전기-UV 복합 공정을 이용한 *E. coli* 소독 : 실험계획법중 박스-벤켄법을 이용한 소독 특성 및 최적화

김동석 · 박영식^{1)*}

대구가톨릭대학교 환경과학과, ¹⁾대구대학교 보건환경전공
(2010년 4월 12일 접수; 2010년 5월 1일 수정; 2010년 5월 20일 채택)

Disinfection of *E. coli* Using Electro-UV Complex Process: Disinfection Characteristics and Optimization by the Design of Experiment Based on the Box-Behnken Technique

Dong-Seog Kim, Young-Seek Park^{1)*}

Department of Environmental Science, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

¹⁾Department of Health & Environment, Daegu University, Gyeongbuk 712-830, Korea

(Manuscript received 12 April, 2010; revised 1 May, 2010; accepted 20 May, 2010)

Abstract

The experimental design and response surface methodology (RSM) have been applied to the investigation of the electro-UV complex process for the disinfection of *E. coli* in the water. The disinfection reactions of electro-UV process were mathematically described as a function of parameters power (X_1), NaCl dosage (X_2), initial pH (X_3) and disinfection time (X_4) being modeled by use of the Box-Behnken technique. The application of RSM using the Box-Behnken technique yielded the following regression equation, which is an empirical relationship between the residual *E. coli* number and test variables in actual variables: $\ln(\text{CFU}) = 23.57 - 0.87 \cdot \text{power} - 1.87 \cdot \text{NaCl dosage} - 2.13 \cdot \text{pH} - 2.84 \cdot \text{time} - 0.09 \cdot \text{power} \cdot \text{time} - 0.07 \cdot \text{NaCl dosage} \cdot \text{pH} + 0.14 \cdot \text{pH} \cdot \text{time} + 0.03 \cdot \text{power}^2 + 0.47 \cdot \text{NaCl dosage}^2 + 0.20 \cdot \text{pH}^2 + 0.33 \cdot \text{time}^2$. The model predictions agreed well with the experimentally observed result ($R^2 = 0.9987$). Graphical response surface and contour plots were used to locate the optimum point. The estimated ridge of maximum response and optimal conditions for the *E. coli* disinfection using canonical analysis was $\ln 1.06$ CFU (power, 15.40 W; NaCl dosage, 1.95 g/L, pH, 5.94 and time, 4.67 min). To confirm this optimum condition, the obtained number of the residual *E. coli* after three additional experiments were $\ln 1.05$, $\ln 1.10$ and $\ln 1.12$. These values were within range of 0.62 (95% PI low)~1.50 (95% PI high), which indicated that conforming the reproducibility of the model.

Key Words : Response surface methodology (RSM), *E. coli*, Disinfection, Box-Behnken technique, Analysis of variance (ANOVA)

1. 서론

소독 공정은 2차 오염 없이 원하는 수준으로 병원성 미생물을 제어하는 공정으로 정수처리 및 하수처리 공정 등 수처리 공정에서 가장 중요한 공정 중의 하나이다. 소독 공정에 대한 지속적인 연구 및 개발에도

*Corresponding Author : Young-Seek Park, Department of Health & Environment, Daegu University, Gyeongbuk 712-830, Korea
Phone : +82-53-650-8043
E-mail : ysparkk@daegu.ac.kr

불구하고 지난 10년간 병원성 미생물에 의한 지속적인 발병사례가 보고 되고 있어, 소독 공정에 대한 관심 및 중요성이 증가하고 있다(김 등, 2010; 조 등, 2004b).

하수의 경우 현재 하수 방류수의 소독은 염소에 의한 소독이 주류를 이루고 있으나, 염소 소독 시 처리수에 함유되어 있는 잔류염소로 인하여 생성되는 트리할로메탄의 생성 및 취급상의 안전문제, 방류 수역의 생태계에 미치는 영향 등으로 인하여 사용상 재검토가 필요하다고 알려져 있다(신과 이, 2005). 그러나 하수 소독의 경우 국내에서는 염소 소독 이외의 소독 방식에 대한 설치실적 및 운영기술 축적 부족 등으로 지자체에서 소독방법 선정에 많은 애로가 발생하고 있다(이, 2002).

정수 공정의 경우 음용수에서 감염성 미생물에 의한 사고가 발생하면서 미국 및 유럽 등 세계 각국에서는 이들 감염성 미생물을 제거하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 국내 대부분의 정수장에서의 소독 방식으로는 *Cryptosporidium* oocyst, *Giardia* cyst 등을 안전적으로 제거하는데 한계를 가지고 있어 1990년대 중반부터 소독력이 강한 오존이나 UV를 정수처리장에 적용하기 시작하였다. *Cryptosporidium*는 염소요구량이 높은 반면 18시간의 접촉이후에도 살아있어 소독 효과가 거의 없는 것으로 보고 되었고, 오존은 잔류성이 없어 처리를 거친 후에도 염소처리가 필요하며, 온도에 영향을 많이 받기 때문에 저온에서 *Cryptosporidium* oocyst와 *Giardia* cyst의 저항성이 증가하는 것으로 알려져 있다(김 등, 2007; Betancourt와 Rose, 2004; Cho 등, 2003).

하수와 정수 공정 등 환경분야뿐만 아니라 미생물에 의한 병원감염 문제는 의료계뿐만 아니라 사회적으로도 중요한 문제로 대두되고 있다. 병원에서의 미생물 감염 중 치과의 치아 절삭용 핸드피스 버(bur), 소아과와 이비인후과에서 사용하는 코 석션 및 검이경 등은 거의 소독되지 않고 있으며, 내시경 소독의 경우 가이드라인을 지키는 곳은 10~20%에 불과한 것으로 나타나 병원 감염의 위험성이 매우 높은 것으로 보고 되고 있다(전, 2000). 국내에서 내시경을 비롯한 의료기기 소독에 가장 많이 이용되고 있는 소독제는 2% glutaraldehyde인데, 소독 효과는 좋으나 인체 호흡기

나 점막에 대한 자극성이 있어 수동 소독 과정에 의하여 동일한 수준의 소독이 항상 이루어지지 않을 수 있다. 따라서 최근에 각 병원에서는 편리함과 동일한 소독 성능을 발휘하기 위하여 오존과 UV를 이용한 자동 세척기를 사용하는 경우가 증가하고 있다(Leung, 2006; 김과 박, 2010).

상기와 같이 소독이 필요한 분야에서는 소독제인 염소나 glutaraldehyde를 대체하거나 기존의 소독제로 처리하기 어려운 병원성 미생물들을 처리하기 위한 공정 개발에 대한 연구가 필요하다. 최근에는 개별 소독 공정을 조합할 경우 각 공정의 단점을 보완하여 시너지 효과가 발생하는 복합 소독 공정에 대한 연구가 진행되고 있다. 시너지 효과가 존재할 경우 소독제의 사용량, 전력 소비량 및 반응 시간 등을 줄일 수 있기 때문에 경제적인 측면이나 효율적 측면에서 중요하다(김 등, 2010; 조 등, 2004a). 전기분해와 UV를 동시에 이용하는 복합공정이 전기분해와 UV 단독 소독 공정보다 시너지 효과가 나타났으며, 소독효율이 높고 소독시간이 빠르다는 것을 보고된 바 있다(김과 박, 2010).

전극의 전기분해반응을 이용하는 전기화학적 처리법은 다양한 인자에 영향을 받으며 공정최적화 및 설계시 각 인자의 영향을 정량적으로 규명할 수 있는 방법이 요구되는데(Park, 2008), 전기분해 단일 공정을 이용한 난분해성 물질 처리에 대해 실험계획법을 이용한 연구가 최근 2년 이내에 최초로 시도된 적이 있을 정도로 실험계획법이 환경분야에서 적용된 예는 적은 편이다(김과 박, 2009a). 특히 전기분해와 UV 공정을 복합한 전기-UV 복합 공정은 시너지 효과까지 발생하기 때문에 공정이 복잡하다. 다른 인자는 일정하게 고정한 후 1인자만 변화시켜 실험을 진행하는 전통적인 실험법인 1회 1인자(one factor at a time) 실험법에 의해서 최적 운전 조건을 찾기 어렵고 복합 공정에서 중요한 인자 간에 상호작용에 관한 교호작용의 검출이 어렵고, 실험영역 전체를 균형 있게 고려하지 못하여 국소 최적해(local optimum)를 찾게 되는 문제점이 있다(Aleboyeh 등, 2008; Kim과 Park, 2010).

최근 최소의 실험횟수로부터 최대의 정보를 얻을 수 있는 실험계획법과 실험계획법에 의해 얻어진 실험 자료를 분석하여 복잡한 시스템의 성능을 이해하

고 반응변수에 영향을 주는 유의한 요인효과들을 찾고 최적화하는데 반응표면분석(RSM, response surface analysis) 기법이 환경분야에 도입되어 적용되고 있다 (Benatti 등, 2006; Kim과 Park, 2010).

본 연구에서는 전기-UV 복합 공정을 적용한 소독 공정에서 *E. coli*의 소독에 영향을 미치는 인자에 대한 통계학적 해석, 모델식 구축 및 반응표면분석법(RSM, response surface methodology)을 이용한 2차원 등고선 분석(contour plot)과 3차원 반응표면도 분석을 도입하여 반응 조건의 최적화에 목적을 두고 실험계획법 중 박스-벤켄법(Box-Behnken)을 적용하여 실험을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

실험 균주는 *E. coli*를 선택하였으며, 한국미생물배양센터에서 분양받았다. 대표적인 종으로 *E. coli* ATCC 15489를 이용하였다. 배지로는 nutrient broth (beef extract 3 g/L, peptone 5 g/L)를 사용하였고, 균의 배양은 300 mL의 삼각 플라스크에 접종한 후, 37°C로 유지되는 배양기에서 대수성장기를 유지하도록 48시간 동안 연속 배양하였다. 48시간이 경과한 후 원심분리기에서 10,000 rpm에서 15분간 원심 분리시켜 3회 이상 세척한 다음 균 stock을 확보하였다.

실험에 사용한 전극은 Ir 전극으로 메시형이며, 전극의 크기는 63 x 110 mm (면적: 41.05 cm²)이었다. 전기분해 반응은 직류 전원공급기의 전류를 조절하여 전력을 4~8 W로 변화시켰다. UV 램프는 4, 6 및 8 W UV-C 램프를 실험에 사용하였다. 예비 실험에서 전기분해 공정과 UV 공정의 전력이 같을 때 시너지 효과가 가장 크게 나타났으므로 전기분해 공정과 UV 공정의 전력을 같게 유지하여 실험하였으며 전체 전력은 전기분해 전력과 UV 공정 전력의 합이다(김과 박, 2010). 전기분해 공정은 전류를 변화시킬 수 있으며, 공정 변수를 전류(A)로 표현할 수 있으나, UV 공정은 전류로 표시하기 어려워 전력(W)으로 표시하므로 전기-UV 복합 공정도 전력으로 변수를 표시하였다. 반응기는 아크릴로 제작하였으며, 반응 부피는 1 L이고, 혼합을 위하여 교반기를 이용하여 교반하였다. 전기

분해 반응 적용시 전극 간격은 2 mm로 고정하였다. 모든 실험은 전해질로 NaCl을 사용하여 실험하였다. 혼합을 위하여 교반기를 사용하여 교반을 하였다. Fig. 1에 전기-UV 복합 공정의 반응기 배열에 대하여 나타내었다.

2.2. 분석 및 측정

E. coli stock 용액 1 mL를 증류수와 전해질이 들어 있는 1 L의 반응 장치에 넣고 10¹⁰ CFU/L로 설정한 다음, 소독 실험을 수행하여 일정 시간 간격으로 시료 1 mL를 채취하였다. 균의 접종은 pour plate method에 의해 무균실에서 이루어졌다. 실험 오차를 줄이기 위해 1개의 시료당 5개의 평판을 만들어 사용하였으며, 시료 채취 후에는 수중에 잔존하는 산화제에 의해 계속적인 소독이 진행되는 것을 막기 위해 중화제(neutralizer, 14.6% sodium thiosulphate와 10% sodium thioglycolate) 10 µL를 투입하여 연속적으로 희석하여 nutrient agar에 투입한 다음 37°C로 유지되는 BOD 배양기에서 48시간동안 배양한 뒤 형성된 집락을 colony counter를 이용하여 계수하였으며 실험은 5회 실시하였다(김과 박, 2010).

Fig. 1. Schematic diagram of electro-UV reactor.

2.3. 실험 계획, 자료 분석 및 공정 최적화

본 연구에서는 전통적인 최적화 방법인 OFAT(one-factor-at-a-time)방법 대신 전기-UV 복합 공정에서의 처리효율에 미치는 공정변수들의 영향을 MFAST(multi-factor-at-the-same-time)법을 이용하여 최적화하였다. 반응표면분석법은 MFAST법에서 실험을 설계하고, 모델을 세우고, 공정변수들 사이의 상호작용의 예측과 목표 반응치를 예측하기 위하여 변수들의 최적 조건을 찾는 일련의 수학적이고 통계적인 방법으로 실험 수를 줄여 실험과 관련한 시간과 비용을 줄이는 것으로 알려져 있다(Arslan-Alaton 등, 2009; 김과 박, 2009).

반응표면분석법은 여러 개의 설계변수 $X_1, X_2, \dots, X_k$ 가 복합적인 작용을 함으로서 어떤 목적함수 η 에 영향을 주고 있을 때 이러한 설계 변수의 변화가 이루는 반응표면에 대한 통계적인 분석방법을 말한다. 여기서 독립변수는 어떤 반응에 영향을 미치는 여러 가지 인자(factor)를 말하며, 일반적으로 이 독립변수들은 실험자에 의해 임의로 조절될 수 있는 양적변수(quantitative variable)들이다(조 등, 2003). 반응표면 분석법에서는 반응표면에 대한 적절한 통계적 모형을 가정하고, 독립변수의 여러 조건에서 실험을 수행하여 자료를 얻은 후 회귀분석을 통하여 반응표면을 추정한다. 추정된 반응표면식을 이용하여 독립변수의 변화에 따른 반응변수의 변화 정도를 분석하는 민감도 분석을 행할 수 있고, 반응변수를 최대(소)화하는 독립변수의 수준조합을 찾아내어 제품 및 공정의 최적화를 꾀할 수 있다(이, 2008).

본 연구에서는 2차 반응표면 모형식을 추정할 수 있는 실험계획법 중 Box-Behnken법을 이용하여 전기-UV 복합 공정에서 *E. coli* 소독 공정에서의 최적화를 위해 적용하였다.

Box-Behnken법은 반응표면분석법 중의 하나로, 1차, 2차 항을 효율적으로 추정하고자할 때 사용한다. 모든 요인들이 동시에 낮은 수준 혹은 높은 수준이 아니라는 것을 확신할 때 모든 실험이 안정된 영역에서 이루어진다고 확신할 때 활용한다. Box-Behnken법은 요인수가 같을 경우 중심합성설계(CCD, central composite design)보다 실험 횟수가 적다. 꼭짓점에서의 실험이 비용이 너무 많이 들거나 현실적으로 불가

능한 경우 유리하게 사용할 수 있어 국내에서 환경분야에 적용할 경우 주로 Box-Behnken법을 이용하여 모형화하여 왔었다(조 등, 2006).

Box-Behnken 설계는 꼭짓점의 실험점이 포함되지 않는 실험계획으로 육면체의 모서리들의 중심과 전체 실험영역의 중심에서 실험을 하는 계획이다. Box-Behnken 설계의 실험점은 2개의 인자만 상자점인 22 ($\pm 1, \pm 1$)수준에서 실험을 하고 나머지 인자는 중앙값인 0으로 고정한다. 2개의 인자는 Box-Behnken 설계가 모든 인자들에 대해서 균형을 맞추기 위하여 실험에 고려된 k 개의 인자들 중에서 2개를 선택하는 모든 조합으로 결정되고, n_c 개의 중앙점이 추가되어, 총 실험의 크기는 $4 \times k(k-1)/2 + n_c$ 이다(김과 박, 2009b).

본 실험에서는 전기-UV 복합 공정의 전력(W), 전해질인 NaCl 투입량, 초기 pH 및 소독시간을 독립변수(설계 변수, process specific variables)로 선택하였고, 소독 잔류 *E. coli* CFU 수(Ln으로 표기)를 종속변수(response)로 설정하였다. 독립변수의 값과 변화 한계(variation limits)는 전기분해를 이용한 소독에 대해 행해진 기초 연구와 관련 문헌을 바탕으로 선정하였고, Table 1에 나타내었다(김과 박, 2010) 중앙점으로 5개의 같은 실험(n_c)을 포함하여 Box-Behnken 설계에서 4개의 독립변수를 선택할 경우 실험해야하는 수인 29개의 시험을 본 실험에서 행하였다.

Table 1. Experimental design of electro-UV disinfection of *E. coli*

Process variables	Real values of the levels		
	-1	0	1
X_1 (Power, W)	8	12	16
X_2 (NaCl dosage, g/L)	0.5	1.5	2.5
X_3 (pH)	3	7	11
X_4 (Time, min)	0.5	3	5.5

실험 자료는 Design-Expert 7.1 소프트웨어를 사용하여 분석하였고 2차 다항식으로 구하였다. 다음의 식은 종속변수와 독립변수 사이의 상관관계를 얻기 위해 적용한 식이다(조 등, 2003).

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ii} X_i^2 + \sum b_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

식 (1)에서 Y 는 예측된 종속변수(response), X_i 는 독립변수, b_0 는 상수 계수 (constant coefficient), b_i , b_{ii} 와 b_{ij} 는 교호작용 계수 (interaction coefficient)이다. 다항식 모델의 적합도의 질(quality of fit)은 상관관계 계수 (correlation coefficient (R^2))로 표현하였다. 모델 F-값(Fisher variation ratio), 확률 값(probability value, $\text{Prob} > F$)과 적절한 정확도(adequate precision)는 적용한 모델의 중요도와 적정성을 보여주는 주요 지표이다. 통계적 중요도는 소프트웨어의 F-테스트에 의해 검사하였다. 실험 자료로 다항회귀 모델의 적합도를 평가하고 AVOVA(analysis of variance)를 실시한 뒤 후보 모델의 오차의 독립성, 정규성, 및 등분산성을 검토하였다. 관심영역에서 반응표면의 모양을 확인하기 위하여 모델진단 절차를 통과한 모델에 대해 반응표면 그림과 등고선 그림을 그려 확인하였다 (김과 박, 2009; 임 등, 2008).

다음 단계인 공정 최적화는 반응표면분석 단계에서 추천된 후보 모델에 대해 반응변수의 예측치(반응표면)를 최적화시키는 최적 조건을 관심영역에서 찾았다. Design-Expert 소프트웨어의 수치 최적화(numerical optimization)를 통하여 각 특성에 대한 반응변수의 바람직함(desirability) d , $0 \leq d \leq 1$ 을 정의하여 d 를 최대로 하는 최적조건을 찾았다. 이후 점 예측(point prediction)을 통하여 최적조건에서의 재현성을 확인하였다(Design-Expert® Software, 2007).

3. 결과 및 고찰

3.1. 전기-UV 공정을 이용한 *E. coli* 소독에 대한 모델 결과 및 잔차분석

박스-벤켄법에 의해 나타난 대로 4 가지 공정변수

를 바꾸어 전기-UV 소독 반응에 대한 29개의 실험을 수행 한 후 Design-expert 소프트웨어를 이용하여 Mean, Linear, 2FI, Quadratic 및 Cubic 모델에 대해 적합한 모델을 찾은 결과 2차 다항식인 Quadratic 모델의 p 값이 < 0.0001 로 충분히 작아서 2차 모델이 적절한 것으로 나타났다(판정 기준 : 0.05). 관측점들의 변동을 표본회귀선이 얼마나 잘 설명해주는가를 상대적으로 나타내는 결정계수인 R^2 값도 0.9987로 높은 값을 나타내었다(Cho 등, 2008).

전체 모델의 적합성 외에 회귀분석(종속변수와 독립변수 관계) 및 분산분석(각 처리 자료의 변동성 관계)을 통해 전체 모델에 어떻게 영향을 주는 지를 파악하기 위하여 Quadratic 모델에 대하여 2차 모델의 항들 중에서 설명력이 떨어지는 순수 이차항, 교호작용, 주 효과의 항들을 후방소거법(backward elimination)에 의해 p 값이 0.25 이상인 값을 오차항으로 풀링하여 유의한 인자인 X_1 (power), X_2 (NaCl dosage), X_3 (pH), X_4 (time), X_1X_4 (power · time), X_2X_3 (NaCl dosage · pH), X_3X_4 (pH · time), X_1^2 (power²), X_2^2 (NaCl dosage²), X_3^2 (pH²) 및 X_4^2 (time²)에 대한 분산분석(ANOVA, analysis of variance)을 행하여 Table 2에 결과를 나타내었다. $\text{Prob} > F$ 값이 0.0500보다 적으면 모델이 유의미하다는 것을 나타내고, 0.1000보다 크면 보통 무의미한 것으로 간주되는데, Table 2에서 보듯이 $\text{Prob} > F$ 값이 < 0.0001 로서 모델이 높은 유의성을 나타내었다(Arslan-Alaton 등, 2009). R^2 값은 0.9987로 모델이 다항식 적합도(fit)를 잘 만족하는 것으로 나타났다. ‘적합성결여’(lack of fit)의 p 값이 0.05보다 적으면 예측한 모델이 문제가 있으며, 0.05보다 크면 가정된 모델이 적절한데(조 등, 2003), 구한 적합성결여의 p 값이 0.5300으로 나타나 ANOVA 절차에

Table 2. ANOVA results of the quadratic model for electro-UV disinfection of *E. coli*

	Source	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	F-value	Prob > F
	Model	451.86	11	41.08	1210.81	<0.0001
	Residual	558.69	19	29.40		
	Lack of fit	0.45	13	0.034	1.06	0.5300
RhB removal	Pure error	0.13	4	0.032		
	$R^2=0.9987$, Adjust $R^2=0.9979$, Adequate precision =114.134					

서 얻어진 모델이 적절함을 알 수 있었다(Kim과 Park, 2010).

코드화하여 통일된 변수와 변수들의 단위를 고려하지 않은 원래 변수를 적용하여 산출한 수정 반응 모형을 다음 식 (2), (3)에 나타내었다.

$$\begin{aligned} \text{Ln (CFU)} = & 4.694 - 1.63X_1 - 0.97X_2 - 4.54X_3 - \\ & 2.22X_4 - 0.91X_1X_4 - 0.30X_2X_3 + 1.47X_3X_4 + \\ & 0.49X_1^2 + 0.48X_2^2 + 3.36X_3^2 + 2.10X_4^2 \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{Ln (CFU)} = & 23.57 - 0.87 \cdot \text{power} - 1.87 \cdot \text{NaCl} \\ & \text{dosage} - 2.13 \cdot \text{pH} - 2.84 \cdot \text{time} - 0.09 \cdot \text{power} \cdot \\ & \text{time} - 0.07 \cdot \text{NaCl dosage} \cdot \text{pH} + 0.14 \cdot \text{pH} \cdot \text{time} \\ & + 0.03 \cdot \text{power}^2 + 0.47 \cdot \text{NaCl dosage}^2 + 0.20 \cdot \\ & \text{pH}^2 + 0.33 \cdot \text{time}^2 \end{aligned} \quad (3)$$

본 연구에서 유도된 식 (2)와 (3)은 메시형 Ir 전극 (63 x 110 mm) 사용, 전극 간격 2 mm, 반응부피 1 L 인 조건에서 4가지 변수의 주어진 범위 내에서 잔류 *E.coli* 수를 예측할 수 있다. 전극 종류나, 분해대상 균이 달라지면 변화된 조건에 새로이 모형화를 시도하

여야한다.

모형에서 종속변수의 실측치와 회귀식에 의한 예측치의 차이인 잔차(residual)분석을 통하여 전체적인 모델의 적합정도를 판단하기 위하여 Fig. 2에 나타내었다. 잔차분석은 실험에서 얻어진 결과들이 정규분포, 평균과 분산, 상호독립성 및 독립변수와 종속변수 사이의 관계가 선형조건을 만족한다는 가정아래 판단하게 된다(송과 장, 2009).

Fig. 2 (a)의 표준화 잔차의 정규확률 그림을 살펴보면 개략적으로 직선관계를 따르고 있어 잔차의 정규성을 가정할 수 있었다. Fig. 2 (b)에 주어진 표준화 잔차와 예측값의 산점도를 살펴보면 ± 2.5 이내의 수평밴드 내에서 랜덤하게 퍼져 있으므로 오차의 등분산성을 만족하면서 선택된 모형이 적절함을 알 수 있었다.

잔류 *E. coli* 수(Ln CFU)에 대한 실험치와 식 (3)에 의한 예측치를 Table 3과 Fig. 3에 각각 나타내었다. 운전범위에서 실측치는 2.12~15.21 Ln CFU로 나타났고, 예측치는 1.53~14.22 Ln CFU로 나타나 Fig. 3에서 보듯이 실측치와 예측치가 잘 일치하는 것으로 나타났다.

Fig. 2. Residual plot of model for error values: (a) Normal probability plot of the residuals, (b) Scatter plot of the residuals and predicted.

Table 3. Experimental design matrix and response based on experimental runs and predicted values on *E. coli* disinfection proposed by Box-Behnken design

Run	Independent variables				Response (Y)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Experimental	Predicted
	Current (A)	NaCl (g/L)	pH	Time (min)	Residual <i>E. coli</i> Ln(CFU)	Residual <i>E. coli</i> Ln(CFU)
1	12	2.5	11	3	11.87	10.38
2	16	2.5	7	3	3.12	2.32
3	12	2.5	3	3	3.37	3.06
4	12	1.5	11	5.5	14.00	12.21
5	12	0.5	7	0.5	10.74	9.89
6	8	2.5	7	3	6.27	5.68
7	12	1.5	7	3	4.77	4.01
8	16	1.5	11	3	11.63	9.95
9	8	1.5	7	0.5	10.37	9.73
10	12	1.5	7	3	4.51	4.00
11	8	1.5	3	3	5.58	5.42
12	16	1.5	7	5.5	2.31	1.57
13	16	0.5	7	3	4.96	4.23
14	12	0.5	7	5.5	6.18	5.09
15	8	1.5	7	5.5	7.61	6.73
16	12	1.5	7	3	4.77	4.01
17	8	1.5	11	3	14.7	13.01
18	16	1.5	3	3	2.42	2.06
19	12	1.5	7	3	4.91	4.01
20	12	1.5	11	0.5	15.21	14.22
21	12	1.5	3	0.5	9.17	9.13
22	12	0.5	11	3	14.22	12.85
23	12	1.5	7	3	4.51	4.01
24	12	0.5	3	3	4.53	4.41
25	12	1.5	3	5.5	2.12	1.53
26	12	2.5	7	5.5	3.91	3.19
27	12	2.5	7	3	8.52	7.99
28	8	0.5	7	3	8.12	7.59
29	16	1.5	7	0.5	8.71	8.17

Fig. 3. The actual and predicted plot for *E. coli* disinfection.

3.2. *E. coli* 소독에 대한 등고선도와 반응표면도

모든 변수들 내 모든 수준을 랜덤화, 반복성 및 블록화 원리에 따라 등간격 배열에 의한 MFAST (multi-factor at the same time) 방법으로 실험을 수행하였다. Fig. 4에 실험에 사용한 4개의 변수 중 세 가지 조건은 일정한 상태(코드화된 변수에서 중심값 : power, 12 W; NaCl dosage, 1.5 g/L; pH, 7; time, 3 min)에서 전력, NaCl 투입량, pH 및 시간 각각의 변화에 대한 주효과도를 나타내었다. 주효과도는 기울기가 클수록 주효과가 큰 것을 나타낸다(송과 장, 2009). 그래프를 보면 pH에 대한 주효과가 가장 크고 시간이

다음이고 전력과 NaCl 투입량은 효과가 가장 적은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 백금 전극사이에 입상 활성탄을 충전한 전극을 이용한 전기분해 반응에서 전류, NaCl 농도, pH 및 시간을 변수로 한 염료 분해실험에서 주효과도의 크기는 전류 > NaCl 투입량과 시간 > pH라고 보고한 김과 박(2009)의 결과와는 다르게 나타났다. 이는 변수는 유사하지만 분해대상물과 처리 공정이 다르기 때문에 이와 같이 다른 결과가 나온 것으로 판단되었다.

인자들의 교호작용에 의한 교호 효과를 분석하기 위하여 두 변수는 일정한 조건에서 다른 두 변수는 실험 범위 내에서 변화시켜 모델-예측반응(model-predicted responses)에 대한 2차원(2D) 등고선도(contour)와 3차원 (3D) 반응표면도를 Design-Expert 소프트웨어를 이용하여 구하여 *E. coli* 소독에 대한 공정변수와 output 사이의 상호관계를 평가하는데 이용하였다. 식 (2)와 (3)의 모델식에서 나타난 항 중 교호항인 power ·

time, NaCl dosage · pH, pH · time의 효과에 대해서 나타내었다.

2차원 등고선도와 3차원 반응표면도는 형태에 따라 ‘산’, ‘사발’, ‘말안장’ 및 ‘올라가는 능선’ 형태로 나누어진다(임 등, 2008). Fig. 5 (a), (c) 및 (e)의 등고선 그림과 (b), (d) 및 (f)의 반응표면도를 보면 (a)와 (b)의 경우 명확한 형태의 ‘올라가는 능선’형을 띄고 있었다(제거율을 나타내는 그래프와 본 실험에서의 잔류 *E. coli* CFU 수는 그림의 형태가 반대로 나타남). 반면, (c), (d), (e) 및 (f)를 보면 형태는 ‘올라가는 능선’형을 띄고 있지만 둥근 원 형태의 정상점(정상점이 존재시 최대값 존재, 본 실험에서는 잔류 *E. coli* 수 이므로 최소값 존재)이 보이는 ‘산’의 형태도 같이 나타났다. 반응표면의 모양이 정상점에서 최소값(최대값)을 가지는 ‘산’일 경우는 종래의 실험법인 ‘1회 1인자실험법(one-factor-at-a-time)’법으로도 최적 조건 근처에 도달될 수 있어만 ‘올라가는 능선’일 경우 최

Fig. 4. Main effect plot for *E. coli* disinfection : (a) Effect of power, (b) Effect of NaCl dosage, (c) Effect of pH, (d) Effect of time.

적 조건에 대한 정보를 제공하지 못하는 것으로 알려져 있다(임 등, 2008). 따라서 본 실험의 2차원 등고선도와 3차원 반응표면도에서 보듯이 전기-UV 공정을 이용한 *E. coli* 소독 공정의 경우 모두 ‘올라가는 능선’ 형태를 띠고 있기 때문에 Box-Behnken 법을 이용한

최적값을 구하는 것이 타당한 것으로 사료되었다.

NaCl 투입량과 pH가 일정한 조건(NaCl dosage, 1.5 g/L; pH, 7)에서 전력과 시간을 각각 8~16 W와 0.5~5.5분으로 변화시켰을 때 잔류 *E. coli* CFU 수 변화를 2D와 3D 그림으로 Fig. 5 (a)와 (b)에 나타내었

Fig. 5. Contour and response surface plots for *E. coli* disinfection: (a) Contour plot of X_1X_4 effect, (b) 3D plot of X_1X_4 effect, (c) Contour plot of X_2X_3 effect, (d) 3D plot of X_2X_3 effect, (e) Contour plot of X_3X_4 effect, (f) 3D plot of X_3X_4 effect.

고, 전력과 시간을 일정하게 유지한 조건(power, 12 W; time, 3 min)에서 NaCl dosage와 pH 변화에 따른 잔류 *E. coli* CFU 수 변화를 Fig. 5 (c)와 (d)에, 전력과 NaCl 투입량이 일정한 조건(power, 12 W; NaCl dosage, 1.5 g/L)에서 pH와 시간의 변화에 따른 잔류 *E. coli* CFU 수 변화를 Fig. 5 (e)와 (f)에 나타내었다. Fig. 5 (a)와 (b)에서 보듯이 전력과 시간의 증가에 따라 잔류 *E. coli* CFU 수가 감소하였다. Fig. 5 (C)와 (d)에서 보면 NaCl dosage가 높을수록, pH가 낮을수록 잔류 *E. coli* CFU 수가 감소하는 경향을 나타내었으며, Fig. 5 (e)와 (f)에서 보듯이 pH가 낮을수록 시간이 증가할수록 잔류 *E. coli* CFU 수가 감소하는 경향을 나타내었다.

3.3. *E. coli* 소독에 대한 공정 최적화

두 변수를 중간 값으로 고정한 조건에서 다른 두 변수 변화에 따른 잔류 *E. coli*의 예측 CFU수와 범위를 Fig. 5와 같은 등고선도와 반응표면도를 통해서 알 수 있으나 정확 값의 예측을 위해서 Design-Expert 프로그램에서 최적화 단계의 “numerical optimization”을 이용하였다. 전력, NaCl 투입량 및 시간을 계량인자의 범위인 ‘in range’로 선택하고 pH는 음용수 기준인 5.8~8.5의 범위로 선택하고 실질적인 반응변수인 잔류 *E. coli*은 “minimize”로 선택한 뒤 “desirability” d를 가장 크게 하는 최적 조건을 찾은 결과 단일 값을 얻을 수 있었다(예, power 15.40 W, NaCl 투입량 1.95 g/L, pH 5.94, time 4.67 min인 조건에서, desirability가 1인 경우 잔류 *E. coli* CFU 수가 Ln 1.06 (≈ 3 CFU)로 *E. coli* 제거율이 거의 100%에 도달되는 것으로 예측되었다.

일정 수준 이하의 잔류 *E. coli* CFU 수를 얻을 수 있는 범위를 구하기 위하여 “numerical optimization”을 이용하여 얻어진 값인 pH 5.94, time을 4.67분으로 고정한 조건에서 “graphical optimization”을 수행한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 6에 주어진 시간과 pH에서 전력과 NaCl 투입량을 변화시킬 때 판정기준으로 선택한 Ln 1.1 CFU의 영역이 B로 나타나있다. pH와 시간을 바꿀 경우 ‘Overlay plot’도 변하며 목표한 B의 영역도 달라지므로 공정변수를 조절하여 운전할 수 있다. “numerical optimization”에서 구한 최적

조건인 power 15.40 W, NaCl 투입량 1.95 g/L, pH 5.94, time 4.67분에서 추가 실험을 실시하여 실험값이 관측될 반응값의 신뢰구간을 구하기 위하여 재현성 확인 단계인 “point prediction”에서 95% PI인 0.62 (95% PI low)~1.50% (95% PI high)범위에 속하면 재현성이 확인된다고 판단된다. 최적 조건에서 실험을 3회 추가 실험한 결과 잔류 *E. coli* CFU 수는 각각 Ln 1.05, Ln 1.10 및 Ln 1.12로 나타나 모델의 재현성이 확인되었다.

Fig. 6. Overlay plot of plots for graphical optimization(pH, 5.8; time, 5.5): A, under criteria basis; B over criteria basis.

4. 결론

전기-UV 복합 공정을 이용한 수중의 미생물을 제거하기 위해 *E. coli*를 실험 균주로 선정하여 소독에 영향을 주는 요인인 전력, NaCl 첨가량, pH 및 소독시간에 대해 이들 조건의 특성을 파악하고 분석하여 최적의 반응치(결과)를 도출하고자 Box-Behnken과 반응표면분석법을 이용한 결과 다음 아래의 결과를 얻었다.

1. RhB 제거에 대한 통계학적 분석에 의해 도출된 모델 예측식은 2차 다항식으로 표현되었고 p값이 0.05이하로 1% 이하의 높은 유의성을 나타내었다 유의하였고 R^2 값도 99.87%로 잘 맞는 것으로 나타났다.

2. 반응 모델의 표준화 잔차의 정규확률 그림이 직선관계를 따르고 있어 정규성(normality)을 만족하였고, 표준화 잔차와 예측값의 산점도는 ± 2.5 이내의 수

평밴드 내에서 랜덤하게 퍼져있어 등분산성(equal variation)을 만족하여 모델에 문제가 없는 것으로 나타났다.

3. 최적화를 수행한 결과 전력, NaCl 투입량, 시간이 증가할수록 pH는 낮아질수록 *E. coli* 소독 효과는 높아지는 것으로 나타났으며, pH에 대한 주효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

4. 2차 비선형 효과를 나타내는 각 요인에 대한 유의성 검정결과 교호작용의 경우 $X_1X_4(\text{power} \cdot \text{time})$, $X_2X_3(\text{NaCl dosage} \cdot \text{pH})$, $X_3X_4(\text{NaCl} \cdot \text{time})$ 가 유의하였고, 순수 이차항에서는 모든 2차항이 유의하였다.

5. 수치 최적화를 수행한 결과 전력 15.40 W, NaCl 투입량 1.95 g/L, pH 5.94, 시간 4.67 min인 조건에서, desirability가 1인 경우 잔류 *E. coli* CFU 수가 Ln 1.06 (≈ 3 CFU)로 *E. coli* 제거율이 거의 100%에 도달되는 것으로 예측되었고, 3번의 추가실험에서 잔류 *E. coli* CFU 수기 95% 신뢰수준에서의 예측값 범위에 들어 모델의 재현성이 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단의 기초연구사업(일반연구 자지원사업)으로부터 지원받아 수행되었습니다(2009-0070619).

참 고 문 헌

- 김동석, 박영식, 2009a, 전기화학적 산화를 이용한 염료 처리에 중심합성설계와 반응표면분석법의 적용, 한국환경과학회지, 18(11), 1225-1234.
- 김동석, 박영식, 2010, 복합소독 공정을 이용한 *E. coli* 불활성화, 한국생물공학회지, 25(1), 33-40.
- 김동석, 박영식, 2009b, 전기응집/부상 공정에서 반응표면분석법을 이용한 TiO_2 수용액의 탁도 처리조건 최적화, 한국환경보건학회지, 35(6), 500-508.
- 김동석, 송승구, 박영식, 2010, *E. coli* 불활성화를 위한 단일 소독 공정의 비교, 한국생물공학회지, 25(1), 25-32.
- 김윤희, 이철희, 이순화, 2007, Ozone과 UV를 이용한 *Cryptosporidium*의 불활성화 효과, 대한환경공학회지, 29(1), 31-39.
- 송원용, 장순웅, 2009, UV공정을 이용한 NAMA처리 통

- 계적 최적화 연구, 한국물환경학회지, 25(1), 96-101.
- 신중호, 이용택, 2005, 하수방류수 살균소독을 위한 무전극 UV 램프의 제조 및 특성, 공업화학, 16(4), 570-575.
- 이석현, 2002, 수처리를 위한 자외선 소독기술의 현황과 전망, 2002년도 한국상하수도학회 · 한국물환경학회 공동 춘계 학술발표회 논문집, 한국물환경학회, 33-35.
- 이승훈, 2008, 미니탭을 이용한 공학통계 자료분석, 이레테크, 715-732.
- 임용빈, 박성현, 안병진, 김영일, 2008, 실용적인 실험계획법 -Design-Expert 7& Minitab 활용-, 자유아카데미, 330-360.
- 전훈제, 2000, 대한소화기내시경학회 소독지침 -내시경 기기 소독의 필요성 및 방법-, 23회 대한소화기내시경학회 세미나, 14-20.
- 조민, 김재은, 문성민, 정현미, 윤제용, 2004a, 복합 소독 공정에서의 시너지 효과에 대한 정량적 해석, 2004년도 한국 상하수도학회 · 한국물환경학회 공동 춘계 학술발표회 논문집, 한국물환경학회, 122-126.
- 조민, 김재은, 윤제용, 2004b, 미생물 불활성화 메커니즘을 통한 복합 소독 공정의 해석, 2004년도 한국 상하수도학회 · 한국물환경학회 공동 춘계 학술발표회 논문집, 한국물환경학회, 249-254.
- 조일형, 박재홍, 김영규, 이흥근, 2003, 반응표면분석법을 이용한 염색폐수의 광촉매 산화 처리조건의 최적화, 한국물환경학회지, 19(3), 257-270.
- 조일형, 이내현, 장순웅, 안상우, 윤영한, 조정덕, 2006, 실험계획법 중 Box-Behnken(박스-벤켄)법을 이용한 반응성 염료의 광촉매 산화조건 특성 해석 및 최적화, 대한환경공학회지, 28(9), 917-925.
- Aleboye, A., Daneshvar, N., Kasiri, M. B., 2008, Optimization of C.I. Acid Red 14 azo dye removes by electrocoagulation batch process with response surface methodology. Chem. Eng. and Proc., 47, 827-832.
- Arslan-Alaton, I., Tureli, G., Olmez-Hanci, T., 2009, Treatment of azo dye production wastewaters using photo-Fenton-like advanced oxidation processes: optimization by response surface methodology, J. of Photoch. and Photobio. A: Chemistry, 202, 142-153.
- Benatti, C. T., Tavares, C. R. G., Guedes, T. A., 2006, Optimization of Fenton's oxidation of chemical laboratory wastewater using the response surface methodology, J. Environ. Man., 80, 66-74.
- Betancourt, W. Q., Rose, J. B., 2004, Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium*

- and *Giaedia*, Verterinary Parasitology, 26, 219-234.
- Cho, I. H., Chang, S. W., Lee, S. J., 2008, Optimization and development of prediction model on the removal condition of livestock wastewater using a response surface method in the photo-Fenton oxidation process, J. Kor. Soc. Environ. Eng., 30(6), 642-652.
- Cho, M., Kim, R. H., Cho, S. H., Yoon, J. Y., 2003, Investigation of ozone reaction in river waters causing instantaneous ozone demand, Ozone Sci. & Eng., 25, 251-259.
- Design-Expert[®], 2007, Version 7.1 User's guide, Design-Expert.
- Kim, D. S., Park, Y. S., 2010, Application of the central composite design and response surface methodology to the treatment of dye using electrocoagulation/flotation process, J. Kor. Soc. Wat. Qual., 26(1), 35-43.
- Leung, J. W., 2000, Reprocessing of flexible endoscopes. J. Gastroenterol Hepatol. 156, 73S-77S.
- Park, Y. S., 2008, Decolorization of a Rhodamine B using Ru-graphite electrode, J. Environ. Sci., 17(5), 547-553.
- Song, W. Y., Chang, S. W., 2009, The study of optimization of NDMA treatment using UV-process, J. Kor. Soc. Wat. Qual., 25(1), 96-101.