Journal of Biotechnology and Bioindustry
Vol.8, December, 2020. 1~5
https://doi.org/10.37503/jbb.2020.8.1

미생물학적 식품안전을 위한 박테리오파지의 이용

이 석 규·육 현 균*

충청북도 증평군 대학로 61 한국교통대학교 보건생명대학 식품공학전공 27909

Application of Bacteriophage for Microbiological Food Safety

Seok Gyu Lee and Hyun-Gyun Yuk*

Department of Food Science and Technology, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

ABSTRACT

The growing interest in biopreservation of food has impelled demand for new natural antimicrobial agents from various origins. Bacteriocins and natural extracts have been widely applied as natural food biopreservatives but also some latest advances on biopresertatives have activated new fields to explore. By comparison, the application of bacteriophages has only begun in the last ten years and recent developments have generated potential perspectives. This review will outline basic knowledge and current utilizations of bacteriophage in food industry to improve microbiological food safety. According to this state-of-the-art researches, future research trends and applications of bacteriophage that deserve growing attention have been discussed.

Key words : biopreservation, bacteriophage, antimicrobial activity, foodborne pathogens

Ⅰ. 서 론

식중균에 의한 식품매개질환은 전 세계적으로 발생하는 문제로 심각한 공중 보건 문제 중의 하나로 인식되어 오고 있다. 따라서 식품산업에 있어서 맛있고 영양적인 식품을 소비자에게 제공하는 것뿐만 아니라, 질병을 일으킬 수 있는 식중독세균이 존재하지 않는 안전한 식품을 공급하는 것 또한 중요하다. 현재까지 식품에 존재하는 식중독 세균의 저감화를 위해 화학적 보존제 첨가와 같은 화학적인 방법과 더불어 다양한 물리적 방법, 즉 가열, 초고압, 감마선, 방사선 처리와 같은 방법을 주로 사용해 왔다. 하지만, 이러한 화학적 또는 물리적 식품 가공 기술은 몇 가지 단점을 가지는데, 예를 들면 화학적 보존제에 의한 소비자의 과민성 반응과 다량 첨가 시 인체 독성이 나타날 수 있으며, 물리적인 방법을 사용했을 시 식품의 영양성분이나 관능적 특성이 변화될 수 있다(1, 2). 이러한 화학적 또는 물리적 식중독 저감화 기술을 대체하기 위해 다양한 생물학적 제어법이 최근 들어 많이 연구되고 있다.

생물학적 식품보존기술에는 유산균 유래의 박테리오신 또는 유산균 생균체의 이용, 박테리오파지에서 생산되는 항균 효소인 엔도라이신의 이용, 그리고 박테리오파지의 직접적인 이용 등이 연구되고 있다(3). 이러한 생물학적 제어법은 천연 식품보존기술로서 각광 받고 있으며, 화학적 및 물리적인 방법에 비해 식품의 품질에도 영향을 미치지 않을 뿐만 아니라, 식중독균의 저감화도 효과적으로 수행할 수 있어 많은 이점을 가지고 있다. 따라서 본 논문에서는 생물학적 식품보존기술 중에서 박테리오파지가 식품안전을 위해 어떻게 이용될 수 있는지 살펴보고자 한다.

Ⅱ. 본 론

1. 박테리오파지(Bacteriophage)

박테리오파지는 박테리아를 숙주세포로 하는 바이러스의 일종으로 박테리아에만 특이적으로 결합하기 때문에 인체 독성을 나타내지 않는다. 이러한 특징으로 인해 박테리오파지는 세균에 의해 발생된 감염의 임상 치료에도 널리 이용되어 오고 있다(4). 현재까지의 박테리오파지에 대한 연구를 요약하면, i) 가축의 질병을 예방하거나 억제하기 위한 사료첨가제로서의 사용, ii) 농・축・수산물의 위생품질을 향상

* yukhg@ut.ac.kr

시키고 식품 가공 장비나 표면에 대한 오염도를 줄이기 위한 사용, 마지막으로 iii) 부패하기 쉬운 식품의 유통기한을 연장하기 위한 사용이 있다. 예를 들어, 닭고기에 박테리오파지를 처리했을 때 *Salmonella* spp.(5)와 *Camphylobacter* spp.(6)의 생육이 억제되는 것을 확인했으며, 또한 신선 채소류에서도 식중독 세균의 저감화에 박테리오파지의 첨가가 효과적임이 밝혀졌다(7). 또한 박테리오파지는 바이오필름 형성을 억제할 수 있으며(8), 식품 종사자의 비강에 존재하는 *Staphylococcus aureus*의 감소에도 효과적인 것으로 알려져 있다(9). 따라서 본 장에서는 박테리오파지가 식품의 미생물학적인 품질 향상에 어떻게 적용되어 왔는지 살펴보고자 한다.

2. 박테리오파지의 식품에 대한 적용

1) 가축 및 가금류

육제품에 의한 식중독 사고를 줄이기 위해서는 가장 먼저 원료가 되는 가축에 대한 방제가 필요하다. 농장에서는 가축의 질병을 감소시키고, 생산량을 늘리기 위해 항생제를 주로 사용해 왔다. 하지만, 항생제 남용으로 인한 박테리아 항생제 내성에 대한 우려가 증가하고 있어 이의 대체제로서 박테리오파지의 사용이 점차 증가하고 있는 추세이다. 몇 가지 예를 보면, 약 9.0 log PFU/g의 박테리오파지를 사료와 함께 먹인 닭 중 약 70%는 장내 *S.* Entitidis가 검출한계 이하까지 감소하였으며, 또 다른 연구에서는 *S.* Typhimurium을 10.3 log CFU/pig로 접종한 돼지에 혼합한 파지를 사용했을 때, 맹장에서 *S.* Typhimurium은 1.4 log CFU/g 이상 감소하였으며, 반면에 직장에서는 *S.* Typhimurium가 유의적으로 감소하는 것을 확인했다(10). Rivas 등(11)의 연구에서는 소에 약 10 log CFU의 *Escherichia coli* O157:H7을 경구 투여한 후 3일 동안 매일 11 log PFU의 e11/2와 e4/1c 박테리오파지 혼합물을 섭취하게 하였더니, 배설물에서의 *E. coli* O157:H7의 양이 유의적으로 감소된다는 것을 보여주었다. 양에 대한 연구도 진행되었는데, 박테리오파지 혼합물(CEV1 및 CEV2)을 사료로 섭취하게 한 결과, *E. coli* O157:H7의 수를 약 99%까지 감소시킬 수 있었다(12). 이러한 연구들은 사료첨가제로서의 박테리오파지가 가축 내의 식중독균의 수를 줄이기 위한 유망한 대안적 접근법임을 시사한다.

2) 육제품

가축뿐만 아니라 도축 후 육제품에도 박테리오파지를 이용할 수 있다. 닭표면에 6.0 log CFU/mL, 4.0 log CFU/mL, 2.0 log CFU/mL의 *Campylobter jejuni*를 접종한 후 3.0 log PFU, 5.0 log PFU, 7.0 log PFU 농도의 박테리오파지를 처리하여 4~20℃에서 5일간 보관했을 때 3.0 log PFU로 처리한 닭고기의 *Campylobacter* 농도는 대조구와 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 7.0 PFU로 처리한 닭고기에서의 *Campylobacter* 농도는 약 1.1~1.3 log CFU의 감소를 보였다(13). 또한 같은 연구에서 박테리오파지가 처리된 닭고기를 냉동시켰을 때에는 약 2.3~2.5 log CFU의 *Campylobacter*의 감소가 나타나 냉동보관과 박테리오파지 처리의 병용방법이 가장 효과적임을 보여주었다. 돼지고기에서의 *Salmonella* spp. 생육 억제를 위한 박테리오파지 혼합물의 효과도 연구되었는데, 항살모넬라능이 있는 ΦSH17, ΦSH18, ΦSH19, Felix 01로 구성된 박테리오파지 혼합물을 돼지고기 표면에 도포한 후 *S.* Typhimurium의 감소를 살펴본 결과, 3일간 4℃에서 보관되었을 때 약 1.0 log CFU 이상의 *Salmonella*균이 감소된 것을 확인하였다(14).

3) 신선 과일 및 채소

신선편이 멜론의 *Listeria monocytogenes* 수를 감소시키기 위해 박테리오파지 혼합물을 사용한 연구(15)에 따르면, 멜론에 박테리오파지 혼합물인 LMP-102를 도포하였고, 그 결과 약 4-8 log CFU/mL의 *L. monocytogenes*가 감소되었다. 박테리오파지의 처리는 접종 전 60분, 30분, 0분에 도포하는 것이 가장 효과적이었으며, 가장 높은 농도의 박테리오파지를 처리했을 때 7일 보관 후 최대 6.8 log CFU의 *L. monocytogenes*가 감소되었다. Levrentz 등(16)은 신선한 사과와 멜론 보존에 박테리오신과 함께 박테리오파지를 적용하였다. 이 연구에서 박테리오파지 혼합물 LM-103와 LMP-102 그리고 박테리오신인 니신을 사용하였다. 10℃ 이하에서 신선편이 사과를 7일 동안 보관하였을 때 파지, 니신, 파지-니신 혼합물은 각각 *L. monocytogenes*를 0.4 log CFU, 2.0 log CFU, 2.3 log CFU 감소시켰다. 신선편이 멜론의 경우, 세 가지 처리로 각각 4.6 log CFU, 3.2 log CFU, 5.7 log CFU의 *L. monocytogenes* 감소 효과를 보였다. 결과적으로 박테리오파지의 단독 사용보다는 박테리오신과의 혼합 방법이 식중독균의 제어에 더 효과적임을 알 수 있다. 박테리오파지 및 기타 화합물의 병용 효과는 채소에서도 확인되었는데, 시금치와 양상추 잎에 *E. coli* O157:H7을 제어하기 위해 박테리오파지 혼합물인 BEC8과 항균오일인 trans-cinnamaldehyde를 병용 처리한 결과, 23℃ 이하에서 24시간 동안 *E. coli* O157:H7을 검출한계 이하로 감소시킬 수 있었다(17). 이러한 연구들은 식품의 미생물학적 품질 향상을 위한 새로운 접근법으로서 박테리오파지와 다른 항균제의 병용처리가 훨씬 효과적임을 나타낸다.

4) 가공식품

박테리오파지는 가공식품 분야에서도 응용되어 왔다. 스위스의 연구자들은 즉석섭취식품(Ready-to-eat, RTE)의 *S.* Typhimurium에 대하여 FO1-E2파지에 의한 억제 효과를 연구했다(18). 약 3.0 log CFU의 *Salmonella* spp.를 RTE 식품에 접종했으며, 8.5 log PFU/g의 박테리오파지를 처리하였다. 8℃에서 보관한 *Salmonella*균은 24시간 만에 검출 한계 이하로 감소하였으며, 6일 동안 보관해도 전혀 *Salmonella*가 검출되지 않았다. 보관 온도를 15℃로 올렸을 때 6일 후 FO1- E2 파지는 초코우유와 육제품에서 최대 5 log CFU, 해산물과 핫도그에서는 약 3 log CFU의 *Salmonella*를 감소시켰다. Tomat 등(19)은 발효우유 보존을 위해 두 종류의 박테리오파지 DT1과 DT6을 사용하여 *E. coli* DH5α, Shiga toxigenic *E. coli*(STEC), Enteropathogenic *E. coli*(EPEC)의 저감화 효과를 연구하였다. 우유 발효 동안 *E. coli* DH5α는 박테리오파지 처리 후 6시간 이내에 검출한계 이하까지 감소하였고, EPEC는 처리 후 1시간 후 느리게 회복하는 경향을 보였다. STEC에 대해서는 박테리오파지 단독 혹은 박테리오파지 혼합물의 효과가 분명하게 나타나지 않았다. 이러한 결과는 박테리오파지를 잘 선택하면, 우유 발효 과정에서 병원성 대장균을 종균 배양에 영향을 주지 않고 저감화시킬 수 있음을 시사한다. Bigot 등(20)은 RTE 닭가슴살에 박테리오파지를 처리하여 *Listeria*균의 억제에 대한 연구를 실시하였다. 닭가슴살 시료에 약 5.5 log CFU의 *Listeria*균과 7.4 log PFU의 박테리오파지 FWLLM1을 동시에 접종했을 때 약 2.5 log CFU의 *Listeria*균이 감소하였으나, 그 후 보관기간 동안 대조군과 비슷한 균수 증가율을 유지했다. 반면에, 닭가슴살 시료에 약 2 log CFU의 *Listeria*균을 인위적으로 접종한 후 5℃에 시료를 보관했을 때에는 박테리오파지 처리군에서는 *Listeria*균이 검출한계 이하까지 감소하였다. 이러한 결과는 식중독균의 생육을 억제하기 위해서는 낮은 보관온도와 높은 농도의 박테리오파지의 적용이 중요하다는 것을 시사한다.

3. 박테리오파지의 안전 문제 및 향후 전망

천연식품 보존제로서의 박테리오파지는 높은 숙주특이성, 자가번식성, 인체에 대한 낮은 독성 등의 특징을 가지고 있으며, 식품의 맛, 색상, 질감에 거의 영향을 미치지 않는다(21). 박테리오파지의 독성은 동물 연구를 통해 평가된 적이 있었는데, 박테리오파지가 천연식품 보존제로서 경구적으로 섭취하여도 인체에 무해하다는 것을 보여주었다. 예를 들면, 박테리오파지의 안전성 연구에서 15명의 건강한 성인이 3 log PFU/mL 및 5 log PFU/mL의 대장균 파지 T4를 섭취하였을 때 부작용이 전혀 나타나지 않았다(22). 따라서 박테리오파지를 식품 첨가물에 사용하는 것은 큰 문제가 되지 않으며, 미국을 비롯한 많은 선진국에서는 이미 박테리오파지를 식품첨가물로 승인을 하고 있는 실정이다. 하지만 고려해야 할 몇 가지 문제가 있다. 항균제로 사용되는 박테리오파지는 반드시 용균성이어야 한다. 이는 용원성을 가진 박테리오파지는 식중독균의 유전적인 변이를 발생시켜 식중독균의 병원성을 증가시킬 수 있기 때문이다(23). 또한 적용할 박테리오파지의 선택과 숙주 범위를 고려해야 한다. 각 박테리오파지는 제한된 표적 박테리아 종을 가지고 있기 때문에, 몇 개의 박테리오파지를 혼합하여 사용하는 것이 숙주 범위를 넓힐 수 있는 적절한 방법이 될 수 있다. 선행연구에서 보았듯이 박테리오파지의 천연식품 보존제로서의 효능을 향상시키기 위해서는 단독적으로 적용하기 보다는 박테리오신과 항균오일 같은 다른 종류의 천연항균제와 함께 병행 사용하는 것이 좋다.

현재까지 박테리오파지를 기반으로 한 제품들이 시장에 이미 출시되어 있으며, 향후 유전공학 기술의 발달로 인해 통제 가능한 범위에서 목적한 식중독균을 효과적으로 제거할 뿐만 아니라, 식품조직에 더 적응하기 쉬운 속성을 지닌 박테리오파지를 설계할 수 있을 것으로 전망된다.

Ⅲ. 결 론

박테리오파지는 오랫동안 항생제 대체제로서 연구되어 왔으며, 식품원료뿐만 아니라 가공식품 분야에도 적용이 가능하다는 것이 선행연구를 통해 입증되어 왔다. 하지만, 박테리오파지의 식중독균 저감화의 효능은 화학적 및 물리적 제어법에 비해 낮으며, 살아 있는 바이러스를 식품에 첨가하는 것에 대한 소비자의 거부감이 상당히 높아, 아직 우리나라에서는 식품첨가물로 승인을 받지 못하고 있는 실정이다. 하지만, 앞서 설명한 바와 같이 다른 천연항균제와의 병용처리를 통해 박테리오파지의 효능을 향상시키고, 지속적인 안전성 연구를 통해 소비자의 우려를 불식시킨다면, 머지않은 미래에 우리나라에서도 박테리오파지가 식품첨가물로서 허가를 받을 수 있을 것으로 기대한다.

사 사

이 논문은 2020년도 한국교통대학교 교내학술연구비의 지원을 받아 수행한 연구임.

참고문헌

1. Aasen IM, Markussen S, Moretro T, et al. (2003) Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. Int J Food Microbio. 87, 35~43.
2. Hisar SA, Kaban G, Hisar O, Yanik T, Kaya M. (2005) Effect of *Lactobacillus sakei* Lb706 on behavior of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed rainbow trout fillets. Turk J Vet Anim Sci. 29, 1039~44.
3. Beaufort A, Rudelle S, Gnanou-Besse N, et al. (2007) Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. Lett Appl Microbiol. 44, 406~11.
4. Andrade MJ, Thorsen L, Rodriguez A, Cordoba JJ, Jespersen L. (2014) Inhibition of ochratoxigenic moulds by *Debaryomyces hansenii* strains for biopreservation of dry-cured meat products. Int J Food Microbiol. 170, 70~7.
5. Broberg A, Jacobsson K, Strom K, Schnurer J. (2007) Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage. Appl Environ Microbiol. 73, 5547~52.
6. Brosnan B, Coffey A, Arendt EK, Furey A. (2012) Rapid identification, by use of the LTQ Orbitrap hybrid FT mass spectrometer, of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria. Anal Bioanal Chem. 403, 2983~95.
7. Leroy F, De Vuys L. (2004) Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci Technol. 15, 67~78.
8. Moore MM, Dal Bello F, Arendt EK. (2008) Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. Eur Food Res Technol. 226, 1309~16.
9. Mauch A, Dal Bello F, Coffey A, Arendt EK. (2010) The use of *Lactobacillus brevis* PS1 to *in vitro* inhibit the outgrowth of *Fusarium culmorum* and other common *Fusarium* species found on barley. Int J Food Microbiol. 141, 116~21.
10. Callaway TR, Edrington TS, Brabban A, et al. (2011) Evaluation of phage treatment as a strategy to reduce *Salmonella* populations in growing swine. Foodborne Pathog Dis. 8, 261~6.
11. Rivas L, Coffey B, McAuliffe O, et al. (2010) *In vivo* and *ex vivo* evaluations of bacteriophages e11/2 and e4/1c for use in the control of *Escherichia coli* O157:H7. Appl Environ Microbiol. 76, 7210~6.
12. Raya RR, Oot RA, Moore-Maley B, et al. (2011) Naturally resident and exogenously applied T4-like and T5-like bacteriophages can reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep guts. Bacteriophage. 1, 15~24.
13. Atterbury RJ, Connerton PL, Dodd CE, Rees CE, Connerton IF. (2003) Application of host-specific bacteriophages to the surface of chicken skin leads to a reduction in recovery of *Campylobacter jejuni*. Appl Environ Microbiol. 69, 6302~6.
14. Hooton SP, Atterbury RJ, Connerton IF. (2011) Application of a bacteriophage cocktail to reduce *Salmonella* Typhimurium U288 contamination on pig skin. Int J Food Microbiol. 151, 157~63.
15. Leverentz B, Conway WS, Janisiewicz W, Camp MJ. (2004) Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. J Food Prot. 67, 1682~6.
16. Leverentz B, Conway WS, Camp MJ, et al. (2003) Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. Appl Environ Microbiol. 69, 4519~26.
17. Viazis S, Akhtar M, Feirtag J, Diez-Gonzalez F. (2011) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde. Food Microbiol. 28, 149~57.
18. Guenther S, Herzig O, Fieseler L, Klumpp J, Loessner MJ. (2012) Biocontrol of *Salmonella* Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2. Int J Food Microbiol. 154, 66~72.
19. Tomat D, Mercanti D, Balague C, Quiberoni A. (2013) Phage biocontrol of enteropathogenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* during milk fermentation. Lett Appl Microbiol. 57, 3~10.
20. Bigot B, Lee WJ, McIntyre L, et al. (2011) Control of *Listeria monocytogenes* growth in a ready-to-eat poultry product using a bacteriophage. Food Microbiol. 28, 1448~52.

21. Endersen L, O'Mahony J, Hill C, et al. (2014) Phage therapy in the food industry. Annu Rev Food Sci Technol. 5, 327~49.

22. Bruttin A, Brüssow H. (2005) Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: A safety test of phage therapy. Antimicrob Agents Chemother. 49, 2874~8.

23. Chen J, Novick RP. (2009) Phage-mediated intergeneric transfer of toxin genes. Science. 323, 139~41.

Received Nov. 24, 2020, Revised Dec. 8, 2020, Accepted Dec. 12, 2020