

## 배지 종류 및 저장 조건에 따른 impactor의 부유세균 시료 채취 효율 평가

김기연 · 장규엽\* · 박재범\* · 김치년\*\* · 이경종\*†

신시내티대학교 환경보건학과, \*아주대학교 의과대학 예방의학교실,  
\*\*연세대학교 의과대학 산업보건연구소

### Evaluation of Impactor's Collection Efficiency on Airborne Bacteria by Type of Agar Media and Storage Condition

Ki Youn Kim · Gyu Yeob Jang\* · Jae Beom Park · Chi Nyon Kim\*\* · Kyung Jong Lee\*†

Center for Health Related Aerosol Studies, Department of Environmental Health, University of Cincinnati

\*Department of Preventive Medicine & Public Health, School of Medicine, Ajou University

\*\*Institute for Occupational Health, College of Medicine, Yonsei University

(Received February 21, 2007/Accepted April 6, 2007)

#### ABSTRACT

The range of reduction rates of airborne bacteria concentration at 6 hrs, 12 hrs, 24 hrs and 48 hrs, which means a storage time until input of agar media into incubator after air sampling with an impactor, were 15-20%, 25-40%, 35-50% and 55-70%, respectively, compared to initial concentration. Types of agar media and storage thermal condition did not significantly affect a collection efficiency of impactor in terms of evaluating airborne bacteria level ( $p>0.05$ ). To better improve the impactor's collection efficiency of airborne bacteria, based on the result of this study, it is recommended that the vicinity of 25°C should be sustained until input of agar media into incubator after air sampling.

**Keywords:** impactor, airborne bacteria, collection efficiency, storage condition

#### I. 서 론

부유 세균을 포함한 바이오에어로졸 노출에 따른 작업자의 건강 위험성에 대해 최근 사회적 관심이 높아지고 있으며 몇몇 연구자들에 의해 상호 연관성이 있음이 제기되고 있다.<sup>1,4)</sup> 바이오에어로졸 노출에 대한 심각성을 인식한 환경부에서는 “다중이용시설등의실내공기질관리법률”을 제정, 일정 규모 이상의 병원, 유아시설, 노인복지시설, 산후조리원에 대해 별도로 “홍부유세균”이라는 항목으로 유지 기준 농도 800 cfu/m<sup>3</sup>로 설정하여 2004년 9월부터 법적으로 적용하고 있다.<sup>5)</sup>

일반적으로 작업장이나 거주 공간 내 부유 세균의 시료를 채취하는 데 있어 일반적으로 흡수법(Impingement), 필터법(Filtration), 관성충돌법(Impaction)이 활용

되고 있다(Thorne *et al.*, 1992). 그 중 관성충돌 원리를 적용한 방법이 흡수법과 필터법과는 달리 한천배지를 관성충돌기 내부에 직접 삽입하여 공기 중 세균을 포집하기 때문에 상대적으로 용이한 측정 과정과 높은 채취 효율성, 특히 시료의 적정 희석 및 배지 도말 과정을 생략하고 배양 과정만 거치면 완료되므로 미생물 분석 관련 부대시설의 설비가 따로 요구되지 않는다는 장점 때문에 최근 폭넓게 이용되고 있으며, 이러한 이유로 국내에서도 실내 부유 세균 농도 측정시 활용도가 가장 높다.<sup>6,9)</sup>

그러나 분석 장비의 가격이 상대적으로 고가이며 장시간 시료 채취시 배지에 과포집되어 부유 세균의 균락을 계수할 수 없는 경우도 발생할 수 있다.<sup>10)</sup> 또한 시료 채취시 부유 세균이 응집화될 수 있으며<sup>11)</sup> 플라스틱 한천 배지와 충돌 및 정전기적 인력 발생으로 인해 포집된 부유 세균의 세포 구조에 심각한 영향을 줄 수 있다는 단점을 동시에 가지고 있다.<sup>12)</sup> 또한 작업장의 실내 공간 내 분포하고 있는 부유 세균을 관성충돌

\*Corresponding author : Institute for Occupational Health, College of Medicine, Yonsei University  
Tel: 82-31-219-5292, Fax: 82-31-219-5084  
E-mail : leekj@ajou.ac.kr

법으로 포집하는 경우, 실제 현장 시료 채취 후 분석실까지의 운반 시간 및 보관 조건이 포집된 부유 세균의 활성도에 영향을 줄 수 있다는 가능성과 국내의적으로 아직까지 부유 세균에 의한 실내공기 오염 측정에 이용될 수 있는 표준화된 세균 배지가 제시되지 못하고 있어 이에 대한 과학적 평가가 시급히 요구되는 바이다. 따라서 본 연구는 현재 국내에서 가장 많이 이용되고 있는 부유 세균 포집용 배지의 종류 및 저장 조건에 따른 관성충돌기의 부유 세균 시료 채취 효율성을 객관적으로 평가하여 작업 현장에서 관성충돌법으로 부유 세균 측정시 적정 수준의 측정 방안을 제시하고자 하는 데 목적을 두고 있다.

## II. 실험대상 및 방법

일반 사무실 한 곳을 선정하여 바닥으로 1 m 떨어진 지점에 one-stage viable particulate cascade impactor (Model 10-800, Andersen Inc, USA) 3대를 설치하여 10분 동안 동일 조건 하에서 공기를 포집하였다. 본 impactor는 분당 28.3 l의 유량으로 설정된 동일한 장비로 유량 차이에 따른 분석값의 오차를 최소화하기 위해 3대 모두 실험에 들어가기 전 유량의 동일함을 점검하였다.

조사대상 평판배지로 미국 Becton Dickinson社에서 생산되고 국내 현장에서 부유세균 포집시 가장 많이 활용되고 있는 Nutrient Agar(NA), Trypticase Soy Agar (TSA), Blood Plasma 2 Agar(BP2)의 3종류를 선정하였다. 공기 포집 후 저장 조건에 따른 부유세균의 채취 효율은 보관 기간과 온도의 두 측면으로 조사하였다. 전자의 경우 공기 포집이 완료된 배지를 37°C로 설정된 배양기로 투입시까지의 시간을 의미하는 것으로 포집 직후(0 h), 포집 후 6시간(6 h), 12시간(12 h), 24시간(24 h), 48시간(48 h)으로 설정하였다. 후자의 경우 공기 포집이 완료된 배지를 배양기 투입 전까지의 저장 온도를 의미하는 것으로 5°C, 15°C, 25°C의 세 조건으로 설정하였다. 각 처리구 모두 3반복으로 수행되었으며, 소요된 배지 개수는 총 135개였다(식 1 참조).

$$\text{Media}(3) \times \text{Storage time}(5) \times \text{Temperature}(3) \times \text{Iteration}(3) = 135 \quad (1)$$

본 실험에서 얻어진 분석 결과는 SAS package program을 이용하여 초기 농도에 대한 impactor 장비 및 배지 종류 간의 부유세균 채취 효율성 차이와 공기 포집 후 저장 시간에 따른 각 배지 종류 및 저장 온도 간의 시료 채취 효율성 차이를 ANOVA 분석을 통해

**Table 1.** Sampling efficiency of impactors and agar medias for collecting airborne bacteria

		Impactor I	Impactor II (cfu m <sup>-3</sup> )	Impactor III	p-value
NA	Mean	4.28 × 10 <sup>2</sup>	3.92 × 10 <sup>2</sup>	4.35 × 10 <sup>2</sup>	0.33
	S.D.	1.24 × 10 <sup>2</sup>	1.58 × 10 <sup>2</sup>	1.61 × 10 <sup>2</sup>	
TSA	Mean	3.74 × 10 <sup>2</sup>	3.68 × 10 <sup>2</sup>	3.88 × 10 <sup>2</sup>	0.21
	S.D.	1.46 × 10 <sup>2</sup>	1.06 × 10 <sup>2</sup>	1.42 × 10 <sup>2</sup>	
BP2	Mean	3.93 × 10 <sup>2</sup>	4.06 × 10 <sup>2</sup>	4.27 × 10 <sup>2</sup>	0.18
	S.D.	1.58 × 10 <sup>2</sup>	1.16 × 10 <sup>2</sup>	1.72 × 10 <sup>2</sup>	
p-value		0.24	0.31	0.18	

통계적 유의성을 검정하였다.

## III. 실험결과 및 고찰

### 1. Impactor 장비 및 배지 종류 간의 부유세균 채취 효율성 평가

Table 1은 사무실 내 동일 지점에서 포집된 부유세균의 초기 농도에 대해 본 실험에 이용된 3대의 impactor와 3종류의 배지 간 채취 효율성을 평가한 것이다. 분석 결과 초기 농도 범위가 3.5 × 10<sup>2</sup>~4.5 × 10<sup>2</sup> cfu m<sup>-3</sup>로 나타났으며, 통계분석 결과 Impactor 장비 및 배지 종류 간의 차이는 없는 것으로 분석되었다 (p>0.05). 따라서 본 실험에 이용된 3대의 impactor 장비에 의한 부유세균 농도 분석치의 오차 영향은 없는 것으로 확인되었다. 또한 3종류의 배지로 측정된 부유세균의 초기농도가 서로 통계적으로 유의한 차이가 없어 시료 채취 후 현장에서 부유세균이 즉시 배양이 가능한 작업장이나 일반 다중이용시설의 경우는 어떠한 배지를 적용해도 상관이 없음을 알 수 있었다.

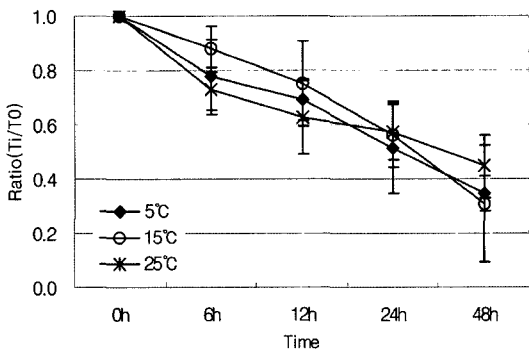
### 2. 배지 보관 온도 조건에 따른 부유세균 채취 효율

Fig. 1은 시료 포집 후 배양기에 투입하기 전까지 3가지 온도 조건(5°C, 15°C, 25°C) 하에서 보관했을 시의 부유세균 채취 효율을 보관 시간대별로 보여주고 있다. 여기서 보관 기간에 따른 부유세균의 농도 변화 양상은 포집 직후 배양기에 투입하여 측정된 값을 초기 농도(T<sub>0</sub>)와 일정 시간대별로 보관한 후 배양기에 투입하여 측정된 농도(T<sub>i</sub>)와의 비율로 표현하였다.

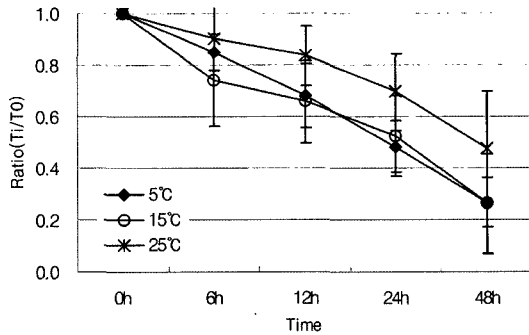
NA 배지의 경우 초기 부유세균 농도 대비 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후 배양되어 측정된 농도는 각각 5°C 조건 하에서 22%, 31%, 49%, 65%, 15°C 조건하에서 12%, 25%, 44%, 69%, 25°C 조건 하에서 27%, 37%, 43%, 55%의 저감율을 보였다.

TSA 배지의 경우 초기 부유세균 농도 대비 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후 배양되어 측정된 농도는 각각 5°C 조건 하에서 15%, 32%, 52%, 74%, 15°C 조건하에서 26%, 34%, 48%, 73%, 25°C 조건하에서 10%, 16%, 30%, 53%의 저감율을 보였다. BP2 배지의 경우 초기 부유세균 농도 대비 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후 배양되어 측정된 농도는 각각 5°C 조건 하에서 21%, 41%, 56%, 63%, 15°C 조건하에서 12%, 34%, 49%, 69%, 25°C 조건하에서 18%, 25%, 37%, 57%의 저감율을 보였다.

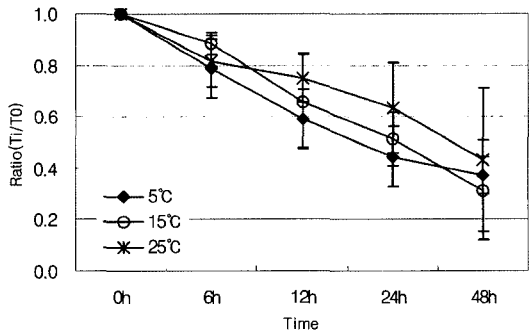
배지 종류에 관계없이 배지 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후의 부유세균 농도 저감율은 각각 5°C 조건하에서 약 19%, 37%, 53%, 69%, 15°C 조건하에서 약 19%, 30%, 47%, 71%, 25°C 조건하에서 약 18%, 27%, 37%, 55%를 나타내었다. 또한 배지 보관 시간대별 보관 온도 조건에 따른 부유세균의 농도 차이는 통계적으로 유의하지 않은 것으로 분석되었으나 ( $p>0.05$ ), 5°C와 15°C보다는 25°C 조건하에서 보관된 배지가 보관 시간 경과에 따른 초기 부유세균 농도의 재현성이 상대적으로 높게 나타나 현장에서 시료 포집



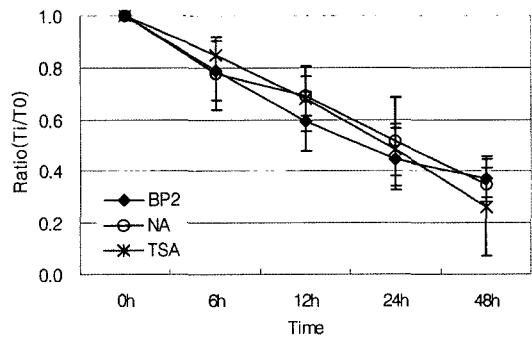
(a) NA media



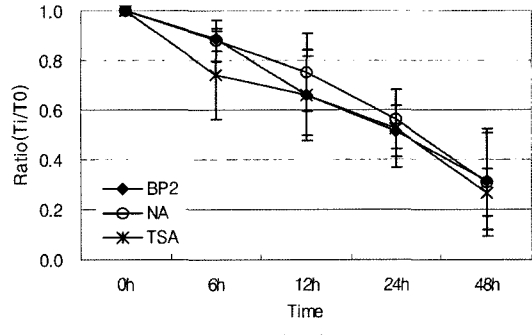
(b) TSA media



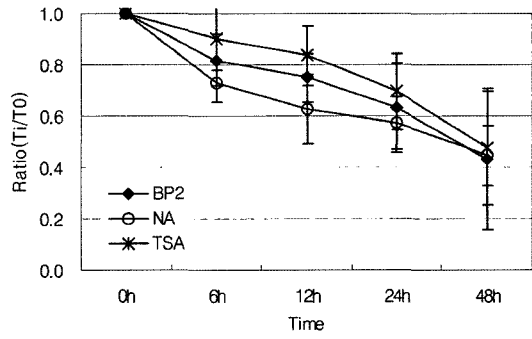
(c) BP2 media



(a) 5°C



(b) 15°C



(c) 25°C

Fig. 1. Time-based change of airborne bacteria concentration according to storage temperature condition.

Fig. 2. Time-based change of airborne bacteria concentration according to types of agar media.

후 분석실까지의 소요 운반 시간이 길거나 겨울철 현장 측정 시에는 실온보다 높은 온도 상황에서 포집 배지를 보관하는 것이 효과적이라 사료된다.

### 3. 배지 종류에 따른 부유세균 채취 효율

Fig. 2는 시료 포집 후 배양기에 투입하기 전까지 설정된 각 온도 조건하에서 보관했을 경우 3종류의 부유세균 포집용 배지(NA, TSA, BP2)의 초기 농도 재현성을 보관 시간대별로 나타내주고 있다.

5°C 보관 조건 하에서 초기 부유세균 농도 대비 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후 배양되어 측정된 농도는 NA 배지의 경우 22%, 31%, 49%, 65%, TSA 배지의 경우 15%, 32%, 52%, 74%, BP2 배지의 경우 21%, 41%, 56%, 63%의 저감율을 보이는 것으로 조사되었다. 15°C 조건 하에서는 NA 배지의 경우 12%, 25%, 44%, 69%, TSA 배지의 경우 26%, 34%, 48%, 73%, BP2 배지의 경우 12%, 34%, 49%, 69%의 저감율을 보였고, 25°C 조건 하에서 NA 배지는 27%, 37%, 43%, 55%, TSA 배지는 10%, 16%, 30%, 53%, BP2 배지는 18%, 25%, 37%, 57%의 저감율을 나타내었다.

보관 온도 조건에 관계없이 배지 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후의 부유세균 농도 저감율은 각각 NA 배지의 경우 평균 20%, 31%, 46%, 62%, TSA 배지의 경우 평균 18%, 25%, 41%, 64%, BP2 배지의 경우 평균 15%, 33%, 47%, 63%를 나타내었다. 또한 배지 보관 시간대별 배지 종류에 따른 부유세균의 농도 차이는 통계적으로 유의하지 않았다( $p>0.05$ ).

### 4. 종합 고찰

관성충돌법 원리에 근거한 impactor 장비를 이용하여 측정된 부유세균의 농도는 설정된 배지 보관 온도 조건 및 배지 종류에 관계없이 보관 시간이 경과함에 따라 부유세균의 집락 형성 정도가 초기 농도보다 순차적으로 저감함을 알 수 있었다. 따라서 본 장비를 이용하여 작업 현장 및 다중이용시설 내 분포하는 부유세균을 포집하여 분석실로 운반한 후 배양기에 투입까지의 보관 기간을 6시간과 12시간으로 설정한다면 각각 약 80%와 65%의 초기 농도 재현율을 나타내며, 배지 보관 온도와 배지 종류는 초기 부유세균의 농도 저감에 큰 영향을 주지 않는 것으로 조사되었다. 본 결과를 통해 관성충돌법으로 부유세균을 측정하는 경우에는 배지 종류 및 포집 후 배지 보관 온도와 같은 외부 설정 조건보다 장비 내부 구조에 따른 조건들, 즉 impactor내 공기 유입 속도,<sup>13)</sup> 공기 유입구의

형태학적 특성<sup>14)</sup> 및 공기 유입구 직경과 배지 plate와의 거리 비율<sup>15,16)</sup>이 부유세균 채취 효율에 영향을 주는 것으로 판단된다.

## IV. 결 론

Impactor 장비를 이용하여 부유세균을 측정된 결과 포집 후 배지 보관 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 후의 부유세균 농도는 초기 농도에 비해 약 15-20%, 25-40%, 35-50%, 55-70%의 범위로 저감하는 것으로 조사되었다. 포집 후 배지 보관 온도 조건 및 배지 종류는 관성충돌법의 원리로 제작된 장비의 채취 효율성에 유의한 영향을 주지 않는 것으로 분석되었다( $p>0.05$ ). 부유세균의 채취 효율을 높이기 위해서는 시료 포집 후 배양기에 투입시까지의 보관 온도 조건을 25°C 정도로 유지하는 것이 가장 효과적이었다.

## 감사의 글

이 논문은 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2005-214-F00017).

## 참고문헌

- Munir, A. K., Einarsson, R. and Dreborg, S. : Allergen avoidance in a daycare center. *Allergy* **51**, 36-41, 1995.
- Jaffal, A. A., Nsanze, H., Bener, A., Ameen, A. S., Banat, I. M. and Mogheth, A. A. : Hospital airborne microbial pollution in a desert country. *Environment International*, **23**, 167-172, 1997.
- Manuel, E. S., Edwin, K. S., Lars, A. H., Scott, T. W. and Juan, C. C. : Material history, sensitization to allergens and current wheezing, rhinitis, and eczema among children in Costa Rica. *Pediatric Pulmonology*, **33**, 237-243, 2002.
- 박재범, 김기연, 장규엽, 김치년, 이경종 : 다중이용시설 내부에 분포하는 부유 진균의 입경별 농도 특성. *한국환경보건학회지* **32**, 36-45, 2006.
- 환경부 : 다중이용시설등의 실내공기질관리법률. 2004.
- 조현중, 홍경심, 김지훈, 김현욱 : 일부 종합병원 내 영역별 공기 중 미생물 평가. *한국산업위생학회지* **10**, 115-125, 2000.
- 김윤신, 이은규, 엽무종, 김기영 : 다중이용시설에서의 실내공기중 미생물 분포에 관한 연구. *한국환경위생학회지* **28**, 85-92, 2002.
- 이창래, 김기연, 김치년, 박동욱, 노재훈 : 종합병원내 부유 미생물 농도 및 환경 요인과의 상관성 조사. *한국산업위생학회지* **15**, 45-51, 2005.
- 김기연, 장규엽, 박재범, 김치년, 이경종 : 규제대상 다

- 중이용시설내 부유세균의 분포 특성에 관한 현장 조사. 한국산업위생학회지 **16**, 1-10, 2006.
10. Thorne, P. S., Niekhaefer, M. S., Whitten, P. and Donham, K. J. : Comparison of bioaerosol sampling methods in barns housing swine. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, 2543-2551, 1992.
  11. Lembke, L. L., Kniseley, R. N., Van Nostrand, R. C. and Hale, M. D. : Precision of the all-glass impinger and the Andersen microbial impactor for air sampling in solid waste handling facilities. *Applied and Environmental Microbiology* **42**, 222-225, 1981.
  12. Andersen, A. A. : New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. *Journal of Bacteriology* **76**, 471-484, 1958.
  13. Stewart, S. L., Grinshpun, S. A., Willeke, K., Terzieva, S., Ulevicius, V. and Donnelly, J. : Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface. *Applied and Environmental Microbiology* **61**, 1232-1239, 1995.
  14. Grinshpun, S. A., Chang, C. W., Nevalainen, A. and Willeke, K. : Inlet characteristics of bioaerosol samplers. *Journal of Aerosol Science* **25**, 1503-1522, 1994.
  15. Grinshpun, S. A., Mainelis, G., Trunov, M., Gorny, R. L., Sivasubramami, S. K., Adhikari, A. and Reponen, T. : Collection of airborne spores by circular single-stage impactors with small jet-to-plate distance. *Journal of Aerosol Science* **36**, 575-591, 2005.
  16. Yao, M. and Mainelis, G. : Effect of physical and biological parameters on enumeration of bioaerosols by portable microbial impactors. *Journal of Aerosol Science* **37**, 1467-1483, 2006.