

금속가공유 취급 업종에서 우점하는 세균 및 진균의 정성평가

박해동 · 박동진 · 박현희*

한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원

Identification of Predominant Bacteria and Fungi in the Industry Treating Soluble Metal Working Fluids

Hae Dong Park · Dongjin Park · Hyunhee Park*

Occupational Safety and Health Research Institute, KOSHA

ABSTRACT

Objectives: The objective of this study is to analyze the predominant microorganisms in the industry treating MWFs(Metal working fluids).

Methods: The bacteria and fungi were collected by agar plate impaction and bulk MWFs in storage tank at 54 sites in 9 shops in South Korea. The dominant bacteria and fungi isolated from agar media were identified by fatty acid analysis and morphological analysis, respectively.

Results: Totally 111 dominant bacteria were identified in the process, outdoor, and bulk MWFs. The predominant bacterial genus was *Micrococcus* and *Bacillus* in the process and outdoor, *Pseudomonas* in bulk MWF. Among the identified 119 strains of fungi, *Cladosporium* and *Penicillium* genus were dominated. The ratios of bacteria designated biosafety level 2 and 1 were 30% and 21%, respectively.

Conclusions: This study has investigated the dominant microorganisms in soluble MWF using industry. And it was useful that the qualitative evaluation method along with quantitative analysis for better understanding of the biological factors in the work environment.

Key words: biological agent, bacteria, fungi, microbial identification, metal working fluids

I. 서 론

작업환경실태실태조사(2009)에 따르면 국내 금속가공유를 제조 또는 사용하고 있는 사업장 수는 5인 이상 제조업 사업장의 약 10%에 해당하는 8,833개소이며, 취급근로자는 57,810명에 이르는 것으로 보고되었다. 금속가공유는 유체에 사용목적 및 용도에 따라 다양한 첨가제를 넣어서 사용하며 다양한 공정에서 사용되고 있어 작업자에게 노출되는 유해인자는 다양하다.

특히, 수용성 금속가공유에서는 미생물의 오염과 번식을 억제하기 위해서 살균제를 사용하고 있으나, 저항성이 있는 미생물은 오래 생존하여 우점종이 될 수 있고, 이러한 미생물에 의해서 건강영향을 가져올 수 있다(Park et al., 2013). 많은 연구에서 금속가공유의 노출은 만성기침, 객담, 천식, 과민성폐렴 등의 발생과 유의한 연관이 있는 것으로 보고되었으며, 천식과 과민성폐렴의 주요 인자는 주로 수용성 금속가공유에 함유된 미생물과 아민류, 포름알데히드 등으로 보고되었다(Park, 2007).

*Corresponding author: Hyunhee Park, Tel : 052-703-0907, E-mail : phh2000@kosha.net

Work Environment Research Department, Occupational Safety and Health Research Institute, 400 Jongga-ro, Jung-gu, Ulsan 681-230
Received: December 1, 2014, Revised: December 17, 2014, Accepted: December 19, 2014

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

금속가공유 취급환경에서 미생물의 정량적인 평가에 대한 연구는 세균을 중심으로 활발히 이루어지고 있으며, 진균과 엔도톡신 등에 대해서도 일부 수행되고 있다. 그러나 살아있는 미생물은 생물종에 따라서 인체에 다양한 건강영향을 줄 수 있으므로, 총량적인 평가와 더불어 미생물의 정성적인 평가도 필요하다. 캐나다 Institut de recherche Robert-Sauve en sante et en securite du travail(IRSST)에서는 바이오에어로졸에 대한 호흡보호를 위한 가이드에서, 호흡 및 섭취 등에 의한 감염이 가능한 결핵균, 탄저균 등에 대해서 감염량(Infectious doses)을 제시하고 있다(IRSST, 2007). 일반적인 작업환경에서 이러한 감염성 미생물의 노출은 많지 않을 것으로 생각되지만 미생물의 동정을 통해서 종을 확인함으로써 주요 우점종의 유해성을 알 수 있게 된다면, 작업환경에서 생물학적 인자를 종합적으로 이해하고 평가하는데 도움이 될 것이다.

따라서, 이번 연구에서는 금속가공유를 취급하는 업종에서 우점하는 세균과 진균의 동정을 통하여 정성적으로 평가함으로써 작업환경에서 노출되는 생물학적 인자에 대한 이해를 넓히고, 향후 공정관리 및 근로자 건강보호를 위한 자료를 제공하고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상 및 시기

자동차부품 및 기계기구제조업 중 규모 및 지역을 고려하여 수용성 금속가공유를 사용하는 9개 사업장을 대상으로 하였고, 규모별로는 300인 이상 1개소, 100인 이상 300인 미만 3개소, 50인 이상 100인 미만 3개소, 50인 미만 2개소이며, 지역별로는 서울 5개소, 경기, 충남, 경북, 경남 각 1개소였다. 주요 공정과 옥외를 대상으로 공기 중 시료를 포집하였고, 가공기계 내부 금속가공유 저장조에서 벌크시료를 채취하였다. 주요공정은 머시닝센터, CNC선반, 연삭가공기 및 테핑센터 등이 있었으며, 2013년 3월에서 8월 사이에 1~2일간 평가하였다. 우점진균의 분석은 3개 사업장의 공정 내에서 채취한 시료를 대상으로 하였다.

2. 시료채취방법

공기 중 부유세균과 부유진균을 1단 앤더슨 샘플러

(400 Hole; single-stage-viable particulate impactor, Model Quick take 30, SKC Inc, USA)를 사용한 충돌법으로 포집하였으며, NIOSH Method 0800(Bioaerosol sampling) 및 ISO Method(Indoor air-Part 18: Detection and enumeration of moulds-Sampling by impaction, 2008)를 준용하였다. 측정지점의 바닥으로부터 약 1미터 높이에서 지역시료의 형태로 포집하였으며, 동일 측정지점에서 28.3LPM의 유속으로 5분간, 3회 반복하여 포집하였다. 세균 채취는 Trypticase Soy Agar(TSA, Komed, Korea), 진균 채취는 Chloramphenicol 100 mg 이 첨가된 Sabouraud Dextrose Agar(SDAc, Komed, Korea)를 사용하였다. 채취된 세균은 37℃에서 24~48시간, 진균은 25℃에서 48~72시간 배양하였다. 벌크시료는 단계적으로 희석하고 100 uL를 배지에 도말하여 배양하였다.

3. 세균 우점종의 순수분리 및 동정

배양된 시료의 세균은 콜로니의 색깔, 모양, 광택성, 표면특성, 크기, 배지 뒤쪽의 색깔 등을 육안으로 확인하여 측정지점별로 우점하는 3~5개의 균을 TSA 배지에 순수분리 하였다. 순수분리된 세균은 가스크로마토그래프를 이용한 지방산분석방법(Sherlock 6.0, MIDI Inc. USA)으로 동정하였다(NIOSH Method 0801). 장비 제조사의 분석매뉴얼에 따라서 유사도(Similarity index)가 0.5이상이고, 2종 이상이 제시되는 경우 유사도의 차이가 0.1 이상인 세균에 대해서만 동정이 확인된 세균으로 판단하였다.

4. 진균 우점종의 순수분리 및 동정

SDAc 배지에 포집하여 배양한 진균은 균의 형태, 포자색깔, 포자크기, 균사색깔, 균사생장방향, 배지 아래 생장특성 등을 육안으로 관찰하여 지점별로 우점하는 3~5개의 균을 SDAc 배지를 이용하여 순수분리 하였다. 순수분리된 진균은 형태적 관찰을 통한 동정을 위하여, SDAc 배지의 중앙에 1점 접종하여 일주일 후의 집락의 크기, 앞면 및 뒷면의 색깔, 표면성상 등을 육안으로 관찰하거나 실체현미경(SMZ645, Nikon, Japan)으로 8~50배로 관찰하였다. 또한 SDAc 배지를 이용하여 슬라이드 배양을 하고, 3~5일 후 배양된 시료에서 커버글라스를 분리하여 현미경용 표본을 만들었다. 제작된 표본은 위상차현미경(Eclipse

80i, Nikon, Japan)을 이용하여 100, 400, 1,000배의 배율에서 균사 및 포자 등을 관찰하였다. 일반환경에서 잘 알려진 *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* 속의 진균은 ‘속’ 수준에서 동정을 하였으며, 위 5개의 분류에 속하지 않는 경우는 미동정(Unidentified)으로 분류하였다.

5. 안전성등급평가

분리 동정된 세균의 안전성 등급은 “생물 산업-병원체의 목록 및 안전성 등급 분류”를 기준으로 평가하였다(KATS, 2010).

6. 정도관리

순수분리된 세균과 진균의 일부를 선정하여 의료 진단용 미생물전문분석기관에 분석의뢰하여 자체분석결과와 비교하였다.

III. 연구결과

1. 우점세균의 분석결과

공기 중 시료는 외기를 포함하여 총 78개 지점에서 포집되었고, 여기에서 우점종으로 271종을 선정하였다. 선정된 우점종을 순수분리하는 과정에서 31종은 배양이 되지 않았고 공정내의 측정지점에서 212종, 외기에서 28종이 분리되어 총 240종을 분석하였다. 순수분리된 종을 대상으로 미생물동정을 실시하여 공정에서 76종, 외기에서 8종이 동정되어 총 84종이 동정되었다. 벌크시료 총 70개 중에서 41개 시료에서 세균이 검출되었으며, 총 86종의 우점세균을 순수분리하였다. 벌크시료에서 순수분리된 우점세균에서 지방산분석에 의해서 동정된 균은 27종이었다.

공정내에서 우점하는 세균 중 동정된 세균의 종류 및 빈도는 아래 그림과 같았으며, *Micrococcus* 속이 26%로 우점빈도가 가장 높았고, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Athrobacter* 순으로 빈도가 높았다[Figure 1].

외기에서 우점하는 세균 중 동정된 8종의 세균은 *Micrococcus*(4회, 50%) 속이 가장 많았고, *Bacillus*(2회, 25%), *Kocuria*(1회, 12%), *Curtobacterium*(1회, 13%) 속이 동정되었다[Figure 2].

벌크시료에서 우점하는 세균 중 동정된 세균은

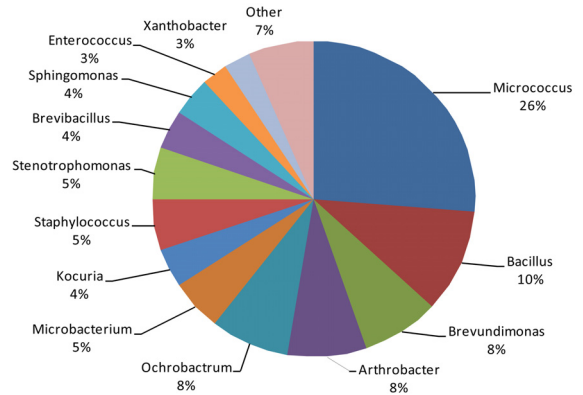


Figure 1. Dominant bacterial genus in process

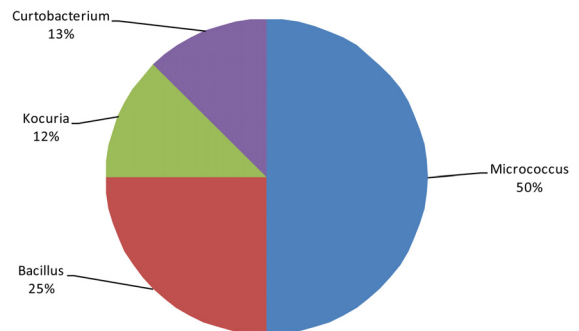


Figure 2. Dominant bacterial genus in outdoor

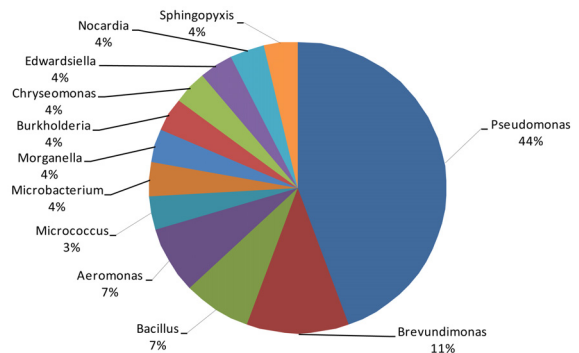


Figure 3. Dominant bacterial genus in bulk metal working fluids

Pseudomonas 속이 44%로 가장 빈도가 높았으며, *Brevundimonas*, *Bacillus*, *Aeromonas* 등의 순으로 빈도가 높았다[Figure 3].

동정된 111종에서 *Micrococcus* 속의 세균이 가장 많은 25회 동정되었으며, *Bacillus*(12회), *Pseudomonas*(12회), *Brevundimonas*(9회) 등의 순으로 빈번하게 동정되었다. 특히, *Micrococcus* 속의 세균은 공정에서 동정된 빈도가

Table 1. Dominant bacterial genus in process, outdoor and bulk samples

Genus name	Process (Indoor)	Outdoor	Bulk	Total
<i>Micrococcus</i>	20	4	1	25
<i>Bacillus</i>	8	2	2	12
<i>Pseudomonas</i>			12	12
<i>Brevundimonas</i>	6		3	9
<i>Arthrobacter</i>	6			6
<i>Ochrobactrum</i>	6			6
<i>Microbacterium</i>	4		1	5
<i>Kocuria</i>	3	1		4
<i>Staphylococcus</i>	4			4
<i>Stenotrophomonas</i>	4			4
<i>Brevibacillus</i>	3			3
<i>Sphingomonas</i>	3			3
<i>Aeromonas</i>			2	2
<i>Enterococcus</i>	2			2
<i>Morganella</i>	1		1	2
<i>Xanthobacter</i>	2			2
Miscellaneous	4	1	5	10
Sum	76	8	27	111

많았으며, 외기에서도 동정된 세균의 50%(4회/8회)의 비율을 보였다. 공정에서 동정된 세균 중에서 *Arthrobacter*, *Ochrobactrum*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Brevibacillus*, *Sphingomonas*, *Enterococcus*, *Xanthobacter* 속은 외기와 벌크에서는 동정되지 않았다. 외기에서 동정된 8종 중에서 7종은 공정에서도 동정된 속의 세균이었으나, 벌크에서 동정된 27종 중에서는 8종이 공정에서 동정된 속과 일치하였다. 특히, 벌크에서 가장 빈번하게 동정된 *Pseudomonas* 속과 2회 동정된 *Aeromonas* 속은 공정 및 외기에서는 동정되지 않았다[Table 1].

기타 세균으로는 공정에서 *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Halomonas*, *Pantoea* 속이 동정되었고, 외기에서 *Cutobacterium* 속이 검출되었으며, 벌크에서는 *Burkholderia*, *Chryseomonas*, *Edwardsiella*, *Nocardia*, *Sphingopyxis* 속이 각각 1회씩 동정되어 서로 다른 속의 균이었다.

2. 우점진균 분석결과

육안 및 현미경적 관찰에 의한 형태학적 동정결과

Table 2. Dominant fungal genus

Genus	A	B	C	Total
<i>Cladosporium</i>	14	24	2	40 (34%)
<i>Penicillium</i>	12	19	3	34 (28%)
<i>Aspergillus</i>	5		2	7 (6%)
<i>Alternaria</i>		2		2 (2%)
<i>Fusarium</i>			1	1 (1%)
Unidentified	18	13	4	35 (29%)
Sum	49	58	12	119 (100%)

는 표와 같았다[Table 2]. 동정된 진균에서는 *Cladosporium* 40건과 *Penicillium* 34건으로 비율이 높았으며, *Aspergillus* 7건, *Alternaria* 2건, *Fusarium* 1건 의 순으로 동정이 되었다. *Cladosporium* 과 *Penicillium* 은 3개 사업장에서 공통적으로 동정된 반면, *Alternaria* 와 *Fusarium* 은 3개 중 1개 사업장에서만 우점진균으로 동정되었다.

5개 속의 진균이 가지는 대표적인 포자의 형태를 보이지 않는 진균은 동정되지 않은 것으로 판단하였으며 총 35건(29%)이었다.

3. 우점미생물의 안전성등급

동정된 세균의 안전성등급(Biosafety level)에 따라 분류해 보면, 안전성 2등급은 13종으로 34회 우점하였으며, 안전성 1등급은 16종으로 23회 우점하였고, 안전성 등급이 부여되지 않은 종은 22종으로 54회 우점하였다[Table 3]. 비율로 살펴보면, 동정된 세균의 30%가 안전성 2등급에 속하였으며, 안전성 1등급의 비율은 21%였으며, 등급이 부여되지 않은 종은 49%였다. 등급이 부여되지 않은 종에서는 *Micrococcus luteus*(23회) 및 *Arthrobacter oxydans*(5회)가 대표적이었다.

4. 정도관리

일부 선정된 균주를 전문분석기관에 의뢰하여 동정한 결과와 지방산분석을 통해 자체적으로 동정한 결과를 비교했을 때 총 10종 중에서 ‘속’ 수준에서 일치하는 것은 6종이며, ‘종’ 수준에서 일치하는 것은 4종 이었다. ‘속’ 명이 서로 다른 경우는 3종 이었으며, 1종은 지방산분석에서 적합한 동정결과가 나오지 않았다.

선정된 일부 진균의 전문분석기관에 의뢰하여 형태

Table 3. Biosafety levels of dominant bacteria in process, outdoor, and bulk

	Process	Outdoor	Bulk	Total	Biosafety Level
<i>Brevundimonas diminuta</i>	5		3	8	2
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	6			6	2
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>			5	5	2
<i>Pseudomonas mendocina</i>			4	4	2
<i>Bacillus cereus</i>	1	1		2	2
<i>Morganella morganii</i>	1		1	2	2
<i>Aeromonas hydrophila</i>			1	1	2
<i>Burkholderia cepacia</i>			1	1	2
<i>Edwardsiella tarda</i>			1	1	2
<i>Nocardia farcinica</i>			1	1	2
<i>Pantoea agglomerans</i>	1			1	2
<i>Pseudomonas stutzeri</i>			1	1	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1			1	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4			4	1
<i>Bacillus coagulans</i>	2			2	1
<i>Bacillus megaterium</i>	2			2	1
<i>Bacillus pumilus</i>	1		1	2	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			2	2	1
<i>Aeromonas salmonicida</i>			1	1	1
<i>Bacillus fusiformis</i>	1			1	1
<i>Bacillus licheniformis</i>			1	1	1
<i>Bacillus sphaericus</i>	1			1	1
<i>Bacillus subtilis</i>		1		1	1
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	1			1	1
<i>Enterococcus faecium</i>	1			1	1
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1			1	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1			1	1
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1			1	1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1			1	1
<i>Micrococcus luteus</i>	18	4	1	23	
<i>Arthrobacter oxydans</i>	5			5	
Etc.	53	4	26	83	
Sum	76	8	27	111	

학적관찰에 의한 동정결과 총 9종에서 *Cladosporium* 3종, *Penicillium* 3종, *Aspergillus* 2종 및 *Alternaria* 1종으로 분석되었다. 자체적으로 형태학적인 분석을 한 결과에서는 *Cladosporium* 이 4종, *Penicillium* 2종, *Aspergillus* 2종, *Alternaria* 1종 이었다.

IV. 고 찰

금속가공유 취급 사업장에서 배지충돌법으로 포집한 공기 중 시료와 가공기계에서 직접 채취한 금속가공유 벌크시료에서 배양법을 이용하여 우점하는

미생물을 분리하고 동정하였다. 순수분리된 우점세균의 수에 비해서 동정된 세균의 비율은 34% 였다. 이것은 환경 중의 미생물이 동정시스템의 데이터베이스에 없거나, 데이터베이스에 있다 하더라도 지방산의 종류 및 함량에 대한 분석에서 일치도가 낮기 때문으로 생각된다. '11년도에 산업안전보건연구원 에서 수행한 금속가공유 취급업종에서 세균의 정성평가에서도 순수분리 대비 약 34%가 동정되었는데 (Park & Park, 2011), 동일한 동정시스템을 이용하여 비슷한 결과를 보인 것으로 판단된다. '09년도에 연구원에서 수행한 3개 업종(금속가공유 취급업종, 제재업, 사료제조업)을 대상으로 한 연구에서는 전문분석기관에 의뢰하여 바이텍(VITEK) 시스템으로 우점세균을 동정하였는데, 순수분리 균 대비 동정된 균의 비율이 3개 업종 평균 77%, 금속가공유 취급업종은 84%로 본 연구에 비해서 동정된 비율이 높았다(Lee et al., 2009). 이것은 주로 동정시스템의 원리 및 데이터베이스의 차이에서 비롯된 것으로 판단된다.

지방산분석법에 의해 동정된 세균 111종에서 공정 내에서 동정된 우점세균은 *Micrococcus*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Athrobacter* 속 순으로 나타났다. 우점세균의 종류 및 구성비율을 다른 연구와 비교해 보면 '09년도 연구에서는 금속가공유 취급사업장의 우점세균으로 *Micrococcus*, *Moraxella*, *Sphingomonas*, *Bacillus* 등의 빈도순으로 동정되었는데(Lee et al., 2009), *Moraxella*를 제외하고는 동 연구의 우점하는 균에 속하였다. '11년도의 연구에서는 *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Bacillus* 등의 빈도순으로 동정이 되었었는데(Park et al., 2011) 본 연구에서는 *Acinetobacter* 속이 동정되지 않았고 나머지 종류는 우점종으로 동정되어 종류는 유사하였으나 빈도순에는 다소 차이가 있었다.

국내 9개 엔진 제조업체에서 조사된 연구(Oh et al., 2004)에 따르면 금속가공유 별크시료에서 *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Serratia*, *Providencia* 등의 빈도순으로 우점하는 것으로 평가되었다. 캐나다의 동일업종 25개 사업장에서 평가한 연구(Gilbert et al., 2010a)에서는 16S rRNA 유전자 분석을 통하여 동정을 하였으며, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Brevundimonas*, *Pshchrobacter* 등의 빈도순으로 측정 지점에서 검출되었다. 본 연구에서는 별크시료에서만

Pseudomonas 가 높은 빈도로 동정되어 차이를 보였으나, 대부분의 우점종의 종류는 비슷하였다.

폴란드의 금속가공유 사용 사업장의 공기 중에서 다양한 생물학적 인자를 평가한 연구(Rafal et al., 2004)에서는 API 시스템을 통한 동정방법으로 *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* 속이 우점하는 것으로 평가하였다. 금속가공유의 사용기간에 따른 생물학적 요소의 변화를 조사하기 위한 파일럿 연구(Miriam et al., 1999)에서는 *Pseudomonas* 가 우점종으로 검출되었다고 하였는데, 이는 본 연구의 별크시료에서 우점빈도가 가장 높았던 것과 유사하였다.

금속가공유의 처리방법에 따른 세균오염을 평가한 연구(Genevieve et al., 2010)에서는 *Pseudomonas*가 가장 우점하였으며, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Shewanella* 및 *Brevundimonas* 속이 검출되었는데, 본 연구의 별크시료에서 우점하는 세균과 일부 유사하였다. 44종의 다양한 종류의 사용 중인 금속가공유에서 미생물 다양성에 대한 연구(Gilbert et al., 2010b)결과, 44개 별크시료 중에서 *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 33회, *Ochrobactrum anthropi* 32회 검출되어 가장 빈도가 높았는데, 본 연구는 별크시료에서는 *Ochrobactrum* 이 검출되지 않았으나 공정 내에서는 검출되었다.

영국에서 대학내 설치된 5종의 가공기계에서 금속가공유를 취해서 새로운 금속가공유에서 직접배양하여 세균을 분리하여 총 66종을 순수분리하여 지방산분석방법에 의해 동정한 결과, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Citrobacter*, *Acinetobacter* 속 등의 균종이 우점하는 것으로 보고하였다(Van der Gast et al., 2001). 100개의 금속가공유 시료에서 세균을 분리배양하여 API kit 와 Phonix 시스템(BD, Germany)으로 동정한 연구에서는 항생제를 함유하지 않은 4개의 금속가공유에서는 *Pseudomonas* 속 만이 높은 농도로 존재하였고, 항생제를 함유한 96개의 시료에서는 *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Moraxella* 속의 균종이 우점하는 것으로 보고하였다(Dilger et al., 2005). 본 연구에서는 별크시료에서 동정된 우점세균은 *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Bacillus*, *Aeromonas* 속의 순서로 많았는데, *Pseudomonas* 속은 다른 연구에서와 같았으나 나머지 속은 다른 연구에서는 나타나지 않은 속이었다.

미국에서 수행한 연구에서는 벌크 금속가공유와 공기 중 시료에서 DNA를 추출하여 동정한 결과 우점하는 세균이 *Alcaligenes*, *Wautersiella*, *Pseudomonas* 속으로 서로 유사하였으므로 금속가공유에서 서식한 세균이 공기 중으로 발생되어 작업자에게 건강영향을 미칠 수 있을 것으로 보고하였다(Sarah & Largus, 2010). 타이완의 소켓 제조공장에서도 수행된 연구에서는 충돌법에 의해 포집한 세균을 생화학적 실험과 API kit으로 동정한 결과 공정 내에서 우점하는 세균과 외기에서 우점하는 세균은 유사하게 나타났으나, 공정 내의 농도가 높은 것으로 보아 공정 내에 발생원이 있을 것으로 보고하였다(Liu et al., 2010). 본 연구에서는 외기에서 우점하는 세균종이 공정 내에서도 우점종으로 동정된 비율은 75%(6종/8종)였으며, 벌크시료에서 동정된 균종이 공정 내 우점종으로 동정된 비율은 22%(6종/27종)였다. 외기 및 벌크시료에서 동정된 우점종의 수에 차이가 있으므로 단순비교하기는 어려우나, 공정내의 우점세균은 벌크보다는 외기의 영향을 받았을 것으로 추정 되므로 앞선 연구와는 차이가 있었다. 그러나 배양가능 미생물을 대상으로 한 본 연구와는 달리 앞선 연구는 유전자를 추출하여 분석하였으므로 죽은 미생물을 포함하게 되는 차이가 있었다.

금속가공유 취급사업장에서는 주로 세균에 대한 평가가 이루어졌으며, 진균을 분석한 경우는 거의 없었다. 본 연구에서는 3개 사업장의 공기 중 시료에서 순수분리한 진균을 대상으로 형태학적 관찰을 통하여 일반환경에서 널리 분포하고 있으며 포자의 형태가 뚜렷한 현미경적 특성을 보이는 5개 속의 동정을 하였다. 형태학적 관찰에 의한 자체분석결과와 전문분석기관 분석결과를 살펴보면, 주요 “속”에 대한 분석결과 일치도는 89%(8건/9건)로 자체분석결과와 신뢰성을 확보 하였다.

과민성폐렴이 보고된 금속가공유 취급 8개 사업장의 벌크시료에서 미생물을 조사한 보고(Kreises & Cox-Ganser, 1997)에서는 *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium* 등이 검출되었음을 보고하였다. ‘09년도에 산업안전보건연구원에서도 금속가공유 취급사업장에서 포집한 공기 중의 우점진균을 전문분석기관에 의뢰하여 분석한 결과 35건 중에서 *Cladosporium* 16건과 *Penicillium* 6건으로 높은 빈도로 동정되었고 *Alternaria*, *Microsporidium*, *Trichophyton* 이 낮은 빈도로 동정되어 본 연구와 우점진균은 유사하였다

(Lee et al., 2009).

동정된 세균의 주요 종에 대한 유해성을 살펴보면, 안전성 2등급에 속하는 *Aeromonas hydrophila* 는 위장 등에 합병증을 일으킬 수 있으며 오염된 물이나 음식의 섭취를 통해 감염될 수 있고, 인간과 동물의 감염용량(Infection dose)은 10^{10} 으로 알려져 있다. *Bacillus cereus* 는 오염된 음식의 섭취에 의해서 감염되어 식중독 증후군을 일으킬 수 있으며, 독소를 생산할 수 있는 기회감염균이다. *Edwardsiella tarda* 는 사람에게 기회감염균으로 주로 면역체계가 손상된 사람들에서 장 등에 감염을 일으키며 위장염이 가장 흔하게 발생한다. 감염은 매우 드물지만 사망률이 40-50%로 보고되기도 하여 매우 심각하거나 치명적일 수 있다. *Nocardia* 속의 균은 *Actinomycetes*에 속하며, 전 세계적으로 널리 분포하는 종으로 환경과 토양에 일반적으로 존재하며 기회감염균으로 이식환자 등 면역이 약한 환자에 Nocardiosis를 일으킬 수 있으며, 폐, 조직 및 피부의 3가지 감염 타입이 있으며 서로 다른 영향을 미친다. *Pseudomonas* 속의 균은 기회감염성 병원균으로 면역체계가 손상된 사람에서 감염되어 균혈증을 일으킬 수 있다. *Staphylococcus aureus* 는 황색포도상구균으로 불리며, 사람의 코와 피부에서 흔하게 발견되는 균으로, 기회감염균이며 다양한 질환을 야기할 수 있고, 전 세계적으로 널리 분포하고 있으며, 피부, 연부조직 및 원내감염을 일으키는 가장 흔한 균이다(Public Health Agency of Canada).

본 연구에서 측정지점별로 우점종을 선정하여 이에 대한 분석을 하였는데, 육안관찰에 따라서 주관적인 관점에서 선정하였으므로 특히 세균의 경우에 실제 우점종이 선정되지 않았을 가능성도 있으며, 실제 우점종이 아니나 선정된 경우도 발생했을 수 있다. 측정지점을 대표하는 미생물의 선정하는 방법과 적절한 수에 대해서는 앞으로 연구 되어야 할 부분으로 판단된다.

세균의 경우 지방산분석만으로 동정을 하였는데, 정확한 동정을 위해서는 서로 다른 2가지 이상의 방법을 이용하여 확정하는 것이 필요한 것으로 알려져 있다. 또한, 최근에는 유전공학의 발전으로 인하여 유전정보를 이용한 동정방법이 널리 사용되고 있으며, 지방산 분석방법은 배양가능한 균만을 대상으로 하지만 유전정보를 이용하는 방법은 살아있거나 죽어있는 세균 모두에 대해 분석이 가능한 특성이 있다. 진균의 형태학

적 동정은 대표적인 5가지 “속”의 수준에서 동정은 가능하였으나, 다른 “속”의 진균 또는 “종”수준에서의 동정은 어려웠다. 향후 다양한 시료의 분석 경험과 적절한 교육을 통하여 동정이 가능한 범위를 넓히고 정확성을 높일 필요가 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

수용성 금속가공유 취급사업장에서 공기 중 및 벌크 금속가공유에서 세균 및 진균의 우점종을 순수분리하였고, 지방산분석방법 또는 형태학적 분석방법에 따라서 동정하였다. 공정내에서 우점하는 세균은 *Micrococcus* 속이 26%로 우점빈도가 가장 높았고, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Atrhrobacter* 순으로 빈도가 높았다. 벌크시료에서 우점하는 세균은 *Pseudomonas* 속이 44%로 가장 빈도가 높았으며, *Brevundimonas*, *Bacillus*, *Aeromonas* 등의 순으로 빈도가 높았다. 진균은 총 119종의 순수분리 균에서 *Cladosporium* 과 *Penicillium* 이 각각 34%와 28%의 비율로 존재하였다. 동정된 세균 중에서 30%가 안전성 2등급에 속하였으며, 안전성 1등급의 비율은 21%였다.

작업환경에서 생물학적 인자를 평가함에 있어서 정량적인 방법과 더불어 정성적인 방법을 사용하여 다양한 각도에서 유해인자를 평가함으로써, 향후 관리대책수립 및 근로자 건강보호 방안 마련에도 도움이 될 것이다.

참 고

본 연구와 함께 수행된 정량평가 결과는 한국산업위생학회지(2014;24(3):300-309)에 게재되었음.

References

- Dilger S, Fluri A, Sonntag HG. Bacterial contamination of preserved and non-preserved metal working fluids. *Int J Hyg Environ Health* 2005;208:467-476
- IRSST. Technical guide RG-501 Guide on respiratory protection against bioaerosols recommendations on its selection and use. 2007. p.8 Available from: <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/pubirsst/rg-501.pdf>
- ISO(International Standard Organization). Indoor air-Part 18: Detection and enumeration of moulds-Sampling by impaction. 2008.
- Genevieve M, Jacques L, Louise R, Nancy LY. Evaluation of bacterial contamination and control methods in soluble metalworking fluids. *J of Occup and Environ Hyg* 2010;7:358-366
- Gilbert Y, Veillette M, Meriaux A, Lavoie J, Cormier Y, et al. Metalworking fluid-related aerosols in machining plants. *J Occup Environ Hyg* 2010a;7(5):280-289
- Gilbert Y, Veillette M, Duchaine C. Metalworking fluid biodiversity characterization. *J Appl Microbiol* 2010b; 108:437-449
- KATS(Korean Agency for Technology and Standards). Bioindustry-pathogen list and its biosafety class-part2 bacteria(KS J 0050-2). 2010.
- Kreises K, Cox-Ganser J. Metalworking fluid associated hypersensitivity pneumonitis: a workshop summary. *AMER J INDUS MED* 1997;32:423 - 432
- Lee IS, Park HH, Park HD. Study on microbial exposure assessment and comparison of sampling methods in highly contaminated work environment. *Occupational Safety and Health Research Institute Research Report* 2009. p.65-72
- Liu HM, Lin YH, Tsai MY, Lin WH. Occurrence and characterization of culturable bacteria and fungi in metalworking environments. *Aerobiologia* 2010;26: 339-350
- Miriam KL, Marina A, Robert HF. A pilot study for monitoring changes in the microbiological component of metalworking fluids as a function of time and use in the system. *AIHA J.* 1999;60(4):480-485
- NIOSH. Bioaerosol sampling(Indoor Air). Manual of analytical methods 0800. Available from: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/0800.pdf>
- NIOSH. Aerobic bacteria by GC-FAME. Manual of analytical methods 0801. Available from: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/0801.pdf>
- Oh SW, Kim JH, Lee WG, LEE YS, Joung HC. Environmental Assessment of oilmist, endotoxins and microbes in a machining plant. *J Korea Soc Occup Environ Hyg* 2004;14(1):41-47
- Park DU. Critical review on relationship between exposure to metalworking fluids and non-malignant respiratory disease. *J Korea Soc Occup Environ Hyg* 2007;17(1): 1-12
- Park DU, Ko YJ, Yoon CS. Review of respiratory disease and hazardous agents caused by the use of biocide in metalworking operations. *J Korea Soc Occup Environ Hyg* 2013;23(3):169-176
- Park HD, Park HH. Research on evaluation methods and

- recommended exposure limits of biological agents. Occupational Safety and Health Research Institute Research Report 2011. p.82-90
- Park HH, Park DJ, Park HD. Microbial assessment in metal-working fluids handling industries. *J Korea Soc Occup Environ Hyg* 2014;24(3):300-309
- Public Health Agency of Canada, Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment. Available from: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/>
- Rafal LG, Bogumila S, Lennart L. Metalworking fluid bioaerosols at selected workplaces in a steelworks. 2004;46:400-403
- Sarah DP, Largus TA. Potential pathogenic bacteria in metal working fluids and aerosols from a machining facility. *FEMS Microbiol Ecol* 2010;74:643-654
- Van der Gast C.J., Knowles C.J., Wright M.A., Thompson I.P. Identification and characterisation of bacterial populations of an in-use metal-working fluid by phenotypic and genotypic methodology. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2001;47:113-123