

발간등록번호

11-1543000-002396-01

수출용 신선 농식품
고품질화를 위한
냄새지문 활용
부패감지기 개발
최종보고서

2018.09.27

주관연구기관 / 송실대학교 산학협력단

농림축산식품부

11-1543000-
002396-01

수출용 신선 농식품 고품질화를 위한 냄새지문 활용
부패감지기 개발 최종보고서

2018

농림축산식품부

수출전략기술개발사업 R&D Report

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “수출용 신선 농식품 고품질화를 위한 냄새지문 활용 부패감지기 개발” (개발기간 : 2015.08.14. ~ 2018.08.13)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018 . 09 . 27 .

주관연구기관명 : 숭실대학교 산학협력단 문용 (인)

주관연구책임자 : 서정아

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	315043-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2015.08.14. ~2018.08.13	단 계 구 분	
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	수출전략기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	수출용 신선 농식품 고품질화를 위한 냄새지문 활용 부패감지기 개발			
연구책임자	해당단계 참여연구원 수	총: 30 명 내부: 15 명 외부: 15 명	해당단계 연구개발비	정부: 500,000천원 민간: 125,000천원 계: 625,000천원	
	총 연구기간 참여연구원 수	총: 53 명 내부: 24 명 외부: 29 명	총 연구개발비	정부: 1,500,000천원 민간: 375,000천원 계: 1,875,000천원	
연구기관명 및 소속부서명	송실대학교 산학협력단			참여기업명 농업회사법인 (주)농산 영농조합법인 송원 APC 농업회사법인 썸머힐상사(주) (주) 에어웍스	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반
-------------------------	----

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설· 장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품중	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	✓	✓				✓					

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)	보고서 면수
---	--------

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 신선 농식품 수출 전략 3품목(파프리카, 사과, 딸기)의 부패 단계별 미생물 정보 DB구축 ○ 신선 농식품 수출전략 3품목의 부패관련 미생물과 부패냄새의 상관성 분석 및 부패 기작 규명 ○ 신선 농식품 수출전략 3품목의 부패 단계별 냄새마커 발굴 및 냄새분석 ○ 네트워크 분석기법을 이용한 농식품 냄새지문 DB 구축 및 부패진행도 예측모델개발 ○ 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발 ○ Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수출 전략 농식품 3품목 (사과, 파프리카, 딸기)의 시료 수집 및 부패지수 확립 및 미생물 DB구축 <ul style="list-style-type: none"> - 참여기업(3개 농업회사법인) 현장으로부터 사과, 파프리카, 딸기 수확 후 완전 숙성 단계 시료 및 부패단계 별 시료수집 : 사과 (홍로, 부사), 파프리카 (마주로, 시로코, 오렌지프로, 볼란테), 딸기 (장희, 설향) - 부패단계별 부패율에 따른 부패지수 5단계 확립 : DI 0 = 0, 0 < DI 1 ≤5, 5 < DI 2≤20, 20 < DI 3 ≤50, 50 < DI 4 - 품목별 부패단계별 미생물 군집 정보해독 및 분석 : <ol style="list-style-type: none"> 1) Illumina사의 MiSeq 플랫폼을 이용한 메타지놈 시퀀싱 2) 염기서열간의 유사도를 기반으로 하여 다양한 data베이스 (SILVA, GeneBank 등) 와 분석프로그램(QIIME, MOTHUR, VAMPS 등)을 최대한 활용하여 미생물 프로파일링 분석 3) 시료내 미생물 군집의 다양성, 유사성 분석, 부패단계별 미생물 군집 변화측정 4) 분석 결과 바탕으로 파프리카, 딸기, 사과의 부패 단계별 미생물 군집의 생명정보 DB 구축 ○ 신선 농식품 수출전략 품목의 부패관련 미생물과 부패냄새의 상관성 분석 및 부패 기작 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 현장 수집 시료로부터 품목별, 품종별 부패원인 진핵 미생물 분리·동정 : 사과 (홍로 14종 44개체, 부사 45종 45개체), 파프리카 (20종 54개체), 딸기 (7종 47개체) - 품목별 분리·동정한 부패원인군 인공접종에 의한 부패율에 따른 부패지수확립 - 주요 부패원인군의 효소 활성능, 최적 온도, 독소 분석 등 미생물 특성을 조사하여 http://fungeon.ssu.ac.kr/cgi-bin/fungistrain/stdb_main.cgi에 균주 DB 구축 ○ 신선 농식품 수출전략 품목의 부패 단계별 냄새마커 발굴 및 냄새분석 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 (사과, 파프리카, 딸기)의 휘발성 유기화합물 (VOC) 성분 최적 추출법 (SPME법) 확립 - 품목별 부패단계별 GC-MS를 이용한 냄새 성분 동정 및 정량 분석 : column 선정, cryo-focusing system 도입, 최적 oven program 확립, 최적 내부표준물질 선정 - Multivariate statistical analysis을 이용한 데이터 프로세싱 및 부패단계와의 상관관계를 규명하여 휘발성 냄새 마커 성분 선정 : 품목별 자연부패 시료 및 부패원인군 인공접종 시료 대상 - 모델시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명 : 사과 부패관련 휘발성 냄새 마커 성분인 styrene과 생성에 관여하는 부패 미생물인 <i>Penicillium expansum</i> 대상

<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 네트워킹 분석기법을 이용한 농식품 냄새지문 DB 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 부패단계별 GC-MS 데이터 (사과 부사 품종 3,040건, 시로코(R) 파프리카 1,215건, 볼란테(Y) 파프리카 1,200건, 오렌지프로 (O) 파프리카 1,140건, 딸기 2,640건)과 Metagenome 데이터 (사과 세균 9,792건, 사과 진균 4,378건, 파프리카 세균 8,907건, 파프리카 진균1,160건) DB 구축 - 부패 원인균별 부패 지수별 평균값에 대해 통계적 수치인 2-표준편차 이상 변화하는 유의미한 냄새 화합물을 선별함 (사과 77, 파프리카 (시로코(R) 77, 볼란테(Y) 42, 오렌지프로(O) 58), 딸기 23 화합물) - PCA 와 LDA 분석을 통한 특정 농산물의 냄새 프로파일과 부패균과의 상관성 분석 - 특정 냄새 프로파일로부터 부패균과 부패 단계 예측 모델 개발 : 예측 소프트웨어 등록 (제 C-2018-016100 부패정보분석기) ○ 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 부패 냄새 패턴 분석을 통하여 부패율과 가스센서간의 상관관계를 분석을 하여 TGS 2603, TGS 2602 센서 선정 - 농식품 평가를 위한 부패단계별 냄새센서 시스템의 최적화를 위하여 데이터 표준화를 통한 부패시료 판별 방법 구축 - 최종 DB 시스템에 WiFi 또는 TCP/IP 등의 인터넷 접속 방식으로 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보 전송이 가능하도록 개발 ○ Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> - Dual 센서 내장, OS 프로그램에 의한 펌프, 솔레노이드 밸브, 저장, 데이터 전송 및 표출기능을 구현한 부패감지 시제품 개발 - Bluetooth 및 WiFi 통신 모듈을 통한 스마트폰과 부패감지기 연결, 서버 시스템에 데이터 전송기능이 구비된 어플리케이션 개발 - 시제품의 현장 적용성 평가와 현장 적용 방안 도출 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 부패진행도 확립, 부패물질 분석법, 발굴되는 냄새마커물질, 식품 부패 관련 적정 센서 선정, 클라우드 방식의 휴대용 감지기 플랫폼 기술, 냄새물질 DB, 미생물 생명정보 DB 등은 타 농식품 및 가공품 부패감지기 제작에 활용이 가능하므로 중요한 수출전략 품목으로 확대 적용 가능함 ○ 국내 미생물 VOC 연구 수준 향상 및 냄새지문의 활용 범위 확대 ○ 부패냄새 판별이 가능한 휴대형 측정기의 개발/상용화를 통한 원천기술의 확보 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>신선 농식품</p>	<p>부패원인균</p>	<p>휘발성유기대사 산물</p>	<p>부패감지기</p>	<p>클라우드 시스템</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Fresh agri-food</p>	<p>fungal decomposition</p>	<p>volatile organic compound</p>	<p>spoilage detector</p>	<p>cloud system</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	6
2. 연구수행 내용 및 결과	27
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	498
4. 연구결과의 활용 계획 등	502

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

제1장. 연구개발과제의 개요

1절. 연구개발의 필요성

1. 국내 연구개발 배경

가. 전 세계적으로 인류의 생활수준이 향상되고 대부분의 선진국이 고령화시대가 되어감에 따라 건강에 대한 관심이 날로 증대되고 있으며 육식보다는 채식을 포함한 자연식품의 선호경향이 뚜렷하게 되고 그에 따라 웰빙(well-being)과 관련된 신선 농산물의 소비가 증가 추세임

나. 정부는 일본의 후쿠시마 원전사고, 중국에서 빈번히 발생하는 농식품의 안전문제 등이 이슈가 되면서 근거리 중국, 일본, 동남아 국가들에서 한국의 안전한 농산물에 대한 선호도가 높아지는 것을 기회로 농식품 수출 100억불의 정부정책 목표 달성을 위해 노력 중임

다. 농식품 수출 전략 품목은 총25개로 신선 농산물은 파프리카⁽¹⁾·딸기⁽²⁾·사과·배·단감 등을 포함하여 10개 품목⁽³⁾으로 이들의 생산성 향상 및 고품질화로 경쟁력을 높이고 수출시장의 다변화가 시급

※ ⁽¹⁾ 파프리카 : 한해살이 식물, capsanthin, β -cryptoxanthin, zeaxanthin 등 카로티노이드계 색소 함유, 매운맛 없고 단맛 강하며 vitamin A, B₁, C가 풍부한 알칼리성 강장식품, 최근 면역력증강 및 발암억제 효과로 국내 소비도 크게 증가 추세

⁽²⁾ 딸기 : 심혈관질환의 예방에 효과적, 매혹적인 색과 향기, 맛을 지니고 있어 수출 유망 작목 중 하나이나 과육이 연하고 수분함량이 높아 변질되기 쉽고 곰팡이에 의한 부패 발생으로 수확 후 저장·유통 기간이 매우 짧은 단점 가짐

⁽³⁾ 신선 농산물 10개 수출 전략 품목 : **파프리카, 딸기, 사과, 배, 단감, 토마토, 버섯, 인삼, 장미, 김치**

라. 농식품 전략 수출품목의 안정적이고 지속적인 물량확보 차질에 따른 수출 단가 하락을 방지하고 수출시장에서의 신뢰문제 해결을 위한 신선 농식품의 고품질화 기술개발 필요

마. 신선 농식품의 수확 후 부패 관리 미흡에 의한 경제적 손실률이 선진국(10%~) 대비 약 30%로 매우 큰 실정이므로 수확 후 농산물의 관리기술 고도화가 필요한 시점이며 특히 농산물 수출 확대에 따라 대상국까지의 선적 기간 내 부패를 예방하고 유통 단계까지 고품질을 유지할 수 있는 관리체계 구축이 시급

2. 국내외 학문 및 산업동향

가. 부패원인균 및 부패냄새 관련 휘발성물질에 대한 국내외 연구동향

- (1) 부패의 원인 미생물로는 대부분 진핵미생물인 사상성곰팡이가 식물 생육기간 중에 식물병원균으로 감염되어 부패의 원인이 되거나 수확 후 저장 시 환경으로부터 오염되는 부패균들에 의한 것으로 알려져 있으며 부패에 관련된 세균류는 일반적으로 모든 곳에서 검출되는 대장균류, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. 등임
 - (2) 부패의 원인균은 신선 농식품 품목별로 식물병원균의 기주특이성에 따라 검출되는 균류가 상이하며 다만 과실 수확 후 저장 상태에서 오염되는 부생곰팡이들은 공기 중에 많은 포자가 떠다니고 있는 *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* 속의 곰팡이들이 대부분으로 알려져 있음
 - (3) 독일의 연구팀은 곰팡이를 식물병원균, 부생균, 내생균류로 구분하고 GC-MS 분석법으로 곰팡이 자체의 휘발성유기대사산물(volatile organic compound, VOC)을 분석하였는데 54종의 VOC 중 15개가 신규물질로 확인되었으며 곰팡이냄새의 주요물질로 sesquiterpene을 지목하여 이 물질의 패턴이 생태적으로 나눈 3개 곰팡이군집의 특징과 상관관계가 있으며 VOC 프로파일이 곰팡이그룹이나 각 냄새물질생성 원인 곰팡이를 동정할 수 있다는 연구결과를 발표함(2013)
 - (4) 독일에서는 딸기의 부패에 *Botrytis* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. 등 20여 가지 내외의 곰팡이가 관여되며 수확 후 이들의 의한 부패를 방지하기 위해 훈증법, 열처리법, Ionizing radiation법, 저온파스퇴르법, UV처리법 등 수많은 보존법들을 적용하여 딸기 자체의 향미를 유지하면서 품질을 유지할 수 있는 방법들을 연구하고 있음(2014)
 - (5) 중국연구팀은 딸기의 부패 병원성 곰팡이 3종으로 인공접종하여 나오는 VOC 프로파일로부터 부패원인균별 냄새프로파일을 전자코(e-nose)로 96.6% 수준의 상관성으로 감별해 낼 수 있으므로 딸기의 초기 곰팡이에 의한 부패감지의 가능성을 제시하는 연구결과를 발표함(2014)
 - (6) 농산물의 부패과정에서 품목별로 농산물 특유의 향미와 혼합되어 부패원인균이 농산물의 영양분을 분해하면서 내는 특이한 휘발성냄새(VOC)의 패턴을 부패단계와 연계시키는 연구결과들이 몇몇 과실류에서 발표되고 있음
- ※ 사과 부패관련 냄새 : (저장 3주차) ethyl-2-methylbutanoate와 2-methylbutyl acetate 검출 (저장 4주차) 시큼한냄새, 쓴냄새, 즙냄새, 지린내 등의 냄새원인인 ethanol, ethyl acetate, ethylbutanoate, ethyl octanoate, dodecane이 검출 (저장 5주차) 시큼한냄새, 썩은냄새 원인 ethyl propanoate, propyl acetate, ethyl-2-methylbutanoate, 2-methylbutyl acetate, hexyl ethanoate 등이 검출

- (7) 이태리 연구팀은 각기 다른 품종의 오렌지의 VOC 프로파일이 유전적인 특성과 연관성이 높다는 연구를 하였으며 과일 자체에서 나오는 VOC는 113개로 다양하며 품종마다 향기의 주성분의 패턴이 상이하야 구별이 가능하다는 결과를 발표하였음(2014)
- (8) 국내외에서 사과, 딸기, 배, 토마토, 각종 과실류에 대한 부패원인균 관련 연구는 매우 다양하게 수행되었으며 특히 식물병원균과 농작물과의 연구역사는 매우 오래전부터 수행되어 온 농업생명공학분야의 대표적인 학문분야임. 최근의 첨단유전체학 기법으로 여러 미생물이 혼합되어 어떤 현상을 나타내는 경우 미생물 군집의 유전체를 전체적으로 해독하여 분석함으로써 연구대상 기작을 규명하려는 연구가 진행 중에 있음
- (9) 전 세계적으로 곰팡이의 VOC관련하여 식물의 뿌리에 공생하는 내생균근류가 내는 VOC는 식물의 근권에 긍정적인 영향을 주어 식물을 잘 자라게 하는 등, 최근 곰팡이의 VOC 관련된 연구가 급격히 부상하고 있는 추세임(2015)

나. 전자코 시스템의 개발 현황과 적용분야

- (1) 전자코를 이용하여 토마토의 저장시간별 냄새지문을 분석하여 저장시간별-냄새지문이 클러스터링되어, 냄새지문을 활용한 저장시간을 예측 가능성이 보고되었으며 복숭아의 저장기간 동안의 VOC 패턴인식으로 품질을 관리하는 등 과실류 자체의 숙성단계 감지, 과실류의 품종인식 등 농산물 수확 후 품질관리에 적용되는 레가 있음
- (2) 최근 축산물과 생선의 신선도를 판정하기 위한 자동화 기기가 생산 판매되고 있으며, 주로 부패에 의해 발생하는 암모니아와 같은 특정 물질의 농도를 색으로 변환하여 제시하는 원리를 채택하여 활용됨
- (3) 전자코는 주로 [캐나다], [일본], [프랑스] 등에서 개발되어 도입되고 있으며, 현재까지 개발된 전자코 종류를 살펴보면, [캐나다] Odotech사의 OdoWatch는 16개 센서가 부착된 패턴인식에 의한 전자코 시스템 방식임. 또한, [일본]의 Shimadzu사의 FF-2A는 10개의 반도체 가스센서를 가지고 있으며, 10차원의 공간을 형성하면서 감지되는 물질의 백터 방향 및 크기로 악취물질의 종류 및 강도를 결정한다. [프랑스] Alpha M.O.S사의 RQ Box는 광이온화식, 전기화학식, 반도체식 가스센서 5종 이상을 통해 얻어진 결과를 패턴분석 및 주성분분석을 통해 악취의 질과 종류를 분석하고 있음
- (4) 이러한 전자코 시스템은 주로 환경유해물질 모니터링을 통한 악취 및 대기질관리와 같은 분야에 적용되고 있었으나, 최근에는 통계적학적인 기술을 융합으로 식품과 관련한 신선도 및 산지판별 등 식품· 바이오 분야에 새로운 기술로 접근하고 있음. 그러나 전자코 시스템은 매우 고가의 장비로 현장 적용성 보다는 실험실 및 연구실 수준에 적용하여 개발과 분석에 적합한 기술임

- (5) 한편 현장에서 농식품의 신선도 측정과 관련한 냄새센서 기술개발은 국내는 물론 국외에서도 시작단계의 기술로 외국의 경우 식육(소고기, 닭고기, 돼지고기 등)과 관련한 신선도 측정의 시제품만 출시되고, 농식품의 품질관리를 위한 연구는 아직 초기단계임
- (6) 따라서 국내 최초로 냄새센서를 이용한 수출전략 농식품의 신선도 측정 기술개발은 국내 원천기술 확보는 물론 농림기술 발전이 가능함

3. 국내 현황 및 연구개발의 필요성

- 가. 곰팡이의 VOC 관련 연구주제는 1970년대 이전으로 거슬러 올라갈 수 있으며 연구의 대상은 곰팡이가 생성하는 VOC들이 식물의 저항성을 상승시킨다는 연구결과 등에 관심이 집중되어 있었음. 그러나 이는 학문적으로는 입증 가능하겠으나 실제 농업 현장에서 휘발성물질의 특성상 곰팡이가 많은 양을 생성한다하여도 식물에 미치는 영향에 대한 과학적인 입증이 어려워 연구를 위한 연구로 이어져왔음
- 나. 세계적으로 가장 큰 곰팡이유전학 컨퍼런스(Fungal Genetics Conference)에서 곰팡이 VOC 관련 주제로 새로운 세션이 생길만큼 최근 이 분야에 대한 관심이 다시 높아지고 있는데 이것은 그간 여러 학문분야 특히 대사체학 분야가 생명공학의 유전체학, 전사체학, 단백질체학 등의 오믹스 학문 분야의 발전이 이루어지면서 이와 연계하여 유전적으로 조절되는 여러 가지 식물이나 미생물의 2차 대사산물 관련 학문분야가 새로이 부상하게 됨
- 다. 휘발성유기대사산물에 대한 연구는 식품의 향미성분 분석 등의 식품화학분야에서 개발된 분석기법 등이 주를 이루고 있고 이와 연관된 분석기법, 분석기기 등의 지속적으로 발전해옴
- 라. 유통기간 중의 신선식품이나 가공식품, 축산식품 등의 부패는 계절의 변화에 따라 반복되어 제기되고 있는 문제로 이를 해결하고자 하는 연구들이 다양한 각도로 즉 포장재, 포장 지시계, 부패감지기 개발 등 산업현장과 연계하여 바로 적용 가능한 실용적이며 산업화를 목적으로 하는 연구들로 진행 중임
- 마. 최근 식품의 안전과 관련하여 미생물에 의한 부패관련 연구들이 식중독균 등을 중심으로 이루어져 일각에서는 세균이라는 살아있는 생물을 이용한 바이오센서 분야까지도 확장 중임
- 바. 국내에서 곰팡이의 VOC관련 연구는 주로 농업생명과학분야에서 식물병리학 분야 중 곰팡이독소연구의 일부분으로 수행되어왔으며 특히 부패와 관련한 연구는 주로 원인균을 분리 동정하는 연구가 대부분임

- 사. 국내 연구팀들은 정부의 다부처 유전체사업단을 통하여 생명공학의 중요한 tool로 자리 매김한 메타지노믹스에 의한 미생물 군집 분석연구를 발효식품(김치, 장류, 전통주 등)을 대상으로 진행 중이므로 본 연구과제에서 부패균들에 의한 부패단계별 미생물군집 분석에도 협력 또는 연구 결과의 응용이 가능할 것으로 보임
- 아. 본 과제는 수출전략품목인 신선 농산물을 대상으로 농업생명공학의 전통 학문 분야인 부패관련 기작을 규명함에 있어 최첨단의 메타지노믹스기법과 분자동정법 등을 활용하고, 휘발성유기대사산물의 최신 분석법을 응용하여 곰팡이 VOC의 새로운 분석법을 개발하며 부패단계의 특이적인 냄새마커를 발굴할 것임. 또한 다양하게 구축되어 있는 상관성 분석 DB들을 활용하여 생성된 화학적 프로파일링 데이터와 생명정도 데이터를 프로세싱하고 그것을 부패감지기에 연결하여 현장에서 농산물의 부패를 감지할 수 있는 냄새지문을 활용한 부패감지기 개발을 목표로 하고 있음
- 자. 본 과제는 이와 같이 고전적인 농업생명공학분야와 첨단 생명공학, 식품분석학, IT분야의 DB 구축 핵심기술, 상관성분석 및 유사도 로직개발 등이 유기적이며 통합적으로 연계되어 최종 목표인 현장에서 활용 가능한 클라우드 방식의 휴대용 부패감지기를 개발하는 ICT 융복합과제의 가장 좋은 모델이 될 것임

4. 향후 전망

- 가. 농산물 부패, 변질의 조기 선별로 소비자 불안을 해소하고 안전한 먹거리의 신뢰 확보
- 나. 기타 농산물에 대한 현장 적용형 스마트 관리시스템 구축에 플랫폼 기술을 제공할 필요
- 다. 신선 농식품 수출 전략 품목을 위한 고성능 부패감지기 기술개발로 경제적 손실 저감에 기여하고 조기에 변질 농산물 감지로 품질 경쟁력을 확보 및 클레임문제 최소화
- 라. 신선 농산물의 유통 및 저장단계에서 부패 여부를 실시간으로 평가할 수 있는 기법 개발이 필요함에 따라 적용 범위 확대 가능성이 큼

2절. 연구개발 목표 및 내용

1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

- 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패 단계별 미생물 정보 DB구축
 - 품목별 주요 품종에 대하여 부패단계 별 미생물 균집 프로파일링 및 분석
 - 부패단계별 미생물 균집 프로파일링 DB 구축
- 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패관련 미생물과 부패냄새의 상관성 분석 및 부패기작 규명
 - 품목별 주요 부패원인 미생물 분리 및 분자마커에 활용 동정
 - 품목별 주요 부패원인 미생물의 휘발성유기 2차 대사산물 분석
 - 품목별 부패원인 주요 미생물과 부패냄새와의 상관성 연구 및 부패기작 규명
- 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패 단계별 냄새마커 발굴 및 냄새분석
 - 품목별 주요 품종의 냄새 성분 추출법, 분석방법 등 확립
 - 품목별 부패단계별 주요 냄새마커 발굴 및 저장·유통 중 부패단계별 냄새 분석
- 네트워킹 분석기법을 이용한 농식품 냄새지문 DB 구축
 - 부패관련 휘발성물질(VOC)의 구조-성질 상관관계 모델 및 분석 로직개발
 - 부패냄새 profile과 부패균 및 부패단계와의 상관관계분석
- 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발
 - 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 선정 및 평가 시스템 개발
 - 농식품 평가를 위한 부패단계별 냄새센서 시스템의 최적화
 - Lab-scale 수출전략 농산물 냄새측정 장치개발 및 Cloud 방식의 냄새지문 플랫폼 개발
- Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발
 - Dual 센서 기술을 이용한 휴대용 부패 냄새센서 개발
 - Lab-scale 및 생산현장을 연결하는 Cloud 방식의 통신 기술 접목
 - 시제품의 현장 적용성 평가를 통한 문제점 및 개선사항 파악

2. 과제별(세부 및 공동연구) 연구개발의 목표 및 내용

[주관 1세부] 숭실대학교 의생명시스템학부 서정아 교수

- 목표
- 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패 단계별 미생물 생명정보 DB구축
 - 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패관련 미생물-부패냄새 상관성 분석을 위한 기초 연구 및 진균 VOC 관련 부패기작 규명

1. 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패 단계별 미생물 정보 DB구축

- (1) 파프리카, 딸기, 사과(3품목)에 대하여 참여기업(3개 농업회사법인) 현장으로부터 수확 후 완전 숙성단계 시료 및 부패단계 별 시료수집 후 부패진행도 규격 확립
- 숙성단계에서 부패초기단계를 세분화하여 시료 수집 (품목별 필요 시, 미숙성 단계포함)
 - 연구팀 별 동일한 방법 적용을 위한 VOC 포집방법 확립
 - 품목별 주요 품종(현장상황 반영) : 사과(후지), 딸기(매향), 파프리카(노란 불란테 등)
 - 부패규격의 기준* (예시) ① 과실 한 개 당 부패비율(0~50%) ② 실제 유통 또는 저장 시 포장단위(박스)에서의 부패과실 개수(0~50%)로 정의함 (현장과 협의하여 조정 가능)
 - 품목별 현장의 환경조건(예: 온도, 습도), 부패기간, 부패진행도 등의 시험을 통한 부패단계 요인 분류 및 품목별 부패단계에 대한 규격 확립



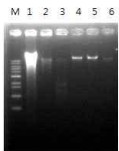
* 추후 품목별, 품종별, 저장조건 등에 따라 기준은 변경될 수 있음

(2) 부패단계 별 미생물 메타지노믹스 정보해독 및 분석

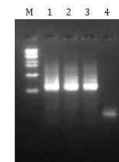
- 과실 한 개의 부패진행도 0%(신선), 25%(1/4부패), 50%(1/2부패) 수집한 시료로부터 식품 시료용 DNA추출 kit를 이용하여 genomic DNA 분리
- Metagenomic DNA로 미생물 군집분석을 위해 16S rRNA, ITS (Internal Transcribed Spacer) 또는 18S rRNA 유전자 primer를 사용하여 PCR 증폭
- PCR조건 : PCR Master Mix(Taq Polymerase, Taq Buffer, dNTPs 등)과 사용하려는 primer들과 metagenomic DNA를 혼합하여 아래와 같은 조건으로 PCR로 증폭하여 DNA 확인

< PCR 조건 >

Step	° C	Min	Cycle
Initial denaturation	95	5:00	30
Denaturation	95	0:30	
Annealing	55	0:30	
Extension	72	0:30	
Final extension	72	7:00	
Hold	4	∞	



M. 1kb marker
1. Soil sample
2. Soil sample
3. Water sample
4. E. coli
5. Halocaula marismortui
6. Streptomyces coelicolor



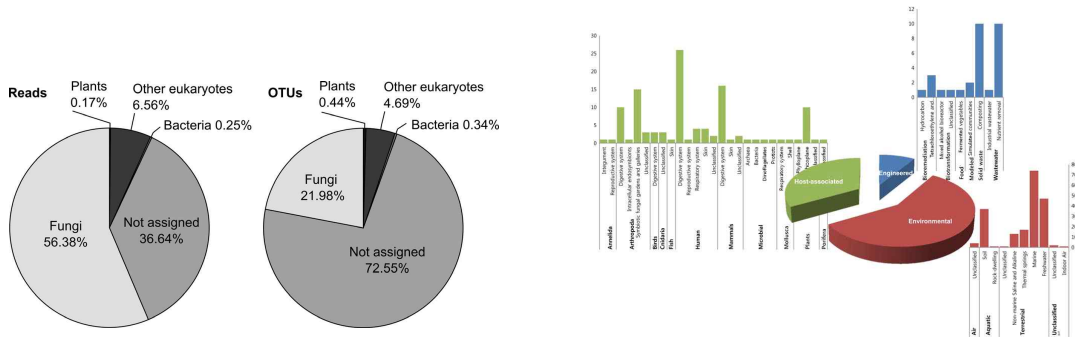
M. 1kb marker
1. Soil sample
2. Water sample
3. E. coli
4. negative control

<그림. Metagenomic DNA>

<그림. 미생물 DNA의 특정 부위 증폭 확인>

- 미생물군집분석을 위한 유전체 정보 해독 및 분석

- 품목별 부패원인 미생물 생명정보 DB구축을 위한 유전체정보 해독



< 그림. Illumina사에서 개발한 fungal metabarcoding결과 > < 그림. Ecosystem기반의 Metagenome 분석 >

- 품목별 부패진행도 scale 중 주요 부패단계에 대한 시료의 미생물 군집 분석(community analysis) 및 프로파일링

(3) 미생물 군집 프로파일링 기법 개발 및 생명 정보 DB 구축

- 염기서열간의 유사도를 기반으로 하여 미생물 군집 분석
- 미생물 군집 분석을 위해 다양한 data베이스(예: GreenGenes, SILVA, GeneBank 등)와 통계분석방법(예: Random Forest, HAC 등)을 적용
- 기존의 다양한 분석프로그램(QIIME, MOTHUR, VAMPS 등)을 최대한 활용하여 미생물 프로파일링 추정
- 시료내 미생물 군집의 다양성 분석에 Simpson's index (군집의 다양성), Shannon's index (군집의 균등성), abundance-based coverage estimator (군집의 풍부함) 등을 활용
- 시료간 미생물 군집의 유사성 분석(Unifrac significance test, principal coordinates analysis 등의 통계방법 이용)
- 부패단계별 미생물 군집 변화측정을 위해 alpha, beta, gamma diversity 등의 분석방법 적용
- 이들 분석에 기존의 방법보다 합리적인 분석방법의 개발을 유도하여 적용
- 파프리카, 딸기, 사과 각각의 적합한 분석 모델을 수립하여 부패단계에 따른 합리적 분석결과 구축
- 분석 결과 바탕으로 파프리카, 딸기, 사과의 부패 단계별 미생물 군집의 생명정보 DB 구축

2. 신선 농식품 수출전락 품목의 부패관련 진핵 미생물과 부패냄새의 상관성 분석 및 부패기작 규명

* 아래 각 연구는 저장조건(또는 품목별로 바로 출하하는 점을 감안하여 작업조건으로 대체)에서 수행

(1) 품목별 주요 부패원인 진균 단일균주 분리 및 확인

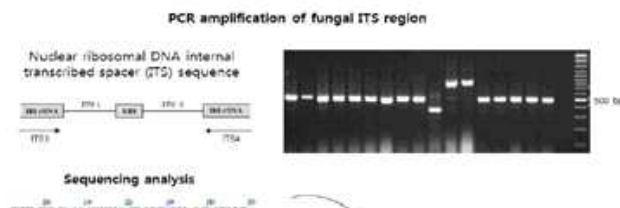
- 수집시료로부터 균 분리 및 확인 : 품목별, 품종별 5개 이상 시료 수집하여 부패 및 냄새 주요 원인균인 진핵미생물 중심으로 단일 균주 분리 및 종 확인
- 품목별 품종별 육안으로 판단 시 부패부위의 색깔, 냄새, 모양 등으로 다양한 부패원인 균을 분리할 수 있도록 시료를 수집
- 품목별 부패시료로부터 미생물분리를 위해 연속희석하여 진균분리 고체배지에 희석액을 깔고 25℃에서 배양하여 각 균체를 CM(complete medium), PDA(potato dextrose agar) 배지 등에 2~3회 옮겨 단일균주로 분리하고 보관(glycerol stock, -70℃)



< 그림. 시료로부터 부패원인균 희석 분리방법 >

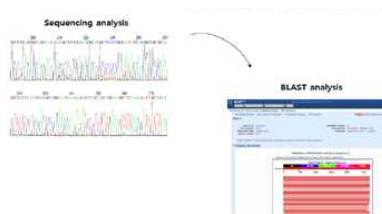
< 그림. 부패원인균 단일균주 분리 및 genomic DNA분리 >

- 분리된 균주의 동정 : ITS (Internal Transcribed Spacer) 유전자마커를 활용하여 분자생물학적으로 종 확인
- 단일 균주분리한 부패원인 진균은 CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide)방법으로 genomic DNA를 분리하여 계통분류학에서 종 확인을 위해 활용되는 ITS region을 PCR하고 clean-up한 후 전기영동으로 DNA양을 확인



< 그림. 곰팡이 동정을 위해 시퀀싱을 위해 ITS primer 활용하여 rRNA region의 PCR 증폭 확인 >

- 각 균주별 PCR로 증폭된 ribosomal DNA region을 시퀀싱하여 결과를 NCBI GenBank DB에서 DNA 서열을 비교, 분석하여 부패원인균들의 종(species)을 확인



< 그림. NCBI GenBank 활용 곰팡이 rRNA region 시퀀싱결과 비교분석 >

(2) 부패원인 주요 미생물의 2차 대사산물 GC-MS 분석 및 휘발성유기대사산물(VOC) 프로파일링

- 부패원인균을 2개 그룹으로 분리하고 품목별로 공통적인 부생균(saprophytic fungi), 품목별 특이적 병원균(pathogenic fungi), 알려진 부패원인균을 고려하여 모델균 선정
 - 파프리카·사과·딸기 공통 병원균 : *Botrytis cinerea* (잿빛곰팡이병균)
 - 품목별 특이적 병원균속 : *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp.
 - 부생균류 : *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. 등
- 품목별로 선정된 3종 내외의 부패 원인균들을 고체배지(또는 액체배지)에 배양하여 과실과 연관되지 않은 미생물 자체의 냄새 분석 및 VOC 프로파일링(공동연구1팀과 수행)
- 부패원인균을 파프리카, 사과, 딸기에 접종하여 품목별 과실과 연관된 부패진행도 scale에 따라 각 시료의 냄새 분석 및 VOC 프로파일링(공동연구1팀과 수행)

(3) 품목별 3종 내외 주요 부패원인균의 부패발생 및 냄새지문 기여도 연구

- 품목별 주요 부패원인균 혼합접종 후 부패진행도에 따라 냄새분석
- 혼합감염 시 부패냄새 주요 원인균과 주요 냄새지문 물질 발굴

(4) 품목별 부패발생 조건 연구를 통하여 부패억제조건 제시

- 품목별 작업장 조건 또는 저장조건에서 부패발생도(포장단위) 및 부패진행도 (과실단위) 조사
- 품목별 부패억제 환경조건 조사

(5) 부패관련 요인 간 상관성 분석 및 부패기작 규명

- 품목별 주요 부패원인균 접종 시 진핵미생물의 포자수와 부패발생여부 관계, 포자수와 부패진행도와의 상관성 분석
- 품목별 주요 부패원인균 접종 후 부패환경조건(온·습도)과 냄새발생 상관성 분석

목표

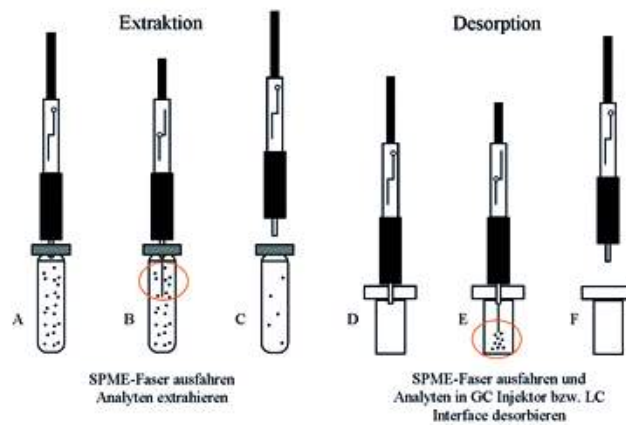
- 품목별 주요 품종의 부패단계별 냄새의 최적 분석법 확립
- 품목별 주요 품종의 부패단계별 부패관련 냄새 마커 발굴

1. 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패단계별 냄새 마커 도출

(1) 품목별 주요 품종의 냄새 성분 최적 추출법 확립

- Solid phase micro-extraction(SPME)

- SPME fiber 선정 (carboxen/polydimethylsiloxane, polydimethylsiloxane, polydimethylsiloxane/divinylbenzene 등)
- 흡착 및 탈착 조건 확립 (온도, 시간, agitation 속도 등)
- SPME는 휘발성 유기 화합물들을 분석하는데 주로 쓰이는 방법으로 신속하고 간편한 방법임
- 추출, 농축, 정제 등 전처리 과정을 거치지 않는 장점이 있음
- 특히 에멀전, 반고체시료, 고체시료와 같이 다양한 매트릭스의 상태의 영향을 받지 않음
- 휘발성이 강한 성분들의 분석에는 강점이 있으나, 휘발성이 낮은 성분들(semi-volatile) 분석에는 한계가 있음



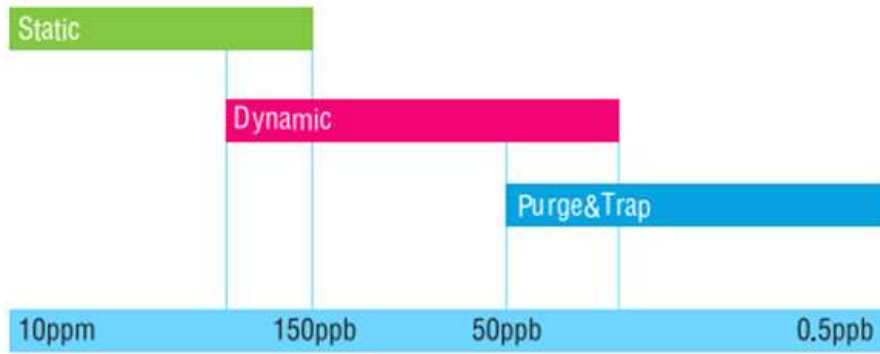
< 그림. SPME 원리 >

(<http://www.git-labor.de/forschung/chemie-physik/die-herstellung-von-chemischen-grundstoffen>)

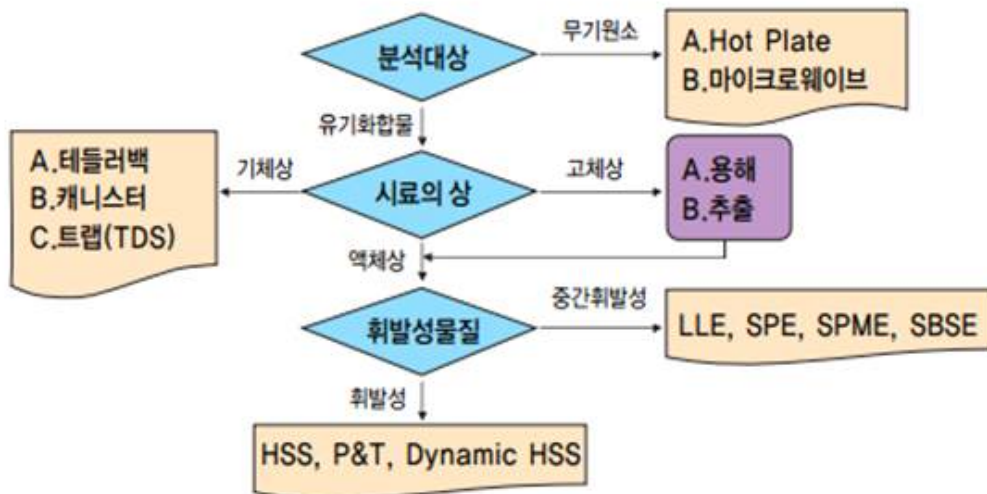
- Dynamic headspace

- 추출조건 확립 (gas flow rate, 시간, 온도 등)
- 분석 가능한 시료 매트릭스 종류가 다양하고, 측정 가능한 농도범위가 넓음
- 주로 Tenax 또는 charcoa 등을 흡착제로 사용하고, 고온에서 탈착시키는 방식임.

- 흡탈착 과정 중 artefacts 생성의 문제점이 있음
- 열에 약한 성분들의 분석에 한계점이 있음



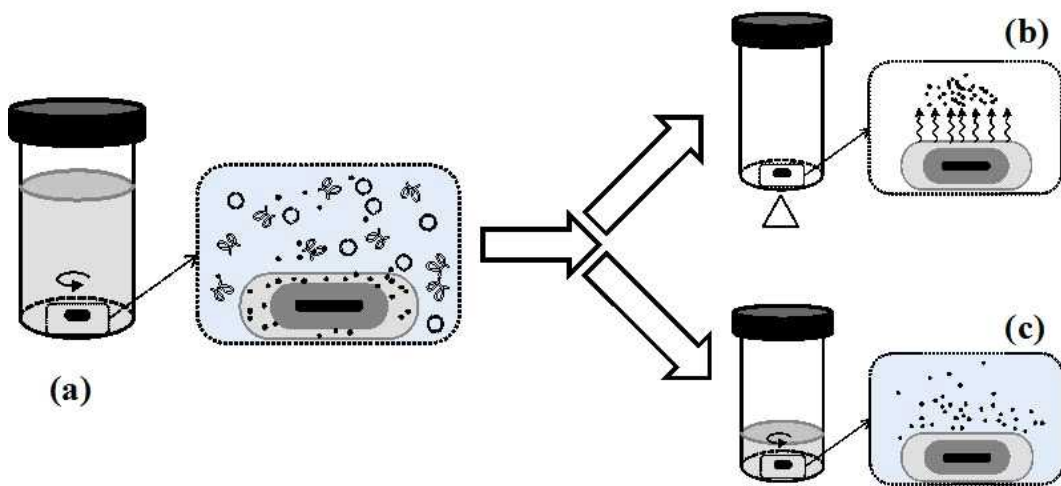
< 그림. Purge & trap, dynamic head space 분석농도범의 비교 >
<http://www.hknu.ac.kr/web/gong>



< 그림. 시료와 분석화합물별 시료전처리 기기 <http://www.hknu.ac.kr/web/gong> >

- Stir bar extraction

- Stir bar 선정 (PDMS, E.G. silicon 등)
- 추출조건 확립 (온도, 시간, agitation 속도 등)
- 시료 매트릭스와 흡착 bar와의 흡착평형의 원리를 이용
- 흡착 bar의 교반 시간과 교반강도는 분석효율에 많은 영향을 줌
- SPME와 추출원리는 유사하나 용질의 추출효율이 매우 높다는 장점이 있음
- 전처리 방법은 시료를 vial에 분취한 후 PDMS가 코팅된 교반 막대를 사용하여 일정시간 동안 교반시켜 줌으로써 분석하고자 하는 물질을 교반막대에 흡착시키는 방식임



< 그림, Stir bar extraction 원리 >

(Rodríguez et al., Recent Advances in the Extraction of Triazines from Water Samples, 2013)

(3) 품목별 주요 품종의 저장 및 유통 중 부패단계별 냄새 성분 동정 및 정량 분석

- GC-MS 분석 조건 확립

- 컬럼 선정 (DB-5, wax, FFAP 등)
- 분석 조건 선정 (온도, gas flow rate, MS 조건 등)

* 고려 사항 : 품목별 수확전 사용한 농약 등의 화학물질, 수확후 전처리 물질 등을 선별가능토록 조건 확립

- GC-MS를 이용한 동정

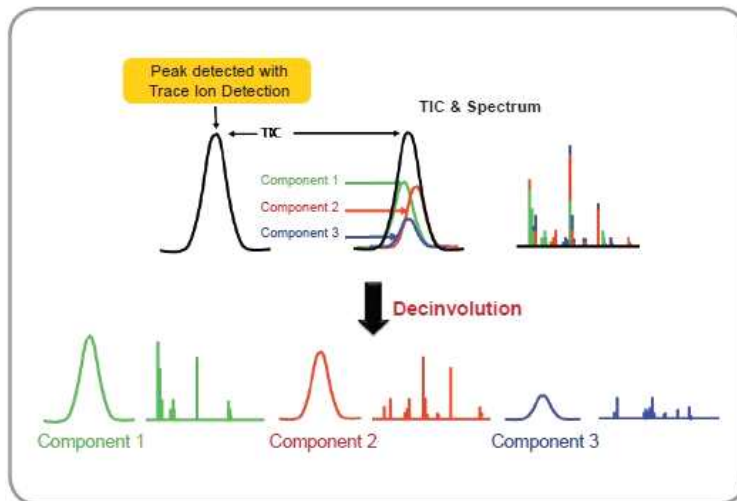
- RI (relative retention index)
- Mass spectra library (wiley, NIST, in-house library)
- Positive identification (authentic standards compounds 사용)

- GC-MS를 이용한 정량분석

- % peak area: 휘발성 유기화합물들의 성분비(composition)에 관계하며 간편한 방법임
- 내부 표준물질을 이용한 상대면적 비교: 적당한 내부표준 물질 선정에 어려움이 있으나, 절대 정량값에 비례하는 수치의 환산이 가능함

(4) 품목별로 부패단계별 부패관련 주요 냄새 마커 발굴

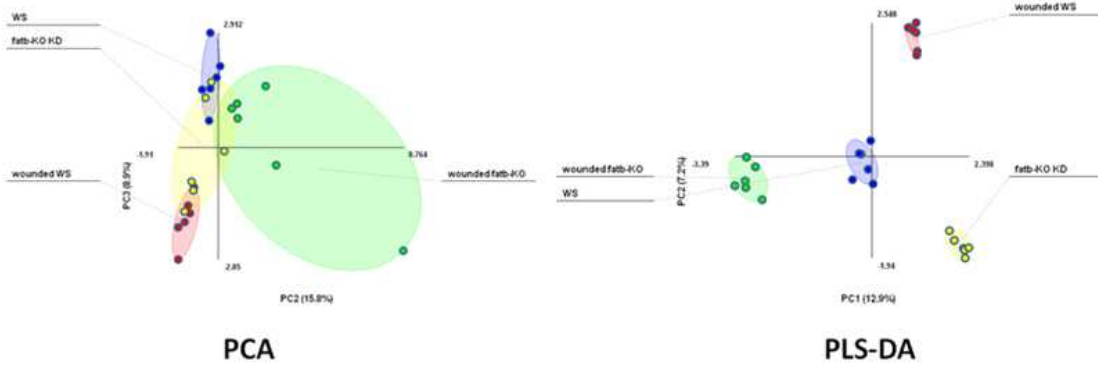
- 다변량 통계기법을 이용한 데이터 지문패턴 분석 및 부패관련 냄새 마커 발굴
 - Targeted 또는 non-targeted analysis로 metabolic fingerprinting을 수행 (AMDIS, SpectConnect 등을 이용한 peak deconvolution 및 alignment)
 - Deconvolution은 크로마토그래피적으로 분리되지 못하고 겹쳐있는 피크들 중 목적성분에 대한 피크의 질량 스펙트럼 정보를 추출하여 분리시켜주는 기법임
 - AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System) 프로그램으로 이를 실행하고자 함



< 그림. deconvolution을 이용한 정성분석원리 >
<https://www.youngin.com/product/applicationView.do?seq=949>

- 시료 별 부패관련 휘발성 대사체 프로파일링 및 부패단계와의 상관관계 규명
 - Multivariate statistical analysis: principal component analysis (PCA), partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA), partial least squares regression (PLSR) 등
 - PCA는 복잡한 데이터를 적은 변수로 압축하는 수학적 방법임
 - 사전 조건이 없는 분석방법으로 시료 그룹 간 차이를 찾거나, 그룹연관성을 이해하고, 그룹 분리에 있어서 화합물의 상대적 역할의 검증에 사용됨
 - 다량의 변수를 가진 대량 데이터를 분류 및 분석하는데 유용함
 - 데이터가 가진 정보의 그룹화 또는 집단 간의 분리되는 양상을 관찰하기 위해 사용

PCA	PLS-DA
nonsupervised 방식	supervised 방식
trends 분석	discriminating between groups
outliers 확인 가능	biomarker candidates 규명 가능
quality control, biological diversity, patient monitoring	comparing studies, instrumentation

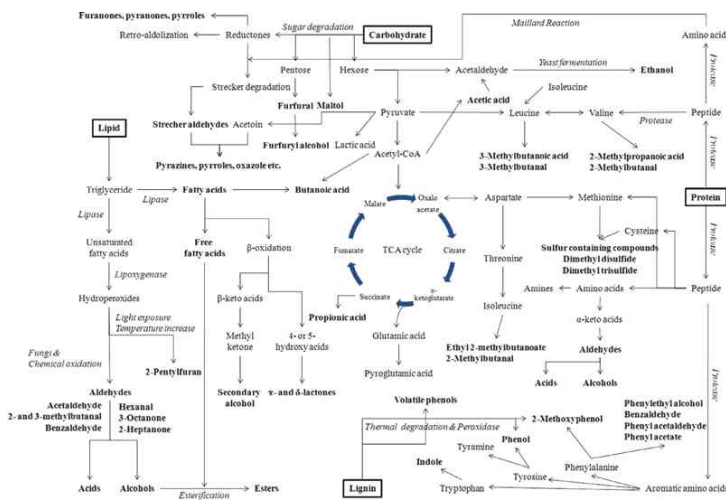


< 그림. PCA, PLS-DA data 비교 >

(<http://fiehnlab.ucdavis.edu/staff/kind/Statistics/Concepts/OPLS-PLSDA>)

2. 부패 미생물과 냄새마커와의 상관성 및 부패기작 연구

- (1) 부패 미생물과 2차 휘발성 유기대사산물 및 냄새 마커 생성과의 상관관계 규명
 - 휘발성 유기대사산물 프로파일링
 - 부패미생물과 냄새 마커 생성과정 상관관계 (다변량 통계분석 PLSR 이용)
- (2) 모델시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명
 - 부패 진행 예측을 위한 냄새 마커 프리커서(전구체) 규명 (아미노산, 당, 지방 등)
 - 생성기작 규명



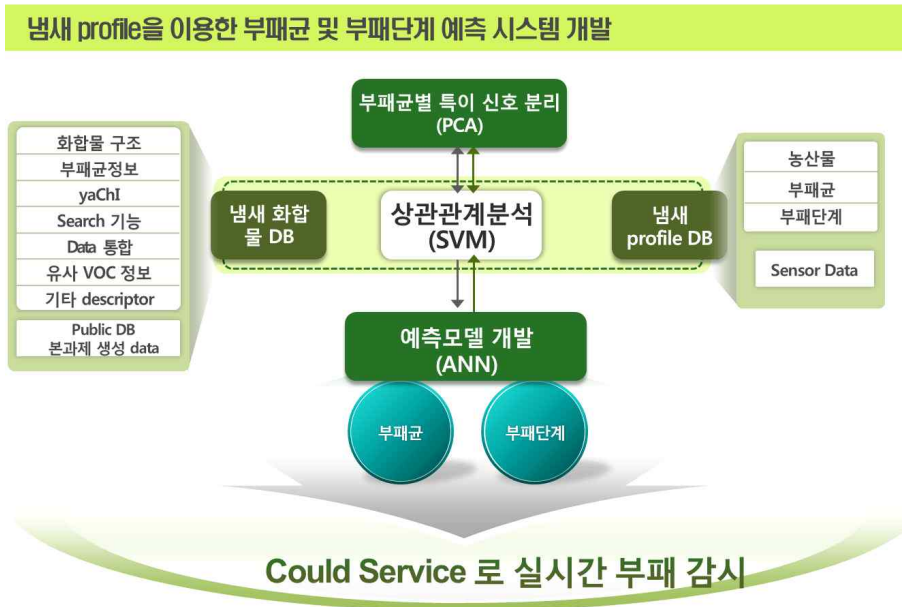
< 그림. 전통발효 식품인 된장에서의 휘발성 유기성분 생성기작 >

(J of Food Science, 2011, 76(3), C374)

- 생성요인 규명 (온도, 습도, pH 등)
- 미생물 종류, 군집, 성장, 활성마커물질 (ATP, ergosterol, chitin 등) 및 효소 (lipoxygenase, protease, lipase 등) 역가 등과의 상관관계 규명

- 목표
- 부패 관련 VOC DB 및 진행단계별 냄새 프로파일 DB 구축
 - 품목별 부패진행도 상관성 분석 및 부패 진행도 예측 모델 개발

- Public DB(mVOC, Pubchem, KEGG)를 중심으로 VOC(Volatile Organic Compound) 프로파일 DB구축
 - 주요 부패원인 미생물 유래 2차 대사체 관련 화합물 구조 및 물성 정보 DB 구축
 - 품목별, 품종별, 저장환경(온·습도), 부패단계별, 부패원인 미생물별 부패냄새 정보 DB 구축
 - 두 정보 DB의 유기적 연결
- 품목별 부패진행도 상관성 분석 및 부패진행도 예측 모델 개발
 - 부패균 특이적 fingerprint 선별
 - 특정 농산물의 냄새 데이터과 부패균과의 상관관계 분석
 - 특정 농산물 냄새 profile 로부터 부패균과 부패진행도 예측모델 개발
 - 수치해석적 방법(PCA, CCA), 기계학습적 방법(SVM) 그리고 인공지능적 방법(ANN) 등 활용
- VOC 검출기 프로파일 데이터 실시간 분석용 Cloud 서비스를 위한 플랫폼 개발
 - 개발된 예측 모델의 실용화를 위한 보정 및 최적화
 - 외부 데이터에 대한 예측 정확도 분석
 - Cloud 시스템과 동기화를 위한 외부 접속 API 제작



[3 공동연구팀] 대전대학교 김선태 교수/주에어웍스 대표 김한수 박사

목표

- 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발
- Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발

1. 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발 (김선태)

(1) 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 모듈 선정 및 평가 시스템 개발

- 농식품 평가를 위한 MOS(반도체식), ECS(전기화학식), PID(광이온화식) 냄새센서 선정
- 10종 이상의 농식품 냄새센서 어레이 시스템 구축
 - 현재 판매 중인 센서를 검토하여 부패냄새에 탁월한 반응성을 보이는 센서를 선정
 - * MOS(반도체식) 6종 센서 선정 : 제조사 'FIS' 'Figaro', 'e2V'社 등
 - * ECS(전기화학식) 3종 센서 선정 : 제조사 'Alpha sensor', 'City tech.', 'Sensoric'社 등
 - * PID(광이온화식) 1종 센서 선정 : 제조사 'Alpha sensor', 'MOCON'社 등

(2) 농식품 평가를 위한 부패단계별 냄새센서 시스템의 최적화

- 농식품의 품목 별로 미숙성-숙성-부패단계별 센서 시스템의 최적화
 - 10종 이상의 센서를 조합한 농식품 센서 어레이 시스템 구축
 - 냄새가스 정량 주입을 위한 3-way valve 방식의 센서 매니폴더 설계
 - 메모리 및 디스플레이 기능을 이용한 data 저장 기능

(3) Lab-scale 수출전략 농산물 냄새측정 장치개발

- 최적의 신선 농식품 센서 평가 시스템 구축 : 센서최적화를 통한 dual 센서기술 도입
 - 센서 반응시간, 안정화 시간 등 측정조건 변화를 통한 측정방법의 표준화 확립
 - 밀폐 챔버법, 정량주입방법 등 최적 시료 주입 장치 개발
 - 피크면적, 최대값, 전압차, 저항변화 등 센서 data 신호의 출력기능
 - 10채널 이상의 data 로거 및 PCB 회로설계
 - 소형 펌프 및 전자유량계를 이용한 최적 시료흡입장치 설계
 - 측정시료 온/습도 관리를 통한 센서 및 시료의 상태관리

(4) Cloud 방식의 냄새지문 플랫폼 개발

- 통신 방식을 이용한 냄새지문 업데이트 기능 : 와이파이 또는 블루투스 기능
- 저장매체를 이용한 냄새지문 업데이트 기능
- data 통신 프로토콜 정립

2. Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시작품 개발

(1) Dual 센서 기술을 이용한 휴대용 부패 냄새센서 개발

* KOLAS 항목 수준 고려

- 기존 전자코 시스템은 적용 센서의 수를 최대한 많이 확보, 다양한 냄새패턴 구현
- 부패감지기 시작품은 적용 센서 수를 최소화 : dual 센서모듈 구현
- 현장에서 휴대가 가능한 현장 활용성을 극대화할 수 있도록 시작품을 개발
- 충전 방식의 휴대용 측정기 개발(연속측정 3시간 이상)
- 저장매체, RS-232 통신 포트를 통한 data의 저장 및 출력기능
- 수출용 신선 농식품별 최적센서 종류 및 사양 선정
- 150(가로) X 300(세로) x 120(높이)mm 수준의 휴대용 측정기
- 부패냄새 측정을 위한 표준성능평가 방법 및 정도관리방안 확립
 - 시작품의 신뢰성 확보 : 관능평가(후각, 시각, 촉각) 등과의 비교평가
 - dual 센서에 의한 패턴분석결과의 신뢰성 검증 : 2공동연구 기관과 비교평가

(2) Lab-scale 및 생산현장을 연결하는 Cloud 방식의 통신 기술 접목

- 유/무선네트워크(TCP/IP, Bluetooth, WiFi 등) 모듈에 의한 cloud 플랫폼 연동
- 서버 운영 OS 및 DB 구조 설계
- 품종별 부패정보 및 예측정보의 실시간 공유

(3) 시작품의 현장 적용성 평가를 통한 문제점 및 개선사항 파악

- 참여기업인 농업회사법인 현장에서 품목별로 적용성 평가 : 저장, 선별(개방공간), 포장단계 중 품목별로 적절한 감지 시점을 적용
- 시제품의 견고성, 사용 환경적인 요인분석
- 냄새센서의 수명, 피로도, 반응속도, 회복속도 평가
- 기타 소모품 및 유지보수 비용 분석

3. 연차별·세부과제별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도 (2015)	주관 1세부	○부패단계별 시료수집(파프리카, 사과)	- 대상 수출전략 품목(파프리카, 사과)의 부패단계별 시료수집 - 부패단계에 따라 부패진행도의 규격조사
		○품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링	- 부패진행도에 따른 미생물 군집 분석 (community profiling)을 위한 메타지노믹스 정보해독 및 데이터프로세싱
		○부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	- 현장에서 수집한 시료로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정 - 품목별 부패원인 주요 식물 병원균 및 부생균 확보
	1공동	○품목별(파프리카, 사과) 휘발성유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법 및 data프라세싱법 확립	- solid phase micro-extraction(SPME), dynamic(또는 static) headspace, stirrer bar extraction 등 최적 추출법 확립 - 휘발성 유기화합물(VOC) 분석을 위한 GC-MS 분석법 확립: 칼럼, 온도구배, 주입방식, MS scan rate/range 등 - RI, MS spectra 및 positive identification 을 통한 VOC 정성분석 - 내부 표준물질 또는 피크면적 비율을 이용한 정량분석 - Data 프라세싱법: AMDIS, SpectConnect 등 (deconvolution, peaks alignment)
		○다변량 통계 분석을 통한 부패관련 냄새 마커 도출	- 다변량 통계기법을 활용한 데이터 프라세싱 및 마커 성분 도출: PCA, PLS-DA, PLSR 등 - 표준곡선 작성을 통한 냄새 마커 성분 절대정량
	2공동	○부패 단계별냄새 물질 관련 정보 DB 구축	- 냄새물질 관련 public DB 자료 수집 • mVOC, PubChem, KEGG 등의 public DB 활용, 상관성 분석과 예측모델 개발에 필요한 구조관련 정보 선별 - 부패 냄새 화합물 DB 구축 • 구조와 화학적 성질 포함 • 관련 미생물 tag 포함
3공동	○Lab-scale 수준의 신선 및 부패 농식품 평가용 냄새센서 시스템 구축	- 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 모듈 및 평가 시스템 개발 - 농식품 평가를 위한 부패단계별 냄새센서 시스템의 최적화	

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
2차년도 (2016)	주관 1세부	○부패단계별 시료수집 (딸기)	- 대상 수출전략 품목(딸기)의 부패단계별 시료수집 - 부패단계에 따라 부패진행도의 규격조사
		○품목별(딸기) 부패단계별 미생물군집 프로파일링	- 부패진행도가 다른 시료로 미생물 군집 분석(community profiling)을 위한 메타지노믹스 정보해독
		○미생물군집 프로파일링 기법 개발을 위한 기존 분석 방법 응용	- 염기서열 유사도기반의 미생물 군집 분석 - 다양한 DB와 통계분석방법 적용
		○부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	- 품목별 주요부패원인균에 의한 부패 억제조건 조사 - 부패원인균의 부패진행도에 따른VOC 프로파일링 (1공동, 2공동연계)
	1공동	○ 품목별(딸기) 휘발성 유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법 및 data 프라세싱법 확립	- solid phase micro-extraction(SPME), dynamic(또는 static) headspace, stirrer bar extraction 등 최적 추출법 확립 - 휘발성 유기화합물(VOC) 분석을 위한 GC-MS 분석법 확립: 칼럼, 온도구배, 주입방식, MS scan rate/range 등 - RI, MS spectra 및 positive identification 을 통한 VOC 정성분석 - 내부 표준물질 또는 피크면적 비율을 이용한 정량분석 - Data 프라세싱법: AMDIS, SpectConnect 등 (deconvolution, peaks alignment)
	○ 다변량 통계 분석을 통한 부패관련 냄새 지표성분 도출	- 다변량 통계기법을 활용한 data 프라세싱 및 지표성분 도출: PCA, PLS-DA, PLSR 등 (부패진행 과정 및 부패초기 관련 성분 선정) - 표준곡선 작성을 통한 냄새 마커 성분 절대정량	
2공동	○ 품목별 부패단계, 부패원인미생물에 따른 냄새 프로파일 DB 구축	- 샘플별 GC-MS Spectra 및 Sensor data 프로파일을 DB화 - 부패단계(시간)별로 자료를 분류해 저장 - 냄새 관련 물질 정보 DB 와 연동	
3공동	○ 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발	- 기존 센서 장비 수준의 수출전략 농산물 부패감지 장치의 개발 - 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 평가 및 시작품 설계인자 도출 - Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발 및 냄새센서 연결용 API 제작 (2,3공동연계)	

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
3차년도 (2017)	주관 1세부	○ 품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링 기법 개발	- 시료간 미생물 군집 유사성 분석 - 부패단계별 미생물 군집분석을 위해 기존 분석방법을 응용한 합리적 분석 기법 개발 - 품목별 적합한 분석 모델 수립 및 분석결과 구축
		○ 품목별(파프리카, 사과, 딸기) 생명정보 DB 구축을 위한 기초자료 제공	- 분석결과 바탕으로 품목별, 부패단계별 미생물 군집 생명정보 데이터 제공(2공동연계 DB구축)
		○ 부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명	- 부패원인균의 휘발성 2차대사산물 생성능 조사 - 부패원인균 별 냄새물질과의 상관성 조사
	1공동	○ 부패 미생물과 2차 휘발성 유기대사산물 및 냄새 마커 생성과의 상관관계 규명	- 휘발성 유기대사산물 프로파일링 - 다변량 통계기법을 활용한 데이터 프라세싱 및 상관관계 규명: PCA, PLS-DA, PLSR 등
		○ 모델시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명	- 냄새 마커 전구체 규명 (아미노산, 당, 지방 등) - 생성기작 규명 - 생성요인 규명 (온도, 습도, pH 등) - 미생물 종류, 군집, 성장, 활성마커 물질 (ATP, ergosterol, chitin 등) 및 효소 (lipoxygenase, protease, lipase 등) 역가 등과의 상관관계 규명
	2공동	○ 냄새 프로파일을 이용한 상관성 분석 및 예측 모델 개발	- 부패균 특이적 fingerprint 선별 (PCA, CCA 등 이용) - 특정 농산물의 냄새 프로파일과 부패균과의 상관관계 분석 (SVM등 이용) - 특정 농산물의 냄새 프로파일로부터 부패균과 부패단계 예측모델 개발 (ANN 등 이용)
	3공동	○ Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발 및 냄새센서 연결용 API 제작 (2,3공동연계)	- Dual 센서 기술을 이용한 휴대용 부패 냄새센서 개발 - Lab-scale 및 생산현장을 연결하는 Cloud 방식의 통신 기술 접목 - 시제품의 현장 적용성 평가를 통한 문제점 및 개선사항 파악

제2장 연구수행 내용 및 결과

1절. 연구수행 내용 및 방법

1. 1차년도 연구 범위 및 연구수행방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 부패단계별 시료수집 (파프리카, 사과)	<ul style="list-style-type: none"> - 대상 수출 전략 품목 (파프리카, 사과)의 부패 단계별 시료수집 : 직접 참여기업 현장을 방문하여 수출현장에서 부패가 진행되고 있는 시료를 수집함 - 부패율 및 부패지수 조사 : 과실의 부패율은 과실전체 면적과 부패면적의 비율로 부패율을 정하고 부패지수는 부패율(%)로 규격을 정함 	<ul style="list-style-type: none"> - 대상 수출 전략 품목인 사과의 주요품종 (부사, 홍로)과 파프리카 주요 품종 (마주로, 시로코, 오렌지프로, 볼란테)를 참여기업인 (주)농산(전북김제), (주)송원APC(경북김천) 현장을 방문하여 수집하고 부패감지에 대한 현장 수요와 휴대용 감지기기개발에 필요성을 확인함 - 수집 시료는 부패율 및 부패증상에 따라 분류하고 부패율이 50%가 될 때까지 면적과 무게를 측정하여 부패지수를 확립함 (부패지수 0~4 총 5단계의 지수 확립)
○ 부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	<ul style="list-style-type: none"> - 현장에서 수집한 시료로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정 : rDNA 시퀀스 차이에 의한 분자생물학적 동정, 현미경관찰에 의한 균학적동정 - 품목별 부패 주요원인 식물병원균 및 부생균 확보 : 부패원인균과 자연계 존재하는 효모류 모두 대상으로 함 	<ul style="list-style-type: none"> - 부패율 50% (부패지수 4)의 시료로부터 부패원인 진핵미생물을 선택배지 (DRBC, DG-18)배지를 이용하여 진핵미생물을 단일균주로 분리하여 분자생물학적 동정 (부사 45개체 15종, 홍로 44개체 14종, 파프리카 62개체) - 수집한 자연부패 시료와 생육, 저장조건이 유사한 사과를 구입하여 시료로부터 분리한 단일균주를 배양하여 인공접종하고 부패율을 측정하였으며 부패지수를 조사 - 단일 균주로 분리한 부패원인균은 -70°C glycerol stock으로 장기 보존함
○ 품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링	<ul style="list-style-type: none"> - 사과 부패 시료 (홍로 5종, 부사 4종)과 미부패시료 (홍로 1종, 부사 1종)에 대하여 메타지놈 시퀀싱을 이용한 미생물 군집 분석 : 메타지놈 해독은 NGS기법 (pyro-sequencing) - 시료내의 미생물 군집의 다양성 분석을 위하여 alpha diversity를 분석함 : 시퀀싱 서비스 기업인 (주)천랩의 분석 tool을 활용 - 시료간의 미생물 군집의 다양성을 비교하기 위하여 beta diversity을 분석함 	<ul style="list-style-type: none"> - 부패 사과시료로부터 미생물DNA추출법 비교 분석 및 적정 추출법 확립 - 사과 시료에서 추출된 미생물 DNA를 추출하여 박테리아와 곰팡이의 시퀀싱을 위하여 각각 16s rRNA의 V3-V4 부분과 Internal transcribed spacer (ITS)의 ITS2 부분을 NGS 실시하였음 - MOTHUR package를 이용하여 시료내의 미생물 군집의 풍부함을 분석하기 위해 Chao1, JackKnife, abundance-based coverage estimator (ACE) 등의 추정치를 활용함 - 시료내의 미생물의 균등성과 다양성에 관한 지수로서 Simpson's index, Shannon's index를 추정하였음. - Fast Unifrac distance와 Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean(UPMGA)를 기반으로 시료간의 계층구조 clustering 분석을 실시함.

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<ul style="list-style-type: none"> ○ 사과, 파프리카의 부패관련 냄새 성분 최적 추출법 및 분석법 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 자연부패 및 인공접종 사과와 자연부패 파프리카의 부패관련 냄새 성분 규명을 위한 최적 추출법 확립 - GC-MS 분석법 확립 및 최적화 	<ul style="list-style-type: none"> - Solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 최적 추출 조건 확립 (fiber 종류, 평형·흡착·탈착 시간 및 온도) - 사과, 파프리카의 부패관련 냄새 성분 분석조건 최적화 (column 선정, cryo-focusing system 도입, 최적 oven program 확립, 최적 내부표준물질 선정 등)
<ul style="list-style-type: none"> ○ 사과, 파프리카의 부패관련 냄새 성분 동정 및 정량 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - GC-MS를 이용한 사과, 파프리카의 부패관련 냄새 성분 정성 및 정량 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - Retention Index (RI) 및 Mass spectra library (NIST, wiley)를 이용한 휘발성 유기성분 동정 - 내부 표준물질 (사과: 2,3-dimethyl pyrazine)을 이용한 사과 부패관련 냄새 성분의 정량 분석
<ul style="list-style-type: none"> ○ 다변량 통계기법을 활용한 프라세싱 및 마커 성분 선정 	<ul style="list-style-type: none"> - Multivariate statistical analysis를 이용한 데이터 프로세싱 및 부패단계와의 상관관계를 규명하여 휘발성 냄새 마커 성분 선정 	<ul style="list-style-type: none"> - GC-MS를 이용한 정성 및 정량분석을 통해 얻어진 부패 관련 냄새 성분의 변화 양상을 확인하기 위한 다변량 통계기법 확립 - 자연부패 및 인공접종 사과 관련 부패 냄새 마커 성분 선정 - 자연부패 파프리카 관련 부패 냄새 마커 성분 선정
<ul style="list-style-type: none"> ○ 부패시료 (사과, 파프리카) 냄새물질 DB 구축 및 프로파일 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - PubChem/mVOC 등 공개 DB분석을 통해 농산물 부패관련 미생물 유래 VOC 데이터 확보 - MOS 센서 데이터의 통계적 분석을 통한 부패단계 프로파일 (패턴) 연구 - GC-MS 의 3차원 데이터 (Retention-Time vs. M/z vs. Intensity) 분석을 통한 냄새 물질의 구조정보와 차년도 부패균 특이적 부패 프로파일 방법 개발 	<ul style="list-style-type: none"> (1) 문헌 및 공개 DB에서 확인된 미생물 유래 VOC 물질 데이터 정보와 본 과제에서 분석한 미생물과 부패지표 물질 정보의 상호 비교 및 확인 (2) 10여종의 MOS 센서 신호(센서 어레이) 기반 부패 단계 신호 (프로파일) 탐지 기술 개발 (3) GC-MS 3차원 데이터 분석법 개발을 통해 부패냄새물질 화합물 프로파일 <ul style="list-style-type: none"> - 화합물 구조정보 기반 부패 프로파일 데이터 확보 - 냄새 DB 구축
<ul style="list-style-type: none"> ○ 최적 반도체식 가스센서 선정 연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 홍로사과 및 파프리카 시료, 부사사과 시료에 대한 실제 실험 평가 	<ul style="list-style-type: none"> - 향 및 부패냄새별 가스센서의 반응성을 확인 - 부패도 변화에 따른 가스센서의 상관관계(R) 평가 - TGS 2603(R = 0.99), TGS 2602(R = 0.75)
<ul style="list-style-type: none"> ○ 가스센서 신호 평가 방법 	<ul style="list-style-type: none"> - Vout, Vmax, Ro/Rs, 반응속도, 회복속도 등 센서 출력신호의 추출 	<ul style="list-style-type: none"> - 가스센서 base 변화에 의한 신호변화의 최적화를 위해 Vmax 또는 Ro/Rs(저항변화) 값을 이용한 평가 방법시 상대표준편차 10% 이하로 확인됨

2. 2차년도 연구범위 및 연구수행방법

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>○ 부패단계별 시료수집 (파프리카, 딸기)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 대상 수출 전략 품목 (파프리카, 딸기)의 부패 단계별 시료수집 : 직접 참여기업 현장을 방문하여 수출현장에서 부패가 진행되고 있는 시료를 수집함 - 부패율 및 부패지수 조사 : 과실의 부패율은 과실전체 면적과 부패면적의 비율로 부패율을 정하고 1차년도에 확립한 부패지수 에 따라 조사함 	<ul style="list-style-type: none"> - 대상 수출 전략 품목인 파프리카 주요 품종 (시로코(R), 오렌지프로(O), 볼란테(Y))을 참여 기업인 (주)농산(전북김제)에서 딸기 주요품종 (장희, 설향)을 참여기업인 썸머힐상사(주)(경남산청) 현장을 방문하여 수집하고 부패감지에 대한 현장 수요와 휴대용 감지기기개발에 필요성을 확인함 - 수집 시료는 부패율 및 부패증상에 따라 분류하고 부패율이 50%가 될 때까지 면적과 무게를 측정하여 부패지수를 조사함 (부패율에 따른 부패지수 0~4 총 5단계의 지수)
<p>○ 부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 현장에서 수집한 시료로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정 : rDNA 시퀀스 차이에 의한 분자생물학적 동정, 현미경관찰에 의한 균학적동정 - 품목별 부패 주요원인 식물병원균 및 부생균 확보 : 부패원인균과 자연계 존재하는 진균류 모두 대상으로 함 	<ul style="list-style-type: none"> - 부패율 50% (부패지수 4)의 시료로부터 부패원인 진핵미생물을 선택배지 (DRBC, DG-18)배지를 이용하여 진핵미생물을 단일균주로 분리하여 분자생물학적 동정 (파프리카 3품종 11시료에서 54개체 20종, 딸기 2품종 8시료에서 47개체 7종) - 수집한 자연부패 시료와 생육, 저장조건이 유사한 파프리카와 딸기를 참여기업으로부터 제공받아 부패 시료로부터 분리 동정한 단일균주를 배양하여 인공접종하고 부패율을 측정하였으며 부패지수를 조사 - 단일 균주로 분리한 부패원인균은 -70℃ glycerol stock으로 장기 보존함
<p>○ 품목별 부패단계별 미생물 군집 프로파일링</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 파프리카 부패시료 (시로코(R) 3개, 오렌지프로(O) 3개, 볼란테(Y) 2개)와 미부패시료(시로코(R) 1개, 오렌지프로(O)1개, 볼란테(Y) 1개)에 대한 메타지놈시퀀싱을 이용한 미생물 군집분석: NGS를 활용함 - 파프리카 시료내의 미생물 군집의 다양성 분석을 위해 alpha diversity 분석하였음 - 파프리카 시료 사이의 미생물군집의 다양성의 비교를 위해 beta diversity를 분석함. - 딸기 부패 미생물 군집분석을 위한 딸기 부패시료 및 대조군 (설향 9개, 장희 6개)의 genomic DNA 추출 실시함. 	<ul style="list-style-type: none"> - Illumina사의 MiSeq 플랫폼을 이용한 메타지놈 자료를 QIIME을 이용하여 시료내의 미생물의 OTU 분석하였음 - UNITE fungal ITS database와 Greengenes 16S rRNA database를 이용하여 진균과 세균을 동정함 - MetaCoMET을 이용하여 Chao1과 Shannon 다양성지수를 분석함 - weighted Fast UniFrac를 사용하여 beta diversity 분석함 - 딸기 시료 15종에 대한 미생물 DNA추출을 완성하여 메타지놈 분석 의뢰함

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 미생물군집 프로파일링 기법 개발을 위한 기준 분석 방법 응용	<ul style="list-style-type: none"> - EzFungi database와 UNITE fungal ITS database 등의 DB를 기반으로 한 메타지노믹스 분석 결과 분석함. - 시료 내 미생물군집의 다양성지수를 추정하기 위한 다양한 방법을 조사함. 	<ul style="list-style-type: none"> - 메타지노믹스분석과 진균동정을 위한 DB들이 ITS 부분을 기반이어서 사과와 파프리카의 주요 부패균주인 <i>Alternaria</i>와 <i>Fusarium</i>을 species (종) 수준으로 동정할 수 없었음. - Chao1과 Shannon 다양성 지수를 이용하여 파프리카 시료의 미생물 군집의 다양성을 분석하였음.
○ 인공접종 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 최적 추출법 및 분석법 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 인공접종 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 최적 추출법 확립 - GC-MS 분석법 확립 및 최적화 	<ul style="list-style-type: none"> - Solid phase micro-extraction(SPME)를 이용한 최적 추출 조건 확립 (fiber 종류, 평형·흡착·탈착 시간 및 온도) - 인공접종 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 분석조건 최적화 (column 선정, cryo-focusing system 도입)
○ 인공접종 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 동정 및 정량 분석	<ul style="list-style-type: none"> - GC-MS를 이용한 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 정성 및 정량 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - Retention Index (RI) 및 Mass spectra library (NIST, wiley)를 이용한 휘발성 유기성분 동정 - 내부 표준물질 (파프리카: Ethyl 2-methyl butanoate, 딸기:beta-pinene)을 이용한 인공접종 파프리카, 딸기 부패관련 냄새 성분의 정량 분석
○ 다변량 통계기법을 활용한 프라세싱 및 마커 성분 도출	<ul style="list-style-type: none"> - Multivariate statistical analysis를 이용한 데이터 프라세싱 및 부패단계와의 상관관계를 규명하여 휘발성 냄새 마커 성분 도출 	<ul style="list-style-type: none"> - GC-MS를 이용한 정성 및 정량분석을 통해 얻어진 부패 관련 냄새 성분의 변화 양상을 확인하기 위한 다변량 통계기법 확립 - 인공접종 사과 관련 초기 부패 냄새 마커 성분 도출(ethanol, 3-methylbutanol, benzaldehyde, 1-methoxy-3-methylbenzene, styrene, methyl acetate, 2-methylfuran) - 인공접종 파프리카 관련 부패 냄새 마커 성분 도출(1-methylpyrrole, alaph-muurolene, beta-elemene, oxolane, benzene, 1,2-xylene, 1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene) - 자연부패 딸기 관련 부패 냄새 마커 성분 도출(6-methoxypyrimidine-4,5-diamine, styrene, benzene, ethylbenzene, camphene, alpha-pinene, di-limonene, 2-methylfuran)
○ 부패시료(사과, 파프리카) GC-MS Spectra 및 Sensor Data 프로파일을 DB화	<ul style="list-style-type: none"> - 각 부패시료(사과, 파프리카)에 대하여, 부패 단계별 GC-MS를 이용하여 부패관련 냄새 성분의 정성 및 정량 데이터를 얻고 이를 DB화하여 분석함. - 사과 부패시료에 센서값을 시간별로 제공받아, 이를 DB화함. - 냄새 관련 물질 정보 DB를 연구하고, 데이터를 확인 할 수 있는 web browser구축함. 	<ul style="list-style-type: none"> - 사과, 파프리카의 부패 시료를 3개의 병원균별 VOC 동정한 데이터를 부패 단계별로 얻고, 이를 oracle 환경에서 DB화함. 이 DB를 통하여, 부패시간별 또는 부패균별 분석을 할 수 있도록 함. - 사과 부패시료에 부패 단계별로 10개의 센서에 대한 센서값을 제공받고, 이를 oracle 환경에서 DB화하고 분석함. - python-sqlite3-flask기반은 web browser를 구축하여, VOC관련 GC-MS Spectra 및 Sensor Data를 확인할 수 있도록 함.

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>○Lab-scale 수출전략 농산물 냄새측정 장치 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 부패율과 가스센서간의 상관관계분석 - 시료 주입시간의 흡착량 및 탈착량을 비교하여 적정수준의 시료 주입시간을 평가 - 데이터 표준화에 의한 부패 시료 판별 방법 	<ul style="list-style-type: none"> - 부패원인군별로 부패율과 가스센서간의 상관관계(R)은 차이가 있지만, 그 중 TGS 2603(R=0.8이상), TGS 2602(R=0.7이상)의 상관관계가 크고 반응성이 높아 최적의 센서로 평가 - 파프리카 시료를 대상으로 30초와 60초 주입시간을 평가한 결과 대부분의 최적의 센서는 30~40초 이내에 모두 반응하는 것으로, 많은 양의 시료를 노출시켜 가스센서의 피로도를 증가하기 보다는 40초 이하로 하여 평가하는 방법을 도출 - 부패하지 않는 시료(신선농식품)와 부패 시료 간의 감도 비로 계산하여 기준값 대비 부패단계 평가 가능
<p>○Cloud 방식의 냄새지문 플랫폼 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 최적의 센서로 평가된 TGS 2603 및 TGS 2602 가스센서를 이용한 듀얼 냄새측정 장치 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - MCS, 온.습도 센서, 밸브 및 펌프 등 제어가 가능한 메인 PCB 설계 완료 - USB 데이터 출력 장치로 PC 와 연동하는 프로토콜 방법 정립 - 부패유무 결정을 위한 기준값 설정으로 기준값 설정 이상일 경우 부패 시료를 구분하였음

3. 3차년도 연구범위 및 연구수행방법

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>○ 품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링 기법 개발</p>	<p>- 딸기 부패 미생물 군집분석을 위한 딸기 부패시료 및 대조군 (설향 9개, 장희 6개)에 대한 메타지놈시퀀싱을 이용한 미생물 군집분석: NGS를 활용함</p> <p>- 딸기 시료내의 미생물군집의 다양성 분석을 위해 alpha diversity 분석하였음</p> <p>- 딸기 시료 사이의 미생물군집의 다양성의 비교를 위해 beta diversity를 분석함.</p>	<p>- Illumina사의 MiSeq 플랫폼을 이용한 메타지놈 자료를 LotuS pipeline을 이용하여 시료내의 미생물의 OTU 분석하였음.</p> <p>- BlastN program을 이용해서 NCBI의 microbial 16S DB와 nr DB 검색한 후, NCBI의 ete3 toolkit을 이용 진균과 세균을 동정함.</p> <p>- MetaCoMET을 이용하여 Chao1과 Shannon 다양성지수를 분석함.</p> <p>- weighted Fast UniFrac를 사용하여 beta diversity 분석함.</p>
<p>○ 품목별(파프리카, 사과, 딸기) 생명정보 DB 구축을 위한 기초자료 제공</p>	<p>- 분석결과 바탕으로 품목별, 부패 단계별 미생물 군집 생명정보 데이터 제공(2공동연계 DB구축)</p>	<p>- 부패 사과, 파프리카, 딸기 시료로부터 분리한 주요 부패원인균의 효소 활성능, 최적 온도, 독소 분석 등 미생물 특성을 조사하여 http://fungen.ssu.ac.kr/cgi-bin/fungistrain/stdb_main.cgi에 균주 DB 구축</p> <p>- 메타지노믹스 분석을 통하여 분석한 부패 사과, 파프리카, 딸기의 미생물 군집 생명정보 데이터를 2공동에 제공하여 DB구축 연계함</p>
<p>○ 부패 미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명</p>	<p>- 부패원인균의 휘발성 2차대사산물 생성능 조사</p> <p>- 부패원인균 별 냄새물질과의 상관성 조사</p>	<p>- 사과의 부패 관련 휘발성 냄새 마커 성분으로 선정된 styrene과 이것의 생성에 크게 기여하는 사과 부패 미생물인 <i>Penicillium expansum</i>의 Multivariate statistical analysis를 활용할수 있도록 분리동정한 미생물을 1공동 연구팀에 제공.</p> <p>- Fumonisin을 생성하는 것으로 알려진 <i>Fusarium proliferatum</i>의 생성능을 조사함. 부패 파프리카로부터 분리한 <i>F. proliferatum</i> 11균주와 <i>F. lactis</i> 7균주의 Fumonisin 생성능 조사한 결과 최소 192.0ppm에서 최대 1928.7ppm의 FB₁이 검출되었으며 FB₂의 경우 최소 74.2ppm, 최대 1556.3ppm이 검출.</p>
<p>○ 인공접종 파프리카 (Yellow, Orange), 인공접종 딸기의 부패관련 냄새 성분 최적 추출법 및 분석법 확립</p>	<p>- 인공접종 파프리카 (Yellow, Orange), 인공접종 딸기의 부패관련 냄새 성분 최적 추출법 확립</p> <p>- GC-MS 분석법 확립 및 최적화</p>	<p>- Solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 최적 추출 조건 확립 (fiber 종류, 평형·흡착·탈착 시간 및 온도)</p> <p>- 인공접종 파프리카 (Yellow, Orange), 인공접종 딸기의 부패관련 냄새 성분 분석조건 최적화</p>
<p>○ 인공접종 파프리카 (Yellow, Orange), 딸기의 부패관련 냄새 성분 동정 및 정량 분석</p>	<p>- GC-MS를 이용한 파프리카 (Yellow, Orange), 딸기의 부패관련 냄새 성분 정성 및 정량 분석</p>	<p>- Yellow, Orange 파프리카 시료 (3반복) 150회 이상 분석</p> <p>- 딸기 시료 (3반복) 70회 이상 분석</p> <p>- Retention Index (RI) 및 Mass spectra library (NIST, wiley)를 이용한 휘발성 유기성분 동정</p> <p>- 내부 표준물질 (파프리카: ethyl 2-methyl butanoate, 딸기: β-pinene)을 이용한 인공접종 파프리카, 딸기 부패관련 냄새 성분의 정량 분석</p>

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 다변량 통계기법을 활용한 프라세싱 및 마커 성분 선정	- Multivariate statistical analysis를 이용한 데이터 프로세싱 및 부패단계와의 상관관계를 규명하여 휘발성 냄새 마커 성분 선정	- GC-MS를 이용한 정성 및 정량분석을 통해 얻어진 부패 관련 냄새 성분의 변화 양상을 확인하기 위한 다변량 통계기법 확립 - Multivariate statistical analysis를 이용한 부패 관련 냄새 마커 성분 발굴
○ 부패 미생물과 2차 휘발성 유기대사산물 및 냄새 마커 생성과의 상관관계 규명	- Multivariate statistical analysis를 활용하여 선정된 휘발성 냄새 마커 성분과 해당 냄새 마커 성분과 관련성이 깊은 부패 미생물 선정	- 1,2차년도 연구 결과를 바탕으로 선정된 사과 및 부패 관련 휘발성 냄새 마커 성분과 이것의 생성에 크게 기여하는 사과 부패 미생물을 3차년도 연구 대상으로 선정
○ 모델시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명	- 부패 미생물의 휘발성 및 비휘발성 대사산물 분석	- 모델시스템 조건 확립 (액체 배지 종류, 배지 조성, pH 및 배양시간) - Stir bar sorptive extraction (SBSE)을 이용한 최적 추출 조건 확립 (stir bar 종류, 평형·흡착·탈착 시간 및 온도) - 추출한 휘발성 대사산물의 GC-MS 분석 조건 확립 (column 종류, oven program, cryo-focusing 등) - 유도체화를 통해 GC-TOF/MS를 이용하여 비휘발성 성분 분석 조건 확립 (column 종류, oven program 등)
	- 부패 미생물의 휘발성 및 비휘발성 대사산물의 동정 및 정량	- Retention Index (RI) 및 mass spectra library (NIST, Wiley)를 이용한 휘발성 대사산물 동정 - 내부 표준물질 (2,3,5-trimethyl pyrazine)을 이용하여 휘발성 대사산물 정량 분석 - 내부 표준물질 (threitol, heptanoic acid, tropic acid, norleucine)을 이용하여 비휘발성 대사산물 정량 분석
	- Multivariate statistical analysis를 활용하여 부패 미생물의 대사산물에 미치는 요인 (pH, 배양시간) 규명	- Multivariate statistical analysis를 활용하여 부패 미생물의 대사산물에 미치는 요인 (pH, 배양시간) 규명
○ 부패시료(사과, 파프리카, 딸기) GC-MS 데이터와 부패시료(사과, 파프리카) Metagenome 분석 결과 DB 화	- 각각의 부패시료에 대한 GC-MS 데이터(사과, 파프리카, 딸기)와 Metagenome 데이터(사과, 파프리카) 정제 및 전처리 - GC-MS와 Metagenome 데이터 특성 파악 및 필요 외부 데이터 조사 및 연계 - 데이터 정규화 및 데이터베이스화	- 사과, 적색/불란테 (Y)/오렌지프로 (O) 파프리카, 딸기에 대한 부패균별 부패시료에 대한 GC-MS 데이터와 사과, 파프리카 부패시료에 대한 Metagenome 분석 결과 데이터의 중복된 CAS 번호 및 오기된 기호나 문자 수정 등 데이터 정제과정 후 데이터베이스 입력 가능한 데이터 규격으로 변환하는 전처리과정 수행 - GC-MS와 관련된 CAS 번호와 화합물 이름 정보를 위해 ChEBI 데이터를 사용하였으며, Metagenome 데이터와 관련된 미생물 ID와 이름 정보를 위해 NCBI Taxonomy 데이터를 사용함 - 구축되는 데이터의 무결성 유지와 중복 최소화를 위해 데이터 정규화 과정을 거쳐 디자인한 후, 데이터베이스 프로그래밍과 SQL 문을 통해 관계형 데이터베이스로 구축함

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<ul style="list-style-type: none"> 특정 농산물의 냄새 프로파일과 부패균과의 상관관계 분석(SVM등 이용) 및 특정 농산물의 냄새 프로파일로부터 부패균과 부패단계 예측모델 개발(ANN 등 이용) 	<ul style="list-style-type: none"> 각각의 부패시료에 대한 유의미한 냄새 화합물 분석 유의미한 냄새 화합물 데이터를 이용하여 부패 단계 및 부패균에 대한 냄새 프로파일 분석 냄새 프로파일로부터 부패균과 부패 단계를 예측할 수 있는 모델 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 각각의 부패시료에 대한 GC-MS 데이터로부터 기본 통계량 분석 후 부패단계를 나타내는 부패 지수별 평균값에 대해 통계적 수치인 2-표준편차 이상 변화하는 화합물을 유의미한 냄새 화합물로 선별함. 유의미한 냄새 화합물 데이터를 이용하여 대표적인 기계학습 차원 축소 방법인 PCA와 LDA 분석을 통해 부패 단계 및 부패균에 대한 냄새 프로파일 분석 냄새 프로파일로부터 기계학습 방법인 KNN, LDA, RF, SVM, ANN을 사용, 분석하여 부패균과 부패 단계를 가장 잘 예측할 수 있는 모델 개발
<ul style="list-style-type: none"> 특정 농산물의 냄새 프로파일과 센서 데이터와의 연관성 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 냄새 화합물 데이터베이스와 프로파일 분석 결과를 사용하여 센서 데이터(사과, 파프리카)와의 연관성 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 냄새 화합물 데이터베이스와 프로파일 분석 결과를 사용하여 사과, 파프리카의 부패지수별 센서 데이터의 기본 통계 분석과 평균값의 표준화 변환을 통해 화합물 변화와 센서 측정값 변화와의 상관관계 분석
<ul style="list-style-type: none"> Dual 가스센서 기술을 이용한 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발 	<ul style="list-style-type: none"> Lab-scale 및 생산현장을 연결하는 Cloud 방식의 통신 기술 접목 	<ul style="list-style-type: none"> 최적의 부패냄새 가스센서 Dual type 내장 OS 프로그램에 의한 펌프, 솔레노이드 밸브, 저장, 데이터 전송 및 표출기능 구현 외형적 크기 : 200×170×120mm 부패 감지지 어플리케이션 개발(스마트폰 기기 연동) Bluetooth 및 WiFi 통신 모듈을 통한 스마트폰과 부패감지기 연결, 서버시스템에 데이터 전송 기능 구비
<ul style="list-style-type: none"> 부패감지기 시제품에 의한 신선 농식품의 부패냄새 DB 구축 	<ul style="list-style-type: none"> 부사사과, Red 파프리카, 설향 딸기 품종에 대한 부패예측값 산출 시제품에 대한 현장 평가와 적용방안 도출 	<ul style="list-style-type: none"> Dual 가스센서 출력값인 MOS#1과 MOS#2의 비(Ratio)에 의한 부패지수 개발 완료 부패유무를 3단계(Good, Not bad, Bad)로 평가 할 수 있는 부패예측값을 실험적으로 산출 사과 : Good(>1.00), Not Bad(1.00-0.85), Bad(<0.85) 파프리카 : Good(>1.00), Not Bad(1.00-0.85), Bad(<0.85) 딸기 : Good(<0.75), Not Bad(0.75-0.90), Bad(>0.90) 농산물 생산 및 유통현장에서는 다양한 냄새원인이 발생하고 있어, 부패냄새 센서에 대한 정확한 부패유무 판별을 위해서는 별도의 품질관리 공간 확보가 필요 딸기 및 파프리카의 경우는 유통과정에서 저장 및 보관과정이 매우 짧으므로 유리 bottle을 이용한 시료의 부패유무 평가가 가능하나, 사과는 저온저장 시설에 장기간 보관되므로 사과 저장용 보관 box 자체를 평가할 수 있는 대용량 용기 평가가 적절함

2절. 연구개발 추진전략

○ 연구개발 추진전략

- 기술정보 수집

- 국내외 관련 전문 학술지, 자료 및 특허를 수시로 검색하여 유용자료 및 정보를 수집하고 분석하여 본 연구 개발에 적극 활용함
- 국내외 학술대회* 세미나 및 워크숍 등에 참석하여 최신 연구동향 정보를 수집하고 활용함.
* (국내) 한국미생물연합회, 한국균학회, 한국식물병리학회, 한국대사체학회, 한국냄새환경학회, 한국식품과학회, 한국미생물생명공학회 등
** (국외) Fungal Genetics Conference (Fungal volatile organoic compound session), European Fungal Genetics Conference 등
- 국내 주요 부패원인균인 곰팡이 연구분야의 전문가(서울대, 중앙대, 연대, 강원대, 순천향대, 전남대 등)들과 연구 정보를 활발히 공유하고 자문을 위한 전문가 초청 세미나 등을 개최하여 기술 정보 수집
- 본 연구 관련 국내외 정책 및 규제에 대한 정보변화 추세에 관한 정보를 수집하여 본 연구에 활용함

- 분야별 높은 전문성을 가진 인력의 확보

- 신선 농식품 수출전략 품목의 대표적인 농업회사법인인 파프리카생산 및 유통 관련 (주)농산무역, 사과유통 및 기타 과채류 영농조합법인인 송원에이피씨, 딸기생산 및 유통 전문기업인 (주)올프레시(썸머힐상사) 등 주요 품목의 대표 농업법인들이 참여하였고 각 회사 소속의 현장 유통 전문가들과 주기적으로 연구미팅을 하여 결과를 공유 하였음
- 이들 농식품 유관 기업의 참여로 현장에서 다양한 부패시료를 수집하였으며, 현장수요 맞춤형 부패감지기기 시제품을 제작할 수 있도록 각 품목별 현장을 주기적으로 방문하여 애로사항등을 파악하고 반영하였음
- 냄새센서 개발기업인 (주)에어웍스는 중소 벤처기업으로 환경분야 악취냄새 감지개발을 위한 핵심기술 및 플랫폼 기술들을 보유하고 있으며 다수의 특허를 보유하고 있는 역량 있는 신생기업으로 본 과제 수행을 통하여 식품분야의 기술을 보유할수 있는 기회를 가지게 되었으며 본 연구결과를 바탕으로 기술이전 계약을 통하여 통상실시권을 실시할 기회를 가지게 되었음
- 부패원인 미생물의 균집 프로파일링 분석 및 기법개발을 위해 생명정보를 활용하여 다양한 통계학적 방법론을 도입, 부패냄새와 부패원인균 균집의 상관성 분석 및 관계도 등에 대한 연구에 다년간 경험이 있는 연구원을 채용하였음

- 생명정보 DB 및 VOC 프로파일링 데이터를 DB화하고 각 변수(품목, 품종, 부패진행도, 부패원인균, 저장온도 등) 마다 생성된 GC-MS 데이터를 가공하고 네트워킹 분석을 통한 상관성분석을 수행하며 cloud 시스템을 연계하여 현장에서 부패감지 시 데이터를 전송받아 구축된 플랫폼을 활용하여 부패정도를 전송해 줄 수 있는 시스템을 구축할 다년간의 경험과 경력을 보유한 전문가를 채용하였음
- 본 과제의 연구팀은 부패원인균 생명공학분야 전문가, 냄새마커 발굴 및 휘발성유기대사산물 분석전문가, 미생물 프로파일링기법개발 전문인력, 냄새지문관련 DB 구축 및 상관성분석 전문가, 부패감지센서 개발분야의 국내 최고 전문연구팀이 참여하였고 참여기업들 또한 각 품목생산에서 국내 제1의 생산, 유통회사들로 구성하였음. 연구 수행에 있어 각 연구팀의 전문성을 극대화하여 농업현장과 각 연구팀을 연계하여 생산 및 수출 현장에서 필요로 하는 부패감지기 시작품을 개발하고자 노력하였음. 더불어, 참여기업 외의 현장방문을 통하여 다양한 기술개발 수요를 수집하고자 노력하였음
- 연구개발 목표를 달성해 나가기 위해 과제에 참여하지 않은 각 분야 전문가 및 기업에 대한 정보를 수시로 확보하고 전문가 초청세미나, 학문적 교류 등으로 긴밀히 협력하였음

- 타 기관 또는 주관 기관과 협력하여 산업화를 모색

- 농림축산식품부에서 지원하고 있는 “수출전략기술개발사업” 내 신규선정 과제에 대한 동향을 파악하고 타 수출품목의 연구현황을 파악하여 본 연구에 참고적으로 활용하였음
- 최근 학문간 융복합의 중심으로 떠오른 ICT 분야 특히 센서기술 및 cloud 기술*을 보유한 연구팀과의 교류를 통하여 다양한 농식품 분야에 기술개발의 정보를 확보하고 본 과제에서 축적되는 DB 및 플랫폼 기술들의 확대 적용 방안을 모색하였음
- * 주관 기관인 숭실대학은 IT대학이 공과대학과 분리되어 특성화되어 있으며 본 연구 과제를 수행하기 위한 가장 적합한 연구 환경을 보유한 기관임
- 주관기관의 산학협력단 주관으로 외부 기업이 참여하는 기술이전 행사, 정부가 지원하는 기술사업화 프로그램에 참여하여 본연구에서 개발된 내용을 소개할 기회를 가졌음

- 연구개발 목표 달성 전략

(1) 연구팀별 명확한 연구개발 목표설정 및 연구수행

- 연구팀별 목표설정을 명확히 하고 팀별 세부 연구내용은 목표달성을 위한 세부계획으로 수립하여 각 팀이 유기적으로 협력하여 연구를 수행, 목표한 성과를 달성하였고 시너지효과를 극대화하였음

(2) 연차별 목표별 상세 연구계획 수립

- 현장에서의 시료수집 후 부패진행도(Decay Index) 관련 다양한 결정인자들을 수집, 정리하여 주관기관에서 부패진행도를 확립하였고 그에 따른 구체적인 실험계획을 수립하여

각 공동연구기관과 유기적인 결과를 도출하였음

(3) 효과적인 연구수행을 위한 연구팀 간 유기적인 협력관계 형성

- 연구개발 목표달성을 위해 주관기관을 중심으로 공동연구팀들은 평균 2개월에 한번, 전체 연구팀 미팅을 통하여 연구 결과를 공유하고 밀접한 논의를 통하여 연구를 수행하였음

연구팀	연구목표										
	신선 농식품 수출전략품목 3품목 이상의 부패관련 생명정보 데이터베이스(DB) 구축			신선 농식품 수출전략품목 3품목 이상의 부패냄새 데이터베이스(DB)구축			클라우드 방식의 냄새지문 플랫폼 구축				
	연구내용										
	부패관련 미생물 군집 profile 및 분석기법 개발	부패원인 미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명	부패관련 미생물 생명정보 데이터베이스(DB) 구축	부패 단계별 냄새 분석	부패관련 미생물과 부패냄새 상관성 분석	냄새지문 활용 유사도 분석로직 개발	냄새 지문 DB 구축	현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축	클라우드 방식 냄새 지문 플랫폼 개발	Lab-scale 냄새 측정 장치 개발	클라우드 방식 휴대용 부패 감지기 시제품 현장적용성 평가
주관											
1공동											
2공동											
3공동											

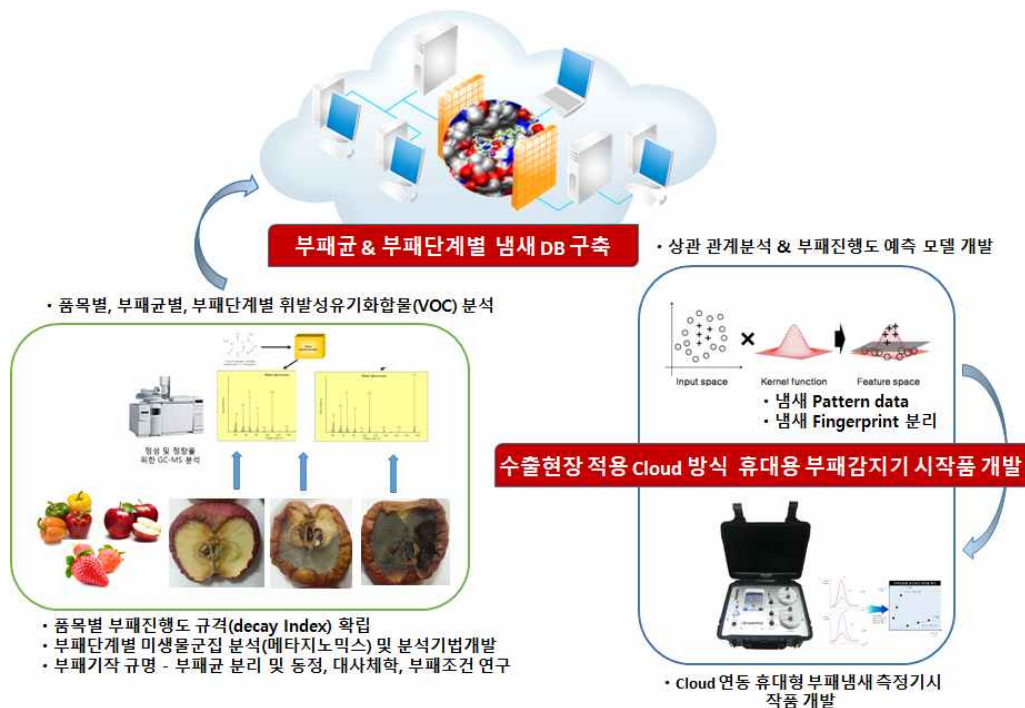
- 연구개발 방법론

- 과제의 대상 신선 수출전략 품목은 사과, 파프리카, 딸기 3가지를 중심으로 수행하였음. 각 품목별 수출 또는 유통 현장의 현황은 다음과 같이 파악되었으며 품목별 현장의 특성 및 유통 조건을 반영하여 실험계획 수립하고 수행하였음

- (1) 사과는 품종별로 저장기간이 2개월에서 7개월까지이며 가장 생산이 많이 되고 있는 주요 품종인 후지(부사) 품종은 11월부터 익년 6월까지 7개월간 0-1℃에 저장되는 특징이 있음. 따라서 수확부터 저장 상태까지 부패시료를 가장 용이하게 수집할 수 있었음.
- (2) 파프리카는 품위 위주(크기, 무게 등)로 선별하여 품질을 측정하고 작업장의 온도를 13-15℃를 유지하여 바로 포장, 배송, 수출로 연계되는 특징이 있고 따라서 부패감지뿐 아니라 품위를 높일 수 있는 숙성단계의 감지, 최고 품질을 선별해 낼 수 있는 냄새 감지기의 필요성도 파악되었음. 각 품목별 참여기업은 두 개의 대형 저장고를 보유하고 있으며 연구팀은 시료 수집 시 저장고 환경, 작업장 환경, 유통환경 등을 고려하여 시료를 수집하고 부패진행도를 측정하였음.
- (3) 딸기는 참여기업에서 수확 후, 포장, 출하. 유통 시작단계까지 약 24시간 내에 모두 이루어지므로 저장기간은 최대 24시간으로 파악되었으며 따라서 부패의 진행이 타 품목에 비하여 급속도로 진행되는 점 등을 고려하여 저장조건 및 유통조건으로 구별하여 부패진행도를 측정하였고, 국내 유통되고 있는 주요 품종인 설향, 장희를 2품종에 집중

하여 시료 수집 시기를 파악하고 연구를 수행하였음

- 부패원인 미생물과 부패냄새와의 상관성 및 부패 기작 규명을 위해 첨단 유전체학 기술을 도입하여 메타지노믹스(Metagenomics) 시퀀싱 및 생명정보 분석을 수행하였고, 생명정보 DB 구축을 위한 여러 가지 프로파일링 기법 개발을 부패원인균 군집 분석을 시도하였음.
- 품목별 품종별, 부패원인균별, 부패단계별, 저장 및 유통 환경에 따른 부패냄새 분석을 위해 품목별 적절한 분석법을 확립하고 신선 농산물 자체의 향미성분(휘발성물질)과 미생물에 의한 부패 냄새를 구분하는 방법, 품목별, 부패원인균별 냄새물질의 변화양상 등 다양한 방법 및 요인별 분석결과를 토대로 환경 분야와 비교하여 매우 복잡한 휘발성물질이 혼합되어 있는 식품 시료로부터 센서와 연계할 수 있는 냄새 마커를 발굴하고 1건의 특허 등록을 완료하였으며, 1건 출원중에 있음.
- 품목별 부패원인 냄새물질 DB구축을 위해 관련 public DB 자료를 수집하고 상관성 분석과 예측모델 개발에 필요한 구조관련 정보 선별할 것이며 부패냄새 화합물 DB를 구축하였음. 시료별 GC/Mass Spectra 및 Sensor data 프로파일을 DB화하고 부패단계(시간)별로 자료를 분류해 저장하였으며 이는 냄새 관련 물질 정보 DB 와 연동하였음. 품목별 냄새 프로파일과 부패원인균과의 상관관계를 분석 (SVM등 이용)하고 부패균과 부패단계 예측 모델을 개발하여 소프트웨어를 등록하였음.

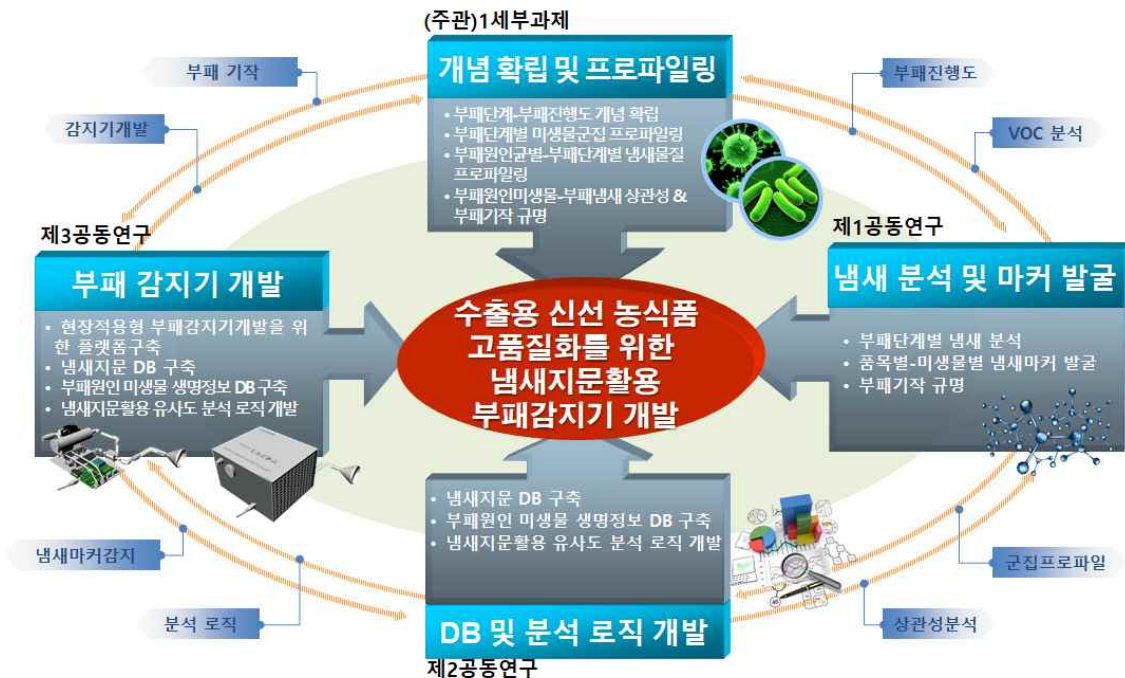


3절. 연구개발 추진체계

○ 연구개발 추진체계

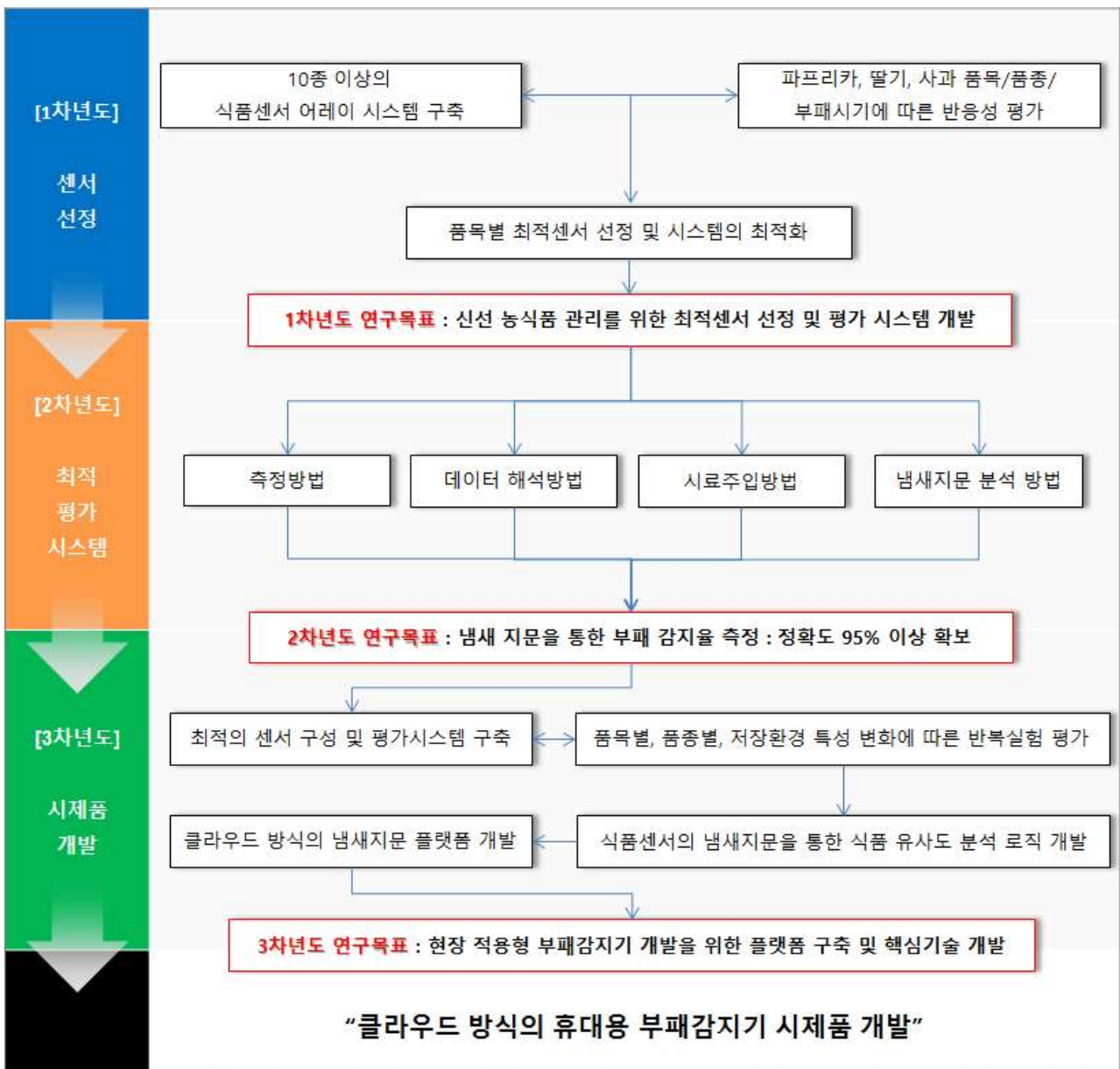
(1) 연구목표 달성을 위한 연구개발 추진체계도

- 각 연구팀이 수행하는 연구결과들은 연관된 연구팀들에 제공되고 데이터 또는 DB 검증 후 부패감지기개발팀에서 결과를 feedback해주는 체계로 연구개발 진행
- 주관연구팀(숭실대)이 품목별 부패원인미생물을 분리하여 부패진행도에 따라 각각의 부패냄새를 1공동연구팀과 협력하여 분석하고 분석결과물인 냄새프로파일을 2공동연구팀으로 제공하여 DB구축
- 1공동연구팀(이화여대)은 부패진행도가 다양한 시료를 수집하여 냄새관련 VOC를 프로파일링하고 냄새마커 물질을 발굴하여 3공동연구팀으로 냄새마커를 제공하고 분석 raw data인 GC-MS spectra는 2공동연구팀에 제공하여 DB구축
- 3공동연구팀(대전대)은 품목별 부패냄새감지에 적절한 센서를 선정하고 기기개발을 위한 시료주입법, 냄새분석법, 측정법, 데이터해석법 등을 연구하며 2공동에서 구축한 DB와 연동하여 클라우드 방식으로 감지기에서 측정된 부패정도가 어느 단계인지를 디스플레이할 수 있는 플랫폼 기술들을 개발하여 최종적으로 현장적용형 휴대용 부패감지기 시제품을 개발함

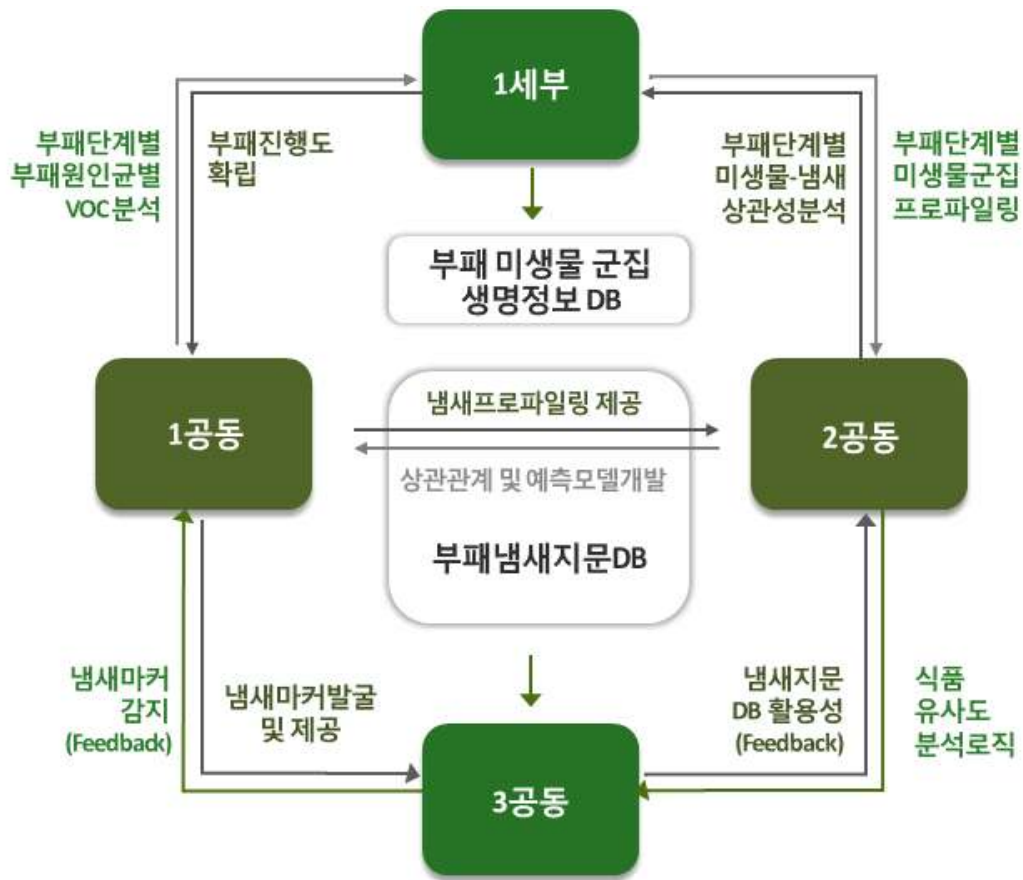


(2) 클라우드 방식의 휴대용 부패감지기 개발을 위한 추진체계

- 신선 농식품 부패냄새 감지기 개발을 위해 [1차년도] 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 선정 및 평가 시스템 개발 [2차년도] 선정된 센서를 기반으로 측정방법, data 해석방법, 시료주입방법, 냄새지문 분석방법 등을 통한 최적 평가 시스템 완료 [3차년도] 최종적인 시제품 개발 및 평가를 목적으로 현장 적용형 부패감지센서 개발을 위한 플랫폼 구축, 핵심 기술 개발 및 Cloud 방식의 휴대용 부패감지센서 시제품 개발



(2) 연구팀의 강점



- 주관 세부연구팀을 중심으로 3개의 공동연구팀으로 구성되어 있으며 과제목표를 달성하기 위해 각 분야 국내 최고의 전문가들로 구성하였음
- 참여기업 중 **농업회사법인**은 모두 3개 기관으로 각 품목의 대표적인 농업회사법인으로 구성되어 파프리카 수출의 대표기업인 (주)농산무역, 딸기와 사과 산지와 연결된 유통회사인 송원에이피씨와 (주)썸머힐상사(올프레시)가 현장에서의 부패단계별 시료수집 및 부패감지기의 현장 적용성 확대 시험 평가를 위해 참여하고 있음
- 참여기업 **에어웍스**는 **냄새감지센서개발**에서 다년간의 경험과 연구개발실적을 보유하고 있는 연구팀으로 연구개발결과 구축되는 부패원인 냄새물질 및 생명정보 DB와 냄새마커 등을 활용하여 현장에서 적용 가능한 부패냄새감지 센서를 개발하고 수출현장에서 참여 농업회사 법인이 수출 또는 유통하고 있는 신선 농식품의 부패감지 현장 적용성 평가를 담당함
- **주관연구팀**은 현재 정부 유전체사업단에서 참조유전체 연구를 통하여 우리나라 전통주의 과학화를 목표로 우수 산업균주 확보를 위해 약 1000개체 이상의 누룩곰팡이(사상성진균+효모)를 분리, 동정, 확보하고 있어 국내 최다 누룩곰팡이균주 DB를 보유하고 있음. 주관

연구책임자는 사상성곰팡이의 분류·동정, 곰팡이 2차대사산물의 구조동정, GC-MS분석, LC/MS분석 등으로 다수의 SCI논문을 발표하였고 모델곰팡이인 *Aspergillus nidulans*의 포자형성, 성장, 2차대사와 관련된 신호전달기작 연구로 다수의 SCI논문을 발표한바 있음. 본 연구개발과제에서 부패원인미생물이 주로 곰팡이이고 냄새(휘발성 2차대사산물)와 부패기작(유전학적, 분자생물학적)을 규명하기 위한 역량을 보유하고 있음

- 1공동연구팀은 향미화학연구실로 다년간 식품의 향미성분(휘발성유기화합물) 분석연구를 수행해왔고 본 연구에서 필요한 분석법확립, 냄새마커 발굴, 부패단계별 미생물의 냄새프로파일 분석, 상관성 분석 등을 수행함. 연구책임자는 미국의 글로벌 식품소재회사인 Griffith Laboratories Company에서 향미소재 개발 및 향미분석과 관련된 업무를 수행한 경험이 있고, 지난 15년간 국내 식품 및 IT 기업인 (주)CJ, (주)LG전자, (주)롯데, (주)매일유업, (주)삼성전자, (주)샘표식품, (주)오리온 등과 산업체 수요기술개발을 위한 공동연구를 꾸준히 수행한 경험으로 산업 현장과의 친밀도가 높아 본 연구에서 센서기업과의 긴밀한 협력과 공동연구 수행에 매우 적합한 역량을 확보하고 있음
- 2공동연구팀은 다양한 천연물과 화학물질의 Chemical DB구축의 뛰어난 역량을 가진 연구팀으로 국내 최고의 생물정보분석 서비스, NGS 서비스 및 제약사에서의 전문적인 업무 수행 경험이 풍부한 연구인력을 확보하여 DB구축을 담당하였음
- 3공동연구팀은 환경분야 악취냄새감지기 개발의 핵심기술과 제품개발의 독보적인 영역을 확보하고 있는 대전대연구팀과 기업으로 구성되어 있으며 감지기 개발 및 현장연계의 역할을 담당하였으며 부패냄새감지기 시작품을 제작하여 현장적용성 평가를 담당하였음. 향후 제품화에 대한 높은 가능성을 확보한 연구팀임

4절. 연구개발 결과

1. 연차별 연구개발 목표 및 결과

가. 1차년도 연구개발 목표 및 결과

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2016)	(주 관) 송 실 대 진 균 분 자 생 물 학 연 구 실	○부패단계별 시료수 집(파프리카, 사과)	○사과 부패율별 시료 수집	- 시료수집 : 총주 3회, 문경,1회, 안동사과단지 1회 - 사과수집 품종 :부사 & 홍로 품종 시료 1) 총주 새터 농원 : 홍로 29개, 부사 50여개 2) 문경 꿈나무농원 : 10개 수집 - 공동1연구팀(이화여대) VOC 분석시료 인계 3) 송원APC : 4개품종 수집 (예비실험)
			○파프리카 부패율 별 시료 수집	- 시료수집 : 김계 (주)농산 2회 - 파프리카 수집품종 : 1) 1차 : (주)농산 총 70여개 수집 - 마주로, 시로코 (빨강), 오랜지프로(주황), 블란테(노랑) - 33개 선별하여 각 공동연구팀 인계 2) 2차 : (주)농산 총 50여개 수집 - VOC 분석 및 메타지노믹스용 수집
			○부패율에 따른 부패 지수 확립	- 대상 시료 : 부사품종 10개 , 홍로품종 8개, 파프리카 11개 시료 - 부패율에 따른 부패지수 확립
		○부패미생물-부패냄 새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	○현장 수집 시료로부 터 부패원인 진핵미 생물 분리 및 동정	- 홍로품종 : 5개 시료에서 44개체 14종 분리 - 부사품종 : 5개 시료에서 45개체 15종 분리 - 파프리카 품종 : 11개 시료에서 62개체 분리
		○부패미생물-부패냄 새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	○품목별 부패원인 주 요 식물 병원균 및 부생균 확보	- 부패시료로부터 주요 식물병원균 분리 동 정 및 -70℃ glycerol stock 보관 1) 홍로시료로부터 14종 (주요균 <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Penicillium expansum</i> 등) 2) 부사 시료로부터 15종 (주요균 <i>Botryosphaeria dothidea</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria tenuissima</i> 등)

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2016)	(주 관) 승 실 대 진 군 분 자 생 물 학 연 구 실		<ul style="list-style-type: none"> ○ 현장 수집 시료로부터 분리한 부패원인 균을 인공 접종하고 부패율에 따른 부패 지수 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 인공접종대상 균주 9종 <i>Alternaria alternata</i>, <i>Penicillium expansum</i>, <i>Botryosphaeria dothidea</i>, <i>Aureobasidium pullularis</i>, <i>Stamereela bacillaris</i>, <i>Hanseniaspora uvarum</i>, <i>Penicillium mallochii</i>, <i>Aspergillus flavus</i> - 자연부패 시료로부터 확립한 부패지수를 적용하여 평균 및 최대분해속도 도출 <i>Botryosphaeria dothidea</i> (최대 23.955%/day) <i>Penicillium expansum</i> (최대 8.342%/day) <i>Alternaria alternata</i>, (최대 5.409%/day)
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 사과 부패 시료 (홍로 5종, 부사 4종)과 미부패시료 (홍로 1종, 부사 1종)에 대하여 메타지놈 시퀀싱을 이용한 미생물 군집 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 대부분의 사과 부패 시료의 곰팡이 군집에 대한 다양성 지수가 미부패 시료보다 낮은 것으로 나타남. - 사과부패시료의 곰팡이 군집 내의 <i>Botryosphaeria</i>, <i>Stamereella</i>, <i>Alternaria</i>의 비율에 따라 부패 증상이 다른 경향을 나타냄.
	(공동1) 이 화 여 대 향 미 화 학 연 구 실	<ul style="list-style-type: none"> ○ 품목별 (사과, 파프리카) 휘발성 유기 화합물 (VOC)의 추출법, 기기분석법 및 data 프라세싱법 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자연부패 및 인공접종 사과, 자연부패 파프리카의 냄새 성분 최적 추출법 및 분석법 확립 ○ 사과, 파프리카의 냄새 성분 정성 및 정량 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 인공접종 파프리카, 자연부패 딸기의 부패 관련 냄새 성분 분석조건 최적화 (column 선정, cryo-focusing system 도입, 최적 oven program 확립, 최적 내부표준물질 선정) - Solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 최적 추출 조건 확립 (fiber 종류, 평형·흡착·탈착 시간 및 온도) - Retnetion Index (RI) 및 mass spectra library (NIST, wiley)를 이용한 휘발성 유기 성분 동정 - 내부 표준물질 (사과: 2,3-dimethyl pyrazine)을 이용한 인공접종 파프리카, 딸기 부패관련 냄새 성분의 정량 분석
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 다변량 통계 분석을 통한 부패관련 냄새 마커 선정 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다변량 통계기법을 활용한 data 프라세싱 및 마커 성분 선정 	<ul style="list-style-type: none"> - GC-MS를 이용한 정성 및 정량분석을 통해 얻어진 부패 관련 냄새 성분의 변화 양상을 확인하기 위한 다변량 통계기법 확립 - 자연부패 사과 관련 부패 냄새 마커 성분 선정 (ethanol, hexan-1-ol, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl hexanoate, ethyl 3-hydroxymandelic acid, 3-methylbutanal 등) - 인공접종 사과 관련 부패 냄새 마커 성분 선정 [styrene, ethanol, benzaldehyde, ethyl octanoate, (E)-hex-2-enal, ethyl propanoate 등] - 자연부패 파프리카 관련 부패 냄새 마커 성분 선정 (1,4-xylene, dichloromethane, ethanol, 2-methylpentane, oxolane, pentyl benzene, 1-methyl pyrrole, 3-methyl butanal, 2-methylfuran, α-copaene, 2,4-dimethylhexane 등)

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2016)	(공동2) 승실대 화학정보 분석 연구실	○부패 단계별냄새 물질 관련 정보 DB 구축	○mVOC 및 PubChem에서 확 인한 130여종 곰팡이 유래 부패냄새물질 약 400여개의 구조정보 확보 ○사과시료의 부패시 발생하 는 화합물 약 300여개 이상 에 대한 화합물 구조 Data 확보	- MOS 센서 데이터 신호 분석법 개 발 및 상관관계 분석법 개발 - 부패 사과 시료 GC-MS 3차원 데 이터 확보 및 GC-MS 프로파일과 300여종 이상의 주요 부패신호 화 합물 분석용 프로그램 개발
	(공동3) 대전대 환경공학 연구실	○ 신선농식품 관리를 위한 최적 센서 모듈 선정 및 평가 시스템 개발	○농식품 평가를 위한 반도체 식, 전기화학식, 광이온화식 냄새센서 선정 ○10종 이상의 농식품 냄새센 서 어레이 시스템 구축 -10종 반도체식 센서 어레이 를 이용한 평가 -반도체식 12종, 전기화학식 1종, 광이온화식 1종의 냄 새센서 어레이 구축	- 국내외 연구논문 조사를 통해 신 선 농식품 평가방법 고찰 - 10종(Figaro 社 : 6종, FIS社 : 4 종) 센서 어레이 시스템을 이용한 평가 - 14종(Figaro 社 : 12종, FIS社 : 2 종, MEMBRAPOR 社 : 1종, Alphasense 社 : 1종) 센서 어레이 시스템 구축 - 펌프, 메니폴더, 밸브제어 방식의 시스템 구축
		○농식품 평가를 위한 부패 단계별 냄새센 서 시스템의 최적화	○파프리카, 딸기, 사과 품목/ 품종/부패시기에 따른 센서 시스템의 최적화	- 홍로사과 11개 시료에 대한 향 및 부패냄새 평가 - 파프리카 10종 시료에 대한 향 및 부패냄새 평가 - 10종 센서 어레이 데이터 로거 및 센서 제어 회로 제작 - 홍로사과 및 파프리카 시료에 대 한 평가 및 최적센서 도출 - 부패균 7종 및 대조구 2개 인공 집중향 사과시료(주관팀 제공)에 대한 부패지수 관찰과 14종 센서 어레이를 이용한 부패냄새 평가

나. 2차년도 연구개발 목표 및 결과

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2017)	(주 관) 승 실 대 진 균 분 자 생 물 학 연 구 실	○부패단계별 시료수 집(파프리카, 딸기)	○ 파프리카 부패율 별 시료 수집	<ul style="list-style-type: none"> - 시료수집 : 김제 (주)농산 2회 - 파프리카 수집품종 : <ul style="list-style-type: none"> 1) 1차 : (주)농산 총 70여개 수집 <ul style="list-style-type: none"> - 마주로, 시로코 (빨강), 오렌지프로(주 황) , 불란테(노랑) - 33개 선별하여 각 공동연구팀 인계 2) 2차 : (주)농산 총 50여개 수집 <ul style="list-style-type: none"> - VOC 분석 및 메타지노믹스용 수집
			○ 딸기 부패율 및 증상 별 시료 수집	<ul style="list-style-type: none"> - 시료수집 : 경북고령 쌍림지회, 경남산청 썸머힐상사 - 딸기 수집 품종 : 장희 설향 품종 시료 <ul style="list-style-type: none"> 1) 경북고령 쌍림지회 : 1회수집 총 15개 2) 경남산청 썸머힐상사 : 2회수집 장희 4kg, 설향 4kg - 부패원인균 분리 동정 - 분리동정한 단일균주를 인공접종하여 공동1연구팀(이화여대) 공동3연구팀(대전 대) 시료 인계
			○ 부패율에 따른 부패 지수의 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 대상 시료 : 파프리카, 딸기 <ul style="list-style-type: none"> 1) 파프리카 11개 시료 2) 딸기 2차례 실시하였으나 과실이 작고 경도가 약한 특성 때문에 측정 불가
		○부패미생물-부패냄 새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	○ 현장 수집 시료로부 터 부패원인 진핵미 생물 분리 및 동정	<ul style="list-style-type: none"> - 파프리카 3품종 (시로코 (R), 불란테 (Y), 오 렌지프로 (O)) 11개 시료에서 54개체 20종 분리 - 딸기 2품종 (장희, 설향) 8개 시료에서 47개 체 7종 분리 - 사과 2품종 (홍로, 부사)에서 분리한 <i>Alternaria</i> spp. 23개체 <i>gpd</i> / <i>Alt</i> gene 이 용 추가 동정실시 -> <i>Alternaria alternata</i> 로 재명명 (1차년 도 연구연계)
			○ 품목별 부패원인 주 요 식물 병원균 및 부생균 확보	<ul style="list-style-type: none"> - 부패시료로부터 주요 식물병원균 분리 동 정 및 -70℃ glycerol stock 보관 <ul style="list-style-type: none"> 1) 파프리카 시료 3품종 11개 시료로부터 20종 (주요균 <i>Fusarium proliferatum</i>, <i>Fusarium lactis</i>, <i>Botrytis cinerea</i> 등) 2) 딸기 시료 2 품종 시료로부터 7종 (주요균 <i>Cladosporium cladosporioides</i>, <i>Cladosporium tenuissimum</i>, <i>Botrytis cinerea</i>, <i>Penicillium brevicompactum</i>, 등) 3) 사과 시료로부터 분리한 <i>Alternaria</i> spp. 23개체 <i>Alternaria alternata</i>로 재명명 후 보관 (1차년도 연구연계)

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2017)	(주 관) 송 실 대 진 균 분 자 생 물 학 연 구 실		○ 현장 수집 시료로부터 분리한 부패원인 균을 인공 접종하고 부패율에 따른 부패 지수 확립	- 파프리카 인공접종대상 균주 6종 <i>Fusarium proliferatum</i> , <i>Fusarium lactis</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Glomerella acutata</i> , <i>Acremonium alternatum</i> , <i>Gibelluopsis nigrescens</i> - 딸기 인공접종대상 균주 6종 <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Cladosporium tenuissimum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium brevicompactum</i> , - 사과 인공접종 대상 균주 4종 <i>Alternaria alternata</i> , <i>Botryosphaeria dothidea</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Hanseniaspora uvarum</i>
		○ 품목별 부패단계별 미생물 군집 프로파일링	○ 파프리카 부패시료 (빨강 3개, 주황색3개, 노랑 2개)와 미부패 시료(빨강, 주황색, 노랑 각 1개씩)에 대한 메타지노믹싱을 이용한 미생물 군집 분석	- 파프리카 부패시료의 곰팡이 군집에 대한 종 풍부도 지수는 건전한 시료보다 높으며, 다양성 지수는 낮은 경향을 보임. - 파프리카시료의 곰팡이 군집내의 <i>Fusarium</i> spp., <i>Botrytis caroliniana</i> 의 비율에 따라 부패증상이 다른 경향을 보임.
			○ 딸기시료 (설향 9개, 장희 6개)의 메타지노믹스 분석을 위한 genomic DNA 추출	- 딸기부패시료에 대한 메타지노믹스 분석의 회함
		○ 미생물군집 프로파일링 기법 개발을 위한 기준 분석 방법 응용	○ 다양한 DB와 통계분석방법을 적용하여 미생물군집 분석	- EzFungi database와 UNITE fungal ITS database 등의 DB를 기반으로 한 메타지노믹스 분석을 통해 사과와 파프리카의 주요 부패균주인 <i>Alternaria</i> 와 <i>Fusarium</i> 을 species 수준으로 동정할 수 없었음 - Chao1과 Shannon을 적용하여 시료의 미생물 군집의 다양성 지수를 추정하였음
	(공 동) 이 화 여 대 향 미 화 학 연 구 실	○ 인공접종 red 파프리카, 자연부패 딸기의 부패 관련 냄새 성분 최적 추출법 및 분석법 확립	- 인공접종 red 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 최적 추출법 확립	- Solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 최적 추출 조건 확립 (fiber 종류, 평형·흡착·탈착 시간 및 온도)
			- GC-MS 분석법 확립 및 최적화	- 인공접종 red 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 분석조건 최적화 (column 선정, cryo-focusing system 도입, 최적 oven program 확립, 최적 내부표준물질 선정)
○ 인공접종 사과, red 파프리카, 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 동정 및 정량 분석		- GC-MS를 이용한 사과, 파프리카 (Red), 자연부패 딸기의 부패관련 냄새 성분 정성 및 정량 분석	- Retention Index (RI) 및 mass spectra library (NIST, wiley)를 이용한 휘발성 유기 성분 동정 - 내부 표준물질 (파프리카: ethyl 2-methyl butanoate, 딸기: β -pinene, 사과: 2,3-dimethyl pyrazine)을 이용한 인공접종 파프리카, 딸기 부패관련 냄새 성분의 정량 분석	

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2017)	(공동1) 이화여대 향미화학연구실	○ 다변량 통계 분석을 통한 부패관련 냄새 마커 선정	- Multivariate statistical analysis를 이용한 데이터 프로세싱 및 부패단계와의 상관관계를 규명하여 휘발성 냄새 마커 성분 선정	<ul style="list-style-type: none"> - GC-MS를 이용한 정성 및 정량분석을 통해 얻어진 부패 관련 냄새 성분의 변화 양상을 확인하기 위한 다변량 통계기법 확립 - 인공접종 사과에서 초기 부패 시 정량적으로 증가한 초기 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 (ethanol, 3-methylbutanol, benzaldehyde, 1-methoxy-3-methylbenzene, styrene, methyl acetate, 2-methylfuran 등) - 인공접종 red 파프리카에서 부패함에 따라 증가한 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 (1-methylpyrrole, α-muurolene, β-elemene, oxolane, benzene, 1,2-xylene, 1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene 등) - 자연부패 딸기에서 부패함에 따라 증가한 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 (6-methoxypyrimidine-4,5-diamine, styrene, benzene, ethylbenzene, camphene, α-pinene, dl-limonene, 2-methylfuran 등)
	(공동2) 이화여대 인포메틱스 연구실	○ 품목별 부패단계, 부패원인미생물에 따른 냄새 프로파일 DB구축	○ 샘플별 GC-MS Spectra 및 Sensor Data 프로파일을 DB화	<ul style="list-style-type: none"> - 사과, 파프리카의 부패에 따른 VOC DB를 통하여 부패군 별 VOC나, 부패 단계별 VOC에 대하여 분석할 수 있도록 개발. - 사과의 센서 값 DB를 통하여, 부패감지기에 이용될 수 있는 센서를 분석
			○ 부패단계(시간)별로 자료를 분류해 저장	<ul style="list-style-type: none"> - 사과, 파프리카의 부패단계(시간)별로 VOC 데이터를 저장하고, 이를 분석
		○ 냄새 관련 물질 정보 DB와 연동을 위한 web browser구축	<ul style="list-style-type: none"> - mVO와 MycoBank DB의 내용 및 구조를 연구하였고 DB 자료 수집 - 본 과제에 사용되는 GC-MS Spectra 및 Sensor Data를 확인할 수 있도록 web browser 구축 	

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2017)	(공동3) 대전대 환경공학연 구실	<ul style="list-style-type: none"> ○ Lab-scale 수출전 략 농산물 냄새측 정 장치개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 파프리카를 대상으로 정확도 향상을 위한 시료선별방법 고찰 ○ 사과, 파프리카 딸기 의 향에 우수하게 반 응하는 가스센서 평 가 ○ 시료주입 및 안정화 방법 비교 고찰 ○ 센서 출력신호 해석 방법 ○ 평가 대상 농식품별 최적의 센서 선정 <ul style="list-style-type: none"> - 홍로사과 : TGS 2603, TGS 2602 - 파프리카 : TGS 2603, TGS 2602 - 딸기(설향) : TGS 2603, TGS 2602, TGS 825 	<ul style="list-style-type: none"> - 과실 자체적으로 배출하는 향에 차이가 발 생, 가스센서를 통한 실험대상 시료를 선별 하는 방법을 고찰 - 고농도 및 선택적 반응성이 높아 과실 향의 낮은 반응성을 보이는 전기화학식, 광이온 화 검출식 센서는 평가에서 제외 - 14종의 금속산화물 가스센서 중에는 F사의 TGS 모델 센서가 신선농식품 향과 부패냄 새에 우수하게 반응하는 센서로 확인 - 파프리카, 사과 : 전자밸브 제어방식, 시료 주입시간 30초 이내, 안정화 시간 270초 내의 - 딸기 : 주시가 정량 주입방법, 주요 주입후 반응 시간 10초 내외, 안정화 시간 170초 내외 - 반도체식 12종, 전기화학식 1종, 광이온화 식 1종의 냄새센서 어레이 구축 - 부패시료와 control 시료의 비로 데이터 표 준화가 검토되어야 하며, 이때에 기준값 1.00 이상을 넘을 경우 부패의심 가능함
		<ul style="list-style-type: none"> ○ Cloud 방식의 냄새 지문 플랫폼 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Dual 센서를 이용한 Lab-scale 냄새측정 장치 ○ PC 운영 프로그램을 통한 데이터 프로토 콜 전송 기능 	<ul style="list-style-type: none"> - 1차 및 2차년도에서 평가된 금속산화물 가 스센서 중 부패냄새와 관계가 높은 TGS 2603, TGS 2602 듀얼 서로 냄새측정 장치 설계 완료 - 3방향 전자밸브 방식으로 시료와 농도에 따라 흡입시간 조절 가능하도록 설계 - 듀얼센서 모듈, PC 프로그램, Web DB 서 버로 통신하는 기본 로직 설계 진행

다. 3차년도 연구개발 목표 및 결과

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차년도 (2018)	(주 관) 승 실 대 진 군 분 자 생 물 학 연 구 실	○ 품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링 기법 개발	○ 시료간 미생물 군집 유사성 분석 ○ 부패단계별 미생물 군집분석을 위해 기존 분석방법을 응용한 합리적 분석 기법 개발 ○ 품목별 적합한 분석 모델 수립 및 분석결과 구축	- EzFungi database와 UNITE fungal ITS database 등의 DB를 기반으로 한 메타지노믹스 분석을 통해 딸기의 주요 부패균주로 진균 <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Penicillium brevicompactum</i> , <i>Metschnikowia zobellii</i> 세균으로는 <i>Pantoea vagans</i> , <i>Pseudomonas marginalis</i> , <i>Pantoea ananatis</i> , <i>Enterobacter bugandensis</i> - Chao1과 Shannon을 적용하여 시료의 미생물 군집의 다양성 지수를 추정하였음
		○ 품목별(파프리카, 사과, 딸기) 생명정보 DB 구축을 위한 기초자료 제공	○ 분석결과 바탕으로 품목별, 부패단계별 미생물 군집 생명정보 데이터 제공(2공동연계 DB구축)	- 부패 사과, 파프리카, 딸기 시료로부터 분리한 주요 부패원인균의 효소 활성능, 최적 온도, 독소 분석 등 미생물 특성을 조사하여 http://fungen.ssu.ac.kr/cgi-bin/fungistrain/stdb_main.cgi 에 균주 DB 구축 - 메타지노믹스 분석을 통하여 분석한 부패 사과, 파프리카, 딸기의 미생물 군집 생명정보 데이터를 2공동에 제공하여 DB구축 연계
		○ 부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명	○ 부패원인균의 휘발성 2차대사산물 생성능 조사 ○ 부패원인균별 냄새물질과의 상관성 조사	- 1, 2차년도 연구 결과를 바탕으로 사과의 부패 관련 휘발성 냄새 마커 성분으로 선정된 styrene과 이것의 생성에 크게 기여하는 사과 부패 미생물인 <i>Penicillium expansum</i> 의 Multivariate statistical analysis를 활용할 수 있도록 분리동정한 미생물을 1공동 연구팀에 제공. - Fumonisin을 생성하는 것으로 알려진 <i>Fusarium proliferatum</i> 의 생성능을 조사함. 부패 파프리카로부터 분리한 <i>F. proliferatum</i> 11균주와 <i>F. lactis</i> 7균주의 Fumonisin 생성능 조사한 결과 최소 192.0ppm에서 최대 1928.7ppm의 FB ₁ 이 검출되었으며 FB ₂ 의 경우 최소 74.2ppm, 최대 1556.3ppm이 검출.

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차년도 (2018)	(공동) 이화여대 향미화학 연구실	○ 인공접종 파프리카 (Yellow, Orange), 딸기의 부패관련 냄새 성분 동정 및 정량 분석	- GC-MS를 이용한 파프리카 (Yellow, Orange), 딸기의 부패관련 냄새 성분 정성 및 정량 분석	- Yellow 인공접종 파프리카에서 총 70개의 휘발성 유기성분 검출 - Orange 인공접종 파프리카에서 총 76개의 휘발성 유기성분 검출 - 인공접종 딸기에서 총 168개의 휘발성 유기성분 검출
		○ 다변량 통계기법을 활용한 data 프라세싱 및 마커 성분 선정	- Multivariate statistical analysis를 이용한 데이터 프로세싱 및 부패단계와의 상관관계를 규명하여 휘발성 냄새 마커 성분 선정	- Yellow 인공접종 파프리카에서 부패할수록 증가한 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 (nonan-1-ol, ethyl acetate, decanal, 4-methyl decane, nonanal, ethyl benzene, dl-limonene, β -elemene, α -muroloene 등) - Orange 인공접종 파프리카에서 부패할수록 증가한 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 (2,3,6-trimethyl benzene, benzaldehyde, styrene, dodecane, 4-methyl decane, ethyl acetate, ethyl benzene 등) - 인공접종 딸기에서 부패할수록 증가한 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 (2-methylbutan-1-ol, styrene, 2-methylbutyl acetate 등)
		○ 부패 미생물과 2차 휘발성 유기대사산물 및 냄새 마커 생성과의 상관관계 규명	- Multivariate statistical analysis를 활용하여 선정된 휘발성 냄새 마커 성분과 해당 냄새 마커 성분과 관련성이 깊은 부패 미생물 선정	- 1,2차년도 연구 결과를 바탕으로 사과와 부패 관련 휘발성 냄새 마커 성분으로 선정된 styrene과 이것의 생성에 크게 기여하는 사과 부패 미생물인 <i>Penicillium expansum</i> 을 3차년도 연구 대상으로 선정
		○ 모델시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명	- 부패 미생물의 휘발성 및 비휘발성 대사산물의 동정 및 정량	- 부패 미생물의 배양조건 (pH, 배양시간)에 따른 휘발성 및 비휘발성 대사산물 분석 - Butan-1-ol, 3-methylbutan-1-ol, hexanal, decanal, 1,4-xylene, hexadecane 등 휘발성 대사산물 동정 및 정량 - Xylulose, arabitol, fructose, alanine, valine, phenylalanine, succinic acid, lactic acid 등 비휘발성 대사산물 동정 및 정량
		- 냄새 마커 물질의 전구체 및 생성요인 규명	- 부패 관련 냄새 마커 물질로 선정된 styrene의 전구체인 phenylalanine을 potato dextrose broth (PDB)에 첨가하여 배양 - pH 조건에 대해서는 pH 5에서 styrene이 pH 9에 비해 높은 수준으로 정량됨. - 배양시간 조건에 대해서는 24시간 배양 시 styrene이 16, 32시간 배양 시에 비해 높은 수준으로 정량됨. - pH와 배양시간이 부패 관련 냄새 마커 물질인 styrene의 생성에 영향을 줄 수 있음. - 이 외에도 phenylalanine으로부터 생성된 총 10종의 휘발성 대사산물 동정 및 정량함. (styrene, benzoic acid, 2-phenylethanol, benzaldehyde, acetophenone, cinnamic acid 등)	
	- Multivariate statistical analysis를 활용하여 부패 관련 냄새 마커 물질의 영향을 미치는 요인 규명	- Multivariate statistical analysis를 활용하여 휘발성 및 비휘발성 대사산물의 생성에 영향을 미치는 요인 파악 - 사과 부패 미생물인 <i>P. expansum</i> 에 의한 휘발성 및 비휘발성 대사산물이 pH와 배양시간에 의해 영향을 받았음. 특히, 휘발성 대사산물의 경우 pH에 따른 차이가 크게 나타남.		

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과																															
3차 년도 (2018)	(공동2) 이화여대 인포메틱스 연구실	○냄새 프로파일을 이 용한 상관성 분석 및 예측 모델 개발	○부패균 특이적 fingerprint 선별	<ul style="list-style-type: none"> - 전체 연구결과 정보 데이터베이스는 GC-MS 관련 7개 테이블과 Metagenome 관련 5개 테이블로 총 12개 테이블로 설계 및 구축 됨 - GC-MS 데이터와 관련하여 부패지수별 부패단계별 화합물 결과 사과 3,040 건, 시로코 (R) 파프리카 1,215건, 볼란테 (Y) 파프리카 1,200건, 오렌지프로 (O) 파프리카 1,140 건, 딸기 2,640건 입력. - Metagenome 데이터와 관련 사과 박테리아 9,792건, 사과 곰팡이 4,378건, 파프리카 박테리아 8,907건, 파프리카 곰팡이 1,160건 입력 - 부패 원인균별 부패 지수별 평균값에 대해 통계적 수치인 2-표준편차 이상 변화하는 유의미한 냄새 화합물을 선별함 <table border="1"> <thead> <tr> <th>농산물</th> <th>유의미한 화합물</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>사과</td> <td>77 화합물</td> </tr> <tr> <td>시로코 (R) 파프리카</td> <td>34 화합물</td> </tr> <tr> <td>볼란테 (Y) 파프리카</td> <td>42 화합물</td> </tr> <tr> <td>오렌지프로 (O) 파프리카</td> <td>58 화합물</td> </tr> <tr> <td>딸기</td> <td>23 화합물</td> </tr> </tbody> </table>	농산물	유의미한 화합물	사과	77 화합물	시로코 (R) 파프리카	34 화합물	볼란테 (Y) 파프리카	42 화합물	오렌지프로 (O) 파프리카	58 화합물	딸기	23 화합물																			
			농산물	유의미한 화합물																															
			사과	77 화합물																															
시로코 (R) 파프리카	34 화합물																																		
볼란테 (Y) 파프리카	42 화합물																																		
오렌지프로 (O) 파프리카	58 화합물																																		
딸기	23 화합물																																		
○특정 농산물의 냄새 프로파일과 부패균과 의 상관관계 분석	<ul style="list-style-type: none"> - 유의미한 냄새 화합물 데이터를 이용하여 기계학습의 차원 축소 방법인 PCA와 LDA 분석을 통해 부패 단계 및 부패균에 대한 냄새 프로파일 분석 (단위: 화합물) <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">농산물</th> <th rowspan="2">PCA</th> <th colspan="2">LDA</th> </tr> <tr> <th>단계</th> <th>균</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>사과</td> <td>16</td> <td>18</td> <td>19</td> </tr> <tr> <td>시로코 (R) 파프리카</td> <td>13</td> <td>15</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>볼란테 (Y) 파프리카</td> <td>25</td> <td>19</td> <td>19</td> </tr> <tr> <td>오렌지프로 (O) 파프리카</td> <td>13</td> <td>19</td> <td>18</td> </tr> <tr> <td>딸기</td> <td>10</td> <td>13</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table>	농산물	PCA	LDA		단계	균	사과	16	18	19	시로코 (R) 파프리카	13	15	16	볼란테 (Y) 파프리카	25	19	19	오렌지프로 (O) 파프리카	13	19	18	딸기	10	13	12								
농산물	PCA			LDA																															
		단계	균																																
사과	16	18	19																																
시로코 (R) 파프리카	13	15	16																																
볼란테 (Y) 파프리카	25	19	19																																
오렌지프로 (O) 파프리카	13	19	18																																
딸기	10	13	12																																
○특정 농산물의 냄새 프로파일로부터 부패 균과 부패단계 예측 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> - KNN, LDA, RF, SVM, ANN을 사용하여 냄새 프로파일로부터 부패균과 부패 단계 기계학습. - 기계학습 결과 농산물 별 부패단계 및 부패균 예측 모델 생성 후 정확도 높은 방법으로 예측 모델 선택 (%: 정확도) <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">농산물</th> <th colspan="2">부패단계</th> <th colspan="2">부패균</th> </tr> <tr> <th>방법</th> <th>%</th> <th>방법</th> <th>%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>사과</td> <td>RF</td> <td>95.0</td> <td>LDA</td> <td>95.4</td> </tr> <tr> <td>시로코 (R) 파프리카</td> <td>RF</td> <td>100</td> <td>RF</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>볼란테 (Y) 파프리카</td> <td>RF</td> <td>100</td> <td>RF</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>오렌지프로 (O) 파프리카</td> <td>RF</td> <td>100</td> <td>RF</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>딸기</td> <td>RF</td> <td>99.5</td> <td>RF</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> - 예측 소프트웨어 등록 : 부패정보분석기 (제 C-2018-016100 호) 	농산물	부패단계		부패균		방법	%	방법	%	사과	RF	95.0	LDA	95.4	시로코 (R) 파프리카	RF	100	RF	100	볼란테 (Y) 파프리카	RF	100	RF	100	오렌지프로 (O) 파프리카	RF	100	RF	100	딸기	RF	99.5	RF	100
농산물	부패단계		부패균																																
	방법	%	방법	%																															
사과	RF	95.0	LDA	95.4																															
시로코 (R) 파프리카	RF	100	RF	100																															
볼란테 (Y) 파프리카	RF	100	RF	100																															
오렌지프로 (O) 파프리카	RF	100	RF	100																															
딸기	RF	99.5	RF	100																															

구분 (연도)	세부 과제명 (연구팀)	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2018)	(공동3) 대전대 환경공학 연구실	○ Cloud 방식의 냄새 지문 플랫폼 개발	○ 부패냄새 패턴분석 방법의 개발 ○ 패턴분석을 위한 최적 의 가스센서의 선정	<ul style="list-style-type: none"> - 최소의 가스센서 수를 이용한 부패냄새 패턴분석 방법 검토 : Dual 가스센서를 x-y 2차원 패턴분석방법 개발 - 표준가스 및 신선농식품 부패냄새에 센서 비율이 큰 2종의 가스센서를 선정 : TGS 2603(MOS#1), TGS 2603(MOS#2) - TGS 2603(MOS#1) / TGS 2603(MOS#2) 비(Ratio)에 의한 부패냄새 지수 개발 - 홍로 및 부사사과 시료를 통한 MOS#1 /MOS#2 비(Ratio) 계산방법의 검증 완료 : 부패사과와 무부패사과, 부패과정 시료의 명확한 판별 가능
			○ Cloud 방식의 냄새지 문 플랫폼 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 최종 DB 시스템에 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보를 WiFi 또는 TCP/IP 등의 인터넷 접속방식으로 데이터를 전송이 가능하도록 개발 완료
		○ Dual 센서를 이용한 Lab-scale 냄새측정 장치	○ Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제 품 개발 ○ 무선통신 기술을 적 용한 데이터 공유 시 스템 구축 및 부패냄 새 DB	<ul style="list-style-type: none"> - 최적의 부패냄새 가스센서 Dual type 내장 - OS 프로그램에 의한 펌프, 솔레노이드 밸브, 저장, 데이터 전송 및 표출기능 구현 - 외형적 크기 : 200×170×120mm - 부패 감지지 어플리케이션 개발(스마트폰 기기 연동) - Bluetooth 및 WiFi 통신 모듈을 통한 스마트폰과 부패감지기 연결, 서버시스템에 데이터 전송 기능 구비 - Dual 가스센서 출력값인 MOS#1과 MOS#2의 비(Ratio)에 의한 부패지수 개발 완료 - 부패유무를 3단계(Good, Not bad, Bad)로 평가 할수 있는 부패예측값을 실험적으로 산출 - 사과 : Good(>1.00), Not Bad(1.00-0.85), Bad(<0.85) - 파프리카 : Good(>1.00), Not Bad(1.00-0.85), Bad(<0.85) - 딸기 : Good(<0.75), Not Bad(0.75-0.90), Bad(>0.90)
			○ 시제품의 현장 적용 성 평가와 현장적용 방안	<ul style="list-style-type: none"> - 농산물 생산 및 유통현장에서는 다양한 냄새원인이 발생하고 있어, 부패냄새 센서에 대한 정확한 부패유무 판별을 위해서는 별도의 품질관리 공간 확보가 필요 - 딸기 및 파프리카의 경우는 유통과정에서 저장 및 보관과정이 매우 짧으므로 유리 bottle을 이용한 시료의 부패유무 평가가 가능하나, 사과는 저온저장 시설에 장기간 보관되므로 사과 저장용 보관 box 자체를 평가할 수 있는 대용량 용기 평가가 적절함

2. 과제별(세부 및 공동연구) 연구개발 목표 및 결과

가. 신선 농식품 수출 전략 품목의 부패단계별 시료 수집 및 부패지수 확립

(1) 대상 수출 전략 품목의 부패율 별 시료 수집

(가) 사과 품종 생산·유통 조사 및 시료 수집

① 사과에 대한 조사

우리나라에서 재배되는 사과 품종은 종래 국광, 홍옥이 주축을 이루었으나, 70년대 초반 후지 품종이 보급됨에 따라 후지 재배면적이 급격히 증가하기 시작하였다. 또한 스타크립슨, 스퍼어리 브레이즈, 스퍼 골든 데리셔스 등의 단과지형 품종이 보급됨으로써 데리셔스 계통과 더불어 사과 재배품종의 다양화가 이루어졌다. 1976년에는 쓰가루가 보급되어 추석사과로 정착하게 되었다. 그 후 데리셔스계, 홍옥, 국광, 인도 등은 점차 후지로 대체되어 1997년에는 후지 78%, 쓰가루 12%로 주품종이 되었다. 2000년 이후는 후지 면적이 지속적으로 감소하고 국내에서 육성된 홍로가 보급되어 추석용으로 자리 잡게 되었으며 후지 조숙 변이 계통의 재배면적도 늘어가는 추세로 품종 구성이 다양화되고 있다.

경북 및 충청지역은 우리나라 사과 재배 면적의 약 61%를 차지하는 국내 최대 사과 재배지이며 후지와 홍로는 총생산량 580,00ton 중 각각 70%, 20%를 차지하며 (통계청, 2014). 10% 생산, 2012년 기준, 농림축산식품부) 홍로는 열매가 익는 시기는 9월 상순이지만 수확은 8월 하순부터 가능하고 조직이 치밀하고 과즙이 많아 맛이 매우 좋고 저장기간은 상온에서 50~60일 정도로 짧은편이나, 속살이 단단하여 먼 거리를 수송할 수 있다. 반면 생산량이 가장 많은 부사(Fuji) 품종은 홍로가 수확된 이후 10월부터 수확하며 과육은 황백색으로 과즙이 많고, 단맛이 많고 신맛이 적다. 과실의 저장기간은 0-1℃에서 180일 정도로 11월부터 익년 6월까지 7개월간 0-1℃에 저장되는 특징이 있다 (그림 1).

② 사과 시료의 수집 및 생산·유통 현장 조사

㉠ 홍로 품종 사과 부패시료 수집 및 수집시료의 용도

2015년 9월 22일 충주에 위치한 농원 [(농산물 이력추적관리(GAP) 등록 농원 / 친환경 인증(프로폴리스로 재배))에 방문하여 홍로를 수집하였다 (그림 2). 부패 진행도 및 균 분리, 메타지노믹스 계획을 수립하기 위하여 수확 전 미성숙 사과부터 수확 후 사과와 해충에 의한 물리적 상처가 없는 것으로 부패율을 다양하게 29개의 사과 시료를 수집하였다. 우선 부패지수를 확립하기 위하여 사과의 상하좌우를 사진촬영하고 사과의 총면적을 측정하였다. 수집한 29개 시료 중 부패 양상과 부패율을 고려하여 8개를 선정하고 부패지수와 메타지노믹스를 시행하였으며, 그중 50%까지 부패가 진행되었을 때 5개의 시료에서 미생물 균분리를 수행하였다.



그림 1. 참여기업인 경북 김천 소재 “송원 APC”의 사과 저장고 현장 방문 및 시료수집



그림 2. 충주 새터 농원의 친환경 농법으로 키운 홍로사과의 부패시료 수집

㉔ 부사 품종의 부패시료 수집 및 수집시료의 정보 수집

부사는 총 3회 시료 수집하였으며 2015년 10월 19일 문경새재 (사과축제기간, 주관연구팀) 소재 꿈나무농원에서 미성숙부사 시료수집 [휘발성 유기화합물 (Volatile Organic Chemical, VOC) 프로파일링 예비실험], 2015년 10월 21일 경북에 위치한 참여기업인 송원 APC에서 부패사과 시료 4가지 품종 (송실대 부패 지수 조사 예비실험), 10월 말 충주 소재 새터 농원으로부터 부사품종 부패사과를 수집하여 부패 지수 (Decay Index) 측정에 활용하였고 VOC 분석법 확립을 위하여 공동연구팀인 이화여대에 전달하였으며 VOC 프로파일링에도 활용하였다. 충주 친환경 새터농원에서는 수확 전 미성숙 사과시료와 성숙한 사과시료, 부패사과시료(해충에 의한 물리적 상처 없는)를 부패증상 별, 부패율 별로 다양하게 수집하였다. 부패 증상 및 부패율 정도에 따라 구분하여 유사한 증상 및 부패율의 시료를 활용하여 송실대 진균분자생물학 연구실에서는 부패 지수 조사와 부패원인 미생물 분리를 수행하였다. 공동연구팀인 이화여대 향미분석실에서는 주관연구팀의 시료와 동일한 부패증상, 부패지수 시료의 VOC를 분석하였고 부패하지 않은 미성숙, 성숙 사과시료에 대한 VOC도 분석하여 부패시료의 VOC 프로파일링과 비교분석 하였다. 9개의 부사에 부패지수 측정이 끝난 뒤 부패 증상에 따라 구분하여 5개의 시료를 대상으로 메타지노믹스 미생물 프로파일링과 부패원인균을 단일 분리, 동정하고 보존하였다.

③ 사과 생산 및 유통과정

(유통환경) 주요 사과주산지별로 거점산지유통센터(APC)가 설립되고, 유통구조의 개편 가속화 되고 있다. 대형 APC만 해도 영주, 장수 등 8개 지역에 설립되어 가동 중이고, 그밖에 중소형 APC도 설립되고 있다. 생산자와 소비자들과의 직거래(택배, 인터넷 판매 등) 물량도 지속적으로 증가하고 있다.

(수출환경) 우리나라 사과는 평가지표 가격에 있어서 일본에 이어 세계 2위이지만, 국내가격보다 낮은 수출가격이 가장 큰 문제로 현재 kg당 농가수취가격은 내수용이 1,800원인데 비해, 수출용은 1,650원으로 더 낮은 것이 현실이며, 단위 생산성면에서는 유럽과 미국(45~50톤/ha)의 50% 이하(20~25톤/ha), 투하노동 시간 면에서는 유럽과 미국(460~567시간)의 2.8배 이상(1,624시간/ha)이다. 사과수출 농가가 영세하면서 분산되어 있는데다 수출단지로 지정된 경우에도 체계적인 기술지도나 수출농가로써 관리가 거의 되지 않고 있는 상황이며, 부사 단일품종으로 주로 11월 ~ 1월에 대만을 중심으로 수출되고 있다. 따라서 수출국을 다양화 하고, 부사 뿐 아니라 중생종을 포함하여 수출기간도 9월 ~ 이듬해 5월까지 확대하여야 할 것으로 보인다. 또한 수출국의 검역에 대비한 병해충 관리도 소홀하며, 수출전략 부재도 지적되는 부분으로 수출 대표 브랜드 개발과 이의 적극적 홍보가 필요하며, 품질 등급화를 엄격하게 적용하여야 할 것이다.

(나) 파프리카 품종 생산·유통 현장조사 및 시료 수집

① 파프리카에 대한 조사

파프리카(paprika)란 말은 어원이 희랍어로 현재 유럽에서 모든 고추류를 통칭하고 있다. 현재 우리나라에서는 매운맛이 없는 Blocky type의 유럽종 수출용 착색 단고추를 파프리카라 부르고 있다. 단고추는 영명으로 sweet pepper 또는 bell pepper라 하며 매운맛이 없는 대신 약간의 당도를 가지고 있어 한국원예학회(94)에서 발간한 원예학 용어집에는 단고추로 분류하고 있다. 식물학적 분류는 '피망'과 '파프리카'가 동종에 속하나 품종에 따라 다른 특성이 개발되어 현재 유통시장에서는 각각의 품목으로 구별되어 취급되고 있다.

㉞ 파프리카의 특징

고추는 가지과, 고추속, 고추종에 속하며 크게 매운 고추(hot pepper)와 단고추(sweet pepper)로 대별되는데 파프리카는 단고추에 속한다. 파프리카의 잎은 보통 피망과는 달리 다소 크고 난형이며 엽병의 길이는 0.5~2.5cm이다. 화관은 8~15mm, 수술은 5~6개, 자방은 2~4개실로 되어 있다. 종자는 황백색으로 납작하며 신장같이 생겼고, 길이는 3~4mm, 폭은 2~3mm, 두께는 0.5~1mm이다.

㉟ 파프리카 재배품종

현재 네덜란드의 벨지움을 비롯한 유럽에서 재배되고 있는 파프리카 품종은 색깔, 형태 및 크기가 매우 다양하다. 종묘회사는 엔자(Enza)를 비롯하여 약 7개가 있고 이 중에서 엔자(Enza) 및 리크즈와(Rijk Zwaan)이 유럽의 종자시장을 주도하고 있다. 파프리카의 모양을 Blocky형이 가장 많이 재배되고 있다. 색깔은 빨간색, 노란색, 주황색 품종이 많이 재배되는데, 이들은 대부분 F1 세대이고 최근 바이러스 저항성을 높인 신품종이 개발되고 있다. 유럽에서 많이 재배되고 있는 품종으로서 빨간색은 Spirit, Juvily, Special, 노란색은 Oberon, Fiesta, 주황색은 Lion, Emily, Boogie등을 들 수가 있다. 우리나라에서는 빨간색은 Juvily, special, 노란색은 Fiesta가 주로 재배되고 있다. 이 중에서 양액재배용으로 적합한 품종은 빨간색은 Special외 2종, 노란색은 Piesta외 2종, 주황색은 Boogie외 2종, 자주색은 Violetta가 알려져 있다. 품종의 색상별 식부비율은 빨간색 50%, 노란색 35%, 주황색 15% 정도이다.

㊱ 피망과의 차이점

파프리카(paprika), 혹은 단고추(sweet pepper), 종고추(bell pepper)라고도 불리는데 피망과 비슷한 모양의 유럽산 고추로서 피망보다 크기가 크고(180~260g 1개) 과육이 두꺼우며(6~10mm), 독특하고 싱그러운 향과 단맛(당고7~11)을 가진 것이 특징이다. 빨강, 노랑, 오렌지, 보라색, 녹색등의 다양한 색깔이 있으며, 특히 오렌지의 4배에 가까운 비타민 C

를 함유하고 있다. 파프리카는 일반 단고추(피망)보다 2.5배 무거우며 매운맛이 없는 모양은 피망과 비슷하지만 색깔이 훨씬 곱고 선명하며 그 맛이 달짝지근해 샐러드용으로 생식을 해도 맛이 뛰어나며 기타 여러 가지 요리에 사용되고 있다. 수분의 함량이 많고(약 90%) 당도가 일반 토마토 보다 높은 7~8 Brix로 더운 여름을 이기는데 수박과 함께 더할 나위 없이 좋은 식품이다.

㉔ 재배작형

국내에서는 축성재배가 대부분이며 유럽은 반축성재배작형을 선택하고 있는데 벨지움과 네덜란드는 보통 10월 하순~11월 초순에 파종하여 약 2개월간 육묘한 후 12월 하순~1월 초순에 정식하여 3월 하순부터 11월 하순까지 수확을 하고 있다. 본 연구팀의 참여기업인 (주)농산무역의 경우 고품질 파프리카의 연중 공급을 위해 동기작과 하기작을 골고루 선택하여 재배하고 있다.

작형	파종기	정식기	수확기간
동기작	7월 하순 ~ 8월 상순	8월 하순 ~ 9월 상순	11월 중순 ~ 7월 하순
하기작	1월 중순 ~ 3월	3월 ~ 4월	5월 중순 ~ 12월 중순

㉕ 생산 및 유통과정



㉞ 수확 후 출하대기

철저한 수확관리를 통해 1차 선별로 수확된 제품은 동절기 수확 시 최하 7℃ 이상 유지 하도록 하여 저온장해가 발생되지 않도록 관리되고 있으며, 하절기 수확 시 선도저하를 방지하기 위해 이른 아침에 수확이 이루어지며, 수확 직후 예냉을 하거나 저온저장고에 입고하여 온도를 저하시킨 후 적정온도 10~12℃로 유지 시켜 준다.

㉟ 선별장 입고



수확 후 출하대기 된 파프리카는 최적의 선도 유지를 위해 1~12℃ 냉장차를 이용하여 농산무역 선별장에 입고된다.

㊱ 선별



선별장에 입고된 상품은 최첨단 선별기를 통하여 (주)농산무역만의 철저한 품위 규격에 의해 선별, 포장되며, 선별장의 모든 선별요원은 엄격한 품위규격을 숙지하여 준수하고 있으며, 품위관리책임 전담요원에 의해 품위규격 준수여부를 상시 모니터링하고 있다.

㊲ 출하대기 후 유통

까다롭고 엄격한 품위규격관리를 통해 선별, 포장된 제품은 저온저장고에 출고대기를 하게 되고 냉장수송차량을 이용해 운송되며, 수출상품의 경우 해상 운송 시에도 선도가 저하되지 않도록 냉장컨테이너를 사용하여 소비자에게 도달하는 전 과정을 콜드체인 시스템 (온도 10~12도 상대습도 90~95%로 저온에서 다습하게 관리하며 저온저장실 보관)을 적용하고 있다.

② 파프리카 시료의 수집 및 생산·유통 현장 조사

참여기업인 농업회사법인 (주)농산무역은 우리나라에서 가장 큰 파프리카 영농조합법인 중 하나로 국내 출하 이전에 규제가 까다로운 일본 시장에 전량 수출하는 모범적인 수출 농기업으로 알려져 있다 (그림 3). 선과 작업 현장에서는 온도를 13 ~ 15℃를 유지하여 품위 위주 (크기, 무게, 색깔 등)로 선별하고 있으며 품질 측정 후 바로 포장, 배송, 수출로 연계된다.



그림 3. 참여기업 (주)농산 파프리카 선별장

우리 연구팀은 여러 차례 현장 방문하여 회사 관계자, 생산자와의 소통을 통하여 파프리카 생산·유통에 관련한 기술수요를 조사하였으며, 연구팀의 연구결과들을 공유하고 부패감지기 개발과 관련한 기술수요 뿐 아니라 파프리카의 품질을 높일 수 있는 숙성단계 감지, 최고 품질을 선별해 낼 수 있는 냄새 감지기의 필요성 등을 파악하였다. 또한 주관기관의 연구 책임자와 참여기업의 대표는 유기적으로 정기적인 회의를 통하여 현장에서의 생산 및 유통과정에서의 애로사항을 공유하고 이를 연구개발 수행 내용에 반영하였다 (그림 4)



그림 4. 참여기업 (주)농산 현장 방문 및 연구책임자와 참여기업 대표 정기회의

③ 파프리카 생산·유통 참여기업 현장 방문 및 1차 시료 수집

2015년 12월 23일 전북 김제에 위치한 참여기업 (주)농산을 방문하여 파프리카 선별 현장에서 품질불량으로 선별해 놓은 부패한 파프리카 시료를 수집하였다 (그림 5). 참여기업에서 재배하고 있는 파프리카는 시로코 (빨강 파프리카), 오렌지프로 (주황 파프리카), 볼란테 (노랑 파프리카) 3가지 품종으로 방문 시 약 70개의 시료를 수집하여 부패 증상에 따라 꼭지부패, 배꼽부패, 옆면 부패, 나이테 모양 4가지로 구분하여 30개를 선별하였다.



그림 5. 품질 불량으로 제외된 파프리카 시료

④ 파프리카 시료명 『P(파프리카색) - 증상번호 - 연구팀번호』으로 명명

파프리카 시료명은 시료 색깔을 구별하여 시로코 (빨강)는 “R”, 오렌지프로 (주황)는 “O”, 볼란테 (노랑)는 “Y” 로 표시하였으며, 증상별로 꼭지부패 “1”, 배꼽부패 “2”, 나이테 모양 부패 “3”, 옆면부패 “4” 로 번호를 부여하였으며, 각 연구팀의 번호를 승실대 “1”, 이화여대 “2”, 대전대 “3” 으로 부여하여 각 시료마다 표시하고 각 공동 연구팀에 1 세트씩 나누어 실험을 수행하였다 (표 1).

표 1. 1차 수집 파프리카 시료의 시료명명 및 증상별 구분 목록

품종	Label	증상	수집 시료 개수	선별 후 시료 개수
오렌지프로 (O)	PO-1	꼭지 부패	4	3
	PO-2	배꼽 부패	5	3
	PO-4	옆면 부패	7	3
	측정X	물러짐	15	3
볼란테 (Y)	PY-1	꼭지 부패	4	3
	PY-2	배꼽 부패	8	3
	PY-3	나이테 모양	1	1
	측정X	물러짐	15	3
시로코 (R)	PR-1	꼭지 부패	5	3
	PR-2	배꼽 부패	11	3
	PR-3	나이테 모양	2	2
	측정X	물러짐	8	3

⑤ 2차 파프리카 시료수집 및 목적

1차 수집된 시료를 활용하여 품종 별 부패증상 분석, 부패지수(decay index) 측정 및 부패원인균 분리를 수행하였으며 2차 수집 시료로 부패원인 미생물과 부패냄새의 상관성 분석[공동연구팀(이화여대)]을 위한 VOC(volatile organic compound) 프로파일 반복 조사 및 분석과 부패 파프리카 시료의 미생물 군집 분석을 수행하였다 (표 2). 2차 시료 수집을 위하여 기업 담당자에게 1차 수집한 시료의 증상별 사진을 제공하고 각 품종 별로 동일한 증상의 부패시료를 요청하여 2차 수집시료를 확보하였다 (표 2).

표 2. 2차 파프리카 수집 시료

구분	배꼽 부패			옆면 부패			꼭지부패	
	R 3	O 4	Y 5	R 4	Y 5	O 3	Y 4	R 1
재 분류	R 6	O 4	Y 6	-	Y 4	O 3	Y 4	R 2



(다) 딸기 품종 생산·유통 현장조사 및 시료 수집

① 딸기에 대한 조사

장미과에 속하는 다년생 식물로 학명은 *Fragaria ananassa* Duchesne이다. 우리나라에 전래된 정확한 경로는 확실치 않으나, 20세기 초에 일본으로부터 도입된 것으로 추정된다. 기록을 보면 1917년에 닥터 모탈, 라지스트 오브 올, 로얄사버린, 1929년에 복우, 1952년에 행옥, 1965년에 다나를 위시해서 많은 품종이 도입되었다. 1960년대부터 과실이 크고 수량이 많은 대학1호 품종이 수원 근교에서 널리 재배되었으나 당도가 낮고 착색이 불량하며 공동과의 발생이 많은데다 과실이 물러 저장성이나 수송성이 떨어져서 1970년대부터는 대부분 다른 품종으로 교체되었다.

㉔ 유통 중인 딸기 종류

구분	설향	매향	육보	장희
사진				
특징	· 국산품종으로 삼각형 모양에 선홍빛을 띠며, 단단하고 당도가 높아 일본에서도 인기가 높음	· 수출재배 전용품종으로 큰 원뿔 모양으로 길고 단단하며, 계란 모양을 띠고 있음	· 일본품종으로 끝이 둥글면서 몽푹하고 검붉은 색을 띠며, 독특한 신맛과 아삭한 식감이 특징임	· 축성 또는 초속성 재배를 하며, 저장성은 육보보다 떨어지지만, 과형이나 공동과가 없어 선호도가 높음

㉕ 주요 국내 육성 딸기 품종

사진	당도	주요특성
	8.6	· 품종명 : 무하 (새봉7호) · 주요특성 - 사계성 딸기이며, 고랭지 여름 작형에 적합함 - 당도는 높고 산도는 낮아 식미가 좋음
	9.6	· 품종명 : 장하 (새봉6호) · 주요특성 - 초형은 반개장형으로 엽형은 타원형, 초세가 중간이며, 고온에서의 과실비대가 좋음
	9.7±1.4	· 품종명 : 씨베리 · 주요특성 - 초형은 직립형, 앞은 타원형이며, 앞의 밑도가 높고 축하 발생이 적음 - 과형은 원추형, 과색은 적색이며, 경도가 높아 봄철에도 잘 물러지지 않음
	8.6	· 품종명 : 열하(새봉5호) · 주요특성 - 사계성 딸기이며, 고랭지 여름재배에 적합함 - 초형은 반개장형, 엽형은 타원형, 과형은 원추형이나 10월 이후 장원추형으로 변함, 과색은 홍색
	10.4	· 품종명 : 선홍(원교3108호) · 주요특성 - 식용이나 축성재배용이며, 당도가 높고 상품성이 우수함 - 앞의 형태는 타원형이며 소엽의 결각이 뚜렷함
	10.4	· 품종명 : 설향(논산3호) · 주요특성 - 식용이나 축성재배용이며, 저온신장성이 우수하고 과즙 풍부하고, 흰가루병에 강함 - 과실의 과형은 원추형으로 과색은 선홍색이며 과즙이 풍부하고, 과일이 균일함

㉔ 국내 육성 딸기품종 재배현황

국내 육성 품종으로는 설향, 매향, 금향, 육보, 장희가 있는데 설향이 약 75%, 장희가 14%재배되고 있다.

구분 (년)	주요 국내 육성 품종				일본품종			기타
	계	매향	설향	금향	계	육보 (레드필)	장희 (아키히메)	
2013	78.0	2.3	75.4	0.3	20.6	6.6	14.0	1.5
2012	74.5	4.1	70.0	0.4	24.6	10.0	14.6	0.9
2011	71.7	2.9	68.2	0.6	27.5	13.2	14.3	0.8

(출처 : 한국농수산물유통공사, 2016)

㉕ 국내 딸기 주산지

9월에 정식하여 12월에서 익년 5월까지에 수확하는 겨울 딸기는 논산, 밀양, 진주, 담양 등이 주요 생산지로 설향, 매향, 육보 장희 등을 생산하고 2~4월에 정식하여 6월에서 11월까지 수확하는 여름 딸기는 평창, 양구 등 고랭지 지역이 주요 생산지로 고하, 샤롯데, 플라멩고 품종을 생산한다.

구분	정식기	수확기	재배지역	품종
겨울딸기	9~10월	12월~익년5월	논산, 밀양, 진주, 담양 등	설향, 매향, 육보, 장희, 담향 등
여름딸기	2~4월	6~11월	평창, 양구 등 고랭지 지역	고하, 샤롯데, 플라멩고

㉖ 딸기 주요 수출시장 규모 및 수출 점유율(2016년)

딸기 주요 수출국으로는 홍콩, 싱가포르 말레이시아 순으로 한국산 딸기가 25 ~ 30% 점유율을 차지하고 있다.

구분	국가명	시장규모(천톤)		한국산 수출(천톤)	
		수입량	수출물량	점유율(%)	경쟁국
주요수출국	홍콩	6,299	1,554	24.67	미국
	싱가포르	3,836	1,179	30.73	미국, 호주
	말레이시아	1,120	359	32.09	미국, 호주
	태국	1,607	467	29.07	미국, 뉴질랜드
수출가능국	러시아	29,297	17	0.06	벨라루스, 터키

* 자료 : Global Trade Atlas (www.gtis.com/gta) HS 081010(2016년기준)

㉔ 딸기 생산 및 유통과정



㉕ 딸기 수출시 많이 발생하는 클레임

항공으로 수출 시 공항에서 저온 유통조건이 무너지면서 고온다습한 환경에 수 시간 노출되어 곰팡이균이 발생 (특히 3~5월)하게 되며, 선박 수출시 냉장 컨테이너를 이용하여 온습도 조건은 적정하나 시간이 오래 소요되어 품질 변화를 일으킨다. 따라서, 곰팡이균에 의한 변질을 감지하는 부패감지기는 3~5월에 현장에서 필요함을 참여기업 썸머힐상사 (담당:양영철과장) 현장에서 유통시 문제점 및 요청사항으로 기술수요 조사를 하였다.

② 딸기 생산·유통 현장 조사방법

참여기업인 농업회사법인 (주)썸머힐상사는 친환경 과일재배를 인증 받은 회원농가에서 과일을 수확하여 소비자들에게 가장 맛있는 시기에 수확한 제철 과일을 판매·유통하는 기업으로본 연구과제의 신선 농식품 수출 대상 품목인 딸기의 유통·가공·판매 및 수출로 손꼽히는 농업회사법인 중 하나이다. 연구팀은 주기적으로 현장 방문 및 전화 설문을 통하여 회사 관계자와 생산자와의 기술수요 조사를 통하여 딸기의 생산·유통 시 문제점을 파악하고 연구결과를 공유하여 부패감지기 개발 필요성을 파악하였다. 또한 딸기를 주로 생산하는 충남논산, 경북고령 등 대표적인 협동조합들에 전화설문을 통하여 유통 및 수출 시 딸기 과육의 경도가 낮아 곰팡이에 의한 부패가 현장의 가장 큰 애로사항임을 파악하였고 초기 부패감지기 개발의 중요성을 다시 한번 확인하였다.

③ 1차 딸기 부패 시료 수집 및 용도

2017년 1월 경북 고령에 위치한 쌍림지회 딸기협동조합에서 공동 재배하여 대형 마트로 납품하는 설향 품종에서 유통 중 곰팡이가 발생한 시료를 부패병징의 색깔과 모양의 차이 5가지로 구분하였다 (표 3). 고령 딸기는 가야산(伽耶山) 맑은 물과 천적, 꿀벌 등을 이용한 친환경 재배로 유명한 국내 최고의 무농약 딸기 생산단지이며, 출하 시기는 12 ~ 5월으로 당도가 높고 맛과 향이 뛰어나 일찍이 1992년부터 해외 수출을 하고 있다.

표 3. 1차 수집 딸기 시료의 명명 및 증상별 구분

시료명	무게	증상	위	정면	왼쪽	오른쪽	근접샷
ST1	18.557g	털이 덮은 형태					
ST2	18.033g	회색 덮임 푸른색 약간 뽕 알알이 있음					
ST3	16.922g	검은색 부패 털이 덮은 형태					
ST4	19.819g	알알이 있음 검은색 부패					
ST5	17.033g	심한 검은 부패 Yeast 느낌					

④ 2차 딸기 부패 시료 수집 및 용도

2016년 12월에 1차 수집한 딸기시료 (품종 : 설향)의 수량이 적어 부패 원인균 분리·동정 및 미생물 균집 분석이 과소 평가됨을 배제하기 위하여, 2017년 3월 경남 산청에 위치한 참여기업 농업회사법인 썸머힐상사(주)로부터 수확 후 부패가 진행되고 있는 장희와 설향 2가지 품종의 시료를 요청하여 각각 2kg씩 수집하였다 (표 4). 장희는 부패병징의 색깔과 모양의 차이 5가지로 구분하고 설향은 부패정도에 따라 3가지로 구분하여, 부패 원인균을 분리 동정과 미생물 균집 분석을 위한 메타지노믹스를 위한 시료로 사용하였다.

표 4. 2차수집 딸기 시료의 시료명명 및 증상별 구분 목록

시료명	전체	JH 1	JH 2	JH 3	JH 4	JH 5
장희						
시료명	전체	SH 1	SH 2	SH 3		
설향						

(2) 부패단계에 따른 농산물 별 (사과, 파프리카, 딸기) 부패 지수 조사 방법

(가) 부패 지수 확립을 위하여 품목별, 증상별로 측정 대상 및 방법 선정 기준 확립

① 조사 대상 측정치 : 시료의 가로길이(최장, 최단), 세로길이(최장높이), 무게, 부패부위

② 측정 방법 :

㉠ 가로 / 세로 길이 : 평면상으로 봤을 때 가장 긴 길이 및 짧은 길이 측정

㉡ 무게 : 전자저울을 이용하여 소수점 2자리 수까지 측정

㉢ 도구 : 전자저울, 줄자, 캘리퍼

㉣ 부패 부위 (가로, 세로) : 육안으로 관찰, 갈라짐(길이, 폭) 구멍(최장, 최단) 측정 / 색상, 껍질 상태, 형태 등을 기록

③ 부패율 : 시료의 전체 면적과 부패부위의 면적 비율로 결정

$$\text{부패율} = \frac{\text{부패면적}^1}{\text{시료의 전체표면적}^2} \times 100$$

* [사과] : 시료의 전체 면적과 부패부위의 면적 비율로 결정 (1차년도 제시)

1) 부패면적 : (최장길이/2) × (최단길이/2) × π

2) 시료의 표면적 : 4 × π × (시료 반지름)²

* [파프리카] : 과실의 형태가 부정형이므로 정확한 면적 계산이 어려운 점이 있으므로 파프리카 시료의 윗면, 아랫면, 옆면적을 3반복으로 측정하여 아래와 같이 전체 면적 대비 비율을 구하고 각 시료의 부패율은 육안으로 판단 (그림 6)

(측정치 오차의 최소화를 위해 실험자는 1인으로 지정)



그림 6. 파프리카 전체 면적을 구하기 위한 설정 기준 확립

* [딸기] : 과실의 형태가 원뿔형으로 원형부분을 밑면으로 하고 최장/최단거리를 측정하여 밑면의 면적을 측정하고 밑면에서 과실 끝까지의 길이(l)를 측정하여 부채꼴의 면적을 구하여 시료의 전체 면적과 부패 면적의 비율로 부패율 정함 (그림 7).

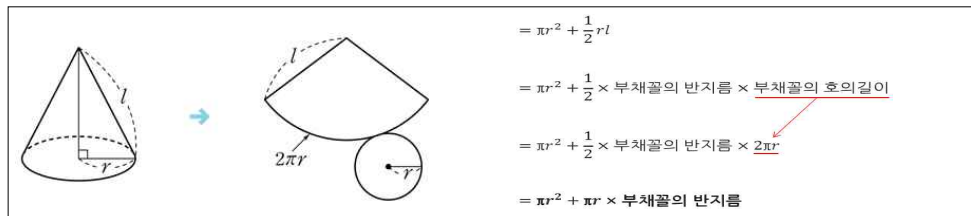


그림 7. 딸기 전체 면적을 구하기 위한 설정 기준 확립

(나) 부패 지수 확립을 위하여 수출 대상 농산물 별 환경 조건 설정

사과 저장 조건은 온도 0 ~ 3℃, 습도 85 ~ 90%, 유통 조건은 온도 20 ~ 25℃ (여름철 판매점은 냉장시설 완비 기준), 습도 30 ~ 70% 범위로 조사되었다. 사과 저장 시 항습(습도 85 ~ 95%)을 위해서 바닥에 항상 물이 고여 있을 정도로 물을 분무해서 습도를 유지한다고 한다 (참여기업 송원 APC 방문 시 확인). 파프리카는 선과작업 현장조건이 13 ~ 15℃이며 (참여기업 농산 방문 시 확인), 딸기는 저장 및 유통 시 저온유통으로 4℃를 유지한다고 한다(참여기업 썸머힐 담당자 확인). 부패율 측정을 위해서 실험실 조건에서 현장의 저장조건을 맞추기 어려울 뿐만 아니라, 온도 및 습도의 변화로 인한 주변 환경조건 변화가 있을 때 각 농산물이 부패 원인균에 의해 부패가 일어나므로 부패 지수 확립을 위해 유통조건을 기준으로 상온에서 부패 진행도를 측정하였다.

(다) 농산물 별 부패지수 확립 기준

부패지수에 대해 기 수행된 연구를 조사하여 부패율 50%를 최대기준으로 설정하였으며, 본 연구팀의 연구 대상인 사과와 파프리카의 부패율과 비교하여, 부패지수가 가장 유사한 “Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of selva strawberry fruit” 2007, 449-453, Food chemistry 논문의 딸기에 대한 부패지수 (1~5)을 참고하여 사과의 부패지수를 동일하게 5단계로 설정하였다. 단, 선행연구에서는 1~5단계로 설정했으나 본 연구에서는 부패가 일어나지 않은 건전한 상태를 scale 0으로 하고 5%이하 부패진행 시 scale 1, 6~20% 이하는 scale 2, 21~50%이하 부패진행 시 scale 3, 51% 보다 더 크게 부패 시 scale 4로 부패지수 0~4 까지 5단계로 설정하였다 (표 5).

표 5. 부패지수 단계

Scale	Scale	% of decay
0	normal	0
1	trace	X≤5%
2	slight	5%<X≤20%
3	moderate	20%<X≤50%
4	severe	50%<X

사과의 경우 구모양의 표면적 대비, 부패하여 생긴 겉면의 등근 영역의 표면적 비율로 나타내었다. 사과 과실은 비교적 구모양으로 개체 간 모양의 변이가 크지 않으므로 부패 영역의 지름을 측정하여 전체 표면적 대비한 부패면적 비율 측정에 큰 문제는 없었다. 부패 지수를 무게로 나타낼 수 있는지의 여부를 조사하기 위해 표면적과 함께 무게를 측정하였으나 무게와 부패지수의 상관관계는 낮은 것으로 조사되었다. 따라서 이후 부패율 측정기준은 부패표면적의 전체 과실의 표면적 비율로 기준으로 하였다. 그러나 파프리카의 경우, 사과의 과실모양보다는 부정형적이므로 열매의 윗면, 아랫면, 옆면적을 3반복으로 측정하여 윗면을 15%, 아랫면을 12%, 그리고 옆면을 73%로 하여 옆면은 4면을 등분하여 각 시료의 부패율은 육안으로 판단하여 5단계의 부패지수에 적용하였으며 측정치 오차의 최소를 위해 실험자는 1인으로 지정하였다.

① 사과의 부패율에 따른 부패지수 조사

㉞ 홍로 사과 품종의 부패율 및 부패 지수 조사

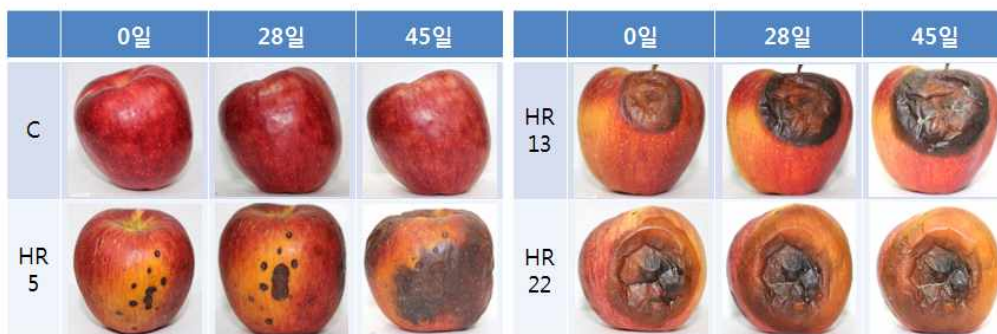
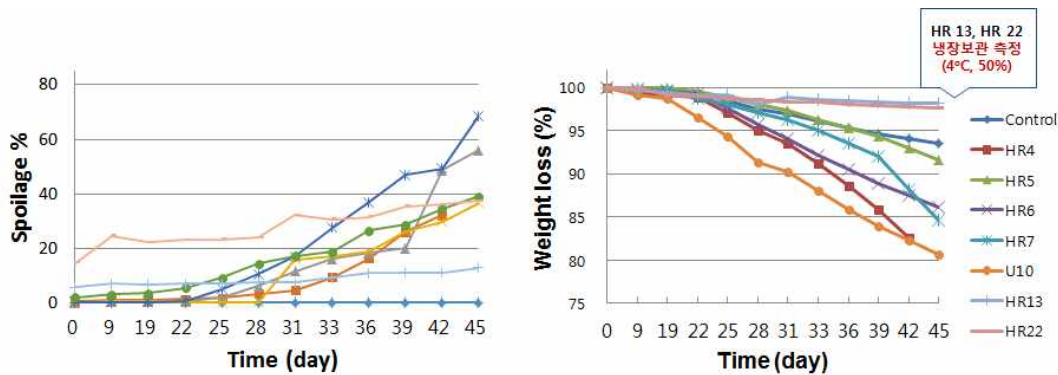


그림 8. 사과품종 홍로의 부패율 및 부패지수 조사

충주에 위치한 농원에서 부패 증상 및 부패율에 따라 구별하고 수집한 홍로의 부패 지수를 조사한 것이다. 부패율을 조사하는 동안 주변 환경은 온도 22°C, 습도 30 ~ 50%를 유지하였다. 그림 8, 9에서 볼 수 있듯이 부패율이 50%에 도달할 때까지 약 45일이 소요되었는데, 이때 무게의 감소는 최소 5% ~ 최대 20%까지 감소하였다.

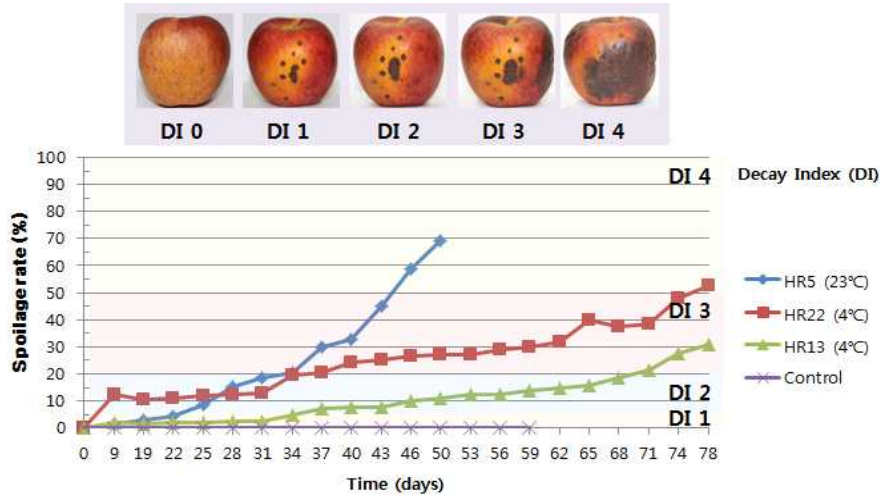


그림 9. 사과품종 홍로의 상온과 냉장보관 시료 간 부패율 비교 및 부패지수

HR5는 검은 점이 여러 개 생기는 증상으로 약 30일이 지나면서 각각의 점이 뭉쳐 45일에는 40%의 넓은 면적에서 부패가 진행 된 것을 관찰할 수 있었다. 시료 HR13, HR22는 냉장 보관하며 부패율을 측정하였는데 45일 동안 부패율은 약 15~20%였으며, 무게는 약 5% 정도 감소하였다. 냉장 보관(4°C)으로 부패율이 50%가 될 때까지 78일이 소요 되었다. 상온에서 보관하는 경우와 비교하여 부패 진행도가 1/2로 감소됨을 확인하였고, 사과 의 저장 온도와 습도에 따라 부패 진행도는 감소되는 것을 알 수 있었다.

㉔ 부사 품종의 부패율 및 부패 지수 조사

충주에 위치한 농원에서 부패 증상 및 부패율에 따라 구별하고 수집한 부사의 부패 지 수를 조사한 것이다. 부패율을 조사 동안 주변 환경은 온도 22°C, 습도 30 ~ 50%를 유지 하였다. 부패율이 50%에 도달할 때까지 조사하였는데 증상에 따라 최소 4일에서 최대 42일이 소요되었다 (그림 10).

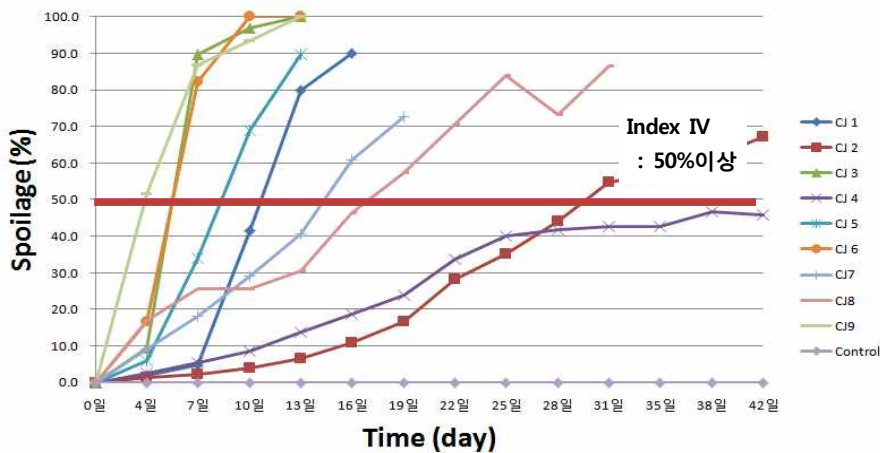


그림 10. 사과품종 부사의 부패율 측정

부사는 4가지 증상으로 분리하여 부패율을 조사하였는데 부패되며 나타나는 증상이나, 특정 미생물에 의해 일어나는 증상으로 부패증상을 나타내기도 하는데 1) 물풍선처럼 물러지는 증상은 Bot rot(=white rot)이라 하며 *Botryosphaeria dothidea*에 의해 잘 발생하는 것으로 알려져 있다. 2) 풍선의 바람이 빠지듯 물러지는 증상은 *Alternaria*에 의해 일어나는 증상으로 *Alternaria* rot 이라고 한다. 3) 나이트 모양을 나타낸다고 하여 Ring rot이라고 하며, 4) 탄저병이라고 부르는 증상은 bitter rot이라고 한다. (Wikipedia; List of apple diseases)

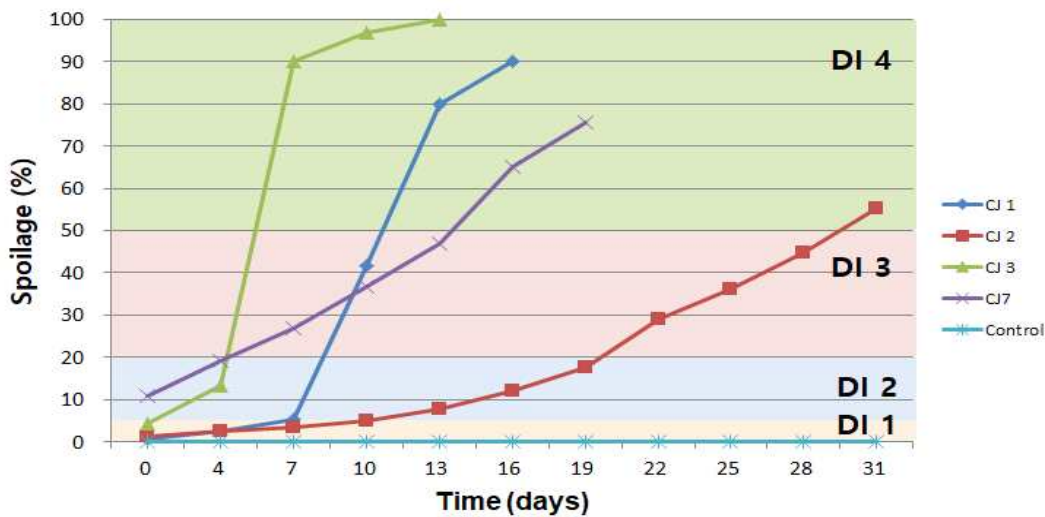


그림 11. 사과품종 부사의 부패 증상별 부패율 측정 및 부패지수

그림 11에서와 같이 CJ3 시료는 5일이면 부패지수 “4” 도달하였다. 그 다음으로 CJ1 시료는 부패지수 “4” 에 도달하는데 11일로 CJ3의 2배정도 소요되었다. CJ7은 부패지수 “4” 에 도달하는데 14일정도 소요되었다. 시료 CJ2번은 탄저병의 전형적이 증상을 보이고 있으며 부패 지수 “4” 에 도달하는데 약 30일 가까이 소요되었다. 부패지수 4에 도달 하는데 걸리는 시간은 CJ3 [5일], CJ1 [11일], CJ7 [14일], CJ2 [30일] 순서로 CJ3과 CJ1 간에 2배차이, CJ3과 CJ7간에 3배, CJ3과 CJ2간에는 6배의 차이가 남을 확인하였다 (그림 12).

CJ 3, 9 - 나이트 모양



CJ 1, 5, 6 - 물풍선처럼 물러짐



CJ 7, 8 - 물러짐



CJ 2, 4 - 탄저병



그림 12. 부패 증상별 부패 진행도 관찰

② 파프리카의 부패율에 따른 부패지수 조사

㉞ 파프리카 품종별 부패율 조사

파프리카의 품종별로 부패위치에 따라 꼭지부패, 배꼽부패, 옆면 부패 3가지 증상으로 구분하고 40일간 부패율을 측정하여 부패 지수를 결정하였다 (그림 13).

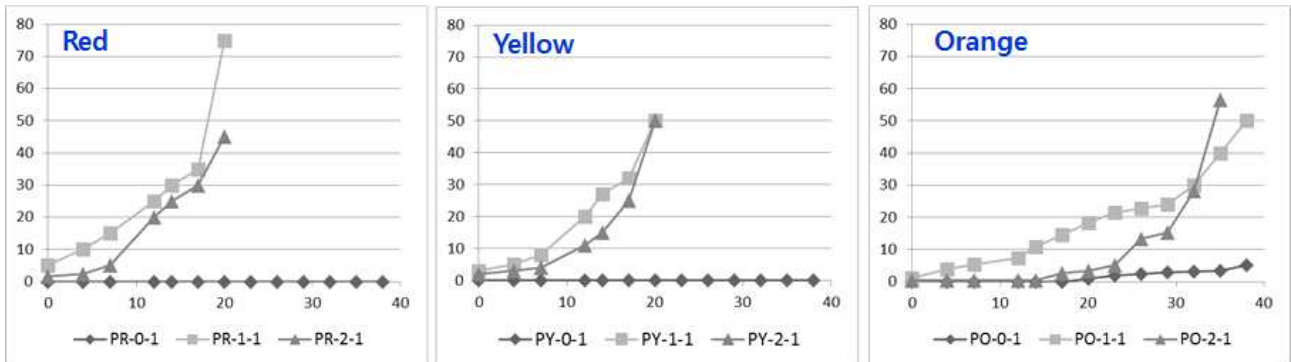


그림 13. 파프리카 품종별 (시로코 (R), 볼란테 (Y), 오렌지프로 (O))의 부패율

시로코 (R) 파프리카 PR-0-1 (Control)로 부패율에 변화가 없으며, 부패 지수 4에 도달하는데, PR-1-1 (꼭지부패), PR-2-1(배꼽부패) 순으로 18 ~ 20일이 소요되었다. 꼭지부패 증상 시료는 부패가 진행되면서 점점 옆면을 공격하여 20일이 지났을 때 과육과 꼭지가 분리되는 것을 볼 수 있었고 배꼽 부패 증상 시료는 미세하게 벌어진 배꼽으로부터 하얀색 곰팡이 군사가 나와 파프리카 표면의 1/2 이상을 뒤덮었다.

볼란테 (Y) 파프리카 PY-0-1 (Control)은 20일 동안 부패율의 변화가 없었으며 PY-1-1 (꼭지부패)와 PY-2-1 (배꼽 부패)는 20일에 부패 지수 4에 도달하였다 . 시로코 (R)와 마찬가지로 꼭지부터 부패하는데 12일부터 형태가 바뀌고 표면의 색이 바뀌는 것을 관찰할 수 있었다. 배꼽 부패는 갈라진 배꼽사이로 하얀 군사가 밀고 나와 화산이 뒤덮는 듯한 모습으로 부패되었으며 이때 무게는 약 40% 감소하는 것으로 측정되었다.

오렌지프로 (O) 파프리카 PO-0-1 (Control)은 40일 동안 부패가 없었고, PO-1-1(꼭지부패)와 PO-2-1 (배꼽부패) 증상이 부패지수 4에 이르기까지는 약 35 ~ 40일 정도 소요되었다. 오렌지프로 (O)는 다른 품종의 파프리카와 같은 부패율까지 도달하는데 2배 이상의 기간이 소요된 것으로 보아 상대적으로 시로코나 볼란테 보다 부패원인균에 대한 저항성이 높은 것으로 추측 된다.

㉔ 파프리카 증상별 부패율 조사

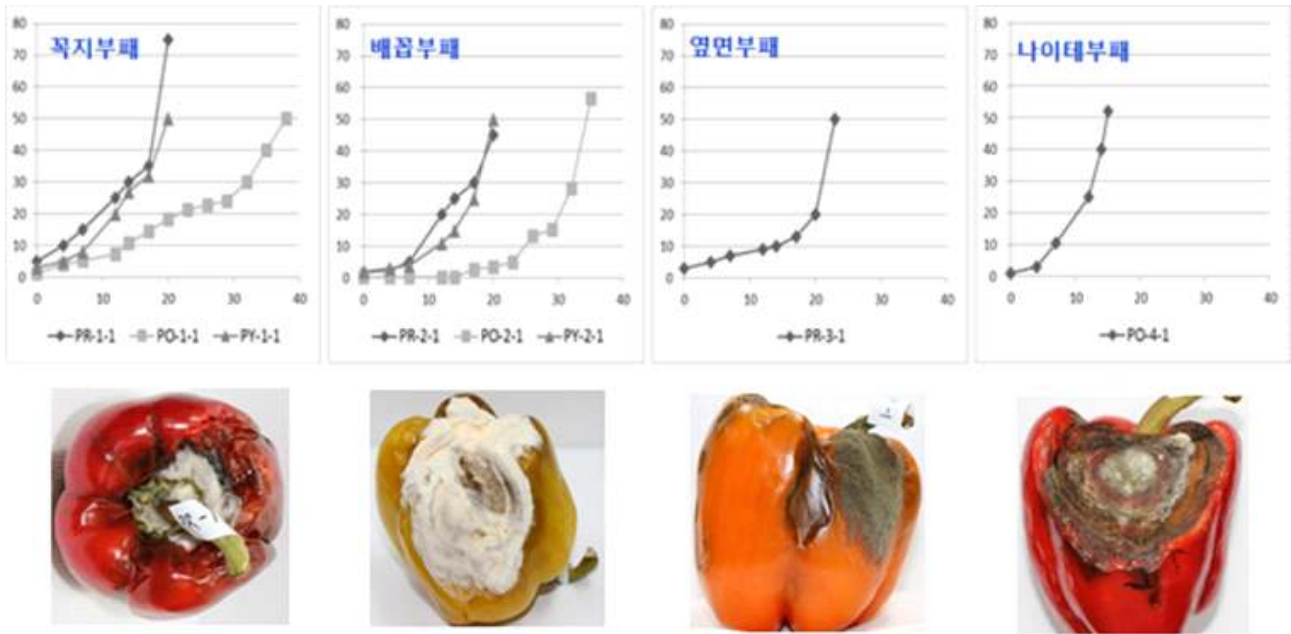


그림 14. 파프리카 부위별 부패 증상 및 부패율

세 가지 품종의 파프리카를 부패 증상별로 부패율을 측정하였다 (그림 143). 꼭지 부위에 부패가 일어난 시료는 시로코 (R)와 불란테 (Y)는 18일이면 규격 4에 도달하였으며, 오렌지프로 (O)는 40일로 가장 늦게까지 측정하였다. 배꼽 부위에 부패가 일어난 시료는 오렌지프로 (O)가 35일 정도이면 도달하였으며, 시로코 (R)와 불란테 (Y)는 20일 정도이다. 옆면에 부패가 일어난 시료는 15일, 나이테 모양으로 부패가 일어난 시료는 22일 정도에 50%에 도달하였다. 이 결과로 파프리카 부패율은 증상에 의한 것보다 품종에 의한 영향이 더 큰 것으로 관찰되었다.

㉕ 딸기의 부패율에 따른 부패지수 조사

딸기의 부패지수를 조사하기 위하여 2차례 시료를 수집하였다. 1차 실험에서 딸기 단일 개체의 부패율 및 부패지수 측정을 시도하였으나 과육에 수분함량이 높고 과실이 작은 특징 때문에 부패가 일어나고 매우 빠른 시간에 전체 과실이 녹아버려서 딸기 단일개체의 부패율 측정이 불가능한 것으로 판단되었다. 또한 시료를 구입하거나 참여기업으로부터 시료를 공급받았을 당시 건전하게 보이던 과실이 부패지수 조사하기 위해 항온항습 배양기에 넣어 부패를 진행시키게 되면 과실 내부에 잠복한 것으로 추정되는 곰팡이 균사들이 꽃받침 또는 과실 꼭지 부분에서 발생하여 자연발생적으로 부패가 진행되고 있는 경우의 부패지수를 측정하는 것도 불가능하였다. 딸기 과실 개체의 크기가 작고 과육의 경도가 매우 약하며 이런 이유로 자연 부패 시료로부터 부패율과 부패지수를 일정 환경에서 측정하는 것이 불가능하였으므로 딸기의 부패지수 조사는 몇 번의 시도에도 불구하고 과학적인 결론을 이끌어내기 어려웠다.

나. 부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구

(1) 현장에서 수집한 시료로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정

(가) 부패원인 진핵미생물 분리·동정 및 메타지노믹스 시료 준비

부패 지수 측정 후 각 시료는 메타지노믹스 미생물 프로파일링과 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정시료로 사용되었다. 대상 시료가 부패 지수 (decay index: DI) 4 (부패율 50% 이상)에 이르면 측정을 멈추고 마지막 시료의 형태를 상, 하, 좌, 우의 사진을 촬영하였으며 최종적으로 무게를 측정하였다. 그림 15에 사과와 파프리카의 부패원인균 분리 및 동정, 메타지노믹스 genomic DNA (gDNA) 추출을 위한 시료 준비 과정을 제시하였다. 부패시료의 미생물군집 프로파일링(메타지노믹스)을 위한 gDNA 추출용 시료는 농산물(사과, 파프리카, 딸기) 자체의 식물 DNA를 최대한 제거하기 위하여 부패 부위만 잘라낸 후 무게를 측정하고, 마쇄기로 갈아서 시료 내 미생물이 균일하게 분포되도록 하였다. 부패원인 진핵미생물을 분리하기 위하여 시료 5g을 50mL conical tube에 분주하고 나머지 시료는 메타지노믹스 프로파일링을 위한 gDNA 추출을 위해 냉동고에 보관하였다. 메타지노믹스용 gDNA 추출을 위해 두 가지 다른 방법으로 시료를 전처리하여 비교하였다. 첫 번째, 1/2 시료는 50mL conical tube에 담아 -120°C 동결건조기에 3일 동안 충분히 건조 시켰으며, 두 번째, 1/2은 시료와 PBS buffer (Phosphate Buffered Saline; Gibco, invitrogen corporation, USA)의 비율을 1:4 비율로 첨가하고 180rpm에서 1시간동안 진탕한 후 멸균 거즈 3겹을 이용하여 마쇄된 과육을 거르고 여과된 용액을 13,000rpm으로 10분씩 원심 분리하여 pellet을 DNA 추출 시료로 사용하였다.



그림 15. 시료로부터 부패원인균 분리 및 동정, 메타지노믹스 gDNA 추출을 위한 준비 과정

(나) 시료 (사과, 파프리카, 딸기)로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정

부패율이 50%가 진행된 시료는 상기 1)번과 같이 부패원인 진핵미생물 분리를 위해 준비한 후 5 g을 취하고 40 ml 멸균 증류수(DW)에 현탁하여 잘 혼합한 후 10^{-1} 씩 순차적으로 10^{-7} 배까지 희석하였으며 각 희석 현탁액은 100 μ l씩 취하여 선택배지인 Dichloran-glycerol agar 배지 (DG18 ; Peptone 0.5%, Glucose 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, 0.2% Dichloran 1.0 ml, Chloramphenicol 0.01%, Agar 1.5%)배지와 Dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC배지 ; Peptone 0.5%, Glucose 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, 0.2% Dichloran 1.0 ml, Rose bengal 0.0025%,

Chloramphenicol 0.01%, Agar 1.5%) 고체평판 배지에 도말하여 25°C 에서 5일간 배양하여 관찰되는 진균의 콜로니 모양, 색깔을 해부현미경 (Stemi DV4, Carl Zeiss, Jena, Germany) 하에서 관찰하고 구분한 그룹 별로 평판배지에 자란 콜로니 개수를 세어 colony forming unit (CFU)을 정하였다 (그림 16). 이후 각 그룹에서 3-5개의 colony들을 단일 분리하여 Potato Dextrose agar (PDA : Potato starch 0.4%, Dextrose 2%, Agar 2%) 고형배지에 streaking 방법과 point inoculation 방법으로 3회 반복 접종 및 계대 배양하여 단일 균주(single colony) 로 분리하였으며 단일균주로 확인된 사상성곰팡이 및 효모 균주들은 모두 20% glycerol stock을 만들어 -70°C deep freezer에 보관하였다.



그림 16. 부패원인 진핵미생물 단일 균주 분리 과정

(다) 진핵미생물 (사상성곰팡이, 효모)의 분자생물학적 동정

단일균주로 분리한 각 사상성곰팡이와 효모 균주들을 PDA고형배지에서 25°C, 5일간 배양하여 자라난 공중 균사를 포함한 약 2mm 크기의 agar block을 접종원으로 CM [Complete medium ; Yeast extract 1g, sucrose 30g, peptone 2.5g, NaNO₃ 2g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄ 7H₂O 0.5g, KCl 0.5g, trace element Solution¹⁾ 0.2mL, Vitamine stock²⁾ 10mL / Distilled water 1L] 액체배지 5 ml에 접종하여 25°C, 180rpm, 3-5 일간 배양하였다. 액체 배지에서 자란 각 균주의 균사체를 Advantec No. 2 종이필터로 여과하여 액체배지를 완전히 제거하고 microcentrifuge tube에 넣어 -120°C, 24시간 동결 건조 후 마쇄하고 CTAB 방법* (Leslie et al., 2006) 으로 gDNA를 추출하였다.

¹⁾ Trace Element solution : Citric acid 5g, ZnSO₄ · 6H₂O 5g, Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ · 6H₂O 1g, CuSO₄ · 5H₂O 250mg, MnSO₄ 50mg, H₃BO₃ 50mg, Na₂MoO₄ · 2H₂O 50mg /Distilled water 100mL)

²⁾ Vitamine stock solution :B1 (thiamine) 100mg, B2 (riboflavin) 30mg, B3 (nicotinamide) 75mg, B5 (Ca pantothenate) 200mg, B6 (pyridoxine) 75mg, C (ascorbic acid) 50mg, p-aminobenzoic acid 5mg, Choline 200mg, Folic acid 5mg, Biotin 5mg, m-inositol 4g /50% ethanol 1L)

* CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) gDNA 추출방법 : (1) 각 tube에 100mg의 분쇄된 균사가루를 담고 65°C, 15분간 예열한 CTAB buffer[CTAB:2-Mercaptoethanol solution (100:1,v/v)]를 각 tube에 700 μ l를 첨가하고 혼합한 후, 65°C heatblock에서 10분간 정치 (2) vortexing하여 혼합 후, 65°C heat block에서 20분간 재반응 (3) 각 tube에 CHCl₃-Isoamylalcohol(24:1,v/v) 400 μ l 첨가한 후 혼합하여 2층으로 분리가 되면 2~3분간 부드럽게 혼합한 후, 4°C에서 13,000rpm 10분간 원심분리하여 상등액 500 μ l를 새 tube에 옮김 (4) 2-Propanol 500 μ l를 첨가하고 부드럽게 혼합하여 상온에서 5분간 반응시킨 후 10,000rpm에서 5분간 원심분리 (5) 상등액은 버리고 pellet을 약 15분간 건조하고 TE buffer 600 μ l에 재현탁하여 1ul of RNase A (10mg/ml)를 첨가, 37°C에서 30분간 반응시킴 (6) PCI solution (Phenol:CHCl₃:Isoamylalcohol,25:24:1,v/v/v) 300 μ l 첨가하고 2분간 부드럽게 혼합 후 13,000rpm, 5분간 원심분리 (7) 상등액 500 μ l를 새 tube에 옮긴 후, 3M Sodium acetate 50 μ l를 첨가하여 부드럽게 혼합 (8) 500 μ l의 2-Propanol을 첨가하고 부드럽게 혼합, 상온에서 5분간 반응 후, 10,000rpm, 5분간 원심분리 (9) 상등액을 완전히 제거한 후, 1mL 70% ethanol로 washing후 상등액을 버리고 10~15분간 건조 (10) pellet을 TE buffer (pH 8.0) 50 μ l에 녹여 -20°C에 보관하고 PCR 증폭 시 template로 사용

사상성곰팡이 및 효모균의 분자생물학적 동정을 위하여 추출한 각 균주의 gDNA를 template DNA로하고 아래 그림 8과 같이 rRNA 유전자의 5.8S 포함하는 Inter transcribed space (ITS) 지역의 DNA 시퀀스를 universal primer pair인 ITS1과 ITS4 primer [(주)네오프로브 합성]를 사용하여 증폭하였다 (그림 17).

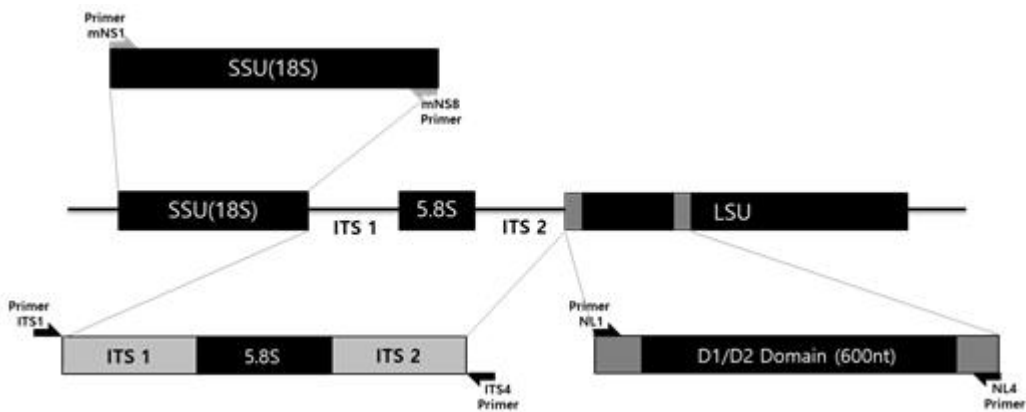


그림 17. 진핵 미생물 동정을 위해 사용된 ITS1과 ITS4 primer 위치 및 PCR 증폭 지역

PCR 기기는 TP350 Takara thermal cycler (Takara, Japan)을 사용하였으며 PCR mixture (Takara, Japan)는 2.5U Ex taq polymerase, 각 2.5mM dNTP, 1x Ex taq buffer, 각 10pmol primer에 약 20ng의 gDNA template를 혼합하였으며 PCR 조건은 initial

denaturation 단계로 94°C 에서 2분간, 이후 [94°C, 30초 → 55°C, 30초 → 72°C, 1 min]을 35 cycles 돌리고 마지막 extension [72°C, 10 min] stop으로 rDNA region을 증폭하였다. PCR product는 gel electrophoresis [FastGene® FAS Digi (Pentax MX-1) Imaging System (Cat.GP05LED)] 상에서 약 700 bp 내외의 DNA fragment 크기로 증폭됨을 확인한 후 염기서열 해독을 위해 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN)를 이용하여 정제하였다. 정제된 각 균주의 증폭된 5.8S rDNA region을 해독하기 위해 (주)마크로젠에 서비스를 의뢰하였고 염기서열 결과를 미국 NCBI의 GenBank에 등록되어 있는 진균류의 ITS region과 비교하여 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) 가장 높은 확률(97% 이상)로 match되는 균으로 동정하였다. 각 대상 농산물에 따라 부패원인균 중 ITS region의 비교만으로 species가 구별되지 않는 균주들은 아래 표와 같이 특정 gene primer를 이용한 2차 분자 동정을 실시하여 비교 분석한 후 종 동정 하였다 (표6 ~ 8).

표 6. 사과부패 시료 유래 진균의 분자생물학적 동정을 위한 Primer 목록 및 PCR 조건

Primer	Target species	Sequence
ITS1	all strains	5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3'
ITS4		5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3'
Gpd1-LMF	<i>Alternaria</i> sp.	5' - ATTGGCCGCATCGTCTCCGCAA - 3'
Gpd2-LMR		5' - CCCACTCGTTGTCGTACCA - 3'
Alt-F	<i>Alternaria</i> sp.	5' - ATGCAGTTCACCACCATCGC - 3'
Alt-R		5' - ACGAGGGTGAYGTAGGCGTC - 3'

Alt PCR amplification conditions	
Initial denaturation	94°C for 1min
35 amplification cycles	94°C for 30s
	57°C for 30s
	72°C for 1min
Extension phase	72°C for 10min
Stabilizing	4°C for infinitely

Gpd PCR amplification conditions	
Initial denaturation	94°C for 5min
40 amplification cycles	94°C for 30s
	59°C for 30s
	72°C for 1min
	20s
Extension phase	72°C for 7min
Stabilizing	4°C for infinitely

표 7. 파프리카 부패시료 유래 진균의 분자생물학적 동정을 위한 Primer 목록 및 PCR 조건

Primer	Target species	Sequence
ITS1	all strains	5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3'
ITS4		5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3'
EF1	<i>Fusarium</i> sp.	5' - ATGGGTAAGGAGGACAAGAC - 3'
EF2		5' - GGAAGTACCAGTGATCATGTT - 3'
G3PDHfor+	<i>Botrytis</i> sp.	5' - ATTGACATCGTTCGCTGTCAACGA - 3'
G3PDHrev+		5' - ACCCCACTCGTTGTCGTACCA - 3'
HSP60for+	<i>Botrytis</i> sp.	5' - CAACAATTGAGATTTGCCACAAG - 3'
HSP60rev+		5' - GATGGATCCAGTGGTACCGAGCAT - 3'
RPB2for+	<i>Botrytis</i> sp.	5' - GATGATCGTGATCATTTCGG - 3'
RPB2rev+		5' - CCCATAGCTTGCTTACCCAT - 3'

EF1-a PCR amplification conditions

Initial denaturation	94°C for 2min
40 amplification cycles	94°C for 45s
	52°C for 30s
	72°C for 90s
Extension phase	72°C for 6min
Stabilizing	4°C for infinitely

G3PDH PCR amplification conditions

Initial denaturation	94°C for 5min
35 amplification cycles	94°C for 30s
	64°C for 30s
	72°C for 90s
Extension phase	72°C for 10min
Stabilizing	4°C for infinitely

HSP60/RPB2 PCR amplification conditions

Initial denaturation	94°C for 5min
35 amplification cycles	94°C for 30s
	55°C for 30s
	72°C for 90s
Extension phase	72°C for 10min
Stabilizing	4°C for infinitely

표 8. 딸기부패시료 유래 진균의 분자생물학적 동정을 위한 Primer 목록 및 PCR 조건

Primer	Target species	Sequence
ITS1	all strains	5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3'
ITS4		5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3'
EF1-728F	<i>Cladosporium</i> sp.	5' - CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG - 3'
EF1-986R		5' - TAC TTG AAG GAA CCC TTA CC - 3'
ACT-512F	<i>Cladosporium</i> sp.	5' - ATG TGC AAG GCC GGT TTC GC - 3'
ACT-783R		5' - TAC GAG TCC TTC TGG CCC AT - 3'

EF1 / ACT PCR amplification conditions	
Initial denaturation	94°C for 5min
40 amplification cycles	94°C for 45s
	52°C for 30s
	72°C for 90s
Extension phase	72°C for 6min
Stabilizing	4°C for infinitely

(라) 진행 미생물의 형태학적, 생리학적 동정

진행 미생물의 동정은 ITS1-ITS4 rDNA 지역의 primer를 활용하여 1차적으로 분자생물학적인 동정을 완료하였으며, 전통적인 형태학적 분류에 있어서의 각 균 별 특징을 관찰하기 위해 배을 400배, 1000배의 현미경(Primo Star FOV18, Carl Ziess, Jena, Germany) 하에서 포자모양, 균사 생장의 특징 등을 관찰, 조사하고 사진촬영 하였다. 현미경 관찰을 위한 시료 준비는 다음과 같다. 단일 분리된 부패원인 사상성곰팡이 및 효모 균주들은 PDA 고체배지에서 25°C, 5일간 point inoculation 하여 배양하고 콜로니 사진을 촬영하였다. 기본적인 형태학적, 생리학적 표현형인 고체배지에서의 색깔, 균사생장 모양, 균사의 색깔 등 각 진균의 특징들을 관찰, 기록하였으며, 현미경 관찰을 위해 고체배지에서 5일간 자란 균사체로 이루어진 진균 콜로니 가장자리 일부를 멸균한 spatula나 toothpick을 이용하여 긁어서 스포이드로 슬라이드 위에 떨어뜨린 멸균수 약 200 μ l와 잘 혼합한 후 위에 커버글라스를 덮고 균사와 포자 등을 현미경 하에서 관찰하였다.

(마) 부패 시료로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정 결과

① 부패 사과 시료로부터 분리한 부패원인 진핵 미생물 분리 및 동정

㉞ 사과 시료(홍로 및 부사 품종)으로부터 분리한 진핵미생물

부패율이 50%가 진행된 시료를 대상으로 부패 증상별 대표시료를 선별하여 진핵미생물을 분리 동정하였다. 홍로 및 부사는 대조구 (control) 사과시료를 포함하여 각 6개의 사과 시료로부터 분리하였으며, 총 77개체, 홍로로부터 44개체 11종을 분리하였으며, 부사로부터 33개체 11종을 분리하였다. 각각 분리한 미생물의 목록은 표 9 ~ 10와 같다. 또한 부패원인균으로 알려져 있는 *Alternaria sp.*의 종 확인을 위하여 *gpd* gene과 *Alt* gene으로 2차 분자 동정을 실시하여 재정리한 것이다.

표 9. 사과 품종 홍로 시료로부터 분리한 진핵미생물 목록

시료	ITS 균주명	×10 ⁴ CFU/g
HR3 (C)	<i>Cryptococcus aureus</i>	2
HR14	<i>Alternaria alternata</i>	4
	<i>Aureobasidium pullulans</i>	3
HR17	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	1,531
	<i>Starmerella bacillaris</i>	1,509
HR5	<i>Penicillium expansum</i>	292
	<i>Starmerella bacillaris</i>	31
HR22	<i>Penicillium mallochii</i>	160
	<i>Starmerella bacillaris</i>	85
HR13	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	13
	<i>Alternaria alternata</i>	12

홍로에서 분리한 미생물을 CFU (×10⁴ CFU/g) 기준으로 순위를 살펴보면 *S. bacillaris* [1,626], *H. uvarum* [1,531], *P. expansum* [292], *A. alternata* [12] 순이다. 홍로 시료에서 *Alternaria sp.*는 총 11개체로 *A. alternata* 8개체, *A. tenuissimum* 3개체 이었다 (rRNA 유전자의 ITS 지역 시퀀스로 확인). 이후 *Alternaria* 속 (genus)의 진균을 종 (species) 수준으로 분류하기 위해 마커로 사용하는 *gpd* gene과 *Alt* gene으로 확인한 결과 11개체 모두 *A. alternata*로 확인되었다.

표 10. 사과 품종 부사 시료로부터 분리한 진핵미생물 목록

시료	ITS 균주명	×10 ⁴ CFU/g
CJ0	<i>Cryptococcus aureus</i>	2
CJ1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	268
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	18
CJ2	<i>Starmerella bacillaris</i>	243
	<i>Alternaria alternata</i>	8
CJ3	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	80
	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	50
CJ4	<i>Aureobasidium pullulans</i>	19
	<i>Alternaria alternata</i>	4
CJ7	<i>Alternaria alternata</i>	18
	<i>Aureobasidium pullulans</i>	2

부사에서 분리한 미생물을 CFU (×10⁴ CFU/g) 기준으로 순위를 살펴보면 *A. pullulans* [289], *S. bacillaris* [243], *B. dothidea* [98], *H. uvarum* [50], *A. alternata* [18] 순이다. 또한 부사 시료에서는 *Alternaria sp.*는 총 12개체로 *A. alternata* 5개체, *A. brassicae* 3개체, *A. tenuissima* 3개체, *A. porri* 1개체였으나, *gpd* gene과 *Alt* gene으로 확인한 결과 12개체 모두 *A. alternata*로 확인되었다

㉔ 사과품종 시료로부터 분리한 진핵미생물의 형태학적 동정

그림 18은 사과 부패시료로부터 단일 포자를 분리한 *A. alternata*와 *B. dothidea*의 고체 평판 배지사진 (25°C, PDA, 5일 배양)과 현미경으로 검경하여 촬영한 균사 및 포자의 형태이다.

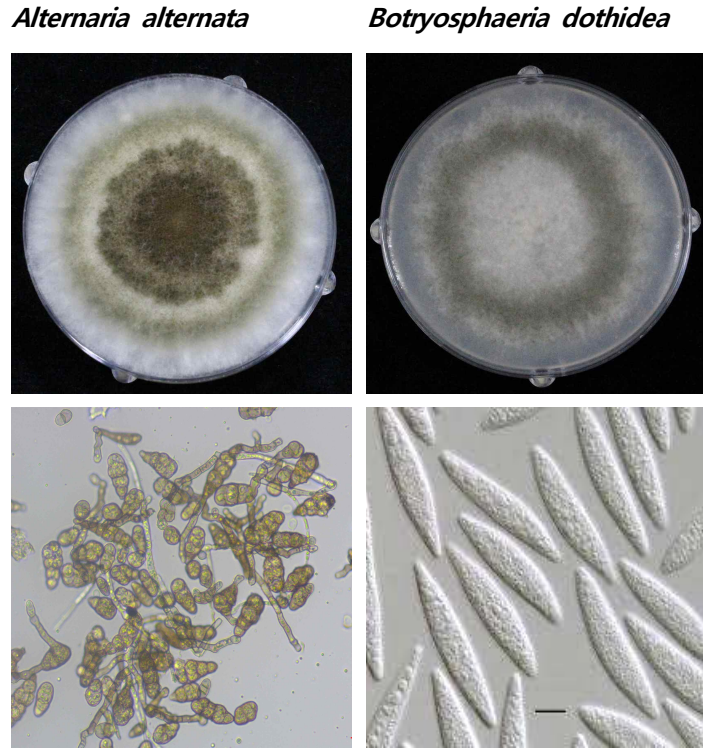


그림 18. 사과 부패시료로부터 분리한 *A. alternata* 와 *B. dothidea* 의 형태학적 특징 (PDA 고체 평판배지, 25°C, 5일 배양)

㊤ 사과품종 시료로부터 분리한 진핵미생물 특성 및 병해조사

사과에서 발견되는 증상과 병충해명 및 병원균의 특성과 병해를 조사하기 위하여 농작물 병해충의 예찰, 예측 진단 정보를 제공해 주는 농촌진흥청의 NCPMS (국가농작물병해충관리시스템; <http://ncpms.rda.go.kr/ncpms/Main.np>)에서 사과병충해명 및 병원균을 조사하고 주요 증상을 요약한 것이다 (표 11).

표 11. 농촌진흥청 NCPMS에서 조사한 사과 병충해명 목록

사과병충해명	병원균	발병부위	병증	사진
갈색무늬병	<i>Diplocarpon mali</i>	잎, 과실	잎에 형성된 원형의 흑갈색 반점이 점차 확대돼 직경 1cm 정도의 원형~부정형 병반이 된다.	
검은별무늬병	<i>Venturia inaequalis</i>	잎, 과실	잎 앞면에 직경 2~3mm의 흑갈색 반점이 나타나고 갈색 가루가 덮여 있는 형태가 되는데 이 가루가 병원균의 분생포자로 이후 분산되어 새로운 병반을 만든다.	
겉무늬씩음병	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	과실	초기에 발병된 과실에서는 병반 상에 작은 흑색소립이 발생하는 경우가 있는데 이들은 내부에 다량의 병원균 포자를 형성하여 2차 전염원이 된다.	
과심곰팡이병	<i>Alternaria sp.</i>	과실	과실 표면은 이상이 없으나 과실을 잘랐을 때 과심부에 흰색, 회색 혹은 진한 분홍색의 곰팡이가 자라 있는 것을 볼 수 있다.	
그을음병	<i>Gloeodes pomigena</i>	과실	그을음병은 과실 표면에 흑녹색의 원형 또는 부정형의 그을음 모양의 병반이 형성되며 나뭇가지에도 장타원형의 병반이 형성되고, 병반은 과실 전면에 형성 되고 손으로 문질러도 쉽게 제거되지 않는다.	
그을음점무늬병	<i>Schizothyrium pomi</i>	과실	그을음점무늬병의 병반은 과실의 표면에 6~8개 때로는 50개 이상의 암흑색의 작은 점이 원을 이루어 형성되며, 이들 작은 점은 광택이 있고 약간 융기해 있다	
바이오리드병	<i>Apple car skin viroid</i>	과실	노란색 반점들은 과실이 성숙하여 과피가 붉은색을 띠며 따라 더욱 분명하게 드러나고 크기가 1~2cm까지 점차 확대되어 8월 중순 수확기에는 과피 전체의 50% 이상을 덮어 얼룩덜룩해진다.	
잿빛 무늬병	<i>Monilinia fructigena</i>	과실	초기에는 과실 표면일부가 담갈색으로 되고 이 증상이 급속히 확대되어 둥근무늬의 반점이 된다. 표면에는 백색분말상의 포자덩어리가 다발하며 낙과하며 황갈색으로 변하며 전체가 썩는다.	
점무늬 낙엽병	<i>Alternaria mali</i>	잎, 과실, 가지	과실에서는 5~6월부터 과점으로 감염되기 시작해 8~9월까지 감염되며 흑색의 작은 반점을 형성한다. 병반은 크게 확대되지 않고 과실이 성숙하면 병반 주변이 적자색으로 된다.	
탄저병	<i>Glomerella cingulata</i>	과실	초기에는 과실에 갈색의 원형반점이 형성되어 1주일 후에는 직경이 20~30mm로 확대되며 병은 부위를 잘라 보면 과심방향으로 과육이 원뿔모양으로 깊숙이 부패하게 된다.	

한국식물병목록 (한국식물병리학회, 2009)에 의하면, 국내 사과에 발생하는 병해는 41종의 병해가 보고되고 있으며, 이 가운데 *Alternaria rot*과 *bot rot*등 27종의 병해가 최근 사과나무에서 발생하는 것으로 알려져 있다 (Choi et al, 2012). 특히, 겉무늬씩음병 (*Bot*

rot, *Botryosphaeria dothidea*)과 탄저병(Bitter rot, *Glomerella cingulate*), 과심곰팡이병 (*Alternaria* sp.)은 과실을 직접 부패시키며 저장중에도 많은 피해를 입히는 병이다(Uhm, 2010). *Alternaria* rot은 7월 초순부터 발병하여 수확기까지 발병한다. 증상은 과실 표면이 함몰되며 표면에는 둥근 무늬로 분생자층이 형성되며, 과실이 부패하는 것이 특징이다. 또한 과실의 단면을 자르면 과심을 중심으로 V자 형태로 과실이 부패되며, 병원균 침입 으로부터 증상의 발현까지 1개월 이상의 기간이 필요하다. Bot rot은 7월 하순부터 발병 하기 시작하여 수확기까지 발병한다. 증상은 처음 갈색의 반점이 나타나고 병증이 진행 됨에 따라 표면에는 얇은 테두리를 형성하며, 과실이 내 깊숙이까지 병이 발병하며 심하 면 물이 흐르고, 과일 전체가 부패한다. (Cheon et al., 2015).

② 부패 파프리카 시료로부터 분리한 부패원인 진행 미생물 분리 및 동정 결과

㉞ 파프리카 시료로부터 분리한 진행미생물

부패율이 50% 진행된 시료를 대상으로 부패 증상별로 진행미생물을 분리·동정하였다. 파프리카는 품종별로 대조구 (control) 파프리카 3개를 포함하여 총 11개의 파프리카로부터 분리하였으며 각각 분리한 미생물의 목록은 표 12와 같다.

표 12. 파프리카 시료로부터 분리한 진행미생물 목록

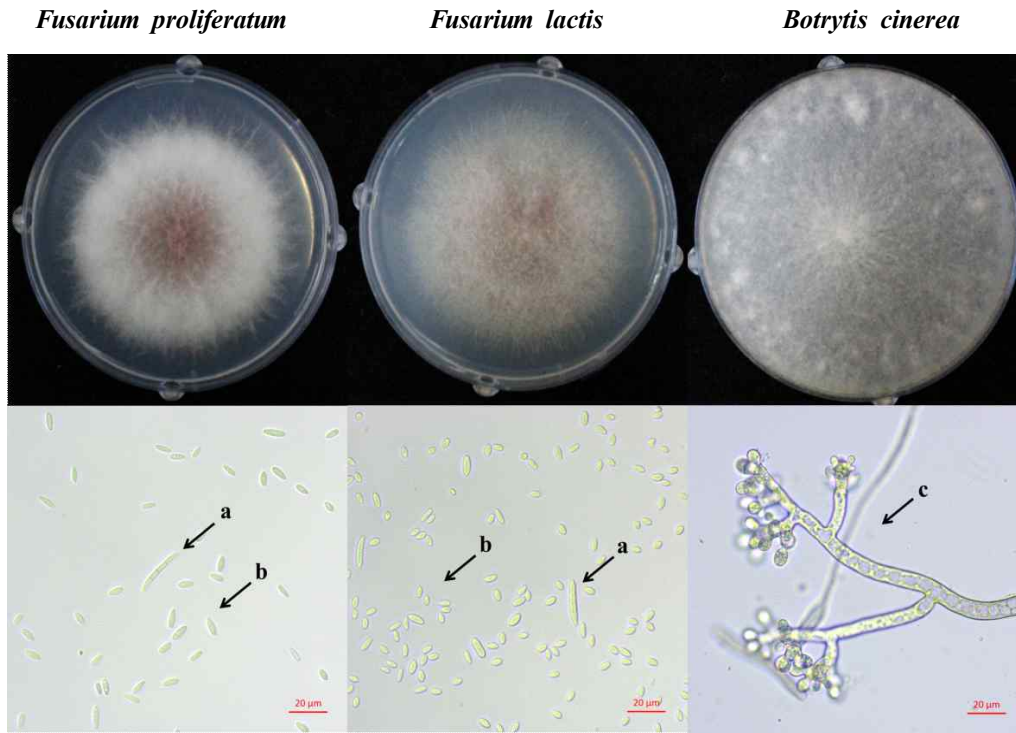
품종	시료명	균주명	×10 ³ CFU /g	
시로코 (Red)	PR-0-1	<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	8	
		<i>Penicillium steckii</i>	1	
	PR-1-1	<i>Fusarium proliferatum</i>	9	
		<i>Fusarium lactis</i>	2	
	PR-2-1	<i>Fusarium proliferatum</i>	13,840	
		<i>Sarocladium strictum</i>	80	
	PR-3-1	<i>Botrytis cinerea</i>	2,080	
		<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	7,520	
	오렌지프로 (Orange)	PO-0-1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	552
			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32
PO-1-1		<i>Fusarium lactis</i>	22,080	
		<i>Sarocladium strictum</i>	1,120	
PO-2-1		<i>Fusarium proliferatum</i>	2,800	
		<i>Pichia kudriavzevii</i>	480	
PO-4-1	<i>Cryptococcus albidosimilis</i>	864		
	<i>Botrytis cinerea</i>	672		
볼란테 (Yellow)	PY-0-1	<i>Penicillium javanicum</i>	1	
	PY-1-1	<i>Fusarium lactis</i>	1	
		<i>Lichtheimia corymbifera</i>	2	
	PY-2-1	<i>Fusarium proliferatum</i>	107,200	
<i>Fusarium lactis</i>		2,400		

파프리카에서 분리한 미생물을 CFU (×10³ CFU/g) 기준으로 순위를 살펴보면, 시로코 (R) 품종에서는 *F. proliferatum* [13,849] *G. nigrescens* [7,520] *B. cinerea* [2,080] 순이며, 볼란테 (Y) 품종에서는 *F. proliferatum* [107,200] *F. lactics* [2,401] 순이며, 오렌지프로 (O) 품종에서는 *F. lactics* [22,080], *F. proliferatum* [2,800] *B. cinerea* [672] 순으로 나타났다.

증상별로 살펴보면 꼭지 부패는 *F. lactics* [22,083]이 배꼽부패는 *F. proliferatum* [123,840]이 옆면 부패는 *B. cinerea* [2,752] 균주가 주를 이루고 있음을 알 수 있다.

㉔ 파프리카 시료로부터 분리한 진핵미생물의 형태학적 동정

그림 19는 사과 부패시료로부터 단일 포자를 분리한 *F. proliferatum*, *F. lactis*, *B. cinerea* 의 고체평판 배지사진 (25°C, PDA, 5일 배양)과 현미경으로 검경하여 촬영한 균사 및 포자의 형태이다.



a - Macroconidia, b - Microconidia, c - conidiophore

그림 19. 파프리카 시료로부터 분리한 *F. proliferatum*, *F. lactis*, *B. cinerea*의 형태학적 특징 (PDA 고체 평판배지, 25°C, 5일 배양)

㊤ 파프리카 시료로부터 분리한 진핵미생물 특성 및 병해조사

파프리카는 국내에서 1994년 제주도에서 처음 재배하기 시작하여 1995년 전북 김제의 영농조합법인에서 생산전량을 일본에 수출하면서 본격적으로 재배면적 및 생산량이 증가하고 있다. 우리나라 신선 농산물 수출의 핵심 역할을 하고 있는 파프리카는 국제시장에서도 일본으로 수출을 시작한지 10여년 만에 네덜란드를 제치고 시장 점유율 66%를 차지하고 있다. 이러한 파프리카의 생장, 재배조건, 저장, 품종 등 국내외의 다양한 연구들이 진행되고 있으나 일반고추에 발생하는 병해(21종이 기록)에 비하여 파프리카는 연구기간이 짧아 발생하는 병해(15종 기록)에 대한 연구는 아직 많이 부족한 실정이다. 다음은 파프리카에 발생하는 병명과 발생정도를 정리한 것이다 (표 13).

표 13. 파프리카에 발생하는 병명 및 발생정도

병명	병원균	발생정도
바이러스병	Tobacco mosaic virus(TMV)	심
바이러스병	Cucumber mosaic virus(CMV)	중
바이러스병	Potato virus Y(PVY)	심
바이러스병	Broad bean wilt virus(BBWV)	소
풋마름병	Ralstonia solanacearum	심
세균성점무늬병	Xanthomonas campestris	소
줄기마름병	Erwinia carotovora	중
흰가루병	Leveillula taurica	심
역병	Phytophthora capsici	중
잣빛곰팡이병	Botrytis cinerea	소
잘록병	Rhizoctonia solani	소
갈색점무늬병	Cercospora capsici	소
균핵병	Sclerotinia sclerotiorum	소
줄기마름병(미보고)	Fusarium sp.	중
검은점열매썩음병	Phomopsis phaseoli	소
탄저병	Collectotricum gloeosporioides	소

(출처 : 농과원, 원예원)

국내 파프리카 병해충에 관한 연구로는 진딧물, 총채벌레, 담배나방 및 응애류 등의 해충에 의한 연구와 흰가루병, 잣빛곰팡이병, *Sclerotinia sclerotiorum* (2006), *Fusarium oxysporum* (2007) 및 *Botrytis cinerea* (2008) 등 진균병에 대한 보고가 있다. 2013년 농림수산검역검사본부 식물검역기술개발 센터에서 전국 13개 도시, 50개 농가의 재배온실, 선과장 및 저장고를 대상으로 파프리카 재배온실, 선과장 및 저장고에 대한 병해충을 조사하여 모니터링 하였다.

파프리카 곰팡이병 의심 시료에 대한 검사 결과, *Fusarium* spp.(썩음병)가 26회로 가장 많았으며, *Alternaria solani* (겉무늬병)25회, *Leveillula taurica* (흰가루병) 10회, *Botrytis*

cinerea (잿빛곰팡이병) 7회, *Cladosporium* spp.(반점병) 2회, *Colletorichum loeosporioides* (탄저병)2회, *Phytophthora capsici* (역병) 2회 검출되었고, *Acremonium* spp.(흰얼룩병), *Aspergillus* spp.(누룩곰팡이병), *Nectria haematococca* (과실썩음병), *Nigrospora* spp.(앞마름병)가 각각 1회씩 검출되었다.

위의 조사를 통하여 본 연구팀이 부패증상별로 수집하여 분리한 파프리카의 주요 부패원인균이 *F. proliferatum*, *F. lactics*, *B. cinerea*인 결과와 일치함을 확인할 수 있었다. 또한, 2011년에 Plant disease 학회지에 게재된 「“First report of *Fusarium proliferatum* infecting pimento chili peppers in Trinidad” . Plant disease (95),1313. (45267)」 논문과 「“First report of internal fruit rot of sweet pepper in Korea caused by *Fusarium lactis*.” Plant disease (95), 1476. (45294)」 논문에서도 보고된 바 있다.

③ 딸기 시료로부터 분리한 부패원인 진핵 미생물 분리 및 동정 결과

㉞ 딸기 시료로부터 분리한 진핵미생물

경북 고령에서 “토경방식” 으로 재배하여 대형마트에 유통되고 있는 설향 품종의 딸기를 구입하여 부패율이 50% 진행된 시료를 대상으로 부패 증상별로 진핵미생물을 분리 동정하였다. 증상별로 5가지로 구분하여 분리하였으며, 총 37개체, 5종의 균주를 얻었다. 분리한 미생물의 목록은 표 14와 같다.

표 14. 딸기 (품종 : 설향) 시료로부터 분리한 진핵미생물 목록

시료명	균주명	×10 ³ CFU/g
ST1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	17.6
	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	10.4
	<i>Botrytis cinerea</i>	1.6
ST2	<i>Cladosporium cladosporium</i>	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	2.4
ST3	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	26.4
	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	6.4
	<i>Botrytis cinerea</i>	3.2
	<i>Cladosporium rectoides</i>	2.4
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0.8
ST4	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	13.6
	<i>Botrytis cinerea</i>	3.2
	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	1.6
ST5	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	48

딸기 (설향 품종)에서 분리한 미생물을 CFU (×10³ CFU/g) 기준으로 순위를 살펴보면, *C. cladosporioides* [149.6] *C. tenuissimum* [18.4] *B. cinerea* [10.4] *C. rectoides* [8.4] *P. brevicompactum* [0.4] 순으로 나타났다.

1차 수집 딸기는 수량이 적어 부패 원인균 분리·동정 및 미생물 균집 분석의 과소평가가 가능성을 배제하기 위하여 참여기업 (주)썸머힐상사로부터 “고설재배” 방식으로 재배하여 수확 후 부패가 진행되는 장희와 설향을 각 2kg을 수집하여 장희는 육안으로 다른 증상 5가지로 구분하였고, 설향은 부패율이 20% 미만 그룹, 20% 이상 50% 미만인 그룹, 50%이상인 그룹으로 분리하여 진핵미생물을 분리 동정하였다. 장희 시료로부터 총 27개체, 4종의 균주를 얻었으며 분리한 미생물을 CFU 순으로 정리하여 표 15에 나타내었다.

표 15. 딸기 (품종 : 장희) 시료로부터 분리한 진핵미생물 목록

시료명	균주명	× 10 ³ CFU/g
JC	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2.4
J1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	17.6
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	16
	<i>Botrytis cinerea</i>	2.4
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	1.6
J2	<i>Penicillium brevicompactum</i>	240
	<i>Botrytis cinerea</i>	48
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	20
J3	<i>Botrytis cinerea</i>	36
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	24
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	20
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	12
J4	<i>Botrytis cinerea</i>	12
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	8.8
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	6.4
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2
J5	<i>Botrytis cinerea</i>	88
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	20
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	4

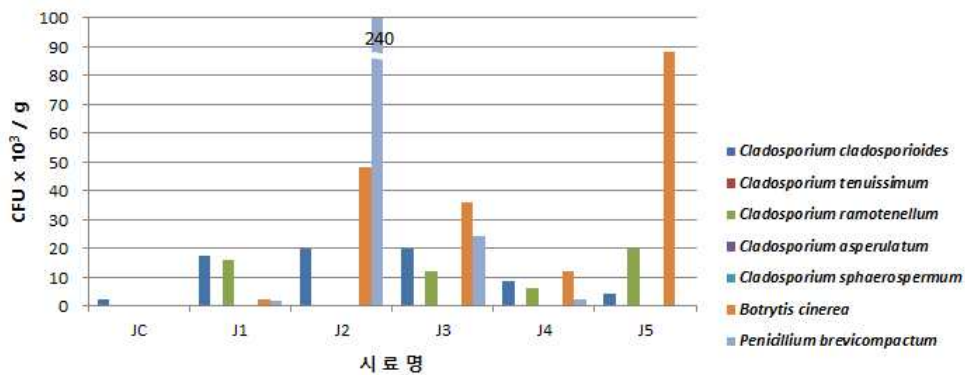


그림 20. 딸기 (품종: 장희) 로부터 분리한 미생물의 CFU

딸기(품종:장희)에서 분리한 미생물을 CFU (×10³ CFU/g) 기준으로 순위를 살펴보면 *P. brevicompactum* [267.6], *B. cinerea* [186.4], *C. cladosporioides* [72.8], *C. ramotenellum* [54.4] 순으로 나타났다. 대조구에서 부패원인균인 *C. cladosporioides* [2.4]이 존재하였으며 J1에서는 *C. cladosporioides*, J1에서는 *P. brevicompactum*, J3에서는 *B. cinerea*, J4에서는 *B. cinerea*, J5에서도 *B. cinerea* 우세함을 관찰할 수 있었다 (그림 20).

설향 시료로부터 총 20개체, 7종의 균주를 얻었으며 분리한 미생물을 CFU 순으로 정리하여 표 16에 나타내었다.

표 16. 딸기 (품종: 설향) 시료로부터 2차 분리 진핵미생물 목록

시료명	균주명	× 10 ³ CFU/g
SC	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	6.4
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	5.6
S1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	452
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	32
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	24
	<i>Cladosporium asperulatum</i>	8
S2	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	276
	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	252
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	48
	<i>Botrytis cinerea</i>	40
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	16
	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	4
S3	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	488
	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	340
	<i>Botrytis cinerea</i>	96
	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	48
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	44

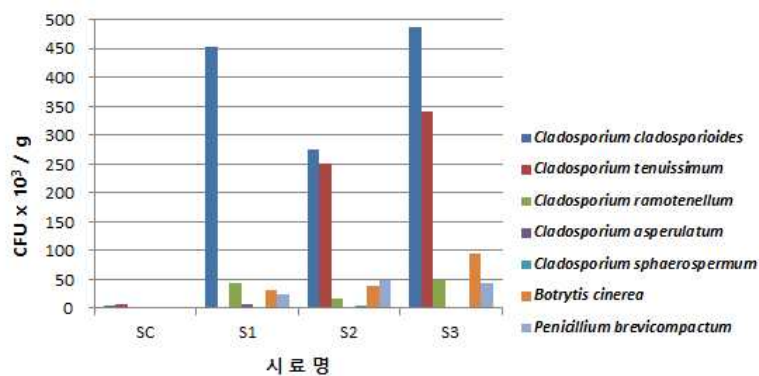


그림 21. 딸기 (품종: 설향)로부터 분리한 미생물의 CFU

딸기(설향품종)에서 분리한 미생물을 CFU ($\times 10^3$ CFU/g) 기준으로 순위를 살펴보면 *C. cladosporioides* [1,221.6], *C. tenuissimum* [592] *B. cinerea* [168], *P. brevicompactum* [116], *C. ramotenellum* [114] *C. asperulatum* [8], *C. sphaerospermum* [4] 순으로 나타났다. 대조구에서 부패원인균인 *C. tenuissimum* [6], *C. cladosporioides* [5.6]이 존재하였다. 설향 품종에서는 부패율과 상관없이 *C. cladosporioides* [276 ~ 488]와, *C. tenuissimum* [252 ~ 340]이 주로 분포하였다 (그림 21).

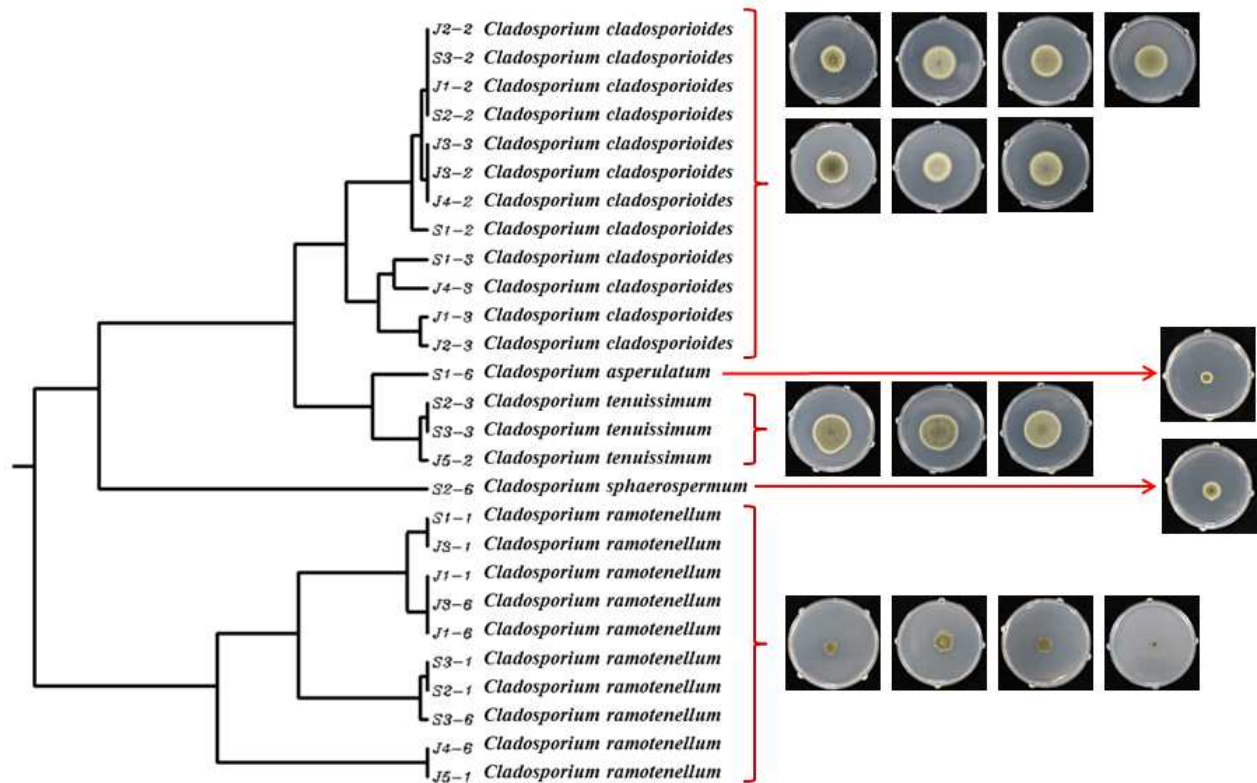


그림 22. 딸기시료로부터 분리한 *Cladosporium* spp.의 actin gene으로 구분한 Phylogenetic tree

부패한 딸기로부터 분리한 47개체 (ITS 지역으로 구분) 중 32개체가 *Cladosporium* spp.로 확인되어 PDA 고체배지에서의 colony 색과 모양등 형태학적 특징으로 구별하고 ACT primer으로 분자생물학적으로 재확인한 후 Phylogenetic tree로 grouping 하였다 (그림 22). 장희 품종에서는 18개체의 *Cladosporium* spp.가 분리되었는데 *C. cladosporioides* 10개체, *C. ramotenellum* 7개체, *C. tenuissimum* 1개체로 확인되었다. 설향 품종에서는 14개체의 *Cladosporium* spp.가 분리되었는데 *C. cladosporioides* 5개체, *C. ramotenellum* 4개체, *C. tenuissimum* 3개체, *C. asperulatum* 1개체, *C. sphaerospermum* 1개체로 확인되었다. 재확인된 32개의 *Cladosporium* spp.로 Phylogenetic tree에 의해 5개 group으로 구분이 되었다.

㊦ 딸기 시료로부터 분리한 진핵미생물의 형태학적 동정

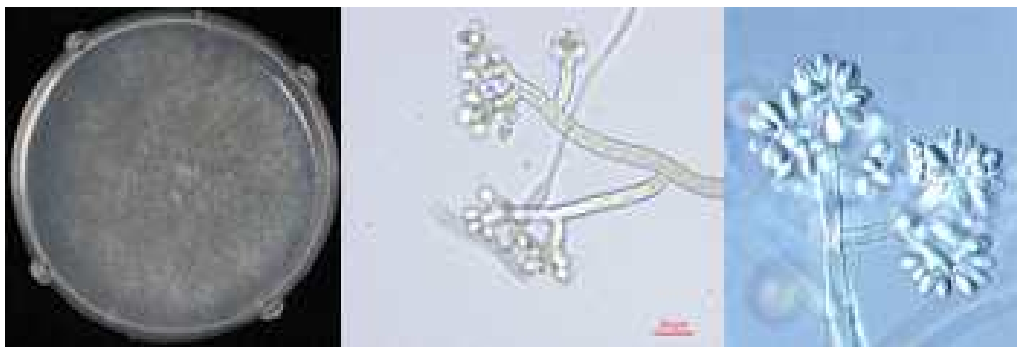
그림 23는 딸기 부패 시료로부터 단일 포자를 분리한 *C. cladosporioides*, *C. tenuissimum*, *B. cinerea*의 고체평판 배지사진 (25°C, PDA, 5일 배양)과 현미경으로 검경하여 촬영한 균사 및 포자의 형태이다.



Cladosporium cladosporioides



Cladosporium tenuissimum



Botrytis cinerea

그림 23. 딸기 부패시료로부터 분리한 *C. cladosporioides*, *C. tenuissimum*, *B. cinerea*의 형태학적 특징 (PDA 고체 평판배지, 25°C, 5일 배양)

㉔ 딸기 시료로부터 분리한 진핵미생물 특성 및 병해조사

딸기에서 발견되는 증상과 병충해명 및 병원균의 특성과 병해를 조사하기 위하여 농작물 병해충의 예찰, 예측 진단 정보를 제공해 주는 농촌진흥청의 NCPMS (국가농작물병해충관리시스템; <http://ncpms.rda.go.kr/ncpms/Main.np>)에서 딸기병충해명 및 병원균을 조사하고 주요 증상을 조사하였다. 딸기는 묘를 길러 수확하기까지 거의 1년 내내 재배되는 작물로 병은 대략 20여종, 해충은 50여종 정도로 알려져 있으나, 실제 포장에서 심각한 문제를 초래하는 병해충은 10여종 정도이다. 육묘기에는 탄저병과 시들음병이, 과일수확기에는 흰가루병과 잿빛곰팡이병이 가장 많이 발생한다. 딸기 꽃에 발생하는 곰팡이병은 주로 '잿빛곰팡이병'이었으나 충남농업기술원에서 2015년 5월 *C. cladosporioides*가 딸기꽃에 병을 일으키는 주요 곰팡이균임을 확인하였다.

㉕ 탄저병

- 병원균 : *Colletotrichum gloeosporioides* 와 *Glomerella cingulata*라는 곰팡이에 의해 발생하는 병으로 완전세대를 형성하는 균과 하지 않는 균으로 세분된다.
- 병징 : 런너와 엽병에 나타나기 쉽고 분홍색의 분생자층을 형성한다. 크라운부에 침입할 경우 크라운 부위를 잘라보면 바깥부분 안쪽으로 갈변하며 묘 전체가 시들어 죽는다. 엽병, 런너에 발병할 경우 수침상으로 움푹하게 들어가는 검은색 병반을 형성하며 다습 시 분홍색의 포자퇴를 형성한다.
- 전염경로 : 잠재 감염주와 이병잔해물이 1차전염원이며 강우나 관수에 의해 포자가 이동하여 2차전염원이 된다. 비바람이나 위에서 강한 관수시 감염주에서 형성된 분생포자가 물방울과 함께 비산하여 주위 건전주에 쉽게 전염된다.
- 발병조건 : 고온다습(25 ~ 35℃)과 장마시기인 6월 하순에서 9월 상순에 빗물에 의해 많이 발생한다.

㉖ 시들음병(위황병)

- 병원균 : *Fusarium oxysporum f.sp. fragariae*라는 곰팡이병에 의해 발생한다.
- 병징 : 새잎이 황록색이 되거나 작아지고, 3개 소엽중 1~2소엽이 기형으로 작아져 짝엽이 되어 나온다. 피해 포기의 관부와 엽병을 잘라보면 도관을 따라 갈변하고 병이 진전되면 하엽이 시들고 하얀 뿌리는 거의 없고 흑갈색으로 부패한 것이 많고 포기전체가 위축되고 말라 죽는다. 피해포기의 관부, 엽병, 과병을 절단해 보면 도관의 일부 또는 전체가 갈색이나 흑갈색으로 변하고 채묘상의 모주에 발생하면 런너 발생수가 적어지고 런너의 새잎에도 기형엽이 발생한다. 수확기에 발생하면 착과가 적게 되고 과실 비대도 나빠진다.
- 전염경로 : 토양 중에 있는 후막포자가 주 전염원으로 딸기의 뿌리로 들어가 도관 안에 균사를 신장하여 증식한다. 고온기 육묘기에 많이 발생하며, 감염된 모주로부터

런너줄 기(도관)를 타고 자묘로 이동하여 전염원이 된다. 분생포자는 토양입자가 비산할 경우 전염하고 관계수를 통해서 전염한다.

- 발병조건 : 발병 적온은 28℃의 고온성 병으로 산도(pH)가 낮을 때 많이 발생한다. 육묘 시에는 7~9월, 반촉성하우스 재배의 경우 2월 이후, 노지재배에서는 5월 이후에 많이 발생한다.

㉔ 잿빛곰팡이병

- 병원균 : 잿빛의 곰팡이를 형성하는 병원균 *Botrytis cinerea*에 의해 발생한다.
- 병징 : 과실, 꽃받침, 과경, 잎, 엽병 등 지상부위에 주로 피해가 나타나며, 특히 과실에 큰 피해를 입힌다. 어린 과실에 침입하여 갈색으로 마르고 심하면 흑갈변하고 다습시에는 부패하고 잿빛의 병원균이 발생한다. 꽃에 침입할 경우 수정 후 꽃잎이 떨어지지 않고 붙어 있을 때 꽃받침이 적색으로 되며 갈변 또는 흑갈변하며 썩는다.
- 전염경로 : 처음에 하엽의 고사한 부분에 병원균이 분생포자를 형성하여 비바람에 의하여 비산 전염된다. 잿빛곰팡이병균은 포자에 의한 눈마름병 발생부위, 상처부위나 꽃잎, 암술, 수술 등 꽃의 각 기관을 통해 침입한다. 화분매개용 벌의 몸에 부착되어 꽃을 통해 전염되기도 한다.
- 발병조건 : 20℃ 전후의 다습시 많이 발생하며 봄비나 흐린 날이 계속되면 하우스내의 발병이 심해진다. 과번무, 밀식한 경우 통풍이 불량할 때 많이 발생하며, 촉성, 반촉성재배는 12~4월, 노지재배는 3~5월에 많이 발생한다.

㉕ 흰가루병

- 병원균 : 살아 있는 식물체 위에서만 생활 할 수 있는 절대적 기생자로 표피 세포내에 흡기라는 기관을 형성하여 기생생활을 한다.
- 병징 : 딸기의 잎, 엽병, 꽃, 화경, 과일 등 여러 부분에 발생한다. 잎에서는 흰가루 모양의 작은 반점을 형성하며, 하엽의 뒷면에 적갈색의 반점 형성이 진전되면 회백색의 곰팡이가 발생하게 되며 잎이 휘어진다. 꽃에 발생하면 꽃잎에 안토시아닌 색소가 형성되어 자홍색으로 변한다. 과일에서는 침해된 부분이 생육이 늦어지고, 착색이 진행되지 않고 하얗게 되어 상품 가치가 떨어진다.
- 전염경로 : 발병 주에서 주변포기로 포자가 비산하여 주로 전염된다. 화분매개용 꿀벌에 부착되어 전염되기도 한다. 포자의 비산은 12시 전후, 습도 55%이하, 날씨가 맑은 날 활발하게 이루어진다. 이전에 감염된 식물의 조직에서 월동한다.
- 발병조건 : 병원균의 최적온도는 20℃ 이고 발병에 필요한 상대습도는 30~100%까지 넓은 범위를 가지고 있으며, 특히 높은 습도뿐 아니라 건조한 조건에서도 발병한다. 노지육묘에는 포자가 빗물에 씻겨 사멸하기 쉽기 때문에 잘 발생되지 않으나, 비가림 육묘 시에는 발생하기 쉽고 야냉단일육묘, 저온 암흑처리 육묘, 고랭지육묘 등 촉성

재배에서 많이 발생한다. 축성, 반축성재배는 2~4월, 노지재배는 3~5월에 대 발생된다.

㉔ 눈마름병

- 병원균 : 곰팡이(진균)에 의해 발생하는 병으로 토양 서식균으로 벼 재배 후 딸기 재배하는 포장에서 많이 나타난다. 벼 재배시에 잎집얼룩병이 크게 발생했던 포장에 딸기를 재배했을 경우 많은 발생을 보이는 것으로 추정된다.
- 병징 : 꽃망울이나 어린눈이 시들며 고사해서 흑갈색으로 변하고 잎과 꽃받침에 작고 갈색의 원형반점이 형성되다가 진전되면 잎이 마르게 된다. 새잎 출현이 늦고 눈이 갈변하여 진전되면 엽병 아래나 크라운 부위까지 갈변하고 탁엽이나 엽병기부가 가장 침해되기 쉽다. 이병주는 생육이 저조하며 수량이 감소는 물론이고 잿빛곰팡이병균이 2차적으로 발생하기 쉽다.
- 전염경로 : 눈마름병균 균사는 어리고 약한 조직에 침입하거나 기공이나 상처 부위 등을 통해 침입한다.
- 발병조건 : 병원균의 적온은 25℃ 전후의 저온이며, 다습조건을 좋아한다. 토양에 균핵으로 생존하며 적당한 환경조건에서 발병하여 침입하고, 반축성재배의 경우 하우스 비닐피복 후 보온시기에 많이 발병한다.

㉕ *Cladosporium cladosporioides*에 의한 딸기꽃 곰팡이균

- 병원균 : *C. cladosporioides*, *C. tenuissimum*.
- 병징 : 딸기 설향 품종의 꽃 암술머리에 회색의 곰팡이가 피고 심해지면 꽃받침까지 꽃 전체가 흑변하여 마르는 증상
- 전염경로 : 딸기 꽃 암술에 올리브색 곰팡이가 발생한다. 심한 경우 꽃 전체가 마르면서 기형과실을 유발한다.
- 발병조건 : 병원균의 적온은 20~25℃ 전후의 저온이며, 다습조건을 좋아한다. 죽은 식물체, 토양, 유기물 등에서 증식하기 때문에 비닐하우스 내 저온과 습도가 높을 때 발생률이 높다.

(2) 부패 사과시료 유래 곰팡이 균주의 부패 지수 조사

(가) 단일균주 및 2종 혼합균주의 인공 접종으로 인한 사과 부패율 및 부패지수 검증실험

[사과 부패증상 원인] 사과의 부패 증상은 생육기 또는 수확 후에 한 가지 종 (species)의 사상성곰팡이류가 원인이 될 수도 있으나 과수원의 노출된 생육환경에서는 여러 균이 복합적으로 감염되어 부패증상이 나타날 경우도 있다. 수확 후 저장고에서는 생육기에 감염되어 과실에 부생하고 있다가 진균의 생장을 촉진하는 온습도 조건이 되었을 시 부패증상을 나타내는 부패원인균이 있을 수도 있고 저장고에서 부생하고 있는 진균이 부패를 일으킬 수도 있다.

[사과 부패증상의 원인균 조사 및 부패증상에 대한 기여도] 본 연구에서 부패가 50% 이상 충분히 진행된 후 미생물을 분리하는 것은 부패원인균이 특정한 부패증상을 일으키기 위해 과실에 활착하여 우점종이 되어 있는 상태이므로 부패를 일으키는 원인균을 용이하게 분리할 수 있기 때문이다. 특정 부패증상으로부터 분리한 여러 종의 단일균주가 실제 부패증상을 일으키는지의 병원성 여부와 병원성 정도를 조사하기 위하여 아래와 같이 단일균주로 분리된 각 사상성곰팡이 종을 기주 (host)인 사과시료에 인공접종 하였다.

[주관 및 공동연구팀의 동일한 인공접종 사과시료를 활용한 목적 지향적 시험] 아래와 같이 동일하게 인공접종한 사과시료를 이용하여 1) 주관연구기관의 송실대 진균분자유전학 연구실에서는 각 균주에 의한 부패율을 측정하고 부패지수를 확립하였으며 2) 이화여대에서는 VOC 프로파일링 3) 대전대에서는 센서감도 시험을 통한 적정 부패감지센서 선정 연구를 동시에 수행하였다.

① 인공 접종할 사과 시료 준비

부패 지수 측정을 위해 수집하였던 충주에 위치한 새터농원으로부터 같은 시기 (2015년 10월)에 수확하고 저장고에 보관하고 있는 부사(Fuji)를 구입하여 사용하였다. 또한 사과의 크기는 가로 140mm × 140mm정도로 자연 부패한 시료로 부패도 측정에 사용된 사과시료와 유사한 크기의 사과를 선별하여 사용하였고 사과 자체에 부착되어 있는 부생균의 영향을 배제하기 위하여 흐르는 물 (tap water)로 표면을 깨끗하게 세척한 후 물기를 제거하고 70% EtOH로 소독하였다. 깨끗한 티슈위에 올려 EtOH는 모두 날아가도록 하고 소독한 사과의 상단 측면에 화염 멸균한 지름 6.5mm의 Cork borer를 이용하여 깊이 3mm로 punching하여 접종할 수 있도록 준비하였다.

② 인공 접종을 위한 균주 준비

부패시료로부터 단일 분리한 균주는 사과에 접종 시 공기 접촉에 영향을 받지 않도록 PDA 배지를 약 2~3 mm로 얇게 25°C에서 5일간 배양하였다 (표 17 ~ 18). 그리고 화염 멸균한 지름 6.5mm의 Cork borer를 이용하여 punching 하고 접종할 수 있도록 준비하였다. 이때 negative control로 접종 하지 않은 PDA와 positive control로 KCTC (Korean Collection for Type Cultures, 한국생명공학연구원 전북분원 미생물자원센터, 전북정읍소재)로부터 분양받은 표준균주를 동시에 배양 하였다.

표 17. 인공접종시험을 위한 부패사과 시료 유래 사상성곰팡이 목록

번호	균주명
1	Control(-) : 미접종 배지 (PDA)
2	Control(+): (표준균주) <i>A. alternata</i> KCTC 26781
3	<i>Alternaria alternata</i> CJ7-2 (<i>A.a</i>)
4	<i>Aureobasidium pullulans</i> CJ4-5
5	<i>Botryosphaeria dothidea</i> CJ3-4
6	<i>Hanseniaspora uvarum</i> HR17-3

표 18. 인공접종을 위한 혼합 균주 목록

번호	균주명
1	<i>A.a</i> + <i>A. pullulans</i> CJ4-5
2	<i>A.a</i> + <i>B. dothidea</i> CJ3-4
3	<i>A.a</i> + <i>H. uvarum</i> HR17-3

③ 분리한 사상성 곰팡이 균주의 병원성 검증 (단일인공접종 및 혼합인공접종)

인공접종을 위해 준비한 균주가 공기와 잘 접촉할 수 있도록 균사 표면이 바깥쪽을 향하도록 하여 화염 멸균한 메스를 이용해 사과에 한 조각씩 올려놓았다. 2종의 균주를 조합하여 접종할 때에는 6.5mm 조각을 반으로 잘라 반씩 올려놓아 하나의 원이 되도록 하였다. 멸균한 등근 락앤락 용기에 접종한 사과를 넣고 단일균주가 서로 오염되지 않도록 멸균한 일반 거즈 3겹으로 입구를 고무줄로 고정하였다. 접종한 사과시료는 온도 23~26°C, 습도 80~90%로 설정한 항온·항습배양기에서 배양하였으며 (그림 24, 25) 1년차 인공접종 실험 결과를 바탕으로 부패증상을 일으키는 원인균을 동일 시료로부터 분리된 두 가지 진균 조합으로 혼합 인공 접종하여 부패율을 조사하였다. 혼합 인공 접종 시 두 가지 다른 부패원인균이 혼합 감염되었을 시 상생작용을 하는지 상호억제작용을 하는지에

대한 조사가 가능하다.

④ 인공접종 사과에의 부패 진행도 측정 (무게, 부패 부위 측정)

3일 간격으로 인공접종한 사과의 부패 진행도를 측정하였다. 전자저울을 이용해 무게를 측정하고, 캘리퍼와 줄자를 이용해 부패영역의 크기 변화(최장, 최단 길이)를 측정하였다.



그림 24. 인공접종을 위한 사과시료 및 단일 진균 인공 접종원 준비



그림 25. 인공 접종 사과시료의 향온 항습 배양기 내 배양 방법

(나) 부패 사과시료 유래 곰팡이 균주의 인공접종 후 부패율 측정

부사로부터 분리한 균주 중 CFU가 높고 식물성 병원균으로 알려져 있는 균주를 대상으로 사과에 인공적으로 접종하여 부패진행 여부 및 규격을 확립하기 위하여 1차로 분자생물학적 동정이 끝난 3가지 균주와 *A. alternata*는 식물 병원균으로 표준균주 KCTC 26781을 구입하여 부패 진행도를 동시에 60일간 측정하였다 (그림 26).

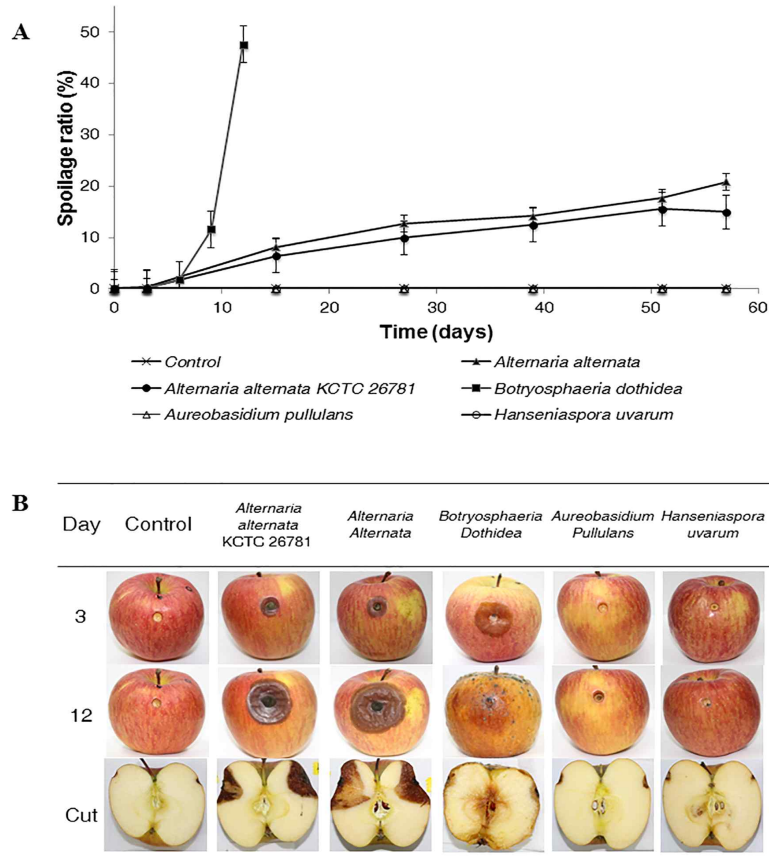


그림 26. 사과부패원인균 단일 인공접종 시 부패율 및 부패증상

PDA 배지조각을 접종한 대조구 (control, -)는 부패하지 않았으며 *B. dothidea*를 접종한 사과는 11일 만에 부패지수 4에 도달하였다. 앞서 조사한 사과병충해명 목록에 *B. dothidea*은 병반상에 작은 흑색소립이 발생하는 경우가 있는데 이들은 내부의 다량의 병원균 포자를 형성하여 2차 전염원이 된다고 알려져 있는데 *B. dothidea*의 접종 시 전형적인 병반과 함께 흑색 소립이 관찰 되었다. 부패지수 ‘4’ 이상이 되면 반으로 잘라 사과의 안쪽 부패율을 관찰하였는데, *B. dothidea*는 전체적으로 물러지는 증상으로 다른 사과의 단면과 달리 수분이 많고 물렁물렁해지는 현상을 보였다. *A. alternata*는 접종원을 중심으로 등 간격으로 원형이 되면서 부패면적이 넓어지는 증상을 보이는데 58일 지나도 약 부패면적은 15 ~ 20%로 부패 속도가 다소 느린 것을 볼 수 있었다. *A. pullulans*와 *H. uvarum*는 부패율이 증가하지 않았다.

(다) 사과 부패 원인균 2종 혼합인공접종에 의한 사과 부패율 시험

식물 병원균이며 사과에 과심곰팡이병이나, 점무늬 낙엽병을 만드는 것으로 알려진 (앞의 사과병해충병명 목록 참조) *A. alternata*와 사과로부터 분리한 3종의 진균을 각각 혼합하여 접종한 후 부패율을 측정하고 부패지수를 조사하였다. 아래 그림 27의 그래프와 같이 *A. alternata*와 *B. dothidea* 혼합의 경우 40일만에 부패지수 4에 도달하였다. *A. alternata*와 *A. pullulans* 혼합 접종은 경우 *A. alternata*와 *H. uvarum* 혼합 접종은 경우 *A.alternata* 단독 접종 시와 같은 부패율과 부패속도를 나타내었다.

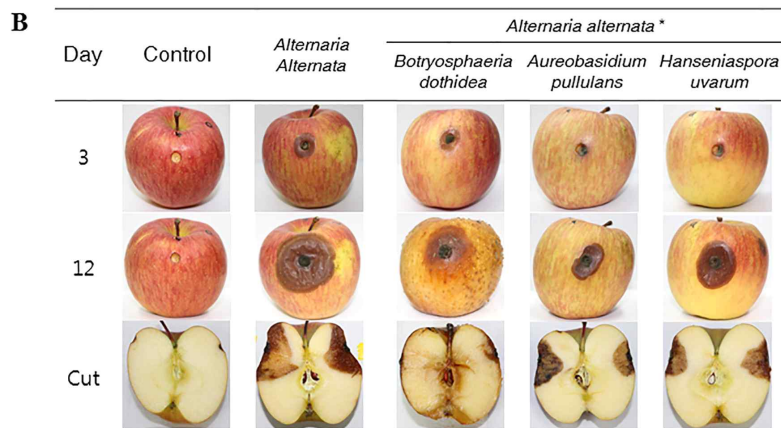
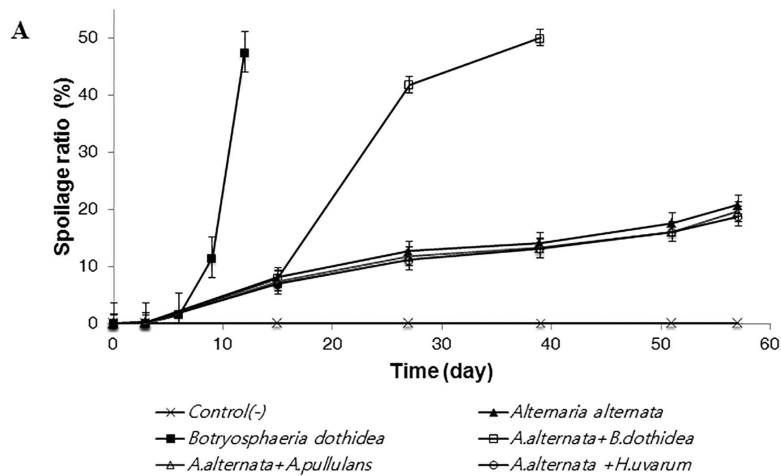


그림 27. 사과부패원인균 2종 혼합인공접종에 의한 부패율 및 부패증상

(3) 부패 파프리카 유래 사상성 곰팡이균주의 부패지수 확립

(가) 단일균주 인공접종에 의한 파프리카 부패지수 측정

① 인공 접종할 파프리카 시료 준비

부패 지수 측정을 위해 시료를 수집 하였던 참여기업 (주)농산무역으로부터 상처나 부생균에 영향을 최소화하기 위하여 최상급 제품으로 구입하여 사용하였다. 또한 파프리카의 크기는 가로 80mm × 100mm 정도로 자연 부패한 파프리카 시료의 부패지수 측정에 사용된 시료와 유사한 크기의 파프리카를 선별하여 사용하였다. 파프리카 자체에 부착되어 있는 부생균의 영향을 배제하기 위하여 흐르는 물 (tap water)로 표면을 깨끗하게 세척한 후 물기를 제거하고 70% EtOH로 소독하였다. 깨끗한 티슈위에 올려 EtOH는 모두 날아가도록 하였다. 소독한 파프리카의 상단 측면에 화염 멸균한 수술용 칼을 이용하여 가로 × 세로를 6mm 크기 정사각형으로 껍질을 벗겨내어 접종할 수 있도록 준비하였다.

② 인공접종을 위한 균주 준비

부패시료로부터 단일 분리한 *Fusarium proliferatum*, *Fusarium lactis*, *Botrytis cinerea* 균주들을 약 2~3 mm로 얇게 만든 PDA 배지에 접종하였고 25°C 에서 5일간 배양하였다. 얇은 PDA 배지에 자란 진균 콜로니의 가장자리를 화염 멸균한 수술용 칼을 이용하여 가로 × 세로를 6mm 크기 정사각형으로 잘라 건전한 파프리카에 접종하였으며 미접종 대조구로는 균을 접종하지 않은 PDA 배지를 잘라 파프리카에 올려놓았다.

③ 인공접종 방법

인공접종을 위해 준비한 균주가 공기와 잘 접촉할 수 있도록 균사 표면이 바깥쪽을 향하도록 하여 화염 멸균한 메스를 이용해 파프리카에 한 조각씩 올려놓았다. 멸균한 등근 락앤락 용기에 접종한 파프리카를 넣고 멸균한 일반 거즈 3겹으로 입구를 고무줄로 고정하였다. 접종한 파프리카 시료는 온도 23~26°C, 습도 80~90%로 설정한 항온 항습 배양기에서 배양하여 접종한 진균에 의해 부패가 진행되도록 하였다.

④ 인공접종 후 부패율 조사 (무게, 부패 부위 측정)

3일 간격으로 인공 접종한 파프리카의 상태를 측정하였다. 전자저울을 이용해 무게를 측정하고, 캘리퍼와 줄자를 이용해 부패영역의 크기 변화 (최장, 최단 길이)를 측정하였다.

(나) 파프리카 부패원인 곰팡이의 부패율 조사

① 단일균주 인공접종에 의한 부패율 측정

파프리카로부터 분리한 균주 중 품종별, 증상별 종합적으로 CFU가 높고 식물 병원성균으로 알려져 있는 균주 *F. proliferatum*, *F. lactics*, *B. cinerea*에 의한 부패지수 확립을 위해 3개 파프리카 품종에 각 곰팡이 종을 인공접종하고 21일 동안 3일마다 부패율을 확인하였다 (그림 28).

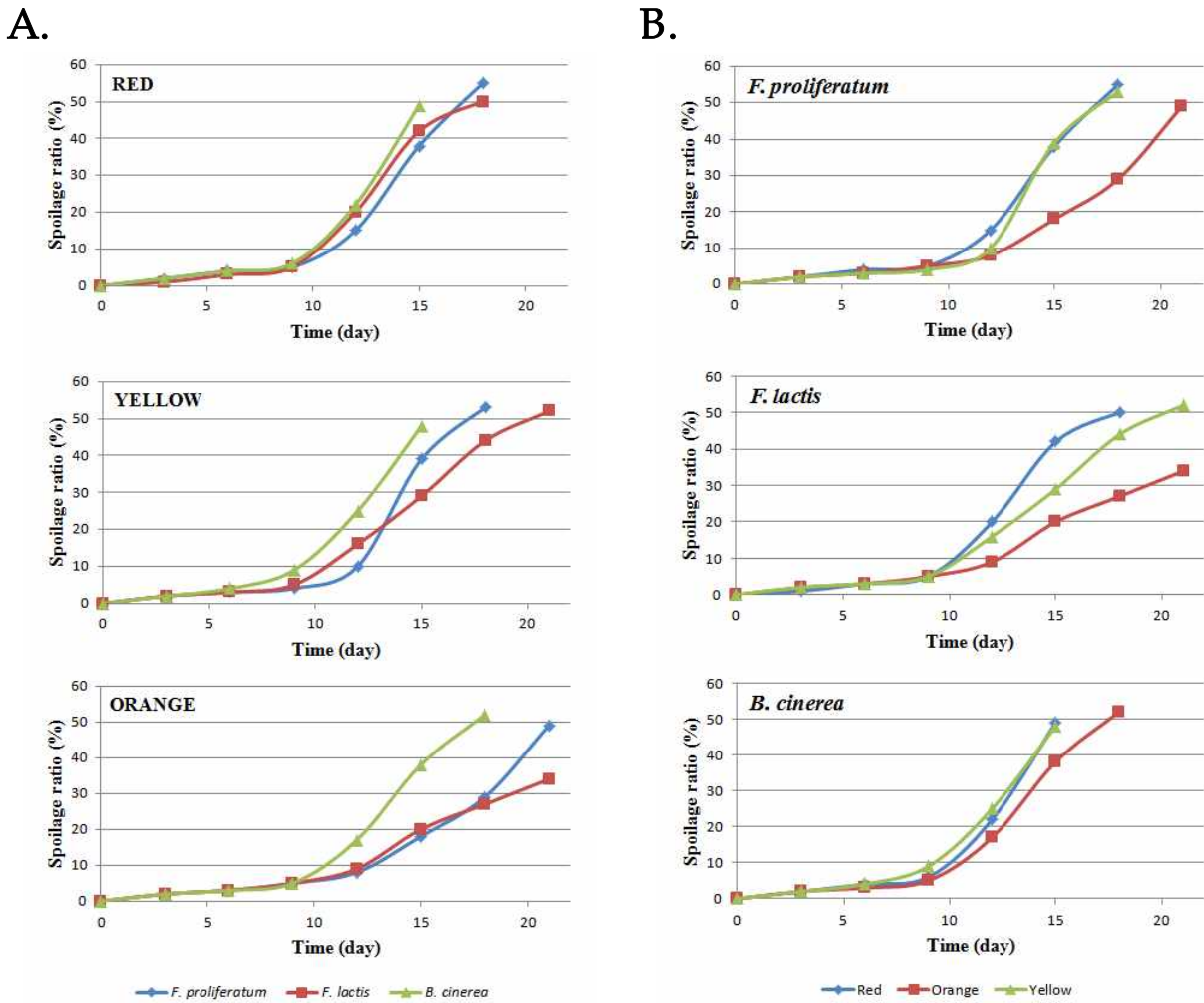


그림 28. 사과부패원인균 단일균주 인공접종 시 A)품종별 (B)부패원인 균주별 부패율

파프리카 품종별 부패율을 보면, 시로코 (R) 품종은 3균주 모두 9일까지 10% 미만의 부패율을 유지하다가 급격히 증가하여 15-18일에 50%까지 도달하였다. 볼란테 (Y) 품종은 9일까지 10% 미만을 유지하다가 *B. cinerea*, *F. proliferatum*, *F. lactics* 순서로 15, 18, 21일 순서로 50%에 도달하였다. 오렌지프로 (O) 품종 *B. cinerea*, *F. proliferatum*, *F. lactics* 순서로 18, 21, 30일에 50%에 도달하였다.

파프리카 부패원인균 3종의 부패율을 분석한 결과 *F. proliferatum*와 *F. lactics*는 3품종 모두 9일까지 10% 미만을 유지하다가 18일경에 시로코 (R)와 볼란테 (Y) 품종에서 부패

가 급격히 증가하여 50%에 도달하였고 오렌지프로 (O) 품종에서는 21일에도 부패율이 35 ~ 50%를 유지하였다. 다른 균주에 비하여 부패율이 빠른 *B. cinerea* 경우에도 시로코 (R) 와 불란테 (Y) 품종은 15일에 오렌지프로 (O) 품종은 18일에 50%에 도달하였다. 이는 자연부패 파프리카로부터 얻은 부패지수 결과와 마찬가지로 오렌지프로 (O) 품종이 다른 품종에 비하여 부패 원인균에 대한 저항성을 나타내고 있음을 뒷받침하는 결과이다.

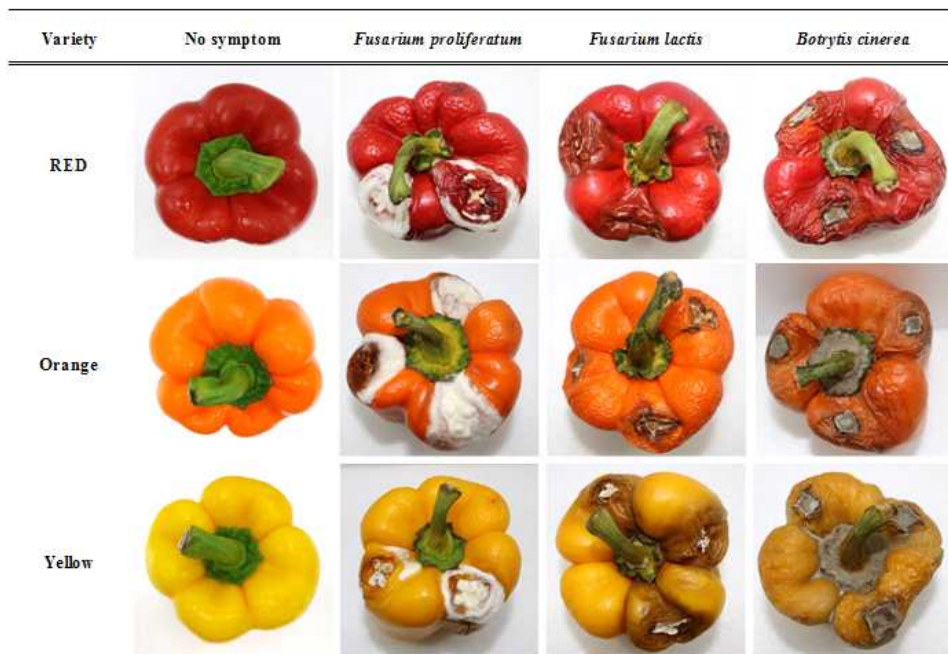


그림 29. 파프리카 품종별 부패 원인균 단일 인공 접종시 부패증상

위의 그림 29는 각 품종에 3가지 부패원인균을 접종하고 12일이 경과하였을 때의 모습을 보여주고 있다. *F. proliferatum*의 경우 3품종 모두 하얀색 균사가 부패 부위로부터 밀고 나와 용암이 흘러내리는 듯한 모습으로 부패가 진행됨을 볼 수 있었고 *F. lactis*는 접종부위가 검게 타면서 파고 들어가고 그 안에서 하얀 균사가 관찰된다. *B. cinerea*는 파프리카가 전체적으로 쭈글쭈글 해지면서 표면이 약해지고 검회색 포자가 뒤덮였다. 실험 종료 후 부패양상을 확인하기 위하여 관찰하였을 때 21일이 경과되면 형태가 없어지고 내부 과육이 물러지면서 주저앉는 현상을 보였으며 겉면에서 약 50%의 부패율을 보이지만 반으로 잘라보면 속으로 포자가 과실 내부 전체에 퍼져 있음을 관찰할 수 있었다.

② 미생물 군집 분석결과 활용 주요 곰팡이 균주의 부패율 조사

부패율이 50% 진행된 시료를 대상으로 부패 증상별로 진행 미생물을 분리·동정과 동시에 NGS를 이용한 미생물 군집 프로파일링을 동시에 진행하였다. 그림 30은 대조구를 제외한 8가지의 시료를 진균 종별로 분석한 heatmap 분석 결과이다. 나머지 7개의 시료는 진균 선택배지를 이용하여 분리 동정한 미생물의 결과와 일치하였으나 PR-2-1의 경우 미생물 군집에서는 약 35% 존재하는 *Glomerella acutata*를 수집한 부패시료로부터 분리하지 못하여 강원대학교 김경수 교수 연구실에서 국내 표준균주를 분양받아 병원성 여부를 조사하였다. 동시에 미생물 군집 결과에서 동일 시료에서 35% 존재하는 *Acremonium alternatum*과 PR-1-1 시료에 35% 정도 존재하는 *Gibelluopsis nigrescens*도 함께 병원성 여부를 확인하였다.

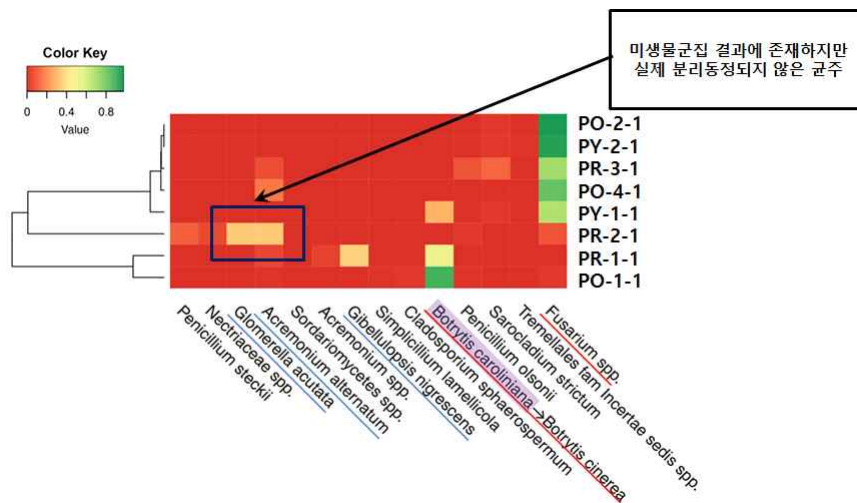


그림 30. 파프리카 시료의 메타지노믹스 분석 결과를 활용한 heatmap 분석

부패시료로부터 분리한 *F. proliferatum*, *F. lactics*, *B. cinerea* 3종의 곰팡이와 메타지노믹스에서 우점종으로 보이는 곰팡이 3종의 부패율을 비교하였는데, 그림 31은 총 6개 곰팡이를 파프리카에 접종하여 3일 간격으로 부패율을 측정하=한 결과로 12일째의 증상을 보여주고 있다. 파프리카는 구조상 과실 속이 비어 있으므로 내부가 부패되는 경우도 많이 발견되었고 12일 경과 후 단면을 잘라 내부의 모습도 관찰하였다. *B. cinerea* 는 *F. proliferatum*, *F. lactics*, 에 비하여 3배 이상 빠르게 부패함을 알 수 있었다.

동시에 *G. acutata*, *A. alternatum*, *G. nigrescens*의 경우 파프리카 접종면을 파고 들어가면서 부패하는 경향을 보였으며 접종 후 12일 경과 시 *G. acutata*는 45% 부패율을 보였으며, *A. alternatum*와 *G. nigrescens*는 15% 부패율을 보였다. 미생물군집분석 결과의 우점종 3균주에 의하여 부패가 일어난 파프리카로부터는 부패 부위를 채취하여 실제 접종한 균에 의한 부패가 맞는지 다시 한번 ITS primer로 확인하였으며 모두 일치함을 확인하였다. *G. acutata*, *A. alternatum*, *G. nigrescens* 3균주가 파프리카에 병을 일으키는 선행연구를 조사하여 보았으나, *G. acutata*의 경우는 우리나라 고추의 탄저병을 일으키는 균주로만 알려져 있으므로 파프리카에서 부패원인균임을 본연구를 통하여 확인하였다.

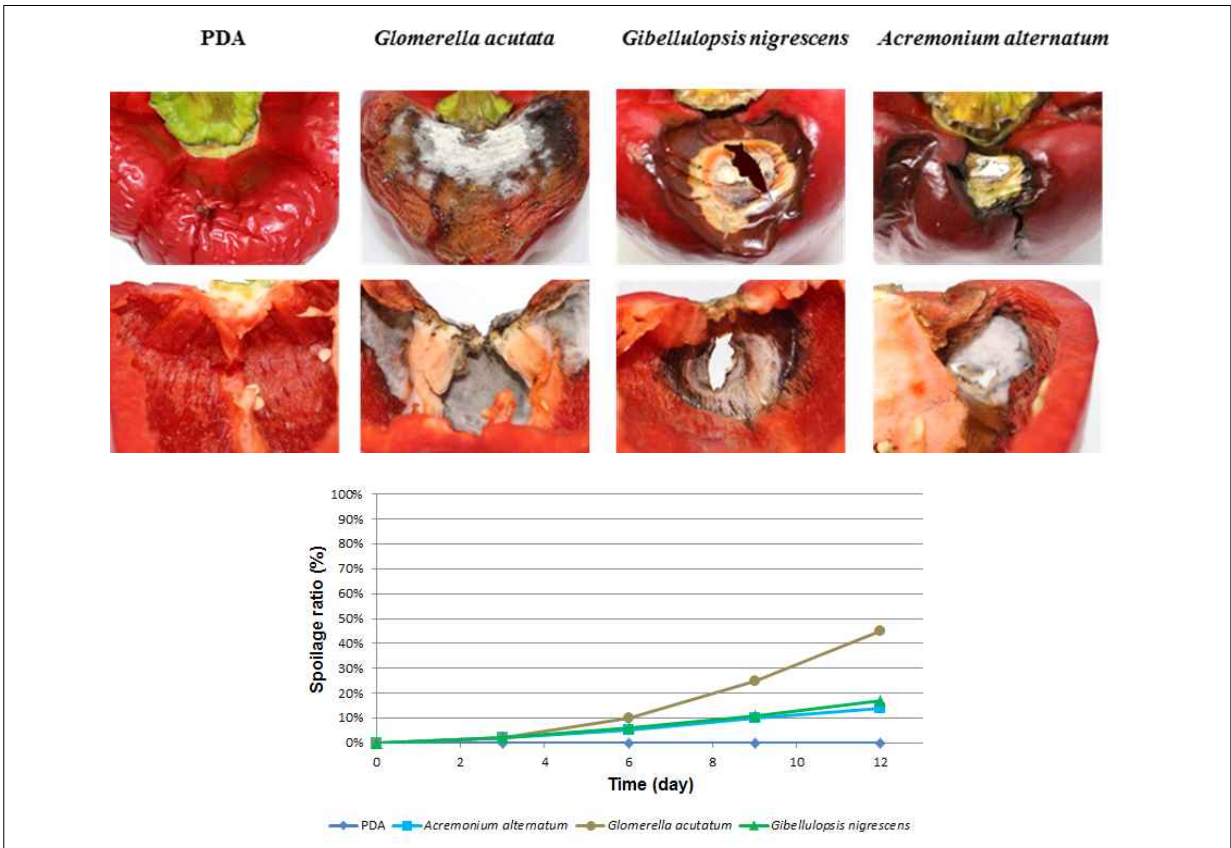
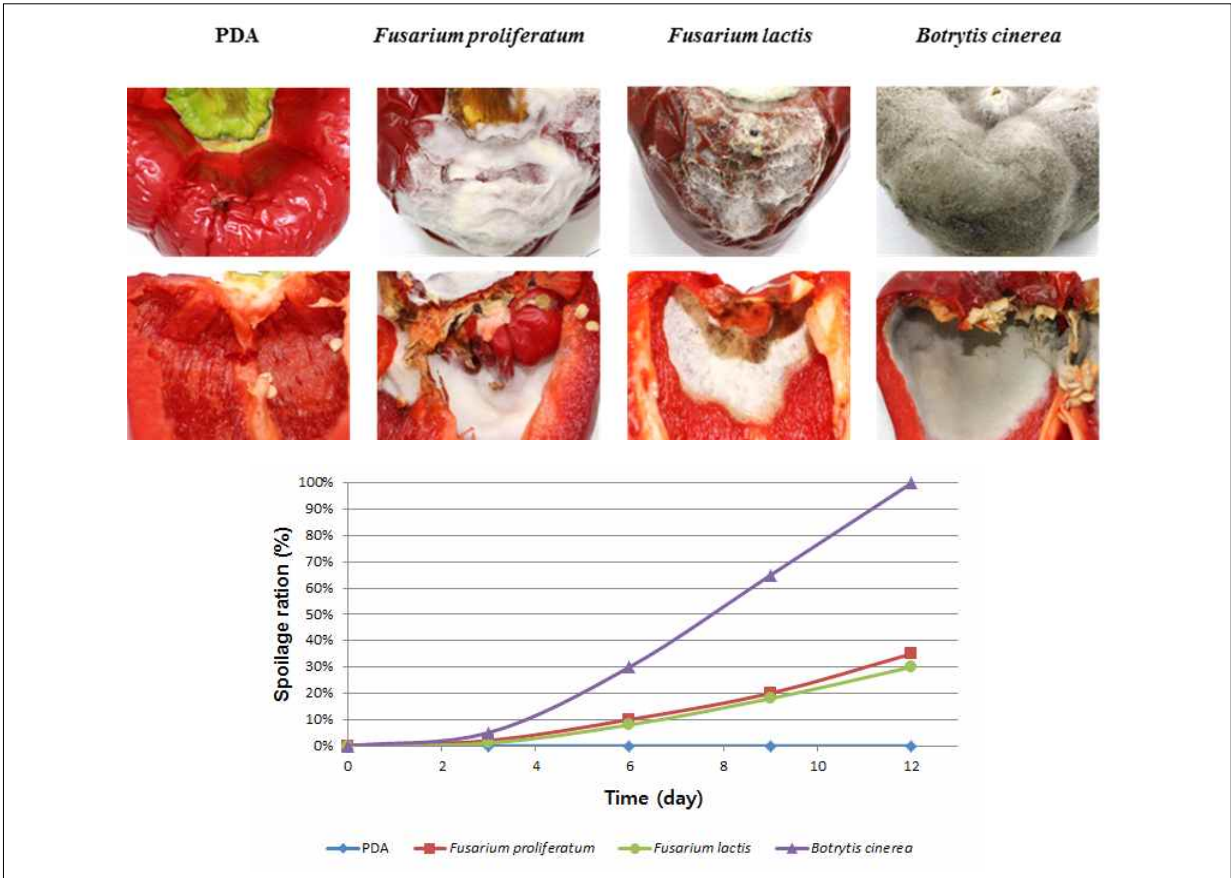


그림 31. 파프리카 부패원인 균의 인공접종 증상 및 부패율

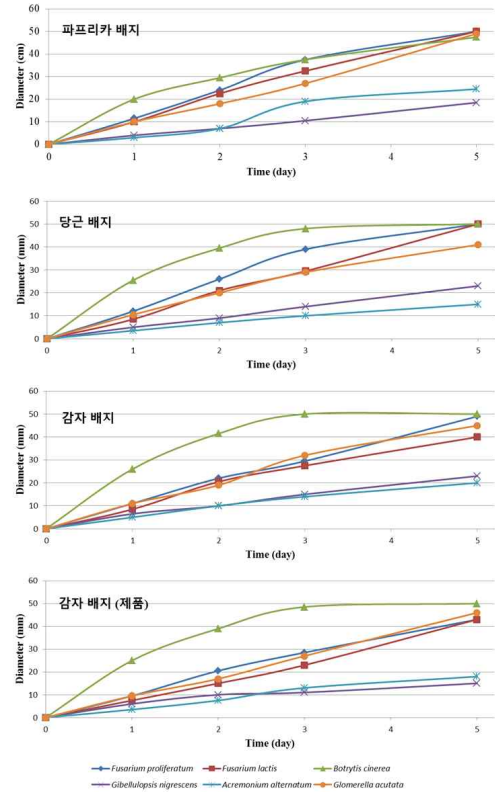


그림 32. 파프리카 부패원인 곰팡이의 배지 별 성장속도

*F. proliferatum*과 *G. acutata* PDA 배지에 접종하여 25°C에 5일간 배양한 후 growth rate을 확인하기 위하여 conoly diameter로 측정된 결과 7.5 ~ 8cm로 거의 유사한 것을 확인할 수 있었다. 단일 균주일 경우 성장 속도가 비슷한데 부패 시료로부터 *G. acutata*가 분리되지 않은 이유를 알아보기 위하여 파프리카, 당근 감자를 갈아 만든 배지와 difco사의 PDA에 동시 접종하여 5일간 비교하였다 (그림 32). *F. proliferatum*, *F. lactis*, *B. cinerea*, *G. acutata*, 4 균주는 5일 경과 시 모든 배지에서 약 45~50mm 자라는 것을 볼 수 있었다. 따라서 메타지놈분석에서 주요 균주로 드러났던 *G. acutata*균주가 실제 시료로부터 분리되지 않았던 이유가 특정배지에서 성장속도가 다른 곰팡이보다 낮기 때문은 아니었음을 확인하였다.

*F. proliferatum*와 *G. acutata* 균주는 성장속도가 유사하므로 같은 PDA plate에 접종, 배양 시 각 균주의 콜로니 성장에 어떤 영향이 있는지 조사하였다. 두 균주의 접종위치를 달리하여 상호 성장에 미치는 영향을 관찰하였다.

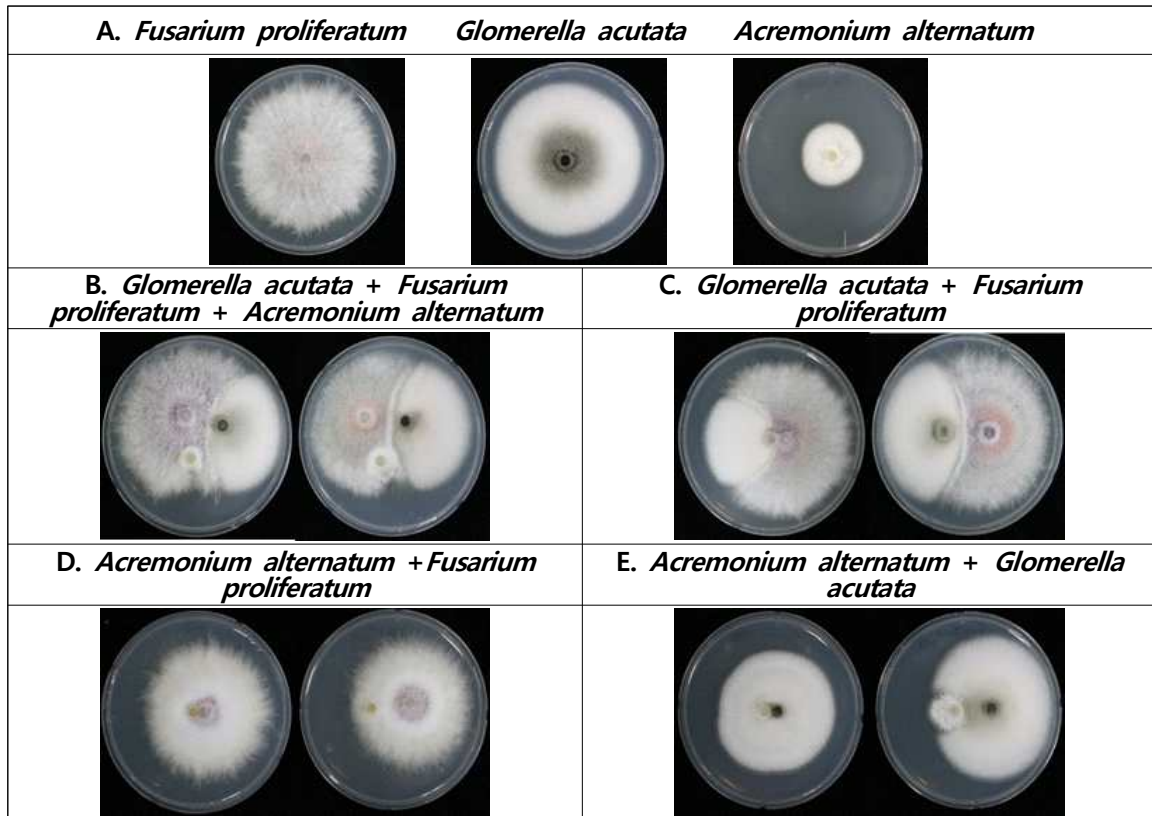


그림 33. 파프리카 주요 부패균의 상호 성장에 미치는 영향 조사

표 19. 파프리카 주요 부패균 간의 상호 성장 억제율

구분		평균	CTR	%
Control	A.a	3.5	3.5	100%
	F.p	8.1	8.1	100%
	G.a	7.7	7.7	100%
G.a+F.p (인접)	G.a	4.0	7.7	52%
	F.p	7.6	8.1	93%
G.a+F.p (20mm)	G.a	5.9	7.7	76%
	F.p	7.6	8.1	94%
A.a+F.p (인접)	A.a	1.0	3.5	29%
	F.p	8.3	8.1	102%
A.a+F.p (20mm)	A.a	1.0	3.5	29%
	F.p	7.4	8.1	91%
A.a+G.a (인접)	A.a	1.5	3.5	43%
	G.a	4.5	7.7	58%
A.a+G.a (20mm)	A.a	2.6	3.5	74%
	G.a	7.4	7.7	96%
A.a+G.a+F.p	A.a	1.0	3.5	29%
	G.a	6.5	7.7	84%
	F.p	7.6	8.1	94%

A는 단독 균주를 접종하여 동일한 조건에서의 생장크기를 확인한 것이다. B는 *G. acutata* + *F. proliferatum* + *A. alternatum* 3가지 균주가 동시에 존재하였을 경우 단독으로 있을때와 비교하여 94, 84, 29%로 *A. alternatum*의 생장이 저해됨을 확인할 수 있었다. C는 *G. acutata* + *F. proliferatum*의 경우 인접해 있을 경우 *G. acutata*가 52%, 20mm 간격에 있을 경우 76%로 성장하는 것으로 *F. proliferatum*과 인접해 있을 경우 생장에 영향을 받아 시료의 모든 미생물 균집 결과에서는 존재하지만 단일 균주로는 분리가 되지 않았다는 간접적인 결과를 확인할 수 있었다 (그림 33, 표 19).

(다) 부패 파프리카 시료 유래 부패원인 곰팡이가 생성하는 독소 분석

① 파프리카 부패원인균의 독소 생성능 조사 개요

부패 파프리카 시료로부터 분리한 주요 부패원인균 중 하나인 *Fusarium proliferatum*은 *Fusarium* 속에서 *F. verticillioides*와 함께 균 독소인 fumonisin을 생성하는 것으로 알려져 있다. Fumonisin은 동물에게 간 독성, 신장 독성을 일으키며 특히 사람에게는 식도암을 일으키는 발암물질로 보고되어 있다. 주로 옥수수, 밀 등의 곡류에서 발생하며 과채류인 파프리카에서의 연구는 많이 진행되어 있지 않다. 따라서 부패 파프리카 시료에서 분리한 주요 균주 중 하나인 *F. proliferatum*의 독소 생성능을 확인하기 위해 HPLC 분석을 수행하였다.

② 부패 파프리카로부터 분리한 *Fusarium*균주의 fumonisin 분석 방법

부패 파프리카로부터 분리한 대표적인 fumonisin 생성 균주인 *Fusarium proliferatum* 11개 균주와 fumonisin의 미량 검출이 보고 되어 있는 *F. lactis* 7개 균주를 독소 생성능 분석에 사용하였다. Rice media와 Corn media 두 종류의 media를 사용하였고 SDW와 *F. proliferatum* standard 균주인 11558을 각각 negative control, positive control로 사용하였다. Fumonisin 중 규제 대상 물질인 FB₁과 FB₂를 기준으로 HPLC 분석을 시행하였다.

㉞ HPLC를 이용한 fumonisin 생성능 조사

㉠ 시약 및 표준물질

Fumonisin B₁, B₂ 표준물질은 Fumonisin Mixture (Sigma-Aloach, USA)를 구입하여 사용하였으며, 추출과 분석에 사용되는 acetonitrile, methanol은 HPLC용 (Merck, Darcstadt, Germany)을 사용하였다.

㉡ 정제용 컬럼

실험에 사용된 fumonisin 정제용 컬럼은 immuno-affinity column인 FumoniTest WB (VICAM, Watertown, MA, USA)를 이용하였다. 3 mL syringe 컬럼에 시료 추출액을 통과시키면 column에 있는 antibody에 독소가 결합되고 증류수로 불순물을 제거한 후 Methanol을 주입하면 fumonisin이 항체로부터 떨어지면서 추출된다.

㉔ 시료 배양

시료 배양에 있어 배지는 쌀배지와 옥수수 배지를 사용하였다. 쌀 배지는 찰기가 없는 베트남 인디카 쌀을 구입하여 사용하였으며 250 mL 플라스크에 쌀 30g에 증류수 10 mL를 넣고 면전으로 입구를 막은 후 121 °C에서 20분간 1차 멸균하고, 쌀을 낱알로 분리시킨 후 증류수 10 mL를 넣고 121 °C에서 2차 멸균 후 식혀서 사용하였다. 옥수수 배지의 경우 동물 사료로 사용되는 옥수수를 갈아 2.36 mm에서 3.35 mm의 크기를 맞추어 사용하였다. 250 mL 플라스크에 크기를 맞춘 옥수수 가루 30 g을 넣고 20 mL의 증류수를 넣은 후 면전으로 입구를 막고 121 °C에서 1시간 동안 멸균한 후 식혀서 사용하였다. 균은 10^6 spores/mL 포자액을 1 mL씩 접종하여 25 °C에서 21일간 배양 후, 121 °C에서 20분간 멸균하고 건조하였으며 이 시료를 독소 추출에 사용하였다.

㉕ 시험용액의 조제

시료 내 fumonisin 추출 및 전처리 과정은 AOAC 방법에 따라 추출하였다. 시료를 배양한 배지를 곱게 간 다음 20 g 시료에 추출용액 (Methanol:Acetonitrile:DW=1:1:2) 50 mL을 넣고 20분간 shaking 한 후, 원심분리 (4 °C, 4000 g, 10 min)를 하여 상층액을 fluted filter paper (Advantec No. 2)로 거른다. 하층액에 50 mL 추출용액을 넣고 같은 과정을 반복하여 추출한다. 여과 용액 10 mL를 PBS buffer 40 mL와 희석하여 섞은 후, Microfibre Filters (VICAM, Watertown, MA, USA)로 여과하였다. Immunoaffinity column (FumoniTest WB)에 10 mL syringe를 연결하고 여과액 10 mL를 column에 모두 통과시켰다. 10 mL PBS buffer로 column을 씻어내고 1.5 mL methanol으로 추출하였다. 원심 농축기를 통해 methanol을 말린 후, acetonitrile: water (1:1) 200 μ l으로 녹인 후, 50 μ l의 시료와 50 μ l의 OPA reagent를 섞고 정확히 3 min 후 20 μ l을 주입하여 HPLC 분석한다.

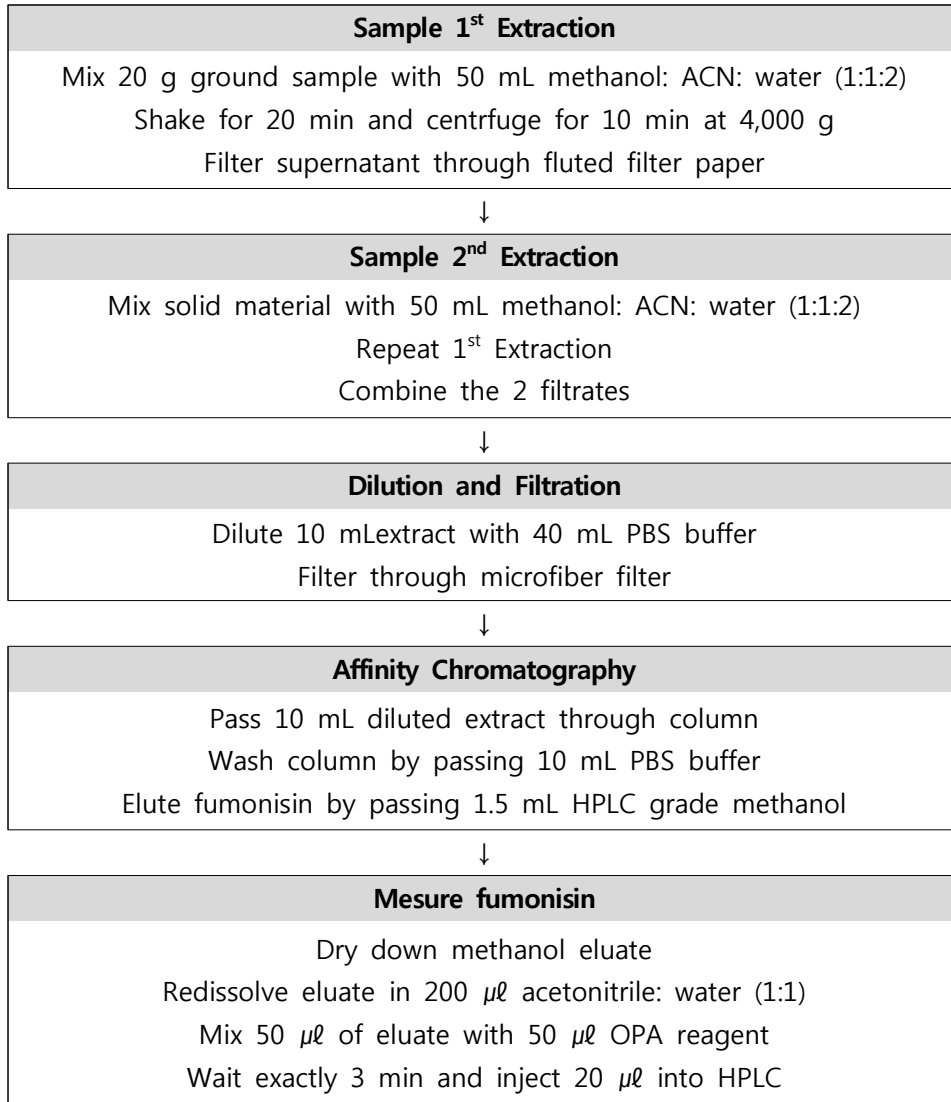
㉖ 분석 방법

Fumonisin 분석에 적용된 용매 및 기기조건은 다음과 같다.

표 20. Fumonisin 분석 조건

Parameters	Conditions
Instrument	1200 Infinity series (Agilent Technologies, USA)
Detector	FLD (excitation: 335 nm, emission 440 nm)
Column	ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 × 150 mm, 3.5 μ m)
Solvent	MeOH: 0.1M NaH ₂ PO ₄ (77:23) adjusted to pH 3.3 with <i>o</i> -phosphoric acid
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volumn	20 μ l

표 21. Fumonisin 추출 및 정제 과정



③ 부패 파프리카 유래 *Fusarium* 균주가 생성하는 fumonisin의 HPLC 분석 결과

부패 파프리카로부터 분리한 11개의 *Fusarium proliferatum* 균주에서 최소 192.0ppm에서 최대 1928.7ppm의 FB₁이 검출되었으며 FB₂의 경우 최소 74.2ppm, 최대 1556.3ppm이 검출되었다. 반면, *F. lactis*의 경우 7개의 균주 모두에서 fumonisin이 검출되지 않았다. Rice media와 Corn media에서의 독소 생성능 비교 결과 positive control인 11558 균주 포함 총 19개의 균주 중, 4개의 균주의 FB₁ 생성능이 Corn media보다 높았고, 6개의 균주의 FB₂ 생성능이 Corn media보다 높았으나 media는 fumonisin 독소 생성능에 큰 영향은 미치지 않는 것으로 나타났다.

표 22. 부패 파프리카 시료 우래 *Fusarium* 균주의 fumonisin 생성능

		Rice media		Corn media	
		FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂
Control	Negative	ND	ND	ND	ND
	11558	672.5±83.9	518.7±81.6	554.7±59.5	370.6±57.0
<i>Fusarium proliferatum</i>	PR-1-1-5	781.4±125.2	437.0±42.1	192.0±122.6	84.3±56.1
	PR-1-1-7	1004.3±218.1	415.3±113.7	337.2±51.2	79.9±29.3
	PR-2-1-1	652.4±79.5	543.4±68.9	1476.5±140.5	1173.9±79.3
	PR-2-1-2	520.7±33.5	640.5±30.6	406.6±93.2	74.2±36.6
	PR-2-1-3	329.5±13.5	393.0±10.1	340.9±90.5	311.7±105.7
	PR-2-1-4	483.2±78.5	96.4±18.3	755.1±270.3	91.5±22.5
	PO-2-1-2	666.0±42.6	513.7±25.2	1572.9±22.4	1189.8±0.3
	PO-2-1-3	724.1±37.7	634.8±32.5	1928.7±201.1	1556.3±153.4
	PO-2-1-4	389.9±229.0	321.4±178.9	1262.2±13.8	905.8±18.8
	PY-2-1-1	834.0±136.6	537.2±68.4	1436.6±283.0	944.3±108.9
	PY-2-1-3	1035.0±83.7	349.7±85.9	1350.8±626.7	1096.6±617.6
	<i>Fusarium lactis</i>	PR-1-1-6	ND	ND	ND
PR-1-1-8		ND	ND	ND	ND
PO-0-1-1		ND	ND	ND	ND
PO-1-1-1		ND	ND	ND	ND
PO-1-1-3		ND	ND	ND	ND
PO-1-1-4		ND	ND	ND	ND
PY-2-1-2		ND	ND	ND	ND

*ppm 단위

(4) 부패 딸기 시료 유래 곰팡이균주의 부패 지수 조사

(가) 단일 균주의 인공 접종 후 부패율 및 부패지수 조사

① 인공 접종을 위한 딸기 시료 준비

인공 접종할 딸기는 참여기업인 (주)썸머힐상사로부터 약 80~ 90% 정도 숙성된 장희와 설향 품종을 각각 2kg씩 받아 사용하였다. 크기 최단길이 25mm × 최장길이 35mm 정도의 같은 크기의 딸기를 5배수로 선별하여 사용하였으며 딸기 자체에 부착되어 있는 부생균의 영향을 배제하기 위하여 흐르는 물 (tap water)로 표면을 깨끗하게 세척한 후 물기를 제거하고 70% EtOH를 분무한 후 Clean bench에서 30분간 UV하에서 EtOH가 모두 건조하여 접종할 수 있도록 준비하였다.

② 인공 접종을 위한 곰팡이 균주 준비

부패시료로부터 단일 분리한 균주 *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium tenuissimum*, *Botrytis cinerea*의 포자를 모으기 위하여 PDA 배지에 25℃에서 5일간 배양하였다. 배양한 균사를 화염 멸균한 수술용 칼로 끊어 모아 15ml conical tube에 멸균한 증류수 10mL과 함께 넣고 충분히 현탁한 후 배양한 균사를 pore size 25 μ m인 miracloth에 filtering 하여 균사는 제거하고 포자를 모아 10⁷/mL의 농도로 준비하였다.

③ 곰팡이 균주의 인공접종 방법

딸기의 상부에 20 μ L의 포자 현탁액을 올려 놓고 흡수된 것을 확인한 후, 과육이 연약한 딸기 시료에 물리적 충격에 의한 부패가 일어나지 않도록 실리콘 몰드에 각각의 인공 접종한 딸기를 올려 놓고 사각 락앤락 용기에 넣어 공기가 통하면서 외부로부터의 오염을 방지하기 위하여 멸균 거즈를 상부에 덮어 온도 25℃, 습도 80~90%로 설정한 항온 항습배양에서 부패가 진행토록 정치하였다.

④ 인공접종 후 딸기의 부패율 측정 (무게, 부패 부위 측정)

1일 간격으로 인공 접종한 딸기의 상태를 측정하였는데, 전자저울을 이용해 무게를 측정하고, 캘리퍼와 줄자로 부패영역의 크기 변화(최장, 최단 길이)를 측정하였다.

(나) 딸기 부패 원인 곰팡이 균주의 인공접종 후 부패율 조사

① 단일균주 인공접종으로 인한 딸기 부패율 측정

딸기에서 분리한 균주 *C. cladosporioides*, *C. tenuissimum*, *B. cinerea*, *P. brevicompactum* 4종을 대상으로 부패여부 및 부패지수를 확립하기 위하여 장희와 설향에 인공접종을 하였다. 그러나 딸기에 인공 접종한 단일균주에 의한 부패보다 다른 부위에 곰팡이에 의한 부패가 빈번히 발생하고, 대조구에서도 부패가 발생하여 부패 부분을 시료 채취하여 확인하여 본 결과 모두 *C. cladosporioides*로 확인되었다. 부패단계별 부패 원인균을 분리할 때 대조구(부패가 일어나지 않은 시료)에서도 *C. cladosporioides*, *C. tenuissimum*이 분리되었던 것으로 보아 꽃 암술에 내생을 하고 있다가 온도 20 ~ 25℃, 습도 80%의 성장 조건이 되면 발병을 하는 것으로 예상된다.

(5) 수출 전략 품목 별 부패원인균에 의한 부패 억제 조건 조사

(가) 사과 부패 원인균에 의한 부패 억제 조건 조사

① 사과원의 최근 문제 병해충

㉓ 병해

과실은 주로 후지 품종에 점무늬썩음병, 홍로 품종에 탄저병과 무농약 재배시는 그을음(점무늬)병 등이 문제가 된다. 잎은 토양, 관배수 및 수세 관리 미흡 시 갈색무늬병, 주로 밀식재배 사과나무에서 점무늬낙엽병의 발생이 많다. 가지의 부란병과 줄기역병, 뿌리에 날개무늬병 등도 문제되고 있다.

㉔ 저온저장

- 온도관리 : 저장고 내 온도는 $0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 가 되도록 설정하고 수확 후에는 과실을 바로 입고하고 최 단시간 내 0°C 에 도달시킴
- 습도관리 : 저장고 내 습도는 **90~95%**가 되도록 가습 또는 물을 뿌려 습도유지, 습도가 낮으면 수분손실로 중량이 감소하고 너무 높으면 미생물의 번식으로 과실이 쉽게 부패함
- 제 상 : 냉각기에 얼음이 끼는 정도에 따라 한번에 15~30분씩 3~6회/일 실시
- 환 기 : 과실을 입고한 후에는 반드시 환기를 실시. 저장 중에는 15~20일 간격으로 저장고 내부를 환기하여 유해가스를 배출하고, 환기는 기온이 낮을 때 찬 공기가 저장고 내로 들어오도록 하면 효율적임

(나) 파프리카 부패 원인균에 의한 부패 억제 조건 조사

① 풋마름병(청고병)

㉓ 증상 및 발생생태

- 뿌리는 갈색으로 변하면서 부패되며 줄기의 도관부는 갈변하는데 병반이 외부로 나타나지는 않음
- 병든 뿌리를 잘라보면 도관부위가 갈라져 있고 심하면 백색의 세균성 점액이 흘러나오는 것이 특징이 있음
- 병원균은 *Ralstonia solanacearum* 이며 그람음성의 간상세균으로 호기성이고 생육적온은 34°C 임

㉔ 방제대책

- 토양산도는 pH 5.5이하에서 발생이 심하므로 석회를 넣어 pH 6.5~7.0정도로 교정해서 퇴비를 많이 주고 질소비료를 줄임
- 병원균은 담수상태에서 3개월 정도면 자연 사멸하므로 후작물로 벼를 재배한 후 작물을 재배하는 것이 좋음
- 착색단고추에 대한 청고병 방제용 등록된 농약은 없으므로 수확 후 다음 작기가 시작되기 전에 태양열소독이나 양제소독에 의해 예방위주로 방제하는 것이 좋음

② 역병

㉠ 증상 및 발생생태

- 유묘기부터 전 생육기간에 발생되며, 주로 뿌리와 땅과 줄기부위에 발생되고 병든 그루의 줄기 지체부와 굵은 뿌리는 수침상으로 썩음
- 병원균은 *Phytophthora capsici* L.으로 난포자의 형태로 토양 속에서 월동하여 다음해의 전염원이 됨

㉡ 방제대책

- 병원균을 옮겨 주는 물의 이동을 억제하는 것이 가장 중요함
- 물이 잘 빠지도록 고랑을 깊게 치거나 물 빠짐이 좋은 땅에 재배하는 것이 좋음
- 땅과 맞닿은 부분이 역병에 가장 약하므로 이 부위가 땅에 묻히지 않도록 주의할 필요가 있음
- 일단 병이 발생하면 병든 포기를 제거하고 고시된 약제로 관주 처리함
- 고추가 아닌 다른 작물로 돌려짓기 하여도 역병 발생은 현저히 줄어듬
- 약제 방제는 농약사용 지침서에 의한 약제종류 및 안전사용기준을 준수하여 실시함
- 수출하는 경우에는 수입국의 농약잔류허용기준을 준수해야함

③ 시들음병

㉠ 증상 및 발생생태

- 시설재배 시 주로 문제가 되는 병으로 병에 걸린 병든 포기는 아래 잎에서부터 시들어 점차 위로 진행하여 포기 전체가 말라죽음
- 뿌리는 갈변, 부패하여 절단하여 보면 도관이 갈변하여 까만 점들이 박혀있는 것처럼 보임
- 병원균은 *Fusarium oxysporum* schlecht 로 진균계의 불완전균에 속하며 소형 분생포자와 대형 분생포자, 그리고 내구체인 후막포자를 형성함

㉡ 방제대책

- 이어짓기는 되도록 피하고 최소한 3~5년간 돌려짓기를 실시하는 것이 좋음
- 병든 포기는 조기에 발견 제거하고 이병 잔재물이 포장에 남지 않도록 함
- 시비는 3요소를 골고루 균형시비하고 석회를 10a당 150kg 이상 사용하여 토양 pH를 조절함

(다) 딸기 부패 원인균에 의한 부패 억제 조건 조사

① 탄저병

㉠ 원인 : 여름 육묘포장에서 다발, 빗물에 흙속의 병균이 튀어오르거나, 침수에 감염

㉡ 방제대책

- 건전한 모주 선택, 비가림 재배, 포트나 격리벤치를 이용하여 육묘를 해야함
- 강한 관수는 발병을 조장하므로 점적관수를 실시하고 배수가 잘되도록 관리하고 피해 주, 피해경엽은 바로 제거해주어야함
- 약제살포 연용을 피하고 발병 전 예방적으로 강우 전에는 2주간격으로 살포하고 강우 와 고온기에는 10일 간격으로 살포해줌
- 런너 절단 작업 후에는 바로 탄저병 약제를 살포하여 예방하고 절단용가위도 약제나 알콜로 소독 후 사용
- 모주정식 시 오티바액상수화제 2,000배액에 30분간 침지하면 예방적 효과를 나타낸다.

표 23. 딸기로 등록된 국내 탄저병 약제

일반명	상표명	희석배수	안전사용기준
디페노코나졸입상수화제	보가트	2,000배	수확2일전, 3회이내
아족시스트로빈액상수화제	오티바	2,000배	수확2일전, 3회이내
프로클로라즈망간니스수화제	스포로곤	2,000배	수확3일전, 2회이내
보스칼리드·피라클로스트로빈입상수화제	벨리스펠러스	2,000배	수확5일전, 3회이내
피라클로스트로빈 유제	카브리오	4,000배	수확2일전, 3회이내

② 흰가루병

㉠ 원인 : 토양 양수분의 급격한 변화, 연작 등에 의해 다발

㉡ 방제대책

- 매항이나 설향과 같은 저항성 품종 이용
- 육묘기에 철저한 방제, 과실 수확기에 유황훈증 실시
- 보온, 관수 및 시비에 힘써 식물체의 스트레스를 경감시켜 줌
- 통풍이나 환기, 관수에 주의를 요하며 발생 잎이나 발병과는 바로 제거

표 24. 딸기로 등록된 국내 흰가루병 약제

일반명	상품명	희석배수	안전사용기준
산 코 유 제	산 요 루	500배	수확2일전, 2회이내
리프졸 수화제	트리후민	4,000배	수확2일전, 5회이내
싸이프로닐·후루디옥소닐 입상수화제	스 위 치	2,000배	수확3일전, 3회이내
크레속심메칠 입상수화제	해 비 치	4,000배	수확3일전, 3회이내
테트라코나졸 유탁제	에머넌트	2,000배	수확3일전, 3회이내
디페노코나졸입상수화제	보 가 드	2,000배	수확2일전, 3회이내
보스칼리드입상수화제	칸 투 스	13.3g	수확5일전, 3회이내
사이플루페나미드·헥사코나졸	힌트	2,000배	수확2일전, 3회이내

③ 잿빛곰팡이병

㉔ 원인 : 겨울과 봄 강우시 시설 내 다습, 수정후의 꽃잎, 상처조직 통해 곰팡이 침입

㉕ 방제대책

- 상처가 나지 않도록 관리하고, 보온에 힘써 동해를 방지하고, 이랑을 높혀 줌
- 발생 시 잿빛곰팡이 발생부위 모두 제거
- 약제방제 실시, 통풍을 양호하게 하고 관수에 주의
- 고사엽, 노화엽, 발병엽, 발병과 제거
- 약제 연용을 피하고 예방위주로 안전사용기준을 준수하여 살포

표 25. 딸기로 등록된 국내 잿빛곰팡이병 약제

일반명	상표명	희석배수	안전사용기준
프로시미돈미분제	너도사, 스피렉스	300g/10a	수확 5일전, 3회이내
디에토펜카브·가벤다수화제	깨꼬탄	1,000배	수확 2일전, 5회이내
가벤다 수화제	마이코,가벤다	1,000배	수확 2일전, 3회이내
후루디옥소닐액상수화제	사파이어	2,000배	수확 3일전, 3회이내
싸이프로디닐·후루디옥소닐 과립수화제	스위치	2,000배	수확 3일전, 3회이내
이프로.지오판 수화제	다스린,이프로, 지오판	1,000배	수확 3일전, 5회이내
메파니피림 수화제	팡파르	2,000배	수확 2일전, 4회이내
펙핵사미드·이미녹타딘 트리스알베실레이트 수화제	균모리	1,000배	수확 5일전, 3회이내
보스칼리드입상수화제	칸투스	13.3g	수확 5일전, 3회이내

④ 시들음병(위황병)

㉔ 원인 : 침수, 고온, 건조, 시비과다 등으로 뿌리가 손상되면 쉽게 발생하며, 어미묘가 병에 걸려 있으면 자묘에게도 전염

㉕ 방제대책

- 무병주 모주 이용, 이병되지 않은 포장, 무병토양을 이용해야함
- 발병지, 발병 잔사에서 격리, 비바람 전염이나 관계수에 의한 전염회피 및 육묘자체 등의 소독 철저
- 연작을 피하고, 하우스 토양에서 토마토, 옥수수, 메론, 호박, 콩을 3~4개월 간 2년에 3회 윤작
- 런너 삼목법은 위황병균이 모주에서 제1자묘까지의 전염되는 기간이 27일로 이전에 모주에서 런너 절단해주면 자묘까지 감염되는 것을 차단할 수 있음
- 정식 후 쿠퍼수화제를 100ml/1주 토양관주 처리

표 26. 딸기로 등록된 국내 시들음병 약제

일반명	상표명	희석배수	안전사용기준
코퍼하이드록사이드수화제	코사이더	1,000배	3ℓ/m ² 토양관주
Bacillus velezensis (3×10 ⁶ cfu/g)	베리메이트	1,000배	3ℓ/m ² 토양관주

⑤ 눈마름병(아고병)

㉔ 원인 : 늦가을 혹은 초겨울, 온도가 낮고 다습할 때 발생,

㉕ 방제대책

- 밀식을 하면 묘가 약해지고 습도가 높아 발병이 많으며 균사로만 전염하기 때문에 밀식 시 많이 발생
- 깊게 심지 말아야 함. 깊게 심으면 지체부가 약해지고 병원균에 노출이 많아 병이 발생할 가능성이 높아짐
- 건전묘를 선택하며 발생한 토양은 토양소독 철저
- 화학적 방제로 국내에 등록된 약제를 안전사용기준을 준수하여 살포

표 27. 국내에 딸기로 고시된 눈마름병 약제

일반명	상표명	희석배수	안전사용기준
토로스 수화제	리조렉스	1,000배	수확15일전, 3회이내
디크론 수화제	유파렌	500배	수확2일전, 4회이내
치푸루자마이드 액상수화제	장타	2,000배	수확2일전, 3회이내
펜시쿠론 수화제	몬세렌, 갈무리, 트렘퍼	2,000배	수확7일전, 3회이내
프루토닐 유제	몬카트	1,000배	수확3일전, 2회이내 추당 50ml 관주

⑥ 꽃 발생 곰팡이병

㉔ 원인 : 딸기 설향 품종의 개화시기인 1월부터 4월까지 암술에 회색의 곰팡이가 발생하여 심한 경우 꽃대부분까지 흑변

㉕ 방제대책

- 방제를 위해 살균제로 프로클로라츠 망간 1주일 간격 3회 처리 시 84%의 방제효과
- 개화 최성기 처리 시 화분 발아에 영향을 미칠 수 있으므로 수정 완료 후 처리
- 친환경자재로 바실러스 벨레젠시스는 52%의 방제효과

표 28. 꽃 발생 곰팡이병 방제를 위한 자재 선발('13, 충남)

일반명	처리농도	In vivo		재배포장	
		이병꽃을	방제가	이병꽃을	방제가
프로클로라츠 망간(스포로곤)	2,000배	13.8 c ¹	78.1	5.3 b	84.6
플루오피람(머큐리)	4,000배	13.3 c	79.0	7.0 b	79.6
NaDCC(바이오그린)	1,000배	24.6 bc	61.1	16.3 ab	52.4
프로폴리스	250배	42.7 abc	32.7	14.2 ab	58.6
바실러스 벨레젠시스 NSB-1(슈퍼베리)	500배	47.7 ab	24.6	16.4 ab	52.3
테트라코나졸(에머먼트)	2,000배	61.0 a	3.7	16.3 ab	52.6
무처리		63.3 a		34.3 a	

※ ¹Tukey' s HSD (P=0.05).

다. 부패 시료의 미생물 군집 프로파일링 (microbial community profiling)을 위한 메타지노믹스 정보 해독 및 데이터 프로세싱

(1) 미생물 군집 프로파일링을 위한 미생물 genomic DNA 추출

(가) 사과 부패시료에 존재하는 총 미생물의 genomic DNA 추출법 확립

메타지노믹스를 위한 gDNA 추출을 위해 두 가지 다른 방법으로 시료를 준비하였는데 첫 번째, 1/2 시료는 50mL conical tube에 담아 -120°C 동결건조기에 3일 동안 충분히 건조시켰으며, 두 번째, 1/2은 시료와 PBS buffer (Phosphate Buffered Saline; Gibco, invitrogen corporation, USA)의 비율을 1:4 비율로 첨가하고 180rpm에서 1시간동안 진탕한 후 멸균 거즈 3겹을 이용하여 사과과육과 껍질을 거르고 여과된 용액을 13,000rpm으로 10분씩 원심 분리하여 pellet을 DNA 추출 시료로 사용하였다. 사과부패시료로부터 미생물 DNA 추출을 위하여 시료의 부패 부위를 적출하여 균질화 시킨 후, 50mL conical tube에 담아 -120°C 동결건조기에 3일 동안 충분히 건조 시킨 후 -20°C에 보관하고 DNA 추출에 이용하였다. 사과부패시료의 특성상 당분과 산의 함량이 높을 수 있으므로 적합한 DNA 추출 방법을 찾기 위해 MO BIO사의 PowerFood Microbial DNA Isolation Kit (cat# 21000-50)와 일반적으로 미생물 DNA추출에 많이 이용되고 있는 PowerSoil DNA Isolation Kit (cat# 12855-50)를 이용하여 비교하였다 (표 29). 두 가지 kit를 이용한 비교한 결과, 아래 표에서 보는 바와 같이 PowerSoil kit를 이용한 실험을 통해 추출된 DNA의 양과 질이 PowerFood kit보다 높게 측정되는 경향이 보여 이후의 DNA추출에 PowerSoil kit를 이용하였다.

표 29. 식품시료 유래 미생물 Genomic DNA 추출용 Kit 의 효율성 비교 분석

Kit	Sample Name	Sample Type	Abs260	Abs280	260/280	Concentration(ng/ul)
Power Soil	HR27	dsDNA	0.571	0.427	1.34	28.5
	CJ3	dsDNA	0.400	0.250	1.60	20.0
	HR21	dsDNA	0.496	0.310	1.60	24.8
	HR29	dsDNA	0.707	0.538	1.31	35.3
Power Food	HR29	dsDNA	0.044	0.014	3.10	2.2
	HR29	dsDNA	0.098	0.067	1.47	4.9
	HR29	dsDNA	0.202	0.138	1.46	10.1

향상된 양과 질의 DNA 추출을 위해서 부패사과시료의 준비 단계에서 동결건조 방법과 phosphate-buffered saline (PBS) 여과 방법을 비교하였는데, 동일 사과 부패시료에 대해 동결건조 빙압과 PBS 여과방법을 비교한 결과 아래 표에서 보는 바와 같이 PBS로 침지하여 여과한 시료로 DNA를 추출한 경우, DNA 양과 질이 높게 측정되었으므로 이후 PBS 여과 방법으로 부패 사과시료로부터 gDNA를 추출하여 메타지노믹스 시퀀싱 template로 준비하였다 (표 30).

표 30. 사과부패시료 전처리법에 따른 gDNA 추출

Sample	Sample Name	Sample Type	Abs260	Abs280	260/280	Concentration(ng/ul)
동결건조시료	HR22	dsDNA	0.826	0.635	1.30	41.3
	HR22	dsDNA	0.899	0.685	1.31	44.9
	HR22	dsDNA	0.706	0.547	1.29	35.3
	HR22	dsDNA	0.505	0.394	1.28	25.2
PBS여과시료	HR22	dsDNA	1.436	0.796	1.80	71.8
	HR22	dsDNA	3.265	2.16	1.51	163.3
	HR22	dsDNA	4.545	2.701	1.68	227.2

(나) 파프리카 시료로부터 미생물 genomic DNA 추출법 확립

메타지노믹스 분석을 위한 genomic DNA 추출을 위해서 부패진행도 (Decay Index; 부패율 50% 이상)가 4에 도달한 부패된 파프리카 시료를 분석에 사용하였다. 부패원인 진핵미생물 분리를 위한 균질화된 시료 5g을 제외한 나머지 시료를 메타지노믹스 프로파일링을 위한 메타지노믹스 분석에 사용하였다. 이를 위해 양질의 gDNA 추출을 위해 1차년도에 수행했던 두 가지 전처리 방법인 동결건조법과 phosphate-buffered saline (PBS) 여과 방법 중 정성, 정량적으로 비교우위에 있었던 PBS buffer를 이용한 전처리법을 적용하여 gDNA 추출을 위한 시료를 준비하였다. 균질화된 시료와 PBS buffer (Gibco, invitrogen corporation, USA)의 비율을 1:4 비율로 첨가하고 180rpm에서 1시간동안 진탕하였다. 이를 멸균 거즈 3겹을 이용하여 파프리카과육과 껍질을 거르고 여과된 용액을 13,000rpm으로 10분씩 원심 분리하여 얻은 pellet을 gDNA 추출 시료로 사용하였다. Genomic DNA 추출

은 1차년도와 동일하게 토양이나 식품시료로부터의 미생물 DNA추출에 많이 이용되고 있는 MO BIO사의 PowerSoil DNA Isolation Kit (cat# 12855)를 이용하여 DNA를 추출하였다 (표 31).

표 31. 파프리카 시료로부터 추출한 미생물 genomic DNA의 양과 질 분석

Variety	Sample Name	Sample Type	Abs260	Abs280	260/280	Concentration(ng/ul)
대조군	PR-0-1	dsDNA	0.966	0.542	1.78	48.3
	PO-0-1	dsDNA	3.932	2.071	1.90	196.6
	PY-0-1	dsDNA	1.102	0.613	1.80	55.1
꼭지부패	PR-1-1	dsDNA	7.119	4.044	1.76	356.0
	PO-1-1	dsDNA	5.180	2.781	1.86	259.0
	PY-1-1	dsDNA	4.722	2.532	1.86	236.1
배꼽부패	PR-2-1	dsDNA	12.047	6.323	1.91	602.4
	PO-2-1	dsDNA	3.079	1.662	1.85	153.9
	PY-2-1	dsDNA	12.849	6.845	1.88	642.5
옆면부패	PR-3-1	dsDNA	8.373	4.517	1.85	418.7
	PO-4-1	dsDNA	0.627	0.351	1.79	31.3

(다) 딸기 시료로부터 genomic DNA 추출법 확립

메타지노믹스 분석을 위한 genomic DNA 추출을 위해서 설향, 장희 품종에 대하여 부패정도(설향 품종; SST-C, SST-x<20, SST-20<50, SST-50<x)와 증상 (설향 품종; ST1, ST2, ST3, ST4, ST5, 장희 품종; JST-C, JST-1, JST-2, JST-3, JST-4, JST-5) 에 따라 시료를 준비하여 파프리카 시료와 동일한 방법으로 genomic DNA를 추출하였다 (표 32).

표 32. 딸기 시료로부터 추출한 미생물 genomic DNA의 양과 질 분석

Variety	Sample Name	Sample Type	Abs260	Abs280	260/280	Concentration(ng/ul)
설향	ST1	dsDNA	0.270	0.131	2.07	13.5
	ST2	dsDNA	0.828	0.448	1.85	41.4
	ST3	dsDNA	0.085	0.047	1.82	4.3
	ST4	dsDNA	0.115	0.073	1.58	5.7
	ST5	dsDNA	0.212	0.151	1.40	10.6
	SST-C	dsDNA	0.564	0.408	1.38	28.2
	SST-x<20	dsDNA	0.511	0.361	1.42	25.6
	SST-20<50	dsDNA	0.356	0.215	1.65	17.8
	SST-50<x	dsDNA	0.354	0.241	1.47	17.7
	장희	JST-C	dsDNA	0.326	0.246	1.33
JST1		dsDNA	0.350	0.207	1.69	17.5
JST2		dsDNA	0.538	0.319	1.69	26.9
JST3		dsDNA	0.438	0.277	1.58	21.9
JST4		dsDNA	0.757	0.444	1.70	37.8
JST5		dsDNA	0.784	0.450	1.74	39.2

(2) NGS 시퀀싱 (Pyro-sequencing)

NGS library 제작을 위한 PCR은 진균의 internal transcribed spacer 2 (ITS2) 지역을 증폭시켰고, 세균은 16S rRNA 유전자의 V3~V4 부분을 증폭시켰다 (표 33, 그림 34). 이를 Illumina사의 MiSeq 플랫폼을 이용하여 차세대염기서열분석법 (NGS)으로 시퀀싱하고 분석을 수행하였다. 부패 파프리카시료에서 추출한 DNA는 (주)테라젠바이오연구소 [실제 시퀀싱은 (주)마크로젠에서 수행]에 메타지노믹스 서비스를 의뢰하여 시퀀싱하고 분석을 수행하였다.

표 33. NGS library 제작을 위한 PCR primer 목록

Target	Primer	Primer sequences
Fungi	Forward ITS3	5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3'
	Reverse ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
Bacteria	Forward 519F	5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'
	Reverse 806R	5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'

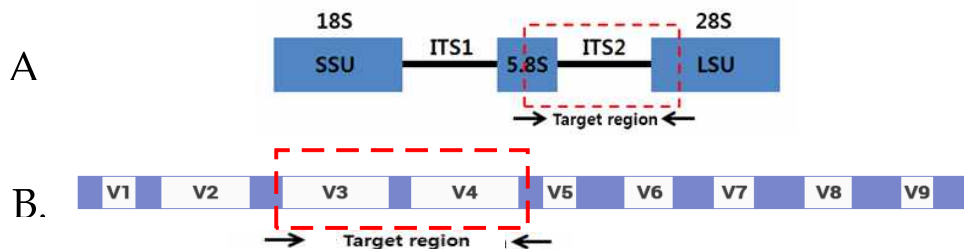


그림 34. 메타지노믹 시퀀싱에 이용되는 유전자 지역 : (A)진균 ITS, (B) 세균 16S rRNA 유전자

(3) 데이터 프로세싱 개요

(가) 사과, 파프리카 부패 시료의 미생물군집 데이터 프로세싱

NGS에 의해 생성된 paired-end 형식의 염기서열자료 (reads)로부터 각 시료 당 두 개의 fastq 파일을 얻었으며, PEAR software를 이용하여 하나의 fastq 파일로 합쳤다. Demultiplexed amplicon 염기서열을 제거한 후, quality scores가 30이하인 염기서열자료를

FastQC (v0.11.4)를 이용하여 제거하였다. Quality control을 통과한 염기서열자료를 QIIME 소프트웨어를 이용하여 이후 분석을 수행하였다. 각각의 read에 해당하는 operational taxonomic units (OTUs)는 sequence similarity가 0.97 이상인 것을 계산하여 분류하였으며, 진균의 경우에는 UNITE fungal ITS database를 이용하여 알려진 진균 염기서열과 비교하였으며, 세균은 Greengenes 16S rRNA database을 이용하여 align하였다. 그 결과 식물에 해당하는 염기서열자료들과 짧은 염기서열이나 두 개의 서로 다른 주형(template)으로 구성된 chimera 염기서열 등을 제거한 후, 이 자료를 바탕으로 각 시료 내 OTU의 relative abundance와 alpha diversity는 MetaCoMET 웹 플랫폼을 이용하여 분석하였으며, beta diversity는 각 시료간의 군집 비교는 weighted Fast UniFrac을 R 프로그램을 이용하여 분석하였다.

(나) 딸기 부패시료의 미생물군집 데이터 프로세싱

NGS에 의해 생성된 paired-end fastq 파일들을 파이썬 스크립트로 하나의 fastq 파일로 합치면서 해당 라이브러리 정보에 해당하는 barcode 및 메타정보 파일도 생성했고, 이들을 LotuS pipeline (<http://psbweb05.psb.ugent.be/lotus/>)을 이용해서 분석하였다. 분석절차는 사과 파프리카 분석에 이용한 방법과 동일하지만, 한번에 분석할 수 있는 장점이 있다. 분석에서 얻어진 OTU sequence들을 blastN program을 이용해서 NCBI의 microbial 16S DB와 nr DB 검색한 후, NCBI의 ete3 toolkit을 이용하여 매칭된 유전자에 해당하는 계통도 (taxonomic tree) 정보를 다시 얻은후에 lotus pipeline에서 얻어진 결과와 비교하여 수정하였다. 이후의 OTU biom 정보의 통계적 분석은 physeq이라는 R 패키지를 이용하였다.

(3) 부패 시료의 미생물군집 프로파일링을 위한 메타지놈 정보 해독

(가) 부패 사과 시료 미생물군집 프로파일링을 위한 메타지놈 정보 해독

① 부패 사과시료의 메타지놈 해독 및 데이터 분석

부패 사과시료로부터 직접 분리한 주요 부패원인균이 메타지놈 프로파일링 결과에서도 가장 우점종으로 분석됨으로써 배양조건 (culturable)에서 분리, 동정하고 인공 접종하여 병원성을 확인한 진균이 주요 원인균임을 확인하였다. 또한 메타지놈 분석에서 부패 전후의 세균 군, 효모균 군의 변화에 대한 정보와 배양이 어려운 진균, 세균에 대한 정보를 확보하고 분석하였다.

아래 표 34에서 보는 바와 같이 NGS에 의해서 생성된 각 시료의 염기서열 자료로부터 20000개 염기서열을 무작위로 선택하고 짧은 염기서열이나 두 개의 서로 다른 주형(template)로 구성된 chimera 염기서열 등을 제거하는 quality control을 실시하였으며 대부분 시료에서 19000개 이상의 염기서열을 얻어 이후 미생물군집 분석에 활용하였다

표 34. 사과부패시료의 메타지놈 시퀀싱 결과

Target	Sample	Total reads	PE reads	Primer trimmed reads	Analyzed reads	Short reads	Nontarget reads	Chimera reads	Valid reads
Fungi	CJ0	38610	33365	31454	20000	0	3	8	19989
	CJ1	35261	29714	29674	20000	0	0	17	19983
	CJ2	41041	37830	37789	20000	0	0	131	19869
	CJ3	43405	35880	35226	20000	0	1	14	19985
	CJ4	37851	32391	32354	20000	0	0	286	19714
	HR03	39635	34443	34395	20000	0	0	5	19995
	HR05	64032	57682	57654	20000	0	0	236	19764
	HR13	36715	31980	31536	20000	0	1	84	19915
	HR22	43700	37945	35073	20000	0	5	121	19874
Bacteria	CJ0	162455	156133	131872	20000	6	49	99	19846
	CJ1	173724	171062	158352	20000	3	16	30	19951
	CJ2	234085	225890	221620	20000	5	5	744	19246
	CJ3	87199	84668	58610	20000	24	80	321	19575
	CJ4	170366	165079	158429	20000	19	15	2984	16982
	HR03	216757	211144	205866	20000	4	6	121	19869
	HR05	231597	227361	224282	20000	4	3	77	19916
	HR13	209690	199894	197071	20000	8	3	3296	16693
	HR22	249072	244363	240685	20000	20	2	192	19786

모든 시료에서 Good's library coverage estimator는 진균의 경우 0.95 이상 (표6), 세균의 경우 0.80이상 (표7)으로 메타지놈 시퀀싱을 통해 시료의 미생물 군집의 다양성을 충분한 것으로 나타났으며 (표23, 24), 97% 유사도를 기준으로 하여 OTU를 정의했을 때 진균의 OTU 및 종 풍부도 지수 (ACE, Chao1, JackKnife)와 다양성 지수 (Shannon, Simpson)는 대부분의 사과 부패 시료에서 미부패시료 (CJ0, HR03)보다 낮은 것으로 분석되었다 (표 35, 36).

표 35. 사과 부패 시료의 진균 군집의 다양성 지표

Sample	Number of reads	OTUs	Goods Lib. Coverage	ACE	Chao1	JackKnife	Shannon	Simpson
CJ0	19989	1129	0.97	4051.82	3150.88	6802.09	3.65	0.12
CJ1	19983	229	0.99	543.18	509.56	529.01	1.46	0.43
CJ2	19869	257	0.99	987.11	700.62	1057.62	1.45	0.53
CJ3	19985	316	0.99	1035.76	760.14	1197.20	1.26	0.58
CJ4	19714	459	0.99	2802.31	2261.30	1710.90	3.37	0.08
HR03	19995	478	0.99	1768.75	1361.41	1403.18	2.85	0.15
HR05	19764	189	1.00	402.71	374.77	390.67	1.59	0.52
HR13	19915	878	0.97	4523.22	3163.34	4876.22	2.89	0.17
HR22	19874	255	0.99	758.34	662.89	707.06	1.51	0.43

표 36 사과 부패 시료의 세균 군집의 다양성 지표

Sample	Number of reads	OTUs	Goods Lib. Coverage	ACE	Chao1	JackKnife	Shannon	Simpson
CJ0	19846	3950	0.83	99785.51	45291.20	30637.24	4.28	0.13
CJ1	19951	2293	0.90	46070.22	24782.76	26169.96	3.29	0.19
CJ2	19246	4047	0.84	47929.73	28061.98	26415.01	5.47	0.05
CJ3	19575	3391	0.85	77572.47	39571.27	49978.90	4.57	0.07
CJ4	16982	3377	0.84	42819.13	22261.81	26197.74	4.77	0.14
HR03	19869	3998	0.83	108207.28	47450.37	41086.51	4.62	0.09
HR05	19916	3784	0.84	65815.54	33941.32	24578.84	4.51	0.11
HR13	16693	3474	0.83	65994.44	30691.93	33444.87	4.98	0.06
HR22	19786	3902	0.84	55603.66	27545.61	31032.48	4.94	0.09
HR17	19695	3105	0.87	46735.74	23614.60	21397.51	4.59	0.10
HR29	19928	2684	0.89	49143.08	26503.02	23281.95	3.76	0.16

② 사과 품종 간 진균의 군집 분석 결과

부사와 홍로 품종 부패시료의 진균 군집은 강(class)과 종(species) 수준에서 대조군인 CJ0과 HR03의 진균 군집보다 단순한 경향을 보이고 있다 (그림 35 ~ 38). 대조군인 CJ0과 HR03의 진균 군집은 각각 Sporidiobolales 또는 Tremellomycetes 강(class)의 높은 비율로 관찰되었으나 (그림 35, 38), 부패시료의 경우에는 Dothideomycetes (CJ1, CJ3, CJ4, HR13 시료의 경우), Saccharomycetes (CJ2, HR05, HR22 시료의 경우)에 속하는 효모균들이 각 시료의 군집 내에서 가장 높은 비율을 차지하고 있었다 (그림 35, 36). CJ1과 CJ3의 Dothideomycetes 강은 대부분 *Botryosphaeria dothidea* 종으로 이루어져 있으며 CJ4, HR13의 Dothideomycetes 강은 *Alternaria* group의 종으로 구성되어져 있는 것을 알 수 있었다 (그림 36, 38). CJ2, HR05, HR22의 Saccharomycetes 강은 *Starmerella bacillaris* 종이 우세하며 CJ4는 *Starmerella bacillaris*과 *Hanseniaspora uvarum* 종이 속해 있었다 (그림 37).

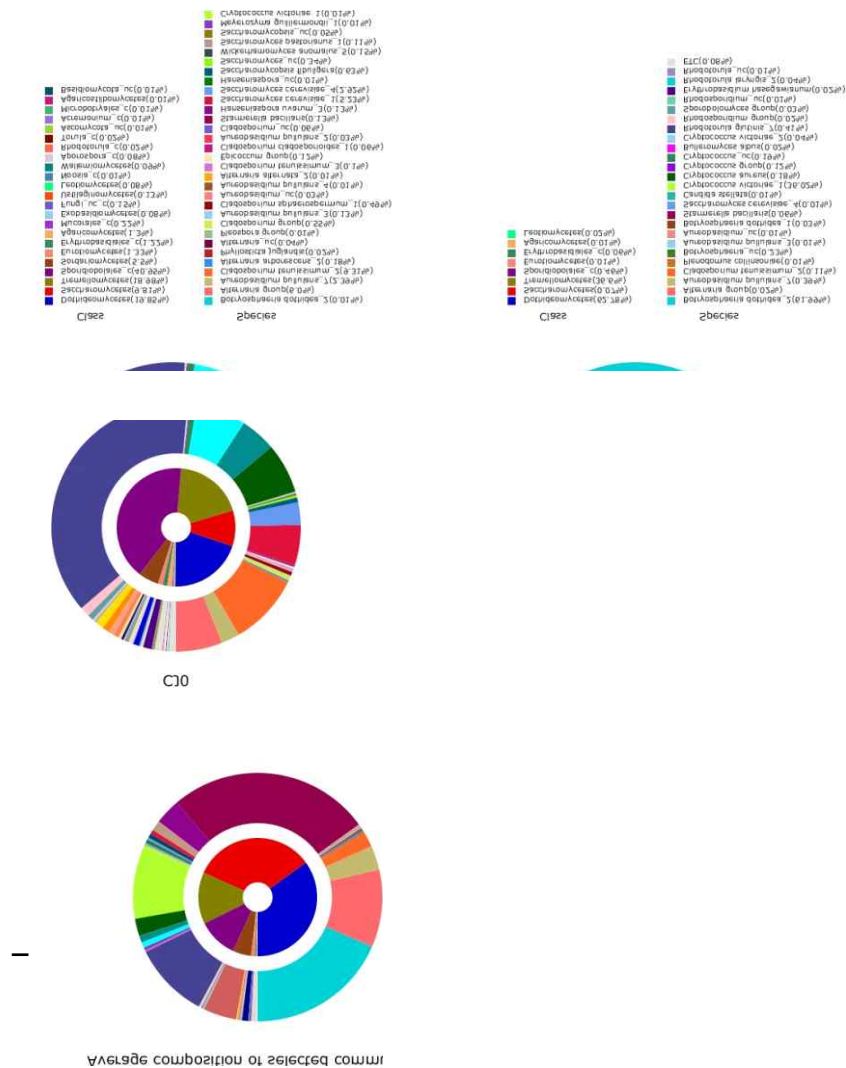


그림 35 CJ0 (건전한 사과) 와 CJ1 부사 부패시료 내 진균 강(class)과 종(species)에 대한 이중 원그래프

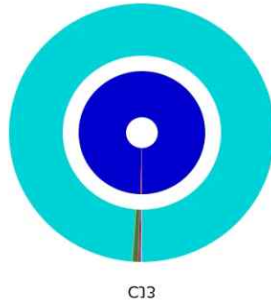
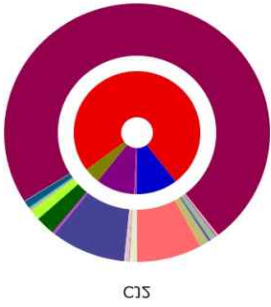
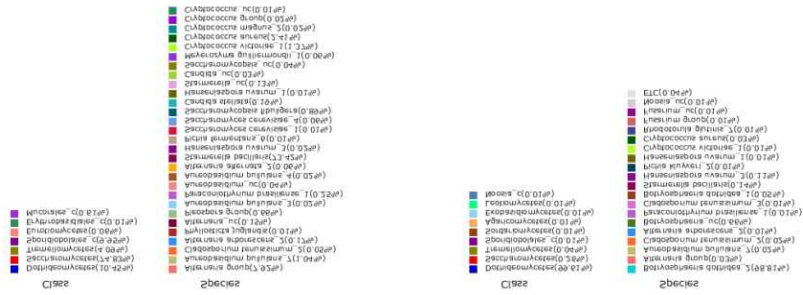


그림 36. C12와 C13 부사의 부패시료 내 진균 강(class)과 종(species)에 대한 이중 원그래프

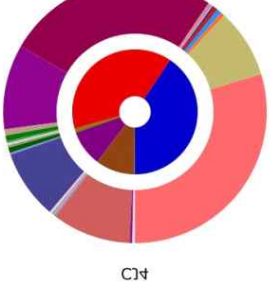
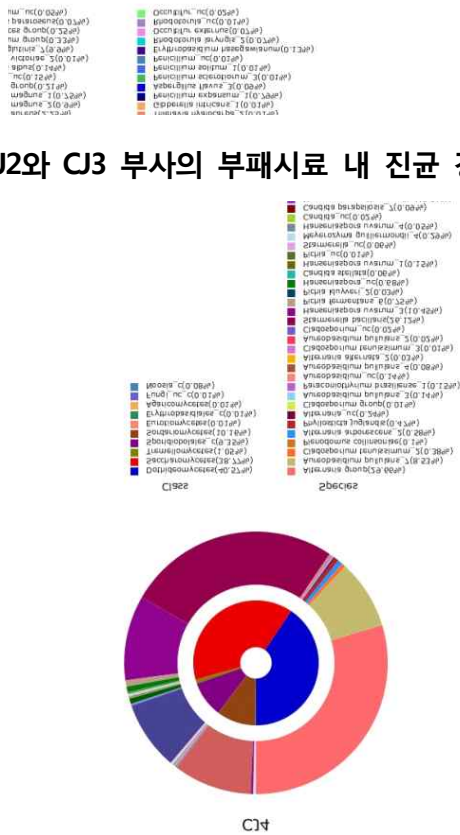
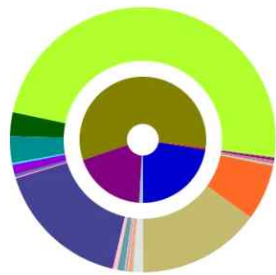
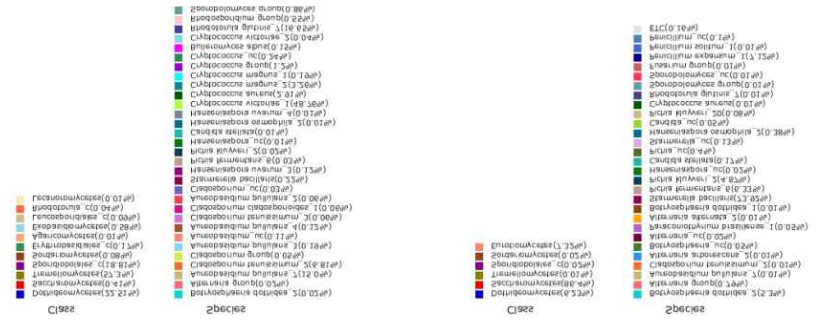


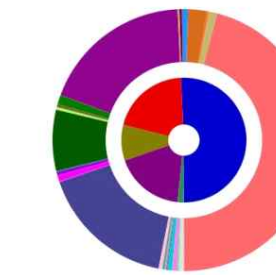
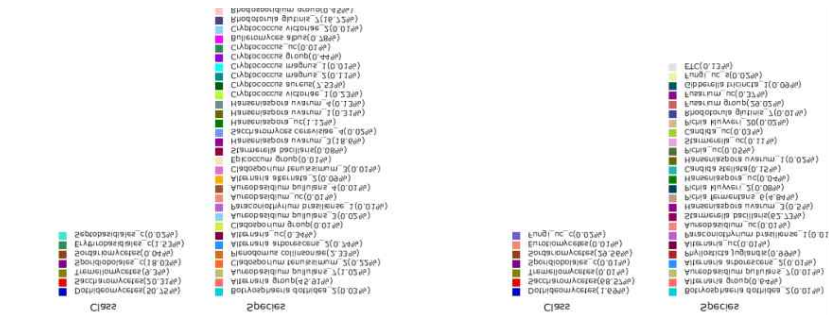
그림 37. C14 부사의 부패시료 내 진균 강(class)과 종(species)에 대한 이중 원그래프



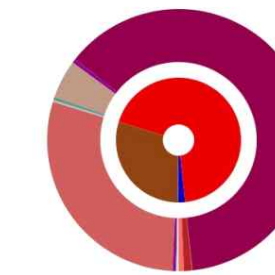
HB03



HB02



HB13



HB55

그림 38. 흥로 사과품종의 부패시료 내 진균 강(class)과 종(species)에 대한 이중 원그래프

부사품종의 대조군인 CJ0의 진균 군집 분포는 속(genus) 수준에서 *Rhodotorula*의 비율이 가장 높았으며 (38.4%), 그외에 *Cryptococcus* (18.8%), *Cladosporium* (10.6%), *Saccharomyces* (8.6%), *Alternaria* (6.2%)에 속하는 진균이 우세한 비율을 차지하였다 (그림 39, 40). *Rhodotorula*는 부패사과 시료로부터 분리한 균종에는 발견되지 않은 속이다. 사과품종 홍로의 대조군 HR03은 *Cryptococcus* (57.1%), *Rhodotorula* (17.2%), *Aureobasidium* (15.5%), *Cladosporium* (7.0%)이 대부분의 비율을 차지하고 있는 것으로 분석되었다. 부사의 대조군인 CJ0은 진균의 군집 중에서 *Rhodotorula glutinis* 종이 37.8%를 차지하고 있었으며, 1% 이상 차지하고 있는 진균이 총 11종으로서 다양한 종의 진균이 부착되어 있는 것으로 나타났다. 부사 부패시료 중에서 CJ3은 *Botryosphaeria dothidea*가 총 진균 군집 중 98.9% 이상 차지하고 있었는데 이 결과는 고체배지에서 부패원인균을 분리할 때에도 동일한 시료에 대하여 동일 사상성곰팡이가 분리되어 균분리 및 동정 결과와 메타지놈 분석에 의한 미생물 군집분석 (community profiling) 결과가 일치함을 볼 수 있었다. 비슷한 부패증상의 CJ1 시료의 메타지놈 분석에서도 *Botryosphaeria dothidea*가 62.0%인 것으로 관찰되었다 (그림 35). 부사 부패시료인 CJ2와 CJ4와 홍로 부패시료인 HR05와 HR22에서는 *Starmerella bacillaris*가 진균 군집에서 비율이 높았으며 CJ2와 CJ4에서 *Alternaria* group과 *Rhodotorula glutinis*이 관찰되었다.

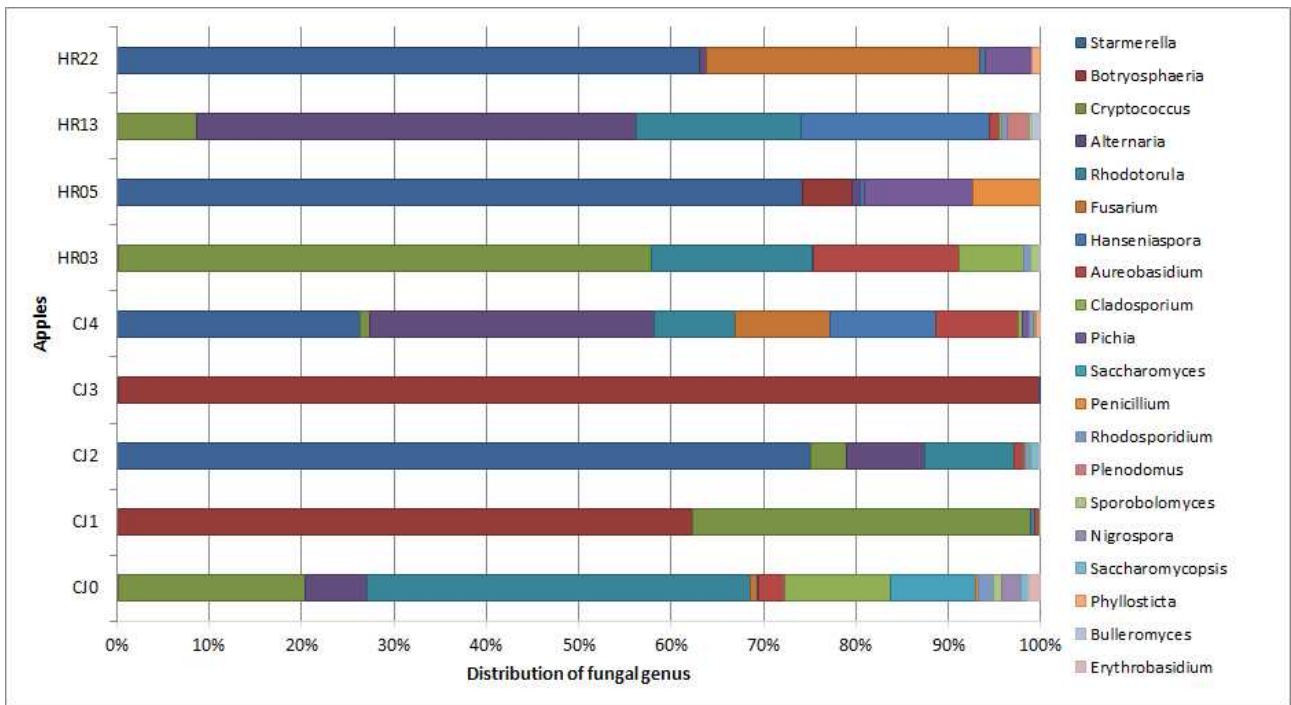


그림 39. 사과 부패 시료의 진균 속(genus) 분포도

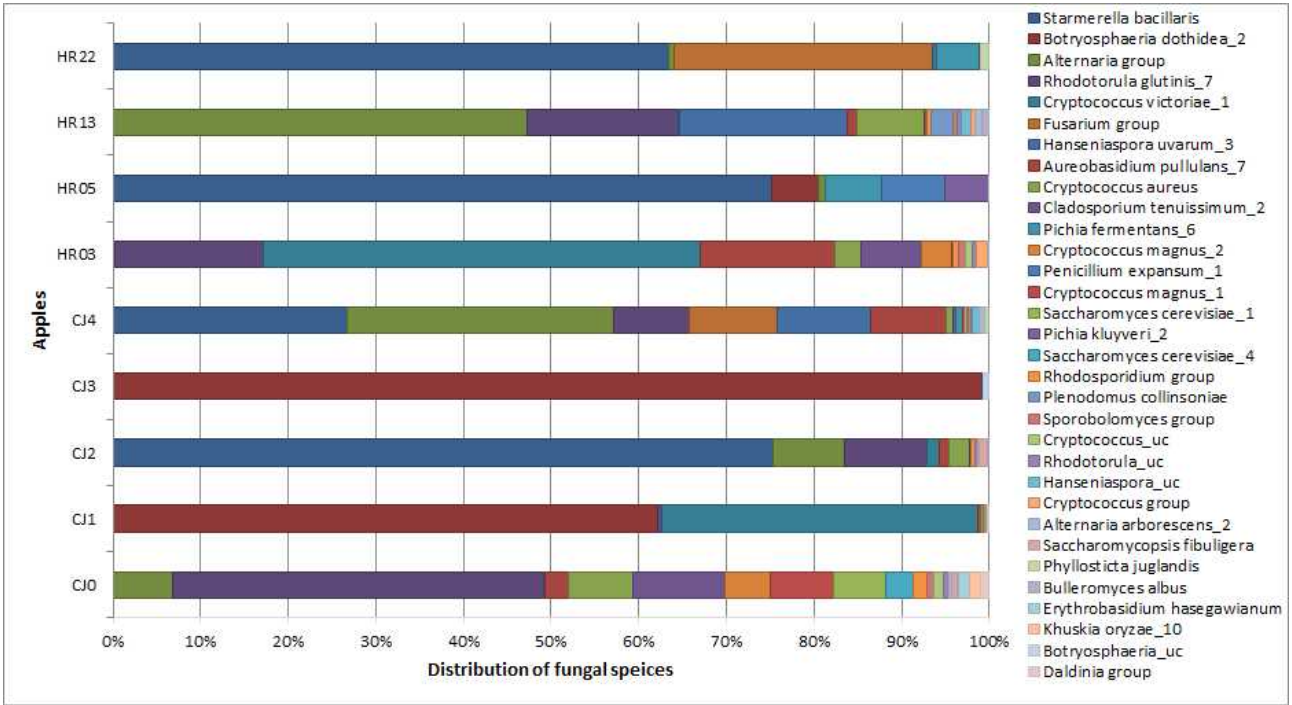


그림 40. 사과 부패 시료의 진균 종(species) 분포도

③ 사과 품종 및 부패증상 별 진균 군집 구성

사과 부패시료 간의 진균 군집 구성은 부사 시료의 경우 크게 3개의 그룹으로 나누어 졌으며, 부패 증상에 따라 *Botryosphaeria dothidea*, *Stammerella bacillaris*, *Alternaria group*과 *Rhodotorula glutinis*의 비율이 다른 경향을 나타냈다. 홍로 부패시료 간의 진균 군집 구성은 *Stammerella bacillaris*, *Rhodotorula glutinis*, *Alternaria group*과 *Cryptococcus victoriae*의 비율에 따라 크게 2개 그룹으로 나누어 졌다 (그림 41).

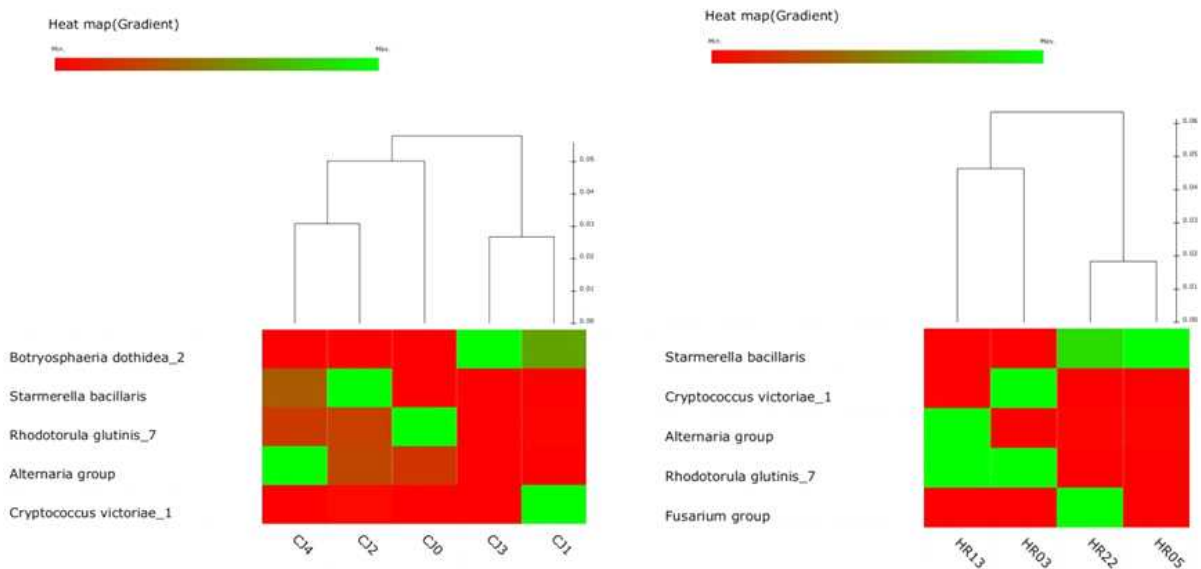


그림 41. 진균 군집 구성 기반의 사과 시료 간 Unifrac clustering

부사와 흉로의 대조군에서는 eudicotyledons 강(class)이 높은 비율로 관찰되었으며, CJ3과 CJ4를 제외한 부패시료의 대부분에서 Alphaproteobacteria (CJ1, HR05, HR17, HR22, HR29 시료) 또는 Gammaproteobacteria (CJ2, CJ4, HR13 시료)가 95% 정도의 높은 비율로 관찰되었고 CJ1, HR05, HR17, HR22, HR29 시료의 Alphaproteobacteria 강에는 *Gluconobacter cerinus*, *Gluconobacter albidus* group, Acetobacteraceae_uc_s 등의 종이 속해 있으며, CJ2, CJ4, HR13 시료의 Gammaproteobacteria 강에는 *Pantoea vagans*, *Pantoea deleyi*, *Erwinia billingiae*, *Pantoea agglomerans* group, *Pseudomonas graminis* 등의 종이 속해있음을 볼 수 있었다 (그림 42 ~ 43).

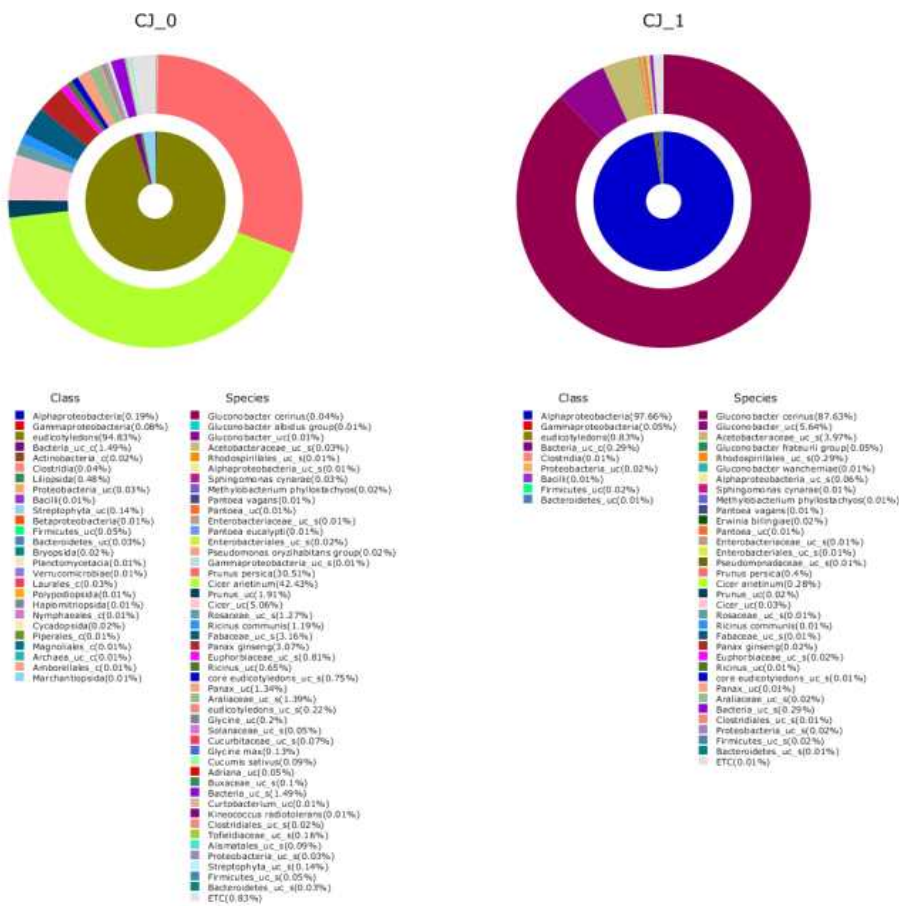


그림 42. 부사 부패 시료의 세균 강(class) 및 종(species)에 대한 이중 원그래프

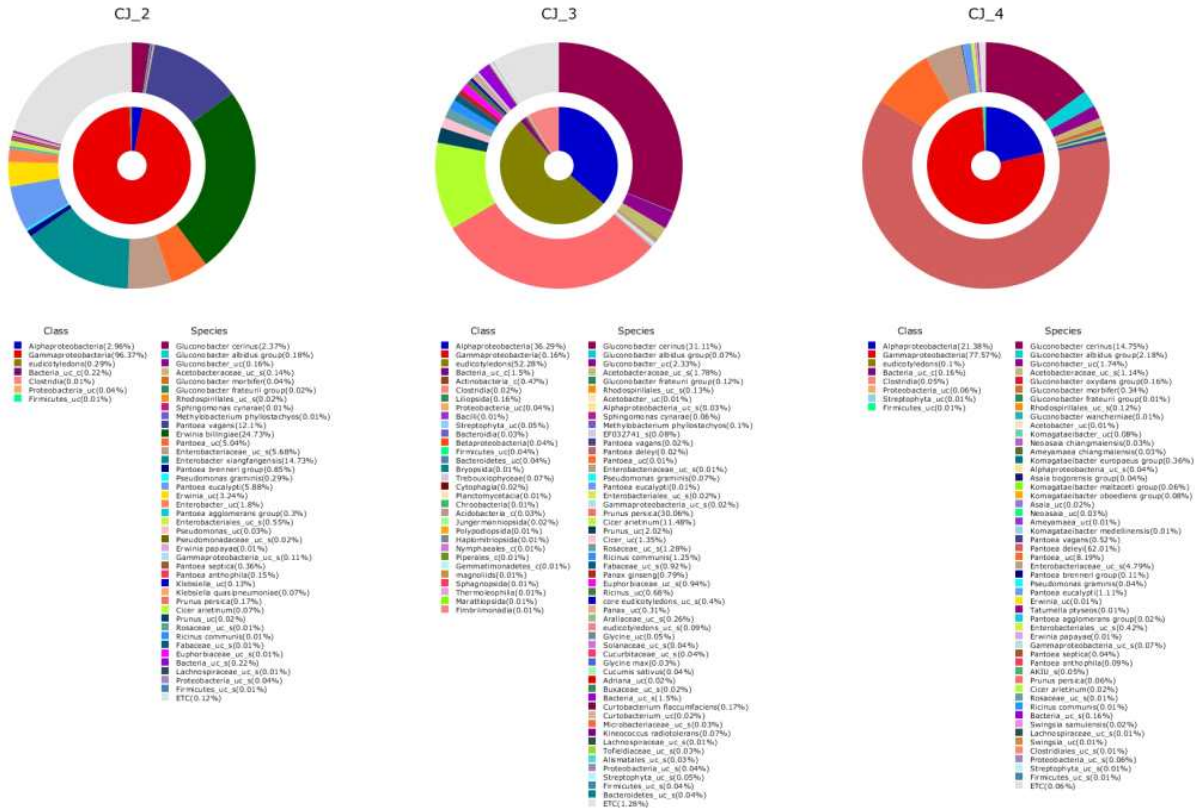


그림 43. 부사 부패 시료의 세균 속(class) 및 종(species)에 대한 이중 원그래프

④ 사과 부패시료에서의 세균 군집 분석 결과

세균 군집 프로파일링은 속(genus) 수준에서 사과 미부패 시료인 CJ과 HR03의 Prunus와 Cicer속이 차지하는 비율이 큰 것으로 나타났으며 (그림 42), 부패시료 중에서 CJ2와 HR13에서는 *Pantoea*의 비율이 높았고 나머지 부패시료에서는 *Glucobacter*이 차지하는 비율이 높은 것으로 나타났다 (그림 43). *Glucobacter*의 비율이 높았던 부패시료의 세균 군집을 종(species) 수준에서 관찰한 결과 홍로 부패시료에서는 *Glucobacter cerinus*와 *Glucobacter albidus* group이 관찰되며 부사 부패시료에서는 주로 *Glucobacter cerinus*이 나타났다 (그림 44 ~ 47).

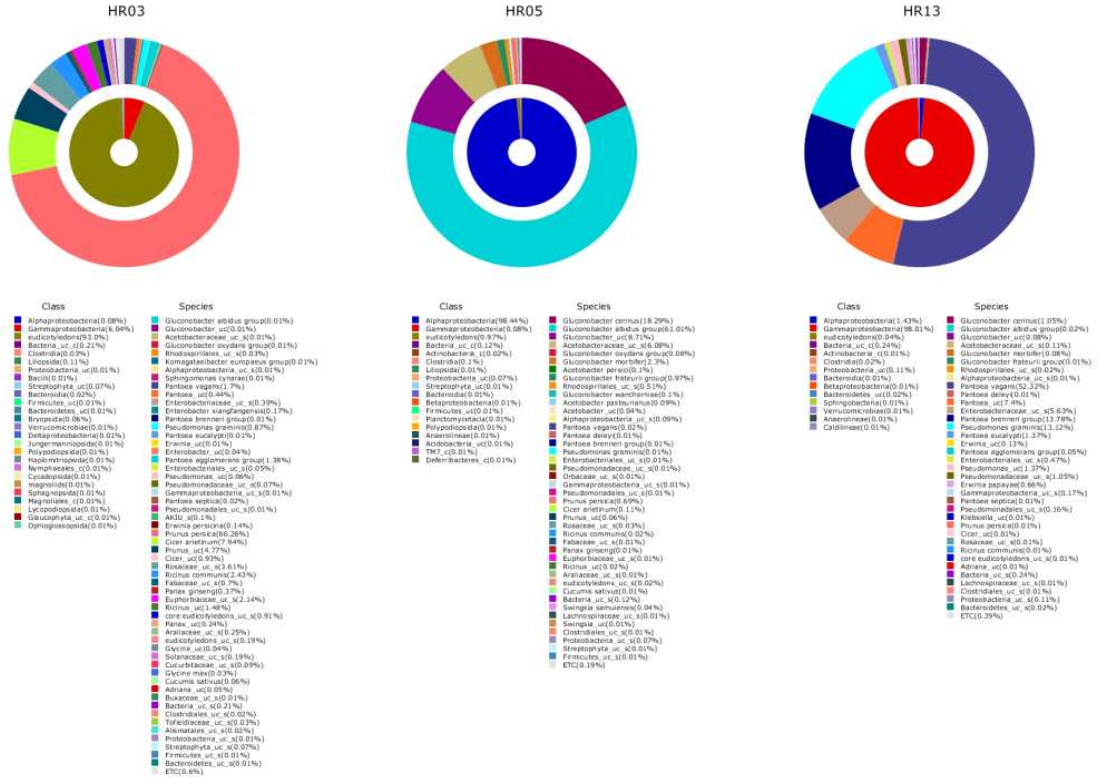


그림 44. 흉로 부패시료의 세균 속(genus) 및 종(species)에 대한 이중 원그래프

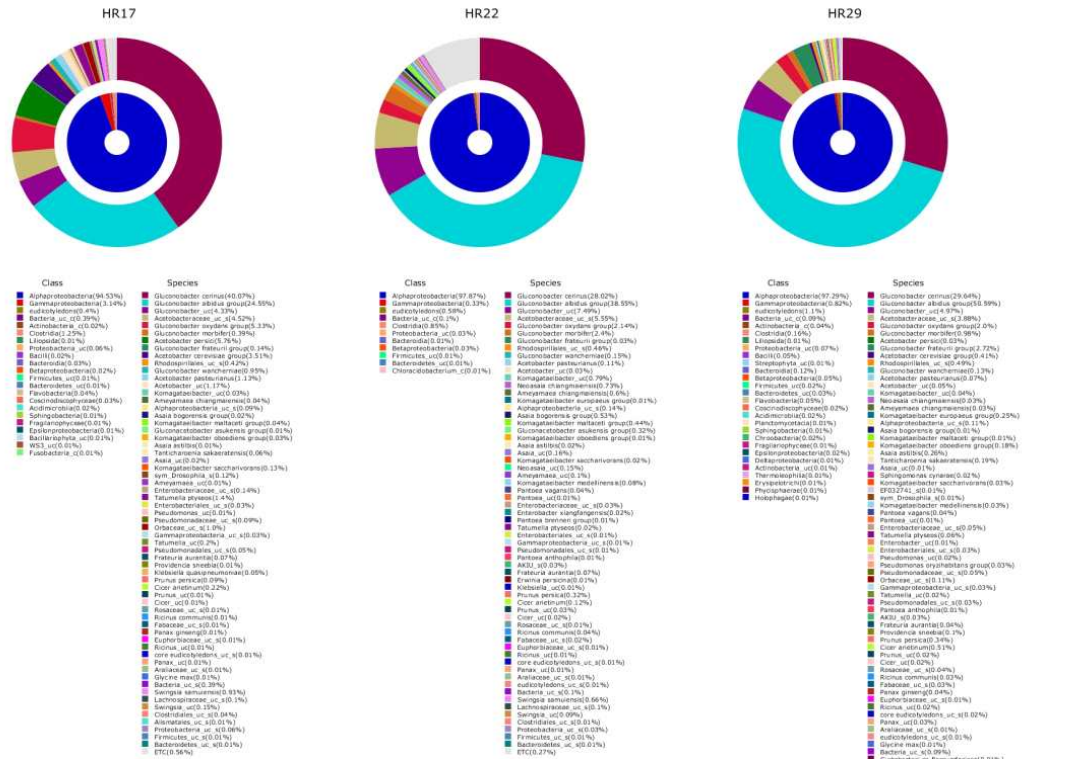


그림 45. 흉로 부패시료의 세균 강(class) 및 종(species)에 대한 이중 원그래프

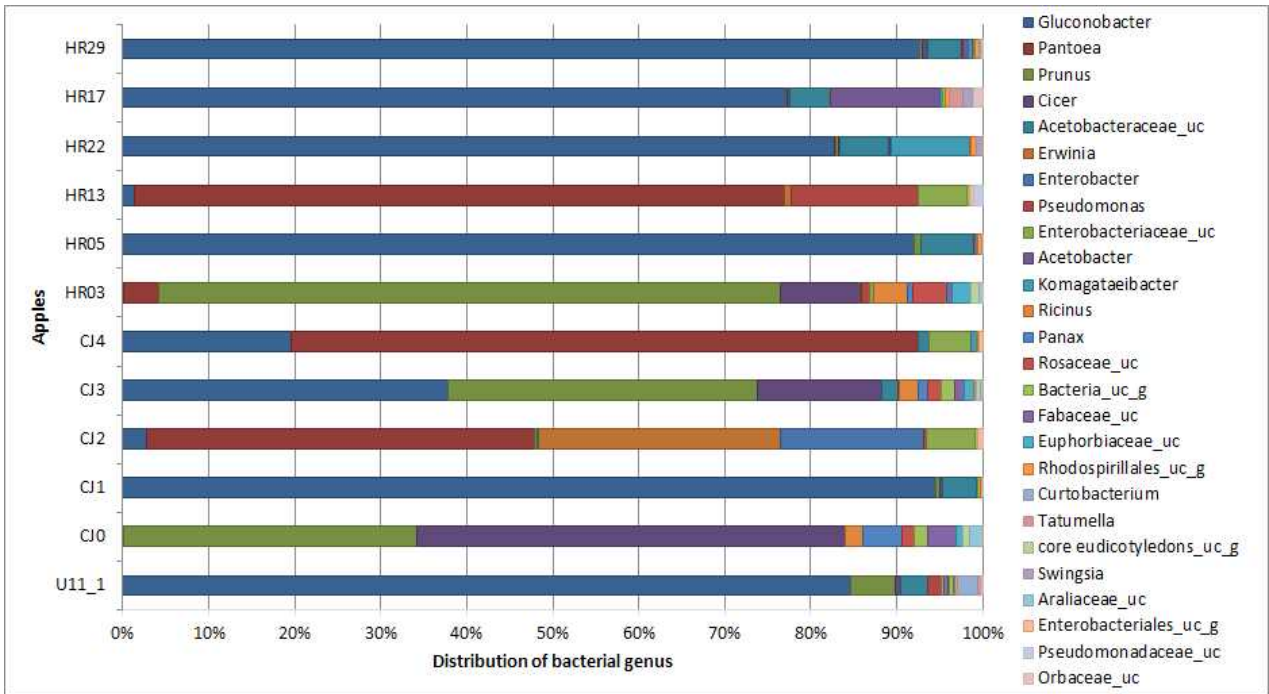


그림 46. 사과 부패 시료의 세균 속(genus) 분포도

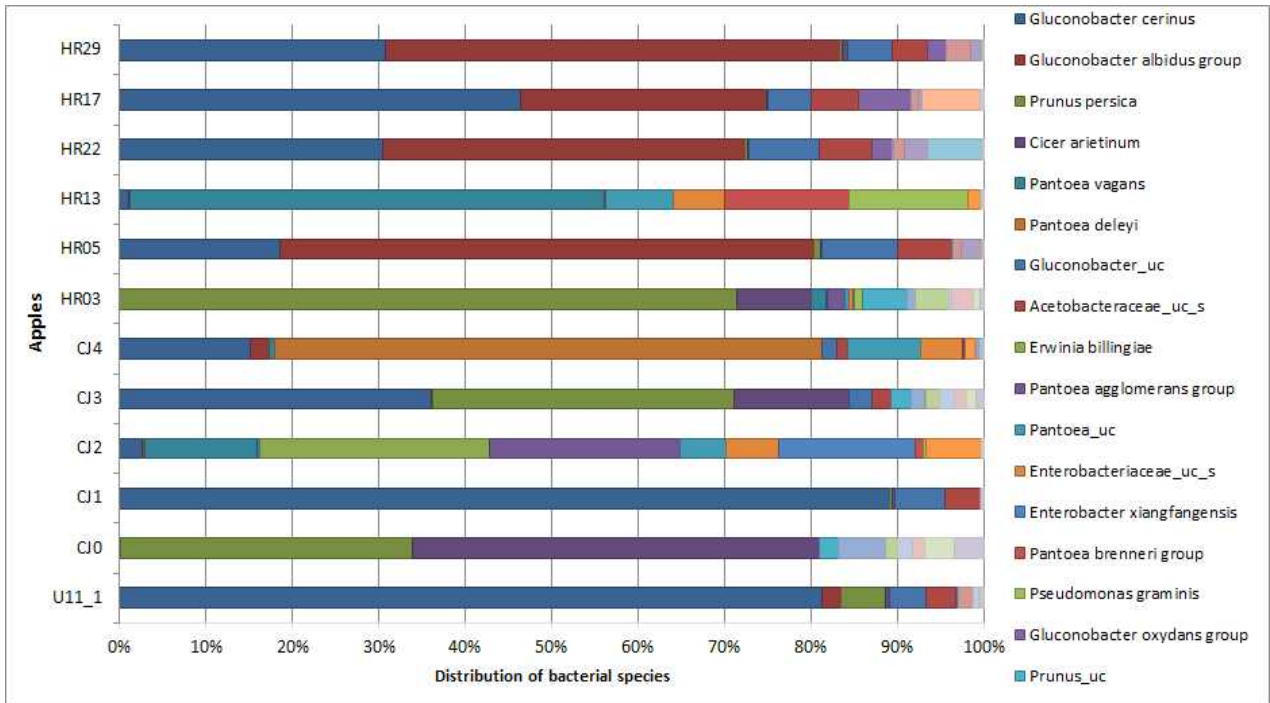


그림 47. 사과 부패 시료의 세균 종(species) 분포도

⑤ 부패사과 시료 간 세균 군집 구성 비교

부사 시료간의 세균 군집 구성은 시료내의 *Gluconobacter cerinus*, *Prunus persica*, *Cicer arietinum*, *Pantoea deleyi*의 비율에 따라 나뉘어지는 경향을 나타냈다 (그림 48). 흥로 시료 간의 세균 군집 구성은 *Gluconobacter cerinus*, *Gluconobacter albidus* group, *Prunus persica*, *Pantoea vagans*의 비율이 시료간의 세균 군집 유사도에 영향이 미치는 것으로 분석되었다.

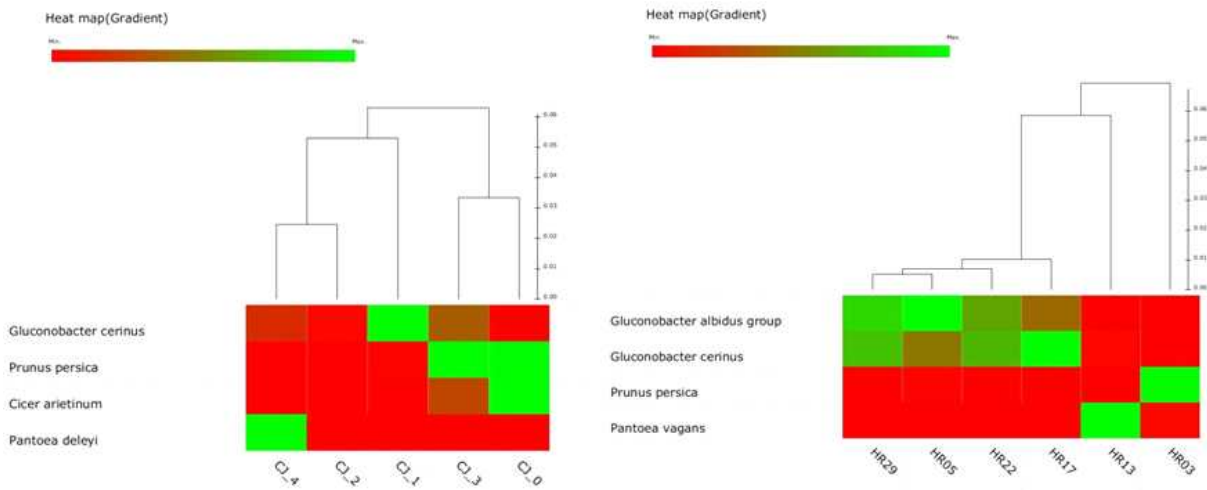


그림 48. 세균 군집 구성 기반의 사과 시료 간 Unifrac clustering

(나) 파프리카 부패시료 미생물군집 프로파일링을 위한 메타지놈 정보 해독

① 파프리카 부패시료의 메타지놈 해독 및 데이터 분석

부패 파프리카시료로부터 분리한 주요 부패원인균은 미생물군집 프로파일링 결과에서도 우점종으로 분석되었다. 부패 파프리카시료에서는 미생물분리 및 동정되지는 않았던 *G. acutata*가 메타지노믹스 분석결과로부터 확인되었다. 그러나 선택배지에서 분리 시 부패시료로부터 *G. acutata* 균이 분리가 되지 않았으므로 균주를 분양받아 파프리카에 대한 병원성을 확인하였다. 또한 메타지놈 분석에서 부패 전후의 세균 군, 효모균 군의 변화에 대한 정보와 배양이 어려운 진균, 세균에 대한 정보를 확보하고 분석하였다.

NGS에 의해서 11개의 시료로부터 총 7,663,470개 염기서열 (reads) 자료가 생성되었으며, 각 시료 당 평균 638,623개의 염기서열 자료를 획득하였다 (표 37). 이를 짧은 염기서열이나 두 개의 서로 다른 주형 (template)으로 구성된 chimera 염기서열 등을 제거하는 quality control을 실시하였으며 대부분 시료에서 45만개 이상의 염기서열을 얻어 이를 UNITE fungal ITS database에 align하였다. 많은 염기서열들이 진균이 아닌 식물에 해당하는 염기서열이었으며 특히 대조군 염기서열의 많은 부분이 이에 해당했다. 따라서 부패한 파프리카시료의 미생물군집 분석을 위해 혼합되어있는 식물 염기서열을 제거한 뒤 미생물군집 분석을 실시하였다.

표 37. 파프리카 부패시료의 메타지놈 시퀀싱에 대한 염기서열 자료

부패증상	시료	Raw reads	UnJoin reads	Low quality reads	Quality reads	Plant filtered reads
대조군	PR-0-1	518650	5444	57608	468892	7214
	PO-0-1	524056	6106	64356	472330	13252
	PY-0-1	588388	6508	44860	547802	34319
꼭지부패	PR-1-1	768456	5250	35130	737212	349062
	PO-1-1	666740	2299	20624	649880	321034
	PY-1-1	617512	2834	11198	604000	297648
배꼽부패	PR-2-1	697918	3908	22950	675966	331608
	PO-2-1	665744	3341	35912	638436	314574
	PY-2-1	734670	3318	20048	715592	352044
옆면부패	PR-3-1	706476	2646	20578	688860	339106
	PO-4-1	492660	3934	50400	457812	225155

분석결과에 따른 진균의 rarefaction curve 기울기는 염기서열의 수가 증가함에 따라 증가하였다 (그림 49). 또한 염기서열 수가 증가함에 따라 기울기가 감소하기는 하지만 계속 증가하는 것으로 보아 각 시료내의 진균의 다양성이 높다는 것을 알 수 있으며 특히 대조군 시료에서 그 경향을 확인할 수 있다. 97% 유사도를 기준으로 하여 OTU를 정의했을 때 진균의 OTU 및 종 풍부도 지수 (Chao1)와 다양성 지수 (Shannon)를 분석한 결과, 대조군에 비해서 부패 파프리카시료에서 Shannon은 낮은 것으로 분석되었다 (표 38). 이는 파프리카의 부패가 진행되면서 진균의 다양성이 현저히 감소시키기 때문인 것으로 판단할 수 있다. 이와 달리 대조군에 비해서 부패 파프리카시료에서 Chao1는 높은 것으로 관찰되었다.

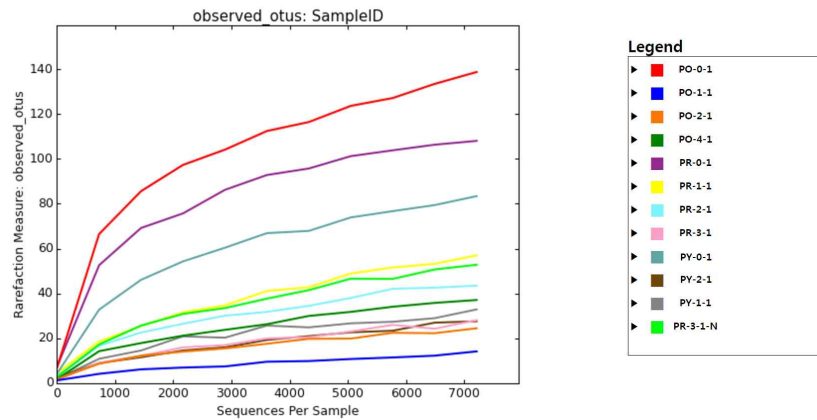


그림 49. 부패 파프리카시료로부터 생성된 OTU의 rarefaction curves

표 38. 파프리카 부패시료의 진균 군집의 다양성 지표

부패증상	시료	Plant filtered reads	OTUs	Chao1	Shannon
대조군	PR-0-1	7214	108	113.9	4.39
	PO-0-1	13252	160	179.2	4.41
	PY-0-1	34319	136	159.8	2.18
꼭지부패	PR-1-1	349062	354	392.1	2.51
	PO-1-1	321034	145	210.5	0.21
	PY-1-1	297648	242	474.9	0.71
배꼽부패	PR-2-1	331608	310	435.9	1.70
	PO-2-1	314574	252	431.5	0.86
	PY-2-1	352044	237	394.8	1.28
옆면부패	PR-3-1	339106	176	231.6	0.27
	PO-4-1	225155	175	238.0	0.86

② 파프리카 부패시료의 진균 균집 분석 결과

파프리카 부패시료의 진균 균집은 여러 수준의 생물분류 단계에서 대조군의 진균 균집보다 단순한 경향을 보이고 있다 (그림 50 ~ 60). 대조군인 PR-0-1, PY-0-1, PO-0-1의 진균 균집은 NGS로 생성된 염기서열자료 (read) 중에 알려진 데이터베이스에 align되지 않은 No blast hit인 염기서열의 비율이 높았다. 또한 건강한 파프리카 시료에 부착된 진균의 균집을 같은 품종내의 부패시료와 비교했을 때도 부패시료에서 검출된 진균의 균집이 단순하였다. 또한 PR-1-1 시료를 제외한 부패파프리카시료에서 발견한 진균 균집에서 가장 우세한 한 가지의 곰팡이 종 (species)이 전체 진균의 68%이상을 차지하였으며, PR-1-1의 진균 균집에서 식물의 병원성균으로 알려진 *Fusarium* spp., *A. alternatum*, *G. acutata*의 진균이 차지하는 비율이 77% 이상으로 확인되었다.

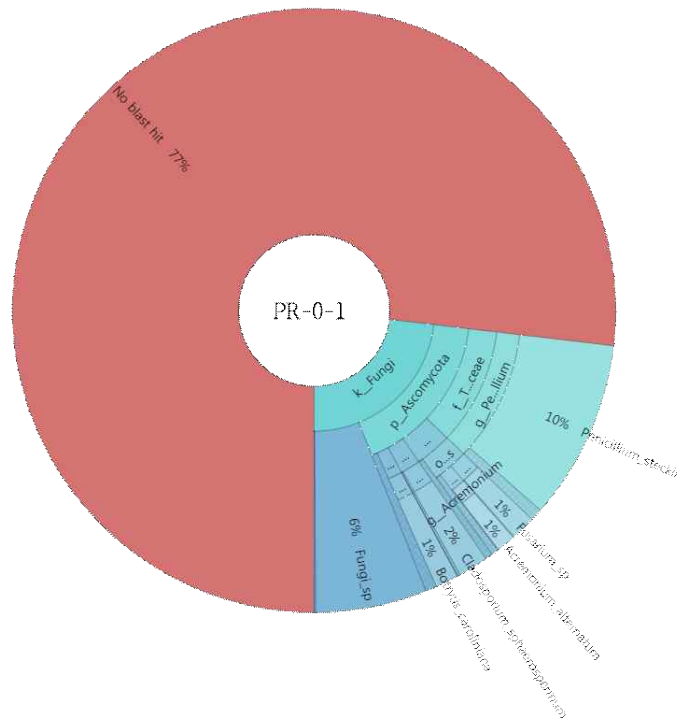


그림 50. 시로코(R) 파프리카 대조군의 진균 균집 원그래프

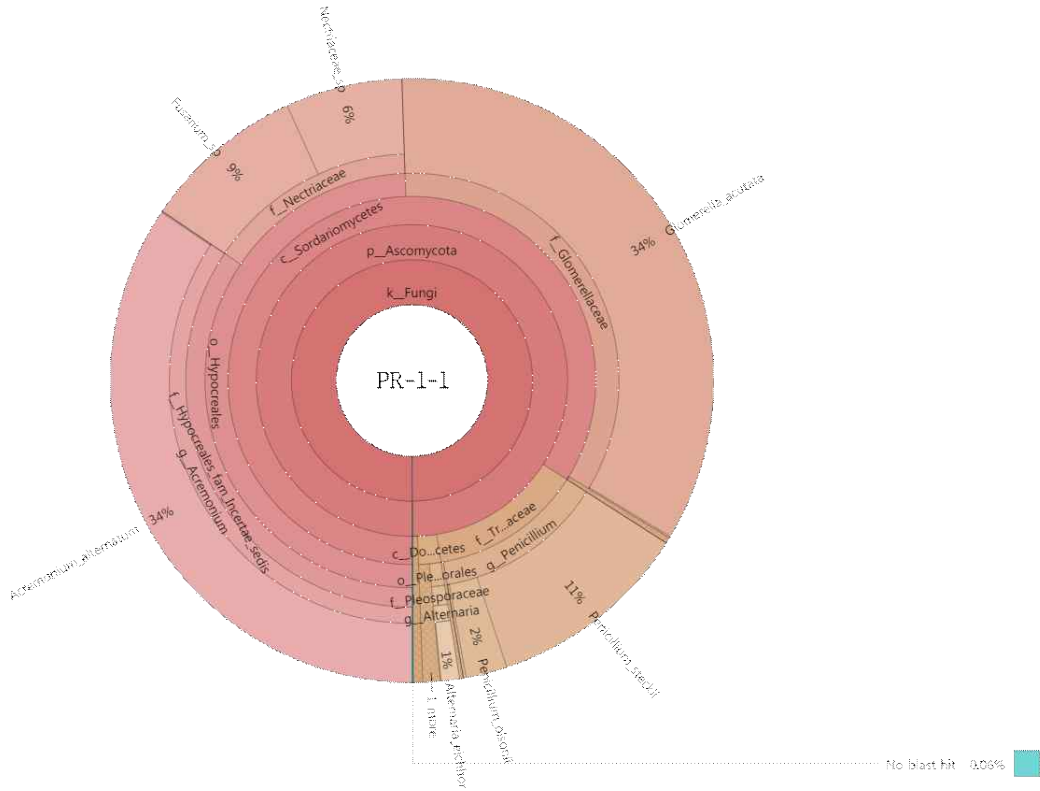


그림 51. 시로코(R) 파프리카 꼭지부패 시료의 진균 군집 원그래프

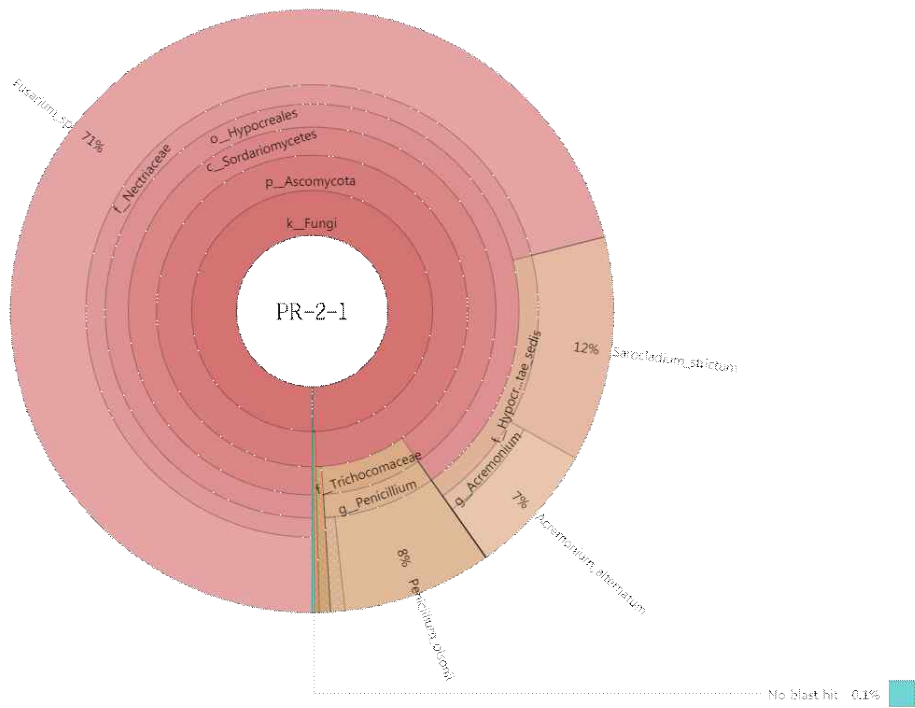


그림 52. 시로코(R) 파프리카 배꼽부패 시료의 진균 군집 원그래프

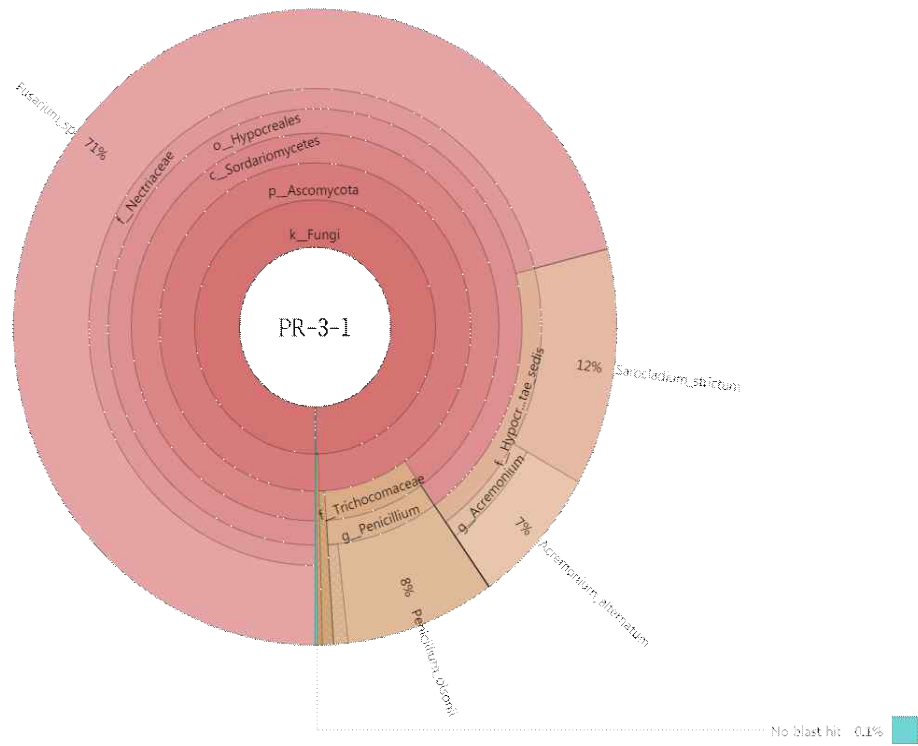


그림 53. 시로코(R) 파프리카 옆면부패 시료의 진균 군집 원그래프

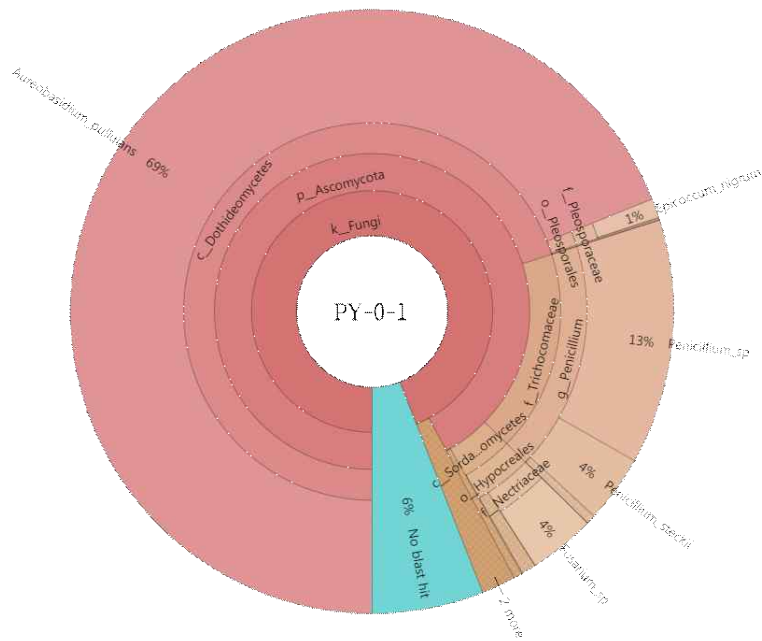


그림 54. 볼란테 (Y) 파프리카 대조군 시료의 진균 군집 원그래프

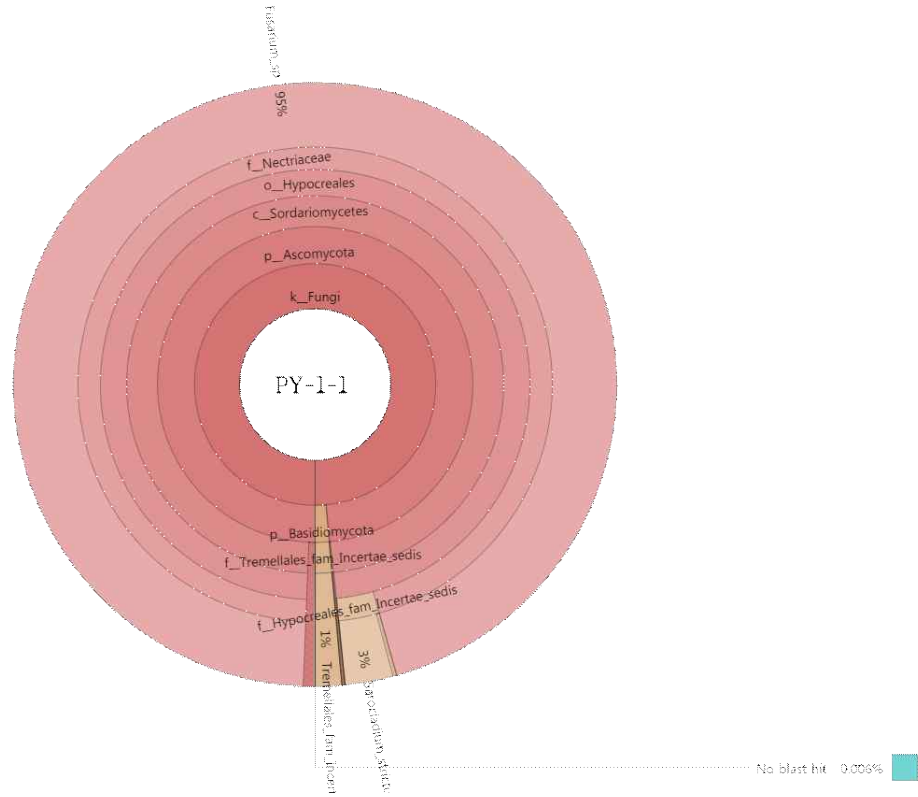


그림 55. 볼란테 (Y) 파프리카 꼭지부패 시료의 진균 군집 원그래프

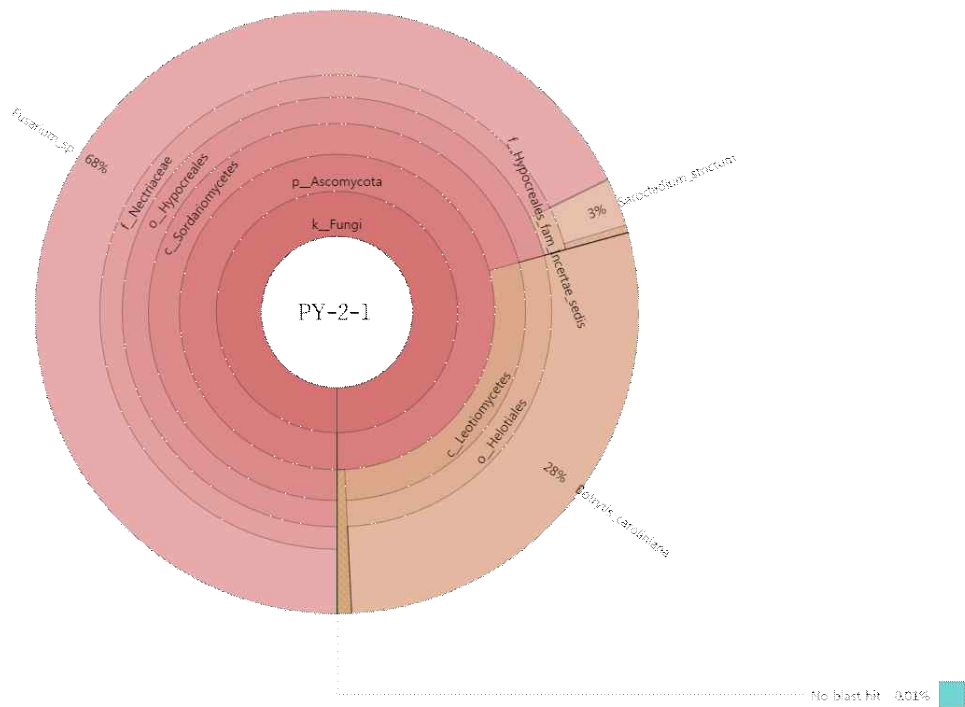


그림 56. 볼란테 (Y) 파프리카 배꼽부패 시료의 진균 군집 원그래프

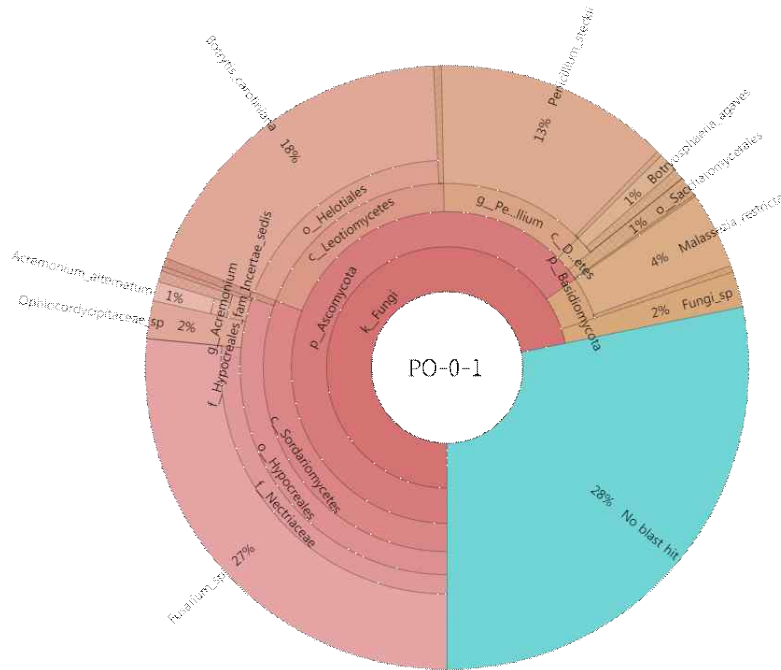


그림 57. 오렌지프로 (O) 파프리카 대조군 시료의 진균 군집 원그래프

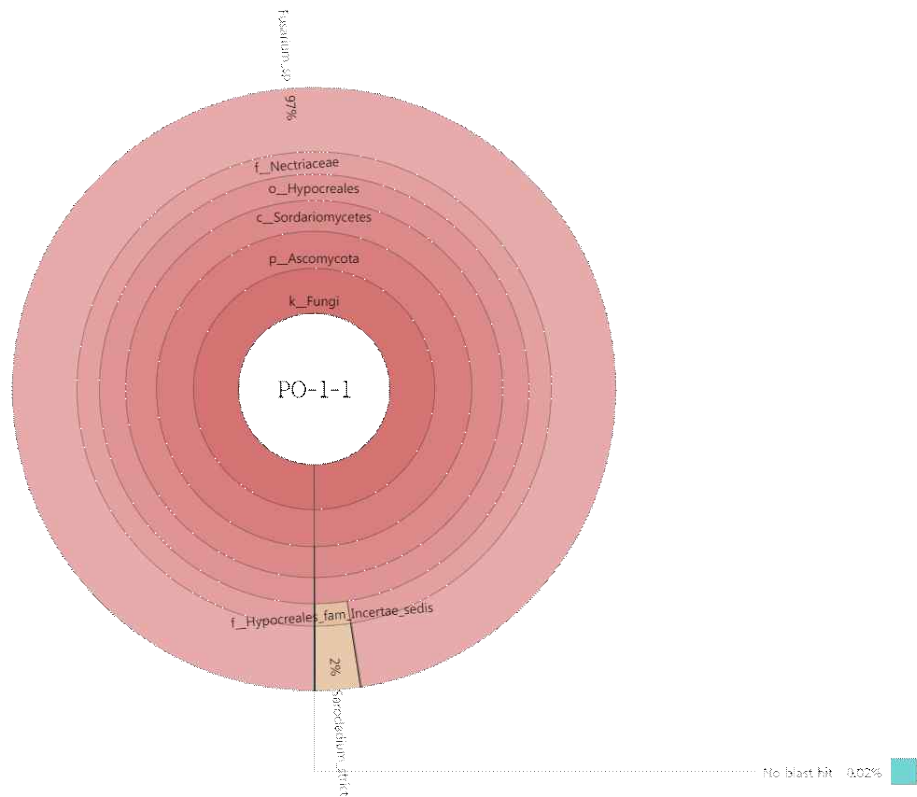


그림 58. 오렌지프로 (O) 파프리카 꼭지부패 시료의 진균 군집 원그래프

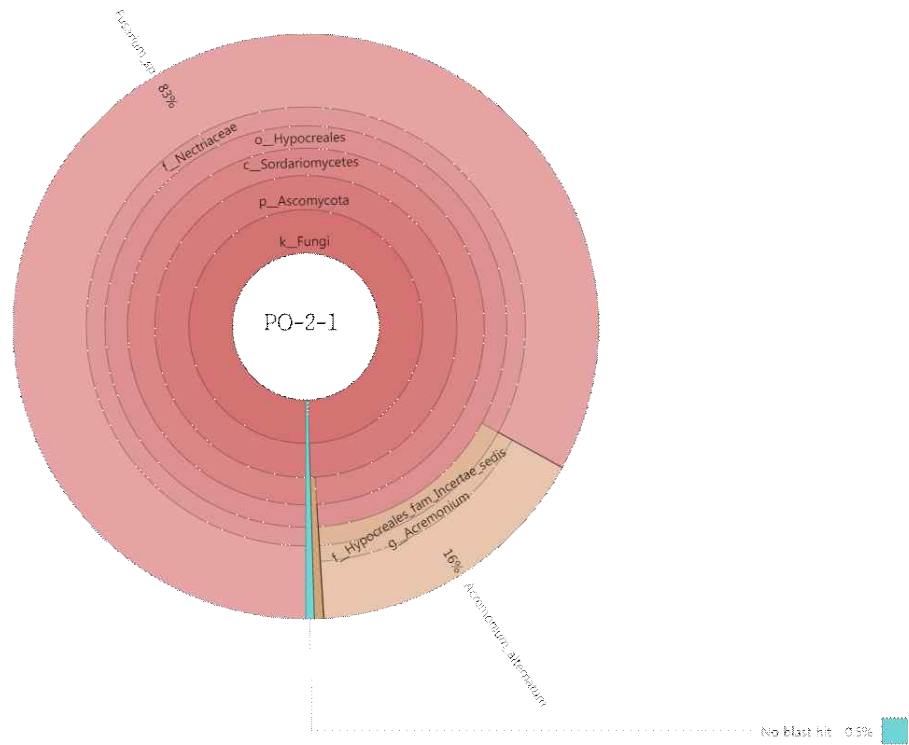


그림 59. 오렌지프로 (O) 파프리카 배꼽부패 시료의 진균 군집 원그래프

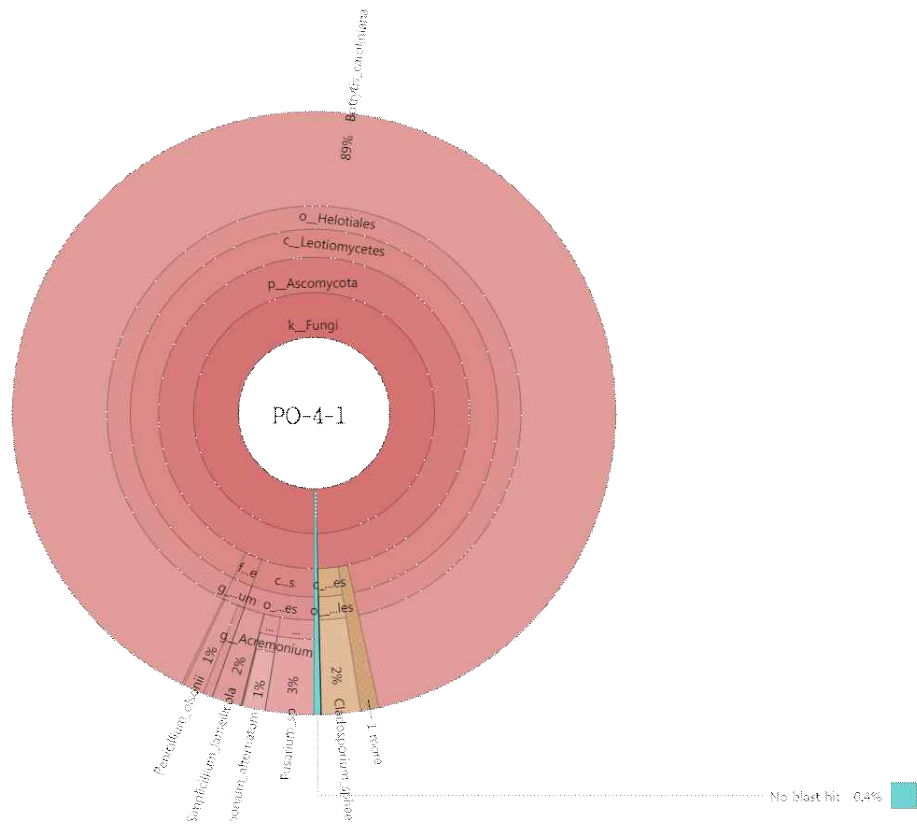


그림 60. 오렌지프로 (O) 파프리카 옆면부패 시료의 진균 군집 원그래프

파프리카 대조군의 메타지노믹스 분석결과, PR-0-1, PO-0-1의 염기서열 (read) 중에는 진균에 align되지 않는 자료들이 상당부분 포함되어있었다. 이를 제외한 진균의 염기서열 자료를 속(genus) 수준에서 분석한 결과, PR-0-1, PO-0-1, PY-0-1의 fungi read 중에서 *Penicillium*, *Fusarium*, *Aureobasidium*에 속하는 진균이 각각 시료에서 우세한 비율을 차지하였다 (그림 61). 노란색 파프리카 대조군인 PY-0-1은 *Aureobasidium* (68.9%), *Penicillium* (17.2%), *Fusarium* (3.6%)이 진균의 대부분을 차지하고 있는 것으로 분석되었다. 이 자료에서 *Aureobasidium*은 종(species) 수준에서 *A. pullulans* (68.9%)에 해당하였으며, *Penicillium* (17.2%)는 *Penicillium spp.* (13.1%), *P. steckii* (3.6%), *P. olsonii* (0.5%)의 종에 해당되었다. 이는 시료로부터 분리한 미생물동정 결과에서 *P. javanicum*으로 확인되었다. 또한 PR-0-1와 PO-0-1에서 각각 *P. steckii* (9.6%), *A. pullulans* (0.2%)의 비율로 존재하는 것으로 분석되었던 진균도 해당 종 (species)이 미생물분리 되었다(그림 62).

파프리카 부패시료에는 *Fusarium*, *Botrytis*, *Acremonium*, *Penicillium*이 모든 시료에서 존재하였다. 오렌지프로(O) 품종의 꼭지부패 시료인 PO-1-1에서는 *Fusarium*이 총 진균 군집 중 97.5% 이상 차지하고 있었으며, 불란테(Y) 품종의 꼭지부패시료 (PY-1-1)에서도 95.0% 이상 차지하는 것으로 확인되었다. 또한 PR-2-1, PO-2-1, PY-2-1에서도 *Fusarium*이 각각 71.0%, 83.0%, 67.7% 정도 차지하여 가장 우세한 진균이었다. 반면에 PR-3-1과 PO-4-1 시료에서는 *Botrytis*이 각각 50.6%, 89.3% 존재함으로써 가장 우세한 진균 속(genus)이었다. 그밖에 PR-1-1 시료에서는 *Fusarium*이 8.7%정도 차지하였으나 특이하게 *Acremonium*, *Glomerella*이 총 진균 군집 중 34% 이상을 차지하는 것으로 확인되었다. PR-3-1 시료에서도 *Gibellulopsis*가 36.7% 정도 차지하였다.

메타지노믹스 결과에서 가장 많은 시료에서 존재하는 것으로 나타난 *Fusarium* 속에 해당하는 종 (species)을 메타지노믹스 결과로는 확인을 할 수 없었다. 이는 *Fusarium*의 ITS 부분이 상당히 유사하여 ITS2 부위의 염기서열을 이용한 메타지노믹스 분석을 통해서 시료내의 *Fusarium* 종을 확인할 수 없었다. 따라서 미생물분리 실험에서 transcription elongation factor (TEF) 1 α 유전자를 바탕으로 하는 추가적인 분자생물학적 분석을 통해 *Fusarium spp.*에 해당하는 종이 *F. proliferatum*, *F. lactis*임을 확인하였다. 또한 PR-3-1과 PO-4-1에 각각 50.6%와 89.3% 존재하는 *Botrytis caroliniana*도 *B. cinerea*와 ITS 부분의 염기서열이 완전히 일치하는 것을 확인하였다. 따라서 heat shock protein 60 (HSP60), RNA polymerase 2 (RBP2), Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) 유전자를 이용한 추가적인 PCR 분석을 통해 PR-3-1과 PO-4-1에서 분석되었던 *B. caroliniana*은 *B. cinerea*인 것으로 확인되었다.

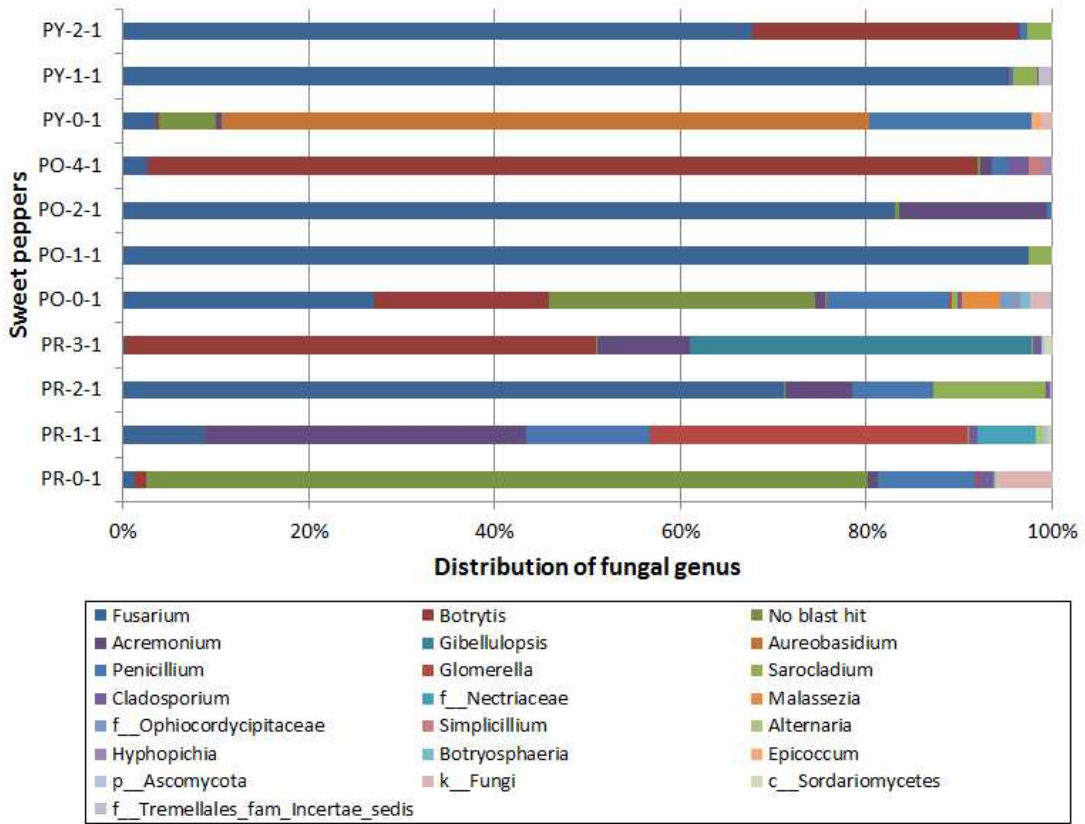


그림 61. 파프리카 부패 시료의 진균 속(genus) 분포도

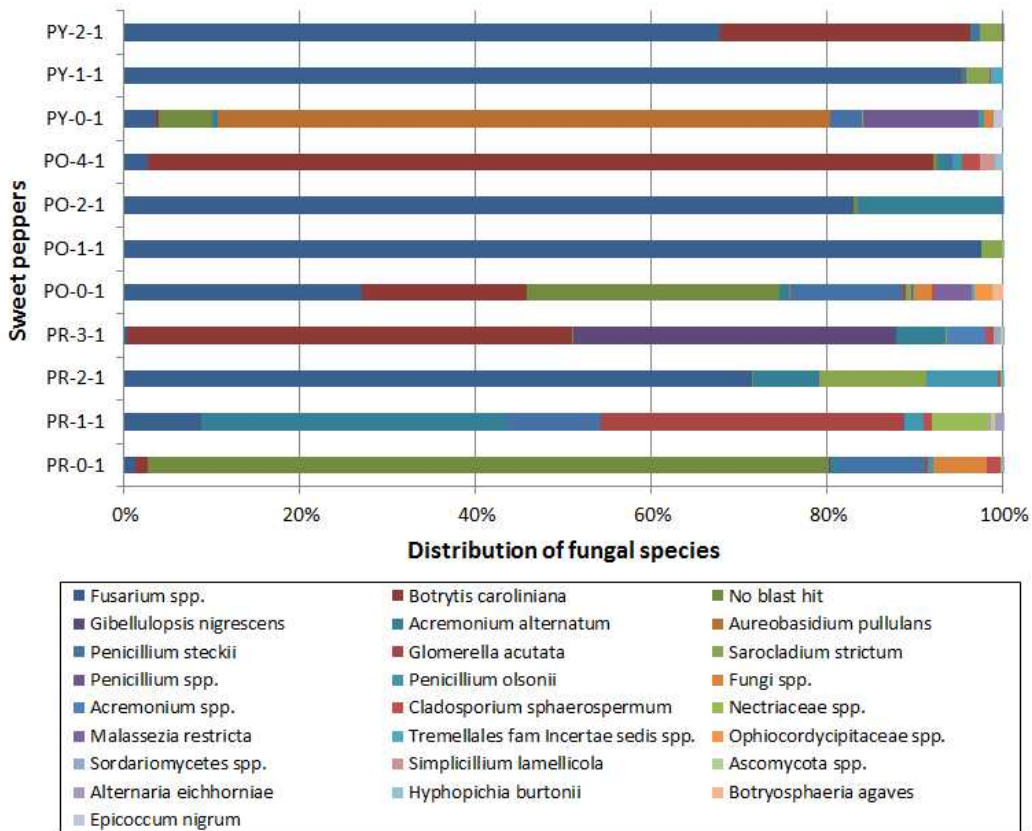


그림 62. 파프리카 부패 시료의 진균 종(species) 분포도

③ 파프리카 품종 및 부패증상별 진균 군집 구성

파프리카시료의 진균 군집 구성을 바탕으로 파프리카시료간의 Unifrac clustering 분석한 결과, 파프리카의 부패 증상이 진균 군집 구성에 영향을 주었으며, 파프리카의 품종은 진균 군집 구성에 영향이 없는 것으로 나타났다 (그림 63). 부패 증상에 따라 *Fusarium* spp.와 *B. caroliniana*의 비율이 큰 차이를 보였다. 꼭지부패 시료인 PO-1-1과 PY-1-1이 *Fusarium* spp.가 우세한 가장 유사한 진균 군집 구성을 보였으며 배꼽부패시료인 PR-2-1, PO-2-1, PY-2-1도 유사한 패턴을 보였다. 반면에 PR-3-1과 PO-4-1은 *B. caroliniana*이 가장 우세한 진균으로 꼭지부패와 배꼽부패와는 다른 진균 군집 분포를 보이고 있다. 이를 통해 파프리카의 부패 증상이 진균 군집 구성과 연관이 있음을 확인하였다.

④ 다양한 DB와 통계분석 방법 적용

차세대 염기서열 분석 기술의 진보로 인한 미생물 유전체 정보의 축적은 시료내의 미생물을 직접 분석하기 위한 접근법인 메타지노믹스의 분석을 가능하게 하였다. 이 연구 방법을 통해 사과와 파프리카의 시료로부터 추출한 진균의 genomic DNA의 ITS 부분을 활용하여 시료 내 미생물의 다양성 및 분포를 분석할 수 있다. 현재 적용된 진균의 DB는 public DB에 등록이 되어 있어 170,000개 이상의 full length ITS sequence를 기반으로 만들어 EzFungi database와 UNITE fungal ITS database 등 다양한 데이터베이스가 개발되어 사용되고 있다. 이를 기반으로 하는 메타지노믹스 분석을 통해 사과의 주요부패원인 진균인 *Alternaria* species와 파프리카의 주요부패원인 진균인 *Fusarium* species와 *Botrytis* species를 동정하였다. 하지만 이 결과에서 발견된 진균은 속 (genus) 수준에서 ITS 부분의 염기서열이 동일하여 메타지노믹스를 통해 종 (species) 수준의 진균을 구별해내기 어려웠다. 이는 사과 분석에서 적용되었던 EzFungi database나 파프리카 분석에 이용되었던 UNITE fungal ITS database의 경우 모두 동일하였다. 하지만 food spoilage를 일으키는 것으로 알려진 많은 진균들의 경우, *Fusarium*과 같이 같은 genus에 속하더라도 species에 따라 식품의 부패속도와 양상, 진균의 형태학적 특징이나 메커니즘이 다를 수도 있다. 따라서 식품의 부패와 관련된 진균을 동정하기 위해 ITS 부분이 아닌 TEF1 α , HSP60, RBP2, G3PDH 유전자 등의 정보를 활용하는 등 추가적인 시퀀싱과 분석이 필요할 것으로 보인다.

본 연구의 메타지노믹스로부터 얻은 reads의 유사도를 근거로 각 그룹을 정의하여 시료 내에 존재하는 총 OTU 및 개체 수에 대한 정보를 통해 alpha-diversity를 추정할 수 있다. 다양성을 나타내는 지수로서 Chao1, ACE, Shnnon, NPS Shannon, JackKnife, Simpson 방법들이 알려져 있는데, 그 중 Chao1 (군집의 풍부함)과 Shannon(군집의 다양성)이 가장 널리 사용되고 있다. Chao1 추정치는 Mark-release-recapture (MRR) statistics에 적용시킨 nonparametric 측정법이다. Chao1은 다음과 같은 계산식으로 추정한다.

$$S_{Chao} = S_{obs} + \frac{n_1(n_1 - 1)}{2(n_2 + 1)}$$

위 식에서 S_{obs} 는 분석을 통해 관찰된 종의 수를 나타내고, n_1 은 한 번 발견된 종 (singleton)의 수를, n_2 는 두 번 발견된 종 (doubletons)의 수를 나타낸다. 따라서 Chao1은 특히 미생물과 같이 값이 부분적으로 낮은 abundance를 나타내는 데 군집의 분석에 유용하다고 알려져 있다. 또한 Shannon 다양성지수 ($H_{Shannon}$)도 부패미생물의 다양성 지수로 고려되었다. 공식은 다음과 같다.

$$H_{Shannon} = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

Shannon은 각 종의 개체수를 총 개체수로 나눈 P_i 를 포함함으로써 종의 상대수도까지 고려하여 좀 더 정확히 종 다양성을 지수화 할 수 있다. Simpson 다양성 지수에 비해서 계산은 복잡하지만 좀더 정확한 다양성 지수로 쓰이고 있다. 따라서 Chao1과 Shannon 다양성지수를 사과, 파프리카 등의 자연부패에 관여하는 미생물군집을 분석에 적용하여 분석하였다.

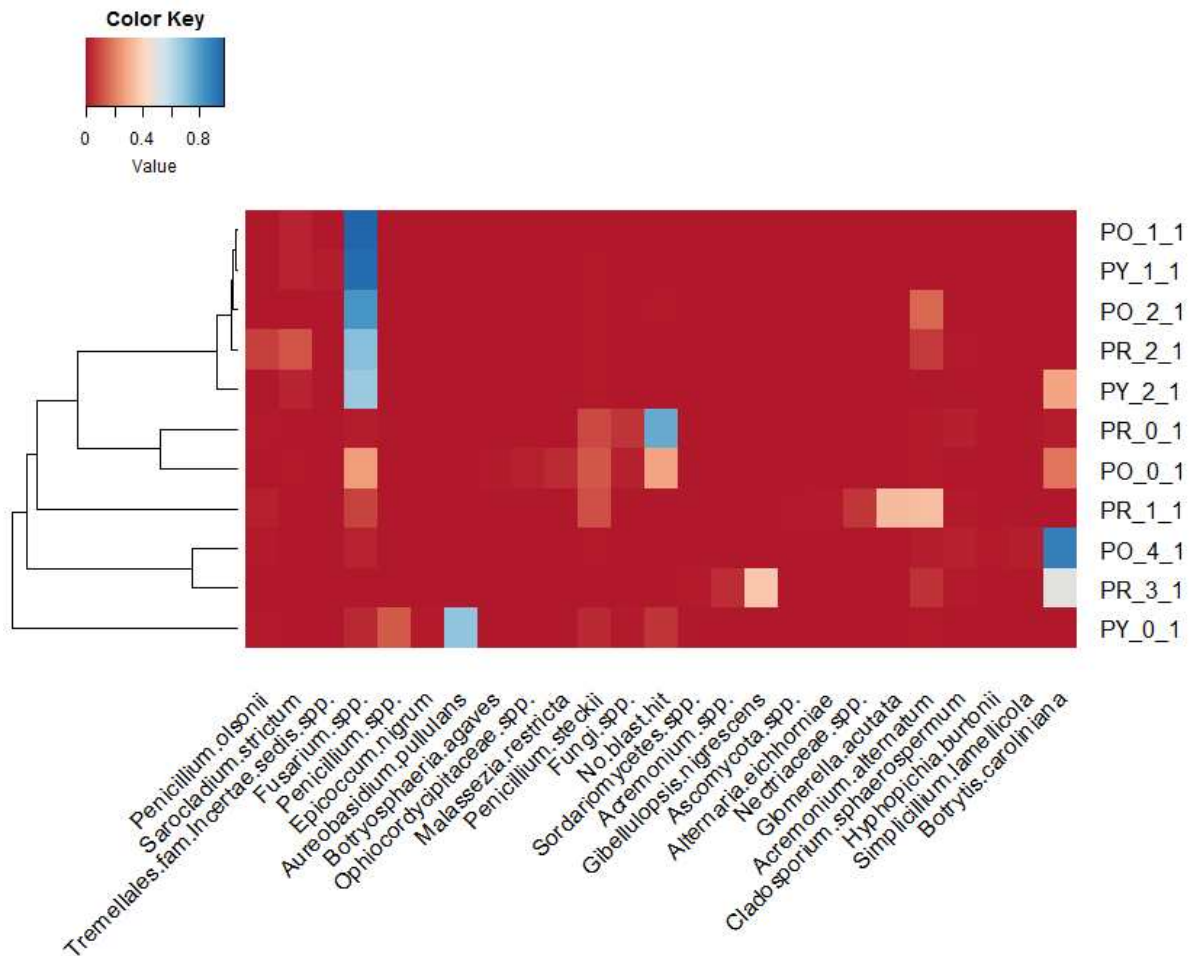


그림 63. 진균 군집 구성 기반의 파프리카 시료 간 Unifrac clustering

⑤ 파프리카품종 간 세균 군집 분석 결과

메타지노믹스 분석에 의해서 얻은 16S rDNA의 염기서열자료를 바탕으로 짧은 염기서열이나 chimera 염기서열 등을 제거하는 진균의 메타지노믹스와 같이 quality control을 실시하였다. 이를 통과한 염기서열자료 중, 각 시료 당 87,608개의 염기서열자료를 갖도록 normalize하였다. 이를 세균의 군집분석을 위해서 Greengenes 16S rRNA database를 align하였다. 파프리카 시료의 세균 군집을 생물분류 단계별로 다중원그래프로 나타내었다 (그림 64 ~ 74). PR-0-1과 PO-0-1과 같이 대조군 시료에서 세균의 구성이 단순한 경우도 있었으며, PO-1-1, PY-1-1, PY-2-1 등과 같이 Pseudomonas와 같은 세균이 전체 세균 군집의 90% 이상을 차지하는 경우도 있었다. 이를 바탕으로 파프리카 세균 군집의 결과의 OTU 및 풍부도 지수 (Chao1)와 다양성 지수 (Shannon)를 분석한 결과, 대조군에 비해서 파프리카부패시료에서 Shannon은 높은 것으로 분석되었다 (표 39). 이는 파프리카 부패 진행되면서 다양성이 현저히 감소되는 진균의 군집 분석 결과와 일치하지 않는다. 또한 풍부도 지수인 Chao1도 대조군에 비해서 파프리카 부패시료에서 높은 것으로 관찰되었다.

표 39. 파프리카 부패시료의 세균 군집 다양성 지표

부패증상	시료	OTUs	Chao1	Shannon
대조군	PR-0-1	562	642.20	2.40
	PO-0-1	721	1040.14	2.54
	PY-0-1	423	537.51	3.37
꼭지부패	PR-1-1	1091	1068.25	4.27
	PO-1-1	380	606.90	2.00
	PY-1-1	388	719.07	1.93
배꼽부패	PR-2-1	678	911.82	3.47
	PO-2-1	1120	1535.11	4.97
	PY-2-1	588	911.30	2.39
옆면부패	PR-3-1	649	1023.11	4.72
	PO-4-1	1023	1132.53	4.19

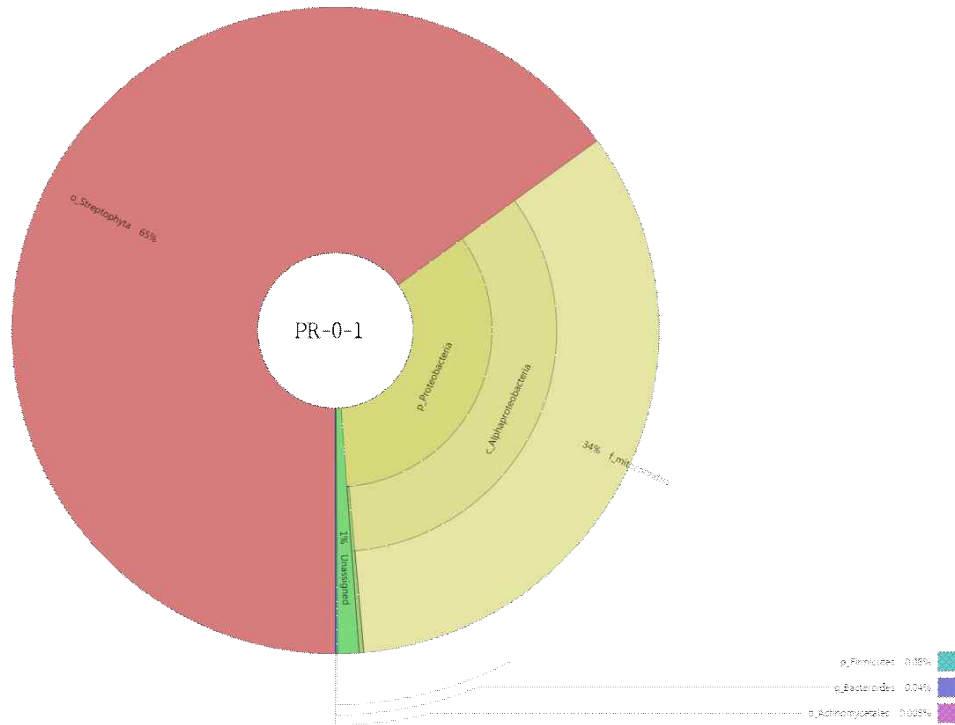


그림 64. 시로코(R) 파프리카 대조군의 세균 군집 원그래프

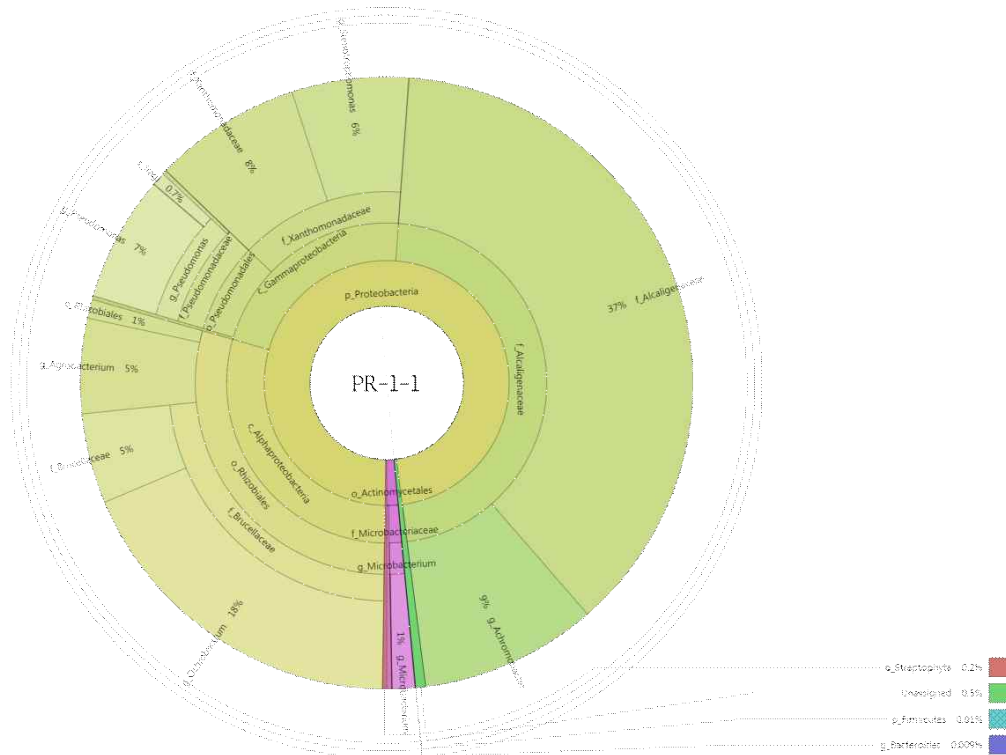


그림 65 시로코(R) 파프리카 쪽지부패 시료의 세균 군집 원그래프

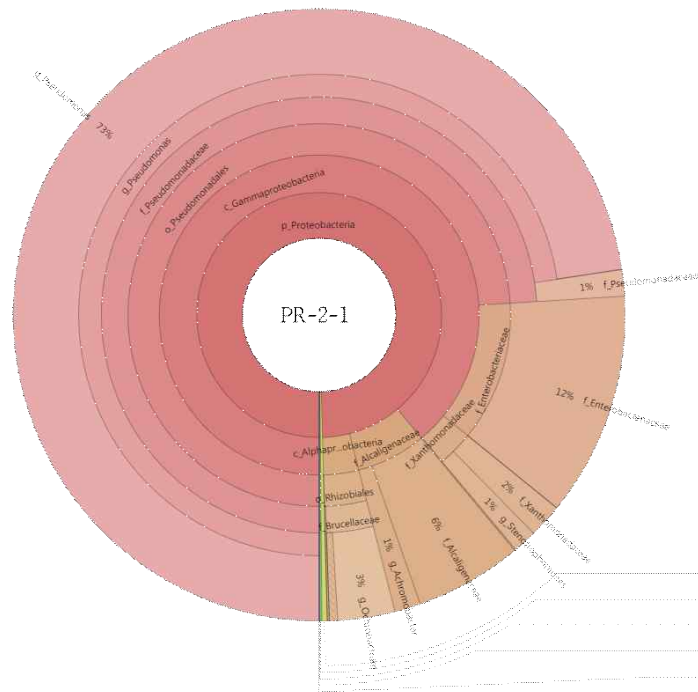


그림 66. 시로코(R) 파프리카 배꼽부패 시료의 세균 군집 원그래프

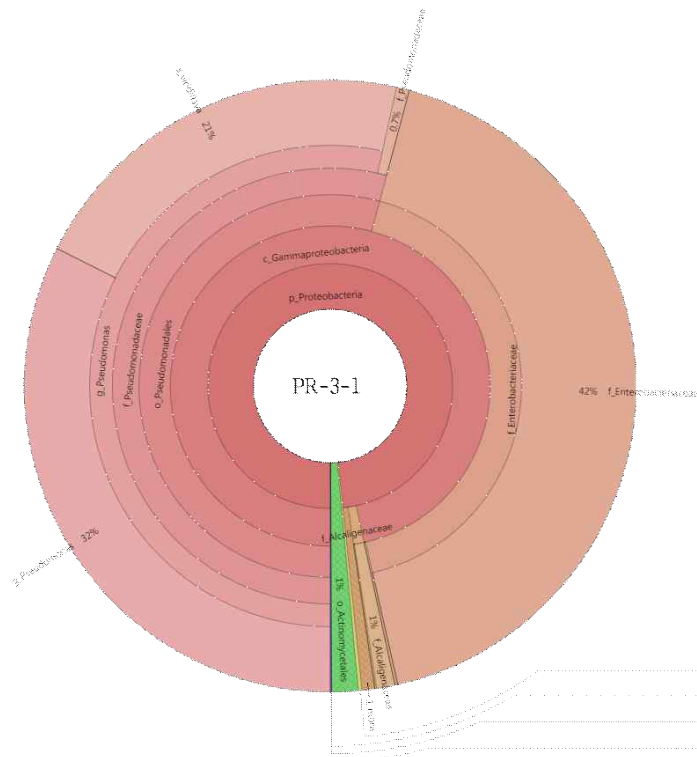


그림 67 시로코(R) 파프리카 옆면부패 시료의 세균 군집 원그래프

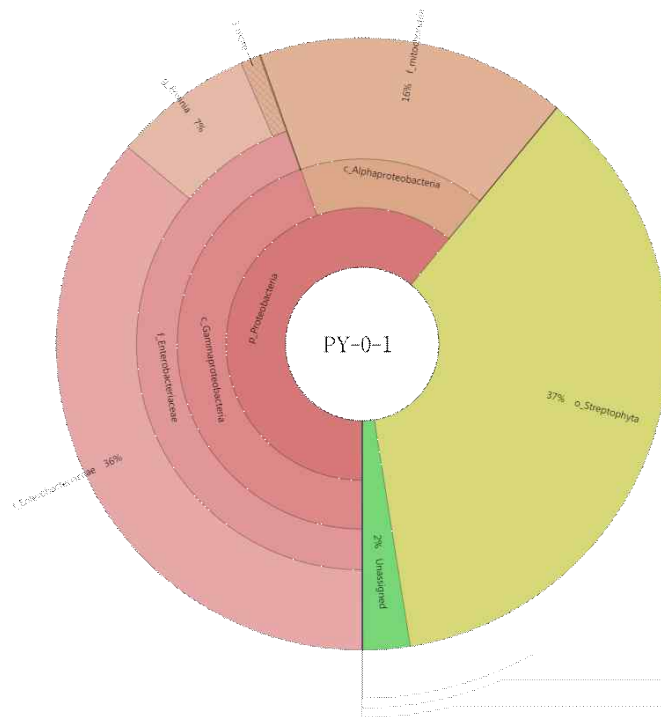


그림 68. 볼란테 (Y) 파프리카 대조군 시료의 세균 군집 원그래프

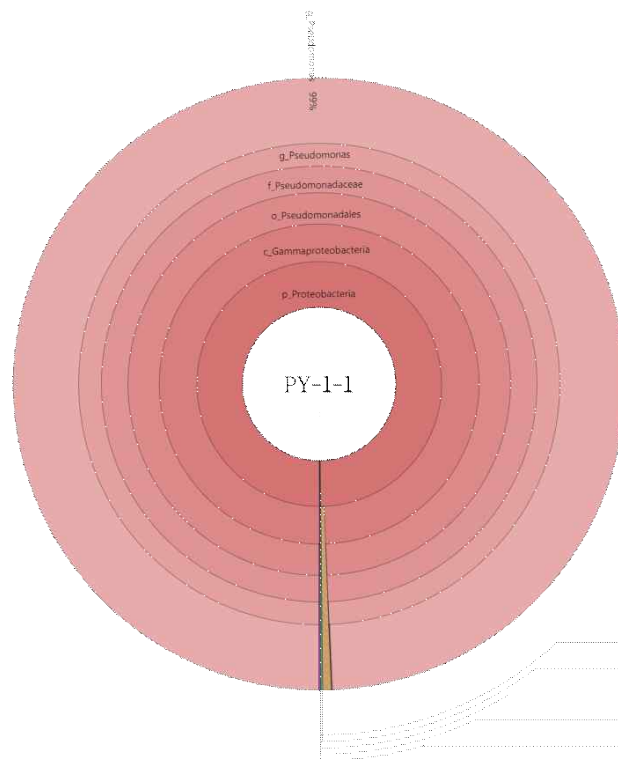


그림 69. 볼란테 (Y) 파프리카 꼭지부패 시료의 세균 군집 원그래프

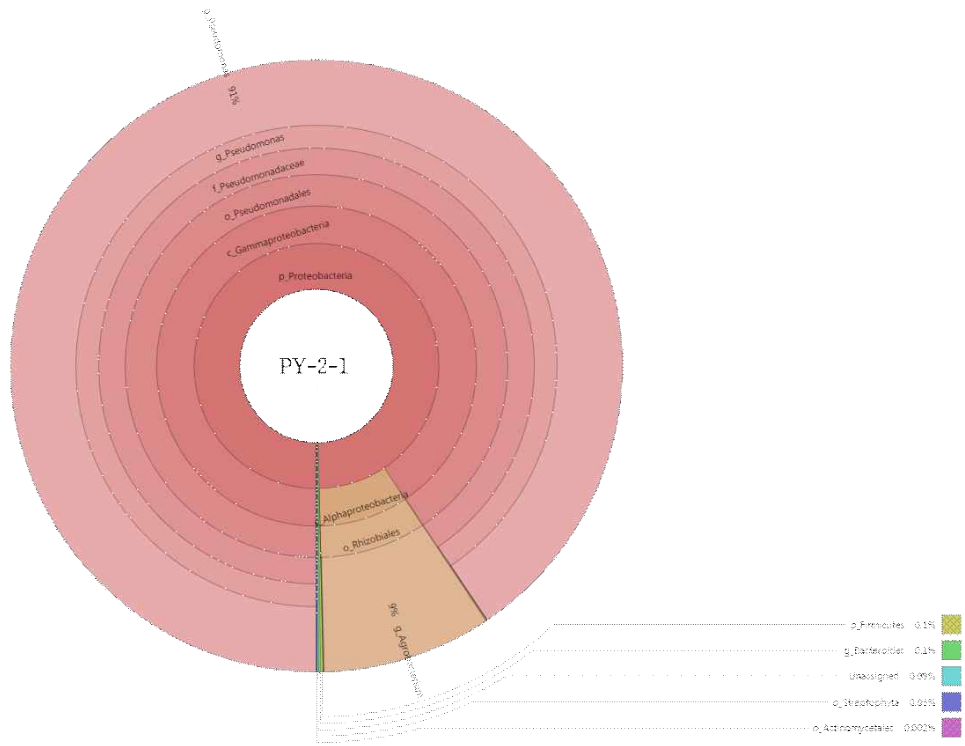


그림 70. 볼란테 (Y) 파프리카 배꼽부패 시료의 세균 군집 원그래프

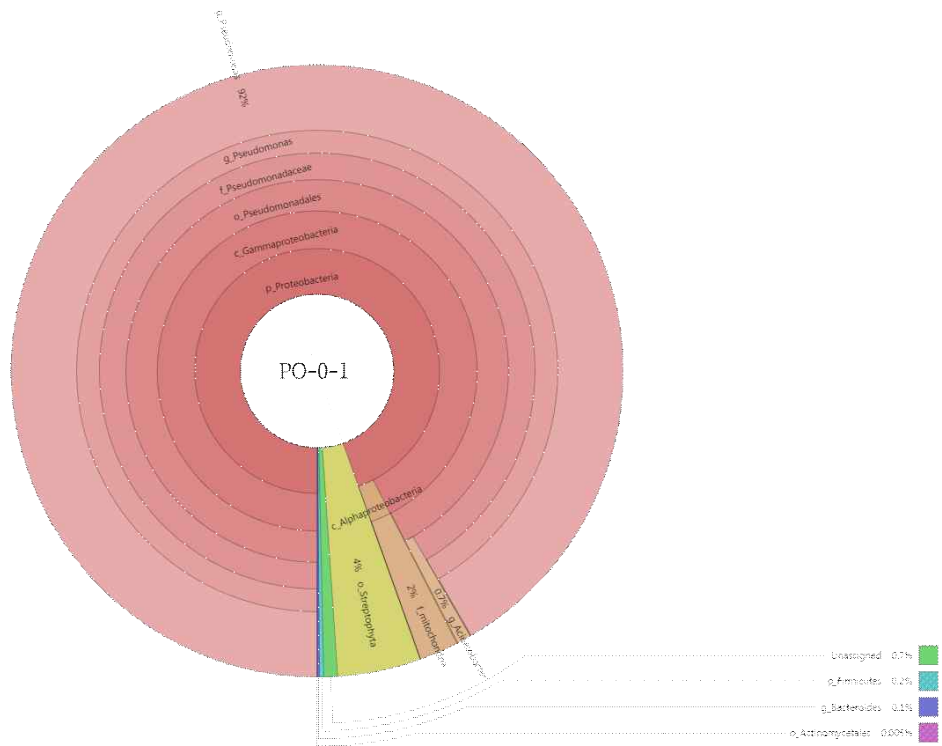


그림 71 오렌지프로 (O) 파프리카 대조군 시료의 세균 군집 원그래프

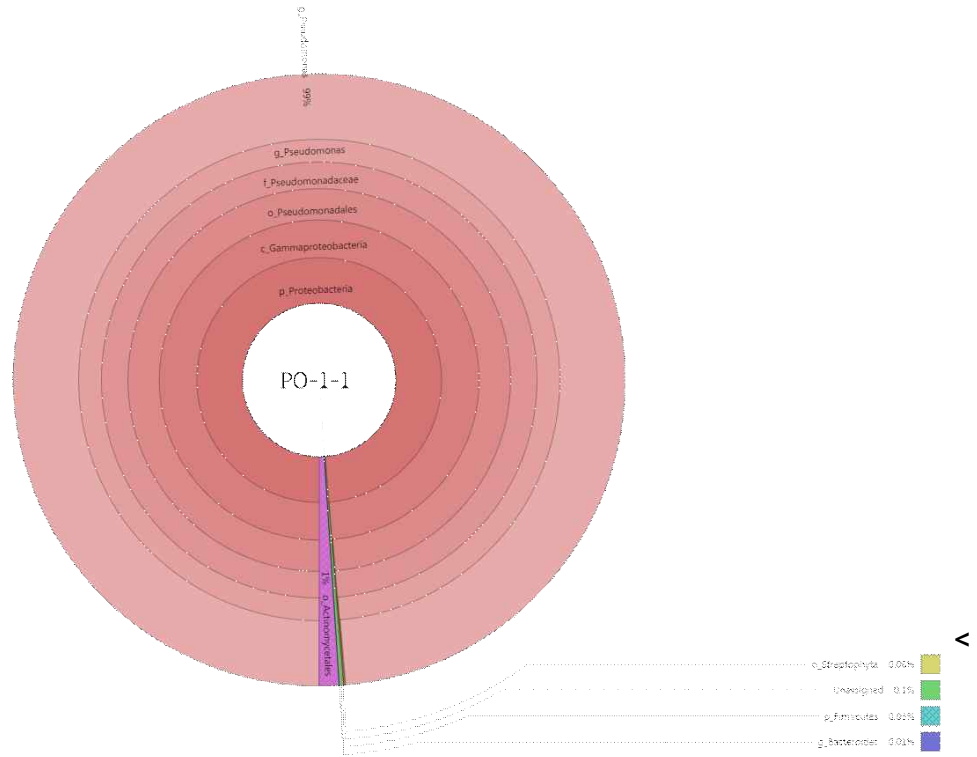


그림 72. 오렌지프로 (O) 파프리카 꼭지부패 시료의 세균 군집 원그래프

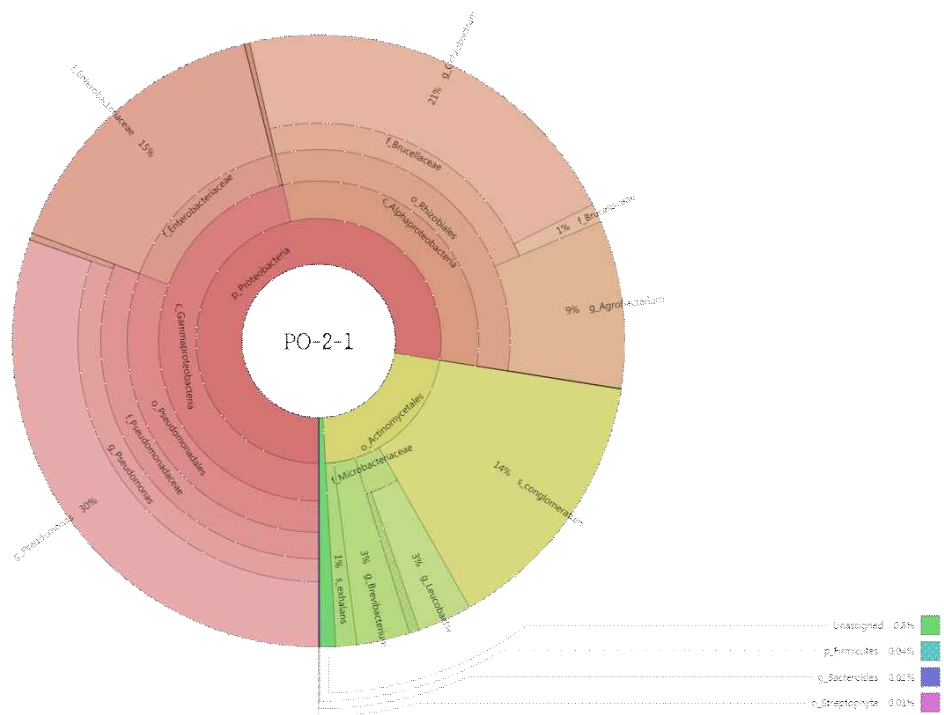


그림 73. 오렌지프로 (O) 파프리카 배꼽부패 시료의 세균 군집 원그래프

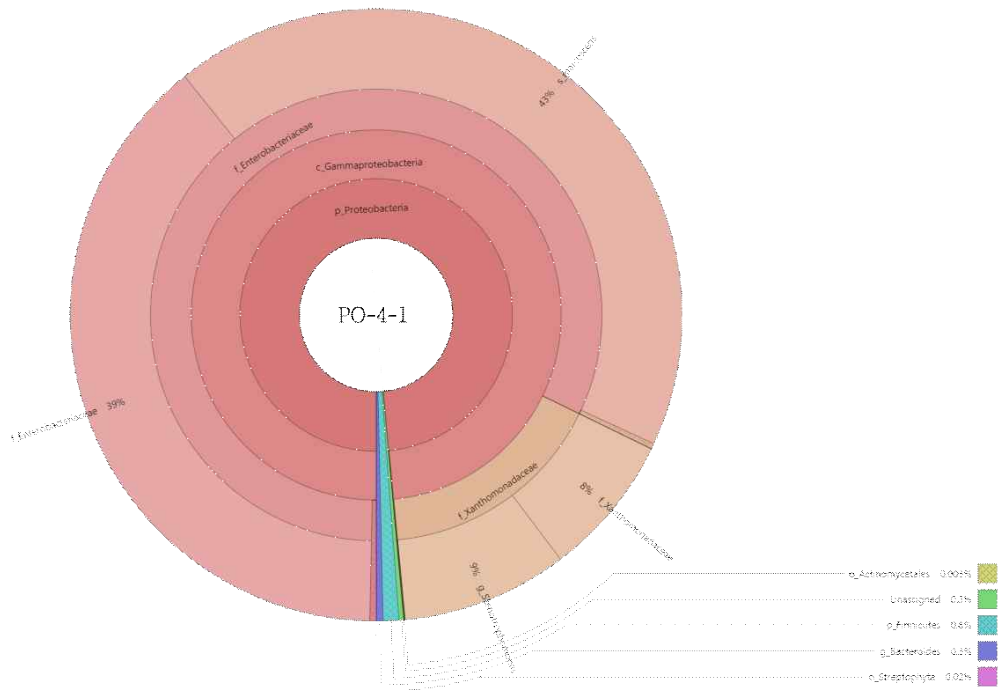


그림 74. 오렌지프로 (O) 파프리카 옆면부패 시료의 세균 군집 원그래프

파프리카시료의 세균 메타지노믹스 분석결과, 총 12개의 시료 중 7개 시료 (PR-2-1, PR-3-1, PO-0-1, PO-1-1, PO-2-1, PY-0-1, PY-1-1)에서 *Pseudomonas* 속의 비율이 가장 높은 부분을 차지하였으며, 7개의 시료 모두 *Azomonas*가 공통으로 검출되었다 (그림 75). PR-0-1, PY-2-1에서는 *Streptophyta*이, PO-4-1에서는 *Serratia*이 세균 군집 분석 결과 중에서 가장 높은 비율로 존재하였다. PR-1-1는 *Achromobacter*와 *Brucella*가 각각 38.6%, 18.5%로 존재하는 것을 확인하였다. 오렌지프로 (O) 품종의 배꼽부패시료인 PO-2-1은 부패 시료내에 매우 다양한 종류의 세균이 존재하고 있었다.

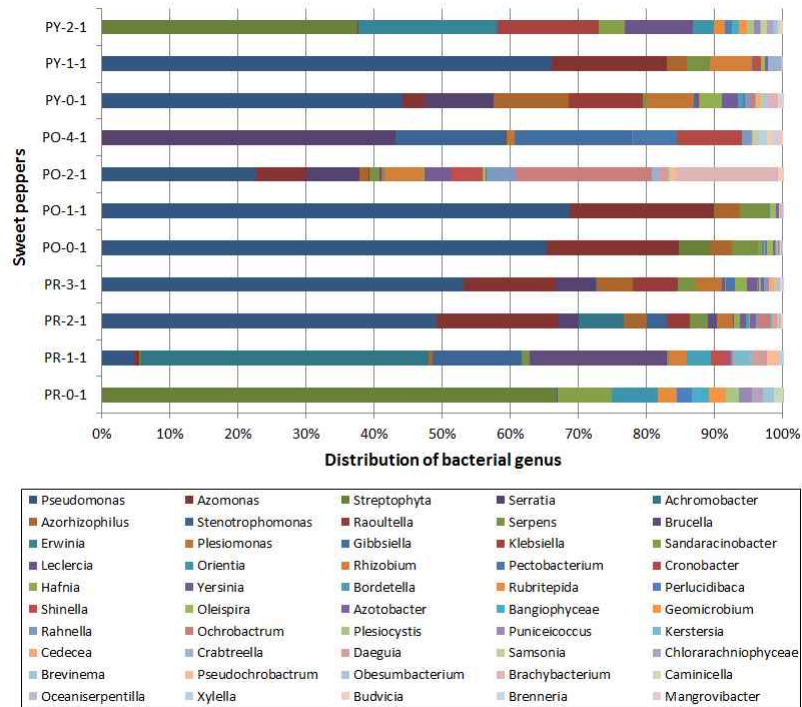


그림 75. 파프리카 부패 시료의 세균 속(genus) 분포도

⑥ 파프리카 품종 및 부패증상 별 세균 군집 분석 결과

파프리카 부패시료의 세균 군집 구성을 바탕으로 파프리카 시료간의 다양성 분석한 결과, 주로 시료에 존재하는 *Pseudomonas*, *Azomonas*와 *Streptophyta*의 비율이 시료간의 다양성에 영향을 주는 경향을 나타내었다. 하지만 이는 *Fusarium* spp.와 *Botrytis caroliniana*의 비율이 파프리카의 부패 증상에 연관되어 진균의 결과와는 달리, 파프리카 부패시료의 세균 군집 구성은 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다 (그림 76).

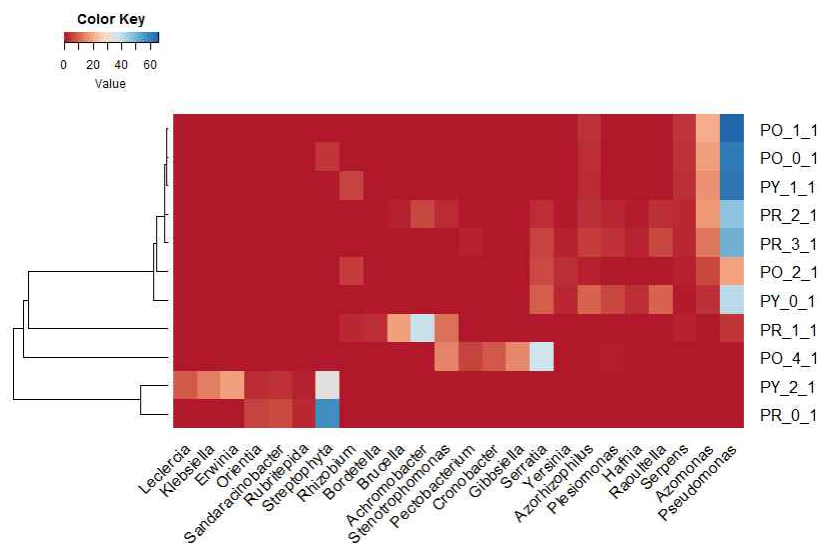


그림 76. 세균 군집 구성을 기반으로 한 파프리카 시료간의 Unifrac clustering

(다) 파프리카 부패시료의 미생물군집 프로파일링을 위한 메타지놈 정보 해독

① 딸기 부패시료의 메타지놈 해독 및 데이터 분석 결과 개요

진균 메타지놈 분석을 위한 ITS 염기서열분석결과 10개의 라이브러리에서 총 1,471,234 reads를 확보하였는데, 이중 딸기(식물) 유래 reads를 제거한 것은 1,201,421개 (81.7%)이었으며, 장희 품종의 대조군 (JC)에서 특히 딸기(식물)의 reads 비율이 높게 나타났다 (70.9%). 이것은 대조군 즉, 건전한 딸기에 상대적으로 미생물이 적게 존재하여 시퀀싱을 해도 진균 ITS지역의 증폭이 적게 된 것 때문으로 추측된다.

세균군집의 메타지놈 분석을 위한 16S rRNA 염기서열 분석결과도 진균의 ITS 증폭 결과와 비슷하게 10개의 라이브러리에서 총 1,485,324 reads를 얻었는데, 숙주 식물(딸기)의 엽록체 (chloroplast)와 미토콘드리아의 16S rRNA reads를 필터링하면 234,580 reads (15.8%) 밖에 남지 않았다. 이 결과 또한 세균이 상대적으로 적게 감염된 결과로 보인다. 동일한 genomic DNA를 이용한 분석에서 ITS와 16s rRNA결과가 전혀 다르게 분석된 것은 딸기의 부패 과정에서 세균보다 진균이 앞도적으로 많이 증식되어 나타나는 결과로 보인다.

표 40. 딸기 부패시료의 ITS 메타지놈 염기서열 분석결과

ITS	raw_reads	host_filtered	%filtered	OTU_fungi	%OTU_fungi	#OTU
JC	152,191	44,294	29.1%	40,163	90.7%	37
J1	152,071	136,469	89.7%	127,435	93.4%	29
J2	140,713	131,650	93.6%	121,786	92.5%	24
J3	143,174	125,518	87.7%	118,281	94.2%	27
J4	155,993	135,537	86.9%	126,773	93.5%	27
J5	155,458	142,895	91.9%	133,253	93.3%	24
SC	130,189	96,821	74.4%	85,805	88.6%	41
S1	153,861	129,007	83.8%	118,766	92.1%	31
S2	146,174	129,702	88.7%	121,846	93.9%	30
S3	141,410	129,528	91.6%	110,766	85.5%	31
total	1,471,234	1,201,421	81.7%	1,104,874	92.0%	84

표 41. 딸기 부패시료의 16S rRNA 메타지놈 염기서열 분석결과

16S rRNA	raw_reads	bacteria	%bacteria	OTU_tot	OTU_bact	%OTU_bact	#OTU
JC	156,431	4,011	2.6%	133,781	416	10.4%	83
J1	155,379	23,778	15.3%	126,387	14,086	59.2%	105
J2	149,478	67,319	45.0%	121,901	49,579	73.6%	110
J3	149,013	56,774	38.1%	101,240	21,066	37.1%	87
J4	137,267	49,301	35.9%	113,011	38,145	77.4%	68
J5	157,273	11,748	7.5%	130,846	5,902	50.2%	143
SC	137,637	6,542	4.8%	116,611	2,631	40.2%	95
S1	139,652	4,732	3.4%	116,474	363	7.7%	48
S2	154,084	5,624	3.6%	129,321	831	14.8%	69
S3	149,110	4,751	3.2%	126,517	669	14.1%	88
total	1,485,324	234,580	15.8%	1,216,089	133,688	9.0%	305

표 42. 딸기 부패시료의 ITS 메타지놈 염기서열 통계지표

ITS	#OTU	Chao1	se.chao1	ACE	se.ACE	Shannon	Simpson	InvSimpson	Fisher
JC	37	37.000	0.000	37.000	3.031	1.189	0.667	3.004	4.017
J1	29	32.750	4.200	33.333	2.423	0.401	0.141	1.165	2.694
J2	24	24.333	0.922	25.300	2.397	0.911	0.429	1.752	2.197
J3	27	37.500	10.521	39.440	2.571	0.364	0.128	1.147	2.509
J4	27	27.333	0.922	27.877	2.623	0.233	0.081	1.089	2.491
J5	24	24.000	0.070	24.342	2.418	0.111	0.033	1.035	2.178
SC	41	41.000	0.099	41.347	3.193	1.558	0.732	3.726	4.123
S1	31	33.000	2.582	34.706	2.923	0.947	0.500	1.999	2.921
S2	30	30.375	0.826	31.364	2.664	0.477	0.222	1.285	2.810
S3	31	31.375	0.826	32.681	2.739	0.418	0.179	1.218	2.942

표 43. 딸기 부패시료의 16S rRNA 메타지놈 염기서열 통계지표

16S rRNA	#OTU	Chao1	se.chao1	ACE	se.ACE	Shannon	Simpson	InvSimpson	Fisher
JC	83	96.571	8.035	95.042	4.208	0.652	0.421	1.728	8.599
J1	105	115.000	6.004	113.827	4.376	0.994	0.543	2.186	11.259
J2	110	121.500	6.307	124.767	5.042	1.177	0.638	2.760	11.913
J3	87	99.214	7.434	97.633	4.371	1.207	0.596	2.472	9.367
J4	68	79.176	6.662	83.951	4.546	1.113	0.644	2.812	7.020
J5	143	148.200	3.988	147.668	5.271	0.883	0.465	1.869	15.857
SC	95	97.813	2.607	99.322	4.628	0.774	0.436	1.772	10.163
S1	48	64.500	12.894	57.456	3.698	0.713	0.479	1.921	4.749
S2	69	80.400	6.954	85.078	4.559	0.702	0.452	1.826	7.026
S3	88	90.619	2.383	93.666	3.884	0.679	0.428	1.749	9.239

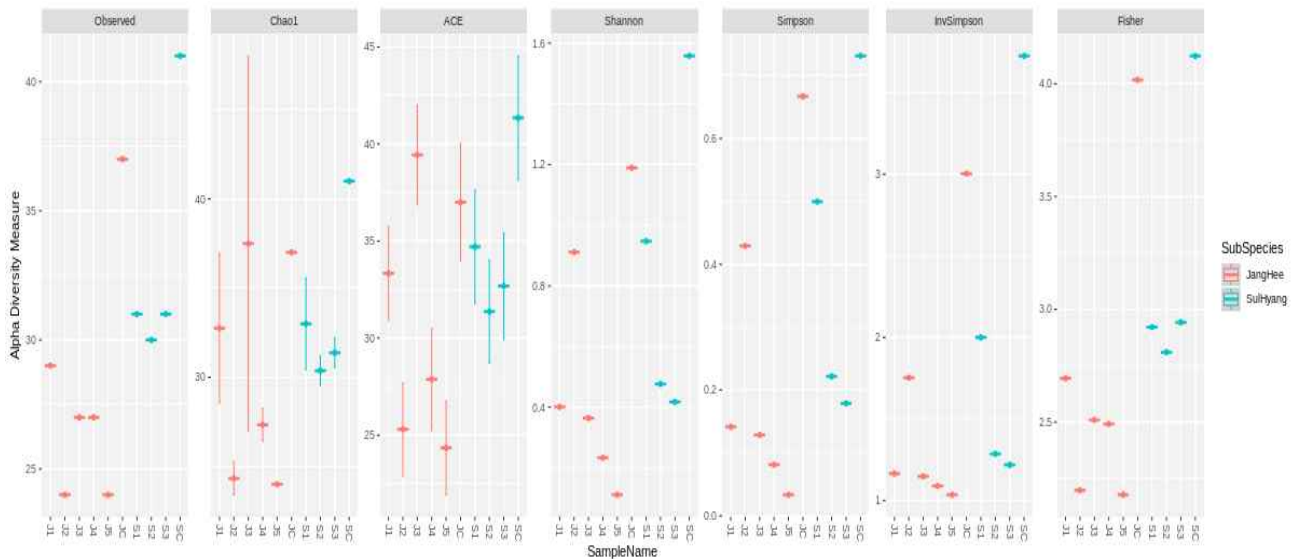


그림 77. 딸기 부패시료의 ITS 메타지놈 통계지표

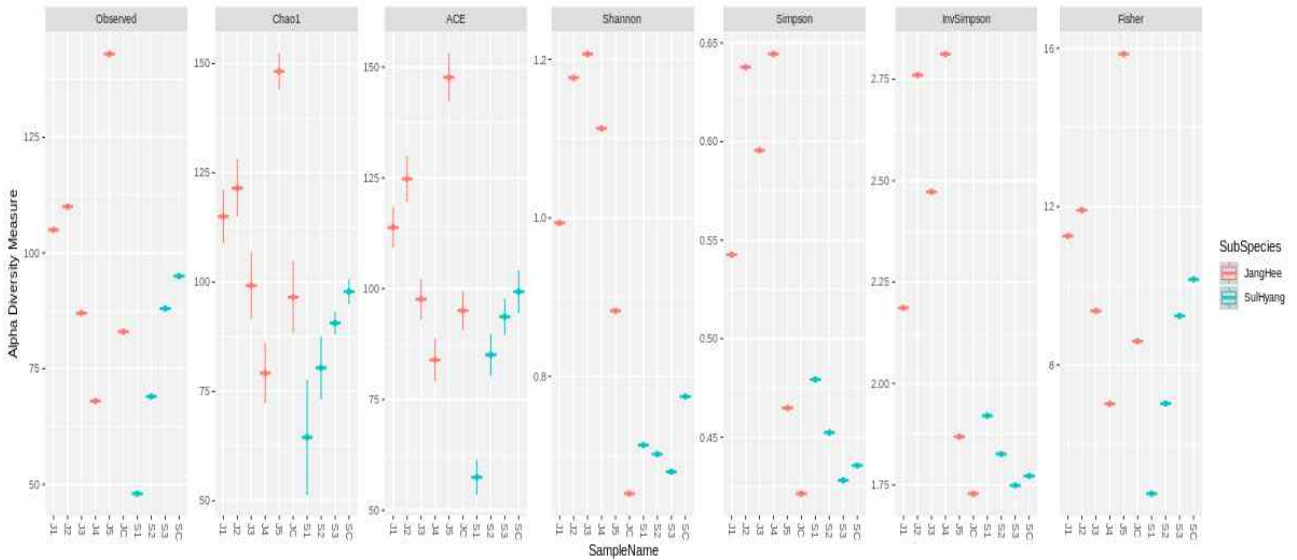


그림 78. 딸기 부패시료의 16S rRNA 메타지놈 통계지표

ITS 메타지놈 염기서열로 얻어진 OTU수는 모두 84개이고 여기에서는 딸기(식물) DNA에서 유래된 OTU는 발견되지 않았으며, 식물 DNA를 filtering한 reads 중 85~94%가 OTU에 맵핑되었는데, 이것은 부패시료에서 얻어진 DNA 중 진균에서 유래된 것이 많았고 진균의 다양성이 매우 낮았기 때문에 나타나는 현상으로 보인다. 또한 부패시료들의 다양성지수 (Shannon)가 대조군보다 적게 나타나는데, 이것은 부패가 진행될수록 진균의 다양성이 감소함을 의미한다.

16S rRNA 메타지놈 염기서열에서 얻어진 OTU수는 모두 305개인데, 여기에는 숙주의 엽록체 (chloroplast)와 미토콘드리아 genome에서 유래된 OTU에 맵핑된 reads가 절대다수를 차지한다. 이것은 부패시료에서 얻어진 DNA 중 세균의 비율이 낮기때문으로 보이며, 특히, 장희 품종의 부패시료들에서만 유의미한 비율의 세균유래 OTU를 얻을 수 있었는데, 이는 장희의 부패시료에서만 세균이 다량 존재함을 의미한다.

NGS로 얻어진 raw reads들이 약 150,000개로 일정하였으며, 대조구보다 부패한 시료에서 진균 ITS와 세균 16S rRNA의 reads수가 높게 나온 것은 건전한 시료보다 부패시료에서 미생물군집이 월등히 높다는 결과이다. 또한 ITS reads의 대부분이 진균 유래인 반면 16S rRNA reads 중에서는 일부 부패시료에서만 ITS 대비 낮은 비율의 세균유래 reads들이 얻어진 것은 균집 중 세균보다 진균의 비율이 월등히 높은 것으로 예측되므로 reads 분석결과가 각 군집의 비율을 직접적으로 나타내는 것으로 보아 시료들을 normalize하지 않고 직접 비교분석하였다.

② 딸기 부패시료의 진균 균집 분석 결과

표 44. 딸기 부패시료 ITS 메타지놈 분석에서 확보된 상위 10개 속 (genus) 분포표

속 (genus)	JC	J1	J2	J3	J4	J5	SC	S1	S2	S3
<i>Botrytis</i>	10,607	118,046	89,475	110,409	121,524	131,085	1,178	79,807	106,944	101,098
<i>Cladosporium</i>	16,184	3,878	2,442	2,614	2,937	691	35,363	22,251	10,628	7,984
<i>Metschnikowia</i>	12,762	1,753	342	399	1,253	1,004	18,277	13,898	3,485	852
<i>Penicillium</i>	48	1,050	20,989	2,642	155	65	53	17	4	72
<i>Unknwn_fungus</i>	80	2	3	1	-	-	18,022	69	16	12
<i>Papiliotrema</i>	155	475	551	347	488	272	5,408	2,155	406	327
<i>Filobasidium</i>	62	36	-	-	9	11	6,051	217	23	22
<i>o_Cystofilobasidiales</i>	-	265	3,990	315	158	34	-	-	-	-
<i>Cystofilobasidium</i>	-	491	2,123	828	67	35	2	-	1	1
<i>Aureobasidium</i>	-	1,109	1,648	479	73	20	4	-	128	3
top10_total	39,898	127,105	121,563	118,034	126,664	133,217	84,358	118,414	121,635	110,371
OTU_total	40,163	127,435	121,786	118,281	126,773	133,253	85,805	118,766	121,846	110,766
%top10	99.34%	99.74%	99.82%	99.79%	99.91%	99.97%	98.31%	99.70%	99.83%	99.64%

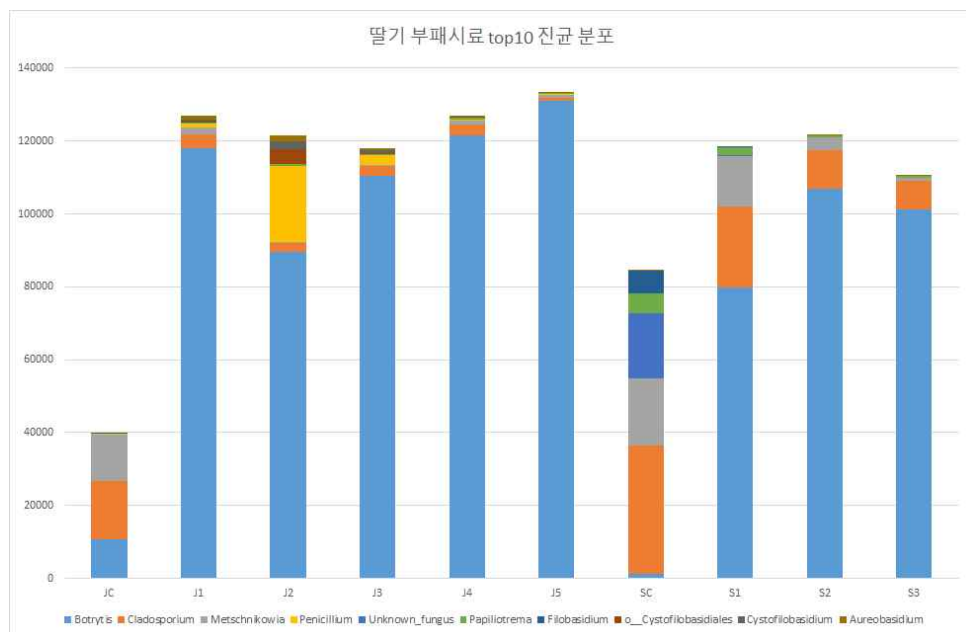


그림 79. 딸기 부패시료의 상위 10위 진균 분포도

ITS 메타지놈 OTU 분석에서 얻어진 계통도를 reads 순으로 정리해보면 표 44와 같으며 10개 속의 균주가 99%이상 절대다수를 차지하였다. 10개 속에 속한 균주들은 대체적으로 하나의 종이 절대다수를 차지하는데, 이는 ITS 염기서열상으로는 지금까지 알려진 종들을 구분할 수 없는 경우가 많아서인 것으로 보인다. *Botrytis*속 균주는 *B. inerea*, *Cladosporium* 속 균주는 *C. cladosporioides*, *Penicillium*속 균주는 *P. brevicompactum*, *Metschnikowia*속 균주는 *M. zobellii*가 절대 다수를 차지했다. 또한 2차로 수집한 딸기 부패시료들에서 분리된 우점종 진균도 유사한 종을 분류하면 아래 표 45와 같은데, 메타지놈 분석결과와 2차에 분리한 진균의 CFU 비율은 서로 상이하다. 특히, 메타지놈분석에서는 부패시료에서 *Botrytis*속 균주의 비율이 매우 높은 반면, *Cladosporium*속 균주는 2차 분리에 비해 비율이 낮았다. 부패한 설향 시료 (S1,S2,S3)에서 다량 검출된 진균들은 2차 분리실험 결과와 달리, 장희와 설향의 대조구에서도 상당한 비율로 검출되었다. *P. brevicompactum*는 J2에서 다량 발견된 결과가 2차 분리결과와 일치한다. 이렇듯 균주들 간의 비율이 2차분리와 다른 것은 균주들간의 증식속도의 차이로 인해 2차분리과정에서 *Cladosporium*속 균주가 다른 균주에 비해서 훨씬 빨리 증식되어 나타난 현상으로 보인다. 또한 부패시료 라이브러리들을 비교해보면 대체적으로 비슷하긴 하지만, 전혀 다른 패턴을 보이는 시료들도 있음을 알수 있었다.

표 45. 딸기 2차 시료로부터 분리된 3대 우점종 진균 목록

	JC	J1	J2	J3	J4	J5	SC	S1	S2	S3
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2.4	33.6	20	32	15.2	24	6.4	504	548	876
<i>Botrytis cinerea</i>		2.4	48	36	12	88		32	40	96
<i>Penicillium brevicompactum</i>		1.6	240	24	2			24	48	44

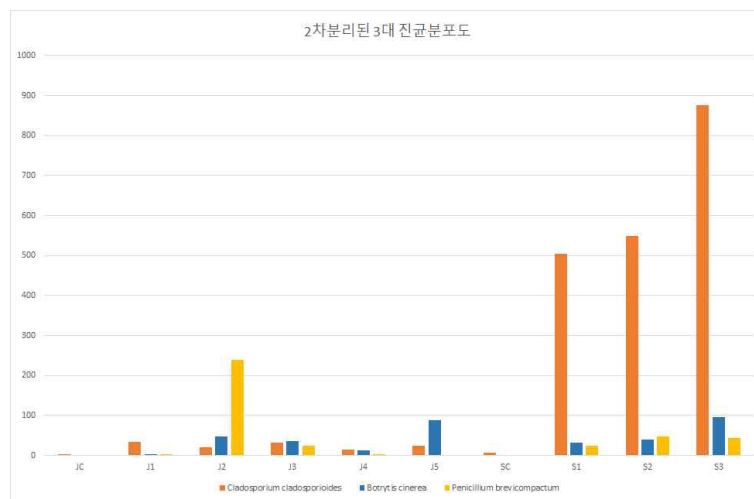


그림 80. 딸기 부패 시료 2차 분리결과

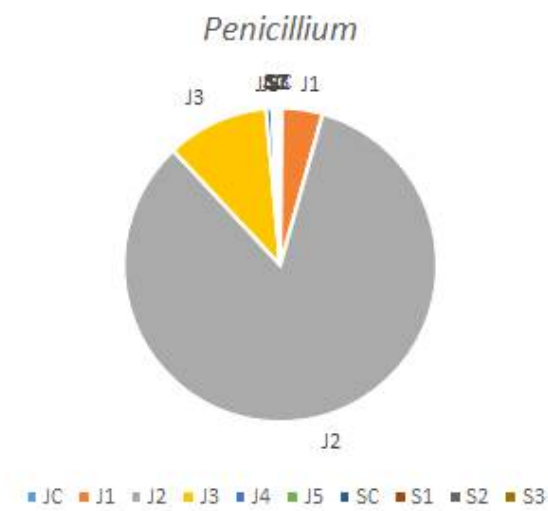
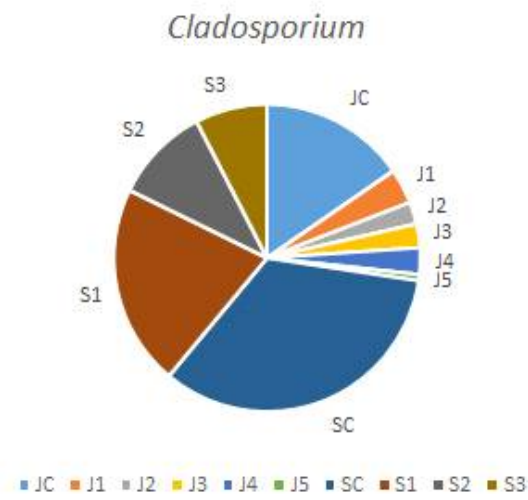
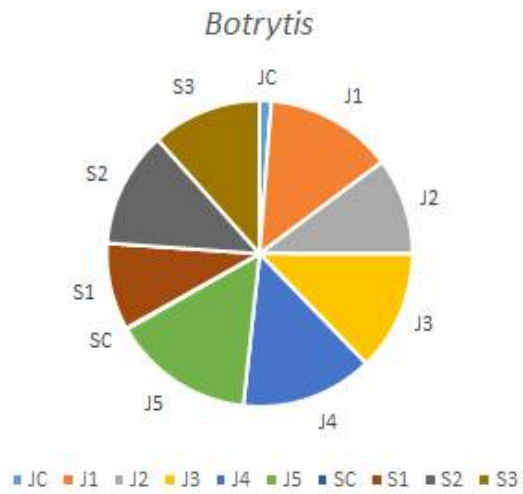
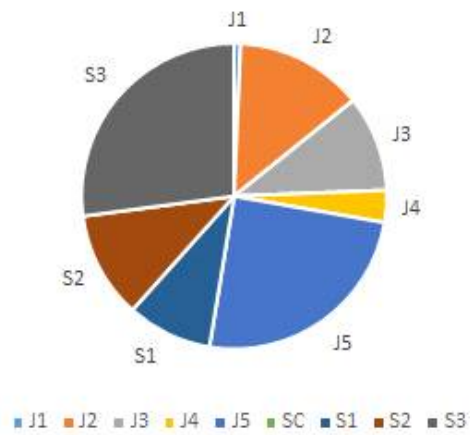
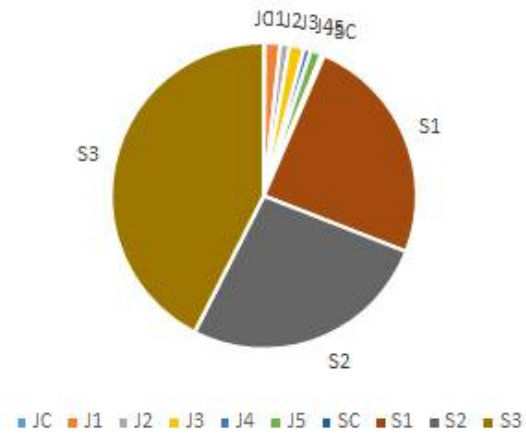


그림 81. 딸기 부패시료의 메타지놈 분석을 통한 3대 진균 속 (genus)의 상대분포도

Botrytis cinerea



Cladosporium cladosporioides



Penicillium brevicompactum

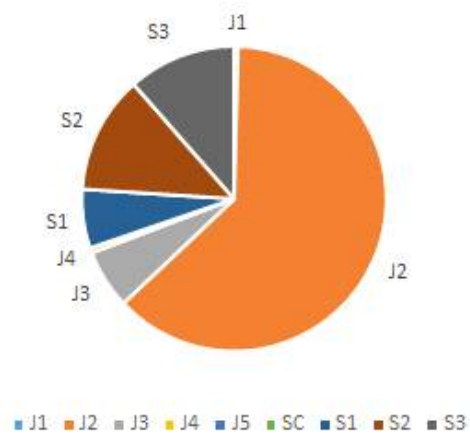


그림 82. 2차 딸기 부패시료의 3대 진균의 상대분포도

ITS 메타지놈 분석에서는 *Metschnikowia*속에 속하는 균주가 *P. brevicompactum*보다도 많이 검출되었는데, 이 균주는 포도, 체리, 꽃 등에서 널리 발견되는 non-Saccharomyces yeast로 wine-making 등에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 이 균주는 장희 대조군 (JC)과 설향 대조군 (SC) 및 설향 초기부패시료 (S1)에서 상대적으로 많이 발견되는데, 이는 이 균주가 널리 알려진대로 부패되지 않은 과일에서 주로 분포하기 때문으로 보인다. 다섯번째로 많이 발견된 균주는 일부 fungal ITS와 부분적으로 매치되는 아직 동정되지 않은 새로운 진균으로 보이는데, 설향 대조군 (SC)에서 집중적으로 발견되었다. 6번째에서 9번째로 많이 발견된 균주들은 Tremellomycetes 강에 속하는 효모 유사 진균 (yeast-like)들인데, 이들에게는 뇌막수염 (cryptococcal meningitis)을 일으키는 균주들이 포함되는 진균류라 주의해서 연구해볼 필요가 있다. 10번째로 많이 발견된 *Aureobasidium* 속 균주는 식물에 epiphyte 혹은 endophyte로 존재한다고 알려진 yeast-like fungus이다. 결론적으로, ITS 염기서열을 이용한 진균 메타지놈 분석에서 식물병원성 곰팡이들인 *B. cinerea*, *C. cladosporioides*, *P. brevicompactum* 외에도 뇌막수염을 일으키는 균주들이 포함되는 Tremellomycetes 강의 균주들과 비병원성인 *Metschnikowia*속과 *Aureobasidium* 속 균주들도 발견되었다. 아울러, 정확한 계통도나 병원성 여부가 알려지지 않은 미지의 곰팡이류로 추정되는 균주도 발견되었다.

③ 딸기 시료의 세균 군집 분석 결과

16S rRNA 메타지놈 OTU 중 식물의 엽록체 (chloroplast)와 미토콘드리아에서 유래된 reads를 제외하면 4종의 세균 (*Pantoea vagans*, *Pseudomonas marginalis*, *Pantoea ananatis*, *Enterobacter bugandensis*)이 절대다수를 차지하며 유의미한 분포도를 보이는데, 이들은 모두 장희의 부패시료에서 집중적으로 발견되었다. *P. vagans*는 장희의 J1, J2, J3에서 대량 발견되는데, 특히 J2에서 과다 발견되는 반면, *P. marginalis*는 J4에서만 대량 발견되기 때문에 부패정도에 따라서 두 세균의 군집교체가 이뤄지는 것으로 보인다. 한편, 이들 두 균주보다 소량 발견되는 *P. ananatis*는 J1, J2, J5에서 보다 많이 발견되고, *E. bugandensis*는 J3에서만 확인되었는데, *P. vagans*나 *P. marginalis*보다 비율이 매우 낮다. *P. vagans*는 pome fruit bacterial disease fire blight (caused by *Erwinia amylovora*)에 대한 commercialized biological control agent로도 사용되는 비병원성 균주인 반면, 나머지 세 균주들은 식물에 병을 일으키는 병원성 세균으로 알려져 있다. 부패정도가 낮은 경우에는 비병원성인 *P. vagans*의 비율이 높은 반면, 부패정도가 심해지면서 J4에서 *P. vagans*의 비율이 급격히 감소하고 J5에서 병원성인 *P. marginalis*가 대량 증식되는 것은 부패가 진행되면서 특정시점에서 세균의 군집교체가 일어나는 결과로 보인다.

라. 부패단계별 냄새의 최적 분석법 확립 및 부패관련 냄새 마커 발굴

(1) 사과 휘발성 유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법 및 데이터 프라세싱법 확립

(가) 연구수행 방법

① 시료수집

- 사과의 부패 단계별 부패 관련 냄새마커를 발굴하기 위하여 인공적으로 부패균을 접종한 시료를 이용하여 실험을 진행하였다.
- 사과 시료는 모두 충주 부사를 사용하였다.
- 인공적으로 균을 접종한 시료는 총 6군으로 PDA 배지만 인공 접종한 Control-(CP)와 부패사과에서 분리한 4가지의 부패균인 *Alternaria alternata* (AA), *Alternaria tenuissima* (AT), *Penicillium expansum* (PE), *Botryosphaeria dothidea* (BD) 및 표준 *Alternaria alternata* 균을 인공 접종한 Control+ (CS)이다. 각 부패균을 인공적으로 접종한 시료는 온도 $25\pm 1^\circ\text{C}$, 상대 습도 $90\pm 2\%$ 에서 약 30일 동안 보관하면서 접종하기 전 (0)과 접종 후 0~1% 부패 직후(I-1), 5% 미만으로 부패한 상태 (I-2)와 5~20% 부패한 상태 (II)의 단계에 맞춰 휘발성 성분을 분석하였다.

② 사과 내 휘발성 유기화합물의 solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 추출 방법 및 GC-MS 분석 방법

- SPME 방법

- SPME 방법은 시료를 일정한 온도에서 headspace상으로 휘발성 성분을 이동시키고 이를 polymer로 코팅된 fiber를 이용하여 추출하는 방법이다 (Helena P., Lucija Z., 1999).
- 사과의 휘발성 성분을 포집하기 위하여 시료를 2000 mL의 밀폐용기에 넣어 상온 ($23\pm 2^\circ\text{C}$)에서 60분 동안 평형시키고 시료의 휘발성 성분들을 흡착시키기 위하여 DVB/CAR/PDMS fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하여 20분 동안 흡착시켰다.

- GC-MS 분석 방법

- SPME법을 이용하여 추출한 시료의 휘발성 향기성분은 6890N GC system과 5975 MSD (agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다.
- 사과의 휘발성 유기화합물을 분석하기 위하여 흡착시킨 SPME fiber를 250°C 에서 5분간 유지하며 GC-MS에 휘발성 향기성분을 탈착시켰다. 탈착하는 5분 동안 액체질소를 이용하여 -80°C 를 유지하는 cryo-focus system을 도입하였다. Column은 HP-5MS UI capillary column (30m length \times 0.25mm I.D., 0.15 μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)을 이용하였고, GC oven은 40°C 에서 6분간 유지한 후 $4^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 속도로 220°C 까지 올린 후 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 속도로 250°C 까지 올려 2분간 유지하였다. 이동상 기체로 helium을 0.8mL/min의 속도로 흘려주었으며, 주입기는 splitless모드로 설정하였다. Mass scan range는 35-350 a.m.u.였으며 scan rate는 4.45 scans/sec, transfer line 온도는 280°C 이고 mass spectra ionization energy는 70eV였다.

③ 사과 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법

- SPME법으로 추출한 휘발성 성분의 동정은 retention index (RI), mass spectral database (Wiley9n.1 및 NIST08) 및 manual interpretation에 의해 수행되었다.
- 사과의 휘발성 유기화합물의 정량으로는 내부표준물질을 이용하였으며, 2,3-dimethyl pyrazine 100 ppm (w/v)을 3 μ L 사용하였다.

④ 사과의 휘발성 유기성분 추출법 및 분석법 확립

- SPME 방법의 최적 추출법 확립
 - 휘발성 유기성분 추출을 위한 SPME방법의 최적 조건을 구축하기 위하여 평형시간을 30분, 60분, 90분으로 달리하여 분석한 결과, 60분부터 headspace의 평형을 이루는 것을 확인하였다. 따라서 본 실험에서의 SPME 추출을 위한 휘발성 성분 평형시간은 60분으로 설정하였다.
- Cryo-focusing system 도입
 - Cryo-focusing system은 시료 주입 초기에 칼럼 앞부분을 초저온상태로 유지하는 방법으로 여러 성분들이 한 peak에 겹쳐져 나오는 것을 최소화하고 감지되는 sample의 분리도를 높여준다.
 - 사과와 파프리카의 휘발성 유기성분 분석법의 최적화를 위해 cryo-focusing system을 사용하지 않은 방법과 각각 -60 $^{\circ}$ C 또는 -80 $^{\circ}$ C에서 cryo-focusing system을 사용한 실험을 진행하였다.
 - Cryo-focusing system을 사용하지 않았을 때, chromatogram에서 peak broadening이 보이며 17종의 ester류, 1종의 benzene류와 1종의 terpene류가 검출되었다.
 - -60 $^{\circ}$ C에서 cryo-focusing system을 사용한 경우, 1종의 acids류, 2종의 alcohol류, 2종의 aldehyde류, 24종의 ester류, 6종의 benzene류와 1종의 terpene류가 검출되었다.
 - -80 $^{\circ}$ C에서 cryo-focusing system을 사용한 경우, 1종의 acids류, 3종의 alcohol류, 3종의 aldehyde류, 24종의 ester류, 1종의 ketone류, 6종의 benzene류와 1종의 terpene류가 검출되었다.
 - Cryo-focusing system을 사용한 방법이 짧은 RT값에서 감지되는 성분들을 더 정확하게 분리하였으며 더 낮은 온도를 사용할수록 더 많은 성분들이 높은 area값을 가지며 동정, 정량된다는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 더 많은 성분들을 분리시켜주는 cryo-focusing system을 도입하여 -80 $^{\circ}$ C에서 5분간 진행하였다.

(나) 연구수행 결과

① 균 인공 접종 사과와 균종 별, 부패 단계 별 휘발성 유기성분 분석

- 인공적으로 균을 접종한 사과와 균종별 부패 휘발성 성분은 아래 표 47, 48과 같았다.
- *Botryosphaeria dothidea* (BD)을 살펴보면, 총 10종의 alcohol류가 동정되었으며 ethanol이 아주 크게 증가하였으며 3-methylbutan-1-ol, 2-propylheptan-1-ol, 2-phenylethanol의 성분이 증가하였다. aldehyde류는 총 7종이 동정되었고 benzaldehyde가 증가하였고 acetaldehyde가 decay index III부터 생성되었으며, ester류는 51종이 동정되었으며 ethyl acetate와 ethyl 2-methylbutanoate가 큰 폭으로 증가하였으며 그 뒤로 ethyl hexanoate, ethyl butanoate, ethyl propanoate, (*E*)-hex-3-enyl acetate 등 총 21종의 성분들이 증가하였으며, ketone류로 6-methylhept-5-en-2-one 1종이 동정되었다. benzene & derivatives류로는 총 10종이 동정되었고 styrene이 크게 증가하였고 1-methyl-4-propan-2-ylbenzene와 1-methyl-4-prop-1-en-2-ylbenzene이 부패가 시작되면서 새로 생성되어 증가하였으며, hydrocarbon류로는 4종이 동정되었는데 그 중 1,2-dimethoxyethane 한 종이 증가하였으며, terpenes류는 dl-limonene, α -farnesene의 총 2종이 동정되었고 dl-limonene는 부패가 진행되면서 크게 증가하였다.
- *Penicillium expansum* (PE)을 살펴보면, acid류로는 acetic acid 한 종이 동정되었고 총 5종의 Alcohol류가 동정되었으며 이중에서 ethanol이 크게 증가하였고 3-methylbutan-1-ol이 II_2단계부터 생성되어 증가하였다. aldehyde류는 총 7종이 동정되었고 3-methylbutanal, (*E*)-hex-2-enal, benzaldehyde이 증가하였으며, ester류는 60종이 동정되었으며 ethyl hexanoate이 아주 크게 증가하였으며 그 다음으로 ethyl acetate, butyl butanoate, propyl 2-methyl butanoate 등의 총 17종이 증가하였다. ketone류로는 6-methylhept-5-en-2-one가 동정되었고 Benzene & derivatives류로는 총 7종이 동정되었고 3종이 증가하였는데 styrene이 BD와 마찬가지로 크게 증가하고 1-methoxy-3-methylbenzene, 1-ethenyl-3-ethylbenzene이 증가하였으며, hydrocarbon류로는 8종, terpenes류는 dl-limonene, α -farnesene의 총 2종이 동정되었는데, dl-limonene이 증가하였다.
- *Alternaria tenuissima* (AT)을 살펴보면, 총 7종의 alcohol류가 동정되었으며 이중에서 3-methylbutan-1-ol, 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol이 부패하면서 생성되어 증가하였다. Aldehyde류는 총 6종이 동정되었고 benzaldehyde가 크게 증가하였으며, ester류는 52종이 동정되었으며 ethyl 2-methylbutanoate, methyl benzoate, ethyl benzoate, ethyl octanoate 총 4종이 증가하였다. Ketone류로는 6-methylhept-5-en-2-one가 동정되었고 benzene & derivatives류로는 총 7종이 동정되었고 benzene, styrene, 1,4-dimethoxybenzene의 총 3종이 증가하였으며, hydrocarbon류로는 8종이 동정되어

dihydroxy(dimethyl)silane이 증가하고 terpenes류는 dl-limonene, α -farnesene의 총 2종이 동정되었으며, dl-limonene이 미세하게 증가하였다.

- 마지막으로 *Alternaria alternata* (AA)을 살펴보면, 2-methylprop-2-enoic acid의 한 종의 acid가 부패하면서 생성되었으며, 총 9종의 alcohol류가 동정되었으며 3-methylbutan-1-ol, 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol이 부패 도중 생성되어 증가하였다. Aldehyde류는 총 6종이 동정되었고 이 중에서 benzaldehyde만이 증가하였으며, ester류는 47종이 동정되었으며 ethyl acetate, ethyl propanoate, methyl benzoate, ethyl benzoate가 부패가 생기면서 새로 생성되어 증가하고 ethyl octanoate이 증가하였다. Ketone류로는 6-methylhept-5-en-2-one 한 종이 동정되었고 benzene & derivatives류로는 총 9종이 동정되었으며, styrene만이 증가하였다. Hydrocarbon류로는 9종이 동정되었고 1-methoxy-2-methylbutane, dihydroxy(dimethyl)silane, 1,2-dimethoxyethane이 증가하였으며, terpenes류는 dl-limonene, α -farnesene의 총 2종이 동정되었다.
- 전체적으로 PE와 BD에서 AA와 AT에 비해 상대적으로 더 많은 ester류들이 증가하였고 ethnaol, dl-limonene이 크게 증가하였다. 네 가지의 균에서 공통적으로 증가한 성분들을 살펴보면, alcohol류에서는 3-methylbutan-1-ol, aldehyde류에서는 benzaldehyde, Ester류에서는 ethyl benzoate, benzene류에서는 styrene의 성분들이었다. Styrene은 *Penicillium* 균으로부터 나오는 fungal volatile 성분으로 잘 알려져 있는데 phenylalanine으로부터 생성되는 cinnamic acid의 decarboxylation에 의해서 생합성 된다 (Pagot et al., 2007).
- 감소하는 성분들은 대부분 비슷하였는데, alcohol류로는 2-methylbutan-1-ol이 PE, AA에서 감소하였으며 ester류로는 모두 2-methylbutyl acetate, hexyl 2-methylbutanoate, hexyl acetate이 아주 큰 폭으로 감소하였으며 그 외에 15종의 ester가 감소하여 총 17종의 ester가 감소하였다. Benzene류로는 PE, AA, AT에서 toluene이 감소하였다.

표 47. 균 인공 접종하여 부패한 사과의 균종별 휘발성 성분 분석 (BD, PE, AT)

No.	Volatile components	RI	RT	BD-0	BD- I_1	BD- I_2	BD- II	Relative peak area*				AT-0	AT- I_1	AT- I_2	AT- II
								PE-0	PE- I_1	PE- I_2	PE- II				
Acids															
1	Acetic acid	<700	9.31	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.037±0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	2-Methylprop-2-enoic acid	784	11.95	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3	(<i>E</i>)-But-2-enoic acid	784	11.93	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Alcohols															
4	Ethanol	<700	8.08	0.057±0.05	0.049±0.05	0.39±0.097	7.382±7.64	0.142±0.07	0.258±0.09	1.233±0.49	3.041±0.81	0.108±0.02	0.105±0.02	0.078±0.02	0.231±0.016
5	Butan-1-ol	<700	9.63	0.109±0.06	0.051±0.04	0.019±0.00	0.029±0.00	0.466±0.16	0.289±0.10	0.039±0.00	0.039±0.01	0.353±0.12	0.197±0.14	0.047±0.02	0.011±0.012
6	3-Methylbutan-1-ol	731	10.81	N.D.	N.D.	0.02±0.012	0.283±0.32	N.D.	N.D.	0.071±0.04	0.145±0.06	N.D.	N.D.	N.D.	0.008±0.013
7	2-Methylbutan-1-ol	734	10.87	1.595±0.49	1.179±0.42	1.185±0.95	1.021±0.45	3.936±1.88	3.222±1.11	1.555±0.73	0.898±0.25	2.613±0.41	1.69±0.218	1.062±0.46	0.322±0.239
8	Hexan-1-ol	867	14.29	0.31±0.191	0.237±0.10	0.27±0.118	0.697±0.44	1.16±0.571	0.752±0.44	0.346±0.10	0.373±0.13	1.377±0.79	0.519±0.25	0.198±0.09	0.075±0.009
9	2-Ethylbutan-1-ol	902	15.35	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
10	6-Methylhept-5-en-2-ol	993	18.53	N.D.	0.003±0.00	0.004±0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
11	2-(2-ethoxyethoxy)Ethanol	1003	18.89	N.D.	0.032±0.05	0.07±0.064	0.044±0.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.088±0.08	0.096±0.08	0.063±0.056
12	Phenylmethanol	1034	20.03	N.D.	0.126±0.21	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.008±0.014
13	2-Propylheptan-1-ol	1102	22.49	N.D.	N.D.	N.D.	0.01±0.017	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
14	2-Phenylethanol	1114	22.91	N.D.	N.D.	N.D.	0.134±0.14	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
15	Pent-2-en-1-ol	1145	24.04	N.D.	0±0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Aldehydes															
16	Acetaldehyde	<700	7.63	N.D.	N.D.	N.D.	0.004±0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17	Butanal	<700	8.80	0.209±0.11	0.135±0.11	0.12±0.089	0.126±0.12	0.107±0.10	0.256±0.06	0.157±0.13	0.074±0.10	0.122±0.11	0.143±0.04	0.148±0.06	0.133±0.112
18	2-Methylidenebutanal	<700	9.69	0.069±0.01	0.051±0.01	0.05±0.031	0.031±0.03	0.124±0.01	0.113±0.01	0.063±0.02	0.059±0.02	0.101±0.01	0.038±0.03	0.051±0.03	0.032±0.023
19	3-Methylbutanal	<700	10.12	0.031±0.03	0.021±0.02	0.018±0.03	0.023±0.04	0.043±0.05	0.004±0.00	0.022±0.03	0.006±0.01	0.034±0.01	0.042±0.01	0.009±0.00	0.025±0.044
20	Heptanal	790	12.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
21	Hexanal	801	12.30	0.122±0.03	0.068±0.01	0.159±0.06	N.D.	0.372±0.08	0.204±0.11	0.07±0.121	N.D.	0.26±0.054	0.13±0.114	0.074±0.02	0.065±0.015

22	(E)-Hex-2-enal	852	13.84	8 N.D.	7 N.D.	1 N.D.	N.D.	2 N.D.	1 N.D.	0.019±0.01	0.036±0.06	N.D.	N.D.	5 N.D.	N.D.	
23	Benzaldehyde	961	17.40	0.061±0.02	0.311±0.4	0.614±0.43	0.375±0.42	0.101±0.02	0.097±0.02	0.111±0.03	0.157±0.09	0.06±0.015	0.39±0.279	0.798±0.89	1.368±0.5	
24	Nonanal	1105	22.58	7 N.D.	N.D.	9 N.D.	8 N.D.	9 N.D.	4 N.D.	1 N.D.	2 N.D.	N.D.	N.D.	9 N.D.	0.025±0.044	
25	Decanal	1206	26.17	0.025±0.04	0.03±0.005	0.065±0.03	0.019±0.03	0.032±0.03	0.075±0.01	0.037±0.03	0.063±0.02	0.063±0.02	0.041±0.01	0.012±0.02	0.014±0.012	
				3			2		5	8	9	7	2			
Esters																
26	Methyl acetate	<700	8.22	0.045±0.01	0.043±0.00	0.051±0.00	0.051±0.05	0.091±0.03	0.676±0.17	1.169±0.59	0.677±0.38	0.051±0.02	0.047±0.01	0.037±0.01	0.036±0.016	
27	EthylAcetate	<700	9.01	0.006±0.01	N.D.	0.057±0.04	2.429±1.86	0.105±0.00	0.026±0.04	0.861±0.69	2.314±1.61	N.D.	0.059±0.10	N.D.	0.028±0.005	
28	Ethyl propanoate	711	10.38	N.D.	N.D.	0.004±0.00	0.441±0.27	0±0	0.005±0.00	0.038±0.01	0.262±0.23	N.D.	0.024±0.02	0±0	0.008±0.007	
29	Propyl acetate	713	10.42	N.D.	0.005±0.00	0.004±0.00	N.D.	0.019±0.03	0.071±0.03	0.015±0.01	0.022±0.02	0.007±0.01	0.013±0.01	0.004±0.00	N.D.	
30	Methyl butanoate	720	10.58	0.102±0.07	0.092±0.03	0.117±0.02	0.124±0.07	0.305±0.15	0.361±0.12	0.264±0.11	0.298±0.14	0.116±0.03	0.126±0.04	0.088±0.03	0.079±0.018	
31	Ethyl	756	11.34	N.D.	N.D.	N.D.	0.08±0.082	N.D.	N.D.	N.D.	0.073±0.03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	2-methylpropanoate										6					
32	2-Methylpropyl acetate	772	11.68	0.061±0.01	0.043±0.01	0.041±0.01	0.188±0.13	0.193±0.11	0.17±0.059	0.089±0.04	0.076±0.04	0.072±0.02	0.058±0.02	0.031±0.01	0.006±0.005	
33	Methyl	776	11.76	0.079±0.04	0.09±0.051	0.109±0.02	0.134±0.05	0.161±0.07	0.299±0.11	0.421±0.19	0.515±0.04	0.065±0.02	0.071±0.01	0.079±0.02	0.078±0.052	
	2-methylbutanoate					5	3	6	8	8	9	5	2	2		
34	Ethyl butanoate	802	12.35	N.D.	N.D.	0.134±0.12	0.74±0.211	0.534±0.22	0.042±0.07	0.477±0.30	1.806±0.58	N.D.	0.263±0.30	N.D.	0.056±0.033	
								7	2	1	2		3			
35	Propyl propanoate	810	12.59	N.D.	0.011±0.01	0.012±0.02	0.017±0.03	0.013±0.02	0.132±0.07	0.071±0.04	0.077±0.05	N.D.	0.039±0.01	0.017±0.00	N.D.	
					8	1		3		5	5		3	7		
36	Butyl acetate	814	12.71	0.703±0.20	0.223±0.12	0.148±0.08	0.13±0.039	5.115±3.54	1.7±0.077	0.307±0.13	0.314±0.14	2.621±1.72	1.323±0.86	0.188±0.15	0.034±0.012	
				2	3	4		9		6	5	3	4	9		
37	Methyl pentanoate	823	12.98	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.018±0.03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
38	Propan-2-yl butanoate	841	13.50	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.043±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	0.008±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	
								1				3				
39	Ethyl 2-butenolate	843	13.57	N.D.	N.D.	N.D.	0.052±0.04	N.D.	N.D.	N.D.	0.04±0.019	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
							6									
40	Ethyl	848	13.73	0.019±0.03	0.002±0.00	0.063±0.03	2.346±2.56	0.164±0.06	0.073±0.07	0.631±0.12	4.531±1.57	N.D.	0.159±0.16	0.012±0.01	0.075±0.031	
	2-methylbutanoate			3	3	1	4	1	3	6	5		5	3		
41	3-Methylbutyl acetate	876	14.55	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.027±0.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
											3					
42	2-Methylbutyl	878	14.62	14.118±1.6	5.957±2.68	5.385±3.89	3.638±2.49	44.986±17.	19.071±2.2	8.342±1.71	4.972±1.32	20.894±10.	8.415±3.97	3.738±1.78	0.62±0.394	

	acetate			67		5	8	596	99	7	9	823	9	9	
43	Propyl butanoate	899	15.24	0.027±0.04	0.017±0.02	N.D.	N.D.	0.293±0.11	0.14±0.133	0.079±0.08	0.094±0.09	0.134±0.06	0.102±0.03	0.027±0.03	N.D.
				7	9			8		4		1	8	8	
44	Ethyl pentanoate	901	15.33	N.D.	N.D.	N.D.	0.013±0.02	N.D.	N.D.	0.008±0.01	0.13±0.06	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
							3			3					
45	Butyl propanoate	909	15.59	0.098±0.01	0.069±0.04	0.056±0.04	0.032±0.05	0.652±0.40	0.615±0.17	0.127±0.07	0.087±0.06	0.288±0.17	0.273±0.14	0.062±0.04	N.D.
				8	2	5	6	5	7	4	6	3	8	9	
46	Pentyl acetate	914	15.77	0.385±0.14	0.165±0.12	0.14±0.051	0.169±0.06	1.719±0.93	0.747±0.15	0.212±0.04	0.245±0.08	1.094±0.67	0.533±0.30	0.128±0.08	0.002±0.004
				9	2		7	9	9	6	4	4	5	3	
47	Methyl hexanoate	924	16.12	0.569±0.43	0.56±0.234	0.678±0.21	0.568±0.40	1.403±0.73	1.913±1.02	1.616±0.64	1.492±0.53	0.341±0.11	0.439±0.03	0.453±0.11	0.443±0.174
				6		1	7	1	4	3	4	7	9	2	
48	1,2-Dimethoxyethane	935	16.50	N.D.	N.D.	0.025±0.02	0.024±0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.017±0.03	0.026±0.02	0.042±0.05	0.013±0.022
						2	1						3	7	
49	Ethyl (<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoate	939	16.66	N.D.	N.D.	0.009±0.01	0.133±0.07	N.D.	0.019±0.02	0.067±0.02	0.339±0.11	0±0	0.038±0.03	0±0	0.005±0.008
							8		1	1	2		6		
50	Propyl 2-methylbutanoate	946	16.88	0.009±0.01	0.023±0.02	0.025±0.02	0.043±0.01	0.124±0.03	0.222±0.08	0.195±0.13	0.346±0.25	0.058±0.03	0.105±0.04	0.047±0.02	0.048±0.005
				5	1	2	5	8	1	4	1	1	1	9	
51	2-Methylpropyl butanoate	955	17.20	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.099±0.14	N.D.	N.D.	N.D.	0.028±0.04	N.D.	N.D.	N.D.
												8			
52	3-Methylbutyl propanoate	971	17.78	0.177±0.01	0.25±0.153	0.323±0.33	0.282±0.42	0.531±0.21	1.013±0.17	0.618±0.23	0.321±0.18	0.235±0.06	0.332±0.15	0.256±0.14	0.03±0.028
				6		7	1	1	7	5	5	9	1	2	
53	Butyl butanoate	996	18.63	0.221±0.13	0.034±0.01	0.032±0.00	0.011±0.01	1.645±0.45	0.391±0.12	0.092±0.05	0.085±0.04	0.883±0.59	0.3±0.235	0.064±0.06	0.01±0.008
				8	7	7	8	1	7		9	6		1	
54	Hexyl butanoate	996	18.64	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
55	Ethyl hexanoate	999	18.75	N.D.	N.D.	N.D.	1.808±3.13	N.D.	N.D.	N.D.	6.225±0.62	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
							2				7				
56	2-Methylpropyl 2-methylbutanoate	1003	18.90	0.039±0.03	N.D.	N.D.	N.D.	0.189±0.05	0.152±0.01	0.175±0.02	0.086±0.07	N.D.	0.028±0.04	N.D.	N.D.
				6				3	7	4	4		8		
57	(<i>E</i>)-Hex-3-enyl acetate	1007	19.04	N.D.	N.D.	0.037±0.03	0.213±0.20	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
						5	8								
58	Pentyl propanoate	1007	19.04	N.D.	0.009±0.01	0.014±0.02	N.D.	0.083±0.03	0.084±0.01	0.025±0.02	N.D.	0.036±0.03	0.03±0.035	0.015±0.02	N.D.
					6	4		4	2	5		1		1	
59	Hexyl acetate	1013	19.26	2.954±1.41	1.532±0.77	1.317±0.53	1.971±0.32	12.156±6.8	4.347±0.61	1.279±0.51	1.289±0.50	7.898±4.94	3.313±2.11	0.827±0.41	0.227±0.102
				4	2	6		05		6	4	9		1	
60	2-Methylbutyl 2-methylpropanoate	1016	19.38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.009±0.01	N.D.
														6	
61	1-Methoxy-3-methyl benzene	1021	19.53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.15±0.095	0.274±0.11	N.D.	N.D.	N.D.	0.006±0.01
											1				
62	Methyl heptanoate	1024	19.67	N.D.	N.D.	N.D.	0±0	N.D.	0.067±0.04	0.05±0.027	0.039±0.03	N.D.	0.005±0.00	0.009±0.00	0.007±0.012
									9		4		9	8	
63	Butyl	1042	20.31	0.209±0.02	0.058±0.01	0.049±0.02	0.017±0.02	1.097±0.82	0.655±0.22	0.213±0.13	0.216±0.14	0.834±0.41	0.4±0.271	0.123±0.13	0.029±0.026

64	2-methylbutanoate Pentyl butanoate	1058	20.89	8 N.D.	2 N.D.	4 N.D.	9 0.117±0.20	3 N.D.	8 N.D.	5 N.D.	9 N.D.	3 N.D.	N.D.	1 N.D.	N.D.	
65	2-Methylbutyl butanoate	1058	20.91	0.411±0.18	0.176±0.15	0.193±0.20	N.D.	1.209±0.38	0.727±0.13	0.353±0.30	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
66	Pentyl butanoate ²	1093	22.18	1 N.D.	6 N.D.	9 N.D.	N.D.	N.D.	7 N.D.	7 N.D.	N.D.	N.D.	0.059±0.10	N.D.	N.D.	
67	Propyl hexanoate	1095	22.24	N.D.	0.108±0.02	0.072±0.06	0.04±0.07	0.384±0.26	0.531±0.23	0.398±0.16	0.407±0.37	0.233±0.10	0.184±0.00	0.14±0.069	0.045±0.044	
68	Methyl benzoate	1096	22.28	N.D.	3 N.D.	3 0.026±0.04	N.D.	N.D.	1 N.D.	2 N.D.	8 0.016±0.02	7 0.061±0.10	8 N.D.	6 N.D.	0.008±0.01	0.044±0.076
69	Ethyl heptanoate	1098	22.34	N.D.	N.D.	5 N.D.	0.012±0.02	N.D.	N.D.	8 N.D.	5 0.082±0.03	N.D.	N.D.	5 N.D.	N.D.	
70	2-Methylbutyl 2-methylbutanoate	1104	22.57	0.63±0.118	0.407±0.22	0.407±0.48	0.053±0.09	2.156±0.14	0.971±0.84	0.923±0.32	0.5±0.498	1.135±0.31	0.774±0.42	0.501±0.36	0.109±0.118	
71	Hexyl propanoate	1104	22.58	N.D.	N.D.	N.D.	2 0.292±0.50	N.D.	4 0.744±1.28	5 N.D.	3 0.226±0.39	N.D.	5 0.184±0.31	N.D.	N.D.	
72	Methyl octanoate	1124	23.29	0.045±0.03	0.029±0.02	0.055±0.03	0.062±0.05	0.152±0.10	0.156±0.08	0.134±0.07	0.15±0.052	0.04±0.018	0.037±0.00	0.034±0.00	0.035±0.032	
73	Pentyl 2-methylbutanoate	1139	23.81	9 0.093±0.01	5 0.029±0.02	4 0.045±0.01	5 0.021±0.03	1 0.485±0.15	2 0.242±0.08	5 0.117±0.04	1 0.112±0.04	2 0.254±0.07	9 0.141±0.09	8 0.057±0.08	0.023±0.021	
74	Hexyl 2-methylpropanoate	1149	24.15	4 0.044±0.01	5 N.D.	6 N.D.	7 N.D.	1 0.206±0.05	5 0.087±0.08	4 N.D.	6 N.D.	4 0.127±0.06	3 0.065±0.06	0.021±0.03	N.D.	
75	2-Methylpropyl hexanoate	1151	24.24	2 0.028±0.02	0.02±0.003	0.019±0.01	0.011±0.01	4 0.08±0.032	8 0.085±0.01	8 0.072±0.01	5 0.063±0.02	5 0.006±0.01	6 0.018±0.01	7 0.012±0.02	0.007±0.007	
76	1,4-Dimethoxybenzen e	1169	24.87	6 N.D.	6 N.D.	9 N.D.	9 N.D.	N.D.	7 N.D.	1 N.D.	1 N.D.	N.D.	6 N.D.	N.D.	0.009±0.015	
77	Ethyl benzoate	1172	24.99	N.D.	N.D.	0.09±0.069	0.108±0.04	N.D.	N.D.	2 0.256±0.13	5 0.839±0.66	N.D.	N.D.	2 0.014±0.01	0.051±0.022	
78	Butyl hexanoate	1191	25.66	1.649±0.98	0.464±0.03	0.399±0.05	0.333±0.17	6.106±0.43	2.46±1.079	0.95±0.418	0.854±0.42	2.96±1.506	1.628±1.02	0.586±0.43	0.178±0.083	
79	Ethyl octanoate	1197	25.86	0.011±0.01	0±0	0.042±0.05	0.321±0.22	0.045±0.01	0.046±0.04	0.178±0.02	1.129±0.45	N.D.	2 0.025±0.02	0.01±0.017	0.044±0.012	
80	Hexyl 2-methylbutanoate	1237	27.24	9 5.746±3.66	5 0.87±0.795	3 1.163±0.37	2 0.698±0.37	2 19.832±11.	3 5.692±2.41	1 2.014±0.99	6 1.788±0.65	1 9.198±3.10	1 2.616±1.33	6 1.16±0.697	0.43±0.189	
81	Ethyl 2-phenylacetate	1246	27.56	5 N.D.	1 N.D.	6 N.D.	6 N.D.	519 N.D.	4 N.D.	1 N.D.	2 0.037±0.03	6 N.D.	2 N.D.	6 N.D.	N.D.	
82	3-Methylbutyl hexanoate	1253	27.79	0.903±0.51	0.231±0.20	0.453±0.29	0.321±0.36	1.905±0.97	1.305±0.54	0.783±0.32	0.541±0.23	0.698±0.21	0.525±0.20	0.396±0.21	0.125±0.08	
83	Pentyl hexanoate	1288	28.99	1 0.243±0.13	2 0.096±0.00	8 0.059±0.05	2 N.D.	2 0.616±0.20	7 0.327±0.13	5 0.154±0.03	4 0.13±0.031	9 0.352±0.12	6 0.211±0.13	5 0.075±0.08	0.017±0.029	
84	Propyloctanoate	1292	29.11	2 N.D.	2 N.D.	2 N.D.	2 N.D.	5 N.D.	8 0.009±0.01	8 N.D.	7 0.005±0.00	4 N.D.	6 N.D.	6 N.D.	N.D.	

85	Hexyl 2-methylbut-2-enoate	1331	30.40	0.018±0.01 6	0.01±0.01	0.002±0.00 4	N.D.	0.037±0.03 6	0.042±0.04 3	0.009±0.01 6	0.005±0.00 8	0.022±0.02 1	0.038±0.04 1	0.006±0.01 1	0±0
86	Heptyl 2-methylbutanoate	1335	30.53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.017±0.02 9	0.01±0.018	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
87	2-Methylbutyl heptanoate	1351	31.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.029±0.05 1	0.015±0.02 6	N.D.	N.D.	0.022±0.01 9	0.007±0.01 2	N.D.	N.D.
88	Hexyl butanoate	1376	31.86	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.008±0.01 4	0.015±0.02 6	N.D.	N.D.	0.008±0.01 3	N.D.	0.009±0.016
89	Hexyl hexanoate	1386	32.18	1.844±1.19 3	0.374±0.11 5	0.309±0.01 3	0.207±0.13 9	4.415±1.9 3	1.187±0.71 3	0.549±0.14 8	0.423±0.07 9	2.521±1.26 1	0.752±0.50 3	0.314±0.18	0.101±0.043
90	Pentyl benzoate	1441	33.89	N.D.	0.016±0.01 5	0.023±0.01 4	N.D.	N.D.	0.005±0.00 9	0.06±0.04	0.019±0.02 1	N.D.	0.017±0.01 5	0.016±0.02 7	0.006±0.01
91	3-Methylbutyl octanoate	1450	34.18	0.209±0.21 6	0.057±0.02 2	0.05±0.007	N.D.	0.523±0.18 5	0.204±0.22 7	N.D.	0.018±0.03 2	0.224±0.07 2	0.062±0.06 3	N.D.	N.D.
Ketones															
92	6-Methylhept-5-en-2-one	987	18.33	0.096±0.03 3	0.074±0.01 2	0.14±0.022	0.085±0.00 5	0.292±0.19 2	0.197±0.05	0.126±0.05 7	0.171±0.03 6	0.184±0.02	0.103±0.03 8	0.06±0.026	0.033±0.015
Benzene & derivatives															
93	Benzene	<700	9.59	N.D.	0.02±0.017	0.047±0.02 9	0.043±0.01 8	0±0	0.033±0.05 8	0.048±0.00 5	0.036±0.01 3	N.D.	0.191±0.27 2	0.056±0.07	0.074±0.048
94	Toluene	764	11.52	0.867±0.51 2	0.428±0.10 7	0.264±0.11 7	0.496±0.15 5	4.126±3.44 3	0.617±0.26 1	0.573±0.23 4	0.454±0.14 4	1.065±0.17 2	0.386±0.10 9	0.28±0.178	0.276±0.136
95	Ethylbenzene	861	14.10	0.117±0.05 8	0.121±0.05	0.122±0.04 7	0.13±0.036	0.23±0.035	0.18±0.092	0.196±0.07 5	0.151±0.03 9	0.127±0.05 2	0.102±0.03 7	0.113±0.06 9	0.095±0.069
96	1,2-Xylene	868	14.33	0.41±0.148	0.256±0.08	0.243±0.02 6	0.386±0.13 5	0.842±0.16 2	0.401±0.19	0.427±0.16 5	0.418±0.14 1	0.578±0.34 1	0.289±0.04 1	0.226±0.07 7	0.213±0.045
97	Styrene	891	15.02	0.061±0.01 7	0.068±0.01 3	0.12±0.039	1.143±1.42 3	0.247±0.12 1	0.107±0.02 4	0.658±0.30 1	3.773±2.04 9	0.087±0.05 2	0.058±0.01 5	0.128±0.10 1	0.459±0.31
98	1,3-Xylene	894	15.10	0.042±0.03 8	0.033±0.01 3	0.023±0.01 6	N.D.	0.034±0.03 2	0.035±0.01 9	N.D.	N.D.	0.067±0.09 7	0.035±0.01 1	0.007±0.00 7	N.D.
99	1-Methoxy-4-methylbenzene	935	16.49	N.D.	N.D.	0.005±0.00 9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
100	1-Ethyl-2-methylbenzene	962	17.44	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
101	1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene	1026	19.72	N.D.	N.D.	0.058±0.02	0.388±0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
102	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	1086	21.92	0.009±0.01 6	0.023±0.00 6	0.021±0.00 6	N.D.	0.025±0.02 2	0.009±0.01 5	0.033±0.01 2	0.028±0.00 9	0.008±0.01 4	0.017±0.01 5	0.02±0.005	0.013±0.014
103	1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylbenzene	1090	22.07	N.D.	N.D.	N.D.	0.212±0.18 6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Hydrocarbons															
104	2-Methylpentane	<700	8.47	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
105	Hexa-1,4-diene	<700	9.29	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
106	2-Methyl-1,3-dioxolane	<700	9.43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
107	1-Methoxy-2-methylbutane	<700	9.98	0.013±0.02	0.01±0.018	0.012±0.02	N.D.	0.032±0.05	0.035±0.06	0.018±0.03	N.D.	0.015±0.02	0.017±0.01	0.015±0.01	N.D.
108	1,4-Dioxane	708	10.31	N.D.	0.008±0.00	0.011±0.00	0±0	0±0	0.012±0.01	0.008±0.00	0±0	N.D.	0.01±0.001	0.008±0.00	0.003±0.005
109	2-Methyl-1,3,5-hexatriene	750	11.21	0.034±0.01	0.018±0.01	0.027±0.00	0.026±0.02	0.059±0.01	0.019±0.03	0.017±0.03	0.064±0.00	0.032±0.00	0.02±0.018	0.028±0.00	0.031±0.013
110	3,3-Dimethylundecane	1058	20.90	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.578±1	N.D.	0.156±0.26	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
111	2,3,5,8-Tetramethyldecane	1063	21.08	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
112	3,3-Dimethylhexane	1102	22.49	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.004±0.00	0.009±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
113	3-Ethyl-3-methylheptane	1102	22.49	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.011±0.01	N.D.
114	Dodecane	1199	25.95	0.047±0.03	0.058±0.00	0.056±0.02	0.051±0.00	0.054±0.01	0.083±0.01	0.047±0.01	0.038±0.03	0.058±0.01	0.063±0.01	0.055±0.01	0.041±0.003
115	2,6-Dimethyloctane	1214	26.44	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.005±0.00	0.008±0.01	N.D.
116	Octadecane	1280	28.72	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.037±0.06	0.025±0.04	N.D.	N.D.	0.036±0.06	0.059±0.05	0.053±0.049
117	1-Chlorododecane	1472	34.83	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.042±0.07	N.D.	N.D.	N.D.	0.015±0.02	N.D.	N.D.	N.D.
Terpenes															
118	dl-Limonene	1030	19.87	0.032±0.01	0.015±0.02	1.899±0.80	22.794±3.7	0.118±0.03	0.072±0.01	0.178±0.04	0.321±0.02	0.073±0.07	0.014±0.00	0.244±0.36	0.085±0.064
119	α-Farnesene	1510	36.00	4.852±5.54	1.138±1.47	0.62±0.358	1.823±1.49	2.288±1.96	1.189±1.38	2.344±0.89	5.67±3.102	2.84±1.027	0.478±0.33	1.509±1.21	2.743±2.374

* Relative peak area = each volatile component peak area /2,3-dimethyl pyrazine peak area ratio

* N.D.= not detected

* BD: *Botryosphaeria dothidea*, PE: *Penicillium expansum*, AT: *Alternaria alternata*

표 48. 균 인공 접종하여 부패한 사과의 균종별 휘발성 성분 분석 (AA, CS, CP)

No.	Volatile metabolites	RI	RT	Relative peak area*										
				AA-0	AA- I_1	AA- I_2	AA- II	CS-0	CS- I_1	CS- I_2	CS- II	CP-0_1	CP-0_2	CP-0_3
Acids														
1	Acetic acid	<700	9.31	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	2-Methylprop-2-enoic acid	784	11.95	N.D.	N.D.	N.D.	0.006±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3	(E)-But-2-enoic acid	784	11.93	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.017±0.0	N.D.	N.D.	N.D.
Alcohols														
4	Ethanol	<700	8.08	0.06±0.03	0.09±0.01	0.065±0.0	0.1±0.046	0.17±0.06	0.095±0.0	0.081±0.0	0.16±0.06	0.215±0.1	0.139±0.0	0.095±0.0
5	Butan-1-ol	<700	9.63	0.276±0.0	0.075±0.0	0.004±0.0	N.D.	0.582±0.3	0.383±0.2	0.023±0.0	0.012±0.0	0.467±0.2	0.112±0.0	0.055±0.0
6	3-Methylbutan-1-ol	731	10.81	N.D.	N.D.	0.002±0.0	0.006±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.005±0.0	N.D.	N.D.	N.D.
7	2-Methylbutan-1-ol	734	10.87	1.12±0.95	1.636±0.5	0.578±0.0	0.163±0.0	6.605±0.8	3.352±1.1	1.182±0.1	0.382±0.2	4.278±2.3	2.621±1.8	1.817±1.3
8	Hexan-1-ol	867	14.29	1.373±0.4	0.431±0.1	0.15±0.03	0.094±0.0	1.82±0.43	1.097±0.7	0.289±0.1	0.077±0.0	2.292±1.1	0.543±0.2	0.247±0.0
9	2-Ethylbutan-1-ol	902	15.35	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.004±0.0	0.007±0.0	N.D.	N.D.
10	6-Methylhept-5-en-2-ol	993	18.53	0.019±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.023±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
11	2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol	1003	18.89	N.D.	N.D.	0.048±0.0	0.039±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.037±0.0	N.D.
12	Phenylmethanol	1034	20.03	N.D.	0.015±0.0	0.015±0.0	0.011±0.0	N.D.	N.D.	0.065±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
13	2-Propylheptan-1-ol	1102	22.49	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
14	2-Phenylethanol	1114	22.91	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
15	Pent-2-en-1-ol	1145	24.04	N.D.	0.003±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Aldehydes														
16	Acetaldehyde	<700	7.63	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17	Butanal	<700	8.80	0.054±0.0	0.144±0.0	0.152±0.0	0.336±0.2	0.212±0.2	0.126±0.0	0.115±0.0	0.348±0.2	0.076±0.0	0.114±0.1	0.165±0.0
18	2-Methylidenebutanal	<700	9.69	0.068±0.0	0.068±0.0	0.036±0.0	0.016±0.0	0.18±0.20	0.1±0.045	0.053±0.0	0.015±0.0	0.168±0.1	0.102±0.0	0.075±0.0
19	3-Methylbutanal	<700	10.12	0.006±0.0	0.011±0.0	0.051±0.0	0.014±0.0	0.032±0.0	N.D.	0.008±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
20	Heptanal	790	12.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
21	Hexanal	801	12.30	0.383±0.2	0.111±0.0	0.08±0.00	0.036±0.0	0.515±0.2	0.101±0.0	0.103±0.0	0.017±0.0	0.22±0.19	0.043±0.0	0.096±0.1

22	(E)-Hex-2-enal	852	13.84	06	22	7	31	47	87	32	3	1	75	03
23	Benzaldehyde	961	17.40	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
24	Nonanal	1105	22.58	26	75	68	8	43	05	N.D.	86	26	8	73
25	Decanal	1206	26.17	0.05±0.00	0.041±0.0	0.05±0.02	0.011±0.0	0.083±0.0	0.015±0.0	0.047±0.0	N.D.	0.02±0.03	0.013±0.0	0.015±0.0
				8	13	7	11	36	26	09		5	22	26
Esters														
26	Methyl acetate	<700	8.22	0.029±0.0	0.044±0.0	0.034±0.0	0.014±0.0	0.18±0.07	0.114±0.0	0.047±0.0	0.027±0.0	0.062±0.0	0.092±0.0	0.056±0.0
27	Ethyl acetate	<700	9.01	N.D.	N.D.	N.D.	0.03±0.03	N.D.	0.05±0.07	N.D.	0.039±0.0	0.023±0.0	0.036±0.0	0.028±0.0
28	Ethyl propanoate	711	10.38	N.D.	N.D.	N.D.	0.007±0.0	N.D.	0.012±0.0	0±0	0.01±0.01	N.D.	N.D.	N.D.
29	Propyl acetate	713	10.42	N.D.	0.009±0.0	0.002±0.0	N.D.	0.025±0.0	0.057±0.0	0.017±0.0	0±0	0.008±0.0	0.009±0.0	0.007±0.0
30	Methyl butanoate	720	10.58	N.D.	0.098±0.0	0.086±0.0	0.043±0.0	0.42±0.15	0.211±0.0	0.129±0.0	0.059±0.0	0.291±0.2	0.119±0.0	0.097±0.0
31	Ethyl 2-methylpropanoate	756	11.34	N.D.	0.111±0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
32	2-Methylpropyl acetate	772	11.68	0.079±0.0	0.062±0.0	0.028±0.0	0.004±0.0	0.276±0.1	0.13±0.05	0.063±0.0	0.005±0.0	0.151±0.0	0.108±0.0	0.055±0.0
33	Methyl 2-methylbutanoate	776	11.76	0.058±0.0	0.079±0.0	0.042±0.0	0.037±0.0	0.195±0.0	0.25±0.02	0.191±0.0	0.054±0.0	0.136±0.1	0.134±0.0	0.14±0.07
34	Ethyl butanoate	802	12.35	N.D.	0.008±0.0	N.D.	0.094±0.1	N.D.	0.229±0.3	N.D.	0.204±0.1	0.615±0.3	0.111±0.1	N.D.
35	Propyl propanoate	810	12.59	N.D.	0.276±0.4	0.007±0.0	0.004±0.0	0.015±0.0	0.098±0.0	0.057±0.0	0±0	N.D.	0.025±0.0	0.017±0.0
36	Butyl acetate	814	12.71	2.236±0.3	0.312±0.2	0.095±0.0	0.05±0.04	6.895±2.8	2.014±1.1	0.35±0.30	0.055±0.0	5.126±2.0	0.59±0.39	0.171±0.0
37	Methyl pentanoate	823	12.98	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
38	Propan-2-yl butanoate	841	13.50	0.041±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.071±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.058±0.0	N.D.	N.D.
39	Ethyl 2-butenate	843	13.57	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
40	Ethyl 2-methylbutanoate	848	13.73	0.027±0.0	0.003±0.0	0.016±0.0	0.1±0.14	0.026±0.0	0.235±0.3	0.033±0.0	0.276±0.3	0.178±0.1	0.125±0.1	0.055±0.0
41	3-Methylbutyl acetate	876	14.55	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
42	2-Methylbutyl acetate	878	14.62	19.944±1.	7.441±3.0	2.622±1.0	0.613±0.5	55.943±13	21.335±9.	8.091±6.6	0.688±0.2	48.591±24	17.777±15	10.027±8.
43	Propyl butanoate	899	15.24	0.147±0.0	0.037±0.0	0.011±0.0	0.013±0.0	0.369±0.0	0.235±0.1	0.113±0.0	0.024±0.0	0.288±0.0	0.033±0.0	0.029±0.0
44	Ethyl pentanoate	901	15.33	N.D.	N.D.	0.014±0.0	N.D.	N.D.	0.009±0.0	0.006±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
						25			16	1				

45	Butyl propanoate	909	15.59	0.248±0.0	0.159±0.0	0.014±0.0	0.004±0.0	0.751±0.4	0.555±0.3	0.167±0.1	N.D.	0.503±0.2	0.203±0.1	0.066±0.0
				34	73	13	07	22	84	68		15	23	52
46	Pentyl acetate	914	15.77	0.876±0.1	0.302±0.0	0.078±0.0	0.032±0.0	2.215±0.3	0.777±0.3	0.245±0.1	0±0	2.179±0.9	0.401±0.2	0.138±0.0
				13	53	22	33	67	32	98		52	32	64
47	Methyl hexanoate	924	16.12	0.505±0.1	0.526±0.1	0.488±0.1	0.236±0.0	0.994±0.2	1.138±0.2	1.045±0.1	0.29±0.12	0.769±0.1	0.86±0.23	0.838±0.2
				97	19	04	62	6	08	85	4	5	5	63
48	1,2-Dimethoxyethane	935	16.50	N.D.	N.D.	0.014±0.0	0.014±0.0	N.D.	N.D.	0.021±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
						25	25			36				
49	Ethyl (<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoate	939	16.66	N.D.	N.D.	0±0	0.01±0.01	N.D.	0.04±0.06	N.D.	0.016±0.0	N.D.	0.016±0.0	0.004±0.0
							7		9		27		28	06
50	Propyl 2-methylbutanoate	946	16.88	0.064±0.0	0.051±0.0	0.037±0.0	0.034±0.0	0.177±0.0	0.372±0.2	0.171±0.1	0.097±0.1	0.144±0.0	0.12±0.08	0.08±0.05
				3	13	04	59	86	16	08	12	72	4	3
51	2-Methylpropyl butanoate	955	17.20	0.089±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.222±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.114±0.0	N.D.	N.D.
				86				76				99		
52	3-Methylbutyl propanoate	971	17.78	0.245±0.0	0.328±0.1	0.156±0.0	0.019±0.0	0.656±0.2	1.066±0.8	0.671±0.6	0.022±0.0	0.451±0.1	0.827±0.5	0.543±0.4
				59	2	62	24	83		7	03	67	38	05
53	Butyl butanoate	996	18.63	1.037±0.5	0.146±0.0	0.035±0.0	0.013±0.0	1.983±0.4	0.446±0.2	0.113±0.0	0±0	1.501±0.7	0.097±0.0	0.037±0.0
					7	09	22	23	15	95		3	64	14
54	Hexyl butanoate	996	18.64	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.015±0.0	N.D.	N.D.	N.D.
											13			
55	Ethyl hexanoate	999	18.75	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
56	2-Methylpropyl 2-methylbutanoate	1003	18.90	0.094±0.0	0.08±0.01	0.05±0.04	N.D.	0.17±0.14	0.165±0.0	0.143±0.0	0.017±0.0	0.176±0.0	0.045±0.0	0.023±0.0
				82	4	6		9	36	59	29	34	77	4
57	(<i>E</i>)-hex-3-enyl acetate	1007	19.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
58	Pentyl propanoate	1007	19.04	0.044±0.0	0.033±0.0	0.009±0.0	N.D.	0.07±0.06	0.072±0.0	0.03±0.03	0±0	0.084±0.0	0.023±0.0	0.012±0.0
				07	08	08		3	4	2		42	41	21
59	Hexyl acetate	1013	19.26	7.881±0.5	2.23±0.51	0.524±0.1	0.21±0.11	13.908±2.	4.598±2.0	1.426±1.0	0.192±0.0	15.859±5.	2.487±1.6	1.117±0.6
				61	8	94	8	36	4	57	54	384	47	39
60	2-Methylbutyl 2-methylpropanoate	1016	19.38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.024±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
									42					
61	1-Methoxy-3-methylbenzene	1021	19.53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
62	Methyl heptanoate	1024	19.67	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.009±0.0	0.011±0.0	N.D.	0.013±0.0	N.D.	0.007±0.0
									16	19		23		13
63	Butyl 2-methylbutanoate	1042	20.31	0.981±0.3	0.221±0.0	0.065±0.0	0.052±0.0	1.77±0.84	1.057±0.3	0.255±0.1	0.057±0.0	1.63±0.70	0.271±0.2	0.101±0.0
				46	89	29	81	9	19	82	74	5	06	86
64	Pentyl butanoate	1058	20.89	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
65	2-Methylbutyl butanoate	1058	20.91	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.967±0.2	0.43±0.37	0.173±0.3
												82	9	
66	Pentyl butanoate2	1093	22.18	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
67	Propyl hexanoate	1095	22.24	0.284±0.1	0.123±0.0	0.097±0.0	0.076±0.0	0.479±0.0	0.387±0.3	0.331±0.1	0.088±0.0	0.397±0.1	0.179±0.0	0.117±0.0
				24	85	57	9	15	24	27	58	03	69	56
68	Methyl benzoate	1096	22.28	N.D.	N.D.	N.D.	0.003±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

							05							
69	Ethyl heptanoate	1098	22.34	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
70	2-Methylbutyl 2-methylbutanoate	1104	22.57	1.368±0.2	0.722±0.0	0.385±0.1	0.113±0.1	2.06±1.84	1.716±0.6	0.792±0.3	0.116±0.1	1.643±1.4	1.124±0.6	0.69±0.49
				22	65	13	61	4	23	77	38	78	59	2
71	Hexyl propanoate	1104	22.58	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.476±0.8	N.D.	N.D.
												25		
72	Methyl octanoate	1124	23.29	0.065±0.0	0.039±0.0	0.034±0.0	0.007±0.0	0.116±0.0	0.071±0.0	0.055±0.0	0±0	0.093±0.0	0.017±0.0	0.013±0.0
				31	06	04	13	72	14	17		13	29	22
73	Pentyl 2-methylbutanoate	1139	23.81	0.304±0.1	0.103±0.0	0.052±0.0	0.024±0.0	0.542±0.3	N.D.	N.D.	N.D.	0.473±0.1	0.13±0.07	0.065±0.0
				04	19	29	41	03				87	8	47
74	Hexyl 2-methylpropanoate	1149	24.15	0.187±0.0	0.083±0.0	N.D.	N.D.	0.241±0.0	0.151±0.0	0.059±0.0	0.009±0.0	0.223±0.0	N.D.	N.D.
				74	2			36	18	51	16	71		
75	2-Methylpropyl hexanoate	1151	24.24	0.035±0.0	0.036±0.0	0.03±0.00	0.005±0.0	0.05±0.00	0.067±0.0	0.057±0.0	N.D.	0.03±0.02	0.029±0.0	0.028±0.0
				12	05	7	09	8	2	15		7	25	11
76	1,4-Dimethoxybenzene	1169	24.87	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
77	Ethyl benzoate	1172	24.99	N.D.	N.D.	0.034±0.0	0.046±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.006±0.0	N.D.	0.024±0.0	0.005±0.0
						23	58					11	12	09
78	Butyl hexanoate	1191	25.66	4.028±1.4	1.167±0.1	0.422±0.1	0.227±0.2	5.967±1.0	2.793±0.7	1.042±0.5	0.185±0.1	4.651±1.1	1.004±0.5	0.45±0.20
				67	3	29	58	49	56	57	1	66	01	9
79	Ethyl octanoate	1197	25.86	#DIV/0!	0.007±0.0	0.027±0.0	0.048±0.0	N.D.	0.028±0.0	N.D.	0.028±0.0	0.03±0.02	0.077±0.0	0.04±0.00
					12	1	51		49		28	8	37	9
80	Hexyl 2-methylbutanoate	1237	27.24	16.576±6.	2.632±0.6	1.152±0.8	0.554±0.6	15.456±8.	5.764±0.5	2.112±0.9	0.389±0.4	20.191±4.	2.93±1.53	1.469±0.8
				64	76	25	98	336	58	33	23	119	3	54
81	Ethyl 2-phenylacetate	1246	27.56	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
82	3-Methylbutyl hexanoate	1253	27.79	1.037±0.3	0.611±0.1	0.367±0.1	0.109±0.0	1.254±0.4	1.111±0.4	0.635±0.1	0.077±0.0	1.053±0.1	0.764±0.2	0.434±0.2
				21	14	18	85	23	5	7	71	39	92	49
83	Pentyl hexanoate	1288	28.99	0.458±0.1	0.178±0.0	0.081±0.0	0.027±0.0	0.671±0.1	0.382±0.0	0.173±0.0	0.022±0.0	0.486±0.1	0.15±0.03	0.034±0.0
				62	09	3	34	71	33	79	19	31	8	6
84	Propyloctanoate	1292	29.11	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
85	Hexyl 2-methylbut-2-enoate	1331	30.40	0.037±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	0.026±0.0	0.045±0.0	0.091±0.1	N.D.	0.041±0.0	0.012±0.0	N.D.
				05				46	77	57		03	2	
86	Heptyl 2-methylbutanoate	1335	30.53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
87	2-Methylbutyl heptanoate	1351	31.04	0.028±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0±0	N.D.	0.014±0.0	N.D.	N.D.
				3								24		
88	Hexyl butanoate	1376	31.86	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.008±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
										14				
89	Hexyl hexanoate	1386	32.18	3.291±0.7	0.755±0.2	0.301±0.1	0.117±0.1	5.172±2.3	1.5±0.228	0.596±0.2	0.064±0.0	3.851±0.6	0.537±0.1	0.247±0.1
				56	04	38	45	21		96	27	49	98	02
90	Pentyl benzoate	1441	33.89	0.005±0.0	0.045±0.0	0.02±0.01	0.004±0.0	N.D.	0.048±0.0	0.009±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
				09	4	7	07		52	16				
91	3-Methylbutyl octanoate	1450	34.18	0.348±0.1	0.095±0.0	0.042±0.0	N.D.	0.448±0.0	0.133±0.0	0.023±0.0	N.D.	1.335±1.7	0.023±0.0	N.D.
				03	23	24		55	77	4		12	4	

Ketones

92	6-Methylhept-5-en-2-one	987	18.33	0.218±0.0	0.112±0.0	0.073±0.0	0.036±0.0	0.376±0.1	0.149±0.0	0.087±0.0	0.017±0.0	0.207±0.0	0.077±0.0	0.05±0.01	
				81	47	45	34	61	4	24	19	4	07	8	
Benzene & derivatives															
93	Benzene	<700	9.59	0±0	0.093±0.0	0.095±0.0	0.066±0.0	0±0	N.D.	0.171±0.0	0.071±0.0	N.D.	0.008±0.0	0.045±0.0	
					55	55	57			42	33		13	51	
94	Toluene	764	11.52	1.191±1.1	0.222±0.2	0.272±0.0	0.239±0.0	1.64±0.45	0.568±0.1	0.342±0.0	0.227±0.0	3.712±2.8	0.31±0.02	0.35±0.04	
				57	03	8	56	1	12	77	75	85	5	3	
95	Ethylbenzene	861	14.10	0.133±0.0	0.094±0.0	0.092±0.0	0.086±0.0	0.268±0.0	0.173±0.0	0.15±0.02	0.136±0.1	0.2±0.026	0.082±0.0	0.112±0.0	
				47	16	09	19	58	17	2	09		11	24	
96	1,2-Xylene	868	14.33	0.603±0.2	0.307±0.0	0.267±0.0	0.18±0.07	0.834±0.2	0.44±0.09	0.328±0.0	0.224±0.1	1.834±2.5	0.31±0.06	0.314±0.0	
				44	45	84	1	49	2	36	23	64	2	13	
97	Styrene	891	15.02	0.086±0.0	0.064±0.0	0.112±0.0	0.228±0.1	0.112±0.0	0.09±0.02	0.116±0.0	0.624±0.3	0.209±0.1	0.808±0.7	0.508±0.3	
				09	11	48	02	18		46	16	32	84	03	
98	1,3-Xylene	894	15.10	0.034±0.0	0.028±0.0	0.01±0.00	0±0	0.096±0.0	0.041±0.0	0.023±0.0	0.007±0.0	0.038±0.0	N.D.	N.D.	
				03	02	9		63	09	06	12	05			
99	1-Methoxy-4-methylbenzene	935	16.49	0.016±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.016±0.0	N.D.	N.D.	
				28								28			
100	1-Ethyl-2-methylbenzene	962	17.44	N.D.	0.004±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
					06										
101	1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene	1026	19.72	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
102	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	1086	21.92	0.008±0.0	0.006±0.0	0.005±0.0	N.D.	N.D.	0.011±0.0	N.D.	N.D.	0.039±0.0	N.D.	N.D.	
				14	11	08			19			4			
103	1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylbenzene	1090	22.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
Hedrocarbons															
104	2-Methylpentane	<700	8.47	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.05±0.04	N.D.	N.D.	N.D.	
											5				
105	Hexa-1,4-diene	<700	9.29	N.D.	0.009±0.0	0.003±0.0	0.002±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
					09	06	04								
106	2-Methyl-1,3-dioxolane	<700	9.43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
107	1-Methoxy-2-methylbutane	<700	9.98	0.038±0.0	0.054±0.0	0.022±0.0	N.D.	0.079±0.0	0.033±0.0	0.016±0.0	0.012±0.0	0±0	N.D.	0.006±0.0	
				35	35	2		39	37	18	2			11	
108	1,4-Dioxane	708	10.31	N.D.	0.003±0.0	0.009±0.0	0.002±0.0	N.D.	0.011±0.0	0.014±0.0	0.004±0.0	0.013±0.0	0.008±0.0	0.004±0.0	
					06	01	04		1	03	08	12	07	07	
109	2-Methyl-1,3,5-hexatriene	750	11.21	0.57±0.90	0.041±0.0	0.035±0.0	0.023±0.0	0.042±0.0	0.031±0.0	0.028±0.0	0.017±0.0	0.045±0.0	0.011±0.0	N.D.	
				3	06	07	15	16	06	05	16	06	19		
110	3,3-Dimethylundecane	1058	20.90	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
111	2,3,5,8-Tetramethyldecane	1063	21.08	N.D.	N.D.	0.01±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
						7									
112	3,3-Dimethylhexane	1102	22.49	N.D.	0.005±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
					09										
113	3-Ethyl-3-methylheptane	1102	22.49	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
114	Dodecane	1199	25.95	0.061±0.0	0.072±0.0	0.051±0.0	0.03±0.00	0.097±0.0	0.144±0.0	0.082±0.0	0.022±0.0	0.061±0.0	0.064±0.0	0.062±0.0	
				19	12	06	3	3	28	12	23	06	16	22	

115	2,6-Dimethyloctane	1214	26.44	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
116	Octadecane	1280	28.72	N.D.	0.062±0.0	0.052±0.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
					54	45								
117	1-Chlorododecane	1472	34.83	0.01±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
				8										
Terpenes														
118	dl-Limonene	1030	19.87	0.096±0.0	0.004±0.0	0.136±0.0	0.048±0.0	0.951±1.4	0.052±0.0	0.154±0.1	0.109±0.0	0.117±0.0	0.236±0.1	0.087±0.0
				62	08	84	51	11	3	7	85	76	17	24
119	α -Farnesene	1510	36.00	5.573±1.6	1.312±0.7	1.55±0.69	3.271±5.2	4.938±3.2	1.981±1.0	2.725±0.3	3.17±3.83	4.675±2.1	0.897±0.2	0.828±0.4
				9	92	4	07	48	34	78	5	33	82	9

* Relative peak area = each volatile component peak area / 2,3-dimethyl pyrazine peak area ratio

* N.D.= not detected

* AA: *Alternaria alternata*, CP: PDA 배지만 접종, CS: 표준 *Alternaria alternata*

② 다변량 통계 분석을 통한 사과 부패관련 냄새 마커 선정

㉞ 다변량 통계분석

- GC-MS를 이용한 정성 및 정량 분석을 통해 얻어진 파프리카, 사과의 부패 휘발성 유기성분의 변화 양상을 확인하기 위하여 SIMCA-P software (SIMCA-P version 11.0, Umetrics, Umea, Sweden)을 이용하여 주성분 분석 및 다변량 분석을 실시하였다.

㉟ 인공적으로 부패균을 접종한 사과의 균종 별, 부패 단계 별 PCA

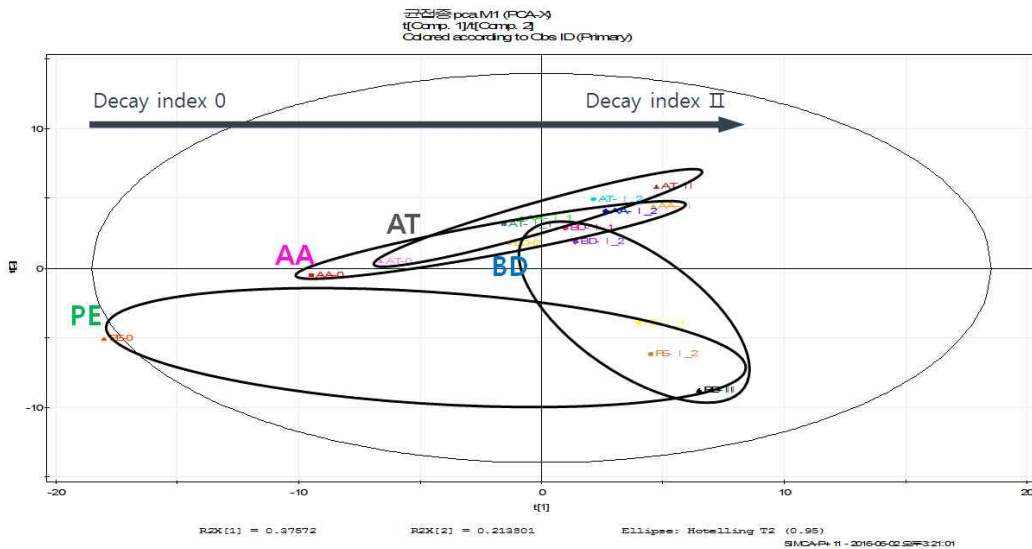


그림 84. 인공적으로 균을 접종하여 부패시킨 사과의 균종 별 휘발성 성분 주성분 분석.

- 제 1주성분 (PC 1)은 37.57%의 설명력을 나타내었으며 제 2주성분 (PC 2)는 21.38%의 설명력을 나타내어 총 변동의 58.95%를 설명하였다. BD는 균 접종 전에는 PC 1 기준 0주변, PC 2 기준 양의 방향에서 부패가 진행되면서 PC 1 기준 양의 방향, PC 2 기준 음의 방향으로 위치해가고 있으며 PE는 균 접종 전에는 PC 1의 음의 방향과 PC 2의 음의 방향에 위치해 있다가 부패가 진행되면서 PC 1 기준의 양의 방향, PC 2 기준의 음의 방향으로 위치하고 있다. AT와 AA는 균 접종 전에는 PC 1 기준의 음의 방향, PC 2 기준의 0 주변에서 점점 PC 1 기준의 양의 방향, PC 2 기준의 양의 방향으로 위치해 가고 있다.
- 전체적으로 균 접종 사과가 부패하면서 점점 PC 1 기준의 양의 방향으로 위치해 가는 것을 볼 수 있다.
- PC1과 PC2의 양과 음의 방향에 주요한 영향을 미치는 성분(VIP value > 0.072)들은 아래의 표 49와 같았다.
- PC 1의 양의 방향(Decay index III)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 benzaldehyde, 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol, butanal 이었다.

- PC 1의 음의 방향(균 접종 전 N)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 pentyl hexanoate, pentyl 2-methylbutanoate, butyl hexanoate, 2-methylbutyl butanoate, 2-methylbutyl 2-methylbutanoate, 2-methylbutyl acetate, pentyl acetate, hexyl acetate, butyl 2-methylbutanoate, butyl acetate, 이었다.
- PC 2의 양의 방향 (균 AA, AT)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 benzaldehyde, 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol, 1,4-dioxane, 1,3-xylene 이었다.
- PC 2의 음의 방향 (균 PE)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 ethyl butanoate, ethyl (*E*)-2-methylbut-2-enoate, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl octanoate, styrene, methyl 2-methylbutanoate, ethyl acetate, ethyl propanoate, ethyl benzoate, ethanol, ethyl hexanoate, (*E*)-hex-2-enal 이었다.

표 49. 인공 균 접종 부패사과의 Variable Important Plot (VIP) list

VIP value	Volatile components
0.190	Styrene
0.190	Ethyl octanoate
0.190	Ethyl 2-methylbutanoate
0.190	Ethyl (<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoate
0.190	Ethyl butanoate
0.180	Methyl 2-methylbutanoate
0.180	(<i>E</i>)-Hex-2-enal
0.180	Ethyl hexanoate
0.180	Ethanol
0.180	Ethyl benzoate
0.180	Ethyl propanoate
0.180	Ethyl acetate
0.163	Pentyl hexanoate
0.162	2-Methyl butylbutanoate
0.162	Butyl hexanoate
0.162	Pentyl 2-methylbutanoate
0.161	2-Methyl butylacetate
0.161	2-Methyl butyl2-methylbutanoate
0.159	Pentyl acetate
0.158	Hexyl acetate
0.158	Butyl acetate
0.158	Butyl 2-methylbutanoate
0.100	Benzaldehyde
0.089	2-(2-ethoxyethoxy)Ethanol
0.083	Benzaldehyde
0.078	Butanal
0.073	1,4-Dioxane
0.072	1,3-Xylene

(2) 사과 부패 관련 냄새 마커 성분 선정 실험

① 시료수집

- 1차년도에 진행하였던 균 인공 접종 사과 실험 시료에 추가실험을 진행하여 DI를 최대 35% 이상으로 확장하였다.
- 사과의 초기 부패 관련 냄새마커를 발굴하기 위하여 1차년도에 사용하였던 부패균을 접종하여 실험을 진행하였다.
 - 사과 시료는 모두 충주 부사를 사용하였으며 1차년도에서 부패사과에서 분리한 3가지의 부패균인 *Alternaria alternata* (AA), *Penicillium expansum* (PE), *Botryosphaeria dothidea* (BD)를 인공접종하였으며, 온도 25°C, 상대 습도 90%로 유지한 항온습조에서 약 14일 동안 보관하면서 휘발성 성분을 측정하였다.
 - 총 3단계로 나누었으며 접종하기 전을 DI N, 균을 접종한 직후를 DI P, 1% 미만의 초기 부패단계를 DI D 단계로 나타내었다.

② 사과의 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법 개선

- SPME법으로 추출한 휘발성 성분의 동정은 Retention Index (RI), mass spectral database (Wiley9n.1 및 NIST08) 및 manual interpretation에 의해 수행되었다. (1차년도와 동일)
- 사과의 균을 접종하여 부패시킨 시료에서는 보다 정확한 정량을 위하여 내부표준물질 2,3-dimethyl pyrazine (100 mg/L in methanol) 을 3 μ L 사용하여 peak area % 값을 (peak area/total peaks areas \times 100) 얻었다. (1차년도와 동일)
- 시료간의 정량적인 차이를 줄이고 증가한 양을 배수로 표현하기 위하여 fold change (relative peak area/해당 compound가 처음 동정된 시료의 relative peak area)를 새롭게 도입하였다. (각각의 VOC가 처음 동정되었을 때의 relative peak area값을 1로 지정하고 그 다음 단계의 relative peak area값을 배수로 표현하였다.)

③ 사과의 휘발성 유기화합물(VOC)의 동정 및 정량 분석

㉞ 1차년도의 사과 부패 휘발성 유기성분 추가 + 최종 분석

- 1차년도에 진행하였던 사과 부패 휘발 성분의 decay index를 확장, 개선하여 총 4단계의 decay index [DI 0: decay index 0 (normal state of apples with no decay); DI 1: decay index 1 ($X < 10\%$ decay of apple surface); DI 2: decay index 2 ($10 \leq X < 35\%$ decay of apple surface); DI 3: decay index 3 ($35\% \leq X$ decay of apple surface)]로 나누어 분석하였으며 결과는 표 50과 같다.

표 50. 균 인공접종하여 부패한 사과의 균종별 휘발성 성분 분석

No	RI	Possible Compounds	Path ogen	Decay index			
				DI 0	DI 1	DI 2	DI 3
Esters							
e1	<700	Methyl acetate	BD	1	1.12	1.11	-
			PE	1	25.8	6.96	46.17
			AA	1	1.15	1.04	8.42
e2	<700	EthylAcetate	BD	1	9.56	408.78	575.64
			PE	1	19.3	56.49	207.19
			AA	-	-	1	2.55
e3	711	Ethyl propanoate	BD	-	1	119.38	98.34
			PE	-	1	21.09	24.38
			AA	-	-	1	2.11
e4	713	Propyl acetate	BD	-	1	-	-
			PE	1	1.12	6.4	-
			AA	-	1	-	-
e5	720	Methyl butanoate	BD	1	1.15	1.22	-
			PE	1	0.86	0.73	0.49
			AA	1	0.87	0.44	0.54
e6	756	Ethyl 2-methylpropanoate	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	1	2.22
			AA	-	-	-	1
e7	771	2-Methylpropyl acetate	BD	1	0.67	3.08	1.46
			PE	1	0.52	0.3	0.23
			AA	1	0.33	0.05	-
e8	775	Methyl 2-methylbutanoate	BD	1	1.38	1.7	1.03
			PE	1	2.19	2.71	1.18
			AA	1	0.8	0.94	0.31
e9	784	Diethyl carbonate	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	1	7.82
			AA	-	-	-	-
e10	802	Ethyl butanoate	BD	-	1	5.51	0.6
			PE	1	1.12	8.19	5.29
			AA	1	-	11.51	18.53
e11	810	Propyl propanoate	BD	-	1	1.44	-
			PE	1	3.72	3.19	-
			AA	-	1	-	-
e12	814	Butyl acetate	BD	1	0.21	0.19	0.08
			PE	1	0.08	0.1	0.02
			AA	1	0.04	0.06	0.04
e13	840	Propan-2-yl butanoate	BD	-	-	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	-	-	-
e14	842	Ethyl 2-butenate	BD	-	-	1	2.83
			PE	-	-	1	1.31
			AA	-	-	-	-
e15	848	Ethyl 2-methylbutanoate	BD	1	3.28	122.4	57.36
			PE	1	3.96	80.27	54.75
			AA	1	0.59	9.5	15.33
e16	875	3-Methylbutyl acetate	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	1	1.23
			AA	-	-	-	-
e17	877	2-Methylbutyl acetate	BD	1	0.38	0.26	0.01
			PE	1	0.2	0.08	0.01
			AA	1	0.13	0.03	0.01
e18	898	Propyl butanoate	BD	1	-	-	-
			PE	1	0.32	0.28	-
			AA	1	0.07	0.11	-

e19	901	Ethyl pentanoate	BD	-	-	1	-
			PE	-	1	30.11	5.01
			AA	-	1	-	-
e20	908	Butyl propanoate	BD	1	0.57	0.33	-
			PE	1	0.22	0.12	-
			AA	1	0.06	-	-
e21	914	Pentyl acetate	BD	1	0.36	0.44	-
			PE	1	0.16	0.17	0.01
			AA	1	0.09	0.02	-
e22	924	Methyl hexanoate	BD	1	1.19	1	0.08
			PE	1	1.03	0.75	0.24
			AA	1	0.97	0.28	0.05
e23	934	Ethyl 3-hydroxybutanoate	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	-
e24	939	Ethyl (<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoate	BD	-	1	14.34	18.12
			PE	-	1	9.65	2.97
			AA	-	-	1	0.11
e25	945	Propyl 2-methylbutanoate	BD	1	1	1.74	0.7
			PE	1	1.21	4.04	0.34
			AA	1	0.57	0.58	0.56
e26	954	2-Methylpropyl butanoate	BD	-	-	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	-	-	-
e27	971	3-Methylbutyl propanoate	BD	1	1.83	1.59	-
			PE	1	1.13	0.18	-
			AA	1	0.64	-	-
e28	995	Butyl butanoate	BD	1	0.15	0.05	-
			PE	1	0.06	0.03	-
			AA	1	0.03	0.02	0.03
e29	998	Ethyl hexanoate	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	1	0.82
			AA	-	-	-	1
e30	1003	2-Methylpropyl 2-methylbutanoate	BD	1	-	-	0.96
			PE	1	0.81	0.43	-
			AA	1	0.53	-	-
e31	1007	(<i>E</i>)-hex-3-enyl acetate	BD	-	1	5.83	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
e32	1007	Pentyl propanoate	BD	-	1	-	-
			PE	1	0.43	-	-
			AA	1	0.2	-	-
e33	1013	Hexyl acetate	BD	1	0.45	0.67	0.11
			PE	1	0.13	0.14	0.04
			AA	1	0.07	0.05	0.02
e34	1024	Methyl heptanoate	BD	-	-	-	-
			PE	-	1	1.06	-
			AA	-	-	-	-
e35	1042	Butyl 2-methylbutanoate	BD	1	0.23	0.08	-
			PE	1	0.16	0.18	-
			AA	1	0.07	0.07	0.06
e36	1058	Pentyl butanoate	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
e37	1058	2-Methylbutyl butanoate	BD	1	0.47	-	-
			PE	1	0.31	0.18	-
			AA	1	0.11	-	-

e38	1094	Propyl hexanoate	BD	-	1	0.56	-
			PE	1	0.8	0.92	-
			AA	1	0.34	0.12	-
e39	1096	Methyl benzoate	BD	-	1	-	-
			PE	-	1	0.58	5.02
			AA	-	-	-	-
e40	1097	Ethyl heptanoate	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	1	0.18
			AA	-	-	-	-
e41	1104	2-Methylbutyl 2-methylbutanoate	BD	1	0.65	0.08	-
			PE	1	0.4	0.16	-
			AA	1	0.28	0.08	-
e42	1104	Hexyl propanoate	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
e43	1124	Methyl octanoate	BD	1	1.24	1.39	-
			PE	1	0.72	0.87	0.25
			AA	1	0.53	0.1	-
e44	1139	Pentyl 2-methylbutanoate	BD	1	0.48	0.23	-
			PE	1	0.24	0.18	-
			AA	1	0.17	0.09	0.07
e45	1148	Hexyl 2-methylpropanoate	BD	1	-	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	-	-	-
e46	1151	2-Methylpropyl hexanoate	BD	1	0.66	0.39	-
			PE	1	0.93	0.41	-
			AA	1	0.86	-	-
e47	1172	Ethyl benzoate	BD	-	1	1.2	1.32
			PE	-	1	4.28	6.8
			AA	-	1	1.38	3.29
e48	1190	Butyl hexanoate	BD	1	0.24	0.2	0.06
			PE	1	0.16	0.1	-
			AA	1	0.1	0.06	-
e49	1191	Hexyl butanoate	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	1
e50	1196	Ethyl octanoate	BD	1	3.91	29.67	11.07
			PE	1	6.47	117.9	3.63
			AA	1	3.51	9.1	4.96
e51	1237	Hexyl 2-methylbutanoate	BD	1	0.2	0.12	0.05
			PE	1	0.12	0.08	0.01
			AA	1	0.07	0.05	0.03
e52	1246	Ethyl 2-phenylacetate	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	1	0.67
			AA	-	-	-	-
e53	1252	3-Methylbutyl hexanoate	BD	1	0.5	0.36	-
			PE	1	0.46	0.17	-
			AA	1	0.35	0.04	-
e54	1288	Pentyl hexanoate	BD	1	0.24	-	-
			PE	1	0.24	0.12	-
			AA	1	0.18	0.03	-
e55	1291	Propyloctanoate	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	1	-
			AA	-	-	-	-
e56	1331	Hexyl 2-methylbut-2-enoate	BD	1	0.12	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	-	-	-

e57	1351	2-Mthylbutyl heptanoate	BD	-	-	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	-	-	-
e58	1376	Hexyl butanoate	BD	-	-	-	1
			PE	-	1	-	-
			AA	-	-	-	-
e59	1386	Hexyl hexanoate	BD	1	0.17	0.11	0.04
			PE	1	0.11	0.05	0.01
			AA	1	0.09	0.02	0
e60	1395	Ethyl decanoate	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	1	-
			AA	-	-	-	-
e61	1441	Pentyl benzoate	BD	-	1	-	-
			PE	-	1	-	-
			AA	1	3.92	-	-
e62	1450	3-Methylbutyl octanoate	BD	1	0.24	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	0.12	-	-
Alcohols							
ac1	<700	Ethanol	BD	1	6.78	128.49	912.06
			PE	1	14.43	50.18	171.17
			AA	1	1.09	5.01	13.67
ac2	<700	Propan-1-ol	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ac3	<700	2-Methylpropan-1-ol	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ac4	<700	Butan-1-ol	BD	1	0.17	0.27	2.27
			PE	1	0.1	0.1	0.2
			AA	1	0.02	0.08	0.26
ac5	731	3-Methylbutan-1-ol	BD	-	1	14.24	245.02
			PE	-	1	2.33	16.2
			AA	-	1	4.89	25.76
ac6	734	2-Methylbutan-1-ol	BD	1	0.74	0.64	3.34
			PE	1	0.37	0.12	0.18
			AA	1	0.26	0.11	0.09
ac7	796	Butane-2,3-diol	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	-
ac8	854	3-Hexen-1-ol	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ac9	867	Hexan-1-ol	BD	1	0.87	2.25	15.09
			PE	1	0.27	0.15	0.35
			AA	1	0.11	0.05	0.08
ac10	934	(4-methylphenyl)Methanol	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ac11	978	1-Octen-3-ol	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	1
ac12	992	6-Methylhept-5-en-2-ol	BD	-	1	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	1	-	-	-
ac13	1003	2-(2-ethoxyethoxy)Ethanol	BD	-	1	0.62	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	1	-	-

ac14	1028	2-Ethylhexan-1-ol	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	1	21.94
ac15	1034	Phenylmethanol	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	1	1.82	4.38
ac16	1101	5-Methyl-2-propan-2-ylhexan-1-ol	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ac17	1101	2-Propylheptan-1-ol	BD	-	-	1	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ac18	1113	2-Phenylethanol	BD	-	-	1	27.89
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
Aldehydes							
ah1	<700	Acetaldehyde	BD	-	-	1	63.68
			PE	-	-	1	16.97
			AA	-	-	-	-
ah2	<700	2-Methylprop-2-enal	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
ah3	<700	3-Methylbutanal	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	1
ah4	<700	2-Methylidenebutanal	BD	1	0.72	0.45	2
			PE	1	0.44	0.27	0.12
			AA	1	0.53	0.29	0.1
Ah5	800	Hexanal	BD	1	1.3	-	-
			PE	1	0.16	-	-
			AA	1	0.21	-	-
Ah6	851	<i>(E)</i> -Hex-2-enal	BD	-	-	-	-
			PE	-	1	0.72	-
			AA	-	-	-	-
Ah7	960	Benzaldehyde	BD	1	10.12	6.18	7.19
			PE	1	1.02	1.38	17.49
			AA	1	113.24	47.65	49.83
Ah8	1003	Octanal	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	1	-
Ah9	1104	Nonanal	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	1
ah10	1205	Decanal	BD	1	2.61	0.75	5.14
			PE	1	1.32	0.87	33.61
			AA	1	1	0.21	-
Acids							
a1	<700	Acetic acid	BD	-	-	-	-
			PE	-	1	-	-
			AA	-	-	-	1
Ketones							
k1	<700	Pentan-2-one	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	-
k2	<700	Pentan-3-one	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-

k3	724	3-Hydroxybutan-2-one	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	-
k4	986	3-Octanone	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	1
			AA	-	-	-	1
k5	987	6-Methylhept-5-en-2-one	BD	1	1.46	0.88	3.06
			PE	1	0.41	0.38	-
			AA	1	0.34	0.14	0.12
k6	1067	Acetophenone	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	1
Ethers							
et1	<700	2-Ethyl-1-methoxybutane	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	1
et2	<700	1-Methoxy-2-methylbutane	BD	1	0.89	-	-
			PE	1	0.31	-	1.44
			AA	1	0.58	-	-
et3	708	1,4-Dioxane	BD	-	1	-	1.57
			PE	-	1	-	-
			AA	-	1	-	-
et4	934	1,2-Dimethoxyethane	BD	-	1	0.95	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	1	-	-
Benzenes							
b1	<700	Benzene	BD	-	1	0.92	2.45
			PE	-	1	0.9	2.48
			AA	-	1	0.7	0.33
b2	764	Toluene	BD	1	0.3	0.57	1.58
			PE	1	0.14	0.07	0.08
			AA	1	0.16	0.13	0.24
b3	860	Ethylbenzene	BD	1	1.04	1.11	3.81
			PE	1	0.82	0.39	0.53
			AA	1	0.69	0.44	0.88
b4	868	1,2-Xylene	BD	1	0.59	0.94	1.95
			PE	1	0.56	0.42	0.54
			AA	1	0.44	0.32	0.4
b5	891	Styrene	BD	1	1.97	18.82	372.33
			PE	1	3.85	54.98	269.79
			AA	1	1.31	3.47	36.26
b6	894	1,3-Xylene	BD	1	0.54	-	-
			PE	1	-	-	-
			AA	1	0.29	-	0.26
b7	934	1-Methoxy-4-methylbenzene	BD	-	1	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	1	-	-	-
b8	1020	1-Methoxy-3-methylbenzene	BD	-	-	-	-
			PE	-	1	2.21	2.38
			AA	-	-	-	1
b9	1025	1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene	BD	-	1	6.71	9.26
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	1
b10	1086	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	BD	1	2.26	-	5.09
			PE	1	0.67	0.29	-
			AA	1	0.59	-	1.34
b11	1090	1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylbenzene	BD	-	-	1	0.62
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-

Hydrocarbons							
h1	<700	Hexane	BD	1	0.58	0.6	2.35
			PE	1	5.17	1.97	-
			AA	1	2.83	2.54	7.86
h2	<700	Hexa-1,4-diene	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	1	-	-
h3	<700	Heptane	BD	1	0.58	0.76	3.15
			PE	1	1.16	-	1.4
			AA	1	9.04	-	8.41
h4	750	2-Methyl-1,3,5-hexatriene	BD	1	0.8	0.76	1.27
			PE	1	0.54	0.99	1.13
			AA	1	0.69	0.6	0.28
h5	768	(3E)-3-Methylhexa-1,3,5-triene	BD	-	-	-	-
			PE	-	1	2.45	1.26
			AA	-	-	1	-
h6	800	Octane	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
h7	1058	3,3-Dimethylundecane	BD	-	-	-	-
			PE	1	0.27	-	-
			AA	-	-	-	-
h8	1063	2,3,5,8-Tetramethyldecane	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	1	-	-
h9	1199	Dodecane	BD	1	1.19	1.07	3.89
			PE	1	1.82	-	0.4
			AA	1	0.83	0.12	0.55
h10	1280	Octadecane	BD	-	-	-	-
			PE	-	-	-	-
			AA	-	1	-	-
Furans							
f1	991	2-Pentylfuran	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	1	-
			AA	-	-	-	-
Terpenes							
t1	1017	α -Terpinene (1-Methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,3-diene)	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
t2	1029	dl-Limonene (1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene)	BD	1	59.4	713.1	942.97
			PE	1	0.96	2.04	1.63
			AA	1	1.41	0.08	-
t3	1059	α -Terpinene (1-Methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene)	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
t4	1090	α -Terpinolene (1-Methyl-4-propan-2-ylidenecyclohexene)	BD	-	-	-	1
			PE	-	-	-	-
			AA	-	-	-	-
t5	1510	α -Farnesene ((3E,6E)-3,7,11-trimethyldodeca-1,3,6,10-tetraene)	BD	1	0.13	0.38	0.61
			PE	1	0.25	1.02	0.54
			AA	1	0.28	0.54	0.11

- 균을 인공 접종한 후 세 균에서 공통적으로 새롭게 검출된 성분으로는 3-methylbutan-1-ol, 3-methylbutanal, ethyl octanoate, ethyl propanoate, ethyl (*E*)-2-methylbut-2-enoate, benzene 이었으며, 공통적으로 증가한 성분으로는 ethanol, benzaldehyde, styrene, hexane, ethyl acetate, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl octanoate, methyl acetate, dl-limonene 이었다.
- 균에 따라 차이나는 성분으로는 PE에서는 ethyl decanoate, ethyl 2-phenylacetate, diethyl carbonate, propyl octanoate, (*E*)-hex-2-enal, 1-methoxy-3-methylbenzene, BD에서는 (*E*)-hex-3-enyl acetate, propan-1-ol, 2-methylpropan-1-ol, 3-hexen-1-ol, 2-phenylethanol, 1-methyl-4-propan-2-ylbenzene, α -terpinene, α -terpinolene, AA에서는 2-ethylhexan-1-ol, acetophenone이었다.

㉔ 초기 사과 부패 휘발성 유기성분 분석

- 1% 미만으로 부패될 때까지의 사과의 휘발성 유기성분을 분석한 결과는 아래 표 51 과 같다.
- 균을 접종한 직후부터 1% 미만으로 부패될 때까지 세 균에서 공통적으로 증가한 성분은 methyl acetate, 2-methylpropyl 2-methylbutanoate 이었다.
- 균에 따라 몇 가지 성분들이 차이를 보였는데, PE에서는 균을 접종한 직후인 DI P 와 1% 미만 부패시킨 DI D에서 ethanol, 2,3-dihydrofuran, methyl 2-methylbutanoate, 2-methylbutyl 2-methylpropanoate, ethylbenzene, styrene, 1-methoxy-3-methylbenzene, hexane의 성분들이 균을 접종하기 전인 DI N에 비해 2배 이상 증가하였다. 그 중 1-methoxy-3-methylbenzene, 2-methylbutyl 2-methylpropanoate 성분들은 DI D에서 처음으로 검출되었으며 ethylbenzene은 약 15배나 증가하였다.
- BD에서는 3-methylbutyl propanoate, methyl butanoate, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl (*E*)-2-methylbut-2-enoate, pentyl propanoate, 2-methylbutyl 2-methylbutanoate, 2-methylbutyl heptanoate, benzaldehyde 의 성분들이 DI N과 비교하여 DI P, DI D에서 새롭게 생성되거나 증가되었다. 그 중 benzaldehyde는 약 4 배정도로 크게 증가하였다.
- AA에서는 2,3-dihydrofuran이 DI N과 비교하여 DI P, DI D에서 증가하였다.
- 결론적으로 초기 부패 휘발성 성분으로는 ethanol, benzaldehyde, methyl acetate, 2-methylpropyl 2-methylbutanoate, styrene, 1-methoxy-3-methylbenzene, 2,3-dimethylfuran, 2-methylfuran이 가능성이 높은 성분들로 보였다.

표 51. 초기 부패 사과의 휘발성 성분 변화

No	RI	Possible Compounds	pathogens	Fold change (relative peak area / DI 0 relative peak area)		
				Decay index		
				DI N	DI P	DI D
Esters						
e1	<700	Methyl acetate	BD	-	1.00	0.14
			PE	-	1.00	2.20
			AA	-	1.00	-
e2	<700	EthylAcetate	BD	1.00	1.06	0.15
			PE	1.00	-	-
			AA	1.00	0.79	-
e3	711	Ethyl propanoate	BD	1.00	0.53	-
			PE	1.00	-	-
			AA	-	-	-
e4	713	Propyl acetate	BD	1.00	1.51	0.65
			PE	1.00	1.78	1.51
			AA	1.00	1.11	0.57
e5	720	Methyl butanoate	BD	1.00	3.34	1.50
			PE	1.00	1.34	1.11
			AA	1.00	1.54	0.88
e6	772	2-Methylpropyl acetate	BD	1.00	1.65	1.17
			PE	1.00	1.20	1.37
			AA	1.00	1.25	1.15
e7	776	Methyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	1.37	-
			PE	1.00	1.83	2.29
			AA	1.00	1.97	1.61
e8	802	Ethyl butanoate	BD	1.00	0.54	-
			PE	1.00	-	-
			AA	1.00	-	-
e9	810	Propyl propanoate	BD	1.00	1.13	0.70
			PE	1.00	1.27	1.34
			AA	1.00	1.09	0.60
e10	814	Butyl acetate	BD	1.00	1.19	0.43
			PE	1.00	0.99	0.67
			AA	1.00	0.91	0.29
e11	848	Ethyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	3.33	-
			PE	1.00	0.72	0.10
			AA	1.00	0.51	-
e12	878	2-Methylbutyl acetate	BD	1.00	1.43	0.80
			PE	1.00	1.01	1.07
			AA	1.00	0.96	0.65
e13	899	Propyl butanoate	BD	1.00	0.66	-
			PE	1.00	1.31	1.00
			AA	1.00	0.76	-
e14	909	Butyl propanoate	BD	1.00	1.33	0.63
			PE	1.00	1.02	0.93
			AA	1.00	0.98	0.41
e15	914	Pentyl acetate	BD	1.00	1.12	0.48
			PE	1.00	1.05	0.77
			AA	1.00	0.93	0.41
e16	924	Methyl hexanoate	BD	1.00	1.84	1.03
			PE	1.00	1.04	1.12
			AA	1.00	1.39	0.98
e17	939	Ethyl (E)-2-methylbut-2-enoate	BD	-	1.00	-
			PE	-	-	-
			AA	-	-	-
e18	946	Propyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	1.10	0.46
			PE	1.00	0.61	0.68
			AA	1.00	0.45	0.24
e19	971	3-Methylbutyl propanoate	BD	1.00	2.15	1.88
			PE	1.00	1.12	2.11
			AA	1.00	1.42	1.67

e20	996	Butyl butanoate	BD	1.00	0.67	0.27
			PE	1.00	0.45	0.38
			AA	1.00	0.47	0.13
e21	1003	2-Methylpropyl 2-methylbutanoate	BD	-	-	1.00
			PE	-	-	1.00
			AA	-	-	1.00
e22	1007	Pentyl propanoate	BD	1.00	2.15	1.00
			PE	1.00	1.05	0.86
			AA	1.00	1.24	0.70
e23	1013	Hexyl acetate	BD	1.00	0.94	0.32
			PE	1.00	0.74	0.51
			AA	1.00	0.71	0.24
e24	1016	2-Methylbutyl 2-methylpropanoate	BD	-	-	-
			PE	-	-	1.00
			AA	-	-	-
e25	1042	Butyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	1.22	0.43
			PE	1.00	0.54	0.57
			AA	1.00	0.48	0.24
e26	1058	Pentyl butanoate	BD	1.00	-	-
			PE	1.00	-	-
			AA	1.00	-	-
e27	1058	2-Methylbutyl butanoate	BD	1.00	0.94	0.60
			PE	1.00	0.50	0.80
			AA	1.00	0.57	0.47
e28	1095	Propyl hexanoate	BD	1.00	2.25	1.17
			PE	1.00	0.47	0.66
			AA	1.00	1.65	0.54
e29	1104	2-Methylbutyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	2.15	0.88
			PE	-	1.00	1.26
			AA	1.00	-	0.95
e30	1104	Hexyl propanoate	BD	1.00	-	-
			PE	1.00	0.24	0.27
			AA	1.00	1.06	-
e31	1124	Methyl octanoate	BD	1.00	1.20	-
			PE	1.00	0.66	0.56
			AA	1.00	-	-
e32	1139	Pentyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	1.12	0.39
			PE	1.00	0.56	0.58
			AA	1.00	0.49	0.33
e33	1149	Hexyl 2-methylpropanoate	BD	1.00	0.24	0.52
			PE	1.00	-	0.50
			AA	1.00	0.84	0.59
e34	1151	2-Methylpropyl hexanoate	BD	1.00	0.50	-
			PE	1.00	-	-
			AA	-	-	1.00
e35	1191	Butyl hexanoate	BD	1.00	0.96	0.36
			PE	1.00	0.73	0.63
			AA	1.00	0.59	0.23
e36	1197	Ethyl octanoate	BD	-	1.00	-
			PE	1.00	-	-
			AA	-	1.00	-
e37	1237	Hexyl 2-methylbutanoate	BD	1.00	0.81	0.20
			PE	1.00	0.52	0.36
			AA	1.00	0.48	0.17
e38	1253	3-Methylbutyl hexanoate	BD	1.00	1.34	0.70
			PE	1.00	0.89	1.02
			AA	1.00	0.83	0.66
e39	1288	Pentyl hexanoate	BD	1.00	1.18	0.30
			PE	1.00	0.88	0.72
			AA	1.00	0.76	0.33
e40	1292	Propyloctanoate	BD	1.00	0.39	-
			PE	1.00	-	-

			AA	-	-	-
e41	1331	Hexyl 2-methylbut-2-enoate	BD	1.00	1.37	0.34
			PE	1.00	0.64	0.47
			AA	1.00	0.81	-
e42	1351	2-Mthylbutyl heptanoate	BD	1.00	2.03	-
			PE	1.00	1.06	0.91
			AA	-	1.00	-
e43	1386	Hexyl hexanoate	BD	1.00	0.90	0.21
			PE	1.00	0.67	0.44
			AA	1.00	0.52	0.16
e44	1440	3-methylbutyl benzoate	BD	1.00	0.72	0.08
			PE	1.00	0.53	0.44
			AA	1.00	0.72	0.49
e45	1450	3-Methylbutyl octanoate	BD	1.00	1.29	0.11
			PE	1.00	0.76	0.53
			AA	1.00	0.54	0.17
Alcohols						
ac1	<700	Ethanol	BD	1.00	0.90	0.18
			PE	1.00	2.81	0.45
			AA	1.00	0.26	0.20
ac2	<700	Propan-1-ol	BD	-	-	-
			PE	1.00	0.81	0.96
			AA	-	-	1.00
ac3	<700	Butan-1-ol	BD	1.00	0.89	0.41
			PE	1.00	0.72	0.65
			AA	1.00	1.40	0.64
ac4	734	2-Methylbutan-1-ol	BD	1.00	1.70	1.15
			PE	1.00	1.07	1.40
			AA	1.00	1.12	0.97
ac5	867	Hexan-1-ol	BD	1.00	0.98	0.38
			PE	1.00	0.70	0.38
			AA	1.00	0.73	0.31
ac6	1003	2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol	BD	1.00	-	-
			PE	1.00	-	-
			AA	1.00	-	0.10
Aldehydes						
al1	716	Butanal	BD	1.00	1.82	0.96
			PE	1.00	1.31	1.83
			AA	1.00	1.11	0.99
al2	737	2-Methylidenebutanal	BD	1.00	0.54	0.40
			PE	1.00	0.29	0.56
			AA	1.00	0.14	0.13
al3	770	2-Methylbut-2-inal	BD	1.00	-	-
			PE	1.00	3.43	-
			AA	1.00	-	-
al4	801	Hexanal	BD	1.00	0.33	0.80
			PE	1.00	0.74	0.91
			AA	1.00	1.06	0.28
al5	961	Benzaldehyde	BD	1.00	4.24	4.64
			PE	1.00	0.82	0.09
			AA	1.00	0.70	1.08
Ketone						
k1	987	6-Methylhept-5-en-2-one	BD	1.00	0.84	0.21
			PE	1.00	0.26	0.42
			AA	1.00	0.24	0.08
Ether						
et1	<700	1-Methoxy-2-methylbutane	BD	-	1.00	-
			PE	1.00	0.94	0.69
			AA	-	-	-
Benzenes						
b1	764	Toluene	BD	1.00	0.93	0.76
			PE	1.00	1.01	0.99
			AA	1.00	1.15	0.58
b2	861	Ethylbenzene	BD	1.00	0.46	0.38

			PE	1.00	0.98	15.20
			AA	1.00	0.95	0.54
b3	891	Styrene	BD	1.00	1.27	0.87
			PE	1.00	2.51	0.85
			AA	1.00	1.16	0.96
b4	1021	1-Methoxy-3-methylbenzene	BD	-	-	-
			PE	-	-	1.00
			AA	-	-	-
b5	1086	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	BD	-	-	1.00
			PE	1.00	0.80	0.12
			AA	1.00	0.92	0.19
b6	1486	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)benzene	BD	1.00	0.37	-
			PE	1.00	0.47	0.47
			AA	1.00	0.32	0.18
Hydrocarbon						
h1	<700	Hexane	BD	-	-	-
			PE	-	1.00	-
			AA	-	-	-
Furans						
f1	712	2,3-Dihydrofuran	BD	1.00	0.98	0.73
			PE	1.00	2.51	2.28
			AA	1.00	2.04	1.79
f2	721	2-Methylfuran	BD	1.00	-	1.27
			PE	1.00	0.75	1.86
			AA	1.00	-	1.31
f3	725	Tetrahydrofurane	BD	1.00	0.75	0.66
			PE	1.00	2.54	2.17
			AA	1.00	1.20	1.14
Terpenes						
t1	1030	dl-Limonene (1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene)	BD	-	1.00	0.50
			PE	1.00	-	1.04
			AA	-	-	-
t2	1510	α -Farnesene ((3E,6E)-3,7,11-trimethyldodeca-1,3,6,10-tetraene)	BD	1.00	0.59	0.05
			PE	1.00	0.15	0.20
			AA	1.00	0.07	0.19

* -: not detected

(2) 파프리카의 휘발성유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법 및 데이터 프라세싱법 확립

(가) 연구수행 방법

① 시료수집

- 파프리카의 부패 단계별 부패 관련 냄새마커를 발굴하기 위하여 인공적으로 부패 균을 접종한 시료를 이용하여 실험을 진행하였다.
- 파프리카 시료는 Red 품종으로 부패파프리카에서 분리한 3가지의 부패균인 *Botrytis cinerea* (BC), *Fusarium lactis* (FL), *Fusarium proliferatum* (FP) 균을 접종하여 3균으로 실험을 진행하였다. 각 부패 세균을 인공적으로 접종한 시료는 온도 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 상대 습도 $90\pm 1\%$ 에서 약 30일간 동안 보관하면서 접종하기 전 (0)과 접종 후 0~1% 부패 직후 (I), 5% 미만으로 부패한 상태 (II), ~20%미만으로 부패한 상태 (III), ~50%미만으로 부패한 상태 (IV)의 단계에 맞춰 휘발성 성분을 분석하였다.

② 파프리카 내 휘발성 유기화합물의 solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 추출 방법 및 GC-MS 분석 방법

- SPME 방법

- SPME 방법은 시료를 일정한 온도에서 headspace상으로 휘발성 성분을 이동시키고 이를 polymer로 코팅된 fiber를 이용하여 추출하는 방법이다 (Helena P., Lucija Z., 1999).
- 파프리카의 휘발성 성분을 포집하기 위하여 시료를 2000 mL의 밀폐용기에 넣어 상온 ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 60분 동안 평형시키고 시료의 휘발성 성분들을 흡착시키기 위하여 DVB/CAR/PDMS fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하여 20분 동안 흡착시켰다. 이후 다른 2000mL 밀폐용기에 60분 동안 내부 표준 물질을 평형시키고 앞서 시료를 흡착한 fiber를 노출시켜 20분동안 흡착시켰다.

- GC-MS 분석 방법

- SPME법을 이용하여 추출한 시료의 휘발성 향기성분은 6890N GC system과 5975 MSD (agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다.
- 파프리카의 휘발성 유기화합물을 분석하기 위하여 흡착시킨 SPME fiber를 250°C 에서 5분간 유지하며 GC-MS에 휘발성 향기성분을 탈착시켰다. 탈착하는 5분 동안 액체질소를 이용하여 -80°C 를 유지하는 cryo-focus system을 사용하였다. Column은 HP-5MS UI capillary column(30m length \times 0.25mm I.D., 0.15 μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)을 이용하였고, GC oven은 40°C 에서 6분간 유지한 후 $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 의 속도로 200°C 까지 올린 후 5분간 유지하였다. 이동상 기체로 helium을 $0.8\text{mL}/\text{min}$ 의 속도로 흘려주었으며, 주입기는 splitless모드로 설정하였다. Mass scan range는 35-350 a.m.u.였으며 scan rate는 4.45 scans/sec, transfer line 온도는 280°C 이고 mass spectra ionization energy는 70eV 였다.

③ 파프리카의 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법

- SPME법으로 추출한 휘발성 성분의 동정은 Retention Index (RI), mass spectral database (Wiley9n.1 및 NIST08) 및 manual interpretation에 의해 수행되었다.
- 인공접종한 파프리카의 정량은 내부표준물질을 이용하였으며, Ethyl 2-methyl butanoate 50 ppm (w/v)을 1 μ L 사용하였다.

④ 파프리카의 휘발성 유기성분 추출법 및 분석법 확립

- SPME (Solid phase micro-extraction) 방법의 최적 평형시간 설정
- 휘발성 유기성분 추출을 위한 SPME방법의 최적 조건을 구축하기 위하여 평형시간을 60분, 75분, 90분으로 달리하여 분석한 결과, 시간에 따라 headspace의 평형 정도의 차이가 크지 않았으며, 실험의 효율성을 고려하여 본 실험에서의 SPME 추출을 위한 휘발성 성분 평형시간은 60분으로 설정하였다.

(나) 연구수행 결과

① Red 파프리카 휘발성 유기화합물(VOC)의 동정 및 정량 분석

② Red 파프리카의 균종 별 부패사진

- 부패균인 *Botrytis cinerea* (BC), *Fusarium lactis* (FL), *Fusarium proliferatum* (FP) 균을 접종한 파프리카의 부패 단계 별 진행모습은 아래 그림 84, 85, 86과 같았다.

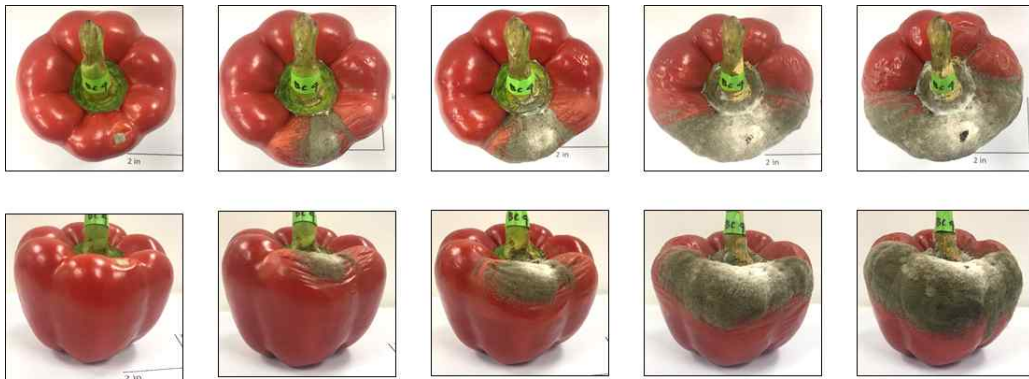


그림 84. *Botrytis cinerea* (BC) 균을 접종한 파프리카의 부패 진행 양상.

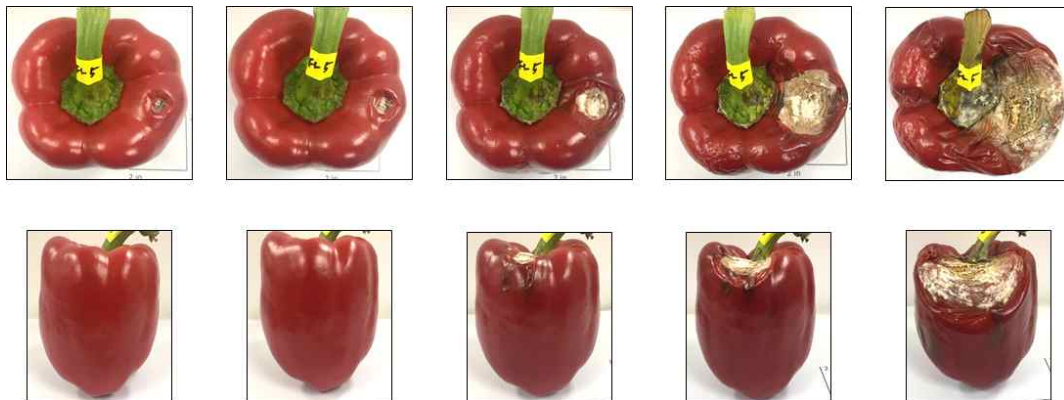


그림 85. *Fusarium lactis* (FL) 균을 접종한 파프리카의 부패 진행 양상.

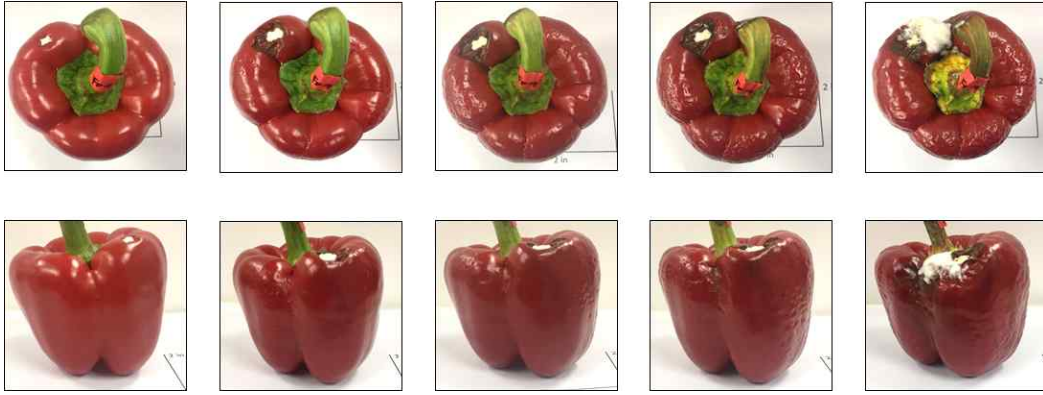


그림 86. *Fusarium proliferatum* (FP) 균을 접종한 파프리카의 부패 진행 양상.

㉔ Red 파프리카의 균종 별, 부패 단계 별 휘발성 유기성분 분석

- 인공적으로 균을 접종한 파프리카의 균종별 부패 휘발성 성분은 아래 표 52, 53, 54와 같았다 .

- *Botrytis cinerea* (BC)을 살펴보면, ethanol 등 총 3종의 alcohol류가 동정되었으며, benzaldehyde 등 총 3종의 aldehyde류가 동정되었다. Benzene & derivatives류로는 총 12종이 동정되었고 butyl benzene이 II 단계까지 증가하였으며 styrene은 III 단계까지 크게 증가하였다. Ester류는 2종이 동정되었으며 ethyl acetate가 부패 단계 내내 증가하였다. Furan & derivatives류는 6종이 동정되었는데 2-methyl furan이 III 단계부터 생성되어 증가하였고, oxolane은 부패 단계 동안 상대적으로 높은 생성량을 유지하였다. Hydrocarbon류는 총 24종이 동정되었으며 hept-1-ene, dodecane, 2,3,6-trimethyldecane 및 tetradecane이 II 까지 증가하였다. 또한 (3E)-3,7-dimethylocta-1,3,6-triene은 I 단계 까지 증가하다가 감소하였다. Ketone류는 octan-3-one등 2종이 동정되었으며, N-containing compound류로 1-methylpyrrole이 동정되었으며 부패 단계 내내 증가하였다. Terpene류는 6종이 동정되었으며 dl-limonene, aromadendrene, β -chamigrene이 부패가 진행되면서 증가하였다.
- *Fusarium lactis* (FL)을 살펴보면 ethanol 등 총 3종의 alcohol류가 동정되었으며, oct-1-en-3-ol이 III 단계부터 생성되어 증가하였다. Aldehyde류는 3종이 동정되었고 benzaldehyde가 II 까지 증가하다가 감소하는 경향을 보였으며, benzene & derivatives류는 12종이 동정되었고 styrene, 1-methyl-4-propan-2-ylbenzene, butylbenzene II 단계 까지 크게 증가하였으며 benzene, 1,2,4-trimethylbenzene III 단계 까지 증가하였다. Ester류는 ethyl acetate등 3종이 동정되었으며, furan & derivatives류는 oxolane등 5종이 동정되었다. Hydrocarbon류는 총 28종이 동정되었으며 methylcyclohexane, dodecane, 2,3,6-trimethyldecane 및 2-methyldodecane은 II 단계 까지 증가하였고 heptane, octane, nonane은 III 단계 까지 증가하였다. Ketone류는 octan-3-one등 2종이 동정되었으며, N-containing compound류로 1-methylpyrrole이

동정되었으며 II 단계 이후에 크게 증가하였다. Terpene류는 9종이 동정되었고 II 단계 이후에 dl-limonene, β -elemene, aromadendrene, α -muurolene 등이 검출되어 크게 증가하였다.

- *Fusarium proliferatum* (FP)을 살펴보면 alcohol류는 3종이 동정되었고 ethanol이 큰 폭으로 감소하였으며, benzaldehyde 등 총 4종의 aldehyde류가 동정되었다. Benzene & derivatives류는 15종이 동정되었고 benzene이 II 단계 까지 증가하였으며 1,3-xylene이 IV 단계에서 크게 증가하였다. Ester류는 총 3종이 동정되었고 ethyl acetate는 I에서 증가하였으며, furan & derivatives류는 5종이 동정되었고 2,3-dihydrofuran이 II까지 증가하였다. 가장 많은 부분을 차지하는 hydrocarbon류는 총 38종이 동정되었고 hexane, 3,6-dimethyldecane, dodecane, tridecane 및 4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane이 증가하였다. Ketone류는 octan-3-one등 2종이 동정되었으며, N-containing compound류로 1-methylpyrrole이 동정되었으며 IV 단계 까지 꾸준히 증가하였다. Terpene류는 9종이 동정되었고 dl-limonene, β -elemene 및 α -muurolene 이 부패 기간 동안 증가하였다.
- 전체적으로 FL와 FP에서 BC에 비해 상대적으로 더 많은 hydrocarbon류 및 terpene류들이 동정되었고 증가하였다. 세 가지 균에서 공통적으로 증가한 성분들을 살펴보면, N-containing compound류에서는 1-methylpyrrole, terpene류에서는 dl-limonene, α -muurolene, hydrocarbon류에서는 dodecane 등의 성분들이었다.
- 전체 성분 중 증가하는 성분들에 비해 감소하는 성분은 많지 않았다. Furan& derivatives류 중 oxolane, 2-methyl-1,3-dioxolane 이 BC와 FP에서 감소하였으며, FL에서는 oxolane만 감소하였다. Alcohol류로는 hexan-2-ol이 BC에서 감소하였으며, benzene & derivatives로는 1-methyl-4-propan-2-yl benzene이 BC와 FP에서 감소하였다.

표 52. 균 인공 접종하여 부패한 파프리카의 균종별 휘발성 성분 분석 (*Botrytis cinerea*)

No.	Volatile components	RI	RT	Relative peak area*				
				BC-0	BC- I	BC- II	BC- III	BC- IV
Alcohols								
	Ethanol	<700	7.952	7.293±8.423 a	0.850±0.674 a	0.768±0.802 a	4.909±7.730 a	0.237±0.239 a
	Hexan-2-ol	803	12.27	0.064±0.043 b	0.041±0.036 ab	0.013±0.022 ab	N.D. a	0.009±0.016 ab
	Oct-1-en-3-ol	976	17.86	N.D. a	N.D. a	0.102±0.177 a	0.515±0.892 a	0.468±0.466 a
Aldehydes								
	Benzaldehyde	962	17.267	0.022±0.007 a	0.200±0.194 a	0.059±0.013 a	0.062±0.042 a	0.057±0.044 a
	Octanal	1004	18.729	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Nonanal	1102	22.403	0.099±0.171 a	0.071±0.094 a	0.115±0.127 a	0.042±0.042 a	0.038±0.037 a
	Decanal	1206	25.986	N.D. a	0.057±0.086 a	0.083±0.130 a	0.019±0.033 a	0.017±0.029 a
Benzene & derivatives								
	Benzene	<700	9.481	0.610±0.090 a	1.022±0.435 a	1.013±0.463 a	0.739±0.053 a	0.541±0.231 a
	Toluene	765	11.397	4.451±3.844 a	10.800±4.457 a	5.049±0.551 a	6.849±4.882 a	5.012±3.464 a
	Ethylbenzene	860	13.957	0.666±0.261 a	1.431±0.491 a	1.165±0.184 a	1.273±0.958 a	0.894±0.493 a
	1,3-Xylene	864	14.193	1.127±0.556 a	2.400±0.756 a	1.776±0.350 a	1.853±1.056 a	1.636±0.959 a
	Styrene	892	14.879	0.269±0.144 a	0.817±0.385 bc	1.140±0.156 c	0.712±0.355 abc	0.488±0.188 ab
	1,2-Xylene	894	14.95	0.437±0.275 a	0.995±0.459 a	0.674±0.274 a	0.508±0.381 a	0.543±0.315 a
	1-Ethyl-3-methylbenzene	961	17.283	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,3,5-Trimethylbenzene	965	17.526	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,4-Trimethylbenzene	994	18.429	0.035±0.032 a	0.083±0.083 a	0.117±0.086 a	0.179±0.080 a	0.163±0.071 a
	1,2,3-Trimethylbenzene	1020	19.453	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1-Methyl-4-propan-2-yl benzene	1026	19.531	0.095±0.094 ab	0.178±0.094 b	0.074±0.013 ab	0.018±0.015 a	0.045±0.007 a
	Butylbenzene	1058	20.701	0.075±0.006 a	0.332±0.116 b	0.376±0.216 b	0.235±0.150 ab	0.178±0.033 ab
	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	1086	21.739	0.025±0.022 a	0.062±0.072 a	0.195±0.244 a	0.069±0.038 a	0.104±0.131 a
	1-Ethenyl-4-ethylbenzene	1093	22.009	N.D. a	N.D. a	0.150±0.133 b	0.012±0.020 ab	0.054±0.094 ab
	1,3-Dimethoxybenzene	1175	24.675	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Naphthalene	1187	25.282	N.D. a	0.063±0.063 a	0.055±0.096 a	0.075±0.037 a	0.051±0.047 a
Esters								
	Ethyl acetate	<700	8.926	0.305±0.099 a	0.712±0.484 a	0.275±0.135 ab	0.207±0.256 ab	0.041±0.037 b
	Methyl 2-methylprop-2-enoate	732	10.276	N.D. a	N.D. a	0.019±0.032 a	0.012±0.021 a	0.009±0.008 a
	Butyl acetate	812	12.581	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Furan & derivatives								

2,3-Dihydrofuran	<700	8.544	0.565±0.125 a	0.341±0.342 a	0.562±0.517 a	0.424±0.069 a	0.282±0.291 a
2-Methylfuran	<700	8.885	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.020±0.018 a	0.057±0.024 b
Oxolane	<700	9.058	2.462±0.619 ab	2.422±0.834 ab	3.290±1.653 b	1.690±0.366 ab	1.255±0.412 a
2-Methyl-1,3-dioxolane	<700	9.339	0.028±0.025 ab	0.050±0.018 b	0.023±0.024 ab	N.D. a	N.D. a
3,4-Dihydro-2H-pyran	<700	9.586	0.041±0.039 a	0.021±0.019 a	0.051±0.016 a	0.034±0.015 a	0.016±0.014 a
1,4-Dioxane	705	10.201	0.031±0.023 a	0.066±0.044 a	0.074±0.030 a	0.025±0.044 a	0.036±0.033 a

Hydrocarbons

Dichloromethane	<700	8.158	0.004±0.007 a	1.702±2.885 a	0.470±0.492 a	0.135±0.137 a	0.146±0.139 a
Hexane	<700	8.709	5.016±3.057 a	2.370±1.586 a	4.547±4.024 a	1.929±1.017 a	1.359±0.489 a
3-Methylhexane	<700	9.64	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hept-1-ene	<700	9.883	N.D. a	0.020±0.0034 ab	0.061±0.027 b	0.033±0.006 ab	0.013±0.023 a
Heptane	700	10.017	0.312±0.130 a	0.317±0.165 a	0.361±0.046 a	0.378±0.175 a	0.309±0.220 a
Methylcyclohexane	720	10.482	N.D. a	0.025±0.029 a	N.D. a	N.D. a	0.009±0.016 a
Ethylcyclopentane	733	10.689	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2-Methylheptane	760	11.326	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-1,3-Dimethylcyclohexane	773	11.644	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1-Ethyl-2-methylcyclopentane	790	11.944	0.019±0.034 a	0.049±0.047 a	0.054±0.093 a	0.021±0.036 a	0.016±0.028 a
Octane	800	12.162	0.139±0.048 a	0.251±0.095 a	0.250±0.117 a	0.243±0.031 a	0.267±0.124 a
1,4-Dimethylcyclohexane	805	12.323	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ethylcyclohexane	827	13.114	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1,3-Trimethylcyclohexane	839	13.208	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,3-Dimethylheptane	858	13.759	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1-Ethyl-4-methylcyclohexane	887	14.759	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nonane	900	15.119	0.084±0.052 a	0.196±0.096 a	0.240±0.026 a	0.279±0.163 a	0.254±0.161 a
Propylcyclohexane	930	16.161	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2-Mmethylnonane	970	17.331	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1-Methyl-3-(2-methylpropyl)cyclopentane	990	18.28	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
(3 <i>E</i>)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene	1044	20.386	0.067±0.116 a	0.822±0.759 b	0.037±0.047 a	N.D. a	N.D. a
2-Methyldecane	1065	20.907	0.014±0.013 a	0.104±0.040 a	0.073±0.081 a	0.108±0.059 a	0.061±0.015 a
Undec-1-ene	1091	21.893	N.D. a	0.125±0.128 b	N.D. a	N.D. a	N.D. a
Undecane	1100	22.215	0.076±0.100 a	0.132±0.067 a	0.141±0.006 a	0.127±0.054 a	0.114±0.052 a
3,6-Dimethyldecane	1129	22.309	0.006±0.011 a	0.080±0.026 a	0.119±0.104 a	0.090±0.064 a	0.046±0.041 a
2,6-Dimethyldecane	1119	22.519	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Dodecane	1200	25.765	0.079±0.137 a	0.206±0.113 ab	0.327±0.125 b	0.189±0.093 ab	0.184±0.077 ab
2,3,6-Trimethyldecane	1281	28.525	N.D. a	0.098±0.041 ab	0.188±0.167 b	0.115±0.084 ab	0.028±0.049 ab
Tridecane	1300	29.162	0.019±0.033 a	0.028±0.049 a	0.069±0.060 a	0.061±0.018 a	0.023±0.039 a
2-Methyldodecane	1268	31.231	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tetradecane	1400	32.401	N.D. a	0.074±0.020 a	0.165±0.036 b	0.064±0.072 a	0.074±0.057 a
1,2,3,4,4a,5,6,7,8,8a,9,9a,10,10a-Te tradecahydroanthracene	1432	33.383	N.D. a	0.054±0.093 a	0.059±0.102 a	0.052±0.091 a	N.D.
4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-e nylidene)-2-methylenebicyclo[4.1. 0]heptane	1469	34.518	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.080±0.139 a	0.066±0.114 a
1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10,10a-Te tradecahydrophenanthrene	1474	34.684	N.D. a	N.D. a	0.085±0.034 a	0.006±0.010 a	0.082±0.126 a
Pentadecane	1500	35.467	N.D. a	0.202±0.116 a	0.181±0.120 a	0.070±0.121 a	0.126±0.171 a
Nonylcyclohexane	1556	37.019	N.D. a	0.465±0.165 b	0.424±0.367 b	0.242±0.167 ab	0.359±0.190 ab
Hexadecane	1600	38.383	N.D. a	0.882±0.501 b	0.733±0.240 b	0.405±0.258 ab	0.553±0.263 ab
Decylcyclohexane	1656	39.965	N.D. a	0.624±0.355 b	0.263±0.233 ab	0.249±0.143 ab	0.307±0.115 ab
Heptadecane	1700	41.123	N.D. a	0.605±0.521 b	0.367±0.120 ab	0.227±0.063 ab	0.356±0.104 ab
Ketones							
Octan-3-one	988	18.174	0.010±0.016 a	N.D. a	0.161±0.164 a	0.189±0.327 a	0.211±0.199 a
1-(4-methoxyphenyl) Butane-1,3-dione	1410	32.712	N.D. a	0.075±0.129 a	0.165±0.143 a	0.062±0.108 a	N.D. a
N-containing compounds							
1-Methylpyrrole	737	10.853	0.005±0.008 a	N.D. a	0.255±0.441 a	1.047±0.940 ab	3.114±2.636 b
Terpenes							
dl-Limonene	1030	19.685	0.092±0.088 a	0.757±0.258 b	0.709±0.318 b	0.583±0.175 b	0.682±0.143 b
α -Copaene	1379	31.801	0.049±0.072 a	0.027±0.046 a	0.017±0.014 a	N.D. a	N.D. a
β -Elemene	1397	32.303	N.D. a	0.006±0.010 a	0.231±0.259 a	0.203±0.087 a	0.147±0.103 a
Aromadendrene	1440	34.162	N.D. a	N.D. a	0.015±0.025 ab	0.075±0.066 b	0.025±0.029 ab
β -Chamigrene	1484	34.957	N.D. a	N.D. a	0.223±0.072 a	0.114±0.121 a	0.171±0.268 a
α -Muurolene	1491	35.186	N.D. a	N.D. a	0.204±0.177 ab	0.423±0.136 b	0.335±0.318 ab
β -Selinene	1490	35.31	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Valencene	1496	35.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
α -Selinene	1503	35.561	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

* Relative peak area = each volatile component peak area / 2,3-dimethyl pyrazine peak area ratio

* N.D. = not detected

표 53. 균 인공 접종하여 부패한 파프리카의 균종별 휘발성 성분 분석 (*Fusarium lactis*)

No.	Volatile components	RI	RT	Relative peak area*					
				FL-0	FL- I	FL- II	FL- III	FL- IV	
Alcohols									
1	Ethanol	<700	7.952	8.550±4.482 b	0.657±0.671 a	0.393±0.266 a	0.289±0.248 a	0.181±0.113 a	
2	Hexan-2-ol	803	12.27	0.027±0.032 a	0.020±0.034 a	0.034±0.012 a	N.D. a	N.D. a	
3	Oct-1-en-3-ol	976	17.86	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.064±0.031 a	0.329±0.317 b	
Aldehydes									
	Benzaldehyde	962	17.267	0.005±0.008 a	0.103±0.126 ab	0.172±0.063 b	0.072±0.024 ab	0.032±0.007 a	
	Octanal	1004	18.729	0.030±0.052 a	0.004±0.007 a	0.021±0.036 a	N.D. a	N.D. a	
	Nonanal	1102	22.403	0.178±0.185 b	0.044±0.026 ab	0.067±0.059 ab	0.005±0.009 a	N.D. a	
	Decanal	1206	25.986	N.D. a	0.016±0.028 a	0.038±0.043 a	0.017±0.015 a	N.D. a	
Benzene & derivatives									
	Benzene	<700	9.481	0.487±0.062 a	0.709±0.116 ab	0.636±0.180 ab	0.735±0.103 b	0.525±0.087 ab	
	Toluene	765	11.397	5.341±0.453 a	9.467±3.182 a	3.748±0.926 a	13.054±13.031 a	7.087±1.117 a	
	Ethylbenzene	860	13.957	0.701±0.140 a	1.091±0.338 a	0.968±0.197 a	1.208±0.528 a	0.793±0.222 a	
	1,3-Xylene	864	14.193	1.162±0.193 a	1.674±0.680 a	1.356±0.199 a	1.819±0.755 a	1.341±0.402 a	
	Styrene	892	14.879	0.339±0.044 a	0.413±0.193 ab	0.713±0.332 b	0.505±0.023 ab	0.442±0.107 ab	
	1,2-Xylene	894	14.95	0.404±0.058 a	0.603±0.196 a	0.539±0.038 a	0.569±0.335 a	0.487±0.042 a	
	1-Ethyl-3-methylbenzene	961	17.283	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	1,3,5-Trimethylbenzene	965	17.526	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	1,2,4-Trimethylbenzene	994	18.429	0.040±0.023 a	0.083±0.079 ab	0.113±0.067 abc	0.200±0.062 c	0.191±0.037 bc	
	1,2,3-Trimethylbenzene	1020	19.453	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	1-Methyl-4-propan-2-yl benzene	1026	19.531	N.D. a	0.100±0.012 d	0.068±0.018 c	0.029±0.013 b	0.006±0.010 a	
	Butylbenzene	1058	20.701	0.137±0.046 a	0.188±0.166 a	0.370±0.087 b	0.206±0.068 ab	0.145±0.015 a	
	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	1086	21.739	0.012±0.021 a	0.026±0.034 a	0.119±0.085 a	0.066±0.039 a	0.098±0.080 a	
	1-Ethenyl-4-ethylbenzene	1093	22.009	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

1,3-Dimethoxybenzene	1175	24.675	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.016±0.027 a	0.061±0.105 a
Naphthalene	1187	25.282	N.D. a	N.D. a	0.067±0.103 a	0.015±0.013 a	0.064±0.037 a
Esters							
Ethyl acetate	<700	8.926	0.397±0.189 ab	0.969±0.694 b	0.165±0.083 a	0.358±0.026 ab	0.073±0.004 a
Methyl 2-methylprop-2-enoate	732	10.276	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Butyl acetate	812	12.581	N.D. a	0.050±0.043 a	0.051±0.044 a	0.023±0.020 a	N.D. a
Furan & derivatives							
2,3-Dihydrofuran	<700	8.544	0.486±0.074 a	0.300±0.104 a	0.394±0.180 a	0.297±0.263 a	0.324±0.036 a
2-Methylfuran	<700	8.885	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Oxolane	<700	9.058	1.854±0.265 b	2.106±0.510 b	1.776±0.500 ab	1.588±0.455 ab	1.052±0.115 a
2-Methyl-1,3-dioxolane	<700	9.339	0.017±0.015 a	0.038±0.021 a	0.024±0.021 a	0.013±0.023 a	0.015±0.026 a
3,4-Dihydro-2H-pyran	<700	9.586	0.056±0.026 b	0.032±0.006 ab	0.014±0.012 a	0.019±0.017 a	0.010±0.017 a
1,4-Dioxane	705	10.201	0.059±0.014 b	0.046±0.021 b	0.036±0.025 b	N.D. a	0.052±0.021 b
Hydrocarbons							
Hexane	<700	8.709	1.948±1.013 ab	3.855±2.607 b	2.480±0.181 ab	1.401±1.331 ab	0.671±0.085 a
3-Methylhexane	<700	9.64	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hept-1-ene	<700	9.883	0.021±0.005 ab	0.029±0.014 b	0.008±0.014 ab	0.011±0.019 ab	N.D. a
Heptane	700	10.017	0.218±0.071 a	0.211±0.039 a	0.348±0.056 ab	0.542±0.187 b	0.250±0.222 a
Methylcyclohexane	720	10.482	N.D. a	0.029±0.004 b	0.031±0.008 b	0.006±0.011 a	0.019±0.020 ab
Ethylcyclopentane	733	10.689	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2-Methylheptane	760	11.326	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-1,3-Dimethylcyclohexane	773	11.644	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1-Ethyl-2-methylcyclopentane	790	11.944	0.036±0.063 a	N.D. a	0.007±0.012 a	0.005±0.009 a	N.D. a
Octane	800	12.162	0.198±0.012 a	0.156±0.039 a	0.190±0.019 a	0.374±0.176 b	0.273±0.081 ab
1,4-Dimethylcyclohexane	805	12.323	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ethylcyclohexane	827	13.114	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1,3-Trimethylcyclohexane	839	13.208	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,3-Dimethylheptane	858	13.759	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

1-Ethyl-4-methylcyclohexane	887	14.759	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nonane	900	15.119	0.122±0.025 a	0.148±0.028 a	0.146±0.012 a	0.260±0.084 b	0.198±0.085 ab
Propylcyclohexane	930	16.161	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2-Mmethylnonane	970	17.331	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.022±0.038 a	0.011±0.019 a
1-Methyl-3-(2-methylpropyl)cyclopentane	990	18.28	N.D. a	0.005±0.009 a	0.007±0.011 a	N.D. a	N.D. a
(3E)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene	1044	20.386	0.044±0.076 a	0.250±0.368 a	0.013±0.023 a	N.D. a	N.D. a
2-Methyldecane	1065	20.907	0.004±0.007 a	0.063±0.055 a	0.088±0.068 a	0.066±0.044 a	0.023±0.040 a
Undec-1-ene	1091	21.893	N.D. a	0.049±0.048 a	0.081±0.126 a	0.111±0.134 a	0.205±0.355 a
Undecane	1100	22.215	0.072±0.067 a	0.103±0.037 a	0.113±0.016 a	0.092±0.087 a	0.124±0.015 a
3,6-Dimethyldecane	1129	22.309	N.D. a	0.067±0.014 b	0.134±0.031 c	0.024±0.042 ab	N.D. a
2,6-Dimethyldecane	1119	22.519	N.D. a	0.029±0.012 b	0.054±0.018 c	N.D. a	N.D. a
Dodecane	1200	25.765	0.149±0.066 a	0.142±0.065 a	0.308±0.082 b	0.207±0.033 ab	0.157±0.030 a
2,3,6-Trimethyldecane	1281	28.525	0.014±0.024 a	0.078±0.023 ab	0.197±0.079 c	0.109±0.036 b	0.046±0.041 ab
Tridecane	1300	29.162	0.026±0.025 a	0.037±0.033 ab	0.080±0.018 b	0.071±0.011 b	0.052±0.014 ab
2-Methyl-dodecane	1268	31.231	0.005±0.009 a	0.011±0.019 ab	0.047±0.042 b	N.D. a	N.D. a
Tetradecane	1400	32.401	N.D. a	0.064±0.035 ab	0.130±0.013 b	0.109±0.126 ab	0.018±0.031 ab
1,2,3,4,4a,5,6,7,8,8a,9,9a,10,10a-Tetradecahydroanthracene	1432	33.383	N.D. a	0.031±0.054 ab	0.122±0.109 b	0.011±0.019 a	N.D. a
4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane	1469	34.518	N.D. a	N.D. a	0.344±0.219 ab	0.410±0.085 b	0.371±0.341 b
1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10,10a-Tetradecahydrophenanthrene	1474	34.684	N.D. a	N.D. a	0.051±0.088 a	0.074±0.127 a	N.D. a
Pentadecane	1500	35.467	N.D. a	N.D. a	0.077±0.091 a	0.071±0.064 a	0.070±0.094 a
Nonylcyclohexane	1556	37.019	0.163±0.283 ab	0.012±0.020 a	0.305±0.267 ab	0.391±0.097 ab	0.509±0.191 b
Hexadecane	1600	38.383	0.224±0.388 a	0.180±0.175 a	0.702±0.064 b	0.542±0.133 ab	0.893±0.316 b
Decylcyclohexane	1656	39.965	0.226±0.392 a	0.055±0.064 a	0.430±0.066 a	0.372±0.155 a	0.407±0.183 a
Heptadecane	1700	41.123	0.204±0.353 a	0.181±0.037 a	0.341±0.069 a	0.371±0.124 a	0.468±0.126 a
Ketones							
Octan-3-one	988	18.174	0.117±0.204 a	0.005±0.008 a	0.123±0.131 a	0.018±0.031 a	0.118±0.168 a

1-(4-methoxyphenyl) Butane-1,3-dione	1410	32.712	N.D. a	0.027±0.048 a	0.102±0.177 a	N.D. a	0.066±0.114 a
N-containing compounds							
1-Methylpyrrole	737	10.853	N.D. a	N.D. a	0.028±0.049 a	2.224±1.430 b	3.969±0.962 c
Terpenes							
dl-Limonene	1030	19.685	0.126±0.125 a	0.783±0.217 b	0.689±0.086 b	0.569±0.188 b	0.590±0.046 b
α -Copaene	1379	31.801	0.106±0.021 b	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a
β -Elemene	1397	32.303	N.D. a	0.044±0.038 a	0.631±0.313 b	0.770±0.357 b	0.909±0.530 b
Aromadendrene	1440	34.162	N.D. a	N.D. a	0.128±0.221 ab	0.164±0.143 ab	0.256±0.041 b
β -Chamigrene	1484	34.957	N.D. a	N.D. a	0.111±0.192 a	0.009±0.015 a	N.D. a
α -Muurolene	1491	35.186	N.D. a	0.073±0.126 a	0.247±0.202 ab	0.469±0.088 bc	0.649±0.200 c
β -Selinene	1490	35.31	N.D. a	N.D. a	0.131±0.118 a	0.090±0.111 a	0.122±0.120 a
Valencene	1496	35.4	N.D. a	N.D. a	0.039±0.067 a	0.114±0.020 b	N.D. a
α -Selinene	1503	35.561	N.D. a	N.D. a	0.243±0.216 a	0.254±0.221 a	N.D. a

* Relative peak area = each volatile component peak area / 2,3-dimethyl pyrazine peak area ratio

* N.D. = not detected

표 54. 균 인공 접종하여 부패한 파프리카의 균종별 휘발성 성분 분석 (*Fusarium proliferatum*)

Volatile components	RI	RT	Relative peak area*				
			FP-0	FP- I	FP- II	FP- III	FP- IV
Alcohols							
Ethanol	<700	7.952	8.726±5.016 b	0.471±0.095 a	0.215±0.116 a	0.104±0.076 a	0.153±0.092 a
Hexan-2-ol	803	12.27	0.043±0.037 a	0.043±0.038 a	0.011±0.018 a	0.007±0.012 a	N.D. a
Oct-1-en-3-ol	976	17.86	N.D. a	0.026±0.044 a	0.244±0.243 a	0.113±0.098 a	0.317±0.305 a
Aldehydes							
Benzaldehyde	962	17.267	0.011±0.019 a	0.100±0.126 a	0.076±0.073 a	0.038±0.065 a	0.194±0.226 a
Octanal	1004	18.729	0.026±0.023 a	0.014±0.025 a	0.008±0.014 a	0.777±1.221 a	0.017±0.030 a
Nonanal	1102	22.403	0.042±0.072 a	0.058±0.054 a	0.087±0.075 a	0.059±0.102 a	0.091±0.092 a
Decanal	1206	25.986	N.D. a	0.015±0.025 a	0.092±0.080 a	0.042±0.072 a	0.051±0.088 a
Benzene & derivatives							
Benzene	<700	9.481	0.627±0.060 ab	0.823±0.132 b	0.758±0.248 b	0.674±0.120 ab	0.429±0.066 a
Toluene	765	11.397	6.695±2.055 a	8.241±1.824 a	4.652±3.112 a	4.158±1.567 a	26.854±15.357 b
Ethylbenzene	860	13.957	1.008±0.440 a	1.072±0.084 a	0.959±0.790 a	0.572±0.109 a	2.609±1.096 b
1,3-Xylene	864	14.193	1.827±0.811 ab	1.727±0.256 ab	1.644±1.280 ab	0.975±0.197 a	2.646±0.648 b
Styrene	892	14.879	0.305±0.067 a	0.423±0.167 a	0.584±0.190 a	0.499±0.154 a	0.348±0.230 a
1,2-Xylene	894	14.95	0.607±0.285 a	0.634±0.221 a	0.836±0.881 a	0.337±0.042 a	1.046±0.201 a
1-ethyl-3-Methylbenzene	961	17.283	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.307±0.531 a
1,3,5-Trimethylbenzene	965	17.526	0.024±0.033 a	0.006±0.011 a	0.07±0.011 a	N.D. a	N.D. a
1,2,4-Trimethylbenzene	994	18.429	0.067±0.060 a	0.124±0.021 a	0.130±0.142 a	0.062±0.067 a	0.411±0.125 b
1,2,3-Trimethylbenzene	1020	19.453	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.035±0.061 a
1-Methyl-4-propan-2-yl benzene	1026	19.531	0.126±0.100 ab	0.179±0.150 b	0.043±0.039 ab	0.031±0.053 ab	0.007±0.012 a
Butylbenzene	1058	20.701	0.167±0.085 a	0.217±0.212 a	0.117±0.120 a	0.161±0.148 a	0.147±0.128 a
1-Ethenyl-3-ethylbenzene	1086	21.739	0.011±0.012 a	0.044±0.044 a	0.010±0.017 a	0.026±0.045 a	0.054±0.082 a
1-Ethenyl-4-ethylbenzene	1093	22.009	N.D. a	N.D. a	0.037±0.065 a	N.D. a	0.041±0.072 a
1,3-Dimethoxybenzene	1175	24.675	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Naphthalene	1187	25.282	N.D. a	0.031±0.054 a	0.064±0.097 a	0.058±0.035 a	0.020±0.020 a
Esters							
Ethyl acetate	<700	8.926	0.433±0.102 a	1.604±0.948 b	0.156±0.036 a	0.137±0.044 a	0.104±0.045 a
Methyl 2-methylprop-2-enoate	732	10.276	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Butyl acetate	812	12.581	0.024±0.021 a	0.043±0.038 a	0.037±0.044 a	N.D. a	0.044±0.076 a
Furan & derivatives							
2,3-Dihydrofuran	<700	8.544	0.464±0.079 ab	0.353±0.072 ab	0.489±0.140 b	0.277±0.130 ab	0.232±0.157 a
2-Methylfuran	<700	8.885	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Oxolane	<700	9.058	2.184±0.115 b	2.198±0.304 b	1.900±0.826 b	1.686±0.259 ab	0.948±0.457 a
2-Methyl-1,3-dioxolane	<700	9.339	0.044±0.006 b	0.020±0.024 ab	0.017±0.029 ab	N.D. a	N.D. a
3,4-Dihydro-2H-pyran	<700	9.586	0.039±0.040 a	0.039±0.010 a	0.035±0.013 a	0.021±0.020 a	0.018±0.031 a
1,4-Dioxane	705	10.201	0.049±0.016 a	0.059±0.020 a	0.037±0.032 a	0.042±0.041 a	0.017±0.019 a
Hydrocarbons							
Hexane	<700	8.709	1.948±0.284 a	8.030±6.332 b	1.741±0.451 a	1.271±0.593 a	0.680±0.811 a
3-Methylhexane	<700	9.64	0.010±0.018 a	0.025±0.022 a	N.D. a	0.006±0.011 a	0.041±0.036 a
Hept-1-ene	<700	9.883	0.022±0.029 a	0.029±0.011 a	0.027±0.024 a	0.013±0.023 a	0.021±0.019 a
Heptane	700	10.017	0.302±0.051 a	0.268±0.018 a	0.296±0.104 a	0.315±0.083 a	0.584±0.056 b
Methyl cyclohexane	720	10.482	N.D. a	0.007±0.013 a	N.D. a	N.D. a	0.127±0.056 b
Ethyl cyclopentane	733	10.689	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.016±0.015 b
2-Methylheptane	760	11.326	0.009±0.016 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.075±0.028 b
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-1,3-Dimethylcyclohexane	773	11.644	0.007±0.012 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.079±0.072 b
1-Ethyl-2-methylcyclopentane	790	11.944	0.028±0.037 a	0.007±0.011 a	N.D. a	0.029±0.039 a	N.D. a
Octane	800	12.162	0.105±0.182 a	0.230±0.032 a	0.363±0.166 a	0.312±0.111 a	0.939±0.356 b
1,4-Dimethylcyclohexane	805	12.323	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.024±0.022 b
Ethyl cyclohexane	827	13.114	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.073±0.064 b
1,1,3-Trimethylcyclohexane	839	13.208	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.045±0.039 b
2,3-Dimethylheptane	858	13.759	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.020±0.034 a
1-Ethyl-4-methylcyclohexane	887	14.759	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.047±0.043 b
Nonane	900	15.119	0.146±0.044 a	0.183±0.027 a	0.166±0.114 a	0.112±0.027 a	0.487±0.204 b
Propylcyclohexane	930	16.161	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.095±0.060 b
2-Mmethylnonane	970	17.331	N.D. a	0.011±0.011 a	N.D. a	N.D. a	0.133±0.231 a
1-Methyl-3-(2-methylpropyl)cyclopentane	990	18.28	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.071±0.122 a
(3 <i>E</i>)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene	1044	20.386	0.391±0.347a	0.493±0.854 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a
2-Methyldecane	1065	20.907	0.025±0.044 a	0.036±0.051 a	0.022±0.038 a	N.D. a	0.026±0.045 a
Undec-1-ene	1091	21.893	0.054±0.085 a	0.126±0.098 a	0.124±0.056 a	0.082±0.081 a	0.025±0.043 a
Undecane	1100	22.215	0.074±0.052 a	0.121±0.032 a	0.110±0.075 a	0.096±0.018 a	0.179±0.080 a
3,6-Dimethyldecane	1129	22.309	0.018±0.009 ab	0.076±0.017 bc	0.095±0.063 b	0.027±0.047 abc	N.D. a
2,6-Dimethyldecane	1119	22.519	0.007±0.012 a	0.012±0.021 a	0.028±0.048 a	N.D. a	N.D. a
Dodecane	1200	25.765	0.094±0.062 a	0.161±0.070 ab	0.298±0.184 b	0.194±0.036 ab	0.096±0.068 a
2,3,6-Trimethyldecane	1281	28.525	N.D. a	0.036±0.063 a	0.133±0.146 a	0.081±0.053 a	0.062±0.076 a
Tridecane	1300	29.162	0.009±0.016 a	0.029±0.050 ab	0.077±0.042 b	0.054±0.028 ab	N.D. a

2-Methyldodecane	1268	31.231	N.D. a	0.007±0.012 ab	0.026±0.022 b	N.D. a	N.D. a
Tetradecane	1400	32.401	N.D. a	0.079±0.079 a	0.098±0.085 a	0.036±0.032 a	0.007±0.012 a
1,2,3,4,4a,5,6,7,8,8a,9,9a,10,10a-Tetradecahydroanthracene	1432	33.383	N.D. a	0.033±0.057 a	0.172±0.297 a	0.035±0.060 a	0.230±0.251 a
4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane	1469	34.518	0.003±0.006 a	N.D. a	0.240±0.233 b	0.159±0.090 ab	0.085±0.077 ab
1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10,10a-Tetradecahydrophenanthrene	1474	34.684	N.D. a	0.035±0.060 a	0.169±0.250 a	0.073±0.126 a	0.164±0.284 a
Pentadecane	1500	35.467	N.D. a	N.D. a	0.194±0.335 a	0.072±0.124 a	0.168±0.166 a
Nonylcyclohexane	1556	37.019	N.D. a	0.034±0.035 a	0.421±0.584 a	0.314±0.246 a	0.580±0.430 a
Hexadecane	1600	38.383	N.D. a	0.187±0.240 ab	0.722±0.646 b	0.570±0.286 ab	0.658±0.293 ab
Decylcyclohexane	1656	39.965	N.D. a	0.076±0.132 a	0.348±0.417 a	0.321±0.218 a	0.365±0.167 a
Heptadecane	1700	41.123	N.D. a	0.089±0.155 a	0.286±0.099 a	1.755±2.522 a	0.295±0.068 a
Ketones							
Octan-3-one	988	18.174	0.107±0.185 a	N.D. a	0.295±0.198 a	0.222±0.044 a	0.295±0.414 a
1-(4-methoxyphenyl) Butane-1,3-dione	1410	32.712	N.D. a	0.054±0.093 a	0.211±0.289 a	N.D. a	0.252±0.436 a
N-containing compounds							
1-Methylpyrrole	737	10.853	N.D. a	0.005±0.009 a	0.919±1.051 a	4.454±2.685 b	2.890±2.327 ab
Terpenes							
dl-Limonene	1030	19.685	0.254±0.036 ab	0.557±0.108 ab	0.573±0.317 ab	0.828±0.608 b	0.160±0.151 a
α -Copaene	1379	31.801	0.100±0.078 a	0.091±0.015 a	N.D. a	0.016±0.028 a	0.052±0.089 a
β -Elemene	1397	32.303	N.D. a	0.037±0.033 a	0.975±0.736 ab	0.998±0.839 ab	1.822±0.737 b
Aromadendrene	1440	34.162	N.D. a	N.D. a	0.030±0.052 a	0.063±0.109 a	0.162±0.280 a
β -Chamigrene	1484	34.957	N.D. a	N.D. a	0.189±0.327 a	N.D. a	0.283±0.491 a
α -Muurolene	1491	35.186	N.D. a	0.032±0.055 a	0.208±0.222 ab	0.226±0.272 ab	0.617±0.500 b
β -Selinene	1490	35.31	N.D. a	N.D. a	0.177±0.163 a	0.026±0.045 a	0.247±0.427 a
Valencene	1496	35.4	N.D. a	N.D. a	0.046±0.040 b	N.D. a	N.D. a
α -Selinene	1503	35.561	N.D. a	N.D. a	0.114±0.197 a	0.190±0.329 a	0.413±0.715 a

* Relative peak area = each volatile component peak area / 2,3-dimethyl pyrazine peak area ratio

* N.D. = not detected

㉔ 다변량 통계 분석을 통한 Red 파프리카 부패관련 냄새 마커 선정

㉕ 다변량 통계분석

- GC-MS를 이용한 정성 및 정량 분석을 통해 얻어진 파프리카의 부패 휘발성 유기성분의 변화 양상을 확인하기 위하여 SIMCA-P software (SIMCA-P version 11.0, Umetrics, Umea, Sweden)을 이용하여 주성분 분석 및 다변량 분석을 실시하였다.

㉖ 인공적으로 부패균을 접종한 Red 파프리카의 균종 별, 부패 단계 별 PCA

- 부패한 파프리카에서 분리한 균을 인공적으로 접종하여 부패시켜 얻은 결과 값을 이용하여 주성분 분석을 실행한 결과는 아래 그림 87과 같았다.

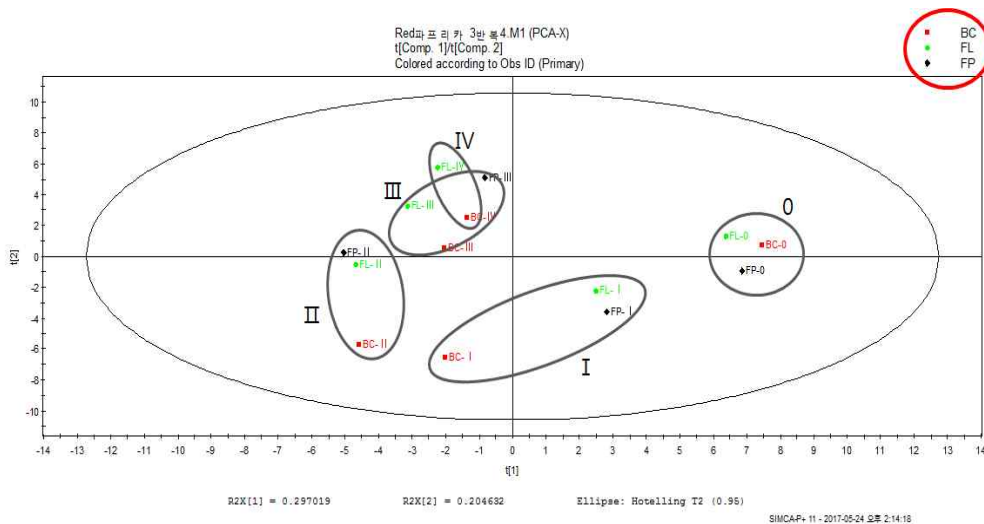


그림87. 인공적으로 균을 접종하여 부패시킨 파프리카의 균종 별 휘발성 성분의 주성분 분석.

- 제 1주성분 (PC 1)은 29.70%의 설명력을 나타내었으며 제 2주성분 (PC 2)는 20.46%의 설명력을 나타내어 총 변동의 50.17%를 설명하였다. 3가지 균 모두 균 접종 전에는 PC 1 기준 양의 방향에서 부패가 진행되면서 PC 1 기준 음의방향으로 진행되었다. 초반 부패단계인 II 단계를 지나면서 PC 2 기준 음의 방향에서 PC 2 기준 양의 방향으로 진행되었다. 3가지 균의 진행 방향은 유사했으며, 균종별보다 부패 단계별의 차이가 더 컸다.
- 전체적으로 균 접종 파프리카가 초반에 부패하면서는 점점 PC 1 기준의 음의 방향으로 위치해가고 그 뒤로는 PC 2 기준 양의 방향으로 옮겨 가는 것을 볼 수 있다. 그리고 부패가 진행되면서 비슷해져가는 양상을 보였다.

- PC1과 PC2의 양과 음의 방향에 주요한 영향을 미치는 성분 (VIP value > 0.1)들은 아래 표 55에 나타내었다.
- PC 1의 양의 방향 (균 접종 전 DI 0)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 2-methyl-1,3-dioxolane, 2,3-dihydrofuran, 1-methyl-4-propan-2-ylbenzene, ethyl acetate, α -copaene, ethanol, hexan-2-ol 등 이었다.
- PC 1의 음의 방향 (Decay Index II)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 β -elemene, α -muurolene, 1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene, tetradecahydro-anthracene, 2,3,6-trimethyldecane, octane, naphthalene 등 이었다.
- PC 2의 양의 방향 (Decay Index IV)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 1-methylpyrrole, β -elemene, α -muurolene, aromadendrene, 4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane, octane 등 이었다.
- PC 2의 음의 방향 (Decay Index I)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 1-methyl-4-propan-2-ylbenzene, benzene, 1,2-xylene, 2-methyl-1,3-dioxolane, oxolane, (3E)-3,7-dimethylocta-1,3,6-triene 등 이었다.

표 55. 인공 균 접종 부패 파프리카의 Variable Important Plot (VIP) list

VIP value	Volatile Marker Components
0.222	Oxolane
0.200	Hexadecane
0.214	1-Methylpyrrole
0.213	Benzene
0.209	1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene
0.197	Dichloromethane
0.196	Dodecane
0.194	1,2-Xylene
0.191	Nonylcyclohexane
0.191	Tridecane
0.190	2,3,6-Trimethyldecane
0.189	(3E)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene
0.182	2-Methyl-1,3-dioxlane
0.181	α -Muurolene
0.181	Ethylbenzene
0.181	Naphthalene
0.181	1,3-Xylene
0.180	α -Copaene
0.180	Aromadenrene
0.179	Hept-1-ene
0.179	Tetradecane
0.178	Ethanol
0.178	Pentadecane
0.168	Butylbenzene
0.168	3,6-Dimethyldecane
0.167	β -Elemene
0.167	Styrene
0.167	Undecane
0.163	Octane
0.162	4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane
0.162	Hexane
0.156	Decanal
0.154	1,4-Dioxane
0.154	Ethyl acetate
0.149	1-(4-methoxyphenyl)Butane-1,3-dione
0.149	1,2,4-Trimethylbenzene
0.130	1-Ethyl-2-methylcyclopentane
0.117	2-Methyldecane
0.116	3,4-Dihydro-2H-pyran
0.112	Oct-1-en-3-ol
0.111	Benzaldehyde
0.110	Octanal
0.103	β -Selinene

② Yellow 파프리카 휘발성 유기화합물(VOC)의 동정 및 정량 분석

㉞ Yellow 파프리카의 균종 별 부패사진

- 부패균인 *Botrytis cinerea* (BC), *Fusarium lactis* (FL), *Fusarium proliferatum* (FP) 균을 접종한 Yellow 파프리카의 부패 단계 별 진행모습은 아래 그림 88과 같았다.













Decay index	DI1	DI2	DI3	DI4
BC				
FL				
FP				

그림 88. Yellow 파프리카의 부패 진행 양상.

㉟ Yellow 파프리카의 균종 별, 부패 단계 별 휘발성 유기성분 분석

- 인공적으로 균을 접종한 Yellow 파프리카의 균종별 부패 휘발성 성분은 아래 표 56과 같았다. Yellow 파프리카에서는 5종의 alcohols, 5종의 aldehydes, 12종의 benzenes, 4종의 esters, 7종의 furans, 22종의 hydrocarbones, 1종의 ketone, 1종의 nitrogen-containing compound, 13종의 terpenes이 동정되어 총 70개의 휘발성 유기성분이 분석되었다. 특히 β -elemene, β -selinene, α -murrolene 등의 sesquiterpenes이 부패가 진행됨에 따라 크게 증가하는 경향을 보였다.

표 56. 균 인공 접종하여 부패한 Yellow 파프리카의 휘발성 성분 분석

No. ¹⁾	Rt ²⁾	Volatile Compounds	Pathogen ⁴⁾	Relative peak area ³⁾					ID ⁶⁾
				Decay index ⁵⁾					
				DI 0	DI 1	DI 2	DI 3	DI 4	
Alcohols									
ac1	<700	Ethanol	BC	0.097±0.033 b ⁷⁾	0.042±0.023 a	0.094±0.038 b	N.D. a ⁸⁾	N.D. a	A
			FL	0.066±0.006 a	0.059±0.019 a	0.083±0.015 a	0.234±0.252 a	0.08±0.019 a	
			FP	0.178±0.159 b	0.072±0.025 ab	0.163±0.02 ab	0.014±0.025 a	0.063±0.058 ab	
ac2	907	2-Butoxyethanol	BC	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.595±0.589 b	0.132±0.064 ab	A
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.474±0.697 a	0.118±0.095 a	
			FP	0.045±0.05 a	0.003±0.005 a	N.D. a	N.D. a	0.142±0.101 b	
ac3	1003	2-(2-ethoxyethoxy) Ethanol	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	A
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	1.604±1.06 b	0.052±0.09 a	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.327±0.286 b	0.039±0.04 a	
ac4	1027	2-Ethylhexan-1-ol	BC	0.277±0.055 a	0.303±0.048 a	0.234±0.035 a	0.331±0.087 a	0.231±0.034 a	A
			FL	0.295±0.106 a	0.292±0.048 a	0.296±0.036 a	0.754±0.421 b	0.192±0.073 a	
			FP	0.346±0.144 a	0.248±0.116 a	0.293±0.063 a	0.413±0.044 a	0.259±0.074 a	
ac5	1169	Nonan-1-ol	BC	0.089±0.022 d	0.046±0.015 bc	0.059±0.02 cd	0.013±0.023 ab	N.D. a	A
			FL	0.118±0.016 b	0.053±0.01 ab	0.117±0.034 b	0.043±0.075 ab	0.015±0.027 a	
			FP	0.182±0.087 a	0.186±0.219 a	0.036±0.005 a	0.011±0.018 a	0.007±0.013 a	
Aldehydes									
ah1	901	Heptanal	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	A
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.044±0.077 a	N.D. a	
			FP	0.016±0.028 a	0.055±0.066 a	N.D. a	0.011±0.018 a	N.D. a	
ah2	962	Benzaldehyde	BC	0.084±0.073 a	0.206±0.126 a	0.243±0.134 a	0.187±0.131 a	0.201±0.048 a	A
			FL	0.203±0.063 ab	0.112±0.132 a	0.202±0.057 ab	0.348±0.186 b	0.242±0.03 ab	
			FP	0.249±0.041 ab	0.101±0.002 a	0.237±0.052 ab	0.262±0.059 b	0.18±0.155 ab	
ah3	1002	Octanal	BC	0.361±0.203 a	0.089±0.069 a	0.148±0.076 a	0.857±1.029 a	0.085±0.044 a	B
			FL	0.466±0.046 b	0.16±0.109 a	0.273±0.081 ab	0.2±0.19 a	0.16±0.069 a	
			FP	0.725±0.289 b	0.452±0.424 ab	0.106±0.077 a	0.194±0.08 a	0.037±0.025 a	
ah4	1102	Nonanal	BC	0.262±0.085 a	0.157±0.046 a	0.257±0.15 a	0.205±0.027 a	0.109±0.052 a	A
			FL	0.379±0.024 ab	0.207±0.015 a	0.408±0.168 b	0.34±0.114 ab	0.206±0.034 a	
			FP	0.498±0.172 a	0.482±0.469 a	0.148±0.041 a	0.271±0.011 a	0.127±0.067 a	
ah5	1204	Decanal	BC	0.476±0.165 b	0.163±0.161 a	0.344±0.142 ab	0.315±0.103 ab	0.096±0.037 a	A
			FL	0.622±0.112 a	0.292±0.078 a	0.641±0.221 a	0.461±0.309 a	0.34±0.134 a	
			FP	0.89±0.415 a	1.045±1.241 a	0.193±0.08 a	0.318±0.032 a	0.091±0.038 a	
Benzenes									
b1	<700	Benzene	BC	0.296±0.049 ab	0.307±0.05 ab	0.215±0.068 a	0.674±0.412 b	0.329±0.159 ab	A
			FL	0.318±0.06 a	0.293±0.02 a	0.249±0.019 a	1.435±1.024 b	0.345±0.023 a	
			FP	0.325±0.064 a	0.255±0.096 a	0.252±0.053 a	1.015±0.545 b	0.45±0.126 a	
b2	765	Toluene	BC	1.35±0.213 a	1.62±0.18 ab	1.401±0.362 ab	2.583±0.412 c	2.276±0.834 bc	A
			FL	1.169±0.201 a	2.094±0.312 a	2.269±1.042 a	1.983±0.558 a	2.308±1.073 a	
			FP	1.183±0.285 a	1.887±0.186 bc	1.972±0.36 bc	1.375±0.295 ab	2.074±0.481 c	
b3	860	Ethylbenzene	BC	0.986±0.054 a	0.917±0.071 a	0.845±0.255 a	1.07±0.123 a	0.772±0.356 a	A
			FL	0.833±0.154 a	0.986±0.073 a	0.985±0.212 a	1.005±0.232 a	0.907±0.311 a	
			FP	1.035±0.194 a	1.018±0.419 a	0.924±0.186 a	0.816±0.165 a	0.743±0.101 a	
b4	868	1,3-Xylene	BC	1.024±0.083 a	1.136±0.137 a	1.3±0.703 a	1.213±0.288 a	0.853±0.39 a	A
			FL	0.868±0.224 ab	1.232±0.084 b	1.009±0.208 ab	1.054±0.259 ab	0.76±0.29 a	
			FP	0.952±0.173 a	0.997±0.194 a	1.228±0.059 a	0.97±0.183 a	0.989±0.206 a	

b5	892	Styrene	BC	0.656±0.196 a	0.974±0.585 a	1.312±0.808 a	1.708±0.855 a	0.768±0.371 a	A
			FL	1.338±1.009 a	0.562±0.207 a	1.923±0.945 a	1.439±0.661 a	1.652±1.044 a	
			FP	0.598±0.433 a	0.494±0.236 a	2.463±1.566 b	1.206±0.398 ab	1.479±1.294 ab	
b6	894	1,2-Xylene	BC	0.372±0.025 a	0.399±0.053 a	0.465±0.247 a	1.259±1.5 a	0.297±0.1 a	A
			FL	0.292±0.039 a	0.443±0.081 b	0.422±0.067 ab	0.391±0.104 ab	0.369±0.017 ab	
			FP	0.315±0.048 a	0.428±0.138 ab	0.486±0.048 b	0.383±0.078 ab	0.394±0.071 ab	
b7	969	1,3,5-Trimethylbenzene	BC	0.022±0.038 a	0.023±0.04 a	0.071±0.054 a	N.D. a	0.034±0.043 a	B
			FL	0.015±0.017 a	0.026±0.019 a	0.051±0.045 a	0.066±0.057 a	0.026±0.029 a	
			FP	0.013±0.013 a	0.019±0.024 a	0.02±0.017 a	0.013±0.023 a	0.054±0.053 a	
b8	995	1,2,4-Trimethylbenzene	BC	0.064±0.058 a	0.122±0.016 a	0.212±0.136 a	0.073±0.083 a	0.071±0.023 a	B
			FL	0.081±0.037 ab	0.165±0.042 c	0.137±0.031 bc	0.111±0.024 bc	0.039±0.035 a	
			FP	0.086±0.017 a	0.081±0.056 a	0.212±0.042 b	0.103±0.028 a	0.103±0.021 a	
b9	1023	1,2,3-Trimethylbenzene	BC	0.016±0.006 a	0.021±0.006 a	0.03±0.013 a	0.01±0.018 a	0.023±0.003 a	A
			FL	0.018±0.02 a	0.026±0.007 a	0.011±0.01 a	0.011±0.02 a	0.02±0.018 a	
			FP	0.013±0.023 a	0.025±0.034 a	0.039±0.009 a	N.D. a	0.017±0.029 a	
b10	1086	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	BC	0.079±0.018 b	0.03±0.015 a	0.063±0.03 ab	0.086±0.037 b	0.047±0.008 ab	C
			FL	0.067±0.023 ab	0.023±0.04 a	0.069±0.009 ab	0.135±0.083 b	0.078±0.028 ab	
			FP	0.096±0.015 a	0.068±0.024 a	0.069±0.01 a	0.088±0.039 a	0.071±0.029 a	
b11	1093	1-Ethenyl-4-ethylbenzene	BC	0.033±0.031 a	0.036±0.04 a	0.053±0.016 a	0.009±0.016 a	0.039±0.018 a	C
			FL	0.06±0.038 a	0.038±0.039 a	0.053±0.046 a	0.078±0.042 a	0.067±0.03 a	
			FP	0.04±0.056 a	0.072±0.061 a	N.D. a	0.046±0.014 a	0.047±0.018 a	
b12	1186	Naphthalene	BC	0.02±0.018 a	0.096±0.062 b	0.053±0.022 ab	0.072±0.02 ab	0.076±0.017 ab	A
			FL	N.D. a	0.069±0.021 b	0.061±0.013 b	0.097±0.03 b	0.064±0.024 b	
			FP	0.057±0.002 a	0.048±0.011 a	0.06±0.01 a	0.066±0.008 a	0.095±0.023 b	
Esters									
e1	<700	Ethyl acetate	BC	0.349±0.306 b	0.1±0.007 ab	0.024±0.042 a	N.D. a	N.D. a	A
			FL	0.106±0.083 b	0.119±0.025 b	0.074±0.035 ab	N.D. a	0.035±0.039 ab	
			FP	0.089±0.039 bc	0.111±0.063 ab	0.085±0.055 bc	N.D. a	0.011±0.018 c	
e2	814	Butyl acetate	BC	0.043±0.042 a	0.042±0.004 a	0.056±0.015 a	0.016±0.027 a	0.038±0.017 a	A
			FL	0.038±0.015 a	0.04±0.037 a	0.079±0.071 a	0.019±0.032 a	0.137±0.123 a	
			FP	0.019±0.033 ab	0.058±0.022 b	0.034±0.034 ab	N.D. a	0.023±0.02 ab	
e3	1294	[(Z)-Non-3-enyl]acetate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	B
			FL	N.D. a	N.D. a	0.074±0.065 ab	0.232±0.026 c	0.141±0.054 b	
			FP	0.018±0.031 a	0.026±0.023 a	0.092±0.006 a	0.553±0.266 b	0.216±0.157 a	
e4	1377	(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl) 2-Methylpropanoate	BC	0.055±0.018 b	0.055±0.006 b	0.044±0.017 b	0.008±0.013 a	0.007±0.013 a	B
			FL	0.022±0.019 a	0.091±0.04 b	0.043±0.011 a	0.034±0.016 a	0.015±0.026 a	
			FP	0.06±0.063 a	0.037±0.018 a	N.D. a	0.017±0.029 a	0.006±0.011 a	
Furans									
f1	<700	2,3-Dihydrofuran	BC	0.362±0.252 a	0.24±0.174 a	0.259±0.089 a	0.534±0.183 a	0.45±0.194 a	C
			FL	0.338±0.273 a	0.315±0.039 a	0.273±0.068 a	0.979±0.585 b	0.365±0.072 a	
			FP	0.809±0.22 b	0.255±0.061 a	0.253±0.127 a	0.659±0.246 b	0.322±0.112 a	
f2	<700	2-Methylfuran	BC	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.059±0.025 b	0.072±0.01 b	B
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.012±0.02 a	0.016±0.015 a	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.029±0.03 a	0.02±0.018 a	
f3	<700	Oxolane	BC	2.094±0.636 a	1.5±0.530 a	1.134±0.646 a	2.527±1.103 a	1.765±0.549 a	A
			FL	2.082±0.775 a	1.685±0.352 a	1.33±0.398 a	3.81±1.767 b	1.848±0.136 a	
			FP	3.359±0.417 b	1.358±0.493 a	1.23±0.404 a	3.386±1.452 b	2.003±0.602 ab	

f4	<700	3,4-Dihydro-2H-pyran	BC	0.055±0.014 a	0.038±0.005 a	0.043±0.036 a	0.065±0.031 a	0.055±0.015 a	B
			FL	0.052±0.018 a	0.044±0.022 a	0.021±0.001 a	0.141±0.09 b	0.057±0.019 a	
			FP	0.114±0.047 _b	0.035±0.019 a	0.028±0.015 a	0.124±0.075 _b	0.054±0.015 _{ab}	
f5	705	1,4-Dioxane	BC	0.039±0.009 _b	0.021±0.003 a	0.029±0.014 _{ab}	0.046±0.005 _b	0.037±0.01 _{ab}	A
			FL	0.033±0.007 a	0.029±0.003 a	0.023±0.005 a	0.031±0.03 a	0.039±0.004 a	
			FP	0.047±0.015 _{ab}	0.024±0.01 a	0.029±0.01 _{ab}	0.052±0.012 _b	0.038±0.016 _{ab}	
f6	915	Oxolan-2-one	BC	0.056±0.046 a	0.018±0.015 a	N.D. a	0.059±0.102 a	0.053±0.077 a	A
			FL	0.049±0.051 a	0.008±0.014 a	0.005±0.009 a	2.525±2.149 _b	0.085±0.028 a	
			FP	0.165±0.048 _{bc}	0.022±0.020 a	N.D. a	0.211±0.148 c	0.049±0.043 _{ab}	
f7	990	2-Pentylfuran	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	A
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.039±0.068 a	0.072±0.051 a	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.209±0.157 a	0.207±0.227 a	
Hydrocarbons									
h1	<700	Hexane	BC	0.894±0.179 a	0.645±0.008 a	5.543±4.394 _b	2.927±0.929 _{ab}	3.311±1.672 _{ab}	A
			FL	0.894±0.212 a	0.735±0.055 a	1.689±0.223 _{ab}	3.307±0.705 _{ab}	4.867±4.058 _b	
			FP	1.186±0.950 a	2.574±1.986 _{ab}	4.351±0.328 _b	2.396±0.21 _{ab}	3.033±1.674 _{ab}	
h2	700	Heptane	BC	0.361±0.124 a	0.261±0.065 a	0.459±0.363 a	0.189±0.126 a	0.209±0.02 a	A
			FL	0.314±0.082 _{ab}	0.251±0.034 _{ab}	0.255±0.046 _{ab}	0.393±0.158 _b	0.212±0.048 a	
			FP	0.283±0.074 a	0.188±0.038 a	0.22±0.026 a	0.293±0.061 a	0.184±0.184 a	
h3	800	Octane	BC	0.113±0.041 a	0.135±0.03 a	0.142±0.035 a	0.157±0.039 a	0.096±0.016 a	A
			FL	0.078±0.009 a	0.139±0.006 a	0.114±0.015 a	0.275±0.118 _b	0.117±0.021 a	
			FP	0.122±0.015 a	0.115±0.1 a	0.122±0.044 a	0.193±0.078 a	0.082±0.029 a	
h4	900	Nonane	BC	0.026±0.046 a	0.155±0.039 _b	0.172±0.071 _b	0.188±0.073 _b	0.125±0.068 _{ab}	A
			FL	0.132±0.054 a	0.153±0.046 a	0.143±0.035 a	0.216±0.108 a	0.11±0.03 a	
			FP	0.19±0.103 a	0.15±0.138 a	0.113±0.026 a	0.211±0.088 a	0.147±0.042 a	
h5	990	2,2,4,6,6-Pentamethyl heptane	BC	N.D. a	N.D. a	0.022±0.038 a	0.025±0.043 a	0.076±0.077 a	B
			FL	0.05±0.007 _{bc}	0.018±0.032 _{ab}	0.082±0.035 c	0.005±0.009 a	N.D. a	
			FP	0.023±0.026 _{ab}	0.099±0.108 _b	0.073±0.006 _{ab}	N.D. a	0.005±0.009 _{ab}	
h6	1057	4-Methyldecane	BC	0.577±0.074 _{bc}	0.466±0.062 _{ab}	0.601±0.046 c	0.581±0.083 _{bc}	0.442±0.069 a	B
			FL	0.553±0.033 a	0.51±0.077 a	0.733±0.063 _b	0.557±0.087 a	0.555±0.06 a	
			FP	0.719±0.117 a	0.609±0.308 a	0.664±0.245 a	0.479±0.089 a	0.475±0.099 a	
h7	1062	5-Ethyl-2-methyl octane	BC	0.164±0.034 a	0.148±0.015 a	0.171±0.005 a	0.156±0.022 a	0.13±0.018 a	C
			FL	0.149±0.016 a	0.158±0.016 a	0.209±0.013 _b	0.145±0.025 a	0.154±0.018 a	
			FP	0.207±0.024 a	0.17±0.078 a	0.194±0.061 a	0.13±0.032 a	0.141±0.03 a	
h8	1091	Undec-1-ene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	B
			FL	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.345±0.264 a	1.765±2.188 a	
h9	1100	Undecane	BC	0.037±0.007 a	0.062±0.017 a	0.091±0.056 a	0.071±0.006 a	0.07±0.02 a	A
			FL	0.035±0.008 a	0.056±0.012 _{ab}	0.064±0.008 _{ab}	0.082±0.033 _b	0.046±0.022 _{ab}	
			FP	0.038±0.012 a	0.04±0.026 a	0.096±0.011 _b	0.078±0.012 _b	0.083±0.023 _b	
h10	1102	6-Ethyl-2-methyl octane	BC	0.183±0.027 _{ab}	0.16±0.032 a	0.209±0.022 _{ab}	0.232±0.03 b	0.173±0.025 a	C
			FL	0.18±0.017 a	0.17±0.022 a	0.251±0.016 _b	0.202±0.04 a	0.199±0.029 a	
			FP	0.247±0.046 a	0.199±0.085 a	0.258±0.13 a	0.192±0.051 a	0.193±0.045 a	
h11	1106	5-Ethyl-2-methyl octane	BC	0.043±0.016 a	0.034±0.014 a	0.064±0.033 a	0.078±0.028 a	0.03±0.027 a	C
			FL	0.035±0.007 _{ab}	0.03±0.03 ab	0.118±0.02 c	0.024±0.021 a	0.08±0.047 _{bc}	
			FP	0.072±0.035 _b	0.022±0.01 a	0.085±0.027 _b	0.039±0.006 _{ab}	0.049±0.034 _{ab}	
h12	1200	Dodecane	BC	0.198±0.041 a	0.225±0.089 a	0.228±0.081 a	0.299±0.09 a	0.228±0.05 a	A
			FL	0.24±0.035 a	0.243±0.072 a	0.322±0.111 a	0.361±0.054 a	0.233±0.063 a	
			FP	0.317±0.091 a	0.213±0.076 a	0.239±0.067 a	0.31±0.028 a	0.319±0.117 a	

h13	1280	2,3,6-Trimethyldecane	BC	0.291±0.059 a	0.235±0.079 a	0.348±0.067 a	0.306±0.069 a	0.229±0.041 a	C
			FL	0.319±0.015 a	0.272±0.075 a	0.473±0.11 b	0.318±0.022 a	0.302±0.063 a	
			FP	0.458±0.125 a	0.297±0.12 a	0.36±0.159 a	0.258±0.087 a	0.277±0.075 a	
h14	1288	5-Methyl-5-propyl nonane	BC	0.014±0.025 ab	0.014±0.024 ab	0.045±0.015 b	N.D. a	N.D. a	C
			FL	0.018±0.031 a	0.017±0.029 a	0.074±0.026 b	0.017±0.029 a	N.D. a	
			FP	0.05±0.046 a	0.033±0.03 a	0.032±0.039 a	0.01±0.017 a	N.D. a	
h15	1300	Tridecane	BC	0.045±0.004 a	0.069±0.019 ab	0.052±0.014 a	0.1±0.026 bc	0.113±0.018 c	A
			FL	0.048±0.007 a	0.075±0.013 ab	0.073±0.013 ab	0.152±0.044 c	0.107±0.033 bc	
			FP	0.073±0.002 a	0.053±0.031 a	0.052±0.017 a	0.145±0.035 b	0.181±0.059 b	
h16	1326	2,3,7-Trimethyldecane	BC	0.034±0.012 a	0.031±0.017 a	0.052±0.017 a	0.046±0.013 a	0.028±0.006 a	C
			FL	0.043±0.011 a	0.038±0.012 a	0.077±0.022 a	0.037±0.036 a	0.046±0.006 a	
			FP	0.079±0.035 a	0.045±0.02 a	0.053±0.021 a	0.043±0.014 a	0.047±0.02 a	
h17	1400	Tetradecane	BC	0.061±0.053 a	0.111±0.047 a	0.094±0.041 a	0.088±0.008 a	0.094±0.012 a	A
			FL	0.115±0.029 a	0.101±0.037 a	0.142±0.062 a	0.199±0.038 a	0.095±0.103 a	
			FP	0.17±0.062 a	0.086±0.027 a	0.124±0.034 a	0.198±0.034 a	0.364±0.127 b	
h18	1500	Pentadecane	BC	0.069±0.012 b	0.069±0.034 b	0.118±0.021 b	0.083±0.054 b	N.D. a	A
			FL	0.09±0.018 a	0.05±0.03 a	0.544±0.177 b	0.017±0.029 a	N.D. a	
			FP	0.15±0.094 b	0.055±0.018 a	0.207±0.022 b	N.D. a	N.D. a	
h19	1553	Nonylcyclohexane	BC	0.176±0.184 a	0.104±0.021 a	0.193±0.045 a	0.263±0.015 a	0.234±0.043 a	B
			FL	0.093±0.033 a	0.114±0.024 a	0.169±0.058 a	0.44±0.243 b	0.274±0.073 ab	
			FP	N.D. a	0.077±0.133 ab	0.186±0.027 bc	0.306±0.057 c	0.28±0.092 c	
h20	1600	Hexadecane	BC	0.067±0.015 a	0.068±0.028 a	0.064±0.03 a	0.283±0.118 b	0.256±0.162 b	A
			FL	0.049±0.01 a	0.036±0.016 a	0.112±0.029 ab	0.153±0.085 ab	0.341±0.257 b	
			FP	0.106±0.137 ab	0.03±0.032 a	0.148±0.061 ab	0.247±0.105 b	0.22±0.023 b	
h21	1657	Decylcyclohexane	BC	0.014±0.024 a	0.033±0.044 ab	0.125±0.023 c	0.1±0.065 bc	0.117±0.016 c	B
			FL	0.021±0.036 a	N.D. a	0.124±0.024 b	0.094±0.049 b	0.091±0.053 b	
			FP	0.039±0.067 a	N.D. a	0.096±0.015 ab	0.186±0.089 b	0.079±0.036 a	
h22	1700	Heptadecane	BC	0.123±0.049 a	0.128±0.038 a	0.123±0.021 a	0.151±0.052 a	0.167±0.09 a	A
			FL	0.094±0.014 a	0.089±0.012 a	0.134±0.011 a	0.12±0.11 a	0.087±0.004 a	
			FP	0.138±0.026 a	0.085±0.031 a	0.139±0.045 a	0.183±0.063 a	0.154±0.097 a	
Ketone									
k1	988	6-Methylhept-5-en-2-one	BC	0.73±0.371 b	0.085±0.083 a	0.311±0.02 a	0.142±0.216 a	N.D. a	A
			FL	0.401±0.116 a	0.302±0.08 a	0.464±0.147 a	0.3±0.363 a	0.452±0.294 a	
			FP	0.713±0.468 ab	1.504±1.599 b	0.191±0.168 ab	0.12±0.044 ab	0.013±0.023 a	
N-containing compounds									
n1	736	1-Methylpyrrole	BC	0.04±0.036 a	0.03±0.027 a	0.076±0.032 a	0.396±0.087 c	0.221±0.092 b	A
			FL	0.078±0.078 a	0.34±0.486 a	0.217±0.165 a	0.266±0.085 a	0.474±0.511 a	
			FP	0.041±0.031 a	0.063±0.036 a	0.14±0.075 a	0.736±0.388 ab	1.14±1.093 b	
Terpenes									
t1	1030	dl-Limonene (1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene)	BC	0.041±0.071 a	0.13±0.068 ab	0.189±0.04 b	0.164±0.087 ab	0.231±0.066 b	A
			FL	0.072±0.062 a	0.13±0.08 a	0.142±0.039 a	0.175±0.079 a	0.142±0.074 a	
			FP	0.125±0.1 a	0.216±0.25 a	0.133±0.06 a	0.181±0.067 a	1.43±2.015 a	
t2	1382	α -Copaene [(1S,6S,7S,8S)-1,3-Dimethyl-8-(propa n-2-yl)-]	BC	0.229±0.167 b	0.077±0.035 a	0.056±0.01 a	N.D. a	N.D. a	B
			FL	0.095±0.086 ab	0.134±0.049 b	0.05±0.045 ab	N.D. a	0.053±0.092 ab	
			FP	0.3±0.089 c	0.132±0.065 b	0.023±0.021 a	N.D. a	N.D. a	

t3	1397	β -Elemene [(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-Ethenyl-1-methyl-2,4-bis(prop-1-en-2-yl)cyclohexane]	BC	N.D. a	N.D. a	0.034±0.044 a	0.168±0.113 a	0.17±0.186 a	B
			FL	N.D. a	0.048±0.018 a	0.625±0.463 a	1.67±1.165 a	3.544±1.792 _b	
			FP	0.005±0.009 a	0.029±0.013 a	0.256±0.065 a	2.111±0.59 _{ab}	4.795±3.739 _b	
t4	1428	<i>trans</i> -Caryophyllene [(1 <i>S</i> ,4 <i>E</i> ,9 <i>R</i>)-4,11,11-Trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene]	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	A
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.098±0.071 _b	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.062±0.067 _b	
t5	1444	γ -Elemene (1-Ethenyl-1-methyl-4-propan-2-ylidene-2-prop-1-en-2-ylcyclohexane)	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	B
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.393±0.298 _b	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.239±0.202 _b	
t6	1458	Aromadendrene [(1 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene]	BC	N.D. a	N.D. a	0.032±0.055 _{ab}	0.03±0.034 _{ab}	0.079±0.018 _b	A
			FL	N.D. a	0.022±0.024 a	0.456±0.102 a	1.088±0.791 a	2.892±1.853 _b	
			FP	0.019±0.032 a	0.042±0.046 a	0.208±0.049 a	0.693±0.041 a	1.87±1.324 b	
t7	1462	(-)-Alloaromadendrene [(1 <i>aR</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene]	BC	N.D. a	N.D. a	0.014±0.024 a	N.D. a	0.032±0.034 a	B
			FL	0.01±0.017 a	0.006±0.01 a	0.248±0.04 a	0.617±0.369 a	1.586±0.972 _b	
			FP	N.D. a	N.D. a	0.111±0.024 a	0.412±0.067 a	1.072±0.708 _b	
t8	1483	β -Selinene [(3 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-8a-Methyl-5-methylidene-3-prop-1-en-2-yl-1,2,3,4,4a,6,7,8-octahydronaphthalene]	BC	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.035±0.06 a	0.171±0.099 _b	B
			FL	N.D. a	N.D. a	0.275±0.15 a	1.116±0.914 a	3±1.825 b	
			FP	N.D. a	N.D. a	0.05±0.087 a	1.055±0.336 _{ab}	2.337±1.77 c	
t9	1492	α -Murrrolene [(1 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-4,7-Dimethyl-1-prop-1-en-2-yl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphthalene]	BC	N.D. a	N.D. a	0.081±0.102 a	0.761±0.411 _b	1.181±0.199 c	B
			FL	N.D. a	0.165±0.065 a	2.941±1.546 _{ab}	12.62±11.316 bc	14.905±6.497 _c	
			FP	N.D. a	0.195±0.138 a	0.988±0.255 a	7.185±0.207 _{ab}	14.069±9.694 _b	
t10	1495	Valencene [(3 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>R</i>)-4a,5-Dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-naphthalene]	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	B
			FL	N.D. a	N.D. a	0.015±0.013 a	0.255±0.342 a	0.341±0.244 a	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.194±0.193 _{ab}	0.542±0.39 b	
t11	1498	Eremophilene [(3 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,5 <i>S</i>)-4a,5-Dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-1503naphthalene]	BC	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.088±0.088 _b	0.135±0.019 _b	B
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	1.783±1.672 _{ab}	3.438±1.622 _b	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	1.187±0.174 a	2.925±1.929 _b	

t12	1504	α -Selinene	BC	N.D. a	N.D. a	0.024±0.041 a	0.081±0.082 _{ab}	0.105±0.02 b	B
		[(3 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,8 <i>aR</i>)-5,8a-Dimethyl-3-propyl-en-2-yl-2,3,4,4a,7,8-hexahydro-1H-naphthalene]	FL	N.D. a	0.025±0.014 a	0.32±0.101 a	0.709±0.784 _{ab}	1.372±0.8 b	
			FP	N.D. a	N.D. a	0.161±0.024 a	0.442±0.369 a	0.731±1.135 a	
t13	1527	δ -Cadinene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	B
		[(1 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-4,7-Dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene]	FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.315±0.149 _b	0.517±0.232 _b	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.234±0.091 _{ab}	0.456±0.395 _b	

1) All volatile compounds are listed by the order of their RI values in chemical class.

2) Retention indices were determined using n-alkanes C₇-C₃₀ as external standards.

3) Mean values of relative peak area to that of internal standard \pm standard deviation.

4) BC: *Botrytis cinerea* inoculation; FL: *Fusarium lactis* inoculation; FP: *Fusarium proliferatum* inoculation.

5) Spoilage scale of bell peppers. DI 0: decay index 0 (fresh state of bell peppers with no decay); DI 1: decay index 1 ($X \leq 1\%$ decay of bell pepper surface); DI 2: decay index 2 ($1 < X \leq 5\%$ decay of bell pepper surface); DI 3: decay index 3 ($5 < X \leq 20\%$ decay of bell pepper surface); DI 4: decay index 4 ($20 < X \leq 50\%$ decay of bell peppers surface).

6) Identification of the compounds was based as follows; A, mass spectrum and retention index agree with the authentic compounds under similar conditions (positive identification); B, mass spectrum and retention index were consistent with those from NIST database; C, mass spectrum was consistent with that of W9N08 (Wiley and NIST) and manual interpretation (tentative identification).

7) Significant differences ($p < 0.05$) between bell pepper samples according to decay index using Duncan's multiple comparison test.

8) N.D. = not detected

㉔ 다변량 통계 분석을 통한 Yellow 파프리카 부패관련 냄새 마커 선정

㉕ 인공적으로 부패균을 접종한 Yellow 파프리카의 균종 별, 부패 단계 별 PLS-DA (Partial least square-discriminant analysis)

- 부패한 파프리카에서 분리한 균을 인공적으로 접종하여 Yellow 파프리카를 부패시켜 얻은 결과 값을 이용하여 주성분 분석을 실행한 결과는 아래 그림 89와 같았다.

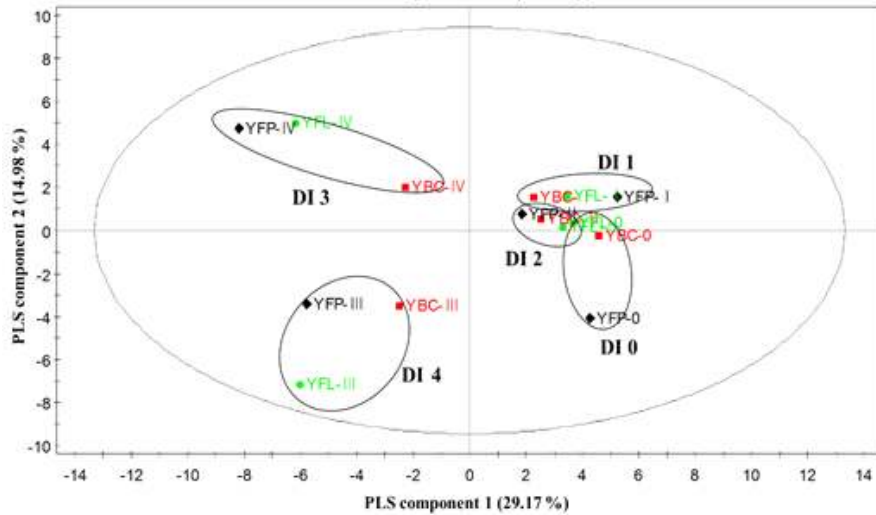


그림 89. 인공적으로 균을 접종하여 부패시킨 Yellow 파프리카의 균종 별 휘발성 성분의 주성분 분석 (BC: *Botrytis cinerea* inoculation; FL: *Fusarium lactis* inoculation; FP: *Fusarium proliferatum* inoculation; DI 1: decay index; DI 2: decay index; DI 3: decay index 3; DI 4: decay index 4).

- 제 1주성분 (PLS component 1)은 29.17%의 설명력을 나타내었으며 제 2주성분 (PLS component 2)는 14.98%를 나타내어 총 변동의 44.15%를 설명하였다. 3가지 균 모두 초반 부패단계 인 DI 0-2단계에서는 1 주성분 기준 양의 방향에 위치해 있었으며 부패가 진행되어 후반 부패 단계인 DI 3-4단계에서는 1 주성분 기준 음의 방향으로 진행되었다.
- 초반 부패 단계의 샘플이 모여져 있는 경향으로 보아 초반 보다는 부패 후반에 변화가 컸다는 것을 알 수 있다. 3가지 균의 진행 방향은 유사했으며, 균종별보다 부패 단계별의 차이가 더 컸다.
- PLS component 1과 PLS component 2의 양과 음의 방향에 주요한 영향을 미치는 성분 (VIP value > 1.0)들은 아래 표 57, 58에 나타내었다.
- PLS component 1의 양의 방향 (초기 부패 단계)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 nonan-1-ol, α -copaene, ethyl acetate, decanal, 4-methyldecane, nonanal, ethylbenzene 등 이었다.

- PLS component 1의 음의 방향 (후기 부패 단계)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 α -murrolene, δ -cadinene, valencene, eremophilene, β -elemene, β -selinene, α -selinene, aromadendrene, alloaromadendrene, 1-methylpyrrole 등 이었다.
- PLS component 2의 양의 방향 (Decay index 1, 3)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 butyl acetate, *trans*-caryophyllene, γ -elemene, 1,2,3-trimethylbenzene, dl-limonene, aromadendrene, β -selinene, alloaromadendrene, β -elemene, eremophilene 등 이었다.
- PLS component 2의 음의 방향 (Decay index 0, 2, 4)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 2,3-dihydrofuran, 2-ethylhexan-1-ol, oxolane, octane, 3,4-dihydropyran, benzene oxolan-2-one, 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol 등 이었다.

표 57. Yellow 파프리카의 주성분 분석 PLS component 10에 영향을 끼치는 Variable Important Plot (VIP) list (VIP > 1.0)

Volatile compounds	VIP value
Positive direction	
Nonan-1-ol	1.90
α -Copaene	1.60
Ethyl acetate	1.46
5-Methyl-5-propylnonane	1.38
5-Ethyl-2-methyloctane	1.32
(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl)	1.30
2-Methylpropanoate	1.27
6-Methylhept-5-en-2-one	1.27
Decanal	1.19
4-Methyldecane	1.17
Nonanal	1.08
Pentadecane	1.01
Negative direction	
Tridecane	1.99
α -Murrolene	1.86
δ -Cadinene	1.82
Nonylcyclohexane	1.81
Valencene	1.80
Eremophilene	1.80
β -Elemene	1.79
Hexadecane	1.77
β -Selinene	1.74
1-Methylpyrrole	1.73
α -Selinene	1.68
Alloaromadendrene	1.64
Aromadendrene	1.62
Benzene	1.35
Tetradecane	1.29
<i>trans</i> -Caryophyllene	1.26
Naphthalene	1.26
Decylcyclohexane	1.26
β -Elemene	1.26
Undec-1-ene	1.18
2-Methylfuran	1.17
dl-Limonene	1.14
2-Butoxyethanol	1.13
Benzaldehyde	1.09
Dodecane	1.08
Undecane	1.03

표 58. Yellow 파프리카의 주성분 분석 PLS component 2에 영향을 끼치는 Variable Important Plot (VIP) list (VIP > 1.0)

Volatile compounds	VIP value
Positive direction	
Butyl acetate	1.82
(<i>E</i>)-Caryophyllene	1.79
β -Elemene	1.78
1,2,3-Trimethylbenzene	1.54
1,1,2,2-Tetrachloroethene	1.28
dl-Limonene	1.18
Aromadendrene	1.06
Undec-1-ene	1.04
β -Selinene	1.04
Alloaromadendrene	1.03
Negative direction	
2,3-Dihydrofuran	2.47
2-Ethylhexan-1-ol	2.45
Oxolane	2.32
Octane	2.28
3,4-Dihydro-2H-pyran	2.26
Benzene	2.13
Oxolan-2-one	1.92
2-(2-ethoxyethoxy)Ethanol	1.92
Dodecane	1.74
Nonane	1.70
Octanal	1.49
Ethylbenzene	1.47
Benzaldehyde	1.46
2-Butoxyethanol	1.45
Heptane	1.35
Nonanal	1.32
Ethanol	1.28

③ Orange 파프리카 휘발성 유기화합물(VOC)의 동정 및 정량 분석

㉔ Orange 파프리카의 균종 별 부패사진

- 부패균인 *Botrytis cinerea* (BC), *Fusarium lactis* (FL), *Fusarium proliferatum* (FP) 균을 접종한 Orange 파프리카의 부패 단계 별 진행모습은 아래 그림 90과 같았다.

Decay index	DI1	DI2	DI3	DI4
BC				
FL				
FP				

그림 90. Orange 파프리카의 부패 진행 양상.

㉕ Orange 파프리카의 균종 별, 부패 단계 별 휘발성 유기성분 분석

- 인공적으로 균을 접종한 Orange 파프리카의 균종별 부패 휘발성 성분은 아래 table 13과 같았다. 3종의 alcohols, 6종의 aldehydes, 13종의 benzenes, 4종의 esters, 6종의 furans, 30종의 hydrocarbones, 1종의 ketone, 2종의 nitrogen-containing compound, 13종의 terpenes이 동정되어 총 76개의 휘발성 유기성분이 분석되었다.

표 59. 균 인공 접종하여 부패한 Orange 파프리카의 휘발성 성분 분석

No. ¹⁾	RI ²⁾	Volatile Compounds	Pat tern ⁴⁾	Relative peak area ³⁾					ID ⁶⁾
				Decay index ⁵⁾					
				DI 0	DI 1	DI 2	DI 3	DI 4	
Alcohols									
ac1	<700	Ethanol	BC	2.18±0.684 b ⁷⁾	N.D. ⁸⁾ a	0.033±0.013 a	0.067±0.04 a	0.055±0.048 a	A
			FL	0.741±0.184 ab	N.D. a	0.161±0.178 a	0.162±0.169 a	2.119±2.221 b	
			FP	0.482±0.22 b	N.D. a	N.D. a	0.149±0.102 a	0.218±0.134 a	
ac2	1004	2-(2-ethoxyethoxy) Ethanol	BC	0.124±0.061 b	0.063±0.057 ab	N.D. a	N.D. a	N.D. a	A
			FL	0.039±0.052 a	0.101±0.131 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	
			FP	0.225±0.197 a	0.172±0.192 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	
ac3	1028	2-Ethylhexan-1-ol	BC	0.127±0.112 ab	0.191±0.078 b	0.131±0.061 ab	0.086±0.015 ab	0.045±0.016 a	A
			FL	0.173±0.067 a	0.197±0.044 a	0.113±0.054 a	0.09±0.026 a	0.305±0.421 a	
			FP	0.23±0.063 b	0.163±0.01 ab	0.127±0.113 ab	0.055±0.037 a	0.098±0.039 a	
Aldehydes									
ah1	801	Hexanal	BC	0.1±0.025 b	0.13±0.056 b	0.038±0.021 a	N.D. a	N.D. a	A
			FL	0.239±0.025 d	0.151±0.037 c	0.057±0.029 b	N.D. a	N.D. a	
			FP	0.146±0.056 c	0.06±0.016 b	0.027±0.026 ab	N.D. a	N.D. a	
ah2	901	Heptanal	BC	0.029±0.038 a	0.009±0.016 a	0.024±0.022 a	N.D. a	N.D. a	A
			FL	0.064±0.011 a	0.023±0.04 a	0.021±0.018 a	N.D. a	0.053±0.093 a	
			FP	0.046±0.044 b	0.003±0.006 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	
ah3	962	Benzaldehyde	BC	0.223±0.086 a	0.364±0.075 b	0.095±0.029 a	0.107±0.008 a	0.179±0.104 a	A
			FL	0.16±0.137 ab	0.277±0.029 b	0.142±0.028 a	0.087±0.036 a	0.134±0.024 a	
			FP	0.193±0.068 b	0.317±0.053 c	0.152±0.008 ab	0.125±0.042 ab	0.083±0.038 a	
ah4	1002	Octanal	BC	0.338±0.037 c	0.049±0.043 ab	0.072±0.04 b	0.011±0.018 ab	0.007±0.012 a	B
			FL	0.21±0.032 b	0.173±0.104 b	0.07±0.024 a	0.009±0.016 a	N.D. a	
			FP	0.212±0.023 b	N.D. a	0.02±0.019 a	N.D. a	N.D. a	
ah5	1102	Nonanal	BC	0.425±0.042 c	0.178±0.024 b	0.145±0.019 b	0.025±0.028 a	0.069±0.029 a	A
			FL	0.241±0.212 ab	0.311±0.163 b	0.178±0.051 ab	0.05±0.027 a	0.061±0.031 a	
			FP	0.379±0.073 d	0.128±0.021 c	0.093±0.011 bc	0.02±0.008 a	0.038±0.026 ab	
ah6	1204	Decanal	BC	0.577±0.103 c	0.173±0.05 b	0.178±0.04 b	0.031±0.016 a	0.055±0.024 a	A
			FL	0.326±0.095 b	0.356±0.209 b	0.236±0.121 ab	0.046±0.041 a	0.068±0.039 a	
			FP	0.439±0.105 b	0.11±0.031 a	0.1±0.04 a	0.039±0.023 a	0.043±0.018 a	
Benzenes									
b1	<700	Benzene	BC	0.693±0.117 ab	1.242±0.724 b	0.597±0.506 ab	0.283±0.073 a	0.28±0.07 a	A
			FL	2.012±2.641 a	0.622±0.072 a	0.335±0.024 a	0.26±0.015 a	1.134±1.407 a	
			FP	0.658±0.108 b	0.932±0.2 c	0.484±0.188 ab	0.35±0.075 a	0.522±0.127 ab	
b2	765	Toluene	BC	2.924±0.036 a	13.793±5.009 b	1.061±0.127 a	2.79±0.765 a	0.922±0.062 a	A
			FL	2.23±0.184 a	4.124±1.521 a	1.25±0.215 a	1.575±0.795 a	3.592±2.858 a	
			FP	2.612±0.871 a	8.611±1.24 b	3.014±1.871 a	4.072±1.92 a	2.37±2.372 a	

b3	860	Ethylbenzene	BC	0.78±0.02 b	4.537±0.271 c	0.481±0.041 ab	0.521±0.455 ab	0.303±0.023 a	A
			FL	0.839±0.091 a	2.602±0.794 b	0.769±0.165 a	0.464±0.052 a	0.786±0.51 a	
			FP	0.83±0.171 a	6.181±1.592 b	1.053±0.594 a	1.156±0.902 a	0.545±0.555 a	
b4	868	1,3-Xylene	BC	1.353±0.1 b	4.731±0.027 c	0.496±0.038 a	1.118±0.256 b	0.311±0.081 a	A
			FL	1.231±0.079 a	3.066±0.803 b	0.713±0.105 a	0.636±0.178 a	1.159±0.728 a	
			FP	1.241±0.322 a	5.925±1.043 b	1.3±0.854 a	1.475±1.248 a	0.611±0.697 a	
b5	892	Styrene	BC	0.894±0.585 a	1.87±0.756 b	0.597±0.049 a	0.365±0.077 a	0.441±0.057 a	A
			FL	0.789±0.09 b	0.774±0.09 b	0.634±0.254 ab	0.335±0.038 a	0.42±0.283 a	
			FP	0.852±0.088 bc	0.9±0.08 c	0.634±0.235 b	0.337±0.06 a	0.292±0.088a	
b6	894	1,2-Xylene	BC	0.521±0.073 c	1.273±0.098 d	0.155±0.011 a	0.284±0.035 b	0.116±0.056 a	A
			FL	0.444±0.068 ab	0.804±0.199 c	0.208±0 a	0.202±0.062 a	0.521±0.216 b	
			FP	0.502±0.178 a	1.438±0.158 b	0.363±0.22 a	0.502±0.45 a	0.246±0.215 a	
b7	969	1,3,5- Trimethylbenzene	BC	0.082±0.004 ab	0.158±0.031 b	N.D. a	0.16±0.166 b	N.D. a	B
			FL	0.068±0.012 ab	0.127±0.061 b	0.069±0.074 ab	0.013±0.023 a	0.039±0.068 ab	
			FP	0.015±0.013 a	0.206±0.026 b	0.029±0.05 a	0.054±0.041 a	0.023±0.04 a	
b8	995	1,2,4- Trimethylbenzene	BC	0.066±0.045	0.356±0.018	0.036±0.019	0.096±0.013	0.015±0.026	B
			FL	0.047±0.042 a	0.213±0.199 a	0.058±0.017 a	0.061±0.021 a	0.118±0.036 a	
			FP	0.061±0.062 a	0.49±0.055 b	0.115±0.082 a	0.105±0.064 a	0.053±0.066 a	
b9	1025	1,2,3- Trimethylbenzene	BC	0.01±0.018 a	0.046±0.055 a	0.012±0.021 a	0.004±0.007 a	N.D. a	A
			FL	N.D. a	0.07±0.071 b	0.021±0.01 ab	N.D. a	0.018±0.021 ab	
			FP	N.D. a	0.048±0.042 b	0.013±0.023 ab	0.007±0.011 ab	N.D. a	
b10	1086	1-Ethenyl-3- ethylbenzene	BC	0.179±0.015 b	0.197±0.04 b	0.077±0.014 a	0.057±0.013 a	0.047±0.017 a	C
			FL	0.173±0.022 b	0.146±0.002 b	0.071±0.031 a	0.056±0.002 a	0.088±0.045 a	
			FP	0.206±0.027 d	0.146±0.011 c	0.094±0.034 b	0.068±0.007 ab	0.048±0.017 a	
b11	1093	1-Ethenyl-4- ethylbenzene	BC	0.14±0.024 b	0.176±0.065 b	0.009±0.016 a	0.037±0.033 a	N.D. a	C
			FL	0.115±0.073 a	0.071±0.065 a	0.022±0.037 a	0.02±0.022 a	0.079±0.019 a	
			FP	0.158±0.017 c	0.131±0.021 c	0.007±0.012 a	0.052±0.007 b	0.058±0.016 b	
b12	1114	1-Ethyl-4-methoxyb enzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	B
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.041±0.036 a	0.775±0.379 b	
			FP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
b13	1186	Naphthalene	BC	0.005±0.009 a	0.204±0.071 b	0.085±0.054 a	0.047±0.005 a	0.048±0.037 a	A
			FL	0.114±0.031 b	0.327±0.007 c	0.086±0.04 ab	0.044±0.02 a	0.14±0.038 b	
			FP	0.085±0.074 a	0.257±0.05 b	0.145±0.03 a	0.07±0.016 a	0.09±0.055 a	
Esters									
e1	<700	Ethyl acetate	BC	0.333±0.089 ab	0.782±0.646 b	0.142±0.122 a	0.135±0.09 a	0.053±0.012 a	A
			FL	0.439±0.049 c	0.262±0.022 b	0.057±0.086 a	0.077±0.046 a	0.027±0.038 a	
			FP	0.452±0.09 c	0.251±0.098 b	0.175±0.08 ab	0.106±0.063 ab	0.069±0.084 a	
e2	711	Methyl 2-methylprop-2-eno ate	BC	0.011±0.01 ab	0.018±0.03 ab	N.D. a	0.029±0.005 ab	0.037±0.018 b	A
			FL	0.057±0.025 b	0.011±0.02 ab	0.005±0.008 a	0.029±0.003 ab	0.026±0.045 ab	
			FP	0.016±0.018 a	0.029±0.026 a	0.015±0.017 a	0.006±0.01 a	0.026±0.023 a	

e3	814	Butyl acetate	BC	0.063±0.057 _b	0.292±0.037 _c	0.019±0.017 _{ab}	0.058±0.003 _{ab}	N.D. a	A
			FL	0.019±0.033 _a	0.13±0.023 _b	0.031±0.027 _a	0.028±0.01 _a	0.022±0.038 _a	
			FP	0.017±0.029 _a	0.305±0.126 _b	0.051±0.044 _a	0.032±0.043 _a	0.031±0.054 _a	
e4	1376	(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl) 2-Methylpropanoate	BC	N.D. a	0.03±0.033 _a	N.D. a	0.011±0.013 _a	N.D. a	C
			FL	0.006±0.011 _{ab}	0.053±0.048 _b	0.016±0.028 _{ab}	0.006±0.01 _{ab}	N.D. a	
			FP	0.028±0.049 _a	0.032±0.055 _a	0.045±0.018 _a	0.011±0.02 _a	0.01±0.018 _a	
Furans									
f1	<700	2,3-Dihydrofuran	BC	0.757±0.165 _b	1.012±0.129 _c	0.527±0.168 _{ab}	0.375±0.046 _a	0.446±0.098 _a	C
			FL	2.868±3.81 _a	0.702±0.091 _a	0.396±0.069 _a	0.312±0.043 _a	0.736±0.337 _a	
			FP	0.793±0.112 _c	0.807±0.142 _c	0.62±0.264 _{bc}	0.394±0.016 _{ab}	0.332±0.085 _a	
f2	<700	2-Methylfuran	BC	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.008±0.007 _a	0.07±0.058 _b	B
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.144±0.074 _b	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.035±0.021 _b	
f3	<700	Oxolane	BC	4.512±0.687 _b	4.222±0.755 _b	2.301±0.26 _a	1.819±0.184 _a	2.151±0.446 _a	A
			FL	3.569±0.611 _b	3.405±0.248 _b	2.198±0.394 _a	1.743±0.08 _a	2.359±0.618 _a	
			FP	4.277±0.703 _c	3.185±0.562 _{bc}	3.433±1.286 _c	1.859±0.163 _{ab}	1.493±0.498 _a	
f4	<700	3,4-Dihydro-2H-pyran	BC	0.113±0.027 _b	0.053±0.014 _a	0.031±0.014 _a	0.025±0.009 _a	0.033±0.022 _a	B
			FL	0.094±0.054 _b	0.077±0.031 _{ab}	0.028±0.007 _a	0.027±0.008 _a	0.026±0.003 _a	
			FP	0.134±0.031 _d	0.071±0.03 _c	0.06±0.022 _{bc}	0.025±0.004 _{ab}	0.009±0.009 _a	
f5	705	1,4-Dioxane	BC	0.043±0.012 _a	0.037±0.01 _a	0.019±0.016 _a	0.024±0.002 _a	0.037±0.026 _a	A
			FL	0.031±0.006 _a	0.026±0.022 _a	0.026±0.001 _a	0.028±0.004 _a	0.024±0.021 _a	
			FP	0.014±0.023 _a	0.024±0.021 _a	0.027±0.025 _a	0.028±0.004 _a	0.026±0.009 _a	
f6	915	Oxolan-2-one	BC	0.188±0.052 _b	0.078±0.135 _{ab}	0.017±0.029 _a	N.D. a	N.D. a	A
			FL	0.162±0.112 _b	0.075±0.083 _{ab}	0.004±0.007 _a	0.037±0.064 _{ab}	N.D. a	
			FP	0.264±0.066 _c	0.154±0.119 _{bc}	0.034±0.06 _{ab}	N.D. a	N.D. a	
Hydrocarbons									
h1	<700	2-Methylpentane	BC	N.D. a	0.975±0.898 _a	0.408±0.707 _a	0.028±0.049 _a	N.D. a	A
			FL	0.155±0.268 _a	0.142±0.053 _a	0.201±0.14 _a	N.D. a	0.475±0.823 _a	
			FP	0.014±0.024 _a	0.595±0.312 _b	0.135±0.114 _a	0.05±0.087 _a	0.104±0.057 _a	
h2	<700	Hexane	BC	0.786±0.539 _a	0.569±0.491 _a	1.412±1.601 _a	0.523±0.251 _a	0.676±0.09 _a	A
			FL	0.509±0.141 _{ab}	0.373±0.06 _{ab}	0.28±0.067 _a	0.448±0.135 _{ab}	0.751±0.451 _b	
			FP	1.053±0.811 _b	0.447±0.085 _{ab}	0.482±0.293 _{ab}	0.376±0.064 _{ab}	0.26±0.199 _a	
h3	<700	3-Methylhexane	BC	N.D. a	0.145±0.014 _b	N.D. a	0.029±0.039 _a	N.D. a	B
			FL	0.03±0.053 _a	N.D. a	0.037±0.023 _a	0.029±0.031 _a	0.163±0.266 _a	
			FP	N.D. a	0.057±0.021 _a	0.041±0.071 _a	0.017±0.03 _a	0.015±0.026 _a	
h4	<700	(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-1,3-Dimethylcyclopentane	BC	N.D. a	0.065±0.013 _b	0.011±0.019 _a	N.D. a	N.D. a	B
			FL	0.016±0.027 _a	N.D. a	0.013±0.022 _a	N.D. a	0.093±0.16 _a	
			FP	N.D. a	0.015±0.013 _{ab}	0.03±0.028 _b	N.D. a	N.D. a	
h5	<700	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-1,3-Dimethylcyclopentane	BC	N.D. a	0.033±0.006 _b	N.D. a	0.006±0.01 _a	N.D. a	B
			FL	N.D. a	N.D. a	0.004±0.007 _a	N.D. a	0.035±0.061 _a	
			FP	N.D. a	0.011±0.01 _a	0.009±0.015 _a	N.D. a	N.D. a	

h6	<700	1,2-Dimethylcyclopentane	BC	N.D. a	0.083±0.004 _b	0.01±0.017 a	N.D. a	N.D. a	C
			FL	N.D. a	N.D. a	0.03±0.027 a	N.D. a	0.079±0.136 _a	
			FP	0.022±0.038 _a	0.041±0.008 _a	0.041±0.036 _a	N.D. a	N.D. a	
h7	<700	Hept-1-ene	BC	0.058±0.006 _c	N.D. a	0.026±0.024 _{ab}	0.018±0.017 _{ab}	0.042±0.01 _{bc}	B
			FL	0.049±0.047 _a	N.D. a	0.02±0.034 a	0.027±0.006 _a	N.D. a	
			FP	0.021±0.036 _a	N.D. a	N.D. a	0.01±0.016 a	0.035±0.005 _a	
h8	700	Heptane	BC	0.12±0.023 a	0.764±0.054 _b	0.181±0.107 _a	0.174±0.029 _a	0.14±0.01 a	A
			FL	0.281±0.176 _a	0.264±0.027 _a	0.259±0.066 _a	0.205±0.03 a	0.883±1.13 a	
			FP	0.163±0.03 a	0.373±0.068 _{ab}	0.454±0.26 b	0.189±0.019 _a	0.16±0.131 a	
h9	721	Methylcyclohexane	BC	N.D. a	0.341±0.014 _b	0.054±0.084 _a	0.031±0.023 _a	N.D. a	B
			FL	0.062±0.108 _a	0.023±0.04 a	0.114±0.055 _a	0.032±0.017 _a	0.477±0.788 _a	
			FP	N.D. a	0.151±0.061 _b	0.134±0.117 _b	0.031±0.029 _{ab}	0.055±0.024 _{ab}	
h10	730	Ethylcyclopentane	BC	N.D. a	0.069±0.014 _b	0.026±0.044 _a	N.D. a	N.D.a	B
			FL	0.019±0.032 _a	N.D. a	0.153±0.172 _a	0.008±0.014 _a	0.298±0.516 _a	
			FP	N.D. a	0.022±0.02 a	0.036±0.033 _a	N.D. a	0.01±0.017 a	
h11	800	Octane	BC	0.172±0.048 _b	0.3±0.053 c	0.092±0.01 _{ab}	0.122±0.058 _{ab}	0.065±0.02 a	A
			FL	N.D. a	0.179±0.03 _{ab}	0.103±0.023 _{ab}	0.099±0.045 _{ab}	0.329±0.331 _b	
			FP	0.169±0.035 _{ab}	0.202±0.027 _b	0.167±0.064 _{ab}	0.096±0.052 _a	0.156±0.035 _{ab}	
h12	900	Nonane	BC	0.17±0.047 a	0.565±0.258 _b	0.077±0.04 a	0.114±0.07 a	0.052±0.007 _a	A
			FL	0.078±0.007 _a	0.176±0.013 _{ab}	0.061±0.034 _a	0.072±0.035 _a	0.224±0.157 _b	
			FP	0.132±0.074 _a	0.313±0.021 _b	0.162±0.095 _a	0.129±0.05 a	0.069±0.025 _a	
h13	1048	(3E)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene	BC	0.058±0.061 _b	0.007±0.012 _a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	B
			FL	0.03±0.013 a	0.02±0.035 a	N.D. a	N.D. a	N.D. a	
			FP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
h14	1057	4-Methyldecane	BC	0.322±0.05 a	0.437±0.302 _a	0.161±0.142 _a	0.164±0.023 _a	0.203±0.093 _a	B
			FL	0.341±0.024 _b	0.628±0.003 _c	0.264±0.088 _b	0.116±0.005 _a	0.247±0.103 _b	
			FP	0.285±0.274 _a	0.349±0.279 _a	0.302±0.068 _a	0.247±0.056 _a	0.145±0.071 _a	
h15	1062	2-Methyldecane	BC	0.084±0.016 _a	0.252±0.045 _b	0.062±0.01 a	0.053±0.001 _a	0.054±0.024 _a	C
			FL	0.088±0.019 _b	0.204±0.01 c	0.071±0.019 _{ab}	0.036±0.025 _a	0.098±0.044 _b	
			FP	0.073±0.069 _a	0.148±0.102 _a	0.11±0.043 a	0.089±0.022 _a	0.052±0.022 _a	
h16	1100	Undecane	BC	0.18±0.13 bc	0.269±0.086 _c	0.048±0.01 _{ab}	0.05±0.01 ab	0.037±0.009 _a	A
			FL	0.077±0.018 _a	0.16±0.03 b	0.041±0.017 _a	0.053±0.026 _a	0.074±0.024 _a	
			FP	0.081±0.061 _a	0.178±0.017 _b	0.086±0.051 _a	0.071±0.015 _a	0.038±0.032 _a	
h17	1102	6-Ethyl-2-methyloctane	BC	0.094±0.016 _b	0.157±0.016 _c	0.067±0.013 _{ab}	0.045±0.019 _a	0.068±0.031 _{ab}	C
			FL	0.191±0.163 _b	0.194±0.017 _b	0.081±0.027 _{ab}	0.037±0.012 _a	0.083±0.035 _{ab}	
			FP	0.108±0.047 _{bc}	0.155±0.014 _c	0.09±0.014 _{ab}	0.074±0.02 _{ab}	0.048±0.018 _a	
h18	1106	5-Ethyl-2-methyloctane	BC	0.018±0.017 _a	0.017±0.029 _a	0.015±0.005 _a	N.D. a	N.D. a	C
			FL	0.007±0.012 _a	0.06±0.006 b	0.004±0.006 _a	N.D. a	N.D. a	
			FP	N.D. a	0.044±0.006 _b	0.017±0.014 _a	0.007±0.011 _a	N.D. a	
h19	1200	Dodecane	BC	0.488±0.174 _b	0.423±0.118 _b	0.187±0.051 _a	0.106±0.02 a	0.115±0.012 _a	A
			FL	0.227±0.086 _a	0.422±0.082 _b	0.176±0.078 _a	0.124±0.04 a	0.151±0.002 _a	
			FP	0.3±0.111 bc	0.331±0.065 _c	0.187±0.089 _{ab}	0.15±0.021 a	0.066±0.034 _a	

h20	1280	2,3,6-Trimethyldecane	BC	0.2±0.079 b	0.33±0.032 c	0.11±0.036 ab	0.068±0.021 a	0.095±0.057 a	C
			FL	0.174±0.045 b	0.422±0.04 c	0.161±0.069 b	0.053±0.001 a	0.111±0.039 a	
			FP	0.183±0.081 b	0.305±0.024 c	0.148±0.06 ab	0.114±0.03 ab	0.067±0.028 a	
h21	1300	Tridecane	BC	0.263±0.225 b	0.125±0.041 ab	0.042±0.005 a	0.04±0.005 a	0.034±0.013 a	A
			FL	0.064±0.036 a	0.123±0.012 b	0.046±0.015 a	0.037±0.002 a	0.053±0.007 a	
			FP	0.108±0.109 a	0.099±0.02 a	0.056±0.022 a	0.048±0.007 a	0.047±0.029 a	
h22	1326	2,3,7-Trimethyldecane	BC	0.042±0.013 b	0.058±0.009 b	0.008±0.014 a	N.D. a	N.D. a	C
			FL	0.016±0.014 ab	0.064±0.013 ab	0.031±0.031 ab	N.D. a	0.095±0.088 b	
			FP	0.014±0.024 a	0.051±0.004 a	0.518±0.886 a	N.D. a	N.D. a	
h23	1400	Tetradecane	BC	0.381±0.211 b	0.229±0.062 ab	0.106±0.009 a	0.078±0.02 a	0.064±0.025 a	A
			FL	0.107±0.067 a	0.267±0.072 b	0.109±0.081 a	0.054±0.03 a	0.36±0.068 b	
			FP	0.151±0.12 ab	0.239±0.039 b	0.087±0.019 a	0.051±0.011 a	0.14±0.069 ab	
h24	1500	Pentadecane	BC	0.266±0.183 b	0.214±0.139 b	N.D. a	N.D. a	N.D. a	A
			FL	0.047±0.053 a	0.188±0.086 b	N.D. a	N.D. a	N.D. a	
			FP	0.045±0.078 a	0.131±0.014 b	N.D. a	N.D. a	N.D. a	
h25	1553	Nonylcyclohexane	BC	0.086±0.111 a	0.129±0.129 a	0.113±0.036 a	0.141±0.065 a	0.171±0.029 a	B
			FL	0.048±0.084 a	0.291±0.264 a	0.136±0.071 a	0.218±0.151 a	0.199±0.167 a	
			FP	N.D. a	0.098±0.169 a	0.081±0.14 a	0.148±0.032 a	0.074±0.066 a	
h26	1600	Hexadecane	BC	0.311±0.124 b	0.179±0.074 ab	0.114±0.055 a	0.118±0.07 a	0.2±0.125 ab	A
			FL	0.147±0.255 a	0.651±0.713 a	0.203±0.177 a	0.351±0.317 a	0.213±0.067 a	
			FP	0.035±0.061 a	0.371±0.307 b	0.186±0.086 ab	0.177±0.075 ab	0.089±0.07 ab	
h27	1657	Decylcyclohexane	BC	0.12±0.207 a	0.098±0.15 a	0.02±0.021 a	0.113±0.065 a	0.147±0.079 a	B
			FL	0.046±0.08 a	0.389±0.418 a	0.077±0.035 a	0.109±0.099 a	0.064±0.11 a	
			FP	N.D. a	0.1±0.129 a	0.089±0.103 a	0.069±0.047 a	0.034±0.03 a	
h28	1700	Heptadecane	BC	0.379±0.408 a	0.297±0.109 a	0.18±0.024 a	0.122±0.042 a	0.29±0.133 a	A
			FL	0.226±0.158 a	0.689±0.571 a	0.174±0.082 a	0.153±0.055 a	0.232±0.075 a	
			FP	0.174±0.05 ab	0.275±0.148 b	0.217±0.095 ab	0.156±0.039 a	0.094±0.05 a	
h29	1800	Octadecane	BC	0.202±0.299 a	0.148±0.01 a	0.095±0.034 a	0.109±0.033 a	0.143±0.051 a	A
			FL	0.112±0.041 ab	0.32±0.26 b	0.082±0.016 a	0.109±0.017 ab	0.085±0.043 a	
			FP	0.115±0.038 a	0.13±0.03 a	0.098±0.019 a	0.097±0.025 a	0.064±0.048 a	
Ketone									
k1	988	6-Methylhept-5-en-2-one	BC	0.741±0.236 c	N.D. a	0.243±0.062 b	0.043±0.041 ab	0.086±0.017 ab	A
			FL	0.383±0.247 ab	0.576±0.509 b	0.483±0.164 ab	0.095±0.03 ab	0.033±0.057 a	
			FP	0.984±0.94 b	N.D. a	0.017±0.03 a	N.D. a	0.017±0.03 a	
N-containing compounds									
n1	736	1-Methylpyrrole	BC	0.051±0.002 a	0.517±0.519 a	0.439±0.126 a	0.544±0.074 a	0.415±0.204 a	A
			FL	0.054±0.047 a	0.188±0.098 ab	0.756±0.166 c	0.571±0.409 bc	0.803±0.151 c	
			FP	0.049±0.02 a	0.038±0.033 a	1.376±0.659 b	0.351±0.29 a	0.217±0.126 a	
n2	1188	2,5-Di(propan-2-yl)pyrazine	BC	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.232±0.402 a	0.359±0.339 a	C
			FL	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.335±0.127 a	7.29±5.97 b	
			FP	N.D. a	N.D. a	N.D. a	0.172±0.167 a	1.777±2.419 b	
Terpenes									

t1	1030	dl-Limonene (1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene)	BC	0.071±0.076 _a	0.567±0.199 _b	0.187±0.123 _a	0.178±0.05 _a	0.096±0.056 _a	A
			FL	0.076±0.03 _a	0.253±0.087 _{ab}	0.247±0.211 _{ab}	0.236±0.168 _{ab}	0.639±0.449 _b	
			FP	0.111±0.009 _a	0.311±0.132 _{bc}	0.372±0.084 _c	0.194±0.039 _{ab}	0.197±0.017 _{ab}	
t2	1382	α -Copaene [(1 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)-1,3-Dimethyl-8-(propan-2-yl)-]	BC	0.38±0.147 _c	0.184±0.007 _b	0.033±0.057 _a	N.D. _a	N.D. _a	B
			FL	0.245±0.132 _b	0.24±0.066 _b	0.024±0.035 _a	0.021±0.021 _a	0.094±0.041 _a	
			FP	0.326±0.084 _b	0.254±0.073 _b	0.044±0.009 _a	0.02±0.034 _a	0.065±0.048 _a	
t3	1397	β -Elemene [(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-Ethenyl-1-methyl-2,4-bis(prop-1-en-2-yl)cyclohexane]	BC	N.D. _a	0.1±0.039 _a	0.291±0.137 _a	0.47±0.287 _a	0.513±0.544 _a	B
			FL	N.D. _a	0.177±0.066 _a	0.373±0.14 _a	0.453±0.366 _a	3.954±1.923 _b	
			FP	0.03±0.052 _a	0.212±0.123 _a	0.798±0.398 _{ab}	0.778±0.551 _{ab}	3.451±3.251 _b	
t4	1428	<i>trans</i> -Caryophyllene [(1 <i>S</i> ,4 <i>E</i> ,9 <i>R</i>)-4,11,11-Trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene]	BC	N.D. _a	N.D. _a	N.D. _a	0.01±0.018 _a	0.02±0.035 _a	A
			FL	N.D. _a	N.D. _a	N.D. _a	N.D. _a	0.14±0.079 _b	
			FP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
t5	1440	<i>trans</i> - α -Bergamotene [(1 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-4,6-Dimethyl-6-(4-methylpent-3-enyl)bicyclo[3.1.1]hept-3-ene]	BC	0.084±0.022 _b	0.014±0.023 _a	N.D. _a	N.D. _a	N.D. _a	B
			FL	0.035±0.033 _a	0.046±0.041 _a	N.D. _a	0.019±0.033 _a	0.107±0.122 _a	
			FP	0.041±0.036 _a	0.047±0.043 _a	N.D. _a	N.D. _a	0.044±0.075 _a	
t6	1458	Aromadendrene [(1 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Trimethyl-4-methylidene-2,3,4 <i>a</i> ,5,6,7,7 <i>a</i> ,7 <i>b</i> -octahydro-1 <i>aH</i> -cyclopropa[e]azulene]	BC	N.D. _a	N.D. _a	0.073±0.013 _a	0.128±0.088 _a	0.139±0.134 _a	A
			FL	N.D. _a	N.D. _a	0.2±0.025 _a	0.329±0.158 _a	2.251±0.525 _b	
			FP	N.D. _a	N.D. _a	0.289±0.169 _b	0.181±0.155 _{ab}	0.399±0.233 _b	
t7	1462	(-)-Alloaromadendrene [(1 <i>aR</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Trimethyl-4-methylidene-2,3,4 <i>a</i> ,5,6,7,7 <i>a</i> ,7 <i>b</i> -octahydro-1 <i>aH</i> -cyclopropa[e]azulene]	BC	N.D. _a	N.D. _a	0.011±0.02 _a	0.061±0.083 _a	0.098±0.102 _a	B
			FL	N.D. _a	N.D. _a	0.11±0.03 _a	0.203±0.09 _a	1.312±0.216 _b	
			FP	N.D. _a	N.D. _a	0.167±0.171 _{ab}	0.121±0.093 _{ab}	0.273±0.154 _b	
t8	1483	β -Selinene [(3 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-8 <i>a</i> -Methyl-5-methylidene-3-prop-1-en-2-yl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,6,7,8-octahydronaphthalene]	BC	N.D. _a	N.D. _a	0.147±0.088 _{ab}	0.231±0.211 _{ab}	0.348±0.23 _b	B
			FL	N.D. _a	N.D. _a	0.238±0.081 _a	0.31±0.124 _a	2.53±0.503 _b	
			FP	N.D. _a	N.D. _a	0.316±0.234 _{ab}	0.267±0.247 _a	0.684±0.311 _b	
t9	1492	α -Murrrolene [(1 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-4,7-Dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -hexahydronaphthalene]	BC	N.D. _a	0.249±0.109 _{ab}	0.339±0.12 _{ab}	0.693±0.124 _{bc}	0.817±0.502 _c	B
			FL	N.D. _a	0.112±0.106 _a	0.46±0.056 _a	0.889±0.523 _a	4.556±1.718 _b	
			FP	N.D. _a	0.125±0.039 _{ab}	0.623±0.302 _b	0.561±0.325 _b	1.183±0.436 _c	

t10	1495	Valencene	BC	N.D. a	N.D. a	0.017±0.007 _a	0.054±0.035 _{ab}	0.095±0.054 _b	B
		[(3 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>R</i>)-4 <i>a</i> ,5-Dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1 <i>H</i> -naphthalene]	FL	N.D. a	N.D. a	0.058±0.055 _a	0.068±0.067 _a	0.516±0.088 _b	
		FP	N.D. a	N.D. a	0.053±0.025 _a	0.069±0.069 _a	0.268±0.205 _b		
t11	1498	Eremophilene	BC	N.D. a	N.D. a	0.056±0.018 _a	0.175±0.051 _b	0.188±0.121 _b	B
		[(3 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,5 <i>S</i>)-4 <i>a</i> ,5-Dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1 <i>H</i> -15 <i>O</i> 3naphthalene]	FL	0.016±0.028 _a	N.D. a	0.132±0.037 _a	0.339±0.193 _a	1.841±0.44 _b	
		FP	N.D. a	N.D. a	0.186±0.074 _b	0.167±0.128 _b	0.323±0.058 _c		
t12	1504	α -Selinene	BC	N.D. a	N.D. a	0.041±0.021 _{ab}	0.133±0.049 _{bc}	0.167±0.115 _c	B
		[(3 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,8 <i>aR</i>)-5,8a-Dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,4 <i>a</i> ,7,8-hexahydro-1 <i>H</i> -naphthalene]	FL	N.D. a	0.005±0.009 _a	0.106±0.01 _a	0.123±0.042 _a	1.291±0.223 _b	
		FP	N.D. a	N.D. a	0.16±0.088 _{ab}	0.148±0.119 _{ab}	0.379±0.231 _b		

- 1) All volatile compounds are listed by the order of their RI values in chemical class.
- 2) Retention indices were determined using n-alkanes C₇-C₃₀ as external standards.
- 3) Mean values of relative peak area to that of internal standard \pm standard deviation.
- 4) BC: *Botrytis cinerea* inoculation; FL: *Fusarium lactis* inoculation; FP: *Fusarium proliferatum* inoculation.
- 5) Spoilage scale of bell peppers. DI 0: decay index 0 (fresh state of bell peppers with no decay); DI 1: decay index 1 ($X \leq 1\%$ decay of bell pepper surface); DI 2: decay index 2 ($1 < X \leq 5\%$ decay of bell pepper surface); DI 3: decay index 3 ($5 < X \leq 20\%$ decay of bell pepper surface); DI 4: decay index 4 ($20 < X \leq 50\%$ decay of bell peppers surface).
- 6) Identification of the compounds was based as follows; A, mass spectrum and retention index agree with the authentic compounds under similar conditions (positive identification); B, mass spectrum and retention index were consistent with those from NIST database; C, mass spectrum was consistent with that of W9N08 (Wiley and NIST) and manual interpretation (tentative identification).
- 7) Significant differences ($p < 0.05$) between bell pepper samples according to decay index using Duncan's multiple comparison test.
- 8) N.D. = not detected

㉔ 다변량 통계 분석을 통한 Orange 파프리카 부패관련 냄새 마커 선정

㉕ 인공적으로 부패균을 접종한 Orange 파프리카의 균종 별, 부패 단계 별 PLS-DA (Partial least square-discriminant analysis)

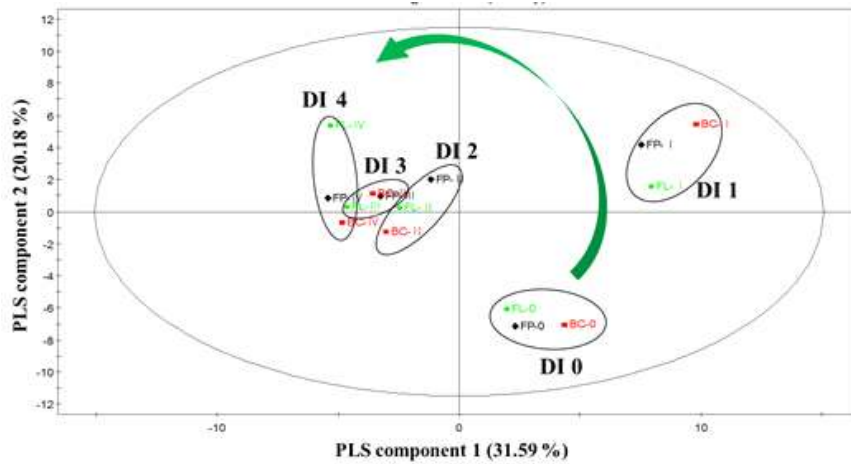


그림 91. 인공적으로 균을 접종하여 부패시킨 Orange 파프리카의 균종 별 휘발성 성분의 주성분 분석 (BC: *Botrytis cinerea* inoculation; FL: *Fusarium lactis* inoculation; FP: *Fusarium proliferatum* inoculation; DI 1: decay index; DI 2: decay index; DI 3: decay index 3; DI 4: decay index 4).

- 제 1주성분 (PLS component 1)은 31.59%의 설명력을 나타내었으며 제 2주성분 (PLS component 2)는 20.18%를 나타내어 총 변동의 51.77%를 설명하였다. 3가지 균 모두 DI 0-1단계에서는 1 주성분 기준 양의 방향에 위치해 있었으며 부패가 진행되어 후반 부패 단계인 DI 2-4단계에서는 1 주성분 기준 음의 방향으로 진행되었다. 부패가 진행될수록 반시계 방향으로 이동하는 경향을 보였다.
- 초반 부패 단계의 샘플 (DI 0, 1)에 비해 후반 부패 단계인 (DI 2, 3, 4)의 샘플이 모여져 있는 경향으로 보아 후반 보다는 부패 초반에 변화가 컸다는 것을 알 수 있다. 3가지 균의 진행 방향은 유사했으며, 균종별보다 부패 단계별의 차이가 더 컸다.
- PLS component 1과 PLS component 2의 양과 음의 방향에 주요한 영향을 미치는 성분 (VIP value > 1.0)들은 아래 표 60, 61에 나타내었다.
- PLS component 1의 양의 방향 (DI 0, 1단계)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 2,3,6,-trimethylbenzene, benzaldehyde, dodecane, styrene, 4-methyldecane, 1,2-xylene, oxolane, ethyl acetate, butyl acetate, ethylbenzene 등 이었다.
- PLS component 1의 음의 방향 (DI 2, 3, 4단계)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 valencene, β -elemene, α -murrrolene, β -selinene, α -selinene, eremophilene, alloaromadendrene, aromadendrene 등 이었다.
- PLS component 2의 양의 방향에 주요한 영향을 미치는 성분들은 dl-limonene,

(*1R,3R*)-1,3-dimethylcyclopentane, methylcyclohexane, toluene, naphthalene, 1-methylpyrrol, ethylbenzene 등 이었다.

- PLS component 2의 음의 방향 (Decay index 0, 2, 4)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 octanal, hept-1-ene, 6-methylhept-5-en-2-one, decanal, nonanal, 3,4-dihydro-2H-pyran 등 이었다.

표 60. Orange 파프리카의 주성분 분석 PLS component 1에 영향을 끼치는 Variable Important Plot (VIP) list (VIP > 1.0)

Volatile compounds	VIP value
Positive direction	
2,3,5-Trimethylbenzene	1.77
Benzaldehyde	1.76
Dodecane	1.73
Undecane	1.72
Pentadecane	1.65
Styrene	1.60
4-Methyldecane	1.60
1,2-Xylene	1.60
6-Ethyl-2-methyloctane	1.59
5-Ethyl-2-methyloctane	1.59
1,2-Xylene	1.57
Oxolane	1.53
Ethyl acetate	1.53
Butyl acetate	1.50
Ethylbenzene	1.48
α -Copaene	1.44
1,2,3-Trimethylbenzene	1.41
1,2,4-Trimethylbenzene	1.38
Toluene	1.37
2-(2-ethoxyethoxy)Ethanol	1.35
Nonane	1.34
Hexanal	1.34
1,3,5-Trimethylbenzene	1.30
Tridecane	1.28
Naphthalene	1.26
Octadecane	1.24
Heptadecane	1.23
3,4-Dihydro-2H-pyran	1.23
Nonanal	1.21
Oxolan-2-one	1.21
(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl)2-Methylpropanoate	1.17
Decanal	1.06
Negative direction	
Valencene	1.05
β -Elemene	1.00

표 61. Orange 파프리카의 주성분 분석 PLS component 2에 영향을 끼치는 Variable Important Plot (VIP) list (VIP > 1.0)

Volatile compounds	VIP value
Positive direction	
dl-Limonene	2.03
(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-1,3-Dimethylcyclopentane	1.66
3-Methylhexane	1.65
Methylcyclohexane	1.65
Heptane	1.64
2-Methylpentane	1.51
1,2-Dimethylcyclopentane	1.49
1,2,4-Trimethylbenzene	1.43
Octane	1.42
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-1,3-Dimethylcyclopentane	1.41
Nonyl cyclohexane	1.31
Toluene	1.29
Naphthalene	1.28
1,2,3-Trimethylbenzene	1.28
Nonane	1.27
Butyl acetate	1.26
1-Methylpyrrole	1.22
Ethylbenzene	1.20
α -Murrrolene	1.17
1,1,2,2-Tetrachloroethene	1.15
5-Ethyl-2-methyloctane	1.12
Ethyl cyclopentane	1.12
1,3-Xylene	1.12
α -Selinene	1.06
β -Selinene	1.06
Alloaromadendrene	1.05
Aromadendrene	1.05
Eremophilene	1.04
β -Elemene	1.03
Valencene	1.02
Negative direction	
Octanal	1.96
Hept-1-ene	1.94
6-Methylhept-5-en-2-one	1.91
Decanal	1.77
Nonanal	1.16
3,4-Dihydro-2H-pyran	1.16
Oxolan-2-one	1.55
(3 <i>E</i>)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene	1.40
Hexanal	1.19
α -Copaene	1.17
Heptanal	1.15

(4) 딸기 휘발성유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법 및 데이터 프라세싱법 확립

(가) 연구수행 방법

① 시료수집

- 딸기 시료는 모두 같은 품종인 설향을 사용하였으며, 부패균인 *Bortyitis cinerea* (BC), *Cladosporium cladosporioides* (CC)를 2mL (1×10^6 spores/mL)씩 인공접종하였고 온도 25°C, 상대 습도 70%로 유지한 항온습조에서 약 4일 동안 보관하면서 휘발성 성분을 추출 및 분석하였다.
- 균을 접종한 후, 12시간마다 부패단계를 측정하였으며 이에 따른 부패 단계에 대한 설명은 다음과 같다.
 - DI0: 균 접종 직후, DI1: 균 접종 후 12시간 후, DI2: 균 접종 후 24시간 후, DI3: 균 접종 후 36시간 후, DI4: 균 접종 후 48시간 후, DI5: 균 접종 후 60시간 후, DI6: 균 접종 후 72시간 후, DI7: 균 접종 후 84시간 후

② 딸기 내 휘발성 유기화합물의 solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 추출 방법 및 GC-MS 분석 방법

- SPME 추출 방법
 - SPME 방법은 시료를 일정한 온도에서 headspace상으로 휘발성 성분을 이동시키고 이를 polymer로 코팅된 fiber에 흡착된 성분을 분석하는 방법이다 (Lee et al., 1999).
 - 딸기의 휘발성 성분을 포집하기 위하여 시료와 내부 표준 물질을 2000 mL의 밀폐 용기에 넣어 상온 ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)에서 60분 동안 평형시키고 시료의 휘발성 성분들을 흡착시키기 위하여 DVB/CAR/PDMS fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하여 20분 동안 흡착시켰다.
- GC-MS 분석 방법
 - SPME법을 이용하여 추출한 시료의 휘발성 향기성분은 6890N GC system과 5975 MSD(agilent technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다.
 - 딸기의 휘발성 유기화합물을 분석하기 위하여 흡착시킨 SPME fiber를 250°C 에서 5분간 유지하며 GC-MS에 휘발성 향기성분을 탈착시켰다. 탈착하는 5분 동안 액체질소를 이용하여 -80°C를 유지하는 cryo-focusing system을 사용하였다. Column은 HP-5MS UI capillary column(30m length \times 0.25mm I.D., 0.15 μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)을 이용하였고, GC oven은 40°C에서 6분간 유지한 후 4°C/min의 속도로 200°C까지 올린 후 5분간 유지하였다. 이동상 기체로 helium을 0.8mL/min의 속도로 흘려주었으며, 주입기는 splitless모드로 설정하였다. Mass scan range는 35-350 a.m.u.였으며 Scan rate는 4.45 scans/sec, Transfer line 온도는 280°C 이고 Mass spectra ionization energy는 70eV였다.

③ 딸기의 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법

- SPME법으로 추출한 휘발성 성분의 동정은 Retention Index (RI), mass spectral database (Wiley9n.1 및 NIST08) 및 manual interpretation에 의해 수행되었다.
- 인공접종한 딸기의 정량은 내부표준물질인 2-β-pinene (100 mg/L in methanol) 을 3μL 사용하였다.

(나) 연구수행 결과

① 딸기의 균종 별 부패사진

- 부패균인 *B.cinerea* (BC), *Cl.cladosporioides* (CC)균을 접종한 딸기의 부패 단계 별 진행 모습은 아래 그림 92, 93과 같았다.

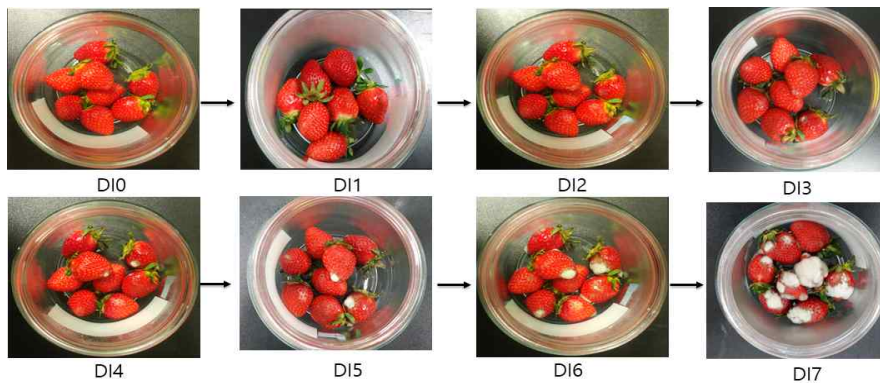


그림 92. *Bortyitis cinerea* (BC)균을 접종한 딸기의 부패 진행 양상.

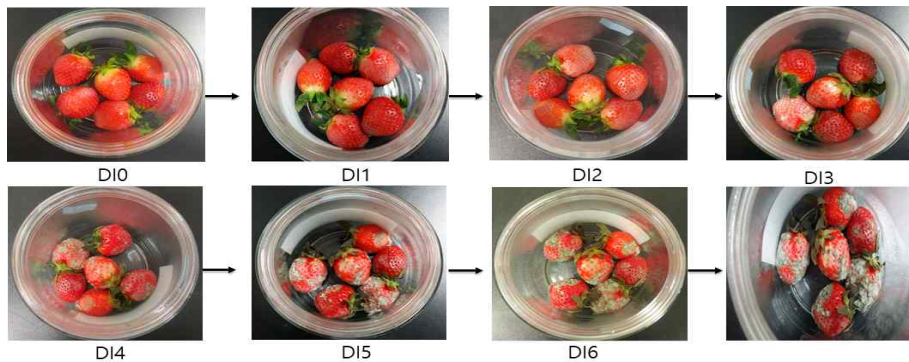


그림 93. *Cladosporium cladosporioides* (CC)균을 접종한 딸기의 부패 진행 양상.

② 부패 딸기의 균별 및 부패단계별 휘발성 유기성분 분석

- 인공적으로 균을 접종한 딸기의 균종별 부패 휘발성 성분은 아래 표 63과 같았다.
 - *B.cinerea* (BC)을 살펴보면, BC접종 딸기에서는 4종의 acids, 11종의 alcohols, 6종의 aldehydes, 11종의 benzenes, 73종의 esters, 3종의 furans, 27종의 hydrocarbones, 13종의 ketone, 3종의 terpenes이 동정되어 총 138개의 휘발성 유기성분이 분석되었다.
 - *C.cladosporioides* (CC) 접종 딸기에서는 5종의 acids, 4종의 alcohols, 4종의 aldehydes, 17종의 benzenes, 55종의 esters, 2종의 furans, 19종의 hydrocarbones, 9

종의 ketone, 3종의 terpenes이 동정되어 총 116개의 휘발성 유기성분이 분석되었다.

- 전체적으로 BC에서 CC에 비해 상대적으로 더 많은 alcohol류, hydrocarbon류, ester류 등이 동정되었다. 두 가지 균에서 공통적으로 부패단계에 따라 증가한 성분들을 살펴보면, 2-methylbutan-1-ol, styrene, 2-methylbutyl acetate 의 성분들이 있었다.

두 가지 균에서 공통적으로 부패단계에 따라 감소한 성분들을 살펴보면, hydrocarbon류에서는 2-isothiocyanatopentane, ester류에서는 ethyl butanoate 감소하였다.

표 63. 균 인공 접종하여 부패한 딸기의 휘발성 성분 분석

No. ¹⁾	RI ²⁾	Volatile Compounds	Patho-gen ⁴⁾	Relative peak area ³⁾							
				Decay index							
				DI 0	DI 1	DI 2	DI 3	DI 4	DI 5	DI 6	DI 7
Acid											
ac1	1154	2-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) acetic acid	BC	N.D. ⁵⁾	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.062±0.078	0.286±0.571	N.D.	0.378±0.656	0.085±0.17	0.49±0.979	0.383±0.766	0.444±0.888
ac2	731	3-Methylbutylformate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.049±0.098	N.D.	105.077±164.0 ₃	34.264±61.038
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ac3	651	Acetic acid	BC	N.D.	0.324±0.235	0.018±0.035	0.042±0.083	0.014±0.027	N.D.	0.018±0.036	0.922±1.179
			CC	0.041±0.081	N.D.	0.015±0.029	0.077±0.111	0.295±0.356	0.26±0.52	0.168±0.279	0.143±0.213
ac4	1172	Benzoic acid	BC	0.02±0.024	N.D.	0.027±0.053	0.075±0.095	0.035±0.043	0.05±0.058	0.022±0.044	N.D.
			CC	N.D.	0.002±0.003	0.002±0.003	0.006±0.012	0.023±0.028	0.031±0.047	0.025±0.05	0.021±0.02
ac5	>1900	Hexadecanoic acid	BC	0.281±0.102	N.D.	0.176±0.178	0.043±0.083	0.052±0.097	0.519±0.583	0.156±0.188	0.153±0.259
			CC	N.D.	0.035±0.042	N.D.	N.D.	0.538±0.977	0.165±0.247	0.241±0.23	0.333±0.278
Alcohol											
al1	1642	(2Z,6Z)-3,7,11-Trimethyldeca-2,6,10-trien-1-ol	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.562±1.064	N.D.	0.599±1.198	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
al2	1566	(3R,6E)-3,7,11-Trimethyldeca-1,6,10-trien-3-ol (Nerolidol)	BC	0.869±0.834	0.614±1.228	1.997±0.96	1.302±2.604	1.112±0.397	0.194±0.389	N.D.	0.355±0.711
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
al3	1444	(5Z)-5-[(2,4-dinitrophenyl)hydrazinylidene]Pentan-1-ol	BC	N.D.	N.D.	#VALUE!	0.001±0.002	0.014±0.028	0.019±0.039	0.352±0.387	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
al4	1567	(6E)-3,7,11-trimethyldeca-1,6,10-trien-3-ol (trans-Nerolidol)	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.781±0.943	0.745±0.849	0.341±0.683
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
al5	1007	[(Z)-hex-3-enyl] Acetate	BC	2.625±2.892	0.306±0.612	N.D.	0.24±0.479	0.024±0.049	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	2.533±1.92	0.838±1.3	0.203±0.406	0.096±0.191	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
al6	735	2-Methylbutan-1-ol	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.139±0.085	1.082±0.716	1.787±0.877	3.666±3.43
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.576±1.287	0.576±1.287	2.027±2.818
al7	1100	3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol(Linalool)	BC	2.019±1.553	0.996±1.87	3.75±1.179	2.676±3.65	1.967±0.391	2.365±0.658	0.635±1.271	0.401±0.631
			CC	2.454±1.21	3.456±1.468	7.538±6.123	2.495±1.371	2.903±1.71	0.943±1.159	0.778±0.952	0.724±0.842
al8	733	3-Methylbutan-1-ol	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.054±0.108	0.374±0.355	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.024±0.048	0.321±0.332	0.875±0.641	0.891±1.278
al9	663	Butan-1-ol	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.002±0.004	0.107±0.084	0.066±0.131	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

al10	<600	Ethanol	BC	0.041±0.082	0.169±0.279	0.148±0.226	0.314±0.615	0.212±0.211	0.263±0.509	N.D.	0.093±0.186
			CC	0.142±0.122	0.48±0.265	1.297±1.297	0.595±0.351	0.867±0.511	0.808±0.682	1.742±1.29	1.251±1.449
al11	868	Hexan-1-ol	BC	N.D.	N.D.	0.328±0.612	2.645±5.031	6.655±6.946	6.357±7.035	0.715±0.832	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Aldehydes											
ah1	<600	(Z)-But-2-enal	BC	N.D.	N.D.	0.081±0.161	0.081±0.096	N.D.	N.D.	N.D.	0.115±0.229
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ah2	714	2,3-Dihydroxypropanal	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.039±0.052	N.D.	N.D.	0.063±0.125	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ah3	1036	2-Methylbenzaldehyde	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.034±0.042	0.013±0.027	0.022±0.029	N.D.	0.04±0.081	N.D.	N.D.	N.D.
ah4	663	2-Methylidenebutanal	BC	0.028±0.055	0.093±0.067	0.056±0.067	0.23±0.294	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ah5	1164	3-Ethylbenzaldehyde	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.113±0.226	0.473±0.323	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.108±0.215
ah6	1180	4-Ethylbenzaldehyde	BC	0.106±0.211	0.141±0.14	0.024±0.037	0.018±0.033	0.02±0.041	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ah7	1042	4-Methylbenzaldehyde	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.048±0.06	0.062±0.071	0.07±0.119	0.021±0.028	0.053±0.061	N.D.	0.047±0.074	N.D.
ah8	961	Benzaldehyde	BC	0.26±0.178	0.055±0.11	0.187±0.133	0.056±0.113	0.23±0.198	0.503±0.14	0.221±0.257	1.163±1
			CC	0.347±0.07	0.11±0.219	0.12±0.241	0.099±0.198	0.457±0.293	0.469±0.112	0.523±0.355	0.759±0.381
ah9	884	Hept-4-enal	BC	N.D.	N.D.	0.008±0.016	0.007±0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzenes											
b1	1183	(E)-3-Phenylprop-2-enal	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.038±0.035	0.015±0.03	0.063±0.075	0.019±0.029	0.056±0.111	0.014±0.027	0.011±0.014	0.005±0.009
b2	1086	[(Z)-but-2-en-2-yl]Benzene	BC	0.142±0.284	0.019±0.037	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.133±0.223	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
b3	1025	1,2,3-Trimethylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	0.006±0.013	0.008±0.018	0.11±0.132	N.D.	0.032±0.073	N.D.
b4	970	1,2,4-Trimethylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.075±0.105	N.D.	N.D.	N.D.	0.118±0.136	0.073±0.09	0.031±0.043	N.D.
b5	969	1,3,5-Trimethylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.024±0.032	0.023±0.046	0.041±0.083	0.072±0.09	0.005±0.009	N.D.	N.D.	0.007±0.014

b6	1340	1,3-Dimethyl-5-propan-2-ylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.535±0.359	0.247±0.369	0.364±0.314	0.09±0.105	0.299±0.132	0.097±0.112	0.076±0.152	N.D.
b7	870	1,3-Xylene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.393±0.392	N.D.	0.073±0.147	0.049±0.097	0.098±0.196	0.083±0.142	0.077±0.154	N.D.
b8	868	1,4-Xylene	BC	0.03±0.061	0.023±0.046	0.152±0.304	1.525±2.373	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.035±0.07	0.088±0.145	0.078±0.096	0.346±0.481	0.31±0.363	0.027±0.053	N.D.	0.04±0.052
b9	1044	1-Ethenyl-3-ethylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.122±0.097	0.062±0.072	0.047±0.095	0.083±0.063	0.126±0.117	0.107±0.074	N.D.	0.075±0.096
b10	1044	1-Ethenyl-4-ethylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.162±0.088	0.039±0.078	0.027±0.055	0.048±0.061	0.079±0.107	0.02±0.041	N.D.	N.D.
b11	1487	1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)benzene	BC	0.055±0.06	0.022±0.045	0.054±0.063	0.081±0.119	0.023±0.027	0.011±0.022	0.009±0.018	N.D.
			CC	0.027±0.039	0.042±0.029	0.145±0.187	0.048±0.035	0.083±0.047	0.023±0.027	0.016±0.032	N.D.
b12	1028	1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.021±0.024	N.D.	0.003±0.006	N.D.	0.006±0.012	N.D.	N.D.	N.D.
b13	1086	2-Methylprop-1-enylbenzene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.053±0.061	0.033±0.042	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
b14	1137	4-(4-chlorophenyl)-2,6-Diphenylpyridine	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.039±7.975	2.767±5.533
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
b15	1113	5-(3-aminopropyl)-5,10-Dihydro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on	BC	2.862±3.342	4.19±2.785	7.546±5.407	3.507±4.44	3.91±3.053	6.591±6.965	3.049±3.737	2.531±5.061
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
b16	655	Benzene	BC	0.22±0.44	0.126±0.187	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.763±1.526	0.607±1.053
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.162±0.232	0.014±0.027	0.01±0.02	0.064±0.082
b17	860	Ethylbenzene	BC	0.029±0.034	1.666±1.723	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.236±0.068	0.069±0.047	0.137±0.073	0.09±0.011	0.242±0.252	0.103±0.086	0.133±0.154	N.D.
b18	891	Styrene	BC	0.432±0.863	0.009±0.019	1.926±2.029	3.335±5.539	34.068±24.045	104.847±50.905	38.781±50.389	58.47±112.355
			CC	0.446±0.331	0.188±0.376	2.035±3.284	2.735±3.38	14.722±16.278	62.306±77.444	92.634±69.91	100.174±98.01
b19	764	Toluene	BC	0.358±0.164	0.025±0.051	0.028±0.033	0.023±0.03	N.D.	0.007±0.013	1.537±1.784	0.938±1.875
			CC	0.745±0.559	0.097±0.116	0.228±0.221	0.193±0.039	0.144±0.106	0.06±0.071	0.117±0.083	0.073±0.085
b20	869	Xylene	BC	0.063±0.126	0.539±0.977	N.D.	0.087±0.101	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.212±0.169	0.165±0.2	0.029±0.058	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Esters											
e1	1448	[(E)-3-phenylprop-2-enyl] Acetate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.284±0.413	0.222±0.445	0.116±0.231

e2	1447	[(<i>E</i> -3-phenylprop-2-enyl) Acetate ((cinnamyl alcohol))	BC	N.D.	N.D.	0.033±0.066	0.317±0.634	0.286±0.195	0.897±0.813	1.488±2.976	0.986±1.972
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e3	1016	[(<i>E</i> -hex-2-enyl) Acetate	BC	1.472±2.943	0.011±0.021	N.D.	0.021±0.026	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e4	1211	2-Ethylhexyl acetate	BC	0.249±0.497	0.24±0.48	0.515±0.623	2.993±5.334	1.208±0.822	1.318±1.061	0.554±1.108	0.235±0.471
			CC	0.316±0.179	0.62±0.31	11.221±21.439	0.609±0.695	0.599±0.942	0.534±0.378	0.284±0.351	0.069±0.139
e5	888	2-Hydroxyethyl 3-oxobutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.091±0.105
e6	1057	2-Methylbutyl 2-methylpropanoate	BC	N.D.	0.211±0.421	N.D.	0.025±0.038	N.D.	0.183±0.212	0.351±0.703	0.467±0.933
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e7	878	2-Methylbutyl acetate	BC	0.25±0.195	0.101±0.202	0.697±0.048	0.942±1.212	3.21±0.474	5.416±0.619	2.669±3.093	3.431±2.344
			CC	0.346±0.158	0.545±0.162	1.456±1.238	0.547±0.413	1.069±0.233	1.6±1.389	1.853±1.29	3.503±3.857
e8	955	2-Methylpropyl 3-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.228±0.447	N.D.	N.D.	2.095±4.19	5.594±5.074
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e9	771	2-Methylpropyl acetate	BC	N.D.	0.047±0.057	0.043±0.007	0.025±0.046	0.083±0.04	0.1±0.008	0.149±0.173	0.246±0.423
			CC	0.063±0.016	0.062±0.023	0.173±0.166	0.248±0.312	0.169±0.071	0.176±0.086	0.365±0.196	0.325±0.337
e10	955	2-Methylpropyl butanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	0.027±0.054	0.214±0.231	0.08±0.093	0.141±0.166	N.D.	N.D.	N.D.
e11	1151	2-Methylpropyl hexanoate	BC	N.D.	0.086±0.172	N.D.	0.136±0.273	0.096±0.067	0.069±0.095	0.581±1.163	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e12	1058	3-Methylbutyl 2-methylpropanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.014±0.028	0.056±0.112	0.063±0.126	0.114±0.133	0.321±0.503	0.047±0.056	0.093±0.139	0.036±0.033
e13	875	3-Methylbutyl acetate	BC	1.321±0.833	2.712±3.19	4.848±1.467	2.694±3.452	3.818±0.385	3.47±0.674	1.759±1.852	0.717±0.508
			CC	1.083±0.528	4.272±2.079	10.683±9.303	6.194±3.41	9.634±5.412	6.408±5.564	7.619±6.672	4.178±4.753
e14	1056	3-Methylbutyl butanoate	BC	0.225±0.325	0.01±0.02	0.018±0.036	0.122±0.14	0.458±0.176	0.229±0.288	0.159±0.292	0.084±0.168
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e15	1165	Benzyl acetate	BC	0.34±0.401	0.217±0.405	1.656±0.439	1.477±1.797	1.741±0.23	2.404±0.52	1.037±1.294	0.463±0.869
			CC	N.D.	N.D.	1.551±1.166	0.907±0.223	1.693±0.546	1.197±0.286	1.12±0.329	1.205±0.857
e16	1055	Butyl 3-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	0.396±0.372	0.342±0.539	0.789±0.313	0.799±0.404	0.292±0.584	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e17	814	Butyl acetate	BC	0.559±0.392	20.612±40.912	1.194±0.38	1.929±2.556	4.549±0.521	4.331±1.013	1.847±2.729	0.266±0.533
			CC	0.576±0.175	0.438±0.096	0.963±0.906	0.399±0.322	0.728±0.264	0.732±0.463	0.646±0.47	0.892±0.828
e18	996	Butyl butanoate	BC	0.349±0.519	0.37±0.576	0.445±0.345	0.579±0.718	1.241±0.579	1.1±0.769	1.821±2.367	2.077±4.066
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e19	939	Ethyl (<i>E</i> -2-methylbut-2-enoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.478±0.955	0.379±0.447	1.459±0.608	0.498±0.58	1.231±0.874
			CC	0.219±0.101	0.487±0.364	2.525±2.924	N.D.	3.314±1.775	3.339±2.711	7.541±7.042	6.123±7.237

e20	1469	Ethyl (<i>E</i>)-3-phenylprop-2-enoate (cinnamate)	BC	N.D.	N.D.	0.197±0.394	0.44±0.865	0.012±0.024	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e21	842	Ethyl (<i>E</i>)-but-2-enoate	BC	0.067±0.113	0.27±0.548	0.214±0.37	0.219±0.479	0.25±0.302	0.226±0.223	0.083±0.108	0.008±0.017
			CC	0.046±0.074	0.055±0.031	0.094±0.087	0.096±0.119	0.171±0.24	0.17±0.129	0.187±0.197	0.057±0.098
e22	1046	Ethyl (<i>E</i>)-hex-2-enoate	BC	0.67±1.116	0.175±0.255	2.168±3.403	2.511±5.367	1.386±1.856	1.108±1.195	0.149±0.287	0.143±0.211
			CC	0.474±0.375	1.64±0.918	5.597±5.426	3.106±1.889	5.426±4.296	1.875±1.649	2.07±1.753	0.764±0.918
e23	1247	Ethyl (<i>E</i>)-oct-2-enoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	0.012±0.024	0.183±0.186	0.076±0.058	0.117±0.107	0.045±0.052	0.02±0.041	N.D.
e24	848	Ethyl 2-methylbutanoate	BC	1.152±1.359	0.213±0.303	2.512±2.183	1.934±3.187	3.475±2.137	6.379±3.089	2.533±3.119	3.006±3.995
			CC	4.482±1.302	5.114±1.746	12.408±10.483	7.367±3.44	11.184±4.505	10.603±7.112	18.449±14.127	15.626±12.846
e25	756	Ethyl 2-methylpropanoate	BC	0.026±0.051	N.D.	0.045±0.058	0.04±0.08	0.054±0.063	0.106±0.084	0.026±0.052	N.D.
			CC	0.233±0.074	0.128±0.033	0.258±0.207	0.152±0.052	0.239±0.107	0.239±0.19	0.436±0.385	0.291±0.383
e26	851	Ethyl 3-methylbutanoate	BC	1.502±1.669	2.166±2.923	3.509±2.656	2.474±3.949	2.983±1.875	3.365±2.027	0.883±1.076	0.419±0.839
			CC	1.166±0.463	4.026±1.919	11.238±9.621	6.848±3.763	11.292±6.349	8.999±7.67	11.732±11.23	6.995±9.059
e27	1469	Ethyl 3-phenylprop-2-enoate	BC	0.041±0.082	N.D.	N.D.	N.D.	0.073±0.146	0.065±0.131	N.D.	0.651±0.909
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e28	608	Ethyl acetate	BC	2.672±2.918	4.035±2.031	5.999±5.638	5.043±9.091	5.534±4.719	4.18±2.932	0.974±1.055	0.252±0.388
			CC	13.093±5.294	15.46±5.461	41.26±40.307	19.555±10.356	26.364±15.076	$\frac{16.385 \pm 16.42}{9}$	22.388±23.425	9.322±13.961
e29	802	Ethyl butanoate	BC	23.183±28.431	2.816±4.988	28.105±22.255	19.94±29.133	14.447±4.316	10.618±4.592	3.919±6.058	0.991±1.104
			CC	26.999±3.576	28.08±10.837	60.472±52.898	32.111±17.128	39.913±22.455	$\frac{19.782 \pm 17.03}{8}$	18.085±14.93	7.198±7.039
e30	1003	Ethyl hexanoate	BC	29.032±38.377	4.54±7.556	61.973±49.519	34.78±54.428	28.092±22.272	21.552±18.25	4.106±8.212	0.025±0.05
			CC	51.078±17.507	$\frac{125.595 \pm 84.54}{2}$	$\frac{1903.227 \pm 3474}{.823}$	$\frac{119.162 \pm 85.33}{9}$	$\frac{104.383 \pm 120.96}{8}$	$\frac{46.649 \pm 54.32}{5}$	10.124±20.237	4.427±8.854
e31	1196	Ethyl octanoate	BC	1.399±2.002	0.142±0.285	3.731±5.293	4.533±8.508	1.154±0.63	1.091±0.771	0.305±0.509	0.116±0.143
			CC	1.274±0.286	4.168±2.508	10.899±10.707	3.301±2.182	3.553±3.675	1.334±1.494	1.22±1.358	0.294±0.482
e32	901	Ethyl pentanoate	BC	0.095±0.17	0.011±0.023	0.082±0.135	0.062±0.123	N.D.	0.017±0.034	0.276±0.552	0.076±0.151
			CC	0.12±0.043	0.199±0.099	0.344±0.328	0.132±0.097	0.126±0.108	0.037±0.044	0.071±0.142	0.06±0.119
e33	711	Ethyl propanoate	BC	0.128±0.2	0.04±0.064	0.228±0.299	0.231±0.428	0.122±0.065	0.065±0.062	0.021±0.028	N.D.
			CC	0.138±0.108	0.262±0.131	1.106±0.715	0.66±0.445	1.102±0.768	0.385±0.398	0.37±0.385	0.125±0.187
e34	1042	Heptan-2-yl acetate	BC	0.588±0.679	0.458±0.881	1.812±1.26	0.477±0.953	N.D.	0.078±0.156	0.037±0.073	N.D.
			CC	0.138±0.168	0.457±0.217	1.506±1.667	0.618±0.409	0.86±0.366	0.401±0.397	0.141±0.281	N.D.
e35	1213	Heptan-2-yl butanoate	BC	0.101±0.134	0.033±0.067	0.07±0.081	0.002±0.005	0.071±0.142	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.041±0.038	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

e36	1016	Hex-2-enyl acetate	BC	1.844±2.07	0.054±0.109	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	3.221±1.875	0.285±0.393	0.286±0.341	0.296±0.091	0.119±0.143	0.076±0.133	0.318±0.538	0.021±0.043
e37	1237	Hexyl 2-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.457±0.643	0.743±0.617	0.316±0.508	0.083±0.165
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e38	1191	Hexyl 2-methylpropanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.002±0.004	N.D.	N.D.	N.D.	0.127±0.191
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e39	1242	Hexyl 3-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	0.055±0.083	0.392±0.783	0.391±0.419	0.551±0.215	0.151±0.302	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e40	1013	Hexyl acetate	BC	4.873±3.035	1.017±1.899	18.285±11.366	46.583±81.17	66.445±32.779	62.258 ± 20.33 ₂	21.48±35.46	3.315±6.629
			CC	4.72±2.001	2.31±0.982	6.373±6.355	3.613±2.497	5.465±3.507	6.267±7.479	6.13±7.471	11.489±14.426
e41	1191	Hexyl butanoate	BC	0.211±0.423	0.062±0.123	0.97±0.742	3.722±6.57	3.06±1.957	2.755±1.426	1.047±2.094	N.D.
			CC	0.144±0.078	0.013±0.027	N.D.	N.D.	0.046±0.057	0.096±0.192	0.096±0.192	0.231±0.462
e42	1094	Hexyl hexanoate	BC	0.007±0.013	0.007±0.014	N.D.	0.446±0.775	0.223±0.262	0.157±0.106	0.04±0.079	0.049±0.067
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e43	1105	hexyl propanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.281±0.558	0.166±0.195	0.375±0.436	0.196±0.33	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e44	865	Methyl (E)-2-methylbut-2-enoate	BC	0.009±0.018	N.D.	0.131±0.061	N.D.	0.039±0.079	0.023±0.046	0.393±0.726	0.249±0.497
			CC	0.003±0.007	0.034±0.023	0.104±0.076	0.102±0.083	0.193±0.144	0.161±0.187	0.294±0.359	0.295±0.446
e45	760	Methyl (E)-but-2-enoate	BC	0.061±0.045	0.034±0.068	0.176±0.118	0.091±0.171	0.17±0.121	0.169±0.204	0.066±0.132	0.139±0.059
			CC	0.015±0.029	0.069±0.007	0.078±0.091	0.078±0.129	0.089±0.179	0.213±0.101	0.181±0.227	0.071±0.107
e46	909	Methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate	BC	6.491±1.892	1.895±3.74	3.905±3.815	5.136±6.108	4.571±3.582	11.45±8.156	4.397±5.654	10.108±20.216
			CC	0.905±1.81	1.476±2.213	3.145±1.206	3.169±1.416	2.56±3.616	3.492±3.37	4.761±7.482	20.074±15.239
e47	775	Methyl 2-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.001±0.003	3.275±2.317	6.323±0.669	3.896±4.603	2.441±4.796
			CC	1.102±0.178	N.D.	N.D.	N.D.	0.456±0.913	1.543±3.086	3.847±2.826	6.439±3.555
e48	875	Methyl 2-methylidenebutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.048±0.097	N.D.	N.D.	1.293±1.665	0.389±0.779
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e49	684	Methyl 2-methylpropanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.01±0.021	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.027±0.033	0.011±0.021	0.071±0.07
e50	733	methyl 3-hydroxybutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.028±0.042	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e51	774	Methyl 3-methylbutanoate	BC	2.821±0.942	4.862±2.372	5.273±1.059	2.644±3.051	1.017±2.034	N.D.	N.D.	4.366±5.159
			CC	N.D.	1.631±0.555	3.033±1.326	2.54±1.296	3.323±2.503	2.642±2.15	0.608±1.216	N.D.
e52	890	Methyl 4-methylpentanoate	BC	0.436±0.523	0.086±0.172	0.2±0.401	1.566±1.851	N.D.	N.D.	N.D.	83.27±111.387
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

e53	<600	Methyl acetate	BC	3.218±0.828	1.061±2.122	6.045±1.361	2.967±3.681	5.836±3.12	6.988±1.253	1.527±2.991	N.D.
			CC	5.109±1.3	3.694±1.084	7.794±5.377	4.931±2.736	7.412±4.263	5.217±3.15	5.466±3.58	4.1±2.283
e54	1096	Methyl benzoate	BC	N.D.	0.038±0.076	0.145±0.098	0.083±0.125	0.144±0.112	0.119±0.066	0.069±0.08	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	0.002±0.004	0.015±0.013	0.083±0.022	0.073±0.048	0.135±0.193	0.008±0.016
e55	720	Methyl butanoate	BC	24.016±3.356	9.768±9.785	26.424±6.417	12.819±14.833	14.229±4.153	13.76±3.73	7.145±9.15	2.342±4.683
			CC	11.941±3.867	5.573±4.379	11.674±4.993	8.379±4.484	11.784±6.506	8.148±3.618	5.565±1.944	6.221±2.765
e56	1324	Methyl decanoate	BC	0.031±0.063	0.027±0.053	0.108±0.124	0.137±0.221	0.095±0.037	0.054±0.078	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e57	965	Methyl hex-2-enoate	BC	0.342±0.441	1.753±2.026	1.807±0.95	1.671±2.422	1.889±0.845	2.607±0.975	0.957±1.359	0.426±0.851
			CC	0.21±0.171	0.31±0.362	1.054±0.776	1.006±0.699	1.573±1.197	1.184±0.801	0.871±0.95	0.748±0.88
e58	927	Methyl hexanoate	BC	154.86±55.534	N.D.	160.672±63.13 ₇	48.024±96.049	101.701±20.829	112.389±28.5 ₂₇	50.157±65.837	19.509±36.516
			CC	38.548±20.055	52.992±31.825	85.451±57.964	56.841±39.465	70.602±49.431	48.183±31.14 ₂	38.543±23.124	41.642±32.85
e59	1124	Methyl octanoate	BC	5.85±3.913	2.03±4.059	7.668±5.72	6.922±9.996	5.175±1.768	5.625±1.985	2.306±3.612	0.666±1.332
			CC	1.394±0.881	2.742±1.794	4.626±3.309	2.707±1.896	3.125±2.686	2.002±1.731	1.429±0.96	1.785±1.625
e60	823	Methyl pentanoate	BC	0.05±0.1	0.021±0.042	0.024±0.047	0.151±0.175	0.138±0.032	0.101±0.121	0.061±0.122	N.D.
			CC	0.068±0.08	0.071±0.058	0.054±0.082	0.043±0.055	0.017±0.033	0.031±0.062	N.D.	0.086±0.172
e61	1310	Nonyl acetate	BC	0.031±0.062	0.032±0.064	0.119±0.146	0.159±0.232	0.045±0.055	0.015±0.029	N.D.	N.D.
			CC	0.029±0.035	0.044±0.03	0.066±0.058	0.032±0.038	0.064±0.059	0.029±0.04	0.024±0.048	N.D.
e62	1434	Octyl 2-methylbutanoate	BC	0.018±0.036	N.D.	0.102±0.089	0.184±0.288	0.113±0.082	0.184±0.137	0.078±0.156	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e63	1439	Octyl 3-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	0.13±0.26	0.302±0.412	0.117±0.139	0.066±0.133	N.D.	0.053±0.106
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e64	1149	Octyl acetate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.064±0.128	N.D.	0.597±0.666	0.182±0.305	0.464±0.543	0.011±0.022	0.144±0.252	0.47±0.585
e65	1025	Pentan-2-yl butanoate	BC	N.D.	0.161±0.173	0.136±0.174	0.173±0.215	N.D.	0.272±0.45	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e66	914	Pentyl acetate	BC	0.169±0.338	0.487±0.973	0.058±0.072	0.117±0.234	0.216±0.145	0.124±0.145	N.D.	N.D.
			CC	1.968±1.218	0.727±0.492	1.192±0.932	0.204±0.149	0.529±0.163	0.2±0.248	0.131±0.261	N.D.
e67	887	Propan-2-yl 2-methylbutanoate	BC	0.004±0.008	0.015±0.03	0.012±0.024	0.08±0.061	0.087±0.121	0.102±0.127	0.094±0.124	0.179±0.191
			CC	0.072±0.083	0.009±0.017	0.049±0.035	0.05±0.041	0.09±0.064	0.089±0.025	0.079±0.07	0.078±0.156
e68	899	Propan-2-yl 2-methylpropanoate	BC	0.035±0.069	5.495±5.334	N.D.	0.004±0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e69	894	Propan-2-yl 3-methylbutanoate	BC	0.011±0.022	0.017±0.034	0.059±0.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e70	656	Propan-2-yl acetate	BC	0.213±0.143	22.356±16.722	0.261±0.092	0.065±0.107	0.092±0.073	0.083±0.097	1.047±1.877	0.533±1.065
			CC	0.716±0.06	0.237±0.041	0.354±0.186	0.197±0.088	0.18±0.21	0.093±0.11	0.046±0.092	0.038±0.077

e71	1208	Propan-2-yl benzoate	BC	N.D.	N.D.	0.016±0.019	0.043±0.052	0.05±0.033	0.022±0.043	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e72	840	Propan-2-yl butanoate	BC	1.487±0.706	0.35±0.429	1.206±0.626	0.567±0.745	0.637±0.279	0.578±0.285	0.304±0.417	0.095±0.19
			CC	1.279±0.615	0.257±0.066	0.311±0.146	0.188±0.068	0.2±0.085	0.166±0.148	0.124±0.167	0.165±0.184
e73	1037	Propan-2-yl hexanoate	BC	1.67±1.448	0.542±1.083	1.12±2.24	0.598±1.197	0.592±0.727	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.28±0.559	0.48±0.447	1.747±1.811	0.154±0.309	0.06±0.12	N.D.	0.093±0.187	0.065±0.129
e74	947	Propyl 2-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.046±0.092	N.D.	N.D.	N.D.	0.023±0.045	N.D.	0.046±0.092	0.126±0.16
e75	950	Propyl 3-methylbutanoate	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.042±0.084	N.D.	0.065±0.13	0.031±0.063	0.079±0.092	0.066±0.132	N.D.	N.D.
e76	898	Propyl butanoate	BC	0.132±0.22	0.422±0.651	0.273±0.11	0.164±0.196	0.06±0.121	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.071±0.074	0.109±0.07	0.23±0.232	0.126±0.093	0.183±0.139	0.054±0.109	0.043±0.087	N.D.
e77	1094	Propyl hexanoate	BC	0.084±0.146	0.008±0.016	0.147±0.262	0.169±0.319	0.125±0.127	0.156±0.105	0.043±0.087	0.526±0.622
			CC	N.D.	0.184±0.124	0.442±0.408	0.16±0.042	0.154±0.158	0.035±0.07	0.037±0.075	N.D.
e78	888	S-Methyl butanethioate	BC	0.047±0.085	0.008±0.016	0.201±0.173	0.001±0.001	N.D.	N.D.	N.D.	2.005±4.009
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
e79	701	S-Methyl ethanethioate	BC	0.129±0.155	2.353±1.582	0.472±0.093	0.208±0.223	0.221±0.067	0.13±0.095	0.857±1.567	N.D.
			CC	0.089±0.117	0.13±0.096	0.368±0.346	0.286±0.128	0.345±0.181	0.119±0.149	0.033±0.066	N.D.
e80	1172	Ethyl benzoate	BC	0.035±0.07	0.022±0.044	0.295±0.329	0.356±0.63	0.236±0.126	0.294±0.07	0.084±0.113	N.D.
			CC	0.084±0.054	0.219±0.097	0.856±0.715	0.698±0.233	1.851±0.755	1.195±0.871	3.566±5.056	0.47±0.661
Furans											
f1	<600	2,3-Dihydrofuran	BC	0.739±0.837	1.175±1.072	0.177±0.154	0.145±0.169	0.184±0.049	0.264±0.103	0.071±0.142	0.133±0.267
			CC	0.242±0.102	0.234±0.073	0.381±0.218	0.201±0.069	0.251±0.243	0.261±0.127	0.395±0.129	0.28±0.227
f2	1061	4-Methoxy-2,5-dimethylfuran-3-one	BC	N.D.	0.034±0.067	N.D.	0.006±0.013	0.865±1.729	N.D.	0.771±1.443	0.045±0.09
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
f3	621	Oxolane	BC	3.458±4.06	0.165±0.08	1.308±0.814	0.853±0.996	0.674±0.663	1.457±0.99	0.717±0.852	0.971±1.941
			CC	0.993±0.867	0.638±0.612	0.899±0.859	0.563±0.273	0.34±0.434	1.144±0.839	1.269±0.988	2.272±1.122
Hydrocarbons											
h1	935	(1R,5R)-4,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	0.143±0.182	0.134±0.268	0.081±0.161	N.D.	0.07±0.14	N.D.	0.233±0.162
h2	1049	(3E)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.019±0.039	0.026±0.053	N.D.	0.006±0.013	0.048±0.06	0.013±0.025	N.D.	N.D.
h3	1051	(3Z)-3,7-dimethylocta-1,3,6-triene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	0.199±0.132	1.656±0.228	2.132±1.535	3.584±3.686	2.95±3.686
h4	1513	(4R)-1-Methyl-4-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohexene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.046±0.054	0.002±0.004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h5	1459	(6E)-7,11-Dimethyl-3-methylidenedodeca-1,6,10-triene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.053±0.085	0.097±0.046	0.255±0.233	0.078±0.066	0.096±0.079	0.064±0.078	0.065±0.08	0.071±0.07
h6	742	(methylsulfanyl)Methane	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.015±0.03	N.D.	N.D.	0.005±0.01	0.034±0.06	0.053±0.106	0.075±0.096	0.115±0.206

h7	971	(methyltrisulfanyl)Methane	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.015±0.014	0.208±0.21	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h8	1007	1-Methylcyclopentene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.054±0.017	0.033±0.011	0.053±0.081	0.012±0.014	0.023±0.028	0.01±0.02	0.027±0.035	N.D.
h9	686	2-Isothiocyanatopentane	BC	0.037±0.074	0.44±0.881	0.154±0.139	0.101±0.134	0.032±0.037	0.012±0.024	0.203±0.407	0.016±0.032
			CC	0.041±0.053	0.038±0.047	0.184±0.223	0.038±0.048	0.011±0.022	0.003±0.005	N.D.	N.D.
h10	1109	3,3,6,6,7,7-Hexamethyl-1,2,4,5,8,9-hexahydrocyclopenta[e]-as-indacene	BC	N.D.	N.D.	0.093±0.117	0.064±0.074	0.04±0.04	0.056±0.061	N.D.	0.226±0.451
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h11	949	6,6-Dimethyl-5-methylidenebicyclo[2.2.1]heptane (camphene)	BC	0.241±0.373	N.D.	0.945±0.53	0.204±0.408	0.166±0.2	0.188±0.223	N.D.	N.D.
			CC	0.178±0.224	0.282±0.132	0.859±0.788	0.152±0.187	0.324±0.439	0.291±0.201	0.104±0.209	0.135±0.271
h12	991	7-Methyl-3-methylideneocta-1,6-diene(Myrcene)	BC	0.893±0.546	0.795±1.139	4.389±1.527	1.184±1.605	2.216±0.701	2.073±0.644	0.834±1.19	0.244±0.304
			CC	0.427±0.334	0.577±0.432	2.362±2.19	1.844±1.4	2.069±1.63	0.918±0.965	0.694±0.42	0.439±0.476
h13	710	Bis(ethylsulfanyl)methylsulfanylethane	BC	N.D.	0.05±0.057	0.339±0.196	0.149±0.181	0.264±0.164	0.179±0.137	0.069±0.137	0.118±0.236
			CC	N.D.	N.D.	0.04±0.034	0.101±0.129	0.057±0.069	0.012±0.019	N.D.	N.D.
h14	1428	Caryophyllene	BC	N.D.	N.D.	0.161±0.321	0.008±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h15	765	Cyclohepta-1,3,5-triene	BC	0.028±0.055	0.94±0.898	N.D.	0.003±0.005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h16	663	Cyclohexane	BC	0.101±0.203	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.285±1.74
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h17	1300	Dodecane	BC	0.039±0.078	1.181±1.031	N.D.	N.D.	N.D.	0.033±0.067	0.033±0.067	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h18	<600	Ethynylcyclopentane	BC	0.31±0.283	0.131±0.207	0.566±0.283	0.334±0.468	0.195±0.016	0.244±0.085	0.224±0.082	N.D.
			CC	0.254±0.136	0.282±0.033	0.668±0.48	0.224±0.086	0.328±0.105	0.086±0.102	0.16±0.136	N.D.
h19	1699	Heptadecane	BC	N.D.	0.035±0.071	N.D.	0.005±0.006	N.D.	N.D.	0.041±0.082	0.054±0.107
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h20	1600	Hexadecane	BC	N.D.	0.229±0.457	0.018±0.036	0.002±0.004	N.D.	N.D.	0.62±1.213	0.017±0.034
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h21	1600	Icosane	BC	N.D.	N.D.	N.D.	0.02±0.038	N.D.	N.D.	0.022±0.044	N.D.
			CC	0.066±0.036	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h22	1506	α -Murolene	BC	0.017±0.033	5.972±7.867	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h23	663	Methylcyclopentane	BC	0.093±0.139	N.D.	0.181±0.102	0.157±0.314	0.114±0.066	0.173±0.112	0.021±0.042	0.088±0.177
			CC	0.053±0.038	0.087±0.038	0.191±0.197	0.075±0.064	0.15±0.042	0.08±0.069	0.084±0.112	0.182±0.176
h24	1880	Nonadec-1-ene	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.066±0.133	0.095±0.126	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h25	1281	Nonadecane	BC	N.D.	N.D.	0.07±0.14	0.007±0.01	N.D.	N.D.	0.074±0.147	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
h26	#N/A	Octadecane	BC	0.082±0.104	N.D.	0.124±0.112	0.101±0.202	0.095±0.08	0.12±0.146	0.017±0.034	0.022±0.043
			CC	0.039±0.03	0.045±0.054	0.111±0.183	0.074±0.03	0.104±0.15	0.087±0.113	0.09±0.114	0.072±0.107
h27	1400	Tridecane	BC	N.D.	0.053±0.106	0.172±0.062	0.139±0.185	0.03±0.059	0.185±0.161	N.D.	0.124±0.248
			CC	0.084±0.085	0.083±0.053	0.128±0.205	0.092±0.031	0.26±0.177	0.166±0.146	N.D.	0.295±0.138
Ketone											
k1	1267	1-(2,4-dimethylphenyl)Eth anone	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	0.036±0.072	0.011±0.021	0.011±0.021	0.022±0.028	0.043±0.054	N.D.
k2	1267	1-(3,4-dimethylphenyl)Eth anone	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.018±0.027	0.032±0.028	0.03±0.061	0.008±0.014	0.028±0.041	0.025±0.031	0.009±0.017	0.035±0.035
k3	1267	1-(3-ethylphenyl)Ethanone	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.088±0.033	N.D.	N.D.	0.021±0.024	N.D.	0.035±0.041	N.D.	N.D.

k4	1270	1-(4-ethylphenyl)Ethanon _e	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.029±0.044	0.067±0.053	0.257±0.363	0.024±0.019	0.102±0.203	0.013±0.017	0.03±0.037	0.017±0.02
k5	1068	1-Phenylethanone	BC	0.06±0.044	0.016±0.032	0.024±0.028	0.019±0.039	0.022±0.031	0.051±0.049	0.034±0.026	0.073±0.129
			CC	0.072±0.075	0.061±0.034	0.089±0.059	0.051±0.023	0.137±0.082	0.096±0.028	0.108±0.087	0.149±0.079
k6	700	1-Sulfanylpropan-2-one	BC	0.087±0.174	1.77±2.134	N.D.	0.366±0.447	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k7	737	4-Methylpentan-2-one	BC	N.D.	N.D.	0.016±0.032	0.001±0.001	N.D.	N.D.	3.007±6.015	2.831±5.046
			CC	0.027±0.018	0.007±0.015	0.006±0.011	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k8	957	4-Phenyl-3H-1,3-thiazole-2-thione	BC	3.711±4.769	N.D.	0.332±0.663	N.D.	N.D.	0.449±0.899	N.D.	3.522±5.975
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k9	1683	5-Heptyloxolan-2-one	BC	0.088±0.066	N.D.	N.D.	0.022±0.045	N.D.	N.D.	N.D.	0.031±0.062
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k10	<600	Butan-2-one	BC	0.017±0.033	0.024±0.048	N.D.	0.176±0.226	N.D.	N.D.	0.017±0.033	N.D.
			CC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k11	891	Heptan-2-one	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	N.D.	0.458±0.309	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k12	#N/A	Nonan-2-one	BC	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
			CC	0.005±0.01	0.068±0.045	0.114±0.138	N.D.	N.D.	0.091±0.182	0.868±1.736	0.73±1.461
k13	685	Pentan-2-one	BC	0.043±0.085	25.571±33.967	0.13±0.042	0.081±0.106	N.D.	N.D.	0.048±0.096	0.026±0.051
			CC	0.137±0.019	0.119±0.012	0.159±0.074	0.075±0.053	0.172±0.262	0.106±0.196	0.184±0.357	N.D.
Terpenes											
t1	1510	(3E,6E)-3,7,11-Trimethyldeca-1,3,6,10-tetraene	BC	0.044±0.055	0.079±0.158	0.129±0.126	0.171±0.243	0.027±0.054	0.111±0.098	0.044±0.088	N.D.
			CC	0.022±0.025	0.056±0.053	0.117±0.101	0.085±0.064	0.138±0.12	0.019±0.025	0.026±0.052	N.D.
t2	1030	1-Methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene	BC	0.155±0.231	0.076±0.152	0.31±0.25	N.D.	0.071±0.082	0.128±0.096	0.3±0.476	0.291±0.479
			CC	0.178±0.128	0.178±0.015	0.267±0.327	0.109±0.128	0.101±0.201	0.139±0.023	0.191±0.112	0.093±0.079
t3	935	α -Pinene	BC	0.158±0.226	0.165±0.194	0.053±0.107	0.001±0.002	0.071±0.143	0.039±0.078	0.077±0.154	0.156±0.187
			CC	0.179±0.174	0.039±0.078	0.254±0.497	0.093±0.107	0.142±0.159	0.147±0.17	0.355±0.069	0.081±0.162

- 1) All volatile compounds are listed by the order of their RI values in chemical class.
- 2) Retention indices were determined using n-alkanes C₇-C₃₀ as external standards.
- 3) Mean values of relative peak area to that of internal standard \pm standard deviation.
- 4) BC: *Botrytis cinerea* inoculation; CC: *Cladosporium cladosporioides*
- 5) N.D. = not detected

③ 다변량 통계 분석을 통한 딸기 부패관련 냄새 마커 도출

㉞ 다변량 통계분석

- GC-MS를 이용한 정성 및 정량 분석을 통해 얻어진 딸기의 부패 휘발성 유기성분의 변화 양상을 확인하기 위하여 SIMCA-P software (SIMCA-P version 11.0, Umetrics, Umea, Sweden)을 이용하여 다변량 분석 및 주성분 분석을 실시하였다.

㉟ 인공적으로 부패균을 접종한 딸기의 균종 별 PLS-DA (Partial least square-discriminant analysis)

- 2가지 균주 *B.cinerea* (BC), *C.cladosporioides* (CC)를 각각 접종하여 부패한 딸기의 휘발성 성분의 주성분 분석을 실행한 결과는 아래 그림 94 에 나타내었다.

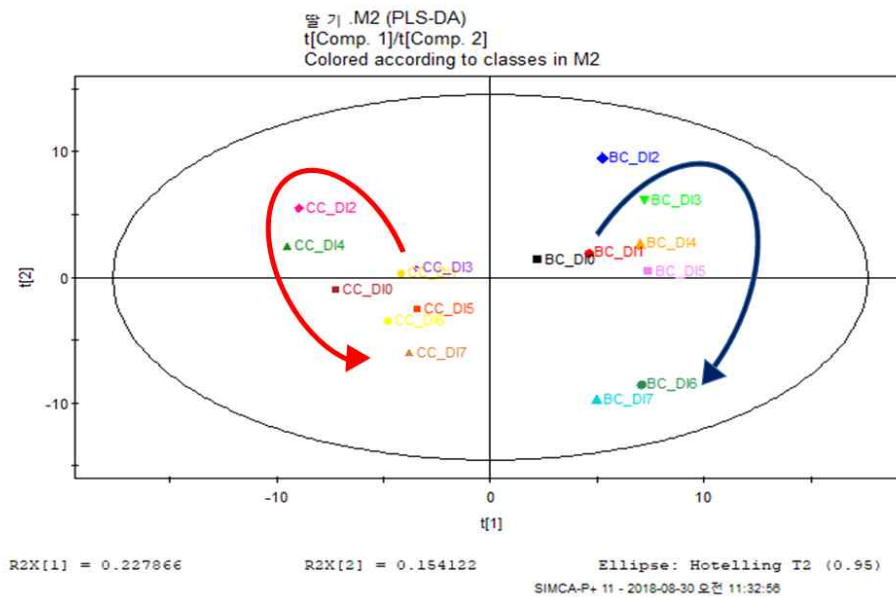


그림 94. 2가지 균주를 접종하여 부패한 딸기의 휘발성 성분의 주성분 분석. (BC: *B.cinerea* inoculation; CC: *C.cladosporioides* inoculation; DI O: Oh; DI 1: 12h; DI 2: 24h; DI 3: 36h; DI 4: 48h; DI 5: 60h; DI 6: 72h; DI 7: 84h)

- 제 1주성분 (PLS component 1)은 22.79%의 설명력을 나타내었으며 제 2주성분 (PLS component 2)는 15.41%의 설명력을 나타내어 총 변동의 38.2%를 설명하였다. BC에 의해 부패한 딸기의 경우는 PLS component 1의 양의 방향에 위치하였고, CC에 의해 부패한 딸기의 경우에는 PLS component 1의 음의 방향에 위치하였으며 이를 통해 두 균주의 부패 양상이 명확하게 구분됨은 확인할 수 있었다. 이때 두 부패균에 의한 진행방향은 동일하였는데, 딸기가 부패할수록 PLS component 2의 양의 방향에서 음의 방향으로 이동하는 것을 알 수 있었다.
 - PLS component 1과 PLS component 2에 주요한 영향을 미치는 성분 (VIP value > 1.0)들은 아래 표 64에 나타내었다.
- BC에 의해 부패된 딸기 (PLS component 1의 양의 방향)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 5-(3-aminopropyl)-5,10-dihydro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on, butyl butanoate, octyl 2-methylbutanoate, butyl 3-methylbutanoate, hexyl butanoate 등 이었다.
- CC에 의해 부패된 딸기 (PLS component 1의 음의 방향)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 ethyl acetate, hexadecane, 1-(3,4-dimethylphenyl)ethanone, ethyl 2-methylpropanoate 등 이었다.
- 또한 부패 초기 (PLS component 2의 양의 방향)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 nonyl acetate, methyl octanoate, (3E, 6E)-3,7,11-Trimethyldodeca-1,3,6,10-tetraene, 7-methyl-3-methylideneocta-1,6-diene(Myrcene) 등 이었다.
- 부패 후기 (PLS component 2의 음의 방향)에 주요한 영향을 미치는 성분들은 2-methylbutan-1-ol, 4-methylpentan-2-one, 4-(4-chlorophenyl)-2,6-diphenylpyridine, 2-methylpropyl 3-methylbutanoate 등 이었다.

표 64. 부패균 접종으로 인해 부패된 딸기의 Variable Important Plot (VIP) list.(VIP > 1.0)

VIP value	Volatile Marker Components
1.46	Benzyl acetate
1.44	Octadecane
1.43	Styrene
1.35	Propyl butanoate
1.34	Methyl octanoate
1.33	2-Methylbutyl acetate
1.33	Ethyl 2-methylbutanoate
1.32	Methyl 2-methylbutanoate
1.30	Xylene
1.28	2-Methylbutan-1-ol
1.28	2-Methylpropyl acetate
1.27	Methyl decanoate
1.26	Heptadecane
1.26	Ethyl (<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoate
1.24	Nonyl acetate
1.23	Methyl acetate
1.22	7-Methyl-3-methylideneocta-1,6-diene (Myrcene)
1.22	Ethyl butanoate
1.21	Ethyl 3-methylbutanoate
1.21	(methyldisulfanyl)Methane
1.21	Octyl 2-methylbutanoate
1.21	Methyl hex-2-enoate
1.20	Ethyl 2-methylpropanoate
1.20	Hexyl butanoate
1.19	Ethanol
1.19	Methyl (<i>Z</i>)-N-hydroxybenzenecarboximide
1.19	Hexyl acetate
1.19	(3 <i>E</i>)-3,7-Dimethylocta-1,3,6-triene
1.18	Ethyl (<i>E</i>)-hex-2-enoate
1.17	Propan-2-yl benzoate
1.17	Butyl 3-methylbutanoate
1.17	Ethyl acetate
1.17	3-Methyl butylacetate
1.16	(3 <i>R</i> ,6 <i>E</i>)-3,7,11-Trimethyldodeca-1,6,10-trien-3-ol (Nerolidol)
1.16	(3 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)-3,7,11-Trimethyldodeca-1,3,6,10-tetraene
1.15	Caryophyllene
1.15	Heptan-2-yl acetate
1.15	3-Methylbutan-1-ol
1.15	3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol (Linalool)
1.14	Hexyl 3-methylbutanoate
1.14	Octyl 3-methylbutanoate
1.14	2-Methylbutyl 2-methylpropanoate
1.14	4-Methylpentan-2-one
1.14	Icosane
1.13	(methyltrisulfanyl)Methane
1.13	4-(4-chlorophenyl)-2,6-Diphenylpyridine
1.13	Eethyl (<i>E</i>)-but-2-enoate
1.13	Ethylbenzene
1.12	4-Ethylbenzaldehyde
1.12	Methyl butanoate
1.12	(6 <i>E</i>)-7,11-Dimethyl-3-methylidenedodeca-1,6,10-triene

1.11	Hexadecane
1.11	5-(3-aminopropyl)-5,10-Dihydro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on
1.10	1-Phenylethanone
1.10	Ethyl propanoate
1.10	2,3-Dihydrofuran
1.09	Benzaldehyde
1.09	1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)benzene
1.09	Toluene
1.08	Benzene
1.08	Butyl butanoate
1.08	[(<i>E</i>)-3-phenylprop-2-enyl] Acetate ((cinnamyl alcohol))
1.07	Propyl 3-methylbutanoate
1.07	1-(3,4-dimethylphenyl)Ethanone
1.07	1,3-Dimethyl-5-propan-2-ylbenzene
1.07	Hexan-1-ol
1.06	Octyl acetate
1.06	Methyl benzoate
1.05	Propan-2-yl acetate
1.05	Ethyl octanoate
1.05	Pentan-2-yl butanoate
1.04	Hexyl propanoate
1.04	4-Methylbenzaldehyde
1.04	Pentyl acetate
1.03	Ethyl benzoate
1.03	Hexadecanoic acid
1.02	6,6-Dimethyl-5-methylidenebicyclo[2.2.1]heptane (Camphene)
1.02	Hexyl hexanoate
1.02	2-Isothiocyantopentane
1.01	2-Methylpropyl 3-methylbutanoate
1.01	Methyl (<i>E</i>)-but-2-enoate
1.01	(<i>E</i>)-3-phenylprop-2-enal
1.01	1-Ethenyl-3-ethylbenzene
1.01	1-Sulfanylpropan-2-one
1.01	Hept-4-enal
1.00	Ethynylcyclopentane
1.00	Tridecane
1.00	Propan-2-yl 2-methylpropanoate
1.00	Pentan-2-one
1.00	<i>S</i> -Methyl ethanethioate

(5) 모델 시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명

(가) 연구수행 방법

① 부패 미생물과 냄새 마커 물질 선정

- 앞선, 1,2차년도 결과를 바탕으로 부패 미생물과 냄새 마커 물질을 선정하였다.
- 2차년도에서 사과 부패균 *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum*, *Botryosphaeria dothidea* 3종을 인공적으로 접종하여 14일간 부패시키면서 사과의 휘발성 유기화합물을 정성, 정량하였고 다변량 및 단변량 통계분석을 통하여 부패와 밀접한 관련이 있는 휘발성 성분들을 선정하였다. 이에 ethanol, benzaldehyde, methyl acetate, 2-methylpropyl 2-methylbutanoate, styrene, 1-methoxy-3-methylbenzene, 2,3-dimethylfuran, 2-methylfuran과 같은 휘발성 성분들이 초기 부패와 관련이 있는 것으로 보았다. 특히, styrene은 곰팡이에 의한 부패로 생성된다는 보고가 있었다 (Kristian K. et al, Pagot, Y. et al). 특히, 사과 균접종 실험에서도 사용되었던 *P. expansum*를 접종한 사과에서 주요 휘발성 성분으로 styrene이 동정되기도 하였다. 이러한 결과를 바탕으로 styrene을 냄새 마커 물질로 선정하였고, 사과 균접종 실험에 사용된 3종의 균주 중에서 사과의 대표적인 부패 미생물인 *P. expansum*을 부패 미생물로 선정하였다.

② 부패 미생물의 휘발성 대사산물 분석 연구방법

- Potato dextrose broth (PDB) 액체배지를 이용하여 초기 pH 및 배양시간을 달리하여 부패 미생물 배양을 수행하였다.
- 자연 부패한 홍로에서 분리한 *P. expansum* HR5-4 균주를 이용하여 실험을 진행하였다.
- 액체배지는 potato dextrose broth (PDB)를 이용하였는데, 앞서 냄새 마커 물질로 선정된 styrene의 생성을 규명하기 위하여 styrene의 전구체인 phenylalanine을 최종 농도가 0.1%가 되도록 첨가해주었다. 250mL screw 삼각 플라스크에 40mL의 배지를 넣고 25°C, 180rpm 조건으로 뚜껑을 닫고 배양을 진행하였다. 이때 배지의 초기 pH와 배양시간을 달리하여 배양한 후 샘플링을 수행하였다. 초기 pH 조건은 *P. expansum*의 최적 pH이면서 사과의 pH인 pH 5와 pH 5와 유사한 생장곡선을 보이는 pH 9로 설정하였다. 배양시간은 두 pH 조건 모두에서 동일한 생장 시기를 가지는 시간으로 설정하였는데, 접종 직후인 0시간, exponential phase인 16시간, 초기 stationary phase인 24시간, 후기 stationary phase인 32시간을 설정하였다. 아래의 그림 95는 *P. expansum*의 생장곡선으로, 배양시간에 따른 dry cell weight으로 생장곡선을 나타내었다.

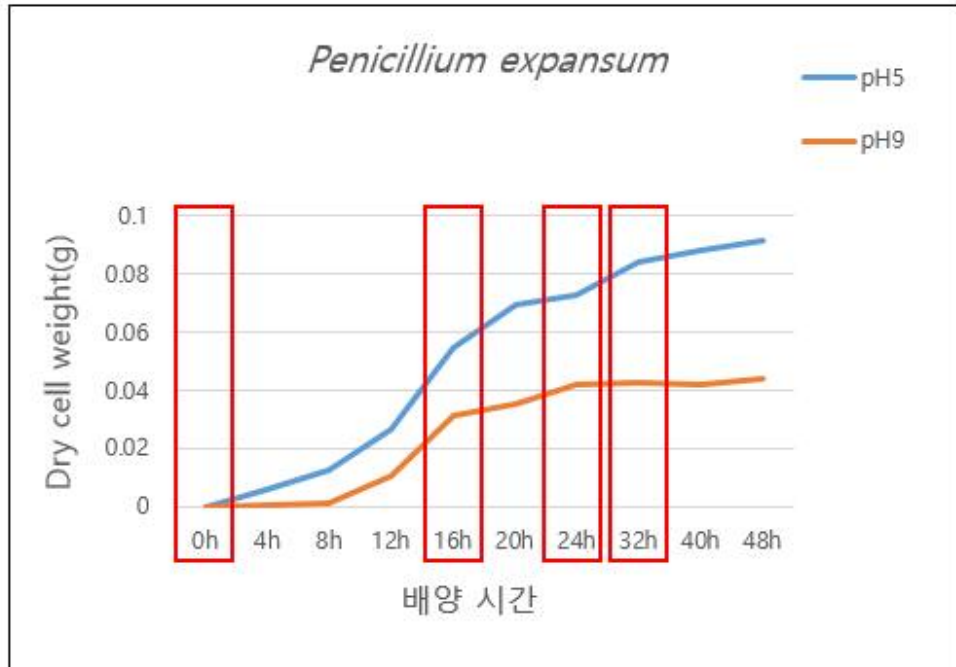


그림 95. 부패미생물 *P. expansum*의 성장곡선.

- Stir bar sorptive extraction (SBSE)법을 이용하여 휘발성 대사산물을 추출하였다.
- Stir bar sorptive extraction법은 polydimethyl siloxane과 같은 흡착제가 코팅된 stir bar (twister)를 이용한 추출법이다. 액상과 기상의 시료에서 volatile 및 semi-volatile 성분들을 흡착 할 수 있고, 용매를 사용하지 않아 간편하고 비교적 쉽게 분석이 가능하다. 또한 기존에 많이 사용되는 solid-phase micro extraction (SPME)법과 이론적으로는 비슷하지만 SPME법과 비교했을 때 SBSE 법은 코팅된 흡착물질의 양이 더욱 많고 그 종류 또한 다양하기 때문에 추출 효율이 좋고, 민감도가 좋다 (Baltussen et al., 1999). 이러한 이유에 따라 SBSE 법을 이용하여 부패 미생물의 휘발성 대사산물을 분석하였다.
- 배양 후 균체와 배양액을 분리하기 위하여 paper filter를 통해서 감압필터링을 실시 하였다. 이렇게 걸러진 배양액을 시료로 사용하였다. 시료 8mL를 10mm length, 0.5mm film thickness polydimethyl siloxane coated stir bar (PDMS twister)와 함께 10 mL screw vial (CTC Hdspce, Agilent Technologies, DE, Germany)에 넣고 screw cap (Ultra clean 18mm, Agilent Technologies, DE, Germany)으로 밀봉하였다. Twister를 1000rpm으로 stir하며 60분 흡착시켰으며, 흡착 후에는 twister를 증류수로 씻은 후 lint free tissue로 닦아 물을 제거하였다.
- 흡착한 휘발성 대사산물을 GC-MS로 분석하였는데, 분석 조건은 다음과 같았다.
 - SBSE법을 이용하여 추출한 sample의 휘발성 대사산물 분석은 7890B GC system과

5977A mass detector (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다.

- 휘발성 대사산물을 분석하기 위하여 흡착시킨 PDMS twister를 tube에 넣어 thermal desorption unit (TDU) (GERSTEL GmbH & Co. KG, Mülheim an der Ruhr, Germany)에서 40°C를 0.5분간 유지하다가 120°C/min의 속도로 220°C까지 온도를 올린 후 220°C에서 다시 5분간 유지하여 휘발성 대사산물을 탈착시켰다. 탈착하는 동안 액체질소를 이용하는 cryo-focus system을 사용하여 -60°C를 유지하였다. Column은 Stabil-wax (30m length x 0.25mm I.D. x 0.25µm, film thickness, J&B Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. GC oven은 40°C에서 5분간 유지한 후 4°C/min의 속도로 220°C까지 올린 후 10분간 유지하였다. 이동상 기체로 helium을 0.8mL/min의 속도로 흘려주었으며, 주입기는 splitless모드로 설정하였다. Mass scan range는 35-350 a.m.u.으로 설정하였고, mass spectra ionization energy는 70eV였다.

③ 부패 미생물의 휘발성 대사산물의 동정 및 정량

- SBSE법으로 추출한 휘발성 대사산물의 동정은 mass spectral database (Wiley9n.1 및 NIST08) 및 manual interpretation에 의해 비교 분석되었다. Hexane에 희석한 saturated alkanes (1000µg/mL in hexane)을 외부 표준물질로 사용하여 각 휘발성분의 retention index (RI)를 구한 후 문헌에서 보고된 RI value와 비교하여 동정하였다.
- 정량은 내부표준물질법을 이용하였으며, 내부표준물질로는 methanol에 2,3,5-trimethyl pyrazine 100 ppm (w/v)으로 제조하여 5µL를 시료에 주입하였다.

④ 부패 미생물의 비휘발성 대사산물의 분석 연구방법

- 비휘발성 대사산물을 분석하기 위해 앞서 감압필터로 배양액을 거르면서 배양액과 분리되었던 균체에서 비휘발성 대사산물을 추출하였다.
- Paper filter에 걸러진 균체를 deep freezer에 보관하여 예비 동결시킨 후, 동결건조기를 이용하여 overnight 동안 동결건조를 실시하였다. 동결건조가 완료된 후, paper filter에서 균체만을 분리한 후 액체질소에 담가 급속으로 냉동시켰다. 냉동된 균체를 막자사발을 이용하여 곱게 갈았다. 가루가 된 균체 0.0025g을 -22°C의 acetonitrile/water 혼합액 (1:1, w/v) (HPLC grade; J.T.Baker, Avantor, PA, USA) 20mL에 glass beads 2g과 함께 넣고 1분간 vortexing 하였다. 그 후 4°C, 3500 rpm에서 20분간 원심분리 (UNION 32R PLUS, Hanil Science Inc., Inchun, Korea)한 뒤, 상층액 1.5mL를 2mL safe lock tube (Eppendorf, Hamburg, Germany)에 담아 centri-vap (Labcono Co., Kansas City, MO, USA)에서 완전 건조시켰다. 그리고 지질과 왁스성분의 제거를 위해 0°C의 acetonitrile/water 혼합액 (1:1, w/v) 500µL를 분

주한 후 다시 한 번 완전 건조시켰다.

- 비휘발성 대사산물을 분석하기 위해 유도체화를 실시하였다.
- 유도체화를 위해 methoxyamine-HCl (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)와 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) with 1% trimethylchlorosilane (TMCS) (Sigma-Aldrich)를 사용하였다. 완전 건조된 시료에 pyridine (Sigma-Aldrich) 용매에 20mg/mL로 용해된 methoxyamine-HCl 60 μ L를 넣고 30 $^{\circ}$ C에서 60분간 유도체화시켰다. 이 후 BSTFA+TMCS, 99:1 80 μ L를 넣고 70 $^{\circ}$ C에서 60분간 추가로 반응시켰다. 그 후 insert가 들어간 1.5mL auto-sampler vial (Agilent Technologies, DE, Germany)에 담아 최종 주입량을 1 μ L로 설정하여 GC-TOF/MS로 분석하였다.
- 유도체화 시킨 비휘발성 대사산물에 대한 분석 조건은 다음과 같았다.
- Agilent 6890N gas chromatograph에 연결된 time-of-flight (TOF) Pegasus III mass spectrometer (Leco, St. Joseph, MI, USA)에 DB-5MS column (30m length x 0.25mm I.D. x 0.25 μ m film thickness, J&W Scientific)을 장착하여 사용하였다.
- 오븐 온도는 80 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지한 뒤, 10 $^{\circ}$ C/min의 속도로 180 $^{\circ}$ C까지 증가시켜 5분간 유지하였다. 그리고 8 $^{\circ}$ C/min의 속도로 다시 240 $^{\circ}$ C까지 증가시켜 5분간 유지시킨 뒤, 290 $^{\circ}$ C까지 10 $^{\circ}$ C/min의 속도로 또 한 번 증가시켜 10분간 유지하였다. 이 때, Injector의 온도는 270 $^{\circ}$ C, detector transfer line의 온도는 260 $^{\circ}$ C였으며, Ion source의 온도는 200 $^{\circ}$ C였다. Carrier gas로는 helium을 1mL/min의 constant flow rate으로 흘려주었으며, 주입은 splitless mode로 설정하였다. Mass spectrometer의 acquisition rate은 20 scans/sec으로, Mass scan range는 35-500a.m.u.로 설정하였다. Mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI)방식에 의해 얻었다. 또한 phenylalanine 유래 휘발성 대사산물을 분석하기 위해 selected ion monitoring (SIM) mode를 수행하였다. SIM mode에서 설정된 m/z값은 아래의 표 65과 같았다.

표 65. phenylalanine 유래 휘발성 대사산물 분석을 위한 SIM mode 조건

Volatile metabolites	Qualifier ions(m/z)	Quantifier ions(m/z)
Styrene	78, 103, 104	104
Benzaldehyde	77, 105, 106	106
Phenyl acetaldehyde	91, 92, 120	91
Acetophenone	77, 105, 120	105
2-Phenylethanol	91, 92, 122	91
2-Phenylacetone	90, 116, 117	117
Cinnamaldehyde	103, 131	131
Methyl cinnamate	103, 131, 162	131
Benzoic acid	122, 105	105
Cinnamic acid	103, 147	147

⑤ 부패 미생물의 비휘발성 대사산물의 동정 및 정량

- GC-TOF/MS에 의해 분석된 비휘발성 대사산물은 Fiehn, mainlib, Wiley9, replibrary를 이용하여 동정하였다. 정확한 정량을 위하여 내부표준물질법을 이용하였으며, carbohydrates의 내부 표준물질로는 threitol 100ppm (w/v in water)을 사용하였고, fatty acids는 heptadecanoic acid로 100ppm (w/v in hexane) 사용하였다. 반면 organic acids의 내부표준물질로는 tropic acid 100ppm (w/v in water)을 사용하였으며, amino acids의 내부표준 물질로는 norleucine 100ppm (w/v in water)을 각각 사용하였다.

⑥ 부패 미생물의 활성마커물질 (ATP) 분석

- ATP는 살아있는 생명체의 중요한 에너지원으로서, 에너지를 필요로 하는 모든 과정은 ATP의 인산 결합에 저장된 화학 에너지를 이용한다. 이에 따라 미생물, 특히 곰팡이의 대사활성을 측정하기 위한 활성마커로서 널리 쓰인다 (Henryk J., Erwin W., 1998).
- 앞서 설정된 pH와 배양시간에 따라 부패 미생물 *P. expansum*을 배양한 후, paper filter를 이용하여 감압필터링을 실시하여 배양액과 균체를 분리하여 균체를 얻어 균체 내 ATP 분석을 실시하였다.
- Paper filter에 걸러진 균체를 deep freezer에 보관하여 예비 동결시킨 후, 동결건조기를 이용하여 overnight 동안 동결건조를 실시하였다. 동결건조가 완료된 후, paper filter에서 균체만을 떼어내고 액체질소에 담가 다시 한 번 냉동시켰다. 냉동된 균체를 막자사발을 이용하여 곱게 갈았다. 가루가 된 균체 0.002g을 sample로 사용하였다. EZ-ATP Assay Kit (DoGEN Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 sample내의 ATP 양을 colorimetric 방법으로 측정하였다. 반응을 시킨 후, 흡광도는 570nm에서 측정하였다.
- 정량은 ATP standard를 이용하여 그린 standard curve을 통해 실시하였다. 아래의 그림 96은 ATP standard curve이다. Standard curve는 2반복 측정하여 평균값을 이용하여 그렸고, R2값이 0.99 이상이 되는 것을 사용하였다.

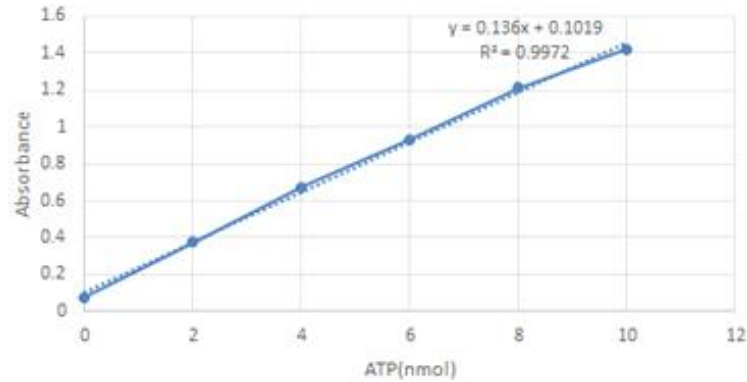


그림 96. 균체 내 ATP 정량을 위한 ATP standard curve.

- 이에 따라 정량된 균체 내 ATP 양은 아래의 표 66과 같았다.
- 부패 미생물의 활성에 있어서 optimal pH인 pH 5에서 보다 pH 9에서 전체적으로 ATP의 양이 낮게 나타났다. 하지만 두 pH에서 모두 exponential phase에서 가장 높은 ATP 양을 보이면서 가장 큰 대사활성을 가진다는 것을 보여주었다. Exponential phase를 지나 stationary phase로 진입하고 더 시간이 지날수록 ATP의 양은 점차 줄어드는 양상이 나타났다. 이러한 양상은 결과와 일치하였다 (David A. S. et al, 2004, Robert D.H. et al, 1967). 이를 통해, pH와 배양시간에 따라 미생물의 활성이 달라짐을 확인할 수 있었다. 정량값은 2반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

표 66. pH 및 배양시간에 따른 *P. expansum* 내 ATP 양(nmol)

Initial pH	ATP content(nmol)		
	Cultivation times		
	16h	24h	32h
5	9.494	5.401	3.896
9	6.267	2.787	1.100

(나) 연구 수행 결과

① 부패 미생물의 휘발성/비휘발성 대사산물의 동정 및 정량 분석 결과

㉞ 부패 미생물의 pH별, 배양시간별 휘발성 대사산물 분석

- 사과의 대표적인 부패 미생물인 *P. expansum*을 PDB 배지에 초기 pH를 5와 9로, 배양 시간은 0, 16, 24, 32시간으로 설정하여 배양 후, 2차 휘발성 대사산물 분석을 실시하였다.
- 분석결과는 아래의 표 67과 같았다.
 - 총 80종의 휘발성 성분이 검출되었으며, acid류로는 4종, alcohol류로는 15종, aldehyde류로는 11종, benzene류로는 11종, ester류로는 10종, furan류로는 7종, hydrocarbon류로는 8종, ketone류로는 9종, N-containing compound류로는 3종, S-containing compound류로는 1종이 검출되었다.
 - Acid류에서는 4종의 휘발성 성분이 검출되었는데, 그 중 acetic acid가 pH 5에서 16시간과 24시간 배양 시에 유의적으로 가장 높게 나타났으나, pH 9에서는 전체 배양 시간 모두에서 유의적인 차이가 없었다. Hexadecanoic acid는 pH 5에서는 전체 배양 시간 모두에서 유의적인 차이가 없었고, pH 9에서는 0시간 배양했을 때에 비해 16, 24시간 배양했을 때 감소하는 양상을 보였으며 32시간 배양했을 때 다시 증가하였다.
 - Alcohol류에서는 15종의 휘발성 성분이 검출되었는데, butan-1-ol이 pH 5에서는 16시간 배양 시 가장 높게 나타났다가 그 뒤로는 약간 감소하는 양상을 보였다. pH 9에서는 24시간 배양 시까지 증가하다가 32시간 배양 시 절반정도로 감소하는 양상을 보였다. 3-Methylbutan-1-ol은 0시간을 제외한 다른 배양시간에서 모두 비슷한 수준으로 검출되었으며, pH 9에서 pH 5에서보다 더 높은 정량값을 보였다. Hexan-1-ol의 경우에는 pH 5에서는 16, 24, 32시간 배양에서 모두 비슷한 수준으로 검출되었으며, pH 9에서는 0, 16, 24시간 배양에서 비슷하다가 32시간 배양에서 약 2배 증가하였다. 2-Ethylhexan-1-ol은 pH 5에서는 배양시간에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, pH 9에서는 전체적으로 pH 5에서보다 더 높은 수준으로 검출됨과 동시에 24시간 배양 시에 가장 높게 검출되었다. 또한 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol은 pH 5에서 배양시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 양상을 보였다. (4*S*,4*aS*,8*aR*)-4,8*a*-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydronaphthalen-4*a*-ol (geosmin)은 pH 9에서는 검출되지 않았고, pH 5에서만 배양시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다.
 - Aldehyde류에서는 11종의 휘발성 성분이 검출되었는데, 그 중에서 decanal은 배양시간에 따른 변화양상이 두 pH에서 비슷한 양상으로 나타났다. 배양시간이 0시간일 때 높게 나타났다가 16시간에 절반정도로 감소한 후에 다시 24시간에 증가하였다가 다시 한 번 32시간에 감소하는 양상을 보였다. (2*E*,4*E*)-Deca-2,4-dienal의 경우에는

pH 5에서 0시간에는 검출되지 않았다가 16, 24, 32시간으로 배양시간이 증가하면서 점차적으로 증가하였다. 반면, pH 9에서는 0시간에 검출되었다가 그 이후의 배양시간에서는 나타나지 않았다.

- Benzene류에서는 11종의 휘발성 성분이 검출되었는데, benzene은 pH 5에서는 24시간 배양했을 때 가장 높은 수준으로 검출되었고, 32시간에서는 감소하였는데, pH 9에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. Ethylbenzene의 경우 pH 5에서는 16, 24시간을 거치며 증가하다가 32시간에서는 감소하였는데, pH 9에서는 16시간에 가장 높게 검출되었다가 24시간을 지나며 감소하였고, 32시간에서는 검출되지 않았다. 1,4-Xylene과 1,3-benzothiazole은 pH 5에서만 생성되었다.
- Ester류에서는 10종의 휘발성 성분이 검출되었는데, 6-methylheptyl prop-2-enoate는 두 pH 조건에서 모두 배양시간이 증가함에 따라 증가하는 양상을 보였다. Bis(2-methylpropyl) hexanedioate는 두 pH 조건에서 배양시간 32시간에서 비슷한 수준으로 가장 높게 나타났다. Methyl 2-(3-oxo-2-pentylcyclopentyl)acetate도 역시 두 pH 조건에서 배양시간이 증가함에 따라 증가하였다.
- Furan류에서는 7종의 휘발성 성분이 검출되었는데, 그 중 2-pentylfuran과 pH 9에서 32시간 배양시 증가하였으며, 3-methyl-2H-furan-5-one은 pH 5에서 16시간에서 가장 크게 증가하였고, 24, 32시간에서는 비슷한 수준으로 검출되었다.
- Hydrocarbon류에서는 8종의 휘발성 성분이 검출되었는데, decane은 pH 5에서 24시간 배양시간까지 증가하다가 배양시간이 32시간일 때는 감소하였다. 반면, pH 9에서는 16시간에 가장 높게 검출되었다가 그 이후로는 점차 감소하였다. Dodecane과 1-octoxyoctane은 pH 9에서만 검출되었다.
- Ketone류에서는 9종의 휘발성 성분이 검출되었는데, octan-3-one은 pH 5에서 24시간 배양했을 때 가장 높게 검출되었다가 32시간에는 감소하였고, pH 9에서는 0시간에만 나타나고 그 이후로는 나타나지 않았다. 6-Methylheptan-2-one은 pH 9에서만 나타나고 배양시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 성분이었다. Pentadecan-2-one은 pH 5에서만 나타나는 성분으로 0시간을 제외한 배양시간에서 유의적인 차이는 나타나지 않았다.
- N-containing compound류에서는 1,3-thiazole, N,N-dibutylformamide, quinoline이 검출되었으며, 이 중에서 quinoline은 pH 9에서만 나타난 성분이었다. 1,3-Thiazole은 pH 5와 달리 pH 9에서 배양시간 증가에 따라 유의적으로 증가하는 양상을 보였다. N,N-dibutylformamide는 pH 5에서는 24시간 배양했을 때까지 유의적으로 증가하다가 32시간에서 감소하는 것과 달리 pH 9에서는 32시간에서 가장 높은 수준으로 검출되었다. S-containing compound류로는 (methyldisulfanyl)methane (Dimethyl disulfide)가 검출되었다.

표 67. *P. expansum*의 pH 및 배양시간에 따른 휘발성 대사산물 비교분석

No. ¹⁾	RI ²⁾	Volatile metabolites	Initial pH ⁴⁾	Relative peak area ³⁾			
				Cultivation times ⁵⁾			
				0h	16h	24h	32h
Acids							
a1	1465	Acetic acid	5	N.D.a	0.059±0.01c	0.07±0.006c	0.038±0.011b
			9	0.044±0.005a	0.068±0.049a	0.03±0.012a	0.039±0.019a
a2	>2100	Benzoic acid	5	N.D.a	0.065±0.02b	0.038±0.015b	0.036±0.005b
			9	0.091±0.003a	0.087±0.007c	0.061±0.008b	0.07±0.013bc
a3	>2100	Hexadecanoic acid	5	0.379±0.063a	0.235±0.042a	0.302±0.133a	0.26±0.023a
			9	0.317±0.054 _b	0.273±0.09ab	0.245±0.01a	0.399±0.02b
a4	>2100	<i>(E)</i> -3-Phenylprop-2-enoic acid (Cinnamic acid)	5	0.308±0.028a	0.237±0.055a	0.254±0.031a	0.251±0.012a
			9	0.148±0.094a	0.249±0.043ab	0.233±0.061 _b	0.367±0.054b
Alcohols							
ac1	1152	Butan-1-ol	5	0.018±0.002a	0.134±0.006c	0.099±0.026b	0.089±0.013b
			9	0.021±0.005a	0.077±0.02b	0.103±0.036b	0.062±0.009 _b
ac2	1210	3-Methylbutan-1-ol	5	N.D.a	0.932±0.089b	0.963±0.072b	0.954±0.07b
			9	0.013±0.014a	1.383±0.137b	1.357±0.066b	1.418±0.19b
ac3	1356	Hexan-1-ol	5	N.D.a	0.014±0.003b	0.016±0.004b	0.017±0.005b
			9	0.018±0.002 _a _b	0.015±0.003a	0.014±0.002a	0.024±0.002b
ac4	1456	Oct-1-en-3-ol	5	0.18±0.015a	0.15±0.016a	0.208±0.046a	0.196±0.014a
			9	0.125±0.039 _a _b	0.057±0.044a	0.198±0.038b	0.074±0.02a
ac5	1493	2-Ethylhexan-1-ol	5	0.507±0.062a	0.803±0.121a	0.78±0.169a	0.792±0.144a
			9	0.701±0.024a	0.975±0.086ab	1.157±0.229b	1.06±0.103b
ac6	1562	Octan-1-ol	5	0.095±0.011a	0.083±0.006a	0.137±0.02b	0.092±0.019a
			9	0.079±0.025a	0.085±0.025a	0.223±0.07b	0.104±0.017a
ac7	1625	2-(2-Ethoxyethoxy)Ethanol	5	N.D.a	0.082±0.033b	0.09±0.011b	0.089±0.026b
			9	0.175±0.022b	0.079±0.012a	0.145±0.014b	0.15±0.015b
ac8	1644	5-Methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	5	N.D.a	0.136±0.027b	0.117±0.01b	0.133±0.014b
			9	0.198±0.118a	0.148±0.028a	0.153±0.006a	0.173±0.03a
ac9	1830	<i>(4S,4aS,8aR)</i> -4,8a-Dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydronaphthalen-4a-ol (Geosmin)	5	N.D.a	0.024±0.008a	0.223±0.135b	0.325±0.035b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
ac10	1853	<i>(2E)</i> -3,7-Dimethylocta-2,6-dien-1-ol (Geraniol)	5	N.D.a	0.34±0.04d	0.272±0.028c	0.18±0.019b
			9	N.D.a	0.116±0.014b	0.116±0.012b	0.104±0.014b
ac11	1920	2-Phenylethanol	5	0.219±0.159a	2.678±0.286b	3.181±1.69b	2.697±0.383b
			9	0.258±0.169a	11.066±0.889c	8.491±0.754b	9.457±0.773 _b _c
ac12	1937	2-Phenylpropan-1-ol	5	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	N.D.a	0.203±0.014c	0.116±0.014b	0.117±0.055b
ac13	1971	Dodecan-1-ol	5	0.708±0.105 _a _b	0.591±0.078a	0.805±0.077 _a _b	0.918±0.195b
			9	0.509±0.079a	0.721±0.044ab	0.981±0.045b	1.248±0.203c

ac14	>2100	(3,4-dimethylphenyl)Methanol	5	N.D.a	0.084±0.021b	0.117±0.011b	0.103±0.018b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
ac15	>2100	Hexadecan-1-ol	5	2.049±0.929b	0.315±0.104a	1.018±0.234a _b	0.668±0.203a
			9	1.549±0.4b	0.4±0.067a	1.565±0.281b	1.313±0.394b
Aldehydes							
ah1	<1000	3-Methylbutanal	5	1.9±0.372b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	8.178±0.703b	0.041±0.004a	0.022±0.004a	0.015±0.003a
ah2	<1000	Pentanal	5	0.089±0.025a	0.054±0.017a	0.073±0.013a	0.085±0.023a
			9	0.115±0.046b	0.043±0.013a	0.099±0.016a _b	0.077±0.021a _b
ah3	1091	Hexanal	5	0.406±0.228a	0.125±0.03a	0.21±0.071a	0.827±0.632a
			9	0.494±0.234a	0.092±0.053a	0.605±0.418a	0.519±0.401a
ah4	1189	Heptanal	5	0.23±0.047b	0.139±0.03a	0.151±0.02ab	0.153±0.042a _b
			9	0.201±0.036a	0.123±0.019b	0.231±0.039a	0.196±0.008a
ah5	1292	Octanal	5	0.389±0.023c	0.177±0.033a	0.256±0.031a _b	0.288±0.073b _c
			9	0.301±0.072a	0.145±0.057a	0.641±0.135b	0.259±0.056a
ah6	1397	Nonanal	5	1.707±0.263a _b	0.734±0.148a	2.368±0.754b	1.158±0.349a
			9	1.38±0.46a	0.643±0.246a	4.206±1.582b	1.37±0.202a
ah7	1503	Decanal	5	1.907±0.225b	0.631±0.063a	1.035±0.282a	0.8±0.2a
			9	1.245±0.436a _b	0.534±0.325a	1.667±0.433b	0.805±0.015a
ah8	1533	Benzaldehyde	5	11.583±1.208 _c	3.402±0.288b	1.666±0.114a	1.946±0.464a _b
			9	4.933±0.347b	0.585±0.093a	0.532±0.062a	0.484±0.073a
ah9	1652	2-Phenylacetaldehyde	5	9.8±2.483b	0.075±0.018a	0.054±0.029a	0.043±0.012a
			9	13.054±1.151 _b	0.81±0.057a	0.565±0.063a	0.248±0.039a
ah10	1820	(2E,4E)-Deca-2,4-dienal	5	N.D.a	0.169±0.027ab	0.209±0.026a _b	0.396±0.255b
			9	0.367±0.069b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
ah11	2054	(E)-3-Phenylprop-2-enal (Cinnamaldehyde)	5	0.196±0.175a	0.038±0.014a	0.043±0.016a	0.083±0.02a
			9	0.105±0.007a	0.066±0.001a	0.084±0.005a	0.271±0.176a
Benzenes							
b1	<1000	Benzene	5	N.D.a	0.006±0.009ab	0.049±0.036b	0.015±0.004a _b
			9	N.D.a	0.031±0.018a	0.056±0.007a	0.079±0.085a
b2	1043	Toluene	5	0.083±0.042a	0.07±0.008a	0.074±0.012a	0.065±0.011a
			9	0.075±0.01a	0.061±0.009a	0.077±0.006a	0.073±0.008a
b3	1130	Ethylbenzene	5	N.D.a	0.063±0.028b	0.125±0.037c	0.003±0.004a
			9	N.D.a	0.094±0.016c	0.033±0.012b	N.D.a
b4	1143	1,4-Xylene	5	N.D.a	0.027±0.00ab	0.054±0.032b	0.021±0.003a _b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
b5	1261	Styrene	5	0.415±0.064a	0.337±0.217a	2.086±0.603a _b	3.111±1.396b
			9	0.579±0.193a	0.241±0.065a	0.227±0.039a	0.388±0.214a
b6	1283	1,3,5-Trimethylbenzene	5	N.D.a	0.036±0.025b	0.067±0.007c	0.011±0.002a _b
			9	N.D.a	0.079±0.007b	0.027±0.025a	0.002±0.003a

b7	1748	Naphthalene	5	0.091±0.051a	0.082±0.018a	0.093±0.017a	0.113±0.019a
			9	0.073±0.012a	0.066±0.005a	0.104±0.005b	0.148±0.018c
b8	1938	2-Phenylacetonitrile	5	N.D.a	0.143±0.035c	0.058±0.018b	0.039±0.003a _b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
b9	1964	1,3-Benzothiazole	5	N.D.a	0.027±0.004c	0.025±0.002c	0.012±0.009b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
b10	2017	Phenol	5	0.108±0.085a	0.067±0.035a	0.033±0.007a	0.043±0.003a
			9	0.049±0.013a	0.107±0.063a	0.037±0.007a	0.103±0.023a
b11	>2100	Diphenylmethanone (Benzophenone)	5	0.101±0.035b	0.068±0.015ab	0.038±0.015a	0.036±0.005a
			9	0.071±0.006a	0.147±0.084a	0.076±0.004a	0.113±0.013a
Esters							
e1	1488	6-Methylheptyl prop-2-enoate	5	N.D.a	0.015±0b	0.018±0.003b	0.016±0.005b
			9	0.007±0.001a	0.011±0.003a	0.012±0.002a	0.019±0.003b
e2	1755	2-Ethylhexyl 2-ethylhexanoate	5	0.406±0.097a	0.183±0.074a	0.294±0.069a	0.284±0.132a
			9	0.348±0.06bc	0.16±0.035a	0.326±0.008b	0.431±0.037c
e3	1873	(3-hydroxy-2,2,4-trimethyl pentyl) 2-Methylpropanoate	5	0.205±0.049a	0.826±0.124c	0.577±0.132b	0.452±0.077b
			9	0.154±0.082a	0.471±0.031b	0.534±0.027b	0.519±0.166b
e4	1887	(1-hydroxy-2,4,4-trimethyl pentan-3-yl) 2-Methylpropanoate	5	0.361±0.04a	0.707±0.118b	0.526±0.081a _b	0.469±0.058a
			9	0.274±0.057a	0.437±0.024b	0.517±0.025b	0.516±0.119b
e5	2087	Methyl (<i>E</i>)-3-phenylprop-2-enoate (Methyl cinnamate)	5	N.D.a	0.259±0.017b	0.441±0.135c	0.158±0.026a _b
			9	N.D.a	0.318±0.019b	0.363±0.012b	0.268±0.133b
e6	>2100	Methyl hexadecanoate	5	0.174±0.047b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.063±0.003a	0.065±0.012a	0.088±0.01ab	0.119±0.03b
e7	>2100	Propan-2-yl hexadecanoate	5	0.182±0.057b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.068±0.016a	0.051±0.014a	0.286±0.02c	0.105±0.009b
e8	>2100	Ethyl hexadecanoate	5	0.164±0.194a	0.021±0.006a	0.026±0.013a	0.029±0.001a
			9	0.052±0.028a	0.027±0.009a	0.044±0.005a	0.026±0.003a
e9	>2100	Methyl 2-(3-oxo-2-pentylcyclopentyl) acetate	5	N.D.a	0.084±0.03b	0.094±0.013b _c	0.152±0.045c
			9	0.101±0.043a _b	0.075±0.02a	0.119±0.006a _b	0.173±0.057b
e10	>2100	Dodecyl octanoate	5	0.112±0.033b	0.035±0.014a	0.125±0.029b	0.095±0.019b
			9	0.088±0.058a _b	0.037±0.01a	0.156±0.021b	0.145±0.067a _b
Furans							
f1	1233	2-Pentylfuran	5	0.097±0.091a	0.004±0.005a	0.006±0.004a	0.041±0.02a
			9	0.027±0.004a _b	0.008±0.002a	0.024±0.008a _b	0.052±0.023b
f2	1475	Furan-2-carbaldehyde	5	0.161±0.016c	0.11±0.02b	0.046±0.008a	0.076±0.032a _b
			9	0.081±0.011a	0.058±0.068a	0.035±0.012a	0.04±0.001a
f3	1670	Furan-2-ylmethanol	5	N.D.a	0.123±0.027a	0.118±0.092a	0.758±0.719a
			9	0.226±0.092a	0.23±0.036a	0.189±0.055a	0.34±0.052a
f4	1730	3-Methyl-2H-furan-5-one	5	N.D.a	0.071±0.037b	0.033±0.002a _b	0.035±0.004a _b
			9	0.083±0.026a	0.062±0.055a	0.039±0.005a	0.063±0.007a

f5	1863	3-Phenylfuran	5	N.D.a	0.007±0.011a	0.011±0.015a	N.D.a
			9	18.601±1.737 _b	12.76±2.098a	11.918±1.383 _a	15.18±1.624a _b
f6	>2100	3-Phenylfuran-2,5-dione	5	0.024±0.02	N.D.	N.D.	N.D.
			9	0.196±0.013c	0.124±0.011b	0.057±0.023a	0.071±0.008a
f7	>2100	5-(hydroxymethyl)Furan-2-carbaldehyde (5-Hydroxymethylfurfural)	5	0.128±0.031a	0.334±0.068b	0.087±0.012a	0.086±0.011a
			9	0.182±0.102a	0.163±0.051a	0.108±0.005a	0.235±0.147a
Hydrocarbons							
h1	1000	Decane	5	0.018±0.002a	0.036±0.029ab	0.065±0.008b	0.014±0.008a
			9	0.015±0.004a	0.079±0.007b	0.016±0.006a	0.012±0.004a
h2	1058	2-Methyldecane	5	0.022±0.004b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.017±0.007a	0.073±0.015c	0.046±0.014b	0.011±0.008a
h3	1200	Dodecane	5	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.017±0.012a	0.05±0.008b	0.03±0.001a	0.022±0.003a
h4	1243	Dodec-1-ene	5	0.173±0.038b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.08±0.026b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
h5	1600	Hexadecane	5	0.356±0.06b	0.192±0.033a	0.262±0.016a _b	0.322±0.102a _b
			9	0.371±0.023b	0.237±0.036a	0.245±0.023a	0.401±0.002b
h6	1700	Heptadecane	5	0.269±0.049a	0.182±0.059a	0.262±0.029a	0.246±0.086a
			9	0.31±0.035a	0.153±0.023b	0.274±0.023a	0.337±0.026a
h7	1798	Octadecane	5	0.294±0.048a	0.306±0.092a	0.271±0.033a	0.266±0.051a
			9	0.3±0.056a	0.263±0.051a	0.243±0.02a	0.297±0.032a
h8	>2100	Tetradec-2-ene	5	0.339±0.048b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.314±0.049a	0.311±0.058a	0.494±0.109a	0.494±0.071a
Ketones							
k1	1265	Octan-3-one	5	0.03±0.011a	0.015±0.003a	0.093±0.033b	0.016±0.006a
			9	0.012±0.001b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
k2	1240	6-Methylheptan-2-one	5	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	N.D.a	0.01±0.001b	0.015±0.003b	0.011±0.001c
k3	1287	Octan-2-one	5	0.044±0.004b	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.045±0.022a _b	0.017±0.008a	0.067±0.004b	0.06±0.02b
k4	1307	1-Hydroxypropan-2-one	5	0.343±0.054a _b	0.297±0.004a	0.315±0.076a	0.48±0.084b
			9	0.545±0.221a	0.318±0.129a	0.348±0.029a	0.422±0.06a
k5	1342	6-Methylhept-5-en-2-one	5	0.278±0.022c	0.052±0.02a	0.018±0.004a	0.111±0.029b
			9	0.241±0.066b	0.01±0.013a	0.034±0.02a	0.15±0.044b
k6	1660	1-Phenylethanone (Acetophenone)	5	N.D.a	0.234±0.07b	0.212±0.019b	0.237±0.045b
			9	N.D.a	0.211±0.039b	0.213±0.023b	0.239±0.022b
k7	1860	(5E)-6,10-Dimethylundeca-5,9-dien-2-one	5	0.437±0.171b	0.099±0.015a	0.14±0.013a	0.249±0.101a _b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
k8	2023	Pentadecan-2-one	5	N.D.a	0.043±0.014b	0.032±0.01b	0.042±0.004b
			9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a

k9	>2100	5-Hexyloxolan-2-one	5	0.157±0.073a	0.161±0.107a	0.065±0.028a	0.182±0.021a
			9	N.D.a	0.083±0.003b	0.082±0.004b	0.197±0.063c
N-containing compounds							
n1	1252	1,3-Thiazole	5	0.029±0.004a	0.03±0.006a	0.016±0.014a	0.043±0.018a
			9	N.D.a	0.016±0.005ab	0.018±0.008a b	0.031±0.015b
n2	1777	N,N-dibutylformamide	5	0.206±0.027a	0.284±0.04b	0.347±0.018b	0.202±0.034a
			9	0.219±0.008a b	0.157±0.042a	0.23±0.016ab	0.289±0.068b
n3	1989	Quinoline	5	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
			9	0.097±0.008b	0.09±0.004b	0.084±0.008b	0.065±0.008a
S-containing compounds							
s1	1080	(methyldisulfanyl)Methane (Dimethyl disulfide)	5	0.193±0.004b	0.057±0.015a	0.016±0.009a	0.066±0.093a
			9	0.172±0.087b	0.033±0.002a	N.D.a	N.D.a

- 1) Retention index (RI) 값은 n-alkane 혼합물 (C8-C20)을 외부표준물질로 선정하여 계산하였음.
- 2) Relative peak area (%)는 relative peak area 평균값 (n=3) ± 표준편차로 나타내었음.
- 3) 검출되지 않음.
- 4) Duncan' s multiple comparison test를 사용하여 배양시간에 따른 휘발성 성분의 유의적인 차이 ($p < 0.05$)를 나타내었음.

- 부패 미생물 배양 시 전구체로 넣어주었던 phenylalanine에서 유래한 휘발성 대사산물에 대해서는 selective ion monitoring (SIM) 모드로 다시 한 번 정량하였다. 그 결과는 아래의 표 68.에 나타내었다.
 - Phenylalanine 유래 휘발성 대사산물은 앞서 냄새 마커 물질로 선정되었던 styrene을 포함하여 benzaldehyde, phenyl acetaldehyde, acetophenone, 2-phenylethanol, 2-phenylacetonitrile, cinnamaldehyde, methyl cinnamate, benzoic acid, cinnamic acid로 총 10종이 정성 및 정량되었다.
 - 냄새 마커 물질인 styrene은 pH 5에서는 배양시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였으나, pH 9에서는 styrene이 거의 생성되어지지 못하는 것으로 나타났다. pH 5에서 16시간 배양했을 때에는 0시간 배양했을 때와 큰 차이가 없었으나 배양시간이 24시간으로 증가하면서 styrene도 크게 증가하였다. 이후로 32시간 배양 시에는 이보다 약간 더 증가한 것으로 나타났다.
 - Benzaldehyde와 phenyl acetaldehyde는 두 pH에서 모두 0시간에서 가장 높게 나타나다가 배양시간이 증가함에 따라 점차 감소하였다. Acetophenone은 pH 9에서 보다 pH 5에서 더 높게 나타났으며, 2-phenylacetonitrile의 경우에는 pH 5에서만 검출되었다. 2-Phenylethanol은 두 pH에서 모두 16시간 배양했을 때 급격히 증가하였으나, 그 증가폭이 pH 9에서가 훨씬 높았다. pH 5에서는 배양시간 16시간 이후로 비슷한 수준으로 계속 검출되는 반면, pH 9에서는 24시간과 32시간에서 16시간에 비해 약간 감소된 수준으로 나타났다.
 - Methyl cinnamate는 16, 24시간 배양했을 때까지 증가하는 양상을 보이다가 32시간 배양 시에는 감소하였다. Benzoic acid는 pH 5에서는 16시간 배양 시에 증가하였다가 이후로 감소하였고, pH 9에서는 16시간에서 증가하고, 24시간에서 감소하였다가 다시 32시간에서 증가하는 양상을 보였다. Cinnamic acid는 pH 5에서 16, 24시간 배양했을 때 증가하였다가 32시간에서는 감소하는 반면, pH 9에서는 전체 배양시간에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

표 68. *P. expansum*의 pH 및 배양시간에 따른 phenylalanine 유래 휘발성 대사산물 비교분석

RI ¹⁾	Volatile metabolites	Initial pH	Relative peak area ²⁾			
			Cultivation times			
			0h	16h	24h	32h
1261	Styrene	5	0.433±0.074a ⁴⁾	0.372±0.231a	2.101±0.564ab	3.158±1.411b
		9	0.634±0.113b	0.27±0.05a	0.206±0.029a	0.406±0.238ab
1532	Benzaldehyde	5	14.763±1.7b	4.453±0.52a	2.224±0.148a	2.627±0.64a
		9	6.449±0.568b	0.806±0.154a	0.639±0.018a	0.612±0.086a
1652	Phenyl acetaldehyde	5	18.799±4.216b	0.347±0.062a	0.201±0.038a	0.171±0.025a
		9	28.119±2.625b	2.273±0.163a	1.461±0.105a	0.912±0.095a
1660	Acetophenone	5	N.D. ³⁾ a	0.472±0.071b	0.424±0.06b	0.435±0.057b
		9	N.D.a	0.232±0.03b	0.102±0.017ab	0.176±0.121b
1920	2-Phenylethanol	5	0.374±0.24a	4.699±0.581b	3.818±0.561b	4.679±0.738b
		9	0.497±0.113a	20.555±1.712c	14.044±3.127b	16.187±0.591b
1938	2-Phenylacetone	5	N.D.a	0.129±0.039c	0.055±0.015b	0.039±0.004ab
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a	N.D.a
2054	Cinnamaldehyde	5	0.112±0.065a	0.044±0.012a	0.065±0.01a	0.056±0.011a
		9	0.081±0.012a	0.082±0a	0.077±0.005a	0.159±0.043b
2087	Methyl cinnamate	5	N.D.a	0.171±0.016b	0.237±0.012c	0.009±0.001a
		9	N.D.a	0.213±0.015bc	0.234±0.023c	0.13±0.07b
>2100	Benzoic acid	5	N.D.a	0.05±0.007b	0.037±0.011b	0.044±0.007b
		9	N.D.a	0.064±0.013bc	0.052±0.008b	0.077±0.01b
>2100	Cinnamic acid	5	0.143±0.022a	0.227±0.043b	0.218±0.024b	0.162±0.004ab
		9	0.108±0.017a	0.154±0.025a	0.133±0.015a	0.136±0.035a

- 1) Retention index (RI) 값은 n-alkane 혼합물 (C8-C20)을 외부표준물질로 선정하여 계산하였음.
- 2) Relative peak area (%)는 relative peak area 평균값 (n=3) ± 표준편차로 나타내었음.
- 3) 검출되지 않음.
- 4) Duncan's multiple comparison test를 사용하여 배양시간에 따른 휘발성 성분의 유의적인 차이 ($p < 0.05$)를 나타내었음.

- 이들 휘발성 대사산물이 phenylalanine으로부터 생성되는 기작은 아래의 그림 97과 같다.

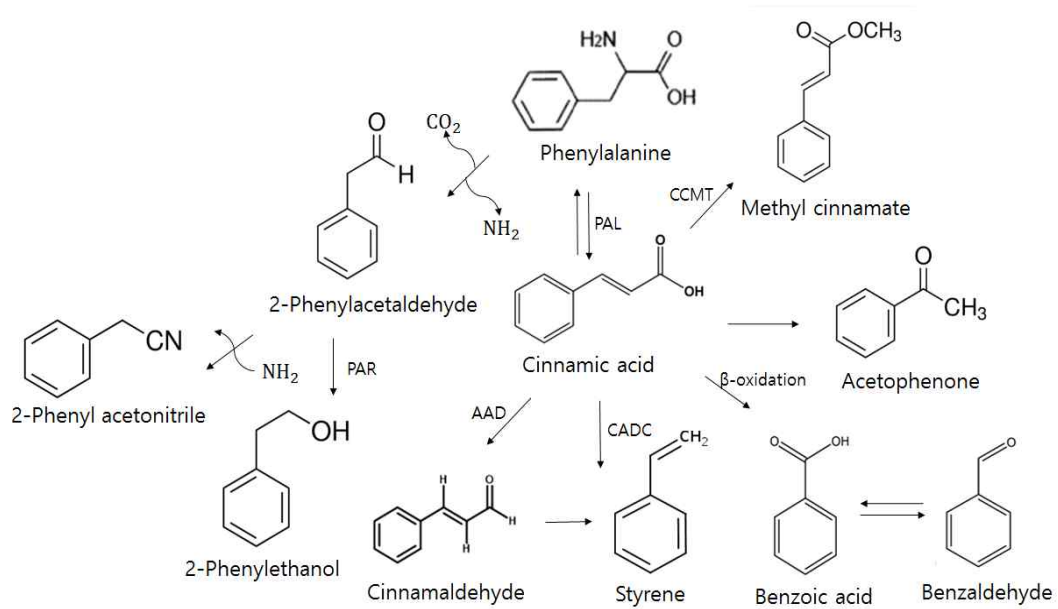


그림 97. Phenylalanine 대사 과정 (Carmen L. et al, 2000, Rebekah M. et al, 2011, Pagot, Y. et al, 2007, Pinches S.E. et al, 2007)

- * PAL: phenylalanine ammonia lyase, CADC: cinnamic acid decarboxylase, PAR: phenyl acetaldehyde reductase, CCMT: cinnamic acid carboxyl methyl transferase, AAD: aryl-aldehyde dehydrogenase

㉔ 부패 미생물의 pH별, 배양시간별 비휘발성 대사산물 분석

- 사과와 배의 대표적인 부패 미생물인 *P. expansum*을 PDB 배지에 초기 pH를 5와 9로, 배양시간은 16, 24, 32시간으로 설정하여 배양 후, 1차 비휘발성 대사산물 분석을 실시하였다.
- 분석결과는 아래의 표 69와 같았다.
 - 총 61종의 비휘발성 대사산물이 검출되었고, carbohydrate류로는 13종, amino acid류로는 17종, organic acid류로는 17종, fatty acid류로는 13종이 검출되었다.
 - Carbohydrate류에서는 13종의 비휘발성 대사산물이 검출되었으며, 그 중에서 arabinol과 erythrose는 pH 5에서만 배양시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. Fructose는 pH 5에서는 24시간까지 증가하다가 32시간에는 감소하는 한편, pH 9에서는 꾸준히 증가하는 양상을 보였다. Mannitol은 pH 5에서 pH 9에서보다 훨씬 큰 정량값으로 검출되었고, 16시간에서 보다는 24, 32시간에서 더 높게 나타났다. Sorbitol과 lactose는 pH 9에서는 동정되지 않았다.
 - Amino acid류에서는 17종의 비휘발성 대사산물이 검출되었으며, alanine의 경우 pH 5에서 16, 24시간 배양 시 증가하였다가 32시간에서 급격히 감소하였다. 반면, pH 9에서는 전체 배양시간에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Phenylalanine의 경우에는 두 pH에서 모두 배양시간에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Glutamic acid는 두 pH에서 모두 16시간에서는 높은 정량값으로 검출되었다가 24, 32시간 배양 시에는 급격히 감소하여 검출되지 않거나 작은 값으로만 나타났다. Asparagine과 citrulline은 pH 5에서만 검출된 비휘발성 대사산물이었다.
 - Organic acid류에서는 17종의 비휘발성 대사산물이 검출되었으며, propanedioic acid는 pH 5에서 24시간 배양 시 가장 높은 양으로 나타났다. Malic acid는 두 pH 모두 전체 배양시간이 증가함에 따라 꾸준히 증가하는 양상을 보였다. Phosphoric acid의 경우 pH 5에서는 16시간에 가장 높게 검출된 반면에, pH 9에서는 32시간에서 가장 높게 검출되었다. Citric acid는 두 pH에서 모두 배양시간에 따라 증가하는 경향을 보였고, 32시간에서 훨씬 높은 수준으로 검출되었다.
 - Fatty acid류에서는 13종의 비휘발성 대사산물이 검출되었으며, hexanoic acid는 pH 9에서 32시간일 때가 가장 높게 나타났다. 2-Butanedioic acid는 두 pH에서 모두 16, 24시간에는 나타나지 않다가 32시간에만 검출되었다. 9-Octadecenoic acid는 pH 5에서 보다 pH 9에서 전반적으로 높게 나타났고, 32시간 배양 시에는 24시간 배양 시보다 약 4배 높게 검출되었다.

표 69. *P. expansum*의 pH 및 배양시간에 따른 비휘발성 대사산물 비교분석

No.	Non-Volatile metabolites	Initial pH	Relative peak area ¹⁾		
			Cultivation times		
			16h	24h	32h
Carbohydrates					
c1	Xylulose	5	0.067±0.013b ³⁾	N.D. ^{2)a}	0.089±0.015b
		9	N.D.a	0.03±0.022ab	0.054±0.008b
c2	Arabitol	5	0.406±0.069a	0.869±0.168b	1.296±0.161c
		9	0.489±0.124a	0.436±0.06a	0.367±0.031a
c3	Erythrose	5	N.D.a	1.075±0.44b	1.546±0.231c
		9	0.431±0.113a	0.506±0.092a	0.383±0.026a
c4	Fructose	5	1.149±0.491a	2.115±0.876a	1.74±0.131a
		9	0.422±0.051a	1.155±0.253b	1.639±0.313b
c5	Mannose	5	0.106±0.048a	0.033±0.02a	0.552±0.069b
		9	0.112±0.046a	0.107±0.077a	0.082±0.012a
c6	Glucose	5	0.088±0.038a	1.012±0.446ab	1.707±0.668b
		9	0.093±0.085a	0.305±0.127ab	0.443±0.111b
c7	Mannitol	5	58.865±6.545a	117.242±6.321c	103.804±4.715b
		9	8.599±0.698a	12.055±1.12a	12.458±3.193a
c8	<i>myo</i> -Inositol	5	0.404±0.152a	1.443±0.309b	4.117±0.196c
		9	0.708±0.192a	1.08±0.211a	0.971±0.101a
c9	Galactose	5	0.102±0.027a	0.073±0.015a	0.446±0.063b
		9	0.15±0.036a	0.197±0.067a	0.112±0.042a
c10	Sorbitol	5	0.019±0.004a	0.05±0.017b	N.D.a
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
c11	Sucrose	5	0.017±0.007a	0.023±0.013a	0.029±0.009a
		9	N.D.a	0.032±0.015b	0.014±0.002ab
c12	Trehalose	5	12.31±2.918a	90.84±19.546b	109.574±12.669c
		9	3.077±0.899a	17.097±2.918b	33.743±5.435c
c13	Lactose	5	N.D.a	0.065±0.014b	0.056±0.027b
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
Amino acids					
a1	Alanine	5	7.567±0.951b	9.32±0.597c	1.593±0.271a
		9	8.759±2.083a	8.529±0.458a	9.268±2.509a
a2	Valine	5	1.724±0.151a	2.09±0.276a	1.996±0.232a
		9	1.329±0.247a	2.015±0.26b	1.76±0.281ab
a3	Isoleucine	5	1.089±0.209a	1.09±0.18a	0.742±0.056a
		9	0.513±0.049ab	0.708±0.169b	0.419±0.057a
a4	Proline	5	3.864±1.075a	2.899±0.663a	2.57±0.485a
		9	2.561±0.119a	3.299±0.884a	1.954±0.437a
a5	Glycine	5	1.384±0.309b	0.922±0.096ab	0.735±0.084a
		9	0.741±0.052a	0.971±0.152a	0.804±0.142a
a6	Serine	5	1.414±0.195a	1.561±0.177a	1.504±0.195a
		9	0.822±0.058a	1.514±0.127b	1.451±0.177b
a7	Threonine	5	0.89±0.245a	0.797±0.097a	0.725±0.069a
		9	0.641±0.046a	1.001±0.141b	0.675±0.088a
a8	Aspartic acid	5	1.437±0.319a	2.261±0.899a	4.151±1.859a
		9	2.86±1.346a	4.243±0.917ab	6.089±0.259b
a9	Phenylalanine	5	5.515±0.368a	6.516±0.832a	7.023±1.974a
		9	6.766±1.517a	6.402±1.416a	9.55±1.729a
a10	Asparagine	5	N.D.a	0.035±0.011b	0.059±0.005c
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
a11	Glutamine	5	2.305±0.287a	5.856±2.028b	6.692±0.319c
		9	1.589±0.081a	4.144±0.57b	5.299±0.809b

a12	Glutamic acid	5	4.852 ± 0.686b	0.941 ± 0.335a	0.044 ± 0.012a
		9	3.919 ± 0.265b	N.D.a	0.03 ± 0.003a
a13	Ornithine	5	5.049 ± 0.786a	12.869 ± 1.495b	6.024 ± 1.528a
		9	1.619 ± 0.121a	2.896 ± 0.231b	3.783 ± 0.333c
a14	Citrulline	5	0.377 ± 0.036a	0.607 ± 0.181a	0.691 ± 0.508a
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
a15	Histidine	5	1.756 ± 0.195a	1.799 ± 0.39a	3.457 ± 0.607b
		9	1.026 ± 0.293a	1.653 ± 0.205b	1.235 ± 0.195ab
a16	Lysine	5	9.986 ± 0.177a	12.367 ± 2.362a	22.489 ± 2.584b
		9	7.517 ± 0.7a	16.738 ± 3.269b	13.673 ± 1.114b
a17	Tyrosine	5	2.205 ± 0.363a	4.874 ± 1.209a	7.641 ± 1.116b
		9	1.957 ± 0.448a	5.712 ± 1.919b	6.106 ± 0.493b
Organic acids					
o1	Propanedioic acid	5	1.699 ± 0.435a	21.265 ± 7.611b	9.208 ± 3.607a
		9	2.532 ± 2.436a	3.341 ± 1.149ab	7.091 ± 0.87b
o2	Propanoic acid	5	0.037 ± 0.007a	0.476 ± 0.096b	0.342 ± 0.162b
		9	0.158 ± 0.02a	0.217 ± 0.056a	0.343 ± 0.021b
o3	Lactic acid	5	0.355 ± 0.1a	0.237 ± 0.021a	0.353 ± 0.051a
		9	N.D.a	0.127 ± 0.172ab	0.37 ± 0.065b
o4	Acetic acid	5	0.058 ± 0.004a	0.068 ± 0.023b	0.102 ± 0.01b
		9	0.049 ± 0.037a	0.114 ± 0.014b	0.148 ± 0.006b
o5	2-Propenoic cid	5	N.D.a	N.D.a	0.029 ± 0.014b
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
o6	Oxalic acid	5	N.D.a	N.D.a	0.376 ± 0.096b
		9	N.D.a	N.D.a	0.093 ± 0.027b
o7	3-Pyridinecarboxylic acid	5	N.D.a	0.456 ± 0.054b	0.466 ± 0.048b
		9	N.D.a	N.D.a	0.276 ± 0.017b
o8	Succinic acid	5	N.D.a	N.D.a	1.385 ± 0.264b
		9	0.159 ± 0.119	N.D.	1.82 ± 0.256
o9	2-Piperidinecarboxylic acid	5	0.114 ± 0.021a	0.152 ± 0.032a	0.265 ± 0.026b
		9	0.495 ± 0.218a	0.246 ± 0.024a	0.409 ± 0.118a
o10	4-Methyl benzoic acid	5	N.D.a	0.036 ± 0.005b	0.026 ± 0.018ab
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
o11	2-Methylmalic acid	5	0.246 ± 0.098a	0.2 ± 0.018a	0.239 ± 0.014a
		9	N.D.a	0.241 ± 0.03b	0.357 ± 0.007c
o12	Malic acid	5	1.159 ± 0.246a	1.486 ± 0.381a	2.809 ± 0.113b
		9	1.036 ± 0.745a	1.58 ± 0.753a	3.4 ± 0.508b
o13	Mevalonic acid	5	0.445 ± 0.053b	0.148 ± 0.066a	0.088 ± 0.036a
		9	0.198 ± 0.058a	0.147 ± 0.093a	0.153 ± 0.066a
o14	1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid	5	N.D.a	N.D.a	0.257 ± 0.013b
		9	N.D.a	N.D.a	0.085 ± 0.039b
o15	1,4-Benzenedicarboxylic acid	5	0.035 ± 0.008a	0.052 ± 0.024a	0.013 ± 0.01a
		9	N.D.a	N.D.a	N.D.a
o16	Citric acid	5	0.345 ± 0.117a	11.851 ± 4.385b	27.209 ± 0.753c
		9	0.388 ± 0.093a	3.376 ± 2.637a	13.084 ± 0.977b
o17	Gluconoic acid	5	0.721 ± 0.182b	N.D.a	N.D.a
		9	1.178 ± 0.218b	N.D.a	N.D.a
Fatty acids					
f1	Hexanoic acid	5	0.433 ± 0.022b	N.D.a	0.375 ± 0.074b
		9	N.D.a	N.D.a	0.791 ± 0.049b
f2	2-Butanedioic acid	5	N.D.a	N.D.a	0.102 ± 0.008b
		9	N.D.a	N.D.a	0.08 ± 0.004b
f3	Heptanoic acid	5	5.692 ± 1.983a	3.442 ± 0.591a	5.745 ± 1.258a
		9	8.726 ± 2.462ab	13.994 ± 5.108b	2.627 ± 0.362a

f4	Butanoic acid	5	3.333±0.773a	1.442±0.457a	36.671±11.347b
		9	14.924±2.247a	53.265±3.268b	43.359±15.078b
f5	2-Butenedioic acid	5	1.083±0.34a	2.146±0.644a	4.654±0.284b
		9	1.765±0.144a	4.858±1.76b	6.493±1.176b
f6	Nonanoic acid	5	0.867±0.289b	1.217±0.642b	N.D.a
		9	1.029±0.737a	3.97±0.496b	1.412±0.203a
f7	Pentanedioic acid	5	0.373±0.264a	0.906±0.338a	3.745±1.356b
		9	0.961±0.087a	2.046±0.828ab	3.4±0.543b
f8	Pentadecanoic acid	5	0.342±0.274a	0.777±0.303a	1.26±0.592a
		9	N.D.a	N.D.a	0.477±0.188b
f9	Hexadecanoic acid	5	99.575±23.414a	116.837±9.723a	127.892±12.043a
		9	136.02±4.806a	249.313±22.929b	134.228±43.029a
f10	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid	5	48.684±14.946a	77.889±21.463a	76.06±21.595a
		9	51.368±3.809a	127.923±23.5b	136.494±1.536b
f11	(9Z,12Z,15Z)-Octadeca-9,12,15-trienoic acid (Linolenic acid)	5	28.761±10.726b	N.D.a	37.256±2.346b
		9	26.709±2.46b	52.945±18.693b	N.D.a
f12	Octadecanoic acid	5	54.889±10.647a	46.905±5.522a	60.871±4.857a
		9	68.266±2.451a	149.32±2.086c	88.345±1.284b
f13	9-Octadecenoic acid	5	0.345±0.175a	0.935±0.134b	1.307±0.096b
		9	1.015±0.415a	4.529±0.217a	26.219±7.131b

- 1) Relative peak area (%)는 relative peak area 평균값 (n=3) ± 표준편차로 나타내었음.
- 2) 검출되지 않음.
- 3) Duncan's multiple comparison test를 사용하여 배양시간에 따른 휘발성 성분의 유의적인 차이 ($p < 0.05$)를 나타내었음.

㉔ 부패 미생물과 2차 휘발성 유기대사산물 및 냄새 마커 생성과의 상관관계 규명

㉕ 다변량 통계분석

- 부패 미생물 *P. expansum*의 휘발성/비휘발성 유기대사산물의 변화 양상과 요인에 따른 영향을 확인하기 위하여 SIMCA-P software (SIMCA-P version 11.0, Umetrics, Umea, Sweden)을 이용하여 주성분 분석 및 다변량 분석을 실시하였다.

㉖ 부패 미생물의 휘발성 유기대사산물의 PLS-DA (Partial Least Square-Discriminant Analysis)

- 부패 미생물의 pH와 배양시간에 따른 휘발성 유기대사산물의 변화양상에 대한 PLS-DA 결과는 아래의 figure 16과 같았다.

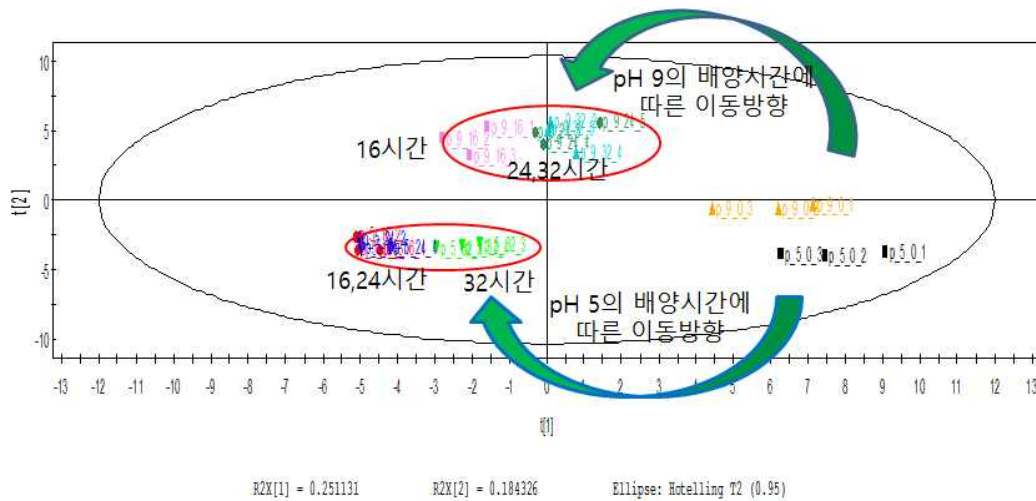


그림 98. 부패 미생물의 pH와 배양시간에 따른 휘발성 성분의 PLS-DA.

- PLS component 1은 25.11%의 설명력을 나타내었으며 PLS component 2는 18.43%의 설명력을 나타내어 총 변동의 43.54%를 설명하였다. 두 pH에서 모두 배양시간이 증가함에 따라 PLS component 1의 양의 방향에서 음의 방향으로 이동하는 양상을 보였다. 하지만 접종 직후 시간인 0시간 배양의 결과만 뚜렷이 분리되고 나머지 16, 24, 32시간 배양의 경우에는 잘 분리되지 못하였다.
- 이와 같이 분리되는데 주요한 영향을 미치는 성분 (VIP value > 0.8)들은 아래 표 70에 나타내었다.

표 70. 2차 휘발성 대사산물의 Variable Important Plot (VIP) list

Volatile metabolites	VIP value
3-Phenylfuran-2,5-dione	1.41
Quinoline	1.37
6-Methylheptan-2-one	1.36
Dodecan-1-ol	1.33
Dodecane	1.33
3-Phenylfuran	1.29
2-Phenylethanol	1.29
3-Methylbutan-1-ol	1.28
Tetradec-2-ene	1.28
2-Phenylpropan-1-ol	1.24
(3,4-Dimethylphenyl)Methanol	1.24
2-Phenylacetaldehyde	1.24
Octan-2-one	1.20
3-Methylbutanal	1.19
Pentadecan-2-one	1.19
Propan-2-yl hexadecanoate	1.18
Benzaldehyde	1.18
1-Phenylethanone(Acetophenone)	1.17
1,3-Benzothiazole	1.16
(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-ol	1.15
(Geraniol)	1.15
Benzoic acid	1.14
Dodec-1-ene	1.14
(5E)-6,10-dimethylundeca-5,9-dien-2-one	1.14
Dodecyl octanoate	1.13
2-Ethylhexan-1-ol	1.12
(methyldisulfanyl)Methane	1.10
2-Methyldecane	1.09
6-Methylhept-5-en-2-one	1.08
Methyl hexadecanoate	1.08
Oct-1-en-3-ol	1.07
Naphthalene	1.07
Octanal	1.07
2-Penylacetonitrile	1.05
Methyl (E)-3-phenylprop-2-enoate	1.05
(Methyl cinnamate)	1.05
2-Ethylhexyl 2-ethylhexanoate	1.03
6-Methylheptyl prop-2-enoate	1.02
Hexadecan-1-ol	1.01

Heptanal	1.00
Butan-1-ol	1.00
1,4-Xylene	1.00
Decane	0.99
Decanal	0.98
1,3,5-Trimethylbenzene	0.97
(3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl)	0.97
2-Methylpropanoate	0.96
(4 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-4,8 <i>a</i> -Dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8- octahydronaphthalen-4 <i>a</i> -ol (Geosmin)	0.96
Octan-1-ol	0.96
Acetic acid	0.96
Nonanal	0.93
Ethylbenzene	0.91
Furan-2-carbaldehyde	0.90
1-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentan-3-yl 2-methylpropanoate	0.89
Heptadecane	0.86
Benzene	0.86
3-Methyl-2H-furan-5-one	0.86
Styrene	0.86
1,3-Thiazole	0.85
Octan-4-one	0.85
(<i>E</i>)-3-Phenylprop-2-enoic acid (Cinnamic acid)	0.82
2-Pentylfuran	0.81

- 앞선 PLS-DA 결과에서 접종 직후인 0시간 배양의 결과만 분리되는 양상을 보여 이 결과를 제외하고 다시 한 번 같은 분석을 실시해보았다. 그 결과는 아래의 그림 99에 나타내었다.

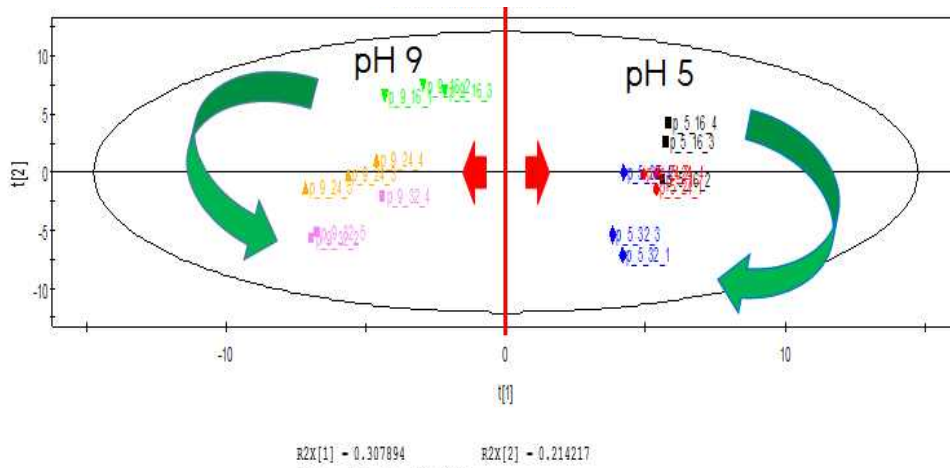


그림 99. 부패 미생물의 pH와 배양시간 (0시간 제외)에 따른 휘발성 성분의 PLS-DA.

- PLS component 1은 30.79%의 설명력을 나타내었으며 PLS component 2는 21.42%의 설명력을 나타내어 총 변동의 52.21%를 설명하였다. 두 pH에서 모두 배양시간이 증가함에 따라 PLS componenet 2의 양의 방향에서 음의 방향으로 이동하는 양상을 보였다. 0시간을 제외한 결과, 이전보다는 배양시간에 따른 변화양상이 비교적 뚜렷해졌다. 하지만 이 역시 큰 차이가 나타나진 않았다. 따라서 이전의 PLS-DA 결과와 이번의 PLS-DA 결과를 바탕으로 부패 미생물인 *P. expansum*의 2차 휘발성 대사산물에 영향을 미치는 요인은 배양시간과 pH 모두 가능하겠지만, 특히, pH에 대해서 영향을 더 많이 받는다는 것을 알 수 있었다.

㉔ 부패 미생물의 비휘발성 유기대사산물의 PLS-DA

(Partial Least Square-Discriminant Analysis)

- 부패 미생물의 pH와 배양시간에 따른 비휘발성 유기대사산물의 변화양상에 대한 PLS-DA 결과는 아래의 그림 100과 같았다.

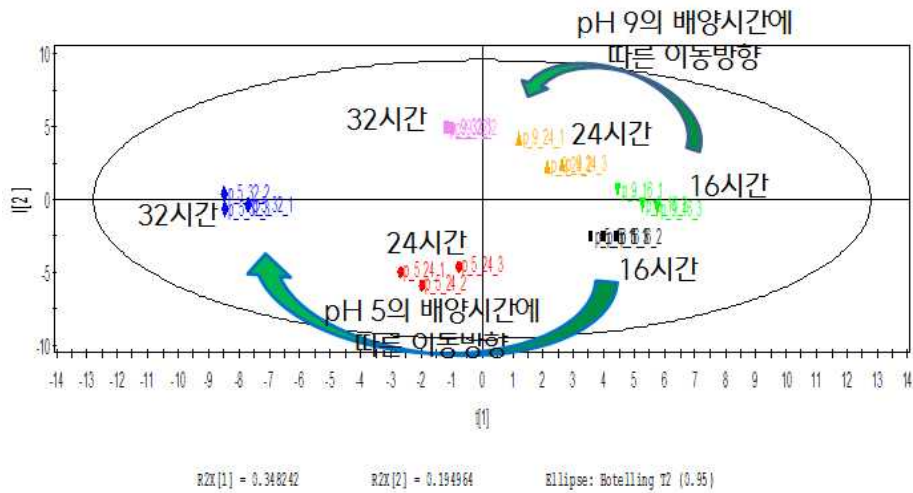


그림 100. 부패 미생물의 pH와 배양시간에 따른 비휘발성 성분의 PLS-DA.

- PLS component 1은 34.82%의 설명력을 나타내었으며 PLS component 2는 19.50%의 설명력을 나타내어 총 변동의 54.32%를 설명하였다. 두 pH에서 모두 배양시간이 증가함에 따라 PLS component 1의 양의 방향에서 음의 방향으로 이동하는 양상을 보였다. 이는 휘발성 성분의 결과와 일치하는 부분이었다. 하지만 휘발성 성분의 결과에서 보다 배양시간에 따른 차이가 뚜렷이 나타났다. 따라서, pH와 배양시간이 부패 미생물인 *P. expansum*의 비휘발성 대사산물을 생성하는데 있어 영향을 미치는 것으로 확인하였다.
- 이와 같이 분리되는데 주요한 영향을 미치는 성분 (VIP value > 0.8)들은 아래 표 71에 나타내었다.

표 71. 1차 비휘발성 대사산물의 Variable Important Plot (VIP) list

Non-volatile metabolites	VIP value
Sorbitol	1.39
Ornithine	1.36
Mannose	1.32
galactose	1.31
9-Octadecenoic acid	1.29
(<i>Z,Z</i>)-9,12-Octadecadienoic acid	1.26
1,4-Benzenedicarboxylic acid	1.21
Gluconic acid	1.19
Alanine	1.19
Mannitol	1.19
Acetic acid	1.16
2-Butenedioic acid	1.15
Propanedioic acid	1.14
2-Propenoic acid	1.14
2-Methylmalic acid	1.13
Oxalic acid	1.13
<i>myo</i> -Inositol	1.13
Butanoic acid	1.12
1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid	1.12
(<i>9Z,12Z,15Z</i>)-octadeca-9,12,15-trienoic acid (Linolenic acid)	1.10
Glutamic acid	1.09
Arabitol	1.07
Asparagine	1.06
3-Pyridinecarboxylic acid	1.05
Fructose	1.04
Isoleucine	1.04
Lactose	1.04
Aspartic acid	1.03
Trehalose	1.01
2-Butanedioic acid	1.01
Histidine	1.01
4-Methyl-benzoic acid	1.01
Pentanedioic acid	1.00
Propanoic acid	0.98
Glutamine	0.98
Serine	0.96
Malic acid	0.96

Citric acid	0.96
Octadecanoic acid	0.96
Succinic acid	0.95
Citrulline	0.93
Tyrosine	0.92
Erythrose	0.89
Lysine	0.88
Glucose	0.88
Nonanoic acid	0.83
Pentadecanoic acid	0.83

마. 낱새 프로파일을 이용한 상관성 분석 및 예측 모델 개발

(1) 부패원인균 특이적 fingerprint 선별

(가) GC-MS 및 Metagenome 실험 데이터베이스 구축

1공동연구팀으로부터 수집된 시료 실험 데이터에 대해 데이터 기본 키(Primary Key)에 해당하는 값에 대한 중복성 검토와 데이터베이스에 입력 불가능한 문자들의 변환, 잘못 표기된 문자들에 대한 수정 등, 데이터 정제 작업을 수행 후, 구축하는 데이터베이스의 무결성 유지와 중복 최소화를 위해 4차 정규화 과정을 거친 후, 효율성을 위한 비정규화를 거쳐 데이터베이스를 모델링하였다. 데이터베이스의 모델링 도구로는 Eclipse Oxygen의 Modeling 기능버전을 다운로드 받아 ERMaster plug-in을 설치하여, 대표적인 관계형 데이터베이스 모델링 방법인 ER-Diagram으로 수행하였다.

① 시료 데이터

사과의 부패원인균인 *Penicillium expansum* (PE), *Botryosphaeria dothidea* (BD), 그리고 *Alternaria alternata* (AA)를 부패율에 따른 부패 단계 1~4단계(1단계 : 0%, 2단계 : 0~10%, 3단계 : 10~35%, 4단계 : 35% 이상)에 맞추어 휘발성 성분을 추출한 데이터를 1공동연구팀으로부터 제공받았다. 또한 시로코 (R), 볼란테 (Y), 오렌지프로 (O) 파프리카의 부패원인균인 *Botrytis cinerea* (BC), *Fusarium lactis* (FL), 그리고 *Fusarium proliferatum* (FP)를 부패율에 따른 부패 단계 1~4단계(1단계 : 0%, 2단계 : 0~5%, 3단계 : 5~20%, 4단계 : 20% 이상)에 맞추어 휘발성 성분을 추출한 데이터를 1공동연구팀으로부터 제공받았다. 마지막으로 딸기의 부패원인균인 *Botrytis cinerea* (BC), *Cladosporium cladosporioides* (CC)를 부패율에 따른 부패 단계 1~7단계(1단계 : 12시간 후, 2단계 : 24시간 후, 3단계 : 36시간 등 각 단계별 12시간 후 측정)에 맞추어 휘발성 성분을 추출한 데이터를 1공동연구팀으로부터 제공받았다. 휘발성 성분의 동정은 Retention Index(RI), mass spectral database(Wiley9n.1 및 NIST08), 및 manual interpretation에 의하여 수행되었다. 정량은 peak area% 값(peak area/total peak area*100)을 이용하였다.

② 부패 농산물에 대한 GC-MS 실험 결과 데이터베이스 구축

GC-MS 실험 데이터 외에 화합물 데이터의 기본 키에 해당하는 정보의 추출을 위해 외부 데이터인 EMBL-EBI의 chEBI로부터 CAS 번호와 화합물 이름 정보인 database_accession.tsv, names.tsv 파일을 다운로드하여 데이터베이스에 테이블로 구축하였다.

④ GC-MS 실험결과 데이터베이스 모델링 및 구조도

아래의 도표는 GC-MS 실험 결과를 모델링한 ER-Diagram이다. 화합물의 기본 정보인 CAS 번호와 화합물 이름에 대한 정보는 각각, CAS_Number_T와 ChemNames_T 테이블로 모델링 되었으며 화합물의 분류와 각 GC-MS 실험 상의 화합물 인식번호를 위해

ChemClass_T와 CompID_T로, 각 GC-MS 실험에 대한 정보를 나타내는 ExprInfo_T, GC-MS 실험 결과와 관련 있는 화합물의 정보를 위해서는 Chemical_T, 실험 결과 정보를 위해서는 Result_T 테이블로 모델링 되었다.

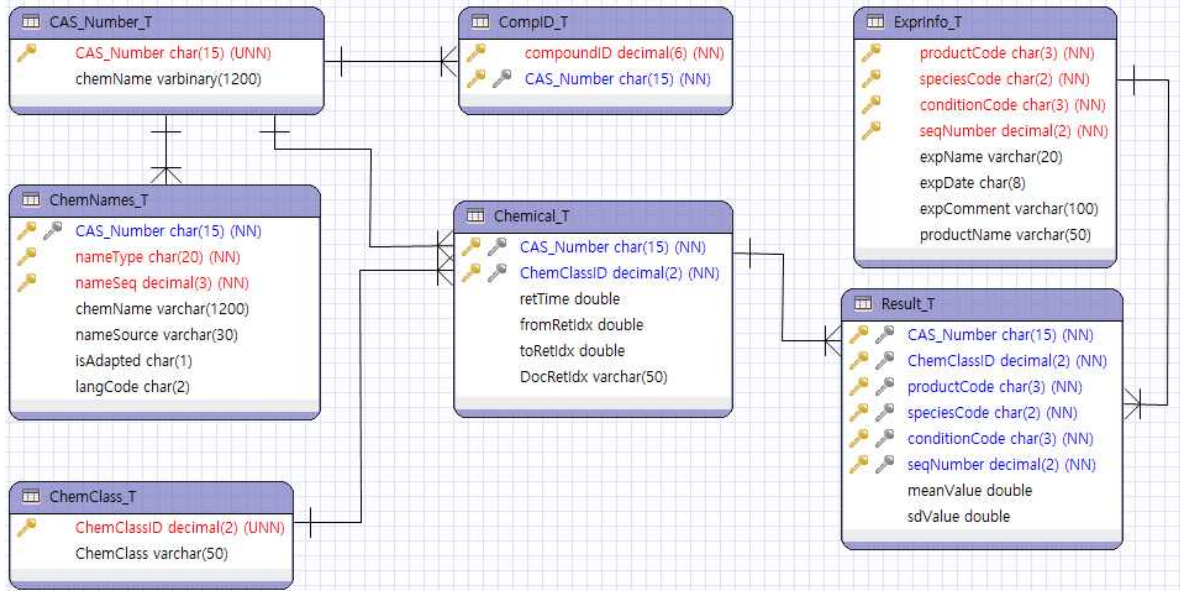


그림 101. GC-MS 데이터베이스 관계도

㉞ GC-MS 데이터베이스 테이블 명세서

Table name (logical name)	CAS_Number_T
Table name (physical name)	CAS_Number_T
Description	This table contains CAS number and chemical name. This table data was extracted from database_accession.tsv file of chEBI. Chemical name was selected by our criteria.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
CAS_Number	CAS_Number	char(n)	15		*	*	*				CAS Number
chemName	chemName	varbinary(n)	1200								Chemical Name

Table name (logical name)	ChemClass_T
Table name (physical name)	ChemClass_T
Description	This table contains chemical classification.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
ChemClassID	ChemClassID	decimal(p)	2		*	*	*				Chemical classification ID
ChemClass	ChemClass	varchar(n)	50								Chemical Classification

Table name (logical name)	Chemical_T
Table name (physical name)	Chemical_T
Description	
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
CAS_Number	CAS_Number	char(n)	15		*	*		-> CAS_Number_T.CAS_Number			CAS Number
ChemClassID	ChemClassID	decimal(p)	2		*	*		-> ChemClass_T.ChemClassID			Chemical classification ID
retTime	retTime	double									Retention Time
fromRetIdx	fromRetIdx	double									Retention Index start from this value
toRetIdx	toRetIdx	double									Retention Index end to this value
DocRetIdx	DocRetIdx	varchar(n)	50								Retention Index from this value on document

Table name (logical name)	ChemNames_T
Table name (physical name)	ChemNames_T
Description	This table contains CAS number and chemical names. This table data was extracted from names.tsv file of chEBI.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
CAS_Number	CAS_Number	char(n)	15		*	*		-> CAS_Number_T.CAS_Number			CAS Number
nameType	nameType	char(n)	20		*	*					The type of chemical name.
nameSeq	nameSeq	decimal(p)	3		*	*					Sequential number of chemical name
chemName	chemName	varchar(n)	1200								Chemical Name
nameSource	nameSource	varchar(n)	30								Chemical Name was extracted by this source
isAdapted	isAdapted	char(n)	1								Is the chemical Name adapted? T is adapted name, or F is not adapted.
langCode	langCode	char(n)	2								The language of the chemical name

Table name (logical name)	CompID_T
Table name (physical name)	CompID_T
Description	This table contains CAS number and Compound ID of chEBI. This table data was extracted from database_accession.tsv file of chEBI.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
compoundID	compoundID	decimal(p)	6		*	*					Compound ID of chEBI
CAS_Number	CAS_Number	char(n)	15		*	*		-> CAS_Number_T.CAS_Number			CAS Number

Table name (logical name)	ExprInfo_T
Table name (physical name)	ExprInfo_T
Description	This table contains experiment name, objectives and so forth. This table data was extracted from the experiment excel files.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
productCode	productCode	char(n)	3		*	*					agricultural[farm]
speciesCode	speciesCode	char(n)	2		*	*					Code of Species (Saprogen)
conditionCode	conditionCode	char(n)	3		*	*					Code of experment condition
seqNumber	seqNumber	decimal(p)	2		*	*					Sequential Number
expName	expName	varchar(n)	20								Experiment Name
expDate	expDate	char(n)	8								Experiment Date
expComment	expComment	varchar(n)	100								Experiment Comment
productName	productName	varchar(n)	50								agricultural[farm] products Name

Table name (logical name)	Result_T
Table name (physical name)	Result_T
Description	This table contains result data of experiment. This table data was extracted from the experiment excel files.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
CAS_Number	CAS_Number	char(n)	15		*	*		-> Chemical_T.CAS_Number			CAS Number
ChemClassID	ChemClassID	decimal(p)	2		*	*		-> Chemical_T.ChemClassID			Chemical classification ID
productCode	productCode	char(n)	3		*	*		-> ExprInfo_T.productCode			agricultural[farm] products code: apple -> AP1 strawberry -> SB1 sweet pepper -> SP1
speciesCode	speciesCode	char(n)	2		*	*		-> ExprInfo_T.speciesCode			Code of Species (Saprogen)
conditionCode	conditionCode	char(n)	3		*	*		-> ExprInfo_T.conditionCode			Code of experment condition
seqNumber	seqNumber	decimal(p)	2		*	*		-> ExprInfo_T.seqNumber			Sequential Number
meanValue	meanValue	double									mean of result value of the experiment
sdValue	sdValue	double									standard variation of result value of the

③ Metagenome 실험 데이터베이스 구축

실험 데이터 외에 미생물의 주요 키와 분류학적(Taxonomy) 구조 및 과학적 명칭 등의 정보를 위해 외부자료인 NCBI의 Taxonomy 데이터를 다운로드하여 데이터베이스에 실험 데이터와 함께 체계적으로 구축하였다.

㉞ Metagenome 실험 결과 데이터베이스 모델링 및 구조도

아래의 도표는 Metagenome 실험 결과를 모델링한 ER-Diagram이다. 시퀀싱 된 부패 원인균의 기본 정보인 분류 번호와 부패원인균 이름에 대한 정보는 각각, TaxID_T와 TaxNames_T 테이블로 모델링 되었으며 시료에 대한 정보와 Metagenome 실험 정보를 위해 Sample_T와 MG_ExpInfo_T로, Metagenome 시퀀싱 결과 정보를 위해서는 MG_Result_T 테이블로 모델링 되었다.

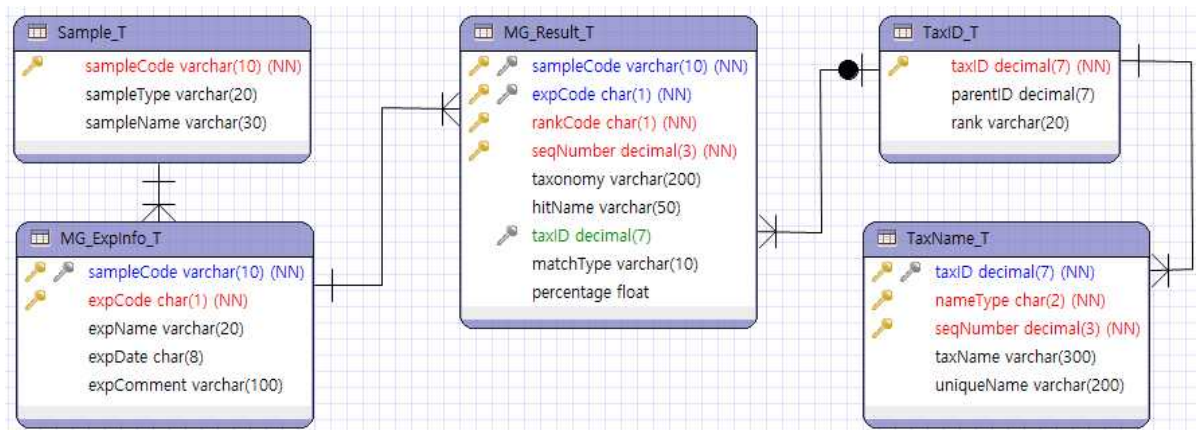


그림 102. Metagenome 데이터베이스 관계도

㉔ Metagenome 데이터베이스 테이블 명세서

Table name (logical name)	Sample_T
Table name (physical name)	Sample_T
Description	This table contains basic information of smaples.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
sampleCode	sampleCode	varchar(n)	10		*	*					Sample Code
sampleType	sampleType	varchar(n)	20								Sample Type
sampleName	sampleName	varchar(n)	30								Sample Name

Table name (logical name)	MG_ExpInfo_T
Table name (physical name)	MG_ExpInfo_T
Description	This table contains information of Metagenome experiment.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
sampleCode	sampleCode	varchar(n)	10		*	*		-> Sample_T.sampleCode			Sample Code
expCode	expCode	char(n)	1		*	*					Experiment Code 1: Bacteria, 2: Fungi
expName	expName	varchar(n)	20								
expDate	expDate	char(n)	8								Experiement Date
expComment	expComment	varchar(n)	100								Experiment Comment

Table name (logical name)	MG_Result_T
Table name (physical name)	MG_Result_T
Description	This table contains results of metagenome experiment.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
sampleCode	sampleCode	varchar(n)	10		*	*		-> MG_ExpInfo_T.sampleCode			Sample Code
expCode	expCode	char(n)	1		*	*		-> MG_ExpInfo_T.expCode			Experiment Code 1: Bacteria, 2: Fungi
rankCode	rankCode	char(n)	1		*	*					Rank Code 1: Phylum, 2: Class, 3: Order, 4: Family, 5: Genus
seqNumber	seqNumber	decimal(p)	3		*	*					Sequential Number : The order is descending order of percentage
taxonomy	taxonomy	varchar(n)	200								Taxonomy String of the sample
hitName	hitName	varchar(n)	50								Hit Taxonomy Name of the sample
taxID	taxID	decimal(p)	7					-> TaxID_T.taxID			Node id in GenBank taxonomy database
matchType	matchType	varchar(n)	10								uc : unclassified
percentage	percentage	float									Percentage of organism in the experiment

Table name (logical name)	TaxID_T
Table name (physical name)	TaxID_T
Description	This table contains Taxonomy ID and Node information of NCBI. This table data was extracted from nodes.dmp file of NCBI.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
taxID	taxID	decimal(p)	7		*	*					Node id in GenBank
parentID	parentID	decimal(p)	7								Parent node id in GenBank taxonomy database
rank	rank	varchar(n)	20								Rank of this node (superkingdom, kingdom, ...)

Table name (logical name)	TaxName_T
Table name (physical name)	TaxName_T
Description	This table contains Taxonomy name information of NCBI. This table data was extracted from names.dmp file of NCBI.
Constraint	

Column name (logical name)	Column name (physical name)	Type	Length	Decimal	PK	NOT NULL	UNIQUE	FK	Auto increment	Default value	Description
taxID	taxID	decimal(p)	7		*	*		-> TaxID_T.taxID			Node id in GenBank taxonomy
nameType	nameType	char(n)	2		*	*					Name Type AC : acronym / AM : anamorph / AT : authority / BN : blast name / CN : common name / EN : equivalent name / GA : genbank acronym / GB : genbank / GC : genbank common name / GM : genbank anamorph / GS : genbank synonym / IC : includes / MN : misnomer / MS : misspelling / PT : in-part / SM : synonym / SN : scientific name / TM : type material / TR : teleomorph
seqNumber	seqNumber	decimal(p)	3		*	*					Sequential Number
taxName	taxName	varchar(n)	300								Name of Taxonomy ID
uniqueName	uniqueName	varchar(n)	200								The unique variant of this name if name not unique

④ GC-MS 및 Metagenome 실험 데이터 입력 결과

㉞ GC-MS 실험 데이터 입력 결과

표 72. GC-MS 실험 데이터 입력 건수

농산물	부패단계	부패원인균	데이터 수
사과	0~3까지 4단계	BD, PE, AA (AT, CS)	3,040 건
시로코 (R) 파프리카	0~4까지 5단계	BC, FL, FP	1,215 건
볼란테 (Y) 파프리카	0~4까지 5단계	BC, FL, FP	1,200 건
오렌지프로 (O) 파프리카	0~4까지 5단계	BC, FL, FP	1,140 건
딸기	0~7까지 8단계	BC, CC	2,640 건
합계	-	-	9,235 건

사과 부패원인균의 경우 *Alternaria tenuissima* (AT)와 *Alternaria alternata* 표준 균주 (CS) 로 각각 실험이 진행 되어 DB구축으로 연계하였으나, 추후 2차 분자생물학적인 동정결과, 두 종이 동일한 *A. alternata* (AA)로 판명되어졌으며 냄새 프로파일 분석에서도 같은 부패원인균임을 확인하였다. 따라서 각각 입력한 데이터 값들은 동일 부패원인균에 의한 데이터들로 통합 분석하였다.

㉟ Metagenome 실험 데이터의 데이터베이스 입력 결과

표 73. Metagenome 실험 데이터 입력 건수

농산물	부패원인균 구분	건수
사과	박테리아	9,792 건
	곰팡이	4,378 건
사과 계		14,170 건
파프리카	박테리아	8,907 건
	곰팡이	1,160 건
파프리카 계		10,067 건
합 계		24,237 건

(나) 농산물 별 부패 단계 및 부패 균 별 Fingerprint 선별

GC-MS 실험 데이터로부터 부패 단계별 변화하는 의미있는 화합물을 구분하기 위해 부패 전 단계인 0 단계의 화합물의 측정 값 평균과 이의 표준편차 값을 이용하여, 0 이 아닌 부패단계에서 2-표준편차 값의 범주 외로 변화하는 화합물을 유의미한 화합물로 선별하였다.

표 74. GC-MS 실험 데이터 입력 건수

농산물	유의미한 화합물
사과	77 화합물
시로코 (R) 파프리카	34 화합물
볼란테 (Y) 파프리카	42 화합물
오렌지프로 (O) 파프리카	58 화합물
딸기	23 화합물

① 사과의 GC-MS 실험에 따른 유의미한 화합물

유의미하게 선별된 77개 화합물이 부패 단계별 변화 정도를 보기위해 부패 균별로 변화 정도가 높은 10개의 화합물을 보면 아래와 같다.

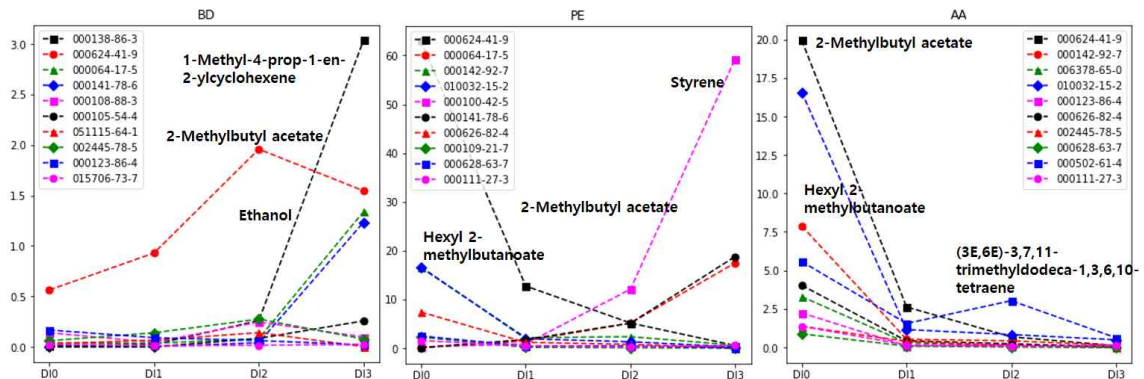


그림 103. 부패단계 및 원인균별 유의한 화합물 (사과)

② 시로코 (R) 파프리카의 GC-MS 실험에 따른 유의미한 화합물

유의미하게 선별된 34개 화합물이 부패 단계별 변화 정도를 보기위해 부패 균별로 변화 정도가 높은 10개의 화합물의 변화 정도를 보면 아래 그림과 같다.

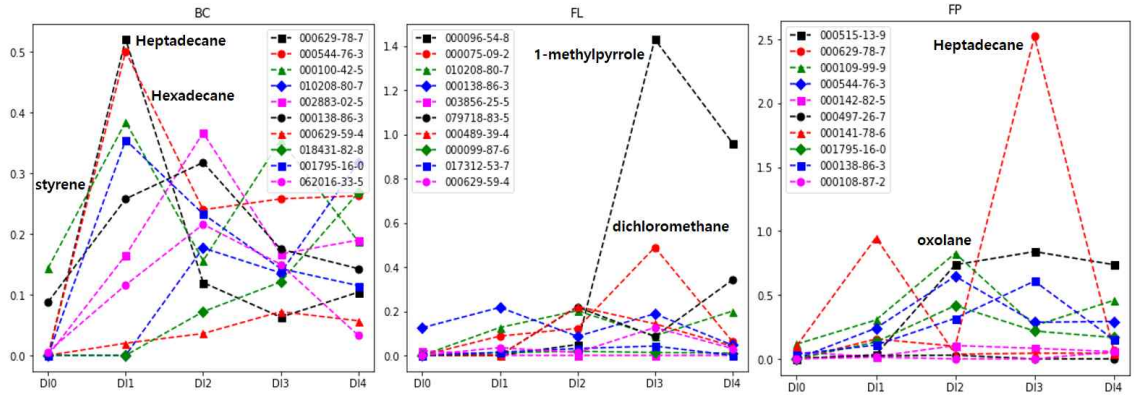


그림 104. 부패단계 및 원인균별 유의한 화합물 (시로코 (R) 파프리카)

③ 블란테 (Y) 파프리카의 GC-MS 실험에 따른 유의미한 화합물

유의미하게 선별된 42개 화합물이 부패 단계별 변화 정도를 보기위해 부패 균별로 변화 정도가 높은 10개의 화합물의 변화 정도를 보면 아래 그림과 같다.

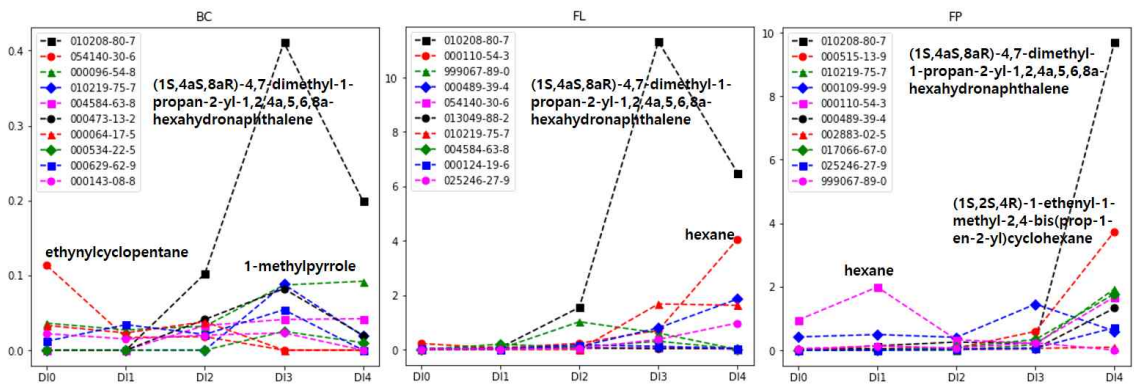


그림 105. 부패단계 및 원인균별 유의한 화합물 (블란테 (Y) 파프리카)

④ 오렌지프로 (O) 파프리카의 GC-MS 실험에 따른 유의미한 화합물

유의미하게 선별된 58개 화합물이 부패 단계별 변화 정도를 보기위해 부패균 별로 변화 정도가 높은 10개의 화합물의 변화 정도를 보면 아래 그림과 같다.

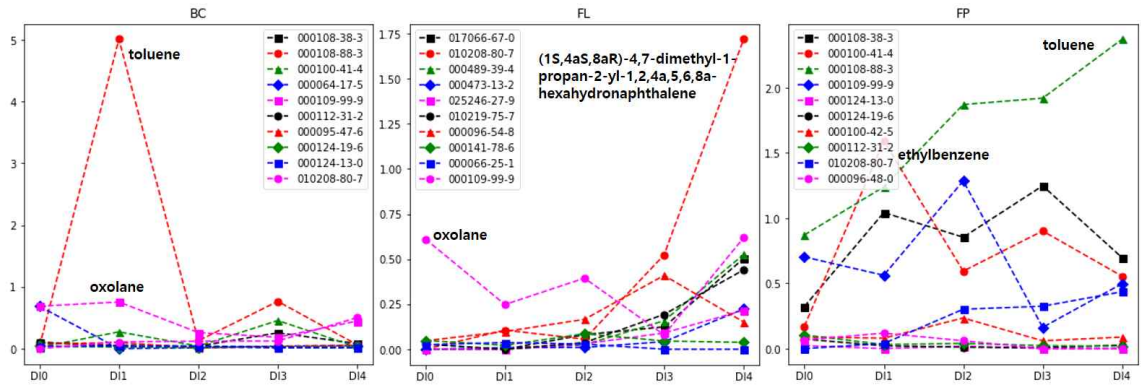


그림 106. 부패단계 및 원인균별 유의한 화합물 (오렌지프로 (O) 파프리카)

⑤ 딸기의 GC-MS 실험에 따른 유의미한 화합물

유의미하게 선별된 23개 화합물이 부패 단계별 변화 정도를 보기위해 부패 균별로 변화 정도가 높은 10개의 화합물의 변화 정도를 보면 아래 그림과 같다.

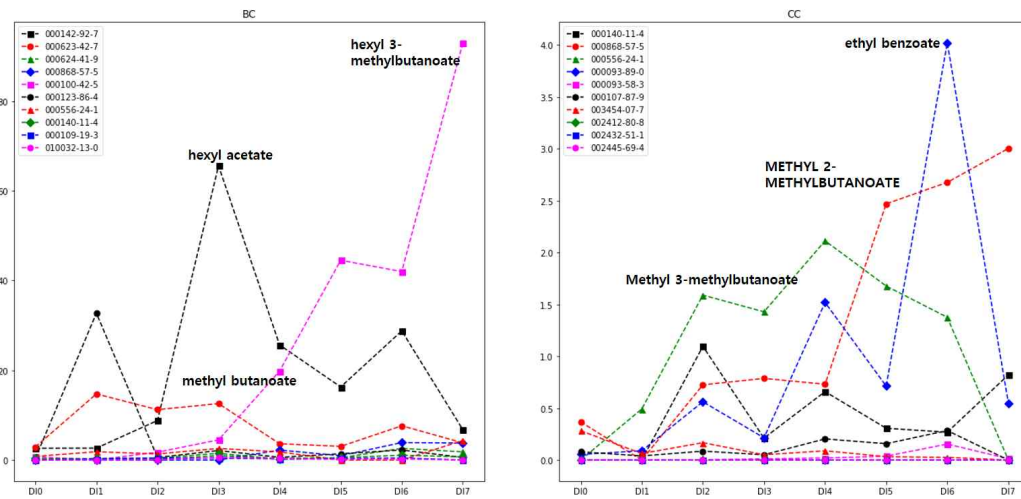


그림 107. 부패단계 및 원인균별 유의한 화합물 (딸기)

(2) 냄새 관련 물질 정보 DB와 연동 web browser 구축

(가) 냄새 물질 관련 공개 DB 자료 수집

냄새 물질 관련 공개 DB인 mVOC와 MycoBank를 연구하였다. mVOC (<http://bioinformatics.charite.de/mvoc>)에는 133개의 fungi와 443개의 VOC물질이 보고되어있고, fungi와 VOC물질의 상관관계는 그림 2와 같이 보여진다. 그리고 MycoBank의 경우에는 algae, fungi, 그리고 plants 관련한 ICN (the International Code of Nomenclature)을 제공하고 있다. 이 두 공개 DB를 <http://203.230.60.139/pydio/data/public/b98b69>에 DB화하였다.

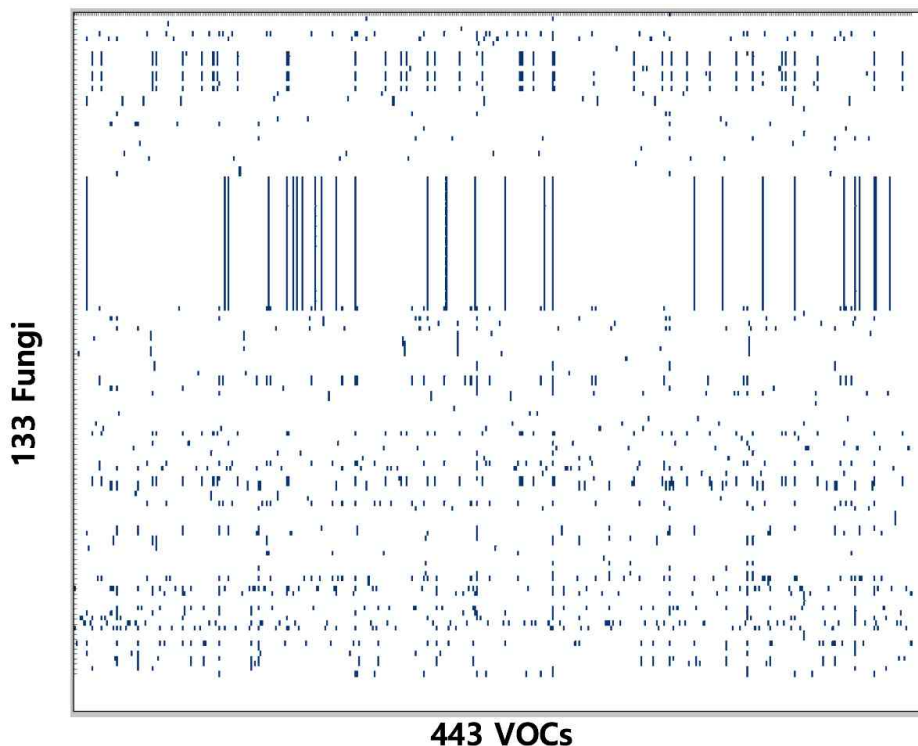


그림 108. mVOC에서의 fungi와 VOC사이의 상관관계

(나) VOC 데이터 관련 web browser 구축

현재 VOC관련 구축된 DB를 웹 상에서 확인할 수 있는 web browser를 python - sqlite3 - flask기반으로 구축하였다. web browser에는 다음 두 가지 종류의 데이터를 브라우징 할 수 있다. 브라우징 할 데이터는 제3공동연구팀에서 제공받은 사과의 Sensor 데이터와, 제1공동연구팀에서 제공받은 GC-MS데이터이다. 다음은 Web browser의 주요 화면 및 기능을 설명이다.

- ① 로그인 후 web browser를 사용한다.

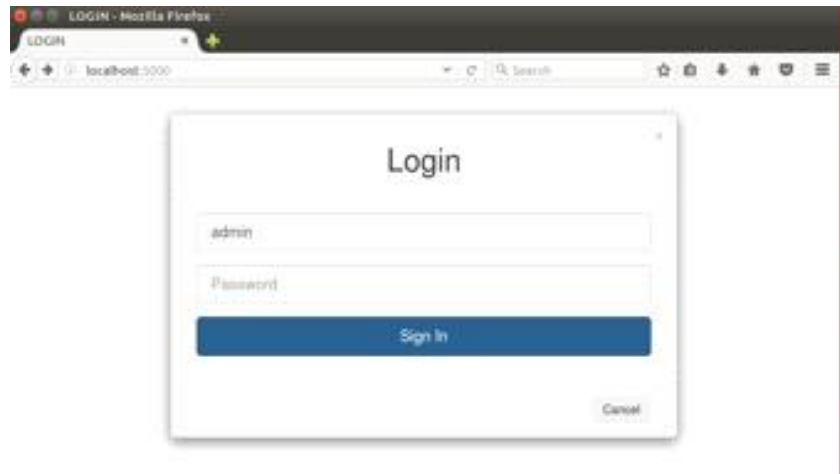


그림 109. 로그인 페이지

② 간단한 홈페이지 소개가 보이고, 메뉴바에서 [MOS-sensor] 또는 [GC-MS]를 선택할 수 있다.



그림 110. 홈페이지 소개 페이지

③ [MOS-sensor]를 선택하면, [MOS-Sensor/about]에서 Sensor 데이터에 대한 간단한 설명을 확인할 수 있고, [MOS-Sensor/Data-Profile]에서 실험한 Sensor 데이터를 실시간으로 브라우징 할 수 있다. ‘AppleNo’ 및 ‘SensorNo’ 는 각각 다중 선택이 가능하도록 되어 있다.



그림 111. 센서 실험 결과 페이지

④ [GC-MS/About]은 GC-MS데이터에 대한 간단한 설명을 확인할 수 있다.

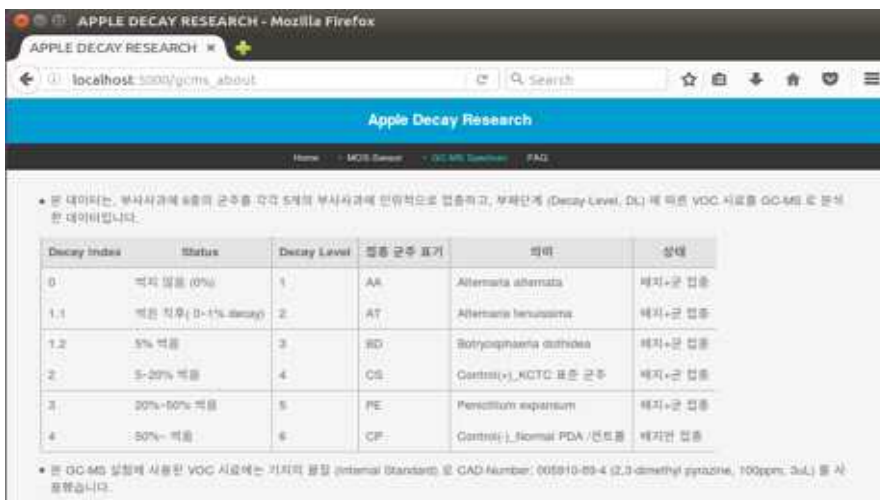


그림 112. GC-MS 데이터 설명 페이지

⑤ [GC-MS/Data-Profile]에서는 GC-MS데이터를 실시간 브라우징 할 수 있도록 한다. Sub - Menu로는 Fungi+/AppleNo+/Decay-Level+/Output-Type+/Sensitivity Cutoff+가 있고, ‘++’ 로 표시된 Sub-Menu는 Multiple-Selection이 가능한 항목이다. Sub - Menu가 선택되면 해당하는 그래프가 브라우징된다.

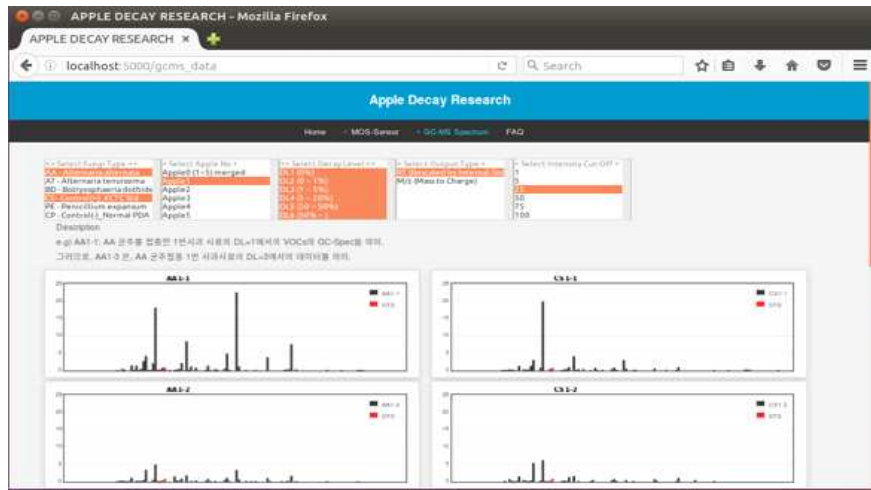


그림 113. GC-MS 데이터 결과 페이지

⑥ [GC-MS/Data-Profile] 페이지에서 그려진 스펙트럼에서 나온 피크를 마우스로 선택하면 해당피크에 해당하는 가능성이 있는 VOC 물질 (CAS-ID로 추출한 PubChem-ID) 정보가 pop-up으로 나타나고, Pop-Up 창에 표시된 물질을 선택하면, PubChem 정보가 표시되도록 구성되어 있다. pop-up창은 더블클릭하면 사라지고, 다음 후보 피크/VOC/Graph 등을 계속 브라우징할 수 있도록 구성되어 있다.

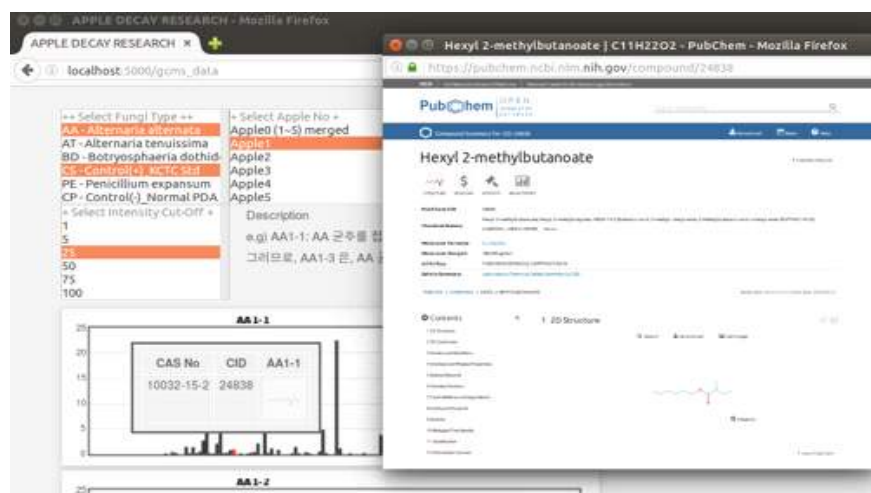


그림 114. 외부데이터(PubChem) 연결 페이지

(3) 특정 농산물의 냄새 프로파일과 부패원인균과의 상관관계 분석

농산물의 냄새 프로파일과 부패 단계 또는 부패원인균과의 관계를 분석하기 위해 변화에 유의미한 화합물들로부터, 각 부패 단계 또는 부패원인균 그룹과 관련성이 높은 화합물들을 선별하기 위해 기계학습 방법의 대표적 차원축소 방법인 주성분 분석(Principal Component Analysis, PCA)과 선형판별분석(Linear Discriminant Analysis, LDA)을 사용하여 분석하였으며, 이들 분석 결과를 토대로 가장 영향을 미치는 화합물들을 선별하였다.

(가) 사과 냄새 프로파일과 부패 단계, 부패원인균과의 관계 분석

① 사과 냄새 프로파일의 PCA 분석

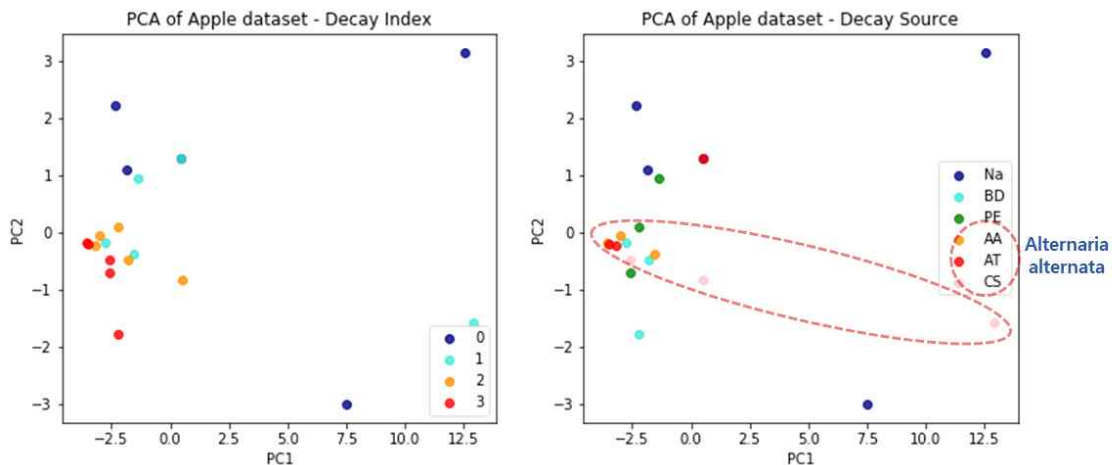


그림 115. 사과 냄새 프로파일 PCA 분석 결과

위의 PCA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 주성분 1과 주성분 2만으로는 구분되어지는 정도가 부패 1단계와 부패 2단계가 잘 구분되어지지 않고 있음을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인균에 대한 결과를 보면, 부패원인균인 AA, AT, CS가 일정한 영역에 모여 있음을 알 수 있다. 이 결과는 추후 밝혀진 AT와 CS 균주가 실제로는 AA 균주였다는 것을 뒷받침하는 결과라 할 것이다. PCA의 분석 결과는 주성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 96.5%의 설명력을 나타낸다.

PCA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들을 절대값 0.1이상 인 화합물에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

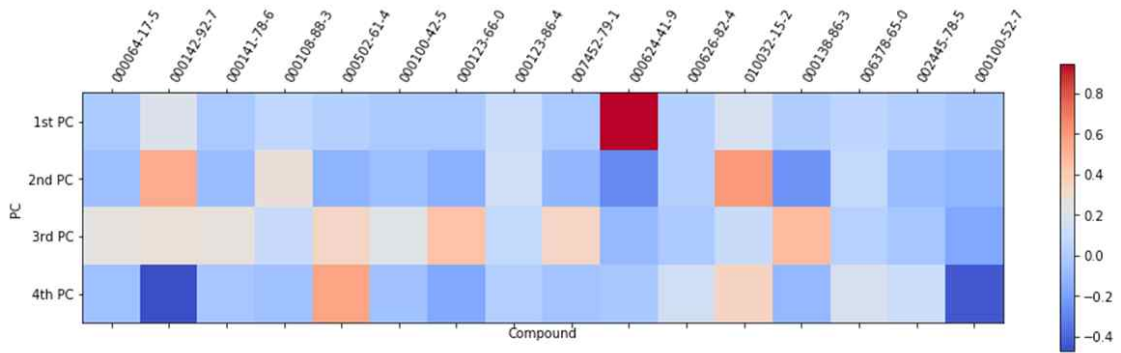


그림 116. 사과 냄새 프로파일 주요 화합물 히트맵 (PCA 분석)

표 75. 사과 냄새 프로파일 주요 화합물 (PCA 분석)

000064-17-5	Ethanol	007452-79-1	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester
000142-92-7	Acetic acid, hexyl ester	000624-41-9	1-Butanol, 2-methyl-, acetate
000141-78-6	Acetic acid, ethyl ester	000626-82-4	Hexanoic acid, butyl ester
000108-88-3	Toluene	010032-15-2	HEXYL 2-METHYL BUTYRATE
000502-61-4	.alpha.-Farnesene	000138-86-3	dl-Limonene
000100-42-5	Styrene	006378-65-0	Hexanoic acid, hexyl ester
000123-66-0	Hexanoic acid, ethyl ester	002445-78-5	Butanoic acid, 2-methyl-, 2-methylbutyl ester
000123-86-4	Acetic acid, butyl ester	000100-52-7	Benzaldehyde

② 사과 냄새 프로파일의 LDA 분석

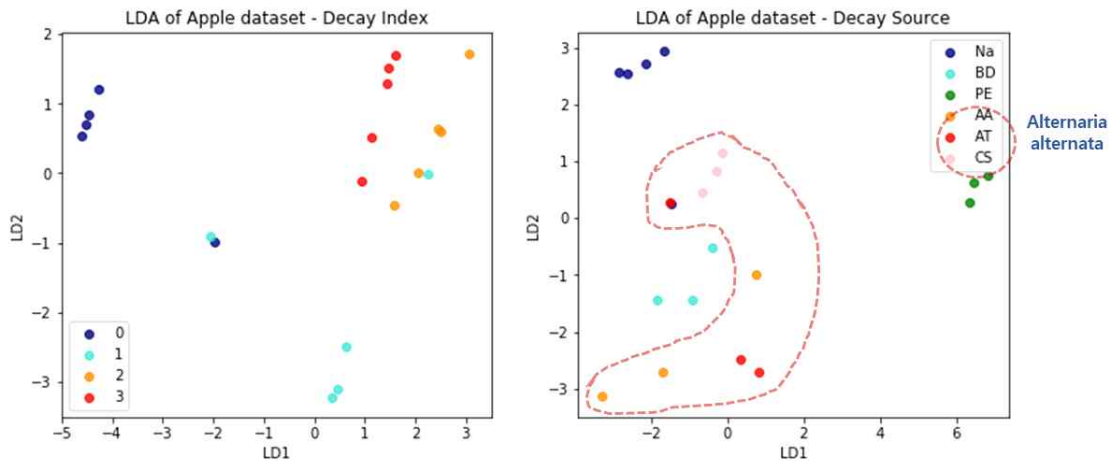


그림 117. 사과 냄새 프로파일 LDA 분석 결과

위의 LDA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 차원축소 성분 1과 차원축소 성분 2만으로는 구분되어지는 정도가 부패 1단계와 부패 0단계, 2 단계가 각각 1개의 값이 구분되어지지 않고 있음을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인 균에 대한 결과를 보면, 부패원인균인 AA, AT, CS가 PCA의 결과와 같이 일정한 영역에 모여 있음을 알 수 있다. LDA의 분석 결과는 차원축소 성분 1부터 3까지 사용하였

을 때, 부패지수의 경우 100%의 설명력을 나타내고 부패원인균의 경우 95%의 설명력을 나타낸다.

LDA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들 중 각 부패지수 별 또는 부패원인균별 상위 10개의 화합물들에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

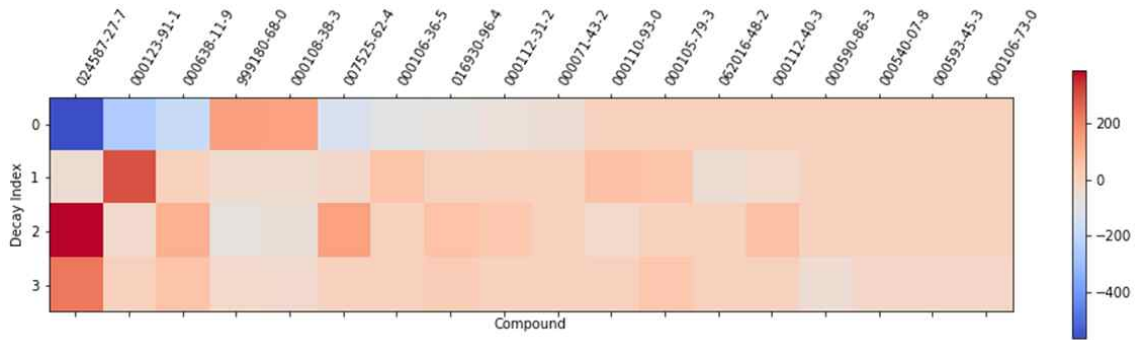


그림 118. 사과 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 76. 사과 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 (LDA 분석)

024587-27-7	(3E)-3-methylhexa-1,3,5-triene	000071-43-2	Benzene
000123-91-1	1,4-Dioxane	000110-93-0	6-Methyl-5-hepten-2-one
000638-11-9	Isopropyl butanoate	000105-79-3	Hexanoic acid, 2-methylpropyl ester
999180-68-0	Heptanoic acid, 2-methylbutyl ester	062016-48-2	Butane, 1-methoxy-2-methyl-
000108-38-3	Benzene, 1,3-dimethyl-	000112-40-3	Dodecane
007525-62-4	Benzene, 1-ethenyl-3-ethyl-	000590-86-3	Butanal, 3-methyl-
000106-36-5	Propanoic acid, propyl ester	000540-07-8	Hexanoic acid, pentyl ester
016930-96-4	HEXYL TIGLATE	000593-45-3	Octadecane
000112-31-2	Decanal	000106-73-0	Heptanoic acid, methyl ester

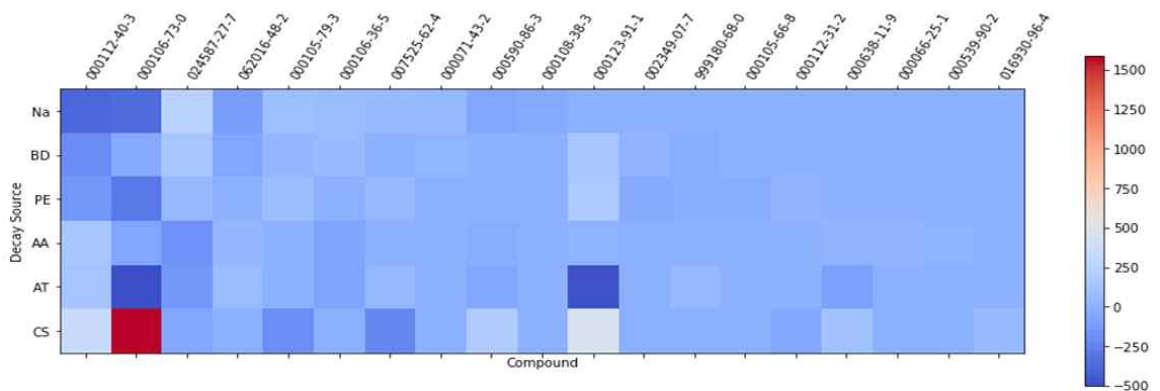


그림 119. 사과 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 77. 사과 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 (LDA 분석)

000112-40-3	Dodecane	000123-91-1	1,4-Dioxane
000106-73-0	Heptanoic acid, methyl ester	002349-07-7	Propanoic acid, 2-methyl-, hexyl ester
024587-27-7	(3E)-3-methylhexa-1,3,5-triene	999180-68-0	Heptanoic acid, 2-methylbutyl ester
062016-48-2	Butane, 1-methoxy-2-methyl-	000105-66-8	Butanoic acid, propyl ester
000105-79-3	Hexanoic acid, 2-methylpropyl ester	000112-31-2	Decanal
000106-36-5	Propanoic acid, propyl ester	000638-11-9	Isopropyl butanoate
007525-62-4	Benzene, 1-ethenyl-3-ethyl-	000066-25-1	Hexanal
000071-43-2	Benzene	000539-90-2	Butanoic acid, 2-methylpropyl ester
000590-86-3	Butanal, 3-methyl-	016930-96-4	HEXYL TIGLATE
000108-38-3	Benzene, 1,3-dimethyl-		

(나) 시로코 (R) 파프리카의 냄새 프로파일과 부패 단계, 부패원인균과의 관계 분석

① 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일의 PCA 분석



그림 120. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 PCA 분석 결과

위의 PCA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 주성분 1 과 주성분 2만으로는 명확히 구분되어지지 않고 있음을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패 원인균에 대한 결과 또한 명확하게 구분되어지지 않는다. 그러나 주성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 99.7%의 설명력을 나타낸다.

PCA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들을 절대값 0.1이상 인 화합물에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

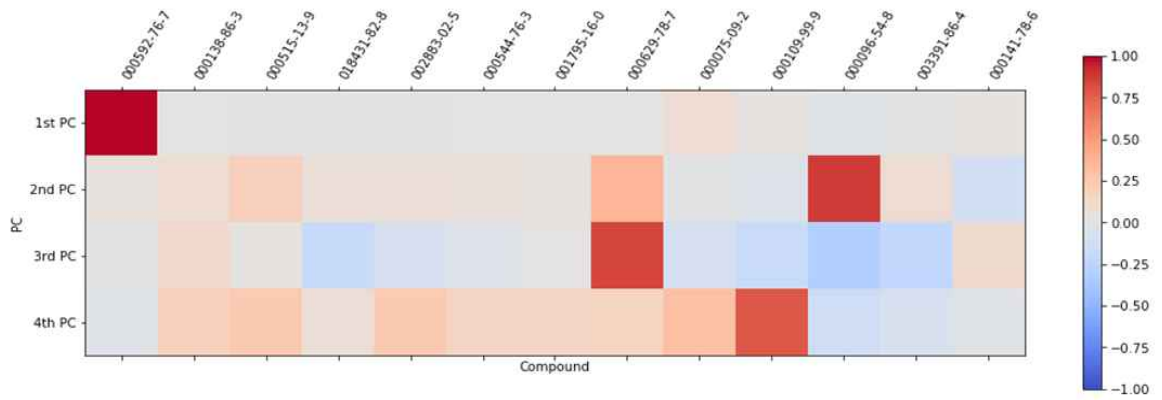


그림 121. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 주요 화합물 히트맵 (PCA 분석)

표 78. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 주요 화합물 (PCA 분석)

000592-76-7	hept-1-ene	000629-78-7	Heptadecane
000138-86-3	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene	000075-09-2	dichloromethane
000515-13-9	(1S,2S,4R)-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(prop-1-en-2-yl)cyclohexane	000109-99-9	oxolane
018431-82-8	(3R,4aS,8aR)-8a-methyl-5-methylidene-3-prop-1-en-2-yl-1,2,3,4,4a,6,7,8-octahydronaphthalene	000096-54-8	1-methylpyrrole
002883-02-5	nonylcyclohexane	003391-86-4	oct-1-en-3-ol
000544-76-3	Hexadecane	000141-78-6	ethyl acetate
001795-16-0	decylcyclohexane		

② 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일의 LDA 분석

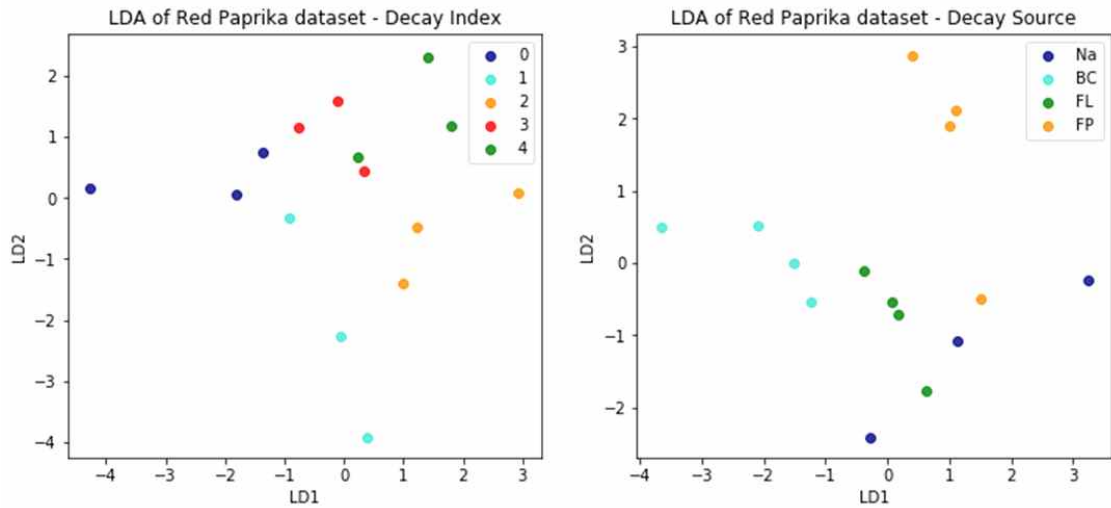


그림 122. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 LDA 분석 결과

위의 LDA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 차원축소 성분 1과 2만으로도 잘 구분되어지는 것을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인군에 대한 결과를 보면, 부패원인군인 FL이 1개의 값이 감염되지 않는 것과 구분되지 않을 뿐, 전반적으로 잘 구분되어지는 것을 알 수 있다. LDA의 분석 결과는 차원축소성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 부패지수와 부패원인군 모두에서 100%의 설명력을 나타낸다.

LDA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들 중 각 부패지수 별 또는 부패원인군별 상위 10개의 화합물들에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

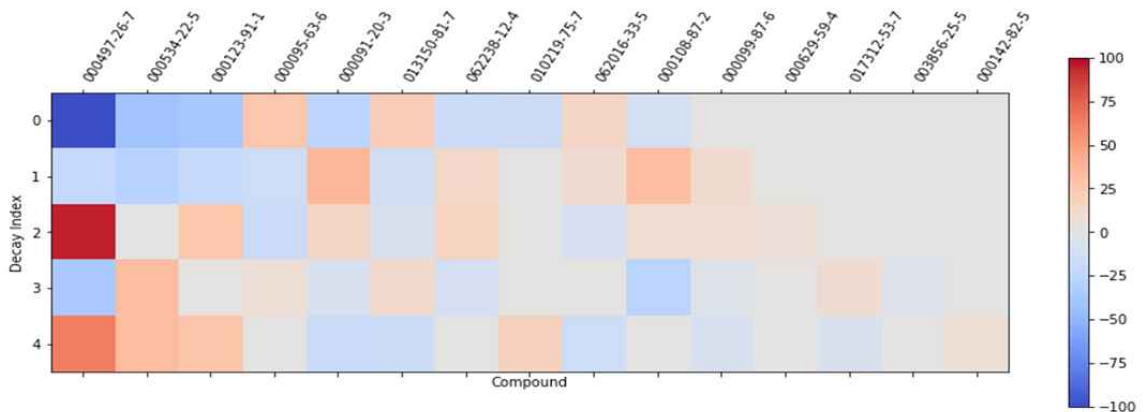


그림 123. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 79. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 (LDA 분석)

000497-26-7	2-methyl-1,3-dioxolane	062016-33-5	4-methyldecane
000534-22-5	2-methylfuran	000108-87-2	methylcyclohexane
000123-91-1	1,4-dioxane	000099-87-6	1-methyl-4-propan-2-ylbenzene
000095-63-6	1,2,4-trimethylbenzene	000629-59-4	Tetradecane
000091-20-3	naphthalene	017312-53-7	3,6-dimethyldecane
013150-81-7	2,6-dimethyldecane	003856-25-5	(1S,6S,7S,8S)-1,3-dimethyl-8-(propan-2-yl)-tricyclo[4.4.0.0.2,7]dec-3-ene
062238-12-4	2,3,6-trimethyldecane	000142-82-5	Heptane
010219-75-7	(3R,4aR,5S)-4a,5-dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-naphthalene		

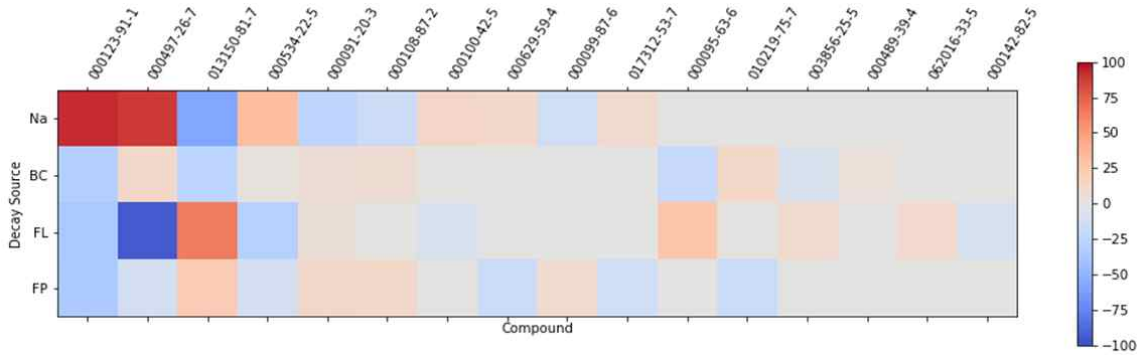


그림 124. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 80. 시로코 (R) 파프리카 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물(LDA 분석)

000123-91-1	1,4-dioxane	000099-87-6	1-methyl-4-propan-2-ylbenzene
000497-26-7	2-methyl-1,3-dioxolane	017312-53-7	3,6-dimethyldecane
013150-81-7	2,6-dimethyldecane	000095-63-6	1,2,4-trimethylbenzene
000534-22-5	2-methylfuran	010219-75-7	(3R,4aR,5S)-4a,5-dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-naphthalene
000091-20-3	naphthalene	003856-25-5	(1S,6S,7S,8S)-1,3-dimethyl-8-(propan-2-yl)-tricyclo[4.4.0.0.2,7]dec-3-ene
000108-87-2	methylcyclohexane	000489-39-4	(1aR,4aR,7R,7aR,7bS)-1,1,7-trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene
000100-42-5	styrene	062016-33-5	4-methyldecane
000629-59-4	Tetradecane	000142-82-5	Heptane

(다) 볼란테 (Y) 파프리카의 냄새 프로파일과 부패 단계, 부패원인균과의 관계 분석

① 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일의 PCA 분석

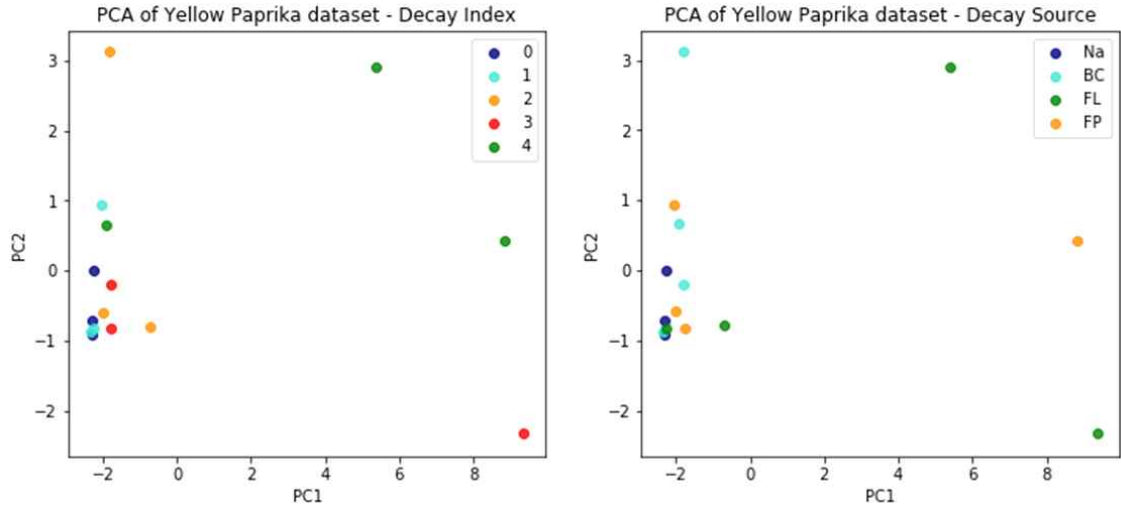


그림 125. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 PCA 분석 결과

위의 PCA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 주성분 1과 주성분 2만으로는 명확히 구분되어지지 않고 있음을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패 원인균에 대한 결과 또한 명확하게 구분되어지지 않는다. 그러나 주성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 95.6%의 설명력을 나타낸다.

PCA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들을 절대값 0.1 이상인 화합물에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

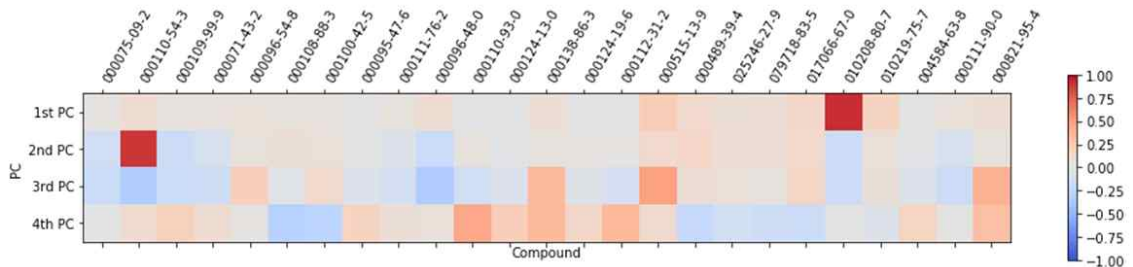


그림 126. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 주요 화합물 히트맵 (PCA 분석)

표 81. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 주요 화합물 (PCA 분석)

000075-09-2	dichloromethane	000124-19-6	nonanal
000110-54-3	hexane	000112-31-2	decanal
000109-99-9	oxolane	000515-13-9	(1S,2S,4R)-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(prop-1-en-2-yl)cyclohexane
000071-43-2	benzene	000489-39-4	(1aR,4aR,7R,7aR,7bS)-1,1,7-trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene
000096-54-8	1-methylpyrrole	025246-27-9	(1aR,4aS,7R,7aR,7bS)-1,1,7-trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene
000108-88-3	toluene	079718-83-5	4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenecyclo[4.1.0]heptane
000100-42-5	styrene	017066-67-0	(3R,4aS,8aR)-8a-methyl-5-methylidene-3-prop-1-en-2-yl-1,2,3,4,4a,6,7,8-octahydronaphthalene
000095-47-6	1,2-xylene	010208-80-7	(1S,4aS,8aR)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphthalene
000111-76-2	2-butoxyethanol	010219-75-7	(3R,4aR,5S)-4a,5-dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-naphthalene
000096-48-0	oxolan-2-one	004584-63-8	2,5-bis(2-methylbutan-2-yl)cyclohexa-2,5-diene-1,4-dione
000110-93-0	6-methylhept-5-en-2-one	000111-90-0	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol
000124-13-0	octanal	000821-95-4	undec-1-ene
000138-86-3	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene		

② 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일의 LDA 분석

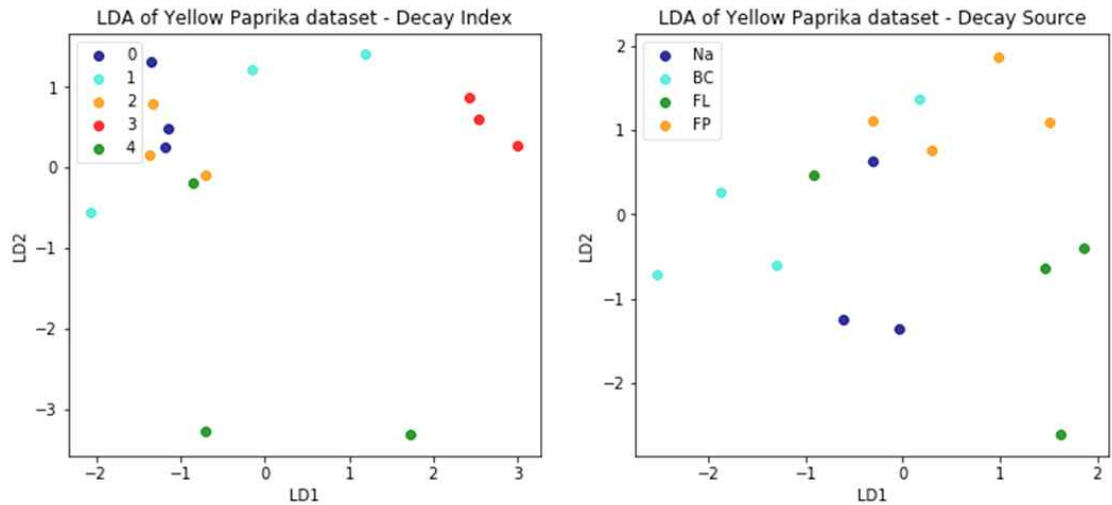


그림 127. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 LDA 분석 결과

위의 LDA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 차원축소성분 1과 2만 보면, 부패 단계0의 2개와 단계1의 1개가 잘 구분되지 않지만, 전반적으로는 구분되어지는 것을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인군에 대한 결과를 보면, 부패원인군인 BC 1개의 값이 FC와 구분되지 않고 FL 1개와 감염되지 않은 것과 구분되지 않음을 알 수 있으나, 나머지는 전반적으로 구분되어지는 것을 알 수 있다. LDA의 분석 결과는 차원축소성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 부패지수와 부패원인군 모두에서 100%의 설명력을 나타낸다.

LDA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들 중 각 부패지수별 또는 부패원인군별 상위 10개의 화합물들에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

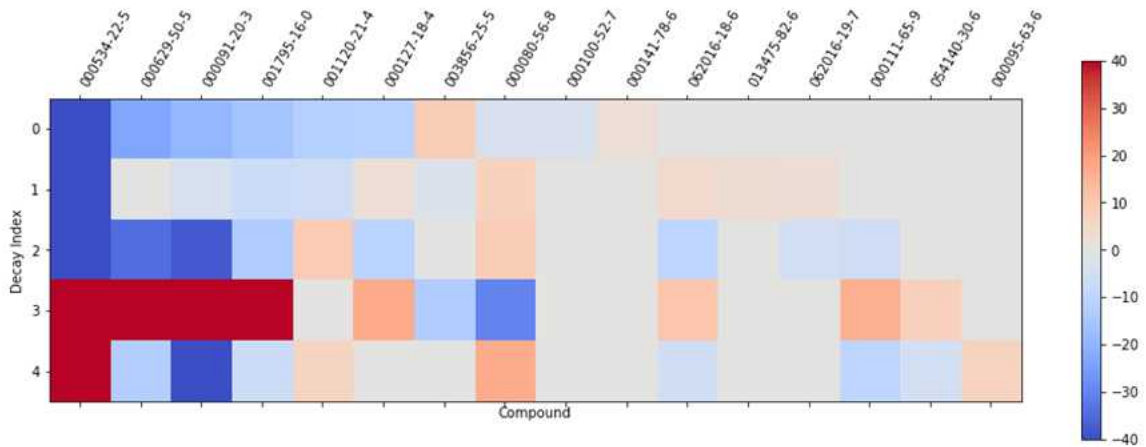


그림 128. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 82. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 (LDA 분석)

000534-22-5	2-methylfuran	001120-21-4	undecane
000629-50-5	Tridecane	013475-82-6	2,2,4,6,6-pentamethylheptane
000526-73-8	1,2,3-trimethylbenzene	000108-67-8	1,3,5-trimethylbenzene
074367-34-3	(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl) 2-methylpropanoate	000087-44-5	(1S,4E,9R)-4,11,11-trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene
001795-16-0	decylcyclohexane	062238-13-5	2,3,7-trimethyldecane
000091-20-3	naphthalene	000110-87-2	3,4-dihydro-2H-pyran
000080-56-8	4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene	000112-40-3	Dodecane
017312-75-3	5-methyl-5-propylnonane	000123-91-1	1,4-dioxane
000127-18-4	1,1,2,2-tetrachloroethene	000629-78-7	Heptadecane
001758-88-9	2-ethyl-1,4-dimethylbenzene		

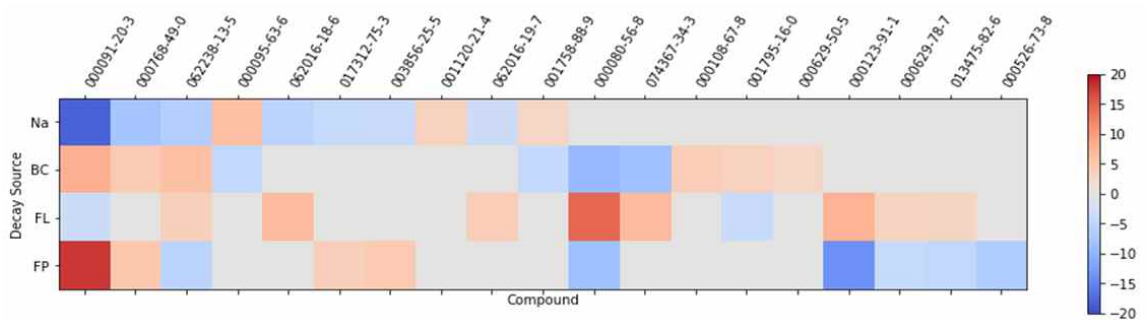


그림 129. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 83. 볼란테 (Y) 파프리카 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 (LDA 분석)

000091-20-3	naphthalene	000080-56-8	4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene
000768-49-0	2-methylprop-1-enylbenzene	074367-34-3	(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl) 2-methylpropanoate
062238-13-5	2,3,7-trimethyldecane	000108-67-8	1,3,5-trimethylbenzene
000095-63-6	1,2,4-trimethylbenzene	001795-16-0	decylcyclohexane
062016-18-6	5-ethyl-2-methyloctane	000629-50-5	Tridecane
017312-75-3	5-methyl-5-propylnonane	000123-91-1	1,4-dioxane
003856-25-5	(1S,6S,7S,8S)-1,3-dimethyl-8-(propan-2-yl)-tricyclo[4.4.0.0.2,7]dec-3-ene	000629-78-7	Heptadecane
001120-21-4	undecane	013475-82-6	2,2,4,6,6-pentamethylheptane
062016-19-7	6-ethyl-2-methyloctane	000526-73-8	1,2,3-trimethylbenzene
001758-88-9	2-ethyl-1,4-dimethylbenzene		

(라) 오렌지프로 (O) 파프리카의 냄새 프로파일과 부패 단계, 부패원인균과의 관계 분석

① 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일의 PCA 분석

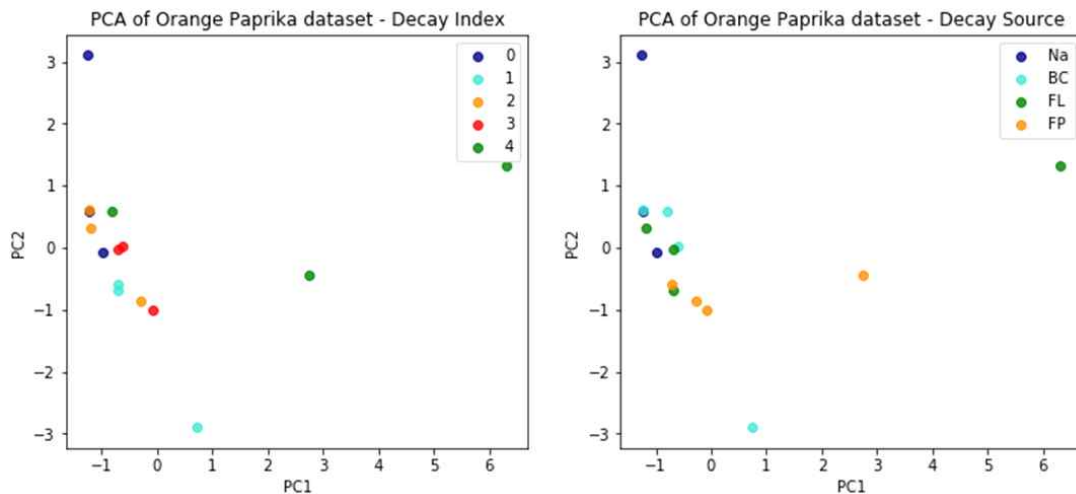


그림 130. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 PCA 분석 결과

위의 PCA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 주성분 1 과 주성분 2만으로는 3단계와 4단계는 구분이 되어나, 0~2단계는 명확히 구분되어 지지 않고 있음을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인균에 대한 결과 또한 FL, FP 균주는 구분되어지나 BC 균주와 감염되지 않은 결과는 명확하게 구분되어지지 않는다. 주성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 90.9%의 설명력을 나타낸다.

PCA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들을 절대값 0.1이 상 인 화합물에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

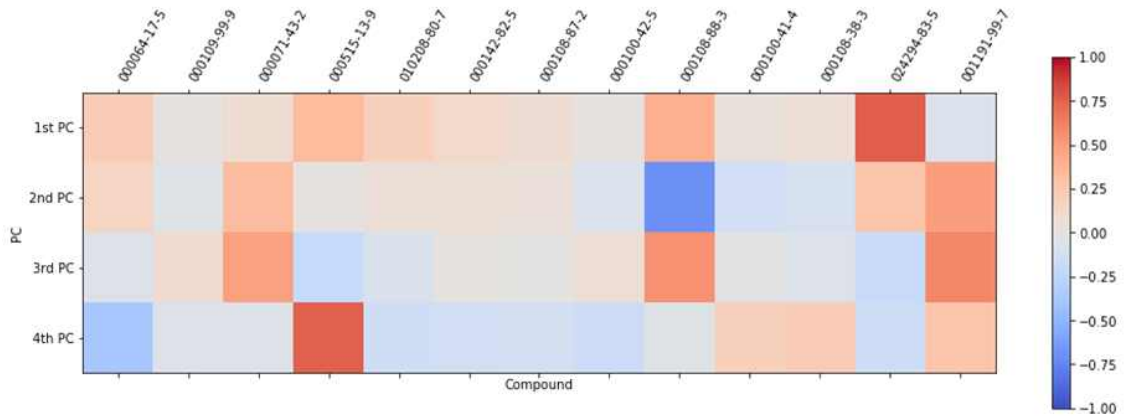


그림 131. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 주요 화합물 히트맵 (PCA 분석)

표 84. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 주요 화합물 (PCA 분석)

000064-17-5	ethanol	000100-42-5	styrene
000109-99-9	oxolane	000108-88-3	toluene
000071-43-2	benzene	000100-41-4	ethylbenzene
000515-13-9	(1S,2S,4R)-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(prop-1-en-2-yl)cyclohexane	000108-38-3	1,3-xylene
010208-80-7	(1S,4aS,8aR)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphthalene	024294-83-5	2,5-di(propan-2-yl)pyrazine
000142-82-5	Heptane	001191-99-7	2,3-dihydrofuran
000108-87-2	methylcyclohexane		

② 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일의 LDA 분석

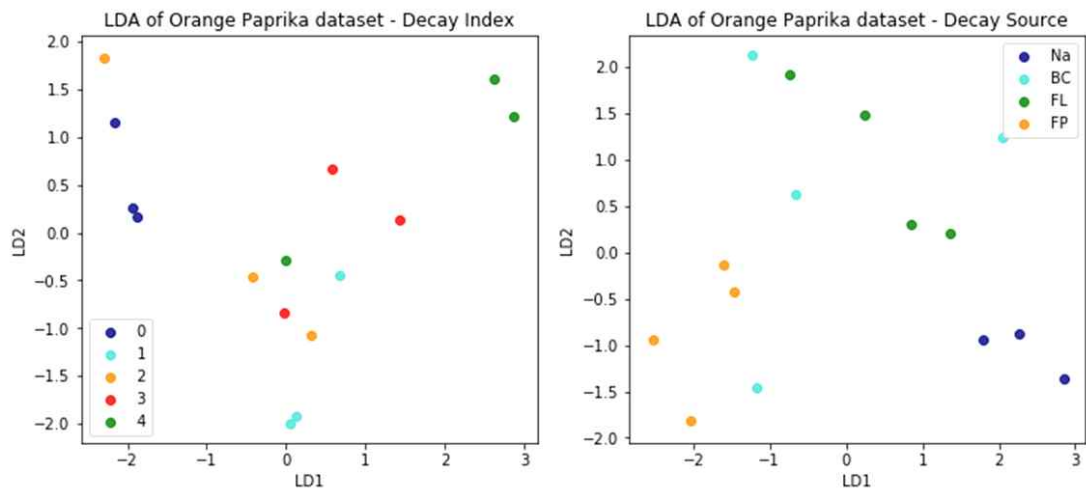


그림 132. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 LDA 분석 결과

위의 LDA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 차원축소 성분 1과 2만 보면, 부패 단계 2, 3, 4에서의 각각 1개가 잘 구분되지 않지만, 전반적

으로는 구분되어지는 것을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인군에 대한 결과를 보면 잘 구분되어지는 것을 알 수 있다. LDA의 분석 결과는 차원축소성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 부패지수와 부패원인군 모두에서 100%의 설명력을 나타낸다.

LDA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들 중 각 부패지수 별 또는 부패원인군별 상위 10개의 화합물들에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

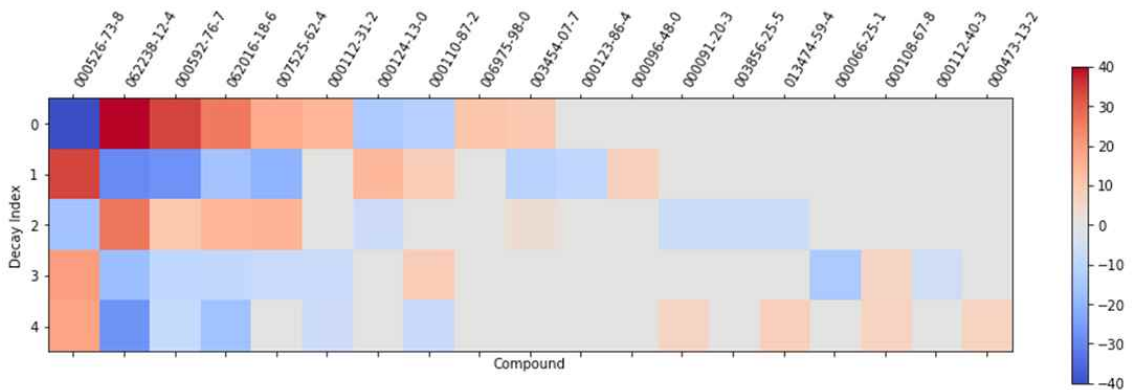


그림 133. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 85. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 (LDA 분석)

000526-73-8	1,2,3-trimethylbenzene	000123-86-4	butyl acetate
062238-12-4	2,3,6-trimethyldecane	000096-48-0	oxolan-2-one
000592-76-7	hept-1-ene	000091-20-3	naphthalene
062016-18-6	5-ethyl-2-methyloctane	003856-25-5	(1S,6S,7S,8S)-1,3-dimethyl-8-(propan-2-yl)-tricyclo[4.4.0.0.2,7]dec-3-ene
007525-62-4	1-ethenyl-3-ethylbenzene	013474-59-4	(1S,5S,6R)-4,6-dimethyl-6-(4-methylpent-3-enyl)bicyclo[3.1.1]hept-3-ene
000112-31-2	decanal	000066-25-1	hexanal
000124-13-0	octanal	000108-67-8	1,3,5-trimethylbenzene
000110-87-2	3,4-dihydro-2H-pyran	000112-40-3	Dodecane
006975-98-0	2-methyldecane	000473-13-2	(3R,4aR,8aR)-5,8a-dimethyl-3-prop-1-en-2-yl-2,3,4,4a,7,8-hexahydro-1H-naphthalene
003454-07-7	1-ethenyl-4-ethylbenzene		

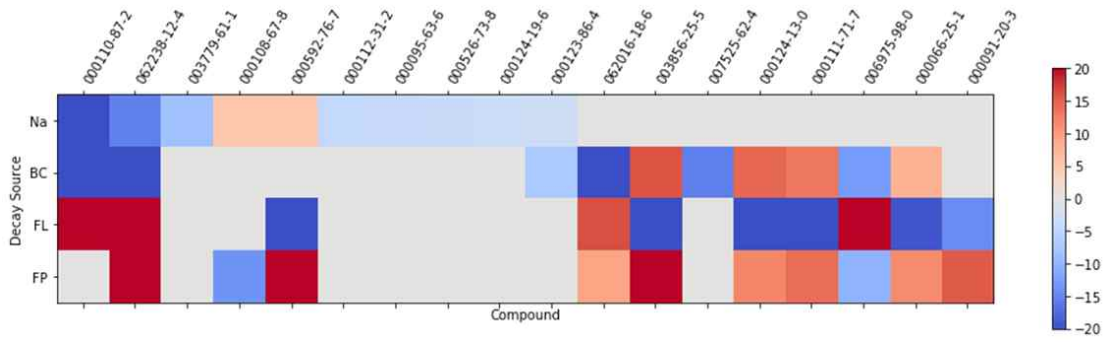


그림 134. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 86. 오렌지프로 (O) 파프리카 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 (LDA 분석)

000110-87-2	naphthalene	000123-86-4	2-ethyl-1,4-dimethylbenzene
062238-12-4	2-methylprop-1-enylbenzene	062016-18-6	4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene
003779-61-1	2,3,7-trimethyldecane	003856-25-5	(3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl) 2-methylpropanoate
000108-67-8	1,2,4-trimethylbenzene	007525-62-4	1,3,5-trimethylbenzene
000592-76-7	5-ethyl-2-methyloctane	000124-13-0	decylcyclohexane
000112-31-2	5-methyl-5-propylnonane	000111-71-7	Tridecane
000095-63-6	(1S,6S,7S,8S)-1,3-dimethyl-8-(propan-2-yl)-tricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]dec-3-ene	006975-98-0	1,4-dioxane
000526-73-8	undecane	000066-25-1	Heptadecane
000124-19-6	6-ethyl-2-methyloctane	000091-20-3	2,2,4,6,6-pentamethylheptane

(마) 딸기의 냄새 프로파일과 부패 단계, 부패원인균과의 관계 분석

① 딸기 냄새 프로파일의 PCA 분석

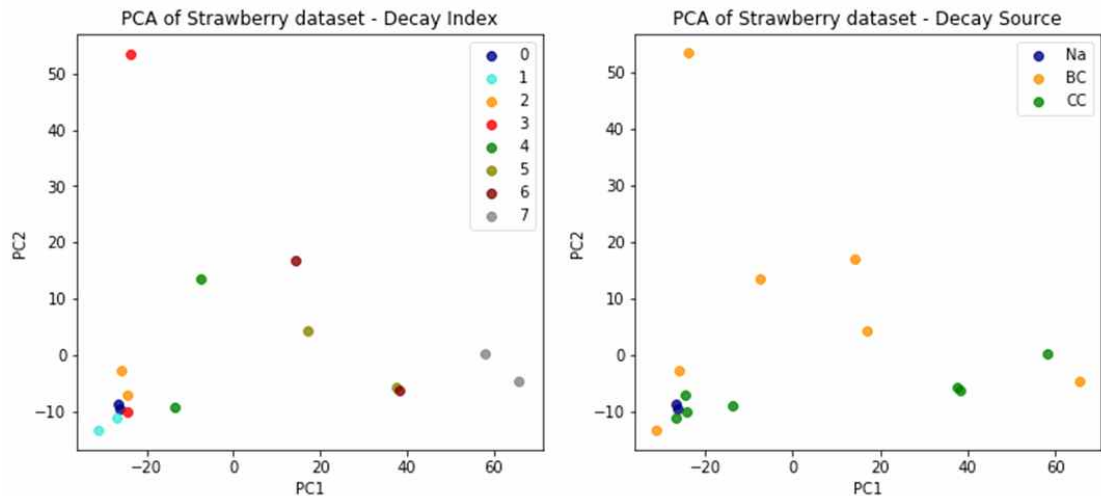


그림 135. 딸기 냄새 프로파일 PCA 분석 결과

위의 PCA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 주성분 1 과 주성분 2만으로는 0~3단계는 구분이 안 되어지고 4단계, 5~6단계, 7단계가 구분되어진다. 이는 4단계 48시간 이후 냄새 화합물의 변화가 일어나며, 60시간, 84시간 이후 변화가 일어남을 나타낸다. 오른쪽의 부패원인균에 대한 결과를 보면 BC 균주 2 개가 감염되지 않은 결과, CC의 결과와 1개씩 구분되어지지 않는 결과를 나타낸다. 주성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 99.5%의 설명력을 나타낸다.

PCA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들을 절대값 0.1 이상 인 화합물에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

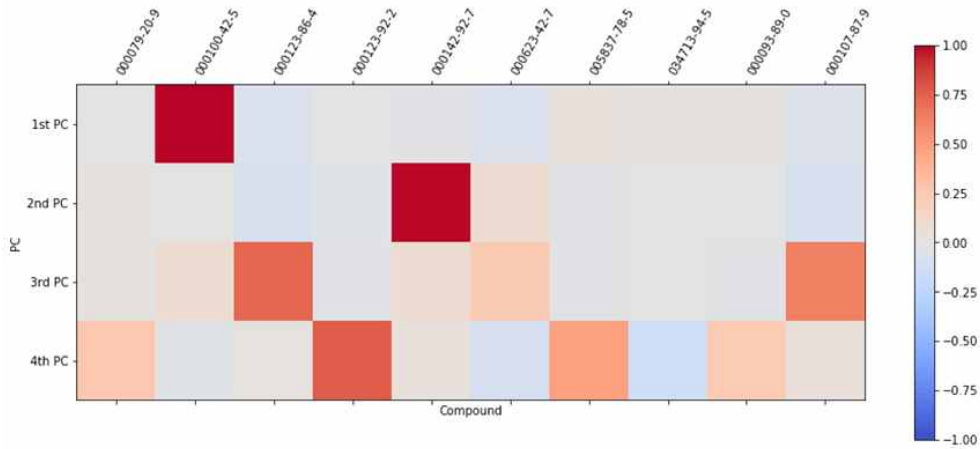


그림 136. 딸기 냄새 프로파일 주요 화합물 히트맵 (PCA 분석)

표 87. 딸기 냄새 프로파일 주요 화합물 (PCA 분석)

000079-20-9	methyl acetate	000623-42-7	methyl butanoate
000100-42-5	styrene	005837-78-5	ethyl (E)-2-methylbut-2-enoate
000123-86-4	butyl acetate	034713-94-5	2-methylbutan-1-ol
000123-92-2	3-methylbutyl acetate	000093-89-0	ethyl benzoate
000142-92-7	hexyl acetate	000107-87-9	pentan-2-one

② 딸기 냄새 프로파일의 LDA 분석

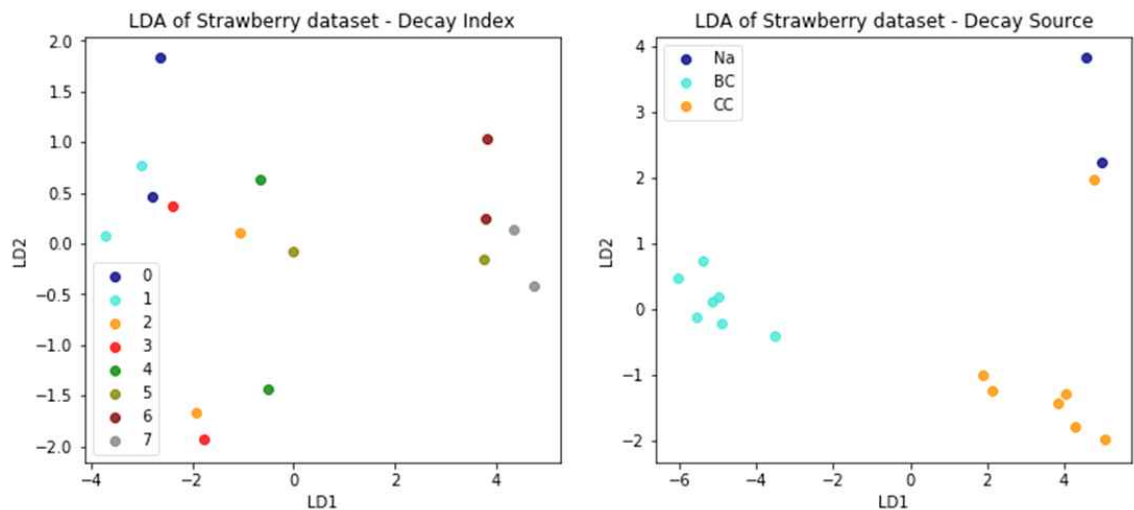


그림 137. 딸기 냄새 프로파일 LDA 분석 결과

위의 LDA 분석 결과 중 부패 단계인 왼쪽의 결과를 보면 각 부패 단계별로 차원축소 성분 1과 2만 보면, 부패 단계 2, 3에서의 구분만 잘 되지 않으며 전반적으로는 구분되어지는 것을 알 수 있으며, 오른쪽의 부패원인군에 대한 결과를 보면 잘 구분되어지는 것을 알 수 있다. LDA의 분석 결과는 차원축소성분 1부터 4까지 사용하였을 때, 부패지수는 97.6%와 부패원인군은 100%의 설명력을 나타낸다.

LDA 분석에 대한 냄새 화합물의 영향력 분석을 위해 설명변수 값들 중 각 부패지수 별 또는 부패원인군별 상위 10개의 화합물들에 대한 히트맵을 아래와 같이 나타내었다.

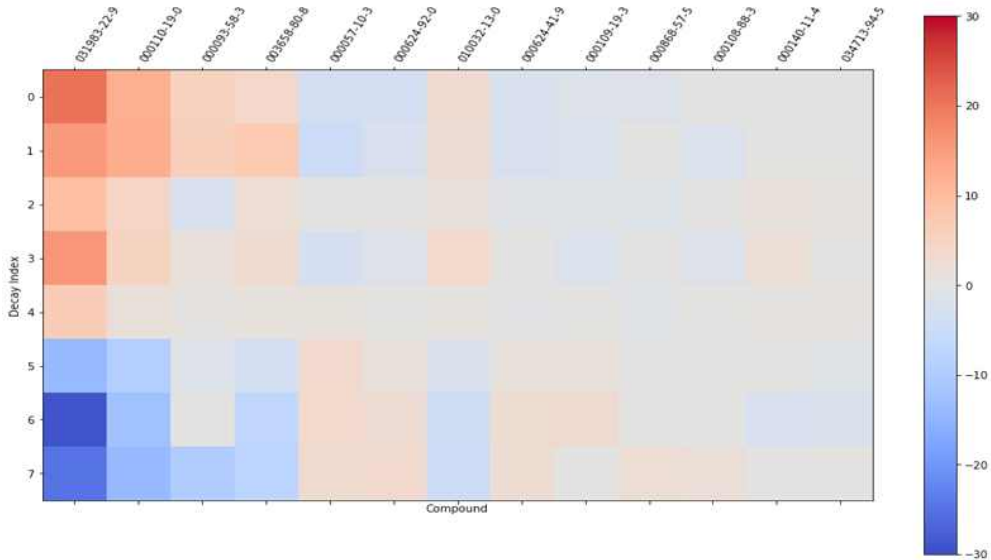


그림 138. 딸기 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 88. 딸기 냄새 프로파일 부패 지수 주요 화합물 (LDA 분석)

031983-22-9	alpha-muurolene	000624-41-9	2-methylbutyl acetate
000110-19-0	2-Methylpropyl acetate	000109-19-3	butyl 3-methylbutanoate
000093-58-3	methyl benzoate	000868-57-5	METHYL 2-METHYLBUTANOATE
003658-80-8	(methyltrisulfanylmethane	000108-88-3	toluene
000057-10-3	hexadecanoic acid	000140-11-4	benzyl acetate
000624-92-0	(methyldisulfanylmethane	034713-94-5	2-methylbutan-1-ol
010032-13-0	hexyl 3-methylbutanoate		

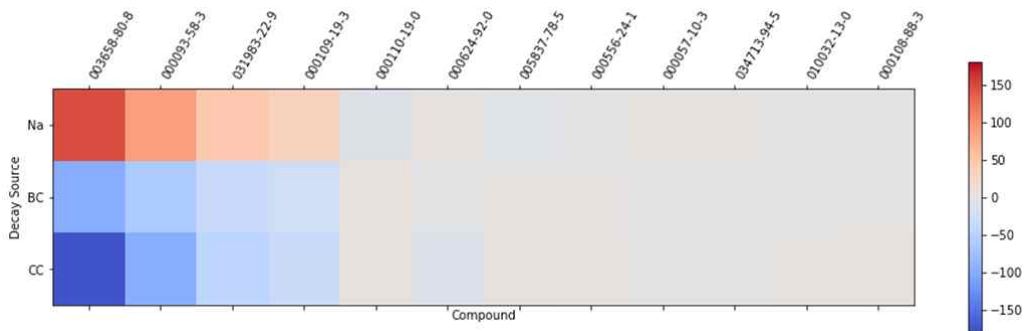


그림 139. 딸기 냄새 프로파일 부패 원인군 주요 화합물 히트맵 (LDA 분석)

표 89. 딸기 냄새 프로파일 부패 원인균 주요 화합물 (LDA 분석)

003658-80-8	(methyltrisulfanyl)methane	005837-78-5	ethyl (E)-2-methylbut-2-enoate
000093-58-3	methyl benzoate	000556-24-1	Methyl 3-methylbutanoate
031983-22-9	alpha-muurolene	000057-10-3	hexadecanoic acid
000109-19-3	butyl 3-methylbutanoate	034713-94-5	2-methylbutan-1-ol
000110-19-0	2-Methylpropyl acetate	010032-13-0	hexyl 3-methylbutanoate
000624-92-0	(methyldisulfanyl)methane	000108-88-3	toluene

(4) 특정 농산물의 냄새 프로파일로부터 부패원인균과 부패단계 예측 모델 개발

각 농산물의 냄새 프로파일 분석에서 선별된 화합물의 GC-MS 값을 사용하여 기계학습 방법 중 대표적 지도학습 분야인 K-최근접 이웃 알고리즘(K-Nearest Neighbor Algorithm, NKK), 선형판별분석(Linear Discriminant Analysis, LDA), 랜덤 포레스트(Random Forest, RF), 서포트 벡터 머신(Support Vector Machine, SVM), 인공신경망(Artificial Neural Network, ANN)의 5가지 기법을 적용하여 정확도 및 화합물 GC-MS값의 사용 개수 등을 고려하여 최적의 예측 모델을 분석하였으며, 분석 결과를 토대로 예측 모델을 개발하였다.

우선, 기계학습을 위해 실험 데이터의 분포적 특성을 알아보기 위해 사과 GC-MS 결과 데이터 2,400건의 5반복 실험 결과 중 평균과 표준편차 값 측정 기준인 최대, 최소 값을 제외한 3반복 데이터를 활용하여 Shapiro-Wilk 검사법으로 정규성 검사를 해 본 결과 87.8%가 정규성이 있는 것으로 분석되었다.

위의 분석 결과를 토대로, GC-MS 값의 정규성을 가정하여, 각 GC-MS 값의 정규분포 상에서 무작위 추출법(Random Sampling)을 사용하여 1,000 건씩 데이터를 추출하여, 기계학습 입력 데이터로 사용하였으며, 냄새 프로파일 데이터 세트는 PCA 분석으로 만들어진 PCA 세트와 LDA 분석으로 나온 LDA 세트, 두 세트를 함께 사용한 Both 세트로 구분하여 사용하였다. 측정 지표로는 정확도(Accuracy)를 백분율로 표현 시 소수 둘째 자리에서 반올림한 값을 사용하였으며, 정확도의 계산 식은 아래와 같다.

$$accuracy = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN}$$

여기에서 TP=참 양성(True Positives), TN=참 음성(True Negatives),FP=허위 양성(False Positives), FN=허위 음성(False Negatives)이다.

각 농산물 별 결과는 아래와 같다.

(가) 사과 부패원인균과 부패단계 예측 모델 개발

사과의 5가지 기계학습 기법으로 만들어진 예측 모델의 분석결과는 아래의 그림과 같다.

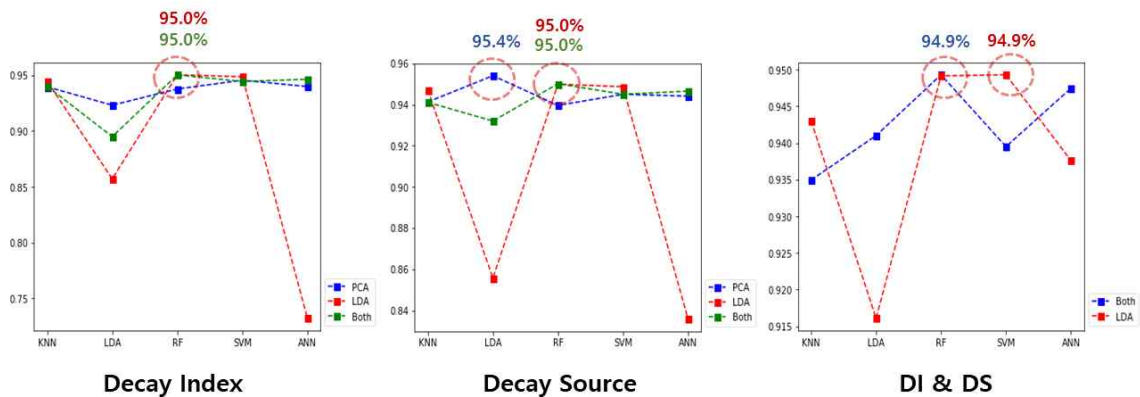


그림 140. 사과 예측 모델 분석 결과 (정확도)

부패지수(Decay Index) 예측 결과인 좌측 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN, RF, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF와 ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(95.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이 때의 데이터 세트는 LDA와 Both 세트이다. 그러나 적은 데이터세트로 높은 정확도 분석을 하는 것이 데이터간의 영향력을 줄이고 간접 가능성을 낮추므로 LDA 세트 결과가 더 좋은 결과이다.

부패원인균(Decay Source) 예측 결과인 가운데 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF와 ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(95.4%)를 나타내는 기계학습법은 LDA이며 이 때의 데이터 세트는 PCA 세트이다.

부패지수와 부패원인균(DI & DS) 동시 예측 결과인 우측 그래프를 보면, LDA 세트가 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 LDA, RF, ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(94.9%)를 나타내는 기계학습법은 RF와 SVM이며 이 때의 데이터 세트는 각각 Both와 LDA 세트이다.

(나) 시로코 (R) 파프리카의 부패원인균과 부패단계 예측 모델 개발

시로코 (R) 파프리카의 5가지 기계학습 기법으로 만들어진 예측 모델의 분석결과는 아래의 그림과 같다.

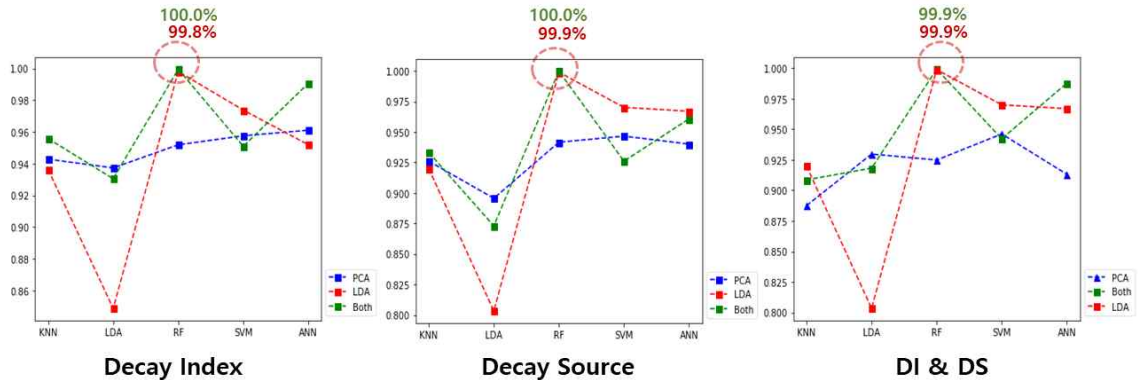


그림 141. 시로코 (R) 파프리카 예측 모델 분석 결과 (정확도)

부패지수(Decay Index) 예측 결과인 좌측 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 RF, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 KNN, RF와 ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이 때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패원인균(Decay Source) 예측 결과인 가운데 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 SVM, ANN 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 KNN, RF에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이 때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패지수와 부패원인균(DI & DS) 동시 예측 결과인 우측 그래프를 보면, PCA 세트가 LDA 결과에서 높은 정확도를 나타내고 있으며, LDA 세트는 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF, ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(99.9%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 각각 Both와 LDA 세트이다. 그러나 적은 데이터세트로 높은 정확도 분석하는 LDA 세트 결과가 더 좋은 결과이다.

(다) 볼란테 (Y) 파프리카의 부패원인균과 부패단계 예측 모델 개발

볼란테 (Y) 파프리카의 5가지 기계학습 기법으로 만들어진 예측 모델의 분석결과는 아래의 그림과 같다.

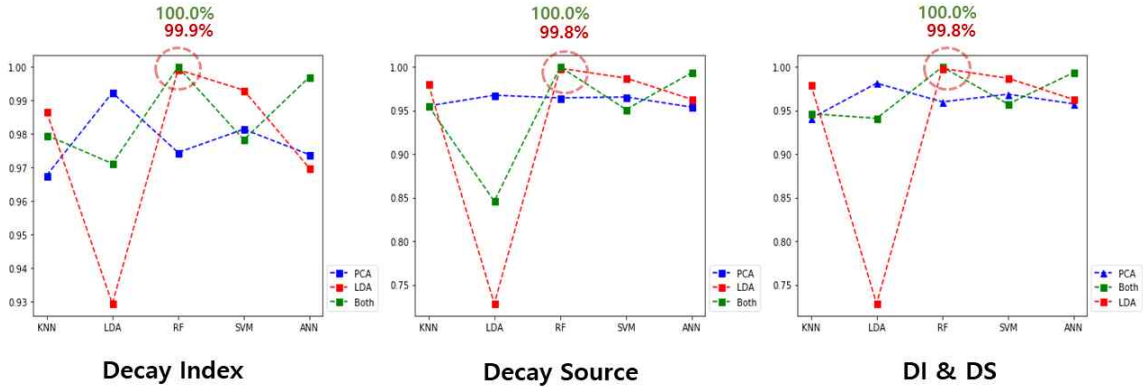


그림 142. 볼란테 (Y) 파프리카 예측 모델 분석 결과 (정확도)

부패지수(Decay Index) 예측 결과인 좌측 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF와 ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이 때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패원인균(Decay Source) 예측 결과인 가운데 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF, ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이 때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패지수와 부패원인균(DI & DS) 동시 예측 결과인 우측 그래프를 보면, PCA 세트가 LDA 결과에서 높은 정확도를 나타내고 있으며, LDA 세트는 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF, ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

(라) 오렌지프로 (O) 파프리카의 부패원인균과 부패단계 예측 모델 개발

오렌지프로 (O) 파프리카의 5가지 기계학습 기법으로 만들어진 예측 모델의 분석결과는 아래의 그림과 같다.

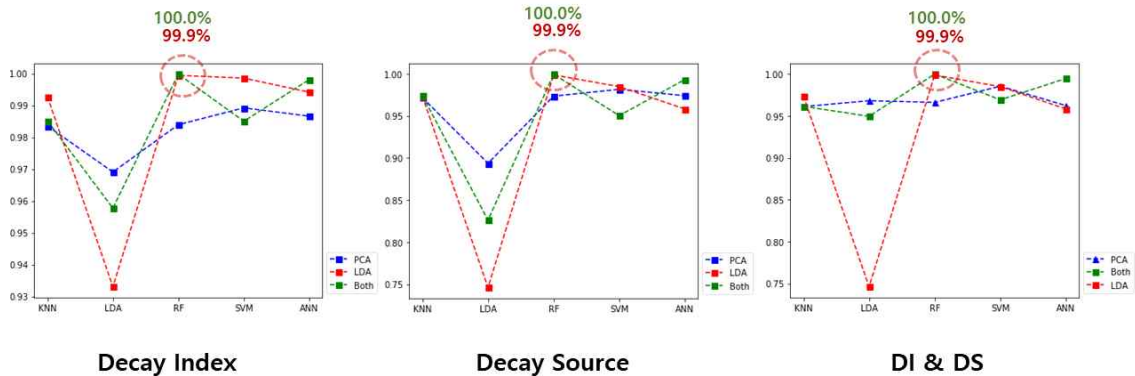


그림 143. 오렌지프로 (O) 파프리카 예측 모델 분석 결과 (정확도)

부패지수(Decay Index) 예측 결과인 좌측 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF와 ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패원인균(Decay Source) 예측 결과인 가운데 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF, ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이 때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패지수와 부패원인균(DI & DS) 동시 예측 결과인 우측 그래프를 보면, PCA 세트가 LDA, SVM 결과에서 높은 정확도를 나타내고 있으며, LDA 세트는 KNN, SVM 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 RF, ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

(마) 딸기의 부패원인균과 부패단계 예측 모델 개발

딸기의 5가지 기계학습 기법으로 만들어진 예측 모델의 분석결과는 아래의 그림과 같다.

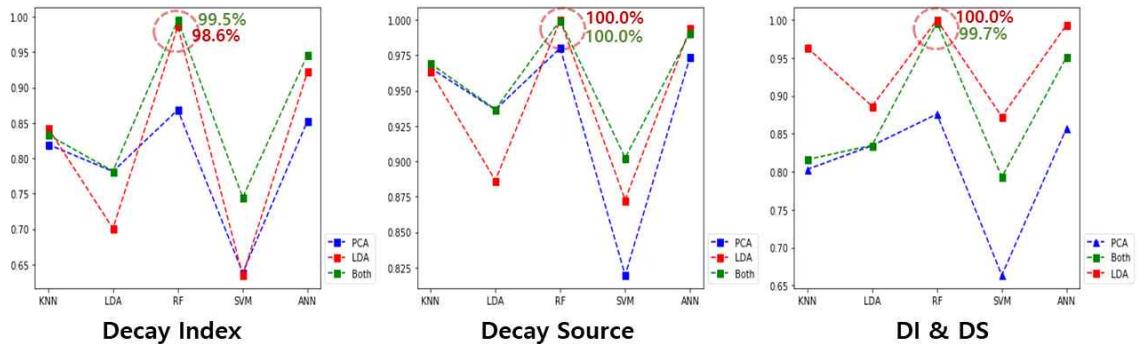


그림 144. 딸기 파프리카 예측 모델 분석 결과 (정확도)

부패지수(Decay Index) 예측 결과인 좌측 그래프를 보면, PCA 세트는 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 KNN 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 LDA, RF, SVM과 ANN에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(99.5%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 Both 세트이다.

부패원인균(Decay Source) 예측 결과인 가운데 그래프를 보면, PCA 세트로 분석한 결과는 LDA 분석에서만 높은 정확도를 나타냈으며, LDA 세트가 RF, ANN 결과에서 높은 정확도를 Both 세트는 KNN, LDA, RF, SVM에서 높은 정확도를 나타내었다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 LDA와 Both 세트이나, 더 적은 데이터를 사용한 LDA 세트 결과가 더 우수하다고 할 수 있다.

부패지수와 부패원인균(DI & DS) 동시 예측 결과인 우측 그래프를 보면, PCA 세트와 Both 세트가 높은 정확도를 나타내는 결과는 없으며, LDA 세트가 모든 결과에서 높은 정확도를 나타내고 있다. 가장 높은 정확도(100.0%)를 나타내는 기계학습법은 RF이며 이때의 데이터 세트는 LDA 세트이다.

(5) 개발된 부패원인균과 부패단계 예측 모델을 활용한 부패감지기 프로그램 개발

(가) 부패감지기(DecayMiner) 프로그램 개요

부패 관련 냄새프로파일 분석으로 개발된 모델을 이용하여 농산물에서 수집된 냄새 프로파일의 GC-MS 값을 입력으로 받아 수집된 농산물의 부패지수(부패단계)와 부패 원인균을 분석해 주는 프로그램이며 제 C-2018-016100 호로 저작권 등록(프로그램)하였다.

① 입력 파일 양식

입력 파일은 csv 파일 형식을 따르며 맨 윗 줄은 수집된 냄새 프로파일 화합물의 CAS 번호이며, 아래 줄부터 1개의 시료에 대한 GC-MS 값이 기록된 형태이다.

	A	B	C	D	E
1	024587-27-7	000123-91-1	000638-11-9	999180-68-0	000108-38-3
2	0	0.008118978	0	0	0.022858445
3	0	0	0.045149131	0.038600931	0.035660493
4	0.002427059	0.002497013	0	0	0
5	0.003087285	0.011631714	0	0	0
6	0.016420284	0	0	0	0.030747736
7	0.020858858	0	0	0	0
8	0.009771265	0.009625153	0	0	0.014353306
9	0.012901861	0.002139515	0	0	0
10	0	0.002686526	0	0	0.009932868
11	0	0.006445641	0	0.007886222	0.044839717

그림 145. 입력 파일 형식

② 출력 파일 양식

출력 파일 명은 입력 파일명 뒤에 ‘_out’ 이라는 이름이 덧붙여진 csv 파일 형식이며, 입력된 형식의 맨 끝(우측) 열에 DI (부패지수), DS (부패원인균), DIS (부패지수_부패원인균) 순서로 분석 결과가 기록된다.

	U	V	W	X	Y
1	000066-25-000539-90-7	DI	DS	DIS	
2	0.0621035	0	3 AA	3_AA	
3	0.558277	0.1197912	0 Na	0_Na	
4	0.0783641	0	3 AA	3_AA	
5	0.0282404	0	2 PE	2_PE	
6	0.112236	0	1 AA	1_AA	
7	0	0	3 BD	3_BD	
8	0.0823306	0	2 AA	2_AA	
9	-0.004281	0	3 AA	3_AA	
10	-0.021597	0	3 AA	3_AA	

그림 146. 출력 파일 형식

③ 분석 과정 및 성능 평가

프로그램 사용하는 방법은 아래와 같다.

```
Usage: > python DecayMinerRun_v1.0.py sample=sample_number
input=input_file_name
sample_number (1~3) : 1 -> Apple / 2 -> Red Paprika / 3 -> Yellow
Paprika
input_file_name : GC Mass output file name. It's format is csv.
```

현재 프로그램 버전 1.0에서는 사과와 시로코 (R) 파프리카, 볼란테 (Y) 파프리카만 분석 가능하며, 그 분석 성능인 정확도는 아래 그림과 같다.

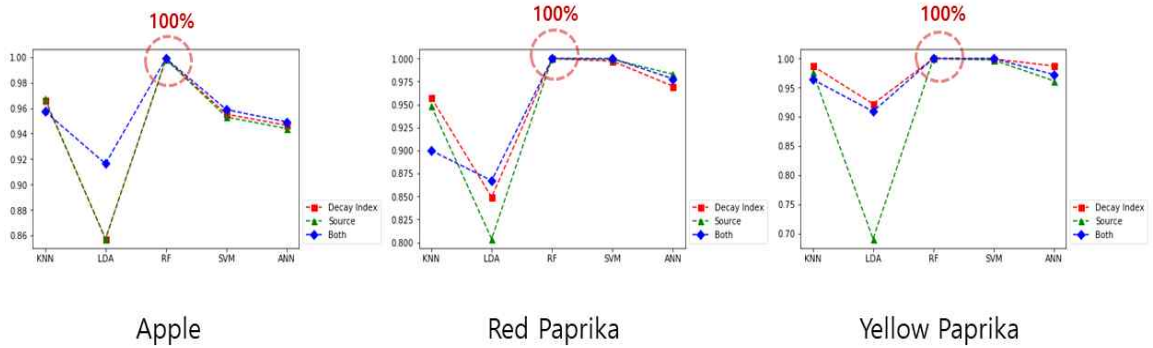


그림 147. 분석 성능 정확도

(6) 센서 데이터와 GC-MS 냄새 프로파일과 상관관계 분석

(가) 센서와 GC-MS 데이터의 상관관계 분석 개요

분석 대상이 되는 농산물은 부사(사과품종)와 시로코(R)[파프리카품종]이며, 가스센서 데이터는 3공동연구팀(대전대학교, (주)에어웍스)에서 사용한 TGS 2603과 TGS 2602 가스센서의 감도와 부패원인균별 부패지수 측정값을 사용하였고, 비교값이 되는 GC-MS 분석 데이터는 부패지수와 부패원인균별 측정된 평균값을 사용하였다. 그러나, 두 가지 분석값의 측정 단위가 상이하므로 이를 위해 표준화 값으로 변환하였고, 비교 방법으로는 상관계수 분석을 수행하였다.

① 사과 분석 결과

TGS 2603 및 TGS 2602 가스센서 데이터의 기본적인 통계량을 살펴보면 아래의 그림과 같다. 두 종류의 가스센서는 모두 부패단계(Decay Index)가 증가할수록 감도 또한 증가하는 경향을 보이고 있다.

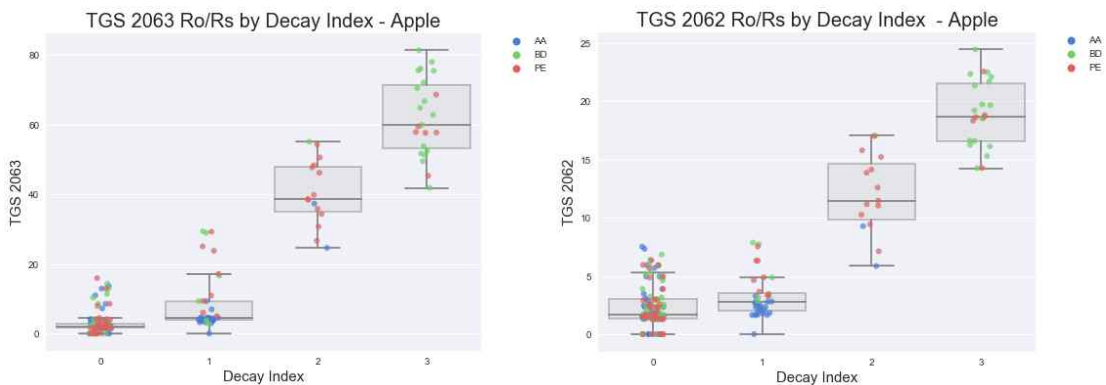


그림 148. 사과의 가스센서 실험결과 기본 통계량

TGS 2603 가스센서에 의한 부사사과의 부패 평가는 0 ~ 3(총 4단계) 부패단계 증가에 따라 가스센서의 감도 또한 증가하는 경향을 보이고 있다. 단, 0과 1단계에서 명

확한 부패단계 구분은 어렵지만, 부패 0단계에서는 PE(*Penicillium expansum*) 부패원인균이 주요소로 나타났다. 부패 1단계로 증가한 경우에는 PE(*Penicillium expansum*) 부패원인균이 0단계보다 감소하였고 상대적으로 AA(*Alternaria alternata*)와 BD(*Botryosphaeria dothidea*) 부패원인균이 증가하는 결과를 확인하였다.

부패 2단에서는 다시 PE(*Penicillium expansum*) 부패원인균이 주요소로 나타났다가, 이후 부패 3단계에서는 BD(*Botryosphaeria dothidea*) 부패원인균이 주요소로 증가하여 부패단계별 TGS 2603 가스센서의 감도 증가와 각 단계별 부패원인균의 변화를 확인한 사항이다. 추가적으로 AA(*Alternaria alternata*) 부패원인균은 0 ~ 1단계에 상대적으로 높은 빈도를 보이고 있어 초기부패원인균으로 분석되고, BD(*Botryosphaeria dothidea*) 부패원인균은 사과부패가 육안으로 뚜렷하게 확인되는 시점에서 발생하는 부패원인균으로 판단된다. PE(*Penicillium expansum*) 부패원인균은 사과부패 전 단계에서 발생하고 있어, 초기부패원인을 진균학적으로 진단하고 분석하기 위해서는 AA(*Alternaria alternata*) 부패원인균에 대한 관리와 모니터링의 중요성을 확인하였다.

다음으로 TGS 2602 가스센서에 의한 부패단계별 비교는 전반적인 경향성은 TGS 2603 가스센서와 유사하나, 0 ~ 1단계에서의 구분이 상대적으로 어렵다. 이는 두 종류의 가스센서 중 TGS 2603 가스센서에 의한 부패단계 평가가 정량 및 정석적으로 가능함을 보여주는 결과이고, 감도 측면에서도 TGS 2602 가스센서는 0 ~ 25를 나타내는 반면, 부패냄새와 상관성이 높은 TGS 2603 가스센서는 0 ~ 80 범위의 폭넓은 감도를 보이고 있다. TGS 2602 가스센서에 의한 부패단계별 부패원인균의 변화는 TGS 2603 가스센서와 유사한 경향으로 초기에 AA(*Alternaria alternata*) 부패원인균이 주요소이며, 부패 3단계에서는 BD(*Botryosphaeria dothidea*) 부패원인균이 주요소로 나타났다.

아래 그림은 부사사과에서 발생하는 주요 화학물질의 GC-MS 분석결과이다. 우선 부패단계가 증가할수록 농도가 감소하는 경향성을 보이는 물질은 알코올, 에스테르, 에테르, 케톤류 등이며, 반대로 농도가 증가하는 물질로는 알데하이드, 테르펜류 등이다. 그 중 알코올은 0 ~ 2단계까지 감소하다가 3단계에서 증가하는 경향을 보이는 특징이 관찰되고, 알데하이드류는 점차 증가하다가 3단계에서 감소하고 있다. 에스테르와 케톤류는 지속적으로 감소하는 경향을 보이는 물질로 나타났다.

Chemical Group Standardized Value of GC Mass Sum

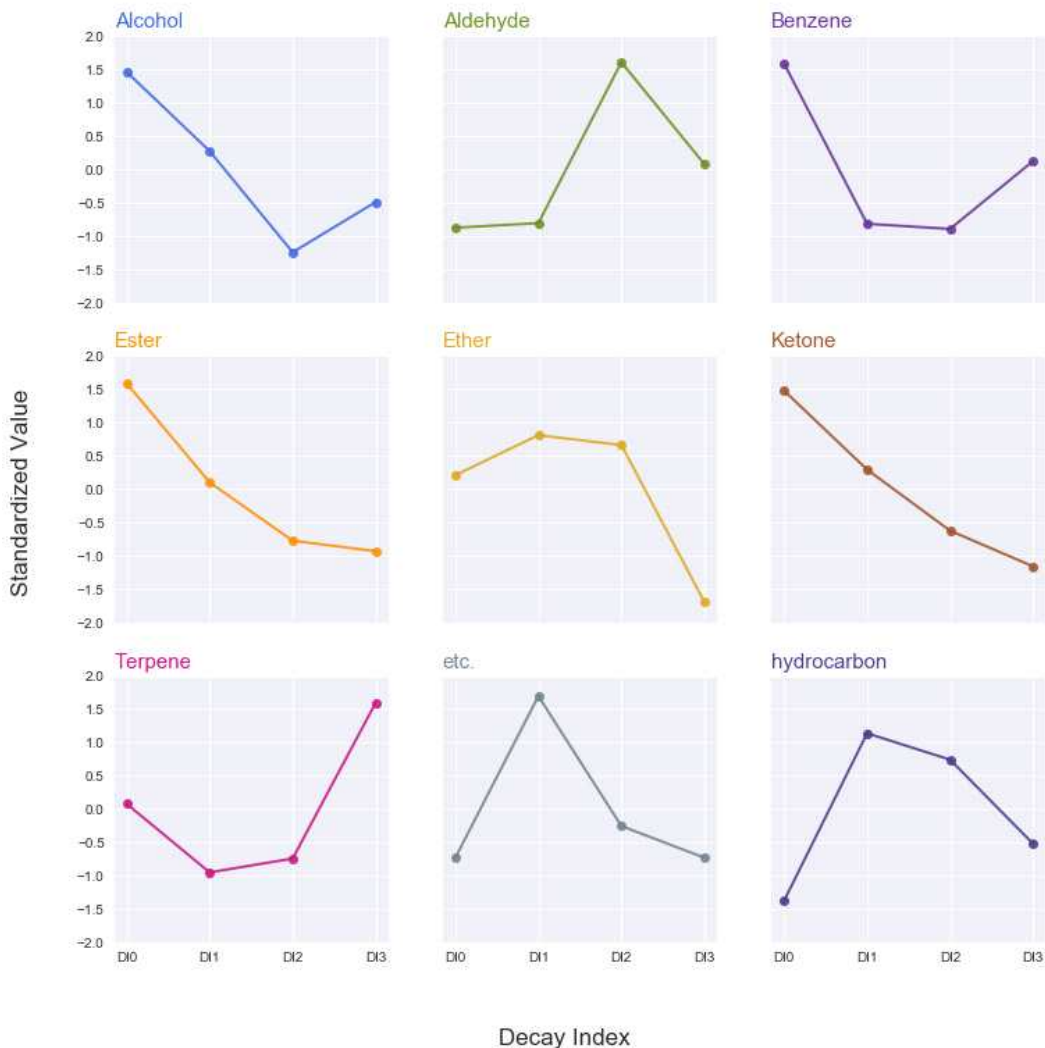


그림 149. 사과의 화합물 그룹별 GC-MS 변화 표준화 값

다음으로 GC-MS 화합물질 분석결과에 대한 TGS 2603 가스센서의 감응특성을 비교하여 분석하면, TGS 2603 가스센서 감도는 알코올, 벤젠, 에스테르, 케톤류와 음의 상관관계를 보이고 있고, 알데하이드 및 테르펜류에는 양의 상관관계를 보이고 있다.

동일한 GC-MS 결과를 이용하여 TGS 2602 가스센서에 대한 화합물질별 상관관계를 분석하였다. 그 결과 TGS 2602 가스센서도 TGS 2603 가스센서와 동일하게 알코올, 에스테르, 에테르, 케톤류에는 양호한 음의 상관관계를 보이고 있다. 반대로 알데하이드 및 테르펜류에는 양의 상관관계를 확인 할 수 있었다.

Correlation Coefficient TGS 2603(Ro/Rs) vs Chemical Groups

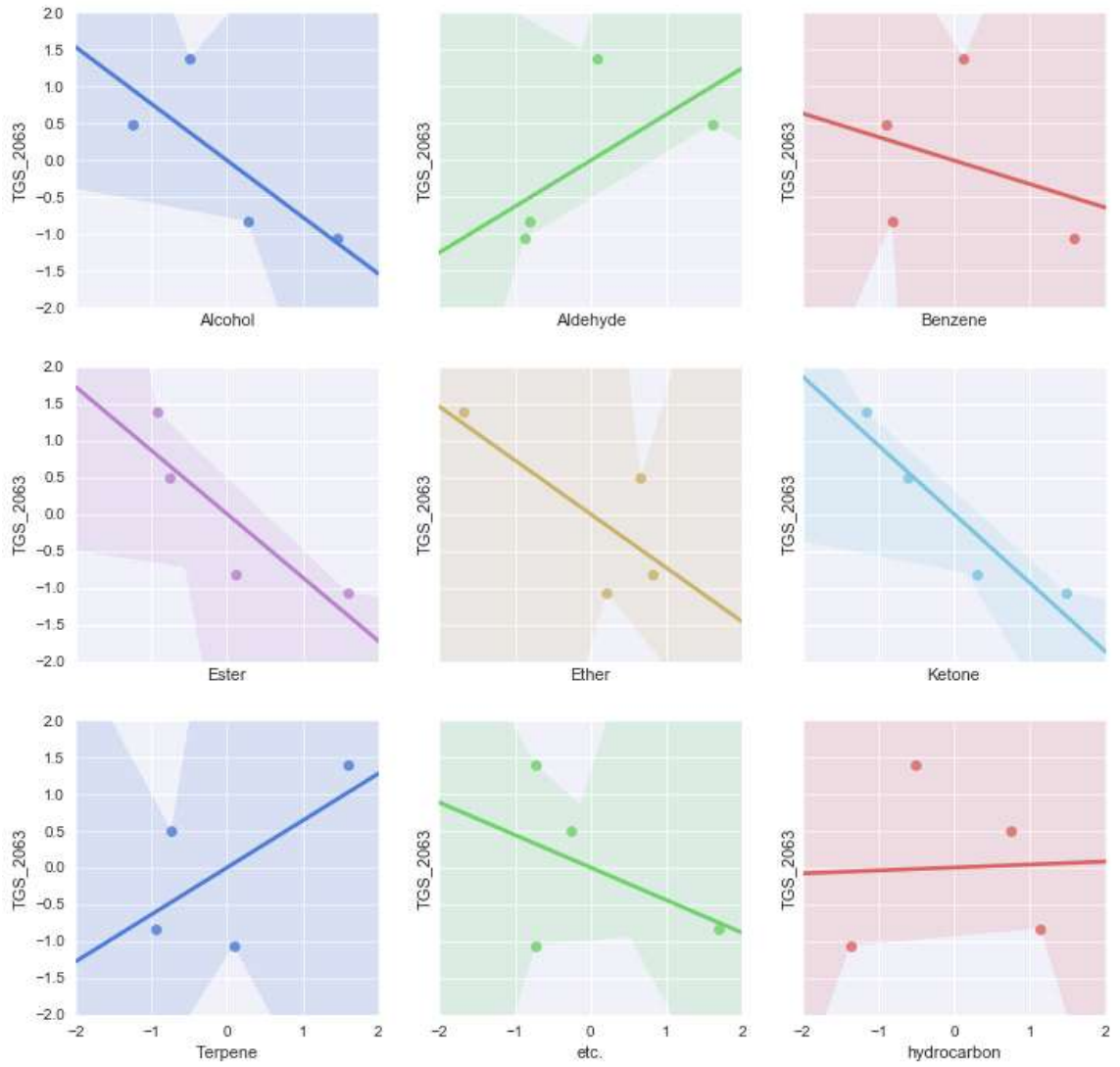


그림 150. 사과의 화합물 그룹과 TGS 2063 센서의 상관관계

Correlation Coefficient TGS 2602(Ro/Rs) vs Chemical Groups

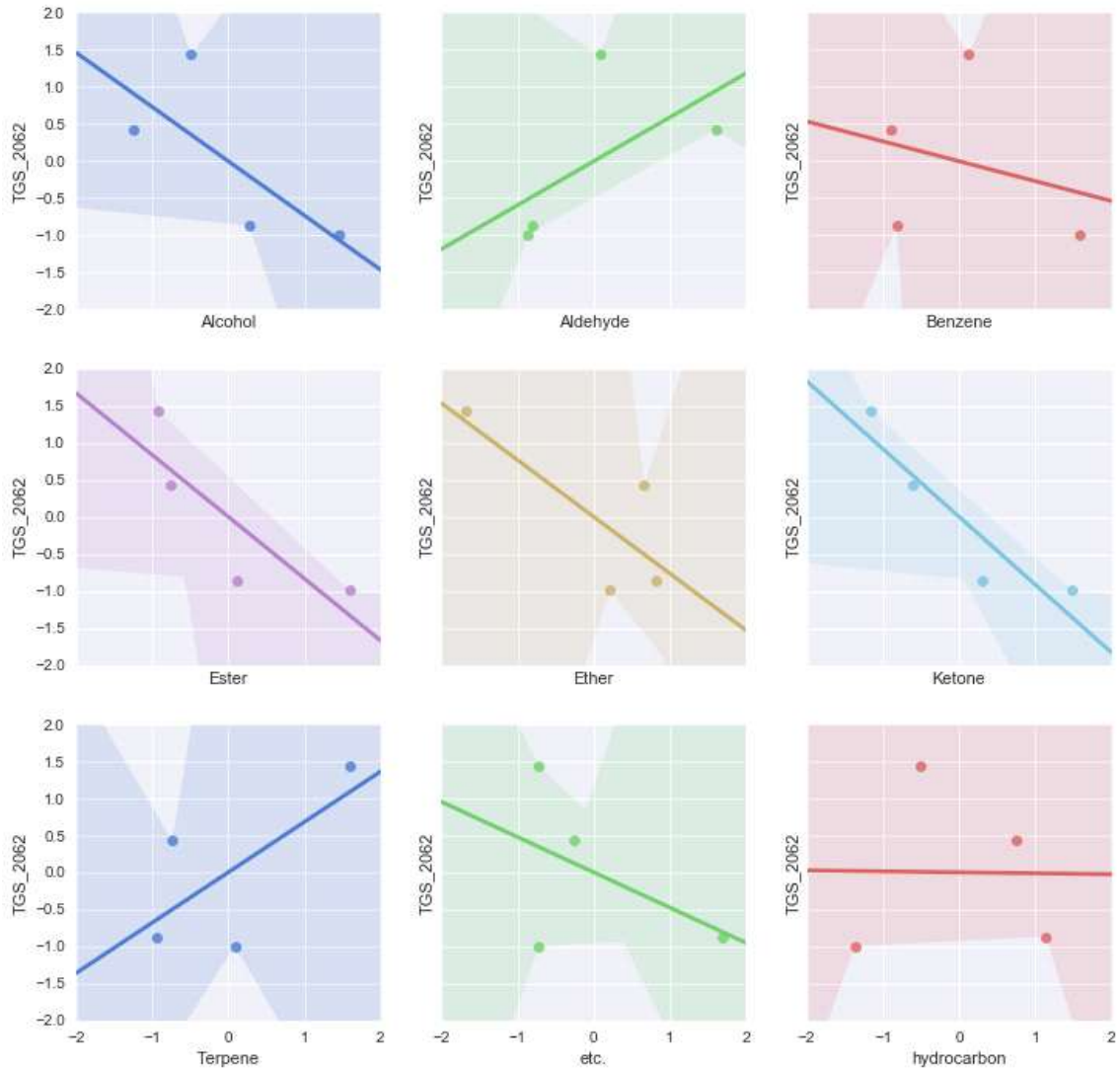


그림 151 사과의 화합물 그룹과 TGS 2062 센서의 상관관계

아래 표는 화합물 그룹별 GC-MS 표준화 값과 가스센서의 표준화 값의 상관계수 분석을 실시한 결과로 많은 화합물질 분석 결과가 존재하지만 그 중 유의미한 화합물 분석결과만을 정리하였다.

전체적인 경향성은 TGS 2602 및 TGS 2603 가스센서 모두에서 나타나고 있는 것으로 알코올(-0.733, -0.770), 에스테르(-0.835, -0.863), 에테르(-0.766, -0.731), 케톤(-0.915, -0.934)은 부패단계가 증가할수록 감소하는 경향성을 보였다. 반대로, 알데하이드는 양의 상관성으로 부패단계가 증가하는 늘어나는 화합물질로 0.593, 0.626의 상관성을 보였다.

표 90. 사과와 화합물 그룹과 가스 센서의 상관 계수

	Alcohol	Aldehyde	Ester	Ether	Ketone
TGS 2603	-0.770	0.626	-0.863	-0.731	-0.934
TGS 2602	-0.733	0.593	-0.835	-0.766	-0.915

② 시로코 (R) 파프리카 분석 결과

부패원인균별 시로코 (R) 파프리카의 초기부패(0 ~ 2)를 평가하기 위한 가스센서 실험 결과는 다음과 같다. TGS 2603 및 TGS 2602 가스 센서에 의한 부패단계별 감도와 부패원인균의 증감은 전반적으로 증가하는 경향을 보이고 있다. 그중 TGS 2603 가스 센서의 경향성이 TGS 2602 가스 센서보다 양호한 사항으로, TGS 2603 가스 센서는 0 단계에서는 FP(*Fusarium proliferatum*), FL(*Fusarium lactis*) 부패원인균이 빈도 높게 나타나고 있고, 1단계에는 BC(*Botrytis cinerea*) 부패원인균이 추가적으로 증가하고 있다. 부패 2단계에서는 FL(*Fusarium lactis*) 부패원인균이 사라지고, BC(*Botrytis cinerea*) 부패원인균의 빈도가 상대적으로 증가하는 분석결과를 확인할 수 있다.

이러한 현상은 TGS 2602 가스 센서에서도 확인할 수 있는 사항으로, 감도측면에서는 TGS 2603 가스 센서보다 25배 낮은 감응특성을 보이지만 전체적인 감도 증가와 부패원인균 발생 특성은 유사한 경향성을 보이고 있다. 부패 0 ~ 1단계에서는 BC(*Botrytis cinerea*), FL(*Fusarium lactis*), FP(*Fusarium proliferatum*) 부패원인균이 고르게 나타나고 있지만, 2단계에서는 FL(*Fusarium lactis*)는 사라지고 BC(*Botrytis cinerea*) 부패원인균의 빈도가 지배적인 특징을 동일하게 관찰할 수 있다.

센서 데이터의 기본적인 통계량을 살펴보면 아래의 그림과 같다.

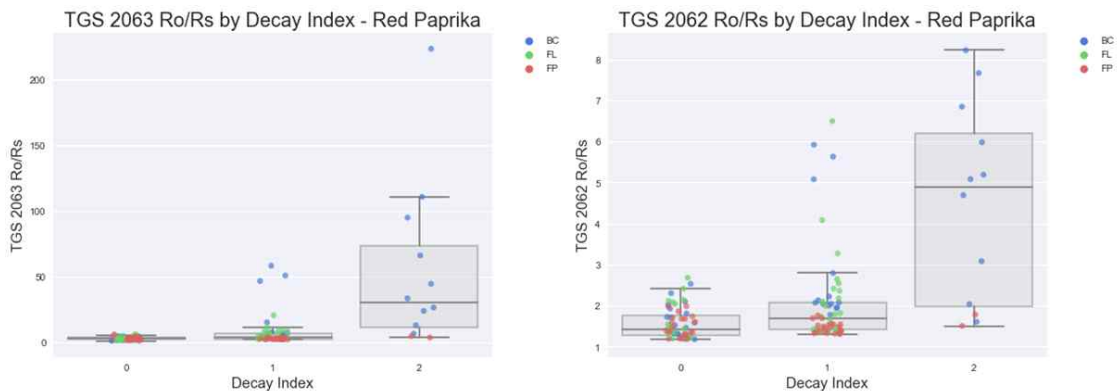


그림 152. 시로코 (R) 파프리카의 가스센서 실험결과 기본 통계량

아래 그림은 화합물질별 GC-MS에 의한 부패단계별 변화이다. Red 파프리카의 부패 단계가 높아질수록 물질 농도가 증가하는 화합물은 알코올, 테르펜류이며, 반대로 감소하는 경향의 물질로는 다이옥솔란, 에스테르, 에테르 물질로 나타났다. 알데하이드, 벤젠과 같은 물질은 0단계에서 증가하다가 초기부패가 발생하는 1 ~ 2단계 시점에서 감소하는 경향을 보이는 물질이다.

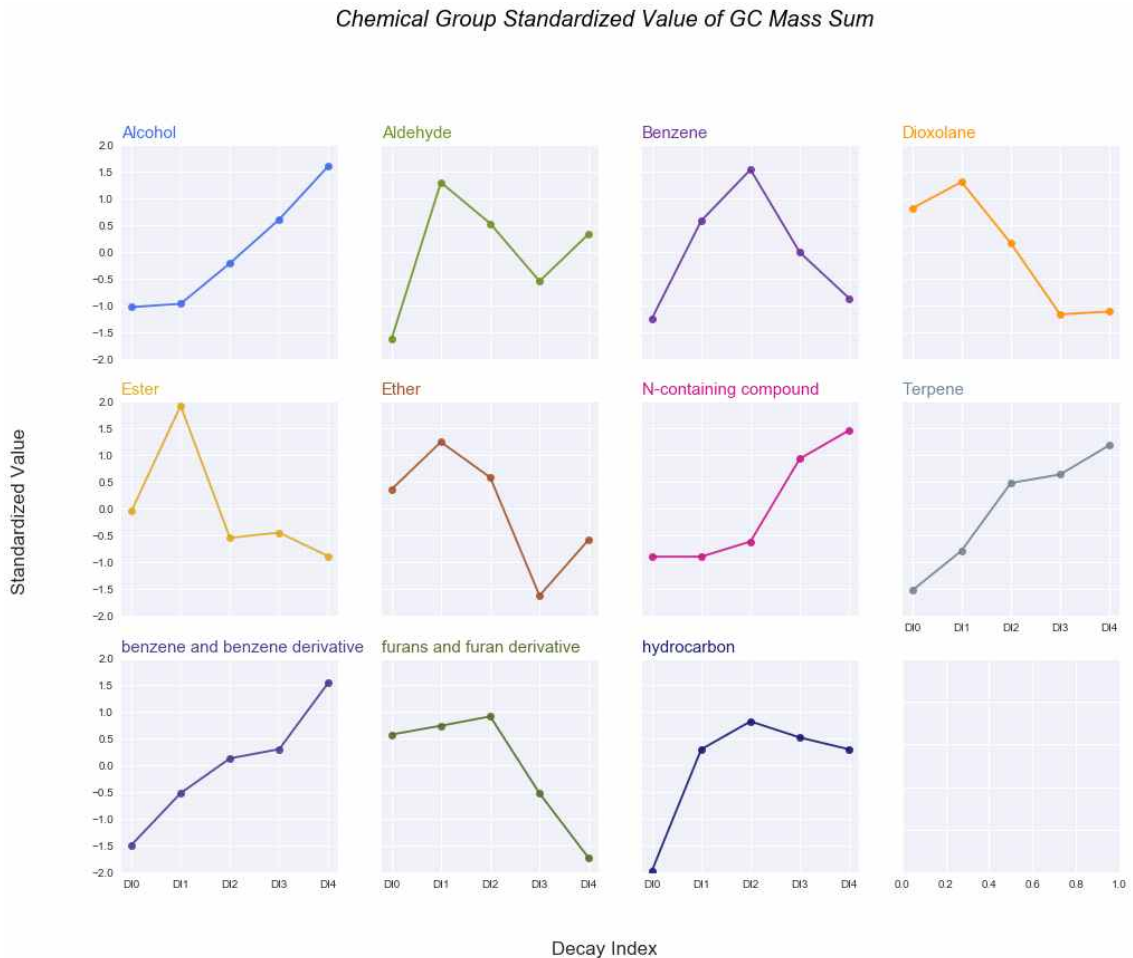


그림 153. 시로코 (R) 파프리카의 화합물 그룹별 GC-MS 변화 표준화 값

아래 그림은 화합물질 그룹별 GC-MS 표준화 값과 가스센서 데이터의 표준화 값을 이용하여 상관계수를 분석한 결과이다. Red 파프리카의 부패단계 변화는 부사사과의 부패냄새 패턴과는 다르게 부패단계가 증가할수록 알코올, 알데하이드, 벤젠, 테르펜 물질은 증가하는 경향을 보이고 있고, 반대로 감소하는 물질은 다이옥솔란, 에스테르 등으로 TGS 2603, TGS 2602 가스센서 모두 동일한 경향성을 보이고 있다.

Correlation Coefficient TGS 2603(Ro/Rs) vs Chemical Groups - Red Paprika

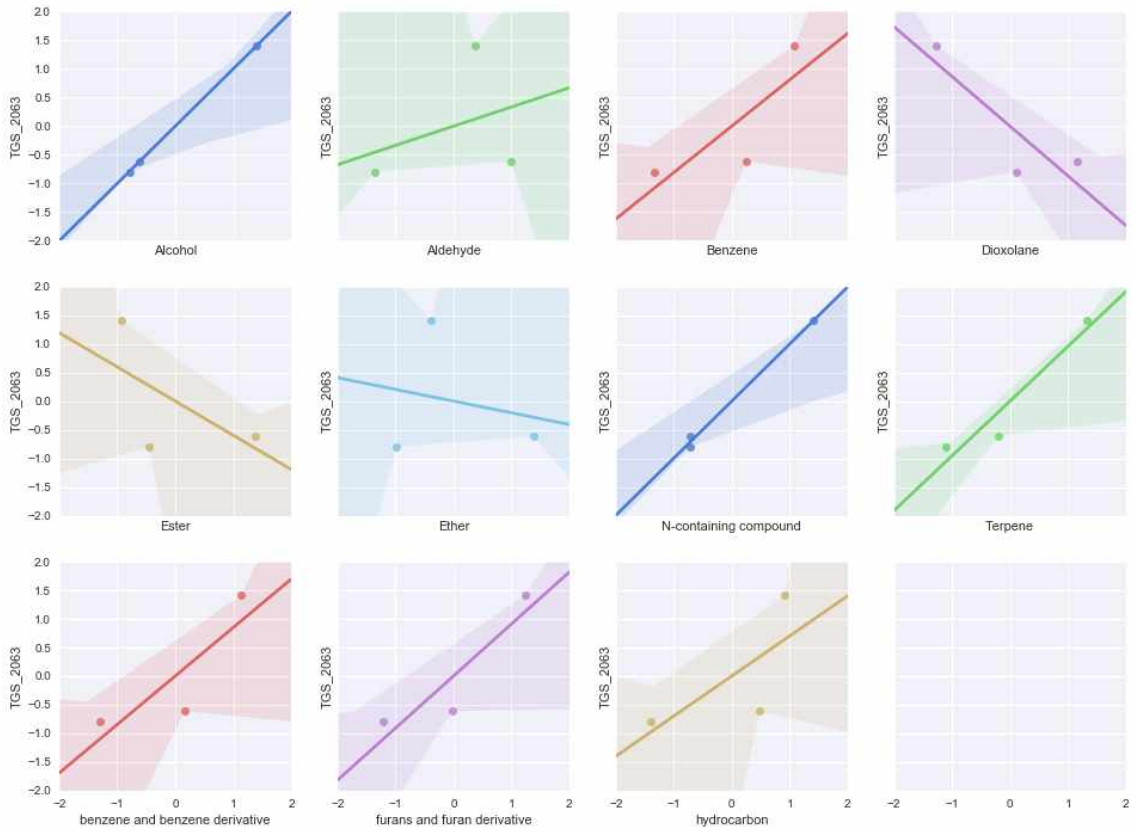


그림 154. 시로코 (R) 파프리카의 화합물 그룹과 TGS 2063 센서의 상관관계

Correlation Coefficient TGS 2602(Ro/Rs) vs Chemical Groups - Red Paprika

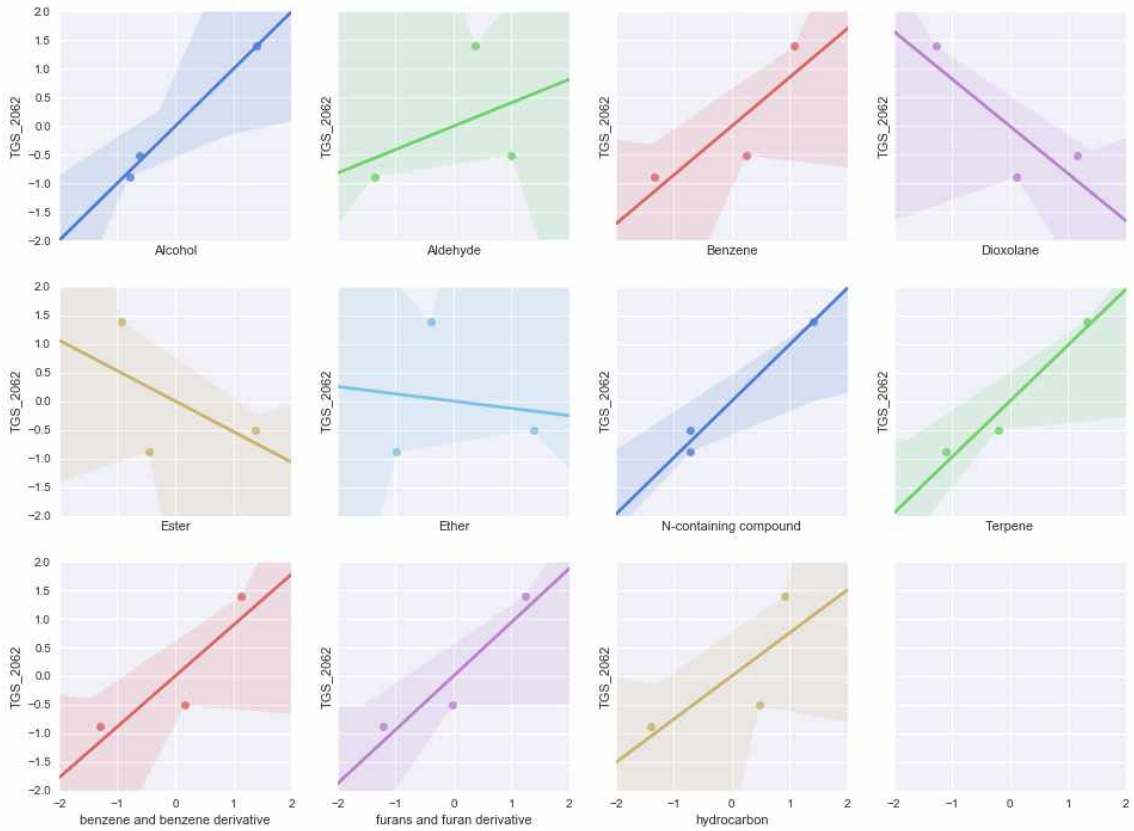


그림 155. 시로코 (R) 파프리카의 화합물 그룹과 TGS 2062 센서의 상관관계

이러한 결과를 각 가스센서 별로 상관관계분석을 실시하였다. 그 결과 알코올은 각각 0.999, 0.996으로 높은 양의 상관성을 보였고, 벤젠 및 테르펜 또한 0.810 ~ 0.976 수준의 양호한 양의 상관성을 보였다.

반대로 부패단계가 증가하면서 감소하는 물질은 다이옥솔란과 에스테르 물질로 다이옥솔란은 -0.826, -0.868의 양호한 음의 상관성을 보였고, 에스테르는 -0.5 수준의 낮은 음의 상관성을 보였다.

표 91. 시로코 (R) 파프리카의 화합물 그룹과 가스 센서의 상관 계수

	Alcohol	Aldehyde	Benzene	Dioxolane	Ester	Ether	Terpene
TGS 2603	0.999	0.336	0.810	-0.868	-0.596	-0.205	0.955
TGS 2602	0.996	0.409	0.854	-0.826	-0.531	-0.126	0.976

(7) 신선 농식품 부패냄새 개발 방향

본 연구 결과처럼 농산물 별, 부패단계 별로 발생하는 냄새물질의 반응기작은 매우 복잡하고 다르게 나타나고 있다. 다만 물질 별 반응기작에 따라 본 연구에서 선정한 2종류의 최적 가스센서는 GC-MS 화합물질 생성과 소멸에 대하여 유사한 패턴을 보이고 있고, 검출된 모든 물질은 아니지만 알코올, 알데하이드, 에스테르, 케톤류 등은 양호한 양의 상관성과 또는 음의 상관성을 보여주고 있다.

본 연구에서는 국내 최초의 신선 농식품 부패냄새 관리를 위한 연구를 수행하여 사과, 파프리카, 딸기 등으로 한정되어 부패지수, 부패단계별 화합물질 변화, 부패 냄새 원인물질 등을 상호 비교하면서 관찰할 수 있었다. 더불어, 부패감지 시제품에 의한 각 신선 농식품의 부패발생 예측값으로부터 부패 단계를 간접적으로 확인할 수 있는 현장 측정 인디케이터로 활용이 가능함을 확인한 사항이다.

보다 명확한 신선 농식품 부패냄새 관리 및 검출 시스템을 구축하려면 현재의 실험 데이터 보다 많은 실험 결과를 확보하여야 하며, 이를 DB화시킴으로써 현장에서 측정한 가스센서 데이터와 GC-MS 데이터의 다양한 분석이 병행되어야 할 것이다. 이를 위해서는 최근에 본격적으로 연구되고 상용화 되고 있는 인공지능(Neural network) 분석 기술을 병행하게 된다면, 현재보다 농식품의 신선도 상태를 과학적이며 정량적으로 분석이 가능할 것이다.

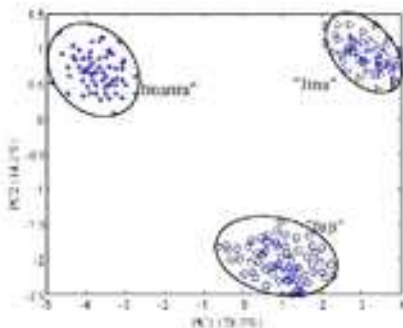


Fig. 4. Score plot of PCA of the 22 selected volatile components of three different cultivars apples measured by means of SPMS-GC/MS.

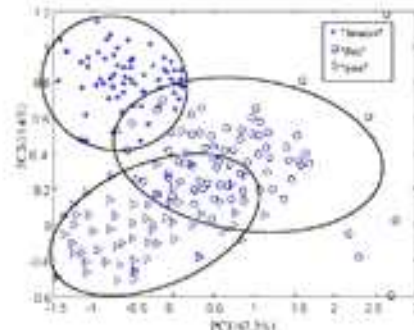


Fig. 5. PCA results for E-nose data.

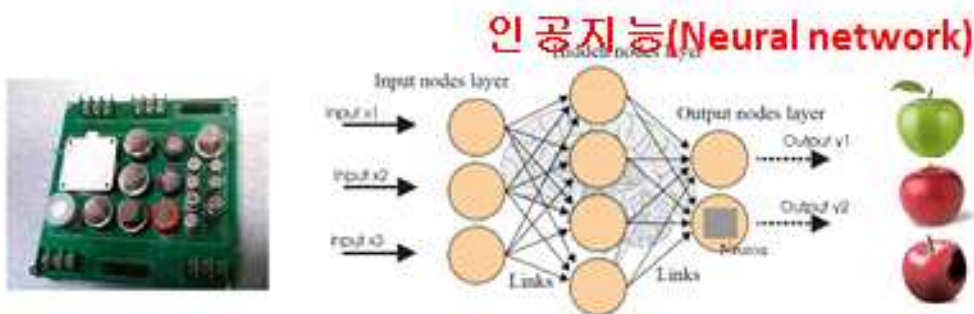


그림 156. 냄새 센서의 분석 솔루션 개발 방향

또한, 현재의 신선 농식품 측정기술은 반도체식 가스센서를 이용하므로 전기화학가스센서보다 매우 고감도이며, 광이온화 검출식 가스센서보다 가격이 저렴한 제품생산이 가능한 사항이다. 본 연구 결과처럼 농식품 별, 부패단계 별 발생하는 냄새물질의 반응기작이 매우 복잡하고 또한 현장에서 발생하는 부패냄새 이외의 간섭가스가 존재할 경우에는 아래 그림과 같이 부패 냄새원인 물질만 선택적으로 분류할 수 있는 기술이 필요하다. 즉, 공기 중에 다양한 형태로 존재하는 복합적인 냄새성분은 GC의 column 기술을 이용하여 부패냄새만을 선택적으로 기체를 분류하는 기술을 전단에 적용하고, 분류된 부패 냄새를 본 연구에서 선정된 2종의 가스센서를 활용하여 부패냄새 분석 시스템을 하드웨어적으로 개발하게 된다면, 현장에서는 GC 분석 기술에 상응하는 매우 정량적이며 신뢰도가 높은 신선농식품 관리가 가능할 것이다.

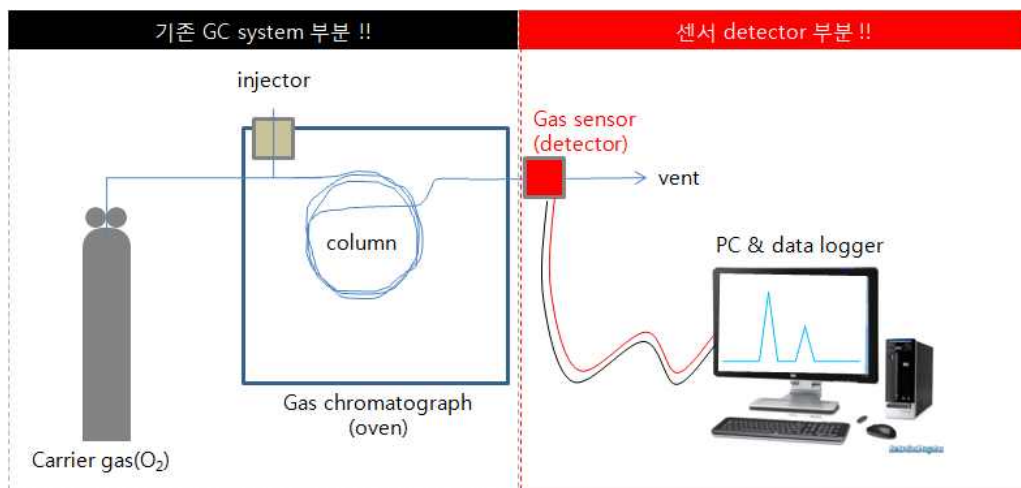


그림 157. 냄새 센서의 분석 솔루션 개념도

바. 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발

(1) 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 선정 및 평가 시스템 개발

최근 웰빙 열풍 속에 농식품 유통 환경은 식품의 안전성 중시, 고품질, 알려진 브랜드의 농식품을 선호하는 등 소비패턴이 빠르게 변화하고 있다. 농식품 시장은 세계적으로 성장하고 있고, 품질 뿐만 아니라 신선도에 대한 관심 역시 높아지고 있다. 신선 농식품의 수출 동향을 살펴보면 채소류, 과일류, 화훼류 등 신선가치를 중시하는 품목들의 수출이 지속적으로 증가하고 있고, 이러한 환경변화에 따라 농식품 수출 활성화를 위해 정부는 시장 확대전략을 추진하고자 다각적인 노력을 경주하고 있다. 특히 과일류 중 사과는 국내 생산량의 증가와 한류열풍에 의해 동남아 지역을 중심으로 한 새로운 시장개척과 수출확대가 이루어진 대표적인 수출품목이다.

식품의 관리방법은 통상적으로 인간의 감각에 의존한 후각, 미각, 시각평가, 기체중심의 기기분석, 기기분석과 후각을 병행한 GC-Olfactometry 기술, 최근에 소개되고 있는 센서를 이용한 전자코 및 전자혀 기술 등이 신선 농식품의 신선도 관리와 향기물질 성분에 대한 기여도 평가에 사용되는 방법이다.

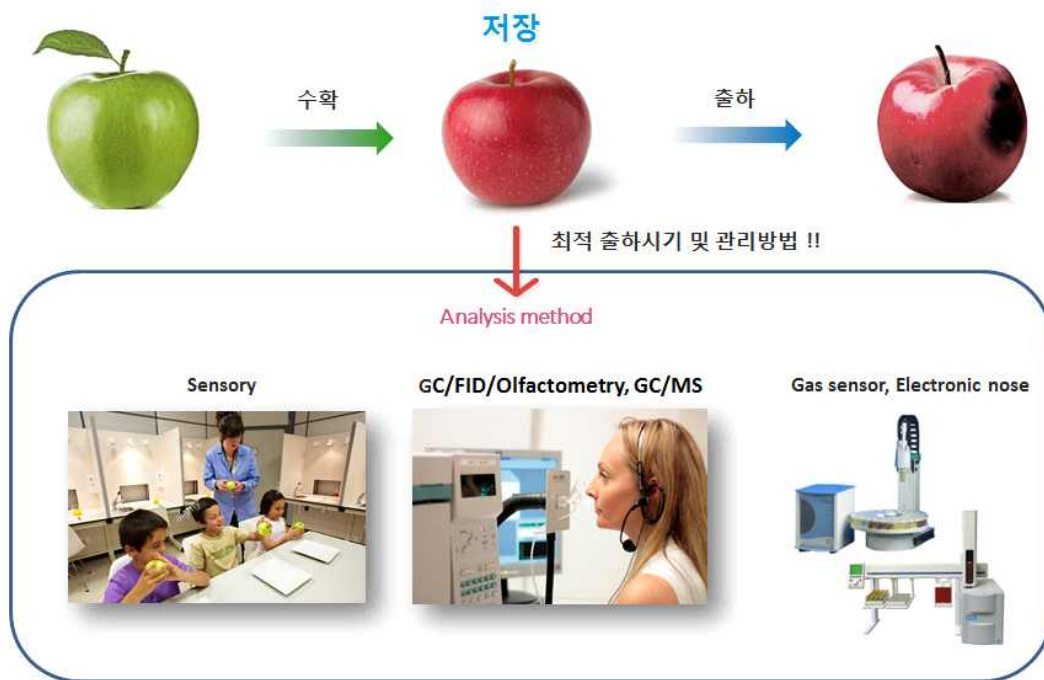


그림 158. 농식품의 품질관리를 위한 관리방법

식품의 향 유발물질에 대한 연구들은 기기분석을 중심으로 꾸준히 연구되어 왔고, 특히 사과에 대한 선행적 연구가 다양한 것으로 사과품종이나 화학적인 변수(Mehinagic et al., 2006¹⁾), 저장 방법이나 저장기간(Lopez et al., 2000²⁾) 등 다양한 연구들을 통해 사과의 품

1) Mehinagic, E., Royer, G., Symoneaux, R., Jourjon, F., Prost, C., 2006, Characterization of odor-active volatiles in apples: Influence of cultivars and maturity stage, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(7), 2678-2687.
 2) Lopez, M. L., Lavilla, M. T., Recasens, I., Graell, J., Vendrell, M., 2000, Changes in aroma quality of 'Golden Delicious'

종마다 300개 이상의 휘발성 화합물이 발생되고 있다는 것이 밝혀져 있다(Girard and Lau, 1995³); Dixon and Hewett, 2000⁴); Lurie et al., 2002⁵).

보고된 연구들에 의한 사과 향 주요성분들을 살펴보면 ester(78~92%), alcohols(6~10%), aldehydes, ketones, ethers 등 5가지 물질군이 사과 냄새에 중요하게 기여하는 것으로 분류하고 있다.

(가) 국내·외 신선농식품 선행연구 조사

① 국내

사과에 관한 연구는 오래전부터 꾸준히 지속되어 왔지만 대부분 사과의 성분만을 분석하는데 그쳤으며, 국내의 겨우 소수의 연구만이 사과의 냄새유발물질을 확인하기 위해 진행되어왔다.

최근 사과의 복합냄새를 개별냄새로 분리하여 사과의 부패 시점을 확인하는 연구가 있었으나, 그 외에 비교할 만한 자료가 부족한 실정이며 실제 사과 저장 창고에서 적용이 가능한지에 관한 자료는 전무한 실정이다.

그 중 사과 향과 관련한 국내의 연구에서도 Lee et al. (2000)⁶)은 GC-MS 분석에 의해 후지, 쓰가루, 홍로, 조나단 사과 품종에 대한 화학성분을 분석하였고, 그 중 대표적으로 홍로 사과 향기성분(peak area, %)을 총 85종으로 분류하여, alcohol류 24종(52.75%), ester류 20종(5.14%), aldehyde류 18종(20.15%), ketone류 11종(0.6%), acid류 3종(1.48%), ether류 2종(0.3%) 및 그 외 7종(0.76%)이 향기에 영향을 미친다고 보고하였다.

표 92. GC/FID/Olfactometry에 의해 검출된 개별향기성분들의 냄새기여율

Functional group	Fuji	Tsugaru	Hongro	Jonathan
Alcohols	46.88	3.8	52.75	46.39
Aldehydes	7.40	62.48	20.15	17.92
Esters	20.57	1.89	5.14	7.24
Ethers	0.02	0.75	0.3	0.31
Acids	1.09	0.39	1.48	1.34
Ketones	1.4	0.17	0.6	0.82
The others	1.21	0.21	0.76	3.3
Total	78.57	69.69	81.18	77.32

apples after storage at different oxygen and carbon dioxide concentrations, Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 311-324.

- 3) Girard, B., Lau, O. L., 1995, Effect of maturity and storage on quality and volatile production of 'Jonagold' apples, Canadian Institute of Food Science and Technology, 28, 465-471.
- 4) Dixon, J., Hewett, E. W., 2000, Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: A review, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 28, 155-173.
- 5) Lurie, S., Pre-Aymard, C., Ravid, U., Larkov, O., Fallik, E., 2002, Effect of 1-methylcyclopropene on volatile emission and aroma in cv. Anna apples, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(15), 4251-4256.
- 6) 이해정, 박은령, 김경수, 2000, 사과의 품종별 휘발성 향기성분, 한국식품영양과학회지, 29(4), 597-605.

실질적으로 사과의 부패냄새와 관련한 연구는 Koh et al. (2010)⁷⁾에 의해 진행되었고, 기기분석기술과 관능검사법을 결합시킨 GC-MS/Olfactometry를 이용하여 ethyl 2-methylbutanoate(C₇H₁₄O₂), ethyl propanoate(C₅H₁₀O₂), 2-methylbutyl acetate(C₇H₁₄O₂), ethyl acetate(C₄H₈O₂), ethyl butanoate(C₆H₁₂O₂), hexyl ethanoate(C₈H₁₆O₂) 등 6가지 성분이 후지사과(Fuji apple)의 부패와 관련이 있음을 보고하였다.

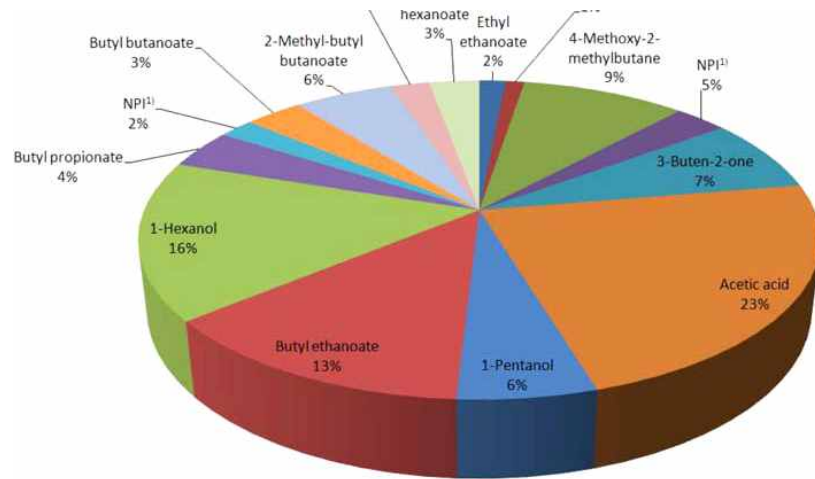


그림 159. GC/FID/Olfactometry에 의해 검출된 개별향기성분들의 냄새기여율

Lee et al. (2011)⁸⁾은 사과의 방치기간에 따른 냄새변화를 이용한 부패시점 확인 방법을 실제 사과 저장창고에 적용할 수 있는지를 순간채취장치를 이용하여 저장고 냄새를 GC/FID/Olfactometry로 연구하였다. 그 결과 사과 향 및 부패 냄새를 Aroma value, Odor value, log(Odor value/Aroma value)로 평가하였고, 사과의 내부적인 변화시 log(Odor value/Aroma value)0에 가까워지고, 0.5 이상이면 외관상의 부패, 1.5 이상 완전 부패도를 확인하였다.

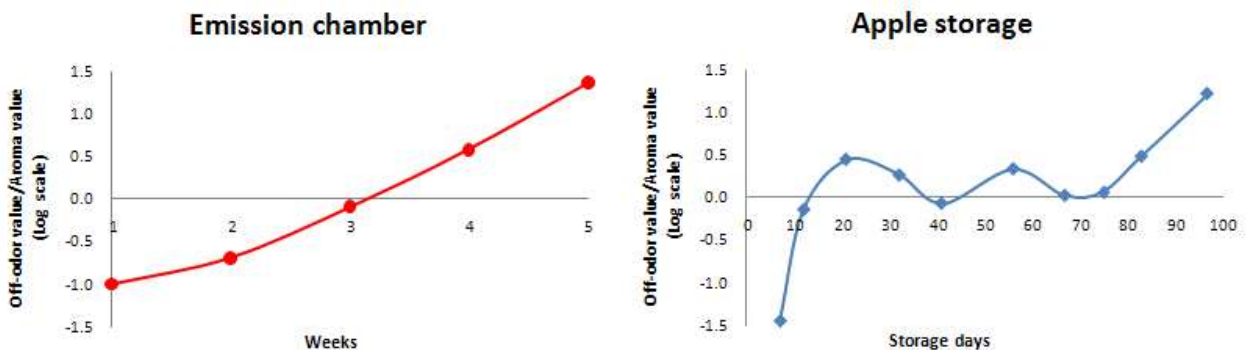


그림 160. GC/FID/Olfactometry에 의해 검출된 개별향기성분들의 냄새기여율

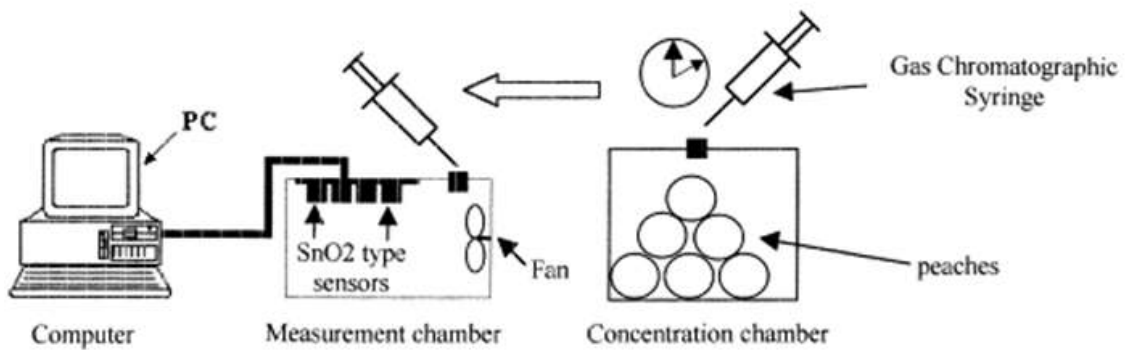
7) 고진태, 유영재, 김만구, 2010, 후지사과의 부패 시 발생하는 냄새유발물질의 변화, 한국냄새환경학회지, 9(3), 164-171.
 8) 이효정, 김만구, 2011, 냄새변화를 이용한 저장창고 내 사과부패 확인 방법, 한국냄새환경학회지, 10(2), 85-92.

① 국외

신선 농식품에 대한 국외 연구는 국내보다 더욱 활발한 것으로 감각적인 분석은 물론, 기기분석, PTR-ToF-MS, 인공지능 분석을 추가한 전자코 개념의 분석 연구가 활발하게 진행되는 사항으로, 본 연구와 관련이 있는 가스센서 방식의 신선 농식품 평가 연구를 살펴보고자 한다.

Brezmes et al. (2000)⁹⁾은 복숭아, 배, 사과의 숙성과정에서 발생하는 냄새를 8종의 SnO₂(산화주석) 가스센서 어레이를 구성하여 평가하였으며, 일정공간에서 포집된 과일의 향기를 GC syringe를 분취하여 가스센서 어레이 챔버에 주입하는 방법을 사용하였다.

이때 사용된 8종의 가스센서 중 TGS 2610 센서 모듈의 우수한 감도 변화를 관찰하였다. Brezmes에 의하면 복숭아와 배의 경우는 92% 성공률로 숙성과정에 따른 향의 변화를 뚜렷하게 관찰하였으나, 사과의 경우는 상대적으로 저장기간이 길어 숙성과정에서 나타나는 향의 변화 구분이 어렵다는 결론을 얻었다.



Quantity	Sensor	Application	Vapour detected
2	TGS 825	Toxic gas detection	Hydrogen sulphide
1	TGS 826	Toxic gas detection	Ammonia
2	TGS 822	Solvent vapour detection	Alcohol, toluene, O-xylene, etc.
2	TGS 800	Air quality control	Air contaminants
2	TGS 882	Cooking control	Alcohol vapour
1	TGS 2610	Combustible gas detection	General hydrocarbons
1	TGS 2611	Combustible gas detection	Methane, natural gas
1	TGS 2620	Solvent vapour detection	Alcohol, organic solvents

그림 161. 신선 농식품 숙성과정에서 발생하는 냄새변화 평가 방법과 사용된 가스센서의 종류

9) Brezmes, J., Llobet, E., Vilanova X., Saiz, G., Correig, X., 2000, Fruit ripeness monitoring using an Electronic Nose, Sensors and Actuators B 69, 223-229.

일본의 신선 농식품 연구는 Koike et al. (2011)¹⁰⁾에 의해 4종류의 SnO₂ 반도체식 가스 센서, Solid phase column, 열탈착 시스템, 주성분분석 기술을 통해 1~3일 기간 동안에 변화하는 딸기의 냄새를 관찰하였다.

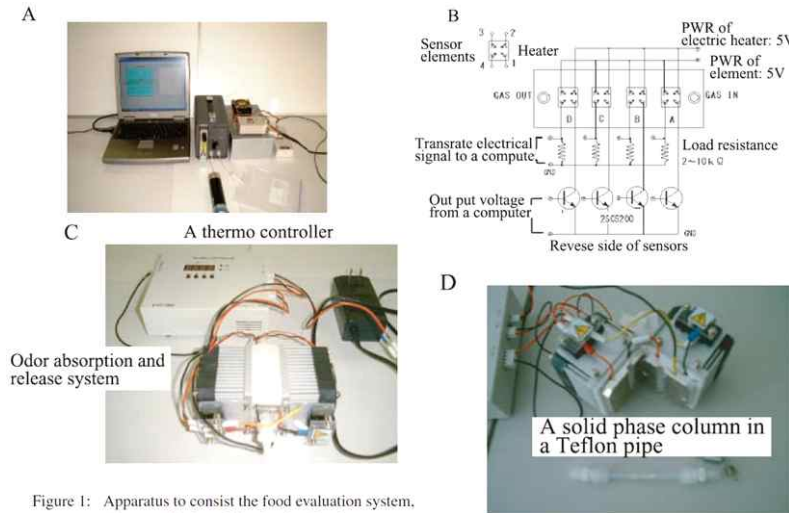


Figure 1: Apparatus to consist the food evaluation system.
 (A) over-all view of the food evaluation system,
 (B) gas sensor alignment in a sensor cell,
 (C) odor absorption and release system consisting a solid phase column
 (D) and a thermo controller.

그림 162. 딸기 신선농식품 평가를 위한 흡착관 방식의 실험 장치

이를 통해 수확 이후 딸기의 부패도 변화에 따른 센서의 변화를 다변량 통계분석을 이용하여 확인한 결과, 3개(1 ~ 3일)도 등급으로 구분할 수 있는 연구 결과를 확인하였다.

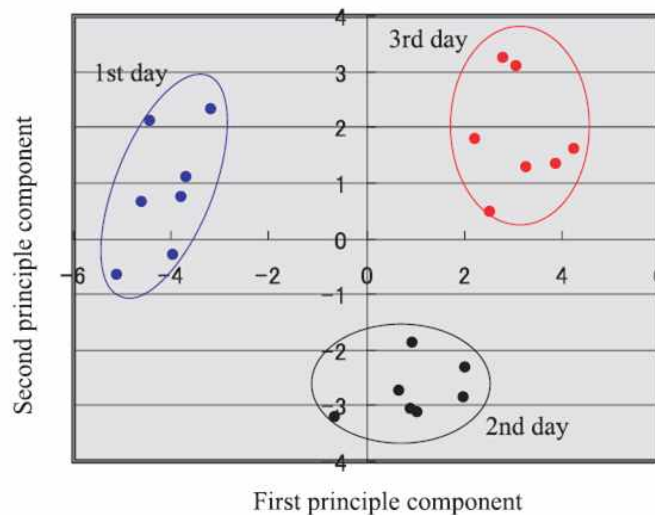


그림 163. 딸기 저장기간에 따른 센서 신호값 변화를 주성분분석을 이용하여 관찰한 결과

10) Koike, T., Shimada, K., Kamimura, H., Kaneki, N., 2011, Evaluation of food freshness and locality by odor sensor, Kansei Engineering International Journal, 10(2), 119~124.

인공신경망 분석을 이용한 기술 중에는 Zou and Zhao(2008)¹¹⁾에 의해 가스센서 어레이와 SPME-GC-MS를 통해 사과 품종(fuji, jina, huaniu)에 따른 사과향을 분석하였고, 가장 풍부한 휘발성 화합물 22개 중 사과에서는 8가지 화합물이 공통으로 발견되었다.

더불어, 분석 데이터를 PCA(Principal Component Analysis), PLS(Partial Aresquares) 및 BPP(Back-propagation Feed-Forward Artificial Neural Network)를 사용하여 분석하였다. PCA에 의한 처음 두 주성분의 플롯에서 SPICE-GC-MS 측정을 통해 다양한 사과 재배 품종을 명확히 구별 할 수 있었지만, 센서 어레이 측정에 의해서는 명확한 구분은 어려웠다. BPP분석은 가스센서 어레이 반응에 기초한 다른 재배 품종을 구별하는데 사용되었으며 정확도는 87%로 높았다. 가스센서 어레이의 구성으로 인해 PLS 모델의 결과는 14개의 가스 센서 어레이 응답과 22개의 화합물로 구성된 2개의 주성분 사이의 상관관계가 각각의 휘발성 화합물과의 상관관계보다 우수함을 보여주었다. 또한 ANN을 사용하여 PLS 모델과 사과 품종에 의해 예측 된 두 주성분 사이의 관계를 구분하였고, 인식 성공확률은 97%로 증가하는 결과를 얻었다.

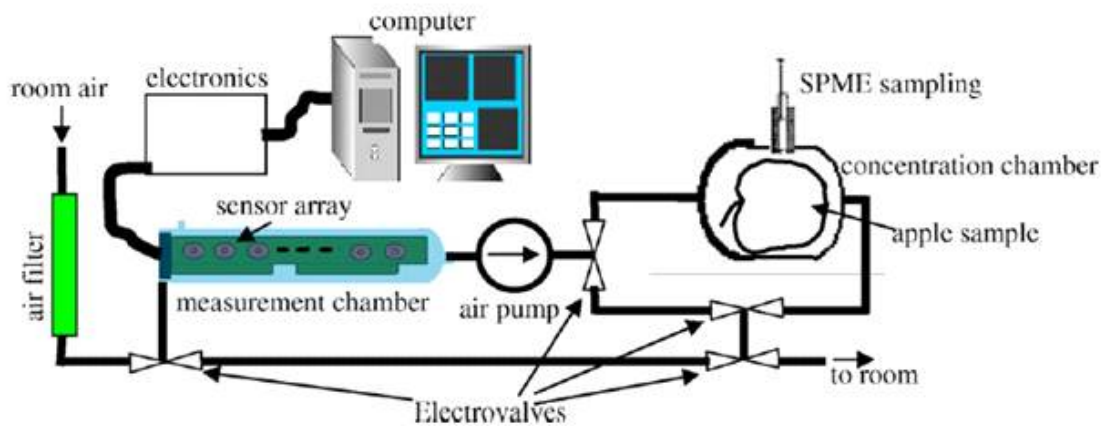


그림 164. GC-MS와 가스센서 어레이 기술을 이용한 사과의 아로마 향기 분석 모식도

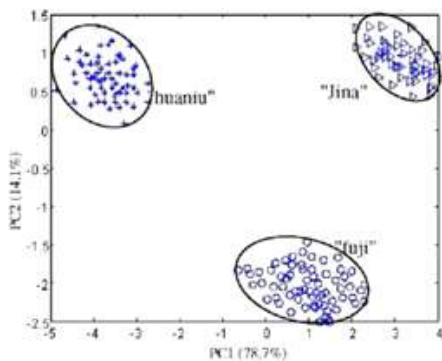


Fig. 4. Score plot of PCA of the 22 selected volatile compounds of three different cultivars apples measured by means of SPME-GC/MS.

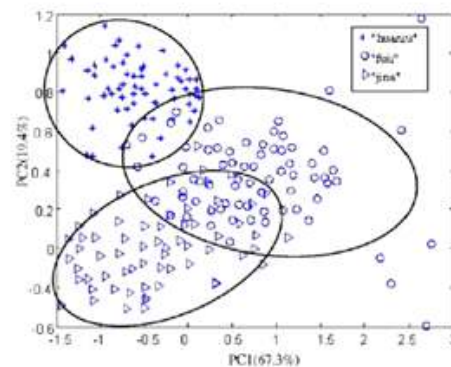


Fig. 5. PCA results for E-nose data.

그림 165. 3개의 사과 품종의 아로마 분석 데이터를 이용한 PCA, PLS 분석 결과

11) Zou X., Zhao J., 2008, Comparative analyses of apple aroma by a tin-oxide gas sensor array device and GC-MS, Food Chemistry, 107(1), 120-128.

(나) 신선 농식품 평가를 위한 가스센서 시스템 제작

① 가스센서의 측정원리¹²⁾

㉞ 금속산화물 반도체식(metal oxide semiconductor) 가스센서

반도체식 가스센서에 적용된 산화물 반도체는 미세 구조적으로 볼 때 결정립(grain)과 입계(grain boundary)로 이루어져 있으며, 전류는 입계를 통해서 흐른다. 금속산화물 반도체식 가스센서는 일반적으로 공기 중에서 작동하므로 표면에서는 산소 흡착 종들이 존재한다. 소자내로 전류가 흐르기 위해서는 각 입자의 공핍층에 의하여 형성된 입계의 표면 전위장벽을 넘어야 하므로 입계의 전도도는 표면 전위장벽의 지수함수에 반비례하게 된다. 이러한 상태에서 환원성 가스가 흡착된 산소와 반응하여 전자는 소자로 되돌아오게 되어 장벽의 높이는 낮아지고 저항은 감소하게 된다. 이러한 원리를 이용해서 수소, 일산화탄소, 탄화수소, 황화수소 등 다양한 가스상의 물질을 검지하는 것이다.

금속산화물 반도체식 가스센서의 전기전도도 변화의 일반적인 반응 메커니즘을 아래에 도식화 하였다. 가스가 없는 경우에는 대기 중에서 일정온도(200~400℃)로 가열된 센서소자의 표면은 산소를 흡착하고 있으며, 흡착된 산소는 전기전도도에 관여하여 있는 전자를 구속하고 있어서 센서소자는 높은 전기전도성을 나타낸다. 반대로 수소나 탄화수소와 같은 환원성 또는 가연성가스에 접촉하면 흡착되었던 산소와 반응하여 산소가 제거되므로 전도성 밀도가 변화하게 되어 전기전도도가 가스의 농도 및 종류에 따라 비례적으로 증가 또는 감소하게 된다.

이때 반도체식 가스센서의 감지전극 제작에서 귀금속 첨가물질이 첨가되고 센서 제작 방법에 대한 최적 방법을 고려한다면 가스센서의 감도와 선택성 반응성 등이 더욱 향상될 수 있다.

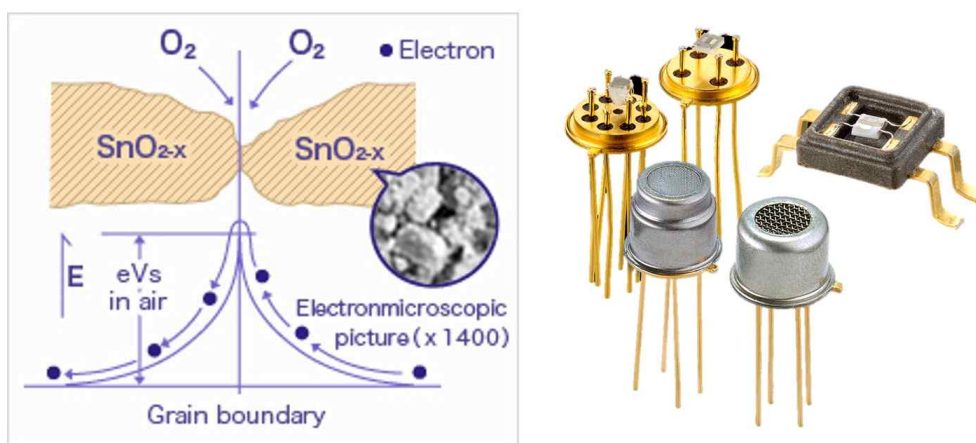


그림 166. 금속산화물 반도체식 가스센서의 구조 및 표면 반응기작

12) 최일환, 2018, 금속산화물 가스센서를 이용한 악취배출시설의 복합악취 모니터링 연구, 대전대학교, 박사학위논문

㉔ 전기화학식(electrochemical) 가스센서

특정가스에 반응하는 전기화학식 가스센서는 다양한 안전분야에서 일산화탄소, 황화수소, 염화수소, 아황산가스 등 대부분 일반적인 유독성 가스를 감지하는데 사용할 수 있다. 전기화학식 가스센서는 전해질 내에 양극과 음극의 화학반응(산화환원 반응)에 의해 발생하는 전류값의 변화를 감지하는 것으로 크기가 작고 구동을 위한 전력이 매우 적으며 우수한 선택성, 선형성과 반복성을 갖고 있다.

전기화학식 가스센의 구조는 측정물질에 의해 산화가 일어나는 감지전극(sensing electrode 또는 working electrode), 감지전극에 외부로부터 전압을 걸어 줄 때 기준이 되는 기준전극(reference electrode), 감지전극으로 흐르는 전류만큼의 대응 전류를 흘려줌으로써 평형을 유지시키는 대전극(count electrode)으로 구성된다. 전기화학식 가스센서에 의한 황화수소 및 암모니아 가스의 화학반응 메커니즘 아래와 같으며, 전기화학식 가스센서의 내부 전극구조는 아래 그림과 같다.

황화수소 전기화학식 가스센서의 화학반응 메커니즘은 아래와 같다.

- Sensing electrode: $\text{H}_2\text{S} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^-$
- Count electrode: $2\text{O}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow 4\text{H}_2\text{O}$

암모니아 전기화학식 가스센서의 화학반응 메커니즘은 아래와 같다.

- Sensing electrode: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2 + \text{e}^-$
- Count electrode: $\text{OH}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2 + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

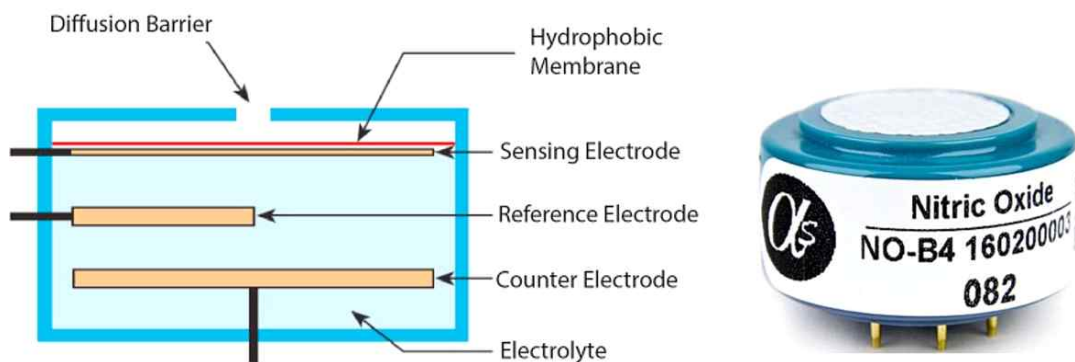


그림 167. 전기화학식 가스센서의 형태 및 내부 전극 구조

㉕ 광이온화 검출식(photoionization detector) 가스센서

광이온화 검출식 가스센서는 기체 크로마토그래피법 검출기의 하나인 광이온화 검출기를 이용한 가스센서 방식으로 유기기체 모니터링에 적합한 고가의 가스센서이다. 아래 그림처럼 광이온화 검출식 가스센서는 측정하려는 가스에 자외선(UV lamp)을 조사하여

기체를 이온화시켜 여기에 전압을 가해 발생한 전류를 측정하는 방법이다.

즉, 시료 중 유기물질(일반적으로 휘발성유기화합물)의 이온화 포텐셜이 조사 자외선의 에너지(eV)보다 작을 때 유기물질은 전자를 방출하여 이온화 한다. 따라서 조사 자외선의 에너지가 측정 조건이 되며 자외선 에너지보다 낮은 물질은 모두 모니터링 되어 총체적인 물질 농도로 측정되는 것이 일반적이다. 가스 조성을 알고 있는 조건이라면 각각의 물질에 대한 보정계수를 대입하여 각각의 물질 농도로 환산할 수 있다. 혼합기체의 경우에는 개별 휘발성유기화합물 성분을 측정하기 위한 용도보다는 휘발성유기화합물의 총체적인 농도 측정에 사용된다.

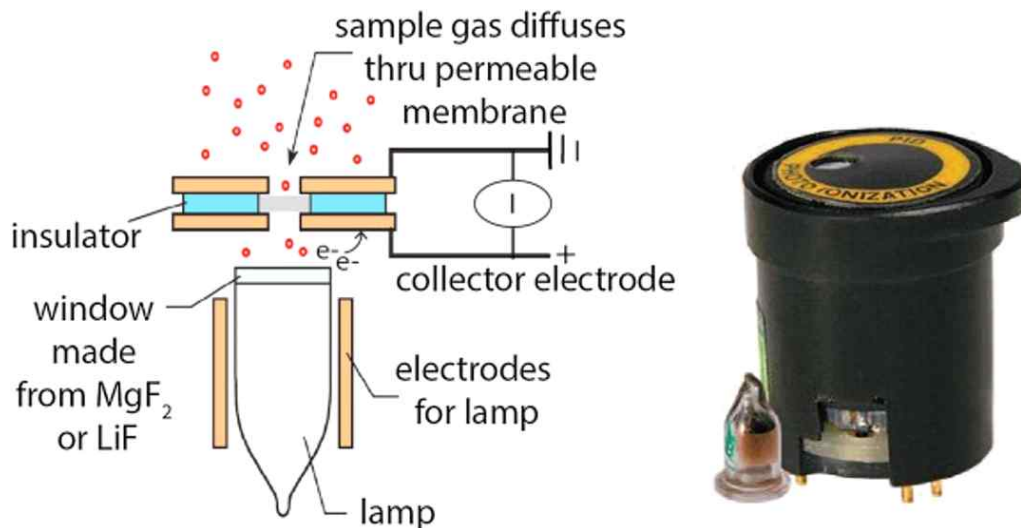


그림 168. 광이온화 검출식 가스센서의 내구 구조

② 가스센서 선정

앞서 살펴본 국내·외 참고문헌과 본 연구기관이 보유하고 있는 가스센서를 검토하여 FIS사의 센서 4종(SB-41, SB-EN2-02, SB-42A, SB-AQ1)과 Figaro사의 센서 6종(TGS-2603, TGS-825, TGS-2620, TGS-2611, TGS-2600, TGS-2602)을 선정하였고 이를 이용하여 신선농식품 평가를 위한 기초 평가 센서 어레이 시스템을 구축하였다.

아래 표에 본 연구에 사용된 10종의 금속산화물 가스센서 정보와 주요 반응물질 그리고 감지부 형태를 정리하였다. 선정된 가스센서의 활용분야는 주로 공기 오염물질과 유기용제 등에 고감도로 반응하는 센서이며 감지할 수 있는 가스의 종류가 많고, 검출회로의 구성이 간단하다는 특징이 있다. 앞서 살펴본 국내·외 참고문헌에서도 확인하였듯이, 사과에서 방출되는 주요 성분은 ester, alcohols, aldehydes, ketones, ethers 등 휘발성 유기화합물들로 보고되었기에, 본 연구에서 선정된 가스센서 또한 이러한 물질류에 고감도로 반응하는 금속산화물 가스센서를 고려하여 선정하였다.

선정된 가스센서는 FIGARO Engineering Inc.(Japan)의 TGS 센서 모델과 FIS사(Japan)의 SB 모델로 환원성 가스가 접촉하여 전기적 신호를 발생시키는 감지부는 산화주석(SnO₂)

이 모물질로 되어있다. 여기에 특정 가스에 선택성과 감도를 높이기 위해 각종 귀금속첨가물질이 각 센서 모델별로 그 비율과 종류를 다르게 하여 제작되고 있다. 또한 감지부 제작 형태에 따라 bead, thick film, tube type으로 분류되어지며, TGS 825 센서가 $19.5\pm 0.5\text{mm}$ (직경) 및 $23.0\pm 1.0\text{mm}$ (높이)의 tube type 센서이다. 대부분의 센서는 수 mm 수준의 감지막이 인쇄되어진 thick film type 센서로, 직경은 $9.2\pm 0.2\text{mm}$ 이고 높이는 $17.8\pm 0.5\text{mm}$ 로 tube type 보다 외형적으로 작은 것이 특징이다.

FIS 센서 사의 센서는 감지부가 모두 bead type으로 $0.5\times 0.3\text{mm}$ 수준의 bead 감지부가 히터 코일위에 도포되어 측정하고자하는 가스류를 감지하는 방식으로 아래 그림에 센서 감지부 type별로 그 형태를 도식화하였다. 본 연구에 사용되어진 대부분의 가스센서는 선행연구에서 살펴본 Brezmes et al. (2000), Koike et al. (2011) 연구에서도 사용되어 과일 숙성과정에서 발생하는 냄새를 평가하는데 사용되었다.

표 93. 신선 농식품 부패 냄새 변화 관찰을 위한 10종의 가스센서 선정

Sensor model	Applications	Type
SB-41 *	Refrigerant : R-22	Bead
SB-EN2-02 *	Alcohol Detection : Ethanol, Hydrogen, Iso-butane	Bead
SB-42A *	Refrigerant : R134a, R-410a, R-407c	Bead
SB-AQ1 *	Air Quality Controls : VOCs	Bead
TGS 2603 **	Odor and Air Contaminants : Ethanol, Trimethyl amine, Methyl mercaptan, Hydrogen sulfide	Thick-film
TGS 825 **	Hydrogen sulfide	Tube
TGS 2620 **	Solvent Vapors : Ethanol, Hydrogen, Iso-butane, Carbon monoxide, Methane	Thick-film
TGS 2611 **	Domestic gas alarms : Methane, Iso-butane, Hydrogen, Ethanol	Thick-film
TGS 2600 **	Air Contaminants : Hydrogen, Ethanol, Iso-butane, Carbon monoxide, Methane	Thick-film
TGS 2602 **	Air Contaminants : Toluene, Ethanol, Ammonia, Hydrogen sulfide, Hydrogen	Thick-film

* Japan, FIS Sensor INC., ** Japan, FIGARO Engineering INC.

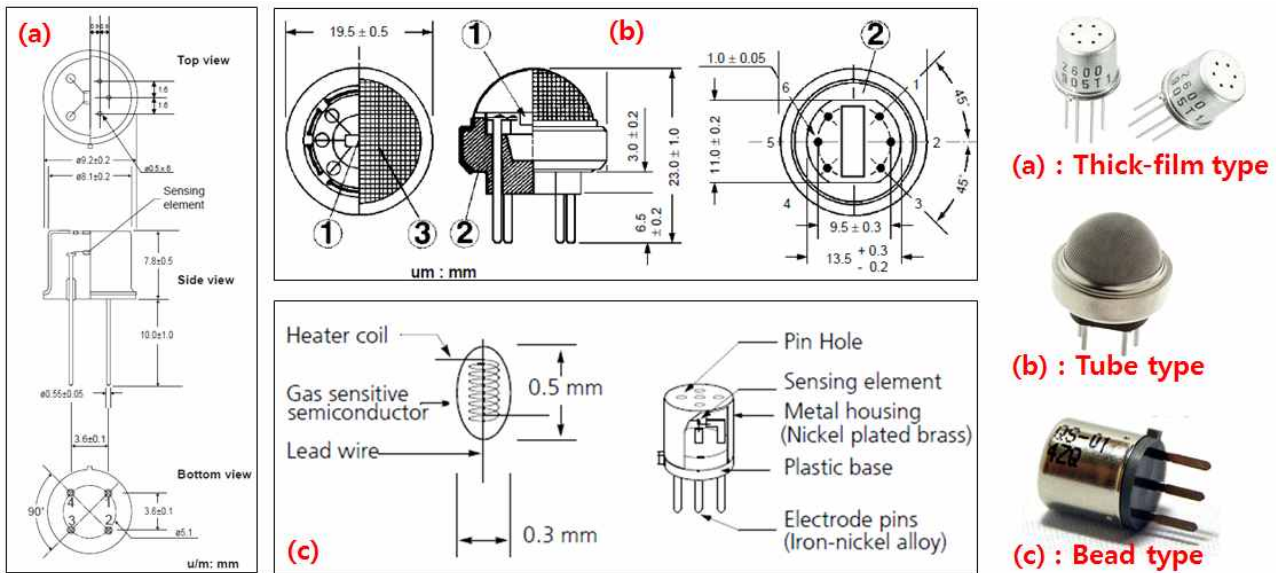


그림 169. 연구에 사용된 가스센서 type별 사양

③ 신선 농식품 평가를 위한 측정 시스템 제작

선정된 10종의 가스센서를 이용한 신선 농식품의 향 및 부패냄새 평가를 위한 측정 시스템을 아래 그림과 같이 구성하였다. 자체 제작한 가스센서 어레이 평가 모식도는 좌측부터 센서 측정부, 데이터 저장부로 구분할 수 있다. 우선 시료 도입부는 사과 시료 향을 보관하기 위한 1.2L 용량의 유리용기 chamber와 가스센서에 청정공기를 공급하기 위한 두 개의 activated carbon Filter, 시료 주입과 청정공기를 순차적으로 공급하기 위한 소형 3-way solenoid valve(KSV3WG-12A, KOGE, Taiwan)로 구성하였다. 센서 측정부는 자체 제작한 테프론 재질의 Manifold와 후단에서는 1.0L/min 유량으로 흡입할 수 있는 Vibrating diaphragm pump(SP 104 SA-VD, Schwarzer Precision, Germany)로 구성하였다. 모든 측정 자료는 데이터 수집 장치와 컴퓨터를 이용하여 사과 향과 부패냄새에 대한 센서 데이터를 초단위로 저장하였다.

측정 로직은 10초 동안 사과 시료 냄새가 센서에 주입되어 충분히 반응시키고, 사과 냄새에 반응한 센서를 다시 초기값으로 회복시키기 위해 290초 동안 activated carbon Filter(Ø: 50, W: 215mm)를 거친 청정공기가 Manifold에 공급되는 순서로 1개의 사과 시료를 평가하는데 총 300초 주기의 실험을 진행하였다.

금속산화물 가스센서의 작동과 데이터 출력을 위한 회로 구성은 히터 전압(V_H)과 회로 전압(V_C)으로 구분하여 제작하였다. 센서 소자 표면의 온도를 $200^{\circ}\text{C} \sim 400^{\circ}\text{C}$ 로 유지하기 위해 $5.0 \pm 0.2\text{V}$ DC 전압을 가하게 되며 자체 히터 저항(R_H)에 의해 센서 표면의 특정 온도는 일정하게 유지된다. 회로 전압 또한 $5.0 \pm 0.2\text{V}$ DC를 인가하였고, 이때 대상 가스가 센서와 접촉될 경우 센서에 직렬로 접속된 부하저항(R_L)을 거쳐 출력되는 전기전도도 변화를 전압(V_{out}) 또는 저항(V_{RL})값으로 얻었다.

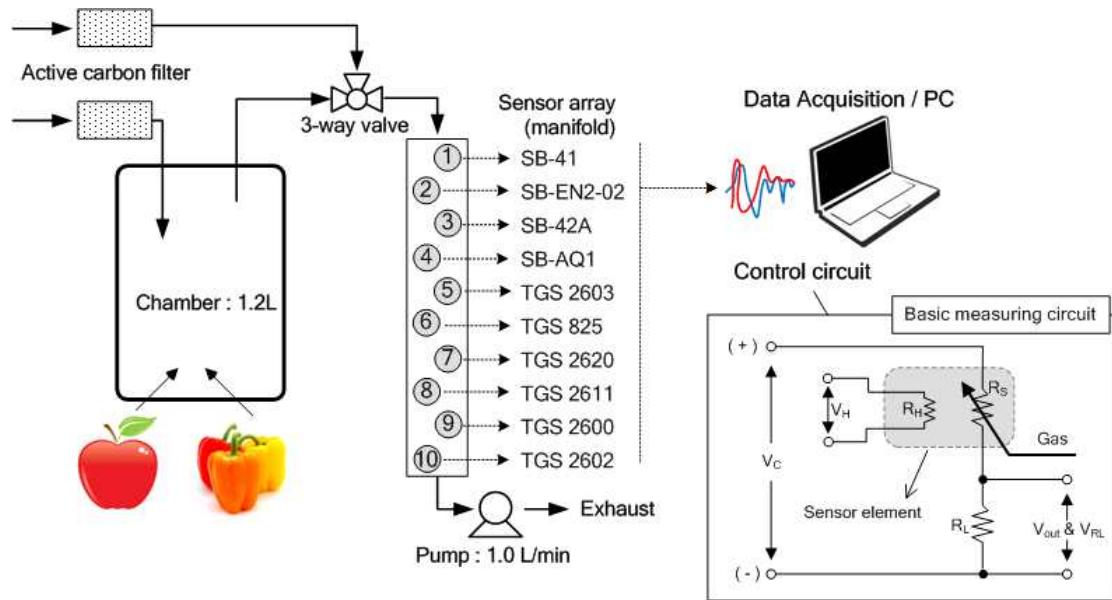


그림 170. 신선 농식품 향 및 부패냄새 평가를 위한 가스센서 어레이 측정 시스템

금속산화물 가스센서에서 출력되는 신호는 단순 전압(DC voltage) 또는 저항($K \Omega$) 변화로 나타나게 되는데, 본 연구에서는 이러한 출력신호를 청정공기의 센서 변화값(R_0)과 대상 냄새에 의한 센서 변화값(R_S)의 비(ratio)로 해석하는 식(1)을 이용하여 최종적인 센서 감도(sensitivity)의 결과값으로 사용하였다. 이때의 R_0 및 R_S 값을 산출하기 위한 계산은 식(2)와 식(3)과 같다. 가스센서 제조사(Figaro Engineering Inc.)에 의한 감도계산은 R_S/R_0 로 산출하였으나, 본 연구에서는 Jing et al. (2006)¹³⁾과 Sriyudthask and Supothina (2006)¹⁴⁾처럼 냄새 농도가 높으면 센서 감도가 증가하는 경향성을 쉽게 확인하고자 R_0/R_S 로 평가하였다.

$$Sensitivity = \frac{R_0}{R_S} \quad (1)$$

$$R_0 = \frac{V_c \times R_L}{V_{base}} - R_L \quad (2)$$

$$R_S = \frac{V_c \times R_L}{V_{out}} - R_L \quad (3)$$

R_0 : Sensor resistance in fresh air

R_S : Sensor resistance in gas

V_C : Circuit voltage (DC Voltage)

R_L : Load resistance ($K \Omega$)

V_{base} : Sensor out-voltage in fresh air (DC Voltage)

V_{out} : Sensor out-voltage in gas (DC Voltage)

13) Jing, Z., Wang, Y., Wu, S., 2006, Preparation and gas sensing properties of pure and doped γ - Fe_2O_3 by an anhydrous solvent method, Sensors and Actuators B 113, 177-181.

14) Sriyudthsak, M., Supothina, S., 2006, Humidity-insensitive and low oxygen dependence tungsten oxide gas sensors, Sensors and Actuators B 113, 265-271.

(2) 농식품 평가를 위한 부패 단계별 냄새센서 시스템의 최적화

(가) 농식품별 평가 방법 고찰

① 측정방법 고찰

대표적 신선 농식품별 측정방법을 고찰하고자 홍로사과, 파프리카, 딸기를 대상으로 시료주입방법, 센서 안정화 시간 등을 앞서 제작한 10종의 가스센서 어레이 시스템을 이용하여 도출하였다.

㉞ 홍로사과

홍로사과 시료 수집은 한국 경북 안동시 근교에서 시장출하 성숙기인 9월에 수확한 사과를 대상으로 하였고, 21개의 사과가 개별 포장된 1 box를 구매하여 부패등급에 따라 선별과정을 거친 후 연구에 사용될 11개의 사과 시료를 선별하였다. 11개의 사과 시료 중 육안검사를 통해 가장 신선도가 높고, 표면상 부패가 관찰되지 않은 사과를 A0(Control) 시료로 정하였고, 나머지 10개 시료는 신선도 및 표면 부패등급에 따라 A1~A10으로 구분하였다. 여기서 A10 시료는 부패가 이미 시작된 시료이며, 이렇게 준비된 사과 시료는 저장기간이 경과됨에 따라 사과 부패의 정도를 육안으로 확인할 수 있도록 투명한 1.2L 유리용기에 보관하였다.

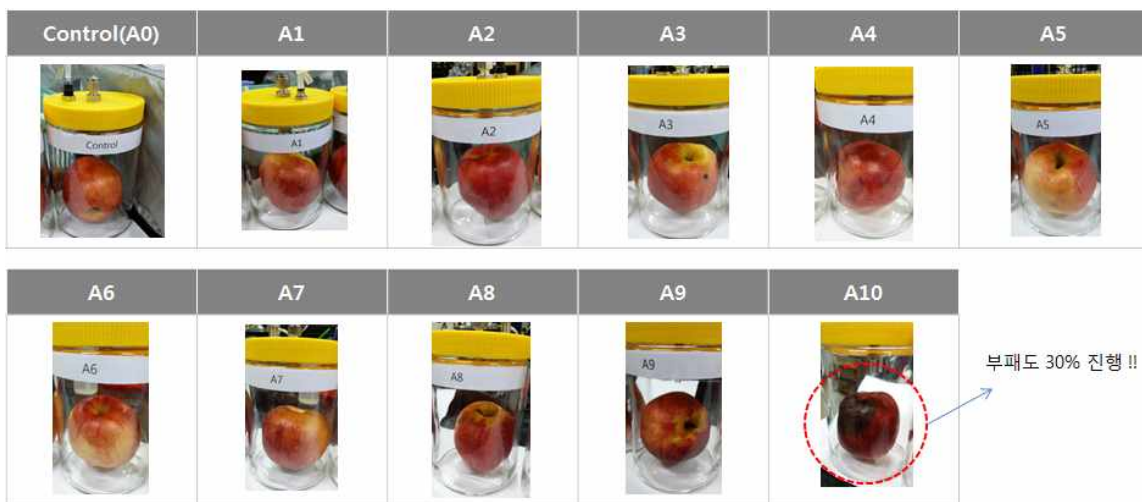


그림 171. 홍로사과의 향 및 부패냄새 관찰을 위한 시료 준비

홍로사과 시료 보관은 6℃ 냉장(DSG-1004FX, DAEJIN SCIENCE, Korea)보관을 진행하였다. 저장기간에 따른 사과 냄새 변화를 주기적으로 관찰하기 위해 주 1회 실험 계획으로 총 10주 동안 저장기간에 따른 향 변화 및 부패냄새를 관찰하였다. 6℃로 냉장 보관된 사과 시료의 온도에 의한 가스센서 영향을 최소화하고 충분한 사과 향의 포집을 위해 실험이전 약 6시간 동안은 상온에 방치하여 사과 시료의 온도평형을 진행한 후 가스센서 반응성 실험을 실시하였다.

홍로사과에 대한 사전적인 실험을 수행한 결과, 홍로사과 향에 대해서는 가스센서의 반응성이 우수하여 10초 동안 홍로사과 향을 가스센서에 노출시킬 경우 감도의 80% 수준까지 높게 반응하였다.

전체적인 홍로사과 측정 방법은 다음과 같다. 홍로사과 : 6°C 냉장보관 → 실험시작 6시간 전에 상온 방치(온도평형) → 가스센서 실험 2시간 전에 전기적 안정화를 위해 센서 전원 on → Control 시료 ~ A10 시료 순으로 실험(10초 사과시료 주입 → 290초 동안 활성탄 공기 주입 : 센서 안정화 단계) → 실험기간 : 총 10주 동안 관찰을 위해 주 1회 가스센서를 통한 반응성을 확인하는 절차로 진행하였다.

㉞ 파프리카

파프리카 향 및 부패냄새를 관찰하고자 참여기업인 농업회사법인 (주)농산무역(전라북도 김제시)에서 직접 수확한 파프리카를 품종별(Orange, Yellow, Red)로 샘플링 하여 연구에 활용하였다. 우선 부패하지 않은 Control 시료 확보를 위해 육안 검사를 실시하였고, 파프리카 표면상 부패 또는 손상이 발생하지 않은 Orange, Yellow, Red 품종 각각 1개씩 총 3개의 control 시료를 준비하였다.

반대로, 부패한 파프리카 시료의 냄새변화를 관찰하기 위해 부패 증상을 꼭지부패, 배꼽부패, 나이트 모양 부패 등으로 구분하여 부패한 파프리카 시료를 준비하였다. 결국 Orange 품종에는 Control 시료 1개, 꼭지부패 시료 1개, 배꼽부패 시료 1개, 나이트 모양 부패 시료 1개를 준비하였고, Yellow 품종은 Control 시료 1개, 꼭지부패 시료 1개, 배꼽부패 시료 1개를 준비하였다. 마지막으로 Red 품종은 Control 시료 1개, 꼭지부패 시료 1개, 나이트 모양 부패 시료 1개로 총 10개 시료의 파프리카를 준비하였다.

실험 기간 동안 파프리카는 겨울철 실온상태인 약 4°C, 상대습도 약 30% 조건에서 보관하였으며, 보관시 호기성 부패를 위해 유리 bottle 덮개를 개방하고 멸균 거즈로 입구를 덮어 외부 오염원을 차단하였다.

파프리카 냄새 평가를 위해 가스센서의 반응성을 확인한 결과, 10초 동안에는 가스센서가 파프리카 향에 충분히 반응하지 않았다. 이에 파프리카 향에 가스센서를 충분히 반응시키고자 30초 노출 시간으로 평가방법을 진행하였다.

전체적인 파프리카 측정 방법은 다음과 같다. 파프리카 : 상온보관(부패도 발생을 위한 공기 조건에 오픈상태로 보관, 멸균거즈 유리 bottle 입구 처리) → 실험시작 1시간 전 밀폐조건으로 파프리카 향을 포집 → 가스센서 실험 2시간 전에 전기적인 안정화를 위해 센서 전원 on → Control 시료부터 부패시료 및 품종별로 순차적 실험(30초 파프리카 시료 주입 → 270초 동안 활성탄 공기 주입 : 센서 안정화 단계) → 실험기간 23일 동안 2일 간격으로 가스센서 반응성과 부패변화를 관찰하였다.

표 94. 파프리카 부패도 변화 관찰을 위한 평가 시료

품종	시료명	부패부위	시료사진
Orange	PO-0-3	Control	
	PO-1-3	꼭지부패	
	PO-2-3	배꼽부패	
	PO-4-3	나이테 모양 부패	
Yellow	PY-0-3	Control	
	PY-1-3	꼭지부패	
	PY-2-3	배꼽부패	
Red	PR-0-3	Control	
	PR-1-3	꼭지부패	
	PR-3-3	나이테 모양 부패	



그림 172. 부패 부위별 파프리카 시료 준비

㊤ 딸기

홍로 및 파프리카 실험은 3-way 전자밸브를 이용하여 임의의 시간동안 측정시료를 가스센서에 노출시키고 또다시 임의의 시간만큼 청정공기를 주입유로를 변경하는 반응-탈착 방식의 주입방법을 사용하였다. 추가적인 시료 주입방법을 고찰하고자 주사기를 이용한 실험을 딸기 평가에서 계획하였다. 주사기 주입방식의 실험은 장희 및 설향 딸기 품종을 대상으로 진행하였고, 우선 아래 그림과 같은 모식도로 가스센서 측정장비를 다시 구성하였다. 주사기 주입방법은 우선 실험 대상인 딸기를 0.5L 용기에 품종별로 밀폐하여 보관하고 30분 밀폐공간에서 딸기 향을 포집한다. 포집된 딸기 향을 3mL 주사기를 이용하여 채취하고 활성탄 필터로 정화된 공기가 연속적으로 흐르고 있는 가스센서 어레이에 주입하는 방법이다.

주입방법은 숙련된 실험자로 주입속도와 방법을 일정하게 하도록 숙련시켰으며, 1인의 실험자가 실험 기간동안 전체 실험을 진행하였다. 이때 출력되는 가스센서의 신호는 초단위로 데이터 로거에 수록되고 이를 다시 PC와 연결하여 데이터가 수집되는 방법이다.

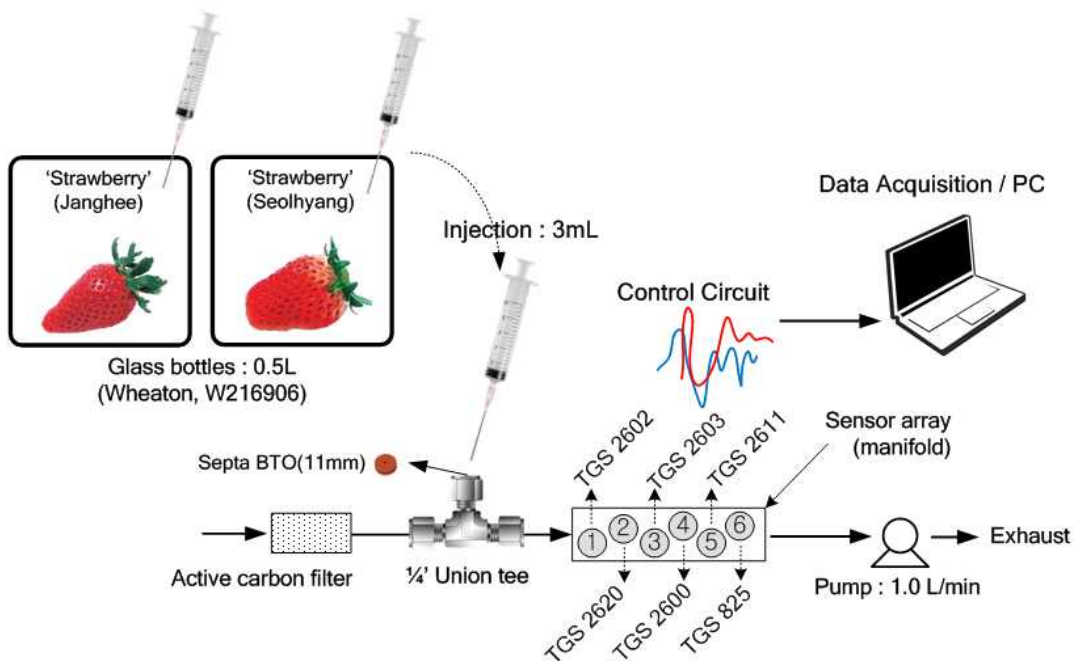


그림 173. 주사기 주입방법의 딸기품종 가스센서 실험 모식도

딸기 부패균 접종은 주관기관에서 균분리한 *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium tenuissimum*, *Cladosporium rectoides*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium brevicompactum* 5종의 부패원인균 현탁액을 공급받았다. 부패균 접종은 딸기를 유리 bottle에 넣은 후 딸기 상층부에 부패균 현탁액을 20 μ L 올려놓는 방식을 이용하였으며, 모든 부패균 접종 및 실험의 준비는 clean bench에서 진행하여 외부로부터의 오염을 최소화하였다.

또한 균 접종을 위한 딸기 선별은 참여기업인 썸머힐상사(주)에서 그날 수확한 장희 및 설향 품종을 공급받았으며, 공급받은 딸기를 다시 한번 실험실에서 신선도를 확인하고 부패가 의심되는 딸기는 실험에서 배제하였다. 또한 무게 기준으로 2차 선별을 진행하였고, 딸기 품종마다 중량이 다르므로 설향은 16g 내외의 실험군을 15개 선별하였고, 장희는 11g 기준으로 15개의 실험군을 선별하였다.

딸기 부패균은 2회 반복을 위해 2개의 딸기에 동일 부패균을 접종하였고, control(증류수 접종) 포함하여 1개의 부패균 실험을 위해 3개의 딸기 시료 그룹을 준비하였다. 부패균이 접종된 딸기 시료는 밀폐된 상태로 25 $^{\circ}$ C 및 90% 조건으로 항온항습하여 실험시간인 총 5일(0~4일)간 보관하였고, 가스센서 평가는 1일 간격으로 모니터링 하였다.

가스센서 실험 주기는 주사기로 3mL 채취하여 주입시킨 후 가스센서에 반응시켜 피크를 확인하고 이후 청정공기로 회복시키는 방법으로 1회 실험 주기는 180sec 간격이다.

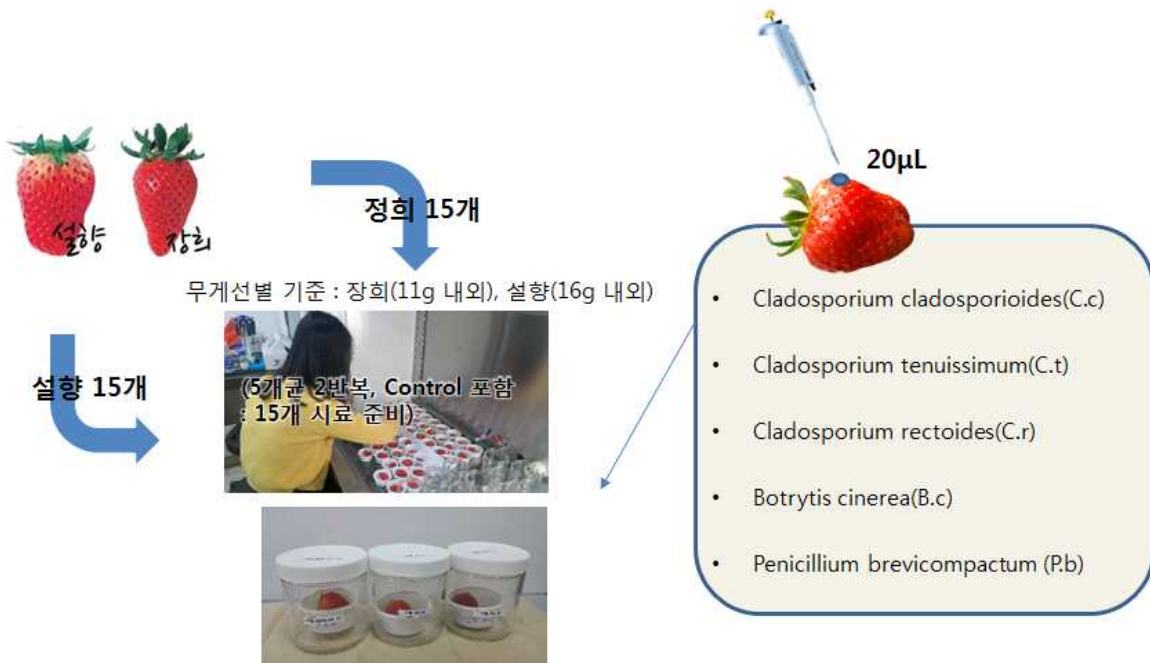


그림 174. 부패도 관찰을 위한 설향 및 장희 품종의 실험준비와 부패균 접종방법

① 자연부패에 의한 홍로사과의 부패도 관찰 및 가스센서 반응

㉞ 홍로사과 부패도 관찰

앞서 정리한 홍로사과에 대한 향 및 부패냄새 변화를 관찰하고자 A0(control), A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10 총 11개 홍로사과 시료를 준비하였다. 사과부패 원인균을 접종하지 않았으며, 농장에서 구매한 사과의 신선도 등급에 따라 구분한 사항이다.

11개 사과 시료 중 82%에 해당하는 9개 시료(A0, A1 ~ A8)는 10주 동안 부패가 관찰되지 않았다. 즉, 다른 과일보다 저장기간이 긴 사과의 특징으로 Brezmes et al. (2000)¹⁵⁾와 같은 결과로 나타났다.

반대로 A9 및 A10 사과 시료는 저장기간 중 또는 최초 선별과정에서 부터 부패가 발생한 시료이다. A9 시료의 경우는 약 5주차부터 갈색 무늬 형태의 표면 변화가 관찰되기 시작되어 6주차부터 약 10%의 부패율이 관찰되었고, 점차 증가하면서 마지막 10주차에는 약 30%의 부패율이 확인되었다. 시료 선별 과정에서부터 부패가 관찰된 A10 사과 시료는 1주차부터 약 30%의 부패율을 보였고 5주차에는 80%, 8주차에는 사과 전체로 부패가 발생하였다.

사과의 부패율 평가는 주관연구기관에서 제시한 방법과 동일하게 시료의 전체 총면적($=4\pi r^2$, 구의 겹넓이) 대비 부패부위의 면적($=\pi r^2$, 원의 넓이) 비율(%)을 이용하여 산출하였다. 사과의 과일의 특성상 불규칙한 타원 형태이므로, 총면적의 반지름(r)을 구하기 위해서 사과시료의 가로길이(최단 및 최장지름, mm)와 평균 세로길이(높이, mm)를 측정하였고 평균을 통해 사과의 총면적을 구하기 위한 반지름 값을 구하였다. 부패면적 또한 저장기간이 늘어날수록 불규칙한 원의 형태로 부패하기 때문에 사과의 총면적의 반지름을 구하는 방식과 동일하게 부패부위의 최단지름과 최장지름을 측정 후 이를 평균화하여 부패부위의 면적을 산출하기 위한 반지름을 구하였다. 사과의 총면적은 실험시작 1주차인 최초 1회 측정하였으며 부패부위는 매주 1회 10주간 측정하여 연구결과에 반영하였다.

표 95. 자연부패에 의한 홍로사과의 부패율(%) 변화

Sample	Weeks, Decay(%)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A0(Control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A1~A8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A9	0	0	0	0	0*	10	13	15	20	30
A10	30	45	55	70	80	85	90	100	100	100

* 부패는 확인되지 않았으나 사과 표면상에 갈색의 반점이 확인됨

15) Brezmes, J., Llobet, E., Vilanova X., Saiz, G., Correig, X., 2000, Fruit ripeness monitoring using an Electronic Nose, Sensors and Actuators B 69, 223-229.

㉔ 가스센서 반응성

홍로사과 시료와 각 주차별 10종의 가스센서 감도 변화를 수집하여 아래에 정리하였다. 먼저 관찰기간 동안 부패가 관찰되지 않은 A0(control) 시료는 측정 주차가 늘어날 수록 감도가 증가하는 경향을 TGS 센서 그룹(2603, 825, 2620, 2611, 2600, 2602)과 감도의 변화가 없는 SB 센서 그룹(SB-41, SB-EN3, SB-42A, SB-AQ1)으로 구분할 수 있었다.

TGS 센서 그룹 중 TGS 2600 센서의 감도가 가장 높고 이어서 TGS 2620, TGS 825, TGS 2602, TGS 2611 센서 순으로 확인된다. 이는 홍로사과가 10주차로 갈수록 과숙성되면서 발생하는 사과 향에 반응한 결과로 판단된다.

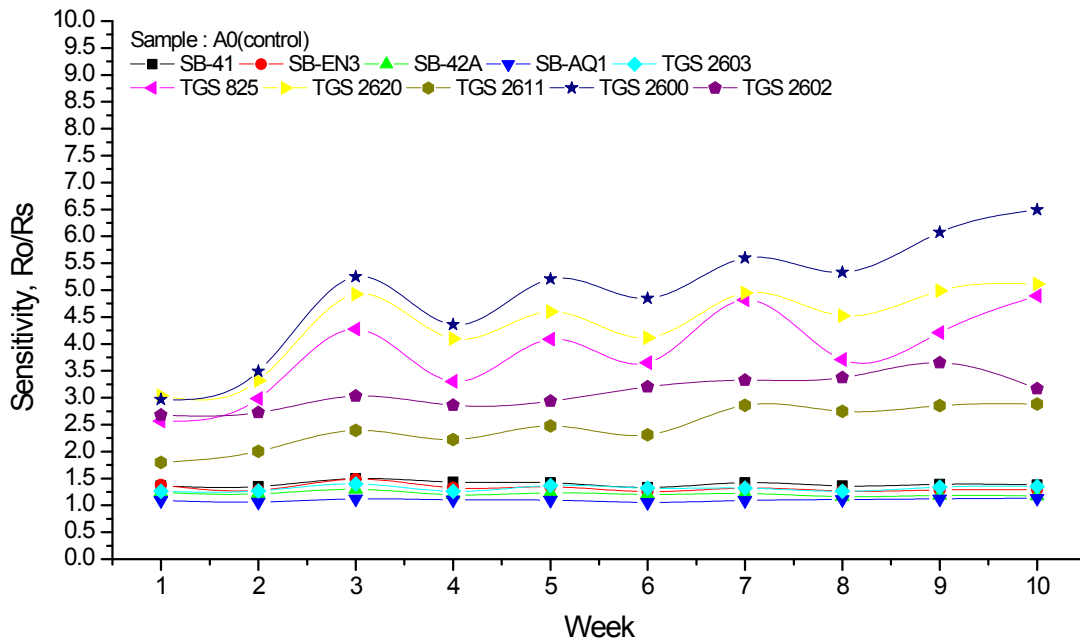


그림 175. 홍로사과 A0(control) 시료의 10주간 가스센서 감도 변화

10주 동안 부패율이 관찰되지 않은 홍로사과 A1 ~ A3 시료에 대한 가스센서 반응성을 관찰하여도, A0 시료와 같은 경향을 보이고 있다. 10주가 될수록 감도가 높아지는 TGS 가스센서 그룹과 반대로 변화가 없는 SB 센서 그룹으로 구분되고, 감도가 높은 TGS 센서 그룹은 모두 동일하게 TGS 2600 센서의 감도가 가장 높고 이어서 TGS 2620, TGS 825, TGS 2602, TGS 2611 센서 순으로 확인된다.

모든 시료는 1주차와 2주차에 3이하의 감도를 보이고 있고, 3주차부터 감도가 증가하는 공통적인 변화를 관찰 할 수 있었다. 이러한 증상은 A4, A5, A6, A7, A8 시료에서 모두 동일하게 관찰되었고, 확인해본 결과 이들 시료도 10주 동안 부패율이 관찰되지 않는 시료로 나타났다.

그러나, TGS 2603 센서는 감도가 높은 TGS 그룹에 해당되면서도 홍로사과 향에 반응하지 않는 특징을 보이고 있는 것으로 TGS 2603 센서는 FIS 센서 그룹과 함께 10주 동안 1 수준의 감도를 보이고 있는 것이 특징이다.

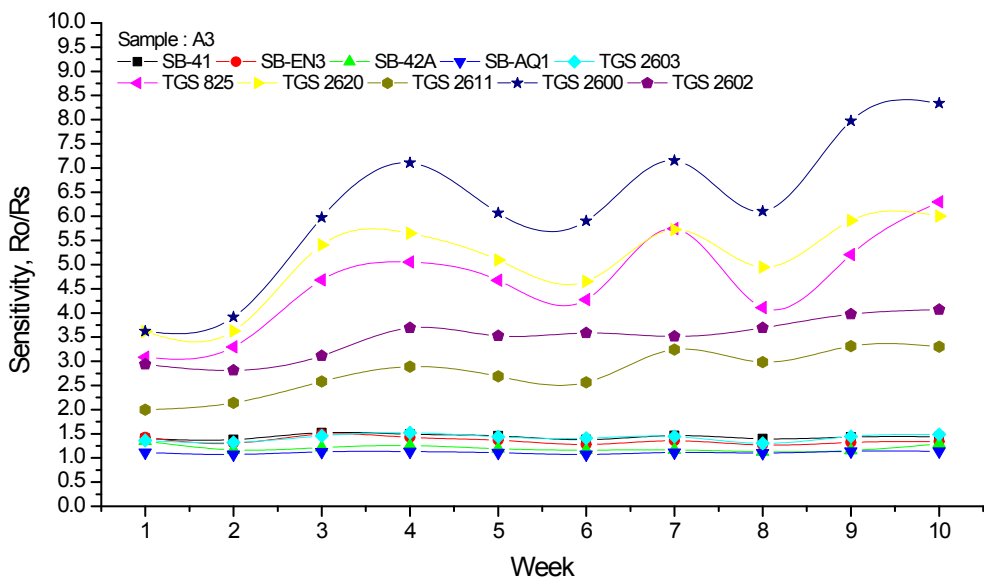
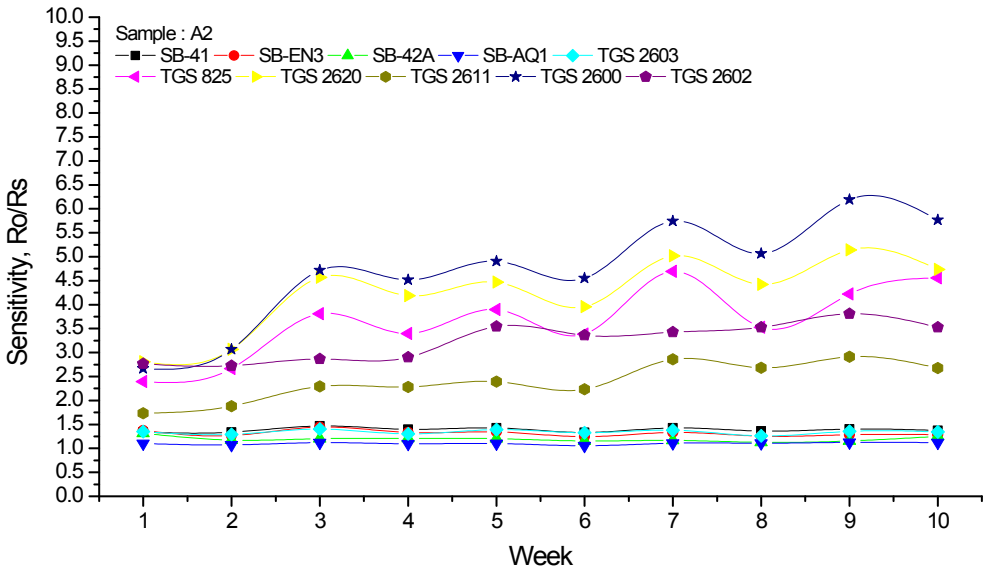
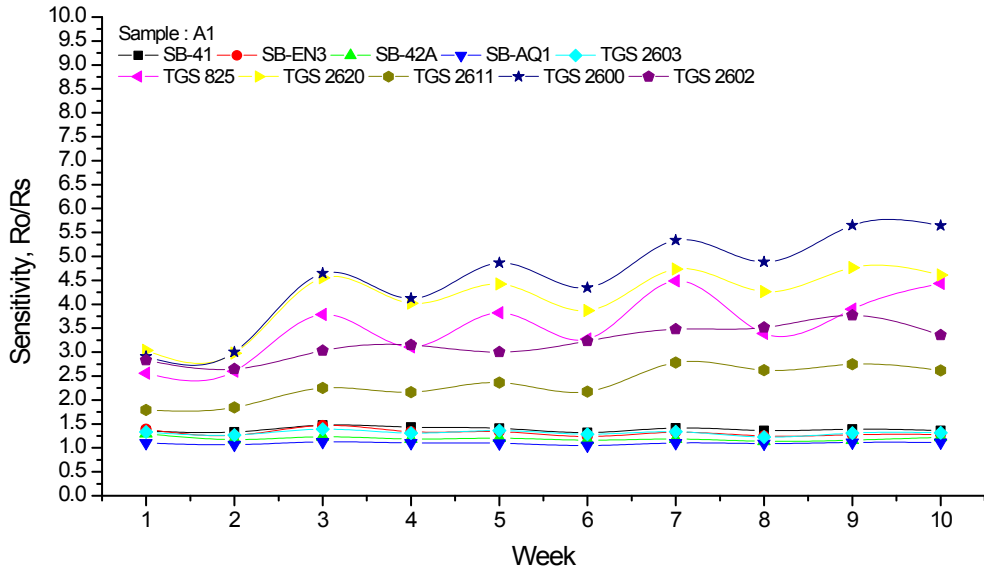


그림 176. 흥로사과 A1~A3 시료의 10주간 가스센서 감도 변화

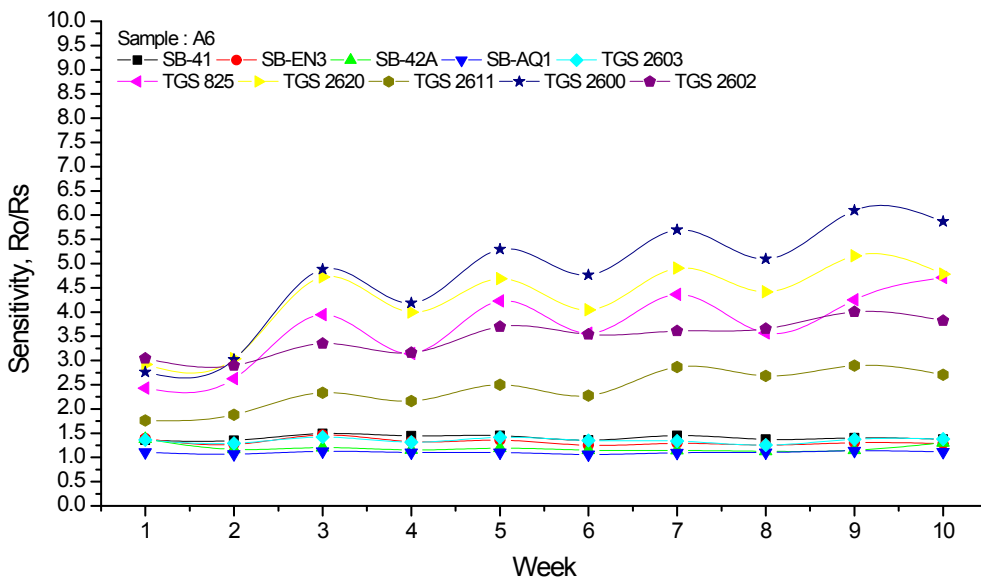
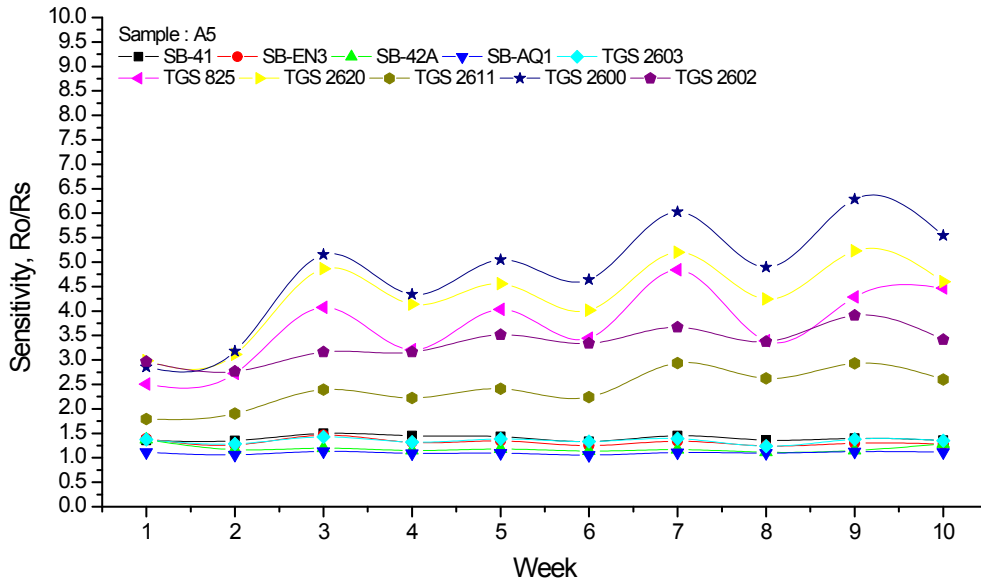
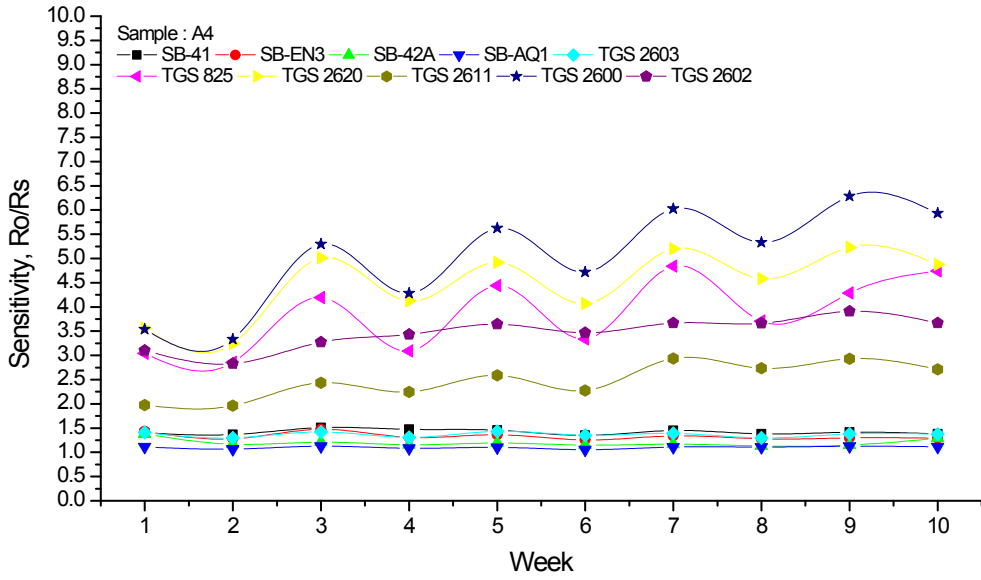


그림 177. 홍로사과 A4 ~ A6 시료의 10주간 가스센서 감도 변화

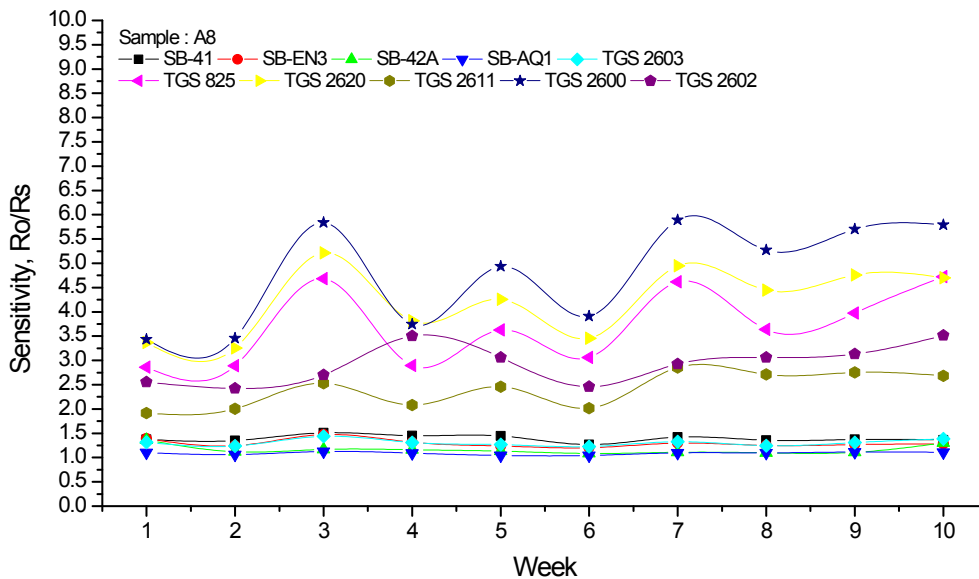
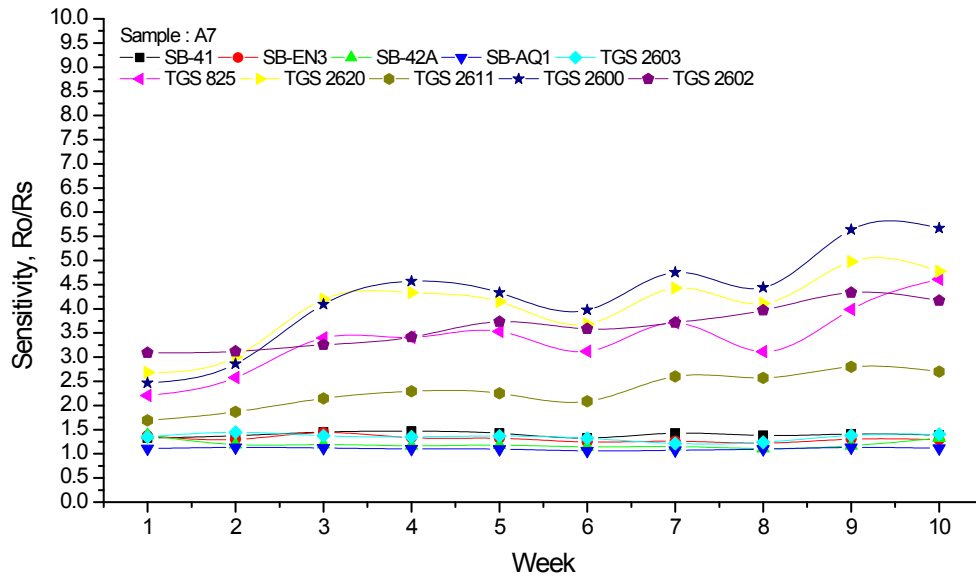


그림 178. 홍로사과 A7 ~ A8 시료의 10주간 가스센서 감도 변화

A9 시료는 약 5주차에 초기 부패가 관찰된 시료로, 4주차에는 대부분의 가스센서 감도가 증가한 후 5주차 이후부터는 다시 감소와 증가를 반복하는 경향이 관찰되었다. 그러나 TGS-2603 센서의 경우는 약 5주차까지 특별한 변화가 없다가 6주차 이후부터 점차 감도가 증가하는 경향을 확인할 수 있었다. 이때의 감도 변화는 5주차 이전에는 1.2~1.3 수준의 감도를 보이다가 6주차 이후부터는 1.3 이상의 감도가 변화하면서 최종 10주차에는 1.8배 이상 증가한 2.4의 감도변화가 확인되었다.

최초부터 30%의 부패율로 시작되어 8주차에는 100% 부패된 A10 시료는 전반적으로 5주차부터 감도가 증가하는 경향을 보였다. 5주차는 80%의 부패율이 관찰된 시기로 5주차 이전에는 사과 향 및 부패냄새가 혼합되어 방출되다가 5주차 이후부터는 사과 향보다는 부패냄새가 상대적으로 높게 방출되어 나타난 결과로 판단된다. A0 및 A9 사과 시료에 낮은 반응성을 보였던 TGS 2603 센서의 경우는 A10 시료에 2단계로 반응하는 특징이 관

찰되었다. 1단계는 1 ~ 4주차로 이때의 평균 감도는 3.0 수준 이였고, 2단계는 80% 부패율이 확인된 5주차 이후로 4.6 이상의 높은 감도가 확인되었다.

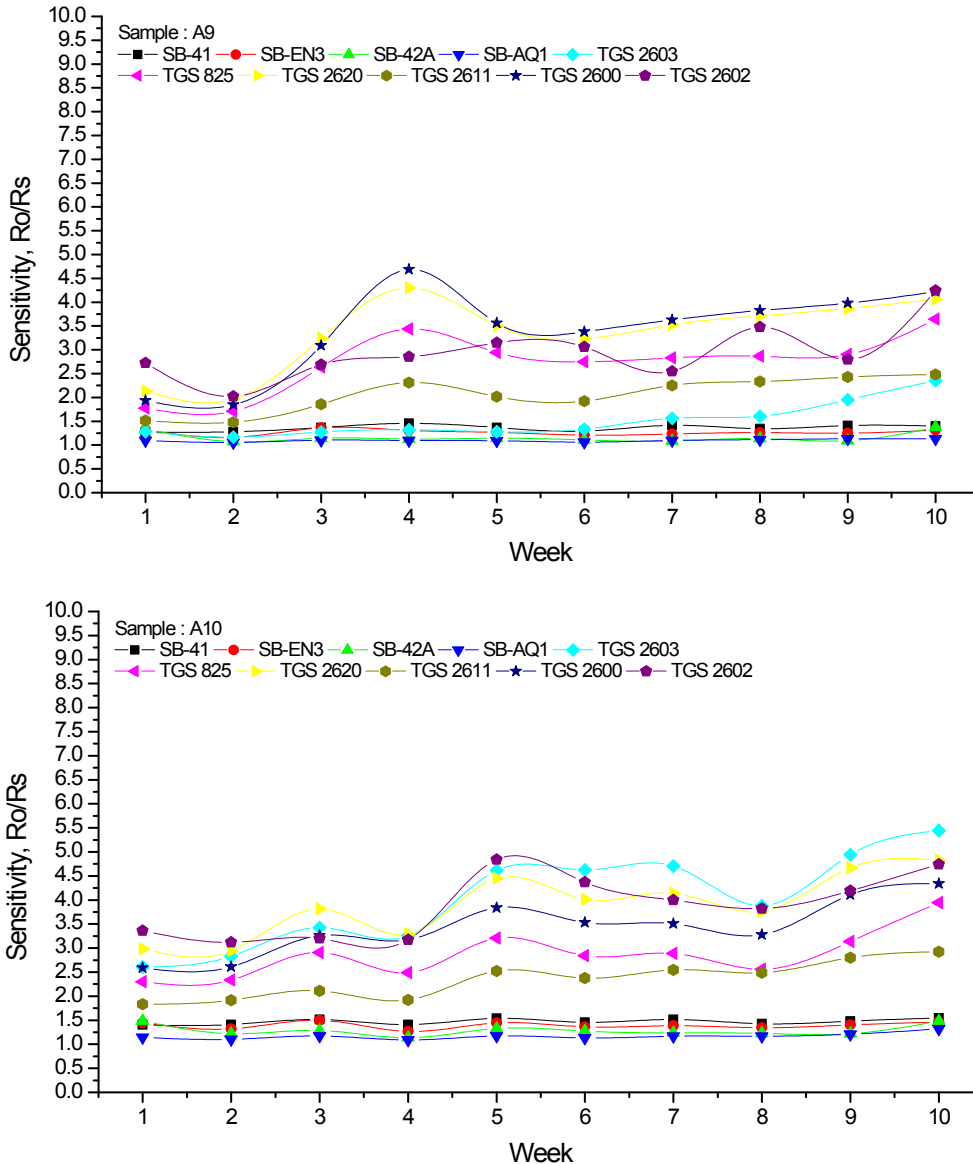
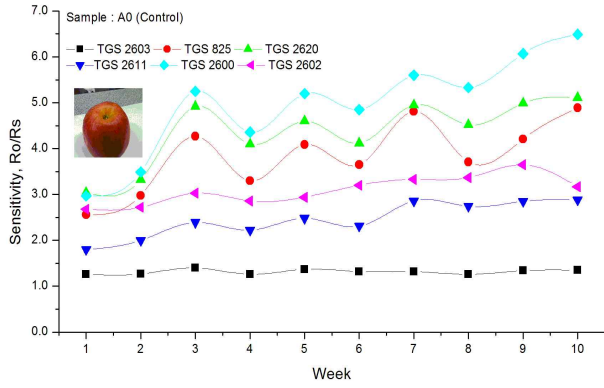


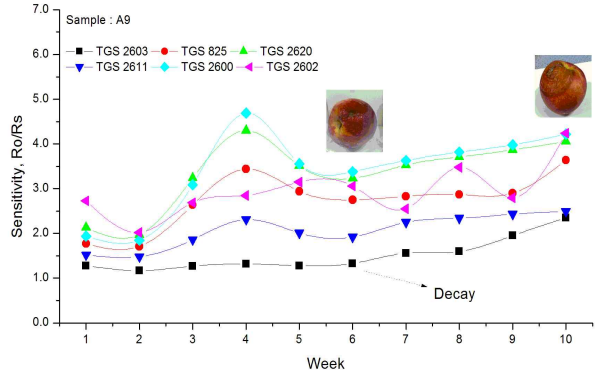
그림 179. 홍로사과 A9 ~ A10 시료의 10주간 가스센서 감도 변화

㊤ 홍로사과 부패감지를 위한 최적가스센서 선정

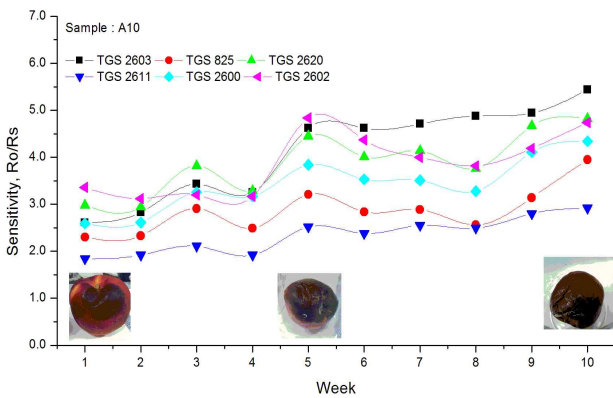
홍로사과의 저장기간에 따른 향과 부패냄새를 관찰하기 위해 총 10주간 주 1회 실험을 실시하였다. 그 결과, 6종의 반도체식 가스센서는 사과향 또는 부패냄새에 대하여 높은 반응특성을 보였다. 그 중 TGS 2603 센서의 경우는 부패 변화가 관찰된 A9, A10 시료에 대하여 부패도가 증가할수록 센서 감도가 단계적으로 증가하였고, 부패가 관찰되지 않는 A0 시료에 비해 감도 변동폭이 상대표준편차 기준 20% 높게 나타나는 결과를 보였다.



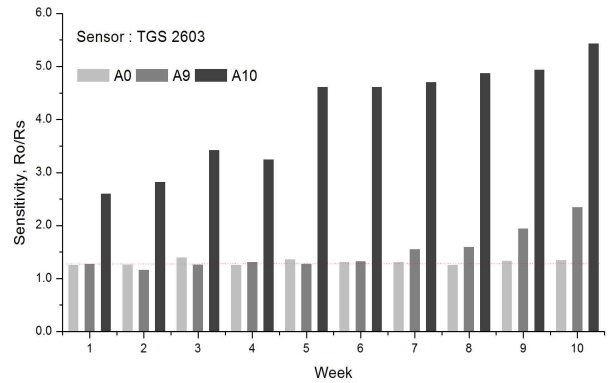
(부패가 관찰되지 않은 사과시료)



(5~6주차 부터 부패가 시작된 사과시료)



(1주차부터 부패가 시작된 사과시료)



(TGS 2603 센서 반응성)

그림 180. 홍로 사과 품종의 부패도 유무에 따른 가스센서 반응성 관찰 결과

아래 표에 A0(Control), A9, A10 시료 실험결과를 이용하여 홍로사과 부패율 변화와 가스센서 감도간의 상관분석과 일원분산분석(One-way analysis of variance)을 실시하여 정리하였다. $r = 0.992$ 로 매우 강한 상관관계를 보이는 가스센서는 TGS 2603으로 나타났고, TGS 2602 센서 또한 $r = 0.753$ 으로 강한 상관관계를 보였다. 그 외 가스센서는 $r = 0.3$ 이하로 약한 상관관계를 보였고 TGS 825 및 TGS 2600 센서는 부패율 변화에 대하여 음의 상관관계로 나타났다.

유의확률(p -value)이 0.05 이하인 경우에 통계학적인 의미를 두어, 귀무가설(H_0 , 부패율에 따라 가스센서 값의 변화는 없다)과 대립가설(H_1 , 부패율에 따라 가스센서 값의 변화는 있다)을 세워 분석을 실시하였다. 그 결과 앞서 상관관계가 높게 나타난 TGS 2603과 TGS 2602 가스센서가 유의확률 0.05 이하로 나타나, 대립가설이 채택되었다. 이는 부패율 증가에 따라 가스센서 감도 또한 증가하는 것으로, 6종의 금속산화물 가스센서 중 홍로 사과의 부패율 평가에 있어 적합한 가스센서로 확인되는 결과이다.

표 96. 감도가 높은 가스센서와 부패율 변화에 따른 상관분석과 일원분산분석 결과

Gas sensor	TGS 2603	TGS 825	TGS 2620	TGS 2611	TGS 2600	TGS 2602
Coefficient of correlation(=r)	0.992	-0.173	0.151	0.297	-0.222	0.753
p-value	0.000	0.962	0.938	0.750	0.940	0.000

아래 그림은 부패율과 상관관계가 높은 TGS 2603 및 TGS 2602 가스센서 실험 데이터만을 정리하여 상관관계를 나타낸 결과이다. 0 ~ 100% 부패율에 따른 가스센서 감도 변화는 기울기(slope) 기준으로 TGS 2602는 0.0135 수준이며, TGS 2603 가스센서는 2.8배 이상 높은 0.0384로 나타났다. 또한 청정공기에 대한 가스센서 감도값이 1.0(=R₀) 수준임을 감안할 때 TGS 2603 센서의 0% 부패율 감도 변화는 1.29±0.06(Mean±S.D.)로 나타내고, TGS 2602 가스센서의 경우는 2.96±0.39를 보이고 있다. 즉, TGS 2603 가스센서는 TGS 2602 가스센서보다 0% 부패율에 대하여 약 6.8배(=2.96-1.00/1.29-1.00) 안정적인 감도값을 보이는 것으로 평가되었다.

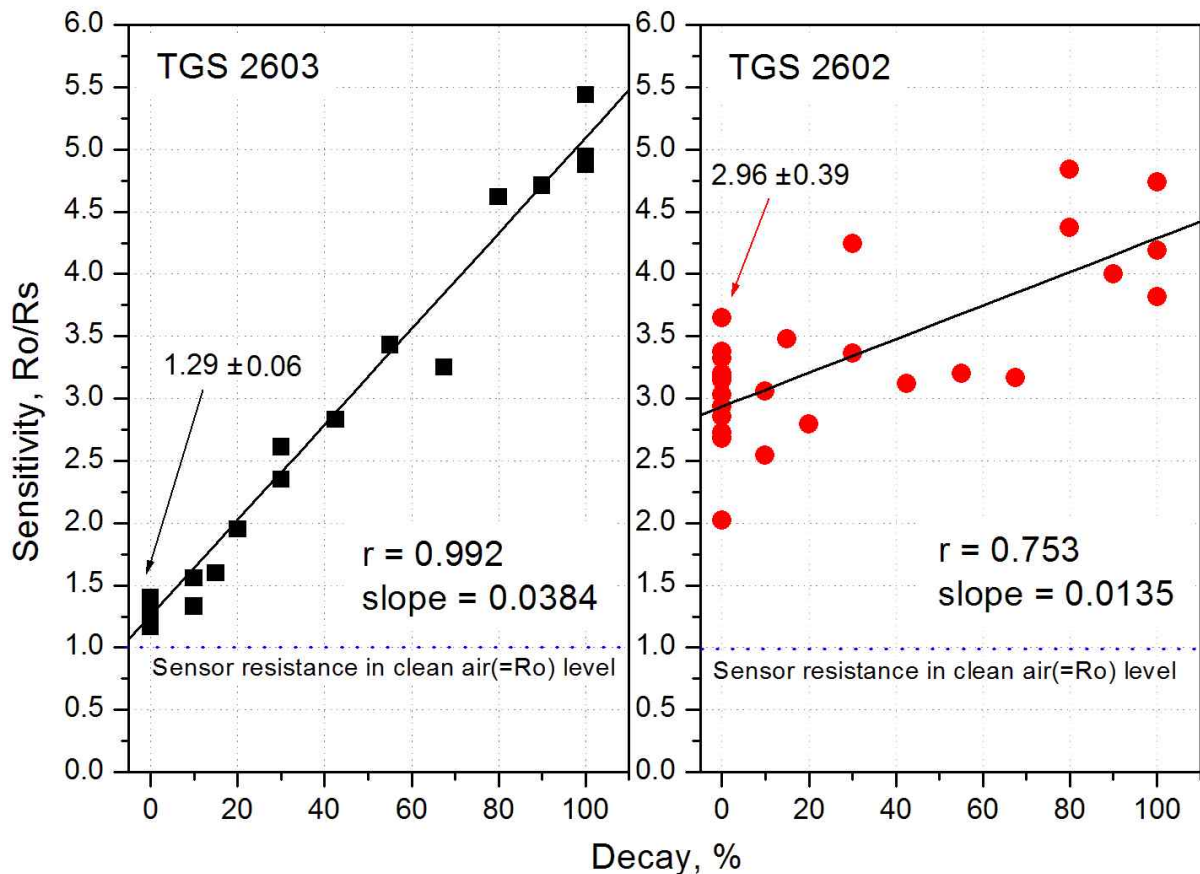


그림 181. 홍로사과의 부패율 감지를 위한 최적 가스센서의 감도와 부패율 간의 상관관계 비교

㊤ 최적 가스센서의 반복 재현성 평가

10주차 실험 종료 후에 A0 ~ A10 시료를 각각 0.8 ~ 1L 씩 포집한 복합 사과냄새(사과향 및 부패냄새가 혼합된 시료) 시료 10L를 준비하여 가스센서에 대한 6회 반복 재현성 평가를 진행하여, 그 결과를 아래 표에 정리하였다. 6종의 가스센서는 모두 상대표준편차(Relative Standard Deviation, %RSD) 5% 이하의 양호한 재현성 결과를 확인할 수 있었다.

그 중 재현성이 우수한 가스센서는 1.22%로 TGS 2611 이였고, TGS 2602 센서는 4.08%로 6종의 가스센서 중 재현성이 상대적으로 낮은 가스센서로 나타났다. 본 연구에서 홍로사과의 부패냄새를 감지하기 위한 최적의 가스센서로 평가되고 있는 TGS 2603 가스센서는 3.44%의 양호한 반복 재현성 결과가 확인되어 부패냄새에 대한 반응성, 상관성 뿐만아니라 재현성 측면에서도 모두 우수한 것으로 평가되었다.

표 97. 가스센서별 6회 반복재현성 비교 평가

Gas sensor	Sensitivity(R_0/R_S)						Mean	S.D.	%RSD
	1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.			
TGS 2603	2.02	2.05	2.12	2.15	2.16	2.22	2.12	0.07	3.44
TGS 825	3.26	3.36	3.46	3.50	3.50	3.58	3.44	0.12	3.36
TGS 2620	4.25	4.25	4.33	4.39	4.37	4.36	4.32	0.06	1.39
TGS 2611	2.46	2.47	2.51	2.52	2.53	2.52	2.50	0.03	1.22
TGS 2600	4.69	4.68	4.82	4.86	4.86	4.80	4.79	0.08	1.67
TGS 2602	3.85	3.94	4.13	4.19	4.23	4.26	4.10	0.17	4.08

② 파프리카 품종별 부패도 관찰 및 가스센서 반응

㉞ 파프리카 품종별 냄새변화와 가스센서 간의 상관분석 결과

가스센서 어레이 시스템에 적용된 10종의 가스센서를 모두 이용한 파프리카의 냄새 특성 평가 과정을 단순화하기 위해 가스센서별 상관분석을 통해 대표센서를 선정하였다. 센서간 상관계수가 높은 센서들의 경우는 시간 경과에 따른 냄새 특성 변화의 경향성이 유사하다고 판단할 수 있기에 상관계수가 낮은 가스센서 및 제조사별로 대표센서를 선정하였다. 상관분석은 파프리카 고유의 냄새를 기준으로 부패가 진행되지 않는 색깔별 시료의 시간 경과에 따른 센서값을 이용하여 실시하였다.

다음 표에 시간 경과에 따른 파프리카 냄새 특성에 대한 품종별 가스센서의 상관관계를 분석하여 정리하였다. FIS사의 SB-AQ1 가스센서는 모든 파프리카 품종(Red, Orange, Yellow)에 $-0.55 \sim 0.28$ 의 음 및 양의 낮은 상관관계로 나타나 다른 센서와 차별성이 있는 것으로 판단된다.

그러나 SB-AQ1 센서를 제외한 FIS사의 3종 센서와 FIGARO사의 TGS 모델 6종 가스센서는 파프리카 품종과 상관없이 가스센서간의 상관계수가 0.73이상의 양호한 양의 상관관계로 나타났다. 이에, SB-AQ1 가스센서를 제외한 9종 가스센서의 경우는 시간 경과에 따른 냄새 특성의 경향성과 상관성이 양호하다고 판단된다.

상관분석 결과를 바탕으로, 대표센서는 가스센서간 상관관계가 낮아 다른 가스센서와 차별성이 가장 높을 것으로 판단되는 SB-AQ1 가스센서를 우선적으로 선정하였고, FIS사와 FIGARO사에서는 SB-AQ1 가스센서와 상관관계가 낮은 가스센서를 각각 1종씩 추가로 선정하였다.

제조사별로 SB-AQ1 가스센서와 상관관계가 낮은 가스센서는 FIS사의 경우, Red 파프리카는 SB-EN3 가스센서, Orange 및 Yellow 파프리카는 SB-41 가스센서이며 FIGARO사의 경우, Red와 Orange 파프리카는 TGS 2611 가스센서, Yellow 파프리카는 TGS 2600 가스센서로 나타났다. 이에 대표센서는 SB-AQ1, SB-41, TGS 2611 가스센서 3종으로 최종 선정하여 시간 경과에 따른 파프리카 향과 냄새 특성을 평가하였다.

표 98. 파프리카 Red 품종의 향 및 부패냄새 변화에 따른 가스센서 상관분석 결과

	SB-41	SB-EN3	SB-42A	SB-AQ1	TGS 2603	TGS 825	TGS 2620	TGS 2611	TGS 2600	TGS 2602
SB-41	1.00									
SB-EN3	1.00	1.00								
SB-42A	0.95	0.94	1.00							
SB-AQ1	-0.22	-0.19	-0.45	1.00						
TGS 2603	0.93	0.92	0.93	-0.43	1.00					
TGS 825	0.91	0.90	0.98	-0.54	0.95	1.00				
TGS 2620	0.95	0.94	0.99	-0.47	0.97	0.99	1.00			
TGS 2611	0.97	0.97	0.98	-0.39	0.94	0.97	0.99	1.00		
TGS 2600	0.95	0.94	0.98	-0.46	0.97	0.99	1.00	0.99	1.00	
TGS 2602	0.88	0.86	0.98	-0.55	0.87	0.97	0.95	0.94	0.95	1.00

표 99. 파프리카 Orange 품종의 향 및 부패냄새 변화에 따른 가스센서 상관분석 결과

	SB-41	SB-EN3	SB-42A	SB-AQ1	TGS 2603	TGS 825	TGS 2620	TGS 2611	TGS 2600	TGS 2602
SB-41	1.00									
SB-EN3	1.00	1.00								
SB-42A	0.85	0.84	1.00							
SB-AQ1	0.00	0.01	-0.45	1.00						
TGS 2603	0.95	0.95	0.93	-0.25	1.00					
TGS 825	0.90	0.89	0.97	-0.33	0.97	1.00				
TGS 2620	0.95	0.95	0.95	-0.25	0.99	0.99	1.00			
TGS 2611	0.98	0.99	0.90	-0.07	0.96	0.94	0.98	1.00		
TGS 2600	0.96	0.95	0.94	-0.22	0.99	0.98	1.00	0.98	1.00	
TGS 2602	0.80	0.80	1.00	-0.50	0.90	0.96	0.92	0.86	0.92	1.00

표 100. 파프리카 Yellow 품종의 향 및 부패냄새 변화에 따른 가스센서 상관분석 결과

	SB-41	SB-EN3	SB-42A	SB-AQ1	TGS 2603	TGS 825	TGS 2620	TGS 2611	TGS 2600	TGS 2602
SB-41	1.00									
SB-EN3	0.99	1.00								
SB-42A	0.83	0.79	1.00							
SB-AQ1	0.24	0.28	-0.30	1.00						
TGS 2603	0.88	0.85	0.96	-0.22	1.00					
TGS 825	0.85	0.82	0.96	-0.23	0.99	1.00				
TGS 2620	0.90	0.87	0.96	-0.16	1.00	0.99	1.00			
TGS 2611	0.97	0.96	0.85	0.14	0.92	0.91	0.95	1.00		
TGS 2600	0.92	0.89	0.94	-0.11	0.99	0.99	1.00	0.96	1.00	
TGS 2602	0.76	0.73	0.99	-0.39	0.94	0.95	0.94	0.81	0.91	1.00

㊤ Control 파프리카 시료의 가스센서 감도 변화

우선 Control 파프리카 시료(PO-0-3, PY-0-3, PR-0-3)의 냄새변화에 따른 가스센서의 감도 변화를 살펴보면, SB-AQ1 가스센서는 0.127 ~ 0.223 범위, SB-41 가스센서는 0.112 ~ 0.278 범위, TGS 2611 가스센서는 0.414 ~ 0.936 범위로 품종과 상관없이 파프리카의 냄새에 대한 가스센서 반응값은 TGS 2611 > SB-41 > SB-AQ1 순으로 높게 나타났다.

SB-AQ1 가스센서의 경우, 1일차에 Orange > Red > Yellow 파프리카 순, 3 ~ 11일차, 17일차, 21일차에는 Orange > Yellow > Red 파프리카 순, 13일차에는 Red > Orange > Yellow 파프리카 순, 15일차에는 Yellow > Red > Orange 파프리카 순으로 가스센서 반응값이 높지만, 전체적으로 Orange 파프리카가 Red 및 Yellow 파프리카보다 가스센서 반응값이 높게 나타났다. 파프리카 품종과 상관없이 가스센서 반응값은 5일차까지 증가하다가 다시 13일차까지 감소 후 19일차까지 다시 증가 후 감소하는 경향으로 나타났다.

SB-41 가스센서의 경우, 1일차에만 Orange > Red > Yellow 파프리카 순, 3 ~ 9일차, 21일차에는 Orange > Yellow > Red 파프리카 순, 11 ~ 13일차에는 Red > Orange > Yellow 파프리카 순, 17일차와 19일차에는 Yellow > Orange > Red 파프리카 순으로 가스센서 반응값이 높지만, 전체적으로 Yellow 파프리카가 Red와 Yellow 파프리카보다 가스센서 반응값이 높게 나타났다. 대부분의 파프리카는 시간이 지날수록 가스센서 반응값이 낮아지는 경향으로 Red와 Yellow 품종의 파프리카는 13 ~ 19일차, Orange 품종 파프리카는 9 ~ 15일차에 가스센서 반응값이 증가했다가 다시 낮아지는 경향이 나타났다.

TGS 2611 가스센서는 SB-41 가스센서와 반응값의 정도 차이만 확인될 뿐 전반적인 감도 경향성은 유사하다. 1일차에만 Orange > Red > Yellow 파프리카 순, 3 ~ 9일차, 17일차, 21일차에는 Orange > Yellow > Red 파프리카 순, 11일차와 15일차에는 Red > Orange > Yellow 파프리카 순, 19일차에는 Yellow > Orange > Red 파프리카 순으로 가스센서 반응값이 높지만, 전체적으로 Orange 파프리카가 Red와 Yellow 파프리카보다 가스센서 반응값이 높게 나타났다.

전체적으로 시간이 지날수록 센서 반응값이 낮아지는 경향으로 Red 품종은 13 ~ 15일차, Orange 품종은 11 ~ 15일차에 가스센서 반응값이 증가 후 다시 낮아지는 경향이 나타났으며, Yellow 품종은 9일차와 11일차에 증가했다가 13일차에 다시 낮아지고 15 ~ 19일차에 다시 증가 후 다시 낮아지는 경향이 나타났다.

SB-AQ1 가스센서와 SB-41 및 TGS 2611 가스센서는 관찰 기간동안 파프리카 냄새에 대한 반응성 경향이 차이가 나타났지만, Orange 파프리카의 냄새가 Red와 Yellow 파프리카가 보다 높은 것을 확인할 수 있었다. Red 파프리카는 SB-41과 TGS 2611 가스센서를 통해 약 7일차 이후, Orange와 Yellow 파프리카는 SB-AQ1, SB-41과 TGS 2611 가스센서를 통해 약 13일차 이후 냄새 변화가 있는 것으로 판단된다.

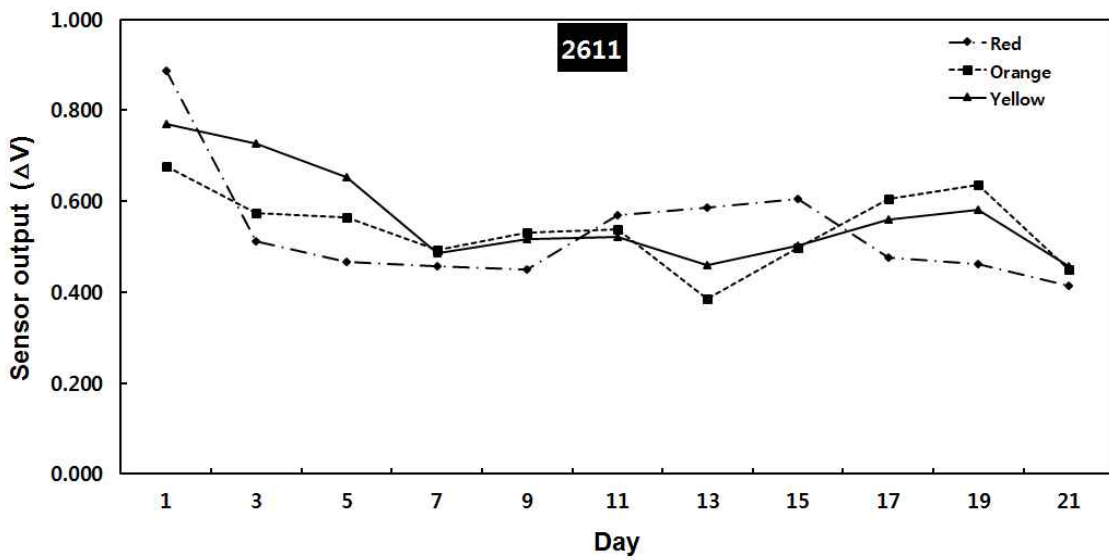
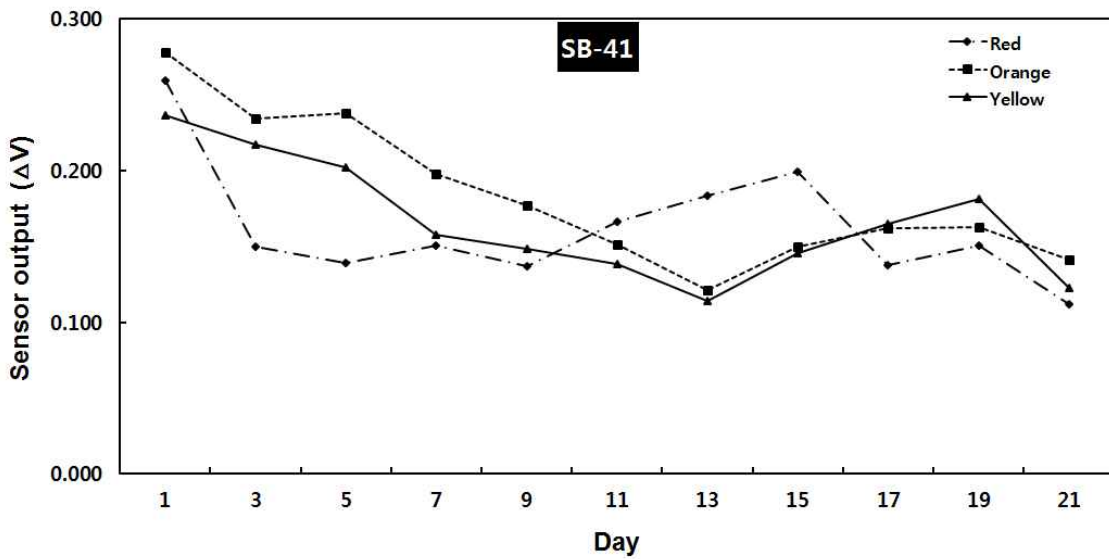
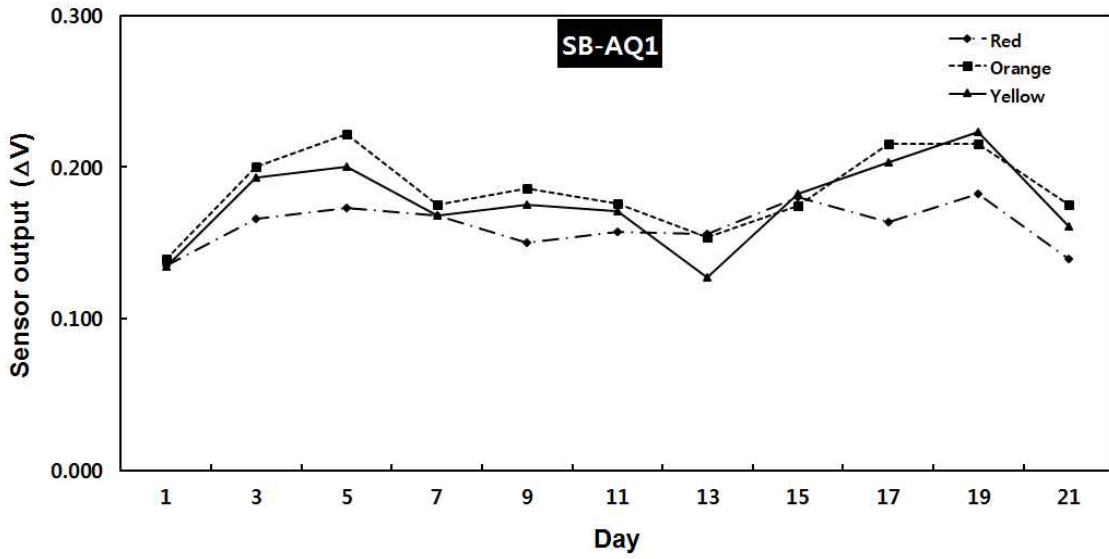
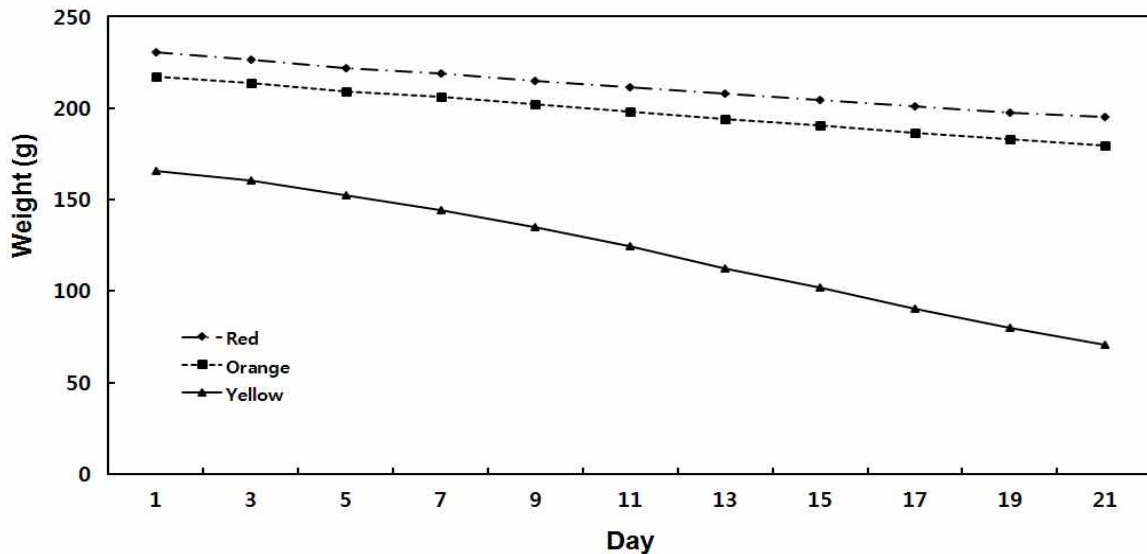


그림 182. 파프리카 Control 시료의 냄새변화 관찰

㊤ 파프리카 품종 및 부패과정에 따른 가스센서 감도 변화

아래 그림은 부패가 진행되는 파프리카의 냄새 특성을 평가하고자 파프리카의 꼭지(상단) 부분에서 부패가 진행되고 있는 시료를 이용하여 품종별 냄새 특성을 관찰한 결과이다. 관찰 시간 경과에 품종별 파프리카의 무게 변화는 Red > Orange > Yellow 파프리카 순으로 무게가 높게 나타났으며, 21일차 기준 무게 감소율은 Yellow(57.3%) > Orange(17.5%) > Red(15.3%) 파프리카 순으로 높게 나타났다.

부패율 변화는 시간 경과에 따른 품종별 파프리카의 부패 면적으로 1일차의 부패 면적은 Yellow(30.0%) > Orange(2.3%) > Red 파프리카 순으로 높게 나타났으며, 3일차 이후에는 Yellow > Red > Orange 파프리카 순으로 높게 나타났다. Yellow 파프리카는 17일차에 100% 부패하였으며, Red와 Orange 파프리카는 냄새 평가가 종료되는 21일차까지도 20% 이하로 부패하였다.



< 그림. 꼭지부위 부패 파프리카 시료의 품종별 무게 변화 >

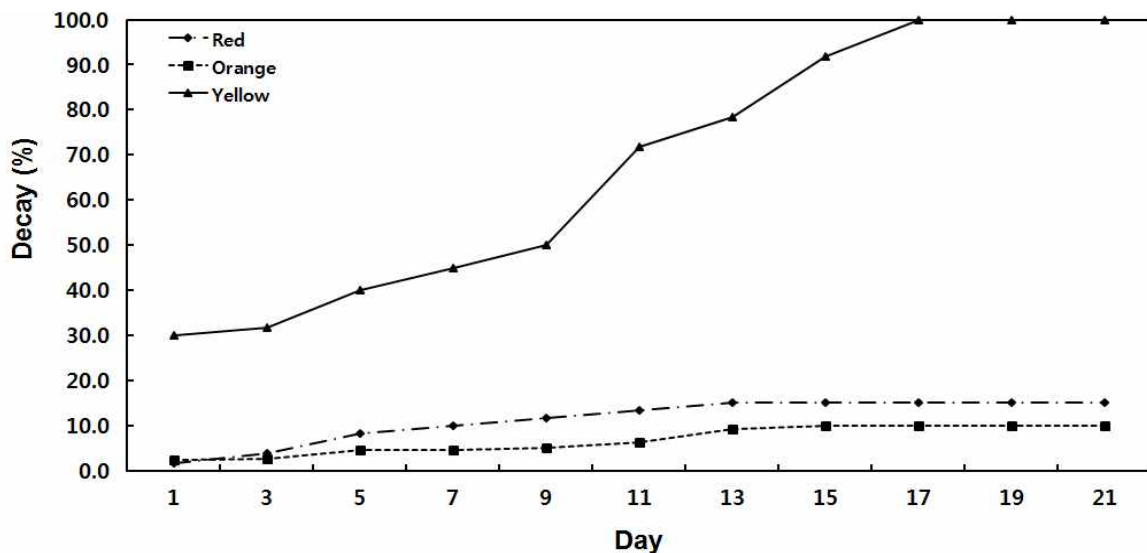


그림 183. 꼭지부위 부패 파프리카 시료의 품종별 무게 변화

다음 그림은 파프리카 품종과 부패 과정에서의 냄새변화를 가스센서로 관찰한 결과이다. 가스센서별 반응값을 살펴보면 SB-AQ1 가스센서는 0.107 ~ 0.682 범위, SB-41 가스센서는 0.074 ~ 0.499 범위, TGS 2611 가스센서는 0.344 ~ 1.629 범위 수준으로 가스센서 감도가 변화하였고, TGS 2611 > SB-41 > SB-AQ1 가스센서 순으로 높게 나타났다.

SB-AQ1 가스센서의 경우는 1일차, 5 ~ 9일차, 13일차, 15일차에 Red > Yellow > Orange 파프리카 품종 순으로, 3일차, 11일차, 17 ~ 21일차에는 Red > Orange > Yellow 파프리카 품종 순으로 가스센서 반응값이 높았다. 전체적으로 RRed 파프리카가 Orange와 Yellow 파프리카보다 가스센서 반응값이 높게 나타났다.

Red 파프리카는 3일, 7일 15일, 19일에 일시적으로 가스센서 반응값이 증가하였다가 다시 감소하였으며, Orange와 Yellow 파프리카는 가스센서 반응값이 5일차까지 증가하다가 13일차까지 다시 감소하고 19일차까지 다시 증가하다가 21일차에 감소하는 경향이 나타났다.

SB-41 가스센서는 SB-AQ1 가스센서와 경향성이 유사하다. 1 ~ 13일차까지 Red > Yellow > Orange 파프리카 품종 순으로 15 ~ 21일차까지는 Red > Orange > Yellow 파프리카 품종 순으로 가스센서 반응값이 높았다. 전체적으로 Red 파프리카가 Orange와 Yellow 파프리카보다 가스센서 반응값이 높게 나타났다. Red 파프리카는 3일차, 7일차, 15일차, 19일차에 일시적으로 가스센서 반응값이 증가하였다가 다시 감소하였으며, Yellow 파프리카는 3일차까지 감소하다가 5 ~ 9일차까지 증가하다가 다시 감소하였으며, Orange 파프리카는 13일차까지 감소하다가 15 ~ 19일차까지 증가하다가 다시 감소하는 경향이 나타났다.

TGS 2611 가스센서는 1 ~ 15일차까지 Red > Yellow > Orange 파프리카 순, 17 ~ 21일차까지는 Red > Orange > Yellow 파프리카 순으로 가스센서 반응값이 높았다. 전반적으로 Red 파프리카가 Orange와 Yellow 파프리카보다 가스센서 반응값이 높게 나타났다. Red 파프리카는 15일차에 한시적으로 센서 반응값이 증가한 것만 제외하고 전체적으로 센서 반응값이 감소하는 경향이며, 노란색 파프리카는 9일차에 한시적으로 센서 반응값이 증가한 것만 제외하고 전체적으로 센서 반응값이 감소하는 경향이며, 노란색 파프리카는 13일차까지 센서 반응값이 감소하고, 5일과 17일차에 증가하다가 다시 감소하는 경향이 나타났다.

TGS 2611 가스센서와 SB-AQ1 및 SB-41 가스센서는 부패 과정에 의한 파프리카 냄새에 대한 시간 경과에 대한 경향성의 차이가 나타났지만, Red 파프리카의 부패 냄새가 Orange와 Yellow 파프리카보다 높은 것을 확인할 수 있었다. Red와 Orange 파프리카는 SB-AQ1, SB-41과 TGS 2611 가스센서를 통해 약 13일차 이후, Yellow 파프리카는 SB-41과 TGS 2611 가스센서를 통해 약 7일차 이후에 냄새 변화가 있는 것으로 판단된다.

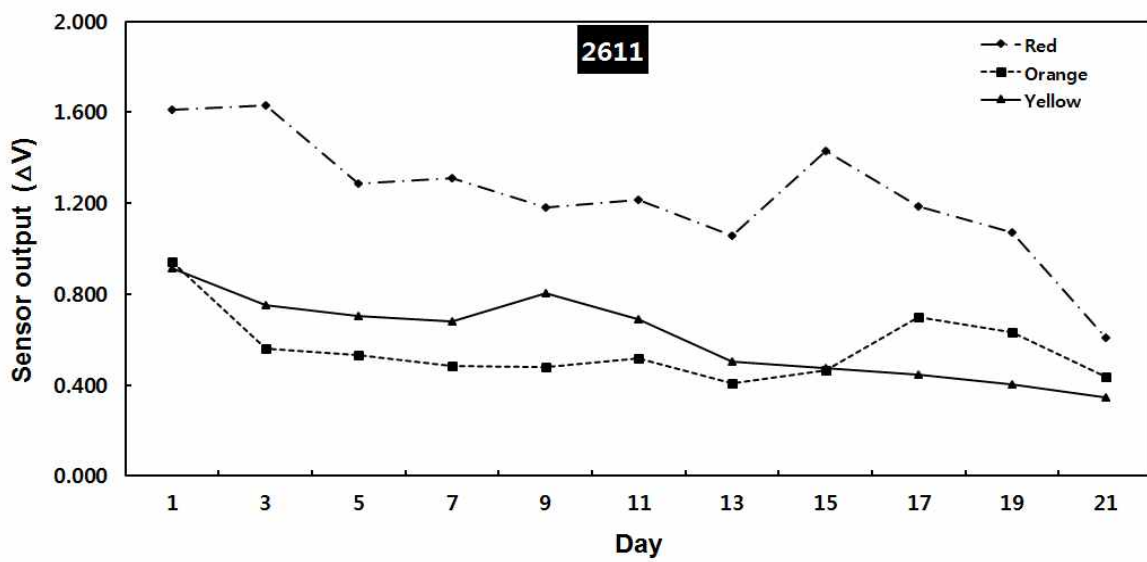
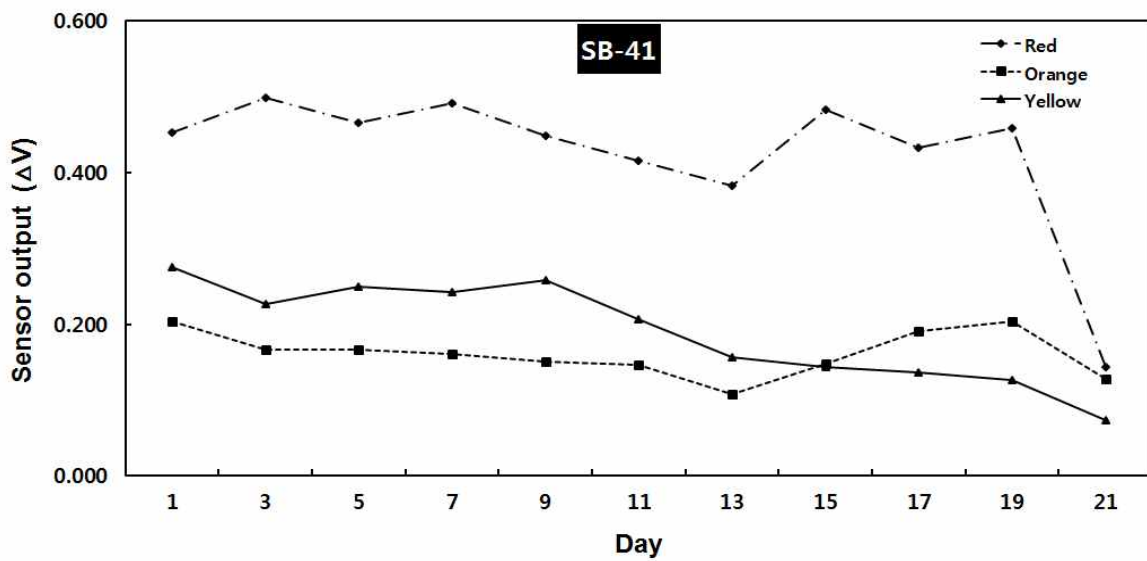
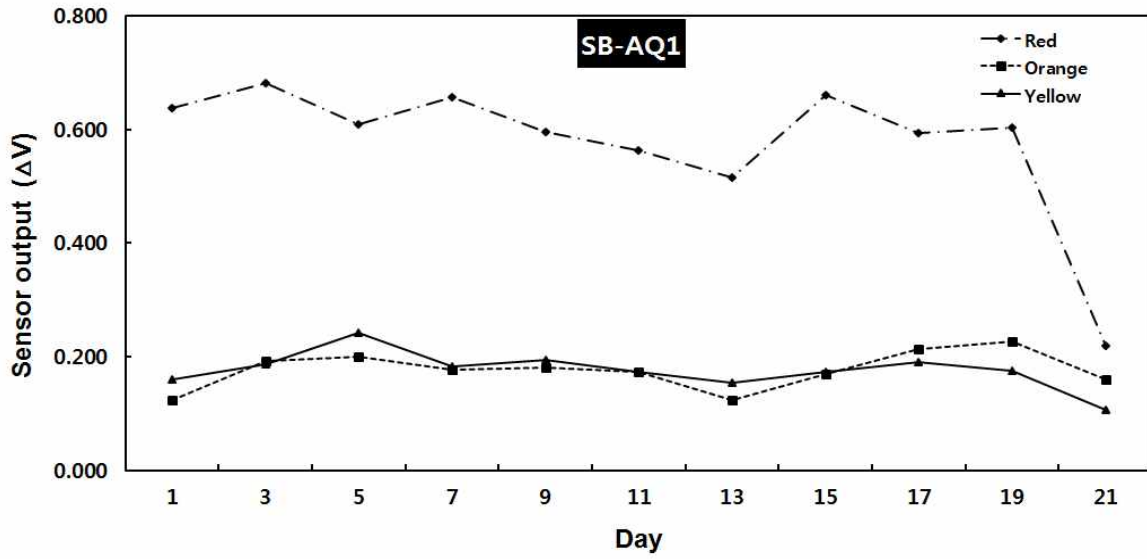


그림 184. 파프리카 품종 및 부패 과정별 냄새변화 관찰

㉔ 부패 증상별 파프리카 냄새 변화 관찰

아래 그림은 파프리카의 꼭지(상부), 배꼽(하부), 옆면에서 부패가 진행되고 있는 시료에 대하여 부패율을 평가한 결과이다. 1일차에서 21일차의 부패율 변화는 꼭지부패 시료 2.3% → 10.0%로 약 7.7% 증가, 배꼽부패 시료 7.7% → 45.3%로 약 37.6% 증가, 옆면부패 시료는 3.3% → 28.7%로 약 25.4% 부패 면적이 증가하였다. 초기 부패 면적이 가장 작은 꼭지부패 시료가 변화량이 가장 적었으며, 초기 부패 면적이 가장 큰 배꼽부패 시료의 변화량 가장 크게 나타났다.

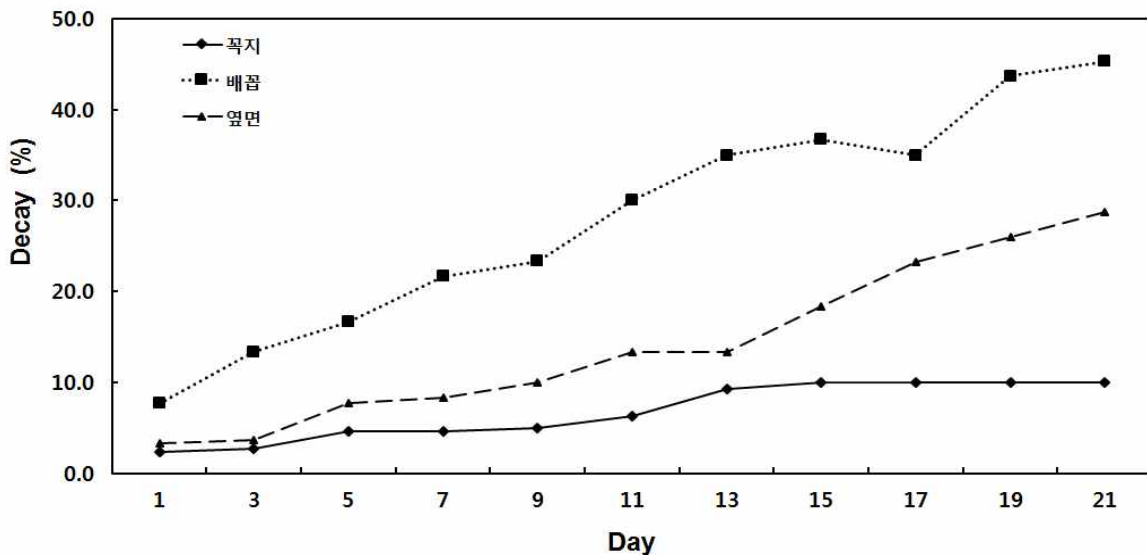


그림 185. 부패 증상 파프리카 시료의 부패율 변화

아래 그림은 부패 증상별 냄새 특성의 변화를 가스센서로 관찰한 결과이다. 가스센서별 반응값을 살펴보면 SB-AQ1 가스센서는 0.120 ~ 0.238 범위, SB-41 가스센서는 0.105 ~ 0.288 범위, TGD 2611 가스센서는 0.384 ~ 0.880 범위 수준으로 변화하고 있었다. TGS 2611 > SB-41 > SB-AQ1 가스센서 순으로 높게 나타났는데, 이는 자연적 숙성과 부패 과정에서 파프리카 냄새 특성과 유사한 결과이다.

SB-AQ1 가스센서의 경우, 시간 경과에 따른 부패 위치별 가스센서 반응값이 유사하게 나타났으며, 1일차에서 5일차까지 증가하다가 7일차에 감소 후 다시 증가하다가 다시 13일차에 감소 후 19일차까지 증가 후 21일차에 감소하는 경향이 부패 위치별로 유사하게 나타났다.

SB-41 가스센서와 TGS 2611 가스센서의 경우는 경향성이 유사하게 나타났다. 두 가스센서의 경우 11일차까지 부패 증상별 가스센서 반응값이 유사하게 나타났지만, 13일차부터 옆면부패 시료의 경우가 가스센서 반응값이 꼭지와 배꼽부패 시료보다 높게 나타나기 시작했다.

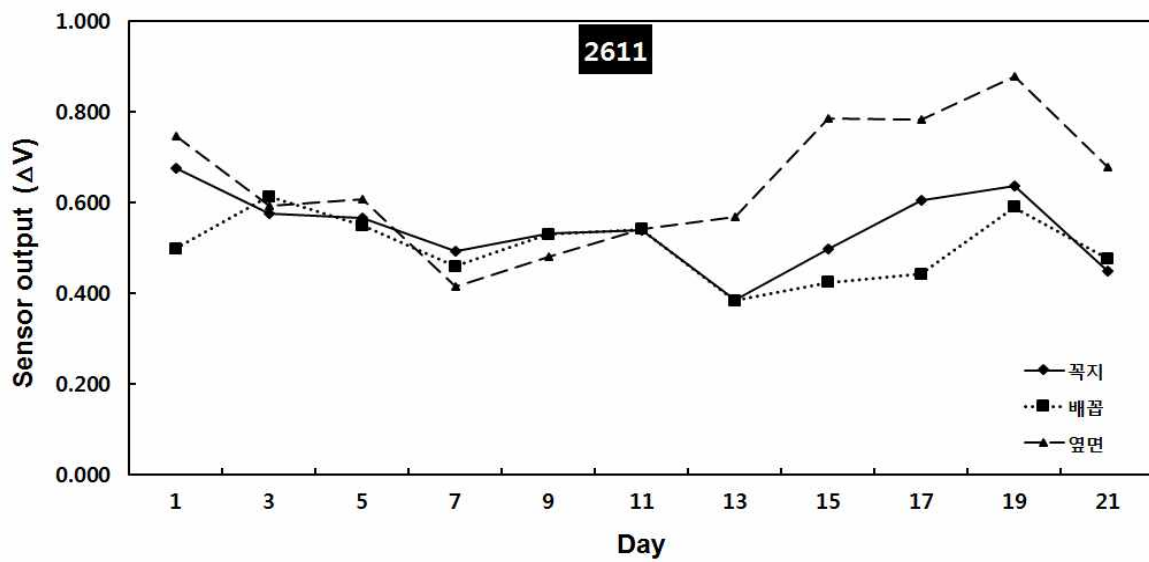
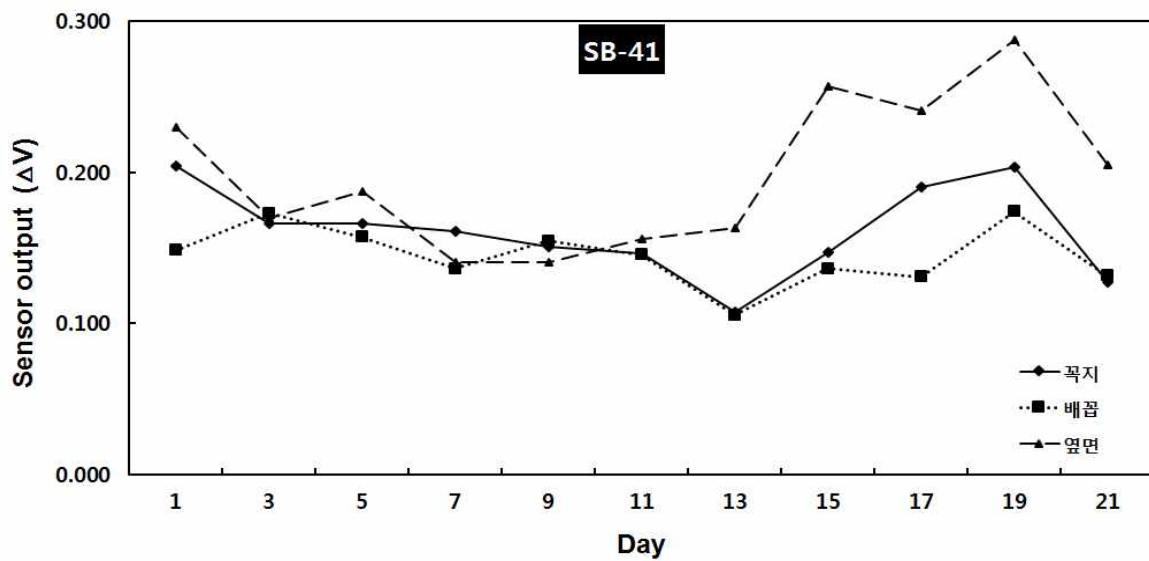
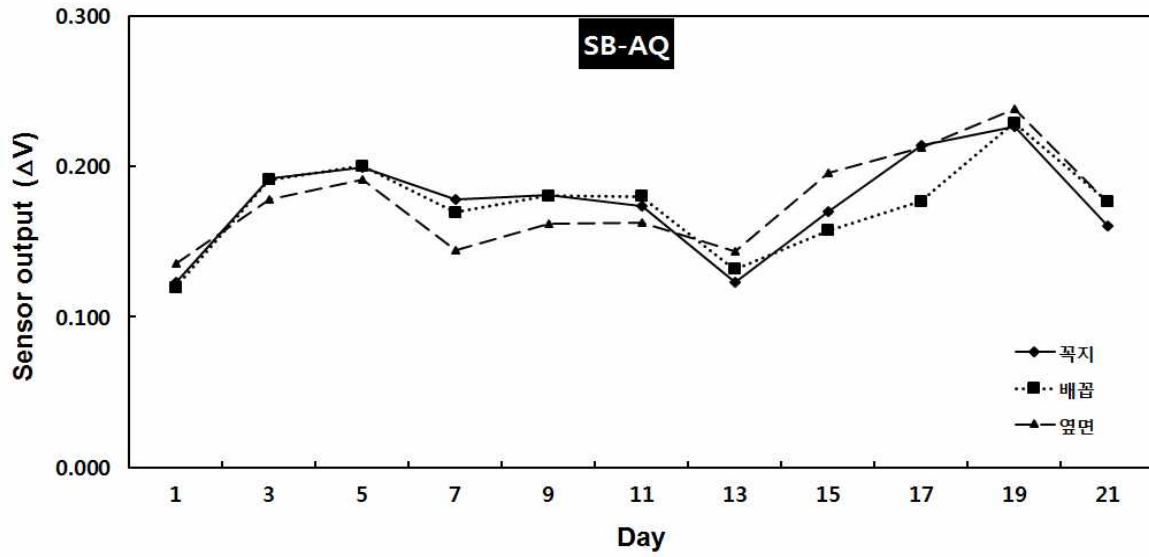


그림 186. 부패 증상별 파프리카 부패냄새의 변화

꼭지부패의 가스센서 반응값은 1일차에서 13일차까지 감소하다가 15 ~ 19일차까지 증가 후 다시 21일차에 감소하였으며, 배꼽부패 시료는 3일차와 9일차를 제외하고 13일차까지 감소하다가 15 ~ 19일차까지 증가 후 다시 21일차에 감소하였다. 옆면부패 시료는 7일차까지 감소하다가 9 ~ 19일차까지 증가 후 다시 21일차에 감소하는 경향으로 나타났다.

SB-AQ1 가스센서는 SB-41 및 TGS 2611 가스센서와 시간 경과에 따른 경향성 차이가 나타났으나, 부패 증상별 가스센서 반응값 및 시간 경과에 따른 냄새 특성 차이가 나타나지 않았기에 부패 증상별 냄새 특성 차이를 평가하는데 부적절할 것으로 판단된다. SB-41과 TGS 2611 가스센서를 통해 꼭지 부패는 약 5일 이후, 배꼽과 옆면 부패는 11일 이후에 냄새 변화가 있는 것으로 판단된다.

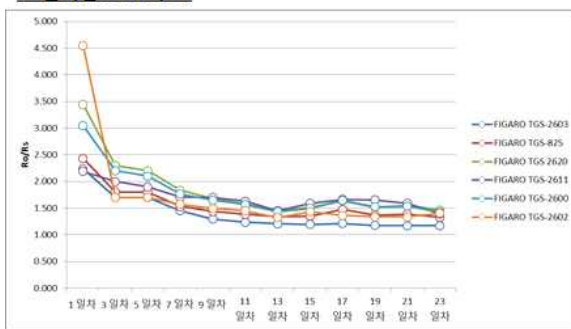
㊤ 고감도 가스센서 그룹의 파프리카 냄새 변화 관찰

홍로사과 및 파프리카 향과 부패냄새에 고감도로 반응하는 TGS(TGS 2603, TGS 825, TGS 2620, TGS 2611, TGS 2600, TGS 2602) 가스센서 그룹만을 대상으로 파프리카 향 및 부패냄새 변화를 분석하였다. 평가 방법의 가스센서 감도(=R₀/R_s)와 반응속도(기울기) 평가 결과를 대상으로 파프리카 시료별로 구분하여 분석하였다.

- 파프리카 Orange 품종에 대한 가스센서의 반응성

Control 파프리카 시료인 PO-0-3에 대한 가스센서 감도(R₀/R_s) 및 반응속도(기울기) 평가 결과, Control 시료로 외형적 부패가 관찰되지 않았으며, 파프리카 향 또한 관찰기관이 증가 할수록 감도 및 반응속도가 지속적으로 감소하는 특징을 보였다.

** 센서감도 : R₀/R_s



** 센서반응속도(기울기): ΔV/(Δt) * 100

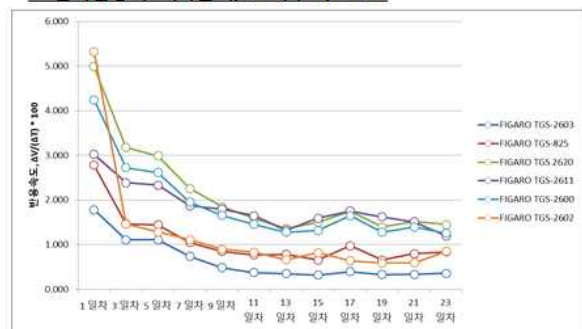


그림 187. 파프리카 Orange Control 시료에 대한 가스센서 반응 특성

PO-1-3은 꼭지부위가 부패하는 파프리카 시료이다. 가스센서 감도 및 가스센서 반응속도 평가 결과를 살펴보면, 최초 1일차에서만 가스센서의 높은 반응성이 확인된 사항이며, 이후 점차 반응성이 낮아지다가 약 17일차에 파프리카 부패 부위가 커지면서 파프리카 내부에서 포집하고 있는 향이 외부로 방출되면서 가스센서의 감도가 약 6일 동안 증가한 후 다시 감소하는 특징을 보였다. 이는 파프리카 부패냄새에 대한 반응성 보다는 파프리카 내부에서 포집하고 있던 고유의 파프리카 향이 외부로 방출되면서 이로 인한 가스센서가 반응하는 특징으로 파악되는 사항이다.

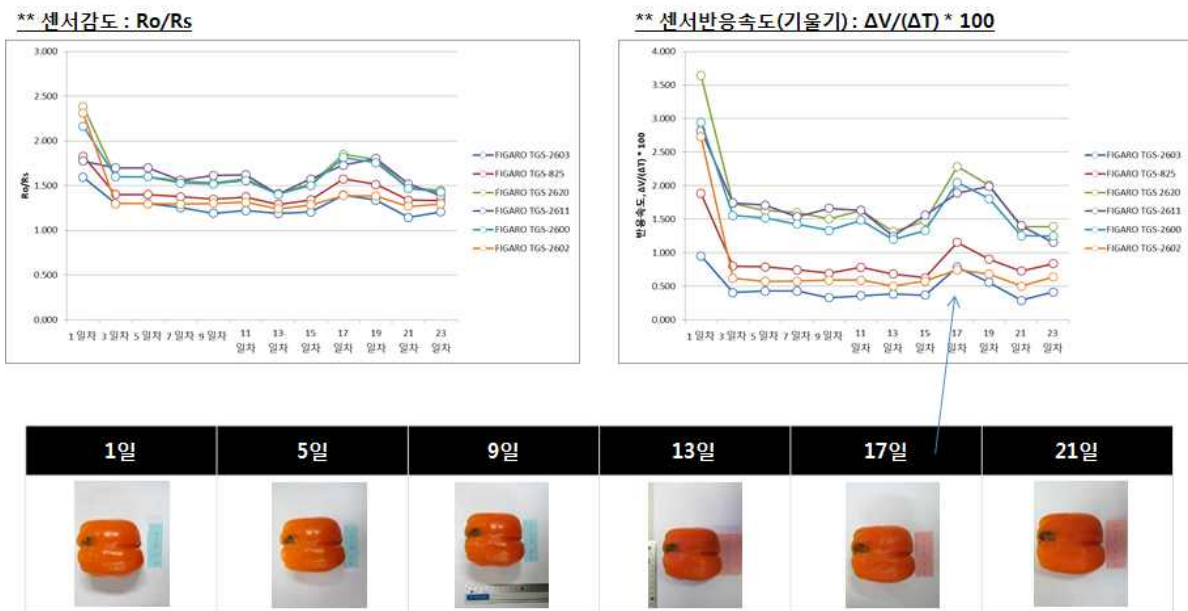
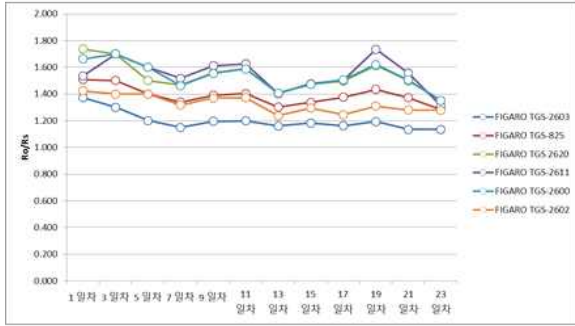


그림 188. 파프리카 Orange 꼭지부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

배꼽부패(PO-2-3) 시료는 1일차부터 내부 파프리카 향이 이미 외부로 방출하고 있는 상태의 시료로, 전체 실험 기간 동안 특별한 반응성이 관찰되지 않았다. 몇몇 가스센서의 반응속도 측면에서 안정적인 출력신호가 아닌 변동이 큰 가스센서 반응속도가 관찰되는 사항으로, 이는 파프리카 시료에 부패가 증가하면서 발생하는 부패냄새에 대하여 반응하는 특징으로 분석된다. 높은 감도를 보이는 가스센서는 TGS 2611, TGS 2600 등으로 나타났다.

PO-4-3은 옆면의 나이테 모양 부패 시료로 가스센서 감도 및 반응속도 평가 결과는 약 9일차까지 안정적인 반응성을 보이다가 13일차부터 부패부위가 전체 면에서 발생하였고, 이때의 가스센서 변화 또한 증가하는 현상이 나타났다. 높은 감도를 보이는 가스센서는 TGS 2620, TGS 2600, TGS 2611 등으로 나타났다.

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기) : $\Delta V / (\Delta T) * 100$

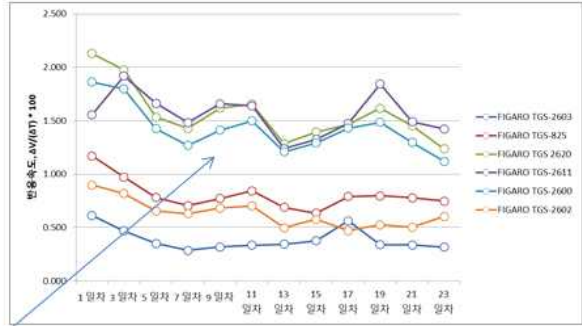
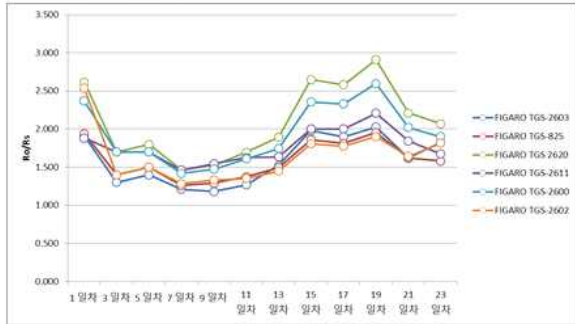


그림 189. 파프리카 Orange 배꼽부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기) : $\Delta V / (\Delta T) * 100$

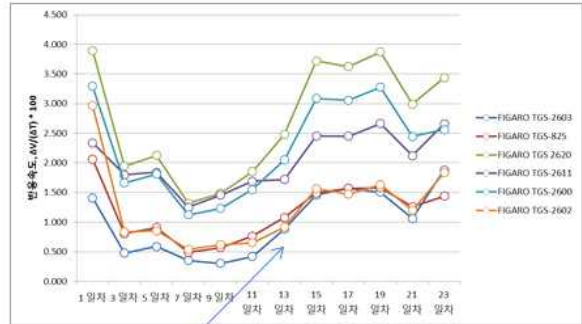
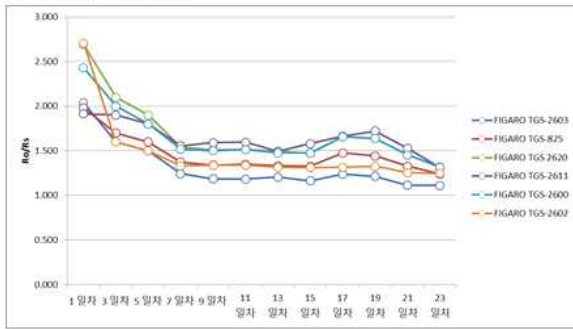


그림 190. 파프리카 Orange 옆면(나이테 모양)부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

- 파프리카 Yellow 품종에 대한 가스센서의 반응성

Yellow 파프리카 품종의 Control 시료인 PY-0-3에 대한 가스센서 감도(Ro/Rs) 및 반응 속도(기울기)는 Orange 파프리카 Control 시료(PO-0-3)와 유사한 경향으로, 최초 7일차까지는 높은 감도를 보이다가 이후 점차 안정적인 감도를 보였다. 이는 파프리카 부패도 변화가 없고 파프리카 향이 점차 감소하면서 가스센서의 감도 또한 안정화 되는 현상으로 분석된다.

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기) : $\Delta V / (\Delta T) * 100$

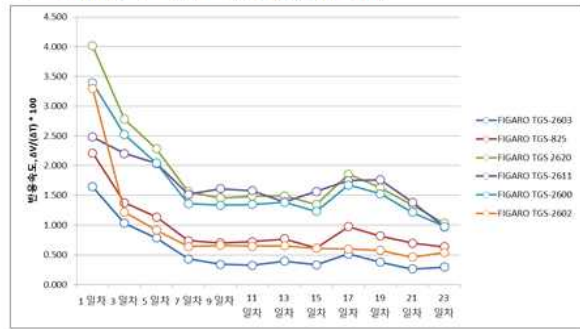
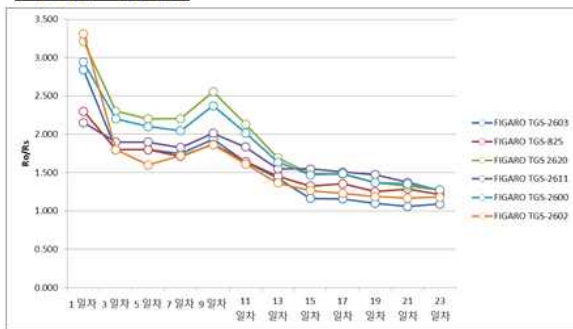


그림 191. 파프리카 Yellow Control 시료에 대한 가스센서 반응 특성

PY-1-3 시료는 꼭지부위가 부패한 시료로, 약 7일차부터는 파프리카 전체부위로 부패가 발생한 시료이다. 이때의 가스센서 감도 또한 순간적으로 증가한 후 부패도가 높아질수록 가스센서의 감도가 감소하는 경향이 나타났다.

9일차에 가스센서의 감도와 반응속도가 순간적으로 증가한 사항으로, 7일차에 발생한 부패가 9일차부터 급격하게 확산되어 발생된 현상으로 보여진다. 꼭지부패에 의한 Yellow 파프리카 시료에 대해서는 TGS 2620, TGS 2600 등의 가스센서가 높음 감도와 반응속도를 보였고, 반대로 TGS 2602, TGS 2603 가스센서는 낮은 반응 특성을 보였다.

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기) : $\Delta V / (\Delta T) * 100$

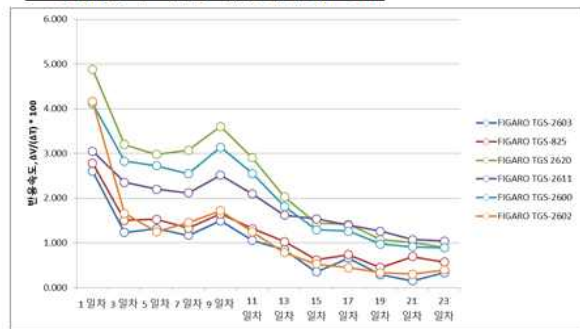


그림 192. 파프리카 Yellow 꼭지부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

PY-2-3 시료는 최초 배꼽부위가 부패한 시료로, 9일차 이후 파프리카 전체 부위로 부패가 발생한 시료이다. 가스센서의 감도변화는 전체적으로 Control 시료와 유사하게 변화하는 경향으로 1일차가 가장 높은 감도를 보였고, 23일차로 갈수록 가스센서 감도는 지속적으로 낮아지고 있다. PY-2-3 시료는 외형적인 부패만 발생한 사항이고, PO-4-3 시료처럼 파프리카의 내부 향이 외부로 방출되는 부패 증상은 발생하지 않아 특정 일에 가스센서의 감도가 높게 나타나는 현상은 관찰되지 않았다.

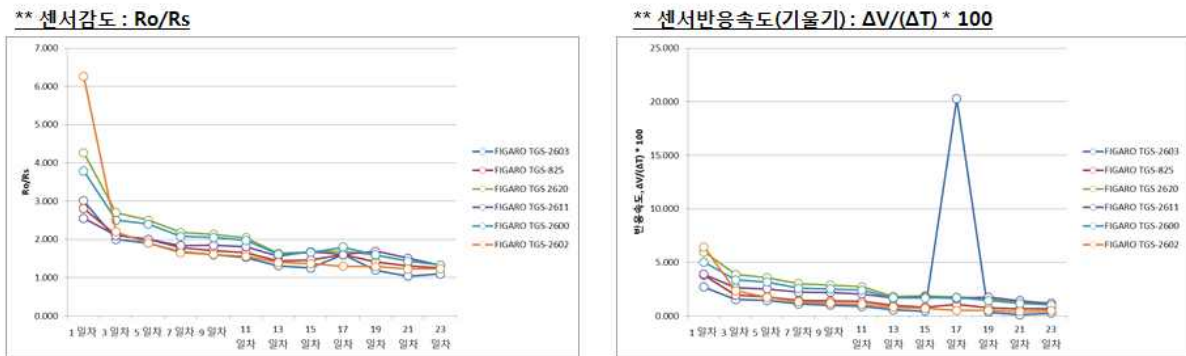


그림 193. 파프리카 Yellow 배꼽부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

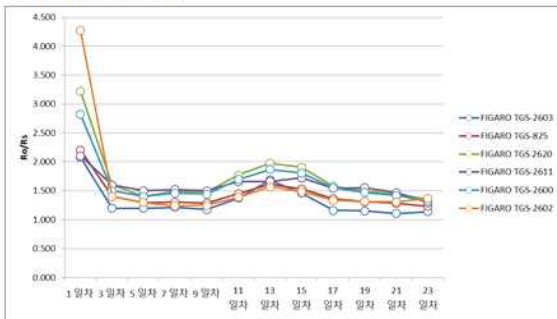
- 파프리카 Red 품종에 대한 가스센서의 반응성

PR-0-3은 파프리카 Red 품종의 Control 시료로 외형적인 부패도 변화가 관찰되지 않았다. 이에 가스센서 감도 및 반응속도 평가 결과에서도 전반적인 가스센서의 반응특성이 감소하는 경향을 보이고 있다.

자연 건조에 의해 약 11 ~ 15일차부터 외형적 변화가 높았고, 이때의 가스센서 감도도 일시적으로 증가하였다가 15일차 이후 다시 안정적인 감도를 보였다. 파프리카 Red 품종은 Orange 및 Yellow 품종보다 파프리카 특유의 향이 강한 시료로 판단된다. 부패 특징도 건조되는 부패로 시작되어 점차 파프리카 과실즙이 발생하여 물렁거리는 부패가 관찰되는 특징을 보였다.

특히, 꼭지부패 시료인 PR-1-3 시료는 전체 파프리카 시료중 파프리카 특유의 매콤한 향이 강한 시료로 부패도 변화는 쉽게 관찰되지 않았지만 관능(후각)적으로 느끼는 강한 향 대비 가스센서의 감도 또한 높은 품종으로 분석되었다. 약 13일부터 가스센서의 감도가 증가하는 경향이 나타났으며, 이때의 파프리카 부패도도 점차 증가하는 특징이 관찰되었다.

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기) : $\Delta V/(\Delta T) * 100$

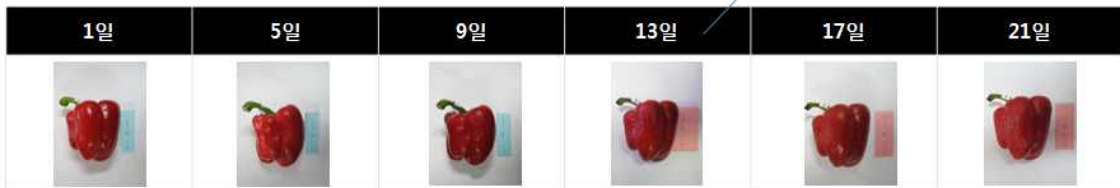
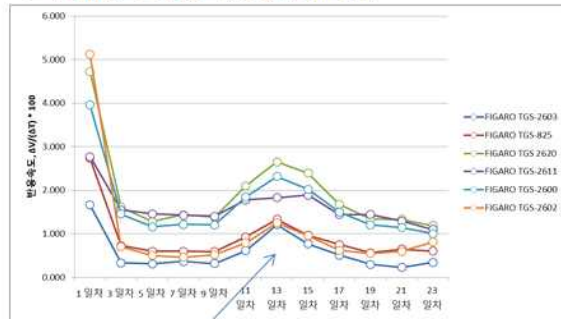
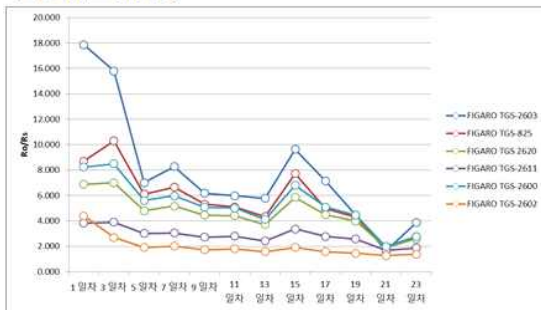


그림 194. 파프리카 Red Control 시료에 대한 가스센서 반응 특성

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기) : $\Delta V/(\Delta T) * 100$

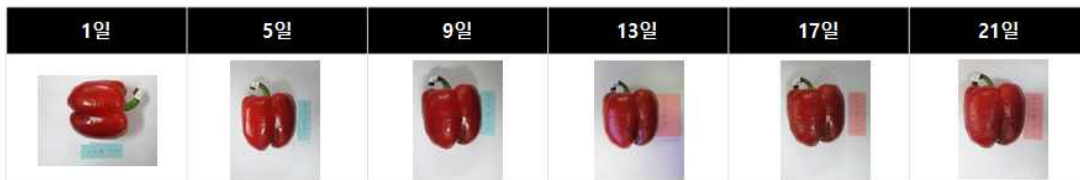
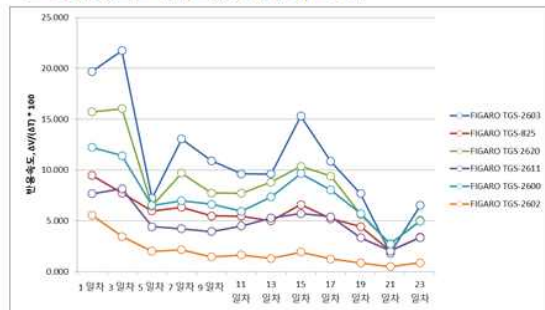
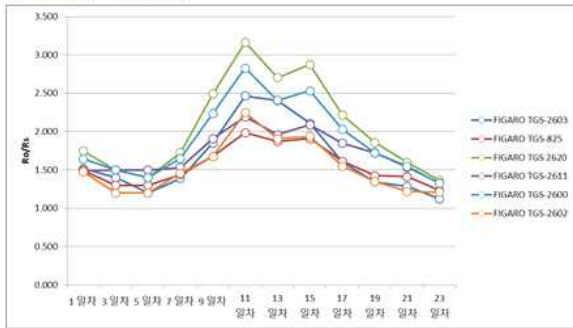


그림 195. 파프리카 Red 꼭지부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

PR-3-3 시료는 배꼽 부위에 나이트 모양의 부패가 발생한 시료로 최초의 가스센서 감도는 $Ro/Rs = 1.5$ 수준 이었는데, 약 7일차부터 감도가 급격하는 증가한 시료로 7일차부터 파프리카 시료는 나이트 모양의 부패가 증가하였고 물렁거림의 부패와 곰팡이균에 의한 부패가 관찰된 시기로 관찰 시작 13일차 이후에는 이러한 부패증상이 전체 부패로 확산되었다. 가스센서 또한 13일차부터 감도와 반응속도가 매우 크게 증가하였다. 17일차 이후 파프리카 전체면적에서 부패하고 파프리카 고유의 향이 부패냄새로 변화하면서 가스센서의 감도는 지속적으로 감소하는 특징이 확인되었다. 감도 및 반응속도 측면에서 TGS 2620, TGS 2600, TGS 2611 가스센서가 높은 반응특성을 보이고 있다.

** 센서감도 : Ro/Rs



** 센서반응속도(기울기): $\Delta V/(\Delta T) * 100$

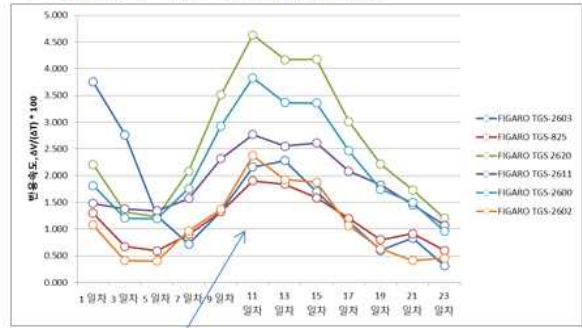


그림 196. 파프리카 Red 배꼽 부위(나이테 모양) 부패 시료에 대한 가스센서 반응 특성

㉞ 파프리카 시료에 대한 가스센서 반응성 고찰 및 감도측면에서의 최적센서 도출

전체적으로 파프리카 시료에 대해서는 반도체식 가스센서의 높은 감도는 확인되는 사항이나, 특정 부패냄새에 대한 패턴이 관찰되지 않는 사항으로 추가적인 실험과 가스센서 어레이 재선정을 통해 추가평가가 필요할 것으로 판단된다.

파프리카 과실의 부패 고유의 특징으로 부패도가 점차 증가하면서 내부에서 포집되어 있던, 파프리카 향이 외부로 배출되면서 가스센서가 반응하는 특징이 확인되었다. 우선적으로 이러한 파프리카 향에 우수하게 반응하는 가스센서를 감도 기준으로 확인하면, TGS 2600 가스센서가 파프리카 시료에 대해 가장 높은 반응성이 확인되었고, 이어서 TGS 2620, TGS 2602, TGS 2603, TGS 825 가스센서 순으로 나타났다.

향후 파프리카 부패에 대한 조기관별의 실험을 위해서는 파프리카 부패 원인균 분리를 진행하고, 정상상태(부패가 없는 시료)의 파프리카 시료에 인공접종하여 부패 전부터 부패가 발전하는 단계에서의 면밀한 부패냄새 관찰이 필요한 사항이다.

③ 딸기 부패도 관찰 및 가스센서 반응성

㉞ 딸기 부패도 관찰 및 가스센서 반응성

아래에 설향과 장희 품종에 5개의 딸기 부패원인균을 접종하여 0 ~ 4일, 총 5일간 관찰한 결과를 정리하였다. 우선적으로 control 시료는 증류수를 접종한 것이므로 부패가 발생하지 말아야 하나, 실험과정에서 오염으로 인해 부패가 발생한 것으로 파악된다.

전반적으로 딸기의 경우는 부패 발생이 쉽지는 않았다. 일부 딸기 시료의 경우는 실험 기간동안 부패가 발생하지 않았으며, 주로 4일차 이후에 부패율이 확인되는 사항이다.

C. cladosporioides 부패균은 설향에서 4일차에 2 ~ 5%의 부패율을 확인할 수 있고, 장희 품종의 경우는 1 ~ 3%의 상대적으로 낮은 부패율을 보이고 있다. 설향의 경우 control 부패율이 균을 접종한 시료보다 더 많이 부패되기도 하였다.

> 설향, *Cladosporium cladosporioides*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
#01					
#02					

> 장희, *Cladosporium cladosporioides*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
#01					
#02					

그림 197. 설향 및 장희 품종에 *C. cladosporioides* 부패균을 접종하여 관찰한 결과

C. tenuissimum 부패균을 접종한 설향 및 장희 품종은 4일차 기준 설향이 5% 부패율을 보였고, 장희는 모든 실험군이 부패하지 않았다. 설향 품종 또한 control 시료가 2일차부터 2%의 부패율 보였고, 4일차에는 8%의 부패율로 접종 시료보다 상대적으로 높은 부패가 발생하였다.

▶ 설향, *Cladosporium tenuissimum*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
#01					
#02					
















▶ 장희, *Cladosporium tenuissimum*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
#01					
#02					

그림 198. 설향 및 장희 품종에 *C. tenuissimum* 부패균을 접종하여 관찰한 결과

C. rectoides 부패 원인균을 접종한 시료군은 설향이 5%, 장희가 40% 부패율으로 보여 장희가 매우 높은 부패율이 확인되었다. 그러나 비교 시료인 control 시료 자체도 설향 및 장희 모두 부패하여 순수한 무부패 딸기 향과는 비교가 어려울 것으로 보여진다.

> 설향, *Cladosporium rectoides*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
01					
02					

> 장희, *Cladosporium rectoides*
















구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
01					
02					

그림 199. 설향 및 장희 품종에 *C. rectoides* 부패균을 접종하여 관찰한 결과

B. cinerea 부패율 평가 결과는 장희는 모든 시료가 부패하지 않았고, 설향 품종이 4일차 기준으로 8 ~ 30%의 부패율이 확인되었다. 설향 *B. cinerea* 01 시료의 경우는 2일차에 1%, 3일차에 5%로 점차 부패율이 증가하였고, *B. cinerea* 02 시료는 1일차부터 3% 부패가 시작된 사항으로 4일차에는 30%의 높은 부패율이 관찰되었다.

▶ 설향, *Botrytis cinerea*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
01					
02					

▶ 장희, *Botrytis cinerea*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
01					
02					

그림 200. 설향 및 장희 품종에 *B. cinerea* 부패균을 접종하여 관찰한 결과

마지막 딸기 부패 원인균인 *P. brevicompactum*이 접종된 시료에서는 설향이 20~30%(4일차)의 부패율을 보였고, control 시료에서도 7%의 부패율이 관찰되었다. 반대로 장희는 *P. brevicompactum* 01 시료의 4일차에 1%의 부패율을 제외하고는 부패가 발생하지 않았다.

> 설향, *Penicillium brevicompactum*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
01					
02					

> 장희, *Penicillium brevicompactum*

구분	0일차	1일차	2일차	3일차	4일차
Control					
01					
02					

그림 201. 설향 및 장희 품종에 *P. brevicompactum* 부패균을 접종하여 관찰한 결과

전반적으로 딸기 품종인 설향과 장희는 일부 시료는 부패가 발생하기는 하였으나, 설향 품종이 상대적으로 부패율이 높고, 장희는 부패율 발생이 낮다. 또한 부패가 발생한 설향 품종은 control 시료까지 부패가 발생하여 접종에 의한 부패인지 자연부패인지 구분이 어려운 실험결과이다. 추후 실험방법 및 부패균 접종방법에 대한 검토가 필요한 사항이며, 또한, 딸기의 특성상 순간적인 부패가 발생하는 특징으로 1일 간격의 가스센서 측정보다는 초단위 또는 분단위의 실시간 모니터링 필요할 것이다.

아래 그림은 설향 품종의 부패 향 변화에 따른 6종 가스센서의 감도 변화이다. 여기서 감도변화는 부패가 발생하지 않은 1개의 control 시료를 대표로 하여 각각의 가스센서 값을 표준화 하였다. 그 결과 TGS 2603 가스센서가 딸기 저장기간이 증가할수록 감도가 증가하는 경향을 확인 할 수 있으며, 변화량 폭도 다른 가스센서 보다 상대적으로 큰 것이 특징이다.

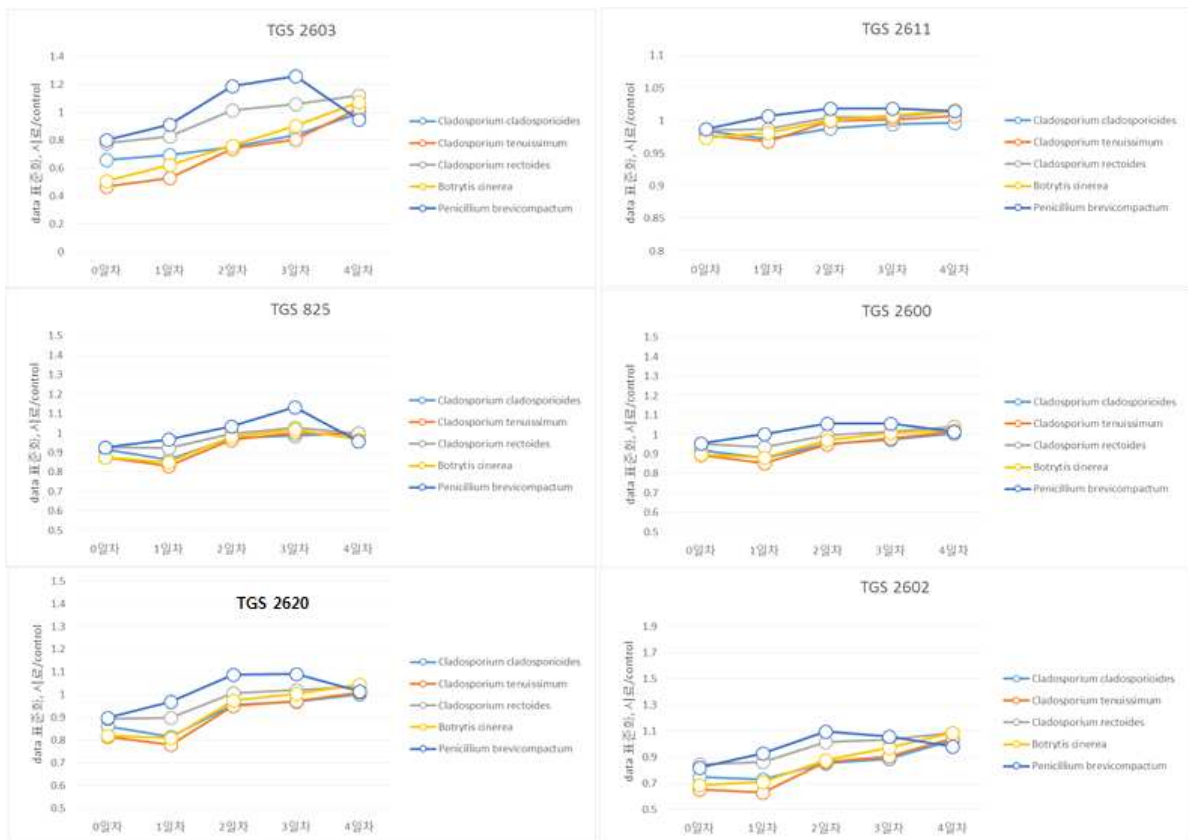


그림 202. 딸기 설향 품종의 저장기간에 따른 가스센서 감도변화

설향과 동일한 방법으로 장희 가스센서 데이터의 표준화를 통해 저장기간별 감도 변화를 정리하였다. 장희의 경우 부패가 발생하지 않는 시료가 많아 대부분의 가스센서 감도는 증가하지 않고 평형을 이루는 특징이 관찰된다. 즉, 저장기간이 늘어나 부패가 발생하고 이때 부패 냄새가 배출되어 가스센서의 감도를 증가시켜야 하는데, 장희 시료 자체는 이러한 부패율이 발생하지 않아 가스센서의 감도가 증가하는 경향을 관찰되지 않았다.

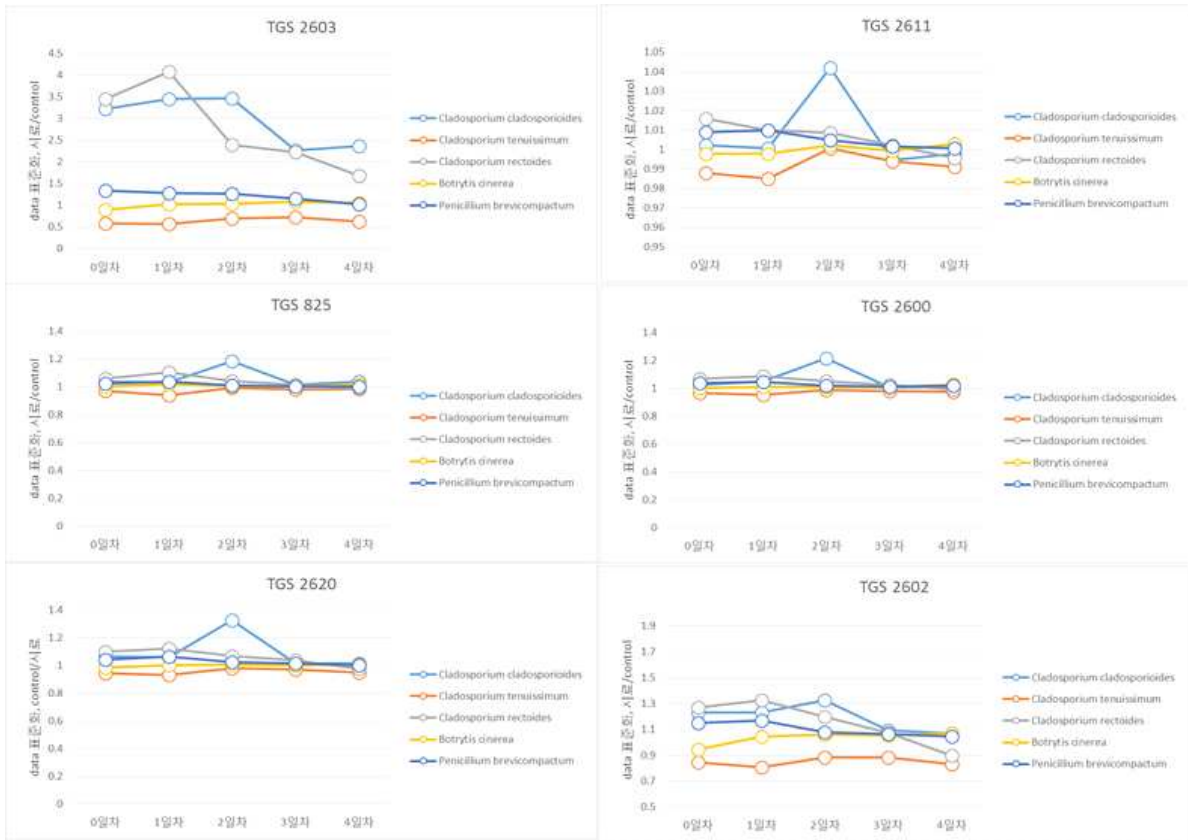


그림 203. 딸기 장희 품종의 저장기간에 따른 가스센서 감도변화

부패율이 장희보다 높은 설향과 감도 변화량이 높은 TGS 2603 가스센서를 대상으로 상관관계 분석을 실시하였다. 그 결과 TGS 2603 가스센서는 *C. cladosporioides* 부패균과 $r = 0.92$, *C. tenuissimum* 부패균과 $r = 0.95$, *C. rectoides* 부패균과 $r = 0.98$, *B. cinerea* 부패균과 $r = 0.92$ 의 높은 상관관계를 확인할 수 있었다.

그리나 *P. brevicompactum* 부패균과는 매우 낮은 상관관계로 $r=0.13$ 이 확인되었다. *P. brevicompactum* 시료의 부패균의 경우는 부패율도 높았으나 *P. brevicompactum* 균에서 발생하는 부패냄새가 가스센서를 반응하지 않은 것으로 판단된다.

즉 *P. brevicompactum* 부패균만의 특징적인 부패냄새를 발생하지 않을 수 있으므로 추후 이러한 원인을 확인하는 추가적인 연구가 필요하겠다.

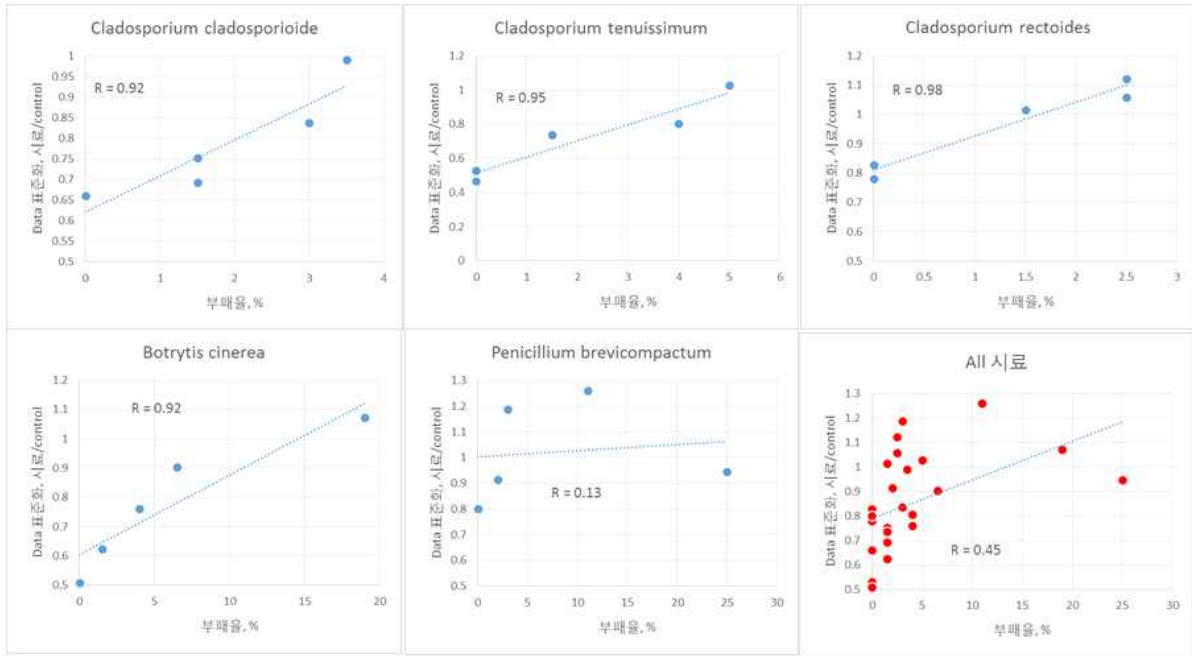


그림 204. 딸기 설향 품종과 TGS 2603 가스센서의 부패원인균별 상관관계 분석

㉔ 부패냄새 주사기 주입방법의 반복 재현성 평가

홍로사과, 파프리카 향 및 부패냄새에 대해 가스센서 주입방법은 3-way 밸브를 이용하여 임의의 시각동안만 과실의 향 및 부패냄새를 가스센서에 노출시켜 반응정도를 확인하고, 다시 남은 기간만큼 청정공기를 주입하여 오염기체에 노출된 가스센서의 안정화를 진행하는 방법이다.

그러나, 딸기에 대한 가스센서의 기초 반응성 실험을 수행한 결과 미량의 딸기 향에 모든 가스센서는 매우 높은 감도를 보였다. 이에 주사기를 이용한 정량 주입방법의 시스템 변경이 필요하였고, 앞선 결과처럼 주사기 주입방법을 이용한 딸기 부패 평가 시스템을 개발하였다.

주사기 주입방법은 실험자의 주사기 주입속도와 같이 숙련도에 따라 도출되는 가스센서의 감도와 결과에 차이가 발생할 것으로 판단된다. 이에 실험자의 주사기 주입 숙련도의 사전적 평가가 필요한 사항이다.

아래 그림은 1인의 전담 실험자가 딸기 향을 이용하여 재현성을 평가한 결과이다. 동일 딸기 시료 3회 반복하여 재현성을 평가한 결과 최대 1.84% RSD의 높은 재현성을 확인할 수 있었다.

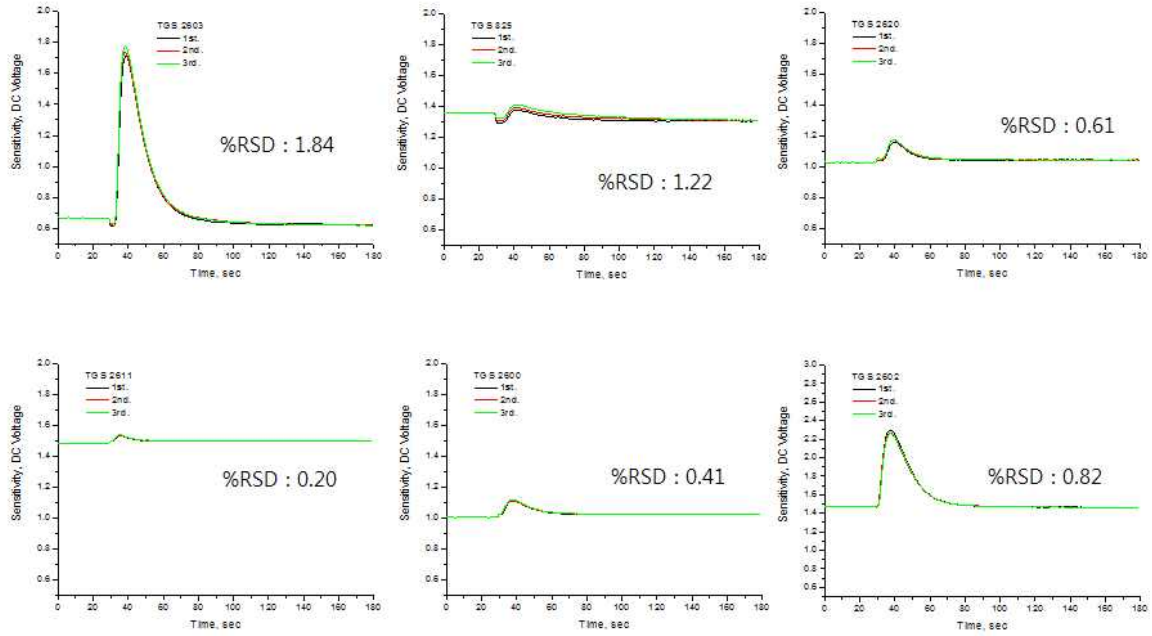


그림 205. 딸기 실험자의 주사기 주입방법 3회 반복 재현성 평가 결과

④ 가스센서 type별 반응성 및 재현성 평가

㉞ 반응성 평가

일반적으로 반도체식 가스센서는 크게 bead type 센서와 thick-film type 그리고 tube type으로 구분된다. 본 평가에서 상용된 FIS 센서의 경우는 bead type의 센서이고, Figaro 센서는 대부분 Thick-film type와 TGS 825 센서는 Tube type의 센서이다.

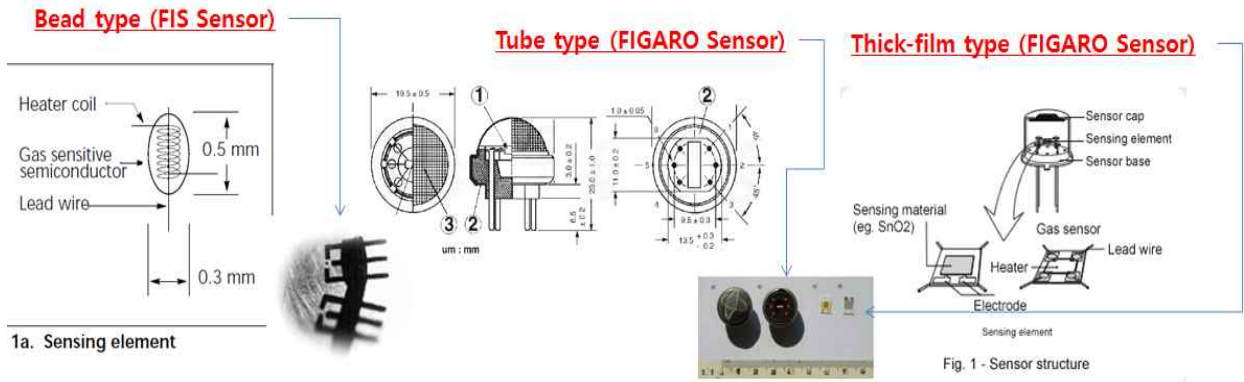


그림 206. 반도체식 가스센서 type 구분

이들 센서에 대한 반응성을 홍로사과 시료에 대해 확인할 결과 bead type의 가스센서는 신선 농식품 향에 대하여 매우 낮은 감도를 보였고, 반대로 thick-film 및 tube type 센서의 경우는 높은 감도가 확인되는 사항이다.

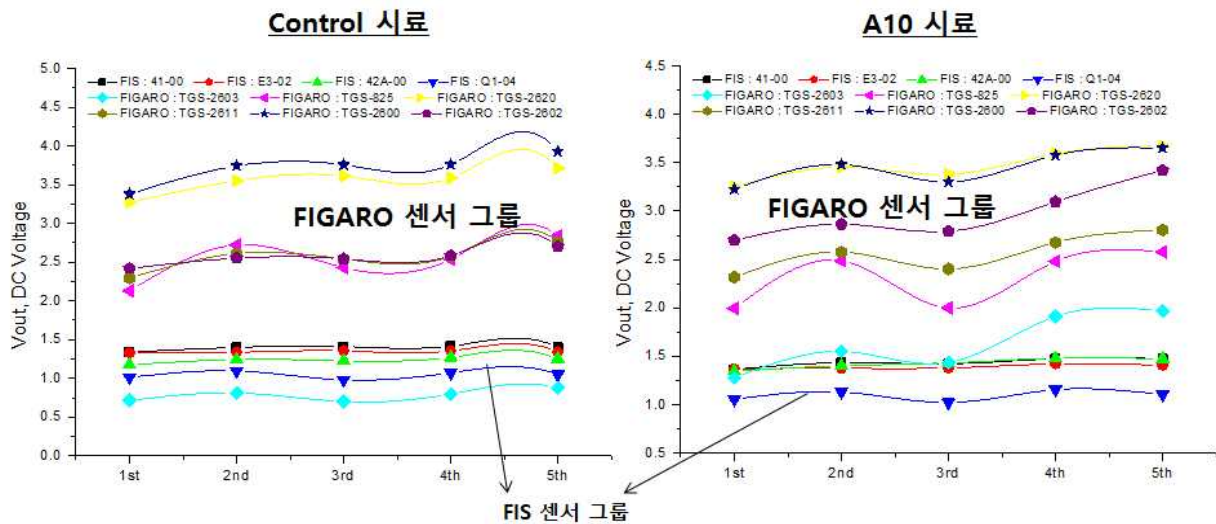


그림 207. 가스센서 type에 따른 가스센서 그룹의 반응성 비교

㉔ 반복 재현성 평가

더불어 동일한 홍로사과 시료 향에 대하여 이들 가스센서에 대한 반복 재현성 평가를 가스센서 출력신호별(V_{max} , ΔV , R_o/R_s , 회복속도)로 실시한 결과 다음과 같은 결과를 확인하였다.

V_{max} (= 냄새에 대한 최대출력값)는 전체적으로 5% 이하의 상대표준편차가 확인되는 사항이나, FIS 센서 그룹의 경우는 반응성이 낮게 나타나 재현성이 우수하게 나타는 것으로 보인다. 반대로 가스센서 감도가 높은 Figaro 센서 그룹의 경우는 감도도 우수한 반면 재현성 또한 2.5% 이하로 나타났다.

ΔV (= $V_{max} - V_{base}$) 감도 평가는 30% 이하의 재현성이 확인되며, Figaro 센서 그룹의 TGS 2603 센서를 제외하면 10% 이하의 높은 재현성이 확인된다. 다음으로 R_o/R_s (= 크린공기의 반응성과 냄새 시료의 반응성을 저항비로 변환) 감도 계산방법은 25% 이하의 재현성이 확인되었고, 반응성 매우 높은 TGS 2602 가스센서 만을 제외하면 약 15% 이하의 양호한 재현성이 확인된다.

회복속도(= V_{max} 로 반응한 후 초기값으로 회복되는 시간) 평가에서는 FIS 센서 42A-00 및 Q1-04, Figaro 가스센서 TGS 2603 및 TGS 825를 제외하고는 전체적으로 5% 이하의 우수한 재현성을 확을 할 수 있었다.

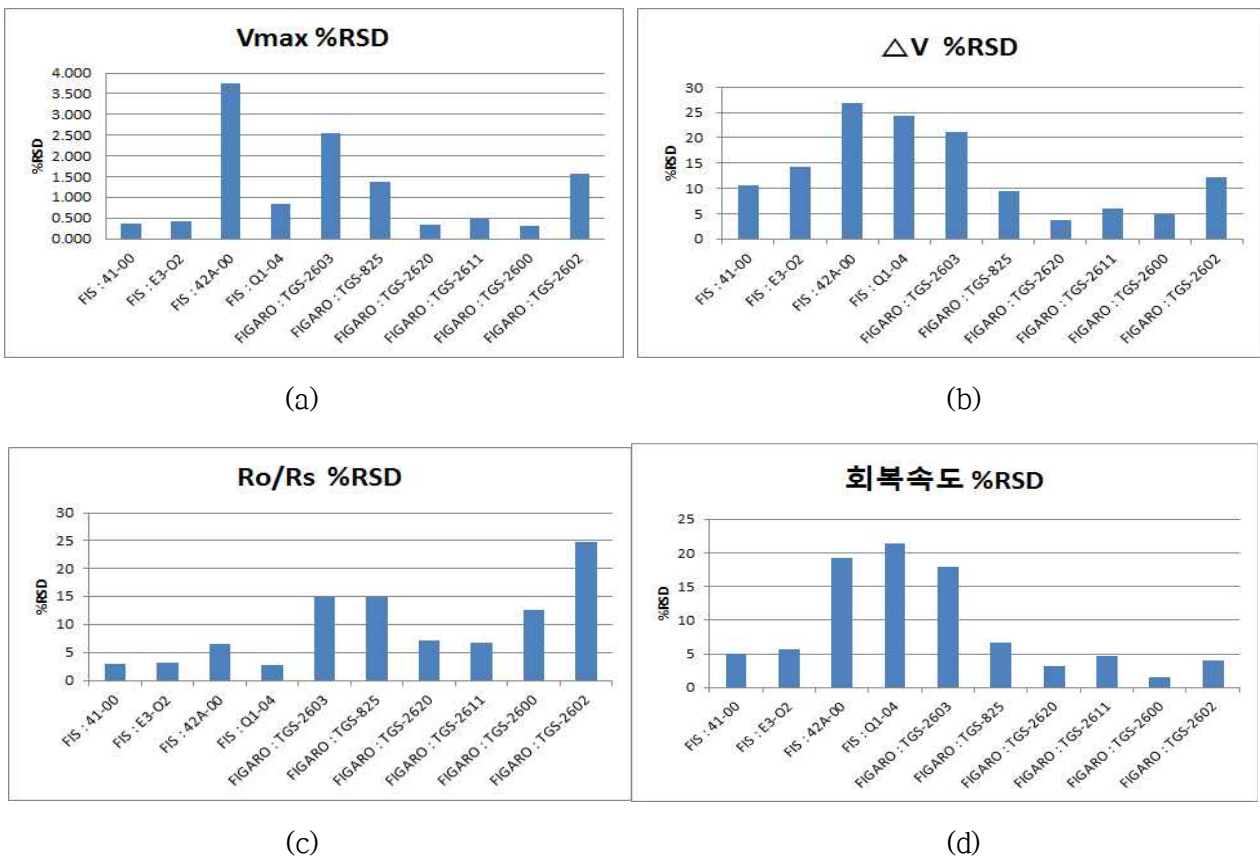


그림 208. 가스센서별 출력신호 재현성 결과 비교(a : V_{max} , b : ΔV , c : R_o/R_s , d : 회복속도)

(다) 데이터 표준화에 의한 출력신호 해석방법

① 데이터 표준화 방법

홍로사과 실험결과를 대상으로 데이터 표준화 및 다변량 통계분석을 실시하였다. 본 연구에서 사용된 TGS 2603 가스센서가 홍로사과 시료의 향과 부패냄새에 대하여 차별적인 반응성이 확인되어, 그 결과를 다변량 통계분석인 주성분분석을 이용하여 실험결과를 평가하였다. 우선 수집된 데이터의 표준화를 위해 부패가 발생하지 않은 A0(Control)의 TGS 2603 가스센서 감도가 기준값(=1.00)이 되도록 나머지 A1 ~ A10 시료의 10주간 실험 결과를 A0 감도로 나누어 데이터를 표준화하였다.

아래 그림은 TGS 2603 가스센서 감도로 실험 데이터를 표준화하여 10주간의 실험결과를 Box plot로 나타낸 것이다. 총 10주간의 데이터 분포를 살펴보면, 실험기간 동안 부패 유무에 따라 부패가 발생하지 않은 A1~A8 그룹과 부패가 발생한 A9 및 A10 그룹으로 분류할 수 있다.

부패가 발생하지 않은 그룹 A1~A8 시료는 0.9~1.2 수준의 낮은 데이터 변화량이 관찰되었으며, 그중에서 A3 시료는 기준값 대비 상대적으로 높은 것이 특징이다. 반대로, 부패가 발생한 그룹인 A9 및 A10 시료는 데이터 변화량이 큰 것이 특징이며, A9는 0.9~1.7의 감도 변화와 A10 시료는 2.0~4.0 이상의 높은 변화량을 관찰할 수 있다.

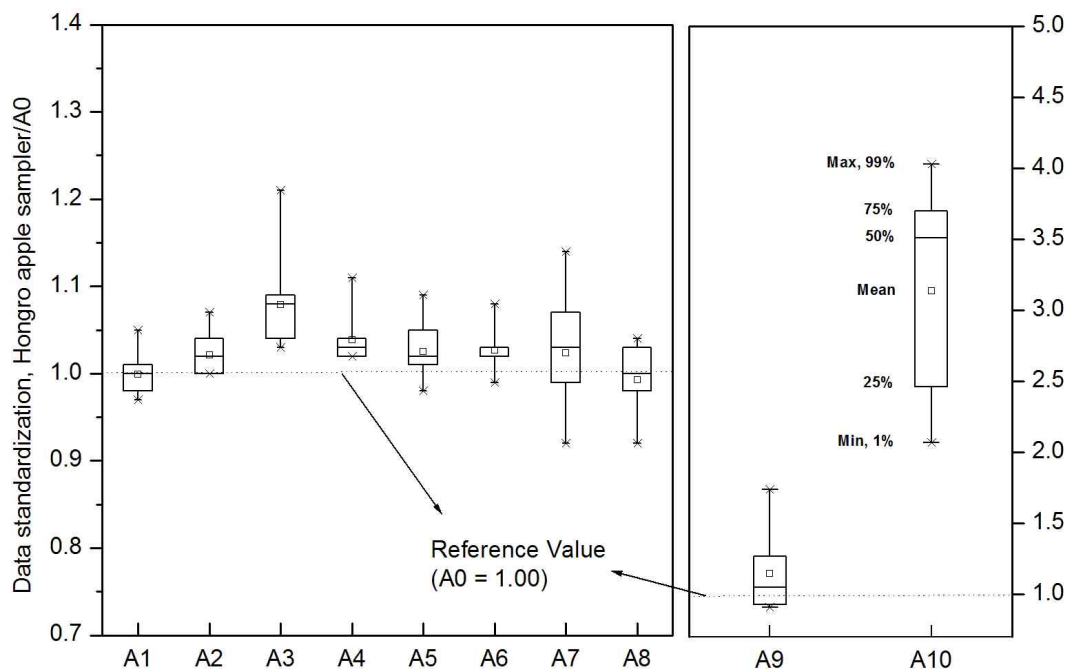


그림 209. 최적 가스센서의 데이터 표준화 결과

② 주성분 분석방법을 이용한 출력신호 다변량 통계 해석

TGS 2603 가스센서 감도 표준화 결과를 이용하여 주성분분석을 실시하였고, 아래 표와

같이 9가지 요인 중 고유값(Eigenvalue)이 1보다 큰 요인만을 추출할 수 있었다. 추출된 3가지 요인의 고유값은 각각 5.316, 1.672, 1.264이며, 이때의 누적분산 기여율은 82.52%로 설명이 가능하였다. 첫 번째 요인(F1)과 두 번째 요인(F2)의 분산비율 합은 69.88%로 확인되어 2개의 주성분만으로 설명할 수 있었다.

표 101. 주성분 분석에 의한 요인 고유값 및 누적분산 기여율

Original eigenvalues	Principal component						
	F1	F2	F3	F4	~	F8	F9
Eigenvalue	5.316	1.672	1.264	0.784	~	0.018	0.004
Variability, %	53.16	16.72	12.64	7.84	~	0.18	0.04
Cumulative variability, %	53.16	69.88	82.52	90.36	~	99.96	100.00

아래 표는 추출된 2가지 요인을 보다 정확히 설명하기 위해 왼쪽에는 시료별 주성분 분석에 의한 고유벡터(Eigenvector) 값을 나타내었고, 다시 고유벡터 결과를 Varimax법의 요인회전(Factor rotation)을 이용한 요인적재량(Factor loading) 결과를 오른쪽에 정리하였다. 요인적재량 결과를 보면, 제1주성분의 경우는 홍로사과 중 부패하지 않은 A1, A2, A4, A5, A6 시료가 0.8 이상의 강한 양의관계로 나타났다. 반대로 부패가 진행된 시료인 A9 및 A10 홍로사과는 각각 -0.409, -0.676으로 음의관계를 보이고 있어, 부패 유무의 특성에 따라 홍로사과 시료가 적재되었음을 알 수 있다.

제2주성분에 의해서는 제1주성분에서 음의관계를 보이고 있던 A9 및 A10 시료가 각각 0.800, 0.558 양의관계로 적재되었다. 제2주성분에서 특이한 사항은 A3과 A8 시료들로 제1주성분 요인적재와 비슷하게 제2주성분에서도 각각 0.656, 0.465로 적재되어 있다.

표 102. 홍로사과 시료별 고유벡터 값과 요인적재량 결과

Hongro apple Sampler	Eigenvectors		Factor loadings	
	F1	F2	F1	F2
A1	0.423	0.011	0.975	0.014
A2	0.405	0.022	0.935	0.028
A3	0.183	0.508	0.421	0.656
A4	0.363	- 0.014	0.837	- 0.018
A5	0.396	0.133	0.913	0.172
A6	0.372	0.060	0.858	0.077
A7	0.155	- 0.151	0.358	- 0.195
A8	0.234	0.359	0.539	0.465
A9	- 0.178	0.618	- 0.409	0.800
A10	- 0.293	0.431	- 0.676	0.558

이러한 A1 ~ A10 홍로사과 시료의 요인적재량 결과를 아래 그림과 같이 이해를 돕기 위해 나타내었다. 그 결과를 살펴보면, 제1주성분에 의해서는 53.16%로 부패유무를 결정하는 요인설명으로 양의관계에는 부패하지 않은 시료(A1, A2, A4, A5, A6)와 음의관계에 서는 부패한 시료(A9, A10) 그룹으로 구분되었다.

또한, 제2주성분에 의해서는 A3 및 A8 시료가 부패 그룹과 부패하지 않은 그룹간의 중간에 위치하여 양의관계를 보이고 있는 것이 특징이다. 제1주성분에 의한 부패유무 결과와 연계하여 분석한다면, 홍로사과의 신선도에 따라 구분되고 있음을 유추할 수 있다. 즉, 제1주성분 양의 위치에서 음의 위치로 이동할수록 부패율이 증가하게 되므로, A3 및 A8 시료는 신선한 사과에서 부패단계로 진행되는 시료임을 설명할 수 있다.

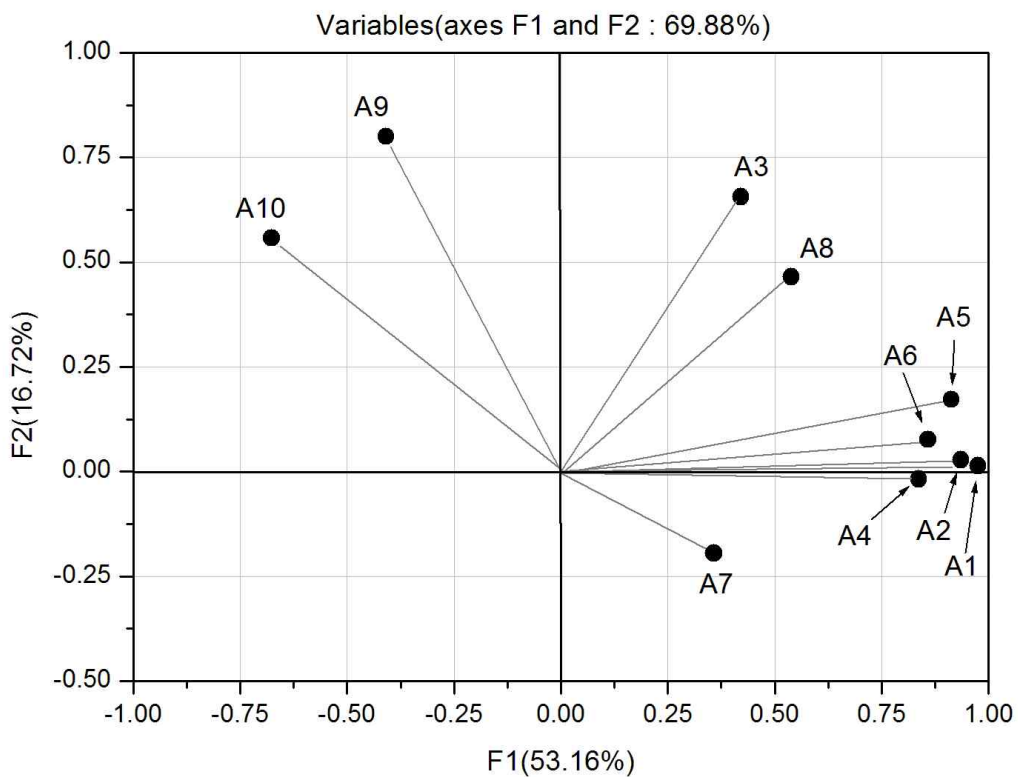


그림 210. 최적 가스센서 TGS 2603 가스센서에 의한 주성분 분석 결과

(3) Lab-scale 수준의 수출전략 농산물 냄새측정을 위한 장치 개발

(가) 인공부패(접종)에 따른 농식품 평가 방법 고찰

앞 장에서의 연구는 홍로사과, 파프리카, 딸기 시료에 대해 자연부패 또는 농장에서 발생한 부패 시료 등에 대해 가스센서의 반응특성을 관찰하였다. 더불어 농식품별 최적의 가스센서 선정과 반응성을 고려한 측정 시스템을 개발하였다. 이에 본장에서는 Lab-scale 수준의 농산물 냄새측정 장치 개발을 위해 자연적 부패가 인공적인 부패원인균 접종을 통해 부사사과, Red 파프리카, 딸기(설향 품종)를 대상으로 연구를 진행하였다. 더불어, 부패원인균별 부패특성 고찰과 최적센서를 통한 부패시기 파악에 대하여 연구하였다.

우선 Lab-scale 수준의 농산물 냄새측정 장치 개발을 위해, 기존의 반도체식 가스센서 10종 이외에 전기화학식과 광이온화검출식 가스센서에 대한 부패냄새 감응 특성을 평가하고자 총 15종으로 구성된 냄새측정 장치를 개발하였다.

가스센서 선정에 있어, 홍로 사과에서 발생하는 냄새를 평가하기 위해 제작한 10종의 센서 어레이 시스템을 보완하고자, 반응성이 부족한 5종 가스센서(SB-41, SB-EN2-02, SB-42A, SB-AQ1, TGS 2600)를 센서 어레이 리스트에서 제외하였고, 선행 논문 및 센서 제조사의 DATA SHEET를 참조하여 9종(TGS 800, TGS 822, TGS 823, TGS 826, TGS 880, SP-53B, SP-31, PID-AH, ECS-NH3, C2H4/M-10)의 가스센서를 추가하여 보완 구성하였다.

아래의 표 처럼, 새롭게 구성한 반도체식 가스센서는 과일의 숙성 및 부패단계에서 발생이 가능한 물질로 알려진, Alcohol류 및 휘발성유기화합물에 반응성이 우수한 가스센서를 구성함에 목적을 두었고, 추가적이 에틸렌 가스에 선택적으로 반응하는 C2H4/M-10 에틸렌 가스센서, 암모니아 가스센서 ECS-NH3, 휘발성유기화합물질에 매우 우수하게 반응하는 광이온화식(PID-AH) 가스센서를 보완하여 구성하였다.

표 103. 14종 가스센서 어레이로 구성된 부패감지 시스템 센서 구성

Sensor Model		Applications	Type
1	TGS 800	General air contaminants	반도체식 (tube)
2	TGS 822	Alcohol, Organic solvents	
3	TGS 823	Alcohol, Organic solvents	
4	TGS 825	Hydrogen sulfide	
5	TGS 826	Ammonia/Amine	
6	TGS 880	Fumes form food(alcohol, odor)	
7	TGS 2602	VOCs, Ammonia, H ₂ S, etc	반도체식 (thick-film)
8	TGS 2603	Trimethylamine, methyl mercaptan, food odors	
9	TGS 2611	Methane, Natural Gas	
10	TGS 2620	Alcohol, Organic solvent vapors	
11	SP-53B	Ammonia	
12	SP-31	Alcohol, Solvent	광이온화식
13	PID-AH	VOCs	
14	ECS-NH3	Ammonia	
15	C2H4/M-10	Ethylene	전기화학식

최종적으로 12종의 반도체식 가스센서, 1종 전기화학식 1종, 1종 광이온화식 가스센서를 추가하여 총 15종의 센서 어레이 시스템을 개발하였고, 아래 그림에 15종의 가스센서 어레이 시스템 및 그에 따른 실험 모식도를 도식화 하였다. 이때 신선 농식품의 종류에 따라 챔버 용량은 적절하게 변경을 고려하고 있으며, 가스센서 또한 센서의 반응시간 등을 고려하여 반도체식 가스센서 매니폴더와 전기화학식 및 광이온화 검출식 가스센서 매니폴더를 구분하여 구성하였다.

이렇게 제작한 14종의 가스센서 어레이 시스템을 이용하여, 주관기관에서 인공접종한 부사사과에 대하여 실험을 진행하였고, 이에 대한 농식품 부패도에 따른 가스센서의 변화를 분석하고자 하였다.

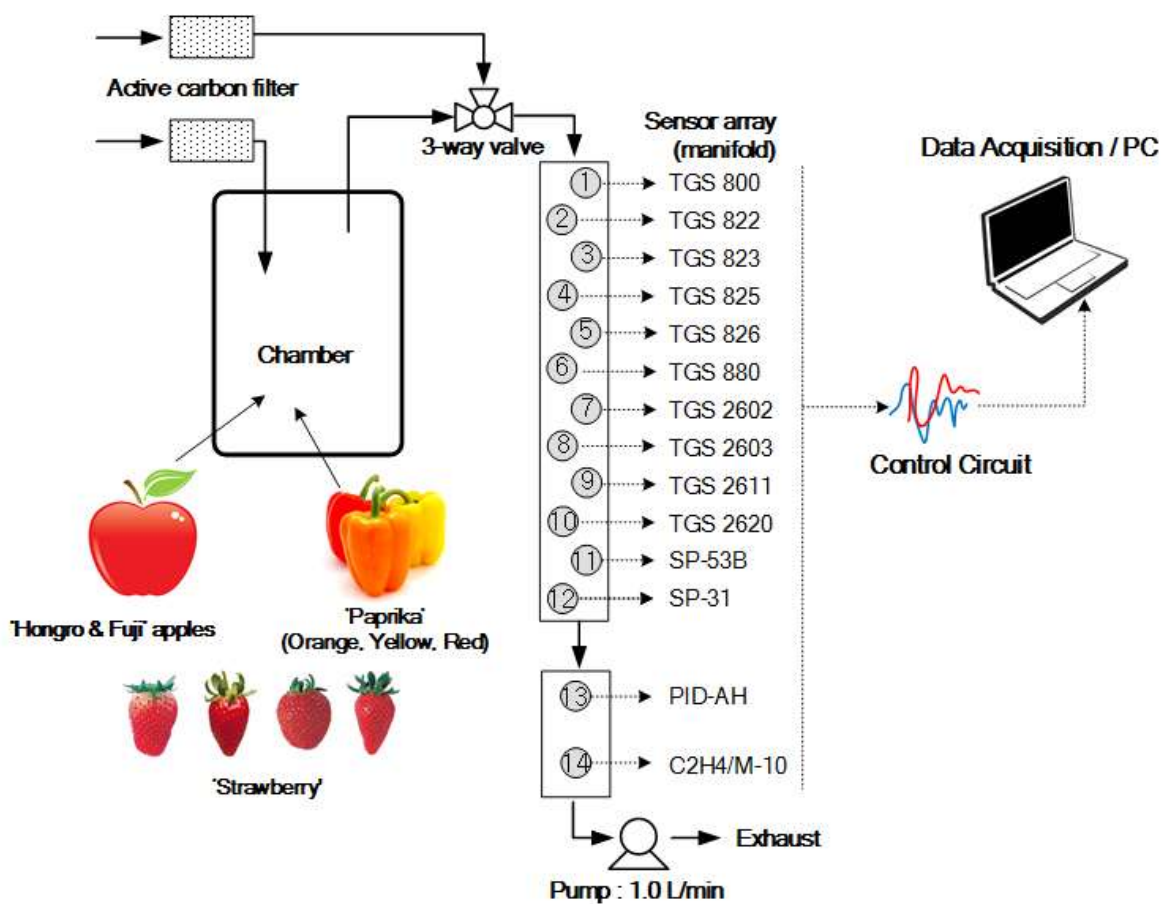


그림211. 신선 농식품 평가를 위한 15종 가스센서 어레이 시스템의 모식도

시스템의 기본적인 구성은 가스센서 신호를 디지털로 변환하여 수집하고 밸브 및 펌프 등을 제어하는 Win CE.(임베디드 컴퓨터), 가스센서에 전압과 아날로그 신호로 수집하는 제어보드, 14종의 센서를 구성하고 있는 듀얼 매니폴더(#1 반도체 센서 매니폴더, #2 전기화학식 및 광이온화식 센서 매니폴더), 마이크로 펌프 및 밸브 시스템, 가스센서에 청정공기를 공급하는 활성탄 필터, AC-DC 전원 공급 시스템 등으로 구성하였다.



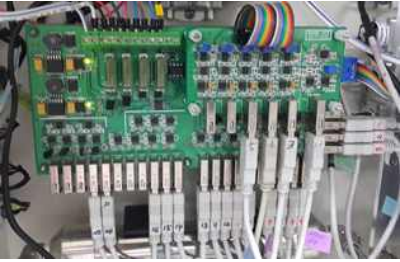





<p>외함(외형 및 내부)</p>	<p>Win CE.</p>
	
<p>센서 신호 제어 보드</p>	<p>#1 반도체 센서 메니폴더</p>
	
<p>#2 전기화학식 및 광이온화식 메니폴더</p>	<p>펌프 및 밸브</p>
	
<p>AC-DC 전원 공급 시스템</p>	<p>활성탄 필터</p>
	

그림 212. 15종 가스센서 어레이 시스템의 구성

14종 가스센서 어레이 시스템의 사전 예비 반응성 평가를 기존 부패 사과 시료, 메틸메르캅탄, 황화수소, 톨루엔, 암모니아 등의 냄새에 대하여 평가를 진행하였다. 아래 그림에서처럼 대체적으로 반도체식 가스센서는 모든 냄새 시료에 쉽게 반응하는 특징이 관찰되었고, 센서 type 및 종류에 따라 황계열(메틸메르캅탄, 황화수소)에 반응성이 높은 가스센서와 반대로 유기용제와 암모니아 냄새에 낮은 반응성이 관찰되는 가스센서들로 구분되었다. 광이온화식 및 전기화학식 가스센서의 경우는 반도체식 가스센서 보다 낮은 반응성이 관찰되었다.

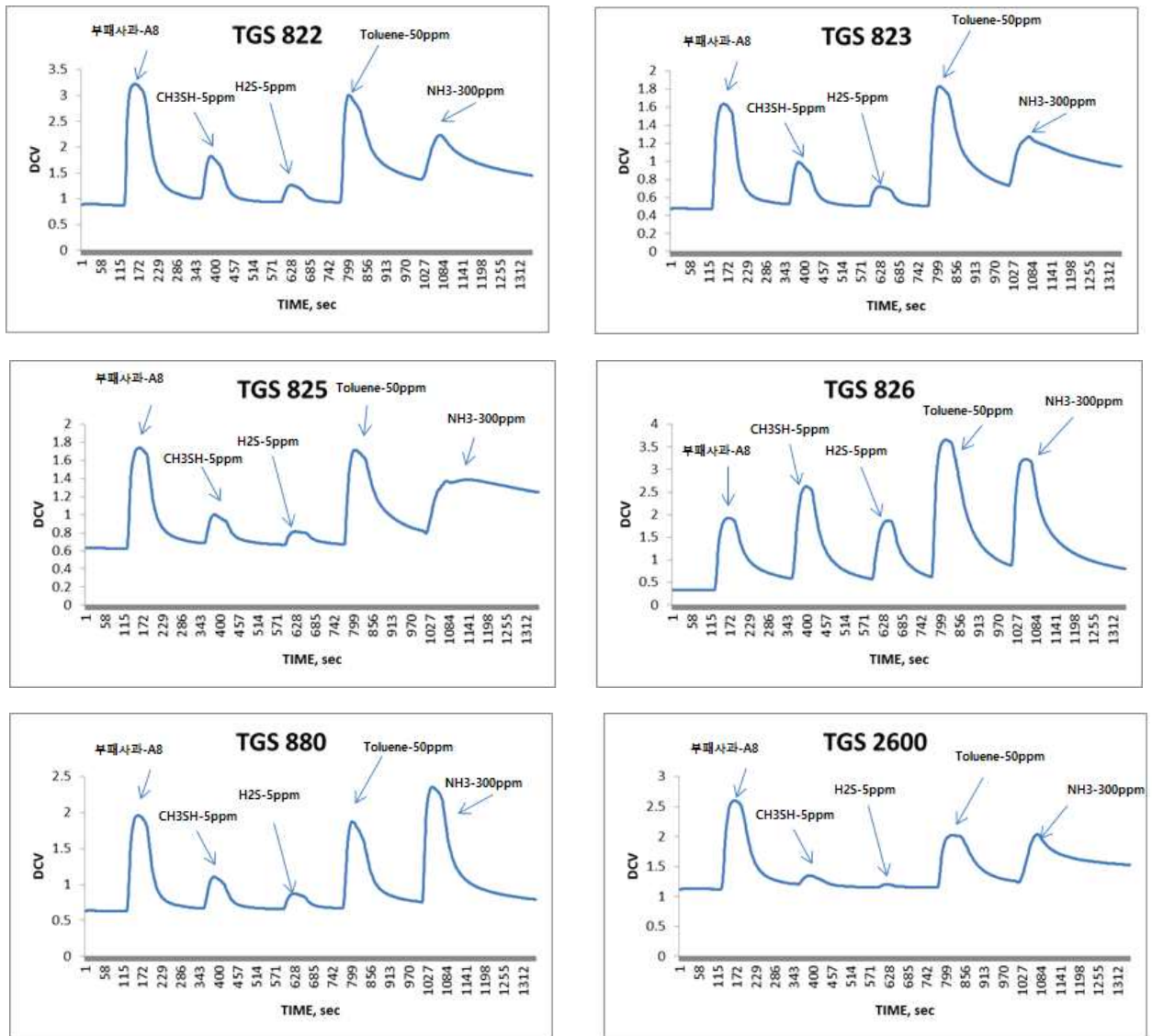


그림 213. 14종 가스센서의 반응성 평가

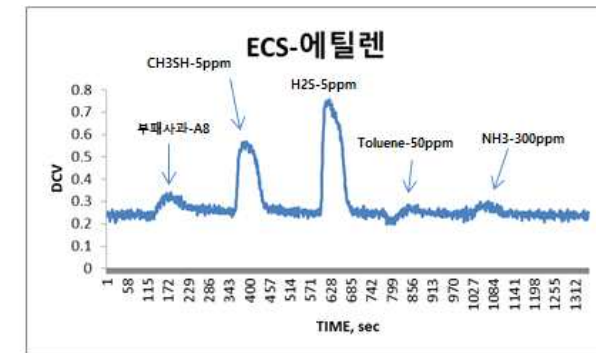
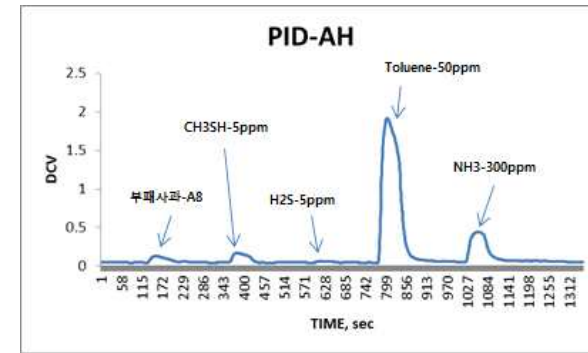
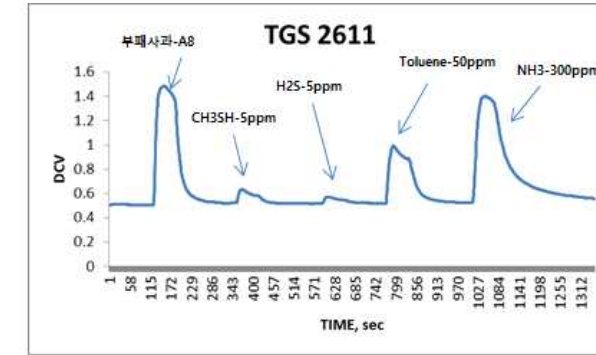
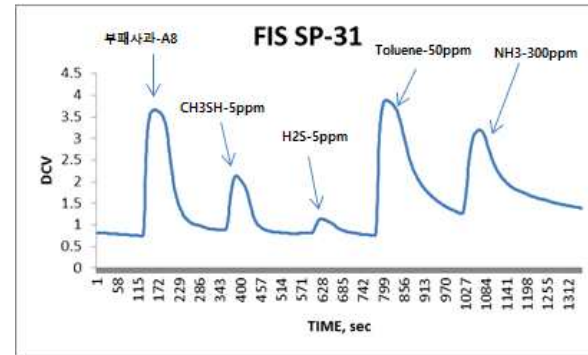
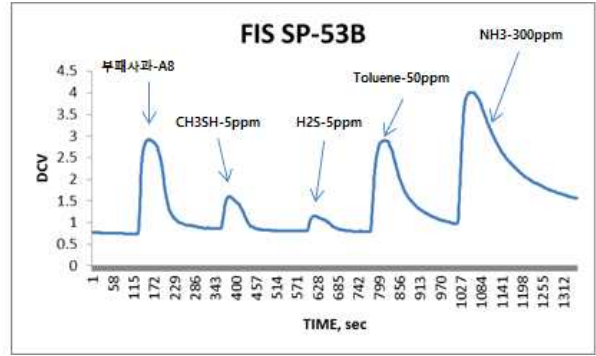
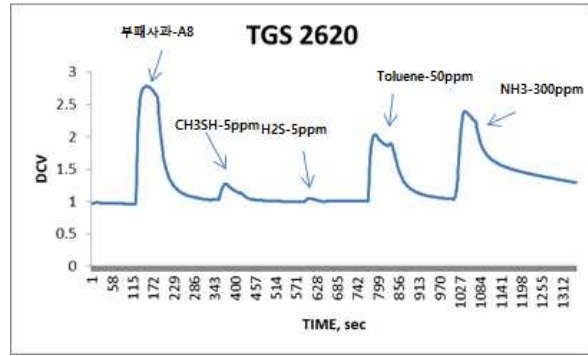
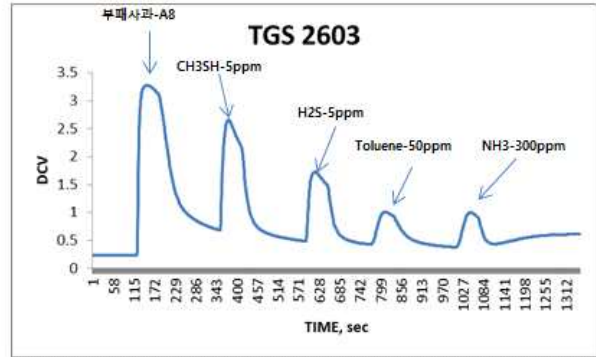
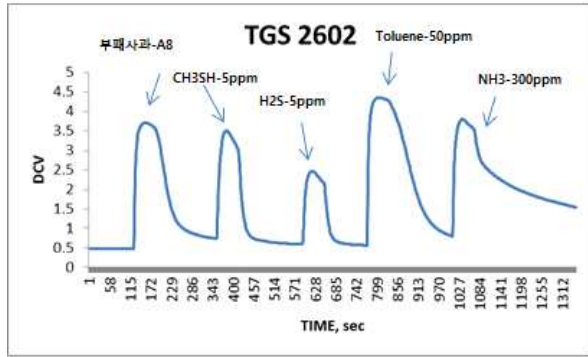


그림 214. 14종 가스센서의 반응성 평가 > (계속)

(나) 부사사과 인공부패 실험

① 인공부패 부사(fuji) 사과의 준비

부사사과를 구입 후 사과의 겉보기 상태에 따라서 1 ~ 3등급으로 분류하여 1등급의 시료를 30개 준비하여 최종적인 균 인공접종 시료로 사용하였다. 인공부패 부사사과 실험을 위해 우선 구매한 부사사과를 70% 알코올로 표면을 세척한 후 충분히 건조 시켰다. 부패를 위한 사과시료의 부패 원인균 준비는 자연부패 부사사과에서 단일 분리한 균주 (*Alternaria tenuissima*, *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Botryosphaeria dothidea*, *Penicillium expansum*, *Starmerella bacillaris*, *Hanseniaspora uvarum*)를 배양하여 인공접종을 위한 균주를 준비하였다 이후 분리한 부패 원인 균을 부사사과에 인공접종하기 위해 사과 상부(그림 : 부패원인균 접종 사진)를 6 ~ 7mm(깊이 3mm) 타원형으로 일정하게 도려낸 다음, 각각의 부패원인 균을 부착시켜 접종하였다.(주관기관 숭실대학교 연구팀에서 진행)

모든 균주 접종은 clean bench에서 진행하였으며, 7개의 균에 대한 3회 반복 실험과 바탕실험(Control)을 위해 총 23개의 부사사과 시료를 1.2L 유리용기에 개별 구분하여 준비하였다.

접종된 사과시료는 실온에서 보관하였으며, 외부 요인에 의한 오염을 방지하면서 공기의 순환을 위해 유리병의 입구를 열고 멸균 거즈로 덮어서 보관하였다. 온도 및 습도를 조절하기 위해 향온향습 장비를 사용하고자 하였으나, 향온향습장비 자체의 냄새로 인해 사과시료 보관에 대한 문제가 예상되어 청정한 실험실 조건에 시료를 보관하였고 최대한의 습도 유지를 위해 유리병의 1/3 수준에 수위를 맞춘 수조를 준비하여 시료를 보관하였다.









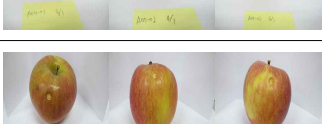
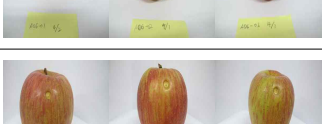
부사사과 시료의 냄새측정을 위한 가스센서 측정 로직은 가스센서 어레이 전단에 3-way 밸브를 구성하여 10초 동안 사과시료 냄새가 주입되어 가스센서를 반응시켰고, 다시 초기값으로 회복시키기 위해 290초 동안 활성탄 필터의 청정공기를 공급하는 조건으로 1개의 사과시료를 평가하는데 300초 주기의 실험을 진행하였다. 모든 가스센서 측정 자료는 데이터 수집 장치를 이용하여 초단위로 저장하였고, 시료 흡입 유량은 1.0L/min으로 가스센서에 주입된 사과시료 만큼 공기를 채우기 위해 유리용기 전단부에 활성탄 필터를 구성하여 오염된 공기의 유입을 최소화하였다.



그림 215. 부사사과의 인공부패 실험 방법

아래 표와 같이 각각의 인공접종 시료에 대한 부패 및 결과의 재현성을 평가하기 위해 동일한 균을 3개의 사과시료에 접종하였고, 7종(A01 ~ A07)의 균에 대한 인공접종 시료와 Control 시료(AC), 배지종류(AN, AP) 등 총 10개 실험군에 대한 총 30개의 사과시료를 준비하였다.

표 104. 부사사과 시료명 및 인공접종 균명

시료명	시료 번호	접종 균명	인공접종 후 사진
AC	01 ~ 03	미접종(Control)	
AN	01 ~ 03	Normal PDA 배지	
AP	01 ~ 03	<i>Alternaria alternata</i> KCTC 26781 (표준균주)	
A01	01 ~ 03	<i>Alternaria tenuissima</i>	
A02	01 ~ 03	<i>Alternaria alternata</i>	
A03	01 ~ 03	<i>Aureobasidium pullulans</i>	
A04	01 ~ 03	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	
A05	01 ~ 03	<i>Penicillium expansum</i>	
A06	01 ~ 03	<i>Starmerella bacillaris</i>	
A07	01 ~ 03	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	

② 부패지수 평가 방법

사과 부패율 평가는 시료의 전체 총면적(= $4\pi r^2$, 구의 겹넓이) 대비 부패부위의 면적(= πr^2 , 원의 넓이) 비율(%)을 이용하여 산출하였다. 사과의 과일의 특성상 불규칙한 타원 형태이므로, 총면적의 반지름(r)을 구하기 위해서 사과시료의 가로길이(최단 및 최장지름, mm)와 평균 세로길이(높이, mm)를 측정하였고 평균을 통해 사과의 총면적을 구하기 위한 반지름 값을 구하였다.

부패면적 또한 저장기간이 늘어날수록 불규칙한 원의 형태로 부패하기 때문에 사과의 총면적의 반지름을 구하는 방식과 동일하게 부패부위의 최단지름과 최장지름을 측정 한 후 이를 평균화하여 부패부위의 면적을 산출하기 위한 반지름을 구하였다. 사과의 총면적은 실험시작 1주차인 최초 1회 측정하였으며 부패부위는 3일 간격으로 총 10회 측정하여 연구결과에 반영하였다.

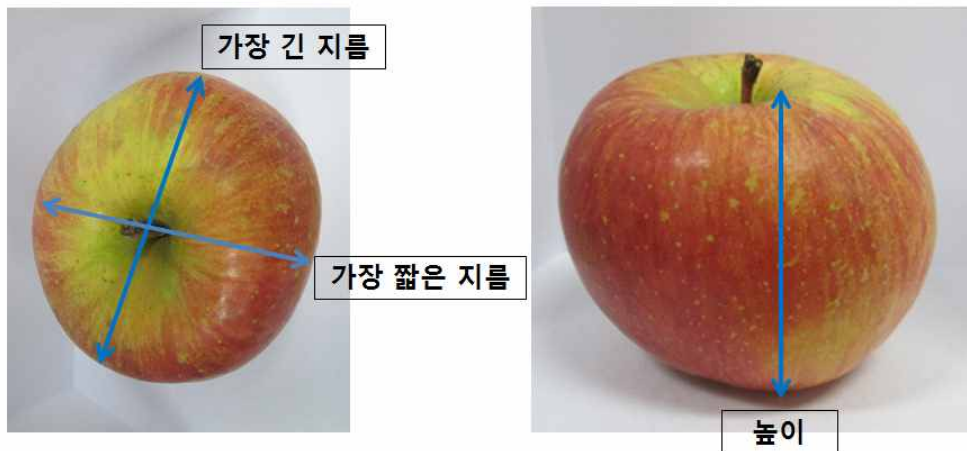


그림 216. 사과 시료의 표면적 측정 방법

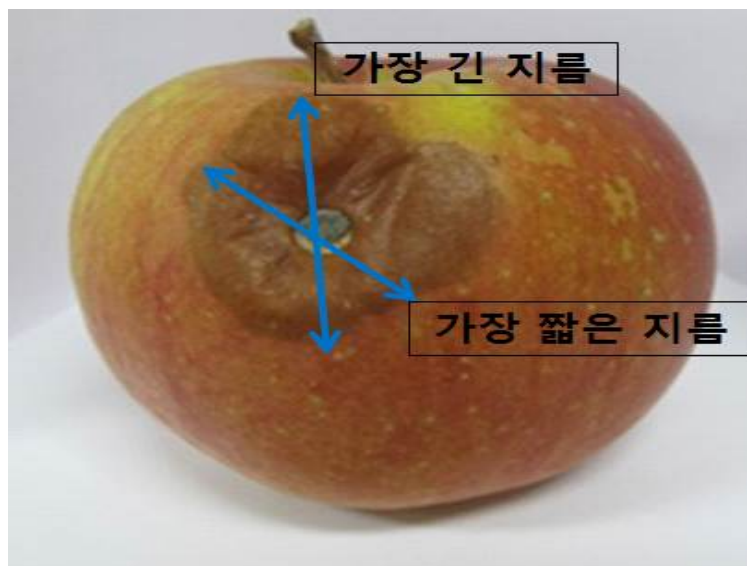


그림 217. 사과 시료의 부패면적 측정 방법

③ 부사사과의 부패도(율) 평가 결과

아래 표는 10개 시료군과 반복의 실험을 위한 총 30개 부사사과 시료의 표면적과 접종 부위의 면적 측정 결과이다. 사과시료의 표면적은 평균 20,744mm²(최소 : 19,104mm², 최대 : 22,687mm²)이며, 접종면적은 부패원인균을 접종하지 않은 Control 시료를 제외하면, 모두 28mm²으로 일정하다.

표 105. 부사사과 시료의 표면적과 접종면적 측정 결과

시료명	사과의 표면적					접종면적			
	최장 (mm)	최단 (mm)	높이 (mm)	평균 지름 (mm)	총표면적 (mm ²)	최장 (mm)	최단 (mm)	총접종적 (mm ²)	
AC	-01	85	82	75	81	20,432	0	0	0
	-02	89	84	82	85	22,687	0	0	0
	03	86	82	76	81	20,771	0	0	0
AN	-02	87	82	78	82	21,285	6	6	28
	-03	83	83	75	80	20,264	6	6	28
AP	-01	84	78	80	81	20,432	6	6	28
	-03	86	82	77	82	20,942	6	6	28
A01	-01	86	81	72	80	19,929	6	6	28
	-02	84	82	76	81	20,432	6	6	28
	-03	89	84	75	83	21,458	6	6	28
A02	-01	88	82	77	82	21,285	6	6	28
	-02	86	84	81	84	21,980	6	6	28
	-03	85	83	79	82	21,285	6	6	28
A03	-02	84	82	77	81	20,602	6	6	28
A04	-01	83	83	74	80	20,096	6	6	28
	-02	85	84	75	81	20,771	6	6	28
	-03	84	79	73	79	19,432	6	6	28
A05	-01	80	80	74	78	19,104	6	6	28
	-02	86	84	68	79	19,762	6	6	28
	-03	86	81	77	81	20,771	6	6	28
A06	-02	87	83	76	82	21,113	6	6	28
	-03	90	82	75	82	21,285	6	6	28
A07	-01	88	85	74	82	21,285	6	6	28
	-02	86	82	78	82	21,113	6	6	28
	-03	84	82	74	80	20,096	6	6	28
평균	86	82	76	81	20,744	5	5	25	

부사사과 부패원인균 인공접종 후 시료의 부패 양상을 관찰하였다. 그 결과 AN-01, AP-02, A03-01, A03-03, A06-01의 경우 인공접종 부위 이외에 오염이 생긴 시료로 판단되어 분석에서 제외하였다. 아래와 같이 균 인공 접종 직후 오염된 사과 시료와 비오염 사과시료를 비교하면, 먼저 비오염 사과시료의 경우는 접종 부위 및 외관상의 부패가 발생하지 않았으나, 반대로 오염된 사과 시료의 경우는 접종 부위와 그 외 부위에서 부패가 발생하는 증상이 관찰되었다.

표 106. 인공부패 접종 후 정상적인 시료와 오염된 사과시료 비교

시료명	정상적인 사과시료	오염된 사과시료
AN		
AP		
A03		
A06		

사과시료의 전체 총면적(표면적) 대비 부패부위의 면적 비율(%)을 이용하여 부패율을 구하였다. 그 결과 A04, A05 사과 시료군에서 가장 큰 부패도가 관찰되었고, AC 및 AN-02 사과시료는 부패도가 관찰되는 않았다. 전체적으로 사과시료군을 구분하면 급격하

계 부패하는 시료군과 중간정도의 속도로 부패하는 시료군 그리고 전혀 부패가 발생하지 않는 시료군으로 구분할 수 있었다.

표 107. 부패 지수 측정 결과

시료명		측정일(day, %)									
		3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
AC	-01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN	-02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-03	0	0	0	0	0	6	7	14	15	26
AP	-01	0	0	0	1	1	3	6	8	9	21
	-03	0	0	1	1	3	3	6	6	8	10
A01	-01	0	0	1	2	4	6	9	10	12	14
	-02	0	1	1	2	3	4	5	7	9	10
	-03	0	0	1	2	3	5	7	9	11	13
A02	-01	0	0	1	2	3	3	3	3	4	4
	-02	0	0	0	1	2	3	3	4	4	5
	-03	0	0	1	2	2	3	3	7	15	24
A03	-02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
A04	-01	0	1	4	9	25	79	92	97	100	100
	-02	0	1	3	6	100	100	100	100	100	100
	-03	0	0	1	6	87	100	100	100	100	100
A05	-01	0	0	2	7	12	17	23	27	73	85
	-02	0	2	5	9	13	16	25	26	92	100
	-03	0	1	4	10	14	20	27	31	79	100
A06	-02	0	0	0	0	0	2	2	6	9	11
	-03	0	0	0	0	0	5	6	8	16	26
A07	-01	0	0	1	0	0	1	4	10	16	27
	-02	0	0	0	0	0	1	1	1	5	5
	-03	0	0	0	0	0	1	5	11	21	25

AC(Control), AN(Normal PDA), AP(*A. alternata* KCTC 26781) 사과 시료의 부패도를 관찰한 결과, 균 접종 및 접종을 위한 시료 전처리를 하지 않은 AC-01 ~ 03 시료와 AN-02 시료에서는 부패가 발생하기 않았고, 균 배양을 위한 배지를 접종한 AN-03, AP-01, AP-02 사과시료는 약 9일차부터 부패도가 관찰되면서 21일차 이후부터는 6% 이상의 뚜렷한 부패도가 관찰되었다.

실험 종료일인 30일에 AN-03시료는 최종적으로 26% 부패, AP-01 21% 부패, AP-03 10%부패도가 확인된 것으로 AP 시료에서 부패도가 가장 크게 변화하는 경향이 확인되었다.

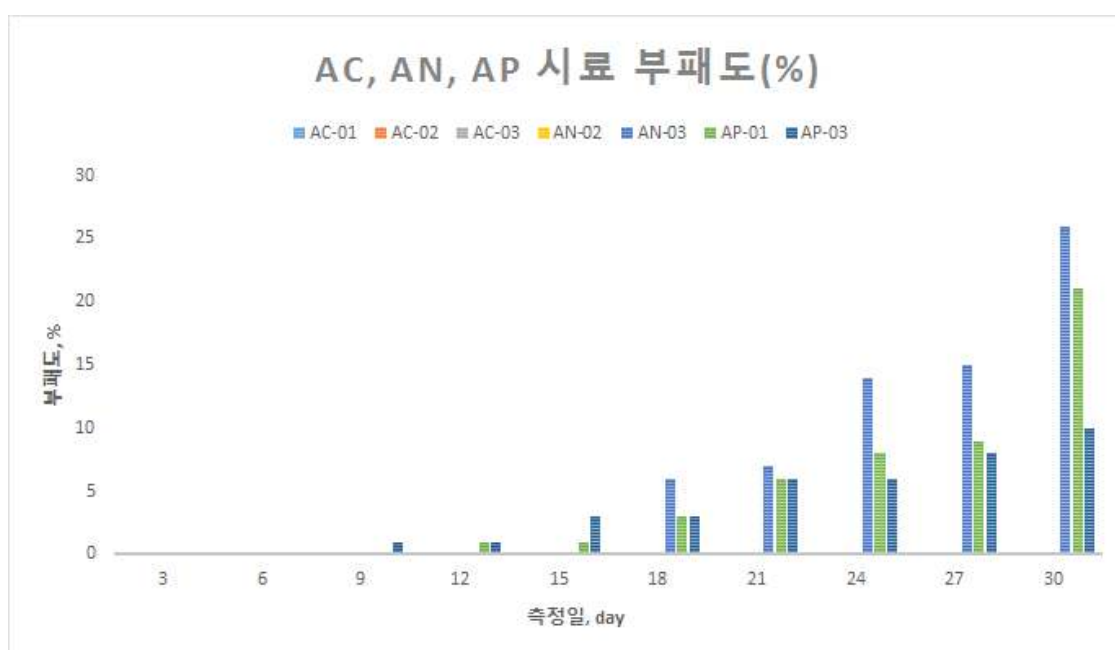


그림 218. AC, AN, AP 사과 시료의 부패도(율) 관찰

부사사과 부패균을 인공적으로 접종하여 부패를 발생시킨 A01(*Alternaria tenuissima*), A02(*Alternaria alternata*), A03(*Aureobasidium pullulans*) 사과 시료는 최종적으로 25% 이하의 부패도가 관찰되었고, 부패도 관찰 18일 이전에는 5% 이하의 부패도를 보이다가 18일 이후 부터는 부패도가 발전하면서 24일부터 10% 이상의 부패도가 관찰되는 시료가 나타났다.

A02-03 시료가 비교군에서 가장 큰 부패도 변화를 보였고, 동일한 균접종을 시행한 A02-01 및 A02-02 시료는 그보다 낮은 부패도가 관찰되는 것으로 동일한 균이라 하여도 부패도 변화에 있어 상반되는 결과를 보이고 있었다.

전체 사과 시료 중 부패도가 높은 시료군을 살펴보면, 모든 시료는 30일에 85% 이상의 부패도가 관찰되었고 A04(*Botryosphaeria dothidea*) 시료가 18일부터 급격하게 부패하는 사항으로 100% 부패가 관찰되었다.

A05(*Penicillium expansum*) 사과 시료는 12일차부터 5% 내외의 부패도가 관찰되면서 27일차부터는 70% 이상의 부패가 관찰되는 경향으로 후반에 부패도가 급격하게 변화하는 특징을 보이고 있다.

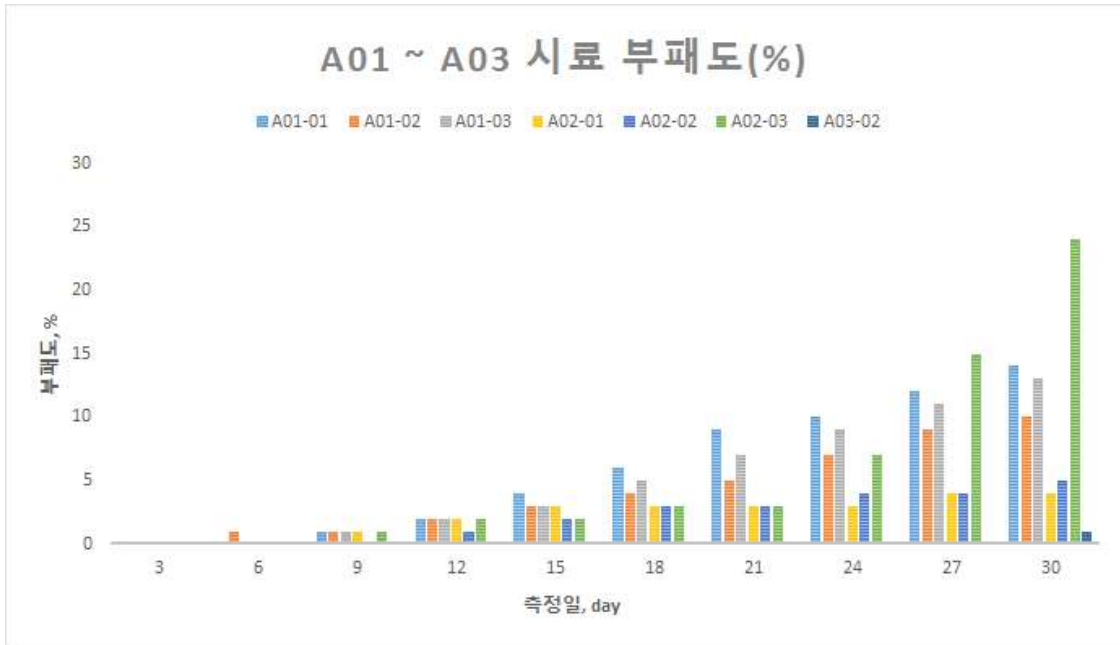


그림 219. A01, A02, A03 부사사과 시료의 부패도(율) 관찰

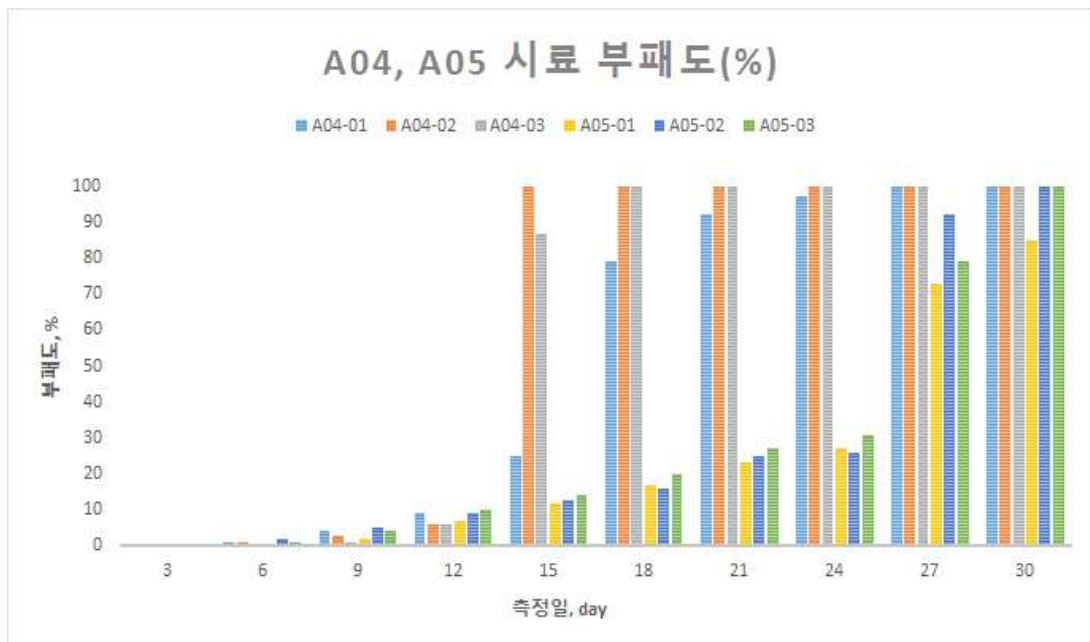


그림 220. A04, A05 부사사과 시료의 부패도(율) 관찰

부패도(율) 속도가 중간인 A06(*Starmerella bacillaris*), A07(*Hanseniaspora uvarum*) 사과 시료를 아래 그림에서 살펴보면 18일차부터 평균 2%의 부패도가 관찰되면서 24일차 평균 7% 최종 30일에는 평균 19%로 A07-01 시료 27%로 가장 높고, 동일한 균을 접종한 A07-02 시료가 5%로 가장 낮은 부패도 관찰이 나타났다.

이러한 결과는 앞에서 나타난 A02 시료와 유사한 결과로 동일한 균을 접종하여도 부패도 변화가 다르게 나타나 향후 가스센서 결과와 비교시 평균적인 부패도 변화를 적용하는 방법 등 자료처리에 있어 다각적인 비교 분석이 필요하다.

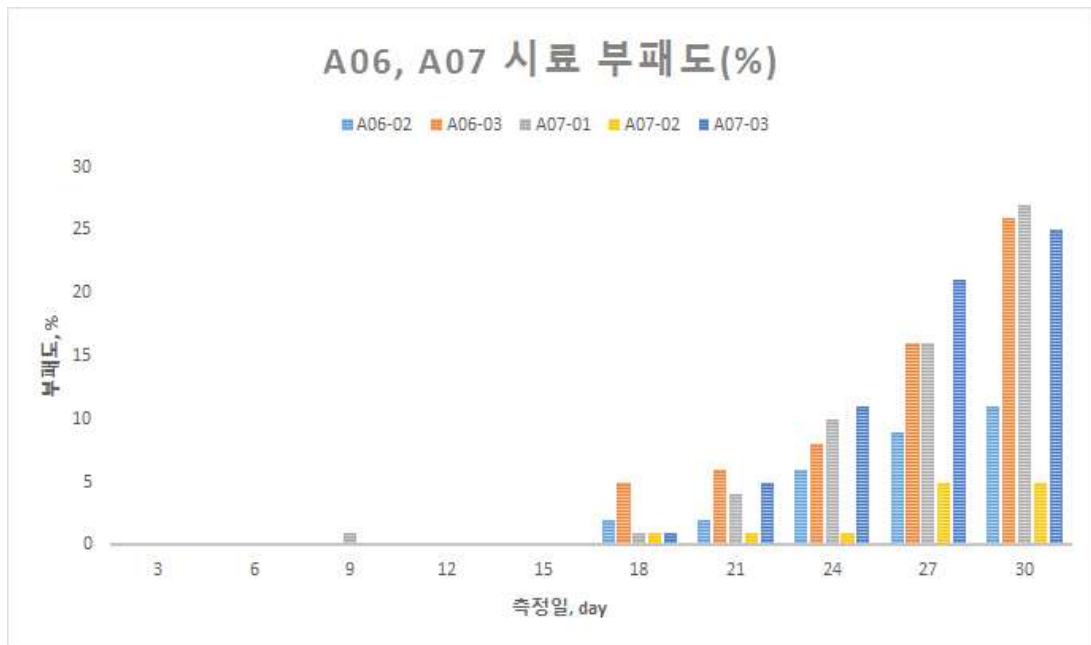


그림 221. A06, A07 부사사과 시료의 부패도 관찰

④ 부패 일자별 시료의 무게 변화

시료의 무게 변화를 관찰하기 위해 3일(최초 무게) 대비 각 측정일별 무게 감소를 비로 분석하였다. 각 시료군(AC, AN, AP, A01 ~ A07)별 무게변화(%)를 평균화하여 아래 그림에 나타내었고, 측정데이터는 아래 표에 일자 및 시료별로 구분하여 정리하였다.

A04 및 A05 시료군을 제외하고는 무게변화가 5% 이하로 나타났다. 이는 사과 시료가 보관기간에 수분이 배출되어 무게가 감소하는 것으로 판단된다. A04 사과시료는 21일차 이후에는 100% 부패(물렁거리는 부패)되어 무게측정이 어려운 상태로 최종적인 21일에는 89%의 무게 손실이 발생하였다.

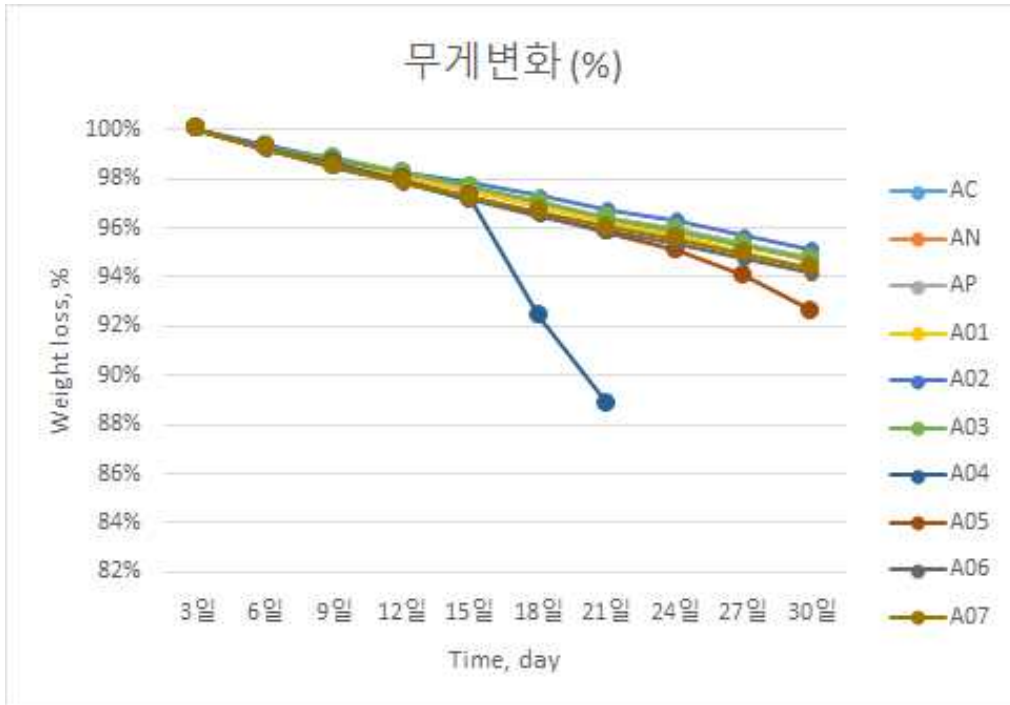


그림 222. 부사사과 시료군별 무게변화 관찰

표 108. 시료의 측정일자별 무게 변화관찰(3 ~ 15일)

구분		측정일(Day, g, %)									
		3일		6일		9일		12일		15일	
시료명		무게	감소율	무게	감소율	무게	감소율	무게	감소율	무게	감소율
AC	-01	234.7	0%	233.3	1%	232.0	1%	230.9	2%	229.6	2%
	-02	267.8	0%	265.8	1%	264.2	1%	262.8	2%	261.2	2%
	-03	253.9	0%	251.8	1%	250.1	1%	248.5	2%	246.7	3%
AN	-02	258.1	1%	256.5	2%	255.0	3%	253.7	3%	252.2	4%
	-03	242.5	2%	240.7	3%	239.1	3%	237.7	4%	236.2	4%
AP	-01	248.4	3%	246.5	3%	245.5	4%	244.0	4%	242.5	5%
	-03	249.7	2%	248.1	2%	246.6	3%	245.2	3%	243.7	4%
A01	-01	234.6	2%	232.6	3%	230.8	4%	229.2	4%	227.5	5%
	-02	248.5	2%	246.7	3%	245.8	3%	244.3	4%	242.8	4%
	-03	262.6	1%	261.0	2%	259.6	3%	258.3	3%	257.0	3%
A02	-01	257.0	6%	255.3	7%	253.8	7%	252.3	8%	250.9	8%
	-02	269.7	0%	267.8	1%	266.4	1%	264.9	2%	264.0	2%
	-03	249.6	1%	248.2	2%	246.9	2%	245.8	3%	244.5	3%
A03	-02	240.2	2%	238.4	3%	237.4	3%	236.0	4%	234.5	4%
A04	-01	239.5	2%	237.8	2%	236.3	3%	234.8	4%	232.9	4%
	-02	265.4	1%	263.7	2%	262.2	3%	260.5	3%	258.1	4%
	-03	231.0	2%	228.9	3%	227.3	4%	225.6	4%	223.5	5%
A05	-01	229.8	2%	228.1	3%	226.5	3%	225.1	4%	223.5	5%
	-02	238.3	2%	236.3	3%	234.7	3%	233.2	4%	231.5	5%
	-03	257.9	2%	256.1	2%	254.4	3%	252.8	4%	251.2	4%
A06	-02	260.0	2%	257.9	3%	255.9	4%	254.2	4%	252.3	5%
	-03	254.0	2%	252.0	3%	250.2	3%	248.6	4%	246.9	5%
A07	-01	255.8	2%	253.7	3%	251.8	4%	250.1	4%	248.4	5%
	-02	247.4	2%	245.5	3%	243.9	3%	242.3	4%	240.8	4%
	-03	247.6	2%	245.7	3%	243.9	3%	242.3	4%	240.8	5%

표 109. 시료의 측정일자별 무게 변화관찰 (18 ~ 30일) (계속)

구분		측정일(Day, g, %)									
		18일		21일		24일		27일		30일	
시료명		무게	감소율	무게	감소율	무게	감소율	무게	감소율	무게	감소율
AC	-01	228.4	3%	227.2	3%	226.2	4%	225.0	4%	223.8	5%
	-02	259.7	3%	258.2	4%	256.9	4%	255.4	5%	254.0	5%
	-03	245.0	4%	243.2	4%	241.9	5%	240.2	5%	238.7	6%
AN	-02	250.8	4%	249.3	5%	248.1	5%	246.6	6%	245.1	6%
	-03	234.8	5%	233.3	6%	232.1	6%	230.7	7%	229.3	7%
AP	-01	241.0	6%	239.4	6%	238.1	7%	236.6	7%	235.0	8%
	-03	242.3	4%	240.8	5%	239.7	6%	238.2	6%	236.7	7%
A01	-01	225.7	6%	223.8	7%	222.3	7%	220.4	8%	218.4	9%
	-02	241.2	5%	239.5	6%	238.2	6%	236.5	7%	234.9	7%
	-03	255.7	4%	254.3	5%	253.2	5%	251.8	5%	250.5	6%
A02	-01	249.4	9%	247.9	10%	246.8	10%	245.2	11%	243.8	11%
	-02	262.5	3%	261	3%	259.8	4%	258.2	4%	256.7	5%
	-03	243.4	4%	242.1	4%	241.1	5%	239.5	5%	237.8	6%
A03	-02	233.1	5%	231.6	5%	230.3	6%	228.9	6%	227.5	7%
A04	-01	230.7	5%	228	6%	224.6	8%	-	-	-	-
	-02	225.9	16%	209.1	22%	-	-	-	-	-	-
	-03	221.1	6%	213.6	9%	-	-	-	-	-	-
A05	-01	221.9	5%	220.0	6%	218.3	7%	215.9	8%	212.8	9%
	-02	229.9	5%	228.0	6%	226.4	7%	224.1	8%	-	-
	-03	249.5	5%	247.5	6%	245.6	6%	242.9	7%	-	-
A06	-02	250.6	6%	248.8	6%	247.4	7%	245.7	7%	244.0	8%
	-03	245.4	5%	243.9	6%	242.8	6%	241.3	7%	239.8	7%
A07	-01	246.9	5%	245.2	6%	243.9	7%	242.3	7%	240.7	8%
	-02	239.4	5%	237.9	6%	236.7	6%	235.3	7%	233.9	7%
	-03	239.3	5%	237.9	6%	236.7	6%	235.2	7%	233.8	7%

⑤ Control(바탕 및 배지) 시료에 대한 가스센서의 반응성

㉞ Control 시료

부패균을 접종하지 않은 Control 시료(AC-01 ~ 03)의 사과 향 변화를 관찰하고자, 가스센서 반응성을 AC-01 ~ 03 시료값의 평균을 통해 아래 그림에 정리하였다. 가스센서를 모델별로 TGS 8XX(TGS 800, 822, 823, 825, 826, 880), TGS 2XXX(TGS 2600, 2602, 2603, 2611, 2620), FIS(SP-53B, SP-31), 전기화학식 & 광이온화식(TVOCs, NH3, Ethylene) 센서로 구분하여 정리하였다.

그 결과 반도체식(TGS 8XXX, TGS 2XXX, FIS 센서 모델)는 저장기간이 길어지면서 점차 가스센서 출력값이 감소하는 경향이 관찰되었다. 이러한 경향은 사과향이 감소함에 따라 센서의 출력값도 동일하게 감소하는 현상으로 분석된다.

반응성이 높은 가스센서 순으로 분석하면 TGS 822와 TGS 2602 가스센서가 상대적으로 사과 향에 높게 반응을 하였고, 전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 특징적인 변화가 관찰되지 않았다.

AC 시료의 30일 동안 사과 관찰 결과를 아래 표에 시료별 및 일자별로 정리하였고, 사진에서 확인할 수 있듯, 사과의 표면 상태에서도 특별한 부패 관찰이 나타나지 않았다.



그림 223. 사과 부패균을 접종하지 않은 AC(Control) 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 110. AC(Control) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
AC-01										
AC-02										
AC-03										

⊕ Normal PDA 시료

부패균을 배양하기 위한 Normal PDA 배지만을 접종한 사과시료의 향 및 부패변화에 따른 가스센서 출력값을 센서 모델별로 정리하여 아래의 그림에 나타내었다. 앞의 AC 시료와는 다르게 관찰 초기(0 ~ 3일)에는 사과 향에 의해 가스센서 값이 높았고, 이후 점차 향이 감소함에 따라 가스센서 출력값이 감소하는 경향을 12일 ~ 15일까지 관찰되었다.

관찰 18일 이후 다시 가스센서 값이 증가하고 있는 경향이며, 이러한 증상은 TGS 8XX, TGS 2XXX 가스센서에서 확인할 수 있었다. FIS 센서군은 처음에는 낮게 반응하다가 점차 저장기간이 길어지면서 센서 출력값이 증가하는 경향으로 0일차에는 약 1.0 DCV 수준에서 30일차에는 최대 3.0 DCV 값으로 증가하였다.

반응성이 상대적으로 높은 가스센서 순으로 살펴보면, TGS 822와 TGS 2602 가스센서 그리고 FIS 가스센서 그룹에서는 SP-53B로 확인되고, 전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 특징적인 변화가 없다가 30일차에 TVOCs와 Ethylene 값이 소폭 증가하는 경향이 나타났다.

AN 시료의 30일 동안 사과 관찰 결과를 아래 표에 시료별 및 일자별로 정리하였고, AN-01 시료의 경우는 사과 표면상으로 약 9일차까지는 부패가 관찰되지 않았다. 이후 접종부위에서 부패가 시작되는 것이 아니라 꼭지부위부터 부패가 시작하면서 전체적으로 부패도가 증가하는 현상이 확인되었다.

AN-01 시료는 균 접종에 의한 부패보다는 다른 오염균에 의해 부패가 발생한 것으로 유추되며, AN-02 및 AN-03 시료에서는 부패도가 관찰되지 않았다.



그림 224. Normal PDA 배지만을 접종한 AN 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 111. AN(Normal PDA) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
AN-01										-
AN-02										
AN-03										

㊦ A. alternata KCTC 26781 시료

부패균을 배양하기 위한 A. alternata KCTC 26781 배지만을 접종한 사과시료의 향 및 부패 변화를 관찰한 결과, 대략적으로 가스센서 출력값은 저장기간이 늘어나면서 소폭 증가하는 경향을 보이거나, 정체하는 수준의 값을 보였다.

AN 실험결과와 유사하게 반응성이 높은 가스센서는 TGS 822와 TGS 2602 그리고 FIS 가스센서의 SP-53B로 확인되었다. 반대로 감도가 1.0 DCV 이내 및 이하 수준으로 나타나는 가스센서는 TGS 800, TGS 2611 그리고 전기화학식 및 광이온화식 가스센서로 나타났다.

전기화학식 가스센서인 Ethylene의 경우는 9일차에 소폭 증가하다가 21일차 다시 출력값이 증가하는 경향이 나타났고, 광이온화식 가스센서는 24일차부터 증가하는 경향이 나타났다.

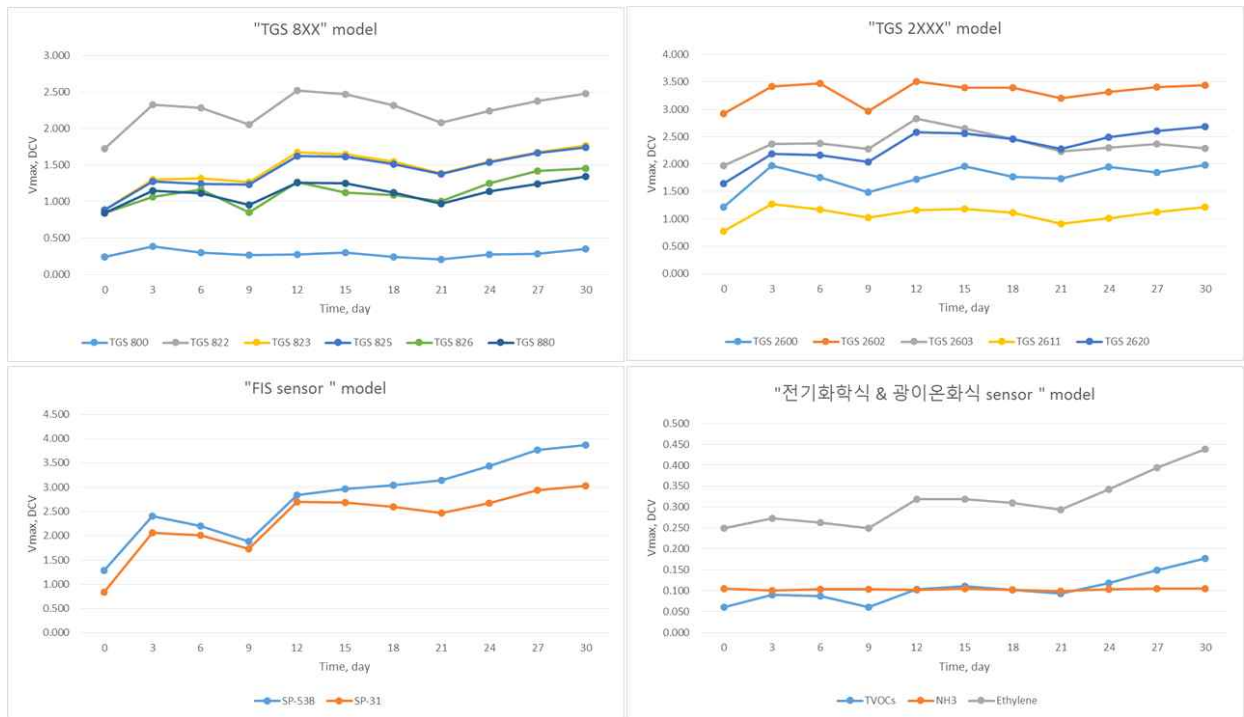






























그림 225. A. alternata KCTC 26781 배지만을 접종한 AP 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

AP 사과 시료에 대한 부패도 변화를 아래 표에 일자별로 구분하여 정리하였고, A. alternata KCTC 26781 배지만을 접종한 AP 시료의 부패 변화는 접종 부위에서부터 점차 검은 색의 반점이 커지면서 부패되는 현상이 관찰되었다. AP-02 시료의 경우는 균에 의한 부패가 아닌 사과 전체의 부패가 발생하여 오염된 시료로 판단된다.

AP 사과 시료의 경우 9일차 이후 부패도가 점차 증가하는 현상으로 저장기간이 길어지면서 부패도 변화도 유사하게 증가하는 경향을 보였다.

표 112. AP(*A. alternata* KCTC 26781) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
AP-01										
AP-02									-	-
AP-03										

㉔ 부패원인균별 가스센서의 반응성 및 부패증상

㉕ A01(*Alternaria tenuissima*)균 접종 시료

Alternaria tenuissima(점무늬병 원인균, 2차동정결과 *Alternaria alternata* 로 재동정) 균을 인공 접종한 A01 사과시료의 부패도 변화는 TGS 센서군에서는 특별한 변화가 나타나지 않았고, FIS 가스센서 군에서 저장기간이 길어지면서 센서의 출력값이 증가하는 경향이 나타났다.

아래의 가스센서 반응정도와 부패 변화 관찰 자료를 견주의 분석하면, 관찰 6일 이전에는 부패가 관찰되지 않았으나, 가스센서 값은 상대적으로 높게 나타나고 있다. 이는 초기에는 부패냄새가 순수한 아닌 사과 향에 의해 반응한 것으로 판단되며, 이러한 현상은 TGS 8XXX, TGS 2XXX, FIS 센서 그룹에서 0 ~ 6일차에서 공통적으로 나타나고 있다.

FIS 가스센서인 SP-53B 및 SP-31은 최초 1.0 DCV 수준에서 사과 향에 의해 3일차에 소폭 증가하다가 9일차부터 점차 증가하다가 30일차에는 최대 3.0 DCV 수준의 높은 출력값을 보이고 있다.

반응성이 높은 가스센서 순으로 살펴보면, TGS 822와 TGS 2602 가스센서 그리고 FIS 센서 그룹에서는 SP-53B로 확인되고, 전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 특징적인 감도 변화가 관찰되지 않았다.

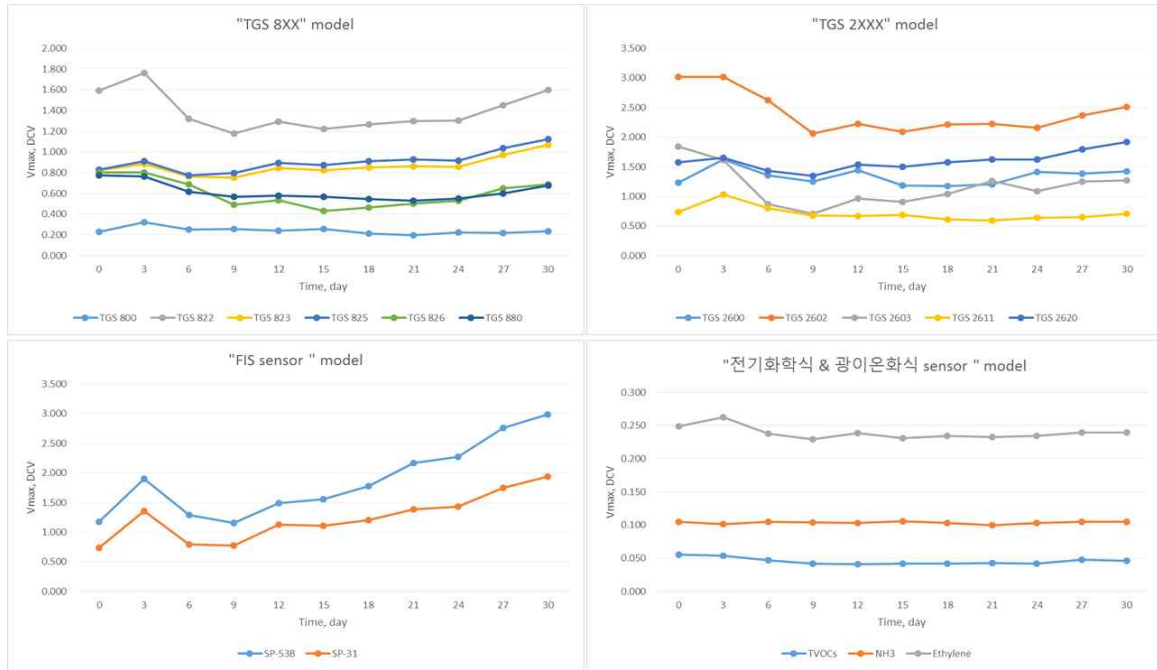


그림 226. *Alternaria tenuissima* 균을 접종한 A01 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 113. A01(*Alternaria tenuissima*) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A01-01						-				
A01-02										
A01-03	-									

⊕ A02(*Alternaria alternata*)균 접종 시료

Alternaria alternata(검은무늬병 원인균 일종) 균을 인공 접종한 A02 사과시료의 부패변화에 따른 가스센서 출력값을 살펴보면, 초기에는 사과 향에 의해 다소 높은 출력값을 보이다가 점차 낮아지는 경향성을 보였다. 이후 약 21일차부터는 가스센서의 출력값이 증가하는 경향이 나타나고 있다.

반응성이 높은 가스센서는 TGS 822와 TGS 2602 센서 그리고 FIS 가스센서 그룹에서는

SP-53B로 확인되고, 반대로 반응성이 낮은 가스센서는 TGS 800, TGS 2611 반도체식 센서와 전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 특징적인 변화가 관찰되지 않았다.

특히, FIS 센서(SP-53B, SP-31)군은 사과시료의 부패도가 증가하면서 가스센서의 출력값 또한 증가하는 경향성이 나타나고 있으며, 이러한 현상은 부패도가 확연하게 나타난 12일차부터 확인할 수 있다.

Alternaria alternata 균을 접종한 A02 부패도 변화를 아래 사진에서 관찰하면, 6일차 이전까지는 뚜렷한 부패도가 관찰되지 않았으며, 9일차 이후부터 부패도가 증가하면서 12일차에는 검정색의 부패 증상이 확연하게 나타나고 있다.



그림 227. *Alternaria alternata* 균을 접종한 A02 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표114. A02(*Alternaria alternata*) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A02-01										
A02-02										
A02-03							-			

Ⓢ A03(*Aureobasidium pullulans*)균 접종 시료

Aureobasidium pullulans 균을 인공 접종한 A03 사과시료에 의한 가스센서 출력값 변화는 저장기간이 길어지면서 점차 가스센서 출력값이 감소하는 경향이 관찰되었다. 이러한 경향은 사과 향이 감소함에 따라 가스센서의 출력값도 동일하게 감소하는 현상으로 분석되어지고, 반응성이 높은 가스센서 순으로 분석하면 TGS 822, TGS 2602, SP-53B 가스센서가 상대적으로 사과 향에 높게 반응을 하였다.

초기 0 ~ 3일차에 소폭 증가하는 경향을 제외하고는 전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 특징적인 변화가 관찰되지 않았다.

반도체식 가스센서 중 FIS 센서는 사과 부패도 변화에 따른 출력값이 뚜렷하게 변화하는 센서군으로 0 ~ 6일차에는 사과 향에 의한 가스센서 반응과 이후 부패도가 증가하면서 가스센서값이 증가하는 경향이 확인된다.

아래 표는 A03 시료의 부패도 변화를 관찰한 것으로 다른 군보다 부패의 정도가 상대적으로 낮은 사항이며, 다른 군은 대체적으로 6일차에 부패도가 보인 반면, A03 시료는 15일 이후부터 부패도가 관찰되는 사항이다.



그림 228. *Aureobasidium pullulans* 균을 접종한 A03 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 115. A03(*Aureobasidium pullulans*) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A03-01										
A03-02										
A03-03										

㉞ A04(*Botryosphaeria dothidea*)균 접종 시료

A04 시료는 *Botryosphaeria dothidea*(썩음병 원인균) 균을 인공 접종한 사과 시료로, 다른 시료와는 다르게 9일차에 가스센서 값이 증가하는 경향이 나타났다. 대부분의 센서가 A04 시료에 높게 반응하는 사항으로 9일차 이전에는 1.0 DCV 이내의 값을 보이다가, 9일차 이후부터는 급격하게 증가하여 3.0 DCV 이상의 반응성이 나타났다.

반응성이 높은 가스센서 순으로 살펴보면, TGS 822와 TGS 2602 센서 그리고 FIS 센서이며, 반대로 반응성이 낮은 센서는 TGS 800 및 TGS 2611 센서로 나타났다.

전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 9일차 이전까지 정체 상태의 반응성을 보이다가 9일차 이후부터 반도체식 가스센서의 경향과 동일하게 가스센서의 반응성이 높아지는 현상이 나타났다. NH₃(암모니아) 전기화학식 가스센서의 경우는 반응성이 없는 것으로 사과향 또는 부패냄새에 반응하지 않는 것으로 확인된다.

A04 시료의 부패도 변화를 아래 그림에서 확인하면 앞서 가스센서 출력값 변화에서 확인한 것처럼 9일차에 부패도가 증가하였고, 약 15일차에 물렁거리는 부패도가 전체적으로 발전하는 현상이 확인되었다.

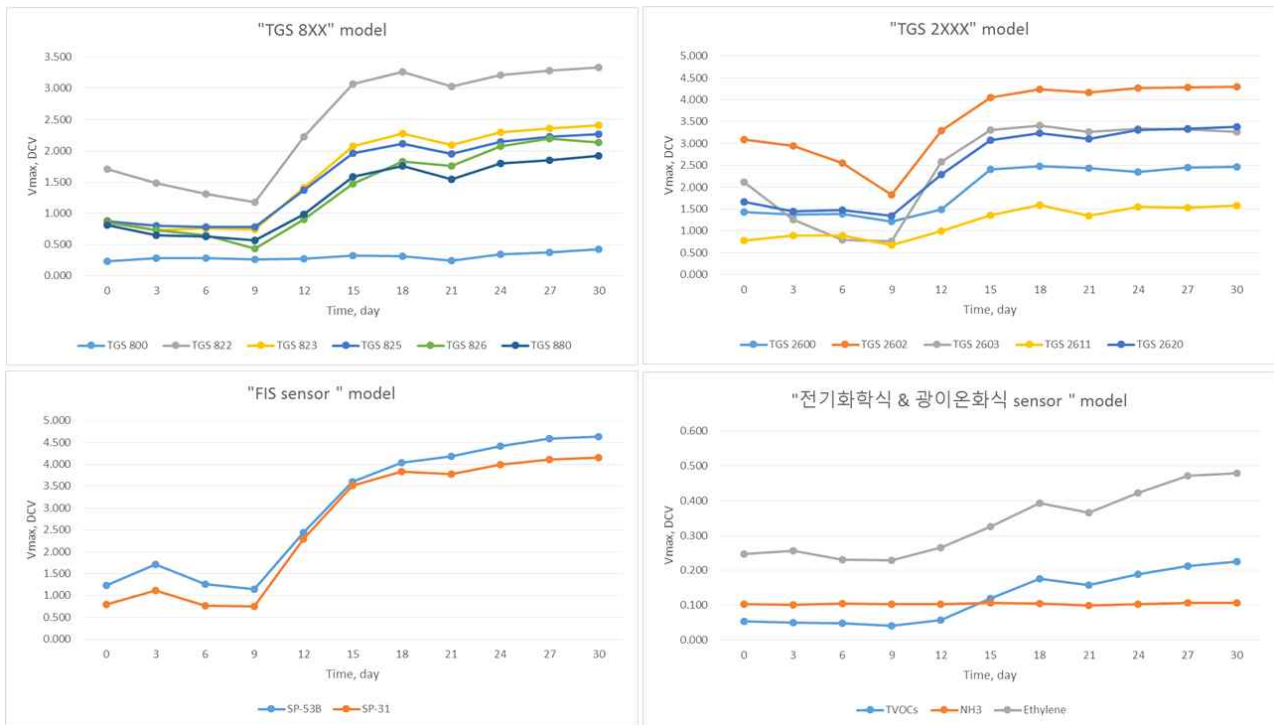


그림 229. *Botryosphaeria dothidea* 균을 접종한 A04 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 116. A04(*Botryosphaeria dothidea*) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A04-01									-	-
A04-02								-	-	-
A04-03								-	-	-

㉞ A05(*Penicillium expansum*)균 접종 시료

A05 시료는 *Penicillium expansum*(사과푸른 곰팡이 원인균) 균을 인공 접종한 사과 시료로, 전반적으로 사과 부패냄새에 의해 가스센서 출력값은 증가하는 경향이다. 반응성이 상대적으로 낮은 TGS 800 가스센서를 제외하고 부패도가 증가할수록 센서 출력값은 전

체적으로 9일차부터 증가하는 경향이 나타났다.

아래 표에 부패도 관찰에서도 6일차 이후부터 부패도가 증가하는 증상이 보이고, 15일에는 50%의 부패도를 보이고 21일차에는 90% 이상의 물렁거리는 부패 형태가 관찰되었다.

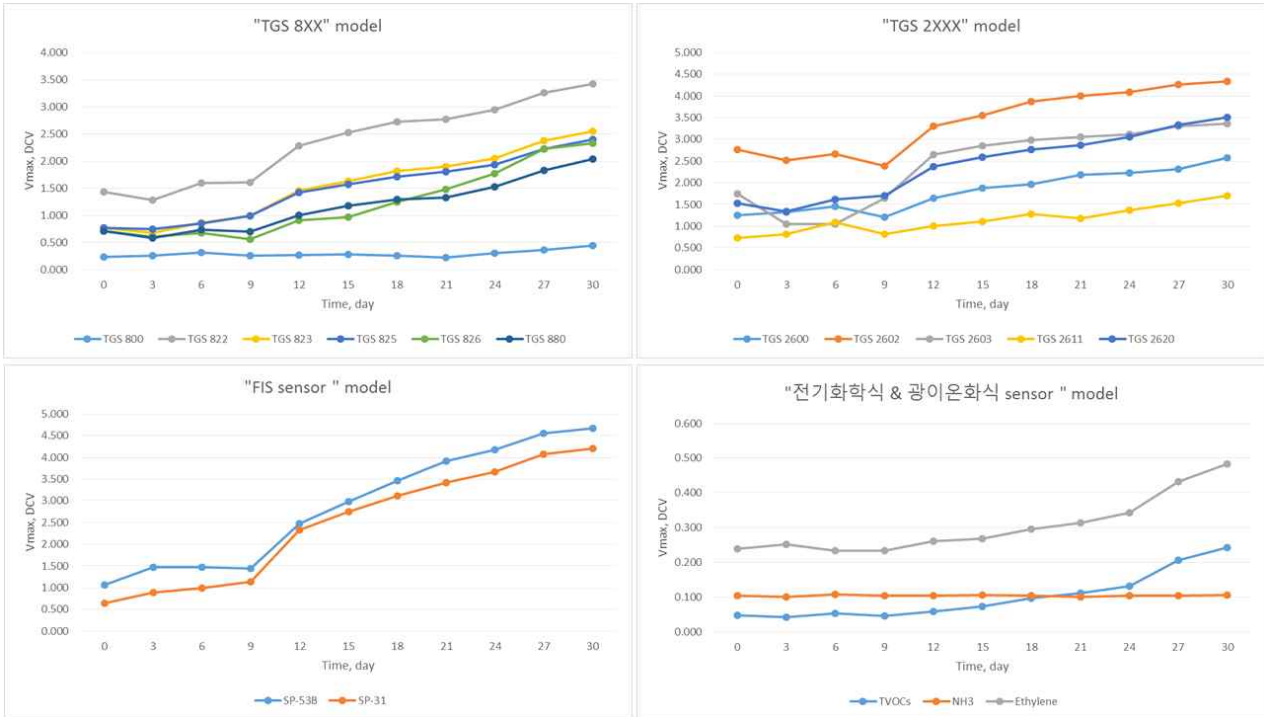


그림 230. *Penicillium expansum* 균을 접종한 A05 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 117. A05(*Penicillium expansum*) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A05-01										
A05-02										-
A05-03										-

㉞ A06(*Starmerella bacillaris*)균 접종 시료

A06 시료는 *Starmerella bacillaris* 균을 인공 접종한 사과 시료이며, 부패도 변화에 따른 가스센서 출력값 변화를 아래 그림에 나타내었다. A06 사과 시료 향은 점차 감소하는 경향으로, 초기에는 사과 향에 의해 다소 높은 출력값을 보이다가 점차 감소하여 9일차부터는 반응성이 멈춘 상태로 평형상태의 출력값을 보이고 있다. 그러나, FIS 센서는 TGS 센서군과는 다르게 저장기간이 길어지면서 반응성이 속폭 증가하는 경향으로, 9일차에 이러한 증상이 나타나고 있다. 사과 시료의 부패도를 관찰하면 A06-01 사과 시료를 제외하고 특별한 부패도가 보이질 않았다.



그림231. *Starmerella bacillaris* 균을 접종한 A06 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 118. A06 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A06-01										
A06-02										
A06-03										

㊸ A07(*Hanseniaspora uvarum*)균 접종 시료

Hanseniaspora uvarum 균을 인공 접종한 A07 사과 시료의 사과 향 및 부패냄새에 의한 가스센서 변화는 사과 향이 점차 감소함에 따라, 초기에는 사과 향에 의해 다소 높은 출력값을 보이다가 지속적으로 감소하는 경향을 보이고 있다.

반응성이 높은 가스센서 순으로 살펴보면, TGS 822와 TGS 2602 센서 그리고 FIS 센서에서는 SP-53B로 확인되고, 전기화학식 및 광이온화식 가스센서는 특징적인 변화가 관찰되지 않았다. 사과 시료의 부패도를 관찰하면 A07 사과 시료는 부패도가 발생하지 않음을 알 수 있고, 이러한 현상으로 가스센서의 출력값 또한 특별한 반응성이 없는 것으로 사료된다.

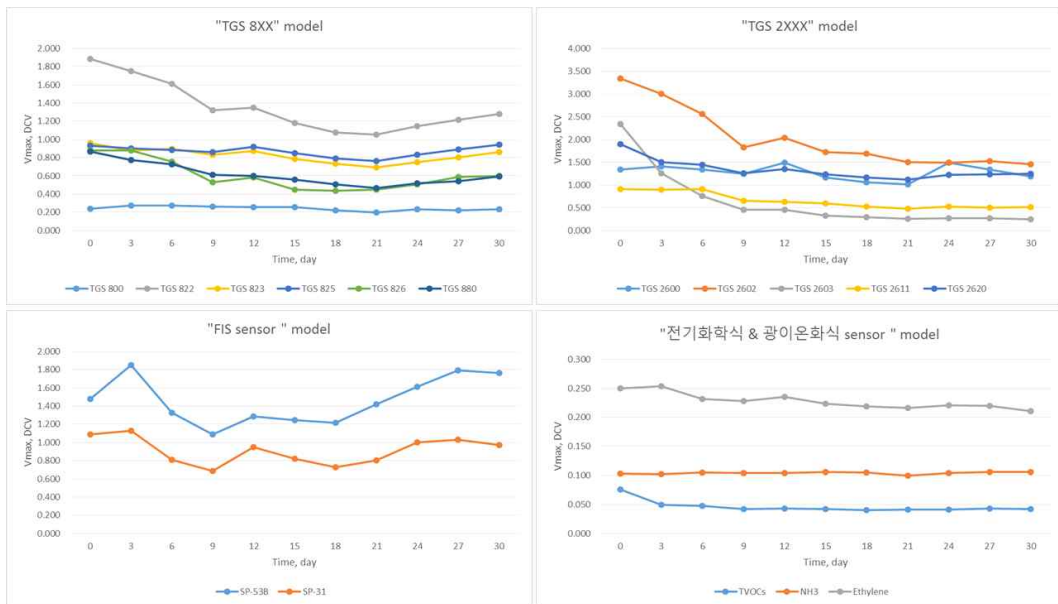


그림 232. *Hanseniaspora uvarum* 균을 접종한 A07 시료의 가스센서 Vmax 출력값 변화

표 119. A07(*Hanseniaspora uvarum*) 시료의 부패 변화 관찰

구분	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
A07-01										
A07-02										
A07-03										

⑦ 부사사과 부패냄새의 최적 가스센서 평가

㉓ 부패속도를 이용한 사과 시료의 특징 분류

인공부패균 접종 사과 시료별 부패지수와 가스센서 간의 상관관계를 분석하기 위해 정상적으로 부패한 시료를 선별하고자 하였다. 그 결과 부사사과의 인공부패 접종 실험은 통상적으로 부패 속도와 관계가 있음을 유추할 수 있었다.

부사사과는 약 4종류의 부패군(부패속도 : 상, 중, 하, 무)으로 분류되어지는 사항이다. 즉, 전혀 부패가 발생하지 않은 AC 시료군과 낮은 부패속도를 보이는 AN, AP, A01, A02, A03, A06, A07 시료, 그리고 중간 정도의 부패속도를 보이는 A05 시료이며, 마지막으로 부패속도가 가장 빠른 A04 시료로 구분할 수 있었다.

아래 그림은 부패속도별 AC(부패속도 무), A02(부패속도 하), A05(부패속도 중), A04(부패속도 상) 대표시료를 선정하여 부패변화에 따른 가스센서 변화를 분석한 결과이다.



그림 233. 인공부패(접종) 사과 시료별 부패속도에 따른 그룹 구분

㉔ AC(부패 없음) 시료의 부패지수 및 가스센서 반응성 분석

AC 시료는 사과 부패균을 접종하지 않은 사과 시료로 총 30일 관찰기간에 외형적인 부패가 관찰되지 않았다. 30일 동안의 가스센서 어레이의 반응변화를 관찰한 결과에서도 가스센서의 변화값은 점차 감소하는 경향으로 이는 사과의 보관기간이 늘어남에 따라 사과 향이 점차 감소함에 따라 나타난 결과로 보인다.

14종의 가스센서 중 가장 높게 반응하는 가스센서는 TGS 2602 센서로 6일차 이전에는 약 2 ~ 3 DC Voltage의 감도를 보이다가 9일차 이후 점차 감소하여 1.5 DC Voltage의 감도가 관찰되었다.

이때의 부패지수를 관찰한 결과 AC 사과 시료는 부패가 발생하지 않은 시료임으로 부

패지수도 전체 기간에 걸쳐 0%를 보여, 그 실험 결과간의 상관관계 분석은 불가능 하였다.

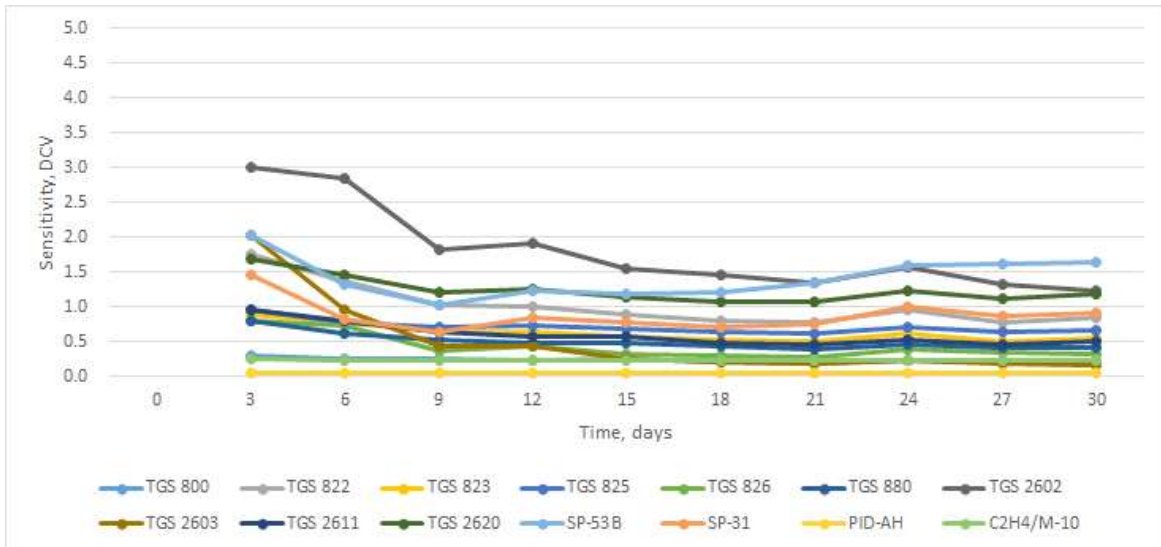


그림 234. AC 사과 시료의 가스센서별 감도 변화 관찰

㊤ A02(부패속도 하) 시료의 부패지수 및 가스센서 반응성 분석

부패속도가 낮은 A02 사과시료를 대상으로 부패지수와 가스센서의 반응성을 평가한 결과를 아래 표에 정리하여 두 인자간의 상관관계를 분석하였다. 부패지수는 관찰 6일 이전까지는 0%의 부패지수가 관찰되었고, 이후 점차 부패지속다 증가하면서 24일차에는 22%, 27일차에는 94%로 급격하게 부패하면서 마지막 30일차에는 100%의 부패지수가 관찰되었다.

이때의 부패지수와 가스센서의 반응성간의 상관관계를 분석한 결과, 가장 높은 상관관계를 보이는 센서는 SP-53B와 SP-31로 $r = 0.94$ 의 관계성을 보였고 이어서 TGS 825 가스센서가 $r = 0.86$ 의 양호한 상관관계를 보였다.

다음으로 $r = 0.8$ 이하의 상관관계를 보이는 가스센서는 TGS 823이 0.77, TGS 2620 0.74의 양호한 상관관계를 보이고 있고, 광이온화가스센서(PID-AH) 및 에틸렌 전기화학식(C2H4/M-10) 가스센서의 경우는 각각 0.49 및 0.28로 전기화학식 센서보다는 광이온화식 센서가 높은 상관관계가 나타나고 있다.

표 120. 부패속도 하(A02) 시료의 부패지수와 가스센서간의 상관관계 분석

구분	Time, day												r (상관관계)
	0일	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일		
부패지수(%)	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	3.0	6.0	13.0	22.0	94.0	100.0	1.00	
TGS 800	0.24	0.31	0.29	0.26	0.25	0.25	0.22	0.20	0.22	0.22	0.24	-0.32	
TGS 822	1.72	1.51	1.40	1.13	1.22	1.06	0.98	0.95	1.10	1.35	1.57	0.28	
TGS 823	0.87	0.75	0.77	0.72	0.80	0.72	0.68	0.64	0.73	0.91	1.06	0.77	
TGS 825	0.86	0.83	0.79	0.77	0.86	0.79	0.75	0.72	0.81	0.98	1.10	0.86	
TGS 826	0.89	0.78	0.70	0.47	0.50	0.39	0.37	0.38	0.45	0.62	0.72	0.18	
TGS 880	0.81	0.67	0.66	0.56	0.55	0.52	0.47	0.44	0.49	0.60	0.72	0.20	
TGS 2602	3.20	3.03	2.75	2.03	2.12	1.92	1.84	1.71	1.83	2.23	2.44	-0.06	
TGS 2603	1.97	1.28	0.67	0.60	0.77	0.58	0.50	0.49	0.68	1.01	1.19	0.17	
TGS 2611	0.78	0.93	0.99	0.67	0.65	0.62	0.55	0.51	0.57	0.64	0.75	-0.12	
TGS 2620	1.65	1.47	1.47	1.31	1.46	1.36	1.31	1.28	1.44	1.66	1.85	0.74	
SP-53B	1.26	1.82	1.31	1.13	1.41	1.38	1.41	1.62	1.92	2.53	2.84	0.94	
SP-31	0.82	1.14	0.73	0.74	1.05	0.95	0.89	0.96	1.19	1.65	1.95	0.94	
PID-AH	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.06	0.49	
C2H4/M-10	0.25	0.26	0.23	0.23	0.24	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.25	0.28	

㉔ A05(부패속도 중) 시료의 부패지수 및 가스센서 반응성 분석

다음으로 부패속도가 중간인 A05 사과시료를 평균 센서값과 평균 부패지수를 이용하여 상관관계를 평가하였고, 그 결과를 표 23에 정리하였다. 부패속도가 중간인 A05 시료의 경우 부패속도가 낮은 A02 시료보다 전체적으로 상관관계가 높게 나타났으며, 높은 상관관계를 보이는 가스센서는 광이온화식(PID-AH) 센서와 에틸렌 전기화학식(C2H4/M-10) 가

스센서로 모두 $r = 0.99$ 의 매우 높은 상관관계가 확인되었다. 이는 부패지수가 증가할수록 두 센서의 반응성이 상대적으로 증가한다는 결과로 두 가스센서의 좀더 명확한 실험과 평가 필요하다 판단된다.

대부분의 반도체식 가스센서는 $r = 0.7$ 이상의 상관관계 나타났고, TGS 826과 TGS 880 센서가 각각 $r = 0.94$, $r = 0.92$ 의 높은 상관관계를 보였다. 상대적으로 낮은 상관관계를 보이는 반도체식 가스센서는 TGS 2602 센서와 TGS 2603 센서로 $r = 0.7 \sim 0.78$ 수준의 관계성을 보였다.

표 121. 부패속도 중간(A05) 시료의 부패지수와 가스센서간의 상관관계 분석

구분	Time, day											r (상관관계)
	0일	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일	
부패지수(%)	0.0	0.0	1.0	4.0	8.0	13.0	18.0	25.0	28.0	31.0	35.0	1.00
TGS 800	0.24	0.26	0.32	0.26	0.27	0.28	0.26	0.23	0.30	0.36	0.45	0.84
TGS 822	0.75	0.70	0.74	1.32	1.32	2.21	2.09	1.83	2.31	2.04	2.14	0.83
TGS 823	1.44	1.28	1.59	1.61	2.28	2.52	2.72	2.77	2.94	3.26	3.42	0.86
TGS 825	0.77	0.68	0.86	0.99	1.46	1.63	1.82	1.90	2.05	2.37	2.55	0.87
TGS 826	0.77	0.75	0.85	0.99	1.42	1.57	1.71	1.80	1.93	2.23	2.39	0.94
TGS 880	0.71	0.61	0.68	0.56	0.90	0.96	1.25	1.47	1.77	2.23	2.33	0.92
TGS 2602	0.71	0.58	0.74	0.70	1.00	1.17	1.30	1.32	1.53	1.83	2.04	0.78
TGS 2603	1.25	1.32	1.46	1.21	1.64	1.88	1.96	2.19	2.22	2.31	2.58	0.70
TGS 2611	2.76	2.51	2.67	2.38	3.30	3.55	3.87	4.00	4.09	4.27	4.33	0.89
TGS 2620	1.75	1.04	1.04	1.65	2.64	2.86	2.98	3.06	3.11	3.30	3.36	0.83
SP-53B	0.73	0.82	1.09	0.81	1.01	1.10	1.28	1.18	1.37	1.53	1.70	0.82
SP-31	1.54	1.34	1.62	1.70	2.38	2.59	2.77	2.87	3.05	3.33	3.50	0.81
PID-AH	1.07	1.47	1.48	1.44	2.47	2.98	3.46	3.91	4.18	4.56	4.66	0.99
C2H4/M-10	0.64	0.89	0.99	1.14	2.33	2.74	3.11	3.42	3.66	4.08	4.20	0.99

㉔ A04(부패속도 상) 시료의 부패지수 및 가스센서 반응성 분석

A04 시료는 부패속도가 가장 빠른 부패사과 시료로 A02와 A05 시료는 27일차부터 80% 이상의 부패지수가 관찰된 반면, A04 시료는 15일차부터 71%의 빠른 부패지수를 보이는 사항이다. 이러한 부패지수와 가스센서 변화값 간의 상관관계를 아래 표에 정리하였고, 대체적으로 상관관계는 TGS 800 가스센서를 제외하고는 $r = 0.9$ 이상의 높은 상관관계를 보이는 것이 특징이다.

표 122. 부패속도 높은(A04) 시료의 부패지수와 가스센서간의 상관관계 분석

구분	Time, day											r (상관관계)
	0일	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일	
부패지수(%)	0.0	0.0	1.0	3.0	7.0	71.0	93.0	97.0	99.0	100.0	100.0	1.00
TGS 800	0.23	0.28	0.28	0.26	0.27	0.32	0.31	0.24	0.35	0.38	0.43	0.67
TGS 822	0.84	0.73	0.46	1.29	1.27	2.21	2.08	1.84	2.31	2.04	2.14	0.95
TGS 823	1.70	1.48	1.31	1.18	2.23	3.07	3.26	3.02	3.22	3.28	3.33	0.97
TGS 825	0.88	0.73	0.76	0.74	1.41	2.08	2.28	2.09	2.30	2.36	2.40	0.97
TGS 826	0.87	0.80	0.78	0.78	1.37	1.96	2.11	1.95	2.15	2.22	2.27	0.97
TGS 880	0.85	0.73	0.65	0.44	0.90	1.47	1.83	1.75	2.07	2.19	2.13	0.97
TGS 2602	0.81	0.64	0.63	0.57	0.98	1.59	1.76	1.54	1.80	1.85	1.92	0.90
TGS 2603	1.44	1.38	1.38	1.21	1.49	2.41	2.48	2.44	2.35	2.45	2.47	0.87
TGS 2611	3.09	2.94	2.55	1.82	3.30	4.04	4.23	4.16	4.27	4.29	4.29	0.96
TGS 2620	2.11	1.26	0.80	0.77	2.58	3.31	3.41	3.26	3.34	3.33	3.26	0.96
SP-53B	0.78	0.90	0.90	0.67	0.99	1.36	1.59	1.35	1.55	1.54	1.58	0.98
SP-31	1.67	1.45	1.47	1.34	2.28	3.07	3.24	3.11	3.30	3.34	3.38	0.97
PID-AH	1.23	1.72	1.26	1.14	2.44	3.60	4.03	4.18	4.41	4.59	4.63	0.97
C2H4/M-10	0.80	1.11	0.76	0.75	2.29	3.52	3.84	3.78	3.99	4.12	4.15	0.94

㉔ 부사사과 부패냄새 측정을 위한 최적센서 선정

인공부패를 위해 부패원인 균을 인공으로 접종한 부사사과 실험 결과, 14종의 가스센서는 각기 다른 감도를 보이고 있어, 부패가 발생하지 않은 바탕 실험용 사과시료의 출력값이 기준값(= 1.00)이 되도록 각각의 부패 균주가 접종한 사과시료의 출력값을 나누어 데이터를 표준화 하였다. Control 시료를 제외한 총 20개의 사과시료는 각각의 부패균에 따라 각기 다른 부패속도를 보였으며, 14종의 가스센서 중 TGS 2603, SP-53B, ECS-C₂H₄, PID-TVOCs가 양호한 상관관계를 보였다.

아래 표는 상관관계가 양호한 4종류의 가스센서 결과를 정리한 결과이다. 반도체식 가스센서인 TGS 2603 과 SP-53B 가스센서는 각각의 사과부패균별로 각기 다른 반응특성을 보이고 있으며, 부패율이 증가할수록 센서의 감도도 증가하는 특징이 관찰되었다.

특히, TGS 2603 센서에 의해 부패율이 약 10%에 해당하는 기간(3 ~ 18일) 동안에서의 상관관계를 평가한 결과 *Alternaria tenuissima*($r = 0.97$), *Alternaria alternata*($r = 0.92$), *Aureobasidium pullulans*($r = 0.58$), *Botryosphaeria dothidea*($r = 0.97$), *Penicillium expansum*($r = 0.99$), *Starmerella bacillaris*($r = 0.70$), *Hanseniaspora uvarum*($r = -0.06$, 부패하지 않음)로 가스센서 및 부패율간의 양호한 상관관계를 확인하였다.

반대로 전기화학식 ECS-C₂H₄와 광이온검출식의 PID-TVOCs 센서는 부패속도가 빠르고 100% 부패가 발생한 *Botryosphaeria dothidea* 및 *Penicillium expansum* 균이 접종된 시료에만 높은 반응성과 상관관계가 확인되었다. 이는 이들 가스센서만의 특징으로 반도체식 가스센서에 비해 감도가 낮고, 선택적 반응성이 아주 강한 가스센서의 특징으로 보여진다.

표 123. 데이터 표준화에 의한 TGS 2603 반도체식 가스센서와 부패원인균 부패율과의 관계

부패원인 균	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
<i>A. tenuissima</i>	0.96	0.74	1.62	2.45	4.45	6.67	6.99	6.11	8.02	10.17
<i>A. alternata</i>	0.89	0.99	1.33	1.90	2.07	2.48	2.52	2.41	2.86	3.25
<i>A. pullulans</i>	0.92	1.41	1.24	1.55	2.14	1.66	1.55	1.77	3.01	4.29
<i>B. dothidea</i>	0.90	1.13	3.00	6.38	13.31	16.34	16.59	14.1	17.76	19.70
<i>P. expansum</i>	0.66	0.86	3.05	5.81	11.67	14.69	16.17	13.56	17.66	20.58
<i>S. bacillaris</i>	1.22	1.23	2.22	2.42	3.3.0	2.95	3.38	2.73	3.84	4.18
<i>H. uvarum</i>	0.93	0.68	0.94	0.95	1.35	1.44	1.37	1.19	1.51	1.68

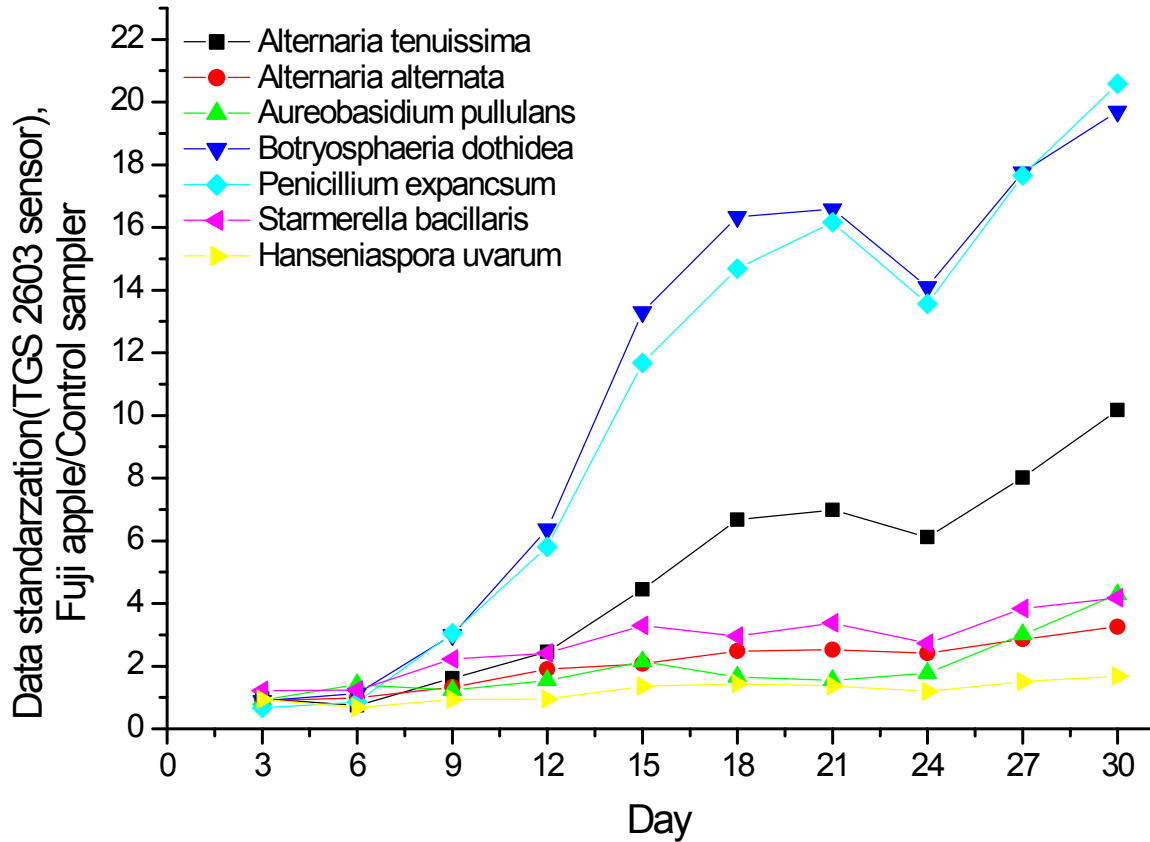


그림235. TGS 2603 빈도체식 가스센서에 의한 부패원인균과 부패율과의 관계

표 124. 데이터 표준화에 의한 SP-53B 반도체식 가스센서와 부패원인균 부패율과의 관계

부패원인 균	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
<i>A. tenuissima</i>	0.73	1.04	1.10	1.25	1.38	1.61	1.68	1.55	1.84	2.02
<i>A. alternata</i>	0.66	0.87	1.08	1.16	1.11	1.14	1.19	1.15	1.28	1.32
<i>A. pullulans</i>	0.94	1.30	1.02	1.11	1.09	1.04	1.07	1.07	1.32	1.46
<i>B. dothidea</i>	0.96	0.94	1.23	2.13	3.00	3.31	3.11	2.80	2.86	2.79
<i>P. expansum</i>	0.58	1.08	1.29	1.94	2.53	2.91	2.99	2.70	2.83	2.83
<i>S. bacillaris</i>	0.70	1.27	1.22	1.24	1.33	1.43	1.54	1.53	1.82	2.03
<i>H. uvarum</i>	0.96	0.96	1.04	1.05	1.04	0.99	1.06	1.00	1.10	1.09

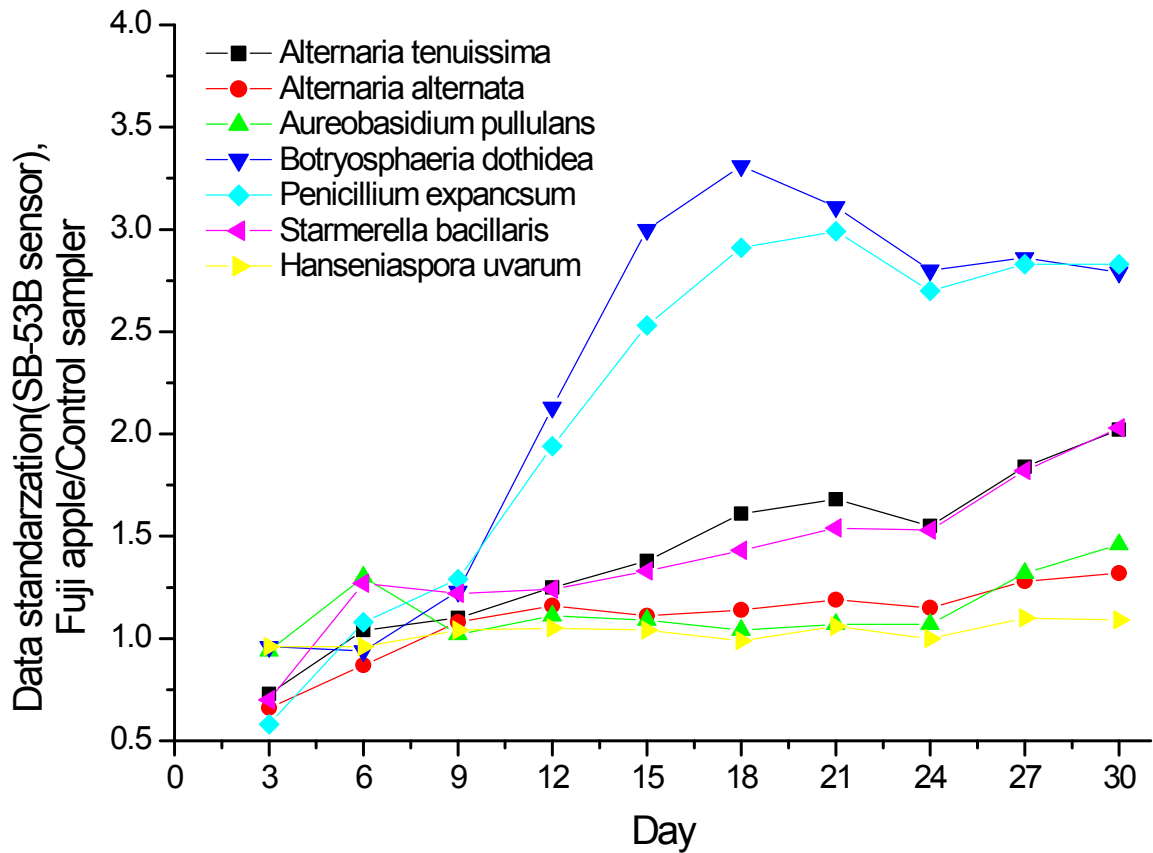


그림 236. SP-53B 반도체식 가스센서에 의한 부패원인균과 부패율과의 관계

표 125. 데이터 표준화에 의한 C2H4 전기화학식 가스센서와 부패원인균 부패율과의 관계

부패원인 균	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
<i>A. tenuissima</i>	0.99	0.99	1.01	1.02	1.03	1.04	1.04	1.07	1.06	1.1
<i>A. alternata</i>	0.97	0.99	1.01	0.99	0.98	0.97	1.00	1.02	0.97	0.96
<i>A. pullulans</i>	1.05	1.10	1.01	0.99	0.99	0.98	0.99	1.03	1.00	1.01
<i>B. dothidea</i>	1.02	1.01	1.01	1.15	1.41	1.69	1.62	1.91	2.24	1.81
<i>P. expansum</i>	0.92	0.99	1.03	1.09	1.20	1.38	1.49	1.67	2.04	1.96
<i>S. bacillaris</i>	1.02	0.98	1.01	1.01	0.99	0.95	0.96	0.98	0.94	0.92
<i>H. uvarum</i>	1.02	0.96	1.01	0.99	0.98	0.94	0.95	0.97	0.92	0.89

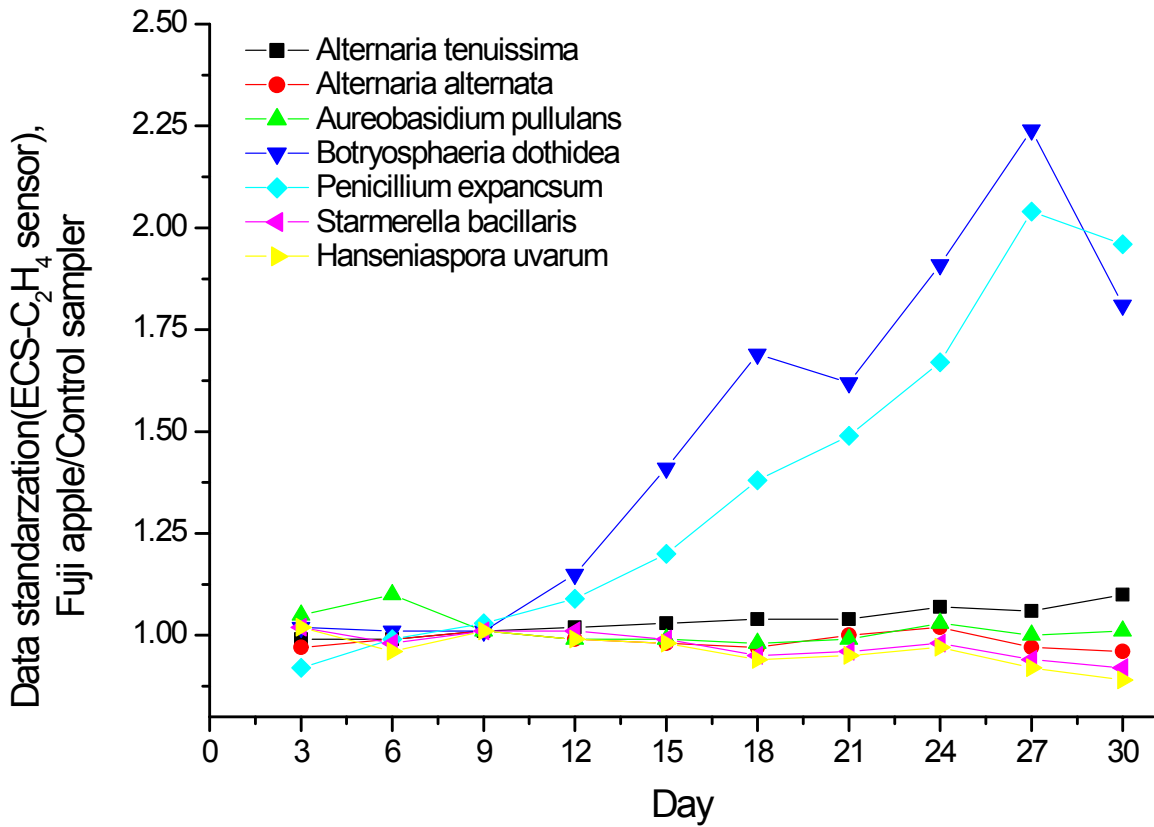


그림 237. C₂H₄ 전기화학식 가스센서에 의한 부패원인균과 부패율과의 관계

표 126. 데이터 표준화에 의한 TVOCs 광이온화검출식 가스센서와 부패원인균 부패율과의 관계

부패원인 균	Time, day									
	3일	6일	9일	12일	15일	18일	21일	24일	27일	30일
<i>A. tenuissima</i>	1.05	1.06	0.98	0.96	1.02	1.02	1.06	1.07	1.18	1.09
<i>A. alternata</i>	0.97	0.98	1.01	1.01	0.98	1.00	1.02	1.02	1.06	0.99
<i>A. pullulans</i>	0.82	0.93	0.98	0.98	0.98	1.00	1.02	1.00	0.97	1.02
<i>B. dothidea</i>	0.91	0.89	0.98	1.52	2.95	4.46	4.06	5.00	6.05	4.56
<i>P. expansum</i>	0.82	1.10	1.06	1.27	1.67	2.46	2.98	3.51	5.41	4.84
<i>S. bacillaris</i>	1.15	1.12	0.98	0.96	0.98	1.02	0.99	1.05	0.99	1.06
<i>H. uvarum</i>	0.97	1.06	1.01	0.98	1.00	1.00	0.99	1.00	1.04	0.99

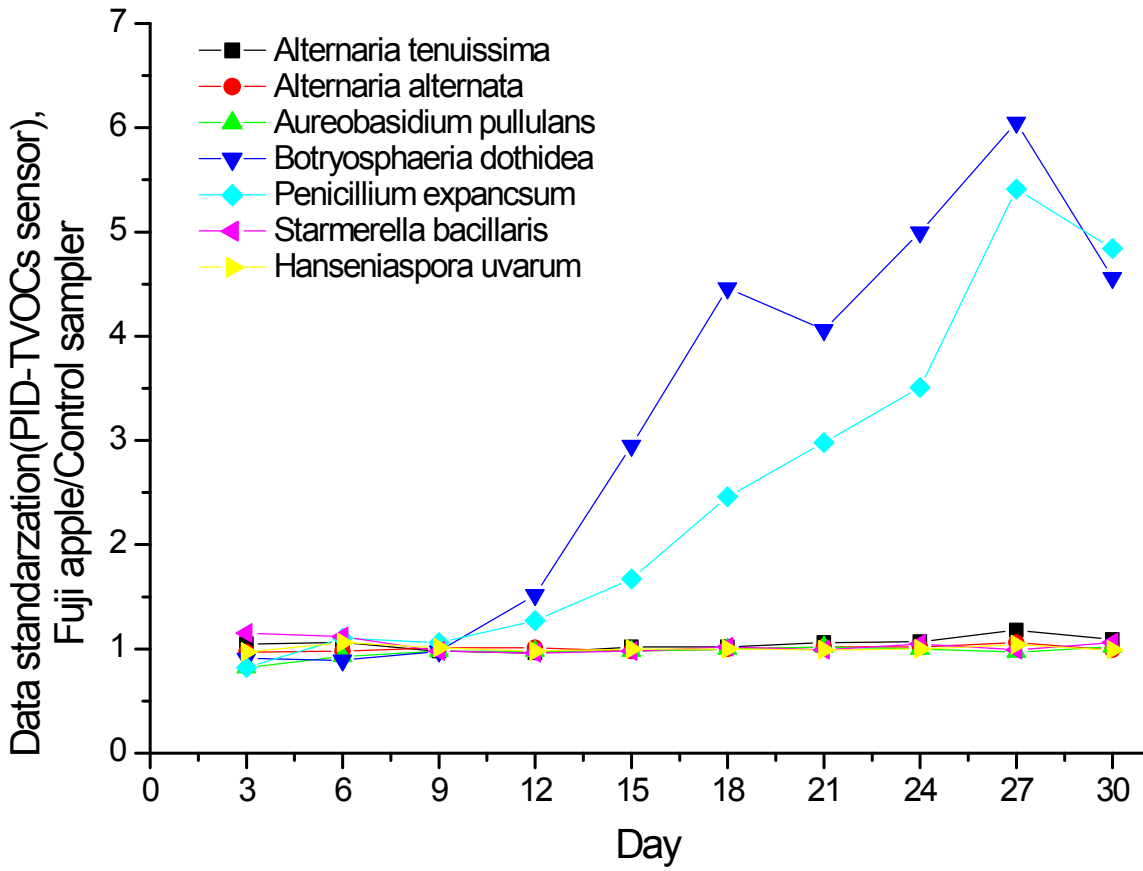


그림 238. TVOCs 광이온화검출식 가스센서에 의한 부패원인균과 부패율과의 관계

(다) Red 파프리카에 의한 인공부패 실험

① 파프리카 인공부패 시료준비

㉞ 정확도 및 재현성 향상을 위한 파프리카 시료 선별

최적의 측정방법을 도출하고자, Red 파프리카 품종을 대상으로 재실험을 계획하였다. 우선 실험을 위한 파프리카 시료를 샘플링하기 위해 참여기업인 (주)농산(전북 김제)을 직접 방문하였고, 아래의 사진과 같이 실험을 위한 Red 파프리카 28개를 1차적으로 선별하였다. 현장 선별기준은 외형적인 신선도를 관찰하여 파프리카 표면의 상처나 부패가 의심되는 파프리카는 우선적으로 배제하였다. 또한, 유리 bottle의 입구 직경을 고려하여 파프리카 직경이 95φ 내외의 시료만을 선별하였고, 또다시 무게를 측정하여 190 ~ 210g 범위의 파프리카만을 선별하는 작업을 진행하였다. 이는 파프리카의 외형적 크기와 표면적이 다르다면 방출되는 파프리카 향의 차이가 발생할 것으로 판단되어 적용한 방법이다.

다음으로 선별된 28개 파프리카 시료는 실험실 조건에서 2차 선별작업을 진행하였다. 28개의 파프리카는 70% 알코올을 이용하여 표면을 세척하였고, 약 6시간 이상 방치하여 알코올 냄새를 완전히 제거하였다.



그림 239. 외형적 기준에 의한 Red 파프리카 시료 선별방법

2차 선별작업은 평가에 사용될 가스센서에 의한 선별방법으로 외형적인 크기 및 파프리카 자체가 갖고 있는 향이 다르게 배출되므로, 가스센서에서 출력되는 신호 또한 다르게 나타나게 된다. 이에 가스센서 기준으로 실험을 위한 최종의 시료를 선별하고자 하였다. 아래 그림처럼 가스센서에 의한 향 실험결과를 살펴보면 총 28개의 파프리카 시료는 각기 다른 향이 발생되고 있다. 외형적인 크기가 모두 동일한데, 유독 파프리카 PR-21 시료의 경우는 가스센서의 출력치가 가장 높고, 반대로 PR-02, PR-07, PR-14, PR-15와 같은 시료는 상대적으로 낮은 파프리카 향이 발생되어 가스센서의 출력치가 낮게 나타나고 있다.

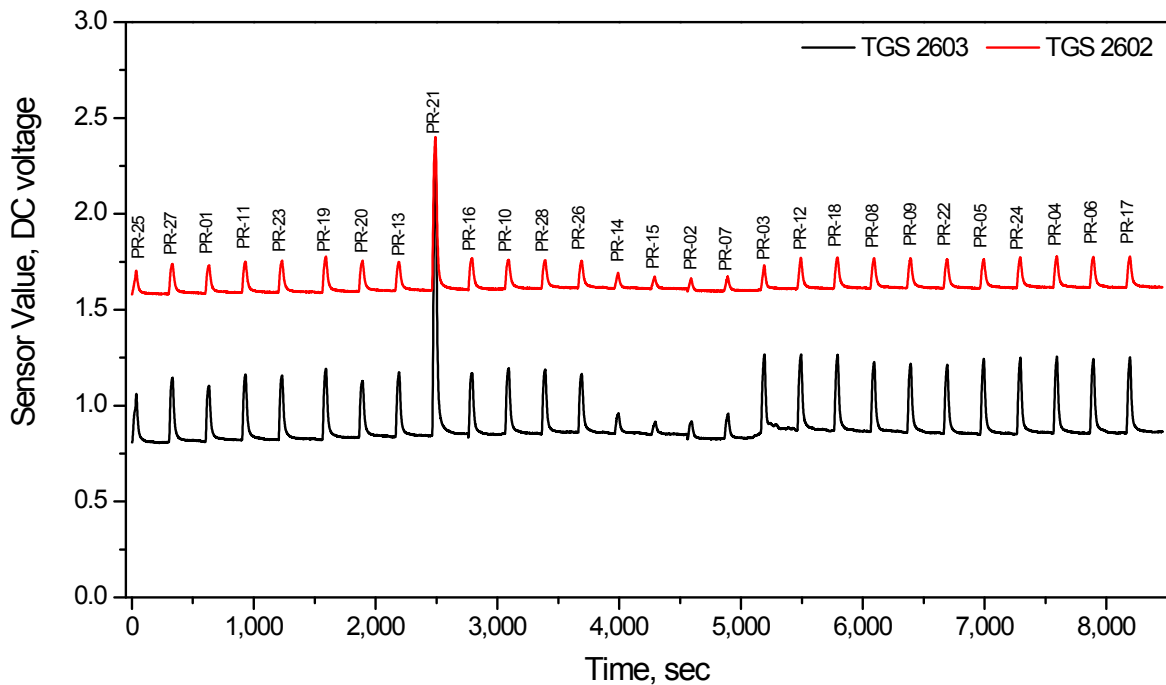


그림 240. 가스센서 출력신호에 의한 파프리카 시료 선별방법

㉔ 파프리카 부패원인균 접종과 가스센서 측정 방법

이처럼 28개의 파프리카 시료는 각기 다른 향을 방출하고 있기에, 가스센서 출력치를 통해 출력치가 유사한 15개(PR-04, 05, 06, 09, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24) 파프리카 시료를 선정하였고, 최종적으로 부패원인균 3종(*Botrytis cinerea*, *Fusarium lactis*, *Fusarium proliferatum*)을 접종하기 위해 선별하였다.
















최종적으로 선정된 15개의 파프리카 시료는 주관기관(숭실대학교)의 도움으로 부패균을 접종하였고, 반복실험을 위해 부패균을 접종한 3개의 파프리카 시료와 접종을 하지 않은 control 시료 그리고 부패균 없이 배지만을 접종한 PDA 시료로 구분하여 총 1개의 부패균에 5개의 시료를 그룹화하여 실험하였다.

아래 표와 같이 *Botrytis cinerea*, *Fusarium lactis*, *Fusarium proliferatum* 3개의 부패원인균 종류에 따라 5개의 실험 시료를 준비하였다. 부패원인균 접종 위치는 파프리카 상단의 꼭지부의 옆 겉 표면을 약 6 ~ 7mm 및 깊이 3mm 크기로 도려내고, PDA 배지에 배양된 균주를 동일한 크기로 punching하여 부착하였다.

PDA 배지 접종은 순수한 배지의 오염상태를 비교하고자 접종한 것이다. 모든 균주 접종은 clean bench에서 진행하였으며, 15개의 파프리카 부패균 접종 시료는 1.2L 유리용기에 개별 구분하였다. 파프리카 보관 시에는 다른 부패균이 들어오지 않도록 입구부분을 멸균거즈로 처리하였고, 25°C 및 80%의 항온항습 조건하에 파프리카를 보관하였다. 가스센서 실험 시에는 1시간동안 밀봉하여 충분히 파프리카 향을 유리bottle에 포집하고 포집된 향을 가스센서로 측정하였다.

관찰 기간 동안에 따른 파프리카 시료의 냄새측정을 위한 가스센서 측정 로직은 가스센서 어레이 전단에 3-way 밸브를 구성하여 임의의(30 & 60초) 동안 파프리카 시료 냄새가 주입되어 가스센서를 반응시켰고, 다시 초기값으로 회복시키기 위해 240 ~ 270초 동안 활성탄 필터의 청정공기를 공급하는 조건으로 로직을 구성하였다.

표 127. 최종 실험을 위한 15개의 파프리카 시료와 부패원인균 접종 결과

접종균 : Botrytis cinerea(B. c)				
B. c - Control	B. c - #1	B. c - #2	B. c - #3	B. c - PDA
				
접종균 : Fusarium proliferatum(F. p)				
F. p - Control	F. p - #1	F. p - #2	F. p - #3	F. p - PDA
				
접종균 : Fusarium lactis(F. l)				
F. l - Control	F. l - #1	F. l - #2	F. l - #3	F. l - PDA
				

모든 가스센서 측정 자료는 데이터 수집 장치를 이용하여 초단위로 저장하였고, 시료 흡입 유량은 1.0L/min으로 센서에 주입된 사과시료 만큼 공기를 채우기 위해 유리용기 전단부에 활성탄 필터를 구성하여 오염된 공기의 유입을 최소화하였다.

관찰 기간 동안에 파프리카 향과 부패냄새 변화를 주기적으로 관찰하기 위해 1일 간격으로 총 10일 동안 가스센서로 냄새를 수집하여 데이터를 분석하였다. 파프리카 부패율 평가는 파프리카 시료 전체 총면적 대비 부패부위의 면적 비율(%)을 1인의 실험자에 의해 주관적으로 산출하였고, 저장기간 동안 부패율과 냄새의 변화에 따른 가스센서의 출력값과 비교하였다.



그림 241. 파프리카 부패균 접종 후 항온항습 조건의 보관방법

평가에 사용된 가스센서는 앞서 홍로사과, 파프리카, 딸기, 부사사과 등에서 확인된 결과를 토대로 가스센서 6종을 선정하게 되었다. 결국 상대적으로 반응성이 낮은 FIS사의 가스센서와 대부분 고농도에 반응하는 전기화학식 및 광이온화검출식 가스센서는 배제하였다. 결과적으로 Figaro 사의 TGS 모델만을 중심으로 실험을 진행하였으며, 아래 그림과 같은 실험모식도로 진행하였다.

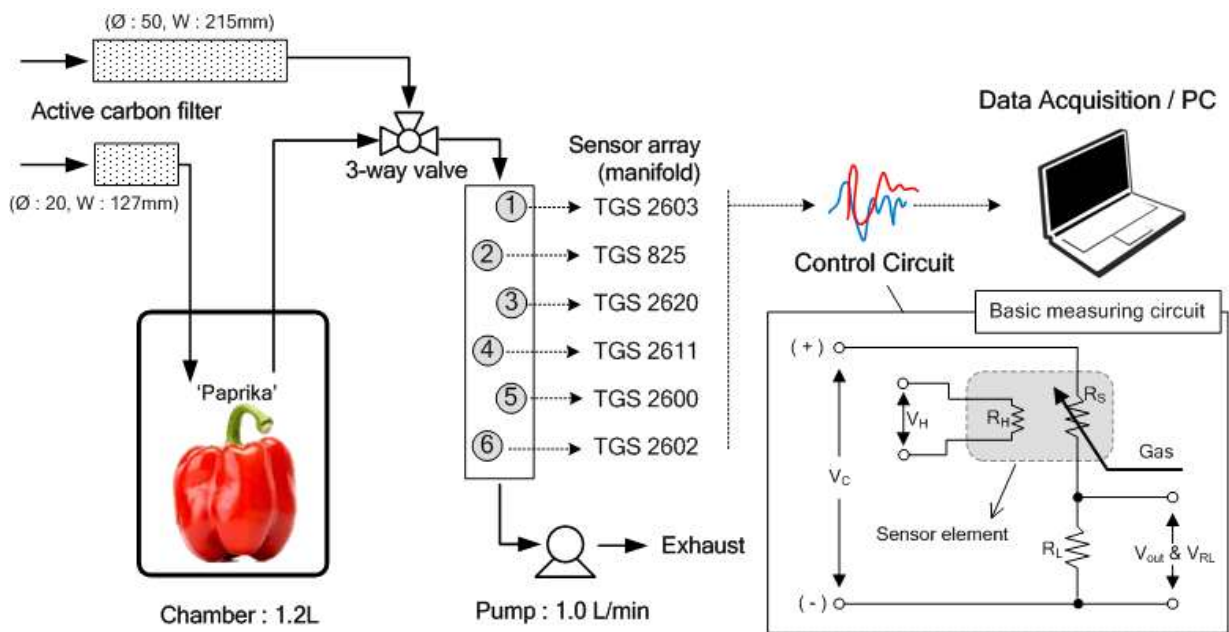


그림 242. 감도가 우수한 6종 가스센서를 이용한 파프리카 실험 모식도

② 시료주입 및 안정화 시간변화에 따른 파프리카 인공부패 시료준비

파프리카 향에 대한 가스센서의 감응특성을 평가하고자 Control 시료를 이용하여 가스센서에 노출시키는 실험을 진행하였다. 시간을 30sec와 60sec로 다르게 하여 노출시간 차이에 따른 가스센서의 변화량을 비교하였다. 그 결과 아래 그림과 같이 모든 가스센서는 주입시간 변화에 따라 감도가 크게 변화하지 않았다. 즉, 30sec 주입만으로 충분한 파프리카 향에 가스센서는 반응하고 있었다.

Control 파프리카 시료는 부패균을 접종하지 않은 시료로 저장기간이 늘어날수록 수분이 감소하여 신선도가 감소하게 된다. 신선도가 감소하는 만큼 파프리카 향도 감소하므로 이때의 센서값도 감소하는 경향을 보이고 있다. 대부분 3일차 이후부터 센서의 감도는 더 이상 감소하지 않고 유지되는 특징을 보이는 것으로, 부패가 발생하게 된다면 약 5일 이전에 부패 이벤트를 감지하는 최적화 기술이 필요할 것으로 판단된다.

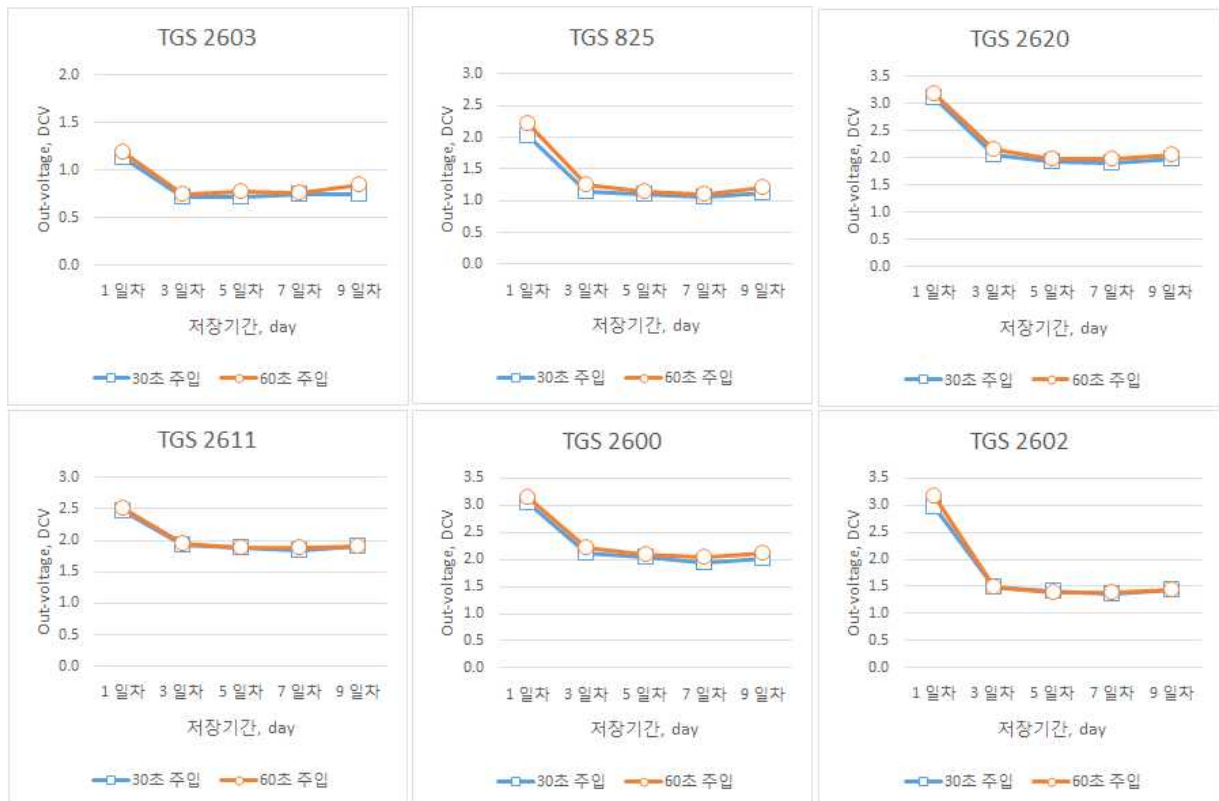


그림 243. 주입시간 변화에 따른 가스센서의 감응특성 비교

다음으로 파프리카 향이 가스센서에 노출되어 반응하는 속도(시간)를 확인하였다. 주입시간 30sec 조건일 경우 대부분의 가스센서는 30sec 내외에서 충분히 반응하여 출력값을 보이고 있으나, TGS 2602 가스센서의 경우는 40sec 내외, TGS 825 센서는 35sec 내외 시간에서 최대 반응시간을 보였다. 즉 이들 가스센서는 파프리카 향과 노출되어 즉각적인 반응 변화를 나타내면서 감지물질이 도포된 감지부에서의 화학반응이 노출시간 이외에도

지속되는 특징을 보이고 있다.

60sec 주입조건의 실험에서는 60sec 이전인 50sec 내외에서 모든 가스센서는 반응을 끝내었다. TGS 2603 센서는 35 ~ 40sec 시간에서 반응하여 반응시간이 빠른 가스센서로 평가되는 사항이다. 반대로, 나머지 센서는 모두 50sec 시간대에서 반응하였고, 60sec를 넘기지 않아 60sec 이상으로 가스센서를 노출시켜 피로도 및 회복시간을 증가시킬 필요는 없을 것으로 판단되며, 최적의 반응 및 노출시간은 30 ~ 40sec로 사료된다.

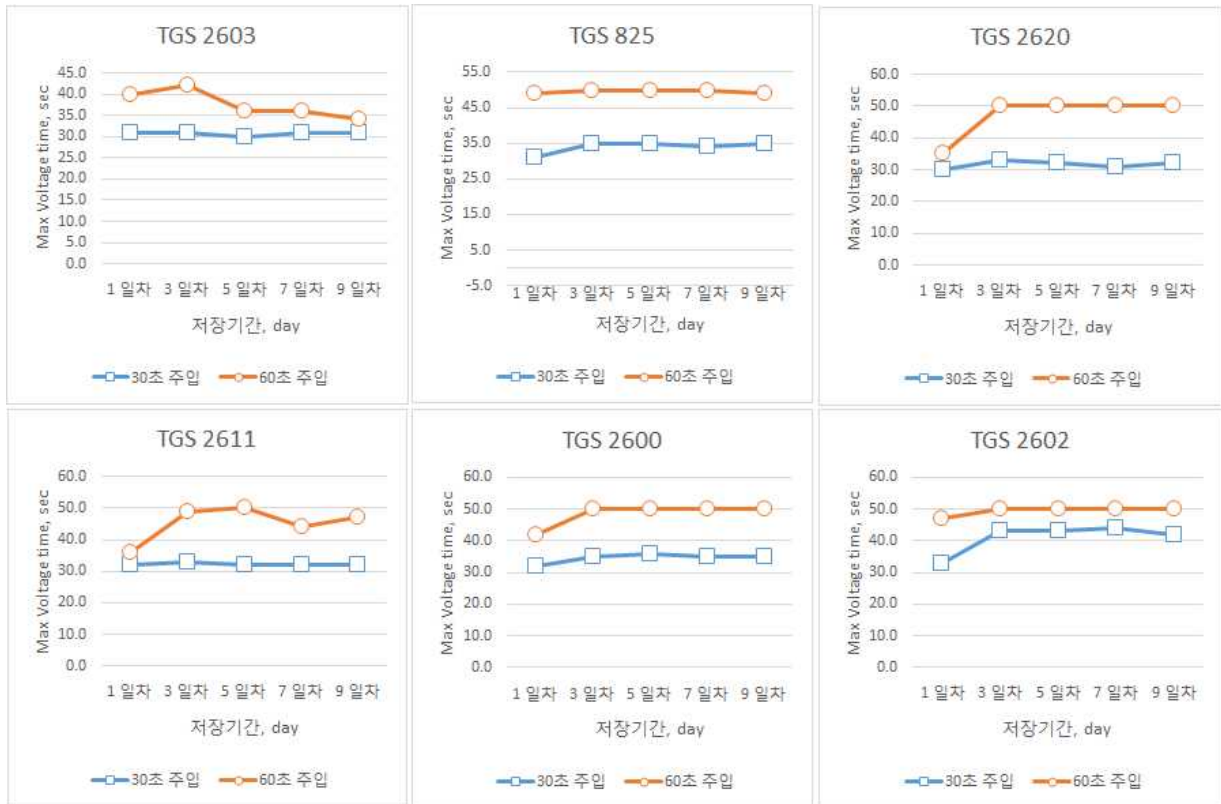


그림 244. 주입시간 변화에 따른 가스센서의 최대반응속도(시간) 비교

③ 데이터 표준화에 의한 부패 원인균별 가스센서의 반응특성 분석

홍로사과 및 부사사과 실험결과 해석과 같이 부패가 발생하지 않은 바탕 실험용 파프리카 시료의 출력값이 기준값 (= 1.00)이 되도록 각각의 부패 균주가 접종한 파프리카 시료의 출력값을 나누어 데이터를 표준화 하였고, 사용된 가스센서 감도는 출력신호를 청정공기의 가스센서 변화값(R_0)과 대상 냄새에 의한 가스센서 변화값(R_s)의 비(ratio)로 해석하는 R_0/R_s 식을 이용하여 최종적인 가스센서 감도의 결과값으로 사용하였다.

㉞ 가스센서 감도(R_0/R_s)에 의한 파프리카 부패원인균별 반응특성

아래 그림은 10일(+4일 추가관찰) 동안 *Botrytis cinerea* 부패원인균을 접종한 시료균의 부패냄새 변화를 6종의 가스센서로 관찰한 결과이다. 이때의 감도값은 R_0/R_s 로 계산하였고, *Botrytis cinerea* PDA 실험결과는 부패원인균을 접종하지 않은 결과이다. 결과에서도

확인할 수 있듯 부패원인균을 접종하지 않은 Control 시료보다 *Botrytis cinerea* 균을 접종한 #1 ~ #3 시료의 값이 상대적으로 크게 나타나고 있다.

그 중 TGS 2603 가스센서가 감응특성이 높으며, 부패율이 증가할수록 가스센서의 감도가 증가하는 경향성을 확인할 수 있고, TGS 2603 가스센서는 부패율이 2% 수준인 초기 부패에도 민감하게 반응하고 있다.

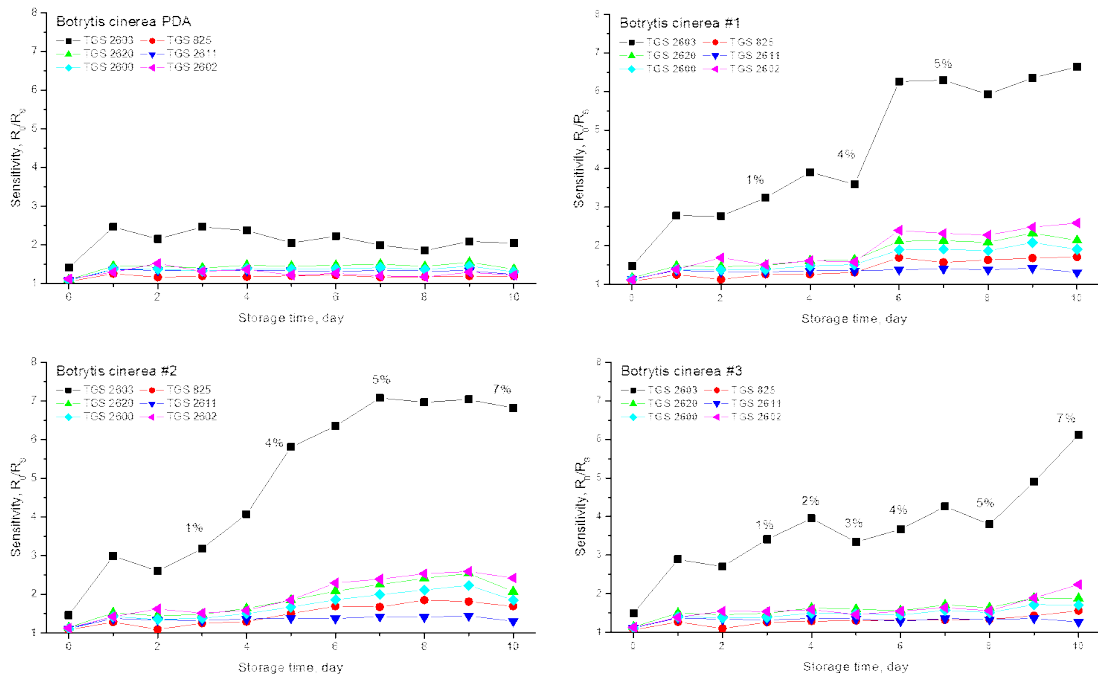


그림 245. 파프리카 부패원인균 *Botrytis cinerea* 시료 그룹의 감도(R_0/R_0) 결과



그림 246. 파프리카 부패원인균 *Botrytis cinerea* 시료 그룹의 저장기간별 부패 변화

Fusarium proliferatum 부패원인균을 접종한 실험결과를 살펴보면, *Botrytis cinerea* 결과 보다는 상대적으로 낮은 감도를 보인다. 또 다른 특징은 *Fusarium proliferatum* 부패원인균은 대부분 부패율이 낮고, 10일차 이후부터 부패율이 증가하는 경향을 보이고 있다. 특히 *Fusarium proliferatum* #2 시료의 경우는 3일차부터 1%의 부패율을 보였고 이후 10일 동안 부패율은 증가하지 않았다.

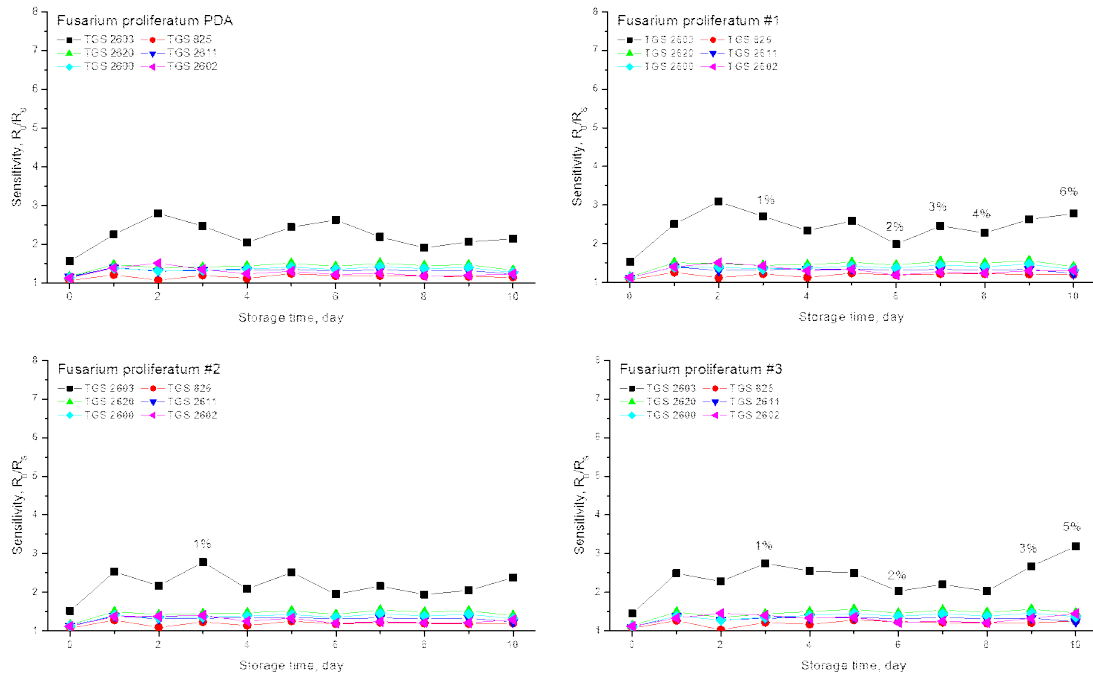


그림 247. 파프리카 부패원인균 *Fusarium proliferatum* 시료 그룹의 감도(R_0/R_s) 결과



그림 248. 파프리카 부패원인균 *Fusarium proliferatum* 시료 그룹의 저장기간별 부패 변화

10일차기간 동안의 *Fusarium lactis* 실험결과를 살펴보면 PDA 시료는 전반적으로 2 ~ 3의 감도를 보이고 있고, 10일차에 부패가 발생하여 감도가 증가하는 증상을 확인하였다. 또한, 3일차에 1%의 부패율을 보이고 이후기간 동안 추가적인 부패율이 나타나지 않은 *Fusarium lactis* #3의 시료도 감도값 3을 넘지 않았다. 반대로 부패가 발생한 *Fusarium lactis* #1과 *Fusarium lactis* #2 결과를 살펴보면 부패율이 증가할수록 센서의 감도가 증가하는 경향을 확인할 수 있으며, 그중 TGS 2603 가스센서가 경향성과 감응특성 측면에서 양호한 상관성을 나타나고 있다.

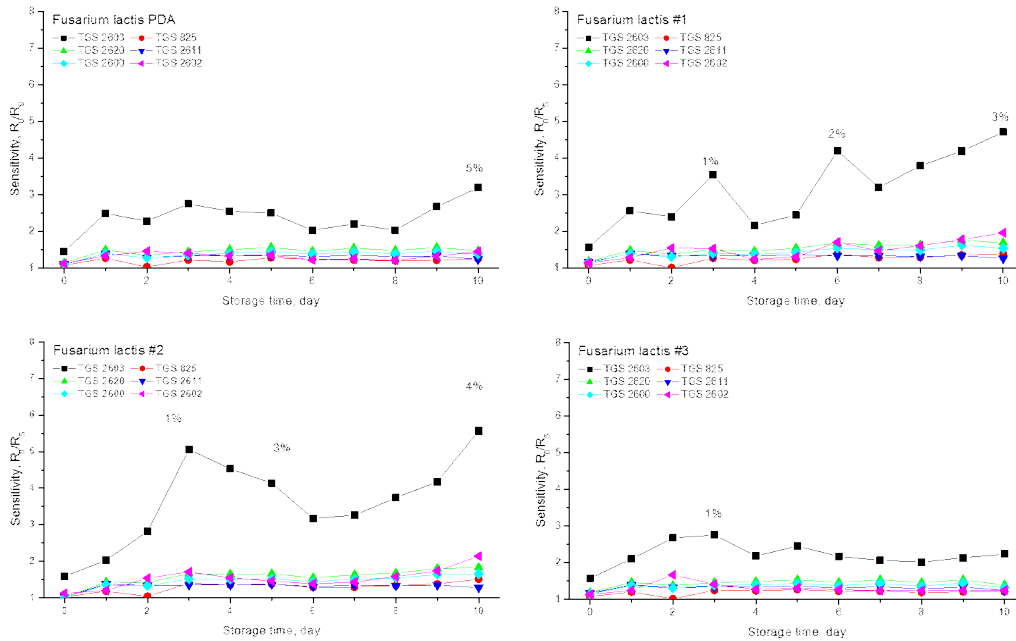


그림 249. 파프리카 부패원인균 *Fusarium lactis* 시료 그룹의 감도(R_0/R_s) 결과

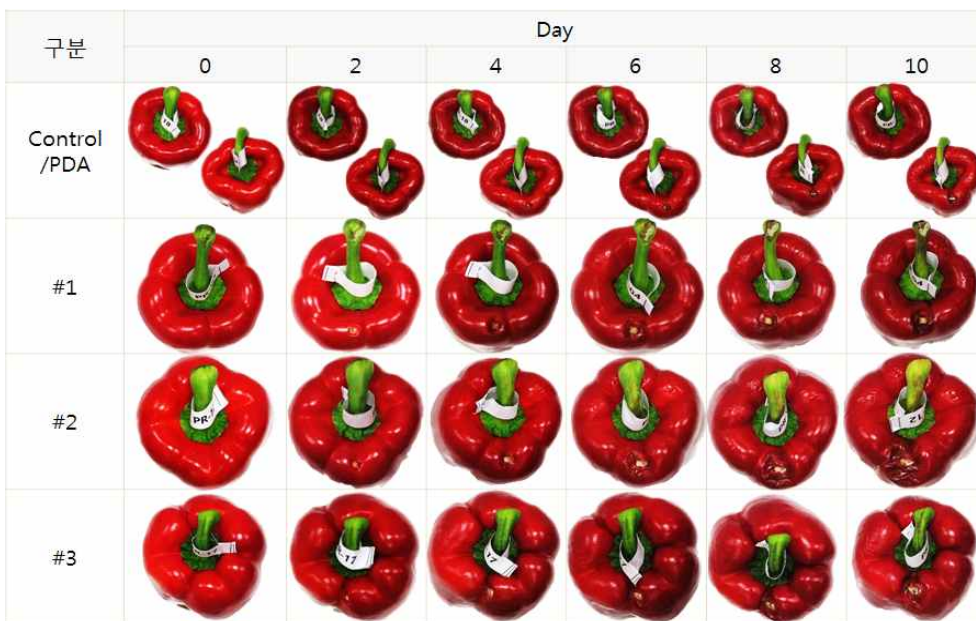


그림250 . 파프리카 부패원인균 *Fusarium lactis* 시료 그룹의 저장기간별 부패 변화

아래 표는 파프리카 부패원인균별 부패율에 따른 6종의 가스센서 감도간의 상관관계(= r)를 정리한 것이다. 대부분의 가스센서는 부패율과 양호한 상관관계를 보이고 있으나, 그중 TGS 2603, TGS 825 가스센서가 *Fusarium proliferatum* #2 시료를 제외하고는 높은 상관관계를 보이고 있다. *Fusarium proliferatum* #2 시료는 실험기간 동안 1%의 부패율만 관찰되고 그이상의 부패는 발생하지 않는 시료로 확인되었다.

Botrytis cinerea 부패원인균의 부패율과 TGS 2603 및 TGS 825 가스센서 감도간의 상관관계를 아래그림에 나타내었다. 그 결과 TGS 825 가스센서의 상관관계도 양호하게 나타났으나, TGS 825 가스센서는 TGS 2603 가스센서 보다 반응특성이 매우 낮아 감도의 변화량이 낮은게 특징이다. 반대로 TGS 2603 가스센서는 부패 변화율과 양호한 상관관계를 보이고 있으며, 부패변화에 따라 감도의 변화폭도 크게 나타나고 있어 TGS 2603 가스센서에 의한 부패율 평가에 활용도가 높을 것으로 판단된다.

표 128. 파프리카 부패원인균별 부패율과 가스센서 감도와의 상관관계

부패원인균 (시료명)	TGS 2603	TGS 825	TGS 2620	TGS 2611	TGS 2600	TGS 2602
<i>Botrytis cinerea</i> #1	0.92	0.92	0.92	0.45	0.92	0.89
<i>Botrytis cinerea</i> #2	0.94	0.92	0.89	0.42	0.89	0.93
<i>Botrytis cinerea</i> #3	0.93	0.94	0.89	0.07	0.88	0.88
<i>Fusarium proliferatum</i> #1	0.64	0.68	0.43	-0.26	0.40	0.34
<i>Fusarium proliferatum</i> #2	0.23	0.34	0.46	0.21	0.49	0.12
<i>Fusarium proliferatum</i> #3	0.75	0.70	0.60	-0.12	0.58	0.55
<i>Fusarium lactis</i> #1	0.78	0.84	0.73	-0.16	0.69	0.61
<i>Fusarium lactis</i> #2	0.74	0.86	0.80	0.12	0.79	0.73
<i>Fusarium lactis</i> #3	0.59	0.67	0.48	-0.37	0.45	0.23

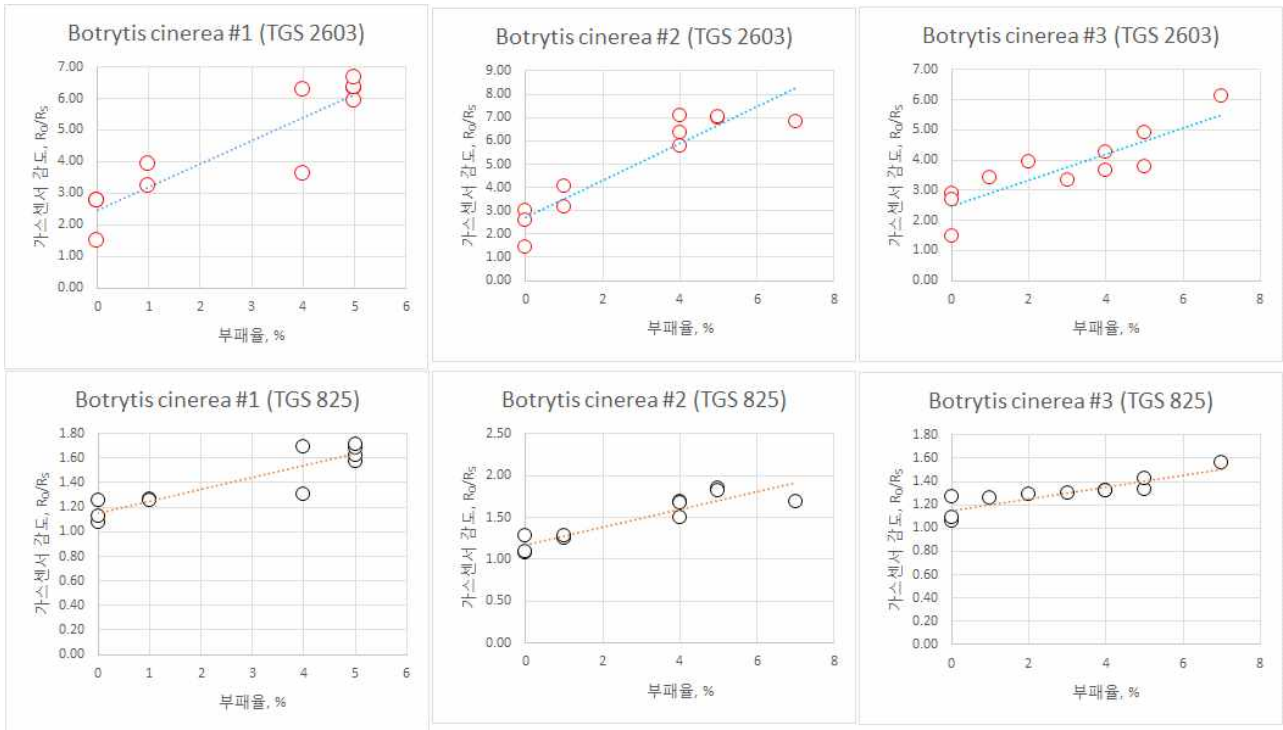


그림 251. 부패율과 상관관계가 높은 TGS 2603 및 TGS 825 가스센서의 기울기 비교

㉔ 최적 가스센서의 파프리카 반응특성

지금까지의 결과는 단순히 가스센서 출력값을 저항의 비로만 계산하여 표출한 결과이다. 그중 TGS 2603 센서의 출력값이 상대적으로 높았으며, 부패율과 양호한 경향성을 확인할 수 있었다. 그러나 금속산화물 가스센서의 특성상 후각을 자극하는 환원성 가스 및 유기용제와 같은 공기오염물질에 쉽게 반응하게 된다. 즉, 부패냄새가 높으면 가스센서의 감도 증가하게 되는데, 문제는 부패하지 않은 control 또는 PDA 배지를 접종한 파프리카 냄새에도 쉽게 반응하는 것이다.

이러한 문제를 해결하기 위해 본 연구에서는 TGS 2603 센서를 이용하여 데이터의 표준화를 실시하였다. 즉, 파프리카 향과 부패냄새를 구분하기 위해 부패가 발생하지 않은 PDA 배지 접종 시료의 가스센서 변화량이 기준값이 되도록 나머지 #1 ~ #3 시료의 가스센서 반응값으로 나누어 표준화 하였다.

아래 그림은 파프리카 부패원인균별로 접종한 시료를 PDA 배지를 접종한 시료의 TGS 2603 센서값으로 나누어 표준화한 결과이다. 여기서 1.00 이하는 부패가 하지 않은 수준에 해당하며, 기준값 1.00 보다 높을수록 부패율은 증가하는 것이다. *Botrytis cinerea*의 경우는 0일차 1.00에서 저장기간이 늘어날수록 모든 시료의 감도는 증가하고 있다.

반대로, *Fusarium proliferatum*(#1, #2, #3) 및 *Fusarium lactis* #3 시료의 경우는 기준값 1.00 수준에서 감도가 관찰되고 있다. 이러한 시료는 실험기간 동안 부패율이 낮아, 발생한 결과로 판단되며, 부패율이 3% 이상으로 증가한 9일차 이후 *Fusarium proliferatum*(#1, #2, #3)은 1.50 수준으로 감도가 증가하여 부패유무를 판단할 수 있다. *Fusarium lactis*

#1 & #2 또한 2일차부터 감도값이 증가하여 부패유무를 간접적으로 확인할 수 있는 결과이다.

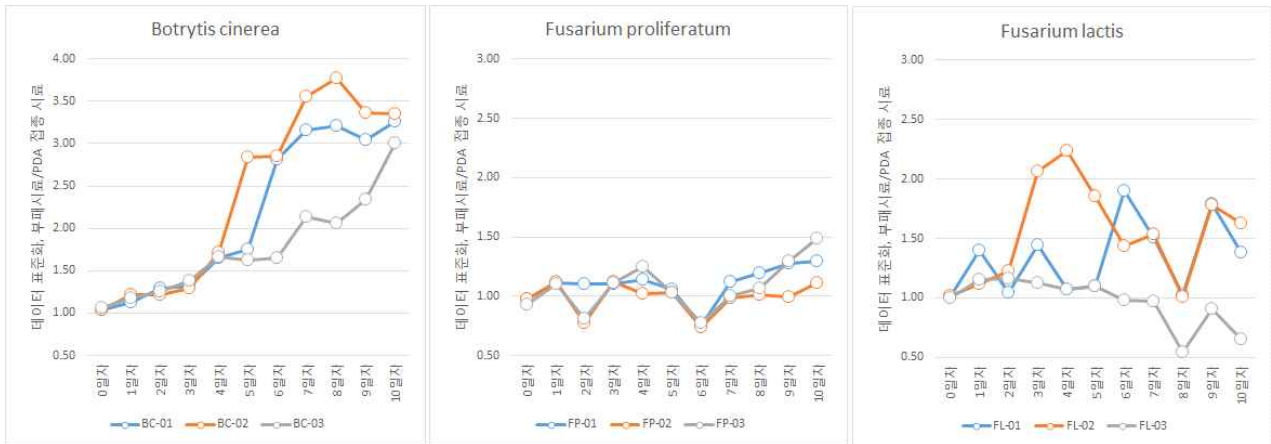


그림 252. 데이터 표준화를 이용한 최적 가스센서의 파프리카 부패원인균별 감도변화 관찰

(라) 딸기 인공부패 실험

① 딸기 시료 준비 및 인공부패균 접종

㉞ 딸기 시료 준비

인공부패 실험을 위한 딸기 시료는 설향(Seolhyang, 국내 시장유통 80%) 품종으로 선정하였다. 실험을 위한 딸기시료 준비는 농수산물시장에서 딸기를 구매하였고, 외형적 손상이 없는 딸기만을 선별한 후 500배로 희석한 염소계 소독제에 담귀서 2분간 소독, 멸균 증류수로 3회 세척하였다. 다음으로 3시간 이상 Clean bench에서 건조한 딸기는 200g 씩 칭량하여 1.2L 유리 bottle 10개에 각각 넣어 외부오염을 최소화하기 위해 밀봉하였다.

딸기(설향) 준비

- 구매 : 2018.02.06
- 구입처 : 오정동(대전) 농수산물시장
- 품종 : 설향
- 생산지 : 논산



살균/세척

- 선별 : 외형적 손상 및 무부패 딸기선별
- 살균 : 락스 소독제 500배 희석액에 2분간 담귀서 소독
- 세척수 : 증류수로 3회 세척



칭량

- 1.2리터 유리바이알 5개 준비
- 시료당 200g(딸기 6~8개) 이내 칭량
- 저울 : OHAUS Pioneer PA413



< 그림. 딸기 시료 준비과정 >

칭량 결과

- #1 : 198.9g (7개)
- #2 : 198.6g (8개)
- #3 : 199.6g (7개)
- #4 : 200.0g (7개)
- #5 : 199.0g (6개)



딸기(설향) 시료

- #01~#05의 반복시료 준비
- 무게 : 198.6~200.0g
- 199.2 ± 0.57 (Mean ± S.D)



그림 253. 딸기 향 및 부패냄새 관찰을 위한 최종 딸기 시료 준비

㉔ 인공부패균 접종 및 가스센서 측정 시스템 구성

준비된 딸기시료의 인공부패를 위해 무름병과 잿빛곰팡이병을 발생시키는 *Cladosporium cladosporioides*, *Botrytis cinerea* 부패원인균 희석액을 2ml 씩 분취하여 부패원인균별로 딸기 표면에 직접 뿌리는 방식으로 접종하였다. 반복 평가를 위해 동일 부패원인균 5개씩을 준비하였고, 실험기간 동안 멸균거즈로 입주를 덮고 25℃ & 70%RH의 항온항습 조건에서 딸기시료를 보관하였다.

딸기 냄새를 평가하기 위한 가스센서는 홍로, 부사, 파프리카 등에 고감도와 부패율과 상관성이 높았던 TGS 2602와 TGS 2603 가스센서 만을 선정하여 시스템을 구성하였다.

아래 그림과 같이 딸기 시료의 냄새측정을 위한 가스센서측정 방법은 활성탄 필터를 거친 깨끗한 공기가 Carrier gas 역할을 하도록 펌프를 가스센서 후단에서 설치하였고, 1.0L/min의 유량으로 연속 흡입시켰다. 가스센서 모듈과 활성탄 필터 중간에 Union Tee를 구성하여 딸기 냄새를 주사기를 통해 3ml씩 주입하여 딸기 냄새를 약 4일(96시간) 동안 6 ~ 12시간 간격으로 측정하였다.

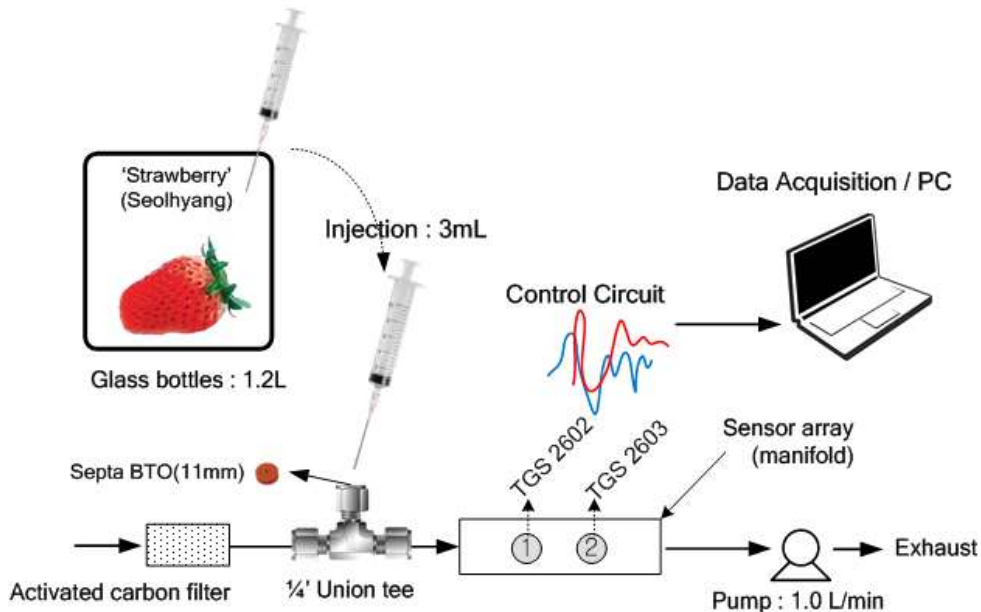


그림 254. 딸기의 부패냄새를 관찰하기 위한 2종의 가스센서 측정 시스템 모식도

② 딸기 부패원인균별 가스센서의 반응성

㉕ *Cladosporium cladosporioides* 균접종 결과

Cladosporium cladosporioides 부패균을 인공적으로 접종한 딸기 시료에 대해 2종의 가스센서는 모두 우수한 반응성을 보였다. 아래 그림에 *Cladosporium cladosporioides* 부패원인균이 접종된 딸기 시료의 실험결과이다. 신선한 상태인 12시간 이전에 TGS 2603 가스센서는 약 0.7 ~ 0.8 DCV를 보였고, TGS 2602 센서는 약 1.5 DCV의 초기값을 나타내고 있었다. 이후 부패가 딸기 표면에서 확인된 25시간 이후부터는 가스센서의 출력신호가 시간이 증가함에 따라 출력신호 또한 크게 증가하는 경향을 확인할 수 있다. 또한, 특징

적으로 TGS 2603 및 TGS 2602 가스센서 모두 부패가 확인된 이전 시점인 약 20시간에 가스센서 측정값이 높아진 결과를 확인할 수 있었다.

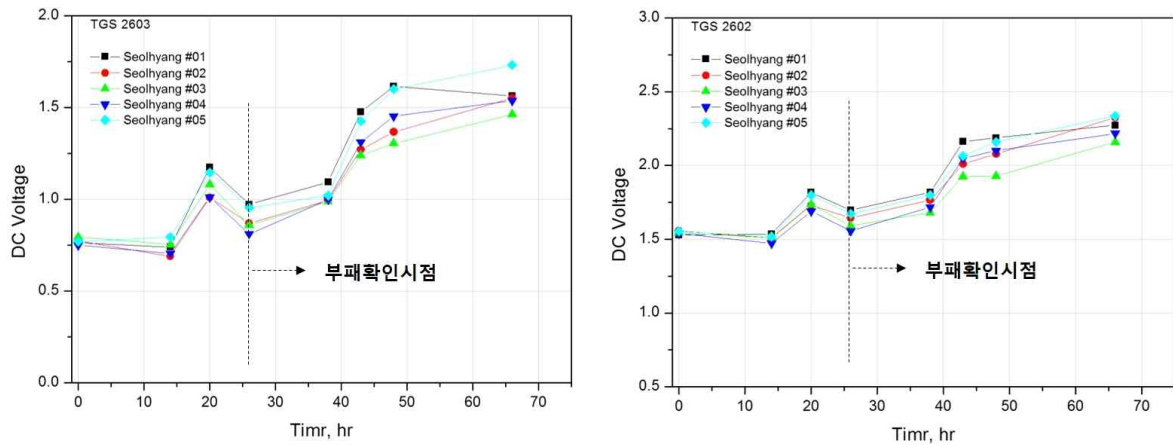


그림 255. *Cladosporium cladosporioides* 부패원인균에 의한 딸기 부패냄새의 가스센서 반응특성

㉔ *Botrytis cinerea* 균접종 결과

아래 그림은 *Botrytis cinerea* 부패원인균을 접종하여 발생하는 냄새를 측정된 결과로, *Botrytis cinerea* 균이 접종된 42 ~ 48시간에 딸기 표면상의 부패가 확인되었다. 즉, 두 종류의 가스센서는 약 36시간 이전에는 약 2.0 감도를 보이고 있다가 부패가 시작된 40시간 전후로 가스센서의 감도가 2.5 이상으로 증가하는 결과를 확인한 사항이다. 가스센서의 감도는 TGS 2603이 상대적으로 높았으며, 딸기 부패가 전체적으로 확산된 약 80시간 이후에는 부패취가 감소하는 경향으로 가스센서의 감도 또한 감소하는 결과를 확인할 수 있었다.

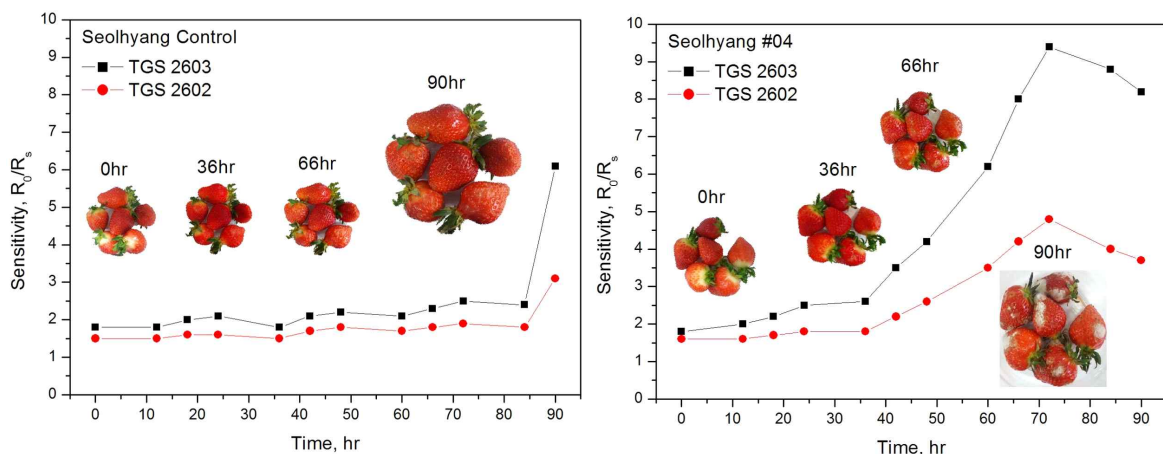


그림 256. *Botrytis cinerea* 부패원인균에 의한 딸기 부패냄새의 가스센서 반응 >

결국, 선종된 2종의 가스센서는 딸기 향 및 부패냄새에 변별력 있게 반응하는 것으로 나타났다. 신선한 딸기 향에 대한 가스센서의 반응성은 상대적으로 낮은 감도를 보였고, 반대로 부패도가 증가할수록 가스센서의 감도 또한 증가하는 경향을 확인하였다. 향후 신선농식품의 상품출하시기 판단과 저장기간 중 발생하는 부패유무를 조기에 판별할 수 있는 기술개발이 가능할 것으로 판단된다.

(4) Cloud 방식의 냄새지문 플랫폼 개발

(가) 부패냄새 패턴분석을 위한 기초연구

① 부패냄새 패턴분석 방법의 개발

냄새패턴을 이용하여 신선 농산물의 냄새와 부패과정에서 발생하는 냄새를 구분하기 위기 위해서는 일반적으로 전자코 시스템(Electronic nose system)을 활용한다. 이러한 전자코 시스템에는 인간의 후각세포에 해당되는 많은 수의 가스센서를 장착하여 냄새성분에 따른 각 가스센서의 반응성의 차이를 패턴으로 나타내는 장비이다.

다양한 냄새성분에 대한 패턴을 시각적으로 또는 통계적으로 분석하기 위해서는 가스센서의 수를 최소 10개 이상을 장착하여야 하나, 장착되어지는 가스센서의 수가 증가할 수록 관련 전기/전자적인 하드웨어가 복잡해지는 단점이 있다.

이에 본 연구에서는 신선 농산물의 부패냄새에 탁월한 반응성을 보이는 반도체식 가스센서를 조합한 소형 전자코 시스템을 개발이라는 목표로 조금은 간편한 방법으로 현장에서 쉽게 신선 농산물의 부패정도를 측정하고 예측할 수 있는 모듈의 개발을 고찰하였다.

아래 그림은 특정 냄새성분에 대해 서로 다른 반응성을 보이는 2개의 반도체식 가스센서에서 획득된 출력신호로부터 냄새의 종류를 구별할 수 있는 로직에 대한 개념도를 나타낸 것이다. 특정 냄새성분에 대한 각 가스센서의 반응성을 x-y 2차원의 좌표로 구현하면 특정 냄새성분에 대한 기울기를 추출할 수 있다. 이 기울기 값이 냄새성분의 종류를 구별할 수 있는 중요한 인자 값으로 활용할 수 있다는 개념의 로직이다.

- 듀얼 가스센서의 반응속도를 x-y 좌표로 표현
- 공간분포의 특성으로 악취성분을 구분 → 악취성분별 특성곡선을 획득

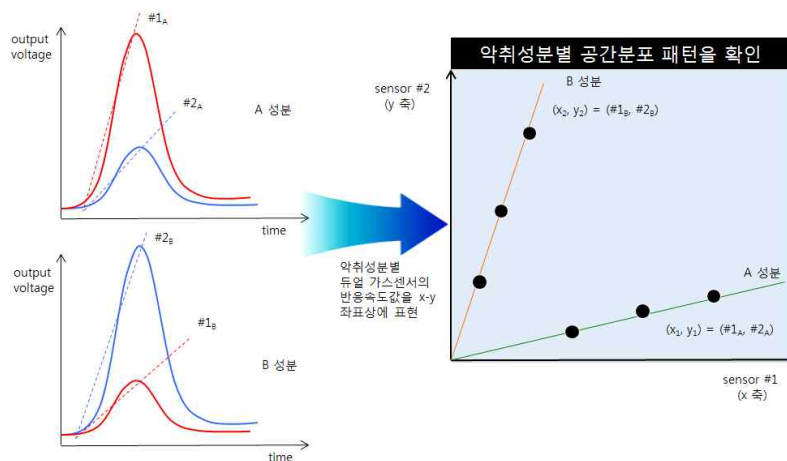


그림 257. Dual 반도체식 가스센서에 의한 냄새패턴분석 로직

또한, 상기 그림처럼 동일한 냄새성분의 농도가 달라지더라도 냄새의 종류를 나타내는 기울기 값은 변화하지는 특성이 있어 간단히 2개의 반도체식 가스센서로 냄새의 종류를 판별할 수 있는 새로운 개념의 전자코 시스템의 개발이 가능할 것으로 기대된다.

아래 표는 대표적인 악취성분인 황화수소, 암모니아, 톨루엔에 대한 2개 반도체식 가스센서의 반응성의 차이를 확인한 결과표이며, 아래 그림은 2개의 반도체식 가스센서를 이용하여 x-y 2차원 좌표로 표현하여 나타난 결과이다.

그 결과, 악취성분의 종류에 따라 특정 기울기 값을 갖는 것으로 확인되며, 2개 반도체식 가스센서에 의한 2차원 패턴분석방법을 활용하여 악취성분의 종류에 따라 냄새의 종류를 구별할 수 있을 것으로 기대된다.

표 129. 대표적 악취표준가스에 대한 반도체식 가스센서의 반응성 차이 결과

악취성분	x - 센서 #1	y - 센서 #2
톨루엔 (C ₆ H ₅ CH ₃)	0	0
	3.422	1.397
	3.455	1.422
황화수소 (H ₂ S)	0	0
	2.212	2.386
	2.163	2.417
암모니아 (NH ₃)	0	0
	1.036	1.680
	1.140	1.794

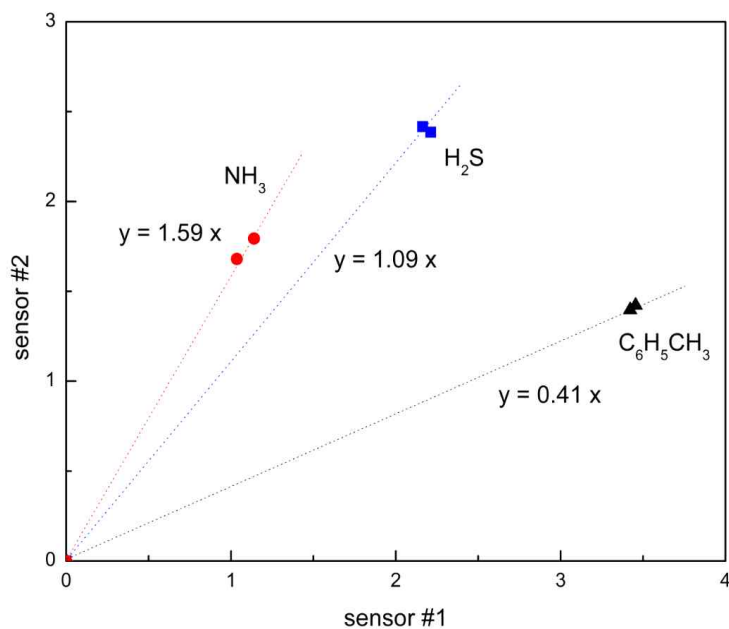


그림 258. 악취표준가스에 대한 2차원 패턴분석 결과

(나) 패턴분석을 위한 가스센서의 선정방법

① 부패냄새 패턴분석을 위한 최적 가스센서 선정 방법

측정하고자 하는 신선 농식품 냄새 및 표준가스성분에 대한 3개 이상의 가스센서 어레이 측정값으로부터 센서비율(ratio)의 편차가 큰 2개 가스센서의 조합을 찾아 선택하게 되며, 신선 농식품의 부패냄새 등에 서로 다른 반응성을 보이는 가스센서의 선정방법이 중요한 상황이다.

다양한 신선 농식품의 냄새 및 표준가스성분에 대한 가스센서 비율의 편차가 크다는 것은 냄새 종류가 바뀔 때 나타나는 가스센서의 반응성 차이가 크게 나타나는 것을 의미하므로, 선정된 2개 가스센서로 냄새변화를 표현하는데 가장 효과적인 것을 설명하게 된다.

이처럼 특성(반응성)이 다른 2개의 가스센서를 선택해야 하는 것은 부패 전의 신선한 냄새와 부패가 진행되면서 발생하는 불쾌한 냄새의 차이를 확인하기 위해서는 2개 가스센서 반응성 차이의 변화를 통하여 확인하기 위한 방법이며, 만약 선정된 2개 가스센서의 반응성이 비슷하다면 부패 전과 후의 가스센서 값(강도) 변화는 있겠지만, 냄새 종류 변화에 대한 차이는 확인하지 못하기 때문이다.

아래 그림은 다양한 가스센서 어레이의 냄새측정결과로부터 반응성의 차이가 큰 2개의 가스센서를 선정하는 과정/방법을 간략히 나타낸 것이며, 개별 가스센서 간의 비율(ratio)을 산출하고 냄새종류에 따른 이 비율의 상대표준편차가 큰 조합을 선정하는 방법으로 2개 가스센서를 선정하게 된다.

만약 3개의 가스센서 어레이를 활용한다면 3개(2+1)의 조합이 가능하고, 10개의 가스센서 어레이를 활용한다면 45개(9+8+7+6+5+4+3+2+1)의 조합 중에서 현실적인 적용 가능성을 고려하여 상대표준편차가 큰 2개 가스센서의 조합을 선정하게 된다.

	sensor value			→	ratio		
	#1	#2	#3		#1/#2	#1/#3	#2/#3
신선 농식품 1	x11	x12	x13		z11	z12	z13
신선 농식품 2	x21	x22	x23		z21	z22	z23
신선 농식품 3	x31	x32	x33		z31	z32	z33
신선 농식품 4	x41	x42	x43		z41	z42	z43
.....
표준가스 1	y11	y12	y13		q11	q12	q13
표준가스 2	y21	y22	y23		q21	q22	q23
표준가스 3	y31	y32	y33		q31	q32	q33
.....
				평균	m1	m2	m3
				표준편차	d1	d2	d3
				상대표준편차	S1	S2	S3

그림 259. 부패감지기에 적용할 가스센서 선정 방법

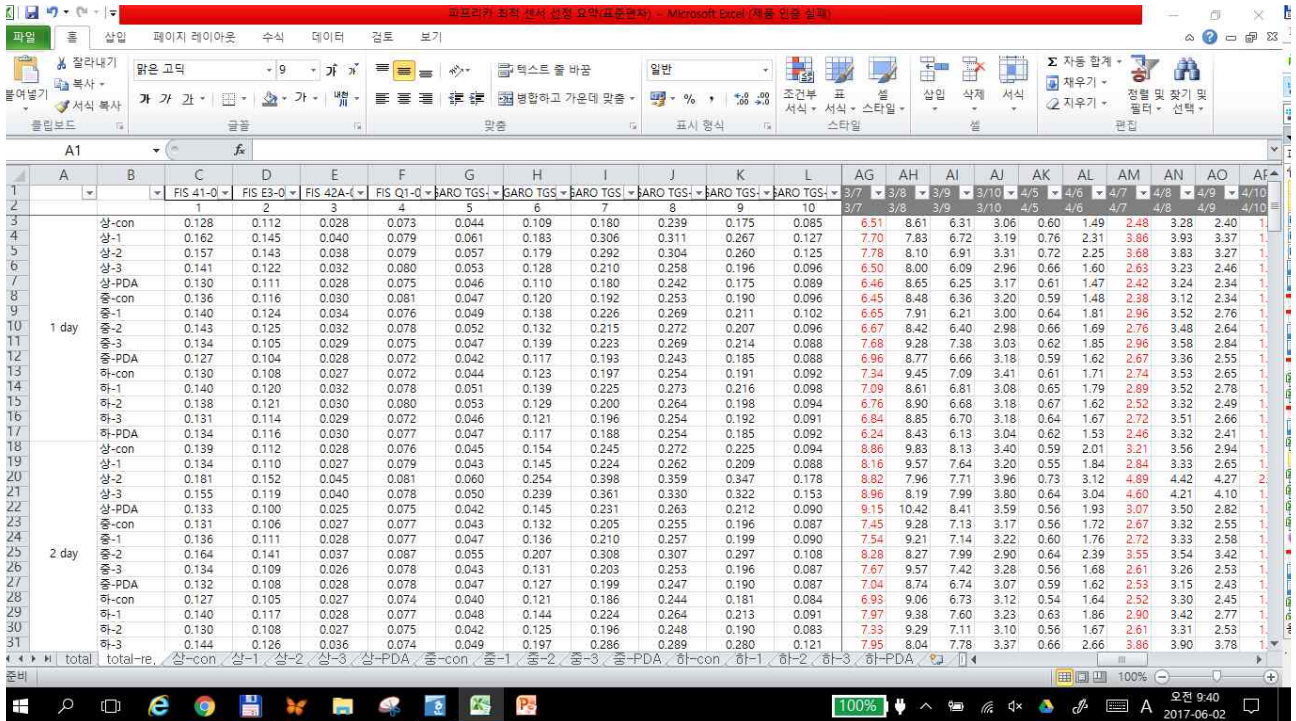


그림 260. 최적 가스센서 선정을 위한 데이터 분석 사례

② 신선 농식품의 냄새측정을 통한 가스센서 선정

2차원의 x-y 패턴분석을 위해서는 신선 농산물의 부패냄새에 반응성 차이를 보이는 2개의 반도체식 가스센서를 선정하는 과정이 우선적으로 진행되어야 하며, 1차년도 냄새 패턴분석을 위하여 구축한 전자코 시스템(10 채널의 가스센서 어레이 장치)에 장착된 반도체식 가스센서 중에서 1차 선정하고자 하였다.

또한, 10개 반도체식 가스센서 어레이의 반응성을 비교하기 위해 홍로 사과시료(시료 A9)의 부패과정에 대해서 모니터링하였고, 홍로 사과시료는 약 10주 동안에 신선한 사과에서 부패한 사과로 변화하고 있어 전과정에 대한 냄새모니터링이 가능하였다. 약 6주 이후부터 부패가 시작되어 [신선한 사과냄새] - [약한 사과냄새] - [부패냄새]로 변화하는 특성을 확인하였다.

아래 표는 약 10주 동안의 홍로 사과시료의 냄새특성의 변화를 가스센서 어레이 장치로 측정된 결과이며, 각각의 10개 반도체식 가스센서에 대한 냄새반응성의 정도를 추출하여 요약한 결과이다.

10주 동안에 신선한 사과냄새에서 부패한 냄새로의 변화가 명확히 일어난 상황이므로 아래 표의 결과를 통하여 TGS 2603 가스센서가 가장 큰 변화(69 %RSD)를 보이는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 냄새종류 변화에 따라 가장 변별력 있게 변화한 반도체식 가스센서임을 나타내는 결과이므로 TGS 2603 가스센서는 농산물의 부패냄새를 모니터링하기에 가장 효과적인 것으로 확인하였다. 그 외 나머지 반도체식 가스센서들은 약 10 ~ 20%RSD 수준인 것으로 확인되어 사과냄새 및 부패냄새에 대한 특별한 변별력을 보이지

않는 것으로 사료된다.

따라서, 신선 농산물의 부패냄새 패턴분석을 위해 TGS 2603 가스센서를 기본으로 하는 가스센서의 조합이 가능할 것으로 판단되었고, 나머지 1개의 반도체식 가스센서는 신선 농식품의 부패율과 상관성이 양호하게 나타났고, 기존 연구경험에 비춰 출력신호의 안정성이 우수한 TGS 2602 가스센서를 채택하여 dual 시스템으로 사용하였다.

표 130. 홍로 사과시료(A9)에 대한 10개의 반도체식 가스센서 반응성 결과 추출표

구분	SB-41	SB-EN2 -02	SB-42A	SB-AQ1	TGS 2603	TGS 825	TGS 2620	TGS 2611	TGS 2600	TGS 2602
1 week	0.181	0.203	0.123	0.068	0.113	0.540	0.886	0.460	0.762	1.045
2 weeks	0.172	0.136	0.093	0.043	0.111	0.715	0.942	0.521	0.859	1.074
3 weeks	0.270	0.269	0.131	0.090	0.124	0.954	1.430	0.719	1.376	1.161
4 weeks	0.240	0.194	0.110	0.076	0.148	1.049	1.434	0.790	1.371	1.390
5 weeks	0.251	0.193	0.116	0.072	0.148	1.235	1.514	0.845	1.509	1.381
6 weeks	0.191	0.141	0.112	0.036	0.158	1.166	1.397	0.801	1.419	1.377
7 weeks	0.276	0.213	0.133	0.086	0.403	1.454	1.692	1.083	1.703	1.523
8 weeks	0.228	0.162	0.096	0.083	0.370	1.276	1.552	1.032	1.543	1.503
9 weeks	0.272	0.199	0.129	0.103	0.583	1.462	1.752	1.179	1.755	1.673
10 weeks	0.278	0.216	0.134	0.113	0.552	1.254	1.631	1.046	1.667	1.470
mean	0.236	0.193	0.118	0.077	0.271	1.111	1.423	0.848	1.396	1.360
S.D.	0.041	0.039	0.015	0.024	0.188	0.302	0.292	0.240	0.337	0.205
%RSD	17%	20%	13%	31%	69%	27%	21%	28%	24%	15%

③ 2차원 패턴분석에 의한 부패냄새 구별

홍로 사과시료에 대한 2차원의 패턴분석을 진행하기 위하여, 3종류(control, A9, A10)의 홍로 사과시료를 확보하여 약 10주 동안의 냄새변화 양상을 모니터링하여 2개의 반도체식 가스센서에 의한 2차원 패턴분석결과(기울기)를 산출하여 냄새종류 변화에 따른 추이를 관찰하였다.

참고로 홍로 사과시료 control은 10주 동안에 신선한 사과냄새를 나타내었던 대조군 시료이고, A9는 모니터링 초기에는 control과 같은 신선한 사과냄새를 나타내다가 약 6주 이후에는 부패하기 시작하는 시료이다. A10은 처음부터 부패가 진행된 사과시료이다.

아래 그림은 모니터링 기간 동안의 각 홍로 사과시료의 보관기간에 따른 2차원의 패턴 분석결과를 나타낸 것으로 처음부터 부패가 진행된 A10은 약 1.5 predict value(TGS 2602 Vs TGS 2603)을 계속해서 보이는 반면 신선한 사과인 control 시료는 약 6 ~ 9 predict

value를 보여주고 있어, 냄새의 차이가 명확히 다를 수 수치적으로 산출할 수 있었다.

특히 모니터링 초기엔 신선한 사과냄새가 나던 A9 시료가 약 6주 이후부터는 부패가 진행되어 냄새의 종류가 변화되는 것으로 관능적으로 확인하였고, 이러한 결과를 아래 그림의 predict value 추이로 확인할 수 있는 결과를 얻었다. 부패가 진행된 6주를 전후하여 predict value 값이 4 이하로 떨어지는 것으로 보아 2차원 패턴분석결과를 통해서도 냄새의 변화를 감지할 수 있는 결과를 확인하였다.

따라서 신선한 홍로 사과냄새와 부패냄새를 구별할 수 있는 경계값(boundary value)을 확보한다면 충분히 홍로 사과의 신선한 사과냄새와 부패냄새를 구분할 수 있을 것으로 기대되며, 2개의 가스센서에 의한 2차원 패턴분석방법에 대한 로직이 충분한 가능성이 있음을 확인할 수 있는 결과를 얻었다.

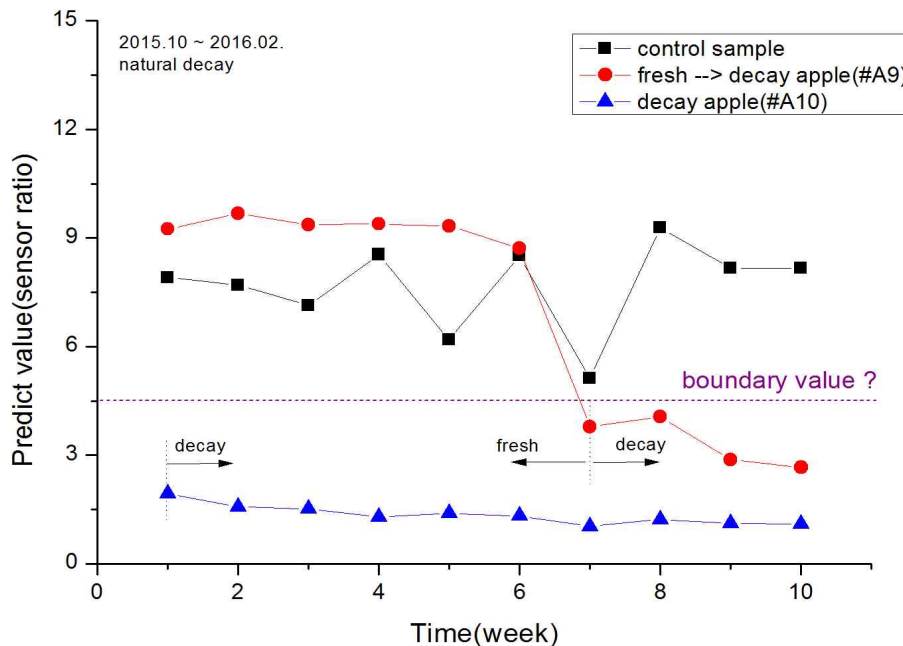


그림 261. 홍로 사과시료의 냄새종류에 따른 2차원 패턴분석 결과의 추이

동일한 방법으로 2개의 가스센서에 의한 부패냄새 감지 및 예측한지를 검증하기 위해 부사 사과시료에 대한 2차원의 패턴분석을 홍로 사과시료처럼 일정 주기로 냄새모니터링을 진행하였다.

부사 사과시료의 명확한 부패과정을 유도하기 위해 인공적으로 부패균을 접종하여 부패과정을 유도하였고, inoculation apple 1 시료에는 *Botryosphaeria dothidae* 병원균을 그리고 inoculation apple 2 시료에는 *Penicillium expansum* 부패균을 접종하여 인공적인 부패과정을 유도하였다.

아래 그림은 부패원인균을 접종한 이후 control 부사 사과시료와의 2차원 패턴분석결과를 추출하여 정리한 결과이며, 부패균 접종 후 약 6일 이후에 부패가 진행되면서 2차원

패턴분석결과인 Predict value가 2 이하로 급격이 감소함을 명확히 확인할 수 있다. 이와는 반대로 control 부사 사과시료의 Predict value는 계속 증가하여 전혀 다른 냄새발생 특성을 보여주고 있다.

이상의 결과에서 2개의 가스센서의 반응성 차이로 냄새의 종류를 구분할 수 있는 2차원의 패턴분석방법에 대한 가능성을 다시 한번 확인할 수 있었으며, 신선 농산물의 종류에 따른 특정 경계값(boundary value)를 DB로 관리한다면 부패냄새와 신선한 농산물 냄새를 구분할 수 있을 것으로 기대된다.

특히 복잡한 전자코 시스템을 활용하지 않고 간단히 2개의 가스센서의 조합만으로 부패냄새를 구분할 수 있는 로직을 1차 검증하였고, 향후 전자코 시스템의 냄새지문과 연동하여 활용한다면 좀 더 다양한 활용이 가능할 것으로 기대되며, 2차원 패턴해석 로직을 구현한 부패냄새 감지기 시작품을 개발하는데 중요한 기초 데이터를 확보할 수 있었다.

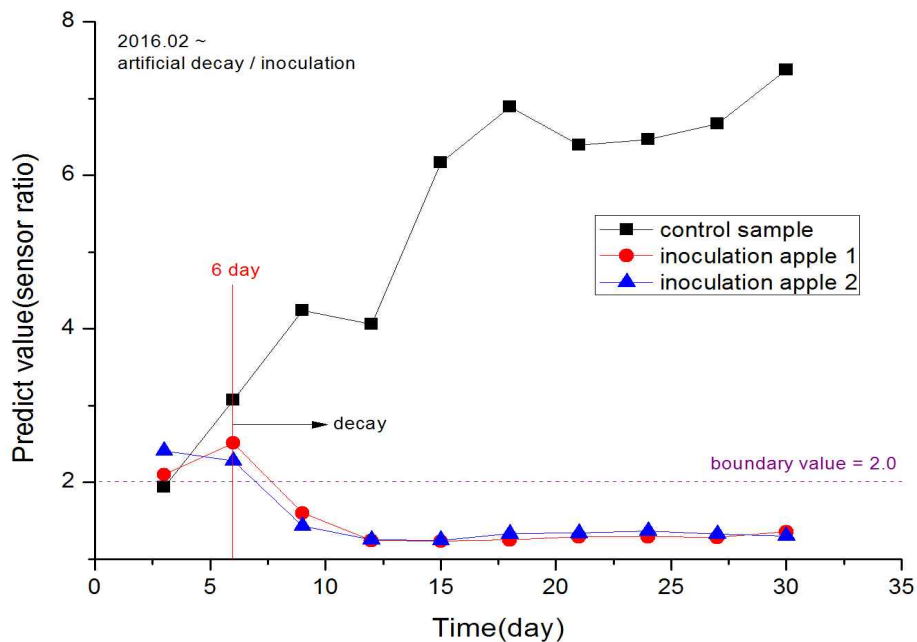


그림 262. 부사 사과시료의 냄새종류에 따른 2차원 패턴분석 결과의 추이

(다) Cloud 방식의 냄새지문 플랫폼 개발

① 테스트용 냄새지문 플랫폼 개발의 방향

부패감지기를 통한 냄새지문 플랫폼의 개발을 위한 테스트용 플랫폼은 아래 그림과 같이 부패감지기 모듈에 별도의 통신모듈을 구축하지 않고, 윈도우 PC용 운영프로그램을 통해서 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보를 수집하고 이를 DB화하는 방법으로 테스트 개발을 진행하였다.

Dual sensor 모듈을 적용한 부패감지기 시제품은 반도체식 가스센서, 가스센서 manifold, 메인 PCB, 펌프, 솔레노이드 밸브, 활성탄 필터 등으로 구성되며, 이렇게 구축된 하드웨어에 시스템 제어 및 데이터수집/저장/처리를 위한 별도의 윈도우용 운영 프로그램을 구축하고, 윈도우용 운영 프로그램 상에서 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보를 DB화 하거나 서버 등으로 전송될 수 있도록 개발하였다.

Web DB 서버와 같은 최종 DB 시스템에 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보는 WiFi 또는 TCP/IP 등의 인터넷 접속방식으로 데이터를 전송하도록 하고, 추후 부패감지기 최종 개발품에는 자체 통신기능을 구현하여 별도의 운영 프로그램 없이 DB 시스템에 데이터의 전송이 가능하도록 개발하고자 한다.



그림 263. 테스트용 플랫폼 구축의 방향

② 통신 방식을 이용한 냄새지문 업데이트 기능

테스트용 플랫폼으로 구축된 윈도우 PC용 프로그램 내의 내부 DB 메모리에 냄새지문 또는 가스센서 비율 등에 관한 정보를 업데이트할 수 있도록 프로그램을 구성하였고, 관련 정보는 별도 기능 툴을 통하여 TCP/IP 통신모듈을 통해 DB 서버 등으로 전송이 가능하도록 구현하였다.

윈도우 PC용 운영 프로그램 상의 냄새지문 또는 가스센서 비율 등의 DB 정보를 업데

이트 할 수 있도록 구현된 기능 툴을 보여주고 있으며, 표준가스의 성분 및 신선 농식품의 부패상태 등을 나타내는 냄새지문 등의 정보를 입력할 수 있도록 구현된 테스트 프로그램이다.

기본적으로 테스트용 플랫폼에서는 PC 기반의 DB 저장 공간에 관련 정보들이 저장되며, 업데이트된 정보들은 [교정정보] 창을 통해 입력되거나 업데이트된 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보를 확인할 수 있도록 구성하였다.

이처럼 부패감지기의 냄새지문 및 신선 농식품의 부패상태를 모니터링할 수 있는 가스센서 비율 등은 윈도우용 운영 프로그램을 통해 WiFi 또는 TCP/IP 등의 통신방식으로 DB 서버 등에 업데이트되도록 구성하는 것이 안정적인 것으로 판단된다.

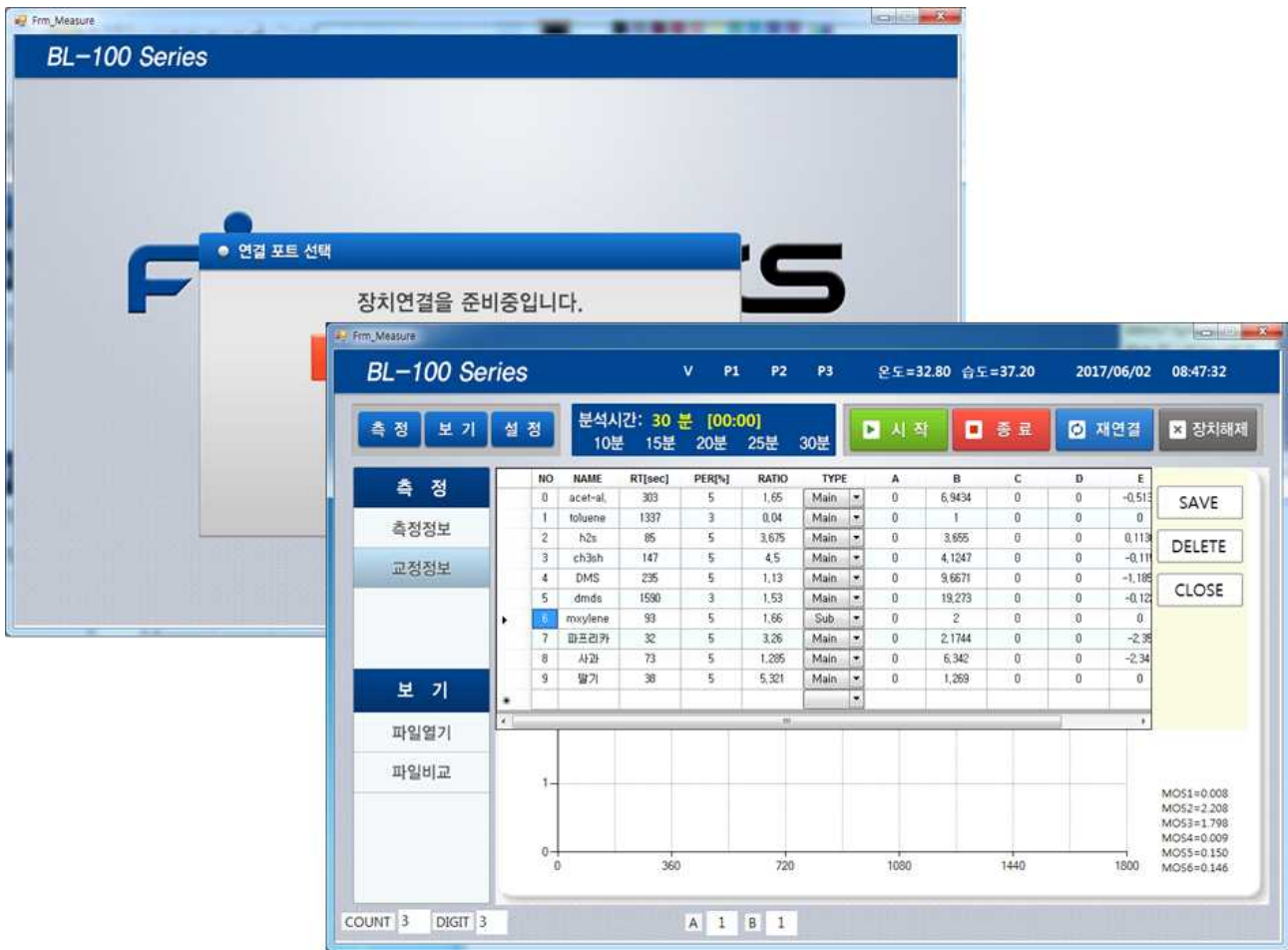


그림 264. 테스트용 플랫폼의 윈도우용 운영 프로그램 및 DB 데이터 창

③ 저장매체를 이용한 냄새지문 업데이트 기능

냄새지문 및 신선 농식품의 부패상태를 나타내는 가스센서 비율 등의 정보는 프로그램 상의 [Library] - [Conc] 디렉토리의 Concfile.dat에 관련 정보가 저장되어 있어 있으며, 이러한 정보는 냄새 종류 등으로 구성된 프로토콜에 따라 순차적으로 저장되어 있다.

이에 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보를 텍스트 파일에서 수정/저장이 가능하여 별도의 프로그램 업데이트 없이도 수정/입력이 가능하도록 구성하였다.

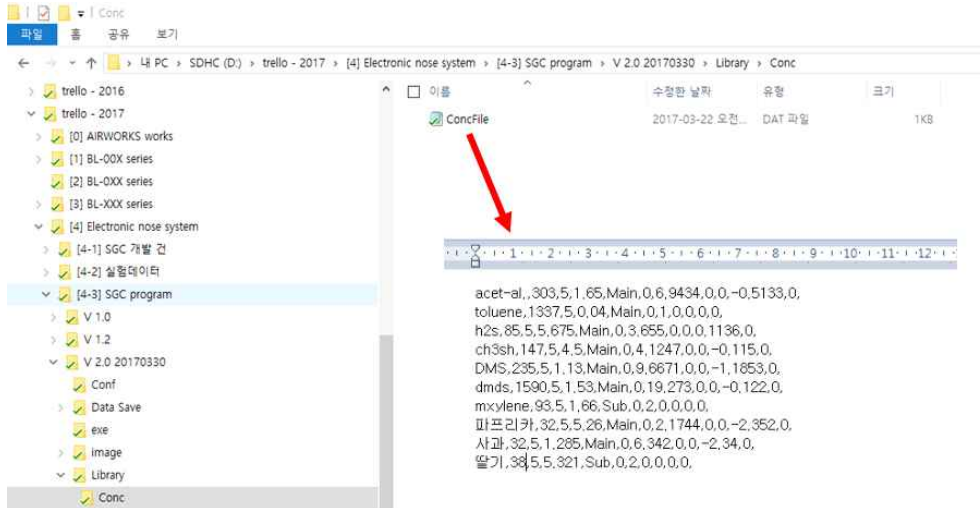


그림 265. 냄새지문 및 가스센서 비율 등의 정보가 저장된 DB 파일

④ Data 통신 프로토콜 정립

부패감지기를 통해 측정된 다양한 냄새정보는 아래 체계도와 같은 프로토콜 정보로 구성되어 DB 서버 등으로 전송될 수 있도록 구성되어야 하며, 기본 프로토콜 정보는 측정 기기에 대한 정보, 측정 대상 신선 농식품의 종류, 표준시료의 측정인지 아니면 시료의 측정인지에 대한 정보, 냄새지문 및 센서비율, 온도/습도 정보 그리고 가스센서의 상태 및 데이터의 송/수신 상태를 나타내는 정보로 구성될 수 있다.

최종 부패감지기의 통신 프로토콜 정보는 추후 정보 활용의 범위 등에 따라 추가/보완이 필요할 것으로 판단되며, 아래 그림에서 정리한 프로토콜을 기본정보로 하는 통신 규격을 확립하고자 한다.

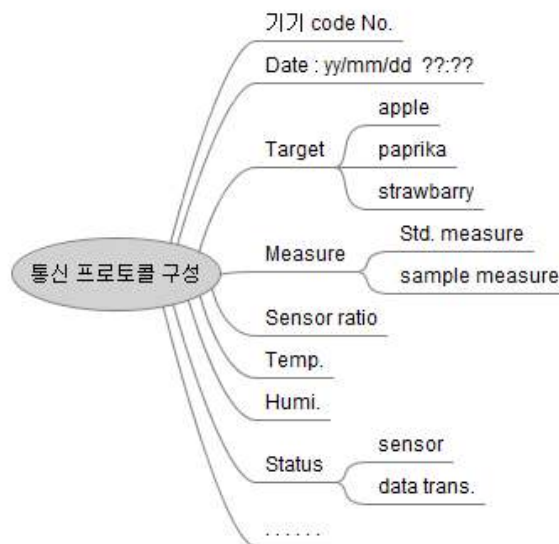


그림 266. Data 통신 프로토콜의 구성 예

(5) Dual 센서를 이용한 Lab-scale 냄새측정 장치

(가) 부패냄새 감지기 시작품의 개발

① 시작품 개념설계

부패냄새 패턴분석방법은 다양한 가스센서를 어레이로 조합한 전자코 시스템의 형태가 아닌, 간단히 2개의 가스센서에서 출력되는 신호를 분석하여 신선 농식품의 신선도, 부패 정도를 판단할 수 있는 방법을 도입하고자 한다.

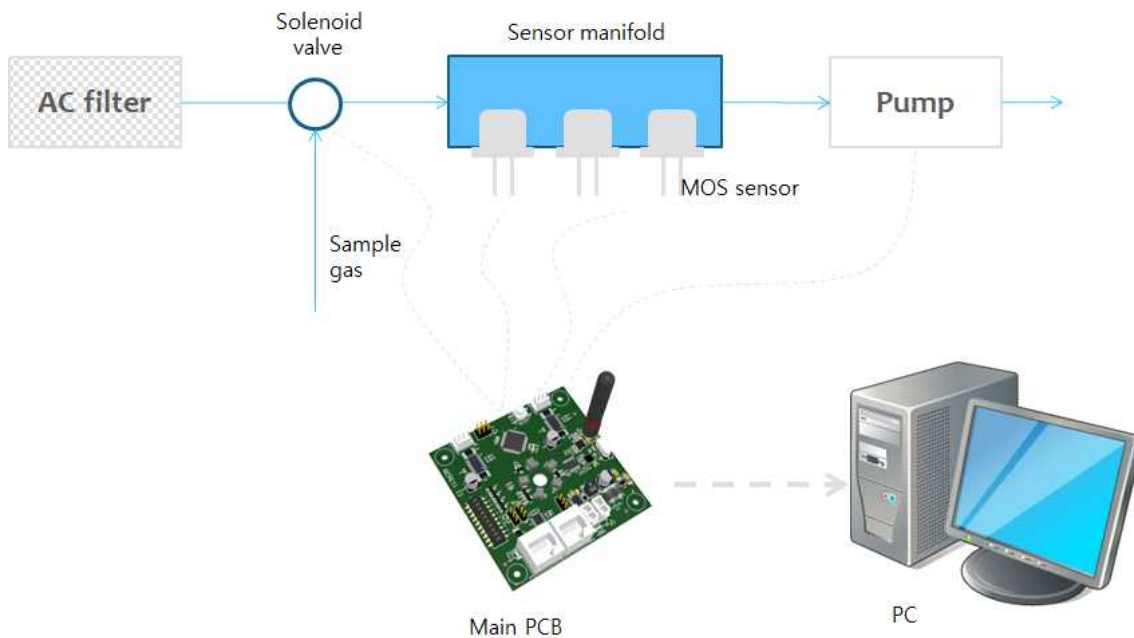


그림 267. 부패냄새 감지를 위한 Lab-scale 냄새측정기 개념

Lab-scale의 냄새측정 장치는 기 확립된 2차원 패턴분석기술을 적용하여 간단한 시작품을 개발, 제작하여 신선 농식품의 냄새를 평가할 수 있도록 구성하였다. 아래 그림은 2개의 가스센서를 활용하여 Lab-scale용 냄새측정기 제작에 관한 개념도를 나타내고 있으며 공기 및 시료가스의 흡입을 위한 펌프, 무취공기를 공급할 수 있는 활성탄 필터, 데이터 수집 및 시스템 제어를 위한 PCB 등으로 구성이다.

신선 농식품의 부패냄새를 측정하지 않는 [안정화 단계]에서는 활성탄 필터를 통과한 무취공기가 공급되고, 신선 농식품의 부패냄새를 측정하는 [측정 단계]에서는 솔레노이드 밸브의 유로를 변경하여 무취공기가 아닌 시료가스가 가스센서로 공급될 수 있도록 구성하였다. 측정 단계에서 수집된 가스센서의 측정값을 메인 PCB에서 수집하여 통신모듈을 통해 PC 및 서버 등으로 데이터의 전송이 가능하도록 고안하였다.

② Lab-scale 부패감지기 시작품 제작

아래 그림과 같이 4개의 가스센서, 2개의 온/습도센서의 장착이 가능한 메인 PCB를 설계하였고, 100 × 85 mm 크기의 소형으로 DC 12V의 전원을 인가하여 작동되며 측정되어진 가스센서의 데이터는 USB type의 출력포트를 통하여 데이터를 PC 등으로 전송하는 방법으로 설계하였다. 메인 PCB에서는 솔레노이드 밸브, 펌프 등의 전원을 별도로 제어할 수 있도록 제작하였고, 릴레이 소자를 활용하여 솔레노이드 밸브, 펌프 등의 제어가 가능한 상황이다.

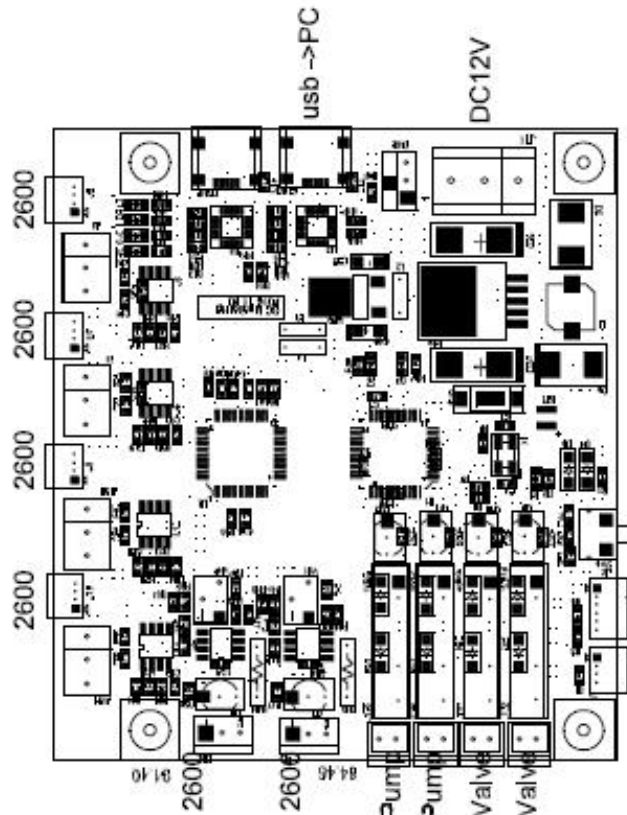


그림 268. 부패감지기 메인 PCB 설계 자료

설계/제작된 메인 PCB와 가스센서, 솔레노이드 밸브, 펌프 등으로 구성된 시작품의 제작사진을 보여주고 있으며, 가스센서의 교체가 용이하도록 케이스 외부에 간단히 고정하여 작동될 수 있도록 하였다.

시작품 제작에 활용된 가스센서는 기 개발되어진, 2차원 패턴분석이 가능한 TGS 2602와 2603 가스센서가 장착될 수 있도록 하였고, 실시간으로 수집된 가스센서의 출력값으로부터 부패정도를 판단할 수 있는 가스센서 비율을 산출하게 된다.

윈도우 PC용 운영 프로그램과 연동된 부패감지기 시작품의 사진을 보여주고 있으며, PC 운영 프로그램에서 시작품의 제어가 가능하며 가스센서의 실시간 데이터를 수집/저장하며 별도의 통신모듈을 통해 데이터의 전송이 가능하도록 프로그램의 업그레이드를 진행하고 있다.

또한, 윈도우 PC용 운영 프로그램에서 시료가스의 흡입시간 및 데이터 수집시간 등의 설정이 가능하여 별도의 수동적인 조작이 필요하지 않도록 구성하였고, 2개의 가스센서에서 획득된 결과로부터 가스센서 비율(ratio)을 자동 산출된다.

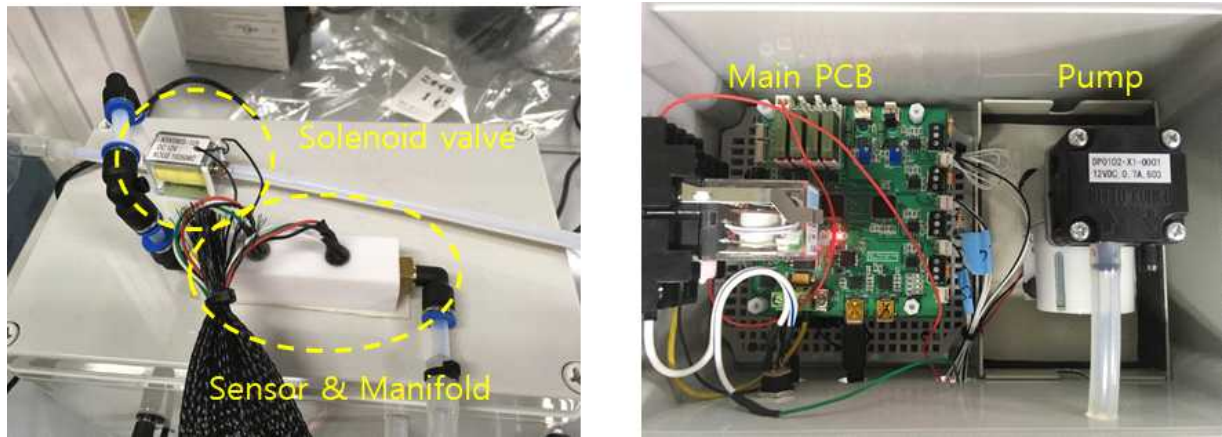


그림 269. 부패감지기 시작품의 사진

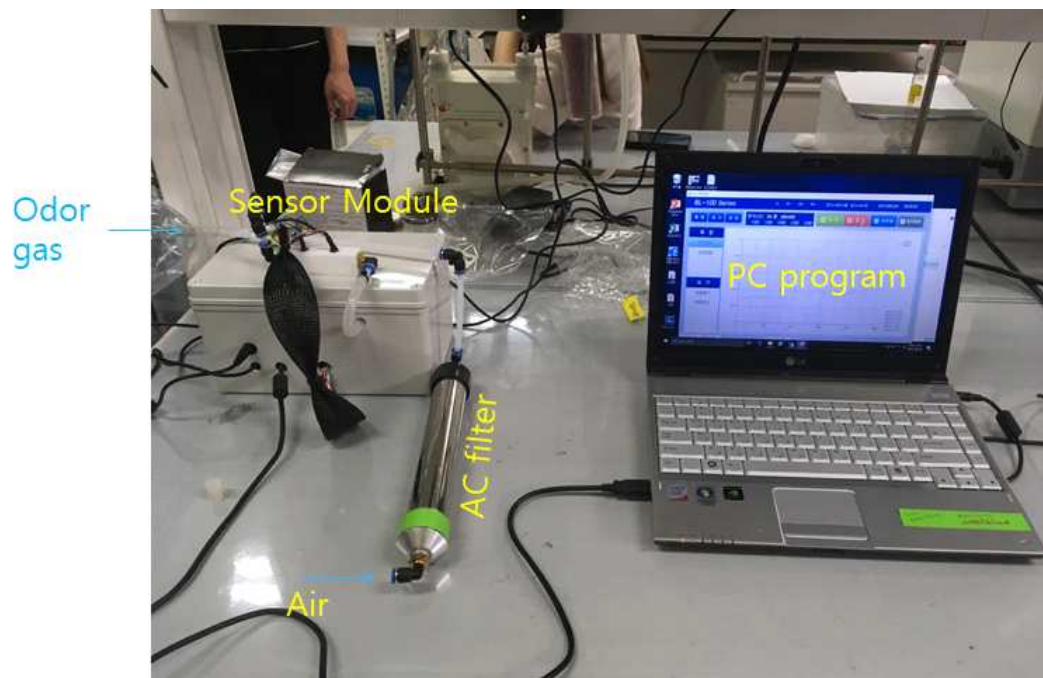


그림 270. Lab-scale 부패감지기 시작품 제작 사진

(나) 부패냄새 감지기 시작품의 성능평가

① 부패감지기 시작품을 활용한 파프리카 냄새측정

파프리카 시료에 *Fusarium proliferatum*(FP), *Fusarium lactis*(FL), *Botrytis cinerea*(BC) 등의 3종의 곰팡이 균을 인공 접종하여 부패가 일어날 수 있는 조건을 만들었고, 인공접종이 진행된 이후 9일차 및 13일차에 부패감지기 시작품을 활용하여 부패냄새를 측정하였다.

부패감지 시작품의 성능을 평가하기 위해 준비한 시료는 부패균이 접종되지 않은 control 시료와 PDA 영양배지만을 접종한 PDA 접종시료 그리고 FP, FL, BC 곰팡이 균을 접종한 시료 각 3개씩을 준비하여 부패를 진행하였다.

각 시료의 부패 단계별 전과정을 모니터링하지 않고, 부패가 진행되는 9일차 및 13일차에 각 시료의 부패 상태를 확인하고 부패감지기 시작품으로 냄새를 측정하였다. 부패균이 접종되지 않은 시료와 부패미생물이 접종된 시료 간의 부패 상태에 따른 부패감지기의 가스센서 비율(ratio)을 비교하여 부패감지기의 성능을 평가하였다.

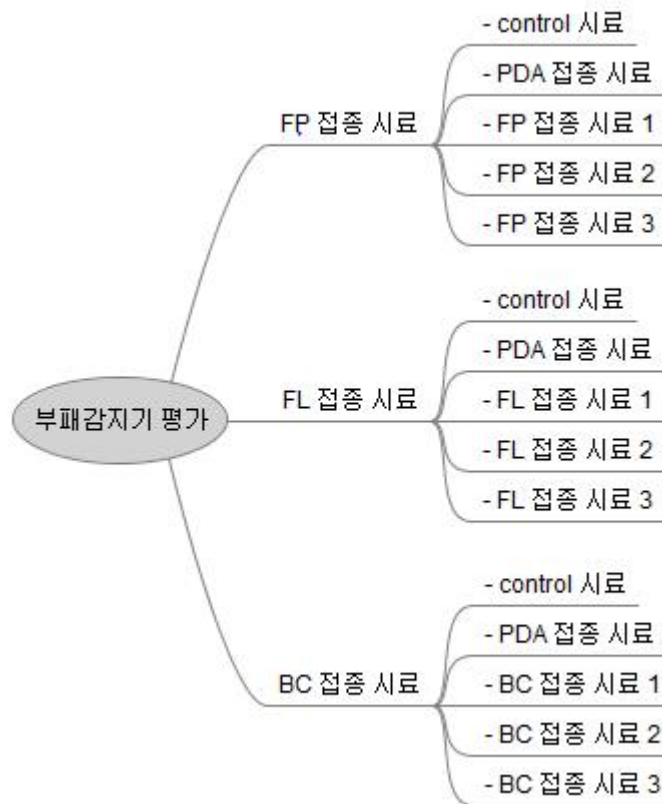


그림 271. 부패감지기 성능평가를 위한 시료분류

아래 그림은 부패가 진행된 이후 9일차 및 13일차에 파프리카 시료의 냄새를 부패감지기 시작품으로 측정하여 얻은 가스센서 비율을 비교한 결과이고, 곰팡이 번식이 확인된 부패가 진행된 시료에서는 가스센서 비율이 2 이하로 감소하는 것을 명확히 확인하였다.

또한, 9일차에는 control 시료와 PDA 접종 시료에서 부패가 확인되지 않은 상황이었고, 부패감지기의 가스센서 비율에서도 2 이상의 값을 나타내고 있는 것을 확인하였고, 13일차 이후에는 일부 control 시료와 PDA 접종 시료에서도 곰팡이 등이 확인되면서 부패가 일부 진행된 상황으로 보였고, 부패감지기의 가스센서 비율에서도 부패가 진행된 시료에 대해서는 가스센서 비율 2 이하로 감소하는 명확한 결과를 확인하였다.

이에 Lab-scale로 제작된 부패감지기 시작품에 의한 신선 농식품의 부패냄새에 대한 측정을 통하여 부패진행 여부를 확인할 수 있었으며, 이렇게 측정된 결과를 플랫폼의 통신 모듈을 통해 DB화하여 신선 농식품의 품질관리가 가능할 것으로 기대되었다.

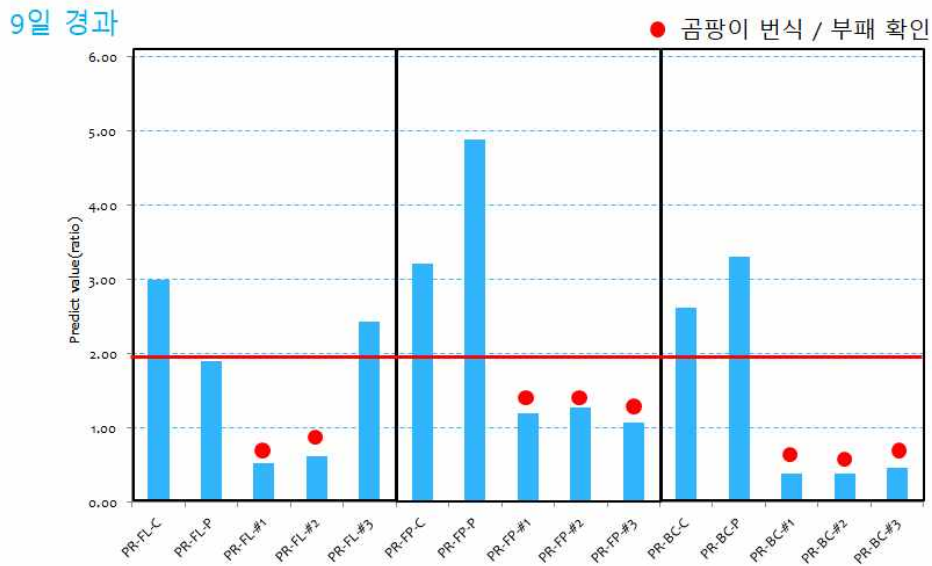


그림 272. 부패감지기에 의한 부패냄새 측정결과 : 9일차

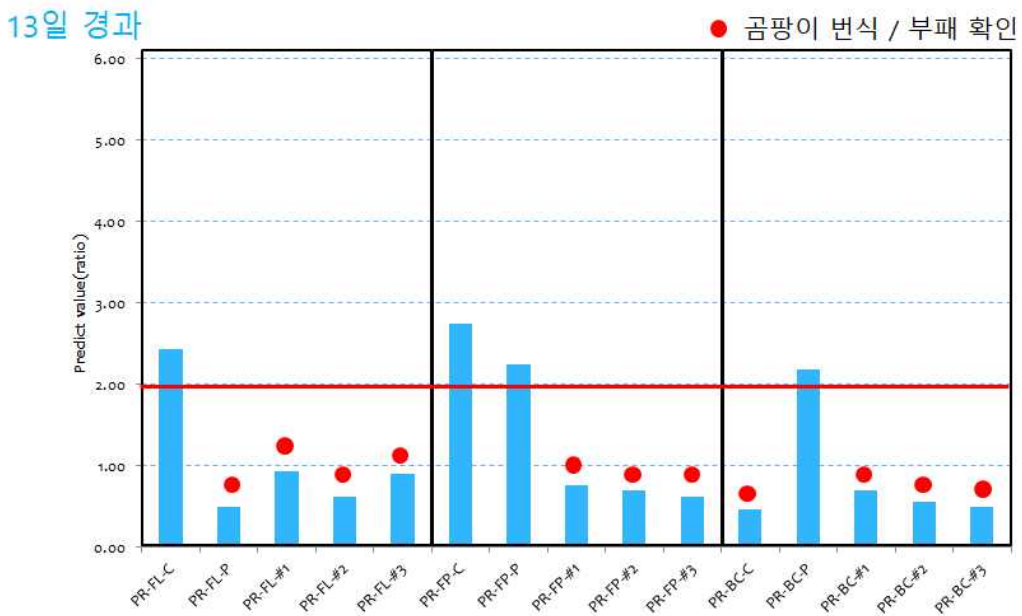


그림 273. 부패감지기에 의한 부패냄새 측정결과 : 13차

(6) Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발

(가) Dual 가스센서 기술을 이용한 휴대용 부패 감지기 시제품 개발

① 부패 감지기 시제품의 구성

㉞ 시제품 개발을 위한 개념도

부패 감지기 시제품은 현장 또는 실험실에서 측정되어진 부패 정도값을 cloud 방식의 서버시스템과 연동될 수 있도록 구성하였다. 부패 감지기의 기본 작동은 감지기 내부에 존재하는 제어모듈에 의해 작동되는 것이 아니라, 외부의 스마트 기기(스마트폰/스마트패드, Android OS)와 Bluetooth로 연결되어 전용 어플리케이션으로 작동된다.

전용 어플리케이션은 안드로이드 OS를 기반으로 제작되며, 부패 감지기의 하드웨어를 제어할 수 있도록 개발하였다. 전용 어플리케이션의 메인 화면에서는 측정하고자 하는 신선 농식품의 종류를 선택하고 냄새를 측정의 시작을 제어할 수 있는 아이콘과 부패 감지기에 적용된 2개 가스센서의 실시간 profile을 표출하도록 하였다.

또한 전용 어플리케이션의 설정 창을 통해 부패 감지기의 작동 조건을 변경할 수 있으며, 개별 신선 농식품의 부패발생 예측값(predict value)을 입력하여 별도 관리할 수 있는 기능을 구현하였다. 측정되어진 냄새/부패발생 예측값은 1차적으로 스마트 기기에 모든 데이터가 저장되고, 저장된 부패발생 예측값은 스마트 기기에서 직접 cloud 방식의 서버 시스템에 전송되지 않고 부패 감지기에 내장된 WiFi 모듈을 통해 별도 전송되도록 구성하였다. 이는 개인 스마트 기기에서 직접 서버 시스템으로 데이터를 전송하는 경우에는 개인정보 등도 함께 전송되어야 하는 단점이 있어, 개인정보를 거치지 않고 부패 감지기를 통해 간접적으로 서버시스템에 전송될 수 있도록 구축하고자 한다.

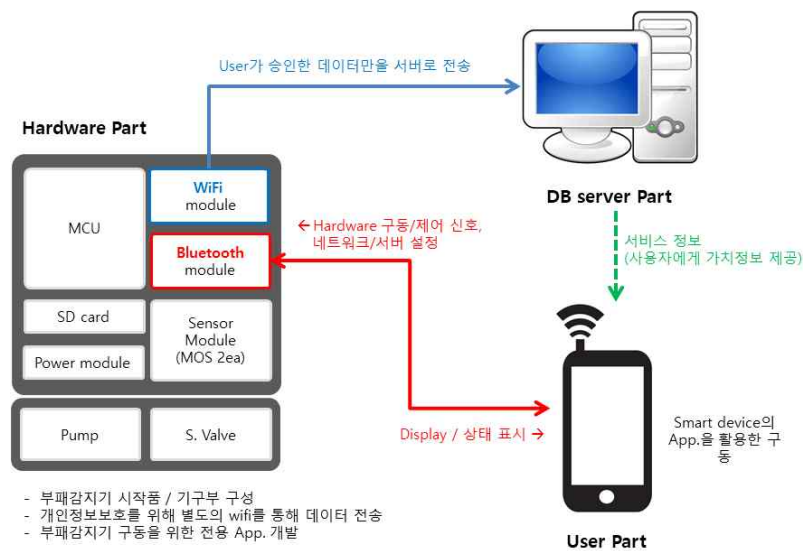


그림 274. Cloud 방식의 부패 감지기 개발을 위한 개념도

㉔ 시제품의 내부 구성

부패 감지기 시제품의 내부에는 선정된 2개의 가스센서와 시료 가스를 흡입할 수 있는 진공펌프, 신선 농식품의 부패 냄새를 측정하지 않는 조건에서는 가스센서 부로 무취의 깨끗한 공기를 공급하기 위한 활성탄 필터 카트리지가 그리고 부패 냄새와 깨끗한 무취공기의 공급을 제어하는 솔레노이드 밸브 등으로 구성하였다.

내부 구조물 중에서 활성탄 필터 카트리지를 제외한 모든 구성품은 메인 PCB와 연결되어 스마트 기기로 제어되며, 메인 PCB에는 Bluetooth, WiFi 무선통신 모듈이 각각 장착하였다. Bluetooth 통신모듈은 부패 감지기와 스마트 기기와 연동되어 하드웨어를 제어하기 위한 통신으로 활용하고, WiFi 통신모듈은 최종 측정되어진 부패발생 예측값을 Cloud 방식의 서버 시스템에 전송하기 위한 용도로 활용하였다.

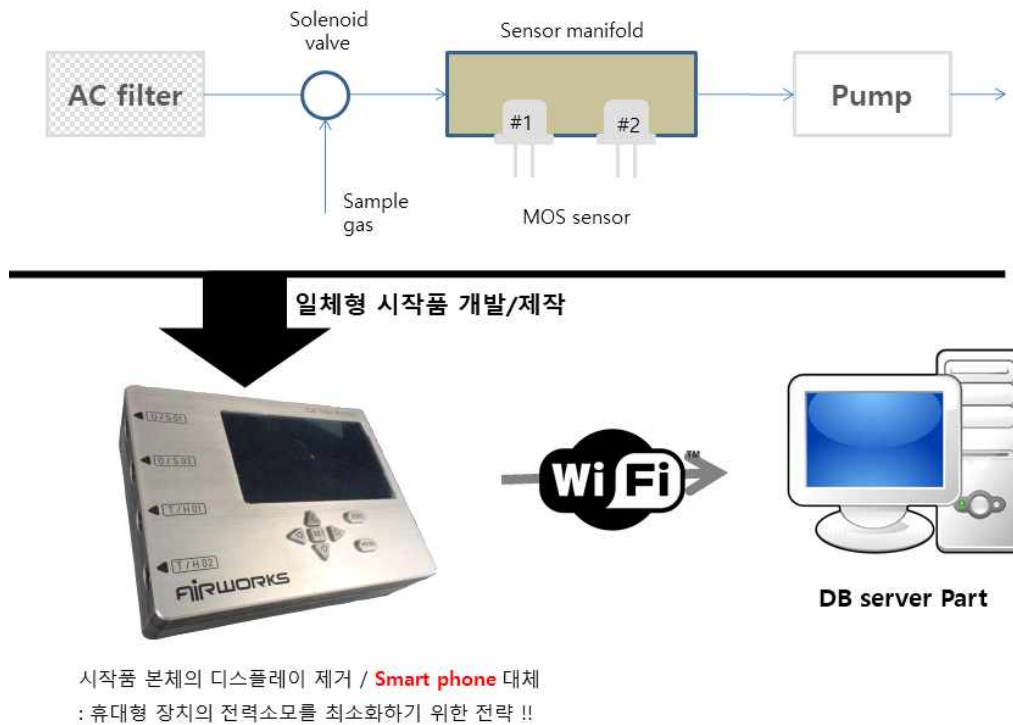


그림 275. 부패 감지기 내부 구성도

㉕ 시제품 무선통신 및 어플리케이션 구성

부패 감지기 시제품의 구동은 기본적으로 본체와 Bluetooth로 연동된 스마트 기기를 통하여 제어되고, 어플리케이션의 메인 화면에 구성된 [START] 버튼으로 명령을 입력하게 된다.

어플리케이션의 [START] 입력 정보(①)에 의해 부패 감지기 본체로부터 개별 가스센서 데이터를 스마트 기기로 전송(②)하고 스마트 기기에서 부패발생 예측값을 산출(③)하고, 산출된 부패발생 예측값은 다시 부패 감지기 본체로 전송(④)되어 최종 WiFi 모듈을 통해

서버시스템으로 전송(⑤)되는 절차를 거치게 된다.



그림 276. 부패 감지기 제어를 위한 어플리케이션 작동 개념도

안드로이드 방식의 어플리케이션 프로그램은 일반 디스플레이 창과 설정 창을 크게 구분할 수 있으며, 일반 디스플레이 창에서는 본체의 작동 시작을 명령하는 아이콘과 가스 센서의 실시간 profile을 표출한다.

설정 창에는 본체의 구동시간, 밸브 작동시간 등을 설정할 수 있는 기능과 신선 농식품의 부패발생 정도를 관리할 수 있는 임계값을 입력할 수 있도록 구성하였다. 입력할 수 있는 신선 농식품은 본 연구에서 중점 연구된 사과, 파프리카, 딸기이며 각각의 임계값을 입력하는 별도의 창을 구성하였다.

부패 감지기 본체의 WiFi 모듈을 통해 서버 시스템으로 데이터를 전송하기 위해서는 별도의 서버 IP 등의 정보도 사전에 입력이 필요한 상황이며, 이는 별도의 윈도우용 설정 프로그램을 통해 설정할 수 있도록 구성하였다.

② 부패 감지기 시제품 제작

㉞ 부패 감지기 시제품 설계

부패 감지기 시제품은 아래 그림과 같이 박스형태의 휴대용 제품으로 제작하고, 본체 내부에는 메인 PCB, 가스센서, 솔레노이드 밸브, 진공펌프 및 활성탄 카트리지로 구성하였다. 부패 감지기의 본체 크기는 약 200 × 170 × 120 mm로 알루미늄 재질의 박스로 제작하고자 설계하였다.

부패 감지기 외부의 냄새흡입구는 신선 농식품의 냄새를 잘 채취하여 가스센서로 공급

할 수 있도록 갈때기를 별도 제작하여 제공하고자 한다.

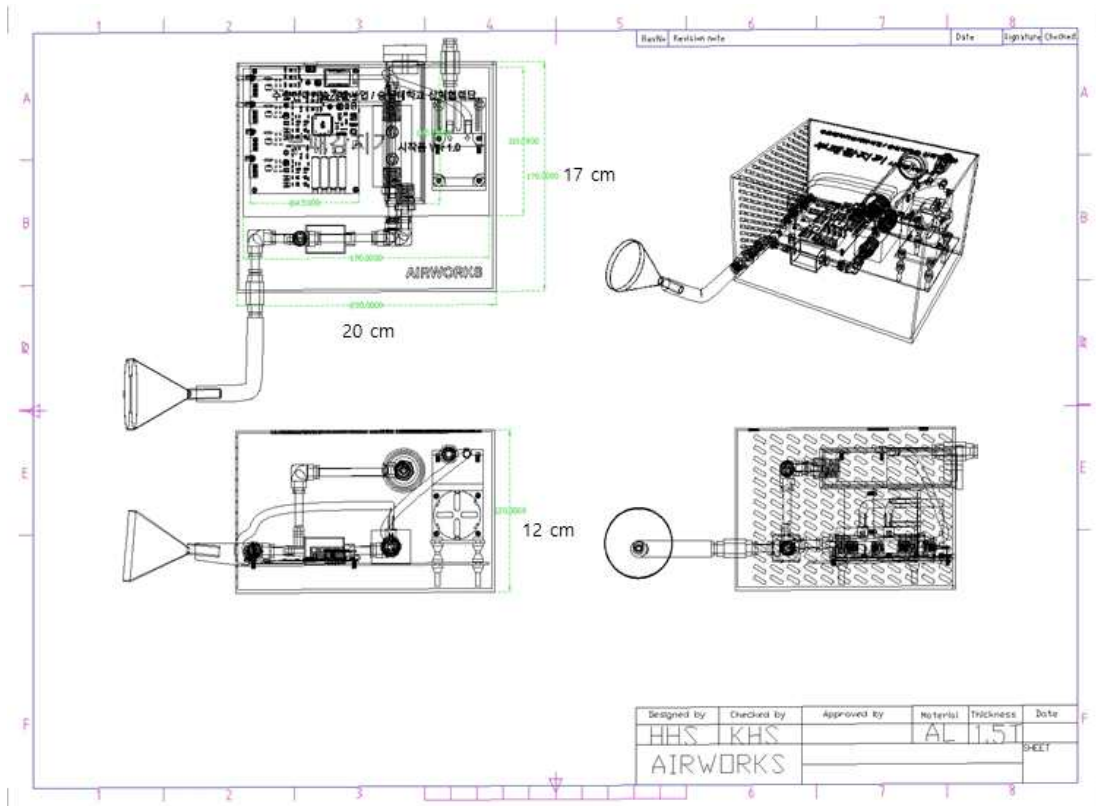


그림 277. 부패 감지기 시제품 제작을 위한 예비도면

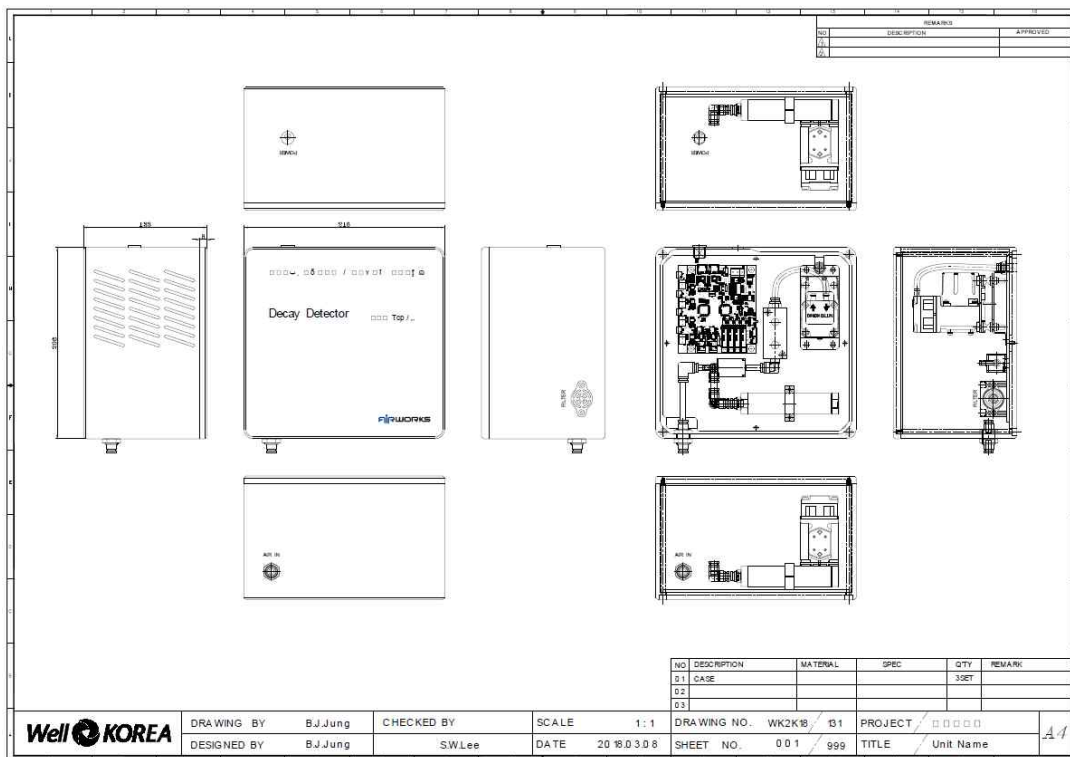


그림 278. 부패 감지기 시제품 제작을 위한 상세도면

㉞ 부패 감지기 3D 설계

아래 그림은 제작될 부패 감지기의 3D 설계 자료이고, 본체에 DC 전원을 공급하는 전원 포트와 부패냄새 가스가 유입되는 유입구로 구성하였다. 본 시제품은 안드로이드 방식의 어플리케이션으로 모든 기능이 제어되므로 본체에서는 별도의 디스플레이를 제공하지 않으며, 부패 감지기의 현재 상태를 확인하려면 항상 어플리케이션이 연동되어야 한다. 본체의 내부에는 메인 PCB가 바닥에 고정되고 PCB 좌측에 2개의 가스센서를 장착하기 위한 manifold와 진공펌프가 위치하고, PCB 아래쪽에는 솔레노이드 밸브가 위치하도록 구성하였다. 부패냄새 가스의 이동경로를 중심으로 부패냄새 흡입구, 솔레노이드 밸브, 가스센서 그리고 진공펌프 순으로 흐름이 구성되고, 가스 흐름의 마지막 후단에 진공펌프를 구성하여 진공펌프에 의한 냄새측정 오차를 최소화 하였다.

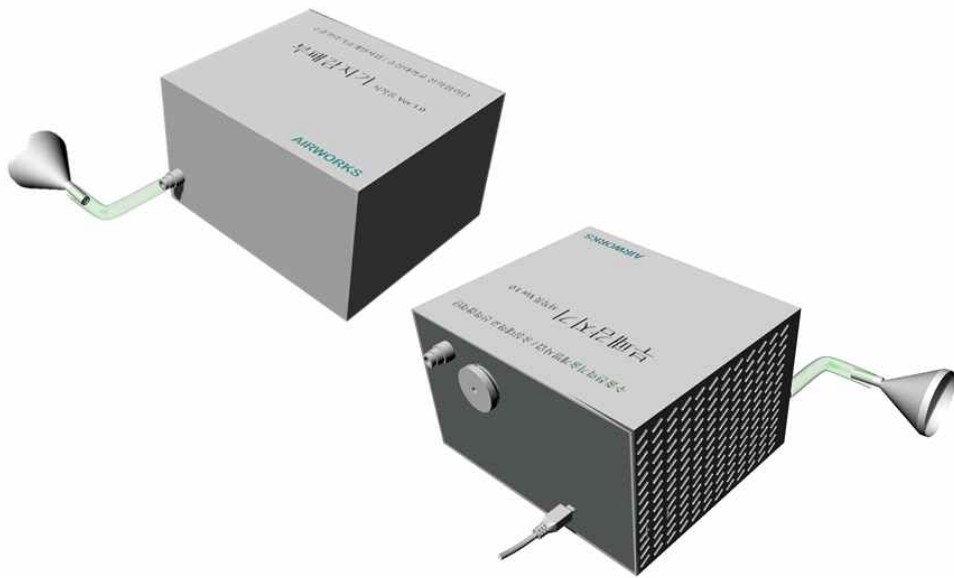


그림 279. 부패 감지기 시제품의 3D 외형도

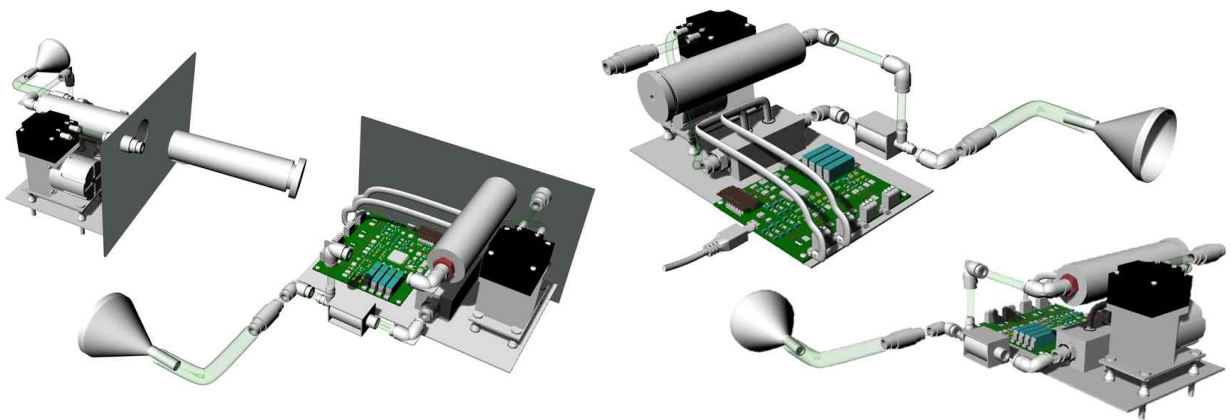


그림 280. 부패 감지기 시제품의 3D 내부 구성도

㉔ 부패 감지기 시제품 제작

부패 감지기 시제품의 메인 PCB는 3개를 제작하였고, 이에 알루미늄 재질의 외형 케이스도 각각 3세트를 제작하였다. 메인 PCB로부터 가스센서, 진공펌프 및 솔레노이드 밸브는 각각 유선으로 연결되도록 제작하였고, 가스가 이동하는 내부의 배관은 테프론 재질 ($\phi 4$)로 피팅류에 연결하였다.

부패 감지기 본체의 몸통 부분은 알루미늄 블록을 식각하여 내부를 통으로 제작하였고, 뚜껑을 제작하여 박스형태의 시제품을 제작하였다. 본체의 측면에는 환기 및 통신이 원활하게 빗살무늬의 구멍을 제작하였고, 내부에서 특별한 발열 부품이 구성되어 있지 않으므로 별도의 환기장치는 장착하지 않았다.



그림 281. 부패 감지기 시제품의 메인 PCB 사진



그림 282. 부패 감지기 시제품의 내부 및 제작 사진

㊤ 부패 감지기 시제품의 어플리케이션 개발

아래 그림은 부패 감지기 시제품의 제어를 위해 제작된 안드로이드 방식의 어플리케이션 프로그램(구글 스토어에 미등록)이며, 스마트 기기에 프로그램을 복사하여 설치할 수 있다. [부패감지기]라는 어플리케이션 프로그램을 실행하여 부패 감지기를 작동시킬 수 있도록 제작하였다. 어플리케이션 프로그램을 실행시키면 Bluetooth 장치를 선택하는 창이 가장 먼저 나타나며, 이 창에서 [SD-DJU001]이라는 Bluetooth 장치를 선택하면 된다.

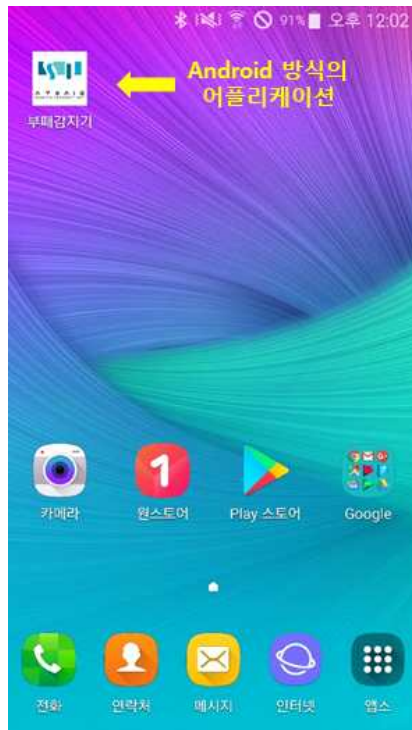


그림 283. 스마트 기기에 설치된 어플리케이션 프로그램



그림 284. 어플리케이션 프로그램의 Bluetooth 장치 선택

[SD-DJU001]은 제작된 시제품의 일련번호를 의미하며 나머지 2대의 시제품은 [SD-DJU002], [SD-DJU003] 등으로 시제품 장치를 구분할 수 있으나, 하나의 스마트 기기 로 동시에 여러 대의 시제품과 연동은 불가능 하다.

아래 그림은 Bluetooth 장치를 선택한 이후에 나타나는 메인 화면이며, 왼쪽편에는 [START] 버튼과 상태표시창으로 구성되고 오른쪽은 부패냄새에 따라 변화하는 2개의 가스센서 profile 창으로 구성하였다. [START] 버튼을 눌러 부패냄새 가스를 가스센서로 흡입하여 2개의 가스센서와 반응한 가스센서의 출력값이 실시간으로 표출되고, 측정 사이클(약 2분)이 끝나면 2개의 가스센서 값으로부터 부패발생 예측값을 산출하여 표출된다.

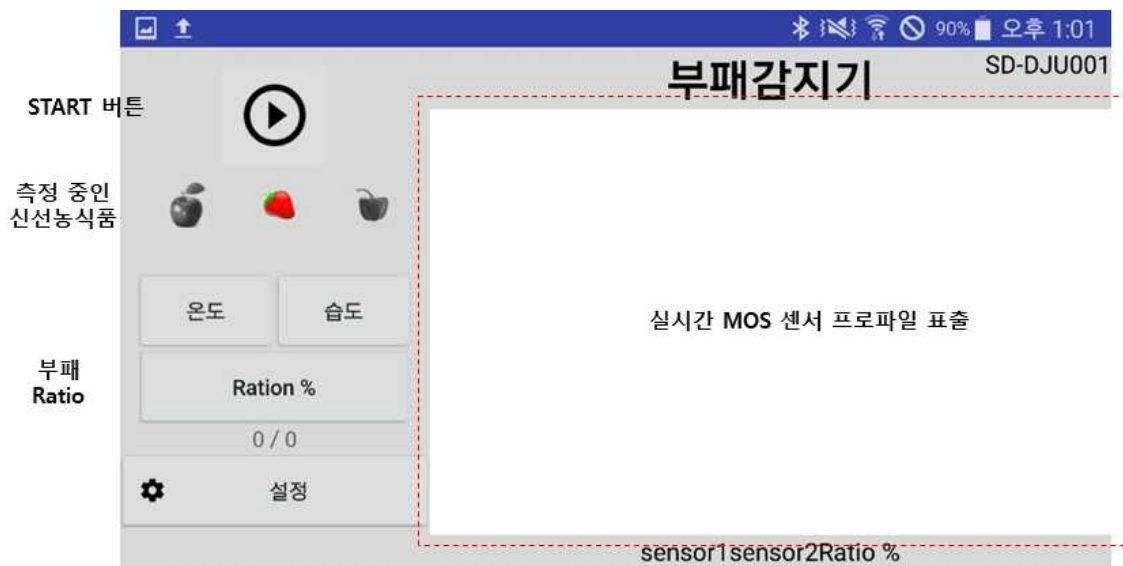


그림 285. 어플리케이션 프로그램의 메인 화면

표출된 부패발생 예측값이 개별 신선 농식품의 관리 기준값을 over하는 경우에는 알람 과 경고창이 표출되며, 부패발생 예측값은 가스센서 #1 / 가스센서 #2로 간단히 산출되 도록 구성하였다.

메인 화면의 설정 아이콘을 클릭하면 부패 감지기 본체의 제어조건과 신선 농식품의 부패관리 기준값을 설정할 수 있는 기능을 구현, 신선 농식품별 관리기준을 설정하는 창 에 [지역코드]를 입력하는 창이 있어 측정된 신선 농식품의 산지, 농장 정보를 별도로 구 분하여 저장할 수 있도록 구성하였다.

또한 설정창에 측정된 부패발생 예측값을 서버시스템으로 전송하기 위해 필요한 서버 정보도 별도로 입력하여 부패 감지기의 WiFi 모듈을 설정할 수 있도록 구성하였다.

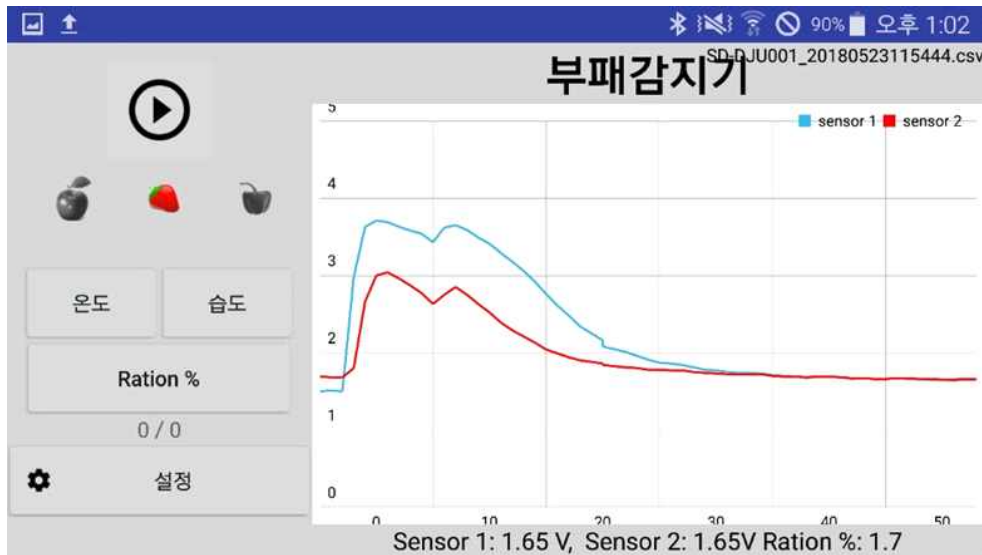


그림 286. 부패냄새에 반응한 가스센서의 실시간 profile 사례

서버 설정 part

- 현장에서 측정된 결과를 서버로 전송될 수 있도록 설정
- 장치의 WiFi 모듈을 통해 전송

작동 설정 part

- 펌프 / 밸브의 작동 조건을 설정

알람 설정 part

- 부패단계 예측을 위한 알람 가이드 설정

알람설정	지역코드	알람기준 (Ratio%)
🍏	000000	0.0
🍓	0	0.0
🍎	0	0.0

그림 287. 어플리케이션 프로그램의 설정 화면

다음 그림은 개발된 어플리케이션 프로그램으로 본체를 구동하고 얻어진 냄새/악취측정 정보의 취득 및 데이터 전송에 관한 흐름도를 정리하였고, 본체의 가스센서에서 측정된 냄새측정결과를 스마트 기기를 통해 산출하고 산출된 결과를 다시 본체를 통해 서버시스템으로 전송되는 과정이다.

측정하고자 하는 신선 농식품의 종류 및 생산지 등에 관한 정보는 어플리케이션 프로

그림의 [설정] 창을 통하여 정보를 입력할 수 있으며, 이렇게 입력된 정보가 부패발생 예측값과 같이 본체를 통해 서버시스템에 전송된다. 전송된 데이터는 기본적으로 측정시간, 측정자, 측정 농식품 종류, 생산지 코드, 예측값 등으로 구성되어 서버시스템에 전송되며, 일정한 프로토콜을 구성하여 전달되고 서버시스템에서 DB 분류를 통해 데이터가 처리될 것이다.

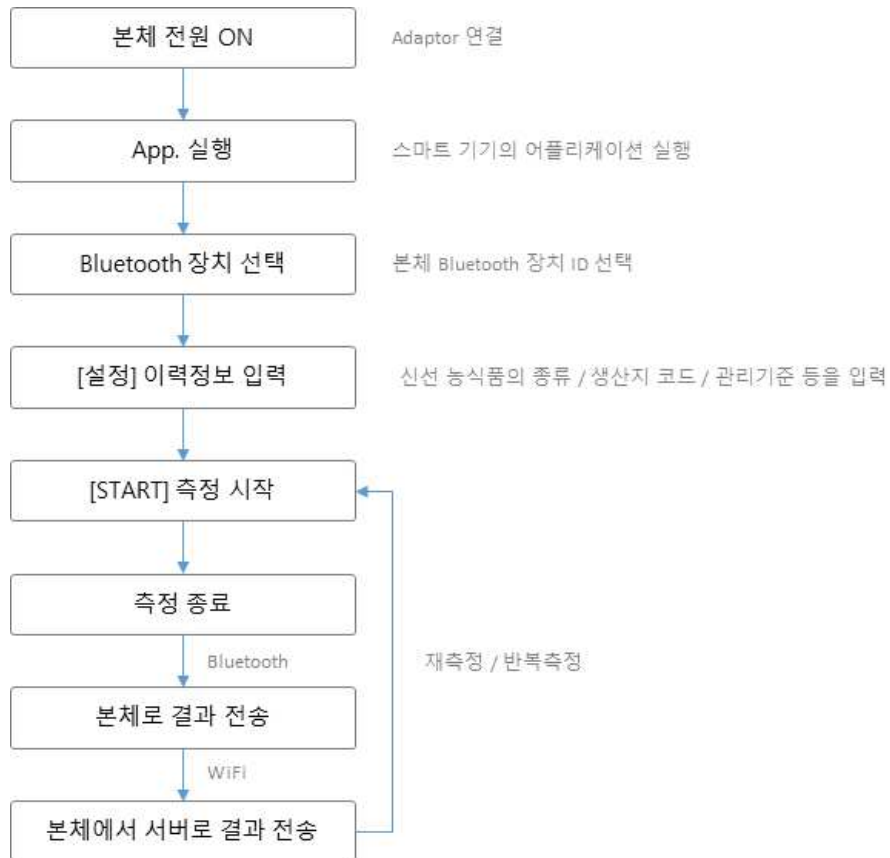


그림 288. 어플리케이션 프로그램을 활용한 작동절차

(나) 무선통신 기술을 적용한 데이터 공유 시스템 구축 및 부패냄새 DB

① Cloud 통신기술 적용

㉞ 부패감지기 시제품의 무선통신기술 구현

개발된 부패감지기 시제품의 부패냄새 측정결과는 1차적으로 스마트 기기에 저장되고, 2차적으로 최종 부패발생 예측값은 다시 부패감지기 본체의 무선통신 모듈을 통해 Cloud 방식의 서버시스템에 전송되도록 구현하였다.

부패감지기 본체와 서버시스템은 WiFi 통신모듈에 의해 연동되며 측정되어진 신선 농식품의 종류, 측정장치, 측정지역, 측정시간, 측정결과 등이 서버시스템으로 전송 및 관리된다.

이와 같은 무선통신 네트워크를 구축하기 위해서는 부패감지기 본체에 내장된 WiFi 모듈에 서버시스템에 대한 정보를 별도로 설정해 놓아야 하며, 이러한 본체 세팅을 위해 별도의 윈도우용 프로그램이 요구된다.

아래 그림처럼 부패감지기 메인 PCB에 장착된 무선통신 모듈을 보여주고 있으며, Bluetooth 모듈은 스마트 기기와 부패감지기 본체와 연동하는데 활용되는 통신모듈이고 WiFi 모듈이 부패감지기 본체와 서버시스템이 연동될 수 있도록 하는 통신모듈이다.

부패감지기에서 전송된 부패발생 예측값 등은 서버시스템에 별도로 저장/관리되며 서버 시스템은 부패감지기에 입력된 IP 주소 등의 정보에 따라 구축되며 별도의 유저인터페이스로 구축된다. 이처럼 부패감지기 시제품은 단순히 가스센서가 장착된 본체만으로 구성된 것이 아니라, 부패감지기를 구동하는 스마트 기기 그리고 서버시스템 등으로 구축되어 다양한 DB를 확보할 수 있도록 구성하였다.

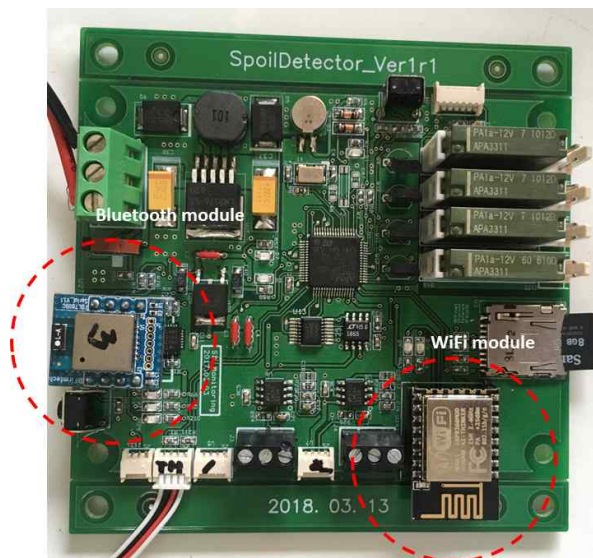


그림 289. 부패감지기 본체의 메인 PCB 무선통신모듈

㉔ 부패감지기 본체에 대한 WiFi 통신설정 방법

스마트 기기로부터 전송받은 부패발생 예측값을 부패감지기 본체의 WiFi 모듈을 통해 서버 시스템으로 데이터를 전송하기 위해서는 WiFi 모듈에 서버시스템에 대한 통신설정이 필요하다. WiFi 통신설정의 기본이 되는 내용은 서버시스템의 IP 주소 등에 정보이며, 부패감지기에서 서버시스템으로 보내는 데이터를 정확히 전송하기 위한 설정이다. 이와 같은 설정을 위해서는 별도의 부패감지기 본체 설정 프로그램이 필요하며, 이를 위한 윈도우용 프로그램을 개발하였다.

통신설정을 위한 윈도우용 프로그램은 아래 그림과 같이 “SDMonitoring.exe” 라는 실행 파일이며, 일반 PC에 본 프로그램을 실행하고 본체와 PC가 USB 통신케이블로 연결되도록 준비한다.

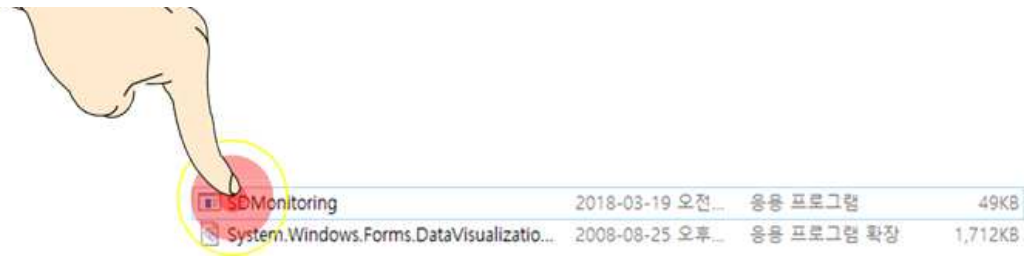


그림 290. 부패감지기 본체의 WiFi 통신설정 프로그램 실행

부패감지기 본체와 PC가 케이블로 연결된 상태에서 프로그램을 실행하면 아래 그림과 같은 화면이 나타나고, 부패감지기 본체와 PC가 연동될 수 있도록 “COM. PORT” 를 선택할 수 있다.

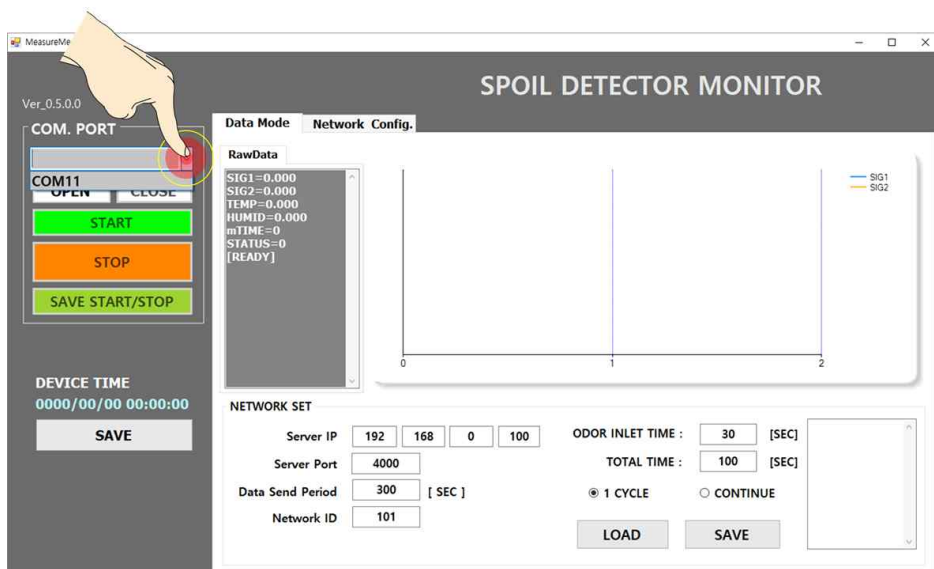


그림 291. 부패감지기 본체의 WiFi 통신설정 프로그램 - 포트선택

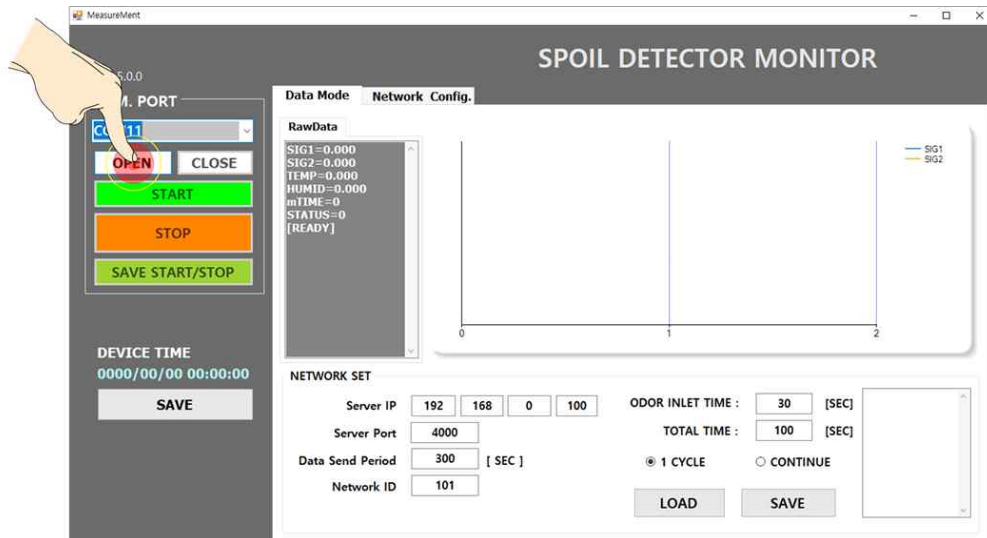


그림 292. 부패감지기 본체의 WiFi 통신설정 프로그램 - 포트오픈

선택된 통신포트를 “OPEN” 하여 부패감지기 본체와 PC가 통신하여 연동될 수 있도록 하고, 부패감지기 본체와 PC가 정상적으로 연동되면 “DEVICE TIME” 과 “RawData” 창에 현재의 시간과 MOS 센서값을 아래 그림처럼 확인할 수 있다.

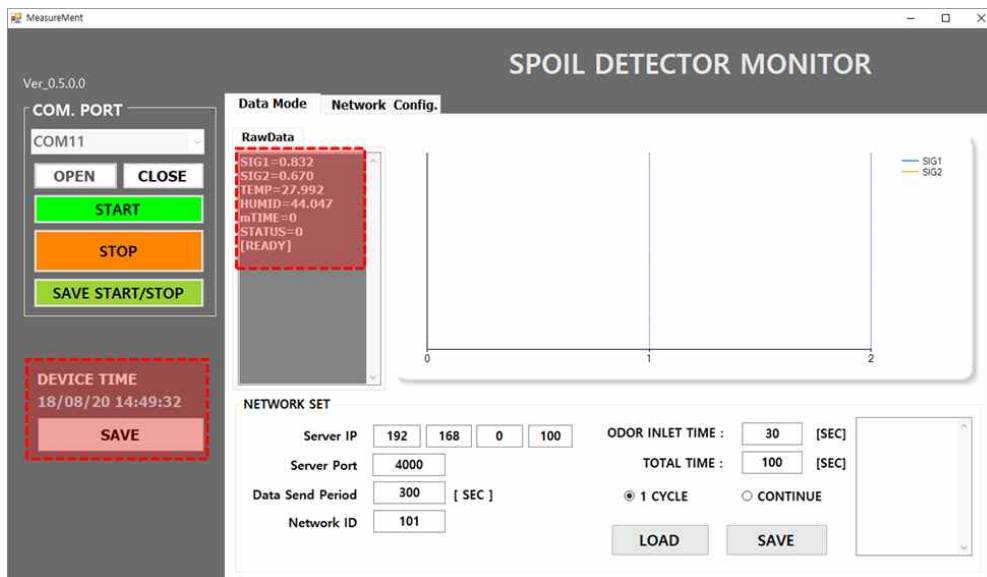


그림 293. 부패감지기 본체의 WiFi 통신설정 프로그램 - 포트연결

부패감지기 본체와 PC가 연결을 확인한 이후에는 부패감지기 본체에 저장된 통신정보를 로딩하여 설정하고자 하는 통신정보와 일치하는지를 확인한다. 통신정보 설정은 “server IP”, “server Port”, “Data send period”, “Network ID” 등이며, 여기서 “Network ID” 는 부패감지기 본체의 ID로 여러 대의 부패감지기를 구분하기 위한 인자

로 입력할 수 있다.

이상의 통신정보 등의 정보 변경이 필요한 경우에는 각 입력창에 숫자를 입력하고 최종적으로 “SAVE” 를 클릭하면 통신정보들이 부패감지기 본체에 저장/입력되도록 구성하였다.

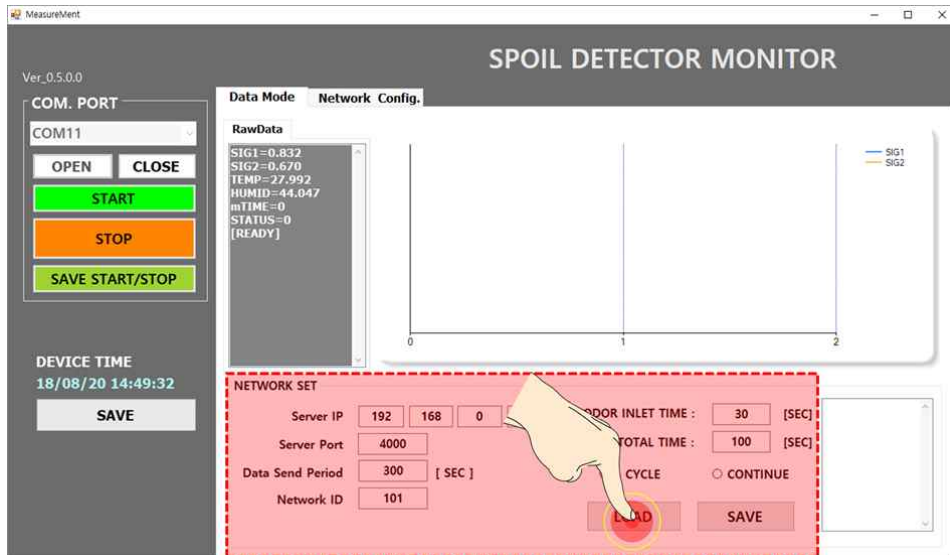


그림 294. 부패감지기 본체의 WiFi 통신설정 프로그램 - 통신정보 LOAD

좀 더 세부적인 WiFi 통신정보에 대한 입력을 위해서는 아래 그림처럼 “Network Config.” 창의 설정값 입력이 필요하며, “ASCII MODE” 를 클릭하고 “AP MODE”, “SSID”, “Password”, “IP”, “MAC address” 등의 정보를 입력하면 WiFi 모듈에 대한 설정이 완료된다.

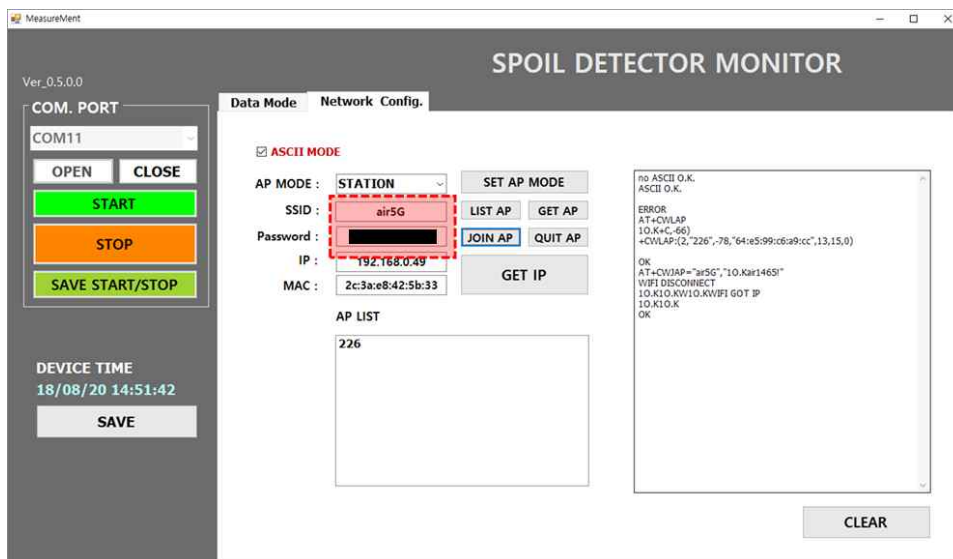


그림 295. 부패감지기 본체의 WiFi 통신설정 프로그램 - WiFi 정보 입력

“AP MODE”에서는 [STATION]을 선택하고 “SSID”에서는 LIST AP를 클릭하여 WiFi 공유기명을 검색하거나 직접 입력하고, WiFi 공유기의 password를 입력한다. 그리고 서버 시스템의 “IP”와 “MAC” 정보를 입력하고 네트워크 연결이 확인되면 다시 “ASCII MODE”를 해제하고 [SAVE]를 클릭하면 부패감지기 본체에 데이터를 전송할 서버시스템에 대한 통신정보가 입력된다.

㉔ WiFi 모듈의 통신 프로토콜

스마트 기기에서 산출된 부패발생 예측값 등의 데이터를 어떠한 형식으로 서버시스템에 전송할지에 대한 프로토콜의 규정이 필요하다. WiFi 모듈을 통해 전송될 데이터는 부패감지기 본체의 code No., 부패감지기 작동조건, 신선 농식품의 종류 및 생산지역, 부패발생 예측값, MOS 센서값, 온도/습도 등으로 7개의 데이터를 한 번에 전송이 가능하다.

이상의 7개 측정 데이터는 아래 그림과 같이 프로토콜 형식으로 부패감지기 본체에서 전송하면 서버시스템에서 정보를 취득하게 되고, “&”의 구분자에 의해 데이터가 구분되어 수집/저장되도록 시스템을 구성하였다.

“id=000”은 3자리의 부패감지기 본체의 code를 전송하고, 이 code는 본체에 고유하게 부여된 장치번호이며 현장에서 어떠한 장치로 측정된 것인지를 구분하기 위해 전송하는 데이터이다. “LOC”는 측정된 신선 농식품의 종류와 농식품의 생산지역을 표시하는 데이터이고 앞 1자리는 신선 농식품의 종류를 구분하기 위한 것이고, 뒤 5자리는 신선 농식품이 생산된 지역/농장을 구분하기 위해 표시하는 데이터이다.(추후 별도의 지역/농장 코드를 부여하여 관리) 그리고, “RESULT”는 측정된 신선 농식품의 부패발생 예측값을 표시하는 데이터이고 5자리 중 앞 2자리까지가 정수자리이고 나머지 3자리는 소숫점 이하의 데이터로 구분 정리할 수 있다. “SIG1”과 “SIG2”는 2개의 가스센서 출력값을 표시하는 데이터로 측정된 부패냄새에 대한 가스센서 반응성을 확인하기 위해 수집/저장되는 데이터이다. 마지막으로 “temp”, “humidity”는 측정 시료의 온도/습도에 대한 정보를 동시에 수집하여 관리하기 위한 데이터로 구분된다. “SIG1”, “SIG2”, “temp”, “humidity” 데이터도 “RESULT” 데이터처럼 앞 2자리는 정수자리, 나머지는 소수점자리로 구분하여 최종 데이터가 정리되도록 시스템을 구성하였다.

`id=000 & TYPE=0 & LOC=000000 & RESULT=0000 & SIG1=00000 & SIG2=00000 & temp=000 & humidity=000`

- 1) id : 부패감지기 본체 code No.
- 2) TYPE : 부패감지기 작동조건(0: 1회 측정, 1: 연속측정)
- 3) LOC : 신선 농식품종류(0: 사과, 1: 딸기, 2: 파프리카) / 지역 code No.(-00000)
- 4) RESULT : 부패발생 예측값(00.00)
- 5) SIG1 : MOS #1 센서값(00.000)
- 6) SIG2 : MOS #2 센서값(00.000)
- 7) temp : 온도(00.0)
- 8) humidity : 습도(00.0)

그림 296. 부패감지기 본체의 WiFi 통신 프로토콜

㉔ Cloud 통신기술에 의한 데이터 전송 테스트

부패감지기 시제품의 WiFi 통신모듈에서 서버시스템으로 데이터를 전송하는 테스트를 진행하기 위해 아래 그림과 같은 “TCP 프로토콜 프로그램”을 구축하여 데이터 전송이 원활히 이루어지는 지를 확인하였다.

“100”이라는 code가 부여된 부패감지기 시제품으로 사과(0) 시료를 측정한 사례이고, 신선 농식품의 생산지역/농장에 대한 정보는 default(00000)값을 입력하였고, 반복적으로 측정된 결과가 테스트용으로 구축된 서버시스템(TCP 프로토콜 프로그램)으로 전송되고 있음을 확인하였다. 부수적으로 부패감지기 본체와 윈도우용 프로그램을 동시에 실행하여 부패감지기 시제품에서도 WiFi 모듈을 통해 데이터가 전송되는지를 간접적으로 확인하였다.

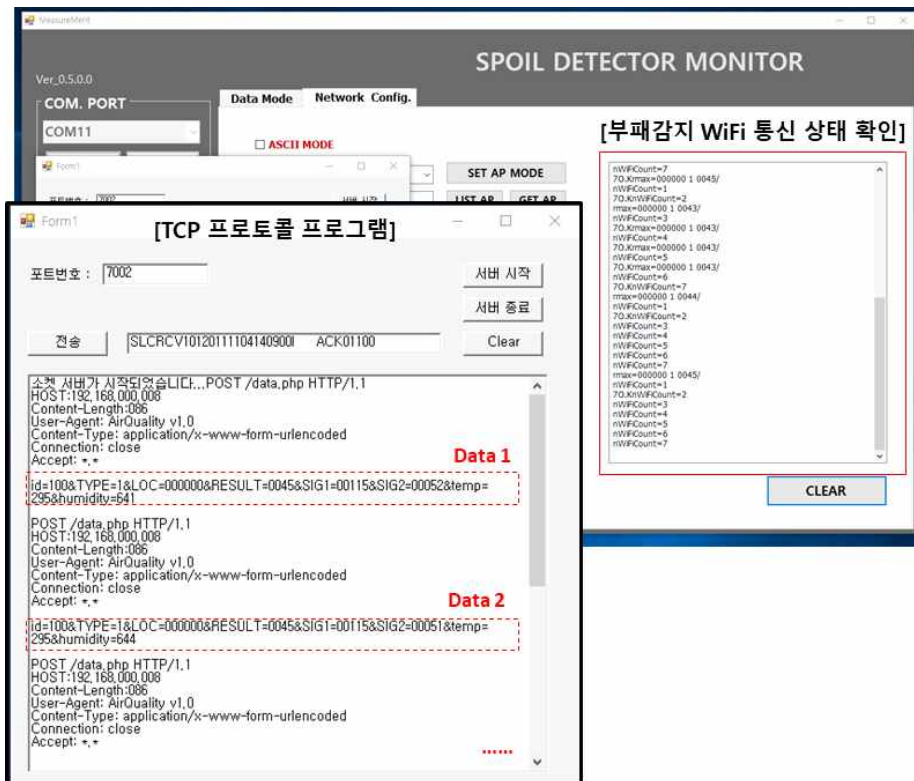


그림 297. WiFi 통신에 의한 서버시스템으로 데이터 전송 사례

이상의 cloud 통신기술에 의한 데이터 전송 테스트를 통해 부패감지기 시제품의 WiFi 통신모듈을 통해 무선으로 서버시스템에 데이터의 전송이 가능함을 확인하였고, 서버시스템으로 전송되는 데이터 프로토콜 형식에 따라 데이터를 구분하여 수집/저장하여 사용자가 쉽게 DB 시스템에 접속이 가능한 유저인터페이스의 구축이 가능할 것이다.

② 부패감지기 시제품에 의한 신선 농식품의 부패냄새 DB

㉞ 신선 농식품별 부패발생 예측값의 산출 방법

신선 농식품별 부패발생 예측값을 산출하기 위해 사과, 파프리카(red), 딸기 시료를 아래 그림처럼 각각 준비하고, 세척된 유리 bottle에 신선 농식품 시료를 주입하고 일별 부패냄새를 측정하였다.

일별 상온 보관에 따른 신선 농식품의 부패가 진행되며 부패가 진행되지 않은 신선한 조건(Good), 부패가 발생하기 전의 경계조건(Not bad), 부패가 진행된 조건(Bad)에 대한 각 시료의 부패냄새를 부패감지기 시제품으로 측정하였다.

Good, Not bad 및 Bad 조건은 일별 측정을 진행하면서 신선 농식품의 냄새를 관능으로 확인하여 각 조건을 구분하여 확인하였다. 부패감지기 시제품으로 측정된 각 신선 농식품의 부패발생 예측값을 산출하여 후각으로 느낀 관능정도와 비교하여 부패발생 예측값의 DB를 구축하였다.

부패감지기 시제품의 측정조건은 2분 측정 사이클에 10초 동안만 신선 농식품의 부패냄새 가스를 가스센서 쪽으로 흡입하여 측정하는 조건이며, 2분 후에 측정된 데이터는 스마트 기기에 자동 저장되도록 설정하였다.



그림 298. 신선 농식품별 부패발생 예측값 산출 평가

아래 그림은 부패감지기 시제품을 활용하여 신선 농식품의 부패냄새를 측정하는 사례를 보여주는 것이며, 부패감지기 본체와 스마트 기기가 Bluetooth 무선통신으로 연동되어 실시간 데이터 송/수신하여 본체를 제어 할 수 있었다.

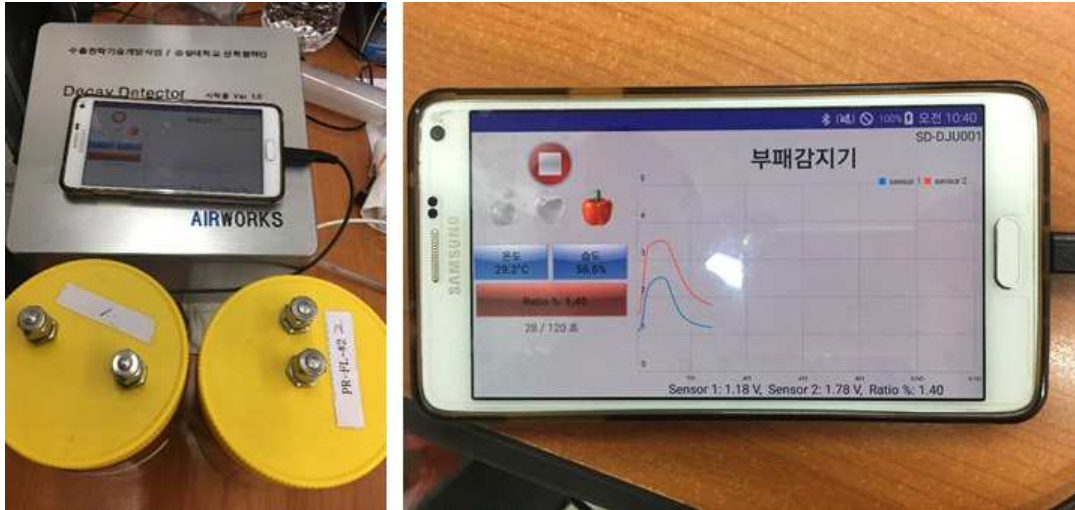


그림 299. 부패감지기 시제품에 의한 부패냄새 측정

㉔ 사과 부패발생 예측값의 산출 결과

사과 시료에 대한 부패단계별 부패냄새를 측정하여 Good, Not bad, Bad 단계에 대한 부패감지기 측정결과를 아래 그림에 요약하였고, 부패가 진행되면서 MOS#2의 센서값에 변화가 일어나고 있음을 확인할 수 있다.

신선한 Good 조건에서는 MOS#1이 MOS#2보다 냄새에 대한 감도가 높게 측정되었으나, 부패가 진행되는 Not bad, Bad 조건에서는 사과가 부패하면서 발생하는 특성 가스성분의 영향으로 MOS#2의 감도가 높아지는 경향을 확인할 수 있다.

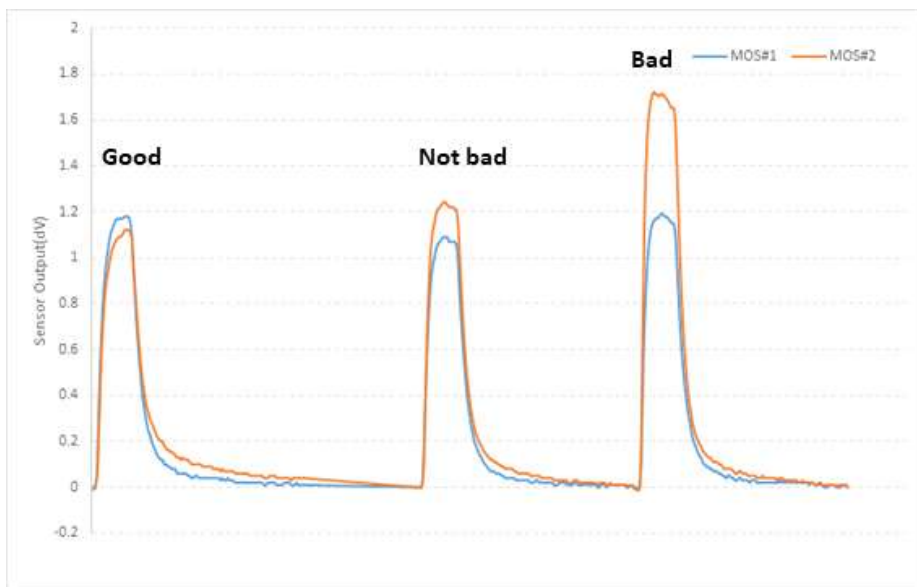


그림 300. 부패감지기 시제품에 의한 부패단계별 사과냄새 측정결과 예

이러한 사과 시료의 부패단계별 냄새변화에 따른 가스센서의 변화가 명확히 확인되어 부패발생 예측에 필요한 인덱스를 추출할 수 있을 것으로 기대되며, 아래 표에서 산출한 부패발생 예측값으로부터 부패발생 단계를 추정할 수 있는 DB 가이드라인을 확보가 가능하다.

아래 표의 부패단계별 부패발생 예측값을 산출하면, Good 조건에서는 1.05, Not bad 조건에서는 0.88, Bad 조건에서는 0.69로 명확한 변별 가이드라인을 확인할 수 있었으며, 사과 부패가 진행되는 시점에서의 부패발생 예측값은 1.00 이하로 제안할 수 있다.

개발된 부패감지기 시제품의 가스센서 중에서 MOS#2가 부패발생 예측값을 산출할 때, 중요한 인자로 판단할 수 있으며 부패 진행에 따른 특정 냄새가스에 민감하게 반응하는 가스센서로 확인된다.

표 131. 사과 부패단계별 부패발생 예측값 산출

구분	Sensor signal		부패발생 예측값	비고
	MOS#1	MOS#2		
Good	1.18	1.12	1.05	신선
Not bad	1.09	1.24	0.88	부패 시작
Bad	1.19	1.72	0.69	부패

㊤ 파프리카 부패발생 예측값의 산출 결과

파프리카 시료의 부패단계별 냄새를 확인하고 Good, Not bad, Bad로 구분하여 부패감지기 시제품의 부패발생 예측값을 측정하였고, 파프리카 시료의 Not bad 조건은 꼭지부분에 곰팡이가 발생하였지만 후각에 의한 관능평가에서는 파프리카 고유의 냄새가 확인되어 시각적인 측면에서 Not bad 단계로 구분된다.

사과 시료 측정결과에서처럼 부패가 진행되지 전에는 MOS#1의 반응성이 상대적으로 조금 높은 경향을 보이며, 부패가 완전히 진행된 Bad 조건에서는 아래 그림에서 처럼 MOS#2의 감도가 높게 상승하는 것을 확인할 수 있다.

이러한 결과에서도 파프리카의 부패 단계별 발생하는 특정 냄새가스 성분이 MOS#2와 잘 반응하는 것으로 보이며 사과 시료뿐만 아니라 파프리카 시료에서도 MOS#2가 중요한 인자로 작용하고 있음을 확인할 수 있다.

이러한 가스센서 값으로부터 산출한 파프리카 시료의 부패발생 예측값은 신선한 Good 조건에서는 1.57을, 꼭지부분에 곰팡이가 피긴 했지만 파프리카 특유의 냄새가 나는 Not bad 조건에서는 1.43, 부패가 완전히 진행된 Bad 조건에서는 0.78로 예측이 가능하다.

따라서 파프리카 시료에 대한 부패 단계별 부패발생 예측값은 사과 시료와 비슷한 1.00 이하를 기준값으로 설정하는 것이 효과적이지 않을까 판단되며, 명확히 1.00 이하로 부패

발생 예측값이 떨어지게 되면 파프리카에서 부패가 진행되는 것으로 유추할 수 있다.

본 테스트에서 왁스층이 두꺼운 파프리카 시료의 경우, 파프리카 왁스층이 파괴되지 않고 단순히 꼭지부분에 곰팡이가 발생되어도 파프리카 특유의 냄새가 유지되면 부패발생 예측값으로부터 부패가 진행되고 있음을 예측하기 어려운 부분이 발생할 수 있다.

사과 및 파프리카 시료처럼 시료 표면에 왁스층과 같은 필름이 파괴되어 부패가 진행되는 경우에는 부패감지기에 의한 부패발생 예측이 용이할 것으로 판단된다.

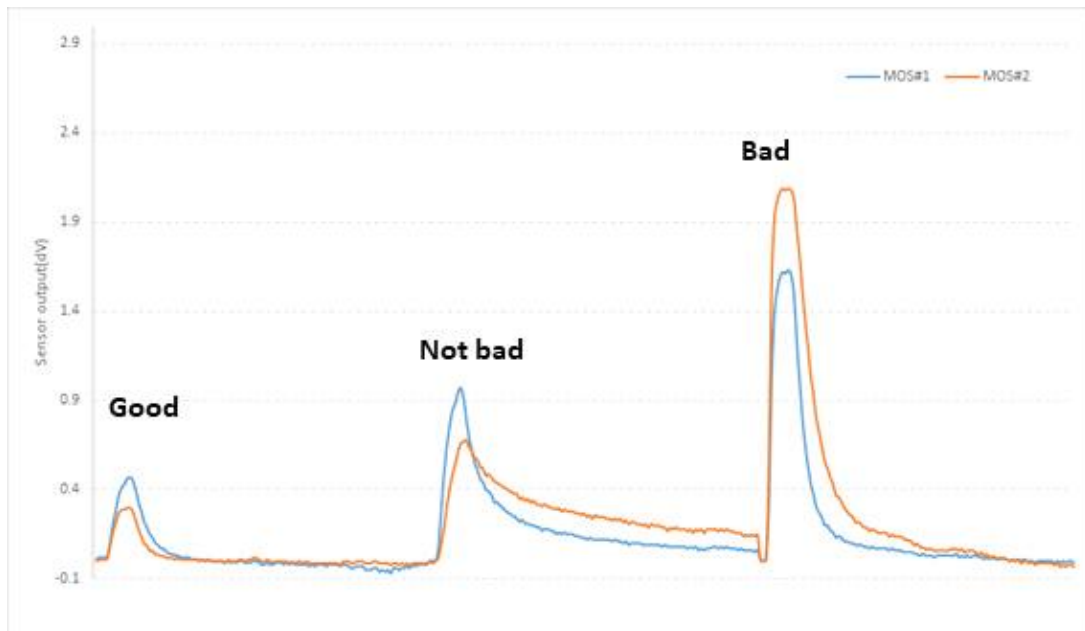


그림 301. 부패감지기 시제품에 의한 부패단계별 파프리카냄새 측정결과 예

표 132. 파프리카 부패단계별 부패발생 예측값 산출

구분	Sensor signal		부패발생 예측값	비고
	MOS#1	MOS#2		
Good	0.47	0.30	1.57	신선
Not bad	0.97	0.68	1.43	부패 시작
Bad	1.63	2.09	0.78	부패

㊤ 딸기 부패발생 예측값의 산출 결과

딸기 시료는 사과 및 파프리카와 달리 표면에 왁스층이 없는 차이성이 있는 시료이며, 왁스층이 없으므로 딸기 고유의 향이 매우 강한 특징이 있어 부패감지기 시제품에 의한 부패발생 예측값에서도 기존 시료와는 다르게 나타날 것으로 예상된다.

딸기 시료를 유리 bottle에 넣고 부패 단계별로 측정된 부패감지기의 가스센서 값을 나타낸 아래 그림에서도 초기 가스센서 값이 다른 시료에 비해 상대적으로 높게 나타나고 있어, 시료의 왁스층이 없다는 특징을 그대로 반응하고 있는 결과이다.

또한, 딸기 시료는 부패가 진행되면서 기존 딸기 냄새가 사라지지 않고 부패 냄새와 공존하여 존재하여 부패에 따른 가스센서의 특이성을 확인하기 어려운 상황이다.

사과 및 파프리카 시료의 경우에는 부패가 진행되면서 MOS#2의 반응성이 상대적으로 증가하는 경향을 보였지만, 딸기 시료에서는 MOS#1과 MOS#2가 같이 감도가 증가하고 있어 딸기 시료의 부패에 따른 특정 발생 냄새에 대한 변별력은 작은 것으로 확인된다.

딸기 시료의 부패과정에서는 오히려 MOS#1과 MOS#2의 감도 차이가 오히려 줄어드는 특성을 보이고 있어, 이러한 특성으로부터 딸기 시료에 대한 부패발생 예측값을 산출해야 할 것으로 사료된다.

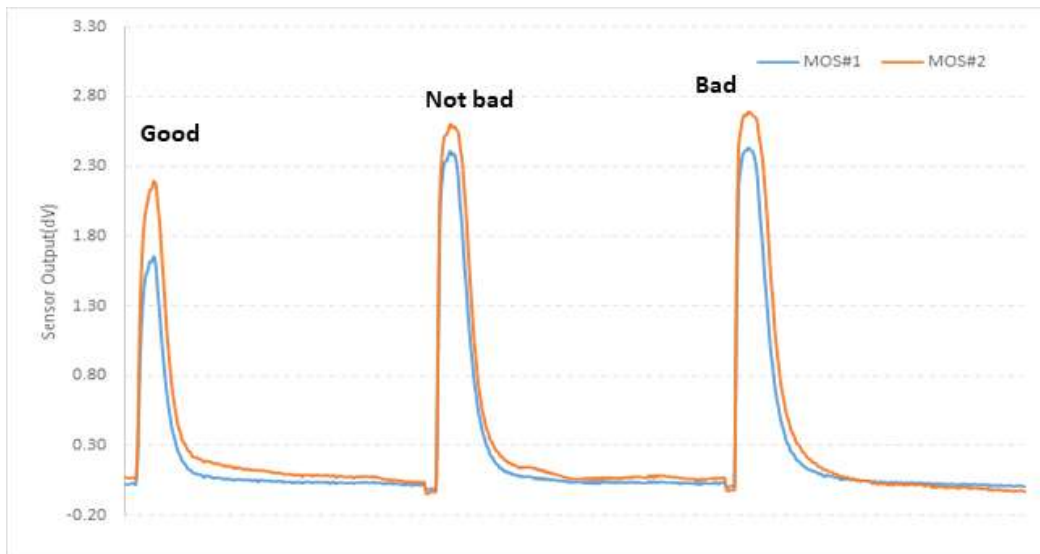


그림 302. 부패감지기 시제품에 의한 부패단계별 딸기냄새 측정결과

딸기 시료에 대한 부패 단계별 부패발생 예측값을 산출한 아래 표에서 확인하면, 딸기 시료가 신선한 Good 조건에서는 0.75, 부패가 진행된 Not bad 및 Bad 조건에서는 0.92, 0.90으로 부패발생 예측값이 증가하는 특이성을 확인된다.

표133. 딸기 부패단계별 부패발생 예측값 산출

구분	Sensor signal		부패발생 예측값	비고
	MOS#1	MOS#2		
Good	1.65	2.20	0.75	신선
Not bad	2.41	2.61	0.92	부패 시작
Bad	2.43	2.69	0.90	부패

(다) 시제품의 현장 적용성 평가와 현장적용 방안

① 시제품의 현장 평가

㉞ 딸기농장

참여기업인 농업법인썸머힐(주) : 경남 산청군 소재의 딸기 농장을 방문하여 시제품의 현장평가를 진행하였다. 방문시기는 18년도 3월 말로 딸기농장에서는 딸기 수확의 마지막 시기로 수확한 딸기(설향)는 Jam용, Juice용, 커팅(장식)용, 상품용(제과점 납품)으로 선별작업 후 바로 출고를 하였다.

딸기농장 현장평가 개요

- 딸기농장 : 경남 산청군 단성면 호반로 166-3, 농업법인썸머힐(주)
- 측정일 : 2018년 3월 20일
- 농장에서 입고된 딸기(설향)를 Jam용, Juice용, 커팅(장식)용, A급 상품용(파리바게트) 등으로 선별 작업 진행



그림 303. 시제품 현장 평가 대상인 딸기 농장의 생산 개요

Lab. 실험 방법과 같이 현장에서의 딸기 신선도 평가를 위해 아래 그림과 같이 4개의 상품으로 분류된 딸기 시료를 200g 내외가 되도록 선별하였고, 유리 bottle에 20분동안 보관하여 딸기 향을 포집하였다.

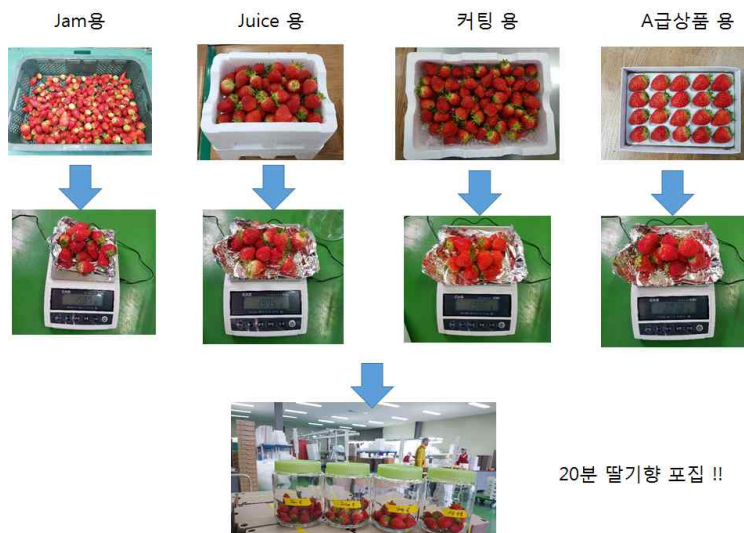


그림 304. 현장 평가를 위한 딸기 시료의 준비

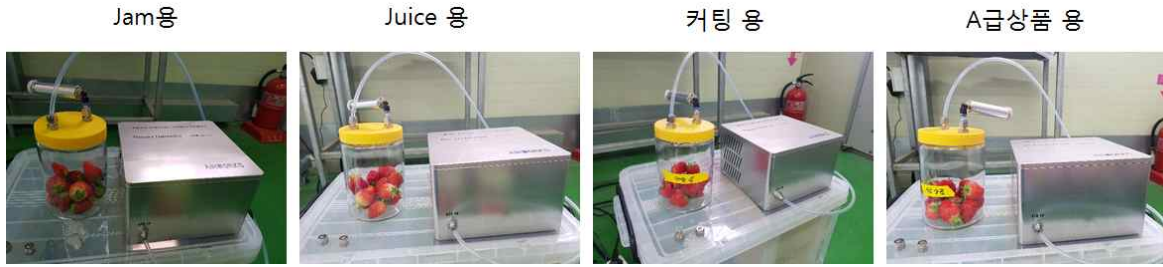


그림 305. 시제품에 의한 딸기 시료 현장 평가

4개 시료군에 대한 실험을 진행한 결과, Jam용의 가스센서 감도가 상대적으로 높았고, 커팅용, Juice용 및 A급 상품용 순으로 나타났다. 외관상으로도 Jam용과 커팅용은 부패는 하지 않았으나 딸기 자체가 외형적으로 손상(상처)이 많이 발생하여 딸기 표면에서의 향 자체가 높게 발생하고 있음을 현장에서 확인 할 수 있었다. 이로 인해 시제품의 가스센서 감도가 높게 나타나고 있었던 사항이다.

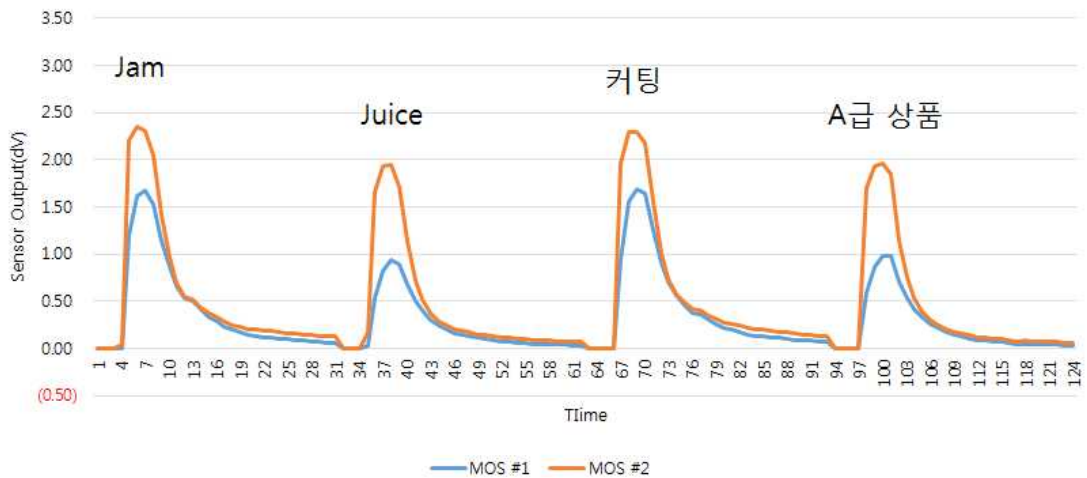


그림 306. 시제품을 이용한 딸기 시료의 현장 평가 결과

그러나 아래의 부패발생 예측값을 비교하면, 모든 딸기 시료의 부패값은 0.49 ~ 0.74 Ratio를 보여주고 있다. 이러한 결과는 딸기 부패 예측값 0.75 이하이며, 결국 시제품을 이용한 딸기 농장에서 평가한 대부분의 딸기 시료는 모두 신선한 딸기로 확인되는 사항이다. 딸기 농장 유통 과정을 관찰하여도 그날 수확한 딸기는 바로 선별하고 별도의 저장 과정이 없이 사용자 및 고객에게 배송되는 사항임을 확인하였다.

표 134. 시제품에 의한 딸기 농장 시료의 부패 평가 결과

구분	Jam용	Juice용	커팅용	A급 상품용
MOS#1	1.68	0.95	1.69	0.99
MOS#2	2.36	1.95	2.29	1.96
Ratio(부패예측값)	0.71	0.49	0.74	0.50

** 부패예측값 : Good(<0.75), Not bad(0.75~0.90), Bad(>0.90)

㉔ 사과농장

시제품의 사과 농장 현장 평가를 위해 참여 기업인 송원 APC(경북 김천)를 방문하여 저장 사과의 신선도 평가를 진행하고자 하였다. 현장을 방문한 시점이 7월 말로 농장에서 그동안 저장한 사과를 출하기 위해 저온저장고에서 방출 후 Juice 용 또는 판매상품 용으로 선별하고 있었다.



그림 307. 사과 저온저장 시설과 선별작업

대부분의 사과는 부패가 많이 진행되어 정상적인 상품용 사과보다는 Juice용으로 가공하기 위해 부패한 부위를 도려내는 선별작업을 하고 있었다. 또한 사과를 저장하고 운반하는 형태가 Box 단위로 유통되므로 실험실 환경에서 고안한 유리 bottle 형태의 실험은 무의미 하다 판단되었다. 이에 일반적인 유통과정에 사용되는 5kg 선물용 box와 저온저장 보관용 20kg box를 기준으로 하는 실험을 계획하였다.

우선, 대부분의 농수산물 시장에서 유통하는 사과는 저온저장 창고에서 선별한 상품용 사과를 다시 5kg 또는 10kg 단위의 box에 포장되어 일반적인 시장 또는 농수산물 유통단지로 거래하게 된다. 이에 상기 실험도 이러한 box 단위로 실험을 진행하고자 하였다. 최종적인 사과 실험의 목적은 유통되는 사과 시료에 부패된 사과가 어느 정도 있을 때 부패감지 가스센서가 반응하는지를 평가하는 실험을 목적으로 하였다.

이러한 목적으로 우선 실험실 환경에서 5kg box 단위의 실험을 선행적으로 진행하였다. 실험 방법은 5kg 사과 box 기준 약 12개 사과 낱개가 포장되므로, 부패하지 않은 사과와 부패한 사과의 수량을 조절하면서 최적의 가스센서로 선정된 TGS 2602(MOS#1), TGS 2603(MOS#2)의 반응성을 확인하고자 하였다. 최종적인 목적은 5kg box 기준에서 부패한 사과가 어느 정도 존재할 경우 시제품인 부패감지기에 의해 평가가 가능한지 확인하고자 하였다.

아래 표는 앞서 계획한 5kg box 단위에서 부패한 사과와 부패하지 않은 사과의 수량을

조정하면서 box 단위로 실험한 결과이다. 우선 5kg box를 밀폐하기 위해 대형 밀폐용기를 준비하였고, 약 20분 동안 각 조건별 사과 향을 포집한 후 시제품의 반응성을 확인하였다.

그결과, TGS 2602 가스센서는 부패한 사과 2개(누적 부패율 : 23.6%) 이상에서부터 가스센서의 감도가 증가하는 경향을 보였고, 부패한 사과 4개(누적 부패율 : 36.3%)일 때 확연한 감도 차이가 확인되었다. 다음으로 TGS 2603 가스센서 또한 부패 사과 4개일 때 TGS 2602 가스센서처럼 확연한 감도차이가 발생하고 있음을 확인 할 수 있어, 결과적으로는 부패사과 약 2 ~ 3개(누적 부패율 : 23.6 ~ 36.3%) 존재할 경우 부패여부가 가능하다는 결과를 얻었다.

표 135. 사과 box(5kg)에서의 부패감지 감도(R_0/R_s) 평가 결과

사과비율			누적부패율 (%)	감도(R_0/R_s)	
총계	무부패	부패		TGS 2602	TGS 2603
12	12	0	0.0	2.3	3.1
12	11	1	2.8	2.4	3.1
12	10	2	23.6	2.6	3.4
12	9	3	33.0	2.7	3.4
12	8	4	36.3	3.6	4.6
12	7	5	40.8	3.5	4.4
12	6	6	98.0	7.2	9.7
12	5	7	128.0	8.0	10.2
12	4	8	128.2	7.5	9.9
12	3	9	131.1	7.8	10.2

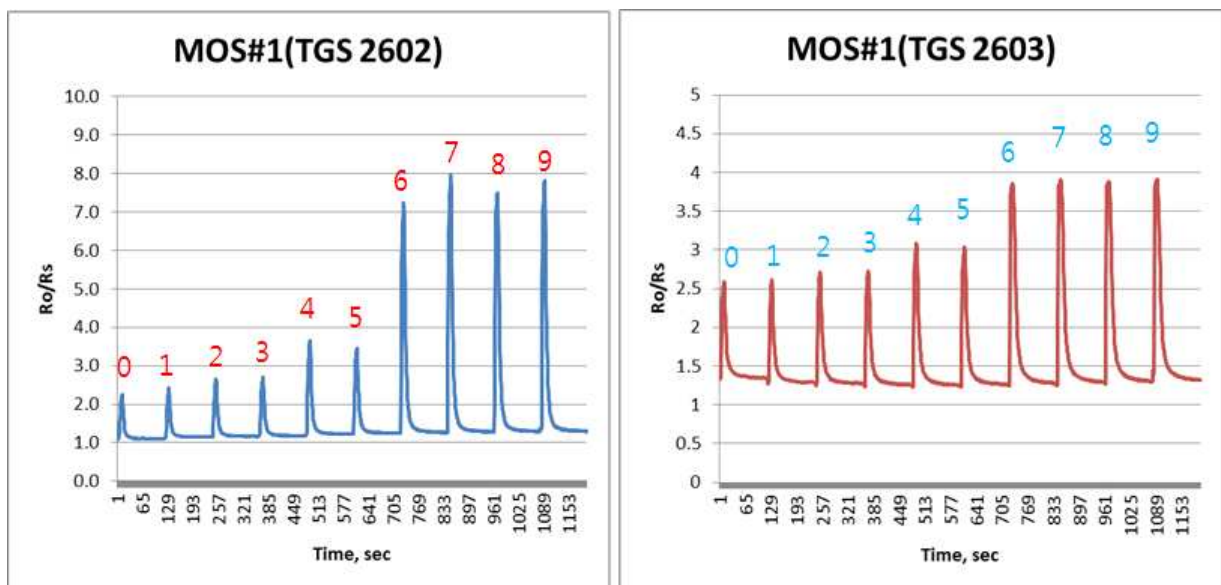


그림 308. 부패사과 증가에 따른 시제품의 감도 변화 : 사과 5kg box

이러한 실험 결과를 토대로 현장에서 저온저장 중인 사과를 대상으로 부패사과 증가에 따른 감도변화를 비교하여 평가하였다. 예비실험과 동일한 조건으로 5kg 사과 box에 부패사과를 3개씩 증가하면서 진행하였다. 총 18개 중 부패하지 않는 사과만 존재할 경우에는 MOS#1은 2.53의 감도를 보였고, MOS#2는 2.92의 감도를 보였다.

다음으로 부패사과 3개가 증가한 평가에서는 MOS#1 2.65, MOS#2 3.22로 각각 증가하여 부패하지 않은 사과 실험군과 부패사과가 3개 증가한 사과 실험군간의 차이를 확인할 수 있었다. 최종적으로 부패사과 12개가 증가한 실험군에서는 MOS#1 2.80, MOS#2 3.62로 증가하는 감도 변화를 확인할 수 있었다.

그러나 이러한 실험결과는 앞서 Lab 환경에서 모의 테스트한 결과와는 감도 차이가 발생하는 것으로 전반적으로 현장 조건에서의 실험이 감도가 높게 나타나고 있다. 이는 현장이라는 주변냄새와 환경에 의한 영향으로 판단되며, 보다 정확한 정량 및 정성적인 평가를 위해서는 별도의 신선 농식품 품질관리 공간을 구축하고 평가 시스템을 운영하는 것이 바람직해 보인다.

더불어 현장에서 운영 및 유통되고 있는 보관 상자를 기준으로 평가가 가능한 실험채버와 방법론이 추가적으로 연구되어야 할 것으로 사료된다.

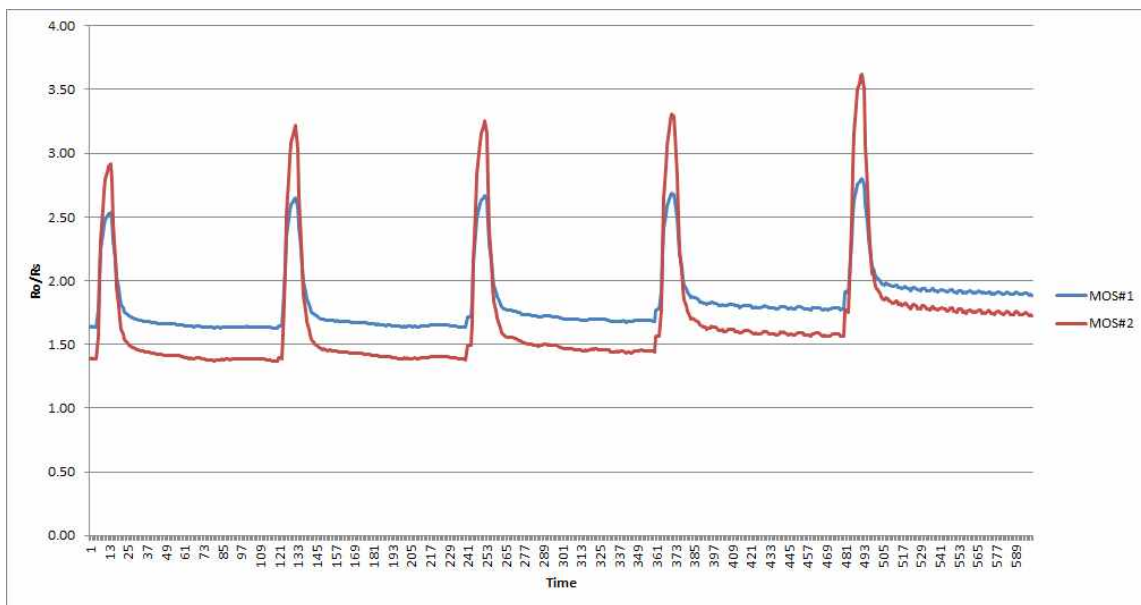


그림 309. 부패사과 증가에 따른 시제품의 현장 평가

㊤ 파프리카 농장

파프리카는 연중 생산이 되므로 참여기업인 농업회사법인 농산(주)(전북 김제)에 방문하여 쉽게 파프리카 시료를 확보할 수 있었다. 기존 연구와 동일하게 Red 파프리카를 대상으로 현장 시제품 평가를 진행하였다. 아래 그림과 같이 1차적으로 농장에서 수확한 파프리카는 외형적인 선별을 통해 부패 파프리카와 상품용 파프리카로 분류된다. 본 현장

평가는 정상적인 상품용 Red 파프리카를 대상으로 실험을 진행하기 위하여 총 10개의 파프리카 실험군을 수집하였다. 정상적인 상품용 Red 파프리카 4개와 부패증상별로 옆면부패, 배꼽부패, 꼭지부패, 나이트모양 배꼽부패, 검은곰팡이 옆면 부패 등 6개를 선별하여 부패하지 않는 시료와 부패가 진행된 시료 총 10개의 Red 파프리카 실험을 위한 시료를 준비하였다.



그림 310. 파프리카 선별 및 시제품 평가용 시료 준비

시료명	무게(g)	부패부위
PR-01	150.6	-
PR-02	163.1	-
PR-03	159.9	-
PR-04	152.8	옆면
PR-05	146.9	배꼽
PR-06	153.9	-
PR-07	173.9	꼭지
PR-08	184.9	나이트모양 배꼽
PR-09	187.6	꼭지
PR-10	151.1	옆면, 검은 곰팡이

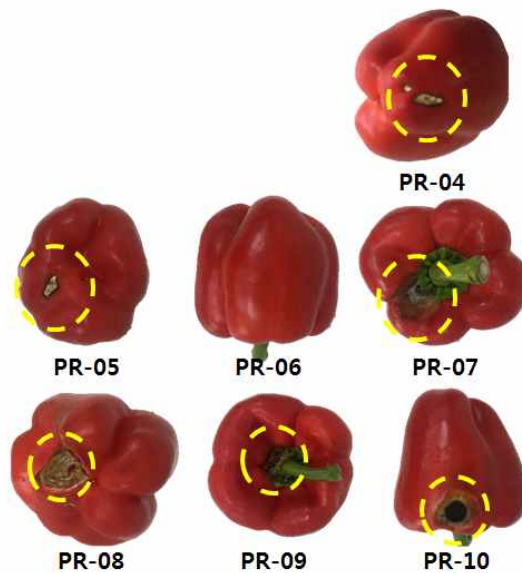


그림 311. 시제품 평가를 위한 Red 파프리카 시료

현장에서의 시제품 평가는 우선적으로 10개 파프리카에 대한 현장 데이터를 확보하여 부패 시료군과 부패하지 않은 시료군과의 감도 차이를 비교하고, 이후 부패율 변화에 따

란 추가적인 실험은 Lab. 환경에서 보완 실험을 진행하고자 하였다.

아래 그림은 현장에서 측정한 10개 Red 파프리카 시료에 대한 가스센서별 감도 비교이다. 우선 TGS 2602(MOS#1)의 경우는 PR-01시료를 제외하면 대부분 유사한 감도와 반응특징을 보이고 있다. PR-01 시료의 경우는 무부패 파프리카 시료로 TGS 2602 가스센서의 반응특징이 어떠한 변화가 관찰되는지 관심이 필요하겠다.

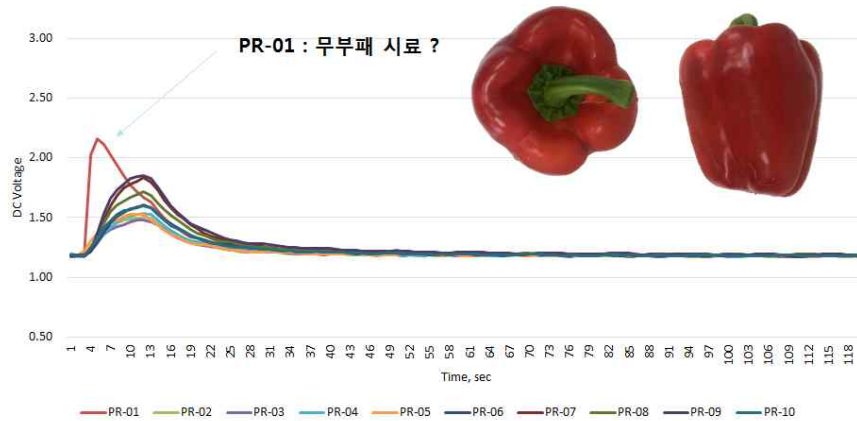


그림 312. 시제품 MOS#1(TGS 2602) 가스센서에 의한 Red 파프리카의 현장 평가 결과

다음은 현장에서 측정한 10개 Red 파프리카 시료에 대한 TGS 2603(MOS#2)의 반응특성이다. 확연하게 TGS 2603 가스센서에 의해서는 부패 파프리카 시료군과 부패하지 않는 파프리카 시료군으로 구분되고 있음을 확인 할 수 있다. 즉, 꼭지 및 배꼽 부패 시료에 대해서는 2.20 이상의 상대적인 감도를 보이고 있고, 반대로 부패율이 낮거나 부패하지 않은 시료에 대해서는 2.00 이하의 감도를 보이고 있다. 그러나, PR-06 시료의 경우는 2.00 수준의 감도를 보이고 있는 것으로 부패 시료군과 부패율이 낮은 시료군 중간의 감도를 보이고 있어, 이러한 시료에 대한 추가적인 관찰이 필요하겠다.

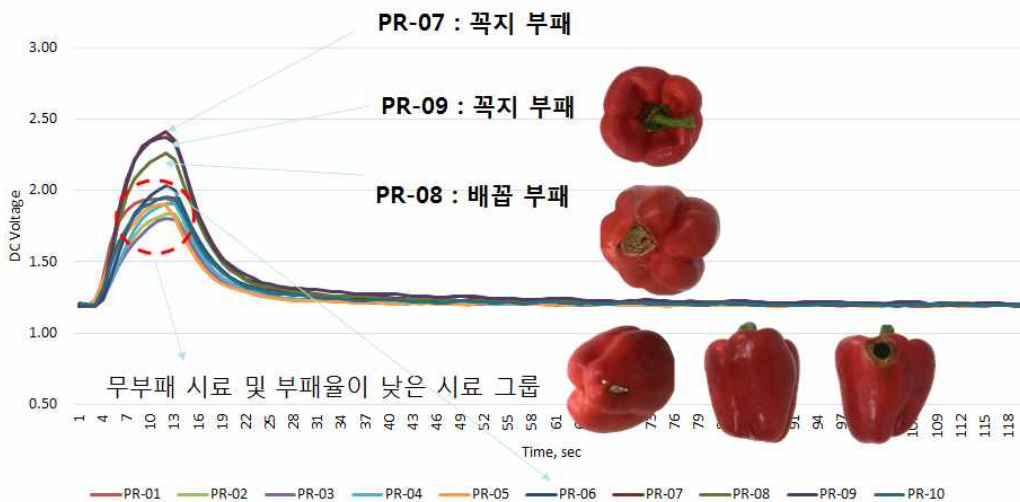


그림 313. 시제품 MOS#2(TGS 2603) 가스센서에 의한 Red 파프리카의 현장 평가 결과

현장에서 수집한 Red 파프리카 시료를 평가하고 추가적인 파프리카 부패율 변화 관찰은 Lab. 환경에서 진행하였다. 대부분의 파프리카 시료는 현장 실험 결과와 유사하거나 소폭 증가 또는 감소하는 경향을 보였다. 그러나 TGS 2603 가스센서에 의해 높지도 낮지도 않은 감도를 보였던 PR-06 시료의 경우는 아래 그림과 같이 관찰 일자가 증가할수록 가스센서의 감도가 급격하게 증가하고 있음을 확인하였다.

이에, PR-06 파프리카 시료의 외형적인 상태를 관찰한 결과 배꼽 부위에 최초로 보이지 않았던 부패가 확인되었다. 관찰 4일차에 파프리카 내부를 확인한 결과 배꼽부위 안쪽부터 부패가 발생한 시료로 확인된 사항이다. 이는 시제품을 통한 파프리카 부패 유무를 어느 정도 현장에서 확인 할수 있으며, 부패가 의심되는 경우 기존 DB 데이터와 비교 분석을 통해 정량 및 정성적인 2차 분석 진행이 가능할 것으로 사료된다.

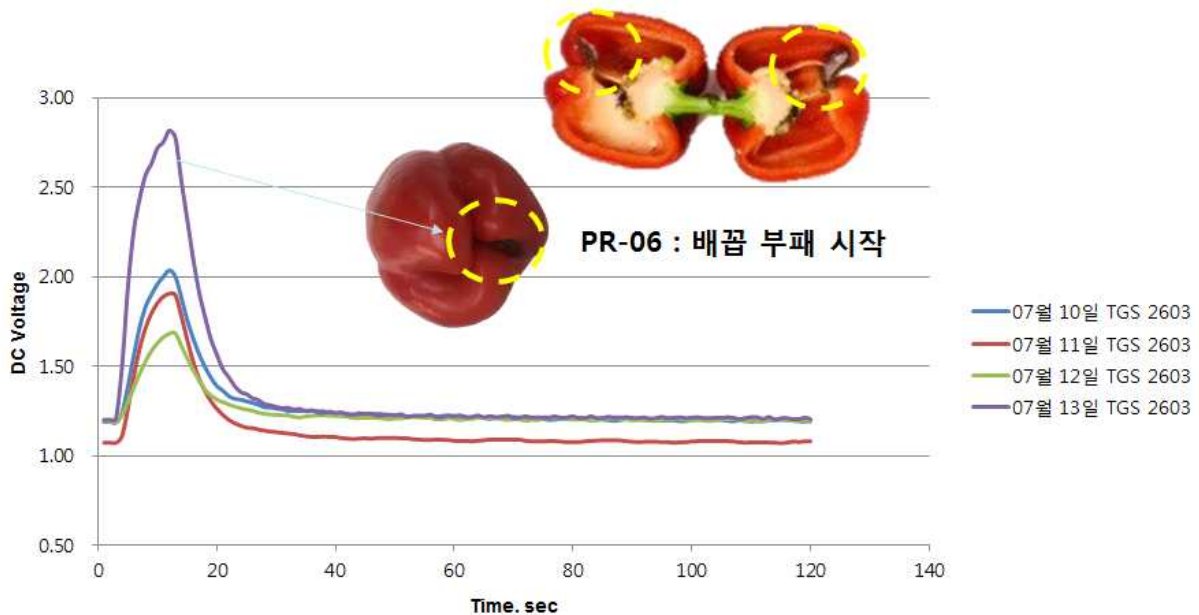


그림 314. 시제품 MOS#3(TGS 2603) 가스센서에 의한 Red 파프리카의 현장 평가 결과

② 부패 냄새센서의 현장 적용 방안

최적의 부패냄새 가스센서를 이용하여 다양한 실험실 조건, 현장 조건에서 평가를 진행하였다. 그 결과 부패냄새 시제품을 이용한 신선 농식품의 평가 방법과 부패감지 예측값을 Dual 가스센서로 확인 할 수 있었다.

우선 부패냄새 가스센서의 현장 적용을 위해서는 현장 자체의 고유한 냄새와 환경변화에 의해 부패냄새 가스센서의 기준값이 변화할 수 있으므로 정량 및 정성적인 실험을 위해서는 별도의 청정공간의 신선 농식품 평가 공간이 필요할 것으로 판단된다. 더불어 현장에 부패 유무를 단순히 평가하기 위해서는 본 연구에서와 같이 유리 bottle 등을 이용한 농산물 샘플링과 일정시간 동안 시료의 향을 포집한 후 부패냄새 가스센서로 측정하는 방법이 가장 안정적인 실험방법으로 판단된다.

반면, 사과와 같은 저온저장시설에서의 부패냄새 가스센서 현장 적용과 관련해서는 단순히 부패가 의심되는 사과 낱개 시료에 대해서는 유리 bottle을 이용한 평가도 가능하겠지만, 현장의 특성상 수 kg의 전용 box를 통해 보관되고 유통되므로 이러한 보관 box 자체를 밀봉할 수 있는 대형 포집 상자를 통한 부패지수 개발과 실험방법도 추가적으로 연구가 필요할 것이다.

마지막으로 본 연구에서 개발된 사과, 파프리카 및 딸기 시료에 대한 부패예측값을 Good, Not bad, Bad 등의 등급으로 구분하여 부패지수(부패예측값)를 다음과 같이 제안한다.

연구 대상 시료 중에서 시료 표면의 왁스층이 존재하는 경우에는 초기는 특유의 냄새가 유지되다가 왁스층이 부패하여 파괴되면 부패과정에서 발생하는 특정 가스성분에 의해 MOS#2의 특이성이 확인되나, 딸기와 같은 왁스층이 없는 시료는 초기부터 강한 특유의 냄새가 발생하며 부패가 진행되어도 특유의 시료 냄새와 부패 냄새가 혼합되어 MOS#1과 MOS#2의 특이성이 크지 않다.

이에 왁스층이 존재하는 사과 및 파프리카 시료의 경우는 1.00 이하로 부패발생 예측값이 떨어지게 되면 부패가 진행되고 있음을 인지할 수 있었으며, 0.85 이하도 떨어질 경우에는 특유의 부패냄새를 확인할 수 있는 가이드 값으로 제안한다.

이와는 반대로 왁스층이 없는 딸기 시료의 경우에는 부패발생 예측값이 0.75 이상을 증가하게 되면 부패가 진행되고 0.90 이상일 경우에는 부패가 완전히 진행 중임을 확인할 수 있는 가이드 값으로 제안한다.

이상의 부패감지 시제품에 의한 각 신선 농식품의 부패발생 예측값으로부터 부패 단계를 간접적으로 확인할 수 있는 현장 측정 인디게이터로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

본 연구를 통해 확인한 부패발생 예측값을 기초로 현장에 효과적으로 활용하기 위해서는 해결해야할 과제가 존재할 것으로 예상되며, 완벽한 현장 활용을 위해서는 개발된 부패감지기 시제품의 보완/개선도 필요할 것으로 사료된다.

표 136. 신선 농식품의 부패발생 예측값 범위

구분	사과	파프리카	딸기
Good	> 1.00	> 1.00	< 0.75
Not bad	1.00 ~ 0.85	1.00 ~ 0.85	0.75 ~ 0.90
Bad	< 0.85	< 0.85	> 0.90

본 연구를 통해 우리나라 수출전략품목인 사과, 파프리카, 딸기 등 단일 품목에 대해서는 3단계 구분에 따른 신선도 평가가 가능함을 확인하였다. 더불어, 본 연구는 생산지와 소비자 또는 생산국과 수입국 간 유통과정에서 발생하는 신선도 관리 차원의 측정시스템

도입에도 방안제시가 필요한 사항이다.

즉, 생산지에서 선별된 신선농식품을 컨테이너 단위의 대용량으로 적재하여 국내 또는 국외로 유통될 경우 장거리 이동이 필요하다. 아무리 생산지에서 확실한 신선도 관리가 이뤄졌다 하여도 장거리 유통과정 중에서도 농식품의 부패는 가능하므로, 유통과정 중 발생하는 부패냄새의 관리 또한 매우 중요하다. 유통과정에 발생하는 부패를 관리하기 위해서는 본 연구에서 개발된 부패냄새측정기에 WCDMA, GPS 등 이동통신 단말기를 부착하여 유통 중에서도 실시간적인 부패냄새 측정과 위치 추적 기능이 추가되어야 할 것이다. 실시간적인 부패냄새 측정은 최종 목적지까지의 신선도 차원의 관리가 가능한 기술이며 위치 추적은 유통과정 중 어느 지점(단계)에서 부패가 발생하였고, 향후 역추적을 통한 유통과정의 개선 사항이 반영될 수 있는 관리 수단이다. 이와 같은 실시간적인 부패냄새 관리와 위치추적과 같은 신선농식품 관리가 보완되고 추가된다면 경쟁력 높은 우리나라 농식품의 차별성 기술발전이 가능할 것이다.

5절. 연구개발 성과

1. 연구개발 목표 및 대비실적

(단위 : 건수)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용 홍보		기타 (수출계약 또는 수출인증/ 소프트웨어 등록)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI						
최종 목표	2	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	6	2	3	0	5	0	2	1
1차 년도	목표	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	실적	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	4	0	1	12
2차 년도	목표	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
	실적	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	4	0	3	0	0	13
3차 년도	목표	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	2	0	1	1
	실적	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	2	0	5	0	12	0	1	11
소 계	목표	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	3	0	3	0	1	1
	실적	4	1	0	1	0	1	0	0	0	0	6	2	12	0	19	0	2	35
종료 1차년도			1				1					2	1			2		1	
종료 2차년도			1									1							
종료 3차년도																			
종료 4차년도																			
종료 5차년도																			
소 계		0	2				1					3	1			2		1	
합 계		2	2		1		1					6	2	3		5		2	1

2. 국내외 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/ 비SCI)	게재일	등록번호
1	Comparison of the profile and composition of volatiles in coniferous needles according to extraction methods	Molecules	전연진, 이상미, 김영석	Vol. 21. No. 3.	스위스	Molecular Diversity Preservation International (MDPI)	SCI	2016.0 3	1420-3049
2	Comprehensive analysis of fungal diversity and enzyme activity in <i>nuruk</i> , a Korean fermenting starter, for acquiring useful fungi	Journal of Microbiology	Emily Carroll, 서정아	Vol. 55, No. 5	대한민국	The Microbiologic al Society of Korea	SCI(E)	2017.0 5	1225-8873
3	A diversity study of <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> in rice wine starter <i>nuruk</i> , reveals the evolutionary process associated with its interspecies hybrid	Journal of Microbiology	Mohame d El-Agamy Farh, 서정아	Vol. 55, No. 5,	대한민국	The Microbiologic al Society of Korea	SCI(E)	2017.0 5	1225-8873
4	Luminescent properties of 4-aminobenzo-15-crown-5 after preferential binding of ferric ions in aqueous solutions	Luminescence	Nguyễn Hoàng Lyl, 조광휘	32	미국	John Wiley & Sons, Inc.	SCI	2017.0 6	DOI: 10.1002/bi o.3220
5	Characterization of aroma-active compounds in Chinese quince (<i>Pseudocydonia sinensis</i> Schneid) by aroma dilution analyses	Food Research International	최지영, 이상미, 이호영, 김영석	Vol. 105.	네덜란드	ELSEVIER	SCI	2018.0 3	0963-9969
6	Changes in volatile compounds emitted by fungal phthogen spoilage of apples during decay	Postharvest Biology and Technology	김성미, 이상미, 서정아, 김영석	Vol. 146.	네덜란드	ELSEVIER	SCI	2018.1 2	0925-5214
7	가스센서를 이용한 파프리카 냄새 특성 평가	한국냄새 환경학회	홍성주, 서정아, 김선태	Vol.16, No.2.	대한민국	한국냄새환 경학회	비SCI	2017.0 6	2288-9167
8	금속산화물 가스센서와 주성분을 이용한 홍로사과의 부패냄새 감응 평가	한국냄새 환경학회	최일환, 서정아, 김선태	Vol. 16, No.2	대한민국	한국냄새환 경학회	비SCI	2017.0 6	2288-9167

3. 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	13th European Conference on Fungal Genetics	서정아, 에밀리캐롤	2016.04.03.~06	파리	프랑스
2	2016년 한국냄새환경학회 (춘계)	최일환, 김선태, 한승철, 김한수, 서정아	2016.05.26.~27	가천대학교	대한민국
3	IMCS 2016 (international meeting on chemical sensors)	홍성주, 임봉빈, 한승철, 김선태, 서정아	2016.07.10~13	ramada plaza jeju	대한민국
4	2016 한국식품과학회	김성미, 김민주, 서정아, 김영석	2016.08.17	대구 EXCO	대한민국
5	2016년 한국냄새환경학회 (추계)	최일환, 김선태, 김한수, 서정아	2016.11.24~25	서울특별시보 건환경연구원	대한민국
6	2017년 한국냄새환경학회 (춘계)	최일환, 김선태, 김한수, 서정아	2017.05.26	호텔스퀘어 안산	대한민국
7	2017 한국식품과학회	최단비, 김민주, 서정아, 김영석	2017.06.21	제주 국제 컨벤션 센터	대한민국
8	2018 Food Omics	최단비, 이상미, 김민주, 서정아, 김영석	2018.01.10~12	The Cesena Campus of the University of Bologna	이탈리아
9	2018 한국대사체학회	최단비, 이상미, 김민주, 서정아, 김영석	2018.04.05~06	The-K hotel, 서울	대한민국
10	2018 한국대사체학회	김혜원, 이상미, 김민주, 서정아, 김영석	2018.04.05~06	The-K hotel, 서울	대한민국
11	2018년 한국냄새환경학회 (춘계)	최일환, 김선태, 김한수, 서정아	2018.05.24~25	강원대학교 실사구시관 (춘천캠퍼스)	대한민국
12	2018 American Chemical Society	김혜원, 이상미, 김민주, 서정아, 김영석	2018.08.19	Boston Convention & Exhibition Hall	미국

4. 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원/등록			구분	기여율
			출원인	출원일	출원번호		
1	사과 부패 곰팡이 유래 휘발성 화합물을 포함하는 사과 부패감지용 냄새 마커 조성물	대한민국	송실대 산단, 이화여대 산단	2017.06.30	10-2017-0083318	출원	100
2	냄새 센서를 이용한 식품 부패 감지 장치 및 그 방법, 그리고 냄새 센서 선택 방법	대한민국	송실대 산단, 대전대 산단	2017.07.06	10-2017-0086172	출원	100
3	냄새성분 판별장치 및 방법	대한민국	송실대 산단, 대전대 산단	2018-08-10	10-2018-0093775	출원	100
4	파프리카 부패 곰팡이 유래 휘발성 화합물을 포함하는 파프리카 부패 감지용 냄새 마커 조성물	대한민국	송실대 산단, 이화여대 산단	2018.08.13	10-2018-0094437	출원	100
5	사과 부패 곰팡이 유래 휘발성 화합물을 포함하는 사과 부패감지용 냄새 마커 조성물	대한민국	송실대 산단, 이화여대 산단	2018.05.10	10	등록	100

5. 저작권(소프트웨어, 서적 등)

No	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록번호	저작권자명	기여율
1	사과부패시 발생하는 휘발성물질 분석용 프로그램	2016.10.30	송실대학교 산학협력단	2017.06.26	C-2017-014772호	송실대학교 산학협력단	100
2	부패정보분석기	2018.06.15	송실대학교 산학협력단	2018.06.27	C-2018-016100	송실대학교 산학협력단	100

6. 전문연구 인력양성

No.	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	학위 취득	2016		4				4	4					
2	학위 취득	2017		2	1			3	3					
3	학위 취득	2018	1	8	3		3	9	12					
계			1	14	4		3	16	19					

7. 기술거래(이전) 등

No.	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	노하우	냄새 센서를 이용한 식품 부패 감지기	(주)에어웍스	2018.08.09	3,300,000원	1회

8. 기타 (참여기업의 수출실적)

No.	수출내용	날짜	금액 (천원)
1	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2015-08-15	241,032
2	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2015-09-15	223,214
3	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2015-10-15	315,748
4	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2015-11-15	718,604
5	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2015-12-15	721,579
6	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-01-15	413,210
7	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-02-15	847,195
8	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-03-15	1,072,428
9	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-04-15	1,473,792
10	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-05-16	1,683,327
11	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-06-15	1,722,753
12	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-07-15	1,101,273
13	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-08-15	322,674
14	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-09-15	70,349
15	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-10-14	208,204
16	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-11-14	930,590
17	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2016-12-14	1,209,786
18	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-01-14	669,416
19	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-02-14	855,053
20	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-03-14	1,124,528

No.	수출내용	날짜	금액 (천원)
21	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-04-14	1,306,467
22	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-05-14	1,288,124
23	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-06-14	1,511,665
24	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-07-14	976,926
25	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-10-14	137,817
26	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-11-14	1,108,365
27	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2017-12-14	1,272,233
28	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-01-14	648,761
29	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-02-14	812,024
30	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-03-14	1,065,797
31	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-04-14	1,029,750
32	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-05-14	1,376,379
33	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-06-14	1,090,530
34	참여기업 (주) 농산 일본 파프리카 수출	2018-07-14	874,473

제3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

1절. 목표 달성도

1. 최종목표달성도

연구개발 최종 목표	세부연구목표	달성도 (%)
○ 신선 농식품 수출전략 품목의 부패관련 미생물과 부패냄새의 상관성 분석 및 부패기작 규명	- 품목별 주요 부패원인 미생물 분리 및 분자마커에 활용 동정 - 품목별 주요 부패원인 미생물의 휘발성유기 2차 대사산물 분석 - 품목별 부패원인 주요 미생물과 부패냄새와의 상관성 연구 및 부패기작 규명	100
○ 신선 농식품 수출전략 품목의 부패 단계별 미생물 정보 DB구축	- 품목별 주요 품종에 대하여 부패단계 별 미생물 군집 프로파일링 및 분석 - 부패단계별 미생물 군집 프로파일링 DB 구축	100
○ 신선 농식품 수출전략 품목의 부패 단계별 냄새마커 발굴 및 냄새분석	- 품목별 주요 품종의 냄새 성분 추출법, 분석방법 등 확립 - 품목별 부패단계별 주요 냄새마커 발굴 및 저장·유통 중 부패단계별 냄새 분석	100
○ 네트워킹 분석기법을 이용한 농식품 냄새지문 DB 구축	- 부패관련 휘발성물질(VOC)의 구조-성질 상관관계 모델 및 분석 로직개발 - 부패냄새 profile과 부패균 및 부패단계와의 상관관계분석 - 부패냄새 검출기 프로파일 data 실시간 분석용 Cloud 서비스 시스템 개발	100
○ 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발	- 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 선정 및 평가 시스템 개발 - 농식품 평가를 위한 부패단계별 냄새센서 시스템의 최적화 - Lab-scale 수출전략 농산물 냄새측정 장치개발 및 Cloud 방식의 냄새지문 플랫폼 개발	100
○ Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발	- Dual 센서 기술을 이용한 휴대용 부패 냄새센서 개발 - Lab-scale 및 생산현장을 연결하는 Cloud 방식의 통신 기술 접목 - 시제품의 현장 적용성 평가를 통한 문제점 및 개선사항 파악	100

2. 연차별 목표 달성도

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
1차년도 (2015)	주관 1세부	○부패단계별 시료수집 (파프리카, 사과)	- 대상 수출전략 품목(파프리카, 사과)의 부패단계별 시료수집 - 부패단계에 따라 부패진행도의 규격조사	100
		○품목별 부패단계별 미생물 군집 프로파일링	- 부패진행도에 따른 미생물 군집 분석 (community profiling)을 위한 메타지노믹스 정보해독 및 데이터프로세싱	100
		○부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	- 현장에서 수집한 시료로부터 부패원인 진핵미생물 분리 및 동정 - 품목별 부패원인 주요 식물 병원균 및 부생균 확보	100
	1공동	○품목별(파프리카, 사과) 휘발성유 기화합물(VOC)의 추출법, 기기분 석법 및 data프라세싱법 확립	- solid phase micro-extraction(SPME), dynamic(또는 static) headspace, stirrer bar extraction 등 최적 추출법 확립 - 휘발성 유기화합물(VOC) 분석을 위한 GC-MS 분석법 확립: 칼럼, 온도구배, 주입방식, MS scan rate/range 등 - RI, MS spectra 및 positive identification 을 통한 VOC 정성분석 - 내부 표준물질 또는 피크면적 비율을 이용한 정량분석 - Data 프라세싱법: AMDIS, SpectConnect 등 (deconvolution, peaks alignment)	100
		○다변량 통계 분석을 통한 부패 관련 냄새 마커 도출	- 다변량 통계기법을 활용한 데이터 프라세싱 및 마커 성분 도출: PCA, PLS-DA, PLSR 등 - 표준곡선 작성을 통한 냄새 마커 성분 절대정량	100
	2공동	○부패 단계별냄새 물질 관련 정보 DB 구축	- 냄새물질 관련 public DB 자료 수집 • mVOC, PubChem, KEGG 등의 public DB 활용, 상관성 분석과 예측모델 개발에 필요한 구조관련 정보 선별 - 부패 냄새 화합물 DB 구축 • 구조와 화학적 성질 포함 • 관련 미생물 tag 포함	100
	3공동	○Lab-scale 수준의 신선 및 부패 농식품 평가용 냄새센서 시스템 구축	- 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 모듈 및 평가 시스템 개발 - 농식품 평가를 위한 부패단계별 냄새센서 시스템의 최적화	100

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
2차년도 (2016)	주관 1세부	○부패단계별 시료수집 (딸기)	- 대상 수출전략 품목(딸기)의 부패단계별 시료수집 - 부패단계에 따라 부패진행도의 규격조사	100
		○품목별(딸기) 부패단계별 미생물 군집 프로파일링	- 부패진행도가 다른 시료로 미생물 군집 분석(community profiling)을 위한 메타지노믹스 정보해독	100
		○미생물군집 프로파일링 기법 개발을 위한 기존 분석 방법 응용	- 염기서열 유사도기반의 미생물 군집 분석 - 다양한 DB와 통계분석방법 적용	100
		○부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명을 위한 기초연구	- 품목별 주요부패원인균에 의한 부패 억제조건 조사 - 부패원인균의 부패진행도에 따른VOC 프로파일링 (1공동, 2공동연계)	100
	1공동	○ 품목별(딸기) 휘발성 유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법 및 data 프라세싱법 확립	- solid phase micro-extraction(SPME), dynamic(또는 static) headspace, stirrer bar extraction 등 최적 추출법 확립 - 휘발성 유기화합물(VOC) 분석을 위한 GC-MS 분석법 확립: 칼럼, 온도구배, 주입방식, MS scan rate/range 등 - RI, MS spectra 및 positive identification 을 통한 VOC 정성분석 - 내부 표준물질 또는 피크면적 비율을 이용한 정량분석 - Data 프라세싱법: AMDIS, SpectConnect 등 (deconvolution, peaks alignment)	100
		○ 다변량 통계 분석을 통한 부패관련 냄새 지표성분 도출	- 다변량 통계기법을 활용한 data 프라세싱 및 지표성분 도출: PCA, PLS-DA, PLSR 등 (부패진행 과정 및 부패초기 관련 성분 선정) - 표준곡선 작성을 통한 냄새 마커 성분 절대정량	100
	2공동	○ 품목별 부패단계, 부패원인미생물에 따른 냄새 프로파일 DB 구축	- 샘플별 GC-MS Spectra 및 Sensor data 프로파일을 DB화 - 부패단계(시간)별로 자료를 분류해 저장 - 냄새 관련 물질 정보 DB 와 연동	100
	3공동	○ 현장 적용형 부패감지기 개발을 위한 플랫폼 구축 및 핵심기술 개발	- 기존 센서 장비 수준의 수출전략 농산물 부패감지 장치의 개발 - 신선 농식품 관리를 위한 최적센서 평가 및 시작품 설계인자 도출 - Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새센서 시제품 개발 및 냄새센서 연결용 API 제작 (2,3공동연계)	100

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
3차년도 (2017)	주관 1세부	○ 품목별 부패단계별 미생물군집 프로파일링 기법 개발	- 시료간 미생물 군집 유사성 분석 - 부패단계별 미생물 군집분석을 위해 기존 분석방법을 응용한 합리적 분석 기법개발 - 품목별 적합한 분석 모델 수립 및 분석결과 구축	100
		○ 품목별(파프리카, 사과, 딸기) 생명정보 DB 구축을 위한 기초자료 제공	- 분석결과 바탕으로 품목별, 부패단계별 미생물 군집 생명정보 데이터 제공(2공동연계 DB구축)	100
		○ 부패미생물-부패냄새 상관성 분석 및 부패기작 규명	- 부패원인균의 휘발성 2차대사산물 생성능 조사 - 부패원인균 별 냄새물질과의 상관성 조사	100
	1공동	○ 부패 미생물과 2차 휘발성 유기대사산물 및 냄새 마커 생성과의 상관관계 규명	- 휘발성 유기대사산물 프로파일링 - 다변량 통계기법을 활용한 데이터 프라세싱 및 상관관계 규명: PCA, PLS-DA, PLSR 등	100
		○ 모델시스템 연구를 통한 냄새 마커의 전구체, 생성기작 및 생성요인이 미치는 영향 규명	- 냄새 마커 전구체 규명 (아미노산, 당, 지방 등) - 생성기작 규명 - 생성요인 규명 (온도, 습도, pH 등) - 미생물 종류, 군집, 생장, 활성마커 물질 (ATP, ergosterol, chitin 등) 및 효소 (lipoxygenase, protease, lipase 등) 역가 등과의 상관관계 규명	100
	2공동	○ 냄새 프로파일을 이용한 상관성 분석 및 예측 모델 개발	- 부패균 특이적 fingerprint 선별 (PCA, CCA 등 이용) - 특정 농산물의 냄새 프로파일과 부패균과의 상관관계 분석 (SVM등 이용) - 특정 농산물의 냄새 프로파일로부터 부패균과 부패단계 예측모델 개발 (ANN 등 이용)	100
	3공동	○ Cloud 방식의 휴대용 부패 냄새 센서 시제품 개발 및 냄새센서 연결용 API 제작 (2,3공동연계)	- Dual 센서 기술을 이용한 휴대용 부패 냄새센서 개발 - Lab-scale 및 생산현장을 연결하는 Cloud 방식의 통신 기술 접목 - 시제품의 현장 적용성 평가를 통한 문제점 및 개선사항 파악	100

제4장. 연구결과의 활용 계획

1절. 활용방안

1. 본 연구결과 구축되는 과실에서의 부패진행도 확립, 부패물질 분석법, 발굴되는 냄새마커 물질, 식품 부패관련 적정센서 선정, 클라우드 방식의 휴대용 감지기 플랫폼 기술, 냄새물질 DB, 미생물 생명정보 DB 등은 다른 과실용 부패감지기 제작에 활용이 가능한 방법론적인 결과물들이므로 중요한 수출전략 품목으로 확대 적용 가능함
2. 뿐만 아니라 신선 농산물의 수확 후 저장기간 동안 일어나는 부패감지에 확대 적용하여 수확후 저장 중 발생하는 경제적 손실 저감에 기여할 수 있음
3. 연구의 대상은 부패원인균에 의한 휘발성물질을 감지하는 냄새지문 활용 방식이나 이는 농산물 숙성단계와 품질관련 냄새를 측정하는 기기개발에도 응용될 수 있음
4. 연구결과는 공동연구팀인 센서개발 기업으로 기술이전하여 시제품의 상용화를 모색하고 추가적인 상품화를 위한 프로젝트를 모색할 수 있음
5. 기존 고가의 측정장비(전자코 시스템)를 대체하는 간편하고 보다 저렴한 휴대용 신선 농식품용 감지기 개발을 위한 플랫폼 기술들이 개발될 것임

2절. 기대성과

1. 기술적인 측면

- 가. 수출 농산물 품목별, 부패단계별, 부패원인 미생물 별 최초의 냄새(휘발성유기대사산물, VOC) 정보 DB 및 부패원인 미생물 생명정보 DB 구축
- 나. 새로운 미생물프로파일링 기법개발, VOC 분석기법 개발, 냄새지문 발굴 분야 기술 향상
- 다. 국내 미생물 VOC 연구 수준 향상 및 냄새지문의 활용 범위 확대
- 라. 부패냄새 판별이 가능한 휴대형 측정기의 개발/상용화를 통한 원천기술의 확보
- 마. dual 센서에 의한 냄새패턴 분석기술의 검증

2. 기술의 파급효과

- 가. 구축된 냄새정보 DB, 생명정보 DB, 각 정보의 상관성 분석을 통한 로직개발, 플랫폼 기술 등을 활용하여 타 농식품 및 가공품 등에 활용할 수 있는 기술기반 마련
- 나. 냄새지문 활용 부패 감지센서의 타 농식품(타 농산물, 축산물, 수산물 등)으로의 적용 기회 확보
- 다. 수출 농산물 또는 저장장식품의 신선도 평가 및 저장수명 예측 기술에 응용 가능
- 라. 과실 숙성단계에서의 VOC측정에 의한 적절한 수확시기 판단에 활용 가능

3. 경제 산업적 측면

- 가. 다양한 냄새관련 산업에서의 부패감지기 활용 증대에 따른 매출증대 및 수입대체 효과
- 나. 부패진행 예측정보에 따른 농산물의 유통/관리체계의 개선 효과

4. 사회·경제적 파급효과

- 가. 안전한 식품 관리 및 진단기술 확보로 소비자에게 안전한 먹거리 제공 및 공중보건 향상
- 나. 농산물 수확 후 관리 시 부패에 의한 경제적 손실 및 다양한 농수축산식품의 부패방지로 경제적 손실 저감에 기여
- 다. 농축산식품의 고품질화를 위한 파생 기술 제공으로 국제경쟁력 있는 고품질 농산물의 수출 증대 효과
- 라. 수출 전략품목의 안정적 품질관리로 시장확대 효과 및 수출국 다변화에 기여

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.