

발간등록번호

11-1543000-001429-01

고품질 알가공품 생산을 위한 저에너지 고효율  
비가열 공정 현장적용 연구 최종보고서

Development and field-application of high-efficiency  
non-thermal technology to produce premium egg products

주관연구기관 : 농업회사법인 조인(주)

협동연구기관 : 연세대학교 산학협력단

협동연구기관 : 중앙대학교 산학협력단

농림축산식품부

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “고품질 알가공품 생산을 위한 저에너지 고효율 비가열 공정 현장 적용 연구”(개발기간 : 2014. 08. 01 ~ 2016. 07. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016. 09. 13.

주관연구기관명 : 농업회사법인 조인(주) (대표자) 한재권

협동연구기관명 : 연세대학교 산학협력단 (대표자) 최문근 (인

협동연구기관명 : 중앙대학교 산학협력단 (대표자) 김원용 (인



주관연구책임자 : 정원덕

협동연구책임자 : 박지용, 하상도

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	114035	해 당 단 계 연 구 기 간	2014.08.01.~ 2016.07.31	단 계 구 분	(2)/(2)
연구사업명	중 사업명	고부가가치식품기술사업			
	세부 사업명	고부가가치식품기술사업			
연구과제명	대 과제명				
	세부 과제명	고품질 알가공품 생산을 위한 저에너지 고효율 비가열 공정 현장 적용 연구			
연구책임자	정원덕	해당단계 참 여 연구원 수	총: 18명 내부: 8명 외부: 10명	해당단계 연 구 개 발 비	정부: 150,000천원 민간: 100,000천원 계: 250,000천원
		총 연구기 간 참 여 연구원 수	총: 18명 내부: 8명 외부: 10명	총 연구개발 비	정부: 300,000천원 민간: 200,000천원 계: 500,000천원
연구기관명 및 소속부서명	연세대학교 산학협력단			참여기업명 농업회사법인 조인	
	중앙대학교 산학협력단				
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

## < 요약 문 >

	코드번호	D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><b>가. 연구개발 목표</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 알 원료 및 가공품에 오염될 수 있는 병원성 미생물과 특히 바이오필름 형성이 있는 살모넬라 등 식중독균을 효과적으로 제어할 수 있는 비가열 살균 기술을 개발하고, 가공 공정 중 최적의 안전관리기술을 적용함으로써 산업 현장의 저에너지, 고효율 제어시스템을 구축함</li> <li>○ 궁극적으로 알 원료 및 가공품의 안전관리기술 및 공정의 산업화를 통해 품질 개선 및 안전성을 제고하고, 계란 관련 식중독 사고를 예방하고자 함</li> </ul> <p><b>나. 연구개발 내용</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 고품질 알가공품 생산을 위한 비가열 살균 공정 현장 적용 연구               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 알 원료 및 가공 공정 중 미생물 오염도 모니터링</li> <li>- 알 가공 공정별 미생물학적 위해요소 저감화 기술 현장 적용</li> <li>- 프리미엄 알가공품 생산을 위한 시스템의 현장 적용 및 평가</li> </ul> </li> <li>○ 알 가공 공정 중 미생물학적 위해요소 저감화를 위한 비가열 살균 기술 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 미생물학적 위해 요인 발생 원인 분석</li> <li>- 공정별 미생물 저감화 비가열 기술 연구</li> <li>- 공정 적용 시 제품 품질(미생물, 관능) 평가</li> <li>- 프리미엄 알가공품 생산을 위한 신기술(초고압기술) 적용 연구 및 평가</li> </ul> </li> <li>○ 알 및 작업표면별 미생물 바이오필름 형성능 저감화 연구               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 알 및 작업표면에서 발생하는 주요 식중독, 부패세균의 바이오필름 형성능 연구(<i>in vitro</i>)</li> <li>- 알 및 작업표면 보관 환경 특성별 바이오필름 형성능 탐색(온도, 상대습도)</li> <li>- 알 및 작업표면의 바이오필름 비가열 제어법 연구</li> </ul> </li> </ul>	

<p>연구개발성과</p>	<p>○ 고품질 알가공품 생산을 위한 비가열 살균 공정 현장 적용 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 15 분 이상의 지속적인 가열 처리를 통해 HCE 난황 표면에 유의적인 흑변 현상이 진행되는 것을 관찰하였음.</li> <li>- 25 °C 가속화 조건 저장 실험에서, 600 MPa에서 5 분 동안 초고압 후살균 처리한 HCE가 미생물 저감화에 가장 큰 효과를 보였음.</li> <li>- 25 °C 가속화 조건 저장 실험에서, 7 일 간의 저장 동안 미생물의 성장과 이에 따른 발효로 인해 모든 HCE 처리군에서 지속적으로 pH가 감소함을 관찰하였음.</li> <li>- 10 °C 냉장 조건 저장 실험에서, 24 일의 저장 동안 모든 후살균 처리군에서 미생물이 성장하지 않는 반면, 후살균 처리를 하지 않은 HCE의 경우 2.3 log CFU/g에서 7.7 log CFU/g으로 미생물이 늘어나는 것을 알 수 있었음.</li> <li>- 모든 저장 실험을 통해, 가열 후살균 처리가 HCE 난황 표면에 유의적인 FeS로부터 유래되는 흑변 현상을 초래하는 반면 초고압 후살균 처리는 후살균 처리 하지 않은 HCE와 동일한 수치의 L*, a*, b* 값을 나타냄을 관찰하였음. 이는 곧, 초고압 후살균 처리가 HCE 난황 표면에 생기는 흑변 현상을 예방할 수 있음을 의미함.</li> <li>- 초고압 후살균 처리를 한 HCE의 난백은 처리 압력의 증가에 따라 경도와 씹힘성이 증가하였음. 그럼에도 불구하고 가열 후살균 처리를 한 HCE의 경도와 씹힘성이 초고압 후살균 처리를 한 HCE보다 더욱 높은 것을 관찰하였음.</li> <li>- HCE 표면에 집중한 <i>Salmonella</i> Enteritidis의 저감화에 초고압 후살균 공정이 뛰어난 효과를 보였음.</li> <li>- HCE 소비자를 대상으로 한 관능검사에서, 550 MPa에서 5 분 동안 초고압 후살균 처리를 수행한 HCE가 가열 후살균 처리한 HCE에 비해 색, 맛, 식감 등 모든 면에서 유의적으로 더 높은 선호도를 보임.</li> <li>- 소비자 선호도 조사와 HCE 처리군 별 물리화학적 특성 비교를 통해, 소비자들은 HCE 난황의 색이 더 노란색을 띠수록, 식감이 더욱 부드러울수록 선호함을 알 수 있음.</li> </ul>
---------------	---

<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 본 연구를 통해, 초고압 후살균 공정이, HCE 난황색의 변화없이 HCE의 물리화학적 성질을 개선하고 냉장 저장 기한을 증진시킴으로써 소비자 선호도를 더욱 높일 수 있으며 나아가 산업적으로도 긍정적인 영향을 미칠 수 있는 기술임을 알 수 있음.</li> <li>○ 알 및 작업표면별 미생물 바이오필름 형성능 저감화 연구</li> <li>- 균별 바이오필름 형성능 연구를 통해 <i>Cronobacter Sakazakii</i>를 제외하고 동일 조건에서 균간 바이오필름 형성능은 큰 차이를 보이지 않은 것을 관찰하였음.</li> <li>- 재질별 바이오필름 형성능 연구를 위해 수행한 FE-SEM 촬영 결과, Rubber에서 가장 바이오필름 형성능이 높게 관찰되었음.</li> <li>- 온도별 바이오필름 형성능 연구를 통해 <i>Cronobacter Sakazakii</i>를 제외하고 37 °C, 상온 (20 °C)에서 모든 균주는 바이오필름 형성능이 좋았음.</li> <li>- 본 연구의 조건에서, 상대습도는 바이오필름 형성능에 영향력을 주지 못하는 것으로 판단되어짐.</li> <li>- 배지별 바이오필름 형성능 연구를 통해 10 °C와 Egg shell을 제외한 대부분의 조건에서 가장 일정한 영향력을 행사하는 것으로 판단되어지며, 대체로 Egg yolk &gt; TSB &gt; Egg white 순으로 바이오필름 형성능 좋음을 관찰하였음.</li> <li>- 결론적으로, 계란 가공 등의 작업환경에서 여러 오염으로 인하여 식품접촉 표면에 바이오필름을 형성 할 수 있는 가능성이 높다고 생각되며, 식품 등으로 2차 오염의 위험성이 높다고 판단되어짐.</li> <li>- <i>S. Typhimurium</i> 과 <i>L. monocytogenes</i> 두 균주의 바이오필름 모두 stainless steel, plastic, rubber, egg shell 재질에서 25일 이상 생존력을 보였으며, <i>S. Typhimurium</i> 경우 모든 재질에서 35일까지 3 log CFU/cm<sup>2</sup> 이상 잔존하였음.</li> <li>- 물리적 단일처리인 UV 처리의 경우 최대 3,600 mWs/cm<sup>2</sup> 에서도 효과적인 살균효과를 나타내지 않았음.</li> <li>- 모든 화학적 살균처리는 UV 처리보다 살균효과가 높았음.</li> <li>- 살균효과는 CaO, NaOCl, Ethanol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 순으로 높은 효과가 나타남.</li> </ul>
---------------	--

<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i>, <i>P. aeruginosa</i> 균주의 부유세균이 완전사멸 효과를 보인 CaO (0.25%) 처리를 현장적용 최적조건으로 설정하였음.</li> <li>- 알 가공공정 내 일반세균 2 log CFU/cm<sup>2</sup> 가 검출되었던 계란상승컨베이어 벨트에 적용하여 CaO (0.25 %) 처리 후 완전사멸 효과를 확인하였음.</li> <li>- 물리화학적 병용처리인 UV/NaOCl, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 모두 시너지효과가 미미하며, 특징적으로 egg shell에서 가장 낮은 시너지 효과가 나타남.</li> <li>- 난황, 난백의 pH변화, 전란의 무게, 호우단위, 난각의 색차 및 과각력 변화 측정 시 무처리 계란과 바이오필름 제어 처리 후 계란을 비교하였을 때 유의적 차이를 나타내지 않았음.</li> </ul>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>-본 과제를 통해 초고압 후살균 처리한 알가공품이 기존 가열 후살균된 알 가공품에 비해 저장성 및 소비자 기호도를 더욱 증가시키며, 가장 문제점이 된 흑변 현상을 제어할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다. 또한 130명을 기준으로 조사한 관능검사에서 기존에 유통되는 가열 후살균 처리한 알가공품에 비해 초고압 후살균 처리한 알가공품의 관능이 난황의 색과 난백의 식감을 비롯한 많은 항목에서 더욱 높은 선호도 점수를 얻어, 초고압 후살균 처리가 알가공품의 살균 방법에 있어서 새로운 패러다임이 될 수 있음을 시사한다.</p> <p>본 연구에 이용된 초고압 기술을 더욱 발전시킬 경우 국내 한정적인 식품군에만 적용하는 것에 그칠 것이 아니라, 나아가 이를 더욱 확장시켜 추가로 다양한 식품군에 적용할 수 있을 것으로 사료된다. 위 기술을 응용하여 단순 살균/멸균 처리 기술 뿐 아니라 식품 소재의 생리기능성 증진까지 활발하게 연구가 진행된다면 국내 식품 산업의 발전을 기대할 수 있을 것이며 나아가 내수 경제 뿐 아니라 해외 시장 진출에도 크게 기여할 수 있을 것이라고 판단된다.</p> <p>또한 본 연구를 통해 알 원료 및 가공품, 식품접촉표면에서의 병원성 미생물 및 주요 부패균의 바이오필름 형성능을 확인하고, 효과적인 단독 또는 병용처리 제어법을 신기술로 개발하여 이외의 식품에 있어 적용 연구에 활용 가능할 것으로 판단된다.</p> <p>본 과제를 통해 확인된 작업표면별 바이오필름 형성능 및 효과적인 바이오필름 제어기술은 알가공 산업 뿐 아니라 육류가공 등의 축산산업, 수산물가공 산업 등에 적용하게 된다면 미생물학적 위해요소 제어를 위한 기반 기술로 활용하여 국내외 다양한 식품군의 안전한 공급에 기여할 것으로 사료된다.</p>				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>알 원료 및 가공품 (Egg products)</p>	<p>미생물 (Microorganism)</p>	<p>바이오필름 (Biofilm)</p>	<p>비가열공정 (Non-thermal process)</p>	

## < SUMMARY >

코드번호	D-02
Purpose& Contents	<p><b>I. Objectives</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Development of a novel non-thermal technology to control pathogenic microorganisms, especially Salmonella spp., which have ability to make biofilm, effectively to ensure food safety on egg products</li> <li>○ Improvement of quality and safety by industrialization of the novel food management system and process on egg products.</li></ul> <p><b>II. Research contents</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Development and field-application of high-efficiency non-thermal technology to produce premium egg products<ul style="list-style-type: none"><li>- Analysis of cause of microbial hazard elements</li><li>- Study on a novel non-thermal technology to reduce microbial population</li><li>- Quality inspection of the novel technology on process</li><li>- Field-application of novel technology to produce premium egg products and assessment</li></ul></li> <li>○ Reduction of microbial biofilm formation on egg and working surface<ul style="list-style-type: none"><li>- Research on biofilm formation of main pathogenic and spoilage bacteria on egg and working surface (<i>in vitro</i>)</li><li>- Research on biofilm formation on egg and working surface by storage conditions</li><li>- Development of non-thermal control technology of biofilm formation on egg and working surface</li></ul></li></ul>

<p>Results</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Development and field-application of high-efficiency non-thermal technology to produce premium egg products</li> <li>- There was significant greenish-black discoloration after continuous heat processing more than 15 min.</li> <li>- During 25 °C accelerated storage condition, HCEs processed with HHP at 600 MPa for 5 min showed the best microbial reduction.</li> <li>- pH levels of all HCEs were decreased during storage in accelerated condition for 7 days due to fermentation by bacterial growth and spoilage.</li> <li>- During 10 °C refrigerated storage condition, all treatment group do not showed microbial growth until 24 days. By the way, non-treated HCE showed significant microbial growth for 2.3 log CFU/g to 7.7 log CFU/g.</li> <li>- Heat post-processing induced significant discoloration on HCE egg yolk due to FeS formation, however, HHP post-processing maintained the color value (L*, a*, and b*) of HCE egg yolk with that of non-treated HCE. It suggests that HHP post-processing of HCE can prevent greenish-black discoloration of HCE egg yolk.</li> <li>- Hardness and chewiness values of HHP post-processed HCE white were increased with increasing pressurization levels. Nevertheless, hardness and chewiness of steam-heat post-processed HCE were the highest values among all HCE samples.</li> <li>- HHP surface decontamination treatment of HCEs increased the efficacy for the inactivation of <i>Salmonella</i> Enteritidis.</li> <li>- On sensory evaluation to HCE consumer groups, HHP post-processed HCEs at 550 MPa for 5 min showed better preference than steam-heat post-processed HCEs on all aspects including yolk color, taste, texture, etc.</li> </ul>
----------------	---

<p>Results</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- By comparison of consumer preference and physicochemical characteristics of HCEs, consumer prefer HCEs which have brighter yellow color and soft texture.</li>   <li>- HHP post-processing can improve physicochemical characteristics and shelf life without egg yolk discoloration, so this technology can enhance consumer preference and affect positively on egg product processing industry.</li>   <li>○ Reduction of microbial biofilm formation on egg and working surface <ul style="list-style-type: none"> <li>- By the study on biofilm formation of bacterial classification, biofilm-forming ability did not show by classification except <i>Cronobacter Sakazakii</i>.</li>   <li>- By the study on biofilm formation on different working material, rubber showed the highest biofilm-forming ability.</li>   <li>- By the study on biofilm formation at different temperature, all bacteria showed high biofilm-forming ability at room temperature except <i>Cronobacter Sakazakii</i>.</li>   <li>- Relative humidity did not affect to biofilm-forming ability of bacteria.</li>   <li>- By the study on biofilm formation on different broth condition, biofilm-forming ability showed in order of egg yolk &gt; TSB &gt; egg white.</li>   <li>- In conclusion, on working surface there are possibilities of biofilm formation due to several pollution, so there are possibilities of cross-contamination from working surface to food.</li>   <li>- Two kinds of microorganisms <i>S. Typhimurium</i> and <i>L. monocytogenes</i> showed survival on stainless steel, plastic, rubber, and egg shell during more than 25 days, and especially, <i>S. Typhimurium</i> showed survival during 35 days.</li> </ul> </li> </ul>
----------------	---

<p>Results</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Physical mono-treatment, UV did not show effective decrease of microbial population even on 3,600 mWs/cm<sup>2</sup>.</li> <li>- All chemical treatments showed higher efficiency than UV treatment.</li> <li>- Sterilizing effect showed in order of CaO, NaOCl, Ethanol, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.</li> <li>- To apply on industrial field, we set CaO treatment (0.25%) as a optimum condition which showed complete extinction of <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i>, and <i>P. aeruginosa</i></li> <li>- After the treatment of CaO (0.25%) on conveyer belt which showed 2 log CFU/cm<sup>2</sup> of general bacteria, all of bacteria became extinct.</li> <li>- Combination of physical/chemical treatment, UV/NaOCl, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> showed low synergistic effects.</li> <li>- After the combined treatment, pH of egg yolk and white, weigh of whole egg, Haugh unit, and color of egg shell did not show significant difference compared to non-treated eggs.</li> </ul>				
<p>Expected Contribution</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ By field-application of novel non-thermal sterilizing technology which enhanced the safety and shelf-life significantly, improvement of manufacturing technique of domestic egg processing company and global competency</li> <li>○ Increase of sales due to improved consumer assurance by the novel processing technology such as high hydrostatic pressure</li> <li>○ Construction of efficient sterilizing technology by biofilm-forming ability and its non-thermal control study</li> <li>○ Energy reduction using non-thermal processing technology</li> </ul>				
<p>Keywords</p>	<p>Egg products</p>	<p>Microorganism</p>	<p>Biofilm</p>	<p>Non-thermal process</p>	

# < CONTENTS >

<b>1. Introduction .....</b>	<b>1</b>
1) Research purpose .....	1
2) Research necessity .....	1
3) Research contents .....	12
<b>2. Recent Technological Development in the Research .....</b>	<b>13</b>
1) Technological development in current state .....	13
2) Current state of market and production .....	17
<b>3. Contents and Results of the Research .....</b>	<b>19</b>
1) Development and field-application of high-efficiency non-thermal technology to produce premium egg products .....	19
(1) Monitoring of microbial contamination on egg products.....	19
A. Analysis of microbial hazard elements on each food processing.....	
B. Results and discussion of analysis of microbial hazard elements on each egg processing steps.....	
(2) Principles of HHP post-processing system.....	24
(3) Application of HHP post-processing systems on egg products.....	25
A. Comparing greenish-black discoloration of egg yolk in accordance with the continuous heating time.....	25
B. Sterilizing effect and quality characteristics of HHP applied egg products based on storage at 25 °C accelerated condition.....	27
C. Sterilizing effect and quality characteristics of HHP applied egg products based on storage at 10 °C refrigerated condition.....	35
D. Comparison on texture profile analysis of HHP applied egg products .....	39

(4) Control of index microorganism in egg products using novel non-thermal processing system ...	41
A. Selection of index microorganism.....	41
B. Control of index microorganism in egg products using HHP post-processing system.....	42
(5) Sensory evaluation on consumer groups after application of non-thermal processing system....	45
A. Materials and methods.....	45
B. 20's to 30's consumer group.....	46
C. Egg processing factory workers group.....	47
D. Total statistics.....	47
(6) Conclusion.....	48
2) Reduction of microbial biofilm formation on egg and working surface.....	49
(1) Biofilm-forming ability and growth characteristics of main pathogenic and spoilage bacteria by different working surface ( <i>in vitro</i> ).....	49
A. BFI measurements of pathogenic and spoilage bacteria.....	49
B. FE-SEM photographing of material-, temperature-specific biofilm .....	51
C. Research of biofilm-forming ability by growth condition-specific characteristics...	53
(2) Research on biofilm-forming ability on egg products and its non-thermal control....	70
A. Biofilm viability on egg products by storage conditions.....	70
B. Optimum conditions of reducing biofilm using single / multiple treatments on egg products.....	72
(3) Conclusion.....	100
A. Biofilm-forming ability and growth characteristics of main pathogenic and spoilage bacteria by different working surface ( <i>in vitro</i> ).....	100
B. Research on biofilm-forming ability on egg products and its non-thermal control....	100
<b>4. Achievement of Objectives and Contribution Level .....</b>	<b>102</b>
<b>5. Future Implication of the Results.....</b>	<b>103</b>

6. Global Science Technology and information about the Research.....	105
7. Security clearance of Research.....	106
8. Status of the Research Facilities and Equipment.....	106
9. Implementation of Security measure in accordance with Project performance....	106
10. Records of Research and Development Projects.....	107
11. Et cetera.....	108
12. Reference.....	108

# 목 차

제출문

요약문

SUMMARY

CONTENTS

목차

제 1 장	연구개발과제의 개요 .....	1
제 1 절	연구개발의 목적 .....	1
제 2 절	연구개발의 필요성 .....	1
제 3 절	연구개발의 범위 .....	12
제 2 장	국내외 기술개발 현황 .....	13
제 1 절	기술개발 현황 .....	13
제 2 절	생산 및 시장현황 .....	17
제 3 장	연구수행 내용 및 결과 .....	19
제 1 절	알 가공 공정 중 미생물학적 위해요소 저감화를 위한 비가열 살균 기술 개발 .....	19
1.	알 가공품의 미생물 오염도 모니터링 .....	19
가.	식품 공정별 미생물학적 위해 요인 분석.....	19
나.	알 가공품 공정별 미생물학적 위해 요인 분석 실험 결과 및 고찰.....	19
다.	알가공품 현장 공정별 미생물학적 위해 요인 분석 연구.....	21
2.	초고압 가공 시스템 구축 원리 및 과정.....	24
3.	알 가공품의 초고압 시스템 적용.....	25
가.	가열 시간에 따른 알 가공품 난황 표면의 흑변 현상 비교.....	25
나.	초고압 기술을 적용한 알 가공품의 25 °C 상온 저장에 따른 살균 효과 및 품질 특성 비교 실험 ..	27
다.	초고압 기술을 적용한 알가공품의 10 °C 냉장 저장에 따른 살균 효과 및 품질 특성 비교 실험.	35
라.	초고압 기술을 적용한 알 가공품의 물성 변화 비교 실험.....	39

4. 비가열 살균 시스템을 이용한 알 가공품 내 오염지표 미생물 제어기술 연구.....	41
가. 오염지표 미생물 설정.....	41
나. 초고압 기술을 적용한 알 가공품 내 오염지표 미생물 제어기술 연구.....	42
5. 비가열 살균 시스템 적용에 따른 소비자 관능검사.....	45
가. 실험 재료 및 방법.....	45
나. 20~30대 일반 소비자 그룹 .....	46
다. 알 가공품 공장 근무자 그룹.....	47
라. 종합.....	47
6. 결론.....	48
제 2 절 알 및 작업 표면별 미생물의 바이오필름 형성능 저감화 연구.....	49
1. 알 원료와 작업 표면별 주요 세균의 생육특성 및 바이오필름 형성능 연구( <i>in vitro</i> )..	49
가. 바이오필름 형성능 연구주요 식중독균과 부패세균의 BFI 측정.....	49
나. 재질, 온도별 바이오필름 FE-SEM 촬영.....	51
다. 생육 환경별 특성에 따른 바이오필름 형성능 연구.....	53
2. 알 원료 및 가공품 중 바이오필름 형성능 탐색 및 비가열 제어법 연구.....	70
가. 알 원료 및 가공품의 보관환경 특성별 바이오필름 생존력 탐색.....	70
나. 알 원료 및 가공품 중 바이오필름의 단독/복합 처리에 의한 최적 저감화 조건 설정..	72
3. 결론.....	100
가. 알 원료와 작업 표면별 주요 세균의 생육특성 및 바이오필름 형성능 연구( <i>in vitro</i> )..	100
나. 알 원료 및 가공품 중 바이오필름 형성능 탐색 및 비가열 제어법 연구.....	100
제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도 .....	102
제 5 장 연구결과의 활용계획 .....	103
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	105
제 7 장 연구개발성과의 보안등급.....	106
제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황.....	106

제 9 장	연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적.....	106
제 10 장	연구개발과제의 대표적 연구실적.....	107
제 11장	기타사항.....	108
제 12 장	참고문헌.....	108

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발 목적

○ 알 원료 및 가공품에 오염될 수 있는 병원성 미생물과 특히 바이오필름 형성능이 있는 살모넬라 등 식중독균을 효과적으로 제어할 수 있는 비가열 살균기술을 개발하고, 가공공정 중 최적의 안전관리기술을 적용함으로써 산업 현장의 저에너지, 고효율 제어시스템을 구축함

○ 궁극적으로 알 원료 및 가공품의 안전관리기술 및 공정의 산업화를 통해 품질 개선 및 안전성을 제고하고, 계란 관련 식중독 사고를 예방하고자 함

## 제 2 절 연구개발의 필요성

### 1. 국내외 현황 및 문제점

가. 축산물 중 알 원료 및 가공품의 식중독 위험성

○ 최근 우리나라는 쇠고기, 돼지고기의 소비량이 멈춘 반면, 닭고기 소비량은 급격히 증가 추세에 있으며, 국민 1인당 계란 소비는 미국의 경우 연간 254개, 우리나라는 236개로서 저가의 우수한 단백질 공급원으로써 소비되고 있음

- 특히, 육식을 주식으로 하는 서구식 식생활에 따라 그 소비가 과거에 비해 날로 증가되고 있음

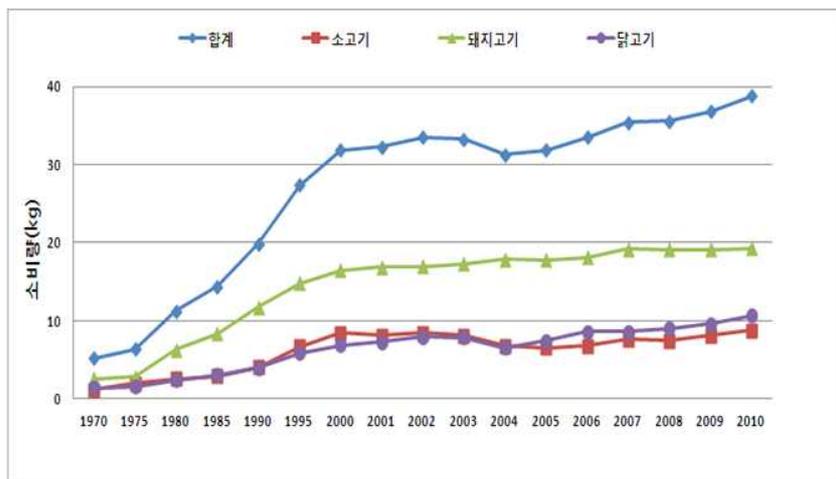


그림 2 국내 1인당 육류 소비량

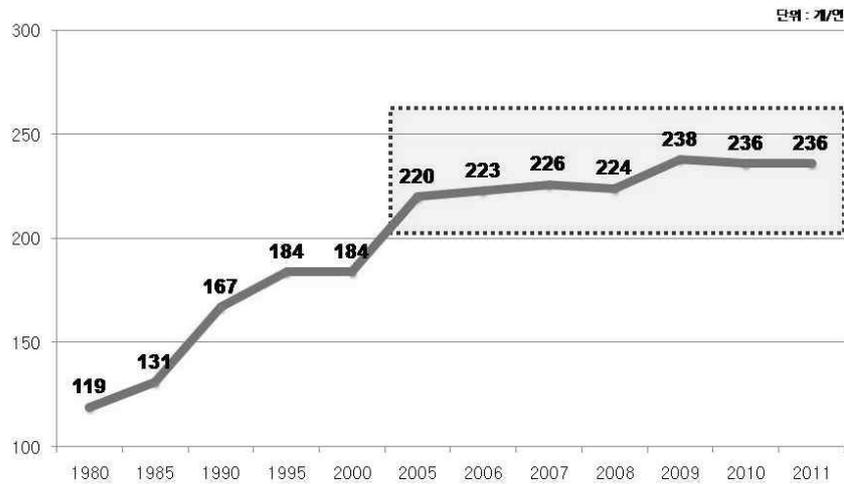


그림 3 국내 1인당 계란 소비량

- 그러나 전 세계적으로 계란을 위시한 축산식품에 의해 유발된 식중독은 해마다 증가하고 있으며, 우리나라도 예외가 아님
- 우리나라 식중독 원인 중 “육류 및 가공품”은 어패류 등 수산식품에 이어 2위를 차지함



그림 4 그림 3. 국내 식품유형별 식인성 질환 발병 건수(비율)

- 알 원료 및 가공품은 “육류(red meat), 닭고기, 우유, 어패류(shell fish), 채소, 쌀”과 함께 7대 잠재적 위험 식품(potentially hazardous foods)으로 분류되고 있음(NSF, USA)



그림 5 미국의 7대 잠재적 위험 식품

○ 계란과 계육에서 보고된 식중독세균은 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. *Campyloacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* 등이며 최근 미국과 유럽을 중심으로 계란 또는 계육 중 살모넬라오염이 사회적 문제로 대두됨

- 美CDC(Centers for Disease Control and Prevention) 보고에 따르면, 1985년에서 1995년 동안 *Salmonella* Enteritidis에 의한 582건의 식중독 사고가 일어났으며, 이로 인해 24,058명의 환자가 발생했고 2,290명이 입원치료를 받았으며, 그 중 70명이 사망한 것으로 조사됨
- 1996년 미국의 경우, 살모넬라 식중독의 25%가 *S. Enteritidis*에 의함
- 미국에서는 2010년 5월부터 10월까지 살모넬라에 오염된 계란 섭취로 인해 1,813명의 환자가 발생하였고 5억 5,000만개의 계란이 회수되면서 사회적 문제로 대두됨
- 2004년 영국의 경우, 계란 290개당 한 개가 살모넬라에 오염되어 있다고 보고됨

○ 주요 선진국에서 계란과 계육으로부터 분리된 *S. Enteritidis*에 의한 식중독은 주로 생란 (raw egg or fresh egg)에서 유래하는 것으로 규명되었음

- 유럽의 경우, 1985-1999년 사람에게 발생한 *S. Enteritidis* 식중독의 80%가 계란에서 유래한 것으로 조사됨

○ 최근 국내에서 (주)삼영후레쉬가 생산하고 (주)다채원(서울 중랑구 소재)이 유통한 알가공품인 “토마토알찬지단체” 제품에서 살모넬라 식중독균(*Salmonella* spp.)이 검출돼 판매 중단 및 회수 조치되었음(2014.4.21)



그림 6 살모넬라 식중독균으로 인한 판매 중단된 토마토알찬지단채

- 미국에서는 알 원료의 미생물 안전성 확보를 위해 냉장유통제도와 산란계 양계장의 미생물 검사를 의무화하고 계란품질인증제를 시행하고 있음
  - 알 원료 및 가공품에 의한 식중독 사고(egg-borne illness)를 예방하기 위해 2001년 6월 미국에서는 알 원료 및 가공품의 냉장유통제도를 도입하였으며, 2010년 7월에는 5만수 이상 규모 산란계 양계장의 살모넬라균 검사를 의무화하는 등 엄격한 알 원료 및 가공품 안전성 대책을 시행하고 있음
  - 미국에서는 계란품질인증제를 실시하여 *S. Enteritidis*에 의한 식중독이 50% 감소됨
- 기타 선진국 역시 계란 또는 계육의 *S. Enteritidis* 오염 방지를 위해 저온살균, 보관지침, 농장 내 예방법 등이 강구되어 실제 적용되고 있음
- 국내의 2002년-2013년까지 식중독 원인별 발생건수와 발생환자수의 발생사례를 살펴보면, 노로바이러스를 제외하고 세균성은 병원성대장균(339건, 20,185명), 살모넬라(262건, 8,072명), 황색포도상구균(184건, 7,784명) 순으로 나타남(식약처 통계시스템, 2014)



그림 7 세균성 미생물

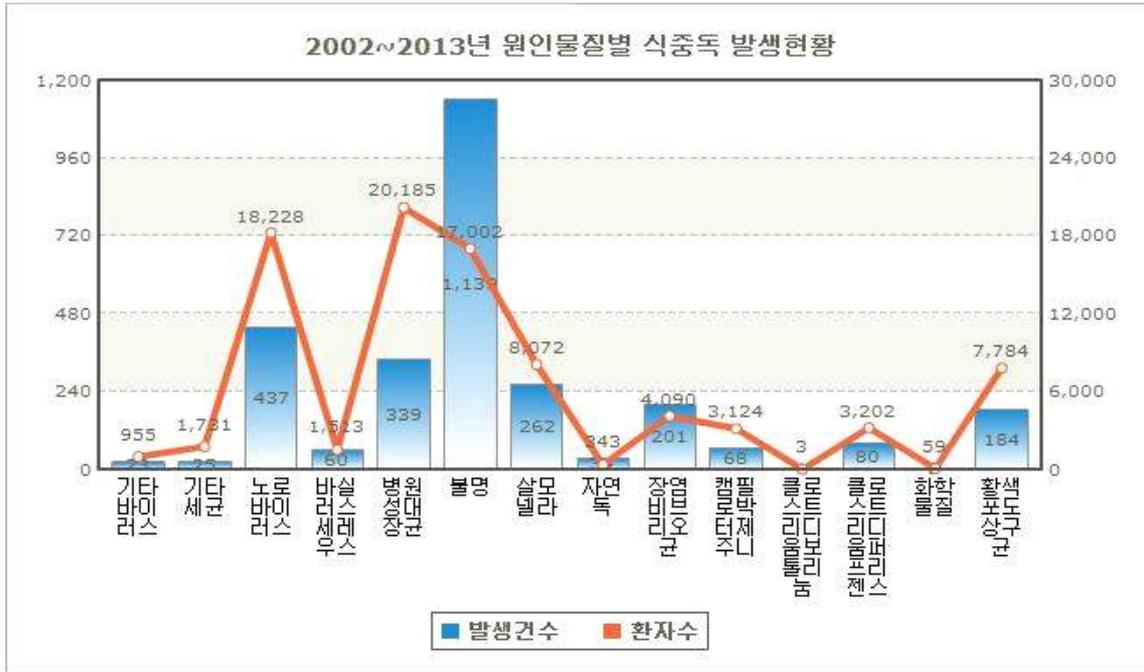


그림 8 국내 식중독 원인체별 발생현황 (2002년-2013년)

○ 실제 우리나라의 경우 살모넬라에 오염된 알 원료 및 가공품에 의한 집단 식중독 사고는 보고된 적은 없으나, 국내 살모넬라의 감염증은 미국, EU처럼 발생빈도가 점차 증가하는 실정이고 살모넬라 항생제 내성률도 증가 추세이기 때문에 살모넬라 식중독을 미리 대비할 필요가 있음

- 2002년-2003년 “국내 양계산업 살모넬라 오염도조사”에 의하면 종계장(38.7%), 부화장(88.5%), 실용계농장(70%), 닭도축장(94.1%)이 높은 비율로 살모넬라균에 오염되어있고, 이 중 *S. Enteritidis* 오염률이 1.7~75%로 가장 크게 나타남
- 또한 최종 도계육의 오염률이 69.4%로 사람에게 이행돼 식중독을 일으킬 수 있는 확률이 매우 높음

- 우리나라에서 장염을 일으키는 주요 살모넬라균은 *S. Enteritidis*와 *S. Typhimurium*임
- 살모넬라균은 포유동물, 파충류, 조류, 곤충 등 다양한 동물의 위장관 속에 존재하며 200개 이상의 혈청형(serotype)이 사람에게 질병을 일으킬 수 있음
  - 주로 위장관염을 유발하나 국소 감염이나 균혈증을 일으키기도 함
  - 가장 흔한 위장관염은 오염된 음식이나 물을 섭취한 후 6시간에서 72시간 이내에 구토, 오심, 설사가 발생하며, 종종 심한 복통과 발열(38-39℃)을 동반함

나. 식중독 균의 바이오필름(생체막) 형성 및 위험성

*Salmonella spp.*

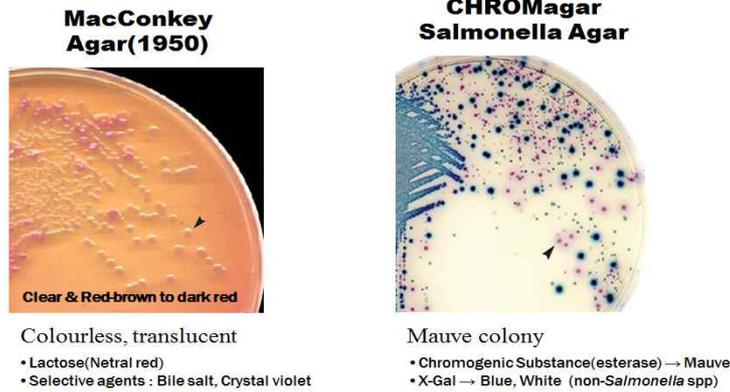


그림 9 살모넬라 균의 바이오필름 형성 모습

○ 병원성세균이 의료기기 및 용품, 산업용수도, 식품가공설비 및 식품 등의 표면에 부착함으로써 교차오염을 일으키기 때문에 바이오필름생성 세균은 식품오염의 주요 공급원으로 잠재적 식중독의 원인임

- 전체 미생물 감염의 65%는 바이오필름형성과 관련되어 있음(Lewis, 2001)

○ 바이오필름(생체막)은 외부에서 가하는 물리 화학적 제어에 의한 방어기작을 가짐으로써 스스로를 보호하고 있으므로 살균 소독이 어려움

- 특히, 식품에 오염된 미생물은 식품 내부의 성분과 그 환경으로부터 필요한 영양분을 얻는 동시에 스트레스도 받는데 이때 미생물은 이러한 환경적 스트레스에 대한 방어기작으로 일시적인 변화 또는 돌연변이를 통해 적응하거나 바이오필름을 생성함으로써 자체적으로 생육이 가능하게 됨

- 바이오필름이란 미생물이 만들어내는 exopolysaccharide (EPS), 단백질 및 핵산을 포함한 extracellular matrix와 미생물이 혼합되어 있는 3차원의 구조물로써 열, 건조, 산성, 고농도의 염, 항생제, 기타 식품보존료 등의 여러 가지 환경적 스트레스에 강한 내성을 갖고 있음



그림 10 바이오필름 형성의 예시

## Steps of Biofilms



그림 11 바이오필름 형성 과정

○ 따라서 *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, 병원성대장균, 황색포도상구균 등의 병원성세균 뿐만 아니라 병원성세균이 만들어내는 바이오필름은 알가공공장의 HACCP 시스템 운영을 위한 주요관리점으로 인식됨

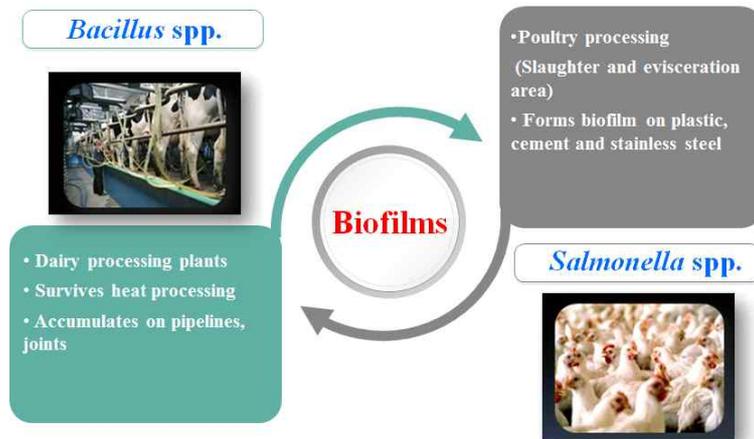


그림 12 바이오필름 형성의 바실러스 및 살모넬라 예시

다. 국내 연구개발의 필요성

○ 국민들의 전반적인 식생활 패턴이 대량급식과 외식으로 확장되고 있고 식품의 국제적 무역이 활성화됨에 따라 식품의 안전성 확보에 대한 수요가 증대되고 있음

- 고품질화 및 안전성 향상으로 수입 식품과의 차별화가 시급함
- 식품의 잔류농약, 내분비계 장애물질, 식중독균 오염 등으로 소비자의 불안이 가중되고 있음

○ 최근 식품안전 사건·사고 발생이 급증하고 있으며, 사고 발생 시 식품기업 특히 중소기업은 거의 도산할 정도로 파급효과가 매우 크기 때문에 산업 현장에서의 안전성 확보기술을 개발·보급하여 기업의 재산을 보호하고 저장성 증대 등으로 이익을 극대화하는 기술의

## 확보가 필요함

○ 국민들의 전반적인 식생활 패턴이 대량급식과 외식으로 확장되고 있고, 식품의 국제적 무역이 활성화됨에 따라 식품의 안전성 확보에 대한 수요가 증대되고 있음

○ 특히, 식생활의 서구화, 저렴한 가격 및 조리의 편의성 등에 의해 계란의 소비량은 증가하고 있으나 여전히 “상온유통 판매에 대한 신선도 및 부패변질 우려, 잔류항생물질에 대한 우려, 산란기간 또는 포장기간 표시의 혼란” 등이 소비자들의 불안요소로 꼽히고 있음

○ 식품제조업체의 약 80%가 종업원 10명 이하의 영세기업이고 매출액 규모 5억원 미만인 업체가 전체의 81.5%(매출액 대비 4.2%)를 차지하기 때문에 경제력에 비해 식품위생수준이 매우 낙후되어 있는 실정이며, 매년 증가되고 있는 집단식중독 추세 및 환자발생 건수가 이를 반영해주고 있음

- 1996년 이후부터 식중독 환자 발생수와 발생 규모가 증가하는 추세이며, 세균성 식중독이 이 중 약 90%를 차지하고 있음

- 90% 이상이 세균 및 바이러스성으로 화학적 위해보다는 미생물 위해인자에 대한 대비가 절실하며, 병원성대장균, 살모넬라, 황색포도상구균 등과 같은 세균성 식중독의 발생이 증가하고 있는 추세임

○ 식중독 발생은 생활수준이 높은 선진국에서조차 계속 증가하는 추세에 있어, 인간의 건강을 해칠 뿐 아니라 막대한 경제적인 손실을 일으키고 있음

- 미국의 경우 매년 7,600만 명이 식중독균으로부터 고통을 겪고 있으며, 이 중 33만여 명이 병원치료를 받고, 5,000여 명이 사망하고 있는데, 주요 원인균은 *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *C. jejuni*, *E. coli* O157:H7, *Bacillus cereus* 등 세균성으로 조사되고 있으며, 미생물을 포함 식품위해물질에 의한 의료비용과 생산성 저하 비용은 65-345억 달러로 추정되고 있음(미국 Foodnet)

- 뉴질랜드, 유럽, 남미의 조사 결과 매년 인구의 10% 이상이 식중독 질환을 경험한다고 보고됨

○ 계란은 산란 과정 중 난관을 지나 총배설장을 통과하면서 닭의 분변 미생물에 오염이 쉽게 되며, 특히 난관 자체에 살모넬라와 같은 식중독 세균이 감염된 경우 계란 내부가 오염되면 부적절한 온도의 유통과정 중 증식할 수 있음

- 살모넬라에 감염된 계란을 충분한 조리과정 없이 섭취할 경우 식중독의 위험이 있으며, 다른 식품을 오염시키는 교차오염원 역할을 하게 되어 더욱 위험함

라. 식중독 균 제어 기술 현황 및 알 가공 적용 시 한계점

○ 유기농 및 최소가공식품 시장의 급격한 성장에 따라 미생물 특히 식중독 원인 병원성 미생물을 제어하여 식품의 안전성과 저장성을 높이는데 있어, 가열 공정을 최소화하여 식품 품질(영양학적, 관능적 품질) 저해를 최소화하는 비열처리 공정이 많은 주목을 받고 있음

- 신선계란, 신선농산물 등의 신선식품을 위한 최소가공기술로는 cold water washing으로

부착돼 있는 이물질과 미생물을 제거하고 있으나 세척만으로는 충분한 미생물 인자를 제거하기 어려움

- 따라서 전해수, 염소수(100 ppm), 구연산(1%), ascorbic acid(1%), lactic acid(1%) 등 유기산, 오존처리, 과산화수소, 초음파, 조사 등의 물리·화학적 제어법이 사용되고 있음
- 미생물로 인한 식품의 부패 또는 변패를 방지하기 위하여 살균·소독력을 갖는 다양한 화학 또는 천연물질들이 연구되고 있으며, 이를 바탕으로 항균제, 살균제, 소독제, 보존제, 기능성 세제 등이 개발되고 있음
- 화학적 제어법 중 citric acid, acetic acid, lactic acid, propionic acid 등의 유기산은 generally recognized as safe(GRAS)로 간주되어 과일과 채소에 sanitizer로 사용되어 왔음

○ 그러나 이들 제어법들은 *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *C. jejuni*, *L. monocytogenes* 등 계란에 존재하는 식중독균과 부패세균을 제어하는데는 효과적이거나, 바이오필름 형성 균이 난각이나 계란 보관기구 표면에 생성된 바이오필름은 제거하기가 매우 어렵고, 필름 내 존재하는 균은 살균하기가 더더욱 어려움

○ 또한 대량 생산체계 공정에는 현재까지 적용 가능한 비열처리기술에 대한 연구가 미비하여 알 가공 과정 중 재오염 위험성 방지에 관한 연구가 필요함

- 알 가공 단계별 중 오염원이 유입될 가능성이 있는 과정은 수확한 계란을 염소를 첨가한 물로 세척하는 단계, 증기로 익힌 달걀에 적당한 압력을 가해 탈각시키는 단계, 컨베이어 벨트 위에 달걀이 하나씩 분리되어 옮겨지는 단계, 포장 전에 냉각수를 이용하여 탈각된 달걀을 식혀 주는 단계로 볼 수 있음
- 염소 처리수는 산업 상 재활용 빈도가 높아 재오염의 가능성이 높고 탈각 과정 시 껍질에 남아있는 오염원이 껍질이 제거된 달걀에 옮겨갈 가능성이 있음
- 또한 컨베이어 벨트 공정상 장치의 오염된 표면에 의해 달걀이 오염되는 경우가 발생할 수 있으며, 냉각수 사용할 시 물에서 유래하는 다양한 오염균에 의해 달걀이 오염 될 수 있음

○ 따라서 계란에 존재하는 주요 부패세균 및 식중독균(*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *C. jejuni*, *L. monocytogenes* 등)의 난각 또는 액란 보관용 기구 표면에서 생성되며 살균 소독에 고저항성을 갖는 바이오필름의 제어 및 산업 현장 적용을 위한 실질적인 연구가 필요함

마. 비가열 처리 공정을 통한 미생물 저감화 및 품질 유지

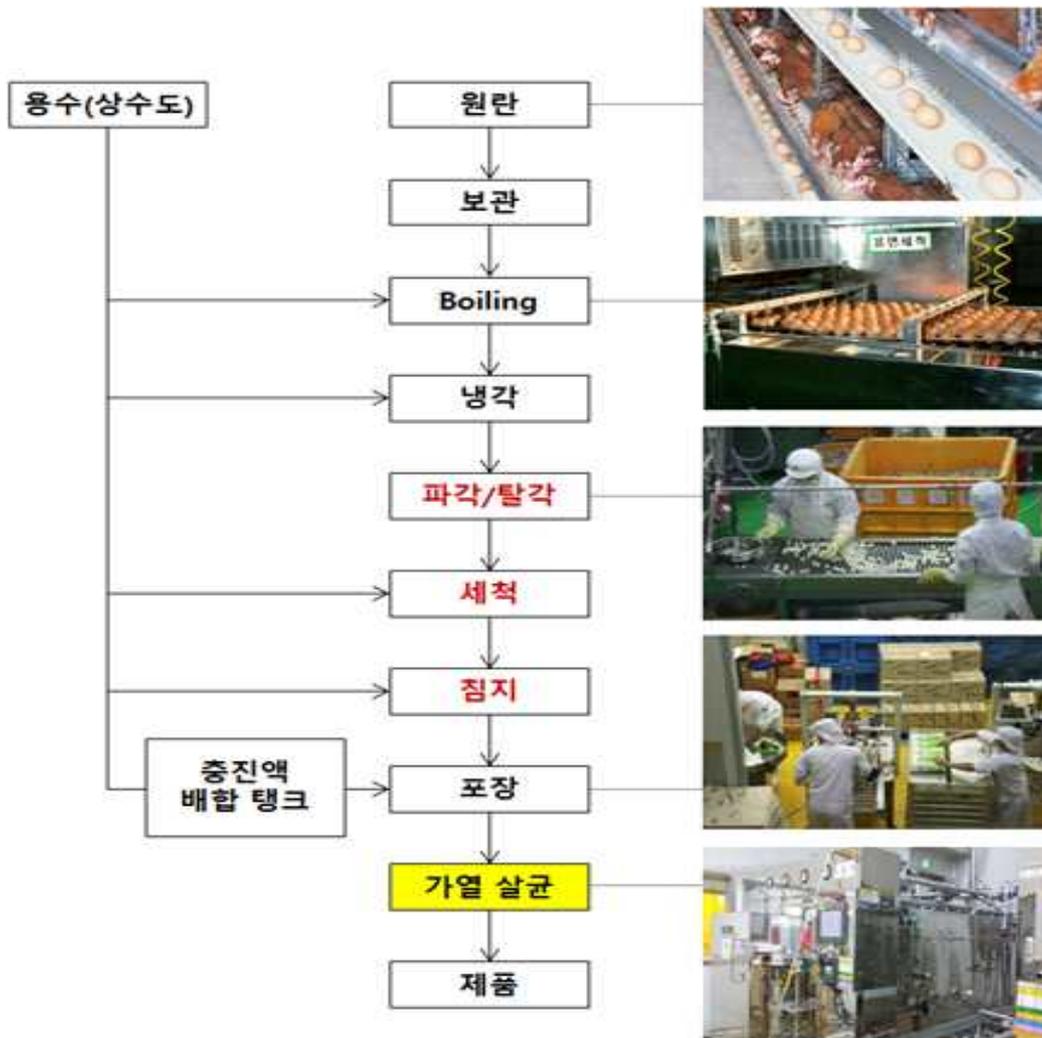


그림 13 알 가공 공정의 Flow chart

- 미생물 저감화를 위한 기존의 알가공품 처리 공정에는 화학 살균제(염소) 처리, 가열 공정이 있음. 화학 살균제를 사용하여 세척을 하는 경우 처리되는 알가공품의 cuticle 층이 파괴되어 저장성이 떨어지게 됨(Gast et al., 2005)
- 화학 살균제 그 자체 또는 유해한 부가생성물인 trihalomethane이 생성되는 문제가 발생함
- 가열 공정을 거친 알 가공품은 영양분 손실과 함께 달걀 내부의 단백질 변성으로 인하여 외부로부터 오염에 대한 저항력 감소가 나타나며(Ko and Ahn, 2008), 소비자에게 시각적으로 거부감을 일으키는 흑변 현상이 발생함

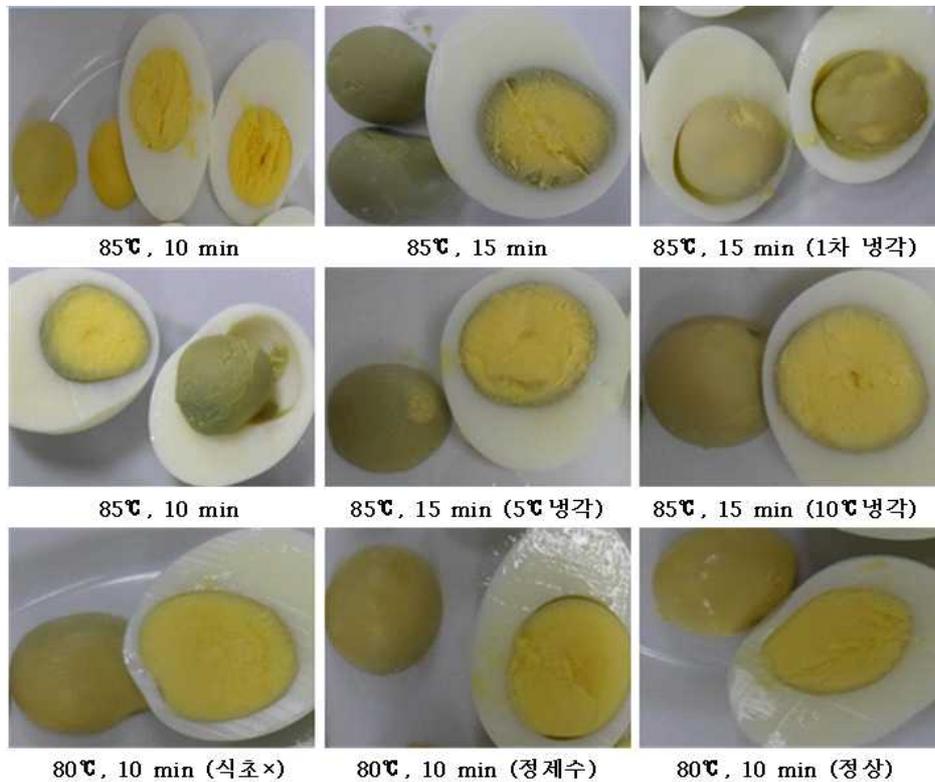


그림 14 가열 처리 계란의 흑변 현상

○ 유기농 및 최소가공식품 시장의 급격한 성장에 따라 미생물 특히 식중독 원인 미생물을 제어하여 식품의 안전성과 저장성을 높이기 위하여 가열 공정을 최소화하여 식품 품질(영양학적, 관능적 품질) 저해를 최소화하는 비열처리 공정이 많은 주목을 받고 있음

○ 현재까지 대량 생산 알 가공 공정에 적용 가능한 비가열 살균기술 연구는 미미한 실정 이지만 이에 대한 연구 필요성은 계속 증가하고 있음

○ 현재 식중독 원인균의 증식억제 및 제거 방법으로 사용되는 식품기술로는 hot water holding 처리, potassium sorbate, benzoic acid, citric acid, acetic acid, lactic acid 등 유기산 처리, chlorine, ethanol, hydrogen peroxide 등 sanitizer를 이용한 “화학적 제어법”과 고전압 펄스, 전기장, 진동 자기장, 초고압, 초음파, 마이크로웨이브 등 “물리적 제어법”이 연구되고 있음

- 물리적 살균법 중 high voltage pulsed electric field (PEF), 방사선조사, 자외선(UV), 초음파, 필터여과, 오존 살균 처리 등이 연구되어 오고 있으며 초고압, UV에 의한 살균 등이 실용화되었음

- 플라즈마(plasma)를 이용한 물리적 살균기술은 신선편이식품, 수산물, 신선육, 알 껍질 등의 표면 미생물 살균에 적용 가능한 최신 기술로 부각되고 있음

- Hurdle technology는 여러 살균 시스템을 병합 사용함으로써 식품의 품질 손실을 최소화하고 살균 효과를 증대 시킬 수 있는 기술로 기대되고 있음

### 제 3 절 연구개발 범위

#### 1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

##### 가. 연구개발의 최종 목표

○ 알 원료 및 가공품에 오염될 수 있는 병원성 미생물과 특히 바이오필름 형성능이 있는 살모넬라 등 식중독균을 효과적으로 제어할 수 있는 비가열 살균기술을 개발하고, 가공공정 중 최적의 안전관리기술을 적용함으로써 산업 현장의 저에너지, 고효율 제어시스템을 구축함

○ 궁극적으로 알 원료 및 가공품의 안전관리기술 및 공정의 산업화를 통해 품질 개선 및 안전성을 제고하고, 계란 관련 식중독 사고를 예방하고자 함

##### 나. 연구개발의 주요내용

○ 고품질 알가공품 생산을 위한 비가열 살균 공정 현장 적용 연구

- 알 원료 및 가공 공정 중 미생물 오염도 모니터링
- 알 가공 공정별 미생물학적 위해요소 저감화 기술 현장 적용
- 프리미엄 알가공품 생산을 위한 시스템의 현장 적용 및 평가

○ 알 가공 공정 중 미생물학적 위해요소 저감화를 위한 비가열 살균 기술 개발

- 미생물학적 위해 요인 발생 원인 분석
- 공정별 미생물 저감화 비가열 기술 연구
- 공정 적용 시 제품 품질(미생물, 관능) 평가
- 프리미엄 알가공품 생산을 위한 신기술(초고압기술) 적용 연구 및 평가

○ 알 및 작업표면별 미생물 바이오필름 형성능 저감화 연구

- 알 및 작업표면에서 발생하는 주요 식중독, 부패세균의 바이오필름 형성능 연구(*in vitro*)
- 알 및 작업표면 보관 환경 특성별 바이오필름 형성능 탐색(온도, 상대습도)
- 알 및 작업표면의 바이오필름 비가열 제어법 연구

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 기술개발 현황

#### 1. 자외선(UV) 처리기술

○ 자외선(UV)은 파장이 100-380 nm 사이의 불가시(不可視)광선으로 가시광선보다 파장이 짧아 강한 에너지를 가지고 있어 유기물을 산화시키며 미생물에 대해 살균작용을 일으킴. 파장에 따라 UV-A, UV-B, UV-C로 분류되며 이 중 파장이 가장 짧은 UV-C(100-280 nm)의 효용성이 뛰어나다고 판단됨. 물 살균 공정에 널리 쓰이고 있으나 식품 살균 공정에는 아직 사용이 미미한 상태임

○ 자외선은 가열 살균에 비해 열 발생이 없고 생산설비의 설치 및 관리가 용이하며, 유지비용이 저렴하고 에너지 소비량이 적다는 유리한 점이 있음

○ 현재 식품과 관련하여 조리 및 판매, 보관과정에서 다수 사용되고 있으나 소규모 상점이나 유통업체에서 기물, 개인위생용구, 조리 도구 등에 쓰이는 경우가 대부분임

○ UV-C에 해당하는 파장 중 254 nm에서 살균 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있으며, 254 nm의 파장을 가지는 UV-C는 세포나 미생물 내에 존재하는 핵산에 주로 흡수되어 작용함. 핵산은 유전 정보를 인코딩하고 있는 DNA나 RNA를 구성하는 주된 구조 물질로 핵산의 손상은 세포나 미생물의 생장에 필수적인 작동 기작에 영향을 주어 사멸을 유도함

○ UV를 세정, 살균 공정에 사용할 때 장점으로 (1) 유해한 부산물이 생성되지 않으며, (2) 곰팡이를 제외한 거의 모든 균종에 대해 유효한 살균 효과를 가지며, (3) 공정이 단순하고 설비 가격이 저렴하고 복잡한 안전장치가 필요하지 않으며, (4) batch 처리나 연속처리가 모두 가능하며, (5) 세척수의 재사용이 용이하여 경제적으로 유리하며, (6) 환경오염 발생 요인이 거의 없다는 것임. 또한 살균 효과를 증대시키기 위한 친환경적인 첨가제와의 병합도 용이하여 차아염소산 처리보다 우수성을 가질 수 있음

○ UV-C는 미국 FDA에서 액체 식품과 물, 식품과 접촉하는 표면, 식품 자체 표면의 병원성 미생물을 불활성화 시키기 위한 기술로 승인된 안전한 기술임

○ 달걀과 같이 매끈한 표면을 가진 식품의 표면을 살균하기 위한 방법으로 가능성이 큼

#### 2. 광촉매 살균 기술

○ 이산화티타늄(titanium dioxide;  $TiO_2$ )은 자외선과 같은 빛 에너지에 의해 활성화되어 산화반응을 촉진시키는 광촉매 물질임

○  $TiO_2$ 는 빛에 의한 자체 분해반응이 일어나지 않고, 매우 풍부한 자원이기 때문에 가격이 저렴하며, 반영구적으로 사용할 수 있고, 내구성·내마모성이 우수하며, 그 자체는 무독 물질이어서 폐기하여도 2차 공해에 대한 염려가 없고, 초친수성 성질을 가짐

○ TiO<sub>2</sub> 입자 표면에 자외선(UV)을 조사하면 TiO<sub>2</sub> 촉매 역할에 의한 연속 반응으로 수산화라디칼(hydroxyl radical, ·OH)이 생성되며(아래 그림), 이 수산화 라디칼은 염소나 오존보다 산화력(oxidizing power)이 매우 높아 유기오염물질 제거나 미생물 살균에 효과적으로 이용될 수 있음

○ 1985년부터 TiO<sub>2</sub> 광촉매 산화반응의 미생물에 미치는 영향에 대한 연구가 진행되었으며, *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Chlorella vulgaris* 등 미생물에 대한 살균효과가 보고되면서 이에 대한 연구가 본격화되었음

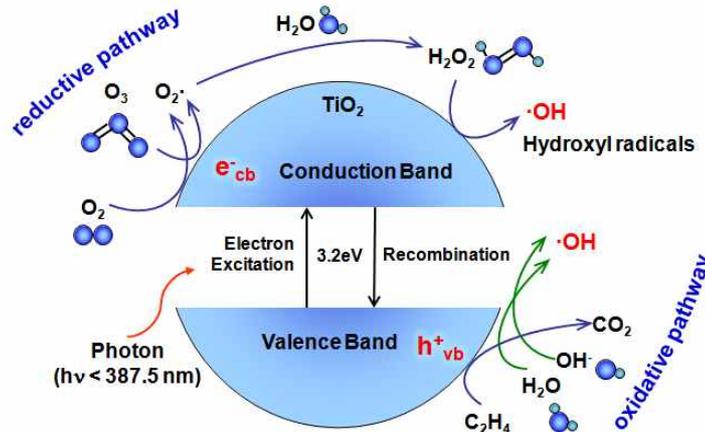


그림 14. 이산화티타늄 표면에서 자외선에 의한 수산화라디칼 형성 기작

### 3. 초고압 처리 기술

○ 초고압 가공은 high hydrostatic pressure (HHP) processing으로 불리며, 액체 또는 고체 식품을 포장을 하거나 포장하지 않은 상태로 100-900 MPa (mega pascal; 1 MPa은 약 10 기압)의 정수압(hydrostatic pressure)으로 압력 처리하는 것으로 정의할 수 있음

○ 초고압 가공이 천연 그대로의 맛과 향을 보존하고 영양성분의 파괴가 적고 관능적 품질의 경우도 좋게 유지되는 결과를 보임. 예를 들면 가압처리 된 쌀에 대해 검사한 결과 밥기, 향미, 텍스처 등에서 우수한 결과가 나왔음(Watanabe et al, 1991)

○ 초고압 기술이 도입된 이래 100여 년이 지난 지금 미국, 일본, EU에서 이미 초고압 기술을 이용한 육가공, 과채류, 수산 식품 등이 상품화되어 소비자에게 판매되고 있음. 우리나라에서는 초고압 연구는 1990년대 초반에 시작되어 초고압 기술을 이용한 무취 마늘, 녹즙, 김치, 과일 및 야채 주스, 전통주, 홍삼제품 등에 대한 연구를 하였음. 현재 생산 규모 설비를 이용한 제품이 생산되기 시작하였으며, 3,000기압 압력을 이용한 즉석밥 제품이 대표적임

○ 초고압 가공이 천연 그대로의 맛과 향을 보존하고 영양성분의 파괴가 적더라도 관능적 품질이 나쁘다면 식품으로서의 가치가 없음. Horie 등(1991)은 딸기, 키위, 사과잼 등 7개 제

품을 대상으로 열처리한 잼과 가압 처리한 잼의 관능적 특성을 비교하였음. 30명의 관능요원들 중 모든 제품에서 20명 이상의 관능요원들이 가압 처리된 잼을 선호했음. 가압처리된 쌀에 대해 검사한 결과 밝기, 향미, 텍스처 등에서 우수한 결과가 나왔음(Watanabe 등, 1991)

○ 압력이 식품의 물리적 또는 기능적 특성에 미치는 영향에 대한 연구들이 최근에 와서 수행되고 있지만, 초고압 관련 대부분의 연구들은 미생물의 불활성화에 초점을 두고 있음

○ 압력에 의해 미생물이 살균되는 원리는 확실히 규명되어 있지 않지만 세포막 붕괴 및 세포막에 존재하는 단백질의 변성을 원인으로 들고 있으며 실제로 200-300 MPa로 가압함에 따라 미생물의 세포막이 파괴되는 모습도 관찰되었음(Marquis, 1976)

○ 공유결합이나 수소결합의 경우 이들 결합이 파괴될수록 물 부피의 합이 증가하기 때문에 압력의 증가가 이들 결합의 파괴를 촉진하지 않으며 특히 수소결합의 경우에는 압력이 증가할수록 결합이 촉진됨. 따라서 식품 내 주요 단백질 성분에 대해 손실되는 양이 적음

○ 초고압 처리에 의해 영향을 받는 세균에는 대표적으로 ready-to-eat (RTE) 육류에 존재하는 저온성균인 *L. monocytogenes*, 대부분의 식품에 존재하는 *Salmonella*와 대장균, 어패류에 존재하는 *Vibrio*와 virus, 육류에 존재하는 *Campylobacter* 등이 있음

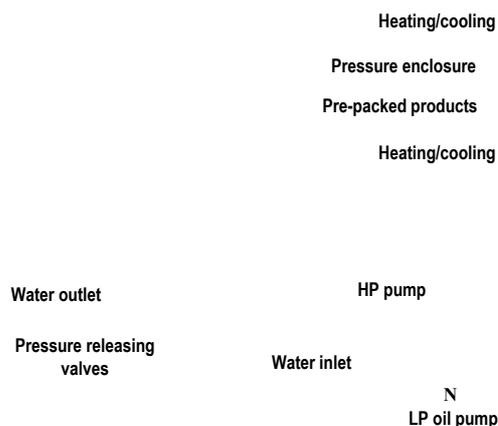


그림 15. 초고압 처리기술의 모형도

#### 4. 저온 플라즈마 살균 기술

○ 최근, 물리적 플라즈마 살균기술은 반도체, 표면 코팅 등 공업적 이용에서 빠른 속도로 생물, 식품 등의 산업 응용으로 전환되고 있으나 저온 플라즈마 살균기술을 이용한 식품의 안전성 연구는 현재 식품에 적용이 시도되는 초기단계임

○ 특히, 저온 플라즈마는 공기나 액체 중에서 전기 방전에 의해 높은 에너지를 가진 원자,

높은 반응성을 가진 라디칼( $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\cdot\text{HO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 및 오존을 생성하여 살균력을 지닌 제3의 물질임

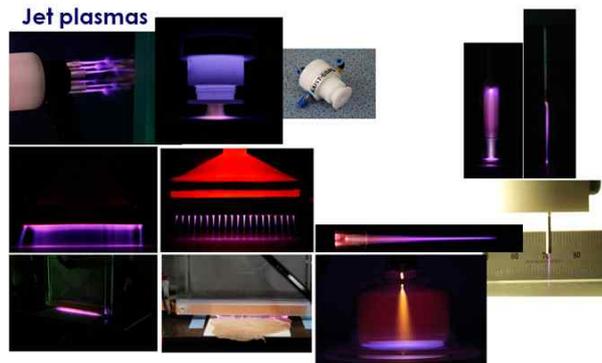
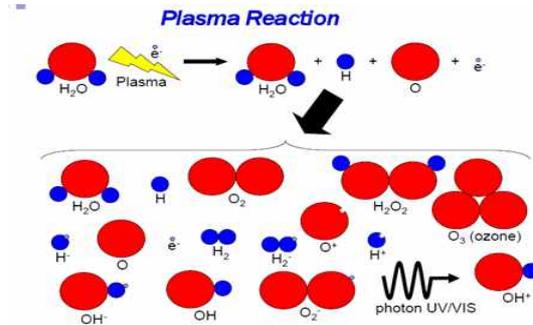
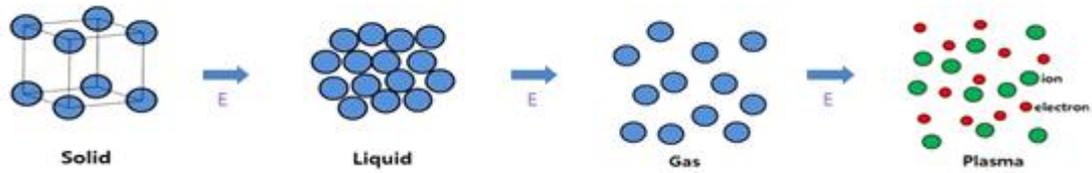


그림 16. Plasma 반응

### 5. Hurdle technology

○ Hurdle technology는 개별적인 하나의 억제 기술이기보다는 여러 억제효과의 최소량을 사용하면서 식품의 품질손실을 최소화하고 소기의 저장효과를 얻을 수 있도록 하는 새로운 개념의 식품저장기술임

○ 각종 유기산과 기타의 화학적 sanitizer를 이용한 병용처리 시 계란 등의 신선식품 중의 미생물을 저감화 하는데 효과적인 기술로 이용되어 왔음

- 유기산 1-2%와 에탄올 20%을 병용처리하면 5분 이내에 살균효과 있음(Jung, 2001)

- 아세트산 1% 또는 젯산 1%와 에탄올 20%을 병용처리하면 쌀가공품 중의 효모에 저해효과 있음(Kim, 2007)

- 염소와 젯산 또는 초산과의 병용처리 시 상추 중의 *L. monocytogenes*를 저감화하는데 효과적임(Zhang and Farber, 1996)

- 과산화수소와 젖산과의 병용처리 시 사과, 오렌지 및 토마토 중의 *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* 및 *L. monocytogenes*를 저감화하는데 효과적임(Venkitanarayanan et al., 2002)
- 최근의 농촌진흥청 보고(2011)에 의하면 0.2%의 구연산이 들어있는 수돗물에 셀러드용 결구상추와 어린잎 채소를 세척하고 난 뒤 미량의 50% 에탄올을 분무했을 때 총 균수를 90% 이상 감소시켰음
- 계란 난각의 염소 세척 시 총균수가 1 log 감소되었으나 염소세척과 UV 병용처리 시 2 log 감소됨

## 제 2 절 생산 및 시장현황

### 1. 국내 초고압 적용 제품생산 및 시장 현황

- 2006년에 상업 규모의 시스템이 해진물산(주)에 도입되어 굴가공에 이용, 2007년에는 동원 F&B에 일본 미쓰비시사 고압기가 도입되어 쨌콧이라는 즉석밥을 생산/판매하고 있음
- 100% 발아현미밥인 ‘쨌콧 100% 발아현미밥’, 5가지 곡물로 만든 ‘쨌콧 건강한 혼합곡밥’, 100% 국내산 보리로 만든 ‘쨌콧 건강한 영양보리밥’, 간식용 즉석밥인 ‘쨌콧 맛있는 찰진약밥’을 출시하기도 함
- 2009년에는 풀무원에서 스웨덴 NC사의 기계를 도입하여 냉장음료 제품을 생산하고 있음
- 풀무원은 2007년 국내 최초로 원료의 영양소와 맛을 파괴하지 않고 최대한 살릴 수 있도록 열을 가하지 않는 ‘초고압살균 공법’을 이용해 국산 친환경 생과일을 첨가물 없이 갈아 만든 생과일 주스 ‘아임리얼’을 출시함
- 식품 가공에서 초고압 기술은 비가열 기술로서 초고압 처리 식품의 향미, 색, 영양 등 화학적 반응에 최소한의 영향을 주면서 효과적으로 미생물을 제어하는 프리미엄 냉장 유통 제품에 적용되고 있음. 산업화로 개발된 제품 예로는 올가니카의 ‘저스트주스 클렌즈’가 있음
- 올가니카가 2014년 선보인 ‘저스트주스 클렌즈’는 국내 처음으로 비가열 초고압멸균 방식을 도입하여 건강을 위해 챙겨먹어야 할 주요한 먹거리로 각광받기 시작하며 일명 해독주스로 불리며 국내 외 미국에서도 소비자들의 관심을 받고 있음
- (주)CJ에서는 초고압 처리기술을 이용하여 마늘의 알리시나아제를 불활성화시켜 매운 향을 제거하는 기술과 마늘의 영양성분의 손실 없이 단시간에 조미 마늘을 제조하는 공정을 확립함
- ‘트루스무디’ 제품은 만드는 과정에서 추가적으로 과일 재료 등의 투입이 없이도 풍부한 과일 맛을 낼 수 있으며 특히 제조 과정에서 초고압처리(HPP)하여 더욱 신선함을 유지했다는 것이 특징임

- (주)오뚜기는 레토르트 야채죽에 300 MPa 로 10여분간 초고압 처리를 하고, 115~120℃에서 20~40분간 살균처리하여 미생물의 활성을 억제하고, 야채류의 우수한 식감, 색상 등의 외관을 좋게 하여 상품성을 높임

## 2. 국외 초고압 제품생산 및 시장 현황

- 1990년 일본에서 개발되기 시작 된 이후, 미국, 유럽 등 여러 국가에서 실제 식품 산업에 이용되어 2004년에는 약 100,000톤의 식품이 초고압기술로 가공되었음

육제품

과일, 채소, 주스 제품

수산물

편이식품

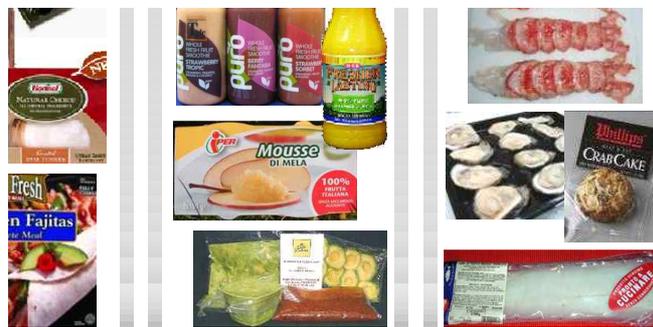


그림 17. 국외 초고압 처리된 제품

- 미국의 Hormel Foods, Tyson Foods, Foster Farms, Cooper Farms, Columbus Salame, 네덜란드의 Cargill, Zwanenberg, 스페인의 Espuna, Campofrio, 덴마크의 Danish Crown, 호주의 Moira Mac's, 그리스의 Infantis, Creta Farm, 독일의 Abraham, 영국의 Deli24 등 수많은 육가공 회사가 슬라이스 햄, 칠면조나 치킨 조각, RTE 제품, 절인 햄 등을 초고압 처리한 식육제품을 시장에 출시하고 있음

- 그 밖에 미국의 Wegmans 등이 방사선 조사 식품을 출시했고, 멕시코의 Rout 66은 마이크로파로 살균한 Beef Jerky를 출시함

### 제 3 장 연구수행 내용 및 결과

#### 제 1 절 알 가공 공정 중 미생물학적 위해요소 저감화를 위한 비가열 살균 기술 개발

##### 1. 알 가공품의 미생물 오염도 모니터링

###### 가. 식품 공정별 미생물학적 위해 요인 분석

###### (1) 알 가공품 공정별 미생물학적 위해 요인 분석 실험 목적 및 방법

###### (가) 알 가공품 제조 라인에 대한 공정별 critical control point (CCP) 조건 탐색

- 알 가공품 제조 공정별로 위해 미생물을 분석하기 위해 CCP 조건을 탐색 후 선별하였음.

- 공정별 CCP 조건은 대조균, 원란 표면, 냉각 후 삶은 달걀 (탈각 전), 냉각수, 탈각 후 삶은 달걀 (hard-cooked peeled egg; HCE), 침지 후 HCE, 계수기 위 HCE, 내포장 후 HCE 이렇게 8가지 분석 대상 조건을 선택하였음.

- 식품접촉면 별 CCP 조건은 계란 난좌, 투입 컨베이어벨트, 상승 컨베이어 벨트, 탈각 필터, 선별 컨베이어벨트, 벌크통으로 총 6가지 분석 대상 조건을 선택하였음.

###### (나) 공정별 미생물 검사 실시

- 각 공정 라인 별로 공정 중 미생물 오염, 증식이 나타나는지 분석해 보았음.

- 미생물 분석은 일반세균, 대장균군, 살모넬라, 리스테리아, 황색포도상균으로 총 5가지 실험균을 분석 대상으로 선택하여 실험을 진행하였음.

###### 나. 알 가공품 공정별 미생물학적 위해 요인 분석 실험 결과 및 고찰

###### (1) 공정별 미생물 분석

표 1 알 가공품 공정별 위해 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

샘플명	일반세균	대장균군	살모넬라	리스테리아	황색포도상균
대조균	0	0	음 성	음 성	음 성
원란 표면	2.38	0	음 성	음 성	음 성
냉각 후 제품 (탈각전)	0	0	음 성	음 성	음 성
냉각수	2.04	0	음 성	음 성	음 성
탈각 후 HCE	1.30	0	음 성	음 성	음 성
침지 후 HCE	2.51	0	음 성	음 성	음 성
계수기 위 HCE	1.30	0	음 성	음 성	음 성
내포장 후 HCE	1.85	0	음 성	음 성	음 성
살균 전 총진수	3.21	0	음 성	음 성	음 성

- 미생물 분석 결과 대장균과 탈각 전 냉각 후 삶은 달걀에서는 일반세균이 검출되지 않았음.
- 원란 표면에서는 2.38 log CFU/g의 일반세균이 검출되었으며 탈각 후 HCE에서는 1.30 log CFU/g, 침지 후 HCE에서는 2.51 log CFU/g, 내포장 후 HCE에서는 1.85 log CFU/g의 일반세균이 검출되었음.
- 위의 결과를 보아 침지 후에 약간의 미생물 오염이 있다고 추측되어짐.
- 또한 냉각수에서는 2.04 log CFU/g, 살균 전 충전수에서는 3.21 log CFU/g의 일반세균이 검출되었음.
- 실험 결과를 보면, 제품 제조 공정단계 중 서브탱크의 살균 전 충전수에서 가장 많은 일반세균이 검출되는 것을 확인 할 수 있었음.
- 모든 실험군에서 대장균을 포함하여 살모넬라, 리스테리아, 황색포도상구균과 같은 병원성 미생물은 검출되지 않았음.
- 알 가공품은 병원성 미생물의 오염은 없으나 초기 일반세균 수가 2.38 log CFU/g으로 비교적 높은 수치로 검출되어 살균 후에도 변질 가능성이 존재한다고 판단되어짐.

(2) 식품접촉면별 미생물 분석

표 2 알 가공품 접촉면별 위해 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

샘플명	일반세균	대장균군	살모넬라	리스테리아	황색포도상구균
계란 난좌	1.85	0	음 성	음 성	음 성
투입 컨베이어벨트	2.92	0	음 성	음 성	음 성
상승 컨베이어벨트	4.08	0	음 성	음 성	음 성
탈각 필터	3.16	0	음 성	음 성	음 성
선별 컨베이어벨트	1.70	0	음 성	음 성	음 성
벌크통	4.36	0	음 성	음 성	음 성

- 식품접촉면별로 미생물 분석을 한 결과, 계란 난좌에서는 1.85 log CFU/g의 일반세균이 검출되었음.
- 또한 컨베이어벨트별로 미생물 분석을 한 결과 투입 컨베이어벨트에서는 2.92 log CFU/g, 상승 컨베이어벨트에서는 4.08 log CFU/g, 선별 컨베이어벨트는 1.70 log CFU/g의 일반세균이 검출되었음.

- 벌크통에서는 4.36 log CFU/g 수치의 가장 많은 일반세균이 검출되었음.
- 실험군 모두 대장균군, 살모넬라, 리스테리아, 황색포도상균의 병원성 미생물은 검출되지 않았음.
- 냉각 후 상승 컨베이어벨트와 침지용 벌크통에서 매우 많은 일반세균이 검출되었음
- 실험 결과를 분석 해 본 결과, 병원성 미생물은 검출되지 않았으나 식품의 접촉이 존재하는 공정 라인에서 다량의 일반세균이 검출되어 교차 오염의 위험성이 높을 것이라 판단되어짐.

다. 알 가공품 현장 공정별 미생물학적 위해 요인 분석 연구

(1) 가공 전/후의 알 원료 및 가공품 제조 공정별 미생물학적 위해 요인 분석

(가) 가공 전/후의 알 가공품 제조 공정별 미생물학적 위해 요인 분석 실험 결과 및 고찰

- 알 가공품을 제조하는 여러 공정 단계들 중에서 어떤 공정을 거친 HCE에서 미생물이 많이 검출되는지 알아보려고 실험을 진행하였음.
- 가공 전/후의 알 가공품 제조 공정별 위해 미생물 분석을 위하여 분석 대상을 입고 직후, 숙성 하루 경과 후, 가열 후, 냉각 후, 탈각 후, 침지 후, 내포장 후로 총 7가지 조건에 따라 미생물 분석을 진행하였음.
- 재현성을 위해 각 조건당 샘플은 5개로 잡았으며, 일반세균과 대장균군 분석을 시행하였음.

1) 입고 직후

표 3 입고 직후 원란의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	0	0	0	0	0
대장균군(대장균)	0	0	0	0	0
살모넬라	-	-	-	-	-

- 입고 직후 원란에서는 일반세균을 포함하여 대장균군, 살모넬라 모두 검출되지 않았음

2) 숙성 하루 경과 후

표 4 하루 숙성 후 원란의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	0	0	0	0	0
대장균군(대장균)	0	0	0	0	0

- 원란을 하루 숙성 후 미생물 분석을 한 결과, 5개 샘플 모두 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않았음.

3) 가열 후

표 5 가열 후 HCE의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	0	0	0	0	0
대장균군(대장균)	0	0	0	0	0

- 가열 후 역시 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않음을 확인하였음.

4) 냉각 후

표 6 냉각 후 HCE의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	1.00	0	0	0	0
대장균군(대장균)	0	0	0	0	0

- 냉각 후 HCE의 미생물 분석을 한 결과 sample 1에서 1.00 log CFU/g의 일반세균이 검출되었으나, 다른 샘플들에서는 일반세균이 검출되지 않았음.

- 모든 샘플군에서 대장균군은 검출되지 않았음.

5) 탈각 후

표 7 탈각 후 HCE의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	1.60	2.23	2.38	2.08	2.36
대장균군(대장균)	0	0	0	0	0

- 탈각 후 HCE에서는 모든 샘플에서 대장균군이 검출되지 않았으나, 상당량의 일반세균이 검출되었음.

- 탈각 과정을 거친 후에 미생물의 오염이 있었을 것이라 판단되어짐.

6) 침지 후

표 8 침지 후 HCE의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	1.78	1.30	0	1.78	1.30
대장균군(대장균)	0	0	0	0	0

- 침지 후의 HCE에서도 대장균군은 검출되지 않았으나 1.23 log CFU/g 정도의 일반세균이 검출되었음.

7) 내포장 후

표 9 내포장 후 HCE의 미생물 분석

[단위: log CFU/g]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
일반세균	1.60	1.48	1.00	2.70	1.78
대장균군(대장균)	0	0	0	0	1.00

- 내포장 후의 HCE에서도 일반세균이 검출됨.

- Sample 5에서 1.00 log CFU/g의 대장균군이 검출되었음.

8) 알 가공품 공정 별 검출 된 일반세균 총 정리

표 10 알 가공품 공정별 일반세균 분석

[단위: log CFU/g]

공정	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	평균
입고 직후	0	0	0	0	0	0
숙성 하루 경과	0	0	0	0	0	0
가열 후	0	0	0	0	0	0
냉각 후	1.00	0	0	0	0	0.20
탈각 후	1.60	2.23	2.38	2.08	2.36	2.13
침지 후	1.78	1.30	0	1.78	1.30	1.23
내포장 후	1.60	1.48	1.00	2.70	1.78	1.71

- 실험 결과 원란 입고부터 가열 후 HCE까지 살모넬라 검출은 음성이었음.

- 또한, 모든 공정에서 대장균은 거의 검출되지 않음을 확인하였음.

- 탈각 과정에서 2.13 log CFU/g의 수치로 가장 많이 일반세균이 검출되었으며, 내포장 후 2.70 log CFU/g (sample 4)까지 일반세균이 검출되었음.
- 실험 결과, 탈각 전까지 내용물에 대한 오염은 거의 없으며, 탈각 후 미생물이 검출된 것은 외부환경에 의한 교차 오염으로 판단되어짐.
- 추후 위생 측면에서 탈각과 포장 공정의 집중적인 관리와 개선이 필요하다고 판단 됨.

## 2. 초고압 가공 시스템 구축 원리 및 과정

- 초고압 가공은 high hydrostatic pressure (HHP) processing으로 불리며, 액체 또는 고체 식품을 포장을 하거나 포장하지 않은 상태로 100-900 MPa (mega pascal; 1 MPa은 약 10 기압)의 정수압(hydrostatic pressure)으로 압력 처리하는 것으로 정의할 수 있음.
- 초고압 가공이 천연 그대로의 맛과 향을 보존하고 영양성분의 파괴가 적고 관능적 품질의 경우도 좋게 유지되는 결과를 보임. 예를 들면 가압처리 된 쌀에 대해 검사한 결과 밝기, 향미, 텍스처 등에서 우수한 결과가 나왔음(Watanabe 등, 1991).
- 초고압 기술이 도입된 이래 100여 년이 지난 지금 미국, 일본, EU에서 이미 초고압 기술을 이용한 육가공, 과채류, 수산 식품 등이 상품화되어 소비자에게 판매되고 있음. 우리나라에서는 초고압 연구는 1990년대 초반에 시작되어 초고압 기술을 이용한 무취 마늘, 녹즙, 김치, 과일 및 야채 주스, 전통주, 홍삼제품 등에 대한 연구를 하였음. 현재 생산 규모 설비를 이용한 제품이 생산되기 시작하였으며, 3,000기압 압력을 이용한 즉석밥 제품이 대표적임.
- 초고압 가공이 천연 그대로의 맛과 향을 보존하고 영양성분의 파괴가 적더라도 관능적 품질이 나쁘다면 식품으로서의 가치가 없음. Horie 등(1991)은 딸기, 키위, 사과잼 등 7개 제품을 대상으로 열처리한 잼과 가압 처리한 잼의 관능적 특성을 비교하였음. 30명의 관능요원들 중 모든 제품에서 20명 이상의 관능요원들이 가압 처리된 잼을 선호했음. 가압처리된 쌀에 대해 검사한 결과 밝기, 향미, 텍스처 등에서 우수한 결과가 나왔음(Watanabe 등, 1991).
- 압력이 식품의 물리적 또는 기능적 특성에 미치는 영향에 대한 연구들이 최근에 와서 수행되고 있지만, 초고압 관련 대부분의 연구들은 미생물의 불활성화에 초점을 두고 있음.
- 압력에 의해 미생물이 살균되는 원리는 확실히 규명되어 있지 않지만 세포막 붕괴 및 세포막에 존재하는 단백질의 변성을 원인으로 들고 있으며 실제로 200-300 MPa로 가압함에 따라 미생물의 세포막이 파괴되는 모습도 관찰되었음(Marquis, 1976).
- 공유결합이나 수소결합의 경우 이들 결합이 파괴될수록 물 부피의 합이 증가하기 때문에 압력의 증가가 이들 결합의 파괴를 촉진하지 않으며 특히 수소결합의 경우에는 압력이 증

가할수록 결합이 촉진됨. 따라서 식품 내 주요 단백질 성분에 대해 손실되는 양이 적음.

- 초고압 처리에 의해 영향을 받는 세균에는 대표적으로 ready-to-eat (RTE) 육류에 존재하는 저온성균인 *L. monocytogenes*, 대부분의 식품에 존재하는 *Salmonella*와 대장균, 어패류에 존재하는 *Vibrio*와 virus, 육류에 존재하는 *Campylobacter* 등이 있음.

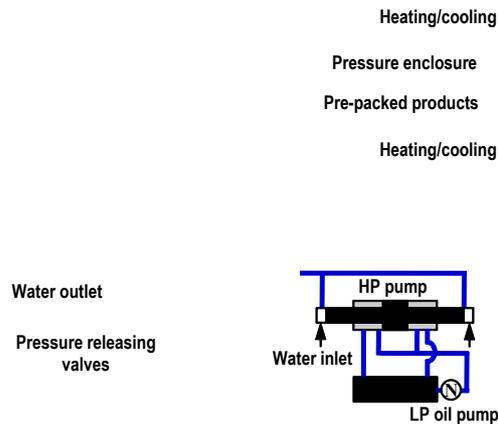


그림 18 초고압 시스템 모식도

### 3. 알 가공품의 초고압 시스템 적용

가. 가열 시간에 따른 알 가공품 난황 표면의 흑변 현상 비교

(1) 실험 재료 및 방법

(가) 날달걀 (Raw egg) 시료 준비

- 실험에 사용된 날달걀은 일반 대형마트에서 구매해 사용하였음.

(나) 시료 중탕

- 준비된 원란을 98 °C의 10 ~ 60 분 간 물에 중탕하여 삶는 과정을 거쳐 탈각된 삶은 달걀(Hard-cooked peeled egg; HCE) 시료를 준비함.

(2) 이화학 분석(색차)

- 난황 표면 내 흑변 현상 정도를 관찰하기 위하여 HCE를 반으로 절단 한 후 난황을 분리하여  $L^*$  (lightness),  $a^*$  (redness),  $b^*$  (yellowness)를 측정하고, 이를 토대로  $\Delta E$  (total color difference) =  $-(L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2$  를 계산 함.

(3) 실험 결과

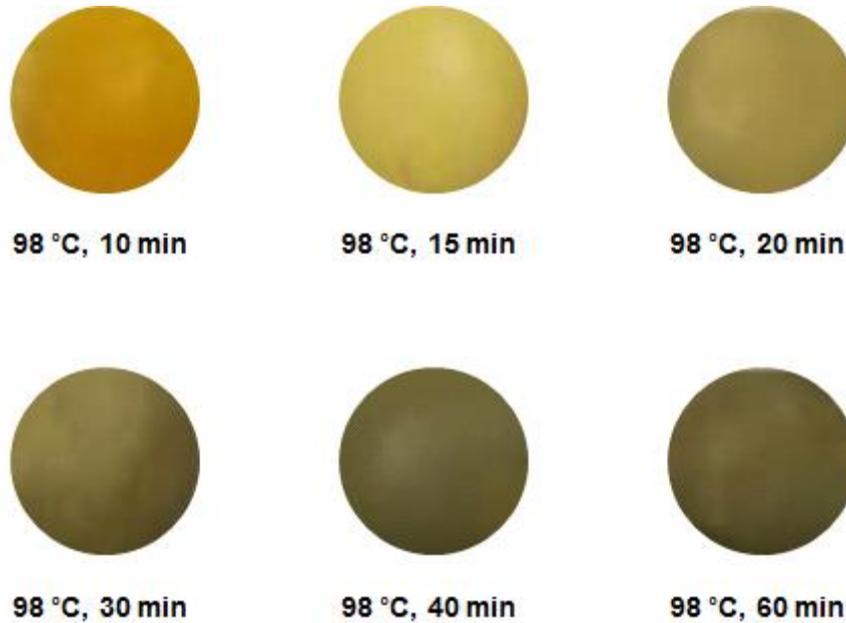


그림 19 가열 시간에 따른 HCE 난황 표면의 흑변 현상

- 가열 시간 15 분 이상부터, 난황 내부까지 원란이 모두 익는 것을 관찰하였음.
- 15 분 이상 가열했을 경우, 난황 표면에 FeS의 침착으로 인한 흑변 현상이 생기는 것을 관찰할 수 있음.
- 가열이 지속될수록 난황 표면의 흑변 현상이 더욱 심해짐을 알 수 있음.

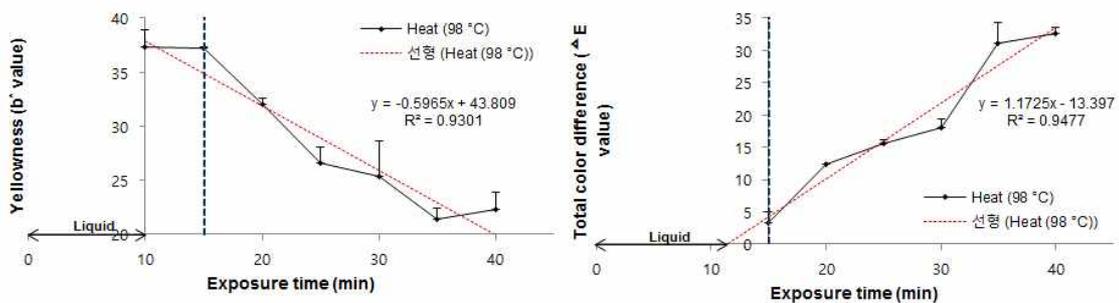


그림 20 가열 시간에 따른 HCE 난황 표면의 b\* 값과 ΔE 값

- 색차색도계를 이용해 측정된 b\* (yellowness)값과 ΔE (total color difference)값을 그래프로 나타내었음.
- b\* 값은 가열 시간의 지속에 따른 흑변으로 인해 37.35부터 22.26까지 점진적으로 감소하였음.
- 또한, ΔE 값 역시 기존 원란의 난황 표면과 대비해 점진적으로 커지는 것을 알 수 있음.

- 이를 토대로 가열 시간의 지속이 HCE 난황 표면의 흑변 현상의 주요 원인이 됨을 알 수 있었으며, 이에 따른 소비자 기호의 변화로 인해 비열 가공 공정이 필요하다고 추론할 수 있음.

나. 초고압 기술을 적용한 알 가공품의 25 °C 상온 저장에 따른 살균 효과 및 품질 특성 비교 실험

(1) 실험 재료 및 방법

(가) 탈각된 삶은 달걀 (Hard-cooked peeled egg; HCE) 시료 준비

- 탈각된 삶은 달걀은 주관 기관인 조인 주식회사(주)로부터 공급받아 실험에 사용함.

- 원란을 1차 가열 (98 °C, 15 min)한 HCE 샘플과 가열 후살균 공정 (95 °C, 40 min)을 거친 시료로 구분하여 공급받음.

(나) 초고압 살균 처리

- 초고압 살균 처리를 위해 중간시험 규모의 초고압장치 (HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용, 압력전달을 위한 매개체로 물을 사용하였음. HCE는 충전수와 함께 polyethylene bag에 넣어서 밀봉하였으며, 압력 300 ~ 600 MPa로 5 분 동안 살균 처리를 하였음.

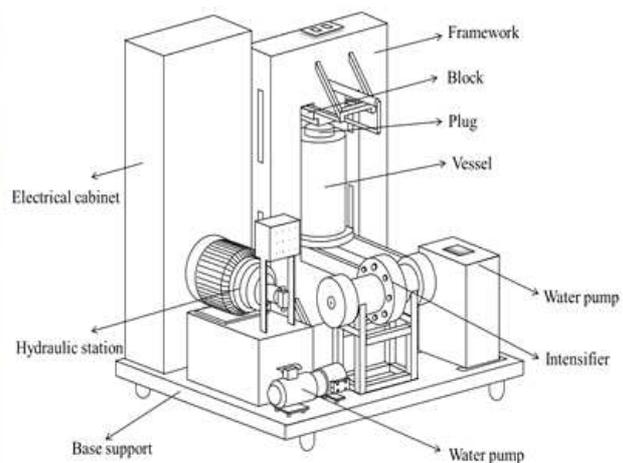


그림 21 초고압 기계 외관 및 모식도

(다) 저장 실험

- 시간의 경과에 따른 미생물 성장 정도를 알아보기 위하여 25 °C incubator에 각기의 샘플 들을 저장하며, 24 시간 간격으로 7 일 간 미생물 및 이화학 실험을 진행하였음.

(라) 총균수 측정

- 미생물 성장 정도 측정을 하기 위해 stomaching bag에 HCE 1 개와 BPW 200 mL (1 : 5 dilution)를 넣고 2 분 간 stomaching하여 실험을 진행 함.

- HCE 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, TSA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.

- 37 °C incubator에 24 시간 배양한 후 계수 함.

(마) 이화학 분석(색차 및 pH)

- 난황 표면 내 흑변 현상 정도를 관찰하기 위하여 HCE를 반으로 절단 한 후 난황을 분리하여 L\* (lightness), a\* (redness), b\* (yellowness)를 측정하고, 이를 토대로  $\Delta E$  (total color difference) =  $-(L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2$  를 계산 함.

- pH 측정을 위해 HCE 1 개와 BPW 200 mL를 넣고 2 분간 stomaching 한 샘플을 pH meter를 이용하여 측정 함.

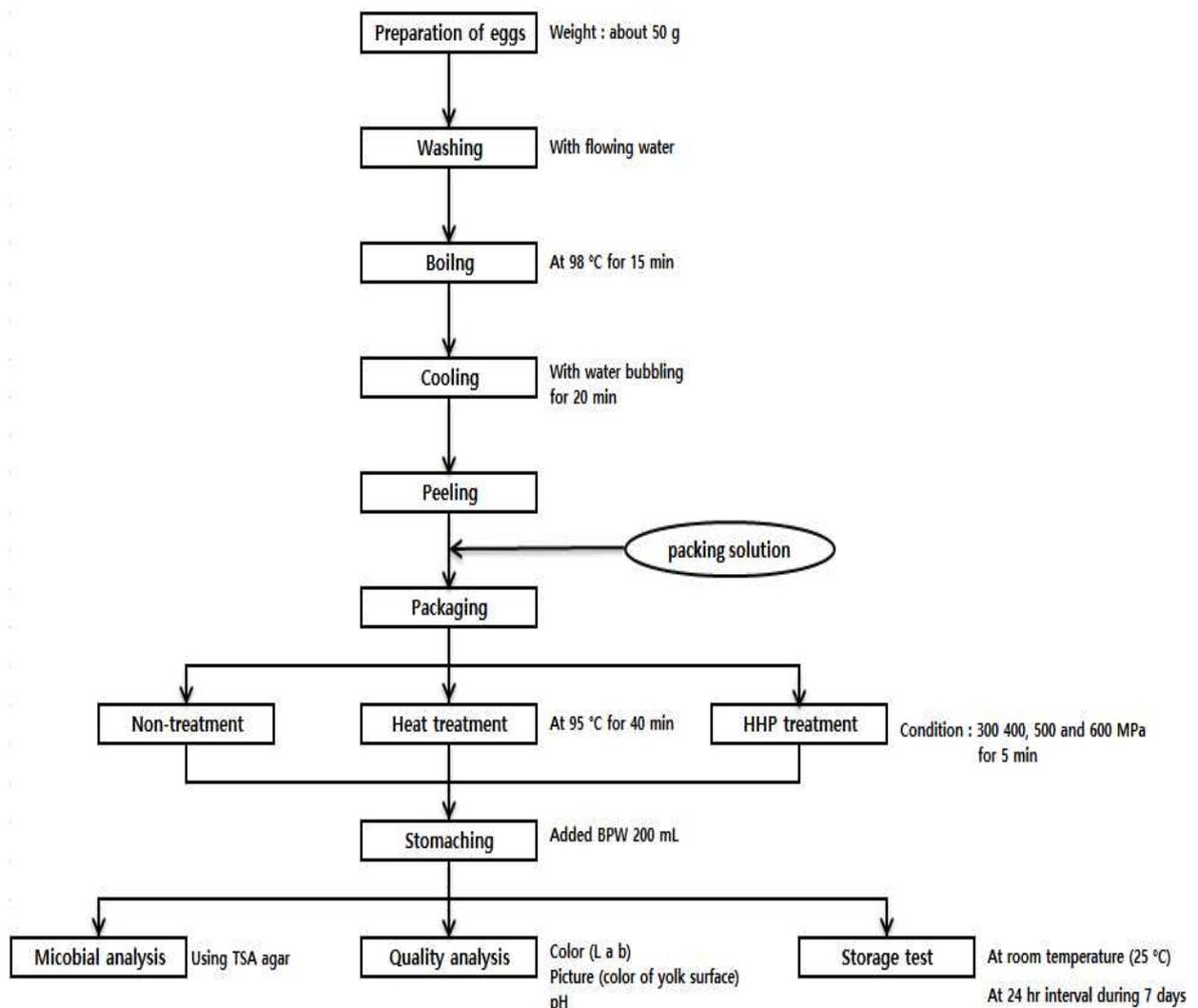


그림 22 초고압 기술 연구에 관한 흐름도

(2) 초고압 기술을 적용한 알가공품의 25 °C 상온 저장에 따른 살균 효과 비교

- 초고압 기술의 살균력을 측정하기 위해 polyethylene bag에 HCE와 충전수를 밀봉하여 300 ~ 600 MPa의 압력으로 5 분 간 처리 한 후, 25 °C incubator에 저장하였음.

- 이 후, 24 시간 간격으로 7 일 동안 초고압 처리를 한 HCE와 non-treated (control) HCE, 그리고 가열 후살균 (95 °C, 40 분) 공정을 거친 HCE의 미생물 성장 정도를 비교해 보았음.

- 6 일 동안 25 °C 환경에서 저장하면서 각 처리군별 미생물 성장 및 회복 정도를 알아보고, 초고압 후살균 공정 처리를 한 HCE가 상온 유통이 가능한지 알아보려고 하였음.

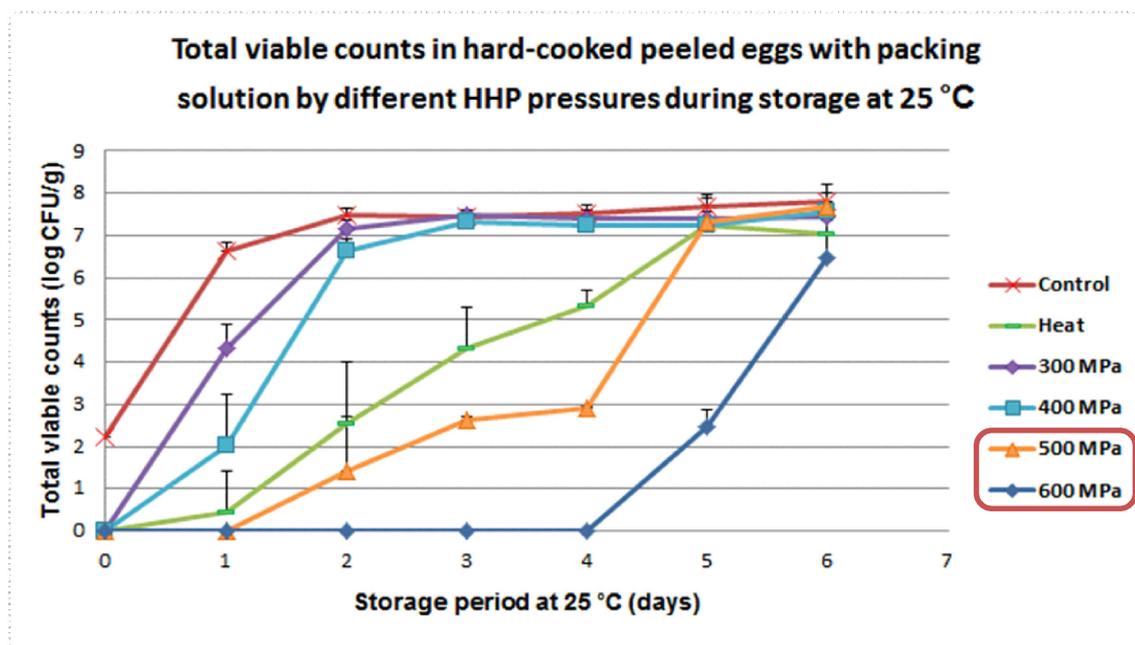


그림 23 HCE 처리군별 25 °C 저장기간에 따른 미생물 성장 곡선

- Non-treated HCE (control)의 경우 초기 균이 2.20 log CFU/g이며 6 일 저장 시 7.81 log CFU/g으로 증가한 것을 확인 할 수 있었음.

- 또한 300 MPa과 400 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 처리를 한 HCE의 경우도 control과 비슷한 양상으로 미생물이 증가하여 6 일 저장 시 7.45, 7.54 log CFU/g에 도달함. 즉, 300 MPa과 400 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 처리하는 것은 살균 효과가 미비한 것을 알 수 있었음.

- 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 2 일 차부터 2.54 log CFU/g의 미생물이 검출되기 시작했으며, 점진적으로 증가하여 6 일 차에는 7.05 log CFU/g으로 증가하였음.

- 500 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 2 일 차부터

1.40 log CFU/g의 미생물이 검출되기 시작했으며, 4 일 차까지 천천히 증가하다가 5 일 차부터 기하급수적으로 미생물이 증가하여 6일 차에는 7.66 log CFU/g에 도달하였음.

- 600 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 4 일 차까지 미생물이 검출되지 않다가 5 일차부터 급격하게 증가하여 6 일 차에 6.47 log CFU/g에 도달한 것을 확인 할 수 있었음.

- 초고압 후살균 공정은 500 MPa과 600 MPa의 압력으로 5 분 동안 처리 했을 경우, 가열 후살균 공정 (98 °C, 40 분) 처리를 했을 때 보다 저장 기간이 증가하였으며 미생물 저감화에 효과적임을 알 수 있었음.

- 600 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 처리군이 가장 효과가 좋았으나, 초고압 후살균 공정만으로는 오랜 기간의 상온 유통 (25 °C)은 적합하지 않다고 판단되어 짐.

### (3) 초고압 기술을 적용한 알 가공품의 25 °C 상온 저장에 따른 색차 비교

- 일반적으로 95 °C 이상 온도로 40 분 이상 가열하는 후살균 공정을 사용하여 생산한 HCE는 난황의 철(Fe) 성분과 난백 알부민에 존재하는 황화수소(H<sub>2</sub>S)가 장시간 가열에 의한 화학반응으로 황화철(FeS)이 생성되며 이것은 난황 표면에 발생하는 흑변의 주요 원인이 됨.

- 이러한 흑변 현상은 유통업체나 소비자로 하여금 거부감을 일으키며, HCE 산업 활성화에 큰 걸림돌이 되고 있으며 해결 방안 제시가 절실한 상황 임.

- 따라서 초고압 후살균 공정으로 형태의 변화 없이 HCE 난황 표면의 흑변 현상을 제어할 수 있는지 확인해 보았음.

- 난황 표면 내 흑변 현상 정도를 관찰하기 위하여 HCE를 반으로 절단 한 후 난황을 분리하고, 분리된 난황의 윗부분을 색차색도계를 이용하여 L\* (lightness), a\* (redness), b\* (yellowness)를 측정하였음.

- 또한 이를 토대로 control과 비교하여 색 변화 정도를 확인 할 수 있는 척도인  $\Delta E$  (total color difference) =  $-(L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2$  를 계산하여, non-treated HCE에 비해 각 처리군 HCE 별로 흑변 현상이 진행 된 정도를 확인해 보았음.

The yellowness (b value) in hard-cooked peeled eggs with packing solution by different HHP pressure during storage at 25 °C

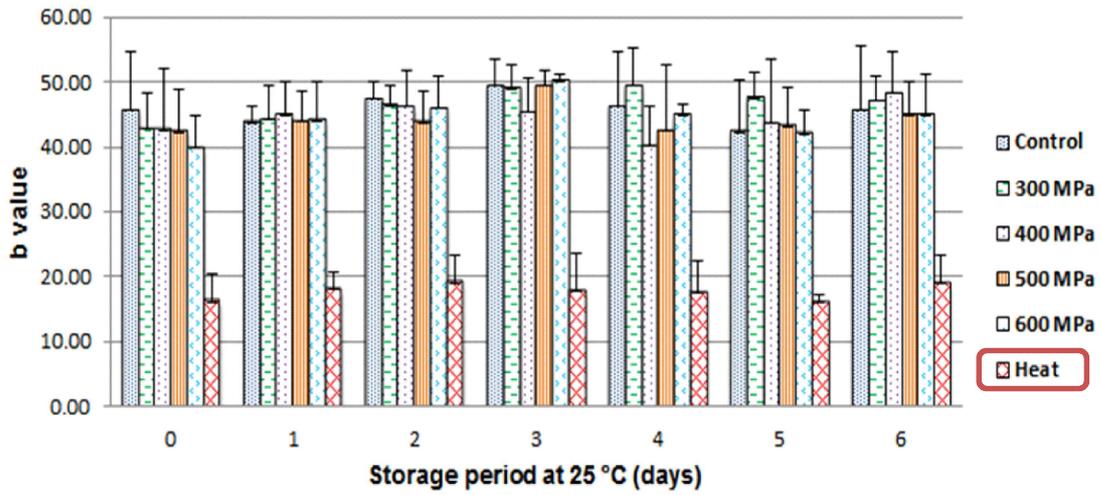


그림 24 HCE 처리군별 25 °C 저장기간에 따른 b 값 (yellowness) 변화

The  $\Delta E$  value in hard-cooked peeled eggs with packing solution by different HHP pressure during storage at 25 °C

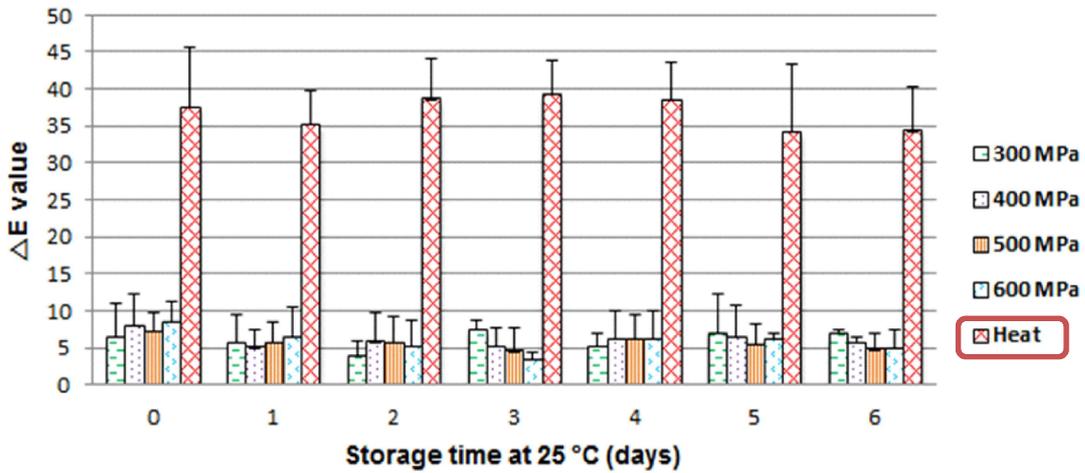


그림 25 HCE 처리군별 25 °C 저장기간에 따른  $\Delta E$  값 변화

표 11 HCE 처리군별 25 °C 저장기간에 따른 Lab 값 변화

	Treatment	Storage period						
		0 day	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days
L*	Non-treatment	83.26 <sup>aA</sup>	88.78 <sup>aA</sup>	87.95 <sup>aA</sup>	87.31 <sup>aA</sup>	88.44 <sup>aA</sup>	85.02 <sup>aA</sup>	85.59 <sup>aA</sup>
	HHP (300 MPa, 5 min)	83.67 <sup>aA</sup>	87.67 <sup>aA</sup>	88.11 <sup>aA</sup>	85.14 <sup>aA</sup>	88.85 <sup>aA</sup>	88.77 <sup>aA</sup>	88.16 <sup>aA</sup>
	HHP (400 MPa, 5 min)	78.15 <sup>aA</sup>	87.60 <sup>aA</sup>	87.45 <sup>aA</sup>	90.06 <sup>aA</sup>	88.90 <sup>aA</sup>	88.75 <sup>aA</sup>	88.36 <sup>aA</sup>
	HHP (500 MPa, 5 min)	81.53 <sup>aA</sup>	86.09 <sup>aAB</sup>	87.08 <sup>aB</sup>	88.50 <sup>aB</sup>	86.87 <sup>aAB</sup>	88.38 <sup>aB</sup>	88.25 <sup>aB</sup>
	HHP (600 MPa, 5 min)	82.09 <sup>aA</sup>	86.55 <sup>aB</sup>	86.84 <sup>aB</sup>	88.98 <sup>aB</sup>	88.32 <sup>aB</sup>	88.74 <sup>aB</sup>	86.51 <sup>aB</sup>
	Heat (95 °C, 40 min)	60.79 <sup>bA</sup>	62.66 <sup>bA</sup>	62.01 <sup>bA</sup>	64.65 <sup>bA</sup>	63.56 <sup>bA</sup>	63.86 <sup>bA</sup>	64.59 <sup>bA</sup>
a*	Non-treatment	-4.17 <sup>aA</sup>	-5.48 <sup>aA</sup>	-5.58 <sup>aA</sup>	-5.50 <sup>aA</sup>	-5.65 <sup>aA</sup>	-5.45 <sup>aA</sup>	-5.74 <sup>aA</sup>
	HHP (300 MPa, 5 min)	-3.86 <sup>aA</sup>	-5.64 <sup>aB</sup>	-5.69 <sup>aB</sup>	-4.72 <sup>aAB</sup>	-5.54 <sup>aB</sup>	-6.10 <sup>aB</sup>	-5.62 <sup>aB</sup>
	HHP (400 MPa, 5 min)	-3.50 <sup>aA</sup>	-5.33 <sup>aB</sup>	-5.62 <sup>aB</sup>	-5.60 <sup>aB</sup>	-5.48 <sup>aB</sup>	-5.73 <sup>aB</sup>	-5.81 <sup>aB</sup>
	HHP (500 MPa, 5 min)	-3.08 <sup>aA</sup>	-5.29 <sup>aB</sup>	-5.50 <sup>aB</sup>	-5.59 <sup>aB</sup>	-5.59 <sup>aB</sup>	-5.61 <sup>aB</sup>	-5.66 <sup>aB</sup>
	HHP (600 MPa, 5 min)	-3.24 <sup>aA</sup>	-5.08 <sup>aB</sup>	-5.64 <sup>aB</sup>	-5.58 <sup>aB</sup>	-5.61 <sup>aB</sup>	-5.47 <sup>aB</sup>	-5.66 <sup>aB</sup>
	Heat (95 °C, 40 min)	-4.20 <sup>aA</sup>	-4.65 <sup>aA</sup>	-5.31 <sup>aA</sup>	-5.31 <sup>aA</sup>	-4.90 <sup>aA</sup>	-5.48 <sup>aA</sup>	-5.19 <sup>aA</sup>
b*	Non-treatment	45.64 <sup>aA</sup>	43.73 <sup>aA</sup>	47.32 <sup>aA</sup>	49.40 <sup>aA</sup>	46.29 <sup>aA</sup>	42.36 <sup>aA</sup>	45.66 <sup>aA</sup>
	HHP (300 MPa, 5 min)	42.72 <sup>aA</sup>	44.21 <sup>aA</sup>	46.33 <sup>aA</sup>	49.02 <sup>aA</sup>	49.44 <sup>aA</sup>	47.59 <sup>aA</sup>	47.16 <sup>aA</sup>
	HHP (400 MPa, 5 min)	42.60 <sup>aA</sup>	44.88 <sup>aA</sup>	46.27 <sup>aA</sup>	45.30 <sup>aA</sup>	40.20 <sup>aA</sup>	43.58 <sup>aA</sup>	48.19 <sup>aA</sup>
	HHP (500 MPa, 5 min)	42.34 <sup>aA</sup>	43.93 <sup>aA</sup>	43.76 <sup>aA</sup>	49.44 <sup>aA</sup>	42.41 <sup>aA</sup>	43.16 <sup>aA</sup>	44.88 <sup>aA</sup>
	HHP (600 MPa, 5 min)	39.78 <sup>aA</sup>	44.02 <sup>aA</sup>	45.97 <sup>aA</sup>	50.11 <sup>aA</sup>	44.94 <sup>aA</sup>	41.99 <sup>aA</sup>	44.92 <sup>aA</sup>
	Heat (95 °C, 40 min)	16.13 <sup>bA</sup>	17.96 <sup>bA</sup>	19.07 <sup>bA</sup>	17.73 <sup>bA</sup>	17.36 <sup>bA</sup>	16.03 <sup>bA</sup>	18.83 <sup>bA</sup>

- Non-treated HCE는 L\*=83.26 ~ 88.78, a\*=-4.17 ~ -5.74, b\*=45.64 ~ 49.40의 값을 가짐. Non-treated HCE는 높은 값의 L\*과 b\*의 값을 가지며 저장 기간 동안 밝은 노란색을 유지하는 것을 알 수 있음.

- 또한 300 ~ 600 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 L\*=78.15 ~ 90.06, a\*=-3.08 ~ -5.81, b\*=39.78 ~ 50.11의 값을 측정하여 얻었음.

- 이는 non-treated HCE와 비슷한 결과로 초고압 후살균 공정을 처리했을 경우 효과적으로 HCE 난황의 흑변 현상을 억제할 수 있으며, 저장 기간 동안 흑변이 진행되지 않는 것을 확인 할 수 있었음.

- 반면 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 L\* = 60.79 ~ 66.96, a\*=-4.20 ~ -5.48, b\*=16.13 ~ 19.07의 값을 가짐. 이는 non-treated HCE에 비해 매우 낮은 L\*와 b\* 값을 가지며 육안으로도 뚜렷하게 난황 표면에 흑변이 진행된 것을 확인 할 수 있었음.

- 300 ~ 600 MPa의 압력으로 5 분간 초고압 후살균 공정을 처리한 HCE의 경우  $\Delta E=3.28 \sim 8.42$ 의 값을 얻었으며, 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 경우  $\Delta E=34.16 \sim 38.56$ 의 값을 얻었음.
- 초고압 후살균 공정을 거친 HCE는 non-treated HCE와 비교하여 색의 변화가 거의 없다는 것을 의미함. 반면 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 non-treated HCE와 비교하여 매우 큰 색의 변화가 발생하는 것을 확인 할 수 있었음.
- 가열 후살균 공정이 명백하게 HCE 난황의 흑변을 발생시킨다는 것을 알 수 있으며, 그에 비해 초고압 후살균 공정은 HCE 난황의 색 변화에 영향을 끼치지 않는다는 사실을 알 수 있었음.

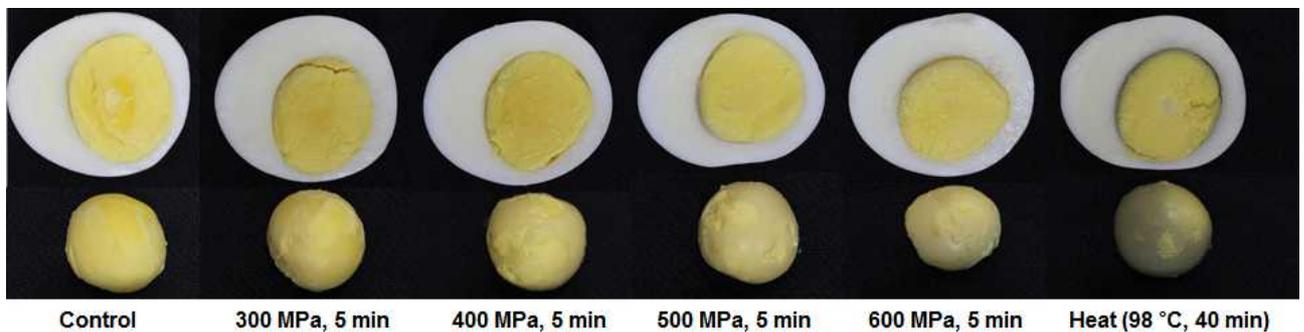


그림 26 HCE 처리군별 흑변 현상 발생 정도

- 명확하게 색의 차이가 존재한다는 것을 확인하기 위해 반으로 절단 된 달걀과 분리한 난황을 고정판에 놓고 DSLR 카메라를 이용하여 촬영하였음.
- 육안으로 보기에 non-treated HCE와 초고압 후살균 공정을 거친 HCE는 비슷한 색을 유지하는 것을 확인 할 수 있었음.
- 반면, 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 경우, 난황의 표면이 거무스름하게 변성되었으며 난백과 난황사이에도 검·녹색의 띠가 진하게 생성된 것을 관찰 할 수 있었음.
- 이는 장시간의 과도한 열처리로 인해 난황의 Fe와 난백의  $H_2S$ 가 반응하여 FeS를 생성되어 흑변 현상이 진행된 결과이며, 가열 후살균 공정이 HCE 살균에 시각적으로 부정적인 결과를 초래함을 알 수 있었음.
- 이를 토대로 초고압 후살균 공정이 가열 후살균 공정을 대체하여 장시간 가열에 의한 흑변 현상을 획기적으로 제어 할 수 있을 것이라 생각되어짐.

#### (4) 초고압 기술을 적용한 알가공품의 25 °C 상온 저장에 따른 pH 변화 비교

- 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 저장기간에 따른 pH 변화를 알아보려고 하였음.
- pH 변화 정도를 측정하기 위해 stomaching bag에 HCE 1 개와 증류수 200 mL를 넣고 2 분간 stomaching 한 후 샘플을 얻었음.
- pH meter를 이용하여 non-treated HCE, 초고압 후살균 공정을 거친 HCE, 그리고 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 pH를 각각 측정하였음.

표 12 HCE 처리군별 25 °C 저장기간에 따른 pH 변화

Treatment Condition	Storage period(days)						
	0	1	2	3	4	5	6
non-treatment	7.19±0.07aA	7.10±0.17aAB	7.10±0.55aAB	6.63±0.05aBC	6.50±0.05aC	6.54±0.06aC	6.50±0.01aC
HHP (300 MPa, 5 min)	7.17±0.11aA	7.11±0.07aA	6.92±0.15aB	6.76±0.10aBC	6.56±0.10aC	6.56±0.04aC	6.56±0.05aC
HHP (400 MPa, 5 min)	7.21±0.06aA	7.12±0.09aA	7.07±0.10aA	6.72±0.16aB	6.62±0.08aB	6.61±0.02aB	6.59±0.04aB
HHP (500 MPa, 5 min)	7.25±0.06aA	7.15±0.05aB	7.11±0.04aB	7.01±0.10bC	6.64±0.06aD	6.53±0.05aE	6.59±0.06aDE
HHP (600 MPa, 5 min)	7.12±0.03aA	7.14±0.08aA	7.15±0.03aA	7.07±0.11bA	6.86±0.07abB	6.83±0.04bB	6.78±0.22aB
Heat (95 °C, 40 min)	7.25±0.03aA	7.27±0.05aA	7.23±0.04aA	7.14±0.05bA	6.98±0.13bAB	6.97±0.12cAB	6.75±0.20aB

- pH 측정 결과, 저장 기간이 지속됨에 따라 모든 처리군에서 pH가 감소함을 알 수 있었으며 6 일차 이후 6.50 ~ 6.75 정도의 값을 얻을 수 있었음.
- 일원배치분산분석 결과, 6 일차 결과 값에서 처리군 간의 유의적인 차이는 없음을 알 수 있었음.
- 저장 기간의 지속에 따라 pH가 감소하는 원인은 젖산균(lactic acid bacteria, LAB)의 번식으로 인해 생성되는 젖산이라 사료됨(원인으로 지목한 젖산균에 대한 미생물 동정 결과는 후에 기술).
- 이로 인해, 앞서 기술한 미생물의 번식이 빠른 non-treated HCE와 300 MPa, 400 MPa의 압력에서 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 pH는 저장 기간에 따라 비교적 빠르게 감소하는 반면 500 MPa 이상의 압력에서 후살균 공정을 거친 HCE와 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 pH는 비교적 천천히 감소한다고 설명할 수 있음.
- 한편, 앞선 자료에서 500 MPa의 압력에서 후살균 공정을 거친 HCE에 비해 미생물 번식 속도가 빠른, 가열 후살균 HCE의 pH 감소 속도가 가장 느린 것으로 나타남.
- 이는 젖산균의 압력 및 열에 대한 감수성의 차이로 인한 것으로 보임. 열에 약한 젖산균이 가열 후살균 공정을 통해 쉽게 사멸해 HCE 내 pH의 감소 속도가 느리게 나타나지만, 가열 처리에 내성을 지닌 다른 미생물이 손쉽게 번식하여 자연균의 생장이 더 빠른 것으로

사료됨.

다. 초고압 기술을 적용한 알가공품의 10 °C 냉장 저장에 따른 살균 효과 및 품질 특성 비교 실험

(1) 실험 재료 및 방법

(가) 탈각된 삶은 달걀 (Hard-cooked peeled egg; HCE) 시료 준비

- 탈각된 삶은 달걀은 주관 기관인 조인 주식회사(주)로부터 공급받아 실험에 사용함.

- 원란을 1차 가열 (98 °C, 15 min)한 HCE 샘플과 가열 후살균 공정 (95 °C, 40 min)을 거친 시료로 구분하여 공급받음.

(나) 초고압 살균 처리

- 초고압 살균 처리를 위해, 앞서 상온 저장에서 사용한 기기와 동일한 중간시험 규모의 초고압장치 (HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용, 압력전달을 위한 매개체로 물을 사용하였음. HCE는 충전수와 함께 polyethylene bag에 넣어서 밀봉하였으며, 압력 500, 550, 600 MPa로 5 분 동안 살균 처리를 하였음.

(다) 저장 실험

- 시간의 경과에 따른 미생물 성장 정도를 알아보기 위하여 10 °C incubator에 각기의 샘플들을 저장하며, 45 일 간 미생물 및 이화학 실험을 진행하였음.

(라) 총균수 측정

- 미생물 성장 정도 측정을 하기 위해 stomaching bag에 HCE 1 개와 BPW 200 mL (1 : 5 dilution)를 넣고 2 분 간 stomaching하여 실험을 진행 함.

- HCE 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, TSA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.

- 37 °C incubator에 24 시간 배양한 후 계수 함.

(마) 미생물 우점종 동정

- 45 일 간의 저장 이후 HCE 내에 우점종으로 존재하는 미생물 동정을 한국미생물보존센터(KCCM)에 의뢰함.

- API kit를 이용해 동정하였으며, 총 24 회의 동정을 의뢰하였음.

(바) 이화학 분석(색차)

- 난황 표면 내 흑변 현상 정도를 관찰하기 위하여 HCE를 반으로 절단 한 후 난황을 분리하여 L\* (lightness), a\* (redness), b\* (yellowness)를 측정하고, 이를 토대로  $\Delta E$  (total

color difference) =  $-L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2$  를 계산 함.

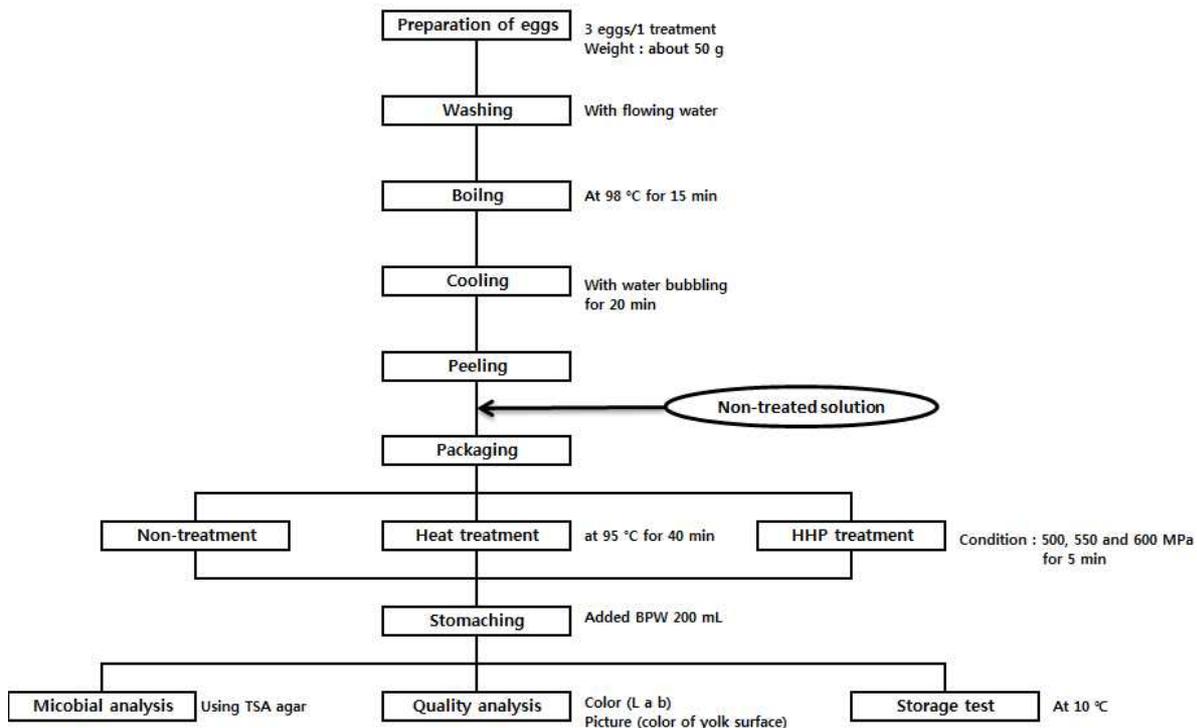


그림 27 초고압 기술 연구에 관한 흐름도

(2) 초고압 기술을 적용한 알가공품의 10 °C 냉장 저장에 따른 살균 효과 비교

- 초고압 기술의 살균력을 측정하기 위해 polyethylene bag에 HCE와 충전수를 밀봉하여 500, 550, 600 MPa의 압력으로 5 분 간 처리 한 후, 10 °C incubator에 저장하였음.

- 이 후, 45 일 동안 초고압 처리를 한 HCE와 non-treated (control) HCE, 그리고 가열 후 살균 (95 °C, 40 분) 공정을 거친 HCE의 미생물 성장 정도를 비교해 보았음.

- 45 일 동안 10 °C 환경에서 저장하면서 각 처리군별 미생물 성장 및 회복 정도를 알아보고, 초고압 후살균 공정 처리를 한 HCE의 저장성이 기존 가열 후살균 대비 얼마나 효과적인지 알아보려고 하였음.

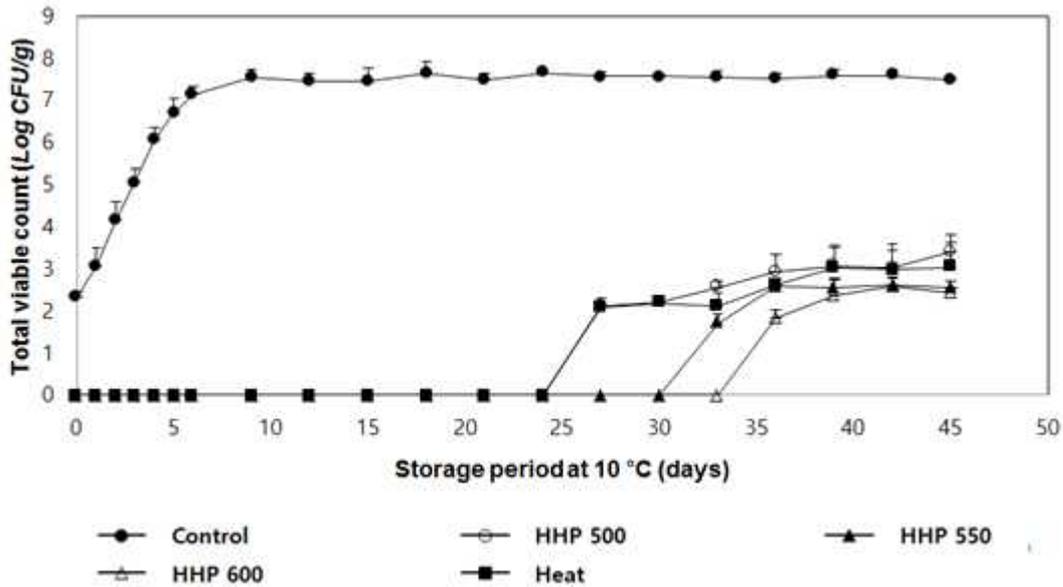


그림 28 HCE 처리군별 10 °C 저장기간에 따른 미생물 성장 곡선

- Non-treated HCE (control)의 경우 초기 균이 2.20 log CFU/g이며 9 일 이상 저장 시 정지기에 접어들어 약 7.5 log CFU/g으로 꾸준히 유지되는 것을 확인 할 수 있었음.

- 가열 후살균 공정을 거친 HCE와 500 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 27 일 차부터 미생물이 검출되기 시작했으며, 점진적으로 증가하여 45 일 차에는 3 log CFU/g 이상이 검출되었음.

- 550 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 경우 30 일 차부터 미생물이 검출되기 시작했으며, 600 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE는 33 일 차까지 미생물이 검출되지 않았음.

- 초고압 후살균 공정을 거친 HCE와 가열 후살균 공정을 거친 HCE는 45 일 차에 이르기 까지 3 log CFU/g 근방의 미생물 수치를 기록하였으며, 미생물의 회복 속도가 대조군에 비해 비교적 느린 양상을 나타내었음.

- 이를 통해 550 MPa 이상의 압력에서 5 분 간 초고압 후살균 공정을 거친 HCE는 기존 가열 후살균 공정을 거친 HCE에 비해 더 높은 저장성을 지님을 알 수 있었음.

(3) 초고압 기술을 적용한 알가공품의 10 °C 냉장 저장에 따른 미생물 우점종 동정

- 앞선 (2)의 실험 결과를 토대로 600 MPa의 압력 하에서 초고압 후살균 공정을 거친 HCE 내에서 45 일 차 이후 자라는 미생물의 종이 무엇인지를 알아보고자 우점종 동정을 진행하였음.

- 45 일 차 이후 600 MPa 처리군의 agar plate에 자란 콜로니를 한국미생물보존협회

(KCCM)에 의뢰하여 API kit를 이용해 미생물 동정을 총 24 회 진행하였음.

표 13 HCE 10 °C 냉장 저장에 따른 미생물 우점종 동정

Identification of naturally occurring microorganisms in HCEs after storage study	
Type of microorganism	Number
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	6
<i>Burkholderia cepacia</i>	2
<i>Lactobacillus paracasei</i>	2
<i>Lactococcus lactis</i>	2
<i>Pseudomonas luteola</i>	2
<i>Bacillus circulans</i>	2
<i>Bacillus cereus</i>	1
<i>Bacillus lentus</i>	1
<i>Staphylococcus epidermis</i>	1
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1
<i>Klebsiela oxytoca</i>	1
<i>Pantoea spp1</i>	1
<i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i>	1
<i>Aerococcus viridans</i>	1

- API kit 동정 결과, 수중 미생물인 *Aeromonas hydrophila*가 가장 높은 횟수를 기록한 우점종이었음. 이는 충전수와 함께 포장하는 HCE 제품의 특성 때문인 것으로 보임.
- 또한, *Lactobacillus*, *Lactococcus*와 같은 젖산균이 검출되어, 저장 과정 중 HCE의 pH가 감소하는 원인을 뒷받침한다고 추론할 수 있음.
- 추후 오염지표 미생물 설정에 도움을 주기 위해 진행한 과정이었으나, 전체적으로 DNA를 이용한 검정법에 비해 API kit의 정확성이 낮으므로 참고용으로만 제시하였음.

(4) 초고압 기술을 적용한 알가공품의 10 °C 냉장 저장에 따른 색차 비교

- 앞선 가속화 조건 저장 실험과 마찬가지로, 냉장 저장 조건에서도 초고압 후살균 공정으로 형태의 변화 없이 HCE 난황 표면의 흑변 현상을 제어 할 수 있는지 확인해 보았음.
- 난황 표면 내 흑변 현상 정도를 관찰하기 위하여 HCE를 반으로 절단 한 후 난황을 분리하고, 분리된 난황의 윗부분을 색차색도계를 이용하여 L\* (lightness), a\* (redness), b\* (yellowness)를 측정하였음.
- 또한 이를 토대로 control과 비교하여 색 변화 정도를 확인 할 수 있는 척도인  $\Delta E$  (total color difference) =  $-(L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2$  를 계산하여, non-treated HCE에 비해 각 처리군 HCE 별로 흑변 현상이 진행 된 정도를 확인해 보았음.

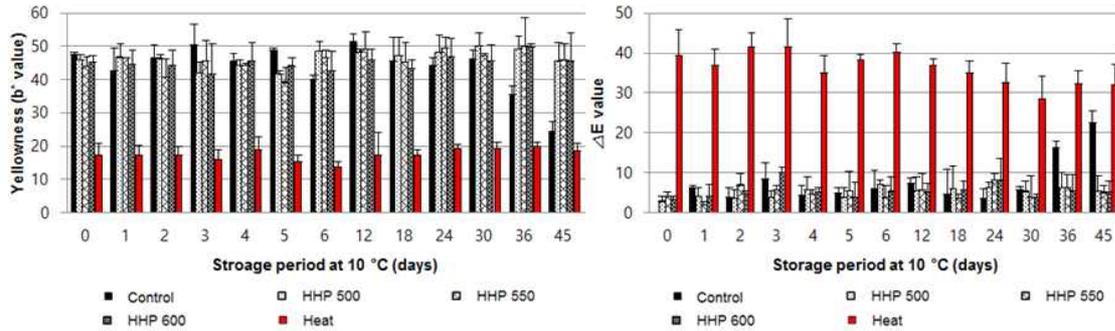


그림 29 HCE 처리군별 10 °C 저장기간에 따른 b\* 값 및 ΔE 값 변화

- Non-treated HCE(Control)는  $L^*=83.26 \sim 88.78$ ,  $a^*=-4.17 \sim -5.74$ ,  $b^*=45.64 \sim 49.40$ 의 값을 가짐. Non-treated HCE는 높은 값의  $L^*$ 과  $b^*$ 의 값을 가지며 30 일 차 저장 기간 동안 밝은 노란색을 유지하는 것을 알 수 있음.

- 한편, 30 일 차 이후 Control의  $L^*$ 와  $b^*$  값이 감소하며  $\Delta E$ 가 0 일 차 Control에 비해 점진적으로 증가하는 경향을 관찰할 수 있는데, 악취를 동반한 위 현상으로 보아 이는 미생물로 인한 HCE의 부패에 의한 결과라고 보여짐.

- 또한 500 ~ 600 MPa의 압력으로 5 분 동안 초고압 후살균 공정을 거친 HCE의 경우  $b^*=39.78 \sim 50.11$ 의 값을 측정하여 얻을 수 있었으며, 45 일의 저장 기간 동안 유의적으로 변하지 않는 경향을 보임. 이는  $\Delta E$ 에서도 0 일 차 Control 그룹에 비해 4.50~6.74 정도의 낮은 변화량을 보였음.

- 이는 부패하지 않은 상태의 non-treated HCE와 비슷한 결과로 초고압 후살균 공정을 처리했을 경우 효과적으로 HCE 난황의 흑변 현상을 억제할 수 있으며, 저장 기간 동안 흑변이 진행되지 않는 것을 확인 할 수 있었음.

- 반면 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 경우  $b^*=16.13 \sim 19.07$ 의 값을 가짐. 이는 0 일 차의 non-treated HCE에 비해 매우 낮은  $b^*$  값이며 육안으로도 뚜렷하게 난황 표면에 흑변이 진행된 것을 확인 할 수 있었음.

- 가열 후살균 공정이 명백하게 HCE 난황의 흑변을 발생시킨다는 것을 알 수 있으며, 그에 비해 초고압 후살균 공정은 HCE 난황의 색 변화에 영향을 끼치지 않는다는 사실을 알 수 있었음.

- 이를 토대로 초고압 후살균 공정이 냉장 저장 조건 하에서도 가열 후살균 공정을 대체하여 장시간 가열에 의한 흑변 현상을 획기적으로 제어 할 수 있을 것이라 생각되어짐.

라. 초고압 기술을 적용한 알 가공품의 물성 변화 비교 실험

(1) 실험 재료 및 방법

(가) 탈각된 삶은 달걀 (Hard-cooked peeled egg; HCE) 시료 준비

- 탈각된 삶은 달걀은 주관 기관인 조인 주식회사(주)로부터 공급받아 실험에 사용함.

- 원란을 1차 가열 (98 °C, 15 min)한 HCE 샘플과 가열 후살균 공정 (95 °C, 40 min)을 거친 시료로 구분하여 공급받음.

(나) 초고압 후살균 처리

- 초고압 후살균 처리를 위해 중간시험 규모의 초고압장치 (HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용, 압력전달을 위한 매개체로 물을 사용하였음. HCE는 충전수와 함께 polyethylene bag에 넣어서 밀봉하였으며, 압력 500, 550, 600 MPa로 5 분 동안 살균 처리를 하였음.

(다) 물성 변화 측정

- HCE의 물성 변화를 측정하기 위해 TA XT Express texture analyser (Stable micro systems Co.) 기기를 이용하였음.

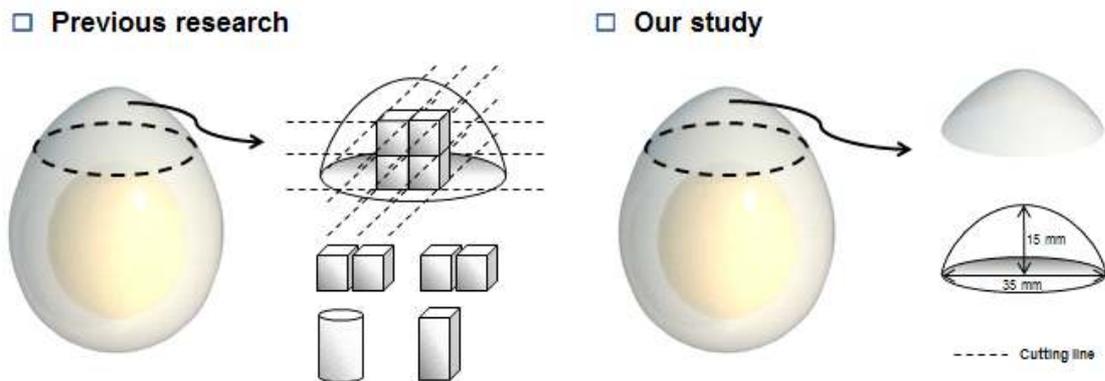


그림 30 HCE의 물성 측정 개요

- 기존의 물성 측정 방식의 경우, HCE의 물성 측정에 적용했을 때 압축 과정에서 시료가 프로브 밖으로 튀어나오거나 프로브와 함께 딸려 나오는 등의 어려움이 있었음. 또한, 프로브의 크기와 모양이 시료와 크게 관련이 있기 때문에 본 연구에서는 75 mm 지름의 원통형 프로브를 이용했으며, 시료의 원형을 유지할 수 있는 선에서 시료 크기를 조정하여 정밀성과 재현성을 향상시켰음.

- non-treated HCE (Control)을 비롯해, 각각 500, 550, 600 MPa에서 5 분 간 초고압 후살균 처리를 수행한 HHP 500, HHP 550, HHP 600과, 가열 후살균 공정을 수행한 HCE (Heat)로 실험군을 나누어 측정하였음. 각각의 실험군에 대해 Hardness, Adhesiveness, Springiness, Cohesiveness, Chewiness의 측정 척도를 이용하였음.

(2) 초고압 기술을 적용한 알 가공품의 물성 변화 비교

표 14 HCE 처리군 별 물성 변화

Condition	Hardness (g)	Adhesiveness (g · sec)	Springiness	Cohesiveness	Chewiness
Control	2105.42 ± 237.66A	-0.79 ± 0.17A	0.93 ± 0.02A	0.76 ± 0.02A	1479.85 ± 196.30A
HHP500	2158.19 ± 115.76A	-0.53 ± 0.15A	0.93 ± 0.02A	0.77 ± 0.01A	1545.47 ± 44.70A
HHP550	2334.04 ± 82.50A	-0.35 ± 0.21A	0.92 ± 0.02A	0.76 ± 0.01A	1635.67 ± 65.49A
HHP600	2684.37 ± 68.31B	-0.50 ± 0.21A	0.92 ± 0.00A	0.76 ± 0.01A	1874.04 ± 36.90B
Heat	2999.23 ± 164.89C	-0.64 ± 0.32A	0.93 ± 0.01A	0.77 ± 0.02A	2132.37 ± 148.02C

- Texture Profile Analysis (TPA) 분석 결과 가장 큰 차이를 나타내는 항목은 경도(Hardness)와 씹힘성(Chewiness)였음.

- 초고압 후살균 공정의 압력이 높아질수록 점진적으로 난백의 경도가 증가하는 경향을 관찰할 수 있음. 그러나 가열 후살균 공정을 거친 HCE의 난백 경도가 가장 높은 것을 확인하였음.

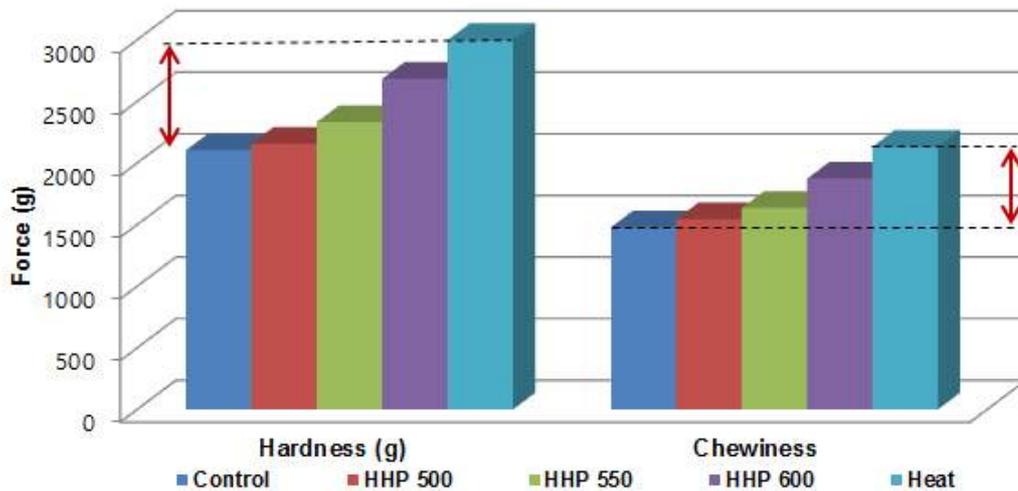


그림 31 HCE 처리군 별 경도와 씹힘성 값의 비교

- 씹힘성(Chewiness) = 경도(Hardness) X 응집성(cohesiveness) X 탄력성(springiness)의 식으로 표현이 가능함.

- 응집성과 탄력성의 경우 처리군 간 유의적인 차이가 없는 것으로 보아, 씹힘성의 유의적인 차이는 경도 간의 차이에 영향을 받아 나타난 값으로 추론할 수 있음.

4. 비가열 살균 시스템을 이용한 알 가공품 내 오염지표 미생물 제어기술 연구

가. 오염지표 미생물 설정

- 앞선 냉장 조건 저장 실험에서, 초고압 후살균 처리 45 일 이후 회복한 미생물의 동정 연

구를 진행한 결과, 가장 동정 횟수가 높아 우점종으로 여겨지는 미생물은 *Aeromonas hydrophila/caviae*였음.

- *Aeromonas hydrophila/caviae*는 수중 유래 미생물로, 충진수에 침지된 상태로 보관하는 HCE 제품의 특성으로 인해 나타난 결과로 보임. 그러나 본 균은 본디 적은 양으로 인체에 큰 해를 미치지 않으며 식품균의 부패에 미치는 영향도 보고된 바가 적었음.

- 따라서 본 연구를 위한 오염지표 미생물은, HCE와 같은 RTE 식품군에서 주요 위험균이며 알가공품에 쉽게 오염되어 인체에 큰 해를 가하는 식중독균인 *Salmonella* Enteritidis로 설정하였음.

나. 초고압 기술을 적용한 알가공품 내 오염지표 미생물 제어기술 연구

(1) 실험 재료 및 방법

(가) 탈각된 삶은 달걀 (Hard-cooked peeled egg; HCE) 시료 준비

- 탈각된 삶은 달걀은 주관 기관인 조인 주식회사(주)로부터 공급받아 실험에 사용함.

(나) *Salmonella* 균주 접종

- 연구에 이용한 오염지표 미생물은 *Salmonella* Enteritidis로, 가금류 제품에서 채취한 야생형이었음.

- HCE를 UV 램프 하에서 30 분 동안 멸균한 뒤, 2 일 간 배양한 *Salmonella* Enteritidis를 초기균 7.46 log CFU/g의 농도로 HCE 표면에 접종하였음.

(다) 초고압 살균 처리

- 초고압 살균 처리를 위해, 중간시험 규모의 초고압장치 (HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용, 압력전달을 위한 매개체로 물을 사용하였음. HCE는 Buffered peptone water와 함께 polyethylene bag에 넣어서 밀봉하였으며, 압력 500, 550, 600 MPa로 0~15 분 동안 살균 처리를 하였음.

(라) 총균수 측정 및 Percent injury (PI) test

- 살모넬라 균 성장 정도 측정을 하기 위해 stomaching bag에 HCE 1 개와 BPW 200 mL (1 : 5 dilution)를 넣고 2 분 간 stomaching하여 실험을 진행 함.

- HCE 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, TSA 배지와 XLD 배지 두 가지를 사용하여 각각 혼합 평반법으로 측정 하였음.

- 37 °C incubator에 24 시간 배양한 후 계수 함.

- 살모넬라 균주 선택배지인 XLD 배지와, 비선택배지인 TSA에 자라는 총균수 간의 차이

를 이용해 준치사상태의 미생물 비율(Percent injury; PI)을 계산함.

$$\text{The injury ratio (\%)} = 100 - \frac{CFU/ml\text{selective}}{FU/ml\text{non-selective}} \times 100$$

(마) Kinetic model 적용

- HCE 표면에 접종한 살모넬라 균주에 대한 초고압 기술의 제어 효과를 kinetic model에 적용하였음.

- The Geeraerd and Van Impe inactivation model-fitting tool (GinaFiT) 프로그램을 이용해 Weibull model과 Biphasic model을 적용함.

(2) 초고압 기술을 적용한 알가공품 내 살모넬라 균 제어 효과

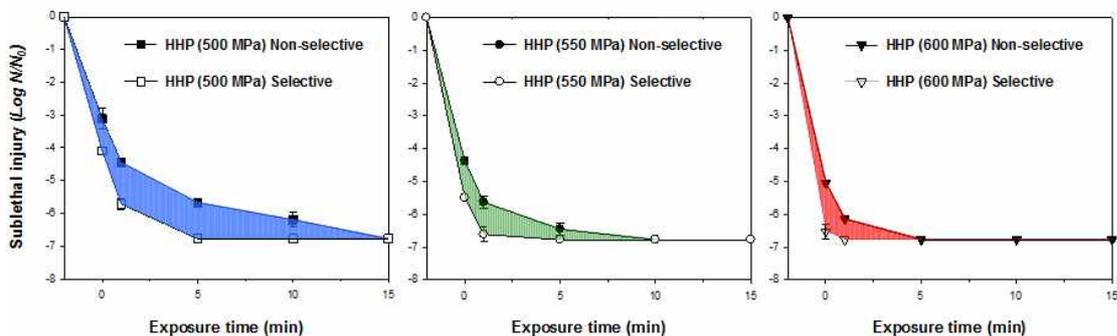


그림 32 초고압 기술을 적용한 알가공품 내 살모넬라 균의 생존 곡선

- 500, 550, 600 MPa의 압력에서 0~15 분 간 초고압 후살균 처리한 HCE 표면의 살모넬라 생존 곡선을 각각 그래프로 나타내었음.

- HCE 표면에 접종한 *Salmonella* Enteritidis는 초고압 후살균 처리 시간이 길어질수록 급격하게 감소하는 경향을 보임.

- 또한, 초고압 후살균 처리의 압력이 높아질수록 살모넬라 균이 낮은 처리 시간으로도 더 급격히 사멸하는 모습을 보임.

- 초기균 7.46 log CFU/g이 모두 사멸하는 시점은 각각 500 MPa에서 15 분, 550 MPa에서 10 분, 600 MPa에서 5 분이었음.

- 반면, 그래프에는 표기되지 않았지만 가열 후살균 처리를 수행했을 경우에는 90 °C에서 40 분 동안의 처리 후 4.88 log CFU/g의 감소를 보였음.

- 그래프에 나타난 색칠 된 부분은 준치사 상태의 미생물을 나타내는 것으로, 준치사 상태의 미생물은 비선택배지에서는 회복하여 콜로니를 형성하지만 선택배지에서는 회복하지 못

함(Bi et al. 2015).

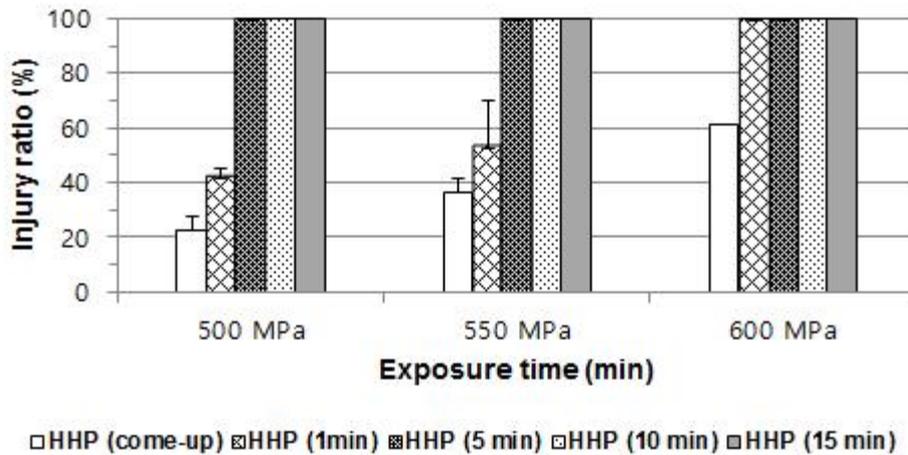


그림 33 HCE 처리군 별 준치사 살모넬라 균 비율

- 위 그래프는 살모넬라 균의 Percent injury (PI)를 측정된 수치로, 비선택 배지에 회복한 균주 중 준치사 상태의 균수를 나타냄.
- 처리 시간이 길어질수록 준치사 상태의 살모넬라 균 비율이 높아지는 것을 알 수 있음. 또한, 처리 압력이 높을수록 준치사 상태 살모넬라 균의 비율이 더 높음을 알 수 있음.
- 600 MPa 압력에서 초고압 후살균 처리를 거친 HCE의 경우 1 분 이후 모든 균이 준치사 상태에 위치한 것을 알 수 있음.
- 균의 사멸과 별개로, 준치사 상태의 미생물은 정상 상태의 미생물에 비해 회복 속도가 느리기 때문에 유의적인 의미를 지님.
- 위 결과들을 토대로 보아 초고압 후살균 공정이 HCE 내 오염지표 미생물인 *Salmonella* Enteritidis 균의 제어에 효과적임을 알 수 있음.

(3) 초고압 기술을 적용한 알 가공품 내 살모넬라 균 제어능 kinetic model 적용

- HCE 표면에 접촉한 살모넬라 균의 불활성화에 대한 kinetic model을 Weibull model과 Biphasic model 두 가지에 적용하였음.
- 알 가공품 내 살모넬라 균 제어능에 대한 모델로써, Biphasic model이 더 잘 맞는 결과를 나타내었음. Weibull model의 경우, 데이터는 나타내지 않았으나 R2 값이 0.8 이하로 나타나 적합하지 않음을 알 수 있었음.

표 15 HCE 표면에 접종한 살모넬라 균주의 생존 곡선에 대한 Biphasic model 적용

Model parameters <sup>a</sup>							
Sample	Treatment	<i>f</i>	<i>kmax1</i>	<i>kmax2</i>	<i>R2</i>	MSE	RMSE
Surface-inoculated HCE, 7.47 log CFU/g	HHP (500 MPa)	1.0000±0.00000A	3.51±0.06A	0.26±0.02A	0.9998	0.0030	0.0550
	HHP (550 MPa)	1.0000±0.00001A	5.16±0.54B	0.20±0.07AB	0.9940	0.1032	0.3213
	HHP (600 MPa)	1.0000±0.00000A	5.63±0.73C	0.18±0.10B	0.9896	0.1832	0.428

- Biphasic model에 적용했을 때, sensitive population의 비율을 나타내는 *f* 값의 경우, 동일 균주로 실험을 진행했으므로 처리군 간 유의적인 차이가 없었음.

- sensitive population의 불활성화 속도를 나타내는 값인 *kmax1*의 경우 처리 압력이 높아 질수록 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 반면 resistant population의 불활성화 속도를 나타내는 값인 *kmax2*의 경우 처리 압력의 증가에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였음. 이는 *kmax1*과 *kmax2* 간의 반비례 연산으로 인한 것으로 보임.

#### 5. 비가열 살균 시스템 적용에 따른 소비자 관능검사

##### 가. 실험 재료 및 방법

##### (1) 탈각된 삶은 달걀 (Hard-cooked peeled egg; HCE) 시료 준비

- 탈각된 삶은 달걀은 주관 기관인 조인 주식회사(주)로부터 공급받아 실험에 사용함.

- 원란을 1차 가열 (98 °C, 15 min)한 HCE 샘플과 가열 후살균 공정 (95 °C, 40 min)을 거친 시료로 구분하여 공급받음.

##### (2) 초고압 후살균 처리

- 초고압 후살균 처리를 위해 중간시험 규모의 초고압장치 (HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용, 압력전달을 위한 매개체로 물을 사용하였음. HCE는 충전수와 함께 polyethylene bag에 넣어서 밀봉하였으며, 550 MPa로 5 분 동안 살균 처리를 하였음.

##### (3) 소비자 관능검사

- 소비자 관능검사를 크게 20~30대 일반 소비자 그룹 및 알가공품 공장 근무자 그룹의 두 그룹으로 나누어 진행하였음.

- 20~30대 일반 소비자 그룹은 연세대학교 소속 학부생 및 대학원생으로 설정하여 남녀 91명 패널을 대상으로 진행하였으며, 알 가공품 공장 근무자 그룹은 누리웰 음성공장 내 근무자 남녀 37명을 대상으로 진행하였음. 총 남성 66명, 여성 62명으로 128명의 패널이 참여하였음.

- 시료 처리 조건은 각각 HHP (550 MPa, 5 min), Heat (95 °C, 40 min)이었으며, Color (난황의 색), Odor (냄새), Taste (맛), Texture (식감), Overall preference (전반적 만족도)

를 조사함.

- 실험은 blind test로 진행하였음. HCE를 세로로 절단한 반 쪽을 시료로 제공하였으며, 두 시료는 난수표의 세 자릿수로 암호화함.

- 측정치는 7-point hedonic scale로 기록하였음.

나. 20~30대 일반 소비자 그룹

- 연세대학교 소속 학부생 및 대학원생 남자 51 명, 여자 40 명, 합계 91 명을 대상으로 실험을 진행하였음.

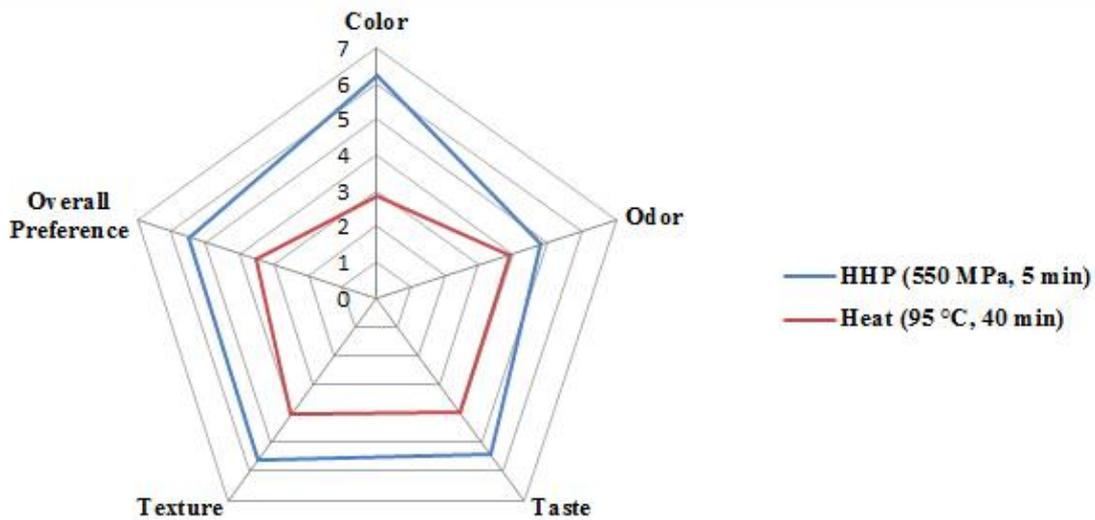


그림 34 20~30대 일반 소비자 그룹 관능검사 결과

표 16 20~30대 일반 소비자 그룹 관능검사 결과 표

Post-processing condition	Color	Odor	Taste	Texture	Overall preference
HHP (550 MPa, 5 min)	6.20±0.71a	4.82±1.11a	5.40±1.01a	5.60±1.01a	5.49±1.04a
Heat (95 °C, 40 min)	2.82±1.04b	3.91±1.19b	3.98±1.30b	4.04±1.31b	3.50±1.30b

- 난황의 색, 냄새, 맛, 식감, 전반적 선호도 등, 모든 항목에서 초고압 후살균 HCE가 가열 후살균 HCE에 비해 유의적으로 높은 측정치를 보임.

- 기존에 진행한 색차 측정 실험 결과와 비교했을 때, 20대와 30대 HCE 소비자들은 b\* 값이 높은(더 노란 빛을 띠는), 혹은 대조군(후살균을 하지 않은)과 유사한 HCE 난황의 색을 선호함을 알 수 있음.

- 또한, TPA 분석 결과와 비교하여, 소비자들은 HCE 난백의 경도와 씹힘성이 낮을수록, 즉 식감이 부드러울수록 선호함을 알 수 있음.

다. 알 가공품 공장 근무자 그룹

- 조인 누리웰 음성공장 근무자 남성 15 명, 여성 22 명, 합계 37 명을 대상으로 관능검사를 실시하였음.

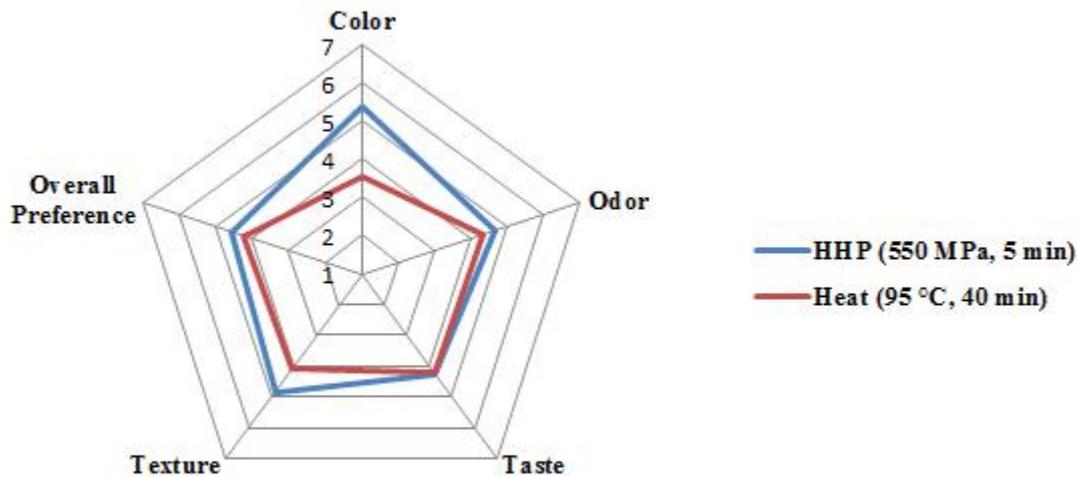


그림 35 알가공품 공장 근무자 그룹 관능검사

- 난황의 색과 식감 항목에서 초고압 후살균 HCE가 가열 후살균 HCE에 비해 유의적으로 높은 측정치를 보임.

- 기존에 진행한 색차 측정 실험 결과와 비교했을 때, 알 가공품 공장 근무자들은 b\* 값이 높은(더 노란 빛을 띠는), 혹은 대조군(후살균을 하지 않은)과 유사한 HCE 난황의 색을 선호함을 알 수 있음.

- 또한, TPA 분석 결과와 비교하여, 소비자들은 HCE 난백의 경도와 씹힘성이 낮을수록, 즉 식감이 부드러울수록 선호함을 알 수 있음.

라. 종합

- 총 남성 66 명, 여자 62 명, 합계 128 명을 대상으로 한 관능검사 결과를 통계 내었음.

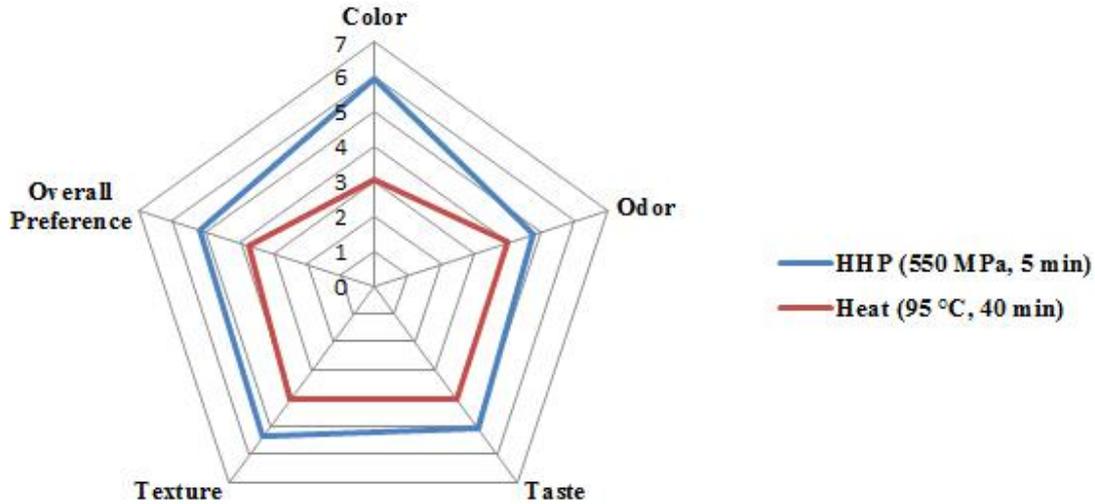


그림 36 관능검사 결과(종합)

- 난황의 색, 냄새, 맛, 식감, 전반적 선호도 등, 모든 항목에서 초고압 후살균 HCE가 가열 후살균 HCE에 비해 유의적으로 높은 측정치를 보임.
- 기존에 진행한 색차 측정 실험 결과와 비교했을 때, HCE 소비자들은  $b^*$  값이 높은(더 노란 빛을 띠는), 혹은 대조군(후살균을 하지 않은)과 유사한 HCE 난황의 색을 선호함을 알 수 있음.
- 또한, TPA 분석 결과와 비교하여, 소비자들은 HCE 난백의 경도와 씹힘성이 낮을수록, 즉 식감이 부드러울수록 선호함을 알 수 있음.

## 6. 결론

- 15 분 이상의 지속적인 가열 처리를 통해 HCE 난황 표면에 유의적인 흑변 현상이 진행되는 것을 관찰하였음.
- 25 °C 가속화 조건 저장 실험에서, 600 MPa에서 5 분 동안 초고압 후살균 처리한 HCE가 미생물 저감화에 가장 큰 효과를 보였음.
- 25 °C 가속화 조건 저장 실험에서, 7 일 간의 저장 동안 미생물의 성장과 이에 따른 발효로 인해 모든 HCE 처리군에서 지속적으로 pH가 감소함을 관찰하였음.
- 10 °C 냉장 조건 저장 실험에서, 24 일의 저장 동안 모든 후살균 처리군에서 미생물이 성장하지 않는 반면, 후살균 처리를 하지 않은 HCE의 경우 2.3 log CFU/g에서 7.7 log CFU/g으로 미생물이 늘어나는 것을 알 수 있었음.
- 모든 저장 실험을 통해, 가열 후살균 처리가 HCE 난황 표면에 유의적인 FeS로부터 유래

되는 흑변 현상을 초래하는 반면 초고압 후살균 처리는 후살균 처리 하지 않은 HCE와 동일한 수치의 L\*, a\*, b\* 값을 나타냄을 관찰하였음. 이는 곧, 초고압 후살균 처리가 HCE 난황 표면에 생기는 흑변 현상을 예방할 수 있음을 의미함.

- 초고압 후살균 처리를 한 HCE의 난백은 처리 압력의 증가에 따라 경도와 씹힘성이 증가하였음. 그럼에도 불구하고 가열 후살균 처리를 한 HCE의 경도와 씹힘성이 초고압 후살균 처리를 한 HCE보다 더욱 높은 것을 관찰하였음.

- HCE 표면에 접종한 *Salmonella* Enteritidis의 저감화에 초고압 후살균 공정이 뛰어난 효과를 보였음.

- HCE 소비자를 대상으로 한 관능검사에서, 550 MPa에서 5 분 동안 초고압 후살균 처리를 수행한 HCE가 가열 후살균 처리한 HCE에 비해 색, 맛, 식감 등 모든 면에서 유의적으로 더 높은 선호도를 보임.

- 소비자 선호도 조사와 HCE 처리군 별 물리화학적 특성 비교를 통해, 소비자들은 HCE 난황의 색이 더 노란색을 띠수록, 식감이 더욱 부드러울수록 선호함을 알 수 있음.

- 본 연구를 통해, 초고압 후살균 공정이, HCE 난황색의 변화없이 HCE의 물리화학적 성질을 개선하고 냉장 저장 기한을 증진시킴으로써 소비자 선호도를 더욱 높일 수 있으며 나아가 산업적으로도 긍정적인 영향을 미칠 수 있는 기술임을 알 수 있음.

## 제 2 절 알 및 작업 표면별 미생물의 바이오필름 형성능 저감화 연구

### 1. 알 원료와 작업 표면별 주요 세균의 생육특성 및 바이오필름 형성능 연구 (in vitro)

가. 바이오필름 형성능 연구주요 식중독균과 부패세균의 BFI 측정

#### (1) 실험조건

- 균주 : *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Cronorobacter sakazakii*, *Listeria monocytogenesis*, *Pseudomonas aeruginosa*

- 온도 : 10 , 20 , 37 °C

- 형성시간 : 72 h

- 상대습도 : 50 %

#### (2) 실험방법

- 바이오필름의 양을 측정하기 위해 균을 48시간 배양 후, 96 well plate에 1/50 희석 접종하여 10 °C에서 72 시간 배양함.

- Microtiter plate reader 600 nm에서 광학 밀도를 측정함. - planktonik OD

- 플레이트를 멸균수로 2회 세척함. 하루 동안 건조 후, 0.1% 크리스탈 바이올렛 0.125 mL 넣어 염색함.
- 15분 후 크리스탈 바이올렛을 제거함.
- 멸균 수로 두 번 세척 후 하루 동안 건조시킴.
- 95% 에탄올을 0.125 mL에 첨가하여 준비함.
- 10분 후 microtiter plate reader 595 nm에서 광학 밀도를 측정함. - biofilm OD
- BFI 수식을 이용하여 결과 값을 산출함.

$$BFI = \frac{\text{biofilm OD} - \text{blank biofilm OD}}{\text{planktonic OD} - \text{blank planktonic OD}}$$

(3) 실험결과

표 17 BFI 측정 결과 (p < 0.05)

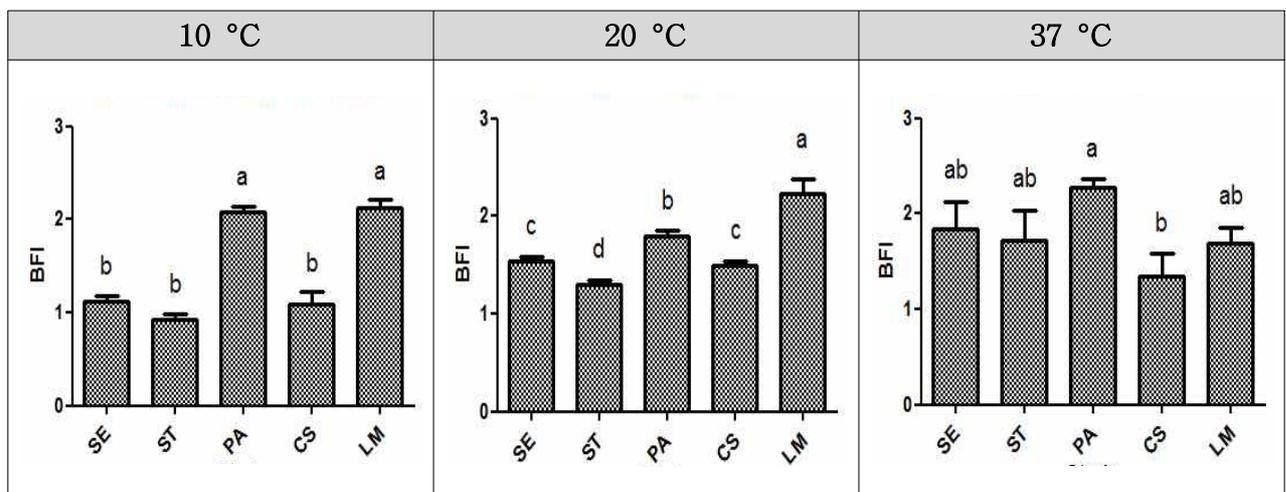


표 18 BFI의 분류

Strong	Moderate	Weak	None
≥ 1.10	0.70 ~ 1.09	0.35 ~ 0.69	< 0.35

- 전반적으로 다섯 가지 균주가 세 가지 모든 온도조건에서 BFI 수치가 1 또는 그 이상으로 높은 양상을 보였음.
- *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Cronorobacter sakazakii* 세 가지 균주에서는 온도의 증가에 따라 바이오필름 형성 수치 또한 증가하는 모습을 볼 수 있었음.

- 반면 *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*의 경우, 저온균이라 10 ~ 37 °C의 온도 범위에서 다른 세균에 비해 높은 형성 수치를 보였음.

- 결과적으로 다섯 가지 균주 모두 높은 바이오필름 형성능력을 가지고 있다고 판단할 수 있었음. 이는 바이오필름에 의한 직접감염 및 2차오염의 위험이 높다고 볼 수 있음.

- 특히 세 가지 온도 모두에서 높은 모습을 보이는 *Listeria monocytogenes*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 경우 위험도가 더 높은 것을 확인 할 수 있었음.

나. 재질, 온도별 바이오필름 FE-SEM 촬영

(1) 실험조건

- 균주 : *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Cronorobacter sakazakii*, *Listeria monocytogenesis*, *Pseudomonas aeruginosa*

- 재질 : stainless steel, plastic, rubber (크기 : 2 cm x 2 cm)

- 온도 : 10 , 20 , 37 °C

- 형성시간 : 24 h

- 상대습도 : 50 %

(2) 실험방법

- FE-SEM 촬영을 위해, 균을 18시간 계대하여 준비함.

- 5 mL TSB 안에 배양된 균과 재질을 넣고 24시간 배양함.

- 멸균된 PBS로 3 차례 세척함.

- PBS로 희석된 2% glutaraldehyde를 넣고 4도시 냉장고에 24시간 균 고정을 시킴.

- 15분씩 dipping하여 3 차례 세척함.

- 에탄올 (50%, 60%, 70%, 80%, 90%)에 15분간 dipping, 에탄올 100% 15분씩 2 차례 dipping 함.

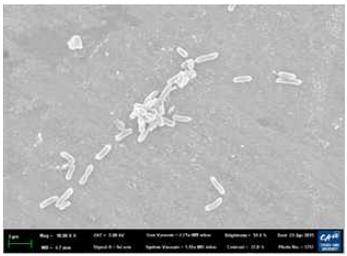
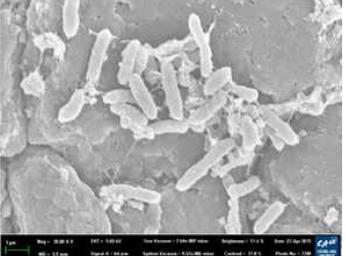
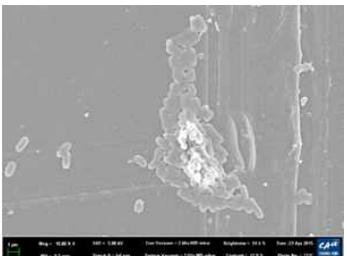
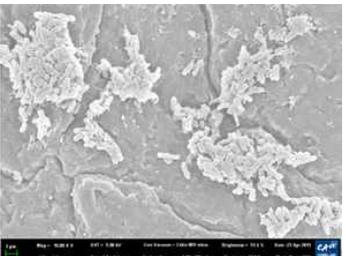
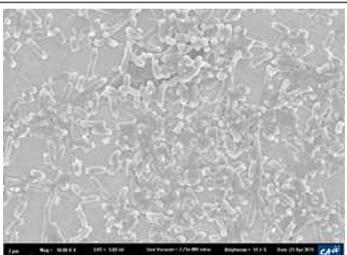
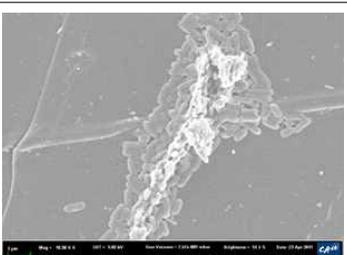
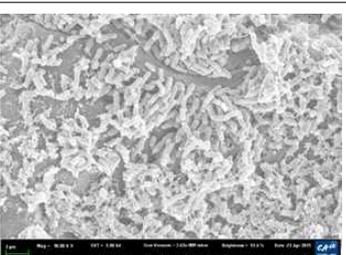
- 에탄올로 희석된 hexamethyldisilazane (33%, 50%, 66%, 100%)에 15분씩 dipping 함.

- 클린벤치 안에서 24시간 건조시킴.

- 건조된 재질을 백금코팅 후 FE-SEM 촬영 함.

(3) 실험결과

표 19 *Salmonella* Entritidis균의 재질과 온도별 FE-SEM 촬영

Biofilm	Stainless steel	Plastic	Rubber
10 °C			
20 °C			
37 °C			

- 다른 균을 대표하여 *Salmonella* Entritidis 균에서 재질과 온도별 바이오필름 형성능을 탐색하였음.

- 37 °C에서 가장 강한 바이오필름 형성능을 보였으며 20 °C, 10 °C 순으로 형성능이 약해지는 모습을 관찰 할 수 있었음.

- 앞서 연구된 BFI 수치에 비하여 20 °C부터 바이오필름 형성능이 떨어지는 것으로 보아 동일 균의 바이오필름이라도 20 °C보다 37 °C에서 형성된 바이오필름의 재질표면 부착력과 응집력이 더 큰 것으로 판단되어짐.

- 또한 표면이 rough한 고무재질에서 가장 바이오필름 형성능이 큰 것으로 판단되어짐.

- 반면 플라스틱 재질의 경우 표면이 매끄러워 균열과 고르지 않은 부분에서 증점적으로 형성 되었으며, 이는 재질의 표면상태가 rough 할수록 바이오필름 형성능이 높다고 판단 할 수 있음.

다. 생육 환경별 특성에 따른 바이오필름 형성능 연구

(1) 실험조건

- 균주: *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Cronorobacter sakazakii*,  
*Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*

- 재질: stainless steel, plastic, rubber (크기 : 2 cm x 2 cm), egg shell (메추리알 1개)

- 온도 (°C): 10 °C (냉장), 20 °C (상온), 37 °C (균별 최적온도, 단 *L. monocytogenes*의 경우 30 °C)

- 상대습도: 30% (숙성실), 50% (실험실, 투입실), 70% (탈각기, 침전실)

(2) 실험방법 - 바이오필름

- 해당 균주를 풀어 24시간 배양하여 준비.

- Microplate reader를 돌려 흡광도 측정 후 접종 량 결정.

- 일반배지 (TSB), 천연배지 (Egg yolk, Egg white)가 10 mL 씩 담긴 멸균튜브에 균 접종.

- 균이 접종된 튜브에 멸균된 재질을 투입하여 최적온도에서 24시간 배양.

- 배양 후 재질을 수거하여 멸균수에 2회 세척으로 부유세균 제거

- pw가 담긴 플레이트에 재질을 앞 뒤 60초간 scrubbing하여 바이오필름 추출.

- 추출된 바이오필름 희석 및 선택배지 접종 & 도말하여 결과확인 및 분석.

(3) 실험방법 - 부유세균

- 해당 균주를 풀어 24시간 배양하여 준비.

- Microplate reader를 돌려 흡광도 측정 후 접종 량 결정.

- 균이 접종된 튜브에 멸균된 재질을 투입하여 최적온도에서 24시간 배양.

- 배양 후 재질을 제거하여 부유세균 추출.

- 추출된 부유세균 희석 및 선택배지 접종 & 도말하여 결과확인 및 분석.

(4) 실험결과

(가) 보관용기 및 작업 표면별 바이오필름 형성능 조사 (in vitro)

1) *Salmonella* Enteritidis

표 20 *Salmonella* Enteritidis 균의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교  
[37 °C, RH = 50%]

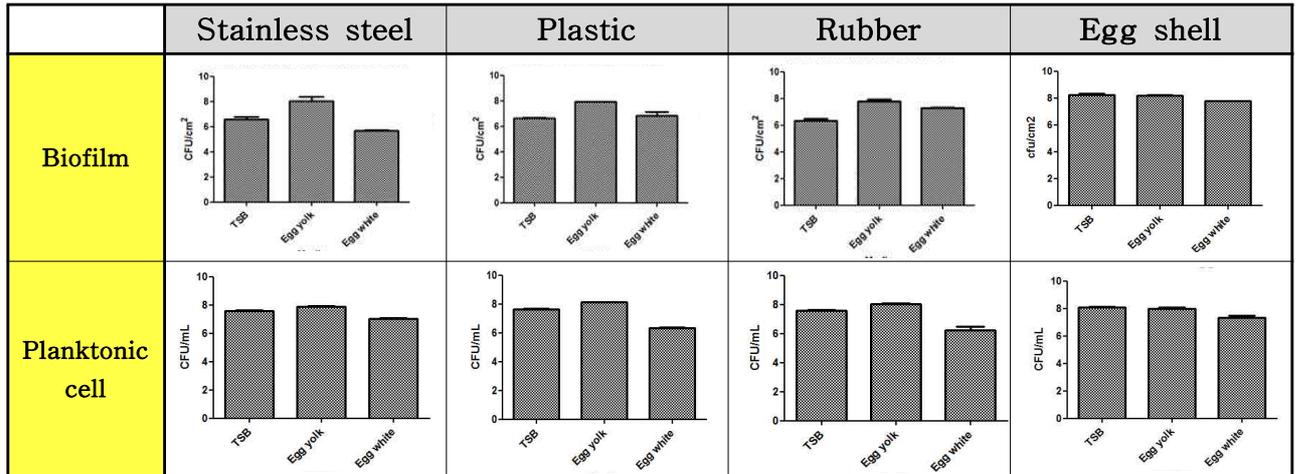


표 21 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치  
[37 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	TSB	6.27±0.34	7.57±0.18
		Egg yolk	8.05±0.57	7.88±0.14
		Egg white	5.71±0.07	7.01±0.09
	Plastic	TSB	6.61±0.09	7.61±0.19
		Egg yolk	7.91±0.08	8.11±0.03
		Egg white	6.81±0.53	6.33±0.08
	Rubber	TSB	6.34±0.23	7.59±0.12
		Egg yolk	7.76±0.27	8.04±0.13
		Egg white	7.26±0.15	6.23±0.35
	Egg shell	TSB	8.24±0.13	8.06±0.13
		Egg yolk	8.18±0.04	8.01±0.13
		Egg white	7.79±0.00	7.35±0.32

- *Salmonella* Enteritidis 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 기질 중 Egg yolk에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없었고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 결론적으로, *Salmonella* Enteritidis 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 6 ~ 8 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

2) *Salmonella* Typhimurium

표 22 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [37 °C, RH = 50%]

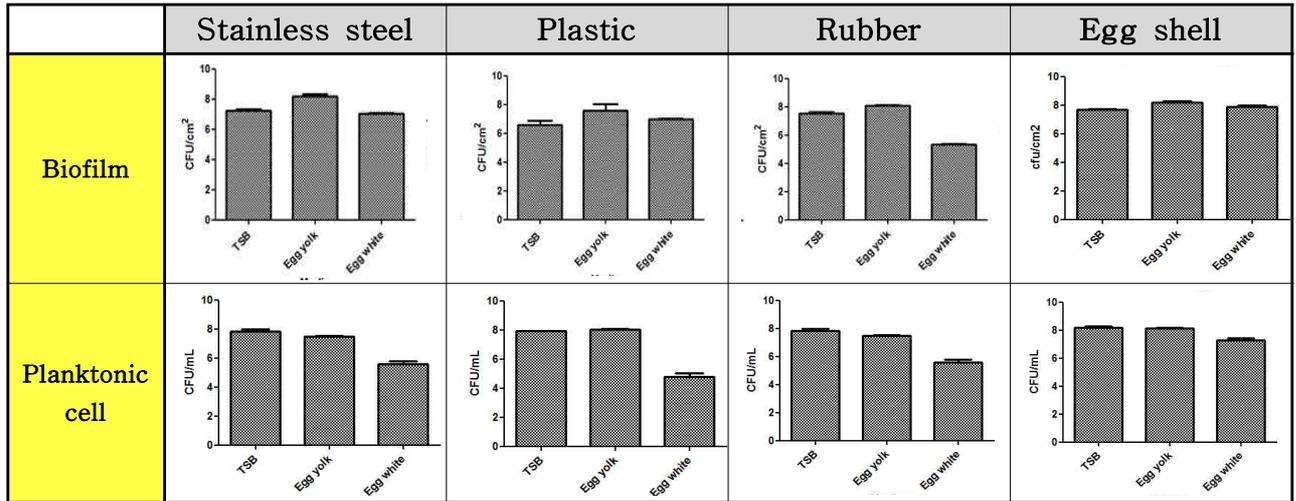


표 23 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	TSB	7.24±0.18	7.18±0.36
		Egg yolk	8.21±0.20	7.66±0.08
		Egg white	7.06±0.05	7.12±0.12
	Plastic	TSB	7.55±0.13	7.92±0.02
		Egg yolk	8.06±0.09	8.06±0.07
		Egg white	5.33±0.08	4.79±0.56
	Rubber	TSB	6.57±0.42	7.82±0.33
		Egg yolk	7.60±0.60	7.47±0.10
		Egg white	7.01±0.01	5.60±0.47
	Egg shell	TSB	7.68±0.09	8.21±0.17
Egg yolk		8.16±0.19	8.13±0.09	
Egg white		7.78±0.16	7.30±0.27	

- *Salmonella* Typhimurium 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk 에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없었고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 결론적으로, *Salmonella* Typhimurium 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 7 ~ 8 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

3) *Pseudomonas aeruginosa*

표 24 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [37 °C, RH = 50%]

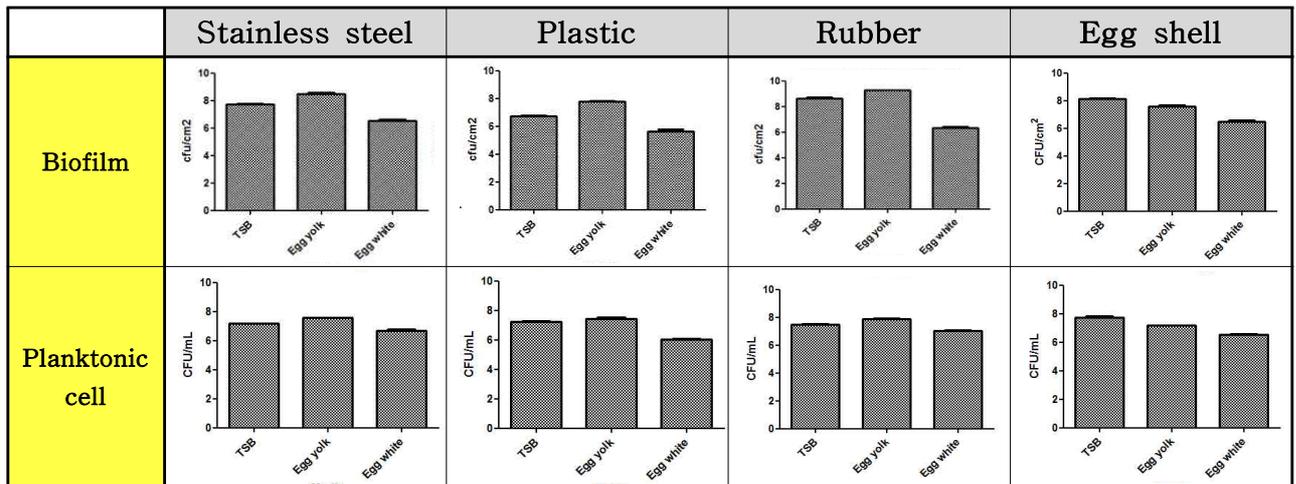


표 25 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	TSB	7.78±0.11	7.16±0.03
		Egg yolk	8.50±0.14	7.59±0.02
		Egg white	6.54±0.15	6.67±0.20
	Plastic	TSB	6.75±0.09	7.23±0.07
		Egg yolk	7.77±0.08	7.46±0.15
		Egg white	5.63±0.24	6.02±0.10
	Rubber	TSB	8.63±0.11	7.47±0.09
		Egg yolk	9.26±0.00	7.90±0.06
		Egg white	8.61±0.11	7.04±0.06
	Egg shell	TSB	8.15±0.05	7.73±0.15
		Egg yolk	7.59±0.17	7.17±0.04
		Egg white	6.46±0.21	6.53±0.06

- *Pseudomonas aeruginosa* 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk 에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없었고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 결론적으로, *Pseudomonas aeruginosa* 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 7 ~ 8 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

4) *Listeria monocytogenes*

표 26 *Listeria monocytogenes* 균의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교  
[30 °C, RH = 50%]

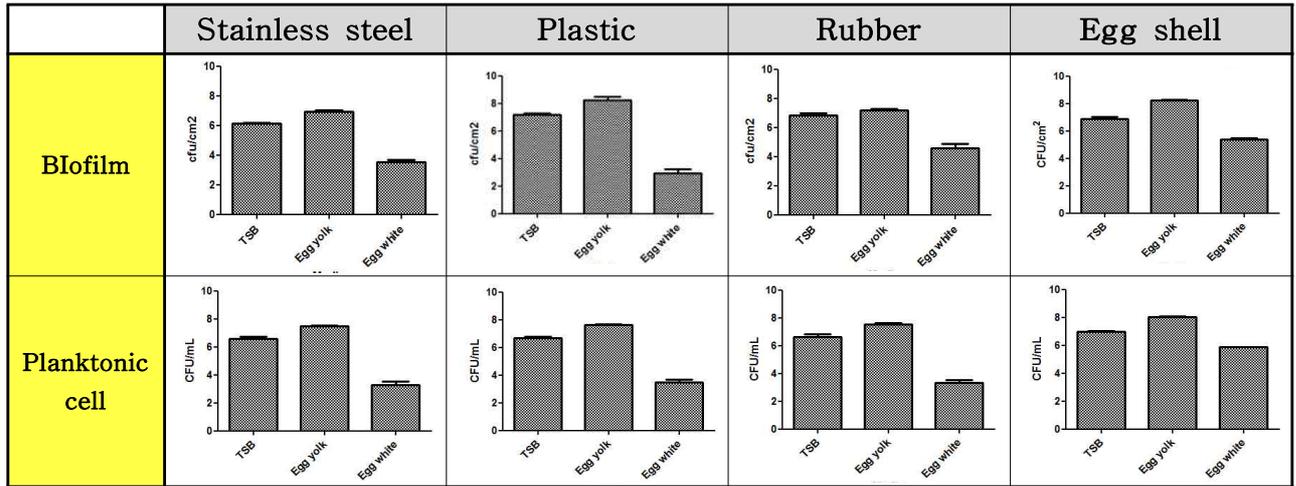


표 27 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치  
[30 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Listeria monocytogenes</i>	Stainless steel	TSB	6.86±0.22	6.58±0.37
		Egg yolk	7.19±0.10	7.47±0.09
		Egg white	4.59±0.39	3.30±0.41
	Plastic	TSB	7.17±0.20	6.71±0.13
		Egg yolk	8.24±0.38	7.61±0.19
		Egg white	2.92±0.55	3.50±0.39
	Rubber	TSB	6.12±0.13	6.63±0.47
		Egg yolk	6.95±0.14	7.56±0.20
		Egg white	3.54±0.22	3.34±0.39
	Egg shell	TSB	6.90±0.23	6.99±0.07
		Egg yolk	8.25±0.09	8.04±0.10
		Egg white	5.39±0.23	5.87±0.04

- *Listeria monocytogenes* 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk에서 가장 높은 형성능을 보였음.
- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없었고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.
- 특징적으로 Egg white에서 다른 균주들의 비하여 바이오필름 형성능이 현저히 낮은 것으로 관찰되었음.

- 결론적으로, *Listeria monocytogenes* 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 7 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

5) *Cronobacter sakazakii*

표 28 *Cronobacter sakazakii* 균의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [37 °C, RH = 50%]

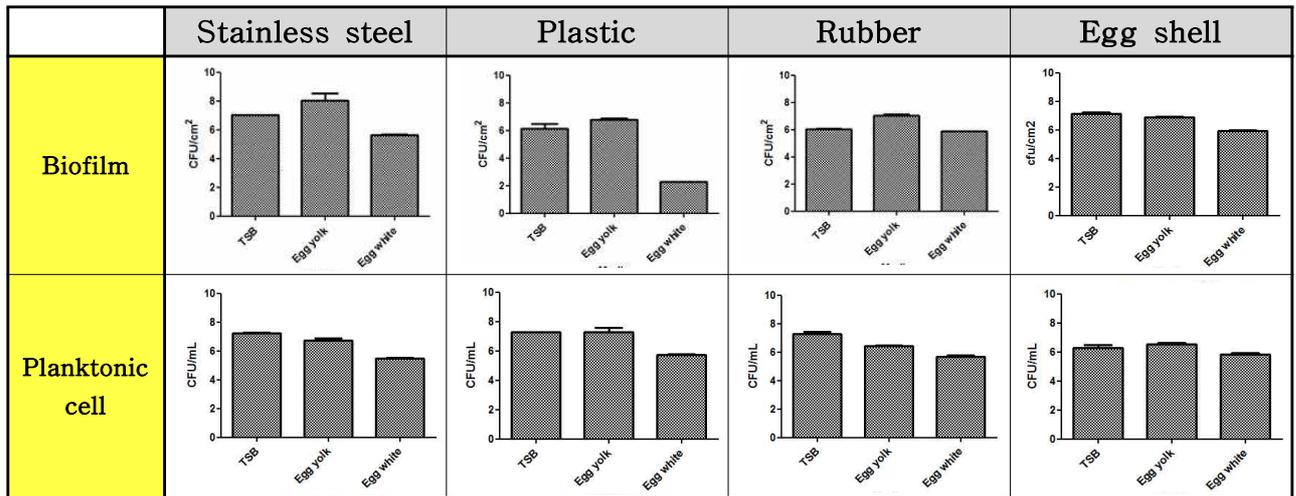


표 29 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Stainless steel	TSB	7.02±0.00	7.23±0.09
		Egg yolk	8.04±0.67	6.71±0.34
		Egg white	5.65±0.07	5.48±0.09
	Plastic	TSB	6.13±0.67	7.28±0.06
		Egg yolk	6.78±0.16	7.26±0.54
		Egg white	2.30±0.00	5.75±0.08
	Rubber	TSB	6.03±0.04	7.29±0.37
		Egg yolk	7.03±0.13	6.44±0.07
		Egg white	5.88±0.01	5.67±0.17
Egg shell	TSB	7.13±0.15	6.30±0.34	
	Egg yolk	6.89±0.05	6.56±0.17	
	Egg white	5.94±0.09	5.83±0.19	

- *Cronobacter sakazakii* 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 특징적으로 plastic과 Egg white의 조건 속에서 현저히 낮은 바이오필름 형성능을 보였음.

- 결론적으로, *Cronobacter sakazakii* 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 6 ~ 7 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

나) 온도(상온, 냉장온도 등)별 주요 식중독균과 부패세균의 생육특성 및 바이오필름 형성능

1) *Salmonella* Enteritidis

표 30 *Salmonella* Enteritidis 균의 20 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름과 부유세균 형성능 비교 [20 °C, RH = 50%]

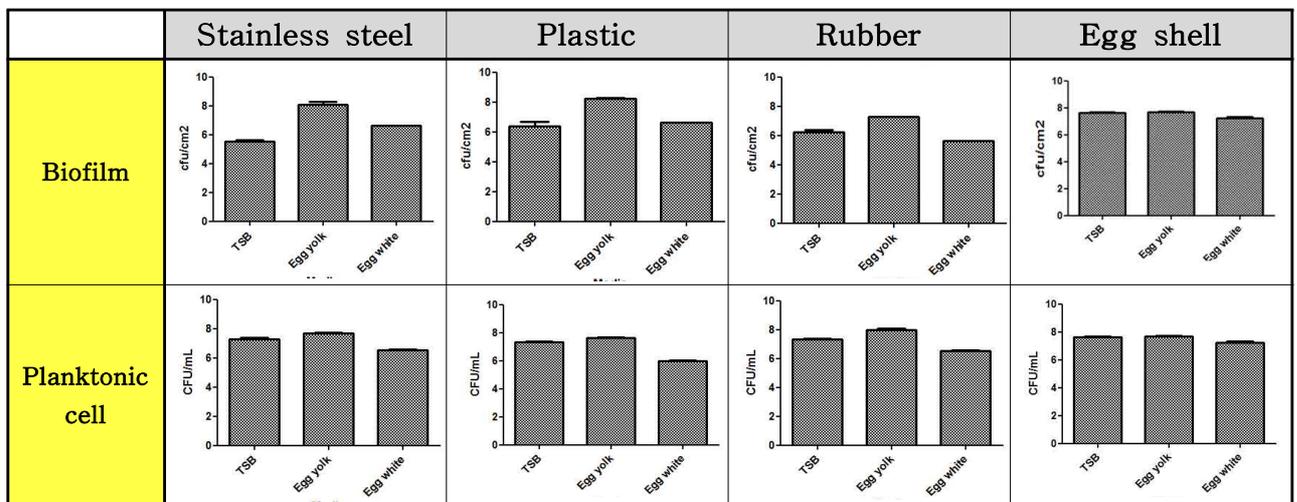


표 31 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치  
[20 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Salmonella</i> <i>a</i> Enteritidis	Stainless steel	TSB	5.55±0.19	7.28±0.20
		Egg yolk	8.07±0.28	7.69±0.09
		Egg white	6.56±0.14	6.54±0.07
	Plastic	TSB	6.38±0.43	7.35±0.09
		Egg yolk	8.26±0.02	7.65±0.09
		Egg white	6.58±0.10	6.01±0.11
	Rubber	TSB	6.22±0.32	7.33±0.09
		Egg yolk	7.30±0.01	7.99±0.09
		Egg white	5.63±0.06	6.56±0.10
	Egg shell	TSB	6.99±0.15	7.62±0.09
		Egg yolk	7.04±0.16	7.70±0.10
		Egg white	6.84±0.12	7.22±0.20

- *Salmonella* Enteritidis균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk에서 가장 높은 형성능을 보였음.
- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.
- 결론적으로, *Salmonella* Enteritidis균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 6 ~ 8 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

## 2) *Salmonella* Typhimurium

표 32 *Salmonella* Typhimurium 균의 20 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름과 부유세균 형성능 비교 [20 °C, RH = 50%]

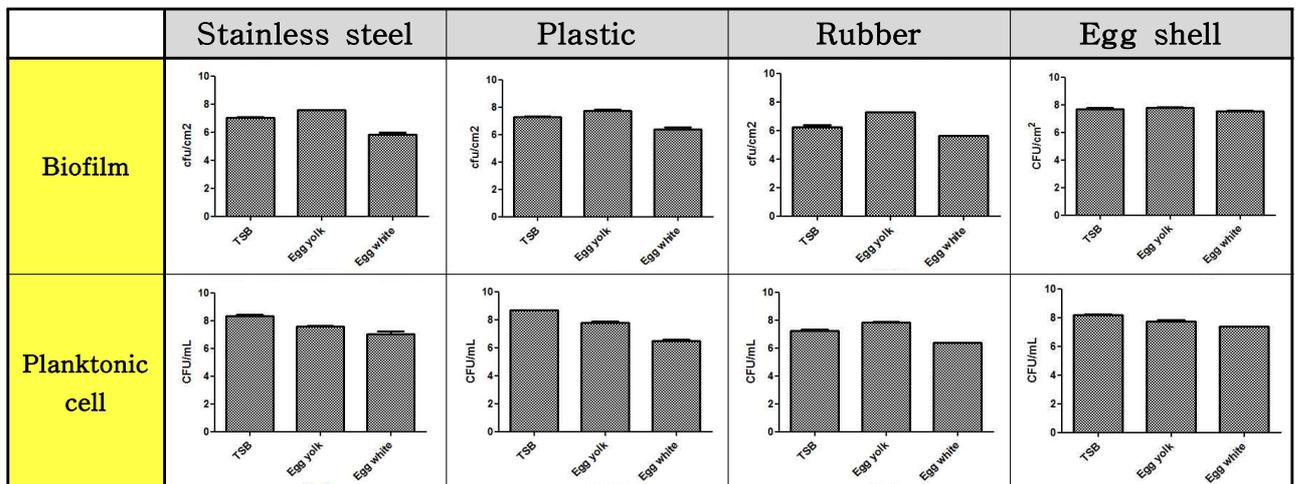


표 33 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [20 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	TSB	7.02±0.11	8.36±0.13
		Egg yolk	7.57±0.07	7.58±0.14
		Egg white	5.84±0.21	7.04±0.30
	Plastic	TSB	7.30±0.04	8.67±0.03
		Egg yolk	7.71±0.19	7.80±0.18
		Egg white	6.38±0.25	6.46±0.20
	Rubber	TSB	6.92±0.11	7.23±0.17
		Egg yolk	7.66±0.19	7.82±0.07
		Egg white	5.80±0.01	6.37±0.06
	Egg shell	TSB	7.69±0.17	8.16±0.17
		Egg yolk	7.76±0.14	7.75±0.17
		Egg white	7.56±0.06	7.36±0.04

- *Salmonella* Typhimurium 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk 에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 결론적으로, *Salmonella* Typhimurium 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 6 ~ 7 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

### 3) *Pseudomonas aeruginosa*

표 34 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 20 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름과 부유세균 형성능 비교 [20 °C, RH = 50%]

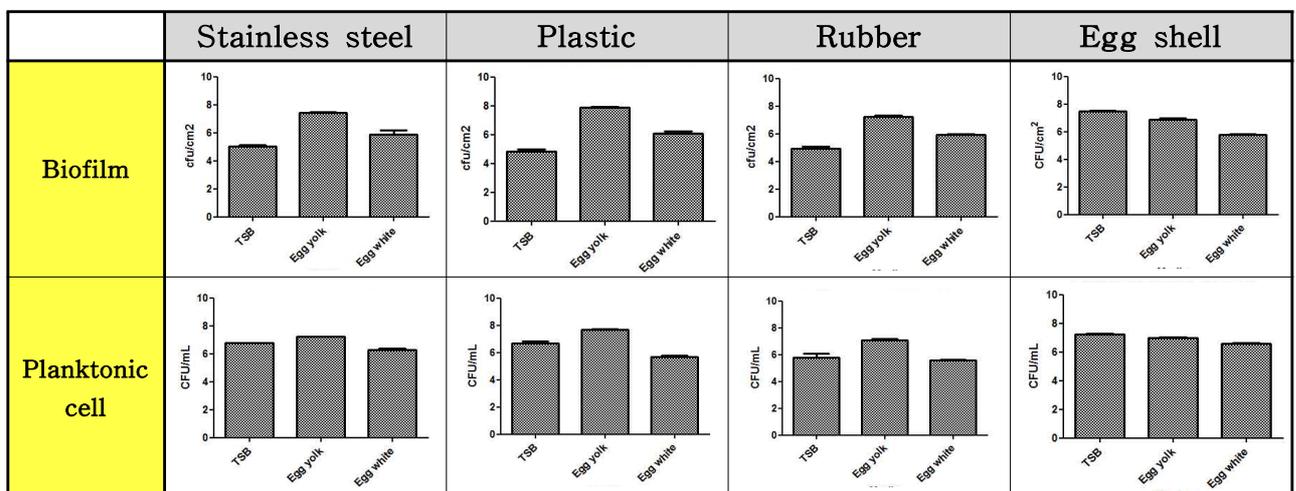


표 35 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치  
[20 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	TSB	5.01±0.18	6.78±0.00
		Egg yolk	7.45±0.06	7.22±0.05
		Egg white	5.89±0.44	6.27±0.20
	Plastic	TSB	4.86±0.21	6.67±0.32
		Egg yolk	7.88±0.09	7.68±0.10
		Egg white	6.08±0.29	5.66±0.27
	Rubber	TSB	4.95±0.21	5.79±0.50
		Egg yolk	7.23±0.19	7.10±0.11
		Egg white	6.61±0.11	5.56±0.12
	Egg shell	TSB	7.46±0.15	7.22±0.12
		Egg yolk	6.87±0.24	6.97±0.11
		Egg white	5.79±0.11	6.60±0.01

- *Pseudomonas aeruginosa* 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk에서 가장 높은 형성능을 보였음.
- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였다. 특징적으로 다른 균들에 비해 TSB보다 Egg white에서 바이오필름 형성능이 다소 높은 모습을 보였음.
- 결론적으로, *Pseudomonas aeruginosa* 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 6 ~ 7 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

4) *Listeria monocytogenes*

표 36 *Listeria monocytogenes* 균의 20 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름과 부유세균 형성능 비교 [20 °C, RH = 50%]

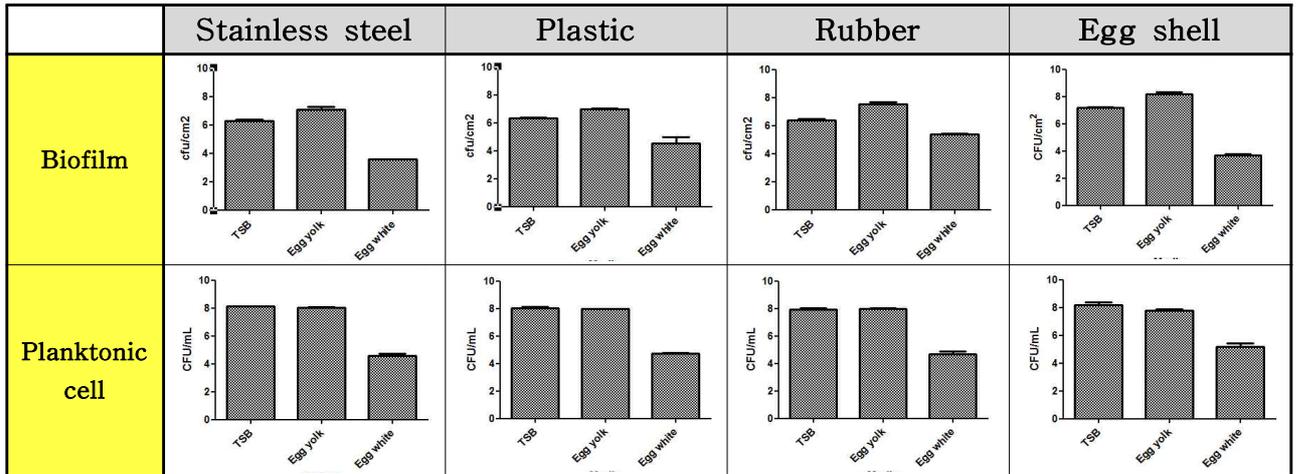


표 37 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [20 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Listeria monocytogenes</i>	Stainless steel	TSB	6.26±0.16	8.13±0.04
		Egg yolk	7.10±0.41	8.02±0.06
		Egg white	3.57±0.00	4.58±0.33
	Plastic	TSB	6.31±0.09	8.05±0.10
		Egg yolk	6.99±0.07	7.97±0.01
		Egg white	4.55±0.64	4.71±0.19
	Rubber	TSB	6.43±0.22	7.95±0.18
		Egg yolk	7.53±0.30	8.01±0.07
		Egg white	5.37±0.16	4.68±0.31
	Egg shell	TSB	7.18±0.14	8.19±0.37
		Egg yolk	8.20±0.22	7.81±0.12
		Egg white	3.68±0.16	5.21±0.41

- *Listeria monocytogenes* 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 결론적으로, *Listeria monocytogenes* 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 6 ~ 7 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 높은 바이오필름 형성능으로 보아 현장에서의 2차 오염 가능성이 높다고 판단되어짐.

5) *Cronobacter sakazakii*

표 38 *Cronobacter sakazakii* 균의 20 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [20 °C, RH = 50%]

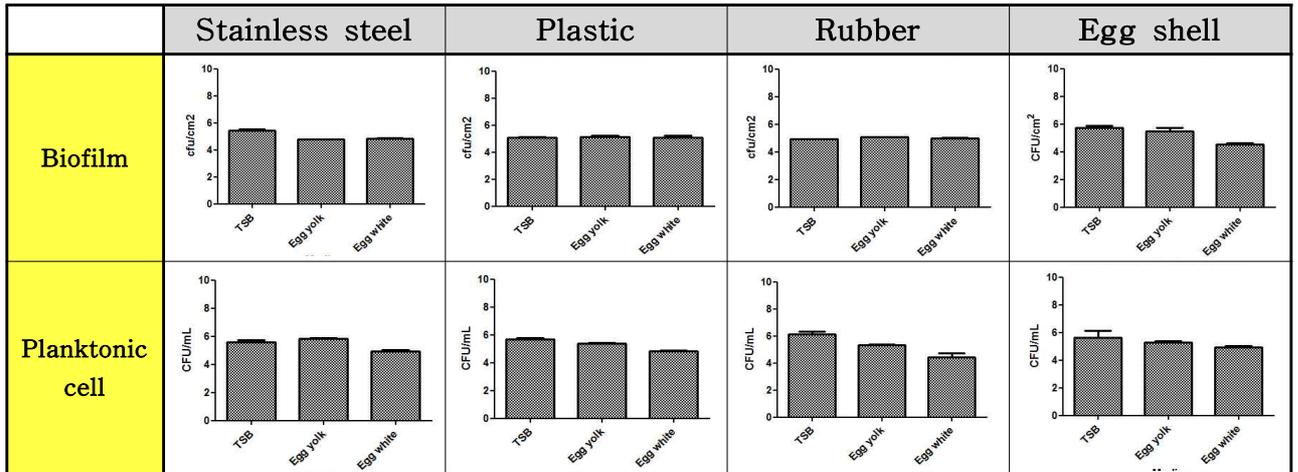


표 39 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [20 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Stainless steel	TSB	5.36±0.20	5.60±0.22
		Egg yolk	4.79±0.01	5.82±0.13
		Egg white	4.93±0.15	4.95±0.17
	Plastic	TSB	5.01±0.19	5.67±0.21
		Egg yolk	5.16±0.14	5.39±0.04
		Egg white	5.10±0.26	4.81±0.15
	Rubber	TSB	4.94±0.09	6.12±0.40
		Egg yolk	5.09±0.00	5.33±0.16
		Egg white	5.01±0.09	4.46±0.40
	Egg shell	TSB	5.71±0.26	5.65±0.84
		Egg yolk	5.50±0.32	5.26±0.23
		Egg white	4.52±0.22	4.91±0.28

- 배지간의 큰 차이는 관찰할 수 없었으며, 상온의 같은 조건에서 다른 균들이 보이는 바이오필름 형성능에 비하여 좋지 않는 것으로 판단되어짐.

- 결론적으로 *Cronobacter sakazakii* 균주는 상온에서 5 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도의 상대적으로 낮은 바이오필름 형성능을 보이지만 현장에서의 2차 오염 가능성이 있다고 판단되어짐.

6) *Salmonella* Enteritidis

표 40 *Salmonella* Enteritidis 균의 10 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [10 °C, RH = 50%]

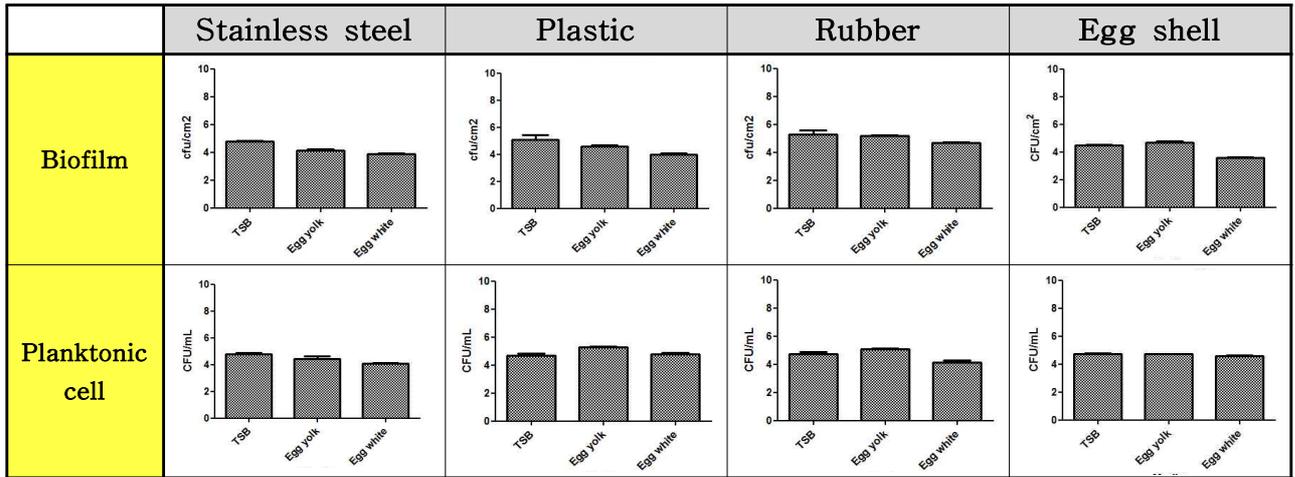


표 41 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [10 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	TSB	4.80±0.01	4.80±0.10
		Egg yolk	4.15±0.08	4.43±0.37
		Egg white	3.86±0.11	4.08±0.13
	Plastic	TSB	5.06±0.75	4.68±0.31
		Egg yolk	4.56±0.18	5.31±0.11
		Egg white	4.00±0.08	4.79±0.14
	Rubber	TSB	5.29±0.54	4.75±0.18
		Egg yolk	5.16±0.08	5.08±0.11
		Egg white	4.71±0.02	4.13±0.23
	Egg shell	TSB	4.49±0.13	4.73±0.09
		Egg yolk	4.67±0.19	4.71±0.08
		Egg white	3.56±0.12	4.59±0.15

- *Salmonella* Enteritidis균은 10 °C에서 TSB > Egg yolk > Egg white순으로 바이오필름 형성능을 보였지만 재질 및 배지의 영향보다 온도 (10 °C)의 영향을 크게 받는 모습을 보였음.

- 결론적으로, *Salmonella* Enteritidis 균주는 10 °C에서 4 ~ 5 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도로 37 °C 및 상온에 비하여 낮은 형성능을 보였음. 그러나 10 °C의 환경에서도 충분히 현장에서의 2차 오염 가능성이 있다고 판단되어짐.

7) *Salmonella* Typhimurium

표 42 *Salmonella* Typhimurium 균의 10 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름과 부유세균 형성능 비교 [10 °C, RH = 50%]

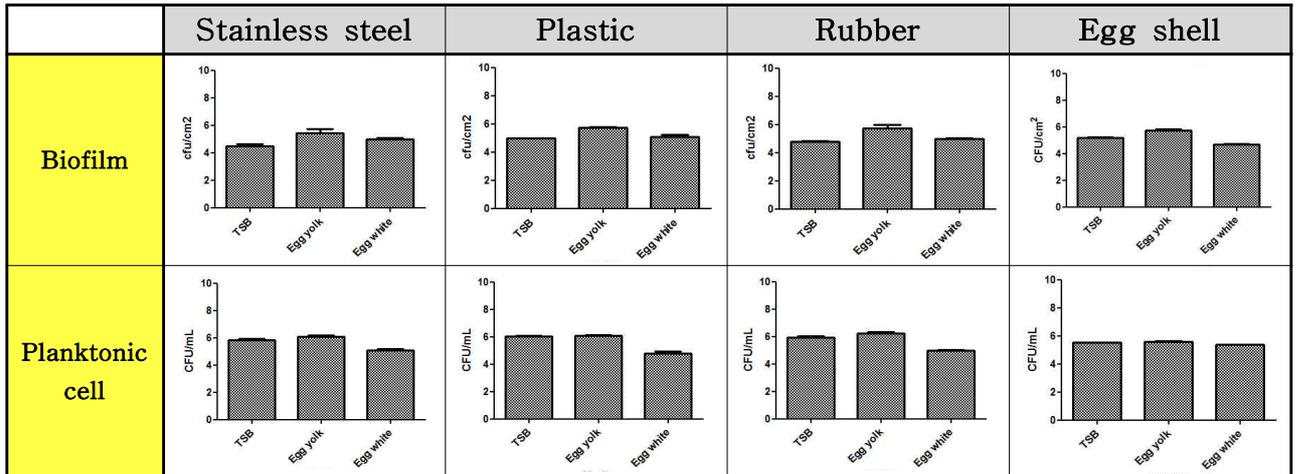


표 43 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [10 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	TSB	4.49±0.24	5.83±0.27
		Egg yolk	5.41±0.44	6.10±0.13
		Egg white	4.98±0.16	5.06±0.29
	Plastic	TSB	4.98±0.03	6.05±0.11
		Egg yolk	5.74±0.08	6.10±0.11
		Egg white	5.06±0.34	4.79±0.36
	Rubber	TSB	4.79±0.08	5.95±0.18
		Egg yolk	5.73±0.18	6.23±0.22
		Egg white	4.98±0.11	4.97±0.20
	Egg shell	TSB	5.17±0.06	5.53±0.03
		Egg yolk	5.75±0.17	5.61±0.04
		Egg white	4.68±0.14	5.38±0.00

- *Salmonella* Typhimurium 균은 전체적으로 높은 바이오필름 형성능을 보였고 Egg yolk 에서 가장 높은 형성능을 보였음.

- Egg shell을 제외하고는 식품접촉표면 재질 자체의 영향은 거의 없고 배지의 영향을 더 많이 받는 양상을 보였음.

- 결론적으로, *Salmonella* Typhimurium 균주는 표면재질보다는 배지의 영향을 많이 받고 10 °C에서 4 ~ 5 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도로 37 °C 및 상온에 비하여 낮은 수치를 보였음. 그러나 10 °C의 환경에서도 충분히 현장에서의 2차 오염 가능성이 있다고 판단됨.

8) *Pseudomonas aeruginosa*

표 44 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 10 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [10 °C, RH = 50%]

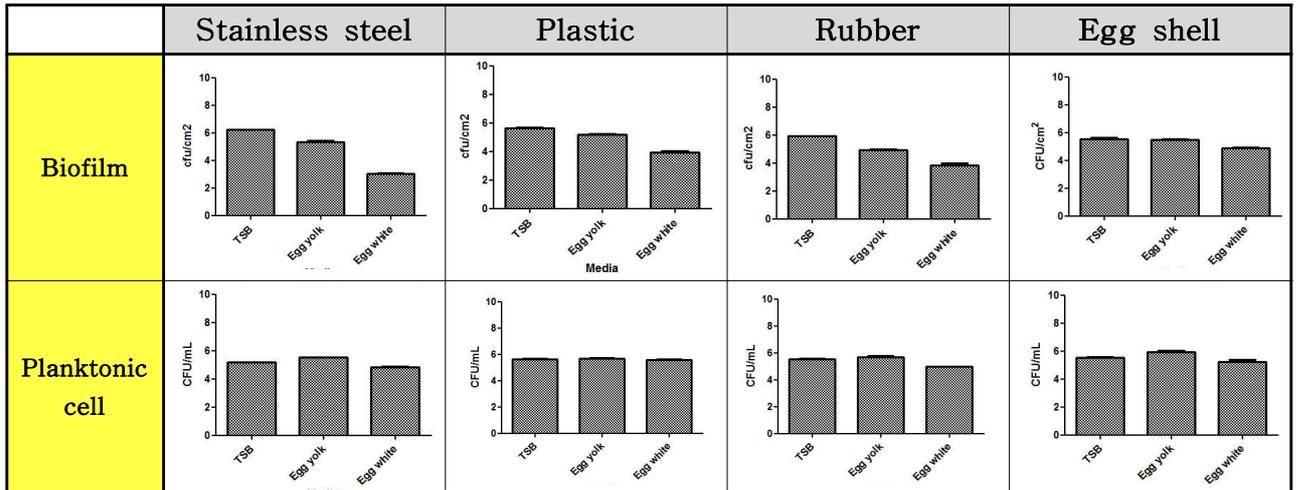


표 45 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [10 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	TSB	6.23±0.02	5.18±0.04
		Egg yolk	5.36±0.16	5.52±0.03
		Egg white	3.01±0.15	4.82±0.11
	Plastic	TSB	5.65±0.03	5.61±0.16
		Egg yolk	5.18±0.06	5.71±0.09
		Egg white	3.92±0.20	5.58±0.08
	Rubber	TSB	5.91±0.07	5.51±0.13
		Egg yolk	4.92±0.12	5.69±0.20
		Egg white	3.85±0.23	5.00±0.00
	Egg shell	TSB	5.55±0.11	5.53±0.13
		Egg yolk	5.49±0.07	5.92±0.16
		Egg white	4.90±0.06	5.25±0.23

- *Pseudomonas aeruginosa* 균은 10 °C에서 TSB > Egg yolk > Egg white 순으로 바이오필름 형성능을 보였음.

- 재질 및 배지의 영향보다 온도 (10 °C)의 영향을 크게 받는 모습을 보였음.

- 결론적으로, *Pseudomonas aeruginosa* 균주는 10 °C에서 4 ~ 5 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도로 37 °C 및 상온에 비하여 낮은 수치를 보였음. 그러나 10 °C의 환경에서도 충분히 현상에서의 2차 오염 가능성이 있다고 판단되어짐.

9) *Listeria monocytogenes*

표 46 *Listeria monocytogene* 균의 10 °C 온도에서의 재질 및 배지 별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [10 °C, RH = 50%]

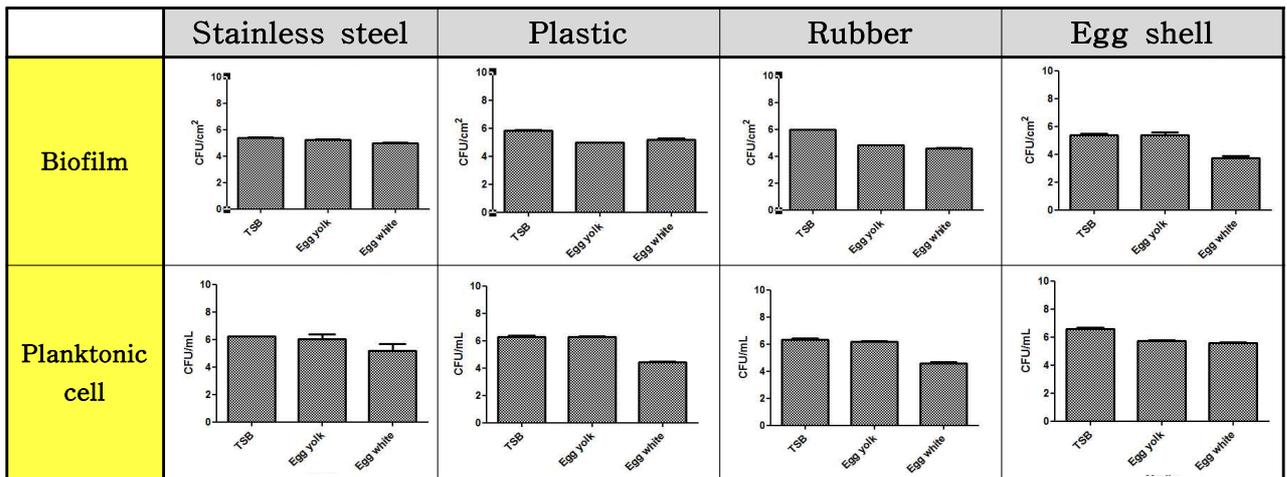


표 47 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [10 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Listeria monocytogene</i>	Stainless steel	TSB	5.41±0.00	6.24±0.01
		Egg yolk	5.25±0.03	6.04±0.49
		Egg white	4.98±0.08	5.21±0.85
	Plastic	TSB	5.84±0.05	6.29±0.16
		Egg yolk	4.98±0.00	6.30±0.03
		Egg white	5.17±0.13	4.43±0.05
	Rubber	TSB	5.98±0.02	6.29±0.16
		Egg yolk	4.85±0.01	6.30±0.03
		Egg white	4.58±0.05	4.43±0.05
	Egg shell	TSB	5.39±0.21	6.59±0.14
		Egg yolk	5.37±0.38	5.73±0.12
		Egg white	3.68±0.16	5.59±0.05

- *Listeria monocytogene* 균은 10 °C에서 TSB > Egg yolk > Egg white 순으로 바이오필름 형성능을 보였음.

- 전체적으로 근소한 바이오필름 형성능을 보였으며, 재질 및 배지의 영향보다 온도 (10 °C)의 영향을 크게 받는 모습을 보였음.

- 결론적으로 *Listeria monocytogene* 균주는 10 °C에서 4 ~ 5 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도로 37 °C 및 상온에 비하여 낮은 수치를 보였음. 그러나 10 °C의 환경에서도 충분히 현장에서의 2차 오염 가능성이 있다고 판단되어짐.

10) *Cronobacter sakazakii*

표 48 *Cronobacter sakazakii* 균의 10 °C 온도에서의 재질 및 배지별 바이오필름 형성능과 부유세균 비교 [10 °C, RH = 50%]

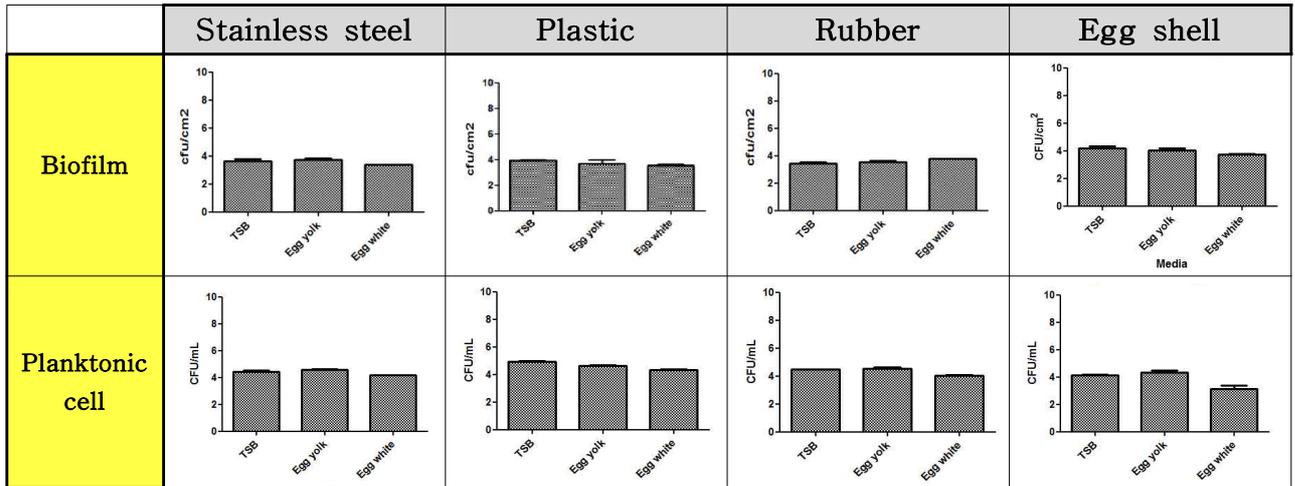


표 49 재질과 배지에 따른 바이오필름 형성능과 부유세균 수치 [10 °C, RH = 50%]

Materials		Media	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Stainless steel	TSB	3.65±0.32	4.42±0.19
		Egg yolk	3.73±0.14	4.61±0.04
		Egg white	3.39±0.01	4.16±0.08
	Plastic	TSB	3.92±0.16	4.93±0.05
		Egg yolk	3.68±0.52	4.62±0.13
		Egg white	3.55±0.22	4.31±0.16
	Rubber	TSB	3.45±0.11	4.46±0.04
		Egg yolk	3.55±0.03	4.53±0.20
		Egg white	4.02±0.31	4.03±0.08
	Egg shell	TSB	4.19±0.27	4.13±0.19
		Egg yolk	4.04±0.25	4.32±0.36
		Egg white	3.73±0.14	3.14±0.44

- *Cronobacter sakazakii* 균은 10 °C에서 배지간의 바이오필름 형성능 차이가 관찰되지 않았고 다른 균들의 비하여 상대적으로 낮은 바이오필름 형성능을 관찰할 수 있었음.

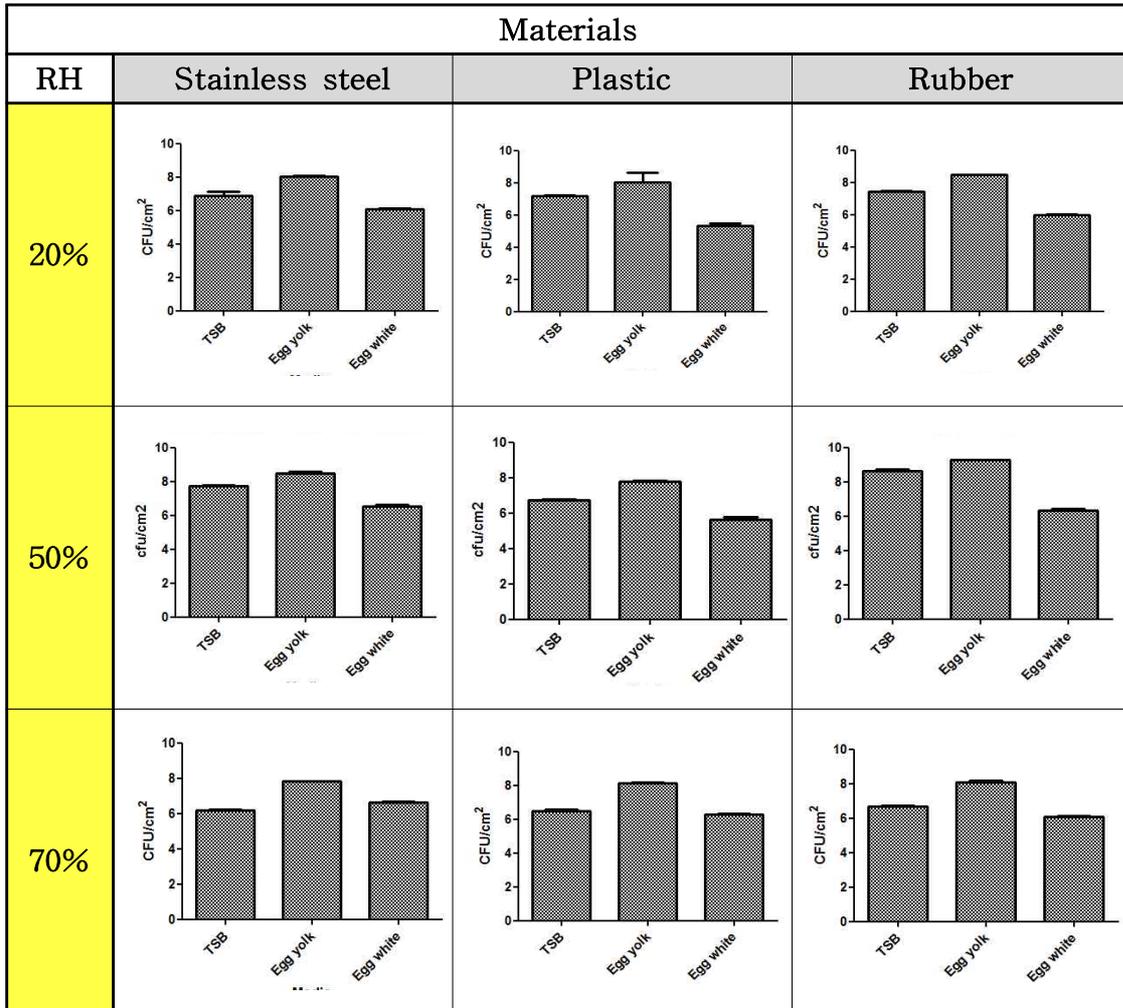
- 재질 및 배지의 영향보다 온도 (10 °C)의 영향을 크게 받는 모습을 보였음.

- 결론적으로 *Cronobacter sakazakii* 균주는 10 °C에서 4 log CFU/cm<sup>2</sup> 정도로 37 °C 및 상온에 비하여 낮은 수치를 보였음. 그러나 10 °C의 환경에서도 충분히 현장에서의 2차 오염 가능성이 있다고 판단되어짐.

(다) 상대습도별 주요 식중독균과 부패세균의 생육특성 및 바이오필름 형성능

1) *Pseudomonas aeruginosa* - 37 °C

표 50 습도별 바이오필름 형성능 비교



- *Pseudomonas aeruginosa* 균의 상대습도조건에 따른 바이오필름 형성능을 관찰한 결과, 상대습도와 바이오필름 형성능 간의 뚜렷한 상관관계를 찾지 못했음.

- 이로 미뤄보아 액체 형태의 Egg yolk, Egg White와 TSB 때문에 환경의 상대습도는 바이오필름 형성능에 영향력을 주지 못하는 것으로 판단되어짐.

## 2. 알 원료 및 가공품 중 바이오필름 형성능 탐색 및 비가열 제어법 연구

가. 알 원료 및 가공품의 보관환경 특성별 바이오필름 생존력 탐색

(1) 실험조건

- 균주: *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*

- 온도: 25 °C

- 저장기간: 35 일

- 상대습도: 50 %

(2) 실험방법

- 해당 균주를 풀어 24시간 배양하여 준비.
- Microplate reader를 돌려 흡광도 측정 후 접종 량 결정.
- 일반배지 (TSB)가 10 mL 씩 담긴 멸균튜브에 균 접종.
- 균이 접종된 튜브에 멸균된 재질을 투입하여 최적온도에서 24시간 배양.
- 배양 후 재질을 수거하여 멸균수에 2회 세척으로 부유세균 제거.
- 각 재질을 멸균된 플레이트에 옮겨 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35 일 동안 저장.
- pw가 담긴 플레이트에 재질을 얹 뒤 60초간 scrubbing하여 바이오필름 추출.
- 추출된 바이오필름 희석 및 선택배지 접종 & 도말하여 결과확인 및 분석.

(3) 실험결과

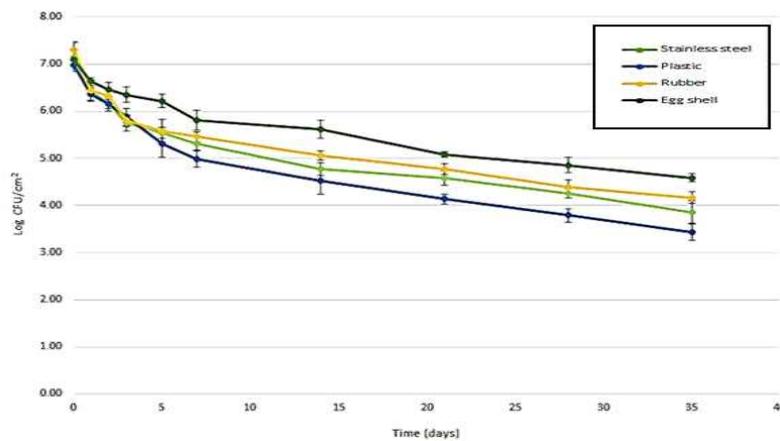


그림 37 35일간 각 재질별 *Salmonella Typhimurium*의 바이오필름 생존력 평가

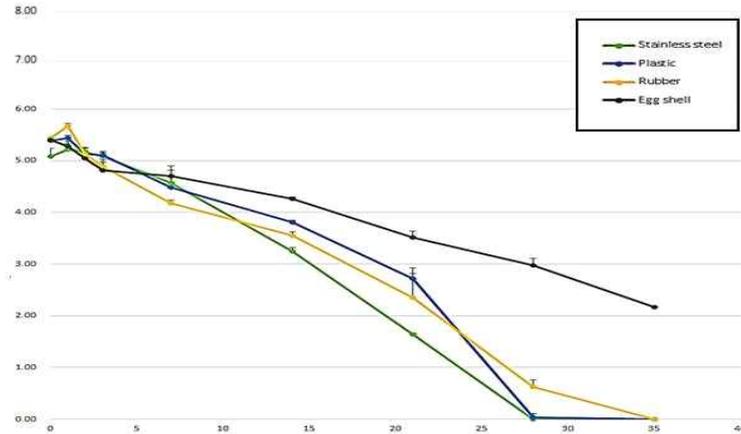


그림 38 35일간 각 재질별 *Listeria monocytogenes*의 바이오필름 생존력 평가

- *S. Typhimurium* 과 *L. monocytogenes* 두 균주 모두 모든 재질에서 25일 이상 생존력을 보임.
- 두 균주 모두 egg shell의 바이오필름 형성능이 가장 높은 수치를 나타냄.
- *S. Typhimurium*의 경우 35일까지 모든 재질에서 3 log CFU/cm<sup>2</sup> 이상 바이오필름이 잔존하며, *L. monocytogenes*의 경우 생존력이 상대적으로 낮음.

나. 알 원료 및 가공품 중 바이오필름의 단독/복합 처리에 의한 최적 저감화 조건 설정

(1) 실험조건

- 균주: *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*
- 재질: stainless steel, plastic, rubber, egg shell (크기: 2 cm x 2 cm)
- 온도: 37 °C (단 *L. monocytogenes*의 경우 30 °C)
- 형성시간: 24 h
- 상대습도: 50 %
- 물리적 처리: UV (0, 300, 600, 1200, 1800, 2400, 3600 mWs/cm<sup>2</sup>)  
PEF (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240 sec)  
γ-ray (0, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 kGy)
- 화학적 처리: Ethanol (0, 25, 35, 50, 70 %)  
NaOCl (0, 50, 100, 300, 500, 700, 1000 ppm)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0, 5000, 10000, 15000, 20000 ppm)

CaO (0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.30 %)

- 복합처리: UV/NaOCl (0, 300, 600, 1200, 1800 mWs/cm<sup>2</sup> / 0, 50, 100, 150, 200 ppm)  
UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0, 300, 600, 1200, 1800 mWs/cm<sup>2</sup> / 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 %)

(2) 실험방법 - 바이오필름

- 해당 균주를 풀어 24시간 배양하여 준비.
- Microplate reader를 돌려 흡광도 측정 후 접종 량 결정.
- 일반배지 (TSB)가 10 mL 씩 담긴 멸균튜브에 균 접종.
- 균이 접종된 튜브에 멸균된 재질을 투입하여 최적온도에서 24시간 배양.
- 배양 후 재질을 수거하여 멸균수에 2회 세척으로 부유세균 제거.
- 해당시간동안 물리적/화학적 처리(용액 10 ml에 재질 투입).
- pw가 담긴 플레이트에 재질을 앞 뒤 60초간 scrubbing하여 바이오필름 추출.
- 추출된 바이오필름 희석 및 선택배지 접종 & 도말하여 결과확인 및 분석.

(3) 실험방법 - 부유세균

- 해당 균주를 풀어 24시간 배양하여 준비.
- Microplate reader를 돌려 흡광도 측정 후 접종 량 결정.
- 균이 접종된 튜브에 멸균된 재질을 투입하여 최적온도에서 24시간 배양.
- 배양 후 재질을 제거하여 부유세균 추출.
- 추출된 부유세균 (500 μl)을 해당시간동안 물리적/화학적 처리(4.5 ml).
- 처리된 부유세균 희석 및 선택배지 접종 & 도말하여 결과확인 및 분석.

(4) 실험결과

(가) 물리/화학/친환경적 단일처리에 의한 바이오필름 저감화 연구

1) *Salmonella* Enteritidis

표 51 UV 처리에 따른 *Salmonella* Enteritidis 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

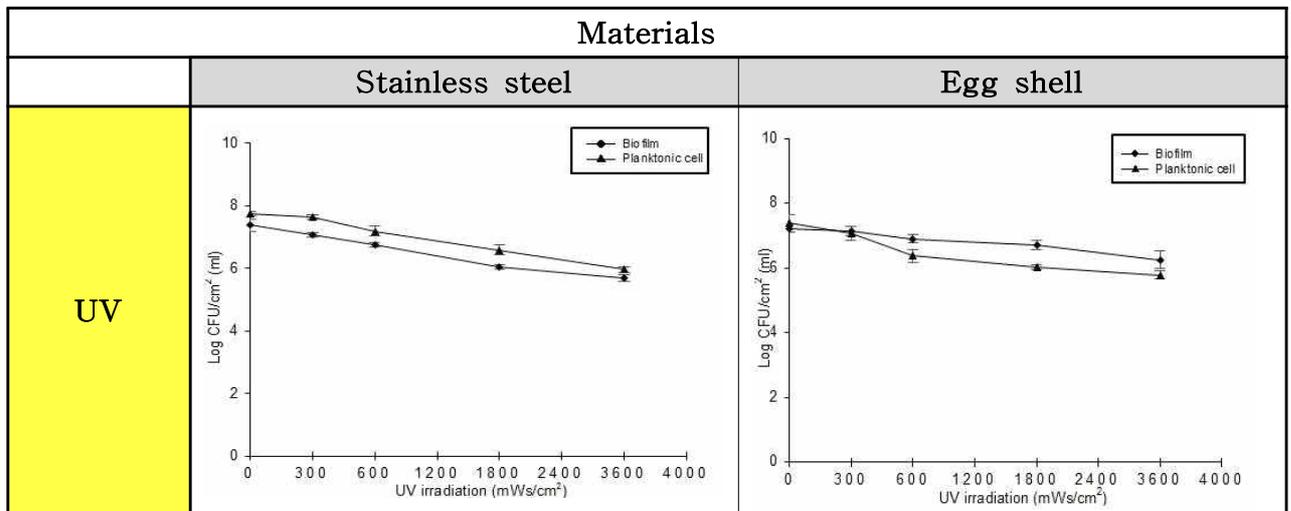


표 52 UV 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		irradiation dosage (mWs/cm <sup>2</sup> )	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	0	7.38±0.20	7.75±0.07
		300	7.08±0.07	7.64±0.06
		600	6.75±0.07	7.19±0.17
		1800	6.05±0.07	6.59±0.16
		3600	5.70±0.11	5.97±0.09
	Egg shell	0	7.22±0.13	7.39±0.27
		300	7.15±0.15	7.07±0.21
		600	6.91±0.13	6.37±0.20
		1800	6.71±0.14	6.02±0.08
		3600	6.26±0.26	5.79±0.12

- Stainless steel의 경우 최대 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름과 부유세균이 각각 1.68 log, 1.78 log 감소하였고, 부유세균보다 바이오필름이 높은 저항성을 보였음.

- Egg shell의 경우 최대 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름과 부유세균이 각각 0.96 log, 1.60 log 감소하였고, 부유세균보다 바이오필름이 높은 저항성을 보였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 UV처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리 후에도 1 log (90%) 정도의 감소로 미미한 살균효과를 보였음.

표 53 Gamma irradiation 처리에 따른 *Salmonella* Enteritidis 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

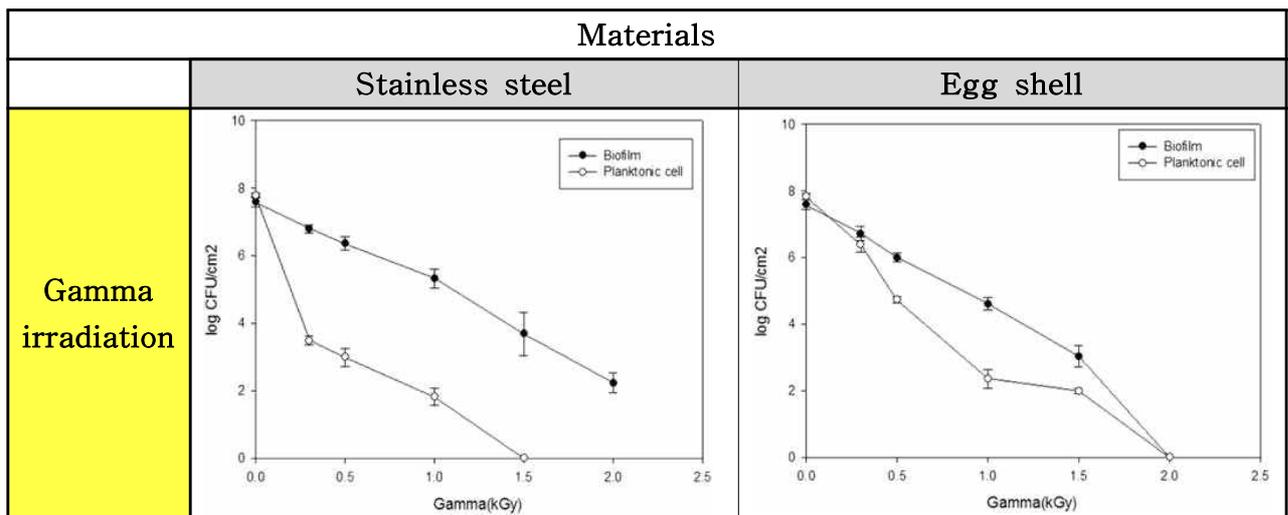


표 54 Gamma irradiation 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Irradiation (kGy)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	0	7.59±0.15	7.78±0.07
		0.3	6.80±0.12	3.48±0.13
		0.5	6.35±0.20	2.98±0.27
		1.0	5.32±0.29	1.81±0.25
		1.5	3.68±0.64	ND
		2.0	2.22±0.29	ND
	Egg shell	0	7.59±0.15	7.83±0.10
		0.3	6.72±0.21	6.39±0.23
		0.5	6.00±0.13	4.73±0.09
		1.0	4.61±0.18	2.36±0.28
		1.5	3.02±0.32	1.98±0.07
		2.0	ND	ND

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 1 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 gamma irradiation 2.0 kGy 처리시 바이오필름이 5.37 log 감소하였고, 부유세균의 경우 1.5 kGy 이상에서 불검출 되었음.
- Egg shell의 경우 gamma irradiation 최대 2.0 kGy 처리시 바이오필름과 부유세균 모두 불검출 되었음.
- 결론적으로, 두 가지 재질에서 모두 부유세균보다 바이오필름이 gamma irradiation 처리

에 대한 저항성이 높았으며, 1.5 kGy 처리시 3 log (99.9%), 4 log (99.99%) 바이오필름 살균효과를 보였음.

표 55 NaOCl 처리에 따른 *Salmonella* Enteritidis 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

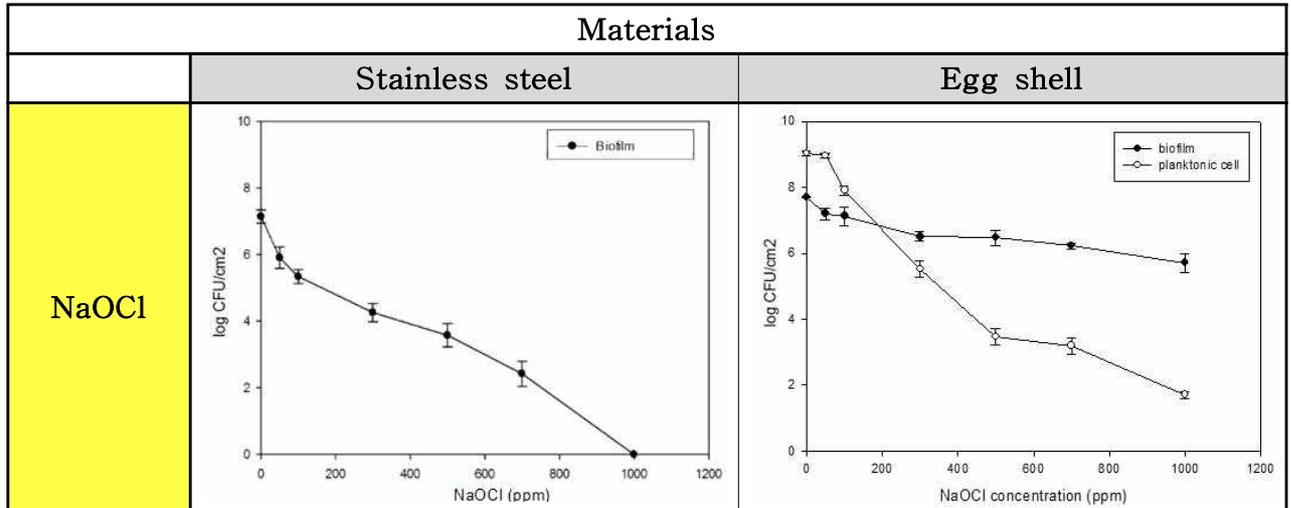


표 58 NaOCl 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	0	7.14±0.19	-
		50	5.90±0.33	-
		100	5.34±0.21	-
		300	4.26±0.28	-
		500	3.57±0.35	-
		700	2.42±0.38	-
		1000	ND	-
	Egg shell	0	7.70±0.07	9.03±0.08
		50	7.20±0.18	8.96±0.06
		100	7.13±0.29	7.91±0.14
		300	6.51±0.14	5.52±0.26
		500	6.48±0.23	3.47±0.25
		700	6.23±0.09	3.20±0.25
		1000	5.71±0.29	2.02±0.11

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 2 log CFU/ml

- Stainless steel에 형성된 바이오필름의 경우 NaOCl 700 ppm 처리시 4.72 log 감소하였고, 최대 1000 ppm 처리시 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 NaOCl 1000 ppm 처리시 바이오필름이 1.99 log, 부유세균이 7.01 log 감소하였음.

- 결론적으로, Stainless steel보다 egg shell의 바이오필름이 강한 저항성을 가지며, 700ppm 처리시 1 log (90%), 4 log (99.99%) 바이오필름 살균효과를 보였음.

표 57 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 *Salmonella* Enteritidis 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

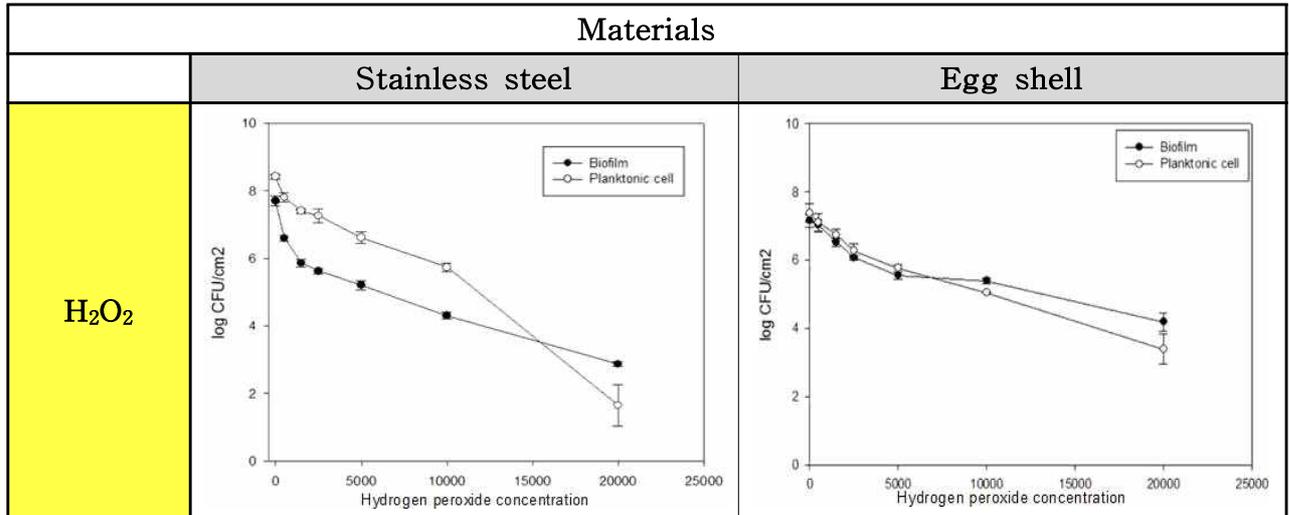


표 58 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	0	7.70±0.16	8.42±0.07
		500	6.60±0.07	7.80±0.13
		1500	5.86±0.11	7.40±0.06
		2500	5.62±0.08	7.26±0.21
		5000	5.21±0.14	6.61±0.17
		10000	4.30±0.09	5.74±0.12
		20000	2.87±0.06	1.65±0.60
	Egg shell	0	7.15±0.19	7.39±0.27
		500	7.02±0.15	7.10±0.26
		1500	6.52±0.12	6.75±0.15
		2500	6.07±0.08	6.28±0.20
		5000	5.55±0.12	5.77±0.11
		10000	5.40±0.08	5.05±0.01
		20000	4.18±0.27	3.39±0.44

- Stainless steel의 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20000 ppm 처리시 바이오필름이 4.83 log, 부유세균이 6.77 log 감소하였음.

- Egg shell의 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20000 ppm 처리시 바이오필름이 3.00 log, 부유세균이 4.00 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 20000 ppm 처리시 3 log (99.9%), 4 log (99.99%) 바이오필름 살균효과를 보였음.

표 59 CaO 처리에 따른 *Salmonella* Enteritidis 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

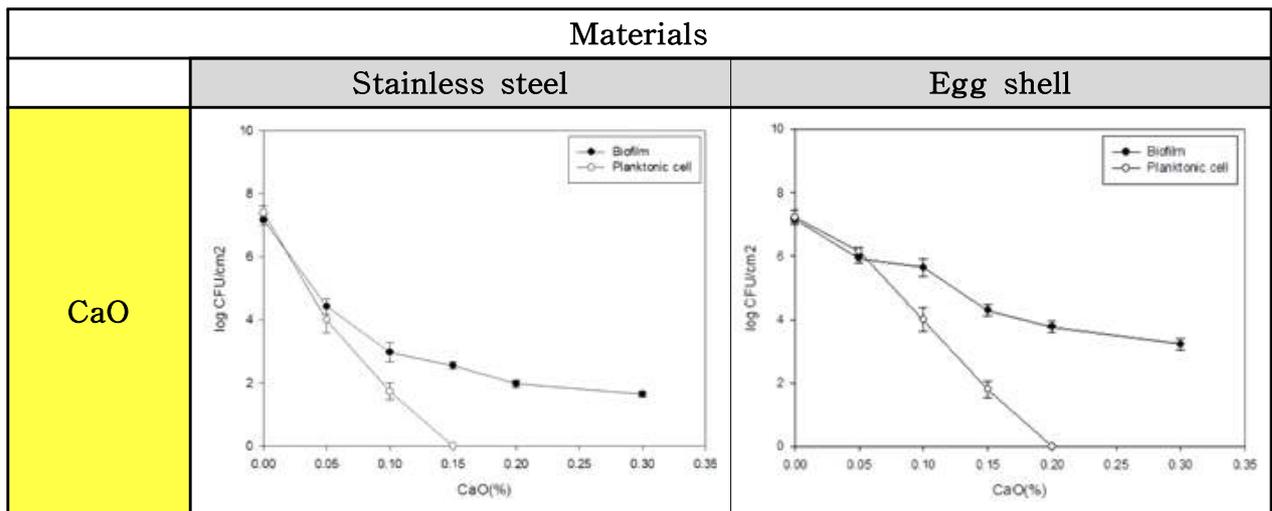


표 60 CaO 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (%)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stainless steel	0	7.17±0.17	7.39±0.21
		0.05	4.43±0.24	4.00±0.41
		0.10	2.97±0.30	1.73±0.26
		0.15	2.55±0.11	ND
		0.20	1.97±0.11	ND
		0.30	1.64±0.09	ND
	Egg shell	0	7.16±0.10	7.22±0.22
		0.05	5.93±0.13	6.14±0.14
		0.10	5.64±0.27	3.99±0.38
		0.15	4.29±0.19	1.79±0.25
		0.20	3.77±0.17	ND
		0.30	3.23±0.18	ND

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 CaO 0.30% 처리시 바이오필름이 5.53 log 감소하였고, 부유세균은 0.15% 농도부터 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 CaO 0.30% 처리시 바이오필름이 3.93 log 감소하였고, 부유세균은 0.15% 이후 불검출 되었음.

- 결론적으로, 두 가지 재질에서 0.15% 이후에 부유세균은 불검출 되었으며, 바이오필름의 경우 최대 0.30% 처리시 3 log (99.9%), 5 log (99.999%) 살균효과를 보였음.

2) *Salmonella* Typhimurium

표 61 UV 처리에 따른 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

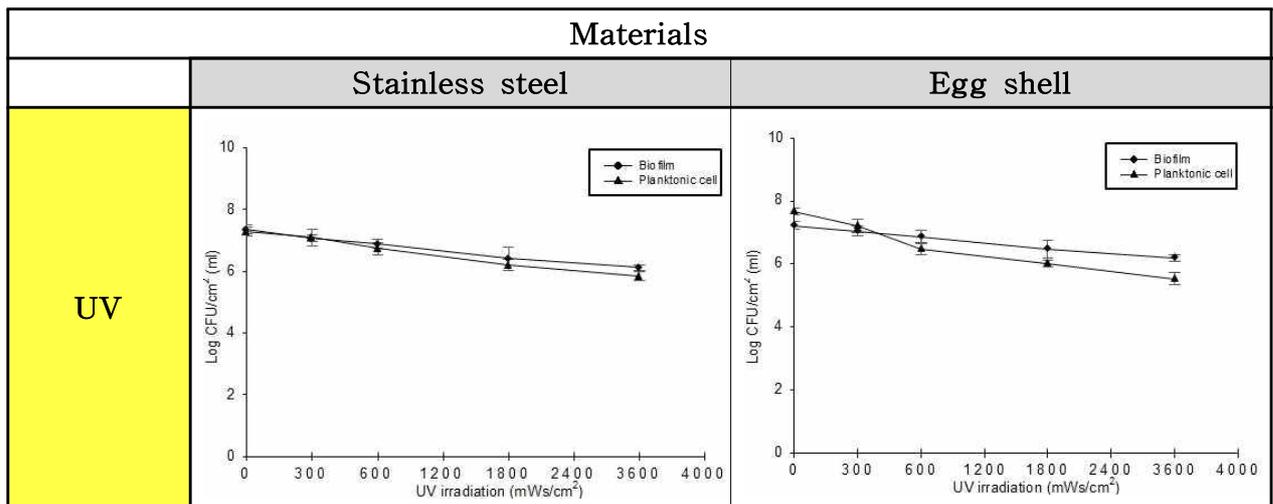


표 62 UV 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		irradiation dosage (mWs/cm <sup>2</sup> )	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	0	7.36±0.16	7.29±0.14
		300	7.07±0.11	7.09±0.28
		600	6.88±0.15	6.73±0.20
		1800	6.41±0.37	6.21±0.17
		3600	6.12±0.09	5.84±0.15
	Egg shell	0	7.22±0.13	7.66±0.11
		300	7.05±0.16	7.22±0.21
		600	6.86±0.20	6.47±0.17
		1800	6.46±0.28	6.02±0.11
		3600	6.19±0.10	5.54±0.19

- Stainless steel의 경우 UV 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름이 1.24 log 감소하였고, 부유세균은 1.45 log 감소하였음.

- Egg shell의 경우 UV 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름이 1.03 log 감소하였고, 부유세균은 2.12 log 감소하였음.

- 최대 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 두 가지 재질에서 바이오필름 및 부유세균이 1 log (90%) 정도의 감소를 보였으며, egg shell 부유세균은 2 log (99%) 살균효과를 보였음. 결론적으로, UV처리는 살균효과가 미미한 것으로 보여짐.

표 63 Pulsed Electric Field (PEF) 처리에 따른 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

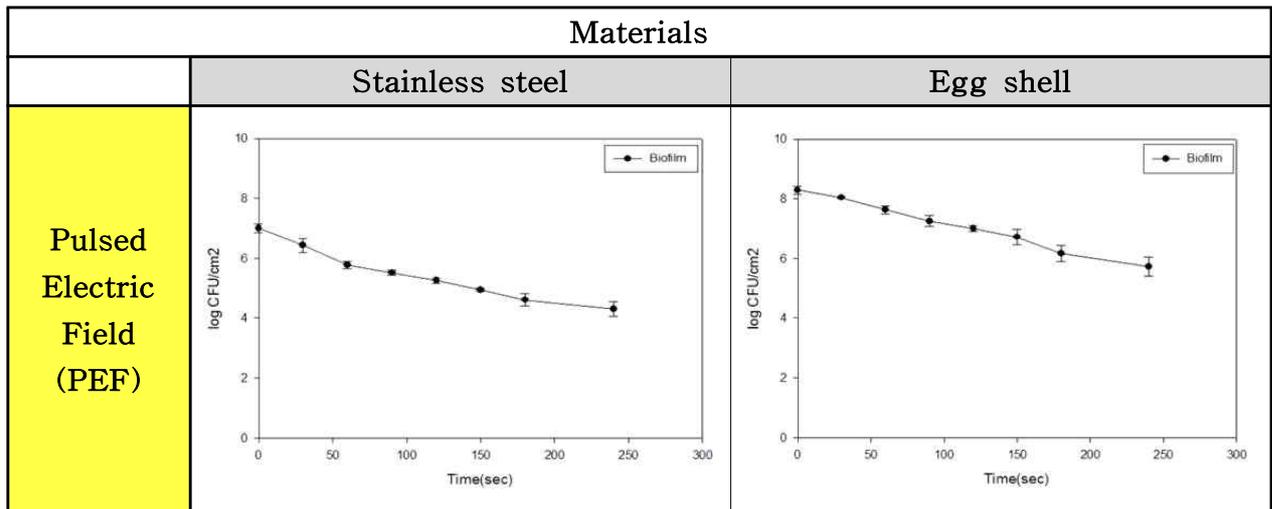


표 64 Pulsed Electric Field (PEF) 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Time (sec)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	0	7.00±0.15	-
		30	6.43±0.23	-
		60	5.77±0.12	-
		90	5.52±0.08	-
		120	5.25±0.08	-
		150	4.95±0.06	-
		180	4.61±0.21	-
		240	4.31±0.25	-
	Egg shell	0	8.29±0.13	-
		30	8.04±0.03	-
		60	7.63±0.12	-
		90	7.25±0.18	-
		120	7.01±0.10	-
		150	6.72±0.25	-
	180	6.17±0.27	-	
	240	5.73±0.32	-	

- Stainless steel의 경우 PEF 240 sec 처리시 2.69 log, egg shell의 경우 2.56 log 감소하였음.

- 모든 처리군 (30, 60, 90, 120, 150, 180, 240 sec)에서 stainless steel 보다 egg shell에 형성된 *S. Typhimurium* biofilm cell count가 더 높게 나타남.
- 결론적으로, 최대 240 sec 처리에서 바이오필름이 2 log (99%) 의 살균효과를 보였음.

표 65 Ethanol 처리에 따른 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

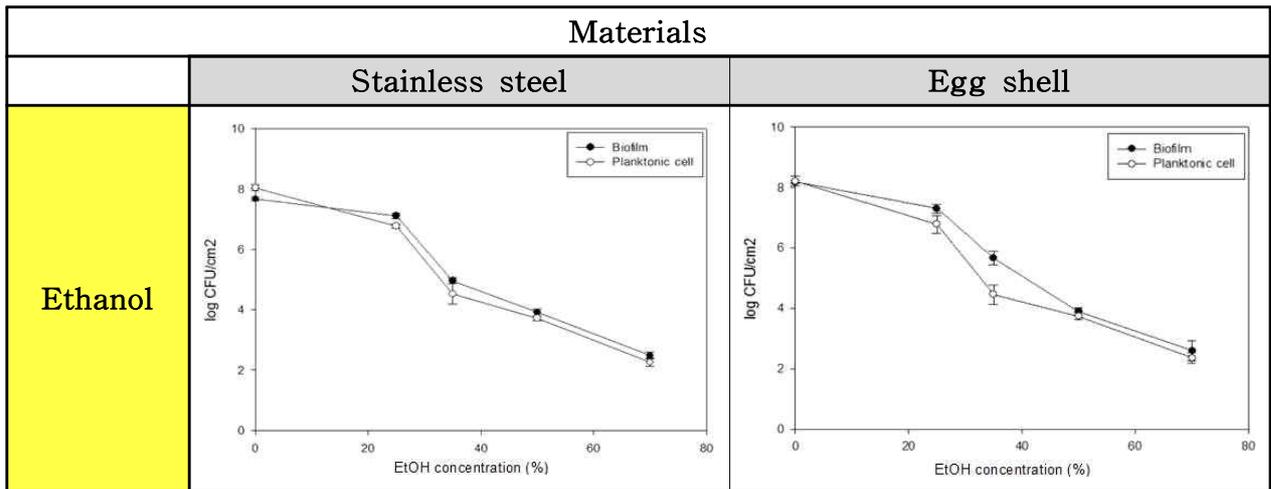


표 66 Ethanol 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (%)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	0	7.67±0.08	8.04±0.11
		25	7.11±0.09	6.77±0.07
		35	4.96±0.10	4.52±0.34
		50	3.91±0.12	3.72±0.07
		70	2.48±0.12	2.26±0.13
	Egg shell	0	8.19±0.05	8.21±0.16
		25	7.31±0.15	6.78±0.29
		35	5.66±0.23	4.46±0.32
		50	3.90±0.11	3.73±0.11
		70	2.60±0.33	2.35±0.17

- Stainless steel의 경우 Ethanol 70% 처리시 바이오필름이 5.19 log, 부유세균이 5.78 log 감소하였음.
- Egg shell의 경우 Ethanol 70% 처리시 바이오필름이 5.59 log, 부유세균이 5.86 log 감소하였음.
- 결론적으로, Ethanol 70% 처리시 두 재질 모두 5 log (99.999%) 이상 감소하는 살균효과를 보였으며, 부유세균보다 바이오필름의 저항성이 더 높게 나타남.

표 67 NaOCl 처리에 따른 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

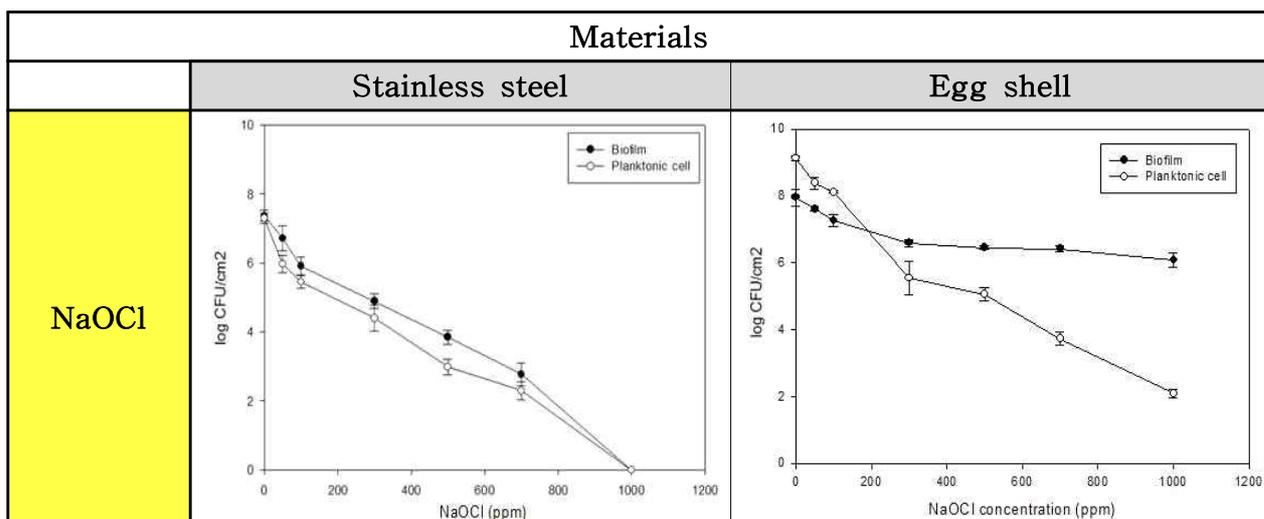


표 68 NaOCl 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	0	7.36±0.16	7.29±0.14
		50	6.72±0.37	5.97±0.25
		100	5.92±0.27	5.45±0.18
		300	4.89±0.22	4.40±0.37
		500	3.85±0.21	2.98±0.23
		700	2.77±0.32	2.29±0.27
		1000	ND	ND
	Egg shell	0	7.95±0.26	9.13±0.07
		50	7.61±0.07	8.39±0.18
		100	7.26±0.17	8.11±0.04
		300	6.59±0.10	5.54±0.39
		500	6.45±0.05	5.05±0.20
		700	6.41±0.09	3.73±0.19
		1000	6.08±0.21	2.09±0.14

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 NaOCl 700 ppm 이상 처리시 바이오필름과 부유세균 모두 불검출되었음.

- Egg shell의 경우 NaOCl 700 ppm 처리시 바이오필름이 1.87 log, 부유세균이 7.04 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 NaOCl 처리에 대한 저항성이 높고, 700 ppm 처리시 바이오필름이 1 log (90%) 감소 및 완전사멸의 효과가 보여짐.

표 69 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

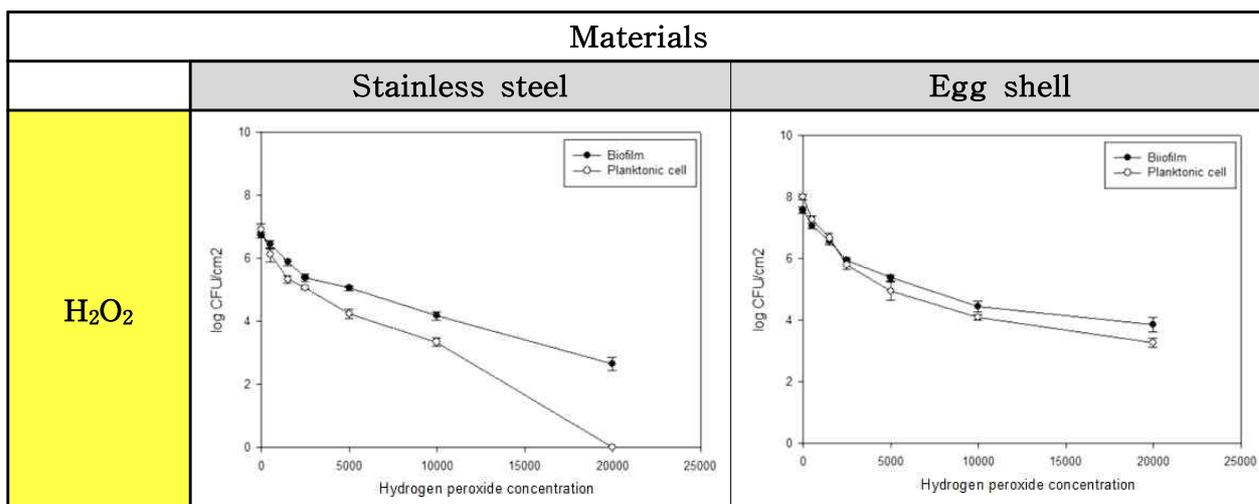


표 70 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	0	6.73±0.09	6.91±0.17
		500	6.45±0.13	6.12±0.22
		1500	5.88±0.09	5.33±0.11
		2500	5.40±0.13	5.06±0.03
		5000	5.05±0.08	4.24±0.15
		10000	4.18±0.14	3.34±0.13
		20000	2.65±0.21	ND
	Egg shell	0	7.58±0.11	8.00±0.10
		500	7.07±0.09	7.26±0.13
		1500	6.57±0.12	6.67±0.17
		2500	5.94±0.11	5.80±0.16
		5000	5.38±0.10	4.95±0.30
		10000	4.44±0.18	4.10±0.08
		20000	3.86±0.24	3.26±0.15

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20000 ppm 처리 이후 바이오필름이 4.08 log 감소하였고, 부유세균은 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20000 ppm 처리 이후 바이오필름이 3.72 log, 부유세균이 4.74 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 대한 저항성이 높았고, 20000 ppm 처리 후 바이오필름이 3 log (99.9%), 4 log (99.99%) 감소하는 살균효

과가 보여짐.

표 71 CaO 처리에 따른 *Salmonella* Typhimurium 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

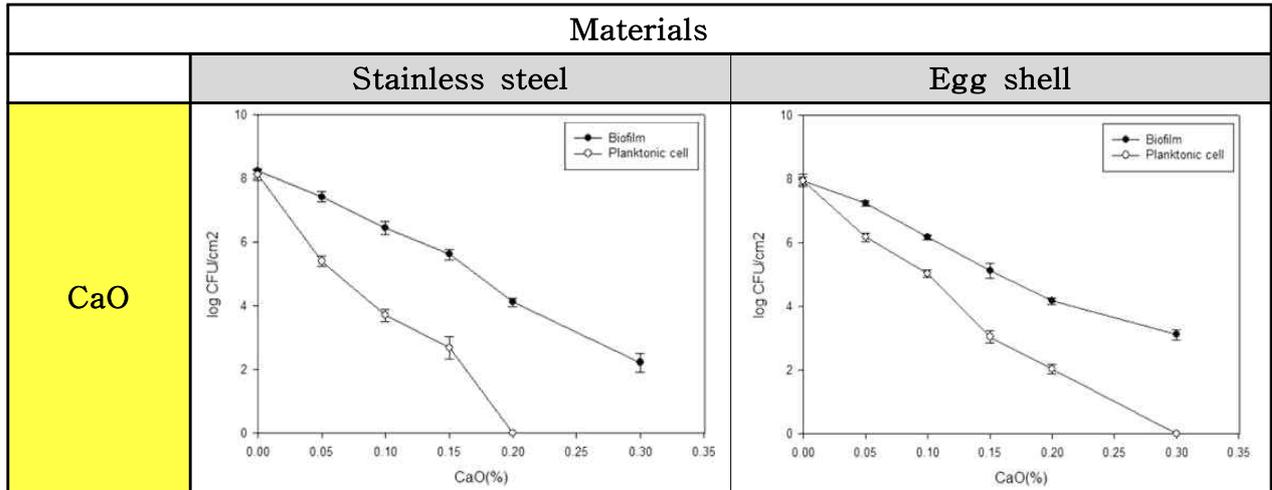


표 72 CaO 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (%)	Biofilm cell count (log CFU/cm²)	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Stainless steel	0	8.23±0.08	8.12±0.16
		0.05	7.42±0.16	5.40±0.17
		0.10	6.44±0.20	3.70±0.20
		0.15	5.62±0.16	2.69±0.35
		0.20	4.11±0.13	ND
		0.30	2.22±0.29	ND
	Egg shell	0	7.96±0.19	7.94±0.11
		0.05	7.25±0.08	6.17±0.13
		0.10	6.17±0.08	5.03±0.12
		0.15	5.12±0.24	3.05±0.18
		0.20	4.18±0.10	2.04±0.15
		0.30	3.87±0.22	ND

ND : < 1 CFU/cm², < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 CaO 0.30% 처리시 바이오필름이 6.01 log 각각 감소하였으며, 부유세균은 0.20% 이상 처리시 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 CaO 0.30% 처리시 바이오필름이 4.09 log 감소하였고, 부유세균은 0.20% 이상 처리시 불검출 되었음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 CaO처리에 대한 저항성이 높았고, 0.30% 처리시 바이오필름이 4 log (99.99%), 6 log (99.9999%) 감소하는 살균효과가

보여짐.

3) *Pseudomonas aeruginosa*

표 73 UV 처리에 따른 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

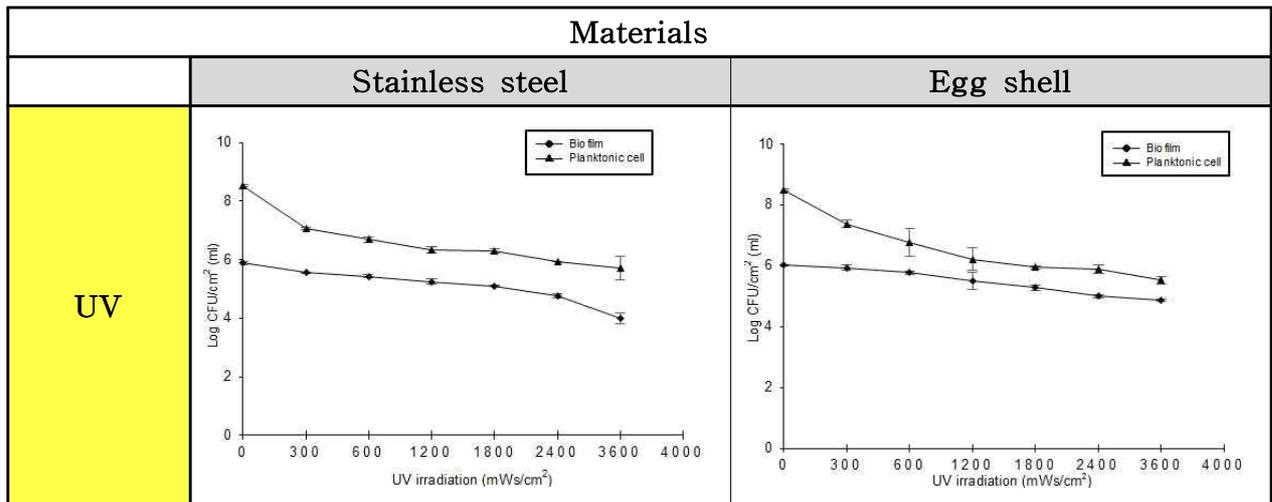


표 74 UV 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		irradiation dosage (sec)	Biofilm cell count (log CFU/cm²)	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	0	5.88±0.04	8.54±0.04
		300	5.55±0.01	7.07±0.03
		600	5.43±0.05	6.69±0.10
		1200	5.24±0.09	6.34±0.11
		1800	5.10±0.02	6.30±0.06
		2400	4.75±0.07	5.93±0.01
		3600	3.99±0.17	5.70±0.40
	Egg shell	0	6.02±0.03	8.49±0.03
		300	5.94±0.09	7.39±0.12
		600	5.78±0.05	6.78±0.47
		1200	5.50±0.28	6.22±0.37
		1800	5.29±0.08	5.96±0.05
		2400	5.00±0.06	5.88±0.14
		3600	4.87±0.04	5.53±0.13

- Stainless steel의 경우 UV 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름이 1.89 log 감소하였고, 부유세균은 2.84 log 감소하였음.

- Egg shell의 경우 UV 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름이 1.15 log 감소하였고, 부유세균은 2.96 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 UV 처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 처리 후 바이오필름의 경우 1 log (90%) 감소로 살균효과가 미미한 것으로 나타남.

표 75 Ethanol 처리에 따른 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

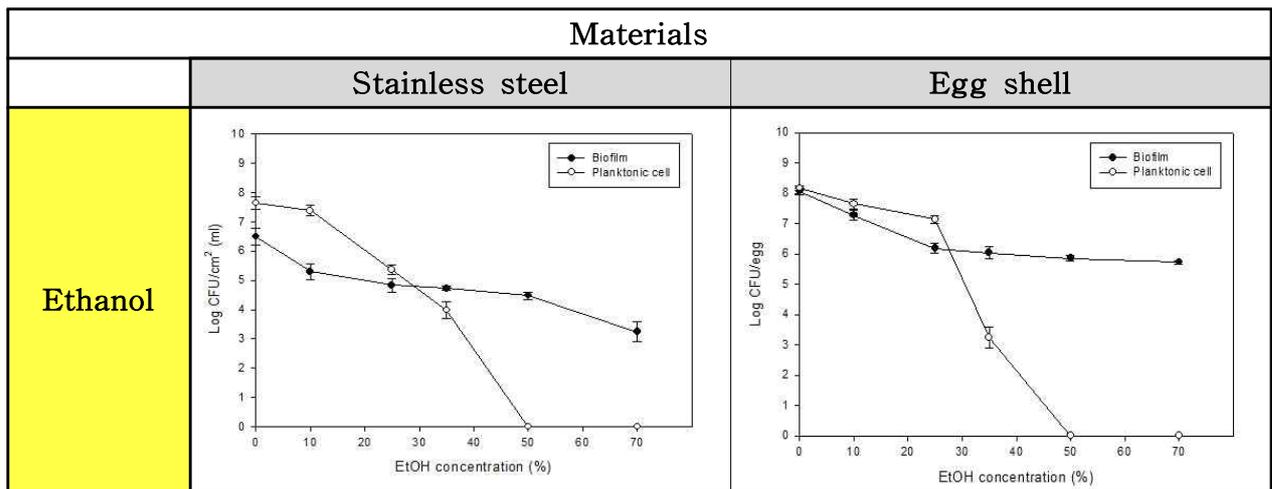


표 76 Ethanol 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (%)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	0	6.50±0.28	7.64±0.21
		10	5.30±0.27	7.38±0.18
		25	4.83±0.24	5.36±0.15
		35	4.73±0.07	3.98±0.28
		50	4.48±0.13	ND
		70	3.24±0.34	ND
	Egg shell	0	8.06±0.10	8.17±0.07
		10	7.28±0.17	7.65±0.17
		25	6.18±0.17	7.14±0.13
		35	6.04±0.21	3.24±0.34
		50	5.86±0.09	ND
		70	5.73±0.05	ND

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 Ethanol 70% 처리시 바이오필름이 3.26 log 감소하였고, 부유세균은 50% 이후부터 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 Ethanol 70% 처리시 바이오필름이 2.33 log 감소하였고, 부유세균은 50% 이후부터 불검출 되었음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 Ethanol 처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 70% 처리 후 바이오필름의 경우 2 log (99%), 3 log (99.9%) 감소로 살균효과가 나타남.

표 77 NaOCl 처리에 따른 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

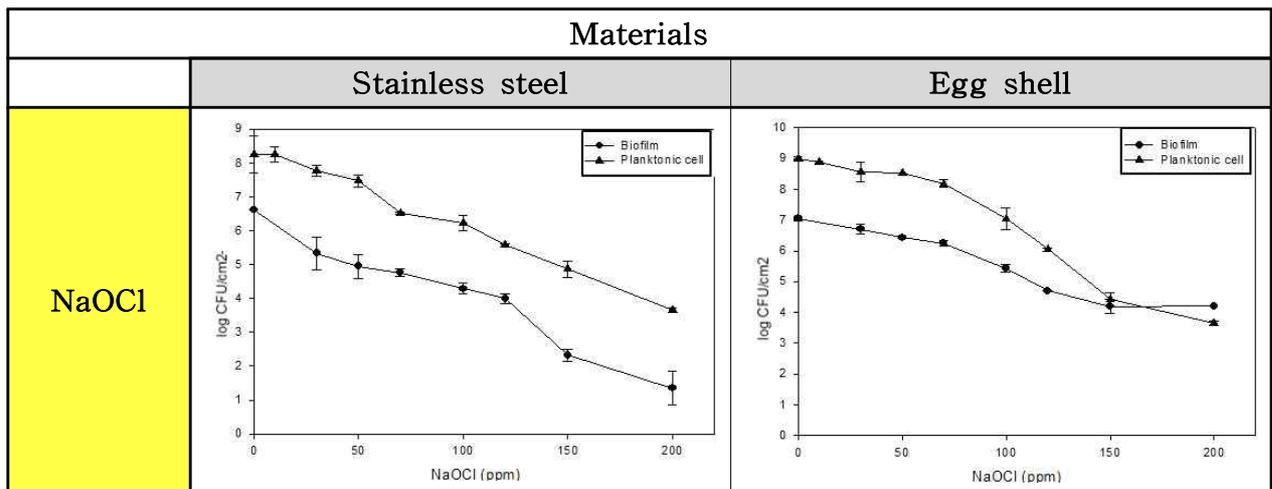


표 78 NaOCl 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	0	6.61±0.01	8.26±0.55
		30	5.34±0.48	7.76±0.16
		50	4.95±0.35	7.47±0.17
		70	4.76±0.10	6.51±0.03
		100	4.28±0.16	6.22±0.23
		120	4.00±0.14	5.57±0.04
		150	2.33±0.17	4.87±0.24
		200	1.35±0.49	3.66±0.06
	Egg shell	0	7.05±0.07	9.00±0.06
		30	6.71±0.15	8.57±0.33
		50	6.43±0.03	8.54±0.00
		70	6.25±0.08	8.19±0.11
		100	5.43±0.14	7.04±0.35
		120	4.70±0.01	6.04±0.06
		150	4.21±0.22	4.43±0.20
		200	4.20±0.00	3.66±0.06

- Stainless steel의 경우 NaOCl 200 ppm 처리시 바이오필름이 5.26 log, 부유세균은 4.66 log 감소하였음.

- Egg shell의 경우 NaOCl 200 ppm 처리시 바이오필름이 2.85 log, 부유세균은 5.34 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 NaOCl 처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 200 ppm 처리 후 바이오필름의 경우 2 log (99%), 5 log (99.999%) 감소하는 살균효과가 나타남.

표 79 CaO 처리에 따른 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

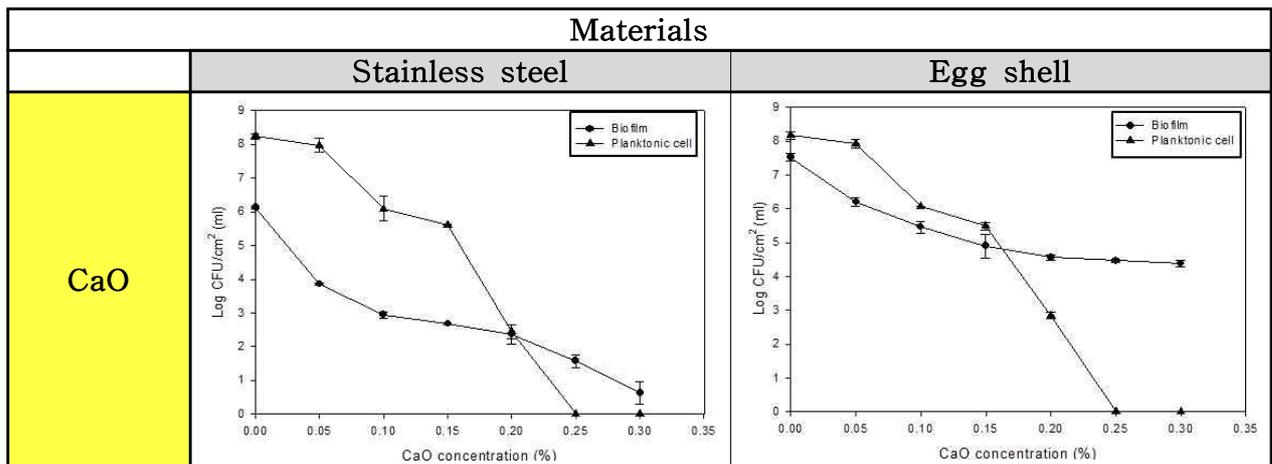


표 80 CaO 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [37 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (%)	Biofilm cell count (log CFU/cm²)	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stainless steel	0	6.12±0.03	8.24±0.07
		0.05	3.86±0.03	7.97±0.20
		0.10	2.94±0.09	6.10±0.36
		0.15	2.68±0.03	5.61±0.04
		0.20	2.36±0.30	2.45±0.21
		0.25	1.57±0.18	ND
		0.30	0.64±0.04	ND
	Egg shell	0	7.52±0.11	8.17±0.11
		0.05	6.20±0.13	7.92±0.13
		0.10	5.46±0.17	6.07±0.01
		0.15	4.90±0.35	5.48±0.12
		0.20	4.56±0.09	2.84±0.09
		0.25	4.47±0.05	ND
		0.30	4.38±0.11	ND

ND : < 1 CFU/cm², < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 CaO 0.30% 처리시 바이오필름이 5.48 log 감소하였고, 부유세균은 0.25% 이상 처리부터 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 CaO 0.30% 처리시 바이오필름이 3.14 log 감소하였고, 부유세균은 0.25% 이상 처리부터 불검출 되었음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 CaO 처리에 대한 저항성이 높았으며, 0.30% 처리 후 바이오필름의 경우 3 log (99.9%), 5 log (99.999%) 감소하는 살균 효과가 나타남.

4) *Listeria monocytogenes*

표 81 UV 처리에 따른 *Listeria monocytogenes* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

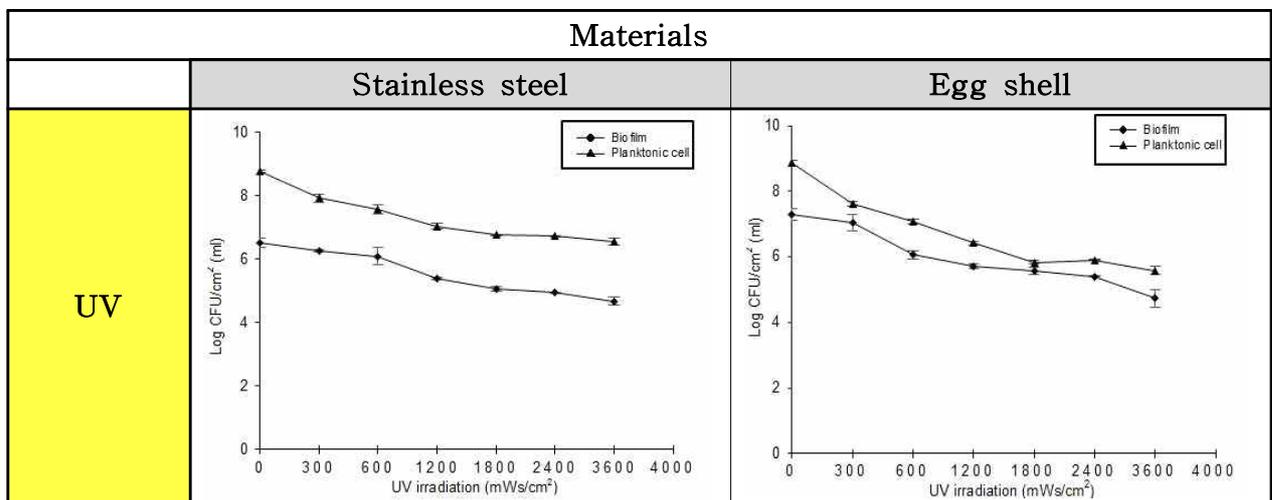


표 82 UV 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [30 °C, RH = 50%]

Materials		irradiation dosage (sec)	Biofilm cell count (log CFU/cm²)	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Stainless steel	0	6.51±0.15	8.77±0.03
		300	6.26±0.04	7.92±0.13
		600	6.10±0.29	7.56±0.15
		1200	5.40±0.03	7.04±0.08
		1800	5.05±0.07	6.76±0.02
		2400	4.94±0.01	6.72±0.03
		3600	4.67±0.13	6.57±0.11
	Egg shell	0	7.28±0.18	8.86±0.08
		300	7.06±0.25	7.61±0.08
		600	6.07±0.12	7.09±0.08
		1200	5.72±0.08	6.42±0.05
		1800	5.58±0.11	5.84±0.05
		2400	5.40±0.02	5.91±0.01
		3600	4.73±0.27	5.58±0.13

- Stainless steel의 경우 UV 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름이 1.84 log 감소하였고, 부유세균은 2.20 log 감소하였음.

- Egg shell의 경우 UV 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름이 2.55 log 감소하였고, 부유세균은 3.28 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 UV 처리에 대한 저항성이 높았으며, 3600 mWs/cm<sup>2</sup> 처리시 바이오필름에서 1 log (90%), 2 log (99%) 감소하는 미미한 살균효과를 나타냄.

표 83 Ethanol 처리에 따른 *Listeria monocytogenes* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

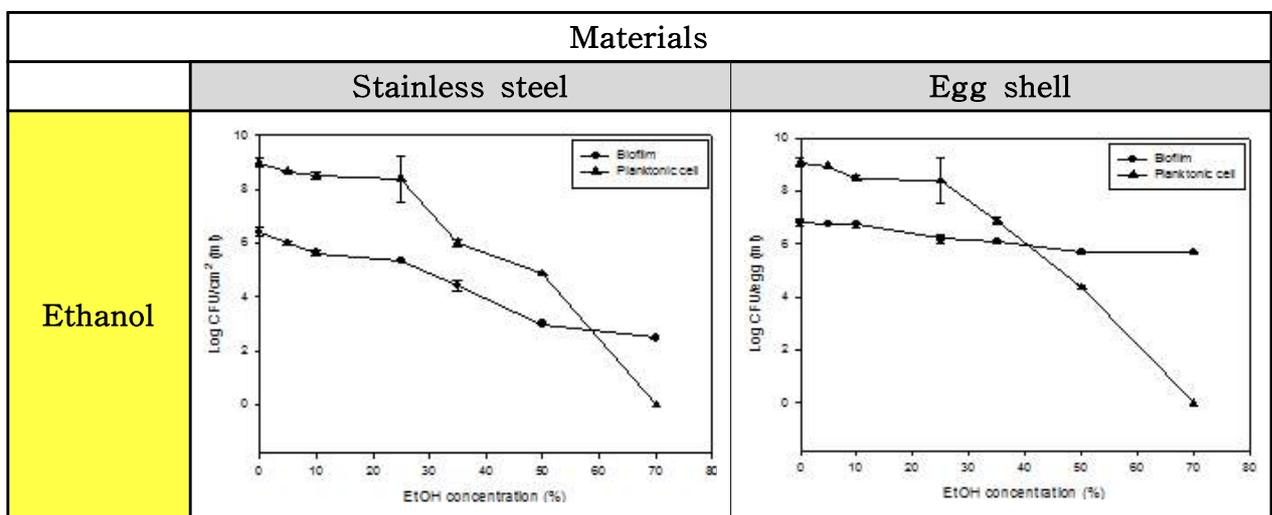


표 84 Ethanol 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [30 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (%)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Stainless steel	0	6.41±0.16	9.00±0.16
		5	6.01±0.06	8.67±0.02
		10	5.63±0.11	8.50±0.13
		25	5.32±0.00	8.39±0.87
		35	4.43±0.19	6.01±0.15
		50	3.00±0.01	4.87±0.04
		70	2.48±0.01	ND
	Egg shell	0	6.80±0.14	9.07±0.16
		5	6.76±0.02	8.94±0.02
		10	6.73±0.08	8.50±0.13
		25	6.20±0.15	8.39±0.87
		35	6.07±0.06	6.88±0.15
		50	5.68±0.06	4.37±0.04
		70	5.68±0.03	ND

ND : < 1 CFU/cm<sup>2</sup>, < 2 log CFU/ml

- Stainless steel의 경우 70% 처리시 바이오필름이 3.93 log 감소하였고, 부유세균은 불검출 되었음.

- Egg shell의 경우 Ethanol 70% 처리시 바이오필름이 1.12 log 감소하였고, 부유세균은 70% 처리시 불검출 되었음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 Ethanol 처리에 대한 저항성이 높았으며, 70% 처리 후 바이오필름의 경우 1 log (90%), 3 log (99.9%) 감소로 살균효과를 나타냄.

표 85 NaOCl 처리에 따른 *Listeria monocytogenes* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

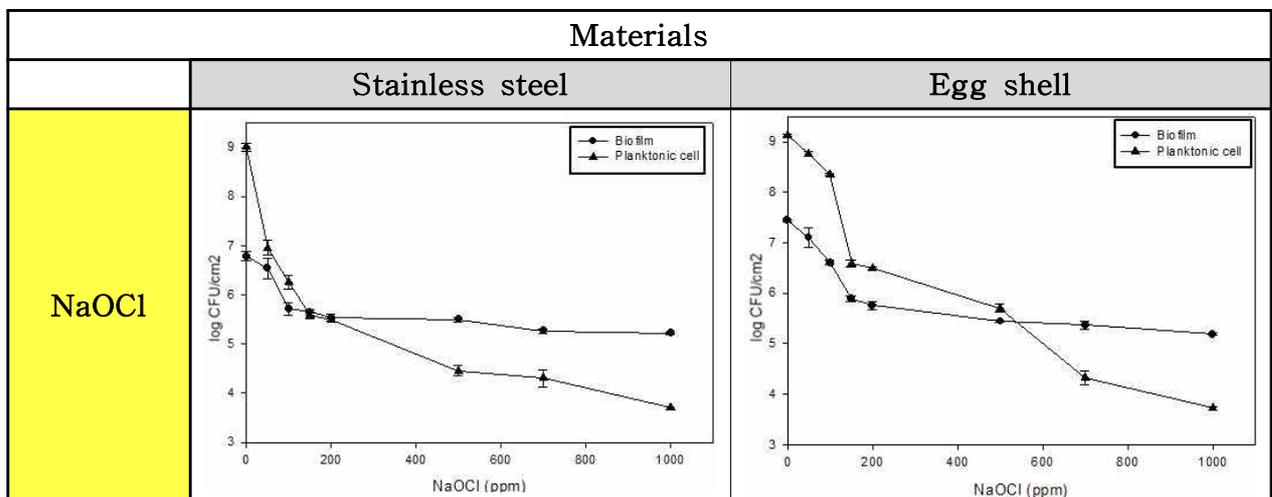


표 86 NaOCl 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치  
[30 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Stainless steel	0	6.78±0.10	9.01±0.08
		50	6.54±0.21	7.73±0.08
		100	5.72±0.12	6.26±0.14
		150	5.64±0.06	5.69±0.07
		200	5.53±0.07	5.48±0.02
		500	5.49±0.04	4.46±0.11
		700	5.27±0.05	4.30±0.17
		1000	5.22±0.02	3.70±0.01
	Egg shell	0	7.44±0.01	9.12±0.02
		50	7.10±0.20	8.76±0.04
		100	6.60±0.04	8.35±0.02
		150	5.89±0.06	6.59±0.07
		200	5.76±0.09	6.49±0.03
		500	5.34±0.16	5.70±0.08
		700	4.96±0.11	4.33±0.14
		1000	4.77±0.02	3.72±0.03

- Stainless steel의 경우 NaOCl 1000 ppm 처리시 바이오필름이 1.56 log 감소하였고, 부유세균은 5.31 log 감소하였음.

- Egg shell의 경우 NaOCl 1000 ppm 처리시 바이오필름이 2.67 log 감소하였고, 부유세균은 5.40 log 감소하였음.

- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 NaOCl 처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 1000 ppm 처리시 바이오필름이 1 log (90%), 2 log (99%) 감소하는 살균효과를 나타냄.

표 87 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 *Listeria monocytogenes* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

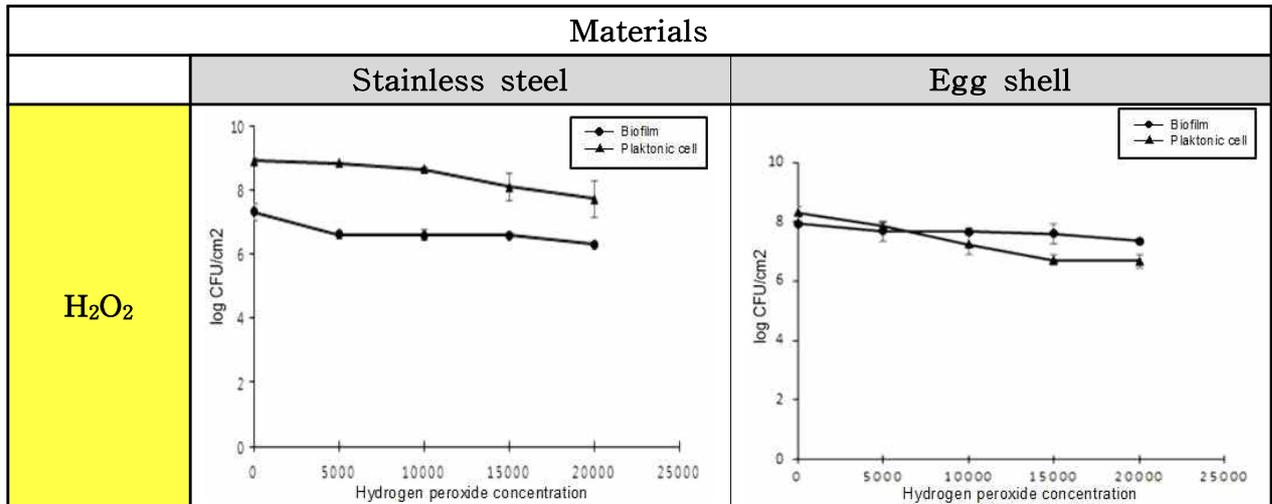


표 88 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치  
[30 °C, RH = 50%]

Materials		Concentration (ppm)	Biofilm cell count (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Planktonic cell count (log CFU/ml)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Stainless steel	0	7.32±0.25	8.91±0.09
		5000	6.62±0.12	8.85±0.03
		10000	6.60±0.18	8.65±0.09
		15000	6.60±0.06	8.10±0.41
		20000	6.31±0.07	7.73±0.56
	Egg shell	0	7.92±0.08	8.31±0.18
		5000	7.68±0.32	7.84±0.13
		10000	7.67±0.11	7.23±0.36
		15000	7.59±0.33	6.71±0.16
		20000	7.35±0.10	6.68±0.23

- Stainless steel의 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20000 ppm 처리시 바이오필름이 1.01 log 감소하였고, 부유세균은 1.18 log 감소하였음.
- Egg shell의 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20000 ppm 처리시 바이오필름이 0.57 log 감소하였고, 부유세균은 1.63 log 감소하였음.
- 결론적으로, 두 가지 재질 모두 부유세균보다 바이오필름이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 대한 저항성이 높았으며, 최대 20000 ppm 처리시 바이오필름이 1 log (90%) 감소하는 살균효과를 나타냄.

(나) 물리/화학/친환경적 복합처리에 의한 바이오필름 저감화 연구

1) UV/NaOCl 병용처리

표 89 UV/NaOCl 병용처리에 따른 *Listeria monocytogenes* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

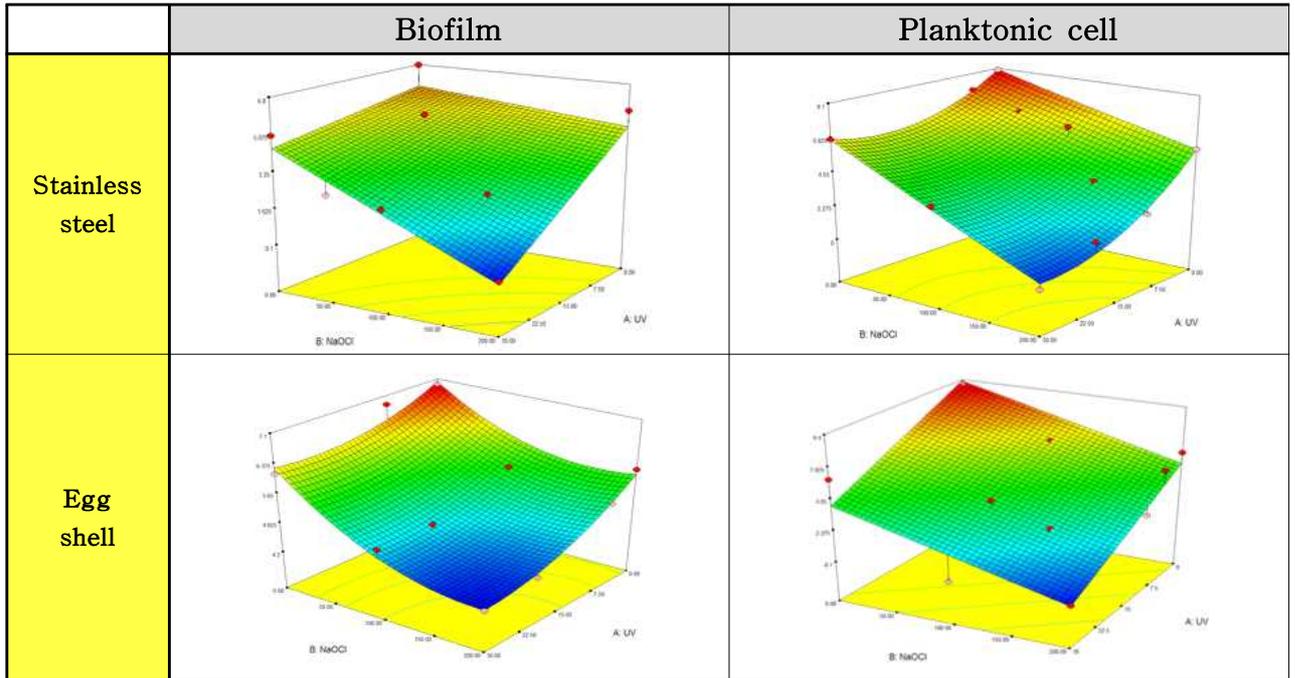


표 90 UV/NaOCl 병용처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치 [30 °C, RH = 50%]

Treatment			Mean ( $\pm$ SD) reduction value (log CFU/cm <sup>2</sup> or ml)				
			NaOCl (ppm)				
			0	50	100	150	200
Stainless steel	UV (mWs/cm <sup>2</sup> )	0	-	0.34 $\pm$ 0.19	0.83 $\pm$ 0.03	1.45 $\pm$ 0.04	1.55 $\pm$ 0.05
		300	0.26 $\pm$ 0.19	1.85 $\pm$ 0.36	2.64 $\pm$ 0.22	3.08 $\pm$ 0.17	3.10 $\pm$ 0.08
		600	0.42 $\pm$ 0.14	2.17 $\pm$ 0.17	2.65 $\pm$ 0.61	3.14 $\pm$ 0.13	3.81 $\pm$ 0.20
		1200	1.12 $\pm$ 0.18	3.65 $\pm$ 0.19	3.75 $\pm$ 0.47	3.81 $\pm$ 0.28	4.11 $\pm$ 0.20
		1800	1.47 $\pm$ 0.22	4.12 $\pm$ 0.17	4.37 $\pm$ 0.01	5.70 $\pm$ 0.12	6.70 $\pm$ 0.12
Egg shell	UV (mWs/cm <sup>2</sup> )	0	-	0.24 $\pm$ 0.31	1.07 $\pm$ 0.22	1.14 $\pm$ 0.04	1.26 $\pm$ 0.17
		300	0.23 $\pm$ 0.07	1.25 $\pm$ 0.08	1.35 $\pm$ 0.01	1.58 $\pm$ 0.04	1.66 $\pm$ 0.02
		600	0.40 $\pm$ 0.08	1.67 $\pm$ 0.14	1.80 $\pm$ 0.02	2.40 $\pm$ 0.03	2.62 $\pm$ 0.01
		1200	0.74 $\pm$ 0.04	1.68 $\pm$ 0.01	1.98 $\pm$ 0.01	2.52 $\pm$ 0.03	2.63 $\pm$ 0.01
		1800	1.14 $\pm$ 0.21	1.83 $\pm$ 0.01	1.99 $\pm$ 0.03	2.64 $\pm$ 0.24	2.70 $\pm$ 0.04
Planktonic cell	UV (mWs/cm <sup>2</sup> )	0	-	1.28 $\pm$ 0.16	2.06 $\pm$ 0.23	2.75 $\pm$ 0.22	3.43 $\pm$ 0.15
		300	0.85 $\pm$ 0.17	2.13 $\pm$ 0.00	2.64 $\pm$ 0.03	3.08 $\pm$ 0.07	3.70 $\pm$ 0.02
		600	1.21 $\pm$ 0.18	3.00 $\pm$ 0.53	4.94 $\pm$ 0.18	5.28 $\pm$ 0.04	6.80 $\pm$ 0.09
		1200	1.73 $\pm$ 0.11	3.36 $\pm$ 0.01	5.64 $\pm$ 0.39	6.15 $\pm$ 0.04	7.36 $\pm$ 0.07
		1800	1.95 $\pm$ 0.05	4.12 $\pm$ 0.17	5.30 $\pm$ 0.05	7.12 $\pm$ 0.16	9.01 $\pm$ 0.00

- Stainless steel에 형성된 *L. monocytogenes* 바이오필름은 UV/NaOCl 병용처리 후 1.85 ~ 6.70 log 감소하였음.

- Egg shell에 형성된 *L monocytogenes* 바이오필름은 UV/NaOCl 병용처리 후 1.25 ~ 2.70 log 감소하였음.
- *L monocytogenes* 부유세균의 경우 UV/NaOCl 병용처리 후 2.13 ~ 9.01 log 감소하였음.
- 결론적으로, stainless steel에 형성된 바이오필름은 최대 6 log (99.9999%), egg shell에 형성된 바이오필름은 2 log (99%), 부유세균은 완전사멸하는 살균효과를 나타냈고, stainless steel 바이오필름 및 부유세균에는 병용처리에 따른 시너지효과가 나타났으며, egg shell에 형성된 바이오필름의 경우 시너지효과가 나타나지 않음.

2) UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리

표 91 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리에 따른 *Listeria monocytogenes* 균의 재질별 바이오필름과 부유세균 저감화 비교

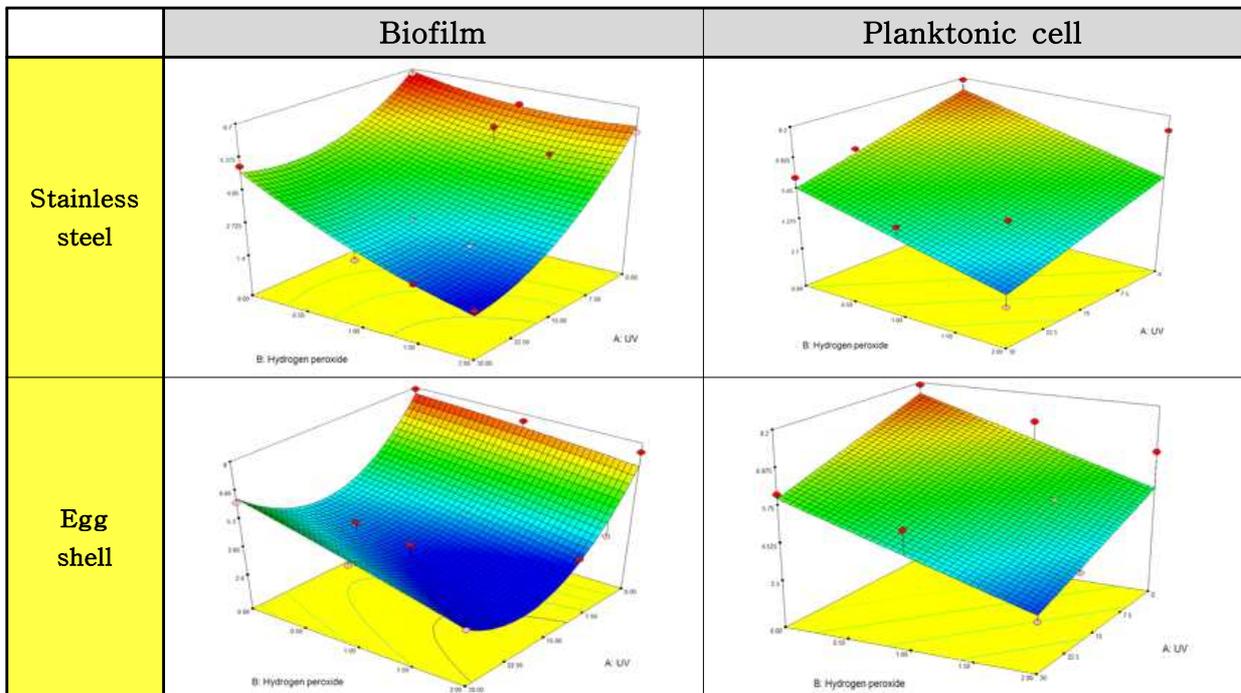


표 92 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리에 따른 바이오필름과 부유세균 수치  
[30 °C, RH = 50%]

Treatment			Mean (±SD) reduction value (log CFU/cm <sup>2</sup> or ml)				
			H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)				
			0	0.5	1.0	1.5	2.0
Stainless steel	UV (mWs/cm <sup>2</sup> )	0	-	0.41±0.12	0.72±0.08	0.78±0.23	1.01±0.32
		300	0.26±0.19	0.58±0.30	1.05±0.21	1.73±0.32	2.01±0.07
		600	0.42±0.14	2.32±0.02	2.62±0.03	3.51±0.42	3.59±0.09
		1200	1.12±0.17	3.41±0.11	3.57±0.34	4.07±0.03	4.27±0.02
		1800	1.47±0.22	3.63±0.00	4.18±0.01	4.21±0.03	4.54±0.04
Egg Shell	UV (mWs/cm <sup>2</sup> )	0	-	0.25±0.41	0.29±0.13	0.33±0.41	0.57±0.02
		300	0.26±0.19	1.12±0.02	1.45±0.11	1.85±0.22	2.27±0.01
		600	0.42±0.14	1.44±0.18	2.79±0.24	2.32±0.16	1.90±0.19
		1200	1.12±0.17	1.90±0.01	2.03±0.01	2.16±0.01	2.34±0.03
		1800	1.47±0.22	1.32±0.12	1.69±0.16	2.79±0.03	2.88±0.01
Planktonic cell	UV (mWs/cm <sup>2</sup> )	0	-	0.46±0.06	1.27±0.11	1.55±0.13	1.64±0.47
		300	0.85±0.17	1.40±0.14	2.34±0.04	3.88±0.09	4.16±0.03
		600	1.21±0.18	2.04±0.03	2.33±0.07	2.75±0.00	3.75±0.78
		1200	1.73±0.11	2.67±0.07	2.81±0.02	3.05±0.03	4.08±0.03
		1800	1.95±0.05	2.53±0.00	2.93±0.01	4.07±0.02	4.98±0.02

- Stainless steel에 형성된 *L. monocytogenes* 바이오필름은 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리 후 0.58 ~ 4.54 log 감소하였음.
- Egg shell에 형성된 *L. monocytogenes* 바이오필름은 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리 후 1.12 ~ 2.88 log 감소하였음.
- *L. monocytogenes* 부유세균의 경우 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리 후 1.40 ~ 4.98 log 감소하였음.
- 결론적으로, stainless steel에 형성된 바이오필름은 최대 4 log (99.99%), egg shell에 형성된 바이오필름은 2 log (99%), 부유세균은 4 log (99.99%) 감소하는 살균효과를 보였고, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 병용처리는 단일처리에 비해 높은 시너지효과를 나타내지 못했음.

(다) 바이오필름제어 알 원료 및 가공품의 물리화학적 신선도 검사

1) 실험조건

- 재질: 난각 또는 전란

2) 실험방법 - 난황, 난백 pH 측정

- 할란하여 난황, 난백을 분리하여 멸균백에 주입.

- 균질기를 이용하여 난백은 1분, 난황은 30초 동안 균질화.

- pH 미터기로 측정.

3) 실험방법 - 전란의 무게 측정

- 저울에 100ml 비커를 올리고 전란을 넣어 무게를 확인.

4) 실험방법 - 비중 측정

- 11%, 10%, 8% 식염수에 계란을 넣고 즉시 가라앉는지 확인.

- 11% 식염수에 즉시 가라앉으면 비중은 1.080 이상, 10% 식염수에 가라앉으면 1.073, 8% 식염수에 가라앉으면 1.060, 8% 식염수에 떠오르면 1.058 미만으로 산출.

5) 실험방법 - 호우단위(Haugh Unit) 측정

- TSS(Technical Services and Supplies) Set 와 Eggware 프로그램을 이용하여 호우단위를 측정.

-  $HU = 100 \times \log (H + 7.57 - 1.7W^{0.37})$  [H = 난백높이 (mm), W = 달걀의 무게 (g)]

6) 실험방법 - 색차 분석

- 98 °C 15분간 가열한 계란의 난각만을 취하여 해당시간동안 화학적 처리.

- 처리 직후 필터백에 난각을 담아 L\* (lightness), a\* (redness), b\* (yellowness)를 측정.

7) 실험방법 - 파각력(경도) 분석

- 계란을 멸균수로 2회 세척하여 난각의 이물 제거.

- 화학적 소독제 처리 직후 계란의 예단부를 위로하여 수직으로 고정된 후 파각 되는 순간의 압력을 측정.

8) 실험결과

가) 알 원료의 화학/물리적 신선도 검사 및 비교

표 93 알 원료의 화학/물리적 신선도 검사

난황 pH	난백 pH	전란 무게 (g)	비중	호우단위
6.35±0.01	8.14±0.02	55.25±0.58	1.080 이상	86.65±2.01

- 무처리 계란의 화학적, 물리적 신선도 검사를 총 3회 반복으로 진행하였음.

- 비중측정은 11% 식염수에 즉시 가라앉으면 1.080 이상임을 나타내며, 정상적인 신선알의 비중은 1.0784 ~ 1.0914로 고시되어있음.

- 호우단위 (Haugh Units)는 H 난백높이(mm), W 난중(g)을 측정하고 이를 토대로 호우단위 =  $100 \times \log(H + 7.57 - 1.7W^{0.37})$  로 산출하였으며, 72이상일 때 A등급으로 고시되어있음.

- 바이오필름 제어 처리 후 난황, 난백의 pH, 전란 무게, 비중, 호우단위를 측정하여 통계처리 결과 무처리 계란 수치와 유의적 차이가 없는 것으로 확인됨.

나) 바이오필름제어 처리에 따른 난각의 색차 및 파각력 비교  
표 94 CaO 처리에 따른 난각의 L, a, b 값 및 파각력 변화

Treatment		Hunter color			sample-sheer resistance
		L*	a*	b*	Maximum force (g)
CaO (%)	0	80.74±0.94	4.75±0.14	9.65±0.13	3060.26±195.77
	0.05	80.82±0.73	4.67±0.15	9.60±0.12	3148.28±368.85
	0.10	80.53±1.01	4.71±0.26	9.97±0.12	3059.41±85.78
	0.15	80.01±1.21	4.74±0.23	9.91±0.33	3131.90±451.48
	0.20	80.17±0.81	4.76±0.20	9.63±0.56	3145.80±220.39
	0.30	80.05±1.42	4.83±0.27	9.92±0.15	3164.36±347.52

- 무처리 난각의 경우 L\*=80.74, a\*=4.75, b\*=9.65 의 값을 측정하여 얻음.

- 1분 동안 0.05 ~ 0.30% CaO 처리를 한 난각의 경우 L\*=80.01 ~ 80.82, a\*=4.67 ~ 4.83, b\*=9.60 ~ 9.97의 값을 측정하여 얻었음.

- 무처리 난각과 비교하여 유의적 차이가 없는 것으로 산출되었으며, 이는 CaO 처리를 거친 난각의 색의 변화가 거의 없다는 것을 의미함.

- 또한, 난각의 파각력(경도) 분석에서 무처리 난각과 CaO처리(0.05 ~ 0.30%) 후의 난각이 유사한 결과를 보였으며, 통계처리 결과 유의적 차이가 없는 것으로 산출됨.

- 결론적으로 CaO 처리시 난각의 색과 파각력(경도)에 영향을 미치지 않는 것으로 나타남.

표 95 UV/NaOCl 병용처리에 따른 난각의 L, a, b 값 변화

Treatment			NaOCl (ppm)				
			0	50	100	150	200
<b>L*</b>	<b>UV</b> (mWs/cm <sup>2</sup> )	<b>0</b>	83.20±0.12	83.52±0.39	83.70±0.22	83.16±0.12	83.23±0.39
		<b>300</b>	83.59±0.33	83.35±0.31	83.42±0.39	83.55±0.20	83.39±0.06
		<b>600</b>	83.31±0.13	83.40±0.47	83.40±0.26	83.12±0.12	83.55±0.35
		<b>1200</b>	83.47±0.21	83.81±0.27	83.14±0.39	83.55±0.23	83.45±0.11
		<b>1800</b>	83.20±0.11	83.46±0.43	83.74±0.11	83.52±0.04	83.55±0.38
<b>a*</b>	<b>UV</b> (mWs/cm <sup>2</sup> )	<b>0</b>	3.50±0.04	3.17±0.17	3.72±0.12	3.54±0.02	3.55±0.16
		<b>300</b>	3.42±0.04	3.32±0.11	3.71±0.07	3.72±0.32	3.77±0.12
		<b>600</b>	3.42±0.03	3.41±0.19	3.58±0.02	3.47±0.24	3.58±0.10
		<b>1200</b>	3.49±0.48	3.23±0.02	3.74±0.01	3.56±0.09	3.55±0.11
		<b>1800</b>	3.42±0.38	3.33±0.10	3.56±0.04	3.56±0.03	3.70±0.08
<b>b*</b>	<b>UV</b> (mWs/cm <sup>2</sup> )	<b>0</b>	8.80±0.04	8.61±0.13	8.45±0.45	8.40±0.28	8.40±0.24
		<b>300</b>	8.68±0.41	8.73±0.03	8.48±0.42	8.62±0.24	8.61±0.42
		<b>600</b>	8.47±0.27	8.52±0.11	8.51±0.17	8.73±0.03	8.60±0.35
		<b>1200</b>	8.38±0.19	8.58±0.27	8.77±0.11	8.55±0.04	8.88±0.06
		<b>1800</b>	8.68±0.06	8.59±0.12	8.40±0.46	8.41±0.47	8.79±0.04

- 흡수선량에 해당하는 시간동안 UV 조사 후 소독제(NaOCl)를 1분 동안 처리하여 병용처리를 진행하였고, 처리 직후에 색 변화를 측정하여 얻음.
- 무처리 난각의 경우 L\*=83.20, a\*=3.50, b\*=8.80 의 값을 측정하여 얻음.
- 병용처리 후 L\*=83.12 ~ 83.70, a\*=3.17 ~ 3.74, b\*=8.38 ~ 8.88 의 값을 측정하여 얻음.
- 무처리 난각과 병용처리 후 난각의 색 변화를 비교하여 유의적 차이가 없는 것으로 산출됨.
- 결론적으로 UV/NaOCl 병용처리시 난각의 색 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 나타남.

### 3. 결론

가. 알 원료와 작업 표면별 주요 세균의 생육특성 및 바이오필름 형성능 연구 (in vitro)

(1) 바이오필름 형성능 관찰에 대한 요약 및 결론

(가) 균별

- *Cronobacter Sakazakii*를 제외하고 동일 조건에서 균간 바이오필름 형성능은 큰 차이를 보이지 않은 것을 관찰하였음.

(나) 재질별

- FE-SEM 촬영 결과, Rubber에서 가장 바이오필름 형성능이 높게 관찰되었음.

(다) 온도별

- *Cronobacter Sakazakii*를 제외하고 37 °C, 상온 (20 °C)에서 모든 균주는 바이오필름 형성능이 좋았음.

(라) 상대습도별

- 본 연구의 조건에서, 상대습도는 바이오필름 형성능에 영향력을 주지 못하는 것으로 판단되어짐.

(마) 배지별

- 10 °C와 Egg shell을 제외한 대부분의 조건에서 가장 일정한 영향력을 행사하는 것으로 판단되어지며, 대체로 Egg yolk > TSB > Egg white 순으로 바이오필름 형성능 좋음을 관찰하였음.

- 결론적으로, 계란 가공 등의 작업환경에서 여러 오염으로 인하여 식품접촉 표면에 바이오필름을 형성 할 수 있는 가능성이 높다고 생각되며, 식품 등으로 2차 오염의 위험성이 높다고 판단되어짐.

나. 알 원료 및 가공품 중 바이오필름 형성능 탐색 및 비가열 제어법 연구

(1) 바이오필름 생존력 평가 및 비가열 제어법 개발에 대한 요약 및 결론

(가) 바이오필름 생존력 평가

- *S. Typhimurium* 과 *L. monocytogenes* 두 균주 모두 stainless steel, plastic, rubber, egg shell 재질에서 25일 이상 생존력을 보였으며, *S. Typhimurium* 경우 모든 재질에서 35일까지 3 log CFU/cm<sup>2</sup> 이상 잔존하였음.

(나) 물리적 단일처리

- UV 처리의 경우 최대 3,600 mWs/cm<sup>2</sup> 에서도 효과적인 살균효과를 나타내지 않았음.

(다) 화학적 단일처리

- 모든 화학적 살균처리는 UV 처리보다 살균효과가 높았음.

- 살균효과는 CaO, NaOCl, Ethanol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 순으로 높은 효과가 나타남.
- *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa* 균주의 부유세균이 완전사멸 효과를 보인 CaO (0.25%) 처리를 현장적용 최적조건으로 설정하였음.
- 알 가공공정 내 일반세균 2 log CFU/cm<sup>2</sup> 가 검출되었던 계란상승컨베이어벨트에 적용하여 CaO (0.25 %) 처리 후 완전사멸 효과를 확인하였음.

(라) 물리/화학적 병용처리

- UV/NaOCl, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 모두 시너지효과가 미미하며, 특징적으로 egg shell에서 가장 낮은 시너지 효과가 나타남.

(마) 물리화학적 신선도 검사

- 난황, 난백의 pH변화, 전란의 무게, 호우단위, 난각의 색차 및 과각력 변화 측정 시 무처리 계란과 바이오필름 제어 처리 후 계란을 비교하였을 때 유의적 차이를 나타내지 않았음.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

구분	연도	구분	세부연구목표	연구개발 수행내용	가중치	달성도
1차년도	2014	제1세부 (주관)	알가공품의 미생물 오염도 모니터링	- 알 원료 및 가공품 가공 전, 후의 주요 병원성 미생물 검출 - 공정 단계 중 중요관리점 분석	20 %	100%
		제1협동	미생물학적 위해 요인 발생 원인 분석	- 미생물 오염원 분석 - 비가열 살균 기술의 적용 가능성 판단	15 %	100%
			오염지표 미생물 제어 기술 연구	- 신 비가열 살균 기술 적용 - 비가열 살균을 통한 총균 수 2-5 log CFU/g 이상 저감화	30 %	100%
		제2협동	생육환경별 특성에 따른 바이오필름 형성능 연구 ( <i>in vitro</i> )	- 작업환경의 온도와 상대습도별 알 원료 및 가공품 유래 주요 부패세균, 식중독세균 등에 대해 바이오필름 형성능 분석 - 바이오필름 형성을 최소화할 수 있는 안전한 저장온도, 상대습도 조건 최적화	15 %	100%
			알의 보관/가공 시 식품접촉표면별 바이오필름 형성능 탐색	- 보관용기 및 식품접촉표면 재질별 바이오필름 형성능 분석	20 %	100%
2차년도	2015	제1세부 (주관)	알 원료 및 가공품의 최적의 안전관리 기술 및 공정구축	- 세척용수, 냉각수 및 증진액 관리 시스템 구축	15 %	100%
			프리미엄 알가공품을 위한 시스템의 적용 및 평가	- 안전관리 기술 및 공정 시스템 구축 - 공정 후 품질변화 유지 방안 고찰	25 %	100%
		제1협동	공정별 미생물 제어법 최적화	- 비가열 살균법 단독처리에 의한 미생물 저감효과 확인 - 비가열 살균 병합처리 (직렬식, 병렬식)에 따른 부가효과 및 상승효과 측정 - 제품의 영양성과 품질 유지 정도 - 초고압 기술 디자인 및 최적화 - 가열공정과 위해요소 비교 - 냉장 보관시 알가공품의 이화학적 및 영양학적 분석	30 %	100%
		제2협동	알가공 환경 식품접촉 표면의 바이오필름 형성에 대한 단독/복합처리 최적 저감화조건 설정	- 물리적/화학적/친환경적 비가열 단독 처리의 감소 효과 확인 - 물리적/화학적/친환경 비가열 복합처리의 시너지 감소효과 측정 - 시너지 감소효과를 보이는 복합처리 최적조건 탐구	20 %	100%
			바이오필름 제어 알의 화학적 물리적 신선도 검사	- 화학적 신선도 검사 - 물리적 신선도 검사	10 %	100%

## 제 5 장 연구결과의 활용계획

최근 경제 성장으로 인한 소득 수준 변화로 인해 소비자들의 건강과 식생활에 대한 관심도는 높아지고 있다. 이로 인하여 기존에 적용되던 가열 살균 식품의 소비가 감소하고 육가공품 그 중 알가공품의 소비가 급증하고 있다. 알 가공품의 소비가 증가함에 따라 기존의 열처리를 대신할 수 있는 비가열 살균 처리의 개발이 시급하다. 소비자들의 요구를 만족시키기 위해 식품 산업 또한 식품의 위생 및 품질에 민감히 대처하고 식품의 본연의 상태를 유지할 수 있는 가공 식품에 대한 개발을 활발히 해야 한다.

국내외 현황을 살펴보면 현재 알 원료 및 가공품은 식중독 위험성에 크게 노출되어 있는 실정이다. 계란을 포함한 육류 및 가공품이 유발하는 식중독은 해마다 증가하는 추세를 보이고 있으며 또한 이러한 식중독 균은 바이오필름을 형성하여 그 위험성을 더욱 높이고 있다. 현재 해외, 특히 미국의 경우 알 원료 및 가공품에 냉장유통제도를 도입하였으며 계란품질인 증제를 실시하여 식중독의 위험을 크게 감소시킨 사례가 있기에, 따라서 국내에서도 식중독 균의 위험성을 감소시키기 위한 새로운 방법이 제고되고 있으며, 그 가운데 한 가지가 바로 새로운 살균 방법이다.

현재 국내에서는 식중독 균을 제어하기 위해서 Cold water washing으로 부착되어 있는 이물질과 미생물을 제거하고 있다. 하지만 세척만으로는 충분한 미생물 제거가 어렵기 때문에 전해수, 염소수, 구연산 등 충진수와 함께 유통하고 있으며, 가열 살균을 통해 유통이 되고 있다. 이러한 가열 살균의 가장 큰 문제점은 가열 살균 시 난황 표면에 흑변 현상이 생겨 소비자 기호에 문제점이 발생한다는 것이다.

국내외 시장현황을 살펴보면 비가열 살균 방법 중의 대표적인 초고압 살균처리는 현재 많은 식품에서 활용되고 있다. 국내에서는 ‘썬쿱’ 즉석밥, ‘아임리얼’ 음료 등 여러 회사에서 초고압 처리한 식품을 출시하고 있으며, 국외의 경우 Hormel Foods, Cargill 등 여러 회사에서 이미 육가공품을 초고압으로 처리하여 많은 제품을 출시하고 있다. 그러나 여전히 알가공품에 대해서는, 초고압 처리를 한 제품이 아직 출시되지 않은 실정이다.

본 과제를 통해 초고압 후살균 처리한 알가공품이 기존 가열 후살균된 알 가공품에 비해 저장성 및 소비자 기호도를 더욱 증가시키며, 가장 문제점이 된 흑변 현상을 제어할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었으며, 이 기술을 바탕으로 특허를 출원하였다. 또한 130명을 기준으로 조사한 관능검사에서도 기존에 유통되는 가열 후살균 처리한 알가공품에 비해 초고압 후살균 처리한 알가공품의 관능이 난황의 색과 난백의 식감을 비롯한 많은 항목에서 더욱 높은 선호도 점수를 얻어, 초고압 후살균 처리가 알가공품의 살균 방법에 있어서 새로운 패러다임이 될 수 있음을 시사한다.

본 연구에 이용된 초고압 기술을 더욱 발전시킬 경우 국내 한정적인 식품군에만 적용하는 것에 그칠 것이 아니라, 나아가 이를 더욱 확장시켜 추가로 다양한 식품군에 적용할 수 있을 것으로 사료된다. 위 기술을 응용하여 단순 살균/멸균 처리 기술 뿐 아니라 식품 소재의 생리 기능성 증진까지 활발하게 연구가 진행된다면 국내 식품 산업의 발전을 기대할 수 있을 것이며 나아가 내수 경제 뿐 아니라 해외 시장 진출에도 크게 기여할 수 있을 것이라고 판단된다.

또한 본 연구를 통해 알 원료 및 가공품, 식품접촉표면에서의 병원성 미생물 및 주요 부패균의 바이오필름 형성능을 확인하고, 효과적인 단독 또는 병용처리 제어법을 신기술로 개발하여 이외의 식품에 있어 적용 연구에 활용 가능할 것으로 판단된다.

본 과제를 통해 확인된 작업표면별 바이오필름 형성능 및 효과적인 바이오필름 제어기술은 알가공 산업 뿐 아니라 육류가공 등의 축산산업, 수산물가공 산업 등에 적용하게 된다면 미생물학적 위해요소 제어를 위한 기반 기술로 활용하여 국내외 다양한 식품군의 안전한 공급에 기여할 것으로 사료된다. 또한 CaO를 활용한 살균방법은 기존의 알콜을 활용한 살균법보다 뛰어난 살균효과를 보여 이를 활용한 비가열 살균공정 매뉴얼을 제작하여 식품가공현장에서 널리 활용할 수 있도록 하였다.

현재 주관기관에서는 알 및 작업 표면별 미생물의 바이오필름 형성능 저감화 연구결과를 정리한 매뉴얼을 활용하여 현장에 적용하고 있으며, 초고압기를 이용한 비가열 살균 기술의 현장 적용 및 산업화는 추후 예산을 확보하여 도입할 예정이다.

## 제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ Use of UV-C radiation as a non-thermal process for liquid egg products (LEP) (Sevcan Unluturk 2007)

액란 제품을 비가열 살균은 UV-C 조사를 통해서 변화 정도를 확인하는 연구이다. 특히 비병원성 세균인 *Escherichia coli* strain (ATCC 8739)을 타겟으로 하여 비활성화 정도를 측정하였으며 2 log 이상 사멸하는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서 연구 결과로는 UV 살균을 통해서 전처리 과정 또는 약한 열처리와 병합하면 더욱 더 좋은 결과를 관찰할 수 있을 것이다.

○ Effects of combination treatments of nisin and high-intensity ultrasound with high pressure on the microbial inactivation in liquid whole egg (D. U. Lee et al 2003)

초고압 - nisin을 병합처리 또는 초고압 - 초음파를 병합하여 액란의 미생물 저감화한 연구이다. 초고압은 250, 300 MPa를 사용하요 단백질 응집과 미생물 비활성을 확인하였으며, 특히 *Listeria seeligeri*의 미생물은 5 log이상 감소한 것을 확인할 수 있었다. 따라서 단지 초고압만을 활용하여 적용한 연구 보다는 병합처리한 것이 더 좋은 결과를 보이는 것을 확인할 수 있었다.

○ Rheological properties and protein quality of UV-C processed liquid egg products (Poliana Mendes de Souza 2013)

UV-C를 활용해서 액란의 단백질 특성 또는 유체학적 특성을 확인한 실험이다. 온도와 관련된 점성, 열적 특성 등 여러 방면으로 확인하는 실험이다. 연구결과로는 UV-C 처리를 활용해서 유체학적 특성이 변하지 않으며, 액란의 단백질 특성 역시 변하지 않는다. 따라서 멸균의 대안으로 사용 가능할 것이다.

○ Inactivation of *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* by pulsed electric fields in liquid whole egg (S. Monfort et al 2010)

액란을 pulsed electric fields (PEF) 사용하여 미생물 비활성화에 대해 관찰한 실험이다. 액란에는 *Salmonella* Typhimurium과 *Staphylococcus aureus*가 존재하며 PEF 처리를 통해 3 log 이상의 저감화를 나타낸다고 확인된다.

○ Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on apples, oranges, and tomatoes by lactic acid with hydrogen peroxide (Journal of Food Protection, 2002)

과산화수소와 젖산과의 병용처리를 통해 사과, 오렌지 및 토마토 중의 *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* 및 *L. monocytogenes*를 저감화하는데 효과를 보임.

○ The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. (Food Microbiology, 1996)

염소와 젖산 또는 초산과의 병용처리 시 상추 중의 *L. monocytogenes*를 저감화 하는데 효과를 보임.

○ Growth inhibition of yeasty isolated from processed rice cake with ethanol and organic acids (Journal of food hygiene and safety, 2007)

아세트산 1% 또는 젖산 1%와 에탄올 20%을 병용처리하면 쌀 가공품 중의 효모에 저해 교과가 있음.

○ The effects of aqueous chlorine dioxide or fumaric acid treatment combined with UV-C on postharvest quality of 'Maehyang' strawberries (Postharvest biology and technology, 2010)

이산화 염소수 50 mgL<sup>-1</sup> 또는 푸말산 0.5% 과 UV-C (5 kJm<sup>-2</sup>) 병용처리시 딸기의 총균수, 효모 및 곰팡이의 저감화 효과가 있음.

## 제 7 장 연구개발결과의 보안등급

- 일반과제

## 제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

- 해당사항 없음

## 제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

- 해당사항 없음

# 제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

## 제 1 절 논문 성과

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게제지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게제일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인용 횟수 등)
1	특허	초고압 후살균 공정을 이용한 알 가열성형제품 난황표면에 발생하는 흑변 억제 방법	제1세부, 제1협동	출원인 (공동 출원)	대한민국		2016. 05. 23	-	-
2	논문	Inactivation of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 on Orange Fruit Surfaces and in Juice Using Photocatalysis and High Hydrostatic Pressure	제1협동	저자	Journal of Food Protection		2015.01.16		SCI
3	논문	Effect of salinity and incubation time of planktonic cells on biofilm formation, motility, exoprotease production, and quorum sensing of <i>Aeromonas hydrophila</i>	제2협동	저자	Food microbiology		2015.2.19		SCI
4	논문	Inactivation of pathogenic bacteria inoculated onto a Bacto™ agar model surface using TiO <sub>2</sub> -UVC photocatalysis, UVC and chlorine treatments	제1협동	저자	Journal of Applied Microbiology		2015.06.14		SCI
5	논문	Current and Recent Advanced Strategies for Combating Biofilms	제2협동	저자	Comprehensive reviews in food science and food safety		2015.05.04		SCI
6	논문	Synergistic effect of a combination of ultraviolet-C irradiation and sodium hypochlorite to reduce <i>Listeria monocytogenes</i> biofilms on stainless steel and eggshell surfaces	제2협동	저자	Food Control		2016.05.03		SCI
7	논문	Bactericidal activity of calcium oxide (CaO, heated scallop-shell powder) against <i>Listeria monocytogenes</i> biofilms on egg shell surfaces.	제2협동	저자	Biofouling		투고중		SCI(E)
8	논문	Bactericidal effect of Calcium oxide (Scallop-shell powder) against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm on shell of egg and major egg contact surfaces	제2협동	저자	Poultry Science		투고중		SCI

## 제 2 절 학술발표

연번	성과물명	학술대회명	개최지	발표 년월	학술대회 구분
1	Inactivation of <i>Bacillus cereus</i> Spore by Combination of TiO <sub>2</sub> -UVC photocatalysis and High Hydrostatic Pressure	한국식품과학회	부산	2015년 6월	학술발표 (국내)
2	Inactivation of <i>Bacillus subtilis</i> Spores by TiO <sub>2</sub> -UVC Photocatalysis	IFT 15	USA	2015년 7월	학술발표 (국외)
3	Effects of High Hydrostatic Pressure Post Processing to Improve Storability and Physicochemical Properties of Hard-Cooked Peeled Eggs	IFT 15	USA	2015년 7월	학술발표 (국외)
4	High hydrostatic pressure processing for enhancing the microbiological safety and consumer acceptance of hard-cooked peeled eggs	IFT 16	USA	2016년 7월	학술발표 (국외)
5	Bactericidal Activity of Calcium Oxide (CaO, Heated Scallop-Shell Powder) against <i>Listeria monocytogenes</i> Biofilms on Egg Shell and Stainless Steel Surfaces	IAFP	USA	2016년 7월	학술발표 (국외)

## 제 11 장 기타사항

### 제 12 장 참고문헌

- Pierre-Yves Ancion, Gavin Lear, Gillian D. Lewis (2010), Three common metal contaminants of urban runoff (Zn, Cu & Pb) accumulate in freshwater biofilm and modify embedded bacterial communities, *Environmental Pollution*, 158, 2738-2745
- R. K. Gast, P. S. Holt, and T. Murase (2005), Penetration of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella heidelberg* into Egg Yolks in an In Vitro Contamination Model, *Poultry Science*, 84, 621-625
- K. Y. Ko and D. U. Ahn (2008), An Economic and Simple Purification Procedure for the Large-Scale Production of Ovotransferrin from Egg White, *Poultry Science*, 87, 1441-1450
- Michiko Watanabe, Takahiro Makino, Keiko Kumeno & Soichi Arai (1991), High-Pressure Sterilization of Ice Nucleation-active Bacterial Cells, *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(1), 291-292
- Robert E. Marquis (1976), High-Pressure Microbial Physiology, *Advances in Microbial Physiology*, 14, 159-241
- C.M. Lin, S.S. Moon, M.P. Doyle, K.H. McWatters (2002), Inactivation of *E. coli*

- O157:H7, *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes* on apples, oranges, and Tomatoes by Lactic Acid with Hydrogen Peroxide. *Journal of Food Protection* 6: 100-105.
- Jong-Shin Kim, Hyun Jun Lee, Yong-Tack Lee, Hak-Gil Chang, and Jong-Hyun Park. (2007) Growth inhibition of yeast isolated from processed rice cake with ethanol and organic acids. *Journal of food hygiene and safety*. 22(2) 99-104
  - J.Y. Kim, H.J. Kim, G.O. Lim, S.A. Jung, K.B. Song.(2010) The effects of aqueous chlorine dioxide or fumaric acid treatment combined with UV-C on postharvest quality of 'Maehyang' strawberries. *Postharvest Biology and Technology* 56: 254-256
  - S. Zhang, J.M. Farber. (1996) The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. *Food Microbiology*. 13(4): 311-321
- Horie, Y. Kimura, K. Ida, M. Yosida, Y. Ohki, K. (1991) Jam preparation by pressurization, *Journal of the agricultural chemical society of japan*, 65, 975-980
- Xiufang Bia, Yongtao Wang, Feng Zhao, Zhijian Sun, Xiaosong Hu, Xiaojun Liao (2015), Sublethal injury and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 by high pressure carbon dioxide, *Food Control*, 50, 705-713

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.