

최 종  
연구보고서

쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술 및  
생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구

Control of central nervous system tissue (CNST)  
dissemination on beef and Improvement of  
safety of chicken during distribution

연구기관  
서울대학교

농림부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술 및 생닭고기 유통  
중 안전성 향상기술 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007 년 5 월 24일

주관연구기관명 : 서울대학교

총괄연구책임자 : 이 무 하

세부연구책임자 : 이 무 하

연 구 원 : 김 동 훈

임 동 균

설 국 환

홍 철 기

염 경 은

협동연구기관명 : 이화여자대학교

협동연구책임자 : 김 양 하

연 구 원 : 홍 경 희

김 지 선

이 희 선

# 요 약 문

## I. 제 목

쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술 및 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 연구개발의 목적 및 필요성

소의 BSE 질병 생성의 원인물질이 되는 중추신경계조직의 도체 오염을 억제하는 기술을 개발하고 생닭고기의 저장 유통 기간 동안의 미생물학적 안전성을 위한 첨가물 및 포장 조건을 확립하여 안전하고 건강한 유통 기술을 개발하고자 한다.

BSE는 소중추신경계에 영향을 미치는 질병으로서, 중추신경계조직(CNST)에 비정상적인 형태의 프리온(Prion)단백질이 축적되게 되는데 이와 같은 프리온 단백질이 중추신경계(CNS)에 존재하여 도체 절단시 정육에 오염될 가능성이 크다. 따라서 도축장에서 생산하는 도체에 중추신경계조직이 오염되지 않게 하는 기술의 개발이 필요하다. 도체에 중추신경계조직(CNST)의 오염 가능성을 차단하여 소비자들에게 축산물의 안전성을 보장해줌으로써 소비자 신뢰도를 증가시켜 광우병에 대한 소비자들의 막연한 두려움을 경감시켜 쇠고기 소비를 회복시킬 수 있다.

또한, 미생물에 의한 식품의 변질이나 부패를 방지하기 위하여 각종 보존제를 사용하여 왔지만 대부분의 경우에 그 안전성이 문제로 제기됨에 따라 최근에는 인체에 무해한 천연물 중의 항균성 물질을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 지금까지 알려진 천연 항균성 물질로는 유기산, 효소, 단백질 및 정유성분 등의 다양한 화합물이 있다. 냉장 닭고기의 위생과 안정성에 영향을 미치는 미생물학적 인자는 호기성 육 부패세균 및 병원성 식중독균의 오염과 증식으로 알려져 있다. 닭고기의 유통과정 동안 교차오염은 도체에 미생물을 오염시키는 주요한 요인이다. 미생물 오염 방지를 위한 이화학적 육 세척법등의 적합한 품질관리의 부재에 기인하여 최종

생산된 닭고기는 유통과정 동안 저장성 감소가 유발되고 있다. 이러한 이유에 기인하여 도살직후 미생물 오염을 극소화하는 여러 가지 물리적, 화학적인 육세척 방법에 대한 연구가 수행되고 있다. 생닭고기 유통기간 동안 품질 안정성 확보를 위한 연구는 소비자의 식육 안정성 및 위생을 위해 필요하다. 특히 웰빙시대에 사는 현대인들이 요구하는 생리활성을 가진 천연첨가물들의 항균효능을 검증하여 천연 항균 첨가제와 포장방법을 개선하여 산업적으로 실용화하는 기술개발은 현대 소비자들이 요구하는 꼭 필요한 연구로 사료된다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술

가. 시중에 유통 중인 수입 냉장, 냉동 쇠고기의 부위별 중추신경물질 오염도 측정

- 1) 냉장 및 냉동 호주, 뉴질랜드, 미국산 등 쇠고기의 부위별 중추 신경물질오염 측정

나. 시중에 유통 중인 한우 쇠고기와 소부산물의 중추신경 물질 오염도 측정

- 1) 시중에 유통 중인 한우 쇠고기의 부위별, 등급별 중추신경물질 오염도 측정
- 2) 유통 중인 소부산물의 중추신경 물질 오염도 측정

다. 대규모와 소규모의 도축장 내 소도체에서의 중추신경계물질 오염도 측정비교

- 라. 도축장에서 중추신경물질(CNST) 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 방법의 조사
- 자동, 수동세척 및 분할 전/후의 특정위험물질(SRM)인 척수제거 방법

#### 2. 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구

가. 항균 천연 첨가물의 선발 및 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정

- 1) 닭고기의 안전성 증가를 위한 천연 항균물질 검색을 위한 문헌 조사
- 2) 항균 천연 첨가물의 선발 및 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정

나. 닭고기 저장 기간 동안 병원성 미생물에 대한 천연 첨가물의 항균 능력 조사

- 1) 첨가물에 의한 병원성 미생물 억제효과
- 2) 첨가물과 병원성 미생물에 의한 pH 변화

다. 닭고기 저장 기간 동안 천연 첨가물과 포장방법에 의한 미생물학적 억제효과

- 1) 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과

- 2) 천연첨가물 배합과 항균지 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과
- 3) 천연첨가물 배합과 진공 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

##### 1. 연구개발 결과

###### 가. 쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술

쇠고기와 식육제품의 중추신경계조직(CNST)오염도를 검출하는데 있어 검출한계는 0.1%이다. 검출한계 0.1% 이하의 수치는 negative (-)로 이상의 수치는 positive (+)로 언급되어진다(Hajmeer 등, 2006). 연구결과 수입냉동육 중 호주산 등심과 부채살 두 샘플에서만 0.1%이상의 오염도를 보였으며, 두 샘플을 제외한 모든 시료에 있어 0.1%의 검출한계보다 낮은 수치를 나타내었다. 본 연구결과를 통해 수입육의 중추신경계조직(CNST)오염도가 낮게 나타난 것으로 보아 근육 내 존재하는 중추신경계조직은 그 절대량이 낮음을 추측할 수 있었다. 이는 실험에 수행된 고기조직이 SRM(특정위험물질)에 의해 오염되지 않았다는 것을 확인할 수 있었다.

시중에 유통 중인 한우의 부위별, 등급별 시료 대부분에서 검출한계인 0.1%이하의 수치가 검출되어 본 연구결과를 통해 한우육의 정육에서의 중추신경계조직(CNST)오염도가 낮게 나타난 것으로 보아 근육 내 존재하는 신경조직은 그 절대량이 낮음을 추측할 수 있었다. 이는 실험을 수행한 고기조직이 SRM(특정위험물질)에 의해 오염되지 않았다는 것을 확인할 수 있었다. 특정위험물질(SRM)로 알려진 뇌, 척수, 회장 시료에서 검출한계인 0.1%이상의 높은 중추신경계물질(CNST) 오염도가 검출되었고 상대적으로 위험도가 극히 낮은 것으로 잘 알려진 대장, 간, 염통, 지라, 심장 시료에서는 오염도가 0.1%이하로 검출되었다.

국내 대규모 도축장에서 가장 널리 사용되는 총격법(penetrating captive bolt gun=PCB)과 소규모 도축장에서 사용되는 타격법(Non-penetrating sledge hammer=NPH) 두 가지 기절방법간의 소도체 표면에 존재하는 중추신경계조직(CNST)의 오

염발생빈도(frequencies)를 비교하였는데 타격법으로 기절시킨 소도체의 오염발생빈도의 경우 25두(83.3%)인 반면에 총격법으로 기절시킨 소도체의 오염발생빈도의 경우 30두(100%) 모두에서 측정되었지만 유의적인 차이를 보여주지 못하였다. 중추신경계조직(CNST)의 오염발생빈도는 전반적으로 도체안쪽 부위가 바깥쪽 부위보다 더 높았다.

소도체표면에서 중추신경계조직(CNST)의 오염수준의 비교에 있어 총격법을 이용한 기절방법이 타격법을 이용한 기절방법보다 중추신경계조직(CNST)의 오염수준이 더 높음을 알 수 있었다( $P < 0.001$ ). 중추신경계조직(CNST)의 오염은 대부분 척추 주변을 따라 위치하는 도체안쪽표면에 더 많이 오염되어 있었으며 도체안쪽복부부위 중에서 앞다리 근처 부위가 훨씬 더 많이 오염되어 있었다.

자동과 수동수세시간에 따른 이분할 한 후 도체안쪽의 중추신경계조직(CNST) 오염감소효과의 경우 전반적으로 도체수세전보다 수세를 한 이후의 도체에서의 중추신경계조직(CNST) 오염도를 감소시켰다( $P < 0.01$ ). 60초까지 수세시간의 증가는 중추신경계조직(CNST)의 오염도 감소에 아무런 영향을 끼치지 않았다.

이분체한 도체안쪽을 척수제거 한 후 수동과 자동수세에 따른 중추신경계조직(CNST) 오염감소효과를 비교하였는데 전반적으로 대조구보다 척수제거 후 수세과정을 거친 처리구의 경우 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시키는데 효과적이었다. 하지만 도체 2, 4 부위에서 도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시키는데 효과적임을 알 수 있었지만( $P < 0.01$ ), 도체 1, 3 부위에서는 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시킬 수는 없었다. 도체 안쪽과 바깥쪽의 분할 전과 후의 척수제거에 따른 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 비교한 결과 분할 전 척수제거를 수행한 경우 도체 안쪽과 바깥쪽 전 부위에서 소도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 최소화시키는데 매우 효과적임을 알 수 있었다( $P < 0.01$ ).

#### 나. 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구

병원성 미생물에 대한 여러 가지 첨가물의 항균 활성 효과는 paper disc법으로 측정하였다. 첨가물인 Nisin, 키토산, lactic acid, acetic acid, butyric acid를 병원성미생물인 *Bacillus cereus*(ATCC 11778), *Bacillus subtilis*(ATCC 9372), *Pseudomonas*

*aeruginosa*(ATCC 21636), *Salmonella typhimurium*(KCCM 11862), *Escherichia coli*(ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 10537)에 대한 항균효과를 disc법으로 측정하였다. *Salmonella typhimurium*에 대한 항균활성은 acetic acid에서 효과를 나타내었고 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성은 nisin이 농도 의존적으로 억제 효과를 나타냈으며 lactic acid도 높은 수준의 억제 존을 형성하였으며 수용성 키토산 또한 억제 효과를 나타내었다. *Escherichia coli*에 대한 항균활성은 lactic acid에서 약한 억제존을 보였다. *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균활성은 acetic acid를 처리한 경우 높은 억제효과를 나타내었으며 또한, *Bacillus cereus*과 *Bacillus subtilis*에서는 세 가지 유기산에서 효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

생닭고기 냉장 저장기간 동안 첨가물 처리에 의한 미생물학적 안전성을 분석하기 위하여 닭고기의 skin 표면에 첨가물을 처리하여 병원성 미생물인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*의 성장억제효과를 조사하였다. 첨가물은 acetic acid, butyric acid, lactic acid, nisin, 수용성키토산, EGCG, garlic 등을 각각 1%와 2% 농도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 3, 6, 9일 동안 3일 간격으로 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다. 생닭고기의 냉장 저장기간 동안 첨가물 처리에 의한 미생물 억제 효과는 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 *Escherichia coli* 성장 억제효과가 가장 높게 나타났다. 또한 저장 9일째 EGCG와 garlic을 처리하였을 때 *Escherichia coli* 성장 억제효과가 나타났으며 lactic acid, nisin과 chitosan을 처리하였을 때도 억제효과가 나타났다. *Salmonella typhimurium*과 *Pseudomonas aeruginosa*는 *Escherichia coli*와 마찬가지로 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 높은 성장 억제효과를 보였다.

생닭고기 냉장 저장기간 동안 포장방법과 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과를 조사하기 위하여 닭고기의 skin 표면에 첨가물 단독 혹은 두가지 이상 배합 처리하였다 병원성 미생물은 닭고기 냉장 저장기간 동안 위생과 안정성에 영향을 미치는 부패세균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였다. 포장방법은 항균포장과 진공포장을 사용하였으며 첨가물은 acetic acid, butyric acid, 수용성 고분자 키토산, EGCG, garlic등을 각각 2% 농

도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 6, 12일 동안 6일 간격으로 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다. 첨가물은 단독 혹은 두 가지 이상 배합처리 하였으며 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때와 항균 포장과 진공 포장하였을 때 크게 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG를 단독으로 처리하였을 때와 항균 포장과 진공 포장하였을 때 chitosan의 미생물 억제효과가 높게 나타났으나 garlic와 EGCG는 낮은 수준이었다. 또한 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때와 항균 포장과 진공 포장하였을 때 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* 성장 억제효과는 chitosan과 garlic, chitosan과 EGCG, garlic과 EGCG 두가지 배합 처리에 의해 미생물 성장효과가 단독으로 처리하였을 때 보다 높은 수준으로 나타났으며 chitosan과 garlic과 EGCG 3가지 모두 배합 처리하였을 때는 미생물이 거의 자라지 않아 높은 미생물 억제효과를 나타내었다.

천연 첨가물 처리 후 항균 포장과 진공 포장에 의한 미생물 억제효과를 비교하였을 때 본 연구에서 개발된 최적 천연 첨가물 배합물을 처리하였을 때는 포장하지 않은 상태에서도 포장 처리했을 때와 같은 높은 수준의 미생물 성장효과를 나타내었음. 따라서 생닭고기 유통 시 천연첨가물만으로도 항균 및 진공포장과 같은 효과를 나타낼 수 있음을 입증하였다.

## 2. 활용에 대한 건의

소도체에서 중추신경계물질의 오염억제를 통한 BSE(광우병)에 안전한 축산물을 소비자들에게 공급하고 식육의 안전성에 대한 불신을 감소시킬 수 있을 것이다. 또한, 생닭고기의 저장 유통 기간 동안 천연 첨가물 및 포장 조건에 의한 미생물학적 안전성을 확립하여 안전하고 건강한 유통 기술 개발을 위한 기초 자료를 확보할 수 있었고 아울러 생닭고기의 저장 유통 기간 동안 유해 미생물 제어기술의 산업화를 위한 유용한 자료로 이용될 수 있을 것이다. 본 과제에서 개발된 천연 항균 첨가제 조성물에 대한 특허를 출원하고, 이를 국내에서 희망하는 제조업체에게 기술이전을 통하여 실용화 할 수 있을 것으로 판단된다.



따라서 본 연구는 쇠고기의 중추 신경계물질 오염 방지 기술을 개발하고 생닭고기 유통 중 안전성 향상 기술의 개발로 적색육과 백색육과 같은 축산식품에 대한 종합적인 안전성 증진 방안을 확립할 수 있는 연구가 될 것이다.

# SUMMARY

## I .Title

Development of control of central nervous system tissue (CNST) dissemination on beef and Improvement of safety of chicken during distribution

## II.Objectives and Rationales

The objective of this study was to present methods to prevent central nervous system tissue (CNST), BSE infectious agent, contamination from beef carcasses and to measure the microbiological safety of additives and packaging condition for the reduction of pathogenic microorganisms on chicken skins during refrigerated storage. BSE is a degenerative disease that affects the central nervous system of adult cattle and characterized by the accumulation of an abnormal isoform of the cellular prion protein (PrP<sup>Sc</sup>) in CNST. Dissemination of the CNST on beef carcasses can occur during carcass splitting. Therefore, some methods should be developed to avoid the CNST dissemination at slaughterhouse. Prevention of CNST dissemination on beef carcass is essential to ensure consumer confidence and allay consumer fears of BSE in meat products.

## III. The contents and scope of the study

1. Control of central nervous system tissue (CNST) dissemination on beef
  - A. Detection of CNST level on cut surfaces of imported fresh and frozen beef sub-primals

- 1) Detection of CNST level of the fresh and frozen beef sub-primals imported from Australia, New Zealand and USA
  - B. Detection of CNST level on cut surfaces of commercial Korean beef sub-primals and meat by-products
    - 1) Detection of CNST level on cut surfaces of commercial Korean beef (sub-primals, grade)
    - 2) Detection of CNST level on meat by-products
  - C. Comparison of dissemination of CNST on the beef carcass between large and small scale slaughterhouse
  - D. Examination on the effect of spinal cord removal before/after splitting and washing procedures on the CNST decontamination
1. Improvement of safety of chicken during distribution
    - A. Antimicrobial activity of pathogenic microorganisms and screening of natural additives
    - B. Antimicrobial activity of natural additives on pathogenic microorganisms of commercial chicken during storage
    - C. Inhibition effect of pathogenic microorganisms on natural additives and packaging condition of commercial chicken during storage

## **IV. Results and recommendation for application**

### **Results for control of central nervous system tissue (CNST) dissemination on beef**

1. Detection of CNST level on cut surfaces of imported fresh and frozen beef sub-primals

The detection limit of the kit was 0.1% for CNST contamination in meat and

its by-products. Values falling below detection limit were considered negative and those above it were positive (Hajmeer *et al.*, 2006). CNST was detected above 0.1 % in two samples of Ribeye (0.10%) and top blade (0.10%) from Australia. Other than two samples, CNST on cut surfaces of imported fresh and frozen beef sub-primals was detected below 0.1%. These results suggested that most of imported lean meats or dressed meats on the domestic market may contain very low concentration (below 0.1%) of CNST. This means that retail meat used in this experiment did not contaminate with specific risk material (SRM).

## 2. Detection of CNST level on cut surfaces of commercial Korean beef sub-primals and meat by-products

The level above 0.1% of CNST in domestic beef products was detected on only one sample of eye of round (0.14%). Other than one samples, CNST on cut surfaces of Korean beef sub-primals was detected below 0.1%. These results suggested that most of Korean lean meats or dressed meats on the domestic market may contain very low concentration (below 0.1%) of CNST. This means that retail meat used in this experiment did not contaminate with specific risk material (SRM). High levels of CNST were detected above 0.1% in spinal cord (0.71%), brain (0.63%) and ileum (0.51%), which are classified as high specified risk materials (SRM), while the large intestine, liver, lung, spleen and heart content less than 0.1%.

## 3. Comparison of dissemination of CNST on the beef carcass between large and small scale slaughterhouse

The CNST contamination-positives were 25 (83.3%) in the NPH stunning group (small scale slaughterhouse) and 30 (100%) in the PCB stunning group (large scale slaughterhouse). The statistical analysis did not reveal any

significant difference between these two stunning methods in terms of the frequency of occurrence of CNST contamination in beef carcasses. The level of the contamination from the penetrating captive bolt (PCB) stunning method resulted in a higher level of CNST contamination than non-penetrating sledge-hammer (NPH) stunning ( $P < 0.001$ ). The majority of the CNST contamination and the higher level of contamination occurred on the interior surface of carcasses along the vertebral area. In the ventral region of the interior, a portion near the front leg was more contaminated.

#### 4. Examination on the effect of spinal cord removal before/after splitting and washing procedures on the CNST decontamination

The results showed that the level of CNST contamination was significantly lower after the washing than before the carcass washing ( $P < 0.01$ ). The increasing washing time to 60 sec did not affect the reduction of CNST contamination. The results showed that the automatic and manual spray washing after spinal cord removal decreased of CNST contamination especially in part 2 and 4 of carcass ( $P < 0.01$ ), however, it was not able to remove all of CNST on the part 1 and 3 of carcass surface. This results showed that spinal cord removal using the vacuum suction device prior to splitting could be very effective to minimize CNST contamination of beef carcass ( $P < 0.01$ ).

### **Results for improvement of safety of chicken during distribution**

#### 1. Antimicrobial activity of pathogenic microorganisms and screening of natural additives

The additives were tested for antimicrobial activity using the disc diffusion technique on solid media. Additives were examined for antimicrobial activity: butyric acid, acetic acid, lactic acid, nisin, water-soluble chitosan,

epigallocatechin gallate (EGCG), and garlic. Pathogenic microorganisms were tested against *Bacillus cereus*(ATCC 11778), *Bacillus subtilis* (ATCC 9372), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 21636), *Salmonella typhimurium* (KCCM 11862), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 10537) by using agar diffusion method. Antimicrobial activity of *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* were shown high activities in the acetic acid. Antimicrobial activity of *Staphylococcus aureus* were higher in the nisin and acetic acid. Antimicrobial activity of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* were shown high activities of three organic acid.

## 2. Antimicrobial activity of natural additives on pathogenic microorganisms of commercial chicken during storage

Antimicrobial activity of natural additives were investigated the antimicrobial effect on pathogenic microorganisms of commercial chicken during storage. Additives were examined for antimicrobial activity: butyric acid, acetic acid, water-soluble chitosan, epigallocatechin gallate (EGCG), and garlic. Pathogenic microorganisms were tested against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium*. Chicken skin(20cm<sup>2</sup>) inoculated with each pathogenic microorganism was exposed to 1% or 2% natural additives during storage at 4°C for 0, 3, 6, or 9 days. Treatment of 1% or 2% EGCG, or garlic powder reduced the numbers of *E. coli*. In the same condition, butyric acid and acetic acid inhibited the growth of *E. coli*. Treatment of 2% lactic acid reduced *Salmonella typhimurium* or *Pseudomonas aeruginosa*.

## 3. Inhibition effect of pathogenic microorganisms on natural additives and packaging condition of commercial chicken during storage

Antimicrobial activity of natural additives and packaging condition were investigated the antimicrobial effect on pathogenic microorganisms of commercial chicken during storage. Packaging condition was used in the storage experiment with antimicrobial papper and air packaging. Additives were

examined for antimicrobial activity: butyric acid, acetic acid, water-soluble chitosan, epigallocatechin gallate (EGCG), and garlic. Antimicrobial activities of combination of three specific additives (chitosan, EGCG, garlic) were also investigated. Pathogenic microorganisms were tested against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium*. Chicken skin(20cm<sup>2</sup>) inoculated with each pathogenic microorganism was exposed to 2% natural additives during storage at 4°C for 0, 6 or 9 days. Growth inhibition effects of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* of antimicrobial paper and vacuum packaging were higher in the butyric acid, acetic acid, chitosan. Antimicrobial activities of combination of three specific additives (chitosan, EGCG, garlic) of antimicrobial paper and air packaging were shown higher in the chitosan plus EGCG, chitosan plus garlic and chitosan plus EGCG plus garlic, but not EGCG plus garlic. Growth inhibition effects of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* were very higher in the combination of three additives (chitosan, EGCG, garlic).

## 2. Recommendation

Prevention of CNST dissemination on beef carcass is essential to ensure consumer confidence and allay consumer fears of BSE in meat products. Therefore, this study can be utilized for research to enhance the safety of animal food and to present methods to prevent central nervous system tissue (CNST), BSE infectious agent, contamination from beef carcasses. Based on the above results, the microbiological safety of additives and packaging condition for the reduction of pathogenic microorganisms was very higher in the combination of chitosan, EGCG and garlic on chicken skins during refrigerated storage. It will greatly contribute to develop the new additives preventing pathogenic microorganisms by growth inhibition of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa*. It also might be very useful for the treatment and prevention of pathogenic microorganisms of commercial chicken during distribution.

# CONTENTS

<b>I . Outlines of the research project .....</b>	<b>1</b>
1. Objectives of the research .....	1
2. Necessities of the research .....	1
3. Scopes of the research .....	5
<b>II . R &amp; D Status in Domestic and Overseas .....</b>	<b>7</b>
<b>III. Contents of the Research and its Results .....</b>	<b>12</b>
<b>A. Materials and Methods .....</b>	<b>12</b>
The primary subject: Control of central nervous system tissue (CNST) dissemination on beef .....	12
The secondary subject: Improvement of safety of chicken during distribution .....	22
<b>B. Results and Discussion .....</b>	<b>25</b>
The primary subject: Control of central nervous system tissue (CNST) dissemination on beef .....	25
1. Detection of CNST level on cut surfaces of imported fresh and frozen beef sub-primals .....	25
2. Detection of CNST level on cut surfaces of commercial Korean beef sub-primals and meat by-products .....	29
3. Comparison of dissemination of CNST on the beef carcass between large and small scale slaughterhouse .....	35
4. Examination on the effect of spinal cord removal before/after splitting and washing procedures on the CNST decontamination .....	39
The secondary subject: Improvement of safety of chicken during	



<b>distribution</b> .....	<b>46</b>
1. Antimicrobial activity of pathogenic microorganisms and screening of natural additive .....	46
2. Antimicrobial activity of natural additives on pathogenic microorganisms of commercial chicken during storage .....	54
3. Inhibition effect of pathogenic microorganisms on natural additives and packaging condition of commercial chicken during storage .....	62
<b>IV. Goal Accomplishment and Subsequent Contributions</b> .....	<b>77</b>
<b>V. Application Plan of the results</b> .....	<b>80</b>
<b>VI. Overseas Information on Science and Technology during the Project Years</b> .....	<b>82</b>
<b>VII. References</b> .....	<b>83</b>

# 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	1
제1절 연구개발의 목적 .....	1
제2절 연구개발의 필요성 .....	1
제3절 연구의 범위 .....	4
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	7
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 .....	12
제 1 절: 연구수행 방법 .....	12
제 1 세부과제: 쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술연구 .....	12
제 2 세부(협동)과제: 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구 .....	22
제 2 절: 연구결과 .....	25
제 1 세부과제: 쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술연구 .....	25
1. 시중에 유통 중인 수입 냉장, 냉동 쇠고기의 부위별 중추신경물질 오염도 측정 .....	25
2. 시중에 유통 중인 한우 쇠고기와 소 부산물의 중추신경물질 오염도 측정 .....	29
3. 대규모와 소규모의 도축장 내 소도체에서의 중추신경계 조직(CNST) 오염도 측정비교 .....	35
4. 도축장에서 중추신경물질(CNST) 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 방법의 조사 .....	39
제 2 세부(협동)과제: 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구 .....	46
1. 항균 천연 첨가물의 선발 및 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정 .....	46
2. 닭고기 저장 기간 동안 병원성 미생물에 대한 천연 첨가물의 항균 능력 조사 .....	54
3. 닭고기 저장 기간 동안 천연 첨가물과 포장방법에 의한 미생물 억제효과 .....	62

제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도 .....	77
제 5 장 연구 개발 결과의 활용 계획 .....	80
제 6 장 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보 .....	82
제 7 장 참고문헌 .....	83

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적

소의 BSE 질병 생성의 원인물질이 되는 중추신경계조직(CNST)의 도체 오염을 억제하는 기술을 개발하고 생닭고기의 저장 유통 기간 동안의 미생물학적 안전성을 위한 첨가물 및 포장 조건을 확립하여 안전하고 건강한 유통 기술을 개발하고자 한다.

## 제 2 절 연구개발의 필요성

최근 각종 가축 질병(BSE, AI, 구제역, 브루셀라병)으로 인하여 소비자들의 식육에 대한 불신이 확대되고 식육의 소비도 위축되고 있는 상황에 있다. 특히 쇠고기의 경우 대부분의 EU국가와 미국, 캐나다 그리고 이웃나라인 일본에서도 BSE가 발생하여 수입육과 한우육을 소비하는 국내 소비자들의 고기소비에 대한 불안이 증가되고 있는 실정이다. BSE의 원인인 프리온(Prion)단백질은 중추신경계(CNS)에 존재하여 도체 절단시 지육에 오염되어 도체가공시 정육에까지 오염될 가능성이 크다. 특히 우리나라의 경우 식용동물(소)에서 살코기 이외에 뇌나 척수와 같은 특정위험물질을 즐겨먹는 식습관은 앞으로 소비자의 안전을 위해서는 안전하지 않다고 할 수 있다. 따라서 특정위험물질의 정의를 확실히 하고, 설정된 부위의 제거방법 등을 명확히 할 필요성이 대두되고 도축장에서 생산하는 도체에 중추신경계조직(CNST)이 오염되지 않게 하는 기술의 개발이 필요하다. BSE 발생원인물질인 쇠고기의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 측정하고 오염원 차단을 통한 쇠고기 정육에 대한 안전성을 제공할 필요가 있다. 따라서 본 연구는 쇠고기의 중추신경계물질의 검출과 오염 방지 기술을 개발하고 생닭고기 유통 중 안전성 향상 기술의 개발로 적색육(red meat)과 백색육(white meat)에 대한 종합적인 안전성 증진 방안을 확립할 수 있는 연구가 될 것이다.

## 1. 기술적 측면

최근 각종 가축 질병 때문에 소비자들의 식육에 대한 불신이 확대되고 있는데 특히 쇠고기의 경우 BSE로 인해 소비자들의 고기소비에 대한 불안이 증가되고 있어 이를 불식시키기 위해 BSE 발생원인 물질인 쇠고기의 중추신경조직을(CNS) 측정하여 쇠고기 정육에 대한 안전성을 제공할 필요가 있다.

BSE 에 관한 연구는 아직 초창기에 머물러 있으며, 국내의 경우 관련연구가 수의 과학검역원을 제외한 학계에서는 거의 전무한 실정인데 여러 수많은 선진국의 경우는 BSE의 원인인 프리온(Prion)단백질과 인간광우병인 vCJD 에 관련된 연구 그리고 소도체에서의 중추신경계조직(CNST) 오염제거에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있는 실정이다. FTA 체결이후 미국산 쇠고기의 수입이 곧 재개되면서 수입육에 맞서기 위해 좀 더 안전한 축산물을 소비자들에게 공급하고 소비자들의 불안을 해소하기 위한 목적으로 정부주도하의 좀 더 많은 연구가 진행이 되어야 한다고 본다. BSE의 원인인 프리온(Prion)단백질은 중추신경계(CNS)에 존재하여 도체 절단시 정육에 오염될 가능성이 크다. 따라서 도축장에서 생산하는 도체에 중추신경이 오염되지 않게 하는 기술의 개발이 필요하다. 특히 국내의 경우 외국과는 달리 BSE와 관련된 소도체에서의 중추신경계조직(CNST) 오염도와 오염제거에 관한 연구가 전무한 실정으로 향후 좀 더 과학적인 연구가 진행되어야 한다.

신선육에는 가축으로부터 유래하는 중온성 세균과 외부 환경에서 유래하는 저온성 세균이 내재하는 것으로 알려져 있다. 이들 미생물들은 10℃이하의 냉장조건에서 *Yerishina spp.* 및 *Listeria spp.* 등의 일부를 제외하고 병원균의 증식은 억제되지만 *Pseudomonas spp.* 와 같은 저온성세균들은 저장 기간이 경과함으로써 급속한 증식을 유발하는 것으로 보고되고 있다. 냉장육에서는 일반적으로 저온세균인 *Pseudomonas*, *Acinetobacter/Moraxella*, *Lactobacillus spp.* 및 *Micrococcus*등과 같은 그람음성 세균과 그람양성 세균 중에서 그람음성 세균이 90% 이상의 높은 비율로 존재하는 것으로 알려져 있다. 그람 음성균으로 저온성 식육부패균인 *Pseudomonas*는 *P. geniculata*, *P. fragi*, *P. rugosa*, *P. fluorescens*, *P. mephitica*, *P. putida* 등이 축종에 관계없이 식육에서 일반적으로 증식하는 것으로 알려져 있으며, 이들 세균은 근장(筋漿)이나 근원섬유단백질에 대하여 강한 분해 활성을 나타내

는 것으로 밝혀져 있다. 냉장 닭고기 및 식육의 위생과 안정성에 영향을 미치는 미생물학적 인자는 호기성 육 부패세균 (*Pseudomonas spp.* 등) 및 병원성 식중독균의 오염과 증식으로 알려져 있다. 닭고기의 유통과정 동안 교차오염은 도체에 미생물을 오염시키는 주요한 요인이다. 미생물 오염 방지를 위한 이화학적 육 세척법등의 적합한 품질관리의 부재에 기인하여 최종 생산된 닭고기는 유통과정 동안 저장성 감소가 유발되고 있다. 이러한 이유에 기인하여 도살직후 미생물 오염을 극소화하는 여러 가지 물리적, 화학적인 육세척 방법에 대한 연구가 수행되고 있다. Kim(1998)이 국내산 냉장 닭고기의 저장 동안 이화학적 그리고 미생물학적 연구를 실시한 바에 의하면 도계장, 도매점 및 소매점 유통 그리고 4℃ 냉장 동안 품질저하에 의한 상품성 감소의 유발가능성이 높은 것으로 보고하였다. 생닭고기 유통기간 동안 품질 안정성 확보를 위한 연구는 소비자의 식육 안정성 및 위생을 위해 천연 항균 첨가제와 포장방법을 개선기술을 산업적으로 실용화하는 기술개발이 필요하다.

## 2. 경제·산업적 측면

2003년 미국에서 발생한 BSE는 우리나라 육류시장 침체의 직격탄이 됐다. 한국 쇠고기 시장의 50%이상을 차지하던 미국산 쇠고기 수입이 중단되었으며 이로 인한 쇠고기 가격상승, 대체재인 돼지고기 가격 폭등 등 국내 육류 시장의 혼란은 그 어느 때보다 심각한 수준에 이르렀다. 결국 한국 소비자들은 최악의 경기침체로 인한 소득감소와 폭등한 육류가격으로 인하여 사람에게 필수적인 동물성 단백질의 공급원을 줄일 수밖에 없는 현실에 직면하고 있다. 따라서 현재 가장 중요한 것은 보다 안전하고 소비자들이 신뢰할 수 있는 질 좋은 육류를 적절한 가격에 소비할 수 있는 여건이 마련되어야 한다는 것이다(미트저널, 2005년 2월). 그러므로 도체에 중추 신경계조직(CNST)의 오염 가능성을 차단함으로써 쇠고기 정육 소비시 소비자 안전을 보장해줌으로써 소비자 신뢰도를 증가시켜 쇠고기 소비를 회복시킬 수 있다. 소도체의 중추신경계물질 오염도를 조사하고 오염억제를 통한 BSE(광우병)에 안전한 쇠고기 생산 방법을 산업화하고 소비자들의 식육의 안전성에 대한 불신을 감소시킬 필요가 있다. 또한, 닭고기에 천연항균물질의 첨가로 안전성을 향상시켜 저장 수명을 증진시키면서도 경제성이 있는 최적 저장 연장 조건을 찾을 수 있다.

### 3. 사회·문화적 측면

최근 EU 와 미국, 캐나다 그리고 일본에서까지도 BSE 가 발생하면서 사람들은 BSE의 위험성 때문에 육류소비가 심각하게 둔화되었다. 이것은 일반 소비자들이 알고 있기에는 우리나라에서 생산되고 있는 쇠고기에도 그런 위험이 도사리고 있지 않을까하는 의심 때문이다. 현재까지 보고된 바에 의하면 우리나라와 같이 BSE 에 걸린 소가 한 마리도 없는 나라에서는 감염원이 아예 없으므로 광우병이 발생할 수 없다고 보고하고 있다. 국제수역사무기구(OIE)에서는 소에서 짜는 우유, 고기 등은 안전하다고 보고 있으며, 광우병 소의 뇌, 척수, 등배신경절, 회장, 3차신경절, 비장, 안구 등은 위험하다고 보고하고 있다. 하지만 우리나라 사람들이 즐겨먹는 소의 살코기 이외의 특정위험물질(SRM) 의 경우에는 광우병시대에는 위험하다고 볼 수 있다. 따라서 특정위험물질(SRM) 의 정의를 명확히 하고, 설정한 부위의 제거방법, 제거한 특정위험물질(SRM) 의 처리방법 등을 법으로 정해야 한다(미트저널, 2004).

BSE의 문제는 발생국만의 문제가 아닌 범세계적인 관점에서 공통적으로 해결해야 할 문제이다. 이는 발생국 중심으로 BSE 위험관리를 위한 조치나 광범위한 감시체제를 가동하고 있음에도 불구하고 완벽하고 확실한 데이터가 여전히 제공되고 있지 못하고 있기 때문이다. 불완전하고 확실하지 않은 정보를 근거로 하는 분석은 잘못된 결론을 유도한다. 유통 중인 쇠고기나 육제품이 BSE로부터 안전하다는 사회적 인식의 확산이 절실하다(미트저널, 2005). 따라서 BSE 발생원인 물질인 쇠고기의 중추신경조직을(CNST) 측정하여 쇠고기 정육에 대한 안전성을 제공할 필요가 있다. BSE 문제는 가축의 문제일 뿐만 아니라 소비자의 보호문제이기도 하기 때문이다. 또한, 유통 중인 쇠고기와 닭고기의 육류 소비가 미생물로부터 안전하다는 사회적 인식의 확산을 위해 필요하다. 지난 1998년 이후 학교 급식 및 집단 급식소의 확대 등으로 식중독 사고가 증가하고 있으며 대형화 되고 있다. 지난 전체 식중독 사고 중 학교 급식에 의한 환자수는 22.2%였으나 98년 30.3%, 99년 43.4%, 2000년 65.9%, 2001년 70.7%, 2002년 27%를 차지한 것으로 집계되었다. 우리나라에서 발생하는 식중독 원인균은 살모넬라와 장염 비브리오균, 황색 포도상구균으로 집계되었으나 아직 원인균을 밝히지 못한 경우가 2001년 39건(환자수 3,380명), 2002년 26건(환자수 1,282)으로 각각 41.5%와 33.3%를 차지하고 있다. 생활 수준이 향상되고 식품산업이 발달함에 따라 닭고기는 영양 간식이나 술안주용으로 이용이 되고 있으며 지방함량

이 적은 식육으로서 건강과 다이어트를 위해 선택되고 있다. 지방과 더불어 칼로리 과다 섭취로 비만과 체중 과다 인구가 급격히 증가하고 있다. 미국 칼로리 조절협회 (Calorie Control Council)에 의하면 사람들이 저지방 저칼로리 식품의 섭취를 통해 체중 감량을 시도하고 있으며 실효를 거두고 있다고 보고 하였다. 또한 성인의 90%가 저지방, 저칼로리 제품을 구입한 적이 있다 라고 보고 하여 현대인들의 비만에 대한 걱정을 나타내고 있다. 단체 급식 시장, 외식산업의 확대, 가족단위의 핵가족화에 따라 간편 제품에 대한 수요가 증가해 닭고기도 부분육으로서의 소포장 제품의 필요가 급증하고 있으며 이에 따른 안전성의 요구도 증가하고 있다.

### 제 3 절 연구의 범위

#### 1. 제 1 차년도

##### 가. 문헌 조사 및 자료 수집

- 1) BSE 및 중추신경계조직 오염도 및 오염방지에 대한 기초 문헌 조사와 닭고기의 안전성 증가를 위한 천연 항균물질 검색에 대한 기초 자료 수집 분석을 통한 활용 가능성 조사하였고 병원성 미생물의 식육오염상황을 조사하였다.

##### 나. 시중에 유통 중인 수입 냉장, 냉동 쇠고기의 부위별 중추신경물질 오염도 측정

- 1) 냉장 및 냉동 호주산, 뉴질랜드산, 미국산 쇠고기의 부위별 시료채취 후 ELISA 방법을 이용한 중추 신경물질오염도 측정

##### 다. 항균 천연 첨가물의 선별 및 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정(in vitro)

#### 2. 제 2 차년도

##### 가. 시중에 유통 중인 한우 쇠고기와 소부산물의 중추신경 물질 오염도 측정

- 1) 한우 쇠고기의 부위별, 등급별 시료채취 후 ELISA 방법을 이용한 오염도 측정



나. 닭고기 저장 기간 동안 병원성 미생물에 대한 천연 첨가물의 항균 능력 조사

- 1) 첨가물에 의한 병원성 미생물 억제효과 및 첨가물과 병원성 미생물에 의한 pH 변화

### 3. 제 3 차년도

가. 도축장 내 중추신경계물질 오염도 조사 및 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 방안 확립

- 1) 대규모와 소규모의 도축장 내 소도체에서의 중추신경계물질 오염도 측정비교
- 2) 자동, 수동세척 및 분할 전/후의 특정위험물질(SRM)인 척수제거 방법 등을 통한 오염도 감소효과 입증

나. 닭고기 저장 기간 동안 천연 첨가물과 포장방법에 의한 미생물 억제효과

- 1) 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과
- 2) 천연첨가물 배합과 항균지 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과
- 3) 천연첨가물 배합과 진공 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

쇠고기 중추신경계물질 오염방지 기술에 관련된 연구의 경우 광우병이란 1986년 영국에서 처음 보고되어 문제시된 소의 질병으로 뇌의 특정부분이 스폰지처럼 변형되어 각종 신경증상을 보이다가 폐사되므로 소 해면상뇌증(BSE)이라고 하며, 원인체는 변형 프리온(prion) 단백질로 추정되고 있다. 사람에서 나타나는 크로이츠펠트-야콥병(CJD)은 광우병과 유사한 증상과 조직소견을 나타내며 광우병과 마찬가지로 변형프리온에 의하여 발생하지만 광우병이 발견되기 이전부터 인구 백만 명당 한 명꼴로 자연적으로 발생되어온 질병이며 현재도 나타나고 있다. 그러나 최근부터 문제가 된 변형크로이츠펠트-야콥병(vCJD)은 고전적인 CJD가 노년층에서 주로 발생하는 것과 달리 젊은 사람에게도 발병하는 것이 특징이며, 광우병이 집중적으로 발생한 영국에서 지리적, 시기적으로 질병의 발생이 일치하는 역학적 증거가 분명히 있고 고전적인 CJD와는 조직소견이 약간 다르다는 점 등으로 보아 vCJD는 광우병과 관련이 있는 것으로 알려지고 있다.

또한 현재까지 알려진 연구결과 소 해면상뇌증(BSE)에 감염된 소의 중추신경조직(CNST)을 인간이 섭취하면 인간 광우병(vCJD)에 감염되는 것으로 알려져 왔다(Hill 등, 1997). Prusiner 교수는 1997년 비정상적인 형태의 프리온 단백질이 BSE 와 vCJD를 야기한다고 보고하여 노벨상을 수상하였다. 이와 같은 프리온은 소의 중추신경계조직(CNST)에서 많이 발견된다.

특정위험물질(SRM)은 BSE 전염원으로 알려진 프리온 단백질과 연관이 있는 것으로 30개월 이상 된 소에서 생산된 두개골, 뇌, 삼차 신경중추(뇌에 연결되거나 두개골 외부에 매우 근접한 신경 세포군), 눈, 편도선, 척수, 척추근 중추(척수에 연결되거나 척추에 매우 근접한 신경세포군), 모든 연령의소에서 생산된 회장 말단(곱창의 일부), 두개골을 제외한 BSE 감염소의 SRM 조직들은 이 질병의 감염인자를 보유하고 질병을 전염시킬 수 있는 것으로 보고되고 있다(Smith, 2005).

광우병(BSE)에 감염된 소에서 뇌나 척수와 같은 특정위험물질(SRM) 혹은 중추신

경계조직(CNST)이 근육에 오염된다면 식품의 안전에 있어 매우 우려되는 부분이다. 감염된 중추신경계조직(CNST)이 식육육제품에 부주의하게 오염되는 원인은 주로 광우병(BSE)에 감염된 소도축시, 육가공과정중의 교차오염 혹은 가축을 기절할 때 등과 관련이 있다(Helps 등, 2004; Schmidt 등, 1999). 중추신경계조직(CNST)조직은 변형된 프리온 단백질(PrP<sup>sc</sup>)을 포함하고 있을 수 있다. 수많은 해외문헌에서 소도축 과정 중 등뼈를 기준으로 톱으로 자르는 도체 이 분할 과정을 거치기 때문에 그 과정에서 중추신경계조직(CNST)이 도체의 표면에 튀어 오염되어 도체를 분할하기 전에 중추신경계조직(CNST)를 제거하거나 분할 과정 삭제에 관한 연구논문들이 보고되고 있다. 유럽에서는 최근에 도체 생산과정에서 지속적으로 오염도를 측정하고 있으며 도축장에서 생산되는 모든 소고기에 중추신경계 조직의 오염을 방지하는 방법이 수행되어지고 있다. 하지만 국내의 경우 본 보고서에서 수행되어진 연구가 최초이며 이와 연관된 연구가 전무한 실정이다.

영국정부가 1989년 최초로 인간이 섭취하는 식품에 특정위험물질이 이용되는 것을 법으로 금지한 이후 유럽연합 EU 에서도 2000년에 식품에 특정위험물질이 이용되는 것을 금지시켰다. 하지만 국내의 경우 소도축장에서의 뇌나 척수와 같은 중추신경계 조직(CNST)의 오염제거에 관한 규정이 없는 실정이며 현재 대부분의 도축장에서 특정위험물질이 제거되고 있지 않은 실정이며 뇌나 척수, 회장과 같은 소부산물이 시중에 유통되어 소비자들에게 판매되고 있는 것이 현실이다. 따라서 소도체에서의 중추신경계조직(CNST)의 오염도 및 오염제거에 관한 심도 있는 연구가 필요한 상태이다. 또한 정부주도하의 특정위험물질(SRM)의 정의를 명확히 하고, 설정한 부위의 제거방법, 제거한 특정위험물질(SRM)의 처리방법 등을 법으로 정해서 국내 모든 도축장에서의 특정위험물질(SRM) 제거 및 처리에 관한 규정을 시행하여야 할 것이다.

또한, 생닭고기 유통중 안전성 향상 기술 연구의 경우 냉장 닭고기 및 식육의 위생과 안전성에 영향을 미치는 미생물학적 인자는 호기성육 부패세균 (*Pseudomonas spp.* 등) 및 병원성 식중독 균의 오염과 증식으로 알려져 있다. 닭고기의 유통과정 동안 교차오염은 도체에 미생물을 오염시키는 주요한 요인이다. 미생물 오염방지를 위한 이화학적 육 세척법등의 적합한 품질관리의 부재에 기인하여 최종 생산된 닭고기는 유통과정 동안 저장성 감소가 유발되고 있다. 이

러한 이유에 기인하여 도살 직 후 미생물 오염을 극소화하는 여러 가지 물리적, 화학적인 육세척 방법에 대한 연구가 수행되고 있다. Kim(1998)이 국내산 냉장 닭고기의 저장 동안 이화학적 그리고 미생물학적 연구를 실시한 바에 의하면 도계장, 도매점 및 소매점 유통 그리고 4℃ 냉장 동안 품질저하에 의한 상품성 감소의 유발가능성이 높은 것으로 보고하였다. 1997년 이래로 닭고기를 포함한 냉장 식육의 수출입 자유화를 통한 냉장 유통이 시행되고 있기 때문에 국내산 냉장 닭고기의 품질관리에 관한 연구가 필요하다. 닭의 표피, 장내용물, 도살기구 및 도계장 근무자들의 위생은 도계과정 동안 도체에 미생물을 오염시키는 주요한 요인이다. 따라서 철저한 위생적인 방법으로 닭을 도살하고 또 해체하는 것이 가장 기본적인 미생물 오염방지 대책이라는 것은 잘 알려져 있으나, 적합한 품질관리의 부재에 기인하여 최종 생산된 닭고기는 유통과정 동안 저장성 감소가 유발되고 있다. 특히 닭고기에는 다른 식육에 비해 리놀레산등의 필수지방산에 해당하는 불포화 지방산 함량이 높고 냉장동안 지질의 산화속도가 빠르게 일어나며, 특히 열처리 동안 가속화 되는 것으로 알려져 있다. 도계 냉각 공정 후 주로 오염되는 세균은 소나 돼지와 같이 *Pseudomonas, Acinetobacter / Moraxella, Aeromonas* 등의 그람 음성균 (gram negative bacteria) 및 *Micrococcus, Staphylococcus* 등의 그람 양성균 (gram positive bacteria)으로 복잡하고 광범위한 균종에 의한 것으로 보고되고 있다. 또한 닭고기에는 *Salmonella spp., Campylobacter spp., Staphylococcus spp. Escherichia coli* 등의 식중독균이 주로 오염되고 있으며, 최근에는 *Listeria monocytogenes*의 오염이 높은 것으로 보고되고 있다. 이들 병원균의 지육에 있어서 오염은 특히 *Salmonella spp.* 및 *Campylobacter spp.*의 오염이 쇠고기 및 돼지고기보다도 높고 이들 균을 원인으로 하는 식중독의 매개 식품으로서 닭고기가 직 간접으로 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 키토산은 자연계에서 셀룰로우스 다음으로 많이 존재하는 다당류의 천연 물질이며 갑각류의 껍질에 많이 함유되어 있는 키틴을 탈 아세틸화 하여 얻을 수 있다. 키토산은 식품을 비롯한 여러 분야에서 이용이 되고 있는데 항산화, 항콜레스테롤, 흡착능력, 항균 능력과 같은 기능적 특징을 지닌 것으로 알려져 있다. 특히 식육제품에 이용되는 키토산은 대부분 미생물의 생육을 억제하는 항 미생물 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있어 이와 관련하여 키토산의 분자량에 따른 항 미생물적 효과에 대한 연구가 진행되고 있다. 식품의 안전성을 증가시키기 위해 젯산균 박테리아 킬처와 이들 박테리

오신을 사용해서 병원성 그리고 부패성 미생물을 억제하기 위한 새로운 노력들이 진행되어왔다. 식품 보존제로서 상업적으로 최초로 이용된 bacteriocin인 nisin은 1900년대 초기에 처음으로 발견되었다. 젖산균에 의해 생합성된 bacteriocin들은 다양한 종류의 peptide 억제제들을 통칭하는 용어로서, lantibiotic 들의 class I, 작고 열에 안정한 peptide들의 class II, 그리고 분자량이 크고 열에 불안정한 단백질들인 class III로 구분할 수 있다. 첫 번째 두 class에 속하는 많은 bacteriocin들은 식품내에서 바람직하지 않은 미생물들의 성장을 억제하기 위해 효과적으로 이용될 수 있다. 그러나 단지 class I에 속하는 nisin 만이 산업적으로 대량으로 생산된 후 부분적으로 정제되어 식품 보존제로서 이용될 수 있도록 허가되었다. 일부 연구에서는 박테리오신이 생육, 독일 스타일의 생 소시지, 프랑크후르트 소시지와 wiener 소시지의 표면 미생물을 억제한다고 밝혔다. 냉장용 즉석 육류제품에 보호 culture로서 bacteriocin을 생산하는 젖산균을 포함한 다른 젖산균들로 구성된 경쟁 미생물군(competitive microflora)을 첨가하는 방법들이 이용되고 있다. 식품에 많이 이용되는 유기산에는 acetic acid, lactic acid, citric acid가 있는데 FDA는 유기산을 GRAS 즉 안전한 식품첨가물로 인정하고 있으며 도축장의 미생물 성장 억제제로 쓰이고 있다. FSIS는 acetic acid, lactic acid, citric acid가 도축장과 식육의 가공처리과정 중에 적육, 가금육, 부산물의 살균처리에 효과적이면서 안전하게 이용될 수 있다고 승인하였다. 식육의 미생물 감염은 대부분 도축과정이나 포장 과정에서 이루어지는데 *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* 등이 있다. 유기산의 항미생물 메카니즘은 처리환경내 pH를 저하시켜 병원성 미생물의 환경을 파괴하고, 해리정도가 병원성 미생물에 치명적인 손상을 주는 것으로 보고되고 있다. 돈육 소시지에 sodium lactate를 처리한 후 저장 기간동안에 pH가 유의적인 미생물억제 효과가 있다고 Brewere 등(1991)은 보고하였으나 Kemp 등(1989)은 진공포장 햄에서 pH가 감소하면 신맛과 불쾌취가 증가한다고 보고하였다. 식품 포장의 원래 목적은 식품을 외부 미생물이나 기타 오염물질로부터 방어하는 것이다. 오염을 일으키는 물질로는 미생물이외에도 산패를 발생시키는 산소, 물 또는 수분(water vapor), 빛, 벌레 및 기타 동물류 등이 있다. 이렇게 외부로부터의 침입을 막아주기 위해 개발된 것이 기능성 포장이다. 이 포장은 식품의 영양학적 품질과 안전성은 보장하면서 최적의 저장 조건을 이루고 있다. 대표적인 기능성 포장으로는 특정 기체의 농도를 방출 또는 흡착으로 조절하는 기능, 항균 물질이나 항산화제 등의 첨가제를 이용하는 기술들이 있다. 유통과정동안에 식품이 미생물 오염이 되면 식품의 표

면부터 부패를 발생시키는데 항균성 포장은 기능성 포장의 일부분으로 항균물질을 포장재로부터 식품 표면으로 서서히 방출시켜 미생물의 오염을 막아줌으로서 최종적으로 식품의 저장 수명(shelf life)를 연장시킨다. 이런 기능성 포장 중에서 가장 오랫동안 연구가 이루어져온 분야가 탈산소 포장(oxygen scavenging packaging)이다. 탈산소포장은 주로 탈산소제가 산소투과성 소포장내에 들어있어 내포장 공간의 산소를 흡수함으로써 주로 곰팡이류의 성장억제와 지방의 산패를 방지한다(Rice, 1988; 한, 1997). 이상에서 살펴본 바와 같이 냉장 유통 중인 닭고기가 병원성 미생물로부터 안전성을 확보하기 위한 더 많은 연구 노력이 필요한 상황이다.

## 제 2 절 앞으로의 전망

중추신경계조직(CNST) 오염 방지를 통한 안전한 쇠고기 생산이 가능하고 소비자들에게 식육의 안전성에 대한 불신을 감소시킬 수 있다. 또한 생닭고기에 천연항균물질을 이용한 안전성 향상 기술을 산업체에 이전할 수 있으며 이용되는 천연항균물질과 포장 방법은 인체에 무해한 것으로 소비자들의 관심을 얻을 수 있을 것이다.

## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구수행 방법

#### 제 1 세부과제 : 쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술연구

##### 1. 시중에 유통 중인 수입 냉장, 냉동 쇠고기의 부위별 중추신경물질 오염도 측정

###### 가. 실험재료

국내 식육시장에 수입되어 유통 중인 호주산과 뉴질랜드산 그리고 미국산 쇠고기 냉장육과 냉동육을 시중 K, E 그리고 C 마트 등에서 구입하여 시료로 사용하였다. 또한 국내에 수입되어 유통 중인 미국산, 아르헨티나산 소시지(쇠고기 함유)도 구입하여 시료로 사용하였다. 모두 동일조건 하에서 냉장육은  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ 에서 냉동육은  $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ 에 보관중인 것을 각각 구입하여 실험을 위해 사용되었다.

###### 나. 실험방법

쇠고기 내 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해내기 위해서는 세포마커인 Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)의 결정물에 의해 검출되는데 (Hajmeer 등, 2003) 이 GFAP의 정량분석을 위해 일반적으로 널리 사용되는 Ridascreen risk material 10/5 (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) test kit을 이용하여 실험을 수행하였다. 이 kit는 microtiter plate의 Sandwich enzyme immunoassay(ELISA) 방법을 근간으로 하여 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해낼 수 있으며 수많은 문헌에서 쇠고기의 중추신경계조직의 오염도를 검출하는데 이 방법이 이용된다(O'Callaghan, 1991; Hossner 등, 2006; Yesibag 등, 2005; Bozzetta 등, 2006; Hajmeer 등, 2003, 2006; Schmidt 등, 1999). 모든 분석법은 kit 내 Ridascreen risk material (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) Manual(Art. No. R6703)에 따라 수행되었다.

### 1) 샘플 준비

멸균시킨 면봉(Fisher Scientific, Huston, TX)을 이용하여 쇠고기 시료표면에 가로와 세로 각각 5회 문지른 다음 swabbing한 후 0.5% SDS sample dilution buffer(1ml)가 들어있는 2ml 짜리 test tube내에서 면봉을 squeezing(짜내어) 넣었다. 각각의 샘플은 분석시 well 당 50 $\mu$ l을 사용하였다. Ridascreen risk material test kit에서 제공된 standards solution 과 시료에 필요한 충분한 수의 항체가 코팅된 well을 microwell holder에 끼운다.

### 2) 항원, 항체 반응을 이용한 ELISA test

CNS조직성분이 각각 0%, 0.1%, 0.2%, 0.4% 들어있는 standard solution 과 준비된 샘플이 담긴 각각의 test tube로부터 well에 50 $\mu$ l을 분주하였다. enzyme conjugate solution 50 $\mu$ l을 시료를 함유하고 있는 well에 주입한 후 plate를 손으로 가볍게 돌리면서 부드럽게 섞고 20-25도로 10분간 배양시켰다. wells내 용액을 버리고 wells내의 용액을 완전히 제거하기 위하여 흡수성 종이를 바닥에 깔고 microwell holder을 강하게 두드린 후 각 well에 250 $\mu$ l의 washing buffer를 이용하여 행군 뒤 이 buffer를 다시 버리고 이것을 두 번 이상 반복하였다. 그리고 Tetramethylbenzidine가 함유되어 있는 substrate/chromogen solution을 각 well에 100 $\mu$ l씩 넣어 완벽히 섞은 후 암실에서 20-25도로 5분간 배양시켰다. 이때 enzyme conjugate에 의해 붉은 색의 Chromogen이 푸른색으로 바뀌게 되는데 각 well에 100 $\mu$ l의 stop reagent solution을 넣고 plate를 손으로 돌리며 부드럽게 섞었다. 이 때 stop reagent에 의해 푸른색이 노란색으로 바뀌게 된다.

### 3) Microtilter plate spectrophotometer 측정

Stop reagent solution을 첨가한 지 15분 내에 microtilter plate spectrophotometer (Microplate Reader 550, BioRad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450nm의 흡광도로 Standard와 각각의 쇠고기조직내에 중추신경계조직(CNST) 오염도를 측정하였다.



#### 4) 통계분석

Standard curve 와 R value는 SigmaPlot 의 3D Mesh Plot을 이용(Anonymous, 1999)하여 2차방정식을 구한 후 Ridascreen risk material test kit에서 제공된 standards solution의 흡광도값을 환산하여 환산된 값을 쇠고기조직 내 중추신경계조직(CNST) 존재유무를 확인하였다.

## 2. 시중에 유통 중인 한우 쇠고기와 소 부산물의 중추신경 물질 오염도 측정

### 가. 실험재료

국내 식육시장에 유통 중인 한우육을 국내 E, G, L, N 마트 등에서 구입하여 시료로 사용하였다. 또한 국내에 유통 중인 식육부산물도 가락동 농수산물 도매시장과 마장동 축산물시장으로부터 구입하여 분석을 위한 시료로 사용하였다. 모두 동일조건 하에서 냉장상태( $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ )를 유지하여 실험을 위한 시료로 사용되었다.

### 나. 실험방법

쇠고기내 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해내기 위해서는 세포마커인 Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)의 결정물에 의해 검출되는데 (Hajmeer 등, 2003) 이 GFAP 의 정량분석을 위해 일반적으로 널리 사용되는 Ridascreen risk material 10/5 (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) test kit 을 이용하여 실험을 수행하였다. 이 kit는 microtiter plate의 Sandwich enzyme immunoassay(ELISA) 방법을 근간으로 하여 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해낼 수 있으며 수많은 문헌에서 쇠고기의 중추신경계조직의 오염도를 검출하는데 이 방법이 이용된다(O'Callaghan, 1991; Hossner 등, 2006; Yesibag 등, 2005; Bozzetta 등, 2006; Hajmeer 등, 2003, 2006; Schmidt 등, 1999). 모든 분석법은 kit 내 Ridascreen risk material (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) Manual(Art. No. R6703) 에 따라 수행되었다.

#### 1) 샘플 준비

멸균시킨 면봉(Fisher Scientific, Huston, TX)을 이용하여 쇠고기 시료표면에 가로

와 세로 각각 5회 문지른 다음 swabbing한 후 0.5% SDS sample dilution buffer(1ml)가 들어있는 2ml test tube 내에서 면봉을 squeezing(짜내어) 넣었다. 각각의 샘플은 분석 시 well 당 50 $\mu$ l을 사용하였다. Ridascreen risk material test kit에서 제공된 standards solution 과 시료에 필요한 충분한 수의 항체가 코팅된 well 을 microwell holder에 끼운다.

## 2) 항원, 항체 반응을 이용한 ELISA test

CNS조직성분이 각각 0%, 0.1%, 0.2%, 0.4% 들어있는 standard solution과 준비된 샘플이 담긴 각각의 test tube로부터 well에 50 $\mu$ l을 분주하였다. enzyme conjugate solution 50 $\mu$ l을 시료를 함유하고 있는 well 에 주입한 후 plate를 손으로 가볍게 돌리면서 부드럽게 섞고 20-25 $^{\circ}$ C로 10분간 배양시켰다. wells내 용액을 버리고 wells내의 용액을 완전히 제거하기 위하여 흡수성 종이를 바닥에 깔고 microwell holder를 강하게 두드린 후 각 well에 250 $\mu$ l의 washing buffer를 이용하여 행군 뒤 이 buffer를 다시 버리고 이것을 두 번 이상 반복하였다. 그리고 Tetramethyl- benzidine이 함유되어 있는 substrate/chromogen solution을 각 well에 100 $\mu$ l씩 넣어 완벽히 섞은 후 암실에서 20-25 $^{\circ}$ C로 5분간 배양시켰다. 이때 enzyme conjugate에 의해 붉은 색의 Chromogen이 푸른색으로 바뀌게 되는데 각 well에 100 $\mu$ l의 stop reagent solution을 넣고 plate를 손으로 돌리며 부드럽게 섞었다. 이 때 stop reagent에 의해 푸른색이 노란색으로 바뀌게 된다.

## 3) Microtilter plate spectrophotometer 측정

Stop reagent solution을 첨가한 지 15분 내에 microtilter plate spectrophotometer (Microplate Reader 550, BioRad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450nm의 흡광도로 Standard와 각각의 쇠고기조직 내의 중추신경계조직(CNST) 오염도를 측정하였다.

## 4) 통계분석

Standard curve 와 R value는 SigmaPlot 의 3D Mesh Plot을 이용(Anonymous, 1999)하여 2차방정식을 구한 후 Ridascreen risk material test kit에서 제공된 standards solution 의 흡광도값을 환산하여 환산된 값을 쇠고기조직 내 중추신경계 조직(CNST) 존재유무를 확인 하였다.

### 3. 대규모와 소규모의 도축장 내 소 도체에서의 중추신경계조직(CNST) 오염도 측정 비교

#### 가. 실험시료채취

국내 대규모와 소규모 도축장에서 도축된 소 도체 총 60두가 시료로 사용되었다. 하루에 300두까지 도축가능한 대규모 도축장의 경우 현재 소 도축하는데 가장 널리 이용되는 충격법(penetrating captive bolt gun=PCB)을 이용한 기절방법이 사용되었고 하루에 100두 미만으로 도축 가능한 소규모 도축장의 경우 타격법(Non-penetrating sledge hammer= NPH)을 이용한 기절방법이 사용되었다. 시료채취는 그림 1과 같이 이분체한 도체 안쪽 4부위와 바깥쪽 4부위 총 8부위가 사용되었다.

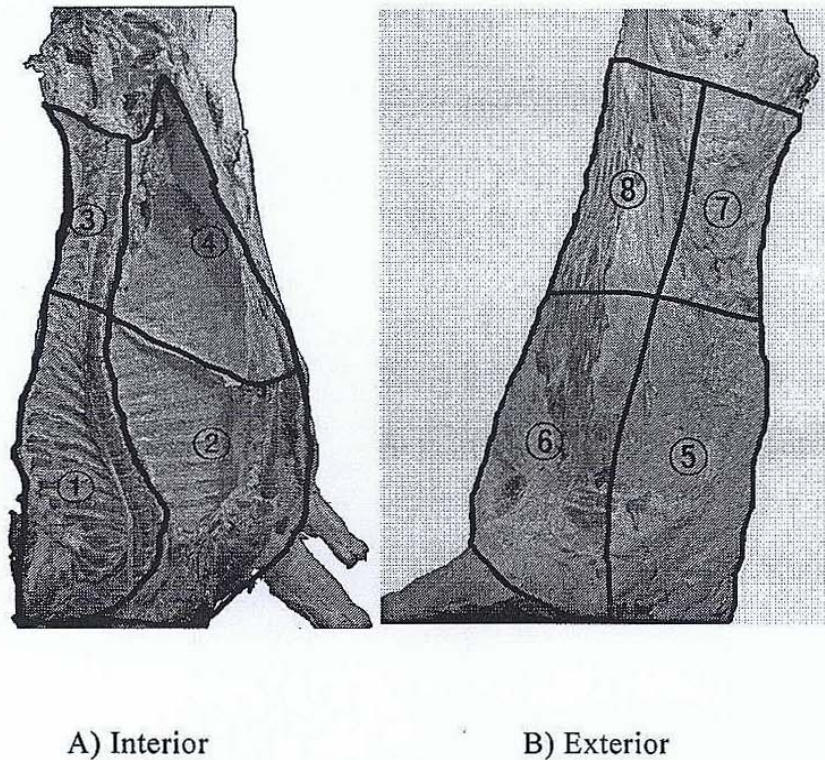


Fig. 1. Schematic diagram of the 8 parts swabbed on the split beef carcasses.

## 나. 실험방법

쇠고기 내 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해내기 위해서는 세포마커인 Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)의 결정물에 의해 검출되는데 (Hajmeer 등, 2003) 이 GFAP 의 정량분석을 위해 일반적으로 널리 사용되는 Ridascreen risk material 10/5 (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) test kit 을 이용하여 실험을 수행하였다. 이 kit는 microtiter plate의 Sandwich enzyme immunoassay(ELISA) 방법을 근간으로 하여 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해낼 수 있으며 수많은 문헌에서 쇠고기의 중추신경계조직의 오염도를 검출하는데 이 방법이 이용된다(O'Callaghan, 1991; Hossner 등, 2006; Yesibag 등, 2005; Bozzetta 등, 2006; Hajmeer 등, 2003, 2006; Schmidt 등, 1999). 모든 분석법은 kit 내 Ridascreen risk material (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) Manual(Art. No. R6703) 에 따라 수행되었다.

### 1) 샘플 준비

멸균시킨 면봉(Fisher Scientific, Huston, TX)을 이용하여 쇠고기 시료표면에 가로와 세로 각각 5회 문지른 다음 swabbing한 후 0.5% SDS sample dilution buffer(1ml)가 들어있는 2ml test tube 내에서 면봉을 squeezing하여 넣었다. 각각의 샘플은 분석 시 well 당 50 $\mu$ l을 사용하였다. 시료에 필요한 충분한 수의 항체가 코팅된 well을 microwell holder에 끼운다.

### 2) 항원, 항체 반응을 이용한 ELISA test

준비된 샘플이 담긴 각각의 test tube로부터 well에 50 $\mu$ l을 분주하였다. enzyme conjugate solution 50 $\mu$ l을 시료를 함유하고 있는 well 에 주입한 후 plate를 손으로 가볍게 돌리면서 부드럽게 섞고 20-25도로 10분간 배양시켰다. wells내 용액을 버리고 wells내의 용액을 완전히 제거하기 위하여 흡수성 종이를 바닥에 깔고 microwell holder을 강하게 두드린 후 각 well에 250 $\mu$ l의 washing buffer를 이용하여 행군 뒤 이 buffer를 다시 버리고 이것을 두 번 이상 반복하였다. 그리고 Tetramethylbenzidine이 함유되어 있는 substrate/chromogen solution을 각 well에 100 $\mu$ l씩 넣어

완벽히 섞은 후 암실에서 20-25도로 5분간 배양시켰다. 이때 enzyme conjugate에 의해 붉은 색의 Chromogen이 푸른색으로 바뀌게 되는데 각 well에 100 $\mu$ l의 stop reagent solution을 넣고 plate를 손으로 돌리며 부드럽게 섞었다. 이 때 stop reagent에 의해 푸른색이 노란색으로 바뀌게 된다.

### 3) Microtilter plate spectrophotometer 측정

Stop reagent solution을 첨가한 지 15분 내에 microtilter plate spectrophotometer (Microplate Reader 550, BioRad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450nm의 파장에서 각각의 쇠고기조직 내의 중추신경계조직(CNST) 오염도를 측정하였다.

### 4) 통계분석

통계분석은 SAS(2005) program을 통해 두 가지 기절방법간의 소 도체표면에 존재하는 중추신경계조직(CNST)에 있어 오염발생빈도(frequencies)의 유의한 차이가 있는지를 확인하고자 Chi-square 분석이 수행되었고 기절방법과 소도체의 각 부위에서의 오염발생빈도(frequencies)의 차이를 확인하고자 Fisher's exact test 가 사용되었다. 또한 도체표면의 오염수준의 차이를 확인하고자 분산분석(ANOVA)을 수행한 후 Factor 간의 유의차를 확인하고자 t-test 와 tukey's test 가 사용되었다.

## 4. 도축장에서 중추신경계조직(CNS) 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 방법의 조사

### 가. 실험시료채취

#### 1) 샘플 준비

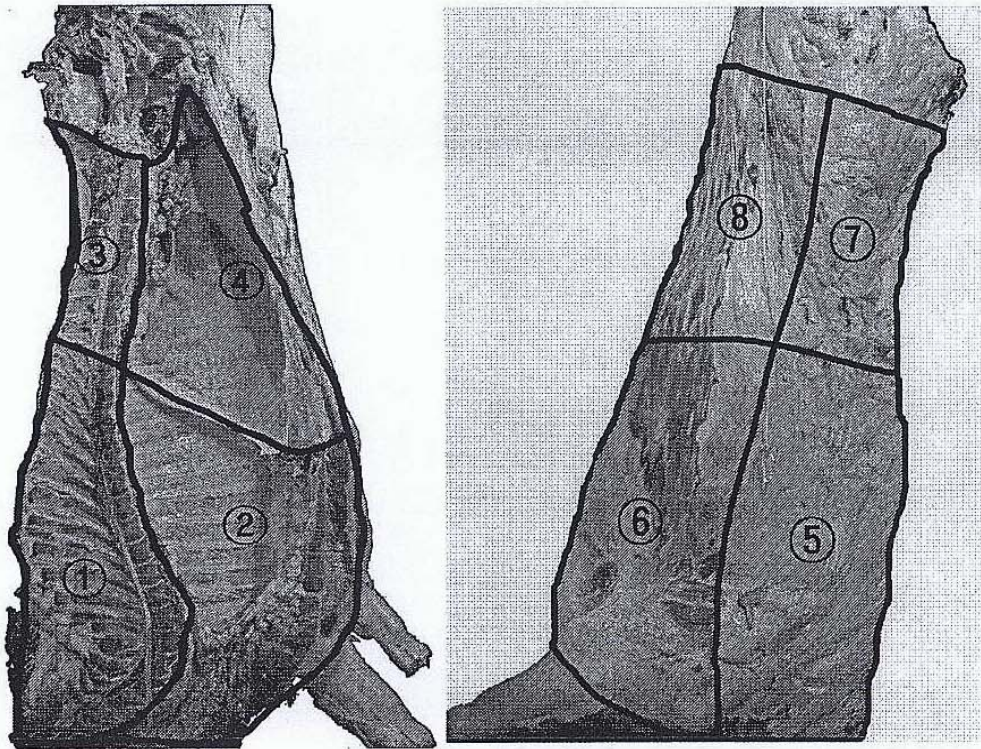
#### 가) 척수제거 후 다양한 수세에 따른 중추신경계조직(CNST) 오염제거를 위한 샘플 준비

경기도 수원에 위치한 소규모 도축장에서 실험을 수행하였는데 소를 도축하는데 가장 널리 이용되는 총격법(penetrating captive bolt gun=PCB)을 이용한 기절방법이 사용되었다. 도축장내에 설치된 자동수세기(Hyundai slaughter machinery Co.

Korea)와 수동수세장치(PA® T47 INOX, Italy)가 실험을 위해 사용되었다. 사용된 기계의 수압(water pressure)은 100 bar (1450 psi) 이었으며 척수제거를 위해 실험용 vacuum suction cleaner (KARCHER NT 65/2 Eco 1750 W, Germany)를 이용하여 도체 이분할 후 척수를 제거하였다. 또한 중추신경계조직(CNST) 오염제거를 위해 도체수세용으로 사용되는 인산염용액(Young Jin Chemicals Co., Korea)을 이용하여 이분체 후 도체에 20초간 분사하였다. 이 때 제조된 인산염용액의 함량은 문헌에서 가장 많이 언급된 12%(wt/vol)였다. 시료채취는 그림 1과 같이 이분체한 도체 안쪽 4부위가 사용되었다. 시료채취 순서는 다음과 같다. (i) 20초 동안 5°C시 냉수로 자동수세한 후의 도체안쪽 표면, (ii) 20, 40 그리고 60초 동안 5°C시 냉수로 수동수세한 후의 도체안쪽 표면, (iii) 척수제거 후 5°C시 냉수로 수동수세(20초)와 자동수세(20초)한 후의 도체안쪽 표면, (iv) 척수제거 후 12%인산염용액으로 20초 동안 수동수세한 후의 도체안쪽 표면.

나) 분할전, 후의 척수제거에 따른 중추신경계조직(CNST) 오염제거비교를 위한 샘플 준비

하루 30두의 도축능력을 보유한 경상남도 창녕에 위치한 시중도축장에서 실험을 수행하였는데 소를 도축하는데 가장 널리 이용되는 총격법(penetrating captive bolt gun=PCB)을 이용한 기절방법이 사용되었다. 분할 전 샘플채취의 경우 척수와 척수액을 제거하기 위해 설비된 Air pump 시스템이 장착된 1차 vacuum suction device (Kook Bo Tech Co. Ltd., Korea)가 사용되었다. 또한 분할 후 척수제거를 위해 장착된 1차 vacuum suction device (Kook Bo Tech Co. Ltd., Korea)가 사용되었다. 도체 이분할을 위해 사용되는 톱의 경우 band saw (Jarvis Buster V, Jarvis Products Corporation, Middletown, Conn., U.S.A.)가 사용되었다. 분할 후 도체는 3 bar의 수압에서 5°C시 냉수로 수세하였다. 시료채취는 그림 1과 같이 이분체한 도체 안쪽 4부위와 바깥쪽 4부위 총 8부위가 사용되었다.



A) Interior

B) Exterior

Fig. 1. Schematic diagram of the 8 parts swabbed on the split beef carcasses.

#### 나. 실험방법

쇠고기 내 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해내기 위해서는 세포마커인 Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)의 결정물에 의해 검출되는데 (Hajmeer 등, 2003) 이 GFAP의 정량분석을 위해 일반적으로 널리 사용되는 Ridascreen risk material 10/5 (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) test kit을 이용하여 실험을 수행하였다. 이 kit는 microtiter plate의 Sandwich enzyme immunoassay(ELISA) 방법을 근간으로 하여 중추신경계(CNS) 오염도를 검출해낼 수 있으며 수많은 문헌에서 쇠고기의 중추신경계조직의 오염도를 검출하는데 이 방법이 이용된다(O'Callaghan, 1991; Hossner 등, 2006; Yesibag 등, 2005; Bozzetta 등, 2006; Hajmeer 등, 2003, 2006; Schmidt 등, 1999). 모든 분석법은 kit 내 Ridascreen risk material (R-biofarm AG, darmstadt, Germany) Manual(Art. No. R6703)에 따라 수행되었다.

#### 1) 샘플 준비

멸균시킨 면봉(Fisher Scientific, Huston, TX)을 이용하여 쇠고기 시료표면에 가로와 세로 각각 5회 문지른 다음 swabbing한 후 0.5% SDS sample dilution buffer(1ml)가 들어있는 2ml test tube내에서 면봉을 squeezing하여 넣었다. 각각의 샘플은 분석 시 well 당 50 $\mu$ l을 사용하였다. 시료에 필요한 충분한 수의 항체가 코팅된 well을 microwell holder에 끼운다.

#### 2) 항원, 항체 반응을 이용한 ELISA test

준비된 샘플이 담긴 각각의 test tube로부터 well에 50 $\mu$ l을 분주하였다. enzyme conjugate solution 50 $\mu$ l을 시료를 함유하고 있는 well에 주입한 후 plate를 손으로 가볍게 돌리면서 부드럽게 섞고 20-25도로 10분간 배양시켰다. wells내 용액을 버리고 wells내의 용액을 완전히 제거하기 위하여 흡수성 종이를 바닥에 깔고 microwell holder을 강하게 두드린 후 각 well에 250 $\mu$ l의 washing buffer를 이용하여 행군 뒤 이 buffer를 다시 버리고 이것을 두 번 이상 반복하였다. 그리고 Tetramethylbenzidine가 함유되어 있는 substrate/chromogen solution을 각 well에 100 $\mu$ l씩 넣어 완벽히 섞은 후 암실에서 20-25 $^{\circ}$ C로 5분간 배양시켰다. 이때 enzyme conjugate에 의해 붉은 색의 Chromogen이 푸른색으로 바뀌게 되는데 각 well에 100 $\mu$ l의 stop reagent solution을 넣고 plate를 손으로 돌리며 부드럽게 섞었다. 이 때 stop reagent에 의해 푸른색이 노란색으로 바뀌게 된다.

#### 3) Microtiter plate spectrophotometer 측정

Stop reagent solution을 첨가한 지 15분 내에 microtiter plate spectrophotometer (Microplate Reader 550, BioRad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450nm의 파장에서 각각의 쇠고기조직 내의 중추신경계조직(CNST) 오염도를 측정하였다.

#### 4) 통계분석



통계분석은 SAS(2005) program을 통해 Factor 간의 유의차를 확인하고자 one-way ANOVA 와 Tukey's test 가 이용되었다.

## 제 2 세 부(협동)과제 : 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구

### 1. 실험 재료

병원성미생물은 *Bacillus cereus*(ATCC 11778), *Bacillus subtilis*(ATCC 9372), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 21636), *Salmonella typhimurium*(KCCM 11862), *E. coli*(ATCC 25922), *Staphylococcus aureus*(ATCC 10537)을 한국미생물협회에서 구입하여 사용하였다. Nisin, 키토산, butric acid, lactic acid, acetic acid은 Sigma에서 구입하였고 수용성키토산(70%, MW 30,000~50,000)과 키토올리고당(70%, MW 15,000~20,000)은 일진제약에서 구입하였다.

### 2. 항균활성 측정(디스크 법)

페트리 디쉬는 87×15mm, 펄프디스크는 직경 8mm를 사용하였는데 펄프디스크 및 기타재료는 사용 전에 121℃, 15분간 고압 멸균 후 충분히 건조시켜서 실험에 사용하였다. 균 영양액을 만들기 위한 증식용 배지로는 Tryptic soy broth(Difco)와 Nutrient broth(Difco)를 사용하였고 항균활성에 이용된 균주는 37℃에서 배양되다가 적절한 균수로 계대 배양하여 이용하였다. 측정배지로는 nutrient agar를 굳혀서 사용하였다.

### 3. 닭고기 시료 준비

시료는 내장과 머리를 제거한 닭고기(1.2~1.5kg)를 단위시장의 유통업자로부터 구입하여 0℃-4℃ 냉장실에 보관하면서 1시간 이내에 실험에 사용하였으며 닭고기의 skin 표면을 20cm<sup>2</sup>/piece로 잘라서 위생수를 처리하였다. 위생수 처리방법은 20cm<sup>2</sup>/piece로 자른 닭고기 skin 조각을 100ppm 차아염소산에 담그고 30분정도 침지한 뒤 멸균 3차 증류수로 2번 세척한 다음 위생화한 스테인레스 채반위에서 5분간 정치 후 물기를 제거한 다음 사용하였다. 닭고기의 저장조건은 4℃ 냉장조건하에서 0, 3, 6, 9 일 동안 3일 간격으로 조사하였다.

#### 4. 미생물 및 첨가물 처리

병원성 미생물은 *Escherichia coli*(ATCC 25922)와 *Salmonella typhimurium* (KCCM 11862), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 21636)를 사용하였으며 닭고기 skin 표면(20cm<sup>2</sup>/piece)에 각각 1×10<sup>6</sup>/ml씩 접종하였다. 첨가물은 acetic acid(Sigma), butyric acid(Sigma), lactic acid(Sigma), nisin(Sigma), 수용성키토산(일진제약), EGCG(Sigma), garlic powder(대상)등을 각각 1%와 2% 농도로 시료 표면에 골고루 뿌린 다음 저장 기간 동안 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다.

#### 5. pH 측정

닭고기 시료는 증류수 30ml과 함께 3-5분간 균질한 다음 pH meter(Corning, USA; Model-530)를 이용하여 pH를 측정하였다.

#### 6. 전 처리 및 포장

병원성 미생물은 *Escherichia coli*(ATCC 25922)와 *Salmonella typhimurium* (KCCM 11862), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 21636)을 사용하였으며 닭고기 skin 표면(20cm<sup>2</sup>/piece)에 각각 1×10<sup>6</sup>/ml씩 접종하였다. 첨가물은 유기산인 acetic acid(Sigma), butyric acid(Sigma)을 사용하였으며 천연첨가물로는 수용성 고분자 chitosan(미래 바이오텍), EGCG(Sigma), garlic powder(대상)등을 2% 농도로 시료 표면에 골고루 뿌린 다음 저장 기간 동안 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다. 천연 첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과는 EGCG, garlic, 수용성 고분자 chitosan을 한 개나 두 개 혹은 세 개를 배합하여 관찰하였다. 포장 방법에서 항균지는 (주)그린히트사의 항균지를 사용하였으며 진공 포장은 ATS International Co.의 진공 포장기를 사용하였다.

#### 7. 미생물학적 분석

닭고기 20cm<sup>2</sup>/piece의 시료를 10ml의 멸균된 생리식염수에 넣고 1분간 shaking 한 다음 0.1ml의 시료를 취하여 분석에 이용하였다. 각 시료는 멸균된 생리식염수에 적합한 농도(1/10, 1/100, 1/1000, 1/10,000)로 단계별 희석하여 도말하였다.

*Escherichia coli*의 분석은 *E. coli*용 3M Petrifilm(Microbiology Products 3M Health Care, USA)에 1ml를 접종하여 37℃에서 24-48시간 동안 호기적 배양기에서 배양 후 분석하였으며, *Salmonella typhimurium*과 *Pseudomonas aeruginosa*의 분석은 nutrient broth(Difco)배지위에서 35℃, 24-48시간 배양 후 분석하였다. 각각의 배지위에서 형성된 집락수는 Log CFU/cm<sup>2</sup>로 환산하여 표시하였다.

## 제 2 절 연구결과

### 제 1 세부과제 : 쇠고기의 중추 신경계물질 오염방지 기술연구

#### 1. 시중에 유통 중인 수입 냉장, 냉동 쇠고기의 부위별 중추신경물질 오염도 측정

##### 가. Standard curve 와 R value

Fig. 1은 SigmaPlot 의 3D Mesh Plot을 이용(Anonymous, 1999)하여 Ridascreen risk material test kit에서 제공된 중추신경계조직(CNST)을 함유하고 있는 standards solution 의 Standard curve 와 R value 값을 나타낸 그래프이다. 흡광도는 중추신경계조직(CNST) 값의 농도에 비례한다는 것을 알 수 있었으며 높은 상관관계(R value = 0.999)를 나타내었다. 이는 Schmidt 등(1999)이 수행한 CNST 검출에 대한 효율 및 민감성 평가에 부합되는 결과이다.

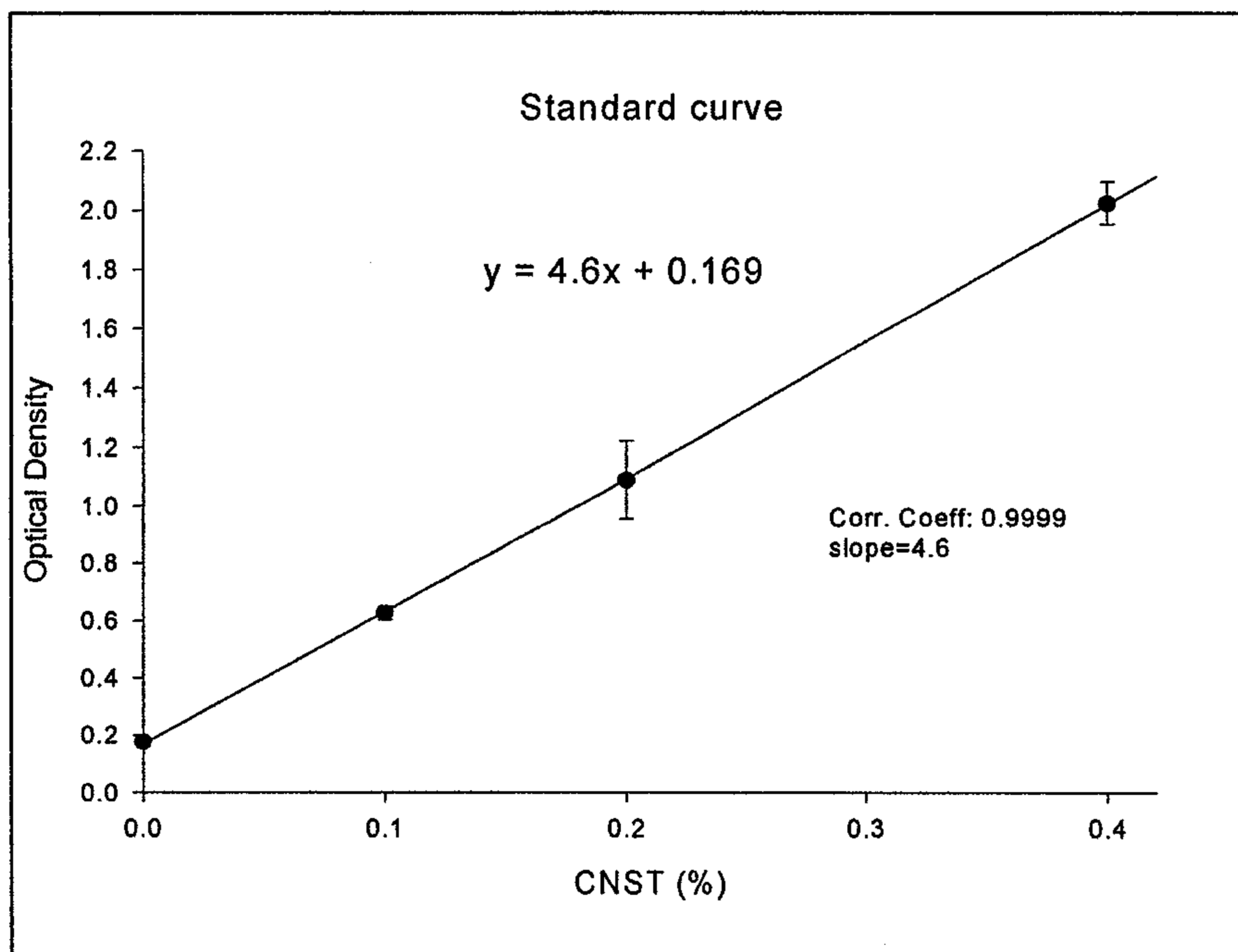


Fig. 1. Calibration curve for the standard GFAP ELISA detection of CNST. Optical density was measured at 450 nm using a microtiter spectrophotometer.

#### 나. 시중에 유통중인 수입냉장, 냉동쇠고기 및 수입 소시지의 중추신경계조직(CNST) 오염도 측정

쇠고기와 식육제품에 있어 중추신경계조직(CNST)오염도를 검출하는데 있어 검출한계는 0.1%이다. 검출한계 이하의 수치는 negative로 이상의 수치는 positive로 언급되어진다(Hajmeer 등, 2006).

Table 1은 시중에 유통 중인 냉장쇠고기의 부위별 중추신경계조직(CNST)오염도를 나타낸 결과인데 호주산 등심과 부채살 두 샘플에서만 0.1%이상의 오염도를 보였으며 두 샘플을 제외한 모든 시료에 있어 0.1%의 검출한계보다 낮은 수치를 나타내었다. 0.1%이상의 오염도를 보인 시료의 경우 소 도축과정 중 고정볼트형 기절방법을 이용하여 기절시키거나 분할톱을 이용하여 이분할하는 과정에서 중추신경계조직(CNST)이 지육에 오염되어 정육에까지 영향을 미쳤을 것으로 사료되며 수많은 문헌에서도 도축장에서의 지육 및 정육에서도 중추신경계조직(CNST)이 소 도축기절 시나 이분할 과정에서 오염된다고 보고하고 있다. Table 2의 경우는 시중에 유통 중인 냉동쇠고기의 부위별 중추신경계조직(CNST)오염도를 나타낸 결과인데 수행된 시료 모두에서 0.1%이하의 수치를 나타내었다. Table 3은 수입소시지의 중추신경계조직(CNST)오염도를 나타낸 결과인데 수행된 모든 시료에 있어 0.1%의 검출한계보다 낮은 수치를 나타내었다. 본 연구결과에서 수행된 미국산 쇠고기의 경우 미국에서 발생한 광우병사태로 인해 수입이 중단되기 이전에 시료를 이용하여 수행된 것으로 향후 미국산 쇠고기 수입이 다시 재개된 이후에도 본 연구가 계속 진행되어야 할 것으로 사료된다.

실험 결과 Table 1-3. 에서와 같이 시중에 유통 중인 냉장, 냉동쇠고기 혹은 소시지의 경우 시료 대부분에서 검출한계인 0.1%이하의 수치가 검출되어 본 연구결과를 통해 수입육의 중추신경계조직(CNST)오염도가 낮게 나타난 것으로 보아 근육 내 존재하는 신경조직은 그 절대량이 낮음을 추측할 수 있었다. 이는 실험을 수행한 고기조직이 SRM (특정위험물질)에 의해 오염되지 않았다는 것을 확인할 수 있었다.

Table 1. 시중에 유통 중인 수입 냉장육의 부위별 CNST 오염도 (unit=%)<sup>a</sup>

부위	원산지	A <sup>1)</sup>	B	C	D	E	Means	S.D
갈비	Australia	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	USA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
부채살	Australia	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.02	0.04
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
	USA	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
사태	Australia	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	USA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
목심	Australia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
	USA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
등심	Australia	0.01	0.00	0.10	0.00	0.00	0.02	0.04
	New Zealand	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	USA	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
양지	Australia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	USA	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
홍두깨	Australia	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	USA	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01

<sup>1)</sup>A, B, C, D, E : Retail market

<sup>a</sup>Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

Table 2. 시중에 유통 중인 수입 냉동육의 부위별 CNST 오염도 (unit=%)<sup>a</sup>

부위	원산지	A <sup>1)</sup>	B	C	D	E	Means	S.D
갈비	Australia	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
부채살	Australia	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
사태	Australia	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
목심	Australia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
등심	Australia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
양지	Australia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
홍두께	Australia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	New Zealand	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

<sup>1)</sup>A, B, C, D, E : Retail market

<sup>a</sup>Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

Table 3. 시중에 유통 중인 수입 소시지의 CNST 오염도(unit=%)<sup>a</sup>

	A	B	C	D	Means	S.D
sausage (USA)	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01
sausage (Argentina)	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01

<sup>1)</sup>A, B, C, D : Retail market

<sup>a</sup>Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.*, 2006).

## 2. 시중에 유통 중인 한우 쇠고기와 소 부산물의 중추신경물질 오염도 측정

### 가. Standard curve 와 R value

Fig. 1은 SigmaPlot 의 3D Mesh Plot을 이용(Anonymous, 1999)하여 Ridascreen risk material test kit에서 제공된 중추신경계조직(CNST)을 함유하고 있는 standards solution 의 Standard curve 와 R value 값을 나타낸 그래프이다. 흡광도는 중추신경계조직(CNST) 값의 농도에 비례한다는 것을 알 수 있었으며 높은 상관관계(R value = 0.999)를 나타내었다. 이는 Schmidt 등(1999)이 수행한 CNST 검출에 대한 효율 및 민감성 평가에 부합되는 결과이다.



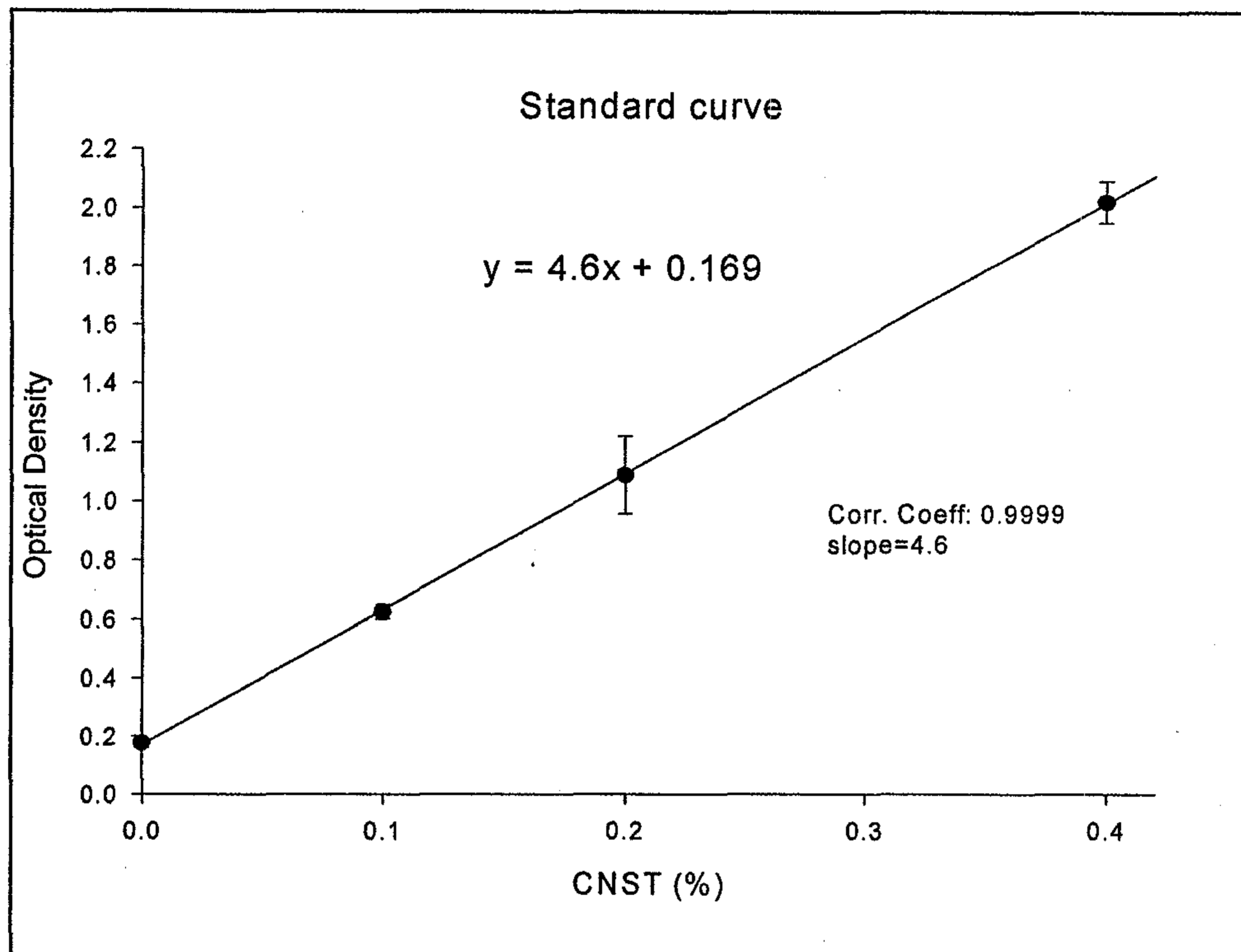


Fig. 1. Calibration curve for the standard GFAP ELISA detection of CNST. Optical density was measured at 450 nm using a microtiter spectrophotometer

#### 나. 시중에 유통 중인 한우육 부위별, 등급별 중추신경계조직(CNST) 오염도 측정

쇠고기와 식육제품에서 중추신경계조직(CNST)오염도를 검출하는데 있어 검출한계는 0.1%이다. 검출한계 이하의 수치는 negative (-)로 이상의 수치는 positive (+)로 언급되어진다(Hajmeer 등, 2006). Table 1은 시중에 유통 중인 한우시료의 부위별 중추신경계조직(CNST)오염도를 나타낸 결과인데 흉두께살 한 부위(0.14%)를 제외한 모든 시료에서 0.1%의 검출한계보다 낮은 수치를 나타내었다. 0.1%이상의 오염도를 보인 시료의 경우 소 도축과정 중 고정볼트형 기절방법을 이용하여 기절시키거나 분할톱을 이용하여 이분할하는 과정에서 중추신경계조직(CNST)이 지육에 오염되어 정육에까지 영향을 미쳤을 것으로 사료되며 수많은 문헌에서도 도축장에서의 지육 및 정육에서도 중추신경계조직(CNST)이 소 도축기절 시나 이분할 과정에서 오염된다고 보고하고 있다.

또한, Table 2는 시중에 유통 중인 한우시료의 등급별 중추신경계조직(CNST)오염도를 나타낸 결과인데 2등급의 흉두께살 한 부위(0.14%)를 제외한 모든 시료에서 검출한계인 0.1%이하로 검출되어 시중에 유통 중인 한우육의 경우 SRM (특정위험물질)에 의해 오염되지 않아 안전하다는 것을 확인할 수 있었다.

실험 결과 Table 1-2. 에서와 같이 시중에 유통 중인 한우의 부위별, 등급별 시료 대부분에서 검출한계인 0.1%이하의 수치가 검출되어 본 연구결과를 통해 한우육의 정육에서의 중추신경계조직(CNST)오염도가 낮게 나타난 것으로 보아 근육 내 존재하는 신경조직은 그 절대량이 낮음을 추측할 수 있었다. 이는 실험을 수행한 고기조직이 SRM (특정위험물질)에 의해 오염되지 않았다는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 척수조직과 같은 소량의 중추신경계조직(CNST)이 육가공과정에서 부주의하게 오염될 가능성이 있으므로 가공업자들의 세심한 주의가 요구된다고 사료된다.

Table 1. 시중에 유통 중인 한우육의 부위별 CNST 오염도 (unit=%)<sup>a</sup>

	A <sup>1)</sup>	B	C	D	E	F	Means	S.D
채끝	0.02	0.02	0.01	0.06	0.01	0.02	0.02	0.02
등심	0.06	0.03	0.05	0.08	0.06	0.05	0.06	0.02
치마살	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
홍두께	0.03	0.14	0.02	0.00	0.00	0.00	0.03	0.05
제비추리	0.05	0.03	0.04	0.00	0.03	0.00	0.03	0.02
양지	0.03	0.01	0.02	0.05	0.03	0.02	0.03	0.01
안심	0.07	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.02	0.03
사태	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
우둔	0.00	0.06	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02
부채살	0.03	0.04	0.04	0.05	0.00	0.00	0.03	0.02
토시살	0.05	0.04	0.02	0.00	0.01	0.00	0.02	0.02
안창살	0.07	0.06	0.00	0.05	0.04	0.00	0.04	0.03
꾸리살	0.00	0.07	0.06	0.06	0.00	0.00	0.03	0.03
살치살	0.00	0.06	0.05	0.04	0.03	0.00	0.03	0.03
도가니	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
앞다리	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.01	0.01
설도	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02
목심	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

<sup>1)</sup>A, B, C, D, E, F : Retail market

<sup>a</sup>Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

Table 2. 시중에 유통 중인 한우육 등급별 CNST 오염도 측정 (%)

	1+	1	2	3 <sup>1)</sup>
1	0.01	0.01	0.03	0.01
2	0.01	0.03	0.14	0.01
3	0.01	0.07	0.02	0.01
4	0.01	0.05	0.03	0.01
5	0.01	0.06	0.01	0.01
6	0.01	0.06	0.02	0.01
7	0.01	0.04	0.06	0.01
8	0.01	0.06	0.03	0.01
9	0.01	0.05	0.05	0.01
10	0.01	0.03	0.02	0.01
11	0.01	0.04	0.02	0.01
12	0.01	0.04	0.01	0.01
13	0.01	0.04	0.00	0.01
14	0.01	0.06	0.01	0.01
15	0.01	0.01	0.01	0.01
16	0.01	0.06	0.01	0.01
17	0.01	0.02	0.01	0.01
18	0.01	0.06	0.01	0.01
19	0.01	0.04	0.01	0.01
20	0.01	0.01	0.00	0.01
Means	0.01	0.04	0.02	0.01
S.D	0.00	0.02	0.04	0.00

<sup>1)</sup> 등급: 축산물등급판정소 기준

다. 시중에 유통 중인 식육부산물 중추신경계물질(CNST) 오염도 측정

시중에 유통 중인 식육부산물 중추신경계물질(CNST) 오염도를 측정한 결과를 Table 3. 에 나타내었다. 특정위험물질(SRM)로 알려진 뇌, 척수, 회장 시료에서 검출한계인 0.1%이상의 높은 중추신경계물질(CNST) 오염도가 검출되었고 상대적으로 위험도가 극히 낮은 것으로 잘 알려진 대장, 간, 염통, 지라, 심장 시료에서는 오염도가 0.1%이하로 검출되었다. 특히 WHO (1997)에서 보고된 상대적인 감염성(Infectivity)에 대한 특정위험물질(SRM)의 분류에서 회장의 경우 중간정도의 오염도로 보고되고 있지만 본 연구결과 뇌나 척수와 같은 높은 오염도를 확인하였는데 이는 실험에 사용된 회장 시료가 SRM (특정위험물질)에 의한 교차오염이 일어났을 것으로 사료된다. 따라서 척수조직과 같은 소량의 중추신경계조직(CNST)이 육가공과정에서 부주의하게 오염될 가능성이 있으므로 가공업자들의 세심한 주의가 요구된다고 사료된다. 본 연구를 통해서 BSE 전염원으로 알려진 프리온 단백질과 연관이 있는 특정위험물질(SRM)은 30개월 이상된 소에서 생산된 두개골, 뇌, 삼차 신경중추(뇌에 연결되거나 두개골 외부에 매우 근접한 신경 세포군), 눈, 편도선, 척수, 척추근 중추(척수에 연결되거나 척추에 매우 근접한 신경세포군), 모든 연령의 소에서 생산된 회장 말단(곱창의 일부) 부위에만 존재할 뿐 우리가 일반적으로 섭취하는 식육에는 안전하다는 결과를 뒷받침하고 있다(Smith, 2005).

Table 3. CNST levels on meat by-products purchased from the retail market

(unit=%)<sup>a</sup>

	대장	뇌	척수	회장	간	염통	지라	심장
Means <sup>b</sup>	0.07	0.63	0.71	0.51	0.01	0.04	0.09	0.04
S.D.	0.03	0.02	0.04	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01

<sup>a</sup>Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

<sup>b</sup>Means of samples (n= 15)

### 3. 대규모와 소규모의 도축장 내 소 도체에서의 중추신경계조직(CNST) 오염도 측정 비교

#### 가. 두가지 기절방법간의 중추신경계조직(CNST) 오염도 비교

총격법(penetrating captive bolt gun=PCB)과 타격법(Non-penetrating sledge hammer= NPH) 두가지 기절방법간의 소도체 표면에 존재하는 중추신경계조직(CNST)의 오염발생빈도(frequencies)를 비교한 결과가 Table 1에 나타나있다. 타격법으로 기절시킨 소 도체의 오염발생빈도의 경우 25두(83.3%)인 반면에 총격법으로 기절시킨 소 도체의 오염발생빈도의 경우 30두(100%) 모두에서 측정되었다.

Table 2의 경우 두 가지 방법 간의 소 도체에서 지정한 8가지 부위에서의 오염발생빈도를 나타내고 있는데 전반적으로 도체안쪽 부위가 바깥쪽 부위보다 오염발생빈도가 더 높았다. 또한, 총격법을 이용한 기절방법의 경우 타격법을 이용한 기절방법보다 더 높은 오염발생빈도를 나타내었지만 유의적인 차이를 보여주지는 못하였다.

Table 3의 경우 분할된 도체 내, 외부 표면에서 지정한 네 부위에 대한 소 도체표면에 존재하는 중추신경계조직(CNST)의 오염수준을 나타낸 것인데 중추신경계조직(CNST)의 오염수준이 가장 높은 부위는 총격법으로 기절시킨 도체안쪽의 1번 부위였고 그 수치는 0.63%였다. 그리고 총격법과 타격법으로 기절시킨 도체에서 도체 바깥쪽부위인 5, 6, 7번 부위보다 도체 안쪽부위인 1, 2, 3번 부위가 더 높은 수치를 나타내었다. 따라서 도체 바깥쪽 부위보다 도체 안쪽 부위의 중추신경계조직(CNST)의 오염수준이 유의적으로 더 높았다( $P < 0.001$ ). 도체 안쪽 부위에서도 1, 3번 부위의 오염도가 더 높다는 것을 확인할 수 있다. 또한 전반적으로 총격법을 이용한 기절방법이 타격법을 이용한 기절방법보다 오염수준이 더 높다는 것을 알 수 있다.

따라서 총격법을 이용한 기절방법이 타격법을 이용한 기절방법보다 중추신경계조직(CNST)의 오염수준이 더 높음을 알 수 있었으며 중추신경계조직(CNST)의 오염은 대부분 척추주변을 따라 위치하는 도체안쪽표면에 더 많이 오염되어 있었다. 도체안쪽복부부위 중에서 앞다리 근처 부위가 훨씬 더 많이 오염되어 있었다. 도체안쪽에서 척추주변부위가 오염도가 더 높은 이유는 소 도축과정에서 기절방법이나 분할톱을 이용한 소도체 분할 등에 의해 영향을 받았기 때문일 것으로 사료된다.

Table 1. Contingency table for chi-squared test for the number of contaminated carcasses detected with each method

Method	NPH <sup>1)</sup>	PCB <sup>2)</sup>
Counting	25	30
Expected proportion	0.5	0.5

Chi-squared = 0.4545, df =1, p-value = 0.5002

<sup>1)</sup> NPH : non-penetrating sledge-hammer stunning

<sup>2)</sup> PCB : penetrating captive bolt stunning

Table 2. Contingency table for method and part

	Part							
	1	2	3	4	5	6	7	8
PCB <sup>1)</sup>	30	22	28	18	22	25	6	5
NPH <sup>2)</sup>	16	13	18	5	9	3	6	2

p-value = 0.1232 according to Fisher's Exact Test

<sup>1)</sup> PCB : penetrating captive bolt stunning

<sup>2)</sup> NPH : non-penetrating sledge-hammer stunning

Table 3. The effect of stunning methods on the level of CNST contamination on beef carcasses (unit: %)

Area	Part	Methods					
		NPH <sup>1)</sup>		PCB <sup>2)</sup>		Total	
		Mean	SD	Mean	SD	Means	SD
Interior	1	0.42 <sup>a</sup>	0.28	0.63	0.11	0.53	0.23
	2	0.27	0.19	0.47 <sup>a</sup>	0.21	0.37 <sup>a</sup>	0.22
	3	0.45 <sup>a</sup>	0.24	0.40 <sup>a</sup>	0.29	0.42 <sup>a</sup>	0.26
	4	0.03 <sup>b</sup>	0.03	0.04 <sup>c</sup>	0.04	0.03 <sup>b</sup>	0.03
Exterior	5	0.14 <sup>b</sup>	0.13	0.19 <sup>de</sup>	0.18	0.16 <sup>cd</sup>	0.16
	6	0.05 <sup>b</sup>	0.04	0.29 <sup>ae</sup>	0.26	0.17 <sup>c</sup>	0.22
	7	0.05 <sup>b</sup>	0.03	0.08 <sup>cd</sup>	0.06	0.07 <sup>bd</sup>	0.07
	8	0.02 <sup>b</sup>	0.02	0.06 <sup>cd</sup>	0.06	0.04 <sup>b</sup>	0.04
Total		0.18	0.23	0.27	0.27	0.22	0.25

<sup>a,b,c,d,e</sup> for each column having the different superscript letter are significantly different at the 5% level, according to the Tukey's test.

<sup>1)</sup> NPH : non-penetrating sledge-hammer stunning

<sup>2)</sup> PCB : penetrating captive bolt stunning



나. 도체중에 따른 기절방법간의 중추신경계조직(CNST) 오염도 비교

Table 4. 은 소도체중에 따른 중추신경계조직(CNST)의 오염수준을 측정한 결과이다. 국내의 경우 300-350kg, 350-400kg 그리고 400kg 이상으로 도체중을 3가지로 분류하는데 도체중의 경우 도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염수준에 영향을 받으며 ( $P<0.01$ ) 350-400kg의 도체중의 경우 척추주변에 위치하고 있는 1, 3번 부위가 오염도가 더 높음을 알 수 있었지만 유의적인 차이는 발견할 수 없었다.

Table 4. Dissemination of the CNST level (%) in different hot carcass weights at Korea abattoirs (unit: %)

Area	Part	Hot carcasses weight							
		300-350		350-400		>400		Total	
		(n=112)		(n=216)		(N=124)		(n=452)	
		Mean	SD	Mean	SD	Means	SD	Means	SD
Interior	1	0.50 <sup>a</sup>	0.26	0.54 <sup>a</sup>	0.24	0.47 <sup>a</sup>	0.27	0.51 <sup>a</sup>	0.25
	2	0.42 <sup>aA</sup>	0.25	0.33 <sup>bcAB</sup>	0.27	0.20 <sup>bB</sup>	0.20	0.32 <sup>b</sup>	0.25
	3	0.34 <sup>ab</sup>	0.30	0.45 <sup>ab</sup>	0.25	0.40 <sup>a</sup>	0.31	0.41 <sup>ab</sup>	0.28
	4	0.04 <sup>c</sup>	0.03	0.06 <sup>de</sup>	0.09	0.04 <sup>b</sup>	0.06	0.05 <sup>cd</sup>	0.07
Exterior	5	0.14 <sup>bc</sup>	0.11	0.14 <sup>de</sup>	0.15	0.08 <sup>b</sup>	0.08	0.12 <sup>cd</sup>	0.12
	6	0.10 <sup>bc</sup>	0.08	0.21 <sup>cd</sup>	0.27	0.08 <sup>b</sup>	0.11	0.15 <sup>c</sup>	0.21
	7	0.06 <sup>c</sup>	0.06	0.05 <sup>de</sup>	0.06	0.02 <sup>b</sup>	0.02	0.05 <sup>cd</sup>	0.05
	8	0.03 <sup>c</sup>	0.02	0.03 <sup>e</sup>	0.04	0.02 <sup>b</sup>	0.01	0.03 <sup>d</sup>	0.03
Total		0.20	0.24	0.23	0.26	0.17	0.23	0.20	0.25

<sup>a,b,c,d,e</sup> for each column having the different superscript letter are significantly different at the 5% level, according to the Tukey's test.

<sup>A,B</sup> for each row having the different superscript letter are significantly different at the 5% level, according to the Tukey's test.

#### 4. 도축장에서 중추신경계조직(CNS) 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 방법의 조사

가. 척수제거 후 다양한 수세시간과 방법에 따른 중추신경계조직(CNST) 오염제거효과

그림 2는 자동과 수동수세시간에 따른 이분할 한 후 도체안쪽의 중추신경계조직(CNST) 오염제거효과를 나타내어주고 있는데 전반적으로 도체수세전보다 수세를 한 이후의 도체내 중추신경계조직(CNST) 오염도를 감소시켰다 ( $P < 0.01$ ). 도체 2번 부위의 경우 오염도를 감소시키는데 있어 가장 효과적이었고 60초까지 수세시간의 증가는 중추신경계조직(CNST)의 오염도 감소에 아무런 영향을 끼치지 않았다. 본 연구결과를 통해 자동과 수동 수세의 경우 도체 2, 4 부위에서 도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시키는데 효과적임을 알 수 있었지만 ( $P < 0.01$ ) 도체 1, 3 부위에서는 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시킬 수 없었다.

그림 3은 이분체한 도체안쪽의 척수제거후 수동과 자동수세에 따른 중추신경계조직(CNST) 오염제거효과를 나타내어주고 있는데 중추신경계조직(CNST)의 처리전 초기오염도는 각각 0.70% (도체 1번), 0.43% (도체 2번), 0.70% (도체 3번) 그리고 0.25% (도체 4번)였고 이분체한 이후 척수제거와 자동(20초)과 수동수세(20초)를 병행한 결과 오염도가 0.56% (도체 1번), 0.02% (도체 2번), 0.67% (도체 3번) 그리고 0.03% (도체 4번)이었다. 전반적으로 대조구보다 처리구의 경우 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시키는데 효과적이었다 ( $P < 0.05$ ). 하지만 그림2와 마찬가지로 도체 2, 4 부위에서 도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시키는데 효과적임을 알 수 있었지만 ( $P < 0.05$ ) 도체 1, 3 부위에서는 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시킬 수는 없었다.

그림 4는 척수제거 후 인산염용액 수세를 이용한 도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염도 감소효과를 나타낸 것인데 사용된 12% 인산염용액을 이용한 수세효과와 비교한 경우 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 감소시키는데 효과적이지 못하였다.

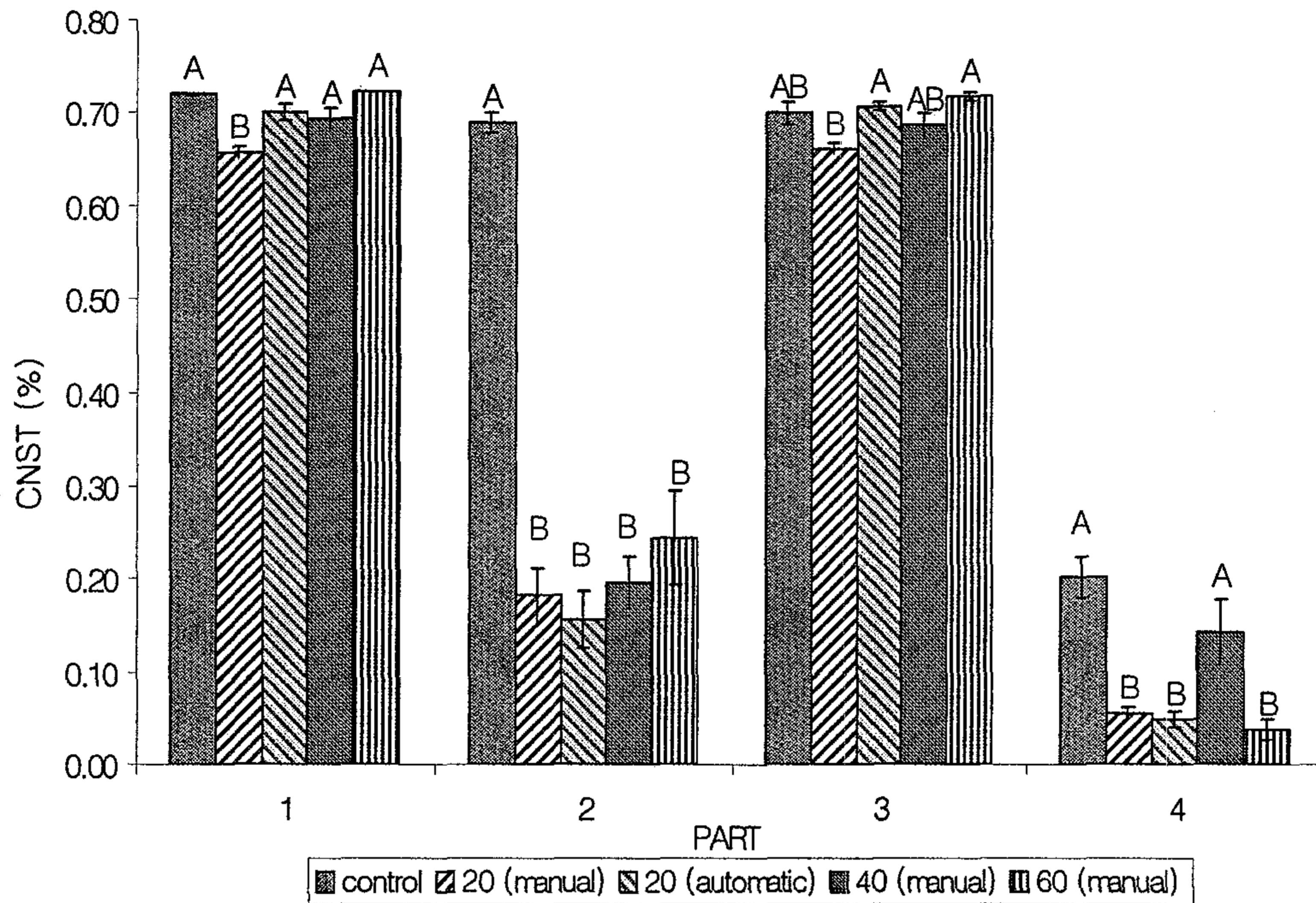


Fig. 2. The effect of automatic and manual washing time on interior carcass for CNST decontamination (n=15). <sup>A,B</sup> Means with different superscript illustrate differences among treatments ( $P < 0.01$ ) according to the Tukey's test. The control is without washing after splitting. Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

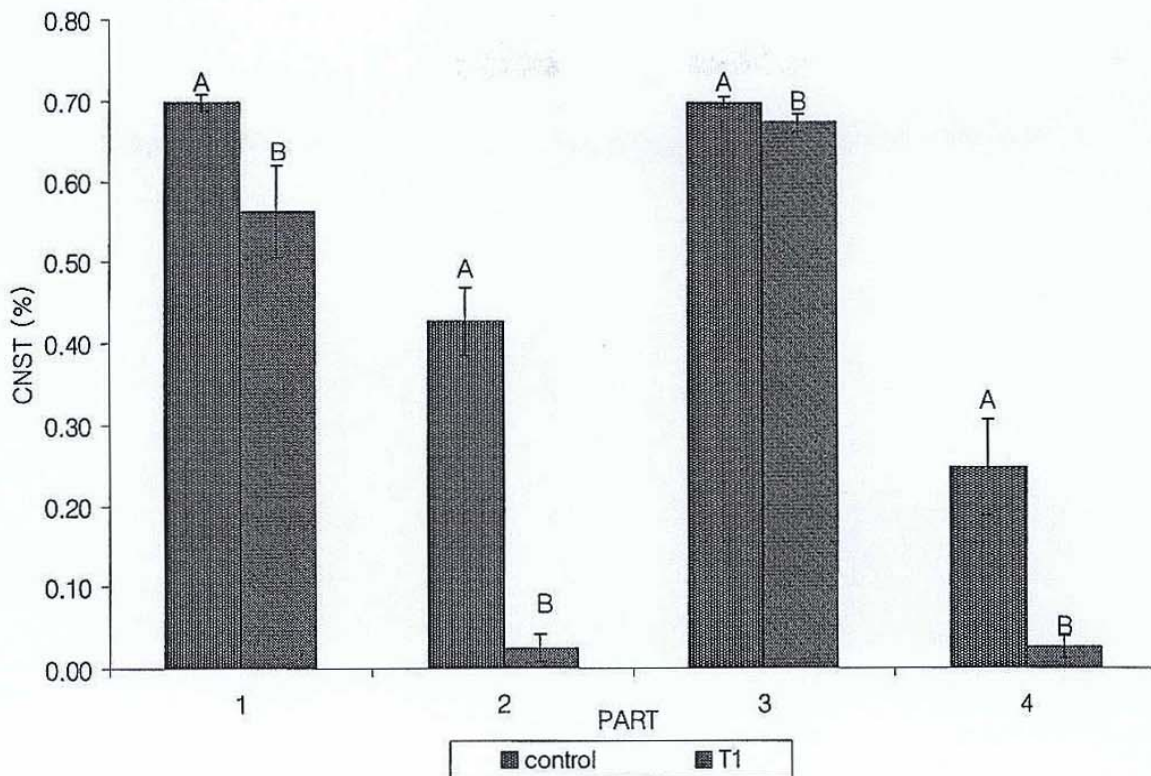


Fig. 3. The effect of combination washing methods after spinal cord removal on interior carcass for CNST decontamination (n=15). <sup>A,B</sup> Means with different superscript illustrate differences among treatments (P<0.05) according to the Tukey's test. The control is without washing after splitting. T1 is with automatic (20sec) and manual (20sec) washing after spinal cord removal on splitting carcass. Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.*, 2006).

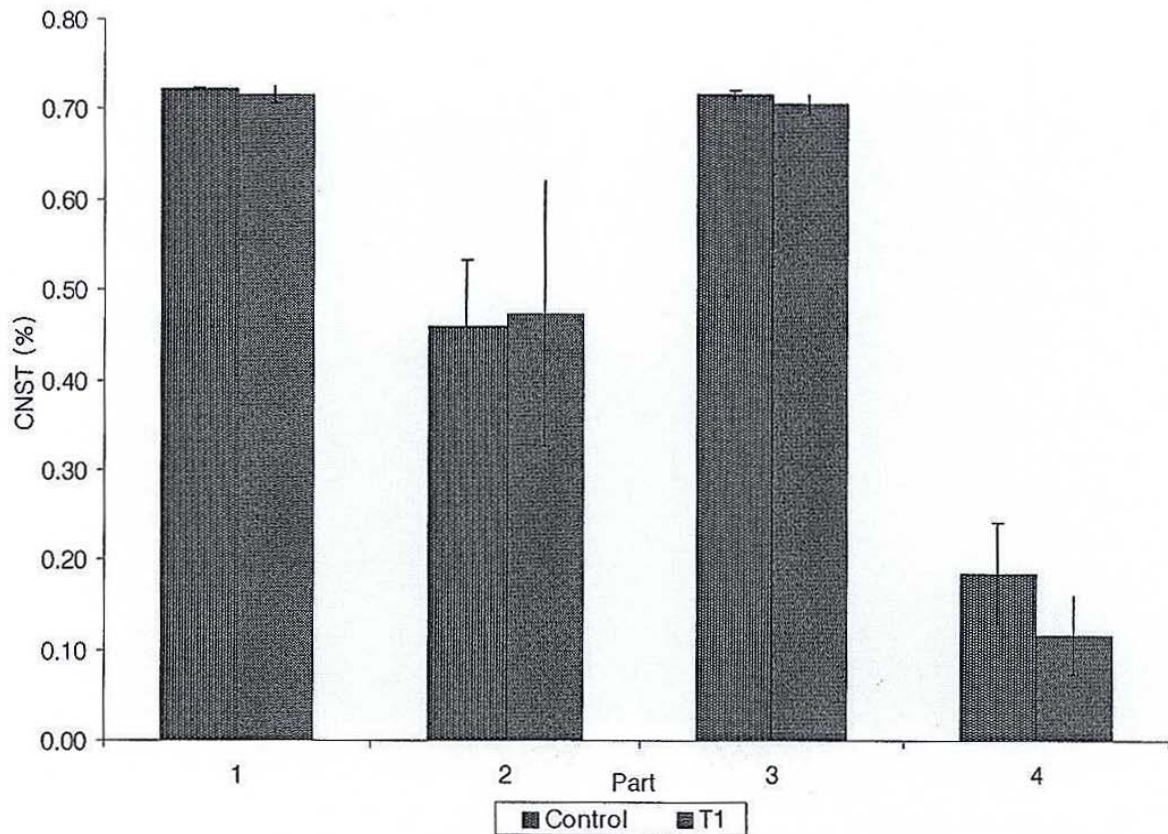


Fig. 4. The effect of Trisodium Phosphate washing after spinal cord removal on interior carcass for CNST decontamination (n=4). The control is without washing after splitting. T1 is with Trisodium Phosphate washing (20 sec) after spinal cord removal on the splitting carcass. Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

#### 나. 분할 전, 후의 척수제거에 따른 중추신경계조직(CNST) 오염제거비교

그림 5와 6은 도체 안쪽과 바깥쪽의 분할 전과 후의 척수제거에 따른 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 비교한 것이다. 그림 5에서와 같이 분할 후 척수제거를 수행한 경우 도체 안쪽 1, 2, 3번부위에서 0.1%이상의 오염도가 관찰되었다. 하지만 분할 전 척수제거를 수행한 경우 중추신경계조직(CNST)의 오염도 수준이 도체안쪽 1-4번 모든 부위에서 0.1% 미만의 수치를 보였다( $P < 0.01$ ).

분할 후 척수제거에 따른 도체 바깥쪽의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 비교한 것이 그림 6에 나타나 있는데 도체 바깥쪽 5, 6 7번 부위에서 0.1%이상의 오염도 수치가 관찰되었다. 하지만 도체 바깥쪽의 분할 전 척수제거를 수행한 경우 0.1%이하의 수치를 나타내었다( $P < 0.01$ ). 본 연구결과를 통해 분할 전 vacuum suction device를 이용하여 척수와 척수액을 제거한 경우 도체 안쪽과 바깥쪽 전 부위에서 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 유의적으로 감소시켰다 ( $P < 0.01$ ). 따라서 분할 전 척수제거를 수행한 경우 소 도체의 중추신경계조직(CNST)의 오염도를 최소화시키는데 매우 효과적임을 알 수 있었다.

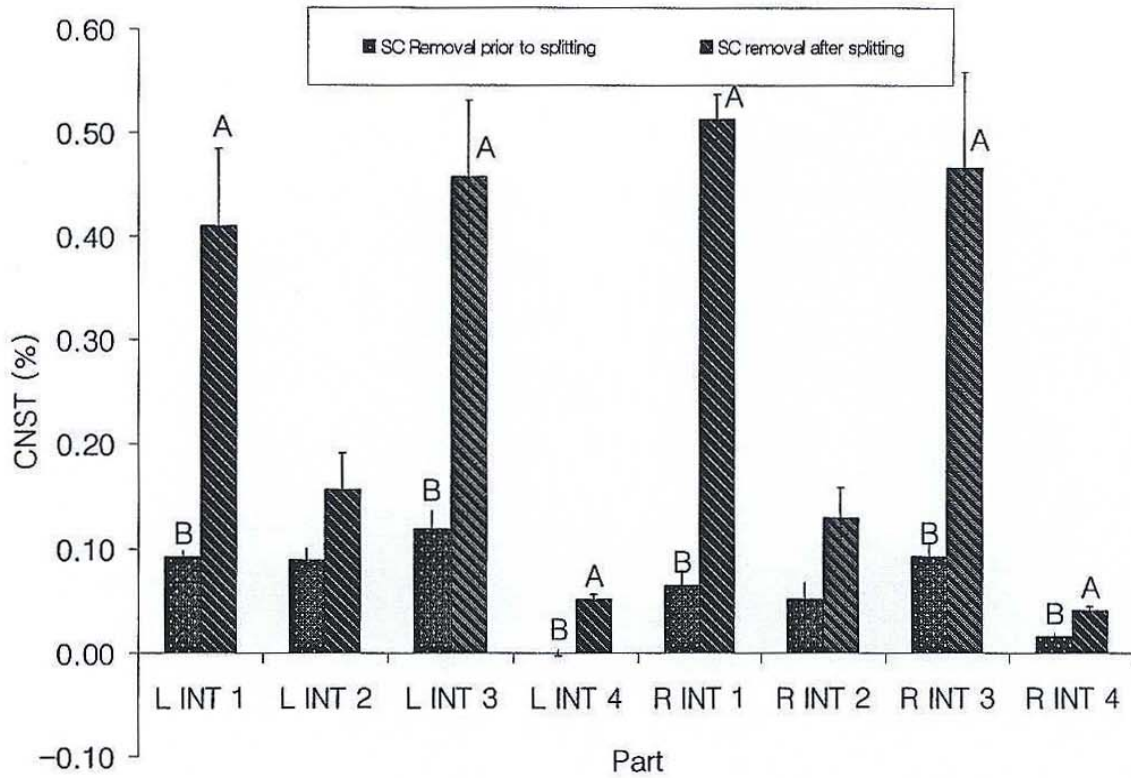


Fig. 5. The effect of spinal cord removal before and after splitting on interior carcasses for CNST decontamination (n=4). Each carcass was spray washed after splitting with cold water. <sup>A,B</sup> Means with different superscript illustrate differences among treatments (P<0.01) according to the Tukey's test. L - left half, R - right half, INT - medial surface. Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).

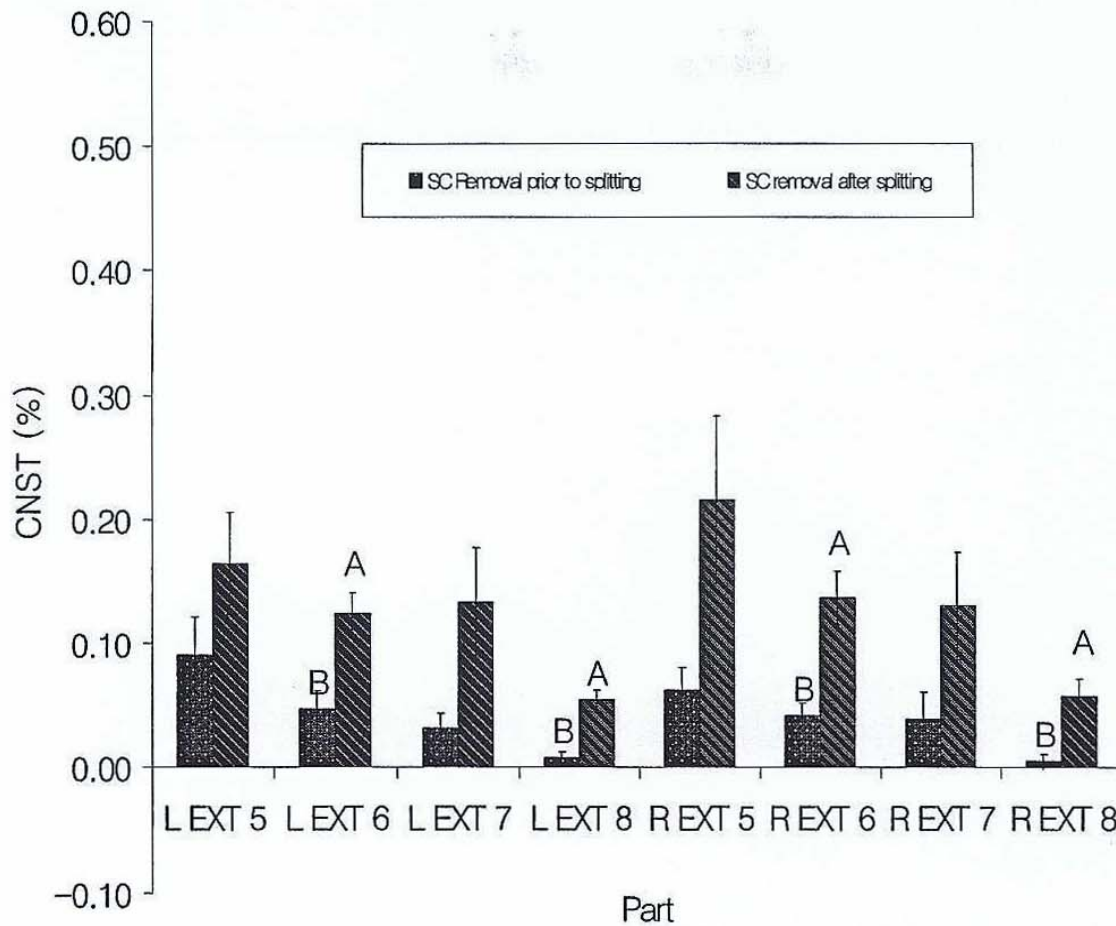


Fig. 6. The effect of spinal cord removal before and after splitting on exterior carcasses for CNST decontamination (n=4). Each carcass spray washed after splitting with cold water. <sup>A,B</sup> Means with different superscript illustrate differences among treatments (P<0.01) according to the Tukey's test. L - left half, R - right half, EXT - lateral surface. Kit detection limit is 0.1% and values falling below detection limit are considered negative and those above it are positive (Hajmeer *et al.* 2006).



## 제 2 세부(협동)과제 : 생닭고기 유통 중 안전성 향상기술 연구

### 1. 천연 첨가물의 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정 (in vitro)

가. 닭고기의 안전성 증가를 위한 천연 항균물질 검색을 위한 문헌 조사

#### 1) 병원성 미생물의 식육오염상황

냉장 닭고기 및 식육의 위생과 안정성에 영향을 미치는 미생물학적 인자는 호기성 육 부패세균 및 병원성 식중독균의 오염과 증식으로 알려져 있다. 닭고기의 유통과정 동안 교차오염은 도체에 미생물을 오염시키는 주요한 요인이다. 미생물 오염 방지를 위한 이화학적 육 세척법등의 적합한 품질관리의 부재에 기인하여 최종 생산된 닭고기는 유통과정 동안 저장성 감소가 유발되고 있다. 이러한 이유에 기인하여 도살직후 미생물 오염을 극소화하는 여러 가지 물리적, 화학적인 육 세척 방법에 대한 연구가 수행되고 있다. Kim(1998)이 국내산 냉장 닭고기의 저장 동안 이화학적 그리고 미생물학적 연구를 실시한 바에 의하면 도계장, 도매점 및 소매점 유통 그리고 4℃ 냉장 동안 품질저하에 의한 상품성 감소의 유발가능성이 높은 것으로 보고하였다. 지난 1998년 이후 학교 급식 및 집단 급식소의 확대 등으로 식중독 사고가 증가하고 있으며 대형화 되고 있다. 지난 전체 식중독 사고 중 학교 급식에 의한 환자 수는 22.2%였으나 98년 30.3%, 99년 43.4%, 2000년 65.9%, 2001년 70.7%, 2002년 27%를 차지한 것으로 집계되었다. 우리나라에서 발생하는 식중독 원인균은 살모넬라와 장염 비브리오균, 황색 포도상구균으로 집계되었으나 아직 원인균을 밝히지 못한 경우가 2001년 39건(환자수 3,380명), 2002년 26건(환자수 1,282)으로 각각 41.5%와 33.3%를 차지하고 있다(식품세계, 2004). 1997년 이래로 닭고기를 포함한 냉장식육의 수출입 자유화를 통한 냉장 유통이 시행되고 있기 때문에 국내산 냉장 닭고기의 품질관리에 관한연구가 필요하다. 닭의 표피, 장 내용물, 도살기구 및 도계장 근무자들의 위생은 도계과정 동안 도체에 미생물을 오염시키는 주요한 요인이다. 따라서 철저한 위생적인 방법으로 닭을 도살하고 또 해체하는 것이 가장 기본적인 미생물 오염방지 대책이라는 것은 잘 알려져 있으나, 적합한 품질관리의 부재에 기인하여 최종 생산된 닭고기는 유통과정 동안 저장성 감소가 유발되고 있다 (Kim, 1998 ; Kim등, 1999). 특히 닭고기에는 다른 식육에 비해 리놀레산등의 필수지방산에 해당하는 불포화 지방산 함량이 높고 냉장동안 지질의

산화속도가 빠르게 일어나며, 특히 열처리 동안 가속화 되는 것으로 알려져 있다 (Ahn 등, 1995 ; 장 등, 1995). 도계 냉각 공정 후 주로 오염되는 세균은 소나 돼지와 같이 *Pseudomonas, Acinetobacter/ Moraxella, Aeromonas* 등의 그람 음성균 (gram negative bacteria) 및 *Micrococcus, Staphylococcus* 등의 그람양성균 (gram positive bacteria)으로 복잡하고 광범위한 균종에 의한 것으로 보고되고 있다. 또한 닭고기에는 *Salmonella spp., Campylobacter spp., Staphylococcus spp. Escherichia coli* 등의 식중독균이 주로 오염되고 있으며, 최근에는 *Listeria monocytogenes*의 오염이 높은 것으로 보고되고 있다. 이들 병원균의 지육에 있어서 오염은 특히 *Salmonella spp.* 및 *Campylobacter spp.*의 오염이 쇠고기 및 돼지고기보다도 높고 이들 균을 원인으로 하는 식중독의 매개식품으로서 닭고기가 직 간접으로 관여하고 있는 것으로 알려져 있다(종합식품안전사전, 1997).

## 2) 천연 항균물질

### 가) 키토산

키토산은 자연계에서 셀룰로우스 다음으로 많이 존재하는 다당류의 천연 물질이며 갑각류의 껍질에 많이 함유되어 있는 키틴을 탈 아세틸화 하여 얻을 수 있다. 키토산은 식품을 비롯한 여러 분야에서 이용이 되고 있는데 항산화, 항콜레스테롤, 흡착 능력, 항균 능력과 같은 기능적 특징을 지닌 것으로 알려져 있다. 특히 식육제품에 이용되는 키토산은 대부분 미생물의 생육을 억제하는 항 미생물 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있어 이와 관련하여 키토산의 분자량에 따른 항 미생물적 효과에 대한 연구가 진행되고 있다(국 등, 2003; Kim et al., 2000, Youn et al., 2000)

### 나) Nisin

식품의 안전성을 증가시키기 위해 젖산균 박테리아 꺾어와 이들 박테리오신을 사용해서 병원성 그리고 부패성 미생물을 억제하기 위한 새로운 노력들이 진행되어왔다 (Bredholt, et al., 1999; Vignolo et al., 1998; Winkowski, et al., 1999). 식품 보존제로서 상업적으로 최초로 이용된 bacteriocin인 nisin은 1900년대 초기에 처음으로 발견되었다. 젖산균에 의해 생합성된 bacteriocin들은 다양한 종류의 peptide 억제제들을 통칭하는 용어로서, lantibiotic 들의 class I, 작고 열에 안정한 peptide들의 class II, 그리고 분자량이 크고 열에 불안정한 단백질들인 class III로 구분할 수 있다. 첫

번째 두 class에 속하는 많은 bacteriocin들은 식품 내에서 바람직하지 않은 미생물들의 성장을 억제하기 위해 효과적으로 이용될 수 있다. 그러나 단지 class I에 속하는 nisin 만이 산업적으로 대량으로 생산된 후 부분적으로 정제되어 식품 보존제로서 이용될 수 있도록 허가되었다(김과 이, 2000). 일부 연구에서는 박테리오신이 생육(Winkowski et al., 1993), 독일 스타일의 생소시지(Schillinger & Lucke, 1989), 프랑크푸르트 소시지와 wiener 소시지(Degnan et al., 1992)의 표면 미생물을 억제한다고 밝혔다. 냉장용 즉석 육류제품에 보호 culture로서 bacteriocin을 생산하는 젖산균을 포함한 다른 젖산균들로 구성된 경쟁 미생물군(competitive microflora)을 첨가하는 방법들이 이용되고 있다(김과 이, 2000).

#### 다) 유기산

식품에 많이 이용되는 유기산에는 acetic acid, lactic acid, citric acid가 있는데 FDA는 유기산을 GRAS 즉 안전한 식품첨가물로 인정하고 있으며 도축장의 미생물 성장 억제제로 쓰이고 있다(Code of Federal Regulations, 1993; FDA, 1982). FSIS는 acetic acid, lactic acid, citric acid가 도축장과 식육의 가공처리과정 중에 적육, 가공육, 부산물의 살균처리에 효과적이면서 안전하게 이용될 수 있다고 승인하였다(Federal Register, 1996) 식육의 미생물 감염은 대부분 도축과정이나 포장 과정에서 이루어지는데 *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* 등이 있다. 유기산의 항미생물 메카니즘은 처리환경 내 pH를 저하시켜 병원성 미생물의 환경을 파괴하고, 해리정도가 병원성 미생물에 치명적인 손상을 주는 것으로 보고되고 있다(Gill and Newton, 1982). 돈육 소시지에 sodium lactate를 처리한 후 저장기간 동안에 pH가 유의적인 미생물억제 효과가 있다고 Brewere 등(1991)은 보고하였으나 Kemp 등(1989)은 진공 포장 햄에서 pH가 감소하면 신맛과 불쾌취가 증가한다고 보고하였다.

#### 나. 천연 첨가물의 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정

첨가물인 Nisin, 키토산, lactic acid, acetic acid, butyric acid를 병원성미생물인 *Bacillus cereus*(ATCC 11778), *Bacillus subtilis*(ATCC 9372), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 21636), *Salmonella typhimurium*(KCCM 11862), *E. coli*(ATCC 25922), *Staphylococcus aureus*(ATCC 10537)에 대한 항균효과를 측정하였다. 페트리

디쉬는 87×15mm, 펄프디스크는 직경 8mm를 사용하였는데 펄프디스크 및 기타재료는 사용 전에 121℃, 15분간 고압 멸균 후 충분히 건조시켜서 실험에 사용하였다. 균 영양액을 만들기 위한 증식용 배지로는 Tryptic soy broth(Difco)와 Nutrient broth(Difco)를 사용하였고 항균활성에 이용된 균주는 37℃에서 배양되다가 적절한 균수로 계대 배양하여 이용하였다. 측정배지로는 nutrient agar를 균혀서 사용하였다.

*Salmonella typhimurium*에 대한 유기산과 nisin, 수용성 키토산과 키토올리고당의 항균활성을 Table 1에 나타내었다. acetic acid가 1%에서부터 효과를 나타내었고 3%의 농도에서는 가장 억제활성이 높아서 23.8mm의 억제존을 형성하였다. Nisin, 수용성 키토산과 키토올리고당에서도 전혀 억제 효과를 보이지 않았다.

*Staphylococcus aureus*(ATCC 10537)에 대한 항균활성을 측정한 결과(Table 2), Acetic acid와 Butyric acid에서는 농도에 따라 전혀 효과를 보이지 않았으나 Nisin도 농도 의존적으로 억제 효과를 나타냈으며 Lactic acid도 3%의 수준에서 가장 높은 13mm의 억제 존을 형성하였다. 수용성 키토산과 키토올리고당도 또한 2000ppm에서부터 억제 효과를 나타내었고 특히 키토올리고당은 2000ppm의 농도 이후에는 억제효과의 변화가 없었다.

*E.coli*에 대한 항균활성의 측정결과를 살펴보면 유기산과 Nisin, 키토올리고당은 처리농도 안에서 억제효과를 전혀 보이지 않았으나 3%의 lactic acid는 약한 억제존을 보였다. 또한 수용성 키토산에서도 3000ppm과 4000ppm에서만 약한 억제효과를 나타내었다(Table 3).

*Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균활성은 Table 4에 나타내었다. Acetic acid의 처리한 경우 1%의 농도에서도 13.3mm의 억제존을 보여 ++ 수준의 항균효과를 보였고 농도처리 의존적으로 항균효과를 나타내어 3%의 농도에서는 22.5mm의 억제효과를 나타내었다. 또한 같은 농도에서 Butyric acid가 Lactic acid보다 억제활성이 상대적으로 강함을 보였다. 반면에 Nisin과 수용성키토산, 키토올리고당은 전혀 억제효과를 보이지 않았다.

또한, *Bacillus cereus*에 대해서도 Nisin과 수용성키토산, 키토올리고당은 항균효과를 전혀 보이지 않았으나 유기산은 acetic acid의 효과가 가장 큰 것으로 나타났다(Table 5). 또한 최소저해농도도 acetic acid의 경우 1%의 농도를 나타내었다. 하지만 동일한 *Bacillus* 속임에도 *Bacillus subtilis*에 대한 항균효과는 *Bacillus cereus*의 경우와 다름을 보였는데 Nisin에서도 1%이상의 수준에서 항균효과를 보였고 특히

세 가지 유기산은 모두 억제효과를 보였다(++수준). 키토산과 키토올리고당도 3000rpm에서 +수준의 억제존을 보여 약한 항균효과를 나타내었다(Table 6).

본 연구의 결과, 유기산이나 키토올리고당, 수용성키토산 Nisin이 모든 병원성 미생물에 공통적인 항균효과를 보이지는 않았으나 미생물 특이적으로 항균효과를 나타내는 경향이 뚜렷하였다. 따라서 특정 미생물의 억제를 위해서 더욱 강한 항균효과를 나타내는 물질의 선별과 그 농도선정의 중요성이 크다고 하겠다.

Table 1. Antimicrobial activity of organic acid, Nisin, soluble chitosan, chitooligosaccharides on *Salmonella typhimurium* (KCCM 11862)

Treatment (%)	Lactic	Butyric	Acetic	Nisin	concentration (ppm)	water soluble chitosan	chito-oligo saccharide
0.5	8.0	8.0	8.0	8.0	250	8.0	8.0
1	8.0	8.0	12.3	8.0	500	8.0	8.0
1.5	11.0	8.0	14.3	8.0	1,000	8.0	8.0
2	11.3	13.7	15.7	8.0	2,000	8.0	8.0
2.5	12.5	14.7	20.8	8.0	3,000	8.0	8.0
3	13.3	18.3	23.8	8.0	4,000	8.0	8.0

8<P<9mm : +

10<P<15mm : ++

P>16mm : +++

Table 2. Antimicrobial activity of organic acid, Nisin, soluble chitosan, chitooligosaccharides on *Staphilococcus aureus* (ATCC 10537)

Treatment (%)	Lactic	Butyric	Acetic	Nisin	concentration (ppm)	water soluble chitosan	chito-oligo saccharide
0.5	8.0	8.0	8.0	9.5	250	8	8
1	8.0	8.0	8.0	10.3	500	8	8
1.5	8.0	8.0	8.0	10.8	1,000	8	8
2	12.0	8.0	8.0	11.8	2,000	10.3	10
2.5	12.3	8.0	8.0	12.0	3,000	11	10
3	13.0	8.0	8.0	12.8	4,000	11.2	10

8<P<9mm : +

10<P<15mm : ++

P>16mm : +++

Table 3. Antimicrobial activity of organic acid, Nisin, soluble chitosan, chitooligosaccharides on *E. coli* (ATCC 25922)

Treatment (%)	Lactic	Butyric	Acetic	Nisin	concentration (ppm)	water soluble chitosan	chito-oligo saccharide
0.5	8.0	8.0	8.0	8.0	250	8	8.0
1	8.0	8.0	8.0	8.0	500	8	8.0
1.5	8.0	8.0	8.0	8.0	1,000	8	8.0
2	8.0	8.0	8.0	8.0	2,000	8	8.0
2.5	8.0	8.0	8.0	8.0	3,000	9	8.0
3	9.0	8.0	8.0	8.0	4,000	9.5	8.0

8<P<9mm : +

10<P<15mm : ++

P>16mm : +++

Table 4. Antimicrobial activity of organic acid, Nisin, soluble chitosan, chitooligosaccharides on *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 21636)

Treatment (%)	Lactic	Butyric	Acetic	Nisin	concentration (ppm)	water soluble chitosan	chito-oligo saccharide
0.5	8.0	8.0	8.0	8.0	250	8.0	8.0
1	8.0	10.5	13.3	8.0	500	8.0	8.0
1.5	10.7	12.7	14.8	8.0	1,000	8.0	8.0
2	13.0	14.3	16.2	8.0	2,000	8.0	8.0
2.5	13.7	15.7	19.2	8.0	3,000	8.0	8.0
3	15.0	17.7	22.5	8.0	4,000	8.0	8.0

8<P<9mm : +

10<P<15mm : ++

P>16mm : +++

Table 5. Antimicrobial activity of organic acid, Nisin, soluble chitosan, chitooligosaccharides on *Bacillus cereus* (ATCC 11778)

Treatment (%)	Lactic	Butyric	Acetic	Nisin	concentration (ppm)	water soluble chitosan	chito-oligo saccharide
0.5	8.0	8.0	8.0	8.0	250	8.0	8.0
1	8.0	8.0	9.0	8.0	500	8.0	8.0
1.5	9.0	9.0	10.3	8.0	1,000	8.0	8.0
2	9.0	9.0	11.3	8.0	2,000	8.0	8.0
2.5	10.0	10.2	12.3	8.0	3,000	8.0	8.0
3	12.0	11.5	13.2	8.0	4,000	8.0	8.0

8<P<9mm : +

10<P<15mm : ++

P>16mm : +++

Table 6. Antimicrobial activity of organic acid, Nisin, soluble chitosan, chitooligosaccharides on *Bacillus subtilis* (ATCC 9372)

Treatment (%)	Lactic	Butyric	Acetic	Nisin	concentration (ppm)	water soluble chitosan	chito-oligo saccharide
0.5	8.0	9.0	9.0	8.0	250	8	8
1	9.3	9.0	9.5	11.0	500	8	8
1.5	10.0	9.5	10.7	11.0	1,000	8	8
2	10.5	10.7	11.3	10.5	2,000	8	9.5
2.5	10.7	10.7	12.7	10.5	3,000	10	9
3	12.0	11.8	13.5	11.2	4,000	11	9

8<P<9mm : +

10<P<15mm : ++

P>16mm : +++



## 2. 닭고기 저장 기간 동안 병원성 미생물에 대한 천연 첨가물의 항균 능력 조사

### 가. 첨가물에 의한 병원성 미생물 억제효과

생닭고기 냉장 저장기간 동안 미생물학적 안전성을 분석하기 위하여 닭고기의 skin 표면 20cm<sup>2</sup>/piece에 첨가물을 처리하여 병원성 미생물인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*의 성장억제효과를 조사하였다. 첨가물은 acetic acid, butyric acid, lactic acid, nisin, 수용성키토산, EGCG, garlic등을 각각 1%와 2% 농도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 3, 6, 9일 동안 3일 간격으로 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다.

저장 기간 동안 첨가물 처리에 의한 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 변화는 table 7-9와 같다. 첨가물 처리에 의한 *Escherichia coli*를 조사한 결과 1%와 2% butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 약 4.0 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하여 *Escherichia coli* 성장 억제효과가 가장 높게 나타났으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 9일째 1%와 2%의 EGCG와 garlic을 처리하였을 때 대조군에 비해 약 2.3 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며, 2%의 lactic acid, nisin과 chitosan을 처리하였을 때도 약 1.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 7). 첨가물 처리에 의한 *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*는 *Escherichia coli*와 마찬가지로 1%와 2% butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 3.5와 4.2 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소를 보이며 높은 성장 억제효과를 보였으며 이 억제효과 또한 전 저장기간을 통하여 지속되었다. lactic acid는 2% 농도에서 *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 성장억제 효과를 나타냈으며, 이에 반해 nisin, chitosan, EGCG, garlic등의 첨가물을 처리하였을 때는 성장 억제효과를 볼 수 없었다(Table 8, 9).

Table 7. Changes of *Escherichia coli* in the chicken treated with additives during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	Log CFU/cm <sup>2</sup>			
		0	3	6	9
Control		4.58	6.11	7.47	7.33
Butyric acid	1%	4.24	4.20	3.83	3.12
	2%	4.14	3.88	3.16	3.16
Acetic acid	1%	4.14	4.30	3.26	4.07
	2%	3.93	4.16	3.15	3.04
Lactic acid	1%	4.26	4.85	6.09	6.20
	2%	3.99	3.72	5.72	5.38
Nisin	1%	4.14	5.93	7.40	6.24
	2%	4.04	4.90	6.24	5.66
Chitosan	1%	3.88	5.34	5.83	6.75
	2%	3.64	3.91	5.89	5.02
EGCG	1%	4.02	5.67	6.86	5.15
	2%	4.00	4.78	6.98	4.78
Garlic	1%	4.12	4.94	6.01	5.20
	2%	4.26	4.90	6.60	4.60

Table 8. Changes of *Salmonella typhimurium* in the chicken treated with additives during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	Log CFU/cm <sup>2</sup>			
		0	3	6	9
Control		4.51	6.96	7.72	7.40
Butyric acid	1%	3.81	2.51	2.60	4.89
	2%	3.62	2.91	2.56	3.08
Acetic acid	1%	3.95	3.10	2.79	3.66
	2%	3.24	4.08	2.00	3.30
Lactic acid	1%	3.93	6.80	7.35	7.30
	2%	3.18	5.00	5.79	5.99
Nisin	1%	4.23	6.83	6.02	7.21
	2%	3.23	6.89	6.16	7.06
Chitosan	1%	3.83	5.94	5.98	7.21
	2%	3.96	5.30	6.07	7.15
EGCG	1%	3.79	6.17	5.99	6.28
	2%	3.96	4.98	7.03	6.06
Garlic	1%	4.30	5.60	5.96	6.26
	2%	4.00	6.36	5.18	7.06

Table 9. Changes of *Pseudomonas aeruginosa* in the chicken treated with additives during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	Log CFU/cm <sup>2</sup>			
		0	3	6	9
Control		4.57	6.98	7.24	7.53
Butyric acid	1%	3.84	5.30	2.30	3.60
	2%	3.11	3.51	2.20	2.78
Acetic acid	1%	3.03	4.15	4.00	3.30
	2%	3.56	2.93	3.08	3.26
Lactic acid	1%	3.99	6.24	6.26	7.24
	2%	2.89	4.86	5.45	5.83
Nisin	1%	2.83	6.35	7.73	6.79
	2%	3.25	5.57	7.35	6.26
Chitosan	1%	4.15	6.90	6.86	6.90
	2%	2.95	5.88	6.09	6.49
EGCG	1%	3.83	6.07	6.00	7.01
	2%	3.38	7.09	5.36	6.51
Garlic	1%	4.09	6.06	7.45	6.83
	2%	4.09	6.68	5.95	6.94

#### 나. 첨가물과 병원성 미생물에 의한 pH 변화

닭고기 저장기간 동안 병원성 미생물과 첨가물 처리에 의한 pH 변화를 조사하였다. 병원성 미생물은 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였으며, 첨가물은 acetic acid, butyric acid, lactic acid, nisin, 수용성키토산, EGCG, garlic등을 각각 1%와 2% 농도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 3, 6, 9일 동안 3일 간격으로 첨가물처리에 의한 닭고기의 pH 변화를 측정하였다. *Escherichia coli* 조건하에서 butyric acid와 acetic acid의 처리 농도가 증가할수록 대조군에 비해 낮은 pH를 유지하였으며 *Escherichia coli* 성장억제 효과가 높게 나타났다. 그러나 EGCG와 garlic 처리에 의한 높은 *Escherichia coli* 성장억제 효과가 단지 pH저하에 의한 것이 아니라 EGCG와 garlic powder만이 가진 특별한 항미생물 효과 때문이라고 추정된다(Table 10). *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*에서 pH 변화는 butyric acid와 acetic acid의 처리 농도가 증가할수록 대조군에 비해 낮은 pH를 저장기간 9일 동안 지속적으로 유지하였으며 *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa* 성장억제 효과가 상당히 높게 나타났다. 이에 반해 lactic acid, nisin, chitosan, EGCG, garlic등의 첨가물을 처리하였을 때는 저장기간 9일째 pH가 상승하는 것으로 나타났으며 이들의 성장억제 효과가 없었다. 이 결과 butyric acid와 acetic acid 처리에 의한 pH의 저하가 병원성 미생물 성장억제에 직접적인 영향을 미친다고 추정되었다(Table 11, 12).

Table 10. Changes of pH in the chicken treated with additives on *Escherichia coli* during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	pH			
		0	3	6	9
Control		6.64	6.2	6.72	8.34
Butyric acid	1%	5.52	4.82	5.82	5.42
	2%	5.77	4.37	4.29	4.56
Acetic acid	1%	5.85	4.33	4.66	5.01
	2%	4.52	3.99	4.33	4.71
Lactic acid	1%	5.9	4.8	6.36	7.4
	2%	6.26	4.12	4.97	6.78
Nisin	1%	5.94	4.33	5.63	7.12
	2%	5.47	5.44	4.23	5.31
Chitosan	1%	6.01	5.71	6.16	7.2
	2%	5.97	5.97	6.02	7.6
EGCG	1%	5.01	5.51	5.32	7.17
	2%	4.31	4.71	5.36	6.09
Garlic	1%	6	6.43	6.14	7.69
	2%	6.26	6.51	6.33	7.46

Table 11. Changes of pH in the chicken treated with additives on *Salmonella typhimurium* during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	pH			
		0	3	6	9
Control		5.9	6.13	6.38	7.6
Butyric acid	1%	5.04	4.65	4.61	5.0
	2%	4.62	4.62	4.24	4.58
Acetic acid	1%	5.07	4.32	4.87	5.62
	2%	4.17	3.97	3.9	4.48
Lactic acid	1%	5.24	5.6	5.18	7.44
	2%	4.51	4.11	4.06	6.11
Nisin	1%	5.75	4.96	5.27	7.31
	2%	4.52	4.79	4.36	6.81
Chitosan	1%	6.35	6.02	6.26	7.09
	2%	6.1	5.72	6.08	7.24
EGCG	1%	5.62	4.63	4.84	7.25
	2%	4.32	3.52	3.94	6.74
Garlic	1%	6.17	5.9	6.04	7.74
	2%	6.1	5.72	6.08	7.92

Table 12. Changes of pH in the chicken treated with additives on *Pseudomonas aeruginosa* during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	pH			
		0	3	6	9
Control		6.13	5.79	6.19	8.13
Butyric acid	1%	4.91	4.49	4.53	5.25
	2%	4.52	4.4	4.52	4.72
Acetic acid	1%	4.94	4.6	5.25	5.75
	2%	4.46	4.17	3.93	4.53
Lactic acid	1%	4.87	5.58	5.1	7.62
	2%	4.56	4.31	3.96	6.82
Nisin	1%	5.15	5.08	6.21	7.5
	2%	4.19	4.46	5.29	6.38
Chitosan	1%	6.07	5.76	6.12	8.09
	2%	6.17	5.66	5.87	7.59
EGCG	1%	5.21	5.51	5.64	7.12
	2%	4.25	4.16	4.99	6.52
Garlic	1%	6.01	5.7	6.35	7.92
	2%	6.07	6.05	6.3	7.64



### 3. 닭고기 저장 기간 동안 천연 첨가물과 포장방법에 의한 미생물억제 효과

#### 가. 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과

생닭고기 냉장 저장기간 동안 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과를 조사하기 위하여 닭고기의 skin 표면 20cm<sup>2</sup>/piece에 첨가물 단독 혹은 배합 처리하였다. 병원성 미생물은 닭고기 냉장 저장기간 동안 위생과 안정성에 영향을 미치는 부패세균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였다. 첨가물은 acetic acid, butyric acid, 수용성 고분자 키토산, EGCG, garlic 등을 각각 2% 농도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 6, 12일 동안 6일 간격으로 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다. 저장 기간 동안 첨가물 처리에 의한 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 변화는 table 13-15와 같다.

첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 *Escherichia coli* 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 6.3과 6.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 3.0, 0.9와 0.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 3.1 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 3.3 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 2.0 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 7.0 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 13).

*Salmonella typhimurium*의 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 5.5와 5.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 2.0, 0.3와 0.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 2.4 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 2.2 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.0 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG

배합 처리에 의해 약 6.2 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 14).

*Pseudomonas aeruginosa*의 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 5.2와 5.0 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 1.8, 0.2와 0.3 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 2.0 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 2.2 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 0.8 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 6.2 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 15).

생닭고기 냉장 저장기간 동안 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과가 첨가물 chitosan, garlic과 EGCG 3가지 모두 배합 처리하였을 때 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimuriumi*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 미생물 억제효과가 가장 크게 나타났다.

Table 13. Changes of *Escherichia coli* in the chicken treated with additive combinations during the storage at 4°C

Treatment	Storage days		
	0	6	12
Control	4.73	7.05	8.93
Butyric acid	3.23	2.78	2.60
Acetic acid	3.30	2.95	2.48
Chitosan	3.97	5.11	5.98
Garlic	4.81	6.22	8.06
EGCG	4.65	6.19	8.05
Chitosan+garlic	3.85	4.93	5.79
Chitosan+EGCG	3.70	4.70	5.63
Garlic+EGCG	4.48	5.93	6.98
Chitosan+garlic+EGCG	3.30	2.90	2.00

Table 14. Changes of *Salmonella typhimurium* in the chicken treated with additive combinations during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	Log CFU/cm <sup>2</sup>		
		0	6	12
Control		4.62	7.08	8.19
Butyric acid		3.70	3.18	2.70
Acetic acid		3.72	3.40	2.78
Chitosan		4.08	5.74	6.22
Garlic		4.53	6.95	7.93
EGCG		4.33	6.81	7.81
Chitosan+garlic		3.98	5.54	5.79
Chitosan+EGCG		3.90	5.30	6.00
Garlic+EGCG		4.18	6.26	7.16
Chitosan+garlic+EGCG		3.83	3.00	2.00

Table 15. Changes of *Pseudomonas aeruginosa* in the chicken treated with additive combinations during the storage at 4°C

Treatment	Storage days		
	0	6	12
Control	4.70	6.96	8.18
Butyric acid	3.90	3.48	3.00
Acetic acid	3.85	3.30	3.18
Chitosan	4.18	6.16	6.40
Garlic	4.54	6.79	7.99
EGCG	4.40	6.80	7.88
Chitosan+garlic	4.04	5.98	6.20
Chitosan+EGCG	4.00	5.90	6.02
Garlic+EGCG	4.20	6.65	7.40
Chitosan+garlic+EGCG	3.95	3.18	2.00

#### 나. 천연첨가물 배합과 항균지 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과

생닭고기 냉장 저장기간 동안 천연첨가물 배합과 항균지 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과를 조사하기 위하여 닭고기의 skin 표면 20cm<sup>2</sup>/piece에 첨가물 단독 혹은 배합 처리하였다. 병원성 미생물은 닭고기 냉장 저장기간 동안 위생과 안정성에 영향을 미치는 부패세균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였다. 항균지 포장은 (주)그린히트사의 항균지를 사용하였으며 첨가물은 acetic acid, butyric acid, 수용성 고분자 키토산, EGCG, garlic등을 각각 2% 농도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 6, 12일 동안 6일 간격으로 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다. 저장 기간 동안 첨가물 처리에 의한 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 변화는 table 16-18과 같다.

항균지 포장과 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 *Escherichia coli* 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 4.2과 3.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 2.5, 0.8와 0.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 2.8 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 3.0 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.2 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 4.5 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 16).

*Salmonella typhimurium*의 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 4.5와 4.8 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 1.8, 0.2와 0.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 2.0 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 2.3 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 0.8 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 5.1 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 17).

*Pseudomonas aeruginosa*의 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 저장 12일째 대조군에 비해 각각 약 4.7과 4.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였고 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 0.9, 0.6와 0.8 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 2.0 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.1 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.2 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 5.2 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 18).

생닭고기 냉장 저장기간 동안 항균 포장지와 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과가 첨가물 chitosan, garlic과 EGCG 3가지 모두 배합 처리하였을 때 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimuriumi*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 미생물 억제효과가 가장 크게 나타났다.

Table 16. Changes of *Escherichia coli* in the chicken treated with additive combinations and antimicrobial packaging during the storage at 4°C

Treatment	Storage days		
	0	6	12
Control	4.73	5.40	6.22
Butyric acid	3.23	2.60	2.00
Acetic acid	3.30	2.78	2.30
Chitosan	3.97	4.18	3.74
Garlic	4.81	4.70	5.40
EGCG	4.65	4.48	5.30
Chitosan+garlic	3.85	3.54	3.40
Chitosan+EGCG	3.70	3.48	3.18
Garlic+EGCG	4.48	4.30	4.98
Chitosan+garlic+EGCG	3.30	2.70	1.70



Table 17. Changes of *Salmonella typhimurium* in the chicken treated with additive combinations and antimicrobial packaging during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	Log CFU/cm <sup>2</sup>		
		0	6	12
Control		4.62	5.93	7.22
Butyric acid		3.70	2.95	2.30
Acetic acid		3.72	3.08	2.00
Chitosan		4.08	4.81	4.98
Garlic		4.53	5.51	6.98
EGCG		4.33	5.18	6.81
Chitosan+garlic		3.98	4.65	4.79
Chitosan+EGCG		3.90	4.54	4.54
Garlic+EGCG		4.18	4.98	6.19
Chitosan+garlic+EGCG		3.83	3.40	1.70

Table 18. Changes of *Pseudomonas aeruginosa* in the chicken treated with additive combinations and antimicrobial packaging during the storage at 4°C

Treatment	Storage days		
	0	6	12
Control	4.70	5.98	7.24
Butyric acid	3.90	3.30	2.18
Acetic acid	3.85	3.18	2.00
Chitosan	4.18	5.19	5.95
Garlic	4.54	5.79	6.94
EGCG	4.40	5.63	6.79
Chitosan+garlic	4.04	4.98	5.78
Chitosan+EGCG	4.00	4.90	5.73
Garlic+EGCG	4.20	5.54	5.98
Chitosan+garlic+EGCG	3.95	3.18	1.70

#### 다. 천연첨가물 배합과 진공 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과

생닭고기 냉장 저장기간 동안 천연첨가물 배합과 진공 포장에 의한 병원성 미생물 억제효과를 조사하기 위하여 닭고기의 skin 표면 20cm<sup>2</sup>/piece에 첨가물 단독 혹은 배합 처리하였다. 병원성 미생물은 닭고기 냉장 저장기간 동안 위생과 안정성에 영향을 미치는 부패세균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였다. 진공 포장은 ATS International Co의 진공 포장기를 사용하였으며 첨가물은 acetic acid, butyric acid, 수용성 고분자 키토산, EGCG, garlic등을 각각 2% 농도로 시료 표면에 뿌린 다음 4℃ 냉장조건하에서 0, 6, 12일 동안 6일 간격으로 첨가물처리에 의한 병원성 미생물 억제효과를 관찰하였다. 저장 기간 동안 첨가물 처리에 의한 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 변화는 table 19-21과 같다.

진공 포장과 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 *Escherichia coli* 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 4.7과 4.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 2.3, 1.2와 1.3 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 2.4 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 2.5 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.7 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 5.0 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 19).

*Salmonella typhimurium*의 진공 포장과 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 3.9와 3.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 1.0, 0.2와 0.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 1.1 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.4 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 0.5 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 5.2 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 20).

*Pseudomonas aeruginosa*의 진공 포장과 첨가물 단독 혹은 배합처리에 의한 성장 억제효과는 유기산인 butyric acid와 acetic acid를 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 3.9와 3.9 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 이 억제효과는 전 저장기간을 통하여 계속 지속되었다. 또한 저장 12일째 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 단독으로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 약 1.8, 0.2와 0.4 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였으며 첨가물 chitosan, garlic와 EGCG등을 배합 처리하였을 때 대조군에 비해 chitosan과 garlic 배합 처리에 의해 약 1.8 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan과 EGCG 배합 처리에 의해 약 1.9 log CFU/cm<sup>2</sup>, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 0.6 log CFU/cm<sup>2</sup>, chitosan, garlic과 EGCG 배합 처리에 의해 약 5.5 log CFU/cm<sup>2</sup> 감소하였다(Table 21).

생닭고기 냉장 저장기간 동안 진공 포장과 천연첨가물 배합에 의한 병원성 미생물 억제효과가 첨가물 chitosan, garlic과 EGCG 3가지 모두 배합 처리하였을 때 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimuriumi*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 미생물 억제효과가 가장 크게 나타났다.

Table 19. Changes of *Escherichia coli* in the chicken treated with additive combinations and vacuum packaging during the storage at 4°C

Treatment	Storage days		
	0	6	12
Control	4.73	5.81	6.70
Butyric acid	3.23	3.43	2.00
Acetic acid	3.30	3.46	2.30
Chitosan	3.97	4.16	4.41
Garlic	4.81	5.11	5.46
EGCG	4.65	4.98	5.41
Chitosan+garlic	3.85	3.96	4.29
Chitosan+EGCG	3.70	3.98	4.18
Garlic+EGCG	4.48	4.75	4.98
Chitosan+garlic+EGCG	3.30	3.45	1.70

Table 20. Changes of *Salmonella typhimurium* in the chicken treated with additive combinations and vacuum packaging during the storage at 4°C

Treatment	Storage days	Log CFU/cm <sup>2</sup>		
		0	6	12
Control		4.62	5.88	6.93
Butyric acid		3.70	3.30	3.08
Acetic acid		3.72	3.28	3.04
Chitosan		4.08	4.88	5.95
Garlic		4.53	5.74	6.74
EGCG		4.33	5.59	6.54
Chitosan+garlic		3.98	4.81	5.79
Chitosan+EGCG		3.90	4.65	5.54
Garlic+EGCG		4.18	4.98	6.47
Chitosan+garlic+EGCG		3.83	3.18	1.70

Table 21. Changes of *Pseudomonas aeruginosa* in the chicken treated with additive combinations and vacuum packaging during the storage at 4°C

Treatment	Storage days		
	0	6	12
Control	4.70	6.40	7.16
Butyric acid	3.90	3.81	3.26
Acetic acid	3.85	3.74	3.23
Chitosan	4.18	4.98	5.40
Garlic	4.54	5.98	6.99
EGCG	4.40	5.88	6.79
Chitosan+garlic	4.04	4.81	5.32
Chitosan+EGCG	4.00	4.60	5.26
Garlic+EGCG	4.20	5.54	6.55
Chitosan+garlic+EGCG	3.95	3.30	1.70

## 제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

구 분	연구 개발 목표	달성도 및 기여도
1차 년도 (2004)	시중에 유통 중인 수입육의 중추신경계조직 오염도 측정	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 시중에 유통 중인 냉장 및 냉동수입 쇠고기의 중추신경계물질(CNST) 오염도 확인                             <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 냉장 및 냉동 호주, 뉴질랜드, 미국산 쇠고기의 부위별 중추 신경물질오염도 확인</li> </ul> </li> </ul>
	생닭고기 유통 중 안전성 향상 기술 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 닭고기의 안전성 증가를 위한 천연 항균물질 검색을 위한 문헌 조사</li> <li>○ 천연 첨가물의 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정천연 첨가물의 병원성 미생물에 대한 항균 능력 측정 (in vitro)</li> </ul>



구 분	연구 개발 목표	달성도 및 기여도
2차 년도 (2005)	<p>시중에 유통 중인 한우 쇠고기와 소부산물의 중추신경계조직 오염도 측정</p>	<p>○ 국내 유통 중인 한우 쇠고기의 중추신경계 조직(CNST) 오염 측정</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 부위별 중추신경계조직(CNST) 오염도 확인</li> <li>▪ 등급별 중추신경계조직(CNST) 오염도 확인</li> </ul> <p>○ 시중에 유통 중인 소부산물의 중추신경계조직 오염도 확인</p>
	<p>생닭고기 유통 중 안전성 향상 기술 연구</p>	<p>○ 닭고기의 저장 기간 동안 병원성 미생물에 대한 천연 첨가물의 항균 능력 조사 및 확보 여부</p>

구 분	연구 개발 목표	달성도 및 기여도
3차 년도 (2006)	<p>도축장에서 중추신경물질(CNST) 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 방법의 조사</p>	<p>○ 도축장에서 중추신경계 조직(CNST) 오염을 줄일 수 있는 도체 처리 기술 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 대규모와 소규모의 도축장 내 소도체에서의 중추신경계 조직(CNST) 오염도 측정비교</li> <li>▪ 자동, 수동세척 및 분할 전/후의 특정위험물질(SRM)인 척수제거 기술 확립</li> </ul> <p>중추신경계 조직(CNST) 오염이 억제된 안전한 식육생산기술개발</p>
	<p>생닭고기 유통 중 안전성 향상 기술 연구</p>	<p>○ 생 닭고기의 저장 기간 동안 병원성 미생물의 억제 효과가 있는 천연 첨가물과 포장방법 개발 여부</p>

## 제 5 장 연구 개발 결과의 활용 계획

우선 본 연구를 통해 식육에 대한 소비자들의 막연한 부정적인 인식을 긍정적으로 전환시킬 수 있으며, 올바른 정보를 제공함과 동시에 소 도체에서 중추신경계물질의 오염억제를 통한 BSE(광우병)에 안전한 축산물을 소비자들에게 공급하고 식육의 안전성에 대한 불신을 감소시킬 수 있을 것이다. 그리고 소 도체에서 중추 신경계 조직(CNST)의 오염 방지를 통해 광우병의 위험을 피할 수 있는 안전한 쇠고기를 제공함으로써 식육의 소비를 촉진시킬 수 있으며 식육소비에 대한 올바른 방향성을 제시할 수 있을 것으로 생각된다. 선진국에서는 충격법이나 타격법과 같은 기절방법 대신 전기기절방법을 도입한다거나 이분할을 생략하고 대신 AMR (육 회수 공정) 혹은 Oval Saw를 이용한 척추뼈 발골과 같은 방법을 제시하고 있다. 본 연구결과는 소규모 도축장에서 제한된 조건하에서 수행되어진 결과를 토대로 하였기 때문에 대규모 도축장에서도 본 연구개발 기술이 도입되어 지기 위해서는 좀 더 많은 연구가 진행되어야 한다. 또한, 현장에서의 실용화 가능성을 위해 농림부 주도하의 국내 모든 도축장에서 도축되는 소 도체에서 뇌나 척수와 같은 특정위험물질 제거에 관한 의무사항이라든지 특정위험물질 제거시설 및 소각시설에 관련된 도축장 내 시설의 무화를 법령화 하여야 하며 현재 농림부 주도하의 몇몇 도축장에서 추진 중에 있다. 본 연구결과를 통해 소부산물 중 특정위험물질에 대한 정의를 명확히 제시할 수 있으며, 본 연구결과에서 제시된 도축장 내 소 도체에서의 중추신경계조직의 오염방지를 위해 이용된 다양한 도체처리방법을 적절히 활용하여 축산식품의 안전성 증진에 도움이 될 것이다.

또한, 가공육 유통 시 닭고기의 위생적 안전성을 위해 기존의 염소세척법의 기술에 의존하고 있는 실정이다. 최근 국내외적으로 닭고기의 위생적 가공기술에 대한 관심이 높아져 중요시되고 있으며, 본 연구 결과를 바탕으로 가공육의 미생물학적 안전성에 대한 천연 첨가물 처리 기술 개발로 닭고기의 저장 유통 기간 동안 유해 미생물 제어기술의 산업화를 위한 유용한 자료로 활용될 수 있을 것이다. 그리고 닭고기 유통 중 안전성 확보차원에서 위해 미생물을 억제 할 수 있는 천연 첨가물을 처리하여 실제 닭고기 가공 유통업체에 활용할 수 있을 것이다. 본 연구 결과 개발된 신기술은 새로운 병원성 미생제어 기술로 특허출원과 산업체 기술이전을 통한 개

별 단위의 상품화가 가능할 것이다. 연구 기간 중의 한국식품영양과학회 학술대회 발표를 통하여 본 연구 결과물에 대한 지대한 관심을 알 수 있었으며 이에 현장 적용성 검증 후 국내외 발표를 통하여 연구결과물을 적극 홍보할 계획이다.

따라서 본 연구는 쇠고기의 중추 신경계물질 오염 방지 기술을 개발하고 생닭고기 유통 중 안전성 향상 기술의 개발로 적색육과 백색육과 같은 축산식품에 대한 종합적인 안전성 증진 방안을 확립할 수 있는 연구가 될 것이다.

## 제 6 장 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

○ 최근 전 세계적으로 Microbial risk assessment에 대한 관심과 필요성이 증대되면서 FAO/WHO에서 risk assessment에 대한 중요성을 보고하고 있다(FAO/WHO, 2002).

○ *Salmonella*는 세계적으로 가장 흔하게 보고되는 식품매기 질병으로 1997년에는 10만 명 당 14~120명으로 나타났다. 미국의 경우 140만 case가 발생하여 16,430명이 병원 치료를 받았고 582명이 사망한 것으로 나타났다. 발생수의 96%가 식품에 의하여 야기되는 것으로 추정되었다. 식품으로 매개되는 *Salmonella*로 인한 의료비와 생산성 손실비용이 2,329백만 달러로 매우 높았다. 가금류가 인간에서 *Salmonella*를 일으키는데 주요 역할을 하고 있으므로 이를 줄이기 위하여 broiler chicken에서 *Salmonella*의 성장과 억제에 영향을 미치는 것을 평가하는 것이 필요하다(Mead et al., 1999).

○ 닭고기에서 *Salmonella*의 노출은 도축과정의 완성단계에서 시작하는 food chain을 통하여 *Salmonella*가 오염된 닭고기의 이동에서 시작되고 소매점, 운반시간, 가정에서의 저장시간과 각 단계에서 도체의 온도변화에 의해 *Salmonella*가 발생된다고 보고하였다(Lammerding AM. 1997).

○ 첨가물에 의한 미생물 생육 저하에 관심이 높아지면서 많은 연구들이 진행되어지고 있다. 최근 연구 보고에 의하면, Sallam 등은, 마늘이 닭고기 소세지 저장기간 동안 항산화 및 미생물 성장 저해 효과가 있음을 보고하였고(Sallam et al., 2004) trisodium phosphate(TSP), acidified sodium chlorite(ASC), citric acid(CA)은 닭다리 저장기간 동안 *Pseudomonas* 생육 저해 효과가 있음을 보고하였다(Elena et al., 2007).

## 제 7 장 참 고 문 헌

- Aasgaard, J. 1993. Colour stability of packed meat products. *Fleischwirtschaft*, 73, 428-431
- Anonymous, 1999. SigmaPlot for Windows Version 5.00, SPSS INC., U.S.A.
- Beumer, R.R., te Giffel, M.C., de Boer, E., and Rombouts, F.M. 1996. Growth of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked meat products. *Food Microbiology*, 13, 333-340
- Borch, E. and Arinder, P. 2002. Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Science* 62. 381-390
- Bozzetta, E., Nappi, R., Ru, G., Negro, M., Maurella, C. and Caramelli, M. (2006). Evaluation of an enzyme immunoassay for the detection of central nervous system tissue contamination at the slaughterhouse. *Journal of Food Protection*, 69, 2289-2292.
- Brewer, M.S., McKeith, F., Scott, E. Martin., Dallmier, A.D. and Meyer, J. 1991. Sodium lactate effects on shelf-life, sensory, and physical characteristics of fresh pork sausage. *J. Food Sci.* 56(5):1176-1178
- Chang, R.K., Jae, I.L., Kwang, H.K., Seung, J.M., and Yong, K.L. 1997. Microbiological Evaluations of Refrigerated Chicken wings Treated with Acetic Acid. *Journal of Food Hygiene and Safety*. 12(4):277-280 |
- Chang, R.K., Kwang, H.K., Seung, J.M., Yong, J.K., and Yong, K.L. 1998. Microbiological and Physical Quality of Refrigerated Chicken Legs Treated with Acetic Acid. *Food Science and Biotechnology*. 7(1):13-17
- Chang, R.K., Douglas, L.M. 1999. Microbiological, colour and sensory changes of refrigerated chicken legs treated with selected phosphates. *Food Research international*. 32:209-215
- Chang, R.K., Kang, H.K., Suk, B.S. 2000. Microbiological and Sensory Evaluations of Chicken Wings Treated with Acetic Acid and Trisodium Phosphate during

- Retail and Refrigerated Storage. *Journal of Poultry Science*. 27(3):189-195
- Code of Federal Regulations.1993. Title 21. Food and drugs. CH. I, part 184. Office of the federal Register, National Archives and Records Administration, Washington, DC.
- Commission Decision 2000/418/EC. 2000. Regulating the use of material presenting risk as regards transmissible spongiform encephalopathies and amending Decision 94/747/EC. *Official Journal L* 158/76.
- Davidson, P.M. and V.K. Juneja. 1990. Antimicrobial agent in Food Additives(A.L. Branene et al. Ed). Marcel Dekker, Inc. New York. pp83-137
- Elena, D.R., Monica, P.M., Miguel, P., Carlous, A.C., Rosa, C. 2007. Effect of various chemical decontamination treatments on natural microflora and sensory characteristics of poultry. *International Journal of Food Microbiology*. 115:268-280
- Federal Register. 1996. Pathogene reduction; hazard analysis and critical control point(HACCP) system; final rule. 9 CFR. pt. 304. USDA-FSIS. *Fed.Regist.* 61: 38805-38989.
- Floros, J.D., Dock. L.L and Han. J.H. 1997. Active packaging technologies and applications. *Food Cosmetics and Drug Packaging*. 20(1):10-17
- Foegeding,P.M., and Busta, F.F. 1983. Effect of carbon dioxide, nitrogen and hydrogen gases on germination of *Chlostridium botulinum* spores. *Journal of Food Protect.* 46(11), 987-989
- FAO/WHO. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological risk assessment series, Nos.1 and 2. Geneva and FAO, Rome. 2002. Available on the Web at either [www.fao.org/es/esn/food/risk\\_mra\\_risk-assessment\\_salmonella\\_en.stm](http://www.fao.org/es/esn/food/risk_mra_risk-assessment_salmonella_en.stm) or [www.who.int>fsf>mbriskassess/index.htm](http://www.who.int>fsf>mbriskassess/index.htm).
- F. Schwagele, M. Moje, K. Troeger, Honikel, K. O. 2002. Detection of central-nervous system(CNS) tissue on cattle carcasses after sucking off the spinal cord tissue and splitting. 48th ICoMST-Rome, p25-30.
- Gill and Newton.1982. Effect of lactic acid concentration on growth on meat of gram negative psychrotrophs from a meat works. *Journal of Applied and Environmental*

- Microbiology, 43: 284-288
- Helps, C. R., Fisher, A. V., Harbour, D. H. O'Neill, D. H., Knight, A. C. (2004). Transfer of spinal cord material to subsequent bovine carcass at splitting. *Journal of Food Protection*, 67: 1921-1926.
- Hill, A F, Desbruslais, M, Joiner, S, Sidle, K C L, Gowland, I, Collinge, J L J D and P L (1997). The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature*, 389, 448-450.
- Prusiner, S. B. 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216:136-44.
- Schmidt, G. R., Hossner, K. L., Yemm, R. S., Gould, D. H., and O'callaghan, J. P., 1999. An enzyme-linked immunosorbent assay for glial fibrillary acidic protein as an indicator of the presence of brain or spinal cord in meat. *Journal of Food Protection*, 62, 394-397.
- Smith, G. C. (2005) Removal and handling of BSE specified risk material, in: *Improving the safety of fresh meat*, edited by Sofos, J.N. Boca Raton, F, CRC Press, 273-302.
- Davidson, P.M. and V.K. Juneja. 1990. Antimicrobial agent in Food Additives(A.L. Branene et al. Ed). Marcel Dekker, Inc. New York. pp83-137
- Federal Register. 1996. Pathogene reduction; hazard analysis and critical control point(HACCP) system; final rule. 9 CFR. pt. 304. USDA-FSIS. Fed.Regist. 61: 38805-38989.
- Floros, J.D., Dock. L.L and Han. J.H. 1997. Active packaging technologies and applications. *Food Cosmetics and Drug Packaging*. 20(1):10-17
- Foegeding, P.M., and Busta, F.F. 1983. Effect of carbon dioxide, nitrogen and hydrogen gases on germination of *Chlostridium botulinum* spores. *Journal of Food Protect.* 46(11), 987-989
- Gill and Newton.1982. Effect of lactic acid concentration on growth on meat of gram negative psychrotrophs from a meat works. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 43: 284-288
- Hajmeer, M. N., Cliver, O. and Provost, R. (2003). Spinal cord tissue detection in



- comminuted beef: comparison of two immunological methods. *Meat science* 65: 757-763.
- Hajmeer, M. N., Cliver, O. and Marsden, J. L. (2006). Central nervous system tissue detection in meat from advanced meat recovery systems. *Meat science* 72: 656-659.
- Hossner, K. L. Yemm, R. S. Sonnenshein, S. E. Mason, G. L. Cummi, B. A. Reddy, M. C. S. Sofos, J. N., Scanga, J. A. Tatum, J. D., Smith, G. C. and Belk, K. E. (2006). Comparison of immunochemical and immunohistochemical method for the detection of central nervous system tissue in meat products. *Journal of Food Protection*, 69, 644-650.
- Kemp, J. D., Langlois, B.E., Akers, K, and Aaron, D.K. 1989. Effect of storage temperature, time and method of slicing on microbial populations and white film development in vacuum packaged, dry-cured ham slices. *J.Food Sci.* 54(4):871
- Kim, S.K., Jeon, Y.J., and Zan, H.C. (2000) Antibacterial effect of chitooligo saccharides with different molecular weights prepared using membrane bioreactor. *J. Chitin Chitosan*, 5,1-8
- KOREAN J. FOOD & NUTR. Vol. 11, No. 5, 475-481
- O'Callaghan, J. P. and Miller, D. P. (1991). Quantification of glial fibrillary acidic protein: Comparison of slot-immunobinding assay with a novel sandwich ELIZA. *Neurotoxicol Teratol* 13:275-281.
- Pexara, E.S., Metaxopoulos, J., Drosinos, E. 2002. Evaluation of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages-'piroski'-stored under vacuum and modified atmospheres at +4 and +10°C. *Meat Science* 62. 33-43
- Rice.J. 1988. Oxygen eliminators.*Food Processing.* 49(6):58-59
- SAS. 2005. SAS user's guide. SAS Institute, Cary, N. C.
- Schmidt, G. R., Hossner, K. L., Yemm, and Gould, D. H. 1999. Potential for disruption of central nervous system tissue in beef cattle by different types of captive bolt stunners. *Journal of Food Protection*, 62, 390-393.
- Sofos, J.N. 1989.Sorbate Food Preservatives. CRC Press Inc. Florida. pp. 111-129
- Sorheim,O., Aune, T., & Nesbakken, T. 1997. Technological, hygienic and

- toxicological aspects of carbon monoxide used in modified atmosphere packaging of meat. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 307-312
- Schwagele, F., Noje, M., Troeger, K., Honikel, K.O. 2002. Detection of central-nervous-system(CNS) tissue on cattle carcass after sucking off the spinal cord tissue and splitting. 48th ICoMST. Rome, Vol.2. 958-959
- Yesilbag, K. and Kalkan, A. (2005). Detection of central nervous system tissues as BSE specified risk material in meat products in Turkey, *Food control* 16: 11-13.
- Youn, S.K., Park, S. M., and Ahn, D.H. (2000) Studies on the improvement of storage property in meat sausage using chitosan -II. Difference of storage property by molecular weight of chitosan. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29(5), 849-853
- HEIM, 미트저널 2004. 10월호 전세계 BSE 감시체계 및 안전조치
- Jeong, W.K., Phil, L.M., Hong, W., and Mike, F.S. 1996. Grapefruit Seed Extract (DF-100) Treatment of Poultry to Reduce Attached Salmonella. *Journal of Food Hygiene and Safety.* 11(1):7-10
- Jung, B.O., Kim, B.R., Park, H.J., Oh, D.Y., and Chung, S.J. 2006. Antimicrobial Activities of Chitooligosaccharide and Water-Soluble Chitosan. *Journal of Chitin Chitosan.* 11(2):108-112
- Lammerding AM. 1997. An overview of microbial food safety risk assessment. *Journal of Food Protection* 60(11): 1420-1425
- Kemp, J. D., Langlois, B.E., Akers, K, and Aaron, D.K. 1989. Effect of storage temperature, time and method of slicing on microbial populations and white film development in vacuum packaged, dry-cured ham slices. *J.Food Sci.* 54(4):871
- Kim, S.K., Jeon, Y.J., and Zan, H.C. 2000. Antibacterial effect of chitooligosaccharides with different molecular weights prepared using membrane bioreactor. *J. Chitin Chitosan*, 5,1-8
- Kyu, H.K. 2006. Growth Inhibitory Activity of Sulfur Compounds of Garlic against Pathogenic Microorganisms. *Journal of Food Hygiene and Safety.*

21(3):145-152

Maha Hajmeer, Dean O. Cliver, Roger Provost. 2003. Spinal cord tissue detection in comminuted beef : comparison of two immunological methods. *Meat Science* 65 757-763

Meera, K. 1997. Effect of Lactic Acid Treatment on Microorganisms and Sensory Characteristics in Chickens. *Journal of Food Science*. 13(3):293-297

Mead PS. Slusker L. Dietz V. McCraig F. Bresee JS. Shapiro C. Griffin PM. & Tauxe

RV. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease*. 5:607-625

O'Callaghan. J. P. 1991. Quantification of Glial Fibrillary Acidic Protein. *Neurotoxicology Teratology*, 13, 275-281.

Park, S.H., Ko, Y.J., and Kim, K.S. 2005. Physiological Functions of Chitosans as Functional Food Ingredients. *Journal of Chitin Chitosan*. 10(2):55-60

Sallam KI, Ishloroshi M, Samejima K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *Lebensm Wiss Technol* 37:849 - 855.

Rice.J. 1988. Oxygen eliminators. *Food Processing*. 49(6):58-59

Sofos, J.N. 1989. Sorbate Food Preservatives. CRC Press Inc. Florida. pp. 111-129

Sorheim, O., Aune, T., & Nesbakken, T. 1997. Technological, hygienic and toxicological aspects of carbon monoxide used in modified atmosphere packaging of meat. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 307-312

Schmidt, G. T., Hossner, K. L., Yemm, S., & Gould, D. H & O'Callaghan. 1999. An enzyme-linked immunosorbent assay for glial fibrillary acidic protein as an indicator of the presence of brain or spinal cord in meat. *Journal of food protection*, 64(4) 394-397

Tae, H.K., and Young, H.Y. 2002. The Effect of Citric Acid and Sodium Chlorite Mixtures on The Growth of Microorganisms from Broiler Thigh Surface. *Journal of Food Science*. 22(1):44-49

김근성, 이성제. 2000. 식품산업에서 젯산균 생산 bacteriosin의 이용. *식품과학과 산*

- 업.33권.3호. p 55-65
- 월간 식품세계. 2001. March. 한국 식품정보원. p154
- 월간 식품세계.2004.January.한국식품정보원.32-33
- 미트저널, 2004. Oct., 미트저널사. p 60-77.
- 미트저널, 2005. Feb., 미트저널사. p 64.
- 이중희, 김경희, 김동연. 1999. 식이 지방의 양적 변화가 대장 상피세포 증식에 미치는 영향. 한국 영양학회지. 32(4) : 394-400
- 정인범, 정인철, 문윤희. 1998. 저지방 프레스 햄의 제조와 품질 특성에 관한 연구.
- 한정훈. 1997. 기능성 포장과 방출 조절용 항균성 식품 포장재의 개발. Food Engineering Progress. Vol.1, No. 1, pp 71-80