

저온에서 산 처리와 적색, 녹색, 청색 LED 조사의 조합에 따른 식중독 세균의 살균 효과

도정선¹ · 정현정² · 방우석¹

¹영남대학교 식품영양학과 및 LED-IT 융복합연구센터

²인하대학교 식품영양학과

Bactericidal Effect of Pathogenic Bacteria on Acid Treatment Combined with Red, Green, and Blue LED Light at a Low Temperature Environment

Jung Sun Do¹, Hyun-Jung Chung², and Woo-Suk Bang¹

¹Department of Food and Nutrition and LED-IT Fusion Technology Research Center, Yeungnam University

²Department of Food and Nutrition, Inha University

ABSTRACT The bactericidal effects of 642, 521, and 461 nm LED were investigated on *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* strains in TSB with pH 7.2, 4.0, and 3.5 for 10 h at 15°C. The bactericidal effect of 461 nm blue LED was the most pronounced compared to 642 nm and 521 nm LEDs at pH 3.5. When *E. coli* was exposed to pH 3.5 with 461 nm LED, populations of *E. coli* O157:H7 ATCC 43894 and 35150 decreased by 4 and 5 log CFU/mL for 2 h, respectively. Populations of *E. coli* ATCC 8739 decreased by 5 log CFU/mL for 2 h. Further, *S. aureus* ATCC 27664, 43300, and 19095 were inactivated by 4, 5 and 5 log CFU/mL for 2 h, respectively, at pH 3.5 with 461 nm LED. In conclusion, combined treatment with 461 nm LED and acidic conditions at low-temperature (15°C) showed the greatest antimicrobial effects. This study suggests that LEDs may be potentially used as a method to maintain the safety of the food preservation technology.

Key words: light emitting diode (LED), acid environment, photosensitization, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

서 론

현재 세계적인 환경 변화에 따른 자원고갈 문제로 식량안보의 불확실성과 식품안전성에 대한 불안이 증대되고 있으며 이에 따른 환경보존의 환경규제가 강화되고 있다. 이로 인하여 모든 산업에서 저에너지를 이용한 높은 생산효율 및 환경오염을 최소화할 수 있는 기술개발과 시장 성장이 요구되고 있다(1). 식품산업에서 유해 미생물에 의한 원인으로 식품의 부패와 변질에 의해 나타나는 세균성 식중독의 발생은 식품안전성에 대한 위협과 큰 경제적 손실을 발생시킨다. 식품의약품안전처에 따르면 최근 우리나라에서 발생하고 있는 식중독의 시설별 원인은 외식과 급식 시설이 대부분을 차지하며 2012년 발생건수는 226건, 환자 수는 6,058명으로 2007년 이후 매년 증가하고 있다. 또한 식중독의 원인물질로는 세균에 의한 원인이 가장 높으며, 특히 *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*,

Staphylococcus aureus 등의 병원성 미생물이 이에 속한다(2). 대표적인 식중독 원인균인 *E. coli*는 그람 음성의 장내 세균으로 자연계에서 비교적 저항성이 강하나, 적절한 온도와 시간의 가열 처리에 사멸하고 소독제에도 비교적 내성이 약하다(3). 병원성 대장균은 5가지 종류(*Enteropathogenic E. coli*, *Enterotoxigenic E. coli*, *Enterohemorrhage E. coli*, *Enteroinvasive E. coli*, *Enterocytotoxic E. coli*)로 분류되며 여러 종류의 식품이 원인식품이 될 수 있으므로 집단적인 발생의 위험이 높다(4).

*S. aureus*는 그람 양성형 독소형 식중독 세균으로 장독소(enterotoxin)가 주원인이며 병원성이 강하고 조직침습성이 높다. 특히 다른 균에 비해 내성 획득 속도가 빨라 penicillin 내성을 가진 포도상구균에 작용하는 methicillin에도 내성을 나타내는 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)가 보고되어 위험성이 높아지고 있다(5). 이러한 이유로 소비자가 요구하는 식품의 안전성 확보와 고부가가치식품을 제공하기 위해 식품원료와 가공제품에 다양한 살균방법이 이용되고 있다. 살균방법에는 가열, 건조, 냉동, 가스, 방사선 처리 등과 같은 물리적 방법과 식품보존제 첨가와 같은 화학약품에 의한 화학적 방법이 이용되고 있다. 물리적인 방법의 경우 식품의 풍미, 물성, 영양적 측면에 부

Received 16 July 2015; Accepted 3 August 2015

Corresponding author: Woo-Suk Bang, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk 38541, Korea

E-mail: wsbang@ynu.ac.kr, Phone: +82-53-810-2877

정적인 영향을 나타내며, 화학적 방법은 인체에 지속적으로 축적될 경우 발암성, 돌연변이 유발 등의 안전성 문제 및 환경공해의 부작용이 나타난다(6,7). 특히 통상적으로 사용되고 있는 가열살균 처리의 경우 열에 취약하거나 민감한 제품 및 가열 처리가 불가능한 식품이 존재하므로 비가열 살균기술의 적용이 요구되어진다.

Light emitting diode(LED)는 비가열 살균 기술로 식품 살균에 적용이 가능하다. LED는 진공기술을 기반으로 한 기존의 백열등, 형광등의 조명과 달리 반도체 기술을 기반으로 하여 높은 광효율을 나타내 에너지 절약에 효과적이다. 또한 소형화, 경량화, 장수명, 내충격성, 지향성의 장점이 있으며 기존 조명에서 발생하는 수은(Hg), 납(Pb)과 같은 유해물질이 배출되지 않아 환경 친화적이고 별도의 폐기비용이 발생하지 않는다(8). 현재 LED는 일반조명의 대체조명으로 비중이 가장 크며 전광판, 교통신호기, 휴대폰, liquid crystal display back light unit(LCD BLU; 액정디스플레이 백라이트), 그리고 자동차 등에 이용되고 있다(9). 이외에도 적외선 및 자외선 LED를 이용한 통증치료기, 가시광선 LED를 이용한 피부치료기, 색채치료 등에 이용되는 의료 조명과 ultraviolet(UV) LED를 이용한 살균기에 적용되고 있으며 농어업분야에서 식물조명, 해충방제, 어류의 집어 등 등에 응용되고 있다(10-14). LED의 살균 효과는 초기에 연구된 UV LED(100~400 nm)를 이용한 물과 공기의 살균, 피부병 치료에서 높은 살균 효과가 나타났다(15,16). 그러나 인체에 직접 조사 시 부정적인 영향이 보고되어 이를 보완하기 위해 인체에 무해한 visible ray(V) LED(400~700 nm)를 이용한 식품과 미생물에 대한 살균 효과 연구가 활발히 진행되고 있다(17). 의료분야에서 광감작제(photosensitizer)를 이용한 photodynamic inactivation(PDI) 및 photodynamic therapy(PDT) 연구(18,19)를 필두로 하여 photosensitization에 기초하는 살균메커니즘이 입증되었으며 LED 광원 중에서도 효과적인 살균 효과가 나타난 405 nm 청색 LED를 이용한 *Listeria monocytogenes*(20), *C. jejuni*(21), *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* 등(22, 23)의 불활성화 연구가 보고되었다. 또한 470 nm 청색 LED에서 MRSA 살균 효과 연구(24), 녹색, 적색, 청색, 황색광을 이용한 고춧가루의 미생물 저감화에 대한 연구(25), 효모균에 대한 항진균 효과 연구(26) 등에 의해서 LED의 살균 효과가 입증되었다. 따라서 LED는 식품산업에서 식품위해 미생물 제어를 통해 식품안전성을 확보하기 위한 기술로 적용될 수 있으므로 다양한 가시광선 LED의 파장과 균종에 따른 살균 효과 연구가 요구되며, 식품의 유통 및 저장과정에 따른 온도 변화와 식품에 따라 달라지는 pH를 고려한 교차 저항성에 관한 기초연구 또한 미비한 실정이다. 본 연구에서는 대표적인 식중독 세균인 *E. coli*, *S. aureus* 균종을 대상으로 적색, 녹색, 청색의 LED를 이용하여 저온환경(15°C)에서 산성의 pH(4.0, 3.5)와의 병행 처리에 대한 살균 효과를 알아보고자 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험균주

본 실험에 사용된 6가지 균종은 모두 중앙대학교 식품가공학과로부터 분양받은 것으로 3종의 *Escherichia coli* O157:H7(ATCC 8739, ATCC 35150, ATCC 43894)과 3종의 *Staphylococcus aureus*(ATCC 19095, ATCC 27664, ATCC 43300)가 사용되었다. 실험 전 영하 70°C에 냉동 보관된 균을 해동한 뒤 멸균된 tryptic soy broth(TSB; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37°C의 배양기에서 20~24시간 배양하였으며 적어도 3번 이상 계대배양을 거친 정지기 균을 실험에 사용하였다. 균종은 접종 전 tryptic soy agar(TSA; Merck Co., Darmstadt, Germany)로 주입평판배양을 하여 37°C에서 24~48시간 동안 배양기에서 배양한 후 그 집락을 계수하여 10⁹ CFU/mL로 성장하는 것을 확인한 뒤 사용하였다.

세 가지 다른 LED 파장

각기 다른 파장(642 nm, 521nm, 461 nm)을 가진 3가지 LED 장치(GX-HP10W-R, GX-HP10W-G, GX-HP10W-B, Angel LED Lighting, Singapore)를 설치하여 실험에 사용하였다. 세 종류의 LED는 모두 InGaN의 화합물 재료로 제작되었으며 각 파장의 허용 범위는 ±3 nm이고 LED의 열 발생을 최소화하기 위해 cooling fan과 heat sink가 부착되었다. 실험장비는 외부의 빛을 차단하기 위해 전체 크기가 10.4×10.4×4.5 cm³인 ABS 수지(acrylonitrile butadiene styrene copolymer) 박스를 제작한 후 박스의 상부에 LED를 부착하여 제작하였다. 각각의 LED는 9개의 칩이 직렬 및 병렬 구조로 연결되어 있는 하나의 패키지형태(10 W)로 구성되어 있으며 전류 전원은 AC adapter(0~2 A, 0~12 V)를 이용하여 공급하였고 전압은 10 V(±2)에서 1 A(±0.05)로 사용되었다.

노출 처리

각 실험은 평균온도 15±1°C를 유지하여 저온 배양기(Sanyo Electric Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 실시하였다. 제작된 박스 상부에 위치한 LED의 빛이 하부의 샘플 중앙에 잘 전달되도록 하였으며 조사거리는 3.3 cm, 처리 전 배지의 깊이는 1.2 cm가 되도록 하였다. 방사조도(irradiance)는 S130C 400~1,100 nm 센서가 부착된 Laser Power and Energy Meter Console(PM100D, Thorlabs, Newton, NJ, USA)을 사용하여 461, 521, 642 nm LED에서 각각 25.4, 16, 22.1 mW/cm²로 측정되었다. 같은 방사조도 조건에 노출된 각각의 처리균은 E=pt 공식을 이용하여 계산되었다. 여기서 E는 dose(에너지 밀도, J/cm²), p와 t는 각각 irradiance(방사조도, W/cm²)와 시간(second)으로 정의된다.

미생물 분석

멸균된 TSB의 pH는 pH 7.2로 pH meter(420A, Orion Research Inc., Boston, MA, USA)를 이용하여 측정하였으며 이를 대조군으로 설정하였다. 산성 환경 조성을 위해서 HCl(hydrochloric acid, DC Chemical Co., Seoul, Korea)과 멸균 증류수를 혼합하여 1 N로 조제한 후 pH meter를 이용하여 멸균된 TSB를 pH 4.0, pH 3.5로 조정하여 사용하였다. 산성 환경에서 642 nm, 521 nm, 461 nm LED 조사에 따른 살균 효과의 측정은 10^9 CFU/mL의 정지기 상태인 균주를 각각 pH가 조정된 멸균 TSB에서 10^6 CFU/mL 수준으로 희석한 후 60×15 mm petridish에 10 mL 분주한다. 접종된 TSB 시료는 15°C에서 10시간 동안 LED 조사되었고 0시간부터 1시간마다 0.1 mL씩 sampling 하여 0.9 mL의 0.1% 멸균 펩톤수(Bacto™ peptone, Becton Dickinson Co., Sparks, MD, USA)에 희석하였다. TSA로 주입평판 배양한 후 배양기에서 37°C, 24~48시간 배양하여 생성된 25~250개 사이의 집락의 수를 계산하였으며 모든 결과의 검출 한계는 10 CFU/mL로 설정되었다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복 수행되었으며 통계분석 결과는 SAS program(version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 회귀분석으로 D값(일정한 온도에서 90%의 미생물을 사멸하는 데 걸리는 시간)을 계산하였다. 각 처리군 간 유의적인 차이는 general linear model 방법으로 분산분석을 실시하여 검증하였다($P < 0.05$).

결과 및 고찰

LED 파장에 의한 *E. coli*와 *S. aureus*의 살균 효과

적색(642 nm), 녹색(521 nm), 청색(461 nm) LED를 이용하여 15°C의 온도에서 *E. coli* 3균종, *S. aureus* 3균종을 pH 7.2, 4.0, 3.5의 환경에서 10시간 동안 조사한 결과는 Fig. 1~3과 같다. 중성인 pH 7.2의 환경에서 642 nm 적색 LED 조사 10시간 후 *E. coli*와 *S. aureus*의 모든 균종에서 초기균수가 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 1). *E. coli* 균종은 평균적으로 0.4 log CFU/mL, *S. aureus* 균종은 약 0.9 log CFU/mL가 증가하여 살균 효과가 없는 것으로 나타났다. 이와 유사하게 521 nm 녹색 LED 또한 *E. coli* 균종과 *S. aureus* 균종이 각각 약 0.2, 0.5 log CFU/mL 증가하여 살균 효과가 없었으나 461 nm 청색 LED는 이와 반대의 결과가 나타났다. *S. aureus*의 균종에서 ATCC 27664, ATCC 19095, ATCC 43300은 각각 10시간 후 1.90 ± 0.07 , 2.28 ± 0.21 , 3.28 ± 0.74 log CFU/mL 감소하였으며 *E. coli* 균종에서 ATCC 43894는 10시간 조사 후 2.97 ± 0.54 log CFU/mL 감소하였고 ATCC 35150, ATCC 8739는 각각 9시간 후 5.17 ± 0.02 , 5.20 ± 0.18 log CFU/mL 감소하여 *S. aureus*에 비해 높은 살균 효과를 나타냈다.

적색 LED 642 nm의 경우 *E. coli* 균종은 평균적으로 약 0.8 log CFU/mL, *S. aureus* 균종은 약 2.6 log CFU/mL가 감소하여 *S. aureus* 균종이 pH 7.2의 환경에 비해 높아진 살균력을 보였다. 521 nm 청색 LED를 10시간 동안 조사한 후 *E. coli* 균종은 약 1.9 log CFU/mL 감소하였고 *S. aureus*의 균종에서 ATCC 19095, ATCC 43300은 각각 10시간 후 2.57 ± 0.58 , 5.36 ± 0.04 log CFU/mL 감소하였으며, ATCC 27664의 경우 3시간 조사 후 4.78 ± 0.15 log CFU/mL 감소하여 모든 균종들 중 가장 높은 감소를 나타냈다. 461 nm LED 처리 후 ATCC 35150, ATCC 8739, ATCC 43894는 4시간 후 각각 5.14 ± 0.12 , 5.21 ± 0.16 , 5.47 ± 0.13 log CFU/mL 감소하였으며, ATCC 27664, ATCC 43300, ATCC 19095는 각각 3, 3, 4시간 후 4.81 ± 0.13 , 5.36 ± 0.07 , 5.32 ± 0.08 log CFU/mL 감소되었다.

각기 다른 산성 환경 하에서의 LED와 병행 처리 살균 효과

산성 환경 pH 4.0에서 6가지의 모든 균종이 642, 521, 461 nm 파장의 LED 간에 유의적인 차이가 나타났으며 461 nm를 제외한 642, 521 nm 파장에서는 균종 간의 유의적인 차이가 나타났다($P < 0.05$). Fig. 2와 같이 pH 4.0의 환경에서는 pH 7.2의 환경보다 높은 살균 효과가 나타났다. 그리고 pH 3.5의 환경에서 각 균종의 살균 효과를 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 642 nm LED를 *E. coli*에 조사한 결과는 pH 4.0의 환경과 마찬가지로 약 0.9 log CFU/mL 감소되어 살균 효과가 크게 나타나지 않았으나, *S. aureus* 균종에서 ATCC 19095는 10시간 후 1.48 ± 0.04 log CFU/mL 감소되었으며 ATCC 27664, ATCC 43300은 각각 6 또는 9시간 조사 후, 4.70 ± 0.19 와 5.11 ± 0.09 log CFU/mL 감소하여 살균 효과가 비교적 높게 나타났다. 또한 521 nm LED에 의한 사멸 패턴은 642 nm와 유사하였다. *E. coli* 균종의 경우 약 3.1 log CFU/mL 감소하였으며 *S. aureus* 균종에서 ATCC 19095가 9시간 후 5.20 ± 0.03 log CFU/mL 감소하였다. *S. aureus* ATCC 27664, ATCC 43300은 각각 3, 4시간 조사 후 약 4.75 ± 0.09 , 5.13 ± 0.04 log CFU/mL 감소되어 살균 효과가 높게 나타났다. 461 nm LED의 경우 모든 *E. coli*, *S. aureus* 균종에서 2시간 안에 1 log CFU/mL 수준으로 감소되었다.

세 가지 파장의 LED와 pH 3.5 환경의 병합 처리에서 ATCC 19095는 각각의 LED 간에 유의적인 차이가 나타났으며($P < 0.05$), 이를 제외한 5가지 균종에서는 521, 461 nm LED 간의 유의적인 차이가 없고($P > 0.05$) 642 nm LED와는 유의적인 차이가 나타났다($P < 0.05$). 모든 pH 환경에서 높은 살균 효과를 나타낸 461 nm LED의 D값은 Table 1과 같다. 461 nm에서 3가지 pH에 따른 저해 효과를 비교해 본 결과, pH 7.2 > pH 4.0 > pH 3.5의 순이었으며 같은 온도를 유지할 경우 강한 산성 환경이 형성되면 저해 효과가 높게 일어나는 것으로 생각된다. 또한 pH 7.2 환경에서 ATCC 27664는 5.05 ± 0.65 로 가장 높은 D값이 나타났으며 pH

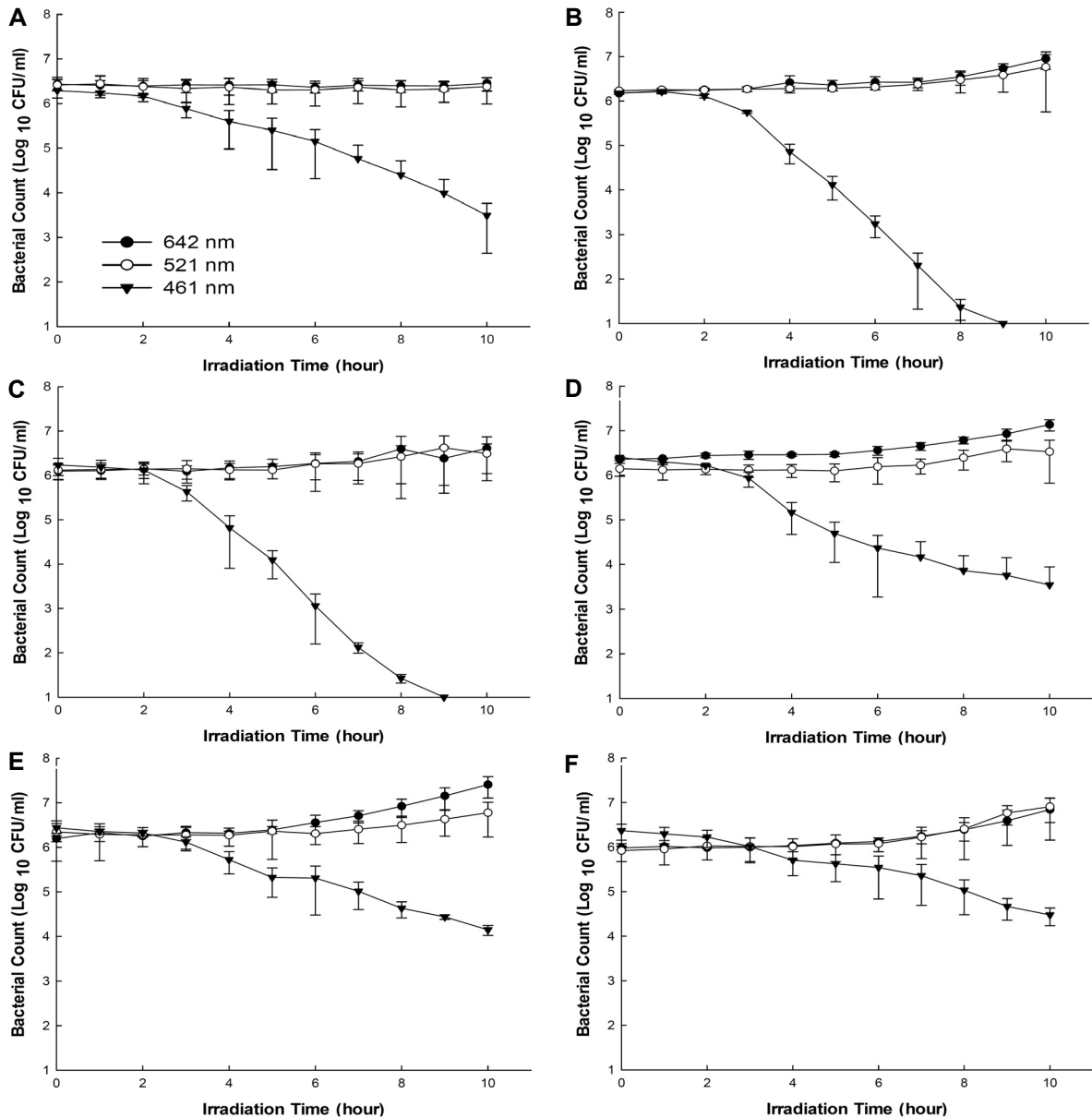


Fig. 1. Inactivation of *E. coli* and *S. aureus* in pH 7.2 liquid suspension under exposure to 642, 521, and 461 nm LEDs. (A) ATCC 43894, (B) ATCC 35150, (C) ATCC 8739, (D) ATCC 43300, (E) ATCC 19095, (F) ATCC 27664 after 10 h irradiation at 15°C.

Table 1. D-Values of the two microorganism at pH values of 7.2, 4.0, and 3.5 using 461 nm blue LED at 15°C (unit: h)

Strain		pH 7.2	pH 4.0	pH 3.5
<i>E. coli</i>	ATCC 43894	3.36±0.67 ^{xbc1)2)}	0.57±0.08 ^{ya}	0.40±0.00 ^{yab}
	ATCC 35150	1.50±0.09 ^{xd}	0.65±0.13 ^{ya}	0.38±0.00 ^{zb}
	ATCC 8739	1.53±0.08 ^{xd}	0.59±0.04 ^{ya}	0.38±0.00 ^{zb}
<i>S. aureus</i>	ATCC 43300	2.80±0.67 ^{xc}	0.53±0.01 ^{ya}	0.39±0.00 ^{yb}
	ATCC 19095	4.07±0.08 ^{xb}	0.65±0.13 ^{ya}	0.39±0.00 ^{yb}
	ATCC 27664	5.05±0.65 ^{xa}	0.48±0.08 ^{ya}	0.42±0.01 ^{ya}

¹⁾The results represent mean±SD.

²⁾^{x-z}Significance among different pH against the same strain ($P < 0.05$). ^{a-e}Significance among different strains against the same pH ($P < 0.05$).

3.5 환경에서 ATCC 35150, 8739가 각각 0.38시간으로 가장 낮은 D값을 나타내 가장 높은 살균 효과를 나타냈다.

ATCC 35150, 8739는 세 가지 pH에서 유의적인 차이가 나타났으며($P < 0.05$), 이를 제외한 균종들에서 pH 7.2는 pH

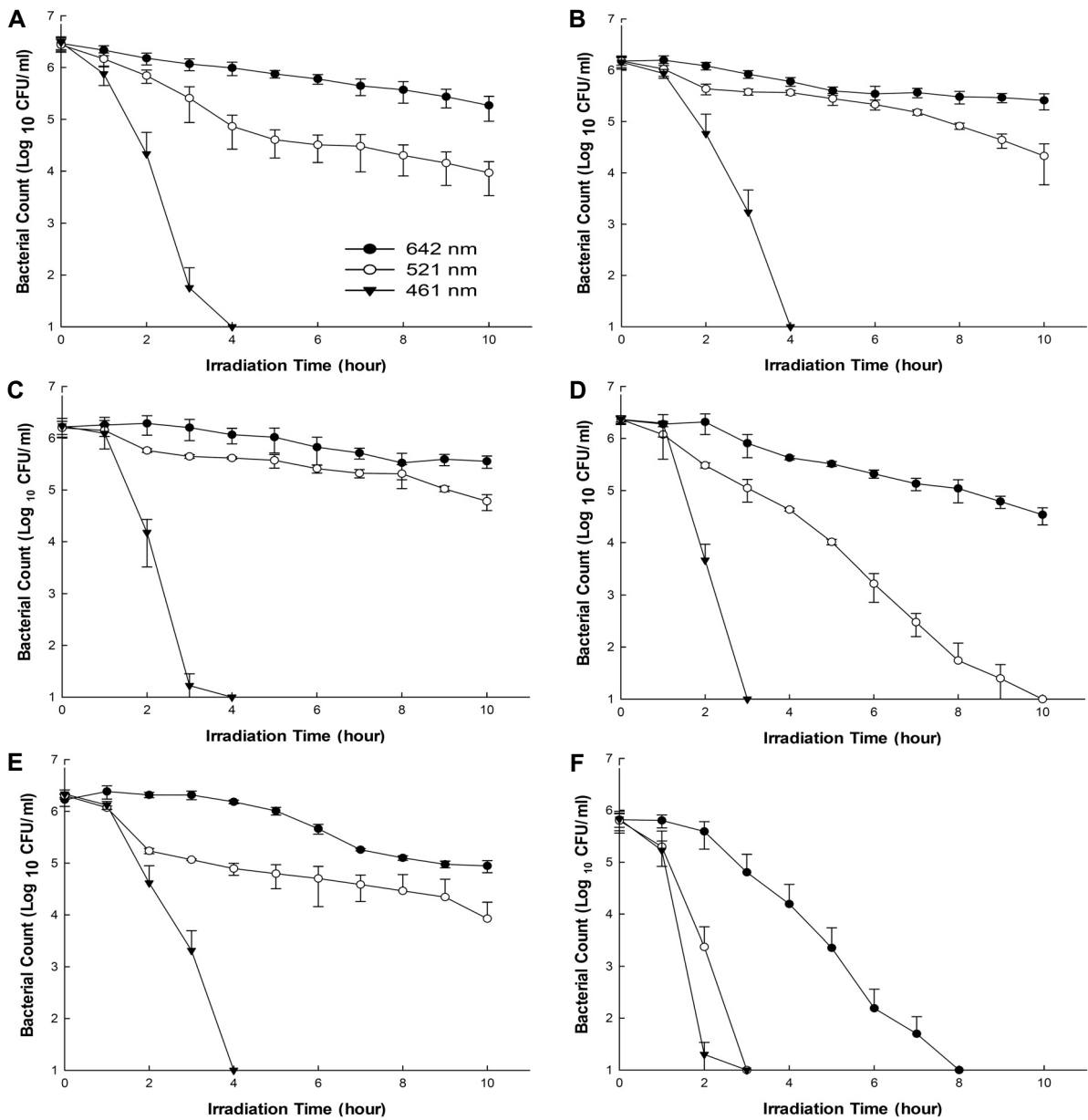


Fig. 2. Inactivation of *E. coli* and *S. aureus* in pH 4.0 liquid suspension under exposure to 642, 521, and 461 nm LEDs. (A) ATCC 43894, (B) ATCC 35150, (C) ATCC 8739, (D) ATCC 43300, (E) ATCC 19095, (F) ATCC 27664 after 10 h irradiation at 15°C.

4.0과 3.5 사이의 유의적인 차이가 나타났으나($P < 0.05$) pH 4.0과 3.5 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않아($P > 0.05$) pH 4.0과 3.5의 환경에서 안정적인 살균 효과가 나타났다. 특히 ATCC 43300의 경우 항생제 내성에 따른 문제가 발생되고 있는 MRSA로 461 nm 청색 LED에서 높은 살균 효과를 나타내므로 461 nm LED 조사를 이용해 효과적인 생육 저해가 가능할 것으로 사료된다. Ghate 등(27)은 521 nm, 461 nm LED를 이용하여 pH 4.5와 pH 6.0의 환경에서 *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Sal. Typhimurium*의 살균력을 비교한 실험을 수행하였다. 그 결과 모든 균은 pH 6.0에 비해 pH 4.5의 환경에서 461 nm LED를 이용하였을 때 더 높은 살균력이 나타났는데, 이는 pH가 낮아질수록 살균 효

과가 높고 461 nm 청색 LED에서 가장 낮은 D값이 나타난 본 연구의 결과와 일치하였다.

미생물은 산성의 화학적인 요소에 의해 스트레스 환경에 노출될 경우 세포막 손상에 따른 영향으로 생장이 저해되는 결과가 나타나게 된다. 이는 산성 환경의 강도가 높아짐에 따라 미생물의 생장이 저해되거나 세포의 능력이 상실되어 손상을 입게 되고 결국 사멸에 이르게 된다(28). 이처럼 pH 3.5에서 가장 강한 살균 효과가 나타난 것은 강한 산성 환경에 따른 세포막 손상에 의한 것으로 사료되며 LED와 산성 환경의 병행 처리를 통해 더욱 효과적으로 미생물의 생장을 제어할 수 있을 것으로 생각된다. 청색 LED 461 nm는 가장 많은 연구가 이루어진 405 nm와 근사한 파장 값으

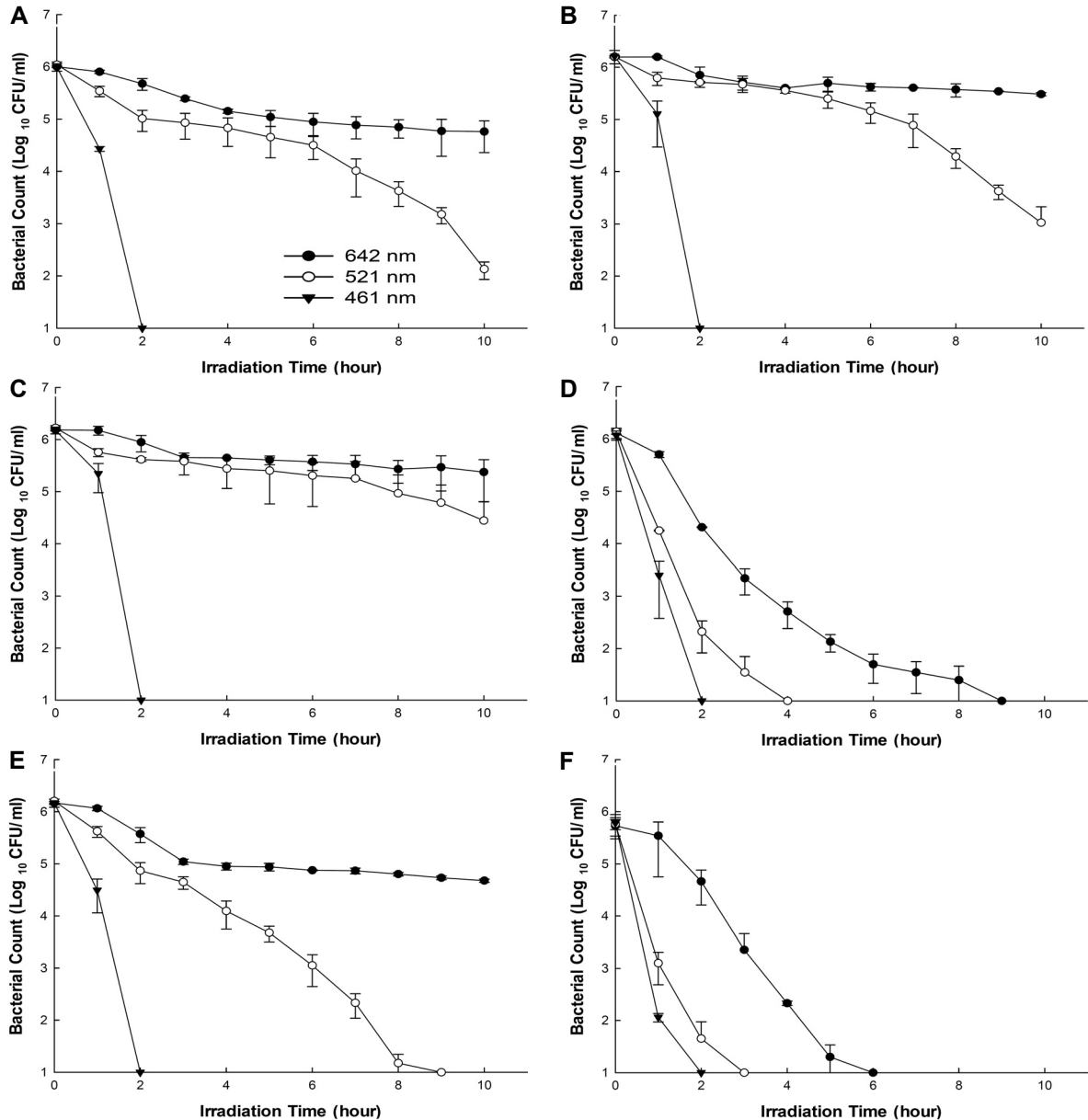


Fig. 3. Inactivation of *E. coli* and *S. aureus* in pH 3.5 liquid suspension under exposure to 642, 521, and 461 nm LEDs. (A) ATCC 43894, (B) ATCC 35150, (C) ATCC 8739, (D) ATCC 43300, (E) ATCC 19095, (F) ATCC 27664 after 10 h irradiation at 15°C.

로 실험 전 높은 살균 효과를 나타낼 것으로 예상되었다. Enwemeka 등(29)은 405 nm SLD(superluminous diode)를 이용하여 60 J/cm²에서 MRSA를 90% 이상 사멸하였으며, Endarko 등(20)은 405 nm 파장에서 *L. monocytogenes*에 살균 효과가 있음을 보고하였고($P < 0.05$) Murdoch 등(21)은 405 nm 파장을 이용하여 *C. jejuni*에 30분 동안 18 J/cm² 조사 후 사멸되어 낮은 선량에서도 효과적인 사멸을 일으키는 것이 입증되었다.

본 실험 결과 461 nm 청색 LED의 경우 pH 4.0과 3.5의 환경에서 모든 균종이 높은 살균력을 나타냈으므로 이는 다른 파장에 비해 461 nm 파장의 청색 빛이 405 nm 청색 LED와 마찬가지로 다른 파장의 LED에 비해 높은 광반응을

일으켜 생육 저해 효과가 높아진 것으로 사료된다. 그러므로 청색 LED의 다양한 파장영역에 따른 균종들의 최대 흡수피크파장, 조도방사, 사멸시간 및 외부환경의 작용 등에 따른 추가적인 연구가 요구된다(30).

642 nm, 521 nm LED는 전반적으로 *E. coli*에 비해 *S. aureus*에서 더 높은 살균 효과를 나타내어 그람음성균에 비해 그람양성균에서 더 높은 저해 효과가 나타났다. 일반적으로 살균에 이용되고 있는 자외선(UV-C) 파장은 DNA와 RNA의 구조적 손상에 따른 변형으로 증식 기능이 정지되는 광반응에 의한 손상으로 인해 미생물의 사멸이 이루어진다(31). 반면 LED의 경우 photosensitizer와 가시광선 파장을 이용한 PDI 방식에 따른 photosensitization 현상이 미생물

의 사멸에 기초할 것으로 생각된다. 축적된 photosensitizer가 빛을 흡수하게 되면서 지속적인 광산화 작용이 유도되고 이에 따라 세포에 과도한 독성이 축적되면서 세균의 생육 저해가 일어난다(32,33). 특히 세균은 자체적으로 δ -amino-levulinic acid(ALA)의 합성을 이용하여 photosensitizer의 역할을 수행하는 porphyrin을 생산할 수 있다. Nitzan 등(34)은 407~420 nm의 metal halide lamp를 이용하여 그람양성균과 그람음성균의 porphyrin 양에 따른 불활성화를 알아본 결과 그람음성균에 비해 그람양성균이 더 많은 porphyrin이 생산되어 높은 불활성화율을 나타냈다. 이를 통해 porphyrin의 생산량에 따른 *E. coli*와 *S. aureus* 세포의 내인적 차이에 기인하여 살균 효과의 차이가 발생하는 것으로 생각된다. Endarko 등(20)은 405 nm LED를 이용하여 *L. monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Shigella sonnei*, *E. coli*에 조사한 결과 그람양성균인 *L. monocytogenes*의 경우 185 J/cm²에 노출된 후 5 log CFU/mL 감소한 반면, 그람음성균인 *E. coli*, *Shi. sonnei*는 554.7 J/cm²에서 각각 4.52, 3.9 log CFU/mL 감소하였고 *Sal. enterica*는 739.6 J/cm²에서 1.36 log CFU/mL 감소하여 그람양성균이 그람음성균에 비해 더 낮은 조사량(dose)에서 효과적인 살균이 가능하였다. 또한 Maclean 등(22)은 6균종의 그람양성균과 5균종의 그람음성균을 405 nm LED를 이용하여 360분 동안 27°C에서 10 mW/cm²로 조사한 결과 그람양성균에서 *Enterococcus faecalis*를 제외한 *S. aureus*, MRSA, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium* 균종이 60분과 80분 사이의 시점에서 10¹ CFU/mL 수준으로 감소한 반면에 그람음성균인 *Acinetobacter* 균종이 180분 시점에서 10¹ CFU/mL 수준으로 감소하였으며, *Proteus* 균종은 240분에 10¹ CFU/mL, *Pseudomonas*와 *Proteus*, *Klebsiella* 균종은 300분 시점에서 약 10²~10¹ CFU/mL 수준으로 감소하여 전반적으로 그람양성균이 그람음성균에 비해 우수한 살균 효과를 나타냈다. 그러나 그람양성균인 *Ent. faecalis*의 경우 350분의 노출에도 약 10³ CFU/mL 수준으로 감소하여 모든 그람양성균이 그람음성균에 비해 높은 살균 효과가 나타나지 않는 것으로 사료된다. 이는 Murdoch 등(23)의 연구에서 그람음성균인 *Shi. sonnei*를 180 J/cm²에 조사한 결과 5 log CFU/mL 감소하였으나 그람양성균인 *Mycobacterium terrae*는 144~288 J/cm² 조사 후 4~5 log CFU/mL 감소하였으므로 더 낮은 조사량에서 그람음성균의 저해가 높게 일어난 결과와 일치한다. 이러한 연구 결과를 통해 LED를 이용한 photosensitization 현상은 porphyrin의 생산량뿐만 아니라 각각의 균종에 따른 차이에 의해 생육 저해가 나타나는 것으로 생각된다.

이러한 결과를 종합해 볼 때 642 nm 적색, 521 nm 녹색, 461 nm 청색 LED는 15°C의 저온환경에서 *E. coli*와 *S. aureus* 균종에 각각의 pH 농도를 산성으로 조절하여 10시간 동안 조사한 결과 모든 파장은 pH 3.5의 농도에서 가장 강한 살균 효과를 나타냈으며, 이는 각각의 LED 조사와 산

환경의 상승작용에 따른 세포벽 손상으로 인한 결과로 생각된다. 또한 461 nm 청색 LED가 가장 높은 살균 효과를 나타냈으며 다음으로 521 nm 녹색, 642 nm 적색 LED의 순서로 살균 효과가 나타났다. 특히 461 nm 청색 LED에서는 pH가 낮아질수록 균중에 관계없이 빠른 생육 저해가 이루어져 가장 살균 효과가 높은 파장으로 판단된다. 이는 Ghate 등(35)이 보고한 461 nm 청색 LED가 521 nm, 642 nm LED에 비해 살균 효과가 높은 결과 및 균중에 관계없이 빠른 불활성화를 보이는 결과와 유사하다. 그러나 다양한 파장에 따라 세균의 감수성이 달라지므로 사멸기작에 대한 연구 및 다양한 제어환경을 제시하여 상호작용에 따른 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 15°C 저온환경에서 642 nm, 521 nm, 그리고 461 nm LED를 이용하여 *E. coli* O157:H7, *S. aureus*의 식중독균에 대해 pH 7.2, 4.0, 3.5의 환경에서 10시간 동안 조사 후 살균 효과를 측정하였다. 이는 화학적 photosensitizer 없이 직접 조사로 이루어졌다. 642 nm 적색 LED와 521 nm 녹색 LED는 pH 7.2에서 미생물을 효과적으로 저해시키지 못했다. 반면 461 nm 청색 LED는 모든 pH 환경에서 가장 높은 살균 효과를 나타냈다. 특히 pH 3.5 환경은 모든 균종에서 높은 생육 저해가 이루어져 그람음성균과 그람양성균에 관계없이 높은 살균 효과를 나타냈다. 모든 파장에서 pH는 강한 산성 환경이 형성될수록 높은 살균 효과가 나타나 pH 3.5의 환경에서 가장 효과적인 저해가 일어났다. 본 연구의 결과는 LED 처리 및 산 환경과의 조합을 통해 식품산업의 미생물 안전성을 증진시키는 새로운 살균 처리 기술로 적용하기 위한 기초자료로서의 이용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 산업통상자원부 산업기술연구기반조성사업(산업융합기반구축사업) 지원과 영남대학교 연구조교 지원비(213A251196)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Kim YJ. 2009. High intensity pulsed electric field technology as a reemerging technology for sustainable food industry. *Bulletin Food Technol* 22: 693-699.
2. Korea Food and Drug Administration. 2014. Available from: <http://www.mfds.go.kr/e-stat/index.do> (accessed Mar 2015).
3. Mori R, Amako K. 1988. *Today's new bacteriology*. Nanzando Company, Tokyo, Japan. p 359.
4. Kim JD. 2002. The growth inhibiting effect of *E. coli* KCTC 1039 by combination of natural products bearing antioxidative capacity. *Korean J Biotechnol Bioeng* 17: 490-496.
5. de Lencastre H, Chung M, Westh H. 2000. Archaic strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular

- and microbiological properties of isolates from the 1960s in Denmark. *Microb Drug Resist* 6: 1-10.
6. Kim YS, Shin DH. 2003. Researches on the volatile antimicrobial compounds from edible plants and their food application. *Korean J Food Sci Technol* 35: 159-165.
 7. Conner DE, Beuchat LR. 1984. Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J Food Sci* 49: 429-434.
 8. Hwang MG, Park JH, Im JM, Lee JW. 2009. *Eco-friendly, high efficiency LED lighting*. A-JIN, Seoul, Korea. p 3-78.
 9. Nam SY, Park MS, Gang JG. 2010. *The LED technology and application of green energy*. SangHakdang, Seoul, Korea. p 11-114.
 10. Steinbauer JM, Schreml S, Kohl EA, Karrer S, Landthaler M, Szeimies RM. 2010. Photodynamic therapy in dermatology. *J Dtsch Dermatol Ges* 8: 454-464.
 11. Kim SH, Lim JH. 2013. Release of psychological or physiological depression for university students according to light (color) environment of art therapy space. *Kor J Counsel Psychoth* 4: 55-73.
 12. Choi WS, Park SH, Lee SW, Jung YM, Yi HC. 2012. Study on compound humidifier employing UV-LED using environmental life cycle assessment. *J Korean Soc Precis Eng* 29: 931-937.
 13. Choi HG, Kwon JK, Moon BY, Kang NJ, Park KS, Cho MW, Kim YC. 2013. Effect of different light emitting diode (LED) lights on the growth characteristics and the phytochemical production of strawberry fruits during cultivation. *Kor J Hort Sci Technol* 31: 56-64.
 14. An YI, Jeong HG. 2012. Fishing efficiency of LED fishing lamp for squid *Todarodes pacificus* by training ship. *J Kor Soc Fish Tech* 48: 187-194.
 15. Oh BS, Ju S, Kim KS, Kang TH, Lee JY, Lee HY, Kang JW. 2004. Monitoring of bacteria using PCR method and inactivation with ozone and UV. *J Kor Society Water Quality* 20: 170-175.
 16. Ferro S, Guidolin L, Tognon G, Jori G, Coppellotti O. 2009. Mechanisms involved in the photosensitized inactivation of *Acanthamoeba palestinensis* trophozoites. *J Appl Microbiol* 107: 1615-1623.
 17. Young AR. 2006. Acute effects of UVR on human eyes and skin. *Prog Biophys Mol Biol* 92: 80-85.
 18. Morton CA, Scholefield RD, Whitehurst C, Birch J. 2005. An open study to determine the efficacy of blue light in the treatment of mild to moderate acne. *J Dermatolog Treat* 16: 219-223.
 19. Hamblin MR, Hasan T. 2004. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci* 3: 436-450.
 20. Endarko E, Maclean M, Timoshkin IV, MacGregor SJ, Anderson JG. 2012. High-intensity 405 nm light inactivation of *Listeria monocytogenes*. *Photochem Photobiol* 88: 1280-1286.
 21. Murdoch LE, Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG. 2010. Inactivation of *Campylobacter jejuni* by exposure to high-intensity 405-nm visible light. *Foodborne Pathog Dis* 7: 1211-1216.
 22. Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG, Woolsey G. 2009. Inactivation of bacterial pathogens following exposure to light from a 405-nm light-emitting diode array. *Appl Environ Microbiol* 75: 1932-1937.
 23. Murdoch LE, Maclean M, Endarko E, MacGregor SJ, Anderson JG. 2012. Bactericidal effects of 405 nm light exposure demonstrated by inactivation of *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, and *Mycobacterium* species in liquid suspensions and on exposed surfaces. *Scientific World Journal* 2012: 137805.
 24. Enwemeka CS, Williams D, Enwemeka SK, Hollosi S, Yens D. 2009. Blue 470-nm light kills methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*. *Photomed Laser Surg* 27: 221-226.
 25. Yun H, Park K, Ryu KY, Kim SR, Yun JC, Kim BS. 2012. Effect of LED treatment on microbial reduction and quality characteristics of red pepper powder. *J Fd Hyg Safety* 27: 442-448.
 26. Wi HS. 2011. The antifungal effect of light emitting diode on *Malassezia* yeasts. *MS Thesis*. Chonnam National University, Gwangju, Korea.
 27. Ghate V, Leong AL, Kumar A, Bang WS, Zhou W, Yuk HG. 2015. Enhancing the antibacterial effect of 461 nm and 521 nm light emitting diodes on selected foodborne pathogens in trypticase soy broth by acidic and alkaline pH conditions. *Food Microbiol* 48: 49-57.
 28. Yousef AE, Juneja VK. 2003. *Microbial stress adaptation and food safety*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 3-4.
 29. Enwemeka CS, Williams D, Hollosi S, Yens D, Enwemeka SK. 2008. Visible 405 nm SLD light photo-destroys methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*. *Lasers Surg Med* 40: 734-737.
 30. Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG, Woolsey GA. 2008. The role of oxygen in the visible-light inactivation of *Staphylococcus aureus*. *J Photochem Photobiol B* 92: 180-184.
 31. Wang T, MacGregor SJ, Anderson JG, Woolsey GA. 2005. Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of *Escherichia coli*. *Water Res* 39: 2921-2925.
 32. Demidova TN, Hamblin MR. 2004. Photodynamic therapy targeted to pathogens. *Int J Immunopathol Pharmacol* 17: 245-254.
 33. Redmond RW, Gamlin JN. 1999. A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. *Photochem Photobiol* 70: 391-475.
 34. Nitzan Y, Salmon-Divon M, Shporen E, Malik Z. 2004. ALA induced photodynamic effects on gram positive and negative bacteria. *Photochem Photobiol Sci* 3: 430-435.
 35. Ghate VS, Ng KS, Zhou W, Yang H, Khoo GH, Yoon WB, Yuk HG. 2013. Antibacterial effect of light emitting diodes of visible wavelengths on selected foodborne pathogens at different illumination temperatures. *Int J Food Microbiol* 166: 399-406.