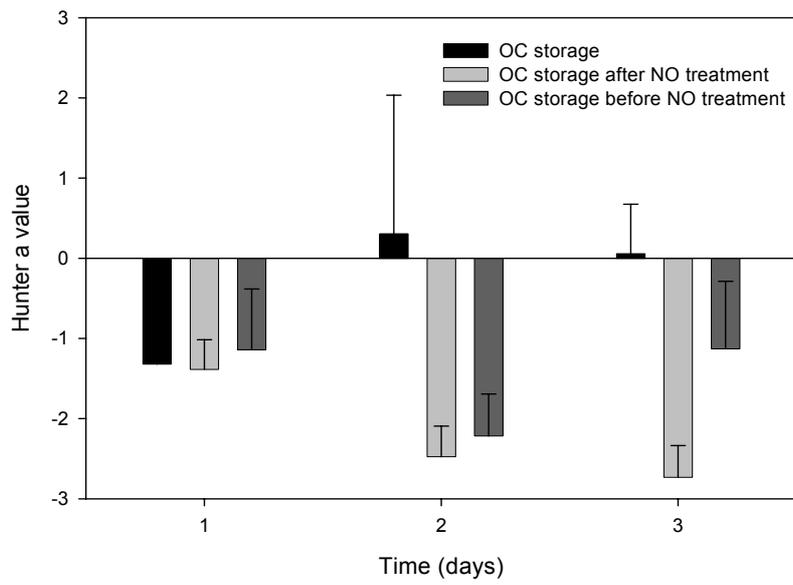


Fig. 8. Changes in Hunter a value of flesh of 'Mibaekdo' peach at 25C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

나. '창방조생' 품종

'창방조생' 복숭아는 18℃에서 10일 동안 저장 중 품질변화를 관찰하였다. 무게 손실을 살펴보면 저장 10일이 경과되면 과실은 최대 5% 까지 무게가 감소된 것을 확인할 수 있다. 그러나 0℃ 저장 7일 전·후에 NO 처리는 무게 손실에 크게 영향을 미치지 않았다. 저장 4일까지는 0℃ 저장 후 NO 처리구가 무게 손실률이 약간 높았으나, 6일 경과 후에는 0℃ 저장 전 NO 처리구가 높게 나타났다(Fig. 9). 경도 측정 시 과피를 제거한 후에 측정하였는데, 이는 과피가 제거되지 않은 상태에서 측정하면 시일이 경과 후 수분 증발에 따라 과피를 뚫는 힘이 더 많이 소요되므로 정확한 경도를 측정하기가 불가능하기 때문이다. 경도는 3일 경과 후 급격히 감소되었는데 이는 두 처리구 모두 유의적 차이를 보이지 않았다(Fig. 10). 에틸렌 발생량은 저장 6일부터 증가되었는데 이는 2일과 4일에 비해 2배가량 높게 나타났다(Fig. 11). 경도가 감소되면서 에틸렌의 발생이 증가하는 것을 확인할 수 있다. 관능 평가는 Quality index로 표기하였으며, 0부터 5까지 수치화 하였다. 수치가 높을수록 품질이 우수한 것을 나타낸다. 두 처리구에서 품질은 0℃ 저장 전 NO 처리구에서는 저장 10일까지 품질이 유지된 반면 0℃ 저장 후 NO 처리구에서는 8일까지 유지되었다(Fig. 12).

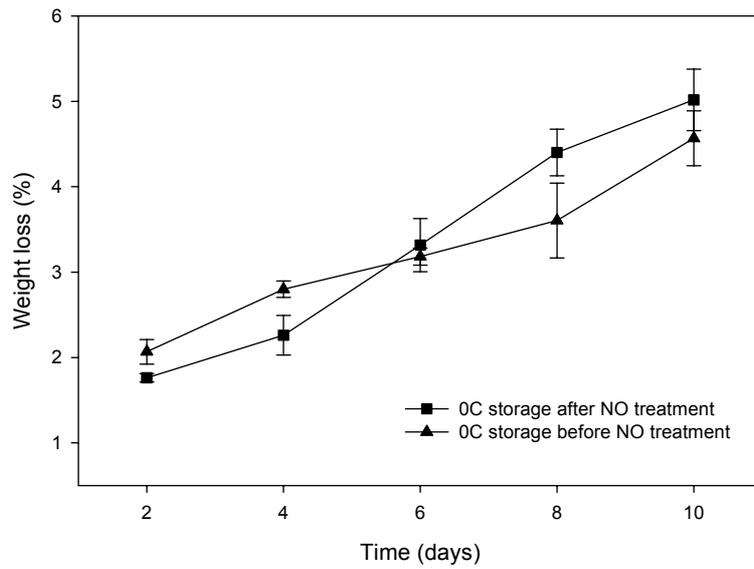


Fig. 9. Changes in weight loss of 'Changbang' peach at 18C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

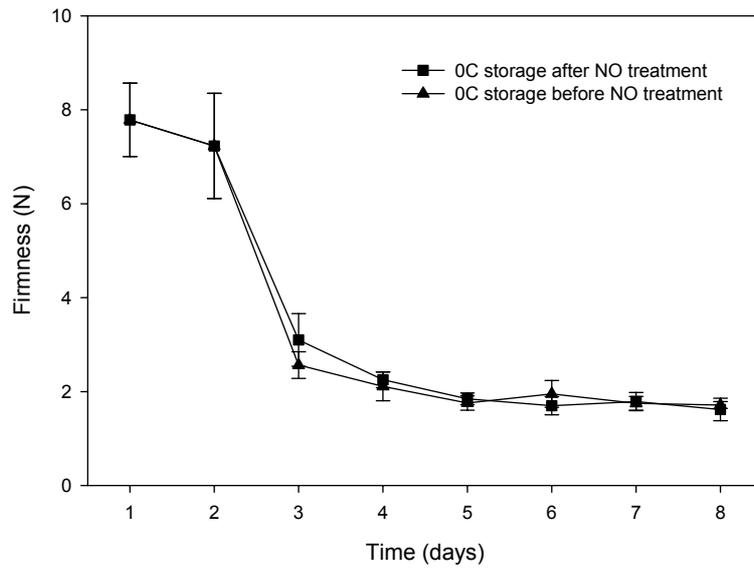


Fig. 10. Changes in firmness of 'Changbang' peach at 18C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

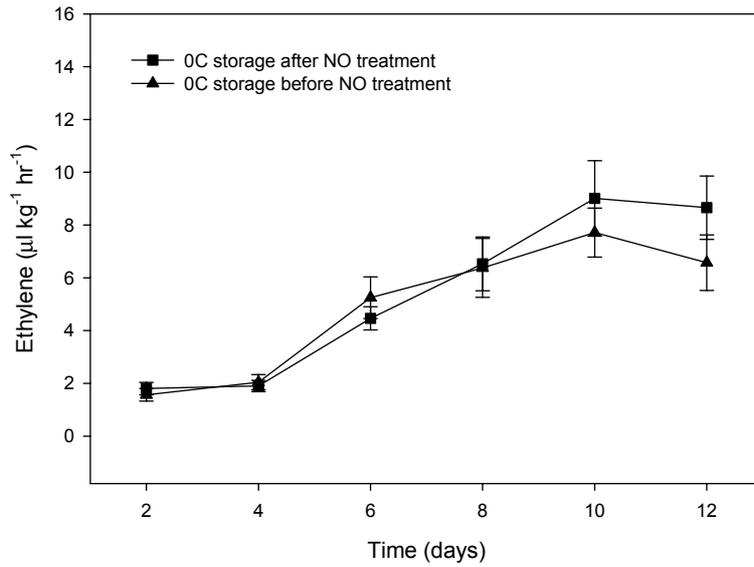


Fig. 11. Changes in ethylene production of 'Changbang' peach at 18C. After or before 7 days storage at 0C, fruit were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

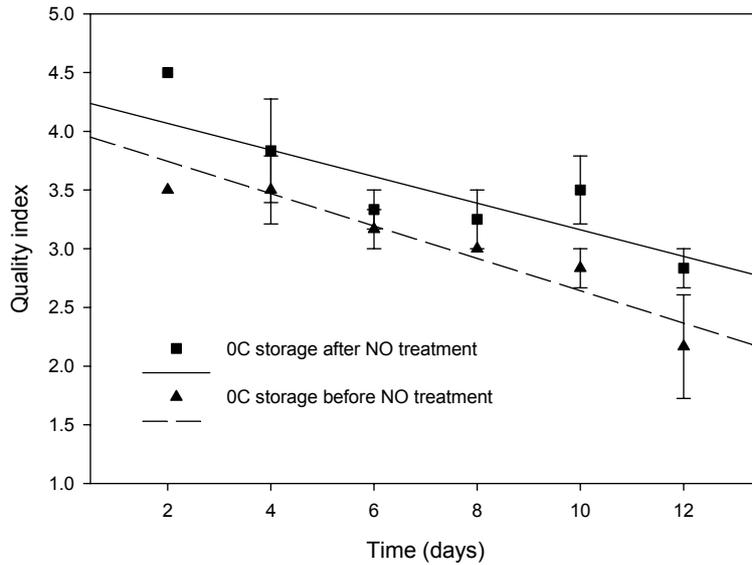


Fig. 12. Quality index of 'Changbang' peach at 18C. After or before 7 days storage at 0C, fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

다. 종합고찰

복숭아 품종별 NO 처리를 비교해보면, '창방조생' 복숭아에서는 NO 처리시기에 따라 품질에 미치는 영향은 없었다. 그러나 '미백도' 복숭아는 대조구에 비해서 NO 처리가 품질유지에 좋았으며, 처리 시기별 차이를 보면 0℃ 저장 후 NO를 처리하는 것이 과실 고유의 색 유지와 경도 유지 면에서 더 효과가 좋았다. 그러나 두 품종 모두 에틸렌과 NO 처리와의 상관관계는 보이지 않았다.

제 3절 ‘미백도’ 복숭아 성숙시기에 따른 NO 처리효과

1. 재료 및 방법

본 실험에 이용된 ‘미백도’ 복숭아는 경기도 이천시 장호원읍 ‘창원농장’으로부터 공급 받았으며, 적정 수확기의 복숭아와 조기 수확된 복숭아를 이용하여 성숙시기에 따른 NO의 효과를 관찰하였다. 수확시기 판별은 과실의 과피색으로 결정하였으며, 수확 적기의 복숭아는 과피의 90% 가량이 백색을 띠며, 조기 수확 복숭아는 60% 가량이 백색을 보였다. 복숭아는 수확 당일 공급받아 실험에 이용되었다. 복숭아는 약 3.5kg 씩 15l 챔버에 넣어 NO를 처리하였으며, 먼저 챔버 내부의 산소를 제거하기 위해서 continuous flow system으로 유속 $3l\ min^{-1}$ N_2 를 20분간 공급한 다음 $100\mu l\ l^{-1}$ NO를 25분간 공급하였다. NO를 처리한 후 챔버의 밸브를 막고 밀폐시켜 $15^\circ C$ 저장고에서 5시간 방치하였다. NO 처리된 과실은 $20^\circ C$ 에서 저장하면서 2일 간격으로 성분 조사 및 품질검사를 실시하였다. 조사 항목은 무게손실률, 색도변화, 에틸렌 발생량, 이산화탄소 발생량 등이다. 무게변화는 저장 기간동안 초기 무게에 대한 감량분을 백분율로 나타내었고, 색도는 복숭아 과피의 적도부위 4군데를 colorimeter(Minolta CR 200)를 이용하여 측정하였으며, 에틸렌과 이산화탄소 발생량은 과실 1개를 1l 밀폐용기에 넣고 3시간 밀폐시킨 후 내부에 축적된 가스를 GC를 이용하여 각각 FID(flame ionization detector), TCD(thermal conductivity detector)에서 검출하였다.

2. 연구 결과

본 연구는 NO 처리가 복숭아의 수확시기에 따라서 어떠한 영향을 미치는 지를 확인하기 위해서 실시하였다. NO 처리와 수확시기의 상관관계를 살펴봄으로써 과실의 유통기간을 연장시키기 위해서 어느 시점에 과실을 수확하는 것이 경쟁력이 있을지 확인할 수 있다.

수확 시기별 과실의 무게손실은 저장 13일에 걸쳐서 5% 내외를 보이며, 처리에 따른 차이를 보이지 않았다. 단지 적기 수확된 대조구 과실이 저장 11일 경과 후에 6%까지 무게손실을 보였다. 처리구는 수확시기에 따른 유의적 상관관계는 보이지 않았으나, 대조구와 비교해 보면 0.5% 내외의 감소를 보인다(Fig. 13). 저장 기간에 따른 호흡량의 변화는 이산화 탄소량을 측정함으로써 확인하였다. 대조구

는 저장 2일부터 호흡의 증가를 보이며 저장 4일에 최대의 피크를 보였다. 반면 처리구에서는 호흡 증가 양상이 지연되는 것을 확인할 수 있다. 특히 조기 수확된 과실에서 이산화탄소 발생량이 가장 적었다(Fig. 14). 에틸렌 발생은 이산화탄소 발생과는 상반된 결과를 보이는데, 수확적기 처리구에서 가장 높은 에틸렌의 발생량을 보였다. 이러한 증가량은 저장 6일까지 계속 증가한 후 10일까지는 평형을 유지하였다. 조기 수확된 처리구는 아직 과실이 숙성되지 않았기 때문에 에틸렌의 증가는 적기 수확된 과실보다 더디게 진행되었으며, 저장 10일 경과 시에는 수확 적기 처리구와 비슷한 발생량을 보였다. 대조구에서는 에틸렌이 증가한 후 감소를 보인다(Fig. 15). Hunter L, a 값을 통해서 과피의 색 변화를 확인하였다. 처리구는 과피의 밝기가 대조구에 비해서 높게 유지되었다. 이는 NO 처리에 의해서 과실이 호흡을 적게 함에 따라서 품질이 유지되므로 과피의 색택일 유지될 수 있었다. 조기 수확된 처리구에서는 숙성이 지연되었으므로 적기 수확된 과실보다 lightness를 장기간 유지하였다(Fig. 16). Hunter a 값은 L 값과 비슷한 양상을 보이는데 대조구에서는 저장 7일 경과 후 과피가 붉게 변하여 a 값이 양의 값으로 가장 높게 나타났고, 처리구에서는 음의 값을 유지하였다. 이러한 음의 값은 과실이 백색을 장기간 유지했다는 것을 의미한다(Fig. 17, Fig. 18). 저장중 과실의 soluble solids contents(SSC)와 pH를 측정해 본 결과 저장 2일에는 유의적 차이를 보이지 않았다. 저장 6일 경과후에는 SSC는 유의적 차이를 보이지 않으나, pH에서 적기 수확된 처리구에서 높게 나타났다. 그러나 이것은 과실의 품질에는 영향을 미치지 않았다(Table 1). 과실의 품질은 최저 0에서 최상 5까지 index로 표기하였다. 처리구는 저장 기간 9일 동안 5~4를 유지한 반면, 대조구는 저장 5일부터 급격히 저하되기 시작하여 저장 11일에는 2의 수치를 보였다(Fig. 19).

이상의 결과를 종합하면 성숙시기에 따른 생리적 대사 작용에 따라 호흡이나 에틸렌 발생이 차이를 보이지만, 품질에서는 수확기가 영향을 미치지 않았다. 그러나 NO 처리에 따른 차이는 확연하였다. NO 처리는 특히 호흡량을 감소시켰으며, 과피 색이 품질을 결정짓는 ‘미백도’ 품종에서는 대조구가 붉게 변하는 반면 처리구에서는 ‘미백도’ 고유의 색을 유지하였다. 따라서 ‘미백도’ 품종에 NO 적용을 실시할 경우에는 과실의 유통기간을 연장시키기 위해서 수확적기보다 조금 이른 시기인 과피의 백색부가 70% 정도 일 때 수확하여 NO 처리한 다음 유통시키면 좀더 경제적이라 생각한다.

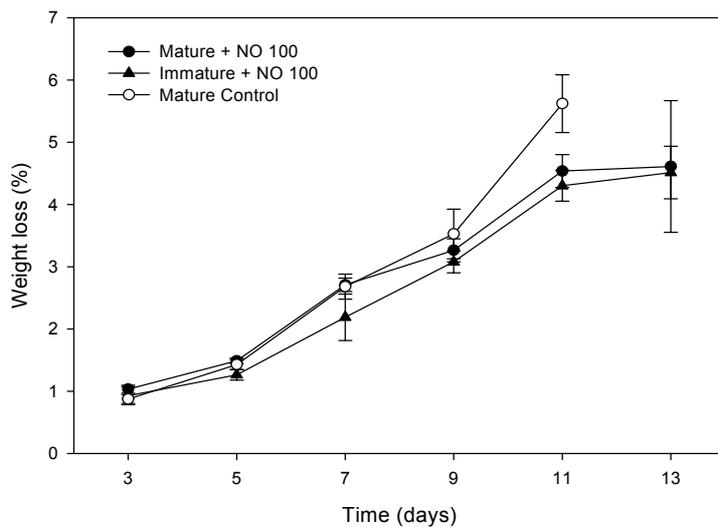


Fig. 13. Changes in weight loss of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

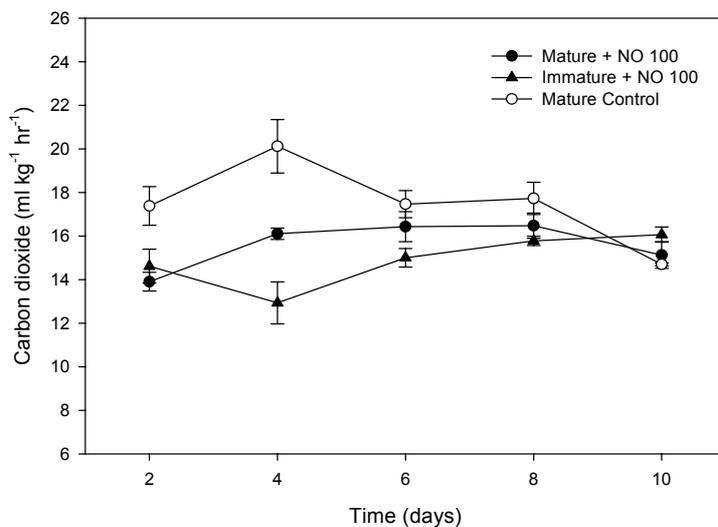


Fig. 14. Changes in Carbon dioxide production of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

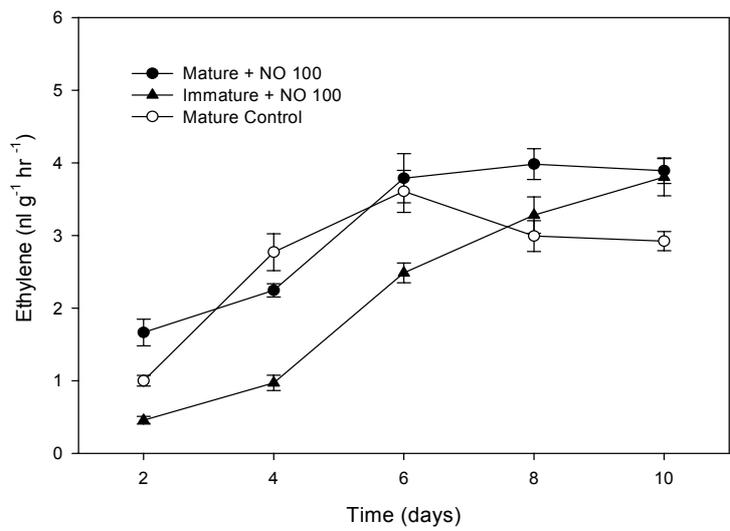


Fig. 15. Changes in Ethylene production of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

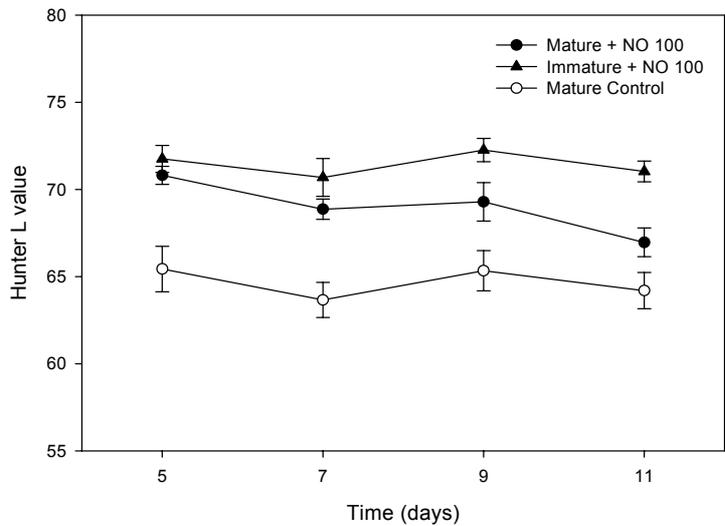


Fig. 16. Changes in Hunter L value of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

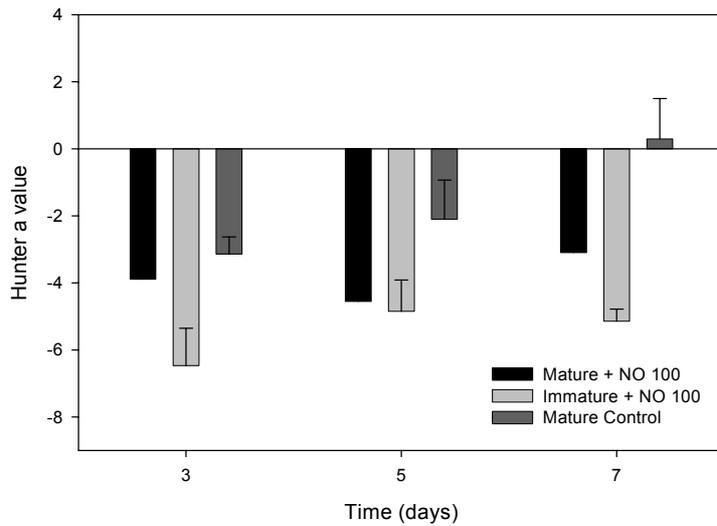


Fig. 17. Changes in Hunter a value of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.



Fig. 18. Color change of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

Table 1. Changes in soluble solids content and pH of peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C.

Holding days	Fruit condition	Soluble solids contents	pH
2	Mature Control	12.53 a ^z	4.47 a
	Immature + NO 100	12.30 a	4.54 a
	Mature + NO 100	12.20 a	4.37 a
6	Mature Control	13.83 a	4.47 ab
	Immature + NO 100	12.70 a	4.30 b
	Mature + NO 100	13.07 a	4.50 a

^zMean separation within column by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

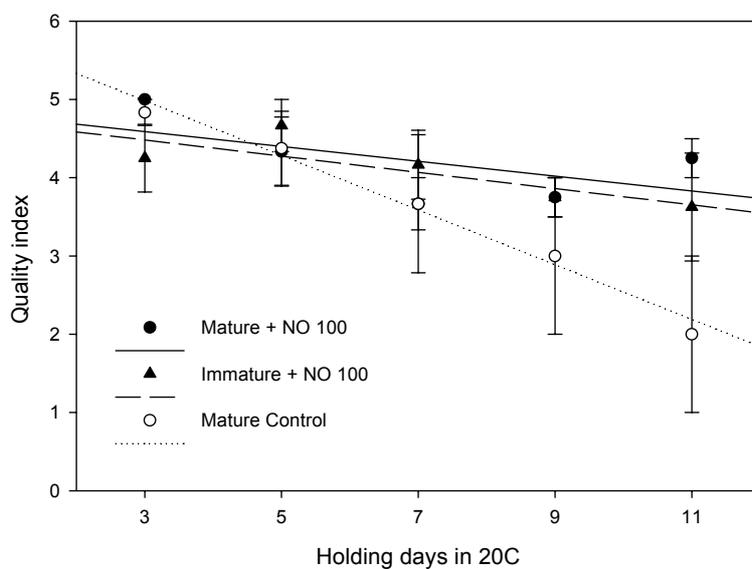


Fig. 19. Changes in quality index of 'Mibaekdo' peach at 20C. Fruits were harvested at two ripening stages (commercial stage of harvesting and early stage of harvesting). Fruits were treated with $100 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean \pm SE.

제 4절 키위과실의 저장기간에 따른 비교

1. 재료 및 방법

본 실험에 이용된 'Hayward' 키위과실은 전라남도 해남지역 농장에서 수확된 다음 '한국 참다래 유통사업단'에서 선별 작업된 과실을 공급받았다. 1°C에서 1개월, 3개월 각각 저장된 키위과실을 이용하여 NO의 효과를 관찰하였다. 키위과실은 약 3kg 씩 15l 챔버에 넣어 NO를 처리하였으며, 먼저 챔버 내부의 산소를 제거하기 위해서 continuous flow system으로 유속 $3l\ min^{-1}$ N_2 를 20분간 공급한 다음 $100\mu l\ l^{-1}$ NO를 25분간 공급하였다. NO를 처리한 후 챔버의 밸브를 막고 밀폐시켜 15°C 저장고에서 5시간 방치하였다. NO 처리된 과실은 18°C에서 저장하면서 2일 간격으로 성분 조사 및 품질검사를 실시하였다. 조사 항목은 무게손실률, 에틸렌 발생량, 이산화탄소 발생량, 경도변화, soluble solids contents(SSC), 곰팡이 colony의 직경이다. 무게변화는 저장 기간동안 초기 무게에 대한 감량분을 백분율로 나타내었고, 경도는 과피를 제거 후 적도부위를 경도계(TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologist)를 이용하여 측정하였다. SSC는 과육 15g의 과즙을 이용하여 굴절당도계(PR-101, ATAGO, Digital Refractometer)를 이용하여 측정하였다. 비타민 함량은 Zapata와 Dufour(1992)의 방법을 수정하여 실시하였다. 생체시료 10g을 추출 용매에 넣어 균질화시킨 후 원심분리를 4°C에서 실시하였다. 상등액을 Sep-pak C18 cartridge를 통과시킨 다음 OPDA (1,2-phenylenediamine)와 암소에서 37분간 반응시킨 후 high performance liquid chromatograph로 분석하였다.

곰팡이 colony의 직경은 직접 곰팡이를 배양한 다음에 측정하였다. 곰팡이 배양은 생체 시료로부터 2mm 정도 크기의 디스크를 분리한 후 잡균을 제거하기 위해서 소독을 실시하였다. 1% NaClO와 70% 에탄올에서 각각 30초간 방치한 다음 멸균수를 이용하여 3차례에 걸쳐 소독하였다. 소독된 디스크를 1.5% water agar 배지에 배양하여 곰팡이를 번식시킨 후 번식한 균사를 다시 PDA 배지에 치상하였다. PDA 배지에서 번식된 균사를 또 다른 PDA 배지로 옮긴 후 N_2 와 NO를 처리하였다. NO 농도는 $200\mu l\ l^{-1}$ NO와 $500\ \mu l\ l^{-1}$ NO를 처리하였다. 처리방법은 과실에 NO 처리할 때와 동일한 방법을 이용하였다. 처리 후 시간 경과에 따라 성장한 colony의 직경을 자로 측정하였다. 에틸렌과 이산화탄소는 과실 2개를 11 밀폐용기에 넣고 3시간 밀폐시킨 후 내부에 축적된 가스를 GC를 이용하여 FID와

TCD에서 각각 검출하였다.

2. 연구 결과

키위과실은 병충해에 강하고 다른 과실에 비해 당도, 산도, 비타민 C 등의 함량이 높고 식품으로서 이용가치와 활용범위가 넓어 그 재배면적이 꾸준히 증가되는 추세이다. 키위과실은 climacteric 과실이며 0C에서 4-6개월까지 저장이 가능하다. 그러나 수확 후 저장이나 유통중에 품질이 저하되는 문제점이 있는데, 적은 농도의 에틸렌에 노출되어도 쉽게 연화가 이루어진다(Arpaia 등, 1987; Mitchell, 1990). 본 연구는 이러한 문제점을 제거하여 키위과실 유통 중 최상을 품질을 유지하기 위해서 실시되었다.

가. 1개월 저장된 키위과실을 이용한 실험

초기실험은 키위과실에 NO의 적용 가능성을 확인하기 위해서 실시하였다. 실험에 이용된 NO의 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO이며, 대조구와 비교하였다. 18°C에서 저장하는 동안 키위과실의 무게손실은 대조구에서 저장 2일 만에 1.3% 정도 감소된 반면 처리구에서는 무게 손실률의 거의 발생되지 않았다. 저장은 14일 동안 대조구에서는 7%의 무게가 감소된 것을 확인하였다. 그러나 처리구에서는 실험전반에 걸쳐 대조구에 비해 감소의 폭이 좁았다(Fig. 20). 기존 연구에서도 원예작물에 NO 처리 시 수분손실을 줄인다는 보고가 있는데, 이는 왜생 NO에 의해서 과실, 채소, 화훼류 등의 모든 원예작물에서 증산작용을 저해시켰다고 설명하고 있다(Ku 등, 2000).

키위과실은 에틸렌에 의해서 과실의 연화가 급속히 진행되므로 NO 처리가 에틸렌 발생에 미치는 영향을 조사하였다. 대조구에서는 4일 경과 후부터 에틸렌이 발생되기 시작하여 6일에 최대 피크를 보였다. 그 후는 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있다. 반면, 처리구에서는 6일부터 에틸렌의 발생이 증가되기 시작하여 서서히 증가를 보이고 있다. 저장 12일 경과 후에는 대조구와 비슷한 에틸렌 발생을 보였다. 이것으로 NO가 에틸렌의 발생을 저해함을 확인 할 수 있고, 키위과실의 저온 저장 후 상온 유통 시 적용 가능성을 제시하고 있다(Fig. 21). 이산화탄소 발생량은 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구에서 대조구에 비해 2배 이상 낮았다(Table 2). NO 처리구는 저장 12일까지 저장 초기의 이산화탄소 발생량을 유지하는데 효과가 있었다. NO는 분자량이 작으며 확산속도가 빠른 기체물질이다. 이러한 성질

때문에 빠른 시간 내에 세포내로 쉽게 확산되어가는 특징을 가지고 있다. 또한 세포속에서 미토콘드리아와 같은 세포내 소기관들에 영향을 미친다. 그래서 결과적으로 미토콘드리아의 작용을 저해시켜 호흡에 영향을 미친다(Laxalt 등, 1997).

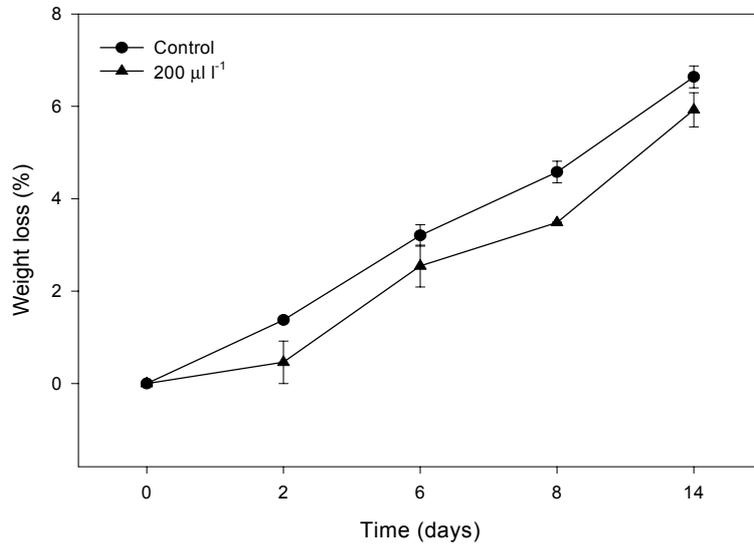


Fig. 20. Changes in weight loss of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 1 month storage at 1C, fruits were treated with 200 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

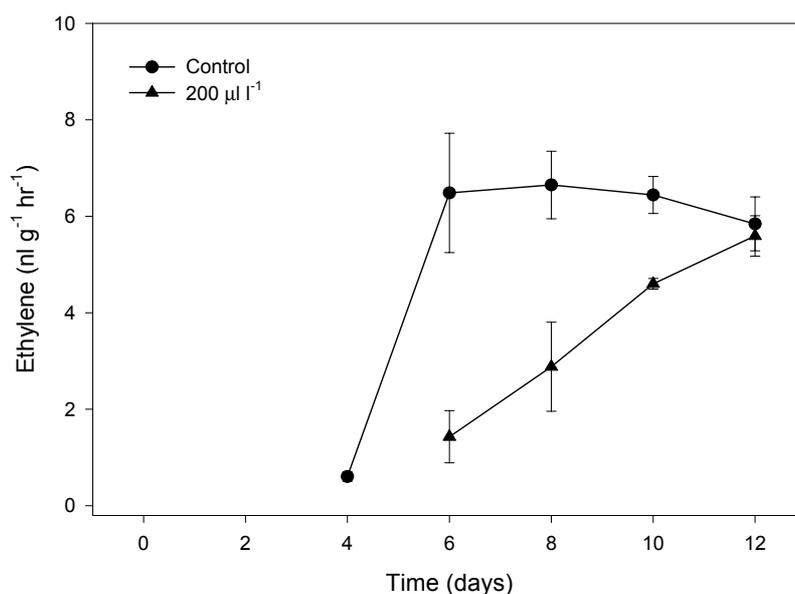


Fig. 21. Changes in ethylene production of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 1 month storage at 1C, fruits were treated with 200 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

Table 2. Carbon dioxide production of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 1 month storage at 1C, fruits were treated with 200 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C.

Treatment	Carbon dioxide (ml kg ⁻¹ h ⁻¹)	
	7 day	12 day
Control	12.89 a ^z	13.59 a
200 µl l ⁻¹ NO	5.72 b	5.69 b

^zMean separation within column by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

나. 3개월 저장된 키위과실을 이용한 실험

1개월 저장된 키위과실을 이용한 실험에서 NO의 키위과실 유통 시 적용가능성을 확인하고, 장기 저장된 키위과실에 미치는 영향을 확인하기 위하여 3개월 저장된 키위과실을 이용하여 실시하였다. 본 실험에 이용된 NO의 농도는 100, 200, 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO이다. 대조구는 NO를 처리하지 않은 구와 N₂ 처리구를 두었다. N₂는 NO 처리 시 챔버 내부의 산소를 제거하기 위해서 적용되었으며, NO의 농도를 달리할 경우 기본 기체로 이용되었다. 따라서 과실의 유통기간 연장이 NO의 작용인지 아니면 N₂의 작용인지를 확인하기 위해서 대조구로 적용하였다.

저장 기간에 걸쳐 무게 변화를 살펴보면 100 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구에서 무게 손실이 가장 많았으며, 대조구와 다른 농도의 NO 처리구에서는 감소율이 비슷하였다. 이러한 감소율은 1개월 저장된 시료와는 다소 차이가 있으나, 저장 기간이 길수록 과실에서 수분 증발이 심하게 일어난다는 것을 보여주고 있다(Fig. 22). 에틸렌 생성률을 비교해 보면 대조구와 100 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서 높은 반면 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO와 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서는 상대적으로 낮았다. 저장 시기 3일과 9일의 에틸렌 발생률을 비교해 보면 3일에는 모든 처리구에서 미비하지만, 9일 경과 후에는 뚜렷한 차이를 보이고 있다. 특히 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서 발생률이 가장 낮았고 다음은 500, 100, N₂, control 순이었다(Fig. 23, Fig. 24). 경도를 비교해 보면 대조구는 모두 저장 일수가 경과 되면서 급격히 연화되었다. 그러나 NO처리구에서는 6일까지 모두가 높게 유지된 다음, 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO를 제외한 다른 처리구에서는 9일에 모두 경도가 저하되었다. 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO은 9일까지 8N 이상을 유지하고 있었다(Fig. 25).

SSC를 비교해 보면 대조구와 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO은 연화가 진전되어 SSC 값이 높게 올라가는 반면 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서는 9일 이후까지도 12°Birx 내외로 유지되는 것을 확인하였다(Fig. 26). 저장 10일 경과 후 키위과실에 많이 함유되어 있는 총 비타민 함량을 측정하였는데 무처리와 처리간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이것은 과실에 다양한 농도로 NO를 처리하더라도, 키위과실에 많이 함유되어 있는 비타민 영양소에는 어떠한 영향도 미치는 않는다는 것을 의미한다(Fig. 27).

키위과실 저장 중 많이 발생하는 잿빛 곰팡이를 배양하여 NO 처리 후 colony의 직경을 확인하였다. 처리 2일까지 대조구에 비해서 NO 처리구에서 곰팡이 번식이 적었다. 대조구는 1일 경과 후에는 2cm 이상까지 colony가 커진 반면, 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO와 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서는 각각 1.2, 1.1cm까지 성장하였다. 3일 경과 후에는 대조구에서 colony의 크기는 가장 컸지만, 다른 처리구와 유의적 차이는 보이지 않았다. 본 실험의 결과는 NO 처리에 의해서 곰팡이의 번식을 줄일 수 있다는

것을 입증하는 것이며, 따라서 곰팡이가 발생되기 전인 유통직전에 NO를 처리하면 효과를 더 증진시킬 수 있을 것이다(Table 3).

다. 종합고찰

이상의 결과를 종합해 보면 키위과실에 NO를 적용시킬 때 3개월 저온 저장보다는 1개월 저장된 시료를 이용하는 것이 에틸렌의 발생을 억제하는 것이 효과적이다. 하지만 장기 저온 저장된 시료일지라도 시장으로 출하하기 전에 처리하면 에틸렌 발생 및 호흡을 저지시키고, 결과적으로 연화까지 막을 수 있기 때문에 NO의 효율성은 입증된다. NO 처리 시에는 적정 농도를 찾는 것이 중요한데 본 실험결과 NO의 적정 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO를 기준으로 너무 낮거나 높으면 NO의 효과가 줄어들어 저장 효율성을 저하시킨다.

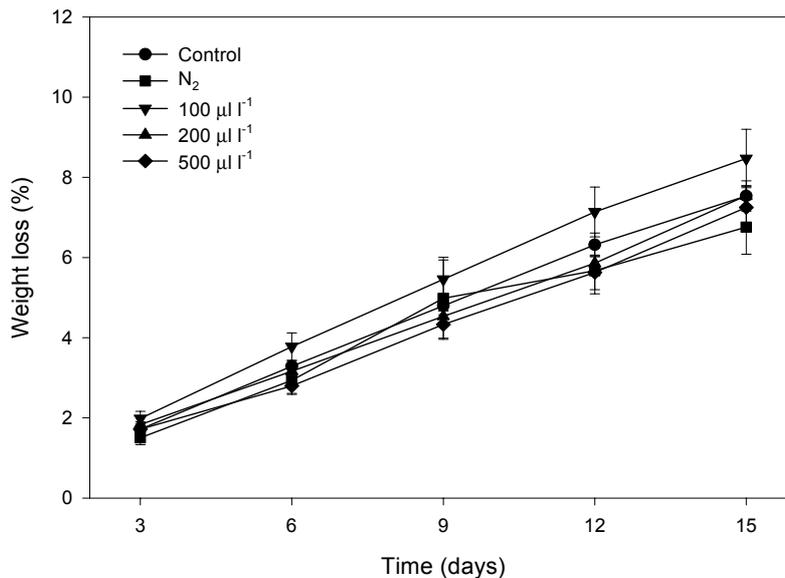


Fig. 22. Changes in weight loss of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

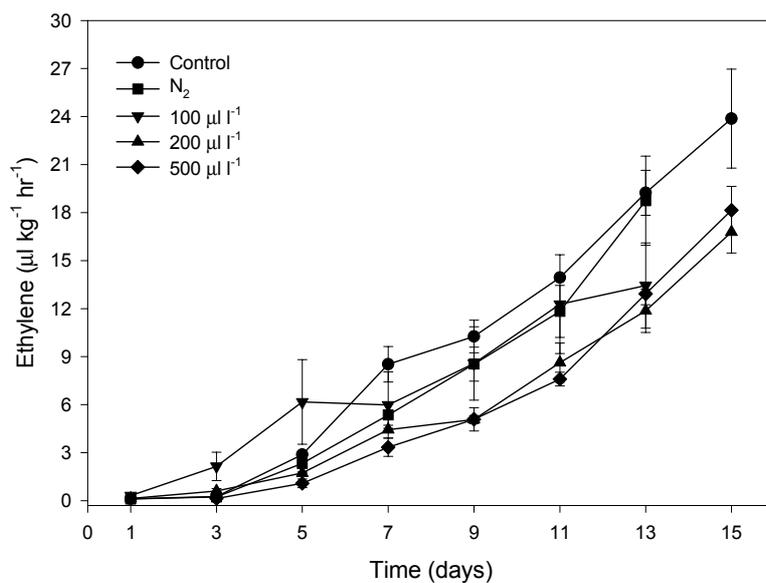


Fig. 23. Changes in ethylene production of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

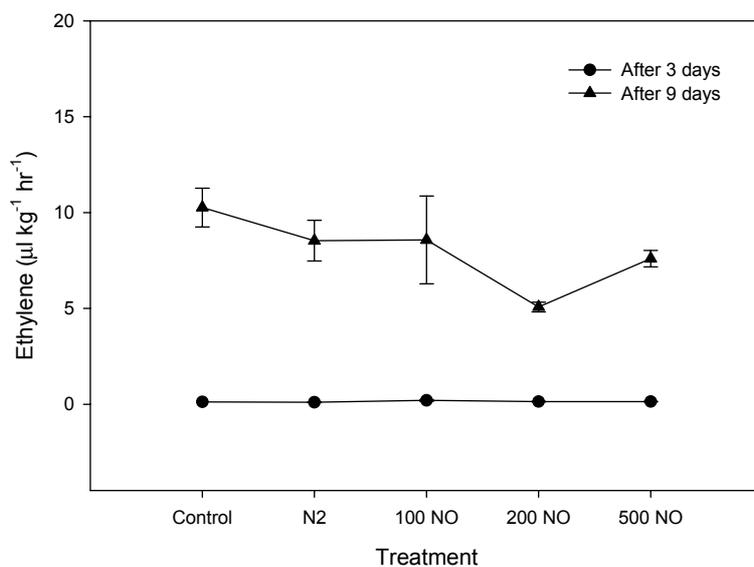


Fig. 24. Ethylene production of 'Hayward' kiwifruit after 3 days or 9 days at 18C. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

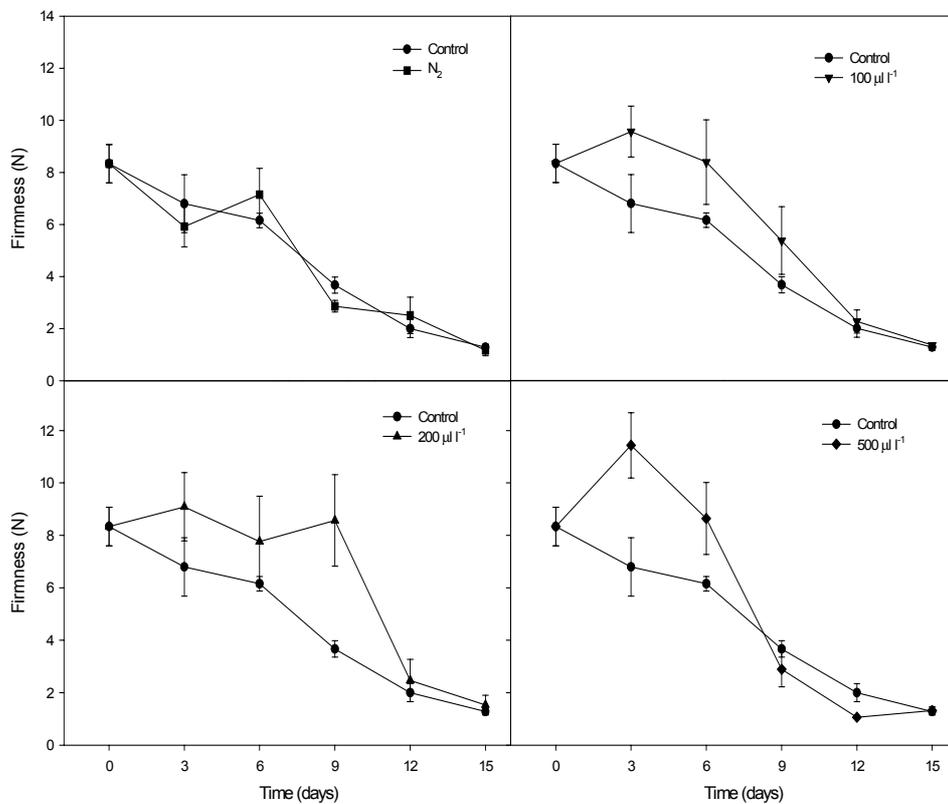


Fig. 25. Changes in firmness of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

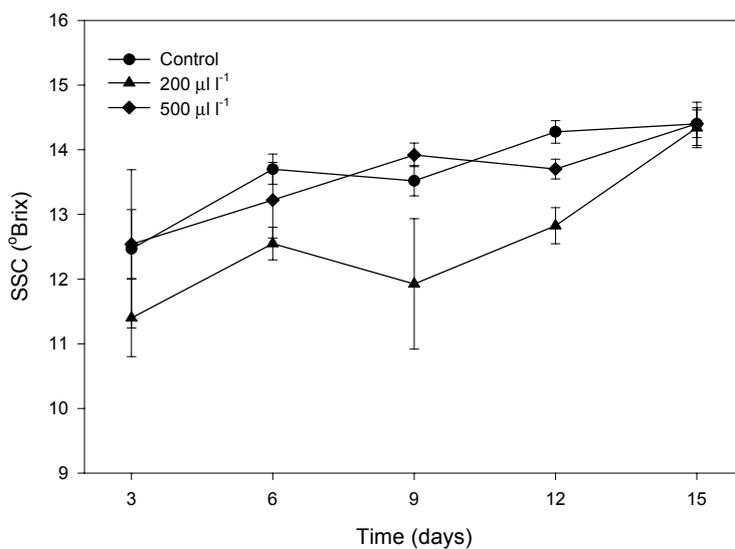


Fig. 26. Changes in soluble solids content of 'Hayward' kiwifruit at 18C. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

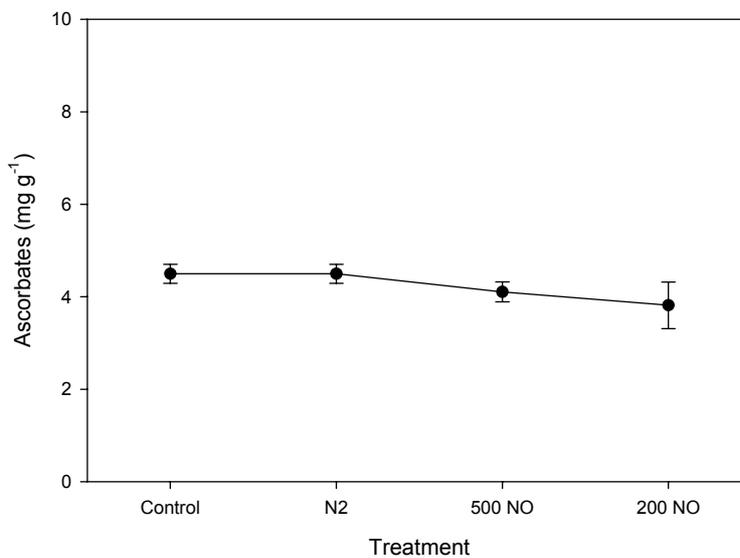


Fig. 27. Ascorbates contents of 'Hayward' kiwifruit after 10 days at 18C. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C. Data represent mean ± SE.

Table 3. Diameter of fungal colony of 'Hayward' kiwifruit at room. After 3 months storage at 1C, fruits were treated with N₂ and 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO for 5 hr at 15C.

Treatment	Diameter of fungal colony (cm)		
	1 day	2 day	3 day
Control	1.8 a ^z	5.1 a	7.0 a
N ₂	1.5 ab	4.7 a	6.2 a
200 µl l ⁻¹ NO	1.2 b	4.2 b	6.2 a
500 µl l ⁻¹ NO	1.1 b	4.2 b	6.0 a

^zMean separation within column by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

제 5절 ‘육보’ 딸기에 미치는 NO의 영향

1. 재료 및 방법

본 실험에 이용된 ‘육보’ 딸기 품종은 충남 부여에서 생산된 것으로 양재하나로 농협 대형할인 마트에서 구입하였다. 딸기에 미치는 NO의 영향을 확인하고, 최적 NO 조건을 확인하기 위해서 NO의 적정 농도 결정과 시간결정의 두 가지 실험이 진행되었다. 첫 번째 실험인 농도 결정은 대조구와 50, 100, 200, 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO 농도를 이용하였고, 처리 시간 결정은 NO 처리 시간을 2, 5, 10시간 처리한 다음 각각 시료를 18 $^{\circ}\text{C}$ 에 저장하면서 품질을 비교하였다. 조사 항목은 무게손실률, 에틸렌 발생량, 호흡량, 경도변화, 색변화, 곰팡이 발생률을 조사하였으며, 이상의 결과를 종합하여 최적 조건을 확립하였다. 무게변화는 저장 기간동안 초기 무게에 대한 감량분을 백분율로 나타내었고, 경도는 적도부위를 경도계(TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologist)를 이용하여 측정하였다. 곰팡이 발생률은 총 과일 개수에 대한 곰팡이 발생된 과일 개수를 백분율을 표시하였고, quality index는 외관에 대해 5 단계로 나누어 스코어링 하였다(5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor). 색변화는 Minolta CR200 colorimeter를 사용하였으며 Hunter L, a value, chroma, hue angle로 나타내었다. 곰팡이 발생률은 처리에 이용된 총 딸기 개수에 대한 곰팡이 발생된 딸기 개수를 백분율을 표기하였다. 엽록소 측정은 건물 중 0.2g의 시료를 N,N-dimethylformamide 10ml에 넣어 암소에서 1주일 유지시킨 후 상등액을 희석하여 spectrophotometer로 측정하였다. 측정치의 O.D 값은 Inskoop(1985)의 식을 이용하여 엽록소의 농도를 계산하였다. 에틸렌과 이산화탄소량은 과실을 11 밀폐용기에 넣고 3시간 밀폐시킨 후 내부에 축적된 가스를 GC를 이용하여 각각 TCD(thermal conductivity detector)와 FID(flame ionization detector)에서 검출하였다.

2. 연구 결과

딸기는 nonclimacteric 과실이며, 에틸렌은 과실의 성장, 색변화에 크게 영향을 미치지 않는다. 딸기에서 내생 에틸렌의 생성은 매우 낮으며, 성숙단계 전반에 걸쳐서 autocatalytic ethylene production은 관찰되지 않는다. 그러나 에틸렌은 딸기 유통 시 중요한 영향을 미치는데 연화를 촉진시키거나, 저장성을 약하게 하는 원

인이 된다. 본 연구에서는 딸기의 저장력을 향상시키기 위해서 NO 적용 실험을 실시하였다. 먼저 딸기의 NO에 대한 최적 농도를 결정하고, NO 처리 시간을 확인하였다.

가. NO 최적 농도 결정

본 연구는 NO를 딸기에 적용 시 최적 농도 조건을 확인하기 위해서 실시되었다. 저장 일수에 따른 무게 변화량을 살펴보면, 저장 초기부터 대조구의 무게손실률은 꾸준히 증가하였으며, 저장 5일 후에는 20% 이상 감모율을 보였다. 반면 NO 처리구에서는 감모율이 적었으며, 특히 $50\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서 가장 적었다. 100, $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구에서는 비슷한 감모율을 보였다. 대조구에서 5일후에 감모율이 크게 증가된 것은 곰팡이 발생으로 인해 품질이 급격히 저하된 것이 원인이다 (Fig. 28). 딸기는 다른 작물에 비해서 호흡률이 많은 작물에 속한다. 따라서 수확 후에는 품질이 급격히 저하되어 호흡률 증가를 막는다면 저장력을 증가시킬 수 있을 것이다.

NO 처리 후 이산화탄소 발생률을 살펴보면, 대조구에서는 $9\text{ml kg}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 까지 이산화탄소가 발생되었다. NO 농도별로 비교해 보면 고농도의 NO를 처리할 경우에는 대조구보다는 이산화탄소 발생률은 적지만, 저농도에 비해서는 효과가 적었다. 50, 100, $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO에서는 4일까지 발생량이 $3\text{ml kg}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 내외로 적은 것을 알 수 있다. 따라서 NO의 처리는 호흡률 높은 딸기에 적용 시 유용한 것으로 보인다(Fig. 29). 에틸렌 발생량은 미비하지만 대조구에서는 2일 경과부터 발생되기 시작하다가 3일에 피크를 보였다. $500\mu\text{l l}^{-1}$ NO의 고농도 처리시도 이산화탄소와 비슷한 양상을 보이며 4일에 피크를 보인다. 그러나 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 이하의 저농도에서는 에틸렌 발생이 저조한 것으로 보인다(Fig. 30). Nonclimacteric 형인 딸기의 대조구에서 에틸렌 발생이 많았던 것은 곰팡이 발생과 연관지어 생각할 수 있다. Fig. 34의 곰팡이 발생정도를 살펴보면 2일 경과 후부터 발생되기 시작한다. 이 시기는 대조구에서 에틸렌 발생이 증가된 시점과 일치한다. 곰팡이는 식물과 마찬가지로 기작은 다르지만 에틸렌을 생성한다. 또한 식물체는 병원균에 감염된 동안에는 에틸렌이 많이 생성된다(Chague 등, 2002).

경도 변화는 대조구에서는 0.45N에서 0.31N으로 감소함으로써 감소의 폭이 가장 컸다. 저장 2일 째에는 대조구, 처리구 모두 유의차가 없다가, 3일부터 차이가 나기 시작하여 4일째 각 처리별 차이가 가장 컸다. 4일 경과 후에는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구에서 가장 높게 나타났으나, $100\mu\text{l l}^{-1}$ NO와 유의적 차이가 없었다(Fig.

31). 딸기의 색변화를 관찰한 후 chroma 값과 hue angle로 표기하였다. Chroma 값은 저장 전반에 걸쳐 대조구 처리구에서 유의적 경향을 보이지 않는다(Fig. 32). 그러나 hue angle은 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구만 초기값을 유지하지만 다른 구에서는 감소하였다. 이는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구만이 고유의 딸기 색을 유지한 것을 의미하며, 다른 구에서는 딸기의 붉은 색이 짙어지는 현상을 보였다(Fig. 33). 이렇게 붉어지는 현상이 발생되면 딸기의 상품성이 급격히 저하된다. 딸기는 18°C 에서 2일 경과되어도 대조구에서는 곰팡이가 발생되었다. 이러한 증가는 3일까지 계속되다가 4일에는 60%까지 곰팡이 발생률이 증가하였다. 50, $100\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구는 2일까지는 곰팡이 발생이 없다가, 3일째부터 발생되기 시작하여 4일에 최대 피크를 보였다. 그러나 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구에서는 곰팡이가 발생되지 않았다(Fig. 34).

딸기에서 NO의 효과는 특히 꽃받침의 갈변을 억제시키는데 탁월하였다. 대조구에서는 3일 경과 후부터 꽃받침 갈변이 발생되었고, $500\mu\text{l l}^{-1}$ NO 고농도의 NO는 저장 초기부터 갈변현상을 유도하였다. 이는 고농도 NO 처리에 의해서 엽록소가 파괴된 것으로 보인다. 이러한 결과는 기존에 브로콜리를 이용한 실험에서도 보이는데 적정 농도의 NO는 채소류에서 엽록체를 보호하는 역할을 수행하였다(Leshem 등, 1998). 엽록소와 NO의 상관관계에 대한 또 다른 연구는 NO 발생물질인 sodium nitroprusside(SNP)를 이용한 실험이다. 병원균에 감염된 감자 잎은 엽록소가 쉽게 파괴되지만 SNP가 처리된 감자잎은 녹색으로 유지됨으로써 엽록소 보호에 효과적이었다(Laxalt 등, 1997). $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO 처리구에서는 꽃받침을 초기의 색으로 계속 유지시켰다(Fig. 35, Fig. 37). 이상의 결과를 종합하여 보면 본 연구에서 딸기의 최적 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO이며, 최대 5일까지 저장이 가능하였다(Fig. 36, Fig. 37).

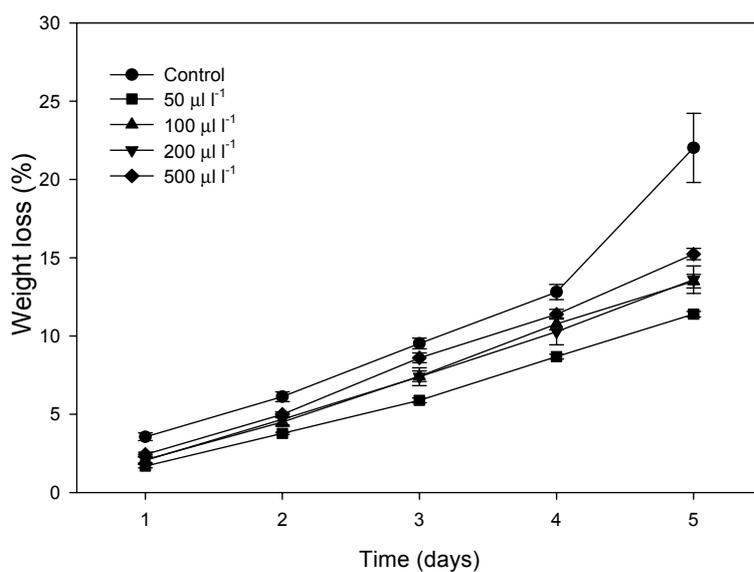


Fig. 28. Changes in weight loss of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO during 5 days storage at 18C in air. Data represent mean ± SE.

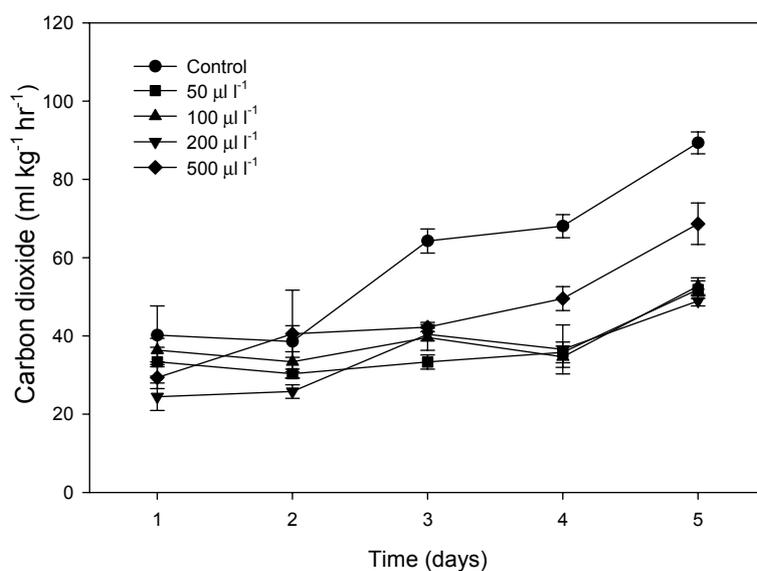


Fig. 29. Changes in carbon dioxide production of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO during 5 days storage at 18C in air. Data represent mean ± SE.

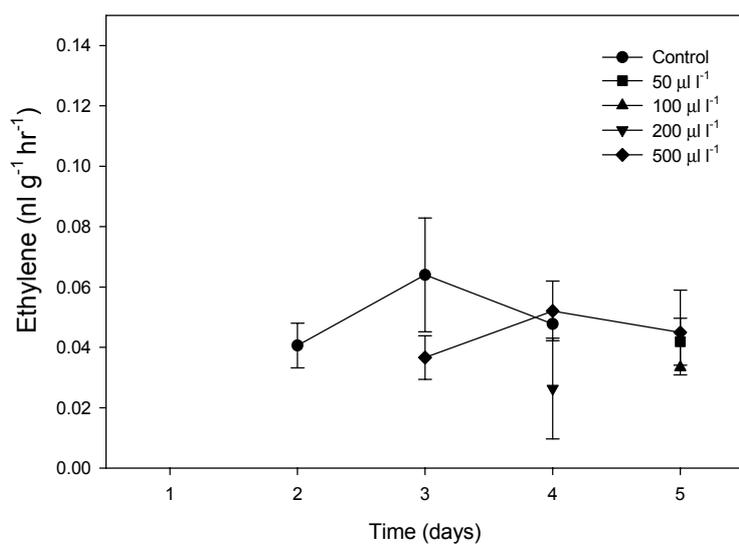


Fig. 30. Changes in ethylene production of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO during 5 days storage at 18C in air. Data represent mean \pm SE.

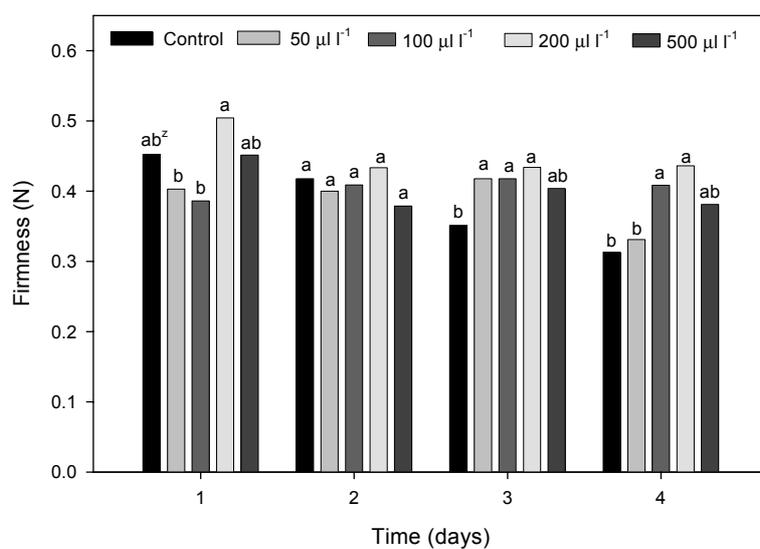


Fig. 31. Changes in firmness of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO during 5 days storage at 18C in air. Data represent mean \pm SE. ²Mean separation within plots by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

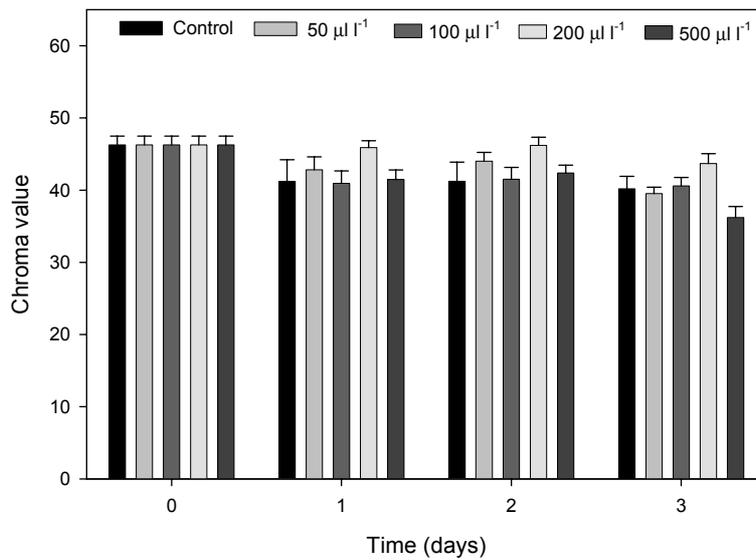


Fig. 32. Changes in chroma value of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO during 5 days storage at 18C in air. Data represent mean ± SE.

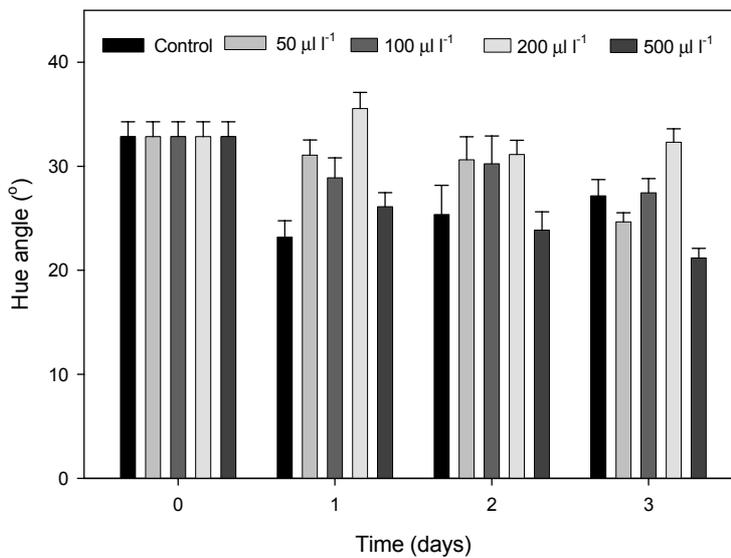


Fig. 33. Changes in hue angle (°) of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 µl l⁻¹ NO during 5 days storage at 18C in air. Data represent mean ± SE.

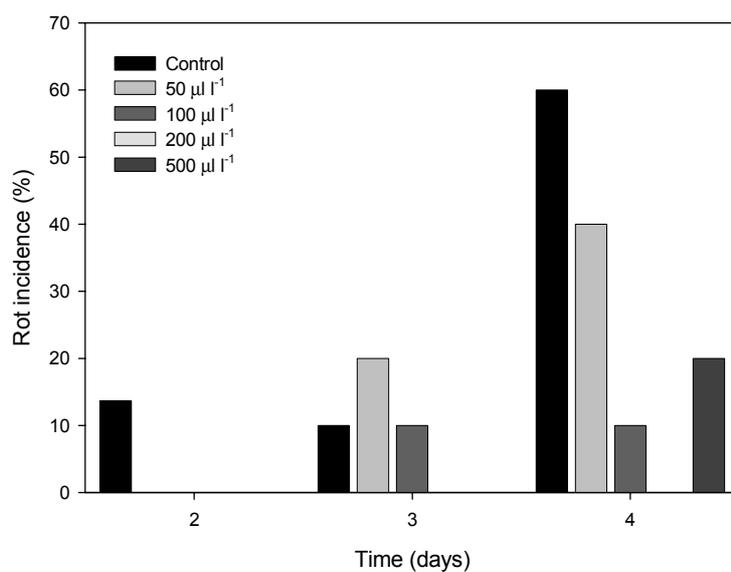


Fig. 34. Rot incidence of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO during 5 days storage at 18C in air.

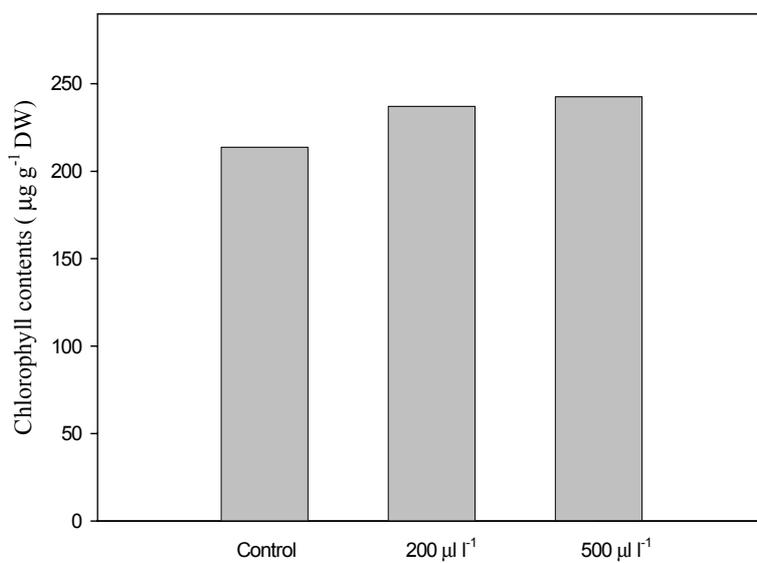


Fig. 35. Chlorophyll contents of 'Yukbo' strawberry treated with 200 and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO during 5 days storage at 18C in air.

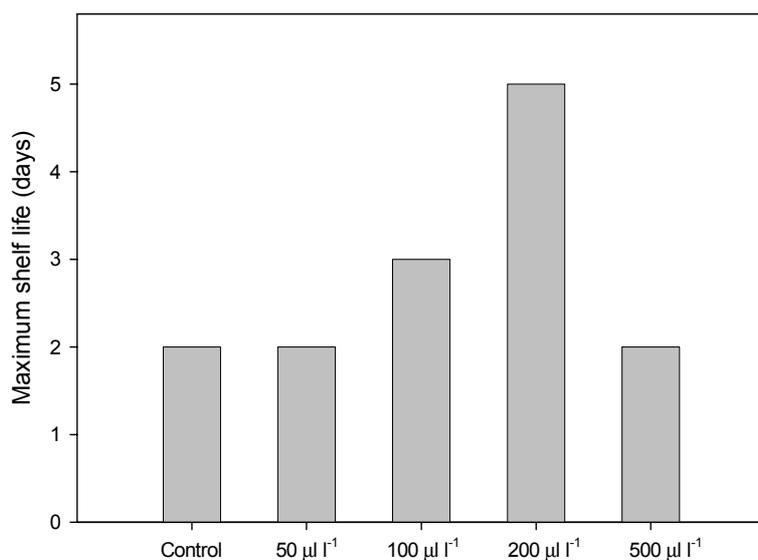


Fig. 36. Maximum shelf life of 'Yukbo' strawberry treated with 50, 100, 200 and 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO at 18C in air.

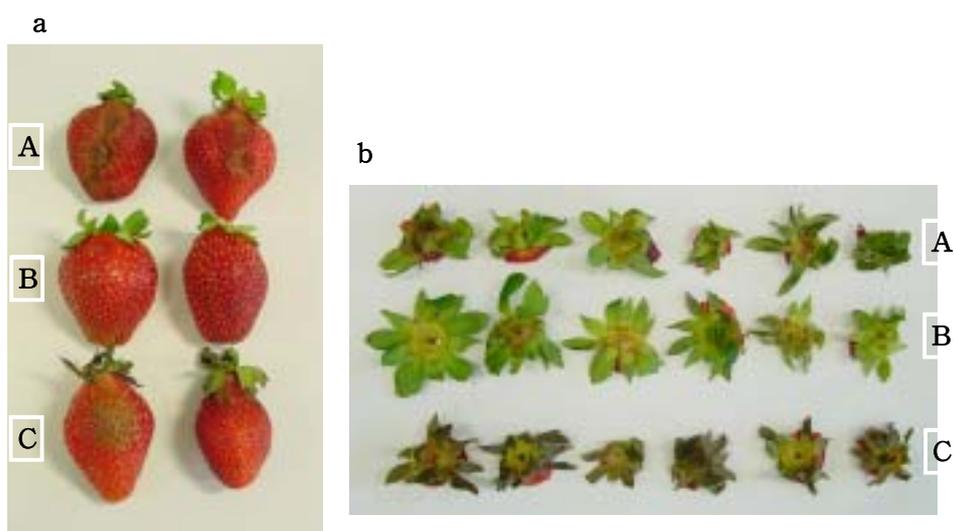


Fig. 37. Changes in fruit quality (a) and calyx browning (b) after 4 days storage at 18C in air. A, without treatment; B, treated with 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO; C, treated with 500 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO.

나. NO 적정 처리 시간 결정

NO 처리 농도별 비교를 통해 딸기에 최적 NO 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO임을 확인하고 최적 처리 시간을 확인하고자 본 실험을 수행하였다. 실험에 적용된 시간은 2, 5, 10 시간이며 각각 처리 후에 18°C 에서 저장하면서 품질을 검사하였다. 무게 감모율은 처리 시간이 길어짐에 따라 감모율 감소 폭이 줄어들었으며, 대조구에서 가장 심하게 나타났다(Fig. 38). 호흡량은 대조구의 경우 저장 5일째 8%까지 증가를 보인 반면 10시간 처리구에서는 3% 대로 유지되었다. 5시간 처리도 대조구나 2시간 처리에 비해서 호흡량이 감소되나 10시간 처리가 가장 효과가 좋았다(Table 4). 기존 딸기를 이용한 연구논문 중 1-methylcyclopropene(1-MCP)을 이용한 연구는 본 실험과 유사성이 있다. 1-MCP는 에틸렌의 활성을 억제시키는 물질로 NO 역시 에틸렌의 생성량을 줄인다는 측면에서는 유사하다. 그러나 1-MCP를 딸기에 적용 시 호흡에 어떠한 영향도 미치지 못하고, 따라서 저장력 증진에도 효과가 없다는 결과가 있다(Ku 등, 1999). 그러나 NO를 이용한 본 연구에서는 호흡을 줄이는데 탁월한 효과가 있는 것을 확인하였다. 이 부분에 관련해서는 좀더 세부적이 연구가 요구된다.

소비자들이 딸기를 선택 시 가장 중요시하는 것은 색깔이다. 이를 확인하기 위해서 색차계를 이용하여 Hunter L 값과 a 값을 측정하였다. 대조구는 저장 일수가 경과됨에 따라 과실의 밝기를 나타내는 Hunter L 값이 감소되었으나, 10시간 처리구에서는 저장 기간동안 초기 값을 유지하였다. Hunter a 값은 저장 4일에 처리 시간에 따라서 대조구에서는 감소를 보이지만, 처리구에서는 높게 유지되었다. 이는 과실이 붉게 유지되었다는 것을 의미한다. 그러나 저장 기간동안에는 대조구, 처리구 모두 변화가 없었다(Table 5).

곰팡이는 5일 경과 후에 발생되었으며 대조구에서는 57.1% 발생된 반면 NO 처리구에서는 30% 내외였다(Fig. 39). 과실의 품질은 0-5로 수치화하여 총 시료 중 상태가 좋은 것을 백분율로 표시하였다. 2시간과 5시간 처리구에서 품질이 좋게 나타났다. 그러나 2시간 처리구는 이산화탄소 발생량이 많아 효율성이 5시간 처리보다 적다. 10시간 처리구는 조사항목 모두에서 제일 좋은 결과를 보이지만 품질 면에서 3일 경과 후부터 급격히 저하된다(Fig. 40). 이는 NO 처리 시 챔버에 장시간 머물러 있었기 때문에 품질의 저하가 발생했다고 생각된다. 그러나 이산화탄소 발생량 및 무게손실이 다른 처리에 비해서 좋게 나타났는지에 대해서는 의문시 된다.

다. 종합 고찰

이상의 결과를 종합하면 NO를 딸기에 적용 시 저장력 증대에 효과적이며, 적정 농도는 $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO이고 처리 시간은 5시간을 처리하는 것이 효율적이다. 또한 딸기에 NO 처리 시 가장 효과를 볼 수 있었던 것은 호흡과 꽃받침의 갈변을 억제한 것이다. 본 연구에서는 딸기에서 NO의 적용성을 검증하였지만, 다음 연구에서는 호흡과 갈변 억제의 생리적 기작에 대한 연구가 요구된다.

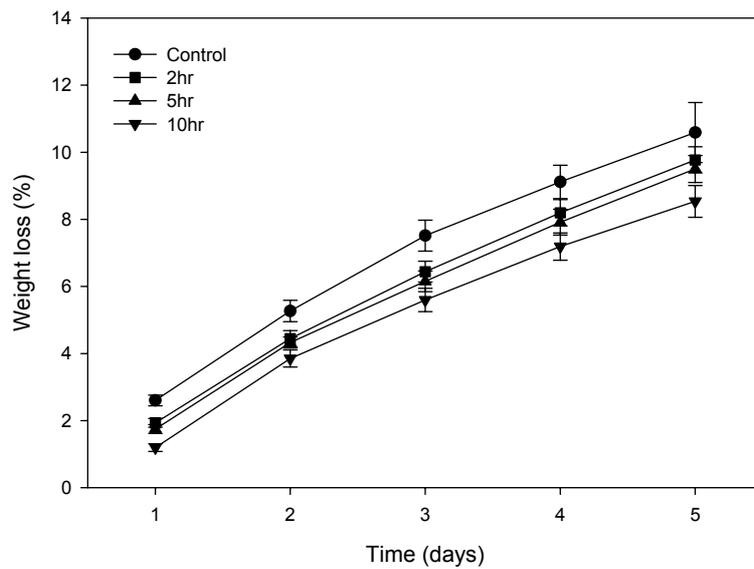


Fig. 38. Changes in weight loss of 'Yukbo' strawberry treated with $200\mu\text{l l}^{-1}$ NO during 2hr, 5hr or 10hr, and then stored at 18C in air. Data represent mean \pm SE.

Table 4. Carbon dioxide production of 'Yukbo' strawberry treated with 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO for 2hr, 5hr or 10hr.

Treatment	Carbon dioxide ($\text{ml kg}^{-1} \text{h}^{-1}$)			
	2day	3day	4day	5day
Control	42.37 a ^z	61.68 a	70.28 a	78.37 a
2hr	33.66 b	47.90 b	47.90 b	64.17 ab
5hr	33.12 b	43.57 bc	46.25 b	47.62 bc
10hr	25.47 c	38.78 c	37.86 c	35.85 c

^zMean separation within column by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

Table 5. Hunter value of 'Yukbo' strawberry treated with 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ NO for 2hr, 5hr or 10hr.

Treatment	Storage time (Days)		
	2	3	4
	Hunter L value		
Control	39.15 ab ^z A ^y	37.65 a A	35.15 b B
2hr	38.61 ab A	38.09 a A	38.75 a A
5hr	40.59 a A	40.07 a B	37.27 ab B
10hr	36.53 b A	34.20 b A	36.82 ab A
	Hunter a value		
Control	33.68 b A	32.19 b A	32.23 b A
2hr	35.43 ab A	33.38 ab A	35.05 ab A
5hr	37.06 a A	36.38 a A	35.63 a A
10hr	34.42 b A	33.78 ab A	35.15 ab A

^{z,y}Mean separation within column and row respectively by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

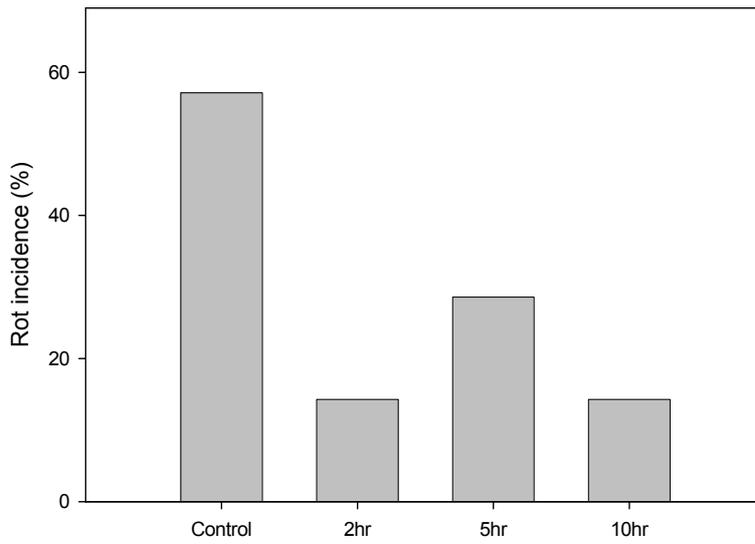


Fig. 39. Rot incidence of 'Yukbo' strawberry treated with $200 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 2hr, 5hr or 10hr, and then stored at 18C in air.

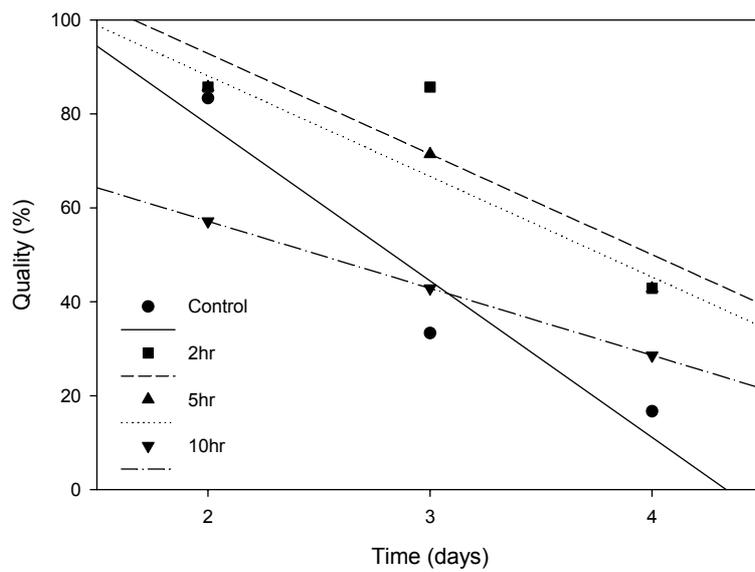


Fig. 40. Changes in quality of 'Yukbo' strawberry treated with $200 \mu\text{l l}^{-1}$ NO for 2hr, 5hr or 10hr, and then stored at 18C in air.

제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 목표달성도

1. 국내산 딸기와 키위, 복숭아 저장의 효율성 증대를 위한 N₂O 최적조건확립

가. N₂O 최적조건 확립

연구개발 목표	수행내용	달성도
N ₂ O 최적조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 다양한 농도의 N₂O와 O₂를 혼합하여 시간별 처리 - 저장 온도 조건 변화를 통한 적정 환경조사 - 적정 저온저장 시 저장기간에 따른 품질변화 양상 조사 	달성

나. N₂O 작용에 대한 기작 구명

N ₂ O 작용에 대한 기작 구명	<ul style="list-style-type: none"> - N₂O 처리 후 호흡, 에틸렌 함량 및 과실 생리에 미치는 영향 조사 - 유통중 문제되는 복숭아 갈변에 관해 N₂O 효과 조사 - 저장 중 곰팡이 발생 억제에 미치는 N₂O의 연관성 조사 	90%
-------------------------------	---	-----

다. N₂O 처리 실용화 방안 모색

N ₂ O 처리 실용화 방안 모색	<ul style="list-style-type: none"> - 실험실에서 도출된 N₂O의 최적 처리조건을 토대로 현재 유통되는 포장 형태를 이용한 실증실험 	95%
-------------------------------	--	-----

2. 국내산 딸기와 키위, 복숭아 저장의 효율성 증대를 위한 NO 최적조건 확립

가. NO 처리조건 확립

연구개발 목표	수행내용	달성도
NO 처리조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> - NO의 산화 현상을 막기 위한 챔버 제작 및 최적조건 확립 - 챔버 내 산소제거를 위한 N₂ 및 NO의 최적 처리시간 조사 	달성

나. 복숭아 품종에 따른 NO 처리 효과

연구개발 목표	수행내용	달성도
복숭아 품종에 따른 NO 처리 효과 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 복숭아 ‘창방조생’과 ‘미백도’의 품종별 NO 처리 - 복숭아 저장 전 · 후에 NO 처리를 통한 유통 중 품질유지를 위한 적정 처리시기 결정 - 저장 시일 경과에 따른 품질 변화 및 생리적 변화 조사 	달성

다. ‘미백도’ 복숭아의 성숙 시기에 따른 NO 처리효과

연구개발 목표	수행내용	달성도
‘미백도’ 복숭아의 성숙 시기에 따른 NO 처리효과	<ul style="list-style-type: none"> - 성숙단계와 미성숙단계의 과실을 수확하여 NO처리 - 성숙 단계에 따른 NO 처리 효과 확인하여 시장 출하 시 경쟁력 가능한 적정 수확시기 제시 	달성

라. 키위과실의 저장기간에 따른 비교

연구개발 목표	수행내용	달성도
키위과실의 저장기간에 따른 비교	<ul style="list-style-type: none"> - 유통 중 에틸렌에 민감한 키위과실의 NO 처리 가능성 확인 - 저장 시기를 달리하여 저장 일수에 따른 NO 반응성 확인 - 저장 중 품질 변화 조사 및 곰팡이 발생에 미치는 영향 조사 - 저장 중 발생하는 에틸렌과 호흡에 대한 반응성 조사 - NO 처리 농도에 따른 에틸렌과의 반응성 조사 	<p>달성</p> <p>90%</p>

마. ‘육보’ 딸기에 미치는 NO의 영향

연구개발 목표	수행내용	달성도
‘육보’ 딸기에 미치는 NO의 영향	<ul style="list-style-type: none"> - 처리농도를 저농도, 고농도로 높여가면서 적정 농도 확인 및 품질 조사 - 처리시간을 단계적으로 증진시키면서 최상의 품질유지를 위한 처리시간 조사 - 딸기 꽃받침의 갈변에 미치는 NO의 영향 조사 	<p>달성</p> <p>95%</p>

제 2절 관련분야에 의 기여도

	연구개발 내용	관련분야	기여도
N ₂ O	최적 조건 확립	생산농가, 저장 · 유통업체	과실의 저장 및 유통 중 품질 안정화
	작용에 대한 기작 구명	유통업체, 학계	N ₂ O의 작물 적용에 대한 가능성 제시
	실용화 방안 모색	생산농가, 유통업체	과실의 저장 유통 기간 확대와 품질 향상
NO	처리조건 확립	생산농가, 유통업체	처리조건 확립으로 인한 농가 및 유통업체 노력절감
	복숭아 품종별 비교	생산농가	품종별 비교에 의한 농가의 품종 선택 시 노력 감소
	‘미백도’ 복숭아의 성숙 시기에 따른 NO 처리효과	생산농가, 유통업체	조기 수확으로 유통 중 손실 감소
	키위과실 저장기간에 따른 비교	생산농가, 저장 · 유통업체	저온 저장 키위과실의 품질 신뢰도 향상
	‘육보’ 딸기에 미치는 NO의 영향	생산농가, 유통업체	유통기간 연장에 의한 소비자 신뢰도 확보

제 5장 연구개발 결과의 활용계획

제 1절 국내산 복숭아와 키위, 딸기 저장의 효율성 증대를 위한 N₂O 최적조건확립

다양한 농도의 N₂O와 O₂를 혼합하여 시간별, 온도별로 국내에서 생산되는 딸기와 키위과실, 복숭아에 처리함으로써 과실류의 저장력을 증진시킬 수 있는 최적의 조건을 찾는 데 그 주안점을 두었다. 다양한 조건으로 처리한 후 당도, 경도, 중량감모율, 관능검사 등의 품질변화양상 측정을 통하여 최적의 N₂O와 O₂의 적용 조건을 제시할 수 있었다. 현재 N₂O 작용 기작의 근거로 제시되고 있는 ethylene과의 관계를 조사함으로써 과실류에서 N₂O 작용에 대한 기작을 구명하고자 했다. 이에 따라 ethylene에 민감하게 반응하는 키위과실을 이용하여 N₂O와 O₂ 처리 후 호흡률과 ethylene 생성량의 변화를 측정하였다. 그 밖에, 복숭아에서 압상의 억제 효과, 키위과실과 딸기에서의 부패율 억제 차이 등을 확인함으로써 과실류에서 N₂O 작용의 기작이 ethylene에 국한되지 않는다는 결론을 얻었다. 이상의 결과를 바탕으로 원예작물 저장분야에 새로운 기술로의 접목을 도모하고자 한다.

제 2절 국내산 복숭아와 키위, 딸기 저장의 효율성 증대를 위한 NO 최적조건확립

NO를 농산물의 저장에 접목한다는 새로운 시도이다. NO의 공기 중에서 쉽게 산화되는 현상을 막기 위해서 챔버 제작을 실시하고 NO 처리를 위한 최적의 조건을 확립하였다. 또한 다양한 품종을 가지고 있는 복숭아에 적용시킴으로써 같은 과실이라도 품종에 따라서 NO에 반응하는 것이 다르다는 것을 확인하였다. 복숭아 유통의 가장 큰 문제점은 저장성이 약하다는 데 있다. 유통기간을 며칠 더 연장시킬 수 있는 기술을 확보한다면 농가 소득에 큰 영향을 미칠 수 있을 것이다. 따라서 과실 수확시기에 따른 NO의 영향을 조사함으로써 복숭아의 수확시기를 조정하고자 하였다.

유통 중 에틸렌에 민감한 과실인 키위과실의 NO 처리 가능성을 확인하였으며, 특히 단기 저장된 키위과실에서 에틸렌 발생시기를 늦추는데 효과가 좋았으며 곰팡이 제거에도 효과가 입증되었다.

원예작물 중에서 특히 호흡률이 높은 딸기에서 효과를 보였는데, 대조구에 비해서는 1/2 가량 호흡률이 감소되었다. 딸기는 호흡에 의해서 품질 저하가 급격히 이루어지는데 이러한 것을 방제할 수 있는 가능성이 제시된다. 또한 유통 중 딸기의 꽃받침이 쉽게 갈변이 이루어지는데 NO는 엽록소 유지에 효과가 탁월하였다. 본 연구는 농산물 저장에서 NO 관련 연구의 기본 자료로서 제시하고자 한다.

제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1절 원예분야에서 N₂O 관련 연구

N₂O를 식물에 적용한 예는 극히 드물다. 초기에 이루어진 연구들은 대부분 원예학적 관점에서보다 마취의 원리에 기초하여 식물에서도 유사한 작용이 일어날 것인가에 관한 것들이었다. Sowa 등(1987, 1991)은 소의 심장과 강낭콩의 미토콘드리아를 각각 N₂O + O₂ 혼합 가스로 포화시켰을 때 모두 산소 이용도가 감소하였으며 특히 N₂O의 농도가 80%의 고농도일 때 가장 낮았다고 보고하였다. N₂O는 매우 안정한 기체이기 때문에 특히 대표적인 불활성 가스인 아르곤과 함께 혼합하여 채소에 처리함으로써 효소의 작용을 억제하여 특히 호흡을 억제할 수 있다는 보고가 있으며(Brian, 1998; Chervin 등, 1992; Ferguson, 1987; Spencer, 1995), 이와 같은 내용은 미국과 유럽에 특허로도 등록된 바 있다(Fath 등, 1992). Ozdemir 등(2004)은 벚꽃과 사과에 N₂O를 비롯한 헬륨, 아르곤, 네온, 질소 등을 각각 처리했을 때 혐기성 이화 작용에는 큰 영향을 미치지 못했음을 보고하는 등 N₂O의 불활성을 이용한 연구는 최근까지 진행되고 있다. 한편 Girardon(1994)은 N₂O가 에틸렌의 길항 물질로서 성숙을 지연시키고 *Botrytis*, *Rysopos*, 그리고 *Penicillium*을 억제시켜서, 호흡급등형 과실에 적용했을 때 저장 기간을 2일에서 8일까지 연장시킬 수 있음을 제시했다. 이후 Gouble 등(1995)은 N₂O를 토마토와 아보카도에 처리하여 각각 에틸렌, ACC, ACC 산화 효소, ACC 합성 효소 등의 변화를 측정함으로써 N₂O의 항에틸렌 효과를 밝히고자 하였다. 이에 따르면 N₂O는 에틸렌 최대 발생 시점을 5일정도 지연시켰으며 아보카도에서 ACC 합량과 ACC 합성 효소의 활성 증가를 억제하는 경향을 나타내었다. 이는 N₂O가 CO₂와 유사한 성질을 가지고 있기 때문이라고 할 수 있다(Gouble 등, 1995). 그러나 과실의 품질과 관련한 연구가 이루어지지 않아 N₂O의 작용에 대한 설명에 미흡한 점이 있다. 이후 양파를 이용한 N₂O 효과 연구에서, 멍아 발생 억제에는 효과가 없었으나 부패 억제는 뚜렷한 효과를 나타내었다는 보고가 있다(Benkeblia 등, 2001; Benkeblia 등, 2003). N₂O의 살균제 작용에 관한 연구도 수행되었는데, 딸기에 잿빛곰팡이병균을 감염시키고 N₂O를 처리한 결과 10일 이상 병 발생을 억제시킬 수 있었으며 이는 N₂O의 처리 농도가 높고 처리 기간이 길수록 효과가 크다고 보고 되었다(Shoun, 1992; Qadir와 Hashinaga, 2001a). 또한 곰팡이를 배양하여 직접 N₂O를 처리하였을 때에도 유사한 결과를 얻었으며, 곰팡이의 종에 따

라 N_2O 의 감응 정도가 다르게 나타난다는 사실이 밝혀졌다(Qadir와 Hashinaga, 2001b).

제 2절 원예분야에서 NO 관련 연구

NO는 free radical gas로써 식물체에서 NO의 존재의 유무와 특성에 관련된 연구는 Leshem(1996, 1998)과 Leshem 과 Haramaty(1996)에 의해서 완두 잎에서 처음 소개되었다. 완두 잎은 에틸렌보다도 더 많은 양의 NO를 방출한다. 에틸렌 전구체인 aminocyclopropane-1-carboxylic acid(ACC)의 처리는 NO와 에틸렌 둘다의 발생을 촉진시켰으며, 이러한 증거로 성장하고 있는 식물체에서 에틸렌의 생성은 NO에 의해서 조절될 수 있다는 것을 의미한다(Leshem와 Haramaty, 1996; Leshem 등. 1998). 가뭄, 열, 염분과 같은 자연 스트레스 하에 식물체가 놓이게 되면 NO의 생성이 두드러지는데 이것은 NO가 자연 스트레스의 대처 물질로써 작용한다는 것을 의미한다(Leshem와 Haramaty, 1996). 결과적으로 NO는 식물체에서 환경 스트레스에 대처하기 위한 반응인 'general adaptation syndrome (GAS)'반응의 요인일 수 있다는 것을 제시한다.

과일, 채소 그리고 꽃등에서 생성되는 NO는 성숙된 과실보다는 미숙과에서 발생량이 높다가, 에틸렌 발생이 많아지는 시점에 NO의 생성량이 감소된다(Leshem 등, 1998). 외생 NO의 처리는 호흡급등형 과실과 비호흡급등형 과실 모두에서 성숙을 지연시켰으며, 일반적인 노화시기도 늦추었다. NO의 또 다른 작용중에 하나는 엽록소 파괴를 막는다는 것이다. NO는 분자량이 작으며 확산속도가 빠른 기체물질이다. 이러한 성질 때문에 빠른 시간 내에 세포내로 쉽게 확산되어가는 특징을 가지고 있다. 또한 세포 속에서 미토콘드리아와 같은 세포내 소기관들에 영향을 미친다. 그래서 결과적으로 미토콘드리아의 작용을 저해시켜 호흡에 영향을 미친다(Laxalt 등, 1997). 병원균에 감염된 감자 잎은 엽록소가 쉽게 파괴되지만, NO 발생 물질인 sodium nitroprusside(SNP)가 처리된 감자잎은 녹색으로 유지되었다(Laxalt 등, 1997). 하지만 NO의 원예작물 적용 실험에서 가장 큰 문제점은 NO_2 로의 빠른 산화이다(Snyder, 1992). 따라서 NO 처리 시에는 산소가 없는 조건하에서 처리를 해야 한다.

제 7장 참고문헌

- Antunes, M.D.C., I. Pateraki, A.K. Kanellis and E.M. Sfakiotakis. 2000. Differential effects of low temperature inhibition on the propylene induced autocatalysis of ethylene production, respiration and ripening of 'Hayward' kiwifruit. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75:575-580.
- Arpaia, M.L., J.M. Labavitch, C. Greve and A.A. Kader. 1987. Changes in cell wall components of kiwifruit during storage in air or controlled atmosphere. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112:474-481.
- Bautista-Banos, S., P.G. Long and S. Ganesh. 1997. Curing of kiwifruit for control of postharvest infection by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biol. Technol.* 12:137-145.
- Behnke, J.R., O. Fennema and W.D. Powrie. 1969. Enzyme-catalyzed reactions as influenced by inert gases at high pressures. *J. Food Sci.* 34:370-375.
- Benkeblia, N. and P. Varoquaux. 2003. Effect of nitrous oxide (N₂O) on respiration rate, soluble sugars, and quality attributes of onion bulbs *Allium cepa* cv. Rouge Amposta during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 30:161-168.
- Benkeblia, N., P. Varoquaux and B. Gouble. 2001. Effect of nitrous oxide (N₂O) shocks on sprouting and rotting of onion bulbs (*Allium cepa* L.). *Sci. Aliments* 21:193-198.
- Brian, D. 1998. Novel MAP. *Food Manufact.* 73:22-28.
- Chague, V., Y. Elad, R. Barakat, P. Tudzynski and A. Sharon. 2002. Ethylene biosynthesis in *Botrytis cinerea*. *FEMS Microbiology Ecology* 40:143-149.
- Cheng, W. and C.H. Crisosto. 1995. Browning potential, phenolic composition, and polyphenoloxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120:835-838.
- Chervin, C. and M.C. Thibaud. 1992. Inhibition of plant and animal cytochrome C oxidase by nitrous oxide as a function of cytochrome c concentration. *Biochimie.* 74:1125-1127.
- Choi, J.H. and S.K. Lee. 1999. Pectic substances associated with woolliness of peaches. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40:574-576.

- Choi, J.H. and S.K. Lee. 2003. Effect of cold storage on quality of 'Mibaekdo' peach fruit during ripening. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 44:277-280.
- Chung, H.S., J.K. Kim, W.W. Kang, K.S. Youn, J.B. Lee and J.U. Choi. 2002. Effect of nitric oxide pretreatment on quality of MA packaged peaches. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 34:1018-1022.
- Dong, A., P. Huang, X.J. Zhao, V. Sampath and W.S. Caughey. 1994. Characterization of sites occupied by the anesthetic nitrous oxide within proteins by infrared spectroscopy. *J. Biol. Chem.* 269:23911-23917.
- Einarsdottir, O. and W.S. Caughey. 1988. Interactions of the anesthetic nitrous oxide with bovine heart cytochrome c oxidase. *J. Biol. Chem.* 263:9199-9205.
- Fath, D. and P. Soudain. 1992. Method for the preservation of fresh vegetables. United States patent. No. 5128160.
- Ferguson, S.J. 1987. Denitrification: a question of the control and organization of electron and ion transport. *TIBS* 12:354-357.
- Girardon, P. 1994. Study of the effect of nitrous oxide on ethylene biosynthesis and ripening of climacteric fruits. *Le froid et la qualite des legumes frais.* 343-344. (Abstr.)
- Gouble, B., D. Fath and P. Soudain. 1995. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 5:311-321.
- Hertog, M.L.A.T.M., S.E. Nicholson and P.B. Jeffery. 2004. The effect of modified atmospheres on the rate of firmness change of 'Hayward' kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 31:251-261.
- Inskeep, W.P. and P.R. Bloom. 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiol.* 77:483-485.
- Kepczynska, E. 1994. Involvement of ethylene in spore germination and mycelial growth of *Alternaria Alternata*. *Mycol. Res.* 98:118-120.
- Ku, V.V.V., R.B.H. Wills and S. Ben-Yehoshua. 1999. 1-Methylcyclopropene can differentially affect the postharvest life of strawberries exposed to ethylene. *HortScience* 34:119-120
- Ku, V.V.V., R.B.H. Wills and Y.Y. Leshem. 2000. Use of nitric oxide to reduce

- postharvest water loss from horticultural produce. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75:268-270.
- Laxalt, A.M., M.V. Beligni and L. Lamattina. 1997. Nitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. *European J. Plant Pathol.* 103:643-651.
- Leshem, Y.Y. and E. Haramaty. 1996. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetable stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage. *J. Plant Physiol.* 148:258-263.
- Leshem, Y.Y., R.B.H. Wills and V.V. Ku. 1998. Evidence for the function of the free radical gas - nitric oxide (NO.) - as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plant. *Plant Physiology and Biochemistry* 36:825-833.
- Leshem, Y.Y. 1996. Nitric oxide in biological systems. *Plant Growth Regul.* 18:155-159.
- Lill, R.E., E.M. O'Donoghue and G.A. King. 1989. Postharvest physiology of peaches and nectarines. *Hort. Rev.* 11:413-452.
- MacRae, E.A., N. Lallu, A.N. Searle and J. Bowen. 1989. Changes in the softening and composition of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) affected by maturity at harvest and postharvest treatments. *J. Sci. Food Agri.* 49:413-430.
- Margosan, D.A., J.L. Smilanick, G.F. Simmons and D.J. Henson. 1997. Combination of hot water and ethanol to control postharvest decay of peaches and nectarines. *Plant Disease* 81:1405-1409.
- Mitchell, F.G. 1990. Postharvest physiology and technology of kiwifruit. *Acta Hort.* 282:291-307.
- Ozdemir, I.S., P.J. Varoquaux, F. Tournemelle and F. Yildiz. 2004. Effect of noble gases, nitrous oxide and nitrogen on the anaerobic metabolism and quality attributes of mushroom (*Agaricus bisporus* L.) and sliced apple (*Malus sylvestris* Mil.). *Sci. Aliments* 24:233-245.
- Qadir, A. and F. Hashinaga. 2001a. Inhibition of postharvest decay of fruits by nitrous oxide. *Postharvest Biol. Technol.* 22:279-283.
- Qadir, A. and F. Hashinaga. 2001b. Nitrous oxide inhibits in vitro growth of multiple postharvest fungi. *HortScience* 36:1302-1304.

- Ritenour, M.A., C.H. Crisosto, D.T. Garner, G.W. Cheng and J.P. Zoffoli. 1999. Temperature, length of cold storage and maturity influence the ripening rate of ethylene-preconditioned kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 15:107-115.
- Shoun, H., D.H. Kim, H. Uchiyama and J. Sugiyama. 1992. Denitrification by fungi. *FEMS Microbiol. Lett.* 94:277-282.
- Smith, R.B. 1992. Controlled atmosphere storage of 'Redcoat' strawberry fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:241-247.
- Smith, R.B. and L.J. Skog. 1992. Postharvest carbon dioxide treatment enhances firmness of several cultivars of strawberries. *HortScience* 27:420-421.
- Snyer, S.H. 1992. Nitric oxide: first in a new class of neurotransmitters. *Science* 257:494-496.
- Sowa, S. and L.E. Towill. 1991. Effects of nitrous oxide on mitochondrial and cell respiration and growth in *Distichlis spicata* suspension cultures. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 27:197-201.
- Sowa, S., A. Dong, E.E. Roos and W.S. Caughey. 1987. The anesthetic nitrous oxide affects dioxygen utilization by bovine heart and bean seed mitochondrial particles. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 144:643-648.
- Sowa, S., E.E. Roos and F. Zee. 1991. Anesthetic storage of recalcitrant seed: nitrous oxide prolongs longevity of lychee and longan. *HortScience* 26:597-599.
- Spencer, K.C. 1995. The use of argon and other noble gases for the MAP of foods. In: *Proceedings of the International Conference on MAP and Related Technologies*. Chipping Campden, Glos. pp. 278-285.
- Stow, J.R., C.J. Dover and P.M. Genge. 2000. Control of ethylene biosynthesis and softening in 'Cox's orange pippin' apples during low-ethylene, low-oxygen storage. *Postharvest Biol. Technol.* 18:215-225.
- Tian, M.S., Y. Gong and A.D. Bauchot. 1997. Ethylene biosynthesis and respiration in strawberry fruit treated with diazocyclopentadiene and IAA. *Plant Growth Regul.* 23:195-200.
- Wills, R.B.H., V.V.V. Ku and Y.Y. Leshem. 2000. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries. *Postharvest Biol. Technol.*

18:75-79.

Yang, Y.J. 1994. Postharvest quality retention during modified and controlled atmosphere storage in strawberry. Kor. Soc. Hort. Sci. Horticulture Abstracts 12:78-79.

Zapata, S. and J.P. Dufour. 1992. Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic acid simultaneous determinations by reverse phase ion interaction HPLC. J. Food Sci. 57:506-511.

