

최 종
연구보고서

시판 신선편이 채소류 제품의 유통기한 연장
및 고품질 유지기술의 개발에 관한 연구

Development of hurdle Technology for
Shelf-life Extension and Quality Maintenance of
Fresh-cut Vegetable Produces

연구기관
경북대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “시판 신선편이 채소류 제품의 유통기한 연장 및 고품질 유지기술의 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 8 월 27 일

주관연구기관명 : 경북대학교

총괄연구책임자 : 문광덕

세부연구책임자 : 문광덕

연 구 원 : 김수일

연 구 원 : 황태영

연 구 원 : 최소영

연 구 원 : 류정모

연 구 원 : 박연주

연 구 원 : 장지현

연 구 원 : 김재용

위탁연구기관명 : 강원대학교

위탁연구책임자 : 오덕환

연 구 원 : 박부길

연 구 원 : 김영신

연 구 원 : 윤재원

연 구 원 : 유미영

참 여 기 업 : 서도 BNI

요 약 문

I. 제 목

시판 신선편이 채소류 제품의 유통기한 연장 및 고품질 유지기술의 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목표

시판되고 있는 신선편이 채소류 제품의 현황 및 문제점을 파악하여 각종 문제점들을 해결하고 고품질의 제품을 유통시킬 수 있도록 하기 위하여 제품의 생산 및 유통 중 갈변 저해, 미생물 감소, 조직연화 방지를 목적으로, 전처리기술, 절단기술, 적정 포장기술을 적용하여 고품질 유지 및 미생물적 안전성을 확보하고자 하였다.

2. 연구개발의 필요성

신선편이 채소류(minimally processed vegetables)가 가지고 있는 이점은 폐기물 감소, 제품의 다양화, 균일한 품질 관리, 그리고 소매점 내에서의 노동력 감소 등을 들 수 있다. 이러한 편의성과 경제성을 장점으로 신선편이 채소류 제품 시장은 규모와 형태에 있어서 점차 확대되고 있다. 신선편이 채소류 가공식품은 1990년 초부터 미국과 유럽을 중심으로 급격한 성장속도를 이루고 있는 채소류의 소비형태이지만 국내에서는 아직도 기술축적 및 확실한 개념정립이 되지 못한 실정이다. 따라서 위생적이고 고품질인 국내 생산 채소류의 소비를 증대시키고 소비자의 편의를 위해서는 시판되고 있는 각종 신선편이 채소류 제품의 고품질 유지 및 유통기간의 연장을 위한 갈변 저해, 조직연화

방지 및 미생물적 안전성 확보 등 각종 기술의 개발이 필수적이다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 고품질 유지방법의 개발 및 적정 포장 기술 확립

- 시판 신선편이 채소류 제품의 포장 현황 및 문제점 조사
- 고품질 신선편이 채소류 가공제품을 위한 전처리 기술 및 가공기술 개발
- 신선 절단방법 및 조건이 품질에 미치는 영향 조사
- 신선 절단 채소류의 절단면 갈변 방지 기술 연구
- 신선편이 채소류의 고품질유지를 위한 품목별 최적 조성물의 개발
- 신선편이제품의 포장 유통 중 품질변화 조사
- 신선편이 제품의 적정 포장재료 및 방법 연구

2. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 안전성 확립

- 시판 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 변화 조사
- 병원성 미생물의 분리·동정 및 생화학적 특성분석
- 천연 유기산 및 보존제의 전처리에 의한 미생물의 생육변화 조사
- 포장방법과 재질에 의한 미생물의 생육 변화
- 전처리 및 포장의 병용 처리 시 미생물 생육변화
- 저장온도 변화에 따른 미생물의 생육변화
- 유통 중 전처리, 온도 및 포장방법의 hurdle concept를 이용한 선도 유지 기간 연장

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 고품질 유지방법의 개발 및 적정 포장 기술 확립

1) 시판 신선편이 채소류 제품의 포장 현황 및 문제점 조사

대형 마트의 신선편이 채소류 제품들은 대부분 자사에서 세척, 박피, 절단 등 전처리 공정을 통하여 wrapping하여 되어 10℃ 이하의 저온 상태에서 비교적 고품질과 위생적으로 유통되고 있었으나 처리방법에 대한 자세한 표시가 없었고 대부분 유통기한이 표기되지 않고 있었다. 상추, 양상치, 박피 감자, 박피 마늘 등은 대체로 갈변이나 녹변 등 품질이 열화된 상태로 유통되고 있었다. 한편, 재래시장의 제품들은 처리방법, 제조일 혹은 유통기한의 표시가 없는 상태에서, 대부분 상온에서 그리고 갈변 등 품질이 크게 저하된 상태로 유통되고 있었다.

2) 고품질 신선편이 채소류 가공제품을 위한 전처리 기술 및 가공기술 개발

Ascorbic acid, citric acid, NaCl, MgCl₂ 등은 대부분의 신선편의 절단 채소류의 갈변 방지에 효과적이었으나 품목별로 상이하였다. Blanching 처리는 우엉, 연근 등의 근채류에서 갈변 저해 효과가 우수하였으며 오존처리는 화학적 갈변처리제와 병용할 경우 갈변저해능이 향상되었다. 또한 4℃에서의 저온가공은 상온가공에 비하여 갈변저해 효과가 크게 나타났다. 갈변저해제 탐색을 위한 천연물들을 실험한 결과 2% 녹차추출물, 0.5% 녹차 phenol, 25mM catechin 및 5-10% polyphenon 60은 1% ascorbic acid 보다 우수한 갈변저해 효과를 나타내었으며 키위 추출물은 버섯의 갈변저해에 효과를 나타내었다. 또한 한약재 중 천문동, 계피, 천궁, 황기, 산약 등의 추출물은 갈변저해 및 조직연화 방지에 효과를 나타내었다.

3) 신선 절단방법 및 조건이 품질에 미치는 영향 조사

절단 방법 중 슬라이스에 비해 채썰기는 조직의 경도감소를 크게 야기했으며 채썰기한 단호박의 경우 슬라이스보다 저장 후기에 적정산도의 감소가 크게 나타났다. 양배추 등 엽채류의 경우 효과적인 갈변발생 억제를 위해서는 날카로운 칼을 이용한 salad cutting이 비교적 양호하였다.

4) 신선편이 채소류의 고품질유지를 위한 품목별 최적 조성물의 개발

Ascorbic acid, citric acid, NaCl, MgCl₂ 및 이들의 혼합조성물(1:1:1:1)은 무처리구에 비해 대부분의 신선편의 절단 채소류의 갈변 발생을 효과적으로 억제하였다. 우엉과 연근은 3% ascorbic acid, 1% citric acid, 2% lactic acid, 3% malic acid의 처리가 갈변 방지에 효과적이었으며 감자는 1% cysteine과 오존병용처리 및 1% NaCl과 1%MgCl₂ 처리가, 마늘과 도라지의 경우에는 각각 0.5% 및 1%의 cysteine 처리가 효과적이었다. 또한 양배추는 0.5% MgCl₂, 양상치와 치커리는 0.5% citric acid가 효과를 보였으며 양송이버섯은 천문동, 계피, 키위추출물 등의 천연추출물이, 느타리버섯은 천연물 중에서 천궁, 황기, 산약 추출물과 1% ascorbic acid, 1% cysteine이 효과를 나타내었고 단호박의 경우에는 1%의 ascorbic acid와 NaCl 및 MgCl₂ 처리가 효과적이었다.

5) 신선편이 채소류 제품의 포장 유통 중 품질변화 조사

채소류들을 세척, 절단, 각각의 적합한 갈변저해 처리 후 4℃에서 저장하며 품질변화를 조사한 결과 근채류와 마늘은 저장 2주까지 갈변저해 효과가 나타났으며, 감자는 저장 2주 후 약 4%의 갈변도 증가를 나타내었으나 엽채류들은 약 1-2일간 짧은 기간 동안 갈변저해 효과가 유지되었다. 대부분의 채소류들은 저장 중 갈변도가 증가하였으나 갈변저해제의 처리에 의해 그 증가는 다소 감소되었다. 경도, pH, 산도, 색도 등 다른 품질요소들은 품목에 따라 상이하였다.

6) 신선편이 채소류 제품의 적정 포장재료 및 방법 연구

버섯류에서는 저밀도 폴리에틸렌 필름(LDPE)으로 저장하였을 때 중량감모율, 호흡률, 경도, 갈변도 및 관능적 평가에서 가장 효과를 나타내었으나 양배추 등 엽채류의 경우

는 고밀도(HDPE)필름이 저장 중 품질 유지에 효과적이었다. 마늘, 단호박 등에 진공포장한 결과 갈변 및 조직연화가 오히려 촉진되는 결과가 나타났다.

나. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 안전성 확립

1) 시판용 신선편이 채소류의 미생물학적 품질 안전성확보 방안

가) 시판 신선편이 채소류 제품의 미생물적 특성 연구

유통 중인 시판 신선편이 채소류 9종(치커리, 단호박, 연근, 마늘, 버섯, 우엉, 도라지, 양배추, 양상치)에 대한 미생물 현황을 조사한 결과, 초기 총균수는 10^5 - 10^7 CFU/g 수준이었으며, 치커리가 7.45 log CFU/g으로 가장 높았고, 마늘이 5.11 log CFU/g 으로 가장 낮게 나타났다. 호모 및 곰팡이의 초기 균수는 10^5 - 10^8 CFU/g 의 수준이었으며, 도라지가 8.03 log CFU/g로 가장 높았고, 마늘이 5.26 log CFU/g으로 가장 낮게 나타났다. 대장균군(coliform)은 우엉을 제외한 야채류 8종에서 10^2 - 10^3 CFU/g 수준을 나타내었으나 대장균(*E. coli*)은 야채류 9종 모두에서 검출되지 않았다. 저온균의 분포는 10^3 - 10^7 CFU/g 수준으로 도라지가 7.81 log CFU/g으로 가장 높게 나타났다. 전반적으로 채소류 9종 중 도라지가 가장 높은 미생물의 분포현황을 나타내었다. 한편, 유통 중 신선편이 채소류 9종의 온도 변화에 따른 미생물의 생육변화를 조사한 결과, 저온(4℃)에서 저장한 채소류의 총균수는 저장 7일째 10^8 - 10^{10} CFU/g으로 증가하였으나, 상온(25℃)에서 저장한 채소류는 저장 4일째 10^9 - 10^{10} 으로 증가하여, 온도가 증가할수록 미생물의 생육이 급격하게 증가하였다.

한편, 시판 신선편이 채소류로부터 병원성균의 분리 동정을 실시한 결과, 전체 RTE 야채류 673건 중에 27건(4.0%)에서 *Yersinia* spp.를 분리하였으며, 균종 별로는 *Y. enterocolitica*가 18건(2.7%)으로 가장 높은 분리빈도를 보였으며, *Y. frederiksenii* 5건(0.7%), *Y. intermedia* 3건(0.4%) 및 *Y. agglomerance* 1건(0.1%)으로 각각 분포하였다. 분리된 *Yersinia* spp.균에 대한 항생제 감수성을 조사한 결과, 대부분 조사된 항생제에 민감하였으나 nalidixic acid에는 강한 내성을 나타내었다. 분리된 *Y. enterocolitica*균에 대한 병원성유무를 PCR과 Hep-2 cell invasion assay를 이용하여 측정된 결과, 18개의 *Y. e*

nterocolitica 분리주 중에서 3균주가 각각 병원성을 나타내었다.

402종류의 시판 RTE 채소류로부터 *Listeria* spp.균을 분리 동정한 결과, 17건(4.2%)의 시료에서 *Listeria* spp.균이 검출되었다. 이중에서 *L. monocytogenes*균은 2건에서 분리되었으며 나머지는 모두 *L. innocua*(3.7%)균으로 동정되었다. 분리된 *Listeria* spp.균에 대한 항생제 감수성을 조사한 결과, 대부분 조사된 항생제에 민감하였으나 nalidixic acid에는 강한 내성을 나타내었다. 분리된 *Listeria* spp.균에 대한 병원성유무를 PCR과 Hep-2 cell invasion assay를 이용하여 측정된 결과, *L. monocytogenes* 분리균은 병원성을 나타내었으나 *L. innocua* 분리균은 병원성을 나타내지 않았다.

나) 전처리 및 포장 방법에 따른 미생물적 품질 안전성과 유통 중 저장안정성 연구

RTE 채소류로부터 미생물학적 및 이화학적으로 가장 시급한 문제를 해결하기 위하여 양상치와 팽이버섯을 선정하여 오존 및 천연 유기산으로 전처리하여 미생물 저감화 효과를 조사한 결과, 양상치의 경우, 총균수는 대조구에 비하여 물세척은 0.15 log CFU/g 감소하였으나 오존의 경우 3 ppm 처리를 하였을 때 2.89 log CFU/g의 감소를 나타내었다. 효모 및 곰팡이는 대조구에 비하여 물세척은 0.4 log CFU/g 감소하였으나 오존의 경우 3 ppm 처리를 하였을 때 2.79 log CFU/g의 감소를 나타내었다. 한편, 팽이버섯의 경우, 같은 처리조건에서 양상치보다는 약간 저항성이 많은 것으로 나타났다. 오존농도와 침지시간에 따른 미생물 저감효과의 경우, 오존농도와 침지시간이 증가할수록, 살균효과는 점차 증가하였으나 오존농도 3 ppm과 침지시간 3분-5분의 경우 가장 좋은 살균효과를 나타내었다. *E. coli* O157:H7균에 오염된 양상치의 경우, 오존으로 처리하였을 때 1 ppm이상의 오존농도에서는 농도증가보다는 침지시간에 따른 살균효과가 더 큰 것으로 나타났으며 3 ppm 오존농도에서 3분 침지시 약 2 log CFU/g의 감소를 나타내었다. 그러나, *E. coli* O157:H7균에 오염된 팽이버섯의 경우, 같은 조건에서 양상치보다 현저하게 살균력이 저하되었다. 한편, *L. monocytogenes*균에 오염된 양상치의 경우, 같은 조건으로 오존 처리하였을 때 *E. coli* O157:H7균에 비하여 현저하게 오존에 대한 저항성이 컸으며, 팽이버섯에서도 비슷한 결과를 각각 나타내었다.

한편, 양상치에 유기산(1% acetic, 1% citric, 1% lactic acid)을 단독 처리하였을 경우, 총균수는 각각 1.63, 1.89 및 2.05 log CFU/g의 감소를 나타내었으나 3 ppm 오존농도

와 병용처리하여 3분 침지시, 각각 3.0, 3.69 및 3.31 log CFU/g의 살균효과를 나타내었다. 효모 및 곰팡이의 경우도 유기산 단독처리에 비하여 오존과 병용처리시 현저한 상승효과를 나타내었으며 유기산중에서도 1% citric acid와의 병용효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 팽이버섯의 경우도 양상치와 마찬가지로 비슷한 경향을 나타내었으나 병용처리에 의한 살균효과는 양상치보다는 약간 감소하는 것으로 나타났다. 한편, *E. coli* O157:H7균에 오염된 양상치의 경우, 유기산 단독처리에 비하여 3 ppm 오존농도와 병용처리하였을 때 오존으로 처리하였을 때 약 3배정도의 살균효과를 나타내었으며 팽이버섯의 경우도 약 2배 이상의 살균력을 나타내었다. *L. monocytogenes*균에 오염된 양상치 및 팽이버섯의 경우도 병용처리시 현저한 살균효과가 있었으나 *E. coli* O157:H7균에 비하여 병용처리에 대한 저항성이 큰 것으로 나타났다.

오존 및 1% citric acid 단독 또는 병용처리한 양상치와 팽이버섯을 5℃와 15℃에서 저장하였을 때의 미생물 생육변화를 조사한 결과, 양상치의 경우 5℃에 저장하였을 때의 총균수는 병용처리구가 단독처리구에 비하여 저장 10일까지 현저하게 생육이 저하되었으나 15℃저장에서는 저장 3일까지 효과가 있었으며 7일 이후부터는 비슷한 생육을 나타내었다. 그러나 팽이버섯의 경우는 양상치에 비하여 총균수의 생육이 훨씬 증가하는 경향을 나타내었고, 효모 및 곰팡이의 경우도 비슷한 경향을 나타내었다. 또한, *E. coli* O157:H7균 및 *L. monocytogenes*균에 오염된 양상치의 경우, 유기산 단독처리에 비하여 3 ppm 오존농도와 병용처리하여 5℃에 저장하였을 때 병용처리구가 단독처리구에 비하여 저장 7일까지 현저하게 생육저해를 나타내었으며 7일 이후부터는 단독처리구와 같은 양상을 나타내었다. 이러한 경향은 팽이버섯의 경우도 비슷하였으나 팽이버섯에서는 양상치보다 이들 균의 생육이 촉진되는 것으로 나타났다. 한편, 오존 또는 유기산으로 전처리한 후 포장 재료를 달리하여 각각 일반랩과 MPF(Micro perforated film ; 일명 숨쉬는 필름)으로 포장하여 온도별(5℃와 15℃)로 저장한 결과, 양상치와 팽이버섯 모두, 병용처리에 의한 저장효과는 있었으나 포장 재료에 의한 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다.

2. 연구개발 활용

‘갈변방지제’란 명칭으로 상기 연구과제에서 개발한 채소류의 갈변방지제로서 엽화마그네슘을 특징으로 하는 내용의 특허를 출원 중에 있다. 학술논문으로는 2건의 국외학술지 논문투고를 비롯하여 3건의 국내학술지를 이미 게재하였으며 국내외 학술회의에서 15건의 논문을 발표하였다. 연구논문의 게재와 학회 발표는 연구 결과가 정리 되는 대로 계속될 것이며 또한 본 연구과제로서 박사 1명, 석사 3명의 인력을 양성하였다. 개발된 기술은 채소류 가공업체의 기술지도와 개발 기술의 산업체 이전을 통하여 연구 결과를 활용하고자 한다.

SUMMARY

I. Title

Development of Hurdle Technology for Shelf-life Extension and Quality Maintenance of Fresh-cut Vegetable Produces

II. Objective and Significance

1. Objective

To understand the present condition of marketing and extend the shelf-life with higher and safer quality of fresh-cut vegetables, packaging method, technique of pretreatment and various hurdle technology such as inhibition of browning, reduction of softening and control of microbial growth during processing and distribution of fresh-cut vegetables were investigated in this study.

2. Significance

For the advantage of convenience, reduction of labour and waste, simple quality control and possibility of new product development, fresh-cut produce have been one of the hottest commodities in grocery stores over past 10 years at U.S. and European countries. The market of fresh-cut produce was over \$10 billion in U.S. retail food service sale in 1999 and will grow at 10-15% a year for the next five years. But, the industry in our country is just in the beginning. To enlarge the consumption of domestic vegetables and to satisfy consumers' convenience, development of hurdle technology such as inhibition of browning, reduction of softening and control of microbial growth in producing high quality and safe fresh-cut vegetables is essential.

III. Scope

1. Development of quality keeping and packaging method for fresh-cut vegetable produces during distribution
 - 1) Investigation of present market conditions and quality changes of fresh-cut vegetables
 - 2) Development of pretreatment and processing techniques for fresh-cut vegetables with higher quality
 - 3) Effects of cutting method and condition to quality
 - 4) Browning inhibition of cut surface in fresh-cut vegetables
 - 5) Quality evaluation of fresh-cut vegetables during storage
 - 6) Screening of adequate packaging method and materials for fresh-cut vegetables

2. Establishment of Microbiological Quality Safety of Commercially Available Ready to Eat Vegetables
 - 1) Microbiological Characteristics of Commercially Available Ready to Use Vegetables
 - Microbial distribution of RTE vegetables (total counts, yeast and molds, coliforms)
 - Isolation and identification of foodborne pathogens
 - Biochemical characteristics of foodborne pathogens
 - Virulence test by PCR or vero cell
 - Microbial growth in RTE vegetables during storage at different temperatures

 - 2) Microbiological Assurance of Quality and Preservation by Pre-treatment and Packaging
 - Inactivation of harmful microorganisms by ozone or organic acids
 - Inactivation of harmful microorganisms by combined ozone with organic acids
 - Growth inhibition of harmful microorganisms by pre-treatment and packaging

- Growth of harmful microorganisms in the pre-treated samples at different temperature
- Extension of shelf-life of RTE vegetables by using hurdle concepts of pre-treatment, temperature and packaging

IV. Results and Recommendation

1. Development of quality keeping and packaging method for fresh-cut vegetable produces during distribution

1) Investigation of present market conditions and quality changes of fresh-cut vegetables

The most of fresh-cut vegetables were sold at big supermarket was prepared by washing, peeling, cutting and wrapping in its own company and stored below 10°C with high quality and safe comparatively, but there was no inscription for pretreatment methods and shelf-life of the products. Browning and some quality deterioration were occurred in lettuce, peeled potato and garlic during the distribution at market. The products sold at traditional market place was stored in room temperature, with quality deterioration like browning and without any inscription of pretreatment methods, date of preparation and shelf-life.

2) Development of pretreatment and processing techniques for fresh-cut vegetables with higher quality

Ascorbic acid, citric acid, sodium chloride and magnesium chloride were effective in preventing browning of fresh-cut vegetables, but the efficacy was different according to commodities. Blanching was effective treatment in preventing the

browning of fresh-cut burdock and lotus root. When the ozone was cotreated with chemical antibrowning agents, the efficacy of browning inhibition was improved. When the products were processed at low temperature (below 4°C), the browning was more inhibited than the products processed at room temperature. Natural compounds for preventing enzymatic browning of fresh-cut vegetables were screened. Green tea extract(2%), polyphenol from green tea(0.5%), catechin(25mM) and polyphenon(5-10%) were more effective than ascorbic acid(1%) in preventing browning. Extract from kiwi fruit was effective for mushrooms. Among the oriental herbs, extract from asparagi radix, cassia, astragali radix and chinese yam were effective in both of browning and softening inhibition of mushroom.

3) Effects of cutting method and condition to quality

Strip cutting of sweet pumpkin caused more rapid reduce in hardness and titratable acidity than slice-cutting during storage. Cutting with sharp knife was effective in browning prevention of cabbage than dull knife cutting.

4) Browning inhibition of cut surface in fresh-cut vegetables

Ascorbic acid, citric acid, sodium chloride and magnesium chloride and its composite(1:1:1:1, w/w) inhibited browning of cut surface. The effective antibrowning agents for commodities used in this experiment were as follows, burdock and lotus root:Ascorbic acid(3%), citric acid(2%) and malic acid(3%), potato:cystein(1%), sodium and magnesium chloride(1%) and ozone co-treatment, garlic:cystein(0.5%), platycodon:cystein(1%), cabbage:magnesium chloride(0.5%), lettuce and chicory:citric acid(0.5%), Agaricus bisporus:ascorbic acid(1%), extract from cnidium officinale, cassia and kiwi, Pleurotus ostreatus:ascorbic acid(1%), cysteine(1%), extracts from cnidium officinale, astragali radix and chinese yam, sweet pumpkin:ascorbic acid(1%), sodium chloride(1%), and magnesium chloride(1%).

5) Quality evaluation of fresh-cut vegetables during storage

Fresh-cut vegetables processed by washing, cutting and dipping in suitable antibrowning agents were stored at 4°C and the changes of quality attributes were measured during storage, root vegetables(burdock, lotus root) and garlic kept without browning for 2 weeks. The browning degree of potato was increased only 4% after 2 weeks storage, but the browning was occurred just after 1 or 2 days of storage in leaf vegetables. Hardness, pH, titratable acidity and color were different according to commodities.

6) Screening of adequate packaging method and materials for fresh-cut vegetables

LDPE(low density polyethylene) film packaging was effective for the quality attributes (weight loss, respiration rate, hardness, browning degree and organoleptic quality) of mushroom during storage, but HDPE(high density polyethylene) film was effective for cabbage. Vacuum packaging of garlic and sweet pumpkin stimulated browning and softening.

2. Establishment of Microbiological Quality Safety of Commercially Available Ready to Eat Vegetables

1) Microbiological Characteristics of Commercially Available Ready to Use Vegetables

The microbial distribution of 9 kinds of ready to use(RTE) vegetables(*cichorium intybus*, *sweet pumpkin*, *lotus root*, *garlic*, *mushroom*, *burdock*, *chinese bellflower*, *chinese cabbage*, *lettuce*) were determined and total counts ranged from 10^5 to 10^7 CFU/g, respectively. Among them, the *cichorium intybus* showed the highest initial total counts of 7.45 log CFU/g, whereas the least initial total counts of 5.11 log CFU/g in *garlic* was observed. Initial yeast and molds of the RTE vegetables ranged from 10^5 to 10^8 CFU/g and a *chinese bellflower* had highest initial numbers

of 8.03 log CFU/g, whereas the least numbers of 5.26 log CFU/g in *gallic* was observed. Coliforms ranged from 10^2 to 10^8 CFU/g, except for burdock and no *E. coli* was enumerated. Overall, a *chinese bellflower* had the highest initial microbial flora among 9 samples. In the meantime, the total counts of the 9 RTE vegetables increased up to 10^8 to 10^{10} CFU/g at 4°C after 7 d storage, whereas total counts were rapidly grown up to 10^9 to 10^{10} CFU/g at 25°C after 4 d storage.

RTE vegetable samples commercially available in Korea were analyzed for the presence of *Yersinia* spp. and *Listeria* spp. by the conventional Food and Drug Administration protocol, and presumptive strains were identified by morphological, cultural and biochemical tests according to Bergey's manual and confirmed by API-*Listeria* kit. Also, serotypes, susceptibility to 12 antibiotics and virulence test using polymerase chain reaction were tested. Among the total 673 RTE vegetable samples, 27 samples (4.0%) were found to be contaminated with *Yersinia* species. Among the 27 strains of *Yersinia* spp. isolates, 18 strains (2.7%) for *Yersinia enterocolitica*, 5 strains (0.5%) for *Y. frederiksenii*, 3 strains (0.7%) for *Y. intermedia*, and 1 strain (0.1%) for *Y. agglomerance* were identified, respectively. Of 40 *Yersinia* spp. isolates, *Y. enterocolitica* (67%) was the most predominant species in the RTE vegetable samples compared to other *Yersinia* species. According to serotypes of *Y. enterocolitica* isolates, O:3 (11.1%) and O:5 (11.1%) was the most predominant, respectively and followed by O:8 (5.6%) and others (72.2%). An antibiotic susceptibility test showed that *Yersinia* spp. isolates were very susceptible to the antibiotics tested, but they were very strongly resistant to ampicillin (94%), cephalothin (100%) and carbenicillin (83%), respectively. PCR with specific primers derived from *yst* of *Y. enterocolitica* and Hep-2 cell invasion assay were applied to confirm the pathogenic *Y. enterocolitica*, respectively. Among 18 strains of *Yersinia enterocolitica* isolates, PCR analysis showed that 16.7% (3 strains) of the *Y. enterocolitica* isolates proved to be pathogenic. Also, Hep-2 cell invasion assay showed 3 strains to be pathogenic, but different pathogenicity was

observed compared to that of PCR.

Among total 402 vegetable samples, 17 samples (4.2%) were found to be contaminated with *Listeria* species. Among the 17 strains of *Listeria* spp. isolates, only 2 strains (0.5%) for *L. monocytogenes* and 15 strains (3.7%) for *L. innocua* were identified, respectively. Of 17 *Listeria* spp. isolates, *L. innocua* (88.2%) was the most predominant species in the RTE vegetable samples compared to other *Listeria* species. Also, antibiotic susceptibility test showed that *Listeria* spp. isolates were very susceptible to the antibiotics tested, except for nalidixic acid. PCR with specific primers derived from *hly* of *L. monocytogenes* and an *in vitro* virulence assay were performed, Among 17 strains of *Listeria* spp., PCR analysis showed that 2 strains of *L. monocytogenes* isolates proved to be pathogenic, but none of *L. innocua* showed pathogenicity. Also, hybridoma Ped-2E9 cells assay showed that only *L. monocytogenes* isolates killed approximately 95-99% hybridoma cells after 6h, but *L. innocua* isolates had about 0-5% lethal effect.

2) Microbiological Assurance of Quality and Preservation by Pre-treatment and Packaging

Inactivation effects of ozone or organic acids on the microflora of lettuce and mushroom were analyzed. Water washing reduced the total counts and yeast and molds on the *lettuce* by 0.15 and 0.4 log CFU/g, but 3 ppm ozone treatment significantly enhanced the inactivation effects by 2.89 and 2.79 log CFU/g reduction, respectively. The the total counts and yeast and molds on *enoki mushroom* were more resistant to ozone treatment than that of *lettuce* at the same treatment. Inactivation effects of ozone on *lettuce* or *enoki mushroom* increased as ozone concentrations and dipping time increased, but the greatest inactivation effect was observed at 3 ppm ozone treatment for 3 min. When *E. coli* O157:H7 inoculated into *lettuce* was treated with 1 to 5 ppm ozone for designated dipping time, the

optimal condition for the reduction of the pathogen was 3 ppm ozone for 3 min and *L. monocytogenes* was more resistant than that of *E. coli* O157:H7 at the same condition. Also, 3 ppm ozone treatment reduced significantly the number of *E. coli* O157:H7 inoculated into *lettuce* by 2 log CFU/g, but little inactivation effect was observed in *enoki mushroom*. Thus, these results show that inactivation effect of ozone on the foodborne pathogens could be different from types of organisms, types of foods and environments.

In the meantime, organic acids treatments (1% acetic, 1% citric and 1% lactic acid) for 1.5 min reduced the total counts on the *lettuce* by 1.63, 1.89 and 2.05 log CFU/g, but the combined 3 ppm ozone with each organic acid treatments significantly enhanced the inactivation effects by 3.0, 3.69 and 3.31 log CFU/g reduction, respectively. Similar results were observed in the yeast and molds and the strongest synergistic inactivation effects were observed at the combined treatment of 3ppm ozone and 1% citric acid. The total counts and yeast and molds on *enoki mushroom* were more resistant to combination of 3 ppm ozone and 1% citric acid than that of *lettuce* at the same treatment. On the other hand, when *E. coli* O157:H7 inoculated into *lettuce* and *enoki mushroom* were treated with combined 3 ppm ozone with 1% organic acids, the combined treatment showed the 3 times and 2 times stronger inactivation effects than those of single treatment of organic acid alone, respectively. Similar pattern was observed in *L. monocytogenes* inoculated into *lettuce* and *enoki mushroom*, but the inactivation effect of *L. monocytogenes* was significantly more decreased than that of *E. coli* O157:H7 at the same condition.

The growth of total counts on the *lettuce* or *enoki mushroom* by 3 ppm ozone and 1% citric acid, singly or combined during storage at 5°C and 15°C for 14 days are determined. When *lettuce* was stored at 5°C, the total counts in combined treatment significantly reduced up to 10 d storage compared with single treatment, but enhanced inactivation effect was observed only up to 3 d storage at 15°C and

similar growth was occurred after 7 d storage. Also, similar pattern was observe in the yeast and molds. When *E. coli* O157:H7 or *L. monocytogenes* inoculated into the *lettuce* by 3 ppm ozone and 1% citric acid, singly or combined were stored at 5°C for 14 days, the combined treatment significantly reduced the growth of the pathogens up to 7d storage compared with single treatment, but similar growth was occurred after 7 d storage. Similar patterns were observed in *enoki mushroom*, the growth of the pathogens in *enoki mushroom* was more faster than that of *lettuce*. In the meantime, there was little influence on the growth inhibition of microorganisms between general packaging and micro perforated film packaging in the pre-treated *lettuce* and *enoki mushroom* during storage at 5°C and 15°C.

CONTENTS

Chapter 1. Summary of the research	25
Section 1. Objective and needs	25
Section 2. Contents and scope	27
Chapter 2. Research trends in domestic and foreign country	29
Chapter 3. Results and discussions	31
Section 1. Materials and method	31
1. Development of quality keeping and packaging method for fresh-cut vegetable produces during distribution	31
a. Materials and minimal processing	31
b. Measurement of browning degree and color	31
c. Analysis of internal gas	32
d. Measurement of hardness	32
e. Measurement of pH, soluble solid and titratable acidity	32
f. Measurement of total phenol content	33
g. Measurement of PPO activity	33
h. Sensory evaluation	33
2. Establishment of microbiological quality safety of commercially available ready to eat vegetables	34
a. Sampling	34
b. Microbial distribution of RTE vegetables (total counts, yeast and molds, coliforms)	34
c. Isolation and identification of foodborne pathogens	35
- <i>Yersinia</i> spp.	35
- <i>Listeria</i> spp.	37
d. Inoculation of foodborne pathogens into lettuce and enoki mushroom ..	39
e. Preparation of ozone or organic acids	40
f. Microbial analysis by hurdle concept	41

g. Extension of shelf-life of RTE vegetables by packaging	42
Section 2. Results and Discussion	43
1. Development of quality keeping and packaging method for fresh-cut vegetable produces during distribution	43
1) Investigation of present market conditions and quality changes fresh-cut vegetables	43
2) Development of pretreatment and processing techniques for fresh-cut vegetables with higher quality	49
a. Effect of chemical method on browning of fresh-cut vegetables ..	49
b. Effect of physical method on browning of fresh-cut vegetables ..	61
c. Effect of low temperature processing on the quality characteristics of fresh-cut vegetables	65
d. Effect of natural compounds on the quality characteristics of fresh-cut vegetables	68
e. Effect of cutting method on the quality characteristics of fresh-cut vegetables	82
f. Development of complexed technique and antibrowning composite for fresh-cut vegetables	89
g. Development of adequate packaging materials and quality changes during storage	95
h. Sensory evaluation	104
2. Establishment of microbiological quality safety of commercially available ready to eat vegetables	108
1) Microbiological characteristics of commercially available ready to use vegetables	108
- Total counts	108
- Yeast and molds	108
- Coliform and E. coli	110
- Psychrotrophic organisms	110
2) Isolation and identification of foodborne pathogens and Biochemical analysis	113

3) Inactivation effect ozone and organic acids on lettuce and enoki mushroom	120
- Inactivation effect of ozone	120
- Inactivation effect of combined ozone with organic acids	125
4) Microbial growth effect of combined pre-treated samples with packaging	131
5) Microbial growth at different temperature	135
Chapter 4. References	144

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	25
1절 연구개발의 필요성	25
1. 기술적 측면	25
2. 경제·산업적 측면	25
3. 사회·문화적 측면	26
2절 연구개발 내용 및 범위	27
제 2 장 국내외 기술개발 현황	29
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	31
1절 연구 수행 방법	31
1. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 고품질 유지방법의 개발 및 적정 포장 기술 확립	31
가. 재료 및 최소가공처리	31
나. 갈변도 및 색도 측정	31
다. 포장내부의 가스분석	32
라. 경도 측정	32
마. pH, 가용성고형분 및 적정 산도 측정	32
바. 총폐놀 함량 측정	33
사. PPO (polyphenol oxidase) 활성 측정	33
아. 관능검사	33
2. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 안전성 확립	34
가. 시료의 채취	34
나. 시판 신선편이 야채류로부터 미생물 균총 분석	34
다. 시판 신선편이 야채류로부터 병원성균의 분리 동정	35
라. 양상치와 팽이버섯에 균주 집중	39
마. 오존수의 생성과 생성량	40

바. 미생물의 처리와 분석	41
사. 포장재별 미생물 저감화	42
2절 연구 내용 및 결과	43
1. 신선편이 채소류 제품의 현황 조사 및 유통 중 고품질 유지방법의 개발 및 적정 포장 기술 확립	43
가. 시판 신선편이 채소류 제품의 현황 조사 및 유통 중 품질변화 조사	43
나. 고품질 신선편이 채소류 가공제품을 위한 전처리 기술 및 가공기술 개발 ..	49
1) 화학적 방법이 갈변에 미치는 영향	49
2) 물리적 방법이 갈변에 미치는 영향	61
3) 저온가공이 품질 특성에 미치는 영향	65
4) 천연추출물이 신선절단 채소류의 품질특성에 미치는 영향	68
5) 신선 절단방법이 채소류의 품질에 미치는 영향	82
6) 신선편이 채소류의 고품질 유지를 위한 품목별 최적 조성물의 개발	89
7) 적정 포장 방법의 검토 및 적용 시 품질 변화	95
8) 관능적 평가	104
2. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 안전성 확립	108
가. 온도변화에 따른 시판 신선편이 채소류의 각종 미생물 현황 조사	108
나. 부패 및 병원성 미생물의 분리·동정 및 생화학적 특성 분석	113
다. 양상치와 팽이버섯에 대한 오존 효과	120
라. 전처리 및 포장의 병용처리시 미생물 생육변화	131
마. 저장온도에 따른 미생물의 성장	135
제 4 장 참고문헌	144

제 1 장 연구개발과제의 개요

1절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

신선편이 채소류 가공식품(minimally processed vegetables)은 편의성과 경제성을 장점으로 하며 단체급식 및 편이식의 급속한 확산 추세에 따른 관련기술의 중대성 및 수요급증 전망에도 불구하고 국내 기술단계는 이에 대응할 수준의 기술축적 및 확실한 개념정립이 되지 못한 실정이다. 선행 조사에 따르면 재래시장은 물론이고 대형 할인점 등의 슈퍼마켓에서 이러한 신선편이 채소류 제품이 다수 판매되고 있었으나, 유통기한 조차 적혀 있지 않은 상태로 판매하고 있으며, 소비자는 이들의 제품 건전성을 눈으로 식별하여 구입하는 상황이었다. 이러한 생채소를 가공하여 이용하기 편리한 상태의 제품으로 만들기 위해서는 세척, 절단, 포장 등의 가공 공정에서 품목별, 가공공정별 적합한 처리방법 및 미생물적 안전성 등을 파악하고 있어야 한다.

따라서 본 연구에서는 시판되고 있는 신선편이 채소류 제품의 현황 및 문제점을 파악하여 각종 문제점들을 해결하고 고품질의 제품을 유통시킬 수 있도록 한다. 즉, 갈변저해, 미생물 감소, 조직연화 방지를 목적으로 전처리기술, 절단기술, 적정 포장기술을 적용, 유통 중 고품질 유지 및 미생물적 안전성을 확보하고자 하였다.

2. 경제·산업적 측면

신선편이 채소류가 기존의 방법으로 유통되는 채소류에 대하여 가지고 있는 이점으로는 폐기물 감소, 제품의 다양화, 균일한 품질 관리, 그리고 소매점 내에서의 노동력 감소 등을 들 수 있다. 또한 모든 폐기물들이 생산자 수준에서 처리되므로 운송비용을 낮출 수 있다. 이러한 장점들을 배경으로 신선편이 채소류 제품 시장은 규모와 형태에 있어서 점차 확대되고 있다.

또한 채소류에 대한 신선편이 가공은 이용의 간편성을 도모하여 소비를 촉진할 수 있을 것이다. 이와 같은 일차가공을 통하여 제품의 이용을 증가시킬 경우 소득 면에서 큰 이득을 얻을 수 있다. 유통 여건 및 시장의 변화도 간과할 수 없다. 즉, WTO 출범과

더불어 시작된 완전한 자유무역 체제 속에서 우리나라 농산물은 현실적으로 값싼 중국산이나 미국산 등에 비해 열악하기 때문에 품질 면이나 편리성 등에서 우위를 점하도록 해야 한다. 또한 수급의 불균형으로 인한 농산물의 가격 불안정은 해마다 되풀이되고 있다. 이러한 문제는 채소류와 같은 농산물을 일차산업으로 치부할 경우 해결될 수 없다. 즉, 채소류를 비가공 일차산업이 아닌 가공 산업의 원료로 승화시키고 그 부가가치를 향상시키기 위해서는 우수한 품질의 생 채소를 원료로 확보하여 적정한 전처리 및 포장을 통하여 제품의 선도 유지 및 미생물적 안전성을 확보하여 유통기간을 연장 시킴으로써 가능하다. 이러한 신선편이 채소류 제품에 대한 수요는 외식산업, 단체급식 산업 및 소매점 등에서부터 일기 시작되어 이미 시장이 어느 정도 형성되어 있는 상황 이므로 신선편이 채소류 제품에 대한 시장을 철저히 조사하고 이들 제품의 문제점을 파악할 필요가 있다.

따라서 본 연구를 통하여 우수한 품질의 신선편이 채소류를 가공할 수 있는 각종 선행기술을 확립하여 이 기술을 관련 산업체에 기술 이전하여 제품생산으로 연결시킬 경우 관련 산업계에 대한 파장은 매우 클 것이다. 또한 이러한 산업의 기본이 되는 생산자의 이윤 증대 또한 함께 수반 될 것이다.

3. 사회·문화적 측면

신선 채소류는 건강식품의 소재로서 각종 기능성 등에 대한 일반인의 인식이 확산됨에 따라 그 수요와 공급이 점차 확대되고 있다. 또한 여성의 사회참여가 일반화되면서 식사준비를 비롯한 가사노동에 투자되는 시간이 점점 줄어들고 있으며 이용하기 간편하며 안전한 “전처리 채소류”에 대한 수요가 급증하고 있다. 이러한 현대인의 생활 패턴 변화에 따른 새로운 수요에 부응하여 대형 할인점을 중심으로 신선 채소류를 신선편이 가공하여 판매하고 있는 예가 많아지고 있는 상황이다.

그러나 채소류의 품목별 특성을 무시한 획일적인 포장, 진열, 전처리 등으로 인하여 신선 채소류의 고품질 유지가 불가능한 상황이며, 이에 대한 학계 및 산업체의 연구 투자가 소극적이다 보니 결과적으로 열악한 제품들이 유통되고 있는 실정이다. 그 실례로 조미 채소류인 마늘의 경우 깎 마늘의 형태로 소포장하여 판매하는 것이 일반적이나 유통 일주일 이전에 표면의 갈변, 곰팡이의 생육 등 제품으로서의 가치가 없어지게 된

다. 이러한 현상은 버섯류, 각종 근채류에서도 마찬가지이다. 또한 우리나라 식단의 특성상 각종 채소류를 숙채로 하여 소비하는 경우가 많은데 이러한 최소가공의 경우에도 전처리 과정 중 위생적인 안정성이 입증되어 있지 않은 상태로 소비되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구를 통한 신선편이 채소류 제품의 미생물적 안전성을 확보하기 위한 적정 전처리 및 포장 기술을 확립하고 이들 기술을 생산자 및 단체에 기술이전하여 고품질의 신선편이 채소류 제품을 유통시키게 될 경우 여성들의 가사노동 시간을 절감시키고, 도시의 음식물 쓰레기량을 감소시킬 수 있으며, 제품의 부가가치 증대로 인한 생산자의 소득 증대에도 기여할 수 있을 것이다. 또한 전처리 상태의 고품질 채소류를 단체 급식처나 외식산업체로 공급할 경우 이들 업체의 인건비 절감, 쓰레기 감소, 작업장 규모 감소 및 안전한 재료의 취급까지 도모할 수 있으며 궁극적으로는 국민건강에 일조하게 될 것이다.

2절 연구개발 내용 및 범위

○ 시판 신선편이 채소류 제품의 포장 현황 조사 및 품목별 가공 적성 연구

설문, 시장, 기타 자료조사를 통하여 시판 신선편이 채소류의 현황 및 문제점을 조사하고 저장기간 동안 경도, 당, 산, 색도, pH 등의 변화를 조사하였다. 전처리 방법에 따른 채소류 제품의 품질을 조사하고 품목별 가공 적성을 조사하였다. 신선편이 채소류 제품의 포장 현황을 조사하였다.

○ 시판 신선편이 채소류 제품의 미생물적 특성 연구

제품별 총균수와 병원성 미생물을 조사하고, vero cell 또는 PCR에 의한 식중독균의 병원성에 대해 검색하여 병원성 미생물의 분리·동정과 병원균의 생화학적 특성을 알아보고자 한다. 그리고 유통 중 신선편이 채소류의 온도 변화에 따른 미생물의 생육변화를 알아보고자 하였다.

○ 신선편이 채소류의 품목별 고품질 유지를 위한 가공 기술의 확립 및 신제품 개발

환원형 화합물, acidulant, chelating agent 등을 이용하여 갈변 저해 물질을 조합하여 절단 시 조직의 갈변을 방지하기 위한 전처리 기술을 개발하고 blanching 등의 물리적 방법을 병용하여 적용하였다. 저온 가공 조건을 적용하여 상온 처리와 비교하였으며 포장재가 품질 특성에 미치는 영향도 조사하였다.

○ 전처리 및 포장 방법에 따른 미생물학적 품질 안전성과 유통 중 저장안정성 연구
천연 유기산 및 오존의 전처리에 의한 생육변화를 조사하고, 병용처리에 의한 유해
미생물의 저감화 기술의 개발과 전처리 및 포장의 병용처리시 미생물의 생육변화를
알아보고자 한다. 또한 저장온도 변화에 따른 미생물의 생육변화와 유통 중 전처리,
온도 및 포장방법의 hurdle concept를 이용한 선도유지기간 연장을 알아보려고 하였
다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

우리나라의 신선편이 가공 기술은 아직 초보단계에 있으며 이에 대한 구체적인 연구 및 산업체로의 응용도 전무한 형편이다. 그러나 미국 및 유럽 등지에서는 1980년대부터 이들에 대한 연구가 활발히 이루어져 이미 실용화되어 있는 단계이다. 일례로 미국에서 신선편이 채소류로 주로 이용하는 것은 양상치를 중심으로 한 야채 셀러드류인데, 1991년 조사에 따르면 신선편이 가공 농산물의 76%가 양상치인 것으로 나타났다. 셀러드용 양상치 이외의 다른 채소와 과일류의 최소 가공품들의 시장이 급격하게 증가하고 있는데 증가율이 연간 19.5%에 이른다고 한다. 이러한 제품들에는 양배추, 당근, 셀러리, 양파, 브로콜리 및 컬리플라워 등이 포함된다. 양상치의 신선편이 가공에 있어서 갈변을 방지하고 미생물수를 감소시키기 위한 각종 기술이 개발되어 응용되고 있는데 대부분 염소수를 이용한 세척 기술을 적용하고 있으나 잔류의 문제가 제기되며 포장 시 구멍(pin hole)이 생기는 현상이나 열 봉합(sealing)불량 등의 문제가 발생하고 있다. 감자의 경우 박피시 갈변이 가장 큰 문제가 되며 산소를 차단하는 진공포장을 행할 경우 포장을 열게 되면 즉시 갈변이 심화되는 문제가 있으며 현재까지 효과적인 갈변 억제 방법이 없는 것으로 연구보고 되고 있다.

생채소를 가공하여 이용하기 편리한 상태의 제품으로 만들기 위해서는 세척, 절단, 포장 등의 가공 공정에서 품목별, 가공공정별 적합한 처리방법 및 미생물적 안전성 등을 파악하고 있어야 한다. 그러나 우리나라의 실정으로는 이러한 구체적인 연구가 이루어진바 없고 수요는 증대되고 있으므로 계속하여 주먹구구식의 신선편이 채소류 제품을 제조하고 또 판매하고 있는 상황이다. 전년도 사업신청 시와 비교하여 현재 신선편이 채소류 시장은 이러한 신선편이 채소류를 판매하는 대형 할인점들이 증가 추세임으로 그 수요가 증대되고 있음에도 불구하고 고품질의 제품을 생산, 제조하기 위한 기본 데이터 부족으로 악순환이 거듭되고 있는 실정이다.

본 연구의 시장 조사 결과 신선편이 채소류 이용 품목은 점차 증가하고 있는 상황이며 포장 방식도 예전의 벌크 포장에서 소포장으로 전환되고 있었다. 또 판매 현황도 대형 할인점의 경우 냉장 쇼케이스를 이용한 냉장 시스템을 활용하고 있는 경우가 많았

으나 적정 온도 유지가 제대로 이루어지고 있지 않았다. 특히 제품의 품목별 특성을 무시한 판매자 편이 위주의 포장(인쇄용이, 포장용이 등)을 선택하여 포장·판매하고 있는 상태로, 신선물의 수확 후 생리 특성이 전혀 고려되지 않고 포장되고 있음을 알 수 있었다. 따라서 이미 시판되고 있는 품목들을 우선적으로 연구하여 안전한 제품의 유통을 도모하기 위해서는 시판되고 있는 각종 신선편이 채소류 제품의 고품질 유지 및 유통기간의 연장을 위한 각종 기술 연구가 필수적이다. 특히 신선편이 채소류에 대한 미생물의 분포현황 및 특성에 관련된 연구가 전무한 상태이므로 본 연구를 통해 신선편이 채소류에 대한 유해 미생물의 분류 및 이에 대처할 수 있는 방법으로 모색할 수 있다. 그리고 전처리과정으로 유해미생물의 증식억제를 위한 천연보존제 개발, 가공방법에 따른 품질 안전성, 온도변화 및 포장방법 등 유통 중에 발생하는 미생물의 생육조건을 최대한 억제함으로써 신선편이 채소류의 선도유지를 연장하고자 한다.

한편 농산물의 종류나 소비 형태가 판이한 우리나라의 경우 선진국의 신선편이 농산물의 가공, 포장, 유통 방법을 그대로 적용하기는 어렵다. 즉 우리나라의 실정에 맞는 시판 신선편이 채소류를 대상으로 새로운 적용기술을 연구하여야 할 것이다.

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

1절 연구 수행 방법

1. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 고품질 유지방법의 개발 및 적정 포장 기술 확립

가. 재료 및 최소가공처리

본 실험에 사용된 양배추, 양상치, 치커리, 감자, 마늘, 우엉, 연근, 도라지, 단호박, 버섯은 실험 당일 대구 소재 재래시장에서 구입하였으며, 구입 후 4℃에서 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다. 갈변저해제의 탐색을 통해 그 효과가 우수한 것으로 생각되는 화합물과 blanching 온도 및 오존 처리를 단독 혹은 병행하여 신선절단 시료에 적용하였다. 오존처리는 (주) 호동전자의 이온샘 오존발생장치를 사용하여 0.5 g/hr로 오존을 발생시켜 사용하였으며 각각 용액에서 그리고 가스형태로 3분간 발생시켜 사용하였다. 갈변저해 처리를 행한 시료는 포장하여 4℃에서 저장하면서 실험에 이용하였으며 포장재로는 고밀도폴리에틸렌 필름과 저밀도 폴리에틸렌 필름을 사용하였다.

본 저해 시험에 사용한 한약재의 추출물은 일반적으로 한약재의 유용성분을 가장 잘 추출할 수 있는 온도 범위인 80℃에서 추출하였으며 추출시간은 1시간으로 하여 여액을 저해제로 사용하였다. 채소류 혹은 과일류 등의 생물 20 g기준에 증류수 100 ml를 넣고 수 분간 마쇄한 다음 여과하여 여과된 여과액을 추출액으로 사용하였다. 건조물의 경우, 18 mesh의 표준체를 통과하는 분획 2g 기준에 증류수 100 ml를 넣고 35℃의 진탕수조에서 2시간 동안 진탕한 다음 과일채소류와 동일한 방법으로 여과하여 추출액으로 사용하였다. 여과된 추출액의 색이 천연물 자체의 색으로 인하여 버섯에 착색될 가능성이 있을 경우, 활성탄에 통과시켜 그 여액을 추출액으로 사용하였다.

나. 갈변도 및 색도 측정

색도 변화는 Chroma-meter (CR-200, Minolta Co., Japan)로 Hunter's value인 L, a 및 b 값을 측정하여 조사하였으며 갈변도는 저장 초기와 저장 후의 L 값의 차이로 나타내

었다. 갈변도를 조사하는 흡광도 및 색차계를 측정하는 방법을 사용하였다. 엽채류의 절단면 갈변 등 chroma-meter로 측정하기 어려운 경우는 마쇄하여 spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

다. 포장내부의 가스분석

저장 중 포장 내부의 가스 분석은 dual gas analyzer (David bishop Instruments, 280 Combo, USA)를 이용, CO₂와 O₂의 농도 변화를 측정하였다.

라. 경도 측정

최소가공 채소의 저장 중 경도변화는 texture analyzer (Model TA-XT2, England)를 이용하여 측정하였다. 시료는최소가공 처리별로 15개씩 취하여 측정하였으며, 측정조건은 다음의 Table 1과 같다.

Table 1. The operating conditions of texture analyzer

Items	Conditions
Sample height	5 mm
Sample width	25 mm
Test Type	Hardness
Adaptor type	Circle
Adaptor area	5 mm (diameter)
Sample type	Vertical Round
Table speed	60 mm/min
Load cell	2 kg

마. pH, 가용성고형분 및 적정 산도 측정

최소가공 처리한 시료의 pH, 가용성 고형분 및 산도를 조사하였다. pH는 시료와 증류수를 1:1로 혼합하여 균질화한 다음 여과하여 pH meter (Orion, model 420A, USA)로 측정하였다. 가용성 고형분은 각 처리구의 시료를 마쇄하여 착즙하고 여과한 후 얻은

액을 굴절당도계 (Atago Hand Refractometer, N1, Japan)를 이용하여 측정하였다. 적정산도는 각 처리별 시료를 마쇄하여 착즙한 후 여과하여 얻은 액 10 ml를 취해 증류수로 100 ml까지 희석하였다. 이 희석액 20 ml를 0.1 N NaOH로 pH 8.1까지 적정하여 소비된 양을 malic acid로 환산하여 나타내었다.

바. 총페놀 함량 측정

신선 절단한 시료의 총페놀의 측정은 다음의 방법을 사용하였다. 시료 10 g에 80% ethanol 100ml을 넣고 마쇄하여 85°C에서 4시간 진탕하며 추출하여 그 여액을 진공감압 건조시켜 10ml로 농축하였다. 이 농축액 1ml를 9ml의 Folin-Ciocalteu reagent (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO)와 혼합하고 여기에 10 ml의 saturated sodium carbonate를 첨가하여 1시간 방치하였다. 이 발색된 시료액을 640nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질로는 tannic acid를 사용하였다.

사. PPO (polyphenol oxidase) 활성 측정

시료를 동량의 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)를 가하여 마쇄하고 ice bath 상에서 여과하여 그 여액을 이용하여 PPO 활성을 측정하였다. 즉, 효소 추출액 0.2 ml를 2.8 ml의 10 mM의 catechol 용액 (0.1 M phosphate buffer에 용해)과 혼합하여 35°C에서 총 180초간 420 nm에서의 흡광도 변화를 조사하였다. 효소 활성 1 unit은 0.001 absorbance/min/mg으로 나타내었다.

아. 관능검사

각각의 갈변저해 처리가 저장 및 조리 후 신선절단 제품의 관능적 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 패널 요원 10명을 선발하여 갈변저해 처리를 행한 색, 냄새, 맛 등에서 느껴지는지는 점을 조사하여 9점 척도법으로 나타내었고 이 결과를 갈변저해제 선정시 참고하였다.

2. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 안전성 확립

가. 시료의 채취

춘천 지역 슈퍼마켓 및 대형 할인 매장(냉장체인)에서 판매중인 야채류 9종을 구입하여 미생물균총을 측정하였으며, 채소류, 버섯류 등 최소가공 RTE 야채류를 종류별 (Table 2)로 총 673건을 구입하여 *Yersinia* spp.균의 분리를 실시하였다. 각 시료는 간단하게 숙음, 껍질 벗김, 얇게 잘라냄, 조각형으로 잘라냄 및 세척 등의 방법을 사용하여 포장되어진 것으로, 특히 마늘은 다진 마늘로 시판되는 것을 사용하였다. 각 시료는 구입 후 즉시 실험실로 신속하게 이송한 후 실험하였다.

Table 2. The kind and number of collected samples

Sample spp.	No. of Samples
Water dropwort	40
Spinach	26
Korean cabbage	55
Soybean sprout	87
Lettuce(Native)	58
Cabbage	65
Radish root	32
Green onion	51
Carrot	47
Lettuce	20
Enoki mushroom	105
Burdock	20
Cichorium intybus	20
Sweet pumpkin	17
Chinese bellflower	10
Lotus root	10
Garlic	10
Total	673

나. 시판 신선편이 야채류로부터 미생물 균총 분석

미생물 균총의 분석은 total counts, yeast and mold, coliform, *E.coli* 그리고 psychrophile를 조사하였다. 각각의 야채류 9종의 샘플은 상온저장(25℃)과 냉장저장(4℃)으로 나누어, 저장 기간 동안 각각의 샘플 25 g을 살균한 0.1% peptone수 225 ml를 stomacher bag에 넣고 120s 동안 stomacher 한 후 0.1% peptone수에 단계 희석하여

일반 세균과 효모, 곰팡이의 총균수를 측정하기 위한 배지인 PCA(plate count agar, DIFCO) plate 와 PDA(potato dextrose agar, DIFCO) plate 에 0.1 ml를 분주한 후 도말 하였다. 중온균의 측정을 위하여 PCA plate는 30℃에서 48시간 배양하였고, 저온균의 측정을 위하여 15℃에서 7일간 배양한 후 콜로니를 계수하여 측정하였다. 효모와 곰팡이의 측정을 위하여, PDA plate 는 25℃에서 48시간 배양하였다. 대장균군과 대장균의 측정은 3M Petrifilm(美, 3M/휴코양행)을 이용하여 측정하였다. 단계회석 후 1 ml를 취하여 3M Petrifilm에 분주한 후 32℃에서 24h 배양한 후 콜로니 계수하여 log CFU/g으로 나타내었다.

다. 시판 신선편이 야채류로부터 병원성균의 분리 동정

1) *Yersinia* spp.

가) *Yersinia* spp.의 분리 및 동정

Yersinia spp. 분리실험은 Bergey's manual, Edward and Ewing's, 미국 FDA method 등에 따라 직접분리법과 저온증균분리법 모두 사용하다. 직접분리법은 무균적으로 채취된 야채류를 미생물균총의 분석 방법과 마찬가지로 stomacher하여 0.1% peptone수에 단계 회석한 뒤 Cefsulodin-Irgasan- Novobiocin(CIN) 평판배지에 도말하여, 28℃에서 48시간 배양한 후 배지상에서 전형적인 집락을 선별하여 brain heart infusion (BHI) agar(Difco)에 계대배양하여 *Yersinia* spp.의 동정시험을 실시하였다. 저온증균분리법은 상기와 같은 방법으로 처리하여 10 ml peptone sorbitol bile broth(PSBB)배지에 넣어 10℃에서 10일간 저온증균 배양 후에 이 배양액 0.1 ml를 0.5% KOH/0.5% NaCl 1 ml에 넣어 30초간 알카리 처리 후 CIN배지에 분리배양하여 *Yersinia* spp. 의 동정시험을 실시하였다.

CIN 배지상에서 자란 *Yersinia* spp.의 전형적인 집락(집락 중앙이 짙은 적색을 띠고 집락주위가 투명한 일명 bull's eye 형태)을 선택하여 Triple Sugar Iron agar(TSI ; Difco)에 접종하여 30℃에서 24시간 배양하였다. *Yersinia* spp.의 TSI 배지 내 전형적인 반응은 alkaline slant/acid butt로서 가스 생성은 없었으며, H₂S 반응은 음성이다. 추가적으로 Urease 생성반응, Citrate 이용반응 등 생화학시험과 운동성시험에서 35 ℃

에서는 음성이고 25°C에서만 양성을 나타내는 *Yersinia* spp.의 추정 균주를 선택하여 API 20E(BioMerieux)에 접종하여 35°C에서 18~24시간 배양하여 결과를 판독하였다. 최종적으로 분리된 *Yersinia* spp.는 -70°C에 냉동보관하며 필요시 사용하였다.

나) 혈청형(serotyping)시험

분리균주의 serotyping은 slide agglutination방법을 사용하였으며, 항혈청으로는 상품화된 *Y. enterocolitica* O:1, 2, O:3, O:5, O:8, O:9 등 5가지 항혈청(Denka Seiken제품)을 사용하였다.

다) 항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 Bauer-Kirby의 디스크 확산법으로 실시하였다. Paper-disc는 BBL사의 ampicillin(10 µg), cephalothin(30 µg), nalidixic acid(30 µg), streptomycin(10 µg), tetracycline(30 µg), tobramycin(10 µg), chloramphenicol(30 µg), kanamycin(30 µg), gentamycin(10 µg), carbenicillin(100 µg), trimethoprim(10 µg), ciprofloxacin(5 µg) 등 12종의 항생제를 사용하였으며, 분리균을 Muller Hinton broth에서 37°C, 6시간 배양하여 그 균액을 Muller Hinton agar에 접종하고 항생제 디스크를 올려놓은 후 37°C, 24시간 배양하여 결과 판독은 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)법을 사용하였다.

라) Polymerase chain reaction(PCR) 분석

PCR은 *Y. enterocolitica* 분리의 병독성을 결정하는데 적용된다.

yst1(5-GTCTTCATTTGGAGGATTCGGC-3), *yst 2* AATCACTACTGACCTTCGGCTGG-3) 옆에 안정한 enterotoxin gene의 primer 그리고 16S1 (5-CGGCAGCGGGAAGTAGTTT-3) 과 Y16S 2(5-CATTACCCACCTACTAGCT-3) primer는 독성을 확인하는데 쓰인다. 각각의 primer는 134bp 그리고 200 bp이다. DNA sample준비는 알칼리성의 용해 방법(Sandery et al., 1996)을 따른다. lysozyme (2 mg/ml) 그리고 proteinase K (200ug/ml)는 15분간 끓인다.

DNA samples는 다음의 구성의 50 µg 혼합반응 안에서 반응한다. 10 mM Tris-HCl (pH 8.8), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂ 0.01% gelatin, 100 µM dNTP; 0.5 µM 각각

primer; 1.25U의 Taq polymerase (Perkin-Elmer Cetus, Norwalk, Conn), and 10 μ l의 chromosomal DNA.

이 혼합물은 100 μ l mineral oil과 Touch Down Thermal Cycler (Hybaid, Teddington, UK)에 38 cycles의 증폭 조건을 필요로 한다. Parameters 확대 주기는 94°C에서 1분으로 변성하고 56°C에서 1분 primer의 가열냉각 그리고 72°C에서 15분간 primer 증폭을 했다.

PCR 증폭 후에, PCR 생성물의 10 μ l은 TAE buffer와 1.5% agarose gels를 첨가하여 전기영동을 하였다. 이 gel은 ethidium bromide과 함께 UV-light transillumination에서 정확한 photograph을 위하여 이용하였다.

2) *Listeria* spp

가) 야채류로부터 *Listeria* spp.의 분리

각종 시료로부터 *Listeria* spp.의 분리 시험은 FDA method에 따라 실시하였다. 즉, 25g의 시료를 멸균된 stomacher bag에 담은 후 225 ml의 listeria enrichment broth (LEB)를 넣고 stomacher (Seward Laboratory, London, UK)로 60초간 분쇄한 후 밀봉하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 2차 증균 배지는 Fraser broth(Difco)를 사용하였으며 LEB 배지에서 생육한 균액 1ml를 ferric ammonium citrate(0.5 g/l)가 첨가된 9ml의 fraser broth에 접종하여 30°C에서 48시간 증균 배양하였다. Esculin을 가수분해한 것을 *Listeria* spp. 양성으로 판정하여 modified oxford agar에 획선 도말하여 37°C에서 24~48시간 배양하였다. 검정색 특유의 *Listeria* spp. colony를 5개씩 무작위로 선택하여 0.6% yeast extract가 첨가된 tryptic soy agar(TSA-YE)에 도말하여 35°C에서 24시간 배양하였다.

나) *Listeria monocytogenes*의 동정

Modified oxford agar 배지로부터 분리한 *Listeria* spp.를 동정하기 위하여 “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” 및 AOAC Official Method of Analysis에 따라 gram staining, catalase test, β -hemolysis, motility, CAMP test 등의 생화학적 시험과 urea와 mannitol, rhamnose, xylose 등의 당 분해능을 검사한 후, API-*Listeria* kit(Biomerieux Co., France)를 사용하여 최종적으로 *L. monocytogenes*임을 확인하였다.

다) *Listeria monocytogenes*의 병원성시험

분리된 *L. monocytogenes*의 병원성은 Bhunia등⁽¹⁰⁴⁾의 방법에 따라 실시하였다. 즉, hybridoma Ped-2E9 cell(2.0×10^6 /ml) 1 ml에 tryptic soy broth에 증균한 *L. monocytogenes* 균액(약 10^9 CFU/ml) 0.1 ml을 접종하여 37°C에서 6시간 배양하였다. 세포 배양액 50 μ l를 취하여 동량의 0.4% trypan blue 액을 혼합하여 2분간 염색한 후 hemacytometer를 사용하여 위상차 현미경 100배 하에서 염색 세포를 계측하였다. *L. monocytogenes*에 의해 hybridoma cell에 90%이상의 독성을 나타낼 때 양성으로 판정하였다.

라) 중합효소연쇄반응(PCR)을 이용한 *L. monocytogenes* 확인시험

(1) 공시 균주

실험에 사용된 *Listeria* spp. 균주는 국내 식품으로부터 본 실험실에서 분리한 균주와 *L. monocytogenes* ATCC 19111, *L. monocytogenes* ATCC 19114, *L. monocytogenes* ATCC 19115, *L. ivanovii* ATCC 19119, *L. innocua* ATCC 33090, *L. welshimeri* ATCC 43547균을 사용하였다.

(2) Oligonucleotide primer

본 실험에서 사용한 primer는 *L. monocytogene*의 nucleotides 1620~2333의 *hlyA* gene을 이용한 primer로서 ELMHLYF(5'-TCCGCCTGCAAGTCCTAAGA-3') ELMHLYR(5'-GCGCTTGCAACTGCTCTTTA-3')를 Bioneer(충북, 청원)에서 합성 정제하여 본 실험에 사용하였다.

(3) PCR mixture의 준비

주형 DNA는 균 배양액을 DNA 추출 없이 1 μ l를 직접 주형 DNA로 사용하였으며, 여기에 *hly A* primer ELMHLYF 및 ELMHLYR 각각 0.5 μ M, dNTP(dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 각 200 μ M, 10×PCR buffer 5 μ l 및 *Taq* DNA polymerase 2.5U를 가하여 멸균 3차 증류수로 총량이 50 μ l가 되게 한 후 PCR 분석 시료로 사용하였다.

(4) PCR 분석

PCR 분석은 Mygenine 32(Thermalblock, Bionner)를 사용하여 주형 DNA를 증폭하였다. 이때 증폭 cycle 회수는 총 35 cycle로 하였으며, 매 cycle 당 95℃에서 30초간 denaturation, 60℃에서 45초간 annealing, 72℃에서 1분간 extention의 순으로 반응을 진행하였고, 단 최초의 cycle은 denaturation 4분, 최종 cycle후 5분간 extention하여 잔여 DNA의 증폭을 마무리한 다음 4℃에서 보관하였다.

(5) Agarose 겔 전기영동법에 의한 PCR 증폭산물의 분석

PCR 증폭산물은 loading buffer와 혼합하여 1.0% agarose gel에 TBE 완충액(100 mM Tris HCl, 83mM Boric acid, 1mM EDTA; pH 8.3)을 이용하여 110V로 40~50분간 전기영동 시키고, ethidiumbromide로 염색한 후 UV transilluminator 상에서 target DNA의 증폭여부를 확인하였다.

라. 양상치와 팽이버섯에 균주 접종

본 실험에 사용한 균주는 *E. coli* O157:H7 2종과 *L. monocytogenes* 3종을 사용하였으며, 각 보관균주는 실험에 사용하기 전 3회 계대하였으며, 그 목록과 계대 배지는 Table 3와 같다. 양상치와 팽이버섯의 inoculation을 위해 각 균은 37℃에서 24시간동안 전배양 하였으며, 이렇게 배양된 균액은 원심분리하여 cell pellet을 모은 후, 적당히 희석하여 양상치와 팽이버섯의 *E. coli* O157:H7 과 *L. monocytogenes*의 초기농도가 ~ 10⁵ CFU/g이 되게 inoculum 하였다.

Table 3. List of strains and media for subculture

Strain	Media
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 932	Tryptic soy broth(Difco)
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	Tryptic soy broth(Difco)
<i>Listeria monocytogenes</i> HPB 1986, 1/2b, clinical isolate	Tryptic soy broth(Difco)
<i>Listeria monocytogenes</i> HPB 1970, 4b, clinical, mother	Tryptic soy broth(Difco)
<i>Listeria monocytogenes</i> HPB 1945, from rainbow trout	Tryptic soy broth(Difco)

마. 오존수의 생성과 생성량

오존수의 농도는 1, 3, 5ppm을 사용하였으며, 오존은 울촌화학의 GW-100모델을 사용하여 현장에서 생성하여 사용하였다(Fig. 1). 각 농도의 확인은 Dissolved Ozone Monitor(Model A15/64, ATI, Inc)을 사용하였다.

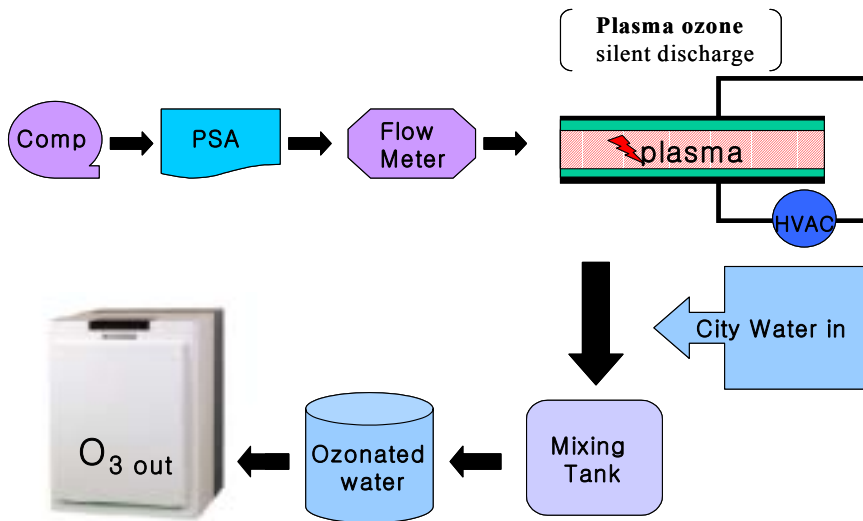


Fig. 1. Conceptual design of plasma ozone generator(GW-1000, Youl chon, Korea).

바. 미생물의 처리와 분석

원료 그대로의 샘플과 병원성 미생물에 inoculum 시킨 샘플(10 g)은 1, 3, 5 ppm의 각 농도의 오존수를 담은 살균된 plastic basket에서 각각 30 sec, 1.5 min, 3 min, 5 min 동안 침지한 후, 물기를 제거했다. 유기산 단독처리는 1% acetic acid, 1% citric acid, 1% lactic acid를 사용하였다. 오존과 유기산의 병용처리는 오존수에 각각의 1% acetic acid, citric acid, lactic acid를 첨가한 후, 양상치는 1.5 min 팽이버섯은 5 min 동안 침지시켰다. 오존과 유기산의 단독 혹은 병용처리 한 처리구는 각각 10 g을 취하여 0.1% peptone수 90mL를 stomacher bag에 넣고 120s 동안 stomacher 한 후 0.1% peptone수에 단계 희석하여 일반 세균과 효모, 곰팡이의 총균수를 측정하기 위한 배지인 PCA(plate count agar, DIFCO) plate 와 PDA(potato dextrose agar, DIFCO) plate 에 0.1 ml를 분주한 후 도말 하였다. 중온균의 측정을 위하여 PCA plate는 37℃에서 24시간 배양하였고, 효모와 곰팡이의 측정을 위하여, PDA plate 는 25℃에서 48시간 배양하였다. *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*의 측정은 각각의 선택배지인 Sorbitol MacConkey agar(DIFCO)와 Oxford medium(DIFCO)를 사용하였고, 각 배지는 37℃에서 24시간 배양한 후 콜로니를 측정하였다.

사. 포장재별 미생물 저감화

포장재에 따른 미생물 저감화 효과를 알아보기 위하여 2종류의 포장재를 선택하여 실험을 하였다. 먼저 전처리는 양상치와 팽이버섯에 물세척, 1% citric acid, 3ppm Ozone 그리고 3ppm Ozone과 1% citric acid의 병용 처리 후 일반적으로 사용하는 랩과 MPF([주]태방과텍, 특허등록094762호)으로 포장하여 온도별(5℃와 15℃)로 저장하여 미생물의 저감화를 실험하였다.

MPF는 Micro Perforated Film으로 일명 “숨쉬는 필름”이다. 신선 농산물은 살아 숨쉬고 있는 생물체이기 때문에 끊임없이 호흡작용을 하여 여기서 배출해내는 에틸렌가스가 소위 ‘깃물러지는 현상’을 촉진시키는 주요인이 된다. 이런 현상을 자연적인 방법으로 포장내부의 가스농도를 희석시켜주는 역할 하는 것이 통기서 MPF이다.

2절 연구 내용 및 결과

1. 신선편이 채소류 제품의 현황 조사 및 유통 중 고품질 유지방법의 개발 및 적정 포장 기술 확립

가. 시판 신선편이 채소류 제품의 현황 조사 및 유통 중 품질변화 조사

다음의 Table 4 와 5는 10종의 시판 최소가공 채소류의 유통과정에서의 현황을 조사한 결과이다. 대형 마트의 신선편이 채소류 제품(Table 4)들은 대부분 자사에서 세척, 박피, 절단 등 전처리공정을 통하여 wrapping하여 10℃ 이하의 저온 상태에서 비교적 고품질과 위생적으로 유통되고 있었으나 처리방법에 대한 자세한 표시가 없었고 대부분 유통기한이 표기되지 않고 있었다. 상추, 양상치, 박피감자, 박피 마늘 등은 대체로 갈변이나 녹변 등 품질이 열화된 상태로 유통되고 있었다.

Table 4. The present conditions of minimally processed vegetables on the super market

	가공형태	포장형태	유통기간	문제점
양상추	절단	PE	·	조직연화보임
양배추	절단	PE	·	절단면갈변, 세척불량
치커리	절단	PE	·	세척불량
감자	박피	PE	가공일 표시	갈변 심함
	다지기	PE	3개월	
마늘	박피, 세척	PE	·	잔여물이 남아있음, 일부 발아
	박피, 세척	망	·	세척 불량, 조직연화, 곰팡이
우엉	무세척, whole	PP	10일	
	절단	무포장	가공일 표시	갈색 및 분홍으로 색 변화
연근	절단	PE	가공일 표시	"
도라지	박피	PE	가공일 표시	세척 불량, 갈변, 이물질 존재
단호박*	·	·	·	·
버섯	절단	PP	·	세척불량, 조직연화

*단호박은 대형 마트에서 유통되고 있는 최소가공제품이 없음.

한편, 재래시장에서는 10종의 채소류 중 마늘, 우엉, 연근 및 도라지만이 세척, 절단된 형태로 물속에 담긴 상태에서 유통되고 있었으며 나머지 품목들은 최소가공처리가 시도된 제품이 없었다. 이들 재래시장에서 유통되고 있는 최소가공 채소류 제품(Table 5)들은 처리방법, 제조일 혹은 유통기한의 표시가 없는 상태에서, 대부분 상온에서 그리고 갈변 등 품질이 크게 저하된 상태로 유통되고 있었다.

Table 5. The present condition of minimally processed vegetables on the traditional market

	가공형태	포장형태	유통기간	문제점
마늘	세척, 박피	PE / 망	-	잔여물이 남아있음, 일부 발아 세척 불량, 조직연화, 곰팡이
		무포장		
우엉	세척, 절단	(물속에 침지한 상태로 유통)	-	갈색 및 분홍으로 색 변화
		무포장		
연근	세척, 절단	(물속에 침지한 상태로 유통)	-	갈색 및 분홍으로 색 변화
		무포장		
도라지	세척, 박피	(물속에 침지한 상태로 유통)	-	세척 불량, 갈변, 이물질 존재

주) 재래시장에서 양상추, 양배추, 치커리, 감자, 단호박, 버섯은 최소가공제품이 유통되지 않고 있음.

Fig. 2~5는 시판되고 있는 양상치, 양배추 및 치커리 최소가공제품을 구입하여 4℃에 저장하면서 품질특성의 변화를 나타낸 결과이다. 중량감소율(Fig. 2)은 유통기간의 경과에 따라 증가하였으며 이에 따라 가용성고형분의 함량(Fig. 3)도 다소 증가하는 경향이였다. 갈변도를 나타내는 420nm에서의 흡광도(Fig. 4) 역시 증가하여 특히 치커리에서의 증가가 높았으나, pH(Fig. 5)는 큰 변화가 나타나지 않았다.



Fig. 2. Weight loss in marketing lettuce, cabbage and chicory.

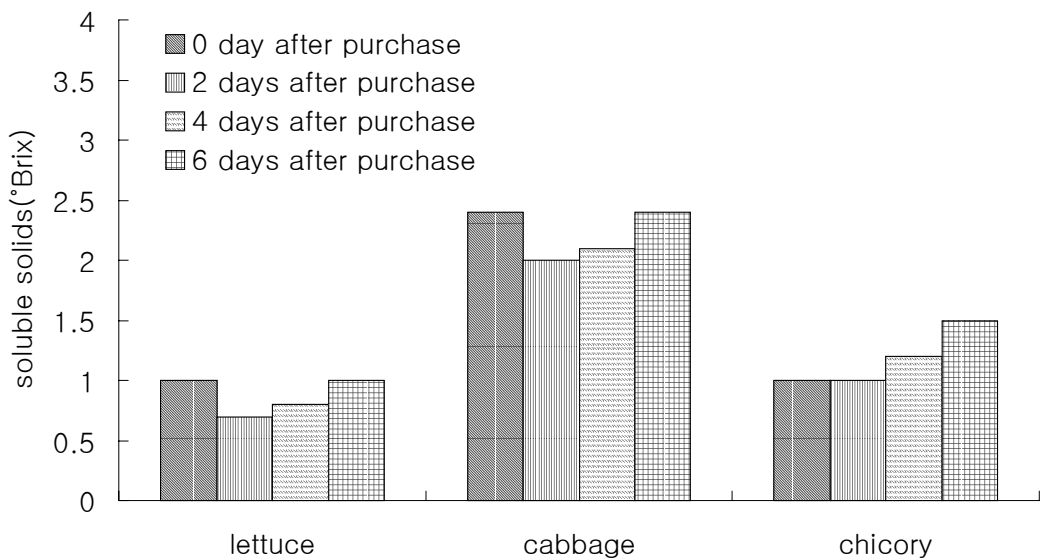


Fig. 3. Changes of soluble solids in marketing lettuce , cabbage and chicory.

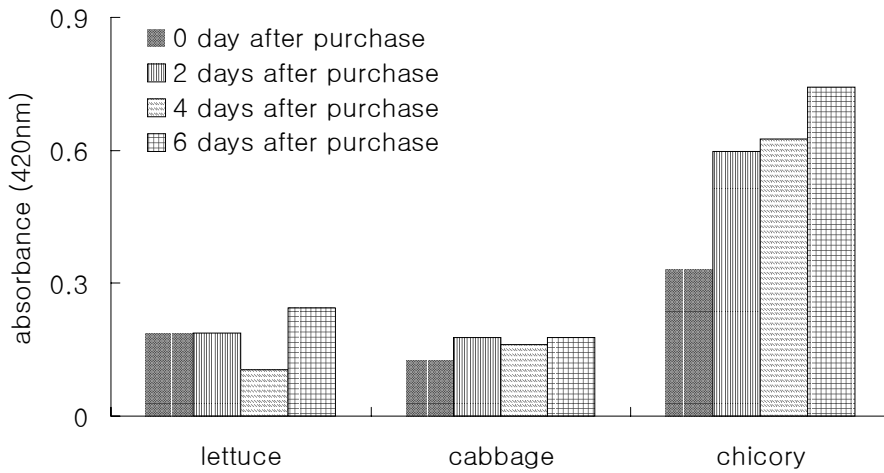


Fig. 4. Changes of absorbance in marketing lettuce, cabbage and chicory.

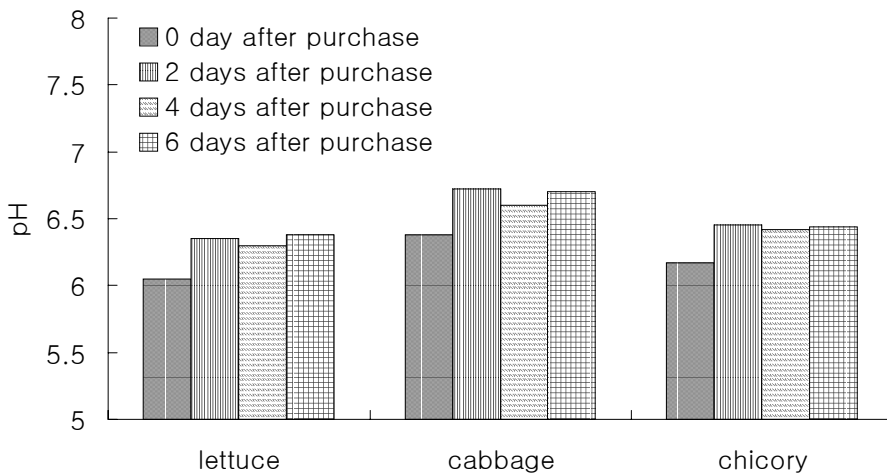


Fig. 5. Changes of pH in marketing lettuce, cabbage and chicory.

Fig. 6 ~ 9는 시판되는 최소가공 버섯, 우엉, 도라지 제품을 구매하여 4°C에서 저장하면서 품질변화를 측정된 결과이다. 중량감소율 (Fig. 6)은 저장기간이 경과함에 따라 크게 증가하였으나 가용성 고형분 (Fig. 7)은 크게 변하지 않았다. 포장내 기체 조성 (Fig. 8)에서 O₂의 농도는 저장기간에 따라 감소하였으며 CO₂의 농도는 증가하였다. pH(Fig. 9)의 경우 버섯에서는 저장기간 중 다소 증가하였으나 우엉과 도라지에서는 저장기간 중 감소하는 경향을 나타내었다.

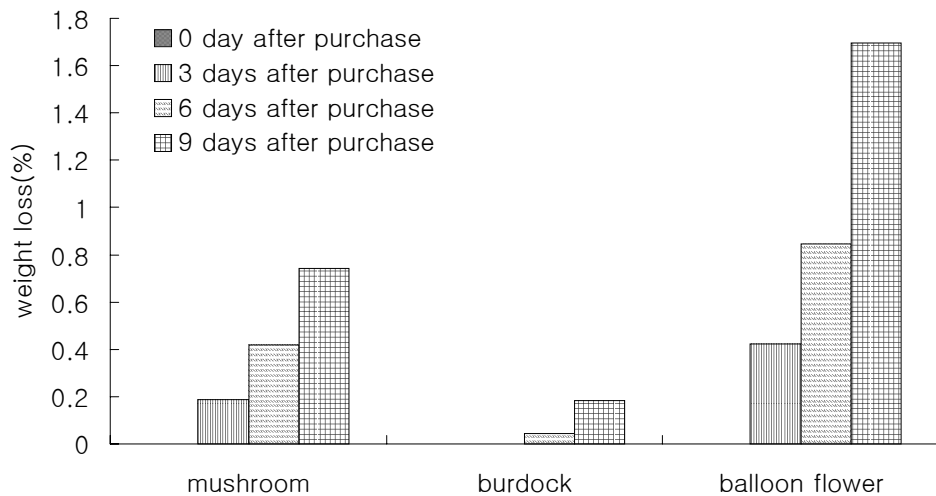


Fig. 6. Weight loss in marketing mushroom, burdock and balloon flower.

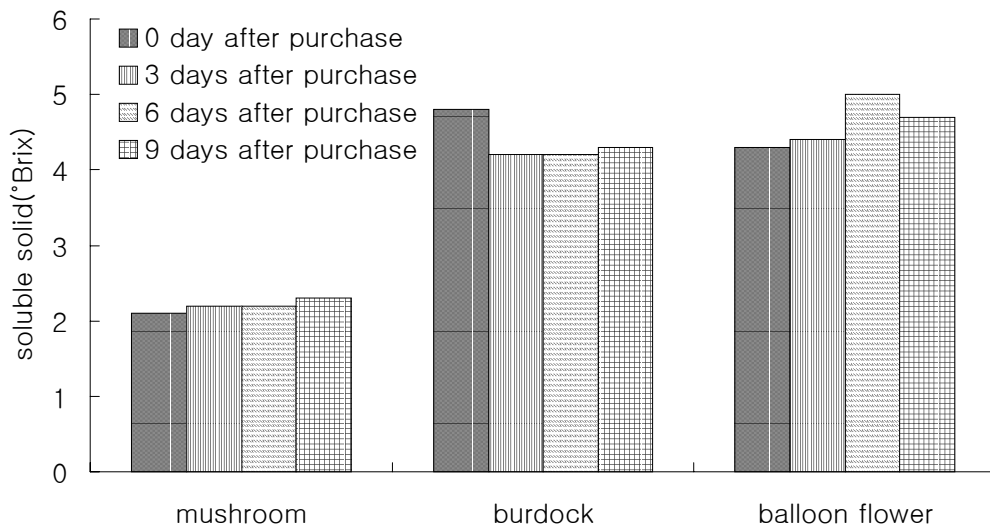


Fig. 7. Changes of soluble solid in marketing mushroom, burdock and balloon flower.

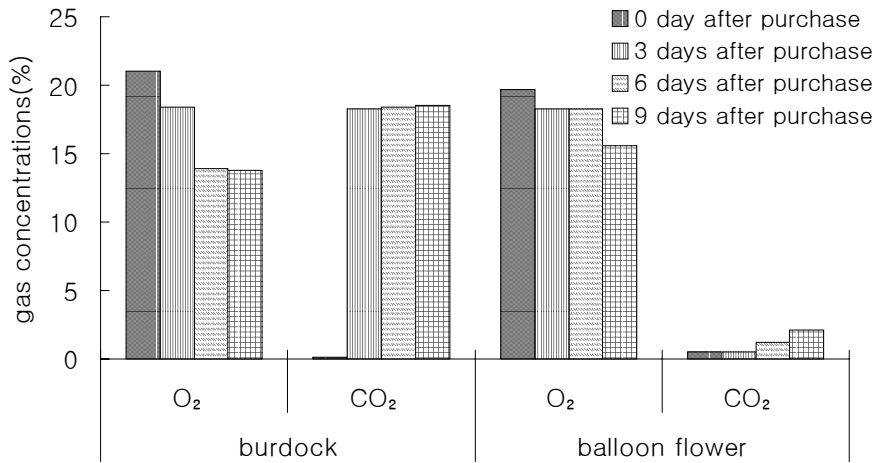


Fig. 8. Change of gas concentrations in marketing burdock and balloon flower.

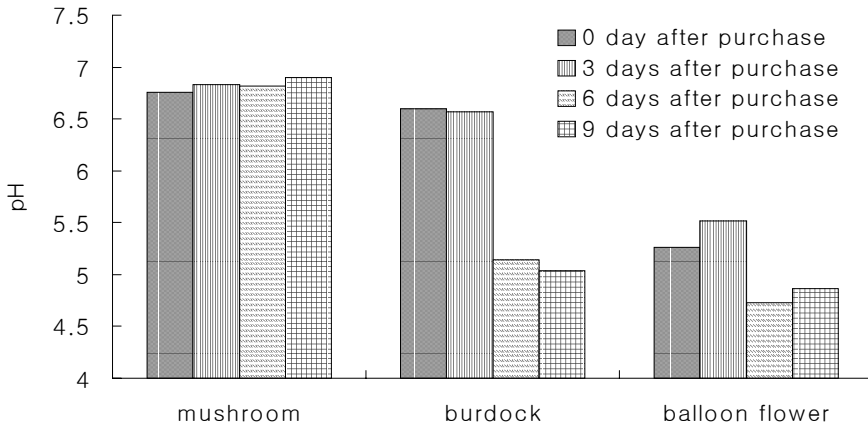


Fig. 9. Changes of pH in marketing mushroom, burdock and balloon flower.

최근, 사용상의 편리함으로 인해 최소가공제품의 수요가 증가하고 있고 시판되고 있는 제품들도 늘어나고 있다. 상기에서 살펴보았듯이 현재 시판되는 제품들은 대부분 전처리 방법이나 유통기간에 대한 표시가 나타나 있지 않고 제품들도 용도에 따라 다양화 되어 있지 않을 뿐만 아니라 갈변, 조직연화, 미생물 발생, 이물질 존재 등 그 품질이 열악하거나 비위생적인 경우가 많다. 따라서 갈변, 조직연화 및 미생물적 품질저하를 방지하기 위한 효율적인 전처리 기술과 유통방법을 개발하여 시판되고 있는 채소류에 새롭게 적용할 필요성이 있다.

나. 고품질 신선편이 채소류 가공제품을 위한 전처리 기술 및 가공기술 개발

고품질의 신선편이 채소류 가공제품 생산을 위해서는 우선 박피, 절단 등의 최소가공 처리에 따르는 효소적 갈변 반응을 효과적으로 제어하여 제품의 갈변을 방지하는 기술의 개발이 무엇보다 필요하다. 과실, 채소류의 효소적 갈변반응은 주로 PPO (polyphenol oxidase)에 의한 기질의 산화로서 발생한다. PPO는 catechol 혹은 그 유도체들이 공기 중의 산소와 결합하여 quinone이나 그 유도체들을 생성하는 반응을 촉매한다. 이렇게 생성된 quinone이나 그 유도체들은 산화, 축합, 중합을 반복하며 갈색색소를 생성하게 된다. 이의 방지를 위한 방법으로는 효소가 반응할 기질을 변형시켜 반응을 중지시키거나, 산소를 차단하여 산화반응이 일어나지 않게 하거나, PPO가 가지는 금속이온인 Cu와 chelate를 형성함에 의해 갈변반응을 중지시키는 방법들을 사용하여 갈변반응을 저해할 수 있다.

1) 화학적 방법이 갈변에 미치는 영향

본 연구에서 사용한 단호박, 양상추, 양배추, 치커리, 버섯, 마늘 감자, 우엉, 연근 등 10 품목의 최소가공 채소류의 효과적인 갈변저해를 위한 다양한 갈변저해제의 처리를 시도하였으며 그 연구 결과들로부터 비교적 효과적인 화학물질을 선발하고 이들을 각각의 최소가공 채소류에 적용하여 본 결과를 요약하면 다음과 같다.

가) 단호박

Fig. 10은 단호박을 절단하여 증류수, 1% ascorbic acid, 1% citric acid, 1% NaCl, 1% MgCl₂ 에 3분간 침지시킨 후 저장 기간 중의 갈변 정도를 나타낸 것으로 단호박의 갈변은 크게 발생하지 않았으나 실험에 사용한 화학적 갈변저해제 중에서 1% NaCl이 가장 효과적이었다.

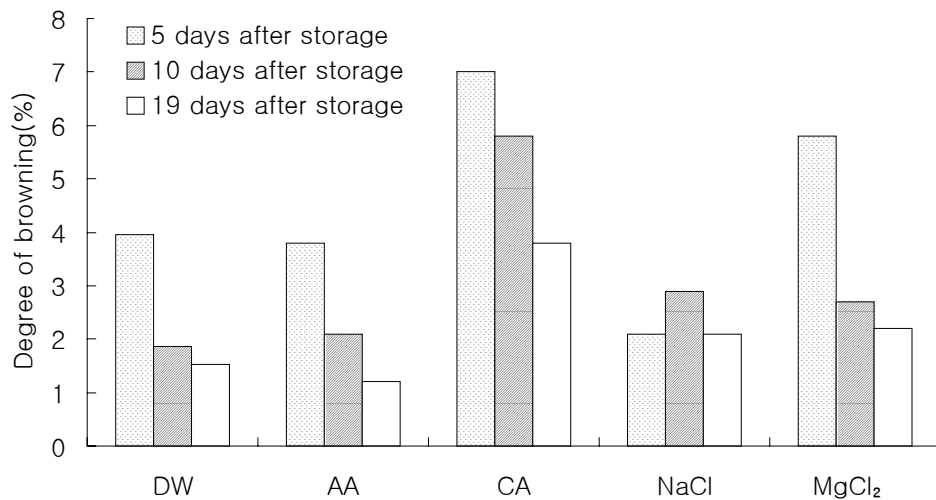


Fig. 10. Browning in minimally processed sweet-pumpkin during storage at 4°C. *DW: distilled water, AA: ascorbic acid, CA: citric acid, NaCl: sodium chloride, MgCl₂: magnesium chloride, Combi: mixture of ascorbic acid, citric acid, sodium chloride and magnesium chloride(1:1:1:1), The concentration of all browning inhibitor was 1%.

나) 도라지

Fig. 11은 도라지에 각각 1%의 ascorbic acid, citric acid, NaCl, cysteine, MgCl₂, malonic acid 및 caffeic acid로 처리하여 저장하면서 3, 6, 24, 27, 48시간 후의 갈변도를 측정하여 L-value로 나타내었다. 박피, 절단처리 후 시간경과에 따라 갈변도가 크게 증가하였으나 cysteine과 malonic acid 처리구는 처리 초기에서부터 24시간에 이르기까지 갈변저해를 효과적으로 나타내었으며 MgCl₂와 caffeic acid는 처리 24시간 이후부터 갈변저해효과를 크게 나타내었다. 그러나 일반적인 갈변방지제인 ascorbic acid, citric acid는 증류수보다는 효과적이었으나 갈변저해효과가 우수하지는 못하였다.

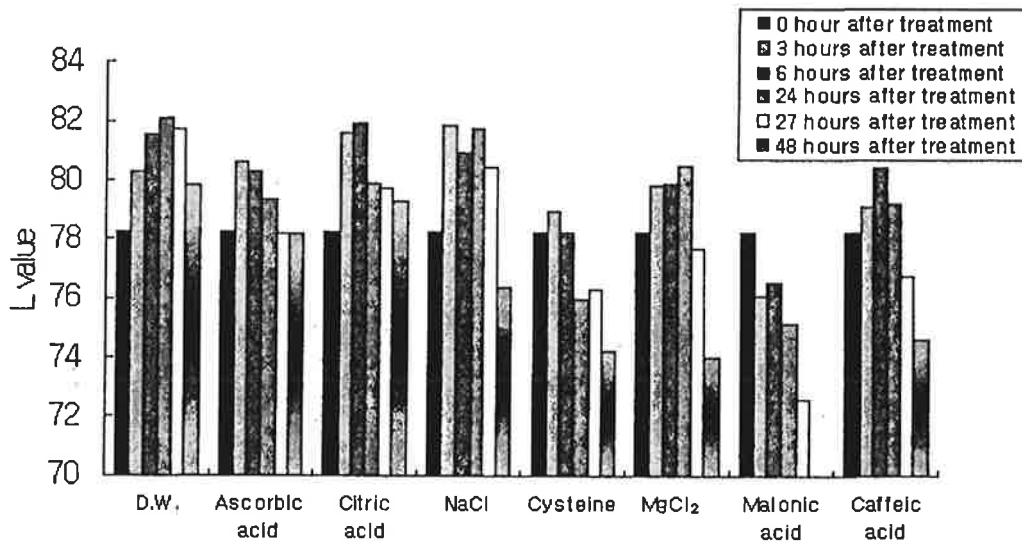


Fig. 11. Browning in minimally processed balloon flower during storage at 4°C.

*The concentration of all browning inhibitor was 1%

다) 양상추

최소가공 양상추는 세계적으로 이용도가 매우 높으나 갈변저해가 어려운 품목으로 알려져 있다. Fig. 12는 양상추를 ascorbic acid, citric acid, NaCl, MgCl₂로 처리 후 24시간과 27시간 후의 갈변정도를 측정된 결과이다. 24시간 이내에서는 0.5% citric acid, 0.5% ascorbic acid 및 1% NaCl이 효과적이었으나, 24시간이 지나서부터는 0.5% citric acid의 효과가 가장 우수하였다. 같은 종류의 갈변저해제라 하더라도 농도에 따라 품목별 갈변저해 정도가 큰 차이를 나타내는 것은 흥미로운 결과라 할 수 있다.

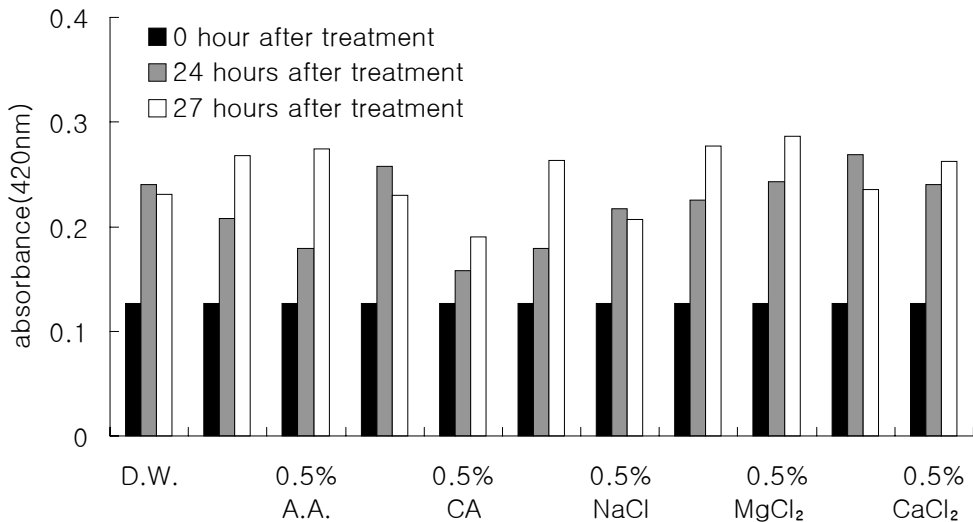


Fig. 12. Effect of browning inhibitors on color change in minimally processed lettuce during storage at 4°C.

*DW: distilled water, AA: ascorbic acid, CA: citric acid, NaCl: sodium chloride, MgCl₂: magnesium chloride, CaCl₂ : calcium chloride

라) 양배추

Fig. 13은 갈변저해제로 ascorbic acid, citric acid, NaCl, MgCl₂, CaCl₂를 1% 및 0.5%의 농도별로 양배추에 처리하고 저장 24시간과 27시간 후의 갈변정도를 흡광도로 측정된 결과이다. 도라지, 양상추와 달리 양배추는 최소가공에 따른 갈변발생이 그리 크지 않은 품목이었으나 처리한 갈변저해제 중에는 1% NaCl의 효과가 가장 좋은 것으로 나타났다.

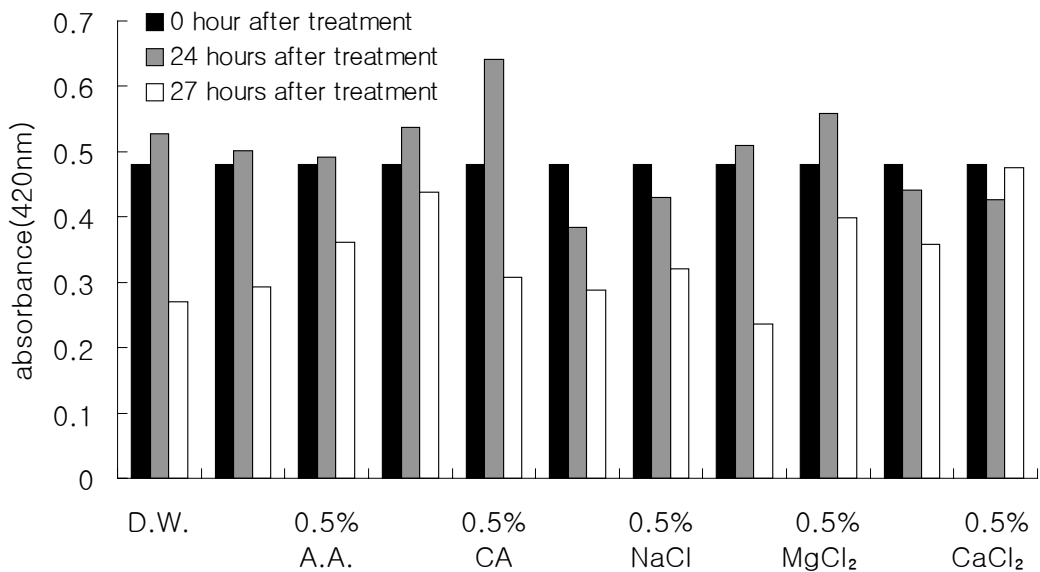


Fig. 13. Effect of browning inhibitors on color change in minimally processed cabbage during storage at 4°C.

*DW: distilled water, AA: ascorbic acid, CA: citric acid, NaCl: sodium chloride, MgCl₂: magnesium chloride, CaCl₂ : calcium chloride

마) 치커리

Fig. 14는 갈변저해제로 1% 및 0.5%의 ascorbic acid, citric acid, NaCl, MgCl₂, CaCl₂를 처리하여 저장하면서 24시간과 27시간 후에 갈변정도를 흡광도로 측정한 결과이다. 치커리는 가공 24시간 이내에서는 갈변정도가 크지 않았으나 24시간을 경과하면서 갈변도가 크게 증가되는 품목으로서 1% ascorbic acid 처리구에서 갈변에 따른 흡광도 증가가 가장 낮게 나타났다.

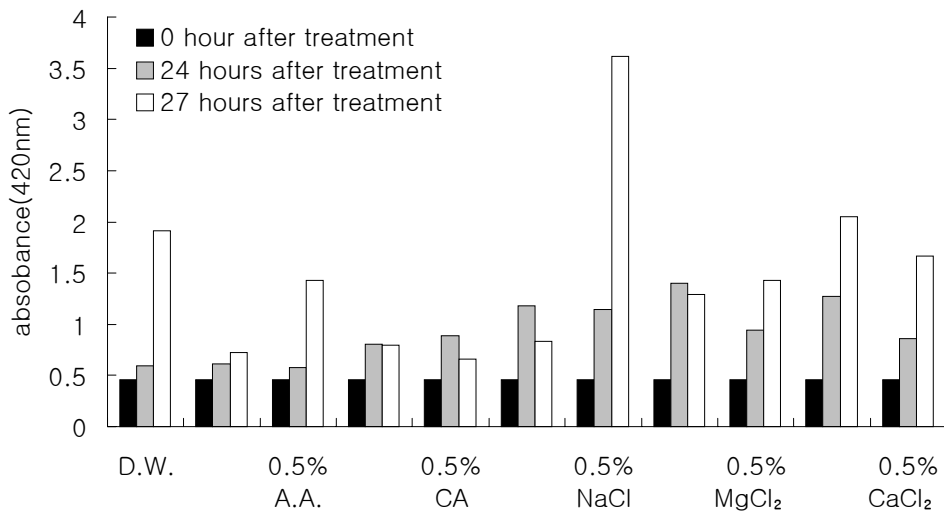


Fig. 14. Effect of browning inhibitors on color change in minimally processed chicory during storage at 4°C.

*DW: distilled water, AA: ascorbic acid, CA: citric acid, NaCl: sodium chloride, MgCl₂: magnesium chloride, CaCl₂ : calcium chloride

바) 버섯류

양송이버섯은 국내외에서 신선절단 채소류로서 가장 광범위하게 이용되고 있는 중요한 품목 중 하나이다. Fig. 15는 양송이에 갈변저해제로 1% ascorbic acid와 1% cysteine을 처리한 후 저장기간에 따른 갈변도를 %로 나타낸 결과이다. 모두 증류수에 처리한 것보다 저장 10일까지 비교적 우수한 결과를 나타냈으며 특히 1% cysteine 처리구는 저장 3일까지 ascorbic acid에 비해 월등히 우수한 결과를 나타내었다.

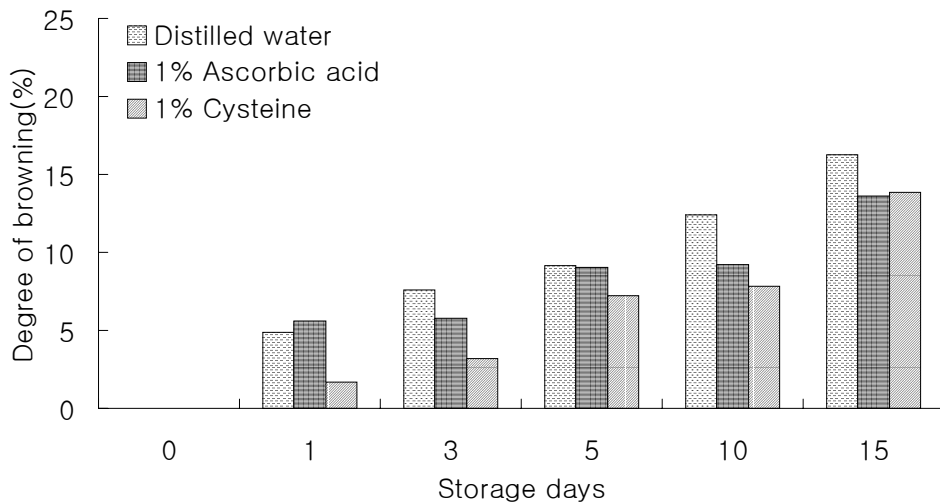


Fig. 15. Effect of browning inhibitors on degree of browning in minimally processed mushroom (*Agaricus bisporus*) during storage at 4°C. Concentration of ascorbic acid and cysteine was 1%.

최소가공 느타리버섯에 대한 1% ascorbic acid와 1% cysteine의 갈변저해 효과를 조사한 결과는 Fig. 16과 같다. 양송이버섯의 경우와는 달리 1% ascorbic acid는 대조구인 증류수 처리구에 비해 갈변저해효과가 나타나지 않았으나 1% cysteine 처리는 저장 5일 이후부터 다소의 갈변저해 효과를 나타내었다. 1% cysteine이 최소가공 양송이버섯의 초기 갈변억제에 매우 효과적이었는데 비해 느타리버섯에서는 그 효과가 미세하였다.

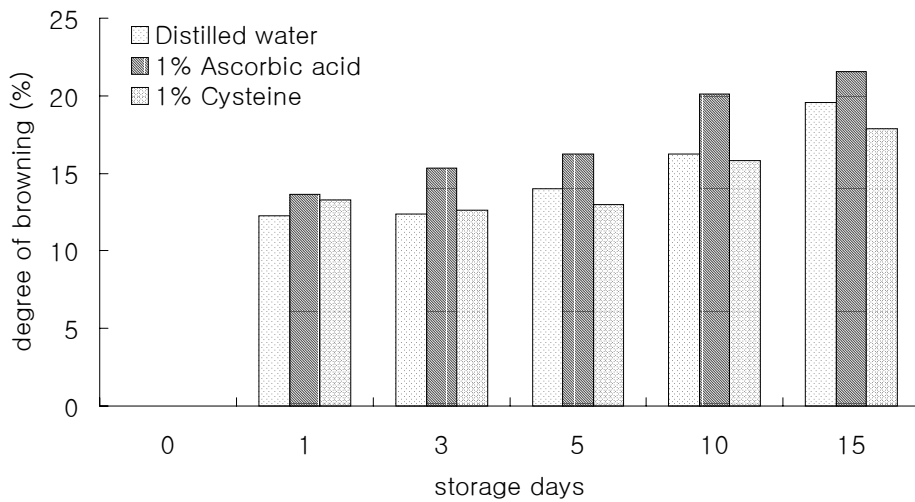


Fig. 16. Effect of browning inhibitors on degree of browning in minimally processed mushroom (*Pleurotus ostreatus*) during storage at 4°C. Concentration of ascorbic acid and cysteine was 1%.

바) 마늘

마늘은 현재 깎마늘 혹은 다진 마늘 형태의 최소가공제품으로 유통되고 있으며 유통 중 갈변도의 증가는 품질에 가장 중요한 요소로 인식되고 있다. Fig. 17은 깎마늘에 각각 1%농도의 ascorbic acid, citric acid, NaCl, MgCl₂를 갈변저해제로 처리한 후 저장기간의 경과에 따른 갈변도의 변화를 L값으로 나타낸 결과이다. 실험에 사용한 대부분의 갈변저해제가 효과를 나타내었으나 그중 MgCl₂와 NaCl에서 비교적 우수한 효과를 나타내었다.

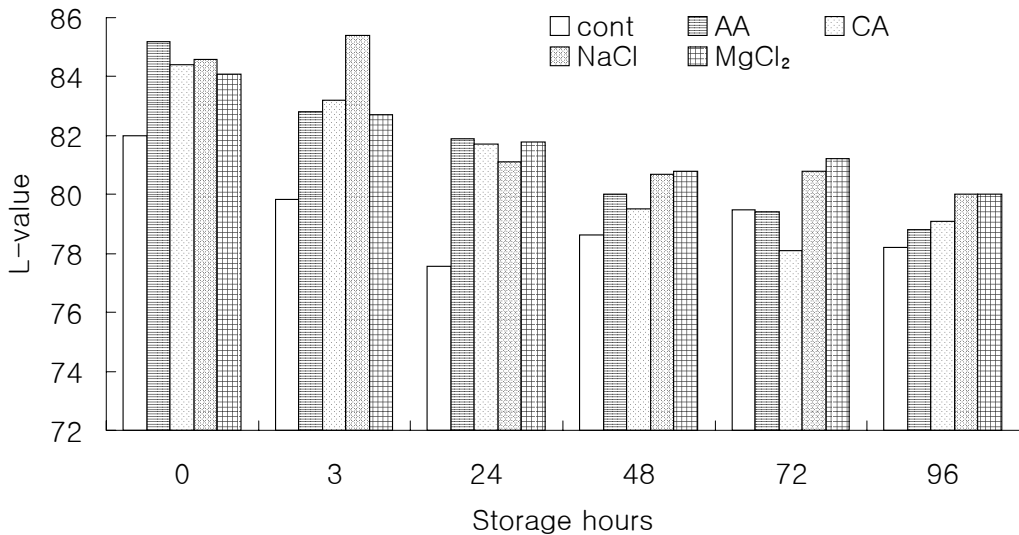


Fig. 17. Effect of browning inhibitors on color change in minimally processed garlic during storage at 4°C.

*Cont: distilled water, AA: ascorbic acid, CA: citric acid, NaCl: sodium chloride, MgCl₂: magnesium chloride,

사) 감자

신선절단 감자는 세계적으로 그 수요가 급증하고 있으나 아직 효과적인 갈변저해제 혹은 갈변저해기술이 개발되어 있지 않고 있는 실정이다. 신선절단 감자의 갈변저해를 위하여 시험한 많은 종류의 chemical 중 효과적인 것들을 선발하였다. Fig. 18은 갈변저해제로 sodium chloride, magnesium chloride, calcium chloride, gluconic acid lactone을 신선절단 감자에 처리하고 3시간 후의 dL값으로 갈변도를 나타낸 결과이다. 특히 감자에서 dL값이 음의 값을 나타낸 것은 감자의 경우는 갈변저해제 처리 후 시간 경과에 따라 부분적으로 건조되면서 표면이 표백되는 효과가 발생하기 때문인 것으로 여겨진다. 시험에 사용한 sodium chloride, magnesium chloride, calcium chloride, gluconic acid lactone 중에서 sodium chloride와 magnesium chloride가 dL값의 차이가 작게 나타났으며 갈변저해의 효과를 나타냈다.

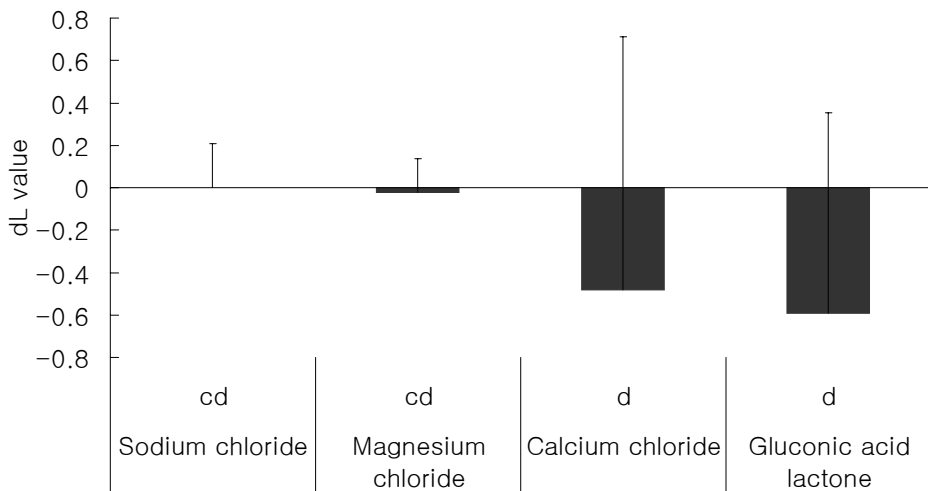


Fig. 18. Degree of browning in fresh-cut potatoes treated with protein coagulating agents. Duncan's multiple range tests ($p=0.05$) were performed. Any treatments which were not significantly different from one another are illustrated as the same letter in the graph. $dL = L_{initial} - L_{3h}$

아) 연근

연근은 우엉과 같이 오래 전부터 우리나라에서 이용되어온 근채류로서 특히 원료의 경우 흙이 부착되어 있어 가정에서 손질하기 어려운 채소류들이다. 따라서 최근 들어 세척, 절단된 최소가공 제품이 많이 유통되고 있으나 갈변이 쉽게 발생하므로 신선절단 제품은 물에 침지된 상태로 유통되고 있는 경우가 대부분이므로 품질저하는 물론 미생물 감염 등 위생적 문제점이 발생할 수 있는 품목이므로 위생적이고 고품질의 신선절단 제품을 위해서는 새로운 가공기술의 개발이 반드시 요구된다고 할 수 있다. Fig. 19는 신선절단 연근을 각 농도의 citric acid, cysteine 및 sodium acetate로 처리한 후 저장하면서 갈변저해효과를 조사한 결과이다. 대조구의 경우 저장 중 갈변이 진행됨에 따라 L값이 크게 감소하였으나 갈변저해제 처리구에서는 L값의 감소가 크게 억제되었다. 특히 저장 5일 째에서는 0.3% cysteine 처리가 가장 효과적이었다.

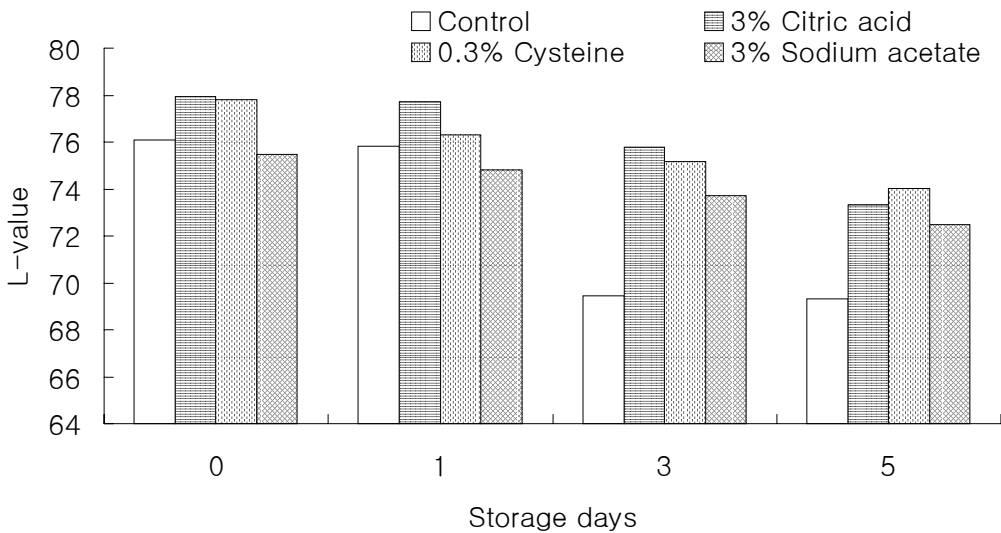


Fig. 19. Changes in L-value of Lotus root with browning inhibitors during storage at 4°C.

자) 우영

우영의 경우에는 연근과는 달리 3% sodium chloride와 함께 3% citric acid 및 0.3% cysteine을 선발하였다. 우영을 신선절단 후 이들 갈변저해제로 3분간 침지처리한 후 1주일간 저장하면서 L값의 변화를 조사한 결과는 Fig. 20과 같다. 선발된 갈변저해제 처리구 모두는 우영의 1주일간 저장 기간 중 L값의 감소를 거의 가져오지 않아 매우 높은 갈변저해효과를 나타내었다. 그러나 가격이나 다른 품질 요소에 미치는 영향을 감안한다면 3% sodium chloride가 우영의 갈변저해제로서 가장 적합한 것으로 사료되었다.

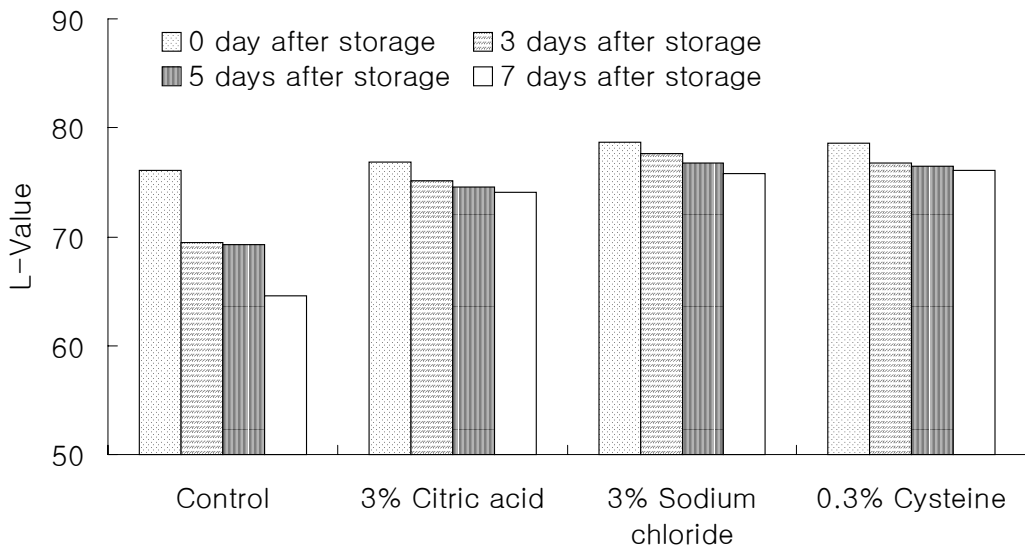


Fig. 20. Changes in L-value of burdock with browning inhibitors during storage at 4°C.

2) 물리적 방법이 갈변에 미치는 영향

갈변반응 제어를 위한 화학적 방법이 주로 PPO와 chelate를 형성하거나 1차 갈변 생성물인 diphenol이나 quinone을 다시 환원시키는 환원제의 적용방법이다. 그러나 물리적 갈변반응제어 방법으로는 PPO 혹은 기질을 파괴하거나 효소적 갈변반응을 지연시키거나 혹은 산화적 반응인 갈변반응에 산소공급을 제어함으로써 갈변을 방지 혹은 억제하는 방법들이다. 본 연구에서는 최근 그 응용성이 매우 증가하고 있는 저온 blanching에 의한 heat shock, 오존처리 및 저온 하에서의 가공방법을 통한 갈변제어 효과를 조사하였다.

가) heat shock 처리

(1) 감자

Fig. 21은 각각의 갈변저해제 용액의 온도를 달리하여 3분간 dipping하면서 blanching 처리한 후 3시간 후의 갈변도를 dL 값으로 나타낸 결과이다. 15°C의 증류수에 침지하여 3분간 dipping한 대조구보다 40°C 및 50°C 저온blanching 처리구에서는 모든 갈변저해제에서 갈변반응이 현저히 제어되었으나 60°C와 70°C에서는 15°C 경우보다 오히려 갈변반응이 촉진되는 결과를 보였다. 최근 저온에서의 blanching 처리가 효소활성 및 조직감에 미치는 영향에 대한 보고가 많은데 특히 이러한 저온 blanching은 갈변반응에 관여하는 효소의 활성을 억제하여 갈변 저해를 일으키는 것으로 나타났다.

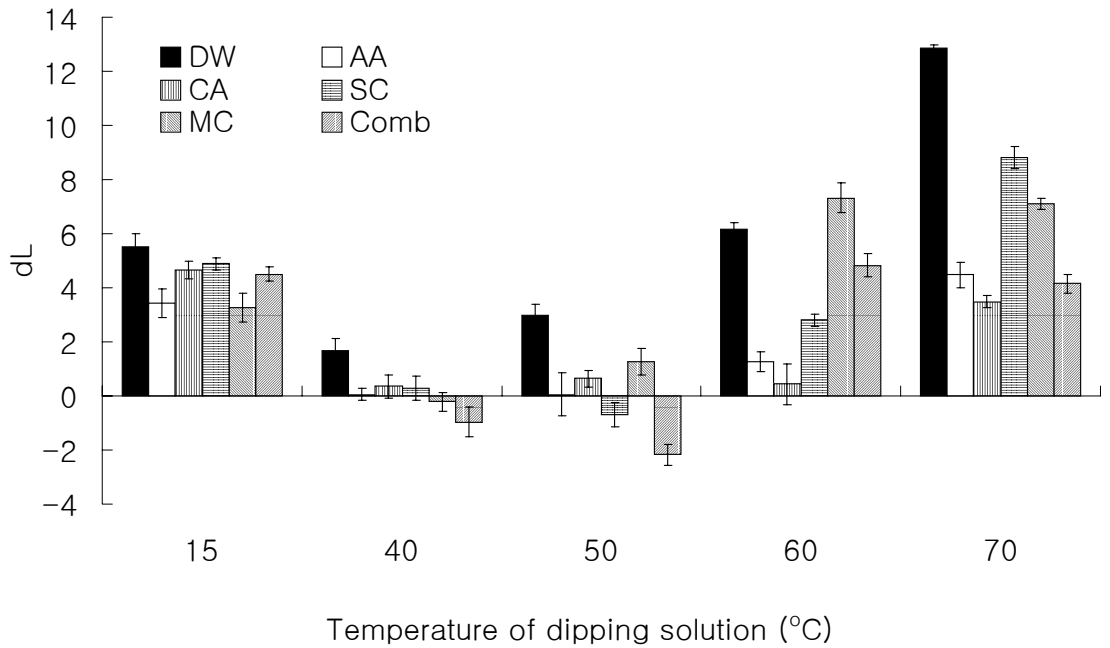


Fig. 21. Degree of browning in fresh-cut potatoes dipped in different temperature of antibrowning solution. DW = distilled water, AA = 1% ascorbic acid, CA = 1% citric acid, SC = 1% sodium chloride, MC = 1% magnesium chloride, Comb = mixture solution (1%) of ascorbic, citric, sodium chloride and magnesium chloride (1:1:1:1), $dL = L_{initial} - L_{3h}$

(2) 우영

우영의 경우는 Table 6에서 보는 바와 같이 60℃에서 20초간 blanching처리한 우영의 저장 1주 후 갈변도가 0.69로 나타나 다른 처리구에 비해 갈변저해 효과가 매우 우수함을 알 수 있었다. 이는 열처리한 사과와 L 값이 열처리하지 않은 사과와 L 값보다 높게 나타났던 보고와 관련지어 볼 때 blanching 처리가 갈변저해 효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 6. Effect of blanching condition on degree of browning in minimally processed burdock during storage at 4℃.

		Storage days				
		1	3	5	7	14
60℃	Control	1.59*	16.19	13.53	15.80	18.15
	5 sec	-1.27	1.29	6.49	11.74	25.99
	10 sec	-0.27	0.44	3.65	9.76	22.83
70℃	20 sec	-1.09	-0.53	0.41	0.69	5.92
	5 sec	-0.71	4.55	8.95	13.08	30.01
	10 sec	0.84	4.28	6.78	10.97	29.68
80℃	20 sec	6.53	12.23	13.54	22.35	28.99
	5 sec	6.53	12.23	13.54	22.35	28.99
	10 sec	0.31	8.36	10.21	18.87	32.03
	20 sec	28.97	25.92	25.65	25.30	36.04

*Values are ΔL -value after each storage days.

나) 오존처리

강력한 산화제인 오존은 다른 물질과 쉽게 반응하는 성질을 이용하여 나쁜 냄새를 없애거나 살균하는데 사용되고 있다. 이러한 오존을 갈변저해의 목적으로 감자에 처리하여 갈변정도를 측정 한 결과가 Fig. 22에 나타나 있다. 대조구로 1% ascorbic acid를 사용한 결과 오존수처리가 1% ascorbic acid 보다 좋은 효과를 나타내었으나 오존가스는 오히려 갈변도가 증가되었다. ascorbic acid는 1차 갈변생성물인 diphenol 이나 quinone 을 환원시키는 환원제로서 작용하나 오존은 효소적 갈변반응의 기질 물질들을 미리 산화시킴으로서 PPO에 의한 산화적 갈변을 억제하거나 PPO효소에 직접 작용함에 의해 갈변억제 효과가 나타나는 것으로 사료된다.

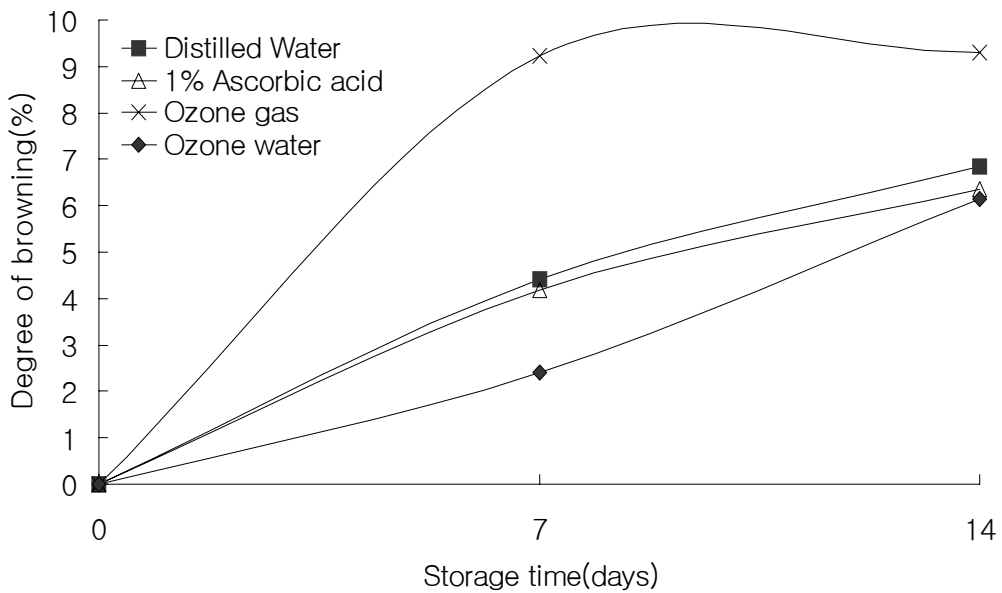


Fig. 22. Degree of browning in fresh-cut potatoes treated by ozone gas and ozone water.

3) 저온가공이 품질 특성에 미치는 영향

일반적으로 저온에서는 상온에서보다 효소반응이나 호흡, 증산 등 생리작용이 저하되므로 신선식품의 저장 중 품질유지에 긍정적인 영향을 미친다. 최소가공은 절단 등 격심한 생리작용들이 수반되므로 그 가공조건이 제품의 품질에 매우 크게 영향을 미칠 것으로 기대된다. 그러므로 우엉을 시료로 하여 세척, 박피, 절단, 갈변저해처리 등의 최소가공을 4°C저온과 25°C의 상온에서 각각 행하고 저장 중 품질변화를 조사하였다 (Fig. 23-27).

중량감소율(Fig. 23)과 경도(Fig. 24)에서의 변화는 저온가공과 상온가공에 따른 뚜렷한 차이가 나타나지는 않았으나 최소가공 우엉의 가장 중요한 품질요소인 갈변도(Fig. 25)에서는 저온 가공구에서 월등히 좋은 결과를 나타내었다. 특히 1% NaCl용액에서 저온가공한 경우 저장 10일째 증류수에서 상온가공한 우엉에 비하여 갈변도 증가는 단지 30% 내외에 그쳤다. 또한 저온가공 우엉은 포장 내 CO₂농도(Fig. 26)의 변화와 가용성고형분(Fig. 27)에서도 상온가공에 비하여 그 변화폭이 작은 것으로 나타났다.

이러한 결과는 저온가공 조건이 최소가공 채소류의 품질유지에 큰 영향을 미칠 수 있음을 보여주는 것으로 우수한 품질의 최소가공 제품을 유통하려면 현재 거의 대부분의 최소가공이 상온에서 이루어지는 가공과정을 저온가공 방법으로 개선할 필요가 있음을 알 수 있다.

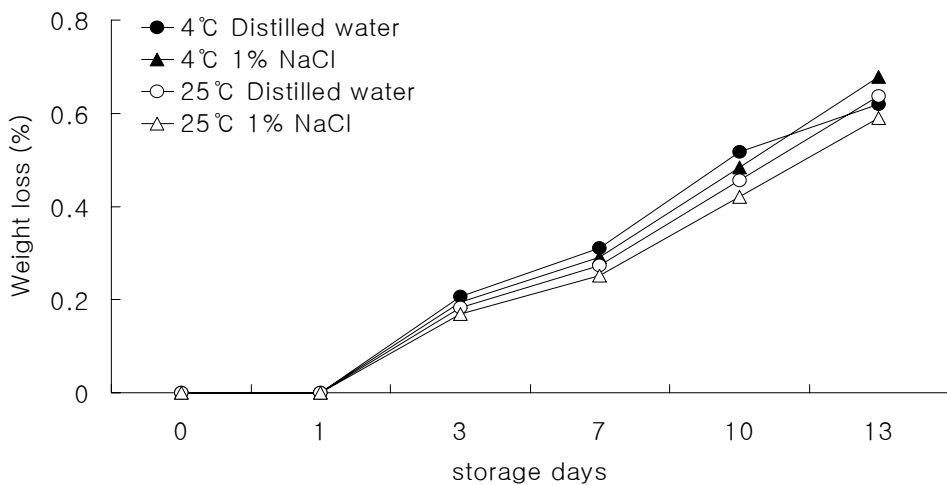


Fig. 23. Effect of low temperature processing on weight loss in burdock.

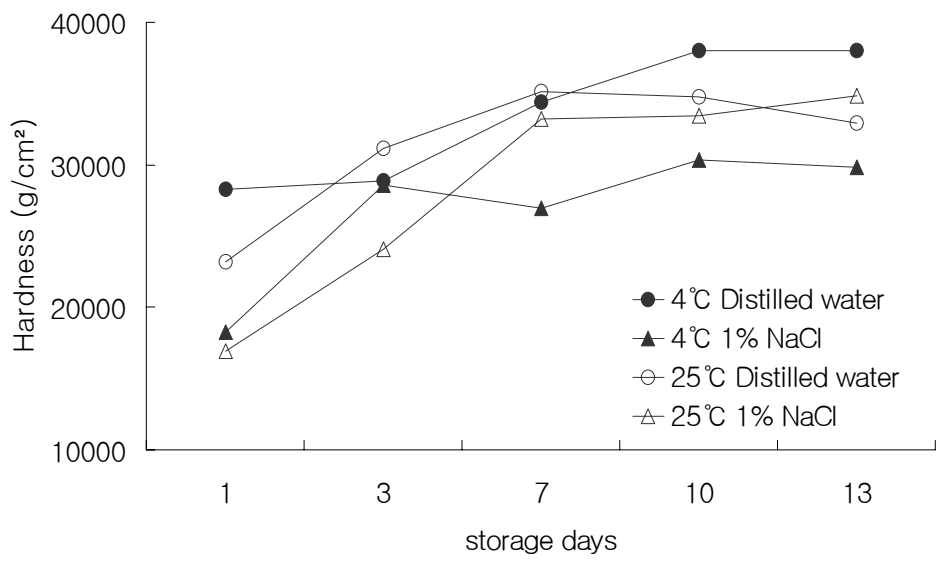


Fig. 24. Effect of low temperature processing on hardness in burdock.

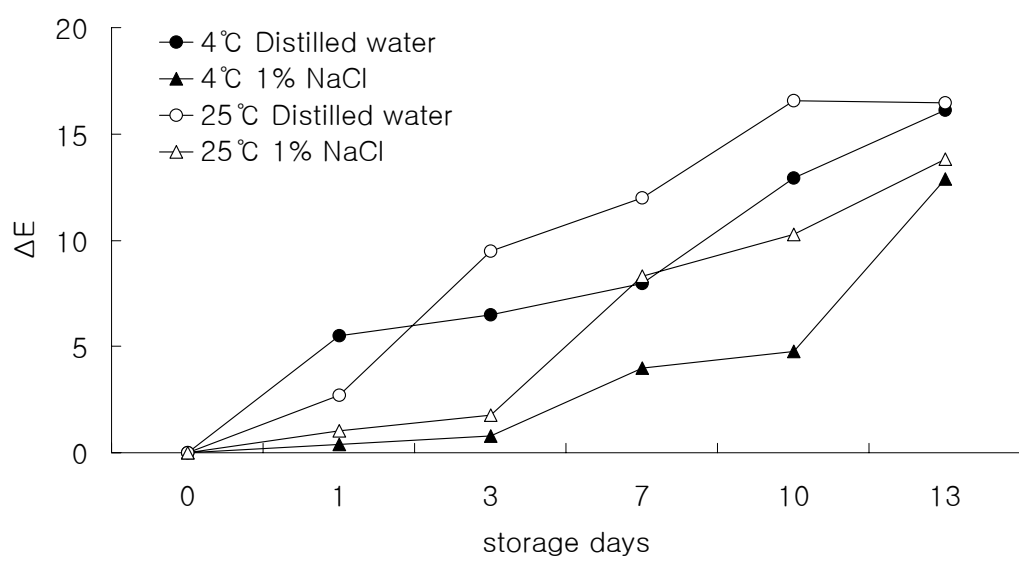


Fig. 25. Effect of low temperature processing on ΔE in burdock.

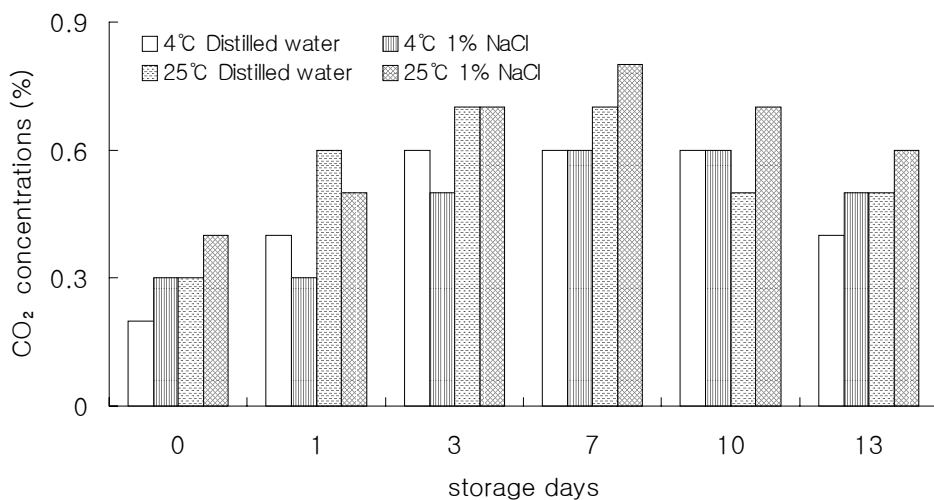


Fig. 26. Effect of low temperature processing on CO₂ concentrations in burdock.

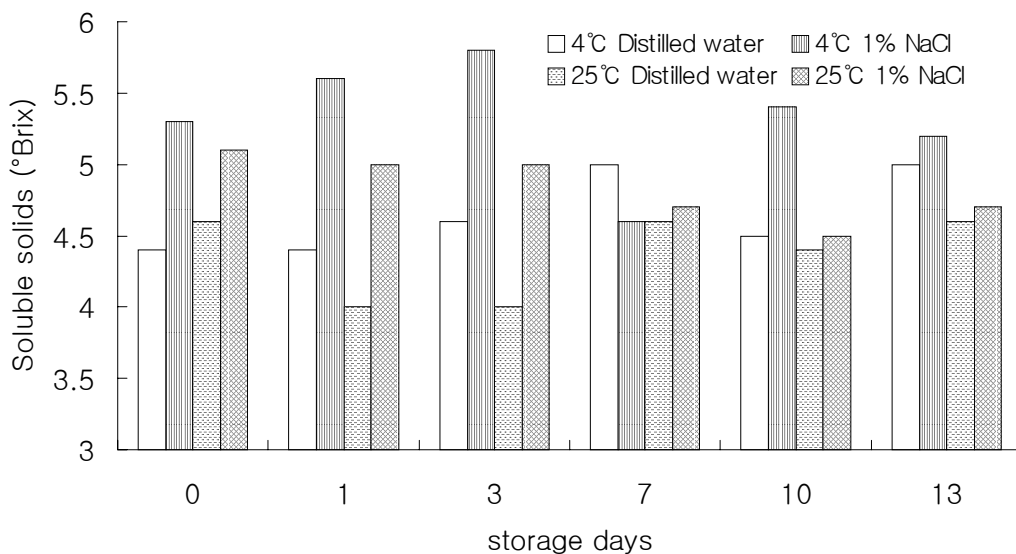


Fig. 27. Effect of low temperature processing on soluble solids in burdock.

4) 천연추출물이 신선절단 채소류의 품질특성에 미치는 영향

가) 버섯류

식품의 가공이나 보존에 있어 천연물질의 이용은 기능성 식품의 전개와 함께 매우 중요한 연구 분야가 되어왔다. 신선절단 버섯류의 갈변을 제어할 수 있는 천연물들을 선별하고자 Table 7과 같은 과실, 한약재류 등으로부터 0.5%~10% 농도의 추출물을 얻고 그 중 비교적 우수한 천연추출물을 대상으로 품질에 미치는 영향을 검토하였다.

Table 7. Antibrowning agents tested to inhibit browning of minimally processed mushrooms.

Antibrowning agents	Concentration(%)	Antibrowning agents	Concentration(%)
ascorbic acid	1, 2	황기	2
citric acid	1, 2	산약	2
sporix	0.5, 1	감초	2
cysteine	1	당귀	2
EDTA	1	생강	2
레몬	2	백출	2
키위	2	오약	2
자두	2	계피	2
감귤	2	청피	2
녹차	1, 2, 5, 10	향부자	2
피망	2	시체	2
참깨	2	지각	2
양배추	2	진피	2
굴껍질	2	건칠	2
무순	2	목향	2
무	2	구기자	2
양파	2	맥문동	2
rhubarb	2	천문동	2

(1) 갈변도

예비실험에서 선발된 천연물(천문동, 계피, 키위추출물)과 1% cysteine 및 ascorbic acid의 신선절단 양송이버섯에 대한 저장 중 갈변도에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 28과 같다. 천연물 중 천문동 추출물은 저장 10일까지 1% cysteine과 유사한 우수한 갈변저해능을 나타내었으며 계피추출물은 저장 3일까지만 1% ascorbic acid와 유사한 약간의 효능을 나타내었다. 그러나 kiwi 추출물은 신선절단 양송이버섯의 갈변억제에 효과를 나타내지 못하였다. Chemical 중 인산염의 일종인 Sporix (서도 BNI, 안산시. 한국)는 저장 초기인 5일까지는 비교적 우수한 갈변저해능을 나타내었다.

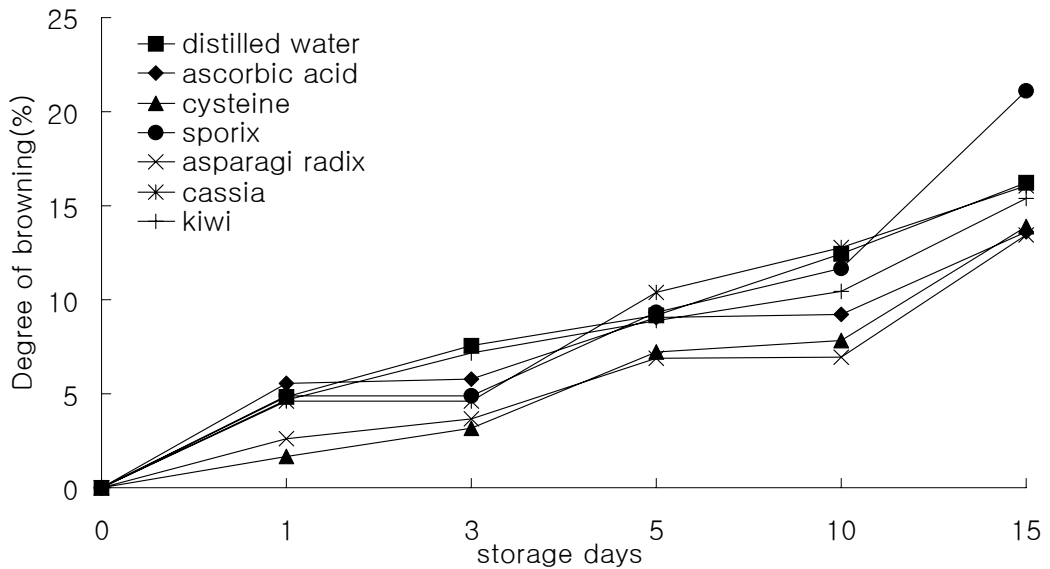


Fig. 28. Effect of browning inhibitors on degree of browning in minimally processed mushroom (*Agaricus bisporus*) during storage at 4°C. Concentration of ascorbic acid and cysteine was 1%, sporix was 0.5%. 2 g of dried natural browning inhibitor was extracted with 100 ml of water at 35°C for 2 hr.

느타리버섯의 경우(Fig. 29)는 양송이버섯과는 달리 대부분 저장초기에 급격한 갈변도의 증가를 나타내었으며 적용한 갈변저해제에 따른 갈변도의 차이가 비교적 크게 나타났다. 그러나 양송이의 저장기간에 우수한 효과를 나타낸 1% cysteine과 초기에 다소의 효과를 나타낸 1% ascorbic acid는 신선절단 느타리버섯의 저장 중 갈변제어에는 효과를 나타내지 못하였다. 이는 양송이버섯과 느타리버섯의 갈변기작이 서로 상이하다는 것을 나타내는 결과로 여겨진다. 천연 갈변저해제로서 천궁과 산약 추출물 처리구는 느타리버섯의 저장 기간 중 갈변도 증가를 매우 효과적으로 억제하였다.

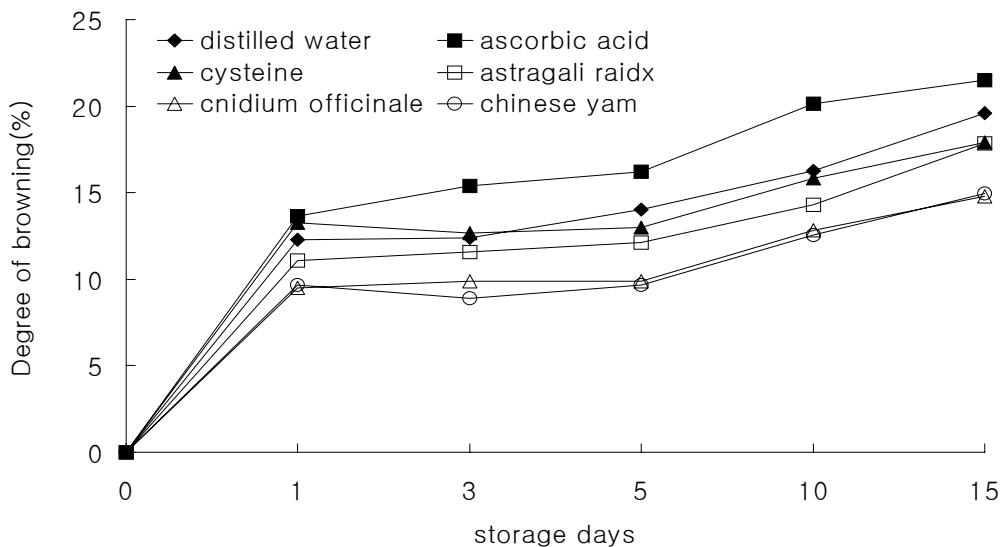


Fig. 29. Effect of browning inhibitors on degree of browning in minimally processed mushroom (*Pleurotus ostreatus*) during storage at 4°C. Concentration of ascorbic acid and cysteine was 1%. 2 g of dried natural browning inhibitor was extracted with 100 ml of water at 35°C for 2 hr.

(2) 호흡률

신선절단 후 갈변저해제를 처리하여 최소가공한 느타리버섯을 저밀도 폴리에틸렌 필름에 포장저장 하면서 저장 중 포장내부의 공기조성을 측정 한 결과는 Fig. 30과 같다. 느타리버섯에서는 저장 중 천천히 증가하여 저장 10일 후에 이산화탄소 농도가 약 3.0%에 도달하였으며 갈변저해에 효과적이었던 천궁과 산약 추출물 처리구에서 산소의 감소속도 및 이산화탄소의 증가속도가 비교적 낮게 나타났다.

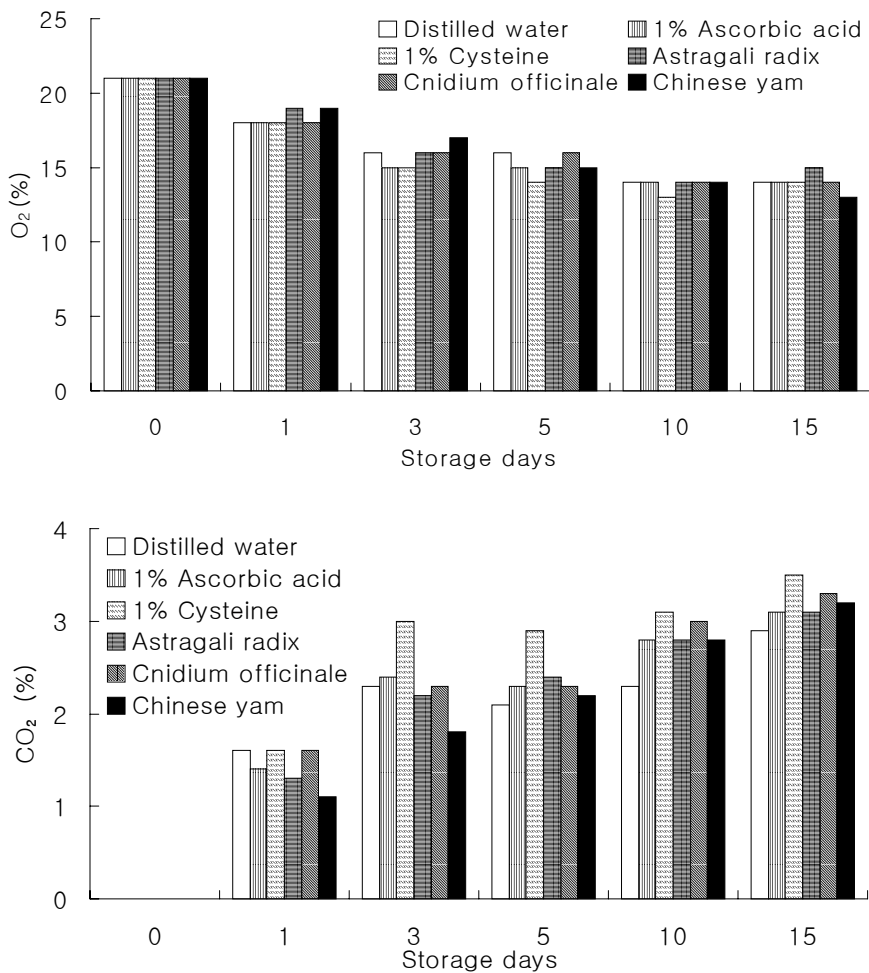


Fig. 30. Effect of browning inhibitors on respiration rate in minimally processed mushroom(*Pleurotus ostreatus*) during storage at 4°C

(3) Polyphenol oxidase 활성

갈변현상은 단순히 효소와 기질의 반응 정도로만 생각하기에는 매우 복잡한 현상이다. 효소를 억제하더라도 기질의 농도에 따라 갈변반응이 저해될 수도, 촉진될 수도 있으며 또한 이들 두 효소와 기질의 반응 기회를 증가시킬 수 있는 환경의 조성으로 인해 효소의 활성이 저해되었음에도 불구하고 어느 정도의 갈변 반응이 발생할 수 있을 것이다. 그러나 많은 연구들을 통해 polyphenol oxidase는 갈변의 원인이 되는 효소로 알려져 있다. Polyphenol oxidase 활성은 색도와 함께 저장 중 과실, 채소류의 품질변화를 나타내는 중요한 척도로 사용된다. 갈변저해제 처리가 양송이버섯의 저장 중 polyphenol oxidase 활성에 미치는 영향은 Fig. 31과 같다. 1% cysteine 처리구에서 꾸준한 PPO 활성의 증가가 나타난 반면 다른 처리구에서는 PPO 활성이 증가 후 감소하였다. 이런 결과를 보이는 것은 양송이버섯 조직의 특성상 처리한 갈변저해제가 양송이버섯의 내부 조직으로까지 흡수되지 못하고 표면에만 작용하여 저장 중 PPO 활성이 증가하는 것으로 보인다. Sporix는 신선절단 양송이의 저장기간 중 PPO활성을 가장 효과적으로 억제하였다. 그러나 갈변도는 표면 색도의 편차에 의해 결정되나 PPO활성은 시료 자체의 활성을 나타내는 것이므로 갈변저해제에 dipping 처리에 따른 갈변도의 억제와 PPO활성 감소 사이의 결과에는 다소 차이가 있는 것으로 보인다.

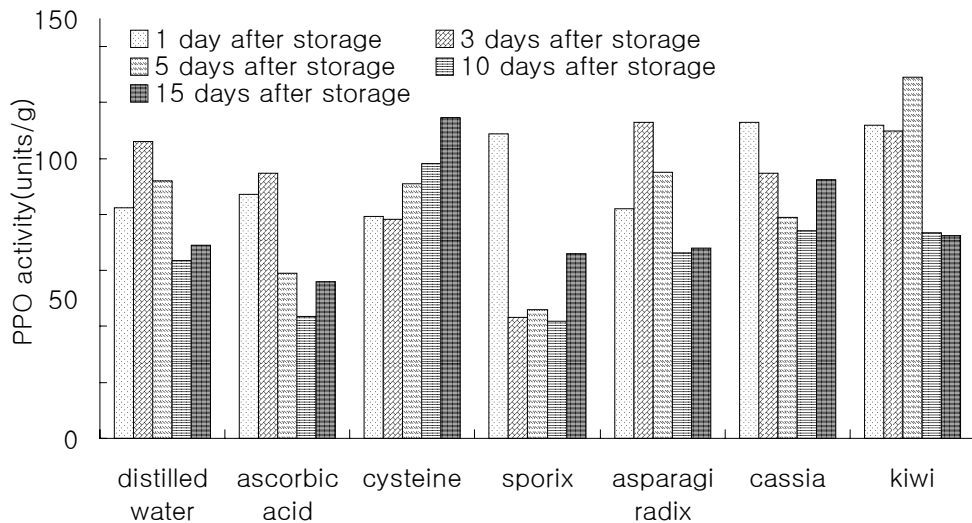


Fig. 31. Effect of browning inhibitors on polyphenol oxidase activity in minimally processed mushroom (*Agaricus bisporus*) during storage at 4°C. Concentration of ascorbic acid and cysteine was 1%, sporix was 0.5%. 2 g of dried natural browning inhibitor was extracted with 100 ml of water at 35°C for 2 hr.

천연추출물(천궁, 황기, 산약) 및 1% ascorbic acid 와 cysteine의 처리가 신선절단 느타리버섯의 저장 중 PPO활성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 32와 같다. 본 결과에서도 양송이버섯의 결과(Fig. 31)에서와 마찬가지로 갈변도의 변화결과와는 다소 상이한 결과를 나타내었다. 온도에 따른 PPO의 활성 및 갈변저해제 처리에 따른 PPO 활성이 차이가 난다는 여러 연구보고와는 달리 본 연구결과는 버섯에 있어서의 chemical 및 천연 갈변저해제 처리에 따른 PPO 활성변화의 차이는 크지 않음을 보여준다.

대조구, 1% cysteine 처리구 및 천궁 처리구에서 PPO 활성이 꾸준히 증가하였다. 처리한 갈변저해제가 느타리버섯의 조직 내부까지 흡수되어 저장 초기부터 낮은 PPO 활성을 나타낸 것으로 짐작된다.

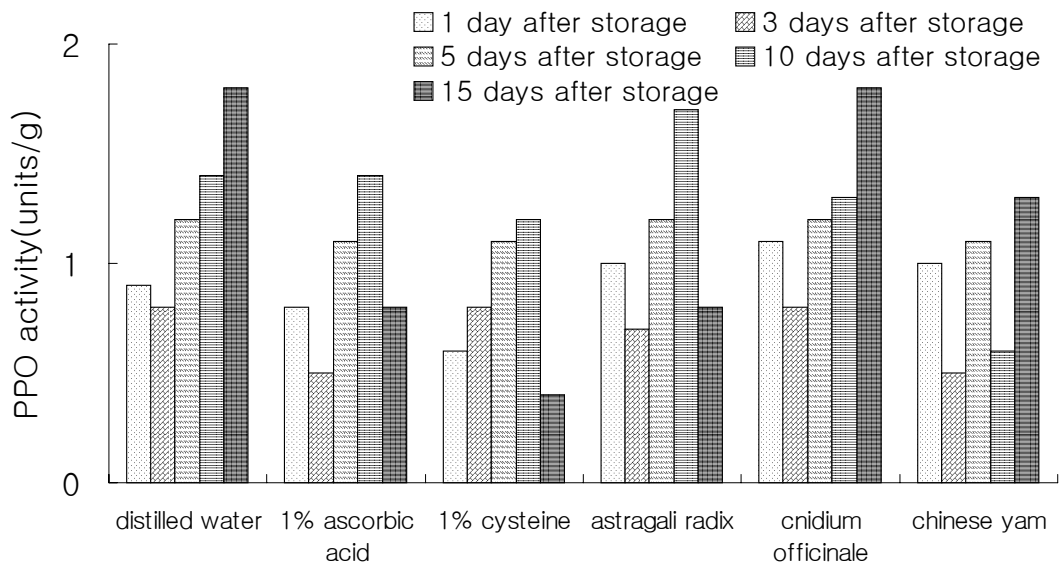


Fig. 32. Effect of browning inhibitors on polyphenol oxidase activity in minimally processed mushroom during storage at 4°C.

(4) Total phenol 함량

(가) 버섯류

천연 갈변저해제의 처리에 따른 양송이버섯의 저장 중 total phenol 함량은 전반적으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 33). 1% cysteine, 1% ascorbic acid, 0.5% sporix, 계피 및 키위 처리구에서는 저장 15일 이후 오히려 대조구보다 더욱 높은 total phenol 함량을 나타내었으며 특히, 1% cysteine 처리구 및 키위 처리구에서는 저장 15일 이후 높은 total phenol 함량을 나타내었다. 천문동 처리구 역시 total phenol 함량이 점점 증가하는 경향을 나타내었으나, 저장 15일 이후 total phenol 함량이 가장 낮은 것으로 관찰되었다. 이러한 total phenol의 함량 증가는 내부 물질의 용출 및 PPO 활성의 감소 등과 관련이 있을 것으로 보인다.

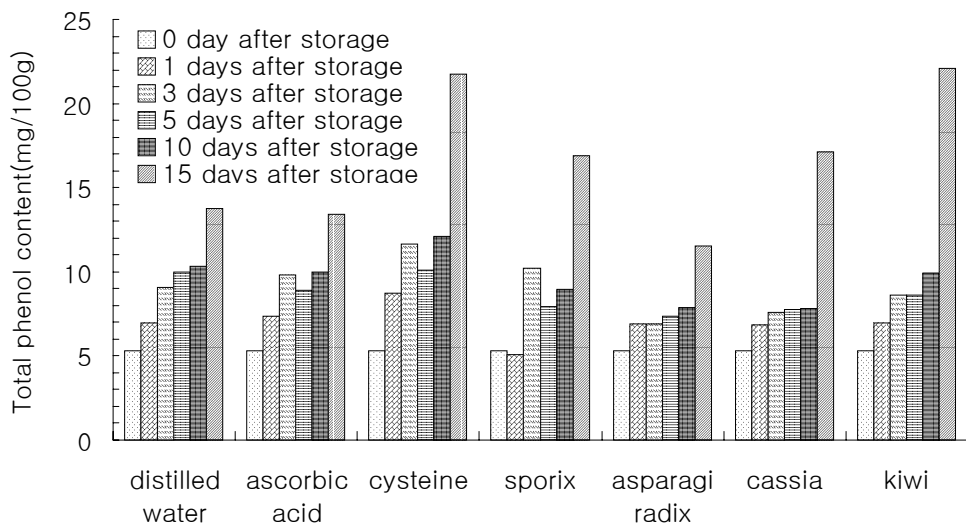


Fig. 33. Effect of browning inhibitors on total phenol content in minimally processed mushroom(*Agaricus bisporus*) during storage at 4°C. Concentration of ascorbic acid and cysteine was 1%, sporix was 0.5%. 2 g of dried natural browning inhibitor was extracted with 100 ml of water at 35°C for 2 hr.

천연 갈변저해제의 처리에 따른 느타리버섯의 저장 중 total phenol 함량의 변화는 Fig. 34와 같이 total phenol 함량이 점점 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 PPO 활성이 증가함에 따라 polyphenol 성분들이 갈변의 기질로 소모되어 그 함량이 감소된 것으로 생각되며 양송이버섯에서 보이는 증가현상은 불용성 polyphenol 화합물이 고분자 화합물로부터 분리되어 유리 polyphenol 화합물로 분해되었기 때문으로 생각된다. 느타리버섯에 있어 갈변저해제의 처리에 따른 total phenol 함량의 변화를 살펴보면 전반적으로 total phenol 함량이 감소되다가 저장 15일 이후에 급격히 증가되는 것으로 나타났다. 1% cysteine 및 천궁 처리구를 제외한 다른 처리구에서는 저장 15일 이후 control보다 오히려 더 높은 총 페놀 함량을 나타내었다.

이러한 PPO 활성 및 total phenol 함량 결과는 버섯에 있어 갈변과의 상관관계가 뚜렷이 나타나지 않았다.

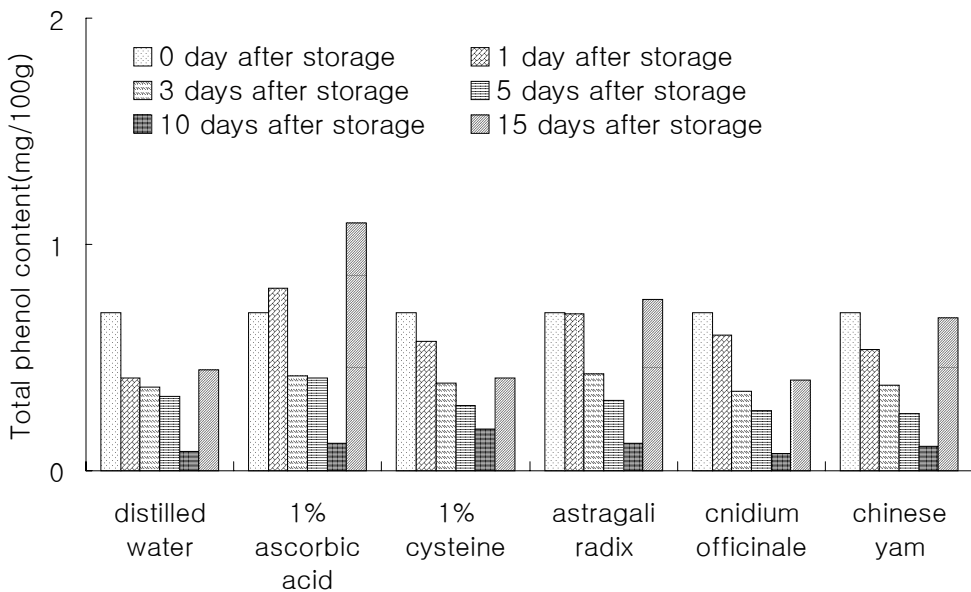


Fig. 34. Effect of browning inhibitors on total phenol content in minimally processed mushroom during storage at 4°C.

(나) 감자

천연물 중 각종 phenol 화합물이 풍부한 것으로 연구보고 되고 있는 녹차를 이용하여, 녹차 추출물 및 녹차 유래 화합물의 갈변저해 효과를 조사하고 이의 이용가능성을 연구하고자 하였다.

실험에 이용한 녹차는 보성산 잎녹차와 현미녹차였고, 각각 0.5, 1, 2, 5, 10% 농도로 추출하고 이를 여과한 다음 그 여액을 이용하여 서로 다른 dipping 온도에서 5분간 dipping 하여 이들 용액의 갈변저해 효과를 L값의 변화로 나타내었다 (Table 8). 또한 녹차 유래 화합물로는 녹차의 phenol을 순수 분리한 제품인 tea phenol-80 (서도BNI, 한국), Polyphenon 60 (Sigma, 미국), catechin (Sigma, 미국)을 각각 0.5, 1, 2, 5, 10% 농도와 1, 5, 10, 25, 50, 100 mM의 농도로 조제하여 사용하였다. 이때의 농도는 각 물질의 용해도와 색도를 고려한 범위로 설정하였다. 침지 온도는 위의 blanching test의 결과 가장 효과가 있을 것으로 판단되는 저온 blanching 온도와 유사한 온도 (55℃)로 처리하였고 대조구로써 15℃를 선정하였다.

현미녹차 및 잎녹차 모두에서 ascorbic acid (15℃)보다 효과적인 갈변 저해를 나타내었다 (Table 8). 현미녹차의 경우 15℃ 및 55℃의 두 dipping 온도 모두에서 매우 효과적인 갈변저해를 보였으며 잎녹차의 경우 55℃에서 dipping할 경우 현미녹차와 같은 효과를 보였다.

Table 8. Delta L value of fresh-cut potatoes treated with green tea extract

Dipping solution	Temperature of dipping solution (℃)	Delta L
Distilled water	15	3.5±0.24
	55	2.97±0.31
1% Ascorbic acid	15	3.42±0.26
	55	0±0.03
1% Caffeine	15	1.68±0.34
1% Tea (with rice)	15	0.053±0.12
	55	0.051±0.33
1% Tea (leaves)	15	-1.26±0.25
	55	0.051±0.33

Table 9는 잎녹차 추출물 및 녹차 phenol류인 Tea phenol-80 (Seodo BNI, Asan, Korea)과 Polyphenon 60 (Sigma, USA) 그리고 catechin을 각각 갈변저해를 위한 침지 용액으로 하여 신선절단 감자를 처리한 후 갈변도의 변화를 조사한 결과이다. 녹차추출물의 경우 2%의 농도에서 가장 현저한 갈변저해 효과를 나타내었으며 Tea phenol 80의 경우 0.5%, catechin은 25 mM에서 또한 Polyphenon 60은 10%에서 가장 좋은 갈변저해 효과를 보였다. 그러나 이들 결과에서 농도와 갈변저해율 간에 유의적인 상관관계는 나타나지 않았으며 저농도의 phenol 화합물은 오히려 기질 물질로 작용하여 갈변을 촉진할 가능성도 있는 것으로 사료되었다.

Table 9. Delta L value of fresh-cut potatoes treated with green tea extract and tea phenol

Dipping solution	Concentration	Delta L
Tea	0.5%	-0.77±0.018
	1%	-1.26±0.891
	2%	-0.33±0.010
	5%	0.95±0.024
	10%	0.47±0.035
Tea phenol-80 ¹⁾	0.5%	-0.03±0.033
	1%	1.12±0.073
	2%	0.53±0.032
	5%	1.00±0.029
	10%	0.52± 0.007
Catechin	1 mM	-0.19±0.0021
	5 mM	-0.8±0.042
	10 mM	0.88±0.003
	25 mM	-0.15±0.053
	50 mM	-1.03±0.078
	100 mM	-0.18±0.022
Polyphenon 60 ²⁾	0.5%	-0.33±0.015
	1%	-0.57±0.045
	2%	0.5±0.056
	5%	0.22±0.066
	10%	-0.17±0.057

¹⁾Polyphenol extract from green tea (Seodo BNI, Ansan, Korea)

²⁾Polyphenon 60 from green tea, containing mixture of polyphenolic compounds (Sigma, USA), minimum 60% total catechins

본 저해 실험에 이용한 한약재의 추출물은 80℃, 1시간 추출한 후 그 여액을 신선절단 감자에 대한 천연 갈변저해 효과 조사에 이용하였다. 한약재 추출물에 신선절단 감자 절편을 5분간 dipping 한 후 신선절단 감자의 시간 경과에 따른 갈변도를 L값의 변화로 나타내어 각 한약재의 갈변저해 효과를 조사하였다.

Fig. 35는 신선절단 감자 절편을 각종 한약재 추출물로 처리한 결과 시간 경과에 따른 감자 절편의 L값의 변화와 신선절단 감자의 PPO 활성의 변화를 나타낸 것이다. 대조구로 이용한 ascorbic acid와 비교하여도 감초, 산약, 천궁 및 당귀 등의 추출물은 매우 높은 수준의 갈변 저해 효과가 있음이 관찰되었다. 특히 감초, 산약, 천궁 및 당귀 등은 추출액의 색이 무색이며 약재 특유의 냄새도 거의 나지 않으므로 응용가능성이 있을 것으로 생각된다.

특히 감초 추출물은 저장 시간 경과에 따라 매우 우수한 갈변저해 효과를 나타내고 있는 반면 천궁 추출물로 처리한 구는 저장 초기 높은 L value를 나타내다가 저장 후기로 갈수록 갈변이 심화되는 것을 볼 수 있었다. 사용의 용이성이나 저장 중 안정성 및 갈변저해능을 고려할 때 시험한 한약재 중 감초가 가장 우수한 천연물로 나타났다.

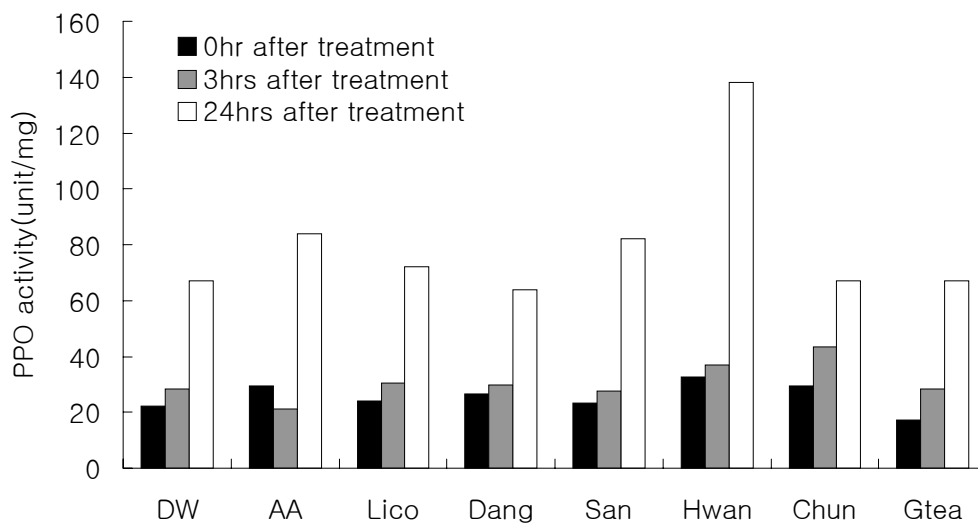
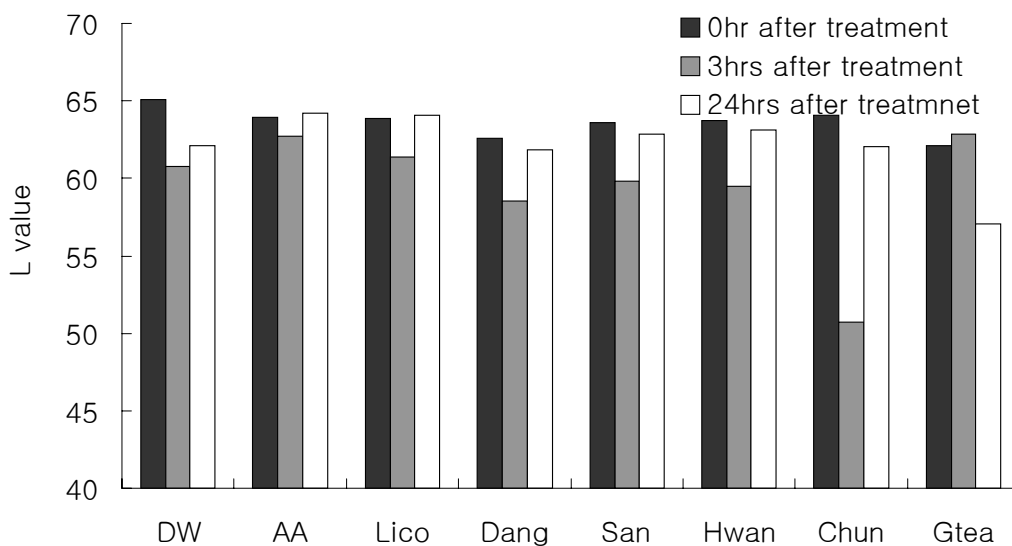


Fig. 35. Hunter's L value and PPO activity of fresh-cut potatoes dipped in different herbal extracts. DW=distilled water, AA=1% ascorbic acid, Lico=2% licorice, Dang=2% angelica, San=2% Dioscoreae, Hwan=2% astragali, Chun=2% Cnidium, Gtea=2% green tea

Table 10은 천연물 및 각종 chemical 화합물의 감자 조효소에 대한 활성저해 효과를 조사한 결과이다. 각 저해 물질에 대해 기질을 달리하여 측정된 결과, 기질에 따라 저해율이 서로 상이하게 나타났다. L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine, 5 mM)를 기질로 할 경우 미나리추출물과 $MgCl_2$ 가 가장 높은 저해율을 나타내었고, catechol (20 mM)의 경우 쪽파, 가지, 치커리 추출물 및 kojic acid의 저해율이 높게 나타났다. 또 methylcatechol (5 mM)을 기질로 할 경우 홍차, 사과, 씬바귀 및 땅두릅의 추출물과 cysteine, kojic acid 및 oxalic acid가 높은 저해 효과를 보였다. 각종 천연물은 안전성 및 이용의 용이성, 가격 등을 고려하여 그 이용 가능성을 조사하여야 할 것이다. 따라서 본 실험에 이용한 저해제들의 경우 대부분 수용성이며 추출물의 향 및 맛 등이 독특하지 않은 것으로 선정하였다.

효소 활성 저해능을 통해 갈변저해 물질을 간접적으로 조사한 연구에서 주로 이용하는 효소는 시판되고 있는 tyrosinase가 대부분이나 이 tyrosinase는 버섯으로부터 추출한 제품이다. 즉, 감자효소와 상이할 것이므로 감자의 조효소 추출물을 직접 이용하여 갈변저해 효과를 조사하였고 효소활성은 각각의 기질에 따라 다르게 나타났으며 일반적으로 갈변저해능이 높은 것으로 나타난 화학물질들은 예상대로 높은 PPO 활성 저해 양상을 나타내고 있었다.

Table 10. Inhibition rate of natural materials on PPO from potatoes with different substrates

Natural material	English name	Scientific name	Inhibition rate (%)		
			L-DOP A	Cate-c hol	Methyl catechol
가죽	Ailanthus	<i>Ailanthus altissima</i>	106	91	86
가지	Eggplant	<i>Solanum melongena</i>	114	163	107
고추잎	Leaf of hot pepper	<i>Capsicum annuum</i>	118	86	169
돈나물	Sedum	<i>Sedum sarmentosum</i>	94	103	84
동초	Honeysuckle	<i>Lonicera</i>	103	103	0
땅두릅	Udo	<i>Aralia cordata</i>	23	100	232
레드치커리	Red chicory	<i>Cichorium intybus</i>	84	74	78
마늘	Garlic	<i>Allium sativum</i>	57	71	78
마늘줄기	Galic shoot	<i>Allium sativum</i>	82	91	100
무	Chinese radish	<i>Raphanus sativu</i>	94	98	108
무청	Leaf of chinese radish	<i>Raphanus sativu</i>	88	97	102
미나리	Dropwort	<i>Oenanthe javanica</i>	190	0	61
셀러리	Celery	<i>Apium graveolens</i>	69	31	88
생강	Ginger	<i>Zingiber officinate</i>	18	36	0
쌈바귀	Lettuce	<i>Lactuca sativa</i>	0	93	150
양파	Onion	<i>Allium cepa</i>	102	91	83
쪽파	Small green onion	<i>Allium fistulosum</i>	88	180	87
참나물	-	<i>Pimpinella brachycarpa</i>	47	27	85
취나물	-	<i>Aster scaber</i>	100	100	58
치커리	Chicory	<i>Cichorium intybus</i>	118	140	86
케일	Kale	<i>Brassia oleracea var. acephala</i>	75	92	82
파슬리	Parsley	<i>Petroselinum sativum</i>	83	100	99
풋고추	Unripe hot pepper	<i>Capsicum annuum</i>	111	83	41
피망	Green pimento	<i>Capsicum annuum var.</i>	91	103	76
홍고추	Red pepper	<i>Capsicum annuum</i>	48	62	115
레몬	Lemon	<i>Citrus limon</i>	86	103	86
망고	Mango	<i>Mangifera indica</i>	76	61	66
바나나	Banana	Canaan Sodino	79	124	84
사과	Apple	<i>Malus pumila</i>	97	85	104
자몽	Grapefruit	<i>Citrus paradisi</i>	0	87	89
녹차	Green tea	<i>Camellia sinensis</i>	77	62	71
녹차폴리페놀	Tea polyphenol	-	10	221	42
홍차	Black tea	<i>Camellia sinensis</i>	68	34	114
Albumin			97	94	94
Ascorbic acid			97	94	94
CaCl ₂			0	90	52
Chlorogenic acid			107	88	98
Citric acid			89	97	95
L-Cysteine			95	92	104
4-Hexylresorcinol			73	88	67
Kojic acid			99	101	102
MgCl ₂			143	97	-
Oxalic acid			100	79	102
Trehalose			100	96	91

5) 신선 절단방법이 채소류의 품질에 미치는 영향

과채류의 최소가공 시 절단은 가장 일반적인 가공 공정의 하나로서 절단과정 중 조직에 가해지는 물리적 충격에 의해 조직의 파손을 비롯하여 갈변기질과 PPO의 유출에 의한 효소적 갈변 반응, 연화 관련효소의 작용, 절단면을 통한 미생물의 오염과 증식, 조직 상처에 의한 호흡 증가와 에틸렌 발생 증가 등 급격한 생리작용이 발생되므로 최소가공제품의 품질에 큰 영향을 미치는 가공공정이다. 따라서 양배추, 양상치, 단호박을 시료로 하여 salad cutting 방법과 hand cutting, salad cutting 방법과 thin strip cutting 방법 등 절단방법이 제품의 갈변도와 품질에 미치는 영향을 조사하였다.

가) Salad cutting 시 hand cutting과 knife cutting이 갈변도에 미치는 영향

Fig. 36은 국내산 양배추를 손으로 절단했을 때와 칼을 사용하여 salad cutting을 한 후 시간경과에 따른 절단면의 갈변도를 delta O.D값으로 나타낸 결과이다. 시간이 경과할수록 hand cutting의 delta O.D값이 크게 나타났으며 이것은 hand cutting의 갈변이 더욱 심하게 진행됨을 보여주고 있다.

(1)양배추

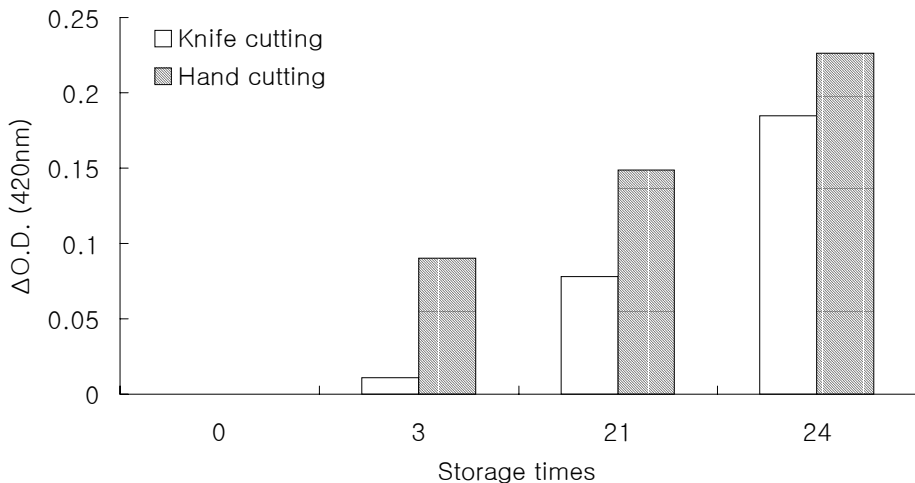


Fig. 36. Delta O.D. Value of cabbage by different cutting method for salad processing.

(2)양상치

Fig. 37는 양상치를 hand cutting 했을 때와 칼로 salad cutting을 한 후 시간경과에 따른 갈변도의 차이를 조사한 결과이다. 갈변정도의 차이를 delta O.D값으로 나타내었다. 양배추에서와 마찬가지로 칼로 절단했을 경우가 delta O.D값이 작게 나타나서 갈변의 정도가 더 작은 것으로 나타났다.

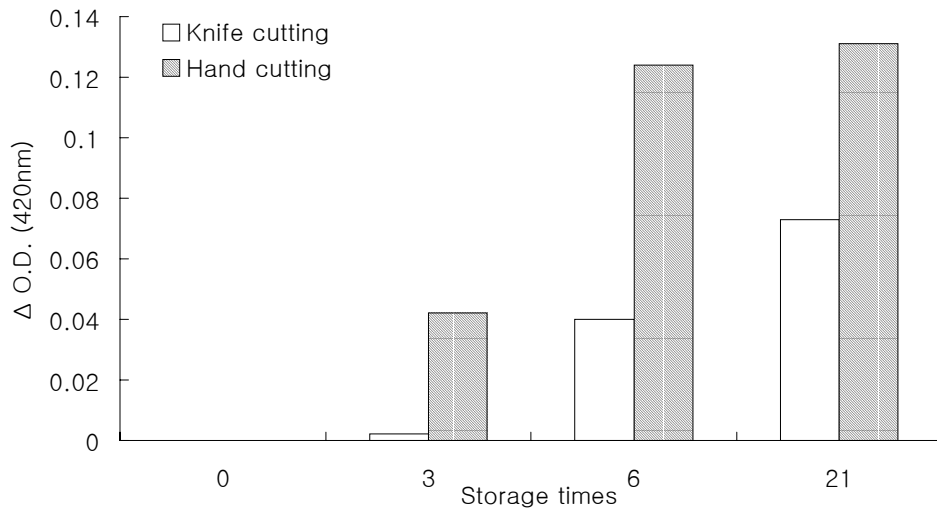


Fig. 37. Delta O.D. Value of lettuce by different cutting method for salad processing.

나) Thin strip cutting과 salad cutting이 제품의 품질에 미치는 영향

Thin strip cutting은 salad cutting보다 제품이 더욱 많은 절단 작용을 받아 크기가 세절된 형태이나 절단 3시간을 제외한 전 측정구간에서 salad cutting한 제품의 갈변도가 낮게 나타나 썰기에 의한 충격이 작을수록 갈변도가 낮음을 알 수 있었다.

(1) 양배추

Fig. 38은 양배추를 채썰기와 salad 썰기하여 발생하는 갈변도를 측정한 것이다. 양상치와 양배추 모두 salad 썰기에서 더 좋은 결과를 보여주었다.

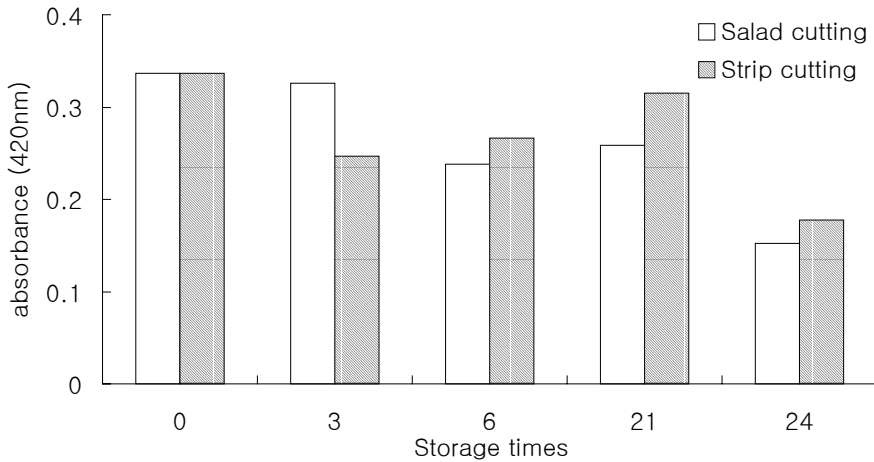


Fig. 38. O.D. Value of cabbage by different cutting methods.

(2)양상치

양상치의 경우 역시 양배추와 마찬가지로 절단작용이 상대적으로 많이 세절된 형태인 thin strip cutting(채썰기)에서 갈변이 신속히 진행되었다.

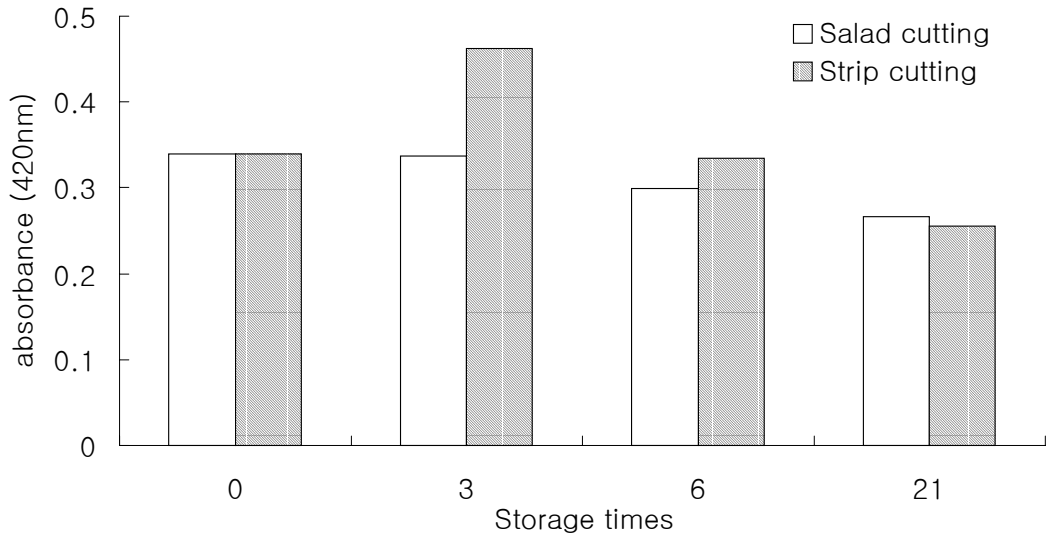


Fig. 39. O.D. Value of lettuce by different cutting methods.

(3) 단호박

(가) 중량감소율

아래 Fig. 40는 단호박을 최소가공처리하여 슬라이스 처리와 채썰기를 한 경우에 발생하는 중량감소율의 차이를 측정된 결과이다. 대조구와 ascorbic acid 처리구는 슬라이스처리에서 중량감소율이 더 크게 나타났고, NaCl 처리구, MgCl₂ 처리구, 복합처리구에서는 채썰기의 중량변화율이 더 크게 나타났다.

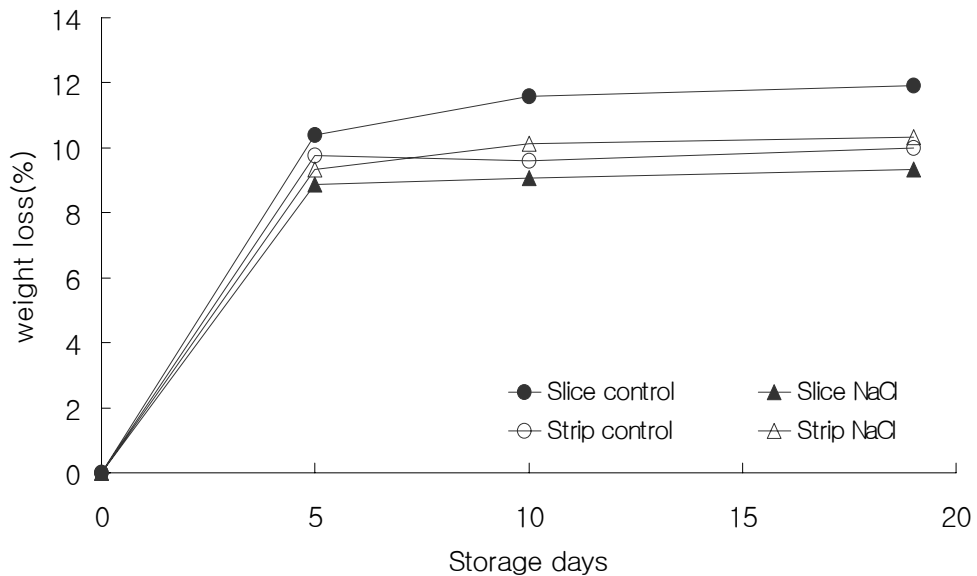


Fig. 40. Weight loss in minimally processed sweet-pumpkin during storage at 4°C.
*slice control: slice only, slice NaCl: slice and dipping in 1% sodium chloride, strip control: thin strip only, strip NaCl: thin strip and dipping in 1% sodium chloride.

(나) 갈변도

슬라이스 및 채썰기한 단호박 제품의 저장 중 갈변도의 변화는 Fig. 41과 같다.

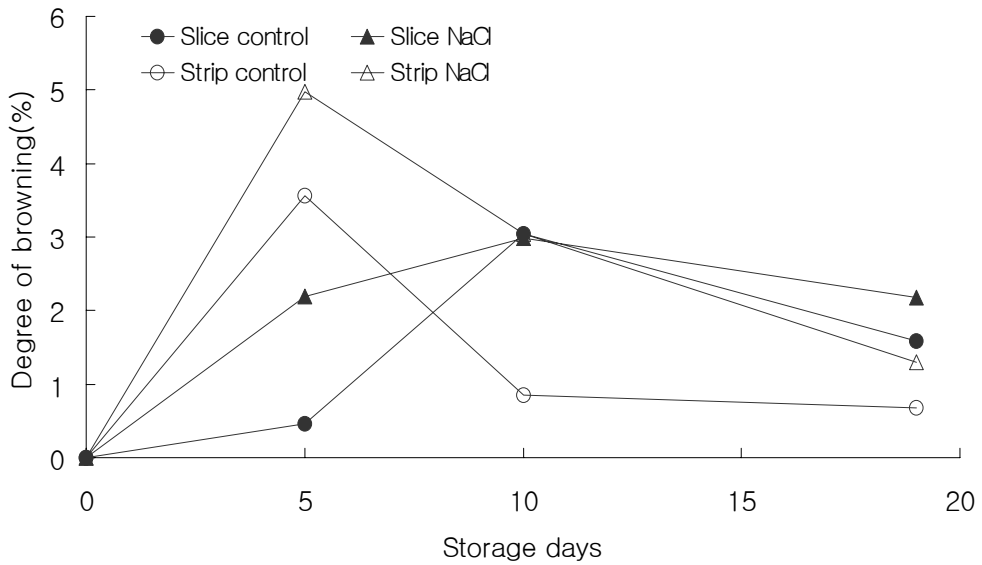


Fig. 41. Degree of browning in minimally processed sweet-pumpkin during storage at 4°C. *slice control: slice only, slice NaCl: slice and dipping in 1% sodium chloride, strip control: thin strip only, strip NaCl: thin strip and dipping in 1% sodium chloride.

(다) 과육 경도

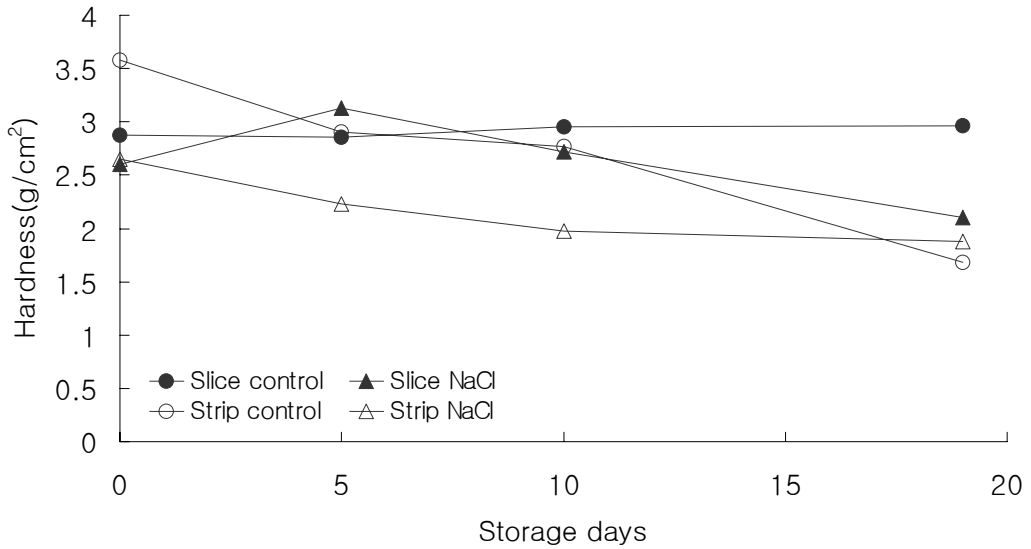


Fig. 42. Changes of hardness in minimally processed sweet-pumpkin during storage at 4°C. *slice control: slice only, slice NaCl: slice and dipping in 1% sodium chloride, strip control: thin strip only, strip NaCl: thin strip and dipping in 1% sodium chloride.

따라서 신선절단 채소류의 절단가공 시 절단작용은 품질에 큰 영향을 미치므로 가능한 예리한 칼을 이용하여 되도록이면 절단 횟수를 줄이는 방법이 갈변 등 품질열화를 줄일 수 있을 것으로 보인다.

6) 신선편이 채소류의 고품질 유지를 위한 품목별 최적 조성물의 개발

단일의 화학적 갈변저해제로서 신선절단 채소류의 갈변반응을 효과적으로 제어하기 곤란하거나 그 효과가 약한 경우가 발생할 수 있으므로 갈변제어 효과를 상승적으로 일으킬 수 있는 복합갈변저해제 조성물을 사용하면 효과의 상승작용은 물론 갈변저해제의 농도를 낮출 수 있는 이점도 가져올 수 있다. 또한 앞에서 살펴본 물리적 갈변저해방법과 갈변저해제를 병용할 경우 더욱 우수한 결과를 가져올 수 있을 것으로 기대하여 갈변저해제와 저온 blanching 및 오존처리 방법을 병용하여 신선절단 채소류에 적용하여 보았다.

가) 화학적 갈변저해제와 조성물 탐색

혼합갈변저해제는 3% sodium chloride와 3% citric acid, 0.3% cysteine 및 3% sodium acetate를 혼합한 용액을 사용하였으며 이들 용액을 사용한 경우 저장 중 우영 표면의 색도 변화는 아래 Fig. 43과 같다. 3% citric acid + 3% sodium chloride 처리구의 L-value변화가 가장 작게 나타났다.

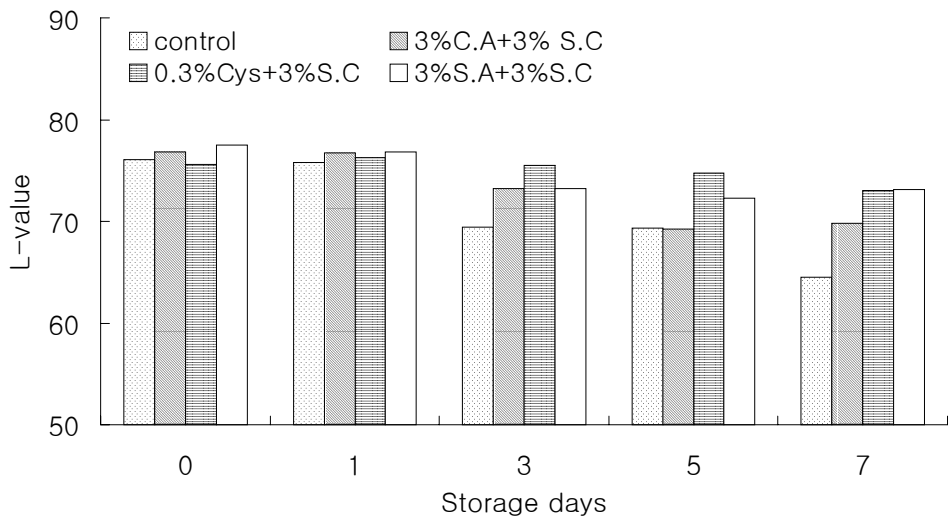


Fig. 43. Effect of combined browning inhibitors on L-value in minimally processed burdock during storage at 4°C.

*C.A.: citric acid, S.C. : sodium chloride, Cys : cysteine, S.A. : sodium acetate

나) 화학적 갈변저해제와 물리적 방법의 병용이 갈변에 미치는 영향

(1) 갈변저해제와 blanching의 병용처리 효과

상기 각종 갈변저해제의 탐색 결과 효과적인 갈변 저해제로 조사되어진 각종 화합물을 조합하여 갈변저해조성물 1의 용액 (containing 0.5% ascorbic acid + 0.5% citric acid + 0.5% sodium chloride + 0.1% trehalose)을 조제하였다. 신선절단한 감자를 이 용액에 3분간 침지 처리한 후 물기를 제거하고 250 ml volume 플라스틱 용기에 담아 4℃에서 냉장저장 하면서 저장 중 품질 특성의 변화를 조사하였다. 열처리를 행한 경우 60℃로 가열한 증류수와 갈변저해 용액에 3분간 침지하고 같은 방법으로 포장하고 저장하였다.

Fig. 44는 dipping 용액 및 blanching 온도에 따른 신선절단 감자의 3시간 후 표면 갈변도를 dL값으로 나타낸 결과이다. 증류수에 침지하여 blanching 한 경우 15℃ 보다 40, 50℃에서 더 효과적인 갈변 저해 결과를 나타내었는데 이는 일정의 열처리가 갈변에 관여하는 효소의 활성을 저해하는 결과로 추측된다. 최근 저온에서의 blanching 처리가 효소활성 및 조직감에 미치는 영향에 대한 보고가 많은데 특히 이러한 저온 blanching은 갈변반응에 관여하는 효소의 활성을 억제하여 갈변 저해를 일으키는 것으로 나타났다. 한편 chemical 용액에 침지한 경우 15℃보다는 40, 50℃가 더욱 좋은 갈변저해 결과를 보였으며 60℃ 이상에서는 오히려 15℃ 보다 갈변이 촉진되는 것을 알 수 있었으며, 실제 조직의 연화 현상이 심화되어 70℃ blanching의 경우 상업적 품질 유지조차 되지 못했다. 실제로 chemical과의 병용처리시 상승효과가 인정된다는 보고들이 있으며 저온 blanching 및 microwave를 이용한 열처리 시 일반적인 열처리와 비교하여 조직의 특성 및 영양성분에 미치는 영향이 특이적인 것으로 보고 되어 있다.

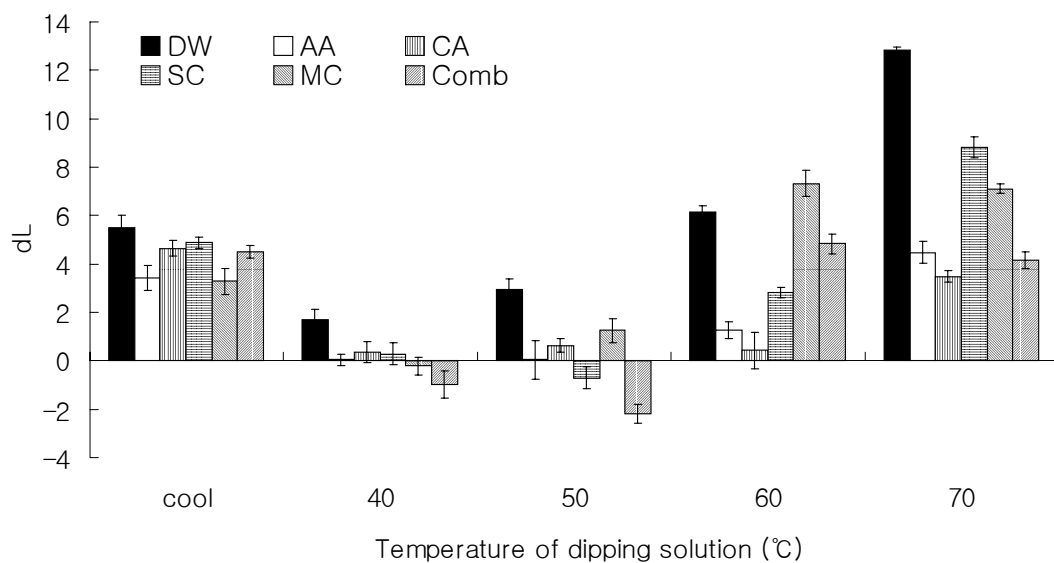


Fig. 44. Degree of browning in fresh-cut potatoes dipped in different temperature solution. DW = distilled water, AA = 1% ascorbic acid, CA = 1% citric acid, SC = 1% sodium chloride, MC = 1% magnesium chloride, Comb = mixture solution (1%) of ascorbic, citric, sodium chloride and magnesium chloride (1:1:1:1), $dL = L_{initial} - L_{3h}$

Fig. 45은 최소가공 처리한 신선절단 감자의 저장 중 갈변도를 L값의 변화인 dL로 나타낸 것이다. 저장 중 신선절단 감자의 갈변을 가장 효과적으로 저해하는 구는 열처리 없이 chemical 용액에 침지 후 저장한 경우이며, 이 구의 경우 저장 14일 경까지도 매우 좋은 상태를 유지하고 있었다. 한편 열처리와 갈변저해제를 함께 처리한 경우 저장 초기에는 높은 L값을 나타내지만 저장 중 그 변화가 심하여 오히려 관능적으로 역효과를 나타내었다. 열처리만 행한 구의 경우 저장 기간 경과에 따라 L값의 변화가 직선적으로 증가하고 있으며 저장 7일까지는 대조구에 비해 L값의 변화가 작았으나 저장 14일경에는 오히려 대조구보다 더 큰 dL값을 나타내고 있었다.

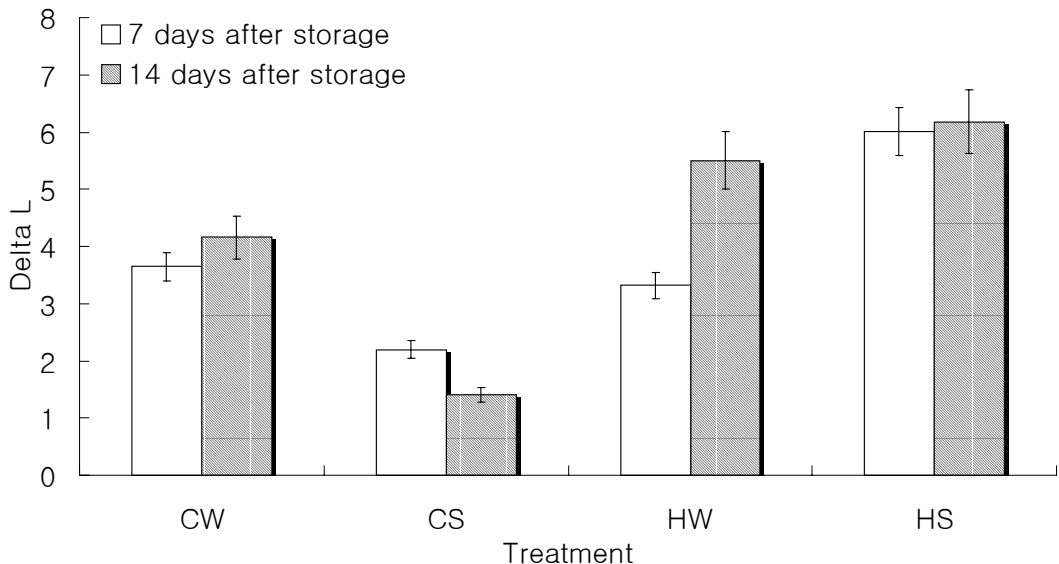


Fig. 45. Changes in L value (delta L) of fresh-cut potatoes during storage (4°C). CW dip in the cold water, CS dip in the cold solution, HW dip in the hot water (60°C), HS dip in the hot solution (60°C). The antibrowning solution was contained 0.5% ascorbic acid + 0.5% citric acid + 0.5% sodium chloride + 0.1% trehalose.

(2) 갈변저해제와 오존의 병용처리 효과

갈변저해조성물용액 (각각 동량 혼합, 1% ascorbic+citric+cysteine+NaCl+MgCl₂)을 제조하고 이에 대한 병용처리로써 물리화학적 저해제인 ozone을 이용하였다. 즉, 각 화학물질의 특성 및 오존병용처리 시 특성을 함께 관찰하여 물리화학적 갈변저해제로써 오존의 응용가능성을 조사하였다.

Fig. 46은 신선절단 감자에 오존 및 각각의 갈변저해제를 처리하고 저장 중 갈변도의 변화를 조사한 결과이다. 저장 기간 경과에 따라 신선절단 감자의 표면 갈변도가 증가하였으나 cysteine, MgCl₂ 및 갈변저해조성물 2 구의 갈변도는 낮게 나타났다. 또한 오존수를 처리한 경우도 저장기간에 따른 갈변도를 저해하고 있으나 오존가스를 처리한 경우 매우 심각한 갈변 반응을 나타내었다. 오존은 가스로 발생할 경우보다 수처리하여 용액 중에 용존 되었을 때 더 효과적인 갈변저해 효과를 보였다. 이는 수중에 용해된 오존의 유리 수산화 이온이 효소적 갈변 현상을 효과적으로 저해하며 가스상 보다 액상이 조직 내 침투가 더 용이하기 때문으로 생각된다.

오존을 병행 처리한 경우에는 citric acid와의 병용 처리 시 가장 큰 중량감소율을 나타내고 있었다. 신선농산물의 중량감소율은 저장 중 내부 물질의 분해 및 품질 열화 지표로 이용하는 것인데 본 실험에서와 같이 최소가공을 행한 경우 중량감소율의 변화가 작게 나타난 NaCl, cysteine 및 MgCl₂ 등은 갈변저해 효과와 함께 품질 열화를 다소 방지할 수 있을 것으로 추측된다. 한편 오존을 처리할 경우에는 오존 무처리와 비교하여 중량감소율이 매우 높게 나타났다.

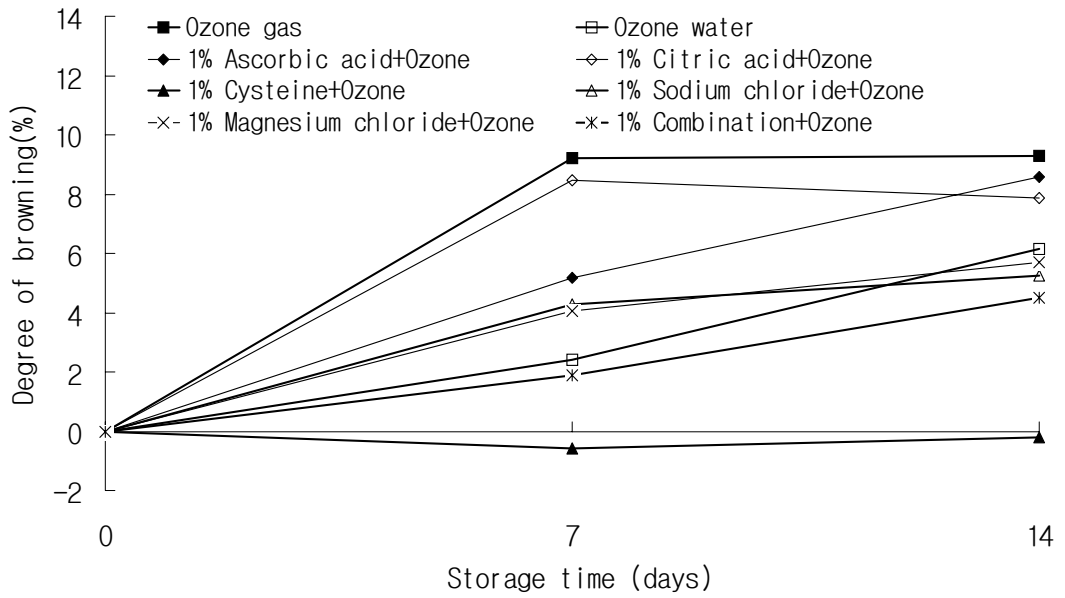


Fig. 46. Degree of browning in fresh-cut potatoes with different treatments during storage (4°C) (LSD = 1.26). LSD = least significant difference by ANOVA test. The antibrowning solution was contained 1% ascorbic+citric+cysteine+NaCl+MgCl₂.

7) 적정 포장 방법의 검토 및 적용 시 품질 변화

가) 양배추

Fig. 47~50은 신선절단 양배추의 HDPE와 LDPE 포장재에 따른 저장 중 품질특성의 변화를 나타낸 것이다. 갈변에 따른 색의 변화(Fig. 47)에서는 유사한 경향이었으며 중량의 변화는 Fig. 48과 같이 절단하지 않은 양배추에서는 저장 2주일까지 중량변화가 거의 나타나지 않았으나 salad cutting을 시도한 절단 제품에서는 LDPE film포장에서 중량의 감소가 크게 나타났다. 또한 수분함량은 Fig. 49와 같이 저장 7일까지는 차이가 나타나지 않았으나 그 이후 LDPE포장에서 수분함량의 감소가 급격히 나타났다.

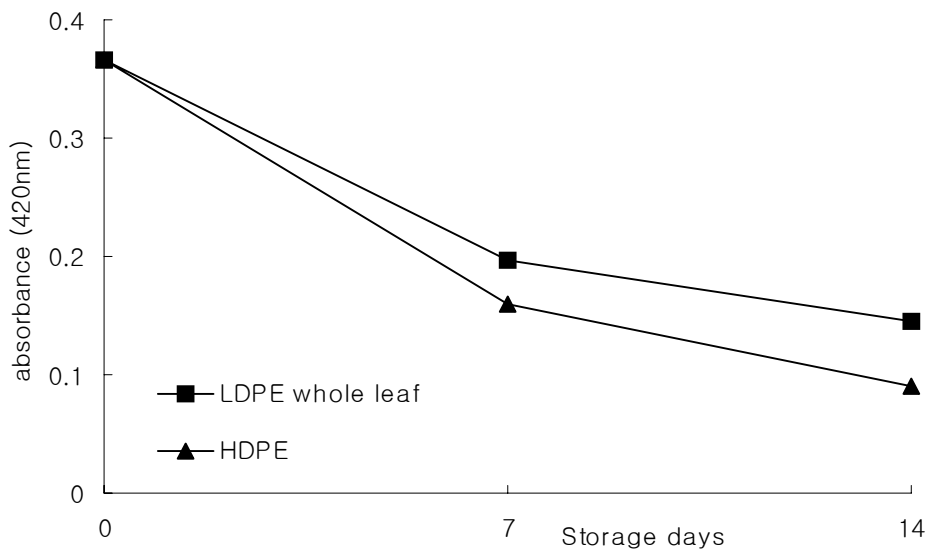


Fig. 47. Effect of packing materials on O.D. value of cabbage.

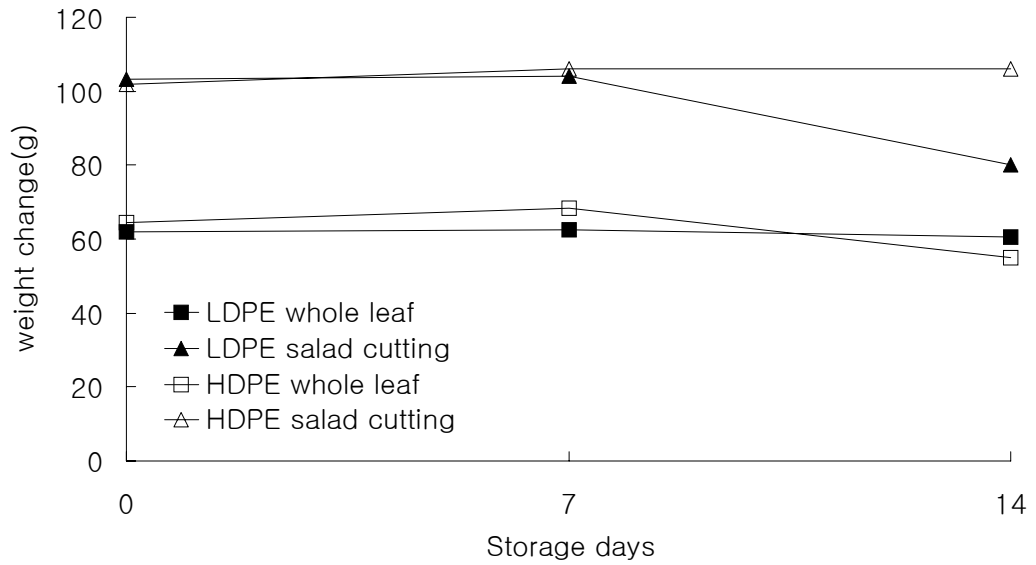


Fig. 48. Effect of packing materials on weight change of cabbage.

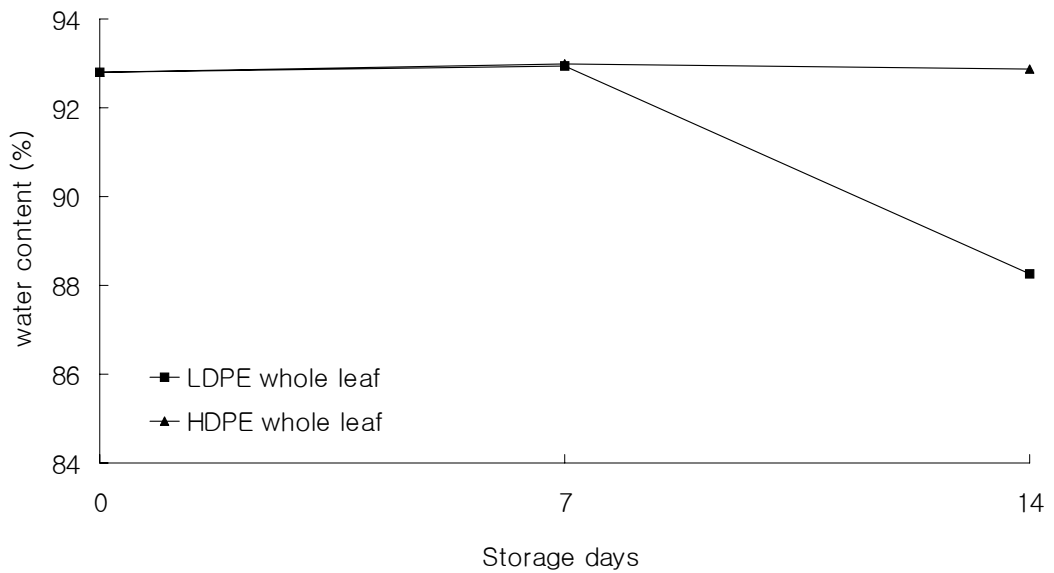


Fig. 49. Effect of packing materials on water contents of cabbage.

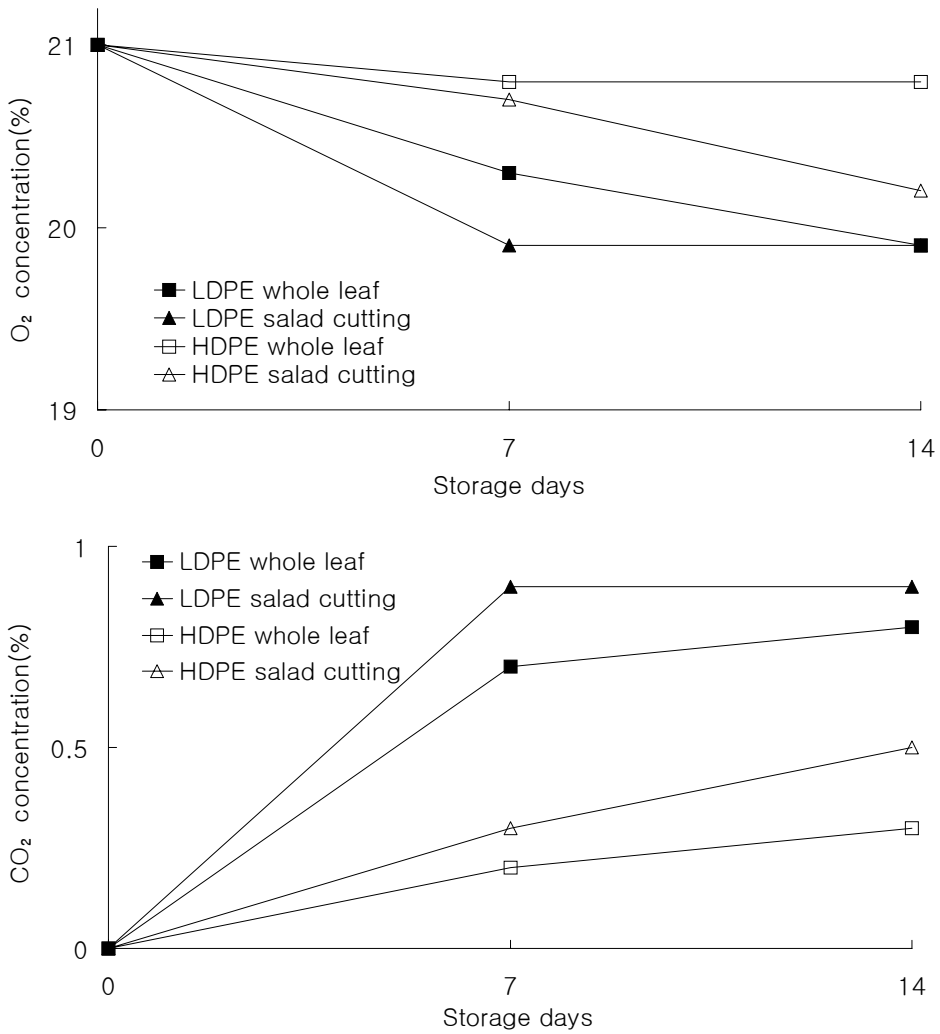


Fig. 50. Effect of packing materials on change of respiration rate on cabbage.

Fig. 50은 양배추의 저장 중 포장내의 기체조성의 변화를 나타낸 것으로서 LDPE film에서 산소의 소비 및 탄산가스의 축적 속도가 높아 호흡작용이 활발하였으며 salad 절단 처리한 양배추에서의 호흡작용이 보다 높게 나타났다. 이러한 결과들은 LDPE film 보다는 HDPE film이 신선절단 혹은 절단하지 않는 양배추의 생리작용을 적절히 억제시켜 품질유지에 효과적임을 보여준다 할 수 있겠다.

나) 양상치

양상치를 과채류 포장용 지퍼백(Thai Griptech Co. 태국)과 HDPE film에 각각 포장 저장하면서 품질특성의 변화를 조사한 결과는 Fig. 51~54와 같다. 갈변도(Fig. 51)에서는 HDPE film에서 저장 중 급격히 증가하였으며 중량변화(Fig. 52)에서도 HDPE film 포장구에서 크게 나타났다.

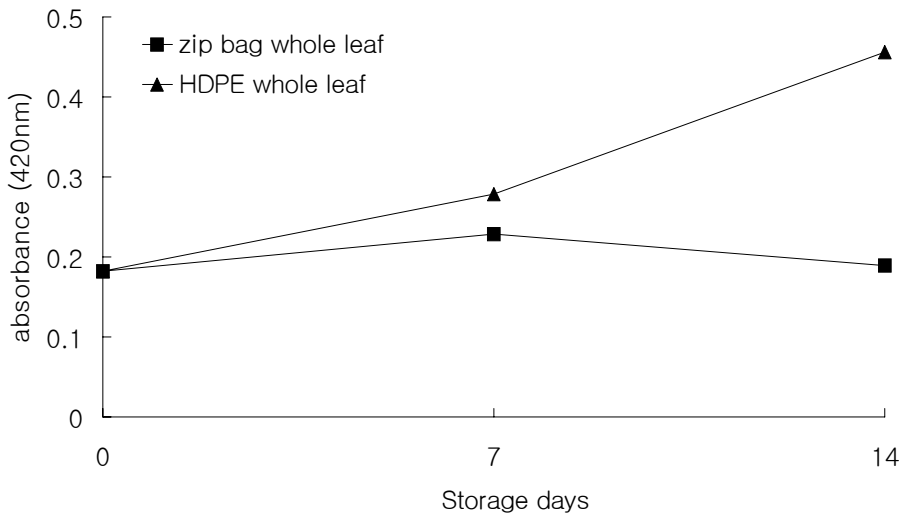


Fig. 51. Effect of packing materials on O.D. value of lettuce.

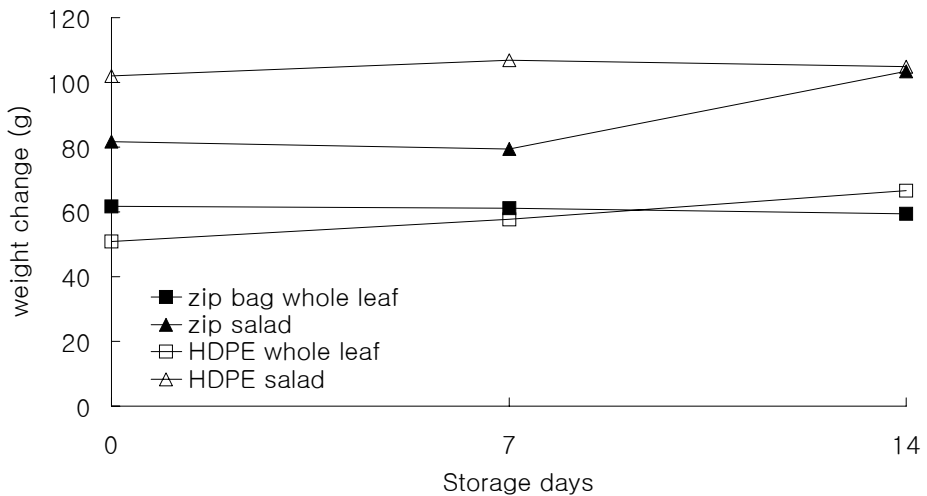


Fig. 52. Effect of packing materials on weight change of lettuce.

수분함량(Fig. 53)은 저장 7일까지는 감소하였으나 그 이후 증가하였으며 변화폭은 HDPE film에서 낮게 나타났다.

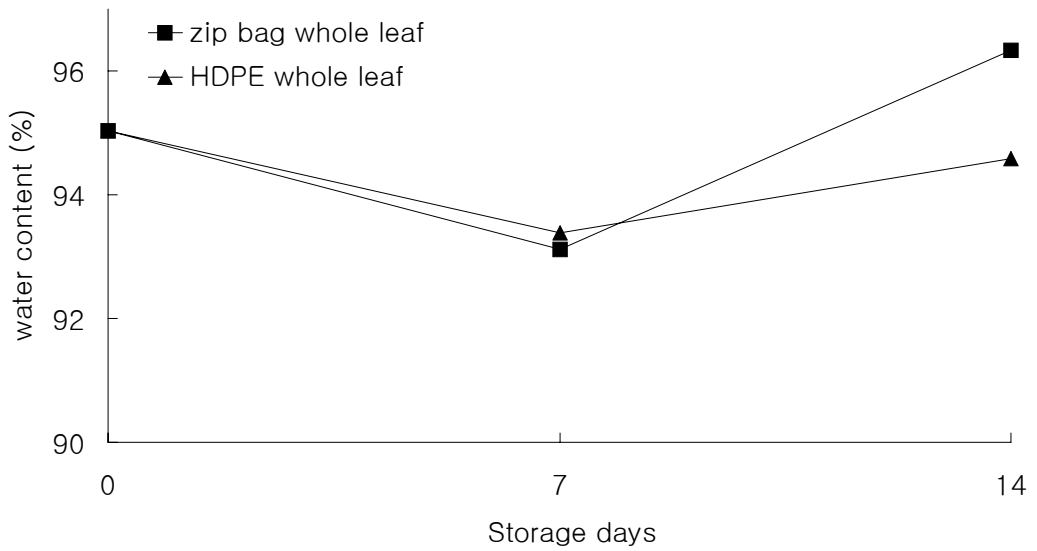


Fig. 53. Effect of packing materials on water contents of lettuce.

지퍼백과 HDPE film내에서의 가스조성(Fig. 54)의 변화에서도 산소의 소비 및 이산화탄소의 증가속도가 지퍼백에서 낮게 나타나 양상치의 경우 HDPE film보다는 지퍼백이 효과적임을 알 수 있었다.

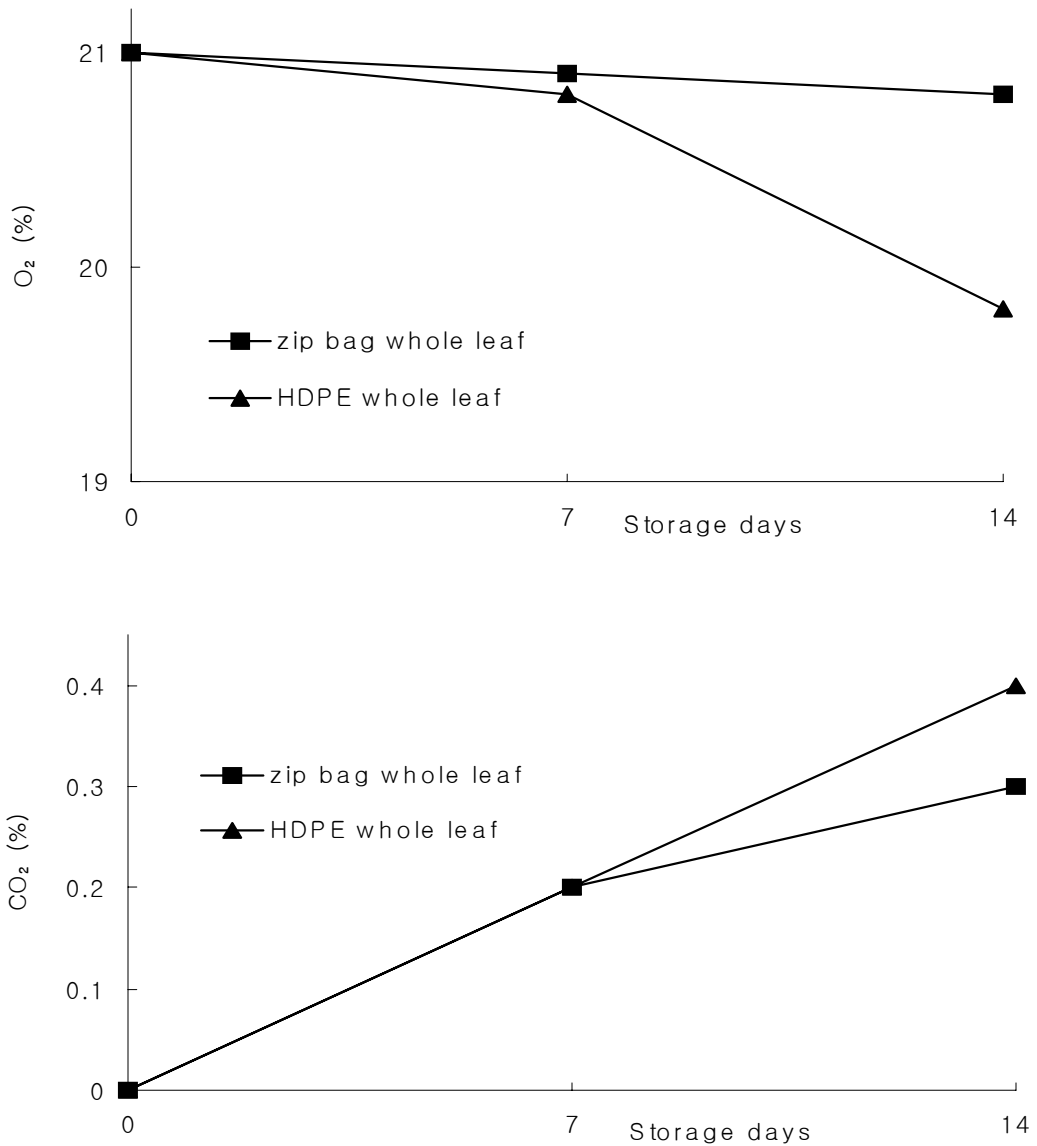


Fig. 54. Effect of packing materials on change of respiration rate on lettuce.

다) 치커리

치커리를 과채류 포장용 지퍼백(Thai Griptech Co. 태국)과 HDPE film으로 포장 저장하면서 품질특성의 변화를 조사한 결과를 Fig. 55~58과 같다. 갈변도를 나타내는 420nm에서의 흡광도(Fig. 55)에서는 저장 중기까지 지퍼백에서 월등히 낮아 갈변방지에 우수한 결과를 얻었다. 중량(Fig. 56) 및 수분함량(Fig. 57)의 변화에서도 지퍼백에서 그 변화가 작게 나타났으나 호흡에 의한 기체조성의 변화(Fig. 58)에서는 양상치에서와는 달리 지퍼백에서 크게 나타났다.

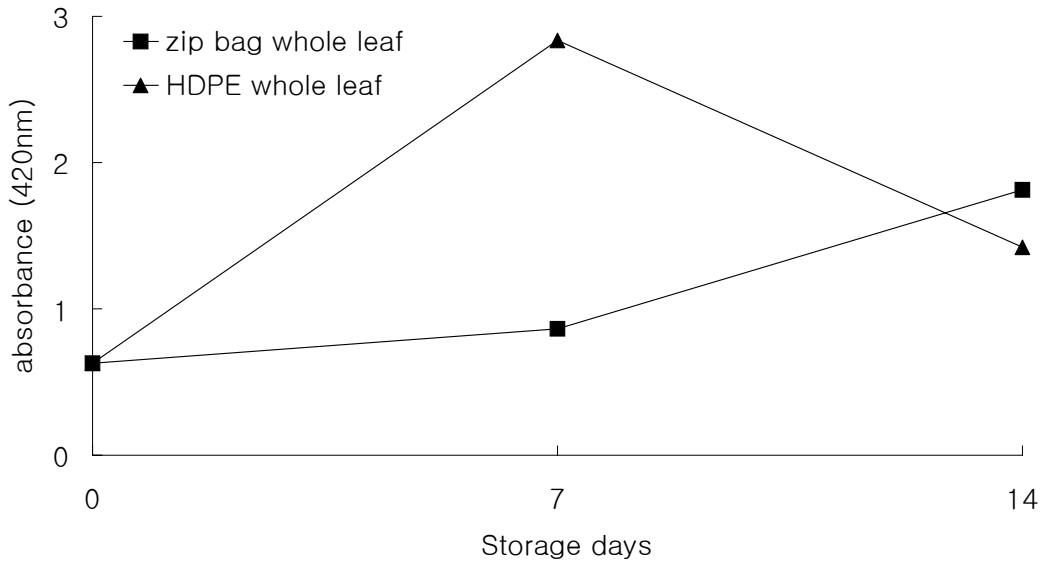


Fig. 55. Effect of packing materials on O.D. value of chicory.

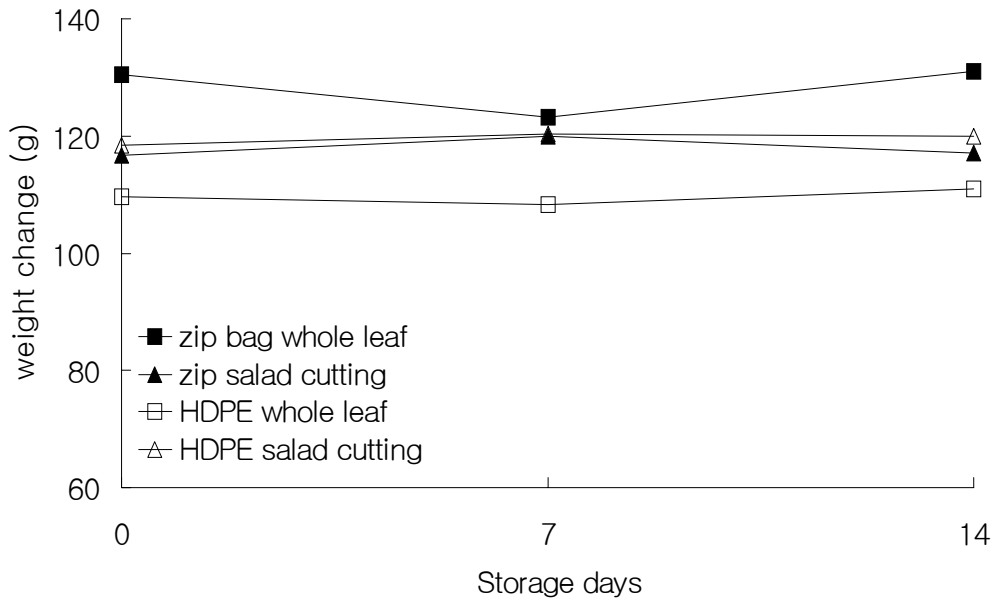


Fig. 56. Effect of packing materials on weight change of chicory.

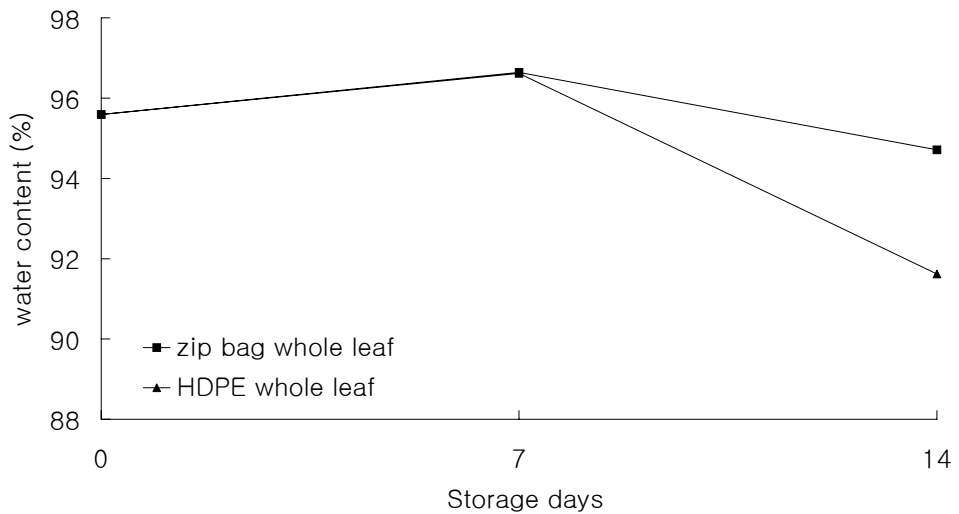


Fig. 57. Effect of packing materials on water contents of chicory.

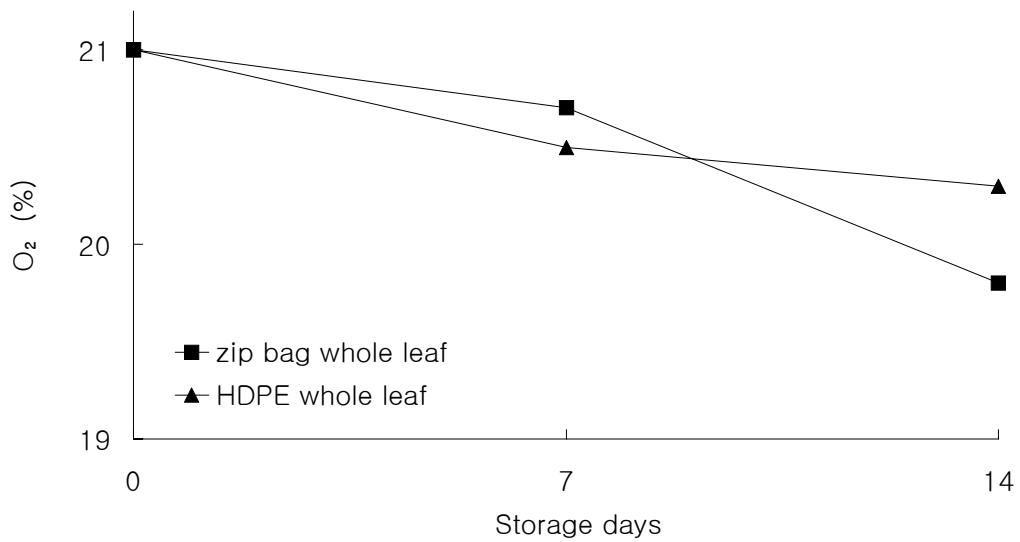


Fig. 58. Effect of packing materials on change of respiration rate on chicory.

8) 관능적 평가

가) 갈변저해제 처리에 따른 관능 평가

최소가공한 연근을 갈변저해제 처리를 한 후 1주일 저장하고 시료를 취해 관능검사를 실시한 결과는 Table 11에 나타내었다. 관능평가 결과 처리구별 점수차가 크게 나타났다. 색, 향, 외관 및 전반적 기호도는 1% EDTA, 3% lactic acid에서 전반적으로 높은 점수를 나타내었다. 특히 3% malic acid가 관능평가에서 가장 우수한 것으로 나타났다.

Table 11. Effect of browning inhibitors on sensory characteristics in minimally processed lotus root after 7days at 4°C

Browning inhibitors	Sensory characteristics			
	Color*	Odor	Appearance	Overall acceptability
Control	2.4 ^{e**}	5.6 ^a	4.2 ^c	3.0 ^e
Ascorbic acid 3%	6.0 ^{bc}	4.9 ^{ab}	5.8 ^b	5.7 ^{bc}
Citric acid 1%	3.7 ^d	5.4 ^{ab}	5.0 ^{bc}	4.1 ^d
Acetic acid 1%	5.3 ^c	2.6 ^c	5.6 ^b	4.9 ^{cd}
EDTA 1%	6.4 ^b	5.3 ^{ab}	6.3 ^{ab}	6.0 ^b
Lactic acid 2%	5.4 ^c	4.4 ^b	5.9 ^{ab}	4.8 ^{cd}
Malic acid 3%	7.6 ^a	5.4 ^{ab}	7.2 ^a	7.0 ^a

Table 12는 단일 및 혼합갈변저해제 처리에 따른 최소가공 우영의 관능검사 결과를 나타낸 것이다. 색은 3% sodium chloride 처리구의 기호도가 7.7로 가장 높았다. 냄새는 대조구의 기호도가 5.4로 가장 높게 나타났으며 외관과 전체적 기호도는 3% citric acid+3% sodium chloride 처리구가 가장 높게 나타났다. 단일 처리구보다 혼합처리구에서 상승효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 12. Effect of browning inhibitors on sensory characteristics in minimally processed burdock after 7days at 4°C

	sensory characteristics			
	Color*	Odor	Appearance	Overall acceptability
Control	2.8	5.4	4.2	3.4
3% citric acid	6.1	4.8	6.1	6.1
3% sodium chloride	7.7	5.3	7.0	6.9
0.3% cysteine	4.8	5.1	4.5	4.4
3% sodium acetate	4.7	5.5	4.1	4.7
0.3% C.A ¹⁾ +3% S.C. ²⁾	7.1	4.9	6.8	7.4
0.3% cys ³⁾ +3% S.C	4.1	4.8	4.7	4.4
3% S.A ⁴⁾ +3% S.C	4.7	5.0	4.5	4.9

¹⁾C.A: citric acid, ²⁾S.C: sodium chloride, ³⁾Cys: cysteine, ⁴⁾S.A: sodium acetate

*Each values represent the mean of the ratings by 10 judges using a 9-point scale (1: very poor, 5: fair, 9: very good)

나) 갈변저해제와 blanching 병용처리에 따른 관능 평가

다음 Table 13은 60℃에서 20초간 blanching과 갈변저해제 병용처리에 따른 최소가공 우영의 저장 1주 후 관능검사 결과를 나타낸 것이다. 색은 blanching과 0.3% cysteine+ 3% sodium chloride 병용처리구의 기호도가 8.5로 가장 높은 점수를 얻어 갈변저해 효과가 우수한 것으로 나타났다. 이는 갈변저해제 처리구보다 높은 값을 나타내는 것으로 blanching 처리를 병용하는 것이 우수함을 알 수 있다. 냄새와 전체적 기호도는 blanching과 0.3% cysteine+ 3% sodium chloride 병용처리구가 각각 5.9, 8.4로 높게 나타나고 있으며 외관은 blanching과 0.3% cysteine+ 3% sodium chloride 병용처리구의 기호도가 가장 높은 값을 나타내 갈변저해제 혼용 및 blanching 병용처리가 우영의 갈변저해 효과 및 전체적 기호도에서 가장 우수함을 알 수 있었다.

Table 13. Effect of blanching and browning inhibitors on sensory characteristics in minimally processed burdock after 7days at 4℃.

	sensory characteristics			
	Color*	Odor	Appearance	Overall acceptability
Control	2.8	5.4	4.2	2.3
Blanching(60℃ 20sec)	5.5	5.7	5.4	5.7
B ¹⁾ 3% C.A. ²⁾	5.3	5.8	5.7	5.5
B3% S.C	7.4	5.3	6.2	6.9
0.3% cysteine	8.3	5.6	7.9	8.1
3% sodium acetate	4.0	5.3	4.2	4.3
0.3%C.A ¹⁾ +3%S.C. ²⁾	6.0	5.5	6.4	6.4
0.3%cys ³⁾ +3%S.C	8.5	5.9	7.5	8.4
3%S.A ⁴⁾ +3%S.C	4.7	4.7	4.0	4.2

¹⁾B : blanching (60℃ 20sec), ²⁾C.A. : citric acid, ³⁾S.C. : sodium chloride, ⁴⁾Cys : cysteine, ⁵⁾S.A : sodium acetate

*Each values represent the mean of the ratings by 10 judges using a 9-point scale (1:very poor, 5:fair, 9:very good)

다) 절단 방법에 따른 관능평가

아래 Table 14은 최소가공 단호박의 썰기에 따른 관능평가를 색, 냄새, 외관, 조직감 및 전체적인 호감도에 대해 나타내었다. 모든 항목에서 무처리구에 비해 전처리를 행한 경우 관능평가에서 좋은 점수를 얻었으며 저장에 따른 제품의 품질 열과에 비례하여 낮은 점수를 보였다. citric acid는 조직감에서 가장 낮은 호감도를 나타내 저장 중 조직연화가 가장 심했던 것과 관련이 있었다.

Table 14. Sensory characteristics in minimally processed cucurbita maxima Duchesne slice and strip during storage at 4°C.

Treatment ¹⁾	Color		Odor		Appearance		Texture		Overall Acceptance	
	slice	strip	slice	strip	slice	strip	slice	strip	slice	strip
Control	2	2	5.25	4.95	2.25	4	5.33	3.33	1.5	3
DW*	3.25	4.75	5.5	6	3	5.25	5.33	7.33	3.25	5.5
AA	6.75	8.5	6.5	7	7	8.25	5.67	7	6.5	8.25
CA	8	7.5	7	7	8.25	6.5	4.33	5	8	7
NaCl	5	5.75	5.5	6.5	5.25	6.5	5.33	5	5.25	6.75
MgCl ₂	8.5	7	7.5	7.25	8.25	7	6.33	4.33	8.25	6.75
Combi	4.75	7.5	6.75	7.75	5.5	8	5	5.67	5.5	7.75

¹⁾DW:distilled water, AA:ascorbic acid, CA:citric acid, Combi:mixture of ascorbic acid, citric acid, sodium chloride and magnesium chloride(1:1:1:1)

*Each values represent the mean of the ratings by 10 judges using a 9-point scale (1:very poor, 5:fair, 9:very good)

2. 신선편이 채소류 제품의 유통 중 미생물적 안전성 확립

가. 온도변화에 따른 시판 신선편이 채소류의 각종 미생물 현황 조사

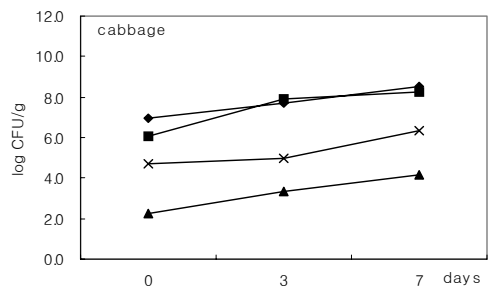
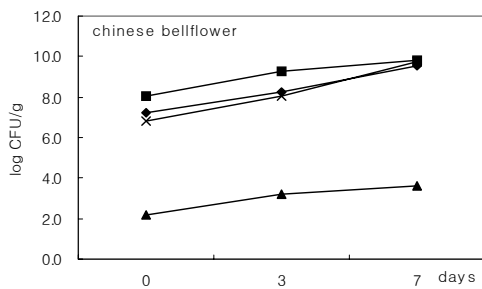
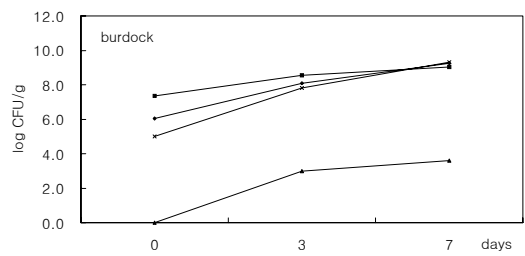
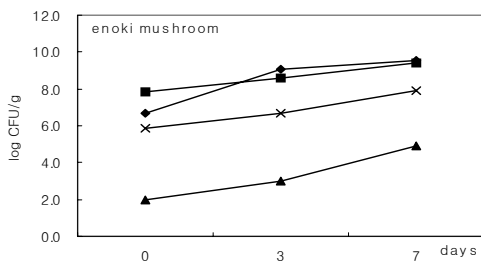
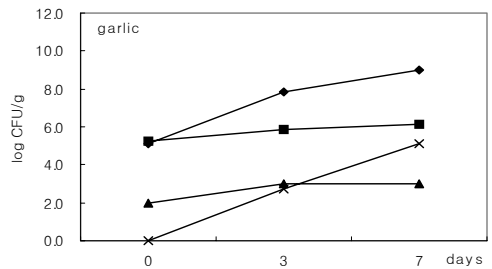
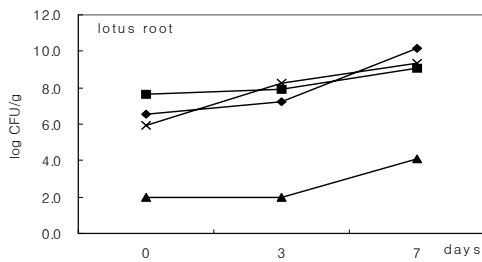
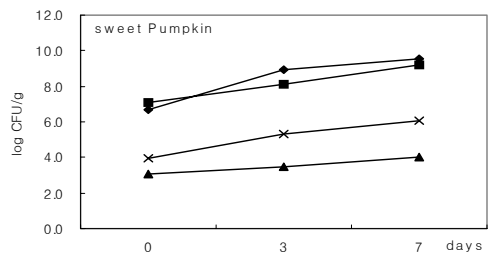
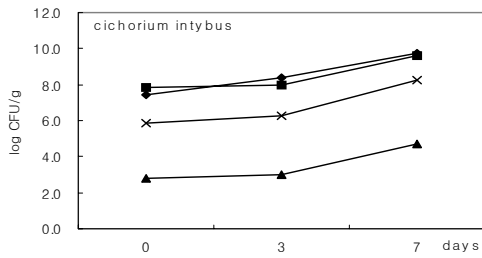
시판 신선편이 채소류 제품의 미생물 종류와 및 특성을 조사하고, 유통 중 제품의 미생물적 안전성 조사를 위하여 야채류 9종(치커리, 단호박, 연근, 마늘, 버섯, 우엉, 도라지, 양배추, 양상치)을 각각 상온저장(25℃) 과 저온저장(4℃)을 하면서 저장기간 동안의 total counts, yeast and mold, coliform, *E.coli* 와 psychrophile을 조사하였다.

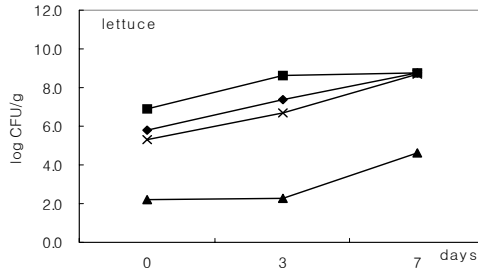
1) Total counts 측정

초기 total counts 야채류 9종에서 10^5 - 10^7 CFU/g 수준으로, 치커리가 7.45 log CFU/g 으로 가장 높고, 두 번째로 도라지가 7.20 log CFU/g 으로 높게 나타났다. 가장 낮은 초기균수를 나타낸 것은 마늘로 5.11 log CFU/g 이었다. 비교적 큰 균수의 증가를 나타낸 것은 상온 저장한 다진 마늘이 초기균수 5.11 log CFU/g에서 저장 4일째 10.18 log CFU/g으로 증가하였고, 양상치가 초기균수 5.81 log CFU/g에서 저장 4일째 9.80 log CFU/g으로 증가하였다.

2) Yeast and mold의 측정

Yeast and mold의 초기 균수는 채소류 9종에서 10^5 - 10^8 CFU/g 의 수준으로, 도라지가 8.03 log CFU/g, 버섯이 7.86 log CFU/g 으로 높게 나타났다. 가장 낮게 나타난 것은 다진마늘로 5.26 log CFU/g이었다. 저장기간동안 가장 큰 균수의 증가를 나타낸 것은 다진마늘로 상온저장에서 4일째 9.70 log CFU/g를 나타내었다. 저장기간동안 가장 높은 균수를 나타낸 것은 상온저장 4일째 버섯에서 10.26 log CFU/g를 나타낸 것을 비롯해 상온저장에서는 저장 4일째 모든 샘플에서 10^8 - 10^{10} CFU/g를 나타내는데 비해 저온저장에서는 저장 7일째에 10^8 - 10^{10} CFU/g 으로 나타났다.





◆: total counts, ■: Yeast and mold, ▲: coliform, X: psychrophile

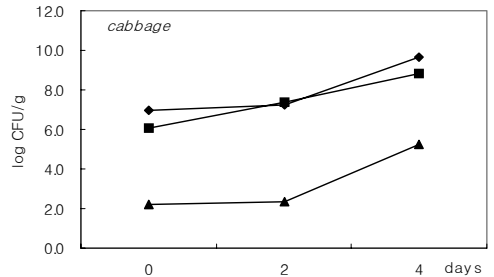
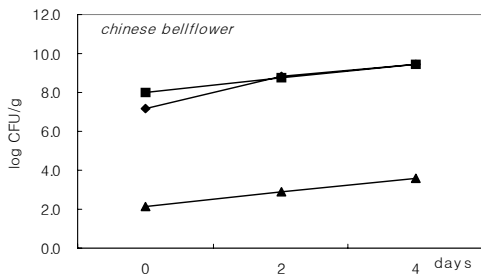
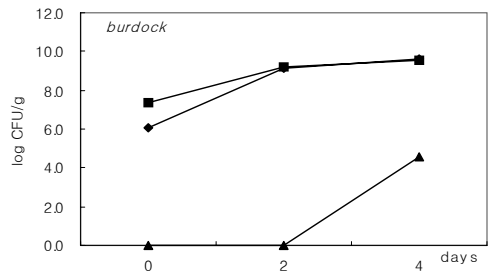
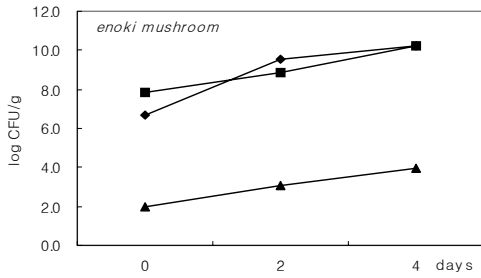
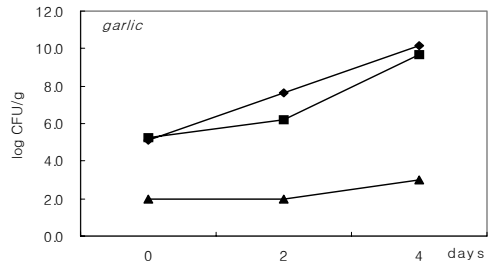
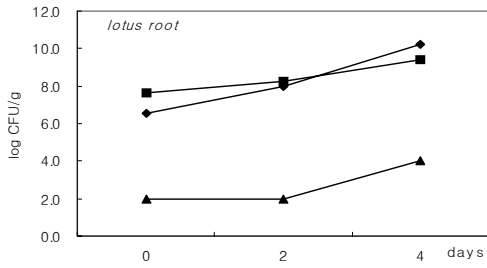
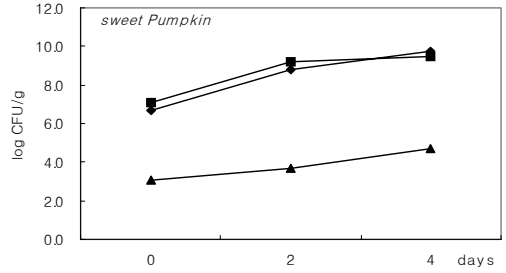
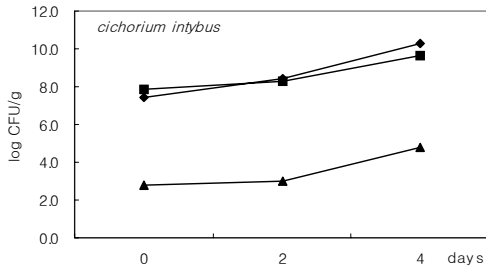
Fig. 59. Changes in microbial flora on RTE vegetables at 4°C storage

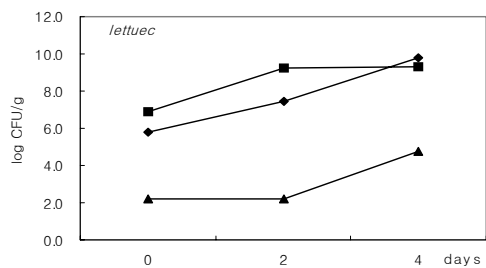
3) Coliform 과 E.coli의 측정

Coliform은 우영을 제외한 야채류 8종에서 $10^2 - 10^3$ CFU/g 수준을 나타내었다. 저온 저장에서는 저장 7일째 버섯이 초기균수 2.0 log CFU/g에서 4.93 log CFU/g으로 증가해 가장 큰 균수를 나타냈으며, 상온 저장에서는 양배추가 저장 4일째 초기균수 2.23 log CFU/g에서 5.26 CFU/g으로 가장 큰 균수를 나타냈다. *E.coli* 는 야채류 9종 모두에서 검출되지 않았다.

4) 저온균의 측정

야채류 9종을 저온저장을 하면서 저장기간동안 저온균을 측정하였다. 저온균의 측정은 PCA(Plate Count Agar) plate에서 15°C, 7일간 배양한 뒤 콜로니를 계수하여 측정하였다. 그 결과 초기 저온균의 분포는 $10^3 - 10^7$ CFU/g 수준으로 나타났으며, 야채류 9종 중 도라지가 7.81 log CFU/g으로 가장 높은 초기균수를 나타냈으며, 양상치와 우영이 각각 6.31, 6.02 log CFU/g 으로 높게 나타났다.





◆: total counts, ■: Yeast and mold, ▲: coliform

Fig. 60. Changes in microbial flora on RTE vegetables at 25°C storage

나. 부패 및 병원성 미생물의 분리·동정 및 생화학적 특성 분석

1) *Yersinia* spp.

가) *Yersinia* spp. 분리·동정

춘천지역에서 시판되는 채소류, 버섯류 등 최소가공 RTE 야채류에 대한 예시니아 균속 분리 결과는 Table 15과 같다. 즉 전체 RTE 야채류 673건 중에 27건(4.0%)에서 예시니아속균을 분리하였으며, 균종별로는 *Y. enterocolitica*가 18건(2.7%)로 가장 높은 분리빈도를 보였으며, *Y. frederiksenii* 5건(0.7%), *Y. intermedia* 3건(0.4%), *Y. agglomerance* 1건(0.1%) 등 다양한 *Yersinia* spp.가 분포하였다.

각 검체별 *Y. enterocolitica* 분리실태를 보면 채소류는 532건에서 미나리 등 8종 16건(3.0%), 버섯류는 105건에서 팽이버섯 2건(1.9%)으로서 총 673건 중에 18건(2.7%)에서 분리되었다. 채소류 중별로는 미나리에서 40건 중 4건(10.0%)으로 가장 높게 나타났다. 시금치 26건 중 1건(3.8%), 배추 55건 중 2건(3.6%), 콩나물 87건 중 3건(3.4%), 상추 58건 중 2건(3.4%), 양배추 65건 중 2건(3.1%), 무 32건 중 1건(3.1%), 파 51건 중 1건(2.0%) 등 다양한 채소류에서 오염을 확인하였다. 버섯류의 경우 팽이버섯 55건 중 2건(3.6%)에서만 *Y. enterocolitica*를 분리하였다.

Table 15. Incidence of *Yersinia* spp. in the minimally processed vegetables at chunchon at area in Korea.

Sample spp.	No. of Samples	<i>Yersinia</i> spp.(%)			
		<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. agglomerance</i>
Water dropwort	40	4(10)			
Spinach	26	1(3.8)			
Korean cabbage	55	2(3.6)		1(1.8)	
Soybean sprout	87	3(3.4)	1(1.1)	1(1.1)	
Lettuce(Native)	58	2(3.4)			
Cabbage	65	2(3.1)	2(3.1)		
Radish root	32	1(3.1)			
Green onion	51	1(2.0)		1(2.0)	
Carrot	47			1(2.1)	1(2.1)
Lettuce	20			1(6.3)	
Enoki mushroom	105	2(3.6)			
Burdock	20				
Cichorium intybus	20				
Sweet pumpkin	17				
Chinese bellflower	10				
Lotus root	10				
Garlic	10				
Total(%)	673	18(2.7)	3(0.4)	5(0.7)	1(0.1)

나) 생화학적 성장 특성

야채류에서 분리된 예시니아균속의 생화학적 검사결과는 Table 16과 같다. Edward and Ewing's의 *Y. enterocolitica* 생화학적 성장과 비교해 보면 본 분리주의 경우 Indol, VP, Inositol, Rhamnose 등이 각각 83.3%, 77.8%, 83.3%, 5.5%의 양성으로 Ewing's의 39.8%, 76.3%, 43.7%, 0% 양성과 다소의 차이를 보였다. *Y. frederiksenii*도 Ornithine decarboxylase, VP, Inositol, Sorbitol이 각각 40%, 40%, 60%, 80%로서 Ewing's의 100%, 98%, 81%, 100%와 차이를 나타내었으며, 나머지 Urease, Motility 등의 생화학 특성은 일치하였다.

Table 16. Biochemical characteristics of *Yersinia* spp. isolated from the RTE vegetables (numbers is positive %)

Test or substrate	<i>Y.</i>	<i>Y.</i>	<i>Y.</i>	<i>Y.</i>
	<i>enterocolitica</i> (n=18)	<i>frederiksenii</i> (n=5)	<i>intermedia</i> (n=3)	<i>agglomerans</i> (n=1)
ONPG	100	100	100	100
Arginine decarboxylase	0	0	0	0
Lysine decarboxylase	0	0	0	0
Ornithine decarboxylase	94.4	40.0	100	0
Citrate	0	0	0	0
H ₂ S	0	0	0	0
Urease	100	100	100	0
Tryptophane deaminase	0	0	0	0
Indol	83.3	100	100	0
VP(37°C)	77.8	40.0	33.3	100
gelatine	0	0	0	0
Acid from glucose	100	100	100	100
Mannitol	100	100	100	100
Inositol	83.3	60.0	0	100
Sorbitol	100	80.0	100	100
Rhamnose	5.5	100	100	100
Sucrose	100	100	100	100
Melibiose	5.5	0	100	100
Amygdaline	100	100	100	0
Arabinose	100	100	100	0
Oxidase	0	0	0	0

다) 혈청형(serotyping)시험

미생물의 다른 혈청은 다른 지역이나 대륙에서 두드러지게 나타남을 알 수 있다. 예를 들어 혈청 O:9는 유럽에서 두드러지게 나타나지만, O:5는 한국에서 보통 많이 나타난다. 대부분의 *Y. enterocolitica*의 bio-serovars는 heat-stable toxin(ST)을 야기하는 질병과 관계가 있다. bio-serovars와 함께 돼지로부터 분리된 종들 또한 독소를 갖는다. 그 결과 RTE 채소로부터 *Y. enterocolitica*의 분리는 O:3과 O:5혈청은 11.1%로 나타났고, O:8 혈청은 5.6%로 가장 적게 나타났으며, 나머지 72.2%는 untypable으로 나타났다(Table 17).

Table 17. Distribution of bio-serotype patterns of *Y. enterocolitica* isolated from the minimally processed vegetables

Serotype	Biotype				Total (%)
	1A	3	3A	3B	
O:3		1	1		2 (11.1)
O:5	2				2 (11.1)
O:8	1				1 (5.6)
Untypable	11			2	13 (72.2)
Total (%)	14 (77.8)	1 (5.6)	1 (5.6)	2 (11.1)	18 (100)

라) 항생제 감수성 시험

RTE 채소류로부터 분리된 *Yersinia* species의 항생제 감수성은 Table 18에서 보여준다.

일반적으로 분리된 *Yersinia* species는 항생작용에 대해 매우 민감하다. 그러나 다른 항생물질보다 ampicillin, cephalothin 그리고 carbenicillin으로부터 *Yersinia* species의 저항성이 크다. 또한 다른 *Yersinia* spp과 비교하여 *Y. enterocolitica*는 다른 항생제 감수성을 나타내지 않는다.

Table 18. Antibiotic susceptibility of *Yersinia* spp. isolated from the minimally processed vegetables.

Test disks	<i>Y. enterocolitica</i> (n=18)			<i>Y. frederiksenii</i> (n=5)			<i>Y. intermedia</i> (n=3)			<i>Y. agglomerans</i> (n=1)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ampicillin (10 μ g)		6	94			100		33	67			100
Cephalothin (30 μ g)			100			100		33	67			100
Nalidixic acid (30 μ g)	100			100			100			100		
Streptomycin (10 μ g)	94	6		100			100			100		
Tetracycline (30 μ g)	100			100			100			100		
Tobramycin (10 μ g)	100			100			100			100		
Chloramphenicol(30 μ g)	100			100			100			100		
Kanamycin (30 μ g)	100			100			100			100		
Gentamycin (10 μ g)	100			100			100			100		
Carbenicillin (100 μ g)	11	6	83	20		80			100			100
Trimethoprim (10 μ g)	100			100			100			100		
Ciprofloxacin (5 μ g)	100			100			100			100		

S: Susceptible (%), I: Intermediate (%), R: Resistant (%)

마) PCR 분석

RTE 채소류로부터 분리된 *Y. enterocolitica*의 발병력을 측정하기 위해 독특한 primer와 함께 multiplex PCR 그리고 *yst*와 *ail* gene 그리고 Hep-2 cell의 침입은 수행한다 (Fig. 61, Table 19). 분리된 18 *Y. enterocolitica* isolate 중에서 오직 3 strain(O:3/1A, UT/3B and UT/1A)인 중국양배추와 양파 그리고 시금치는 multiplex PCR assay를 사용하여 발병을 보여준다. Hep-2 cell의 침입분석은 다른 발병을 보여준다. Multiplex PCR 분석은 양파로부터 분리된 *Y. enterocolitica* (O:3/1A)의 negative를 보여준다. 그러나 positive 결과는 침해분석에서 관찰되어 진다. 또한 positive한 결과는 중국 양상치와 시금치로부터 분리된 UT/3B, UT/1A positive이다. 그러나 negative 결과는 같은 종에서 Hep-2cell을 관찰할 수 있다. 그러므로 이 결과는 식품과 주위환경으로부터 분리를 확인하고 발병력 test를 제안한다.

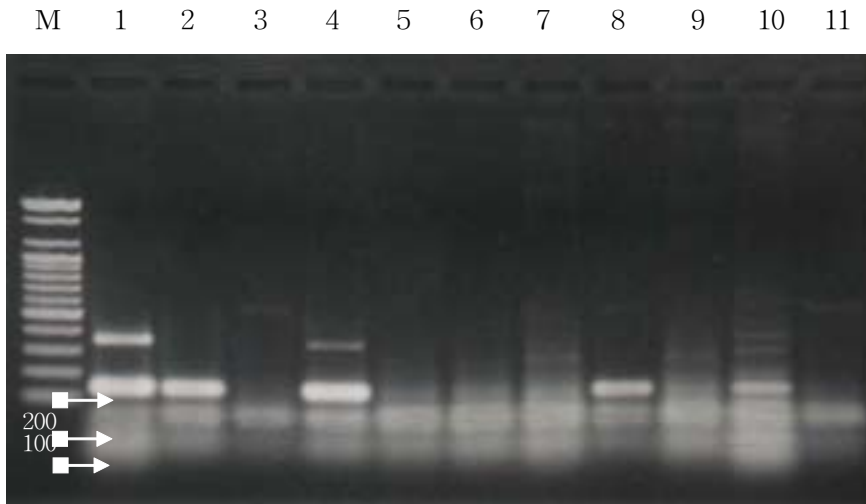


Fig. 61. Agarose gel electrophoresis of nucleic acid amplification products from the RTE vegetable isolates of *Y. enterocolitica* using *yst* and *ail* primers. Lane M: Molecular marker(100 bp ladder), lane 1: *Y. enterocolitica* ATCC 27729 (*yst*, *ail* +), lane 2: *Y. enterocolitica* ATCC 9610 (*yst* +), lane 3: Green onion isolate, lane 4: Crown daisy isolate, lane 5: Lettuce isolate, lane 6: Water dropwort isolate, lane 7: Soybean sprout isolate, lane 8: Chinese cabbage isolate, lane 9: Chinese cabbage isolate, lane 10: Spinach isolate, lane 11: Water dropwort isolate

Table 19. Virulence test of *Y. enterocolitica* isolated from the minimally processed vegetables using Hep-2 cell invasion assay and PCR

<i>Y. enterocolitica</i> isolates	Sero type	Bio type	Hep-2 Cell Invasi-	Multiplex -PCR		
				<i>ail</i>	<i>yst</i>	
Marker (100bp)						
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 27729	lane 1			+	+	+
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 9610	lane 2			-	+	+
Green onion isolate	lane 3	O:3	1A	+	-	-
Crown daisy isolate	lane 4	O:3	3	+	+(W)	+
Lettuce isolate	lane 5	O:5	1A	-	-	-
Water dropwort isolate	lane 6	O:5	1A	-	-	-
Soybean sprout isolate	lane 7	O:8	1A	-	-	-
Soybean sprout isolate	lane 7	UT	3B	-	-	+
Chinese cabbage isolate	lane 9	UT	1A	+	-	-
Spinach isolate	lane 10	UT	1A	-	-	+
Water dropwort isolate	lane 11	UT	1A	-	-	-

UT: Untypable, +: Positive, -: Negative

다. 양상치와 팽이버섯에 대한 오존 효과

시료는 9종의 샘플 중 미생물학적으로 가장 문제될 수 있다고 여겨지는 양상치와 팽이버섯을 가지고 오존 단독 처리와 오존과 유기산의 병용처리를 함으로써 total counts, yeast and mold에 대한 오존의 효과를 알아보았고, 병원성 미생물에 대한 오존의 효과를 알아보았다.

1) 양상치와 팽이버섯에 대한 오존 단독효과

물세척한 양상치와 팽이버섯의 총균수는 각각 물세척하지 않은 샘플(control)과 비교하여, 0.15 와 0.4 log CFU/g의 감소를 보였다. 오존 단독 처리구에서는 5 ppm에서 5 min 침지한 처리구가 양상치, 팽이버섯 각각 2.87 과 2.51 log CFU/g으로 control과 비교하여 가장 높은 감소를 나타냈다. 효모 및 곰팡이는 양상치에서는 3 ppm에서 5 min 처리한 것이 2.79 log CFU/g, 팽이버섯은 5 ppm에서 5min처리한 것이 2.75 log CFU/g으로 각각 가장 높은 감소를 보였다.

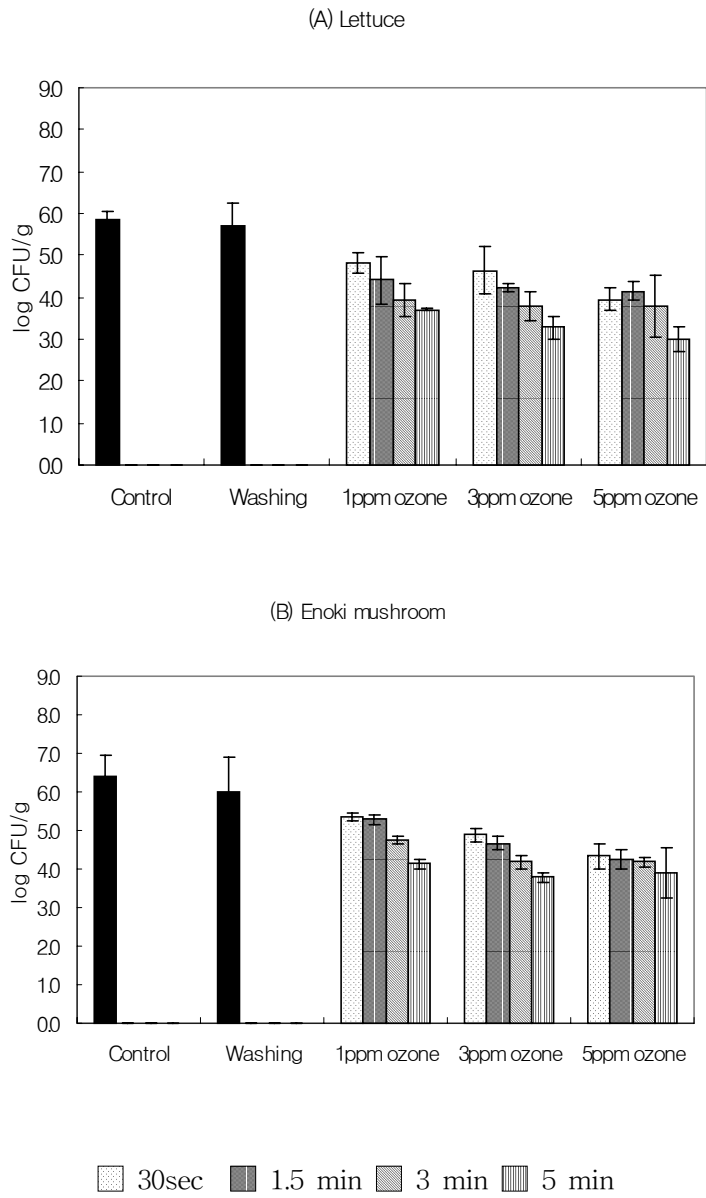


Fig. 62. Effect of ozone treatment on inactivation of total counts on lettuce and enoki mushroom.

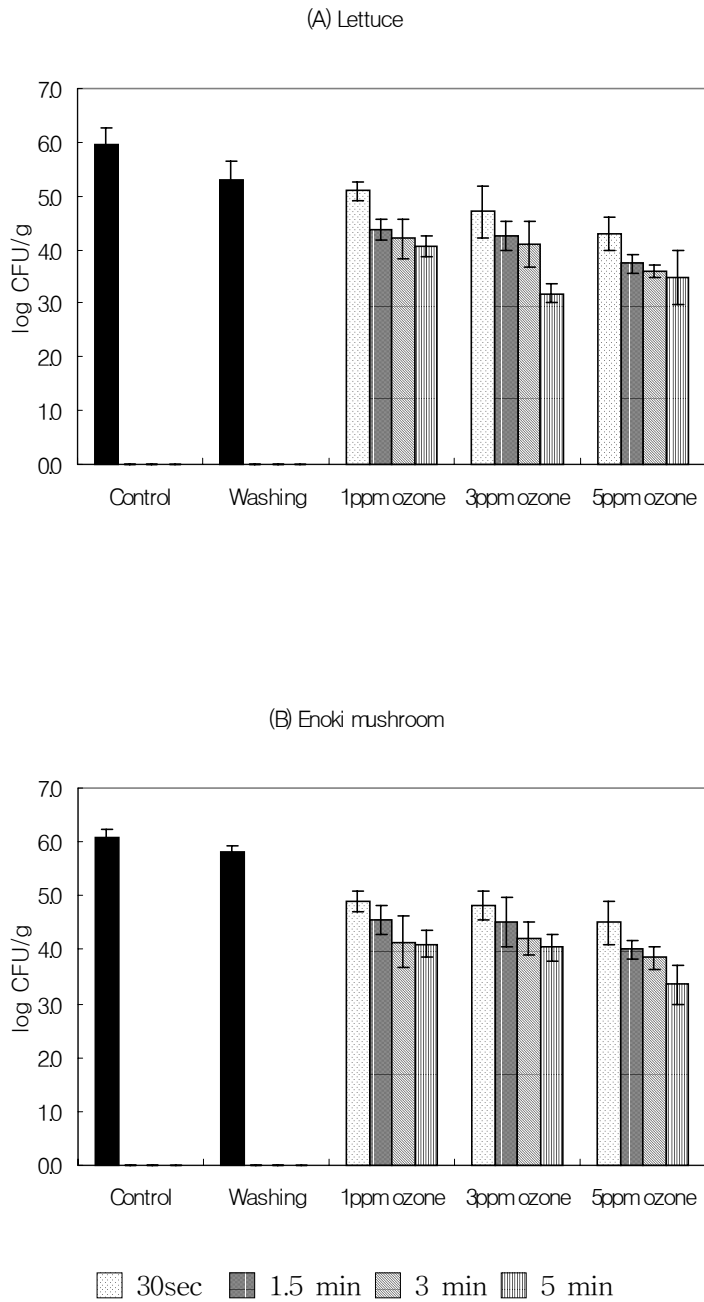


Fig. 63. Effect of ozone treatment on inactivation of yeast and mold on lettuce and enoki mushroom.

E. coli O157:H7을 inoculum한 처리구는 양상치와 팽이버섯 각각 5 ppm에서 5 min 처리 하였을 때 2.79 log CFU/g, 0.85 log CFU/g 의 감소를 나타냈으며, *L. monocytogenes*는 같은 처리구에서 각각 1.49 와 0.49 log CFU/g의 감소를 나타냈다.

E. coli O157:H7에 inoculum 시킨 양상치에서는 3 ppm의 오존수 처리로 약 2 log CFU/g의 감소를 나타냈으며, 이것은 침지시간이 길어짐에 따라 그 감소도 증가하였다. 그러나 팽이버섯에 inoculum 시킨 *E. coli* O157:H7은 침지시간에 따른 효과는 적었으며, *L. monocytogenes* 또한 팽이버섯에 inoculum시킨 샘플에서는 균의 감소 효과가 양상치에 비해 적게 나타났다

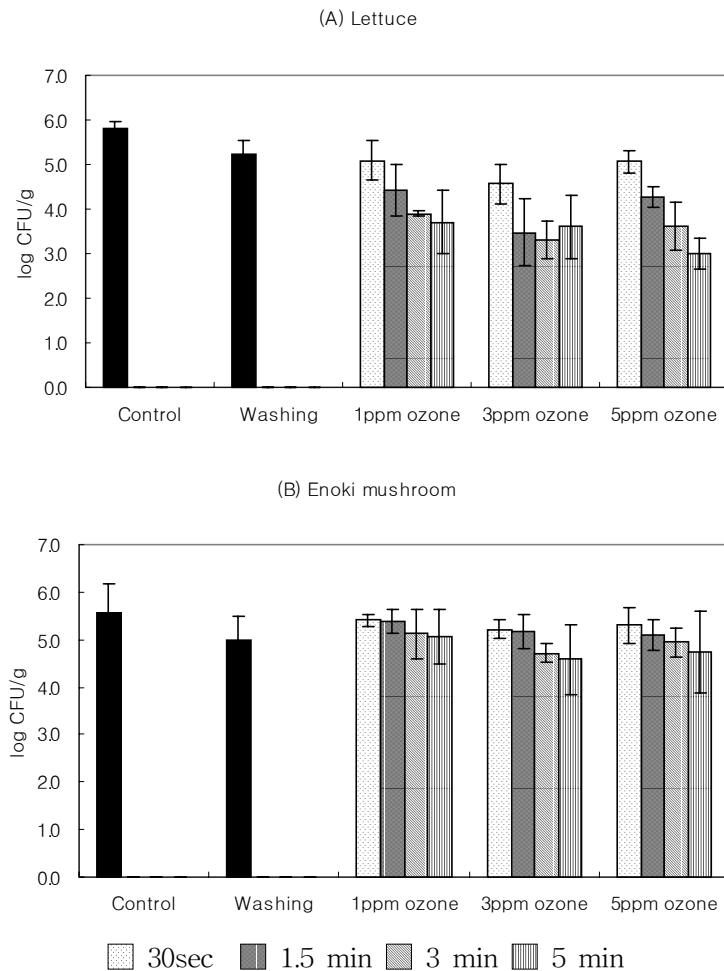


Fig. 64. Effect of ozone treatment on inactivation of *E. coli* O157:H7 on lettuce and enoki mushroom.

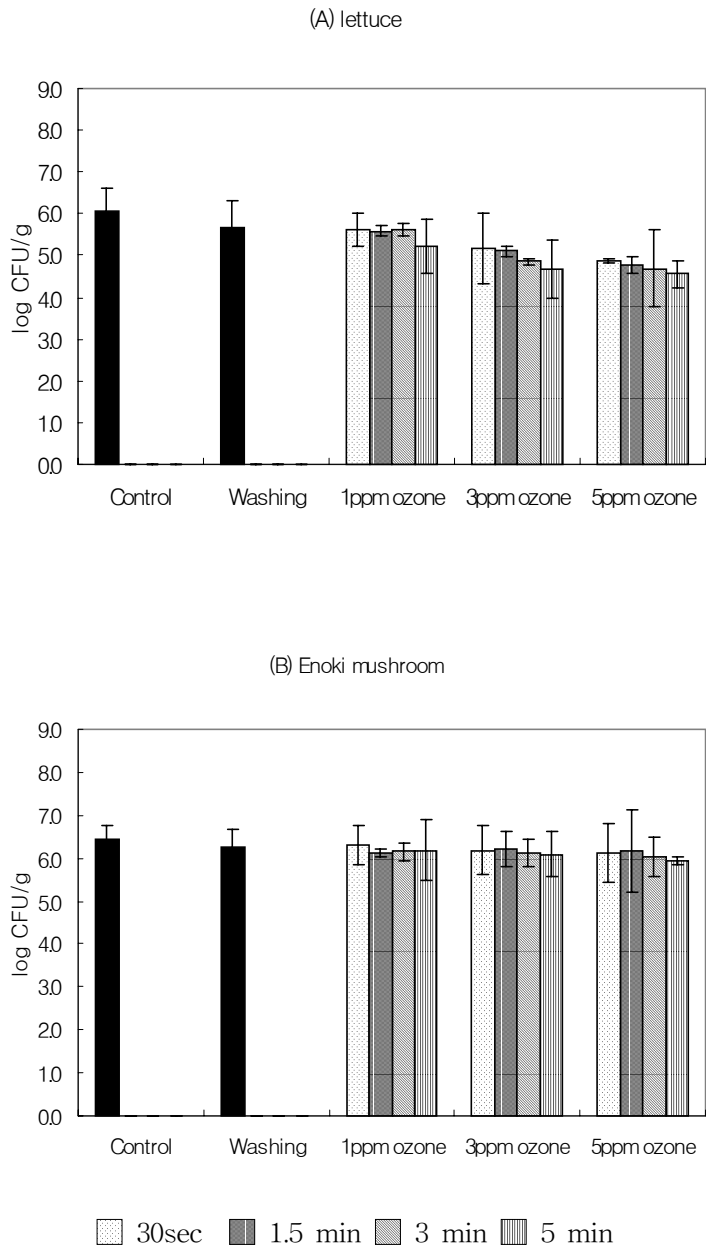
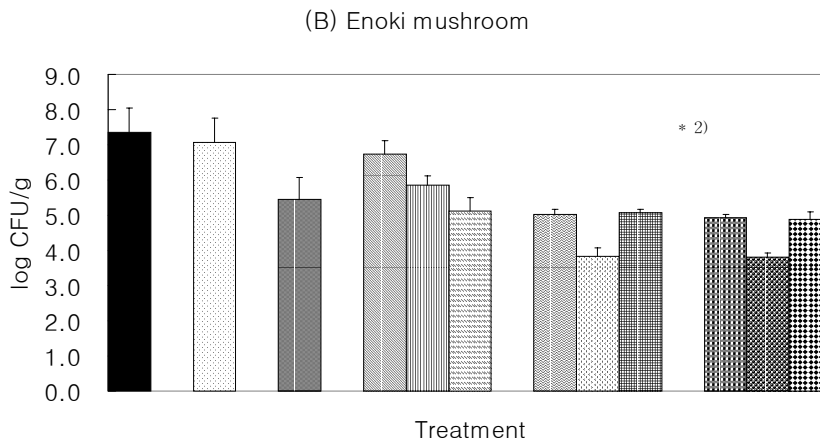
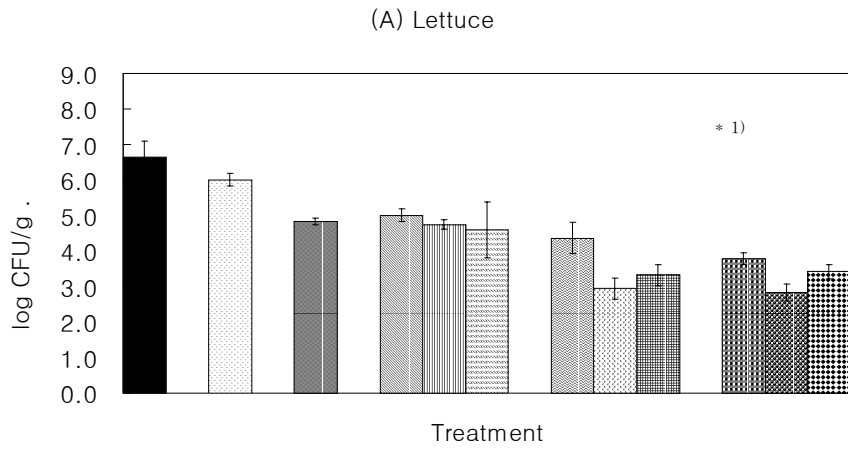


Fig. 65. Effect of ozone treatment on inactivation of *L. monocytogenes* on lettuce and enoki mushroom.

2) 양상치와 핑이버섯대한 유기산과 오존의 병용효과

오존수와 유기산의 병용처리는 단독처리시 비교적 효과가 높았던 3 ppm의 오존과 1% acetic acid, citric acid, lactic acid를 처리하였다. 이때 처리 방법은 오존과 유기산의 병용처리 후 일반 수돗물로 헹군 처리구와 그렇지 않은 처리구 두 그룹으로 나누어 처리하였다. 오존 농도는 3 ppm, 침지시간은 1.5 min으로 했을 때, 오존과 유기산의 단독 처리는 양상치에서 총균수를 1.81 log CFU/g의 감소를 나타냈으며, 1% acetic acid, 1% citric acid 그리고 1% lactic acid 단독 처리는 각각 1.63, 1.89, 2.05 log CFU/g의 균의 감소를 나타냈다. 3 ppm의 오존수와 1% citric acid, lactic acid의 병용처리는 3.69, 3.31 log CFU/g의 총균수를 감소시켰다. 핑이버섯은 같은 농도에서 5min 침지했을 때, 0.82, 1.51, 2.29 log CFU/g의 총균수 감소를 나타냈고, 1% citric acid와의 병용처리시 3.52 와 3.56(rinsed water) log CFU/g의 감소를 나타냈다.

양상치와 핑이버섯의 3ppm의 단독 처리시 효모 및 곰팡이는 각각의 침지 시간에서 1.67, 1.52 log CFU/g의 감소를 나타냈으며, 1% acetic acid와 citric acid, lactic acid의 단독 처리시 양상치에서는 1.51, 1.62, 1.78 log CFU/g의 감소를, 핑이버섯에서는 1.62, 1.13, 1.25 log CFU/g의 감소를 각각 나타냈다. 유기산중 오존수와 가장 높은 상승효과를 나타내는 것은 citric acid로 양상치에서는 3.29, 3.86(rinsed water)log CFU/g의 감소를 나타냈고, 핑이버섯에서는 2.77, 2.75(rinsed water)log CFU/g의 감소를 나타냈다.



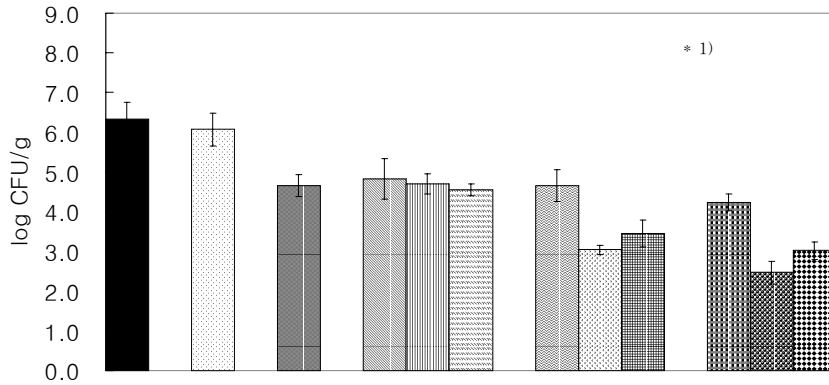
■ : Control	▨ : Washing	■ : 3ppm Ozone
▨ : 1% Acetic acid	▨ : 1% Citric acid	▨ : 1% Lactic acid
▨ : 3ppm Ozone + 1% Acetic acid	▨ : 3ppm Ozone + 1% Acetic acid + Washing	
▨ : 3ppm Ozone + 1% Citric acid	▨ : 3ppm Ozone + 1% Citric acid + Washing	
▨ : 3ppm Ozone + 1% Lactic acid	▨ : 3ppm Ozone + 1% Lactic acid + Washing	

Fig. 66. Effect of ozone and organic acids, either alone or in combined on inactivation of total counts on lettuce(A) and enoki mushroom(B).

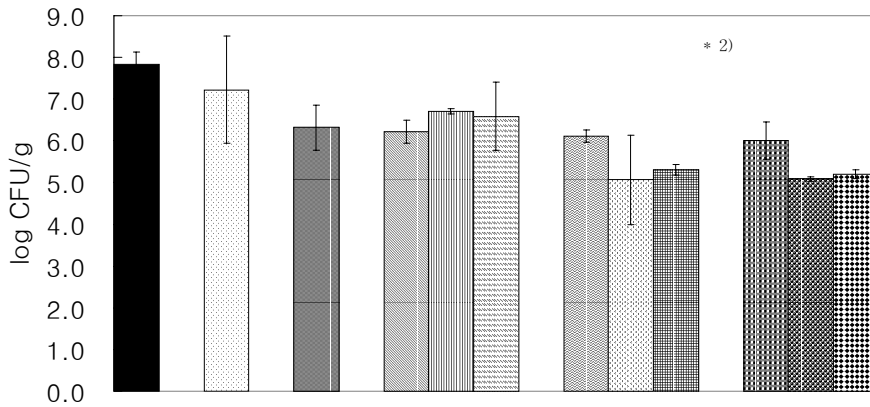
1) dipping time was 1.5min at 3ppm ozone

2) dipping time was 5min at 3ppm ozone

(A) Lettuce



(B) Enoki mushroom



■ : Control □ : Washing ▒ : 3ppm Ozone
▒ : 1% Acetic acid ▒ : 1% Citric acid ▒ : 1% Lactic acid
▒ : 3ppm Ozone + 1% Acetic acid ▒ : 3ppm Ozone + 1% Acetic acid + Washing
▒ : 3ppm Ozone + 1% Citric acid ▒ : 3ppm Ozone + 1% Citric acid + Washing
▒ : 3ppm Ozone + 1% Lactic acid ▒ : 3ppm Ozone + 1% Lactic acid + Washing

Fig. 67. Effect of ozone and organic acids, either alone or in combined on inactivation of yeast and mold on lettuce(A) and enoki mushroom(B).

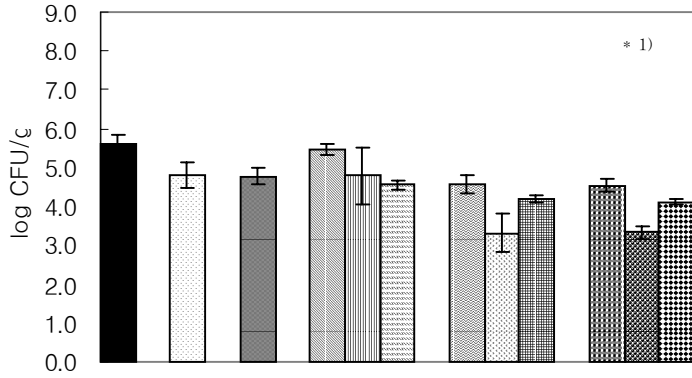
1) dipping time was 1.5min at 3ppm ozone

2) dipping time was 5min at 3ppm ozone

E. coli O157:H7을 양상치에 inoculum 시킨 샘플에서는 3ppm의 오존농도와 1%의 유기산 에서 1.5 min 침지하였을 때, 각각의 단독 처리는 0.86 log CFU/g의 감소를, 1% acetic acid, citric acid, lactic acid의 단독 처리는 0.17, 0.84, 1.07 log CFU/g의 감소를 나타냈다. 유기산과의 병용처리에서는 1% citric acid가 2.31 log CFU/g으로 가장 높은 상승효과를 나타냈으며, 같은 농도에서 5min 침지 처리했을 때, 팽이버섯에서는 각각의 단독 처리시 0.94, 1.92, 0.84, 1.07 log CFU/g의 감소 효과를 나타냈으며, 병용 처리는 1% citric acid와의 병용처리가 2.26 log CFU/g의 가장 높은 상승효과를 나타냈다.

*L. monocytogenes*에 inoculum 시킨 양상치에서의 3ppm 오존수와, 1% acetic acid, citric acid, lactic acid의 단독 처리시(1.5min dipping), 각각 0.52, 0.59, 1.03, 0.93 log CFU/g의 감소를 나타냈다. 유기산과 오존의 병용처리시 1% citric acid가 1.84 log CFU/g으로 가장 높은 감소 효과를 나타냈다. 양상치와 같은 농도에서 5min 침지시, 팽이버섯에서는 각각 0.28, 0.59, 0.51, 0.71 log CFU/g의 감소를 나타냈으며, 유기산과의 병용처리시, 1% citric acid가 1.79 log CFU/g의 감소로 가장 높은 상승효과를 나타냈다.

(A) Lettuce



(B) Enoki mushroom

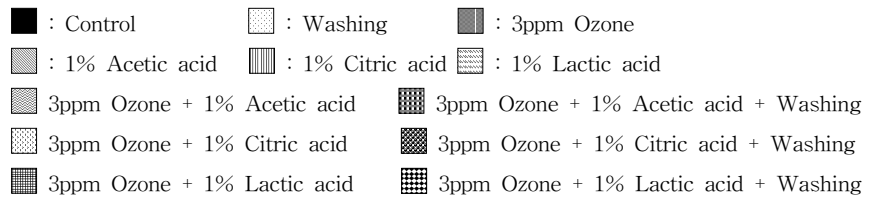
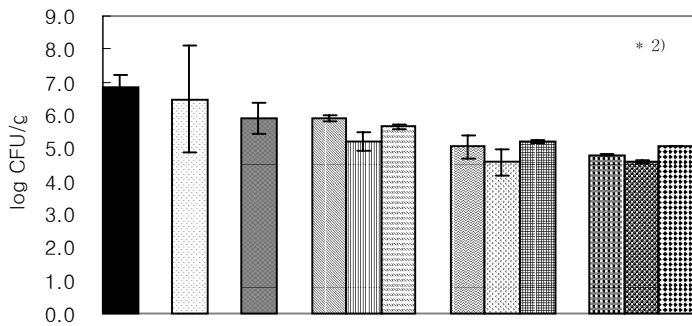
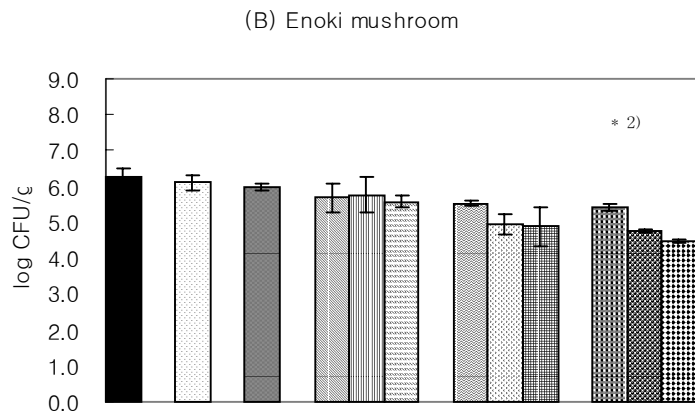
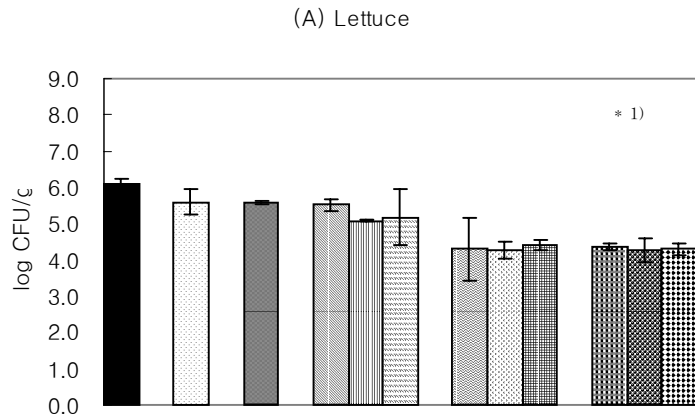


Fig. 68. Effect of ozone and organic acids, either alone or in combined on inactivation of *E. coli* O157:H7 on lettuce(A) and enoki mushroom(B).

1) dipping time was 1.5min at 3ppm ozone

2) dipping time was 5min at 3ppm ozone



- : Control □ (dotted) : Washing ■ (solid grey) : 3ppm Ozone
- (diagonal lines) : 1% Acetic acid ■ (vertical lines) : 1% Citric acid ■ (horizontal lines) : 1% Lactic acid
- (diagonal lines) : 3ppm Ozone + 1% Acetic acid ■ (diagonal lines) : 3ppm Ozone + 1% Acetic acid + Washing
- (dotted) : 3ppm Ozone + 1% Citric acid ■ (dotted) : 3ppm Ozone + 1% Citric acid + Washing
- (vertical lines) : 3ppm Ozone + 1% Lactic acid ■ (vertical lines) : 3ppm Ozone + 1% Lactic acid + Washing

Fig. 69. Effect of ozone and organic acids, either alone or in combined on inactivation of *L. monocytogenes* on lettuce(A) and enoki mushroom(B).

1) dipping time was 1.5min at 3ppm ozone 2) dipping time was 5min at 3ppm ozone

라. 전처리 및 포장의 병용처리시 미생물 생육변화

포장재에 따른 미생물 저감화 효과를 알아보기 위하여 양상치와 팽이버섯을 전처리 후 wrap과 MPF(Micro perforated film ; 숨쉬는 필름)으로 포장하여 5℃와 15℃에서 14일간 저장하면서 미생물 수를 확인하였다.

양상치를 물세척, 1% citric acid, 3ppm Ozone 그리고 3ppm Ozone과 1% citric acid의 병용 처리하여 5℃에서 저장한 초기균은 각각 6.17, 4.3, 4.78 그리고 3.48 log CFU/g으로서 10일까지 급격히 증가하여 9.03, 8.86, 8.69 그리고 8.01 log CFU/g을 나타냈고, 그 중 3ppm Ozone과 1% citric acid의 병용처리가 가장 효과적이었으나 포장 지별 차이는 없었다. (Fig. 70, 71).

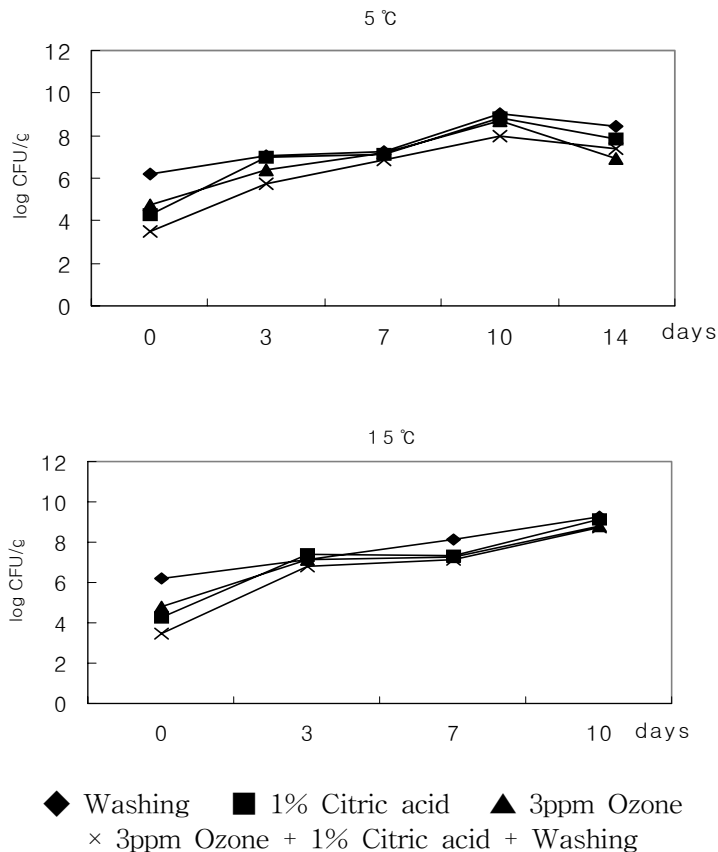


Fig. 70. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of total counts on lettuce in the wrap during storage at 5 °C and 15 °C.

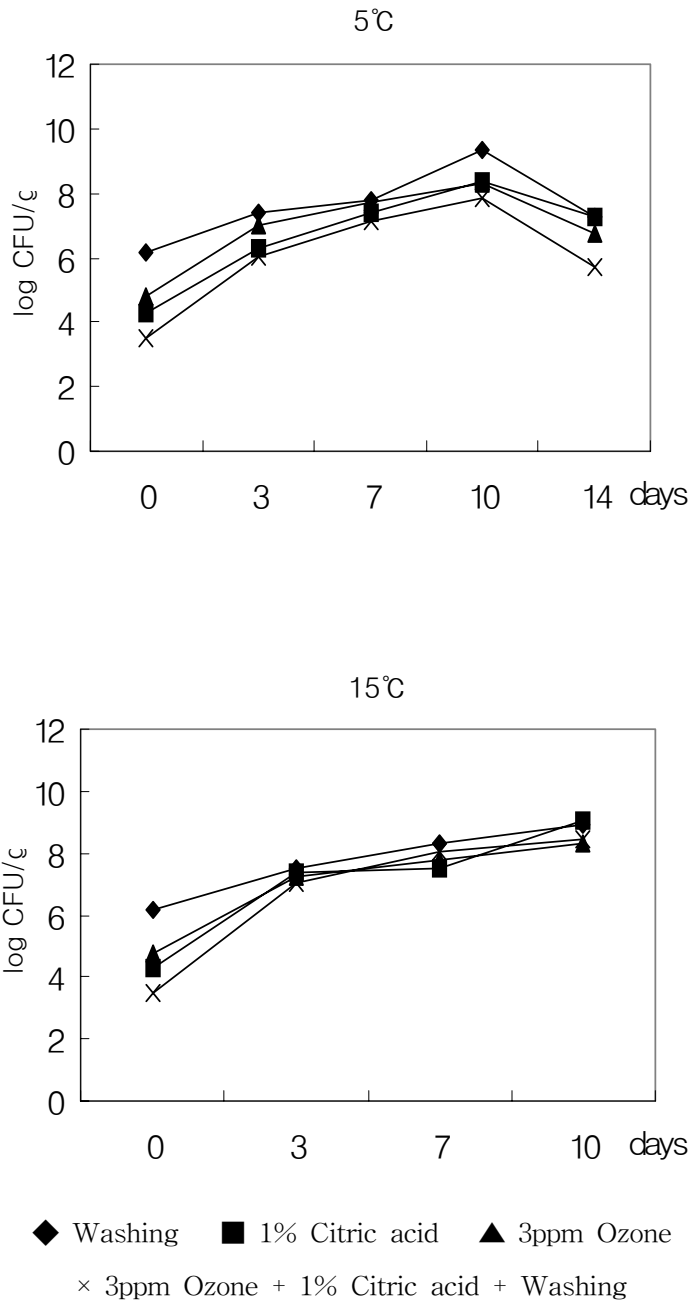


Fig. 71. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of total counts on lettuce in the MPF during storage at 5 °C and 15 °C.

팽이버섯은 물세척, 1% citric acid, 3 ppm Ozone 그리고 3 ppm Ozone과 1% citric acid의 병용 처리하여 5℃에서 저장한 초기균은 각각 7.11, 5.74, 5.34 그리고 4.02 log CFU/g으로 나타났고, 저장기간 10일까지는 9.49, 9.44, 9.38 그리고 9.29 log CFU/g으로 급격히 증가하다 점차 감소하는 경향을 보였으나(Fig. 72, 73.), 양상치와 팽이버섯을 15℃에서 저장 한 것은 10일째 되어서 부패되었다.

또한 팽이버섯도 양상치와 마찬가지로 오존과 유기산을 병용 처리한 처리구에서 가장 좋은 효과를 관찰 할 수 있었으나 wrap과 MPF의 차이는 보이지 않았다.

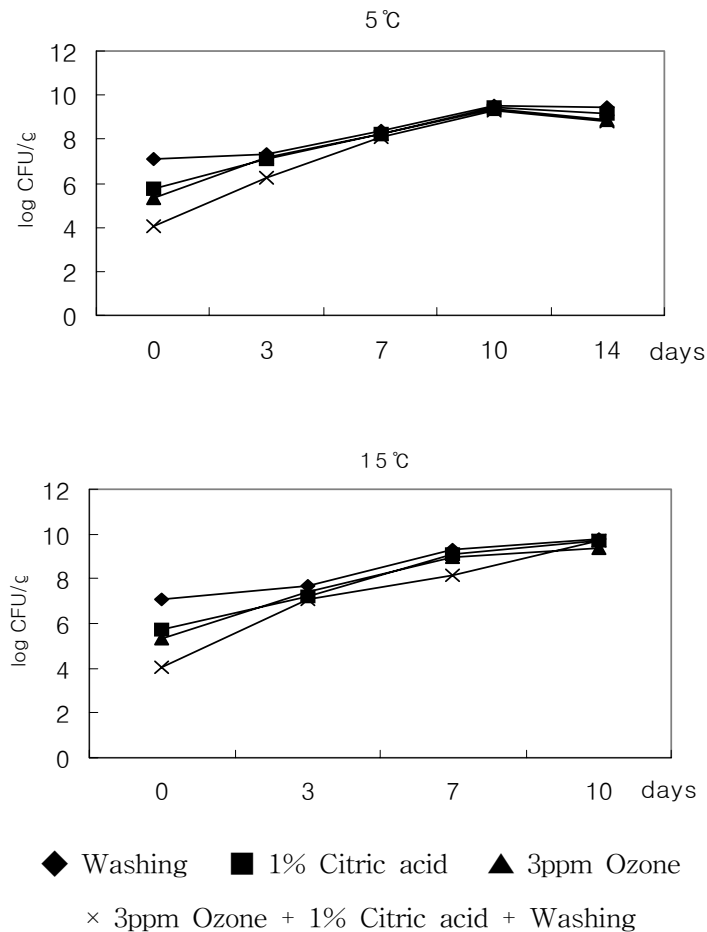


Fig. 72. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of total counts on enoki mushroom in the wrap during storage at 5 °C and 15 °C.

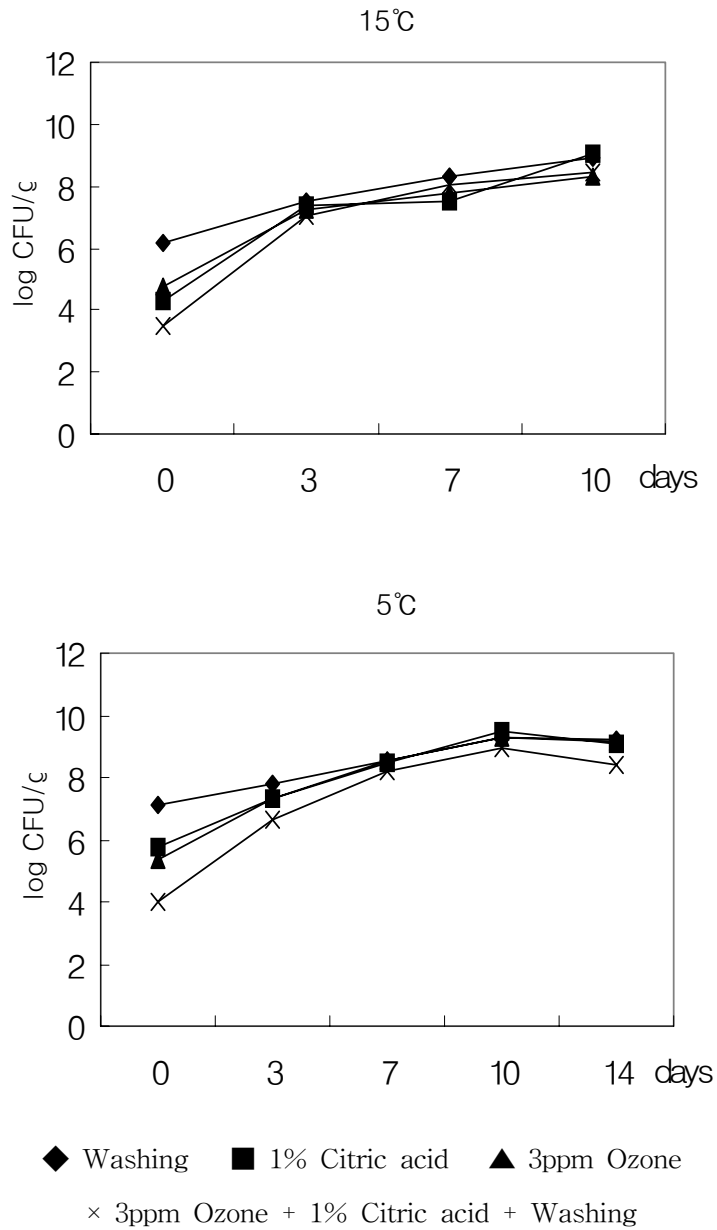


Fig. 73. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of total counts on enoki mushroom in the MPF during storage at 5 °C and 15 °C.

마. 저장온도에 따른 미생물의 성장

포장재별 미생물 저감화 효과를 알아본 결과 wrap과 특수 포장재인 MPF의 차이가 뚜렷하게 없어 일반적으로 널리 이용되고 있는 wrap을 이용하여 *L. monocytogenes*와 *E. coli* 0157:H7를 저장온도에 따른 성장과 생존효과를 알아보기 위하여 양상치와 팽이버섯(50g)을 자른 후 항균처리와 wrap 포장한 후 5℃와 15℃에서 14일 동안 저장하면서 관찰한 결과는 Fig. 74와 75에서 보여준다.

양상치는 물세척, 1% citric acid, 3 ppm Ozone 그리고 3 ppm Ozone과 1% citric acid을 병용처리 했을 때 초기 총균수가 각각 6.17, 4.30, 4.78 and 3.48 log CFU/g로 나타났는데 5℃에서 10일 동안 저장했을 때 급격히 증가한 후 조금씩 감소하였고 (Fig. 74.), 팽이버섯은 물세척, 1% citric acid, 3 ppm 오존, 3 ppm 오존과 1% citric acid 병용처리 했을 때 총균수는 초기에 7.11, 5.74, 5.34 그리고 4.02 log CFU/g이었으나 저장 10일 동안 급격히 증가하였다. (Fig. 75)

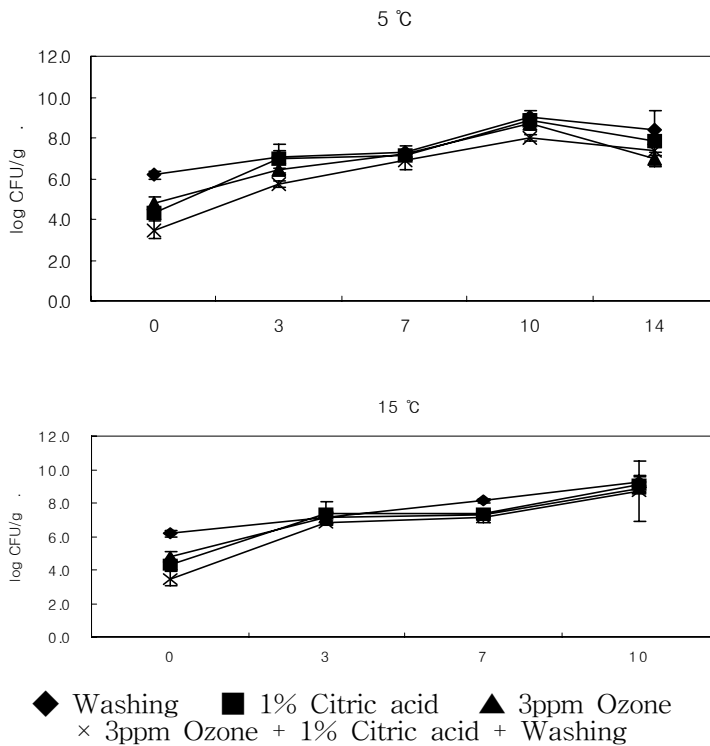


Fig. 74. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of total counts on lettuce during storage at 5 °C and 15 °C.

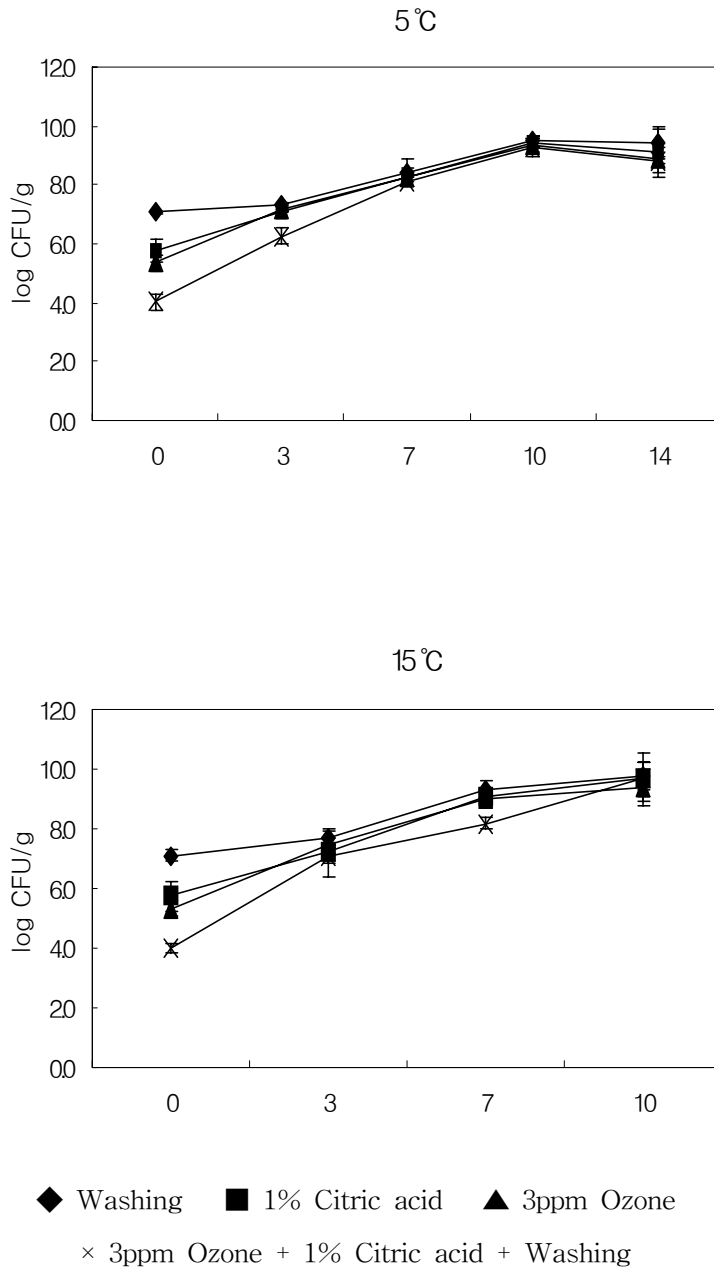


Fig. 75. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of total counts on enoki mushroom during storage at 5 °C and 15 °C.

양상치에 대한 초기 효모와 곰팡이는 물세척, 1% citric acid, 3 ppm 오존, 3 ppm 오존과 1% citric acid 병용처리 했을 때 7.32, 6.26, 5.84 and 5.02 log CFU/g로 총균수와 유사하게 나타났다 (Fig. 76). 팽이버섯의 초기 효모와 곰팡이 또한 물세척, 1% citric acid, 3 ppm 오존, 3 ppm 오존과 1% citric acid의 병용처리 했을 때 7.32, 6.26, 5.84 그리고 5.02 log CFU/g으로 팽이버섯의 총균수와 유사하게 나타났다(Fig. 77).

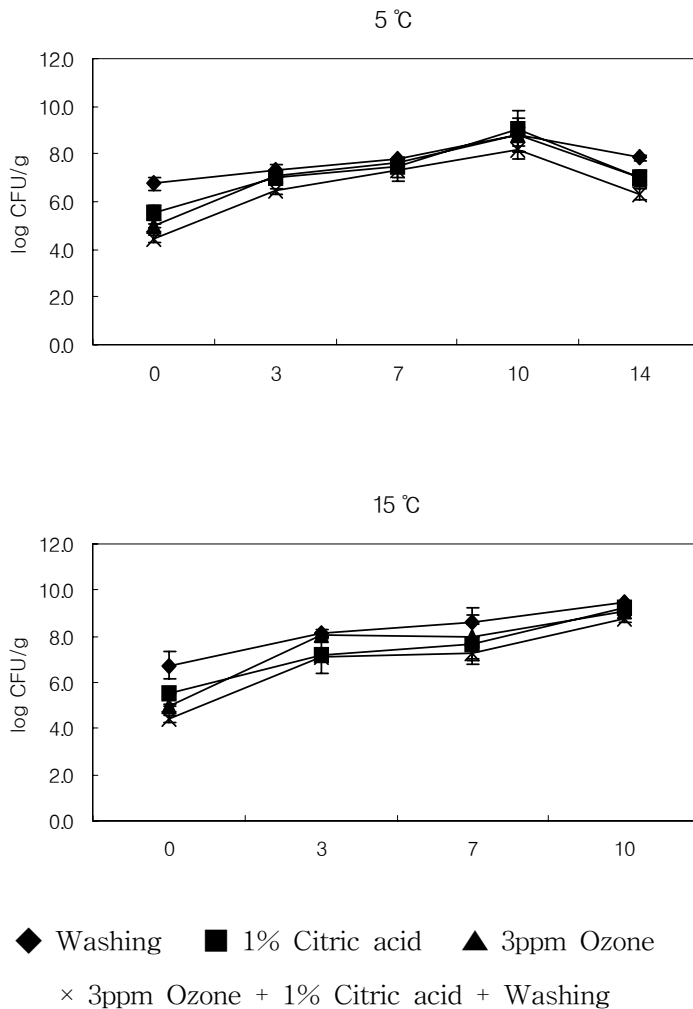


Fig. 76. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of yeast and mold on lettuce during storage at 5 °C and 15 °C.

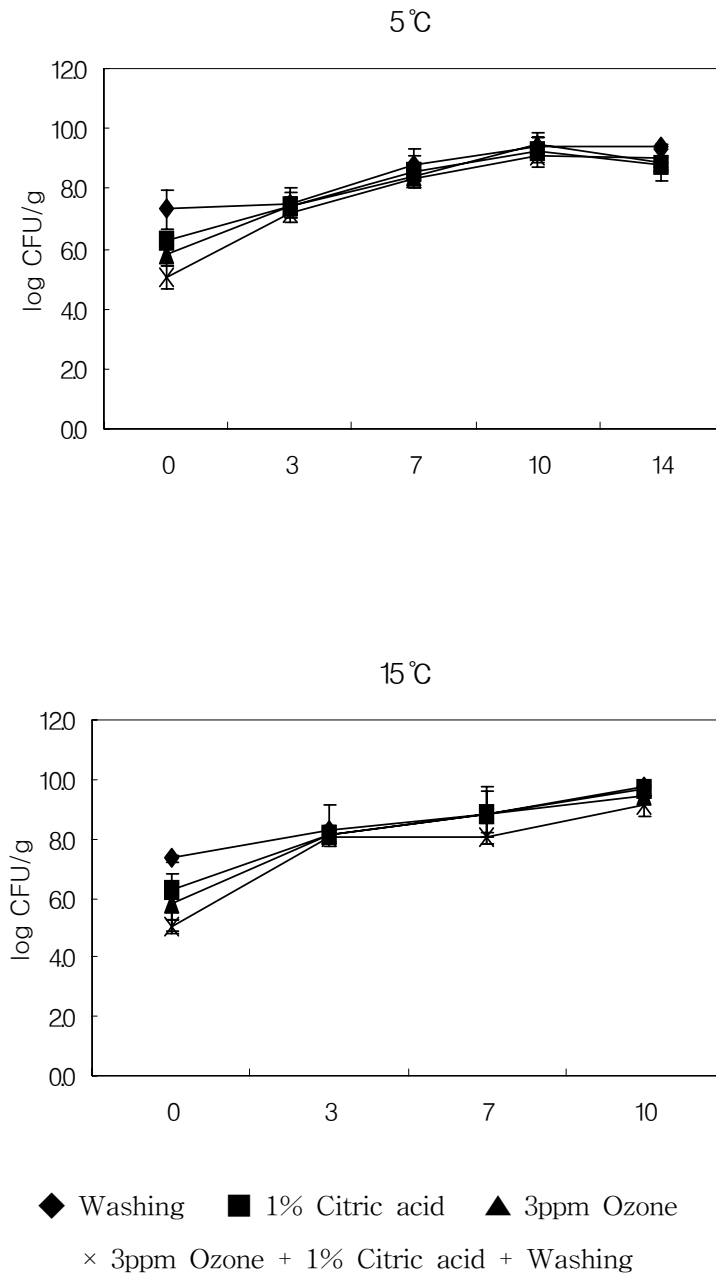


Fig. 77. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of yeast and mold on enoki mushroom during storage at 5 °C and 15 °C.

오존 3 ppm과 1% citric acid를 병용 처리한 양상치와 팽이버섯에서 총균수와 효모, 곰팡이의 성장이 다른 처리구와 비교해 봤을 때 억제되었다. 3 ppm 오존과 1% citric acid 병용처리가 다른 처리와 비교하여 균을 집중한 양상치와 팽이버섯에서 5℃에서 10일, 15℃에서 7일 동안 최저로 증가하였다.

14일 동안 5℃와 15℃에서 저장된 양상치와 팽이버섯에 대한 *L. monocytogenes* 개체수는 양상치가 15℃에서 7일 후에 감소한 것을 제외하고 현저히 증가하였다. 3ppm 오존을 단독 처리한 것과 1% citric acid를 처리한 양상치와 팽이버섯에서 10일 동안 저장하면서 세척수와 비교해 볼 때 *L. monocytogenes*의 성장이 억제되었다(Fig. 78, 79).

7일 후 15℃에서 양상치는 *L. monocytogenes*가 1 log CFU/g 감소되었으나(Fig. 78), 팽이버섯에 대한 *L. monocytogenes*의 개체수는 5℃와 15℃에서 저장기간동안 평균처리에 관계없이 양상치보다 더 급격한 증가를 보였다(Fig. 79).

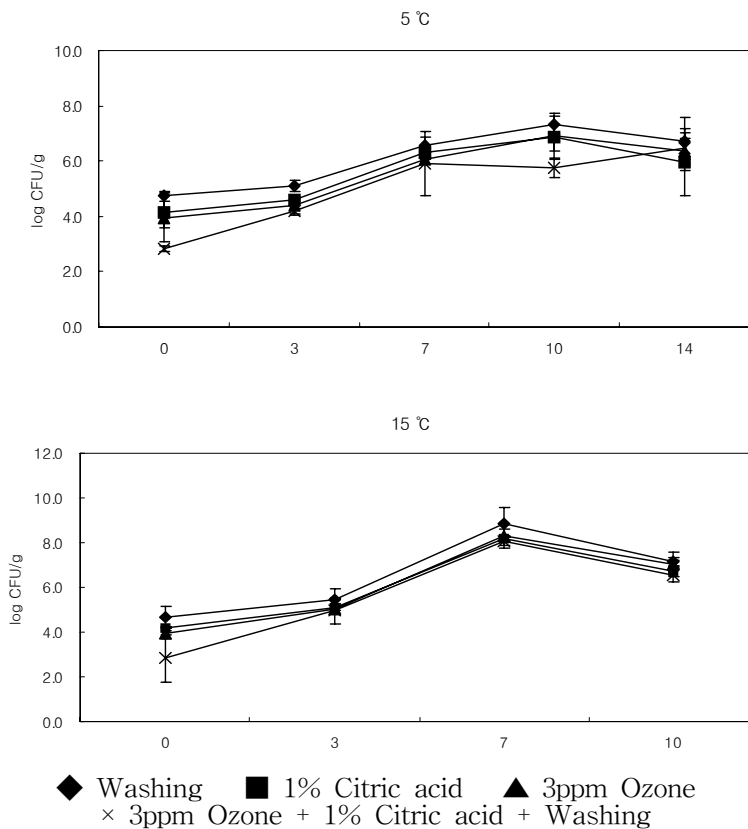


Fig. 78. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of *L. monocytogenes* in lettuce during storage at 5 °C and 15°C.

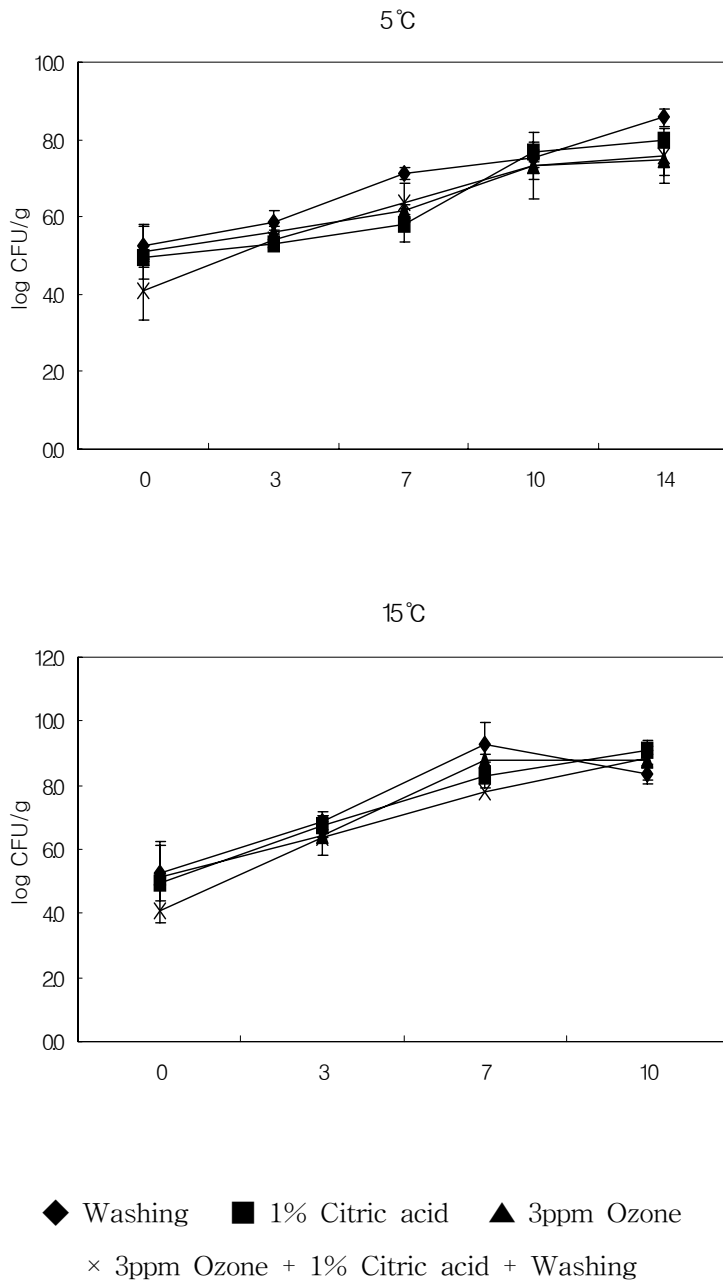


Fig. 79. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of *L. monocytogenes* in enoki mushroom during storage at 5 °C and 15°C.

5°C에서 양상치는 10일, 팽이버섯은 7일 동안 대략 8 log CFU/g 정도로 급격히 증가하였다. *E. coli* O157:H7의 2종은 양상치와 팽이버섯에서 5°C보다 15°C에서 급격히 성장하였고, 양상치보다 팽이버섯에서 성장이 풍부했다(Fig. 80, 81).

E. coli O157:H7을 접종한 양상치와 팽이버섯을 14일 동안 5°C와 15°C에서 저장하면서 사멸 효과를 관찰한 결과는 Fig. 80, 81와 같다.

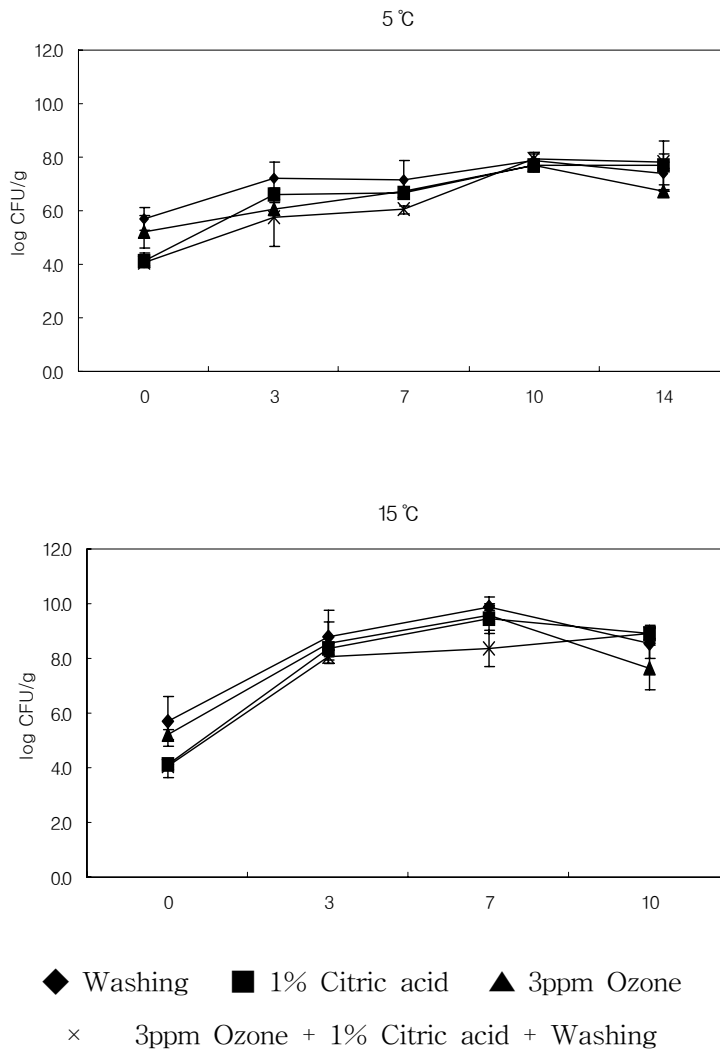


Fig. 80. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of *E. coli* O157:H7 in lettuce during storage at 5 °C and 15°C.

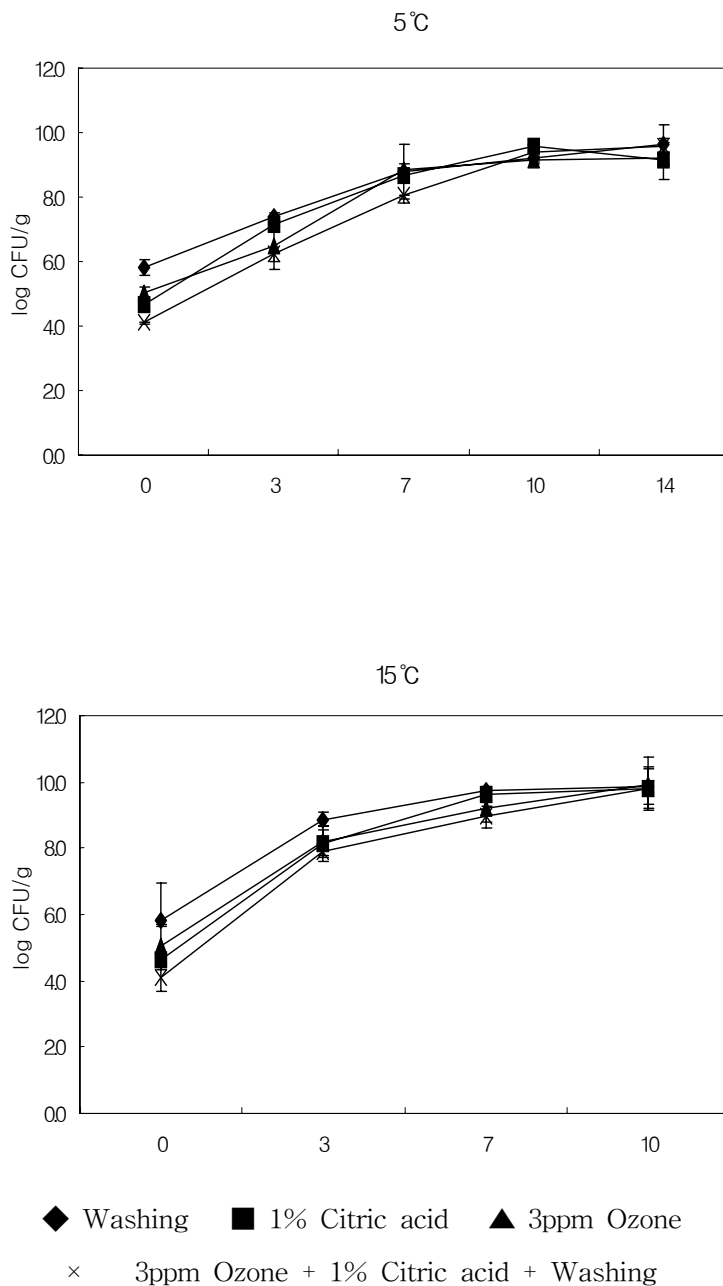


Fig. 81. Effect of 3 ppm ozone and 1% citric acid, either alone or combined on growth of *E. coli* O157:H7 in enoki mushroom during storage at 5 °C and 15°C.

양상치와 팽이버섯의 저장온도와 처리별로 보았을 때 *L monocytogenes*보다 *E. coli* 0157:H7이 크게 성장하였다. 이러한 결과는 저장온도 5℃와 15℃에서 유기산과 오존 그리고 병용 침지한 것보다 처리하지 않은 것이 더 높은 *E. coli* 0157:H7의 개체수를 보여주었다. 성장 증가의 이유는 명백하지 않다. 한가지 가능한 것은 5℃ 그리고 15℃에서의 양상치와 팽이버섯에 *E. coli* 0157:H7과 *L monocytogenes*의 경쟁적 이점을 주는 항균제에 침지하는 것의 결과로서 자연적으로 미생물총의 개체를 감소시킨다 (Gillian, et al., 1997). 이 자료는 또한 소독 후에 생산물의 오염을 피하기 위해서는 세밀한 위생처리와 포장의 중요성을 강조한다.

제 4 장 참고문헌

1. Ohlsson T. 1994. Minimal processing preservation methods of the future, an overview. Trends in Food Sci. & Tech., 5:341-344.
2. Ahvenainen R. 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. Trends in Food Sci. & Tech., 7:179-186.
3. Ferreres F, Gil MI, Castaner M, Tamas-Barberan FA. 1997. Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (*Lactuca sativa*) changes with minimal processing and cold storage. J. Agric. Food Chem. 45:4249-4254.3.
4. Gamage TV, Yuen CMC, Wills RBH. 1997. Minimal processing of custard apple (*Annona atemoya*) pulp. F. Food Processing and preservation. 21:289-301.
5. Brecht JK. 1995. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. HortSci. 30(1):18-21.
6. Chi JH, Ha TM, Kim YH, Ju YC. 1996. Effects of storage temperature and packing method for keeping freshness of fresh mushrooms. RDA. J. Agri Sci. 38(1):915-921.
7. Jiang Z, Oraikul B. 1989. Reduction of nonenzymatic browning in potato chips and French fries with glucose oxidase. J. Food Processing and Preservation. 13:175-186.
8. Lee-Kim MS, Hwang ES. 1997. Inhibition studies on burdock polyphenyl oxidase (PPO) activity. J. Food Processing and Preservation. 21:485-494.
9. Rosen JC, Kader AA. 1989. Postharvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. J. Food Sci. 54(3):656-659.
10. Ma S, Silva JL, Hearnberger JO, Garner JO, Jr. 1992. Prevention of enzymatic darkening in frozen sweet potatoes [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by water blanching: Relationship among darkening, phenols, and polyphenol oxidase activity. J. Agric. Food Chem. 40:864-867.
11. Mccord JD, Kilara A. 1983. Control of enzymatic browning in processed mushrooms (*Agaricus bisporus*). J. Food Sci. 48: 1479-1483.
12. Mondy JI, Munshi CB. 1993. Effect of maturity and storage on ascorbic acid and tyrosine concentrations and enzymatic discoloration of potatoes. J. Agric Food Chem. 41:1868-1871.
13. Mondy Ni, Mobley EO, Gedde-dahl SB. 1967. Influence of potassium fertilization of enzymatic activity, phenolic content and discoloration of potatoes. J. Food Sci.

- 32:378-381.
14. Lourenco EJ, Neves VA, Silva MAD. 1992. Polyphenol oxidase from sweet potato: Purification and properties. *J. Agric. Food Chem.* 40:2369-2373.
 15. Biekman ESA. 1992. Enzymatic maceration of potatoes for the production of instant dried mashed potato: Modeling of the disintegration process. *Food Biotech.* 6(1):19-33.
 16. Ferreres F, Gil MI, Castaner M, Tamas-Barberan FA. 1997. Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (*Lactuca sativa*) changes with minimal processing and cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 45:4249-4254.
 17. Duangmal K, Apenten RKO. 1999. A comparative study of polyphenoloxidases from taro(*Colocasia esculenta*) and potato(*Solanum tuberosum* var. Romano). *Food Chem.* 64:351-359.
 18. Tomás-Barberán FA, Gil MI, Castañer M, Artés F, Saltveit ME. 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 45:583-589.
 19. Langdon TT. 1987. Preventing of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfating agents. *Food Tech.* May:64-67.
 20. Mcevely AJ, Iyengar R, Otwell S. 1991. Sulfite alternative prevents shrimp melanosis. *Food Tech.* September:80-86.
 21. Shewfelt RL. 1986. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food Technol.* May:70-80.
 22. Sapers GM, Miller RL. 1992. Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *J. Food Sci.* 57(5):1132-1135.
 23. Sapers GM, Miller RL, Douglas FW, JR, Hicks KB. 1991. Uptake and fate of ascorbic acid-2-phosphate in infiltrated fruit and vegetable tissue. *J. Food Sci.* 56(2):419-422.
 24. Sapers GM, Hicks KB, Phillips JG, Garzarella L, PondishDI, Matulaitis RM, McCormack TJ, Sondey SM, Seib PA, Ei-atawy YS. 1989. Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid derivatives, polyphenol oxidase inhibitors, and complexing agents. *J. Food Sci.* 54(4):997-1012.
 25. Kato-Noguchi H, Watada AE. 1997. Citric acid reduces the respiration of fresh-cut carrots. *HortSci.* 32(1):136.
 26. Oszmianski J, Lee CY. 1990. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *J. Agric. Food Chem.* 38:1892-1895.
 27. Kahn V, Lindner R, Zakin V. 1995. Effect of kojic acid on the oxidation of o

- dihydroxyphenols by mushroom tyrosinase. *J. Food Biochem.* 18: 253-571.
28. Monsalve-gonzalez A, Barbosa-canovas GV, Cavalieri RP, Mcevily AJ, Iuengar R. 1993. Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-Hexylresorcinol as anti-browning agent. *J. Food Sci.* 58(4):797-800.
 29. Dawley RM, Flurkey WH. Differentiation of tyrosinase and lactase using 4-hexylresorcinol, a tyrosinase inhibitor. *Phytochem.* 33(2):281-284.
 30. Monsalve gonzalez A, Barbosa-canovas GV, Mcevily AJ, Iyengar R. Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexylresorcinol. *Food Tech.* April:110-118.
 31. Son SM, Moon KD, Lee CY. 2000. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.* 48:2071-2074.
 32. Lin Z, Schyven E. 1995. Influence of blanching treatments on the texture and color of some processed vegetables and fruits. *J. Food Processing and preservation.* 19:451-465.
 33. Lurie S, Klein JD. 1992. Calcium and heat treatments to improve storability of Anna apples. *HortSci.* 27(1):36-39.
 34. Tijksens LMM, Rodis PS, Hertog MLATM, Waldron KW, Ingham L, Proxenia N, Kijk CV. 1997. Activity of peroxidase during blanching of peaches, carrots and potatoes. *J. Food Engineering.* 34:355-570.
 35. Ramaswamy HS, Fakhouri MO. 1998. Microwave Blanching : Effect on peroxidase activity, texture and quality of frozen vegetables. *J. Food Sci. Technol.* 35:216-222.
 36. Dawkins NL, Lu JY. 1991. Physico-chemical properties and acceptability of flour prepared from microwave blanched sweet potatoes. *J. Food Processing and preservation.* 15:115-124.
 37. Hidalgo FJ, Zamora R. 1995. Characterization of the products formed during microwave irradiation of the nonenzymatic browning lysine/(E)-4,5,-Epoxy-(E)-2-heptenal model system. *J. Agric. Food Chem.* 43:1023-1028.
 38. Scanberg SJM, Suortti T, Nyman EMGL. 1997. Physicochemical changes in dietary fiber of green beans after repeated microwave treatments. *J. Food Sci.* 62(5):1006-1010.
 39. Zamora R, Hidalgo FJ. 1992. Browning and fluorescence development during microwave irradiation of a lysine/(E)-4,5,-epoxy -(E) -2-heptenal model system. *J. Agric. Food Chem.* 40:2269-2273.
 40. Gunes G, Lee CY. 1997. Color of minimally processed potatoes as affected by

- modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *J. Food Sci.* 62(3):572-582.
41. Walingo A, Davidson V. 1994. Modified atmosphere packaging of pre-peeled potatoes. *E. Afr. agric. For. J.* 60(2):67-74.
 42. Sapers GM, Miller RL. 1993. Control of enzymatic browning in prepeeled potatoes by surface digestion. *J. Food Sci.* 58(5):1076-1078.
 43. Hughes JC, Swain T. 1962. After-cooking blackening in potatoes. III.-Examination of the interaction of factors by *in vitro* experiments. *J. Sci. Food Agric.* 13:358-363.
 44. Son SM, Moon KD, Lee CY. 2000. Rhubarb juice as a natural antibrowning agent. *J. Food Sci.* 65(7):1288-1289.
 45. Osuna-garcia JA, Wall MM, Waddell CA. 1997. Natural antioxidants for preventing color loss in stored paprika. *J. Food Sci.* 62(5):1017-1021.
 46. Kim JK, Cha WS, Park JH, Oh SL, Cho YJ, Chun SS and Choi C. 1997. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28(1):173-177
 47. Graham DM, Use of ozone for food processing. 1997. *J Food Tech* 51(6):72-75.
 48. Kim JG, Yousef AE. 2000. Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. *J Food Sci* 65(3):521-528.
 49. Ana GP, Carlos S, Jose JR., Rios RO, Jose MO. 1999. Effects of ozone treatment on postharvest strawberry quality. *J Agric Food Chem* 47:1652-1656.
 50. Liew CL, Prange RK. 1994. Effect of ozone and storage temperature on postharvest diseases and physiology of carrots (*Daucus carota* L.). *J Am Soc Hortic Sci* 119:563-567.
 51. Henry LK, Puspitasari-Nienaber NL, Jaren-Galan M, Breemen RBV, Catignani GL, Schwartz SJ. 2000. Effects of ozone and oxygen on the degradation of carotenoids in an aqueous model system. *J Agric Food Chem* 48:5008-5013.
 52. Jiang ST, Ho ML, Jiang SH, Lo L, Chen HC. 1998. Color and quality of mackerel surimi as affected by alkaline washing and ozonation. *J Food Sci* 63(4):652-655.
 53. Dudley ED, Hotchkiss JH. 1989. Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase. *J Food Biochem* 13:65-75.
 54. Wang ZY, Athar M and Bickers DR. 2000. Licorice in foods and herbal drugs: chemistry, pharmacology, toxicology and uses. Herbs, botanicals and teas. Technomic Co. 321-353.
 55. Kim NJ and Hong ND. 1996. Studies on the processing of crude drugs (V).

- Kor. J. Pharmacogn. 27(3):196-206.
56. Chung WT, Lee SH, Cha MS, Sung NS, Hwang B and Lee HY. 2001. Biological activities of *Glycyrrhizae uralensis* FISCH. Korean J. Medicinal Crop Sci. 9(1):45-54.
 57. Tan NH, Wong KC and Lumen BO. 1984. Relationship of tannin levels and trypsin inhibitor activity with the *in vitro* protein digestibilities of raw and heat-treated winged bean. J. Agric. Food Chem. 32(4):819-822.
 58. Jeon BJ, Lee KH, Ryu HS, You BJ. 1996. Purification and some properties of the polyphenol oxidase from Ascidian, *Halocynthia roretzi*. J. Food Sci. Nutr. 1(1):111-116.
 59. Lee CY, Kagan V, Jaworski AW, Brown SK. 1990. Enzymatic browning in relation to phenolic compounds and polyphenoloxidase activity among various peach cultivars. J. Agric. Food Chem. 38:99-101.
 60. Jung SW, Lee NK, Kim SJ and Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. Korean J. Food Sci. Technol. 27(6):891-896.
 61. Mapson LW, Swain T., Tomalin A. 1963. Influence of variety, cultural conditions and temperature of storage on enzymatic browning of potato tubers. *J Sci Food Agric* 14: 673.
 62. Coseteng MY and Lee CY. 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. J. Food Sci. 52(4):985-989.
 63. Hwang T.Y., Son S.M., Lee C.Y. and Moon K.D. 2001. Quality changes of fresh-cut packaged fuji apples during storage. Korean J. Food Sci. and Tech. 33(4):469-473.
 64. Cho Y.K. and Ahn H.K. 1999. Purification and characterization of polyphenol oxidase from potato: I. Purification and properties. J. Food Biochemistry. 23: 577-592.
 65. DC Protein assay instruction manual. Bio-rad Co.
 66. 안용복. 2000. 효소단백질 정제법. 양서각
 67. Choi SW and Sapers GM. 1994. Effects of washing on polyphenols and polyphenol oxidase in commercial mushrooms (*Agaricus bisporus*). J. Agric. Food Chem. 43: 2286-2290.
 68. Ji HH and Kenneth CG. 1998. Surface sterilization of whole tomato fruits with sodium hypochlorite influences subsequent postharvest behavior of fresh-cut slices. *Postharvest Biology and Technol.* 13:51-58.
 69. 최현집, 이종원. 1998. SAS를 이용한 통계분석. 박영사

70. Son SM, Moon KD and Lee CY. 2001. Inhibitory effects of various antibrowning agents on apples slices. *Food Chemistry* 73:23-30.
71. Hwang TY, Son SM and Moon KD. 2002. Screening of effective browning inhibitors on fresh-cut potatoes. *Food Science and Biotechnology*. 11(4):397-400.
72. Sapers GM. 1993. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. *Food Technol.* 47(10):75-84.
73. Robert CM, Cadet FR, Rouch CC, Pabion M, Richard-forget F. Kinetic study of the irreversible thermal deactivation of palmito (*Acanthophoenix rubra*) polyphenol oxidase and effect of pH. *J. Agric. Food Chem.* 43:1143-1150.
74. 한국식품공업협회. 1999. 식품첨가물공전 p. 261
75. Ma S, Silva JL, Hearnberger JO, Garner JO, Jr. 1992. Prevention of enzymatic darkening in frozen sweet potatoes [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by water blanching: Relationship among darkening, phenols, and polyphenol oxidase activity. *J. Agric. Food Chem.* 40:864-867.
76. Mate JI, Quartaert C, Meerdink G, Riet KV. 1998. Effect of blanching on structural quality of dried potato slices. *J. Agric Food Chem.* 46:676-681.
77. Agblor A, Scanlon MG. 1998. Effects of blanching conditions on the mechanical properties of french fry strips. *Amer. J. potato res.* 75:245-255.
78. Garcia-reverter J, Bourne MC, Mulet A. 1994. Low temperature blanching affects firmness and rehydration of dried cauliflower florets. *J. Food Sci.* 59(6):1181-1183.
79. Mizrahi S. 1996. Leaching of soluble solids during blanching of vegetables by ohmic heating. *J. Food Engineering.* 29:153-166.
80. Mohamed S, Hussein R. 1994. Effect of low temperature blanching cysteine-HCl, N-acetyl-L-cysteine, Na metabisulphite and drying temperatures on the firmness and nutrient content of dried carrots. *J. Food Processing and Preservation.* 18:343-348.
81. Quintero-ramos A, Bourne MC, Anzaldúa-morales AA. 1992. Texture and dehydration of dehydrated carrots as affected by low temperature blanching. *J. Food Sci.* 57(5):1127-1128.
82. Rice P, Selman JD, Abdul-rezzak RK. 1990. Nutrient loss in the hot water blanching of potatoes. *J. Food Sci. and Tech.* 25:61-65.
83. Stanley DW, Bourne MC, Stone AP, Wismer WV. 1995. Low temperature blanching effects on chemistry, firmness and structure of canned green beans and carrots. *J. Food Sci.* 60(2):327-333.
84. Tijssens LMM, Waldron KW, Hg A, Ingham L, Dijk CV. 1997. The kinetics of

- pectin methyl esterase in potatoes and carrots during blanching. *J. Food Engineering*. 34:371-385.
85. Tomasula PM, Kozempel MF, Craig JC, Jr. 1990. Simulation and control of glucose concentration in hot-water blanching of potatoes. *Biotechnol. Prog.* 6:249-254.
 86. Andersson A, Gekas V, Lind I, Oliveira F, Oste R. 1994. Effect of preheating on potato texture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 34(3):229-251.
 87. Seo KI, Kim HC and Shim KH. 1997. Antimicrobial activities in the water extract of mustard seed fractionated by solvents. *Korean J. Post-harvest Sci. Technol.* 4(3):295-300.
 88. Partington JC and Bolwell GP. 1996. Purification of polyphenol oxidase free of the storage protein patatin from potato tuber. *Phytochemistry* 42(6):1499-1502.
 89. Sapers GM, Garzarella L. and Pilizota. V. 1990. Application of browning inhibitors to cut apple and potato by vacuum and pressure infiltration. *J. Food Sci.* 55(4):1049-1053.
 90. Friedman M. 1997. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1523-1540.
 91. Dao L. and Friedman M. 1992. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2152-2156.
 92. Mapson LW, Swain T, Tomlin AW. 1963. Influences of variety, cultural conditions and temperature of storage on enzymic browning of potato tubers. *J. Sci. Food Agric.* 14:673-684.
 93. Lee JS. 2002. Quality characteristics of minimally processed sweet-pumpkin during storage. MD thesis of Kyungpook National University.