

## 초등학교 실내환경에서 공기중 세균과 진균의 분리 및 특성

김나영<sup>1</sup> · 김영란<sup>1</sup> · 김민규<sup>2</sup> · 조두원<sup>2</sup> · 김종설<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>울산대학교 교육대학원, <sup>2</sup>울산대학교 자연과학대학 생명과학부

울산 소재 초등학교 3곳의 교실과 복도에서, 배양가능한 공기중 세균과 진균의 농도를 조사하고, 이들 미생물을 분리한 후 동정하였다. 세균과 진균의 포집에는 증돌식 공기 채취기를 사용하였으며, 세균수와 진균수의 측정에는 각각 plate count agar와 dichloran rose bengal chloramphenicol agar를 사용하였다. 학기 중 세균 농도는 교실에서 168~3,887 MPN/m<sup>3</sup>, 복도에서 168~6,339 MPN/m<sup>3</sup>의 범위였으며, 진균 농도는 교실에서 34~389 MPN/m<sup>3</sup>, 복도에서 91~507 MPN/m<sup>3</sup>의 범위로, 상황과 학교에 따른 측정값의 편차는 세균에서 진균보다 더 크게 나타났다. 분리한 세균의 84%는 그람양성으로 관찰되었는데, 전체 시험한 세균의 61%는 *Micrococcus* 속으로, 이중 75%는 *M. luteus*로 확인되었으며, *Staphylococcus* 속은 전체의 10% 수준이었다. *Micrococcus* 속의 주요 발생원은 사람으로 생각되며, 함유한 색소나 높은 세포벽 함량 등의 생리적 특징이 이들 세균의 공기중 생존력을 높이는 것으로 추측된다. 포집한 시료로부터 15속의 사상성 진균을 확인할 수 있었으며, *Cladosporium* 속, *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속 등이 분리한 진균의 69%를 차지하였다. 1개 학교의 교실에서는 *Stachybotrys* 속이 검출되었는데, 이 속의 *S. chartarum*은 많은 진균독소를 생산하는 것으로 잘 알려져 있다. 독소생산과 관련이 깊은 *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속, *Stachybotrys* 속에 대한 중 수준에서의 동정, 분리한 진균의 독소생산능력, 공기중 진균독소 검출 및 진균 농도와의 상관관계 분석 등에 대한 보다 체계적인 연구가 필요하다고 판단된다.

**Key words** □ airborne bacteria, airborne fungi, elementary school, indoor air

세균과 진균의 실내 오염, 생물테러의 위협 등에 따라, 최근에는 병원이나 지하공간뿐만 아니라 주택, 학교, 사무실과 같은 환경에서도 공기중 세균과 진균의 포집 및 분석에 대한 관심이 증가하고 있다(1, 4, 7, 12, 13). 미생물은 그 자체로 혹은 미세먼지, 수증기와 결합한 형태로 bioaerosol을 형성하여 공기 중에 유입된다. 공기중 미생물은 감염, 알레르겐으로 작용, 염증반응 초래, 독소로서의 작용 등을 통해 사람의 건강에 나쁜 영향을 줄 수 있으며, 실내 환경의 공기중 미생물은 실외와 비교하여 외부 공기의 순환이 제한적이고 햇빛의 자외선에 대한 노출이 적어서 상대적으로 장기간 생존이 가능하다(19). 특히 실내에서 공기중 세균과 진균의 흡입은 호흡기 질환의 발생과 관련이 있으며, 세균의 내독소(endotoxin)와 펩티도글리칸, 진균 대사산물 등이 이러한 질환의 주요 원인 물질로 여겨진다(23).

실내 환경에서 공기중 미생물이 사람의 건강에 미치는 영향에 대한 평가는, 주로 사상성 진균(mold)을 대상으로 많이 진행되고 있다(8, 11, 12, 14, 16, 22, 26). 위해성 평가에 기초한 진균의 허용 농도 기준을 마련하고자 주택, 초등학교 등에서 진균의 농도와 알레르기와의 관련성에 대한 조사도 행해졌으며(14, 22, 26), 진균독소(mycotoxin)의 직접적인 노출 평가를 위해 공기중 진균독소의 검출에 관한 연구도 많이 진행되고 있다(6, 11). 학교에서의 실내 공기질은 학생의 건강뿐만 아니라 간접적으로 학습

효과에도 영향을 미칠 수 있다(9, 11). 스웨덴에서 진행된 연구 결과는 학교 환경의 실내 공기질이 천식증세의 이환율에 영향을 미칠 수 있음을 제안하였으며, 학교 환경에서 공기중 미생물과 호흡기 증세의 이환율 사이의 연관성에 관한 결과도 보고하고 있다(9, 14, 17, 18, 22, 25). 학교 환경은 건물의 규모와 구조, 환기설비, 사람의 밀도 등에서 주택과 많은 차이가 있으며, 학생들이 하루의 많은 시간을 생활하는 공간이기 때문에 학교 환경에서의 실내 공기질에 대한 관심 및 평가가 필요하다.

학교 실내 환경에서 공기중 미생물 오염이 건강에 미치는 위해성에 대한 평가를 위해서는 보통의 상황에서 공기중 미생물 농도의 일반적 수준 및 우점하는 미생물에 대한 정보가 있어야 한다. 이러한 목적에 따라 유치원에서 계절별 공기중 미생물 분포, 중·고등학교에서 상황별 공기중 미생물 분포에 대한 연구를 진행하여 결과를 발표하였으며(1, 4), 본 논문에서는 초등학교를 대상으로 교실과 복도에서 실내 공기중 배양이 가능한 세균과 진균의 농도를 조사하고, 우점하는 세균과 사상성 진균을 분리하여 그 특성을 알아보려고 하였다.

### 재료 및 방법

#### 공기중 세균과 진균의 포집

2005년 11월에서 12월에 걸쳐 울산광역시 소재 3개 초등학교(BG-E, SH-E, SJ-E)의 교실과 복도에서 공기중 미생물을 포집하였으며, 1개 학교(BG-E)에서는 방학 중(2006년 1월)의 빈교실과

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-52-259-2387, Fax: 82-52-259-1694  
E-mail: jkim@ulsan.ac.kr

복도에서도 공기중 미생물을 포집하였다. 학기 중 미생물의 포집은 수업시간(오전 10:00~11:40), 점심시간(오전 11:40~오후 12:30), 그리고 방과 후(오후 3:30~4:30)로 구분하여 3회 행하였다. 세 곳의 초등학교는 모두 철근 콘크리트 구조의 건물로 별도의 기계식 환기설비 없이 창문을 통한 자연환기를 하였으며, 시료채취시 BG-E에서는 온풍기를 가동하고 있었다. 2학년 교실을 대상으로 미생물을 포집하였으며, 학생수는 BG-E의 경우 19명이었고, SH-E와 SJ-E에서는 각 30명과 35명이었다. 공기시료의 채취에는 미생물용 충돌식 공기 채취기(air-IDEAL, bio-Merieux, France)를 이용하였으며, 지면으로부터 1.5 m의 높이에서 30 L와 300 L의 공기시료를 흡입시켜 미생물을 포집하였다. 시료 채취시 교실과 복도의 실내 온도와 상대습도를 측정하여 기록하였으며, 직경 10 µm 이하 미세먼지(PM<sub>10</sub>)와 총 먼지(total particles)의 농도는 미생물 포집과는 별개로 휴대용 분진측정기(Dustmate, Turnkey Instrument, UK)를 이용하여 오전 10시에서 오후 4시까지 6시간 연속 채취하여 측정하였다.

### 공기중 세균과 진균의 농도

배양이 가능한 공기중 세균수와 진균수의 측정은 각각 plate count agar (agar, 15.0 g; tryptone, 5.0 g; yeast extract, 2.5 g; glucose, 1.0 g; water, 1 L)와 dichloran rose bengal chloramphenicol(DRBC) agar(agar, 15.0 g; glucose, 10.0 g; peptone, 5.0 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.0 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; rose bengal, 0.025 g; dichloran, 0.002 g; chloramphenicol, 0.1 g; water, 1 L)를 사용하여 행하였다(5). 시료의 채취 후, plate count agar는 35°C에서 48시간 배양 후 생겨난 집락을 계수하였고, DRBC agar는 25°C에서 120시간 배양 후 나타난 집락을 계수하였다. 공기중 세균수의 경우, 학기 중 시료는 30 L, 방학 중 시료는 300 L 공기를 흡입하여 포집한 배지의 집락수를 공기 채취기 제조사의 매뉴얼에 따라 공기 1 m<sup>3</sup>에 존재하는 최적확수치(most probable number, MPN)로 환산하여 구하였고, 공기중 진균의 수는 300 L 공기를 포집한 집락수에 기초하여 환산하였다. 여기서 MPN은 통계적으로 얻어진 값으로 단위 부피에 존재하는 미생물의 수를 나타낸다. 또한 공기중 미생물 농도와 환경 요인(실내 온도와 상대습도) 사이의 상호 관계를 파악하기 위해 Windows용 SPSS v.10.0을 사용하여 Spearman의 순위상관계수(r<sub>s</sub>)를 구하였다.

### 공기중 세균과 진균의 순수배양 및 동정

세균과 진균의 동정은 1개 학교(BG-E)에서 포집한 배지의 집락만을 대상으로 하였다. 먼저 plate count agar에 생겨난 모든 집락을 동일 배지에 계대배양하여 순수분리한 후, 그람염색과 현미경 관찰을 통해 세균의 형태적 특징을 조사하였다(20). 그람양성 세균은 *Staphylococcus* 속, *Micrococcus* 속 등의 동정이 가능한 API Staph kit, 그람양성 세균은 API 20NE kit와 API 20E kit (bioMerieux, France)를 사용하여 잠정적으로 동정하였으며, 동정확률(% id)이 90% 이상인 균종을 선택하여 동정된 것으로 간주하였다. API kit 동정확률이 90% 미만일 경우 추가적으로 16S rRNA 유전자 절편의 서열을 분석하였다. 간략히 설명하면,

nested PCR 방법을 통해 16S rRNA 유전자의 V3부위를 증폭하였으며, 1차 PCR에는 27f (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 1492r (5'-GGT TAC CTT GIT ACGA CTT-3') primer를 사용하였고, 2차 증폭에는 341f (5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3')와 518r (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3') primer를 사용하였다. 증폭한 16S rRNA 유전자 절편의 서열 분석은 자동화된 DNA 서열분석기(Applied Biosystems 3100)를 사용하여 행하였다. 얻어진 염기서열은 BLAST 검색기능을 이용해 query 서열과 가장 높은 similarity를 갖는 서열 3-4개를 취한 후 해당하는 균주의 분류군을 확인하였으며, 이 정보에 기초하여 API kit를 이용한 생리, 생화학적 동정 시험을 다시 행하였다.

진균의 경우, 각 집락을 계대배양하여 순수분리한 후, 집락의 색과 모양 등 형태적 특징과 lactophenicol cotton blue로 염색 후 현미경으로 관찰한 포자낭의 형태적 특징에 기초하여 속 수준까지 잠정적으로 동정하였다(21, 27).

## 결 과

### 공기중 세균의 농도

학기 중 시료채취시 측정된 교실의 온도는, BG-E 25~27°C, SH-E 14~15°C, SJ-E 16~20°C이었으며, 복도의 경우는 BG-E 12~13°C, SH-E 11~14°C, SJ-E 10~11°C의 범위였다. 교실의 상대습도는 BG-E 39~41%, SH-E 62%, SJ-E 45~56%로 측정되었고, 복도의 경우는 BG-E 40~41%, SH-E 62~69%, SJ-E 46~48%의 범위로, 교실과 복도에서 큰 차이는 없었다. 방학 중 시료채취시 BG-E의 교실과 복도에서 측정된 온도는 각각 25°C와 10°C이었으며, 상대습도는 교실과 복도에서 각각 50%와 73%였다.

Plate count agar의 세균 집락수에 기초하여 구한 초등학교 교실과 복도의 공기중 세균 농도를 Fig. 1에 나타내었다. 세 학교에서의 측정값을 상황별로 비교해보면, 교실의 경우 수업시간 1,392~2,329 MPN/m<sup>3</sup>(평균 1,959 MPN/m<sup>3</sup>), 점심시간 428~3,887 MPN/m<sup>3</sup>(평균 1,675 MPN/m<sup>3</sup>), 방과 후 168~288 MPN/m<sup>3</sup>(평균 214 MPN/m<sup>3</sup>)의 범위로, 세 학교 모두 방과 후 시간에 최저값을 보였으며, 복도에서는 수업시간 219~1,547 MPN/m<sup>3</sup>(평균 808 MPN/m<sup>3</sup>), 점심시간 590~6,339 MPN/m<sup>3</sup>(평균 3,721 MPN/m<sup>3</sup>), 방과 후 168~855 MPN/m<sup>3</sup>(평균 449 MPN/m<sup>3</sup>)의 범위로, 점심시간에 가장 높았다(Fig. 1). 교실과 복도의 세균 농도를 비교해보면, 수업시간에는 교실이 복도보다 세 학교의 평균값 기준 2.4배 정도 높았으나 점심시간에는 복도가 교실보다 2.2배 더 높았다(Fig. 1). 학생이 등교하지 않는 방학 중 BG-E의 교실과 복도에서 측정된 공기중 세균 농도는, 각각 108 MPN/m<sup>3</sup>와 71 MPN/m<sup>3</sup>이었으며, 학기 중 수업시간 농도의 8%(교실)와 5%(복도) 수준으로 매우 낮았다(Fig. 1). 한편 세균 농도와 실내 온도 사이의 Spearman의 순위 상관계수(r<sub>s</sub>)는 수업시간에 0.78(P<0.05)이었고, 전체적으로는 0.64(P<0.01)였다.

### 공기중 진균의 농도

DRBC agar의 진균 집락수에 기초한 초등학교 교실과 복도의

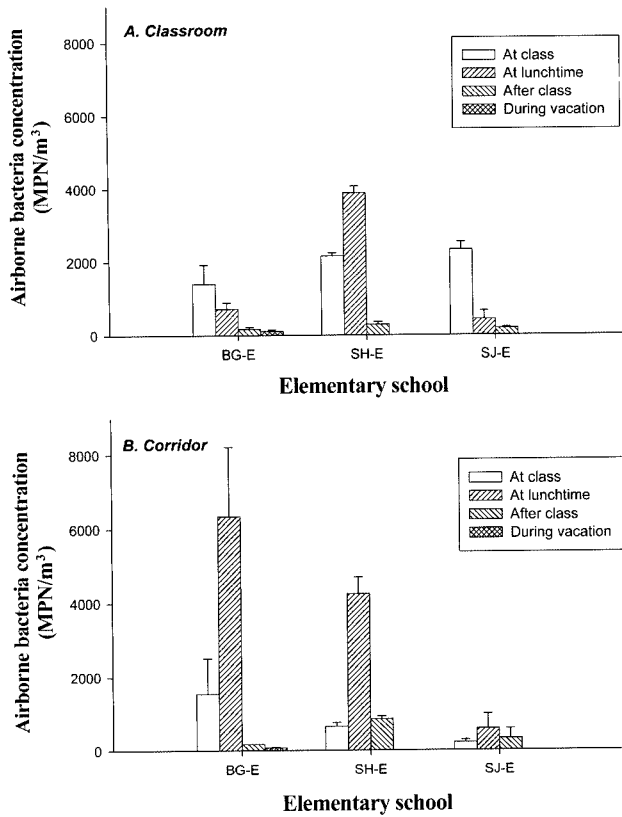


Fig 1. Concentration of airborne bacteria at classrooms (A) and corridors (B) of three elementary schools with different situations.

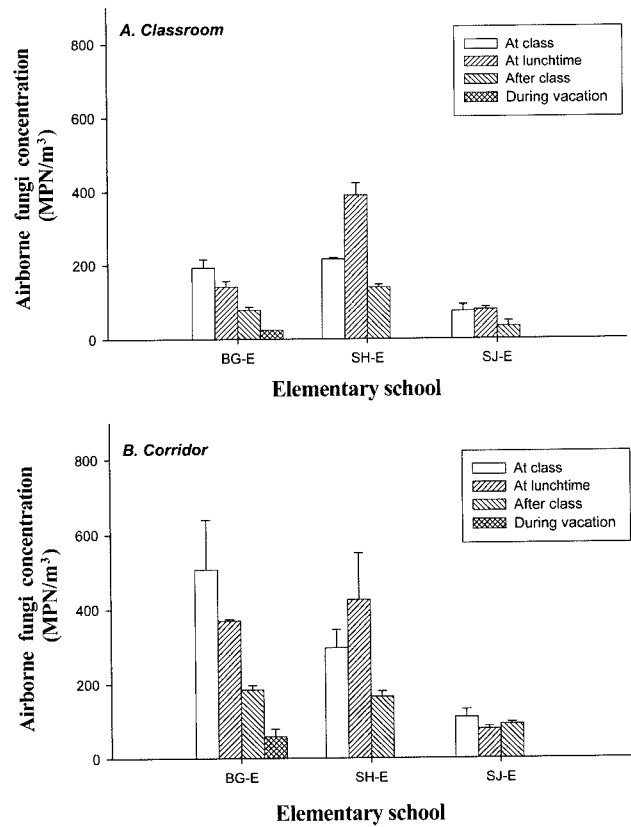


Fig. 2. Concentration of airborne fungi at classrooms (A) and corridors (B) of three elementary schools with different situations.

공기중 진균 농도는, 교실의 경우 수업시간이 75~216 MPN/m<sup>3</sup> (평균 161 MPN/m<sup>3</sup>), 점심시간 79~389 MPN/m<sup>3</sup>(평균 203 MPN/m<sup>3</sup>), 방과 후 34~139 MPN/m<sup>3</sup>(평균 84 MPN/m<sup>3</sup>)의 범위로, 세 학교 모두 방과 후에 가장 낮았으며, 복도에서는 수업시간 110~507 MPN/m<sup>3</sup>(평균 304 MPN/m<sup>3</sup>), 점심시간 79~425 MPN/m<sup>3</sup>(평균 291 MPN/m<sup>3</sup>), 방과 후 91~185 MPN/m<sup>3</sup>(평균 147 MPN/m<sup>3</sup>)의 범위를 보였다(Fig. 2). 세균의 경우와는 달리 모든 상황에서 교실보다 복도에서 진균의 농도가 더 높게 측정되었는데, 수업시간의 경우 1.4~2.6배, 점심시간 1.0~2.6배, 방과 후에는 1.2~2.7배 정도 교실보다 복도에서 더 높은 수준이었다(Fig. 2). 학생이 등교하지 않는 방학 중 BG-E의 공기중 진균 농도는 교실이 24 MPN/m<sup>3</sup>, 복도가 56 MPN/m<sup>3</sup>로 측정되어, 교실보다 복도에서 2.4배 정도 더 높았다(Fig. 2). 한편 학교 실내 공기중 진균 농도는 실내 온도와 전체적으로 양의 상관관계( $r_s=0.44$ ,  $P<0.05$ )를 보였고, 공기중 진균 농도와 세균 농도 사이의 상관계수( $r_s$ )는 0.57 ( $P<0.01$ )로 양의 상관관계를 나타내었다.

**공기중 미세먼지의 농도**

학기 중의 교실과 복도에서 6시간 연속 채취하여 구한 미세먼지(PM<sub>10</sub>) 농도는 BG-E 166 µg/m<sup>3</sup>, SH-E 79 µg/m<sup>3</sup>, 그리고 SJ-E 213 µg/m<sup>3</sup>이었으며, 총 먼지는 BG-E 301 µg/m<sup>3</sup>, SH-E 152 µg/m<sup>3</sup>, 그리고 SJ-E 401 µg/m<sup>3</sup>으로, 미세먼지는 총 먼지의 52~54%

를 차지하였다(Fig. 3). 방학 중 BG-E의 교실과 복도에서 측정된 미세먼지 농도는 36 µg/m<sup>3</sup>로 학기 중 측정값의 22%이었으며, 총 먼지 농도는 58 µg/m<sup>3</sup>로 학기 중 측정값의 19% 수준이었다. 세 학교에서 수업시간(오전 10:00~11:40), 점심시간(오전 11:40~오후 12:30), 그리고 방과 후(오후 3:30~4:30)로 구분하여 측정된 미세먼지 농도는, 교실의 경우 수업시간 69~582 µg/m<sup>3</sup>, 점심시간 107~324 µg/m<sup>3</sup>, 방과 후 26~33 µg/m<sup>3</sup>의 범위였으며, 복도에서는 수업시간 97~185 µg/m<sup>3</sup>, 점심시간 105~366 µg/m<sup>3</sup>, 방과 후 19~25 µg/m<sup>3</sup>의 범위로, 교실과 복도 모두 방과 후에 가장 낮은 미세먼지 농도를 나타내었다(Fig. 3). 분진 측정기의 오류로 미세먼지 측정과 미생물 포집이 같은 날 행해지지 못하여, 미생물 수와 미세먼지 농도 사이의 상관관계는 구하지 않았다.

**공기중 세균의 동정**

세 곳의 초등학교(BG-E, SH-E, SJ-E)에서 학기 중 30 L의 공기중 세균을 포집하여 plate count agar상에 생겨난 집락은 총 1,326개(BG-E 491개, SH-E 610개, SJ-E 225개)였으며, 이 중에서 임의의 집락을 새로운 plate count agar 배지에 연속으로 계대배양하여 최종적으로 209개(BG-E 70개, SH-E 91개, SJ-E 48개)의 순수배양을 얻을 수 있었다. 이들 집락을 대상으로 그람염색을 통해 형태적 특징을 확인한 결과, 그람양성 세균이 175

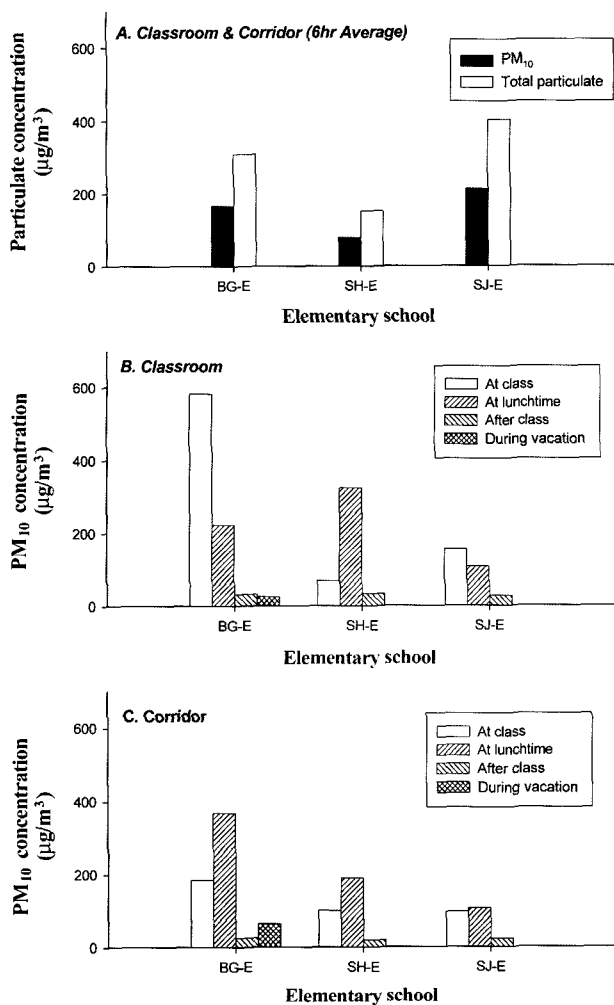


Fig. 3. Average (6 hr) particulate concentration at classrooms and corridors (A), and PM<sub>10</sub> concentration at classrooms (B) and corridors (C) of three elementary schools.

개로 전체의 84%를 차지하였고, 그람음성이 34개로 16%였다. 방학 중 300 L 포집한 배지에서 순수분리한 35개 집락의 경우 그람양성은 28개(80%), 그람음성은 7개(20%)로 관찰되었다. 그람양성과 그람음성 세균의 분포는 교실과 복도, 혹은 상황에 따른 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

학기 중 BG-E의 공기중 세균 집락으로부터 얻은 70개 순수배양을 대상으로, API kit를 이용한 생리적, 생화학적 특징과 16S rRNA gene 서열 분석에 따른 잠정적 동정 실험을 행하였다 (Table 1). 이들 70개 집락은 교실에서 포집한 것이 32개, 복도에서 포집한 것이 38개였으며, 그람양성은 56개(80%), 그람음성 14개(20%)를 차지하였다. 포집한 공기중 세균으로부터 모두 9속, 13종의 세균을 확인할 수 있었는데, 그람양성 세균의 경우 *Micrococcus* 속이 43개로 가장 많아 전체 동정 시험한 집락의 61%를 차지하였으며, 사용한 API Staph kit으로는 속 수준 (*Micrococcus* spp.)까지 확인되었다(Table 1). 다음으로 *Staphylococcus* 속이 전체의 10%인 7개였으며, 종별로는 *S. aureus* 4개,

*S. heidelbergensis*, *S. hominis*, *S. sciuri*가 각 1개의 분포를 보였고, *Kocuria varians/rosea*로 동정된 집락이 4개였다. 그람양성으로 관찰된 집락 중 나머지 2개 집락의 경우, 수업시간 교실에서 분리한 집락은 16S rRNA 유전자 절편의 서열 분석결과 *Arthrobacter* spp., *Micrococcus* spp.와 100%의 similarity를 보였으나, API kit를 이용한 동정에서는 2차에 걸쳐서도 확인되지 않았으며, 점심시간 교실에서 분리한 집락은 1차 API kit 동정시험 후 계대배양에 실패하여 더 이상 시험할 수 없었다. 그람음성 세균은 *Pasteurella* 속이 4개로 전체의 6%를 차지하였으며, 종별로는 *P. haemolytica* 2개, *P. aerogenes* 1개 등이었다(Table 1). 다음으로 *Shingomonas* 속과 *Chryseobacterium* 속이 각 3개로 전체의 4%씩을 차지하였고, 종별로는 *S. paucimobilis* 3개, *C. indogenes* 2개, *C. meningosepticum* 1개의 분포를 보였다. 그 외 *Brevundimonas vesicularis*, *Chryseomonas luteola*, *Stenotrophomonas maltophilia* 등이 각 1개씩 동정되었고, 1개 집락은 1차 동정시험 후 균주유지를 할 수 없어 확인하지 못하였다(Table 1).

전체적으로 교실과 복도에서 가장 높은 빈도로 검출된 *Micrococcus* 속은 방과 후 포집한 배지에서는 검출되지 않았다. *Micrococcus* spp.로 동정된 세균을 종 수준까지 확인하기 위해 추가적인 생화학, 생리적 동정시험을 행하였으며, 조사한 20개 분리 균주 중 15개는 *Micrococcus luteus*, 4개는 *M. roseus*, 그리고 1개는 *M. agilis*로 확인되었다.

### 공기중 진균의 동정

학기 중 진균수를 측정된 DRBC agar로부터 임의의 집락을 새로운 배지에 연속으로 계대 배양하여 BG-E 78개, SH-E 71개, SJ-E 65개 등 214개 진균 집락의 순수배양을 얻을 수 있었다. 이들 집락은 교실에서 포집한 것이 90개, 복도에서 포집한 것이 124개였으며, 이들 진균을 대상으로 형태적 특징에 기초하여 속 수준까지 동정하였다(Table 2). 총 214개의 집락으로부터 15속의 사상성 진균을 확인할 수 있었는데, *Cladosporium* 속이 81개로 가장 많아 전체의 38%였고, 다음으로 *Aspergillus* 속이 34개로 16%, *Penicillium* 속이 32개로 15%였으며, 이들 세 속이 전체 집락의 69%를 차지하였다(Table 2). 그 다음으로는 *Paecilomyces* 속과 *Ulocladium* 속이 각각 6개, *Acremonium* 속 5개, *Alternaria* 속과 *Fusarium* 속이 각각 4개, *Mucor* 속과 *Trichoderma* 속이 각각 3개씩 확인되었다. 이외에 *Aureobasidium* 속, *Curvularia* 속, *Scopulariopsis* 속, *Stachybotrys* 속 등이 각각 2개, *Botrytis* 속이 1개 동정되었다. 8개 집락은 yeast에 해당하였고, 동정 대상 집락의 9%에 해당하는 19개의 집락은 사용한 방법으로 확인할 수 없었다(Table 3).

교실과 복도에서 진균의 분포를 비교해보면, *Cladosporium* 속의 경우 교실에서 90개 중 31개(34%), 복도에서 124개 중 50개(40%)로 복도에서의 빈도가 더 높았고, *Aspergillus* 속의 경우도 교실 12개(13%), 복도 22개(18%)로 역시 복도에서 더 높은 빈도를 보였다. 반면, *Penicillium* 속의 경우 교실 15개(17%), 복도 17개(14%)로 교실에서의 빈도가 조금 더 높았다(Table 2). *Botrytis* 속과 *Stachybotrys* 속은 동정 대상 집락 중 교실에서만

**Table 1.** Tentative identification of airborne bacteria (BG-E)

Sampling location and situation (# of colonies examined)	Gram stain	Identification (# of colonies)		
Classroom (32)	At class (17)	Gram +	<i>Micrococcus</i> spp. (10) <i>Staphylococcus aureus</i> (3) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (1) Unidentified (1)	
		Gram -	<i>Pasteurella</i> spp. (1) <i>Sphingomonas paucimobilis</i> (1)	
		At lunchtime (11)	Gram +	<i>Micrococcus</i> spp. (9) Unidentified (1)
			Gram -	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> (1)
	After class (4)	Gram +	<i>Kocuria varians/rosea</i> (1)	
		Gram -	<i>Brevundimonas vesicularis</i> (1) <i>Pasteurella aerogenes</i> (1) <i>Pasteurella haemolytica</i> (1)	
Gram +			<i>Micrococcus</i> spp. (10) <i>Kocuria varians/rosea</i> (2) <i>Staphylococcus aureus</i> (1) <i>Staphylococcus sciuri</i> (1)	
Corridor (38)	At class (17)	Gram -	<i>Chryseobacterium indologenes</i> (1) <i>Chryseomonas luteola</i> (1) <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)	
		At lunchtime (20)	Gram +	<i>Micrococcus</i> spp. (14) <i>Staphylococcus hominis</i> (1)
			Gram -	<i>Chryseobacterium indologenes</i> (1) <i>Chryseobacterium meningosepticum</i> (1) <i>Pasteurella haemolytica</i> (1) <i>Sphingomonas paucimobilis</i> (1) Unidentified (1)
	After class (1)	Gram +	<i>Kocuria varians/rosea</i> (1)	

확인되었으며, *Aureobasidium* 속은 복도에서만 검출되었다. 학교 별 분포를 비교해보면, *Cladosporium* 속, *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속, *Ulocladium* 속, *Fusarium* 속은 세 학교 모두에서 1회 이상 확인되었으며, *Acremonium* 속과 *Stachybotrys* 속은 BG-E에서, *Botrytis* 속은 SJ-E에서만 검출되었다.

## 고 찰

본 연구에서 조사대상 세 초등학교의 실내 공기중 세균수는 교실에서 108~2,329 MPN/m<sup>3</sup>, 복도에서 71~6,339 MPN/m<sup>3</sup>의 범위였고, 공기중 진균수는 교실에서 24~389 MPN/m<sup>3</sup>, 복도에서 59~507 MPN/m<sup>3</sup>의 범위로 측정되었는데, 세균이 진균에 비해 상황과 학교에 따른 최대값과 최소값의 차이가 훨씬 컸다. 초등학교에서의 이러한 농도 수치는 중고등학교에서의 공기중 세균수

측정값인 교실 18~762 MPN/m<sup>3</sup>, 복도 30~1,800 MPN/m<sup>3</sup>와 공기중 진균수 측정값인 교실 32~391 MPN/m<sup>3</sup>, 복도 83~225 MPN/m<sup>3</sup>와 비교하여 최대값 기준 세균은 3.5배, 진균은 2.5배 정도 더 높았으나, 유치원의 실내에서 계절별로 측정된 공기중 세균수의 최대값인 4,149 MPN/m<sup>3</sup>와 진균수의 최대값 1,888 MPN/m<sup>3</sup>와 비교할 때 교실 최대값 기준 세균은 1.8배, 진균은 4.9배 더 낮았다(1, 4). 조사 대상인 초등학교 2학년 교실의 경우 오후 1시에 모든 일과가 종료되어 방과 후 포집시간(오후 4시)에는 학생이 교실에 없는 상태였으며, 방과 후와 방학 중에 측정된 공기중 세균과 미세먼지의 농도는 수업시간과 점심시간의 측정값에 비해 현저히 낮았다. 사람의 활동, 통행 등에 의한 교란이 공기중 미생물 농도에 많은 영향을 미치며, 이러한 교란은 진균보다는 세균의 농도에 더 많은 영향을 주는 것으로 생각된다. 따라서 중고등학교에서의 연구 결과에서 제안된 바와 같이(1), 실

Table 2. Tentative identification of airborne fungi (BG-E, SH-E and SJ-E)

Sampling location and situation (# of colonies examined)		Identification (# of colonies)	
Classroom (90)	At class (38)	<i>Cladosporium</i> spp. (11)	<i>Curvularia</i> spp. (1)
		<i>Aspergillus</i> spp. (9)	<i>Fusarium</i> spp. (1)
		<i>Penicillium</i> spp. (6)	<i>Trichoderma</i> spp.(1)
		<i>Acremonium</i> spp.(2)	<i>Ulocladium</i> spp. (1)
		<i>Mucor</i> spp. (2)	Unidentified (4)
	At lunchtime (29)	<i>Cladosporium</i> spp. (9)	<i>Scopulariopsis</i> spp. (1)
		<i>Penicillium</i> spp. (5)	<i>Stachybotrys</i> spp. (1)
		<i>Aspergillus</i> spp. (2)	<i>Trichoderma</i> spp. (1)
		<i>Paecilomyces</i> spp. (2)	yeast (3)
		<i>Alternaria</i> spp. (1)	Unidentified (3)
	After class (23)	<i>Cladosporium</i> spp. (11)	<i>Botrytis</i> spp. (1)
		<i>Penicillium</i> spp. (4)	<i>Stachybotrys</i> spp. (1)
<i>Acremonium</i> spp. (1)		yeast (1)	
<i>Aspergillus</i> spp. (1)		Unidentified (3)	
Corridor (124)	At class (41)	<i>Cladosporium</i> spp. (22)	<i>Acremonium</i> spp.(1)
		<i>Aspergillus</i> spp. (4)	<i>Alternaria</i> spp. (1)
		<i>Penicillium</i> spp. (4)	<i>Paecilomyces</i> spp. (1)
		<i>Aureobasidium</i> spp. (2)	<i>Trichoderma</i> spp. (1)
		<i>Ulocladium</i> spp. (2)	Unidentified (3)
	At lunchtime (44)	<i>Cladosporium</i> spp. (12)	<i>Curvularia</i> spp. (1)
		<i>Aspergillus</i> spp. (10)	<i>Mucor</i> spp. (1)
		<i>Penicillium</i> spp. (8)	<i>Paecilomyces</i> spp. (1)
		<i>Alternaria</i> spp. (2)	yeast (3)
		<i>Ulocladium</i> spp. (2)	Unidentified (3)
	After class (39)	<i>Cladosporium</i> spp. (16)	<i>Scopulariopsis</i> spp. (1)
		<i>Aspergillus</i> spp. (8)	<i>Ulocladium</i> spp. (1)
<i>Penicillium</i> spp. (5)		yeast (1)	
<i>Fusarium</i> spp. (2)		Unidentified (3)	
<i>Paecilomyces</i> spp. (2)			

내환경에서 공기중 미생물 농도에 관한 기준이 8시간 혹은 24시간 평균값으로 제시되거나 활동시간과 방과후 시간을 구분하는 세심한 기준이 마련되어야 하며, 이를 위한 저용량 연속적 시료 채취 혹은 실시간 미생물 농도 측정법의 개발이 필요하다고 판단된다. 한편, 외국의 여러 학교를 대상으로 행한 공기중 세균 농도에 대한 여러 측정 결과는 7~19,500 CFU/m<sup>3</sup>의 범위에 속하였으며(9, 22), 국내 종합병원의 세균 농도에 대한 연구자들의 조사 결과는 128~971 CFU/m<sup>3</sup>의 범위에 속하였다(2, 3). 진균의 경우, 스웨덴의 96개 교실에서 측정된 농도는 평균이 500 CFU/m<sup>3</sup>, 최대값이 4,500 CFU/m<sup>3</sup>이었고, 미국 Connecticut주의 2개

초등학교에서 측정된 진균 포자의 농도는 2,000~50,000 spore/m<sup>3</sup>의 범위였다(9, 22). 미국 전역의 1,717개 빌딩을 대상으로 행한 연구에서 진균 농도의 중간값(median)은 실내 82 CFU/m<sup>3</sup>, 실외 540 CFU/m<sup>3</sup> 수준이었다(24). 현재 국내 다중이용시설 등의 실내 공기질관리법에서 총부유세균에 대한 실내공기질 유지기준은, 의료기관, 보육시설 등에서 800 CFU/m<sup>3</sup> 이하로 설정되어 있으며, 공기중 진균과 관련한 항목은 언급이 없다.

초등학교의 교실과 복도에서 공기중 그람양성 세균은 전체 순수배양의 84%, 그람음성은 전체의 16% 수준이었고, *Micrococcus* 속이 가장 많아 동정시험을 행한 순수배양의 61%를 차지하였으

며, 동정된 *Micrococcus* 속의 75%는 *M. luteus*, 20%는 *M. roseus*로 확인되었다. 중고등학교 대상의 조사에서도 그람양성 세균은 공기중 세균 집락의 62~91%였으며, 전체의 60%는 *Micrococcus* 속으로 동정되었다(1). 유치원의 경우 *Micrococcus* 속이 공기중 세균 집락의 37%로 가장 많이 분포하였다(4). *Micrococcus* 속이 방과 후에는 검출되지 않았으며, 이 속이 사람 피부 자연미생물상의 일부임을 고려할 때(15), 실내 공기중 *Micrococcus* 속의 주요 발생원이 사람이라고 간주할 수 있다. 미국의 2개 초등학교에서 행한 연구는, 세균수와 이산화탄소 농도 사이에 유의성이 있는 상관관계가 있으며, 교실에서 공기중 세균의 주요 오염원이 학생과 교사임을 제안하고 있다(14). 또한 *Micrococcus* 속의 생리적 특성이 공기중에서 생존을 용이하게 할 수도 있는데, *M. luteus*, *M. roseus* 등의 세균이 지니는 노란 색이나 주황색의 색소가 자외선에 대한 저항성을 증가시키며 높은 세포벽 함량이 건조 조건에서의 높은 내성을 가능하게 할 수 있다. 사람의 활동이 많은 중국 베이징의 실외 공기에서도 *Micrococcus* 속이 전체 세균의 20~30%로 가장 우점하며, *Staphylococcus* 속, *Bacillus* 속, *Corynebacterium* 속 등이 그 뒤를 잇는 것으로 보고하고 있다(10). 폴란드 주택에서의 조사 결과는, 그람양성의 *Micrococcus* 속, *Kocuria* 속, *Staphylococcus* 속은 모든 대상 주택에서, *Bacillus* 속은 90%의 주택에서 확인되었으며, 그람음성의 *Pseudomonas* 속은 80%에서, *Aeromonas* 속은 40%에서 출현하였음을 보여준다(12). 한편 국내 병원의 경우, 정과 백(2)의 연구에서는 *Staphylococcus* 73%, *Micrococcus* 21%, *Lactobacillus* 5% 등의 순서였고, 조 등(3)은 *Staphylococcus* 58%, *Micrococcus* 21%, *Enterococcus* 10%, *Bacillus* 7%로 보고하고 있어, *Micrococcus* 속이 가장 많이 검출되는 학교 실내와 차이를 보이고 있다.

본 연구에서 초등학교 교실과 복도의 공기중 진균은 *Cladosporium* 속, *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속이 전체 동정 시험한 집락의 69%를 차지하였고, 이중 *Cladosporium* 속은 전체의 38%로 가장 많았다. 이전 중·고등학교에서 포집한 공기중 진균의 동정 결과에서도 유사한 경향을 보여주는데, 이들 3속이 전체의 77%였으며, *Cladosporium* 속은 48%를 차지하였다(1). *Aspergillus* 속과 *Penicillium* 속에 속하는 일부 진균은 생산하는 독소와 관련하여 많은 관심의 대상이 되며, 진균독소의 예로는 citrinin, gliotoxin, patulin과 주로 *A. versicolor*가 만드는 sterigmatocystein이 있다(6, 11). 또한 1개 초등학교의 교실에서 *Stachybotrys* 속이 검출된 사실은 특히 주목할 필요가 있는데, *Stachybotrys* 속의 *S. chartarum*은 오염된 실내 환경에서 분리되는 진균 중, satratoxin G, satratoxin H를 포함한 많은 진균독소를 생산하는 것으로 잘 알려져 있다(6). 미국 1,717개 건물에서의 조사 결과를 살펴보면, 가장 많이 분리되는 진균인 *Cladosporium* 속, *Penicillium* 속, *Aspergillus* 속의 경우, 실내에서는 각각 조사 대상의 86%, 80%, 62% 건물에서 확인되었고, 농도의 중간값은 각각 40 CFU/m<sup>3</sup>, 30 CFU/m<sup>3</sup>, 20 CFU/m<sup>3</sup>이었으며, 실외에서의 검출 빈도는 각각 92%, 77%, 49%, 농도 중간값은 각각 200 CFU/m<sup>3</sup>, 50 CFU/m<sup>3</sup>, 20 CFU/m<sup>3</sup>로 나타나, *Cladosporium* 속이

실외에 가장 널리 분포하는 진균임을 보여준다(24). 같은 연구에서 공기중 *Stachybotrys chartarum*은 실내의 경우 조사한 건물의 6%, 실외의 경우 1%에서 확인되었다(24). 호텔을 대상으로 한 연구에서는, 실내공기질의 문제가 제기된 객실에서는 *Penicillium* 속이 높은 농도로 존재하였지만, 그렇지 않은 객실에서는 실외에 서처럼 주로 *Cladosporium* 속이 많은 것으로 나타났다(16). 본 연구에서는 진균의 검출과 동정에 순수분리, 배양과 이를 통한 집락, 포자낭 등의 형태상의 특징에 기초한 방법을 적용하였다. 독소생산과 관련한 *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속, *Stachybotrys* 속 및 가장 많이 분포하는 *Cladosporium* 속에 대한 종 수준에서의 형태적, 분자적 동정, 분리한 진균의 독소생산능력, 공기중 진균독소 검출 및 진균수와와의 상관관계 분석 등에 대한 보다 체계적인 연구가 필요하다고 판단된다. 미생물은 적절한 조건이 주어지면 건축 자재나 실내 표면에서 성장하여 지속적인 오염을 일으킬 수 있는데, 독소 생산 가능성이 있는 이러한 진균이 주로 외부로부터 유입되는 실외 공기에 존재하는 것인지 실내 표면에 이미 부착하여 서식하는 것인지를 확인할 필요도 있다.

## 감사의 말

본 연구는 울산대학교의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

## 참고문헌

1. 이아미, 김나영, 김소연, 김종설. 2005. 학교 실내환경에서 공기중 미생물의 분포 및 특성. 미생물학회지 41, 188-194.
2. 정선희, 백남원. 1998. 일부 병원 실내에서의 공기 중 미생물 오염에 관한 연구. 한국산업위생학회지 8, 231-241.
3. 조현중, 홍경심, 김지훈, 김현욱. 2000. 일부 종합병원 내 영역별 공기 중 미생물 평가. 한국산업위생학회지 10, 115-125.
4. 황광환, 이아미, 신현진, 김종설. 2003. 유치원의 실내환경에서 공기중 미생물 수의 계절적 변화. 미생물학회지 39, 253-259.
5. Atlas, R.M. and L.C. Parks. 1996. Handbook of microbiological media. CRC press, Boca Raton, Florida, USA.
6. Brasel, T.L., J.M. Martin, C.G. Carriker, S.C. Wilson, and D.C. Straus. 2005. Detection of airborne *Stachybotrys chartarum* macrocyclic trichothecene mycotoxins in the indoor environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 7376-7388.
7. Burge, H.A., D.L. Pierson, T.O. Groves, K.F. Strawn, and S.K. Mishra. 2000. Dynamics of airborne fungal populations in a large office building. *Curr. Microbiol.* 40, 10-16.
8. Cooley, J.D., W.C. Wong, C.A. Jumper, and D.C. Straus. 1998. Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. *Occup. Environ. Med.* 55, 579-584.
9. Daisey, J.M., W.J. Angell, and M.G. Apte. 2003. Indoor air quality, ventilation and health symptoms in schools: an analysis of existing information. *Indoor Air* 13, 53-64.
10. Fang, Z., Z. Ouyang, H. Zheng, X. Wang, and L. Hu. 2007. Culturable airborne bacteria in outdoor environments in Beijing, China. *Microb. Ecol.* (in press).
11. Fischer, G. and D. Wolfgang. 2003. Relevance of airborne fungi

- and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Arch. Microbiol.* 179, 75-82.
12. Gorny, R.L. and J. Dutkiewicz. 2002. Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. *Ann. Agric. Environ. Med.* 9, 17-23.
  13. Higgins, J.A., M. Cooper, L. Schroeder-Tucker, S. Black, D. Miller, J.S. Kams, E. Manthey, R. Breeze, and M.L. Perdue. 2003. A field investigation of *Bacillus anthracis* contamination of U.S. Department of Agriculture and other Washington, D.C., buildings during the anthrax attack of October 2001. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 593-599.
  14. Liu, L.J., M. Kraemer, A. Fox, C.E. Feigley, A. Featherstone, A. Saraf, and L. Larsson. 2000. Investigation of the concentration of bacteria and their cell envelope components in indoor air in two elementary schools. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 50, 1957-1967.
  15. Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2003. Biology of microorganisms, 10th ed., p. 729. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA.
  16. McGrath, J.J., W.C. Wong, J.D. Cooley, and D.C. Straus. 1999. Continually measured fungal profiles in sick building syndrome. *Curr. Microbiol.* 38, 33-36.
  17. Meklin, T., A. Hyvarinen, M. Toivola, T. Reponen, V. Koponen, T. Husman, T. Taskinen, M. Korppi, and A. Nevalainen. 2003. Effect of building frame and moisture damage on microbiological indoor air quality in school buildings. *AIHA J.* 64, 108-116.
  18. Meklin, T., T. Husman, A. Vepsalainen, M. Vahteristo, J. Koivisto, J. Halla-Aho, A. Hyvarinen, D. Moschandreas, and A. Nevalainen. 2002. Indoor air microbes and respiratory symptoms of children in moisture damaged and reference schools. *Indoor Air* 12, 175-183.
  19. Mohr, A.J. 1997. Fate and transport of microorganisms, p. 641-650. In C.J. Hurst, G.R. Knudsen, M.J. McInerney, L.D. Stetzenbach, and M.V. Walter (ed.), Manual of environmental microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
  20. Murray, R.G.E., R.N. Doetsch, and C.F. Robinow. 1994. Determinative and cytological light microscopy, p. 21-41. In P. Gerhardt, R.G.E. Murray, W.A. Wood, and N.R. Krieg (ed.), Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
  21. Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, and O. Filtenborg. 2002. Introduction to food- and airborne fungi, 6th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands.
  22. Santilli, J. and W. Rockwell. 2003. Fungal contamination of elementary schools: a new environmental hazard. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 90, 203-208.
  23. Sebastian, A. and L. Larsson. 2003. Characterization of the microbial community in indoor environments: a chemical-analytical approach. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3103-3109.
  24. Shelton, B.G., K.H. Kirkland, and W.D. Flanders. 2002. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1743-1753.
  25. Smedje, G., D. Norback, and C. Edling. 1997. Asthma among secondary schoolchildren in relation to the school environment. *Clin. Exp. Allergy* 27, 1270-1278.
  26. Verhoeff, A.P. and H.A. Burge. 1997. Health risk assessment of fungi in home environments. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 78, 544-554.
  27. Watanabe, T. 1994. Pictorial atlas of soil and seed fungi-morphology of cultured fungi and key to species. CRC press, Boca Raton, Florida, USA.

(Received June 22, 2007/Accepted September 11, 2007)

#### ABSTRACT: Isolation and Characterization of Airborne Bacteria and Fungi in Indoor Environment of Elementary Schools

Na Yeong Kim<sup>1</sup>, Young Ran Kim<sup>1</sup>, Min Kyu Kim<sup>2</sup>, Du Wan Cho<sup>2</sup>, and Jongseol Kim<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Graduate School of Education and <sup>2</sup>Department of Biological Science, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea)

Indoor airborne bacterial and fungal concentrations were examined at classrooms and corridors of 3 elementary schools in Ulsan. Airborne microorganisms were collected with an impaction-type air sampler using plate count agar and dichloran rose bengal chloramphenicol agar. During the semester, concentrations of bacteria ranged 168~3,887 MPN/m<sup>3</sup> at classrooms and 168~6,339 MPN/m<sup>3</sup> at corridors, while those of fungi ranged 34~389 MPN/m<sup>3</sup> at classrooms and 91~507 MPN/m<sup>3</sup> at corridors. The bacterial concentrations showed larger variations between situations and schools compared to those of fungi. When airborne bacteria were isolated and identified, 84% were observed as Gram-positive, and *Micrococcus* spp. was the most abundant group with 61% of tested isolates, followed by genus *Staphylococcus* with 10%. The *Micrococcus* spp. isolates, of which 75% were identified as *M. luteus*, appeared to be from human origins. The protective pigments and substantial cell wall of *Micrococcus* may provide selective advantage for their survival in the air. We also isolated and identified 15 genera of filamentous fungi. The most common culturable fungi were *Cladosporium*, *Aspergillus* and *Penicillium*, and these 3 genera were 69% of fungal isolates. Genus *Stachybotrys*, of which *S. chartarum* is a well known producer of many potent mycotoxins, was also detected from one of the schools. Further systematic studies are necessary with an emphasis on species identification and mycotoxin production of isolated fungal genera, including *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Stachybotrys*.