

이산화염소수와 오존수의 살균효과평가에 미치는 몇가지 중화제의 영향

계지연, 전정혁, 윤은희

소독제의 살균효과를 정확히 평가하기 위하여서는 소독제처리후 규정된 시간에 이르러 반응계에 남아있는 잔여소독제를 즉시 중화함으로써 잔여소독제에 의한 미생물억제 작용이 더이상 나타나지 않도록 하여야 한다.[4, 7, 12-14]

소독제의 살균효과평가를 위한 중화제는 미생물들의 생장에 부정적인 영향이 없고 소독제들의 작용방식과 작용대상이 각이한데 따라 잔여소독제를 효과적으로 중화할수 있게 옳바로 선정하여 리용하여야 한다.[14]

우리는 산화물형태의 소독제들인 이산화염소수와 오존수의 살균효과평가에 미치는 티오류산나트륨[4, 7, 13], 폴리소르비트 80[6], 레시틴[12] 등 몇가지 중화제들의 영향을 밝혔다.

재료 및 방법

실험균주로서 전문균주보관소에 보존되어있는 *Bacillus subtilis*-89M, *Escherichia coli* ATCC 25922[11](《中国工业微生物菌种保藏管理中心》)를 리용하였다. *B. subtilis*-89M 아포액과 *E. coli* ATCC 25922균액의 조제는 선행연구[7, 9]에 준하여 진행하였으며 희석액으로는 pH 7.2의 0.01mol/L 린산완충용액(PBS)을 리용하였다.

이산화염소수의 농도측정은 선행방법[1]에 준하여 진행하였으며 수중오존농도는 휴대용수중오존농도측정기(《DXR-W》)를 리용하여 결정하였다.

살균효과평가를 위한 미생물배양에는 트립톤콩우무배지(TSA)를 리용하였다. 효과성검토에 리용된 중화제들의 농도는 티오류산나트륨인 경우 0.1%[12], 폴리소르비트 80인 경우 3%[6, 12], 레시틴인 경우 0.3%[6]로 설정하였다.

중화제들의 영향을 확인하기 위한 반응조구성은 표 1과 같다.

표 1. 중화제의 중화효과검토를 위한 반응조구성

구분	반응조구성	목적
1조	소독액+실험균액	소독제가 실험균주에 대한 살균효과 혹은 억균작용이 있는가를 판정
2조	소독액+실험균액+중화액	잔여소독제를 중화한 후에 소독작용을 받았던 실험균주가 회복생장이 가능한가를 판정
3조	실험균액+중화액	실험균주에 대한 중화제의 억균작용유무를 판정
4조	소독액+중화액+실험균액	중화반응산물 혹은 완전중화되지 못한 잔여소독제가 실험균주의 증식에 영향을 미치는가를 판정
5조	희석액+실험균액	기타 반응조들에 대한 균수대조
6조	소독액+중화액	음성대조

표 1에 따라 구성된 반응조들의 배양결과에 기초하여 선행방법[14]에 따라 중화제로서의 리용가능성을 판정하였다.

결과 및 논의

1) *B. subtilis*-89M 아포와 *E. coli* ATCC 25922에 대한 중화제들의 영향

중화제들이 실험균주에 미치는 영향을 보기 위하여 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80, 레시틴을 해당한 농도로 각각 포함한 TSA배지에서 *B. subtilis*-89M 아포와 *E. coli* ATCC 25922의 성장특성을 관찰하였다.(그림 1) *B. subtilis*-89M 아포의 초기접종량은 평판당 3×10^2 CFU, *E. coli* ATCC 25922의 초기접종량은 평판당 1.3×10^2 CFU이다.

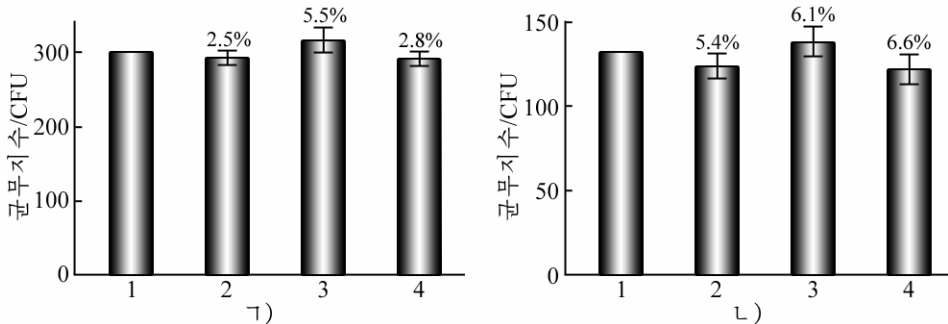


그림 1. 각이한 종류의 중화제가 있는 조건에서 실험균주들의 성장특성
 ㄱ) *B. subtilis*-89M, ㄴ) *E. coli* ATCC 25922; 1-대조, 2-0.1% 티오류산나트륨,
 3-3% 폴리소르비트 80, 4-0.3% 레시틴

그림 1에서 보는바와 같이 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80, 레시틴이 각각 포함된 TSA배지들에서 실험균주들의 성장특성을 비교한 결과 *B. subtilis*-89M 아포와 *E. coli* ATCC 25922에 대하여 모두 대조에 비한 차이가 10%미만인것으로 하여 유의성있는 차이가 없다고 볼수 있다. 이것은 규정한 농도에서 *B. subtilis*-89M 아포와 *E. coli* ATCC 25922에 대한 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80, 레시틴자체의 부정적인 영향은 없다는것을 보여준다.

2) 잔여이산화염소의 작용을 중화하기 위한 중화제효과성검토

0.02%의 이산화염소수의 살균효과판정에 미치는 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80, 레시틴의 영향을 *B. subtilis*-89M의 아포를 리용하여 검토한 결과는 표 2와 같다. 아포액의 접종농도는 3×10^6 CFU/mL이며 0.02% 이산화염소수와 실험균액의 접촉시간은 1min[5]으로, 중화제반응시간, 중화반응산물과 실험균액의 접촉시간은 10min[14]으로 설정하였다.

표 2. 0.02% 이산화염소수의 살균효과(CFU/mL)판정에 미치는 중화제들의 영향

구분	티오류산나트륨	폴리소르비트 80	레시틴
1조	0	0	0
2조	234±14	97±12	0
3조	(289±14)×10 ⁴	(299±12)×10 ⁴	(246±10)×10 ⁴
4조	(280±31)×10 ⁴	(272±12)×10 ⁴	(30±7)×10 ⁴
5조	(298±25)×10 ⁴	(298±16)×10 ⁴	(298±13)×10 ⁴
6조	0	0	0
3, 4, 5조 호상간편차/%	2.04	4.09	56.32

반응계온도 (20±1)℃, pH 7.0±0.2, 실험균주 *B. subtilis*-89M 아포

표 2에서 보는바와 같이 이산화염소수를 처리한 후 아포액을 그대로 접종한 1조 반응

구에서는 균생장이 관찰되지 않았으나 이산화염소수처리후 중화제로서 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80을 리용한 2조 반응구에서는 실험균주의 생장이 관찰되었다. 세가지 소독제들에 한하여 3, 4, 5조 반응구들의 배양결과를 비교하여보면 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80의 반응조에서는 3, 4, 5조 호상간편차가 15%미만으로서 허용가능한 범위내에 있었으나 레시틴의 경우에는 56.32%로서 허용할수 없는 편차값을 나타내었다.

0.05%의 이산화염소수의 살균효과판정에 미치는 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80, 레시틴의 영향을 *E. coli* ATCC 25922를 리용하여 검토한 결과는 표 3과 같다. 균액접종농도는 1.3×10^6 CFU/mL, 0.05% 이산화염소수와 실험균액의 접촉시간은 1min[6]으로, 중화제 반응시간, 중화반응산물과 실험균액의 접촉시간은 10min[14]으로 설정하였다.

표 3. 0.05% 이산화염소수의 살균효과(CFU/mL)판정에 미치는 중화제들의 영향

구분	티오류산나트륨	폴리소르비트 80	레시틴
1조	33±11	33±11	33±11
2조	242±8	160±15	134±10
3조	$(126 \pm 13) \times 10^4$	$(125 \pm 3) \times 10^4$	$(123 \pm 7) \times 10^4$
4조	$(122 \pm 3) \times 10^4$	$(116 \pm 2) \times 10^4$	$(111 \pm 13) \times 10^4$
5조	$(129 \pm 5) \times 10^4$	$(129 \pm 5) \times 10^4$	$(129 \pm 5) \times 10^4$
6조	0	0	0
3, 4, 5조 호상간편차/%	2.00	4.07	5.38

반응계온도 (20±1)°C, pH 7.0±0.2, 실험균주 *E. coli* ATCC 25922

표 3에서 보는바와 같이 0.05% 이산화염소수를 1min간 처리하고 대장균액을 그대로 접종한 1조 반응구에서는 균무지가 검출되었으나 이산화염소수처리후 중화제를 작용시킨 2조 반응구들에서보이는 적은 수의 균무지가 검출되었다. 세가지 소독제들에 한하여 3, 4, 5조 호상간편차는 티오류산나트륨, 폴리소르비트, 레시틴의 경우에 모두 15%미만으로서 허용가능한 범위내에 있었다.

이산화염소수와 각이한 중화제들사이의 중화반응결과에 산생되는 물질들이 실험균주의 생장에 미치는 영향을 보기 위하여 0.02%의 이산화염소수와 중화제들의 중화반응산물과 실험균액과의 접촉시간을 연장하면서 접촉시간에 따르는 균수변화를 관찰하였다.(그림 2)

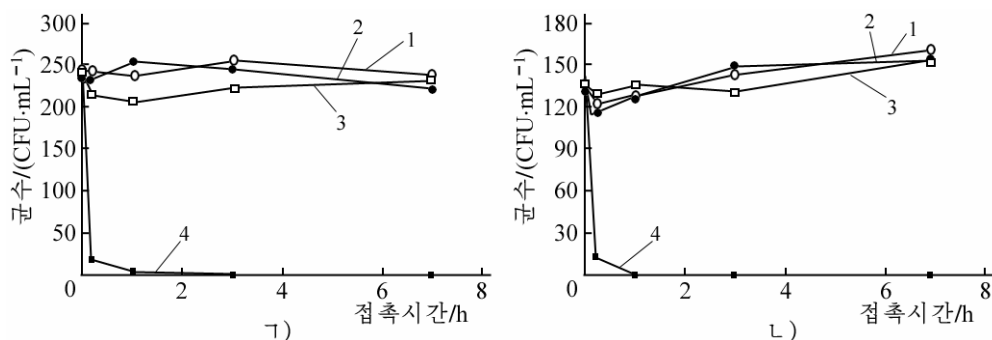


그림 2. 이산화염소수중화반응산물과의 접촉시간에 따르는 실험균액의 균수변화동태

ㄱ) *B. subtilis*-89M, ㄴ) *E. coli* ATCC 25922; 1-대조, 2-0.1% 티오류산나트륨, 3-3% 폴리소르비트 80, 4-0.3% 레시틴; 반응계온도 (10±1)°C, pH 7.0±0.2

그림 2에서 보는바와 같이 0.02%의 이산화염소수와 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80의 중화반응산물의 경우에는 접촉시간을 7h까지 연장하여도 *B. subtilis*-89M 아포에 대하

여 유의성있는 군수변화가 관찰되지 않았으나 레시틴의 경우에는 접촉시간 10min에 벌써 군수가 급격히 감소하기 시작하여 7h에 이르러서는 군무지가 검출되지 않았다. *E. coli* ATCC 25922의 경우에도 티오류산나트륨과 폴리소르비트 80의 경우에 접촉시간 1h까지 높은 안정성을 보여주었으며 3h부터는 약간의 군수증가경향이 나타났다. 그러나 레시틴의 경우에는 접촉시간 10min부터 군수가 대폭 감소하였으며 1h이후의 반응물을 접종한 평판들에서는 군무지가 검출되지 않았다.

이상의 결과를 종합하여보면 이산화염소수의 잔여소독제중화에는 티오류산나트륨과 폴리소르비트 80이 적합하며 중화제처리후 3h까지 실험균액의 군수가 안정하게 유지된다는것을 보여준다.

3) 잔여오존의 작용을 중화하기 위한 중화제적합성검토

오존수에 대한 0.1% 티오류산나트륨, 3% 폴리소르비트 80, 0.3% 레시틴의 중화작용을 *B. subtilis*-89M의 아포를 리용하여 검토한 결과는 표 4와 같다. 아포액의 접종농도는 2×10^6 CFU/mL, 오존수의 초기농도는 0.000 09~0.000 10%로 설정하였다. 오존수와 실험균액의 접촉시간은 10min[5]으로, 중화제반응시간, 중화반응산물과 실험균액의 접촉시간은 10min[14]으로 설정하였다. 0.000 09~0.000 10%의 초기농도를 가지는 오존수는 10min이 지나서 농도가 0.000 08~0.000 09%로 감소하였다.

표 4. 0.000 08~0.000 09% 오존수의 살균효과(CFU/mL)판정에 미치는 중화제들의 영향

구분	티오류산나트륨	폴리소르비트 80	레시틴
1조	17±3	17±3	17±3
2조	134±14	88±7	3±1
3조	$(226 \pm 8) \times 10^4$	$(219 \pm 13) \times 10^4$	$(.27 \pm 15) \times 10^4$
4조	$(219 \pm 9) \times 10^4$	$(204 \pm 7) \times 10^4$	$(70 \pm 3) \times 10^4$
5조	$(219 \pm 17) \times 10^4$	$(219 \pm 17) \times 10^4$	$(219 \pm 17) \times 10^4$
6조	0	0	0
3, 4, 5조 호상간편차/%	1.54	3.08	39.38

반응계온도 (20±1)°C, pH 7.5±0.2, 실험균주 *B. subtilis*-89M 아포

표 4에서 보는바와 같이 0.000 09~0.000 10% 오존수를 10min동안 처리하고 아포액을 그대로 접종한 1조 반응구에서 검출된 군무지수는 오존수작용후 중화제로서 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80을 처리한 2조 반응구에서 검출된 군무지수보다 훨씬 적었다. 레시틴으로 처리한 경우에는 1조 반응구에서 더 많은 군무지가 검출되었다. 세가지 소독제들에 한하여 3, 4, 5조 반응구들의 배양결과를 비교하여보면 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80의 반응조에서는 3, 4, 5조 호상간편차가 허용가능한 범위내에 있었으나 레시틴의 경우에는 39.38%로서 허용할수 없는 편차값을 나타내었다.

0.000 010~0.000 015%의 오존수에 대한 0.1% 티오류산나트륨, 3% 폴리소르비트 80, 0.3% 레시틴의 중화작용을 *E. coli* ATCC 25922를 리용하여 검토한 결과는 표 5와 같다.

균액접종농도는 1.2×10^6 CFU/mL로 보장하였으며 오존수와 실험균액의 접촉시간은 10s[5]로, 중화제반응시간, 중화반응산물과 실험균액의 접촉시간은 10min[14]으로 설정하였다.

표 5에서 보는바와 같이 0.000 010~0.000 015% 오존수처리후 대장균액을 그대로 접종한 1조 반응구들에서는 중화제를 처리한 2조 반응구들에서보다 적은 수의 군무지가

표 5. 0.000 010~0.000 15% 오존수의 살균효과(CFU/mL)판정에 미치는 중화제들의 영향

구분	티오류산나트륨	폴리소르비트 80	레시틴
1조	84±7	84±7	84±7
2조	333±12	255±8	213±10
3조	(103±4)×10 ⁴	(100±2)×10 ⁴	(99±5)×10 ⁴
4조	(118±11)×10 ⁴	(103±7)×10 ⁴	(94±7)×10 ⁴
5조	(128±8)×10 ⁴	(128±8)×10 ⁴	(128±8)×10 ⁴
6조	0	0	0
3, 4, 5조 호상간편차/%	7.50	10.67	13.00

반응제온도 (20±1)°C, pH 7.5±0.2, 실험균주 *E. coli* ATCC 25922

검출되었다.

세 가지 중화제들에 대하여 3, 4, 5조 반응구들의 배양결과를 비교하여보면 티오류산나트륨, 폴리소르비트, 레시틴의 반응조에서 최대편차가 모두 15%미만으로서 허용가능한 범위내에 있었다.

오존수와 각이한 중화제들사이의 중화반응산물들이 실험균주의 생장에 미치는 영향을 보기 위하여 0.000 09~0.000 1% 오존수와 중화제들의 중화반응산물과 실험균액과의 접촉시간을 연장하면서 시간에 따르는 균수변화를 관찰하였다.(그림 3)

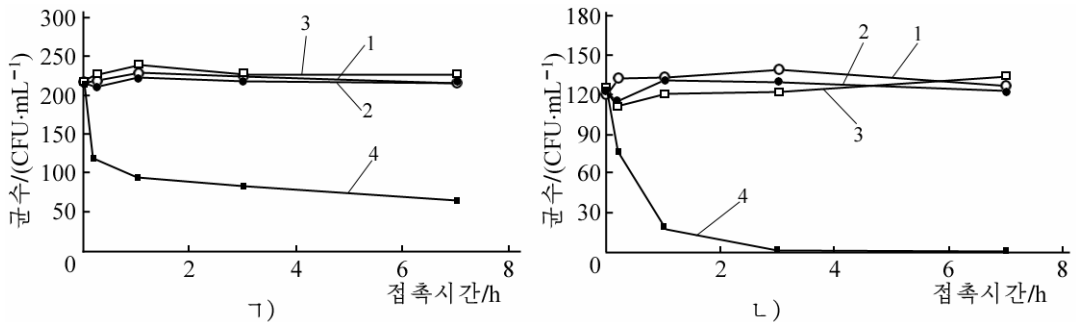


그림 3. 오존중화반응산물과의 접촉시간에 따르는 실험균액의 균수변화동태

ㄱ) *B. subtilis*-89M, ㄴ) *E. coli* ATCC 25922; 1-대조, 2-0.1% 티오류산나트륨, 3-3% 폴리소르비트 80, 4-0.3% 레시틴; 반응제온도 (10±1)°C, pH 7.5±0.2

그림 3에서 보는바와 같이 오존수와 티오류산나트륨, 폴리소르비트 80의 중화반응산물의 경우에는 접촉시간을 7h까지 연장하여도 *B. subtilis*-89M 아포에 대하여 유의성있는 균수변화가 관찰되지 않았으나 레시틴에서는 접촉시간 10min부터 7h까지 감소되는 경향성이 나타났다. *E. coli* ATCC 25922의 경우에도 티오류산나트륨과 폴리소르비트 80의 경우에 접촉시간 7h까지 높은 안정성을 보여주었으나 레시틴의 경우에는 접촉시간 10min부터 균수가 대폭 감소하였으며 그 경향성은 *B. subtilis*-89M 아포보다 심하였다.

이로부터 오존수의 소독작용중화에는 0.1% 티오류산나트륨과 3% 폴리소르비트 80이 적합하며 중화제처리후 7h까지 실험균액의 균수가 안정하게 유지된다는것을 알수 있다.

티오류산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)은 일종의 환원제로서 이산화염소나 오존과 반응하여 그 산화제적성질을 제거[3]하지만 폴리소르비트 80(폴리옥시에틸렌소르비탄모노올레인산)과 레시틴(포스파티딜콜린)은 분자내에 친수성기와 소수성기를 함께 가지고있는것으로 하여 계면활성작용을 통하여 4급암모늄화합물, 파라벤즈, 비스비구아니드, 페놀류와 같은 소독제들을 중화하는것으로 알려져있다.[8, 10] 이산화염소수와 오존수에 대하여 레시틴이 효과

적인 중화작용을 하지 못하는것으로 보아 산화제들에 대한 중화작용과 계면활성작용은
 련관이 없다는것을 알수 있다. 기름질은 오존과 반응하여 과산화물을 형성[2]하므로 레시
 틴을 중화제로 리용할 때 중화반응산물이 실험균주에 부정적인 영향을 준것으로 볼수 있
 다. 이로부터 우리는 이산화염소수와 오존수의 소독작용중화제로서 티오류산나트륨과
 폴리소르비트 80을 리용할수 있으며 이산화염소수와 오존수의 농도가 각각 0.002, 0.000 1%
 이하인 경우 0.1% 티오류산나트륨과 3% 폴리소르비트 80이 적합하다는것을 알수 있다.

맺는 말

이산화염소수와 오존수의 잔여소독제에 대한 중화제로서 티오류산나트륨과 폴리소
 르비트 80을 리용할수 있으며 이산화염소수와 오존수의 농도가 각각 0.02, 0.000 1%이하
 인 경우 0.1% 티오류산나트륨과 3% 폴리소르비트 80이 효과적이다.

참고 문헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 52, 5, 104, 주체95(2006).
- [2] C. O'Donnell et al.; Ozone in Food Processing, Wiley-Blackwell, 25~28, 2012.
- [3] Alejandro Caravelli et al.; Water SA, 32, 4, 585, 2006.
- [4] N. H. Charles et al.; Wat. Res., 37, 2980, 2003.
- [5] R. M. Clark et al.; Safety of Water Disinfection: Balancing Chemical and Microbial Risks,
 Craun G. F. ed. ILSI Press, 26~28, 1993.
- [6] Diane Roberts et al.; Practical Food Microbiology, Blackwell Publishing, 56~63, 2002.
- [7] A. Matthew et al.; Wat. Res., 37, 833, 2003.
- [8] J. Michael et al.; J. Soc. Cosmet. Chem., 34, 35, 1983.
- [9] K. Nimrata et al.; Wat. Res., 31, 6, 1355, 1997.
- [10] Syed Imtiaz Haider; Validation Standard Operating Procedure, Tayler & Fancis, 439~441, 2006.
- [11] GB/T 8538-2008: 饮用天然矿泉水检验方法.
- [12] 史利支 等; 中华医院感染学杂志, 13, 4, 2003.
- [13] 张永清 等; 湖北农业科学, 53, 7, 2014.
- [14] 中和人民共和国卫生部; 消毒技术规范, 中和人民共和国卫生部, 56~61, 2002.

주체105(2016)년 11월 5일 원고접수

Efficacy of Several Neutralizers in Assessing the Disinfection by Aqueous Chlorine Dioxide and Ozone

Kye Ji Yon, Jon Jong Hyok and Yun Un Hui

0.1% sodium thiosulfate solution and 3% polysorbate 80 are both available as a
 neutralizer to quench the chlorine dioxide and ozone residual in assessing the disinfection
 efficiency, when the concentration of aqueous chlorine dioxide and ozone do not exceed
 0.02% and 0.000 1%, respectively.

Key words: neutralizer, chlorine dioxide, ozone, disinfection