

Microbial Inactivation of Chicken Cage Litter by Aqueous Chloride Dioxide

Dong Jin Yu¹, Hyun Jin Kim¹, Hyeon Jeong Song¹, Yoon Ji Shin¹, Hyun Seok Chae² and
Kyung Bin Song^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea.

²Poultry Science Division, National Institute of Animal Science, Cheonan 330-801, Korea.

이산화염소수를 이용한 계사 내 깔짚의 미생물 수 저감화

유동진¹ · 김현진¹ · 송현정¹ · 신윤지¹ · 채현석² · 송경빈^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 식품공학과, ²국립축산과학원

Abstract

We evaluated microbial inactivation in chicken cage litter, to ensure microbial safety, using aqueous chloride dioxide. Contamination by coliforms, *Escherichia coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds, total aerobic bacteria, and *Salmonella* spp. was detected in fresh cage litter, and microbial populations increased if litters were repeatedly used. Aqueous ClO₂ treatment (500 ppm) significantly decreased the populations of coliforms, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds, total aerobic bacteria, and *Salmonella* spp. in all litter samples tested. In particular, aqueous ClO₂ treatment on fresh litter reduced the initial populations of coliform, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds, and total aerobic bacteria by 4.47, 1.29, 1.23, 3.24, and 5.2 log CFU/g, respectively. In addition, when litters used for 1 and 5 weeks were tested, treatment significantly reduced microbial populations. The results suggest that aqueous ClO₂ treatment is useful to reduce microbial hazards in chicken cage litter and to improve the microbial safety of slaughtered chickens.

Key words : chicken cage litter, aqueous chloride dioxide, chicken, microbial safety, quality

서 론

닭고기는 높은 영양적 가치와 저렴한 가격으로 인해 그 소비가 증가하고 있으나, 도계 공정 중 미생물의 교차 오염 가능성이 높으므로 계육의 저장, 유통 중 미생물학적 안전성 확보가 필요하다(1-3). 특히, 닭고기는 대부분이 신선육의 형태로 판매가 되는데, 육계의 창상은 계육의 품질 등급을 결정할 뿐만 아니라 세균들이 식육의 표면이나 조직 내에 증식하게 되면 변패를 일으켜 계육의 저장·유통 중 위생상의 문제를 야기시킨다(4).

육계는 *Salmonella*의 매개체로써 식중독의 주요 원인이 되기 때문에 양계 농가에서의 사양과 도계 공정 모두에서 미생물학적 위해도를 낮추는 작업이 요구된다. 특히, 깔짚은 닭이 성장하고 활동하는 생활공간의 보금자리로서의

역할을 하는데, 분변 등에 의해 오염된 깔짚이 양계장의 주된 오염원이 되고(5-6), 또한 계사 내 사료와 물 등에 교차 오염시켜 도계 후 계육의 품질을 저하시키기 때문에 미생물학적 위해를 낮추기 위한 지속적인 관리가 필요하다(7).

이산화염소는 표면 살균소독제로써 강력한 살균력과 산화력을 가지며 염소보다 물에 대한 용해성이 높고 또한 pH 안정성이 높은 반면에, 살균소독제로 널리 사용되는 염소는 유기물과의 반응에 의해 trihalomethane, chlorophenol 등을 생성하여 인체에 유해하다고 보도되고 있기에 염소의 대체제로써 이산화염소 사용의 필요성이 증가하고 있다(8-9). 특히, 미국 식품의약국(FDA)에서는 50-150 ppm 범위에서 1 시간 동안 가금육의 냉각수로써의 이산화염소수의 사용을 허용하는 등(10), 이산화염소수의 사용이 점차 다양하게 식품산업에 활용되고 있다.

현재 계사 내 바닥에 사용하는 소독제로는 페놀계, 암모니아, 산소계, 알데히드 화합물 등을 사용하는데 처리 후에

*Corresponding author. E-mail : kbsong@cnu.ac.kr,
Phone : 82-42-821-6723, Fax : 82-42-825-2664

도 계사 내 호기성 균수를 유의적으로 감소시키지 못한다 (5-6). 따라서 본 논문에서는 계사 내 미생물 오염이 많은 깔짚의 미생물 수 저감화를 위한 살균소독제의 개발에 관한 연구로서 깔짚의 이산화염소수 처리가 미생물 수 변화에 미치는 영향을 연구하여 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서 사용된 계사 내 깔짚은 전라북도 김제시에 위치한 'A'양계장에서 수거하여 사용하였다. 깔짚은 외관 상태가 전체적으로 균일한 것으로 사용하였다(Fig. 1).

배지는 Coliform count plate (Petrifilm, 3M Co., Minnesota, USA), MacConkey agar (Difco Co., Detroit, MI, USA), oxford medium base (Difco), XLD agar (Xylose lysine deoxycholate agar, Difco), PCA (plate count agar, Difco), PDA (potato dextrose agar, Difco)를 사용하였다.

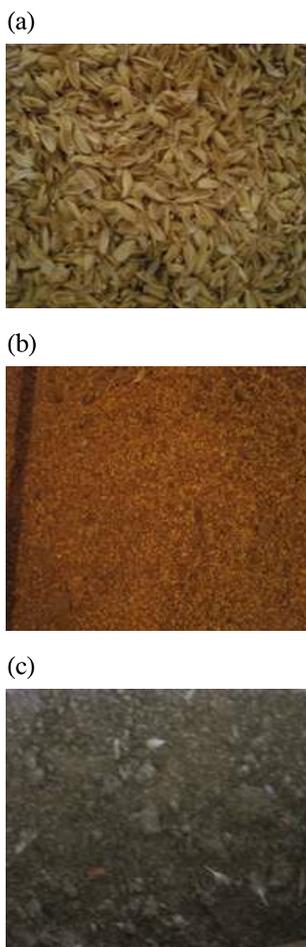


Fig. 1. Photos of used and unused cage litter.

(a) unused cage litter (b) cage litter used for 1 week (c) cage litter used for 5 weeks

이산화염소수의 제조

이산화염소수는 chlorine dioxide generator system (CH₂O Inc., Olympia, Washington, USA)을 사용하여 이산화염소수의 농도가 500 ppm이 되도록 제조하였다. 이산화염소수의 농도는 APHA의 방법(11)에 준하여 측정하였으며 시료에 대한 이산화염소수 처리 방법으로는 최종농도가 500 ppm이 되는 이산화염소수를 1, 2, 3 및 5회 분무하여 처리하였다.

미생물 수 측정

이산화염소수 처리한 깔짚 시료 10 g을 0.1% 멸균 펩톤수 90 mL와 함께 멸균 bag에 넣고 3분 동안 Stomacher (MIX2, AES Laboratoire, Combourg, France)를 이용하여 균질화하였다. 균질화된 시료는 멸균된 cheese cloth를 이용하여 여과한 다음 0.1% 멸균 펩톤수를 이용하여 단계적으로 희석한 후 coliform은 Coliform count plate를 사용하여 37°C에서 24 시간, *E. coli*는 MacConkey agar를 사용하여 37°C에서 24 시간, *Listeria* spp.는 oxford medium base를 사용하여 37°C에서 48 시간, *Salmonella* spp.는 XLD agar를 사용하여 37°C에서 24 시간, total aerobic bacteria는 PCA를 사용하여 37°C에서 48 시간 및 yeast and molds는 PDA를 사용하여 37°C에서 72 시간 배양한 후 생육하는 colony 수를 계수하였다. 각각의 선택배지에서 생육한 미생물 수는 시료 g당 colony forming unit (CFU)로 나타냈다.

통계분석

모든 실험 결과의 유의성 검정은 SAS program (12)을 사용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test 방법을 사용하여 통계처리를 하였다. 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

깔짚의 사용기간에 따른 미생물 수 변화 측정

사용 기간에 따른 계사 내 깔짚의 미생물 수 변화를 측정하기 위하여 깔짚의 사용기간에 따른 coliform, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., yeasts and molds 및 total aerobic bacteria 등 미생물 수 변화를 측정하였다(Table 1). 사용하기 전의 깔짚의 경우, coliform, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds 및 total aerobic bacteria 수는 각각 4.47, 6.32, 5.20, 8.50 및 9.47 log CFU/g로 상당량 검출되어 사용하기 전의 새 깔짚도 살균처리 등이 필요할 것으로 판단된다.

1주 사용한 깔짚의 경우에는 coliform, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds 및 total aerobic bacteria 수는 각각 5.30, 3.94, 8.11, 4.73 및 8.78 log CFU/g 검출되었으며 5주 사용한 깔짚의 경우에는 각각 6.35, 5.56, 9.78, 7.05 및 10.42

log CFU/g으로 검출되었다. 특히, *Salmonella* spp.의 경우에는 사용전과 1주 사용 후에는 검출되지 않았으나 5주 사용한 깔짚에서 4.57 log CFU/g 검출되어 도계 후의 육계의 품질에 있어서 미생물학적 안전성에 문제가 있을 수 있다고 판단된다(Table 1). 사용하기 전의 깔짚 상태와 비교 시, 5주 사용한 후에는 미생물 수가 모두 증가하는 추세를 보였는데, Kelley 등(13)의 재사용 깔짚의 병원성 미생물 및 지표 미생물에 관한 연구에서도 본 연구와 유사한 결과가 보고되었다.

Table 1. Populations of the microorganisms in the chicken cage litter

Microorganism	Period of use (week)		
	0	1	5
Coliform	4.47 ^{ab1)}	5.30 ^a	6.35 ^a
<i>E. coli</i>	6.32 ^a	3.94 ^b	5.56 ^a
<i>Listeria</i> spp.	5.20 ^b	8.11 ^a	9.78 ^a
Yeasts and molds	8.50 ^a	4.73 ^b	7.05 ^b
Total aerobic bacteria	9.47 ^a	8.78 ^{ab}	10.42 ^a
<i>Salmonella</i> spp.	N/D ²⁾	N/D	4.57 ^a

¹⁾Mean values having different letters within a row are significantly different (p<0.05).
²⁾Not detected.

계사 내 존재하는 세균이 육계의 표면에 침입함으로써 창상 등의 질병을 야기할 수 있는데, 특히 *Salmonella*나 *E. coli* 등이 계육의 표면이나 조직 내에 증식하게 되면 식육의 변질을 초래한다(14,15). 그리고 Kim 등(4)의 계육의 창상부위에서 분리된 미생물의 동정에 관한 연구에서 분리된 주요 세균이 *E. coli*, *Shigella sonnei* 및 *Proteus mirabilis*라고 보고된 바가 있다.

깔짚의 사용기간이 오래되고 재활용 횟수가 증가 할수록 사용하기 전의 깔짚에서부터 유래된 미생물과 육계의 분변에서 유래된 미생물이 점차 증식하기에 미생물 수는 깔짚의 사용기간에 비례하여 증가되는 것으로 판단된다. 그리고 오염된 깔짚으로 인한 계육의 창상발생과 관련한 질병 등이 일어날 수 있어서 도계 후 계육의 품질저하가 예상되므로 적절한 처리를 통한 깔짚의 미생물 수 저감화 방안이 필요하다고 판단된다.

이산화염소수 처리를 통한 깔짚의 미생물 수 저감화

깔짚의 미생물 수 저감화를 위한 방안으로써 사용하기 전의 깔짚에 500 ppm 이산화염소수 처리를 하였을 때의 살균효과를 측정하였다(Fig. 2). 예비실험 결과를 통해서 적정량의 이산화염소수 농도를 500 ppm으로 정하였다 (data not shown). 이산화염소수 처리 후, coliform은 1회 처리 시에 4.47 log CFU/g의 감균 효과를 나타내었으며

2회 처리부터 검출되지 않았다. 반면에 *E. coli*는 1, 2, 3 및 5회 처리 시 각각 1.29, 3.54, 4.33 및 6.32 log CFU/g의 감균 효과를 보였고, *Listeria* spp. 경우에는 1, 2 및 3회 처리 시 각각 1.23, 1.57 및 5.20 log CFU/g의 감균 효과를 보였으며 5회 처리부터 검출되지 않았다. 그리고 yeasts and molds의 경우는 1, 2, 3 및 5회 처리 시 각각 3.24, 4.53, 5.48 및 6.51 log CFU/g 감소되었으며 total aerobic bacteria의 경우 각각 5.2, 6.88, 7.08 및 8.48 log CFU/g의 감균 효과를 보였다(Fig. 2).

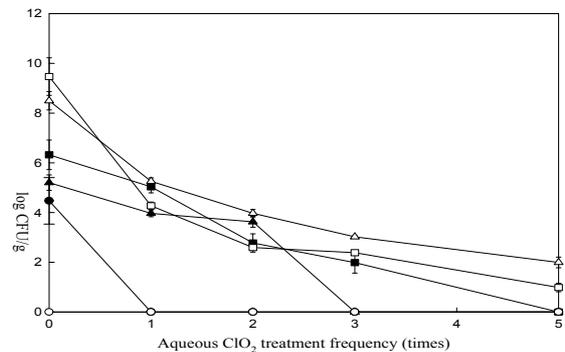


Fig. 2. Effect of aqueous ClO₂ treatment on the survival of microorganisms in the fresh chicken cage litter.

Bars represent standard error.
 ●: coliform, ■: *E. coli*, ▲: *Listeria* spp., △: yeasts and molds,
 □: total aerobic bacteria, ○: *Salmonella* spp.

또한 1주 사용한 깔짚의 경우에도 이산화염소수 500 ppm을 1, 2, 3 및 5회 처리했을 때 coliform은 각각 1.27, 2.57, 4.31 및 6.35 log CFU/g, *E. coli*는 각각 0.93, 1.53, 2.49 및 3.94 log CFU/g, *Listeria* spp.는 각각 0.33, 1.89, 2.27 및 3.15 log CFU/g, yeasts and molds는 각각 0.64, 1.97, 2.83 및 4.05 log CFU/g, 그리고 total aerobic bacteria 경우 각각 0.77, 1.43, 1.86 및 3.54 log CFU/g의 감균 효과를 나타내었다(Fig. 3).

5주 사용한 깔짚 역시 이전의 두 시료와 비슷한 경향을 나타내었다. Coliform은 1, 2, 3 및 5회 처리했을 때 각각 0.76, 1.83, 2.52 및 3.73 log CFU/g의 감균 효과를 보였고, *E. coli*의 경우는 1, 2, 3 및 5회 처리에 의해 각각 0.82, 1.57, 2.48 및 5.56 log CFU/g의 감균 효과를 확인하였다. 그밖에도 *Listeria* spp.의 경우는 각각 0.78, 1.71, 2.53 및 4.11 log CFU/g로 총 4 log cycle 이상의 감균효과를 보였고, yeasts and molds의 경우 1, 2 및 3 회 처리로 각각 1.98, 3.75 및 4.73 log CFU/g로 감균 되었으며 3회 처리 이후로는 검출되지 않았다. 그리고 total aerobic bacteria의 경우 또한 1, 2, 3 및 5회 처리로 각각 1.08, 1.9, 2.79 및 4.04 log CFU/g으로 4 log cycle 이상의 감균효과를 보였고, *Salmonella* spp.는 초기에는 4.57 log CFU/g이 검출되었으나 1회 처리 이후에는 검출되지 않았다(Fig. 4).

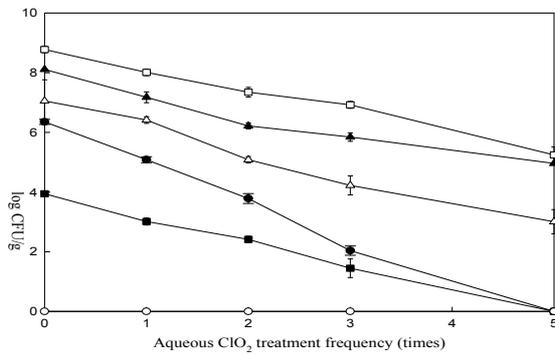


Fig. 3. Effect of aqueous ClO₂ treatment on the survival of microorganisms in the chicken cage litter used for 1 week.

Bars represent standard error.
 ●: coliform, ■: *E. coli*, ▲: *Listeria* spp., △: yeasts and molds,
 □: total aerobic bacteria, ○: *Salmonella* spp.

양계 농가에서 계사 내에서 통상적으로 살균 소독에 사용되는 소독제로는 호기성 균을 유의적으로 감소시키지 못하여 계사 내 미생물 수 저감화를 통한 계육의 품질향상 효과는 미흡하다. 이에 반해 깔짚에 이산화염소수 처리를 하면 미생물 수의 감균 효과가 우수하기에 육계의 창상발생을 막고 또한 도계 후 계육의 품질 저하를 방지할 수도 있다(16-18). 그리고 이산화염소는 살균소독제로써 국내·외에서 그 안전성이 입증되어 있기에 계사 내 깔짚의 미생물 수 저감화를 위한 살균소독제로 활용하는 것이 바람직하다고 판단되며, 이러한 이산화염소수를 이용한 계사 내 깔짚의 미생물 수 저감화 방법은 도계된 육계의 품질을 저장 유통 중 유지하는데 필요하다고 판단된다.

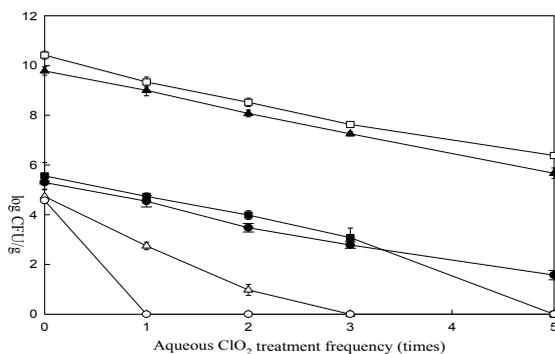


Fig. 4. Effect of aqueous ClO₂ treatment on the survival of microorganisms in the chicken cage litter used for 5 weeks.

Bars represent standard error.
 ●: coliform, ■: *E. coli*, ▲: *Listeria* spp., △: yeasts and molds,
 □: total aerobic bacteria, ○: *Salmonella* spp.

요 약

본 연구에서는 이산화염소수를 이용한 계사 내 깔짚의

미생물 수 저감화를 통한 깔짚의 미생물학적 안전성 확보를 위하여 연구를 수행하였다. 사용하기 전의 깔짚에는 coliform, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds 및 total aerobic bacteria가 높은 수준으로 검출되었으며 사용기간이 늘어남에 따라 미생물 수가 증가하였다. 500 ppm 이산화염소수를 이용한 살균처리에서는 coliform, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds, total aerobic bacteria 및 *Salmonella* spp.의 균수가 모든 깔짚 시료에서 처리횟수에 따라 유의적으로 감소하였다. 사용하지 않은 깔짚에서는 coliform, *E. coli*, *Listeria* spp., yeasts and molds 및 total aerobic bacteria 수가 각각 4.47, 1.29, 1.23, 3.24 및 5.2 log CFU/g로 감소하였고, 1주 및 5주 사용한 깔짚의 경우도 모든 미생물 수가 현저하게 감소하였다. 따라서 본 연구 결과, 이산화염소수를 이용한 계사 내 깔짚의 미생물 수 저감화 방법이 도계된 계육의 미생물학적 안전성을 향상시키기 위한 방법으로 적합하다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Patsias A, Chouliara I, Badeka A, Savvaidis IN, Kontominas MG (2006) Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: Microbiological, chemical, sensory attributes. *Food Microbiol*, 23, 423-429
2. Chouliara E, Karatapanis A, Savvaidis IN, Kontominas MG (2007) Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiol*, 24, 607-617
3. Hong YH, Ku KJ, Kim MK, Won MS, Chung KS, Song KB (2008) Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* inoculated on chicken by aqueous chlorine dioxide treatment. *J Microbiol Biotechnol*, 18, 742-745
4. Kim HJ, Chun HH, Kim JY, Jang SA, Lee BD, Chae HS, Song KB (2010) Identification of microorganisms isolated from wound regions of chickens. *Korean J Food Preserv*, 17, 301-306
5. Davies RH, Wray C (1996) Determination of an effective sampling regime to detect *Salmonella enteritidis* in the

- environment of poultry units. *Vet Microbiol*, 50, 117-127
6. Rose N, Beaudeau F, Drouin P, Toux JY, Rose V, Colin P (1999) Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* contamination in french broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prev Vet Med*, 39, 265-277
 7. Park KJ, Park EJ, Kim JO, Kim YH (1995) Changes in the microflora on the surface of chicken meat during chilled and frozen storage. *Korean J Anim Sci*, 37, 279-286
 8. Owusu-Yaw J, Toth J, Wheeler W, Wei C (1990) Mutagenicity and identification of the reaction products of aqueous chlorine or chlorine dioxide with l-tryptophan. *J Food Sci*, 55, 1714-1719
 9. Kim JM (2001) Use of chlorine dioxide as a biocide in the food industry. *Food Ind Nutr*, 6, 33-39
 10. Rand JL, Hofmann R, Alam MZB, Chauret C, Cantwell R, Andrews RC, Gagnon GA (2007) A field study evaluation for mitigating biofouling with chlorine dioxide or chlorine integrated with UV disinfection. *Water Res*, 41, 1939-1948
 11. American Public Health Association (1995) Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th ed, American Public Health Association, Washington DC, p 4-54
 12. SAS (2001) The SAS system for windows. Version 8.2. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA
 13. Kelley T, Pancorbo O, Merka W, Thompson S, Cabrera M, Barnhart H (1995) Bacterial pathogens and indicators in poultry litter during reutilization. *J Appl Poult Res*, 4, 366-373
 14. Tamblyn K, Conner D, Bilgili S (1997) Utilization of the skin attachment model to determine the antibacterial efficacy of potential carcass treatments. *Poult Sci*, 76, 1318-1323
 15. Arshad N, Neubauer C, Hasnain S, Hess M (2008) *Peganum harmala* can minimize *Escherichia coli* infection in poultry, but long-term feeding may induce side effects. *Poult Sci*, 87, 240-249
 16. Hong YH, Ku GJ, Kim MK, Song KB (2008) Effect of aqueous chlorine dioxide treatment on the microbial growth and quality of chicken legs during storage. *J Food Sci Nutr*, 13, 45-50
 17. Hong YH, Ku GJ, Kim MK, Song KB (2007) Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter jejuni* in chicken by aqueous chlorine dioxide treatment. *J Food Sci Nutr*, 12, 279-283
 18. Hong YH, Kim MK, Song KB (2008) Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on microbial safety and quality of Samgae chicken. *Korean J Food Preserv*, 15, 769-773
-
- (접수 2010년 7월 30일, 수정 2010년 12월 30일 채택 2010년 12월 31일)