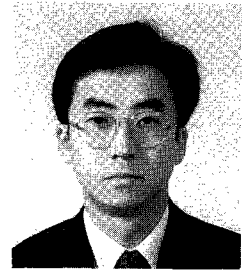


살모넬라균의 가금 표피 흡착에 관한 연구



김 광 엽

충북대학교 식품공학과 조교수

1. 서론

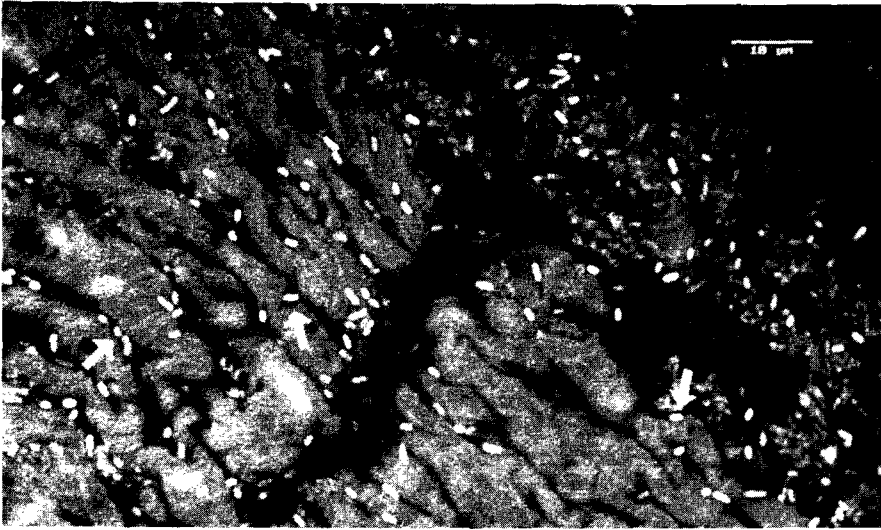
가금 표피에 존재하는 살모넬라균은 식품 공중 보건 상의 문제성이 크다. 가금류의 도살 가공 공정 중, 여러 단계에서 상호오염(cross-contamination)이 일어나며(Green 1987) 이러한 상호오염은 특히 침수냉각 과정에서 가장 심각한 것으로 알려져 있다(Lillard 1990). Kim(1996a, b) 등에 의하면 살모넬라의 가금 표피에의 흡착은 대부분 비특정적이고 기계적인 흡착양식에 의해 일어나며 가금 표피 표면의 물리적 구조가 흡착후 이탈을 방지하는 가장 큰 요인이 된다.

본 연구는 가금 표피에 살모넬라 균의 흡착

에 적합한 특정 부위의 존재를 확인하기 위하여 착수하였다. Confocal Scanning Laser Microscopy(CSLM)를 사용하여 가금 표피 조직의 바깥 표면뿐만 아니라 내부까지 레이저광선을 투과 조사함으로써, 표본을 자르거나 하지 않고도 표면으로 부터 일정 깊이에 존재하는 광학적 단면에 대한 조직영상을 얻을 수 있었다(Brackenhoff 등 1988).

CSLM을 사용함으로써 가금 표피조직을 충분히 수화되어 있는, 거의 변형되지 않은 상태에서 관찰하는 것이 가능하였다(Blonk and van Aalst 1993).

또한 CSLM은 초점이 정확하게 맞은 광선만을 선택하여 Detector에서 감지하기 때문에



〈그림 1〉 *Salmonella typhimurium*(화살표)을 접종시킨 후 세척한 닭 표피의 가장 바깥 표면에 대한 CSLM 사진. 살모넬라 균체들이 대부분 작은 주름 틈 사이에 존재하고 있다. 크기막대 = 10 마이크로미터

일반 광학현미경에 비하여 매우 선명한 조직 영상을 얻을 수 있다(White 등 1987).

2. 재료 및 방법

가. 표본 준비

털을 뽑아낸 육계(Gold Kist, Athens, GA, USA)의 가슴 부위로부터 표피 껍질 조각을 제거하였다. 살모넬라 *typhimurium* (ATCC 14028)을 Brain Heart Infusion (BHI) 액체 배지에서 37°C, 20시간 배양한 후 10⁹ cfu/ml 농도로 맞추어 사용하였다.

표피조직의 바깥면을 일정시간 세균 현탁액에 노출시킨 다음, 전동 파이펫터(Pipet-aid, Drummond Scientific Co., Broomall, PA, USA)를 사용하여 일정한 수압으로 흡착되지 않은 균체들을 제거하였다.

세척 후에는 0.1% (w/v) Pyronin-Y (Sigma) 용액을 사용하여 표피조직과 흡착된 균체들을 동시에 형광염색하였다.

형광염색된 표피조직은 본 실험을 위하여 고안된 방법으로 슬라이드 위에 고정시켰다.

나. 조직 영상 획득

준비된 표본은 BioRad MRC-600 Confocal Scanning Laser Microscopy System (BioRad, Hemel Hempstead, Herts, UK)을 사용하여 관찰하였다. 광원으로는 15 mW argon/crypton ion laser가 사용되었으며 형광염료로 사용된 Pyronin-Y의 여기 파장은 568 nm였다.

CSLM을 통하여 얻어지는 2차원적 광학적 단면들은 컴퓨터화상으로 관찰되고 숫자화시켜 저장된다.

이러한 과정은 자동화된 stepping motor를 이용하여 일정 거리씩 초점을 맞추어 내려가면서 여러 개의 2차원적 광학적 단면들을 수집함으로써 이루어진다.

다. 3 차원 재구성

모공에 포집된 살모넬라 균체들을 더욱 명확

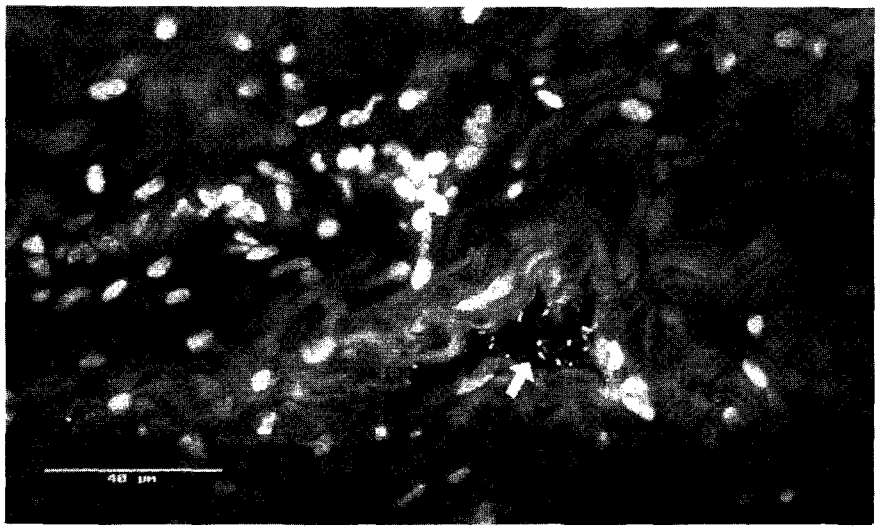
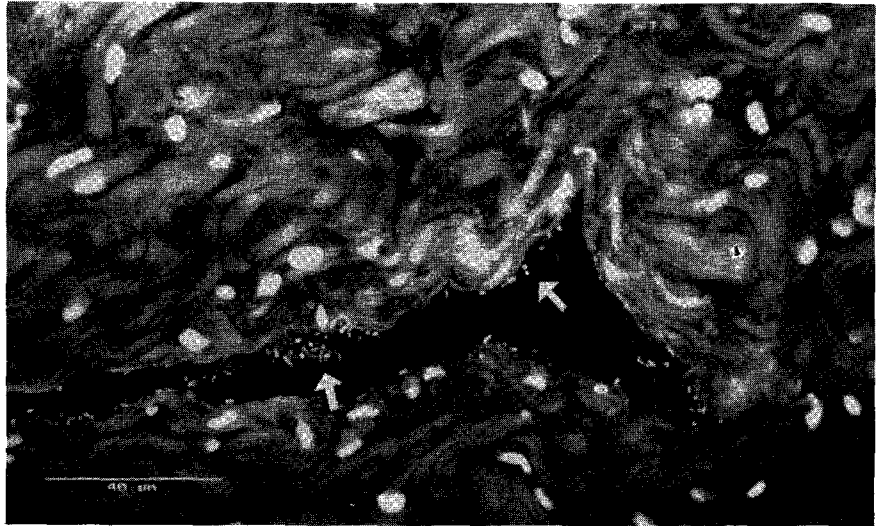
하게 관찰하기 위하여 3차원 재구성 기술을 사용하였다. 여러 개의 광학적 단면들로 이루어진 조직영상 자료를 실리콘 그래픽컴퓨터 (Silcon Graphics Personal IRIS D/35G)에 전송한 뒤 Voxel View Software (Vital Images, Fairfield, IA, USA) 프로그램을 사용하여 3차원 영상으로 재구성하였다 (Levoy 1988).

3. 결과 및 고찰

세균의 흡착은 일반적으로 가역적 흡착과 다음 단계인 비가역적 흡착의 두 가지 단계로 나눌 수 있다. 본 연구에서는 비가역적으로 흡착되어 있는 균체를 제거하기 위하여 표피 껍질을 세척하였다.

그림1에서 보이는 바와 같이 가금 표피의 가장 바깥 표면에 부착된 살모넬라균들은 세척 후에는 대부분 주름의 틈 사이에 존재하였다.

털이 뽑혀나간 모공 부위에 대한 광학적 단



〈그림2〉 *Salmonella typhimurium*(화살표)을 접종시킨 후 세척한 닭 표피의 모공 부위의 광학적 단면들 크기막대 = 40 마이크로미터 (a) 표면으로부터 20 마이크로미터 아래 존재하는 광학적 단면 (b) 표면으로부터 30 마이크로미터 아래 존재하는 광학적 단면

면들인 그림(2a, b)에서 보이는 것과 같이 세척 후에도 살모넬라균들은 모공의 내부에 물과 함께 포집된 상태로 존재하였다. 물과 함께 모공 내에 포집된 살모넬라균은 모공의 가장 깊은 곳에도 존재하였다.

이러한 사실은 모세관 현상에 의하여 모공속

에 포집된 물과 함께 존재하는 살모넬라균들은 상당한 수압을 가한 세척에도 빠져나가지 않는다는 것을 의미한다.

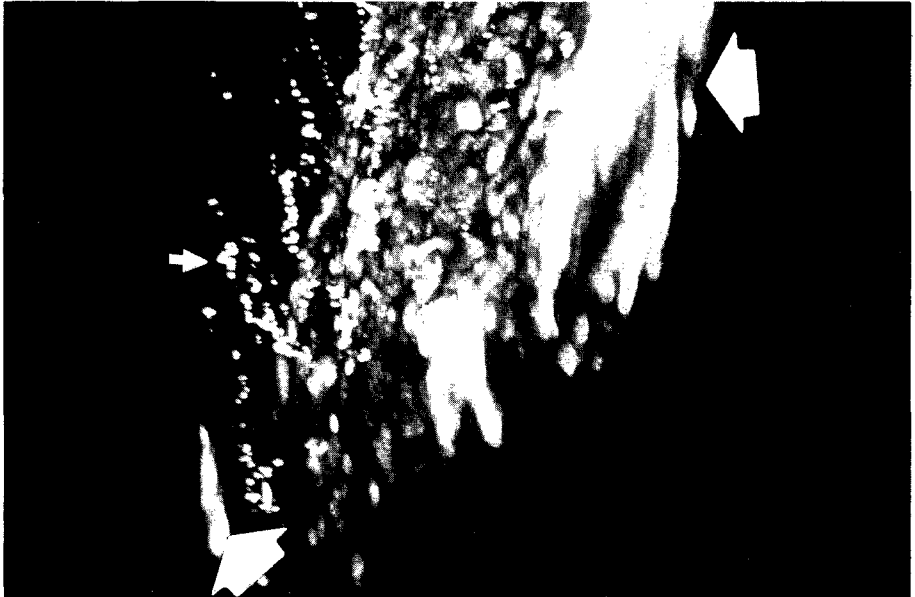
Lillard (1989) 등은 가금 도체를 계속해서 40번 세척한 후에도 살모넬라균이 검출됨을 보고한 바 있다.

3차원 재구성 기술을 사용한

그림3에서는 모공에 포집된 살모넬라 균체들의 상태를 전체적으로 명확하게 관찰할 수 있었다. 상당한 수압을 가한 세척에도 불구하고 대부분의 균체들이 모공의 벽면에 부착되어 있기 보다는 포집되어 있는 물속에 부유하고 있음을 알 수 있다.

여러 연구자들(Lillard 1986; Thomas and McMeekin 1984)에 의하여 모공에 포집되는 물이 살모넬라 오염원으로 추정되어 왔으나, 모공내의 물 속에 부유하고 있는 살모넬라 균체들에 대한 본 관찰은 가금류의 가공 공정중 침수냉각 과정에서 모공에 포집되는 물이 살모넬라 오염의 주요 원인임을 입증하는 최초의 직접적인 자료이다.

그러므로 향후, 가금 도살 공정에 있어서 살모넬라 방지를 위한 연구에서는 오염된 물의,



〈그림3〉 모공의 한 부분에 대하여 일정 거리씩 초점을 맞추어 내려가면서 474 개의 2차원적 광학적 단면들을 수집한 뒤 3차원 재구성 기술을 사용해 조합한 조직영상. 큰 화살표는 모공의 내부 벽면의 일부를 나타내고 작은 화살표는 살모넬라 균체를 나타내고 있다. 모공의 깊이= 142 마이크로미터

모공 내부로의 유입을 막는 방안을 모색해야 하겠다.

4. 맺음말

식품 안전은 이미 완성된 식품을 검사하는 것 보다는 적절한 가공 공정 체계를 확립함으로써 더욱 경제적이고 효율적으로 보장될 수 있으며, 국제적인 추세 또한 각 식품 생산 및 가공 공정에 대한 국제 공통의 HACCP 기준을 설정하고 이를 식품 무역의 안전 척도로 적용하려는 추세이다. 이러한 시점에서 볼 때 본 연구와 같이 식품 생산 및 가공 공정 중 존재하는 미생물적 위험 요소를 규명하는 연구가 국내에서도 활발히 이루어져야 되리라고 사료된다. **양 계**