

비열 유전체장벽방전 플라즈마의 포도상구균 및 대장균 살균효과

김기영^{1,3*} · 백남원^{2,3} · 김용희³ · 유관호³

¹한양대학교 환경 및 산업의학연구소, ²서울대학교 보건대학원, ³(주)신영에어텍 공기과학연구소

Bactericidal Efficacy of Non-thermal DBD Plasma on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Keyyoung Kim^{1,3*} · Namwon Paik^{2,3} · Yonghee Kim³ · Kwanho Yoo³

¹Institute of Environmental and Industrial Medicine, Hanyang University

²School of Public Health, Seoul National University

³Institute of Air Science, Shinyoung Airtech

ABSTRACT

Objectives: The objective of this study was to examine the effect of non-thermal dielectric barrier discharge(DBD) plasma on decontamination of *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*) and *Escherichia coli*(*E. coli*) as common pathogens.

Methods: This experiment was carried out in a chamber(0.64m³)designed by the authors. The plasma was continuously generated by a non-thermal DBD plasma generator(Model TB-300, Shinyoung Air tech, Korea). Suspensions of *S. aureus* and *E. coli* of 0.5 McFarland standard(1.5 ×10⁸CFU/mL) were prepared using a Densi-Check photometer(bio Mérieux, France). The suspensions were diluted 1:1000 in sterile PBS solutions(approximately 10⁴⁻⁵CFU/mL) and inoculated on tryptic soy agar(TSA) in Petri dishes. The Petri dishes(80mm internal diameter)were exposed to the non -thermal DBD plasma in the chamber.

Results: The results showed that 95% of *S. aureus* colonies were killed after a six-hour exposure to the DBD plasma. In the case of *E. coli*, it took two hours to kill 100% of the colonies. The gram-negative *E. coli* had a greater reduction than the gram-positive *S. aureus*. This difference may be due to the structure of their cell membranes. The thickness of gram-positive bacteria is greater than that of gram-negative bacteria. The *S. aureus* is more resistant to DBD plasma exposures than is *E. coli*. It should be noted that average concentrations of ozone, a byproduct of the DBD plasma generator, were monitored throughout the experiment and the results were well below the criteria, 50 ppb, recommended by the Korean Ministry of the Environment. Thus, non-thermal DBD plasma is deemed safe for use in hospital and public facilities.

Conclusions: There was evidence that non-thermal DBD plasma can effectively kill *S. aureus* and *E. coli*. The results indicate that DBD plasma technology can greatly contribute to the control of infections in hospitals and other public and private facilities.

Key words: Microorganisms, non-thermal DBD plasma, McFarland turbidity

I. 서 론

미생물에는 세균, 곰팡이, 바이러스 등 각종 에이전트가 포함되며, 이외에 자기복제나 유전물질 전이가 가능한 세포적 및 비세포적 생물학적 에이전트를 포함한다(Kowalski W,2012). 이러한 미생물의 오염제거

는 미생물 종의 분해나 제거를 의미하며, 살균처리(bactericidal)는 세균의 파괴, 증식방지 혹은 병리 작용의 억제를 목적으로 살균, 소독, 세척과 함께 무균처리 및 방부처리까지 포함하는 복합용어이다 Shimizu et al., 2011). 미생물은 인간과 공생하며 강력한 적균이자 아균으로서 인체 및 생활환경속에서 생존을 유

*Corresponding author: Key-Young Kim, Tel: 010-5247-8128, E-mail: yeskim20@naver.com

Institute of Air Science, Shinyoung Airtech, Bundang Technopark, D-401, Pangyo-daero700, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 53765

Received: February 12, 2018, Revised: March 2, 2018, Accepted: March 26, 2018

 Key Young Kim <http://orcid.org/0000-0002-7628-9205>

 Namwon Paik <http://orcid.org/0000-0001-5411-1871>

 Kim Yong Hee <http://orcid.org/0000-0003-3037-9122>

 Yoo Gwan Ho <http://orcid.org/0000-0002-4892-5163>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

지하고 있다. 우리 생체의 내부기관 중 혈액, 뇌, 근육 등 폐쇄된 공간에 있는 기관들은 무균상태여야 하나, 바깥 공기에 노출되는 피부, 구강을 비롯한 점막과 체내의 비노기 및 장내에는 토착세균 집단이 살고 있다. 그것을 정상상주균총(normal flora)이라고 한다. 우리 몸의 정상상주균총은 놀라울 정도로 광범위하고 복잡한데, 200종 이상의 세균이 이범위에 속한다고 하며 (Lippin Cott's., 2013) 장내세균 등에는 세균이 꽃다발 (flower)처럼 많다고 해서 지어진 것으로 알려져 있다. 이러한 각종 미생물은 우리 몸에 이로울 것도 있고 해로운 것도 있으며 수십조에 달하며 이들을 통틀어 '미생물군집(microbiota)이라고 한다. 이때 병원성 균종은 제외되며, 이들미생물 군집이 가지고 있는 유전자집합체를 미생물군유전체(microbiome)라고 부른다. You et al., 2015). 또한 우리의 생활환경에 의해 건물 공간의 실내공기질(IAQ)에 방출되고 생성된 물질의 5상상태(5th state)인 에어로졸(aerosol)로 존재하며 독소(toxin)를 함유하고 실내공기 중에 함유하고 있는 미생물 집단을 building flora로 부르기도 한다. 이런 미생물은 초미세분진 및 극미세분진에 침착해서 응축 또는 에어로졸 등의 비상조건으로 생활환경 및 직업환경 속에서 자체 또는 독소를 발현하며 강한 감염성 전파력을 가진 오염원으로 존재한다. 이는 부유(airborne bacteria) 및 부착(bio film: surface colonized bacteria) 상태로 실내공기오염 물질로 적정관리가 가장 어려운 항목 중의 하나로 인식되고 있으며, 병원감염, 작업환경(의료환경 포함)조건에서는 근로자의 건강을 심각하게 위협하는 잠재적인 위험성인자(agents)이다. 얼마 전 중동호흡기증후군(MERS: Middle East Respiratory Syndrome)사태를 사회적 문제점으로 심각하게 경험한 것처럼, 신종 바이러스의 살균 및 치유, 실내공기의 소독 및 살균, 공기정화, 실내공기질 관리 등은 기존의 방법으로는 구현하기 어려운 것으로 나타났다 (Choi., 2015). 열대야기후로 변해가는 우리나라에 결핵균이나 레지오넬라 균속 등이 잠정적으로 집단감염의 우려를 보이고 있다. 그동안 실내에서의 공기청정기 점차 중요해짐에 따라 실내에 존재하는 입자 및 가스상 물질들을 동시에 제거하는 방식들이 다양하게 개발되어 왔다. 이러한 기술로는 필터식, 전기집진 RNS식, 이온플라즈마 방식, UV 광촉매방식 및 여러 방식의 혼합(hybrid)방식 등이 있다. 이 중 저온플라즈마방식의 활성종(Reactive species, ROS, RNS)을 이용

한 공기청정살균방식은 인플루엔자, 세균, 곰팡이 등의 오염물을 제거하는데 큰 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Kitano et al., 2006; Singh et al., 2009; Yasuda et al., 2010). 플라즈마 방전 현상을 통해 발생된 전자와 라디칼은 높은 산화력으로 NOx, 휘발성유기화합물(Volatile Organic Compounds, VOCs), aldehyde, CFCs 등 대부분의 유해가스를 제거하고, 산소 음이온은 알레르기 증상을 유발하는 꽃가루, 미세먼지 등과 결합하고 전기적인 힘으로 이들을 서로 뭉치게 하여 제거하기 쉬운 형태로 전환 시킨다(Shintani, 2010). 최근 선진국에서 발표되는 플라즈마의학(plasma medicine) 관련 연구는 플라즈마 물리학, 화학 및 생물학의 경계에서 출현한 가장 최근 주목받는 발전학문 중의 하나이다(Nosenko, 2009). 또한 감염관리, 미생물 살균 외 외상, 욕창 등의 염증 관련된 치료, 미용, 피부병, 정상 조직의 재생 촉진, 지혈 등의 다양한 부위에서 여러 전문가들에 의해 실용화 단계로 접어들고 있다. 또한 치매, 암과 같은 난치병을 기존의 암 치유 방법과 병행하거나 또는 독립적으로도 치료가능한 새로운 플라즈마 의학기술의 패러다임이 제시되고 있다(Morfill et al., 2009; Choi., 2015). 앞으로는 비약제(non-chemical) 비가열(non-thermal)에 기반을 두고 있는 mems 등 센서화 기능을 지닌 실시간 검출 기술 및 신속해결이 요구되어 지고 있다. 이런 문제는 한 가지 잘하는 한 사람이 해결할 수 없다. 미생물학자, 나노학자, 바이오학자, 물리학자, 공학자, 의학자 등 수많은 전문가가 협업과 융합으로 풀어야 하는 문제이다(Jerome Glenn., 2016). 이러한 난제를 적극적으로 극복 할 수 있는 기반기술을 확보하는 것이 매우 중요하다. 따라서 본 기고는 국내외로 연구가 활발해지는 플라즈마(plasma)에 대해 우리나라 보건학 분야에서 실용성을 예측하고, 플라즈마 발생장치 중 비열유전체장벽대기압 방전플라즈마 장치(DBD)를 이용해 황색포도상구균과 대장균의 살균기능을 평가하고, 그것이 감염관리, 환경보건, 의생명공학 영역에서 활용도를 살펴보고, 그 기능을 기초과정으로 요약하여 소개하고자 한다.

1. 플라즈마 정의

플라즈마는 영국의 M. Faraday에 의하여 1835년경에 처음으로 전리된 기체(ionized gas)의 형태로 만들어 졌다, 1928년에 미국 물리학자 랭뮤어(Irving Langmuir)가 생명의 맥동에 비유한 플라즈마(plasma)라는 개념을 물

리학 어원으로 처음 사용하였으며, 의생명공학에서는 세포에서 세포막을 일컬을 때와 혈액에서 세포를 제외한 전혈기능을 가진 혈장이나 림프액용어로 현재 사용되고 있다.

물리학 또는 전기학에서 일컬어지는 플라즈마의 정의는 “물질(matter)의 네 번째(fourth state)상태로 완전히 또는 부분적으로 이온화 된 가스(ionized gas)”로 정의된다. 즉, 기체에 강한 에너지가 공급되어 발생하는 새로운 형태의 물질상태를 말한다.

2. 플라즈마 개념

지구를 제외한 우주의 구성 물질은 99%이상이 플라즈마로 존재하며, 태양과 같이 스스로 빛을 내는 별들은 1억℃ 이상의 초고온으로 이루어진 플라즈마 상태이다. 하지만 지구는 태양처럼 핵융합반응이 일어날 수 있는 초고온·고압상태의 환경이 아니기 때문에, 자기장이나 레이저를 이용해서 태양과 같은 인공적인 핵융합장치 만들 수 있는데, 이렇게 기체에 초전류 고주파, 전자빔 등의 전기적 에너지를 가하여 플라즈마를 생성한 다음에 전자기장 등을 이용하여 플라즈마 상태를 유지할 수 있으면서 높은 온도, 압력, 에너지, 자력, 전력 등을 얻을 수 있다. 즉, 인공적 플라즈마는 고온상태로 핵융합발전 및 용접 등에 활용되고, 저온상태로 100℃ 이하의 낮은 온도 상태에서는 약취 및 독성물질을 제거하거나 그람양성과 그람음성세균, 바이러스, 곰팡이 등에 탁월한 살균기능으로 피부 등의 미용과 창상(chronic wound)치료에 유용하게 사용되고 있다(Heo., 2003; Heinlin et al., 2010; Emmert S et al., 2013; Park et al., 2013)

3. 플라즈마 생성과 이온

물질의 상태는 고체에서 액체로, 또한 액체에서 기체로 변한다. 기체를 플라즈마 상태로 만들기 위해서는 충분한 에너지가 필요하다. 물질이 에너지에 의해 초고온의 상태가 되면 그 물질에서 원자의 원자핵과 전자가 분리되어 원자핵과 전자가 자유롭게 움직일 수 있는 상태가 된다. 즉, 플라즈마를 만들기 위해서는 자연상태의 원자나 분자를 이온화 시켜야 하는데, 그러기 위해서는 수백만도 이상의 고온이 필요하다. 그러나 높은 전계를 가해주면 낮은 온도에서도 원자나 분자를 이온화시킬 수 있게 된다. 예를 들면 아르곤(Ar)가스의 경우 1 mTorr-100 Torr사이의 압력에서

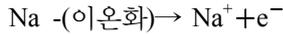
는 1 cm 당 100 V이상의 전계만 있어도 플라즈마를 생성시킬 수 있다. 원자나 분자가 이온화하기 위해서는 전기장에 의해 가속된 자유전자나 이온과 충돌하여 새로운 이온을 만들고 또 하나의 자유전자를 만드는 이온화과정은 필요하다. 기체원자가 “이온화”되었다는 것은 양이온과 전자로 분리되었다는 것을 뜻한다. 즉, 플라즈마는 기체가 보다 높은 에너지를 가지게 되었을 때, 이온과 전자로 분리되면서 이들이 갖는 에너지가 서로 평형을 이루는 상태를 의미한다(Song., 2016). 이것은 에너지를 가하는 방법으로 만들어 낼 수 있고, 높은 전기장이나 자기장을 가해 전자의 충돌을 유도하여 만들어 낼 수 있다.

이때 사용되는 에너지는 전자기파를 통해 공급한다. 전자기파에 의해 가속된 전자가 중성종과 충돌하여 이온화, 여기, 운동량 전달과 같은 다양한 반응을 한다. 다시 정리하면 기체에 계속 열을 가하여 주어 수천도가 되면 기체 분자는 원자로 갈라지면서 해리된다. 계속해서 약 4만℃이상의 고온으로 가열하거나, 가속된 전자의 충돌에 의한 에너지를 가하거나, 마이크로파(micro wave) 등을 쬐어 주면, 원자 및 분자 등의 가스입자들은 에너지를 흡수하여 전자와 분리되는 이온화상태 혹은 전리(ionization)현상이 발생된다. 이와 같은 전리현상은 입자간 충돌현상, 광이온화(photoionization)반응 등에 의해 발생되며, 원자의 바깥쪽에 있는 전자가 궤도를 벗어나 원자의 양(+)이온과 이탈한 자유전자의 음(-)이온이 생성된다. 이 자유전자가 다시 충분한 에너지를 얻게 되면 다른 원자와 충돌할 정도의 속도를 내게 되어 또 다른 양이온과 전자가 발생하게 된다, 이렇게 분리된 전자들은 인가된 전력을 통해 전달된 전기 에너지를 입자들에게 전달하는 매개체가 되며, 전기에너지는 전자들에게 전달되면서 운동 에너지 형태를 갖는데 이렇게 계속해서 생성된 양이온과 전자들, 그리고 충돌하지 않은 중성원자를 합하여 플라즈마라 부른다.

4. 이온화 에너지(ionization energy)

전자는 모든 원소로부터 제거될 수 있지만 금속이 비금속보다 더 쉽게 전자를 잃는다. 실제로 금속은 하나 또는 그 이상의 원자가 전자를 잃음으로써 화학반응을 한다. 전자는 음으로 하전되어 있으므로, 금속은 전자를 잃은 후에 양으로 하전된다. 전하를 지니고 있는 모든 원자는 이온(ion)이라 불린다. 양 전하를 띠는

이온은 양이온(cation), 그리고 음전하를 띠는 이온은 음이온(anion)이라고 한다. 원자로부터 전자를 제거하려면 언제나 에너지가 필요하다. 기체 상태에 있는 중성 원자로부터 전자 하나를 제거하는데 필요한 에너지의 양을 이온화 에너지라 한다. Na원자에 이온화를 다음과 같이 나타낼 수 있다.



일반적으로, 금속과 비금속이 반응할 때, 금속은 전자를 잃고 비금속은 전자를 얻는다. 더욱 명확히 말하면 금속은 자신의 원자가 전자로부터 전자를 잃고 비금속은 원자가 껍질에 전자를 얻는다. 전자를 얻거나 잃은 결과로 전하를 지닌 원자는 이온으로 부른다.

따라서, 금속은 양이온이 되고 비금속은 음이온이 된다. 즉, 금속과 비금속은 이온전하(ionic charge)를 갖게 된다. 이때 화학물질 분자나 원자에서 전자를 제거하여 이온화하는 데 필요한 에너지를 “이온화 에너지”(ionization energy, IE)라 하며 단위는 eV(electron volt)로서 1 eV는 전자의 무질서 운동에너지로 정의되며, 1 V의 전위차를 통과할때 전자가 얻는 에너지로서, 1 eV는 1.6×10^{19} J이다. 상온에서는 0.025 eV(=290⁰ K=17⁰C)이며 의미는 전자가 음극에서 양극까지 도달 시 주어진 전자의 Energy를 말한다. 어떤 물질의 이온화 에너지가 작으면 해당 물질은 쉽게 파괴될 수 있다. IE값이 산소(12.07 eV)보다 작은 물질(예를 들면 방향족인 나프탈렌, 스틸렌, 자일렌, 톨루엔 및 벤젠 등) (<10 eV)은 쉽게 파괴되나, IE 값이 큰 물질(예:CO, CO₂, SO₂, 메탄 등)은 파괴하기가 어렵다.

5. 플라즈마 특성

플라즈마상태의 가스는 일반적인 가스와 크게 3가지 매우 다른 성질을 갖고 있다. 첫째로는 이 가스의 일부분은 매우 높은 에너지를 갖고 있어 물질표면을 변화시킬 수 있다. 이 높은 에너지는 수만도~수십 만도에 이르는 에너지를 보유하고 있다. 둘째 이 가스는 일반기체와 달리 빛을 낸다. 원한다면 우리는 일곱 빛깔 무지개 색을 자유로이 구현할 수 있다. 셋째 이 가스는 기체임에도 불구하고 금속과 비슷한 정도의 도전성을 갖는다(applasma.com). 즉, 플라즈마는 원자나 분자에 속박되지 않은 전자를 많이 갖고 있기 때문에 외부에서 전계를 걸어주면 전류를 흘릴 수 있는 특성이 있다. 이렇게 생성된 전기전도도는 일반고체와는

Table 1. General gas and plasma gas state

<ul style="list-style-type: none"> · Low energy · non lighting · non conductive 	<ul style="list-style-type: none"> · High energy · lighting(visible) · conductive
general gas	plasma

달리 온도가 올라갈 수 록 증가하며, 온도가 약1,000만도 이상 일 때 구리와 같이 전기 전도도 값을 가지게 된다.

Table 1은 일반 가스와 플라즈마 상태의 가스를 간단히 비교한 것이다(applasma.com). 이러한 플라즈마는 이온화된 가스 및 양 또는 음으로 대전된 입자들로 구성되는데, 이온 가스 대부분 물질이 고온의 가스 상태에서는 전기적으로 중성 원자들로 구성되어 있지만, 플라즈마 상태에서는 서로 상반된 전해 분자 전자와 이온으로 구성된다. 이 플라즈마 상태에서 전자와 이온이 분리되면 전기장을 만들고 이들 전자와 이온이 이동하면서 전류와 자기장을 생성시킨다.

플라즈마는 지구상에서 아주 미미하게 발생하지만 전 우주적으로 생각해 보면 전체 우주는 플라즈마 상태가 된다. 예를 들어 태양과 대부분의 별들은 플라즈마로 구성되어 있다. 행성과 행성사이 은하계 공간과 지구의 이온 층 또는 전리층이 대표적인 플라즈마의 예이다. 다시 말하자면 가스상 기체는 눈으로 볼 수 없다. 그러나 플라즈마라는 기체는 빛을 내기 때문에 눈으로 볼 수 있다. 형광등과 네온등은 바로 빛을 내는 기체인 플라즈마의 한 응용인 것이다. 플라즈마 디스플레이(plasma display panel, PDP)또한 플라즈마가 빛을 내는 성질을 이용한 것이다. 밤하늘 우주에 스스로 빛나는 모든 별은 플라즈마 상태에 있는 것이다. 태양은 스스로 빛을 내는 기체로서, 플라즈마 상태에 있는 것이다.

우주에 존재하는 물질의 98%가 플라즈마 상태에 있다는 것이 일반적인 보고(Heinlin et al., 2010; Emmert et al., 2013)이며, 보통 온도가 10,000K를 넘으면 모든 원자나 분자는 이온화되어 플라즈마 상태로 변하게 된다. 흔히 볼 수 있는 자연플라즈마 상태로는 태양광, 번개, 북극광(aurora borealis) 등이 있다.

6. 플라즈마 분류

산업용으로 사용되는 플라즈마는 전자온도와 gas온도가 비슷한 상태의 고온 평형 열 플라즈마(Equilibrium, thermal plasma)와 전자온도만 높고 부분적으로 이온화

되어 있으며 플라즈마 가스온도와 전자온도가 크게 차이가 나는 비평형 저온플라즈마로(non-equilibrium, thermal plasma)로 구분 한다(Table 2) (Haertel et al., 2014; Park., 2015).

두 상태 간 물리적인 큰 차이점은, 중성가스, 이온, 전자 간 온도차이가 저온플라즈마에서는 있으며, 고온 플라즈마에는 거의 없다는 점과 저온플라즈마에서는 전자 온도는 수 만도로 높으나, 중성가스는 수십도 정도로 유지되며, 고온플라즈마에서는 중성가스도 온도가 높게 형성되는 점이 다르다. 저온공정이 가능한 이유는 전자와 이온, 중성종이 열평형을 이루지 않고 있기 때문이고 전자는 열용량이 작아 수 만도까지 올라가지만 이온과 중성 기체 온도는 거의 상온에 가깝다.

또한 열플라즈마(고온플라즈마)는 핵융합을 포함하여 온도가 수백도~수만도 까지를 지칭하며, 방전에 의해 발생시킨 전자, 이온, 중성입자로 구성된 기체로 구성입자가 1,000~20,000와 100~2,000 m/s를 갖는 고속의 제트 불꽃 형태를 이루고 있고, 너무 뜨거워서 수저를 제대로 플라즈마에 넣으면 금방 녹아버린다. 이렇게 고온, 고열용량, 고속, 다량의 활성입자를 갖는 열플라즈마의 특성을 이용하여, 재래식 기술에서는 만들 수 없는 다양하고 효율적인 고온 열원(석면 조각 등)이나 금속절단, 아크용접플라즈마 등으로 여러 산업분야에서 널리 이용되고 있다(Table 2).

인위적으로 플라즈마를 발생 시키면 공기, 알곤 또는 헬륨과 같은 가스에 에너지를 추가하여 저압 또는 대기압에서 점화 될 수 있으며, 고온·열플라즈마는 고온을 얻을 수 있어 물질을 용융하는데 활용되며, 대표적인 발생법으로는 직류 또는 교류 Arc 방전을 발생

하는 플라즈마 장치와 고주파(radio frequency)자장에 의한 고주파 플라즈마(ICP 등)가 주로 이용되고 있다.

압력에 의해 분류되는 저온대기압 플라즈마는 용어가 의미하는 것처럼 저온상태의 대기압 분위기에서 발생하는 플라즈마를 뜻한다.

대기압정상상태의 기체에서 원자 혹은 분자에서 전자가 떨어져 나가 전기가 흐르며 빛을 발하고 있는 기체가 바로 대기압 플라즈마이다. 대기압상태에서 플라즈마를 만들기 위해서는 자연상태의 원자나 분자를 이온화 시켜야 한다. 그러기 위해서는 높은 열을 가해주어야 한다. 즉 수백만도의 고온이 필요하다. 그러나 높은 전계를 가해주면 낮은 온도에서도 원자나 분자를 이온화 시킬 수 있게 된다.

저온을 유지하거나 이용하기 때문에, 손으로 직접 대어 볼 수 있으며 종이를 플라즈마에 넣어도 종이 타지 않는 수준의 온도를 가져 흔히 100℃ 이하 정도로 인체영향도 적으며, 생활환경 중에서 형광등의 예를 들 수 있다. 그것의 온도는 40℃에 지나지 않으나 시스템 내에서의 자유전자의 온도는 10,000℃를 넘으며 비평형유전체 장벽 방전에서 대기압 상태조건으로 전자온도가 약 10⁴-10⁵K이다. 이러한 저온대기압 플라즈마는 다양한 바이오메디컬 분야에 높은 적용 가능성을 보여준다. 상처치유, 멸균, 치아미백, 암치료 분야를 대표적으로 들 수 있다. 가능성이 높은 이유는, 저온대기압 플라즈마는 산업에서 사용되고 있는 고온 플라즈마와는 다르게 진공 환경을 요구하지 않고, gas 와 낮은 전압의 전력공급 장치만으로 구동이 가능하기 때문에 생물에 적용하기 용이하다는 점이 있다. 또한 생체시료에 전기적 요인에 의한 손상, 열 손상을 최소화 할 수 있다는 장점과 더불어, 바이오메디컬 분야에서 중요한 인자로 작용하는 활성종(ROS, RNS)을 다량 발생시키기 때문이다(Park, 2015). 대기압저온플라즈마는 발생원(source)의 기전에 따라 대표적으로 펄스 코로나방전과 유전체장벽방전으로 구분된다.

1) 코로나 방전

코로나 방전은 뾰족한 형태의 음극과 평편한 형태의 대응 전극으로 구성된다. 음극선에 음의 고압이 인가되면 이 전극으로부터 방출된 전자들이 입자와 충돌하여 양이온들이 생성되고, 이 양이온은 전기적인 인력으로 인해 음극으로 가속되고 음극과 충돌하여 고에너지의 이차 전자들을 방출시킨다. 이러한 고 에

Table 2. Classification of atmospheric pressure plasma

temp	<ul style="list-style-type: none"> · Thermal plasma/hot Plasma · Non thermal plasma/cold Plasma
mode	<ul style="list-style-type: none"> · Arc (gliding) · Corona · Dielectric barrier discharge
pressure	<ul style="list-style-type: none"> · Low pressure · Atmospheric pressure · High pressure
electronic source	<ul style="list-style-type: none"> · DC · AC(펄스포함) - MF(Medium Frequency) - RF(Radio) - MW(Micro Wave)

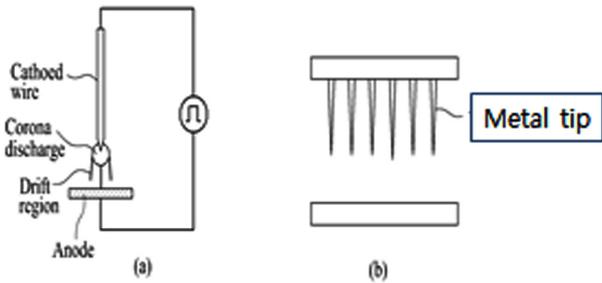


Figure 1. Electrode of corona discharge

너지 전자와 무거운 입자들은 비탄성 충돌을 일으켜 화학적으로 반응성이 있는 화학종을 생성한다.

코로나 방전을 이용한 전기집진장치가 많이 사용되는데, 그 간단한 원리는 직류 고전압을 사용하며, 집진극을 양극, 방전극을 음극으로 적당한 불평등 전계를 형성하고 이 전계에 있어서의 코로나 방전을 이용하여 가스중의 입자에 전하를 주어 이 대전입자를 쿨롱의 힘에 의하여 집진극에 분리 포집하는 장치이다. Figure 1은 코로나 방전의 전극구조 유형이며, (a)는 일침형 (b)는 다중 침형을 나타낸다.

상기 코로나 방식의 전극은 제작이 간단하며, 구조 또한 간단하므로 가격이 저렴하지만 방전시 다량의 오존이 생성되고 그 수명이 길어 인체에 해를 끼치며, 아울러 발생 되는 음이온의 수명이 매우 짧은 편이고, 자외선의 생성량도 적어 살균 효과도 약하다(Figure 1). 또한 플라즈마 체적이 매우 작기 때문에, 처리 면적이 작은 영역으로 한정될 수 밖에 없어, 음극의 개수를 증가시킨 방식도 있지만, 처리효과가 국부적으로 나타나게 한다. 이러한 문제를 피하기 위해 유전체장벽 방전이 제기되었다(WO:2014010768 A1).

2) 유전체장벽 방전플라즈마

DBD(dielectric barrier discharge)는 일반적으로 kHz 범위의 주파수를 갖는 높은 AC전압 또는 펄스 전원 공급 장치를 사용하여 수 킬로 볼트의 바이어스로 전원을 공급받아 구동되며, 유전체장벽은 한쪽 또는 양쪽 전극을 덮는 유전체를 사용하여 전류를 제한하는 일종의 저온플라즈마소스 장치이다. 이때 사용된 유전체는 외부에 감싸진 고전압 전극과 함께 석영 또는 알루미늄으로 만들어진 튜브로 구성된다. 장치로는 두 개 이상의 전극과 하나의 유전체 튜브의 바깥쪽에 접지된 전극으로, 두 개의 전극사이에 전압을 걸어주는 대기압방전을 목적으로 한다(Morfill., et al 2009; Von Woedtke., et al.,

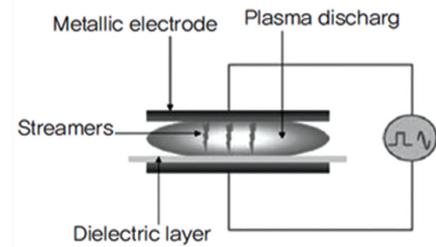


Figure 2. Electrode of Dielectric barrier discharge

2013). 이를 위해서 수 10-100 kHz의 RF를 사용하며, 플라즈마 발생가스를 주입하지 않고 대기상태에서 안정적으로 장시간 방전할 수 있고, 고전압과 접지 전극 사이에 유전체 물질을 삽입하고(Figure 2), 고전압 전극에 AC전압을 인가해 주면 전기장 및 자기장이 형성되게 되고 이 안에서 전기 에너지가 기체의 전자를 통해 전달되게 된다(WO:2014010768 A1).

이런 에너지를 갖는 전자는 중성입자들과 충돌을 하며 다른 전자들을 방출하게 되고 이런 여러 전자들이 중성입자들과 충돌을 반복하며 라디칼(radical) 등의 화학 활성종들(reactive species)을 발생하게 된다. 그 중에서 활성 산소종((Reactive oxygen species, ROS)는 superoxide anion($\cdot O_2$)과 hydroxyl radical ($\cdot OH$)이 대표적이며 활성 질소종(Reactive nitrogen species, RNS)는 nitric oxide (NO)가 대표적이다. ROS의 특징은 RNS에 비해 매우 짧은 lifetime을 갖으며 반응성이 훨씬 높다. 주로 살균 및 소독의 목적으로 사용된다. ROS종은 주로 플라즈마발생 근처지역에서 발견된다. 반면에 RNS종은 ROS종에 비해 긴 lifetime을 갖고 반응성이 큰 편이나, ROS에 비하면 많이 낮다. 수술시 혈관 확장용으로 사용되며 치료목적으로 사용된다. ROS와는 다르게 플라즈마 발생 지역으로부터 멀리 떨어진 지역에서 관측할 수 있다(Park., 2015; Von Woedtke et al.,). 이렇게 형성된 플라즈마는 이온, 전자뿐만 아니라 고밀도의 활성화된 라디칼 등으로 이루어져있어 반응성이 매우 높아 다른 분자와 쉽게 반응하게 된다. 간격은 수 밀리미터로 제한되며 플라즈마 가스는 이 간격사이로 흘러주며, 플라즈마를 형성하기 위한 에너지의 양에 따라 플라즈마특성이 달라진다(H05H1/24.2006 H05H1/34). 이러한 이온화 가스상태인 플라즈마에는 전자, 양이온, 음이온, 자유 라디칼, 자외선, 광자 등을 포함하고, 과산화수소, OH 라디칼 같은 활성산소와 같이 살균력이 강한 기체상 물질이 존재하고, 이 활성종은 미생물 세포막을 통해 확산되면서 세포막의 지질과

단백질, 그리고 세포 내의 DNA와 같은 거대 분자들과 반응하여 세포를 손상시켜 미생물을 사멸시키며, 동시에 음이온 방출로 공기 중 미세분진, 악취(chemical odor) 등을 저감시킨다(Bogaerts., et al 2002; Laroussi M., et al 2004; Yoon., et al 2016).

7. 저온플라즈마 활용

플라즈마 분자들은 냄새의 확산현상을 일컫는 브라운 운동(brownian motion)과 같은 운동을 하게 된다. 또한 플라즈마 내부에 하전된 입자들의 브라운 운동이 전하의 밀도에 영향을 주고, 먼 거리에 있는 입자들의 운동에도 정전기적 인력을 통해 영향을 준다. 생성된 플라즈마는 적정조건에서 다른 물질과 활발히 반응하여 대상물질의 물리, 화학적인 상태를 변화시킨다. 따라서 생성과 소멸을 거쳐 인체에 다양하게 발생하는 활성종은 직접적으로 플라즈마가 세포에 작용하여 효과를 나타내기도 하나 플라즈마에서 발생하는 활성종의 효과는 암세포 사멸이나 박테리아 살균에 있어 매우 효과적인 것으로 보고되고 있다(Nosenko et al., 2009; Heinlin et al., 2010). 20세기 말부터 플라즈마는 산업의 여러 분야에서 응용되어 왔다. 많은 분야에서 필수적으로 활용되는 플라즈마를 직류-전압관계에 따라 구분하자면 암방전(어두운 방전), 글로우 방전(밝은 방전), 아크(arc) 방전으로 나누어진다. 암방전은 전류의 양은 적은 대신 전극의 전압은 아주 높은 것으로 발광현상이 미약하며, 상대적으로 전류가 높은 영역을 코로나 방전으로 분류한다. 글로우방전은 빛을 내기 때문에 조명에 많이 이용하고 있다. 형광등, 네온사인, 제논램프 등이 이에 해당한다. 저온 글로우 방전 플라즈마는 반도체 공정에서 주로 표면처리를 위한 증착(plasma enhanced chemical vapor deposition; PECVD), 식각(plasma etch)공정 등이나 금속이나 고분자의 표면 처리 등에 이용되고 있다. 이때 사용되는 글로우 플라즈마는 고온의 아크방전이나 코로나 방전등과는 달리 저온의 특성을 갖는다. 아크방전은 빛과 함께 많은 열을 내기 때문에 조명뿐만 아니라 음이온 방출, 공업적으로 절단, 용접 용융 등에 이용된다.

1) 산업계

유전체장벽방전플라즈마의 물리적 기능은 대기압에서 고출력 방전을 발생 시킬 수 있다는 장점이 있으나 전자온도가 높아, 방전시 열적 안정성이 우수해

야 방전을 안정적으로 유지시킬 수 있으며, 반응기 내 구성이 향상 될 수 있다. 하지만, 이러한 유전체 물질들은 열적안정성은 높지만 열 충격에 약해 쉽게 파괴될 수 있고, 냉각하기 어렵다. 따라서 이러한 유전체 물질로는 아직까지 내구성 및 다양한 모양을 설계하는데 있어서 한계점을 가지고 있지만 펄스전력공급기가 없어도 되기 때문에 산업체에서 널리 이용되고 있다. 특히 오존발생, CO₂레이저, 자외선광원, 오염물질 제거, 미생물살균 등에 널리 응용되고 있다.

2) 식품

양식된 물김을 건조기계로 말리는 건조 김, 해풍에 생육으로 말리는 과메기, 건포도, 각종과일 등에는 화학적 방부제 대신에 사용가능한 플라즈마는 매우 적절한 식품보존제로 활용이 가능하다. 플라즈마 기술의 초기연구는 미국방성 소속의 연구소(Defense Advanced Research Project Agency, DARPA)가 미 육군이 전염성 미생물을 살균하기 위해 사용하는 살균용 약품과 살균용 화학물질을 대체하기 위한 연구를 지원하면서 시작되었다. 이 플라즈마 장치는 미 육군이 멀리 떨어진 해외 지역으로 병참용 보급품을 필수적으로 공급해야 하는데, 이때 방해가 되는 전염성 미생물을 살균하고, 마찬가지로 전쟁터에서 평화를 지키며, 작전을 안전하게 수행하는 장비로 사용하기 위해 개발되었다. 참여했던 연구원들이 찾아낸 이 저온 플라즈마는 원인과 결과에 관계없이 살아있는 세포상에 기생 하는 박테리아를 최단 시간 내에(탄저균에 의한 탄저병, 대장균, 연쇄구균과 포도상구균을 포함) 살균한다. 이런 플라즈마기기를 이용하여 세균의 살균능을 시간대별로 확인이 가능하다(Kim, 2010).

독일의 라이프스왈드(Greifswald)에 있는 라이프니츠(Leibniz)플라즈마과학연구소<Leibniz Institute for Plasma Science and Technology Greifswald eV (INP)>에서 (Haertel et al., 2014)는 대기압저온방전플라즈마 발생기를 생물 의학적(biomedical application)응용을 위해, Plasma Jets, Corona discharge plasma sources, Dielectric barrier discharge (DBD) plasma sources의 세 가지 원리로 분류한 후(Figure 3), 대기압 중 30~40℃에서 작동가스로 알곤, 알곤-산소혼합물, 또는 대기공기(표면 DBD)를 이용하여, 미용, 외상이나 피부질환 등 의학분야(plasma medicine)에 심층적으로 사용할 것을 제안하고 있다(Son et al., 2011; Zimmermann et al., 2012; Von Woedtke et al., 2013).

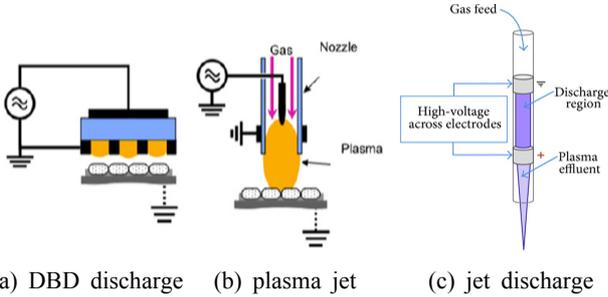


Figure 3. Plasma device

II. 대상 및 방법

1. 연구대상

1) 대상균주

사용된 균종으로는 그람양성구균에서 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*, KCCM12103 ATCC12600), 그람음성간균은 대장균(*Escherichia coli* KACC 1005)을 각각 사용하였다.

2) 플라즈마 장치

본 연구자가 세균의 사멸에 의한 정량적인 감소여부를 측정할 목적으로 선택한 것은 비열 유체장벽방전 플라즈마발생기(non-thermal DBD plasma generator, Model: TB-300, Shinyoung Airtech, Korea)이었으며, 기기 운용 조건은 “Turbo”에 위치하였다. 이때 사용된 밀폐 챔버 구성은 아크릴로 제작(800x600x1,330 mm)되었고, 두께는 12 mm, 챔버내 부피체적은 0.64 m³이었다. 실험 중의 챔버내 온도는 19±3℃, 습도는 40±5%이었다.

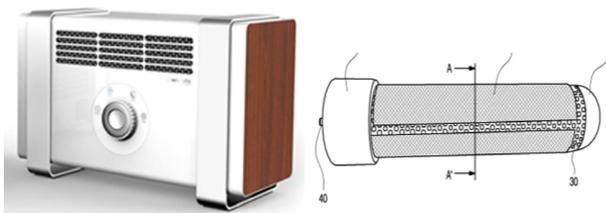


Figure 4. Portable plasma generator(TB-300)

2. 시료 전처리

1) 대상세균 배양

플라즈마 성능 시험을 위한 시험균주는 신선한 세균을 얻기 위해 표준균주를 각각 한천고체배지(Tryptic Soy Agar(아산제약, 80 mm)에서 18~24시간 배양 후 사용하였다.

2) 세균 수 측정

본 연구의 실험에서는 균액 탁도(turbidity)를 McFarland 0.50(1.5X10⁸ CFU/mL)기준으로 하였다(Bollela., 1999; Densi manual., 2017). 이때 사용된 현탁액용매는 무기용액으로 비교적 오랫동안 균이 생존할 수 있지만, 증식하지 않는 PBS용액(gibco)으로 탁도 0.50(colorimeter Densi. CHEK, BioMérieux, Etoile, France)에 맞추어 만든 후, 100x, 1,000x로 용도별로 단계 희석하여, 37℃배양기에서 15분 정치 후, 균액 0.1ml을 고체배지(TSA)에 접종하고, 1회용 스프레더(spreeder)로 도말하여 챔버안에서 실시하였다(Sutton, 2011; Fontes et al., 2012). 플라즈마 공기살균기 노출은 현탁액균주가 처리된 고체배지를 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 6시간, 12시간, 24시간으로 챔버안에서 각각 노출 시킨 후, 대조군과 함께 37℃에서 24시간 배양하였다. 이때 대조군은 시간대별로 만들어 평균치를 산출하여 노출군과 비교 평가하였다(Zimmermann et al., 2012).

3) 집락 계수(colony count)

플라즈마 효율성의 미생물학 검증으로 플라즈마에 의해서 유도된 미생물 살균 효과의 평가는 생화학 확산어세이(assay)에 의해서 이루어진다. 즉 플라즈마로 처리된 미생물이 배양액이나 배지에서 자라면서 형성하는 집락수를 세어서 오염제거 및 살균효과를 평가한다. 이때 단위를 CFU(Colony Forming Unit)를 사용하였다. 실험시 플라즈마발생기와 TSA배지와 거리는 플라즈마의 잠재적 영역인 1피트(30.4 cm)이내에서 실시하였으며, 챔버내 플라즈마 노출은 같은 조건으로 최소 3회 이상 반복하였다. 노출시킨 *S. aureus*, *E. coli*평판배지는 각각 37℃에서 24시간 배양 후 생성된 집락수(colony counter: SCI0, finetec, Korea)를 사용하였고, 집락 형성단위인 CFU/ml로 계수하였다. 감소효과 평가율은 플라즈마 처리 전 세균집락수(N₀)와 플라즈마 처리 후 세균 집락수(N_t)를 계수한 뒤, 아래의 식에 대입하여 계산하였다.

$$\text{Sterilization rate(\%)} = \frac{N_0 - N_t}{N_0} \times 100$$

4) 기타 인자

챔버내의 오존측정은 Ozone monitor (InD2vR 2B, USA)이용하여 측정하였다. 플라즈마 발생토출기 대역 5 cm에 연성튜브를 약 1 m로 연결하여, 모니터링 하였으며, 기류는 열선풍속계(TSi 9545A, USA)로 실시하였다.

III. 결 과

평판계수방법(colony forming assay)의 과정으로 표준 0.50McF은 0.56(Densi manual., 2017)을 나타내며, 본 실험의 대상균주인 황색포도상구균(S.aureus)과 대장균(E. coli)의 예측농도인 1.5×10^8 농도(Donay et al., 2017; Fontes et al., 2012)을 10^{4-5} CFU/mL으로 희석하여 각각 0.1 ml를 TSA배지에 도말 후 37°C에서 24시간 배양한 결과이다(Table 3, Figure 5). 대조샘플과 비교하여 노출시간이 길어질수록 현저한 감소가 관찰되었다. Figure 3은 S, aureus & E, coli의 시간대별의 감소효과를 나타낸 것이다. 6시간 이상 노출시키면

두균종이 모두 95~100% 이상 살균되는 것을 알 수 있다. 이때 24시간 챔버내에서 발생된 오존의 농도는 최소5.9~최대 57.6 ppb, 평균 35.3 ppb를 나타내고 있었다.

본 연구에서는 S, aureus & E, coli를 각각 3회 이상 같은 조건으로 비노출대조군과 노출군의 집락수 감소 경향으로 플라즈마의 살균영향을 평가하였다. 결과는 산술평균과 기하평균으로 분석하였으나, 감소율에 차이가 없어, 산술평균으로 평가하였다(Table 3).

기준이 되는 McFarland 탁도가 S, aureus는 0.53 ± 1 로 조정하였을 때, table3은 플라즈마 처리에 의한 S, aureus의 감소효과 결과를 노출시간대별로 나타낸 것

Table 3. Distribution of S, aureus & E, coli concentration by incubation the number of surviving bacteria, or CFUs was counted

	S, aureus					E, coli				
	AM* (cfu/ml)	SD	GM† (cfu/ml)	GSD	Decreasing (%)	AM (cfu/ml)	SD	GM (cfu/ml)	GSD	Decreasing (%)
turbidity (OD)	0.53±1	0.1	0.53	-	-	0.53±1	0.1	-	-	-
control 10^{-4}	463	36	407	37	-	13	4	11	4	-
30 min	356	30	310	31	24	7	1	6	1	41
1 hr	326	29	287	29	29	3	1	2	1	79
2 hr	293	30	253	30	38	0	0	0	0	100
3 hr	240	26	208	26	49	0	0	0	0	100
6 hr	22	3	21	3	95	0	0	0	0	100
12 hr	0	0	0	0	100	0	0	0	0	100
24 hr	0	0	0	0	100	0	0	0	0	100

* AM : arithmetic mean, † GM, geometric mean

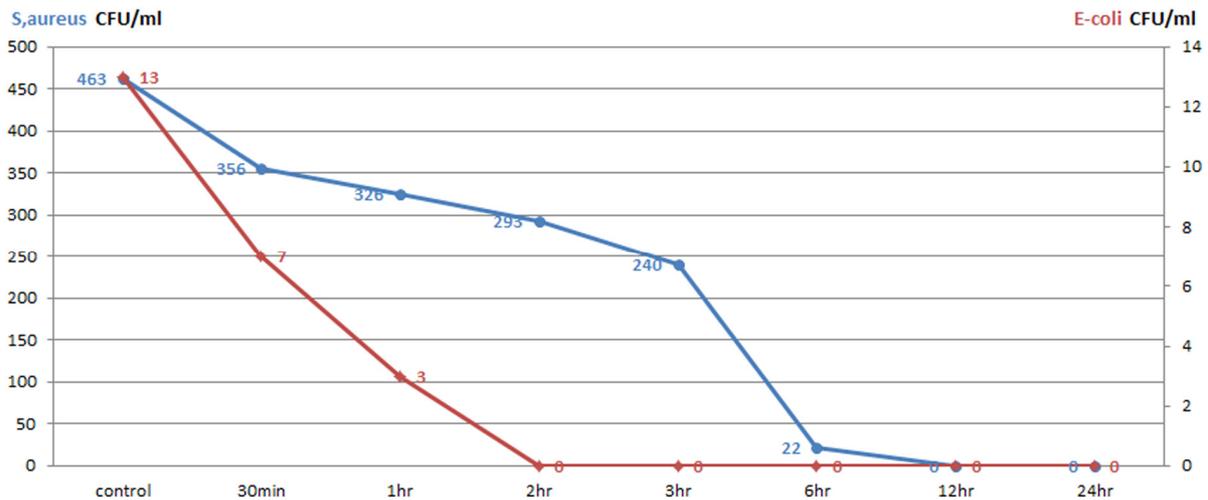


Figure 5. Result of colonies counted by surviving S, aureus & E, coli bacteria on agar plates after plasma treatment times of 30 min-24hr and incubation, on DBD

이다. 비노출 대조군의 표준집락수는 463±36 CFU/ml 이었다. 이때 30분 노출에는 356±30 CFU/ml에 24%감소하였고, 1시간노출에 326±29 CFU/ml로 29%감소, 2시간노출에 293±30 CFU/ml로 38%줄었고, 3시간노출 결과에서는 240±26 CFU/ml로 49%을 감소율을 보여, 비노출 대조군과 비교하여보면, 반으로 감소됨을 확인 할 수 있었다. 이는 플라즈마 노출시간이 증가할수록 급격하게 S, aureus의 집락수가 줄어드는 것을 알

수 있었고, 6시간 노출시간이 지난 후의 결과에서는 22±3 CFU/ml로, 배지에서 감소율이 95%로 증가됨을 볼 수 있었다. 이때 24시간 상태까지 포함한 TSA배지의 상태는 건조되기는 하였으나 세균 성장에 전혀 영향을 주지 않을 정상상태이었고, 12, 24시간 이후에는 완전히 자라는 균이 없는 100% 감소율을 확인하였다 (Figure 6). 이때 챔버 내 오존의 24시간 평균농도는 35.3 ppb이었다.

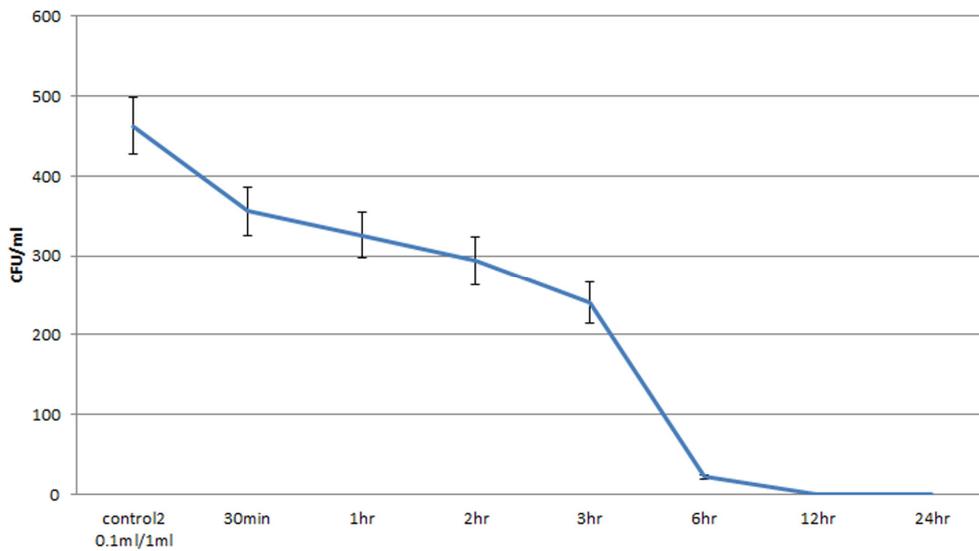


Figure 6. The Microbial Killing Effect of S, aureus on DBD plasma

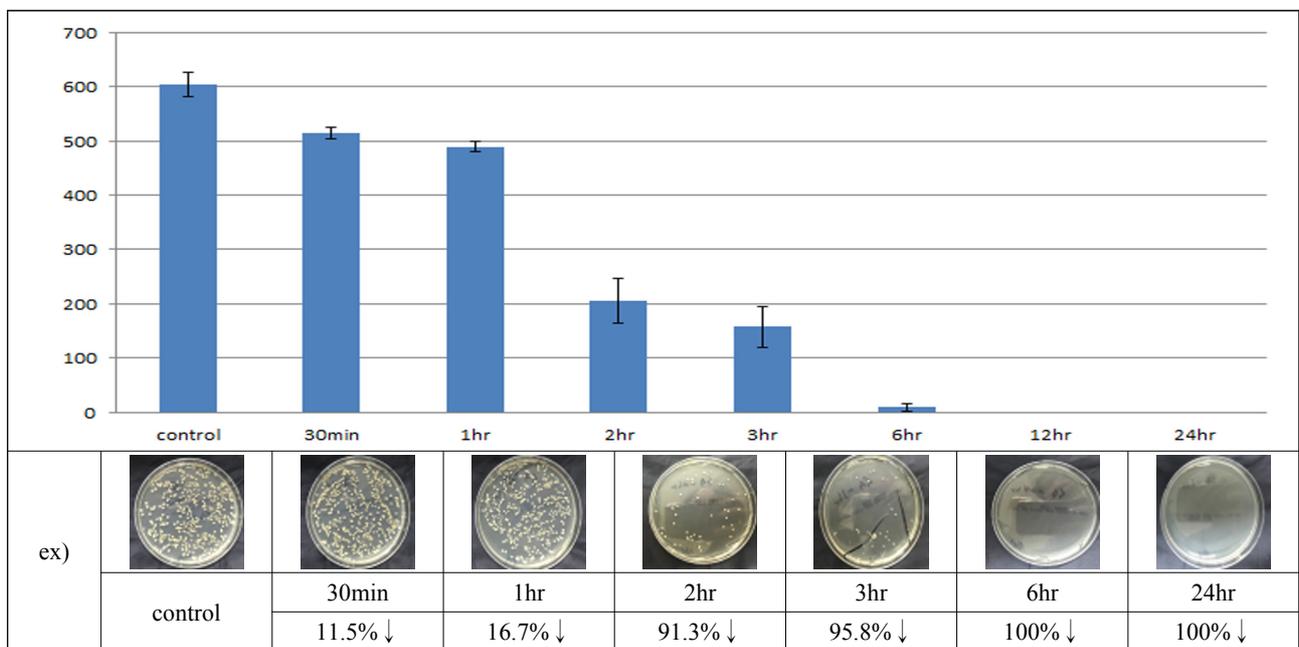


Figure 7. The Microbial Killing Effect of S, aureus on DBD plasma(3 times)

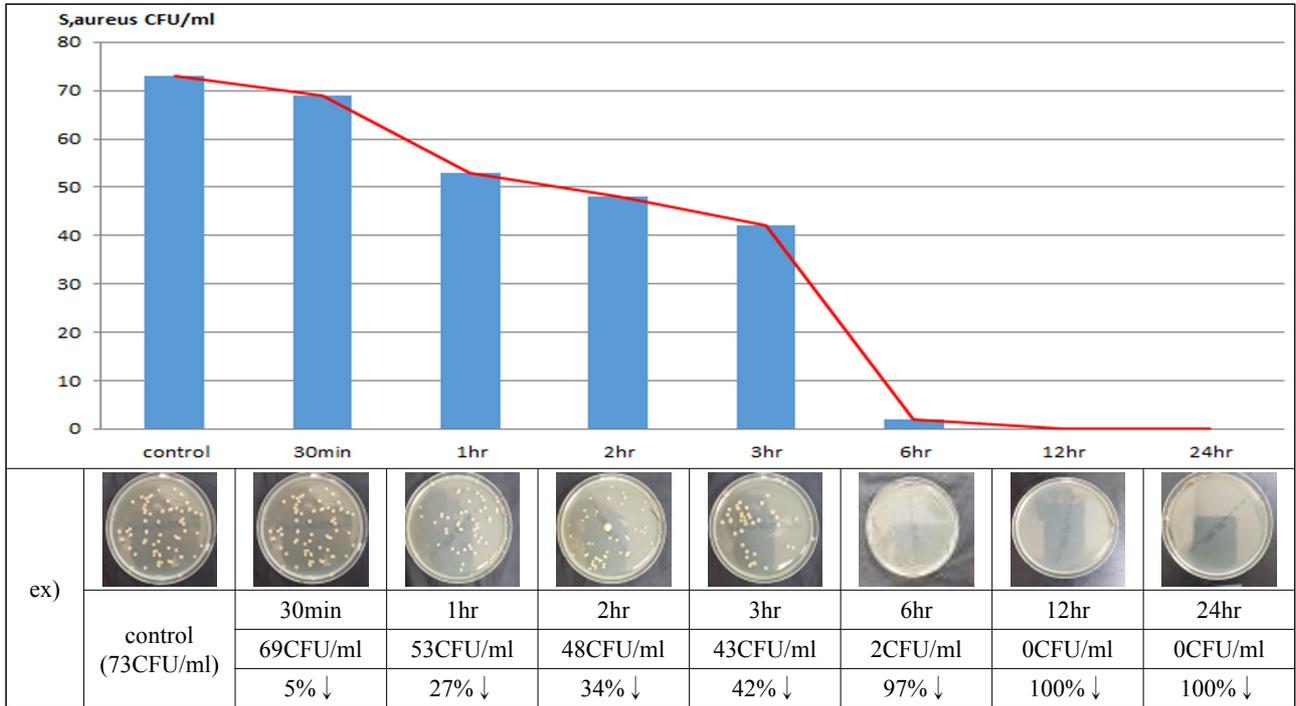


Figure 8. The Microbial Killing Effect of S, aureus on DBD plasma(1 time)

Figure 8은 앞선 S, aureus의 3회 실시한 실험결과의 집락밀도가, McFarland탁도 기준을 0.50로 맞춘 상태에서는 조밀한 성향(Table 3)을 보이므로, McFarland 탁도를 0.41±1로 단회로 조정하여 집락밀도에 따른 결과를 비교하기 위한 평판계수 결과이다. 이때 나타난 결과로는, 비노출 대조군의 표준집락수는 73 CFU/ml이었으며, 30분 지난 후는 69 CFU/ml에 5%가 감소하

였고, 1시간에 53 CFU/ml, 27%감소, 2시간은 48 CFU/ml로 34%가 줄었고, 3시간의 결과에서는43 CFU/ml로서 42%가 감소됨을 볼 수 있었다. 6시간 지난 후에는 2 CFU/ml로 97% 감소되어 배지에서 거의 완전한 감소가 이루어졌음을 나타내고 있었으며 12, 24시간에도 100%저감됨을 나타내고 있었다. 이때 챔버내 오존의 24시간 평균농도는 31.2 ppb로 노출기준

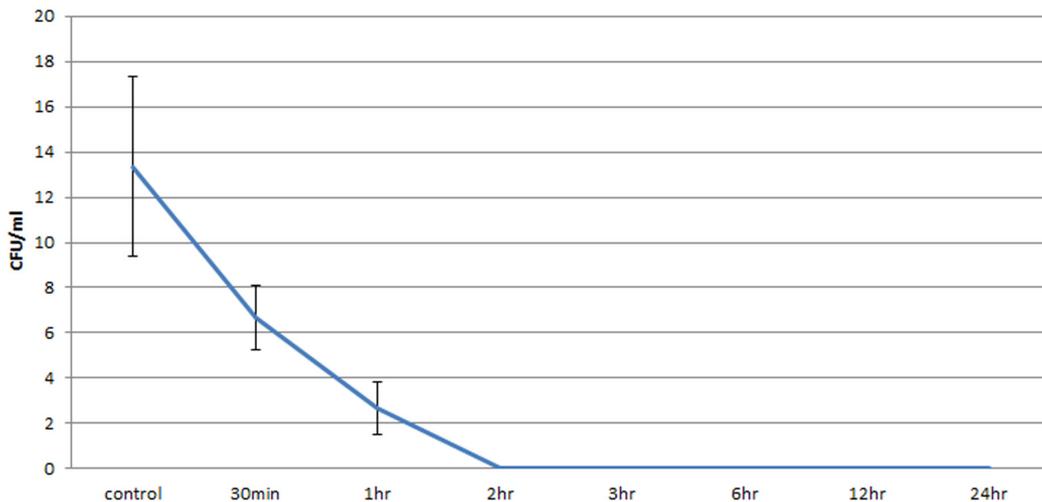


Figure 9. The Microbial Killing Effect of E, coli on DBD plasma

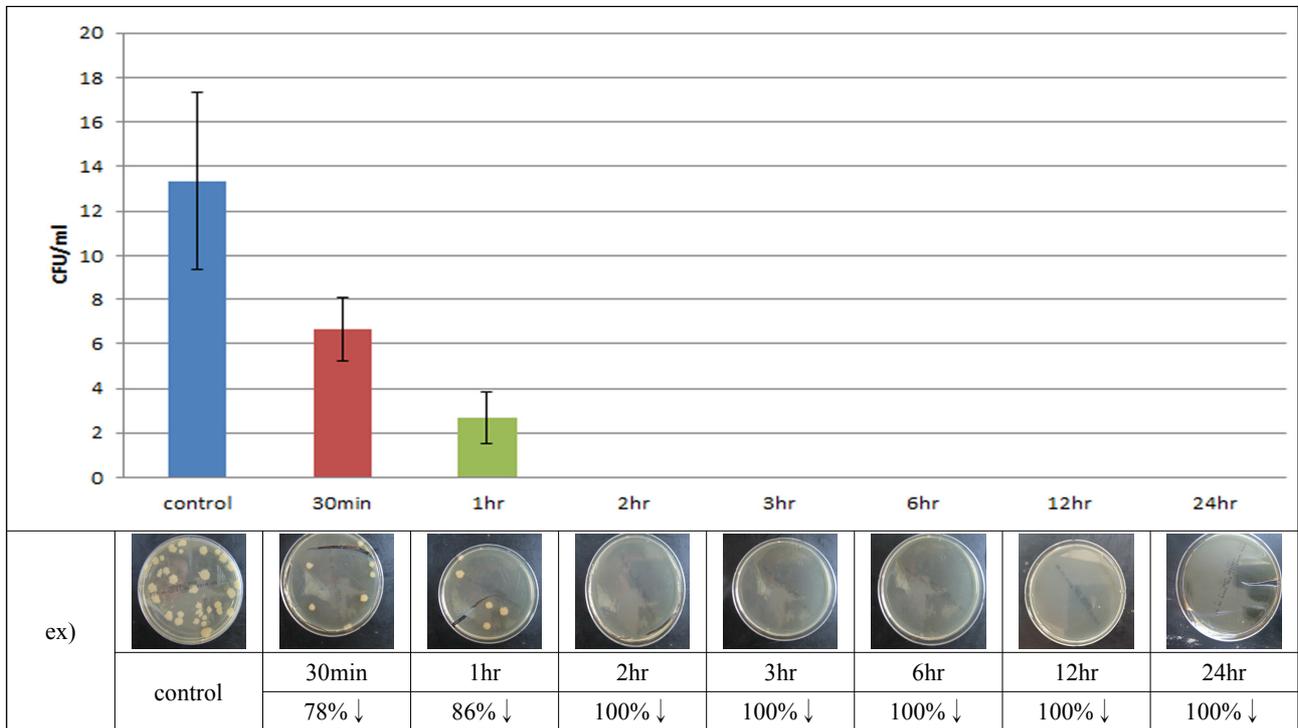


Figure 10. The Microbial Killing Effect of E, coli on DBD plasma(3 times)

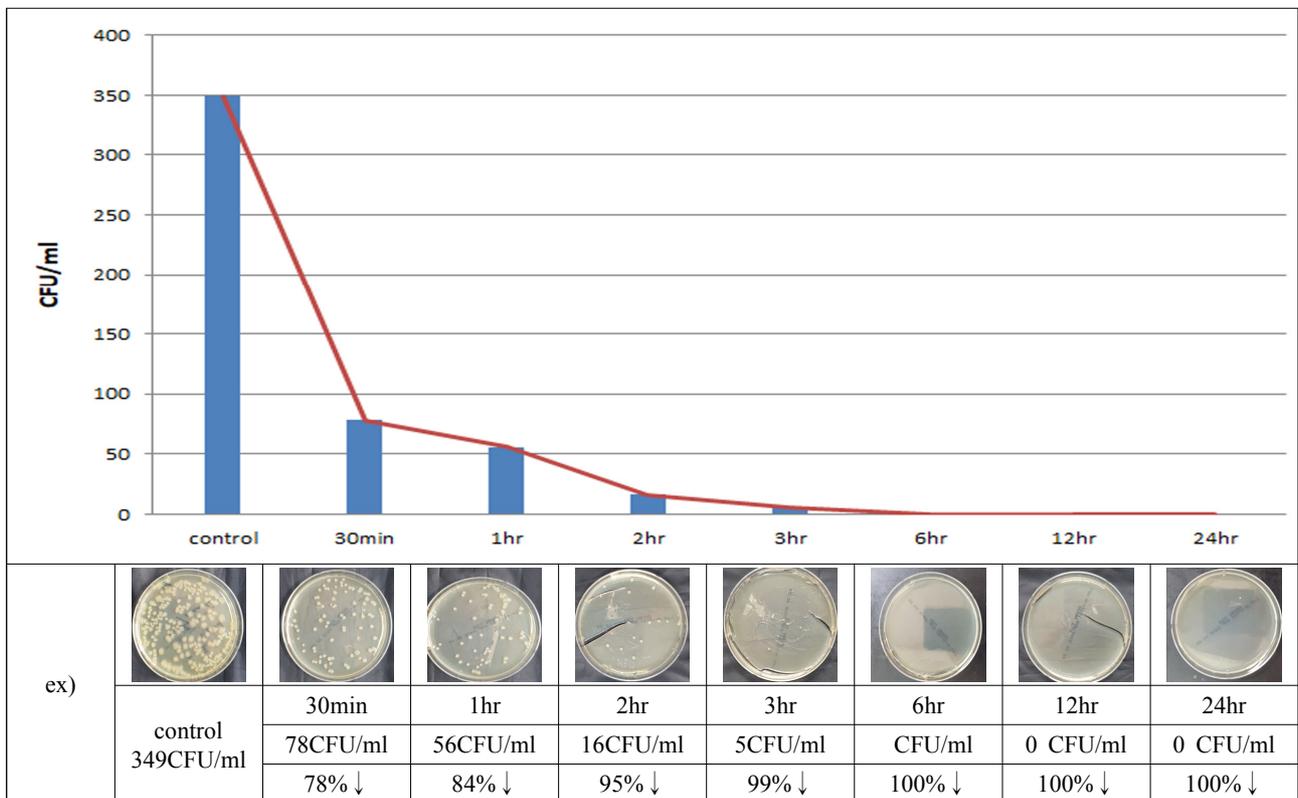


Figure 11. The Microbial Killing Effect of E, coli on DBD plasma(1 time)

50 ppb 이하로 유지되고 있었다.

이 결과에서 *S. aureus*는 $10^{4\sim5}$ 의 현탁액 희석조건에서 평판배지의 집락 밀도수에 크게 영향을 받지 않고 플라즈마 성분의 노출량과 시간에 의해 감소되고 있음을 추정할 수 있었다.

*E. coli*는 표준균주액의 McFarland탁도를 0.53±1로 맞추어 3회 이상 실시한 결과의 평균치에서, 비노출 대조군의 표준집락수는 13±4 CFU/ml이었다. 30분노출시간이 지난 후는 7±1 CFU/ml에 50%감소하였고, 1시간노출에 3±1 CFU/ml로 80%감소율이 증가하였고, 2시간노출 이후로는 100%감소율을 확인 할 수 있었다(Figure 9). 이때 아래의 사진에서 배지가 갈라진 것은 1회용 플라스틱 스프레더로 도말하는 과정 중에 발생된 것이며, TSA배지 상태는 건조되기는 하였으나 세균 성장 및 존재에 영향을 줄 정도는 아닌 상태에서, 12, 24시간 이후에는 100% 감소율을 나타내고 있었다(Figure 10). 이때 24시간 챔버내 오존은 35.3 ppb로 발생되고 있었다.

Figure 11은 McFarland탁도 기준을 0.50에 맞출 경우, Table 3의 결과처럼 대장균 집락밀도가 낮아서, *E. coli*의 집락수를 증가시키기 위해 표준균주액의 McFarland 탁도를 0.60±1로 단회, 상향·조정하여 평판 계수한 결과이다. 비노출 대조군의 표준집락수는 349 CFU/ml이었으며, 30분 지난 후는 78 CFU/ml에 78%가 감소하였고, 1시간에 56 CFU/ml, 84%감소, 2시간은 16 CFU/ml로 95%가 줄었고, 3시간의 결과에서는 5 CFU/ml로서 99%가 감소됨을 볼 수 있었다. 6시간 지난 후에는 배지에서 거의 완전한 감소가 이루어졌음을 나타내고 있었으며 12, 24시간에도 100%저감됨을 나타내고 있었다. 이 조건에선 오존의 24시간 평균농도는 31.2 ppb로 챔버 내 밀폐공간에서도 오존은 기준치 50 ppb이하를 유지하면서 발생되고 있었다. 이 결과에서도 *E. coli*의 경우는 집락 밀도수와 상관없이 일정 플라즈마에 노출되면, 2~3시간이내에 성장이 억제(inhibition)되고 있음이 관찰되었다

IV. 고 찰

공기 중 박테리아(0.1 um~10 um)는 실내기류 혹은 초미세분진에 붙어 직접 침전하거나 부유하여 창상에 도달할 수 있으며, 수술기구 등의 노출면에 떨어져 부착하거나 상처부위 혹은 호흡기에 도달 할 수도 있다(Gosden et al., 1998). 정형외과 수술인 고관절 대체술

시 일반 환기상태에서 수술한 환자보다 청정공기하에서 수술한 환자가 1~4년 후의 재수술 가능성이 약 50%라는 연구가 있다(Lidwel et al., 1982). 이러한 수술실 등의 대책으로는 자외선(UV)이나 HEPA filter를 이용하고 있지만, 그러한 설비 및 기구는 병원급의 중앙수술실에 한정되어 있다(Lee & Kim, 2014).

병원감염, 부유미생물 등의 생활환경속 미생물 감염은 전형적으로 항균, 살균 및 면역학적 챌린지에 대한 내성을 현저하게 향상시킨다. 이로 인해 기존의 화학요법제를 사용하여 치료하기가 어려울 때도 있고 불가능할 수도 있다. 따라서 만성적인 장치 관련 감염, 생물막의 예방과 박멸을 위한 효과적인 대체방법이 시급히 요구되고 있다. 대기압 유전체장벽플라즈마(DBD)는 박테리아 감염과 오염의 박멸 및 방제를 위한 잠재적인 접근법으로 비교적 이상적 방법이라고 생각한다(Zimmermann et al., 2012; Lee SJ et al., 2017).

본 연구에서 플라즈마 살균시험은 박테리아를 대기압유체장벽방전 플라즈마발생기(TB-300: 전압2 kV, 주파수60 Hz 및 전력4 W)를 사용하였다. 그람양성구균이며 메티실린내성 황색 포도상구균(MRSA)과 같은 균종(species)인 *S. aureus*를 이용한 생균현탁액을 대조군 목적으로 McF탁도0.50(1.5×10^8)를 10^{-4} 희석하여 평균 표준균주액의 McF탁도를 0.53±1로 맞추었다. 이것의 결과에서 비노출 대조군의 표준집락수는 463±4 CFU/ml이었다. 이것은 희석배수와 집락수로 산출된 초기 균주농도는 46.3×10^6 ml로 해당될 수 있다. 이런 조건은 McF기준 0.50에 맞추다보니, 배지에서 집락수가 400 CFU/ml 이상으로 만들어져 비교적 높은 집락밀도 조건으로 시작하였다. 이 시험군의 결과에서 플라즈마에 30분 노출에 23%, 1시간에 29%, 2시간에 37%, 3시간 49%로 각각 감소로 나타나서, 비노출 대조군과 비교에서 3시간 노출부터 절반으로 감소됨을 확인 할 수 있었다. 대조군의 평균집락수를 낮추기 위해 McF탁도를 0.41±1로 맞춘 낮춘 단회결과에서 대조군은 73 CFU/ml로 관찰되었다. 앞의 설명과 마찬가지로, 이것은 희석배수와 집락수로 산출된 초기 균주농도는 7.3×10^6 ml로 해당될 수 있다.이 조건에서도 3시간의 결과에서 42%가 감소됨을 볼 수 있었으며, 이는 플라즈마 노출시간이 증가할수록 *S. aureus*의 집락수가 급격히 감소됨을 알 수 있었고, 6시간 노출시간이 지난 후 결과에서는, 감소율이 95%, 97%로 각각 줄어드는 것으로 나타나서, 본 실험에서는 노출시간이 길어지는 것은 플라

즈마의 활성중에 오랫동안 노출되는 것이며, 그러한 경우는 집락밀도와 상관없이 거의 완전한 살균이 이루어지는 경향(Mendis et al., 2000)을 나타내고 있었으며 12시간부터는 집락을 전혀 발견할 수 없었다.

이 결과는 Kowalski et al.(2012)이 발표한 것처럼 6시간 실험에서 오존이 0.3~0.9ppm조건 중 *S. aureus*가 99.5%살균되는 것과 일치하며, Pradeep & Mok (2016)이 *S. aureus*와 *E. coli*의 비열대기압플라즈마를 이용한 활성실험에서 *S. aureus*가 6시간에 95% 사멸되는 것과 일치되는 결과를 나타내고 있었다. Kim et al.(2004)의 보고처럼 이온발생장치로 시험한 결과에서 Gram(+)균 93.2%와 Gram(-)균 92.9%의 제거율을 나타내는 보고와도 유사한 결과를 나타내고 있었다.

이러한 결과에서, Ryu et al.(2013)은 대기압유전체장벽방전플라즈마 처리에서 전력, 노출시간이 증가될수록 그리고 노출시간과 노출거리가 짧을수록 활성중인 오존(O₃), 일산화질소(NO), 이산화질소(NO₂) 등의 농도가 증가된다고 동시보고(Shimizu et al., 2011)하였고, 플라즈마처리 시 노출시간이 증가할수록 MRSA, *S.aureus*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*의 사멸효과가 증가된 것을 보고하였다(Kowalski et al., 1998; Joshi et al., 2010; Kim et al. 2013; JO et al., 2014).

또한, Haertel et al.(2014)은 대기압유전체장벽플라즈마의 방출요인인 활성중, 자외선, 세포내 산소라디칼 등이 유도되어 부유미생물, 부착미생물의 세포 생존력을 감소시켜 사멸시킴으로서 만성 외상 등의 치료에도 매우 유용한 것으로 발표하였다(Shimizu et al., 2011; Pradeep & Mok, 2016). 이러한 결과는 살균력의 증가에 따라 기체의 이온화, 여기, 해리 등의 과정이 더욱 빈번히 일어나기 때문에 활성중의 농도가 증가한 결과로 판단된다. 플라즈마에 노출되는 시간이 증가하게 되면 활성중의 농도와 자외선 세기 등이 일정하더라도 미생물의 세포막 손상 정도는 증가하기 때문에 그로 인해 사멸율이 증가하는 결과를 나타낸다(JO et al., 2014).

그람양성균과 그람음성균에 대한 직접적인 플라즈마 효과는 compound기반에 cocktail형태로 나노사이즈의 agents형태(ROS, RNS)로 cytoplasm의 세포막을 통해 확산되면서 지질과 단백질, 그리고 세포 내의 DNA와 같은 거대분자들과 직접 반응하여 미생물 세포를 손상시키는 것으로 보고되었다(Mendis et al., 2000; Heinlin et al., 2010; Shimizu et al., 2011). 이러

한 결과들로 볼 때, 대기압 유체장벽 방전 플라즈마 처리에서 인가되는 전력과 플라즈마 상태에 노출되는 시간 및 플라즈마 방출원인 활성중의 농도와 직접적인 관계가 있기 때문에 공기 중의 플라즈마 활성성분이 관찰된 세균증식억제 효과에 중요한 역할을 한다는 것을 확인시켜주고 있다(Kim, 2010).

또한, 대부분의 알려진 박테리아의 개체 복제하는 생성시간은 15분에서 1시간 이내로 알려져 있다(Nosenko et al., 2009). 예를 들어 메티실린내성 황색포도상구균(MRSA)의 생성 계대시간은 24~30분이다. 생성시간이 짧기 때문에 집락재구성(recolonize)이 식중독, 피부의 상이나 배지에서 신속하게 이루어 질 수 있으나, 플라즈마의 활성중들이 이러한 재식생(recolonization)을 억제하는 것으로 보고하고 있다(Eguia & Chambers, 2003).

그람음성간균의 대표적인 *E. coli*를 대조군 목적으로 McF기준 0.50(1.5x10⁸)를 10⁻⁴~10⁻⁵희석하여 평균 표준균주액의 McFarland탁도를 0.53±1(OD)로 맞추었을 때, 비노출 대조군의 표준집락수는 13±4 CFU/ml이었다.

이것은 희석배수와 집락수로 산출된 초기 균주농도는 1.3x10⁶ml로 해당될 수 있다. 배지에서 집락수가 *S. aureus*와는 다른 비교 낮은 집락밀도 조건이어서 5회 이상을 반복하였지만, 모두 비슷한 집락밀도가 관찰되었다. 이 조건에서 플라즈마에 대한 반응은 30분노출시간이 지난 후는 50%감소하였고, 1시간노출에 80%로 감소율이 증가하였고, 2시간노출 이후로는 100%감소율을 관찰 할 수 있었다.

그러나 집락수를 증가시키기 위해 표준균주액의 McFarland탁도를 0.60±1로 단회, 조정한 결과에서는 비노출 대조군의 표준집락수는 349 CFU/ml이었으며, 이것은 희석배수와 집락수로 산출된 초기 균주농도는 34.9x10⁶ ml로 해당될 수 있다. 감소 경향은 30분 지난 후는 78%, 1시간은 84%, 2~3시간에서 이미 95~99%에서 급속하게 감소된 것으로 나타나, 앞서 3회의 실시한 2시간의 100%감소 결과와 유사한 경향을 나타내고 있다. 이는 *E. coli*도 집락밀도와는 비교적 무관하게 노출시간이 길어지면 급속하게 불활성화 되는 것을 보여준다. 이 관찰은 이전에 발표된 자료(Pacelli et al., 1995)와 일치하고 있었다.

이러한 결과는 플라즈마 처리 후 3시간 및 5시간 후에, 플라즈마 조사 샘플의 박테리아 밀도는 대조 샘플의 박테리아 밀도의 92% 및 88%로 감소되는 결과와 일치하고 있으며 Nosenko et al.(2009)의 실험으로 대

장균의 균주를 함유 한 배양 접시를 챔버에 넣고 4~20 ppm의 오존농도로 10~480분 동안 노출시켰을 때 99.9%를 초과하는 살균률이 달성된 결과와 다소 유사한 결과를 보이고 있었다. 6시간 지난 후에는 배지에서 거의 완전한 감소가 이루어졌음을 나타내고 있었으며 12, 24시간에도 100%저감됨을 나타내고 있었다. 이 결과로 볼 때 최근 결핵균을 가지고 비슷한 실험조건으로 실시한 결과(Noori et al., 2017)에서 그람음성균인 결핵균이 3시간 노출에 45~75%, 6시간에 69~86%, 9시간에 93~100% 감소되고, 24시간에 집락이 발견되지 않은 결과와 본 실험에서 3시간에 E. coli가 3시간에 99%감소되는 본 실험의 결과와 단순, 비교하면 E. coli가 세포막이 더 두꺼운 지질로 둘러싸인 결핵균에 비해 비활성화로 판단된다. Mendis et al.(2000)은 비열플라즈마 제트방식(알곤) 실험에서 활성종의 카테일효과에서 NO_x, H₂O₂, OH radicals, Ozone, UV 등이 세균세포막을 확실히 파괴 한다고 주장하고, S. aureus와 P. aeruginosa 이용한 실험을 통해서, S. aureus가 플라즈마에 더 약하다고 발표하고 있지만, 이것은 면(surface)방전이 아닌, 제트방식의 차이점에서 오는 노출시간과 활성종의 농도차이라고 판단한다.

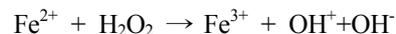
그러나 본 연구에서는 S. aureus가 6시간에서 사멸되는 95~97% 저감되는 경향을 보이고(Figure 6), E. coli는 2시간에 이미 95~100% 감소됨이 관찰되고 있다(Figure 9). 이런 결과는 세포외막의 두께와 구성 성분에 결정 된다(Mendis et al., 2000)라는 흥미 있는 이론에 접하게 된다. 그람양성 세균은 세포막과 그 바깥쪽이 20~80nm 두께의 균일한 펩티도글리칸(peptidoglycan murein)의 두꺼운 단일층으로 이루어진 세포벽이 있으나, 그람음성세균의 경우는 얇은 세포막 위에 펩티도글리칸 층(2~7nm)이 좁게 있고 그 위에 외막으로 내독소(endotoxin)유발물질인 지질다당류(Lipo-polysaccharide, LPS)층이 존재한다. 이렇게 세포벽이 거의 얇기 때문에(Pradeep & Mok et al., 2016) 플라즈마, 염색시약 등에 영향을 받거나, 하이드록실기(·OH) 등에 의한 지질막 산화 분해반응으로 본 실험중의 플라즈마에 대장균이 비활성화되는 이유 중의 하나라고 본 연구자는 판단 한다. 향후 이 결과에 대해 심도 있는 확인연구가 추가적으로 이루어져야 될 것으로 사료된다. 미생물을 멸살시키기 위해 물리적·화학적 자극을 가하여 이를 단시간 내에 없애는 것은 살균(sterility)이다, 활동성 미생물이 없는 절대적 상태로 정의되며, 정도에 따라 대

상을 완전히 무균(aseptic activity)상태로 하는 멸균과 거의 무균상태에 이르도록 하는 소독(disinfection)과 구별되며, 소독은 인간에게 더 이상 감염을 일으킬 수 없는 물질의 개체수의 감소를 나타내는 상태이다. 방부처리(antiseptic activity)는 감염을 방지할 목적으로 생체 조직 내의 병원성 유기체를 파괴하는 행위를 의미한다. 살균의 결과로 분해되어 표면에 남은 오염 물질은 세척(cleaning)에 의하여 제거한다. 따라서 세척은 더 이상의 소독이나 살균을 필요로 하지 않는다. 비활성화(inactivation)는 미생물의 성장 능력이나 번식 능력 상실을 의미한다. 병원에서 주로 사용되는 플라즈마 멸균기는 고온, 고압에 취약성을 가진 의료기기 및 의료용품의 멸균을 하기 위해 챔버 내부에 전용 멸균제(과산화수소)를 투입한 후 플라즈마 처리를 이용하여 미생물을 멸균시키는 제품으로 본 기고와는 직접 관련성이 적다(Zimmermann et al., 2012). 본 연구에서는 비열유전체장벽 방전플라즈마를 이용하여 S. aureus와 E. coli의 살균효능에 대해 실시한 기본적인 살균메카니즘과 생체에 대한 근거를 문헌을 통해 얻은 결과는 다음과 같다(Nosenko et al., 2009).

플라즈마에서 방출된 기체상의 H₂O₂의 가능한 발생원은 플라즈마 생성된 ROS가 확산되어 uv에 의한 가수분해를 포함한 광분해로 인해 생성된다.



특히 플라즈마의 미량 NO는 저농도 H₂O₂에 의한 박테리아 살생을 강화시키는 것으로 알려져 있다(Pacelli et al., 1995). H₂O₂ 세포 독성의 주요 부분은 철-매개로 하는 펜톤(Fenton)반응의 유도체(·OH)에 의해 야기 된 박테리아의 DNA 손상으로 이어진다(Luo et al., 1994)



그러므로 H₂O₂의 세균에 대한 독성은 세포 내 철 이온과 수분의 이용 가능성에 달려있다. 정상적인 조건에서 세포 내 철 농도는 철 결합 단백질에 의해 낮게 유지되나, NO가 세포 내 금속 단백질로부터 철 이온을 방출하고, 이로 인해 H₂O₂가 환원 촉매제 역할을 하는 과정에서 NO는 박테리아내부의 전자흐름을 유리 철(Fe²⁺)으로 전환시켜 박테리아 호흡을 막아(blocking) 사멸하게 한다(Nosenko et al., 2009). NO와 H₂O₂의 협력작용은 면역계 세포인 대식세포에 의해 병원성 미생물을 공격하기 위해 사용 된다(Haertel et al., 2014). 실

험이론에 의한 저온플라즈마인 비평형 플라즈마 화학 반응의 종(species)의 생성과정에서 세균의 멤브레인 투과화를 일으키고, 원격 산소 종(ROS)과 반응성 질소 종(RNS)을 박테리아에 침투시켜 DNA를 손상시키는데 필요한 플라즈마 밀도를 열팽창과 수소 변성만 고려하여 추정 할 수 있다. 멤브레인 투과성이 일어나는 속도는 다음과 같다

$$\dot{N} = \sum_i n_i v_i A \tag{1}$$

여기서 i 는 여기 된 원자와 분자
 n_{i-1} = 이온 밀도, v_i 는 열 속도,
 A 는 박테리아의 표면적.

박테리아를 파괴하기 위해서는 반응성 종(species)이 막을 통과해야하는데, 비평형 플라즈마 반응에 의해 생성된 반응성 종의 공기 중 밀도는 다음 식으로 가능하다.

$$n_{RS} = \sum_j n_{RSj} \tag{2}$$

여기서 발생된 반응성 종(예: NO, OH, NO₂ 및 H₂O₂)이 다음 식으로 박테리아 표면(surface)으로 유입된다.

$$F_{RS} = \sum n_{RSj} v_{RSj} \tag{3}$$

초당 관통하는 ROS/RNS 분자 수는 다음과 같다.

$$\dot{N}_{RS} = F_{RS} f_H A = \left(\sum_j n_{RSj} v_{RSj} \right) A_H A \tau \left(\sum_i n_i v_i \epsilon_i \right) \tag{4}$$

이것은 반응 종 n_{RSj} 의 전체 밀도가 상호 작용하는 종 n 의 총 밀도와 대략 같다고 하는 합리적인 가정이다.

$$\dot{N}_{RS} = n^2 v^2 A_H A \tau \epsilon \tag{5}$$

유사한 플라즈마질량분자 $t_p(>\tau)$ 들이 플라즈마 인가 시간 $t_p (>\tau)$ 에 걸리는 총합시간이다

$$N_{RS} = \dot{N}_{RS} t_p \dots \tag{6}$$

박테리아를 살균하는데 효과적이기 위해서는 NRS가 특정 임계값 또는 투여량 N_{crit} 를 초과해야한다. 따라서, 플라즈마 살균 조건은 (5)과 (6)을 사용하여

$$n^2 v^2 A_H A \cdot \tau \cdot \epsilon \cdot t_p > N_{crit}$$

$$n > \frac{N_{crit}}{\sqrt{v^2 A_H A \cdot \tau \cdot \epsilon \cdot t_p}} \tag{7}$$

$$n \geq 3 \times 10^6 N_{crit} cm^{-3} \tag{8}$$

여기에서, 일반적인 저전압으로 얻은 일반적인 플라즈마 밀도는 $10^9-10^{10} \text{ cm}^{-3}$ 이 된다.

따라서 1,000 ROS/RNS 발생된다면 박테리아에 살균하는데 충분하다. 반복적으로 관찰된 바와 같이 대기압방전저온플라즈마는 세포벽 투과성, 반응성 종의 침투 및 세포 내부의 화학 작용의 3과정(three principal processes: cell wall permeabilization, penetration of reactive species and chemical action inside the cell)을 통해 초 단위의 시간 내에 매우 효율적인 살균성 제공이 가능하다(Zimmermann et al., 2012). 박테리아의 경우 세포질(cytoplasm) 내에 위치한 DNA가 손상될 수 있는 세포 내부의 화학반응(Nosenko et al.,2009)으로 파괴되고 있으나, 사람의 경우, human cell의 DNA는 화학적인 효소반응으로 세포핵의 두꺼운 막이 방어를 해주기 때문에 박테리아에 대한 치사량으로 인체세포에 해를 입히거나 영구적인 손상을 줄 수는 없다(Wink et al.,1993; Yoshioka et al., 2006; Chae et al.,2001). 또한 비열유전체장벽 방전플라즈마를 포함한 저온대기압 플라즈마방전 기술이 병원, 외래환자 치료 및 재난 상황에서의 감염 통제에 기여하여 박테리아 내성 메커니즘에 구속받지 않는 새롭고 빠르게 효율적인 광대역 살균 및 청정 기술을 제공 할 수 있음을 보여주고 있다.

V. 결 론

세계적으로 병원감염과 다제내성균의 증가에 대한 관심이 고조되면서 박테리아, 곰팡이 등의 미생물 저감이나 살균에 대한 특이도 높은 기술과 대책이 시급히 요구되고 있다,

현재 우리나라 병원은 개조 및 증축에 따른 확장형 구조이어서 공조기능이 저하되어 있고, 환기가 매우 부족한 현실인데, 이러한 부분은 병원감염 뿐만 아니고, 화재에도 취약하고, 집단감염의 우려성이 상존하고 있다. 따라서 이에 대한 해결책으로 본 기고에서는 플라즈마 살균가능성에 대해서 다루어 보았다, 플라즈마의 정의를 시작으로 개념을 보건학 측면의 활용도에 접근하여 간략히 정리하였고, 플라즈마 생성, 특

성 및 응용에 대해 요약으로 살펴보았다. 그리고 비열 유전체장벽 대기압방전플라즈마 발생기 중 국내제품1개를 수거하여, 챔버내에서 그람양성 및 그람음성 박테리아 균주를 각각 1개씩 선택하여 살균여부를 수행했으며, 실험결과로서 정량적인 감소결과를 얻을 수 있었다.

본 연구의 주요결론은 다음과 같다.

1. 주어진 실험조건하에서, 선택된 균종은 아래와 같은 결과를 나타내었다.

*S. aureus*는 집락수 밀도에 크게 영향을 받지 않고, 플라즈마 노출 3시간에서 42~49%, 6시간에서 95~97%의 집락수 감소효과를 나타내고 있었다. *E. coli*는 3회 이상 실시한 실험에서 노출2시간에 100%로 감소되어, 그람양성균보다는 세포막이 상대적으로 얇은 그람음성균이 플라즈마에 민감하게 비활성화 되는 것으로 관찰되었다.

2. 비열유전체장벽 대기압방전플라즈마(TB300)는 그람양성구균인 *S. aureus*와 그람음성간균인 *E. coli*를 살균하는데 효율적으로 나타났다. 따라서 부유세균(air borne bacteria) 및 부착세균(surface colonized bacteria)에 대한 기존방법을 대체 할 수 있는 차세대 살균 기술로서의 가능성을 제시하였다.

3. 향후, 실내공기질(IAQ)관리, 결핵균을 포함한 미생물 취급, 치과, 외상치료, 감염관리 등 의료분야 및 반도체, 식품가공, 절삭유 등의 작업환경 관리에 대한 현장적용이 권고된다.

또한, 가까운 미래에 환경오염을 유발하는 석유·석탄사용 제로시대가 열릴 것으로 예측한다. 최근 “신의 선물”로 주목받기 시작하는 플라즈마 응용연구는 전 세계 산업계에 블루오션으로 치열한 경쟁과 유례없는 다양한 발전이 예고되고 있다.

따라서 산업보건학, 플라즈마물리학, 의생명공학, 치의학, 미용의학, 임상의학 등 다재간 학문이 결합하여 협업을 통한 융합기술의 발전으로, 플라즈마 디자인의 최적화(portable plasma device)된 개발로 이어지기를 제안한다.

감사의 글

본 논문은 2018년 산자부 주요사업 중 디자인혁신 역량강화사업 중 「병원 내 감염예방을 위한 공기질 관리시스템」 사업에서 지원 받아 수행된 연구임.

References

- Bogaerts A, Neyts E, Gijbels R, van der Mullen J. Gas discharge plasmas and their application. *Spectrochim Acta Part B* 2002;57(4):609-658
- Bollela VR, Sato DN, Fonseca B A L.. McFarland nephelometer as a simple method to estimate the sensitivity of the polymerase chain reaction using mycobacterium tuberculosis as a research tool. *Braz J Med Biol Res* 1999;32(9):1073-1076
- Chae HJ, Kim HR, Kwak YG, Ko JK, Joo CU and Chae SW. Signal transduction of nitric oxide donor-induced protection in hydrogen peroxide-mediated apoptosis in H9C2 cardiomyoblasts. *J Immunopharmacology and Immunotoxicology* 2001;23(2): 187-204
- Choi EH. Plasma bioscience and medicines. *Korean J Vacuum Society* 2015;2(4):9-15
- Donay J-L, Fernandes P, Lagrange PH, Herrmann J-L. Evaluation of the inoculation procedure using a 0.25 McFarland standard for the BD phoenix automated microbiology system. *J Clin Microbiol* 2007;45(12): 4088-4089
- Eguia JM, Chambers HF. Community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus: epidemiology and potential virulence factors. *Curr Infect Dis Rep* 2003; 5(6):459-466
- Emmert S, Brehmer F, Hänßle H, Helmke A, Mertens N, Ahmed R, et al. Atmospheric pressure plasma in dermatology. *Clinical Plasma Med* 2013;1(1):24-29
- Fontes B, Cattani Heimbecker AM, de Souza Brito G, Costa SF, van der Hijden IM, Levin AS, et al. Effect of low-dose gaseous ozone on pathogenic bacteria. *BMC Infect Dis* 2012;12:358-363
- Glenn J. STATE OF THE FUTURE(2050). kyobo book centre.; 2017. p. 138-139
- Gosden PE, MacGowan AP, Bannister GC. Importance of air quality and related factors in the prevention of infection in orthopedic implant surgery. *J Hosp Infect* 1998;39(3): 173-180
- Haertel B, Woedtke T, Weltmann K-D, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomol Ther*(Seoul) 2014;22(6):477-490
- Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, Stolz W, Isbary G, Zimmermann J L, et al. Plasma medicine: possible applications in dermatology. *J Dtsch Dermatol Ges* 2010;8:968-976
- Heo SM. A study on characteristics of indoor airborne fungi concentrations in a school building. master's thesis,

- Seoul National University of Korea, Seoul. 2003.
- Jo J, Lee HW, Mok YS. Sterilization of scoria powder by corona discharge plasma. *Korean J Industrial and Engineering Chemistry* 2014;25(4):386-391
- Joshi SG, Paff M, Friedman G, Fridman G, Fridman A, Brooks AD. Control of methicillin-resistant staphylococcus aureus in planktonic form and biofilms: a biocidal efficacy study of non thermal dielectric-barrier discharge plasma. *Am J Infect Control* 2010;38(4):293-301
- Kolb JF, Mohamed A-A H, Price RO, Swanson RJ, Bowman A, Chiavarini RL, et al. *appl Phys Lett* 2008;92(24):241501
- Kowalski WJ, Bahnfleth WP, Whittam TS. Bactericidal Effects of High Airborne Ozone Concentrations on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Ozone Science and Engineering* 1998;20(3):205-221
- Kowalski WJ, Bahnfleth WP, Striebig BA, Whittam TS. Demonstration of a hermetic airborne ozone disinfection system: studies on *E. coli*. *AIHA J* 2003;64(2):222-227
- Kowalski Wladyslaw. Hospital airborne infection control. Talyor and Francis Group LLC;2012. p. 7-9
- Kim HJ, Lee KH, Nam KS, Seong BL, B JG, Choi HS. he Effect of Air Cleaner and Air-cleaning Devices for the Removal of Microorganisms and Viruses. *J Odor and Indoor Environment* 2004;1(1):103-113
- Kim CH. Cold atmospheric pressure air plasma jet for medical applications. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg* 2010;53:593-602
- Kim JE, Kim IH, Min SC. Microbial decontamination of vegetables and spices using cold plasma treatments. *Korean J food Sci Technol* 2013;45(6):735-741
- Kim JH, Park SW, CHO YS. Detection of *Escherichia coli* Using Flow Cytometry. *J Environmental Science International* 2017;26(1):11-21
- Kitano K, Aoki H, Hamaguchi S. Radio-frequency-driven atmospheric- pressure plasmas in contact with liquid water. *Japanese J Appl Phys* 2006;45 (10B):8294-8297
- Laroussi M, Leipold F. Evaluation of the roles of reactive species, heat and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. *Int J Mass Spectrom* 2004;233:81-86
- Lee BS, Kim JD. A study of disinfection effect after hydrogen peroxide and silver nitrate complex air spray, Kyung Hee University department of oral and maxillofacial surgery report 2012
- Lee SJ, Song YS, Park YR, Ryu SM, Jeon HW, Eom SH. Sterilization of food-borne pathogenic bacteria by atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. *J Food Hygiene and Safety* 2017;32(3):222-227
- Lidwel OM, Lowbury EJ, whyte W, Blowers R, Stanley SJ, Lowe D. Effect of ultraclean air in operating rooms on deep sepsis in the joint after total hip or knee replacement: a randomised study. *Br Med J* 1982;285:10-14
- LippinCott's, Cynthia Nau Cornelissen, PhD, *Illustrated Reviews, Microbiology 3rd*, 146-147.2013
- Luo Y, Han Z, Chin SM, Linn S. Three chemically distinct types of oxidants formed by iron-mediated fenton reactions in the presence of DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91(26):12438-12442
- Maisch T, Shimizu T, Li Y-F, Heinlin J, Karrer S, Morfill G, et al. Decolonisation of MRSA, *S. aureus* and *E. coli* by cold-atmospheric plasma using a porcine skin model *In vitro*. *PLoS ONE* 2012;7:e34610
- Mendis D A, Rosenberg M, Azam F. A note on the possible electrostatic disruption of bacteria. *Plasma Sci* 2000;28(4):1304-1306
- Morfill G E, Shimizu T, Steffes B, Schmidt H-U. Nosocomial infections-a new approach towards preventive medicine using plasmas. *New J Phys* 2009;11:115019
- Nosenko T, Shimizu T, Morfill GE. Designing plasmas for chronic wound disinfection. *New Journal of Physics* 2009;11(11):19
- Noori Lee, Sanghee Park, Keyyoung Kim, Daeyeon Kim. Evaluation of plasma air sterilization system to inactivate *Mycobacterium tuberculosis*. *Masan National Tuberculosis Hospital* 2017:15-17
- Pacelli R, Wink DA, Cook JA, Krishna MC, DeGraff W, Friedman N, et al. Nitric oxide potentiates hydrogen peroxide-induced killing of *Escherichia coli*. *J Exp Med* 1995;182(5):1469-1479
- Pacelli R, Wink DA, Cook JA, Krishna MC, DeGraff W, Friedman N, et al. Nitric oxide potentiates hydrogen peroxide-induced killing of *Escherichia coli*. *J Exp Med* 1995;182(5):1469-79
- Park SR, Hong JW, Lee HJ, Kim GC. Plasma medicine: how can non thermal atmospheric plasma be applied to medicine. *Korean Society of Life Science* 2013;23(6):838-846
- Park DH. Characteristic study of non-thermal atmospheric pressure plasma and its influence on biomolecules. master's thesis, Kwangwoon University of Korea, Seoul. 2015.
- Pradeep P, Mok CK. Non-thermal plasma for inactivation of viruses in abiotic environment. *Research Journal of Biotechnology* 2016;11(6):91-96
- Ryu YH, Uhm HS, Park GS, Choi EH. Sterilization of *neurospora crassa* by noncontacted low temperature atmospheric pressure surface discharged plasma with dielectric barrier structure. *Korean J Vacuum Soc*

- 2013;22(2):55-65
- Shimizu K, Komuro Y, Tatematsu S, Blajan M. Study of sterilization and disinfection in room air by using atmospheric microplasma. *pharm Anal Acta* 2011;S1
- Shimizu T, Zimmermann JL, Morfill GE. The bactericidal effect of surface micro-discharge plasma under different ambient conditions. *New J Phys* 2011;13(2):1-7
- Shintani H, Sakudo A, Burke P, McDonnell G. Gas plasma sterilization of microorganisms and mechanisms of action. *Exp Ther Med* 2010;1(5):731-738
- Singh MK, Ogino A, Nagatsu M. Inactivation factors of spore-forming bacteria using low-pressure microwave plasmas in an N₂ and O₂ gas mixture. *New J Phys* 2009;11:115027
- Son HH, Lee WG. Treatment of Ar/O₂ atmospheric pressure plasma for sterilization. *The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry* 2011;22(3):261-265
- Song YS, Park YR, Ryu SM, Jeon HW, Eom SH, Lee SJ. Sterilization and quality variation of dried red pepper by atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. *Korean J Food Preservation* 2016;23(7):960-966
- Sutton S. Measurement of cell concentration in suspension by optical density. *J VAL Technol* 2011;17:46-49
- Von Woedtke Th, Reuter S, Masur K, Weltmann K-D. Plasmas for medicine. *Phys Repts* 2013;530:291-320
- Wink DA, Hanbauer I, Krishna MC, Degraff W, Gamson J, Mitchell JB. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. *Proc Natl Sci USA* 1993;90(21):9813-9817
- Woodmansee AN, Imlay JA. A mechanism by which nitric oxide accelerates the rate of oxidative DNA damage in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2003;49(1):11-22
- Yasuda H, Miura T, Kurita H, Takashima K, Mizuno A. Biological evaluation of DNA damage in bacteriophage inactivated by atmospheric pressure cold plasma. *Plasma Process Polym* 2010;7:301-308
- Yoon SS, Park YR, Ryu SM, Hyeong WJ, Eom SH, Lee SJ. Sterilization and quality variation of dried red pepper by atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. *Korean J Food Preserv* 2016;23(7):960-966
- Yoshioka Y, Kitao T, Kishino T, Yamamuro A, Maeda S. Nitric oxide protects macrophages from hydrogen peroxide-induced apoptosis by inducing the formation of catalase. *J Immunol* 2006;176(8):4675-4681
- You HJ, Lee SH, Ko GP. Concepts and strategies of the human intestinal microbiome research. *Korean J Public Health* 2015;52(1):11-19
- Zimmermann JL, Shimizu T, Schmidt H-U, Li Y-F, Morfill GE, Isbary G. Test for bacterial resistance build-up against plasma treatment. *New J Phys* 2012;14:073037