

Ozone과 UV를 이용한 *Cryptosporidium*의 불활성화 효과

김윤희[†] · 이철희 · 이순화

영남대학교 환경공학과

(2006년 8월 23일 접수, 2006년 12월 28일 채택)

Inactivation Effect of *Cryptosporidium* by Ozone and UV

Yun-Hee Kim[†] · Chul-Hee Lee · Shun-Hwa Lee

Department of Environmental Engineering, Yeungnam University

ABSTRACT : The objective of this study was to investigate the inactivation characteristics of *Cryptosporidium* oocysts by ozone and UV and to suggest the better disinfection method. The inactivation CT value of 1 log(90%) and 2 log(99%) in ozone disinfection, which is an index of disinfection for inactivation effect by ozone, were respectively 5.77 mg · min/L and 21.30 mg · min/L. The inactivation in UV disinfection was not affected by pHs(5, 7 and 9), low turbidity(5 and below NTU) and UV intensity(0.2 and 0.6 mWs/cm²) but obviously decreased at high turbidity over 20 NTU. Therefore UV disinfection capacity can be obtained when a good turbidity removal in drinking water treatment process is achieved. And if oocysts is exposed by high UV over 0.6 mWs/cm² during enough time, the better inactivation effect will be obtained.

Key Words : *Cryptosporidium*, Ozone, UV, Disinfection, Inactivation, pH, Turbidity

요약 : 본 연구에서는 오존 및 UV 소독을 통해 *Cryptosporidium* 불활성화 특성을 파악하고 소독의 방향성을 제시하고자 하였다. ozone 을 이용한 *Cryptosporidium* 불활성화 효과는 소독지표의 하나인 CT값(mg · min/L)으로 평가할 수 있으며, 1 log(90%) 불활성화 CT값은 5.77 mg · min/L이고 2 log(99%) 불활성화 CT값은 21.30 mg · min/L인 것으로 나타났다. UV 소독을 통한 *Cryptosporidium* oocysts 불활성화 효과의 경우 pH(5, 7, 9)와 탁도(5 NTU 이하) 그리고 UV 강도(0.2, 0.6 mWs/cm²)에 따른 효과는 뚜렷하게 나타나지 않았다. 그러나 20 NTU 이상의 고탁도인 경우에는 불활성 효과가 뚜렷하게 감소하였다. 따라서 정수처리공정에서 UV 소독을 실시할 경우 탁도를 충분히 낮춰야만 만족할 만한 소독 능을 얻을 수 있으며 높은 UV 강도에서 충분한 시간 동안 UV가 조사된다면 더 높은 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성화 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

주제어 : 크립토스포리디움, 오존, UV, 소독, 불활성, pH, 탁도

1. 서 론

전 세계적으로 *Cryptosporidium*에 의한 수돗물의 오염 사례가 큰 문제점으로 인식되고 있다. 1993년 미국 위스콘신 밀워키에서는 160만 명의 급수인구 중 40여만 명이 감염되어 이로 인한 영향으로 100여명 가량이 사망했고, 1996년 일본 사이타마현, 오코세마치현에서도 수돗물을 통해 주민의 70%인 8천명 이상이 감염되는 등 감염 인구가 수천에서 수십만 명에 달하는 대규모 감염 사고가 발생하였다. 이러한 집단 발병 사례를 보면, *Cryptosporidium*에 오염된 원수가 상수 처리 과정에서 부적절하게 처리되어, 수도관을 통하여 단시간에 광범위한 지역으로 공급되었기 때문이다.¹⁾ 정수처리 조건에서 소독제를 사용하는 주된 목적은 미생물의 불활성화를 위함이다. 그러나 *Cryptosporidium*은 수중에서는 단단한 세포벽으로 둘러싸여 있어 염소 소독을 해도 잘 제거되지 않

는 어려움이 있다. 국내 대부분의 정수장에서는 소독공정에서 염소를 사용하는데 소독제에 내성을 가지고 있는 *Cryptosporidium* 과 같은 미생물 제어에 한계를 가지고 있으며, 고농도의 염소소독이 요구되어 실제로 정수처리공정에 적용하기가 어렵다. 따라서 상수 처리 과정에서 *Cryptosporidium*의 제거 거동을 파악하여 먹는 물의 안전성을 확보하는 것이 중요한 과제로 되고 있다. 염소는 *Cryptosporidium*과 같은 원생동물의 불활성화가 거의 불가능하기 때문에 1990년대 중반 이후부터는 소독력이 강한 오존이나 UV를 정수처리장에 적용하기 시작했다. *Cryptosporidium*은 높은 염소 요구량으로 18시간 접촉 이후에도 관찰되어 소독효과가 거의 없는 것으로 보고했으며,²⁾ 오존은 잔류성이 없어 처리를 거친 경우에도 염소 처리가 필요하다고 보고했다.^{3,4)} 그러나 오존처리는 온도에 영향을 많이 받으며 온도가 25℃서 5℃로 떨어졌을 때 오존에 대한 *Giardia*와 *Cryptosporidium*의 저항성이 증가하는 경향이 나타난다.⁵⁾ UV에 의한 미생물의 불활성화는 미생물 내부의 RNA나 DNA의 광반응에 의한 손상 때문이며, 미생물의 외형이나 내부 충전물(내부기관)을 파괴시키는 전통

[†] Corresponding author
E-mail: sewonk27@hanmail.net
Tel: 053-810-2540

Fax: 053-810-4624

적인 화학처리 방법이 아니라, 미생물의 생식이나 기타 다른 신진대사를 조절하는데 밀접한 관계가 있는 DNA에 직접 작용함으로써 의견상으로는 미생물의 처리 유무를 파악할 수 없다.^{6,7)} UV 소독의 경우 90년대 중반까지는 *Cryptosporidium* 을 제어하기 위해서는 높은 UV 조사량을 필요로 하는 것으로 알려져 있었기 때문에 사용이 제한적이었다. 그러나 최근 많이 이용되고 있는 분석기법인 세포 배양(cell culture) 법에 의하면 바이러스나 박테리아에 비해 *Cryptosporidium* 이나 *Giardia*와 같은 원생동물이 UV에 의해 쉽게 불활성화 되는 것으로 보고되고 있다.^{8,9)} 특히 염소나 오존 등의 화학적 소독제와는 달리 UV의 경우 온도의 영향이 거의 없고 소독 부산물을 발생시키지 않는다는 장점을 가지고 있어 하수 및 정수 처리에서 그 사용이 증가하고 있다.^{10,11)} 최근 국내에서도 정수처리를 통한 안전한 먹는 물 확보를 위하여 소독기준의 강화와 오존, UV 등과 같은 소독부산물의 위험이 적은 소독제 연구 및 적용의 필요성이 증가하고 있다. 따라서 본 연구에서는 오존 및 UV 소독을 통해 *Cryptosporidium* 불활성화 특성을 파악하고 현 공정에서 UV 소독의 필요성을 제시하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 불활성화 실험

2.1.1. 오존

오존 실험에서 사용된 *Cryptosporidium parvum* oocyst는 살아있는 *Cryptosporidium parvum*(Waterborne Inc.)을 구입하여 냉장보관하며 사용하였다. Fig. 1에서와 같이 실험에 사용된 오존 발생 장치는 일본 Fuji사의 용량 20 g/hr인 FOG-20S를 사용하였고, 원료는 0.5 L/min으로 10 g/m³공기를 이용하여 회분식(batch)으로 실험하였다. 직경이 100 mm, 높이 1,850 mm, volum 12.7 L의 칼럼을 이용하였으며 오존발생기에서 발생하는 기체상 오존농도 측정은 요오드 흡수법(KI Absorption method)을 이용하여 측정하였다. 실험수는 수온 20℃ 전후, pH 7.0±0.5로 조정된 정제수에 oocyst 농도가 대략 1.0×10⁵ oocysts/mL가 되도록 첨가했다. 오존 가스 유량을 일정하게 하고 시료를 시간 마다 채수하여 접촉시간에 따른 불활성화를 살펴보았다.

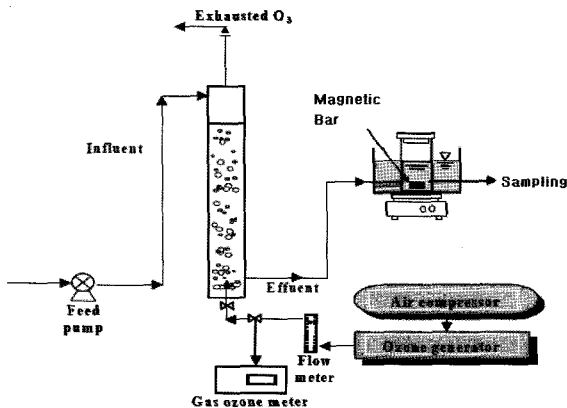


Fig. 1. Schematic diagram of ozone reaction system.

2.1.2. UV

Oocysts 불활성화 실험을 위해 Waterborne사의 살아있는 *C.parvum* 10⁸/8 mL를 구입하여 사용하였다. PBS(150 mM, pH 7.2)로 약 1×10⁵ oocysts/1 mL가 되도록 희석한 oocysts를 접종한 후 20 mL 취하여 petridish에 넣고, 충분히 교반하였다. pH 변화에 따른 불활성화 특성을 살펴보기 위해서 0.1 N NaOH 또는 0.1 N HCl를 첨가하여 pH를 5, 7, 9로 조절하여 실험하였다. 또한 탁도 변화에 따른 불활성화 특성을 알아보기 위해 증류수에 카오린을 이용하여 탁도를 1, 3, 5, 20, 50 NTU로 조절하였으며 이때 각 시료는 pH 7.1, 수온 25℃로 일정하게 유지하여 살아있는 oocysts를 접종 후 충분히 교반하였다. 탁도계는 HACH사의 2100N 탁도계를 이용하여 측정하였다. UV 강도변화에 따른 불활성화를 알아보기 위해 0.2 mWs/cm²와 0.6 mWs/cm²에서 측정하였다. UV 강도 및 조사 시간을 변화시켜 조사량을 조절하였다. 본 실험에 사용된 자외선 살균장치는 PVC를 이용하여 Fig. 2와 같이 제작하였다. 자외선 광원으로 452 mm, 지름 28 mm인 253.7 nm 파장의 빛을 방출하는 15 W 저압 수은램프(Philips Lighting, Ltd.) 4개를 이용하였다. UV 광원이 Collimated beam tube를 통과하여 수직으로 조사되도록 하였다. 자외선 램프는 실험하기 전에 미리 점등하여 예열하였으며, Collimated beam tube 길이는 자외선 강도가 0.2~0.6(mWs/cm²)가 되도록 15~30 cm로 조절 하였으며 시료표면 높이에서 UVX radiometer(UVP Co., part No. 97-0015-02)를 이용하여 측정하였다.

2.2. 분석방법

2.2.1. 전처리

소독 전 1 mL 시료와 소독 후 시간 변화에 따른 각 시료 1 mL씩을 분취하여 control sample로 7 um를 넣어 미분간 현미경(×1,000)으로 관찰 후, 시료 100 um를 다시 분취하여 HBSS(Hanks Balanced Salt Solution) 산성(pH 2.75)을 가해 충분히 교반 후 37℃, 4℃ 수욕상에서 각각 5분간 배양한 뒤, 10분간 냉장 원심·분리하여 상등액을 흡인 제거하고 HBSS(pH 7.4)를 가하여 냉장원심·분리 후 상등액을 제거하여 탈남 및 DAPI/PI 실험을 하였다.¹²⁾

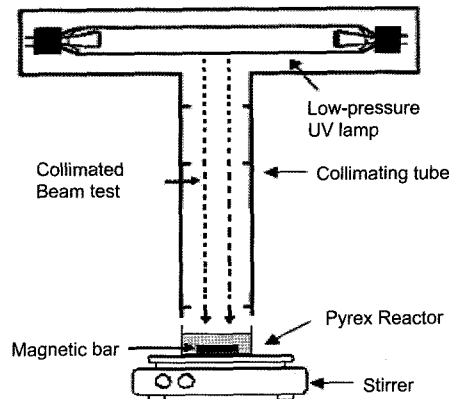


Fig. 2. UV disinfection system.

2.2.2. *in vitro* excystation

전처리한 시료 10 um에 디옥실코르산나트륨(C₂₄H₃₉NaO₄) 용액과 탄산수소나트륨(NaHCO₃)용액을 가하여 37°C 수욕상에서 4시간 배양하고, HBSS(pH 7.4)로 4°C 냉장원심·분리하여 상등액을 제거하여 7 um를 덜어 미분간섭(D.I.C., ×1,000) 현미경으로 oocysts를 계수하였다.

2.2.3. DAPI/PI 염색

전처리한 시료 10 um를 일정량 취하여 DAPI용액(DAPI 2 mg/메탄올 1 mL)과 PI용액(PI 1 mg/0.1 M PBS)을 가해 혼합 후 37°C에서 2시간 배양하고 HBSS(pH 7.4)로 원심 세정한 후, 시료 7 um를 덜어 형광현미경으로 oocysts의 염색 상태를 확인하고, 좀 더 정확한 관찰을 위해 D.I.C. 필터로 내부구조를 확인하였다.

2.3. 불활성 평가

불활성 평가는 탈낭(*in vitro* excystation)실험과 DAPI/PI 염색실험을 통해 평가하였다. 탈낭실험은 oocysts에 동물 및 인간의 장내와 유사한 환경을 만들어줌으로써 인위적인 탈낭을 유도하는 원리를 이용한 방법으로 탈낭이 일어나게 되면 oocysts는 불활성화가 일어나지 않은 것으로 간주한다. DAPI/PI 방법은 oocysts의 세포벽 및 sporozoite cytoplasmic과 핵막(nuclear membrane)의 vital dye에 대한 permeability 및 integrity에 의존하는 방법으로 살아있는 세포막은 450~460 nm의 푸른색의 형광파장인 DAPI에 투과되지만, 580~630 nm의 붉은 색의 형광파장인 PI에서는 투과되지 못하는 것을 이용한 방법이다.¹³⁻¹⁷⁾

2.3.1. *in vitro* excystation 평가

탈낭 실험에 있어 생육활성 판정은 전처리 및 탈낭실험 단계에서 탈낭이 일어난 oocysts를 [생육활성 있음]으로 판정하고, 전처리단계 전 탈낭하고 있는 oocysts 수와 탈낭실험 후에 완전한 형태를 유지하고 있는 oocysts를 [생육활성 없음]으로 판정했다. 실험에서 sporozoite가 빠져나가는 것과 sporozoite가 모두 빠져나와 있는 두 가지 모두를 탈낭이 일어난 것으로 판정하였다.

$$\text{탈낭율}(\%) = \left(\frac{a-b}{t}\right) \times 100$$

- a : 탈낭실험 후 탈낭한 oocysts 수
- b : 탈낭실험 전 탈낭하고 있던 oocysts 수
- t : 전체 oocysts 수

2.3.2. DAPI/PI 평가

DAPI/PI 염색실험에 의한 생육활성 판정은 완전한 형태의 PI음성 oocysts와 실험단계에서 탈낭이 생긴 oocysts를 [생육활성 있음]으로 판정하고, 완전한 형태를 유지한 상태의 PI양성 oocysts와 전처리 조작 전에 벌써 탈낭하고 있는 oocysts를 [생육활성 없음]이라고 판정하였다. Table 1은 DAPI/PI

Table 1. Correlation of oocyst viability, visualization of oocyst contents by Nomarski(D.I.C.) microscopy and exclusion or inclusion of DAPI and PI

Type of oocyst	Contents seen by Nomarski microscopy	Inclusion of :		Viability
		PI	DAPI	
Ghost	No	No	No	Dead
PI+	Yes	Yes	Yes	Dead
DAPI+ PI-	Yes	No	Yes	Viable at assay
DAPI- PI-	Yes	No	No	Viable after further trigger

염색실험에서 염색 상태에 따라 oocysts의 생육활성을 설명한 것이다.¹³⁾ 완전한 형태의 oocyst이나 PI+로 붉게 나타는 경우나 내부구조의 일부분이 파괴된 oocyst는 생육활성이 없는 죽은 oocyst로 판정하고, 완전한 형태를 유지하고 DAPI에서는 푸른색의 양성(+), PI에서는 붉은 색이 나타나지 않는 음성(-)일 경우 살아 있는 oocyst로 판정한다. DAPI와 PI 모두 음성(-)으로 나타나는 oocyst는 장래에 생육활성화 될 가능성이 있어 살아있는 oocyst로 대체될 수 있다.

$$\text{생육활성율}(\%) = \frac{a+b-c}{t} \times 100$$

- a : PI를 배제한 oocysts 수(DAPI+, PI-)
- b : 염색실험 후 탈낭한 oocysts 수(DAPI+, PI+)
- c : 염색실험 전 탈낭한 oocysts 수
- t : 전체 oocysts 수

2.4. 소독 모델 적용

2.4.1. Chick-Watson

1908년, Chick은 반응기와 접촉 시간 간격에서의 생존수를 측정해 일정한 소독제 농도에서 소독 반응속도를 연구했으며 화학 소독제사이의 반응은 일차 반응을 따르며 다음과 같다.³⁾

$$\frac{dN}{dT} = -k \cdot N \tag{1}$$

- N : 생존 유기체
- T : 접촉시간
- k : 속도상수

Watson은 속도상수 k를 상수 k'와 소독제의 농도 C를 이용하여 다음과 같이 나타내었다.

$$k = k' \cdot C^n \tag{2}$$

- k : 속도 상수
- C : 소독제 농도
- n, k' : 실험 상수

C, n, k'를 상수로 가정하고 식 (2)를 식 (1)에 대입한 후 식 (2)를 적분하면 다음과 같다.

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k' \cdot C^n \cdot T \quad (3)$$

식 (3)의 좌변을 $\log(N_0/N)$ 로 나타내면 식 (4)와 같고, 여기서 $K'' = k'/2.303$ 이다.

$$\log \frac{N}{N_0} = k'' \cdot C^n \cdot T \quad (4)$$

이때 n이 1보다 작으면 소독 작용은 접촉시간에 크게 의존하고 n이 1보다 크면 농도에 크게 의존한다. 하지만 대개의 경우 n은 1로 간주하고 C · T값으로 유기체의 비활성 정도를 나타낸다.

2.4.2. UV 소독

UV에 의한 불활성화 소독모델 적용은 화학적 소독모델에 사용되는 CT개념의 소독제 농도(C) 대신 UV 강도(I)를 사용하여 IT 개념으로 사용하고 있다.⁹⁾

$$\log \frac{N}{N_0} = -kIT$$

- N : UV 조사 후 살아있는 oocysts
- N₀ : UV 조사 전 살아있는 oocysts
- k : 속도상수
- I : UV 빛 강도(mWs/cm²)
- T : UV 조사 시간(sec)

3. 결과 및 고찰

3.1. 오존 소독에 의한 *Cryptosporidium* 불활성화

Fig. 3은 잔류오존의 농도별로 CT값에 따른 *Cryptosporidium*의 불활성화를 나타낸 것으로, *in vitro* excystation(A)과

DAPI/PI(B)법을 각각 나타냈다. *in vitro* excystation(A)의 실험에서 1 log 불활성화에 필요한 CT값은 5.77 mg/L · min이고 2 log(99%) 불활성화에 필요한 CT값은 21.30 mg/L · min였다. DAPI/PI(B)법의 경우도 *in vitro* excystation(A)과 비슷한 결과를 보이고 있는데, 1 log와 2 log 불활성화에 필요한 CT값이 각각 7.53 mg/L · min, 19.95 mg/L · min였다. 즉 시간에 따라 오존 농도에 따른 *Cryptosporidium*의 제거율이 증가했으며 *in vitro* excystation(A)과 DAPI/PI(B)법 각각 R² = 0.8569, R² = 0.836로 모두 높은 선형성을 보였다. 방법별로 제거율을 비교해 볼 때 두 방법의 뚜렷한 차이가 없다는 것을 알 수 있다. 일반적으로 오존 처리는 물리적 처리에 의해 제거되지 않는 *Cryptosporidium*을 불활성화 시킴으로써 *Cryptosporidium* 불활성화 대책으로 유효한 수단이 되고 있다. 그러나 오존 소독이 현재 사용하고 있는 소독제 중 가장 강력한 산화력을 갖기는 하지만, 겨울철과 같은 온도 저하에 따른 산화력이 감소하는 등의 단점이 있다.^{16,18,19)}

따라서, 처리 수온이 낮은 경우는 처리효율이 떨어지며, 가격이 비싸 비경제적이고 소독부산물의 생성 위험도 있는 단점을 고려한다면 더 강력하고 경제적인 소독 대체방법이 필요하다. 국내에서는 현재 2004년 7월부터 시행된 정수처리 기준에 *Giardia*의 제거율이 3 log로 강화되었으며 미국의 경우, 2005년 LT2E-SWTR를 발표하여 *Cryptosporidium*의 대비 목표로 정수처리공정에서 3 log의 불활성화를 제시했다.²⁰⁾ 따라서 국내에서도 앞으로 *Cryptosporidium*의 규제가 적용될 것으로 사료되어 *Giardia*와 같이 정수처리공정에서 *Cryptosporidium*의 처리가 중요한 과제가 될 것으로 판단된다.

3.2. UV 소독을 통한 *Cryptosporidium* oocysts 불활성화

3.2.1. pH 변화에 따른 불활성화

Fig. 4에는 pH 변화에 따른 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성화를 나타내었다. 연구 문헌에 따르면²¹⁾ 낮은 pH에서 표면변화에 의해 미생물의 응집현상이 일어나며, 이에 따라 UV로부터 미생물이 보호되기 때문에 미생물의 불활성화가 적게 일어날 수 있다고 설명하고 있다. 결과를 살펴보면 pH 5, 7, 9에 따라서 *in vitro* excystation과 DAPI/PI법에 의한 불활성화 효과는 거의 비슷하게 나타나고, *in vitro* excystatio

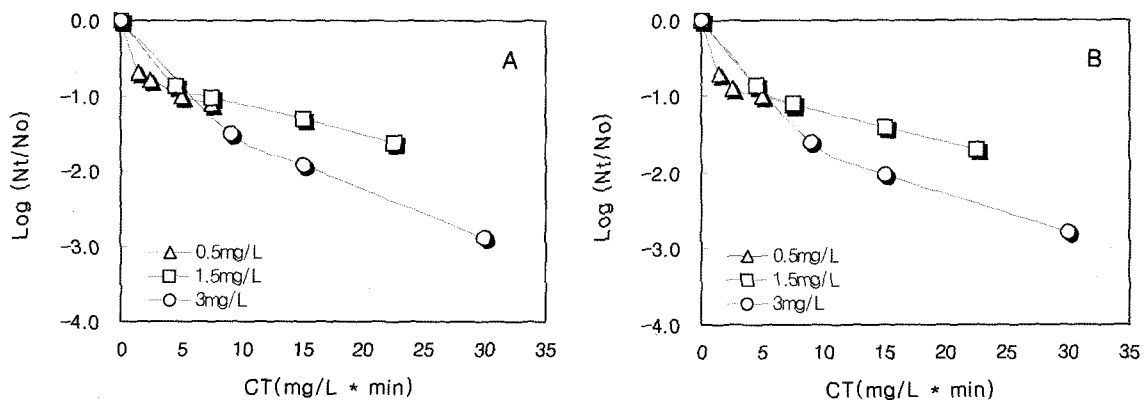


Fig. 3. Inactivation of *Cryptosporidium* by *in vitro* excystation method(A) and DAPI/PI(B) method using ozone treatment(20°C).

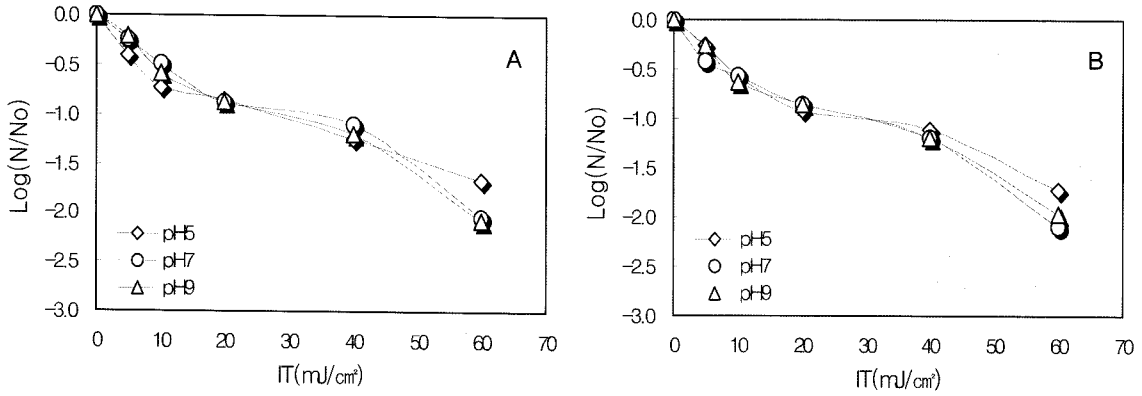


Fig. 4. Inactivation of *Cryptosporidium* by *in vitro* excystation method(A) and DAPI/PI method(B) at various pHs.

다 DAPI/PI법이 불활성화 효과가 좋게 나타났다. *in vitro* excystation법에서 *Cryptosporidium* oocysts를 1 log 제거하는 필요한 IT 값은 pH 5, 7, 9 모두 대략 22 mJ/cm²를 보였으며, 2 log 제거하는데 필요한 IT값은 각각 71 mJ/cm², 60 mJ/cm², 57 mJ/cm²로 나타났다. pH가 높을수록 불활성화 시키는데 필요한 IT값이 다소 낮아짐을 알 수 있었다. DAPI/PI법의 경우도 *in vitro* excystation법과 비슷한 결과를 보였는데 *Cryptosporidium* oocysts를 1 log 제거하는데 22 mJ/cm²로 나타났으며, 2 log 제거하는 데는 pH 별로 각각 71 mJ/cm², 57 mJ/cm², 60 mJ/cm²로 나타났다. 그러나 2 log 제거에 필요한 IT 값이 다른 연구결과보다 다소 높게 나타났는데 이것은 분석방법 및 숙련도에 대한 민감도로 여겨진다.

3.2.2. 탁도 변화에 따른 불활성화

Fig. 5는 탁도 변화에 따른 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성화를 나타낸 것이다. 물속에 탁도를 유발하는 부유물질 등이 존재할 경우, 미생물의 피난처나 조사된 UV 빛이 미생물 표면에 도달하는 것을 방해하게 되어 불활성화 효율이 감소하는 것으로 알려져 있다.⁹⁾ 실험 결과 *in vitro* excystation과 DAPI/PI법에 의한 불활성화 효과는 거의 비슷하게 나타났다. *in vitro* excystation법과 DAPI/PI법에서 1 NTU, 3 NTU, 5 NTU별로 1 log 제거에 필요한 IT값이 25~34 mJ/cm²였으며 2 log 제거에 필요한 IT값은 63~76 mJ/cm²가 필요

한 것으로 조사되어 저탁도인 5 NTU 이하의 경우 방법별로 필요한 IT값의 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 그러나 20 NTU일 경우 *in vitro* excystation법과 DAPI/PI법에서 1 log 제거에 필요한 IT값이 각각 77 mJ/cm², 73 mJ/cm²였으며 2 log 제거에는 각각 150 mJ/cm², 145 mJ/cm²였고 50 NTU일 경우는 1 log와 2 log 제거에 필요한 IT값이 각각 333 mJ/cm², 285 mJ/cm², 666 mJ/cm², 571 mJ/cm²로 뚜렷한 차이가 나타났으며 20 NTU 이상일 때 DAPI/PI법이 불활성화 효과가 더 좋게 나타남을 알 수 있었다. 즉, 저탁도인 경우는 탁도별 불활성효과에 뚜렷한 차이가 없으나 20 NTU부터는 불활성화 효과가 뚜렷하게 나타남을 확인할 수 있었다. 문헌조사²²⁾에서 *Bacillus* spore를 이용한 미생물 실험에서는 탁도 변화에 따른 불활성화 효과에 뚜렷한 차이가 없음을 밝혔다. 그러나 정수처리공정에서 UV 소독을 실시할 경우 탁도를 충분히 제거해 주어야 만족할 만한 소독 효과를 얻을 수 있어 실제 정수처리에서 탁도 관리가 중요하다고 판단된다.

3.3. UV 강도변화에 따른 불활성화

Fig. 6은 UV 강도변화에 따른 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성화를 나타낸 것이다. 분석결과 0.2 UV dose(mWs/cm²)에서 *in vitro* excystation과 DAPI/PI법에서 1 log 제거에 필요한 IT값이 각각 29 mJ/cm², 26 mJ/cm²로 나타났으며 2 log 제거에는 *in vitro* excystation법의 경우 62 mJ/cm², DAPI/

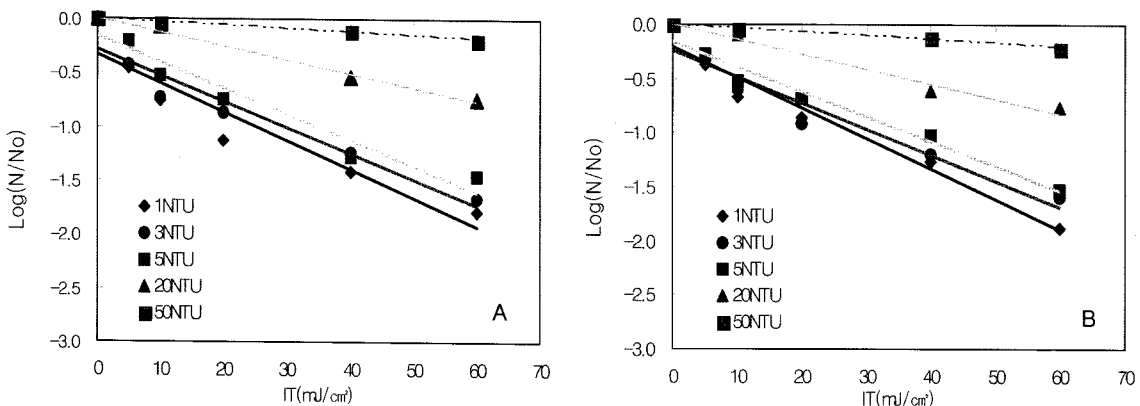


Fig. 5. Inactivation of *Cryptosporidium* by *in vitro* excystation(A) and DAPI/PI(B) method at various turbidity(pH 7, 25°C).

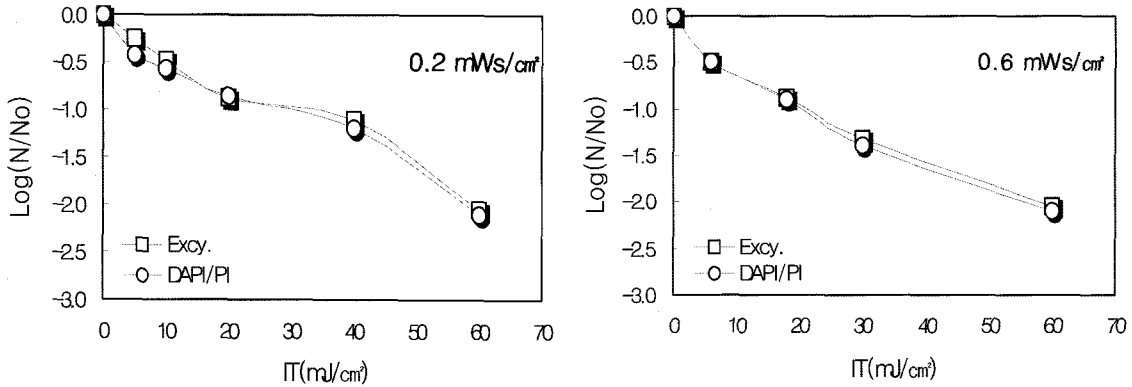


Fig. 6. Inactivation of *Cryptosporidium* with UV intensity by *in vitro* excystation method and DAPI/PI method(pH 7, 20°C).

PI법은 59 mJ/cm²로 나타났다. 0.6 UV dose(mWs/cm²)에서 1 log 제거에 필요한 IT값은 *in vitro* excystation법과 DAPI/PI법에서 각각 24 mJ/cm², 23 mJ/cm²로 0.2 UV dose보다 IT값이 다소 낮게 나타났다. 즉, UV 강도에 따른 불활성화에서 뚜렷한 효과가 나타나지 않았다. 그러나 Fig. 7에서는 UV 강도별로 시간변화에 따른 불활성화 효과를 비교하여 나타난 것으로 1 log 제거를 위해 0.6 mWs/cm²가 0.2 mWs/cm²보다 2.8배 더 빠른 62 sec가 소요되었으며, 2 log 제거에는 104 sec로 0.2 mWs/cm²보다 3배 이상 빠른 결과를 보였다. 즉, UV강도가 높을 때 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성화에 필요한 시간이 단축되어 강도가 낮을 때보다 빠른 소독효과를 얻을 수 있음을 알 수 있다.

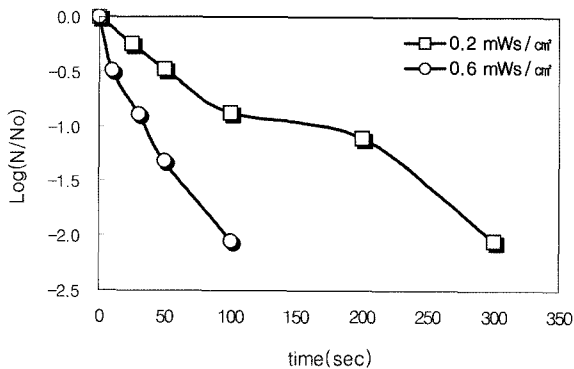


Fig. 7. Inactivation of *Cryptosporidium* with UV intensity by *in vitro* excystation method(pH 7, 20°C).

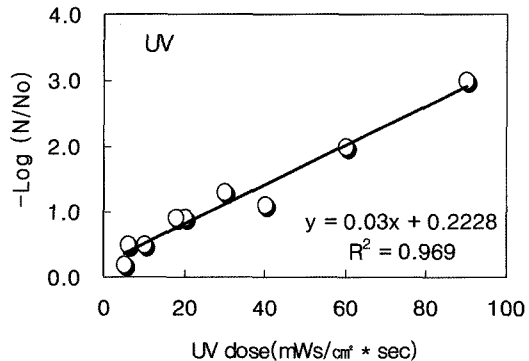
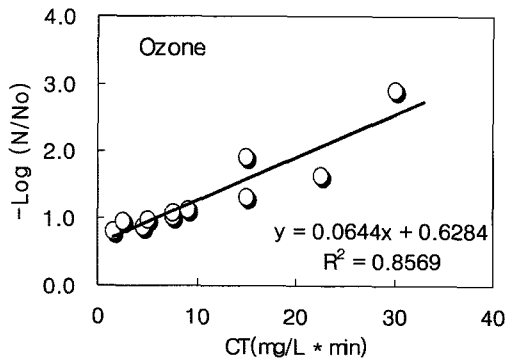


Fig. 8. Comparison of inactivation with Ozone and UV.

3.4. 소독별 *Cryptosporidium* 불활성 효과

Fig. 8은 불활성화 실험방법 중 *in vitro* excystation방법을 이용한 소독제별 *Cryptosporidium*의 불활성화 효과를 나타낸 것이다. 그림에서와 같이 오존소독의 경우, 불활성화와 CT값은 높은 상관성을 보이고 있으며 이는 소독제별 농도에 따라 CT값이 증가하고 있음을 알 수 있다. UV 소독에서는 UV강도에 따른 불활성화보다는 시간에 따른 불활성화의 영향이 큼을 알 수 있었다. 본 연구 결과, UV 소독실험은 다른 문헌에 비해서 다소 높은 IT값을 보였으나 오존소독에 비해 시간이 많이 단축되고 지속적이라는 점을 고려해 본다면 오존소독보다는 더 경제적인을 알 수 있다. 문헌에 따르면, 기존 정수처리 과정과 같은 접촉시간과 처리량으로는 염소 소독에 의해 *Cryptosporidium*의 불활성 효과는 불충분하다고 지적했으며,^{19,23)} 정수 처리수에 낮은 pH(6.0)로 염소 소독을 한 후에 다시 오존으로 처리하는 것이 *Cryptosporidium*을 불활성화 하는데 효과적이라고 지적하고 있다.²⁴⁾ 또한 UV는 염소와 같이 다른 소독 부산물을 형성하지 않으며 오존과 같은 수온의 영향을 받지 않는 것으로 조사되어 일반 정수처리 공정에서 *Cryptosporidium*제거에 적용할 수 있는 가능성을 시사하고 있다.

3.5. 현미경 관찰

Fig. 9~13은 UV 소독실험에서 사용된 *in vitro* excystation법과 DAPI/PI법을 이용해서 관찰된 사진이다. Fig. 9는 D.I.C.로 관찰된 탈낭 oocyst 이다. UV 소독으로 두꺼운 세



Fig. 9. Excysted *Cryptosporidium* oocysts for the D.I.C. microscopy at 1,000 \times .

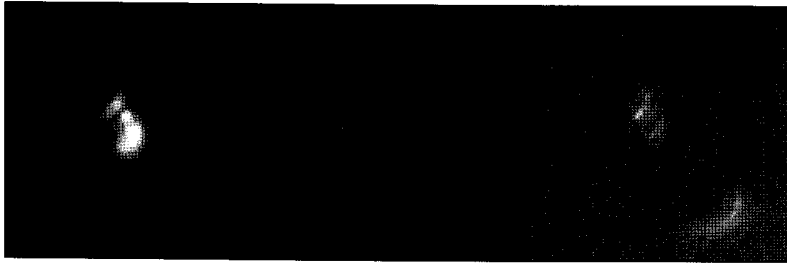


Fig. 10. *Cryptosporidium* oocyst for the fluorescent light and D.I.C. microscopy at 1,000 \times by DAPI/PI method(PI+).

포벽이 파괴되어 내부구조가 밖으로 배출되어 비어있거나 sprozoite가 밖으로 빠져나가는 모양, 그리고 내부구조는 밖으로 빠져나가고 핵만 존재하고 있는 외형이 파괴된 oocysts로 그 형체가 선명하다. Fig. 10과 Fig. 11은 DAPI/PI법 실험으로 나타난 결과로서 외형상 완전한 형태의 oocyst이나 PI+로 나타나 생육활성이 없는 oocyst이고, 실험 중 탈장되어 DAPI와 PI모두 양성(+)을 나타내어 생육활성이 있는 것으로 판정된 oocyst이다. Fig. 12는 UV 소독을 한 경우에도 완전한 형태를 유지하여 살아있는 것으로 판정한 oocyst이며 DAPI에서는 양성(+), PI에서는 음성(-)으로 판정한다. 마지막으로 Fig. 13은 DAPI와 PI 모두 음성(-)으로 나타나는 oocyst로 장래에 생육활성화 될 가능성이 있어 살아있는 것으로 판정했다.



Fig. 11. Excysted *Cryptosporidium* oocyst for the fluorescent light and D.I.C. microscopy at 1,000 \times by DAPI/PI method(DAPI+ / PI+).



Fig. 12. *Cryptosporidium* oocyst for the fluorescent light and D.I.C. microscopy at 1,000 \times by DAPI/PI method (DAPI+ / PI-).

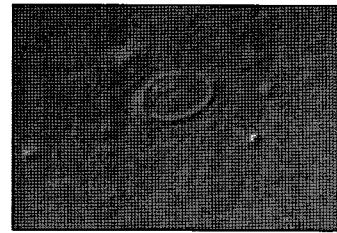


Fig. 13. *Cryptosporidium* oocyst by D.I.C. microscopy at 1,000 \times for DAPI/PI method(DAPI- / PI-).

4. 결론

1) Ozone을 이용한 *Cryptosporidium* 불활성화 효과는 소독지표의 하나인 CT값(mg · min/L)으로 평가할 수 있으며, 1 log(90%) 불활성화 CT값은 5.77 mg · min/L이고 2 log(99%) 불활성화 CT값은 21.30 mg · min/L 였다. 오존에 의한 *Cryptosporidium* 불활성화 연구 결과는 연구자마다 차이가 있으나 다른 문헌에 비해 불활성화에 다소 높은 CT값이 요구됨을 알 수 있었다.

2) UV 소독에서 pH 변화에 따른 *Cryptosporidium* oocysts 불활성화 효과는 뚜렷한 차이가 없었으며, 탁도의 영향도 저탁도일 경우는 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성 효과가 뚜렷하게 나타나지 않았다. 그러나 20 NTU 이상일 경우는 불활성 효과가 뚜렷하게 감소하고 있음을 확인 하였다. 따라서 정수처리공정에서 UV 소독을 실시할 경우 탁도를 충분히 제거해 주어야만 만족할 만한 소독 능을 얻을 수 있으며 5 NTU 이하의 저탁도 유지가 중요하다고 판단된다. UV 강도에 따른 불활성화 효과에서는 강도가 높을 경우에 일정시간 동안 충분히 UV가 조사된다면 더 높은 *Cryptosporidium* oocysts의 불활성화를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

3) UV 소독은 오존소독에 비해 시간이 많이 단축되고 지속적이라는 점을 고려해 본다면 오존소독보다는 더 경제적인

을 알 수 있었다. 따라서 염소와 같이 다른 소독 부산물을 형성하지 않으며 오존과 같은 수온의 영향을 받지 않아 앞으로 국내 일반 정수처리 공정에서 UV 소독을 통한 *Cryptosporidium* 제거를 위해 적용되어야 하며, 현재 먹는 물 기준에서 정수처리기준에 *Giardia*를 3 log로 제거하도록 규정하고 있으나 아직 *Cryptosporidium* 대한 처리기준은 규정되어 있지 않은 실정이다. 정수처리에서 *Giardia*보다 *Cryptosporidium*의 제거가 어려움을 감안 할 때 앞으로 *Cryptosporidium*의 처리기준과 함께 소독기준의 규정이 중요한 과제가 될 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 경북환경기술개발센터의 2005년도 연구개발사업 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Mac-Kenzi, W. R., "A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply," *The New England Journal of Medicine*, **333**(3), 161~167(1994).
- Betancourt, W. Q., Rose, J. B., "Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*," *Veterinary Parasitology*, **26**, 219~234(2004).
- Corona-Vasquez, B., Samuelson, A., Rennecker, J. L., Marinas, B. J., "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone and free chlorine," *Water Res.*, **36**, 4053~4063(2002).
- Cho, M., Kim, R. H., Cho, S. H., Yoon, J. Y., "Investigation of ozone reaction in river waters causing instantaneous ozone demand," *Ozone Science & Engineering*, **25**, 251~259(2003).
- USEPA, "Alternative disinfectants and oxidants guidance manual," EPA 815-R-99-0(1999).
- Rochelle, P. A., Upton, S. J., Montelone, B. A., and Woods, K., "The response of *Cryptosporidium parvum* to UV light," *Trends in Parasitology*, TREPAR 286(2004).
- 류호돈, "21세기 선진국형 음용수, 우리의 건강을 위협하는 수인성 미생물 *Cryptosporidium*", 한국과학기술정보연구원, 최종보고서(2005).
- Craik, S. A., Finch, G. R., Bolton, J. R., and Belosevic, M., "Inactivation of *Giardia muris* cysts using medium-pressure ultraviolet radiation in filtered drinking water," *Water Res.*, **34**(18), 317~326(2000).
- Craik, S. A., Weldon, D., Finch, G. R., Bolton, J. R., Belosevic, M., "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* using medium-and low-pressure ultraviolet radiation," *Water Res.*, **35**(6), 1387~1398(2001).
- Huffman, D. E., Slifko, T. R., Salisbury, K., and Rose, J. B., "Inactivation of bacteria, Virus and *Cryptosporidium* by a point-of-use device using pulsed broad spectrum white light," *Water Res.*, **34**(9), 2491~2498(2000).
- Qian, S. S., Donnelly, M., Schmelling, D. C., Messner, M., Linden, K. G., Cotton, C., "Ultraviolet light inactivation of protozoa in drinking water: a Bayesian meta-analysis," *Water Res.*, **38**, 317~326(2004).
- 麻布大學環境保健學部健康環境科學科 水環境學研究室, *クリプトスポリジウム試験法*, Ver.3.2(1999).
- Campbell, A. T., Robertson, L. J., and Smith, H. V., "Viability of *Cryptosporidium parvum* Oocysts : Correlation of In Vitro Excystation with Inclusion or Exclusion of Fluorogenic Vital Dyes," *Applied and Environmental Microbiology*, **58**(11), 3488~3493(1992).
- Black, E. K., Finch, G. R., Taghi-Kilanni, R., Belosevic, M., "Comparison of assays for *Cryptosporidium parvum* oocysts viability after chemical disinfection," *FEMS Microbiology Letters*, **135**, 187~189(1996).
- Hirata, T., Chikuma, D., Shimura, A., Hashimoto, A., Motoyama, N., Takahashi, K., Moniwa, T., Kaneko, M., Saito, S., and Maede, S., "Effects of ozonation and chlorination on viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts," *Water Sci. Technol.*, **41**(7), 39~46(2000).
- 田中義郎, 高和橋孝, 本山信行, "クリプトスポリジウム対策としてのオゾン消毒技術," *富士時報*, **71**(6), 336~341(1998).
- 本山信行, 小澤克行, 平田強, 星川 寛, 茂庭竹生, 金子光美, "オゾンによる*Cryptosporidium parvum* オシスト不活化能に関する実験的検討," *水道協會雑誌*, **69**(1)(1998).
- Hirata, T., Shimura, A., Morita, S., Suzuki, M., Motoyama, N., Hoshikawa, H., Moniwa, T., and Kaneko, M., "The effect of temperature on the efficacy of ozonation for inactivating *Cryptosporidium parvum* oocysts," *Water Sci. Technol.*, **43**(12), 163~166(2001).
- Vasquez, B. C., Samuelson, A., Rennecker, J. L., Marinas, B. J., "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone and free chlorine," *Water Res.*, **36**, 4053~4063(2002).
- 김윤희, "낙동강 중류수계에서 *Cryptosporidium* 분포와 정수처리공정에서의 제거 효율," 영남대학교 대학원 박사학위논문(2005).
- Hancock, C. M., Ward, J. V., Hancock, K. W., and Klonicki, P. T., "Assessing plant performance using MPA : Knowledge of microbiotic particulate composition provides valuable information for assessing treatment plant performance and enhancing plant operation," *J. AWWA*, **88**(12), 24~34(1996).
- 염철민, 조순행, 정해용, 정현미, 윤제용, "하수소독을 위

- 한 자외선의 *Bacillus subtilis* spore 불활성화 특성,” 상하수도학회지, **15**(4), 293~301(2001).
23. Mano, S., Eugene, W. R., Benito, J. M., “A Bayesian method of estimating kinetic parameters for the inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with chlorine dioxide and ozone,” *Water Res.*, **37**, 4533~4543(2003).
24. Biswas, K., Craik, S., Smith, D. W., Belosevic, M., “Synergistic inactivation of *Cryptosporidium parvum* using ozone followed by free chlorine in natural water,” *Water Res.*, **37**, 4737~4747(2003).