# 닭 도축장에서 메타지노믹스 분석을 통한 도축 단계별 미생물 군집의 변화와 오염경로 추적

정지연, 채명주, 권용국, 문진산

농림축산검역본부 조류질병과

문 진 산

Correspondence to
Jin San Moon, Animal and Plant Qurantine Agency, Gimcheon 39660, Republic of Korea.
Tel: +82-10-5419-1775,
Fax: +82-54-912-0759,
E-mail: moonjs727@korea.kr

## 서론

닭 도축장의 위생적인 시설과 미생물 오염을 방지할 수 있는 도축공정은 최종도체의 미생물학적 품질과 관련이 높아서 식육의 안전을 위해 매우 중요한 과정이다(Chen et al., 2020). 일반적으로 도축공정 중 각 도축 단계들은 미생물을 효율적으로 제거하기 위한 기술이 집약되어 있다. 하지만 생계의 분변, 작업 환경, 작업자, 작업도구와 시설 등 다양한 요인에 의한 미생물의 노출로 인하여 최종도체에서의 미생물을 완전하게 제거하는 것이 불가능하고, 닭 도축장의 경우에 복잡한 도축공정과, 많은 작업량과 빠른 작업속도에 의하여 미생물의 교차오염에 매우 취약하다(Jeong et al., 2023).

대부분의 도축장은 도체의 미생물학적 품질을 조사하고, 주요 관리점을 탐색하기 위해 배지배양법을 기반으로 식육 미생물 오염상태를 모니터링 하고 있는 실정이다. 그러나 배지배양법으로는 배지에서 배양이 가능한 미생물의 오염 정도만 파악되기 때문에 도축장 환경이나 도체에서의 다양한 미생물의 오염과 이들의 영향을 파악하는데 한계가 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 최근 몇 년 동안 차세대염기서열분석법(next generation sequencing; NGS)을 이용해 닭 도체와 도축장 환경에서 미생물 다양성을 관찰하여 최종도체의 안전성과 품질을 향상시키려는 연구들이 활발하게 진행되고 있다(Handley et al., 2018; Wages et al., 2019; Wang et al., 2019).

국내의 경우에도 최근에 유통식품에서의 항생제 내성균 및 내성인자 분포 특성 분석 연구에서 NGS를 활용하여 양계장–도계장–육가공장–유통제품(닭고기)의 미

생물 균총의 변화를 조사한 결과 도계장과 육가공장의 미생물 균총의 분포가 유사한 것으로 나타났다(식품의약품안전평가원 2022, Park et al., 2013). 이를 통해 식육의 미생물학적 안전성과 품질 향상을 위해서는 도축단계에서의 미생물 위생관리가 가장 중요한 것으로 제시되었다. 그러나 아직까지 국내에서 닭 도축장을 대상으로 도축 단계별 미생물 균총 변화와 도축 환경 및 과정중 최종도체에 오염을 미치는 경로 분석에 대한 연구가 많지 않다.

이에 본 실험실에서는 닭 도축장을 대상으로 메타지노믹스(Metahenomic) 분석을 통하여 도축 단계별 미생물 분포 변화를 관찰하고, 최종도체의 미생물 오염에 영향을 미치는 오염원을 조사하였다(Jeong et al., 2023). 이에 본 고에서는 이러한 닭 도축단계별 미생물 군집의 변화와 도축 단계별 미생물 오염 요인 및 위생관리방안에 대하여 소개하고자 한다.

## 본론

### 1. 도축 작업공정과 시료 채취

도계공정은 살아있는 닭이 도축장으로 들어오는 '생계

그림 1. 닭 도축장 작업공정 및 시료 채취 부위(시료수)

입고' 단계부터 '포장/출하'까지 매우 복잡한 과정을 통하여 이뤄진다. 닭은 계류장에서 12~24시간을 보낸 후, 도축 라인을 따라 도축이 진행되기 위하여 닭을 거꾸로 매다는 현수 단계를 거치게 된다. 주로 전기나 탄산가스를 이용하여 기절을 시킨 후 방혈 작업이 시작된다. 방혈이 완료되면 털을 뽑기 전 뜨거운 물(63℃)에 삶는 탕적 과정을 거친 후 탈모기를 이용하여 털을 제거하는 탈모 단계를 진행한다. 깃털이 뽑힌 닭은 라인을 따라 머리와 다리를 자르는 두족절단 단계를 지나 재현수, 항문제거, 복강절개, 내장적출, 소낭/기낭제거, 폐제거 등의 작업이 차례로 진행된다. 이어 세척이 이뤄지고 도체의 심부 온도를 4℃로 낮추기 위해 물이나 공기를 이용한 냉각 과정이 이뤄진다. 냉각 후에는 도체를 중량별로 선별하는 선별 단계를 거쳐 마지막 출하가 진행된다.

도축 구역은 도축장별로 약간씩 차이가 있지만, 일반적으로 교차오염을 방지하기 위해 오염구역, 준청결구역, 청결구역의 세 구역으로 나누어 도축 작업이 이뤄진다. 일반적으로 도축장은 생계입고부터 방혈 단계를 오염구역, 탕적 단계부터 내장적출 이후 세척 단계를 준청결구역, 냉각부터 마지막 출하 단계를 청결구역으로 구분하여 관리하고 있다. 본 연구실에서는 **〈그림 1〉**에서와 같이 구역별로 도체 간 교차오염이 가장 많이 발생할 수 있는 단계를 선택하여 환경과 도체 시료를 채취하였다. 즉, 계류장의 분변, 현수 단계의 샤클 스왑, 방혈 작업 구역의 벽과 바닥 표면 스왑, 탕침 전 도체와 탕침 후 도체, 탈모 단계의 탈모기 내 깃털과 탈모 후 도체, 내장적출 단계의 내장적출 작업자 장갑과 내장적출작업대 표면, 내장적출 후 세척 전 도체와 세척 후 도체, 침지냉각 단계의 냉각수, 선별 단계의 벽과 작업대 표면, 최종도체 등 총 50개의 시료를 채취하였다.

## 2. 도축 단계별 도체와 환경 시료에서의 미생물 분포 변화

16S rRNA gene amplicon sequencing을 통하여 50개 시료에 대해 Bacterial 16S rRNA gene 내 variable region 3~4(V3~V4)를 증폭하였다. 그 결과 시료당 12,627~138,750개의 sequencing read(총 280만 개 read)가 확인되었고, 전체 시료에서 97%의 서열 유사도에 따라 총 4,853개의 운영분류단위(Operational taxonomic units)를 확인하였다. 미생물 종(genus) 수준에서 도축 단계별 시료의 상대적 풍부도(relative abundance)를 비교한 결과, *Acinetobacter*가 거의 모든 시료에서 가장 많이 분포되었으며, 특히 내장적출 단계의 도체(내장적출 후 세척 전 도체, 27.54%; 내장적출 후 세척 후 도체, 42.93%)와 환경 시료(내장적출작업대, 22.75%; 내장적출 작업자 장갑, 81.97%)에서 가장 많이 분포하였다**〈그림 2〉**.

도축 단계별로 미생물 분포의 차이가 상이하였지만, 오염구역에서는 *Staphylococcus*가 가장 풍부하였고, 청결구역에서는 내냉성 세균인 *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*가 상대적으로 가장 많은 비율을 차지하였다. 특히 *Pseudomonas*는 도축 초기 단계에서는 존재하지 않았지만, 도축 마지막 단계에서의 냉각수(36.26%)에서 다른 종들에 비해 높은 오염률을 보였다. 이는 냉각 단계에서의 냉각수(5℃ 이하)와 청결구역(10℃ 이하 유지)의 온도와 같은 특정 환경 때문에 내냉성 세균이 상대적으로 잘 생존한 것으로 추정된다.

또한, 도축 단계별 도체(탕침 전 도체, 탕침 후 도체, 탈모 후 도체, 내장적출 후 세척 전 도체, 내장적출 후 세척 후 도체, 최종도체) 간의 미생물 풍부도(Chao1 index)와 미생물 다양도(Shannon index)를 확인한 결과, 특정 도축 단계의 환경이 특정 균종의 증감에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다. 도축 단계를 거치며 전반적으로 미생물 풍부도(Chao1 index)가 유의적으로 감소하는 것을 확인하였으며($p \leq 0.05$), 도축하는 동안 도축 단계별 각 허들이 미생물 수를 효과적으로 감소시키는 것을 알 수 있었다**〈그림 3A〉**. 그러나 탈모 후 도체에 비해 내장적출 후 세척 전 도체의 미생물 풍부도(Chao1 index)가 유의적으로 증가하였는데($p \leq 0.05$), 이는 탈모 후 도체가 내장적출 단계를 거치면서 육계의 장내 미생물의 교차오염으로 미생물 풍부도가 증가한 것으로 보인다.

미생물 다양성 측면에서는 탕침 후 도체의 미생물 다양도(Shannon index)가 가장 낮았으며, 탕침 전 도체에

비해 현저하게 감소한 양상을 보였다($p \leq 0.001$). 이는 뜨거운 물(68℃ 이상)에 탕침하는 단계를 거치며 탕침 후 도체에서 고온성 세균만이 생존[*Anoxybacillus*(0.03% → 39.83%)와 *Ureibacillus*(0.02% → 39.67%)]하여 미생물의 다양도에 변화가 생긴 것으로 보인다〈그림 3B〉. 또한 탈모 단계와 내장적출 단계에서 다양한 미생물 종의 교차오염으로 미생물 다양도가 유의적으로 높게 나타났다($p \leq 0.001$). 이후 세척 단계를 거치면서 전체적인 미생물 수의 감소와 더불어 세척 시 차가운 물의 사용으로 내냉성 세균인 *Acinetobacter*의 상대적인 비율이 증가하여(27.54% → 42.93%) 미생물 다양도가 감소하였다. 이를 통해 다양한 도축과정 중 탕침, 탈모, 내장적출, 세척 단계가 미생물 수와 종을 바꾸는 중요한 단계이며, 탈모 단계와 내장적출 단계에서 다양한 미생물의 교차오염이 발생하는 것을 확인하였다.

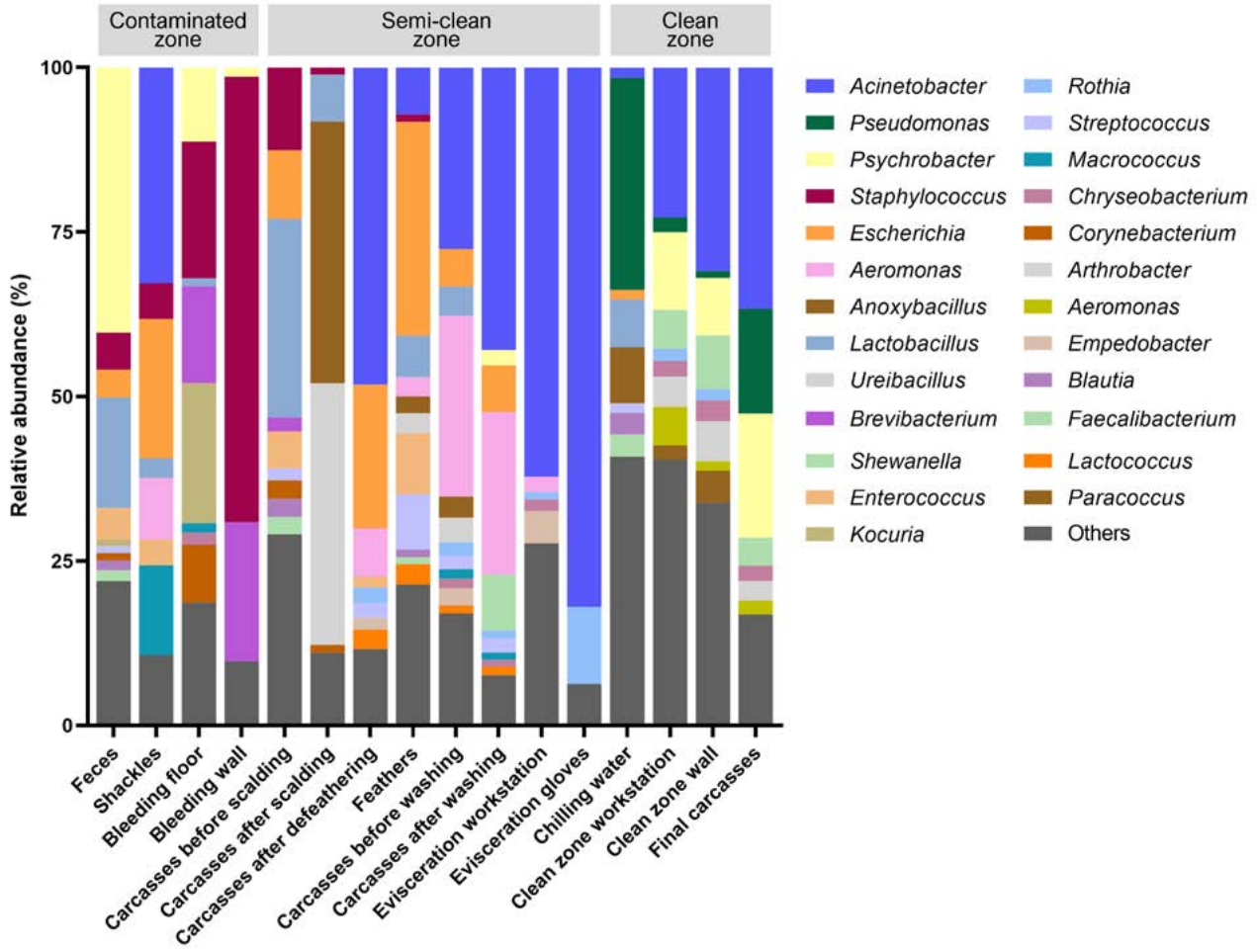
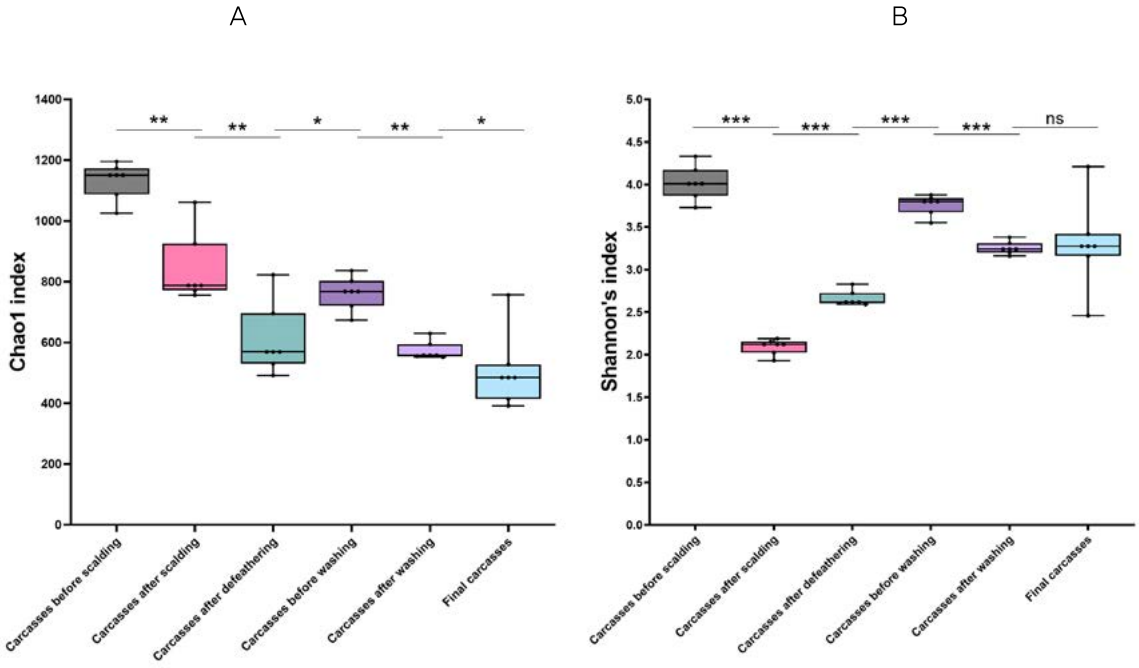



그림 2. 도체와 환경 시료에서 top 25종(genus)의 미생물 분포 (출처: Jeong et al., 2023)

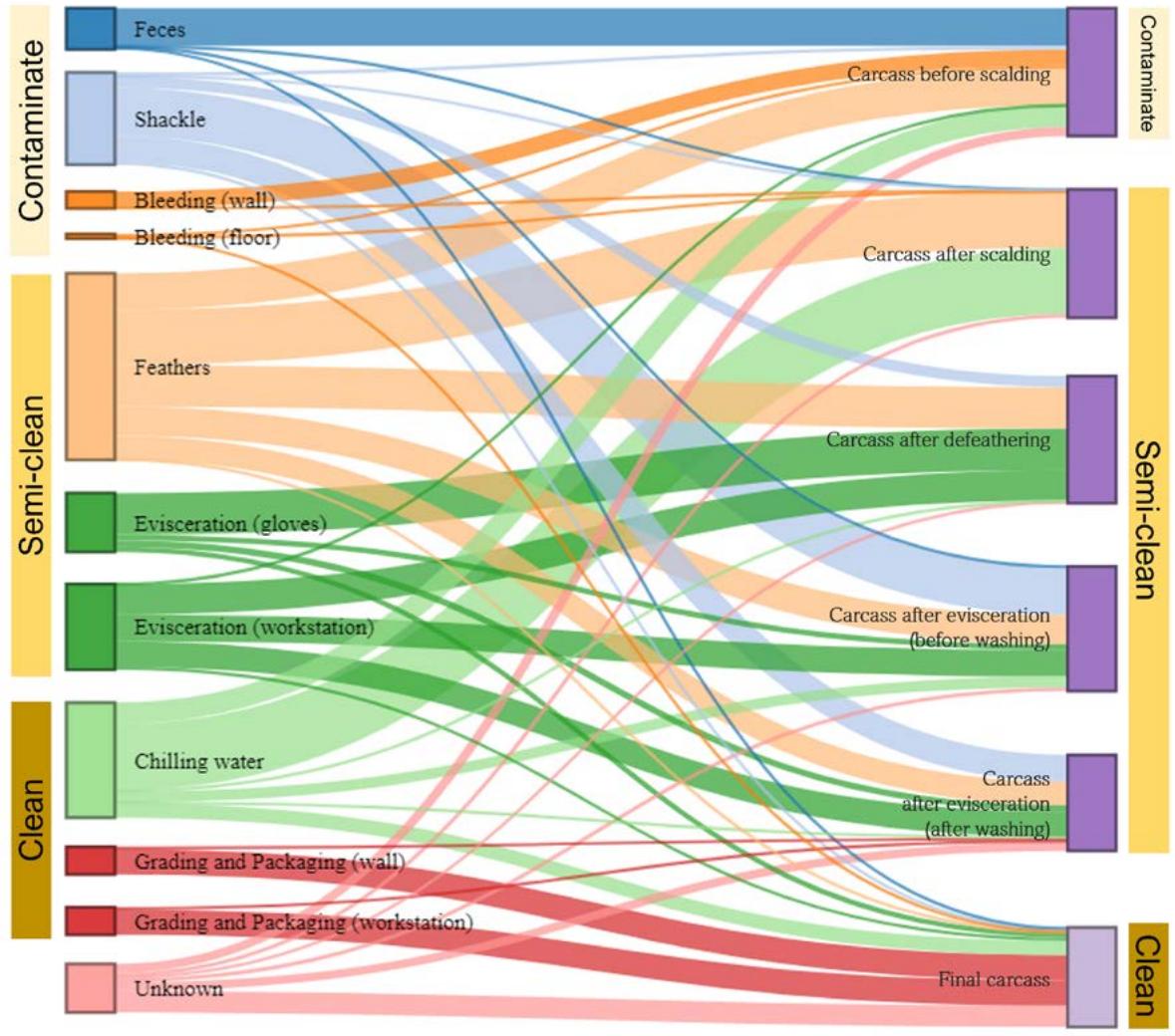
### 3. 도축 구역별 도체 시료의 미생물 오염원 추적

도축 라인을 따라 도체 미생물 오염에 기여하는 오염원을 추정하고, 미생물 전파경로를 추적하기 위해 오염원 추적 모델(Source tracker model)을 실시하였다. 도축장 세 구역(오염구역, 준청결구역, 청결구역)별 미생물 흐름을 고려했을 때, 대부분 환경 시료의 미생물은 동일한 구역에서 채취한 도체 시료의 미생물과 관련이 있었다〈그림 4〉. 오염구역에서 채취한 분변 미생물의 대부분은 탕침 전 도체의 주요 오염원으로 확인되었다. 깃털의 미생물은 최종도체를 제외한 모든 도체 시료의 미생물 군집에서 많은 비중을 차지하였고, 특히 탕침 후 도체와 탈모 후 도체 미생물의 43.0%와 32.0%를 차지하였다. 현수 단계의 샤클 스왑의 미생물은 내장적출 후 세척 전 도체와 내장적출 후 세척 후 도체 미생물의 37.3%와 20.7%를 차지하여 해당 도체 오염의 높은 기여도를 보였다. 이는 현수 샤클이 오염구역과 준청결구역 사이의 레일을 따라 이동한다는 점을 고려할 때 오염구역의 샤클이 준청결구역의 도체를 교차오염시키는 것으로 추정된다. 또한, 냉각수의 미생물 군집은 모든 구역의 도체 시료와 연관되어 있는 것으로 나타났다. 이는 냉각 전 도체들의 미생물이 냉각수를 오염시켜 냉각수의 미생물 군집을 형성하였고, 냉각 이후 도체인 최종도체는 냉각수를 구성하는 미생물에 의해 교차오염된 것으로 추정된다. 본 조사에서 최종도체에서 발견된 미생물 대부분은 선별작업대(41.9%)와 선별작업 공간의 벽(19.6%), 냉각수(11.2%)와 관련이 있었으며, 특히 최종도체에서 약 61.5%의 미생물이 선별작업 환경 시료와 관련이 있는 것으로 조사되었다. 이를 통해 선별작업 환경 상태가 최종도체의 중요한 오염원인 것으로 확인되었다.




The graph displays the interquartile range (75th – 25th percentiles) using boxes, with the median marked by a line inside each box. High and low values are represented by the upper and lower lines, respectively. Significance levels are indicated as ns (non-significant), * ($p \leq 0.05$), ** ($p \leq 0.01$), and *** ($p \leq 0.001$).

그림 3. 도축 6단계 도체의 미생물 풍부도(Chao1 index)와 미생물 다양도(Shannon index) (출처: Jeong et al., 2023)




The Sankey flow diagram visually depicts the impact of environmental samples (sources) on carcass samples (sinks). Sources and sinks are positioned on the left and right sides, respectively. The width of each flow line between them indicates the proportion of microorganisms from source to sink samples. The height of each bar in sink samples (from carcasses before scalding to final carcasses) is 100%. On the left, the height of each bar in source samples reflects the cumulative proportions across the six samples.

그림 4. 도축 구역별 도체 시료의 미생물 오염원 추적 (출처: Jeong et al., 2023)

### 4. 도축 단계별 작업 내용 및 미생물 오염 요인과 위생관리 방안

병원성 미생물은 농장에서 출하된 생계와 도축장 내에서 처리된 도체를 통해서 도축작업라인으로 오염될 수 있어 최종 생산 제품의 품질에 큰 영향을 미치게 된다. 그러므로 일반적으로 도축장에서의 미생물 위생관리의 중점 방향은 생계의 분변 관리와 도축 시설 및 도구에 의한 교차오염을 줄이는데 있다. 본 연구에서의 메타지노믹스 분석에 의하면 도축을 하는 동안 도축 단계별 각 허들이 미생물 수를 효과적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 하지

만, 탈모 단계와 내장적출 단계에서 다양한 미생물 종의 교차오염이 발생하며, 특히, 도축과정중 냉각 단계와 도축의 마지막 단계인 선별 단계에서 부패에 영향을 미치는 *Acinetobacter*와 *Pseudomonas* 등의 내냉성 세균과 같은 특정 미생물이 상대적으로 증가한다는 것을 알 수 있었다. 또한, 최종도체의 오염은 주로 침지냉각과 후속 작업 과정에 의해 영향을 받는 것으로 조사되었다. 이러한 결과와 국내외 닭 도축장에서 최종도체의 미생물 위해 및 관리 가이드에 기초하여 〈표 1〉에서와 같이 도축 공정 단계별 작업 내용에 따른 미생물 오염 요인과 미생물 위생관리 방안을 작성하였다.

**표 1. 닭 도축장 도축 공정 단계별 미생물 오염 요인 및 관리방안**

| 도축단계 | 미생물 오염 요인 | 미생물 위생관리 방안 |
|---|---|---|
| 생계 반입 | 병원성 미생물 양성 계군 및 분변을 통한 교차오염 | • 계류장 외부 환경 관리 및 외부인의 출입 통제를 통해 병원성 미생물의 오염원 차단<br>• 생산라인에 투입되기 전 생계들의 분변 및 섭취물에 의한 계군의 오염 가능성을 줄이기 위해 3시간 이상 절식 후 도계 |
| 계류 | 수송 케이지 및 계류장 내 분변을 통한 교차오염 | • 수송 케이지의 적절한 세척 및 소독 |
| 현수 | 생계에 묻은 분변의 교차오염 | • 자동 설비 생산 공정에 투입되는 생계는 최대한 오염물 제거 |
| 기절/ 방혈 | 혈액에 의한 교차오염 | • 쇄클에 걸린 닭들을 전살법(전기수조)으로 기절하기까지의 이동시간을 최소화<br>• 방혈을 충분하게 한 후 탕적시설에 도달하게 하여 혈액에 의한 교차오염 방지 |
| 탕적 | 탕적수나 탕적 매체에 의한 교차오염 | • 적정 탕박수 온도(약 60℃) 유지<br>• 도체를 향하는 탕박수의 흐름을 역류하는 방식 활용<br>• 충분한 교반으로 탕박수의 흐름 속도를 높이고, 각 도체 당 약 1리터의 깨끗한 물이 탕박 수조에 공급 |
| 탈모 | 탈모기 고무핑거와 도체 접촉에 의해 분변 배설물이 밖으로 나와 주변 오염 | • 탈모기에 깃털이 쌓이지 않도록 관리<br>• 도축 기구와 도체의 지속적인 세척 및 정기적인 보정과 유지관리<br>• 작업자들에게 장비 운전과 위생관리 교육 |
| 내장 제거 | 내장제거 시 내장파열과 분변 오염에 의한 도체의 교차오염 | • 크기가 유사한 닭들이 함께 처리되도록 배치별로 닭의 크기를 맞출 것<br>• 내장적출 기기의 정기적인 보정과 유지관리 |
| 세척 | 이전 단계 도체 내외부에 남아 있는 병원성 미생물에 의한 교차오염 | • 도체의 내외부 오염을 제거하기 위해 충분한 압력을 사용하여 철저하게 세척<br>• 도체에 직접적으로 물이 닿도록 적절한 장비 사용<br>• 수세장치 내에서 계류시간을 충분히 유지<br>• 도체에 허가된 소독제(염소, 젖산 등)로 분무소독하거나 세척 |
| 냉각 | ① 침지냉각: 도체에 남아 있는 분변이 냉각수를 오염시켜 도체에 교차오염 | • 냉각수는 음용가능한 물을 사용하고, 도체 이동 방향에 대해 역류방식으로 각 도체당 약 4리터의 양이 흐르게 함<br>• 냉각수에 허가된 소독제(염소, 젖산 등)를 허용농도에 맞춰 첨가하고, 염소 소독제를 이용하는 경우 냉각수의 산도(pH 6.0~6.5)와 온도(4℃ 이하)를 적절하게 유지 |
| | ② 공기냉각: 에어로졸에 의한 교차오염 및 건조를 막기 위해 물을 분무하는 과정에서 교차오염 | • 체인을 정기적으로 청소하고 샤클을 점검하여 교체<br>• 도체 간 서로 접촉하지 않도록 체인의 긴장 강도 유지 |
| 선별 | 선별 작업자 손 및 선별작업대 표면의 병원성 미생물 오염에 의한 교차오염 | • 선별 단계 작업자의 위생 교육을 통한 작업자에 의한 교차오염 방지<br>• 선별 과정 중 교차오염을 줄이기 위하여 도체 허가 소독제를 사용하여 선별 작업대의 주기적인 소독 |

## 결론

본 연구실에서 닭 도축장의 도축 라인을 따라 다양한 도체와 환경 시료에 오염되어 있는 미생물 분포의 변화를 조사하였으며, 도축 마지막 단계의 도체 오염에 영향을 미치는 오염원을 추적하였다. 그 결과 도축 단계를 거치면서 미생물 수가 효과적으로 감소하는 것을 확인되었다. 하지만, 특정 단계에서는 오염된 미생물 종이 증가하거나 부패세균과 같은 특정 세균의 상대적인 오염도가 증가하는 것으로 조사되어 이러한 단계에서의 미생물 관리가 중요함을 보여 주었다. 탈모 단계와 내장적출 단계에서는 도체의 깃털에 묻어있는 분변 및 장 내용물이 시설과 작업 중인 도체를 오염시켜 이 단계에서 다양한 미생물 종이 교차오염되는 지점인 것이 확인되었다. 이후 세척 단계와 선별 단계에서는 전체적인 미생물 수가 감소하였지만, 육류제품 품질에 영향을 미치는 부패세균인 *Acinetobacter*와 *Pseudomonas*가 증가하여 이 단계에서는 이러한 세균의 관리가 필요한 것으로 나타났다. 특히, 선별작업대 표면과 도축이 완료된 최종도체의 미생물 균종 분포는 유사하여 작업 중 선별작업대의 주기적인 소독이 필요할 것으로 나타났다. 선별작업대 이외에도 최종도체에 오염된 균종은 냉각수와 선별작업 공간의 벽 표면의 균종과도 유사하여 냉각수의 적절한 온도 유지(4℃ 이하), 주기적인 물의 교체, 적절한 소독제의 사용과 적정농도 유지 및 작업 완료 후 냉각 수조의 철저한 세척과 소독이 요구되어진다. 특히, 도축의 마지막 단계의 공간은 에어로졸에 의한 도체의 교차오염 방지를 위하여 주기적인 청소와 소독이 철저하게 이루어져야 할 것으로 판단된다. 향후 좀더 많은 닭 도축장을 대상으로 메타지노믹스 분석을 통하여 도축단계별 미생물 오염 요인 및 관리방안에 대한 결과들이 제시되어 국내산 닭고기의 병원성 미생물 저감화에 도움이 되기를 기대해 본다.

## 참고 문헌


1. 식품의약품안전평가원. 2022.「유통 식품에서의 항생제 내성균 및 내성인자 분포 특성 분석 연구」

2. Chen SH, Fegan N, Kocharunchitt C, Bowman JP, Duffy LL. 2020. Impact of poultry processing operating parameters on bacterial transmission and persistence on chicken carcasses and their shelf life. AEM 86:1-19.

3. Handley JA, Park SH, Kim SA, Ricke SC. 2018. Microbiome profiles of commercial broilers through evisceration and immersion chilling during poultry slaughter and the identification of potential indicator microorganisms. Front Microbiol 9:345.

4. Jeong J, Song H, Kim WH, Chae M, Lee JY, Kwon YK, Cho S. 2023. Tracking the contamination sources of microbial population and characterizing *Listeria monocytogenes* in a chicken slaughterhouse by using culture-dependent and –independent methods. Front Microbiol 10:3389.

5. Park J, Bae D, Kim SA. 2023. Microbial trace investigation throughout the entire chicken supply chain based on metagenomic high-throughput sequening. Food Reserch Interational 169:112775.

6. Wages JA, Feye KM, Park SH, Kim SA, Ricke SC. 2019. Comparison of 16S rDNA next sequencing of microbiome communities from post-scalder and post-picker stages in three different commercial poultry plants processing three classes of broilers. Front Microbiol 10:972.

7. Wang H, Qin X, Mi S, Li X, Wang X, Yan W, Zhang C. 2019. Contamination of yellow-feathered broiler carcasses: microbial diversity and succession during processing. Food Microbiol 83:18–26.