

발 간 등 록 번 호

11-1541000-001427-01

인경채류 수확후 장애 제어 연구
Control of Postharvest Disorders
in *Allium* species

서울대학교

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “인경채류 수확후 장해 제어 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2012년 4월 9일

주관연구기관명 : 서울대학교

주관연구책임자 : 이 승 구

연 구 원 : 조 정 은

연 구 원 : 이 지 현

연 구 원 : 배 로 나

연 구 원 : 오 수 환

연 구 원 : 장 성 호

연 구 원 : 이 재 신

연 구 원 : 정 지 선

연 구 원 : 이 동 현

참 여 기 업 명 : 탐하영농조합법인

참여기업책임자 : 정 창 중

참여기업연구원 : 최 영 수

요 약 문

I. 제 목

인경채류 수확후 장해 제어 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

국내 주요 조미채소인 양파와 마늘의 이용가치 극대화 및 경제적 손실을 줄이기 위해 양파와 마늘에서 발생하는 수확후 장해 중 투명인엽현상과 변색현상을 제어하고, 최종적으로 수확후 손실발생률을 10% 이내로 감소시킬 수 있는 수확후 관리 프로그램을 개발하고자 함

2. 연구개발의 필요성

양파와 마늘은 재배면적 기준으로 양파는 6번째, 마늘은 3번째를 차지하는 국내 주요 조미채소로서 1년에 1회 수확되어 저장 후 판매되고 있으나, 수확후 관리가 제대로 이루어지지 않아 저장 중 부패 및 생리장해로 인한 손실이 매우 높은 실정이다.

양파와 마늘의 수확후 장해는 재배요인, 수확시기와 예건 정도, 저장조건에 크게 영향을 받으나, 부패 및 생리장해를 동시에 제어할 정형화된 저장조건이 확립되지 않은 실정이다. 선진국에서는 기계 수확, 큐어링, 저장, 유통 등 일관성 있는 관리 체계가 구축되어 수확후 품질을 유지하고 부패로 인한 손실을 줄이고 있으나, 우리나라는 아직 양파와 마늘의 수확후 관리 체계가 미흡한 실정이다.

양파와 마늘의 저장 중 발생하는 가장 큰 문제는 멍아엽 출현으로 저장 중 멍아엽이 출현할 경우 상품성이 크게 떨어지며, 멍아엽 신장으로 인한 중량감소도 큰 손실로 작용한다. 장기 저장용 양파는 멍아엽 신장을 억제하기 위해서 저온 저장을 실시하고 있는데, 충분한 예건이 이루어지지 않은 상태에서 저장 온도를 지나치게 내리면 동해가 발생할 수 있어서 수확후 저장 전처리, 저장기간에 따른 저장 온도 프로그램 등과 같은 수확후 관리 프로그램 개발이 요구된다.

양파의 수확후 손실률은 보통 15% 정도이나, 심한 경우는 30%까지 손실되며, 수확후 장해는 동해, 수침장해, 박테리아 연부현상 등이 알려져 있다. 이들 장해는 인편투명화로 증상이 모두 비슷하여 저장중

발생하는 장해에 대한 책임의 소재를 두고 양파 재배업자, 저장업자간의 분쟁이 종종 발생하곤 한다.

마늘의 수확후 가장 문제가 되는 장해는 변색현상으로, 특히 청변 현상은 마늘을 저장, 가공, 유통 및 판매하는 농업인이나 기업인에게 현장 애로 사항으로 문제시 되고 있으며, 실제로 한 유통업체는 가공후 시장에 출하된 다진마늘 제품 중 변색 마늘 발견 시 전량 수거하는 방법으로 해결하고 있어, 이로 인한 경제적 손실이 막대하다. 다른 기업의 경우도 마늘의 변색이 인체에는 무해한 자연적인 생리 현상이라고 주장하나, 청변이나 갈변된 마늘의 유해 여부가 제대로 입증된 바 없다. 마늘의 장기저장을 위해 저온저장이 실시된 이후 마늘 변색 문제는 끊임없이 제기되어 왔으며, 특히 최근 들어 청변 관련 민원이 급증하고 있으므로 해결할 필요성이 크다. 또한, 소비자의 식품 안전에 대한 관심이 급속도로 증가하고 있으나, 마늘 변색 현상에 대한 원인의 구명이 필요한 실정이다.

따라서 본 연구를 통하여 양파의 수확후 처리기술을 개발하여 수확후 손실률을 줄이고, 마늘의 변색 발생기작 구명 및 색소의 유해 여부를 판단하여 변색된 마늘에 대한 소비자들의 인식을 개선하고, 그에 대한 기피 현상을 해결하고자 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 양파

양파 수확후 장해 유형 파악 및 장해발생 원인 구명을 위해 양파를 -1, 0, 20°C에서 5개월간 저장하여 양파 저장과정에서 발생할 수 있는 각종 장해에 대해서 연구하고, 저장 온도에 따라 양파의 품질이 어떻게 변화시키는지에 대해서 살펴보았다. 양파의 수확후 취급과정 개선 및 장해 방지 기술 개발을 위해서 양파의 동해 발생에 영향을 주는 요소를 확인하기 위해 저장 온도 및 노출 횟수가 동해 유발에 주는 영향을 확인하였고, 기존에 알려진 고농도 이산화탄소의 투명 인엽 현상의 상관관계를 검토하고자 각기 다른 농도의 이산화탄소 가스를 양파에 처리하였다. 병해 원인 탐구를 위해서 저장 중 무름병 증상을 보이는 개체에서 병원균을 동정하여 확인하였으며, 장해 방지 기술 개발을 위해 국내에서 사용하는 기존 열풍 큐어링의 온도보다 높은 온도에서 큐어링을 실시하였다. 마지막으로 살균 작업이 용이하지 않은 양파의 저장성 증진을 위해 이산화염소 가스로 양파를 살균처리하였다.

2. 마늘

마늘 변색 원인을 구명하고 실제 녹색 색소를 유기시키기 위해서 여러 품종의 마늘을 각기 다른 온도에서 저장하여 유전자의 발현 정도를 확인하여 녹변과 관련된 효소를 확인하였고, 아미노산을 종류별로 1-PeCSO와 2-PeCSO, alliinase와 반응시켜 마늘 녹변에 주요한 역할을 하는 아미노산을 구명하였다. 다음

으로 녹변과 관련된 유헥화합물을 확인하고자 각기 다른 유헥화합물을 alliinase와 glycine과 반응시켜 마늘 변색 발생 여부를 확인하고, 열처리 방법을 달리하여 실제 마늘 가공 시 녹변을 억제하는 방법을 찾아보았다. 마지막으로 변색 마늘의 상업적 가치를 재고하고자 쥐에게 녹변이 생기지 않은 마쇄 마늘과 녹변한 마쇄 마늘의 농축액을 먹여 독성 검사를 실시하고, 녹변 방지의 일환으로 마늘을 수확후 마쇄하여 냉동 보관한 후에 각기 다른 온도에서의 녹변 여부 및 품질을 검사하였다.

IV. 연구개발결과

1. 양파

저장 과정 중 생리적 장애로 동해와 맹아엽 출현이 발견되었고, 병리적 장애로 무름병으로 인한 저장 손실이 발생하였다. 맹아엽 신장과 무름병등으로 인한 저장 장애는 고온 저장시 저온 저장시보다 빠르게 발생했으며, 품질요소로는 경도가 빠르게 감소하였다. 양파의 빙결점은 -1°C 로 알려져 있었지만, 장기저장 시 이 온도에서도 동해가 발생하여 동해 방지를 위해서 0°C 이상의 온도에서 저장해야 된다는 것과 동해 발생에는 노출 온도의 뿐만 아니라 노출 횟수도 중요하게 작용하여 안정된 온도의 유지가 동해 방지를 위해 필수적이라는 것을 확인하였다. 이산화탄소 가스로 인한 투명 인엽 현상의 발생은 매우 높은 이산화탄소 농도에 노출될 경우에만 발생하여 적절한 환기와 내부 공기 순환을 병행할 경우 그로 인한 피해의 우려는 없을 것으로 생각되며, 큐어링을 실시한 모든 처리구에서 양파의 품질 저하 없이 껍질의 수분과 출엽률이 감소하여 큐어링의 효과를 확인했을 뿐만 아니라 40°C 의 열풍 큐어링은 기존 처리 방식보다 짧은 시간 처리하여도 효과를 볼 수 있어 큐어링의 처리 효율을 높이고 병원균의 발달의 억제할 수 있는 여지를 마련하였다. 마지막으로 이산화염소 가스 처리로 인한 살균효과 및 품질 변화를 확인한 결과, 품질 상으로 양파에 아무런 해가 발생하지 않고, 미생물의 수가 크게 감소한 것을 확인함으로써, 이산화염소 가스가 살균제로서 양파 수확후 관리 기술에 적합함을 확인하였다. 또한, 이들 실험 결과와 양파에 대한 학술 연구를 바탕으로 양파의 기존 수확후 관리 프로그램을 개선하였다. 매년 저장 장애로 인한 양파의 저장 손실은 일반적으로 15%정도라 여겨지는데, 이들 연구 결과를 토대로 개선된 수확후 관리 프로그램을 현장에 적용한다면 본 연구의 목표인 10%이하의 저장 손실률을 충분히 달성할 수 있을것이라 여겨진다.

2. 마늘

마늘 녹변의 원인 구명 및 유발 실험 결과, 마늘 녹변은 저온에서 γ -glutamyl transpeptidase (GGT)의 발현의 증가로 인하여 마늘 녹변에 관여하는 유헥화합물인 1-PeCSO의 합성이 증가하여 유발된다는 것과

녹변 반응 모델에서는 녹변 유발을 위해 glycine을 주로 사용하지만, 실제 마늘 녹변에는 glycine, arginine, lysine, serine, alanine, aspartic acid, histidine, asparagine, glutamine, tyrosine의 최소 8종 이상의 아미노산이 관여한다는 것이 확인되었다. 유황화합물에 따른 녹변 여부 판명 실험 결과에 따라 마늘 녹변에 필수적인 유황화합물은 1-PeCSO라는 것이 밝혀졌으며, 녹변 유발 과정에 alliinase와 glycine과 같은 녹변 관련 아미노산도 없어서는 안 될 필수적인 요소라는 것을 확인하였다. 마늘 녹변에는 ACSOs 중 1-PeCSO 뿐만이 아니라 2-PeCSO도 필요하다는 것을 확인하여 마늘 녹변에는 1-PeCSO, 2-PeCSO, alliinase, 아미노산이 모두 필요하다는 결론을 내릴 수 있었다. 열처리 방식에는 기존 20°C로 처리했을 경우보다 25°C로 처리했을 경우 품질 저하 억제 및 처리 시간 단축 면에서 훨씬 효율적이라는 것을 확인할 수 있었으며, 독성 검사를 토대로 볼 때 녹변 마늘은 전혀 유해하지 않아 변색 마늘의 상업적 이용 가능하다는 사실을 밝혀내었다. 마늘을 수확 직후 바로 마쇄하여 냉동 보관하는 방식은 녹변을 억제할 수 있을 뿐만 아니라 통마늘을 저온 저장하여 마쇄했을 경우보다 품질면에서도 크게 떨어지지 않는다는 것을 본 실험을 통해 확인할 수 있었다.

SUMMARY

1. Investigation on postharvest disorders of onion bulbs during storage

In this study, patterns of loss and causes of physiological disorders in several varieties of onion bulbs (*Allium cepa*) at different storage temperatures were investigated. Quality tests were also conducted to confirm the relationship between varieties and storage temperatures. Onion varieties such as 'Daego', 'Turbo', and 'Sunpower' were stored at -1, 0, 20°C for 5 months to investigate physiological disorders during storage and at 0 and 20°C for 5 months to evaluate quality changes in onion bulbs. Sprouted onions were found in onion bulbs stored at 20°C and frozen ones at -1°C. Diseases, such as soft rot caused by *Erwinia*, basal rot by *Fusarium*, neck rot by *Botrytis*, and black mold by *Aspergillus*, were also founded during storage. Soft rot was the most usual disease in onion bulbs stored at -1 and 0°C and molds were the most prosperous in onion bulbs stored at 20°C. However, one of physiological disorders, translucent scale, was not found during storage at any temperature. In quality tests, hardness was significantly decreased in onion bulbs stored at 20°C than onion bulbs at 0°C and accelerated disease development.

2. Improvement of postharvest handling in storage of onion bulbs

The effect of heated air vent, storage temperature, and high concentration of CO₂ gas on onion bulbs were investigated and pathogen of soft rot was isolated. Forced heated air vent was conducted on onion bulbs at 30°C for 8 days and 40°C for 4 days under the 60% relative humidity, and then onion bulbs were stored at 5°C for 6 months. Storage of onion bulbs at 0, 5, 10, 15, and 20°C was also conducted to elucidate the relationship between storability of onion bulbs and storage temperatures. To confirm the effect of CO₂ gas on onion bulbs, CA conditions (10, 20, 40, and 100% CO₂ gas, and 10, and 20% CO₂ gas with 6% O₂ gas) were applied to onion bulbs stored at 0°C for 4 weeks. Sequencing of 16S rRNA and EF-TEM image analysis were conducted to elucidated pathogen of soft rot. Forced heated air vent reduced moisture

content of onion skins and percentage of sprouted onion bulbs, and made deeper color. Under the temperature condition over 5°C, sprouted onion bulbs were found after 5 months of storage and the most numerous sprouted onion bulbs were found at 10°C after 7 months. None of onion bulbs exposed to any of the gas condition for 4 weeks showed translucent scale except for 100% CO₂ gas condition. The pathogen isolated from onion bulbs showing the symptom of soft rot was identified as *Bacillus* genus. In conclusion, forced heated air vent at relatively high temperature is an available method to reduce the moisture content of the outer surface of onion bulbs and storage of onion bulbs at 0°C needs for long term of storage more than 5 months. With frequent ventilation and air circulation there are little chance of translucent scale caused by high concentration of CO₂ gas and the symptom of disease caused by *Bacillus* genus is quite similar with the symptom of soft rot.

3. Development of onion postharvest technology and program for onion storage

A sterilization method was developed for onion postharvest technology and a postharvest program for onion was designed. Chlorine dioxide (CD) gas was applied on onion bulbs (*Allium cepa*) to develop onion postharvest technology. CD gas was applied to unpeeled and peeled onion bulbs, and onion skins inoculated with microorganism at the concentration of 1000, 500, and 250 ppmv for 1, 0.5, and 0.25 hour, then samples were stored at 0°C for 7 weeks. Reduction of the number of microorganism, visual appearance, weight loss, total soluble solids (TSS), pungency, firmness, total phenolic content, and antioxidant activity (ABTS) were measured. The postharvest program for onion was designed by adopting result of previous studies and research data. Application of CD gas reduced the number of microorganism inoculated on onion skins. No influence was caused by the application of CD gas in unpeeled onion bulbs, but numerous small sunken regions on the outer surface of onion bulbs, average more weight loss, and initial reduction of total phenolic content and antioxidant activity were occurred by the application of CD gas in peeled onion bulbs. As onion bulbs without intact skins lose their marketability, CD gas is a disinfectant applicable for the storage of onion bulbs without any deleterious effect on the qualities of onion bulbs, and the postharvest program designed in this study would help reduce onion losses during storage.

4. Elucidation of the cause of greening in crushed garlic bulbs and synthesis of green pigment

Greening of crushed garlic bulbs occurs when garlic bulbs are stored at low temperature. Studies on the activities of candidate genes related to greening, γ -glutamyl transpeptidase (GGT) and alliinase, in garlic bulbs stored at different temperatures and the color-forming ability of different amino acids with thiosulfinates in crushed garlic bulbs were conducted to elucidate the mechanism of greening in crushed garlic bulbs (*Allium sativum*). For the analysis of GGT activity, GGT sequence of garlic was partially cloned using an onion GGT sequence, and the relationships between garlic greening and related gene expressions depending on storage condition were investigated by using reverse transcription-polymerase chain reactions (RT-PCR) for GGT and alliinase of garlics stored at different temperature condition. Thiosulfinates were extracted from the crushed garlic and onion bulbs, and solution of extracted thiosulfinates and each one of 22 amino acids were incubated together at 60°C for 3 h to confirm amino acids related to the greening of crushed garlic bulbs. As a result, the expression of the *alliinase* was unaffected by the storage condition, but *GGT* expression was changed with condition of storage temperature. As for the experiments on amino acids related to greening in crushed garlic bulbs, it was elucidated that the greening was created by the combination of yellow and more than eight blue pigments, and free amino acids forming blue pigments when reacted with thiosulfinates were glycine, arginine, lysine, serine, alanine, aspartic acid, histidine, asparagine, glutamine, and tyrosine. These results indicate that the greening in crushed garlic bulbs develops with increasing GGT expression at low temperature and the amino acids which would most likely be related with greening in crushed garlic bulbs are arginine, asparagine, and glutamine in the view of similarity of spectra with naturally-greened garlic extract.

5. The mechanism and suppression of greening in crushed garlic bulbs

The study was conducted to elucidated the mechanism of greening in crushed garlic bulbs and to develop methods for suppression the greening. The mechanism of greening were investigated through the model reactions performed with alliinase, glycine, ACSOs at different concentrations. Changes of storage temperature and application of organic acids were conducted to find methods to suppress greening in crushed garlic bulbs. In the model reactions, pink pigment was

generated from 1-PeCSO, green pigment was generated with reaction of 1-PeCSO, 2-PeCSO, alliinase and amino acids. Therefore, 1-PeCSO was essential for the greening. Even non-greening garlic bulbs stored at 20°C turned green by the addition of 2 % 1-PeCSO, thus 1-PeCSO isolated from onion bulbs had the same role with 1-PeCSO in greening of garlic bulbs. Onion bulbs turned green by the addition of 6% 2-PeCSO. The greening level of crushed garlic bulbs were different depending on cultivars, but the greening was appeared in all varieties of garlic at 0°C after 3 months. Garlic greening was suppressed and content of 1-PeCSO were lowered in garlic bulbs when bulbs were transferred to 25°C and stored for several weeks. While application of organic acids was also valid in suppressing greening, the greening of crushed garlic bulbs were not entirely suppressed and emitted sour smell. Therefore, greening of crushed garlic bulbs occurs due to increase of 1-PeCSO in garlic bulbs under low temperature and the transferring garlic bulbs to 25°C and stored several weeks is the most suitable method to suppress garlic greening.

6. Safety evaluation of garlic greening and development in processing of crushed garlic bulb

Safety of garlic greening was evaluated and the optimal method for processing crushed garlic bulbs was developed. Safety of green crushed garlic bulb was evaluated by using mouse. The mouse was regularly fed with crushed non-greening garlic bulbs or greening crushed garlic bulbs for 28 days and damages on liver were estimated by the levels of AST, ALT, ALP, and GGT in the blood vessels. For the development of optimal method for processing crushed garlic bulbs, garlic bulbs were crushed after harvest and then stored at -10°C for 5 months. And then, each crushed garlic bulbs was transferred to -10, 0, and 20°C storage room and stored for a week. Hunter 'a' value, sulfur compounds, and volatile compounds were measured. Levels of AST, ALT, ALP, and GGT in blood vessels of control mouse and mouse fed with crushed non-greening garlic or green garlic showed no difference. The garlic bulbs crushed after storage at 0°C for 5 months showed greening after a day at room temperature. However, exposure of the crushed garlic bulbs to 20°C condition made crushed garlic bulb de-greening. On the other hands, garlic bulbs crushed after harvest and stored at -10°C for 5 months showed no greening for a week, whatever temperature condition those crushed garlic bulbs were transferred into, and also showed no greening even after a day at the room temperature,

and the content of diallyl disulfide, one of the most important factors of garlic flavor, was not significantly affected by the process. In conclusion, crushed garlic bulbs and crushed garlic bulbs with greening are harmless, and the method crushing garlic bulbs after harvest and storing -10°C is suitable for the processing of crushed garlic bulbs.

CONTENTS

I. Introduction.....	13
1. Objective.....	13
2. Goals and Scope.....	14
II. Current Development of Related Technology.....	18
1. Current development of related technology in Korea.....	18
2. Current development of related technology in foreign country.....	19
III. Research Data.....	22
1. Investigation on postharvest disorders of onion bulbs during storage.....	22
2. Improvement of postharvest handling in storage of onion bulbs.....	33
3. Development of onion postharvest technology and program for onion storage....	44
4. Elucidation of the cause of greening in crushed garlic bulbs and synthesis of green pigment.....	61
5. The mechanism and suppression of greening in crushed garlic bulbs.....	72
6. Safety evaluation of garlic greening and development in processing of crushed garlic bulb.....	84
IV. Achievement Evaluation.....	94
1. Achievement.....	94
2. Aid in related field.....	96
V. Practical Application of the Results.....	97
VI. International Scientific Information Collected.....	100
VII. Literature Cited.....	102

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요.....	13
제 1 절	연구개발의 필요성.....	13
제 2 절	연구개발 목표 및 범위.....	14
제 2 장	국내외 기술개발 현황.....	18
제 1 절	국내 기술개발 현황.....	18
제 2 절	국외 기술개발 현황.....	19
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과.....	22
제 1 절	양과 수확후 장해 유형 파악 및 장해발생 원인 구명.....	22
제 2 절	양과의 수확후 취급과정 및 장해 방지 기술의 개선.....	33
제 3 절	양과 수확후 관리기술 및 프로그램 개발.....	44
제 4 절	마늘 변색 발생원인 구명 및 녹색 색소 합성.....	61
제 5 절	마늘 변색 발생 기작 및 억제.....	72
제 6 절	변색 마늘의 유해 여유 판정 및 가공 후 관리기술.....	84
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	94
제 1 절	목표달성도.....	94
제 2 절	관련분야에의 기여도.....	96
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획.....	97
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보.....	100
제 7 장	참고문헌.....	102

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

인경채류 중 양파와 마늘은 한국인의 식생활에서 중요한 위치를 점하고 있는 주요 조미 채소이나 저장 및 가공 과정에서 각종 장애로 인해서 많은 양이 손실되고 있다. 양파는 대부분의 저장 장애가 인편의 투명화로 나타나 장애의 원인 구명을 하기 어려워 추후 장애 발생을 억제하기 위한 방법의 개발이 쉽지 않고, 마늘은 박피 마늘 및 마쇄 마늘 가공 시에 발생하는 마늘 변색이 소비자의 기피를 유발하고 있다. 마늘 녹변은 영양적 측면이나 안정성 면을 고려해 볼 때 소비에 전혀 지장이 없는 현상이지만, 시각적인 거부감으로 인해 소비자에게 불안감을 조성하고 있어 근래에 있어 큰 문제점으로 대두되고 있다.

이에 본 연구에서는 양파의 수확후 발생하는 투명인엽현상에 대한 연구를 통해 그 원인을 구명하고 해결책을 찾아내고자 하며, 이를 토대로 기존 양파의 수확후 관리 기술을 개선하고자 한다. 마늘은 가공 과정에서 발생하는 녹변을 억제하고자 마늘 녹변에 관련하는 물질과 마늘 녹변 발생 기작 구명을 통해 마늘 녹변 억제를 위한 기술을 개발하고자 함과 동시에 이와 더불어 녹변 마늘의 안전성에 대한 평가를 과학적으로 수행하여 녹변 마늘의 안전성을 제고하고 녹변 마늘의 상업적 이용 가능성을 높일 것이다.

1. 기술적 측면

양파의 저장 과정에 있어서 투명인엽현상으로 인한 손실이 발생하는데, 대부분의 장애 현상이 투명인엽현상으로 시작하고 이 현상을 시작으로 추가적인 장애가 발생하기에 양파의 출하시기에 장애 발생으로 인한 손실된 양파를 가지고 그 근본적인 원인을 찾아내기란 쉬운 일이 아니다. 현재로서는 투명인엽현상의 근본적인 원인을 정확히 밝혀내기는 힘들다고 할 수 있다. 마늘 가공에서 마늘 녹변 방지 기술로 주로 사용되고 있는 방식은 열처리와 유기산 첨가 방식이 개발되어 있지만, 열처리 방식은 너무 높은 온도 처리로 인하여 품질 저하나 처리의 균일성이 떨어지는 문제점 외에도 낮은 온도로 장기간 처리하여 부패로 인한 손실이 발생하는 등의 문제점이 발생하고 있으며, 유기산 첨가를 통한 pH 조절 방식 또한 맛과 향기의 변질 및 이물질 첨가로 인한 소비자의 선호도 감소 등의 문제를 낳고 있다.

따라서, 본 실험을 통해서 양파의 투명 인엽을 발생시키는 각종 장애 유발 요건의 파악을 한다면, 그 장애 유발을 막을 수 있는 수확후 관리 기술의 개발 및 개선을 가능케 할 것으로 여겨지며, 마늘에서는 녹변에 관여하는 물질과 발생 기작을 밝혀내어 녹변 억제를 위한 차후 해결책 개발에 도움이 될 것으로 여겨진다.

2. 경제, 산업적 측면

양파의 수확후 관리 분야에서 투명인엽현상은 농민이나 저장 업자에게 큰 경제적 손실을 야기하고 있지만, 그 정확한 원인을 알지 못하여 그로 인해 발생하는 손실을 최소화하지 못하고 있다. 따라서 양파의 투명인엽현상의 원인 구명을 통한 수확후 관리 기술의 개선을 통해 저장 과정 중 장애로 인해 발생한 경제적 손실을 최소화할 수 있을 것이라고 여겨진다. 마늘의 녹변은 마늘의 상업화에 매우 커다란 걸림돌이 되고 있는데, 마늘 녹변이 발생하는 경우 상품성이 저하되기 때문에 마늘 녹변을 방지하기 위해서 마늘을 가공하여 유통하는 많은 농민이나 기업인들이 이 문제를 해결하기 위해 노력중이다. 따라서, 마늘 녹변의 발생 기작 구명을 통해 녹변 억제 대책을 구한다면, 녹변으로 발생하는 경제적 손실을 최소화할 수 있을 뿐만 아니라, 녹변마늘에 대한 소비자의 인식을 재고하고, 그 이용 가치를 최대화 할 수 있을 것이라 여겨진다.

3. 사회, 문화적 측면

본 연구를 통해 양파의 저장 장애에 대한 이해를 돕고, 세계적인 수준의 수확후 가공 기술을 갖추는데 이바지 할 수 있을 것이며, 마늘 녹변 억제 기술은 밀려오는 중국산 가공 마늘에 대처하여 국내 가공 마늘의 안전성과 신뢰성을 제고하고, 더 나아가 국내 가공 마늘 산업 발달과 국제 경쟁력 상승에 이바지할 수 있을 것이다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 범위

1. 양파 수확후 장애 유형 파악 및 장애발생 원인 구명

가. 연구목표

- 1) 양파의 저장 온도에 따라 발생한 장애를 관찰하여 그 특징을 파악한다.
- 2) 양파의 저장성을 결정하는 양파 품질의 저장 온도에 따른 변화를 확인한다.

나. 연구 범위

1) 양파 수확후 장애 유형 파악

실험 재료: 창녕대고, 터보, 썬파워

저장 온도: -1, 0, 20°C

2) 양파 수확후 장해발생 원인 구명

실험 재료: 창녕대고, 터보, 썬파워

저장 온도: 0, 20°C

저장 기간: 5개월

품질 변화: 경도, 당도, pyruvic acid 측정

2. 양파의 수확후 취급과정 개선 및 장해 방지 기술 개발

가. 연구 목표

- 1) 양파의 수확후 취급과정 개선을 위한 양파의 최적 저장 온도를 탐색, 열풍 처리를 한다.
- 2) 양파의 투명인엽현상을 유발하는 요건에 대한 탐색을 한다.

나. 연구 범위

1) 양파의 수확후 취급과정 개선

실험 재료: 양파 '터보'

최적 저장 온도 탐색: 0, 5, 10, 15, 20°C에 7개월간 저장

열풍 처리: 30°C 60% RH에서 8일, 40°C 60% RH에서 4일간 처리

2) 양파의 수확후 장해 방지 기술 개발

CO₂ 장해: 10, 20, 40, 100% CO₂와 10% CO₂, 6% O₂와 20% CO₂, 6% O₂를 처리하여 0°C 저장고에 4주간 저장

동해: 노출 온도와 기간 빈도를 달리하여 저장 한 양파를 neutral red로 염색하여 관찰

무름병: 무름병 증상을 보이는 양파에서 병원균을 분리하여 PCR을 통한 16S rRNA 분석

3. 양파 수확후 관리기술 및 프로그램 개발

가. 연구 목표

- 1) 가스로 처리가 가능한 살균제인 이산화염소 가스 처리의 양파 수확후 관리 기술로의 적용 가능성 여부를 판단 한다.
- 2) 양파의 수확후 손실률을 줄이기 위한 양파 수확후 관리기술을 개발한다.

나. 연구범위

1) 수확후 취급과정 개선

실험 재료: 양파 '터보'

이산화염소 가스 처리: 250, 500, 1000ppmv의 농도의 15분, 30분, 60분간 처리

저장 온도 및 기간: 5°C에서 7주간 저장

2) 양파의 수확후 최적 관리 모델 구상

모델 구상: 수확 시기, 수집 방법, 수확, 저장 전 처리, 저장, 출하 등으로 나누어 모델링

4. 마늘 변색 발생원인 구명 및 녹색 색소 합성

가. 연구 목표

- 1) 마늘 녹변에 관련된 효소를 구명하고, 저장 온도와 효소 발현 정도의 상관관계를 밝혀 마늘 녹변에 결정적인 효소를 구명한다.
- 2) ACSOs 중 마늘 녹변과 관련된 1-PeCSO와 2-PeCSO의 마늘 녹변 유도를 위한 적정 비율을 찾고, 마늘 녹변과 관련된 주된 아미노산을 밝혀낸다.

나. 연구 범위

1) 마늘 변색 원인 구명

실험 재료: 의성마늘, 대서마늘, 남도마늘

저장 온도: 0, 5, 10, 15, 20°C

저장 기간: 6개월

변색 측정: Hunter 'a'

효소 발현: RT-PCR

2) 녹색 색소 합성

실험 재료: 남도 마늘

청변 유도: 효소를 불활성화한 마늘과 양파를 섞은 주스에 생마늘 주스를 넣어 60°C에서 3시간 보관

녹색 색소 합성: 마늘과 양파를 섞어 만든 주스에서 thiosulfinates 추출 후, 아미노산과 반응

청색 물질 분석: Diode array detector가 장착된 HPLC 사용

5. 마늘 변색 발생 기작 및 억제

가. 연구 목표

- 1) 마늘 녹변 발생 기작을 녹변 반응 모델을 통해서 확인한다.
- 2) 노출 온도와 처리 시간을 달리한 열처리 방식으로 마늘 가공에 적당한 방법을 탐색한다.

나. 연구 범위

1) 마늘 변색 발생 기작

실험 재료: 서산 마늘, 무안 양파

저장 온도: 0, 20°C

저장 기간: 3개월

마늘의 유허화합물 분리 및 합성: ion exchange chromatography를 사용한 추출 및 인위적 합성

변색 발생 기작: 유허화합물, alliinase, glycine을 사용한 녹변 반응 모델

2) 마늘 변색 억제

실험 재료: 남도마늘, 대서마늘, 서산마늘

저장 온도: 0°C

저장 기간: 3개월

저장온도 변경: 20, 25°C

6. 변색 마늘의 유해 여유 판정 및 가공 후 관리기술

가. 연구 목표

1) 녹변 마늘의 안전성을 평가하여 녹변된 마쇄 마늘의 안전성을 재고하고, 그 시장적 이용가치를 높이고자 한다.

2) 녹변 억제 기술의 일환으로 수확후 바로 마쇄하여 냉동 보관하는 가공 방법의 유용성을 판단한다.

나. 연구 범위

1) 변색 마늘의 유해 여부 판정

실험 재료: 남도 마늘

녹변 유발: 0°C에서 3달간 저장 후 마쇄

유해 여부 판정: 쥐를 이용한 간 독성 평가

2) 가공 후 관리기술

실험 재료: 남도마늘

가공 방법: 수확 직 후 마쇄하여 5개월간 -10°C에 보관

품질 평가: -10, 5, 20°C로 옮겨 일주일간 색의 변화, 유허화합물, 휘발성 물질 변화 측정

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 기술개발 현황

1. 양파의 수확후 관리 기술

양파 저장 과정에서 국내에서 볼 수 있는 특별한 과정이 망포장 작업이다. 일반적으로 양파 저장 기술이 선진화된 해외 국가에서는 장기저장을 위한 양파는 벌크로 수확하여 저장하는데, 국내에서는 수확후 건조 작업을 마치면 줄기를 절단하여 망에 넣는 작업을 한다. 이렇게 수확된 양파는 바로 저장하는 것이 좋지만, 수확기에 개별 농가가 생산한 양파를 구매하여 저장하는 방식을 취하는 국내 양파 저장 산업의 특성상, 망작업을 마친 양파를 야외의 파레트 위에 적재하여 덮개를 덮어 방치하거나 간이 저장고에 적재한 후 거래가 끝날 때까지 보관을 하게 된다. 이 과정에서 야외에 방치할 경우 외부 대기와의 직접적인 접촉으로 인해 양파의 저장성과 품질이 급격하게 떨어질 수 있기에 이렇게 건조된 양파는 보통 수집되어 파레트에 올려 창고에 적재한 후 다시 건조 작업을 거치게 된다. 이미 양파는 망 작업을 거쳤기 때문에 2차 건조 단계에서 1차 건조 단계에서 발생한 불량 개체를 선별하여 재포장 하는 것은 사실상 쉬운 일이 아니며 이로 인해 저장 과정에서 부패 개체로 인한 대량의 손실을 입을 가능성이 매우 높아지게 된다. 또한, 양파의 수확 시기에 최대한 많은 양의 양파를 확보하여 저장하기 위해서 장기간에 걸쳐 많은 양의 양파를 저장고 안에 입고하고, 일괄 출하 방식이 아닌 시장 가격에 맞춘 다단계 출하 방식 취하기 때문에, 저장고 내의 양파가 빈번히 외기에 노출되어 습기가 차거나, 과적으로 인해 저장고 내의 공기 순환이 용이치 않게 되기도 한다. 우리나라에서 2차 건조는 특별히 정해진 온도나 기간 등은 없어 저장 업체마다 그 기준이 다양하지만 일반적으로 32-37°C 사이의 다양한 온도에서 2-7일간 처리하거나 외부 공기를 강제 순환하여 건조하는 경우가 많다.

2. 마늘의 수확후 관리 기술

관행적으로 마늘의 저장과 판매는 통마늘 위주로 이루어져 왔으나 근래에 들어 신선 편이 채소에 대한 요구의 증가로 인하여 통마늘 위주의 수요에서 박피마늘이나 다진 마늘의 위주의 수요로 전환하고 있는 추세이다. 신뢰할 수 있는 고품질 마늘에 대한 요구는 소비가 줄고 있는 통마늘과 소비가 늘고 있는 다진 마늘 모두에서 증가하고 있다. 이런 소비자의 요구에 맞추고자 각지에서 마늘 수매 작업과 더불어 마늘 가공 공장을 운영하거나 마늘 특산지에서는 농산물가공 유통 센터를 설립하여, 제품의 품질 관리와 함께 소포장 브랜드화를 실시하여 통마늘이나 박피마늘을 판매하고 있으며, 이 외에도 마늘 관련 상품인

다진마늘, 흑마늘, 마늘 드링크 등을 가공하여 시중에 판매하고 있다.

대표적인 마늘 가공물 중의 하나가 박피마늘이다. 마늘 판매에 있어서 박피마늘이 차지하는 비율은 약 70-80% 정도로 박피마늘이 마늘 가공에 있어서 차지하는 비율은 상당히 높은 편이다. 박피마늘을 생산하기 위해서는 여러 제조 공정을 거치게 된다. 일반적으로 저장 통 마늘을 박피하기 위해서는 처음에 통마늘 상태의 마늘을 건조 분리하여 쪽 상태로 만들어야 한다. 이후 각 마늘쪽의 껍질을 벗기는 과정이 필요한데, 이는 주로 컴프레서를 이용한 공기압을 통해서 진행된다. 이 과정을 거치고 나면 벗겨지지 않은 마늘쪽을 선별해내는 작업이 필요한데 이 작업은 박피마늘 가공 여건상 수작업으로 진행된다. 박피가 끝난 마늘은 선별기를 거쳐 크기별로 나뉘어 규격화되고, 이후 물로 세척 후 건조하는 과정을 통해 이물질 제거하고 마지막으로 중량에 맞춰 포장되어진다.

박피 마늘 외에도 조미용으로 소비가 늘고 있는 다진마늘은 박피마늘을 마쇄하여 만들어지는데, 저장 마늘을 박피하여 마쇄하는 과정에서 발생하는 마늘의 녹변이 큰 문제가 되고 있다. 일반적으로 다진마늘의 가공 기술은 세척 및 건조하는 과정까지는 박피마늘의 공정을 따르지만, 이후 녹변을 방지하기 위한 방식에서는 각기 차이가 있다. 박피마늘 마쇄 시 녹변을 방지하기 위해서 사용하고 있는 대표적인 방법 마늘을 저온 저장한 후, 박피하기 전에 구상태로 20°C 저장고에 몇 주간 저장하거나 혹은 35나 40°C에서 하루 혹은 3-4일간 열처리한 후 마쇄한다. 일부 기업체에서는 구연산과 같은 유기산을 사용하여 마쇄마늘의 녹변을 방지하고 있다.

제 2 절 국외 기술개발 현황

1. 양파의 수확후 관리 기술

양파 수확후 관리 기술의 부분에서 미국은 기계화와 규모의 경제를 바탕으로 양파의 수확에서부터 저장, 출하에 이르기까지 불필요한 작업을 최대한 줄였고, 그럼에도 불구하고 높은 품질을 구가한다는 점에서 수확후 관리 기술의 선두를 달리고 있다고 할 수 있다. 미국에서는 기계를 통해서 수확한 양파를 바로 입고하여 추가적인 손질이나 선별 작업을 거치지 않은 채, 38°C에서 7일간 강제 열풍 처리를 하여 양파를 완전 건조시키는 방식을 쓰는데, 이로 인하여 양파는 수확후 관리과정에서 외부 환경의 영향을 최대한 적게 받게 되고, 양파 자체의 상품성이 향상되게 된다. 큐어링을 거친 양파는 이후 간단한 1차 선별 과정을 거쳐 다시 벌크로 양파를 저장하게 되며, 출하 직전에 이르러서야 외형이 다듬어져 기계식 선별을 거쳐 땅에 담기거나 박스에 담겨 출하 된다. 따라서 대규모의 양파를 처리함에 있어서 모든 작업이 마쳐지기까지 소요되는 노동력이 매우 적으므로, 효율적인 기술이라고 할 수 있겠다.

일본은 양파의 수확후 관리의 기술적 면에서는 매우 뛰어나지만, 우리나라와 같이 개인 농가에서 양파

를 수집하여 처리하는 경우가 많기 때문에 규모의 경제를 실현하는데 어려움이 많은 편이다. 일본의 양파는 미국 양파 수확후 저장 전 처리보다 훨씬 까다로운 과정을 거친다. 양파는 기계를 사용하여 수확하고, 이를 노지에서 건조하여 마른 줄기와 뿌리를 절단하여 다듬는 과정을 거쳐 컨테이너에 수집한다. 수집한 양파는 선별장에서 선별작업을 거치고 이후 바로 강제 열풍 처리를 하기보다는 잠시 보관한 후, 개별 농가에서 이송된 양파를 모아 40°C에서 약 2-3시간가량 강제 열풍 처리를 한다. 그 후에서야 양파는 저장고에 입고되어 저장된다. 저장된 양파는 출하 시 다시 기계와 인력을 통해 선별 과정을 거쳐 박스나 망에 포장되어 출하된다. 따라서 일본 양파 수확후 관리 기술은 생력을 줄이기 위한 기계화나 고급화에서는 매우 앞서나가고 있지만, 규모화 면에서 미국의 수확후 관리 기술을 따라가기 힘들어 보인다.

마지막으로 전 세계 양파 수출량에서 인도와 1, 2위를 다투고 있는 중국의 양파 수확후 관리 기술은 상당히 낙후되어 있는 실정이다. 중국은 대륙의 광활함으로 인하여 양파 수확 기간이 12월부터 9월까지로 매우 길어 양파의 시장 공급에 매우 유리한 조건을 갖추고 있으며, 일반적으로 장강 이남의 따뜻한 지역에서는 수확시기가 빠르며, 이북은 수확시기가 느린 편이다. 양파의 수확후 관리기술을 살펴보면, 수확에서부터 저장에 이르기까지 아직까지도 생력에 많이 의존하는 편이며, 양파의 수집 후 처리에 이르기 전까지 개별 농가에 저장되는데 이 시설 또한 우리나라에 비해서 매우 취약한 현실이다. 또한, 장기 저장을 위한 저온 저장 시설도 턱없이 부족한 편이다. 하지만 중국은 정부의 정책적 지도하에 양파의 생산량과 품질을 향상시키기 위해서 힘쓰고 있다. 재배에 있어서는 재배시기 조절 및 유리한 작형을 도입하고, 병충해 예방에 힘쓰는 한편, 수확 및 저장에 있어서는 수확 시기의 조절, 저장성 증진을 위한 수확 전 살균 처리 및 저장 시 석회 처리를 장려하는 등 품질 향상을 위한 과정을 거치고 있으며, 수확후 관리의 용이함을 위해서 양파 품질의 표준화를 촉진하는 등 노력하고 있다.

2. 마늘의 수확후 관리 기술

전 세계적으로 가장 많은 마늘을 수출하고 있는 중국은 1998년 이전에는 주로 통마늘을 취급해왔지만, 그 이후로는 마늘가루, 조각마늘, 마늘기름, 절임마늘 등 마늘을 가공 판매하여 유통망을 넓히고 있다. 중국은 마늘의 생산량을 높이고 품질을 제고하기 위하여 정책적으로 마늘 재배에 좋은 환경을 조성할 수 있도록 하고, 우량한 마늘 종자의 보급과 작부 체계의 도입을 장려하고 있다. 또한, 수출 상품으로서의 마늘의 상품화를 위하여 경영의 규모화와 포장의 규격화 및 브랜드화를 통한 고급화를 꾀하고 있다. 국내 수입 마늘의 대부분은 중국에서 들어오는데, 이러한 중국 마늘 생산의 정책적 노력과 무역 장벽의 완화로 인하여 국내에 많은 양의 초산조제 마늘 및 박피마늘과 같은 가공 마늘이 수입되고 있는 실정이다. 이러한 추세는 다른 나라에서도 크게 다르지 않다. 중국의 최대 마늘 수출국은 인도네시아로 2009년 386,780톤을 수출하였으며, 방글라데시는 91,240톤, 브라질 95,336톤, 콜롬비아 27,736톤, 일본 23,468톤, 말레이시아 91,271톤, 네덜란드 54,395톤, 파키스탄 81,189톤, 필리핀 66,270톤, 러시아 39,082톤, 사우디아라

비아 31,900톤, 스리랑카 23,042톤, 태국 46,128톤, 아랍에미리트 36,416톤, 미국 65,194톤, 베트남 140,061톤을 수출하였는데, 국가 단위의 연간 소비량을 고려해 볼 때, 이들 나라의 마늘 소비량에 있어서 중국 마늘에 대한 의존도는 대단히 높은 편임에도 불구하고, 이들 국가에 대한 마늘의 수출 증대를 위해 현지 시장의 요구에 맞춰 기존 통마늘 수출에서 가공 마늘로 전환하고 있는 등 노력을 경주하고 있다. 현재 중국 마늘 가공 기술면에서 아직 값싼 노동력 등의 이유로 기계화나 위생적인 면에서 미흡한 면은 있지만, 점차 마늘 최대 수출국으로서의 위상에 맞춰 그 단점들도 서서히 보완해나갈 것이라 여겨진다.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 양파 수확후 장해 유형 파악 및 장해발생 원인 구명

1. 양파 수확후 장해 유형 파악

가. 재료 및 방법

2009년에 경상남도 창녕에서 수확한 창녕대고, 전라남도 무안에서 수확한 터보, 그리고 섰파워 품종의 양파를 각기 -1 , 0 , 20°C 에 5개월간 저장하면서 양파 저장 기간 중 발생하는 장해 유형을 동해, 생리 장해, 병리 장해 등으로 나누어 품종별로 파악하였으며, 이를 통해 저장 한계 온도를 조사하였다. 저온 저장한계 온도는 -1°C 와 0°C 에 양파를 저장하여 저장 7개월 후 동해를 입은 개체가 발생하지 않는 최저 온도로 정하였으며, 동해 발생 여부는 각각의 온도에서 저장한 양파를 저장 7개월 후 수직으로 잘라 동결 여부를 확인하였다. 상온에서 저장 시 발생하는 장해 유형을 확인하기 위하여 20°C 에 양파를 저장하여 발생하는 다양한 장해 현상을 관찰하였다.

나. 결과 및 고찰

본 실험은 양파의 장기 저장 양파의 장해 유형을 살펴보기 위하여 중만생종 품종을 이용하여 실시하였다. 중만생종 품종 중 국내 고정종인 창녕대고와 일본에서 도입한 터보, 섰파워 양파를 -1 , 0 , 20°C 에서 5개월간 저장하면서 저장 한계 최저 온도 및 각각 온도에서의 저장 한계 기간을 조사하였다. 저장 장해 유형은 품종별로 약간의 차이를 보였으나, 품종보다는 저장 온도가 더 큰 영향을 주었다. 20°C 에서 저장한 양파는 저장 4개월부터 무름병을 시작으로 각종 병해가 발생하여 저장한계기간은 4개월 정도였으며, -1°C 나 0°C 에 저장 시 5개월 이상 저장할 수 있었다. 상온에 양파를 저장 했을 때에는 병에 감염 되었을 때 주변 양파로의 감염이 쉽게 일어나 피해가 더 컸다. 저장 온도에 상관없이 저장장해는 주로 수확 시 발생한 상처를 통해 감염이 일어났다(Fig. 1).

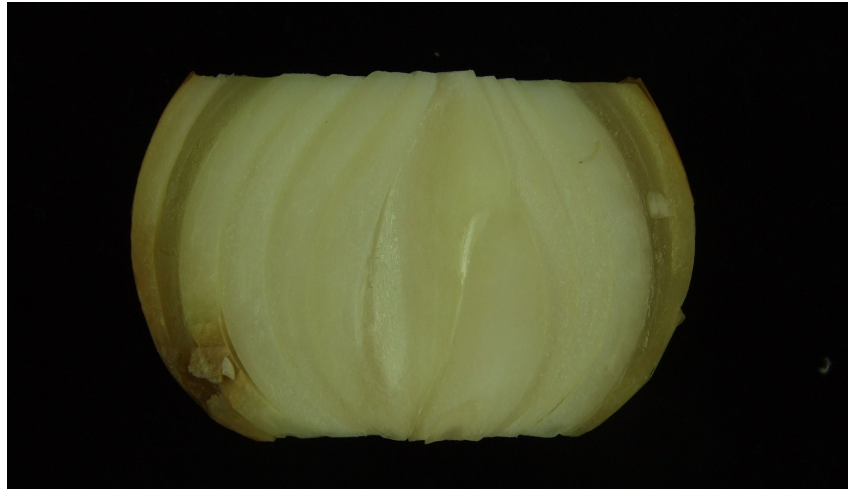


Fig. 1. Physical injury during harvest and subsequent infection by bacteria and fungi.

주로 발생한 저장 중 생리적 장애로 동해, 멩아엽 신장 등이 발생하였다. 양파의 저장 장애 중 가장 큰 문제 중 하나인 동해를 방지하기 위해 동결점을 확인하는 실험을 진행하였다. 일반적으로 양파의 동결점은 -2°C 로 알려져 저장고 온도를 -2°C 까지 낮추는데, 본 실험에서는 -1°C 에서 저장한 양파에서 저장 3개월째부터 나타나기 시작하여 5개월째에는 약 10%의 양파에서 동해가 나타났다(Fig. 2). 따라서 5개월 이상 장기 저장용 양파의 최저 저장 온도는 0°C 로 해야 동해 피해를 막을 수 있었다. 품종별로 살펴보면 -1°C 에서 7개월간 저장 시 터보에서 21.4%의 양파가 동해를 입어 동해에 가장 취약한 품종으로 조사되었으며, 창녕대고는 6.3%, 썬파워는 3%의 양파에서 동해가 발생하였다(Fig. 3).

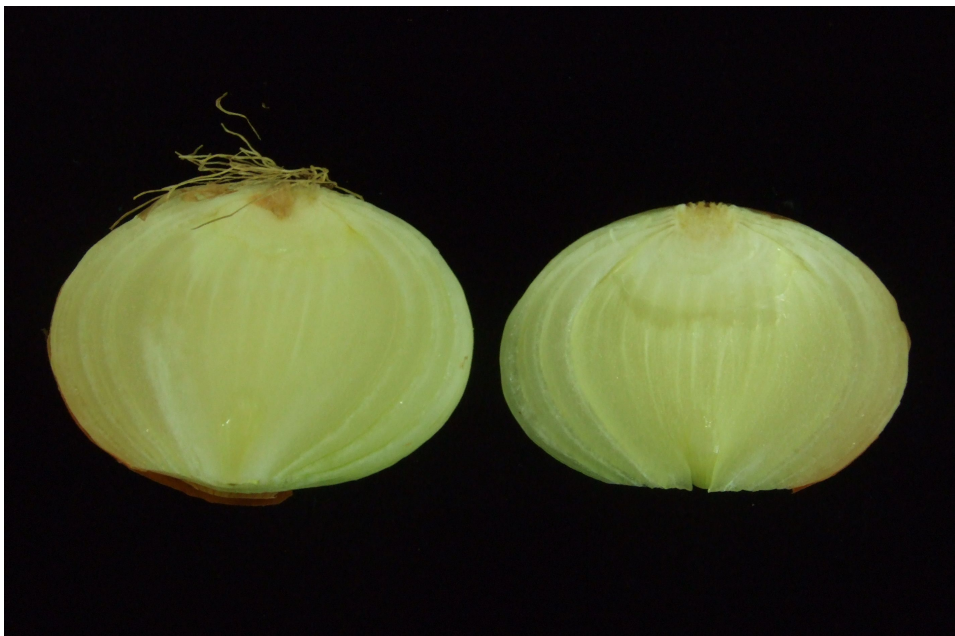


Fig. 2. Freezing injury in 'Turbo' onion stored at -1°C for 5 months.

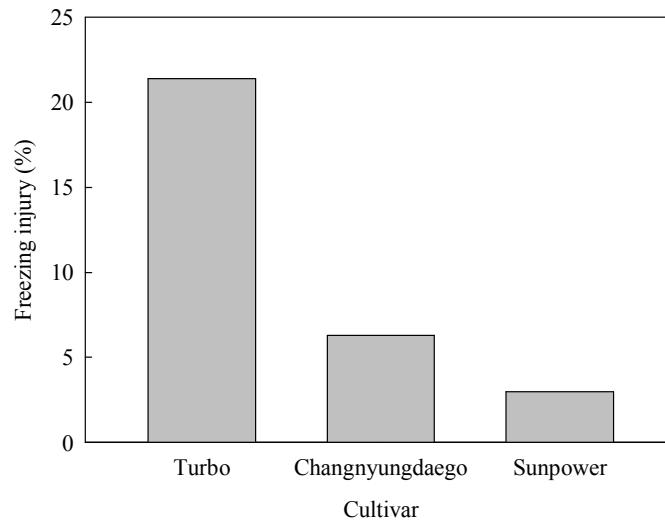


Fig 3. Freezing injury in onion cultivars. Data represent percent of freezing injury investigated after storing onion bulbs at -1°C for 7 months.

맹아엽 신장은 20°C 에서 저장한 양파에서만 나타났으며, -1 와 0°C 등 저온에서 저장한 양파는 맹아엽 신장이 일어나지 않으며(Fig. 4), 품종별로 관찰했을 때, 창녕대고가 저장 3개월에 가장 먼저 맹아엽이 출현하였다.. 저장 4개월째에는 80%의 양파에서 맹아엽 출현이 일어나 상품성을 상실하였다. 터보와 썬파워는 창녕대고에 비해 1달 가량 늦은 저장 4개월부터 맹아엽 출현이 확인되었다.



Fig. 4. Sprouting in 'Changnyungdaego' onion stored at 20°C for 4 months.

이산화탄소 가스 장해로 인한 투명인엽현상은 2번째 인편이 투명해지고, 투명해진 부분은 악취를 풍기지 않는 특징을 가지고 있다고 알려져 있는데(Fig. 5), 0°C 와 20°C 에서 저장된 양파는 가스 장해로 인한 투명인엽현상이 관찰되지 않았다. 투명인엽현상은 저장고 내부 CO_2 농도가 높아지는 등 공기 조성에 의해 발생된다는 보고가 있어 양파를 밀폐용기에 담고 0 , 20°C 의 온도에서 저장하면서 밀폐용기 내부 공기

조성 및 투명인엽현상이 나타나는가를 확인하였다. 밀폐용기 내부의 초기 CO₂ 농도는 0%였으며, O₂ 농도는 21.9%였다. 20°C에서 저장한 양파는 저장 3주 만에 밀폐용기 내부 CO₂ 농도가 4%까지 올라갔으며, O₂ 농도는 15%까지 떨어졌다. 하지만 투명인엽현상은 나타나지 않았으며, 밀폐용기 내부 온도와 상대습도가 높아짐에 따라 뿌리털이 발아하고 검은곰팡이병이 발병하는 등 다른 장애가 나타나 상품성을 잃었다. 0°C에서 저장한 양파는 20°C에서 저장한 양파에 비해 호흡량이 적어 밀폐용기 내부의 CO₂ 농도 증가량과 O₂ 농도 감소량이 상대적으로 적었다. 0°C 저장 1개월 후 밀폐용기 내부 CO₂ 농도는 0.4%였으며, O₂ 농도는 20.7%로 초기값과 큰 차이가 없었고 투명인엽현상도 나타나지 않았다. 저장 3개월 후 밀폐용기 내부의 CO₂ 농도는 0.6%였으며, O₂ 농도는 20.5%로 밀폐용기 내부 공기 조성 변화는 거의 일어나지 않았으며 투명인엽현상도 나타나지 않았다. 다만 일부 시료가 푸른 곰팡이병에 걸렸으며, 휴면 타파로 인한 뿌리털 성장이 일어났다. 따라서 2차 년도에는 투명인엽현상의 원인을 보다 구체적으로 확인하기 위해 고농도의 CO₂를 처리하여 밀봉하여 밀폐용기 내부 CO₂ 농도를 투명인엽현상이 발생한다고 알려진 7~8% 환경을 조성 후 투명인엽현상의 발생 여부를 조사하여 투명인엽현상의 원인을 보다 구체적으로 밝힐 예정이다.

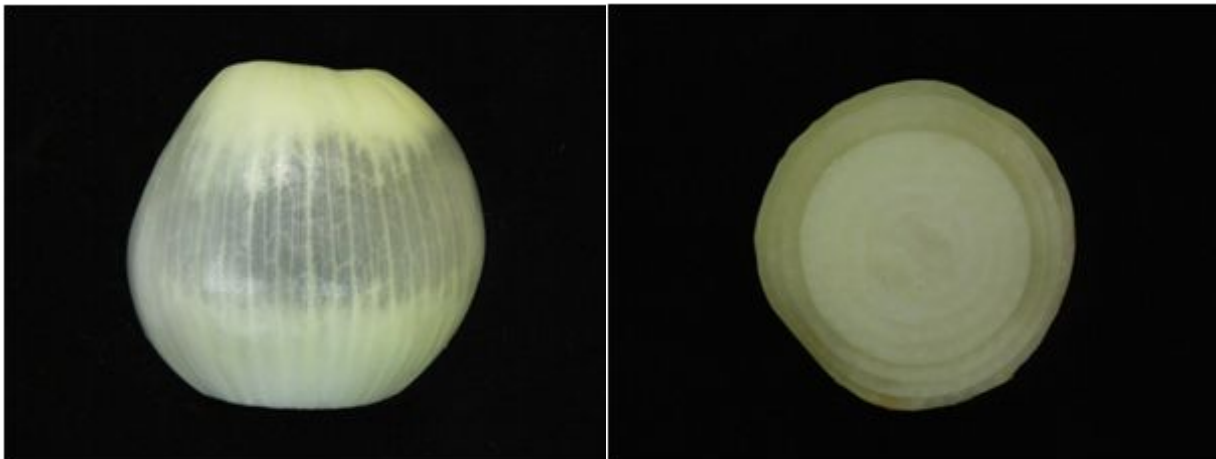


Fig. 5. Disorder in 'Turbo' onion due to CO₂ gas.

병리장애는 *Erwinia*에 의한 무름병(Fig. 6)이 가장 많이 발생하였으며, 상온 저장구에서 많이 발생하였다. 특히 상온 저장시 병원균에 감염된 양파의 주변 양파로의 전염이 쉽게 일어나 연쇄적 감염으로 인한 피해가 컸다. 또한 수확시 상처를 입은 양파는 상처를 통한 감염이 쉽게 일어나기 때문에, 수확시 상처를 입지 않도록 주의를 해야 한다. 저온 저장한 양파는 저장 4개월까지 *Erwinia*를 비롯한 다른 병리 장애가 발견되지 않았으며, 저장 4개월부터 무름병이 관찰되었는데 저온에서 저장한 양파는 주변 양파로의 전염 속도가 느려 상대적으로 병원균에 의한 피해가 적었다. 품종간 차이는 없었으며, 저장 온도 및 상처 여부가 병원균 감염의 결정적 요인이었다. 그 이외 저장 후기로 갈수록 다양한 병리 장애가 발생하였다.

*Botrytis*에 의한 잿빛곰팡이병(Fig. 7), *Fusarium*에 의한 마름썩음병(Fig. 8), *Aspergillus*에 의한 검은곰팡이병(Fig. 9) 등이 관찰되었다. 무름병, 잿빛곰팡이병, 마름썩음병은 모두 절단하였을 때 인경에 수침현상이 일어나 조직이 괴사되는 공통점이 있었다. 무름병과 잿빛곰팡이병은 외관상으로는 병징이 나타나지 않아 절단해야만 감염 여부를 확인할 수 있었으며, 인경 내부가 무름병은 투명하게 수침현상이 일어나는 반면, 잿빛곰팡이병은 인경 내부가 갈색으로 변하면서 수침현상이 일어나는 차이점이 있었다. 무름병은 주로 바깥쪽 인경부터 수침상의 병반이 생기며, 병이 진행됨에 따라 바깥쪽부터 안쪽으로 병이 진행되면서 조직이 괴사하여 연화되었다. 잿빛곰팡이병은 균이 줄기 절단면을 통해 침입해 줄기 절단면 부분이 회색 내지 회갈색의 곰팡이가 생겨 결국은 조직이 줄기 절단면부터 뿌리쪽 부분으로 병이 진행되었다. 마름썩음병은 인경 내부에 갈색의 병징이 나타나며 병이 진행됨에 따라 인경이 시들고 외관에 흰색 포자가 나타나 외관만으로도 감염 여부를 확인할 수 있었다. 검은곰팡이병은 주로 상온 저장한 양파에서 발병하였으며, 검은색 포자가 양파 표면에 나타났으며, 다른 병리장해와 달리 인경 내부 조직 괴사를 동반하지 않기 때문에 다른 병리장해에 비해 상대적으로 피해가 적은 병리장해이다. 병리장해는 주로 수확시 발생한 상처나 줄기 절단면을 통해 감염이 이루어지며, 수확시 발생한 상처를 통해 발병한 경우는 바깥쪽 인경부터 수침현상이 일어나며, 줄기 절단면을 통해 감염이 이루어진 경우는 중앙부 인경부터 병징이 나타났



Fig. 6. Soft rot in 'Turbo' onion stored at 0°C for 4 months.

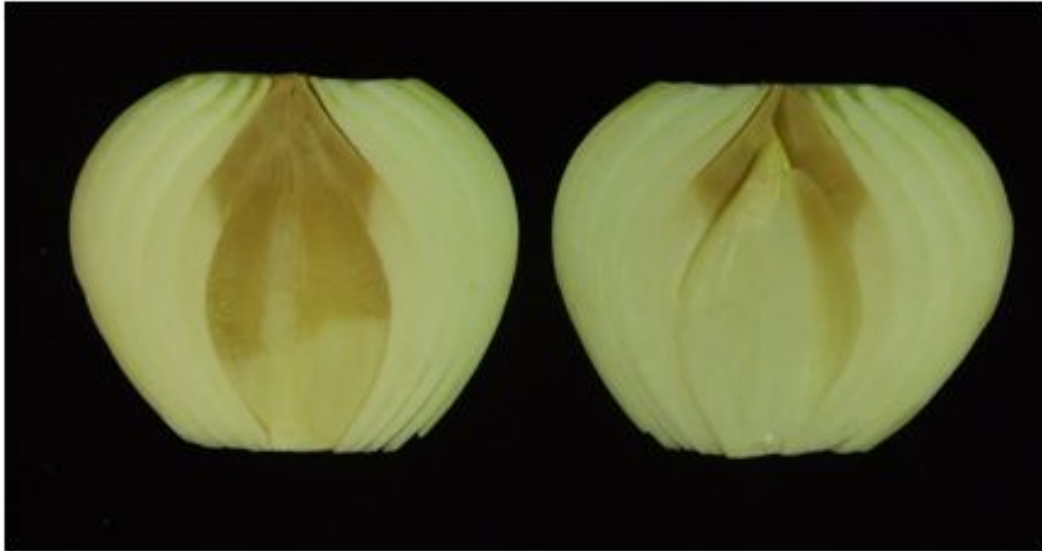


Fig. 7. Neck rot in 'Sunpower' onion stored at 0°C for 5 months.



Fig. 8. Basal rot in 'Changnyungdaego' onion stored at 20°C for 2 months.

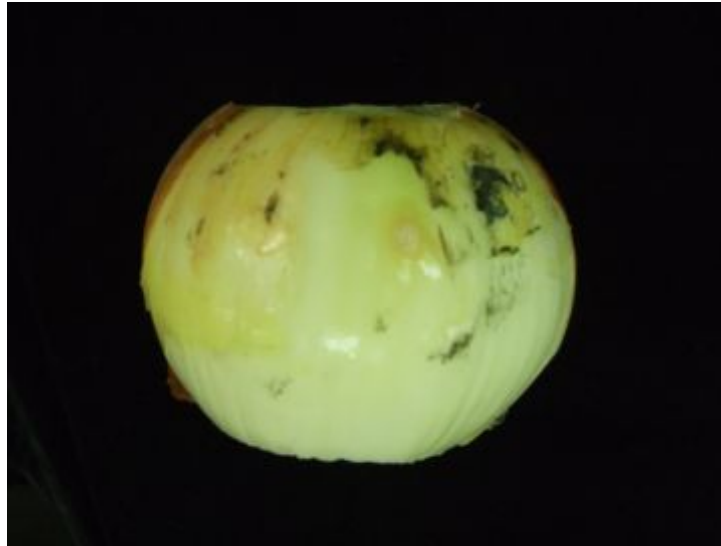


Fig. 9. Black mold in 'Turbo' onion stored at 0°C for 5 months.

양파의 병리장해는 마름썩음병을 제외하고는 외적으로 잘 나타나지 않아 겉모습만 보고서는 감염 여부를 판단하기 힘들며, 외관으로 병의 감염 여부를 판단할 수 있는 단계에 도달하면 반으로 절단후 내부 인경의 수침 여부를 확인해야 알 수 있다. 하지만 병에 감염된 양파는 주변 양파까지 감염시키기 때문에 조기 격리 조치가 피해를 줄이는 최선책이며 양파를 절단하지 않고 병의 감염 여부를 확인하는 방법을 찾아야 한다. 본 실험에서 병리장해를 입은 양파를 관찰한 결과 줄기 절단면을 통해 감염 여부를 알 수 있었다. 정상적인 양파는 줄기 절단면을 눌러도 즙액이 나오지 않는 반면, 병에 감염된 양파는 줄기 절단면을 누르면 즙액이 나와 병의 감염 여부를 확인할 수 있었다(Fig. 10).



Fig. 10. Comparison of non-infected (left) and infected (right) onion stem end.

2. 양파 수확후 장해발생 원인 구명

가. 재료 및 방법

2009년에 경상남도 창녕에서 수확한 창녕대고, 전라남도 무안에서 수확한 터보, 그리고 썬파워 품종을 공시 재료로 이용하였다. 각 품종의 양파를 0과 20°C에 5개월간 저장하면서 저장 기간에 따른 품질의 변화를 조사하였다. 품질 변화는 경도, 당도, pyruvic acid를 측정하였다. 경도는 경도계(TA-XT2, Stable Micro System, UK)를 지름 5mm flat Probe(P5 ser. 121)와 함께 사용하여 속도 5m/s로 10mm의 깊이로 찢러 측정하였고, 최대 피크 값을 N 단위로 나타내었으며 각 시료 당 3곳을 측정하여 평균값을 나타내었다. 당도는 시험구당 무작위로 3개씩 선택하여 균질화한 후 여과한 추출액을 굴절당도계(JP/1210, Atago, Japan)를 이용하여 측정하였다. 마지막으로 양파구의 pyruvic acid은 양파를 균질화한 후 여과한 추출액 80mL에 1.25%의 2,4-dinitrophenylhydrazin (DNPH)가 포함된 2N HCl을 1.5배 희석한 용액 4mL를 넣은 후 37°C 항온 수조에 10분간 둔 후, 1N NaOH 용액 8mL를 넣어 spectrophotometer를 이용하여 485nm에서의 흡광도를 구하여 측정하였다. 표준물질은 sodium pyruvate를 이용하였다.

나. 결과 및 고찰

창녕대고, 터보, 그리고 썬파워 모두 중만생종 품종으로 장기 저장을 목적으로 하는 양파로 저장성에 가장 큰 영향을 미치는 요인은 저장 온도이다. 양파를 상온(20°C)과 저온(0°C)에 각각 저장하면서 경도, 건물중, 당도, pyruvic acid, 유리당 함량 등 저장 중 품질 변화를 조사하여 저장성과의 연관 관계에 대해 알아보았다. 외관상으로 0°C 저온에서 저장한 양파는 저장 4개월까지는 장해가 발생하지 않고 품질도 우수하였으며 5개월부터 부패구가 발생하기 시작하였다. 20°C 상온에서 저장한 양파는 품종별로 장해 여부가 다르게 나타났으며 수확 시 상처를 입은 양파는 저장 1개월부터 부패구가 발생하였다. 창녕대고는 멍아엽 신장이 가장 큰 문제로 저장 3개월부터 나타나기 시작해 4개월 후에는 거의 모든 저장구에서 멍아엽 신장이 나타나 상품성을 잃었다. 터보와 썬파워는 저장 4개월부터 멍아엽 신장이 나타났으며 5개월에는 거의 모든 저장구가 상품성을 잃었다. 그 외에도 상온 저장한 양파는 부패구가 많이 발생하였고, 주변 양파로의 2차 감염으로 인한 손실이 많았다. 그에 반해 0°C에서 저장한 양파는 저장 4개월까지는 장해가 발생하지 않고 품질도 우수하였으며 5개월 후부터 부패구가 발생하기 시작하였으며, 주변 양파로의 2차 감염도 적었다. 각각 품질 평가 인자를 살펴보면 경도는 터보 품종이 창녕대고와 썬파워에 비해 전반적으로 높았다(Fig. 11). 특히 초기 경도 값이 80N로 높았으며, 저온 저장시 저장 5개월 후 57N로 떨어졌다. 창녕대고와 썬파워의 초기 경도값은 각각 62N과 60N으로 터보에 비해 상대적으로 낮았으며, 저온 저장한 양파중 창녕대고는 저장 5개월 후 52N 수준을 유지하였으나 썬파워는 38N까지 떨어졌다. 비록

저장 5개월 후에도 터보의 경도가 57N으로 가장 높게 유지되었지만 초기값 대비 71% 수준인 반면 창녕 대고는 초기값 대비 83% 수준을 유지하여 경도 값 감소폭이 세 품종 중 가장 적었으며 썬파워는 초기값 대비 63% 수준으로 경도가 가장 많이 감소하였다. 상온 저장한 양파는 저장 4개월 후 터보는 43N, 창녕 대고는 37N, 썬파워는 32N으로 감소하여 저온 저장한 양파에 비해 경도가 큰 폭으로 떨어졌다. 특히 저장 1개월부터 경도가 급격히 감소하기 시작하여 저장 2개월 후 경도가 터보는 44N, 창녕대고가 39N, 썬파워가 37N으로 초기값 대비 55%, 62%, 61% 수준 밖에 안됐으며 특히 터보의 경도 감소율이 높았다. 저온 저장한 양파는 경도 감소가 저장 5개월까지 일정하게 감소한 반면 상온 저장한 양파는 저장 2개월까지는 경도가 급격히 감소하고 2개월 이후부터는 큰 변화가 나타나진 않았다.

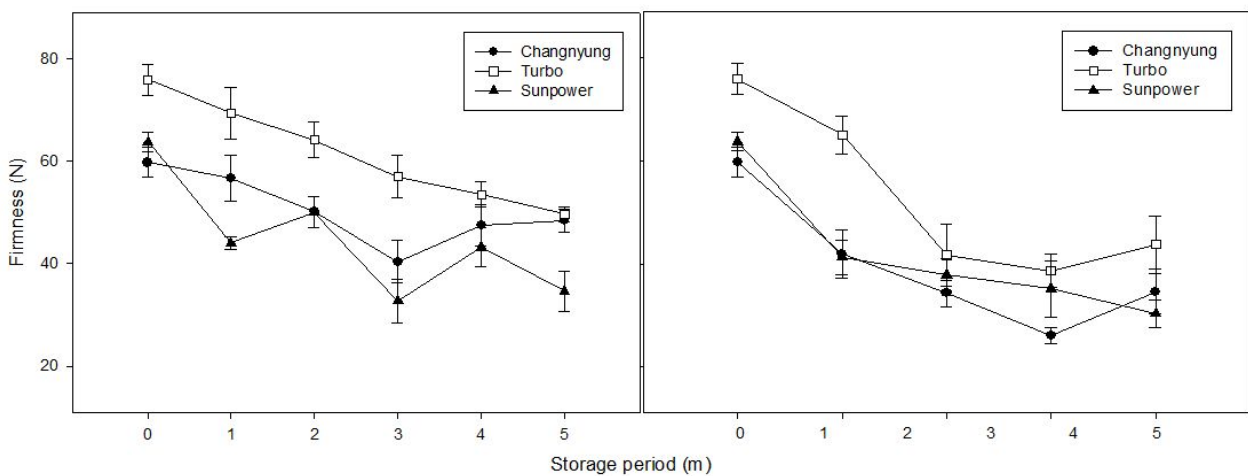


Fig. 11. Change of firmness during 0 (left) and 20°C (right) storage of Changnyungdaego, Turbo, and Sunpower cultivars.

양파는 건물중이 늘어날수록 경도가 증가하게 된다. 양파의 경도의 증가하면 양파의 저장 과정 중 물리적 충격이나 과적으로 인한 조직의 연부화에 더 강하게 저항할 수 있어 양파의 저장성을 높여준다. 따라서, 품종 및 저장 온도에 따른 건물중 함량 변화를 조사하였다. 품종별로 경도의 차이를 관찰했을 때, 터보가 타 품종에 비해 초기 경도가 월등히 높았고, 저장 온도에 따른 저장 중 경도의 변화를 살펴보았을 때, 저온 저장한 양파가 상온 저장한 양파에 비해 높은 수치를 유지하는 것을 확인할 수 있었지만 저장 중의 건물중 변화를 살펴본 결과 품종 및 저장 온도에 따른 큰 차이는 보이지 않았으며, 대체로 10% 전후로 일정했다(Fig. 12). 따라서, 건물중 자체만으로 양파의 저장성을 판단하기에는 다소 무리가 있어 보인다. 다만, 품종 중에서는 썬파워 품종의 건물중이 창녕대고와 터보의 건물중에 비해 낮은 추세였고, 저온 저장에 비해 상온 저장 양파의 건물중 감소폭이 약간 큰 경향을 보여 경도차와 저장 중 변이와 어느 정도 연관성을 보여줬다.

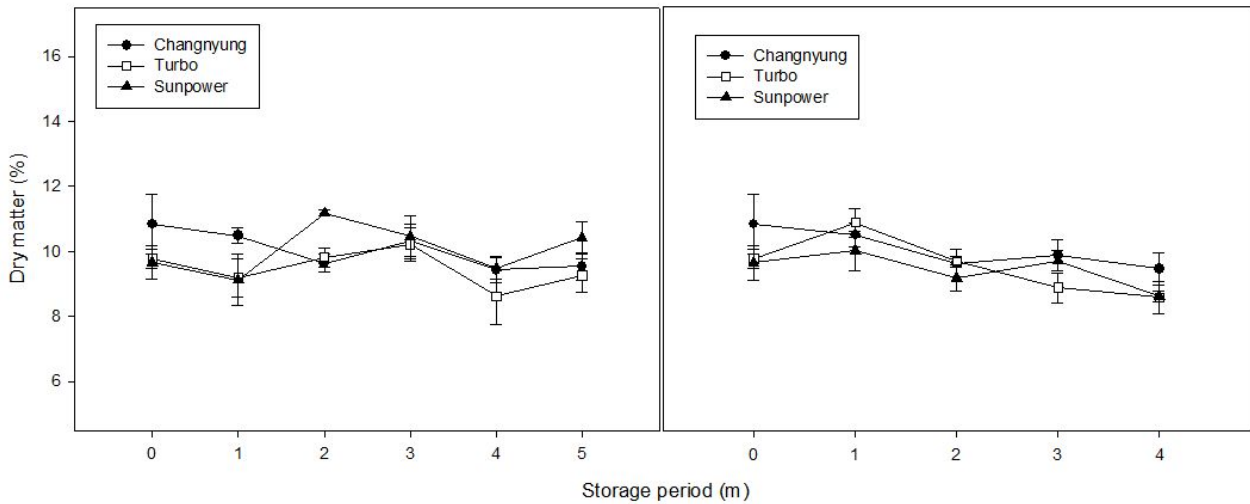


Fig. 12. Change of dry matter during 0 (left) and 20°C (right) storage of Changnyungdaego, Turbo, and Sunpower cultivars.

가용성 고형물 역시 양과 저장성에 큰 영향을 미치는 요소로서, 특히 가용성 고형물 함량이 많을수록 동해 피해를 적게 입으므로 품종에 따른 가용성 고형물 함량을 확인하였다(Fig. 13). 가용성 고형물 함량은 창녕대고, 터보, 썬파워 모두 8-10°Brix 사이에 들어 큰 차이는 없었다. 품종별로는 창녕대고가 가장 높았으며, 그 다음으로 썬파워, 터보의 순으로 나타났다. 창녕대고는 초기값은 가장 높았으나, 저장 기간이 지남에 따라 감소폭이 다른 품종에 비해 커서 저장 5개월 후에는 썬파워와 터보의 가용성 고형물 함량과 비슷한 수준을 보였다. 세 품종 모두 저장 기간이 길어짐에 따라 대체로 감소하는 경향을 보였으며, 저장 온도에 따른 차이는 발견할 수 없었다. 특히 -1°C에서 7개월간 저장한 결과 동해 발생률이 터보 21.4%, 창녕대고 6.3%, 썬파워 3%로 나타나 가용성 고형물과 동해 발생률과 정의 상관관계를 보였다. 1차년도 실험에서는 가용성 고형물의 총 함량을 조사하였는데, 당 함량과 저장성 간의 관계를 확인하기 위해서 2차년도 실험에서는 저장 기간에 따른 glucose, sucrose, fructose와 같은 유리당의 변화를 분석하여 유리당함량과 양파의 저장성과의 상관관계를 확인하였다

Pyruvic acid은 양파의 유황화합물이 alliinase에 의해 분해될 때 생성되는 결과물로서 일반적으로 양파의 매운맛을 측정하는 지표로 이용되는 품질 평가 요소이므로 품종, 저장 온도에 따른 pyruvic acid 함량 변화를 조사하였다(Fig. 14). Pyruvic acid은 초기값은 품종별로 창녕대고 5.8mM, 터보 4.7mM, 썬파워 4.6mM로 창녕대고가 가장 높았다. 저온 저장한 양파가 상온 저장구에 비해 대체로 pyruvic acid 함량이 높았으며, 품종별로 보면 창녕대고가 가장 높았으며, 그 다음으로 썬파워, 터보 순이었다. 저장 기간이 증가함에 따라 pyruvic acid 함량은 점점 증가하는 경향을 보였으며, 창녕대고와 터보는 저온 저장했을 때 저장 5개월째 약간 감소하였다.

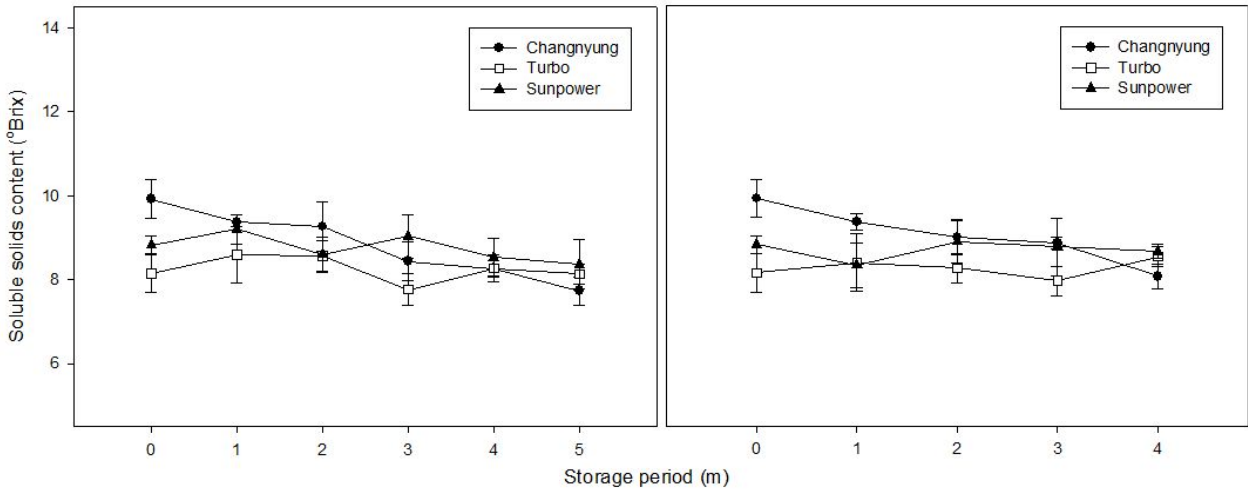


Fig. 13. Change of total soluble solids content of Changnyungdaego, Turbo, and Sunpower cultivars at 0 (left) and 20°C (right) storage rooms

양과의 저장 후 전반적인 품질은 저장 온도에 따른 차이가 가장 커서 저장 온도가 양과 저장성에 가장 큰 영향을 미치는 요소임을 확인할 수 있었다. 품종별로는 터보와 창녕대고의 저장성이 섰파위에 비해 저장성이 약간 좋았으나, 섰파위는 세 품종중 동해 피해를 가장 적게 입었으며, 터보가 동해에는 가장 취약한 품종이었다. 터보는 가용성 고형물 및 pyruvic acid 함량 등 저장성과 관련된 품질 평가 요소는 가장 낮은 수치를 보였지만 경도가 세 품종중 가장 높아 저장 5개월까지도 가장 좋은 저장성을 보였다.

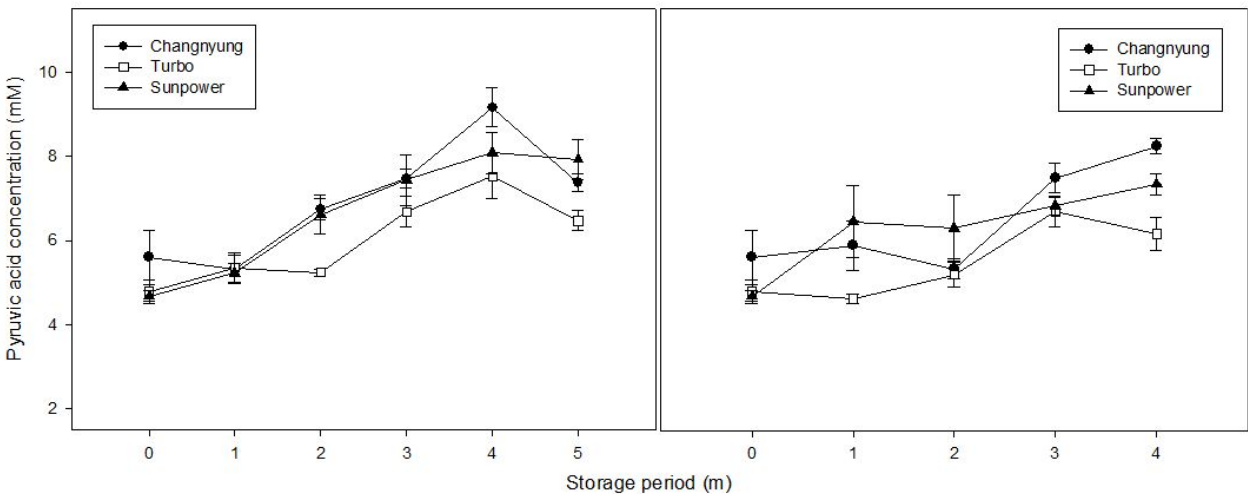


Fig. 14. Change of pyruvic acid concentration during 0 (left) and 20°C (right) storage of Changnyungdaego, Turbo, and Sunpower cultivars.

제 2절 양파의 수확후 취급과정 및 장해 방지 기술의 개선

1. 양파의 수확후 취급 과정 개선

가. 재료 및 방법

투명인엽현상의 원인 중 하나라 여겨지는 고 이산화탄소의 영향을 알아보기 위해 이산화탄소의 농도와 산소 농도를 조절하여 양파를 0°C 항온 저장고에 저장하여 4주 후에 투명도를 관찰하였다. 조건은 다음과 같고, 가스 농도는 주기적으로 조절하였다.

(A) 10, 20, 40, 100%의 CO₂에서 0°C 저장고에 4주간 저장

(B) 10% CO₂, 6% O₂와 20% CO₂, 6% O₂에서 0°C 저장고에 4주간 저장

투명도의 측정 도구로 fiber optic spectrometer (USB2000, Ocean Optics, USA)을 사용하였으며, 적도면을 중심으로 6mm 두께로 일정하게 잘라낸 양파의 두 번째 인편 부위를 reflecting sphere에 올려 백색 평판을 뒷면에 대고 반사도를 측정하였다. 대조구로 100%의 이상적인 반사도를 가진 백색 평판과 100%의 흡수도를 가진 흑색 평판의 흡광도를 측정하였다. 측정 프로그램으로는 OOIBase32을 사용하였으며, integration time은 98msec, spectra average는 3, 그리고 boxcar smoothing는 5로 설정하여 측정하였다.

또한, 저장 온도에 따른 동해의 발생 정도를 파악하기 위하여 양파를 -4°C에 3일, -20°C에 2시간 저장한 후, 5°C 저장고에 3일간 저장하여 동해를 파악하였다. 동해 정도는 처리된 각 양파의 2번째 절편을 3mm 두께로 잘라 Gonzalez(2010)의 방식에 따라 0.04% neutral red solution (NR)에 염색하여, 광학 현미경에서 관찰하여 확인하였다. 저온 노출 빈도에 따른 동해를 파악하기 위해서 -20°C에 2시간 저장하여 5°C 저장고에 3일간 저장한 양파는 같은 처리를 반복하여 처리한 후, 0.04% NR에 염색하여 관찰하였다.

저온 저장 중 발생하여 양파의 저장성을 감소시키는 무름병을 발생시키는 병원균을 동정하기 위해 전라북도 변산농협에 저장된 양파에서 무름병에 걸린 것으로 여겨지는 개체에서 병원균을 동정하였다. 병원균 동정을 위하여 무름병 장해를 입은 것으로 보이는 양파의 병 진전 부위를 잘라 평판 희석법으로 영양배지에 도말 배양하여 3일간 키운 콜로니를 채취하여 PCR 하였다. 프라이머는 아래에 제시한 Jalava(1996)의 16S rRNA 프라이머를 사용하였으며(Table. 1), PCR 용액(EX Taq polymerase 0.2mL, EX buffer 2.5mL, dNTP 2.5mL, 5 pmol primer 0.5mL (each), TDW 18.8mL)에 샘플을 넣고, PCR을 30회 반복(95°C 30초, 52°C 30초, 72°C 40초) 수행하였다. 마지막으로 이를 Gel DNA Recovery Kit (Gymoclean™)로 추출하여 염기서열을 분석하였다. 전자 현미경 관찰을 위해 병원균을 phosphotungstic

acid (PTA)로 염색하여 EF-TEM (LIBRA 120, Carl Zeiss)로 10k배에서 관찰하였다.

Table 1. PCR primers used in this study

Primer	Sequence (5' to 3')	Location	Use
fD1	AGAGTTTGATC(TC)TGG(TC)T(TC)AG	8-27	16S PCR
rP2	ACGGCTACCTTGTTACGACTT	1512-1492	

나. 결과 및 고찰

이산화탄소 농도에 의한 투명인엽현상은 100% CO₂ 처리구를 제외하고는 나타나지 않았다(Fig. 15). 질소 100% 처리구에서는 CO₂ 100% 처리구와는 달리 뚜렷한 투명인엽현상이 발생하지 않는 것으로 미루어 볼 때(자료 미제시), CO₂의 농도가 투명인엽현상의 발생에 영향을 주는 것으로 보인다. 하지만, 매우 높은 가스 농도에서만 발생하기에 주기적으로 가스를 교환만으로도 이산화탄소 장해로 인한 투명인엽현상은 발생하지 않을 것으로 여겨진다.

동해로 인해 발생하는 양파의 장해는 NR의 염색을 통해 세포막의 반투과성 보존 여부를 확인함으로써 그 정도를 파악할 수 있다. 0°C에 저장한 양파를 -20°C에 2시간 저장한 후, 5°C에 저장할 경우, 동해에 의한 피해가 크지 않다는 것을 알 수 있다(Fig. 16). 반면, 이보다 높은 온도인 -4°C에 양파를 3일간 저장한 후, 5°C에 저장한 경우 양파는 심한 피해를 입게 되었다. -20°C에 2시간을 저장했던 양파를 3일간 5°C에 저장한 후, 다시 -20°C에 2시간 동안 저장하게 되면 심각한 피해를 입게 되었는데 이 결과를 토대로 양파의 동해 한계 온도는 양파가 노출된 동해 유발 온도와 노출 시간, 그리고 노출 횟수에 따라 달라짐을 확인할 수 있었다.

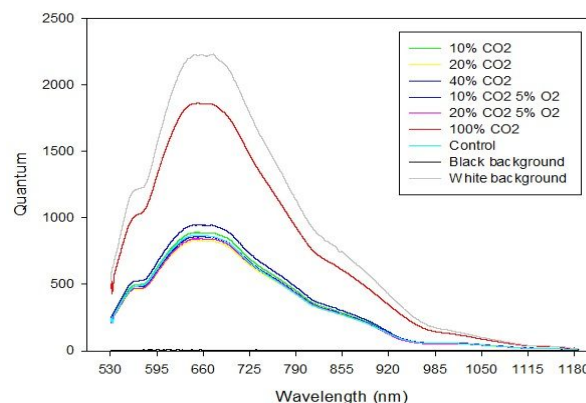


Fig. 15. Reflectance spectrum of onion slices from 530 to 1180 nm. Each onion samples were stored at 10, 20, 40, and 100% CO₂, 10% CO₂ mixed with 5% O₂, and 20% CO₂ mixed with 5% O₂ storage room at 0°C for 4 weeks .

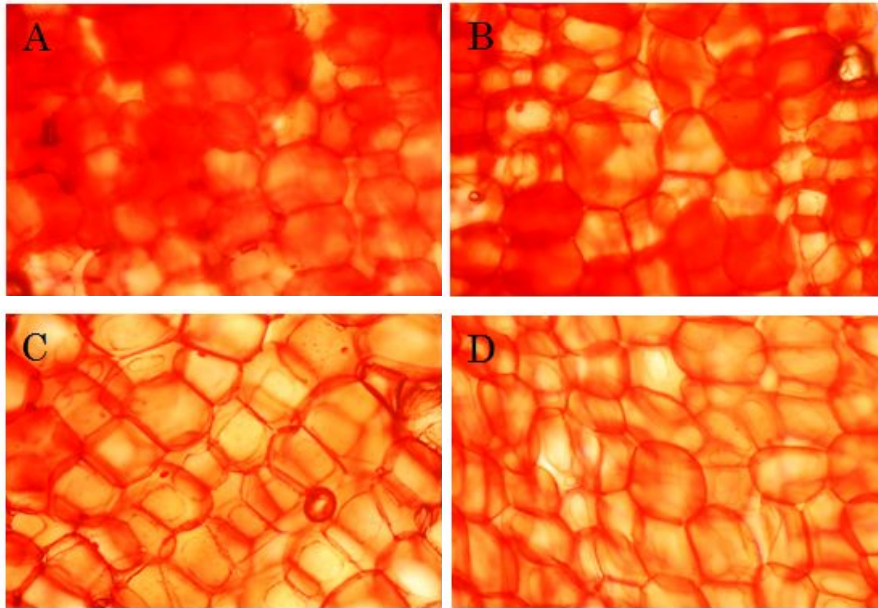


Fig. 16. Light microscope image of onion tissue. A, sound onion tissue; B, onion tissue exposed at -20°C for 2 hours, and then transferred to 5°C for 3 days; C, repetition of treatment B; D, onion tissue exposed at -4°C for 3 days, and then transferred to 5°C for 3 days.

변산 농협에서 보내준 무름병에 걸린 것으로 의심되는 양파(Fig. 17)의 병원균은 PCR을 이용하여 병원균을 동정한 결과 *Bacillus* spp.으로 밝혀졌다. 병원을 평판 배지에 도말 배양을 한 결과, 노란 원형의 콜로니를 형성하였고, 배양이 지속되면서 가장자리에 거친 주름을 형성하였다. 16S rRNA를 PCR의 결과물로 1.5kbp 사이즈의 밴드가 형성되었고(Fig. 18), sequencing의 결과물로 염기서열 1454bp가 나왔다(Table 2). 이를 Ribosomal Database Project(RDP-II)(<http://rdp.me.msu.edu/html/>)를 통해 계통 분석해 본 결과 *Bacillus*속의 박테리아라는 것이 밝혀졌다. 관찰한 병반은 내부 조직이 무르고 악취를 풍기는 등 무름병과 비슷한 증상을 보였으며, 콜로니에서 샘플을 채취하여 PTA로 염색한 후 현미경으로 관찰한 결과, 1-1.5mm 사이즈의 달걀형 포자와 3-4mm의 꼬리가 없는 간상형의 성장 세포가 발견되었다. 이는 *Bacillus*의 전형적인 형태와 일치하였다(Fig. 19).



Fig 17. Pathological injury by *Bacillus* spp. in onion bulbs.

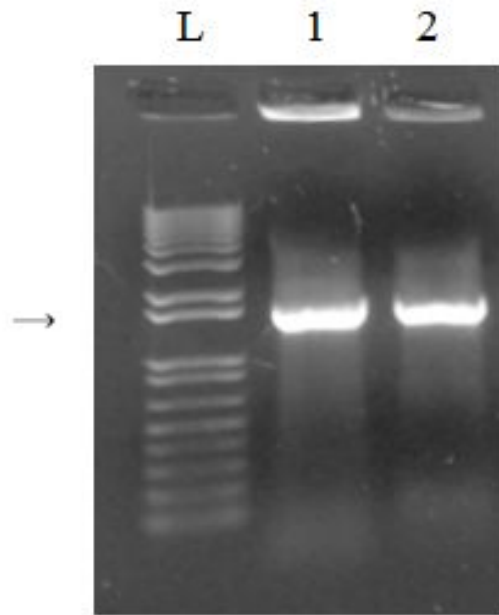


Fig. 18. The result of 16S rRNA PCR of colonies. The arrow indicates the band of the expected size. Lane 1 and 2, samples; lane L, 1 kb DNA ladder.

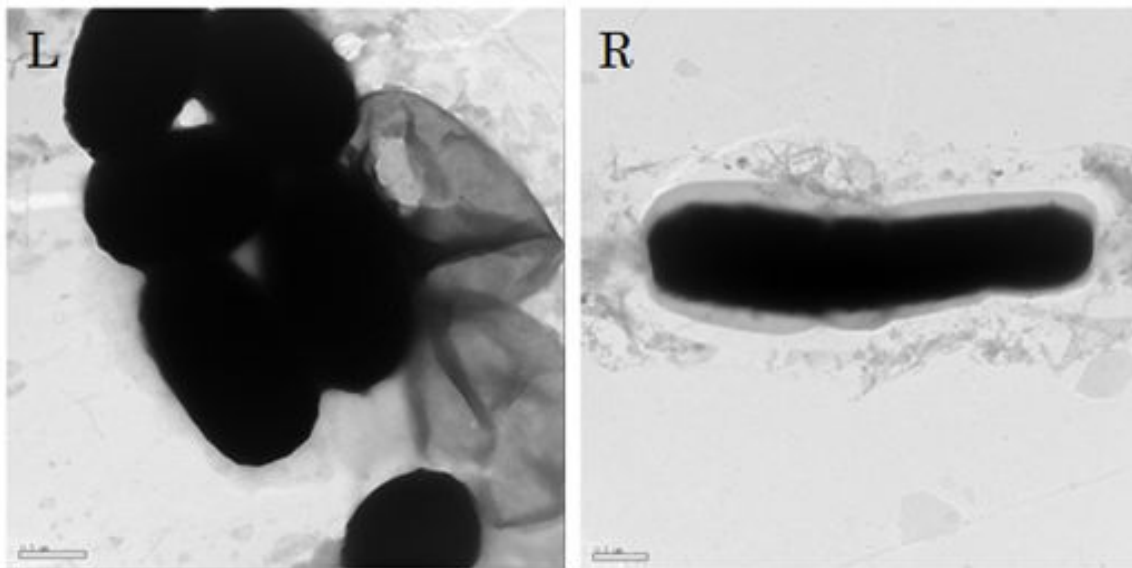


Fig. 19. EF-TEM images of *Bacillus*. Oval shape is spore (L) and rod shape is vegetative cell (R).

Table 2. 16S rRNA sequencing result.

TCATGCGCTGCTATACGTGCAGTCGAGCGAACTGATTAGAAGCTTGCTTCTATGACGTTAGCGGCG
GACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTA
ATACCGGATAGGATCTTCTCCTTCATGGGAGATGATTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTACAGA
TGGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGA
CCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG
TAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTC
GGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACAAGAGTAACTGCTTGTACCTTGACGGTA
CCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT
ATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGG
CTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCA
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTTTGGTCTG
TAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC
GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTCCGCCCTTATGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCA
CTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
AACTCTAGAGATAGAGCGTTCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAG
CTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCAT
TTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATC
ATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCAAGACC
GCGAGGTCAAGCCAATCCATAAAACCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATG
AAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACA
CACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGGAGTAACCGTAAGGAGCTAG
CCGCGTAAGTGACAGAGG

2. 양파의 수확후 장해 방지 기술의 개선

가. 재료 및 방법

경남 창녕군에 위치한 탐하영농조합 법인에서 2010년에 재배된 장기 저장용 양파인 '터보'를 7월 중순에 구입하여 실험에 이용하였다. 양파의 장기 저장을 위한 최적 온도조건 탐색을 위해 7월 중순에 들어온 양파를 각기 5°C 간격으로 0-20°C의 온도 향은 저장고에 40구씩 넣고, 매달 11일 경에 출엽과 부패 여부 및 저장 한계 기간을 조사하였다. 취급과정 개선책으로 저장 전 강압 열풍 처리 기술을 적용하기 위해서 양파를 30°C, 60% RH에서 8일, 40°C, 60% RH에서 4일간 처리 후, 7개월 간 5°C 창고에 저장하여 출엽율과 중량 감소율, malondialdehyde(MDA), 호흡 속도, 당함량의 변화를 확인하였다. 각 처리구는 8월부터 매달 같은 날 샘플링하여 데이터를 수집하였다. 출엽율은 총 저장 양파의 개수로 맹아엽이 목위로 출현한 개체의 수를 나누어 백분율로 변환하여 계산하였고, 중량 감소율은 초기 중량값에서 감소한 중량값을 나누어 이를 백분율로 변환하여 계산하였다. MDA는 Yiu(2009)의 방법을 사용하여 spectrophotometer (UV-2401PC, Shimadzu, Japan)에서 532nm와 600nm의 흡광도를 측정하였다. MDA의 양은 측정한 흡광도를 다음 계산식에 대입하여 산출하였다.

$$\text{MDA equivalents} = [(A_{532} - A_{600}) \times 155\,000] 10^6$$

CO₂는 5°C 저장고에 미리 순화한 밀폐용기에 양파를 넣어 밀봉 한 후, 12시간 뒤 0.5mL의 가스를 gas chromatography(M600D, 영린기기, Korea)에 주입하여 CO₂농도를 측정하였다. 컬럼은 Porapak q capillary column (25mm diameter)를 사용하였으며 검출기로 TCD를 사용했다. 이동상으로는 헬륨 가스를 사용하였고, 유속은 0.3mL min⁻¹로 injector, oven, detector의 온도는 각각 120, 100, 120°C로 설정하였다. 표준물질은 1% CO₂ 가스를 사용하였다. 당함량은 동결 건조된 양파 가루 1g을 50mL의 증류수에 넣고, 40°C에서 30분간 250rpm으로 water bath shaker에 처리하여 여과한 용액을 0.45mm syringe filter에 걸러 HPLC (Ultimate 3000, Dionex)로 측정하였다. 검출기는 RI detector (RI-101, Shodex)를 사용하였고, 컬럼은 Waters Sugar-pak을 사용하였다. 컬럼 온도는 75°C, 이동상은 3차 증류수를 사용했으며 유속은 0.5mL min⁻¹로 설정하였다.

나. 결과 및 고찰

병이 발생하지 않은 양파의 저장성은 양파의 출엽 속도에 의해서 결정되었다(Fig. 20). 최초 출엽은 양파를 저장한지 5개월이 지난 11월에 관찰됐으며, 각기 15°C와 20°C의 저장고에서 발견되었다. 10°C에 저

장한 양파는 1월부터 출엽이 관찰되었으나, 급격한 출엽으로 인하여 첫 출엽 개체가 관찰된 시기에 바로 최고의 출엽률을 보였으며 저장 마지막달인 2월에도 총 양파의 개체수 중 37.5%가 출엽함으로서 실험 종료일에 최고의 출엽률을 보인 처리구가 되었다. 반면, 5°C에서는 저장 저장 7개월째인 2월에 들어서야 겨우 출엽한 개체를 볼 수 있었으며, 0°C에서는 저장 종료일까지 출엽한 개체를 관찰하지 못했다. 따라서 장기 저장용 양파를 5개월 후에 출하하기 위해서는 비용적인 측면이나 효율성을 고려해 보았을 때, 5°C의 온도가 적당하다고 여겨지며, 그 이상의 장기 저장을 위해서는 0°C의 온도에 저장하여야만 한다.

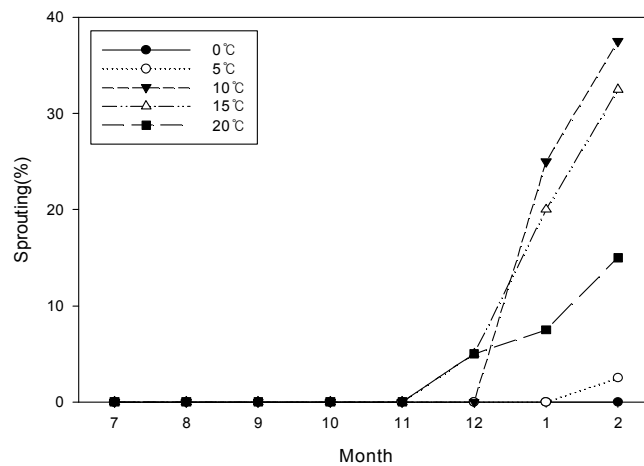


Fig. 20. Effect of storage temperature on sprouting of onion bulbs. Each of onion bulbs was stored at 0, 5, 10, 15, and 20°C for 7 months.

큐어링 기술을 적용하기 위해 양파를 30°C와 40°C(60% RH)에서 각기 8일과 4일간 처리하여 5°C 저장고에 7개월 간 저장하였다. 처리 직후, 30°C에서 8일간 처리한 양파의 껍질에는 1.76%의 수분이 감소하였고, 40°C에서 4일간 처리한 양파의 껍질은 그보다 월등히 높은 2.86%의 수분이 감소하였다(Fig. 21). 양파의 껍질색은 처리를 한 개체가 처리를 안한 개체보다 저장 기간이 지날수록 짙은 색을 가지게 되었으며, 30°C에 처리한 개체보다 40°C에 처리한 개체가 더 진한 색을 가지게 되었다(자료 미제시). 반면, 양파 껍질의 수분 함량은 감소하였지만, 40°C, 60% RH에서 4일간 처리 했을 때의 수분손실은 미처리구와 거의 차이가 나지 않았다(Fig. 22).

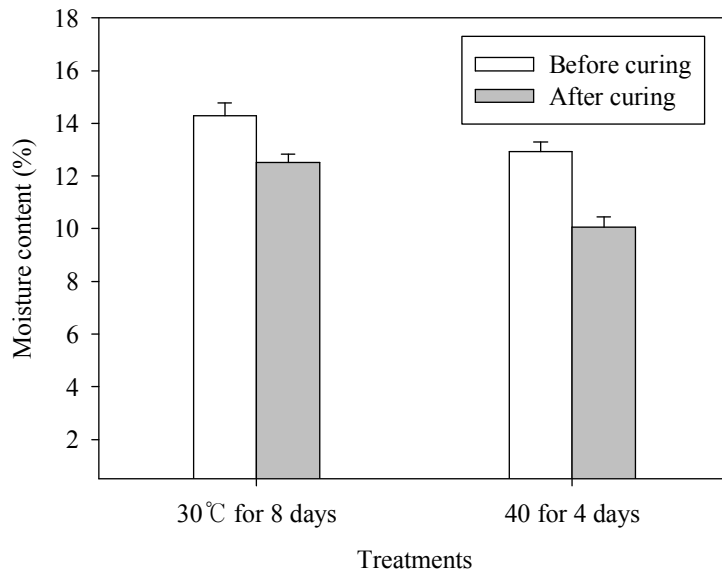


Fig. 21. Change of moisture contents in onion skin depending on curing conditions.

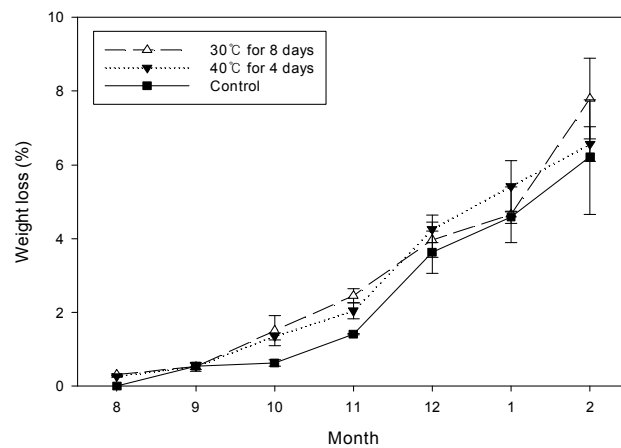


Fig. 22. Change of weight loss during storage. Onion bulbs was cured for 8 days at 30°C (Δ), 4 days at 40°C (\blacktriangledown), and non-treated (\blacksquare), and then transferred to 5°C. Each value is the mean of three replicate samples \pm S.E.

MDA 측정 결과 40°C에서 4일간 큐어링 처리 후, 다른 처리구의 2배 이상의 MDA가 발생한 것으로 미루어 보아 40°C는 양파에 생리적 장애를 유발할 수 있는 온도로 여겨진다(Fig. 23). 하지만, 30°C에 8일간 처리한 처리구와 열처리를 하지 않은 처리구에서 초기 2달간 MDA의 수치가 크게 차이가 나지 않는 반면, 40°C의 열처리구에서는 MDA의 수치가 감소하는 것으로 보아 열처리로 인한 스트레스가 저장 기간 내내 지속되지 않는다는 것을 알 수 있다. 저장 기간 동안 MDA의 수치가 지속적으로 감소하는 것은 외기와 비교하여 5°C의 저장 온도가 열에 의한 영향을 덜 받기 때문이라고 여겨지며, 이는 노화가 늦어짐을 의미한다.

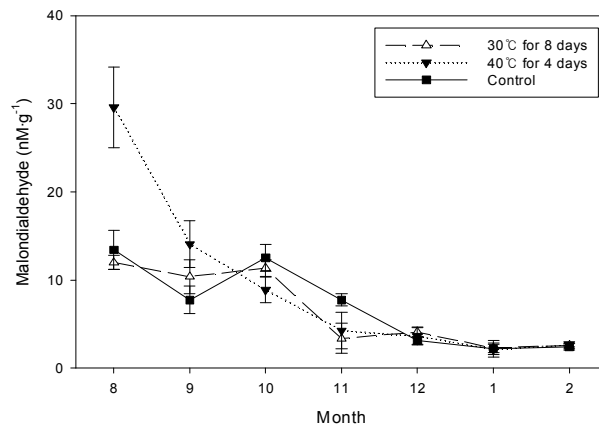


Fig. 23. Malondialdehyde contents of onion bulbs. Samples were cured for 8 days at 30°C (△), 4 days at 40°C (▼), and non-cured (■), and then stored at 5°C. Each value is the mean of three replicate samples ± S.E.

40°C에서 4일간 처리한 직 후, MDA는 크게 증가한 반면, 호흡은 대조구보다 낮아졌다(Fig. 24). 온탕 침지에서 고온 처리를 했을 때, 초기 호흡이 감소되는 것과 마찬가지로 고온에서의 큐어링은 양파의 호흡 감소 효과가 있다는 것을 확인할 수 있다. 양파의 호흡은 감소하는 추세를 보이다가 12월을 기점으로 2월까지 호흡이 증가되는 추세로 변화하는 것을 알 수 있는데, 이는 12월을 기점으로 양파의 휴면 타파가 본격적으로 시작됐기 때문이다.

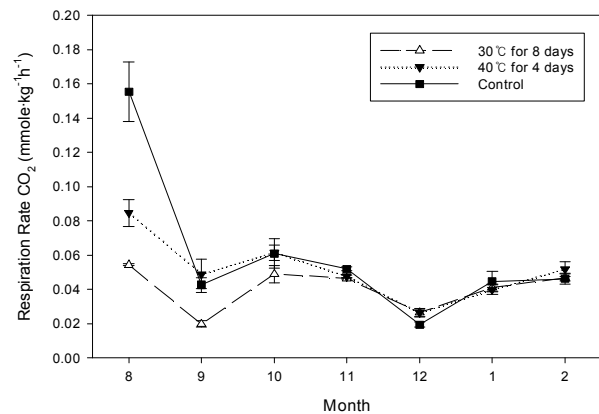


Fig 24. Variation of respiration rates of onion bulbs during storage. Samples were cured for 8 days at 30°C (△), 4 days at 40°C (▼), and non-cured (■), and then stored at 5°C. Each value is the mean of three replicate samples ± S.E.

당 분석 결과 glucose와 fructose는 저장 기간 동안 크게 변화하지 않았고 일정하게 유지됐다. 이는 저장 기간 중 양파의 유리당 중 glucose와 fructose의 함량에는 큰 변화가 없다는 Benkeblia(2005)의 연구결과에서 크게 벗어나지 않는다. 다만, Benekeblia(2005)의 연구에서는 휴면 타파시 sucrose의 함량이 감소

하였으나, 본 연구에서는 맵아엽 출현 시기에 sucrose의 함량의 감소가 그렇게 두드러지지 않을 뿐만이 아니라 샘플간의 개개차가 매우 심하여 단일 품종 저장시 유리당 함량의 변화만을 통해서 양파의 저장성 여부를 파악하는 것에는 다소 무리가 있음을 판단할 수 있었다(Fig. 25).

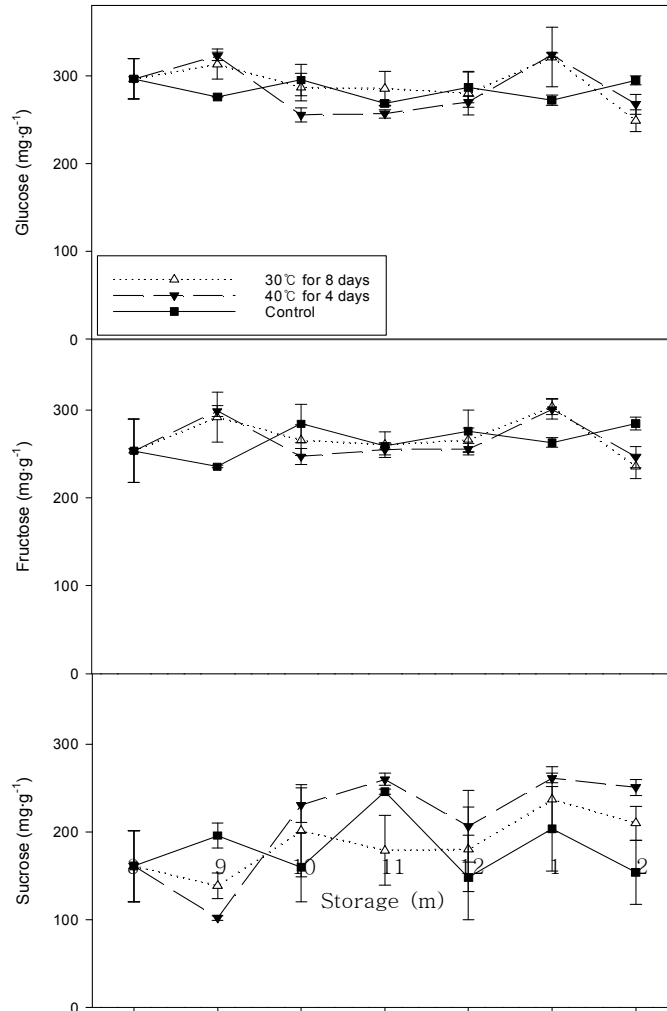


Fig 25. Change of sugar contents during storage. Samples were cured for 8 days at 30°C(Δ), 4 days at 40°C(\blacktriangledown), and non-cured (\blacksquare), and then stored at 5°C. Each value is the mean of three replicate samples \pm S.E.

MDA와 호흡 속도 당 분석을 토대로 살펴볼 때, 전체적으로 본 실험에서 처리된 큐어링은 회복 가능한 장애를 주지만, 이로 인해서 양파의 저장성에 악영향이 발생하지 않으며, 출엽 속도에도 영향을 주지 않는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 본 실험의 열처리 조건은 저장고에 들어가기 전에 양파의 상품성에 큰 영향을 주지 않고 양파 표면의 수분을 제거하여 추가적인 감염을 막을 수 있는 여건을 마련해 줄 수

있을 것이다. 특히, 37.7°C이상의 온도에서는 양파에 주된 병해인 잿빛곰팡이병을 일으키는 *Botrytis allii*의 성장이 저해된다고 보고되었기 때문에(Maw 등, 1997), 40°C의 큐어링 조건은 곰팡이의 증식으로 인한 추가적인 병해를 방지할 수 있을 것이다.

제 3절 양파의 수확후 관리기술 및 프로그램 개발

1. 수확후 취급과정 개선

가. 재료 및 방법

이산화염소 가스를 처리하기 위해서 경남 창원군에 위치한 탐하영농조합 법인에서 2011년에 재배되어 노지에서 예건한 장기 저장용 양파 '터보'를 7월 중순에 제공받아 실험에 이용하였다. 살균 처리를 위해 푸르고팜에서 협조 받은 이산화염소 가스 발생 모듈을 사용하였다. 처리 전, 이산화염소 가스가 양파와 어떻게 반응하는가를 살펴보기 위하여 양파가 없는 챔버, 껍질이 온전한 양파 40개나 껍질을 벗긴 양파가 40개가 있는 챔버에 이산화염소 가스를 200ppmv를 처리하고 시간에 따른 챔버 내의 농도변화를 살펴보았다. 챔버 내 이산화염소 가스 농도의 변화는 가스 감지기(PortasensII, ATI, USA)를 사용하여 측정하였다. 본 실험에 들어가서 껍질이 온전한 양파와 껍질을 벗긴 양파, 그리고 멸균하여 미생물을 접종한 양파 껍질에 각기 250, 500, 1000ppmv의 농도의 이산화염소 가스로 15, 30, 60분간 처리하여 0°C 저장고에 7주간 저장하였다. 살균효과 측정을 위한 접종균은 양파구의 껍질에서 수집하여 농축한 뒤, 15% 글리세롤 용액을 넣어 사용될 때까지 -80°C에 보관하였다. 균을 접종하기 위해서 멸균한 양파껍질을 준비하였고, 준비된 접종균을 1×10^7 cfu mL⁻¹의 농도로 희석하여 40군데에 10uL씩 총 400uL를 접종하였다. 접종 후, 균의 정착을 위해서 30°C 배양기 안에서 6시간 동안 배양 한 후, 살균 효과 측정을 위해 가스 처리를 하였다. 이산화염소 처리에 의한 품질 변화를 확인하기 위해서 중량감소, TSS, 외관 평가, 경도 측정, 매운맛 측정, 총 페놀 함량 측정, 항산화력 측정을 실행하였다. 중량 감소는 초기 중량 값에 저장 중 측정 중량 값을 빼내어 이를 초기 중량값의 %로 환산하여 표시하였다. TSS는 양파를 갈아 걸러낸 즙을 hand refractometer (PR-101, Atago, Japan)을 사용하여 %로 표기하였다. 외관 평가는 저장 중 이산화염소 가스 처리로 인한 변형 여부를 관찰하는 방식으로 수행하였다. 경도는 양파구의 껍질을 벗긴 양파의 적도면을 5mm flat probe를 장착한 texture analyzer (TA plus, Llyoid, France)를 사용하여 측정하였다. 양파의 매운 맛은 Schwimmer (1961)의 방식을 약간 변형하여 측정하였다. 양파를 갈아 거른 양파 즙을 원심분리하여 상등액 1.5ml를 추출하여 10,000g에 5분간 원심분리 후, 10ul를 상등액을 1ml 증류수에 넣어 100배 희석하여 2N의 HCl 용액에 0.125%의 DNPH (2, 4-dinitrophenylhydrazine)을 녹인 용액 0.5ml을 첨가하여 37°C 항온 수조 안에서 10분간 반응 시켰다. 반응 후, 0.6M NaOH 2.5ml을 넣고 spectrophotometer(UV-2401, Shimadzu, Japan)를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정하여, Sodium pyruvate를 사용하여 정량하였다. 총 페놀 함량은 Roldan-Marin의 방식을 변형하여 측정하였다. 같은 양파 샘플을 80% MeOH 용액에 넣고 15분간 추출하였다. 이후, 이를 원심분리하여 나온 상등액에 0.2N

Folin-Ciocalteu 시약과 20% sodium carbonate 용액을 넣어 40도의 항온 수조에 30분간 반응시켰다. 반응시킨 용액은 spectrophotometer(UV-2401, Shimadzu, Japan)를 사용하여 725nm에서 흡광도를 측정 한 후, gallic acid를 사용하여 정량하였다. 양파의 항산화 능력은 ABTS를 사용하여 측정하였는데, ABTS 용액에 potassium persulfate를 섞어서 ABTS radical로 만들어 희석한 후, 양파 주스를 80% MeOH에 넣어 원심분리한 상등액과 반응시켜 30°C 항온수조에 10분간 반응시켜 spectrophotometer(UV-2401, Shimadzu, Japan)를 사용하여 734nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 능력은 Trolox를 사용하여 정량하였다.

나. 결과 및 고찰

처리용 챔버 안에 양파가 있을 때, 처리한 이산화염소 가스의 농도 감소가 더 두르러 졌다(Fig. 26). 이는 이산화염소 가스가 양파와 반응하여 사라진다는 것과 그 반응 여부가 껍질의 유무와 관계가 없다는 것을 의미한다. 껍질의 유무에 따른 이산화염소 가스 농도의 변화량을 살펴볼 뵈을 땐, 껍질이 없을 경우 그 초기 반응 속도가 매우 빨라진다는 것을 확인할 수 있다. 다만, 이산화염소 가스가 껍질과 반응하여 사라진 것인지, 내부 스케일과의 반응이 지연되어 초기 반응속도가 느려진 것인지는 확실치 않다.

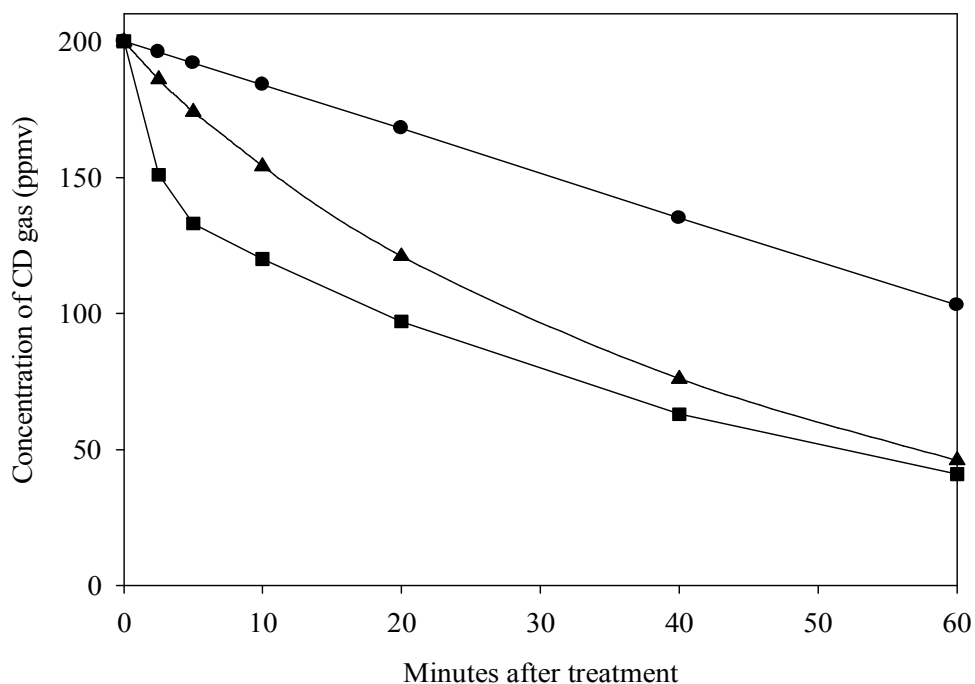


Fig. 26. Change of the concentration of chlorine dioxide (CD) gas in the empty chamber (●) and during the treatment of 40 peeled (■) and unpeeled onion bulbs (▲). Each data point represents means of three replications.

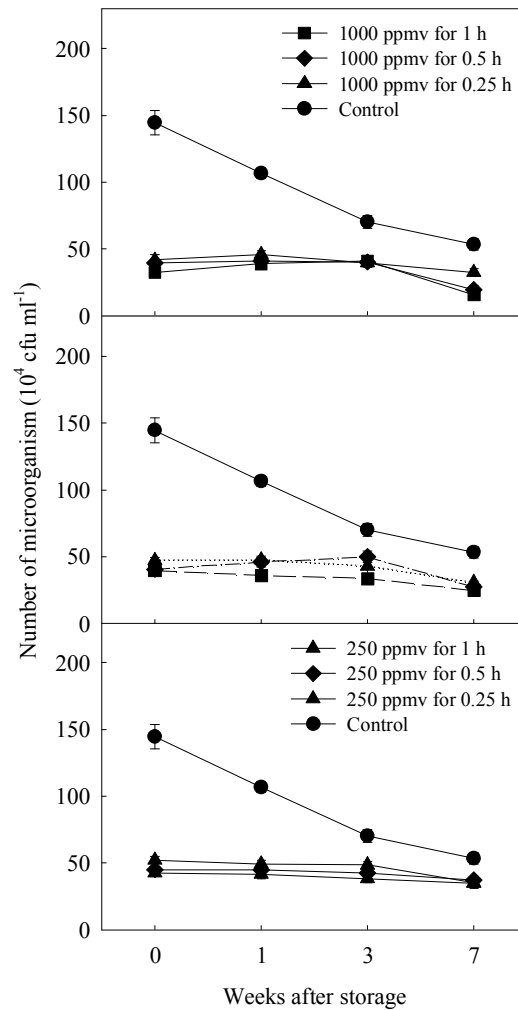


Fig. 27. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on the number of microorganism in the onion skins during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ◼; 0.25 h, ▲; Control, ●. Values represent means \pm SE.

이산화염소 가스의 처리 결과 모든 처리 구에서 유의한 미생물의 감소를 관찰할 수 있었다(Fig. 27). 이산화염소 가스 처리로 인한 미생물의 감소 효과는 처리 농도와 시간이 증가와 하였지만 큰 차이가 없었으며, 본 실험에서 처리 농도와 처리 시간에 따른 감소 효과는 거의 동등하게 나타났다. 절대적인 미생물 감소량은 이산화염소 가스를 처리한 타 실험에 비해 상당히 낮게 나타났는데, 이는 이산화염소 가스의 성질 차이로 인한 것이라기보다는 본 실험의 설계와 시료인 양과 껍질의 특수성에 기인한 것으로 여겨진다. 이는 초기 집중했던 미생물의 숫자가 양과 껍질에 집중 한 후, 그 개체수가 눈에 띄게 감소한 것으로부터 알 수 있으며, 저장 기간이 길어지면 길어질수록 그 개체수가 감소한 것을 통해서도 확인할 수 있

다. 다른 말로 표현하자면, 양파 껍질에는 많은 미생물을 부양할 만한 충분한 영양분이 없다는 것을 의미한다. 특이한 점은 실험 기간 동안 처리구와 미처리구의 미생물 개체수가 지속적으로 유의한 차이를 보였다는 점인데, 이것은 이산화염소 가스 처리로 인한 미생물 감소효과가 양파껍질에 한해서는 7주 이상 지속될 수 있다는 것으로 해석된다.

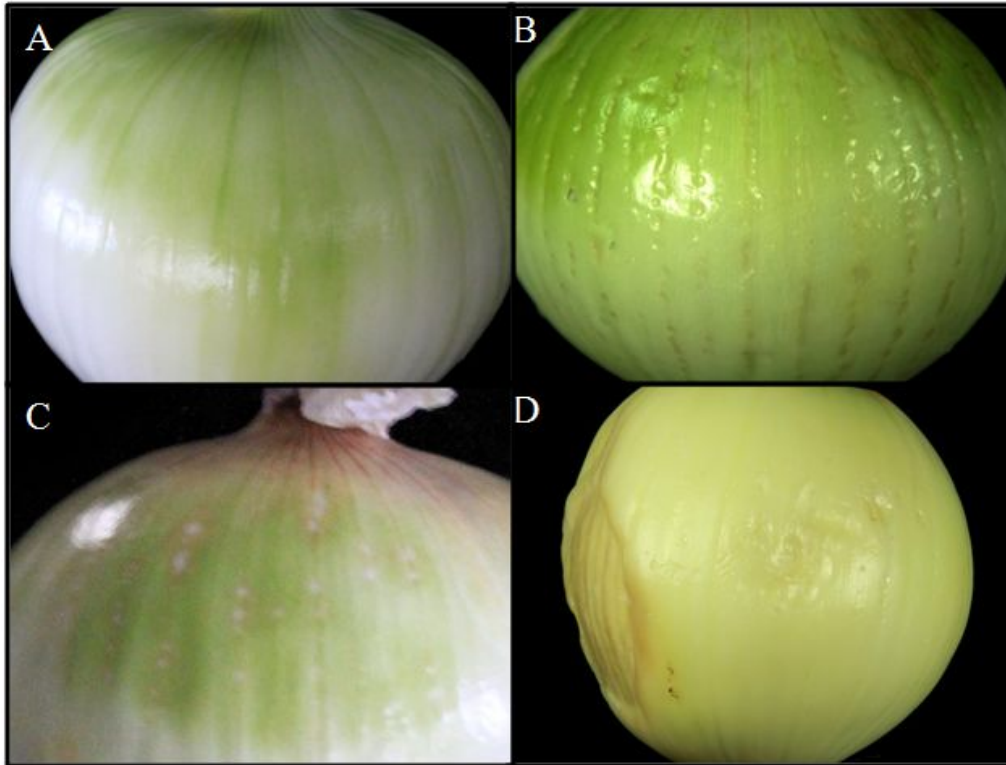


Fig. 28. Effects of chlorine dioxide gas application on onion bulbs: No phytotoxicity was found in unpeeled group (A). Small sunken regions (B), bleaching (C), and great deformation (D) in peeled groups after a week of storage

품질 평가 결과 이산화염소 가스는 양파의 품질에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 먼저 외관을 살펴봤을 때, 양파의 껍질이 온전한 양파는 이산화염소 처리 후, 저장 중에 껍질을 벗겼을 때, 일반 양파와 같이 아무런 약해도 발견되지 않았다(Fig 28A). 반면, 양파 자체에 양파의 껍질이 손상됐을 경우에는 양파의 인편에 약해를 발생시키는 것으로 확인되었는데, 이산화염소 가스를 처리한 껍질을 벗긴 모든 양파에서 저장 1주 후, 직경 3mm 이내의 작은 원형 함몰이 양파 최외각 인편의 엽맥을 따라 무수히 생성되었다(Fig. 28B). 또한, 일부 백색체가 엽록체로 전환된 부분에서는 탈색이 발생하였고(Fig. 26C), 저장 기간이 지속되면서 외부에 심한 외부 변형이 빠른 속도로 발생하기도 하였다(Fig. 26D). 벗긴 양파 껍질의 심한 외부 변형은 빠른 수분 감소로 인한 것으로 보이며, 이산화염소 가스를 처리 안한 껍질을 벗긴 양파에서도 나타나는 현상이나, 가스를 처리한 양파에서 더욱 더 급속하게 수분 감소 현상이 나타났다(자료 미제시). 하지만, 수확후 취급 과정에서 껍질에 손실을 입은 양파는 상품성이 크게 떨어지기에 이산화염소 가스의 양파 처리에 아무런 문제가 없다고 여겨진다.

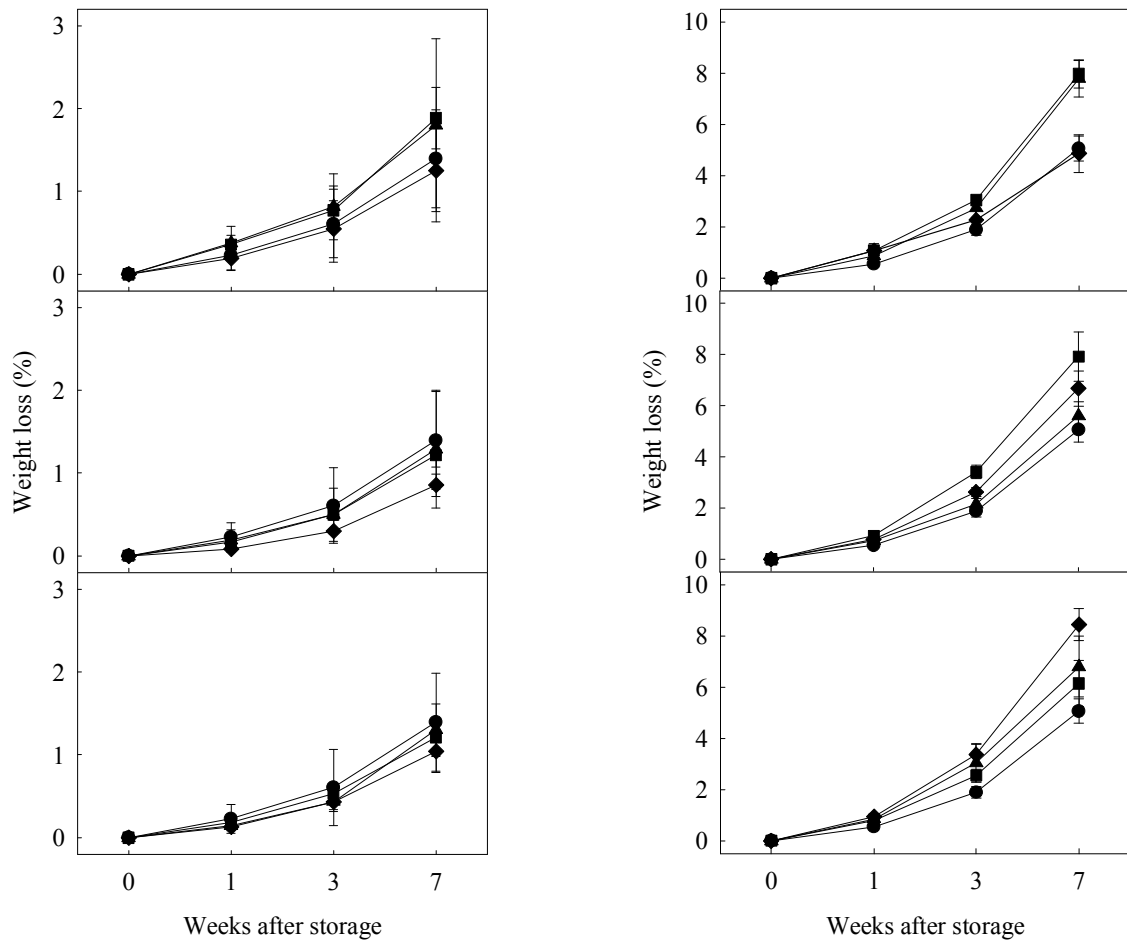


Fig. 29. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on the weight loss of onion bulbs in the unpeeled (left) and peeled group (right) during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ◆; 0.25 h, ●; Control, ▲. Values represent means \pm SE.

중량 감소율에서는 이산화염소 가스 처리로 인한 차이가 발견되지 않았다(Fig. 29). 다만, 껍질이 벗겨진 양파는 일반적으로 월등한 중량 감소율을 보였으며, 이와 더불어 이산화염소 가스로 처리했을 경우 기본적으로 껍질의 부재로 인한 수분 감소와 더불어 더 많은 중량 감소가 저장 중 발생한다는 것을 확인할 수 있었다.

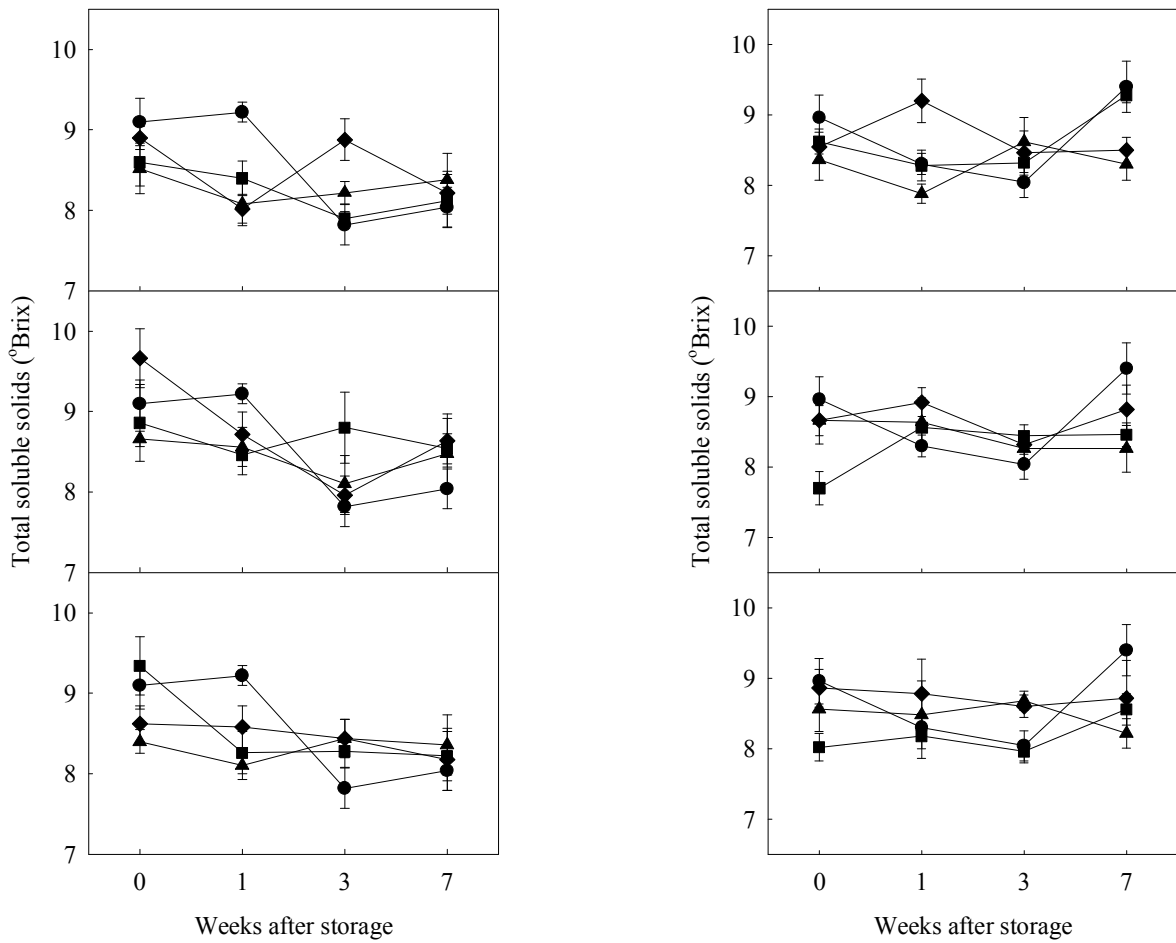


Fig. 30. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on total soluble solids (TSS) of onion bulbs in the unpeeled (left) and peeled group (right) during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ◆; 0.25 h, ▲; Control, ●. Values represent means \pm SE.

껍질이 온전한 양파와 손실된 양파 모두에서 이산화염소 가스 처리로 인한 TSS의 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 30). 저장 중 처리구간 유의차는 관찰이 되었으나, 이는 이산화염소 가스로 인한 영향보다 각 개체간의 개별차로 인해 발생된 것으로 보인다. 저장 기간 동안 관찰된 껍질이 온전한 양파의 TSS 감소하였는데 이는 양파 '터보'의 저장 특성과 일치한다. 반면, 껍질이 벗겨진 양파에서는 저장 기간 중 TSS의 감소가 늦춰지는 현상이 발견되었는데, 이는 껍질을 벗긴 양파 외각 스케일의 수분 손실로 인한 가축화로 인한 것으로 여겨진다.

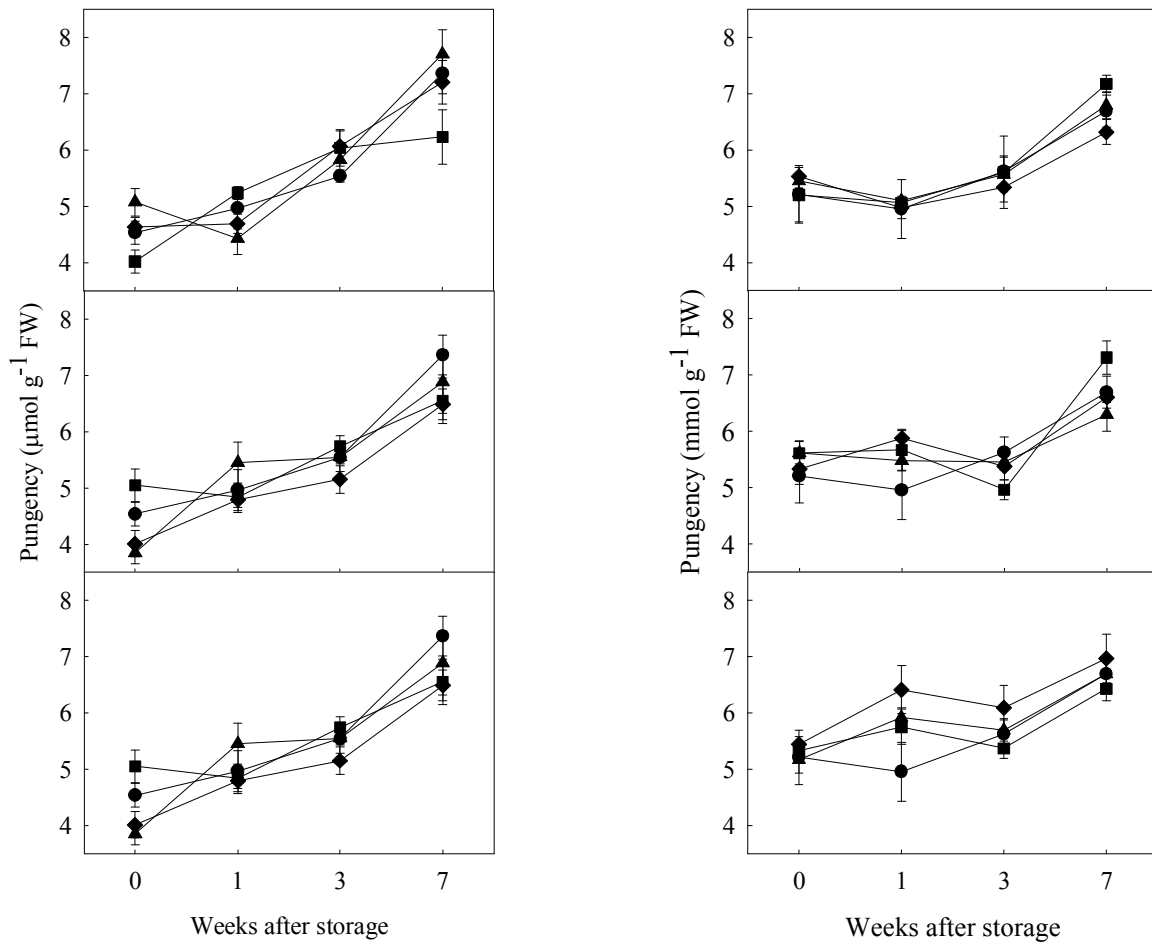


Fig. 31. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on the pungency of onion bulbs in the unpeeled (left) and peeled (right) group during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ◆; 0.25 h, ▲; Control, ●. Values represent means \pm SE.

양파의 매운맛 또한 TSS와 마찬가지로 이산화염소 가스 처리로 인한 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Fig. 31). 처리 직후 측정값을 보면, 가스 처리와 관계없이 양파 터보의 매운 맛은 처리 직후 껍질을 벗긴 양파에서 더 높게 나타났다. 이러한 차이는 이산화염소 가스를 처리하지 않은 껍질을 벗긴 양파에서의 매운맛과 처리한 양파의 매운 맛에서 유의한 차이가 나지 않는다는 사실을 미루어 볼 때 이산화염소 가스 처리로 인한 화학전 손상에서 기인했다기보다는 껍질을 벗기는 실험 전 처리과정에서 유발됐을 것이라는 결론을 내리게 한다. 측정 결과, '터보'는 양파 품종 중 중간정도의 매운 맛을 가졌으며 매운맛이 저장 기간 중 점차 상승한다는 것을 확인할 수 있었다.

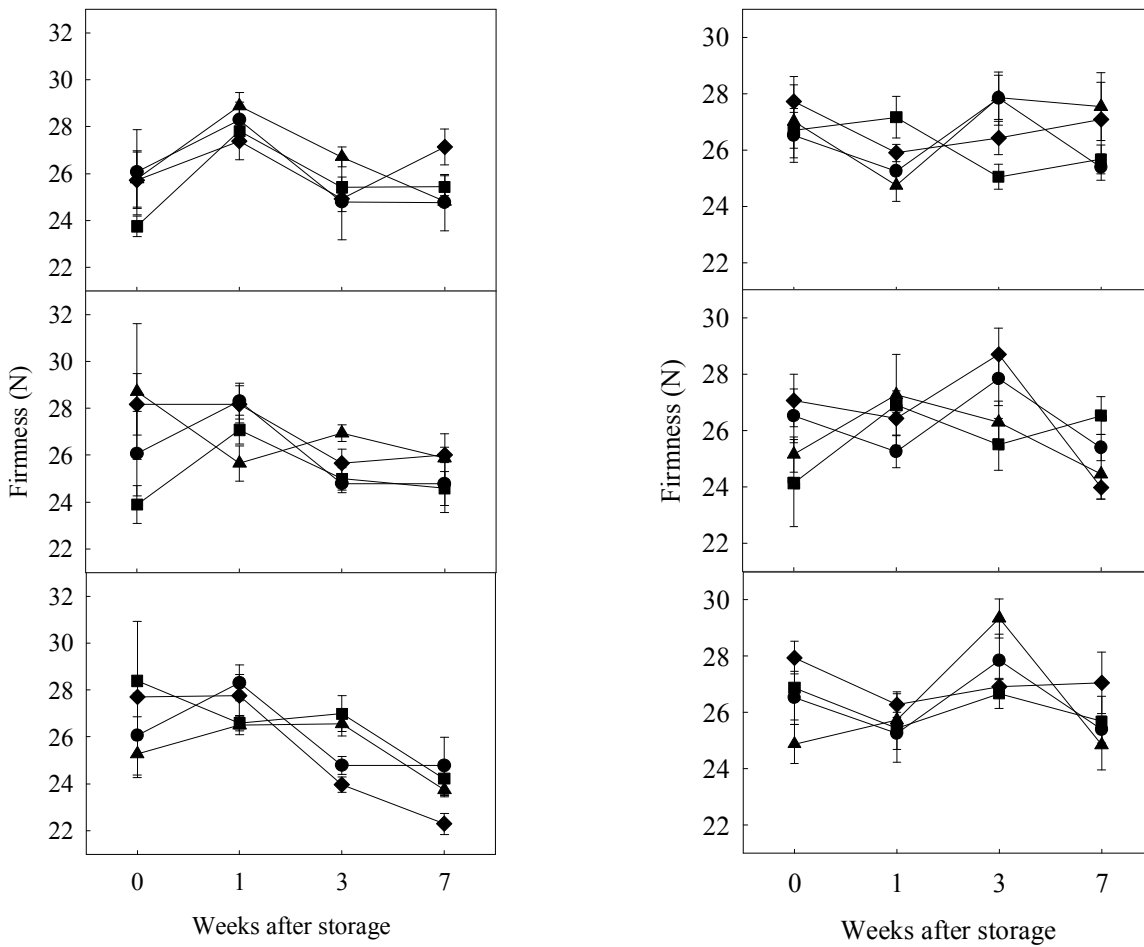


Fig. 32. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on the firmness of onion bulbs in the unpeeled (left) and peeled group (right) during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ●; 0.25 h, ▲; Control, ◆. Values represent means \pm SE.

양파의 경도 또한 이산화염소 가스 처리의 영향이 관찰되지 않았다(Fig. 32). 저장 기간 동안 껍질이 온전한 양파는 대체적으로 경도가 감소하는 경향을 보였는데, 이는 셀룰로오스와 미들 라멜라의 분해로 인한 것으로 여겨진다. 반면 껍질이 없는 양파는 저장 기간이 길어짐에도 불구하고 경도가 크게 감소하지 않았다. 이는 앞서 저장 기간 내의 중량 감소율의 결과를 고려해 봤을 때, 수분 감소로 인한 외부 인편의 가축화로 인한 결과라고 여겨진다.

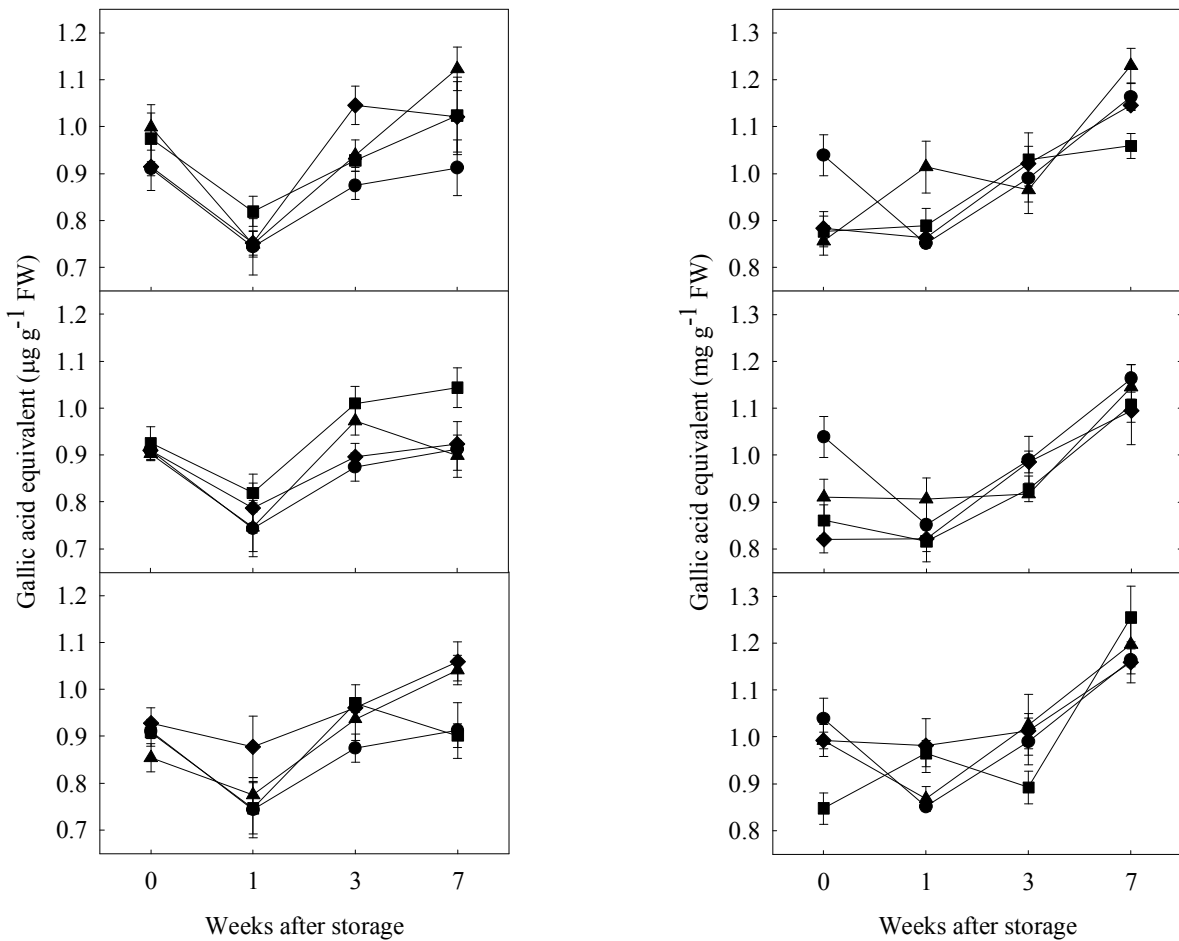


Fig. 33. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on the total phenolic content of onion bulbs in the unpeeled (left) and peeled group (right) during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ■; 0.25 h, ▲; Control, ●. Values represent means \pm SE.

Allium 속의 채소는 높은 페놀 화합물을 가지고 있는 것으로 알려져 있고, 총 페놀 함량은 항산화 능력과 밀접한 관계를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 강력한 산화제인 이산화염소 가스를 처리했을 때, 항산화 능력이 감소하리라 예상했으나 껍질을 벗기지 않은 양파에서는 예상과는 달리 이로 인한 총 페놀 함량의 변화는 두드러지게 나타나지 않았다(Fig. 33). 반면, 껍질을 벗겨진 양파는 Vandekinderen(2008)의 같은 당근에 이산화염소 가스 처리를 한 실험과 다르게 처리 후 이산화염소 가스를 처리한 양파에서 총 페놀 함량의 감소를 확인할 수 있었다. 이는 이산화염소 가스가 양파의 인편을 산화시키는 것을 양파의 껍질이 막아주기 때문이라고 생각된다. 초기의 총 페놀 함량 차이가 저장 기간이 길어지면서 이러한 차이는 더 이상 관찰할 수 없었다.

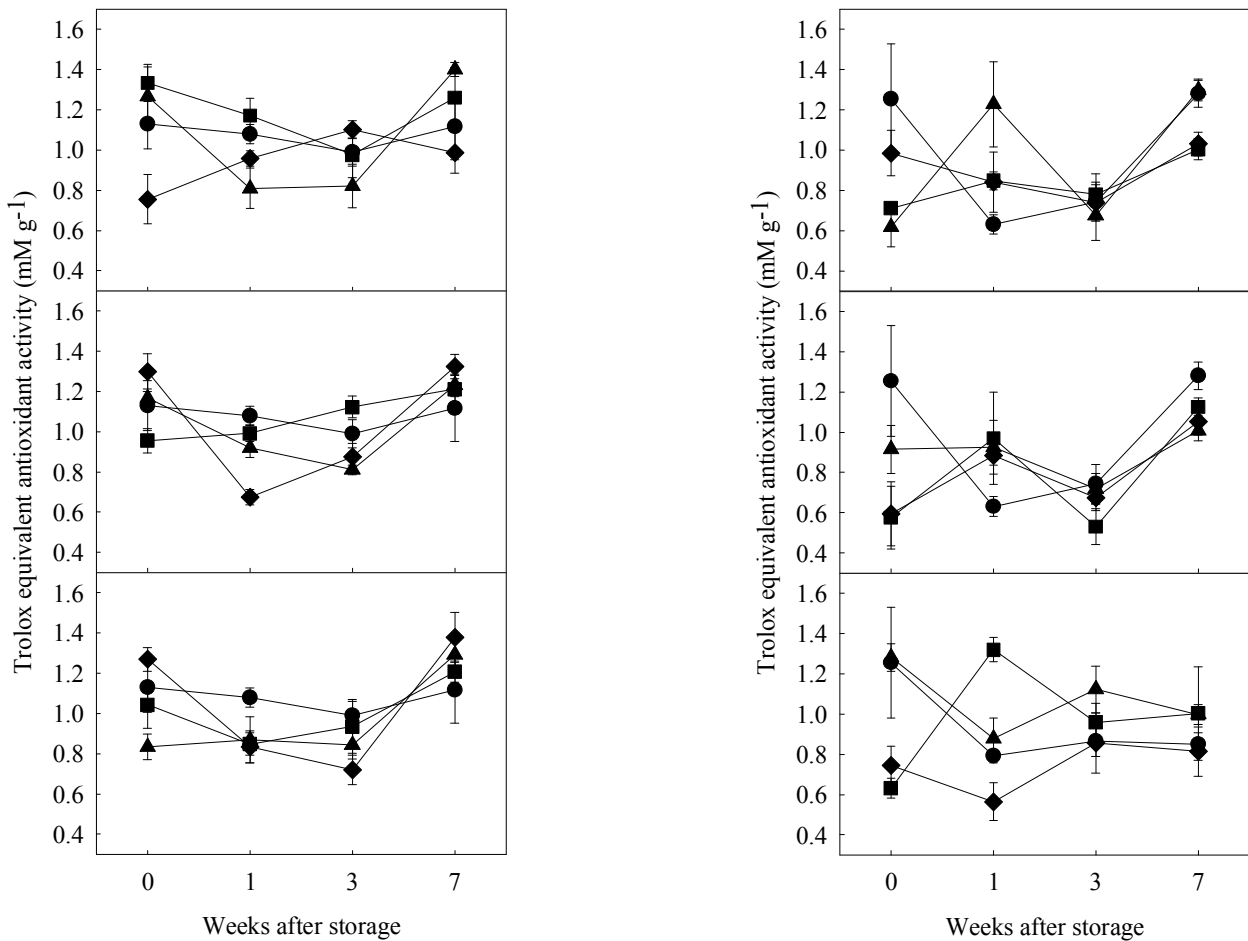


Fig. 34. Effect of chlorine dioxide (CD) gas applications at the concentration of 1000 (A), 500 (B), 250 ppmv (C) CD gas on antioxidant activity of unpeeled (left) and peeled onion bulbs (right) in ABTS assay during storage. Each symbol represents for application time of CD gas: 1 h, ■; 0.5 h, ◆; 0.25 h, ▲; Control, ●. Values represent means \pm SE.

ABTS를 이용한 항산화 능력 측정에서도와 껍질을 벗기지 않은 양파에서는 이산화염소 가스 처리로 인한 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 34). 반면에 껍질을 벗긴 양파에서는 총 페놀 함량의 결과와 유사하게 초기 항산화 능력에서 비처리구가 처리구보다 250ppmv 0.25시간 처리구를 제외하고는 일반적으로 높은 수치를 나타냈다. 또한, 저장 중 껍질을 벗긴 양파에서는 페놀 함량 변화와 항산화 능력의 변화 양상이 유사하여 양파 내의 페놀 함량이 항산화 능력과 상당한 연관관계가 있을 것이라 생각할 수 있다. 따라서, 이산화염소 가스는 산화력을 가지고 있지만, 양파의 껍질의 존재가 이산화염소 가스로 인한 인편의 산화를 막아준다는 결론을 내릴 수 있다.

이산화염소 가스를 양파에 처리한 결과 모든 처리구에서 유의한 미생물 개체수의 감소 효과를 확인할 수 있었고, 그로 인한 양파의 품질의 저하가 발견되지 않았다. 다만, 껍질을 벗긴 양파는 처리 후, 더 빠

른 이산화염소 가스의 소실과 저장 과정에서 외관상 약해와 빠른 중량 감소가 관찰되었으며, 초기 페놀 함량의 감소와 항산화 능력의 저하를 보였다. 이를 통해 이산화염소 가스의 활성은 양파의 외부 환경에 노출된 부위에만 국한되며, 껍질이 손상되어 노출될 경우 양파의 품질을 저하시킬 수 있지만, 수확후 처리 과정에서 껍질이 소실된 양파는 그 상품성을 상실하게 되므로 이산화염소 가스 처리는 양파의 저장에 유용하게 쓰일 수 있다.

2. 양파의 수확 후 최적 관리 모델 구상

가. 수확 시기

- 양파는 구의 비대 및 성숙 시기에 엽초부의 조직이 약화되어 지상부가 넘어지는데 이를 도복이라 한다. 보통 도복 시기는 양파의 수확 시기를 결정하지만, 강풍 등으로 인하여 미성숙 상태에서 도복이 발생할 경우에는 상부엽의 고사 여부를 살펴 수확 시기를 결정한다.
- 일반적으로 양파의 수확시기는 50-90%의 도복이 발생할 때로 최적 수확 시기는 약 70%가 도복되었을 때이다. 수확 시기가 늦으면 수확량은 증가하나 저장성이 떨어지고, 이르면 수확량 감소 뿐만 아니라 양파의 저장성마저 떨어지게 된다.
- 수확시기의 일기 또한, 양파의 저장성면에서 큰 영향을 주기 때문에 적정 수확 시기에 우천 발생 이전에 수확을 실시해야 하며 우천 이후에는 충분히 노지가 건조해 질 때까지 기다려 수확을 해야 한다.



도복



수확

나. 줄기절단

- 줄기 절단은 양파의 상부가 어느 정도 고사했을 때, 양파구 위로 약 5-10cm 정도 부위를 절단하는 것이 좋다. 이는 줄기 내의 여분의 휴면 물질과 양분의 구로의 이동을 돕고, 줄기 절단 과정에서 발생할 수 있는 병원균에 의한 감염과 확산의 위험을 줄이기 위해서다.
- 망작업시에는 노지 건조시 양파의 줄기가 최대한 마른 후 짧게 줄기절단을 하는 것이 좋으며, 벌크

저장을 할 경우에는 양파 취급 시 다소 용이하지 않으나, 다소 길게 자라 저장 후 출하를 위한 선별 과정에서 줄기를 추가로 절단하는 것이 저장 중 부패율 감소 및 저장성 증진에 유리하다.

- 노지 건조 후 줄기 절단 시에 절단면에 탄산석회를 살포하면 절단 부위가 빠르게 건조되고 병원균의 침입이 억제되어 저장성이 향상되는 효과가 있다.



줄기 절단 작업



망작업



기계 수거

다. 수거

- 소형 농가에서는 양파의 수거를 위해 주로 망작업을 하는데, 망작업을 거친 양파는 수거 전까지 외기의 영향을 직접적으로 받지 않도록 비닐하우스와 같은 간이 저장 시설에 보관하거나 노상에 위치시킨 팔레트에 위에 적재하여 포를 덮어 지면 및 직사광선과의 직접적인 접촉을 막아야 한다.
- 벌크 저장을 위한 기계수거시, 0.5~1톤 규모의 빈이나 콘백에 양파를 담아 저장고로 옮기게 되는데, 압상을 막기 위해서 과도한 적재를 막아야 하며, 콘백을 이용할 경우 선별기로 옮길 때 물리적 상해를 입지 않도록 주의해야만 한다.



야외 적재



콘백 수거

라. 선별

- 망작업용 양파는 저장 및 출하 과정에서 선별을 위한 생력의 소비가 극심하므로 추가 선별이 불가능하다. 따라서, 노지 건조를 거친 양파의 줄기 절단 과정에서 최대한 상품성이 떨어지는 양파를 슈아내어 망작업을 해야만 한다.
- 벌크저장용 양파는 초기 기계수거 과정에서 간이 선별기를 통해 선별이 가능하며, 수거 후 저장 전 1차 선별과정을 거치는데, 콘백이나 수거용 빈에서 1차 선별기로 옮기는 과정과 선별되는 과정에서 물리적 상해를 입지 않도록 주의하여야 한다. 최종 출하 직전, 2차 선별과정을 실시한다.

마. 큐어링

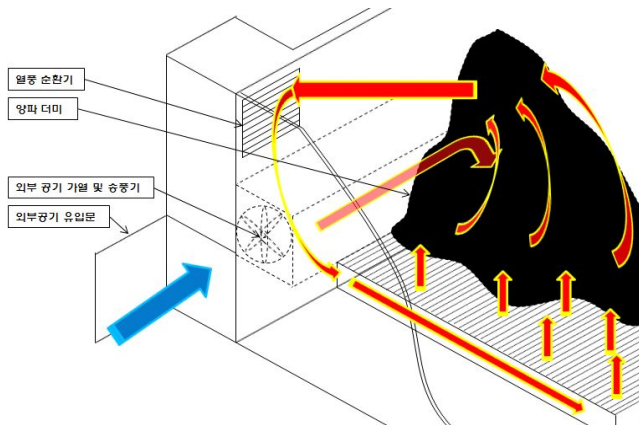
- 양파의 큐어링은 상처 부위와 표피를 건조시켜 저장 과정에서 추가적인 병원균의 침입이나 증식을 억제하는 수확후 관리 기술이다.
- 큐어링을 하면 양파의 껍질, 목 및 상처 부위의 습기가 제거되어 병원균의 침입이 억제되고, 외부 인편 및 상처부위를 통한 저장 중 수분 손실을 억제할 수 있다. 또한, 구의 표면을 경화시켜 압상에 대한 저항력을 늘려줄 뿐만 아니라 양파 껍질의 색을 더 진하게 만드는 효과가 있다.
- 국내에서는 수확 시기에 과습으로 인해 양파의 저장 중 부패율이 증가할 수 있어, 저장전 큐어링을 거치는 것이 좋다. 특히, 저온 저장고 내의 온도 불균형과 과밀한 저장 여건 등으로 부분적으로 과습 조건이 형성될 수 있기에 과습으로 인한 부패를 최소화하기 위해서 필수적인 과정이다.



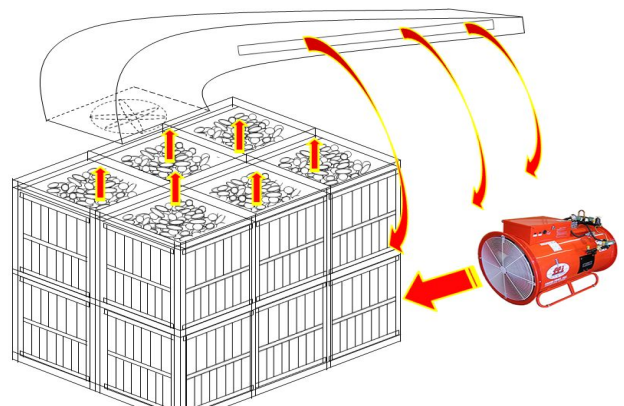
바. 큐어링 처리

- 국내 큐어링 처리로는 크게 송풍 건조 방식과 열풍 건조 방식으로 나뉜다.
- 송풍 건조 방식은 저장고 하부에 외기를 끌어와 습해진 저장고 상부의 공기를 방출하여 양파 외부의 습기를 제거한다. 외부 기상 조건에 의존하는 사용상의 제약이 있지만, 간소한 설비와 쉬운 운영의 장점이 있어 양파의 수거 기간이 길고, 양파의 출입이 잦은 중소 저장업체에 효율적이다.
- 열풍 건조 방식은 열풍 발생기를 통해 가열한 공기를 내부 순환기를 통해 저장고 내부에 고루 순환시켜 양파의 표면의 습기를 제거한다. 시설이 복잡하고 운영이 까다롭지만, 처리 환경의 조절이 용이해 대형 저장업체에 효율적이다.
- 국내 열풍 건조 처리 온도는 32-37°C 사이로 다양하며, 그 처리 기간은 보통 2-7일 사이이다. 하지만, 37.7°C 이상의 온도에서 양파의 주된 병해 중 하나인 잣빛썩음병을 발생시키는 *Botrytis allii*의 병원균 증식이 억제된다고 알려져 있기 때문에, 40°C에서 더 짧은 시간 처리하는 것이 좋다.
- 열풍 건조를 끝낸 후에는 양파의 온도를 낮춰주기 위해 2~3일간 건조한 외부 공기가 유입될 수 있도록 환풍팬을 가동시켜야 한다.

처리 방식	온도	처리 기간	적합성	환풍
송풍 건조 방식	외기	수시	중소 저장업체	6회/일
열풍 건조 방식(관행)	32-37°C	2-7일	대형 저장업체	6회/일
열풍 건조 방식(개선)	40°C	1-4일	대형 저장업체	6회/일



벌크 적재 시 열풍 큐어링



빈 적재 시 열풍 큐어링

사. 저장

- 양파는 저장성이 매우 뛰어난 채소로 상온에서 3~4개월 가량 저장이 가능하다. 하지만, 8~9개월 이상의 장기 저장을 위해서는 저온 저장을 해야 한다. 양파의 저온 저장 시 장기 저장을 위해 가장 우선적으로 고려되어야 할 것이 저장고 내의 안정된 온도와 습도 관리이다.
- 양파의 저장 온도는 양파의 출엽과 깊은 관계가 있다. 양파의 출엽 적정 온도는 10~20°C로 알려져 있는데, 이보다 낮거나 높을 경우에 양파의 출엽이 억제된다. 따라서, 단기 저장을 위해서는 20°C보다 높은 상온에 저장하여 출엽으로 인한 피해를 막는 것이 좋다.
- 양파의 저장 온도를 낮추면 부패로 인한 피해를 막을 수 있는데, 0°C보다 낮은 온도에 저장하는 경우 동해에 의한 피해를 입을 수 있으므로 장기 저장을 위해서는 0°C에 가까운 온도에 저장하는 것이 좋다.
- 양파 저장을 위한 최적 습도 조건은 65~75%로 알려져 있다. 양파는 과습 조건에서는 병의 발생이나 발근으로 인한 피해를 입기 쉽고, 이보다 지나치게 낮으면 수분 손실로 인한 중량 감소 및 껍질의 갈라짐이 발생할 수 있기에 습도 조절에 주의해야 한다.
- 통풍 또한 양파 저장 시 중요한 요소이다. 저장고 내에 양파를 과밀하게 적재하면 저장고 내 통풍을 방해하여 부분적으로 과습하거나 냉기가 집적된 환경을 조성하여 부패나 동해로 인한 손실을 유발할 수 있다. 따라서, 양파 적재 과적을 막고, 통풍이 잘 되도록 양파를 배치하는 것이 중요하다.



맹아엽 출현



무름병



젓빛 곰팡이병



동해



마름썩음병



검은 곰팡이병

양파의 저장 장해 유형

아. 출하 선별 및 포장

- 출하 시 저장고 내부와 외부의 대기와의 온도차로 인하여 결로가 발생할 수 있기 때문에 일괄출하 방식을 하는 것이 좋다. 하지만, 이 같은 방식이 여의치 않은 경우에는 외풍에 의한 송풍 처리를 통해서 건조를 시켜주는 과정이 필수적이다.
- 망작업을 거치지 않은 벌크 저장 방식에서는 저장 후, 저장 과정 중 발생한 불량 개체를 슈아내는 2차 선별 작업을 거친 후 출하하게 된다. 선별 과정에서 물리적 손상을 입지 않도록 주의해야하며, 망 포장 및 박스 포장을 하여 출하한다.



2차 선별 작업



망포장



박스 포장

자. 저장고 관리

- 양파의 저장 중 부패로 인한 손실을 최소화하기 위해서는 양파의 저장 전후 관리가 필수적이다.
- 양파의 저장 후 저장고 내에는 저장과정에서 유입된되거나 발생한 토양, 오물, 부패물 등이 다량 잔류하게 된다. 따라서, 출고 후에는 이물질 제거하고, 염소수 세척이나 유황, 이산화염소 가스등을 사용하여 살균을 해야 한다. 이 과정은 저장을 위해 양파를 입고하기 전에도 필요하다.
- 저장고 살균 처리시 염소수는 50-200ppmv의 농도로 유황 처리는 33m³당 1kg 정도로 이산화염소 가스는 250ppmv의 농도로 사용하여 처리하되 각 물질은 부식성이 있으니 후에는 세척과 환풍 및 건조를 통해 시설이 부식되지 않도록 주의하도록 한다.
- 살균 후에는 잔여약제가 남아있지 않도록 건조를 하거나 환기를 해줘야만 한다.

제 4절 마늘 변색 발생 원인 구명 및 녹색 색소 합성

1. 마늘 변색 발생 원인 구명

가. 재료 및 방법

마늘은 경북 의성(한지형, 의성마늘), 전남 고창(난지형, 대서마늘), 경남 남해(난지형, 남도마늘) 등 우리나라 마늘 주산지에서 2009년 5월-7월 수확된 마늘을 이용하였다. 수확후 예건된 마늘 샘플은 각기 0, 5, 10, 15, 20°C의 온도에서 6개월간 저장된 후, 마쇄되어 변색 여부가 관찰되었으며, 변온 처리가 변색에 미치는 영향을 알아보기 위해 의성마늘을 이용하여 아래와 같이 변온 처리하였다.

(A) 20°C에서 3개월간 저장

(B) 20°C에서 3개월간 저장한 마늘을 0°C 저온으로 옮겨 3개월간 저장

(C) 0°C에서 6개월간 저장한 마늘을 20°C 상온으로 옮겨 3개월간 저장

각각의 온도에서 저장된 마늘은 저장 조건 변화에 따른 변색 정도를 측정하기 위하여 품종별로 마쇄 후, colorimeter (Minolta CR-200, Osaka, Japan)를 이용하여 그 값을 측정하였다. 색도는 Hunter 'a' value (redness-greenness)로 표시하였는데, Hunter 'a' 값이 음의 값으로 낮아질수록 변색 정도가 심한 것을 의미한다. 마늘 변색의 정도를 확인하고, 이 샘플을 통하여 마늘 변색에 원인을 찾아내기 위하여 변색 원인의 후보 유전자를 Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 하였다. 이를 위해 우선 마늘 샘플을 액체질소를 부어가며 막자사발에 갈은 후 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)를 이용하여 RNA를 추출하였으며, 추출한 RNA 1mg에 PrimeScript cDNA synthesis kit (Takara)을 사용하여 cDNA를 합성하고, 이를 RT-PCR을 통해 증폭하였다. RT-PCR은 28회 반복(94°C 30초, 55°C 30초, 72°C 40초) 수행했으며, RT-PCR 수행시 사용한 primers는 다음과 같다(Table. 3).

Table 3. PCR primers used in this study

Enzyme	Primer name	Primer sequence
Actin	Actin_F	ATGAGGCACAATCCAAAAGAGG
	Actin_R	GGAAAGCACAGCCTGGATAGC
γ -glutamyl transpeptidase in onion	AcGGT_F	AAATAATAATCTGCCACCACCTGC
	AcGGT_R	CCTTTCTTGATCACTTACAGCC
γ -glutamyl transpeptidase in garlic	AsGGT_F	CCACTGTCTTCAATGTCACCCAC
	AsGGT_R	CTCTTTAGCATCATCTGCGCC
Alliinase in garlic	Ali_F	GCTTCCTCAAAGCGAATACTGC
	Ali_R	GCCGTCTCGGTCTCATCAGTG

나. 결과 및 고찰

의성, 대서, 남도 마늘을 6개월간 0, 5, 10, 15, 20°C에 저장한 결과 품종에 상관없이 15°C 이하의 온도에서 3개월 이상 저장된 모든 마늘에서 마쇄 시 변색이 관찰되었다. 다만 변색의 정도는 품종간 차이가 있어 의성과 대서 마늘이 변색 정도가 남도 마늘에 비해 심하게 나타났다. 이상의 결과로 마늘 마쇄 후 나타나는 변색의 주원인은 저장 온도로서 마늘을 15°C 이하의 저온에서 3개월 이상 저장 시 변색이 나타남을 확인할 수 있었으며, 낮은 온도에 일정 기간 이상 노출되었을 때 미지의 청색 물질을 합성하기 위해 필요한 물질 대사가 마늘 인편 내부에서 촉진되어 변색을 유발하는 것으로 추정된다.

저장 온도와 변색간의 관계를 보다 구체적으로 알아보기 위해 다음과 같은 변온 실험을 추가로 실시하였다.

- (A) 20°C에서 3개월간 저장
- (B) 20°C에서 3개월간 저장한 마늘을 0°C 저온으로 옮겨 3개월간 저장
- (C) 0°C에서 6개월간 저장한 마늘을 20°C 상온으로 옮겨 3개월간 저장

마늘을 20°C에서 3개월간 저장한 A는 마늘이 15°C 이하로 노출되지 않았기 때문에 변색이 관찰되지 않았으나, 저장 온도가 높아 저장 수명이 3개월 밖에 되지 않았으며 3개월 이후에는 휴면이 타파되어 멩아엽 신장이 발생해 상품성을 잃었다. 마늘을 20°C에서 3개월간 저장한 후 0°C 저온으로 옮겨 3개월간 추가 저장한 B는 20°C에서 3개월간 저장하였을 때는 변색이 일어나지 않았으며, 이후에 0°C 저온으로 옮겨 3개월간 저장한 후에는 저온 노출기간이 3개월 이상 경과함에 따라 차츰 변색이 발생하였다. 마늘을 0°C에서 6개월간 저장한 후 20°C 상온으로 옮겨 3개월간 추가 저장한 C는 0°C에서 3개월간 저장하였을

때는 변색이 일어났으나, 이후에 20°C 상온으로 옮겨 저장한 후에는 변색의 정도가 점차 약해졌으며 상온 저장 3개월 후에는 마쇄 시에도 변색이 관찰되지 않았다(Fig. 35 and 36).

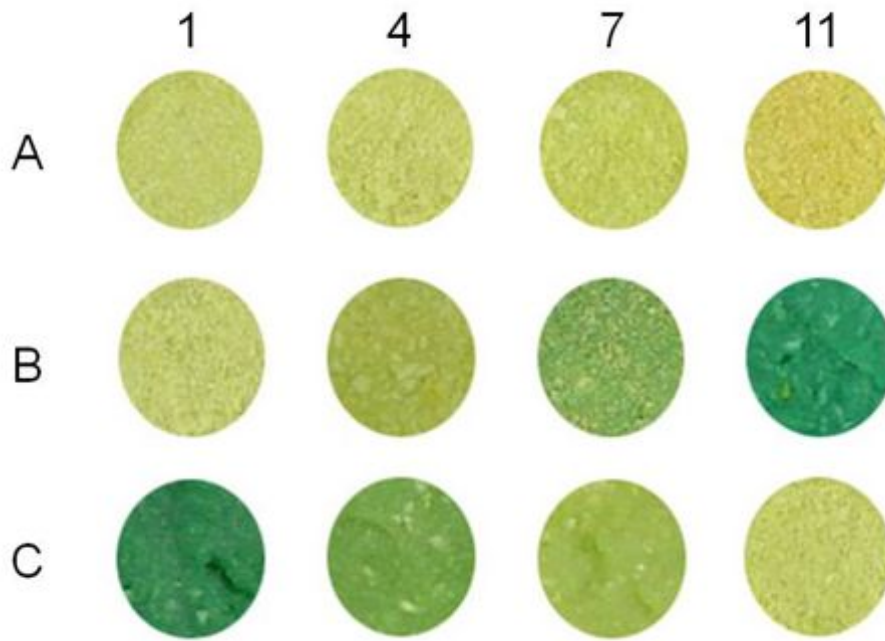


Fig. 35. Garlic greening occurrences during garlic storage depending on storage temperature. The number over the pictures represent storage period (weeks). Alphabets indicate garlic stored at 20°C for 3 months (A), stored at 20°C for 3 months then transferred to 0°C for 3 months (B), and stored at 0°C for 3 months then transferred to 20°C for 3 months (C).

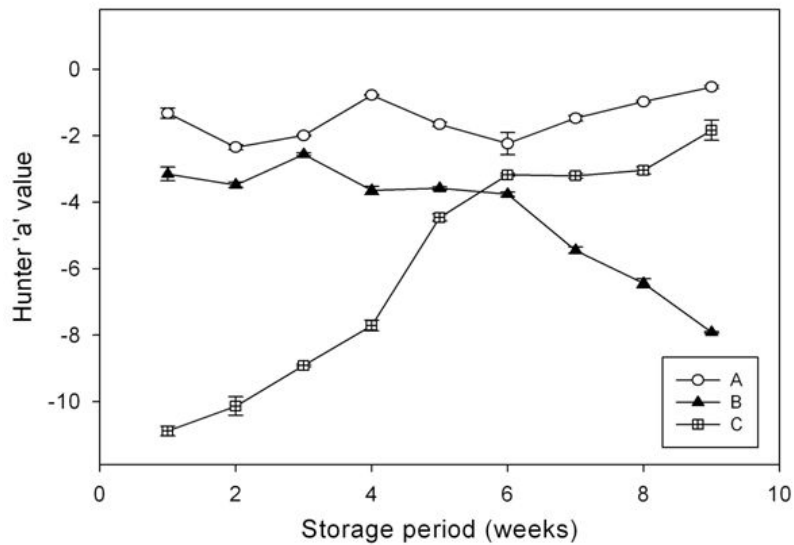


Fig. 36. Change of Hunter 'a' value depending on storage condition. Alphabets indicate garlic stored at 20°C for 3 months (A), stored at 20°C for 3 months then transferred to 0°C for 3 months (B), and stored at 0°C for 3 months then transferred to 20°C for 3 months (C).

위의 결과로 마늘의 변색은 저장 온도와 매우 밀접한 관련이 있으며, 상온에 저장하여 변색이 일어나지 않는 마늘이라도 저온에 3개월 이상 노출되면 변색이 일어나며, 반대로 저온에 저장하여 변색이 일어나는 마늘도 상온으로 옮겨 3개월 이상 경과하면 변색이 일어나지 않는다는 것을 알 수 있었다. 이는 마늘 변색에 관여하는 특정 효소가 온도에 민감하게 반응하여 저장 온도 및 저장 기간에 따라 변색 여부가 달라지는 것으로, 이때 관여하는 효소로 γ -glutamyl transpeptidase와 alliinase 등이 알려져 있다. Alliinase는 마늘의 향기성분 생성에 관여하는 대표적인 효소로 비교적 연구가 많이 진행되어 있어 sequence가 밝혀져 있지만 γ -glutamyl transpeptidase는 sequence가 밝혀지지 않아 양파의 γ -glutamyl transpeptidase의 sequence를 이용하여 마늘 γ -glutamyl transpeptidase의 부분 염기서열을 밝혀 실험에 사용하였다(Fig. 37). Alliinase와 γ -glutamyl transpeptidase의 RNA를 추출하여 RT-PCR시킨 결과 alliinase는 저장 조건에 영향을 받지 않아 저장 온도에 상관없이 PCR 밴드 두께가 일정하게 나타났지만, γ -glutamyl transpeptidase는 저장 조건에 따라 효소 활성도의 변화가 일어났다(Fig. 38). 상온에서만 저장하여 변색이 일어나지 않는 처리구(A)는 저장기간 내내 효소의 활성도가 매우 낮았으며, 상온에서 저장하다 저온으로 옮긴 처리구(B)는 처음에는 활성도가 매우 낮다가 저장 기간이 증가함에 따라 효소 활성도가 높아졌다. 그리고 저온에서 저장하다 상온으로 옮긴 처리구(C)는 처음에는 효소 활성도가 높다가 시간이 지남에 따라 효소 활성도가 상온 처리구 수준으로 낮아지는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과는 실제 마늘을 마쇄하였을 때 변색 정도와도 일치하였으며, Lei 등(2008)이 유사한 저장 조건에서 spectrophotometer를 이용하여 γ -glutamyl transpeptidase 활성도를 측정한 결과와도 일치한다. 하지만, alliinase는 저장 조건과는 상관없이 일정한 수준을 보여 마늘 변색에는 관여하지 않는다.

```

AcGGT      ATCGCTTCATTGAATCACTGAAACACATGATGGCTATCAGAATGAATCTTGGCGATCCAG 60
AsGGT      -----

AcGGT      ACTTTGTTAATGTTTCAACAAGTTTTGTCCGAAATGCTCTCCCTAAAGTTTGCAGAAAGATT 120
AsGGT      -----

AcGGT      TGAAGAAAAAGATATATGACAACATGACATTTGATCCTAGTTATTATGGCCCAAAGTGGAA 180
AsGGT      -----

AcGGT      ATGTGGTGAATGACCATGGAA CAAGCCATCTAAGCATTGTGGACAGTGAAA GAAATACCG 240
AsGGT      -----

AcGGT      TGTCGATGACAAGCACAGTGAATTCATACCTTCGGAGCAGGCATTGCATCACAAACCACAG 300
AsGGT      -----

AcGGT      GGATAGTGTCTCAATAATGAAATGGATGATTTCTCTATTCCCTTCAAACCTCTTCTTCAAATA 360
AsGGT      -----AATA 4
          *****

AcGGT      ATAATCTGCCACCACCTGCTCTACTAATTTTATAGCGCCATTGAAAGAGACCGCTTTCTT 420
AsGGT      ATAATCTGCCACCACCTGCTCTGCTAATTTTATAGCTCCA CTGAAAGAGACCACTGTCTT 64
          *****

AcGGT      CAATGTCACCCACAATTATTCTCAAGGATGGTAAACTGGTAGCTTCACTAGCGCAAGCG 480
AsGGT      CAATGTCACCCACAGTTGTTCTCAAGGATGGCAAACGGTAGCTTCTAGCGCAAGTG 124
          *****

AcGGT      GAGGAGGAATGATAATGCTGCAGCCACTCATATATTTCTAAAGTTATTCCGCTGAAA AAC 540
AsGGT      GAGGAGGAATGATAATCGCTGCAGCCACTCATATATTTCTGAAAGTTATTCCGCTGAAA AAC 184
          *****

AcGGT      TGGATCCTTTATCTTCTGTCTTGTCTTGTCTTCTTATCACAGCTGATCCCTAATGTTG 600
AsGGT      TGGATCATTAGCTTCTAGTCTTGTCTTGTCTTCTTATCACAGCTGATCCCTAATGTTG 244
          *****

AcGGT      TACAATATGAA GATTG GATGACAGTCATAGGAGATC ACTTTCTGGTTGCTGAAAATGACA 660
AsGGT      TACAATATGAA GACTG GATGACAGTCATAGGAGATC ATTTTCTGGTTGCTGAAAAGAAA 304
          *****

AcGGT      GGACAGCTCTA GAAAAG AAGGACATGTTTTAAAACCACTGGCTGGTGGGACAATATGTC 720
AsGGT      GGGCAGCCCTG GAAAAG AAGGACATGTTTTAAAACCACTGGCTGGTGGGACAATATGTC 364
          *****

AcGGT      AGTTTATCATT CAAGG GGAAGATGATGCTAAAGAGCTTAGCTCAGGAATTGCAAAATGGAG 780
AsGGT      AGTTTATCATT CAAGG CGCAGATGATGCTAAAGAGCTTAGGTTAGGGATTGCAAAACGGAG 424
          *****

AcGGT      ATCTCATGGCTGTAAGTGATC CAAGGAAAAGCGGTATTCCC GCTGGATACTGA 833
AsGGT      ATCTCATGGCTATAAGCGACC CAAGGAAAAGCGGTATTCCC GATGGATACTGA 477
          *****

```

Fig. 37. Alignment of deduced amino acid sequence garlic γ -glutamyl transepeptidase (AsGGT).

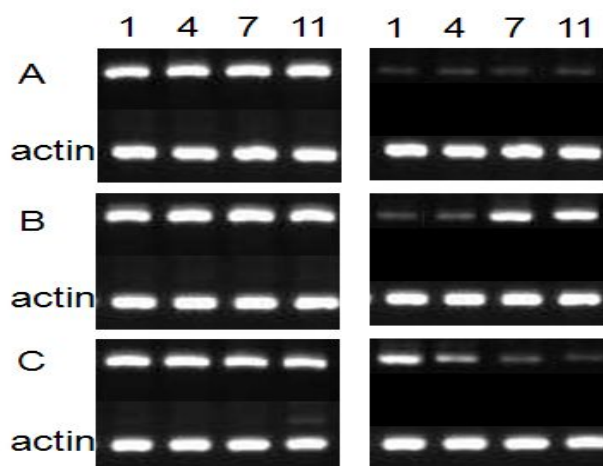


Fig. 38. The expression of differentially expressed genes during garlic storage depending on storage temperature. RT-PCR showing the activity of alliinase (left) and γ -glutamyl transpeptidase (right). The number over the panels represent storage period (weeks). Alphabets indicate garlic stored at 20°C for 3 months (A), stored at 20°C for 3 months then transferred to 0°C for 3 months (B), and stored at 0°C for 3 months then transferred to 20°C for 3 months (C).

2. 마늘 녹색 색소 합성

가. 재료 및 방법

2007년에 재배된 남도마늘과 양파를 구입하여 실험에 이용하였다. 먼저, 실제 마늘 청변의 주요 원인이 되는 물질을 확인하는 실험을 하였다. 이를 위해 마늘 200g과 양파 100g을 전자레인지에 3분간 돌려 효소를 불활성화 시킨 후, 생마늘 10g을 추가로 넣고, 증류수 300mL을 넣어 균질화한 뒤, 여과하여 마늘 주스를 준비하였다. 준비된 마늘 주스를 60°C에서 3시간 동안 두어 청변을 유도한 후 청색 물질을 HPLC와 diode array detector를 이용하여 분석하였다. 이를 인위적으로 유기한 청변 물질과 비교하기 위하여 다음과 같은 실험을 진행하였다. 먼저, 청변 마늘 100g과 양파 50g에 물 100mL을 넣고 균질화시킨 후 ethyl acetate 100mL을 넣어 thiosulfinate를 추출한 후, 아미노산을 제거하기 위해 acetone 100mL을 추가로 넣어준 후 acetone과 ethyl acetate의 층분리를 위해 증류수 500mL을 넣어주었다. Ethyl acetate 층을 취한 후, rotary evaporator를 이용하여 ethyl acetate를 제거하고, 증류수 50mL에 남아있는 thiosulfinate를 녹였다. 증류수에 녹아있는 thiosulfinate에 22 종류의 아미노산을 각각 60°C에서 3시간 동안 반응시켜 청색 색소 생성을 유도하였다. Thiosulfinate와 반응한 각각의 아미노산은 Table 4와 같다.

Table 4. List of amino acids used in the reaction with thiosulfinate solution and abbreviations

Order	Amino acid	Abbreviation	Order	Amino acid	Abbreviation
1	cysteine	Cys	13	alanine	Ala
2	phenylalanine	Phe	14	aspartic acid	Asp
3	glycine	Gly	15	histidine	His
4	methionine	Met	16	threonine	Thr
5	arginine	Arg	17	leucine	Leu
6	valine	Val	18	asparagine	Asn
7	isoleucine	Ile	19	glutamine	Gln
8	proline	Pro	20	cystine	Cyt
9	lysine	Lys	21	glutamic acid	Glu
10	serine	Ser	22	tyrosine	Tyr
11	tryptophan	Trp			
12	hydroxyl proline	h-Pro			

이후, Thiosulfinate와 22 종류의 아미노산의 반응 결과 생성된 청색 물질을 HPLC를 이용하여 분석하였다. Series 200 pump, Series 200 autoinjector, 그리고 Series 200 diode array detector(200-700nm)를 부착한 Perkin Elmer(Shelton) HPLC를 이용하였으며, 컬럼은 Nova-pak C18(Waters, 4.6 × 150mm, 4mm)

을 이용하였다. 이동상은 0.5% phosphoric acid를 넣은 100% methanol과 물을 이용하였다(40 min linear gradient 20% to 60% methanol, 3 min 100% methanol).

나. 결과 및 고찰

22 종류의 아미노산과 ethyl acetate를 이용하여 추출한 thiosulfinate를 반응시킨 결과 HPLC를 이용하여 분리하고, diode array detector를 이용하여 spectrum을 분석하였다. Fig. 39에서 보듯이 청색 물질은 1-propenyl cysteine sulfoxide(1-PeCSO)와 2-propenyl cysteine sulfoxide(2-PeCSO)가 alliinase에 의해 분해되어 생성된 thiosulfinate가 마늘에 존재하는 아미노산과 반응하여 생성된다. 따라서 청색 물질의 전구체인 1-propenyl cysteine sulfoxide가 많은 양파를 마늘과 함께 마쇄하면 청색 물질 생성량이 많아지기 때문에(Imai 등, 2006) 마늘을 마쇄할 때 양파를 함께 넣었다.

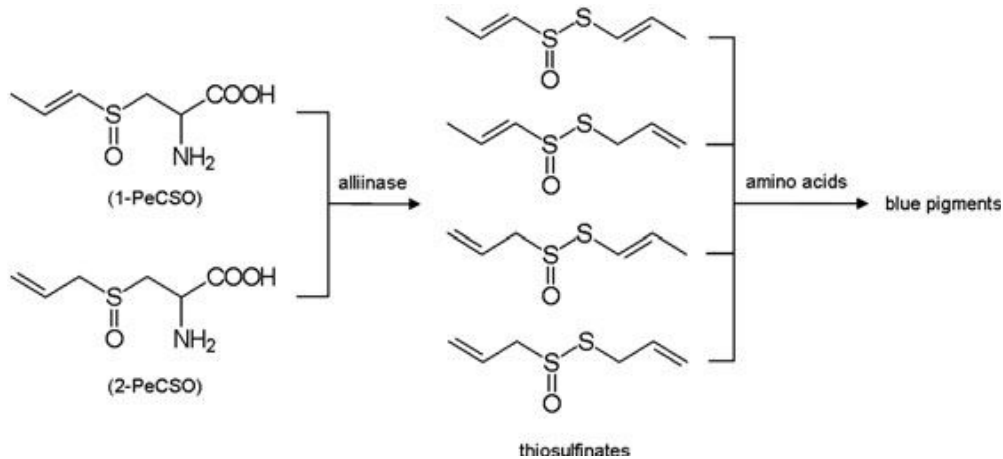


Fig. 39. Reaction for blue pigment formation in crushed garlic.

변색된 마늘의 spectrum을 HPLC와 diode array detector를 이용하여 분석한 결과 440과 580nm에서 각기 다른 retention time을 갖는 peak이 검출되었다. 각각의 retention time은 440nm에서는 2.7에서 5.6분, 580nm에서는 16.6에서 28.3분이며(Fig. 39), 440nm에서는 노란색 색소가 검출되고 580nm에서는 청색 색소가 검출되었다. 이는 마늘의 변색 현상은 비록 초록색으로 보이지만 실제로는 녹색 색소가 생성되는 것이 아니라, 청색 색소가 생성되며 생성된 청색 색소가 마늘의 기본색인 노란색과 합쳐져 녹색으로 보이는 것을 의미한다. 또한 청색 색소가 검출되는 파장인 580nm에서 1개의 peak이 검출된 것이 아니라, 8개의 peak이 검출되어 변색된 마늘의 청색 색소는 적어도 8개라는 것을 확인하였다(Fig. 40). 각각 peak의 retention time은 16.6(1), 19.7(2), 20.8(3), 21.7(4), 23.5(5), 25.1(6), 26.9(7), 그리고 28.3(8)으로, thiosulfinate가 각기 다른 아미노산과 반응하여 여러 종류의 청색 색소를 만들어낸 것으로 확인되었다. 또한 아미노산을 넣지 않은 대조구는 60°C에서 3시간 동안 반응시켜도 색 변화가 나타나지 않아 아미노산은 청색 색소 반응에 있어서 필수 요소임을 확인하였다.

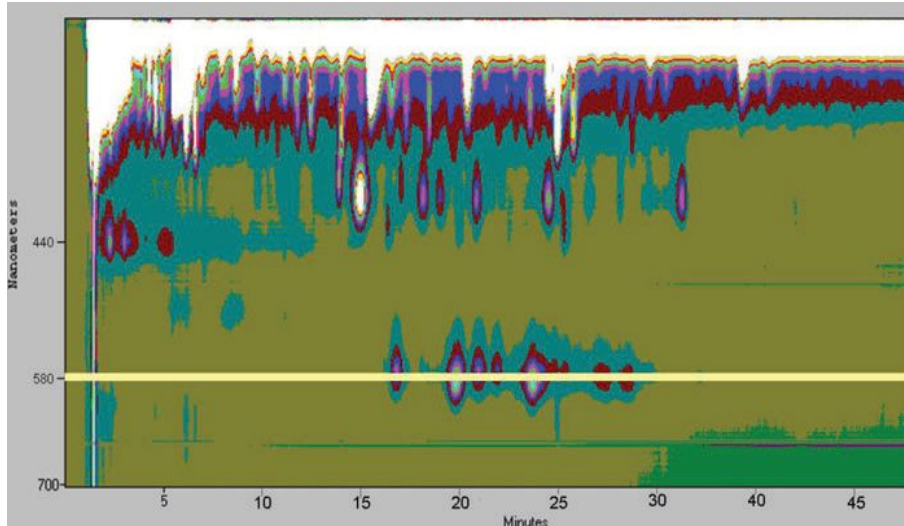


Fig. 40. Spectrum of blue pigments in natural garlic juice. Garlic bulbs were homogenized and filtered then the filtrate was incubated at 60°C for 3 h to generate blue pigments.

대부분의 아미노산은 thiosulfinate 용액과 60°C에서 3시간 동안 반응 후 청색 색소를 만들었지만(Fig. 41) cysteine, proline, methionine, 그리고 hydroxy-proline은 thiosulfinate 용액과 반응한 후에도 아무런 색변화가 일어나지 않아 마쇄 마늘 변색에는 관여하지 않는 아미노산으로 확인되었다. 비록 cysteine, proline, methionine, 그리고 hydroxy-proline을 제외한 모든 아미노산이 thiosulfinate 용액과의 반응 결과 색소를 생성하였지만, 청색 색소가 검출되는 파장인 580nm에서는 glycine, arginine, lysine, serine, alanine, aspartic acid, histidine, asparagine, glutamine, 그리고 tyrosine 등 10개의 아미노산이 thiosulfinate 용액과의 반응했을 때만 검출되었다.

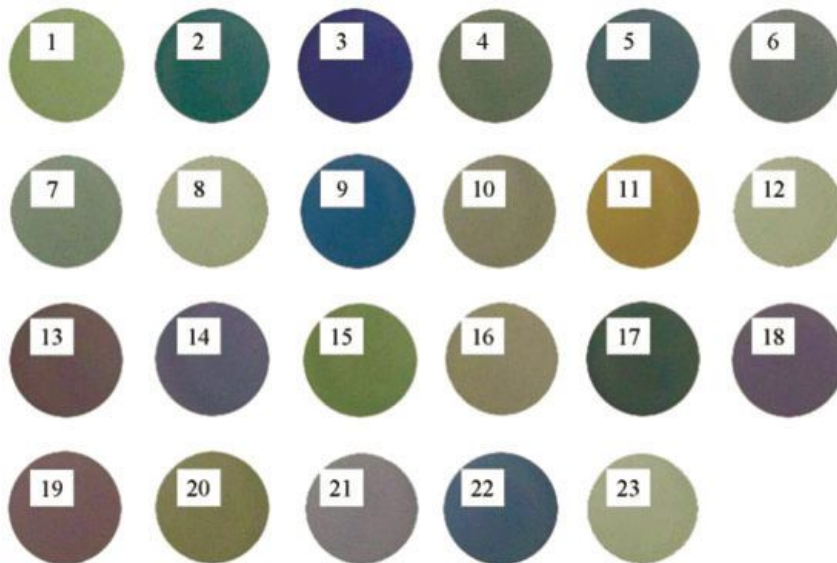


Fig. 41. Color development by reaction of thiosulfinate with different amino acids. Each number corresponds to a different amino acid in Table 4.

580nm에서 검출되어 청변에 관여하는 것으로 추정되는 위의 10개 아미노산 중에서도 마늘의 청변에 더 깊이 관여하는 후보 아미노산을 알아보기 위해 청변된 마늘의 spectrum과 추출해낸 thiosulfinate와 각각의 아미노산의 반응에 의해 생성된 청색 색소의 spectrum의 retention time을 비교한 결과 arginine은 (1), (2)번, lysine은 (3), (4), (7)번, asparagine은 (5), (7), (8)번, glutamine은 (5), (6), (7)번, glycine과 serine은 (7)번, aspartic acid는 (8)번 peak과 retention time이 일치하는 것을 확인하였다(표 5). 반면 alanine, histidine, tyrosine 등의 아미노산은 thiosulfinate와 반응하여 청색 색소를 형성하지만, 실제 청변된 마늘의 spectrum과는 일치하는 peak가 하나도 없었다(Fig. 42).

지금까지의 청변 model reaction 관련 연구에서 청변 반응에 관여하는 아미노산으로 glycine이 가장 많이 사용되고 있었다. 그 이유로는 glycine과 thiosulfinate가 반응하였을 때 청색 색소가 가장 많이 만들어진 것과 그 반응 속도도 가장 빠르다는 것과 같은 이점을 들 수 있다. 실제 실험에서도 glycine은 청색 색소 생성 능력이 가장 큰 아미노산이었으며, 그 다음으로 lysine과 asparagine 등의 아미노산이 thiosulfinate와 반응하여 청색 색소를 많이 만들어냈다. 하지만, 이번 실험 결과 실제 청변된 마늘의 spectrum과 glycine이 thiosulfinate와 반응하여 생성된 청색 색소의 spectrum을 비교하였을 때, 주요 peak의 retention time이 거의 일치하지 않았기에 glycine은 청변을 일으키는 주요 아미노산이 아닌 것으로 추정된다. 실제로 청변된 마늘에서 검출되는 peak 중 (1), (2), (3), 그리고 (5)번 peak이 청변에 크게 관여하는 peak으로서, (7)번 peak은 청변된 마늘에서 검출되는 peak 중 매우 약한 peak 중 하나인데, glycine과 thiosulfinate와의 반응 결과 생성된 청색 색소의 주요 peak은 24.9, 27.2, 그리고 30.8분에 검출되어 오직 실제 청변 마늘에서는 미약하게 검출되는 peak인 (7)번 peak만이 glycine과 thiosulfinate와의 반응 결과 생성된 청색 색소의 spectrum에서 검출된 peak과 일치하였다(Fig. 42).

반면에 arginine, asparagine, 그리고 glutamine은 청변된 마늘의 spectrum과 가장 유사한 spectrum을 나타냈다. 실제 마늘의 아미노산 조성을 살펴보면 arginine, glutamine, asparagine, 그리고 glutamic acid가 마늘에서 가장 양이 많은 아미노산이다. 그리고 이들 아미노산은 thiosulfinate와 반응하여 청색 색소를 잘 만들어냈다. 하지만 glycine은 비록 thiosulfinate와 반응하여 청색 색소는 잘 만들지라도, 마늘의 아미노산 중 가장 양이 적은 아미노산 중 하나이며, 일부 품종에서는 아예 검출되지 않는 아미노산이다. 이런 결과에 비추어, 마늘 청변에 관여하는 후보 아미노산은 arginine, asparagine, glutamine이라 할 수 있다.

Table 5. Comparison of peaks at 580 nm in natural green garlic extract and mixtures of amino acids and thiosulfinate

Amino acid	Peak no. of green garlic extract at 580 nm							
	1	2	3	4	5	6	7	8
3. Gly	-	-	-	-	-	-	0	-
5. Arg	0	0	-	-	-	-	-	-
9. Lys	-	-	0	0	-	-	0	-
10. Ser	-	-	-	-	-	-	0	-
13. Ala	-	-	-	-	-	-	-	-
14. Asp	-	-	-	-	-	-	-	0
15. His	-	-	-	-	-	-	-	-
18. Asn	-	-	-	-	0	-	0	0
19. Gln	-	-	-	-	0	0	0	-
22. Tyr	-	-	-	-	-	-	-	-

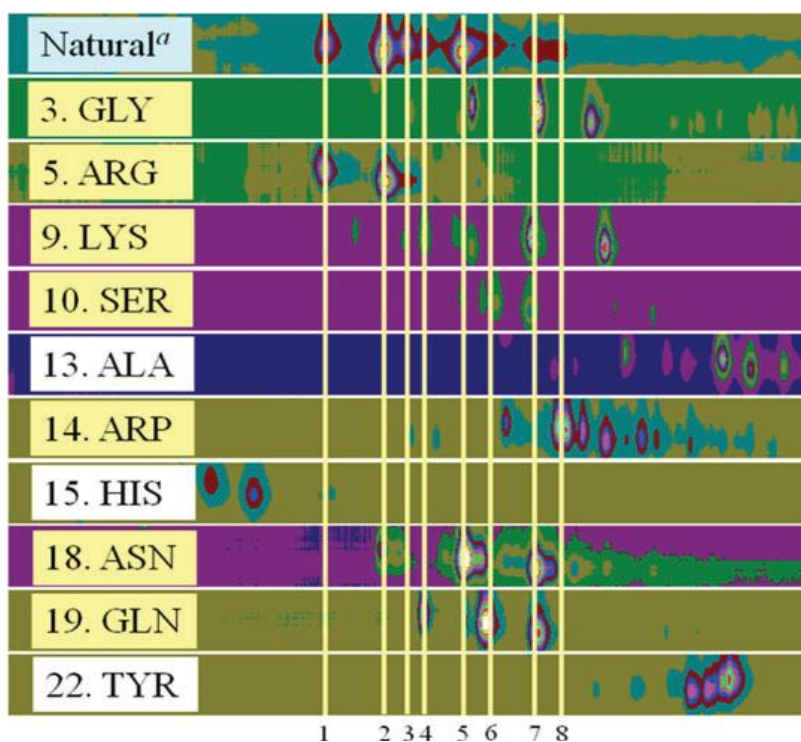


Fig. 42. Spectrum of blue pigments generated by amino acids. Each number corresponds with a different amino acid in Table 4.

^aSpectrum of natural green garlic juice.

마지막 확인 단계로, arginine, asparagine, glutamine 등 3가지 candidate 아미노산과 thiosulfinate의 반응에 의해 생성된 청색 색소와 청변된 마늘의 spectra와 580nm에서의 chromatogram을 비교하여 arginine, asparagine, glutamine이 후보 아미노산인가를 최종 확인 하였다(Fig. 43). Fig. 40의 윗 줄 (A), (B), 와 (C)는 청변되는 마늘에 후보 아미노산인 arginine, asparagine, glutamine을 각각 더 첨가하여 spectrum와 chromatogram을 비교한 것이다. 결과를 살펴보면 청변된 마늘에 각각의 후보 아미노산을 첨가하여도 thiosulfinate에 각각의 후보 아미노산을 넣어 반응시킨 (D), (E), (F)와 비교 시, 별도의 추가 peak이 나타나지 않고 청변된 마늘의 spectrum과 일치하였으며, 청색 색소가 검출되는 580nm에서의 chromatogram을 확인한 결과 retention time이 일치하는 것을 확인할 수 있었다.

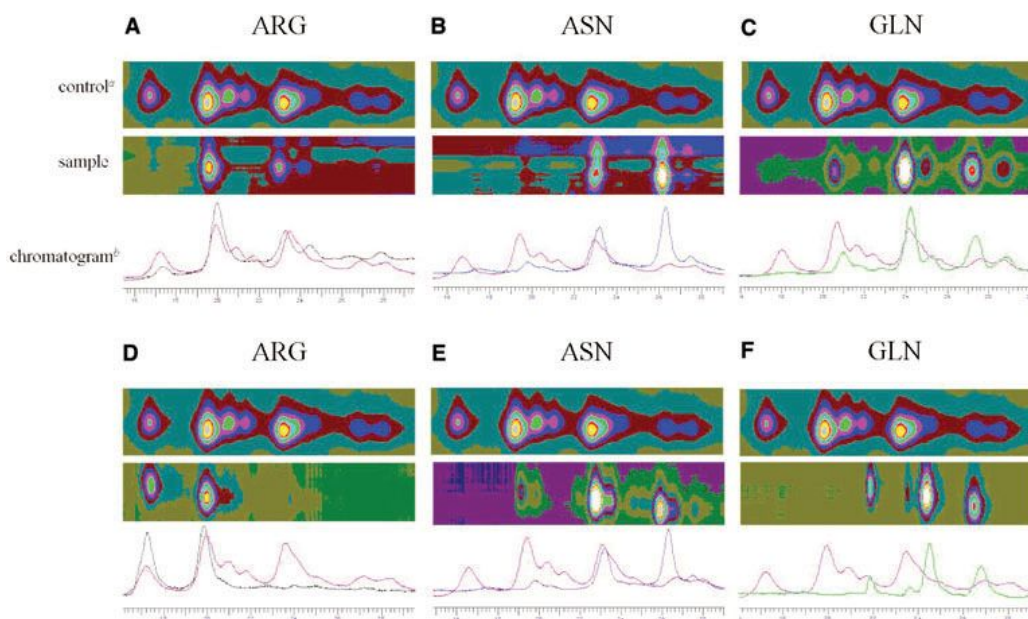


Fig. 43. Spectra and chromatogram at 580 nm of blue pigments generated by major candidate amino acids; (A) addition of arginine to natural garlic juice; (B) addition of asparagine to natural garlic juice; (C) addition of glutamine to natural garlic juice; (D) addition of arginine to thiosulfinate solution; (E) addition of asparagine to thiosulfinate solution; (F) addition of glutamine to thiosulfinate solution.

^aSpectrum of natural green garlic juice.

^bChromatogram of each sample; pink line, control; brown line, arginine; blue line asparagine; green line, glutamine.

제 5절 마늘 변색 발생 기작 및 억제

1. 마늘 변색 발생 기작

가. 재료 및 방법

마늘 변색 발생 기작을 알아보기 위해서 2009년에 재배된 서산마늘과 무안양파를 구입하여 실험에 이용하였다. 저온에서의 마늘 변색 기작의 확인을 위해 마늘과 양파는 각각 0, 20°C에 3개월간 저장하였다. 마늘의 alliinase 효소 분리 방법은 Imai 등(2006) 방법을 이용하였다. 마늘 주스를 5°C에서 차갑게 한 후 HCl을 이용하여 pH를 4로 맞췄다. 원심분리기를 이용하여 침전물을 얻은 후 10% glycerol and 20mM pyridoxal-5-phosphate을 넣은 0.05M potassium phosphate buffer (pH 6.5)에 다시 녹여 사용하였다. 마늘 유허화합물 분리 및 합성을 위해서 마늘과 양파를 가열하여 alliinase를 불활성화하고, 2-propenyl cysteine sulfoxide (2-PeCSO)와 1-propenyl cysteine sulfoxide (1-PeCSO)를 각각 H⁺로 포화된 Dowex Marathon cation-exchange resin (Midland, MI, USA)을 이용하여 ion exchange chromatography 방법으로 분리하였다(Shen 과 Parkin, 2000). 분리된 1-PeCSO와 2-PeCSO는 Series 200 pump, Series 200 autoinjector, Series 200 UV-Vis detector가 장착된 Perkin Elmer HPLC를 사용하여 preparative Econosil C-18 column (22 x 250mm, 10mm, Alltech, Deerfield, IL, USA)으로 순수 분리하였다. 유속은 8mL min⁻¹였으며, 이동상은 0.5% acetic acid 함유하는 100% 물을 이용하여 220nm에서 검출하였다. Propyl cysteine sulfoxide(PCSO)와 methyl cysteine sulfoxide (MCSO)는 Lancaster와 Kelly(1983)의 방법을 이용하여 합성하여 사용하였다. 그리고 각 저장 온도에 따른 마늘과 양파의 유허화합물을 분석하기 위해 이를 각각 0, 20°C에 3개월간 저장한 후 1-PeCSO와 2-PeCSO 함량을 HPLC를 이용하여 Yoo와 Pike(1998)을 참고하여 분석하였다. HP1100 HPLC를 이용하였으며, UV 검출기를 이용하여 254nm에서 검출하였다. 컬럼은 Supelcosil LC 8 (4.6 x 150 mm, 5 mm, Supelco, St. Louis, MO, USA)을 이용하였고, 이동상은 0.06% (v/v) acetic acid와 0.008% (v/v) triethylamine을 함유하는 물과 메탄올을 이용하였으며, 30% 메탄올로 30분간 분리하였다. 변색을 유발하는 유허화합물을 확인하기 위하여 앞에서 분리한 각각의 유허화합물 1-PeCSO, 2-PeCSO, PCSO, MCSO와 1-PeCSO와 2-PeCSO의 혼합물(1 mg mL⁻¹)을 준비하여 여기에 alliinase와 glycine을 섞은 다음 60°C에서 30분간 둔 후 색 변화를 관찰하였다. 또한, 마늘과 양파의 변색이 유허화합물에 따라 다르게 나타난 바를 토대로 양파와 마늘에 유허화합물을 추가로 처리할 경우 변색이 발생하는가를 알아보기 위해서 20°C에서 1개월간 저장한 마늘과 양파 10g에 1-PeCSO와 2-PeCSO를 각각 처리하였다. 농도에 따른 변화를 살펴보기 위하여 마늘 마늘에 1mL의 0.5, 2, 6, 10, 20%의 1-PeCSO 용액을 처리하여 0.05, 0.2, 0.6, 1, 2% 용액(1-PeCSO/garlic fresh weight)이 되게 만들었으며,

마늘 양파에 5, 10, 20, 30, 60%의 2-PeCSO 용액을 처리하여 0.5, 1, 2, 3, 6% 용액(2-PeCSO/onion fresh weight)이 되게 만들었다. 각각의 처리구는 상온에서 24시간 둔 후 색 변화를 관찰하였다. 각각의 색 변화는 색도계(Minolta CR-200, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였으며, Hunter 'a' 값을 이용하여 나타내었다.

나. 결과 및 고찰

마늘 변색 발생 기작을 알아보기 위해 변색에 관여하는 유황화합물을 마늘과 양파에서 분리 및 합성을 하였다. 1-PeCSO는 양파에서 분리하였으며, 2-PeCSO는 마늘에서 분리하였고(Fig. 44), MCSO와 PCSO는 합성하였다. 각각의 유황화합물을 glycine, alliinase와 60°C에서 3시간 반응시킨 결과 1-PeCSO를 glycine, alliinase와 반응시킨 처리구에서 분홍색 색소가 형성된 반면 1-PeCSO와 2-PeCSO의 혼합물을 glycine, alliinase와 반응시켰을 경우에는 파란색 색소가 형성되었다(Fig. 45). 하지만 1-PeCSO 없이 2-PeCSO를 glycine, alliinase와 반응시킨 경우는 노란색 색소가 형성되었는데, 이는 유황화합물 분해과정에서 형성되는 pyruvic acid에 의한 것이라고 보고된 바 있다. 하지만 노란색 색소는 마늘의 색과 동일하므로 마늘 변색에는 영향을 미치지 않는다고 판단되며, 그 외 MCSO와 PCSO의 첨가도 색 변화에는 영향을 주지 않았다. 따라서 변색에 있어서 가장 주요한 유황화합물은 1-PeCSO였고, 그 외에도 변색을 위해선 glycine과 같은 아미노산, alliinase와 같은 효소가 필수요소임이 밝혀졌다.

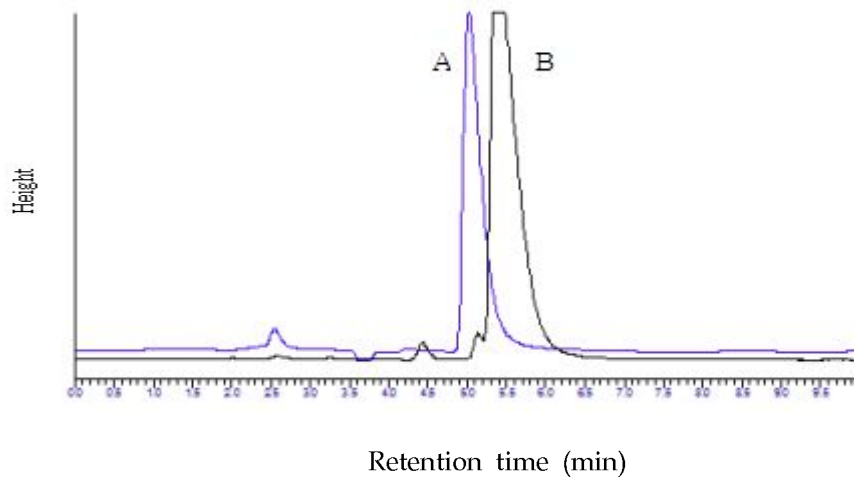


Fig. 44. HPLC chromatogram of 1-PeCSO (A) isolated from onion and 2-PeCSO (B) isolated from garlic respectively.



Fig. 45. Color formation by the reaction of garlic alliinase with various sulfur compounds.

마늘과 양파의 변색은 각각 녹색과 분홍색으로 발생하며, 이는 1-PeCSO와 2-PeCSO에 의해 일어나므로, 마늘과 양파의 1-PeCSO와 2-PeCSO의 함량을 HPLC를 이용하여 분석하였다(Fig. 46). 양파는 1-PeCSO가 주요 유황화합물이었으며 2-PeCSO는 검출되지 않았다. 마늘은 2-PeCSO가 주요 유황화합물이었으며 상온에서 저장하여 녹변이 발생하지 않는 경우는 1-PeCSO가 검출되지 않았으나, 저온에서 3개월간 저장하여 녹변이 발생하는 경우는 1-PeCSO가 소량 검출되었다. 따라서 저온 저장한 마늘에서 발생하는 녹변은 저온에 의한 1-PeCSO의 증가에 의함이라고 할 수 있다. 이제까지의 저장 온도에 따른 마늘 유황화합물 분석 연구 결과를 살펴보면 일반적으로 유황화합물은 저장 기간이 길어짐에 따라 증가했으며, 특히 저온에서 증가폭이 크다고 보고되고 있다(Kopsell 등 1999; Miar Uddin과 MacTavish, 2003). 특히, 1-PeCSO는 저온에서 다른 유황화합물에 비해 함량이 크게 증가하였으며, 다시 상온으로 옮겨졌을 경우는 cycloalliin으로 전환되어 감소된다고 알려져 있다(Ichikawa 등, 2006).

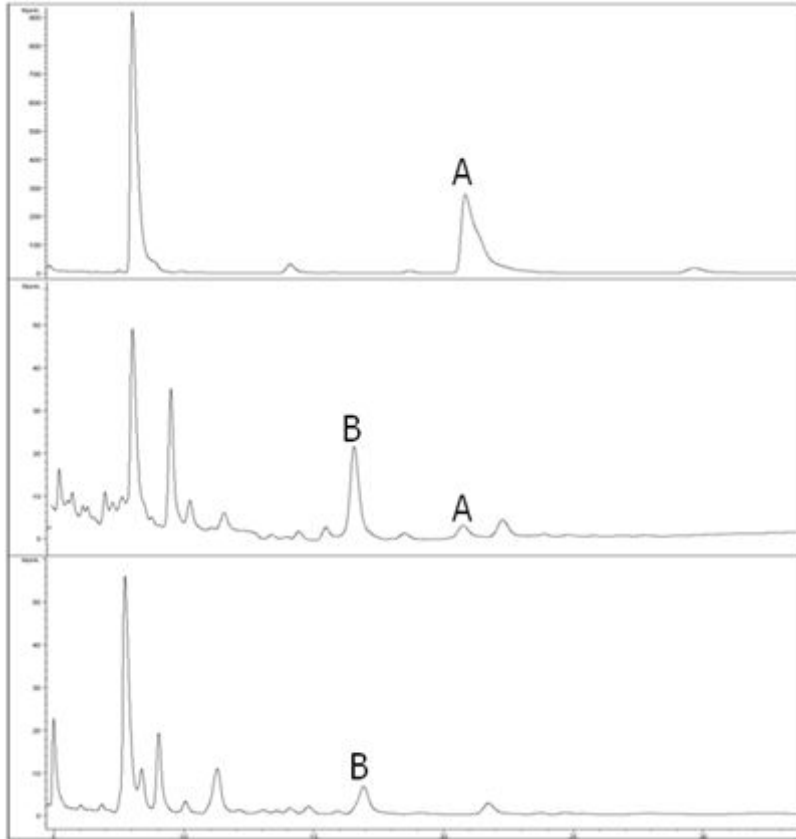


Fig. 46. Representative chromatograms of precursors in onion (A) and garlic bulbs stored at 0°C (B) and 20°C (C) for 3 months. Peak a and b indicate 1-PeCSO and 2-PeCSO, respectively.

양파는 1-PeCSO만 있기 때문에 분홍색으로의 변색이 발생하고, 마늘은 상온 저장구는 2-PeCSO만 있어서 변색이 발생하지 않으며, 저온 저장구는 1-PeCSO와 2-PeCSO가 모두 다 있어서 녹색이 발생하였다. 이와 같은 양파와 마늘의 변색 기작의 차이를 보다 확실히 하고자, 분홍색으로 변색되는 양파에 2-PeCSO 처리 시 녹색이 발생하는가(Fig. 47)와 1-PeCSO가 없어서 변색이 일어나지 않는 상온 저장 마늘에 1-PeCSO 처리 시 녹색이 발생하는가를 확인해 보았다(Fig. 48). 상온 저장한 마늘에 1-PeCSO를 첨가한 경우 1% 미만의 농도 처리 시 변색이 일어나지 않았으나, 1% 처리 시 녹색이 약하게 나타났고, 2% 처리 시 녹색이 확실하게 나타났으며, Hunter 'a'값도 1-PeCSO의 농도가 높아질수록 작아졌다(Fig. 49). 마늘 처리 결과와 마찬가지로 양파에서도 저농도의 2-PeCSO 처리 시 분홍색으로 변색되었으나, 6% 2-PeCSO 처리 시 마쇄 양파가 녹색으로 변색되었다.

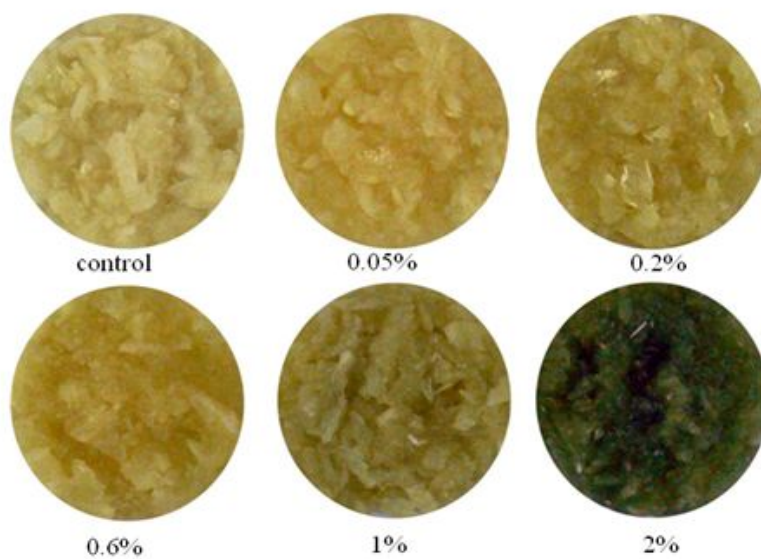


Fig. 47. Green pigment formation by the addition of 1-PeCSO at different concentrations in crushed garlic bulbs stored at 20°C.

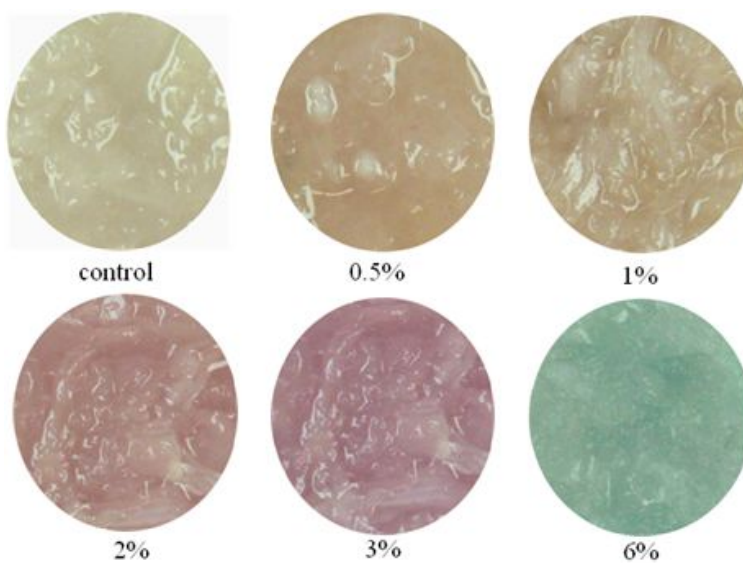


Fig. 48. Pink and green pigment formation by the addition of 2-PeCSO at different concentrations in crushed onion bulbs.

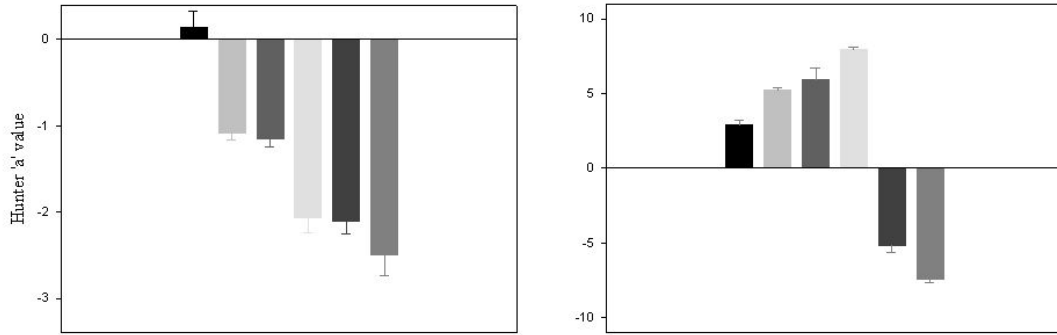


Fig. 49. Change of Hunter 'a' value in crushed garlic bulbs stored at 20°C (left) and onion bulbs stored at 0°C (right) by the addition of 1-PeCSO and 2-PeCSO at different concentrations.

이상의 결과를 토대로 볼 때, 마늘의 녹변은 2-PeCSO와 저온 저장에 의해 증가한 1-PeCSO가 alliinase에 의해 분해된 후 glycine과 같은 아미노산과 반응하여 발생한다고 할 수 있다.

2. 마늘 변색 억제

가. 재료 및 방법

2010년에 수확한 난지형마늘(남도 마늘, 대서 마늘)과 한지형마늘(서산 마늘)을 구입하여 공시재료로 사용하였다. 각각의 마늘은 녹변이 발생하는 0°C에서 3개월 저장한 후 녹변을 억제하기 위해 20°C와 25°C로 옮겨졌으며, 매주 마쇄하여 녹변 발생 여부와 유황화합물 함량을 분석하였다. 각 온도 조건에 따라 마늘이 변색되는 정도를 확인하기 위하여 유황화합물의 측정을 하였다. 마늘 유황화합물은 2-PeCSO, 1-PeCSO와 이들 물질의 전구체인 γ -glutamyl 2-propenyl cysteine (GSAC), γ -glutamyl 1-propenyl cysteine (GSPC) 등을 photodiode array detector와 cool auto sampler (Waters)가 장착된 Waters HPLC를 사용하여 분석하였으며, 조건은 다음과 같다. 시료 분리를 위해 Hypurity Elite C18 column (3mm, 150x3mm, Thermo Hypersil, USA)과 C18 guard column cartridge (10mm, mBondapak, Wexford, Ireland)를 38°C에서 이용하였고, 208nm에서 검출하였다. 유속은 0.4mL/min이었으며 시료 10mL를 주입하였다. HPLC 이동상은 다음과 같다: A, 20mM sodium dihydrogenphosphate + 10mM heptanesulfonic acid, pH 2.1; B, acetonitrile-20mM sodium dihydrogenphosphate + 10mM heptanesulfonic acid, pH 2.1 (50:50, v/v). 유황화합물 분석을 위한 HPLC 이동상 프로그램은 다음과 같다: 100%A (0min), 70%A (5min), 46%A (25min), 0%A (26min), 0%A (28min), 100%A (30min), 100%A (50min).

변색을 억제하기 위한 유기산 처리 방법으로 0에서 3개월간 저장한 마늘을 마쇄 시 2, 4, 6%의 citric acid 및 ascorbic acid를 처리한 후 녹변 발생 여부를 관찰하였다.

실험의 모든 마쇄마늘의 색은 색차계(Minolta CR-200, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. Hunter L, a, b값을 이용하여 나타내었으며, 색변화는 Hunter-Scofield 방정식을 이용하여 ΔE 값으로 나타내었다 (Francis와 Clydesdale, 1975).

$$\Delta E = [(L-L_0)^2 + (a-a_0)^2 + (b-b_0)^2]^{1/2}$$

L_0 , a_0 , b_0 는 초기값을 의미한다.

나. 결과 및 고찰

마늘 변색을 알아보기 위해 한지형과 난지형 마늘을 저온 저장 후 변색 여부를 확인하였다. 한지형 마늘은 서산 마늘을 이용하였고, 난지형 마늘은 남해와 대서 마늘을 이용하였다. 품종별로 녹변 정도는 남해 마늘이 녹변이 가장 약하게 나왔으며, 대서와 서산 마늘은 비슷하게 나타났다(Fig. 50). 녹색의 정도를

나타내는 Hunter 'a'값도 상온에서 저장한 마늘은 -4 정도로 품종에 관계없이 녹색변이 나타나지 않은 반면 0°C에 저장한 마늘은 품종별로 녹색변 정도가 다르게 나타나 Hunter 'a'값이 남해 마늘은 저장 3개월후 -6 인 반면 서산과 의성 마늘은 -10까지 낮아졌다(Fig. 51).

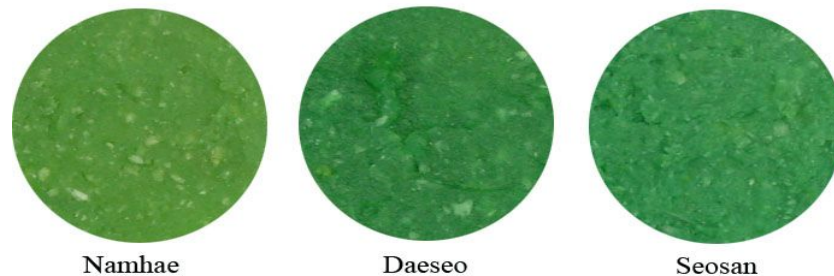


Fig. 50. Greening in crushed garlic bulbs depending on cultivar. Garlic bulbs stored at 0°C for 3 months were crushed and placed at room temperature for 24 h.

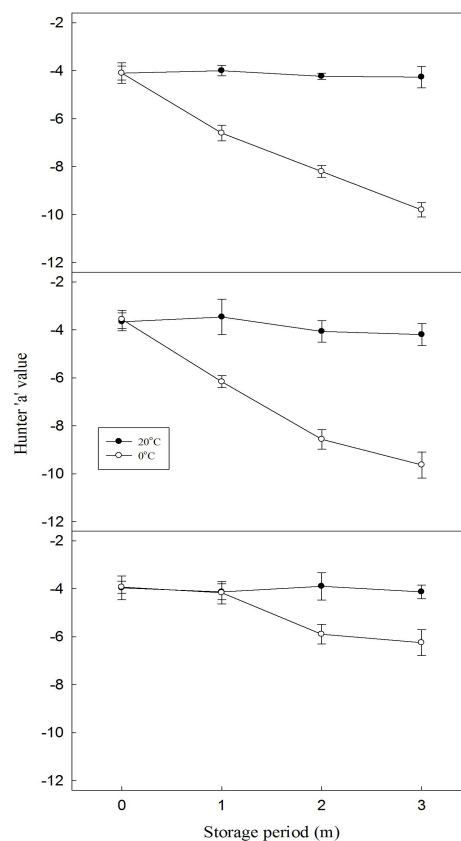


Fig. 51 Change of Hunter 'a' value in crushed garlic bulbs depending on cultivar(top; Daeseo, middle; Seosan, bottom; Namhae) and storage temperature. Garlic bulbs stored at 20 (●) or 0°C (○) for 3 months were crushed and placed at room temperature for 24 h.

마늘의 변색은 저온에서 3개월 이상 저장한 마늘에서 문제가 되므로 마늘을 품종별로 0°C에서 3개월간 저장한 후 변색을 억제하기 위해 citric acid와 ascorbic acid를 2, 4, 6% 농도로 처리한 후 변색 여부를 확인하였다. 또한 20°C와 25°C로의 변온 처리를 통한 변색 억제 여부를 확인하였다. Citric acid와 ascorbic acid는 처리시 변색 억제 효과가 있었으며, 농도가 높아질수록 효과가 좋았다. 하지만 6% 처리시 신냄새가 나는 등의 부작용이 관찰되었으며 녹변이 완전히 억제되지 않았다(자료 미제시).

반면 변온 처리시 품종별로 차이가 났지만 갈변뿐만 아니라 녹변도 확실히 억제되었으며, 품질도 좋게 유지되어 유기산 처리보다는 변온 처리가 녹변 억제를 위해 효과적이며 편리한 방법으로 여겨진다. 마늘 변색 정도는 Hunter L, a, b 값 변화를 이용하여 ΔE 값으로 나타내었다. 0°C에서 3개월간 저장 후 마쇄시 ΔE 값은 품종별로 남해 마늘이 25, 서산 마늘은 28, 대서 마늘은 32로 남해 마늘이 가장 적게 변하였고, 대서 마늘이 변화폭이 가장 컸다(Fig. 52). 저온 저장하여 녹변이 발생하는 마늘을 20°C와 25°C로 옮겨 변색 여부를 매주 확인한 결과 20°C에 비해서 25°C로 옮겼을 때 변색 억제 효과가 컸다. 품종별로 볼 때, 변색이 가장 적게 일어나는 남해 마늘은 변색 억제를 위한 상온 처리 기간이 가장 짧게 걸렸는데(Table 6), 25°C로 옮겼을시 3주 만에 변색이 억제되어 마쇄시 변색이 전혀 관찰되지 않았고 20°C로 옮겼을 때는 6주 경과 후 변색이 나타나지 않았다. 특히 25°C로 옮겼을 경우는 변온 처리 기간이 짧기 때문에 멍아 신장이나 중량 감소 등과 같은 품질 상의 문제가 전혀 나타나지 않았다. 한지형 마늘인 서산 마늘은 25°C에서는 6주가 소요되었으며, 20°C로 옮겼을 경우는 12주 경과 후 변색이 억제되었다. 대서 마늘은 변색 억제가 잘되지 않아 25°C로 옮겼을 경우 7주가 되어도 녹변이 약하게 관찰되었을 뿐만이 아니라, 중량 감소 및 부패 등과 같은 다른 문제점이 관찰되었다.

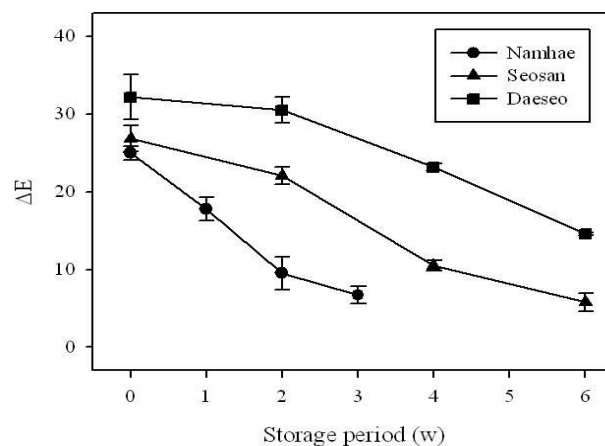


Fig. 52. Change of ΔE in crushed garlic bulbs depending on cultivar. Garlic bulbs stored at 0°C for 3 months were transferred to 25°C for 6 weeks and then crushed and placed at room temperature for 24 h.

Table 6. Condition period for inhibition of greening depending on cultivar and condition temperature

Cultivar	Condition temperature (°C)	Condition period (weeks)
Namhae	25	3
	20	6
Seosan	25	6
	20	12
Daeseo	25	8
	20	-

이미 마늘 녹변은 주로 1-PeCSO에 의해 이루어진다고 보고된 바, 이와 같은 결과를 변온처리에 따른 마늘 유효화합물 함량을 조사하여 분석해 보았다. HPLC로 마늘 내 유효화합물 함량을 분석한 결과, 저온에서 3개월 저장하여 녹변이 일어나는 마늘은 1-PeCSO 함량이 높았으며, 변온 처리에 의해 1-PeCSO 함량은 점차 줄어들었다(Fig. 53). 1-PeCSO는 2-PeCSO에 비해 소량이지만 상온으로의 변온 처리에 의해 그 양이 감소함에 따라 녹변도 감소하였으며, 남해 마늘과 서산 마늘의 1-PeCSO의 함량 변화를 녹변 정도에 비추어 볼 때, 녹변 정도와 1-PeCSO의 양과는 밀접한 관계가 있는 것으로 보인다(Fig. 54). 이를 통해, 마늘의 녹변 정도는 1-PeCSO의 양과 매우 밀접한 관계가 있다는 것이 확인되었고, 변온 처리를 통해 1-PeCSO 함량을 감소시켜 녹변을 억제할 수 있다는 점을 확인하였다.

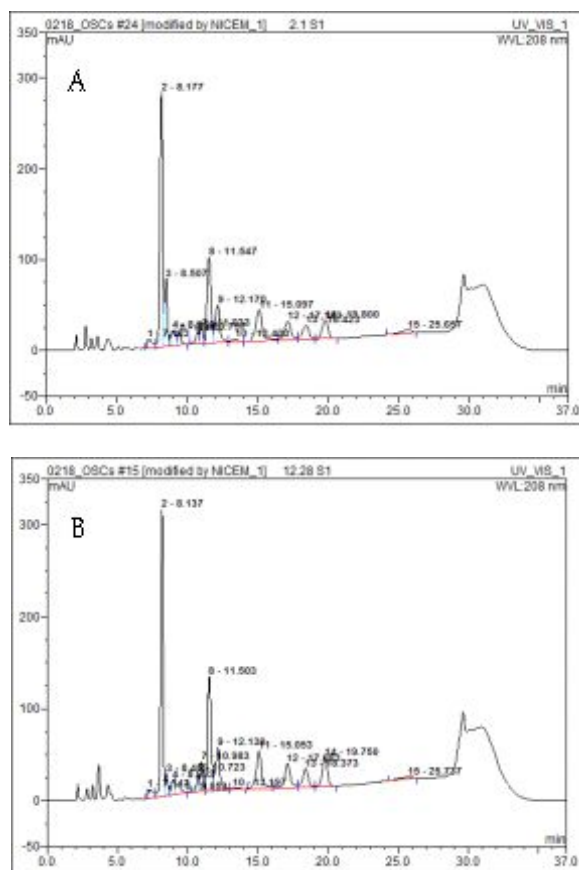


Fig. 53. Reversed-phase HPLC chromatograms of 'Seosan' garlic stored at 0°C for 3 months (A) and transferred to 25°C for 6 weeks (B). Peak identification: (2) 2-PeCSO, (3) 1-PeCSO.

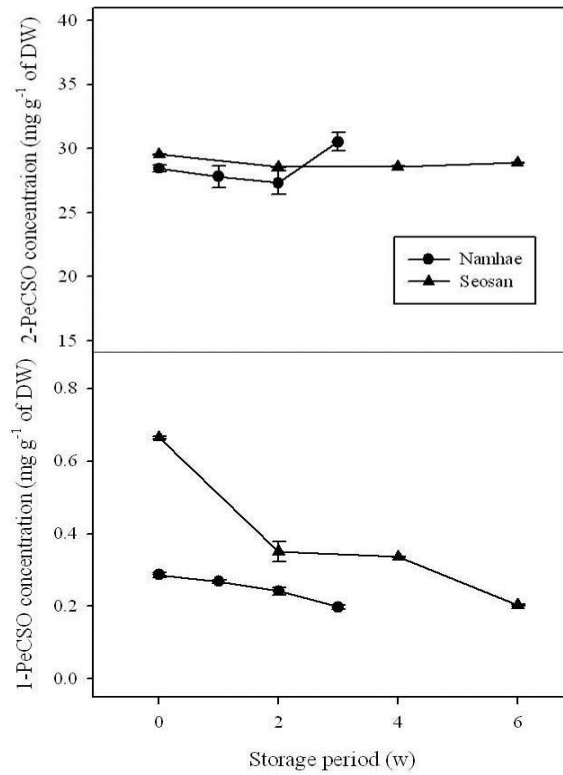


Fig. 54. Effects of storage temperature on the concentrations of 1-PeCSO and 2-PeCSO in garlic bulbs stored at 0°C for 3 months and transferred to 25°C for 6 weeks.

대부분의 가공 마늘이 남해 마늘과 같은 남도 마늘로 이루어진다는 점을 감안하면, 이상의 결과를 통해 25°C에 3주간 열처리하는 통마늘 가공 시 변색 억제뿐만이 아니라 품질도 좋게 유지할 수 있는 처리 조건이란 결론을 내릴 수 있었으며, 본 기술은 가공마늘업체인 태영영농조합법인에 기술이전을 실시하였다.

제 6절 변색 마늘의 유해 여부 판정 및 가공 후 관리기술

1. 변색 마늘의 유해 여부 판정

가. 재료 및 방법

2011년에 재배된 남도마늘을 구입하여 실험에 사용하였다. 구입한 마늘의 일부는 바로 마쇄하여 -80°C 에 저장하였고, 일부는 0°C 에 3개월 저장하여 마쇄하여 녹변을 유발한 후, -80°C 에 저장하였다가, 각기 녹변하지 않은 마쇄 마늘과 녹변한 마쇄 마늘에서 원액을 채취하여 사용하였다. 실험은 OECD의 지침을 준수하여 실험 대상으로 선호되는 설치류인 같은 종의 건강한 어른 쥐를 무작위로 골라 사용하였다. 암컷인 경우에는 새끼를 잉태한 경험이 없는 개체를 사용하였고, 각기 성별에 따른 평균 체중의 20% 이내의 오차 범위의 개체만을 사용하였다. 쥐의 생활상은 22°C 에서 3°C 이내의 항온을 유지되게 하였으며, 상대 습도는 30-70%, 적정 습도는 50-60%로 잡고 이를 유지하였다. 명기와 암기는 각기 12시간씩 주었으며, 먹는 사료는 퓨리나에서 판매하는 동물실험용 사료를 물과 함께 무제한으로 공급하였다. 각 생활상에는 5마리씩 쥐를 넣었다. 본 실험에 들어가기에 앞서 마늘 원액을 쥐에게 먹였을 때, 거부 반응을 보이거나, 통증 발생 여부, 또는 심한 경우 죽지 않는가를 확인하기 위하여 마늘 원액과 이를 1/5, 1/10, 1/20 배로 희석한 액을 1회 200 μL 씩 28일 동안 주사기와 존데를 사용하여 쥐에게 섭취시켰다. 섭취 농도 결정 실험에서 실험 종료 후에도 모든 쥐에서 섭취 농도에 따른 거부 반응을 전혀 찾아볼 수 없었기 때문에 마늘원액을 가지고 실험을 진행하기로 했다. 예비 독성 실험을 토대로 녹변하지 않은 마쇄 마늘 추출액과 녹변한 마쇄 마늘의 추출액을 주사기와 존데를 사용하여 쥐에게 200 μL 씩 28일 동안 경구투여를 하였다. 이후, 마늘 원액을 먹이지 않은 쥐와 녹변하지 않은 마늘의 원액을 먹인 쥐, 녹변한 마늘의 원액을 먹인 쥐의 혈청을 뽑아내어 AST, ALT, ALP, GGT를 측정하였다.

나. 결과 및 고찰

본 실험에서는 간 독성을 통하여 녹변 마늘의 유해 여부를 확인하였다. 간 독성을 확인하는 경우에는 측정 효소에 따라서 간 질환의 수치의 변화가 달리 나타난다. 간 질환이 있는 경우 일반적으로 이러한 효소의 수치가 증가하지만, 정상 수치와 다르지 않는 경우도 많기 때문에, 본 실험에서는 실험의 정확성을 높이기 위해서 AST, ALP, LDH, γ -GTP의 4가지 효소의 혈중 농도를 측정하여 녹변 마늘의 독성을 측정하였다.

28일 동안 마늘을 먹이지 않은 쥐와 정상 마늘 원액을 먹인 쥐, 녹변한 마늘을 원액을 먹인 쥐에서 뽑

아닌 혈액 내의 효소 수치는 다음과 같다. 먼저, AST는 녹변 여부와 관계없이 마늘 원액을 먹인 쥐에서 평균적으로 더 높은 수치가 나타났다(Fig. 55). 하지만 처리구 사이에 유의차가 발견되지는 않았다. AST는 간세포 내에 존재하는 효소들로 간세포가 손상을 받는 경우 혈중으로 방출되어 수치가 상승하게 되는데, 일반적으로 간염이나 간 종양, 울혈, 전격 간부전과 같은 질환을 앓게 되면 수치가 상승하게 된다.

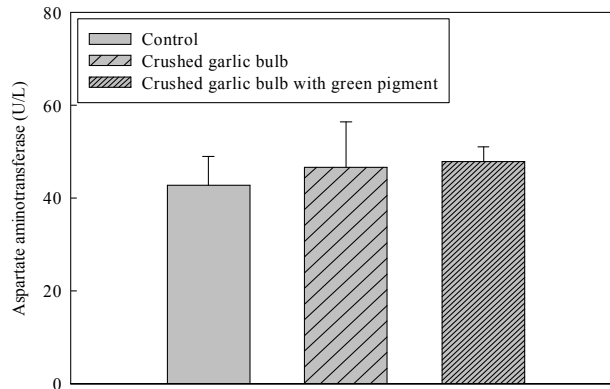


Fig 55. Bar diagram shows the effect of 28 days consumption of crushed garlic bulb on level of aspartate aminotransferase in blood of mouse. Results are represented as mean \pm SE.

ALP 수치도 AST와 마찬가지로 녹변 여부와 관계없이 마늘 원액을 먹인 쥐에서 평균적으로 높게 나타났지만, 유의차는 발견되지 않았다(Fig. 56). ALP는 간세포 내의 담관에 존재하는 효소로서 주로 쓸개즙 배설 장애에서 빠르게 상승한다. 주로 간염, 간경변, 쓸개관 폐쇄, 간 종양, 울혈, 전격 간부전 등에서 수치가 상승한다.

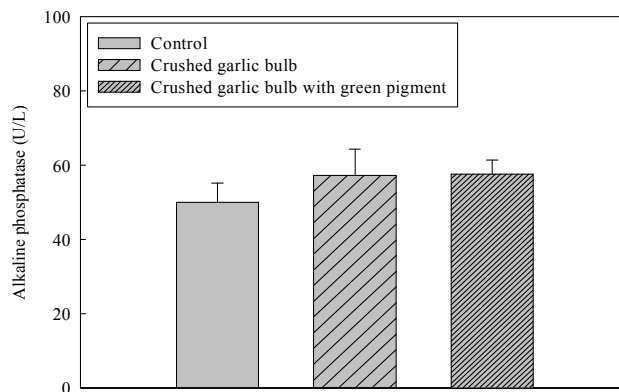


Fig 56. Bar diagram shows the effect of 28 days consumption of crushed garlic bulb on level of alkaline phosphatase in blood of mouse. Results are represented as mean \pm SE.

LDH의 값은 모든 처리구에서 거의 동일한 수치가 나타났다(Fig. 57). LDH는 유산 탈수소효소로 심근, 골격근, 간, 심장 등에 다량 함유되어있는 효소로 일반적으로 급성간염, 간암, 당도암 등의 간질환이 발생

할 때 증가하게 된다.

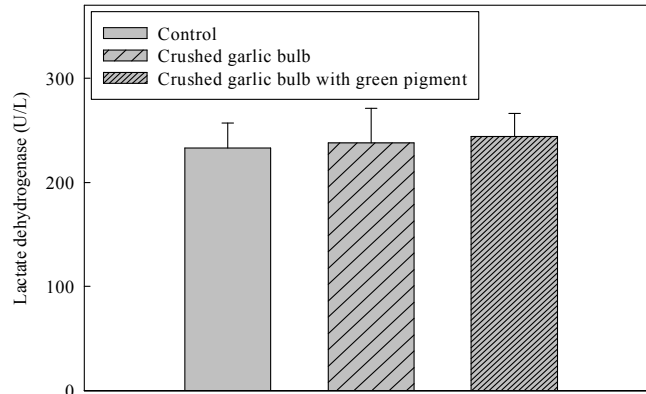


Fig 57. Bar diagram shows the effect of 28 days consumption of crushed garlic bulb on level of Lactate dehydrogenase in blood of mouse. Results are represented as mean \pm SE.

γ -GTP 역시 평균값에서 약간의 차이는 보였으나, 유의한 차이가 발견되지 않았다 (Fig. 58). γ -GTP는 세포, 특히 간에 많이 존재하는 효소로서 해독에 크게 관여하다. γ -GTP 수치는 보통 담증, 당도암, 췌장암, 간암 등의 간질환이 발생할 때 높아진다.

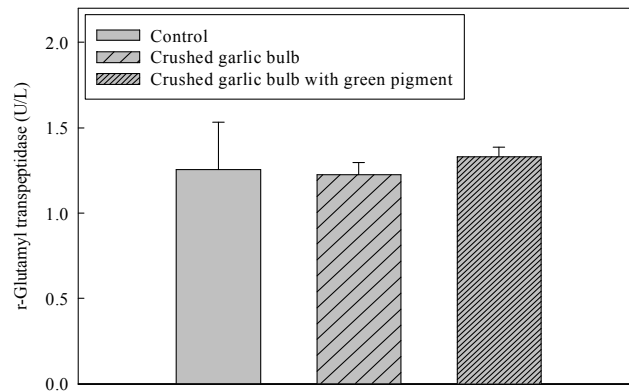


Fig 58. Bar diagram shows the effect of 28 days consumption of crushed garlic bulb on level of γ -glutamyl transpeptidase in blood of mouse. Results are represented as mean \pm SE.

위의 AST, ALP, LDH, γ -GTP의 혈중 수치 결과를 토대로 할 때, 마늘 원액을 먹이지 않은 쥐와 마늘 원액을 먹인 쥐의 차이가 없음을 통해 마늘 원액이 쥐에 독성이 없다는 것을 확인할 수 있다. 또한, 녹변 하지 않은 마늘과 녹변한 마늘의 원액을 각기 쥐에게 먹였을 때, 이 또한 차이가 거의 없었다는 점을 미루어보아 녹변 마늘 또한 일반 마늘과 마찬가지로 독성이 없다는 것을 본 실험을 통해 확인할 수 있었다

2. 가공 후 관리기술

가. 재료 및 방법

2011년에 재배된 남도마늘을 구입하여 실험에 사용하였다. 구입한 마늘의 일부는 0°C에 저장하여 5개월간 저장 후에 마쇄 후, 각기 -10, 5, 20°C에 저장하여 1주일간 보관하였다. 나머지 마늘은 구입 후 바로 마쇄하여 -10°C에 5개월간 저장 후에 -10, 5, 20°C에 1주일간 저장하였다.

품질 변화를 알아보기 위해서 변색 정도와 유허화합물, 휘발성물질의 함량을 측정하였다. 변색 정도는 색도계(CR-200, Minolta, Japan)을 이용하여 측정하였으며, Hunter 'a' 값을 이용하여 나타내었다. 유허화합물을 측정하기 위해 마쇄 마늘을 튜브에 넣고 100°C의 항온 수조에 5분간 침지시켜 효소를 불활성화시킨 다음 -80°C 저장고에 보관하였다. 효소가 불활성화 된 시료 10g을 200mL volumetric에 취하여 증류수 200mL을 넣고 1분간 잘 흔들어 추출 후 여과하여 reverse phase(RP) HPLC를 이용하여 분석하였다.

휘발성 물질은 각각의 마쇄 마늘 2g을 pentane과 diethylether가 2:1로 섞인 용액 7.5ml에 넣어 휘발성 물질을 추출한 후 이를 HP-5 (Agilent, USA) 칼럼이 장착된 GC (Agilent 6890, Agilent, USA)에 1ul를 주입하였다. 운반기체는 헬륨으로 분당유속은 1ml로 하였으며 오븐 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 분당 5°C씩 220°C까지 상승하여 10분간 유지하였다. 휘발성 성분의 확인은 GC/MS (Clarus 402/400, Perkin-Elmer, USA)와 DB-5MS (Agilent, USA) 컬럼을 이용하였으며, relative similarity가 90% 이상인 화합물에 대하여 동일 물질로서의 유의성을 인정하였다. 처리구별 휘발성 물질의 비교는 내부표준물질의 피크면적을 기준으로 산출하였으며, 내부 표준 물질로는 diethyl disulfide를 사용하였다.

나. 결과 및 고찰

0°C에 5개월간 저장한 통마늘은 마쇄 후 하루가 지났을 경우에는 육안으로 보았을 때 변색이 심하지 않았지만 Hunter 'a' 값은 차이가 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 59 and 60A). 0°C에 5개월간 저장한 통마늘을 마쇄 후 각기 -10, 5, 20°C에 보관하면, 각기 다른 색의 변화가 발생하는데, -10°C로 옮긴 마쇄 마늘은 보관 중 색의 변화가 없었으며, 마쇄 마늘을 5°C에 보관한 경우에는 보관 기간이 길어질수록 녹색이 심해진 것을 확인할 수 있었다. 0°C에 저장한 통마늘을 마쇄하여 20°C로 옮겨서 보관한 경우에는 보관 하루 뒤에 5°C에 보관한 마늘보다 월등히 심한 녹색이 발생한다는 것을 확인할 수 있었는데, 그 이후 보관 기간이 증가할수록 녹색이 감소하여 7일이 경과하고 나서는 저온 저장한 통마늘을 마쇄하고 난 직후보다 더 낮은 수준의 녹색 정도를 보인다는 것을 Hunter 'a'값의 변화를 통해 확인할 수 있었다(Fig. 60A). 하지만, 발생한 녹색이 다시 억제되는 과정에서 고온으로 인한 갈변이 발생하는 것을 확인할 수 있다.

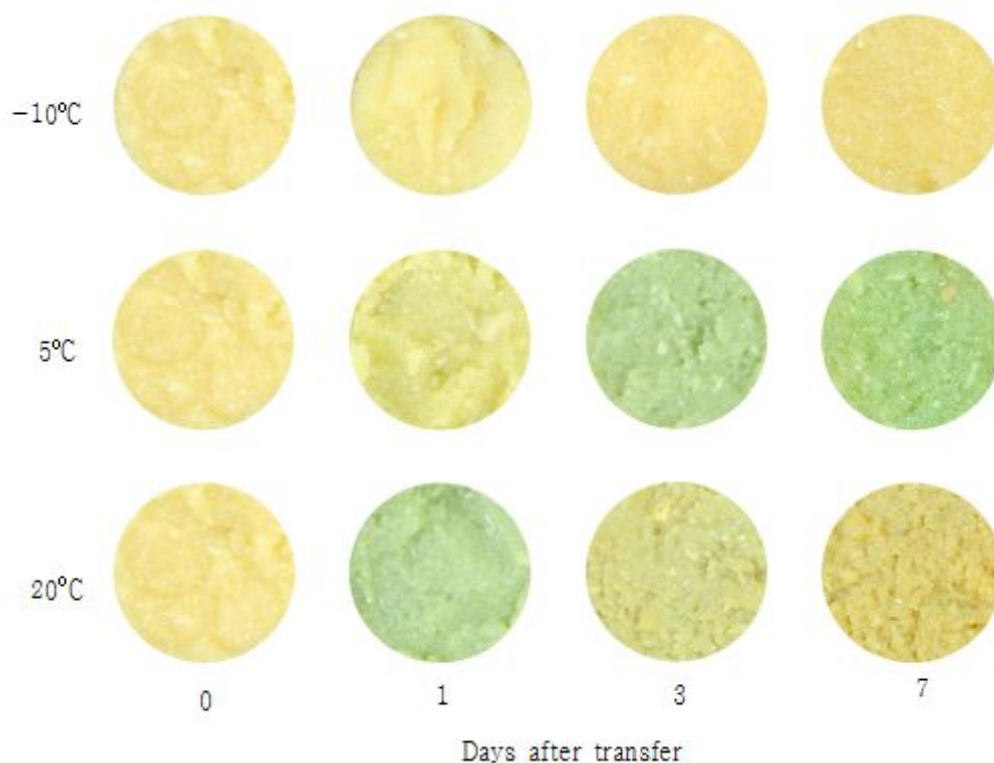


Fig 59. The effect of storage temperature change on color of crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were stored at 0°C for 5 months and crushed before transferred into each temperature.

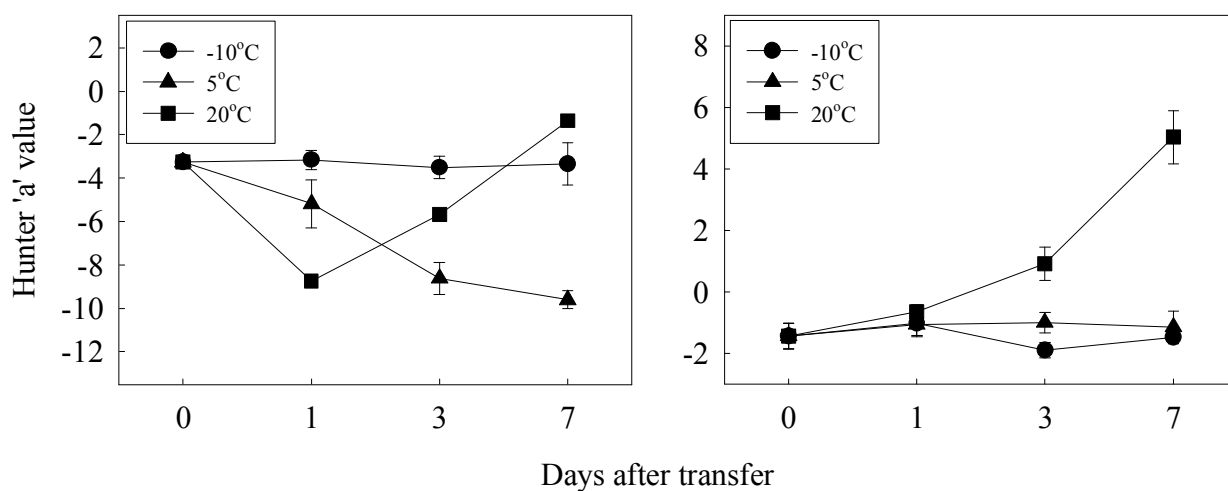


Fig 60. The effect of storage temperature change on Hunter 'a' values of crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were stored at 0°C for 5 months and crushed (left), or crushed after harvest and stored at -10°C for 5 months (right) before transferred into each temperature. Each values of crushed garlicks were measured before (top) and after incubation at room temperature for a day (bottom). Values represent means \pm SE.

저온에 5개월간 저장하여 마쇄한 통마늘과 달리 수확후 바로 마쇄하여 -10°C에 5개월간 저장한 마쇄 마늘을 -10, 5, 20°C에 7일까지 보관한 경우 녹변이 전혀 발견되지 않았다(Fig. 60B and 61). -10°C와 5°C에 보관한 경우에는 7일 동안 Hunter 'a'값의 변화가 거의 나타나지 않았으며, 20°C에 저장했을 경우는 오히려 갈변이 진행되면서 Hunter 'a' 값이 상승하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 60B).



Fig 61. The effect of storage temperature change on color of crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were crushed after harvest and stored at -10°C for 5 month before transferred into each temperature.

두 가지 처리에서 유효화합물을 추출한 결과 저온 저장한 통마늘을 삶아 유효화합물을 추출한 경우와 비교해 봤을 때 1-PeCSO는 저온에 저장하여 마쇄한 마늘과 수확후 바로 마쇄하여 -10°C 저장한 마늘 모두에서 나타나지 않았고(자료 미제시), 2-PeCSO는 저온에 저장하여 마쇄한 마늘과 수확후 바로 마쇄하여 -10°C 저장한 마늘 모두에서 나타났지만 통마늘을 삶은 경우와 비교해 봤을 때 상당히 낮은 수치만이 검출되었을 뿐이다(Fig. 62). 2-PeCSO는 보관 온도에 따라서 그 변화 양상이 다르게 나타났지만, 결과적으로 볼 때 저장 기간 내내 저온 저장한 통마늘을 삶아 마쇄하여 추출한 2-PeCSO의 양과 비교해 볼 때, 이 양의 10%를 넘어서지 못하였다. 따라서 유효화합물 중, 1-PeCSO와 2-PeCSO 두 물질은 저온 저장 마늘을 마쇄한 경우와 수확후 마쇄하여 냉동 보관한 마늘 모두에서 빠른 속도로 감소하였으며, 이들 두 처리간 유효화합물의 수치에는 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

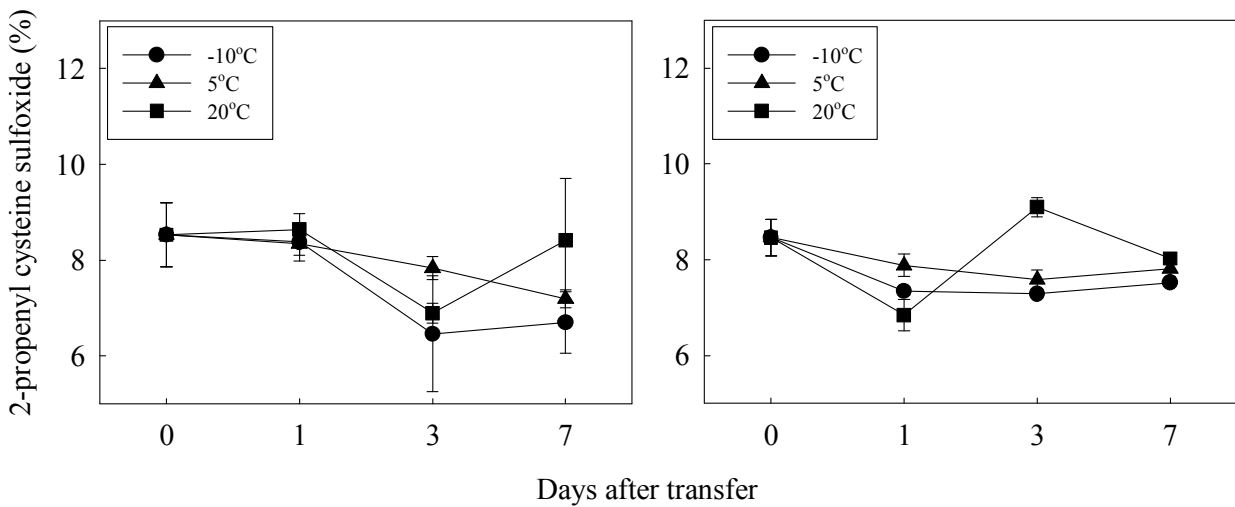


Fig 62. The effect of storage temperature on 2-propenyl cysteine sulfoxide (2-PeCSO) of crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were stored at 0°C for 5 months and crushed (A), or crushed after harvest and stored at -10°C for 5 months (B) before transferred into each temperature (-10, 5, and 20°C). Each value represents percents of 2-PeCSO in the crushed garlic bulbs compared to the onion bulbs stored at 0°C for 5 months. Values represent means \pm SE.

GC-MS를 통해서 마늘의 주요 휘발성 성분을 조사한 결과, 주요 휘발성 물질로 diallyl disulfide와 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene와 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene이 95% 이상의 정확도로 검출되었으며, 이들 물질을 중심으로 다진마늘 가공 방식에 따른 휘발성 물질의 변화를 측정하였다(Fig. 63).

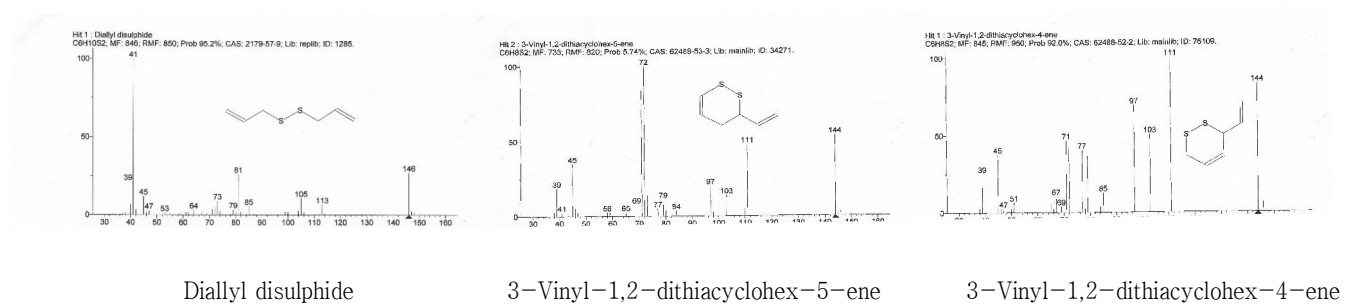


Fig 63. Volatile compounds in crushed garlic bulbs. Each compound was identified by GC-MS.

휘발성 물질인 diallyl disulfide는 저온 저장하여 마쇄한 마늘에서 20°C에 보관할 경우 증가하여 타 온도구보다 월등히 많아졌고, 5°C와 -10°C에서 보관할 경우 변화가 적어 차이가 없었다(Fig. 64A). 반면, 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene과 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene은 -10, 5°C에 보관하면, 거의 감소하지 않았지만, 20°C에서는 그 감소폭이 상당한 큰 것을 확인할 수 있었다(Fig. 65A and 66A).

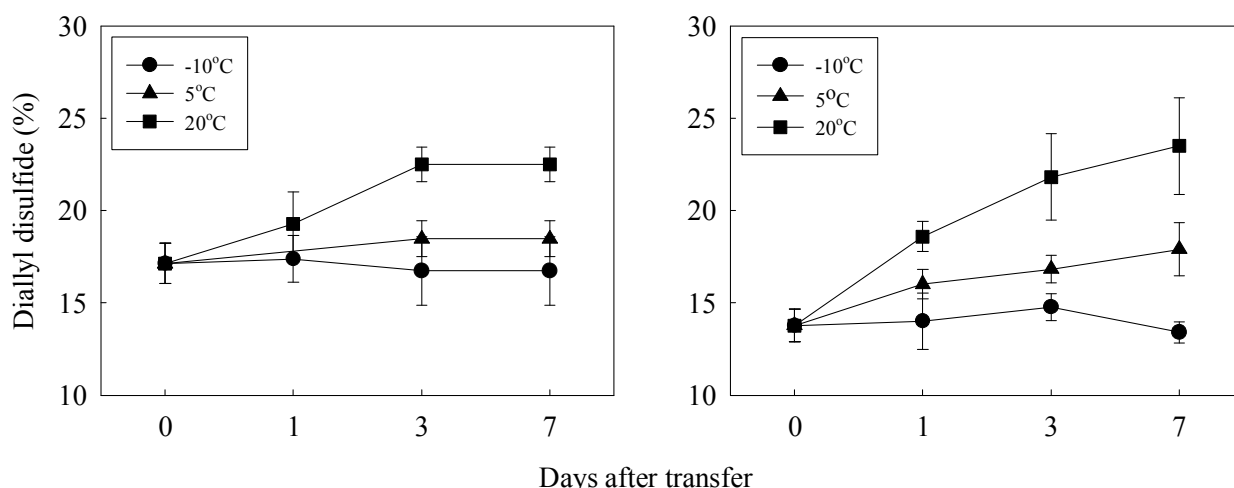


Fig 64. Effect of temperature on diallyl disulfide content in crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were stored at 0°C for 5 months and crushed (A), or crushed after harvest and stored at -10°C for 5 months (B) before transferred into each temperature (-10, 5, and 20°C). Each value represents percents of diallyl disulfide in the crushed garlic bulbs compared to the onion bulbs stored at 0°C for 5 months. Values represent means \pm SE.

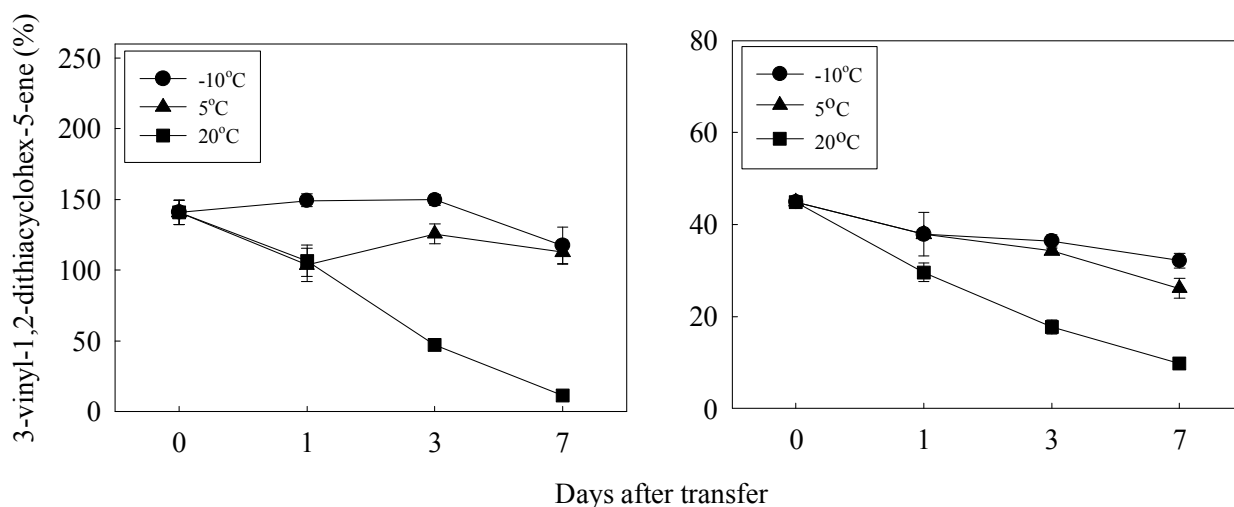


Fig 65. Effect of temperature on 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene content in crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were stored at 0°C for 5 months and crushed (A), or crushed after harvest and stored at -10°C for 5 months (B) before transferred into each temperature (-10, 5, and 20°C). Each value represents percents of 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene in the crushed garlic bulbs compared to the onion bulbs stored at 0°C for 5 months. Values represent means \pm SE.

마쇄하여 -10°C 에 저장한 마늘은 -10°C 에서는 diallyl disulfide가 거의 변하지 않았으나, 5°C 와 20°C 로 옮기면 diallyl disulfide가 시간에 따라 증가하였고, 20°C 에서는 매우 크게 증가하였다(Fig. 64B). 반면, 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene와 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene은 저온 저장한 통마늘을 마쇄한 결과와 같이 보관 온도가 상승할수록 그 수치가 크게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 65B and 66B).

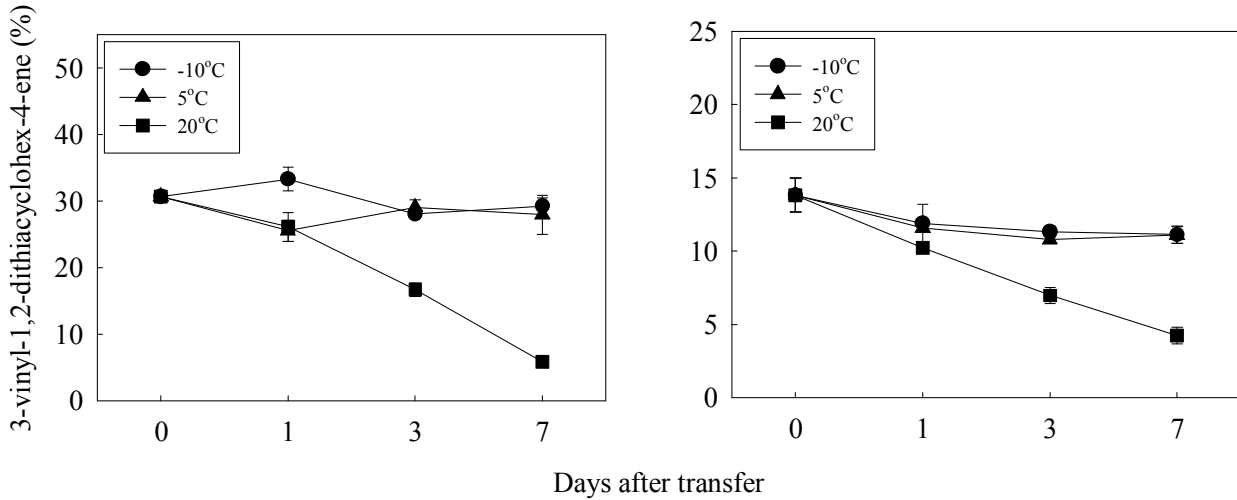


Fig 66. Effect of temperature on 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene content in crushed garlic bulbs. Garlic bulbs were stored at 0°C for 5 months and crushed (A), or crushed after harvest and stored at -10°C for 5 months (B) before transferred into each temperature (-10 , 5 , and 20°C). Each value represents percents of 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene in the crushed garlic bulbs compared to the onion bulbs stored at 0°C for 5 months. Values represent means \pm SE.

Diallyl disulfide는 allicin이 분해되어 생성되는 휘발성 물질로 생마늘 내에 가장 많은 휘발성 물질이며, 강력한 향을 발산하는 특징을 가지고 있다(Kim 등, 2011). 본 실험에서는 보관온도의 상승에 따라 diallyl disulfide의 함량이 증가하였는데, 이는 온도 상승이 allicin의 분해를 촉진한다는 것을 의미하며, 바꾸어 말하면 보관 온도의 상승과 더불어 전구체인 allicin이 빠르게 소진된다는 것을 의미한다. 미생물의 증식을 억제하는 효과를 가지고 있는 마늘의 대표적 휘발성 물질인 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene과 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene은 마늘의 열의 노출에 매우 취약한 특성을 가지고 있는데, 본 실험에서도 그 같은 특성으로 인해 20°C 의 보관 온도에서 매우 빨리 감소한 것을 확인할 수 있었다.

종합해보면 마늘을 수확후 바로 마쇄하여 냉동 보관하는 방법은 녹변 억제에 매우 효과적인 방법임이 분명하지만, 유황화합물로부터 파생된 휘발성 물질 함량과 같은 품질적인 측면에서의 저하가 어느 정도 발생하게 되었다. 특히, 3-vinyl-1, 2-dithiacyclohex-5-ene과 3-vinyl-1, 2-dithiacyclohex-4-ene과 같은 경우에는 그 초기 수치가 2배 이상 감소하였다(Fig. 65B and 66B). 그럼에도 불구하고 수확후 마늘을 마쇄하

여 냉동 보관하는 방식은 마늘의 녹변 방지에 효과적이며 마늘의 향을 결정하는 주요 요소인 diallyl disulfide의 함량에서도 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 64). 또한, 저온 저장한 통마늘을 20°C에 7일간 보관하면 녹변 억제와 갈변이 같이 발생할 뿐만이 아니라 그 과정에서 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene과 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene과 같은 휘발성 물질과 diallyl disulfide의 전구체인 allicin의 손실이 극심해진다. 따라서, 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene과 3-vinyl-1, 2-dithiacyclohex-4-ene과 같은 휘발성 물질에서 다소 손실이 생기지만, 앞의 두 휘발성 물질은 열에 매우 취약한 특성을 가지기 때문에 녹변 억제를 위한 열처리 방식에서도 큰 손실이 있을 것이라고 예상되는 바, 저장 공간 활용의 효율성과 통마늘 저장 과정에서 발생하는 감모율과 열처리 과정에서 발생하는 손실을 생각한다면 마늘을 수확후 마쇄하여 냉동하는 방식은 마쇄 마늘 가공 시 녹변 억제를 위한 매우 효과적인 방법임에 틀림없다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 목표달성도

(1) 양파

세부 연구 목표	연구 개발 수행 내용	달성도
양파 수확후 장해 유형 파악 및 장해발생 원인 구명	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 재배 양파 품종을 저장하여 발생한 손실을 토대로 저장 손실 유형 분류 - 세균성 부패, 저장 장해, 수침 현상 등의 유형 파악 및 유형별 차이점 구명 - 수확후 발생한 손실의 정도를 바탕으로 저장 양파의 품종 간 저장 손실 유형의 차이를 구명 - 저장 중 발생한 손실의 유형별 원인 구명을 통한 장해 발생 원인의 예상 	달성
양파의 수확후 취급과정 및 장해 방지 기술의 개선	<ul style="list-style-type: none"> - 장기 저장용 양파 품종을 사용한 치유기술의 실시 및 품질 평가를 통한 큐어링 조건 개발 - 다양한 저장 온도에 장기 저장용 양파 품종을 저장하여 최적 온도 조건 파악 - 다양한 저온 조건의 적용을 통한 양파의 동해 유발에 영향을 주는 저온 조건의 요소 파악 - 다양한 가스 조건의 적용을 통한 저장 대기 조건과 양파의 투명 인엽 현상과의 상관관계 조사 	상당 부분 달성
양파 수확후 관리기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 수확후 장해 방지 기술인 이산화염소 가스를 양파에 적용하여 효과 확인 - 양파의 최적 저장 온도와 이산화탄소 가스 장해 방지를 위한 기술 정보를 협력 업체와 공유 - 참여업체의 수확후 저장 장해 유형 파악 및 확인된 동결점의 현장 적용을 통한 최적 저장 환경 확립 	달성

(2) 마늘

세부 연구 목표	연구 개발 수행 내용	달성도
<p>마늘 변색 발생원인 구명 및 녹색 색소 합성</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 마쇄 마늘의 변색 유기 및 저장 온도와 변색간의 상관관계 구명 - 마늘 저장 온도에 따른 청변 발생 원인과 관련 효소의 활성도 측정 및 유황화합물 성분 확인 - 마늘의 아미노산 함량 측정 및 변색에 관여하는 후보 아미노산 구명 - 아미노산 종류에 따른 결과색의 관찰 및 각 결과색의 차이 구명 	<p>달성</p>
<p>마늘 변색 발생 기작 및 억제</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 녹변 관련 유황화합물의 구명을 위한 유황화합물의 분리 및 합성 - 유황화합물, alliinase, 아미노산을 이용한 유황화합물과 녹변 발생과의 관계 구명 - 각기 다른 변은 처리와 유기산 (citric acid, ascorbic acid) 처리의 마늘 녹변 억제 효과 구명 - 녹변 억제 실험 결과를 통한 마늘 녹변 억제의 최적 조건 탐색 	<p>달성</p>
<p>변색 마늘의 유해 여유 판정 및 가공 후 관리기술</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 쥐를 이용한 마늘 독성 평가를 실시로 마늘 및 녹변 마늘의 유해여부 판정 - 녹변 마늘의 유해여부 판정을 고려한 마늘의 상품화 가능성 판단 - 마늘의 수확 직후 가공 및 냉동 저장 후 포장 및 상품화할 시의 변색 여부 판단 및 품질 조사 - 가공 후 보관 조건을 달리하여 품질 변화 관찰 및 이를 통한 마늘 가공 시 최적 조건 제시 	<p>달성</p>

제2절 관련분야에의 기여도

연구 결과	관련 분야	기여도
양파 저장 장애 유형별 원인 파악	양파 저장 업체	- 저장 장애 발생 시 구분에 활용 - 저장 환경 조절을 통한 추후 손실 방지할 수 있는 기회의 제공
고온의 열풍 처리 방식의 양파에 적용	마늘 저장 업체	- 큐어링에 필요한 시간 단축을 통한 회전률 증대 - 기간 단축을 통한 작업에 소요되는 비용 절감
이산화탄소 농도와 투명인엽현상의 상관관계 조사	양파 저장 업체	- 환기와 공기 순환을 통한 고농도의 이산화탄소 가스 로 인한 손실 억제
열처리를 통한 마늘 녹변 억제의 적정 조건의 구명	마늘 가공 업체	- 녹변 억제를 위한 처리 일수 단축 - 녹변 억제를 위한 처리비용 절감 - 녹변 억제 기술 사용 시 발생하는 감모율의 감소
마늘 독성 평가를 토대로 마늘 및 녹변 마늘의 유해여부 판정	마늘 가공 업체 식품 가공 업체	- 녹변 마늘에 대한 소비자 인식 제고 - 녹변 마늘의 식품 가공업 이용 기회 제고
마쇄 마늘 가공에 적합한 가공 방법 제시	마늘 가공 업체	- 마늘 가공 방식과 품질의 변화 자료 제공 - 가공 방식에 있어서 선택 옵션 제공

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 학술논문 : 4편(SCI : 3편, SCIE : 1편)

구분	제목	저자	논문지	연도	권호
SCI	Identification of candidate amino acids involved in the formation of blue pigments in crushed garlic (<i>Allium sativum</i> L.)	Jungeun Cho, Eun Jin Lee, Kil Sun Yoo, Seung Koo Lee	J. Food Sci.	2009	74:C11-C16
SCIE	양파(<i>Allium cepa</i> L.) 수확후 관리기술 최근 연구 동향	조정은, 이승구, 배로나	원예과학기술지	2010	28:522-527
SCI	Role of precursors on greening in crushed garlic (<i>Allium sativum</i>) bulbs, and its control with freeze-dried onion powder.	Jungeun Cho, Eun Jin Lee, Kil Sun Yoo, Seung Koo Lee	J. Sci. Food Agric.	2012	92:246-252
SCI	Cloning and expression of gamma-glutamyl transpeptidase and its relationship to greening in crushed garlic (<i>Allium sativum</i>) cloves	Jungeun Cho, Minkyu Park, Doil Choi, Seung Koo Lee	J. Sci. Food Agric.	2012	92:253-257

2. 학술대회 발표 : 총 5건

구분	제목	발표자	학술대회	연도	국가/ 페이지	
국 외	구두 발표	Identification of candidate amino acids involved in the formation of blue pigments in crushed garlic (<i>Allium sativum</i> L.)	Jungeun Cho, Eun Jin Lee, Kil Sun Yoo, Seung Koo Lee	6th International Postharvest Symposium	2009	터키/ 68
	포스터 발표	Cloning of γ -glutamyl transpeptidase in garlic cloves and relationship among glutamyl transpeptidase and alliinase activity, storage condition, and garlic blueing	Jungeun Cho, Seung Koo Lee	ASHS Annual Conference	2010	미국/ 15:79
국 내	구두 발표	Characterization of factors involved in greening in crushed garlic (<i>Allium sativum</i>) bulbs	Jungeun Cho, Seung Koo Lee	한국원예학회	2011	한국/ 29:44
	포스터 발표	The effect of gaseous chlorine dioxide in onion	Jaesin Lee. Seung Koo Lee	한국원예학회	2011	한국/ 29:42
	포스터 발표	Assessment of storability in onion (<i>Allium cepa</i> cv. Turbo) by artificial drying	Jaesin Lee, Seung Koo Lee	한국원예학회	2011	한국/ 29:93-94

3. 기술이전 : 1건

제목	일시	이전업체
저장 온도 조절을 통한 다진 마늘 녹변 억제 기술	2012. 01. 30.	태영영농조합법인

4. 교육지도 : 5건

제목	일시	교육
마늘 수확후 관리 기술 특강	2009. 08. 21.	농림수산부 마늘연구회
마늘 수확후 관리 기술	2009. 11. 23.	태안서산 6쪽마늘조합
마늘 수확후 관리 기술 및 마늘산업 발전 방향	2010. 04. 21.	한국 마늘 연구회
마늘 수확후 관리 기술 특강	2010. 06. 08.	서산태안 6쪽마늘 조합
마늘 수확후 관리 방안	2011. 05. 20-21.	한국 마늘 연구회

5. 수상내역 : 1건

학술대회	일시	수상명
한국원예학회	2011. 05. 27.	우수구두발표상

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

(1) 양파

양파의 수확후 관리 기술은 그 역사가 오래되어 현재에 와서는 정립기에 도달했다고 말할 수 있다. 물론, 아직도 양파에 대한 연구가 많이 이루어지고 있지만, 주로 이루어지는 연구의 대부분이 기존의 것과 많이 상이하지 않은 수준에서 이루어지고 있다. 예를 들면 기본적인 수확에서부터 저장에 이르기 까지 수확 시기 및 손질 방법, 저장 방식, 저장 조건, 큐어링, ethylene 처리, 1-MCP 처리와 같은 양파의 품질과 저장성과 관련된 수확후 관리 실험이 아직 많이 이루어지고 있지만(Brackmann 등, 2010; Buffler, 2009; Chope 등, 2007; Dabhi 등, 2008; Rodrigues 등, 2009; Wright 등, 2001), 이들 연구 주제와 기술들은 기존에 연구된 바가 많아 양파 수확후 관리 기술 신개발을 위한 연구라기보다는 기존 기술에 대한 재고찰하는 연구라 볼 수 있겠다. 다만, 그 동안의 양파의 저장 생리 분야에 대한 분자 생물학 적 해석에 부족한 점이 많았기에 이와 관련된 연구가 관심을 모으고 있고(Chope 등, 2006), 앞으로 양파의 수확후 관리 분야에서도 이쪽 분야의 연구가 많아질 것으로 예상된다.

(2) 마늘

*Allium*속의 변색에 관한 많은 정보가 밝혀졌지만, 아직까지 녹변 색소의 성질이나 그 구조에 대해서는 밝혀지지 않았다. Shannon(1967b)은 양파의 황변과 관련된 주요 향전구체가 1-PeCSO일 것이라는 것을 예측했으며, Lukes(1986)는 마쇄 마늘 녹변에 1-PeCSO가 큰 관련이 있을 것이라는 결과를 보고했다. Lee(2006b)는 저온 저장한 마늘에서는 1-PeCSO가 발견되며 저온 저장한 마늘을 마쇄 시 녹변이 발생한다는 것을 밝혀내었다. 이 과정에서 *Allium* 속의 색소 형성 과정이 간단하지 않은 다소 복잡한 과정을 거치리라는 것이라는 추측이 제시되었고, 그에 따라 색소 형성과정은 ACSOs와 관련된 효소적인 부분과 비 구효소적 반응으로 이루어져 있음이 확인되었다(Anguilar와 Ricon, 2007; Bai 등, 2005; Imai 등, 2006a; Kubec 등, 2004; Kubec과 Velisek, 2007; Lee 등, 2006a, b, 2007; Shannon 등, 1967a, b; Wang 등, 2009). 연구가 심화됨에 따라 glycine 뿐만이 아니라 다른 아미노산도 변색에 관여할 것이라는 의견이 나왔고(Imai, 2006b; Kubec과 Velisek, 2007), 이와 더불어 마늘과 양파와 같은 *Allium* 속에는 매우 적은 양의 glycine만이 존재한다는 보고가 나와 다른 아미노산의 변색 관련성 여부에 관한 의견을 뒷받침 해주었다(Lee, 2009; Lee와 Hanly, 2005). 반면, 변색 색소의 동정과 구조 분석은 아직까지 완벽하게 밝혀지지 않은 상태이다. 하지만, thiosulfinates와 아미노산을 반응시키는 모델 반응을 통하여 마쇄 양파와 마쇄 마늘의 녹색과 황색 색소의 부분적인 구조 분석 파악을 하고(Wang 등, 2010), 색 발현 물질을 사용하여 핑크빛 색소를 합성, 화학적 구조를 분석하는 등 부분적 분석을 통하여 변색 색소의 구조를 파악하기 위한 많은 노력을 경주하고 있다(Dong 등, 2010; Imai 등, 2006b; Lee 등, 2007). 최근에는 황색 색소의 구조

가 pyruvic acid와 색의 전구체와의 반응에 통해 만들어졌을 것이라는 제안도 나오고 있다(Hu 등, 2010; Wang 등, 2009, 2010; Yang 등, 2010).

제 7 장 참고문헌

- Aguilar, M. and F. Rincon. 2007. Improving knowledge of garlic paste greening through the design of an experimental strategy. *J. Agric. Food Chem.* 55:10266-10274.
- Bai, B., F. Chen, Z.F. Wang, X.J. Liao, G.H. Zhao, and X.S. Hu. 2005. Mechanism of the greening color formation of 'Laba' garlic, a traditional homemade Chinese food product. *J. Agric. Food Chem.* 53:7103-7107.
- Benkeblia, N., S. Kosaka, S. Onodera, T. Yoshihira, and N. Shiomi. 2005. Effect of long-term storage on saccharides and fructooligosaccharides (FOS) of onion bulb *Allium cepa* L. var. Tenshin. *J. of Food Technol.* 3:35-40..
- Brackmann, A., A.R. de Gasperin, A. Weber, and R.D. Anese. 2010. Temperature, relative humidity and controlled atmosphere conditions to storage 'Crioula' onions. *Cienc Rural.* 40:1709-1713.
- Buffler, G. 2009. Exogenous ethylene inhibits sprout growth in onion bulbs. *Ann. Bot.* 103(1):23-28.
- Chope, G.A., L.A. Terry. and P.J. White. 2006. Effect of controlled atmosphere storage on abscisic acid concentration and other biochemical attributes of onion bulbs. *Postharvest Biol. Technol.* 39(3):233-242.
- Chope, G.A., L.A. Terry, and P.J. White. 2007. The effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the physical and biochemical characteristics of onion cv. SS1 bulbs during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 44(2):131-140.
- Chope, G.A., K. Cools, J.P. Hammond, A.J. Tompson, and L.A. Terry. 2012. Physiological, biochemical and transcriptional analysis of onion bulbs during storage. *Ann. Bot.* 109:819-831.
- Chope, G., L. Terry, and P. White. 2007. Preharvest application of exogenous abscisic acid (ABA) or an ABA analogue does not affect endogenous ABA concentration of onion bulbs. *Plant Growth. Regul.* 52:117-129.
- Dabhi, M.N., N.C. Patel, and N.K. Dhamsaniya. 2008. Effect of storage conditions on the quality characteristics of onion. *J. Food Sci. Tech. Mys.* 45:376-377.
- Dong, Y.H., D. Wang, M.L. Li, X.S. Hu, and G.H. Zhao. 2010. One new pathway for *Allium* discoloration. *Food Chem.* 119:548-553.
- Francis, F.J., and F.M. Clydesdale. 1975. *Food colorimetry:theory and application.* New York: Champman & Hall.
- Gonzalez, M.E., J.A. Jernstedt, D.C. Slaughter, and D.M. Barrett. 2010. Microscopic quantification of

- cell integrity in raw and processed onion parenchyma cells. *J. Food Sci.* 75(7):E402-E408.
- Ichikawa, M., N. Ide, and K. Ono. 2006. Changes in organosulfur compounds in garlic cloves during storage. *J. Agric. Food Chem.* 54:4849-4854.
- Imai, S., K. Akita, M. Tomotake, and H. Sawada. 2006a. Identification of two novel pigment precursors and a reddish-purple pigment involved in the blue-green discoloration of onion and garlic. *J. Agric. Food Chem.* 54:843-847.
- Jalava, J., M.L. Mantymaa, U. Ekblad, P. Toivanen, M. Skurnik, O. Lassila, and A. Alanen. 1996. Bacterial 16S rDNA polymerase chain reaction in the detection of intra-amniotic infection. *BJOG.* 103(7):664-669.
- Kim, Y.N., M.H. Park, E.Y. Jang, and J.H. Lee. 2011. Volatile distribution in garlic (*Allium sativum* L.) by solid phase microextraction (SPME) with different processing condition. *Food Sci. Biotechnol.* 20(30):775-782.
- Kopsell, D.E., W.M. Randle, and M.A. Eiteman. 1999. Changes in the S-alk(en)yl cysteine sulfoxides and their biosynthetic intermediates during onion storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124:177-183.
- Kubec, R., M. Hrbáčová, R.A. Musah, and J. Belisek. 2004. *Allium* discoloration: Precursors involved in onion pinkening and garlic greening. *J. Agric. Food Chem.* 52:5089-5094.
- Kubec, R. and J. Belisek. 2007. *Allium* discoloration: The color-forming potential of individual thiosulfinates and amino acids: Structural requirements for the color-developing precursors. *J. Agric. Food Chem.* 55:3491-3497.
- Lancaster, J.E. and K.E. Kelly. 1983. Quantitative analysis of the S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides in onion (*Allium cepa* L.). *J. Sci. Food Agric.* 34:1229-1235.
- Lee, E.J., J.E. Cho, J.H. Kim, and S.K. Lee. 2007. Greening pigment in crushed garlic (*Allium sativum* L.) cloves: Purification and partial characterization. *Food Chem.* 101:1677-1686.
- Lee, E.J., J.E. Cho, and S.K. Lee. 2006a. Effect of storage temperature and S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide on green pigment formation in crushed garlic (*Allium sativum* L.) cloves. *Hort. Environ. Biotechnol.* 47:165-173.
- Lee, E.J., J.E. Cho, and S.K. Lee. 2006b. The chemical basis of green pigment formation ('greening') in crushed garlic (*Allium sativum* L.) cloves. *Food Sci. Biotechnol.* 15:838-843.
- Lee, E.J., K.S. Yoo, J. Jifon, and B.S. Patil. 2009. Characterization of shortday onion cultivars of 3 pungency levels with flavor precursor, free amino acid, sulfur, and sugar contents. *J. Food Sci.* 74:C475-C480.
- Lee, J. and J.M. Harnly. 2005. Free amino acid and cysteine sulfoxide composition of 11 garlic (*Allium*

- sativum* L.) cultivars by gas chromatography with flame ionization and mass selective detection. J. Agric. Food Chem. 53: 9100-9104.
- Lukes, T.M. 1986. Factors governing the greening of garlic puree. J. Food Sci. 51:1577, 1582.
- Maw, B.W., D.A. Smittle, and B.G. Mullinix. 1997. The influence of harvest maturity, curing and storage conditions upon the storability of sweet onions. Amer. Soc. Agr. Biol. Eng. 13:511-515.
- Miar Uddin, M. and H.S. MacTavish. 2003. Controlled atmosphere and regular storage-induced changes in S-alk(en)yl-cysteine sulfoxides and alliinase activity in onion bulbs (*Allium cepa* L. cv. Hysam). Postharvest Biol. Technol. 28:239-245.
- Rodrigues, A.S., M.R. Perez-Gregorio, M.S. Garcia-Falcon, and J. Simal-Gandara. Effect of curing and cooking on flavonols and anthocyanins in traditional varieties of onion bulbs. 2009. Food Res. Int. 42(9):1331-1336.
- Schwimmer, S. and W.J. Weston. 1961. Onion flavor and odor, enzymatic development of pyruvic acid in onion as a measure of pungency. J. Agr. Food Chem. 9:301-304.
- Shannon, S., M. Yamaguchi, and F.D. Howard. 1967a. Precursors involved in the formation of pink pigments in onion purees. J. Agric. Food Chem. 15:423-426.
- Shannon, S., M. Yamaguchi, and F.D. Howard. 1967b. Reactions involved in formation of pink pigment in onion purees. J. Agric. Food Chem. 15:417-422.
- Shen, C. and K.L. Parkin. 2000. In vitro biogenesis of pure thiosulfinates and propanethial-S-oxide. J. Agric. Food Chem. 48:6254-6260.
- Vandekinderen, F., B. Devlieghere, K. De Meulenaer, and P. Veramme. 2008. Impact of decontamination agents and a packaging delay on the respiration rate of fresh-cut produce. Postharvest Biol. Technol. 49:277 - 282.
- Wang, D., X.L. Yang, Z.F. Wang, X.S. Hu, and G.H. Zhao. 2009. Isolation and identification of one kind of yellow pigments from model reaction systems related to garlic greening. Food Chem. 117:296-301.
- Yoo, K.S. and L.M. Pike. 1998. Determination of flavor precursor compound S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides by an HPLC method and their distribution in *Allium* species. Sci. Hort. 75:1-10.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.