creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000239204

2010년 02월
석사학위논문

UV-LED의 살균효과 연구

조선대학교 대학원

광 기 술 공 학 과

정 석 현

UV-LED의 살균효과 연구

Study on Bacteria Sterilization Effects of UV- LEDs

2010년 02월 25일

조선대학교 대학원

광 기 술 공 학 과

정 석 현

UV-LED의 살균효과 연구

지도교수 안 태 정

이 논문을 공학석사학위신청 논문으로 제출함

2009년 10월

조선대학교 대학원

광 기 술 공 학 과

정 석 현

정 석 현의 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 영남대학교 교수 박 시 현 인

심 사 위 원 조선대학교 교수 김 현 수 인

심 사 위 원 조선대학교 교수 안 태 정 인

2010년 02월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT

제1장 서 론 ····· 1

제2장 이 론 ····· 7

제1절 발광다이오드(Light-emitting diodes; LEDs)····· 7

제2절 발광다이오드의 효율 ····· 10

제3절 UV (Ultraviolet) ····· 12

제4절 세균 (Bateria) ····· 13

제5절 미생물 배양 특성 ····· 16

제3장 실험 방법 및 균주 배양 ····· 17

제1절 UV LED 실험 장치 ····· 17

제2절 UV LED DATA ····· 18

제3절 실험 균주 및 배양 방법 ····· 21

제4절 Colony 측정방법 ····· 26

제4장 UV LED 실험 ····· 28

제1절 대장균(Escherichia coli) ····· 28

제2절 식중독 구균(Salmonella typhimurium) ····· 34

제3절 포도상 구균(Staphylococcus aureuis) ····· 38

제4절 바실루스 구균(Bacillus cereus) ····· 42
제5절 비브리오 구균(Vibrio parahaemolyticus) ····· 46

제5장 결론 및 향후 계획 ····· 50

【참고문헌】 ····· 51

표 목 차

표 1. UV LAMP와 UV LED의 차이점 ····· 6
표 2. 파장에 따른 자외선 특징 및 응용 ····· 12
표 3. 각 세균의 대한 특징 및 발생 원인 ····· 15
표 4. UV/VIS Spectrophotometer 사양 ····· 22

그 림 목 차

그림 1. 시대에 따른 LED의 응용 분야 ····· 1
그림 2. LED Application 분야 ····· 2
그림 3. 빛의 스펙트럼 ····· 3
그림 4. UV Application 분야 ····· 5
그림 5. UV LAMP와 UV LED ····· 6
그림 6. p-n 접합 다이오드(Diode)의 구조 ····· 8
그림 7. LED 밴드갭 모델 ····· 9
그림 8. LED 발광 효율 ····· 11
그림 9. 세균이 분열하는 과정 ····· 14
그림 10. UV LED 살균 장치 ····· 17
그림 11. 265 ㎚ LED 데이터 ····· 18
그림 12. 310 ㎚ LED 데이터 ····· 19
그림 13. 365 ㎚ LED 데이터 ····· 20
그림 14. UV/VIS Spectrophotometer ····· 22
그림 15. 균 배양 방법(1) ····· 23
그림 16. 균 배양 방법(2) ····· 24
그림 17. 희석 평판법 ····· 25
그림 18. 고체배지 모식도 ····· 27
그림 19. 액체배지 모식도 ····· 27
그림 20. 파장에 따른 대장균 실험 ····· 28
그림 21. 희석에 의한 대장균 실험 ····· 29
그림 22. 대장균 고체 배지 실험 ····· 31
그림 23. 265 ㎚ 의 대장균 실험 ····· 32
그림 24. 대장균 액체 배지 실험 ····· 33
그림 25. 파장에 따른 식중독 구균 실험 ····· 34

그림 26. 희석에 의한 식중독 구균 실험 ····· 35
그림 27. 식중독 구균 고체 배지 실험 ····· 36
그림 28. 265 nm의 식중독 구균 실험 ····· 37
그림 29. 파장에 따른 포도상 구균 실험 ····· 38
그림 30. 희석에 의한 포도상 구균 실험 ····· 39
그림 31. 포도상 구균 고체 배지 실험 ····· 40
그림 32. 파장에 따른 바실루스 구균 실험 ····· 42
그림 33. 희석에 의한 바실루스 구균 실험 ····· 43
그림 34. 바실루스 구균 고체 배지 실험 ····· 44
그림 35. 265 nm의 바실루스 구균 실험 ····· 45
그림 36. 파장에 따른 비브리오 구균 실험 ····· 46
그림 37. 희석에 의한 비브리오 구균 실험 ····· 47
그림 38. 비브리오 구균 고체 배지 실험 ····· 48
그림 39. 265 nm의 비브리오 구균 실험 ····· 49

ABSTRACT

Study on Bacteria Sterilization Effects of UV- LEDs

Hyun-Seok Jeong
Advisor: Tae-Jung Ahn
Department of Photonic Engineering
Graduate School of Chosun University

The main theme in this study is checking the sterilizing effect using Ultra-violet (UV) light emitting diodes(LEDs). Among UV LEDs being currently produced, UV-A, -B, -C with wavelengthes 365 ㎚, 310 ㎚ and 265 ㎚ respectively have been used to analyze sterilizing effect for various bacteria. Escherichia coli (E. coli), salmonella, staphylococcus, bacillus, and vibrio are used as bacterium to do study, and luria-bertani (LB) is used to cultivate bacterium. Sterilizing system is made of UV LED box installed with UV LEDs having 265 ㎚, 310 ㎚, 365 ㎚ wavelengths, and the change of the amount of bacteria has been checked for various times according to the study schedule. For E. coli, there are two ways to check the amount of the bacteria. The first way is making UV-LED to irradiate directly on LB broth that E. coli is injected. The second are is making UV-LED to irradiate on the ampicillin plate covered with a regularly diluted LB broth. For salmonella, staphylococcus, bacillus, and vibrio, only the second way is used due to a dangerousness. According to the result from the test for E. coli, bacteria on the LB broth being irradiated by UV LED with wavelength 265 ㎚, and 310 ㎚, do not increase as times goes,

but bacteria on the LB broth with wavelength 365 ㎚ significantly increase. On the ampicilliin plate being irradiated by UV-LED with wavelength 265 ㎚, bacteria decreases with 15 seconds half-life, and the bacteria are perfectly sterilized 5 minute after the irradiation. In the case of the irradiation with wavelength 310 ㎚, bacteria decrease with 15 minute half-life, and all the bacteria are sterilized 4 hours after irradiation. However, the result from the irradiation with wavelength 365 ㎚ is different from the others. Although, bacteria increase at the beginning, it keeps 90% of the initial amounts as time goes and it does not increase more than that. For the staphylococcus, bacteria decrease with 1.5 hours half-life, and all the bacteria are sterilized 6 hours after irradiation with wavelength 265 ㎚. In the case of the irradiation with wavelength 310 ㎚, the amount of bacteria keeps 80% of the initial amounts, and it does not show big variation. With the irradiation of wave length 360 ㎚, it does not show any sterilizing effect. For the bacillus, bacteria irradiated with wavelength 265 ㎚ decrease with 45 minute half-life, and those are perfectly sterilized 3 hours radiation. However, UV-LEDs with wavelength 310 ㎚ and 365 ㎚ do not show any sterilizing effect. For the vibrio, bacteria irradiated with wave length 265 ㎚ decrease with 5 minute half-life, and those are perfectly sterilized 50 minute after the irradiation. With wavelength 310 ㎚, bacteria decrease with 6 hours half-life, and UV-LED with wavelength 365 ㎚ does not show any sterilizing effect.

제1장 서 론

실용적인 최초의 반도체 광원은 1962년[1] GE에서 개발된 GaAsP를 사용한 적색 LED(Light Emitting Diode)로 1969년부터 Monsanto 사에서 본격적으로 양산하였다. 계기표시장치로서의 LED를 벗어나 본격적인 조명장치로서 LED가 부각되기 시작한 것은 1993년[1,2] 일본 Nichia 사의 GaN계 청색 LED[3] 개발을 바탕으로, 2000년 전·후로 RGB 및 백색 LED의 효율과 출력이 빠른 속도로 증가하였다[4]. 오늘날 반도체 LED는 에너지 절감 및 친환경적인 광원으로 자리 잡아가고 있다. 연간 5조 달러의 전력비를 1/5로 절감할 수 있는 차세대 광원으로 각광받고 있다. 현재 이를 실용화하기 위하여 일본의 Nichia, 독일의 Osram, 한국의 삼성전기 등 회사에서 고효율, 고출력 광원용 LED를 개발하기 위해 다양한 연구를 진행하고 있다[5]. 다음 그림 1은 시대에 따른 LED 응용 분야를 나타낸다.

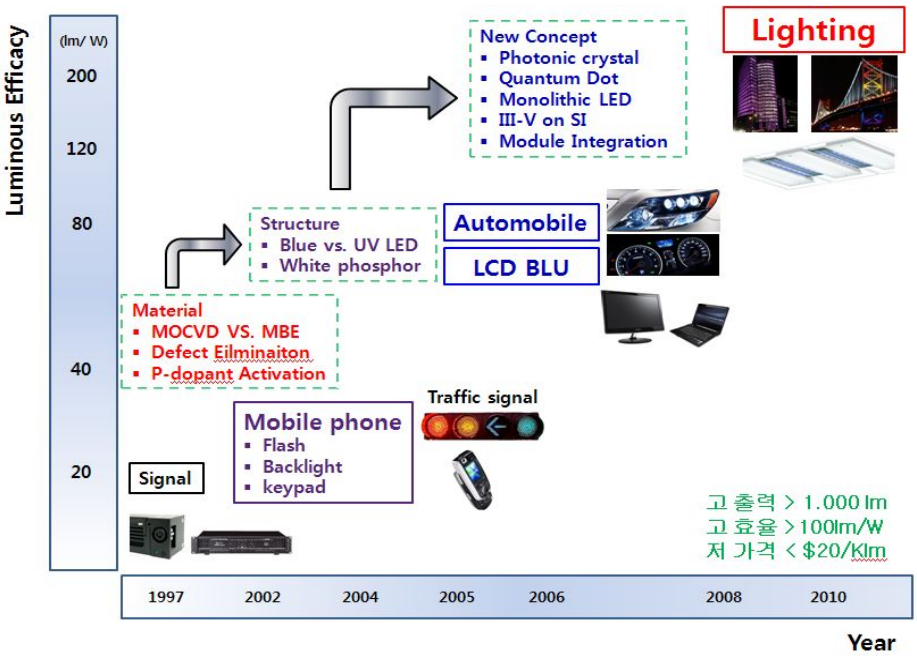


그림 1. 시대에 따른 LED의 응용 분야

LED는 광 방출 다이오드로 그림 2와 같이 다양한 응용 분야를 가지고 있기 때문에 많은 연구가 진행되고 있다. LED는 반도체로 만든 P-N 접합에서 p에 + 전류, N에 - 전류를 가하면 P측의 정공과 N측의 전자가 P-N 접합부에서 재결합 하여 빛이 방출되는 반도체이다. LED는 구성 원소에 따라 적외선, 가시광선, 자외선 영역으로 나누어진다. 이러한 다양한 영역의 LED 제품은 조명을 비롯한 통신, 바이오, 각종 기타 산업 등에 활용할 수 있다[6].

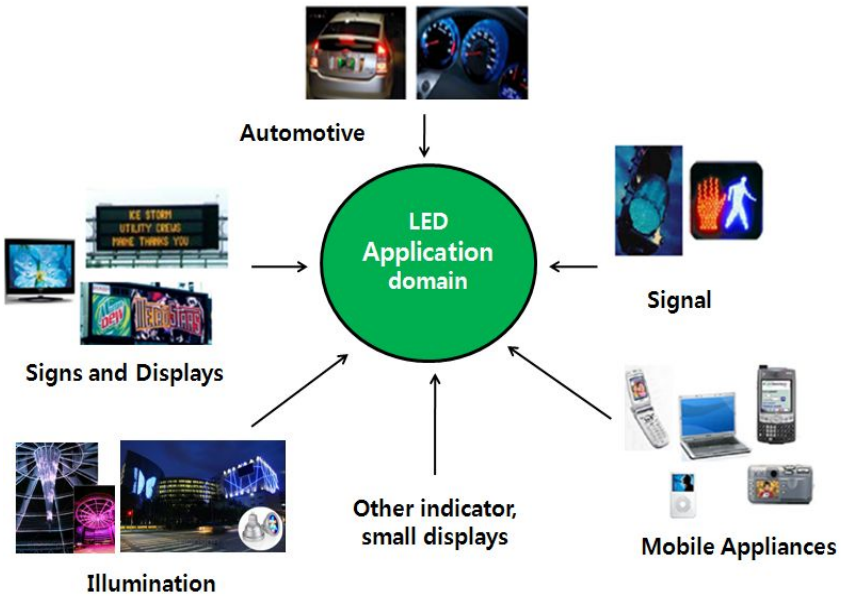


그림 2. LED Application 분야

현재 가정에 쓰이는 일반 조명은 수은과 방전가스 등의 유해물질로 이루어져 있다. 하지만 LED는 유해 물질 없이 생산 할 수 있어 친환경적인 제품이라 할 수 있다. LED의 또 다른 장점으로는 반영구적인 수명을 크게 꼽을 수 있다. LED는 설치 후 교체나 유지 보수가 드물며 쓰레기 발생량이 적고, 발광효율이 높으며, 저 전력으로 고출력 LED 광원을 얻을 수 있다. 전력 효율은 일반 전구의 1/10, 형광등의 1/2로 전기 에너지의 절감효과를 가져오며 동시에 CO_2 발생량도 줄일 수 있다. 그리고 반응 시간 또한 일반 등 보다 짧아 불필뚔한 열 발생이 생기지 않는다. LED는 소형 경량화 제품으로 않s짧아n 형성에 매우 좋다.

LED에서 나오는 빛은 그림 3에서와 같은 영역으로 적외선, 가시광선, 자외선의 넓은 범위이며, 구성하는 반도체 물질의 밴드갭 에너지에 따라 발광 파장이 변한다. LED는 파장에 따라 적외선 LED(Infrared Emitting Diode; IRED), 가시광 LED(Visible Light Emitting Diode; VLED), 자외선 LED(Ultra-Violet Emitting Diode; UVLED)로 나뉘며, 특히 가시광 영역의 LED는 보라색으로 부터 적색, 청색, 녹색 및 백색까지 모든 색의 구현이 가능하다. 적외선 영역의 IRED는 리모컨(remocon), 광학 스위치, IR-LAN, 무선 디지털 데이터 통신용 모듈 등에 사용된다. VLED는 빨강, 녹색, 청색, 노랑, 오렌지 등 다양한 발광 색상으로 각종 전자제품과 계기판 등의 전자 표시판에 활용되고 있으며, 옥내-외 중-대형 전광판으로 많이 활용되고 있다[7].

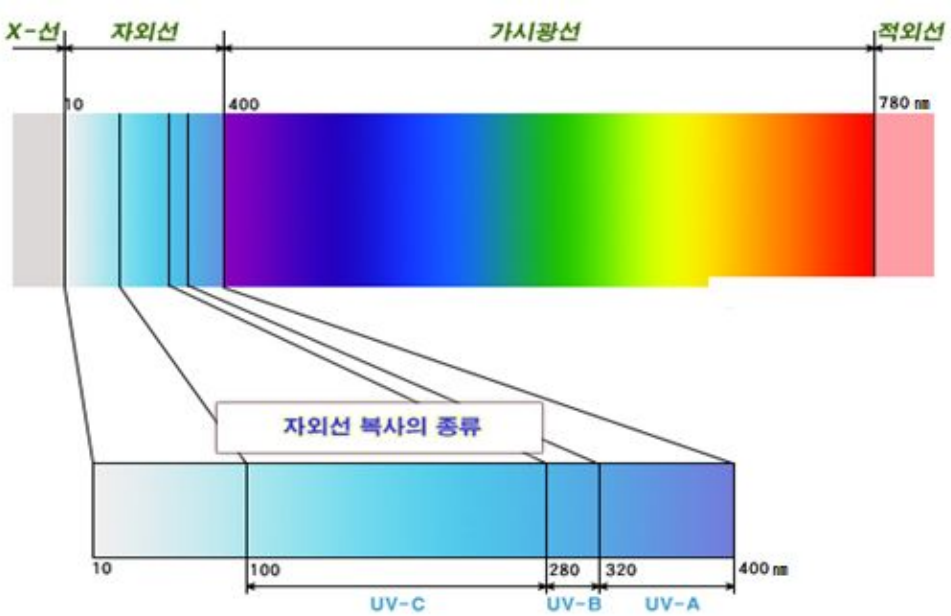


그림 3. 빛의 스펙트럼

자외선은 일반적으로 네 개의 스펙트럼 영역으로 나뉘는데, 이는 UV-A(315~400 ㎚), UV-B(280~315 ㎚), UV-C(200~280 ㎚) 그리고 Vacuum UV(100~200 ㎚)이다[8,9]. 파장이 200 ㎚ 이하로는 슈만선(190~120 ㎚), 라이만선(120~60 ㎚), 밀리컨선(60 ㎚ 이하) 등으로 나눠지게 된다. 그리고 190 ㎚ 이하의 UV를 원자외선이라고 한다.

이러한 자외선은 파장별로 특수한 효과를 가지고 있다. UV-A 자외선은 광화학 반응을 일으키기 때문에 산업용으로 이용되고 있으며, UV 경화를 포함하여 프린팅 코팅 등에 사용되고 있다. 또한 아토피, 건선 등의 피부 치료 등 의료용으로 사용되며, 위폐 감별기, 생화학무기의 감별기, 공기 정화기 등에 사용되고 있다. UV-B 자외선은 건강선(health ray)이라고 알려져 있다. UV-B는 피부 질환의 치료용으로 사용되고 있으며, 가장 효과적인 파장대는 311 ㎚로 알려져 있다. UV-C 자외선은 큰 에너지를 가진 자외선으로서 살균선(germicidal ray)이라고도 한다[8]. 이는 미생물의 DNA와 RNA의 구조를 파괴시켜 살균효과가 일어나게 된다[9,10].

일반적으로 살균을 위해 사용하는 파장영역은 UV-C 영역이며 특히 254 ㎚ 파장은 미생물의 DNA에 가장 치명적인 효과를 주는 파장으로 알려져 있다[11].

자외선은 미생물에 직접 조사 시 가장 큰 살균력을 나타낸다. 또한 자외선은 물속에서도 투과율이 높아 큰 살균 효과를 보인다. 미생물 구성 성분은 단백질과 핵산체로 이루어 졌고, 자외선이 조사되면 미생물의 DNA가 파괴되어 활동을 할 수 없게 된다. DNA가 파괴되면 미생물의 증식과 재생에 큰 영향을 미쳐 결국에는 멸균 된다. 따라서 자외선을 사용하여 공기 및 수중에 있는 미생물 (예 : 박테리아, 곰팡이. 대장균. 각종 미생물 바이러스)을 멸균시킬 수 있다. 그림 4은 UV Application 분야를 나타낸다.

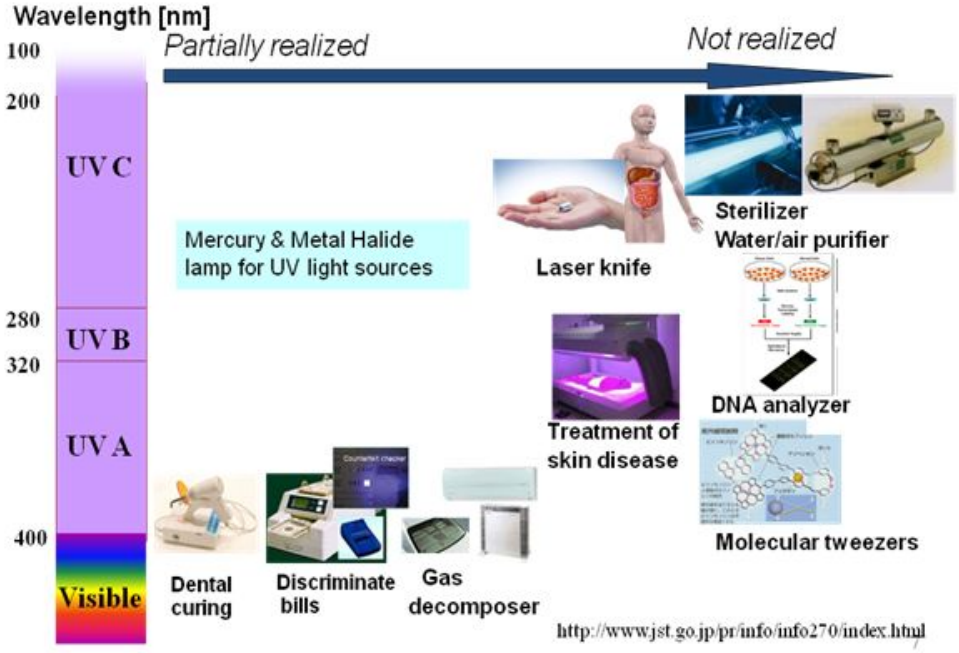


그림 4. UV Application 분야

앞에서 언급한 LED의 장점은 UV LED에 적용이 되어 보다 효과적인 살균용 LED로써 효용 가치가 높다. 현재 사용되는 가정용 혹은 공업용 광원의 대부분은 램프 타입 등이 주종을 이루고 있다. 자외선 광원 또한 램프 타입으로 이루어져 있다. 자외선 살균 기술은 살균 기술 중에서 가장 환경 친화적인 기술이며, 최근에 와서 실제 현장 사용이 증가하고 있는 추세에 있다. 자외선램프는 도입 초기 경우 램프 가격이 비싸고 주기적으로 램프 교체 등 유지보수에 많은 비용이 소요되고 있는 문제가 있어 널리 보급되어 있지 않은 상황이다. 현장에 적용되는 자외선 살균 장비의 경우 대부분 국외로부터 수입된 제품으로 이루어져 왔다. 더욱이 EU를 비롯한 각국에서는 2012년부터 LAMP TYPE 광원의 생산 및 판매를 금지하는 법안을 냈으며, 한국 또한 관련 법안을 추진하고 있다[12]. 표 1은 UV LAMP와 UV LED의 차이점을 나타냈으며, 그림 5는 현재 출시되고 있는 UV LAMP와 UV LED이다.

	기체 가스 발광방식 UV 램프	UV LED
수명 (천 시간)	1.0	40(반영구적)
가격 (천원)	15	30
유지 비용 (수명/가격)	0.25	0.13
열 발생	높음	낮음
안전성	미흡	만족 (충격에 강함)
환경친화성	미흡(수은)	만족 (무 수은)

표 1. UV LAMP와 UV LED의 차이점

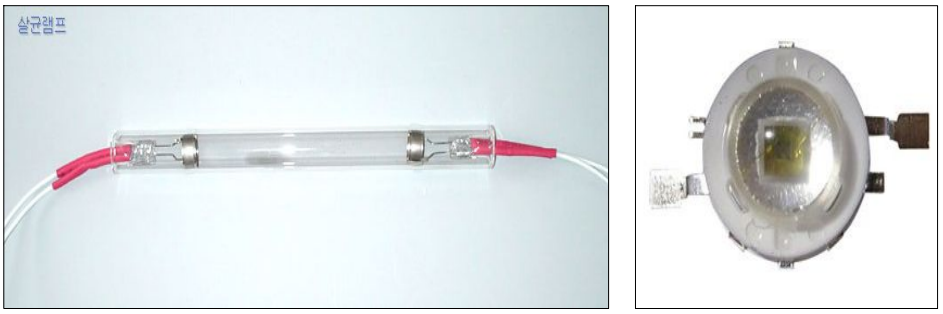


그림 5. 실제 생산되는 UV LAMP 와 UV LED

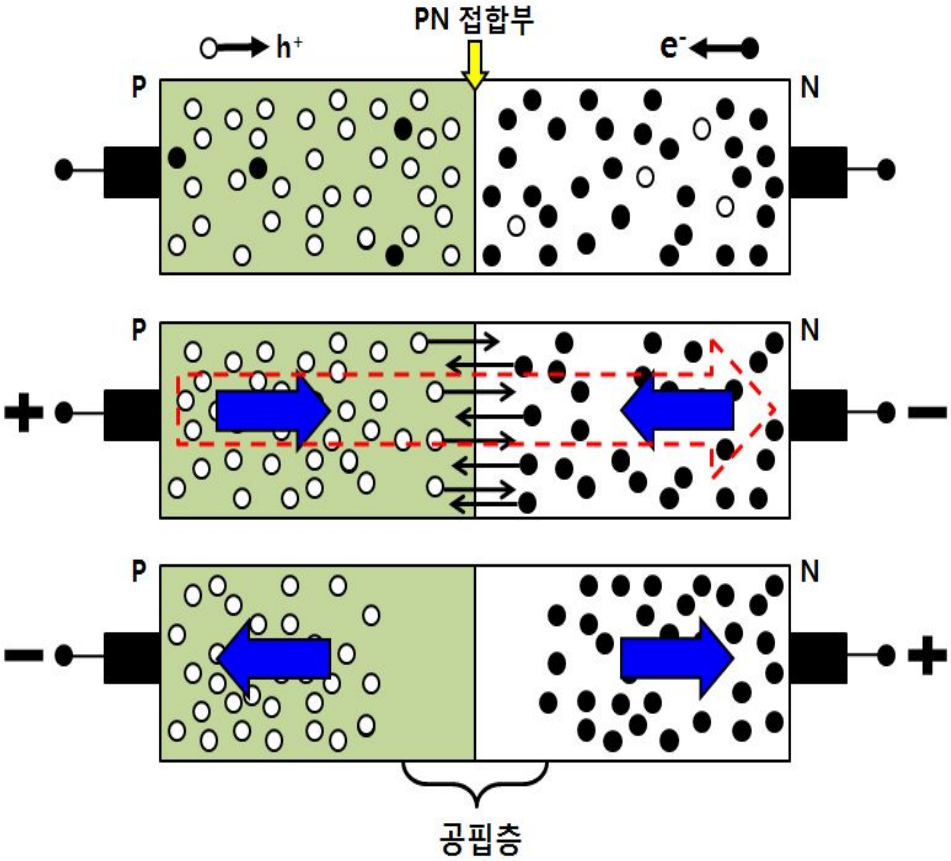
본 연구에서는 실제 생산된 UV LED를 이용하여, 여러 가지 세균에 대한 살균 효과 연구를 수행 하였고, 이를 통해 자외선램프 타입이 UV LED 타입으로의 대체 가능성을 알아보았다. 실험을 진행하기 위해 UV A-B-C에 속한 LED를 주문 제작하였다. UV-A는 365 ㎚, UV-B는 310 ㎚, UV-C 265 ㎚로 준비하여 실험 장치를 제작하였다. 실험세균으로는 대장균(Escherichia coli), 식중독 구균(Salmonella), 포도상 구균(Staphylococcus), 바실루스 구균(Bacillus) 그리고 비브리오 구균(Vibrio)을 사용하였으며, 실험과정을 원활히 진행하기 위해 조선대학교 '고분자 생체 실험실'에서 실험을 진행 하였다. 본 실험은 '고분자 생체 실험실'에서 세균을 배양 하였으며, 배양된 세균에 UV를 조사하여 살균 효과를 확인하였다.

제2장 이 론

제 1 절 발광다이오드 (Light-emitting diodes; LEDs)

발광 반도체는 그 물질 자체로 빛을 흡수하기도 하고 생성하기도 하지만 적절한 소자 구조를 형성하면 LED나 LD와 같이 전류를 통하여 빛을 얻을 수도 있고, 역으로 빛을 받아 전류를 얻을 수 있다. 순수한 반도체는 전자나 정공 같은, 전하를 실어 나르는 자유캐리어(free carrier)의 발생이 미비하여 거의 부도체에 가깝다. 반도체의 전기 전도도를 높이기 위하여 인위적으로 불순물을 첨가하게 되는데, 이를 도핑(doping)이라 한다. 4가의 원자로 이루어진 반도체에 5가의 원자를 도핑하여 전자, 즉 음성 캐리어의 농도가 늘어난 경우를 n형 반도체라 하며, 3가의 원자를 도핑하여 정공, 즉 양성 캐리어의 농도가 늘어난 경우를 p형 반도체라 한다. pn 다이오드는 이와 같은 p형 반도체와 n형 반도체를 접합한 소자를 일컫는다[7].

LED란 **Light-emitting diodes**로 빛을 발하는 반도체 소자 즉 발광 다이오드를 말한다. LED는 전류가 흐를 때 빛을 내는 반도체 소자이다. 좀 더 구체적으로는 주기율표상에서 Ⅲ-Ⅴ족 화합물 반도체로서 GaAs, InP, GaN 등의 광 반도체로 이루어진, P-N 접합 다이오드 (p-n junction diode)이며, 전기에너지를 빛에너지로 바꾸어 주는 에너지 변환 소자를 말한다[7]. 일반적인 발광다이오드의 전류 공급 흐름도 및 방출 구조를 나타낸다. 반도체에서 빛을 얻기 위해서는 전도대역(conduction band)에 전자(electron)를 공급하고, 가전자대역(valence band)에는 전자가 떨어질 빈자리인 정공(hole)이 이루어진다. p형 반도체에 양의 전압을 걸어주고 정공을 주입하면, n형 반도체에서는 음의 전압을 인가하여 전자를 주입하게 된다. 이렇게 주입된 전자와 정공은 활성층에서 광자를 방출하게 된다. 이를 그림 6에서 알기 쉽게 나타내었다.



① 전압이 걸리지 않은 상태에서의 p-n 접합 ② 순 바이어스에서 전하 운반자의 이동(접합을 통해서 운반자가 잘 흐른다) ③ 역 바이어스에서의 전하 운반자의 이동(접합면에 공핍층이 형성되어 전류가 흐르지 않는다.).

그림 6. p-n 접합 다이오드(Diode)의 구조

즉 그림. 7에서 보는 것처럼 순방향 전압 인가 시 n층의 전자와 p층의 정공이 결합하면서 전도대와 가전자대의 에너지갭에 해당하는 에너지를 발산하여 주로 열이나 빛의 형태로 방출하게 된다. 이는 전자와 정공 한 쌍이 만나서 포톤(photon 또는 광자) 1개를 생성하여, 방출하게 되며 LED가 되는 것이다.

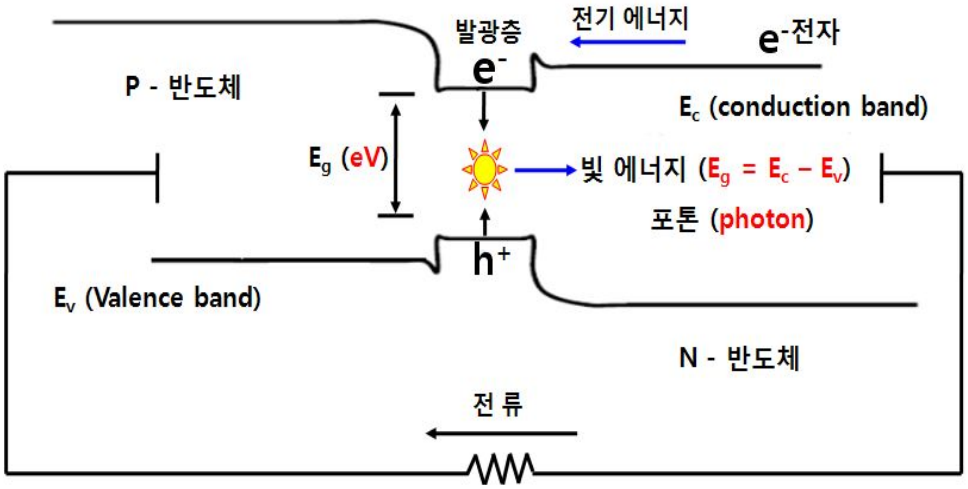


그림 7. LED 밴드갭 모델

다시 설명하자면, 순방향 전압 인가 시 n층의 전자와 p층의 정공이 결합 하여 전도대와 가전자대의 높이차이(에너지 갭)에 해당하는 만큼의 에너지를 발산하게 된다. 이 에너지는 주로 열이나 빛의 형태로 방출하게 되며, 빛의 형태로 발산 되는 경우를 LED로 지칭한다. 이러한 LED는 실제적으로 빛이 발생하는 활성층(active layer)에 전류가 공급되었을 경우 발생한 발광 다이오드 외부로 빛이 효과적으로 방출하도록 하는 것이다.

제 2 절 발광다이오드의 효율

LED의 효율은 크게 내부 양자 효율, 외부양자 효율 그리고 광 추출 효율로 나눠질 수 있다.

내부 양자 효율은 초당 LED로 주입되는 전자의 수 대비 활성층으로 부터 방출되는 광자의 수로 다음 식 (1-1)로 정의 된다[13].

$$\eta_{internal} = \frac{Numberofphotonsgeneratedfromactiveregion}{NumberofelectronsinjectedintoLED} = \frac{P_{int}/(h\nu)}{I/e}$$

식 (1-1)

외부 양자 효율은 단위 시간당 LED로 주입된 전자의 수 대비 자유공간으로 방출된 광자의 수로 다음 식 (1-2)로 정의 된다[13].

$$\eta_{ext} = \frac{number\ of\ photons\ emitted\ into\ free\ space\ per\ second}{number\ of\ electrons\ injected\ into\ LED\ per\ second}$$

$$= \frac{P/(h\nu)}{I/e} = \eta_{int}\eta_{extraction}$$

식 (1-2)

광 추출 효율은 시간당 활성층으로 부터 방출되는 광자의 수 대비 자유 공간으로 방출되는 광자의 수로 다음 식 (1-3)로 정의 된다[13].

$$\eta_{extraction} = \frac{Numberofphotonsescapedintofreespace}{Numberofphotonsgeneratedfromactiveregion} = \frac{P/(h\nu)}{P_{int}/(h\nu)}$$

식 (1-3)

파워 효율 (power efficiency, h_{power})은

$\eta_{power} = \frac{P}{IV}$ 다음과 같은 식으로 표현된다. IV는 발광다이오드에 제공된 전기적 출력이 되며, 월-플러그 효율 (Wall-Plug efficiency)로 표현되기도 하고, 변환 효율로 표현되기도 한다[13]. 이와 같은 LED의 효율은 그림 8로 나타낼 수 있다.

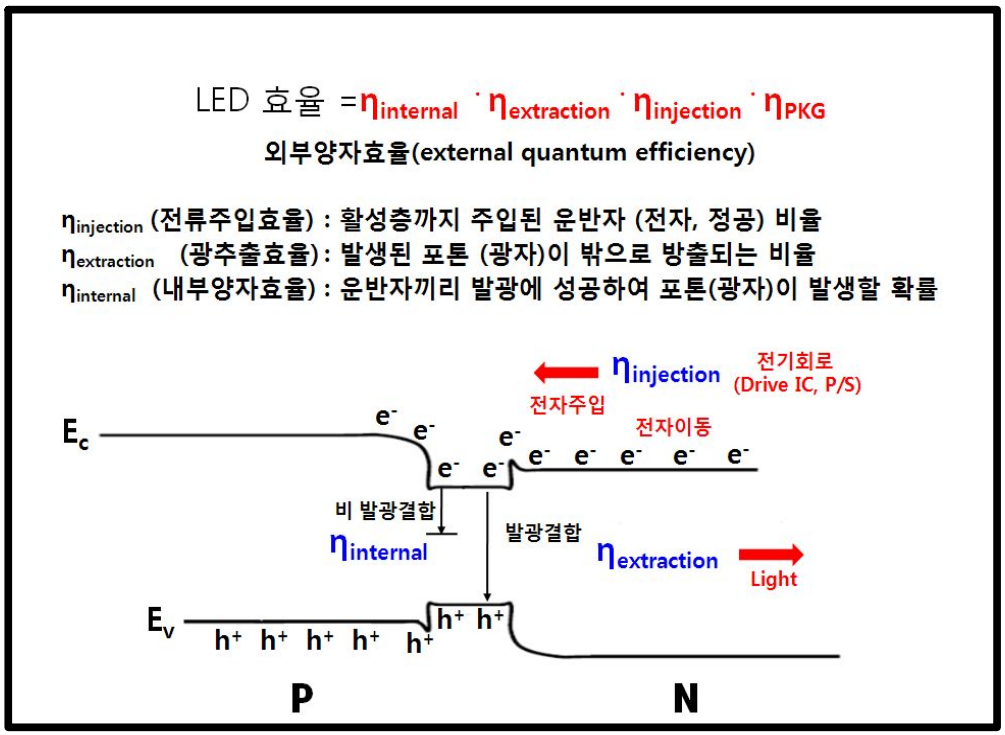


그림 8. LED 발광 효율

제 3 절 UV (Ultraviolet)

자외선은 독일의 화학자 J.W. 리터가 1801년에 처음 발견하였다. 태양과의 스펙트럼을 연구하는 과정에 단파장을 지나 강력한 사진작용을 일으키는 것을 알게 되었다. 이것이 자외선 발견의 시초이다. 이어서 영국 출신인 Thomas Young이 1804년에 이것이 전자파의 일종임을 파악하게 되었다. 광생물학 분야에서는 1899년에 덴마크인 N.R Finsen이 자연 태양광의 일부분인 자외선이 인간의 피부를 태운다는 것을 발견하여 이의 공로로 1903년에 노벨상을 수상하게 되었다. 자외선을 살균 목적에 이용하기 시작한 것은 1877년부터이며 오늘에 와서는 표 2와 같이 응용범위가 매우 다양하게 되었다[15]. 자외선이란 살균작용이 있는 방사로 오래 전부터 경험적으로 알려져 일광소독에 응용되었다. 자외선의 살균 메카니즘은 정확하지는 않으나, 자외선 조사에 의하여 세포 내의 핵산이 변화하여 신진대사 장애가 오고 증식능력을 일고 사멸하는 것으로 여겨지고 있다. 자외선은 가시광선의 파장(400~800 ㎚)보다는 짧고 X선 (~100 ㎚)보다 긴 파장을 갖는 전자파를 말한다. 자외선은 파장에 따라 다시 UV A -B -C 로 세분된다[15].

종류	파장	명칭	응용분야
UV-A	320~400 ㎚	화학선	화학반응, UV 경화, 위폐 감별, 생화학무기 감별 등
UV-B	280~320 ㎚	건강선	건선, 백반, 습진등 피부진활 치료등에 쓰임 311 ㎚ 가 가장 좋은 효과를 보임
UV-C	200~280 ㎚	살균선	가장 큰 에너지를 가지는 자외선으로서 각종 세균을 살균하는데 큰 효과를 일으킴 (예 : 대장균 박테리아 바이러스 등)

표 2. 파장에 따른 자외선 특징 및 응용

제 4 절 세균 (Bateria)

미생물은 '사람의 육안으로 직접 인식되지 않을 정도로 작으나 생명을 유지하며, 증식하는 생물'이라고 할 수 있다. 미생물은 크게 원생동물과 같은 동물계의 미생물과 식물계의 미생물로 나눌 수 있다[16]. 미생물은 단일 세포 또는 균사로써 몸을 이루며, 생물로서 최소 생활단위를 영위한다. 조류, 세균류, 원생동물류, 사상균류, 효모류와 한계적 생물이라고 할 수 있는 바이러스 등이 이에 속한다[16].

미생물의 산업적인 이용이 활발해짐에 따라서 오래 전부터 세계적으로 많은 미생물 보존기관이 설립되었다. 이 중에서 가장 널리 알려진 균주 보존기관으로는 미국의 NRRL, ATCC, 네덜란드의 CBS, 일본의 JFCC 등이 있다. 우리나라에서는 유용균주의 보존을 위하여 1967년에 종균 협회 KFCC, KCCM이 설립되어 미생물 균주를 보존하여 이용하고 있다. 이후 1985년에 한국생명공학연구원(KRIBB)에 유전자은행(Gene Bank ; KCTC)을 설치하여 운영하고 있다. 이외에도 기타 대학 및 연구소 등에서 각각 이용목적에 따라 유용균주들이 보존 관리되고 있다[16].

세균(bacteria)은 일반적으로 2.0~1.5 ㎛ × 1.0~0.5 ㎛ 이며, 한 개의 세포는 10^{-12}g정도의 무게를 갖는다. 세균을 약 10^{9}개의 세균세포가 모여야 그의 중량이 1 mg이 된다. 세균은 단세포로 되어 있으며 그림 9와 같은 보통 분열에 의해 증식한다. 세균은 외형적인 형태에 따라 구분하면 구형의 구균(coccus)과 원통형의 간균(bacillus), 비브리오(vibrio), 나선균(spirilum)등으로 나뉜다.

세균의 생육 특성에 따라 생육에 산소를 필요로 하는 호기성균과 산소가 있을 경우 생육저해를 받는 혐기성균으로 나누며, 호기성의 Bacillus속과 혐기성의 Clostridium속의 세균은 생육환경이 나빠질 경우 생식세포인 포자를 형성한다. 이 포자는 휴면상태에 있어 열, 방사선, 화학 양품에 대한 저항성이 강하여 살균하기가 어려운 문제가 생길 수 있다[16].

이번 실험에 사용된 균은 대장균, 식중독 구균, 포도상 구균, 비브리오 구균 그리고 바실루스 구균이다. 각 균의 특징에 대해서는 표 3을 통해 정리하였다.

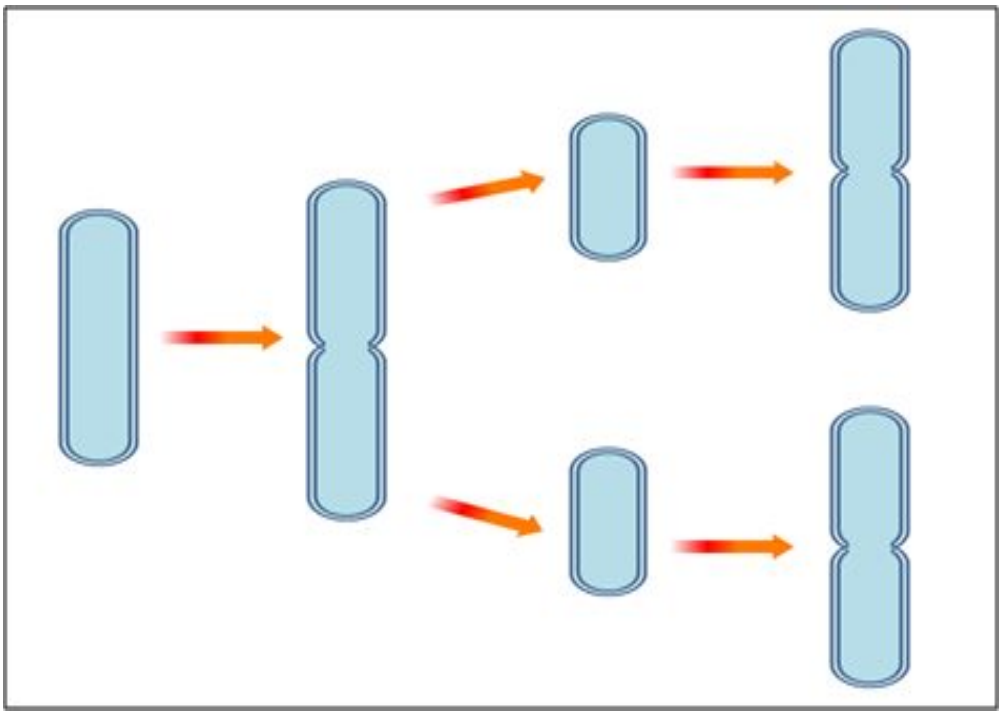


그림 9. 세균이 분열하는 과정

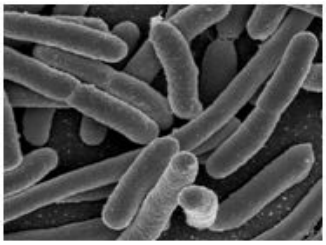
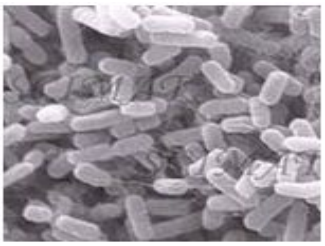
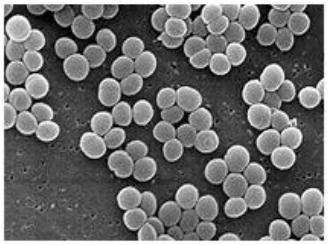
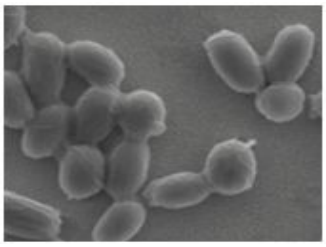
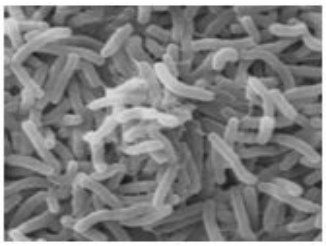
세균	특징	균 발생원인	균 사진
대장균	장속에서 포도당을 분해하여 산을 생산하는 막대기 모양의 세균	감염된 음식물 특히 소고기나 우유 야채 등에서 많이 발생하며 방광염의 원인이 되며 전염성이 매우 강함	
식중독 구균	살모넬라속의 그람 음성 간균으로 통성혐기성이며 주모가 있어 운동성이 있음	달걀 또는 가금류와 같은 오염된 동물성 식품이나 분변에 오염된 농산물의 섭취와 관련이 있음	
포도상 구균	황색 포도상구균과 표피포도상구균으로 나눔	수분이 많은 크림이나 샐러드 햄 등 실내에서 오래 방치 되면 균이 증식해 독소가 방출 된다. 병원성 균과 관계있음	
바실루스 구균	짧은 막대 모양인 균체 주위에 편모가 있는 세균	보통 토양 속에 존재하는 것이 많고, 드물게는 동물·곤충에 기생하여 질병의 원인이 되기도 함	
비브리오 구균	그람 음성균으로 야생종은 바닷물에 널리 분포하며, 담수와 토양에서도 많이 발견 됨	병원성이 있는 대표종으로 비브리오 콜레라균과 세균성 식중독으로 알려진 장염비브리오가 있음	

표 3. 각 세균의 대한 특징 및 발생원인

제 5 절 미생물 배양의 특성

미생물 배양에 사용하는 배지에는 에너지 획득, 균체 물질의 합성과 대사산물의 합성에 필요한 모든 원소를 함유해야 한다. 실험실에서 이루어지는 연구용은 대부분 순수하고 미리 내용을 알 수 있는 화합물로 구성된 배지(defined media)를 이용할 수 있으나, 산업적인 발효공정에서는 경제적인 이유로 성분 구성이 복잡하고, 내용 성분을 확실히 알 수 없는 천연물을 배지(complex media)로 사용하는 경우가 많다. 모든 미생물은 생육하는데 있어서 물·탄소원·질소원·무기물을 필요로 하며, 균주에 따라서는 특정의 아미노산, 핵산 또는 비타민이 요구된다. 그리고 호기성 미생물의 경우는 산소를 필요로 한다[16].

미생물의 배양은 인위적인 환경에서 미생물을 증식시키는 것이다. 많은 종류의 미생물 반응에 있어서 기질(substrate)의 소모와 대사산물(metabolite)의 생성은 보통 미생물 증식 정도와 균주에 따른 대사과정(metabolism)에 따라 각각 특유한 패턴을 나타낸다. 기질은 일단 미생물 세포 속으로 들어가, 정도의 차이는 있으나 일부는 새로운 세포를 구성하는데 이용되어 균체 증식이 이루어진다. 1 ㎤에 1억 개 이상의 수많은 미생물이 존재한다. 하나하나의 미생물 세포는 반드시 생리학적 형태학적 또는 유전학적 성질이 같은 것은 아니다[16].

미생물은 배양 방법은 분류 기준에 따라 액체배양과 고체배양, 그리고 회분배양과 연속배양으로 나눌 수 있다. 액체 배양은 표면 배양(surface culture)과 심부 배양(submerged culture)으로 세분된다. 고체 배양은 주로 액체 배양이 어려운 곰팡이 배양에 이용된다. 고체 배양은 통기가 쉽고 생성물 회수에 소요되는 용매량이 적은 이점이 있으나 자동제어가 어려운 결점이 있다[16].

제 3 장 실험 방법 및 균주 배양

제 1 절 UV LED 실험 장치

실험에 사용된 UV-LED는 365 ㎚, 310 ㎚, 265 ㎚ 파장으로 정했으며, 현재 생산되는 대표적인 LED이다. 365 ㎚는 ㈜셀마텍에서 생산된 제품이며 310 ㎚, 265 ㎚는 ㈜서울옵토디바이스에서 생산된 제품이다. 이번 실험을 위해 그림 10과 같은 UV LED BOX 를 제작하였다. UV LED 박스는 실생활에 사용할 수 있는 정도의 크기로 정했으며, 간단한 시간 장치를 통해 UV BOX를 작동 시킬 수 있도록 하였다.

실험 장비로, 외형이 25.2 × 15.2 × 14 ㎤ 크기의 PVC 박스를 제작한 후 박스 내부의 윗면에 UV LED를 부착하여, UV LED BOX 를 제작하였다. UV LED의 **Optical Power**는 265 ㎚, 310 ㎚, 365 ㎚에 대해 각각 275 ㎼ × 9개, 413 ㎼ × 9개, 800 ㎼ × 10개로 구성 되었다. 그리고 UV LED의 데이터는 그림 11, 12 그리고 13에서 자세히 나타내었다.

그림 10. UV LED 살균 장치

제 2 절 UV LED DATA

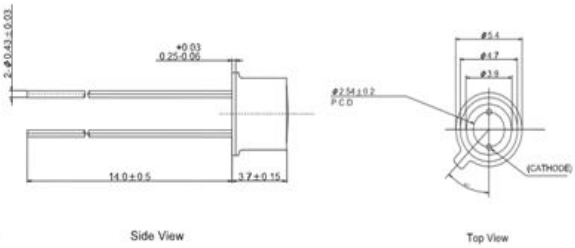
(1) 265 ㎚ DATA

■ **Features**

- Suitable for disinfections
- Compact size

■ **Applications**

- Water/Air/Surface purifications
- Diagnostics
- Germicidal and medical applicatio
- Laboratory testing



■ **Absolute Maximum Ratings (Ta=25℃)**

Parameter	Symbol	Value	Unit
Power Dissipation	Po	150	mW
Continuous Forward Current	I_F	20	mA
Peak Forward Current *1	I_{FP}	100	mA
Reverse Current	I_R	85	mA
Operating Temperature	T_{opr}	- 30 to + 50	℃
Storage Temperature	T_{stg}	- 30 to + 100	℃
Soldering Temperature	T_{sol}	260 (with in 5 seconds)	℃

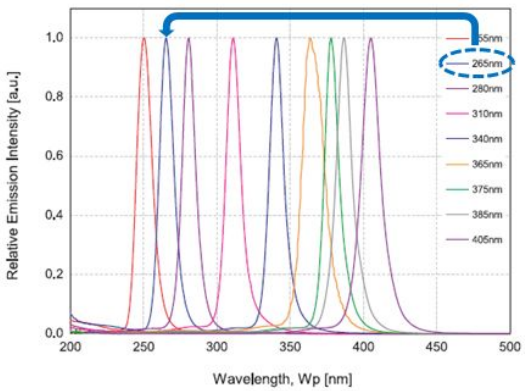


그림 11. 265 ㎚ LED (주)서울옵토디바이스 데이터

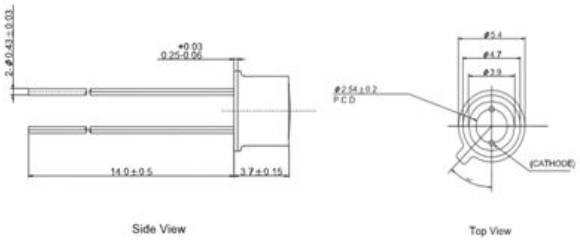
(2) 310 ㎚ 관한 스펙

■ **Features**

- Suitable for disinfections
- Compact size

■ **Applications**

- Indoor tanning
- Diagnostics
- Skin therapy and other medical application
- Laboratory devices



Parameter	Symbol	Value	Unit
Power Dissipation	P_d	120	mW
Continuous Forward Current	I_F	25	mA
Peak Forward Current ※1	I_{FM}	100	mA
Reverse Voltage	V_R	5	V
Operating Temperature	T_{opr}	- 30 to + 80	℃
Storage Temperature	T_{stg}	- 40 to + 100	℃
Soldering Temperature	T_{sol}	260 (with in 5 seconds)	℃

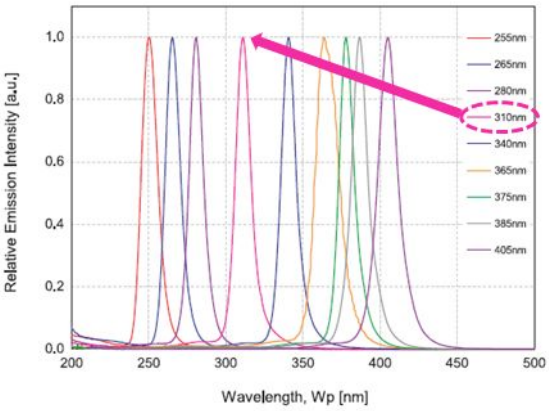


그림 12. 310 ㎚ LED (주)서울옵토디바이스 데이터

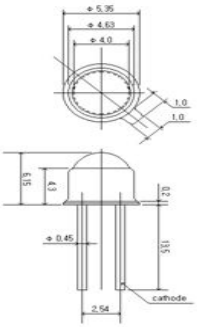
(3) 365 ㎚ 관한 스펙

■ **Features**

- TO-46 ball lens package
- Chip material based GaN

■ **Applications**

- Deodorant : With photo-catalyst
- Light source for sensor



■ **Absolute Maximum Ratings (Ta=25℃)**

Parameter	Symbol	Value	Unit
Power Dissipation	P_d	120	mW
Continuous Forward Current	I_F	25	mA
Peak Forward Current *1	I_{FM}	100	mA
Reverse Voltage	V_R	5	V
Operating Temperature	T_{opr}	- 30 to + 80	°C
Storage Temperature	T_{stg}	- 40 to + 100	°C
Soldering Temperature	T_{sol}	260 (with in 5 seconds)	°C

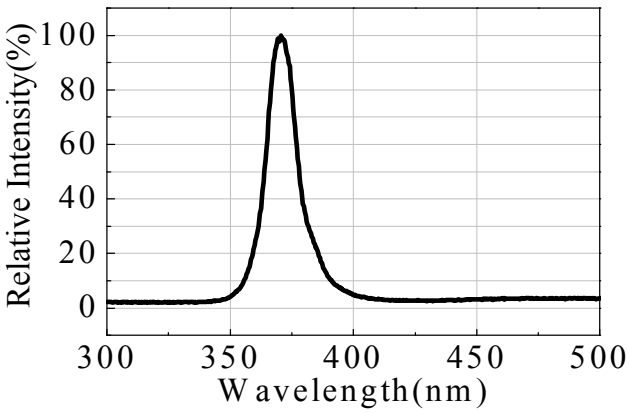


그림 13. 365 ㎚ LED (주)셀마텍 데이터

제 3 절 실험 균주 및 배양 방법

본 실험에서 사용된 균은 총 5가지로 대장균[Escherichia coli (E. coli)], 식중독 구균(Salmonella typhimurium), 포도상 구균(Staphylococcus aureus subsp), 바실루스 구균(Bacillus cereus), 비브리오 구균(Vibrio parahaemolyticus)을 사용하였다. 대장균은 '조선대학교 고체 고분자 실험실'에서 제공된 균주인 BL21DE3를 사용하였다. 다른 4가지(식중독 구균, 포도상 구균, 바실루스 구균, 비브리오 구균)균은 한국 미생물 보존센터에서 주문된 균을 사용하였다. 그리고 데이터 측정을 위해 미생물을 측정 할 수 있는 배지 방법을 선택하였다. 미생물 배지는 배지가 함유하는 성분, 배지의 성상에 따라 액체배지는 미생물의 일반적인 생육과 물질의 생산을 목적으로 사용하며, 고체배지는 액체배지에 한천 또는 gelatin을 첨가하여 굳힌 배지를 말한다, 미생물의 순수분리, 보존, 활성화 목적으로 사용된다. 이번 실험에서는 Luria-Bertani (LB) 배지를 이용하였다.

균의 배양 방법으로는 배양된 대장균 액체배지 (LB broth) 5 ㎖ 와 E. coli: BL21DE3 0.2 ㎕를 Tube 관에 접종하여 200 rpm, 25 ℃의 조건으로 Shaking incubator에서 15시간 동안 대장균을 배양하여 사용하였다. 그리고 다른 4가지(식중독 구균, 포도상 구균, 바실루스 구균, 비브리오 구균) 균은 그림 15인 '동결건조 미생물 배양법'으로 배양된 균을, 그림 16인 '미생물 동결 보존법'으로 균이 저장된 ampoule을 준비하였으며, 매번 실험 시 사용하였다. 이와 같은 방법으로 만든 ampoule은 비슷한 양의 균을 제공하게 되며, 실험 시 균의 양을 최대한 맞출 수 있게 된다. 또한 균의 수치를 정확히 알기 위해 그림 14인 분광 광도계 (UV/VIS spectrophotometer)를 이용하여 실험 시 측정한 후 실험을 진행 하였다. 분광 광도계는 농도 측정 장비로써 방해 성분의 간섭하에 있는 목적 성분의 정량이나 탁한 시료 등 측정이 가능한 장비이다. 그리고 용이한 군체 (Colony) 계수 측정을 위해 그림 17인 희석 평판법(CFU: Colony forming unit)[17]을 사용하였다.

그림 14. UV/VIS Spectrophotometer

UV-1240 사양	
측정파장 범위	190.0~1100.0 nm
스펙트럼 띠폭 (분해능)	5 nm
파장반복 정밀도 (재현성)	±0.3 nm
파장 정확도	±0.1 nm자동 파장 교정기구 내장
파장 측정 속도	파장이동: 약 3800 nm/min
	파장 스켄: 약 24 nm~1400 nm/min
측광방식	Moniter Double Beam
측광범위	흡광도: -0.3 ~3 Abs
	투과도: 0.0 ~200 %
기록범위	흡광도: -3.99 ~3.99 Abs
	투과도: -399~399 %

표 4. UV/VIS Spectrophotometer 사양

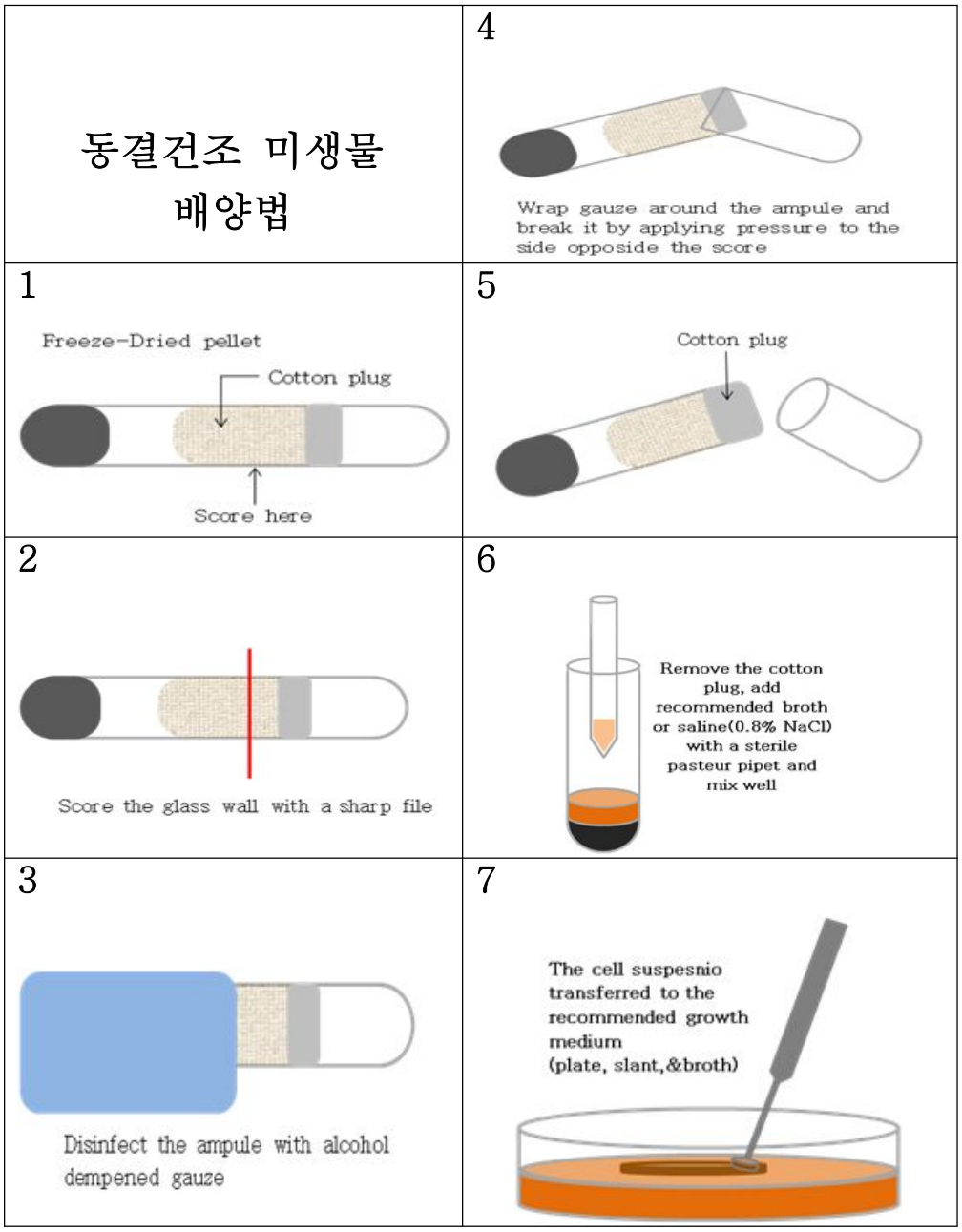

동결건조 미생물
배양법
4
Wrap gauze around the ampule and break it by applying pressure to the side opposide the score
1
Freeze-Dried pellet
Cotton plug
Score here
5
Cotton plug
2
Score the glass wall with a sharp file
6
Remove the cotton plug, add recommended broth or saline(0.8% NaCl) with a sterile pasteur pipet and mix well
3
Disinfect the ampule with alcohol dempened gauze
7
The cell suspesnio transferred to the recommended growth medium (plate, slant,&broth)

그림 15. 균 배양 방법 (1)

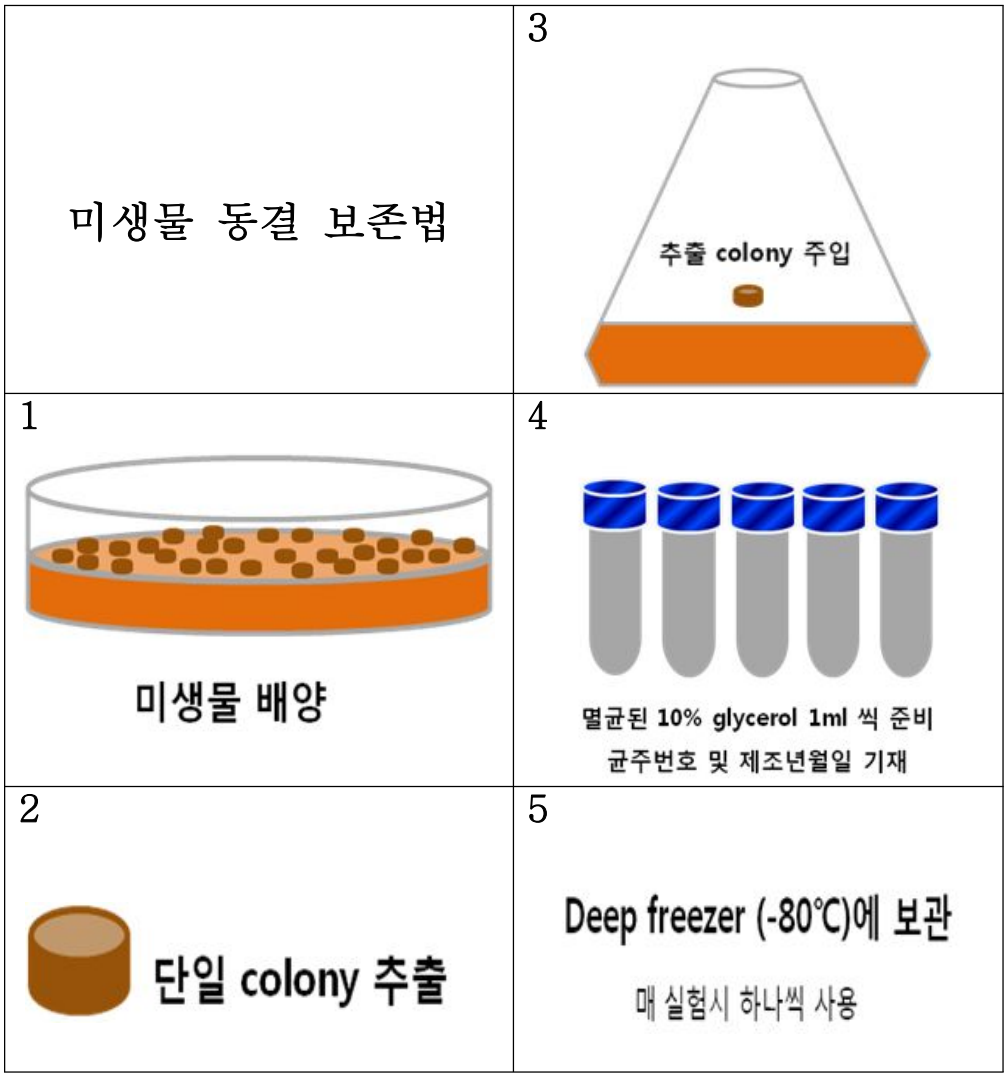

미생물 동결 보존법
3
추출 colony 주입
1
미생물 배양
4
멸균된 10% glycerol 1ml 씩 준비
균주번호 및 제조년월일 기재
2
단일 colony 추출
5
Deep freezer (-80℃)에 보관
매 실험시 하나씩 사용

그림 16. 균 배양 방법 (2)

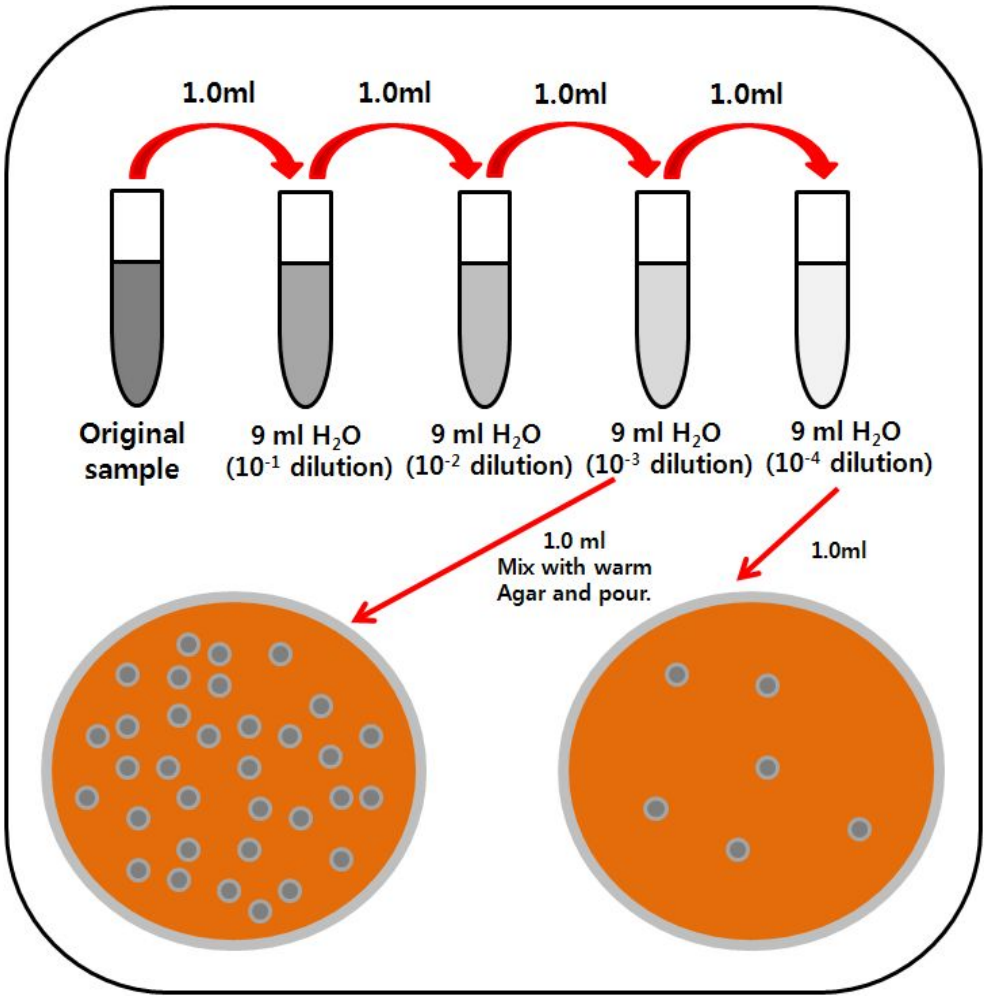

1.0ml
1.0ml
1.0ml
1.0ml
Original sample
9 ml H_2O (10^{-1} dilution)
9 ml H_2O (10^{-2} dilution)
9 ml H_2O (10^{-3} dilution)
9 ml H_2O (10^{-4} dilution)
1.0 ml
Mix with warm
Agar and pour.
1.0ml

그림 17. 희석 평판법

제 4 절 Colony 측정 방법

본 실험에서 고체배지(LB agar plate)와 이용하여 실험을 실행 하였다. 균이 배양된 배지를 $1/10^4$~$1/10^6$희석(희석평판법)한 뒤 일정 양을 추출하여 고체 배지 위에 도말 한 후 UV-LED BOX 에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후, 고체 배지 위의 실험 세균[대장균(Escherichia coli), 식중독 구균(Salmonella typhimurium), 포도상 구균(Staphylococcus aureus subsp), 바실루스 구균(Bacillus cereus), 비브리오 구균(Vibrio parahaemolyticus)]을 heat 챔버에서 35℃에서 24시간 성장 시킨 뒤 고체 배지 위의 균의 군체 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. 여기에 대장균은 추가적으로 액체 배지(LB broth)를 이용하여 실험을 진행하였다. 대장균만 액체 배지 실험을 진행한 이유는 액체 배지 실험을 진행 중 균의 control 문제로 인해 대장균을 제외한 다른 세균은 인체에 해를 입을 수 있으므로, 대장균을 제외한 다른 세균의 실험을 진행 하지 않았다. 대장균 액체 배지 실험은 1 ㎖와 액체배지 9 ㎖를 페트리디쉬에 주입한 다음, 페트리디쉬를 UV-LED BOX에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후 페트리디쉬에 있는 배지를 $1/10^5$로 희석하고 고체배지에 도말 한다. 페트리디쉬에 도말된 대장균 군체를 확인하기 위해 고체 배지를 35 ℃ heat 챔버에서 24시간 성장 시킨 후 고체 배지 위의 대장균 colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. 이와 같은 방법들을 그림 18과 19인 실험 모식도로 정리 하였다.

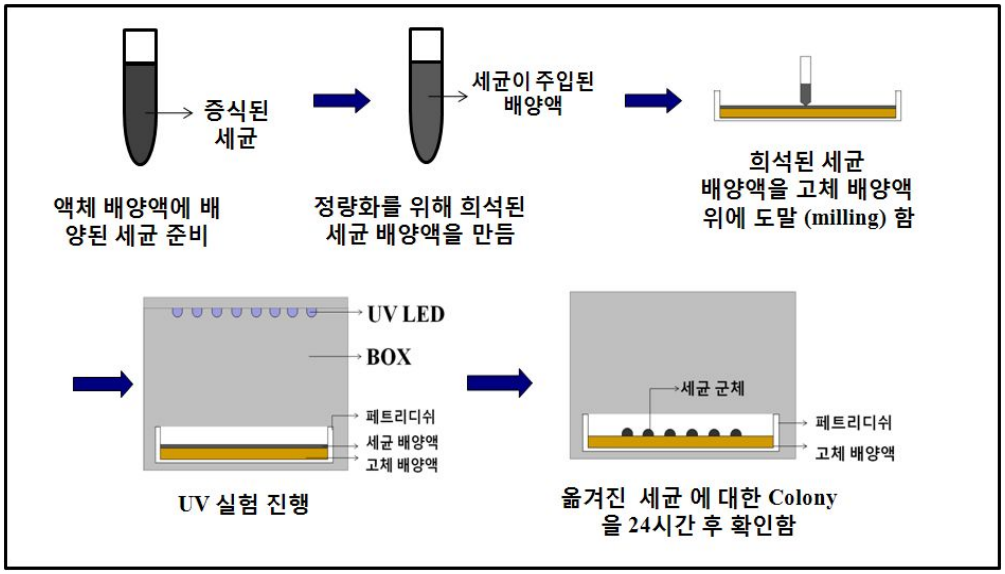


그림 18. 고체배지 모식도

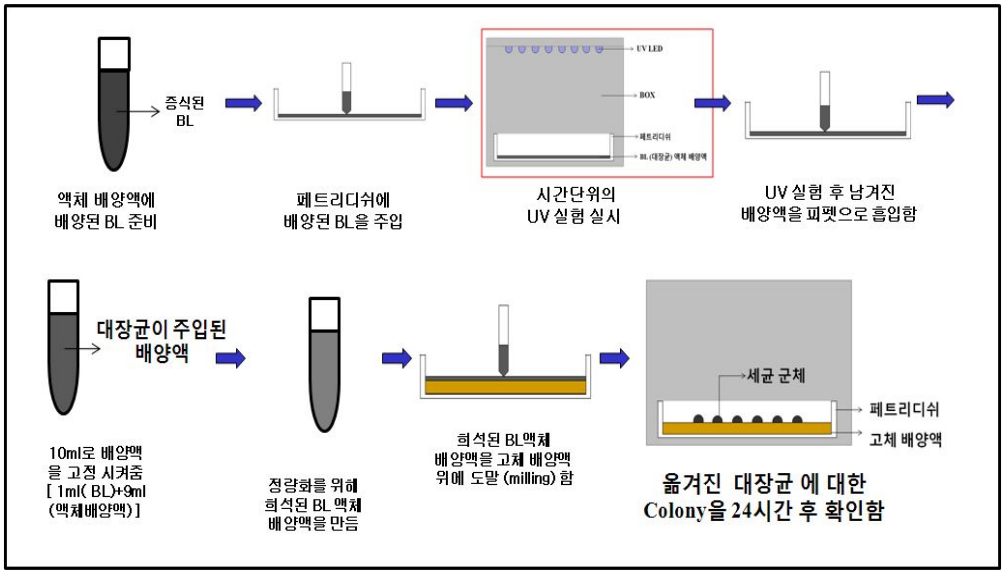


그림 19. 액체배지 모식도

제 4 장 UV LED 실험

제 1 절 Escherichia coli (E. coli)

파장별 대장균(E. coli)의 살균 특성을 알아보기 위해 1/10 로 희석하여 고체 배지(LB agar plate)에 도말 한 후 Non-irradiation, 365 ㎚, 310 ㎚, 265 ㎚에서 15시간 동안 UV를 조사하였다. 실험 결과 그림 20과 같은 균의 특성을 알 수 있었다.

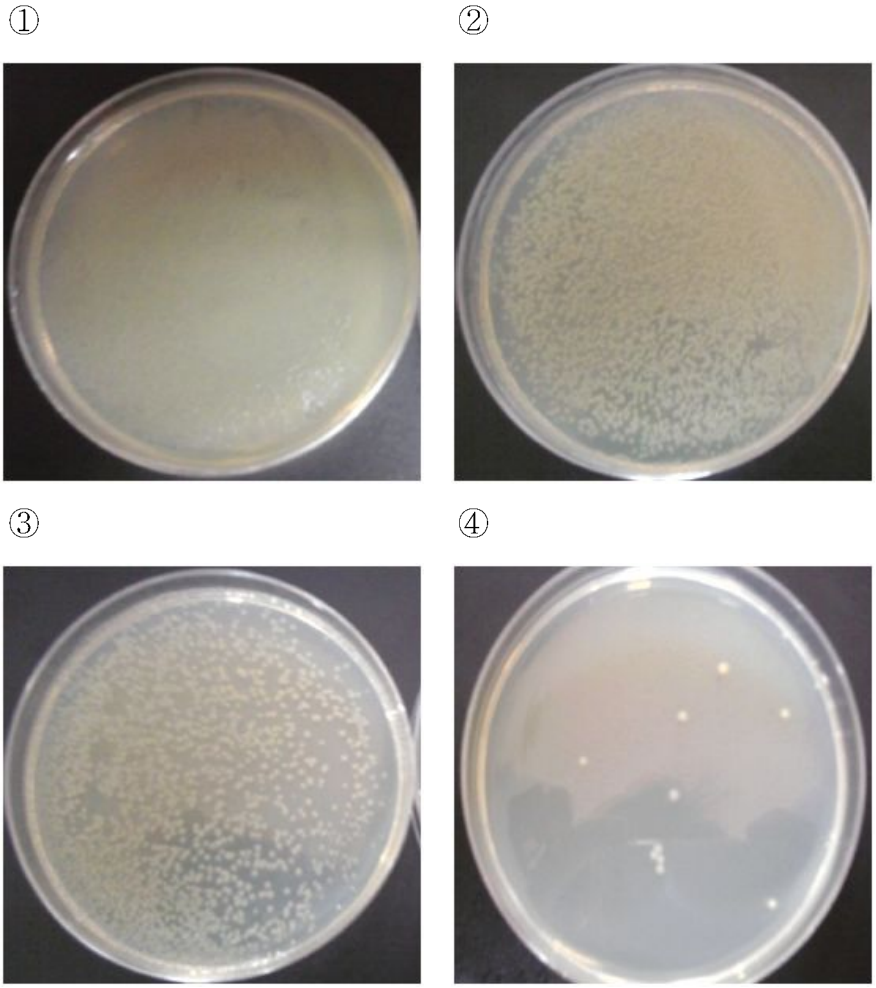


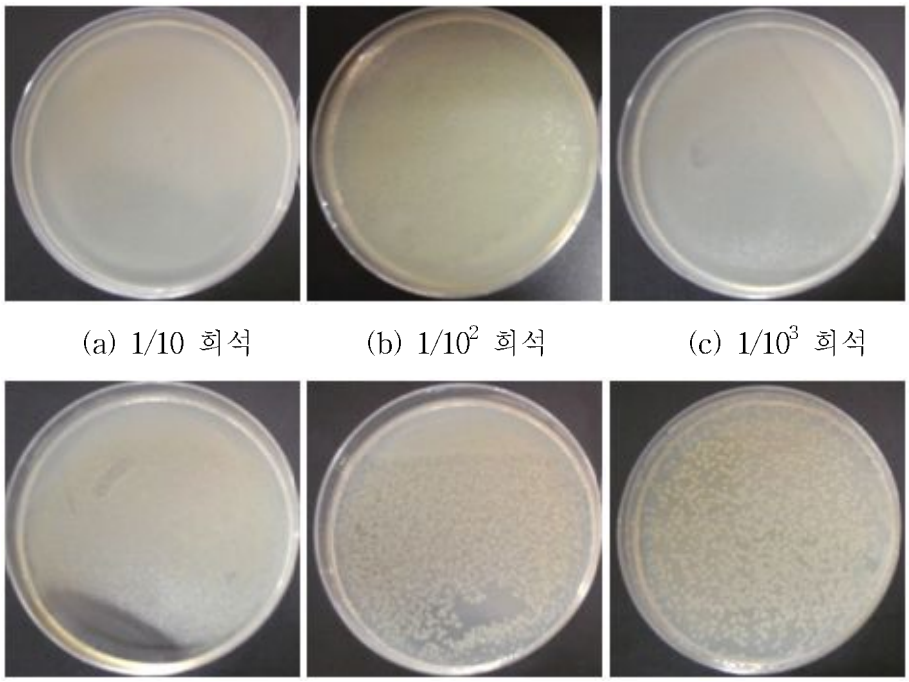
그림 20. 파장에 따른 대장균 실험

① Non-irradiation ② 365 ㎚ ③ 310 ㎚ ④ 265 ㎚

실험 결과 (1)

- Non-irradiation에서는 E. coli colony가 전체 페트리디쉬 전체 면적에 균이 퍼져 있음을 확인하였다.
- 365 ㎚에서는 E. coli colony가 전체 면적에 퍼져 있었으며, 살균된 공간도 곳곳에서 보였다.
- 310 ㎚에서는 E. coli colony가 전체 면적에 퍼져 있었지만, 살균된 공간은 365 ㎚ 비해 넓었다.
- 265 ㎚에서는 수개의 E. coli colony가 나타났다. 이를 통해 균의 살균 효과가 있다는 것을 알 수 있었다.

실험 결과 (1)을 통한 E. coli 균의 UV 효과에 대한 실험은 (2)번째 실험을 진행 할 수 있는 근거가 되었다. 균의 살균 효과 data를 얻기 위해 (2)번째 실험인 CFU(Colony forming unit) 설정 실험을 진행하였다. 균을 $1/10^1$ ~$1/10^6$ 으로 희석하였다. 그림 21과 같은 결과가 나타났다.



(a) 1/10 희석 (b) $1/10^2$ 희석 (c) $1/10^3$ 희석

(d) $1/10^4$ 희석 (e) $1/10^5$ 희석 (f) $1/10^6$ 희석

그림 21. 희석에 의한 대장균 실험

실험결과 희석이 될수록 colony 수가 줄어든 것을 알 수 있었다. 본 실험을 통해 가장 적은 colony 수를 보인 것은 $1/10^6$ 이었다. 하지만 $1/10^6$ 에서 발견된 colony 수치가 많은 관계로 추출 배양액을 0.2 ㎕로 줄여 고체 배지 위에 도말 하였다. 그리고 세밀한 데이터를 얻기 위해 $1/10^4$~$1/10^5$ 희석한 후 추가 실험을 진행 하였다.

대장균 (E. coli) 실험에서는 액체배지, 고체배지 두 가지 Type을 이용하여 E. coli의 실험을 실행 하였다. 첫 번째 실험인 액체배지(LB broth)를 이용한 방법은 다음과 같다. E. coli가 배양된 배지 1 ㎖와 액체배지 9 ㎖를 페트리디쉬에 주입한 다음, 페트리디쉬를 UV-LED BOX에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후 페트리디쉬에 있는 배지를 $1/10^4$ 으로 희석하고 고체배지(LB agar plate)에 도말 한다. 페트리디쉬에 도말된 E. coli colony를 확인하기 위해 고체 배지를 37 ℃ heat 챔버에서 24시간 균을 성장 시킨 후 고체 배지 위의 E. coli colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다.

두 번째 실험인 고체배지(LB agar plate)방법은 다음과 같다. E. coli 가 배양된 배지를 $1/10^4$ 희석한 뒤 고체배지 위에 도말 한 후 UV-LED BOX 에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후, 고체 배지의 E. coli를 heat 챔버에서 37 ℃로 24시간 성장 시킨 뒤 고체 배지 위의 E. coli colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. 아래 그래프는 대장균 고체 배지 실험 결과이다.

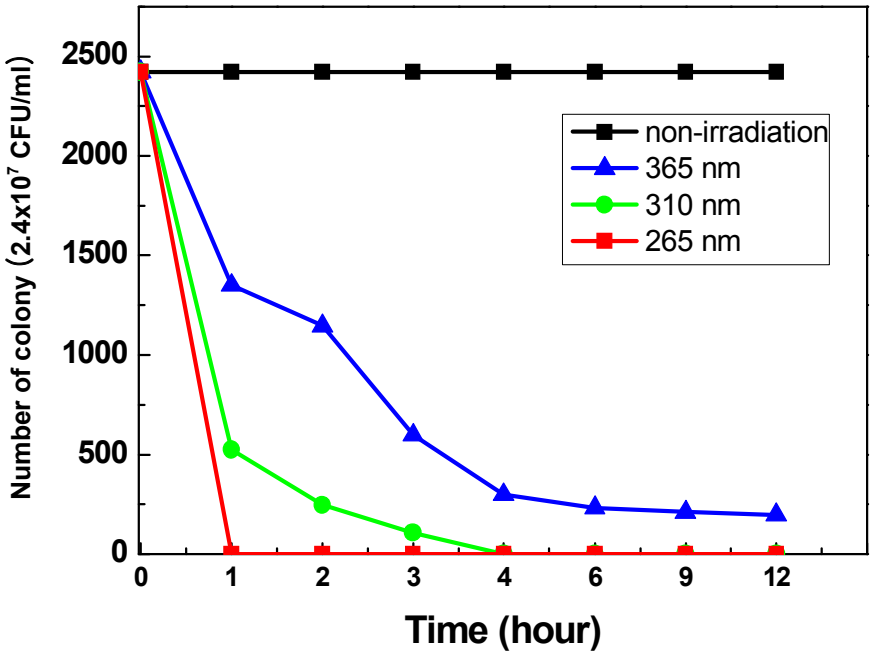


그림 22. 대장균 고체 배지 실험

배지 실험에서 UV Irradiation 시간을 각각 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 24 시간으로 설정 하여 실험을 수행하였다. 비교를 위해 동일한 조건에 UV를 조사하지 않는 Non-irradiation의 경우도 함께 실험을 수행하였다. Non-irradiation의 경우 시간의 경과에 따라, 초기 E. coli의 colony가 서서히 성장되는 것을 확인 하였다. 이때 고체 베이지 위에 도말된 E. coli는 유동이 불가능하므로, E. coli들은 초기의 위치에서 clone만을 만들면서 성장하였고 따라서 전체 colony들의 개수는 초기와 동일하였다. 반면 UV를 조사한 경우에는 UV가 E. coli를 살균하므로, E. coli의 colony 성장을 억제 시키고 동시에 균 자체를 제거하여 colony 수를 감소시키는 것을 확인하였다. 365 ㎚ UV 조사에서는 시간이 지날수록 colony 개수가 줄어들다가 12시간 조사 후 초기 colony 수 대비 약 8 %의 colony 수들이 남았고 그 후에는 colony 수가 감소 없이 계속

해서 동일한 수로 유지됨을 알 수 있었다. 310 ㎚에서는 4시간 UV 조사 후 완전 살균이 이루어 졌음을 알 수 있었다. 265 ㎚에서는 1시간 UV 조사 후 완전 살균되었다. 이를 통해 265 ㎚, 310 ㎚는 E. coli에 대해 살균 효과를 가지는 것을 확인하였고, 반면 365 ㎚는 부분 살균 효과만을 가지는 것을 알 수 있었다.

265 ㎚, 310 ㎚에서 colony 수 감소의 반감기를 알아보기 위해 실험을 진행하였다. 265 ㎚에서 UV 조사시간을 5, 10, 20, 40, 80, 100, 120, 240, 360, 480, 600 sec로 나누어 실험을 진행 하였다. 실험 결과 15 sec에서 colony 수가 초기 값의 반으로 줄었으며, 4~5분 후 완전히 사라진 것을 확인 있었다. 그리고 310 ㎚에서는 UV 조사 시간을 15, 30 min, 1, 2, 3, 4 hour로 실험을 진행하였다. 실험 결과 15min 후 균주 반감기가 나타났으며, 4시간 이후 완전 살균이 이루어졌다. 265 ㎚에 대한 자세한 데이터를 아래 그래프로 정리하였다.

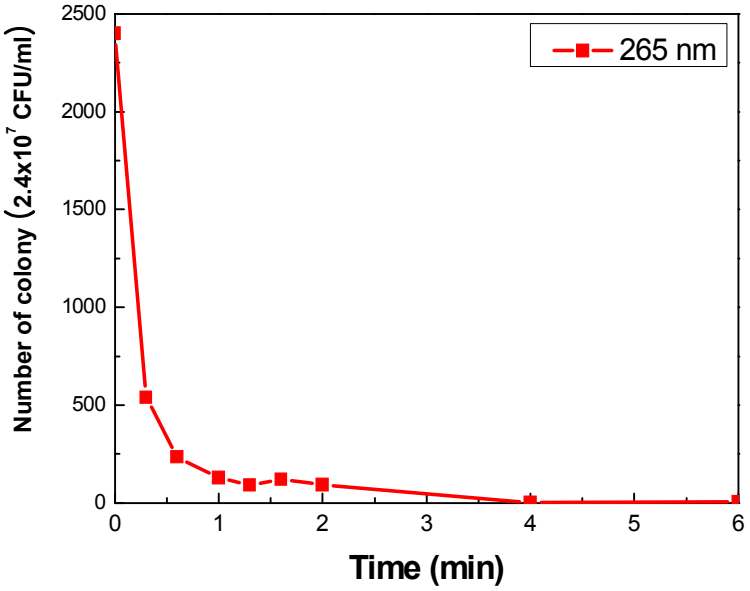


그림 23. 265 ㎚의 대장균 실험

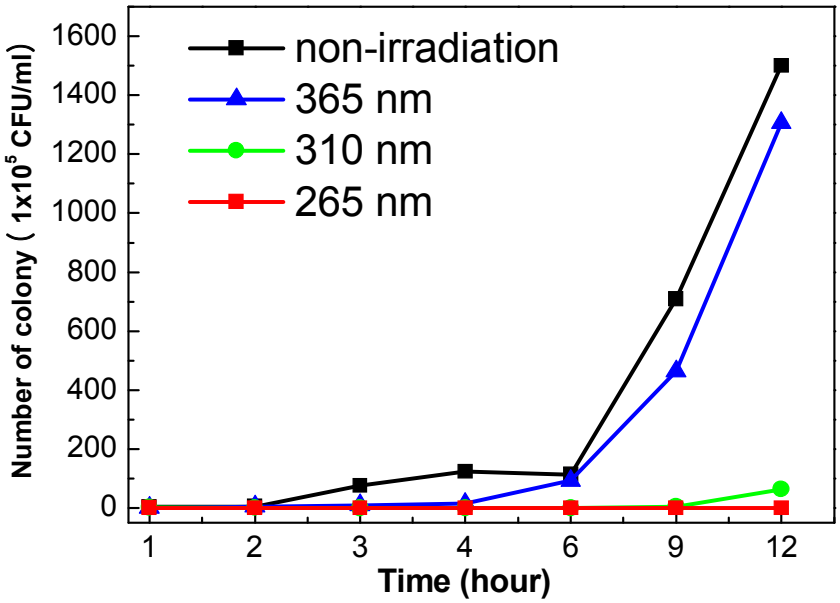


그림 24. 대장균 액체 배지 실험

위 그래프는 액체 배지 실험결과이다. 실험 결과 초기 액체 배지 실험에서 UV Irradiation 시간을 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12 hour로 설정 하였다. 실험 결과 Non-irradiation 경우는 시간의 경과에 따라, E. coli의 Colony 계수가 급격히 증가 하였다. 365 ㎚ 경우도 시간이 지날수록 colony 개수가 급격히 증가 하였으나, 증가의 율이 Non-irradiation 대비 감소하였으며 12 시간 후 Non-irradiation 대비 80 %의 균수가 발견되었다. 310 ㎚에서는 12 시간 정도까지는 균수의 증가 일어나지 않고 억제 되었으나 12시간 이후부터는 조금씩 증가되어 Non-irradiation 대비 약 4% 균수가 발견되었다. 265 ㎚에서는 12시간까지도 균수의 증가가 완전히 억제됨을 확인하였다. 따라서 265 ㎚의 경우는 완벽한 살균 효과를 가지는 것으로 알 수 있었고, 310 ㎚의 경우도 상당한 살균효과를 가지는 것으로 알 수 있었다.

제 2 절 식중독 구균(Salmonella typhimurium)

본 실험은 대장균에서 진행된 고체 배지 실험과 같은 방법으로 진행하였다. 먼저 식중독 구균의 특성을 알아보기 위해 1/10로 희석하여 고체 배지에 도말 한 후 Non-irradiation, 365 ㎚, 310 ㎚, 265 ㎚에 15시간 동안 UV를 조사하여 균의 분포에 대에서 확인하였다. 실험 결과 그림 25와 같은 균의 특성을 알 수 있었다.

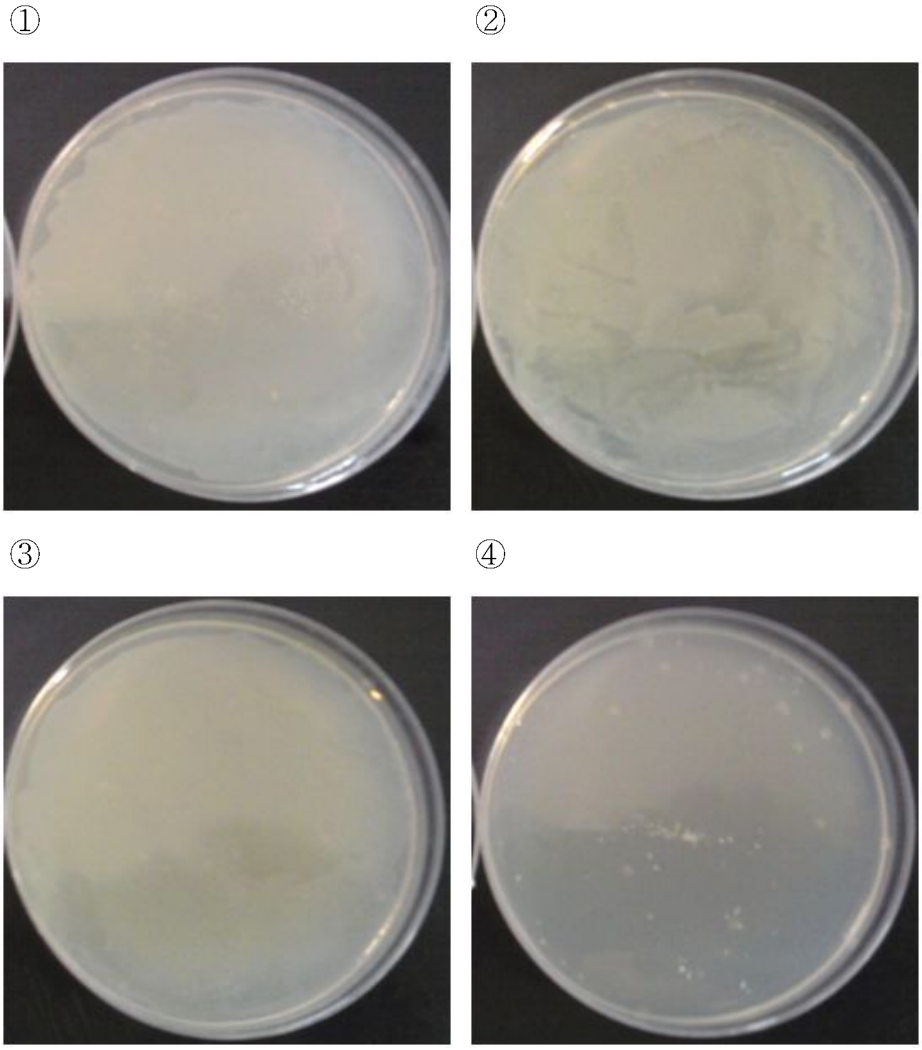


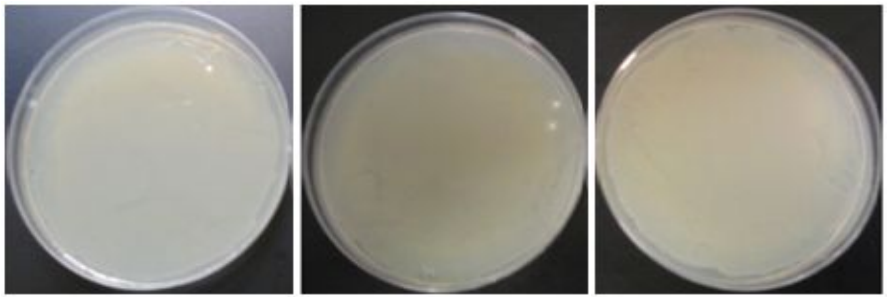
그림 25. 파장에 따른 식중독 구균 실험

① Non-irradiation ② 365 ㎚ ③ 310 ㎚ ④ 265 ㎚

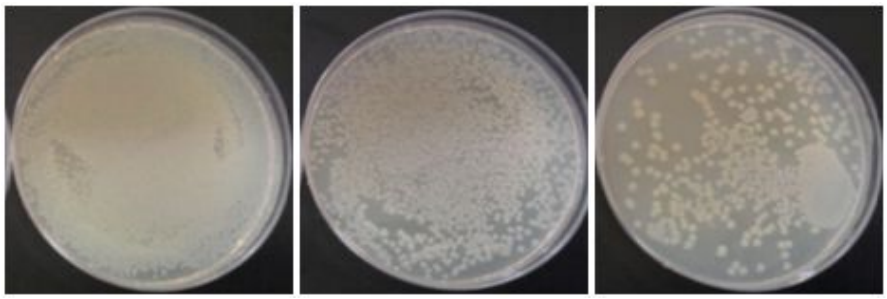
실험 결과 (1)

- Non-irradiation에서는 전체 면적에 균이 퍼져 있음을 알 수 있었다.
- 365 ㎚에서는 균이 전체 면적에 퍼져 있었지만, Non-irradiation 보다 균의 두께가 얇은 것을 알 수 있었다. 이는 부분 살균 또는 성장 억제 효과가 있다는 것을 뜻한다.
- 310 ㎚에서는 균이 전체 면적에 퍼져 있으며, 365 ㎚에 비해 균의 두께가 얇았다.
- 265 ㎚에서는 균의 살균 효과가 있다는 것을 알 수 있었다. 하지만 수십의 Colony가 발견 되었으며, 이것을 통해 식중독 균은 265 ㎚에서 완전 살균에는 이르지 못한 것을 알 수 있었다.

실험 결과 (1)을 통한 식중독 구균의 UV 효과에 대한 실험은 (2)번째 실험을 진행 할 수 있는 근거가 되었다. 균의 살균 효과 data를 얻기 위해 (2)번째 실험인 CFU(Colony forming unit) 설정 실험을 진행하였다. 균을 $1/10^1$~$1/10^6$으로 희석하였다. 실험 결과 그림 26과 같은 결과를 알 수 있었다.



(a) 1/10 희석 (b) $1/10^2$ 희석 (c) $1/10^3$ 희석



(d) $1/10^4$ 희석 (e) $1/10^5$ 희석 (f) $1/10^6$ 희석

그림 26. 희석에 의한 식중독 구균 실험

실험 결과 그림 25(f)에서 Colony 수치를 효과적으로 판별할 수 있었다.

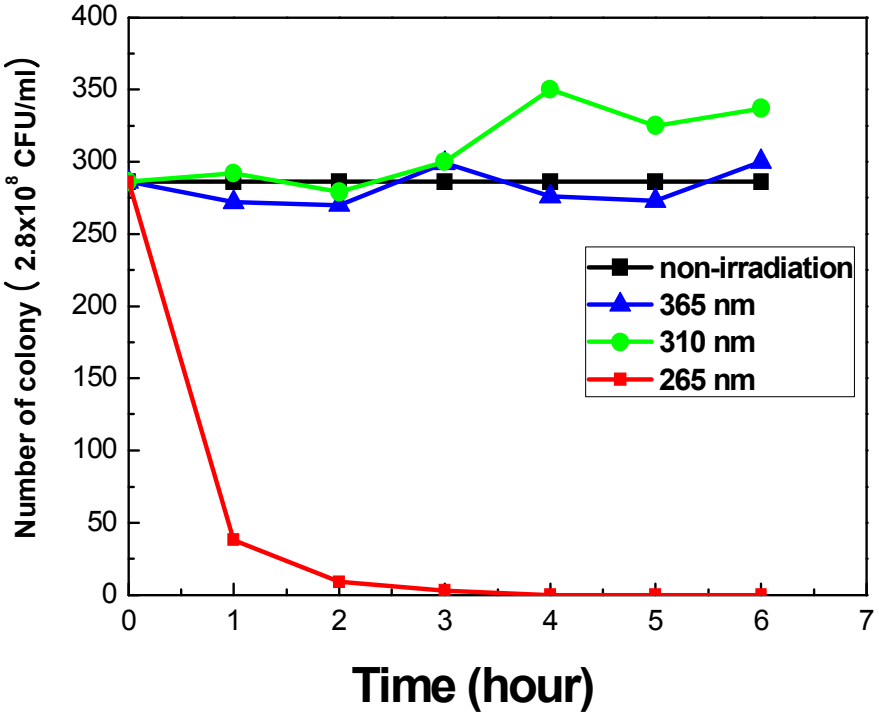


그림 27. 식중독 구균 고체 배지 실험

식중독(Salmonella) 구균 실험에서는 고체배지 이용하여 살균 실험을 실행하였다. 고체배지 방법은 다음과 같다. 식중독 구균이 배양된 배지를 1/10^{6}희석한 뒤 고체배지 위에 도말 한 후 UV-LED BOX 에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후, 고체 배지 위의 식중독 구균을 heat 챔버에서 35℃로 24시간 균을 성장 시킨 뒤 고체 배지 위의 균 colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. UV Irradiation 시간을 각각 15, 30, 45 min 그리고 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, hour으로 설정 하여 실험을 수행하였다. UV를 조사한 경

우 균의 성장을 억제 시켰으며, 살균 및 부분 살균을 보였다. 실험 결과 그림 27과 같은 결과가 확인 되었다. 365 ㎚, 310 ㎚에서는 UV를 조사하지 않은 Non-irradiation와 비슷한 수치인 colony 수가 나타났다. 이는 20~30개 colony 수치 차이는 있으나 10^6 CFU/㎖로 희석 후 도말 한 결과이므로 살균이 이루어진 것으로 보기는 힘들다. 결국 310 ㎚, 365 ㎚의 UV는 Salmonella 균에 살균 영향을 미치지 않는 다는 것을 알 수 있었다. 하지만 265 ㎚에서는 4시간 이후 완전 살균 된 것을 알 수 있었다. 또한 265 ㎚에서 추가 실험을 통해 식중독 구균의 반감기는 15분으로 나타났다. 265 ㎚에 대한 자세한 데이터를 아래 그래프로 정리하였다.

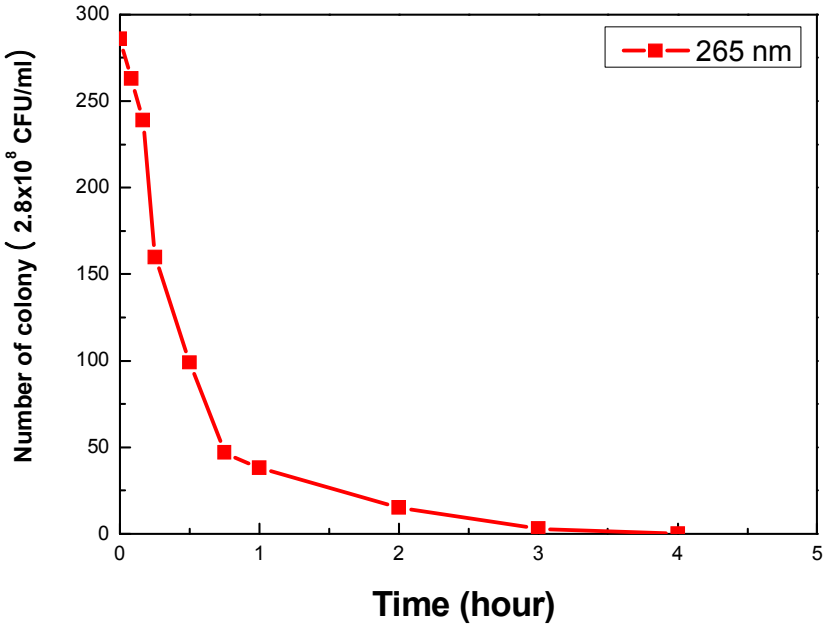


그림 28. 265 ㎚의 식중독 구균 실험

제 3 절 포도상 구균(Staphylococcus aureuis)

배양된 포도상 구균을 희석한 후 고체 배지(LB agar plate) 위에 도말하여 실험(전 단계 실험과 똑 같은 방법임)을 진행하였다. 먼저 포도상 구균의 특성을 확인하기 위해 1/10로 희석하여 고체 배지에 도말 한 후 Non-irradiation, 365 ㎚, 310 ㎚, 265 ㎚에 15시간 동안 UV를 조사하여 균의 분포에 대에서 확인하였다. 실험 결과 그림 29와 같은 균의 특성을 알 수 있었다.

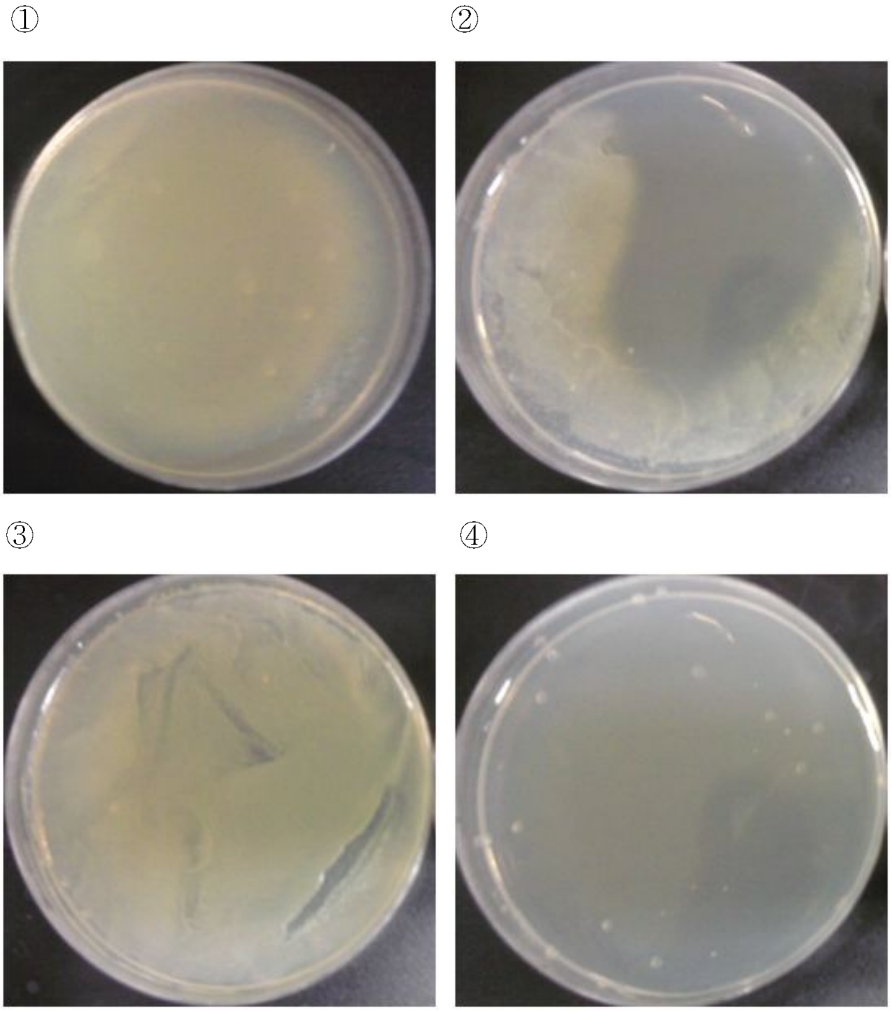


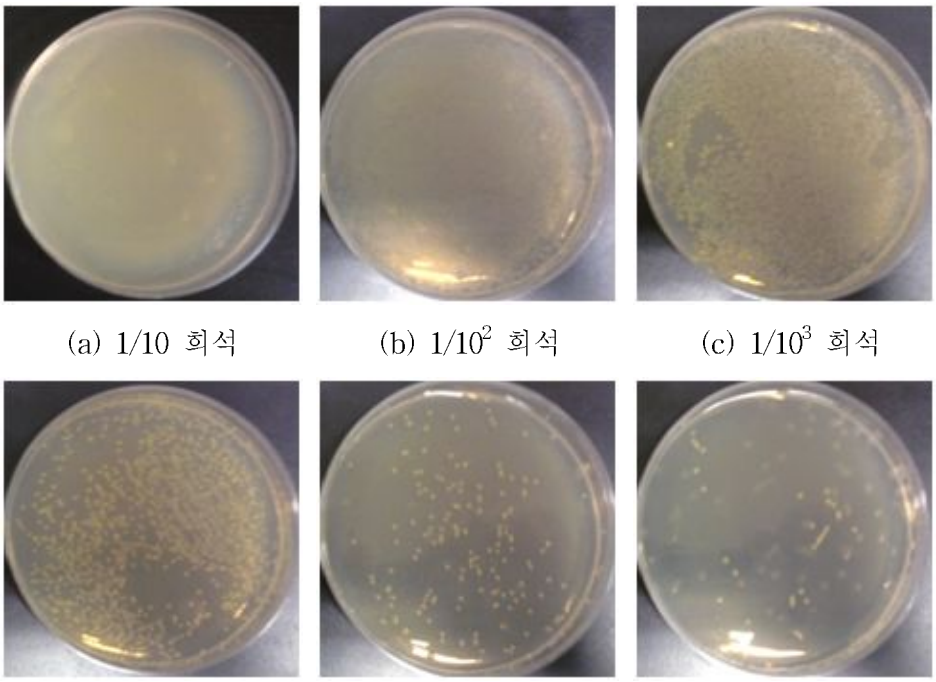
그림 29. 파장에 따른 포도상 구균 실험

① Non-irradiation ② 365 ㎚ ③ 310 ㎚ ④ 265 ㎚

실험 결과 (1)

- Non-irradiation에서는 전체 면적에 균이 퍼져 있음을 확인하였다.
- 365 ㎚에서는 살균 효과가 나오지 않았으며 전체 면적에 균이 퍼져 있었다.
- 310 ㎚에서는 균이 전체 면적에 퍼져 있었지만, Non-irradiation 보다 균의 두께가 얇고, 빈 공간이 나타났다. 이는 부분 살균 또는 성장 억제 효과가 있다는 것을 뜻한다.
- 265 ㎚에서는 살균 효과가 나왔으며, colony는 발견되지 않았다.

실험 결과 (1)을 통한 포도상 구균의 UV 효과에 대한 실험은 (2)번째 실험을 진행 할 수 있는 근거가 되었다. 균의 살균 효과 data를 얻기 위해 (2)번째 실험인 CFU(Colony forming unit) 설정 실험을 진행하였다. 균을 $1/10^1$~$1/10^6$으로 희석하였다. 실험 결과 그림 30과 같은 결과를 알 수 있었다.



(a) 1/10 희석 (b) $1/10^2$ 희석 (c) $1/10^3$ 희석

(d) $1/10^4$ 희석 (e) $1/10^5$ 희석 (f) $1/10^6$ 희석

그림 30. 희석에 의한 포도상 구균 실험

실험 결과 그림 25(e)에서 Colony 수치를 효과적으로 판별할 수 있었다.

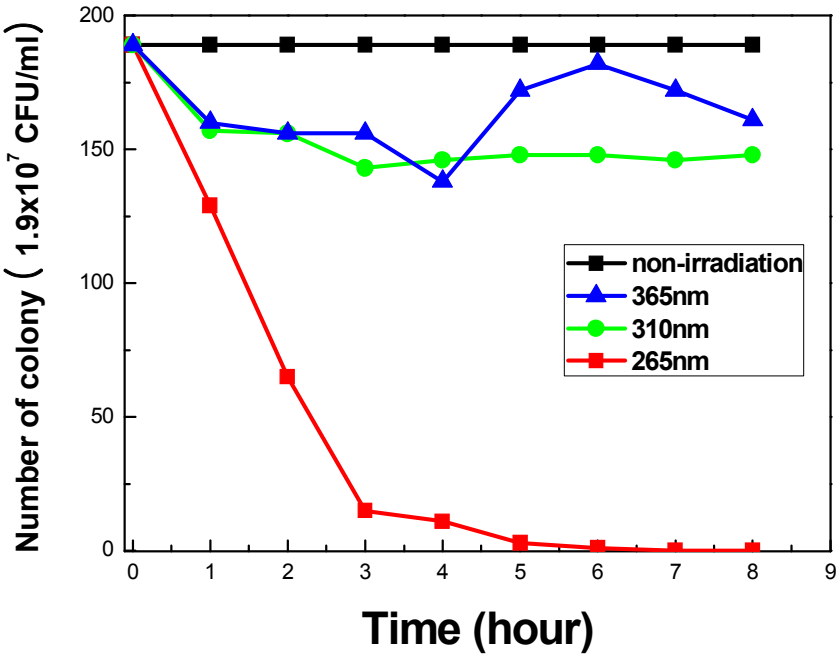


그림 31. 포도상 구균 고체 배지 실험

포도상 구균(Staphylococcus aureuis) 실험에서는 고체배지 이용하여 살균 실험을 실행 하였다. 고체배지 방법은 다음과 같다. 식중독균이 배양된 배지를 $1/10^5$희석한 뒤 고체배지 위에 도말 한 후 UV-LED BOX에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후, 고체 배지 위의 포도상 구균을 heat 챔버에서 37℃로 24시간 균을 성장 시킨 뒤 고체배지 위의 균 colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. UV Irradiation 시간을 각각 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, hour 으로 설정 하여 실험을 수행하였다. 실험 결과 그림 31과 같은 결과가 확인 되었다. UV 를 조사한 경우 균의 성장을 억제 시켰으며, 살균 및 부분 살균을 보였다. 365 ㎚에서는 UV를 조사하지 않은 Non-irradiation와 비슷하거나 약간 낮은 colony 수가 나타났다. 하지만 일정한 colony 수치가 나타나

지 않았으며, ±15 %의 colony 차이는 10^5 CFU/㎖로 희석 후 도말 한 결과이므로 부분살균이 이루어진 것으로 보기는 힘들다. 310 ㎚에서는 Non-irradiation 보다 20% 이상 colony가 감소한 수치를 나타냈으며, 약간의 UV 효과가 있다는 것을 보여주었다. 265 ㎚에서는 6시간 이후 완전 살균 된 것을 알 수 있었다. 또한 265 ㎚에서 추가 실험을 통해 포도상 구균의 반감기는 1시간 30분인 것을 확인하였다.

제 4 절 바실루스 구균(Bacillus cereus)

바실루스 구균을 희석한 후 고체 배지 위에 도말하여 실험을 진행하였다. 먼저 바실루스 구균의 특성을 확인하기 위해 1/10로 희석하여 고체 배지에 도말 한 후 Non-irradiation, 365 ㎚, 310 ㎚, 265 ㎚에 15시간 동안 UV를 조사하여 균의 분포에 대에서 알아보았다. 실험 결과 그림 32와 같은 균의 특성을 알 수 있었다.

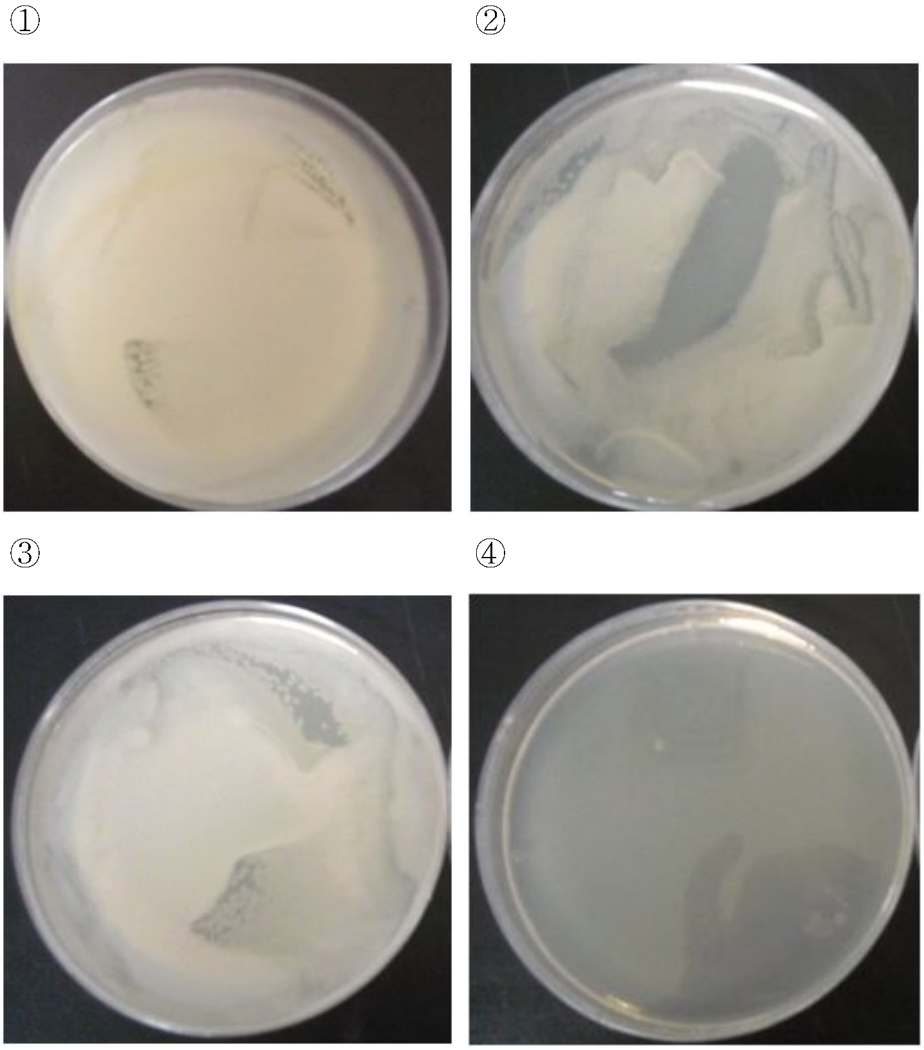


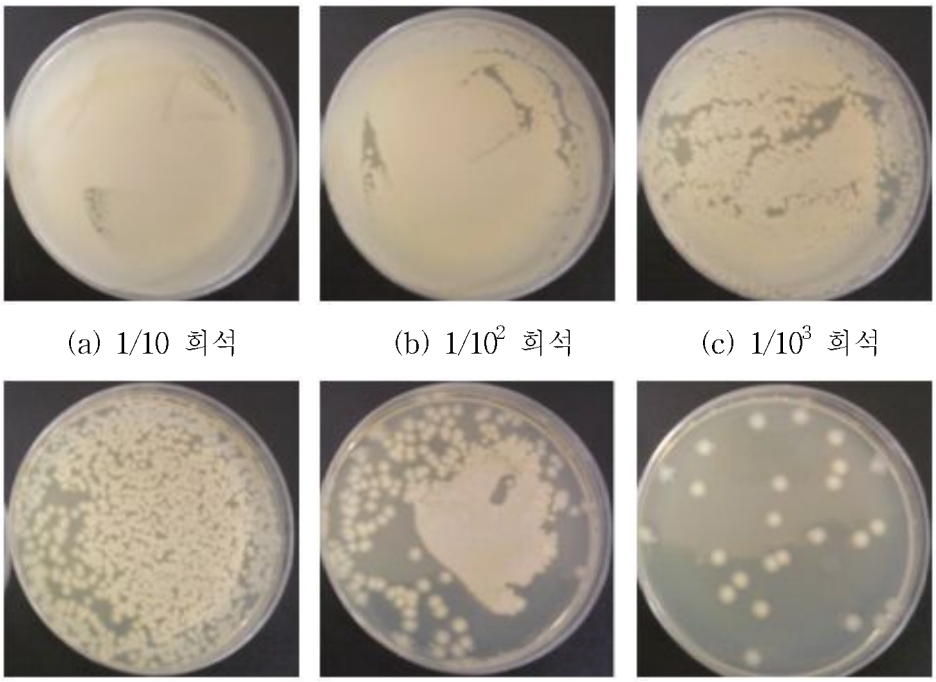
그림 32. 파장에 따른 바실루스 구균 실험

① Non-irradiation ② 365 ㎚ ③ 310 ㎚ ④ 265 ㎚

실험 결과 (1)

- Non-irradiation에서는 전체 면적에 균이 퍼져 있음을 확인하였다.
- 365 ㎚에서는 살균 효과가 나오지 않았으며, 전체 면적에 균이 퍼져 있었다.
- 310 ㎚에서도 살균 효과가 나타나지 않았다. 365 ㎚에 비해 균 두께가 얇고, 빈 공간이 나타났다. 이는 부분 살균 또는 성장 억제 효과가 있다는 것을 뜻한다.
- 265 ㎚에서는 살균 효과가 나왔으며, colony는 발견되지 않았다.
- 지금까지 실험 균 중 균의 성장이 빠르며 균의 두께 또한 두껍다.

실험 결과 (1)을 통한 바실루스 구균의 UV 효과에 대한 실험은 (2)번째 실험을 진행 할 수 있는 근거가 되었다. 균의 살균효과 data를 얻기 위해 (2)번째 실험인 CFU(Colony forming unit) 설정 확인 실험을 진행하였다. 균을 $1/10^1$~$1/10^6$으로 희석하였다. 실험 결과 그림 33과 같은 결과를 알 수 있었다.



(a) 1/10 희석 (b) $1/10^2$ 희석 (c) $1/10^3$ 희석

(d) $1/10^4$ 희석 (e) $1/10^5$ 희석 (f) $1/10^6$ 희석

그림 33. 희석에 의한 바실루스 구균 실험

실험 결과 그림 25(e)에서 Colony 수치를 효과적으로 판별할 수 있었다.

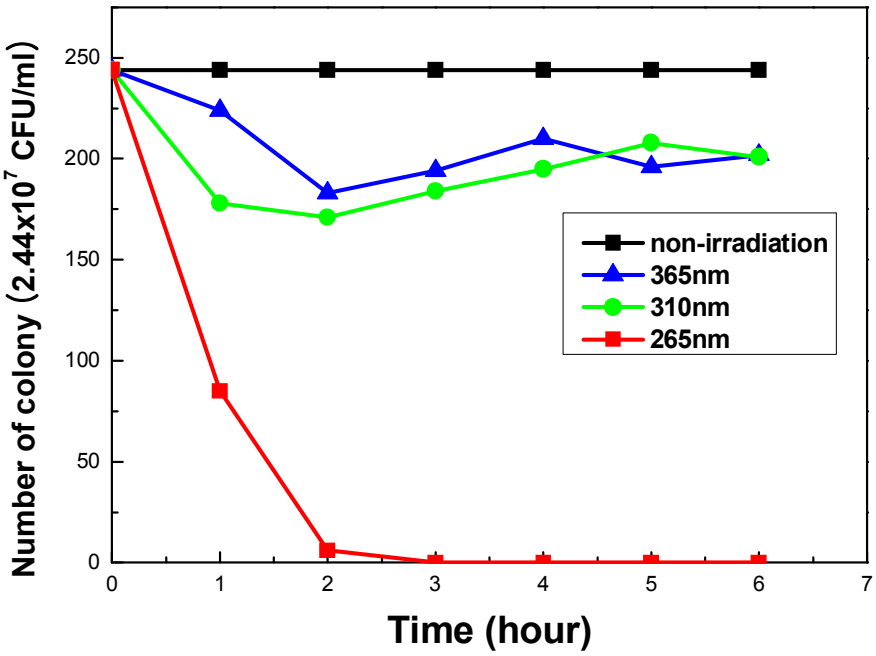


그림 34. 바실루스 구균 고체 배지 실험

바실루스 구균(Bacillus cereus) 실험에서는 고체배지 이용하여 살균 실험을 실행 하였다. 고체배지 방법은 다음과 같다. 바실루스 구균이 배양된 배지를 $1/10^5$희석한 뒤 고체배지 위에 도말 한 후 UV-LED BOX 에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후, 고체 배지 위의 바실루스 구균을 heat 챔버에서 35 ℃로 24시간 균을 성장 시킨 뒤 고체 배지 위의 균 colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. UV Irradiation 시간을 각각 1, 2, 3, 4, 5, 6 hour으로 설정 하여 실험을 수행하였다. 실험 결과 그림 34와 같은 결과가 확인 되었다. UV를 조사한 경우 균의 성장을 억제 시켰으며, 살균 및 약간의 부분 살균을 보였다. 365 ㎚에서는 UV를 조사하지 않은 Non-irradiation에 비해 10 % 낮은 colony 수가 나타났다. 하지만 10^5 CFU/㎖ 로 희석 후 도말

한 결과이므로 부분 살균이 이루어진 것으로 보기는 힘들다. 310 ㎚에서는 365 ㎚와 비슷한 colony 균 수치를 나타냈다. 265 ㎚에서는 2시간 30분 이후 완전 살균 된 것을 확인 하였다. 또한 265 ㎚에서 추가 실험을 통해 바실루스 구균의 반감기는 45분인 것을 확인하였다. 본 바실루스 구균 실험은 균의 성장과 균의 확장 범위가 빠르며 넓게 나타났다. 실험 시간을 초과하는 경우 365 ㎚ 310 ㎚에서는 Colony 수치를 확인하기 어려웠다. 본 바실루스 구균은 세심한 control이 필요한 것으로 보인다. 265 ㎚에 대한 자세한 데이터를 아래 그래프로 정리하였다.

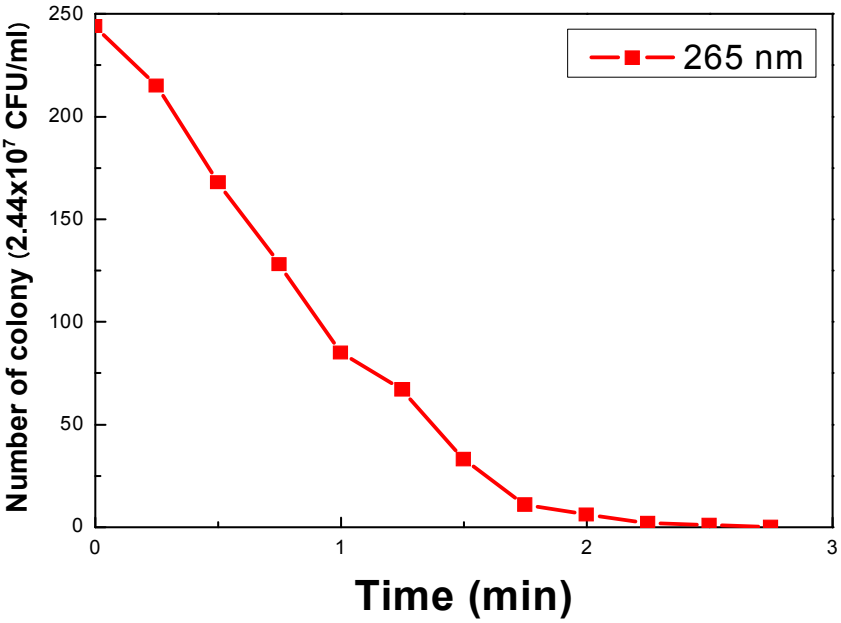


그림 35. 265 ㎚의 바실루스 구균 실험

제 5 절 비브리오 구균(Vibrio parahaemolyticus)

비브리오 구균을 희석한 후 고체 배지 위에 도말하여 실험을 진행하였다. 먼저 비브리오 구균의 특성을 확인하기 위해 1/10로 희석하여 고체 배지에 도말 한 후 Non-irradiation, 365 ㎚, 310 ㎚, 265 ㎚에 15시간 동안 UV를 조사하여 균의 분포에 대에서 확인하였다. 실험 결과 그림 36과 같은 균의 특성을 알 수 있었다.

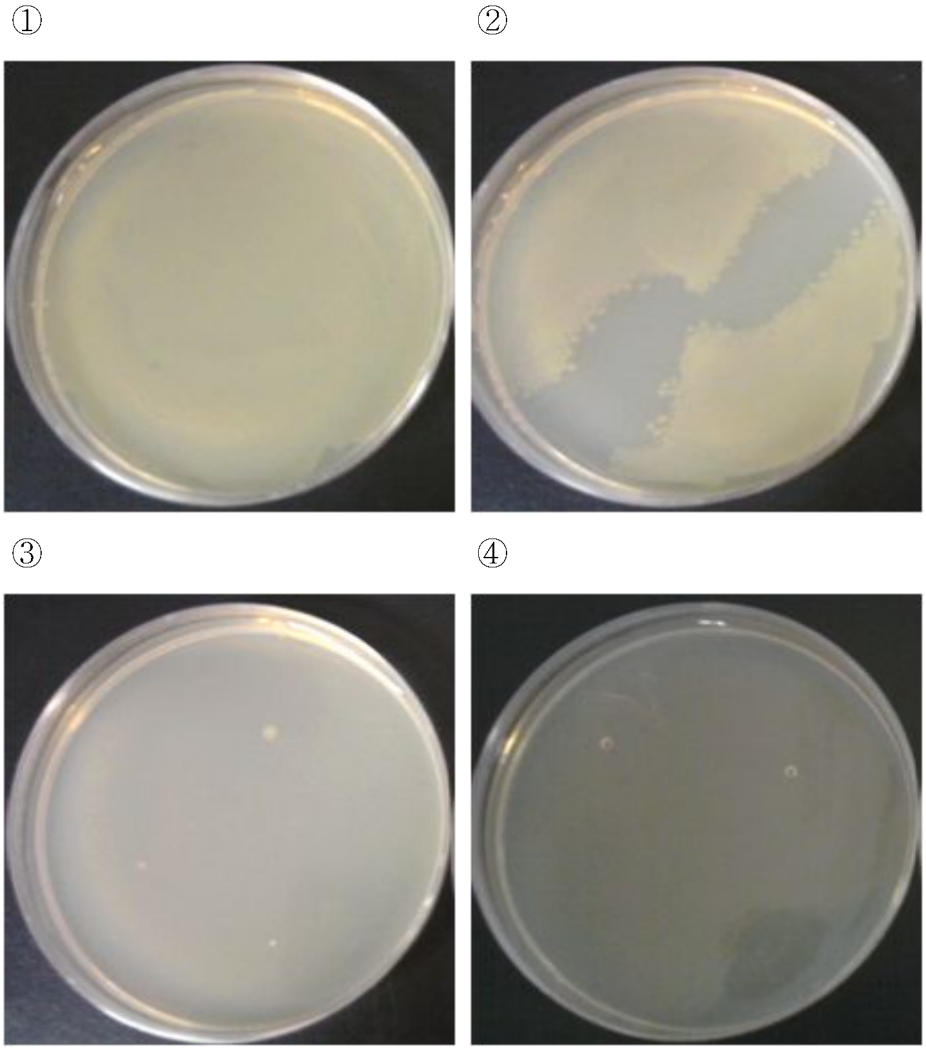


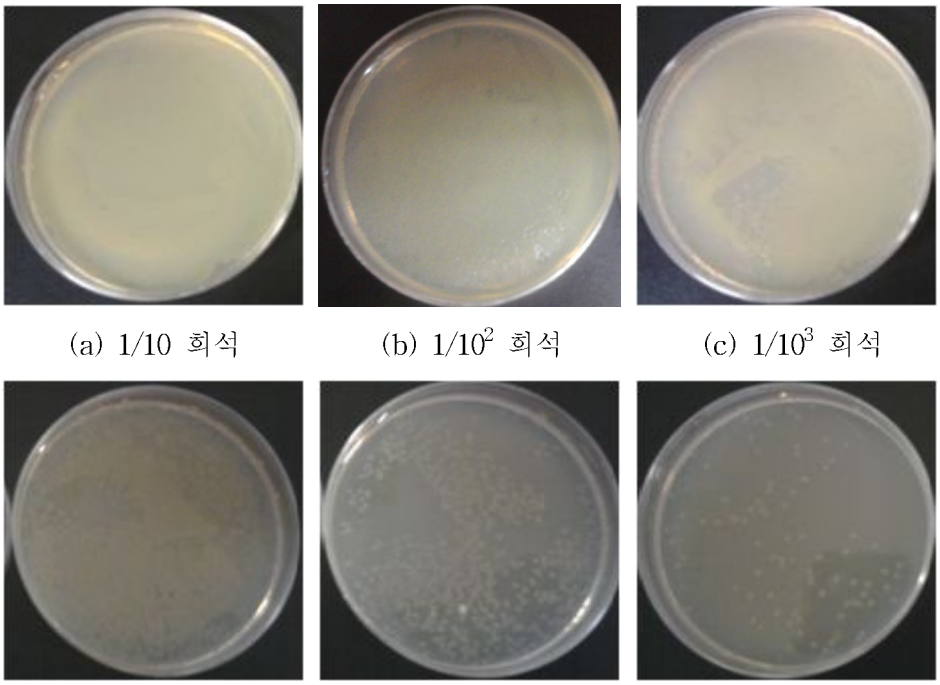
그림 36. 파장에 따른 비브리오 구균 실험

① Non-irradiation ② 365 ㎚ ③ 310 ㎚ ④ 265 ㎚

실험 결과(1)

- Non-irradiation에서는 전체 면적에 균이 퍼져 있음을 확인하였다.
- 365 ㎚에서는 살균 효과가 나오지 않았으며, 전체 면적에 균이 퍼져 있었다.
- 310 ㎚에서는 살균 효과가 나왔으며, 수개의 colony가 발견 되었다.
- 265 ㎚에서는 살균 효과가 나왔으며, colony는 발견되지 않았다.
- 지금까지 실험 균 중 균의 성장이 가장 느렸다.

실험 결과 (1)을 통한 비브리오 구균의 UV 효과에 대한 실험은 (2)번째 실험을 진행 할 수 있는 근거가 되었다. 균의 살균 효과 data를 얻기 위해 (2)번째 실험인 CFU(Colony forming unit) 설정 확인 실험을 진행하였다. 균을 $1/10^1$~$1/10^6$으로 희석하였다. 실험 결과 그림 37과 같은 결과를 알 수 있었다.



(a) 1/10 희석 (b) $1/10^2$ 희석 (c) $1/10^3$ 희석

(d) $1/10^4$ 희석 (e) $1/10^5$ 희석 (f) $1/10^6$ 희석

그림 37. 희석에 의한 비브리오 구균 실험

실험 결과 그림 25(f)에서 Colony 수치를 효과적으로 판별할 수 있었다.

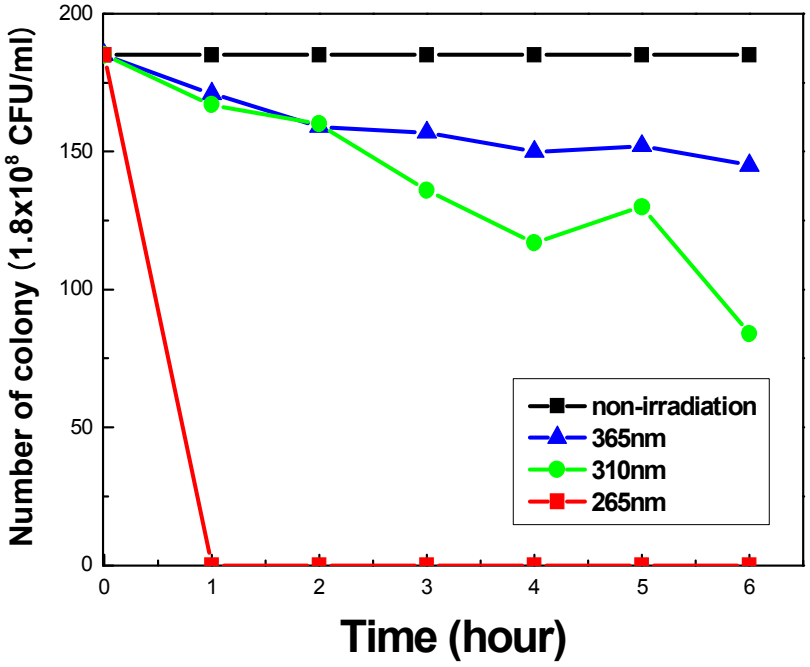


그림 38. 비브리오 구균 고체 배지 실험

비브리오 구균(Vibrio parahaemolyticus) 실험에서는 고체배지 이용하여 살균 실험을 실행 하였다. 고체배지 방법은 다음과 같다. 바실루스 구균이 배양된 배지를 1/10^{6}희석한 뒤 고체배지 위에 도말 한 후 UV-LED BOX 에 넣고 UV를 조사한다. UV 조사 후, 고체 배지 위의 비브리오 구균을 heat 챔버에서 37 ℃로 36시간 균을 성장 시킨 뒤 고체 배지 위의 균 colony 수(단위: colony forming unit(CFU))를 측정한다. UV Irradiation 시간을 각각 1, 2, 3, 4, 5, 6 hour으로 설정 하여 실험을 수행하였다. UV를 조사한 경우 균의 성장을 억제 시켰으며, 살균 및 약간의 부분 살균을 보였다. 실험 결과 365 ㎚에서는 UV를 조사하지 않은 Non-irradiation에 비해 colony 계수가 조금씩 줄어드는 것을 확인하였다. 하지만 10^6 CFU/㎖로 희석 후 도말 한 결과이므

로 부분살균이 이루어진 것으로 보기는 힘들다. 310 ㎚에서는 colony 계수가 점차 줄어드는 것을 알 수 있었으며 6시간 이후 반감기 수치인 90 전후의 colony 계수가 나타났다. 50 %의 부분 살균이 이루어진 것이다. 265 ㎚에서는 5분 이후 균주 반감기가 나타났으며 50분 이후에는 완전 살균 된 것을 확인 하였다. 본 바실루스 구균 실험에서는 265 nm에서 빠른 살균 효과가 있었다. 그리고 310 nm에서는 살균 효과가 있었지만 살균 효과가 나타나는데 오랜 시간이 걸렸으며 또한 균 성장도 느리게 나타났다. 265 ㎚에 대한 자세한 데이터를 아래 그래프로 정리하였다.

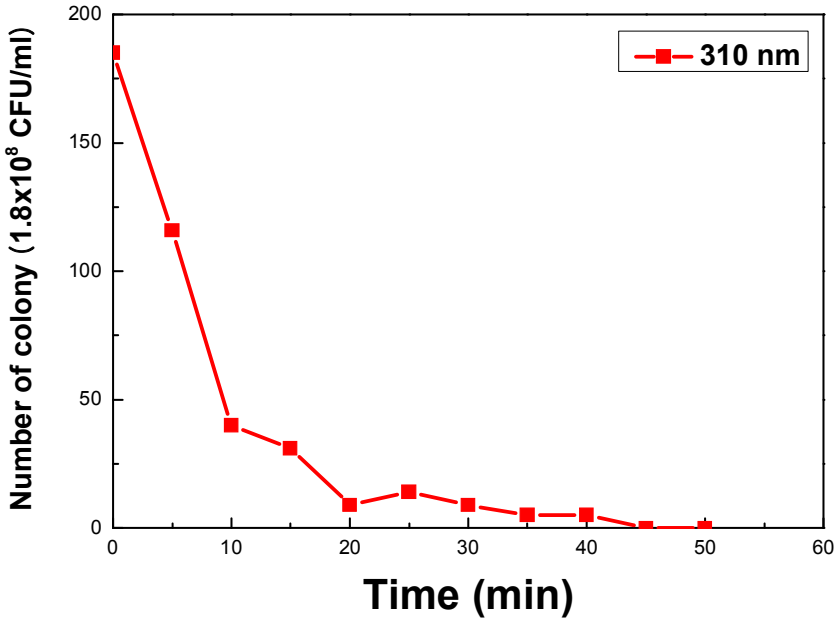


그림 39. 265 ㎚ 의 비브리오 구균 실험

제 5 장 결론 및 향후 계획

본 연구에서는 기존의 자외선 조사기에서 광원으로 쓰이는 기체 발광 램프 형태의 UV 광원을 UV LED로 대체하여 실제 살균 작용을 알아보고자 하였다.

배지 표면에 UV A-B-C 파장 대역의 LED를 조사하여 대장균(Escherichia coli)과 식중독 구균(Salmonella), 포도상 구균(Staphylococcus), 바실루스 구균(Bacillus), 비브리오 구균(Vibrio)에 대한 살균효과를 확인하였다. 실험 결과, UV-LED의 조사에 의해 세균의 살균이 일어나는 것을 알 수 있었다. 각 UV 파장에 의해 다양한 결과가 나타났으며, 이를 정량정인 데이터로 나타낼 수 있었다. 각 균의 Colony 수치를 확인하여 파장별 살균 결과를 얻을 수 있었다. UV LED에 의해 배지 표면 위에 있는 대장균, 식중독 구균, 포도상 구균, 바실루스 구균 비브리오 구균은 부분 살균 및 완전 살균 효과가 있었다. 265㎚ UV-LED에서는 모든 실험 균에 대해 완전 살균이 일어났으며, 310 ㎚에서는 대장균만 완전 살균 결과가 확인 되었다. 여타 실험 세균인 식중독 구균, 포도상 구균, 바실루스 구균, 비브리오 구균은 365 ㎚, 310 ㎚ UV 파장에서 부분 살균 또는 균의 성장이 억제 되거나 살균 효과가 일어나지 않았다. 이러한 결과는 세균 종류나 파장에 따라 세균에 미치는 영향이 다양하다는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 연구를 통해 UV LED는 실제적인 살균광원으로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

265 ㎚의 UV LED 파장에서는 대장균이 빠른 시간 내에 완전 살균 되었다. 하지만 대장균을 제외한 나머지 세균에서는 1시간 내·외 그리고 3시간 이상의 살균 효과를 보여 주었다. 향후, 본 실험 결과를 토대로 265 ㎚ 주편 파장을 가지는 LED를 이용한, 보다 정밀한 실험을 수행할 필요가 있을 것으로 생각된다.

【참고문헌】

[1] F.K. Yam, Z. Hassan, Innovative advances in LED technology, Micro electronis Journal 36, 129 (2005)

[2] 김지동, LED 기술의 현신적 진보, 첨단기술보고, Kisti, 5월 (2005)

[3] III Vs Review: the Advanced Semiconductor Magazine, vol. 16(6), (2003)

[4] M.G. Craford, Overview of device issues in high-brightness light emitting diodes, Semiconductors and Semimetals, vol.48, Academic Press, New York, 1977, p.47

[5] J. -I. Shim, J. C. Yi, J. R. Kim, fundamentals of Modern Light Emitting Semicondctors, (bookshill, Seoul, 2007), p. 88

[6] LED 칩 프로세스 기술동향 (2009년 2월)

[7] J. -I. Shim, J. C. Yi, J. R. Kim, fundamentals of Modern Light Emitting Semicondctors, (bookshill, Seoul, 2007) '현대 반도체 광원의 기초'

[8] 조민, 김지연, 윤제용, "UV 조사 (Ultrviolet Irradiaiton)에 의한 미생물의 불활성화" , 첨단환경기술, pp. 5-18 (2004년2월)

[9] U.S. EPA. Ultraviolet Disinfection Guidance Manual. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Environmental Protection Agency, Washington DC, USA (2003)

[10] A. Lopez-Malo, E. Palou, "Ultravioletlight and food preservation", Novel Food Processing Technologies. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 405-421, 2005.

[11] 이성우 "c." 조명 전기설비학회지. 3(4)227~284(1989)

[12] 한겨레 2008년 12월 09일자
[http://www.hani.co.kr/arti/international/europe/326503.html]

[13] E. F. Schubert, "Ligth-emitting diodes," Cambridge University Press, pp. 84-85, 2003.

[14] 자외선 광촉매 살균 장치를 이용한 유리 하우스 재배용지 재순화 장치

개발 최종 연구 보고서 조선대학교 1999 책임자 이인화 P37
[15] 이진우 자외선 이용의 역사 조명·전기설비학회지 제19권 제5호 2005.10
[16] 생물공학 (유한 문화사) 고정삼 고영환 김진현 오남순 인만진 채희정
[17] Noriyuki YAGI, Mirei MORI "Sterilization Using 365 nm UV-LED" P5841 Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS

감사의 글

찬 기운이 도는 12월이 되었습니다. 어느새 힘들었던 대학원 생활도 그 끝이 보이고 새로운 삶이 저를 기다리고 있습니다. 조선대학교 광기술공학과 대학원에 입학한지 2년의 시간이 지났습니다. 2년 동안 많은 지식과 경험을 얻었습니다. 부족한 저를 가르쳐 주신 많은 교수님들과 박사님, 친구들 그리고 부모님께 감사의 글을 올립니다.

항상 저를 지켜봐주시는 부모님께 깊이 감사드립니다. 시골에서 고생하시면서 아들을 대학원까지 보내주신 아버지 어머니께 항상 고맙고 죄송하며, 처음으로 "사랑합니다"라고 말씀드리고 싶습니다. 그리고 영국에서 고생하고 있는 저의 여동생 명주에게도 고맙고 사랑한다고 전하고 싶습니다.

지도 교수님이신 박시현 교수님. 다른 학교에서 온 저를 따뜻하게 대해주시고 많은 것을 가르쳐 주셔서 항상 감사하다고 말씀 드리고 싶습니다. 그리고 김현수 교수님, 김진태 교수님, 안태정 교수님 항상 격려해주시고 부족한 저를 아껴주셔서 감사합니다. 또한 이번 논문을 위해 힘써 주시고 도와주신 응용화학소재공학과 조훈 교수님께도 감사드립니다. 학사 시절 지도 교수님이신 남부대학교 의료공학과 황규석 교수님과 강보안 교수님, 박주훈 교수님에게도 감사드립니다. 광기술원의 김정호 박사님과 김혜정 박사님에게도 감사드립니다.

저의 대학원 적응을 위해 도와준 동기이고 친구이며 동생들인 최호, 준희, 현행, 재훈, 경태, 학석, 한글, 진창, 태원, 정문, 각 실험실 동생들 그리고 이번 실험을 위해 도와준 무영씨 모두 모두 고맙습니다.

지금까지 저를 있게 해준 모든 분들께 감사드립니다. 기대에 어긋나지 않도록 열심히 노력하며 항상 발전하는 모습 보여드리겠습니다.

저작물 이용 허락서

학 과	광기술공학과	학번	20087140	과정	석사
성 명	한글 정 석 현 한문 鄭 碩 泫 영문 Suk-Hyun Joung				
주 소	광주광역시 북구 일곡동 동아 아파트 103동 302호				
연락처	E-mail : koreaner@nate.com				
논문제목	(한글) UV-LED의 살균효과 연구				
	(영문) Study on Bacteria Sterilization Effects of UV- LEDs				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 - 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

동의여부 : 동의(0) 반대( )

2010년 2월

저작자: 정 석 현 (인)

조선대학교 총장 귀하