

적색, 초록, 청색 및 혼합광 LED 조사의 식중독균 저해 효과

문진석, 오명민¹, 주우하, 한남수*

Inactivation of Bacterial Pathogens by Irradiation of Red, Green, Blue and Combined Light-Emitting Diode (LED)

Jin Seok Moon, Myung-Min Oh¹, Woo Ha Joo, and Nam Soo Han*

접수: 2013년 11월 7일 / 게재승인: 2013년 11월 28일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: The antimicrobial properties of Light-Emitting Diode (LED) are an area of increasing interest. The aim of this study was to evaluate the bactericidal effects of blue (peak at 456 nm), green (peak at 518 nm), red (peak at 654 nm) and blue-green combined (blue 456 nm : green 558 nm = 69:31) LED irradiation to pathogenic bacteria. For this, LED equipment providing power density of 10 mW/cm² was installed and plates were exposed to 0.9 or 3.0 mW/cm² to irradiate bacteria with 3.2 to 259.2 J/cm² of energy density. As a result, blue and combined LED have shown bactericidal effects on *Escherichia coli* KCTC 1467 and *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 after irradiation of 3.0 mW/cm² for 2 and 4 hr, respectively. *Staphylococcus aureus* KCTC 1916 was inhibited at 518 nm green LED irradiation. However, red LED irradiation showed no inhibitory effect to the other tested strains. Light technology that utilizes the bactericidal properties of blue (at 456 nm) and blue-green (blue 456 nm : green 558 nm = 69:31) combined LED may have potential applications in the food industry sector.

Keywords: Light-Emitting Diode (LED), 456-nm LED, Combined LED, Pathogenic bacteria

충북대학교 식품공학과
Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
Tel: +82-43-261-2567, Fax: +82-43-271-4412
e-mail: namssoo@chungbuk.ac.kr

¹충북대학교 원예학과
¹Department of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

1. 서론

집단 식중독의 발생이 계속 보고되고 있는데, 이는 학교급식 확대와 외식의 증가 같은 사회의 변화와 지구 온난화와 같은 환경의 변화에 기인한 것으로 보인다 [1]. 우리나라의 식중독 발생현황을 보면, 식중독 발생건수는 최근 10년 동안 지속적으로 증가하고 있는 경향을 보였으며, 건당 환자 수도 상승세를 보여 점차 식중독이 대형화되어가고 있다[2]. 식품의약품안전처에서 발표한 2002~2011년까지 식중독 발생 현황에 따르면 세균성 식중독이 60%를 차지하고 있으며, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*의 순서로 발생하였다 [3].

세균에 의한 식품의 오염방지 및 식품저장기간 연장을 위해 물리적 방법 (가열, 냉동)과 화학적 방법 (보존제, 방부제, 훈증제) 등이 이용되고 있다. 그러나 이러한 방법들은 영양 손실, 품질 저하, 내성화, 환경오염, 독성 및 제어 기술에 따른 문제점을 지닌다 [4-6]. 따라서 식품고유의 영양성분을 유지하며 오염과 변형이 없는 고품질의 식품생산을 위하여 다양한 비가열가공기술 (non-thermal process)의 연구가 활발하게 진행되고 있다 [7]. 최근 이러한 산업적 필요성에 기반하여 LED (Light Emitting Diode) 기술이 주목 받고 있다.

LED는 화합물 반도체 기술로써 스스로 빛을 발생하는 다이오드이다. 기존의 광원에 비해 고효율, 친환경, 반영구적 수명 등의 장점을 가지고 있으며, 반도체 칩의 화합물 구성 원소 배합에 의해 다양한 발광색상과 파장을 나타낸다 [8]. 현재 LED 관련시장의 90% 이상을 차지하고 있는 V-LED (visible-LED)의 경우 400~700 nm 파장을 보이며, 각종 실내 조명, 휴대폰, 노트북, 자동차 등에 이용되고 있으며, 최근 의료, 농업, 환경, 해양 등의 응용범위가 넓어지고 있다 [9]. 이

중 식품위생 및 미생물 성장 제어에 관한 연구는 고춧가루 미생물의 저감화와 품질 특성 [10], UV LED의 안질환 미생물 불활성화 [11], 405 nm LED의 methicillin resistant *S. aureus* (MRSA)의 살균 효과 [12] 등이 있다. 하지만 식중독균을 대상으로 다양한 파장과 혼합 파장대의 살균 효과에 대해 조사한 연구는 미비하다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 식중독균 3종 (*E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*)을 대상으로 654 nm 적색, 518 nm 녹색, 456 nm 청색 및 혼합광 (청색: 녹색 = 69:31) LED 광원을 조사하였을 때 살균 효과를 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사용 균주 및 성장 배지

본 연구에서 사용된 균주는 한국미생물 자원센터 (Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양 받은 *E. coli* KCTC 1467, *L. monocytogenes* ATCC 19115, *S. aureus* KCTC 1916 균주를 사용하였다. 위 표준균주들은 -80°C 초저온 냉동고에서 20% glycerol stock (w/v) 형태로 보관하였으며, 멸균된 Brain Heart Infusion agar (BHI, Difco Laboratories, Detroit, USA)에 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 배양하였고 3회 이상 계대배양을 거친 균주를 실험에 사용하였다.

2.2. LED 광 조사 장치

파장에 따른 살균효과를 비교하기 위하여 광원으로 적색 (654 nm), 녹색 (518 nm), 청색 (456 nm) 및 혼합광 (456 nm: 558 nm = 69:31) LED (Biwon Tech., Cheonan, Korea)를 향온기 (DS-51GLP-2L, Dasol Sci., Hawsung, Korea)의 상부에 부착하여 제작하였다. 또한, LED converter system을 이용하여 광원을 일정하게 공급하였다. 방사광도는 분광광도계 (LI-1800, Li-Cor Inc., Lincoln, USA)를 사용하여 측정하였다. 같은 방사광도 조건에서 각각의 노출된 에너지 밀도 (dose)는 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$E = pt$$

E 는 dose (energy density, 에너지 밀도)로 J/cm^2 으로 나타내며, p 는 irradiance (방사광도)로 W/cm^2 , t 는 sec (조사시간)으로 정의된다.

2.3. LED 조사 실험

빛의 조사는 1, 2, 4, 6, 12, 24시간으로 나누어 실험하였으며, 1시간 동안 세균이 받는 방사광도는 $0.9 mW/cm^2$ (low-dose)와 $3.0 mW/cm^2$ (high-does)가 되게 하였다. 각각의 균은 BHI 평판 배지 (petridish 60×15 mm)에 도말 (1×10^4 CFU/mL) 후 LED 광원을 직접 조사하였다. 1시간 동안 균주가 받는 방사광도가 $0.9 mW/cm^2$ 일 때, 1, 2, 4, 6, 12, 24시간에 받는 에너지 밀도 (J/cm^2)는 각각 3.2, 6.5, 13, 25.9, 38.9, 77.8 J/cm^2 이며,

$3.0 mW/cm^2$ 로 적용했을 때 10.8, 21.6, 43.2, 86.4, 129.6, 259.2 J/cm^2 이었다. 광 조사 후 petridish에 생성된 집락의 수를 계산하였고 광 조사를 하지 않은 petridish를 대조구로 이용하였다.

2.4. 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 수행하였으며, 평균치간의 유의성은 SPSS system (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc, Chicago, USA) software package (Version 12.0)를 이용하여 $p < 0.001$ 수준으로 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. *E. coli* 저해 효과

다양한 파장의 LED 조사가 *E. coli*에 미치는 영향을 알아 본

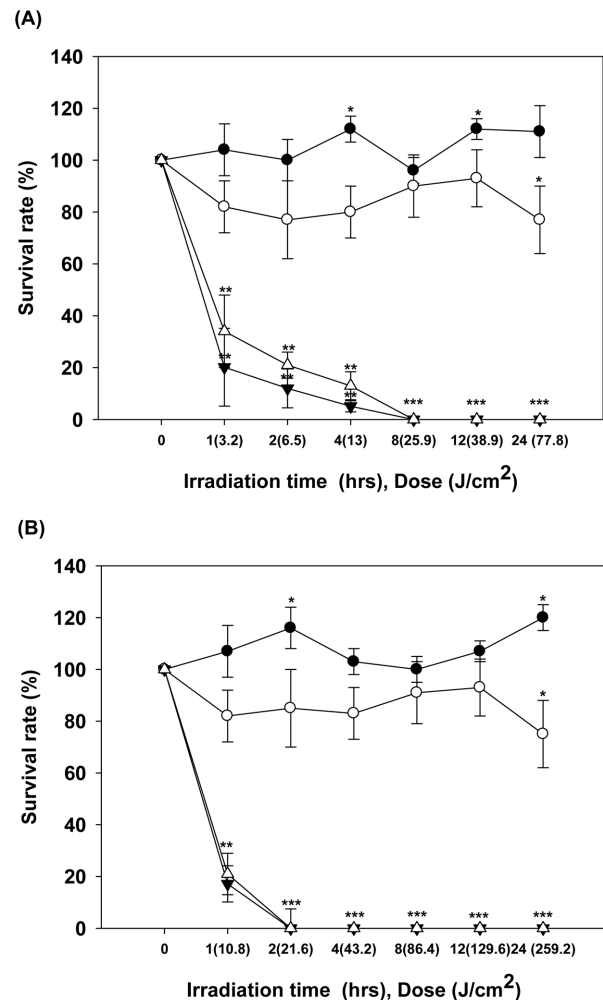


Fig. 1. Survival rate of *E. coli* KCTC1467 at various wavelengths of LED irradiation. ●: 654 nm, ○: 518 nm, ▼: 456 nm, △: Combined 456 nm (69) : 558 nm (31). A, low-dose ($0.9 mW/cm^2$); B, high-dose ($3 mW/cm^2$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (Mean±SD).

결과, 청색 LED의 경우 방사광도를 0.9 mW/cm² (low-dose) 및 3.0 mW/cm² (high-dose)로 조사하였을 때, 8시간 (25.9 J/cm²) 및 2시간 (21.6 J/cm²) 이후 각각 사멸되었다. 혼합광 LED의 경우 방사광도를 0.9 mW/cm² 조사하였을 때, 1시간 (3.2 J/cm²) 경과 후 감소하기 시작하여 8시간 (25.9 J/cm²) 이후 모두 사멸되었다. 또한 혼합광의 방사광도를 3.0 mW/cm²로 높혔을 때는 청색 LED와 매우 유사한 살균효과를 보였다. 반면에, 적색과 녹색 LED의 경우는 대조군과 유의적인 차이가 없어 살균효과를 보이지 않았다 (Fig. 1).

3.2. *L. monocytogenes* 저해 효과

*L. monocytogenes*를 대상으로 살균력을 조사한 결과, 청색 LED의 경우 방사광도를 0.9 mW/cm² 조사하였을 때 1시간 (3.2 J/cm²) 이후 급격히 감소하여 12시간 (38.9 J/cm²) 이후 사멸되었다. 또한, 3.0 mW/cm² 조사하였을 때, 2시간 (21.6 J/cm²) 이후 80% 이상 감소하였으며 4시간 (43.2 J/cm²) 이후 사

멸되었다. 혼합광 LED의 경우는 0.9 mW/cm² 광도로 조사한 결과, *L. monocytogenes*는 2시간 이후 급격하게 감소되었고, 12시간 만에 모두 사멸되었다. 반면, 광도를 3.0 mW/cm²로 높혀 조사한 경우 4시간 만에 사멸되었다. 하지만, 적색과 녹색 LED의 경우는 방사광도가 높은 경우와 낮은 경우 모두 대조군과 유의적 차이를 보이지 않아 살균력이 없는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

3.3. *S. aureus* 저해 효과

그람 양성(+) 세균인 *S. aureus* 대상으로 LED 살균력 실험을 수행한 결과, 청색 LED의 경우 방사광도를 저도 (0.9 mW/cm²)로 조사하였을 때 1시간 이후 급격하게 감소하였고 8시간 만에 모두 사멸되었다. 반면에, 고도인 3.0 mW/cm²로 조사하였을 때는 1시간 만에 80% 감소하였고 4시간 이후 모두 사멸되었다. 혼합광 LED의 경우, 저도에서는 8시간 만에 사멸된 반면, 고도에서는 4시간 만에 사멸되었다. 녹색 LED의

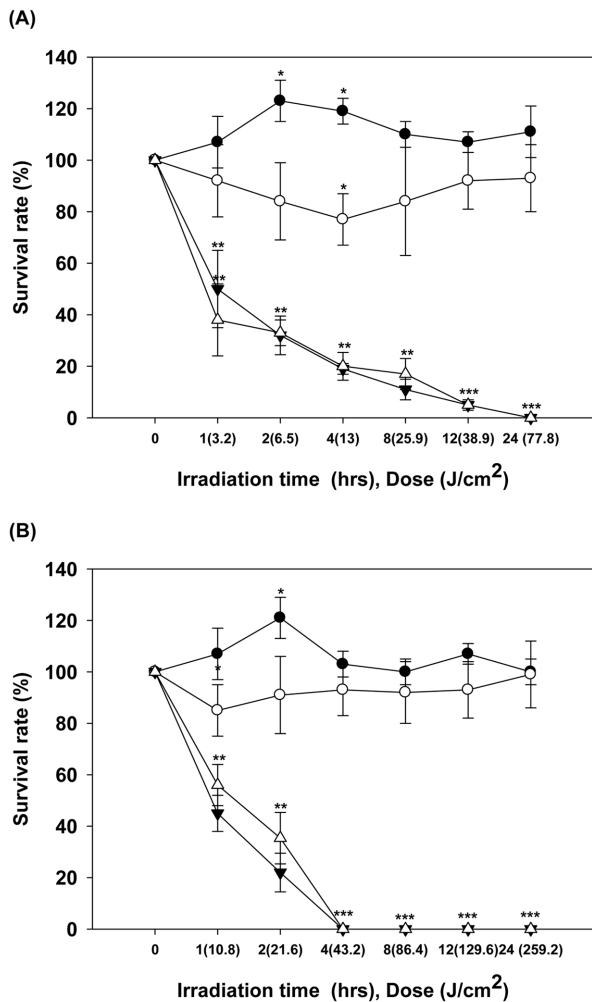


Fig. 2. Survival rate of *L. monocytogenes* ATCC 19115 at various wavelengths of LED irradiation. ●: 654 nm, ○: 518 nm, ▼: 456 nm, △: Combined 456 nm (69): 558 nm (31). A, low-dose (0.9 mW/cm²); B, high-dose (3 mW/cm²). **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001 (Mean±SD).

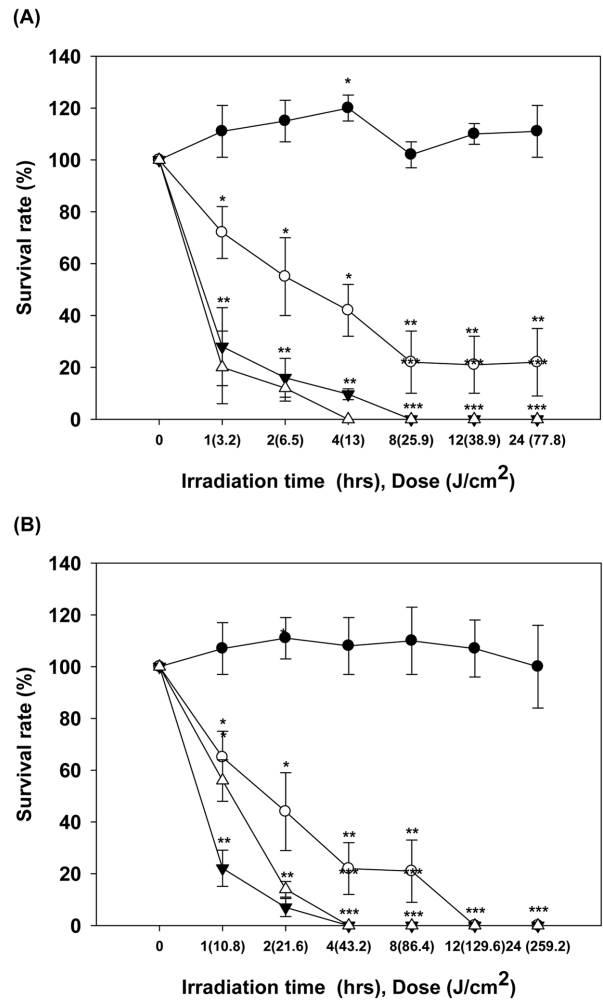


Fig. 3. Survival rate of *S. aureus* KCTC 1916 at various wavelengths of LED irradiation. ●: 654 nm, ○: 518 nm, ▼: 456 nm, △: Combined 456 nm (69): 558 nm (31). A, low-dose (0.9 mW/cm²); B, high-dose (3 mW/cm²). **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001 (Mean±SD).

Table 1. D-value of strains after exposure to blue and blue-green combined LED irradiation

Strains	Electric dose (mW/cm ²)	LED irradiation	
		Blue-LED h (J/cm ²)	Blue-green combined LED h (J/cm ²)
<i>E. coli</i> KCTC 1467	0.9	4(13.0)	8(25.9)
	3.0	2(21.6)	2(21.6)
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	0.9	8(25.9)	12(38.9)
	3.0	4(43.2)	4(43.2)
<i>S. aureus</i> KCTC 1916	0.9	4(13.0)	8(25.9)
	3.0	2(21.6)	2(21.6)

경우는 저도의 방사광도에서 8시간 이후 70% 이상 감소한 반면, 고도광도에서는 12시간 만에 사멸되었다. 적색 LED의 경우는 Fig. 3과 같이 대조군과 유의적 차이가 없어 살균력이 없는 것으로 판명되었다. 위와 같은 LED 살균 효과는 미생물의 물리 구조적 차이 및 photosensitization에 영향을 미치는 인자인 세포 내 porphyrin의 종류, 생산량, 파장에 따른 흡수 영역, 산소발생 등이 영향을 미친 것으로 보인다 [13,14]. Photodynamic therapy (PDT) 법을 사용하여 blue light (470 nm) 조사 시 *S. aureus* MRSA의 살균 효과를 본 연구결과 [12]와 유사한 살균력을 보인다. PDT은 특정 파장의 빛과 photosensitizer를 이용하여 발생하는 ROS가 미생물의 세포벽, 세포막을 파괴함에 따라 살균효과를 얻는다 [13]. 반면 본 실험은 첨가 물질 없이 특정 파장과 특정 파장을 혼합한 파장에서 식중독의 살균 효과를 나타낸다.

3.4. D 값 측정

일정한 온도에서 90%의 미생물을 사멸하는데 걸리는 시간인 D (Decimal reduction time) 값을 계산하였다 (Table 1). 방사광도를 0.9 mW/cm² 조사하였을 때, 청색 LED의 경우 *E. coli*와 *S. aureus*에 4시간인 반면, *L. monocytogenes*에는 8시간이었다. 또한, 3.0 mW/cm² 조사하였을 때, *E. coli*와 *S. aureus*는 2시간, *L. monocytogenes*는 4시간으로 방사광도를 높일수록 D값이 감소하였다. 혼합 LED의 경우 0.9 mW/cm² 방사광도에서 *E. coli*와 *S. aureus*는 8시간, *L. monocytogenes*는 12시간으로 살균효과가 낮았다. 반면, 3.0 mW/cm² 광도에서 *E. coli*와 *S. aureus*는 2시간, *L. monocytogenes*는 4시간으로 역시 방사광도를 높일수록 D값이 감소하였다. 청색 LED는 혼합광 LED와 유사한 결과를 보였다. 이는 *E. coli*와 *S. aureus*가 *L. monocytogenes*보다 청색과 혼합광 LED 파장에 민감하여 살균 효과가 크게 나타난 것으로 보인다.

4. 결론

본 연구에서는 대표적인 식중독 세균인 *E. coli* KCTC1467, *L.*

monocytogenes ATCC 19115, *S. aureus* KCTC 1916을 대상으로 적색 (654 nm), 녹색 (518 nm), 청색 (456 nm) 및 혼합광 (blue 456 : green 558 = 69:31) LED 광원의 살균효과를 측정하였다. 본 실험을 위해 10 mW/cm²의 방사광도를 제공하는 LED 조사 장치를 설치하였고, 저도 (0.9 mW/cm²) 및 고도 (3.0 mW/cm²)의 방사광도에서 3.2~259.2 J/cm²의 방사량을 한천배지에서 자란 세균에 조사하였다. 그 결과, 청색과 혼합광 LED는 세가지 세균에 대해 모두 높은 살균 효과를 보였으며 녹색광은 *S. aureus*에 대해 살균 효과를 보인 반면, 적색광은 아무 세균에도 살균효과를 보이지 않았다. 본 실험결과는 적절한 LED광원의 사용을 통해 식품에서 식중독균의 증식을 효과적으로 억제하고 안전성을 확보할 수 있음을 보여준다.

감사

본 연구는 농촌진흥청의 15 어젠다 사업 (PJ90715303)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

REFERENCES

- Choi, J. H., J. Y. Park, E. G. Lim, M. K. Choi, J. S. Kim, G. B. Choi, S.G. Jeong, and Y. S. Hahm (2012) An investigation of microbial contamination of side dishes sold at traditional market and super market in Ulsan. *J. Fd. Hyg. Safety* 27: 87-95.
- Kim, Y. S., H. J. Kim, Y. H. Yoon, M. G. Shin, C. J. Kim, M. H. Shin, and J. W. Lee (2010) Antimicrobial effects retort and gamma irradiation on bacterial populations in spicy chicken sauce. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 30: 141-147.
- The Korea Food and Drug Administration (2012) Occurrence of foodborne disease from 2002 to 2011. Available from: <http://www.mfds.go.kr/e-stat/index.do?nMenuCode=20>
- Kim, Y. S. and D. H. Shin (2003) Researches on the volatile antimicrobial compounds from edible plants and their food application. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 159-165.
- Kim, Y. S., I. S. Park, and S. D. Ha (2009) Application sanitizer for the control of microorganisms in Food. *Food Sci. Indus.* 42: 26-35.
- Kwon, J. H., M. W. Byun, and H. O. Cho (1987) Quality evaluation of ground garlic and onions treated with chemical fumigants and ionizing radiation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19: 107-112.
- Kim, J. H., E. K. Kim, S. R. Shin, and K. B. Song (2009) Effect of UV-V irradiation on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on washed carrot during storage. *Korean J. Food Preserv.* 16: 636-643.
- Matsunaga, T., H. Takeyama, H. Sudo, N. Oyama, S. Ariura, H. Takano, M. Hirano, J.G. Burgess, K. Sode, and N. Nakamura (1991) Glutamate production from CO₂ by marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. using novel biosolar reactor employing light diffusing optical fibers. *Biochem. Biotechnol.* 28-29: 157-167.
- Mata, T. M., A. A. Martins, and N. S. Caetano (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew.*

- Sust. Energ. Rev.* 14: 217-232.
10. Yun, H. J., K. H. Park, K. Y. Ryu, S. R. Kim, J. C. Yun, and B. S. Kim (2012) Effects of LED treatment on microbial reduction and quality characteristics of red pepper powder. *J. Fd. Hyg. Safety* 27: 442-448.
 11. Chevremont, A. C., A. M. Farnet, M. Sergent, B. Coulomb, and J. L. Boudenne (2012) Multivariate optimization of fecal bioindicator inactivation by coupling UV-A and UV-C LEDs. *Desalination* 285: 219-225.
 12. Enwemeka, C. S., D. Williams, S. Hollosi, D. Yens, and S. K. Enwemeka (2008) Visible 405 nm SLD light photo-destroys methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro. *Laser. Surg. Med.* 40: 734-737.
 13. Maclean, M., S. J. Macgregor, J. G. Anderson, and G. A. Woolsey (2008) The role of oxygen in the visible-light inactivation of *Staphylococcus aureus*. *J. Photochem. Photobiol.* 92:180-184.
 14. Fotinos, N., M. Convert, J. C. Piffaretti, R. Gurny, and N. Lange (2008) Effects on gram-negative and gram-positive bacteria mediated by 5-aminolevulinic Acid and 5-aminolevulinic acid derivatives. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 52: 1366-1373.