안전한 단체급식소 환경을 위한 바이오필름 형성의 위험성과 제어 방법

Risk of Biofilm Formation and Inhibition Strategies for a Safe Food Service Environment

이현성, 임은섭, 구옥경*

Hyun Sung Lee, Eun Seob Lim, Ok Kyung Koo*

한국식품연구원

Korea Food Research Institute

서론

식중독이란 광의적으로 음식물을 섭취함으로써 발생하는 모든 질병을 의미한다. 과학의 발전에 따라 원인 규명과 치료에 대한 접근이 과거보다 용이해지고 식품 위생과 안전에 대한 이해가 높아진 결과, 식중독의 발생건수와 발생 환자 수는 줄어드는 추세를 보여주고 있다(표 1).

그러나 학교 및 기업체 등 단체를 대상으로 하는 급식시설이 늘어남에 따라 발생건수가 감소하는 비율에 비해 발생환자수는 크게 감소하지 않는 등 식중독의 발생이 대형화(전체 환자수의 약 52%, 표 1)되고 있으며, 특히 면역력이 성인에 비해 약한 청소년을 대상으로 한 학교급식에

표 1. 연도별 식중독 발생현황(식품의약품안전처-식중독 통계시스템)

구분		'07	'08	'09	'10	'11	'12	'13	'14 (~9월)	계
발생건수 (건)	전체	510	354	228	271	249	266	235	244	2,357
	단체 급식*	98	61	59	53	40	63	58	53	485
발생환자수 (명)	전체	9,686	7,487	5,999	7,218	7,105	6,058	4,958	6,260	54,771
	단체 급식*	4,533	3,616	3,435	4,189	2,521	3,431	2,855	4,026	28,606

* : 학교(직영), 학교(위탁), 기업체를 포함한 집단급식

* Correspondence to: Ok Kyung Koo
Korea Food Research Institute 1201-62, Anyangpangyo-ro, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 463-746. Korea
Tel: +82-31-780-9370 Fax: +82-31-709-9876 E-mail: okoo@kfri.re.kr

표 2. 원인물질별'12~'14년도(~9월) 식중독 발생현황 (식품의약품안전처-식중독 통계시스템)

원인물질	바실러스 세레우스	병원성대장균	살모넬라	장염비브리오균	캠필로박터 제주니	클로스트리디움퍼프리젠스	황색포도상구균	원인불명	계
발생건수(건)	21	98	43	23	30	67	17	327	626
발생환자수(명)	257	4,664	2,226	317	1,345	2,392	159	2,283	13,643

서 식중독이 발생할 경우 많은 인원의 환자가 발생하는 실정이다. 이에 대해 정부는 관련 법령을 제 · 개정하여 학교급식에 대한 안전성 여부를 관리하고 있으며, 특히 "학교급식법 제 10조" 및 "학교급식법 시행규칙 제4조제1항 〈별표2〉"에서 규정한 '학교급식 식재료의 품질관리기준'을 제시하여 식재료에 대한 안전을 확보하고자 노력하고 있다. 하지만 '02년 말까지 초 · 중 · 고교에 기본적인 급식시설 완료 후 '03년부터 전면 급식을 실시하면서, 현재 기존의 급식시설이 10년이상 경과되어 노후화한 실정이다. 이러한 노후화된 급식시설은 위생관리에 한계가 있기 때문에 학교급식으로 인한 식중독을 예방하기 위해 정부에서는 '15년까지 노후 급식시설을 현대화하기 위한 지원 등의 노력을 하고 있다. 그러나 최근까지도 학교급식을 통한 식중독은 여전히 심각한 문제로 대두되고 있다.'12년 9월 인천지역 7개학교에서 한 업체에서 생산한 김치에 의해 1000여명의 초중고 학생과 교사가 집단 식중독 증상을 보였으며, 특히 A 중학교는 전체 학생과 교사 중 62.24%가 식중독 증상을 보였다. 이는 장독소성대장균에 의한 감염으로 이 사고가 발생한지 1년 8개월만인 '14년 5월에 인천지역 10개 학교에서 또다른 업체에서 납품한 김치로 인해 1000여명의 학생과 교사가 식중독에 걸리는 사고가 있었다. 이 외에도 '14년 3월 경기도에서 학교급식으로 인한 372명의 식중독 환자가 발생하였고, 역학조사 결과 황색포도상구균이 그 원인으로 밝혀졌다. 이처럼 단체급식의 활성화에 따라 대형화된 식중독이 우려되기 때문에 식재료 선택부터 유통단계에 이르는 전과정에 걸쳐 주의를 필요로 한다.

식중독의 원인 물질로는 병원성 미생물(식중독균), 자연독, 화학 물질, 바이러스 등이 있으며, 앞서 언급한 식중독 사고와 마찬가지로 병원성 미생물에 의한 식중독이 가장 빈번하게 발생되고 있다. 실제로 '12년부터 '14년까지 발생한 식중독의 원인물질을 분석한 결과 원인 불명을 제외한다면 대부분 병원성 미생물에 의한 것임을 알 수 있다(표 2). 또한 같은 기간 동안의 총 식중독 발생건수(745)에 대한 병원성 미생물에 의한 식중독 발생건수(299)는 전체의 약 40%를 차지하지만, 발생환자수의 경우 총 식중독 환자수(17,276)에 대한 병원성 미생물에 의한 식중독 환자수(11,360)는 약 66%를 차지하고 있는 것을 볼 때(표 1, 표 2), 병원성 미생물을 제어하는 것이 식중독을 예방하기 위해 반드시 필요하다.

한편 경기지역의 총 375개 학교를 대상으로 한 '2014년 학교급식 식중독 예방진단 컨설팅 보고서'에 따르면, 5가지 평가 기준 가운데 교차오염관리가 가장 취약한 것으로 드러났다(2014년 학교급식 식중독 예방진단 컨설팅 보고서). 교차오염은 식중독 발생의 가장 중요한 원인으로 식재료, 기구, 용수 등에 오염되어 있던 미생물이 오염되어 있지 않은 식재료, 기구, 종사자와의 접촉 또는 작업과정에서의 혼입으로 인하여 미생물 전이가 일어나는 것을 말한다. 따라서 교차오염을 예방하기 위해서는 단체급식이 진행되는 모든 과정에서 미생물을 제어하기 위한 노력이 필요하다. 그러나 미생물은 다양한 방식으로 지속성을 가지며 우리 주변 환경에서 살아간다. 토양, 물 등의 환경뿐만 아니라, 원료 식품내에서 저장 및 유통기간 동안 살아남아 직접 섭취한 사람의 체내에서 지속 감염(persistent infection)을 일으키거나, 식품가공공정 환경에서 장기간 살아남아 이러한 환경에서 제조된 가공식품내에서 저

그림 1. 단체급식소 조리대 예시

장 및 유통기간 동안 생장 없이 생존하기도 한다. 식품내에 존재하는 병원성 미생물을 제어하기 위한 노력에도 불구하고 미생물은 다양한 방식으로 지속성을 가지며, 그 중 한 가지 방식이 병원성 미생물이 형성하는 바이오필름(biofilm)이다.

바이오필름이란 미생물이 영양상태가 낮은 환경에서 살아남기 위해 비가역적으로 표면에 부착하여 존재하는 고착 상태의 미생물 커뮤니티로 최근 연구를 통해 병원성 미생물이 다른 미생물들과 함께 식품 또는 식품공정표면에 붙어 군집을 형성함으로써 오랜 기간 살아남을 수 있음이 밝혀졌다. 이렇게 형성된 바이오필름은 항생제나 항균제로부터 더 큰 저항성을 가지며 살균과정에서 제거되지 않고 다른 식품과 직간접적인 접촉을 통해 2차 오염을 야기함으로써 공중위생에 심각한 문제를 초래할 수 있다. 또한 식중독균에 의한 교차오염뿐만 아니라 부패균에 의한 오염으로 식품의 품질 및 유통기한에 심각한 영향을 줄 수 있기 때문에 반드시 바이오필름의 제거가 필요하다. 게다가 신속히 바이오필름을 제거하지 않을 경우, 각종 살균제 등에 지속적인 노출에 의한 강한 내성을 가지게 되어 이들의 제거가 더욱 어려워지게 된다.이에 따라 본 고에서는 바이오필름의 형성 기작을 통해 이에 대한 이해를 높이고 바이오필름이 식품에 끼칠 수 있는 영향 및 제어 방법에 대해 살펴보고자 한다.

바이오필름

바이오필름은 미생물이 세포외중합체(extracellular polymeric substances, EPS)의 매트릭스에 내장되어 있는 형태로 존재하며 바이오필름 형성으로 인해 미생물은 유전자 발현, 단백질 생성, 생장에 있어 변형된 표현형을 보여준다. 또한 바이오필름 내에는 세균, 곰팡이, 효모, 원생동물 등과 같은 다양한 미생물이 존재하며 이 외에도 수분이 80-90%를 차지하고 있으며 EPS는 유기물의 85-98%를, 그리고 그 외에도 다당류, 단백질과 같은

유기물과 부식 입자, 점토, 토사, 미네랄 결정 등의 무기물을 포함하고 있다(Donlan, 2002; Flemming, 1998). 혐기성균의 경우 바이오필름 환경은 EPS등의 물질로 이루어진 보호막을 형성하면서 이들이 증식할 수 있는 환경을 제공해 주며, 바이오필름은 수백가지의 다양한 미생물들이 공존할 수 있는 환경을 제공한다. 만약 특정 미생물이 생장하기 어려운 상황에 이르렀을 경우, 기존의 바이오필름에서 분리되어 생장에 유리한 환경으로 이동한 후 새로운 바이오필름을 형성하면서 그 영역이 확대되는데, 이러한 특성은 교차오염의 위험을 더욱 증가시키는 것이다. 뿐만 아니라 비록 바이오필름 내에서 미생물은 영양원의 사용을 최소화시키고 성장수율을 최대화 시키기 위해 낮은 증식 속도를 보이지만(Kreft, 2004), 유전자 전이(gene transfer)를 통해 미생물의 유전적 다양성을 증가시킴으로써 항생제 내성 유전자와 관련 유전자들의 공급이 가능하도록 하며, 특히 접합플라스미드(Conjugative plasmids)에 선모(pilli)를 인코딩하는 경우 대장균과 그 외 그람 음성균의 식품접촉표면 부착을 도와준다(Ghigo, 2001). 이러한 특성 때문에 바이오필름을 형성한 미생물은 부유 미생물(planktonic)에 비해 항생제나 항균제에 대한 저항성이 높고, 특히 항균제의 경우 10-1000배까지의 내성을 보인다(Mah and O'Toole, 2001). 또한 식품 항생제, 항균제뿐만 아니라 pH, 영양성분 및 산소와 같은 환경 조건의 변화나 인간의 면역 반응에 있어서도 내성을 가지고 있다. 따라서 바이오필름을 형성한 미생물의 경우 단체급식소에서 세척 또는 살균 과정을 거쳐도 제거되지 않고 생존할 가능성이 높으며, 살아남은 병원성 미생물은 식품, 기기 및 조리도구 등에 부착하여 교차오염을 통해 식재료 및 조리된 식품에 잔존하게 되어, 결과적으로 식중독을 유발할 수 있다.

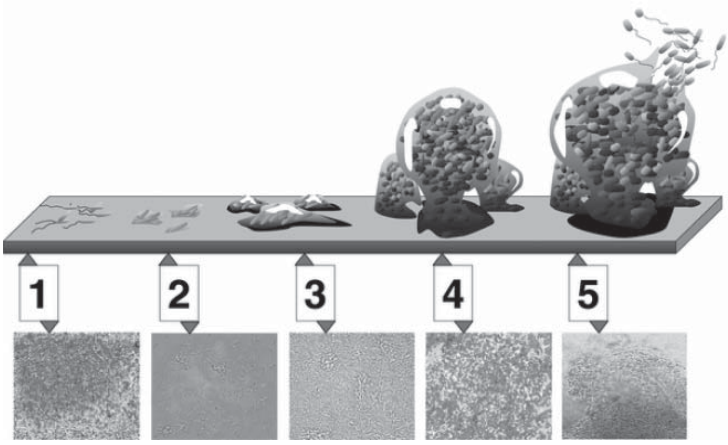

그림 2. 바이오필름 형성 5단계 (Monroe, 2007)

바이오필름형성 기작

바이오필름은 여러 단계를 거치면서 표면에 가역적인 상태에서 비가역적으로 부착된 상태로 변화하게 된다(Fratamicoet al., 2009). (그림 2)

1. 초기 부착 단계 (가역적인 단계)

미생물이 임계 표면에 근접하여 부착할 수 있는 능력은 미생물과 표면간의 정전기적인 또는 소수성 결합과 같은 인력과 반발력의 순 합에 영향을 받는다. 이 단계는 불안정하고 가역적인 단계로 비호의적인 환경에서는 쉽게 분리될 수 있다. 이미 부착되어 있는 상태의 미생물은 다른 미생물의 부착을 용이하게 할 수 있다. *Staphylococcus epidermidis*의 경우 세포와 세포간의 부착과 바이오필름 형성에 필수적인 polysaccharide intracellular adhesion (PIA)을 생산하여 다른 미생물의 부착을 유도할 수 있다(Dunne, 2002).

2. 비가역적인 부착 단계

이 단계에서는 초기의 물리적인 단계에서 발전하여 수소결합, 이온결합, 결합 쌍극자와 같은 상호작용을 통해 미생물의 표면 부착 상태가 가역적인 단계에서 비가역적

으로 발전하도록 한다. 보다 강력한 부착 상태는 세균의 이동에 관여하는 선모와 편모, 미생물 표면의 단백질이나 지질다당류 (LPS) 등에 의해 용이해진다. 특히 편모는 미생물의 초기 부착에 매우 중요한 작용을 하며 바이오필름을 형성한 미생물은 유전자형이나 표현형의 변화로 바이오필름의 성숙을 유도한다.

3. 미세군락 형성 단계

표면 부착 미생물은 EPS 매트릭스에 내장되어 미세군락을 형성하기 시작하여 거대집락을 이루게 된다. 미생물의 수는 다음과 같은 경로를 통해 증가하게 된다. 표면에 부착한 미생물이 이동성을 최대한 활용하여 이미 형성된 미세군락에 포함되거나 부유 미생물이 직접 미세군락에 부착하거나, 세포 분열을 통해 미세군락 내에서 증식하여 그 수를 늘리게 된다. *Pseudomonas*의 경우 버섯과 같은 형태의 기둥을 형성하며, 이동성이 있는 균의 경우 버섯의 갓 부위에 이동성이 없는 균은 버섯의 기둥부위에 모여 바이오필름을 형성한다(Klausen et al., 2003).

4. 바이오필름성숙 단계

바이오필름 내 미생물에 의한 세포외 대사 물질들이 바이오필름의 유무기물과 상호작용을 하며 글리코갈릭스(glycocalyx)를 생성하면서 바이오필름의 전체적인 밀도를 높여준다. 실질적인 바이오필름의 성숙은 내부 pH, 산소량, 탄소원, 온도, 삼투압, 주변 물질들의 유동성에 의해 결정된다. 특히 식품접촉표면에 영향을 받는데 음전하를 띄면서 높은 에너지를 가지는 표면으로는 그 예로 친수성인 유리, 금속 및 광물이 있으며 낮은 에너지를 가지는 표면으로는 낮은 양전하 또는 낮은 음전하를 띄며 소수성인 플라스틱 또는 유기중합물로 만들어진 용기가 있다. 바이오필름 내부에서도 가장 바깥 표면에 존재하는 미생물은 비활성 상태 또는 사멸하게 되는데, 이는 영양분 부족, pH 또는 pO2의 감소, 독성 부산물의 축적으로 기인한다.

5. 바이오필름으로부터 세포의 분리 및 분산

바이오필름의 두께, 미생물에 의한 기포, 탄소원 함량, 미생물의 생장 상태, 쿼럼센싱 신호, 혐기성 미생물의 활성, EPS 특이적인 효소에 의한 EPS 분해 등의 작용으로 인해 미생물은 바이오필름으로부터 나와 새로운 위치에서 바이오필름 형성을 새로이 시작하게 된다. 이러한 분리는 다양한 형태로 이루어지는데 자발적이면서 지속적으로 적은 부분이나 단일 세포의 지속적 분리인 침식(erosion), 자발적이면서 많은 부분의 빠른 손실인 붕괴(sloughing), 물리적인 수단을 이용하여 바이오필름을 벗겨내거나(grazing), 마모(abrasion)과 같이 인위적으로 이루어지기도 한다.

바이오필름에 의한 식중독 발병 사례

2011년 장관 출혈성 대장균 O104:H4으로 독일에 3,800여명 포함 유럽 전역에 4천여명의 발병자와 50여명의 사망자를 낸 집단 식중독 사고의 경우 해당 발병균주의 게놈 유전자 분석 결과 바이오필름 조절자(regulator) CsgD와 amyloid curli fibers에 대한 발현이 지속적이며 다른 병원성 대장균과는 다른 바이오필름 관련 특이적인 활성을 보였다.특히 이번 발병 사고는 22%이상의 용혈성 요독 증후군(Haemolyticuraemic syndrome, HUS) 환자가 발생하며 장관 출혈성 대장균에 의한 사고중 가장 높은 비율로 기록되어진다(Richter et al., 2014).

2008년 살모넬라 아고나(*Salmonella Agona*) 관련 발병 사고의 경우 미국의 한 시리얼 생산 공장에서 비롯된 것으로 해당 식중독균의 유전자형을 조사해본 결과 동일 공장에서 1998년 발생한 식중독 사고 원인균과 일치한 것으로 밝혀졌다. 이 공장은 1998년 사고 후 해당 구역을 살균소독 처리하고 연루 지역을 봉쇄하기 위해 에폭시 마감재를 이용하여 벽을 막았으나 살모넬라균이 살아남아 공장 환경을 오염시키면서 식품에 전이되어 감염을 일으킨 것으로 확인되었다(Russo et al., 2013).

바이오필름을 형성하는 주요 식중독균으로 리스테리아모노사이토젠를 꼽을 수 있다. 2000년 델리카트 칠면

조 고기를 섭취한 사람들 중 30여명이 리스테리아균에 감염되었고 4명이 사망하였으며 이로 인해 730만kg의 식품 회수가 이루어졌다. 식중독 발병 균주의 유전자형을 분석한 결과 역시 동일 가공공장에서 1988년 발생한 칠면조 소시지 관련 식중독 사고균과 동일한 것으로 확인되었다. 이는 같은 식품공장에서 무려 12년이나 지난후에도 살아남은 리스테리아균의 위험성을 보여주고 있다 (Orsi et al., 2008). 이 외에도 스위스에서 1983년과 1987년에 각각 발생한 치즈 관련 식중독 사고, 2008년 캐나다와 1998-1999년 미국에서 발생한 집단 식중독 사고는 모두 식품공정 환경 내 지속적으로 살아남는 리스테리아에 의한 것으로 궁극적으로 바이오필름을 잘 형성하는 특성에 기인한다 (Ferreira et al., 2014).

바이오필름의 제거 및 제어 방법

바이오필름은 식품 공정 표면에 전형적으로 존재하는 다양한 오염물질과 마찬가지로 식품안전을 위해 반드시 제거되어야 할 오염물질 중 하나이다. 그러나 바이오필름은 쉽게 제거되지 않으며 이에 따라 바이오필름을 형성한 병원성 미생물은 식품가공공정 중에 생존할 가능성이 높다. 최근 한 연구는 식품가공공장 내에 리스테리아균이 지속적으로 생존하고 있으며, 특히 핀란드의 식품가공공장에서는 그 기간이 8년에 이르는 등 식품산업에서 바이오필름의 위험성을 보여주고 있다(표 3). 또한 이 연구에서는 미생물의 오염이 비교적 쉬운 축산물 및 수산물은 물론 미생물의 생육이 어려운 환경인 냉동제품에 이르기까지 다양한 식품을 생산하는 공장에서 리스테리아를 분리하였고, 포장재와 최종 생산 제품에서조차 리스테리아를 분리한 결과를 보여주어 미생물의 지속성과 교차오염에 의한 바이오필름의 위험성을 경고하고 있다(표3). 이처럼 바이오필름은 미생물에 강력한 지속성을 부여하기 때문에 바이오필름 내 병원성 미생물을 효과적으로 제거하기 위해서는 바이오필름을 형성하는 주요 물질인 EPS를 제거하는 것이 일차적으로 이루어져야한다. 미생물간의 물질 전달에 관여하고 주요 영양원으로 역할을 하는 EPS는 살균제만으로는 제거하기가 어렵기 때문에 세척 단계가 필요하다.

세척 단계

살균단계 이전의 세척 단계는 매우 중요하다. 세척 단계는 바이오필름의 EPS등 오염물질을 제거함으로써 살균단계에서 미생물이 살균제에 직접 접촉이 가능하게 한다. 결국 미생물의 살균제에 대한 민감도를 증가시켜 살균제의 효율성을 높여주기 때문에 효과적으로 바이오필름 형성 미생물을 제거 및 제어할 수 있도록 한다. 또한 살균제와 마찬가지로 세척제 역시 항균 활성을 가지고 있어 미생물 제어 효과를 기대할 수 있다.

세척의 정도는 시간(Time), 기계적인 작용(Mechanical action), 세척제(Chemical), 온도(Temperature)에 따라 그 효과는 상이하다. 여기서 시간은 세척제의 표면과의 접촉 시간, 기계적인 작용은 표면에 손상을 가지 않는 선에서의 고압 스프레이와 같은 물리적인 힘, 세척제는 계면활성제, 산성 또는 알칼리 세척제, 효소 등의 포함여부, 그리고 온도는 세척제의 활성 및 제조설비에 영향을 주지 않는 선에서 세척 능력을 높여줄 수 있을 정도의 고온 사용을 말한다. 세척의 정도를 설정하는 것은 식품가공공장의 환경에 따라 다르지만, 적절하지 못한 세척의 정도는 식품제조 설비를 변형시키거나 오히려 바이오필름을 증가시킬 수 있는 원인이 되므로 주의해야 한다. 예를 들어 스테인레스스틸과 PVC가 함께 구성된 제조설비를 세척하기 위해 75℃에서 세척을 시도한다면 PVC로 구성된 설비는 고온에서 변형될 수 있고, 위의 제조설비에 염소계 세척제를 이용하여 지속적인 세척이 이루어질 경우 스테인레스스틸이 손상되어 손상부위에서 바이오필름이 형성될 수 있다.

또한 세척의 범위를 정확히 파악하는 것이 필요하다. 식품제조 설비의 손상부위 이외에도 접촉이 어려워 세척이 힘들거나 규칙적인 표면 상태 확인이 쉽지 않은 지점에서 주로 오염이 이루어지는데, 이러한 주요 오염가능 지점을 파악하고 분류하여 효과적인 세척을 진행하여야 한다.

표 3. 식품가공공장내 일정 기간동안 지속성을 보인 리스테리아분리균 목록 (Ferreira et al., 2014)

Type of processing plant	Country	Number of plants	Number of persistent isolates	Duration of observed persistence	Source of isolates	Publication year
Ice cream	Finland	1	26	7 years	Production environment, production equipment especially packaging machine, ice cream	1999
Salmon	Norway	3	17–50	9–21 months	RTE seafood, raw seafood, processing environment, transport terminal	2000
Cold–smoked salmon	Denmark	2	48–147	5 months, 4 years	Contact surfaces, production environment, final product	2001
RTE smoked fish	USA	4	0–32	2 years	Raw materials, food contact surfaces, nonfood contact surfaces, finished product	2004
Poultry meat	UK	1	35–184	5–6 months	Raw poultry products, raw poultry and cooked poultry processing environment	1995
Meat	Norway	1	15	4 years	Production envrionment, waste and cold cuts	1996
Meat	Switzer–land	1	26–43	2 years	Machines and equipment of slicing and packing area, packing area and meat products	2000
Fermented meat sausages	Portugal	7	127	10–32 months	Finished products	2011
Chilled pizza, pasta, and RTE meats	Finland	1	4–174	22 months – 8 years	Raw material, environment, equipment and products	2007

살균 단계

세척 단계를 거쳐 오염물질을 제거한 후, 살균 단계를 통해 미생물의 사멸을 효율적으로 유도할 수 있다. 기존 식품 가공 환경에서는 염소계 살균소독제가 가장 많이 이용되고 있고, 이외에도 알코올계 및 과산화수소 등 다양한 화학 살균소독제가 사용되고 있다(그림3). 비교적 저렴하고 사용이 간편한 장점으로 염소계와 알코올계 살균소독제가 보편적으로 이용되지만 식품과 같은 유기물이 존재할 때, 그 활성이 떨어지는 단점이 있다. 비단 염소계와 알코올계 살균소독제뿐만 아니라 유기물 존재 하에서 많은 살균소독제의 활성이 떨어지는 경향을 보이지만(표 4), 그 특성에 대한 정확한 기작은 아직까지 연

표 4. 바이오필름 형성 황색포도상구균의 표면 재질, 유기물에 따른 살균소독제의 효과 분석표 (Kuda et al., 2008; Kuda et al., 2011)

Surface material	Sanitizer type	Sanitizer component	Log CFU reduction			
			Control	Milk	Beef gravy	Tuna gravy
Stainless steel	Surface active agents	Benzalkonium chloride	6.63	2.5	3.77	3.2
Polystyrene	Surface active agents	Benzalkonium chloride	5.6	1 .85	2.46	2.78
Surface material	**Sanitizer type**	**Sanitizer component**	**Log CFU reduction**			
			Control	**Albumin**	**Egg yolk**	**Whole egg**
Glass	Halogens	Alkyldiminoethylgly–cine hydrochloride	5.6	1.8	0	0.1
Glass	Surface active agents	Benzalkonium chloride	5.6	7.5	0	0.5

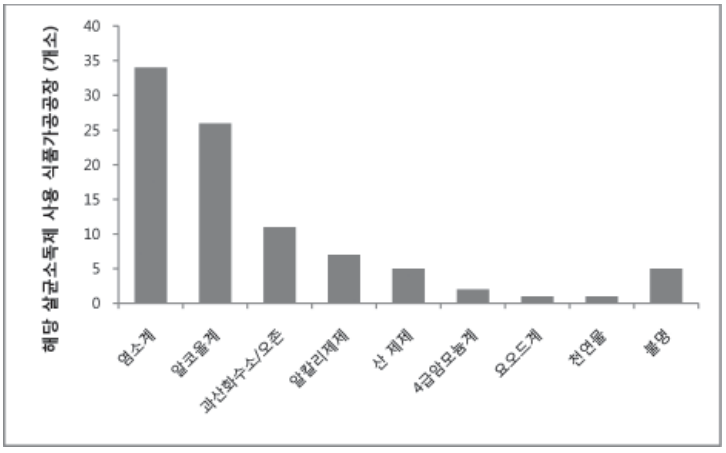

그림 3. 국내 식품가공공장 주요 사용 살균소독제의 원료 분포
(식품의약품안전처 용역연구개발사업 연구결과보고서 2004)

구가 미흡한 실정이다. 다만 4급 암모늄계 살균소독제는 유기물 존재 하에서도 안정적인 활성을 보여 일부 식품가공공장에서 사용하고 있으나 표면에 오래 잔류하기 때문에 선택적으로 사용되고 있다. 반면 과산화물계 살균소독제는 잔여물이 남지 않아 친환경적인 살균소독제로써 식품 산업계에서널리 사용되고 있다. 그러나 대부분의 병원성 미생물들은 카탈레이스(catalase)와 peroxidase 등 산화적 스트레스(oxidative stress)에 대한 저항 메커니즘을 가지고 있어 높은 농도로 사용하여야 병원성 미생물을 제거 할 수 있다. 하지만 높은 농도의 과산화물계 살균소독제가 식품에 직접 접촉할 경우 식품이 산화 또는 탈색되는 등 식품의 품질이 변화하기 때문에 국내에서는 다른 살균소독제와는 달리 식품용 용기와 포장지에 직접 사용하는 것을 금지하고 있으며, 단지 식품 제조 설비나 기구에만 적용한 뒤 반드시 세척 후 설비나 기구를 사용하도록 요구하고 있다 (표 5).

한편 화학적 살균소독제 처리가 미생물의 사멸을 가능하게 하는 반면 바이오필름의 제어에는 한계가 있으므로, 보다 확실한 바이오필름 제거를 위해서는 물리적인 제거 작업이 함께 이루어져야 한다. 이에 따라 다양한 물리적 제어 방법이 동원되는데 대표적으로 고압 세척, 스팀, 초음파, 스크럽 등이 있으며, 이러한 방법은 화학적 살균소독제가 닿지 못하는 곳에 효과적으로 사용이 가능하기 때문에 널리 활용되고 있다(Ban et al., 2012). 그러나 화학적 살균제와는 다르게 물리적인 제어만을 사용할 경우 미생물의 사멸 효과는 기대할 수 없다. 따라서 화학적 및 물리적 방법은 물론 더 나아가 생물학적인 방법들의 적절한 조합을 통한 (Hurdle technology) 보다 효율적인 바이오필름의 제어 기술이 필요하며, 이를 위한 연구가 지속적으

표 5. 주요 살균소독제 종류 및 특성

	정의*	종류*	활성	장점	단점
염소계	유효성분으로 이염화이소시아눌산나트륨, 차아염소산, 이산화염소 같은 염소화합물을 포함하는 것.	이염화이소시아눌산나트륨제제, 차아염소산나트륨제제, 차아염소산수, 이산화염소제제 외 13종	• 일반 세균은 물론 포자나 바이러스까지 넓은 범위에 강한 살균력을 가지고 있음.	• 비교적 저렴함. • 냄새를 제거해줌. • 추가적인 물세척이 필요하지 않음.	• 구리, 니켈, UV, 또는 유기물 존재하에 활성이 급격히 떨어짐 (경수조건, 음식물 찌꺼기 존재하에 활성이 떨어짐) • 희석액은 그 활성이 빠르게 감소함 • 알루미늄등 일부 무른 금속을 부속시킴 • 자극성 기체 발생 • 염기조건에서 활성이 떨어짐
요오드계	유효성분으로 요오드를 함유하는 것.	요오드, 요오드칼륨 외3종	• 세균, 효모, 곰팡이등 넓은 범위의 강한 살균력을 가지고 있음. 포자나 박테리오파지에는 살균력이 떨어짐.	• 보관기한이 길다 (2년 정도) • 경수, 연수 모두 효과 좋음 • 유기물 존재하에도 활성이 잘 떨어지지 않음. • 잔류효과로 인해 바이오필름 형성을 방지할 수 있음	• pH 7 이상에서는 효과가 떨어짐(pH 4 정도의 산성조건에서 효과가 좋음.) • 다공성 물질이나 플라스틱에 염색이 될수 있음 • 비교적 비쌈 • 49℃ 이상의 고온에서는 스테인레스를 부속시킬수 있음.
과산화물계	유효성분으로 과산화초산, 과산화옥탄산, 과산화수소, 옥탄산 및 초산을 함유하는 것.	과산화수소, 과산화옥탄산, 과산화초산	• 세균, 효모, 곰팡이, 바이러스, 포자등에 광범위한 살균소독력을 가짐	• 보관기한이 비교적 길다 (1년정도) • 금속을 부속시키지 않음 • 경수에 사용 가능 • 잔여물을 남기지 않으므로 친환경적임 • 넓은 pH, 온도 가용범위를 가짐	• 과산화수소: 과산화수소를 분해하는 카탈라아제, Superoxide dismutase를 생산하는 미생물들로 인해 높은 농도를 사용해야 함. 고온에서 살균력 증가 • 과산화초산: 낮은 안정성을 보이기 때문에 초산과 과산화수소를 과량 함유하고 있음. 강한 초산냄새. 황동, 구리, 철 등에 강한 부식성을 나타냄.
알코올계	유효성분으로 알코올을 함유하는 것	에탄올 외 5종	• 그람음성균(대장균등)에 효과가 좋으나, 포자, 바이러스에 대해서는 살균력 낮음	• 저렴하며 사용이 간편하다 • 부식성이 낮다 • 기구 등의 살균소독제로 가장 많이 사용됨	• 물에 희석없이 알코올 자체만으로는 살균력이 떨어짐. 보통 70%로 희석하여 사용. • 유기물 존재하에 살균력 떨어짐 • 저온사용시 살균력 떨어짐(상온사용 권장) • 분무후 닦아내면 살균력 떨어짐. 5분이상 방치

4급 암모늄계 (계면활성제)	유효성분으로 4급암모늄을 함유하는 것.	염화-N-데실-N,N-디메틸-1-데칸아미늄제제, 염화알킬(C12-C18)벤질디메틸암모늄제제(염화벤잘코늄) 외 5종	• 다양한 균에 있어 살균력을 가짐	• 보관기한이 매우 길다 • 부식성이 없다 • 넓은 pH, 온도 가용범위를 가짐 • 유기물 존재하에도 안정적임	• 표면에 오래 잔재함 • 거품을 발생시킨다 • 일부 그람음성균에 효과가 떨어진다.

§ 분류된 5가지 살균소독제는 아래의 식품용 기구등의 살균소독 목적 이외에 사용하여서는 아니 된다. (단, 허용농도는 품목별 상이)*

1. 식품용 기구등의 살균소독 목적으로 사용한 경우
   1) 식품접객업용 기구등, 집단급식소용(1회 50인미만 제공 급식소용 포함) 기구등
   2) 유가공용 기구등
   3) 식품의 제조 · 가공용기구등
2. 식품용 용기 · 포장의 멸균 목적으로 사용한 경우
   1) 멸균수로 헹구거나 열풍건조시켜 제거하여야 한다.
   2) 잔류량 실험을 실시하여야 하며, 용기 · 포장 중의 과산화수소 잔류량은 0.5mg/L이하이어야 한다.

단, 과산화물계의 경우 식품용 용기 · 포장에 사용을 금지한다.

*「식품위생법」 식품첨가물의 기준 및 규격고시(고시 제2014-176호). Ⅲ. 기구등의 살균소독제 기준.

로 진행되어야 한다. 또한 화학적 살균제의 바이오필름 형성 미생물에 대한 제어 효과를 연구한 경우는 많은 반면, 그 기작에 대한 연구는 비교적 제한적으로 진행되어 왔다. 식품가공공정에서 사용되어 온 소독제의 항균 활성이 바이오필름 제거에 의한 것인지 또는 바이오필름 투과를 통한 미생물 사멸의 효과인지는 아직 확실히 알려진 것이 없는 것이 현실이다. 따라서 보다 효율적인 바이오필름의 제어를 위해서는 이에 대한 연구가 절실하다. 특히 식품과 같은 유기물 환경에서 활성이 떨어지는 살균제의 경우 그 특성에 대한 정확한 인식과 계면활성 성분의 적절한 조합을 통해 활성을 높일 수 있을 것으로 생각되는 만큼 이 분야에 대한 연구가 반드시 수행되어야 할 것이다.

맺음말

온도, 습도는 물론 다양한 식재료 유입 및 조리 과정을 통한 교차오염의 위험 등에 비추어 볼 때, 식품 가공 및 조리환경은 미생물의 생장과 바이오필름형성에 적합한 환경을 갖추고 있다. 따라서 식품 가공 및 조리환경에 대한 지속적이고 규칙적인 세척과 Hurdle technology를 통한 바이오필름 제어 등의 안전관리가 필요하며, 이를 위해 보다 효과적인 세척 방법 및 Hurdle technology의 개발이 요구된다.

감사의 글

본 연구는 한국식품연구원의 연구비지원(E0142014297)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Ban GH, Park SH, Kim SO, Ryu S, Kang DH. Synergistic effect of steam and lactic acid against Escherichia coli O157:H7, SalmonellaTyphimurium, and Listeria monocytogenes biofilms on polyvinyl chloride and stainless steel. Int J Food Microbiol. 2012. 157:218–223.

2. Dolan R. Biofilm: Microbial life on surfaces. *EmergInfec* Dis. 2002. 8(9):881–890.

3. Dunne WM. Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately? *J. Clin. Microbiol*. 2002. 15:155–166.

4. Ferreira V, Wiedmann M, Teixeira P, Stasiewicz MJ. *Listeria monocytogenes* Persistence in Food–Associated Environments: Epidemiology, Strain Characteristics, and Implications for Public Health. *J Food Protect*. 2014. 77(1):150–170.

5. Flemming HC. Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. *J Pol Degrad Stab*. 1998. 59:309–315.

6. Fratamico PM, Annous BA, Guenther NW. 2009. Biofilms in the Food and Beverage Industries.Woodhead Publishing ISBN: 978–1–84569–477–7.

7. Ghigo JM. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*. 2001. 412:442–445.

8. Klausen M, Heydorn A, Ragas PC, Lambertsen L, Aaes–Jorgensen A, Molin S, Tolker–Nielsen T. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella, and type IV pili mutants. *MolMicrobiol*. 2003. 48:1511–1524.

9. Kreft JU. Biofilms promote altruism. Mirobiology. 2004. 150:2751–2760.

10. Kuda T, Yano T, Kuda MT. Resistances to benzalkonium chloride of bacteria dried with food elements on stainless steel surface. *LWT–Food Sci Tech*. 2008.41(6): 988–993.

11. Kuda T, Iwase T, Yuphakhun C, Takahashi H, Koyanagi T, Kimura B. Surfactant–disinfectant resistance of *Salmonella* and *Staphylococcus* adhered and dried on surfaces with egg compounds. *Food Microbiol*. 2011. 28(5): 920–925.

12. Mah TF, O'Toole GA. 2001. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents.*Trends Microbiol*. 9(1):34–39.

13. Monroe D. Looking for Chinks in the Armor of Bacterial Biofilms.*PLoS Biol*. 2007. 5(11): e307.

14. Orsi RH, Borowsky ML, Lauer P, Young SK, Nusbaum C, Galagan JE, Birren BW, Ivy RA, Sun Q, Graves LM, Swaminathan B, Wiedmann M. Short–term genome evolution of *Listeria monocytogenes* in a non–controlled environment. *BMC Genomics*. 2008. 9:539 – 555.

15. Richter AM, Povolotsky TL, Wieler LH, Hengge R. Cyclic–di–GMP signalling and biofilm–related properties of the Shiga toxin–producing 2011 German outbreak *Escherichia coli* O104:H4. *EMBO Mol Med*. 2014. 6(12): 1509–1639.

16. Russo ET, Biggerstaff G, Hoekstra RM, Meyer S, Patel N, Miller B, Quick R. A Recurrent, Multistate Outbreak of Salmonella Serotype Agona Infections Associated with Dry, Unsweetened Cereal Consumption, United States, 2008. *J Food Protect*. 2013. 76(2): 227–230.