



설탕 첨가에 따른 육계 내장 사일리지의 *Campylobacter*와 *Salmonella* spp. 및 *Escherichia coli* 성장 변화

조 상 훈 · 이 영 현*

서울산업대학교 식품공학과

Campylobacter spp., *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* of Broiler Viscera Silage added with Table Sugar

Sang-Hun Cho and Young-Hyoun Yi*

Food Science and Technology Department, Seoul National University of Technology

Abstract

pH, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* of under-utilized broiler viscera silage added with table sugar during storage at 25°C were investigated. pH of silage with 0 and 1 % (w/w) table sugar increased continuously after day 2, but that of 3, 4 and 5% remained 4.0~4.2 after decrease from 5.2 at day 0. The *Campylobacter* spp. count of 0% was 8.21 at day 4, however that of 3 and 5% showed 7.56 and 7.38 logCFU/mL, respectively. The *Salmonella* spp. of 0% maintained 5.8~6.8 logCFU/mL during fermentation, but that of 3 and 5% was not detected after day 4. The initial *E. coli* count of silage without table sugar was 5.8 log CFU/mL, but reduced to 4.1 log CFU/mL at day 2, and maintained at the level between 4.0 and 5.0 log CFU/mL, thereafter. However, *E. coli* was not detected in the silage with 3 and 5% table sugar after day 2. The counts of *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* of under-utilized broiler viscera silage reduced markedly by adding table sugar. It was proved that the possibility of microbiologically safe broiler offal silage as a potential resource for animal feed materials was improved.

Key words : *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, broiler viscera silage

서 론

육계 미활용 부산물은 가공되지 않은 채로 여우나 밍크 등의 특수사료로 이용되거나 대부분 rendering 공정을 거쳐 사료 원료로 사용된다. 특수사료로 이용될 경우 수분함량이 높기 때문에 운송비 증가와 도로 환경의 오염 그리고 냉동운반 설비 미비로 인한 품질 저하가 문제이다(Cha 등, 1995). Rendering은 미활용 부산물을 고온, 고압으로 건조, 분쇄하여 사료 원료화하는 공정(El Boushy and van der Poel, 1994)으로 시설비와 운영비가 비싸고 가열에 따른 많은 에너지가 필요하다. 또한 가열공정으로 인하여 영양소도 파괴된다

(Russell et al., 1992).

이런 단점을 보완하기 위하여 사일리지에 대한 관심이 높아지고 있다(Cha et al., 1995). 사일리지(담근먹이, 埋草, ensilage)는 생초(green chop)를 silo에 썰어 넣어 주로 젖산발효시킨 다즙사료(succulent feed)로 장기간 안전하게 저장할 수 있다. 젖산균이 혐기적으로 생산하는 젖산을 이용하여 호기성 균의 부패작용을 막는 것이 사일리지의 조제원리이다.

장점은 영양소 손실이 적고, 공간이 작아도 제조와 저장 가능하다는 점이다. 하지만 사일리지 조제에는 탄수화물이나 젖산균 등과 같은 발효에 필요한 첨가물이 요구된다(Meang et al., 1998).

Raa와 Gilldberg(1982)는 생선 내부 장기에 있는 젖산균을 이용하여 동물성 사일리지에 대한 연구를 하였다. Ahmed와 Mahendrakar(1996a)는 생선 내부 장기 사일리지에 젖산균의 탄수화물원으로 당밀(molasses)을 첨가하여 저장 중 pH, 총

* Corresponding author : Young-Hyoun Yi, Food Science and Technology Department, Seoul National University of Technology, 172 Gongneung-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea. Tel: 82-2-970-6454, Fax: 82-2-976-6460, E-mail: youngyi@snut.ac.kr

균수, lactic acid bacteria(LAB) 및 몇 종류의 미생물 균을 측정하였다. Shaw 등(1998)은 당밀, 소금과 항진균제(anti-mycotic agent)가 가금 내부장기의 발효 중 미생물군에 미치는 영향을 조사하였다. 당밀이 첨가된 시료의 pH는 6.0에서 급속히 감소한 후 4.0~4.1 근처에서 안정되었고 LAB은 약간 증가하거나 초기의 높은 수준으로 유지되었다.

Rathina Raj 등(1996)은 생선 및 육계 내부장기 사일리지 가 첨가된 사료를 육계에 급여하는 사양실험을 하였다. 사일리지 가 첨가된 사료를 섭취한 계군(鷄群)은 대조군보다 성장률과 사료 효율 및 육질이 우수하였다. Stern 등(2001)은 성계(成鷄) 맹장에서 추출한 미생물을 초생추(初生雛)에 투여함으로써 초생추의 장 기능과 질병에 대한 저항력을 증진시켰다.

가금의 주요 병원성 세균으로 알려진 *Campylobacter* spp.와 *Salmonella* spp.는 식품을 통해서 식중독을 일으킨다. 가금에서 분리되는 대부분의 *Escherichia coli*는 사람에게 치명적인 병원성 균은 아니지만 가금은 *E. coli* 0157:H7에 쉽게 오염되기 때문에 *E. coli*는 지표균으로 널리 사용된다(Hargis et al., 2001). 하지만 사료원료로 활용이 기대되는 육계 내장 사일리지의 주요 병원성균인 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 지표균인 *E. coli* 성장에 관한 연구는 드문 편이다. 그러므로 본 연구에서는 사료 원료로 활용이 기대되는 육계 내장 사일리지의 미생물학적 안정성을 확인하기 위하여 설탕 첨가에 따른 사일리지의 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 *E. coli* 성장 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

사용된 육계 내장

실험에 사용된 육계 내장인 창자, 간 및 심장은 주식회사 마니커 제2공장(경기도 동두천시 하봉암동 127)에서 육계 도축 즉시 수집하였다. 수집된 내장을 비닐로 포장하고 스티로폼 박스에 넣어 약 2시간 거리의 실험실로 옮겨 실험에 사용하였다.

사일리지의 제조

Screen size 5 mesh로 설치된 chopper(Talleres Ramon, S. L., Vilassar de Dalt, Barcelona, Spain)를 이용하여 창자, 간, 심장을 마쇄하였다. Ahmed와 Mahendrakar(1996b)의 방법에 따라 Table 1의 비율로 멸균된 mixing bowl에 간 재료, propionic acid(Acros Organics, USA) 0.5% (w/v) 그리고 exthoxyquin(Dongsun Industrial, Korea) 0.075%(w/w)를 첨가하여 혼합하였다. 멸균된 beaker에 탄수화물원인 설탕과 시료를 담고 5분간 혼합하였다. Shaw 등(1998)이 제안한 미호

Table 1. Composition of broiler viscera silage

Under-utilize broiler byproducts	Content(% w/w) by weight
Intestine	83.4
Liver	13.3
Heart	3.3
Total	100.0
Propionic acid	0.5(% w/v)
Exthoxyquin	0.075

기성(microaerophilic) 상태를 만들기 위하여 사일리지 가 담긴 beaker 입구를 비닐로 덮고, polypropylene 용기에 넣은 후 뚜껑으로 밀폐하였다. Beaker가 담긴 밀폐된 용기를 25°C incubator (Samhwa Scientific Co., Korea)에서 저장하였다.

시료의 pH 측정

설탕이 0, 1, 2, 3, 4, 5 그리고 10%(w/w) 첨가된 육계 내부장기 사일리지를 제조하였다. 사일리지 저장 중 pH 변화를 pH meter(420A, Orion, USA)로 제조 직후 측정 후 24시간 간격으로 측정하였다.

Campylobacter spp., *Salmonella* spp.와 *Escherichia coli* 측정

내부장기 사일리지의 저장 중 pH 변화를 측정 후 예비실험 결과에 따라 설탕이 0, 3, 5%(w/w)첨가된 시료를 택하였다. 저장 중 시료의 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 *E. coli* 성장 변화를 0일째부터 2일 간격으로 8일까지 측정하였다. APHA(1992) 방법에 따라 사일리지 30 g과 0.1%(w/v) peptone 용액 270 mL를 멸균된 blender(HM-331, Hanil Electronic, Korea)에 넣어 약 2분간 마쇄한 후 단계적으로 희석하여 사용하였다. 희석액을 해당 배지에 접종한 뒤 배양 후 형성된 각 균의 특징적인 집락을 계수하여 log CFU (colony forming units)/mL로 나타내었다.

Campylobacter spp.는 BBL에서 미리 제조한 *Campylobacter* Agar with 5 Antimicrobics and 10% Sheep Blood (Blaser)의 prepared plate(Becton Dickinson and Company, USA)에 시료를 0.1 mL 접종한 후 glass spreader로 도말하였다. BBL manual(2003)에 따라 CampyPak Plus를 개봉하고 물 10 mL를 주입하여 도말된 prepared plate와 함께 용기에 넣은 후 밀폐하였다. 밀폐된 용기를 42°C에서 24시간 배양 후 형성된 집락 중 회색의 작은 집락을 계수하여 log CFU/mL로 나타내었다.

Salmonella spp.는 Difco Laboratories의 manual(1998)에 따

라 미리 조제하여 굳힌 Brilliant Green Agar(Becton Dickinson and Company, USA) plate에 시료를 0.1 mL접종하였다. Glass spreader로 도말하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 형성된 균들 중 빨간색의 전형적인 집락을 계수하여 log CFU/mL로 나타내었다. *E. coli*는 3M Petrifilm plate에 시료 1mL를 접종하여 기포가 생기지 않도록 필름을 덮어 35°C에서 24시간 배양하였다. 남색에 기포가 있는 집락을 계수하고 log CFU/mL로 나타내었다.

결과 및 고찰

육계 내부장기 사일리지의 저장 중 pH 변화

육계 내장과 생선 내장 사일리지는 저장 온도 26±2°C에서 pH 4.2일 때 Gram+균인 Enterococci와 Staphylococci 그리고 Gram - 균인 coliform과 *E. coli*의 생육이 억제되어 미생물학적으로 안전한 상태가 되었다(Shaw et al., 1998). 예비 실험 결과 본 실험에서는 사일리지의 젖산균 발효에 필요한 탄수화물원으로 경제적인 측면 등을 고려하여 설탕(table sugar)을 선택하였다. 그리고 설탕 함량이 5와 10%(w/w)인 시료에서는 pH의 변화 차이가 나타나지 않았기 때문에 5% 이하의 농도에서 pH 변화를 관찰하였다(Fig. 1).

설탕을 0%와 1% 첨가한 시료는 저장 2일째부터 pH가 높아지기 시작하였다. pH 상승은 시료 중에 단백질의 탈아미노 반응으로 생성된 암모니아에 의한 것으로 여겨진다.(Ahmed

와 Mahendrakar, 1996a). 설탕 첨가량이 3, 4와 5%인 시료의 pH는 저장 0일째에서 4일째까지 5.2에서 4.0으로 급속하게 감소하였다. 그 이후 조사된 9일째까지 pH는 일정한 수준으로 유지되었다. PH의 변화과정은 당밀을 첨가하여 실험한 Shaw 등(1998)의 결과와 유사하였다.

사일리지 저장 중 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 *E. coli* 변화

Campylobacter spp.와 *Salmonella* spp.는 가금육(poultry meat)과 가금 제품에 널리 분포하는 주요 병원균 중 하나이기 때문에(Hargis et al., 2001) 육계 내부장기 사일리지 중 *Campylobacter* spp.와 *Salmonella* spp.의 변화를 조사하였다. 시료의 *Campylobacter* spp.는 일반적인 미생물 성장곡선을 보여주었다(Fig. 2). 설탕이 0% 첨가된 시료의 *Campylobacter* spp.는 4일째에서 8.21 log CFU/mL 이었던 반면 3과 5% 시료는 각각 7.56과 7.38 log CFU/mL로 나타났다. *Campylobacter* spp.는 설탕 농도가 증가할수록 감소하는 경향이었다. 닭 소화기계 모델에 접종된 젖산균이 *Campylobacter jejuni*의 성장을 억제하였다는 Chang과 Chen(2000)의 보고와 유사하였다.

설탕이 첨가되지 않은 시료의 저장 중 log CFU/mL *Salmonella* spp. 수는 5.8~6.8 사이로 나타났다. 하지만 설탕이 3과 5% 첨가된 시료에서는 저장 후 2일까지는 6.8~7.0 log CFU/mL에서 나타난 후 매우 급하게 감소하여 4일부터 조사

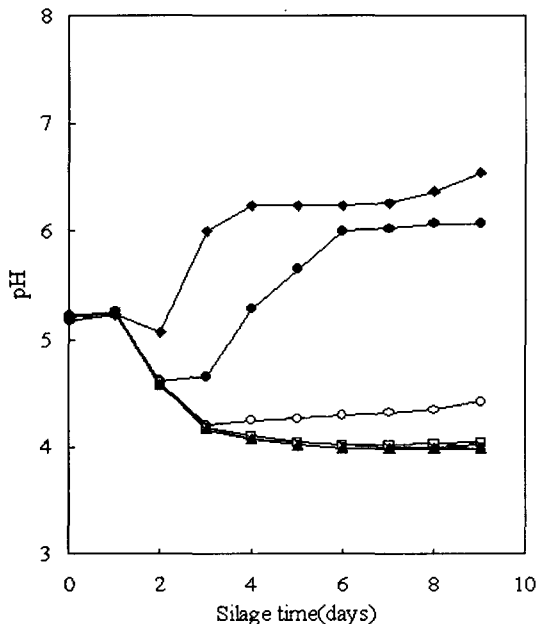


Fig. 1. pH changes of under-utilized broiler byproduct silage during fermentation at 25°C with different level (% , w/w) of table sugar.

◆ 0%, ● 1%, ○ 2%, □ 3%, × 4%, ▲ 5%.

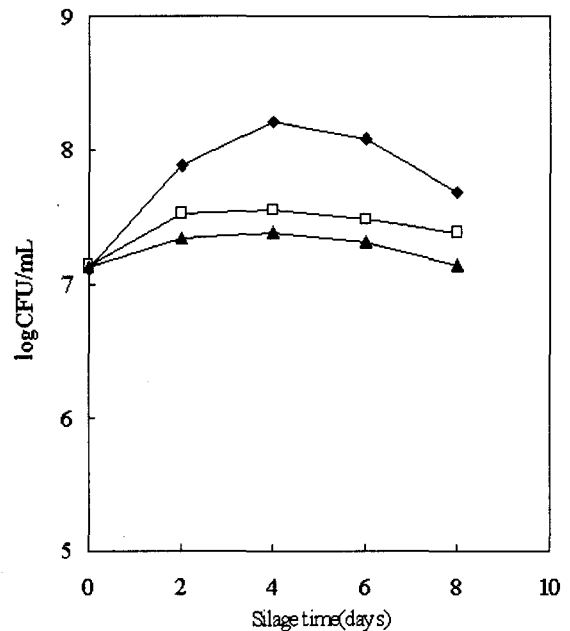


Fig. 2. *Campylobacter* counts of under-utilized broiler byproduct silage during fermentation at 25°C with different level (% , w/w) of table sugar.

◆ 0%, □ 3%, ▲ 5%.

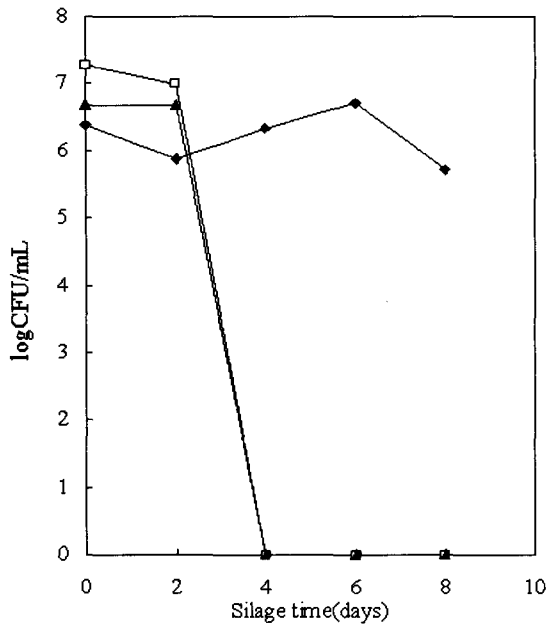


Fig. 3. *Salmonella* counts of under-utilized broiler byproduct silage during fermentation at 25°C with different level (% w/w) of table sugar. —◆— 0%, —□— 3%, —▲— 5%.

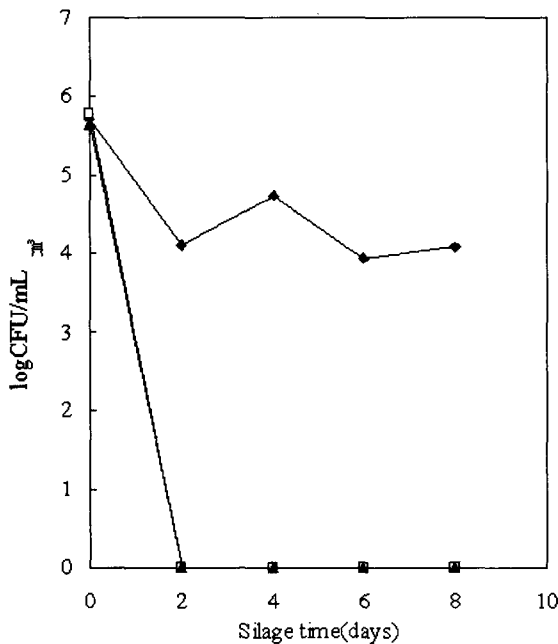


Fig. 4. *Escherichia coli* counts of under-utilized broiler byproduct silage during fermentation at 25°C with different level (% w/w) of table sugar. —◆— 0%, —□— 3%, —▲— 5%.

한 8일 동안 균이 검출되지 않았다(Fig. 3). 설탕 첨가는 사일리지 저장 중 *Salmonella* spp.의 생육을 억제하였다.

분변 오염의 지표균인 *E. coli*에는 설사병을 유발하며 장관 출혈을 일으키는 *E. coli* 0157:H7 균 등이 포함되어 있기 때문에 가금에서는 주요한 관심 대상이다(Hargis et al., 2001). 초기 시료의 *E. coli* 수는 5.8 log CFU/mL이었다. 설탕이 첨가되지 않은 시료에서는 2일째까지 감소하다가 이후부터는 log 4.0~5.0 CFU/mL 사이로 유지되었다. 하지만 3과 5% 시료의 *E. coli* 수는 매우 급격히 감소하여 2일째 이후부터 저장기간 8일 동안 검출되지 않았다(Fig. 4). *E. coli*의 비검출 시기는 Shaw 등(1998)이 당밀을 5% 첨가하여 얻은 5일 이후보다 3일이 빨랐다. 사일리지에 설탕을 첨가함으로써 *E. coli*의 생육이 억제되었다. 육계 내부장기 사일리지에 설탕을 첨가함으로써 가금류와 관련된 주요 병원성균인 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 지표균인 *E. coli* 성장이 현저히 감소되어 안정성이 확인된 육계 내부장기 사일리지의 사료 원료화 가능성이 증진되었다.

요 약

사료원료로 활용이 기대되는 육계 내장 사일리지의 25°C 저장 중 설탕 첨가에 따른 pH와 가금류와 관련된 주요 병원성균인 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 지표균인 *E. coli*의 성장 변화를 조사하였다. 설탕을 0%와 1% 첨가한 시료는 저장 2일째부터 pH가 높아지기 시작하였지만 3, 4와 5% 시료는 저장 0일째에서 4일째까지 5.2에서 4.0으로 급속하게 감소하였다. 그 이후 조사된 9일째까지 pH는 일정한 수준으로 유지되었다. 시료의 *Campylobacter* spp.는 일반적인 미생물 성장곡선을 보여주었다. 설탕이 0% 첨가된 시료의 *Campylobacter* spp.의 수는 4일째에서 8.21 log CFU/mL이었던 반면 3과 5% 시료는 각각 7.56과 7.38 log CFU/mL로 나타났다.

Campylobacter spp.는 설탕 농도가 증가할수록 감소하는 경향이였다. 저장 중 0% 시료의 *Salmonella* spp. 수는 5.8~6.8 log CFU/mL 사이로 나타났지만 3과 5% 시료에서는 저장 후 2일까지는 6.8~7.0에서 나타난 후 매우 급하게 감소하여 4일부터 조사한 8일 동안 균이 검출되지 않았다. 초기 시료의 *E. coli*는 5.8 log CFU/mL이었다. 설탕이 첨가되지 않은 시료에서는 2일째까지 감소하다가 이후부터는 log 4.0~5.0 CFU/mL 사이로 나타났지만 3과 5% 시료의 *E. coli* 수는 매우 급격히 감소하여 2일째 이후부터 저장기간 8일 동안 검출되지 않았다. 육계 내부장기 사일리지에 설탕을 첨가함으로써 가금류와 관련된 주요 병원성균인 *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp.와 지표균인 *E. coli* 성장이 현저히 감소되어 안정성이 확인된 육계 내부장기 사일리지의 사료 원료화 가능성이 증진되었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 국제공동연구지원사업(2001-6-222-01-2)으로 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Ahmed, J. and Mahendrakar, N. S. (1996a) Acceleration of fish viscera silage by prefermented starter culture. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* **35**, 171-177.
2. Ahmed, J. and Mahendrakar, N. S. (1996b) Chemical and microbial changes in fish viscera during fermentation ensiling at different temperatures. *Bioresource Technology* **59**, 45-46.
3. American Public Health Association (1992) Colony count methods. In *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods*, 3rd ed., American Public Health Association, Washington, DC, USA, pp. 75-95.
4. BBL (2003) *Campylobacter* agar with 5 antimicrobics and 10% sheep blood(Blaser). In *BBL Quality Control and Product Information Manual for Plated and Tubed Media*. BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA, pp. 14-15
5. Cha, S. H., Cho, J. H., Chung, K. S., Chang, P. S., and Yi, Y. H. (1995) Proximate composition and microbial content change of broiler waste silage by mixing with wheat bran and oven-drying. *Korean Journal of Food Science and Technology* **27**, 63-67.
6. Chang, M. H. and Chen, T. C. (2000) Reduction of *Campylobacter jejuni* in a simulated chicken digestive tract by Lactobacilli cultures. *Journal of Food Protection* **63**(11), 1594-1597.
7. Difco Laboratories (1998) Culture media and ingredients, dehydrated. In *Difco Manual*, 11th ed., Difco laboratories, Division of Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA, pp. 21-583.
8. El Boushy, A. R. Y. and van der Poel, A. F. B. (1994) Poultry by-products. In *Poultry Feed from Waste*, 1st ed., Chapman & Hall, London, UK, pp. 99-163.
9. Hargis, B. M., Caldwell, D. J., and Byrd, J. A. (2001) Microbiological pathogens: live poultry consideration. In *Poultry Meat Processing*, 1st ed., CRC Press, Washington, DC, USA, pp. 121-135.
10. Meang, W. J., Hur, S. C., Lee, K. J., Kim, J. W., Jeong, K. S., Kim, D. J., Kim, H. K., Shin, H. T., Jeong, T. Y., Kim, T. J., Yu, J. H., Park, H. K., Kang, J. W., Kim, C. W., Yu, J. C., and Cho, S. J. (1998) Production and availability of roughages. In *Introductory Animal Science*, 3rd ed., Sunjin Publishing Co., Seoul, Korea, pp. 294-332.
11. Rathina Raj, K., Jagannatha Rao, R., and Mahendrakar, N. S. (1996) Effect of feeding extruded diets containing fermented fish and poultry offals on growth and meat quality of broiler chickens. *Int. J. Anim. Sci.* **11**, 277-282.
12. Raa, J. and Gildberg, A. (1982) Fish silage: A review. *CRC Critical Review in Food Science and Nutrition* **16**, 383-419.
13. Russell, S. M., Fletcher, D. L., and Merka, W. C. (1992) Lactic acid fermentation of broiler processing waste: Physical properties and chemical analyses. *Poultry Science*, **71**, 765-770.
14. Shaw, D. M., Narasimha Rao, D., and Mahendrakar N. S. (1998) Effect of different levels of molasses, salt and antimycotic agents on microbial profiles during fermentation of poultry intestine. *Bioresource Technology* **63**, 237-241.
15. Stern, N. J., Cox, N. A., Bailey, J. S., Berrang, M. E., and Musgrove, M. T. (2001) Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce *Campylobacter* and *Salmonella* spp. colonization in broiler chickens. *Poultry Science* **80**, 156-160.

(2003. 5. 28. 접수 ; 2003. 8. 2. 채택)