

전기장을 이용한 미생물 부착과 생물막 제어 Control of Bacterial Adhesion and Biofilm Using Electric Field

심수진 · 김춘수 · 윤제용[†]
Soojin Shim · Choon Soo Kim · Jeyong Yoon[†]

서울대학교 화학생물공학부
School of Chemical and Biological Engineering, Seoul National University

(2011년 9월 2일 접수, 2011년 9월 28일 채택)

Abstract : The use of electric field has been studied as an alternative for biofilm control dominated by disinfectants and antibiotics. This technology would be advantageous in the environmental respect that biofilm can be controlled based on electron transfer, not using chemical disinfectants and antibiotics. Control mechanisms which were reported by earlier studies are organized as; (1) bacterial adhesion control by electrostatic repulsion at a negative current, (2) bacterial adhesion control using bacterial motion and (3) bacterial inactivation by direct oxidation at a positive current, (4) bioelectric effect leading to biofilm inactivation. In this review article, we summarized the technologies for biofilm control using electric field and provided some application examples from previous studies.

Key Words : Electric Field, Electric Current, Biofilm, Bacterial Adhesion, Detachment, Inactivation

요약 : 전기장을 이용한 생물막 제어 기술은 기존의 소독제 및 항균제를 이용한 방법을 대체하기 위한 제어기술로서 연구되어 왔다. 본 기술은 화학적 소독제나 항균제를 사용하지 않고 전자전달을 토대로 생물막을 제어한다는 점에서 환경적으로 이로운 면이 있다. 현재까지 연구된 전기장을 이용한 생물막 제어방법은 기작에 따라 (1) 음전류에서의 정전기적 반발작용을 통한 미생물 부착 제어, (2) 양전류 상에서의 미생물 거동을 이용한 미생물 부착 제어, (3) 직접산화반응에 의한 미생물 불활성화, (4) 바이오일렉트릭 효과에 의한 생물막 불활성화 효과로 분류할 수 있다. 본 총설에서는 주요 선행연구를 통해 전기장을 이용한 생물막 제어 기술에 대하여 살펴보고, 적용사례들을 소개하고자 한다.

주제어 : 전기장, 전류, 생물막, 미생물 부착, 탈착, 불활성화

1. 서론

미생물은 고체표면에 매우 쉽게 부착한다. 초기부착단계를 거쳐 군집을 이룬 미생물들은 세포외 고분자 물질(Extracellular Polymeric Substance)을 분비하여 견고한 생물막을 형성한다.²⁾ 수분이 있는 환경이라면 어떠한 고체표면에서도 쉽게 형성되는 생물막은 산업적, 공중보건적 측면에서 다양한 문제점들을 유발시킬 수 있다. 배·급수관망에서 형성된 생물막은 수인성 질병을 야기시킬 수 있고, 선체나 막(membrane) 표면에 생성되었을 때는 에너지 소비량을 증가시키는 것으로 보고되고 있다.^{3,14)} 또한 의료 분야에서 인공장기, 인공배뇨관, 치과재료 등에 형성된 생물막이 감염을 통한 각종 질병의 발병원인이 되고 있다.^{7,12)}

최근에는 건강하고 쾌적한 환경 조성에 대한 관심이 증가하면서, 보다 효과적인 생물막 제어기술 개발에 대한 수요가 늘어나고 있다. 현재까지 제안된 생물막 제어 기술로는 염소나 은 화합물 같은 소독제 및 항균물질을 적용하는 방법이 일반적이다.^{1,4)} 하지만 생물막을 구성하는 세포외 고분자 물질이 소독제 및 항균제의 물질전달을 저해시켜 이들의 사용량을 증가시키고, 잔류 소독제 및 항균제가 소독 부산물 생성 및 항균물질의 독성 영향 같은 부차적인 문제들을 발생시킬 수 있다.^{5,10,11)} 이러한 문제점들을 해결하기

위해서는 친환경적이면서 제어 효과가 뛰어난 새로운 생물막 제어 기술이 요구된다.

최근에는 새로운 생물막 제어 기술로서 전기장을 이용하는 방법이 시도되고 있다. 기존 방법처럼 소독제를 주입하지 않아도 전자 전달을 매개로 생물막 형성을 제어할 수 있다는 점에서 매우 친환경적이고, 시스템을 구축한 후에는 지속적으로 사용이 가능하다는 점에서 자동화가 용이한 장점이 있다. 일반적으로 전기장을 이용한 생물막 제어 방법은 제어기작에 따라 (1) 정전기적 반발작용(electrostatic repulsive interaction)을 통한 미생물 부착 제어 (2) 미생물의 운동성을 이용한 제어 방법 (3) 직접산화반응(direct oxidation)을 통한 미생물 불활성화, (4) 바이오일렉트릭 효과(bioelectric effect)를 이용한 생물막 불활성화 등으로 분류할 수 있다. 특히, 정전기적 반발작용을 이용한 미생물 부착 제어에 대해서는 네덜란드의 Busscher 그룹이, 미생물의 운동성을 이용한 제어 기술에 대해서는 윤제용 그룹이, 직접산화반응을 통한 미생물 불활성화 기술에 대해서는 일본의 Matsunaga 그룹이 중점적으로 보고해 왔다.

본 총설에서는 주요 연구그룹들에 의해 보고된 전기장을 이용한 생물막 제어 기술들을 소개하고, 제어기작 및 효과 그리고 실제 생물막 형성 환경에서의 적용 가능성에 대해서 살펴보고자 한다.

[†] Corresponding author E-mail: Jeyong@snu.ac.kr Tel: 02-880-8927 Fax: 02-876-8911

2. 전기장을 이용한 미생물 부착 제어

2.1. 정전기적 반발작용(Electrostatic repulsive interaction)

미생물 표면은 일반적으로 음전하를 띠는 것으로 알려져 있다. Table 1은 미생물 표면에 존재하는 다양한 분자종의 이온화성 표면그룹을 나타낸 것이다. 미생물 표면은 전체적으로 표면단백질과 함께 리포폴리사카라이드(lipopolysaccharide), 펩티도글라이칸(peptidoglycan), 타이코산(teichoic acid), 포스포리피드(phospholipid) 등의 분자종들이 함께 결합해 있다. 이러한 분자종들은 카르복실 그룹(carboxyl group), 포스페이트 그룹(phosphate group), 아미노 그룹(amino group)으로 구성되어 있고, pH에 따라 해리된다(Table 1). 대부분은 해리가 되면서 음전하를 띠게 되므로, pH 7 정도의 생리조건에서 미생물 표면은 전체적으로 음전하를 띠게 된다.³¹⁾

자연계에 존재하는 고체 재료의 표면 역시 일반적으로 음전하를 띠기 때문에, 미생물과 재료표면 사이에 자연적으로 정전기적 반발력이 형성된다. 콜로이드 입자와 재료표면의 상호작용을 설명하기 위해 정립된 DLVO 이론을 미생물 부착에 적용하면, 미생물과 재료표면 사이에 발생하는 총 상호작용력은 반데르발스 친화력과 전기 이중층 중첩에 의한 정전기적 힘의 합으로 도출된다.¹⁵⁾ 비록 미생물과 재료표면 사이에는 자연적으로 정전기적 반발력이 존재하지만, 반데르발스 친화력이 상대적으로 강하기 때문에 미생물이 표면에

부착할 수 있다. 미생물이 부착해 있는 전도성 재료에 수백 μA 의 미세한 음전류(negative current)를 인가하면, 재료 표면이 본래 갖는 음전하보다 더 강한 음전하를 띠게 되면서 미생물과의 사이에 정전기적 반발력이 강해진다(Fig. 1).³²⁾ 음전류의 인가를 통해서 형성된 정전기적 반발력은 미생물을 표면으로부터 탈착시키거나 부착을 억제시키는 작용을 한다.^{33,38)}

미생물 부착을 제어하는 데에는 전류 및 전압세기, 미생물 중 특성, 이온력(ionic strength) 등 여러 가지 영향인자들이 제어효과를 좌우하는 것으로 알려져 있다. 그리고 비록 미생물 중에 따른 차이는 존재하지만 대체적으로 높은 전류, 낮은 이온력 조건에서 미생물 부착을 효과적으로 제어할 수 있는 것으로 보고되어 왔다.^{8,16,32,38)} 이는 전기장의 세기(electric field strength)에 전류 및 전압의 세기가 관련되어 있으며, 이들 값이 커질수록 전기장의 세기와 함께 정전기적 반발력이 증가하기 때문인 것으로 사료 된다.²⁰⁾ 또한, 이온력이 증가할 때 미생물의 탈착 현상이 눈에 띄게 감소하는 것은 이온력의 증가에 따라 미생물 셀 주의를 둘러싼 전기 이중층(electric double layer)의 두께가 얇아지면서 미생물과 재료표면간 부착력이 증가하는 것으로 추정되고 있다.^{30,31)}

여러 가지 인자들의 영향을 알아보기 위해 음전류 인가로 재료표면에 부착된 상태로 존재하는 미생물의 탈착효과를 살펴본 선행연구 결과에 따르면, *Streptococcus oralis* 균주는 전류 세기가 증가할수록 탈착속도가 증가하는 경향을 보이는 반면에 *Actinomyces naeslundii*는 탈착 효과가 두드러지게 나타나진 않는 것을 확인할 수 있다(Table 2).³²⁾ *Staphylococcus epidermidis* 균주를 이용한 탈착실험 결과에서는, 초기탈착속도($j_{det,0} = dn/dt [\text{cm}^2\text{s}^{-1}]$)가 전류세기에 따라서 증가하지만 총탈착량은 전류세기에 관계없이 약 60~70% 정도로 유사하게 나타나는 것을 확인할 수 있다(Fig. 2(a), (b)). 또한, 정전류(-100 μA) 인가 조건에서 이온 농도가 증가할수록 초기탈착속도와 함께 총 탈착량이 급격하게 감소하는 것으로 나타나, 이온력의 영향이 상당한 것으로 밝혀진 바 있다(Fig. 2(c), (d)).³⁸⁾

한편, 앞선 연구들과 같이 미생물이 이미 재료표면에 부착해 있는 상태에서도 미생물 부착 제어가 가능하지만, 미생물이 재료표면에 부착하기 전에 미리 음전류를 인가하여 미생물의 부착을 억제시킬 수도 있는 것으로 알려져 있다. 전류세기나 이온력 등 여러 가지 인자들이 미생물 부착에

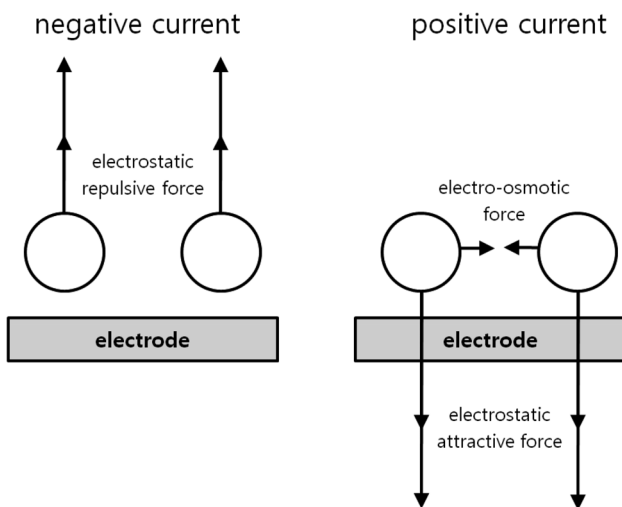


Fig. 1. Schematic of the forces acting on adhered bacteria during application of a negative and positive current (Reprinted with permission from³²⁾ .

Table 1. Ionizable surface groups in molecular species on bacterial cell surfaces (Reprinted with permission from³¹⁾

Reaction	Molecule	pK _a
-COOH \leftrightarrow -COO ⁻ + H ⁺	Polysaccharide	2,8
-NH ₃ ⁺ \leftrightarrow -NH ₂ + H ⁺	Protein, Peptidoglycan	4,0-5,0
-HPO ₄ \leftrightarrow -PO ₄ ⁻ + H ⁺	Teichoic acids	9,0-9,8
-H ₂ PO ₄ \leftrightarrow -HPO ₄ ⁻ + H ⁺	Phospholipids	2,1
-HPO ₄ \leftrightarrow -PO ₄ ⁻ + H ⁺	Phospholipids	7,2

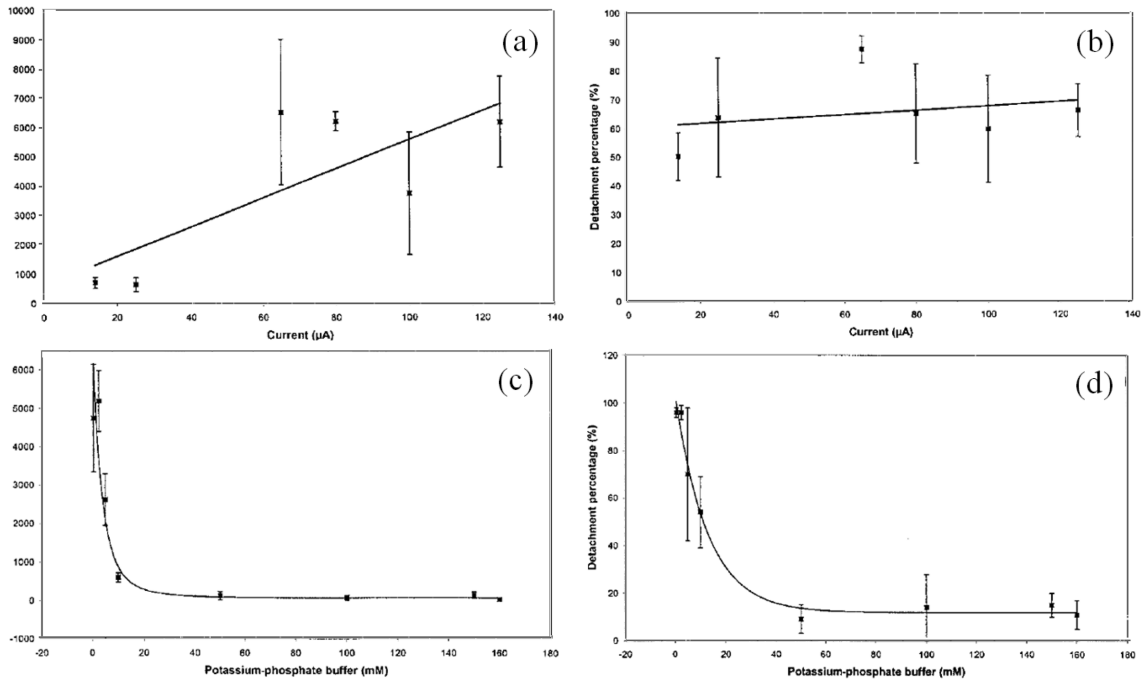


Fig. 2. Electric-current-induced detachment of *Staphylococcus epidermidis* HBH 276 as a function of the electric current applied and the potassium phosphate concentration (a) initial detachment rate ($j_{det,0}$ cm² s⁻¹) and (b) total detachment percentage $(1 - N_{end}/N_{begin}) \times 100\%$ as a function of the electric current applied ($i = 15 \sim 120 \mu\text{A}$, $[\text{K}_2\text{HPO}_4]_0 = 150 \text{ mM}$), (c) initial detachment rate ($j_{det,0}$ cm² s⁻¹) and (d) total detachment percentage $(1 - N_{end}/N_{begin}) \times 100\%$ as a function of the potassium phosphate concentration ($i = 100 \mu\text{A}$, $[\text{KH}_2\text{PO}_4]_0 = 0.5 \sim 150 \text{ mM}$), (Reprinted with permission from).³⁸⁾

미치는 영향은 탈착과정과 마찬가지로 대체적으로 높은 전류세기와 낮은 이온력이 미생물 부착 억제에 효과적인 것으로 확인된 바 있다.^{8,33)}

2.2. 미생물 운동성과 전단력을 이용한 미생물 부착 제어

앞선 음전류의 작용과 반대로, 양전류(positive current)를 인가하면 재료 표면은 미생물과 반대 전하를 갖게 되고, 이로 인해 정전기적 인력(electrostatic attractive force)이 발생한다(Fig. 1).³²⁾ 양전류가 인가된 재료 표면과 미생물 사이에 정전기적 상호작용만을 고려했을 때, 정전기적 인력에 의해 미생물이 재료표면에 더욱 강하게 부착하는 결과를 예상할 수 있다. 하지만 실제로 미생물이 부착해 있는 전극에 양전류를 인가했을 때, 미생물은 안정적으로 부착해 있는

상태를 유지하지 못하고 양전극 표면상에서 무질서하게 이동하는 운동성을 보이는 것으로 보고되었다. Fig. 3은 이러한 양전류 인가 상황에서의 미생물의 운동성을 대표하는 미생물 추적 궤도를 나타낸 것이다. 전류를 인가하지 않았을 때는 미생물이 약 0.2 μm 반경에서 약한 움직임을 보이는 반면(Fig. 3(b)), 양전류를 인가했을 때는 약 4 μm 반경에서 상대적으로 크고 무질서한 형태의 운동성을 보이는 것을 확인할 수 있다(Fig. 3(a)).¹⁶⁾ 양전류 상에서 미생물이 무질서한 운동성을 보이는 이유는 전기삼투 흐름(electro-osmotic flow) 및 전기유체역학적 흐름(electrohydrodynamic flow)에 의해 발생하는 또 다른 힘이 재료표면에 부착해 있는 미생물에 수평방향으로 작용하기 때문인 것으로 추정되고 있다(Fig. 1).^{6,30,35)}

Table 2. Bacterial detachment under negative current with several conditions (Reprinted with permission from)³²⁾

Microorganism	Electric current (μA)	Detachment rate (10 ⁻⁵ # · cm ⁻² · s ⁻¹)
<i>S. oralis</i> J22	-200	3.9 ± 0.6
	-400	1.3 ± 0.7
	-600	15.2 ± 15.2
	-800	23.1 ± 3.8
<i>A. naeslundii</i> T14V-J1	-400	5.9
	-600	0
	-800	0
<i>A. naeslundii</i> 147	-400	0.3 ± 0.3
	-600	0
	-800	0

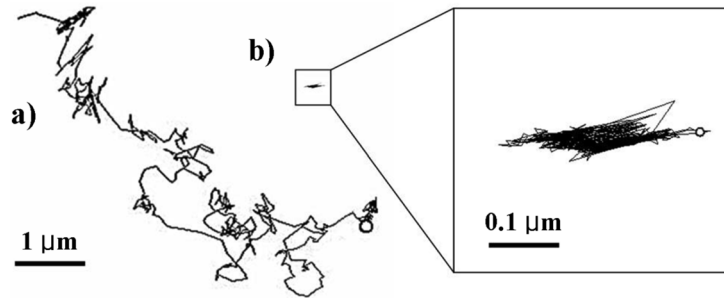


Fig. 3. Trajectories of a moving bacterium for 20 s (a) under positive current ($15 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) and (b) no current (\circ means final location of the cell after 20 s), (Reprinted with permission from).¹⁶⁾

양전류 인가 시 나타나는 미생물의 운동은 재료표면에 대한 미생물의 부착력에 영향을 주기 때문에 미생물 부착제어 기술로 응용이 가능하다. 양전류 인가를 통해 부착력이 감소한 미생물에 전단력과 같은 추가적인 힘을 인가하면 제어 효과를 촉진시킬 수 있는데, 이에 대한 결과로 Fig. 4는 양전류 상에서 전단속도에 따른 부착 미생물의 탈착효과를 보여준다.¹⁶⁾ 양전류 상에서 유체를 1.11 s^{-1} 의 전단속도로 흘렸을 때 초기 부착 수 대비 30%의 미생물이 탈착하였고, 2.22 s^{-1} 의 속도에서는 탈착률이 90% 이상까지 촉진되는 결과를 통해 양전류 상에서 미생물의 운동성을 활용한 미생물 부착 제어기술의 가능성을 확인할 수 있다.

양전류 상에서의 미생물 탈착효과는 외부에서 인가되는 전단력의 세기를 조절함으로써 촉진시킬 수도 있지만, 미생물 자체의 운동성을 조절하는 방향으로도 접근할 수 있다. 즉, 양전류 상에서 미생물의 운동성이 활발해지는 것은 재료표면과의 상호 친화력이 상대적으로 저감되는 것을 의미하기 때문에, 미생물의 운동성이 활발해질수록 미생물 부착을 쉽게 제어할 수 있을 것으로 추정된다. 선행연구에 따르면, 양전류에서의 미생물 운동성은 음전류와 마찬가지로 전류밀도, 이온력과 밀접한 관련이 있고, 평균적인 미생물의 운동성은 높은 전류, 낮은 이온력에서 활발해지는 것으로 확인되었다.¹⁸⁾ 이는 미생물 탈착효과를 직접적으로 나타

내진 않지만, 양전류 상에서 미생물을 보다 쉽게 탈착시킬 수 있는 최적조건을 간접적으로 제시한다.

한편, 수중에 부유해 있는 미생물의 부착을 억제시키는 목적으로 양전류를 인가했을 때는 양전류가 보다 복잡하게 작용하는 것으로 알려져 있다. 양전류가 인가된 전극 표면에서의 미생물 부착거동을 동영상으로 관찰한 결과에 따르면, 양전류를 인가하는 동안에는 초기에 부착 미생물의 개체수가 계속적으로 증가하다가 특정 시점부터 부착해있던 모든 미생물이 운동성을 보이면서 전단력에 의해 전극표면으로부터 떨어져 나간다. 하지만 양전류가 끊어짐과 함께 많은 미생물이 전극표면에 순간적으로 부착하게 되고, 최종적으로 부착한 미생물 개체 수가 전류를 인가하지 않은 표면에 부착한 미생물 개체 수와 크게 다르지 않은 것으로 나타났다.³³⁾ 이와 같은 현상으로 미루어 보아, 비록 양전류 인가를 통해 단기적인 측면에서는 미생물 부착을 효과적으로 억제할 수 없지만, 장기적인 측면에서는 지속적으로 양전류를 인가했을 때 생물막 단계까지 진행되는 것을 막을 수 있을 것으로 예상된다.

2.3. 직접전자이동(Direct electron transfer)에 의한 불활성화

양전류에서의 생물막 제어 방법은 미생물의 운동성을 이용한 물리적인 제어 방법 외에 직접산화반응(direct oxidation)을 통해 부착 미생물을 불활성화 시키는 효과도 있다. 해양 미생물 중 하나인 *Saccharomyces cerevisiae* 종은 $+0.7 \text{ V vs. SCE}$ 의 양전위에서 산화과정을 통해 불활성화 되는 것으로 알려져 있다. 미생물을 부착시킨 전극을 순환전압전류법(cyclic voltammometry)으로 분석하면 0에서 $+1.0 \text{ V vs. SCE}$ 까지 훑는 과정에서 약 $+0.7 \text{ V vs. SCE}$ 부근에서 산화피크가 나타나는 반면, 역으로 훑는 과정에서는 환원피크가 나타나지 않는다(Fig. 5(a)). 이는 미생물의 표면단백질이 직접 전자전달(direct electron transfer)을 통해 비가역적으로 산화되는 것으로 해석할 수 있다. 실제로 다양한 세기의 정전압 조건에서 미생물 불활성화 정도를 살펴본 결과, 약 $+0.7 \text{ V vs. SCE}$ 지점에서 불활성화 효과가 현저하게 증가하였고(Fig. 5(b)), 이와 더불어 $+0.7 \text{ V vs. SCE}$ 조건에서 미생물의 호흡활성이 감소하는 것으로 보고되었다. 이는 순환전압전류곡선에서 관찰되었던 산화반응이 미생물의 호흡활

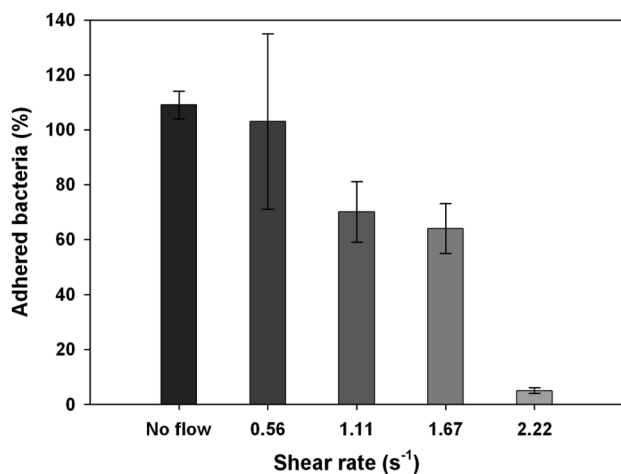


Fig. 4. Bacterial detachment during the application of a positive current ($15 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) as a function of the shear rate ($0 \sim 2.22 \text{ s}^{-1}$), (Reprinted with permission from).¹⁶⁾

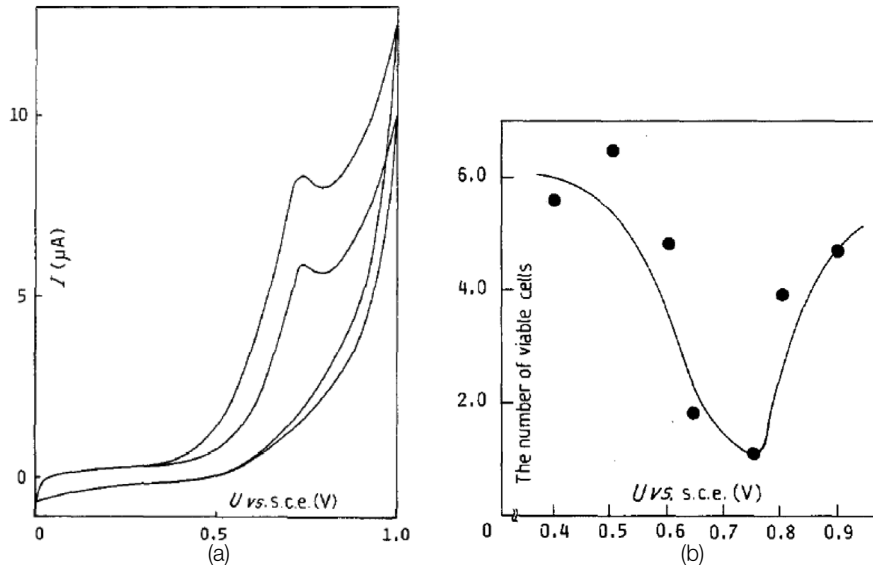


Fig. 5. Direct oxidation and inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* (a) cyclic voltammogram of bacteria adhered to the electrode surface in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) (sweep range: 0 ~ +1 V; scan rate: 10 mV s⁻¹;). The potential was cycled two times. (b) relationship between bacterial inactivation and potential (Reprinted with permission from).²²⁾

성 저감과 불활성화에 기여한 것으로 해석할 수 있다. 특히, +0.7 V 정도의 전압은 물 분해로부터 산화제가 생성되는 조건이 아니기 때문에 미생물 산화반응에는 직접전자전달만이 관여했다고 볼 수 있다.^{22,26)}

직접전자이동을 통한 미생물 불활성화는 미생물 운동성을 이용한 부착제어 방법처럼 전극표면으로부터 미생물 셀 자체를 물리적으로 제거할 수는 없으나, 미생물의 생리적 기능을 저하시켜 생물막 단계까지 성장하는 것을 억제시킬 수 있다. 실제로, 탄소클로로프렌(carbon-chloroprene) 전극을 해양환경에 설치하여 생물막 형성 억제 효과를 검증한 결과, +1.2 V vs. SCE 전위가 산화제가 발생되지 않는 범위임에도 해양생물에 의한 표면오염이 효과적으로 제어되었음이 확인된 바 있다.²⁵⁾

2.4. 교류전류를 이용한 미생물 부착 제어

앞서 소개한 양전류 및 음전류와 같은 직류전류 형태는

효과적인 미생물 부착 제어 및 불활성화 효과를 보이지만, 실제 환경에 적용하는 측면에서는 교류전류가 직류전류에 비해 에너지 손실량이 적다는 장점이 있다.²³⁾ 따라서 미생물 제어 효과만 좋다면 교류전류가 직류전류보다 효율적이라고 할 수 있다. 직류전류와 교류전류의 미생물 탈착효과를 비교해봤을 때, 교류전류를 인가했을 때가 직류전류 인가에 비해 초기탈착속도 면에서는 효율이 낮지만, 총탈착량은 비슷하거나 오히려 증가하는 양상을 확인할 수 있다 (Fig. 6).³⁶⁾ 하지만, 완전하게 성장한 생물막에 교류전류와 직류전류를 각각 인가했을 때는 직류전류에 비하여 교류전류 인가에 의한 생물막 제어효과가 현저히 떨어지는 것으로 보고되었다. 교류전류 인가에 의한 생물막 제어효과가 상대적으로 떨어지는 이유는 명확하게 밝혀지진 않았지만, 교류전류 인가 시 걸리는 전압세기가 직류전류를 인가했을 때보다 낮게 나타난 점이 관련이 있을 것으로 추정되고 있다.³⁹⁾

교류전류에 의한 미생물 부착제어 효과는 인가전류 및 전

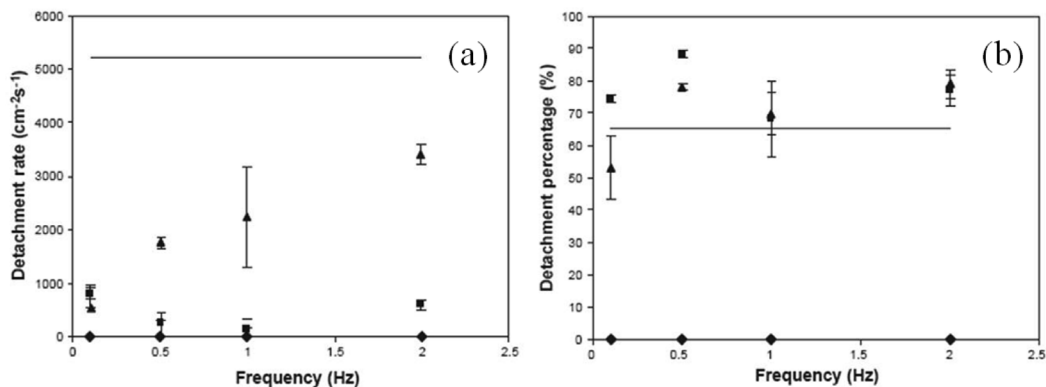


Fig. 6. Detachment of *S. epidermidis* as a function of frequency and duty cycle in alternative current (a) initial detachment rate ($j_{det,0}$ cm² s⁻¹), (b) total detachment percentage $(1 - N_{end}/N_{begin}) \times 100\%$ (amplitude of current: 100 μ A, duty cycle: \blacklozenge ; 5%; \blacksquare ; 25%; \blacktriangle ; 50%, solid line: direct current), (Reprinted with permission from).³⁶⁾

위형태를 구성하는 전류·전압세기, 순환주기(duty cycle), 진동수(frequency)에 따라서 달라질 수 있다. 그 중에서 특히 전류 및 전압세기와 순환주기는 미생물 탈착효과를 결정하는 주요인자로 보고되고 있다. 진동수도 미생물 초기 탈착속도에는 영향을 미치지만, 총탈착량은 진동수에 크게 영향 받지 않는 것으로 알려져 있다.^{28,29,36)}

3. 바이오일렉트릭(Bioelectric effect) 효과를 통한 생물막 제어

앞에서 설명한 제어방법들은 전류 인가만을 이용하여 주로 미생물 부착단계에서만 유효하지만, 바이오일렉트릭(bioelectric effect) 효과는 전류인가와 함께 소량의 항생제를 함께 사용하여 이미 완전하게 성장한 생물막 처리하기 위한 방법이다. 전류 인가와 동시에 소량의 항생제를 함께 적용하면 생물막 구조를 와해시키고 미생물 불활성화를 보다 촉진시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ Fig. 7은 생물막에 전류와 항생제를 각각 적용했을 때와 함께 처리했을 때 미생물 불활성화 효과를 비교한 결과이다. 전류만 인가하거나 항생제만 처리했을 때는 약 1 log~3 log가 불활성화되는 반면, 항생제와 전류를 함께 처리 했을 때는 6 log 이상까지 불활성화 되는 것을 확인할 수 있다.⁹⁾

한편, 단일종으로 형성시킨 생물막에 대해선 상당한 바이오일렉트릭 효과가 관찰되었지만 자연에서 채취한 복합배양생물막(mixed-species biofilm)에 대해서는 크게 제어효과가 없는 것으로 보고되었다.³⁴⁾ del Pozo 등의 연구에 따르면, 미생물 종마다 항균제 종류와 전류에 반응하는 정도가 다르기 때문에 많은 종의 미생물이 섞여있는 복합배양생물막에서는 제어효과가 둔화되는 것으로 보여진다.¹³⁾ 따라서 실제 환경에서 바이오일렉트릭 효과를 이용한 생물막 제어기술을 적용하기 위해서는 향후 적용 가능성이 보다 검토되어야 할 것이다.

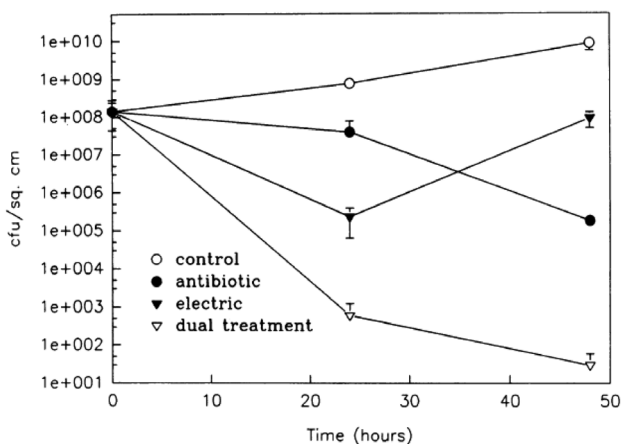


Fig. 7. Growth of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms under applying electric current and antibiotic ($i = 1.7 \text{ mA/cm}^2$, electrolyte: M-56 medium), (Reprinted with permission from).⁹⁾

4. 실제 응용

현재까지 전기장을 이용한 생물막 제어 기술의 적용 가능성은 다양한 환경에서 검토되었다. 정전기적 반발작용을 통한 미생물 부착제어를 주로 연구해왔던 네덜란드의 Busscher 그룹은 동물실험을 통해 의료용 생체재료에 대한 기술의 적용 가능성을 살펴보았다. Fig. 8은 Busscher 그룹에서 전기장을 이용한 제어 기술을 동물 체내에 실제로 삽입한 실험 장치와 설계도이다. 이 실험장치는 일반적인 전기화학셀과 동일하게 양극(anode), 음극(cathode), 그리고 전류공급원으로 구성되어있다. 음극으로는 스테인레스스틸 핀을 양극으로는 고리모양의 백금전극을 사용하였고, 9 V 고출력 전지를 전류 공급원으로 선택하였다. Busscher 그룹은 전기장을 이용한 제어기술의 적용 가능성을 확인하기 위하여 실제 염소의 경골에 장치를 삽입하였다(Fig. 8(b)). Fig. 8(c)와 같이 음극은 뼈 안쪽까지 삽입되고 양극은 피부 표면에 맞게 설계되었으며, 핀이 삽입되는 부분은 사전에 *Staphylococcus epidermidis* 균주로 오염시켰다. 21일 동안 음전극에 $-100 \mu\text{A}$ 전류를 인가한 결과, 전류를 인가하지 않은 전극들 부근의 경골에서는 9부분 중에 5부분이 화농단계로, 2부분이 염증단계까지 진행되었고 한 부분에서만 감염이 발생하지 않았다. 반면, 전류를 꾸준히 인가시켜 준 전극 근처의 경골에서는 9부분 중에 8부분이 감염이 일어나지 않았고, 한 부분만이 화농단계까지 발전하였다. 전류를 인가시킨 전극 표면에 존재하는 미생물이 대부분 불활성화되어 있었고, 음전류도 장시간 인가했을 때 양전류처럼 불활성화 효과를 가져오는 것을 확인하였다.³⁷⁾

직접산화반응에 의한 미생물 불활성화에 초점을 맞춰온, Matsunaga 그룹은 주로 선박선체나 발전소의 열교환기, 낚시그물 등 해양생물막이 형성되는 환경에 기술을 적용을 해 보았고, 표면에 코팅이 가능한 형태의 다양한 전극 개발에

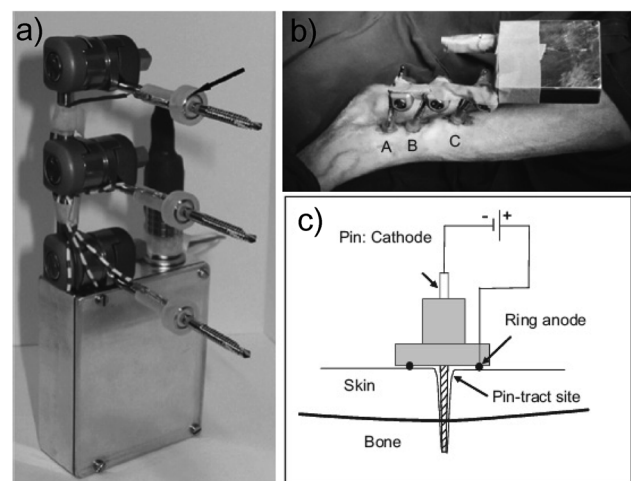


Fig. 8. Schematic of the fixation frame equipped with current source (a) the equipment (b) implanted in the right tibia of a goat (c) a schematic illustrating its placement (Reprinted with permission from).³⁷⁾

주력하였다.^{21,25,27)} 전기장을 이용한 생물막 제어기술은 전도성 표면에만 적용이 가능하다는 한계점이 있다. 따라서 다양한 표면에 적용할 수 있는 전극 개발은 기술의 사용 범위를 확장시킬 수 있는 중요한 분야이다. 코팅 전극은 크게 두 가지 종류로 구분할 수 있는데, 하나는 전도성 물질을 합성수지와 혼합시킨 전도성 도료 형태이고 다른 하나는 전도성 입자를 고압으로 표면에 코팅시키는 형태이다.

Fig. 9는 흑연과 카본블랙을 고분자 레진에 섞어서 만든 전도성 도료를 실에 코팅하여 각 시편에 장기간 전압을 인가했을 때와 안 했을 때의 표면 오염 정도를 보여주고 있다. 전압을 인가하지 않은 시편에서는 해양생물에 의한 오염이 상당히 진행된 반면에, 전압을 인가해준 시편 표면에서는 효과적인 방오성능이 확인되었다.²¹⁾ 이와 같은 방오성능 외에도, 전도성 도료는 특별한 장치 없이 간편하게 도장할 수 있다는 장점이 있다. 하지만 충분한 전도도를 갖기 위해서는 전도성 물질을 충분히 첨가시키던지, 전도성 물질을 수지 내에 고르게 분산시켜야만 한다. 전도성 물질의 함량이 너무 커지면 전도도는 증가하나 도료의 내구도가 떨어져 도장 수명이 감소하기 때문에 실제 적용에 있어 한계가 있다. 한편, 전도성 도료의 성능은 첨가되는 전도성 물질 종류에 따라서 달라질 수도 있다. 실로콘 수지에 각각 $\text{In}_2\text{O}_3/\text{Sn}$, SnO_2/Sb , $\text{TiO}_2/\text{SnO}_2/\text{Sb}$ 로 구성된 전도성 물질의 함유비율을 달리 하여 도료를 제조한 결과, 각 물질마다 친수성에 차이가 있기 때문에 함량에 따라 미생물의 초기 부착량에서 차이가 나타났다. $\text{TiO}_2/\text{SnO}_2/\text{Sb}$ 의 경우 세 가지 도료 중에서 미생물 부착제어 효과가 가장 우수하였고, 미생물 초기 부착량이 적게 나타난 이유는 TiO_2 의 소수성 때문인 것으로 해석되고 있다.¹⁹⁾

전도성 입자를 고압으로 표면에 코팅시키는 방법은 전도성 도료의 전도도 및 내구도 문제점들을 개선하기 위해 제안되었다. 이 방법으로 제작한 전극은 수지를 사용하지 않기 때문에 낮은 저항값과 전기화학적 안정성이 확보되고, 공정이 저온에서 이루어지기 때문에 기판의 손상이 적다. 미생물의 제어에 고압 코팅 전극을 사용한 예로 radio-frequency arc spraying (RFAS)을 이용하여 Ti 입자를 질소가스와 함께 고압으로 고체 표면에 분사하여 코팅한 TiN 전극은 0.8 V 정전압 조건에서 30분 동안 95% 가량의 미생물 불활성화 효과가 보였다. 또한, 해저에 설치한 TiN 전극에 -0.6 V 와 +1.0 V로 구성된 교류전압을 약 200일 동안 가했을 때,

전압을 인가한 전극에는 해양생물에 의한 표면오염이 거의 발생하지 않은 것으로 보고되었다.²⁷⁾ Matsunaga 그룹은 코팅전극 제작 외에도 전기장을 이용한 생물막 자동 제어 시스템을 구축하여 산업적인 응용 가능성을 제시하기도 하였다.⁴⁰⁾

브라켓과 같은 각종 치과재료로 전도성 재료를 사용하는 경우가 많기 때문에, 전기장을 이용한 생물막 제어 기술은 치과분야에도 적용하기 적합하다. Imfeld 그룹은 인공재료를 사용하여 인위적으로 구강환경을 모사하였고, 기술의 적용 가능성을 검토하였다. 인공적인 구강환경은 연조직을 모사한 젤라틴과 전도성을 가지는 2개의 임플란트로 구성된다. 전도성 임플란트는 각각 양전극, 음전극으로 젤라틴 구조물 내에 삽입되었고, 전해질로는 젤라틴 구조물 사이에 존재하는 염분용액이 사용되었다. 2~10 mA 범위의 전류를 인가한 결과, 양극과 음극 모두에서 효과적인 미생물 불활성화 효과를 보였다.²⁴⁾ 하지만 본 연구에 사용된 전류범위는 인체에 적용하기에는 높은 전류세기이므로 기술의 적용 가능성은 추후에 좀더 면밀하게 검토되어야 한다.

5. 결론

전기장을 이용한 생물막 제어 방법은 친환경적인 생물막 제어 대체기술 중 하나로 검토되어 왔다. 기술의 가장 큰 특징은 전기장을 이용하여 소독제 및 항균제의 사용을 현저히 줄이면서도 우수한 생물막 제어 효과를 기대할 수 있다는 점이다. 전기장을 이용한 생물막 제어기술로는 (1) 음전류에서의 정전기적 반발작용을 통한 미생물 부착 제어, (2) 양전류 상에서의 미생물 거동을 이용한 미생물 부착 제어, (3) 직접산화반응에 의한 미생물 불활성화, (4) 바이오일렉트릭 효과에 의한 생물막 불활성화 등의 방법들을 적용할 수 있다. 본 기술은 상수관망, 식품공정, 냉각설비 등에서 발생할 수 있는 생물막 오염 방지 및 생물막으로 인한 부식 억제 등에 활용할 수 있을 뿐만 아니라, 환경가전제품, 감염 방지용 생체재료에도 적용할 수 있을 것으로 보인다. 현재까지 보고된 전기장을 이용한 생물막 제어 기술은 전도성 표면이라면 어디에나 적용할 수 있는 특징을 가지고 있어, 향후 많은 분야에 폭 넓게 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

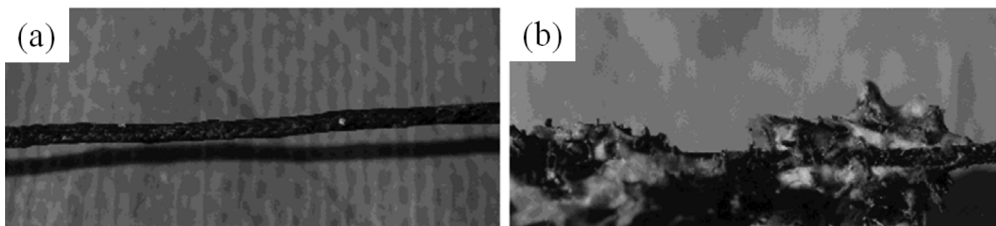


Fig. 9. Antifouling effect using yarns coated with the conductive paint in seawater (a) with and (b) without applying alternating potential of 1.2 V vs. Ag/AgCl for 60 min and -0.6 V vs. Ag/AgCl for 10 min. The experiment was conducted for 5 months (Reprinted with permission from).²¹⁾

사 사

본 연구는 건설교통부 플랜트기술고도화사업의 연구비지원(07해수담수B01-02-05)에 의해 수행되었습니다.

KSEE

참고문헌

- 김재은, 김지연, 윤제용, “은 화합물을 이용한 생물막 제어,” 대한환경공학회지, **28**(1), 81~87(2006).
- 김창범, 노종복, 이현경, 최상호, 이동훈, 박순정, 이규호, “세균 생물막 형성의 단계별 특징,” 한국미생물, 생명공학 회지, **33**(1), 1~8(2005).
- 문성민, 윤제용, “배 급수 관망에서 생물막 제어,” *J. Kor. Soc. Water Qual.*, **23**(1), 1~11(2007).
- 박세근, 최성찬, 김영관, “모형 수도관에서 염소와 모노클로라민에 의한 생물막 제어 특성 비교,” 대한환경공학회지, **28**(1), 26~33(2006).
- 유승호, 조일형, 장순웅, 이시진, 천석영, 김한래, “전자빔 공정에서 실험계획법을 이용한 살균제 Benomyl의 제거특성 및 독성평가,” 대한환경공학회지, **30**(9), 955~960(2008).
- Bohmer, M., “In situ observation of 2-dimensional clustering during electrophoretic deposition,” *Langmuir*, **12**(24), 5747~5750(1996).
- Bryers, J. D., “Medical biofilms,” *Biotechnol. Bioeng.*, **100**(1), 1~18(2008).
- Busalmen, J. and De Sanchez, S., “Adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to nonpolarized and polarized thin films of gold,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**(7), 3188~3194(2001).
- Costerton, J. W., Ellis, B., Lam, K., Johnson, F. and Houry, A. E., “Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**(12), 2803~2809(1994).
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R. and Lappin-Scott H. M., “Microbial biofilms,” *Annu. Rev. Microbiol.*, **49**(1), 711~745(1995).
- De Beer, D., Srinivasan R. and Stewart, P. S., “Direct measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**(12), 4339~4344(1994).
- Del Pozo, J. and Patel, R., “The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, **82**(2), 204~209(2007).
- Del Pozo, J. L., Rouse, M. S., Mandrekar, J. N., Sampedro, M. F., Steckelberg, J. M. and Patel, R., “Effect of electrical current on the activities of antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**(1), 35~40(2009).
- Flemming, H. C., “Biofouling in water systems-cases, causes and countermeasures,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **59**(6), 629~640(2002).
- Hermansson, M., “The DLVO theory in microbial adhesion,” *Colloid. Surface. B: Biointerfaces*, **14**(1-4), 105~119(1999).
- Hong, S. H., Jeong, J., Shim, S., Kang, H., Kwon, S., Ahn, K. H. and Yoon, J., “Effect of electric currents on bacterial detachment and inactivation,” *Biotechnol. Bioeng.*, **100**(2), 379~386(2008).
- Jass, J., Costerton, J. and Lappin-Scott, H., “The effect of electrical currents and tobramycin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms,” *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **15**(3), 234~242(1995).
- Kang, H., Shim, S., Lee, S. J., Yoon, J. and Ahn, K. H., “Bacterial Translational Motion on the Electrode Surface under Anodic Electric Field,” *Environ. Sci. Technol.*, **45**(13), 5769~5774(2011).
- Lim, T. K., Murakami T., Tsuboi, M., Yamashita, K. and Matsunaga, T., “Preparation of a colored conductive paint electrode for electrochemical inactivation of bacteria,” *Biotechnol. Bioeng.*, **81**(3), 299~304(2003).
- Matijevi, E., “Surface and colloid science,” Springer (2001).
- Matsunaga, T., Nakayama, T., Wake H., Takahashi, M., Okochi, M. and Nakamura, N., “Prevention of marine biofouling using a conductive paint electrode,” *Biotechnol. Bioeng.*, **59**(3), 374~378(1998).
- Matsunaga, T., Namba, Y. and Nakajima, T., “Electrochemical sterilization of microbial cells,” *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **13**(4), 393~400(1984).
- Mohan, N., Undeland, T. M. and Robbins, W. P., “Power electronics,” Wiley Interscience (1995).
- Mohn, D., Zehnder, M., Stark, W. J. and Imfeld T., “Electrochemical Disinfection of Dental Implants-a Proof of Concept,” *PLoS one*, **6**(1), e16157(2011).
- Nakasono, S., Burgess, J. G., Takahashi, K., Koike, M., Murayama, C., Nakamura, S. and Matsunaga, T., “Electrochemical Prevention of Marine Biofouling with a Carbon-Chloroprene Sheet,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**(11), 3757~3762(1993).
- Nakayama, T., Wake, H., Ozawa, K., Kodama, H., Nakamura, N. and Matsunaga, T., “Use of a titanium nitride for electrochemical inactivation of marine bacteria,” *Environ. Sci. Technol.*, **32**(6), 798~801(1998a).
- Nakayama, T., Wake, H., Ozawa, K., Nakamura, N. and Matsunaga, T., “Electrochemical prevention of marine biofouling on a novel titanium-nitride-coated plate formed by radio-frequency arc spraying,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50**(4), 502~508(1998b).
- Perez-Roa, R. E., Anderson, M. A., Rittschof, D., Orihuela, B., Wendt, D., Kowalke, G. L. and Noguera, D. R., “Inhibition of barnacle (*Amphibalanus amphitrite*) cyprid settlement by means of localized, pulsed electric fields,” *Biofouling*, **24**(3), 177~184(2008).
- Perez-Roa, R. E., Tompkins, D. T., Paulose, M., Grimes, C. A., Anderson, M. A. and Noguera, D. R., “Effects of localised, low-voltage pulsed electric fields on the development and inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms,” *Biofouling*, **22**(6), 383~390(2006).
- Poortinga, A. T., Bos, R. and Busscher, H. J., “Controlled electrophoretic deposition of bacteria to surfaces for the design

- of biofilms,” *Biotechnol. Bioeng.*, **67**(1), 117~120(2000).
31. Poortinga, A. T., Bos, R., Norde, W. and Busscher, H. J., “Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces,” *Surf. Sci. Rep.*, **47**(1), 1~32(2002).
 32. Poortinga, A. T., Smit, J., van der Mei, H. C. and Busscher, H. J., “Electric field induced desorption of bacteria from a conditioning film covered substratum,” *Biotechnol. Bioeng.*, **76**(4), 395~399(2001).
 33. Shim, S., Hong, S. H., Tak, Y. and Yoon, J., “Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* adhesion by electric currents,” *Biofouling*, **27**(2), 217~224(2011).
 34. Shirtliff, M. E., Bargmeyer, A. and Camper, A. K., “Assessment of the ability of the bioelectric effect to eliminate mixed-species biofilms,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**(10), 6379~6382.
 35. Trau, M., Saville, D. and Aksay, I., “Assembly of colloidal crystals at electrode interfaces,” *Langmuir*, **13**(24), 6375~6381(1997).
 36. van der Borden, A., van der Mei, H. and Busscher, H., “Electric block current induced detachment from surgical stainless steel and decreased viability of *Staphylococcus epidermidis*,” *Biomaterials*, **26**(33), 6731~6735(2005).
 37. van der Borden, A. J., Maathuis, P. G. M., Engels, E., Rakhorst, G., van der Mei, H. C., Busscher, H. J. and Sharma, P. K., “Prevention of pin tract infection in external stainless steel fixator frames using electric current in a goat model,” *Biomaterials*, **28**(12), 2122~2126(2007).
 38. van der Borden A. J., van der Mei H. C. and Busscher H. J., “Electric-current-induced detachment of *Staphylococcus epidermidis* strains from surgical stainless steel,” *J. Biomed. Mater. Res. Bio.*, **68B**(2), 160~164(2004a).
 39. van der Borden, A. J., van der Werf, H., van der Mei, H. C. and Busscher, H. J., “Electric current-induced detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms from surgical stainless steel,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**(11), 6871~6874(2004b).
 40. Wake, H., Takahashi, H., Takimoto, T., Takayanagi, H., Ozawa, K., Kadoi, H., Okochi, M. and Matsunaga, T., “Development of an electrochemical antifouling system for seawater cooling pipelines of power plants using titanium,” *Biotechnol. Bioeng.*, **95**(3), 468~473(2006).