

Bioaerosol의 측정

김 윤 신 | 한양대학교 의과대학 산업의학과 교수
 E-Mail : yoonshin@hanyang.ac.kr
 김 영 원 | (주)EnhTek Inc. 연구개발부 대리
 E-Mail : ywkjm@enhtek.com

1. 서론

Bioaerosol은 부유하는 공기내의 생물성(viable state)의 입자와 무생물성의 입자 및 몰드(mold) 등을 포함한다. 생물성 입자는 실험실 등에서 배양 가능한 것으로, 박테리아, 곰팡이, 이스트 등으로 크기는 대략 10 μ m 이하이다. 무생물성 입자는 배양은 되지 않지만 인체에 민감한 반응을 줄 수 있는 것으로, 꽃가루, 동물의 분뇨, 곡 분진 동물의 비듬 등이다. 특히 미생물에 의해서 오염문제가 대두되는 곳으로는, 병원 실험실, 연구실, 동물털 분리실, 제재소, 정수장, 폐수처리장, 음식가공, 제약회사 등이다. 특히 도시화 산업화에 따라서 사람들의 실내 거주 시간이 증대되면서 실내 환경의 중요성이 부각되게 되었다. 따라서 실내에서의 미생물을 포함한 공기오염 물질에 대한 사회적 관심이 증가하였다. 이러한 실내 공기 오염을 유발하는 주요 오염물질은 각종 가스상 물질, 먼지, 라돈 등의 물질이 있으며, 미생물학적 유해물질로는 감염성 세균, 진균(fungus), 바이러스 등이 있으며, 이는 빌딩증후군(Sick Building Syndrome)의 원인 물질로 알려져 있다. 빌딩증후군(빌딩 내에서 일하는 사람들이 눈의 침침함, 호흡시의 코막힘, 두통 등을 호소하는 현상)의 요인을 30% 이상이 미생물이라는 보고도 있어 건축재료로도 건축재로서의 기본 기능이외에 항

균 및 항곰팡이 등의 기능을 갖춘 자재의 개발이 요구되고 있다. 공기를 통한 전염병(airborne infectious disease)의 원인 균들 중에는 세균성, 바이러스성 및 진균류에 의하여 여러 가지 질환이 야기되고 있으며, 공기 중에 부유하고 있는 먼지나 수증기에는 많은 미생물과 세균이 부착하여 생존하고 있다. 이 세균수가 먼지의 농도에 정비례된다는 사실로 비추어볼 때 실내의 공기 청정도가 매우 중요함을 알 수 있다. 따라서 미생물 및 세균이 상존 가능한 실내에서 병원 감염 방지를 위한 실내 환경 조성이 필수적이라고 할 수 있다. 사람은 일생동안 수백만 입방피트(ft³)의 공기를 호흡하며 살아간다. 이러한 공기 중에는 상당부분이 미생물을 함유하고 있다. 대부분의 미생물은 공기 중에 오랜 시간 생존하지 못하여 적당한 서식처로 전파되는데, 사람으로의 전파는 짧은 거리에서 일어난다. 그러나 어떤 병원성세균(예, Staphylococcus 등)은 건조한 상태에서도 매우 잘 생존하여 오랜 기간동안 먼지 속에서 살 수 있을 것으로 알려져 있다. 또한 재치기는 동안에는 많은 수의 작은 침방울(비말)들이 분출되는데 각 비말의 크기는 10 μ m 가량이며 하나 내지 두 개의 세균을 가져서 재치기 하는 동안 100m/s의 이동속도를 가진다. 한번 재치기 할 때의 세균 숫자는 10,000 - 100,000까지 다양하다.

한편, 어떤 미생물은 실내 공기 중에 피부파편,

머리카락, 꽃가루, 곤충 등에 붙어서 기생하기도 한다. 먼지 중에 어떤 부류는 살아있는 생물학적 물질로 이루어져 있어서 바이러스나 세균을 포함하고 있으며, 이런 입자들은 알레르기에서부터 심한 경우 죽음까지 이르게 할 수 있다. 앞에서 언급한 바와 같이 이런 것들을 종합해서 bioaerosol이라 하는데, 이는 다양한 크기, 형태로부터 유입되어진 미생물성, 바이러스성, 관련 매개물로부터 생겨난 공기 부유성 입자들을 의미한다.

미생물이 존재 할 수 있는 장소는 인간이 활동하는 거의 모든 장소이며, 경우에 따라서는 인간에게 치명적인 악영향을 미치기도 한다. 따라서 이러한 미생물을 정확하게 측정하고 분석하는 기술은 매우 중요하다고 볼 수 있다. 전통적인 미생물의 측정 방법은 여러 가지 종류의 공기시료포집기(air sampler)를 이용해서 미생물을 포집하고 일정시간 배양 후 집락수 산정(colony count) 및 동정(identification)하는 과정을 거친다. 최근에는 미생물 테러와 관련하여 미생물을 실시간(real-time)으로 판독하는 기술이 선진국에서 연구중이며, 주로 광학적인 장치와 바이오센서, DNA chip 등을 이용한 응용 기술이 주류를 이루고 있다. 여기에서는 전통적인 방법에 의한 미생물의 측정 기술과 실시간 미생물 판독기술에 관하여 살펴보기로 한다.

표 1. 자연상태에서 존재하는 미생물의 종류에 대한 크기 및 농도 분포

(출처: Hinds, 1999).

Type of Bioaerosol	Size(μm)	Concentration (number/ cm^3)
Virus	0.02~0.3	-
Bacteria	0.3~10	0.5~1000
Fungal Spores	0.5~30	0~10,000
Pollen	10~100	0~1000

2. 본론

2.1 전통적인 방법에 의한 측정 (Time consuming method)

이 방법의 주요 측정 과정은 미생물의 포집, 배양(incubating), 집락수 산정, 동정(identification) 등으로 이루어진다. 측정 방법에는 낙하하는 미생물을 고형 배지상에 직접 채취하는 중력침강법과 공기시료포집기를 이용하여 일정량의 공기를 채취하는 부유세균 측정법이 있다.

중력침강법은 일정면적에서 한천배지 또는 금속면 등을 일정 시간동안 방치시켜, 그 위에 낙하하는 미생물 입자를 포집 및 배양해서 형성된 세균집락을 분석하는 방법이다. 이 방법은 비교적 취급이 간편하고 경비가 적은 잇점을 가지고 있어서 많이 사용되고 있다. 그러나 낙하세균법은 측정오차가 크고 공기중의 미생물의 평균 농도를 구하기가 어렵다는 것과 중력 침강을 이용하기 때문에 입자의 크기에 제한을 받으며, 환경조건이 다른 측정치와의 상호비교가 어렵다는 등의 단점이 있다. 그러나 동일 측정장소에서의 시간경과에 따른 미생물오염 상태를 조사하는 측정방법으로써 사용이 가능하다. 일본 약학회의 위생시험법에 의하면 이 방법은 petri dish에 표준 한천배지를 넣고 뚜껑을 열어 5분간 노출시켜서 37℃에서 48시간 배양 후 세균집락을 분석하도록 되어 있다.

부유세균 측정법은 현재까지 많이 사용되고 있는 측정 방법이며, 측정 결과로부터 공기중 세균농도를 알 수 있으며, 환경조건이 다른 측정치의 상호비교가 가능한 장점이 있다. 부유세균 측정법은 공기시료포집기를 이용해서 일정시간 동안 미생물을 포집하게 된다. 이렇게 함으로써 미생물의 존재 유무와 특정 미생물의 농도 또는 전체 미생물의 농도에 대한 정보를 알 수 있다. 부유세균 측정법에서는 다

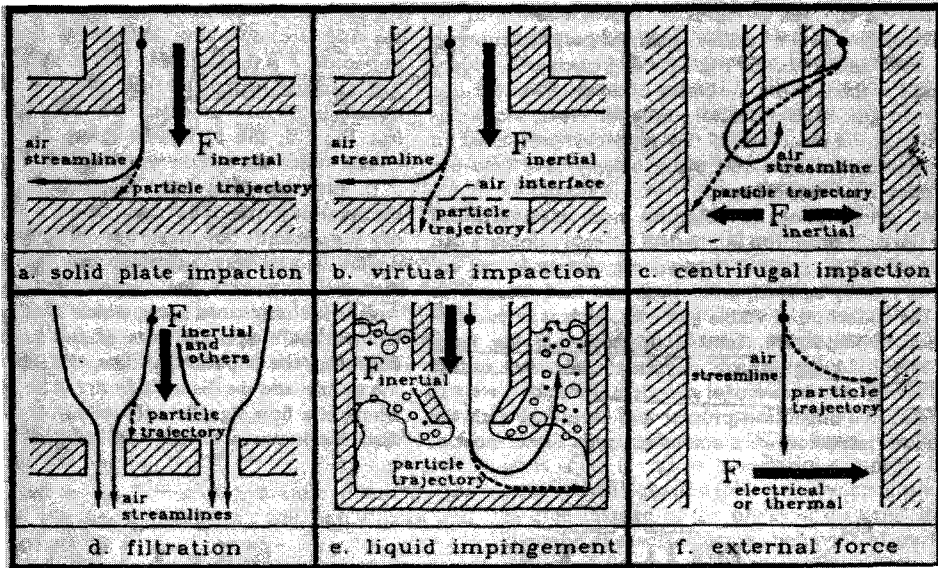


그림 1. 입자 포집의 여러 가지 방법들

음 3가지를 고려해야 한다. 첫째, 도입부(inlet)로부터의 입자 포집 효율(sampler's inlet sampling efficiency)이다. 특히 공기가 일정하게 흐르는 경우일 때, 공간내의 입자의 농도분포를 정확하게 측정하기 위해서는 isokinetic sampling을 해야한다. 둘째, 포집기 내에서의 입자 포집효율(sampler's collection efficiency)이다. 포집기의 포집 효율은 입자가 흐르는 공기의 유선으로부터 분리되어 포집단에 얼마나 잘 부착되는가에 따라 좌우된다. 이는 미생물의 특성에 관계없이, 포집기 고유의 성능이다. 셋째, 포집된 미생물은 적당한 조건에서 배양된 후 분석작업을 해야 하는데 미생물의 생존성(viability)과 생물학적 운동성(biological activity)을 고려하여 포집해야 한다.

2.2.1 포집 원리

대부분의 포집기는 유선으로부터 입자를 분리하여 판이나 다른 매체에 부착시키는 원리를 사용하

고 있다. 관성(impaction), 여과(filtration) 등의 방법이 사용되고 있다.

Impaction : 관성임팩터(inertial impactor)는 에어로졸의 형태로 존재하는 입자를 공기역학적 직경(aerodynamic diameter)에 근거하여 크기별로 분리해내는 장치이다. 입자가 부유해 있는 공기가 그림 1(a)과 같은 노즐을 통하여 가속되어 충돌판에 충돌하게 되면, 입자가 갖는 관성에 따라 관성이 작은 입자는 급격한 유동의 변화에도 잘 적응하여 충돌판에 충돌하지 않지만, 큰 관성을 가진 입자는 유선에서 이탈하여 충돌판에 부딪혀서 포집된다. 이처럼 관성임팩터는 간단한 장치를 통하여 입자를 분리하기 때문에 공기청정이나 입자포집의 용도로 널리 사용되고 있다. 임팩터의 포집 효율은 주어진 입자의 크기에 대하여 노즐을 통해 유입되는 입자의 개수에 대한 충돌판에 의해 제거되는 입자 개수의 비로 주어진다. 포집효율을 입자의 직경에 관한 함수로 표현하는 것은 임팩터의 특성을 나타내는데

필수적이다. 특정한 입자의 직경을 기준으로 그보다 큰 입자와 작은 입자로 분리하는 것이 이상적이지만, 임팩터 효율곡선의 전형적인 모습은 S자의 형태를 나타낸다. 대개의 경우에 있어서 50%의 포집효율을 나타내는 입자의 직경은 이론상의 값과 실험으로 구해지는 값이 잘 일치하는 결과를 보인다. 이 때, 50%의 포집효율을 나타내는 입경(d_{p50})을 절단직경(cut-off diameter)이라고 하며, 임팩터를 설계할 때에 목표로 하는 값이 된다. 임팩터의 효율을 나타내는 또 다른 방법은 포집효율을 식 (1)과 같이 Stokes number의 함수로 나타내는 것이다. Marple 과 Willeke(1979)는 노즐의 형상, 노즐과 충돌판 사이의 거리 및 Reynolds수의 변화에 따른 임팩터 효율곡선을 구하였는데, 이를 분석해 보면, 원형단면 노즐의 경우에는 $\sqrt{\text{Stk}_{50}}$ 의 값이 0.47이고 사각단면이 노즐에서는 0.73이 임팩터 설계에 최적의 값임을 알 수 있다.

$$\text{Stk} = \frac{\rho_p d_p^2 u C_c}{9\mu W} \dots\dots\dots(1)$$

여기서 ρ_p 와 d_p 는 각각 입자의 밀도와 직경을 의미하고, μ 는 공기의 점성계수이다. C_c 는 Cunningham 미끄럼 보정계수이며 기체가 입자의 표면에서 미끄러지는 현상에 대해 Stokes의 항력법칙을 사용하기 위해 도입된 개념이다. 미생물 포집용으로는 1단임팩터(singlestage) 외에 다단임팩터(cascade impactor)가 많이 사용되고 있다. 각각의 단에는 수십에서 수 백 개의 노즐이 설치되어 있으며, 각 단은 입경의 크기에 따라서 입자를 포집하게 된다. 1단에서는 큰 입자가 포집되고 단수가 증가할수록 작은 입경의 입자가 포집 되도록 설계되어 있다. 포집판은 그리스(grease)로 코팅되어 있는 금속판이나 필터 여재, agar media 등이 사용되며, 주로 필터 여재는 가장 마지막 단에 놓이게 함으로

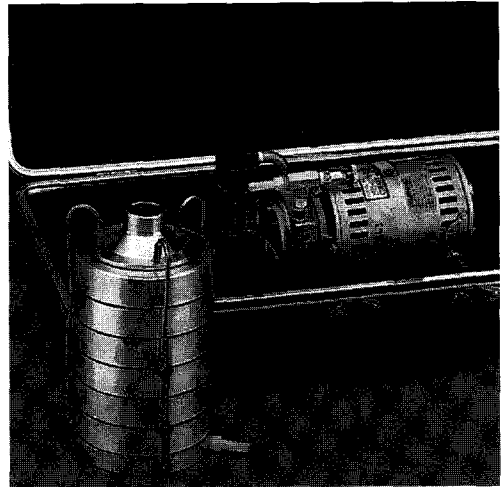


그림 2. Anderson six-stage cascade air sampler.

써, 상단에서 포집되지 않은 작은 입경의 입자를 포집하는데 사용된다. 포집된 입자를 분석하기 위해서 포집판의 무게를 측정하기도 하고, 염색 등의 과정을 거쳐서 색깔 변화를 관찰하기도 한다.

Filtration : 필터 여재에 의한 포집 방법은 미생물뿐만 아니라 일반 대기입자의 포집에 일반적으로 많이 이용되고 있는 방법이다. 주로 섬유필터나 membrane 필터를 많이 이용하며, 입자는 주로 관성이나 차단(interception) 등에 의해서 포집된다(Hinds, 1999). Membrane 필터는 주로 디스크 type의 직경이 37mm 또는 47mm가 많이 사용된다(NIOSH Manual of Analytical Method, 1998). 필터 여재의 크기는 유속에 의한 필터 여재 전 후단의 압력강하와 시료 입자의 표면 농도(surface density)를 고려해서 선정하면 된다. 미생물의 농도가 낮은 공간에서 효과적으로 포집하기 위해서, 만일 압력강하가 문제되지 않는다면 37mm를 이용하는 것이 편리할 것이다. 필터의 여재의 재질은 측정 방법에 따라서 선택할 수 있다. 주로 중량법을 이용

할 경우에는 비흡수성(nonhygroscopic) 재료를 이용하여, 현미경으로 분석할 경우에는 polycarbonate membrane 등을 이용한다. 필터를 이용한 방법은 대개 진균류와 탈수작용에 저항성이 있는 박테리아를 포집할 경우에 사용한다. 포집된 입자를 분석하기 위해서 직접 현미경으로 관찰하기도 하고 petri dish로 옮긴 후 배양시켜 분석하는 경우도 있다. 필터 여재를 이용한 방법은 포집 과정 중 심한 탈수현상 때문에 미생물의 생존율이 낮아진다는 단점이 있다. 따라서 이 방법은 오염정도가 높은 지역에서의 적절한 방법이다.

Impingement : 임핀저(impinger)는 배양을 목적으로 하는 포집에 많이 이용되고 있다. 임핀저 내의 액체는 주로 물이나 염분이 함유된 완충액(buffered saline solution) 등을 사용하며, 여기에 미생물의 영양분이 되는 단백질 등도 첨가하기도 한다. 현재 가장 많이 쓰이고 있는 모델은 AGI-30, AGI-4가 많이 쓰이고 있다. 여기서 뒤에 붙은 숫자는 glass nozzle과 base사이의 떨어진 거리의 의미이다. 임핀저로 포집하면 포집 과정 중에 탈수현상을 방지할 수 있다는 장점을 가지고 있지만, 강한 jet와 난류에 의한 전단력(shear force)으로 인해

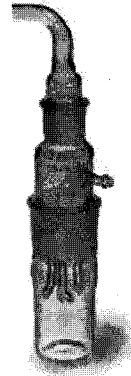


그림 4. 미국 SKC사의 glass impinger.

미생물의 생존력이 저하된다는 단점을 가지고 있다 (Hinds, 1999). AGI-30의 절단직경, d_{50} 은 $0.3\mu\text{m}$ 이고, AGI-4는 이 보다 더 작지만 포집 중 미생물의 생존력이 AGI-30과 비교해서 많이 떨어진다. 분석을 위해서는 일정시간 포집 후 미생물을 포함한 용액은 공극(pore size)이 약 $0.45\mu\text{m}$ 인 membrane 필터에 걸러지게 되고 petri dish로 옮겨진 후 배양된다.

그 외 원심력을 이용한 포집기(Bio test RCS 등)가 있는데, 여러 개의 날개가 회전하면 축방향으로 입자를 포집하게 되고, 입자는 날개를 감싸고 있는 body위의 agar strip에 부착되게 된다. 특징은 여러 가지 culture media를 내장할 수 있고, 단시간에 많은 공기를 흡입할 수 있다는 것이다. 그러나 유량 보정(calibration)이 불가능하며 오염도가 낮은 곳에서 일반적으로 사용된다. 그 밖에 대기중 입자를 포집하는데 주로 전기집진기(electrical precipitator), 싸이클론 등이 사용되지만 미생물의 연구에는 많이 사용되지 않는다(Aino et al., 1992).

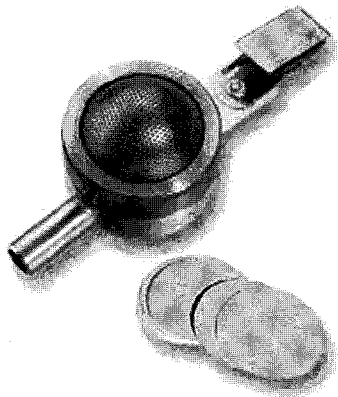


그림 3. 미국 SKC사의 Button Sampler

2.2.2 공기시료포집기의 선택 및 측정 방법

일단 포집의 목적이 결정되면 적당한 포집기를 선택해야 한다. 특히 미생물 포집기를 선택할 경우

에는 가능하면 물리적(예, collection efficiency), 생물학적(예, viability)으로 효율이 높은 것으로 선택한다. 일반적으로 많이 쓰이고 있는 공기시료포집기는 표 2와 같다. 주로 생물성 입자의 형태(포자, 증식세포, 세균, 진균여부), 포집 과정에 대한 민감도, 예상 농도, 예상 미생물에 대한 배지의 적합성,

포집시간, 포집환경 등이 중요하게 고려되므로, 적당한 포집기를 선정해야 한다. 특히 주의해야 할 것은 미생물 입자의 표면 농도(surface density)이다. 왜냐하면 표면 농도가 너무 높게 되면(overloading) 미생물 집락이 서로 겹치게 되어 실제보다 적은 수가 산정 되어, 분석하는데 오차를 유발한다.

표 2. 사용되고 있는 공기시료포집기의 종류 및 주요 특성 (NIOSH Manual of Analytical Method, 1998).

측 정 기		공기역학적 절단입경의 실제값 (μm)	공기역학적 절단입경의 이론값(μm)	hole의 number	공기유량 (L/min)	Dj or Wj ¹⁾ (mm)	Aj ²⁾ (m ²)	Uj ³⁾ (m/s)
Andersen 6-Stage (Andersen 1958, 1984)	stage 1	7.0	6.24	400	28.3	1.18	1.10	1.08
	stage 2	4.7	4.21	400	28.3	0.914	0.656	1.80
	stage 3	3.3	2.86	400	28.3	0.711	0.397	2.97
	stage 4	2.1	1.84	400	28.3	0.533	0.223	5.28
	stage 5	1.1	0.94	400	28.3	0.343	0.092	12.8
	stage 6	0.65	0.58	400	28.3	0.254	0.051	23.3
Andersen 2-Stage (Phillips 1990)	stage 0	8.0	6.28	200	28.3	1.50	1.77	1.33
	stage 1	0.95	0.83	200	28.3	0.400	0.126	18.8
Andersen 1-Stage(Andersen 1958; Phillips 1990)	stage 6	0.65	0.58	400	28.3	0.254	0.051	23.3
Mattson-Garvin Slit-to-Agar			0.53	1	28.3	0.152	6.23	75.7
Ace Glass All-Glass Impinger-30			0.30	1	12.5	1.00	0.785	265.0
PBI Surface Air Sampler (Lach 1985)	Compact	2.0	1.97	219	90	1.00	0.785	8.72
	standard	2.0	1.52	260	180	1.00	0.785	14.7
BIOTEST Reuter-Centrifugal Sampler	standard	3.8	7.5		280			
	RCS-Plus							
Bulkard Spore Trap	standard Nozzle		3.70	1	10	2.00	28.0	5.95
	High Efficiency Nozzle		2.17	1	10	2.00	18.0	16.7
Bulkard (personal) Sampler	seive		4.18	100	20	1.00	0.785	1.94
Bulkard May-type Muti-stage Impinger	stage 1	10		1	20			
	stage 2	4		1	20			
	stage 3			1	20			
Allergenco MK-2				1				

특히 미생물을, 현미경을 이용해서 산정할 경우, 일반대기 입자와 미생물간에 오버랩(overlap)이 발생하여 대상 미생물을 동정하는데 어려움을 겪을 수 있다. 일반적으로 대기중에는 미생물 보다 비 미생물의 일반대기 입자가 더 많이 분포한다. 따라서 집락수 산정에서 포집 표면 농도가 너무 높으면 다음과 같이 과소 평가된 결과를 얻을 수 있다. 즉, 같은 종류의 미생물 입자 2개가 너무 가까이 있으면 이는 배양된 후 1개의 집락으로 산정되며, 2가지 서로 다른 미생물 입자가 충분히 가까이 있으면, 하나는 다른 하나의 성장에 방해가 가져오게 되고, 화학적인 작용 때문에 일반 대기입자는 인접한 미생물의 성장을 방해하게 된다. 따라서 포집기의 종류가 정해지면 포집 시간을 알맞게 해야 이러한 오차를 줄일 수 있으며, 적당한 포집 시간을 아래 식 (2)에 의해서 구할 수 있다.

$$t = \frac{sA}{C_N Q} \dots\dots\dots (2)$$

여기에서 s 는 표면 농도, A 는 입자가 포집되는 단면적, C_N 은 부유 미생물의 평균 농도, Q 는 포집기로 흡입되는 유량을 나타낸다. 현미경을 이용해서 산정하는 경우에 표면 농도가 $10^8/m^2$ 이 가장 적당하고, 집락수를 산정할 경우에는 $10^4/m^2$ 가 가장 적당하다. 산출(enumeration)은 관찰된 전체 집락수를 포집 시간동안 유입된 유량으로 나누어 구하며, CFU(Colony Forming Units per Cubic Meter)로 표시한다. 앞서 언급한 바와 같이, 만약 미생물간에 오버랩이 발생했을 경우에는 Anderson(1958) 등이 사용한 방법의 보정식을 사용하여 산출 할 수 있다. 세균의 종류에 따라서 배지의 선택도 다양하며, 표 3에 배양 적당한 배지의 선택과 배양조건에 관하여 정리하였다. 한편 세균을 동정하기 위해서 배양된 세균은 육안으로 집락을 식별

표 3. 알맞은 배지의 선택과 배양 조건

구 분	배지의 종류	사용용도	
배지 (medium)	Tryptic Soy Agar(Agar Strip GK-A)	공기중 호기성과 통성 혐기성(anaerobic) 세균 배양에 사용됨	
	Mannitol-salts Agar(Agar Strip S)	포도상구균의 계수에 사용됨.	
	MacConkey Agar (Agar Strip C)	장내세균의 계수에 사용됨.(G-bacilli 전용) MacConkey Agar는 공기 중의 장내세균과 다른 엔터박테리아시스의 탐지와 구분을 위한 선택 배지로써 사용됨.	
	Rosa-bengal Agar (Agar Strip HS)	효모균과 곰팡이균의 계수에 사용됨.	
배양 시간 및 온도 (duration)	미 생 물	배양시간	배양온도
	곰팡이균	24-72시간	25℃ 또는 자연적인 불빛을 가진 실험실 온도
	일반세균	48시간	25-30℃
	인간이 발생원인 세균	48시간	35-37℃
	호열성 방선균	24-72시간	50-56℃

(출처: NIOSH Manual of Analytical Method, 1998).

하여 순수계대 배양하여 증균 후 집락의 일정한 양을 취해서 gram stain을 하여 현미경으로 관찰한다. 그 다음 Gram(+)cocci, Gram(-)bacilli, Gram(+) bacilli 등으로 구분한다. 그리고 Gram(+)cocci 중에서, 포도상구균(staphylo coccus 균속)으로 의심되는 균종은 Catalase test를 통해 연쇄상구균(streptoco coccus)과 구분한다.

2.2 실시간 미생물 측정기술(Real time detection)

앞서 언급한 방법은 전통적으로 많이 사용하는 방법으로써 미생물의 존재 유무 및 특성을 밝히는 데 비교적 정확한 방법이라 할 수 있으나, 포집한

미생물을 배양 등을 해야하므로 시간이 소요된다는 단점을 가지고 있다. 최근 들어 세계적으로 미생물 테러, 생물학전 무기의 확산의 우려가 높아져 이러한 대량 살상을 방지하기 위해서 각 국에서는 실시간 미생물 탐지 기술의 개발에 대한 관심이 높아졌다. 미래전쟁의 무기는 지하 병커에서 녹슬고 있는 핵미사일이 아니라 원시성 박테리아 같은 생물무기가 주도할 것이라는 예상이 나오고 있다. 그러나 미생물 실시간 탐지 기술이 실질적인 운용장비로 연결되지 않은 이유는 작용제의 생명 현상이 복잡하고 자연 환경에 수 만 종의 미생물이 서식하고 있으며, 또한 이들의 분포 농도가 수시로 변하기 때문이다.

최근 실시간적으로 미생물을 계측하는 기술이 활발히 연구 중이다. 이 기술은 물리학, 화학, 기계공학, 생명과학, 센서공학 등 매우 다양한 전문과학과 공학 기술이 접목되어야 한다. 따라서 현재 여러 가지 개발 중인 실시간 미생물 계측 기술을 몇 가지 소개하고 특성을 알아보도록 한다.

1) 형광·발광을 이용한 기술 : 이 기술을 이용하여 현재 상용화된 장비 중에는 미국 TSI 사의 UV-APS가 있다. 먼저 APS에 관해 설명을 하자면, APS는 부유 입자를 빠른 속도로 가속시킬 때 큰 입자는 상대적으로 작은 입자에 비해서 큰 관성 때문에, 가속되는 기체의 속도를 따라가지 못하게 된다. 즉, 입자의 질량이 크면 가속이 늦어 기체와 같은 속도가 되는데 시간이 많이 걸리고 입자의 질량이 작으면 짧은 시간 내에 기체의 속도를 따라가게 된다. 이러한 특성을 이용하여, 부유 입자를 노즐 끝에서 가속시키고, 이 노즐 끝 출구 부분에 일정한 간격을 유지한 레이저빔이 지나가면서 빛을 산란시킨다. 이 산란된 빛은 집광장치에 의해 광센서에 모아지게 된다. 따라서 산란된 빛을 이용해서

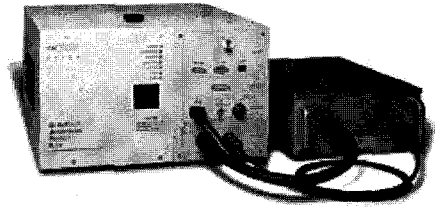


그림 5. 미국 TSI사의 UV-APS

입자가 레이저빔 사이에서 체류한 시간을 알 수 있고, 이 시간을 이용해서 입자의 공기역학적 입경(aerodynamic size)에 대한 정보를 얻을 수 있다. 자외선(ultraviolet)은 파장이 약 10nm-397nm에 해당하는 광선이며 화학작용이 강하며 미생물의 식별에 이용된다. UV-APS는 앞에서 설명한 APS에 자외선 레이저를 설치하고 입자에 자외선을 조사하여, 입자의 특성에 따라서 형광 특성이 다르게 나타난다는 원리를 이용한 장비이다. 이 기술을 이용하면 실시간으로 대기 입자(viable, nonviable)의 크기와 농도에 관한 분포를 알 수 있다. 미생물이 입자는 일반 대기입자(dust 등)와 달리 자외선 조사 시 세포 조직 속에 형광작용을 일으키는 분자가 있다. 특히 살아있는 미생물 몸 속에 있는 NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)에 자외선 영역의 파장, 325nm를 조사하게 되면 대기입자와 구별되는 형광신호가 얻어진다. 고초균(*Bacillus subtilis*) var. *niger*(BG, ATCC9372)를 이용하여 실험한 결과 판독 효율이 약 17%이다. 생물에 의한 발광(luminescence)은 산화반응에 의해 일어나는 것으로 화학적인 반응으로 만들어진 것이다. ATP(adenosine triphosphate)는 마그네슘과 산소의 화학적 작용을 빌어서, 루시페린(luciferin, 발광소)과 루시페라제(luciferase, 발광효소)의 화학적인 반응으로 생성되며, 빛을 내는데 필요한 에너지를 공급한다. 따라서 연구의 핵심은 세포 내에

ATP를 감지해내는 기술이다. 이 기술을 응용한 예는, 일본 Breweries사의 RMDS(Rapid Microbe Detection System)이다. RMDS는 미생물을 membrane 필터에 직접 포집하여 ATP의 존재 유무를 검사함으로써 미생물의 농도 분포를 알 수 있게 한다. 또한 RMDS와 형광현미경을 이용하여 RMDS에서 얻어진 영상의 좌표를 형광현미경에서 얻어진 영상의 좌표로 변환함으로써 미생물의 종류에 대한 정보를 알 수 있게 한다.

한편, Flow cytometer는 형광의 정도를 이용하여 세균의 종류와 농도에 대한 정보를 얻을 수 있는 계측기로써, 지난 10년 동안 미생물 연구에서 많이 이용되었다. 측정 원리는 깨끗한 공기가 입자를 포함한 유체의 주위를 감싸고 있고, 특정 파장에 노출된 감지 영역(sensing volume)으로 들어가게 되고, 입자에 의한 산란된 양이 forward cone과 90° cone에 기록되게 된다. 입자에 대한 형광 특성은 광검출기에 의해서 기록된다(Peter P. Hairston et al, 1993).

2) Biosensor : 바이오센서(biosensor)는 복잡한 시료전처리 없이도 항원, 세포 등과 같이 시료 중에 존재하는 특정성분을 선택적으로 신속히 측정

할 수 있는 장치로써 밀집된 구조와 편의성을 제공한다. 바이오센서는 생물체 내에 존재하는 물질 중 특정한 화학물질을 인식하여 검지하는 receptor와 검지된 물질의 농도에 비례하여, 측정 가능한 신호를 발생하게 하는 transducer로 구성되어 있다. 포착 기능 물질로써 특정화학물질을 선택적으로 식별할 수 있는 기질선택성과 반응특이성의 기능을 가진 효소와, 이들 효소를 포함하고 있는 미생물, 세포나 소기관, 동물이나 식물의 세포나 조직, 항원 등을 고분자 carrier로 고정화하던가 또는 그대로 사용하여 기능성 막을 만들고 이 기능성 막에서 특정 물질을 선택적으로 포착한다. 이와 같이 포착된 물질이 전기활성물질인 경우에는 전극 또는 반도체 소자로, 막에서 일어난 반응이 발광반응과 연결시킬 수 있는 경우에는 photon counter로, 반응열의 변화인 경우에는 thermistor 등을 통하여 전기적 신호로 변환시킬 수 있다. 사용된 변환기에 따라서 바이오센서를 분류하면 전기화학적 바이오센서, 광전자학적 바이오센서, piezoelectric 바이오센서, biothermister 등으로 나눌 수 있다. 전기화학적 바이오센서는 생물요소와 분석대상 물질간의 반응결과로써, 이온 및 전자 등이 발생하면 이를 전류, 전압, conductance, impedance 등의 전기화학적 신

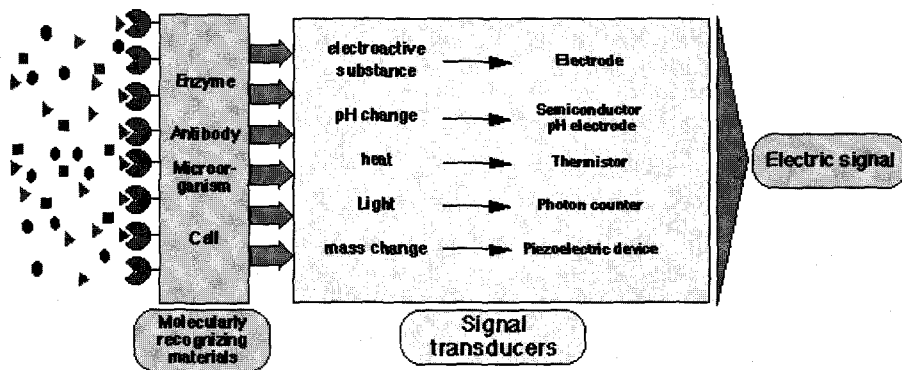


그림 6. 바이오센서의 측정 원리

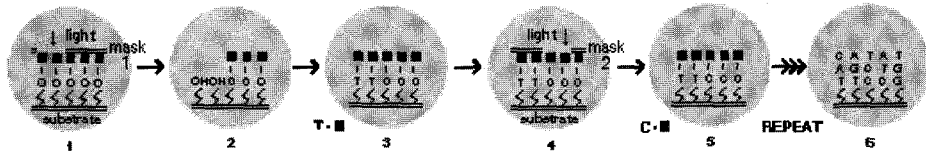


그림 7. 광학식각법(photolithography)을 각색한 광유도법에 의한 바이오 칩의 제작과정

호로 변환시키며, 간편한 측정원리와 장치에 의하여 가장 먼저 개발되었으며, 상용화 전망도 매우 밝은 바이오센서이다. 바이오센서는 측정 물질과 직접 반응하는 생물 물질을 이용하므로 반응 특이성이 높고 측정 속도가 빠르며 재현성이 높은 장점이 있다.

3) 분자형별분석(Molecular Analysis) : 일반적으로 미생물들은 RNA나 DNA를 가지고 있다. 이 RNA, DNA는 이러한 미생물의 생체 설계도이므로 이들을 분석하면 정확하게 생물의 종류를 측정할 수 있고 나아가서는 새로운 생체의 발견에도 이용될 수 있을 것으로 예상된다. 최근 들어 한 개의 바이러스나 미생물을 검출해 낼 수 있는 PCR (Polymerase Chain Reaction)이 개발되어 있으며, 또한 동시에 수 만개의 DNA를 검출 할 수 있는 DNA chip 기술이 개발되었다. PCR은 DNA의 기지연역을 수 시간 동안 수십만 배 내지 수억 배로 증폭하는 방법이다. 그 반응은 double strand DNA의 single strand에로의 분리, 합성 primer의 single strand에로의 annealing, DNA polymerase에 의한 primer의 신장반응의 3 개의 과정으로 이루어지며, 이 cycle을 반복해서 DNA를 증폭한다. 이 기술은 지난 수년간 생명과학 및 의학 분야에서 급속한 발전을 이루었으며 대상 바이러스나 세균의 오염 여부와 종류를 수 시간 내에 분석할 수 있다. 고도의 민감성과 신속성, 미생물을 정량분석할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 그러나 반응조건은 복

잡하여 조건 설정이 어렵다는 단점이 있다. DNA chip은 수 만개의 DNA의 특이적인 혼성화 반응을 실시할 수 있는 방법으로서 컴퓨터 칩과는 다른 개념의 chip 이다. 이러한 DNA chip은 여러 복잡한 실험 장치를 초 소형화된 장치로 대체시키면서 더 적은 비용으로 대량의 유전자 분석 실험을 가능케 한다. DNA chip은 미생물 뿐만 아니라, 특히 인체 유전자 기능분석 연구, 유전자 치료, 임상 병리학 등의 응용에 시도되고 있으며, 미생물의 특정균의 분류동정에 폭넓게 응용되고 있다. DNA chip은 1 시간 이내에 수 천 종의 미생물을 동시에 검출해 낸다는 것이 큰 장점이다. DNA 칩의 제작에 있어서 대표적으로 사용되고 있는 방법은 Affymetrix와 Affymax사의 연구진에 의해 개발된 반도체 칩 제조 기술인 광학식각법(photolithography)을 각색한 광유도합성(light-directed synthesis)법이며, 이를 그림 7에 표시하였다.

3. 결론

미생물에 대한 실내의 공간의 오염정도를 측정하는데는 전통적인 방법에 많이 의존하고 있다. 시간이 걸린다는 문제를 제외하면 비교적 미생물의 오염 여부를 정확하게 분석할 수 있기 때문이다. 그러나 시료포집기 마다 특성이 있고 운전자의 조작 방법 등에 의해서 같은 장소에서 측정을 하더라도 서로 다른 결과가 나올 수 있다. 단지 물리적, 생물학적인 효율 측면에서 비교는 가능하지만, 특정 포집

기가 대상영역의 미생물의 농도, 종류 등을 정확하게 분석했다고는 말하기 어렵다. 한편, 최근 들어 각 분야의 공학기술의 발달로 인하여 실시간(real-time) 미생물 탐지 장치의 개발에 각국이 박차를 가하고있다. 여기에는 형광 및 발광 분석법, 바이오센서 기술, 분자형별분석(Molecular analysis)을 응용하여 DNA 특성을 이용하는 방법 등이 있으며 실내외 환경의 모니터링 등에 사용될 수 있으며, 미생물 측정시 목적, 시간과 적용 환경, 경제성 등을 고려하여 가장 적합한 방법을 선택하는 것이 중요하다.

- 참고문헌 -

1. 김운신, 1983. 실내공기오염에 관한 보건학적 고찰, 대한보건협회지, Vol. 9, pp. 27-39.
2. 김운신, 2000. 생활환경중의 Bioaerosol의 현상과 대책.
3. 김의락, 2002, 환경오염과 식품공업 측정용 미생물 바이오센서, 한국생물공학회지, Vol. 17, pp. 213-227.
4. Anderson, A. A. 1958, New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles, J. Bacteriol, Vol. 76, pp. 471-484.
5. Aino Nevalainen, Jozeff Pastuszka, Frand Liebhaber and Kalus Willeke. 1992, Performance of Bioaerosol Samplers : Collection Characteristics and Sampler Design Considerations, Atmospheric Environment, Vol. 26A, pp. 531-540.
6. Gramham Ramsay, 1998, Commercial Biosensors, John Whley & Sons, Inc..
7. Hinds, W. C., 1999, Aerosol technology, New York, John Wiley & Sons Inc..
8. J. D. Eversole, W. K. Cary Jr., C. S. Scotto, R. Pierson, M. Spence and A. J. Campillo, Continuous Bioaerosol Monitoring Using UV Excitation Fluorescence: Outdoor Test Results, Field Analytical Chemistry and Technology, Vol. 15, pp. 205-212.
9. Li, Chih-Shan, and Ya-Chin Lin, 1999, Sampling performance of impactors for bacterial bioaerosols, J. Aerosol Sci, Vol. 31, pp. 226-230
10. Marple, V. A., 1979, A fundamental study of inertial impactors, Ph. D. dissertation, University of Ninnescota, Particle Technology Labratory, Publ. 144.
11. M. L. Laucks, G. Roll, G. Schweiger and E. J. Davis, 2000, PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF BIOAEROSOLS-POLLEN, J. Aerosol Sci, Vol. 31, pp. 307-319.
12. NIOSH Manual of Analytical Method, 1998.
13. Peter P. Hairston, Jim Ho and Frederick R. Quant, 1997, Design of an instrument for Real-Time Detection of Bioaerosols Using Simultaneous Measurement of Particle Aerodynamic Size and Intrinsic Fluorescence, J. Aersol Sci, Vol 28, pp. 471-482.
14. R. J. Aitden and S. J. R. Lowrie, 1998, Measurements of the Physical Sampling Efficiency of Bioaerosol Samplers, J. Aerosol Sci, Vol 29, pp. S503-S504.
15. Shubo Han, Xin Li, Guangmei Guo, Yosheng Sun, Zhuobin Yuan, 2000, Voltammetric measurement of microorganism populations, Analytica Chimica Acta, Vol.

- 405, pp. 115-121.
16. TOSHIGIRO TAKAHASHI, YASUKAZU NAKAKITA, JUNJI SATARI AND KEN SHINOTSUKA, 2000, A New Rapid Technique for Detection of Microorganisms Using Bioluminescence and fluorescence Microscope Method, J. Bioscience and Bioengineering, Vol. 89, pp. 509-513.
17. W. D. Griffiths, I. W. Stewart, J. M. Clark and I. L. Holwill, 2001, Procedures for the characterisation of bioaerosol particles, Aerobiologia, Vol. 17, pp. 109-119.