식품공학 학사학위논문

Gel-based ClO_2의 방출 특성과 계란에서 *Salmonella* Enteritidis 저감화

국립목포대학교 공과대학

식품공학과

지 도 영

이 동 렬

강 재 욱

김 성 준

지도교수: 김 정 목

2026년 2월

Gel-based ClO_2의 방출 특성과 계란에서 *Salmonella* Enteritidis 저감화

이 논문을 식품공학 학사학위 논문으로 제출함

국립목포대학교 공과대학

식품공학과

지 도 영

이 동 렬

강 재 욱

김 성 준

지도교수 김 정 목

상기자의 식품공학 학사학위 논문을 인준함

심사위원장 허 재 영 (인)

심사위원 김 정 목 (인)

2026년 2월

목 차

국문초록

제1장 서 론 ····· 1

제2장 재료 및 방법 ····· 5

1. 실험 재료 ····· 5
2. 실험 방법 ····· 5
   1) 이산화염소수(Aqueous chlorine dioxide)의 제작 ····· 5
   2) 이산화염소 겔의 제작 ····· 7
   3) 이산화염소 겔의 방출량 측정 ····· 10
   4) 이산화염소 겔의 색도 측정 ····· 10
   5) 이산화염소수 겔의 yield stress 측정 ····· 10
   6) 이산화염소 겔의 S*almonella* Enteritidis 살균평가 ····· 12
3. 통계처리 ····· 12

제3장 결과 및 고찰 ····· 13

1. 이산화염소 겔의 방출량 ····· 13
2. 이산화염소 겔의 색도 ····· 17
3. 이산화염소수 겔의 yield stress ····· 21
4. 이산화염소 겔의 S*almonella* Enteritidis 살균평가 ····· 24

제4장 결 론 ····· 26

참고문헌 ····· 28

Gel-based ClO_2의 방출 특성과 계란에서 *Salmonella* Enteritidis 저감화

지 도 영, 이 동 렬, 강 재 욱, 김 성 준

국립목포대학교 공과대학 식품공학과

(지도교수 : 김 정 목)

우리나라의 1인당 계란 소비량은 1975년 82개에서 2010년 236개로 지속적으로 증가해 왔으며, 전 세계적으로도 비슷한 상승 추세가 나타난다. 계란 섭취가 늘어남에 따라 계란 및 난가공품에서 기인하는 *Salmonella* Enteritidis 식중독 위험 역시 증가하고 있다. 특히 *S.* Enteritidis 는 난각 표면이나 내부에 존재할 수 있어 기존 세척·살균 공정만으로는 충분한 제어가 어렵다는 한계가 있다. 한편, 이산화염소(ClO_2)는 강한 산화력을 바탕으로 다양한 병원성 미생물을 효과적으로 억제하는 살균제로 주목받고 있으나, 기존 가스발생장치는 방출량 조절이 어렵고 식품 공정 적용이 제한적이라는 문제가 남아 있다. 이에 본 연구에서는 ClO_2를 안정적이고 지속적으로 방출할 수 있는 gel 시스템을 개발하기 위해 가열 gel 소재로 Agar, 비가열 gel 소재로 Sodium alginate를 사용해 다양한 조성의 gel을 제작하였다. 제작된 gel의 ClO_2 방출량, 색도, 경도를 비교하여 ClO_2 손실을 최소화하거나 장기간 안정적으로 방출할 수 있는 조건의 gel을 선정하였다. 이후 이를 계란 표면에 적용하여 *S.* Enteritidis 감소 효과를 0시간, 12시간, 24시간 동안 평가하였다. 본 연구는 ClO_2 기반 미생물 제어 기술이 계란의 미생물 안전성 향상에 활용될 수 있음을 보여준다.

제1장 서 론

예로부터 50g짜리 완전식품으로 불리는 계란은 어느 나라 어느 민족이나 섭취하는 식품이다. 계란은 아미노산 조성이 우수한 완전 단백질 식품으로서 비타민 A, 리보플라빈, 비타민 B12, 엽산, 비타민 D, 비타민 E, 비타민 K, 칼슘, 철, 콜린, 셀레늄, β-카로틴, 루테인, 제아진틴 등을 함유한다. 단일식품으로 높은 영양가에 비해 에너지가 낮고 소화 흡수가 잘 되며 가격이 저렴한 편이므로 식생활에 많이 애용되고 있다(1,2). 우리나라 국민 한 사람이 한 해 소비하는 달걀은 278개(2022년 기준)로, 지난 10년간 약 15% 증가했다(3). 계란 생산 및 소비는 국내뿐만 아니라 전 세계와 유럽 연합 모두에서 역동적으로 발전했다(4). 계란은 대표적인 소비재 농산물로서 원자재 농산물과 달리 한 곳으로 집중되지 않고 다양한 경로로 이루어지기 때문에 안전관리가 취약해질 수밖에 없다. 우리나라에서 소비재 농산물 중 채소나 과일의 경우 도매시장과 대형 소매유통업체를 통해 상당한 물량이 유통되기 때문에 어느 정도 모니터링이 가능 하지만, 계란의 경우 도매시장조차 존재하지 않으므로 위생문제가 발생할 가능성이 높은 산업이다. 정부는 2001년 12월부터 품질과 규격에 따른 공정거래와 계란의 유통개선을 위하여 계란등급제를 시범 사업으로 실시하였으며, 축산물가공처리법(현 축산물위생관리법) 개정으로 2002년 7월부터는 계란의 안전성 관리가 강화되었다(5,6).

FAO/WHO 보고에 따르면 계란과 가금류 유래로 발생한 식중독의 77.1%의 원인 균은 *Salmonella* 였다(7). *Salmonella* 는 2500여 종 이상의 혈청 형으로 분류되는데, 이들 중 식중독을 유발하는 대표적인 균종은 *Salmonella* Enteritidis와 *Salmonella* Typhimurium이다(8). 실제 2006년 유럽에서 발생한 *Salmonella* 식중독 165,023건을 분석한 자료(9)에 따르면 62.5%는 *S.* Enteritidis 에 의해, 12.9%는 *S.* Typhimurium 에 의해 발생하였다. *Salmonella*는 계란에서 주로 2가지 메커니즘에 의해 오염된다. 첫 번째는 닭의 내장에 붙어 있던 *Salmonella*가 계란 껍질에 부착되어 산란 또는 산란 후에 침투하여 일어나는 오염이고, 두 번째는 산란 전에 *Salmonella*가 직접적으로 난각막, 난백, 난황에 오염되는 경우이다(10). 수인성 및 식품매개감염병 유행 시 역학조사를 통하여 추정감염원 및

그에 따른 원인병원체를 조사하게 되는데, 역학조사 분석 결과, 전체 발생한 유행 600건 중 추정감염원이 '불명'인 경우가 373건(62.2%)으로 가장 많았고, '보균자(사람 간 전파, 조리종사자 등)' 84건(14.0%), '그 외 식품(김밥, 부대찌개 등 혼합식품)'이 36건(6.0%)을 차지하였다. 특히, 추정감염원이 '달걀류(달걀, 달걀생산물)'인 경우에 원인병원체는 모두 '살모넬라균'인 것으로 확인되었다(11). 살모넬라균에 의한 식중독의 증상은 대부분 급성 위장염을 일으키며 잠복기간은 6~48시간으로 오한, 구토, 구역질로 시작하여 2~3시간 후에는 복통과 설사를 동반한다(12). 현재까지 자외선, 펄스 광선, 저온 플라즈마, 오존, 압력 이산화탄소, 전해수 및 천연 항균제와 같은 비열 기술은 내부 품질에 영향을 주지 않고 온전한 계란의 표면 세척을 대안으로 연구되었으며(13), 열처리로는 열풍(HA), 온수 침지(HWI) 및 온수 분무(HWS) 등이 연구되었다(14).

이산화염소(ClO_2)는 강력한 산화제로 염소(Cl_2)보다 약 2.5배 높은 산화력을 가지며, 부식성이 적고 살균효과가 pH에 크게 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있다(15,16,17). 액상 이산화염소는 생산 및 취급이 용이한 반면, 기체형 이산화염소는 잔류 염소에 대한 우려가 적고 표면 침투가 용이하다(18). 이산화염소(ClO_2)는 살균제로 이용되는 염소화합물로, 염소보다 물에 대한 용해도가 높고 NH_3 나 질소화합물과 반응하여 chloramine이나 발암물질인 trihalomethane을 형성하지 않으며 산화능력이 높아 살균력이 높다(19,20). 이산화염소의 작용기전은 비특이적인 산화 손상으로 인해 병원균의 세포 외막의 투과성이 손실된 후, 세포막 사이의 이온 농도 기울기가 불균형을 이루게 되면서 살균효과를 나타내며 이때 살균력은 pH의 영향을 받지 않는 것이 특징이다(21). 그러나 물에 이산화염소 처리 시 간손상이나 용혈성 빈혈을 야기하는 chlorite와 chlorate가 형성되기 때문에 음용수에 처리하는 양이 제한되어 있으며 이산화염소 처리 시 물에는 aldehyde, esters 등이 생성되는 단점이 있다(22). 이산화염소의 살균효과를 검증하기 위해 농산물에 적용시킨 다양한 연구들이 이루어져 왔는데, Youm 등(23)은 salad에 이산화염소를 처리하여 저장성을 향상시킬 수 있음을 보여주었으며, LEE 등(24)은 수출 딸기에 이산화염소 가스 처리를 통해 병원성 *Escherichia coli* 와 *Salmonella* spp. 저감화 효과를 입증하였다. 최근에는 서방형 이산화염소 가스를 이용한 이슬송이버섯의 저장 중 품질 변화를 확인한 연구

가 진행되었다(25).

증점제 및 겔화제는 용해되거나 분산상에 첨가될 때 강성을 부여하고, 에멀젼을 안정화 시키거나, 겔을 형성하는 첨가제이다. 사용되는 제제에 따라 증점 효과는 상당히 높은 농도에서 낮은 점도를 나타내는 것부터 1% 미만(대부분)에서 높은 점도를 나타내는 것까지 다양하다(26). 증점제 및 겔화제는 많은 산업 분야에서 핵심적인 역할을 한다(27,28). 하이드로콜로이드는 다양한 식품 제형에서 품질 특성과 유통기한을 개선하기 위해 널리 사용된다. 두 가지 주요 용도는 증점제와 겔화제이다. 증점제로는 수프, 그레이비, 샐러드 드레싱, 소스, 토핑에 사용되며, 겔화제로는 잼, 젤리, 마멀레이드, 재구성 식품, 저당/저칼로리 겔과 같은 제품에 널리 사용된다(29,30). 하이드로콜로이드는 주로 미생물 대사(잔탄검 등), 식물 종자(구아검 및 아카시아콩 가지 등), 나무 분비물(아라비아검 등), 과일 껍질(펙틴 등), 동물 콜로이드(젤라틴 등), 조류(카라기난 및 알긴산염 등), 셀룰로스 유도체 및 변성 전분에서 유래하는 일련의 친수성 거대 분자 물질이다(31). 이들은 물을 흡수한 후 미끄럽고 점성이 있거나 젤리 같은 용액을 형성할 수 있다(32). 하이드로콜로이드는 물에 분산되었을 때 점성 분산액 또는 겔을 형성하는 특성을 특징으로 하는 장쇄 고분자(다당류 및 단백질)의 이종 그룹이다(33). 하이드록실기(-OH)가 많으면 물 분자와의 결합 친화력이 현저히 증가하여 친수성 화합물이 된다(34). 또한, 진용액과 현탁액의 중간 형태인 분산액을 생성하여 콜로이드의 특성을 나타낸다. 이 두 가지 특성을 고려하여 '친수성 콜로이드' 또는 '하이드로콜로이드'라고 불린다(35). 하이드로콜로이드의 특성에는 증점, 겔화, 유화, 안정화, 얼음과 설탕의 결정 성장 조절 등이 있지만, 하이드로콜로이드가 널리 사용되는 기본 특성은 증점 및 겔화이다(36). 그 중 알긴산나트륨은 산성 매질에서 부분 가수분해 반응을 통해 알긴산염 분자는 세 가지 연속적인 분획, 즉 마누론산(MMMMM), 글루쿠론산(GGGGG) 및 마누론산 분획과 글루쿠론산 분획의 혼합물(MGMGMG)로 분해될 수 있다. 글루쿠론산 사슬은 알긴산에 많은 이점을 제공한다. 예를 들어 칼슘 이온과의 가교에 참여할 수 있고 우수한 기계적 특성을 가진 겔을 형성할 수 있다(37,38). 산과 함께 사용하면 알긴산나트륨은 낮은 pH값에서 점차적으로 알긴산 겔을 형성하고, 높은 pH값에서는 알긴산이 용해되어 원래 점도를 회복한다(39).

기존 이산화염소수 및 이산화염소 가스 처리 연구를 고려하여, 본 연구에서는 이산화염소수, Sodium alginate, $CaCO_3$ 그리고 습윤제인 Glycerine을 혼합하여 제작한 gel의 계란 표면 중 *S.* Enteritidis 감소능을 평가할 것이다. 또한, 제작한 gel의 지속성 등을 평가하여 최적 조건을 가진 gel의 제작을 목표로 한다.

제2장 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에 사용된 계란은 지역 마트에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 균주는 *Salmonella* Enteritidis FORC_051로, 국립목포대학교 미생물 실험실에서 분양받아 사용하였다. 이산화염소수는 CDG(Chlorine Dioxide Generator) 시스템을 이용하여 실험실에서 직접 제조하였다. 겔 제조를 위한 겔화제로는 알긴산 나트륨(Sodium alginate, CP, DAEJUNG), D-(+)-Gluconic acid δ-lactone(≥99.0%, GC, Aldrich), 및 Calcium carbonate(98%, DAEJUNG)을 사용하였다. 습윤제로는 Glycerine(99%, DAEJUNG)을 첨가하였다.

2. 실험 방법

1) 이산화염소수(Aqueous chlorine dioxide)의 제작

Aqueous chlorine dioxide(ClO_2)는 ClO_2 generator(CDG, USA)를 이용하여 제조하였다 (Figure 1). 제조된 aqueous chlorine dioxide의 농도는 iodometric method를 이용하여 측정하였다.

-Iodometric method calculation

$$\text{mg } ClO_2 \text{ as } ClO_2/L = \frac{A \times B \times 13490}{C} = (\quad)\text{ppm}$$

A : Volume of $Na_2S_2O_3$ consumed for titration(ml)

B : Normality of $Na_2S_2O_3$)(ml)

C : Volume of test sample used for titration

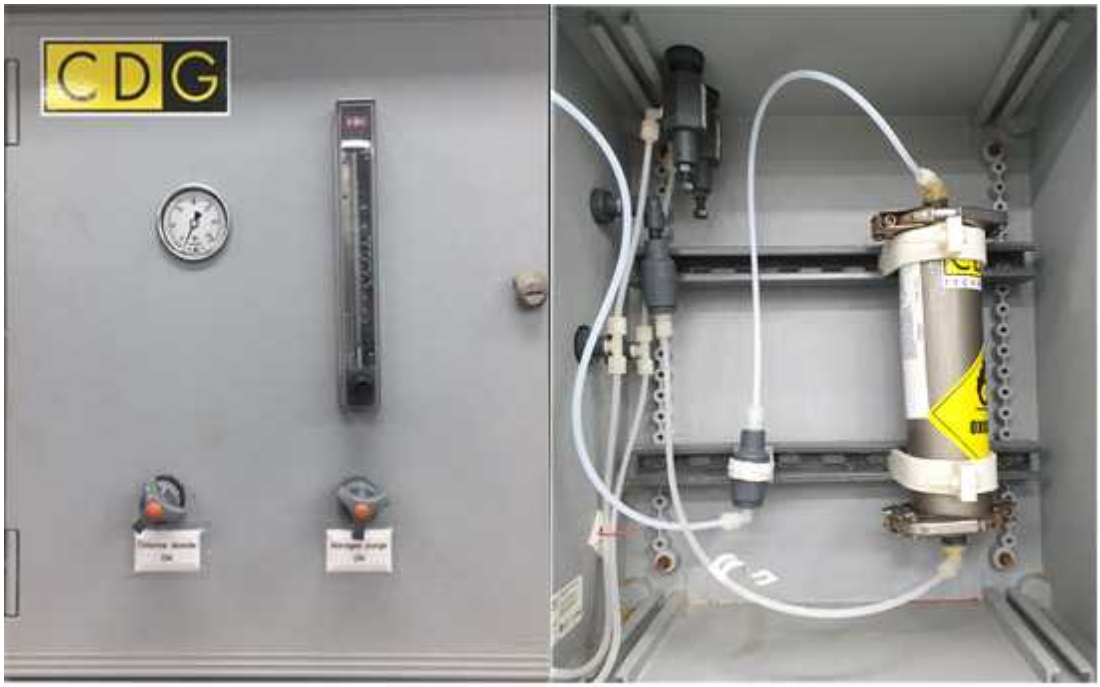


Figure 1. ClO_2 generator

2) 이산화염소 겔의 제작

이산화염소 겔의 제조

이산화염소 겔은 알긴산나트륨 겔(sodium alginate gel)과 아가(agar) 겔의 두 종류로 제조하였다. 아가(agar, DAEJUNG)는 증류수에 1, 2, 3%(w/v)가 되도록 첨가한 후 90°C에서 완전히 용해시켰다. 용액이 약 50°C로 냉각된 후, 총 혼합액의 이산화염소 농도가 500 ppm이 되도록 이산화염소수를 첨가하여 균질하게 혼합하였다. 혼합액은 실온에서 겔화가 완료될 때까지 방치하여 시료를 제조하였다. 제조된 두 종류의 겔은 밀폐 용기에 보관하여 사용 직전까지 4°C에서 냉암소 보관을 하였다(Figure 2).

알긴산나트륨(sodium alginate, CP, DAEJUNG)을 증류수에 0.5, 1.0, 1.5%(w/v)가 되도록 용해한 후, 글리세린(glycerine, 99%, DAEJUNG)을 최종 농도 3%(w/v)가 되도록 첨가하였다. 이후 calcium carbonate(98%, DAEJUNG)은 알긴산나트륨 대비 10%(w/w)가 되도록 첨가하였고, D-(+)-gluconic acid δ-lactone (≥99.0%, GC, Aldrich)은 calcium carbonate 첨가량의 2배(알긴산나트륨 대비 20%)가 되도록 첨가하여 겔화 반응을 유도하였다. 이산화염소수는 CDG 시스템을 이용하여 제조한 후, 총 혼합액의 이산화염소 농도가 500 ppm이 되도록 알긴산 혼합용액에 첨가하였다. 혼합액은 냉장에서 12시간 동안 안정화하여 겔화된 시료를 얻었다(Figure 3).

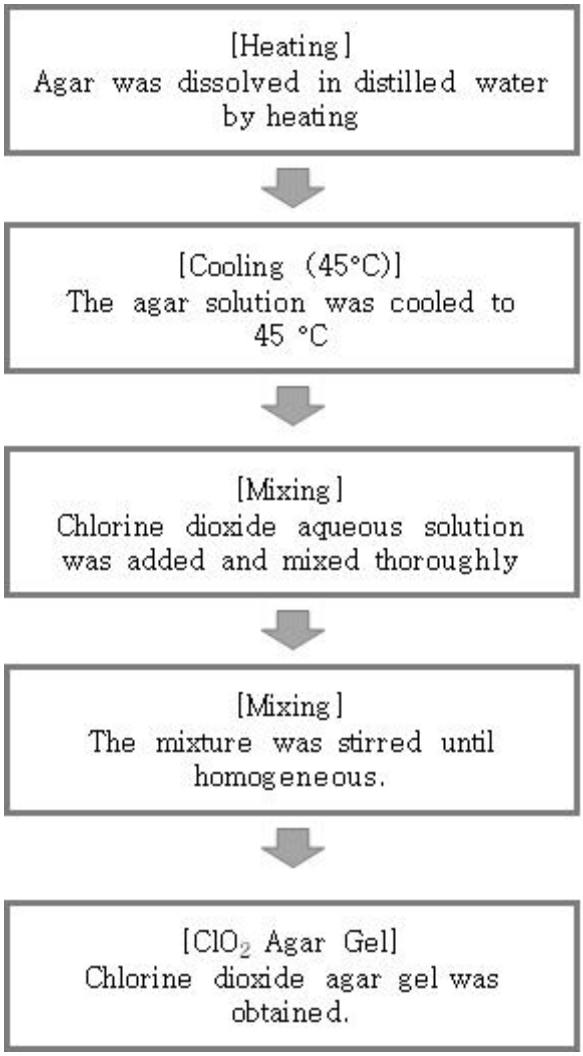


Figure 2. Method of production of ClO_2-agar gel

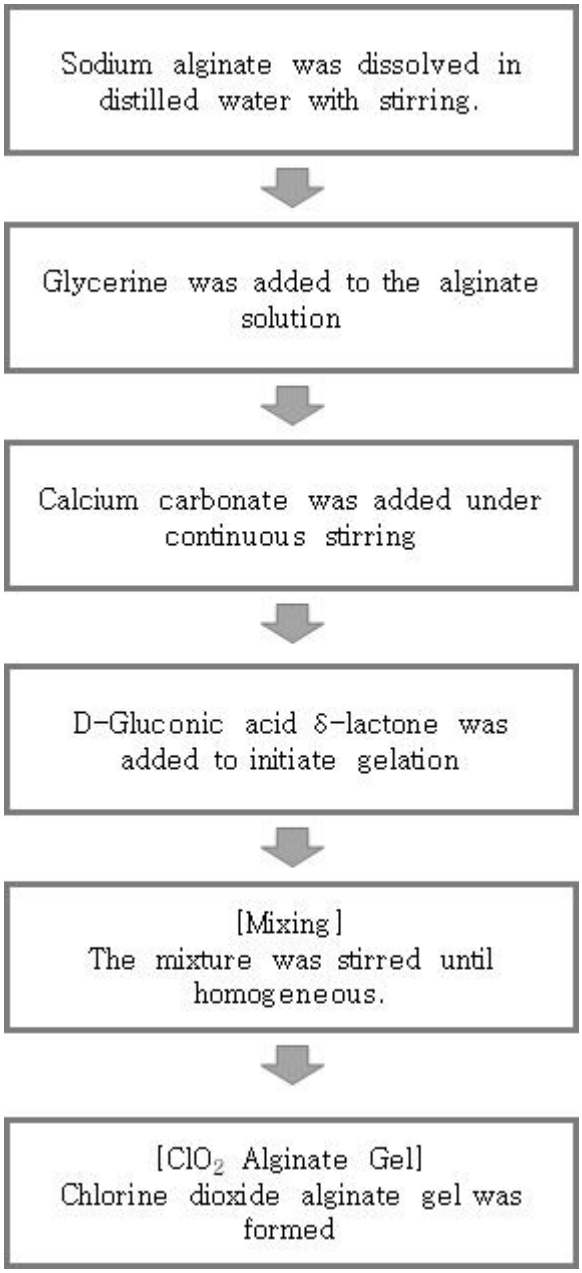


Figure 3. Method of production of ClO_2-alginate gel

3) 이산화염소 겔의 방출량 측정

제작한 이산화염소 겔에서 방출되는 이산화염소 가스 농도는 밀폐용기(222 × 161 × 76.5 mm)에 겔을 넣은 후 Chlorine dioxide gas detector(LD33-1999 M, ATI Inc., USA)를 사용하여 측정하였다(Figure 4).

4) 이산화염소 겔의 색도 측정

제작한 이산화염소 겔의 색은 색차계(CR-400 Chroma meter, Konica Minolta Inc., Osaka, Japan)를 이용해 측정하였고 3회 반복하여 측정하고 평균값을 산출하였다. 색도는 L값(lightness), a값(+redness/-greeness), b값(+yellowness/-blueness)을 측정하였다.

5) 이산화염소 겔의 Yield Stress 측정

제작한 이산화염소의 겔의 Yield Stress는 Rheomether(Compac-100Ⅱ)를 이용하여 측정하였다. 조건은 load cell 2 kg, table speed 60 mm/min, 어댑터 needle No. 1로 겔 표면으로부터 2.0 mm까지 침투하도록 했다. 각 측정은 3회 반복 측정하여 평균값을 구하였다.



Figure 4. Chlorine dioxide gas detector(LD33-1999M, ATI Inc., USA)

6) 이산화염소 겔의 S*almonella* Enteritidis 살균평가

달걀을 인위적으로 오염시키기 위해 사용한 균주는 *S.* Enteritidis 는 TSB에서 35±2℃에서 24시간 진탕 배양하였다. 배양액을 4,000 x g, 15분간 원심분리하여 얻어진 pellet이 풀어질수 있도록 멸균수를 첨가하여 풀어지도록 vortexing 하였다. 달걀 표면을 살균하기 위해 70% ethanol에 30분간 침지시킨 후 멸균된 용기에 UV를 쬐면서 60분간 방치하여 표면을 건조하였다. 건조 된 달걀에 *S.* Enteritidis를 오염시키기 위해 달걀의 표면에 0.1ml 씩 접종하였다.

달걀 표면에 *S.* Enteritidis를 접종한 후, 균이 표면에 흡수되도록 1시간 동안 건조하였다. 이후 시료를 겔 비처리군과 겔 처리군으로 나누었다. 각 시료의 무게를 측정한 뒤 멸균수와 1:10(w/v) 비율로 혼합하여 멸균백에 넣고 Bag mixer (Interscience Lab. Inc., USA)를 이용해 2분간 균질화하였다. 얻어진 균질액을 십진 희석법으로 단계적으로 희석한 후, 각 희석액 0.1 mL를 TSA에 도말하였다. 도말한 배지는 37℃에서 24시간 배양한 뒤 형성된 집락을 계수하였다.

3. 통계처리

실험 결과는 SPSS(ver. 21.0 for window) 프로그램을 사용하여 일원 배치 분산분석(ANOVA)으로 통계처리하였다. 각 실험은 3회 반복하여 평균과 표준편차를 구하였으며, $p<0.05$ 수준에서 t-test 및 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 각 시료 간의 유의적인 차이를 검사하였다.

제3장 결과 및 고찰

1. 이산화염소 겔의 방출량

Fig.5 ClO_2-agar 겔의 농도에 따른 ClO_2 방출 농도 변화를 나타낸 것이다.은 Agar ClO_2 gel(Fig. 3)의 경우, 모든 농도에서 처리 초기 24 h까지 ClO_2 농도가 급격히 상승한 후 빠르게 감소하는 양상을 보였다. 1% agar 겔은 24 h에 약 100 ppm 수준까지 증가한 뒤 72~96 h 사이에 급격히 감소하여 120 h 전후에는 정량한계(LOQ, 20 ppm) 부근으로 떨어졌으며, 2% 및 3% 겔에서도 초기 최대 농도는 다소 낮아졌으나 유사한 패턴으로 빠른 감소가 나타났다. 즉, agar 기반 겔은 초기 burst형 방출이 뚜렷하고, 비교적 짧은 기간 동안 높은 농도의 ClO_2를 제공한 뒤 빠르게 방출이 종료되는 특성을 보였다

Fig.6은 ClO_2-alginate 겔의 농도에 따른 ClO_2 방출 농도 변화를 나타낸 것이다. 모든 처리구에서 저장 초기 24 h까지 ClO_2 농도가 급격히 증가한 후, 시간이 경과함에 따라 점차 감소하는 양상을 보이며 전형적인 서방형 방출 패턴을 나타내었다. 0.5% alginate 겔은 24 h에서 약 100 ppm 수준까지 빠르게 증가한 후 이후 시간 동안 지속적으로 감소하여, 168 h 이후에는 정량한계(LOQ, 20 ppm) 부근까지 떨어졌다. 1% 겔은 약 90 ppm까지 증가한 뒤 120 h까지 70–80 ppm 범위로 비교적 안정적으로 유지되다가 이후 감소하는 양상을 보였으며, 1.5% 겔은 초기 최대 농도가 약 50 ppm으로 가장 낮았으나 감소 속도가 완만하여 168 h까지 LOQ 이상을 유지한 후 216 h에서 LOQ 수준에 도달하였다.

알긴산 농도에 따른 방출 특성을 비교하면, 저농도(0.5%) 겔은 초기 방출량이 크고 방출 지속 시간이 상대적으로 짧은 반면, 고농도(1.5%) 겔은 초기 최대 농도는 낮지만 방출 속도가 완만하여 장기간에 걸쳐 ClO_2가 서서히 방출되는 것으로 나타났다. 이는 알긴산 농도가 증가함에 따라 겔 네트워크가 치밀해져 ClO_2의 확산이 지연되기 때문으로 추정되며, ClO_2-alginate 겔의 농도 조절을 통해 초기 피크 농도와 방출 지속 시간을 설계할 수 있음을 시사한다. 또한 모든 농도

에서 24 h 이후 일정 기간 동안 수십 ppm 수준의 ClO_2 농도가 유지되어, 계란과 직접 접촉하지 않는 조건에서도 충분한 살균 농도가 확보될 수 있음을 보여준다.

이와 같이 두 기질을 비교하면, agar 겔은 단기간에 높은 ClO_2 농도를 부여하는 데 유리한 반면, alginate 겔은 초기 피크 농도는 상대적으로 낮지만 방출이 완만하고 지속 시간이 길어 서방출 제형으로서의 장점이 크다. 더불어 agar는 가열과 냉각 과정을 통해 겔화되는 가열겔화제인 반면, alginate는 Ca^{2+}와의 이온교환에 의해 상온에서 겔화가 가능한 비가열겔화제이므로, 열에 민감한 ClO_2를 담지·방출하는 제형에서는 alginate가 보다 적합한 기질로 판단된다. 특히 alginate 겔에서는 겔 농도 조절만으로 초기 최대 농도와 방출 지속 시간을 조정할 수 있어, 목표 식품이나 유통 기간에 맞춘 맞춤형 ClO_2 서방출 시스템 설계에 유리할 것으로 판단된다.

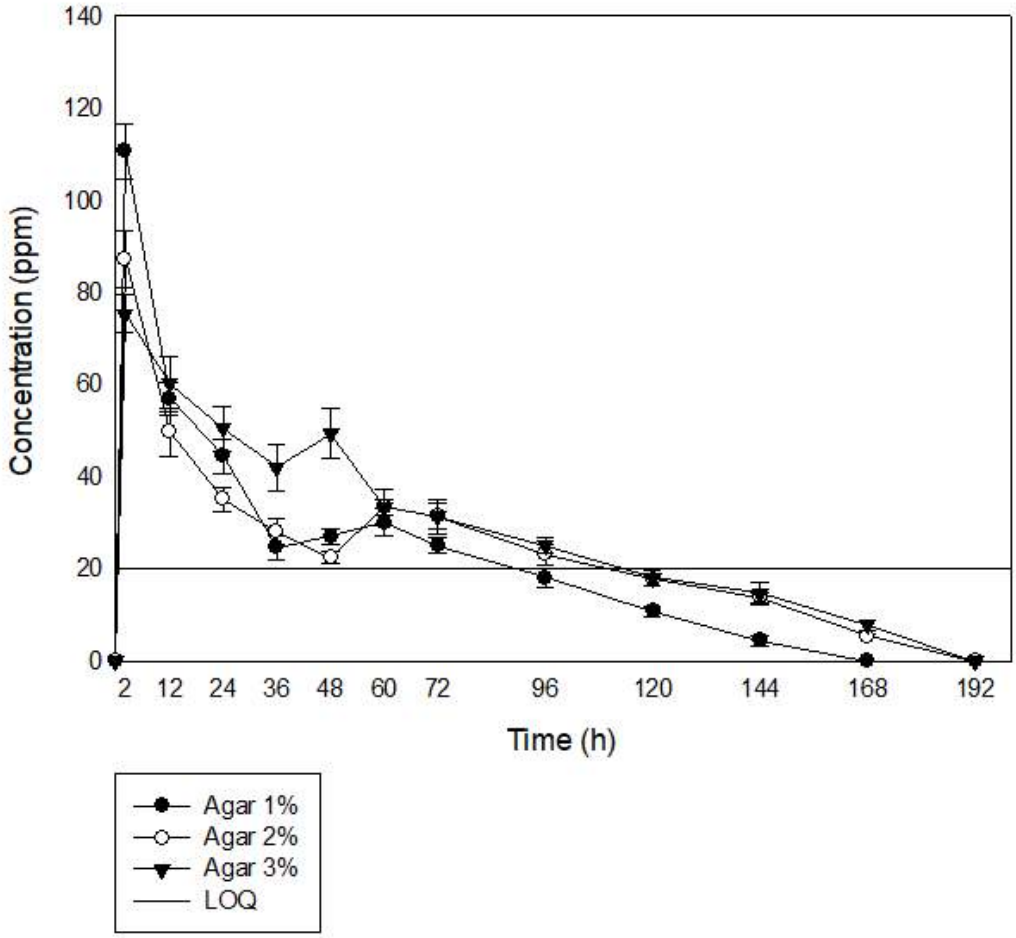


Figure 5. Release concentration of ClO_2–agar gel

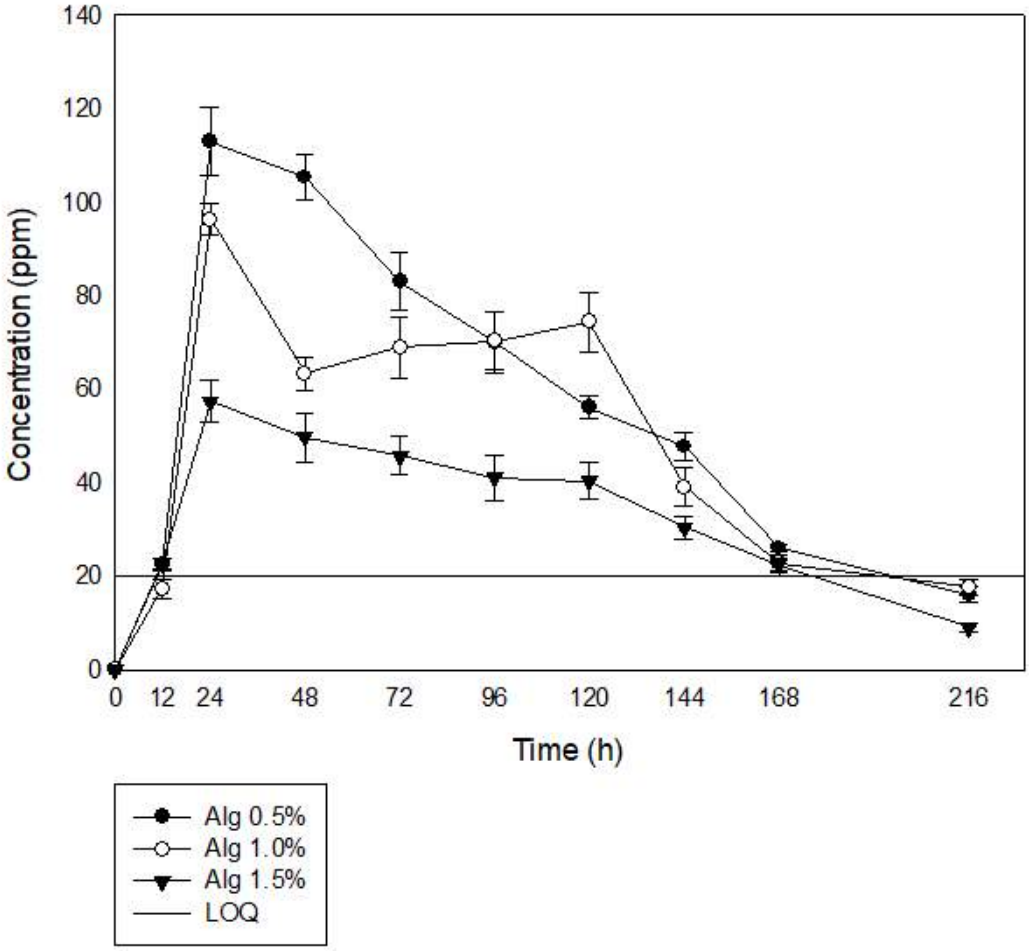


Figure 6. Release concentration of ClO_2–alginate gel

2. 이산화염소 겔의 색도

Table 1과 Table 2는 각각 ClO_2–alginate 겔과 ClO_2–agar 겔의 저장 기간에 따른 색도 변화를 나타낸 것이다. 두 겔 제형 모두에서 L값과 a값은 저장 기간 동안 큰 변화가 나타나지 않았으나, b값은 저장 초기에 가장 높게 나타난 뒤 시간이 경과함에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였다($p<0.05$). 이는 겔 내에 존재하던 ClO_2 가 저장 중 점차 방출되면서 ClO_2 특유의 황색이 감소한 결과로, ClO_2 서방형 제제의 방출에 따라 황색도가 감소한다고 보고한 선행 연구와도 일치한다(40). 따라서 두 제형에서 공통적으로 관찰된 b값 감소는 겔에서의 ClO_2 방출을 반영하는 색도 지표로 해석될 수 있다.

한편 제형 및 농도에 따라 b값 변화 양상에는 차이가 나타났다. ClO_2–alginate 겔의 경우 고농도 alginate 겔에서 b값 감소 폭이 저농도 겔보다 완만하여, alginate 농도가 증가할수록 보다 치밀한 겔 구조와 탄산칼슘의 첨가로 인해 ClO_2가 장기간에 걸쳐 서서히 방출되는 것으로 판단된다. 반대로 ClO_2–agar 겔은 아가 자체의 강한 백탁과 불투명한 외관을 가지며, 저장 중 b값이 비교적 급격하게 감소하여 alginate 겔에 비해 빠른 ClO_2 방출 특성을 보였다. 시각적으로도 agar 겔은 탁도가 높아 색 변화를 명확히 구분하기 어려운 반면, alginate 겔은 기본적으로 투명도가 높아 ClO_2에 의한 황색도 변화를 관찰하고 방출 정도를 간접적으로 추정하기에 더 적합한 재료임을 알 수 있다.

Table 1. Chromaticity change of ClO_2 alginate gel containing ClO_2

Time (hr)	ClO_2-Alg 0.5 %			ClO_2-Alg 1 %			ClO_2-Alg 1.5 %		
	L	*a*	*b*	*L*	*a*	*b*	*L*	*a*	*b*
12	35.88±0.77^{b}	-3.05±0.06^{i}	8.22±0.13^{a}	36.27±1.57^{a}	-2.34±0.25^{f}	6.88±0.49^{a}	35.14±0.29^{abc}	-1.74±0.11^{i}	5.40±0.33^{a}
24	35.07±0.65^{bc}	-2.81±0.05^{h}	8.27±0.14^{a}	36.37±0.94^{a}	-2.43±0.10^{f}	6.83±0.25^{a}	37.34±2.07^{a}	-1.21±0.35^{g}	5.00±0.98^{ab}
48	36.04±1.11^{ab}	-2.38±0.07^{g}	6.76±0.21^{b}	35.58±1.08^{a}	-2.01±0.07^{e}	6.17±0.31^{b}	33.08±0.85^{c}	-1.33±0.09^{g}	4.57±0.10^{bc}
72	37.50±0.68^{ab}	-2.19±0.20^{f}	6.24±0.26^{c}	36.32±0.67^{a}	-1.92±0.03^{e}	5.87±0.06^{b}	34.66±0.47^{abc}	-1.07±0.13^{ef}	4.12±0.25^{cd}
96	34.65±0.42^{bc}	-1.85±0.03^{e}	5.59±0.01^{d}	35.63±0.79^{a}	-1.43±0.15^{d}	4.97±0.42^{c}	33.76±0.46^{c}	-0.87±0.02^{de}	3.52±0.12^{de}
120	35.23±0.43^{bc}	-1.50±0.06^{d}	4.88±0.05^{e}	35.34±0.32^{a}	-1.17±0.04^{c}	4.14±0.15^{d}	34.34±0.42^{bc}	-0.69±0.02^{cd}	3.25±0.10^{e}
144	38.67±0.65^{a}	-1.61±0.05^{c}	4.24±0.28^{f}	36.46±0.84^{a}	-0.95±0.05^{bc}	3.73±0.07^{de}	34.19±0.87^{bc}	-0.47±0.02^{bc}	2.58±0.14^{f}
168	35.21±0.84^{bc}	-1.10±0.00^{b}	3.87±0.06^{g}	36.53±0.65^{a}	-0.74±0.05^{b}	3.36±0.08^{e}	34.84±0.43^{abc}	-0.35±0.01^{b}	2.49±0.02^{f}
216	32.66±3.32^{c}	-0.41±0.01^{a}	1.63±0.13^{h}	36.66±0.42^{a}	-0.40±0.01^{a}	2.27±0.21^{f}	36.76±2.34^{ab}	-0.07±0.07^{a}	1.55±0.45^{i}

All values are mean±SD (n=3). Different superscript letters (a-i) in each column indicate significant differences at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Chromaticity change of ClO_2 agar gel containing ClO_2

Time (hr)	ClO_2-Agar 1 %			ClO_2-Agar 2 %			ClO_2 -Agar 3%		
	L	*a*	*b*	*L*	*a*	*b*	*L*	*a*	*b*
2	36.58±1.63^{b}	-1.73±0.11^{e}	3.26±0.43^{a}	41.33±2.97^{a}	-1.64±0.37^{e}	-1.56±0.17^{a}	45.20±2.59^{bc}	-1.66±1.20^{b}	-3.51±0.37^{a}
12	33.50±0.64^{d}	-1.42±0.06^{d}	2.91±0.42^{a}	42.03±3.11^{a}	-1.33±0.32^{d}	-2.49±0.23^{ab}	48.11±0.95^{a}	-1.42±0.05^{bc}	-3.97±0.11^{b}
24	38.79±3.05^{a}	-1.00±0.37^{bc}	2.22±0.46^{b}	41.84±1.92^{a}	-1.16±0.21^{cd}	-2.75±0.25^{b}	43.60±1.56^{d}	-1.42±0.13^{bc}	-4.15±0.24^{b}
36	35.89±1.07^{bc}	-1.11±0.06^{c}	1.81±0.42^{b}	41.98±2.93^{a}	-1.08±0.27^{cd}	-3.28±0.45^{c}	47.57±1.70^{a}	-1.20±0.10^{bc}	-4.82±0.48^{c}
48	36.62±2.20^{b}	-1.02±0.29^{bc}	1.81±0.66^{b}	40.32±2.82^{a}	-1.14±0.17^{cd}	-3.53±0.30^{c}	46.28±2.22^{ab}	-1.20±0.23^{bc}	-5.28±0.48^{d}
72	34.20±0.41^{cd}	-0.75±0.60^{ab}	1.14±0.36^{c}	39.61±1.44^{a}	-1.02±0.20^{bc}	-4.16±0.31^{d}	47.87±1.85^{ab}	-0.99±0.22^{ab}	-5.62±0.46^{de}
96	33.46±1.11^{d}	-0.90±0.06^{bc}	0.56±0.35^{d}	40.90±2.10^{a}	-0.08±0.20^{ab}	-4.64±0.57^{d}	45.50±1.30^{bc}	-0.61±0.63^{a}	-5.97±0.61^{e}
120	34.36±0.99^{cd}	-0.59±0.08^{a}	0.37±0.21^{d}	40.96±2.07^{a}	-0.71±0.14^{a}	-4.67±0.48^{e}	45.32±2.18^{bc}	-0.89±0.25^{ab}	-6.71±0.53^{f}

All values are mean±SD (n=3). Different superscript letters (a-f) in each column indicate significant differences at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

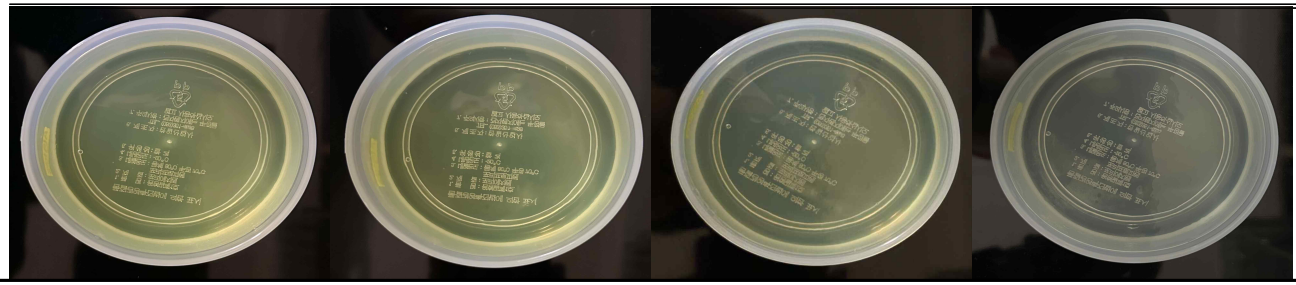
Time(hr)	12	24	48	72	96
Alg 0.5%					
	120	144	196	216	
					

Figure 7. Time-dependent photographs of alginate gel containing ClO_2

4. 이산화염소 겔의 yield stress

Fig.7은 ClO_2를 첨가하지 않은 agar 겔과 ClO_2–agar 겔의 농도별 항복응력(Yield stress)을 비교한 결과이다. Agar 농도가 1%에서 3%로 증가함에 따라 두 처리구 모두에서 항복응력이 유의적으로 증가하여, 겔 농도가 높을수록 보다 견고한 3차원 겔 구조가 형성됨을 확인할 수 있었다($p<0.05$). 그러나 동일 농도에서 비교했을 때 ClO_2 를 포함한 겔의 항복응력은 무처리 agar 겔보다 유의적으로 낮게 나타났으며, 이러한 차이는 2%와 3%와 같이 고농도 겔에서 더욱 두드러졌다. 이는 겔 내에 존재하는 ClO_2 가 agar 사슬 간 수소결합 및 물리적 네트워크를 부분적으로 교란하여, 겔에서의 ClO_2 첨가는 겔의 기계적 강도를 저하시킬 수 있음을 시사한다. 따라서 ClO_2 –agar 겔을 이용한 제형 설계 시에는 살균 효과와 겔 구조 안정성을 동시에 고려하여, 일정 수준 이하의 ClO_2 농도를 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

Fig 8은 은 글리세린을 첨가한 alginate 기반 ClO_2 겔의 저장 기간 동안 항복응력 변화를 나타낸 것이다. ClO_2 농도(0.5, 1, 1.5%)에 관계없이 모든 처리구에서 초기 24~48 h 동안 항복응력이 소폭 증가한 뒤, 192 h까지 큰 변동 없이 거의 일정한 값을 유지하는 경향을 보였다. 이는 겔 제조 직후 진행되던 alginate–Ca^{2+} 간 이온 가교 반응이 저장 초기에 대부분 완료되고, 약 24~48 h 이후에는 가교 구조가 안정화되어 추가적인 네트워크 형성이나 붕괴가 거의 일어나지 않음을 의미한다.

또한 저장 기간 동안 항복응력이 감소하거나 급격한 겔 수축이 관찰되지 않은 점으로 보아, 글리세린이 수분 유지와 고분자 사슬 간 물리적 상호작용을 통해 alginate 겔의 구조를 효과적으로 보호한 것으로 판단된다. 즉, 글리세린 첨가는 ClO_2 가 존재하는 조건에서도 alginate 겔의 항복응력을 안정적으로 유지시키며, 장기 저장 동안 겔이 무너지지 않고 형태를 유지하는 데 기여한다. 이러한 결과로 볼 때 alginate–Ca^{2+} 겔에 글리세린을 첨가한 제형은 이온 가교가 완료된 이후에도 기계적 안정성이 우수한 서방형 ClO_2 담지체로서 적합한 제형으로 사료된다.

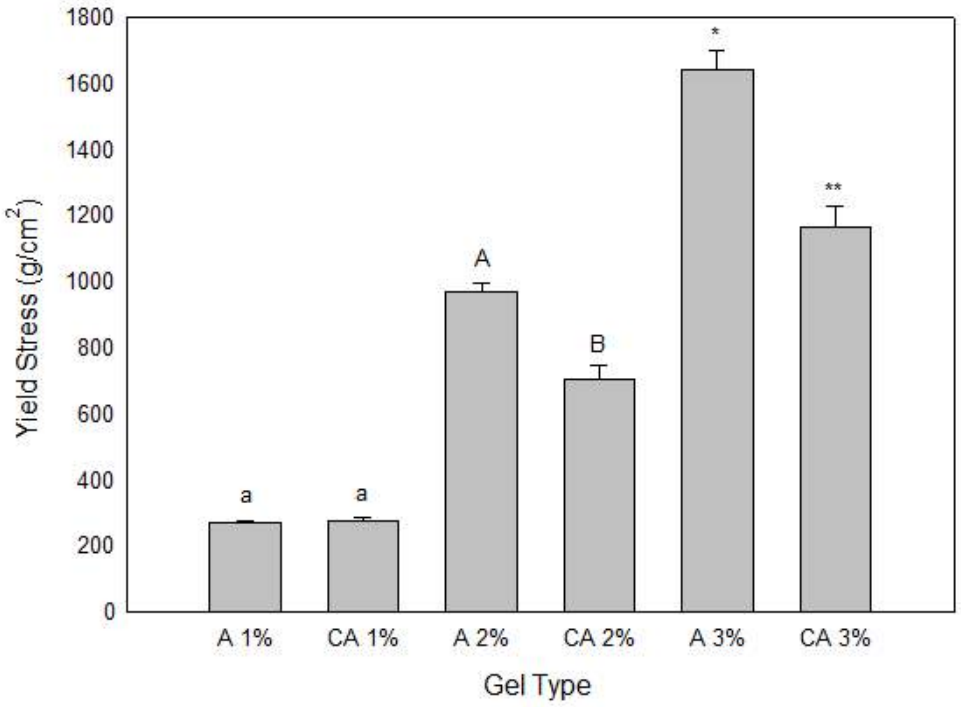


Figure 7. Comparison of yield stress without and with ClO_2 agar gel. A(Agal gel), CA(ClO_2 agar gel). All values are mean±SD (n=3). The different characters on the bars represent a significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multi-range test.

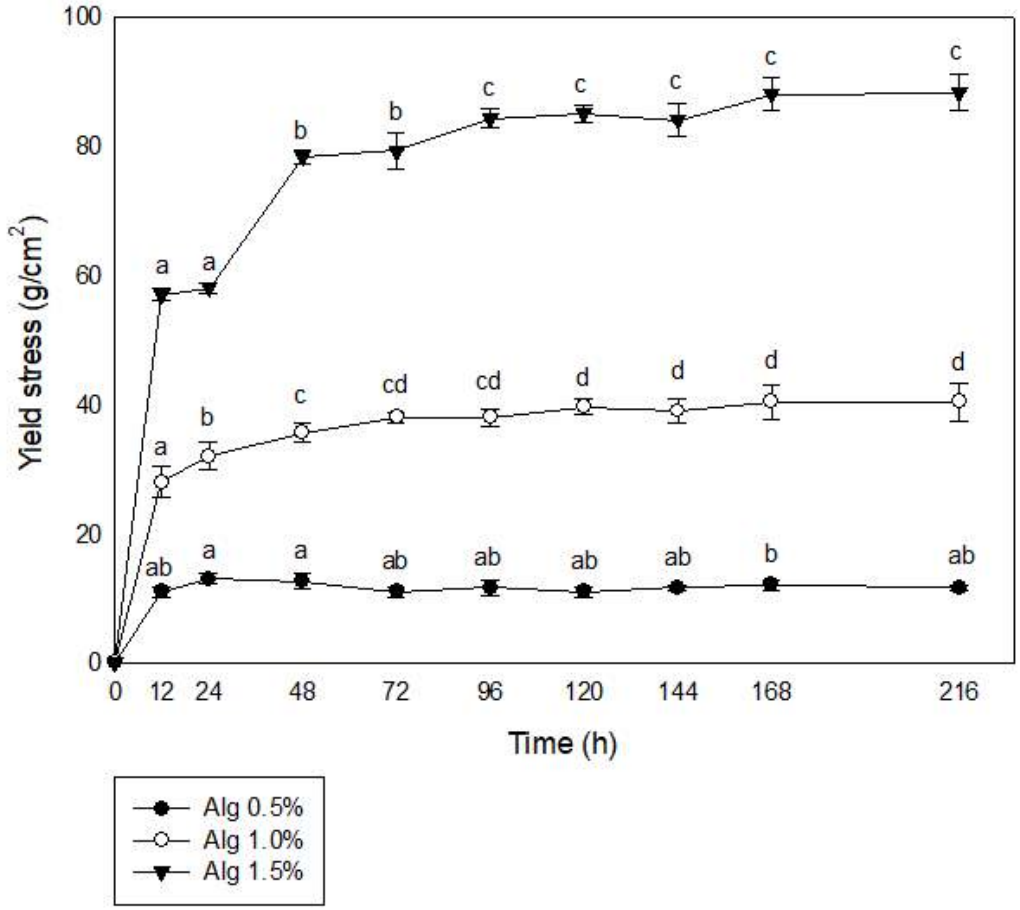


Figure 8. Changes in yield stress of alginate gel during storage -●-Alg 0.5% (alginate 0.5% gel containing ClO_2), -○-Alg 1% (alginate 1% gel containing ClO_2), -▼-Alg 1.5% (alginate 1.5% gel containing ClO_2) All values are mean±SD (n=3). Different superscript letters on the bars indicate significant differences ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5. 이산화염소 겔의 S*almonella* Enteritidis 살균평가

Table 3은 ClO_2–alginate 겔을 계란과 동일 공간에 배치하였을 때 *S.* Enteritidis의 생균수 변화를 나타낸 것이다. ClO_2를 함유하지 않은 Alg 0% 처리구에서는 12 h와 24 h 후에도 각각 3.8±0.21 및 3.9±0.13 Log CFU/mL 수준으로 유지되어, alginate 겔 자체는 살균 효과를 나타내지 않았다. 반면 ClO_2–alginate 겔(Alg 1% 및 1.5%)을 적용한 처리구에서는 12 h 이후 모든 조건에서 균이 검출 한계 이하(ND)로 감소하여, 계란 표면에 직접 도포하지 않고도 겔에서 방출된 ClO_2 가스만으로 *S.* Enteritidis를 완전히 사멸시킬 수 있음을 확인하였다.

기존 연구들에서는 ClO_2 용액 분무 또는 ClO_2 가스를 ClO_2 gas 생성 장치와 직접결합하여 계란 껍질에 직접 노출시키는 방식으로 3–5 log 수준의 *Salmonella* 감소 효과를 보고한 바 있으나, 이 경우 처리 직후 농도가 급격히 변하고, 처리 과정에서 농도·시간을 정밀하게 제어해야 하는 한계가 있다(41,42). 이에 비해 본 연구에서 사용한 ClO_2–alginate 겔은 계란에 접촉시키지 않고 포장 공간 내에 배치하는 서방형 제제로, 겔로부터 일정하게 방출되는 ClO_2 가스만으로도 단시간 내에 균이 불검출 수준까지 감소하였다. 이는 생산·유통 과정에서 계란을 별도 세척이나 분무 처리 없이, 포장재 내부에 겔을 넣는 것만으로도 미생물 저감 효과를 얻을 수 있다는 점에서 산업적 활용 가능성이 크다. 또한 Alg 0% 대조구를 설정함으로써 관찰된 살균 효과가 alginate 기질이 아닌 ClO_2 방출에 의해 유도된 것임을 명확히 할 수 있었다. 따라서 ClO_2–alginate 겔은 계란 표면을 직접 처리하는 기존 ClO_2 가스·용액 처리법에 비해 처리가 간편하고, 시료 손상이 적으며, 포장 단계에 쉽게 통합될 수 있는 비접촉 서방형 제제로서 경쟁력이 높은 것으로 판단된다.

Table 3. Reduction of *Salmonella* Enteritidis by ClO_2 gel treatment

Gel type	Viable cell (Log CFU/mL)		
	Treatment time (h)		
	0	12	24
Alg 0%	3.6±0.13	3.8±0.21	3.9±0.13
Alg 1%		ND	ND
Alg 1.5%		ND	ND

Alg 0% is not treated ClO_2-Alg gel

제4장 결 론

본 연구에서는 ClO_2 서방형 제형으로서 agar 기반 gel과 sodium alginate gel을 비교하였으며, 색도 변화, ClO_2 방출 특성, 기계적 물성(yield stress), sodium alginate gel의 살균능을 종합적으로 평가하였다. 그 결과, 두 소재는 물성 및 방출 거동에서 뚜렷한 차이를 보였으며, 이는 실제 살균효능에도 영향을 주는 것으로 확인되었다.

색도 분석에서 alginate 제형은 agar에 비해 상대적으로 L 값이 높고, a 및 b 변화가 작아 색 안정성이 우수하게 유지되었다. 이는 저장 중 gel 내부에서 ClO_2 에 의해 발생하는 산화적 변색이 alginate 매트릭스에서 더 억제되기 때문으로 판단된다.

또한 ClO_2 방출량 역시 alginate 기반 gel이 agar보다 지속적이고 점진적인 방출 패턴을 보였다. Agar는 초기 폭발적 방출 후 급격히 감소하는 반면, alginate는 더 조밀한 gel network 구조에 의해 장시간 안정적 방출이 유지되었다. 이러한 차이는 실제 *S.* Enteritidis 억제 효과에서도 영향을 미쳐, 일정 시간 이후 alginate 제형이 더 높은 잔존 ClO_2 농도를 유지함으로써 계란 표면에서 보다 안정적인 항균성을 부여할 가능성을 보여주었다.

기계적 물성 측면에서도 yield stress는 alginate gel이 agar보다 높아 형태 안정성이 우수하였다. 이는 작업·포장 과정에서 gel이 쉽게 변형되거나 파괴되는 것을 방지할 수 있어 실용적 이점이 있다. Alginate의 높은 구조적 강도는 ClO_2 방출의 균일성에도 기여해, 장시간 저장 시에도 방출량이 안정적으로 유지되는 기반을 형성한다.

Kim 등(8)에 따르면 ClO_2는 계란 껍질에서 *S.* Enteritidis를 4 log 이상 감소시킬 수 있다고 보고하였다(42). 본 연구에서 개발한 alginate 기반 ClO_2 서방형 제형 역시 포장 공간 내에서 ClO_2 가스가 지속적으로 방출되며 실제로 *S.* Enteritidis를 유의적으로 감소시키는 살균 효과를 명확히 확인하였다. 특히 직접 분무나 침지 처리를 하지 않은 비접촉 조건에서도 균이 검출되지 않는 수준까지

감소함을 확인함으로써, 본 제형이 ClO_2의 항균력을 실질적으로 구현하고 있음을 입증하였다. 따라서 본 연구의 alginate–ClO_2 제형은 기존 ClO_2 처리 방식과 동등한 살균 성능을 제공하면서도, 작업성·안전성 측면에서 더 높은 실용적 장점을 갖는 기술임이 명확히 확인되었다.

이러한 결과를 종합하면, ClO_2 서방형 제형으로 alginate 기반 gel이 agar 기반 gel보다 산업적 활용성이 우수함을 확인하였다. 특히 alginate gel은 색 안정성이 높고, ClO_2 방출이 더 장기적이며, 기계적 강도가 우수하다는 점에서 포장 공간 내에서의 *Salmonella* 제어에 적합함을 시사한다.

참고문헌

1. Kim JG, Park JY, Kim JS. Effects of storage time and temperature on the hygienic quality of shell eggs (2015)

2. Yang EJ, Lee YE, Moon HK. Nutritional roles and health effects of eggs. Journal of Nutrition and Health, 47(6), 385-393 (2014)

3. National Institute of Animal Science. Egg consumption trends in Korea: per capita consumption increase. Available from: https://www.nias.go.kr/front/prboardView.do?boardSeqNum=4155&cmCode=M090814150850297. Accessed Dec. 12, 2025.

4. Szőllősi L. Current state and future prospects of the egg sector–an International outlook. Agriculturae Conspectus Scientificus, 86(2), 95-105 (2021)

5. Korea Ministry of Government Legislation. Livestock Products Sanitary Control Act. 2015. Available from: http://www.law.go.kr/main.html. Accessed Aug. 03, 2015.

6. Korea Ministry of Government Legislation. Available from: http://oneclick.law.go.kr/CSP/Main.laf. Accessed Aug. 03, 2015.

7. Yang SY, Hong YH, Lee HJ, Song CS. Hygienic management for *Salmonella*-free chicken meat production. Korean Journal of Poultry Science, 37(3) (2010)

8. Whiley H, Ross K. *Salmonella* and eggs: from production to plate.

International journal of environmental research and public health, 12(3), 2543-2556 (2015)

9. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. EFSA Journal, 5(12), 130r (2007)

10. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Immerseel FV. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. FEMS microbiology reviews, 33(4), 718-738 (2009)

11. Korea Disease Control and Prevention Agency. PHWR: Public Health Weekly Report. Epidemiology, 14(10) (2021)

12. *Salmonella* (non-typhoidal). Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal). World Health Organi zation (WHO) (2023)

13. Bermudez-Aguirre D, Niemira BA. A review on egg pasteurization and disinfection: Traditional and novel processing technologies. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 22(2), 756-784 (2023)

14. Yang Y, Geveke DJ. Shell egg pasteurization using radio frequency in combination with hot air or hot water. Food Microbiology, 85, 103281 (2020)

15. Lee SY, Dancer GI, Chang SS, Rhee MS, Kang DH. Efficacy of chlorine dioxide gas against Alicyclobacillus acidoterrestris spores on

apple surfaces. International Journal of Food Microbiology, 108(3), 364-368 (2006)

16. Nam H, Seo HS, Bang J, Kim H, Beuchat LR, Ryu JH. Efficacy of gaseous chlorine dioxide in inactivating *Bacillus cereus* spores attached to and in a biofilm on stainless steel. International journal of food microbiology, 188, 122-127 (2014)

17. Sy KV, McWatters KH, Beuchat LR. Efficacy of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, yeasts, and molds on blueberries, strawberries, and raspberries. Journal of Food Protection, 68(6), 1165-1175 (2005)

18. Lim J, Kim E, Shin Y, Ryu JH, Kim H. Antimicrobial activity of ClO_2 gas against *Salmonella* Enteritidis on almonds. Food Microbiology, 99, 103819 (2021)

19. Youm HJ, Ko JK, Kim MR, Song KB. Inhibitory effect of aqueous chlorine dioxide on survival of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in pure cell culture. Korean Journal of Food Science and Technology, 36(3), 514-517 (2004)

20. Svecevičius G, Šyvokienė J, Stasiūnaitė P, Mickėnienė L. Acute and chronic toxicity of chlorine dioxide (ClO_2) and chlorite (ClO_2) to rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)(4 pp). Environmental Science and Pollution Research, 12(5), 302-305 (2005)

21. Berg JD, Roberts PV, Matin A. Effect of chlorine dioxide on selected membrane functions of *Escherichia coli*. Journal of Applied

Bacteriology, 60(3), 213-220 (1986)

22. Gan W, Ge Y, Zhong Y, Yang X. The reactions of chlorine dioxide with inorganic and organic compounds in water treatment: kinetics and mechanisms. Environmental Science: Water Research & Technology, 6(9), 2287-2312 (2020)

23. Youm HJ, Ko JK, Kim MR, Cho YS, Chun HK, Song KB. Effect of aqueous chlorine dioxide and citric acid treatment on microbial safety and quality control of minimally processed and refrigerated (MPR) salad. Korean Journal of Food Science and Technology, 37(1) (2005)

24. Lee HS, Shim WB, An HM, Ha JH, Lee ES, Kim WI, Kim SR. Antimicrobial effects of chlorine dioxide gas on pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. colonizing on strawberries for export. Journal of Food Hygiene and Safety, 31(6) (2016)

25. Yoon YT, Bong SJ, Kang HS, Yoon YJ, Kim HG, Min KH, Lee KH. Quality changes of Lentinula edodes GNA01 mushroom by choline dioxide gas treatment during storage. The Korean Journal of Food And Nutrition, 29(4), 499-505 (2016)

26. Cong L, Zou B, Palacios A, Navarro ME, Qiao G, Ding Y. Thickening and gelling agents for formulation of thermal energy storage materials–A critical review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 155, 111906 (2022)

27. Lochhead RY. The use of polymers in cosmetic products. Cosmetic science and technology: Theoretical principles and applications, 13,

171-221 (2017)

28. Dull-Muhlbach I. Unsaturated polyester and vinyl ester resins. Kunststoffe German Plastics(Germany), 83(10), 807-811 (1993)

29. Saha D, Bhattacharya S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. Journal of food science and technology, 47(6), 587-597 (2010)

30. Imeson AP. Thickening and gelling agents for food. Springer Science & Business Media (2012)

31. Pirsa S, Hafezi K. Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. Food Chemistry, 399, 133967 (2023)

32. Krstonošić V, Jovičić-Bata J, Maravić N, Nikolić I, Dokić L. Rheology, structure, and sensory perception of hydrocolloids. In Food structure and functionality (pp. 23-47). Academic Press (2021)

33. Burey P, Bhandari BR, Howes T, Gidley MJ. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. Critical reviews in food science and nutrition, 48(5), 361-377 (2008)

34. Gurram S. Role of hydrocolloids in food systems. Pharma Innov. J., 11(8), 1748-1755 (2022)

35. Gao Y, Liu R, Liang H. Food Hydrocolloids: Structure, Properties, and Applications. Foods, 13(7), 1077 (2024)

36. Glicksman M. Food hydrocolloids, Vol 1. CRC Publ, Boca Raton, Florida, pp 4-21 (1982)

37. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: properties and biomedical applications. Progress in polymer science, 37(1), 106-126 (2012)

38. Rezvanian M, Ahmad N, Amin MCIM, Ng SF. Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications. International journal of biological macromolecules, 97, 131-140 (2017)

39. Chopra M, Bernela M, Kaur P, Manuja A, Kumar B, Thakur R. Alginate/gum acacia bipolymeric nanohydrogels—Promising carrier for Zinc oxide nanoparticles. International Journal of biological macromolecules, 72, 827-833 (2015)

40. Jing H, Dong Y, Wu T, Zhu W, Li Z, Jiang T, Zhong T. An innovative sodium carboxymethyl cellulose-based chlorine dioxide-releasing hydro gel incorporating α-cyclodextrin inclusion complexes and its potential f or extending fruit shelf-life. International Journal of Biological Macrom olecules, 149165 (2025)

41. Ni L, Cao W, Zheng WC, Chen H, Li BM. Efficacy of slightly acidic electrolyzed water for reduction of foodborne pathogens and natural microflora on shell eggs. Food Science and Technology Research, 20(1), 93-100 (2014)

42. Kim H, Yum B, Yoon SS, Song KJ, Kim JR, Myeong D, Chang B, Choe NH. Inactivation of *Salmonella* on Eggshells by Chlorine Dioxide Gas.

Korean journal for food science of animal resources, 36(1), 100-108 (2016)