바이오 필름(생물세균막) 및 식품 안전
바이오 필름 솔루션 제안

1. 식품 안전에서 바이오 필름의 위험

식품 제조 시설 내에 지속적으로 낮은 수준의 오염이 바이오 필름에 의해 일어날 수 있습니다. 이는 병원체를 포함하고 있는 박테리아를 방출시키고, 이로 인해 식품 안전에 대한 위험을 초래하게 됩니다.

바이오 필름에 존재하는 박테리아는 항균제 및 세정제에 더욱 강한 저항력을 갖고 있으며 처리장비에 바이오 필름이 고착되면 그 처리과정의 효과를 감소시킬 수 있습니다. 바이오필름 내부에 고착된 세포는 EPS (Extracellular Polymeric Substances) 층이 보호하기 때문에 화학세척에 대한 저항력을 키우고, 화학제품의 물질이 박테리아와 접촉할 수 있는 외부표면을 감소시켜 세척 효과를 감소시키는 결과를 가져올 수 있습니다.

식품 내 오염은 박테리아가 증식될 때 발생될 수 있고, 식품가공라인을 오염시킬 수 있습니다. 리스테리아(*Listeria monocytogenes*), 살모넬라(*Salmonella spp.*), 대장균(*Escherichia coli*), 슈도모나스(*Pseudomonas aeruginosa*)와 같은 병원성 박테리아는 살균제에 대해 보다 안정적이고 저항성이 강한 다양한 종의 바이오 필름(Multi-Species Biofilm)을 형성합니다. 그러므로 식중독의 많은 사고 발생은 바이오 필름과 관련이 크다고 알려져 있습니다.

특히 바이오 필름은 신선식품, 수산가공, 가금류, 육류 및 즉석식품 같은 식품산업에서 문제가 커지고 있는데, 이는 외부 자극에 대한 미생물들의 저항성이 날로 증가하고 있기 때문입니다.

2. 바이오 필름이란

자연 상태에서 대부분의 박테리아는 현탁상태(플랑크톤식, 부유형태)로는 존재하지 않습니다. 박테리아는 다량의 세포로 그룹화되어 상호간 및 표면에 고착되어 바이오 필름 안에서 존재합니다. 바이오 필름은 미생물들의 복합체로서, 스스로 만들어진 EPS 내에 존재하게 됩니다. 따라서, 바이오 필름은 그 매트릭스 안에 둘러 싸여져서 상호간 또는 표면에 고착되거나 상호 교류하는 미생

표1 오염된 식품으로 인한 질별 발생 사례

PATHOGENS	COUNTRY	YEAR	TYPE OF PRODUCT	N° DEATH
Listeria m.	Canadá	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

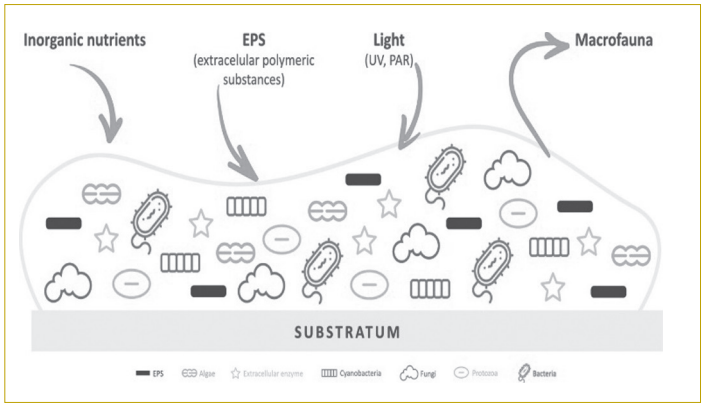


그림 1. 바이오 필름

물군이라고 말할 수 있습니다. EPS라고 하는 이 복합적인 바이오 필름 네트워크에서 박테리아 세포는 개별적으로 보다는 집단적인 생존시스템으로 작동되며, 영양분과 수분을 바이오 필름 내에 존재하는 세포에게 영양분과 물을 공급하는 채널을 만듭니다.

박테리아는 일종의 보호 메커니즘으로서, 환경에 대한 더 나은 생존전략으로 바이오 필름을 생성하게 됩니다. 바이오 필름 안에 있는 세균들은 식품산업에서 일반적으로 적용되는 세정이나 살균 과정에 훨씬 강한 저항력을 갖게 됩니다. 바이오 필름 안에 박테리아는 장비 등의 표면에 강하게 고착되어 식품산업에서 사용되는 일반적인 소독방법에는 저항성을 갖게 됩니다.

여러 연구기관에서 바이오 필름 형성의 원리를 연구해오고 있으며, 바이오 필름 형성을 억제하고 바이오 필름 내에 세포를 비활성화 시키는 방법을 얻기 위해 화학적, 물리적, 분자생물학적으로 다양한 기술들이 활용되고 있습니다.

식품으로부터의 수분과 영양소들은 생산라인에서 일반적으로 발견되어집니다. 이 두 요소는 서로 결합하여 '컨디셔닝층(Conditioning Layer)'을 형성하는데, 이 컨디셔닝층은 박테리아 세포들이 컨디셔닝층과 EPS생성물의 표면에 초기에 고착할 수 있도록 해줍니다. EPS생성은 식품이 닿는 표면에 바이오 필름의 고착을 강화해 주고, 바이오 필름내의 세포들은 살균제 같은 외부자극 요인으로부터 보호해 줍니다.

3. 바이오 필름의 형성 과정

바이오 필름의 형성은 다음과 같이 단계별로 기술할 수 있습니다.

1. 플랑크톤형태 박테리아 세포의 초기 가역적인 표면 고착
2. EPS생산에 따른 비가역적 고착
3. 박테리아 증식 및 바이오 필름 구조의 발달
4. 성숙한 바이오 필름으로 덮인 미생물집단의 발달 및 환경적인 자극으로부터 안정화된 미생물집단
5. 바이오 필름에서 주변으로 세포들 분산 및 플랑크톤 형태로의 복귀

바이오 필름 안에서의 유기체들은 개별적으로 보다는 결합된 생존 시스템으로 활성하고 항생제, 살균제, 화학적 변화(Ph, OXYGEN) 및 살생물제에 대해 플랑크톤타입 세포보다 훨씬 강한 저항력을 갖습니다. 이러한 외부자극에 대한 저항력 증가 뿐 아니라 건조를

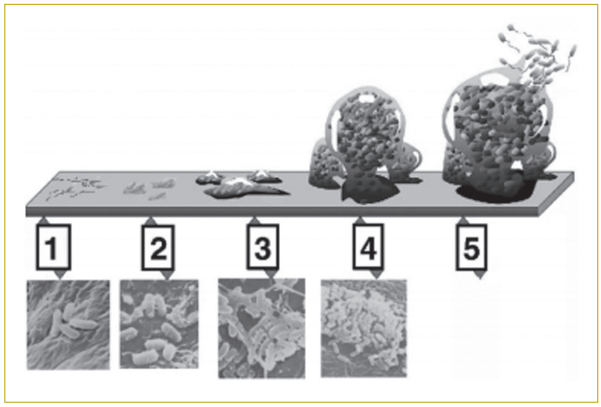


그림 2. 바이오 필름 형성 단계

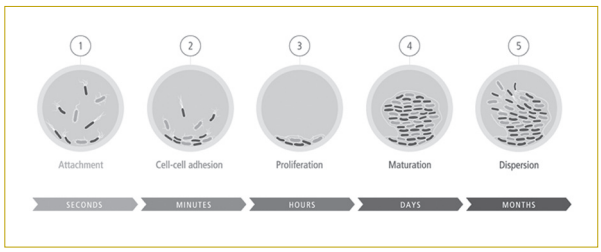


그림 3. 바이오필름이 형성되는 시간

막아주는 역할은 EPS 물질이 존재하기 때문에 가능합니다.

쿼럼센싱(Quorum Sensing, 세포간 신호)이 박테리아로 하여금 전체적으로 바이오 필름 내부 세균에 이롭게 할 수 있는 단일화된 반응을 나타내게 하여 바이오 필름 형성에 역할을 하는 것으로 보여집니다.

연구에 따르면 항생제 내성 유전자의 전이가 바이오 필름 환경에서는 일반적으로 일어나게 됩니다. 이 전이는 결합 또는 변형을 통해 쉽게 일어납니다.

쿼럼센싱(Quorum Sensing, 세포간 신호)은 또한 바

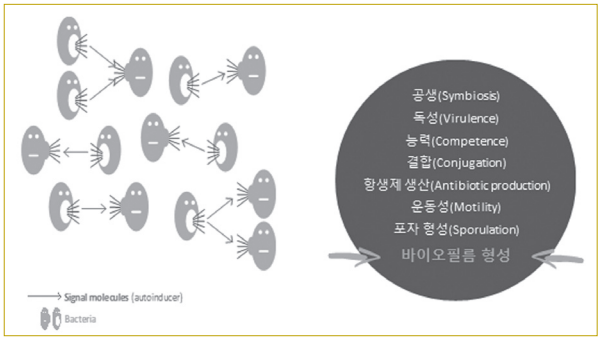


그림 4. 쿼럼센싱

이오 필름 내에 세균 세포의 능력을 향상시켜서, 영양분에 대한 접근성과 박테리아간 상호경쟁 및 환경자극에 대한 방어 메커니즘을 증가시킵니다.

최근 발표에 따르면, 바이오 필름 내에 존재하는 박테리아는 세포간 전기적 신호를 통해 그들의 행동을 조절할 수 있는 것으로 보여집니다.

실험데이터와 수학적 모델링을 통해 바이오 필름에서 생산된 세포 외 칼륨이 세포간 막전위(Membrane Potential)의 변화, 즉 운동의 방향성의 메커니즘인 것을 알 수 있습니다.

따라서 바이오 필름에 내재된 세포는 그들의 행동에 영향을 줄 수 있을 뿐 아니라 전기신호에 따라 멀리 떨어져 있는 세포의 행동에도 영향을 줄 수 있습니다. 유전적 메커니즘은 박테리아 종들 사이에서 전기적으로 매개되는 것으로 보여집니다.

4. 식품 표면에 형성되는 바이오 필름

(1) 과일과 야채

연구에 따르면 박테리아는 식물의 표면에 붙어서 번식할 수 있으며, 결국 바이오 필름을 생성할 수 있습니다. 바이오 필름 안에 있는 박테리아 세포를 비활성화시키는 소독제의 효력은 심각히 감소되고 있습니다.

다양한 화학물질(예로 염소, 과산화물, 계면활성제, 유기산등), UV 등의 소독/살균절차는 제품에 형성된 바이오 필름에 있는 병원균을 완전히 제거하지 못한 상태에서 테스트됩니다. 세균 종이 혼합된 바이오 필름에 혼입된 병원균은 항균 처치에 덜 반응하게 하고, 건조나 UV같은 다른 자극에 대한 내성을 증가시킵니다.

식물 표면의 바이오 필름은 폭넓게 다양한 박테리아 종으로 구성됩니다.

바이오 필름의 개체군은 환경 조건, 즉 온도, 상대 습도, 영양분의 가용성 등에 따라 매우 다양합니다.

식물 표면에 바이오 필름 형성은 아마 건조, 자외선 노출, 온도변화 등의 가혹한 환경을 견뎌 내기 위한 생존 메커니즘일 것입니다.

연구자료에 따르면 살모넬라 균은 Fimbria 및 셀룰로오스가 만들어 지면서 바이오 필름 생성을 시작하는데, 멜론 표면에 미생물이 고착해서 번식하는 것을 도와줍니다.

과일에 한번 붙은 살모넬라는 생존에 유리하며, 강한 살균에 강한 저항력을 보입니다. 미생물은 멜론 표면에서 더 제거하기 어려워지는데, 접근이 어려운 위치에 고착되고 멜론 껍질 표면에 바이오 필름이 형성하고 있어 살균소독을 피할 수 있게 됩니다. 그 후, 생존한 미생물들은 가공과정에서 과일의 표면에서 내부로 이동하게 되는데, 이는 멜론의 커팅을 통해 교차오염을 초래하게 됩니다.

(2) 육류

박테리아가 쉽게 고착되는 고기 표면이 있고, 박테리아가 천천히 고착되는 고기 표면이 있습니다. 부드러운 닭가슴살 근육(근막)은 모든 박테리아가 붙을 수 있는 최고의 표면입니다.

표면에 붙은 박테리아의 농도와 고착과정에 걸리는 시간에 대한 상관관계가 있다고 알려져 있으며, 일부 표면에서는 이 상관관계가 오랫동안 지속됨을 보입니다. 또한 박테리아 균주의 특성도 고착형성에 영향을 줍니다.

박테리아는 최초 막을 형성하는 단계에서는 쉽게 제거됩니다. 시간이 지남에 따라 이 박테리아들은 고기에 붙게 되고, EPS의 형성이 진행되면서 제거하기가 더욱 어렵게 됩니다.

계육으로부터 분리한 캠필로박터 제주니(*Campylobacter Jejuni*)에 의한 고착과 바이오 필름 형성도 관찰되었는데, 계육의 육즙이 캠필로박터 제주니의 바이오 필름 형성에 기여하고 영양분의 원천으로 활용되기 때문입니다. 미생물은 우선적으로 계육 육즙을 포함한 입자에 고착하고, 고착율을 증가시켜 갑니다.

특히 소의 장출혈성 대장균 O157은 스테인레스 스틸 같은 용기의 접촉표면에 바이오 필름을 생성시키는 능

력을 가지고 있었습니다. 바이오 필름 안에 고착된 미생물은 생육, 가금육류, 즉석 델리육류 같은 다양한 제품으로 이동할 수 있었습니다. 소고기로부터 분리된 균주는 EPS생성뿐 아니라, 강한 바이오 필름을 형성할 수 있습니다.

바이오 필름 형성은 육류의 잠재적인 미생물 교차오염의 위험성과 이로 인한 유통기한의 단축, 질병의 확산 등에 육류산업에 큰 위협이 되고 있으며, 해결해야 할 문제입니다.

(3) 식품가공장비

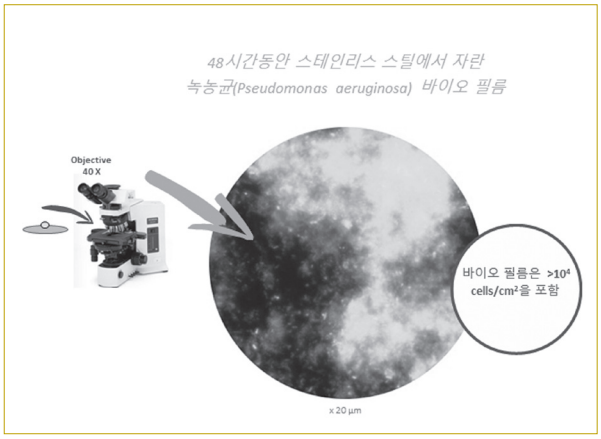
식품가공장비에 흔히 활용되는 스테인레스 스틸에서도 그람 양성 및 음성균과 같은 모든 박테리아가 번식할 수 있습니다. 특히 그람 음성 박테리아가 그람 양성 박테리아보다 훨씬 더 많은 바이오 필름을 생산합니다.

바이오 필름을 발달시키고 다른 타입의 물질에서 생존하는 리스테리아 모노사이토제네스는 바이오 필름을 생성하며 식품가공장비에 사용되고 있는 다음과 같은 제품에서도 생존할 수 있습니다. 스테인레스 스틸 2종류(304, 316L), 고무 2종류(Buna-N, 실리콘), 그리고 컨베이어 시스템 3종류(벨트로 사용된 폴리스터 3000, 튜어-2, 컨베이어벨트용 롤러에 사용된 Delrin-하드 플라스틱)가 있습니다.

바이오 필름 형성은 플라스틱물질 Delrin에서 가장 잘 형성되었고, 그 다음은 스테인레스 스틸 304입니다. 식품등급 실리콘 고무와 스테인레스 스틸 316L 표면은 바이오 필름 발달에 가장 저항성을 가졌습니다. 리스테리아 모노사이토제네스는 낮은 양양 상태인 10 ℃에서도 바이오 필름을 형성할 수 있습니다.

생성시간에 따라서도 바이오 필름의 저항력은 다른데, 특히 생성 후 5일된 바이오 필름 세포는 2일된 바이오 필름과 비교 시 세정과 살균/소독에 훨씬 강력한 저항력을 보였습니다.

치즈, 신선식품, 비가열식품, 즉석식품 등 전 식품산업에서 바이오 필름 내에서 유지되는 박테리아 세포는 유통기한을 감소시키며, 식중독에 원인이 됩니다. 바이오 필름 내에서 박테리아세포에 의해 생성된 EPS 물질과 그 생성의 복합성은 식품가공 공정단계의 표면에 존재하는 이들 박테리아 세포를 제거하거나 비활성화 시키기 어렵게 만들고 있습니다. 따라서 바이오 필름 제어를 위해서는 효과적인 살균/소독/세정 과정을 수행해야 합니다. 또한 박테리아의 축적을 줄이거나 없앨 수 있는 식품가공 장비나 식품가공 환경의 디자인이 바이오 필름 생성을 통제하는 중요한 요소가 될 수 있습니다.



5. 바이오 필름 솔루션

(1) 간편한 바이오 필름 검출(Biofinder)

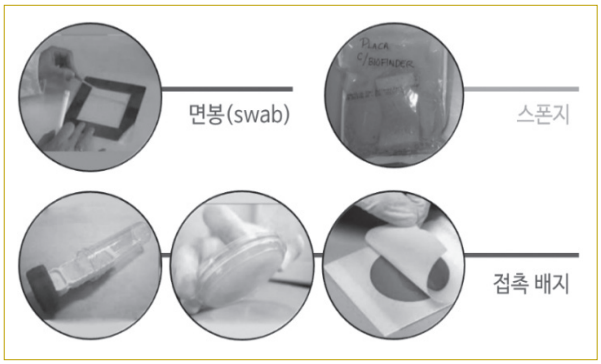
바이오 필름의 제거기술은 유수 기업들과 전문기관에서 행해진 연구개발프로젝트의 귀한 결과물입니다. iTRAM사의 바이오 파인더(Bio Finder, 바이오 필름 검출 키트)는 다음과 같은 특성이 있습니다.

- 오렌지색상의 액체로, 바이오 필름과 접촉하면 하얗게 침전반응이 발생합니다.
- 과산화수소 분해효소(카탈라아제) 형성 미생물을 검출 시 작은 거품을 형성합니다.
- 여러 종류의 박테리아, 이스트 및 곰팡이는 카탈라아제를 형성합니다.
  예)리스테리아, 살모넬라, 대장균, 등

iTRAM사의 BIOFINDER

기존 바이오 필름을 검출하기 위해서는 Swab 또는 스폰지로 샘플을 취한 후 배지를 이용하여 표면에 균이 어느정도 있는지 정량적으로 검출이 가능하지만 약 24시간 배양을 해야 합니다.

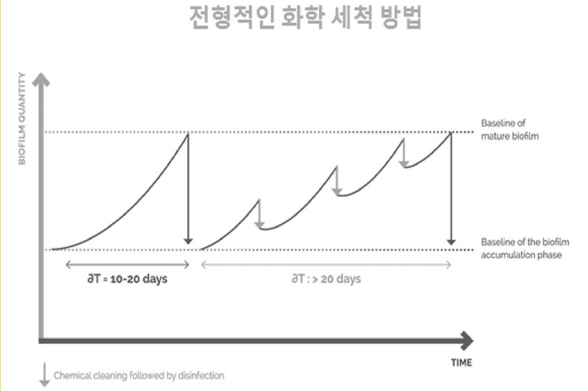
그림 5. 바이오 필름 검출 사례



하지만 바이오 파인더를 이용하면 원하는 장소에 분사 후 30초 이내 결과를 확인할 수 있습니다. 또한 인체 및 식품시설에 무해한 성분으로 물로 세척하거나 티슈로 제거할 수 있습니다.

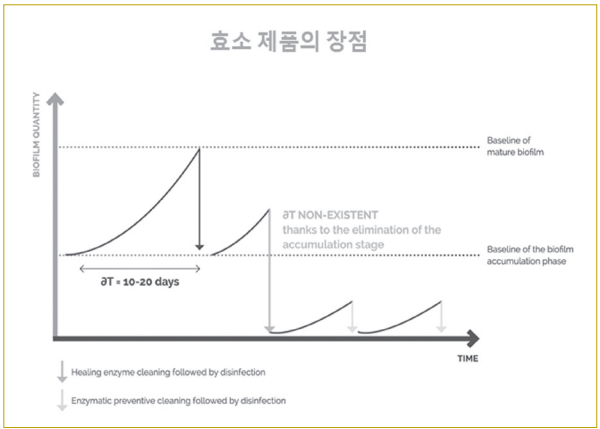
(2) 바이오 필름의 제거

바이오 필름은 기존 화학물질(살균제, 세척제)에 대한 내성이 강해서 제거가 어렵습니다. 이는 EPS가 살균제는 물론 환경적 변화(삼투압, ph, 온도등)로부터 바이오 필름을 보호합니다



일반적인 방법으로 세척제만 사용할 경우 성숙된 바이오 필름이 완전히 제거되지 않고 어느 정도 수준까지 제거되지만 이후 같은 방법으로 처리를 해도 저항성을 가지게 되어 더 많은 양의 세척제를 사용해야 됩니다.

효소제를 함께 사용하면 효소제로 인해 EPS가 분해가 되고 세척제로 바이오 필름을 거의 제거를 시킬 수 있으며 이후 EPS가 생성되기 전에 세척제로 완전히 제거를 시킬 수 있습니다.



따라서 iTRAM사의 바이오 제거제 (Bio Remover)는 효소 제품으로써 특히 바이오 필름의 EPS가 분해 및 제거하여 미생물은 더 이상 보호층 (Biofilm)을 갖지 못하게 합니다. 결론적으로 일반 소독제가 미생물과 직접 접촉할 수 있도록 하여 살균효과를 극대화시켜 줍니다.

바이오 제거제는 2가지 타입으로 되어있으며 Open Surface용과 CIP System용으로 되어 있습니다.

각각 제품은 오염 여부에 따라 1% ~ 3% 농도까지 희석하여 사용이 가능합니다.

세척 단계로 Rinsing〉 Cleaning 〉 Rinsing 후 바이오 제거제를 사용하여 Enzyme treatment 〉 Rinsing 마지막으로 살균 처리 〉 Rinsing단계를 거칩니다.

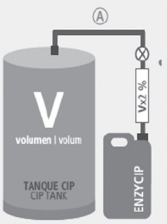
Open surface용으로 EnzyJET PLUS 와 BioJET을 혼합하여 희석해 포밍기를 이용해 사용을 하며 오염정도에 따라 1~3%로 희석해 사용하며 533L에서 최대 600L까지 사용이 가능합니다.

CIP Tank를 이용하여 라인청소를 할 경우 ENZY CIP제품을 사용하여 오염도에 따라 1~3%로 희석을 하여 사용하며 아주 높은 오염의 수준인 경우는 TENSIO CIP와 BIO CIP를 혼합하여 0.3 %농도로 희석하여 사용을 합니다.

Conventional Detergent Cleaning	1	Rinsing	표면에 더러운 부분 제거하고 물로 닦아준다.
	2	Cleaning	Alkaline-detegent를 사용하여 청소한다.
	3	Rinsing	물로 헹궈 깨끗하게 detergent를 제거한다.
Enzymatic Biofilm Removing	4	Enzyme treatment	오염정도에 따라 A , B 조합으로 처리한다.
	5	Rinsing	물로 거품을 제거한다.
Disinfection Sanitizing	6	살균 처리	기존 살균제를 사용하여 살균처리를 한다.
	7	Rinsing	물로 살균제 성분 제거 및 건조

A 일반적인 목적

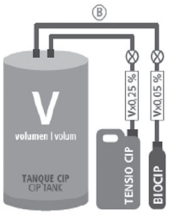
ENZY CIP 24L



ENZY CIP 제품을 최종농도 1~3%로 희석하여 사용한다. : 2% 효소액 1200 L 제조분량

B 높은 오염 수준

TENSIO CIP 5L + BIO CIP 1L



이 혼합액을 0.3% 농도로 희석하여 사용한다. : 0.3% 효소액 2000 L 제조분량

A 낮은 오염 수준

EnzyJET PLUS 5L

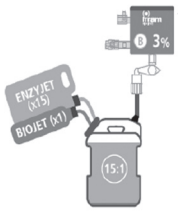
BioJET 1L

이 혼합액 6L를 자동 희석기에 연결 또는 물에 희석하여 1%로 사용 : 효소액 600 L 제조

B 높은 오염 수준

EnzyJET 15L

BioJET 1L



이 혼합액 16L를 자동 희석기에 연결 또는 물에 희석하여 3%로 사용 : 효소액 533 L 제조

주식회사 마이크로진
미생물 사업부 유병무
www.microgiene.com
T. 031 456 6535 Email. microgiene@gmail.com