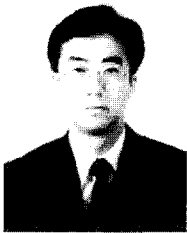


계란의 위생처리와 HACCP

김 광 엽 / 충북대학교



약 력

- 1985. 2. 서울대학교 식품공학과 졸업(학사)
- 1987. 2. 서울대학교 대학원 식품공학과 졸업(석사)
- 1993. 2. 미국 조지아대학교 식품공학과 졸업(박사)
- 1990. 7.~1993. 8. 美 조지아대학 연구조교
- 1993. 9.~1995. 10 美 조지아대학 연구원
- 1996. 3.~ 현재 충북대학교 식품공학과 부교수

계란의 위생처리와 HACCP

The Sanitation of Chicken Eggs and HACCP

충북대학교 식품공학과 김 광 업 교수

Salmonella 균에 의한 가금류 식품의 오염은 전 세계적으로 가장 많이 발생하는 식중독의 원인이며, 우리나라에서도 육류섭취 증가에 의하여 그 심각성이 가중되고 있다. 세균의 오염에 의한 식중독은 위생환경이 매우 잘 갖추어진 선진국에서도 근절되지 못하고 있는 문제로, 미국의 경우 전체 세균성 식중독사고의 60 % 가량을 Salmonellosis가 차지하고 있으며, 우리나라의 경우도 경제발전과 더불어 외식의 증가와 대규모 급식 등으로 식중독사고의 규모가 증가하고 있으며, 전체 식중독 발생 중 53.3 %가 Salmonellosis로 나타났다.

특히, *Salmonella enteritidis*에 의한 식중독사고의 주요 오염원은 계란으로 밝혀져 있고, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella heidelberg* 등도 계란에 있어서 문제가 되고 있다. 계란은 최외부에 존재하는 얇은 cuticle 층, 난각, 3중의 난막(outer-membrane, inner-membrane, limiting-membrane), 난백, 난황으로 구성되어 있으며, 미국 식품의약국(FDA)에서는 계란을 보관 중 냉장과 특별한 주의를 요하는 식품으로 규정하고 있으며, 계란의 *Salmonella* 균 오염은 산란시 난각에 부착된 뒤 내부로 이동하는 수평적 이동이 주된 오염 경로로 밝혀져 있다.

따라서 위생적인 계란을 생산하기 위하여 식품의 위해 요소로부터 중점적으로 보호하고 위생적으로 관리하기 위한 HACCP 방법의 도입이 시급하다고 할 수 있겠다.

HACCP의 소개

HACCP(Hazard Analysis of Critical Control Point) 방법은 식품의 위해 요소 중점관리 방법으로 1960년대

미국의 우주개발의 일환으로 항공우주국과 미 육군 Natick 연구소가 공동 개발한 것으로 1971년 미국 식품보호위원회에 의하여 그 구상이 처음으로 공포되었다. 1973년 미국 식품의약청(FDA)에 의해 이 방식이 적정제조기(GMP)에 도입되었으며, 1985년 미국에서 식품관계법령의 효과성을 평가할 때 미국과학아카데미(NAS)가 당국과 식품업체에 법적 강제력이 있는 HACCP 방법을 권고하여, 1989년 미국식품미생물기준 자문회의(NACMCF)가 HACCP의 7가지 원칙을 제시하였고 1993년 FAO/WTO의 국제식품규격위원회(codex)가 HACCP 적용을 위한 지침을 제시하여 전 세계적으로 도입되었다.

국내의 경우도 1995년 식품의 안전성 확보와 식품업체의 자주적이고 과학적인 위생 관리 방식의 정착 및 국제 기준·규격과의 조화를 위하여 식품위생법을 개정하여 HACCP 방식을 도입하였으며, 1996년 '식품 위해 요소 중점 관리 기준'(보건복지부 고시 제1996-75호)을 설정하여 HACCP에 의한 식품위생관리 수준을 한 차원 높이는 계기가 마련되었다.

HACCP는 원료품목의 수확단계에서 판매소비 단계까지 식품 체인 전반에 걸쳐 위해 요소를 방지 할 수 있는 방법으로 다시 말해 위생적이며 안전한 식품을 생산하기 위해 식품제조 공정을 여러 단계로 나누어 이 지점에서 위해를 일으킬만한 생물학적, 화학적, 물리학적 위해 요소를 발견하고 이를 근본적으로 제거하는 방안을 강구하고 문제 발생시 이를 신속하고 정확하게 대처하는 예방책을 개발하는 시스템을 말한다.

HACCP system의 장점

국제적으로 산업계, 행정부, 학계가 위생적이며 안전한 식품생산 방법으로서 HACCP 체계를 선택하는데는 여러 가지 장점이 있기 때문이다.

첫째로, HACCP 체계는 과학을 바탕으로 설정되었다는 것이다. 따라서 이론과 방법적인 면에서 강하게 뒷받침하며 결과적으로 안전 식품으로서 높은 신뢰성을 준다. 둘째로, HACCP는 위해 예방대책으로서 매우 적합하다는 것이다. 다시 말해 식중독의 발생 후 대처가 아니라 식중독 발생 전에 미리 이를 예방한다는 예방방법으로서 효과가 크기 때문이다. 셋째로, HACCP 체계는 문제의 근본원인을 정확하고 신속하게 밝혀 책임소재를 분명히 한다는 것이다. 넷째로, HACCP는 식품을 통한 질병발생과 부패에 대한 실제적인 기록을 근거로 작성되었기 때문에 매우 합리적인 방법이다. 다섯째로, 원료로부터 시작해서 가공, 포장 등 식품의 공정별로 모두 적용되었기 때문에 포괄적인 위생 대책 방법이다. 여섯째, 이 모든 적용이 단계 단계마다 작동되며 조절되기 때문에 종합적인 체계의 장점을 갖고 있다. 일곱째, 이와 같은 HACCP를 통해 얻을 수 있는 또 하나의 장점은 한번 설정된 후에도 계속 쉽게 변형을 가할 수 있어 더 높은 품질의 식품을 개발하는데 편리하다.

HACCP 체계의 7가지 원리

HACCP에는 7가지 기본 원리와 이 원리를 수행하기 위한 필요한 몇 개의 전후 단계로 구분할 수 있다. 우선 7가지 기본 원리를 살펴보면 Table 1과 같다.

위해 요소란 식품에 잠재적으로 소비자에게 건강상 부정적 효과를 초래하는 생물학적(Biological), 화학(Chemical), 물리적(Physical) 요소로 이와 같은 위해 요소가 발생할 수 있는 모든 가능성을 분석하고 그에 대한 예방책을 선택하는 것이 첫 번째이고, 관리가 가능하고 식품의 안전성을 방해하는 위해 요소가 예방되거나, 허용수준으로 감소시킬 수 있는 지점(Critical Control Point, CCP)을 제품별, 공정별로 결정 도표를 이용하여 식별하는 것이 두 번째이다. 그리고 식별된 각각의 CCP와 연계하여 예방책을 실행하기 위한 위해 허용한도(Critical Limit)를 선정하며, 이때 생물학적, 화학적, 물리적으로 위해 허용한계를 선정하는 것이 세 번째이다. 또한 각각의 CCP에서 위해 허용한도가 준수되는지를 모니터링하여 확인하는 것이 네 번째 원리이다. 다섯 번째로 각각의 CCP에서

Table 1. HACCP의 7가지 기본 원리

원리 1 : 위해요소 분석 및 예방책 식별 (Hazard Analysis)
원리 2 : 중요 관리점의 식별 (Critical Control Point : CCP)
원리 3 : 위해 허용한계의 설정 (Critical Limit : CL)
원리 4 : 각 CCP의 모니터링 (Monitoring)
원리 5 : CL의 이탈 시 시정 조치의 설정
원리 6 : 검증절차의 수립
원리 7 : 기록의 유지 관리체계 수립

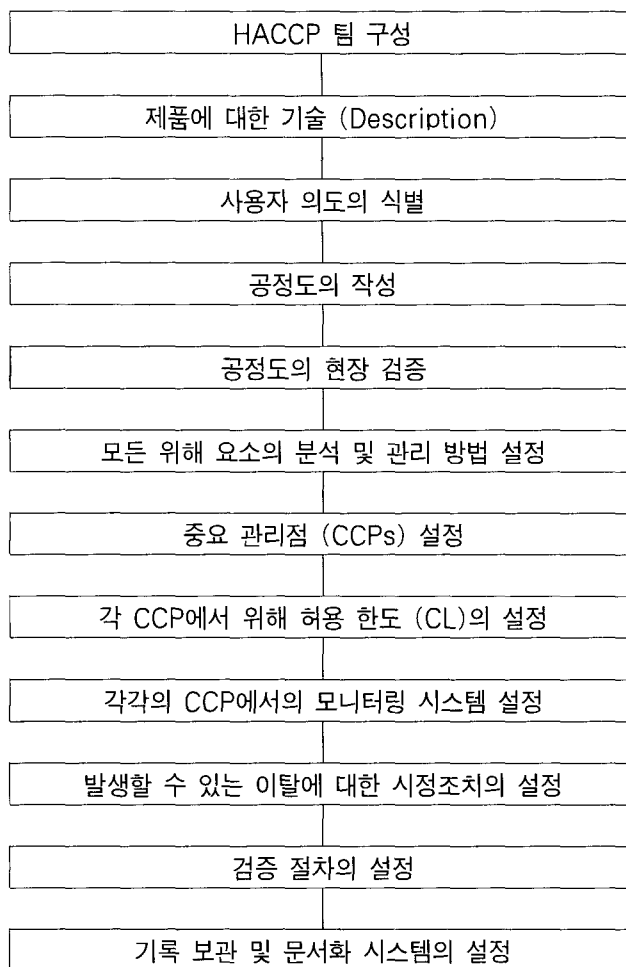


Fig. 1. HACCP의 적용 순서 (Codex 12 단계)

위해 허용한도가 이탈되었을 때를 대비한 시정 조치 방법을 문서화 해야하며, 만약 허용한도를 이탈했을 경우 바로 시정조치를 수행해야 하고 반드시 수행된 시정조치를 기록해야 한다.

여섯 번째로 HACCP 체계가 바르게 작동되고 있는지를 검증하는 절차를 수립하여 시행해야 한다. 마지막으로 HACCP의 모든 절차는 문서화되어야 하며 또한 각각의 CCP에서 모니터링된 것을 정확하게 기록하고 유지해야 하며 이를 관리하는 체계를 수립해야 한다.

HACCP 체계의 적용 순서 (Codex의 12단계)

기본원리를 적용하기에 앞서 먼저 해야할 일이 있는데 이것과 7가지 기본원리를 합쳐 Codex에서 12단계의 HACCP 적용순서를 제시하였으며 Fig 1과 같이 나타낼 수 있다.

먼저, HACCP를 담당할 팀을 구성하는 것이다. 이것은 HACCP를 효과적으로 설계하고 적용하기 위한 필수적인 것으로 식품미생물 전문가를 포함한 담당 전문가를 중심으로 구성되어야 한다. HACCP는 기본적인 원리는 같더라도

Table 2. Confocal Scanning Laser Microscopy measurements of eggshell membranes and fibers

Structure	Layer thickness (μm)	Fiber / Particle diameter (μm)
Outer membrane	8.0~12.3	1.5~7.2
Inner membrane	2.5~4.5	0.8~2.0
Limiting membrane	3.2~3.9	0.1~1.4

도 식품종류마다 그리고 공장마다 제조방법, 생산설비가 다르기 때문에 생산업체마다 각각 달리 설계해야 된다. 따라서 생산 현장 전문가도 이 팀의 일원으로 참여해야 한다. 둘째로, HACCP가 적용되어 생산될 식품에 관한 설명이다. 셋째로 이 식품이 사용될 목적을 설명하는 것으로 생산된 식품을 섭취할 대상에 관한 설명이다. 네 번째로 식품제조 공정도를 작성하는 것이다. 이것을 위해 공정도 심벌과 심벌의 내용이 우선 준비되어야 한다. 다섯 번째로 작성된 심벌이 제대로 된 것인지 입증하는 단계로 현장을 통해 이루어진다. 그 후 위의 7가지 원리가 차례로 적용되어 모두 12단계로 이루어진다.

HACCP가 작성된 후에는 실행자에 대한 HACCP의 교육이 필요하다. 아무리 HACCP가 잘 만들어 졌다하더라도 담당자가 HACCP의 개념이나 효율적인 적용을 하지 못하면 소용이 없기 때문에 효과적인 system적용을 위해서는 현장담당자에 대한 교육이 필수적이다.

계란의 위생처리 및 HACCP의 적용

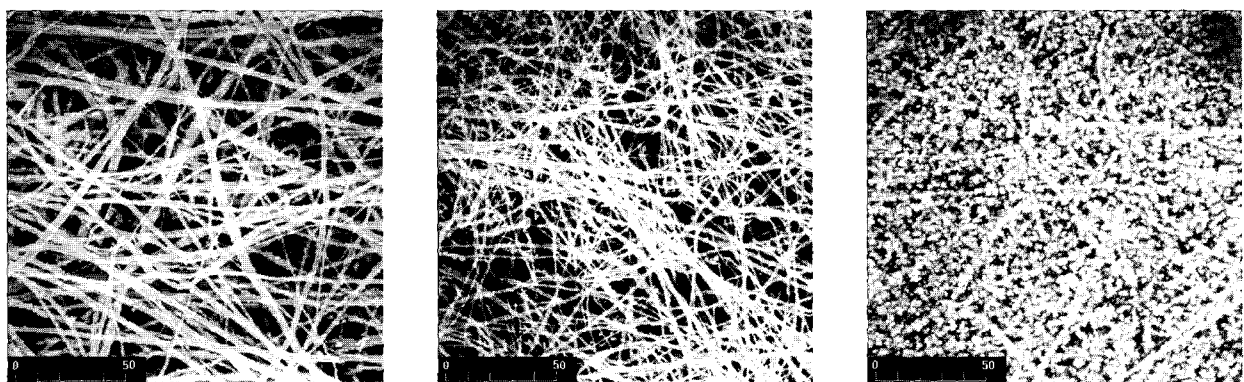
최근 계란의 세척 기술이 도입되어 국내에서도 그 이용이 점차 증가하는 실정이다. 그러나 계란생산에서의 HACCP 적용에 있어 세척과정은 계란의 최외부 방어기능인 cuticle 층을 파괴하여 비세척란보다 저장성을 떨어뜨리는 단점이 있으므로 중요 관리점(CCP)이라고 할 수 있다. 따라서 이를 보충할 방법이 필요하다. 한편 기능이 좋은 여러 종류의 필름을 이용하여 다양한 식품에 피복함으로써 그 저장성이 향상된다는 결과가 보고 된 바 있고, 또

한 chitosan 피복으로 딸기의 저장성이 향상되었다고 하며, mineral oil, starch, gelatin, dextrin, chitosan 의 피복으로 계란에서 균에 의한 오염 방지 및 저장성이 향상된다고 보고 된 바 있다. 따라서 세척을 통하여 파괴된 cuticle 층을 대신 할 수 있는 필름 피복의 활용이 가능한지를 확인하고자 하였다.

공초점 레이저 현미경(CSLM, confocal scanning laser microscopy) 기술은 광학현미경이나 형광현미경보다 명확한 입체적인 조직영상을 얻을 수 있고, 레이저 광투과에 의한 표본 내부의 '스캔' 기능, 다양한 면역학적 형광염료를 사용하여 얻어지는 다색영상화(multi-color imaging), 비파괴적 전처리에 의한 생세포의 관찰, 컴퓨터그래픽을 이용한 3차원 영상 구성 등의 장점이 많은 신기술이다. 이 기술을 이용하여 닭의 표피 모공에 포집된 *Salmonella* 균의 공간적인 영상이 3차원적으로 관찰되었으며, 전자현미경에서는 얻지 못했던 계란 난막의 limiting membrane 입체 영상도 보고되었다. 본 연구에서는 다양한 기능을 활용할 수 있는 CSLM을 이용하여 계란의 주된 미생물학적 위해 요소인 *Salmonella enteritidis* 오염 기작을 관찰하였고, 필름 피복 처리에 의한 계란의 *Salmonella enteritidis* 오염 방지 효과를 조사하여 보다 나은 위생적 계란 생산방법을 추구하고 있다.

공초점현미경(CSLM)을 이용한 계란의 난막과 Fiber 관찰

CSLM을 이용하여 관찰한 결과 난각에 접해있는 outer



(a) outer membrane (b) inner membrane (c) limiting membrane

Fig. 2. Confocal Scanning Laser Microscopy images of three layers in eggshell membrane (magnification 63×10 , scale bar = $50 \mu\text{m}$)

membrane은 두께가 8.0~12.3 μm (평균 10 μm)이고 지름이 1.5~7.2 μm 인 fiber가 서로 얽혀져 있었고, inner membrane은 두께가 2.5~4.5 μm (평균 3.5 μm), 지름이 0.8~2.0 μm 인 fiber가 매우 조밀하게 구성되어 outer membrane과 부분적으로 교차되어 있었으며, limiting membrane은 두께가 3.2~3.9 μm (평균 3.55 μm)이고 지름이 0.1~1.4 μm 인 입자들이 매우 밀집되어 inner membrane과 부분적으로 중첩되어 있었다(Table 2, Fig. 2). 전자현미경을 사용한 Tullett와 Powrie결과에서는 limiting membrane을 관찰하지 못하였고 Tan 등의 결과에서는 0.09~0.15 μm 로 limiting membrane의 매우 얇은 두께만이 관찰되었으나 CSLM으로 관찰한 Wong Liong의 결과와 본 실험에서는 limiting membrane의 두께와 입자의 지름까지 측정되었다. 이는 탈수 과정 같은 전처리 과정을 거치는 전자현미경의 경우 난막의 수분 제거로 limiting membrane 층이 수축되어 관찰이 되지 않은 것으로 생각된다. 본 실험에서 측정된 outer membrane과 inner membrane의 두께는 각각 50, 23 μm 로 측정된 Tullett과 48, 22 μm 로 측정된 Powrie 결과보다 얇았으며, 구성 fiber의 지름은 Tullett의 1.3, 0.9 μm , Powrie의 3, 1.5 μm 와 비교할 때 더 두꺼운 것으로 나타났다. Wong Liong의 결과와 비교해 볼 때 구성 fiber의 지름은 비슷하나 두께는 59, 21 μm 의 outer, inner membrane보다 매우 얇았다. 본 실험을 통하여 국내 계란이 외국의 계란에 비교하여 세균 침투를 방어하는 물리적 기능을 지닌 난막이 있음을 알 수 있고, 이로 인해 같은 양의 균에 의한 계란의 오염이 좀더 빠르게 침투될 가능성이 높은 것으로 사료된다.

공초점현미경(CSLM)을 이용한 계란의 cuticle 층과 피복 필름

CSLM을 이용하여 계란의 cuticle 층을 관찰하여 얻은 영상들을 MRC-1024 System의 내장 소프트웨어를 이용하여 계산한 결과, cuticle층은 전체 계란 난각 표면의 40~80 % (평균 60 %)로 난각을 덮고 있었으며, 두께는

평균 6.0 μm 이었다(Table 3). cuticle층의 수직단면 영상을 얻기 위하여 vertical sectioning 기능을 사용하여 관찰한 결과 Fig 3과 같이 난각 표면의 cuticle 층과 cuticle 층이 결손된 부위에서는 평균 지름 18.9 μm 인 공극이 노출된 채 나타났다. 본 실험에서 관찰된 계란의 최 외부 방어막인 cuticle 층의 두께는 Tullett의 10 μm 과 비교해 볼 때 상대적으로 얇아 균에 노출시 국내 계란의 수평적 전이가 더 빠르게 될 것으로 사료된다. 그리고 cuticle 층이 결손된 부위의 공극은 Haigh와 Betts의 avian egg에서 평균 60~65 μm 보다 작았으나 균의 주요 내부 침투 방법인 수분 흡입은 계란이 냉각될 때의 온도차에 의하여 생성되는 수분이 계란내부의 수축에 의해 흡수되어 일어나며, 이와 공극간에 관계성이 없다는 Sparks와 Board의 결과를 감안할 때 공극이 작아도 수분 흡입을 통한 세균침투와는 상관이 없을 것으로 판단된다. cuticle 층이 계란 표면을 평균 60 %만 덮고 있는데 반하여, 표면을 필름 피복할 경우 cuticle 층이 결손된 부위까지 거의 100 % 피복되므로 cuticle 층이 결손된 부위를 통한 균침투를 막기 위해서는 필름 피복이 필요할 것으로 사료된다.

계란을 각각 chitosan, starch, gelatin, dextrin용액, 그리고 mineral oil에 30초간 침지하여 피복 시킨 후 측정된 필름의 두께는 Table 3과 같다. 필름 두께의 측정은 CSLM의 reflection mode에서 0.1 μm 간격으로 optical sectioning하여 측정하였다. 필름 두께는 최초 나타나는 해당 영상의 초점으로부터 그 영상 부위가 사라지는 초점까지의 이동거리로서 여러 위치에서 측정하였다.

Salmonella 균에 대한 피복필름의 생육억제효과

*Salmonella enteritidis*에 대한 각각의 필름 피복의 생육억제효과를 배지상에서 관찰한 결과 gelatin, mineral oil, dextrin, starch 필름 피복시 24시간 배양 후 각각 8.0×10^2 , 4.1×10^2 , 2.4×10^2 , 1.0×10^2 CFU/ml로 성장한 반면, chitosan 피복은 24시간 배양 후 균이 전혀 자라지 않았으므로 chitosan 피복에 의한 *Salmo-*

Table 3. Confocal Scanning Laser Microscopy measurements of cuticle and coating film thickness

Classification	Thickness (μm)
Cuticle ¹⁾	5.1~6.9 / 6.067 ± 0.371^3
Chitosan ²⁾	1.9~2.4 / 2.167 ± 0.118^3
Starch ²⁾	2.2~2.8 / 2.533 ± 0.146^3
Dextrin ²⁾	2.0~4.3 / 3.622 ± 0.430^3
Gelatin ²⁾	2.0~6.0 / 3.878 ± 0.797^3
Mineral oil ²⁾	3.2~6.1 / 5.022 ± 0.522^3

¹⁾Area ratio of Cuticle : 40~80 % / avg. 60 %

²⁾Area ratio of Films : almost 100 %

³⁾Values(mean \pm SD) with different superscripts are significantly different (P<0.05)

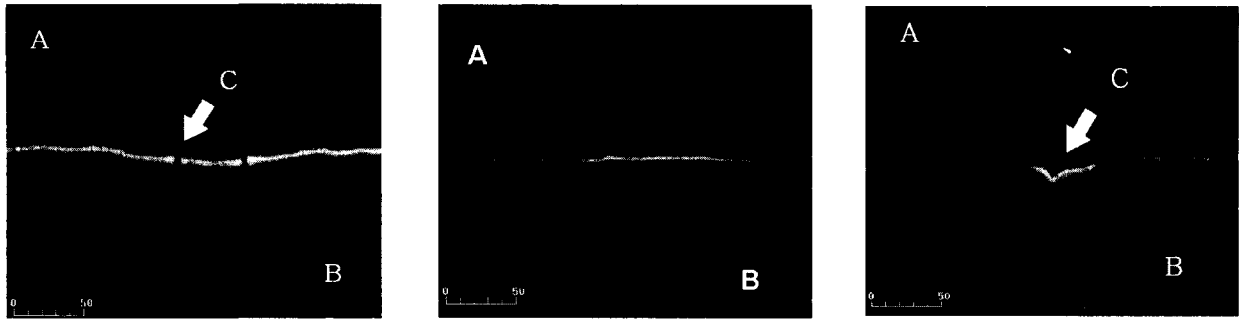


Fig. 3. Confocal Scanning Laser Microscopy images of vertical sectioning on cuticle layer at different locations (magnification 63×10 , scale bar = $50\ \mu\text{m}$)
A : outside of eggshell, B : inside of eggshell, C : pore (arrow)

*Salmonella enteritidis*의 생육억제가 다른 필름 피복보다 효과적인 것으로 판단된다(Fig. 4). Chang 등과 Wang의 결과에서도 Chitosan은 본 실험에서와 같이 세균에 대한 항균효과를 나타내었다.

Chitosan의 *Salmonella*균 증식 억제가 1% 농도, pH 5.5에서 뚜렷하였다는 Wang의 결과와 본 실험 결과를 종합할 때, chitosan 피복은 방란시 계란의 외부에 부착되어진 *Salmonella*균에 대하여도 항균효과를 나타낼 것으로 사료된다.

계란의 cuticle 층과 피복 필름에 대한 *Salmonella*균 투과 오염

*Salmonella enteritidis*의 난막 침투 과정을 CSLM을 이용하여 다색 영상화(multi-color imaging)로 관찰한 결과(Fig. 5) *Salmonella*균이 난막에 부착된 상태를 관찰할 수 있었다. 침투된 *Salmonella enteritidis*균은 limiting membrane까지 도달하여 존재하고 난막사이의 공간 속에 떠있는 상태로 볼 때 *Salmonella*균은 난막 사이의 공간을 통하여 내부로 전이됨을 알 수 있었다.

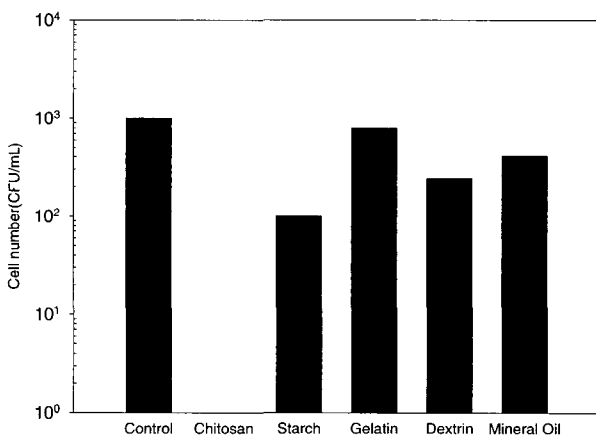


Fig. 4. Inhibition of *Salmonella enteritidis* growth by different film coatings

Chitosan coating showed no growth after 24 hr incubation

*Salmonella enteritidis*가 피복 필름, cuticle 층, 난막을 통과한 후 난막을 통한 내부전이 정도를 측정한 결과는 Fig. 6과 같고 여기서 투과하고 있는 균수는 시간에 따라 증가 후 일정 수치로 유지되고 그 후 감소하는 경향이 나타났으며, TSP 처리, CPC 처리, 각각의 필름 피복 처리와 cuticle 층을 비교해 볼 때, TSP와 CPC를 처리한 경우는 균수가 많으면서 매우 빠르게 계란의 내부로 전이됨을 볼 수 있었다. 각각의 필름피복의 경우 dextrin 피복처리에서는 가장 많은 양의 균수가 초기에 침투되어 시간의 경과에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였고, gelatin 처리에서는 cuticle 층이 제거된 경우보다 균수가 초기에는 적었으나, 시간의 경과에 따라 비슷하게 나타났고, mineral oil 처리에서는 gelatin 처리 경우보다 적은 균수를 유지하였으나 cuticle 층보다는 많은 균수가 내부로 이동하였다. starch 피복에서는 chitosan 피복 처리와 cuticle 층으로 덮여있는 무처리 계란과 비슷한 경향을 보이거나 최종적으로는 가장 많은 균수를 보였다.

chitosan 피복 처리는 cuticle 층과 비슷한 효과를 나타내어 피복 필름 중에서 균의 내부이동 방지 효과가 가장 높았다. Lee 등은 chitosan 피복 처리가 계란의 저장 중 무처리구에 비해 품질보존 효과가 뚜렷하였다고 보고하였으며, chitosan은 *Salmonella*균 뿐만 아니라 여러 종류의 균에 대하여 자체 항균력에 좋다는 보고가 있다.

또한 저분자의 chitosan이 고분자의 chitosan보다 항균력이 좋으므로 저분자의 chitosan을 사용할 때 그 효과가 훨씬 높을 것으로 보아, chitosan이 난각 표면에 존재하는 균의 내부전이 억제와 계란의 cuticle 층이 결손된 난각 부위를 피복하는데 적합할 것으로 판단된다.

맺음 말

HACCP의 필요성과 당위성이 여러 선진국을 포함한 WTO 등의 국제 조직을 통해 구체적으로 확인되고 있다. 보다 위생적이며 안전한 식품 생산을 위해 HACCP를 적용해야 한다는 것은 식품위생 전문가들이 인정하고 있으며,

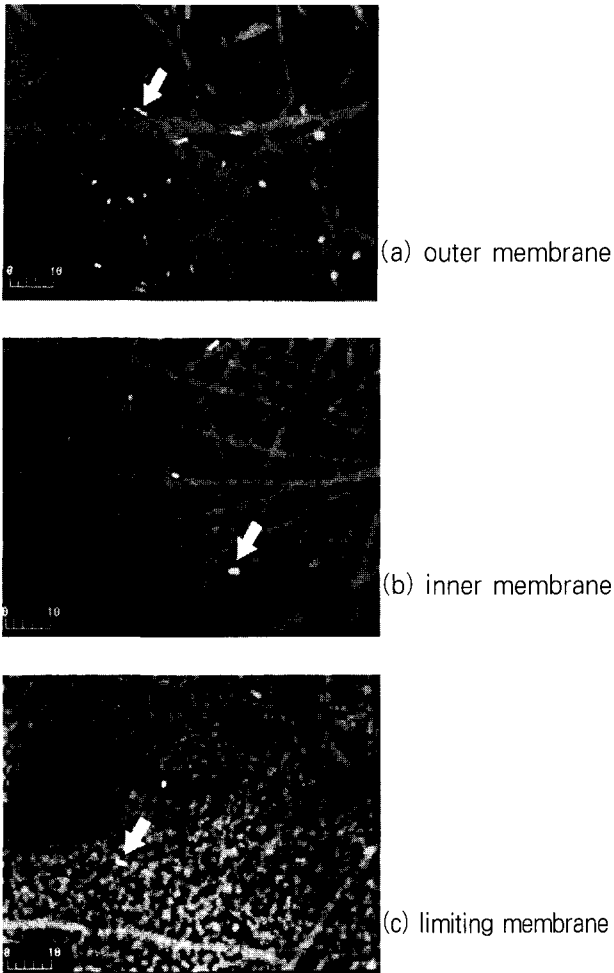


Fig. 5. Confocal Scanning Laser Microscopy images of *Salmonella enteritidis* (arrow) penetration through eggshell membrane after incubation during 2 hr (magnification 63×10, scale bar = 10 μm)

소비자들은 HACCP를 적용해서 생산한 안전한 식품을 구매하여 섭취하기를 원하고 있다. 또한 외국 수입식품에 대해서도 국민들이 위생적이며 안전한 식품을 구매할 수 있도록 해야 하며 우리도 HACCP에 대한 수입규정을 둘 수 있도록 과학적이고 체계적인 HACCP를 개발하는데 노력해야 한다.

그러므로 양계 산업에서도 HACCP 체계의 적용이 시급하다고 하겠다. 계란의 난각이나 3중막 구조의 난막보다는 cuticle 층이 *Salmonella* 균등의 생물학적 오염을 차단하는데 결정적인 역할을 하는 것으로 나타났으며, chitosan 피복이 cuticle 층과 비슷한 효과를 보였다.

따라서 계란 생산의 중점관리점(CCP)인 세척과정에서 최외부 방어막인 cuticle 층의 결손을 최소화하여야 하며, 계란의 피복 물질로는 chitosan이 적합할 것으로 사료된다.

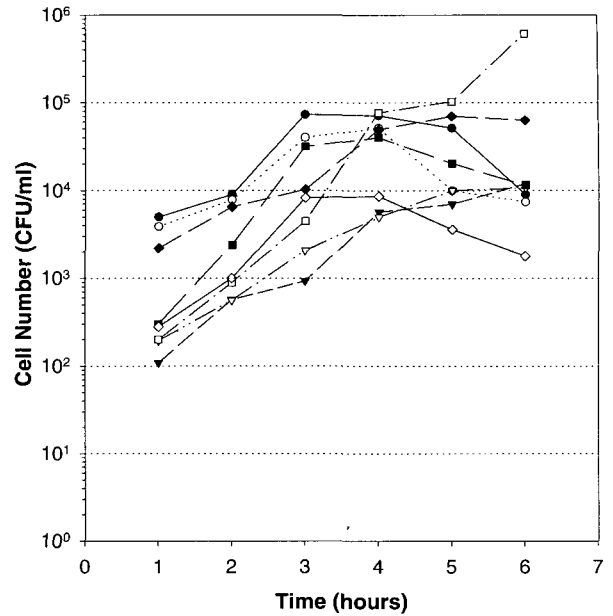
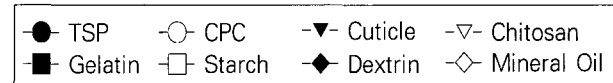


Fig. 6. *Salmonella enteritidis* penetration across eggshell during storage at 2°C after drying overnight at 35°C after various film coatings



참고 문헌

- Baldwin, E. A., Nisperos, M. O., Hagenmaier, R. D. and Baker, R. A. : Use of lipids in coatings for food products. *Food Technol.*, 51(6), 56-64 (1997)
- Bean, N. H., Griffin, P. M., Goulding, J. S. and Ivey, C. B.: Foodborne disease outbreaks, 5-year summary, 1983-1987. *J. Food Prot.*, 53, 711-728 (1990)
- Bean, N. H., Griffin, P. M.: Foodborne disease outbreaks in United States, 1973-1987: pathogens, vehicles and trends. *J. Food Prot.*, 53, 804-817 (1990)
- Caldwell, D. E., Korber, D. R. and Lawrence, J. R. : Confocal laser microscopy and computer image analysis. In *Advance in Microbiol Ecology*, Marshall, K.C., (ed.), Plenum Press, New York, Vol. 12, p. 1-67 (1992)
- Caldwell, D. E., Korber, D. R. and Lawrence, J. R. : Imaging of bacterial cells by fluorescence exclusion using scanning confocal

- laser microscopy. *J. Microbiol. Meth.*, **15**, 249-261 (1992)
6. Center for Disease Control : *Salmonella* surveillance. Annual summary 1988. CDC, Atlanta, GA, USA (1990)
 7. Chang, D. S., Cho, H. R., Goo, H. Y. and Choe, W. K. : A development of food preservative with the waste of crab processing (in Korean). *Bull. Korean Fish. Sci.*, **22**, 70-78 (1989)
 8. El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M. : Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci.*, **56**, 1618-1620 (1991)
 9. Farag, R. S., Daw, Z., Shallan, M. A. and Ebtessam A. Mahmoud : Biochemical and microbial studies on the efficiency of some coating materials for egg preservation. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **45**, 263-273 (1994)
 10. Food and Drug Administration : Proposed rules - *Salmonella enteritidis* in eggs, *Federal Register*, **63**(96), Tuesday, May 19, 27502-27511(1998)
 11. Food Safety and Inspection Service(FSIS) and United States Department of Agriculture(USDA) : Guides for the Preparation of HACCP Plans and Generic HACCP Models, 1999
 12. Gast, R. K. and Beard, C. W. : Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. *J. Food Prot.*, **55**, 152-156 (1992)
 13. Hahn, T. W., Kim, K. Y. and Park, Y. H. : Expression of green fluorescent protein gene in *Salmonella enteritidis* (in Korean). *Korean J. veterinary publichealth*, **21**(4), 415-420 (1997)
 14. Haigh, T. and Betts, W. B. : Microbial barrier properties of hen egg shells. *Microbios*, **68**, 137-146 (1991)
 15. Hassan, A. N., Frank, J. F., Farmer, M. A., Schmidt, K. A. and Shalabi, S. I. : Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. *J. Dairy Sci.*, **78**, 2624-2628 (1995)
 16. Himmack, T. S., Sherrod, P. S., Bruce, V. R., June, G. A., Satchell, F. B. and Andrews, W. H. : Growth of *Salmonella enteritidis* in grade A eggs during prolonged storage. *Poult. Sci.*, **72**, 373-377 (1993)
 17. In, Y. M., Jeong, S. G. and Ham, J. S. : Application of HACCP System on the Dairy Farm, *Korean Dairy Techno.*, **16** (1), 44-56 (1998)
 18. Jeong, D. K. : The Application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) in Milk Processing Plants, *Korean Dairy Techno.*, **14** (1), 1-15 (1996)
 19. John M. K. and Catherine De Mulder-Johnston : Edible films solve problems. *Food Technol.*, **51**(2), 60-74 (1997)
 20. Jones, F. T., Rives, D. V. and Carey J. B. : *Salmonella* contamination in commercial eggs and an egg production facility. *Poult. Sci.*, **74**, 753-757 (1995)
 21. Kim, J. W. and Slavik, M. F. : Changes in eggshell surface microstructure after washing with cetylpyridinium chloride or trisodium phosphate. *J. Food Prot.*, **59**, 859-863 (1996)
 22. Kim, K. O., Moon, H. A. and Jeon, D. W. : The effect of low molecular weight chitosans on the characteristics of kimchi during fermentation (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 420-427 (1995)
 23. Kim, K. Y., Frank, J. F. and Craven, S. E. : Three-dimensional visualization of *Salmonella* attachment to poultry skin using confocal scanning laser microscopy. *Letters in Applied Microbiology*, **22**, 280-282 (1996)
 24. Lee, S. H., No, H. K. and Jeong, Y. H. : Effect of chitosan coating on quality of egg during storage (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**(2), 288-293 (1996)
 25. Powrie, W. D. : Chemistry of eggs and egg products. In *Egg Science & Technology*, 2nd ed., Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J. (ed.), The AVI publishing Co., Inc., Westport, p. 65-91 (1977)
 26. Schoeni, J. L., Glass, K. A., McDermott, J. L. and Wong A. C. L. : Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella*

- typhimurium* in eggs. *Int. J. Food Microbiol.*, **24**, 385-396 (1995)
27. Son, Y. M., Kim, K. O., Jeon, D. O. and Kyung, K. H. : The effect of low molecular weight chitosan with and without other preservative on the characteristics of kimchi during fermentation (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 888-896 (1996)
 28. Sparks, N. H. C. and Board, R. G. : Cuticle, shell porosity and water uptake through hen's eggshells. *British Poult. Sci.*, **25**, 267-276 (1984)
 29. Tan, C. K., Chen, T. W., Chan, H. L. and Ng, L. S. : A scanning and transmission electron microscopic study of the membranes chicken egg. *Histol. Histopathol.*, **7**, 339-345, (1992)
 30. Tauxe, R. V. : *Salmonella* : a postmodern pathogene. *J. Food Prot.*, **54**, 563-568 (1991)
 31. Tullett, S. G. : Egg shell formation and quality. In *Egg Quality-Current problems and recent advances*, Well, R.G. and Belyavin, C.G. (ed.), Butterworth & Co. Ltd, p. 123-146 (1987)
 32. Vodovotz, Y., Vittadini, E., Coupland, J., McClements, D. J. and Chinavhoti P. : Bringing the gap: use of confocal microscopy in food research. *Food Technol.*, **50**(6), 74-82 (1996)
 33. Wang, G. H. : Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Prot.*, **55**, 916-919 (1992)
 34. Wong Liong, J. W., Frank, J. F. and Baily, S. : Visualization of eggshell membranes and their interaction with *Salmonella enteritidis* using confocal scanning laser microscopy. *J. Food Prot.*, **60**, 1022-1028 (1997)
 35. 김용문 : HACCP 제도의 중요성과 정책 방향, 동물성 식품의 안전성 확보와 HACCP, 심포지움, 1-8 (1997. 7. 4)
 36. 박근식 : 양계산물의 안전성 확보를 위한 HACCP의 적용 방안, 환경친화적 첨단 양계산업 발전 방향, 53-69 (1997)
 37. 박완희, 이병철 : 국제표준에 따른 HACCP 실무, 정문각 (1999)