

TiO₂ 광촉매를 이용한 병원성 세균의 살균에 관한 연구

나재현, 김대영, 조성용, 김승재^{1,*}
전남대학교 환경공학과, ¹전남대학교 환경연구소
(sjkim@chonnam.ac.kr*)

A study on sterilization of pathogenic bacteria using titanium dioxide photocatalyst

Jae-Hyun Na, Tae-Young Kim, Sung-yong Cho, Seung-Jai Kim^{1,*}
Department of Environment Engineering, ¹Environmental Reach Institute, Chonnam National
University
(sjkim@chonnam.ac.kr*)

서론

최근 미생물의 살균 수단으로 TiO₂ 광촉매의 광화학반응을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이 때 사용되는 물질들은 사용중에 안전·무해해야 하는 것이 필수적인 조건이다. TiO₂는 통상의 조건에서는 산이나 알칼리에도 녹지 않고, 물리적·화학적으로 안정하며 무독성이다. TiO₂는 백색 안료로서 폭넓게 사용되고 있는 것 외에, 자외선을 흡수하는 성질을 이용하여 화장품에도 사용되고 있으며, 더욱이 식품첨가물로도 인가되어 있다 [1].

TiO₂를 이용한 살균방법은 전형적인 살균 방법인 소독 방법과는 구별되는 몇가지 특징이 있다. TiO₂ 살균의 대상 물질은 Viruses, Bacteria, Fungi, Protozoa Algae 등의 유기체들(Pathogenic Organisms)이며, TiO₂ 살균 Mechanisms에 관한 연구도 최근 여러 연구자들에 의해 보고 되고 있다 [2~6].

유기물의 분해, 항균 및 살균, 탈취, 물의 정화 등 다양한 분야에서 이산화티탄(TiO₂)을 이용한 광촉매 반응에 대한 연구가 진행되어지고 있다 [7,8]. TiO₂를 이용한 유기체에 대한 살균효과는 1985년 Matsunaga et al. [9]에 의한 미생물 살균 효과에 대한 첫 번째 보고 이후, 광촉매의 살균효과에 대한 관심이 증대되었고 광촉매가 인체에 미치는 영향에 대한 연구 또한 진행되고 있다.

본 연구에서는 병원 폐수의 방류수에 포함되어 나오는 병원성 세균을 선택하여 TiO₂에 의한 살균 효과를 연구하였다. UV조사시간, TiO₂ 농도, 온도, pH 등 반응인자를 변화시키면서 광촉매 살균 반응 실험을 수행하였으며, 반응표면분석법(Response Surface Methodology Box-Behnken Design)을 이용하여 최적의 살균 조건을 연구하였다.

실험장비 및 방법

1. 실험 장치 및 재료

1-1. 실험장치

광촉매 살균 실험 장치는 직경이 11cm, 높이 18cm의 원통형으로 Pyrex Glass를 사용하여 제작하였다. UV-A 빛이 반응기 내부에 직접 조사되어 TiO₂-Cell 슬러리 상태에서 광촉매 살균 반응이 활발하게 일어나도록 하였으며, UV Lamp를 고정하기 위하여 덮개의 중앙에는 직경 3.5cm의 고정구를 만들었다. 광촉매 살균 반응 시 일정온도를 유지하기 위해

반응기를 이중관으로 제작하여 항온조절을 하였으며, 장치 하단에는 원활한 교반을 위해 Magnetic Stirrer를 설치하였다.

UV Lamp(BLB 8W/05, Sankyo. Co. Japan)는 광촉매 살균 실험 장치에 1개 설치하였으며, UV Lamp의 길이는 27cm(단방향 전원형)이다.

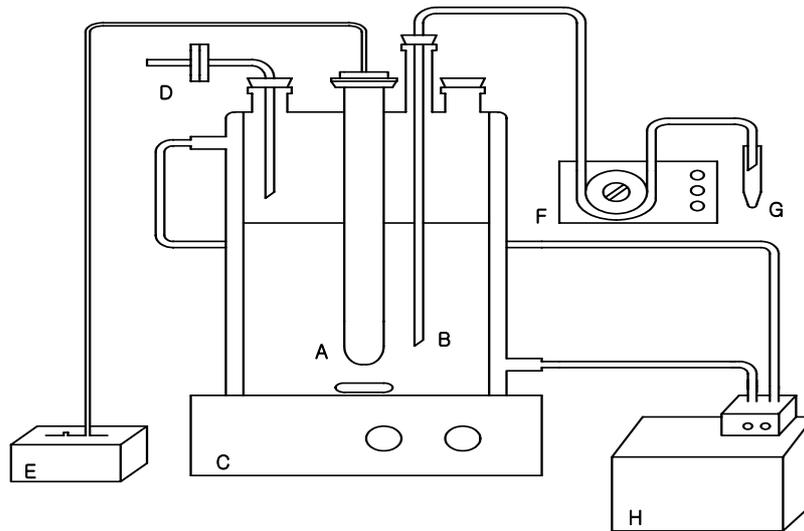


Fig 1. Experimental apparatus for photocatalytic reaction (Batch reactor system). A: UV lamp, B: Sampling tube, C: Stirrer, D: Air filter, E: UV power supply, F: Peristaltic pump, G: Sample tube, H: Temperature controller

1-2. 균주 및 배지

본 연구에서 사용한 균주는 병원 폐수의 방류수에 포함되어 나오는 병원성 세균을 선택하여 실험하였다. 배지는 미생물을 키울 수 있는 가장 일반적인 배지라 할 수 있는 LB 배지(Luria-Bertani media)를 만들어 사용하였으며, 균의 세척 및 희석용 Buffer용 희석수는 PBS(Phosphate-buffer saline)를 사용하였다.

1-3. TiO₂ 광촉매

본 실험에서 사용한 광촉매(TiO₂)는 미국 Aldrich사에서 구입하여 사용하였다. Table 1은 본 실험에 사용한 TiO₂의 물리적인 특성을 나타내고 있다.

Table 1. Physical properties of TiO₂ photocatalyst.

	Type	Surface area [m ² /g]	Pore size [Å]	Pore volume [ml/g]
Aldrich	Anatase	12.02	57.48	0.0172

※ Molecular weight : 79.90g

※ Assay : above 99%

2. 실험방법

살균 실험에 앞서 병원폐수로부터 얻은 균들을 LB 액체배지에서 접종하여 배양시킨 후, LB 고체배지에서 균을 동정하여 살균 실험에 사용하였다.

병원폐수에서 분리한 균을 멸균(121°C, 15분)한 배양액에 접종한 후 33±0.5°C로 유지되는 Rotary Shaker에서 24시간 배양하였고, 배지는 멸균 처리한 후 고체배지로 만들어 실온의 Incubator에 보관하여 사용하였다.

회분식 배양은 100ml flask에 50ml LB 배지를 넣고, 균을 접종하여 Rotary Shaker에서 33±0.5°C, 150rpm으로 24시간 교반 하면서 탁도 변화를 통해 균의 성장 및 번식을 확인하였다.

광촉매 살균 실험은 Batch형 반응기에서 수행하였다. 본 실험에 사용된 반응기는 UV-A Lamp가 반응기 중앙에 설치되어 살균 효과를 최대화 시킬 수 있도록 하였다. 배양된 균을 15ml 실험관에 10ml를 담아 3000rpm, 10min간 원심분리한 후, 배지의 상등액과 균 케익을 분리한 다음 Buffer 용액으로 3~4회 세척하여 분석에 사용하였다. 광촉매 살균 실험에 사용한 시료의 전체 용량을 1000ml(100배 희석)이며, 실험온도 33±0.5°C, pH 7.4에서 실험을 수행하였으며, TiO₂의 농도 범위는 0.25 ~ 1.5 g/l 이었다.

살균 실험한 시료는 Buffer용액인 PBS(10×)를 사용하여, Sampling한 균주를 10⁶ cfu/ml까지 희석한 후, LB 배지에 0.1ml씩 접종하여 온도가 33±0.5°C인 Incubator에서 24시간 배양하여, 콜로니(Colony)의 유무를 조사하였다.

결과 및 토론

Fig 2.는 pH가 7.4, 온도가 33±0.5°C의 조건에서 광촉매의 농도가 0.25 ~ 1.5 g/l 일때, 살균 시간에 따른 Survival Ratio(%)를 도시한 것이다.

UV 광원이 없을 때는 시간에 따른 pathogenic bacteria 살균이 거의 되지 않았고, TiO₂가 증가함에 따라 0.25g/l에서 1.25g/l까지는 TiO₂의 농도 증가에 따라 살균율이 크게 향상되어 TiO₂ 농도가 1.25g/l일때는 살균 시간이 0.5시간 지나면, Survival Ratio가 40%, 1.5시간이 경과하면 완전히 살균됨을 보여준다.

TiO₂의 농도가 1.25g/l 이상인 1.5g/l일때는 살균력이 감소하였는데, 이것은 TiO₂ 입자가 부유되어 있어서 탁도의 증가 때문으로 인해 UV-A 투과력이 감소하였기 때문으로 생각된다.

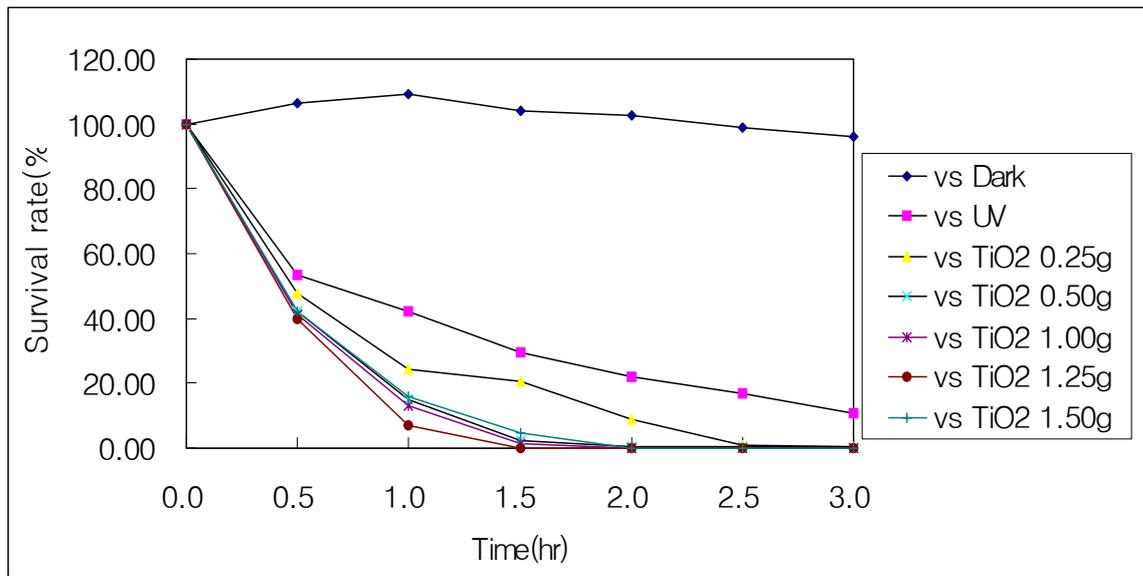


Fig 2. Effect of TiO_2 concentration on the survival ratio of pathogenic bacteria in the batch reactor under UV-A illumination.

결론

- 1) TiO_2/UV 살균에서 UV가 일정할 때, TiO_2 농도가 증가함에 따라서 살균력이 증가하였으며, 1.25 g/l 일때 최대 살균력을 보였고, 그 이상을 주입하였을 때는 오히려 살균력이 감소하였다.
- 2) TiO_2 의 농도가 1.25g/l일때, UV를 0.5시간 조사했을 경우에 60%의 사멸율을 보였고, 1.5시간이 지나면 거의 100%의 사멸율을 보였다.

참고문헌

1. Takeuchi Koji et al, 광촉매의 세계, 대영사, 2000.
2. K.V Ellis. *Crit. rev. Environ. Control*, 20, 341, 1991.
3. J.F. Kuo and S.O. Smith. *Water Environ. Res*, 68, 503, 1996.
4. C. von Sonntag, *Wat. Supply*, 4, 11, 1986.
5. R.A Larson and M.R. Berenbaum, *Environ Sci. Technol*, 22, 354, 1988.
6. S.B. Farr and T. Kogoma. *Microbiol. Rev*, 55, 561, 1991.
7. 菊池良彦국지양언 et al, 化學工業화학공업, 46(12), 937-942, 1995.
8. William A. Jacoby et al, "Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and the killing of cancer cells", *Separation and purification methods*, 28(1), 1-50, 1999
9. T. Matsunaga, R. Tomoda, T. Nakajima, and H. Wake, *FEMS Microbiol. Let.*, 29, 211, 1985