수조의 부피에 따른 UVC LED의 미생물 살균 효과 분석

Water disinfection associated to volumetric analysis in a water tank using a single UVC LED

이지원[a], 김도균[a,b*]

Jiwon Lee[a] and Do-Kyun Kim[a,b*]

[a] 서울대학교 식품영양학과, [b] 서울대학교 생활과학연구소

[a] Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University, Seoul, 08826, Republic of Korea
[b] Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul, 08826, Republic of Korea

김 도 균

Correspondence to
Do-Kyun Kim
Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University, Seoul, 08826, Republic of Korea.
Phone: 82-2-880-8749.
E-mail: dkkim@snu.ac.kr

서론

수질의 미생물학적 안전성 확보는 공중보건 유지를 위한 전 세계적 과제이다. 현재 염소나 오존을 이용한 소독법이 수질 안전 확보에 활용되고 있으나, 병원성 미생물의 교차오염 가능성은 여전히 존재한다 (Beauté, 2017; Borella et al., 2004). 특히 *Legionella* 및 *Pseudomonas*와 같은 소독제 내성 세균은 처리수에 잔존하여 가정이나 병원으로 유입될 수 있다 (Beauté, 2017; Borella et al., 2004; Squier et al., 2000; Szymanska et al., 2008).

자외선(UV) 발광다이오드(LED)를 활용한 처리 기술은 최근 주목받고 있으며, 세균, 바이러스, 원생동물, 곰팡이를 포함한 다양한 미생물에서 불활성화 효과가 입증되고 있다 (Bowker et al., 2011; Chatterley and Linden, 2010; Lui et al., 2016). 이러한 광범위한 살균 효과는 UV가 DNA와 RNA와 같은 유전물질에 작용하여 피리미딘 이합체를 형성함으로써 DNA 복제, 전사 및 단백질 합성을 저해하고, 궁극적으로 세포 사멸을 유도하기 때문이다 (Caminiti et al., 2012; Kim et al., 2013; Mukhopadhyay et al., 2014). UVC LED 소독 기술은 소형화, 높은 내구성, 빠른 가동, 온도와 무관한 조사 강도, 그리고 무수은과 같은 이점을 지니며, 이에 따라 기존 저압 수은램프(LP lamp)를 대체할 수 있는 유망한 기술로 각광받고 있다 (Shin et al., 2016; Vilhunen and Sillanpää, 2010). 또한, 유엔환경계획(UNEP)을 통해 채택된 '수은에 관한 미나마타 협약(Minamata Convention on Mercury)'은 공중보건 및 환경보건을 보호하기 위해 수은 사용을 규제하고 있으며, 이에 따라 LP 램프의 사용은 2020년까지 단계적으로 중단될 것으로 전망되

었다 (Kessler, 2013).

UVC LED는 식품 매트릭스와 수질에서 식품 안전 확보와 병원체 불활성화를 위한 유망한 기술로서 광범위하게 연구되어 왔다. UVC LED의 기본 특성으로는 환경 온도 변화에 따른 조사 강도의 변동, 최대 강도를 위한 최적 배열 등이 보고되었으며 (Shin et al., 2016), 피크 파장별 세균 불활성화 및 그 기작도 연구된 바 있다 (Kim et al., 2017a; Kim et al., 2016). 특히 다수의 연구에서는 약 265 nm 파장을 방출하는 UVC LED가 상대적으로 높은 살균 효과를 나타낸다고 강조하였다 (Beck et al., 2017; Bowker et al., 2011; Chatterley and Linden, 2010; Chevremont et al., 2012; Oguma et al., 2013; Rattanakul and Oguma, 2018). 최근에는 살균 효과를 향상시키기 위해 펄스형 UVC LED 시스템이 도입되었다. Zou et al. 은 듀티 사이클(duty cycle)을 낮출 경우 *E. coli* 불활성화 수준이 유의적으로 증가하며, 단위 에너지당 로그 감소치를 평가한 결과 에너지 효율 역시 향상된다고 보고하였다 (Zou et al., 2019). 또한 Kim (Kim and Kang, 2018a) 은 펄스형 UVC LED 처리가 살균 효과를 높였으며, 이때 생성된 활성산소종(ROS)이 높은 불활성화 수준을 유발한 주요 요인이라고 보고하였다.

그러나 UVC는 투과 깊이가 낮다는 한계를 가진다. UVC LED의 살균 효과는 표면 소수성(hydrophobicity) 및 거칠기(roughness)와 같은 특성에 의해 영향을 받으며, 이로 인해 세균의 적층 구조가 달라질 수 있다. 이러한 투과성 한계로 인해 UVC LED 광이 세포 내부에 충분히 도달하지 못하고 감소하며, 그 결과 차폐 효과(shading effect)가 발생한다 (Kim and Kang, 2020).

본 연구에서는 UVC LED 소자를 이용하여 수중 시료에서 부피 기반 평가를 통해 살균 효과를 검증하고, 낮은 투과 깊이 한계를 극복할 수 있는 방안을 모색하였다. 아울러, 시스템의 불활성화 효율을 비교하기 위해 단위 조사량당 미생물 로그 감소를 나타내는 불활성화 속도상수(cm^2/mJ)를 산출하였다.

본론

1. 재료 및 방법

1.1 수질 소독 실험 장치 구성

본 연구에서는 시판 정수기용으로 설계된 2단 직사각형

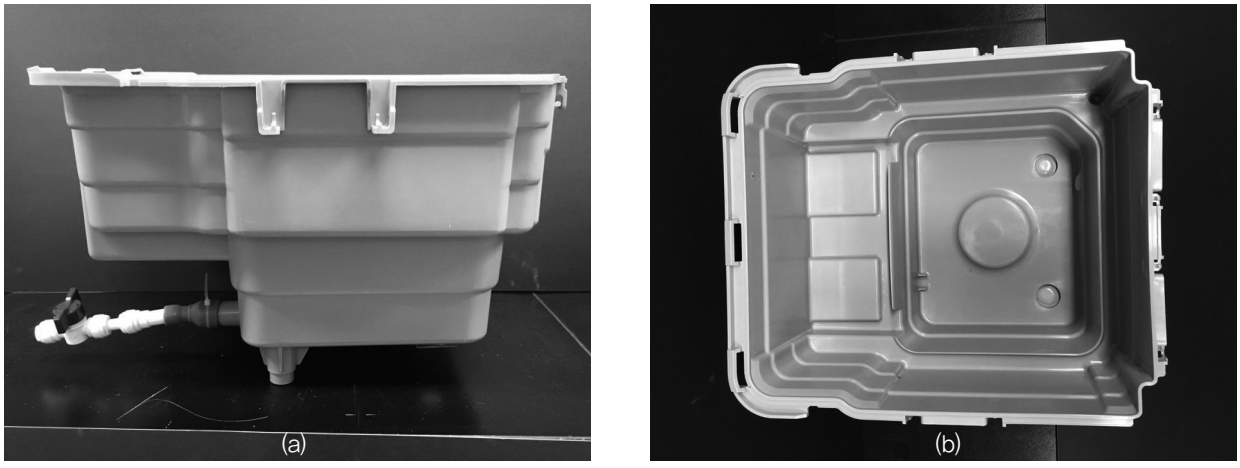

Fig. 1. Photographs of the water tank utilized in this research

구조의 수조(water tank)를 사용하였다 (Fig. 1). 하부 탱크(23.5 × 21.0 × 7.0 cm)는 두 개의 급수 장치와 배관이 통합되어 있어 상부 탱크(29.5 × 23.5 × 13.5 cm)보다 작다. 수조 내부의 배수 구조상 최대 약 12 L의 물을 담을 수 있으며, 정격 출력 10 mW의 UVC LED 소자를 수면 위 3 cm 지점의 용기 중앙부 상단에 설치하였다. UVC LED에는 직류 전원공급장치(DC power supply, TPM series; Toyotech, Incheon, Korea)를 통해 100 mA의 전류를 인가하였다.

1.2 사용 균주

본 연구에서는 서울대학교(서울, 대한민국) 미생물 자원 센터로부터 *E. coli* O157:H7 (ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890) 및 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, ATCC 27213, ATCC 29213) 균주를 제공받아 사용하였다. 균주는 5 ml의 tryptic soy broth(TSB; Difco Laboratories Inc., Franklin Lakes, NJ, USA)에서 배양한 후, 0.7 ml TSB와 0.3 ml 50% glycerol을 혼합하여 −80℃에서 보관하였다. 실험용 균주는 tryptic soy agar(TSA; Difco Laboratories Inc.) 평판배지에 도말한 후 37℃에서 24시간 배양하였으며, 4℃에서 보관하였다.

1.3 접종균액 준비

E. coli O157:H7과 *S. aureus* 균주는 각각 5 ml TSB에서 37℃, 24시간 동안 진탕 배양기에서 배양하였다. 배양액을 원심분리(4000 × g, 4℃, 20분)하여 침전된 세포를 회수한 후, 0.2% 멸균 peptone water(PW; BD, Franklin Lakes, NJ, USA)로 3회 세척하였다. 이후 침전된 세포를 9 ml PW에 현탁하여 최종 농도가 약 10^7 – 10^8 colony forming units(CFU)/ml이 되도록 하였다. 준비된 현탁액을 혼합하여 혼합 배양액(mixed-culture cocktail)을 제조하였다.

1.4 초기 균수의 시간별 검증

세균 현탁액을 접종한 수조 내 시료에서는 시간이 경과함에 따라 병원체가 하부로 침전될 가능성이 있다. 이러한 가능성을 검증하기 위하여, 접종액 9 ml를 8 L의 물에 혼합한 후 *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*의 초기 균수를 접종 직후를 비롯하여 15, 30, 45, 60초 시점과 2, 4, 6, 8분 시점에서 각각 측정하였다. 시료(1 ml)는 수조 중앙부의 수면 및 바닥에서 각각 채취하였다.

1.5 수심 및 위치에 따른 세균 불활성화

수심 증가에 따른 세균 불활성화 효과를 비교하고자, 수조에 증류수(distilled water, DW) 1, 2, 4, 6, 8 L를 각각 주입하였다. 이후 *E. coli* O157:H7은 UVC LED로 15, 30, 45, 60초 동안, *S. aureus*는 2, 4, 6, 8분 동안 처리하였다. 처리된 시료는 수조 중앙부의 수면(UVC LED 바로 아래)과 바닥(UVC LED의 수직 하부)에서 각각 5 ml를 채취하였다.

UVC LED가 수조 중앙에 설치되어 있으므로, 네 모서리 중 우측 상단 모서리를 대표 지점으로 선정하였으며, 이 지점의 수면과 바닥에서 시료를 채취하여 분석하였다.

1.6 석영관을 이용한 조사 강도 및 불활성화 효과 평가

수조의 수면과 바닥에서 관찰된 세균 불활성화 차이를 검증하기 위하여, 석영관(quartz tube)을 이용한 UVC LED 조사 효과를 분석하였다. 직경 Φ34 mm(내경) × Φ40 mm(외경), 길이 150 mm의 석영관을 제작하였으며, 8 L 수조의 수심 조건을 동일하게 재현하여 수질 소독 시스템을 모사하였다. 이어 동일한 초기 균수를 구현하기 위해 혼합 배양액 123 μl를 멸균 증류수 110 ml에 현탁하였으며, 이때 석영관 내 수심은 12 cm에 도달하여 8 L 수조에서 측정된 수심과 동일하였다. UVC LED 소자를 석영관 하부에 배치하였으며, 석영관 내 시료는 *E. coli* O157:H7의 경우 7.5 – 30초, *S. aureus*의 경우 30 – 120초 동안 처리하였다.

또한, UVC 조사 강도는 분광기(AvaSpec-ULS2048-

USB2-UA-50; Avantes, Apeldoorn, Netherlands)를 이용하여 LED와의 거리 변화에 따라 측정하였다. 광 프로브는 석영관 내부에, LED는 석영관 하부 외측에 두어 프로브 바로 아래에 위치시켰다. 이때 LED와 석영관 바닥 사이의 거리는 수조에서의 수면-UVC LED 간 거리와 동일하게 3 cm로 설정하였다. LED와 프로브 간 거리는 3-15 cm 범위에서 조정하며 측정하였다.

1.7 교반 조건에서의 불활성화

수조 내 시료가 충분히 혼합되도록 임펠러가 장착된 교반기(overhead stirrer, MS3040D; Misung Scientific Co., Republic of Korea)를 사용하였다. 임펠러는 LED 바로 옆에 설치하였으며, 교반 속도는 100 rpm 및 400 rpm으로 설정하였다. 이 조건에서 *E. coli* O157:H7은 3-12분간, *S. aureus*는 5-20분간 UVC LED로 조사하였다. 처리 후에는 수조 중앙과 모서리의 수면 및 바닥에서 각각 1 ml의 시료를 채취하였다.

또한, 각 처리 조건에서 얻은 생존 곡선을 바탕으로 두 균주의 불활성화 속도상수(k)를 산출하였다. 이 값은 조사선량 1 mJ/cm² 처리 시 나타나는 로그 감소 정도를 의미한다 (Kim and Kang, 2018b; Kim et al., 2017b).

1.8 세균 수 측정

세균 정량을 위하여 처리된 시료 1 ml를 멸균된 0.2% PW 9 ml에 연속 10배 희석한 후, 각 희석액 100 µl를 선택배지에 도말하였다. *E. coli* O157:H7 은 sorbitol-MacConkey agar (Difco Laboratories Inc)에, *S. aureus* 는 Baird-Parker agar(BPA; MB Cell, Seoul, Korea)에 각각 접종하였다. 모든 평판배지는 37°C에서 24시간 배양하였으며, 특징적인 집락을 계수하였다.

S. aureus의 손상 세포는 overlay 방법 (Lee and Kang, 2001) 을 이용하여 계수하였다. 손상 세포의 회복을 위해 비선택배지로 TSA를 사용하였다. 먼저 적절히 희석된 시료 100 µl를 TSA 평판배지에 도말한 후, 37°C에서 2시간 배양하여 손상 세포가 회복되도록 하였다 (Kang and Siragusa, 1999). 이후 선택배지인 BPA 약 7-8 ml를 겹부어 굳힌 후, 37°C에서 22시간 동안 추가로 배양하였다. 이 과정에서 형성된 특징적인 흑색 집락을 계수하였다.

E. coli O157:H7 의 경우, 1% sorbitol을 첨가한 phenol-red agar base 배지(Difco Laboratories Inc)를 사용하였다 (Rhee et al., 2003). 37°C에서 24시간 배양한 후 E. coli O157:H7 특유의 백색 집락을 계수하였다. 또한 무작위로 선별한 추정 E. coli O157:H7 집락에 대하여 혈청학적 확인 (E. coli O157:H7 latex agglutination assay; Remel, Renexa, KS, USA) 을 실시하였다.

1.9 통계 분석

모든 실험은 각 조건에 대해 이중으로 수행하였고, 동일한 실험을 독립적으로 3회 반복하였다. 수집된 모든 데이터에 대하여 SAS 소프트웨어(SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석을 실시하였고, Duncan의 다중 범위 검정을 통해 세균 수, 로그 감소 수준 및 불활성화 속도상수(k)의 평균값 간 차이가 통계적으로 유의한지 검정하였다($P < 0.05$).

2. 결과

2.1 세균 불활성화

8 L 수조에 접종한 *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*의 초기 균수는 Table 1에 제시하였다. UVC LED를 처리하지 않은 조건에서는 수면과 바닥 간 균수에 유의적인 차이가 없었다.

각 수심 조건(1, 2, 4, 6, 8 L)에서 *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*의 생존 집락수는 각각 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다. 수조 수면에서는 모든 수심 조건에서 조사 시간이 길어질수록 균수가 감소하는 경향을 보였다. 이때 *E. coli* O157:H7은 60초 처리에서, *S. aureus*는 8분 처리에서 약 2-5 log 수준의 감소가 관찰되었다. 수조 바닥에서도 1 L와 2 L 조건에서는 수면과 유사한 감소가 관찰되었으

Table 1. Initial population of pathogen suspended in 6 L water sample.

Bacteria	Treatment time	Initial population (log CFU/ml)[a]	
		Surface	Bottom
E. coli O157:H7	0	6.36 ± 0.21 Aa	6.44 ± 0.05 Aa
	15 s	6.43 ± 0.09 Aa	6.43 ± 0.04 Aa
	30 s	6.21 ± 0.14 Aa	6.46 ± 0.08 Aa
	45 s	6.37 ± 0.08 Aa	6.49 ± 0.16 Aa
	60 s	6.48 ± 0.17 Aa	6.34 ± 0.31 Aa
S. aureus	0	6.59 ± 0.38 Bb	6.64 ± 0.46 Bb
	2 min	7.12 ± 0.05 Bb	7.08 ± 0.11 Bb
	4 min	7.08 ± 0.16 Bb	7.14 ± 0.12 Bb
	6 min	7.16 ± 0.12 Bb	7.42 ± 0.31 Bb
	8 min	7.05 ± 0.05 Bb	7.11 ± 0.07 Bb

[a]Data represent means ± standard deviations of three replications for each time period. Values within columns followed by the same upper case letters are not statistically different ($P > 0.05$). Values within rows followed by the same lower case letters are not statistically different ($P > 0.05$).

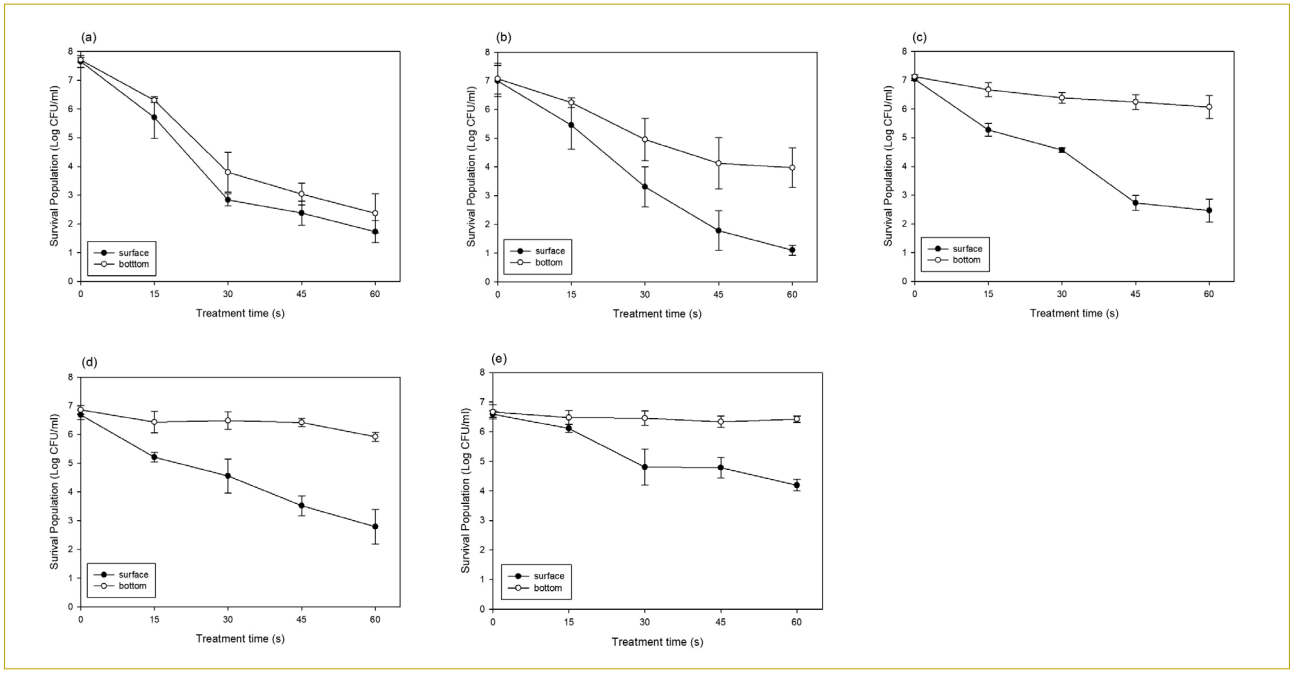

Fig. 2. Survival populations of *E. coli* O157:H7 at (a) 1, (b) 2, (c) 4, (d) 6, and (e) 8 L of water sample, treated with 10 mW UVC-LED. Filled circle (●) indicates the surface, and empty circle (○) indicates the bottom of the tank. The results are means from three experiments, and error bars indicate standard deviations.

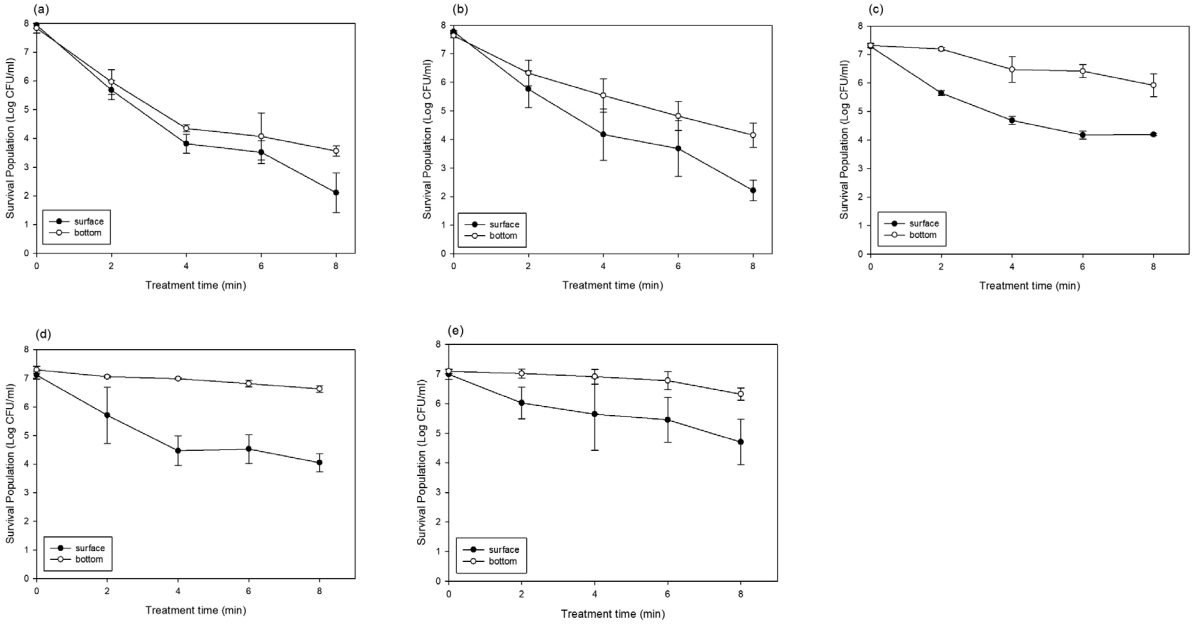

Fig.3. Survival populations of *S. aureus* at (a) 1, (b) 2, (c) 4, (d) 6 L, and (e) 8 L of water sample, treated with 10 mW UVC-LED. Filled circle (●) indicates the surface, and empty circle (○) indicates the bottom of the tank. The results are means from three experiments, and error bars indicate standard deviations.

나, 4 L 이상(4, 6, 8 L)의 조건에서는 두 균주 모두에서 1 log 미만의 감소에 불과하였다.

수조 내 수면과 바닥에서의 생존 집락수 차이는 수조의 용량이 증가함에 따라 점차 확대되는 경향을 보였다(Fig.

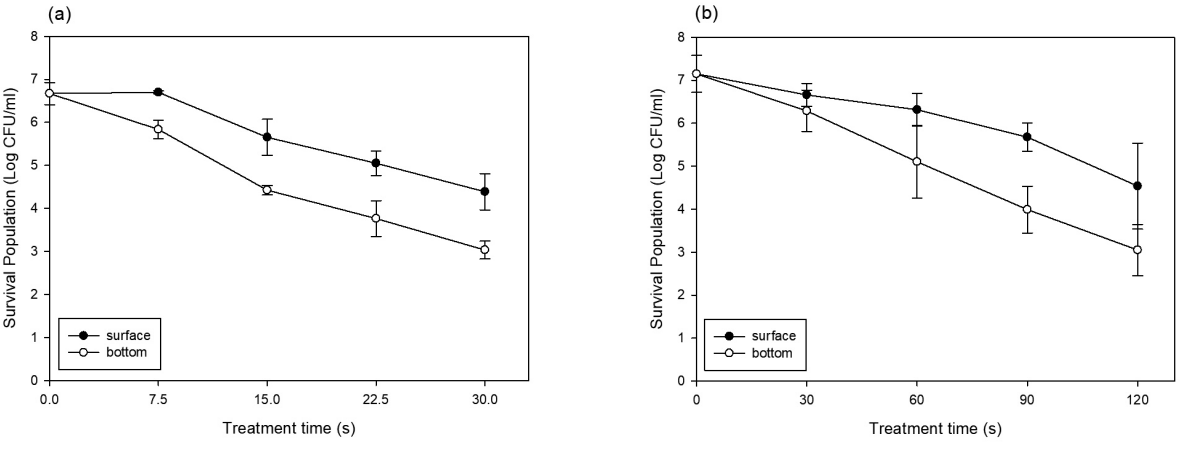

Fig. 4. Survival populations of (a) *E. coli* O157:H7 and (b) *S. aureus* after treatment with 10 mW UVC-LED. The samples were collected from the (●) surface and (○) bottom of the quartz tube. The results are means from three experiments, and error bars indicate standard deviations.

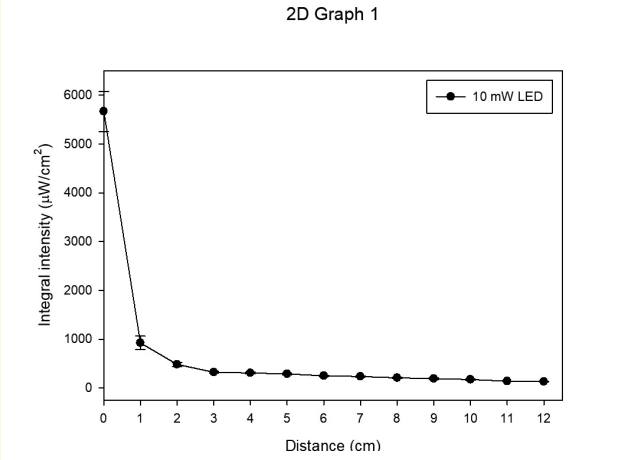

Fig. 5. Irradiance measurement of 10 mW UVC-LED at a distance from the light probe of 0 to 12 cm.

4). 1 L 조건에서 UVC LED를 60초 및 8분간 처리한 결과, *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*의 수면과 바닥 간 생존 집락수 차이는 각각 0.64 log CFU와 1.46 log CFU로 나타났다. 반면 6 L 조건에서는 그 차이가 각각 3.13 log CFU와 2.58 log CFU로 증가하였다.

예상한 바와 같이, 8 L 수조 모서리에서 채취한 시료에서는 UVC LED 조사 후 두 균주 모두 유의적인 불활성화가 확인되지 않았다(data not shown). *E. coli* O157:H7의 경우, 60초간 자외선 처리 후 수면에서 약 0.50 log, 바닥에서 약 0.16 log의 감소가 관찰되었다. *S. aureus*의 경우, 8분간 자외선 처리 후 수면과 바닥에서 각각 약 0.92 log와 0.51 log의 감소가 확인되었다.

2.2 석영관 내 수심 별 조사강도 분석

수조의 수면과 바닥에서 채취한 시료의 불활성화 정도의 차이를 분석하기 위하여, 석영관을 통과하는 동안 수심에 따른 UVC LED 조사강도를 측정하였다(Fig. 5). 적분 조사강도는 LED로부터 불과 수 cm 떨어진 거리에서도 급격히 감소하였다. 0 cm(프로브가 석영관 하단부, 즉 LED 바로 위에 위치한 경우)에서의 적분 조사강도(파장범위 250 - 310 nm)는 5666.09 μW/cm²이었으나, 1 cm에서는 924.96 μW/cm², 12 cm에서는 131.32 μW/cm²로 감소하였다.

2.3임펠러 교반에 의한 병원성 세균 불활성화

Fig. 6과 Fig. 7은 임펠러를 각각 400 rpm과 100 rpm

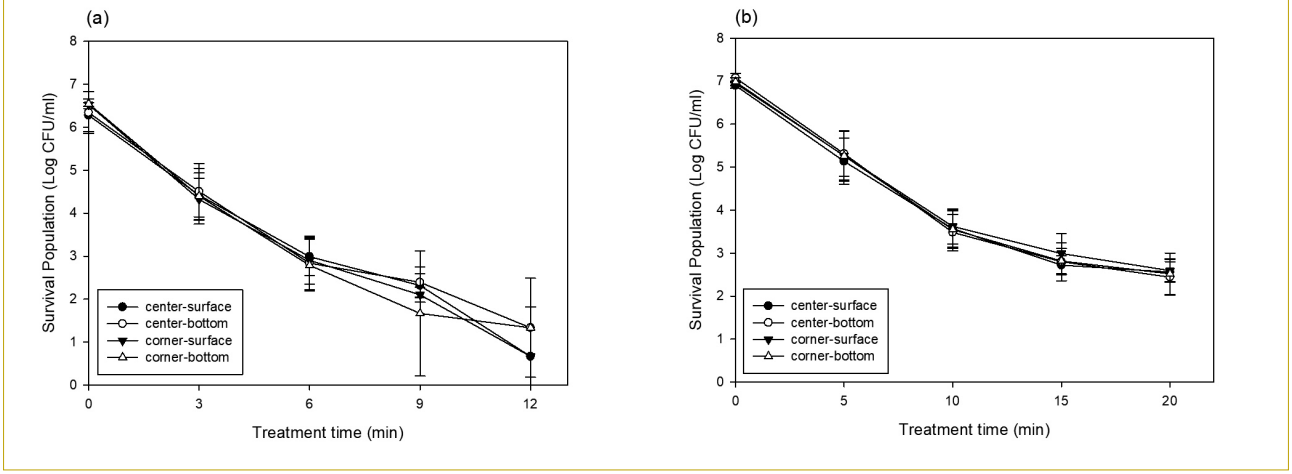

Fig. 6. Survival populations of (a) *E. coli* O157:H7 and (b) *S. aureus*, after addition of impeller at speed of 400 rpm. The samples are collected at the (●) center-surface, (○) center-bottom, (▼) corner-surface, and (△) corner-bottom of the 6 L water tank. The results are means from three experiments, and error bars indicate standard deviations.

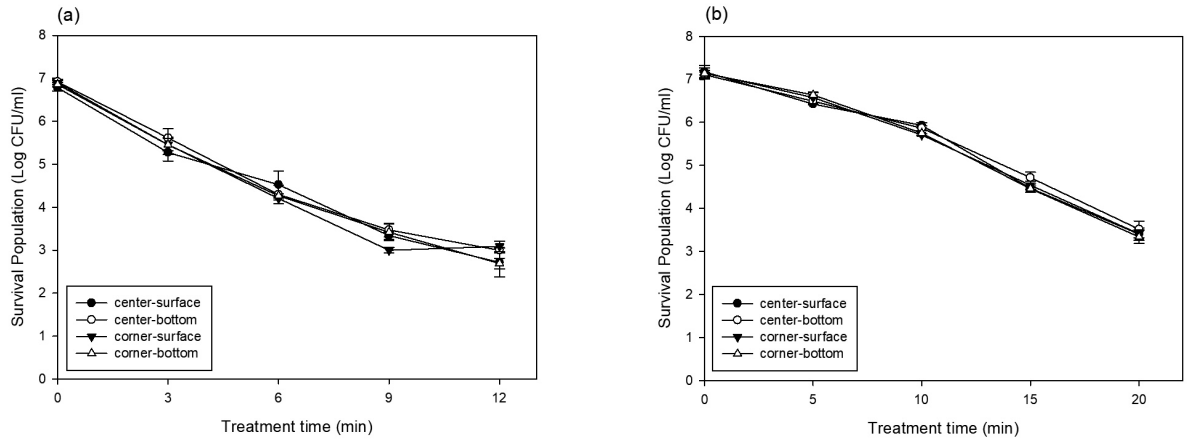

Fig.7. Survival populations of (a) *E. coli* O157:H7 and (b) *S. aureus*, after addition of impeller at speed of 100 rpm. The samples are collected at the (●) center–surface, (○) center–bottom, (▼) corner–surface, and (△) corner–bottom of the 6 L water tank. The results are means from three experiments, and error bars indicate standard deviations.

으로 가동하였을 때의 *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*의 생존 집락수를 나타낸 것이다. 시료는 수조의 네 지점(중앙–수면, 중앙–바닥, 모서리–수면, 모서리–바닥)에서 채취하였다. 8 L 수조에 병원성 미생물을 접종한 경우, 불활성화를 위해 상당히 긴 처리 시간(*E. coli* O157:H7의 경우 12분, *S. aureus*의 경우 20분)이 요구되었으나, UVC LED로 특정 중앙 지점에 국한되지 않고 수조 전체가 소독되었다. 교반 조건에서는 두 식중독 세균이 네 지점 모두에서 효과적으로 불활성화되었으며(〉4 log 감소), 위치 간 유의적인 차이는 관찰되지 않았다($P > 0.05$). 또한 400 rpm과 100 rpm 교반 조건 간에도 유사한 살균 효과가 나타났다. 임펠러를 가동하지 않은 무교반 조건과 비교하였을 때, UVC LED 처리는 수조 내 위치 전반에서 보다 균일하게 이루어졌다.

2.4 불활성화 속도상수(k) 평가

불활성화 속도상수(k)는 계산하여 Table 2에 제시하였다. *E. coli* O157:H7과 *S. aureus* 모두에서 수조 용량이 1 L에서 8 L로 증가함에 따라 k 값은 시료 채취 위치와 관계없이 감소하였으며, 이는 대용량 조건에서 병원성 세균의 불활성화가 더 어려워짐을 시사한다. 두 균주 모두 4, 6, 8 L 조건에서는 수면과 바닥 간 k 값이 유의적으로 차이를 보였다. 또한 모든 용량 조건에서 *E. coli* O157:H7의 수면 k 값은 *S. aureus* 보다 약 5배 높게 나타났다. 아울러, 수조 용량이 증가함에 따라 k 값의 감소폭은 수면보다 바닥에서 더 크게 나타나, 바닥에서의 살균 효과가 용량 증가에 의해 현저히 저하됨을 보여주었다.

Table 3에는 8 L 수조 조건에서 임펠러 유무에 따른 불활성화 속도상수(k) 값이 제시되어 있다. *E. coli* O157:H7의 경우 중앙 수면 시료를 제외하면 교반 유무에 따른 k 값의 유의적 차이는 관찰되지 않았으며, 그 값은 0.024 – 0.042 cm^2/mJ 범위에 분포하였다. 반면, *S. aureus*는 400 rpm 교반 조건에서 k 값이 증가하여 무교반 조건보다 2~10배 높은 수준을 보였다.

3. 고찰

자외선 조사는 수십 년간 수중 병원성 미생물 불활성화를 위한 효과적인 수단으로 활용되어 왔다. 특히 254 nm 파장을 방출하는 저압 수은 램프(LP lamp)는 병원체 불활성화 효과가 높고, 바이러스 · 세균 · 진균을 포함한 광범위한 살균 스펙트럼을 가지며, 소독 부산물 생성이 미미하다는 장점으로 인해 수처리 소독 공정의 주류로 사용되어

Table 2. Inactivation rate constant of (a) *E. coli* O157:H7 and (b) *S. aureus* for increasing volumes.

Volume (L)		Inactivation rate constant, k (cm^2/mJ)[a]				
		1	2	4	6	8
(a) *E. coli* O157:H7	surface	0.430 ± 0.131 Aa	0.340 ± 0.093 Aa	0.389 ± 0.041 Aa	0.325 ± 0.010 Aa	0.107 ± 0.006 Ba
	bottom	0.310 ± 0.001 Aa	0.184 ± 0.084 Ba	0.101 ± 0.039 BCb	0.094 ± 0.050 BCb	0.042 ± 0.040 Cb
(b) *S. aureus*	surface	0.062 ± 0.006 Aa	0.056 ± 0.017 Aa	0.045 ± 0.002 ABa	0.039 ± 0.007 ABa	0.027 ± 0.011 Ba
	bottom	0.052 ± 0.005 Aa	0.036 ± 0.011 Ba	0.004 ± 0.001 Cb	0.007 ± 0.002 Cb	0.002 ± 0.002 Cb

[a]Data represent means ± standard deviations of three replications for each volume. Values within rows followed by the same upper case letters are not statistically different (P > 0.05). Values within columns followed by the same lower case letters are not statistically different (P > 0.05).

Table 3. Inactivation rate constant of (a) *E. coli* O157:H7 and (b) *S. aureus* before addition of impeller, at speed of 400 rpm, and at 100 rpm.

			Inactivation rate constant, k (cm^2/mJ)[a]		
			Before impeller	400 rpm	100 rpm
(a) *E. coli* O157:H7	center	surface	0.107 ± 0.006 Aa	0.034 ± 0.003 Ba	0.028 ± 0.001 Ba
		bottom	0.042 ± 0.040 Ab	0.034 ± 0.005 Aa	0.024 ± 0.001 Ab
	corner	surface	0.034 ± 0.020 Aa	0.041 ± 0.008 Aa	0.027 ± 0.002 Aa
		bottom	0.040 ± 0.019 Aa	0.040 ± 0.011 Aa	0.026 ± 0.006 Aa
(b) *S. aureus*	center	surface	0.027 ± 0.011 Aa	0.019 ± 0.005 ABa	0.008 ± 0.002 Ba
		bottom	0.002 ± 0.002 Bb	0.020 ± 0.005 Aa	0.007 ± 0.000 Ba
	corner	surface	0.007 ± 0.001 Ba	0.019 ± 0.006 Aa	0.006 ± 0.001 Ba
		bottom	0.006 ± 0.001 Bb	0.019 ± 0.005 Aa	0.006 ± 0.001 Ba

[a]Data represent means ± standard deviations of three replications. Values within rows followed by the same upper case letters are not statistically different (P > 0.05). Values within columns followed by the same lower case letters are not statistically different (P > 0.05).

왔다 (Bintsis et al., 2000; Blatchley III et al., 2008; Lopez-Malo and Palou, 2005). 그러나 수은 오염이 인체 및 환경 보건에 위협을 가함에 따라 「수은에 관한 미나마타 협약」이 채택되었으며, 이에 따라 수은 함유 제품의 사용은 2020년부터 단계적으로 축소되어 중단되었다 (Kessler, 2013; UNEP, 2013). 이러한 배경 속에서 엑시머 램프와 UVC LED와 같은 신기술들이 기존 자외선 조사 공정을 대체할 차세대 UV 기술로 주목받고 있다 (Matafonova and Batoev, 2018; Umar et al., 2019).

UVC LED 시스템은 기존 LP 램프에 비해 외부 충격에 대한 내구성, 소독 장치에 적용하기 용이한 소형화, 온도 변화에 따른 조사 강도의 안정성, 저전압 구동, 그리고 무엇보다 무수은 시스템이라는 장점을 지닌다 (Chen et al., 2017; Shin et al., 2016). 이러한 특성으로 인해 UVC LED는 수중, 식품, 표면 및 공기 중 병원성 세균 제어를 목적으로 한 다양한 연구에 활용되어 왔다 (Aoyagi et al., 2011; Beck et al., 2017; Chatterley and Linden, 2010; Kim and Kang, 2018a, b; Kim et al., 2016; Oguma et al., 2013). 특히 투과 깊이가 제한적임에도 불구하고 안전한 음용수 확보를 위한 소독 공정에도 적용되

었다.

Ignat 등(2015)은 수심이 깊어지고 세척 횟수가 늘어날수록 자외선 투과율이 감소하며, 이는 시료의 높이 증가와 탁도 상승을 반영한다고 보고하였다 (Ignat et al., 2015). 이러한 한계로 인해 가정용 기기에 UVC LED를 적용하려면, 최소 개수의 UVC LED를 사용했을 때 처리 용량과 시료 채취 위치에 따른 살균 효과를 종합적으로 평가할 필요가 있다. 본 연구에서는 정수기 용기를 이용한 부피 기반의 평가를 통해, UVC LED의 물 속 병원균 불활성화 효과를 평가하였다.

8 L 규모의 대용량 실험은 세균 저감의 까다로운 조건을 모사하므로, 세균이 수조 바닥으로 가라앉을 가능성이 있다. 따라서 E. coli O157:H7와 S. aureus의 초기 균수를 측정하는 것은 중요하다. 표 1에는 각 시료 채취 시점에서 측정한 초기 균수가 제시되어 있다. 균수 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 이는 시간 경과와 관계없이 균이 수조 전반에 고르게 분포했음을 보여준다.

세균 감소는1, 2, 4, 6, 8 L의 부피 조건에서 관찰되었다 (Fig. 2 및 3). 1 L와 2 L 조건에서는 E. coli O157:H7와 S. aureus가 수조 바닥에서도 효과적으로 불활성화되었으나 (〉 3 log 감소), 4 L 이상에서는 바닥에서 유의한 감소가 나타나지 않았다 (〈 1 log 감소). 시료의 수심은 부피 증가에 따라 1.5~12 cm 범위로 변하였고, 이에 따라 UVC LED 조사 강도는 제곱 반비례 법칙에 의해 급격히 감소하였다 (Fig. 5). 낮은 조사 강도로 인해 동일한 처리 시간 동안 효과적인 병원균 불활성화를 달성하기에 충분한 조사량이 확보되지 못했다. 또한 모서리 부위의 세균 감소 역시 유의하지 않았으며 (〈 1 log 감소; data not shown), 이는 UVC LED 소자로는 수조 내 자외선 처리가 균일하게 이루어지지 않았음을 시사한다. Petri factor는 시료 표면에 대한 UVC 조사 균일성을 나타내는 지표로, 일반적으로 0.9 이상의 값이 확보되어야 거의 균일한 조사 강도를 구현할 수 있다 (Beck et al., 2017; Bolton and Linden, 2003; Li et al., 2018). 그러나 본 연구 결과, UVC LED 소자만으로는 수조 내 수면 전체를 충분히 조사하기에 한계가 있었다.

UVC LED의 낮은 투과력은 대규모 적용에서 한계로 작용하며, 빛의 불균일한 분포 또한 주요 제약 요인이다. 이를 보완하기 위해 수조 중앙의 LED 옆에 임펠러가 장착된 오버헤드 교반기를 설치하였다. 임펠러를 400 rpm뿐만 아니라 100 rpm으로 회전시킨 경우에도, 중심–수면, 중심–바닥, 모서리–수면, 모서리–바닥의 네 위치 모두에서 균일한 세균 감소가 관찰되었다. 이러한 결과는 적절한 교반이 LED 소자만으로도 대용량 시료의 효과적인 소독을 가능하게 함을 시사한다. 따라서 교반은 불균일한 UVC LED 분포와 낮은 투과력의 한계를 동시에 극복할 수 있는 방법으로 평가된다. 여러 연구에서도 교반을 통해 UVC 빛의 노출 가능성을 증가시켜 조사 효율과 병원체 불활성화를 개선한 것으로 보고된 바 있다 (Kheyrandish et al., 2018; Li et al., 2017; Umar et al., 2014).

스케일업 실험에서 얻은 불활성화 속도상수(k)는 표 2에 나타내었다. 이 값은 E. coli O157:H7와 S. aureus의 스케일업 조건에서 불활성화 경향을 파악하기 위해 산출된 것이다. 두 병원체 모두 시료 부피가 증가할수록 k 값이 감소하였으며, 이는 시료 깊이가 깊어질수록 부유 세균의 불활성화가 더욱 어려워짐을 시사한다. 표 6에는 임펠러를 추가하지 않은 경우와 400 rpm, 100 rpm 조건에서의 각 위치별 k 값이 제시되어 있다. E. coli O157:H7의 경우, 임펠러를 400 rpm 또는 100 rpm으로 가동한 조건을 제외하면 모든 위치에서 k 값의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 이는 임펠러 회전에 의해 수조 전체가 교반되면서 처리되지 않은 세균이 지속적으로 순환되었기 때문으로 추정된다. 정지 상태의 수조에서는 병원체가 고정되어 자외선에 지속적으로 노출된 반면, 임펠러가 가동된 수조에서는 세균의 완전한 불활성화를 위해 더 많은 시간과 조사량이 필요하였다. 그 결과, 400 rpm과 100 rpm 조건의 k 값은 임펠러를 추가하지 않은 경우보다 낮게 나타났다. S. aureus 역시 E. coli O157:H7와 유사한 경향을 보였으나, 임펠러 추가 전에는 중심–바닥과 모서리 위치의 k 값이 중심–수면과 비교해 유의하게 차이를 보였

다. 이는 *S. aureus*가 *E. coli* O157:H7보다 자외선에 더 높은 내성을 지님을 시사하며, 400 rpm에서의 충분한 교반이 이러한 불활성화의 제약을 완화할 수 있음을 보여준다. 또한, 일반적으로 그람양성균은 그람음성균보다 자외선에 덜 민감한 것으로 보고되어 왔다. Beauchamp and Lacroix (2012)는 그람양성균인 *L. monocytogenes*가 자외선 조사량 3 J/cm^2 이상에서 *E. coli*에 비해 CPD를 35%, 6-4PP를 10% 적게 생성함을 보고하였다. 이러한 UV 광화학 산물 생성의 차이는 그람양성균이 자외선 처리에 대해 더 높은 내성을 나타내는 요인으로 작용한다.

본 연구에서는 UVC LED 소자의 수중 병원체 불활성화 효능을 부피 기반 분석으로 평가하였다. 그 결과, 수면 바로 아래의 *E. coli* O157:H7와 *S. aureus*는 효과적으로 불활성화되었으나, 중심 바닥과 모서리에서는 유의한 소독 효과가 나타나지 않았다. 임펠러에 의한 수중 교반은 불활성화 수준을 향상시켰으나, 세균 현탁액 전체의 처리에는 장시간의 자외선 조사가 필요하였다. 따라서 낮은 투과 깊이와 조사 강도의 불균일성이라는 UVC LED의 한계는 임펠러 도입을 통해 부분적으로 개선될 수 있음을 확인하였다.

국문 요약

효과적인 수처리 공정은 인류 건강과 공중 보건을 보장하고 수인성 병원체로 인한 질병 부담을 줄이는 데 필수적이다. 최근 UVC LED가 수중 병원성 세균 불활화에 적용되면서 기존 저압 수은램프를 대체할 수 있는 새로운 소독 기술로 주목받고 있다. 본 연구에서는 UVC LED소자를 이용하여 시료 부피에 따른 수중 병원체 불활성화 효율을 평가하였다. 280 nm UVC LED는 칩 바로 아래 위치한 *Escherichia coli* O157:H7와 *Staphylococcus aureus*를 효과적으로 불활성화시켰으나, 낮은 투과율과 조사각의 한계로 인해 수조 하부와 모서리에서는 불활성화 효과가 미미하였다. 임펠러를 이용한 교반은 UVC LED 소자 사용의 한계를 보완하여 UVC 광 노출 가능성을 높였다. 그러나 교반 시스템 적용 시 수조 전체의 병원체를 불활성화하기 위해 더 많은 조사량이 요구되었으며, 이에 따라 불활성화 속도 상수는 감소하였다. 결론적으로, UVC LED는 낮은 투과 깊이와 불균일한 분포라는 본질적 한계를 임펠러 사용으로 극복함으로써 수중 병원성 세균을 효과적으로 제어할 수 있음을 확인하였다.

Acknowledgement

본 연구는 서울대학교 신임교수 연구정착금으로 지원되는 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Conflict of Interest

The authors declare no competing interests.

Data Availability

The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request

참고 문헌

1. Aoyagi, Y., Takeuchi, M., Yoshida, K., Kurouchi, M., Yasui, N., Kamiko, N., Araki, T., Nanishi, Y., 2011. Inactivation of bacterial viruses in water using deep ultraviolet semiconductor light-emitting diode. Journal of Environmental Engineering 137, 1215-1218.

2. Beauté, J., 2017. Legionnaires' disease in Europe, 2011 to 2015. Eurosurveillance 22.

3. Beck, S.E., Ryu, H., Boczek, L.A., Cashdollar, J.L., Jeanis, K.M., Rosenblum, J.S., Lawal, O.R., Linden, K.G., 2017. Evaluating UV-C LED disinfection performance and investigating potential dual-wavelength synergy. Water research 109, 207-216.

4. Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R.K., 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry - a critical review. Journal of

the Science of Food and Agriculture 80, 637–645.

5. Blatchley III, E.R., Shen, C., Scheible, O.K., Robinson, J.P., Ragheb, K., Bergstrom, D.E., Rokjer, D., 2008. Validation of large–scale, monochromatic UV disinfection systems for drinking water using dyed microspheres. Water research 42, 677–688.

6. Bolton, J.R., Linden, K.G., 2003. Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench–scale UV experiments. Journal of Environmental Engineering 129, 209–215.

7. Borella, P., Montagna, M.T., Romano–Spica, V., Stampi, S., Stancanelli, G., Triassi, M., Neglia, R., Marchesi, I., Fantuzzi, G., Tatò, D., 2004. Legionella infection risk from domestic hot water. Emerging infectious diseases 10, 457.

8. Bowker, C., Sain, A., Shatalov, M., Ducoste, J., 2011. Microbial UV fluence–response assessment using a novel UV–LED collimated beam system. Water research 45.

9. Caminiti, I.M., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D.J., Cronin, D.A., Lyng, J.G., 2012. The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice. Food and Bioprocess Technology 5, 680–686.

10. Chatterley, C., Linden, K., 2010. Demonstration and evaluation of germicidal UV–LEDs for point–of–use water disinfection. Journal of water and health 8, 479–486.

11. Chen, J., Loeb, S., Kim, J.–H., 2017. LED revolution: fundamentals and prospects for UV disinfection applications. Environmental Science: Water Research & Technology 3, 188–202.

12. Chevremont, A.–C., Farnet, A.–M., Coulomb, B., Boudenne, J.–L., 2012. Effect of coupled UV–A and UV–C LEDs on both microbiological and chemical pollution of urban wastewaters. Science of the total environment 426, 304–310.

13. Ignat, A., Manzocco, L., Bartolomeoli, I., Maifreni, M., Nicoli, M.C., 2015. Minimization of water consumption in fresh–cut salad washing by UV–C light. Food Control 50, 491–496.

14. Kang, D.H., Siragusa, G., 1999. Agar underlay method for recovery of sublethally heat–injured bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 65, 5334–5337.

15. Kessler, R., 2013. The Minamata Convention on Mercury: a first step toward protecting future generations. Environmental health perspectives 121, A304.

16. Kheyrandish, A., Taghipour, F., Mohseni, M., 2018. UV–LED radiation modeling and its applications in UV dose determination for water treatment. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 352, 113–121.

17. Kim, D.–K., Kang, D.–H., 2018a. Elevated Inactivation Efficacy of a Pulsed UVC Light–Emitting Diode System for Foodborne Pathogens on Selective Media and Food Surfaces. Appl. Environ. Microbiol. 84, e01340–01318.

18. Kim, D.–K., Kang, D.–H., 2018b. UVC LED Irradiation Effectively Inactivates Aerosolized Viruses, Bacteria, and Fungi in a Chamber–Type Air Disinfection System. Appl. Environ. Microbiol. 84, e00944–00918.

19. Kim, D.–k., Kang, D.–H., 2020. Effect of surface characteristics on the bactericidal efficacy of UVC LEDs. Food Control 108, 106869.

20. Kim, D.–K., Kim, S.–J., Kang, D.–H., 2017a. Bactericidal effect of 266 to 279 nm wavelength UVC–LEDs for inactivation of Gram positive and Gram negative foodborne pathogenic bacteria and yeasts. Food Research International 97, 280–287.

21. Kim, D.–K., Kim, S.–J., Kang, D.–H., 2017b. Inactivation modeling of human enteric virus surrogates, MS2, Qβ, and ΦX174, in water using UVC–LEDs, a novel disinfecting system. Food Research International 91, 115–123.

22. Kim, S.–J., Kim, D.–K., Kang, D.–H., 2016. Using UVC light–emitting diodes at wavelengths of 266 to 279 nanometers to inactivate foodborne pathogens and pasteurize sliced cheese. Applied and environmental microbiology 82, 11–17.

23. Kim, Y.–H., Jeong, S.–G., Back, K.–H., Park, K.–H., Chung, M.–S., Kang, D.–H., 2013. Effect of various conditions on inactivation of Escherichia coli O157: H7, Salmonella Typhimurium, and Listeria monocytogenes in fresh–cut lettuce using ultraviolet radiation. International journal of food microbiology 166, 349–355.

24. Lee, S.–Y., Kang, D.–H., 2001. Suitability of overlay method for recovery of heat–injured Listeria

monocytogenes and Salmonella Typhimurium. Food Science and Biotechnology 10, 323–326.

25. Li, G.–Q., Wang, W.–L., Huo, Z.–Y., Lu, Y., Hu, H.–Y., 2017. Comparison of UV–LED and low pressure UV for water disinfection: Photoreactivation and dark repair of Escherichia coli. Water research 126, 134–143.

26. Li, X., Yang, D., Cai, M., 2018. New analysis method for radiation modeling and sterilization effect of UVC–LED module, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. IOP Publishing, p. 042141.

27. Lopez–Malo, A., Palou, E., 2005. Ultraviolet light and food preservation. Novel food processing technologies, 464–484.

28. Lui, G.Y., Roser, D., Corkish, R., Ashbolt, N.J., Stuetz, R., 2016. Point–of–use water disinfection using ultraviolet and visible light–emitting diodes. Science of the total environment 553, 626–635.

29. Matafonova, G., Batoev, V., 2018. Recent advances in application of UV light–emitting diodes for degrading organic pollutants in water through advanced oxidation processes: A review. Water research 132, 177–189.

30. Mukhopadhyay, S., Ukuku, D., Juneja, V., Fan, X., 2014. Effects of UV–C treatment on inactivation of Salmonella enterica and Escherichia coli O157: H7 on grape tomato surface and stem scars, microbial loads, and quality. Food Control 44, 110–117.

31. Oguma, K., Kita, R., Sakai, H., Murakami, M., Takizawa, S., 2013. Application of UV light emitting diodes to batch and flow–through water disinfection systems. Desalination 328, 24–30.

32. Rattanakul, S., Oguma, K., 2018. Inactivation kinetics and efficiencies of UV–LEDs against Pseudomonas aeruginosa, Legionella pneumophila, and surrogate microorganisms. Water research 130, 31–37.

33. Rhee, M.–S., Lee, S.–Y., Hillers, V.N., McCURDY, S.M., Kang, D.–H., 2003. Evaluation of consumer–style cooking methods for reduction of Escherichia coli O157: H7 in ground beef. Journal of food protection 66, 1030–1034.

34. Shin, J.–Y., Kim, S.–J., Kim, D.–K., Kang, D.–H., 2016. Fundamental characteristics of deep–UV light–emitting diodes and their application to control foodborne pathogens. Applied and environmental microbiology 82, 2–10.

35. Squier, C., Victor, L.Y., Stout, J.E., 2000. Waterborne nosocomial infections. Current Infectious Disease Reports 2, 490–496.

36. Szymanska, J., Sitkowska, J., Dutkiewicz, J., 2008. Microbial contamination of dental unit waterlines. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 15.

37. Umar, M., Roddick, F., Fan, L., 2014. Comparison of UVC Lamp and UVC–light emitting diodes for treating municipal wastewater reverse osmosis concentrate, Proc. International Conference on Biological, Civil and Environmental Engineering (BCEE–2014), Rahman A., Sandhu PS (Eds.), International Institute of Chemical, Biological and Environmental Engineering (IICBEE), Dubai, United Arab Emirates, March, pp. 17–18.

38. Umar, M., Roddick, F., Fan, L., 2019. Moving from the traditional paradigm of pathogen inactivation to controlling antibiotic resistance in water–Role of ultraviolet irradiation. Science of the total environment.

39. UNEP, 2013. New global treaty cuts mercury emissions and releases, sets up controls on products, mines and industrial plants, United Nations Evrionmental Programme.

40. Vilhunen, S., Sillanpää, M., 2010. Recent developments in photochemical and chemical AOPs in water treatment: a mini–review. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 9, 323–330.

41. Zou, X.–Y., Lin, Y.–L., Xu, B., Cao, T.–C., Tang, Y.–L., Pan, Y., Gao, Z.–C., Gao, N.–Y., 2019. Enhanced inactivation of E. coli by pulsed UV–LED irradiation during water disinfection. Science of the total environment 650, 210–215.