

## TiO<sub>2</sub> 촉매를 이용한 광살균 효과

주 현 규

건국대학교 농화학과

**초록** : TiO<sub>2</sub>를 이용한 광살균 효과를 규명하기 위하여 *Echerichia coli*, *Bacillus subtilis* 및 *Saccharomyces cerevisiae*의 광살균에 적합한 TiO<sub>2</sub>의 함량, TiO<sub>2</sub> 촉매에 효과적인 광살균 조사시간, 균종간 및 미생물농도 등에 대한 영향을 검토하였다. *E. coli* 광살균에서의 TiO<sub>2</sub> 촉매 적정함량은 10~20 mg 범위일 때 광살균 효과가 높았으며, 광파장의 영향은 400 nm 이하 파장을 차단한 것보다 차단하지 않았을 때가 살균시간을 단축하였지만 TiO<sub>2</sub> 촉매 효과는 처리나 무처리에서 모두 유사하였다. 균종별 광살균 효과는 TiO<sub>2</sub>의 첨가에 의한 촉매 효과가 인정되었으며 그 순위는 *S. cerevisiae*, *E. coli*, *B. subtilis*의 순이었다. 효모의 농도에 따른 광살균 효과는 10<sup>5</sup>의 농도에서 보다 10<sup>4</sup>의 농도에서 광살균 시간을 단축하였다(1992년 6월 11일 접수, 1992년 7월 19일 수리).

자연이 제공하는 미래의 energy원으로는 여러 가지가 있지만 광선과 원자가 보다 많은 비중을 차지할 것으로 기대되며, 특히 광선은 유기물질의 합성과 분해에 관여하기 때문에 그 응용범위가 넓어질 것으로 생각된다.<sup>1)</sup> 이러한 광선에 관해 시도되고 있는 응용에는 유기합성,<sup>2)</sup> 각종 자원생산,<sup>2,3)</sup> 유기물질의 분해<sup>4-6)</sup>와 미생물 살균<sup>7-9)</sup> 등이 대표적이며 이들 응용에 대한 기초연구로는 태양 광의 거리와 파장이 생합성 기능에 미치는 영향과 생물체내의 이용상태,<sup>9)</sup> 파장변화에 따른 에너지값의 변화와 반응효과,<sup>10)</sup> 광선조사에 의한 반도체의 광촉매 효과 및 반도체의 여기에 의해 형성되는 전자와 정공(正孔) 사이의 강력한 산화환원반응<sup>11)</sup> 등이 있다. 이상의 광화학 반응들은 카프로타람 생산, 아미노산합성 및 폐수 중의 유해물질 분해 등<sup>5,12)</sup>에 실제 공업적으로 응용되고 있기도 하다.

식품산업에 있어 현재 주로 이용되고 있는 가열살균법은 식품의 영양손실 및 물리화학적 악변, 유효균의 선택적인 사멸 뿐만 아니라 에너지면에서도 많은 비용이 소요되고 있기 때문에 보다 경제적이고 이상적인 살균법의 개발이 요구되고 있다. 초고압처리를 비롯한 식품의 새로운 살균법의 하나로 반도체 촉매를 이용한 광살균 효과를 기대할 수 있으나 이에 관한 응용과 연구는 매우 미진한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식품산업에 반도체 촉매의 광살균을 응용하기 위한 기초연구의 일환으로 반도체 중

식품에 무해한 TiO<sub>2</sub>를 선택하여 광살균에 유효한 TiO<sub>2</sub> 적정 첨가량, 균종별 및 균농도, 광파장과 조사시간에 의한 TiO<sub>2</sub>의 살균촉매 효과 등을 비교 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

균주는 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4124, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* AHU 1035을 사용하였으며, 반도체는 직경이 0.4 μm인 TiO<sub>2</sub>(일본 Aerosil사)로 순도는 99.99%이었다. 기타 본 실험에 사용한 시약들은 일급시약, 배지는 Difco. YM배지를 구입 사용하였다.

#### 장치

장치를 Fig. 1와 같이 구성하였으며 사용하기 직전에 cotton filter 장치는 건열살균을, pump와 cooling fan을 제외한 다른 실험장치는 가압습열살균을 행하였다. 광살균은 Pyrex 시험관(1.8×25 cm)에 Fig. 2와 같은 파장을 가진 500 W 고압 UV-수는 lamp(Lamp A)와 이 Lamp A의 400 nm 이하 파장을 차단한 Lamp B를 조사하여 실시하였다.

#### 방법

종균배양은 *S. cerevisiae*(YM-배지)와 *E. coli* 및 *B. sub-*

*tilis*(Nutrient broth 배지)를 각 100 ml의 배지에 1백금 나노 입자 접종하고 24시간 30 °C 에서 진탕배양하였다. 각 시험구는 TiO<sub>2</sub> 함량별, 균종간(*E. coli*, *S. cerevisiae*, *B. subtilis*), 균농도 a구(×10<sup>4</sup>)와 b구(×10<sup>5</sup>)로 구분하고, 광파장별(Fig. 2)로는 500 W 고압 UV-수은 lamp의 Lamp A와 Lamp B로 하였다. 광살균 조작은 시험관에 0.1 M phosphate buffer액 9 ml와 TiO<sub>2</sub>를 함량별로 넣고, 살균(121 °C, 15분)한 후 미리 배양한 종균액을 원심분리(3,000 rpm, 15 min)하여 생리식염수로 세척하고 적합한

균농도(×10<sup>3</sup>/ml)로 희석한 다음 그 액 1 ml에 TiO<sub>2</sub>를 넣어 살균한 시험관에 무균적으로 주입 접종하고 시간 별로 광조사를 실시하였다. 균수측정은 광조사한 각 시험구를 생리식염수로 희석하여 *S. cerevisiae*는 YM-배지에, *E. coli*와 *B. subtilis*는 Nutrient broth 배지에 각각 접종 후 30°C 에서 60시간 배양하여 나타난 colony수로 계산하였다.

결과 및 고찰

TiO<sub>2</sub> 함량별 광살균 효과

TiO<sub>2</sub>를 함량별로 넣고 광조사 시간을 달리한 *E. coli*의 광살균 효과는 Table 1과 같이 TiO<sub>2</sub> 첨가 농도에 따른 살균효과가 조사시간에 따라 유의있게 나타났다. TiO<sub>2</sub> 첨가 농도별 조사시간별 살균효과는 Lamp A로 15초 조사의 경우 0.5 mg/10 ml, 30초 조사에서는 1.0~2.0 mg/10 ml, 60초 조사에서는 2 mg/10 ml 전후로 최소생균수를 나타내서 TiO<sub>2</sub> 첨가량과 조사시간의 연장에 따라 그 농도범위가 일정한 경향은 없으나 조사시간을 고려한 종합적인 최적범위는 0.5~2.0 mg/10 ml일 것으로 추정되었다.

이와같은 결과는 Matsunaga 등<sup>8)</sup>이 *S. cerevisiae*의 광살균 실험에서 TiO<sub>2</sub>를 10 mg/40 ml로 첨가하였을 때 살균효과가 있었다는 보고와 비슷한 함량으로 이는 균종이 다르고 살균시간이 장시간임에도 60초간 광조사한 경우보다 0.5 mg/10 ml의 차이뿐임을 고려할 때 균종간의 큰 차이는 없는 것으로 생각된다.

한편, 田中<sup>1)</sup>는 유기물 분해실험에서 TiO<sub>2</sub>를 5 mg/ml로 첨가하였을 때 그 분해능력이 있었다고 하였으며, 原田 등<sup>6)</sup>은 2,4,6-trichlorophenol의 광분해 실험에서 TiO<sub>2</sub>를 10~15 mg/ml의 농도에서 약 35% 분해반응의 효과가 있었다는 보고 등으로부터 유효 TiO<sub>2</sub> 함량은 연구보고에 따라 함량 차이가 크지만 본 실험의 TiO<sub>2</sub> 함량보다는

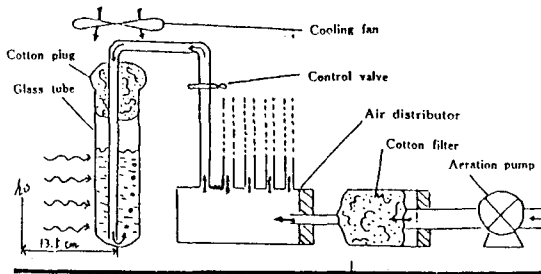


Fig. 1. Schematic diagram of photosterilization reactor.

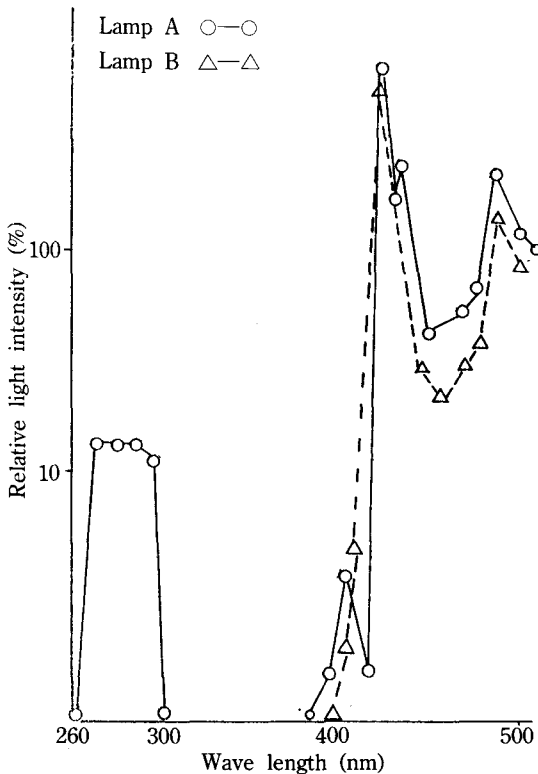


Fig. 2. Wave length specificity of Lamp A and Lamp B.

Table 1. Effect of TiO<sub>2</sub> concentration on photosterilization of *E. coli* (Unit : Viable Cell No. ×10<sup>4</sup>)

TiO <sub>2</sub> mg/10 ml	Illumination time (sec)		
	15	30	60
0	85	58	15
0.5	54	27	9
1.5	70	5	4
2.0	72	5	3
5.0	76	46	27
10.0	99	—	34

수십배 이상에 해당함을 알 수 있다.

광살균 또는 광분해에서 TiO<sub>2</sub> 촉매가 가지는 산화환원기능은 유사한 것으로 생각되지만 그 효과에 있어 첨가량의 차는 매우 크기 때문에 좀더 자세한 함량차 등에 대한 연구와 고찰이 요구되고 있다.

**광파장별 조사시간에 의한 TiO<sub>2</sub> 촉매의 광살균 효과**

Lamp A와 Lamp B간의 광조사 시간별 TiO<sub>2</sub> 촉매의 살균효과는 Table 2~4와 같다.

광살균 시간은 TiO<sub>2</sub> 첨가여부에 관계없이 모두 Lamp A에서 단축되고, Lamp B에서 연장되는 결과를 보였다.

Lamp B는 400 nm 이하의 파장이 없고 Fig. 2에 나타난 바와 같이 광도 또한 약하기 때문에 광조사 시간이 연장된 것으로 추정되며 TiO<sub>2</sub>를 첨가한 Lamp B는 Lamp A에서와 같이 TiO<sub>2</sub>의 촉매 효과를 관찰할 수 있었다. 이는 TiO<sub>2</sub>의 광흡수 파장이 420 nm 이하이기 때문에 400 nm 이하의 파장이 없는 광에서도 광살균 작용이 있었을 것으로 추론된다.

*E. coli*는 Lamp A의 경우 1분간 광조사에 의해 TiO<sub>2</sub> 무첨가구에서 3.8%, TiO<sub>2</sub> 첨가구는 1.8%가 생존하여 TiO<sub>2</sub> 첨가구는 무첨가구 보다 살균율이 47.4% 높았다. 그러나 Lamp B에서는 1분 광조사에 의해 TiO<sub>2</sub> 무첨가구는 9.7

Table 2. The effects of irradiation and TiO<sub>2</sub> on photosterilization of *E. coli* (Unit : Viable Cell No. ×10<sup>3</sup>)

Lamp	TiO <sub>2</sub> mg%	Illumination time (min)						
		0	1/4	1/2	1	20	30	40
Lamp A	0	400(100)	85(21.3)	58(14.5)	15( 3.8)	0		
	5	400(100)	54(13.5)	27( 6.8)	7( 1.8)	0		
Lamp B	0	310(100)			280(90.3)	70(22.6)	62(20.0)	12(3.9)
	5	310(100)			210(67.7)	55(17.7)	0	0

( ): %

Table 3. The effects of irradiation and TiO<sub>2</sub> on photosterilization of *B. subtilis* (Unit : Viable Cell No. ×10<sup>3</sup>)

Lamp	TiO <sub>2</sub> mg%	Illumination time (min)							
		0	1/4	1/2	1	5	15	30	60
Lamp A	0	325(100)	180(55.4)	43(13.0)	0				
	5	325(100)	168(51.7)	13( 4.0)	0				
Lamp B	0	100(100)				97(97)	62(62)	29(29)	0
	5	100(100)				86(86)	52(52)	21(21)	0

( ): %

Table 4. The effects of irradiation and TiO<sub>2</sub> on photosterilization of *S. cerevisiae*

(Unit : Viable Cell No. ×10<sup>3</sup>)

Lamp	TiO <sub>2</sub> mg%	Illumination time (min)									
		0	1/6	1/2	1	2	4	15	30	45	60
Lamp A	0	7.3	4.8	2.9	0.86	0.20	0.02				
		(100)	(65.8)	(39.2)	(11.7)	(2.7)	(0.3)				
	5	7.3	3.7	1.9	0.19	0.02	0				
		(100)	(50.2)	(26.0)	( 2.6)	(0.3)	0				
Lamp B	0	3.5	-	-	3.4	-	-	2.25	1.7	0.25	0.01
		(100)			(90.1)			(64.3)	(48.6)	(7.1)	(0.3)
	5	3.5			2.8			2.00	1.15	0.15	0
		(100)			(80.0)			(57.0)	(3.3)	(4.3)	0

( ): %

Table 5. Effects of Lamp B irradiation and TiO<sub>2</sub> on photosterilization of various microorganisms  
(Unit : Viable Cell No. × 10<sup>3</sup>)

Microorganism	TiO <sub>2</sub> mg%	Illumination time (min)					
		0	5	10	15	30	60
<i>E. coli</i>	0	43(100)	25(58)	22(51)	—	0	
	5	43(100)	21(49)	17(40)	—	0	
<i>S. cerevisiae</i>	0	23(100)	18(78)		16(70)	8(35)	0
	5	23(100)	15(65)		10(43)	4(17)	0
<i>B. subtilis</i>	0	100(100)	95(95)		62(62)	29(29)	0
	5	100(100)	86(86)		52(52)	21(21)	0

( ) : %

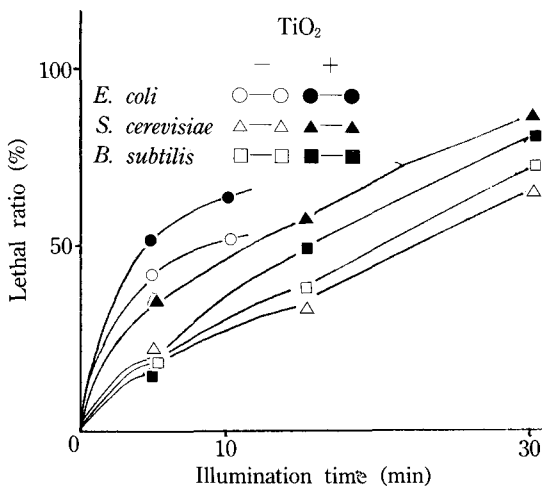


Fig. 3. Lethal ratio of *E. coli*, *S. cerevisiae* and *B. subtilis* by irradiation with Lamp B in the presence or absence of TiO<sub>2</sub>.

%, 첨가구는 32.3%가 살균되어서 Lamp B에서도 TiO<sub>2</sub>의 살균효과가 인정되었으며, 30분 광조사에서 TiO<sub>2</sub> 첨가구는 100% 사멸되었으나 무첨가구는 80%만 사멸되었다. 즉 TiO<sub>2</sub> 첨가구에서 100% 사멸되는 시간은 Lamp A에서 2분, Lamp B에서는 30분으로 파장별 살균시간에 큰 차이를 나타내었다.

또한 각 시험구는 광조사 시간의 경과에 따라 사균수가 증가하지만 살균율의 크기는 대체로 감소하는 경향이었고, 그 감소의 크기는 Lamp A에서 평균 5.2%, Lamp B에서 13.7%로 TiO<sub>2</sub> 촉매 효과가 *E. coli*의 경우 Lamp B가 Lamp A보다 높았다.

*B. subtilis*는 Lamp A의 경우 1분 조사시 TiO<sub>2</sub> 첨가구, 무첨가구 모두 사멸되었고, 30초 조사시 무첨가구는 87%가, 첨가구는 96%가 사멸됨으로써 첨가구는 무첨가구

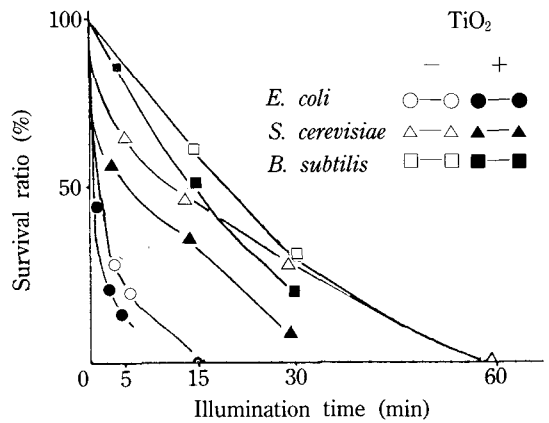


Fig. 4. Survival ratio of *E. coli*, *S. cerevisiae* and *B. subtilis* by irradiation with Lamp B in the presence or absence of TiO<sub>2</sub>.

보다 약 9%가 더 사멸되었다(Table 3). Lamp B 조사시 60분 이내에 모두 사멸되었고, 30분 조사에서 멸균율이 TiO<sub>2</sub> 무첨가구가 71%, 첨가구가 79%로서 8% 정도의 TiO<sub>2</sub> 촉매 효과가 인정되었다. Lamp A 또는 Lamp B 간의 TiO<sub>2</sub> 촉매 살균효과는 Lamp A에서 평균 6.4%, Lamp B에서 평균 14.7%의 더 높은 TiO<sub>2</sub>의 광촉매 효과를 나타내었으며 Table 2에서와 같이 400 nm 이상의 광파장에서 TiO<sub>2</sub> 촉매작용이 인정되었다.

*S. cerevisiae*는 TiO<sub>2</sub> 첨가구가 무첨가구보다 살균시간이 단축되었으며 TiO<sub>2</sub> 첨가시 Lamp A 조사에서 4분, Lamp B에서 60분 이내에 모두 사멸되었다(Table 4). Lamp B는 400 nm 이하의 파장을 차단하였기 때문에 Lamp A보다 25배의 살균시간이 소요되었으며 1분간 광조사시 Lamp A의 TiO<sub>2</sub> 무첨가는 88%, 첨가구는 97%가 사멸됨으로써 TiO<sub>2</sub> 첨가구는 Lamp A의 경우 약 9%, Lamp B의 경우 10%의 살균효과가 높아졌고 또한

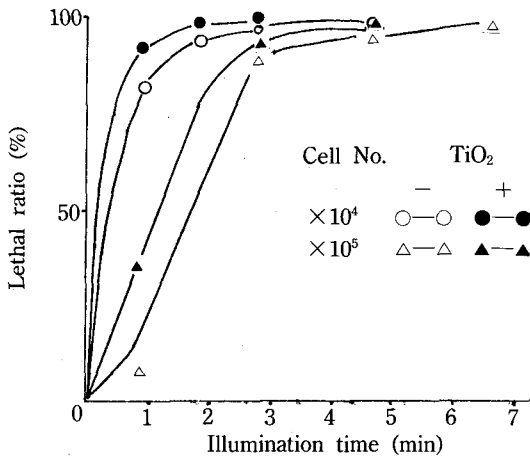


Fig. 5. Lethal ratio of *S. cerevisiae* cells by irradiation with Lamp A in the presence or absence of TiO<sub>2</sub>.

TiO<sub>2</sub> 첨가에 의해 Lamp A의 사멸율은 Lamp B보다 77%가 높았다.

이상의 결과들로부터 균의 생존율은 일반적으로 광선의 강도 및 파장과 살균시간에 의하여 좌우됨을 알 수 있으나 어떤 반도체를 택하느냐에 따라 그 조건은 매우 상이하기 때문에 여러 조건을 비교 검토하기에는 어려움이 예상된다. Matsunaga 등<sup>8)</sup>은 TiO<sub>2</sub>를 사용한 *S. cerevisiae*의 광살균 실험에서 그 생존율(120 min 조사시)은 metal halide\*에서 27%, Xenon lamp\*에서 46%, white fluorescent lamp\*에서 58%라고 보고한 바 있다(\*2300 μ Einstein·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>).

**균종 및 광조사 시간에 의한 TiO<sub>2</sub> 촉매의 살균효과**

*E. coli*, *S. cerevisiae*, *B. subtilis*의 광조사 시간에 의한 TiO<sub>2</sub> 촉매의 광살균 효과는 Table 5, Fig. 3, 4와 같다. *E. coli*는 30분 이내에, *B. subtilis*와 *S. cerevisiae*는 60분 이내에 모두 사멸되었고, TiO<sub>2</sub>의 첨가구와 무첨가구간의 균종별 생존율은 TiO<sub>2</sub> 첨가의 경우가 *E. coli* 9~11%, *S. cerevisiae* 13~27%, *B. subtilis* 8~10으로서 살균율이 무첨가구보다 높았다. 균종에 따라 차이를 나타낸 이 결과는 균의 광내성이 다를 뿐만 아니라 효모와 고초균은 대장균과 달리 내성이 강한 포자를 형성하기 때문에 살균시간이 더 필요한 것으로 생각된다.

Blaine 등<sup>7)</sup>의 UV 실험에서 *E. coli*가 효모보다 저해가 크다는 보고와 본 실험의 결과는 일치하였으며, Matsunaga 등<sup>8)</sup>도 60분 광조사시 *E. coli*의 생존율은 20%, *S. cerevisiae*는 54%이었고, 2시간 조사에서 모두 사멸되었다고 보고한 결과의 사멸율과는 일치하지 않았으나, *E. coli*가 *S. cerevisiae* 보다 광조사 저해가 크게 나타난

경향은 유사하였다. 또한 5분 광조사시 TiO<sub>2</sub> 무첨가구는 *E. coli*가 42% *S. cerevisiae*가 22% 사멸되고, TiO<sub>2</sub> 첨가구는 *E. coli*, *S. cerevisiae*는 각각 51%, 35%가 사멸되어 효모보다 대장균의 사멸 효과가 현저하였다. 15분 조사시에 *S. cerevisiae*와 *B. subtilis*의 살균은 TiO<sub>2</sub> 무첨가구가 각각 30%, 38%로 *S. cerevisiae*가 낮았고, TiO<sub>2</sub> 첨가구는 *S. cerevisiae*에서 57%, *B. subtilis*에서 48%가 사멸되어 효모가 고초균보다 살균효과가 컸다. 이상의 결과로부터 TiO<sub>2</sub> 촉매가 광살균 효과에 미친 영향의 크기 순위는 *S. cerevisiae*, *E. coli*, *B. subtilis* 순임을 알 수 있었다(Fig. 3, 4).

***S. cerevisiae*의 농도별 TiO<sub>2</sub> 촉매를 이용한 광살균**

상기의 실험에서 TiO<sub>2</sub> 촉매에 의한 광살균 효과를 검토한 결과는 Fig. 5와 같다. 효모의 농도가 낮은 a구(×10<sup>4</sup>)는 b구(×10<sup>5</sup>)보다 광조사에 의한 살균시간이 단축되었으며, 또한 5 mg% TiO<sub>2</sub> 첨가에 의한 광살균 효과도 관찰되었다. 광조사 1분 후 TiO<sub>2</sub> 첨가의 a구에서는 92.3%, b구에서 35.6%가 사멸되었으며 3분 조사에서는 a구가 99.6%, b구는 95.9%가 사멸되었다. 5분 후에는 a구가 전부 사멸되었으나, b구는 99.1%가 사멸되어 저농도의 a구가 고농도의 b구보다 광살균 시간이 단축되었다.

균농도에 따른 사멸율과 시간과의 관계는 a구를 99.4% 사멸하는데 소요되는 시간은 2분이었고, b구를 99.1%로 사멸시킬 때 5분이 소요됨으로써 99%를 살균하는데 소요되는 시간은 저농도보다 2배 이상 요구되었으며, 100% 사멸하는데 소요되는 시간은 약 1.4배이었다. TiO<sub>2</sub> 첨가유무에 따른 사멸율도 대체로 이와 유사한 경향이였다.

효모농도가 광살균에 미치는 영향은 TiO<sub>2</sub> 첨가에 의해 거의 유사하게 사멸율이 감소하는 경향이었고, 무첨가구보다 사멸율이 크게 증가하였다. TiO<sub>2</sub> 첨가시 a구는 2분, 3분 광조사됨에 따라 각각 무첨가구보다 0.6%, 0.5%씩 증가되었고, b구는 3분, 5분 광조사됨에 따라 4.5%, 1.4%가 TiO<sub>2</sub> 무첨가구보다 증가되었다(Table 6). 또한 광조사 시간의 연장에 따라 TiO<sub>2</sub> 첨가, 무첨가간의 사멸율도 a구, b구 모두 증가폭이 좁아지면서 상승하였다.

**감사의 글**

본 연구는 1990년도 해외파견교수 연구비 지원에 의하여 수행된 것으로 학교법인 건국대학교에 감사를 드립니다.

**참 고 문 헌**

1. 田中啓一: 用水と廢水, 30: 943(1988)

2. 指宿燒嗣: BIOINDUSTRY, 7 : 63(1990)
3. 收田忠良: 電氣化學, 53 : 15(1985)
4. 原田賢仁, 田中啓一, 久永輝明, 村田重大: 水處理技術, 26(1985)
5. Oillis, D. F., Hisio, C. Y., Budiman, L. and Lee, C. H.: J. Catal., 88, 89(1984)
6. 泉生一朗: 電氣化學, 53, 178(1985)
7. Blaine, F. S. and Makram, S. T.: Ultraviolet Disinfection for Municipal Wastewater, C. E. P. April, 37(1985)
8. Matsunaga, T., Tomoda, R., Nakajina, T. and Wake, H.: FEMS Microbiology Letter, 29 : 211(1985)
9. 坪村宏: 日本現代化學, 1 : 38(1974)
10. 徳丸克己: 日本現代化學, 2 : 33(1975)
11. 伊藤品壽: 化學工學, 49 : 671(1985)
12. Dunn, W. W., Akikawa, Y. and Bard, A. J.: J. Am. Chem. Soc., 103 : 6894(1981)
13. 東稔, 朱, 田谷, 足利: 化學工學會 第56年會 講演要旨集, p. 491, 東京 (1991)

### Photosterilization effects of microbial cells by titanium oxide catalyzer

Hyun Kyu Joo(Department of Agricultural Chemistry, Kon-Kuk University, Seoul 133-701, Korea)

**Abstract :** In order to examine the effect of TiO<sub>2</sub> on photosterilization of microorganism, proper content of TiO<sub>2</sub>, illumination time, wave length specificity and cell concentration were investigated for photosterilization of *E. coli*, *B. subtilis* and *S. cerevisiae*. The amount of TiO<sub>2</sub> for photosterilization of *E. coli* was effective in the range of 5~20 mg%. The sterilization time was reduced when the low wave length below 400 nm was not cut off by glass, but the catarizing effect of TiO<sub>2</sub> was similar to overall wave length. The photosterilization effects by TiO<sub>2</sub> addition was recognized among *S. cerevisiae*, *E. coli* and *B. subtilis* in that order. The photosterilization time of *S. cerevisiae* was considerably reduced at 10<sup>4</sup>/ml cell concentration compared to 10<sup>5</sup>/ml.