

# 아르곤과 산소 대기압 플라즈마 방전 효과를 이용한 살균처리

손향호 · 이원규<sup>†</sup>

강원대학교 화학공학과  
(2011년 2월 10일 접수, 2011년 3월 14일 채택)

## Treatment of Ar/O<sub>2</sub> Atmospheric Pressure Plasma for Sterilization

Hyang Ho Son and Won Gyu Lee<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Kangwon National University, Kangwon 200-701, Korea

(Received February 10, 2011; Accepted March 14, 2011)

아르곤과 산소 대기압 플라즈마를 이용한 미생물인 *E. coli*의 살균효과를 분석하였다. 유전체 격막 방전 형태의 플라즈마 반응기는 아르곤과 산소 혼합기체에서 균일한 플라즈마 방전과 오존 생성에 효과적이었다. 직접적인 대기압 플라즈마 조사에 따른 *E. coli*의 살균처리 공정에서 산소에 대한 혼합비와 인가전력의 증가는 방전기체의 오존 발생농도를 높여 미생물의 살균효과를 증가시켰다. 반응기와 시료와의 거리는 살균효과를 증가하기 위하여 가급적 작게 하는 것이 효율적이었다. 본 연구를 통하여 대기압 플라즈마는 오존과 같은 산화촉진제의 발생으로 저온에서 *E. coli*와 같은 미생물을 효과적으로 살균할 수 있어 기존의 살균법을 대체 할 수 있는 차세대 살균기술로서의 개발 가능성을 확인 할 수 있었다.

The sterilization effects of atmospheric pressure plasma with the mixture of argon and oxygen were analyzed. The plasma reactor with the shape of dielectric barrier discharge produced the uniform distribution of glow discharge and generated ozone gas effectively according to the various process parameters. The sterilization for *E. coli* was affected by power, oxygen ratio in the mixture gas, treatment time and distance between reactor and sample. The concentration of ozone was a major source for the sterilization of *E. coli*, which was enhanced by the increase of power and oxygen ratio. In this study, the effect of atmospheric pressure plasma treatment for the sterilization was confirmed and its result can deliver the atmospheric pressure plasma treatment as the novel sterilization method instead of conventional methods.

**Keywords:** atmospheric pressure plasma, sterilization, dielectric barrier discharge, *E. coli*

## 1. 서 론

대기압 플라즈마 처리기술은 진공에서 상용화되었던 플라즈마 처리 공정을 대기압에서도 가능하게 하여 제조 원가를 절감하고 공정처리속도를 향상시키는 각광받는 기술로 최근에 응용성 확대를 위한 노력들이 활발히 이루어지고 있다. 특히 플라즈마 표면 처리기술의 개발과 더불어, 최근에는 살균, 지혈, 유해 단백질/박테리아 제거 등 생의학 분야에 적용이 이루어지고 있다[1-3].

살균이란 미생물에 물리적·화학적 자극을 가하여 이를 단시간 내에 멸살시키는 것을 말하는데, 정도에 따라 대상을 완전히 무균상태로 하는 멸균과 거의 무균상태에 이르도록 하는 소독과 구별된다. 현재 대표적으로 쓰이는 의료용 살균법으로는 EtO (ethylene oxide)를 이용하는 화학적 살균방법과 가열 살균법을 이용하는 물리적 살균법이 있다. EtO를 사용하는 살균방법의 경우 살균온도가 낮아 가열에 변질이 쉬운 재료나 습기에 약한 재료에 살균이 가능하지만, EtO가 인체에 유해하므로 잔류가스를 장시간에 걸쳐 완전히 제거해야만 하고[4], 가

열 살균법을 이용하는 물리적 살균법은 비록 저렴하고 단시간 내에 살균이 가능하지만, 가열에 잘 견딜 수 있는 대상만을 살균 할 수 있다는 단점이 있다. 하지만 대기압 플라즈마와 같이 저온에서 플라즈마를 생성하는 기술은 상대적으로 낮은 온도에서 살균공정에 적용이 가능하고, 짧은 처리 시간에서 효율적으로 열에 취약한 의료기구의 살균이 가능하다는 장점이 있다[5].

일반적으로 대기압 플라즈마는 서로 대향한 전극 사이에 교류전기장을 인가하면 전기장에 의해 반응 가스 내 전자는 높은 에너지로 가속되어지고, 가속된 전자는 산소 분자와 충돌하여 산소 이온(O<sub>2</sub><sup>+</sup>)을 만들거나 산소 원자 이온(2O<sup>+</sup>)으로 분리된다. 이온 상태는 매우 불안정한 상태이므로 주위의 전자와 결합하여 산소 라디칼(O<sup>\*</sup>)이 되거나 다른 산소 이온과 결합하여 오존(O<sub>3</sub>)을 만들게 된다[6,7]. 이렇게 생성된 오존의 살균기구는 살균대상 유기체의 세포막을 순상시킴으로써 세포막의 구조가 변화하여 침투성을 증가시키거나 세포내의 내용물을 누출시켜 용해되게 하는 것과, 다른 살균기구로 오존에 의해 막 환경의 변화에 의한 분자 상호작용의 변화로 활성구조가 없어지는 효소의 활성 저하를 이끌거나 염색체 DNA의 파괴이다. 결과적으로 기타 살균제보다 훨씬 넓은 적용범위를 가지며 부가적인 화학제의 첨가 없

† 교신저자 (e-mail: wglee@kangwon.ac.kr)

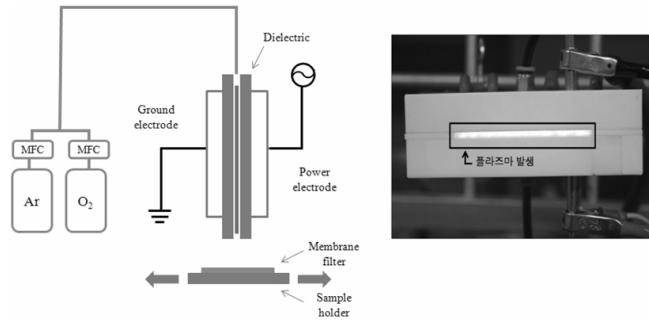


Figure 1. Schematic diagram of atmospheric pressure plasma.

i) 유해미생물을 빼르고 효과적으로 제거하는 것으로 알려져 있다 [8,9].

일반적으로 대기압 플라즈마 기기의 구조는 크게 대향형과 분사형으로 구분되어진다. 대향형 플라즈마는 평행한 두 평판 전극 사이에 페치리물을 삽입하여, 플라즈마 처리를 하는 공정이며, 분사형은 플라즈마 반응기 내부에서 형성된 플라즈마를 발생기 외부로 분출시켜 대상물을 처리하는 방식을 말한다[10,11].

본 연구에서는 분사형 대기압 플라즈마 반응기를 이용하여, 아르곤과 산소의 혼합기체를 방전시킨 대기압 플라즈마의 특성을 분석하고, 미생물 *E. coli* 의 살균효과를 대기압 플라즈마의 여러 가지 공정 변수에 따른 효과를 측정하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 대기압 플라즈마 장치 및 분석

대기압 플라즈마 장치는 유전체 격막 방전(dielectric barrier discharge, DBD) 형태로의 반응기 구조와 방전 모습은 Figure 1과 같다. 사용된 유전체는 1 mm 두께의 알루미나이고, 전력 인가전극과 접지전극은 스테인리스 재질로 같은 크기와 형태를 가지며 균일한 플라즈마 방전이 일어 날 수 있도록 반응기를 자체설계 및 제작을 하였다. 유전체 사이의 거리는 2 mm로 고정하였으며, 방전기체는 MFC (mass flow controller)를 이용하여 방전기체로 사용하는 아르곤과 산소의 유량을 조절하였다. 플라즈마 발생 전원 장치는 주파수가 30 kHz이고 최대 인가전력이 2 kW인 AC 고전압 전원 공급기(Uion, P15kVAC)를 사용하였다. 대기압 플라즈마 방전 스펙트럼 특성을 분석하기 위하여 OES (optical emission spectroscopy, Neospec 2000i)를 사용하였으며 발생된 오존의 농도를 오존분석기(ECO Sensors, UV100)로 측정하였다.

### 2.2. 대기압 플라즈마 살균 처리 및 분석

사용한 균주는 *E. coli* XL1-blue이었으며 액체배지를 이용하여 1/100 으로 희석하였다. 희석한 *E. coli* 용액배지를 멤브레인 홀더(Swinnex, Millipore)를 이용하여 니트로셀룰로스 멤브레인 필터(Membrane filters, Millipore)에 1 mL의 균을 엎고, 대기압 플라즈마 장치를 이용하여 살균실험을 실시하였다. 처리 방법은 멤브레인 홀더를 컨베이어에 고정시켜놓고, 3 mm/sec의 속도로 맞추어, 좌우 왕복을 통해 일정한 시간 동안 플라즈마에 노출하였고, 한쪽으로 15 s 동안 이동하였을 경우 처리횟수를 1회로 정의하였다. 이 때 플라즈마 반응기에 유입되는 기체유입량은 아르곤 3 L/min에 산소혼합비율이 5% (150 sccm), 10% (300 sccm), 15% (450 sccm) 운전조건으로는 인가전력(최대전압)은 30 W (3.12 kV), 60 W (3.60 kV), 100 W (4.42 kV) 구동하였고,

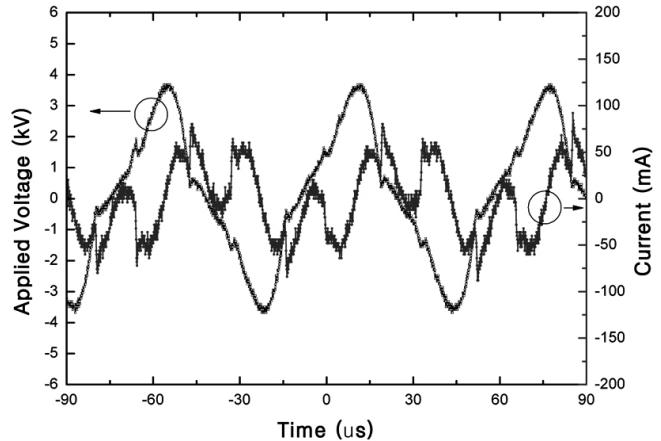


Figure 2. Measured waveforms of applied voltage and induced current. Plasma parameters; frequency : 30 kHz, applied power : 60 W, argon flow rate : 3 L/min, oxygen flow rate : 300 sccm.

멤브레인 홀더와 반응기와의 거리는 5, 10, 15 mm로 조정하여 *E. coli* 를 대상으로 미생물 살균효과를 검정하였다. 플라즈마 처리된 액체배지는 agar를 침가하여 굳힌 LB (Luria- bertani, Difco.) 배지에 올려서 16 h 배양한 후 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 대기압 플라즈마 발생

본 실험에서 사용한 평판형 대기압 플라즈마 장치를 오실로스코프(Tektronix, TDS2012B)를 이용하여 플라즈마의 방전과정에서의 유도전류와 인가전압 파형을 측정하였다. 운전조건으로 산소 : 아르곤의 혼합비가 300 sccm : 3 L/min인 혼합기체를 3.60 kV의 전압에서 인가전력이 60 W인 조건에서 플라즈마 방전을 발생시켰을 때 유도전류와 인가전압 파형을 Figure 2에 나타내었다. 측정된 인가전압과 유도전류의 형태는 전형적인 DBD 플라즈마의 파형을 나타내고 있다. 유도전류는 방전전류가 변위전류에 합해진 형태로 DBD 플라즈마의 축전기 형태가 인가전압과 유도전류와의 위상차가 90°로 나타나게 한다. 방전전류의 측정은 플라즈마 내에서 혼합기체의 분해 및 여기가 일어나는 것을 보여 주며 주기보다 짧은 영역에서 인가전압의 상승기와 하강기에 나타난다[12]. Figure 2에서는 인가전압은 모니터 상에서 표시된 3.60 kV여서 계측기의 수치와 인가전압과의 일치성을 보여주었으며 유도전류는 위상차와 발생되는 주기 및 형태가 DBD 플라즈마에서 나타나는 전형적인 인가전압과의 관계를 보여준다.

Figure 3은 대기압 플라즈마에서 방출 스펙트럼을 알아보기 위해 OES의 분석결과를 보여준다. 아르곤과 산소 혼합기체를 방전시켜 발생시킨 대기압 플라즈마의 방출 스펙트럼은 대표적인 아르곤 원자와 산소 원자의 특성라인이 잘 나타나고 있다. 대표적인 산소 원자의 특성라인인 777 nm에서 방출 강도가 나타나고 있음을 확인하였다. 이는 플라즈마의 산소라디칼(O<sup>+</sup>)이 다른 산소 이온과 결합하여 오존(O<sub>3</sub>)을 발생시키는 것을 유추해볼 수 있다. 대기압 플라즈마 방전을 통한 살균력 있는 220~280 nm 영역의 자외선 방출은 미미하여 자외선을 통한 미생물의 살균 또는 소독효과는 거의 없을 것으로 판단된다[13]. 또한 온도 상승에 대한 분석에서 장시간 플라즈마 방전영역에 인체를 직접 노출하여 견딜 수 있는 정도로 40 °C 미만으로 측정되었다. 이런 온도범위는 살균 및 소독효과를 기대하기 어려운 조건이므로 대기압

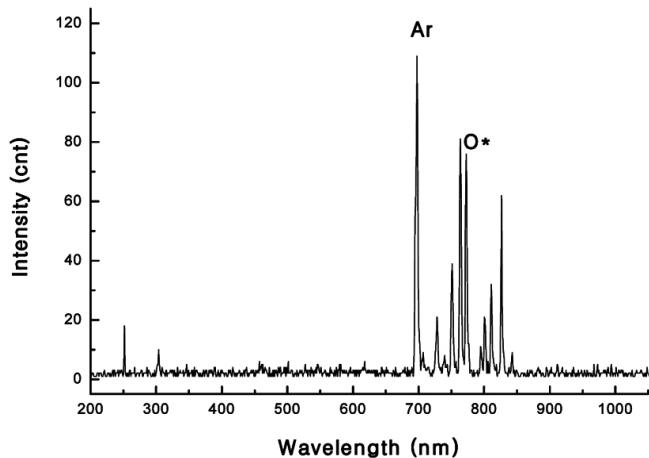


Figure 3. Measured emission spectra of the plasma flame : 500~900 nm range showing Ar and O lines. Plasma parameters; frequency : 30 kHz, applied power : 60 W, argon flow rate : 3 L/min, oxygen flow rate : 300 sccm.

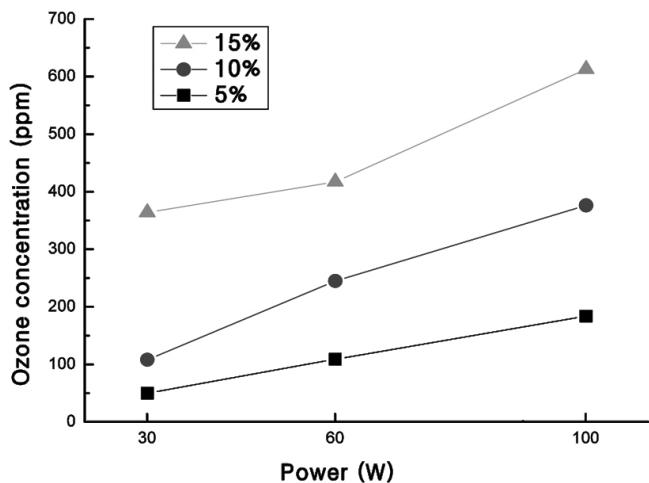


Figure 4. Concentration of ozone generated from atmospheric pressure plasma.

플라즈마를 통한 살균효과는 플라즈마 방전 및 활성 산소종 발생에 기인할 것으로 예상할 수 있다.

아르곤과 산소의 혼합기체를 사용한 대기압 플라즈마 반응기에서 방출되는 오존의 농도는 플라즈마 반응기의 방전기체 출구에서 10 mm 떨어진 지점에서 측정하였으며 결과는 Figure 4와 같다. 혼합기체 내에 산소의 비율이 높아짐에 따라 오존 농도가 증가하며 인가전력의 크기가 증가함에 따라서 오존의 발생농도가 증가함을 알 수 있다. 본 연구에서는 100 W의 인가전력에 15% 산소비율에서 600 ppm의 가장 높은 오존농도를 얻을 수 있었다. 높은 농도의 오존을 얻기 위해서 가급적 높은 인가전력과 산소비율이 높은 혼합기체가 유리하다. 다만 혼합기체내의 산소비율이 높아짐에 따른 플라즈마 방전효과가 떨어지게 된다는 것은 유의해야 한다.

### 3.2. 대기압 플라즈마 처리에 의한 *E. coli* 살균

대기압 플라즈마에 의한 *E. coli* 살균처리 과정에서 배지 위에 생성된 *E. coli*가 담긴 시료를 전후 왕복 가능한 컨베이어에 놓고, 3 mm/sec

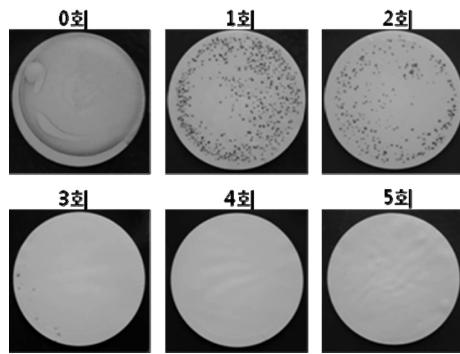


Figure 5. The colonies of *E. coli* after exposure to plasma for the session : (0) 0 time, (1) 1 time, (2) 2 times, (3) 3 times, (4) 4 times, and (5) 5 times. Plasma parameters; frequency : 30 kHz, applied power : 60 W, argon flow rate : 3 L/min, oxygen flow rate : 300 sccm, distance : 10 mm.

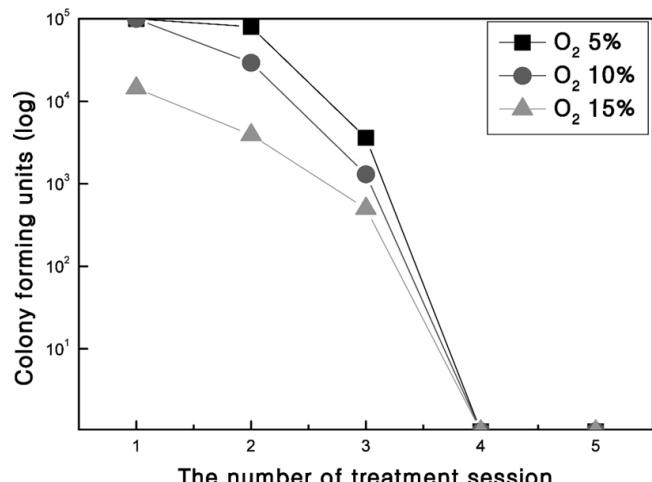


Figure 6. The susceptibility of *E. coli* to plasma exposure with the variation of gas ratio. Plasma parameters; frequency : 30 kHz, applied power : 60 W, distance : 10 mm.

의 속도로 고정한 후에 전후 왕복을 통해 일정한 시간 동안 플라즈마에 노출하였다. 살균처리 공정에서 반응기에 유입되는 혼합기체에서 아르곤을 3 L/min으로 고정하였을 때에 산소 공급이 150, 300, 450 sccm일 때 혼합비율이 5, 10, 15%라 하였다. 방전조건으로 인가전력이 30, 60, 100 W였으며, 시료와 반응기와의 거리는 5, 10, 15 mm로 변경하여 살균처리 공정을 실시하였다.

#### 3.2.1. 처리횟수에 따른 살균효과

대기압 플라즈마 방전조건으로 인가전력이 60 W, 혼합비율이 10% 그리고 거리가 10 mm일 때에 처리횟수에 따른 *E. coli* 시료의 살균효과를 분석하였다. 컨베이어를 이용해 약 3 mm/s의 속도로 이동하며, 지름 45 mm, 약 15.6 cm<sup>2</sup>의 넓이의 멤브레인 필터 전체를 1회 처리하는데 15 s가 소요되었다. 총 5회까지 살균 처리를 하며 플라즈마 조사횟수에 따른 영향분석에서 플라즈마 처리하지 않은 시료를 1개씩 추출하여 플라즈마의 살균 영향에 대한 대조군으로 사용하였다. Figure 5에서 플라즈마 처리에 의한 *E. coli*의 살균 효과는 플라즈마 처리 횟수에 따라 상당한 영향을 받는 것을 볼 수 있다. 플라즈마 처리 횟수가 증가할수록 급격하게 *E. coli*의 colony수가 감소하였고, 멤브레인 필터

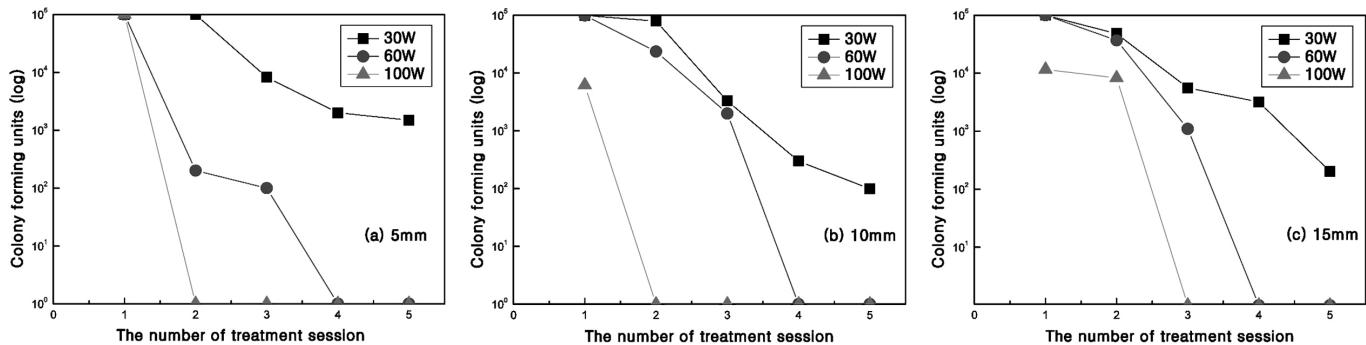


Figure 7. The susceptibility of *E. coli* to plasma exposure with the variation of applied and distance (a) 5 mm, (b) 10 mm, (c) 15 mm. Plasma parameters; frequency : 30 kHz, argon flow rate : 3 L/min, oxygen flow rate : 300 sccm.

전체를 3회 처리(약 45 s)하였을 때 거의 완전한 살균이 이루어졌다. 4회(약 60 s) 이상의 처리시간에서는 완전한 살균처리가 이루어졌음을 볼 수 있다.

### 3.2.2. 반응기체 혼합비율에 따른 살균효과

Figure 6에는 인가전력을 60 W와 거리를 10 mm로 고정한 후에 아르곤과 산소의 혼합비율을 달리하여 플라즈마 처리 횟수를 변경함에 따른 *E. coli*의 살균효과를 분석한 결과를 나타낸다. 혼합비율에 상관없이 4회 이상의 처리에서는 *E. coli*가 완벽하게 사멸되는 것을 확인할 수 있었다. 3회 이하의 처리에서는 산소의 혼합비율이 높은 조건에서의 살균 효과가 커짐을 보여주어 Figure 4에서 나타난 것과 같이 혼합기체 내의 산소함량과 오존 발생농도 간에는 밀접한 관련이 있는 것으로 보인다. 따라서 빠른 살균을 위하여서는 가급적 많은 산소의 주입이 필요하나 산소의 플라즈마 방전효율이 저하되며[14], 일정 농도이상에서는 발광이 뚜렷한 플라즈마 방전이 일어나지 않아 적정 혼합비율을 유지해야 한다. 특히 20%의 산소 혼합비율에서는 플라즈마 방전이 반응기 내부에서만 발생하여 flame이 시료까지 도달하지 않는다. 따라서 살균효과는 발생오존에 기인하는 것으로 생각된다. 그러나 Figures 4와 6의 결과와 같이 오존발생농도와 살균효과가 비례적 관계를 크게 보이지 않는 것은 플라즈마 flame의 직접 접촉에 따른 살균효과가 있다는 것을 나타낸다. 따라서 효율적인 플라즈마 살균공정은 오존의 발생농도와 방전 flame의 직접조사를 병행하는 최적화를 통하여 극대화 할 수 있을 것으로 사료된다.

### 3.2.3. 인가전력 및 거리에 따른 살균효과

아르곤과 산소의 혼합비율이 10%로 고정하고 인가전력과 반응기와의 거리에 변경시킨 대기압 플라즈마의 *E. coli* 살균효과를 Figure 7에 나타내었다. 30 W에서는 처리 횟수를 증가시켜도 완전하게 살균처리가 쉽지 않음을 보여주며 반응기와의 거리에 큰 영향을 받지 않으나 10 mm 일 때 가장 높은 살균효과를 나타내었다. 30 W에서 오존의 발생 농도는 Figure 4로부터 100 ppm으로 측정되어 비교적 낮은 농도를 나타낸다. 따라서 낮은 오존농도는 *E. coli*와 같은 미생물의 살균에 비효율적으로 가급적 높은 농도를 유지하는 것이 바람직하다. 60 W에서는 4회 이상의 처리횟수에서 완전한 살균처리효과를 얻을 수 있었다. 거리에 따른 효과는 반응기로부터 가까울수록 효과가 큼을 보여주어 오존의 확산이 멀 이루어지는 지점에서의 처리가 더 살균에 효율적임을 보여 준다. 100 W에서는 5와 10 mm 거리에서의 처리는 단 2회 처리로 15 mm에서도 3회 만에 완전한 살균효과를 얻을 수 있었다. 이는 인가전력에 따라 오존 생성농도의 증가현상에 따라

살균효과가 크게 증가하는 결과로 해석된다. 따라서 충분한 살균효과를 얻기 위하여서는 오존농도를 증가시킬 수 있는 공정조건으로 산소의 혼합비율과 인가전력의 증가가 요구되며 가급적 반응기와의 거리를 가깝게 유지하여 시료를 처리하는 것이 효율적임을 알 수 있다.

## 4. 결 론

대기압 플라즈마 특성분석에서 주입된 아르곤과 산소의 혼합기체의 플라즈마 방전이 균일하며 산소라디칼( $O^{\cdot}$ )의 생성에 따른 오존발생에 효과적이었다. 플라즈마 방전에서 자외선의 발생이 미미하여 이를 통한 미생물 살균효과에 미치는 영향이 크지 않음을 확인하였다. 아르곤과 산소 혼합기체에서 산소의 혼합비율이 높고 인가전력이 커짐에 따라 오존의 농도가 증가하여 실험조건에서 최고 600 ppm을 얻을 수 있었다. *E. coli*의 살균처리에서 산소의 혼합비와 인가전력의 증가는 방전기체 내의 오존 발생농도를 높여 살균효과를 촉진시켰다. 반응기와의 거리는 살균효과를 증가하기 위하여 가급적 작게 하여 방전 flame에 직접 노출이 되도록 하는 것이 바람직한 것으로 분석되었다. 본 연구를 통하여 대기압 플라즈마는 오존과 같은 산화촉진제의 발생으로 저온에서 *E. coli*와 같은 미생물을 효과적으로 살균할 수 있어 기존의 가열살균법과 EtO 살균법을 대체 할 수 있는 차세대 살균기술로서의 가능성을 제시하였다.

## 감 사

본 논문은 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 광역경제권 선도사업 인재양성사업의 연구결과입니다.

## 참 고 문 헌

- M. Laroussi, *Plasma Process. Polym.*, **2**, 391 (2005).
- R. Brandenburg, J. Ehlbeck, M. Stieber, Th. von Woedtke, J. Zeymer, O. Schluter, and K. D. Weltmann, *Contrib. Plasma Phys.*, **47**, 72 (2007).
- K. D. Weltmann, R. Brandenburg, Th. Von Woedtke, J. Ehlbeck, R. Foest, M. Stieber, and E. Kindel, *J. Phys. D : Appl. phys.*, **41**, 194008 (2008).
- V. M. steelman, *Aorn J.*, **55**, 773 (1992).
- M. Laroussi and X. Lu, *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 113902 (2005).
- H. Conrads and M. Schmidt, *Plasma Sources Sci. Technol.*, **9**, 441

- (2000).
- 7. N. S. J. Braithwaite, *Plasma Sources Sci. Technol.*, **9**, 517 (2000).
  - 8. G. M. Sapers and G. F. Simmons, *Food Tech.*, **52**, 48 (1998).
  - 9. M. O. Balaban, A. G. Arreola, M. Marshall, A. Peplow, C. I. Wei, and J. Cornell, *J. Food Sci.*, **56**, 743 (1991).
  - 10. H. Koinuma, H. Ohkubo, T. Hashimoto, K. Inomata, T. Shiraishi, A. Miyagana, and S. Hayashi, *Appl. Phys. Lett.*, **60**, 816 (1992).
  - 11. J. Janca, M. klima, P. Slavicek, and L. Zajickova, *Suf. Coat. Technol.*, **116**, 547 (1999).
  - 12. H. W. Lee, S. H. Nam, A. H. Mohamed, G. C. Kim, and J. K. Lee, *Plasma Process. Polym.*, **7**, 274 (2010).
  - 13. K. Lee, K. Paek, W. T. Ju, and Y. Lee, *J. Microbiol.*, **44**, 269 (2006).
  - 14. D. S. Won, T. K. Kim, and W. G. Lee, *Appl. Chem. Eng.*, **21**, 98 (2010).