

오존에 의한 샘플소독에서 살균효과에 미치는 온도의 영향

계지연, 윤은희

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《과학자들은 우리 나라의 현실이 요구하는 문제를 연구하여야 하며 우리 인민에게 필요한것을 만들어 내기 위하여 노력하여야 합니다.》(《김일성전집》 제35권 374페이지)

오존은 잔여소독제와 소독반응부생성물에 의한 위험성이 비교적 낮은것으로 하여 샘플의 맛과 중요한 물리화학적성분들을 보존하면서도 미생물을 효과적으로 죽일수 있는 소독제로 널리 리용되고있다. 그러나 오존은 물속에서의 반감기가 다른 소독제들에 비하여 현저히 짧으므로 살균목적을 달성하기 위해서는 소독제의 농도와 작용시간을 과학적으로 규정하여야 한다.

오존소독에 영향을 미치는 인자에는 온도, pH, 물의 유기 및 무기물질구성 등 여러가지가 있으나 샘플생산실천에서는 채수 및 리과공정들을 거치면서 기온의 영향으로 오존소독을 받는 단계의 온도변동이 심하게 나타난다. 오존에 의한 샘플소독에서 물의 온도조건과 살균효과사이의 관계를 고찰한 연구자료는 발표된것이 없다.

이로부터 우리는 샘플의 오존소독에서 온도와 살균효과사이의 관계를 정량적으로 밝히기 위한 연구를 하였다.

재료 및 방법

연구에는 《리》샘물공장의 물처리계통 WT-5(《Wenzhou Accurate》)를 통하여 생산되는 최종리과수를 리용하였으며 실험균주로는 오존감수성비교를 위한 표준균주들인 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Clostridium perfringens* ATCC 13124와 *Bacillus subtilis*-89M아포를 리용하였다.

수중오존농도는 휴대용수중오존농도측정기(《DXR-W》)를 리용하여 결정하였으며 살균효과평가를 위한 미생물배양에는 트립톤콩우무배지(Tryptic Soy Agar: TSA)를 리용하였다.

E. coli, *P. aeruginosa*, *En. faecalis*의 시험균액과 *B. subtilis*, *C. perfringens* 아포액의 조제는 선행방법[6, 8, 15]에 준하여 진행하였다.

살균반응에 리용한 모든 실험기구들은 깨끗이 세척한 후 0.000 2% 오존수에 1h동안 잠그어[7] 산화가능한 물질들을 제거한 후 121℃에서 15min간 고압멸균하여 리용하였다.

오존살균반응계는 WT-5의 오존소독탑에서 나오는 오존수를 무균적으로 100mL씩 멸균한 플라스크에 채취한 후 준비한 균액을 섞어 초기균농도가 $(1\sim3)\times10^6$ CFU/mL로 되게 하였다.

반응계의 초기오존농도측정을 위하여 시험구와 구성이 똑같은 대조구를 설정하고 균액혼합직후 오존농도를 측정하였으며 반응계의 초기균농도측정을 위하여서는 오존수대신 멸균한 0.01mol/L PBS용액(pH 7.2) 100mL가 들어있는 플라스크에 균액을 1 : 100의 체적비로 섞은 후 혼합액을 균수측정시료로 리용하였다.

소독효과판정을 위하여 소독반응계의 용액 1mL를 취하여 0.1% 티오류산나트륨용액 [1] 10mL에 섞은 후 그 혼합액 1mL를 TSA배지에 접종하고 배양하였으며 소독반응계의 오존적용량(CT)은 균액과 오존접촉시간동안 계의 평균오존농도를 구하여 결정하였다.

결과 및 논의

1) 각이한 온도조건에서 수중오존농도감소특성

물속에서 오존은 안정성이 낮아 다른 소독제들에 비해 짧은 시간동안에 분해되어 효력을 잃는 특성이 있다. 그러므로 오존에 의한 미생물살균효과를 정확히 평가하자면 시간에 따르는 오존농도감소특성을 알아야 한다.

일정한 조건에서 수중오존농도감소속도는 식 (1)과 같이 표시된다.[7, 12]

$$\frac{dc}{dt} = -k^* C \quad (1)$$

여기서 k^* 은 오존분해속도상수인데 이것이 물속에서 오존의 안정성과 관련되는 온도인자의 영향을 반영한다.

식 (1)로부터 t_0 시각의 오존농도를 C_0 이라고 할 때 t 시각의 수중오존농도 C 는

$$C = C_0 e^{-k^* t} \quad (2)$$

과 같다.

이로부터 각이한 온도조건(10, 15, 20°C)에서 시간에 따라 《근》샘물공장의 최종결과수에서 수중오존농도변화를 관찰하고 오존분해속도상수 k^* 을 산출하였다.(그림 1) t_0 시점에서 초기오존농도는 0.000 10~0.000 11%였으며 측정시작후 30min간 5min 간격으로 수중오존농도를 측정하였다. 매질의 pH는 7.4였다.

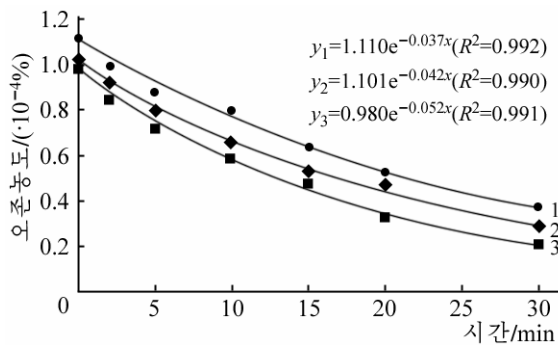


그림 1. 각이한 온도조건에서 시간에 따르는 수중오존농도감소특성

1-3은 온도가 각각 10, 15, 20°C일 때; pH 7.4

그림 1에서 보는바와 같이 시간이 지남에 따라 오존농도는 지수함수적으로 감소되며 측정결과와 식 (2)로 표현되는 모형과의 상관계수는 물의 온도가 10, 15, 20°C일 때 각각 0.992, 0.990, 0.991이었다. 온도가 높아질수록 분해는 더 빠른 속도로 진행되었으며 결과 상수 k^* 의 값은 증가하였다.

온도에 따르는 오존분해속도의 증가경향성은 선행연구[3-5]에서와 일치하지만 상수 k^* 의 값은 선행연구에서보다 훨씬 낮게 나타났다.(표 1)

오존분해속도상수값에서 나타난 경향성은 연구대상으로 된 샘물에서 오존에 대한 반응성이 있는 성분함량이 선행연구들에서 취급한 물에 비하여 훨씬 낮기때문이라고 보았다.

각이한 온도조건에서 결정한 오존분해속도상수는 오존에 의한 미생물살균모형작성에 이용하였다.

표 1. 오존분해속도상수값의 비교

구분	온도/°C	pH	오존분해 속도상수 $/(L \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1})$
선행연구[5]	10	8.0	0.070
	20	8.0	0.200
선행연구[13]	6	7.7	0.031
선행연구[4]	18~20	7.0	0.066
		8.0	0.230
선행연구[14]	20	7.6~7.8	0.17~0.23
선행연구[12]	4~8	7.6~7.8	0.16~0.36
측정결과	10~20	7.4	0.037~0.052

2) 오존에 대한 샘플의 지표균들의 감수성비교

오존소독계통의 효율평가에서 살균효과지표균을 선정하기 위하여 오존에 대한 저항성이 높은것으로 알려져있는 *B. subtilis*아포와 샘플의 지표균들인 *E. coli*, *En. faecalis*, *P. aeruginosa*, *C. perfringens*아포의 오존감수성을 비교하였다.(그림 2)

균액과 오존수혼합때 오존농도는 0.000 06%이며 반응계에서 초기균농도는 $(1 \sim 3) \times 10^6$ CFU/mL, 오존수의 온도는 20°C, pH는 7.4였다. 균액채취시점에서 반응계의 오존적용량 CT값은 초기오존농도와 오존수의 온도, 오존수작용시간을 식(2)에 대입하여 적분법으로 산출하였다. 그림 2에서 보는바와 같이 균주에 따라서 오존에 의한 균수감소특성이 각이하였다. *E. coli*, *En. faecalis*, *P. aeruginosa*의 오존감수성에서 일련의 공통점은 오존수를 작용시킨 초기에 균수가 급격히 감소하고 시간이 지남에 따라 완만한 1차선형적감소경향성을 띠는것이다. 그러나 *C. perfringens*

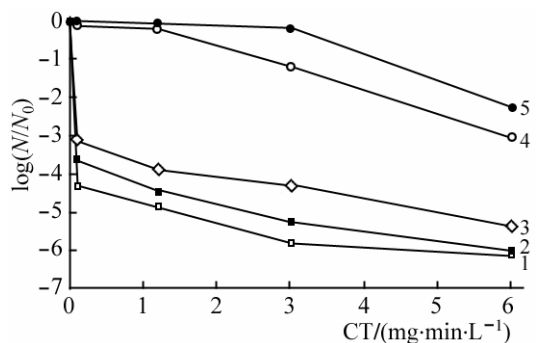


그림 2. 샘플의 지표균들과 *B. subtilis*아포의 오존감수성비교

1-*E. coli*, 2-*P. aeruginosa*, 3-*En. faecalis*,
4-*C. perfringens*, 5-*B. subtilis*

와 *B. subtilis*아포의 경우에는 오존수작용초기에 지연기를 경과하다가 일정한 CT값에 이르러서부터 급격한 1차선형적감소경향성을 나타내었다. 오존에 대한 미생물의 감수성이 세포결충구조와 밀접히 연관되어있는것으로 하여 미생물균주에 따라 특히 영양세포인가 아포인가에 따라 이와 같은 뚜렷한 차이를 나타낸다[3]고 보아진다.

5가지 균주에 대하여 오존감수성을 비교하여보면 *E. coli*는 오존수와 접촉한 후 120s만에 1.58×10^{-6} 로 감소하였으며 *P. aeruginosa*는 300s만에 6.31×10^{-6} , *En. faecalis*는 600s만에 5.01×10^{-6} 로 감소하였다. *C. perfringens*는 접촉후 600s 시점에서 감소률이 9.33×10^{-4} , *B. subtilis*아포의 경우에는 5.01×10^{-3} 으로서 오존에 대한 감수성은 *B. subtilis*아포가 가장 낮았다. 이러한 실험결과로부터 *B. subtilis*의 아포를 샘플의 오존살균에서의 지표균으로 선정하였다.

3) 오존살균효과에 미치는 온도의 영향

오존에 의한 *B. subtilis*아포살균모형의 확정 오존과 미생물의 호상작용은 미생물에 존재하는 수많은 기능단들과 오존사이의 반응에 기초하고있고 미생물의 종류에 따라 오존에 대한 감수성이 각이한것으로 하여 오존에 의한 미생물살균특성과 관련하여 많은 모형들이 제기[2, 9-11]되었다. 우리는 오존살균지표균으로 선정한 *B. subtilis*아포의 살균모형을 확정

하기 위하여 일정한 온도조건에서 CT값을 각이하게 변화시키면서 아포균수감소특성을 분석하였으며(그림 3) 그 결과에 기초하여 선행모형들중에서 가장 적합한 모형을 찾기 위한 연구를 하였다. 균액혼합후 반응계의 *B. subtilis*아포농도는 3×10^5 CFU/mL이었으며 균액과 오존수의 혼합때 오존농도는 0.000 015, 0.000 030, 0.000 045, 0.000 060, 0.000 075%로 설정하였다. 각이한 오존농도에서 오존수와 시험균액의 반응시간은 0, 2, 5, 10, 15min으로 설정하였다.

그림 3에서 보는바와 같이 *B. subtilis*아포의 오존에 의한 균수감소경향성을 보면 일정한 CT값에 이를 때까지는 균수변화가 나타나지 않다가 그 이후에 균수가 지수함수적으로 감소하며 일정한 한계에서 포화점에 이르게 된다. 또한 오존수의 농도가 낮은 경우에는 유효작용시간내에 소독효과를 나타내지 못하므로 목적하는 살균효과를 얻기 위해서는 오존농도를 일정한 한계이상으로 보장해줘야 한다. 실험결과에 의하여 얻어진 아포살균특성으로부터 우리는 *B. subtilis*아포의 오존살균모형으로서 지연형Chick-Watson모형[10](식 (3))을 선정하였다.

$$\frac{N}{N_0} = \begin{cases} 1, & CT \leq CT_{lag} \\ e^{(-k(CT-CT_{lag}))}, & CT > CT_{lag} \end{cases} \quad (3)$$

여기서 N 은 T 시간후에 살아있는 균수, N_0 은 초기균수, CT 는 T 시간후의 오존적용량, CT_{lag} 는 T_{lag} 시간후의 오존적용량, k 는 균죽임상수이다.

*B. subtilis*아포살균에 미치는 온도의 영향 각이한 온도조건(10, 15°C)에서 오존에 의한 아포살균특성변화를 보았다.(그림 4) 균액혼합후 반응계의 *B. subtilis*아포농도는 3×10^5 CFU/mL였으며 균액과 오존수의 혼합때 오존농도는 0.000 015, 0.000 030, 0.000 045, 0.000 600, 0.000 075%로 설정하였다. 이때 반응계의 pH는 7.5이다.

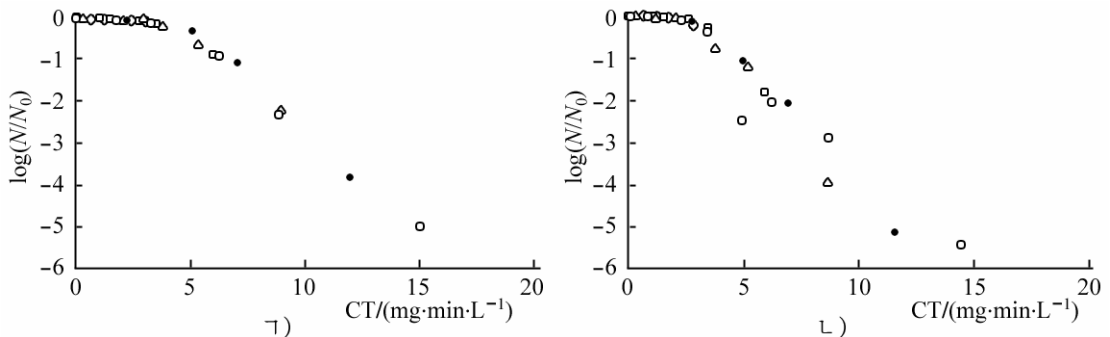


그림 4. 각이한 온도조건에서 CT값에 따르는 균수감소특성
 a), b)는 온도가 각각 10, 15일 때; 1-5는 오존농도가 각각 0.000 015(◇),
 0.000 030(□), 0.000 045(△), 0.000 060(●), 0.000 075%(○)일 때

그림 4에서 보는바와 같이 각이한 온도조건에서 *B. subtilis*아포의 균수감소경향성은 류

사하게 나타났다.

실험결과로부터 각이한 온도조건에서 지연형Chick-Watson모형의 상수 k 와 CT_{lag} 의 값을 MatlabR2012b를 리용하여 최소두제곱법으로 산출하였다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 온도가 낮아짐에 따라 지연형Chick-Watson모형의 상수 k 의 값은 감소하는 한편 CT_{lag} 의 값은 증가하며 살균반응은 보다 느리게 진행되었다.

샘물생산실천에서는 목적하는 살균효과를 얻기 위한 오존농도기준을 살균모형으로부터 산출하여 규정하게 된다. 그러므

로 오존소독계통의 운영의 과학성을 담보하기 위해서는 계절적인 온도변동에 따르는 살균모형상수변화를 고려하여 오존농도기준을 결정하여야 한다.

표 2. 각이한 온도조건에서 지연형 Chick-Watson모형의 상수들

온도/°C	$k/(L \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1})$	$CT_{lag}/(mg \cdot min \cdot mL^{-1})$
20	1.71	2.20
15	1.36	3.16
10	1.09	4.64

맺 는 말

오존에 의한 샘플소독에서 계의 온도조건이 높아짐에 따라 살균반응은 보다 활발히 진행되며 샘플소독반응계의 온도가 10, 15, 20°C로 변화될 때 살균모형인 지연형Chick-Watson 모형상수 k 의 값은 각각 1.09, 1.36, 1.71L/(mg·min)으로 높아지고 CT_{lag} 의 값은 각각 4.64, 3.16, 2.20mg·min/mL로 낮아진다.

참 고 문 헌

- [1] 김일성 종합대학학보 자연과학, 63, 3, 137, 주체106(2017).
- [2] K. L. Bialka et al.; Journal of Food Engineering, 85, 3, 444, 2008.
- [3] C. O'Donnell et al.; Ozone in Food Processing, Wiley-Blackwell, 19~32, 2012.
- [4] D. Grasso et al.; J. Environ. Eng. ASCE, 115, 541, 1989.
- [5] C. G. Hewes et al.; Alcheringa J., 17, 141, 1971.
- [6] A. Matthew et al.; Water Res., 37, 833, 2003.
- [7] Nathalie Facile et al.; Water Res., 34, 3238, 2000.
- [8] J. S. Novak et al.; Food Microbiology, 21, 667, 2004.
- [9] J. L. Rennecker et al.; Water Res., 34, 4121, 2000.
- [10] S. M. Dow et al.; Water Res., 40, 373, 2006.
- [11] M. V. Selma et al.; Food Microbiology, 24, 492, 2007.
- [12] W. H. Slawomir et al.; Water Res., 33, 2130, 1999.
- [13] D. E. Sullivan et al.; Alcheringa Symp. Ser. No. 179, 76, 142, 1979.
- [14] C. Yuteri et al.; Ozone Sci. Eng., 10, 3, 1988.
- [15] 张永清 等; 湖北农业科学, 53, 7, 1543, 2014.

Influence of Temperature on Mineral Water Disinfection Effect by Ozone

Kye Ji Yon, Yun Un Hui

Various bacterial strains including aerobic spores of *Bacillus subtilis* and microbial indicators of mineral water like *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, anaerobic spores of *Clostridium perfringens*' sensitivities to ozone were evaluated. The disinfection kinetics of aerobic spores of *B. subtilis*, which had the highest resistance to ozone as the disinfection indicator, was investigated in a batch reactor for three temperatures (10, 15, 20°C). The kinetics of ozone disinfection was found to satisfactorily fit the delayed Chick-Watson model. Higher temperature resulted in higher disinfection effectiveness. The constants of the delayed Chick-Watson model, k and CT_{lag} were determined at various temperature and these should be used in ensuring the effectiveness of disinfection when operating the disinfection system.

Key words: ozone, disinfection, mineral water