

# 유연전극 구조를 가진 플라즈마 발생장치를 이용한 미생물 살균 효과 연구

이혁재<sup>1</sup>, 송헌제<sup>1</sup>, 송민종<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> 광주보건대학교 임상병리과

<sup>2</sup> 광주보건대학교 방사선과

## A Study on the Effect of Microbial Sterilization Using Plasma Generator with a Flexible Electrodes Structure

Hyeok-Jae Lee<sup>1</sup>, Hyeon-Je Song<sup>1</sup>, and Min-Jong Song<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Laboratory Science, Gwangju Health University, Gwangju 62287, Korea

<sup>2</sup> Department of Radiological Technology, Gwangju Health University, Gwangju 62287, Korea

(Received September 16, 2019; Accepted October 11, 2019)

**Abstract:** In this study, the sterilization property of *E. coli* was established using a plasma generator with a flexible electrode structure. The bacterial suspension was prepared based on the McFarland standard 0.50 ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) concentration and a specific amount was inoculated on the plate medium. After the plasma was discharged 3 cm away from the plasma generator in the range of 30s to 5 min and the results compared to the control group, the observed colonies that were formed decreased significantly as the plasma discharge time increased.

**Keywords:** *E. coli*, Plasma, Flexible electrode, McFarland standard, Colony

### 1. 서론

의료기술이 발달할수록 수술과 침습적 처치를 위해 사용하는 각종 의료기구나 재료의 멸균상태의 유지 및 관리 등이 엄격히 다루어져야 한다. 의료환경의 변화는 입원환자뿐만 아니라 내원환자들에게 병원감염 발생의 가능성을 높이는 중요한 요인 중 하나로 볼 수 있다 [1].

현재 많이 이용되는 의료용 살균방법으로는 고압·고열 살균법을 이용하는 물리적 살균법과 산화에틸렌(ethylene oxide, EtO)을 이용하는 화학적 살균방법이 있다. 고압·고열 살균법은 증기와 고온의 뜨거운 공기를

를 이용하는 방법으로 비용이 저렴하고, 단시간 내에 살균이 가능하여 널리 사용되고 있는 살균법이나 금속의 경우에는 부식이 일어날 수 있고, 열에 약한 고무나 플라스틱 등과 기구 등의 변형이 발생할 수 있어 사용에 극히 제한적으로 적용하고 있는 실정이다. EtO를 사용하는 멸균방법은 살균온도가 낮아 열에 의하여 변형이 되기 쉬운 의료기구 및 의료용품의 멸균이 가능하여 우리나라 의료기관에서는 주로 EtO gas에 의한 멸균법을 일반적으로 이용되고 있다. 그러나 EtO gas는 주로 호흡기와 피부를 통해 인체에 흡수되어 신체적인 장애를 일으키므로 보존 잔류가스를 장시간에 걸쳐 완전히 제거해야만 하는 시간적 제한이 있다 [2]. 하지만 플라즈마 살균법은 상대적으로 낮은 온도에서 멸균과정이 이루어지고, 멸균 시간이 크게 단축되어 열과 습기에 취약한 의료기구 및 재료의 멸균이 가능할 뿐만 아니라 멸균 조작자와 환자 모두에게 EtO gas에

✉ Min Jong Song; smj7773@naver.com

의한 멸균보다는 대조적으로 사용이 편리하고 멸균시간을 단축할 수 있다는 장점이 있다 [3,4].

플라즈마(plasma)를 제4의 물질상태라 불리며, 기체상태의 물질보다 높은 에너지를 가지게 되었을 때, 이온과 전자로 분리되면서 이들이 갖는 에너지가 서로 평형을 이루는 상태를 의미한다 [5]. 플라즈마를 산업적으로 응용하려는 연구는 그동안 꾸준히 이루어져 왔으며 물리, 화학, 금속, 재료, 섬유 등의 다양한 분야에서 플라즈마를 적용하고 있으며, 근래에는 대기압 상태에서 플라즈마를 발생시킴과 동시에 경제적·기술적 효율성도 살린 저온 대기압 플라즈마 장치의 개발로 살균, 의학, 바이오 분야에서 폭넓게 응용되고 연구가 활발히 진행되고 있다 [6,7].

대기압 플라즈마에 의한 박테리아 살균은 플라즈마에서 생성되는 자외선, 활성산소종, 활성질소종, 오존 등이 주요한 인자로 알려져 있다 [8]. 이러한 성분들은 미생물의 세포벽이나 세포막을 통해 확산되면서 주요 구성성분인 다당류, 지질, 단백질 그리고 세포 내의 DNA와 같은 거대 분자들과 반응하여 구조를 변화시켜 세포를 손상시키는 것으로 보고되었다 [9-12].

대기압 플라즈마(atmospheric pressure plasma) 기술의 하나인 유전체 내의 전위장벽을 통한 방전(dielectric barrier discharge, DBD)은 두 개의 전도성 전극 사이에 유전체가 장벽으로 배치되어 방전되는 방식으로 고출력 방전을 할 수 있으며 설치 및 가동의 간단함과 저비용으로 효율적으로 처리할 수 있기 때문에 의료용 살균에도 이용 가능성이 확인되고 있는 실정이다.

본 연구에서는 chamber 내부에 매개물질 가스를 첨가제로 충전시키지 않고 주입기체인 반응기체나 촉매를 이용하지 않는 유연전극 구조를 가진 플라즈마 발생장치를 제작하여 DBD를 통해 플라즈마를 생성시켜 여러 가지 공정변수(챔버 내부 온도 변화, 방전시간 등)에 대한 미생물의 살균효과를 관찰하고자 하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1 멸균시험 대상 미생물

연구에 사용된 대장균(*Escherichia coli*, KCCM 11569)은 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganism)로부터 분양을 받아서 무균작업대(clean bench)에서 동결 건조된 균주에 멸균증류수

0.5 mL 첨가하여 골고루 현탁시킨 후, nutrient broth에 접종하고 37°C에서 48시간 동안 배양한 다음 skim milk가 들어 있는 cryo-tube에 넣어 -80°C에서 냉동 보관하여 다음과 같은 방법으로 실험을 행하였다.

### 2.2 플라즈마 발생

유연전극에 인가되는 전압은 유전체 전위장벽을 통해 방전 되는 형태로 대기압상태에서 저온 플라즈마를 발생장치를 구성하였다. 그림 1은 플라즈마 발생장치에서 발생하는 라디칼의 멸균 성능을 확인하기 위하여 본 실험에 사용된 전기적 개략도이다.

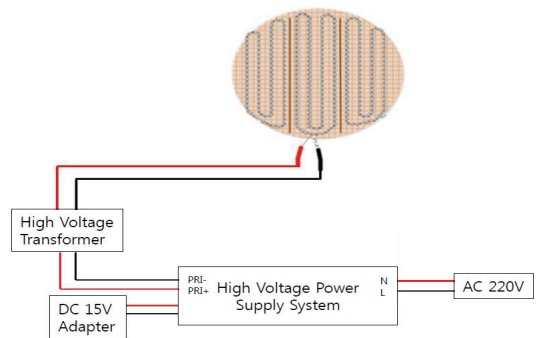


Fig. 1. Schematic diagram and picture of flexible electrode type atmospheric pressure plasma system.

### 2.3 유연전극 케이블 제작

유연전극 케이블 제작은 플라즈마 방전 상태에 따라 유전체 두께를 35 mm 타입으로 제작하였다. 유연전극의 고전압 전극(high voltage electrode)은 class 6 등급의 wire 0.18 SQ×7 가닥으로 제작하였으며, 최대 허용전류는 0.504 A이다. 그림 2와 3은 플라즈마 발생을 위한 유연전극의 유전체 구성도이다. 이는 고전압 전극과 접지 전극(ground electrode) 사이의 유전체는 DBD 영역 및 대기압 플라즈마 발생 시 발현하는 120°C의 온도를 견딜 수 있는 내열성 실리콘 소재를 사용하였고, 접지 전극은 3가닥, 8줄 형태의 50% 편조율로 제작되었으며, 스테인리스 강(steel use stainless) 재질을 사용하였으며, 제작된 유연전극은 케이블 유연성 확보와 전극 사이의 공극 증가를 통한 플라즈마 방전 효율 극대화를 위해 케이블 변형을 실시하여 계수적으로 균등한 플라즈마가 발생하도록 자체 제작하였다.

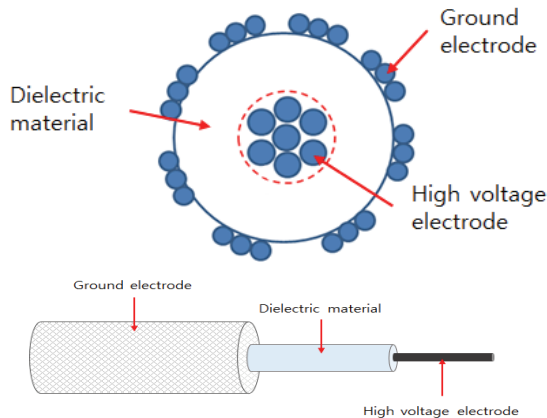


Fig. 2. Structure of the flexible electrode.

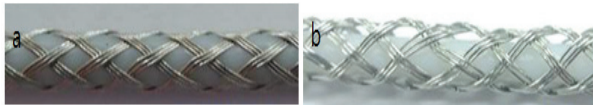


Fig. 3. Before (a) and after (b) the deformation of the flexible electrode cable.

## 2.4 플라즈마 발생 장치

그림 4는 플라즈마 발생장치의 챔버, 전원장치 모듈, 유연전극 구성모듈을 나타낸 그림이다. 챔버는 [180 mm (H) × 180 mm (W) × 300 mm (D)], 체적 9.7 L 스테인리스강 소재를 사용하여 제작하였다. 또한 플라즈마 방전 상태와 특성측정 장치를 확인할 수 있도록 투명 아크릴을 이용하여 제작하였다. 유연전극 모듈은 3D 프린터로 설계한 직경이 8 cm인 ABS 수지(acrylonitrile

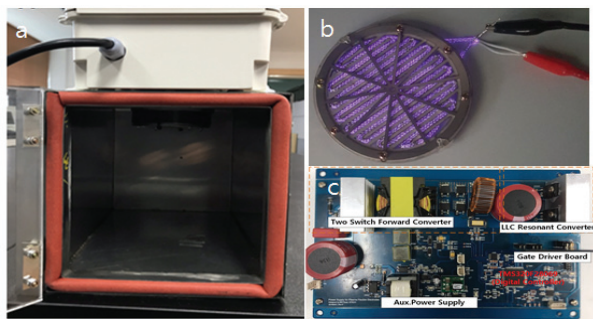


Fig. 4. Overview (a), plasma generation module (b) and plasma generated high voltage power supply module (c) of atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma generation system used in this study.

butadienestyrene copolymer) 틀에 유전체 두께 35 mm, 길이 100 cm 유연전극을 부착하였다. 플라즈마 발생 전원장치는 150 W급 고전압 변압기와 그 구성 모듈은 전원전압을 인가하여 출력전압이 6.5 Kv가 발생하도록 구성하였다. 출력전압을 통한 플라즈마를 발생시키기 위한 방전인가전압은 2.5 Kv로 고정하였다. 그림 4(a)는 플라즈마 발생 고전압 장치를 부착한 외관, 그림 4(b)는 플라즈마 발생 모듈, 그림 4(c)는 플라즈마 발생 고전압 전원장치 모듈사진이다.

## 2.5 스펙트럼 분석, Ozone (O<sub>3</sub>) 농도 및 온도 측정

플라즈마 방전 시 발생하는 이온 및 라디칼(radical)을 확인하기 위해 광 방출 분광진단기(optical emission spectroscopy, OES)인 flame spectrometer (FLAME-S-XR1)를 이용하여 방출 스펙트럼을 측정하였다.

플라즈마 방전 후 발생된 오존 농도를 측정하기 위해서 1,000 ppm까지 측정 가능한 오존측정기(CY2000-03)를 이용하여 10초 간격으로 180초까지 측정하였다. 플라즈마 발생장치와 chamber 내 온도 측정을 위해 열화상카메라 FIIR (FLIR-E60)와 디지털 온도계(SDT46S)를 사용하였다.

## 2.6 미생물 시료 준비 및 세균 수 측정

플라즈마로 처리된 세균이 배지에서 자라면서 형성하는 집락(colony) 수를 세어서 살균효과를 평가하였고 이때 단위로 CFU (colony forming unit)를 사용하였다. 세균 현탁액의 탁도(turbidity)를 측정하는 탁도기(DensiCHECK™ plus)를 이용하여 McFarland standard 0.50 ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) 농도로 조제 후, 균이 오랫동안 생존할 수 있지만, 증식하지 않는 인산 완충생리식염수(phosphate buffered saline)을 이용하여  $10^7 \sim 10^2$  CFU/mL로 10배씩 계열희석을 실시하였다. Autopipette를 이용하여 균 부유액 50  $\mu$ L를 nutrient agar plate에 옮긴 후, 1회용 L-shaped spreader를 이용하여 배지 전체에 접종하였다. 유연전극이 내장된 플라즈마 발생장치로부터 배지를 3 cm 떨어뜨리고 30 초에서부터 120초까지 15초 간격으로 플라즈마를 방전 후 바로  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서  $24 \pm 2$ 시간 배양하고, 형성된 균의 집락 수를 자동집락계수기(IncuCount™ 150)를 이용하여 확인하였다. 집락 형성 단위인 CFU/mL로 계수하였으며, 또한 시험균주를 tryptic soy broth (TSA)에 접종하여  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 18~24시간 동안 배양한 후, 균

배양액을 멸균 생리식염수로 희석하여 생균수  $5.6 \times 10^5$  CFU/mL로 조제하였다. 시험균액 0.1 mL를 TSA에 접종하고 플라즈마 발생장치로부터 배지를 3 cm의 떨어뜨리고 각각 5분, 10분간 방전시킨 후,  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서  $24 \pm 2$ 시간 동안 배양하여 배지의 형성된 집락 수를 확인하였다. 실험은 동일 조건으로 5회 실시하였으며 평균(mean, M)과 표준편차(standard deviation, SD)를 산출하였다. 대조군은 동일하게 도말하고 플라즈마를 방전시키지 않았다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 스펙트럼 분석

유연전극 구조의 대기압 플라즈마 발생장치의 운전 조건으로 입력전압은 220 V, 주파수 40 kHz, 최종 방전전압 6,500 V로 플라즈마 방전시켰다. 그림 5는 대기압 플라즈마에서 방출되는 스펙트럼을 확인하기 위해 OES 방식으로 측정하였다. 300~400 nm 사이에서 방출 강도가 높게 나타남을 확인 할 수 있으며, 분석된 활성 화학종들 중에는 super oxide radical ( $\text{O}_2^-$ ), hydroxyl radical (OH, 수산화기)와 같은 활성 산소종과  $\text{N}_2^-$ ,  $\text{N}_2^+$ 와 같은 활성 질소종들이 주로 생성됨을 확인할 수 있었는데 이는 대기압 방전이므로 당연히 나타나는 결과로 생각된다. 또 다른 스펙트럼인 OH 스펙트럼은 대기 중에 존재한 수분에 의한 것이다.

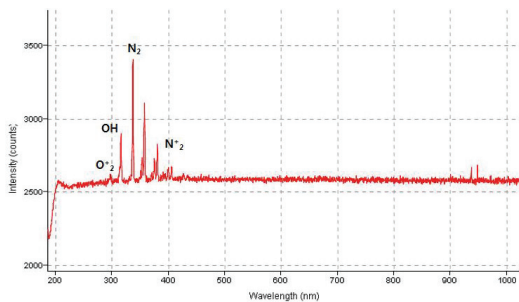


Fig. 5. Optical emission spectrum measured from atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma.

#### 3.2 온도 변화와 오존( $\text{O}_3$ )농도 분석

그림 6은 플라즈마 방전 시간에 따른 온도변화를 나타내었다. 플라즈마 방전에 따른 플라즈마 발생기와

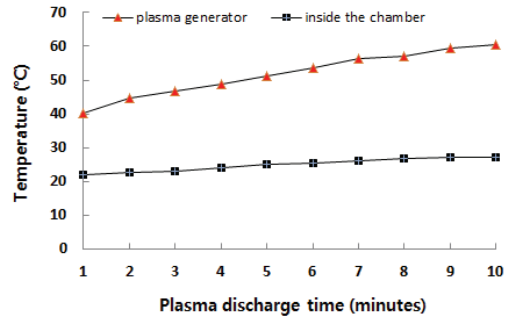


Fig. 6. Change of temperature according to atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma time.

chamber 내 온도 변화를 1분 간격으로 10분까지 측정하였다. 플라즈마 발생기로부터 약 50 mm 떨어진 아래 부분에서 열화상카메라로 3회 측정 측정하였고 chamber 내 온도는 살균 실험 시 균주가 접종된 배지가 놓이는 부위에 digital thermometer 온도 센서를 부착하여 3회 측정하여 평균값을 산출하였다. 플라즈마 발생기 온도는 1분에  $40.1^\circ\text{C}$ , 5분에  $51.1^\circ\text{C}$ , 10분에는  $60.7^\circ\text{C}$ 이었으며 방전 시작 전 측정된 chamber 내 온도는  $21.6^\circ\text{C}$ , 5분에  $24.9^\circ\text{C}$ , 10분에는  $27.2^\circ\text{C}$ 가 됨을 확인하였다. 플라즈마를 이용한 살균 실험에 있어 여러 가지 요소들이 고려되어야 하겠지만 그중에서도 방전 시 발생하는 열에 의해서 실험균주의 살균에 미치는 영향을 생각할 필요가 있을 것이다 [13]. 플라즈마 발생기 온도는 약  $21^\circ\text{C}$  정도 상승하였고 chamber 내 온도는 방전 시작 전보다 약  $5.6^\circ\text{C}$  정도 상승하였다. 또한 추가적으로 플라즈마 방전 후 20분까지 연속적으로 온도변화를 1분 간격으로 측정한 결과 11분에  $27.8^\circ\text{C}$ , 15분  $28.8^\circ\text{C}$ , 20분에는  $29.5^\circ\text{C}$ 로 약  $1.7^\circ\text{C}$  상승하는 정도를 보였다. 플라즈마 발생기 자체 발생 열은 chamber 내 온도에 큰 영향을 미치지 못하였음을 확인할 수 있었다. Son 등의 연구에서도 초기에 측정된 실내 온도는  $27^\circ\text{C}$ 이었으며 5분 후에  $40^\circ\text{C}$ , 10분 후에는  $43^\circ\text{C}$ 이었다고 보고하였다 [14]. Ryu 등의 연구에서도 플라즈마 방전 시간이 길어질수록 온도가 증가되어 10분까지 방전하였을 경우  $52^\circ\text{C}$ 까지 상승하였다 [13]. 장시간 플라즈마 방전에 따른 실험 균주에 미치는 온도의 변화는 작아서 직접적으로 온도가 실험 균주에 작용했다고 보기는 어렵다. 따라서 열에 의한 살균 효과는 배제되어도 될 것으로 사료되며 대기압 DBD 플라즈마 방전으로 생성된 여러 라디칼 중 주로 오존에 기인된 것으로 예상할 수 있다.

그림 7은 플라즈마 방전 시간에 따른 오존 농도를

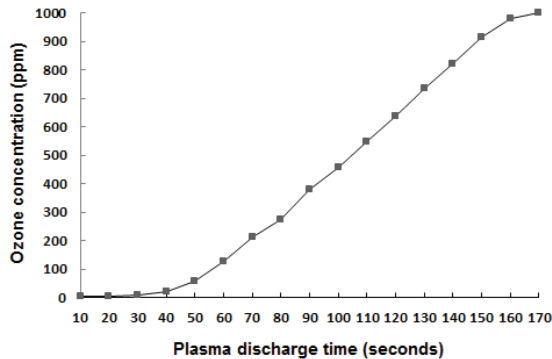


Fig. 7. Change of ozone concentrations according to the discharge time of atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma.

나타내었고, 오존의 측정은 chamber 바닥에서 플라즈마 발생기 중간 정도의 지점에서 총 5회 측정하여 평균값을 산출하였다. 두 전극 사이에서 산소분자( $O_2$ )가 전자 충돌에 의해 활성산소(O)로 해리되고 공기 중의 다른 산소분자와 해리되어 생성된 활성산소가 결합하여 활성종인 오존( $O_3$ )이 생성된다 [15]. DBD 플라즈마는 다양한 라디칼들을 생성하는 동시에 오존의 생성량이 크므로 오존 생성 기술로써도 이용된다 [16]. 오존은 염소보다 산화력이 강하며 불안정한 기체로 최종적으로 산소원자와 산소분자로 해리되어 2차적인 환경오염을 발생시키지 않는 물질로 기타 살균제 보다 훨씬 넓은 적용범위를 가지며 부가적인 화학제의 첨가 없이 미생물을 빠르고 효과적으로 사멸시키는 것으로 알려져 있다. 외부공기 유입을 차단하고 오존농도를 측정할 결과 방전을 시작하기 전 chamber 내의 오존농도는 4 ppm 이내였고, 방전 후 초기 30초까지는 거의 변화가 없었으나, 이후 급격히 증가하여 약 170초 이내에 1,000 ppm 농도까지 상승하는 것을 확인하였다. 측정에 사용된 오존 계측기가 최대 1,000 ppm까지만 측정 가능하므로 3분 이후의 오존농도에 대해서는 정확히 측정할 수 없었다. Chamber가 외부와 차단되어 있어 chamber 내의 존재하는 산소가 해리된 활성산소와 결합하여 다 소모되면 외부에서 공기를 주입시켜 주지 않는 이상 더 이상의 오존이 생성되지 않을 것으로 생각된다. Son 등의 의하면 상압 플라즈마 반응기에서 생성되는 오존의 농도는 혼합기체 내의 산소 비율과 인가전력에 비례하게 오존 농도도 증가하는 경향을 보여 높은 농도의 오존을 생성하기 위해서는 가급적 높은 인가전력과 산소비율이 높은 혼합기체가 유리하다고 하였고 입력전압이 증가함에 따라 오존의 농도도 증가한다고 하였다 [14,17]. Ryu 등은 대기압 DBD 플

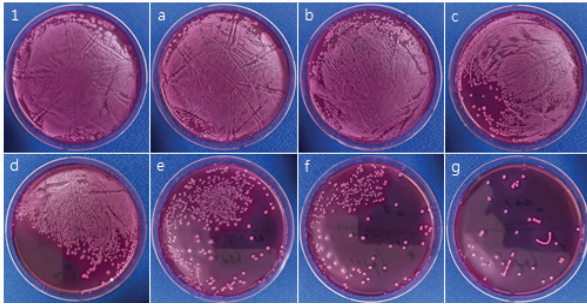
라즈마 처리에서 인가 전력, 노출 거리, 노출 시간이 증가될수록 활성종인 오존, 일산화질소 등의 농도가 증가된다고 보고하였다 [13]. 오존은 반감기가 짧아 금방 분해되어 잔존하지 않지만 본 실험처럼 오존이 고농도로 발생되는 형태의 장치를 이용한 실험을 실시할 경우는 안전보호 장구와 오존을 외부로 효과적으로 배출할 수 있는 시스템 안에서 이루어져 실험자의 안전이 충분히 보장받을 수 있을 것이다. 또한 이를 상용화된 제품으로 개발하고자 한다면 여러 가지 방법을 통해 제거하여 오존 노출에 대한 안전 문제를 해결해야 할 것으로 보인다.

### 3.3 플라즈마 방전에 따른 살균 효과 분석

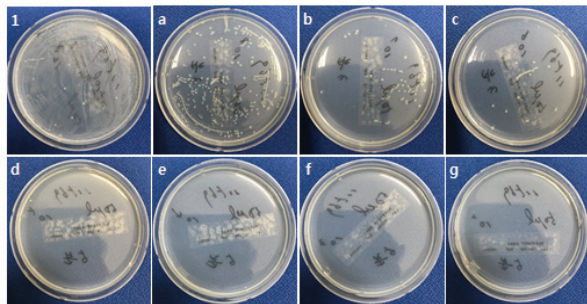
유연전극 구조를 가진 플라즈마 발생장치를 이용하여 여러 가지 공정변수에 대한 대장균의 살균능력을 확인하였다. 첫째, *E. coli*를 McFarland standard 0.50 ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) 농도의 부유액으로 조제하여 일정량의 시료를 평판배지에 도말한 후 3 cm 떨어뜨려 30 초에서부터 120초까지 15초 간격으로 플라즈마 처리 후 생성된 집락을 계수하여 플라즈마를 처리하지 않은 대조군과 비교 관찰하였고, 둘째, *E. coli*를  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 농도의 부유액으로 조제하여 10배 계열희석하고, 일정량의 균부유액을 평판배지에 도말한 후, 3 cm 떨어뜨려 5분 동안 플라즈마를 방전시킨 후, 생성된 집락을 계수하여 플라즈마를 처리하지 않은 대조군과 비교 관찰하였으며, 셋째, *E. coli*를  $5.6 \times 10^5$  CFU/mL로 조제된 균 부유액을 배지에 도말하여 플라즈마 발생장치로부터 3 cm 떨어뜨려 5분, 10분간 플라즈마를 방전시켜 집락형성을 확인하였다. 실험은 동일 조건으로 5회 실시하였으며 평균과 표준편차를 산출하였다. 대조군은 동일하게 도말하고 플라즈마를 방전시키지 않았다.

#### 3.3.1 플라즈마 방전 시간에 따른 집락 형성

그림 8은  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 농도로 균 부유액을 조제하고 방전시간에 따른 집락 형성변화를 나타낸 사진이다. 50  $\mu$ L을 고체배지에 접종하여 동일 실험조건으로 5회 실시하였으며, 평균과 표준편차를 산출하였다. 방전시간에 따라 집락 수가 현저히 줄어들었으나 90초까지는 형성된 집락수가 너무 많아서 계수가 불가능하거나 어려웠고, 105초에서는  $251(M) \pm 23(SD)$  CFU/mL, 120초에는  $72(M) \pm 11(SD)$  CFU/mL를 보였다. 플라즈마 방전 시간이 길어질수록 현저한 집락 수 감소가 관찰되었다.



**Fig. 8.** The colonies of *E. coli* exposed to atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. 1: control, a: 30 sec, b: 45 sec, c: 60 sec, d: 75 sec, e: 90 sec, f: 105 sec, and g: 120 sec.



**Fig. 9.** The colonies of *E. coli* exposed to atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. 1: control, a:  $10^8$ /mL, b:  $10^7$ /mL, c:  $10^6$ /mL, d:  $10^5$ /mL, e:  $10^4$ /mL, f:  $10^3$ /mL, and g:  $10^2$ /mL.

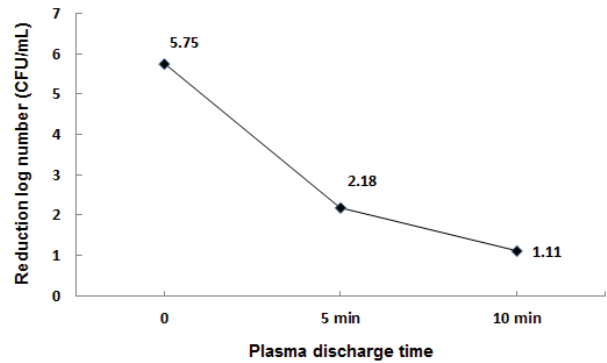
그림 9는  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 농도로 균 부유액을 조제하여 계열희석하고 방전시간에 따른 집락 형성 변화를 나타낸 사진이다.  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 농도로 균 부유액을 조제하여 계열희석하여 50  $\mu$ L 배지에 접종하고 플라즈마 발생장치에서 3 cm 이격하여 5분간 플라즈마 방전하였다. 그 후  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서  $24 \pm 2$ 시간 배양 후 형성된 집락을 관찰하였다.  $10^8$  CFU/mL에서 형성된 집락수가 많아서 계수하기 어려웠고,  $10^7$  CFU/mL에서는  $77(\text{M}) \pm 16(\text{SD})$ ,  $10^6$  CFU/mL에서는  $27(\text{M}) \pm 5(\text{SD})$ 의 집락이 형성되었다.  $10^2 \sim 10^5$  CFU/mL까지는 완전히 사멸되어 집락이 형성되지 않았다.

### 3.3.2 플라즈마 방전 시간에 따른 생균 수 변화

표 1과 그림 10은  $5.6 \times 10^5$  CFU/mL로 조제된 균 부유액을 배지에 0.1 mL 도말하여 플라즈마 발생장치로부터 3 cm 떨어진 거리에서 5분, 10분간 플라즈마를 방전시킨 결과 값이다. 생균수 계산은 플라즈마 방전 후 배지에서 자란 집락 수에 희석배수(10)를 곱하여

**Table 1.** Number of living bacteria and log value after atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma.

Time	Number of living bacteria	Log value	LR
Control	$5.6 \times 10^5$	5.75	
5 min	$1.5 \times 10^2$	2.18	3.57
10 min	13	1.11	4.64



**Fig. 10.** The inactivation of *E. coli* on tryptic soy agar plates by atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma time.

산정하였고 log reduction (LR)은  $\log(A) - \log(B)$ 에 따라 계산하였는데 A는 대조군 생균수의 로그값, B는 시험군 생균수의 로그값이다. Log 값은 소수점 둘째 자리까지 표기하였다. 5분간 방전시킨 배지에서는  $1.5 \times 10^2$  CFU/mL 집락이 형성되었고, 10분간 방전한 배지에서는 13 CFU/mL 집락이 형성됨을 관찰하였다. 5분 방전 시 LR은 3.57로 99.973%의 사멸률을 보였고, 10분에는 4.64로 99.997%의 사멸률을 보였다.

결과에서 보듯 오존에 노출되는 시간이 증가할수록 *E. coli*의 사멸도도 비례하게 증가함을 확인할 수 있었다. Son 등은 살균효과를 극대화시키기 위해서는 오존 발생 농도를 높이거나 오존과의 살균 유효시간을 늘리는 것이라 하였고 [14], 플라즈마에 노출되는 시간이 증가하게 되면 활성종의 농도가 일정하더라도 미생물의 손상 정도는 증가하고 그에 따라 사멸률이 증가하는 것으로 보고하였다 [18-20]. 이러한 결과는 기체의 이온화, 여기, 해리 등의 과정이 더욱 빈번히 일어나기 때문에 활성종의 발생과 농도가 증가한 결과로 살균력이 증대되었을 것으로 판단된다. 사멸률 경향을 살펴보기 위해  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL로 균 부유액을 조제하여 10배 계열희석 후 3 cm 거리에서 최초 30초부터 120초까지 15초 간격으로 플라즈마를 방전시켜 집락 형성

을 관찰하였다. 30초, 45초, 60초, 75초에서는 형성된 집락 수가 너무 많아서 계수할 수 없었으나 90초에서 99.964%, 105초에서는 99.981%, 120초에서는 99.994%의 사멸률을 보였다. 90초 정도부터 120초까지는 급격히 증가하고 그 이후 완만한 증가를 보였다. Lee 등의 연구에서도 노출시간(1~15분)에 따른 사멸률 경향은 5분의 플라즈마 노출시간까지 급격히 증가하고 이후 완만한 증가를 보였다 [19]. 비열 대기압 유전체장벽방전 플라즈마를 이용한 *E. coli*의 살균평가에서도 30분에 41%, 1시간에 79%, 2시간에 100% 사멸률을 보였다 [21].

저온 대기압 플라즈마 또는 비열 대기압 플라즈마를 이용한 미생물의 살균 기술은 다른 분야에 비해 일찍 그 가능성이 입증되어 다양한 종류의 미생물을 죽일 수 있다는 연구결과들이 많이 보고되고 있고 활발하게 연구되고 있다. 특히 박테리아 살균에 탁월한 효과가 있음을 보이고 있으며 이스트나 곰팡이 병원균에도 살균효과가 있음을 나타내고 있다 [4,22,23].

저온 플라즈마 방식으로 미생물을 사멸시키기 위해서는 경제적 비용과 멸균시간 단축이 중요하며, 이는 다른 방식의 멸균기보다 상대적으로 낮은 온도와 단시간에 살균공정이 가능하므로 열, 압력, 습기에 취약한 의료기구 및 의료용품 등을 효과적으로 살균처리 할 수 있을 것으로 생각된다. 유연전극 구조를 가진 플라즈마 발생장치를 통하여 종래의 살균법의 단점을 보완할 수 있음을 확인하였고 살균하는 대상에 따라 다양한 구조 및 형태의 플라즈마 발생장치의 개발도 가능하여 보다 폭넓게 활용할 수 있을 것이다.

#### 4. 결론

유연전극 구조를 가진 플라즈마 발생장치를 이용하여 여러 가지 공정변수에 대한 병원성 세균인 그람 음성 막대균인 대장균(*Escherichia coli*: *E. coli*, KCCM 11569)의 살균 능력을 확인 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) *E. coli*를 McFarland standard 0.50 ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) 농도의 부유액으로 조제하여 일정량을 평판배지에 도말한 후, 플라즈마 발생장치로부터 3 cm 떨어뜨리고 플라즈마 처리 시간에 따른 생성된 집락 수를 계수하여 플라즈마를 처리하지 않는 대조군과 비교한 결과 플라즈마 방전 시간이 길어질수록 현저히 집락 수가 감소함을 확인할 수 있었다.

- 2) *E. coli*를  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 농도의 부유액으로 조제하여 10배 계열희석을 실시하고 일정량의 부유액을 평판배지에 도말한 후, 플라즈마 발생장치로부터 3 cm 떨어뜨리고 5분 동안 플라즈마 처리 후 생성된 집락 수를 계수하여 플라즈마를 처리하지 않는 대조군과 비교 관찰한 결과  $10^7$  CFU/mL에서는  $77(M) \pm 16(SD)$ ,  $10^6$  CFU/mL에서는  $27(M) \pm 5(SD)$ 의 집락이 형성되었고,  $10^5 \sim 10^2$  CFU/mL까지는 완전히 사멸되어 집락이 형성되지 않았음을 확인할 수 있었다.
- 3) *E. coli*를  $5.6 \times 10^5$  CFU/mL로 조제된 균 부유액 일정량을 배지에 도말하여 플라즈마 발생장치로부터 3 cm 떨어뜨려 5분, 10분간 플라즈마를 방전시켰다. 5분간 방전시킨 배지에서는  $1.5 \times 10^2$  CFU/mL 집락이 형성되었고, 10분간 방전시킨 배지에서는 13 CFU/mL의 집락이 형성됨을 관찰하였다. 5분 방전 시 LR은 3.57로 99.973%의 사멸률을 보였고 10분에는 4.64로 99.99%의 사멸률을 보였다.

#### ORCID

Min-Jong Song

<https://orcid.org/0000-0001-6984-6715>

#### 감사의 글

이 논문은 국방과학연구소(agency for defence development, UM1740RD4) 지원에 의해 수행된 연구임.

#### REFERENCES

- [1] H. J. Jung, W. J. Kim, M. J. Kim, S. C. Park, and K. H. Cho, *Infect Chemother.*, **27**, 106 (1995).
- [2] V. M. Steelman, *AORN J.*, **55**, 773 (1992). [DOI: [https://doi.org/10.1016/s0001-2092\(07\)69447-2](https://doi.org/10.1016/s0001-2092(07)69447-2)]
- [3] M. Laroussi and X. Lu, *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 113902 (2005). [DOI: <https://doi.org/10.1063/1.2045549>]
- [4] M. Moisan, J. Barbeau, M. C. Crevier, J. Pelletier, N. Philip, and B. Saoudi, *Pure Appl. Chem.*, **74**, 349 (2002). [DOI: <https://doi.org/10.1351/pac200274030349>]
- [5] Y. H. Ryu, H. S. Uhm, G. S. Park, and E. H. Choi, *J. Korean Vac. Soc.*, **22**, 55 (2013). [DOI: <https://doi.org/10.5757/jkvs.2013.22.2.55>]
- [6] T. von Woedtke, S. Reuter, K. Masur, and K. D. Weltmann, *Phys. Rep.*, **530**, 291 (2013). [DOI: <https://doi.org/10.1016/>]

- j.physrep.2013.05.005]
- [7] G. Fridman, G. Friedman, A. Gutsol, A. B. Shekhter, V. N. Vasilets, and A. Fridman, *Plasma Processes Polym.*, **5**, 503 (2008). [DOI: <https://doi.org/10.1002/ppap.200700154>]
- [8] L. F. Gaunt, C. B. Beggs, and G. E. Georghiou, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **34**, 1257 (2006). [DOI: <https://doi.org/10.1109/tps.2006.878381>]
- [9] M. Laroussi and F. Leipold, *Int. J. Mass Spectrom.*, **233**, 81 (2004). [DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2003.11.016>]
- [10] A. Bogaerts, E. Neyts, R. Gijbels, and J. van der Mullen, *Spectrochim. Acta, Part B*, **57**, 609 (2002). [DOI: [https://doi.org/10.1016/s0584-8547\(01\)00406-2](https://doi.org/10.1016/s0584-8547(01)00406-2)]
- [11] J. Heinlin, G. Morfill, M. Landthaler, W. Stolz, G. Isbary, J. L. Zimmermann, T. Shimizu, and S. Karrer, *J. Dtsch. Dermatologischen Ges.*, **8**, 968 (2010). [DOI: [https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07495\\_supp.x](https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07495_supp.x)]
- [12] K. Takenaka, Y. Okumura, and Y. Setsuhara, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **52**, 01AC11 (2013). [DOI: <https://doi.org/10.7567/jjap.52.01ac11>]
- [13] Y. H. Ryu, H. S. Uhm, G. S. Park, and E. H. Choi, *J. Korean Vac. Soc.*, **22**, 55 (2013). [DOI: <https://doi.org/10.5757/jkvs.2013.22.2.55>]
- [14] H. H. Son and W. G. Lee, *Korean Chem. Eng. Res.*, **49**, 835 (2011). [DOI: <https://doi.org/10.9713/kcer.2011.49.6.835>]
- [15] Y. H. Kwon, H. M. Park, H. G. Song, and W. Z. Park, *J. Korean Inst. Illum. Electr. Install. Eng.*, **30**, 71 (2016).
- [16] Z. Falkenstein, Application of Dielectric Barrier Discharges, *Proc. 12th International Conference on High-Power Particle Beams. BEAMS'98. Proceedings (Cat. No.98EX103)* (IEEE, Haifa, Israel, 1998) p. 117. [DOI: <https://doi.org/10.1109/beams.1998.822399>]
- [17] H. H. Son and W. G. Lee, *Appl. Chem. Eng.*, **22**, 261 (2011).
- [18] J. O. Jo, H. W. Lee, and Y. S. Mok, *Appl. Chem. Eng.*, **25**, 386 (2014). [DOI: <https://doi.org/10.14478/ace.2014.1046>]
- [19] S. J. Lee, Y. S. Song, Y. R. Park, S. M. Ryu, H. W. Jeon, and S. H. Eom, *J. Food Hyg. Saf.*, **32**, 222 (2017). [DOI: <https://doi.org/10.13103/jfhs.2017.32.3.222>]
- [20] J. E. Kim, I. H. Kim, and S. C. Min, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 735 (2013). [DOI: <https://doi.org/10.9721/kjfst.2013.45.6.735>]
- [21] K. Y. Kim, N. W. Paik, Y. H. Kim, and K. H. Yoo, *J. Korean. Soc. Occup. Environ. Hyg.*, **28**, 61 (2018).
- [22] M. Laroussi, *Plasma Processes Polym.*, **2**, 391 (2005). [DOI: <https://doi.org/10.1002/ppap.200400078>]
- [23] K. N. Lee, K. H. Paek, W. T. Ju, and Y. H. Lee, *Korean J. Microbiol.*, **44**, 269 (2006).