

퇴비화 시설과 매립장에서 배양 가능한 공기중 미생물의 분포 및 특성

이보라 · 차민주 · 정춘수 · 김종설*

울산대학교 자연과학대학 생명과학부

Distribution and Characteristics of Culturable Airborne Microorganisms in Composting Facility and Landfill

Bora Lee, Min Ju Cha, Choon Soo Jeong, and Jongseol Kim*

Department of Biological Science, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Republic of Korea

(Received December 15, 2011 / Accepted March 12, 2012)

Bioaerosols generated from composting facilities and landfills may create health risks for workers and nearby residents. To determine the levels of culturable airborne bacteria and fungi in bioaerosols, samples were seasonally collected at a composting facility and a landfill in Ulsan, Korea with an impaction-type sampler. Concentrations of heterotrophic bacteria averaged (in MPN/m³) 6.5×10^3 (range 1.5×10^2 – 1.5×10^4) in the composting facility and 3.9×10^3 (range 6.0×10^1 – 9.3×10^3) at the entrance of the facility. These concentrations were 460 and 280 times higher than those of reference sites. Coliform bacteria were detected both inside and entrance of the facility. On the landfill, heterotrophic bacterial concentrations averaged (in MPN/m³) 4.9×10^2 (range 1.7×10^2 – 1.0×10^3), while they averaged 3.7×10^2 (range 4.8×10^1 – 1.3×10^3) at the parking lot of the landfill. These concentrations were 35 and 26 times higher than those of reference sites. When we isolated and tentatively identified heterotrophic bacteria, *Pseudomonas luteola* was the most dominant species in bioaerosols from the composting facility, whereas the most abundant one in reference samples was *Micrococcus* sp. Average concentrations of airborne fungi were measured between 4.8×10^2 and 7.9×10^2 MPN/m³ depending on sites, which were 2.1–3.4 times higher compared to those of reference sites. While *Cladosporium*, *Alternaria*, and *Penicillium* were commonly identified fungal genera, genus *Aspergillus* was identified only in bioaerosols from the composting facility.

Keywords: airborne bacteria, airborne fungi, bioaerosol, composting facility, landfill

공기중 미생물은 감염, 알레르겐으로 작용, 독소 생산, 염증 반응 유발 등을 통해 사람의 건강에 나쁜 영향을 준다(Fischer and Dott, 2003). Bioaerosol에 의한 이들 증상은 대부분 사상성 진균, 호열성 방선균, 그람음성 세균, 그리고 바이러스가 원인으로 알려져 있다(Fischer and Dott, 2003; Fracchia *et al.*, 2006). 퇴비화와 매립은 소각과 함께 고형 폐기물 처리의 주요 수단이며, 이중 퇴비화는 음식물 쓰레기와 같은 유기성 폐기물을 농업이나 조경에 사용할 수 있는 퇴비로 전환하는 생물학적 처리과정이다. 퇴비화 시설과 매립장에서 미생물과 악취의 방출은 인접한 지역 주민의 민원을 초래하고 있으며, 특히 작업자에게 건강상 위협의 요인이 될 수 있다(Heldal *et al.*, 2003; Hérox *et al.*, 2004; Bünger *et al.*, 2007).

퇴비화 시설에서 발생하는 bioaerosol에 대한 연구 주제는 건강 위해성 평가 및 역학 조사, 발생원에서의 거리와 풍향에 따른 세균과 진균의 분포 분석, 퇴비화 공정 및 진행 기간에 따른 미생물 농도의 변화 분석 등이 있다(Millner *et al.*, 1977; Clark *et al.*, 1983; Syzdek and Haines, 1995; Fischer *et al.*, 1999; Hryhorczuk *et al.*, 2001; Recer *et al.*, 2001; Fischer and Dott, 2003; Heldal *et al.*, 2003; Hérox *et al.*, 2004; Fracchia *et al.*, 2006; Albrecht *et al.*, 2007; Bünger *et al.*, 2007; Byeon *et al.*, 2008; Grisoli, *et al.*, 2009; Persoons *et al.*, 2010). 퇴비화 시설의 경우 *Aspergillus fumigatus*와 같은 사상성 진균을 대상으로 한 연구 결과가 많이 발표되고 있는데, *A. fumigatus*는 알레르겐이나 기회적 병원체로 작용하며 진균 독소(mycotoxin) 생성도 알려져 있다(Millner *et al.*, 1977; Clark *et al.*, 1983; Syzdek and Haines, 1995; Fischer *et al.*, 1999; Fischer and Dott, 2003). *A. fumigatus*은 퇴비화 시설과 540 m 거리를 둔 주택가에서 최대

*For correspondence. E-mail: jkim@ulsan.ac.kr; Tel.: +82-52-259-2387; Fax: +82-52-259-1694

1.4×10⁴ CFU/m³ 농도로 검출되기도 하였다(Syzdek and Haines, 1995; Fischer *et al.*, 1999). 국내에서도 환경처리 시설에서 공기중 미생물의 분포에 관한 연구 결과가 발표되고 있지만, 퇴비화 시설과 매립장에서 공기중 미생물의 특성에 대한 정보는 여전히 부족한 실정이다(Byeon *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2011).

일반적으로 사람들은 공기중 미생물을 감기, 인플루엔자, 결핵 등과 같이 주로 호흡기관을 통해 전파되는 질병과 연관 짓는다. Bioaerosol 발생이 많은 환경처리 시설에서 미생물학적 공기질의 평가는 작업자 및 주민의 건강보호를 위해서 꼭 필요하다. 이전 연구에서는 하수처리시설의 공기중 미생물 분포에 대한 결과를 발표하였다(Park *et al.*, 2011). 본 연구에서는 울산시에 위치한 퇴비화 시설과 매립장을 대상으로 bioaerosol의 계절별 농도 수준, 검출되는 공기중 세균과 진균의 특성, 지표미생물의 분포 등을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

Bioaerosol의 포집

현재 운영중인 울산광역시 소재의 음식물 쓰레기 퇴비화 시설(JG-CF)과 퇴비화 시설의 외부 출입구(Entrance-CF), 그리고 생활폐기물 매립장(SA-Landfill)과 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 계절별로 bioaerosol 시료를 포집하였다. 이들 시설의 채취 지점은 지도상에서 모두 반경 200 m의 원내에 위치하며, 매립장 주차장은 퇴비화 시설과 매립장에서 각각 100 m 거리에 위치한다(Fig. 1). 또한 이들 시설에서의 측정값과 비교하기 위해 태화강역(Taewha Station)과 울산대학교(Univ. Ulsan)에서도 bioaerosol 시료를 포집하였다(Fig. 1).

봄 bioaerosol 시료 채취는 2009년 4월 20일에서 22일, 여름 시료 채취는 7월 20일에서 28일, 가을 시료 채취는 10월 16일에

서 26일, 그리고 겨울 시료 채취는 2010년 1월 18일에서 22일까지 진행하였다. Bioaerosol 시료의 채취에는 미생물용 충돌식 공기 채취기(air-IDEAL, bioMérieux, France)를 이용하였으며, 지면으로부터 1.5 m의 높이에서 30 L와 300 L의 공기시료를 흡입시켜 미생물을 포집하였다(Buttner *et al.*, 1997). 계절별 비교를 위해 사계절 모두 동일한 지점에서 10-15시 사이에 포집하였고, 비가 올 경우 실외에서의 bioaerosol 포집은 하지 않았다. 채취 시 채취 지점의 온도와 상대습도를 기록하였으며, 풍향과 풍속은 측정하지 않았다.

공기중 세균과 진균의 분포

배양이 가능한 공기중 세균수와 진균수의 측정은 각각 plate count agar와 dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar를 사용하여 행하였다(Atlas and Parks, 1996). 시료의 채취 후, plate count agar는 35℃에서 24시간 배양 후 생겨난 집락을 계수하였고, DRBC agar는 25℃에서 72시간 배양 후 나타난 집락을 계수하였다.

공기중 세균수와 진균수는 30 L 혹은 300 L 공기를 흡입하여 포집한 배지의 집락수를 공기 채취기 제조사의 매뉴얼에 따라 공기 1 m³에 존재하는 최적확수치(most probable number, MPN)로 환산하여 구하였다. 여기서 MPN은 통계적으로 얻어진 값으로 단위 부피에 존재하는 미생물의 수를 나타낸다.

Bioaerosol에 포함된 대장균군의 수는 eosin methylene blue (EMB) agar를 사용하여 측정하였다(Atlas and Parks, 1996). 시료의 채취 후, 35℃에서 48시간 배양 후 생겨난 집락을 계수하였고, 300 L 공기를 흡입하여 포집한 배지의 집락수를 공기 채취기 제조사의 매뉴얼에 따라 공기 1 m³에 존재하는 MPN값으로 환산하여 구하였다.

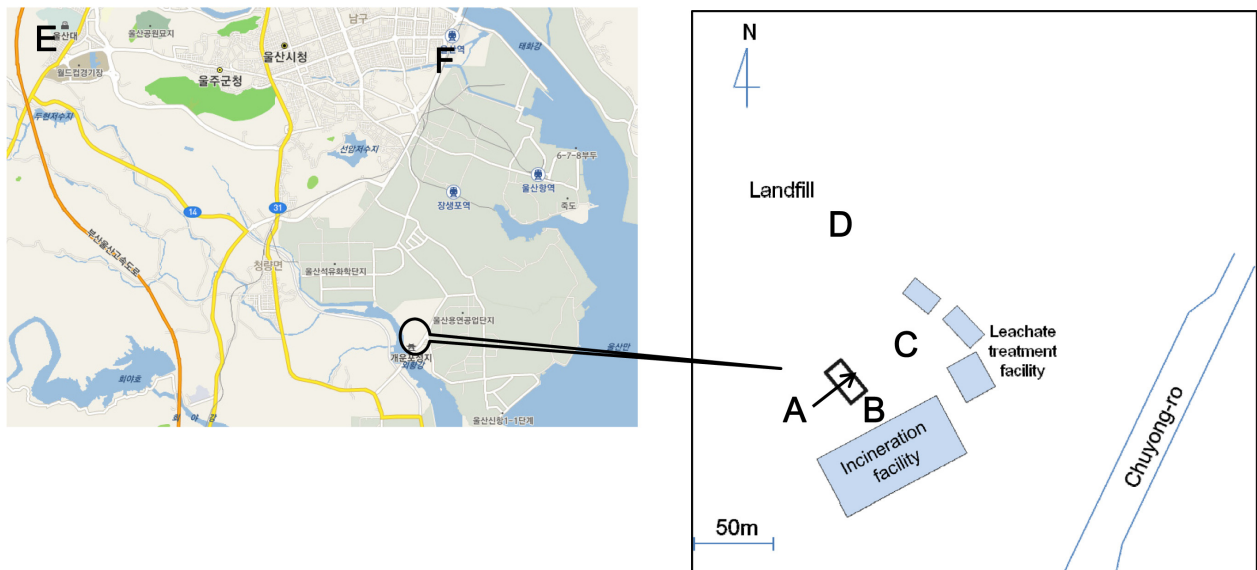


Fig. 1. Map showing sampling locations, JG-CF (A), Entrance-CF (B), SA-Landfill (C), PL-Landfill (D), Univ. Ulsan (E), and Taewha Station (F).

Table 1. Temperature and relative humidity at sampling locations

Sampling location	Temperature (°C)				Relative humidity (%)			
	Spring	Summer	Fall	Winter	Spring	Summer	Fall	Winter
JG-CF	16	28	25	15	90	85	39	45
Entrance-CF	16	24	24	20	90	92	49	44
SA-Landfill	23	22	21	4	47	92	52	55
PL-Landfill	22	22	22	5	46	92	46	48
Taewha Station	21	23	8	11	37	84	41	58
Univ. Ulsan	-	23	24	12	-	84	43	40

공기중 세균의 순수배양 및 동정

세균수의 측정에 사용한 plate count agar에 생겨난 집락을 대상으로 순수배양 및 표현형에 기초한 동정 실험을 행하였다. 계절 및 채취 지점별로 세균수 측정시 접종한 plate 중 임의의 1개 plate를 선정하고, 여기서 생겨난 집락 중 임의의 10개 집락을 plate count agar에 접종하여 최초 분리하였다. 동일 배지에 계대 배양하여 순수분리한 후, 그람염색과 현미경 관찰을 통해 세균의 형태적 특징을 조사하였다(Murray et al., 1994). 분리한 세균은 API Staph kit, API 20NE kit (bioMérieux)을 사용하여 잠정적으로 동정하였으며, 동정확률(% id)이 90% 이상인 균종을 선택하여 동정된 것으로 간주하였다.

진균의 순수배양 및 동정

봄과 여름에 포집한 bioaerosol에서 검출된 진균을 대상으로 순수배양 및 동정 실험을 진행하였다. 채취 지점별로 진균수의 측정에 사용한 DRBC agar에 생겨난 집락을 대상으로 임의의 10개 집락을 DRBC agar에 일차 접종한 후, 생겨난 집락을 동일 배지에 계대 배양하여 순수배양을 얻었다. 진균 분리 균주는, 집락의 색과 모양 등 형태적 특징과 lactophenicol cotton blue로 염색 후 현미경으로 관찰한 포자낭의 형태적 특징에 기초하여 속 수준까지 잠정적으로 동정하였다(Watanabe, 1994; Samson et al., 2002).

결과

시료 채취 지점의 온도와 습도

시료 채취 지점의 온도와 상대습도를 Table 1에 정리하였다. 퇴비화 시설(JG-CF)과 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서의 온도는 각각 15–28°C, 16–24°C 이었고, 상대습도는 퇴비화 시설(JG-CF)에서 39–90%, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 44–92% 이었다(Table 1). 매립장(SA-Landfill)과 매립장 주차장(PL-Landfill)의 경우 온도는 각각 4–23°C와 5–22°C의 범위였고, 상대습도는 각각 47–92%와 46–92%의 범위였다(Table 1).

공기중 세균의 분포

Plate count agar의 세균 집락수에 기초하여 구한 봄–겨울 계절별 공기중 세균 농도를 Figs. 2A–2D에 나타내었다. 계절별 공기중 세균의 농도는 퇴비화 시설(JG-CF)에서 $1.5(\pm 0.7) \times 10^2$ –

$1.5(\pm 0.3) \times 10^4$ MPN/m³, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 $6.0(\pm 0.3) \times 10^1$ – $9.3(\pm 5.4) \times 10^3$ MPN/m³의 범위였으며, 매립장(SA-Landfill)과 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 계절별 공기중 세균 농도는 각각 $1.7(\pm 0.9) \times 10^2$ – $1.0(\pm 0.4) \times 10^3$ MPN/m³와 $4.8(\pm 1.5) \times 10^1$ – $1.3(\pm 0.1) \times 10^3$ MPN/m³의 범위였다(Fig. 2). 계절별 공기중 세균 농도를 서로 비교할 경우, 봄철 측정값은 퇴비화 시설 출입구를 제외한 나머지 지점에서 가장 높았으며, 가을 측정값은 모든 지점에서 가장 낮았다. 대조군 지점의 공기중 세균 농도는 계절에 따라 태화강역에서 $1.2(\pm 0.7) \times 10^1$ – $2.7(\pm 0.0) \times 10^1$ MPN/m³, 울산대학교에서 $7.0(\pm 0.0) \times 10^0$ – $1.7(\pm 2.3) \times 10^1$ MPN/m³의 범위로 측정되었다(Fig. 2).

계절에 따라 측정된 공기중 세균 농도의 채취 지점별 평균값을 서로 비교해보면 퇴비화 시설(JG-CF)에서 6.5×10^3 MPN/m³로 가장 높았고, 다음으로 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)의 3.9×10^3 MPN/m³, 매립장(SA-Landfill)의 4.9×10^2 MPN/m³, 매립장 주차장(PL-Landfill) 3.7×10^2 MPN/m³의 순서였다(Fig. 2). 대조군 지점의 경우 태화강역은 평균 1.7×10^1 MPN/m³, 울산대학교는 1.2×10^1 MPN/m³이었다(Fig. 2). 퇴비화 시설의 공기중 세균 농도는 대조군 지점에 비해 평균값 기준으로 퇴비화 시설(JG-CF)에서는 460배, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서는 280배 정도 더 높은 수치였다(Fig. 2). 매립장(SA-Landfill)과 매

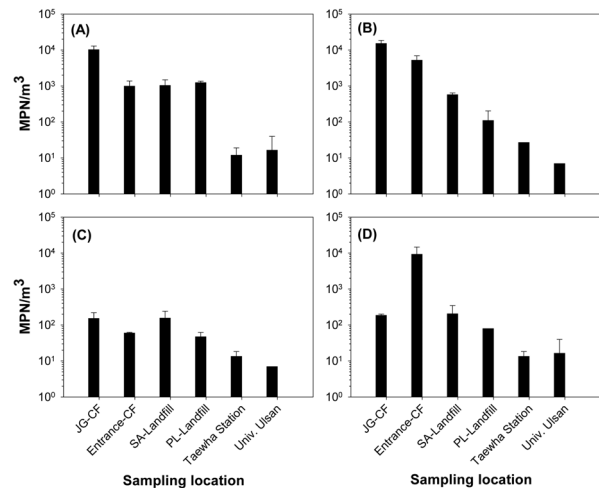


Fig. 2. Distribution of heterotrophic bacteria in bioaerosol samples collected at different locations. (A) spring, (B) summer, (C) fall, (D) winter.

립장 주차장(PL-Landfill)의 공기중 세균 농도는 대조군 지점에 비해 각각 35배와 26배 정도 더 높게 측정되었다(Fig. 2).

공기중 진균의 분포

DRBC agar의 진균 집락수에 기초하여 구한 봄-겨울 계절별 공기중 진균 농도를 Figs. 3A-3D에 나타내었다. 계절별 공기중 진균의 농도는 퇴비화 시설(JG-CF)에서 $5.6(\pm 0.5) \times 10^2 - 1.0(\pm 0.3) \times 10^3$ MPN/m³, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 $3.9(\pm 0.1) \times 10^2 - 6.9(\pm 0.6) \times 10^2$ MPN/m³의 범위였으며, 매립장(SA-Landfill)과 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 계절별 공기중 진균 농도는 각각 $2.4(\pm 1.4) \times 10^2 - 1.2(\pm 0.2) \times 10^3$ MPN/m³와 $1.6(\pm 0.4) \times 10^2 - 9.8(\pm 0.4) \times 10^2$ MPN/m³의 범위였다(Fig. 3). 대조군 지점의 공기중 진균 농도는 계절에 따라 태화강역에서 $1.2(\pm 0.5) \times 10^2 - 4.6(\pm 0.1) \times 10^2$ MPN/m³, 울산대학교에서 $1.6(\pm 0.3) \times 10^2 - 4.0(\pm 0.4) \times 10^2$ MPN/m³의 범위로 측정되었다(Fig. 3). 퇴비화 시설과 퇴비화 시설 출입구에서 계절에 따른 공기중 진균 농도의 차이는 최대 값이 최소값의 1.8배 수준으로 세균의 100배 수준과 비교할 때 크지 않았다.

계절에 따라 측정된 공기중 진균 농도의 채취 지점별 평균값을 서로 비교해보면 퇴비화 시설(JG-CF)에서 7.9×10^2 MPN/m³로 가장 높았고, 다음으로 매립장(SA-Landfill)의 7.2×10^2 MPN/m³, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)의 5.7×10^2 MPN/m³, 매립장 주차장(PL-Landfill)의 4.8×10^2 MPN/m³의 순서였다(Fig. 3). 대조군 지점의 공기중 진균 농도는 태화강역에서 평균 2.4×10^2 MPN/m³, 울산대학교에서 평균 2.3×10^2 MPN/m³이었다(Fig. 3). 퇴비화 시설(JG-CF)의 공기중 진균 농도는 대조군 지점에 비해 평균값 기준으로 3.4배 더 높았고, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서는 대조군 지점에 비해 2.4배 더 높았으며, 매립장(SA-Landfill)과 매립장 주차장(PL-Landfill)에서는 각각 대조군 지점의 3.1배와 2.1배 수준이었다(Fig. 3). 대조군 지점의 경우 공기중 진균의 평균 농도는 공기중 세균의 평균 농도보다 17배 정도 더 높았다(Figs. 2 and 3).

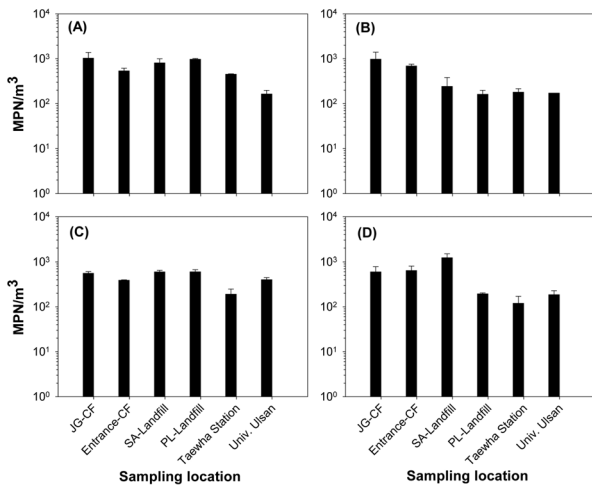


Fig. 3. Distribution of fungi in bioaerosol samples collected at different locations. (A) spring, (B) summer, (C) fall, (D) winter.

공기중 대장균군 세균의 분포

EMB agar에서 금속성 광택을 나타내는 집락수에 기초하여 구한 공기중 대장균군 세균(추정)의 농도를 Fig. 4에 나타내었다. 봄철 공기중 대장균군이 검출된 곳은 퇴비화 시설(JG-CF)과 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF), 그리고 매립장(SA-Landfill)이었으며, 여름은 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서만 검출되었다(Figs. 4A and 4B). 가을에 포집한 bioaerosol 시료에서는 공기중 대장균군이 검출되지 않았으며, 겨울에는 퇴비화 시설(JG-CF)과 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 검출되었다(Fig. 4C). 공기중 대장균군 세균이 검출된 지점에서의 최고 농도는 봄 퇴비화 시설(JG-CF)에서의 $2.6(\pm 0.9) \times 10^2$ MPN/m³이었다(Fig. 4). 검출된 대장균군 세균은 *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Ewingella Americana*, *Kluyvera* spp. 등으로 확인되었다. 대조군 지점에서는 공기중 대장균군이 검출되지 않았다.

공기중 세균의 순수배양 및 동정

공기중 세균 농도를 측정할 plate count agar에 생겨난 집락으로부터 퇴비화 시설(JG-CF), 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF), 매립장(SA-Landfill)에서 각각 40개, 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 37개, 대조군 지점에서 61개 등 218개 집락의 순수배양을 얻었다(Table 2). 이들 집락을 대상으로 그람 염색을 통해 형태적 특징을 관찰한 후 API kit를 이용하여 생리적, 생화학적 특징에 따른 동정 실험을 행하였으며, 14속 27종의 세균을 잠정적으로 확인하였다(Table 2).

퇴비화 시설(JG-CF)에서 분리한 40개 집락의 경우 그람양성 세균인 *Staphylococcus* 속이 13개로 가장 많았으며, 종별로는 *S. lentus* 7개, *S. xylosus* 3개, *S. aureus*, *S. cohnii*, *S. sciuri*가 각각 1개씩이었고, 다음으로 그람음성 세균인 *Pseudomonas luteola*가 11개, 그람양성의 *Micrococcus* sp.가 6개를 차지하였다(Table 2). 그 외 그람음성 세균인 *Burkholderia cepacia*, *Chryseobacterium indogenes*, *Kocuria varians/rosea*, *Pasteurella aerogenes*,

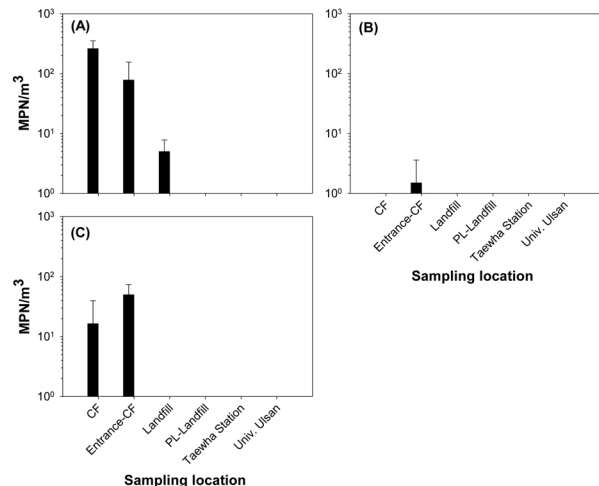


Fig. 4. Distribution of coliform bacteria in bioaerosol samples collected at different locations. (A) spring, (B) summer, (C) winter.

Table 2. Tentative identification of bacterial isolates from bioaerosol samples

Identification	No. of colonies					
	JG-CF	Entrance-CF	SA-Landfill	PL-Landfill	Taewha Station	Univ. Ulsan
<i>Micrococcus</i> sp.	6	6	11	12	11	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1				
<i>S. capitis</i>		1	4	5		
<i>S. chromogenes</i>						1
<i>S. cohnii</i>	1		2		1	
G(+) <i>S. epidermidis</i>				1		
<i>S. haemolyticus</i>		1				
<i>S. lentus</i>	7	7	1	3	3	12
<i>S. schleiferi</i>						1
<i>S. sciuri</i>	1	2			1	
<i>S. xylosum</i>	3	2		3		1
Sum[G(+)]	19	20	18	24	16	24
<i>Aeromonas salmonicida</i>		2	2			
<i>Brevundimonas vesicularis</i>				1		1
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	2	1	2		1
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1					
<i>C. meningosepticum</i>					1	
<i>Kocuria varians/rosea</i>	1	1		3		1
<i>Ochrobactrum anthropi</i>					1	
<i>Pasteurella aerogenes</i>	1	1				
G(-) <i>P. pneumotropica</i>			1			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			1	1		
<i>P. luteola</i>	11	7	10	3	2	6
<i>P. oryzihabitans</i>			1	2		
<i>P. stutzeri</i>					1	
<i>Rhizobium radiobacter</i>					1	
<i>Shewanella putrefaciens</i>		1				
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>						1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1		3		1	
Sum[G(-)]	16	14	19	12	7	10
Unidentified	5	6	3	1	3	1
Total	40	40	40	37	26	35

*Stenotrophomonas maltophilia*가 각각 1개씩이었으며, 나머지 5개 집락은 확인하지 못하였다(Table 2). 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 분리한 40개 집락의 경우도 퇴비화 시설(JG-CF)에서와 유사하게 *Staphylococcus* 속이 14개로 가장 많았고, 다음으로 *P. luteola* 7개, *Micrococcus* sp. 6개의 순서였다(Table 2). 그 외 *Aeromonas salmonicida*와 *B. cepacia*가 각각 2개, *K. varians/rosea*, *P. aerogenes*, *Shewanella putrefaciens*가 각각 1개씩이었으며, 나머지 6개 집락은 확인하지 못하였다(Table 2).

매립장(SA-Landfill)에서 분리한 40개 집락의 경우 *Pseudomonas*

속이 12개로 가장 많았는데, 종별로는 *P. luteola*가 10개, *P. aeruginosa*와 *P. oryzihabitans*가 각각 1개씩이었다(Table 2). *Micrococcus* sp.은 11개였고, *Staphylococcus* 속은 7개였는데, 종별로는 *S. capitis*가 4개, *S. cohnii*가 2개, *S. lentus*가 1개였다(Table 2). 그 외 그람음성의 *S. maltophilia*가 3개, *A. salmonicida*가 2개, *B. cepacia*와 *P. aerogenes*가 각각 1개씩이었으며, 나머지 3개 집락은 확인하지 못하였다(Table 2). 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 분리한 37개 집락의 경우 그람양성의 *Micrococcus* sp.와 *Staphylococcus* 속이 각각 12개였고, *Pseudomonas* 속은 6개로 *P. luteola* 3개, *P. oryzihabitans* 2개, *P. aeruginosa* 1개의 종별

Table 3. Tentative identification of fungal isolates from bioaerosol samples

Identification	No. of colonies					
	JG-CF	Entrance-CF	SA-Landfill	PL-Landfill	Taewha Station	Univ. Ulsan
<i>Acremonium</i>				2		2
<i>Alternaria</i>	1	3	3		1	4
<i>Aspergillus</i>	3	3				
<i>Cladosporium</i>	3	2	10	12	16	11
<i>Penicillium</i>	5	9	6	1		2
Unidentified	8	3	1	5	3	1
Total	20	20	20	20	20	20

분포를 보였다(Table 2). 그 외 *K. varians/rosea* 3개, *B. cepacia* 2개, *Brevundimonas vesicularis* 1개였으며, 나머지 1개 집락은 확인하지 못하였다(Table 2).

대조군 지점에서 분리한 61개 집락의 경우 *Micrococcus* sp. 와 *Staphylococcus* 속이 각각 20개였으며, *Staphylococcus* 속은 *S. lentus*가 15개, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. schleiferi*, *S. sciuri*, *S. xylosus*가 각각 1개씩의 분포를 나타내었다(Table 2). 그람음성 세균은 *Pseudomonas* 속의 *P. luteola*가 8개, *P. stutzeri* 가 1개였고, 그 외 *B. vesicularis*, *B. cepacia*, *C. meningosepticum*, *K. varians/rosea*, *Ochrobactrum anthropi*, *Rhizobium radiobacter*, *Sphingomonas paucimobilis*, *S. maltophilia*가 각각 1개씩 확인 되었다(Table 2).

퇴비화 시설(JG-CF)에서 그람양성 세균은 19개(48%)였고, 그람음성이 16개(40%)였으며, 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 그람양성은 20개(50%), 그람음성은 14개(35%)로 관찰되었다(Table 2). 매립장(SA-Landfill)에서 그람양성 세균과 그람음성 세균은 각각 18개(45%)와 19개(48%)였으나, 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 그람양성 세균과 그람음성 세균은 각각 24개(65%)와 12개(32%)로, 그람양성과 그람음성의 상대적인 분포에 차이가 있었다(Table 2). 대조군 시료에서 분리한 61개의 공기중 세균은 그람양성이 40개(66%), 그람음성이 17개(28%)였고, 4개(7%)는 확인하지 못하였다. 퇴비화 시설(JG-CF), 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)와 매립장(SA-Landfill)의 경우 대조군 지점과 비교하여 그람음성 세균이 상대적으로 더 높은 빈도로 분리되었다(Table 2).

공기중 진균의 순수배양 및 동정

봄과 여름에 공기중 진균수를 측정된 DRBC agar로부터 임의의 집락을 새로운 배지에 계대 배양하여 각 조사 지점별로 20개씩 모두 120개 진균 집락의 순수배양을 얻었으며, 5속의 사상성 진균을 확인하였다(Table 3). 퇴비화 시설(JG-CF)에서 분리한 20개 집락의 경우 *Penicillium* 속이 5개(25%)로 가장 많았고, *Aspergillus* 속과 *Cladosporium* 속이 각각 3개(15%), *Alternaria* 속이 1개의 분포였으며, 나머지 8개 집락은 확인하지 못하였다(Table 3). 퇴비화 시설 출입구(Entrance-CF)에서 분리한 집락의 경우에도 *Penicillium* 속이 9개(45%)로 가장 많았고, *Alternaria* 속과 *Aspergillus* 속이 각각 3개(15%), *Cladosporium* 속이 2개였으며, 3개의 집락은 확인하지 못하였다(Table 3).

매립장(SA-Landfill)의 경우 *Cladosporium* 속이 10개(50%), *Penicillium* 속이 6개(30%), *Alternaria* 속이 3개(15%)였으며, 이들 3속이 전체 집락의 95%를 차지하였다(Table 3). 매립장 주차장(PL-Landfill)에서 분리한 집락의 경우 *Cladosporium* 속 12개(60%), *Acremonium* 속 2개(10%), *Penicillium* 속 1개(5%)의 분포였고, 5개의 집락은 동정하지 못하였다(Table 3).

대조군 지점의 경우 27개(68%) 집락이 *Cladosporium* 속이었고, *Alternaria* 속이 5개(13%), *Penicillium* 속이 2개(5%)였으며, 4개 집락은 확인하지 못하였다(Table 3).

고찰

2009년 계절별로 bioaerosol의 분포를 조사한 연구에서, 퇴비화 시설과 시설 출입구의 공기중 세균 농도는 평균값이 각각 6.5×10^3 MPN/m³과 3.9×10^3 MPN/m³로 대조군 지점에 비해 각각 460배와 280배 더 높았다. 또한 매립장에서 공기중 세균의 평균 농도는 대조군 지점에 비해 35배 더 높은 수준이었다. 이는 퇴비화 시설과 매립장이 모두 공기중 세균의 주요 발생원이며, 퇴비화 시설이 매립장에 비해 단위 면적당 더 많은 bioaerosol을 발생함을 보여준다. 이들 발생원에서 100 m 거리에 위치한 매립장 주차장에서 공기중 세균 농도도 대조군 지점에 비해 평균값 기준으로 26배 더 높았다. 본 연구의 퇴비화 시설에서 측정된 공기중 세균 농도는 다른 퇴비화 시설에서 측정된 농도와 비교하여 특별히 더 높지는 않았다(Hryhorczuk et al., 2001; Fracchia et al., 2006; Albrecht et al., 2007; Byeon et al., 2008; Persoons et al., 2010). 국내 인천의 퇴비화 시설에서 6-stage sampler을 이용하여 측정된 미생물 농도는 6개 stage 모두 대략 10^4 CFU/m³ 수준이었다(Byeon et al., 2008). 미국 일리노이주 퇴비화 시설의 공기중 세균 농도는 퇴비 더미로부터 1-10 m 거리를 둔 지점에서 평균 1.2×10^4 CFU/m³로 측정되어, 시설로부터 100-290 m 거리를 둔 지점에서의 평균 3.2×10^3 CFU/m³와 비교하여 3.5배 더 높았다(Hryhorczuk et al., 2001). 독일의 한 퇴비화 시설에서 퇴비 더미를 뒤집을 때 측정된 공기중 세균 농도는 10^5 - 10^7 CFU/m³의 범위였고, 이탈리아에서 인접하여 위치한 규모가 다른 3개 퇴비화 시설에서 측정된 공기중 세균 농도는 시설에 따라 6.3×10^3 CFU/m³에서 $\geq 4.0 \times 10^4$ CFU/m³의 최대 농도를 보였다(Fracchia et al., 2006; Albrecht et al., 2007). 프랑스 퇴비화 시설의 경우 공기중 세균 농도는 작업장에서 평균

4.7×10^3 CFU/m³, 10–20 m 떨어진 지점에서 평균 2.1×10^2 CFU/m³로 측정되었다(Persoons et al., 2010).

퇴비화 시설과 시설 출입구에서 공기중 진균의 평균 농도는 각각 7.9×10^2 MPN/m³과 5.7×10^2 MPN/m³로 대조군 지점에 비해 3.4배와 2.4배 더 높았다. 매립장에서 공기중 진균의 평균 농도는 대조군 지점에 비해 3.1배, 매립장 주차장에서는 2.1배 더 높았다. 이는 세균과 마찬가지로 퇴비화 시설과 매립장이 공기중 진균의 발생원임을 의미한다. 하지만 대조군 지점에서 공기중 진균 농도는 세균 농도에 비해 평균 17배 정도 더 높으며, 높은 진균의 배경 농도에 따라 발생원과 대조군 지점 사이의 진균 농도 차이는 세균의 경우처럼 크지 않았다. 다른 퇴비화 시설에서 측정된 공기중 진균 농도를 살펴보면 미국 뉴욕주에 위치한 퇴비화 시설의 경우 *A. fumigatus*의 농도는 퇴비화 시설에서 550 – 560 CFU/m³, 540 m 지점에서 65 – 151 CFU/m³, 그리고 대조군 지점에서 27 – 44 CFU/m³을 나타내었다(Syzdek and Haines, 1995; Recer et al., 2001). 프랑스 퇴비화 시설의 경우 공기중 진균 농도의 기하 평균은 작업장에서 6.1×10^3 CFU/m³, 10–20 m 떨어진 지점에서 6.9×10^2 CFU/m³이었다(Persoons et al., 2010). 반면 미국 일리노이주 퇴비화 시설에서 퇴비 더미로부터 1–10 m 거리를 둔 지점에서 측정된 공기중 진균의 포자 농도는 평균 1.3×10^4 spore/m³로, 시설로부터 100–290 m 거리를 둔 지점에서의 평균 8.8×10^3 CFU/m³과 비교하여 1.5배 정도 많았지만 배양을 통해 측정된 공기중 진균 농도는 퇴비 더미로부터 1–10 m 거리를 둔 지점에서 3.1×10^3 CFU/m³로, 100–290 m 거리를 둔 지점의 8.7×10^3 CFU/m³과 비교하여 오히려 더 낮았다(Hryhorczuk et al., 2001).

물에서 분변오염의 지표가 되는 대장균군 세균이 봄, 여름, 겨울에 포집한 퇴비화 시설의 bioaerosol 시료에서 검출되었으며, *Enterobacter* spp., *Escherichia coli* 등으로 확인되었다. 또한 대조군 지점과 비교하여 내독소(endotoxin)을 지니는 그람음성 세균이 그람양성에 비해 더 높은 빈도로 검출되었다. 스웨덴의 퇴비화 시설에서 행한 연구에서 가장 빈번하게 검출되는 그람음성 세균은 *Klebsiella* 속, *Enterobacter* 속, *Serratia* 속, *Pseudomonas* 속 이었으며, 이탈리아의 조사에서는 *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*이 퇴비화 시설의 공기중에서 검출되었다(Clark et al., 1983; Fracchia et al., 2006).

본 연구의 퇴비화 시설(JG-CF)은 울산시 한 자치구의 음식물 쓰레기 자원화 시설의 일부로, 창고형의 건물 내에 혼합조정조, 고속발효조, 2차 혼합발효조, 후숙조 등이 위치하고 있다. 자원화 시설의 전체 처리 용량은 80톤/일이며, 음식물 쓰레기의 발생원에 따라 양질의 음식물 쓰레기로부터는 사료를 생산하고 저질의 음식물 쓰레기는 퇴비화를 통해 퇴비를 생산하는 방식으로 운영하고 있다. 퇴비화 과정이 창고형 건물의 실내에서 진행되기 때문에 불충분한 환기, 햇빛의 차단 등도 퇴비화 시설에서의 높은 공기중 세균 농도에 영향을 주는 것으로 보인다. 퇴비화 시설의 실내에서 작업할 경우 bioaerosol의 노출을 최소화하는 개인용 보호장비를 착용할 필요가 있다고 판단된다. 공기중 대장균군 세균이 퇴비화 과정에 유입되는 경로(음식물 쓰레기 혹은 혼합되는 하수처리 슬러지), 그리고 생산된 퇴비에서 대장균군

세균이 검출되는지의 여부에 대해서는 본 연구에서 확인하지 못하였다.

Penicillium 속, *Cladosporium* 속, *Alternaria* 속은 퇴비화 시설, 매립장, 그리고 대조군 지점에서 모두 확인되었으나 *Aspergillus* 속은 퇴비화 시설에서만 확인되었다. 퇴비화 시설에서 *A. fumigatus*의 검출과 이에 따른 진균 독소의 건강 위해성에 대한 여러 보고가 있다(Millner et al., 1977; Clark et al., 1983; Syzdek and Haines, 1995; Fischer et al., 1999; Fischer and Dott, 2003). 검출된 *Aspergillus* 속 진균의 종 수준의 동정이 필요하다 생각된다.

본 연구에서는 배양에 기초한 방법으로 공기중 세균과 진균의 농도를 조사하고 동정하였다. 환경시료에 존재하는 미생물 군집의 모든 개체군을 배양할 수 없다는 방법상의 한계를 고려할 때, 본 연구의 결과가 살아있는 공기중 미생물을 과소평가하였거나 미생물 군집의 주요 개체군을 반영하지 못하였을 가능성은 여전히 있으며 동정결과는 잠정적이다. 최근에는 배양에 의존하지 않는 DNA-based microbial source tracking 방법도 개발되어 bioaerosol의 발생원 확인에 이용하고 있다(Baertsch et al., 2007).

본 연구는 위해성 평가를 목적으로 하거나 역학적 조사를 염두에 두고 진행하지는 않았으며, 현재의 결과로 건강상의 위해성을 예단하기는 어렵다. 하지만 분변 오염의 지표미생물인 대장균군 세균이 퇴비화 시설의 공기중에서 검출되며 endotoxin을 지니는 그람음성의 세균이 상대적으로 높은 빈도로 검출된다는 점을 고려할 때 bioaerosol 노출에 의한 건강 위해성의 평가가 필요하다 판단된다.

적요

퇴비화 시설과 매립장에서 발생하는 bioaerosol은 작업자 및 주민에게 건강상 위해의 요인이 될 수 있다. 이들 시설에서 공기중 세균과 진균의 농도 수준을 파악하기 위해 울산시에 위치한 퇴비화 시설과 매립장에서 계절별로 bioaerosol 시료를 포집하였다. 공기중 세균의 농도는 퇴비화 시설에서 평균 6.5×10^3 (1.5×10^2 – 1.5×10^4) MPN/m³, 퇴비화 시설 출입구에서 평균 3.9×10^3 (6.0×10^1 – 9.3×10^3) MPN/m³이었는데, 이는 대조군 지점보다 각각 460배와 280배 더 높은 수준이었다. 대장균군 세균은 퇴비화 시설과 출입구에서 모두 검출되었다. 매립장에서 공기중 세균 농도는 평균 4.9×10^2 (1.7×10^2 – 1.0×10^3) MPN/m³이었고, 퇴비화 시설과 매립장에서 100 m 정도 떨어진 매립장 주차장에서는 평균 3.7×10^2 (4.8×10^1 – 1.3×10^3) MPN/m³이었으며, 이는 대조군 지점에 비해 각각 35배와 26배 더 높은 수준이었다. 공기중 세균을 분리하여 잠정적으로 동정한 결과 퇴비화 시설에서는 *Pseudomonas luteola*, 대조군 지점에서는 *Micrococcus* sp.가 우점하였다. 채취 지점별 공기중 진균의 농도는 평균 4.8×10^2 – 7.9×10^2 MPN/m³이었으며, 대조군 지점에 비해 2.1–3.4배 더 높은 수준이었다. 공기중 진균의 경우 *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*의 3속은 모든 지점에서 검출되었으며, *Aspergillus* 속은 퇴비화 시설의 bioaerosol에서만 확인되었다.

감사의 말

본 연구는 2009년 울산지역환경기술개발센터의 연구비 지원에 의해 수행되었음. 시료 채취에 도움을 주신 여러분께 감사의 말을 전합니다.

참고문헌

- Albrecht, A., Witzberger, R., Bernzen, U., and Jäckel, U.** 2007. Detection of airborne microbes in a composting facility by cultivation based and cultivation-independent methods. *Ann. Agric. Environ. Med.* **14**, 81–85.
- Atlas, R.M. and Parks, L.C.** 1996. Handbook of microbiological media. CRC press, Boca Raton, Florida, USA.
- Baertsch, C., Paez-Rubio, T., Viau, E., and Peccia, J.** 2007. Source tracking aerosols released from land-applied class B biosolids during high-wind events. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 4522–4531.
- Bünger, J., Schappler-Scheele, B., Hilgers, R., and Hallier, E.** 2007. A 5-year follow-up study on respiratory disorders and lung function in workers exposed to organic dust from composting plants. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **80**, 306–312.
- Buttner, M.P., Willeke, K., and Grinshpun, S.A.** 1997. Sampling and analysis of airborne microorganisms, pp. 629–640. In Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., and Walter, M.V. (eds.), Manual of Environmental Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
- Byeon, J.H., Park, C.W., Yoon, K.Y., Park, J.H., and Hwang, J.** 2008. Size distributions of total airborne particles and bioaerosols in a municipal composting facility. *Bioresour. Technol.* **99**, 5150–5154.
- Clark C.S., Rylander, R., and Larsson, L.** 1983. Levels of Gram-negative bacteria, *Aspergillus fumigatus*, dust, and endotoxin at compost plants. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**, 1501–1505.
- Fischer, G. and Dott, W.** 2003. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Arch. Microbiol.* **179**, 75–82.
- Fischer, G., Muller, T., Ostrowski, R., and Dott, W.** 1999. Mycotoxins of *Aspergillus fumigatus* in pure culture and in native bioaerosols from compost facilities. *Chemosphere* **38**, 1745–1755.
- Fracchia, L., Pietronave, S., Rinaldi, M., and Martinotti, M.G.** 2006. The assessment of airborne bacterial contamination in three composting plants revealed site-related biological hazard and seasonal variations. *J. Appl. Microbiol.* **100**, 973–984.
- Grisoli, P., Rodolfi, M., Villani, S., Grignani, E., Cottica, D., Berri, A., Picco, A.M., and Dacarro, C.** 2009. Assessment of airborne microorganism contamination in an industrial area characterized by an open composting facility and a wastewater treatment plant. *Environ. Res.* **109**, 135–142.
- Heldal, K.K., Halstensen, A.S., Thom, J., Djupesland, P., Wouters, I., and Eduard, W.** 2003. Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols. *Occup. Environ. Med.* **60**, 444–450.
- Hérox, M., Pagé, T., Gélinas, C., and Guy, C.** 2004. Evaluating odour impacts from a landfilling and composting site: involving citizens in the monitoring. *Water Sci. Technol.* **50**, 131–137.
- Hryhoreczuk, D., Curtis, L., Scheff, P., Chung, J., Rizzo, M., Lewis, C., Keys, N., and Moomey, M.** 2001. Bioaerosol emissions from a suburban yard waste composting facility. *Ann. Agric. Environ. Med.* **8**, 177–185.
- Millner P.A., Marsh, P.B., Snowden, R.B., and Parr, J.F.** 1977. Occurrence of *Aspergillus fumigatus* during composting of sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**, 765–772.
- Murray, R.G.E., Doetsch, R.N., and Robinow, C.F.** 1994. Determinative and cytological light microscopy, pp. 21–41. In Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A., and Krieg, N.R. (eds.), Methods for General and Molecular Bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
- Park, K.N., Koh, J.Y., Jeong, C.S., and Kim, J.** 2011. Distribution and characteristics of culturable airborne bacteria and fungi in municipal wastewater treatment plants. *Kor. J. Microbiol.* **47**, 38–49.
- Persoons, R., Parat, S., Stoklov, M., Perdrix, A., and Maitre, A.** 2010. Critical working tasks and determinants of exposure to bioaerosols and MVOC at composting facilities. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **213**, 338–347.
- Recer, G.M., Browne, M.L., Hom, E.G., Hill, K.M., and Boehler, W.F.** 2001. Ambient air levels of *Aspergillus fumigatus* and thermophilic actinomycetes in a residential neighborhood near a yard-waste composting facility. *Aerobiologia* **17**, 99–108.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., and Filtenborg, O.** 2002. Introduction to food- and airborne fungi, 6th edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands.
- Syzdek, L.D. and Haines, J.H.** 1995. Monitoring *Aspergillus fumigatus* aerosols from a composting facility. *Aerobiologia* **11**, 87–93.
- Watanabe, T.** 1994. Pictorial atlas of soil and seed fungi-morphology of cultured fungi and key to species. CRC press, Boca Raton, Florida, USA.