

# 바이오필름(생물세균막) 및 식품 안전 (바이오필름 솔루션 제안)

## Biofilm & Food Safety

Bassam A. Annous, Ruth Eden, 육준모\* (Bassam A. Annous, Ruth Eden, Junmo Youck\*)

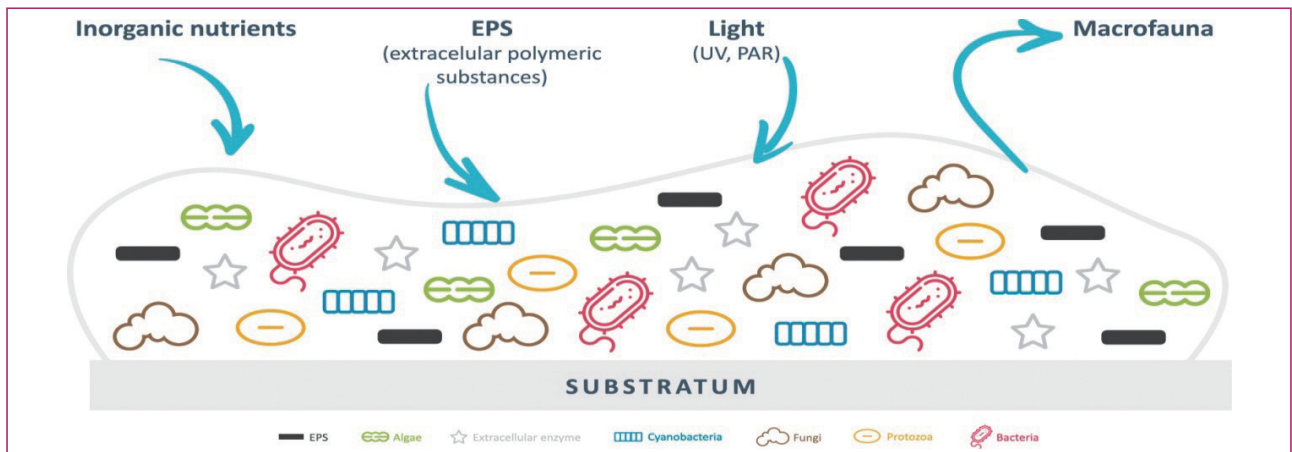
(주)엑스텍

X-TEK

### I. 바이오필름이란 무엇인가?

자연 상태에서 대부분의 박테리아는懸浮狀態(플랑크톤식, 부유 형태)로는 존재하지 않는다. 박테리아는 다량의 세포로 그룹화되어 상호 간 및 표면에 고착되어 바이오필름 안에서 존재하게 된다. 바이오필름은 미생물들의 복합체로서, 스스로 만들어진 EPS(Extracellular Polymeric Substances) 내에 함유된다. 따라서, 바이오필름은 그 매트릭스 안에 둘러 싸여져서 상호 간 또는 표면에 고착되거나 상호 교류하는 미생물군이라고 말할 수 있다.

그림 1. 바이오필름 형성구조



\*Corresponding author: Junmo Youck  
X-TEK, D-1204, Gwangmyeong Technopark  
Gwangmyeong, 14322, Korea  
Tel: +82-10-3308-8409  
Email: kripo2000@hanmail.net

EPS라고 하는 이 복합적인 바이오필름 네트워크에서 박테리아 세포는 개별적이기보다는 집단적인 생존시스템을 통해 작동되며, 바이오필름 내에 존재하는 세포에게 영양분과 물을 공급하는 채널을 만든다.

박테리아는 일종의 보호 메커니즘으로서, 환경에 대비해 더 나은 생존전략으로서 바이오필름을 생성하게 된다. 바이오필름 안에 있는 세포들은 식품산업계에서 일반적으로 적용되고 있는 세정이나 살균 프로세스에 훨씬 강한 저항력을 갖게 된다. 즉, 바이오필름 내 박테리아는 장비 등의 표면에 강하게 고착되어 식품산업에서 사용되는 전통적인 소독방법에는 저항력을 갖게 된다.

바이오필름 형성의 복잡한 메커니즘을 더 잘 이해하고, 바이오필름 형성을 제거하고, 바이오필름 내에 세포를 비활성화시키는 방법으로서 화학적, 물리적, 분자생물학적으로 다양한 기술들이 활용되어 왔다.

바이오필름 생산을 위해 식품 내 수분과 영양소들은 서로 결합하여 '컨디셔닝층(Conditioning Layer)'을 형성하는데, 이 컨디셔닝층은 박테리아 세포들이 컨디셔닝층과 EPS 비물의 표면에 초기에 고착할 수 있도록 해준다. EPS 생성은 식품이 닿는 표면에 바이오필름의 고착을 강화해 주고, 바이오필름 내의 세포들은 살균제 같은 외부자극 요인으로부터 보호된다.

## II. 바이오필름은 어떻게 형성되는가?

바이오필름의 형성은 다음과 같은 단계로 설명할 수 있다.

1. 플랑크톤형태 박테리아 세포의 초기 가역적인 표면 고착
2. EPS 생산에 따른 비가역적 고착
3. 박테리아 증식 및 바이오필름 구조의 발달
4. 성숙한 바이오필름으로 덮인 미생물집단의 발달 및 환경적인 자극으로부터 안정화된 미생물집단 형성
5. 바이오필름에서 주변으로 세포들 분산 및 플랑크톤 형태로의 복귀

바이오필름 안에서의 유기체들은 개별적이기보다는

그림 2. 바이오필름 형성 단계

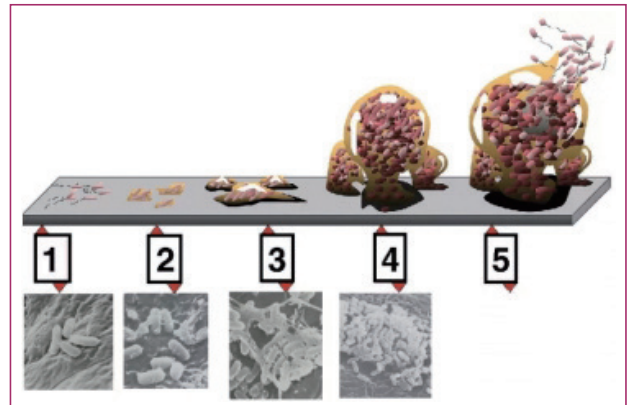


그림 3. 바이오필름이 형성되는 시간

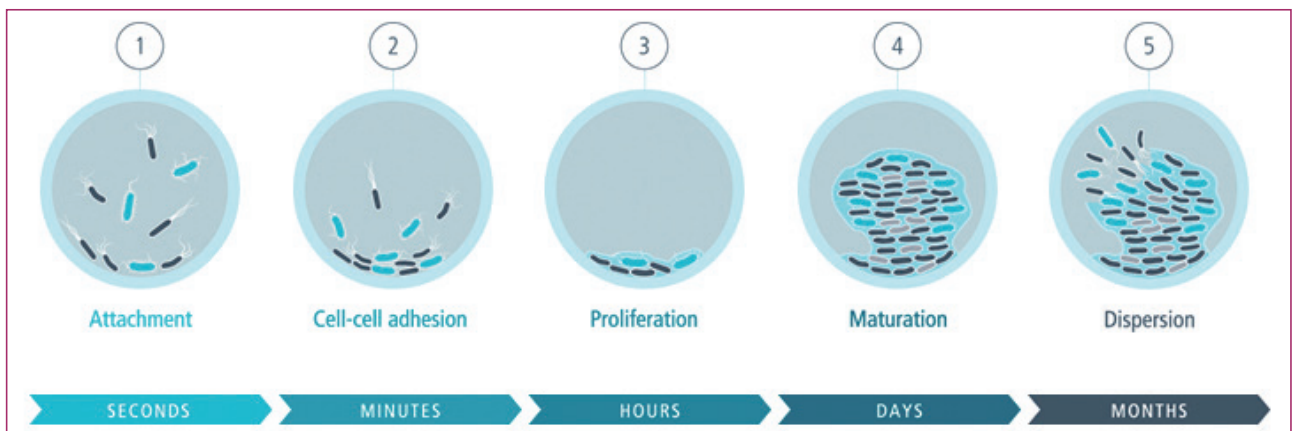
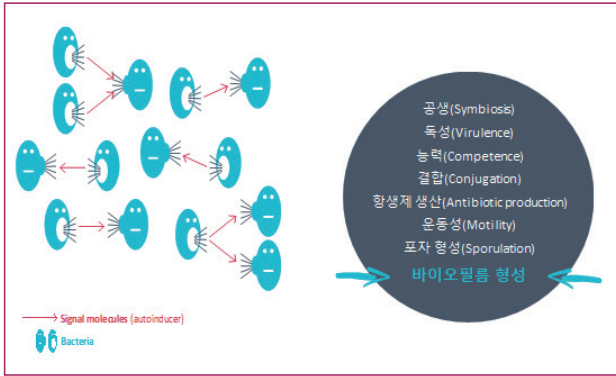


그림 4. 퀴럼센싱



결합된 생존 시스템으로 활성화하고, 항생제, 살균제, 화학적 변화(Ph, OXYGEN) 및 살생물제에 대해 플랑크톤타입 세포보다 훨씬 강한 저항력을 갖는다. 이러한 외부 자극에 대한 저항력 증가뿐만 아니라, 건조를 막아주는 역할은 EPS 물질이 존재하기 때문에 가능하다. 특히 퀴럼센싱(Quorum Sensing, 세포 간 신호)이 박테리아로 하여금 전체적으로 이롭게 할 수 있는 단일화된 반응을 나타내게 하여 바이오필름 형성에 역할을 하는 것으로 보여진다.

일반적으로 바이오필름 환경에서는 항생제 내성 유전자의 전이가 일어나게 된다. 이 전이는 결합 또는 변형을 통해 쉽게 일어난다. 또한 퀴럼센싱(Quorum Sensing, 세포 간 신호)은 또한 바이오필름 내에 세균의 능력을 향상시켜서, 영양분에 대한 접근성과 박테리아간 상호경쟁 및 환경 자극에 대한 방어메카니즘을 증가시킨다.

최근의 연구 발표에 따르면, 바이오필름 내에 거주하는 박테리아는 세포 간 전기적 신호를 통해 그들의 행동을 조절할 수 있는 것으로 보인다. 실험데이터와 수학적 모델링을 통해 바이오필름에서 생산된 세포의 칼륨이 세포 간 막전위(Membrane Potential)의 변화, 즉 운동 방향성의 메커니즘인 것을 알 수 있다. 따라서 바이오필름에 내재된 세포는 그들의 행동에 영향을 줄 수 있을 뿐 아니라, 전기신호에 따라 멀리 떨어져 있는 세포의 행동에도 영향을 줄 수 있다. 유전적 메커니즘은 박테리아 종들 사이에서 전기적으로 매개되는 것으로 보

여진다.

### III. 바이오필름이 식품안전에 중요한 이유는 무엇인가?

지속적으로 저수준의 오염이 바이오필름에 의해 일어날 수 있다. 이는 병원체를 포함하고 있는 박테리아를 방출시키고, 이는 식품안전에 대한 우려를 일으키게 된다. 바이오필름에 존재하는 박테리아는 항균제 및 세정제에 더욱 강한 저항력을 갖게 되고, 처리장비에 바이오필름이 고착되면 그 처리과정의 효과를 감소시킬 수 있다.

고착된 세포는 EPS층이 보호하기 때문에 화학세척에 대한 저항력을 키우고, 화학제품의 효과 감소는 화학물질이 박테리아와 접촉할 수 있는 외부표면을 감소시키는 세포의 형태로 변화시키는 데에 기인한 결과일 수 있다.

식품 내 오염은 정기적으로 박테리아가 증식될 때 발생할 수 있고, 가공식품라인을 오염시킬 수 있다. 리스테리아, 살모넬라, 대장균, 슈도모나스와 같은 병원성 박테리아는 보다 살균제에 대해 보다 안정적이고 저항성이 강한 다중종바이오필름(Multi-Species Biofilm)을 형성한다.

식품매개 질병의 발생은 바이오필름과 관련이 크다. 특히 바이오필름은 신선식품, 생산가공, 가공류, 육류 및 즉석식품 같은 식품산업에서 문제가 커지고 있는데, 이는 외부 자극에 대한 미생물들의 저항성이 날로 증가하고 있기 때문이다.

표 1. 오염된 식품으로 인한 질병 발생 사례

Pathogens	Country	Year	Type Of Product	N° Death
Listeria m.	Canada	2014	Caramelized apples	6
	EUA	2011	Melons	29
	Dinamarca	2014	Meat	12
	Chile	2009	Sausages	9
	EUA	2013	Broccoli	2
	Australia	2012	Soft cheese	2

## IV. 식품 표면에 형성되는 바이오필름

### 1. 과일과 야채

박테리아는 식물의 표면에 붙어서 번식하면서 바이오필름을 생성한다. 바이오필름 안에 있는 박테리아세포를 비활성화 시키는 소독제의 능력은 크게 감소되고 있다. 다양한 화학물질(염소, 과산화물, 계면활성제, 유기산 등), UV 등의 소독/살균절차는 제품에 형성된 바이오필름에 있는 병원균을 완전히 제거하지 못한 상태에서 측정된다. 세균 종이 혼합된 바이오필름에 혼입된 병원균은 항균효과가 낮아지고, 건조나 UV같은 다른 자극에 대한 내성을 증가시킨다.

식물 표면의 바이오필름은 폭넓게 다양한 박테리아 종으로 구성된다. 바이오필름의 개체군은 환경 조건, 즉 온도, 상대 습도, 영양분의 가용성 등에 따라 매우 다양하다. 식물 표면에 바이오필름 형성은 아마 건조, 자외선 노출, 온도변화 등의 가혹한 환경을 견뎌내기 위한 생존 메커니즘이기 때문이다.

살모넬라 균은 펄 비아 및 셀룰로우스를 생산해서 바이오필름 생성을 시작하는데, 멜론 표면에 미생물이 고착해서 번식하는 것을 돕는다.

과일에 한번 붙은 살모넬라는 더 잘 생존하며, 접근이 어려운 위치에 고착되고, 바이오필름을 형성하여 강한 살균처리에도 생존하게 된다. 그 후, 생존한 미생물들은 가공과정에서 과일의 표면에서 과일의 내부세포로 이동하게 되는데, 컷팅한 멜론의 미생물학적 안정성 보장은 쉽지 않다.

### 2. 육류

식육에 따라 박테리아가 쉽게 고착되는 고기 표면이 있고, 박테리아가 천천히 고착되는 고기 표면이 있다. 부드러운 닭가슴살 근육(근막)은 모든 박테리아가 고착될 수 있는 최고의 표면이다. 표면에 붙은 박테리아의 농도와 고착과정에 걸리는 시간에 대한 상관관계가 있

는 것으로 보고되고 있다. 일부 표면에서는 이러한 상관관계가 오랫동안 지속된다. 박테리아 균주도 고착운동에 영향을 줍니다.

박테리아는 수막 단계에서는 쉽게 제거가 되지만, 시간이 지남에 따라 이 박테리아들은 고기에 붙게 되고, EPS의 형성에 따라 제거가 어렵게 된다.

계육으로부터 분리한 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*)에 의한 고착과 바이오필름의 형성도 관찰되었는데, 계육의 육즙이 캄필로박터 제주니의 바이오필름 형성에 기여하고, 영양분의 원천으로 활용되기 때문이다. 미생물은 우선적으로 계육의 육즙 미립자에 고착하고, 고착율을 증가시킨다. 특히 소의 *E. coli* O157은 스테인레스 스틸 같은 용기의 접촉표면에 바이오필름을 생성시키는 능력을 가지고 있다. 바이오필름 안에 고착된 미생물은 생육, 가공육류, 즉석델리육류 같은 다양한 제품으로 이동할 수 있다.

소고기로부터 분리된 균주는 EPS 생산뿐 아니라, 강한 바이오필름을 형성할 수 있다.

부패 및 병원성 박테리아는 식품접촉표면에 고착 후 생성될 수 있고, 결국 바이오필름을 형성할 수 있다. 바이오필름 형성은 육류의 잠재적인 미생물 교차감염 위험성과 유통기한 단축, 질병의 확산 등과 같은 육류산업에 큰 위협이 되고 있으며, 해결해야 할 문제이다.

### 3. 식품가공장비

식품가공장비에 흔히 활용되는 스테인레스 스틸에서도 그램 양성 및 음성균과 같은 모든 박테리아가 번식할 수 있다. 특히 그램 음성 박테리아가 그램 양성 박테리아보다 훨씬 더 많은 바이오필름을 생산한다. 바이오필름을 발달시키고, 다른 타입의 물질에서 생존하는 리스테리아 모노사이토제네스의 능력에 대해서는 리스테리아 모노사이토제네스는 바이오필름을 생성하여 식품가공장비에 사용되고 있는 다음과 같은 제품에서도 생존할 수 있다. 즉, 스테인레스 스틸 2종류(304, 316L), 고무 2종류(Buna-N, 실리콘), 그리고 컨베이어 시스템 3

종류(벨트로 사용된 폴리스터3000, 튜어-2, 컨베이어 벨트용 롤러에 사용된 Delrin-하드플라스틱)가 있다. 바이오필름은 플라스틱물질인 Delrin에서 가장 잘 형성되었고, 그 다음은 스테인레스 스틸 304이었다. 식품등급 실리콘 고무와 스테인레스 스틸 316L의 표면은 바이오필름 발달에 가장 큰 저항성을 보였다. 리스테리아 모노사이토제니스는 저영양소상태 10℃에서도 바이오필름을 형성할 수 있다.

생성시간에 따라서도 바이오필름의 저항력은 다른데, 특히 생성 후 5일된 바이오필름 세포는 2일된 바이오필름과 비교시 세정과 살균/소독에 훨씬 강력한 저항력을 보였다.

치즈, 일일 신선식품, 날 음식, 즉석식품 등 전 식품 산업에서 바이오필름 내에서 유지되는 박테리아 세포는 유통기한을 짧게 하고, 식중독 질환을 일으키는데 기여하고 있다. 바이오필름 내에서 박테리아세포에 의해 생성된 EPS 물질과 그 생성의 복합성은 식품가공 공정단계의 표면에 존재하는 이들 박테리아 세포를 제거하거나 비활성화시키기 어렵게 만들고 있다. 따라서 바이오

필름의 제어를 위해서는 효과적인 살균/소독/세정 과정을 수행해야 한다. 또한 박테리아의 축적을 줄이거나 없앨 수 있는 식품가공 장비나 식품가공 환경의 디자인이 바이오필름 생성을 조절하는 중요한 요인이 될 수 있다.

### V. 바이오필름에 대한 솔루션

바이오필름의 제거기술은 우수 기업들과 전문기관에서 행해진 연구개발프로젝트의 귀한 결과물이다. 스페인 iTRAM사의 바이오파인더(Bio Finder)는 다음과 같은 특성이 있다.

- 오렌지색상의 액체로, 바이오필름과 접촉하면 하얗게 침전반응이 발생
- 과산화수소 분해효소(카탈라아제) 형성 미생물 검출시 작은 거품 형성
- 여러 종류의 박테리아, 이스트 및 곰팡이는 카탈라아제를 형성  
예)리스테리아, 살모넬라, 대장균 등

그림 5. 48시간 동안 스테인리스 스틸에서 자란 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*) 바이오 필름

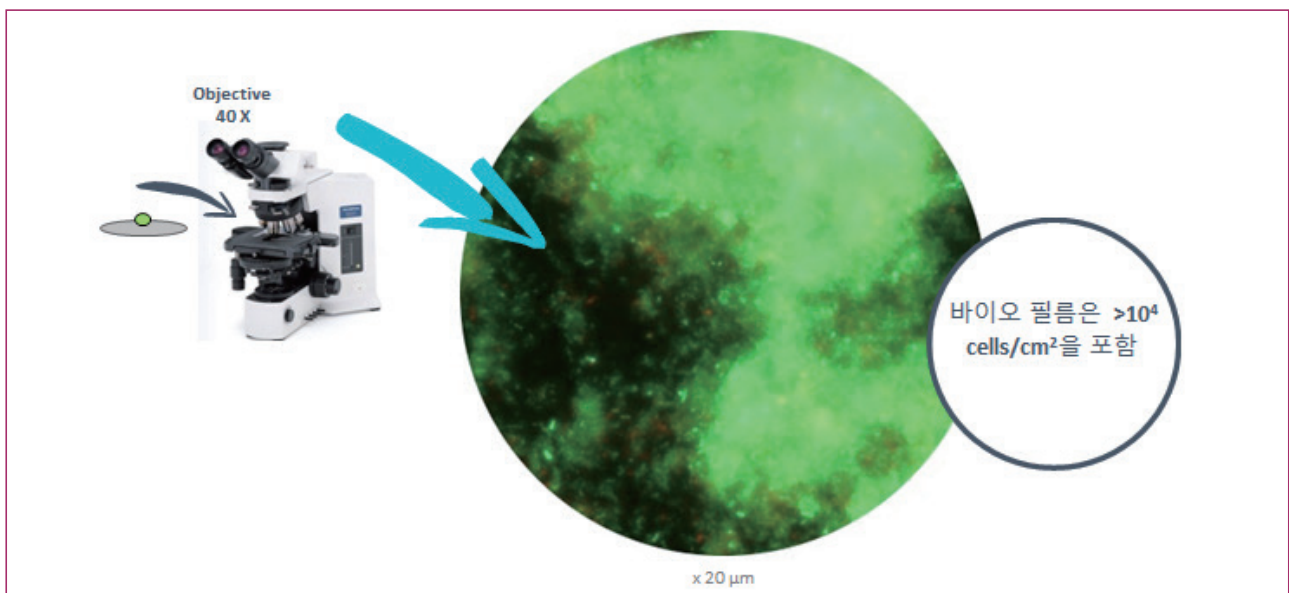


그림 6. iTram사의 Bio Finder



그림 7. 바이오필름 발견사례



바이오 필름은 기존 화학물질(살균제, 세척제)에 대한 내성이 강해서 제거가 어렵다. 이는 EPS가 살균제는 물론 환경적 변화(삼투압, pH, 온도 등)로부터 바이오 필름을 보호하기 때문이다.

따라서 바이오필름 제거를 위한 연구는 끊임없이 실험, 연구되어 왔다. 스페인 iTRAM사의 바이ורי무버(Bio Remover)는 효소 제품으로써 특히 바이오 필름의

그림 8. 전형적인 화학 세척 방법

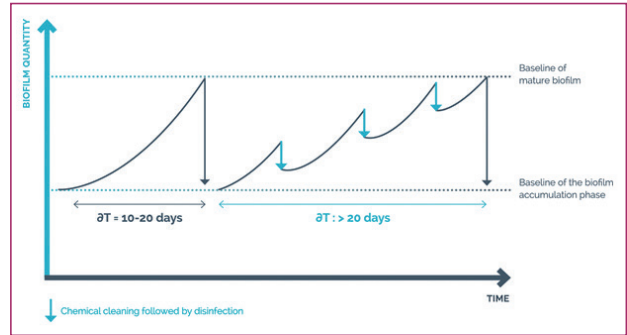


그림 9. 효소 제품의 장점

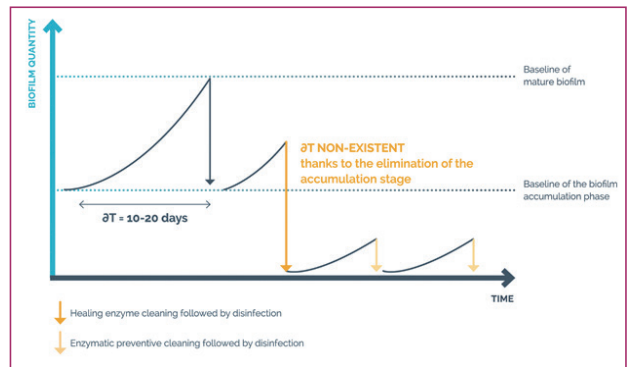


그림 10. iTram社 바이오 리무버(Bio Remover)



EPS에 반응한다. EPS가 분해되고 제거되면 미생물은 더 이상 보호층인 바이오필름을 갖지 못하고, 일반 소독제가 미생물과 직접 접촉할 수 있도록 하여 살균효과를 극대화 시켜 준다.

앞으로도 안전하면서 바이오필름을 효과적으로 제어할 수 있는 강력한 천연 항균제의 개발이 지속될 것으로 예상된다.