초음파와 자외선(UV) 동시 적용이 가정용 가습기 내 살균에 미치는 시너지 효과에 대한 반응속도론적 연구

Kinetic examination on synergistic effect of co-use of ultrasonic wave and ultraviolet radiation on bacterial disinfection in a household humidifier

김성아·김지현·이민주·김자연·정우식·박준홍*

Seunga Kim·Jihyun Kim·Minjoo Lee·Jayun Kim·Woosik Jung·Joonhong Park*

연세대학교 건설환경공학과

Department of Civil and Environmental Engineering, Yonsei University

ABSTRACT

This study examined the effect of ultraviolet (UV) application on bacterial disinfection in a commercialized humidifier using ultrasonic wave (UW). To accurately examine disinfection kinetics in tap-water condition, tap-water was sterilized using a filter, and then inoculated with pure cultures of *E. coli* and *P. putida* with known viable counts. The disinfection kinetic characteristics were experimentally compared when UV alone, UW alone, and UW+UV together were applied

Received 9 April 2021, revised 14 June 2021, accepted 15 June 2021. *Corresponding author: Joonhong Park (E-mail: parkj@yonsei.ac.kr)

- 김성아 (학생) / Seunga Kim (Student) 서울특별시 서대문구 연세로 50, 03722 50, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea
- <mark>김지현 (학생) / Jihyun Kim (Student)</mark> 서울특별시 서대문구 연세로 50, 03722 50, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea
- 이민주 (학생) / Minjoo Lee (Student) 서울특별시 서대문구 연세로 50, 03722 50, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea
- 김자연 (학생) / Jayun Kim (Student) 서울특별시 서대문구 연세로 50, 03722 50, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea • 정우식 (연구교수) / Woosik Jung (Research Professor)
- 서울특별시 서대문구 연세로 50, 03722 50, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea
- 박준홍 (교수) / Joonhong Park (Professor) 서울특별시 서대문구 연세로 50, 03722 50, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

in disinfecting the added bacteria in the commercialized humidifier. When UV alone was applied, bacterial disinfection kinetics followed a first-order decay reaction, and showed an approximately 10-time weaker disinfection compared to the typical UV disinfection in water treatment or wastewater treatment. When UW alone was applied, bacterial disinfection kinetics followed a second-order decay reaction with a low disinfection rate constant of 0.0002 min⁻¹(CFU/mL)⁻¹. When UV and UW were applied together, however and interestingly, the disinfection rate constant (0.0211 min⁻¹(CFU/mL)⁻¹) was approximately 100 times increased than that for the UW alone case. These results revealed that the co-use of UV and UW can provide synergistic effect on bacterial disinfection in a tap-water condition in household humidifiers.

Key words: Household humidifier, Ultrasonic wave, Ultraviolet radiation, Tap-water, Bacterial disinfection

주제어: 가정용 가습기, 초음파, 자외선, 수돗물, 박테리아 살균반응

1. 서 론

물관리 일원화 이후에 국민 체감도를 높이는 통합 적 물관리의 중요성이 커지고 있다. 물관리의 전 과정 은 수자원 보호 및 상수 공급 등의 공공영역의 물관 리 단계와 공급된 상수를 개인들이 사용 및 관리하는 민간영역의 물관리 단계로 나눌 수 있겠다. 우리나라 의 상수도 정책과 연구 경향을 보면, 노후 옥내 급수 관 및 저장시설 관련된 주택 내 수돗물 수질 관리나 가정용 정수기와 같은 최종 수돗물 사용 과정들을 포 함한 민간영역의 물관리 분야는 국민 개개인에게 직 접적이고 중요한 영향을 미침에도 불구하고 공공영역 의 물관리에 비해서 상수도 정책과 연구분야에서 상 대적으로 적게 다루어 지고 있다. 민간영역의 물관리 분야 중에서 옥내 급수관 및 저장시설에 대한 정책적, 기술적 연구들에 비해서 수돗물의 최종 사용 단계에 서 수질에 의한 인체 건강성에 대한 이슈는 대중들의 지대하게 높은 관심에도 불구하고 관련 연구가 많이 되어 있지 않다.

최종 사용 단계에서 수돗물을 먹는 물 이외의 용도로 사용하는 것으로는 가정용 가습기의 경우가 있다. 수돗물과 정수기는 동일하게 먹는 물 공급이 목적이므로 수질 관리도 동일한 기준에 의해서 이루어진다. 즉 정부와 지자체가 먹는 물을 통해서 인체 위해성을줄 수 있는 미생물(대장균 [Escherichia coli])과 유해물질에 대해서 수돗물의 수질을 관리를 하고 유사한 기준으로 정수기 생산수의 수질을 관리하기 때문에 먹는 물 경로를 통한 인체 위해성에 대해서 이중 방어를 하고 있는 격이다. 반면 수돗물을 가정용 가습기에 사용하는 경우는 그 상황이 매우 다르다. 가습기는 수돗물 수질이 먹는 물의 경로를 통해서 인체에 영향을

주는 것이 아니고 주로 호흡기와 일부 피부를 통해서 영향을 준다. 이러한 특성으로 인해서 먹는 물 경로로 인체에 유해하지 않다고 생각된 살균제를 가습기에 사용해서 치명적인 호흡기 질환으로 사망자와 불치병 환자들을 다수 배출해서 사회적으로도 큰 이슈가 되었던 적이 있다 (Baur et al., 1988; Byeon et al., 2020; Kim et al., 2014). 뿐만 아니라 2011년 이후 우리나라에서는 더 이상 가정용 가습기에 살균제를 사용하지 않지만 가습기는 여전히 일상생활에서 사용되고 있으며 살균제를 사용하지 않더라도 오염된 가습기 내 박테리아, 엔도톡신, 곰팡이에 의해 폐질환이 발생할 수 있다는 연구가 있다 (Park, 2013). 이 사례에서 볼 수 있는 것은 수돗물의 최종 사용 중에서 가정용 가습기 사용에 대한 인체 건강 안전성 관리 관점에서 사각지대가 존재할 수 있다는 것이다.

염소소독 또는 유기탄소가 부족한 수돗물 환경에서 는 폐렴 등 호흡기 및 신경계 질환을 발생하는 세균 들(Pseudomonas, Legionella, Mycrobacterium 등)이 소 수이지만 검출되기도 한다 (Rattanakul and Oguma, 2018). 이러한 이유로 정부나 지자체의 수돗물 수질 기준을 만족한다고 해도 가정용 가습기에 수돗물을 사용하기 위해서는 호흡계 및 신경계 질환 관련 위해 성 세균들을 살균해야 한다. 이때 화학물질 기반의 살 균제는 소비자들에게 큰 두려움이므로 물리적인 살균 처리를 해야 한다. 이를 위해서 초음파를 이용하여 물 을 수증기로 전환하면서 동시에 살균효과를 제공하는 초음파 가습기가 시판되고 있다. 최근에는 초음파 가 습기의 살균 효과 촉진을 위해서 UV 램프가 설치된 가습기가 국내 기업에 의해서 개발되었다. 정수처리 과정이나 하수처리수의 살균 단계에서 UV 램프를 이 용해서 단 시간 안에 많은 양의 미생물들을 사멸할 수 있기 때문에 별도의 화학적 살균제 없이 가습기 내 수돗물 미생물들을 UV로 살균할 수 있을 것이다 (Lee et al., 2005; Park et al., 2019). 하지만 가정용 가습기에서 사용되는 UV는 일반적으로 정수처리시설이나 하수처리시설에서 사용되는 고효율 고강도의 UV 적용이 쉽지 않다. 이러한 이유로 초음파 가습기에 UV 적용에 따른 살균 촉진 효과에 대한 연구가 필요하였다. 따라서 본 연구에서는 가정용 가습기에서 UV와 초음파 동시 사용에 의한 살균 촉진 효과 대해서반응속도론적인 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1 가정용 기습기 운전 조건

본 연구에서 사용한 가정용 가습기는 2.5 L 용량의 초음파식 가습기로 220 V AC 기준 4단 35 W, 주파수 1.7 MHz의 초음파를 사용하였다. 기 상용화된 초음파식 가습기(한일전기㈜, 220 mL/h 용량)에 UV램프 (275 nm 파장, 8 V 세기)를 설치한 시제품을 제작하여 실험을 하였고, 이때 살균을 위한 UV 조사량은 2 mJ/cm² 였다. 초음파 발생기와 UV 램프는 가습기 물 탱크 내부 바닥면에 설치했으며 각각의 위치는 Fig. 1로 나타내었다.

수돗물을 직접 가습기에 이용하는 경우가 가장 바람직하나, 수돗물 내 박테리아들 중에는 평판집락법이나 건조필름법으로 배양 검출되는 양이 적으므로 (Lee et al., 2006), 무균 상태의 수돗물에 평판집락법이나 건조필름법으로 배양 검출이 되는 단일균주들을 접종하여 가습기를 운전하였다. 단일균주들은 소화기

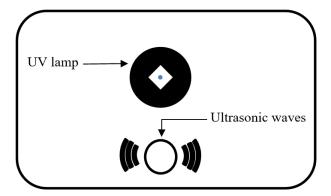


Fig. 1. A scheme of the humidifier installed with a UV lamp and an ultrasonic wave generator used in this work.

질환 발생 세균들의 지표 미생물인 Escherichia coli 중에서 비병원성 strain인 E. coli K-12와 호흡기 질환 발생 세균들의 지표 미생물인 Pseudomonas auroginosa와 동일한 속에 속하면서 비병원성인 P. putida strain을 선택하였다. 무균 수돗물은 2 L의 수돗물을 멸균된 0.22 μm membrane(Millipore™ Membrane Filter)을 이용해서 필터링하여 만들었고, 가습기에 무균 수돗물을 넣어준 후 각각의 지표 미생물을 주입하여 실험에 사용하였다.

UV와 초음파 적용에 따른 가습기 내 수중 미생물살균 효과를 관찰하기 위해서 상술된 UV 램프와 초음파 발생기가 설치된 가정용 가습기를 UV 단독 적용, 초음파 단독 적용, 그리고 초음파-UV 동시 적용의세 가지 다른 조건으로 운전 시간(0, 5, 10, 20, 60분)을 변화하며 운전하였다.

2.2 배양 기반의 미생물 정량적 측정 방법

2.2.1 평판집락법

수돗물 내 정량적인 타깃 미생물 검측과의 연관성을 파악하기 위하여 환경부 규정 먹는 물 공정시험방법에 따라 평판집락법을 이용하여 세균 수를 측정하였다 (NIER, 2021). 시료 채취 위치에 따른 오차를 최소화하 기 위해서 가습기의 중앙과 가장자리에서 각각 시료를 채취하였다. 각각의 시료 10 mL와 멸균된 희석액을 준 비하여 평판의 집락수가 30~300개가 되도록 희석한 뒤 균질기를 이용하여 시료를 혼합하였다. 측정하고자 하 는 미생물이 중온 일반세균에 해당되므로 먹는물 수질 기준에 의거하여 표준한천배지(Plante count agar)를 선 택하였다. 해당 한천 배지를 autoclave에 넣어 멸균한 뒤 고형화시킨 다음, 배지에 희석된 시료 0.2 mL를 분 주하여 멸균된 도말삽으로 배지 표면에 균일하게 도말 하였다. 음성 대조군 시험을 위해 무균 수돗물을 동일 한 방법으로 접종한 뒤 351에서 48시간 동안 배양하였 다. 표준편차 측정을 위하여 모든 배양은 3번 반복하였 으며 2가지 이상의 희석배수를 사용하였다. 배양 후에 생성된 집락수를 계산하고 희석한 경우 희석배수를 곱 하여 일반세균수를 산정하였다.

2.2.2 건조필름법

수돗물 내 정량적인 타깃 미생물 검측과의 연관성을 파악하기 위하여 식품의약품안전청 규정에 따라 세균 pp. 197-204

pp. 205-225

pp. 227-235

op. 237-246

수를 측정하였다 (MFDS, 2019). 건조필름배지는 3M[™] 사에서 공급하는 일반세균용 페트리필름(AC plate)를 사용하였다. 시료 채취 위치에 따른 오차를 최소화하기 위해서 가습기의 중앙과 가장자리에서 각각 시료를 채취하였다. 채취한 시료 10 mL와 멸균된 희석액을 준비하여 집락수가 30~300개가 되도록 희석한 뒤 균질기를 이용하여 시료를 혼합하였다. 일반세균용 페트리필름에 희석한 시료 1 mL를 접종한 뒤 351에서 24시간 동안배양하였다. 음성 대조군 시험을 위해 무균 수돗물을 동일한 방법으로 진행하였다. 표준편차 측정을 위하여모든 배양은 3번 반복하였으며 2가지 이상의 희석배수를 사용하였다. 배양 후에 생성된 붉은 집락수를 측정하여 희석배수를 고려해서 최종 일반세균수(CFU) 혹은 농도(CFU/mL)를 산정하였다.

2.3 PMA 전처리와 real-time PCR 분석

본 연구에서는 살아있는 총 미생물 양의 정량적 측정을 위해 PMA(propidium monoazide) 전처리 후 DNA를 추출하여 qPCR(quantitative polymerase chain reaction, real-time PCR)을 수행하였다.

qPCR은 PCR 증폭 산물을 실시간으로 모니터링하여 해석하는 방법으로, 배양 가능한 세균과 배양 불가능한 세균을 동시에 빠르게 검출할 수 있다는 장점을 가지고 있지만 검출된 세균이 살아있는 세균인지 죽은 세균인지 구분하기 어렵다는 단점이 있다 (Hwang et al., 2015). 이를 보완하기 위해 PMA와 qPCR을 결합한 검출 방법이 사용되고 있다 (Nocker et al., 2007; Varma et al., 2009). PMA는 세포의 손상된 막에만 침

투할 수 있는 염료로, 465 nm 파장의 빛에 노출됨으로써 세포막이 손상된 세포의 DNA와 결합하여 해당 DNA에 변이가 일어난다. 이로 인해 DNA는 PCR 반응에서 증폭될 수 없게 되고 세포막이 손상되지 않은 세포만이 qPCR에 의해 검출될 수 있다 (Li et al., 2014). 따라서 본 실험에서는 DNA를 추출하기 전 500 μL 시료에 20 mM의 PMA 1.25 μL를 주입한 뒤 암흑상자에서 10분간 혼합하였다. 이후 빛에 15분간 노출시킴으로써 DNA와 광반응이 일어날 수 있도록 하여세포막이 손상되지 않은 세균의 DNA만 추출될 수 있도록 전처리 하였다. PMA로 전처리 된 시료는 암실에서 Fast DNA spin kit for soil(MP Biomedicals, OH, USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다.

추출된 DNA로부터 세균의 16S rRNA 유전자를 타겟으로 qPCR을 수행하였으며 이때 이용한 primer정보는 Table 1과 같다. qPCR을 위하여 반응액 20 μL를 DNA, SYBR Green 기반 2X S-Taq PCR pre-mix (Biofact Inc., Daejeon, Korea), primer를 혼합하여 만들어 사용하였으며 PCR cycle 정보는 Table 2에 나타내었다.

2.4 UV와 초음파에 의한 살균에 대한 반응속도론적 분석

UV와 초음파 적용에 따른 가습기 내 수중 미생물살균의 반응 속도론적 분석을 위해 초음파 및 UV 적용 이후 5분, 10분, 20분, 60분마다 가습기 내부의 물시료를 채취하고 평판집락법 혹은 건조필름법을 이용하여 잔류 미생물 CFU 수의 변화를 모니터링 하였다. 이러한 배양 검출 값들을 1차 감소반응식(1st order

Table '	1.	16S	rRNA	aPCR	primer	information
---------	----	-----	------	------	--------	-------------

Taxon	Gene	Sequences (5'-3')	Primers	Amplicon size (bp)	Reference
Bacteria	Bac (16S rRNA)	ATGGYTGTCGTCAGCT ACGGGCGGTGTGTAC	Bac1055YF Bac1392R	437bp	Harms et al., 2003

Table 2. 16S rRNA bacteria qPCR cycle information

	qPCR cycle							
Genes	Initial	Initial	Denaturation	Annoslina	Extension	Final	Melt	Reference
i	incubation	denaturation	Denaturation	Annealing	/Elongation pic	extension	curve	
			X40 cycle				X81	
Bac	50°C	95°C				72°C	cycle	Harms et al.,
(16S rRNA)	2min	10min	95°C 30sec	52°C 1min	72°C 90sec	5min	55°C	2003
			95 C 30sec	32 C IIIIII	72 C 90sec		30sec	

decay reaction equation) 또는 2차 감소반응식(2nd order decay reaction equation)에 회귀분석하여 반응 차수와 반응속도상수 값들을 통계적으로 결정하였다.

3. 결 과

3.1 UV 적용에 의한 살균 효과

UV 적용에 따른 살균반응속도에 대한 분석을 위해서 가습기의 초음파가 미가동되는 상태에서 UV만 적용 시 E. coli와 P. putida가 접종된 무균 수돗물 시료 내 잔류 미생물의 양을 측정하였다. 살균 효과에 대한 정량적 측정의 정확도 제고를 위해서 초기 세균의 농도 (CFU/mL)는 실제 수돗물에 비하여 약 10⁵배 정도 많은 양을 투입하여 UV의 살균효과를 분석하였다. UV에 노출되지 않았을 때(대조군 실험), E.coli는 다소 증가하는 양상을 보인 반면 UV에 노출되었을 때에는 시간에 따라서 1차 반응의 형태로 감소하는 양상을 보였다 (Fig. 2).이에 근거해서 UV 살균을 1차 반응으로 가정하고, 속도 상수(k) 값을 Eq. 1을 사용하여 산정하였다.

$$A_t = A_0 \times e^{-kt} \tag{1}$$

 A_t : Residual microbial concentration at each UV exposure time, t (CFU/mL),

 A_0 : Initial microbial concentration (CFU/mL),

k: First-order disinfection rate constant (1/min)

평판집락법으로 측정된 잔류 세균 농도 결과로 산 정한 속도상수(k)값은 0.102 min⁻¹이었다(R²=0.9415).

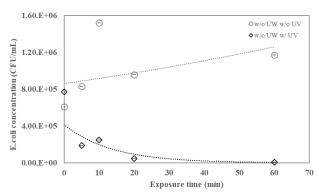


Fig. 2. Remaining *E. coli* viable counts in response to UV application without ultrasonic wave application (high initial microbial concentration).

초기 농도에 비해 미생물이 99% 사멸하는 데 소요되 는 시간은 45.1분이었으며 99.9% 사멸하는 데 소요되 는 시간은 67.7분이었다. 건조필름법으로 측정된 잔류 세균 농도 결과로 산정한 속도상수(k)값은 0.0742 min⁻¹이었다(R²=0.9221). 초기 미생물 농도 대비 99% 사멸하는 데 소요되는 시간은 62.1분, 99.9% 사멸하는 데 소요되는 시간은 93.1분이었다. 본 연구에서 사용된 두 다른 배양 기반의 미생물 수 정량 방법들 모두 UV 살균이 1차 반응일 가능성을 일관되게 보여주고 있으 나, 측정된 멸균속도에서는 다소의 차이를 보여주고 있다. 기존 문헌에서 보고된 UV자체의 대장균(E. coli) 살균속도 상수 값이 최대 1.84 min⁻¹(Kim et al., 2010)인 점을 고려하면 본 연구에서 분석한 가습기에서 UV 적 용에 의한 살균속도는 빠르지 않다. 그러한 원인으로 는 기존 정수처리과정이나 하수처리수의 살균과정에 서 사용되는 UV radiation 당 접촉되는 수용액의 부피 가 본 연구가 크기 때문인 것으로 사료된다.

동일한 실험을 다른 종류의 세균인 P. putida를 대 상으로 진행하였을 때의 결과는 Fig. 3에 나타내었 다. 초음파 미가동 상태에서 UV 노출되지 않은 경우 잔류 세균의 수가 시간에 따라 증가하는 양상을 보 였으며 UV에만 노출되었을 때는 1차 반응의 살균 효과가 관찰되었다. 평판집락법 적용 시 Eq. 1에 따라 1차 살균속도상수(k)는 0.038 min⁻¹였고 일치도는 91.79%(R²=0.9179)이었다. 초기 미생물 농도 대비 99% 사멸하는 데 소요되는 시간은 121분이었으며 99.9% 사멸하는 데 소요되는 시간은 182분이었다. 건조필름 법 적용 시 속도상수(k)는 0.0455 min⁻¹, 일치도는 89.74%(R²=0.8974)이었고, 초기 미생물 농도 대비 99% 사멸하는 데 소요되는 시간은 101분이었고 99.9% 사 멸하는 데 소요되는 시간은 152분이었다. 배양 기반의 잔류 세균 수 측정 방법들 간에 다소 차이에도 불구 하고, P. putida의 UV 살균 속도상수 값들이 E. coli의 값들보다 적으므로 동일한 UV 노출에 살균속도가 세 균의 종류별로 차이가 있을 수 있음을 알 수 있다.

실제 수돗물 조건에서 UV 살균 효과를 분석하기 위해서 무균 수돗물에 접종한 미생물 농도를 수돗물수준으로 낮추어서 동일한 실험을 수행하였다. 초음파 미가동 상태에서 가습기 내 수용액이 UV에 노출되는 시간에 따라 잔존 세균 수를 평판집락법으로 측정한 결과들이 Fig. 4와 Fig. 5에 나타냈다. E. coli의 1차살균속도상수는 0.089 min⁻¹(R²=0.9569)로 P. putida의

1차 살균속도상수는 0.0609 min⁻¹(R²=0.7543)로 산정되었다. 이 값들은 Fig. 2와 Fig. 3의 고농도 미생물의 않았다. 따라서 본 연구에서 획득된 UV에 의한 수중

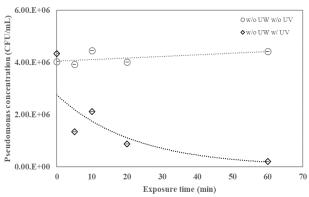


Fig. 3. Remaining *P. putida* viable counts in response to UV application without ultrasonic wave application (high initial microbial concentration).

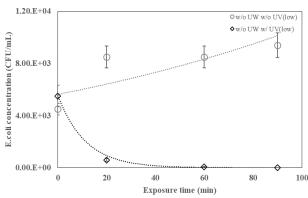


Fig. 4. Remaining *E. coli* viable counts in response to UV application without ultrasonic wave application (low initial microbial concentration).

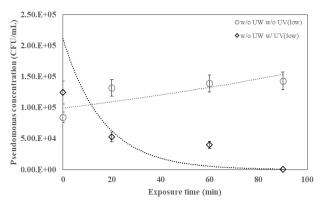


Fig. 5. Remaining *P. putida* viable counts in response to UV application without ultrasonic wave application (low initial microbial concentration).

살균 실험에서 획득된 살균 속도상수 값들과 다르지 세균의 살균에 대한 반응속도론적 정보를 수돗물을 가습기에 사용시의 살균효과 예측에 사용될 수 있음 을 입증한다.

3.2 초음파와 UV 동시 적용시 살균 효과에 대한 반응 속도론적 분석

초음파와 UV 동시 적용에 따른 살균 속도에 대한 정량적인 분석을 수행하였다. 초음파 단독 적용에 따른 살균 속도를 우선 파악하였다 (Fig. 6). 수돗물 내 세균들의 종류가 다양할 것이므로 E.coli와 P. putida를 약 1:1로 혼합하여 무균 수돗물에 접종한 수용액 (초기 총 세균 농도는 약 700 (CFU/mL)을 대상으로 초음파 단독적용 실험과 초음파-UV 동시 적용 실험을 각각 실시하였다. 살균 과정에서 잔존한 세균의 수은 건조필름법을통하여 측정되었다. 초음파만 단독으로 적용 시, 수중세균의 살균속도는 2차 반응을 보였다. Eq. 2을 사용해서 계산한 초음파에 의한 2차 반응의 살균속도상수는 0.0002 min⁻¹(CFU/mL)⁻¹(R²=0.9220)로 산정되었다.

$$A_t = A_0 \frac{1}{1 + kA_0 t} \tag{2}$$

- A_t : Residual microbial concentration in response to the time of exposure to either ultrasonic wave or both ultrasonic wave and UV, t (CFU/mL),
- A_0 : Initial microbial concentration (CFU/mL),
- k: Second-order disinfection rate constant (1/min) (mL/CFU)

초음파와 UV를 동시에 적용 시, 살균 속도는 동일 하게 2차 반응으로 관찰되었고, 살균속도상수는 0.0211 min⁻¹(CFU/mL)⁻¹(R²=0.9289)로 산정되었다.

UV 단독 적용 시 살균속도가 1차 반응으로 관찰되고(Fig. 2-5) 초음파 단독 적용 시 살균속도가 2차 반응으로 관찰된 점들을 고려한다면, 본 연구에서 분석대상인 가습기에서 초음파와 UV 동시 적용 시 초음파에 의한 살균이 주요 기작으로 추정하는 것이 가능하다. 또한 연구대상인 가습기에 사용된 UV의 살균속도상수 값이 수처리에 사용되는 상용화된 UV 살균기의살균속도상수 값보다 10배 정도 적다는 점이 본 연구대상의 가습기에 사용된 UV 자체의 살균효과가 상대

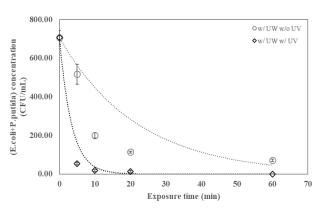


Fig. 6. Remaining viable counts (E. coli + P. putida) in response to both UV and ultrasonic wave applications.

적으로 크지 않다는 것을 시사한다. 하지만 흥미롭게 도 UV와 초음파 동시 적용 시 산정된 2차 반응의 살 균속도 상수 값이 초음파 단독 적용 시 보다 약 100배 정도로 큰 것으로 나타났다. 이러한 결과들을 종합적으로 고려해 보면 연구대상의 가습기에서 UV 자체 혹은 초음파 자체 만의 수중 살균효과가 상대적으로 크지 않으나, UV와 초음파를 동시에 작용하면 상승작용이 발생하여 살균효과가 촉진되고 그 촉진된 살균은 2차 반응속도론적 특성을 보인다는 점들이 본 연구 결과로 밝혀졌다.

초음파와 UV 동시 사용에 따른 살균의 상승적 촉진 효과에 대한 가설적 설명은 다음과 같다. UV의 살균적 기작은 세포벽에 영향을 주지 않고 cytoplasm 내부의 DNA와 RNA를 변질시키는 것이고(Jang and Kim, 2005), 초음파의 살균 기작은 물리적 파장, radical 발생 혹은 고온발생으로 세포벽에 파괴적인 영향을 준다 (Sohn and Ryu, 1999). 이러한 UV와 초음파에 의한 살균 기작을 고려하면 두 가지 가설적 설명이 가능하다. 첫째는 UV에 의해 DNA/RNA 변질이 된세균들의 여전히 생존하나 그들의 세포벽이 초음파의파괴에 보다 더 취약해졌을 가능성이다. 둘째는 초음파로 세포벽이 훼손된 세균들이 UV에 의한 DNA/RNA 변질에 더 취약해졌을 가능성이다.

상술된 두 가지 가능성 중에 어떠한 가설이 맞는지를 살펴보기 위해서 Fig. 6의 동일한 시료들에 대해서 PMA 전처리를 하고 real-time PCR로 세포벽이 훼손이되지 않은 세균들의 16S rRNA 유전자 수를 정량화해서 비교해 보았다 (Fig. 7). 이 방법으로 검출된 정량적 값은 살아있든 죽어있든 세포막 훼손이 심각하지

않은 세균들의 수를 의미하므로, 초음파에 의한 살균 효과에 대한 정량적 정보를 제공한다. 배양 기반의 세 균 수(살아있는 세균 수) 정량화 결과(Fig. 6)에 비해 서, 세포막이 훼손되지 않은 세균의 16S rRNA 유전자 수 정량화 결과(Fig. 7)에서 초음파 단독 적용과 초음 파와 UV 동시 적용 간의 차이가 현격하게 줄어들었 다. 즉 초음파 단독 적용에 의한 세포 훼손은 UV 동 시 적용에 의한 DNA/RNA 변질에 의해서 세포 훼손 이 현격하게 상승되는 현상이 관찰되지 않았다 (Fig. 7). 반면 초음파 단독 적용에 의한 세균들이 비활성화되 어 배양이 안되는 것에 비해서 UV 동시 적용에 의해 서 비활성화되어 배양이 안되는 세균의 수가 현격하 게 증가함을 알 수 있다. 따라서 UV자체로 인한 DNA/RNA 변질의 사멸 효과가 크지 않으나 초음파와 동시 적용 시 UV로 인한 DNA/RNA 변질에 의한 사 멸 효과를 증대시킨 것으로 판단된다.

한편, 자외선의 경우 직접 조사되는 경우에 한해 소독 효과가 기대되는데, 자외선과 초음파를 동시에 처리한 경우 단순히 초음파에 의해 물이 교반되어 미생물이 자외선에 노출되는 것이 증가하여 불활성화가빨라졌을 가능성도 높다. 이러한 가능성들 중에 최적을 선정하기 위한 보다 더 체계적이 연구가 필요함에도 불구하고 현재 국내에서 상용화되고 있는 가습기에서 사용되고 있는 자외선이나 초음파를 단독으로적용했을 때는 살균효과가 충분치 않지만 동일한 강도의 자외선과 초음파를 동시에 적용했을 때 살균 효과가 충분하게 증가되는 것을 본 연구를 통해 최초사례를 보여준 점에 큰 의의가 있다.

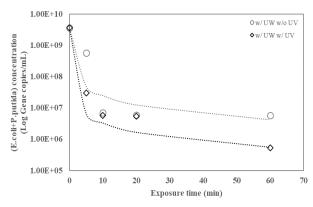


Fig. 7. PMA-treated real-time PCR detected 16S rRNA gene copies (*E. coli + P. putida*) in response to both UV and ultrasonic wave applications. (w/o stands for 'without', and w/ stands for 'with')

pp. 197-204

pp. 205-225

pp. 227-235

on 237-24

Sample	Condition	Reaction order	Rate constant(k)	
E.coli (high conc.)	w/o UW,w/ UV	1 st order	$0.0742 \sim 0.102 \text{ min}^{-1}$	
E.coli (low conc.)	w/o UW, w/ UV	1 st order	0.089 min ⁻¹	
P. putida (high conc.)	w/o UW, w/ UV	1 st order	$0.038 \sim 0.0455 \text{ min}^{-1}$	
P. putida (low conc.)	w/o UW, w/ UV	1 st order	0.0609 min ⁻¹	
E.coli + P. putida	w/ UW, w/o UV	2 nd order	0.0002 min ⁻¹ (CFU/mL) ⁻¹	
E.coli + P. putida	w/ UW, w/ UV	2 nd order	0.0211 min ⁻¹ (CFU/mL) ⁻¹	

Table 3. Results of disinfection kinetic examination

UW stands for 'ultrasonic wave', and UV stands for 'ultra-violet radiation'

4. 결 론

본 연구에서는 상용화 되고 있는 초음파 가습기에 UV를 추가로 적용 시 가습기 수조 내 박테리아 살균에 미치는 영향에 대해서 반응속도론적으로 분석하였다. 국내의 경우에는 수돗물을 가습기에 사용하므로 멸균 수돗물에 알고 있는 농도의 E.coli와 P. putida를 주입한 시료를 이용하여 반응속도론적인 실험을 수행하였고, 그 결과를 Table 3에 정리하였다. UV 단독 적용, 초음파 단독 적용, 그리고 UV-초음파 동시 적용에따른 살균 효과를 각각 분석하고 비교하여 UV와 초음파 복합 사용에 따른 살균 촉진 특성을 파악하려하였다. 그 주요 결과들은 다음과 같다.

- 1) UV 단독 적용 시, 수돗물 조건에서 박테리아 살 균 속도는 박테리아 농도에 대해 1차 감소 반응특성을 보였다. 획득된 1차 살균반응속도상수(k) 값의 범위를 보면 멸균된 수돗물에 E. coil만 주입한 경우 0.0742~0.102 min⁻¹, P. putida만 주입한 경우는 0.038~0.0690 min⁻¹로서 일반적으로 정수처리시설이나 하수처리시설에서 사용되는 UV에의한 살균속도상수보다 약 10배 적어서 본 연구에서 다른 가정용 가습기에 설치된 UV 자체의살균 효과는 크다고 할 수 없었다.
- 2) 초음파 단독 적용 시, 수돗물 조건에서 박테리아 살균 속도는 박테리아 농도에 대해 2차 감소 반 응 특성을 보였다. 획득된 2차 살균속도상수 값 은 0.0002 min⁻¹(CFU/mL)⁻¹으로 산정되었다.
- 3) 반면 초음파와 UV를 동시에 적용 시, 박테리아 살균 속도는 박테리아 농도에 대해 2차 감소 반 응 특성을 보인 것은 초음파 단독 적용시와 동 일하나 획득된 2차 살균속도상수 값은 0.0211 min⁻¹(CFU/mL)⁻¹ 로 급상승하였고, UV 자체에 의 한 살균 도 보다도 빨라졌다.

본 연구의 결과들은 초음파 혹은 UV 단독 적용 보다 UV와 초음파의 동시 적용이 가습기 수조 내 박테리아 살균에 시너지 효과가 있음을 반응속도론적으로 밝히었다. 정수처리시설이나 하수처리시설과 달리 가정용 가습기의 비용적인 한계로 고효율, 고강도 UV램프와 초음파 발생기를 사용하기 힘들다. 이러한 가정용 가습기의 한계를 극복하기 위해서 다소 낮은 살균 효율의 UV 및 초음파 적용이라도 이들을 동시 복합적으로 사용하면 살균 촉진에 시너지 효과가 있을수 있음을 본 연구에서 반응속도론적 실험 연구로 입증하였다.

사 사

본 연구는 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업 (No. 2018R1A 6A1A08025348)과 환경부의 재원으로 한국환경산업기술원의 상하수도혁신기술개발사업의 지원(202000270 0003)을 받아 연구되었습니다.

References

Baur, X., Behr, J., Dewair, M., Ehret, W., Fruhmann, G., Vogelmeier, C., Weiss, W. and Zinkernagel, V. (1988). Humidifier lung and humidifier fever, Lung, 166(1), 113-124.

Byeon, J.E., Kim, H.S., Park, M.Y., Lee, K.M., Hong, M.G., and Choi, Y.Y. (2020). An estimation of population at risk of exposure to humidifier disinfectant and associated health effects, J. Environ. Health Sci., 46(4), 457-469.

Hwang, D.G., Chon, J.W., Kim, H.S., Kim, H.S., Kim, D.H., Song, K.Y., Yim, J.H., Kim, Y.J., Kang, I.B., and Seo, K.H. (2015). Rapid detection of viable *Cronobacter*

- sakazakii using propidium monoazide(PMA) in combination with real-time qPCR, J. Milk Sci. Biotechnol., 33(3), 197-202.
- Jang, I.S., and Kim, J.Y. (2005). UV irradiation for water disinfection, J. Korean Inst. Illum. Electr. Install. Eng., 19(5), 14-21.
- Kim, D.S., Song, S.K., and Park, Y.S. (2010). A comparison of single disinfection process for inactivation of *E.coli*, Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J., 25(1), 25-32.
- Kim, K.W., Ahn, K., Yang, H. J., Lee, S., Park, J.D., Kim, W.K., Kim, J.T., Kim, H.H., Rha, Y.H., Park, Y.M., Sohn, M.H., Oh, J.W., Lee, H.R., Lim, D.H., Choung, J.T., Han, M.Y., Lee, E., Kim, H.Y., Seo, J.H., Kim, B.J., Cho, Y.A., Do, K.H., Kim, S.A., Jang, S.J., Lee, M.S., Kim, H.J., Kwon, G.Y., Park, J.H., Gwack, J., Youn, S.K., Kwon, J.W., Jun, B.Y., Pyun, B.Y., and Hong, S.J. (2014). Humidifier disinfectant–associated children's interstitial lung disease, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 189(1), 48-56.
- Li, D., Tong, T., Zeng, S., Lin, Y., Wu, S., and He, M. (2014). Quantification of viable bacteria in wastewater treatment plants by using propidium monoazide combined with quantitative PCR (PMA-qPCR), J. Environ. Sci., 26(2), 299-306.
- Lee, E.S., Lee, M.Y., and Han, S.H. (2006). "Detection and occurrence of mycobacteria in water supplies", Proceedings of Korean Society on Water Environment and Korean Society of Water and Wastewater Joint Spring Conference, 21-22 April, 2006, Korean Society on Water Environment, Incheon, Korea.
- Lee, J.Y., Kim, Y.T., and Lee, T.J. (2005). "WTP UV disinfection system", *Proceedings of the KFMA Annual Meeting*, Korean Society for Fluid Machinery, 126-132.

- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). (2019). www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=362 (April 01, 2021).
- National Institute of Environmental Research (NIER). (2021). The standard of official water quality testing of drinking water, http://www.law.go.kr/DRF/lawService.do?OC=me_pr&target=admrul&ID=2100000198017&type=HTML&mobileYn= (April 03, 2021)
- Nocker, A., Sossa, K.E., and Camper, A.K. (2007). Molecular monitoring of disinfection efficacy using propidium monoazide in combination with quantitative PCR, J. Microbiol. Methods, 70, 252-260.
- Park, D.U. (2013). Review of humidifier lung cases caused by use of humidifier –focusing on probable environmental causal agents, J. Environ. Health Sci., 39(2), 105-116.
- Park J.I., Lee, Y., Kim, K.H., Lee, T.H., Park, C.J., and Yoo, J.H. (2019). A prediction on the improvement of disinfection efficiency and optimal operation of residual chlorine in water distribution line by application of UV process in I WTP, J. Korean Soc. Environ. Eng., 41(11), 597-610.
- Rattanakul, S. and Oguma, K. (2018). Inactivation kinetics and efficiencies of UV-LEDs against *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, and surrogate microorganisms, Water Res., 130, 31-37.
- Sohn, J.R., and Ryu, B.S. (1999). Disinfection of water by ultrasonic irradiation, Korean J. Sanitation, 14(1), 54-61.
- Varma, M., Field, R., Stinson, M., Rukovets, B., Wymer, L., and Haugland, R. (2009). Quantitative real-time PCR analysis of total and propidium monoazide-resistant fecal indicator bacteria in wastewater, Water Res., 43(19), 4790-4801.