한국산업보건학회지, 제27권 제4호(2017) ISSN 2384-132X(Print) ISSN 2289-0564(Online)
Journal of Korean Society of Occupational and Environmental Hygiene, 2017: 27(4): 324-332
https://doi.org/10.15269/JKSOEH.2017.27.4.324

Original Article

바닥 먼지내에서 DNA 기반 곰팡이 분석기법 개발

이정섭[1] · 김성연 · 최길용[2] · 류정민 · 황은설 · 이주영 · 권명희 · 정현미 · 서성철[3*]

[1]환경부 국립환경과학원, [2]부산대학교 환경공학과, [3]부산가톨릭대학교 산업보건학과

Development of DNA-Based Assessment Method for Mold in Floor Dust of Dwellings in Korea

Jeong-Sub Lee[1] · Sung Yeon Kim · Kil Yong Choi[2] · Jungmin Ryu · Eun Seol Hwang · Juyeong Lee · Myunghee Kwon · Hyenmi Chung and SungChul Seo[3*]

[1]Indoor Environment and Noise Research Division, Environmental Infrastructure Research Department, National Institute of Environmental Research

[2]Department of Environmental Engineering, Pusan National University, South Korea

[3]Department of Industrial Health, Catholic University of Pusan, Korea

ABSTRACT

Objectives: Much scientific evidence indicate a positive association between moldy environments and respiratory illnesses and/or symptoms. However, few comprehensive assessments of mold have been performed for such settings. Spore counts or microscopic enumeration only may not be sufficient for evaluating fungal exposure. Recently, Mold Specific QPCR technology developed by the US EPA (Environmental Relative Moldiness Index, ERMI) has been widely used worldwide and great performance for assessing fungal exposure has been shown.

Methods: We aimed to develop a Korean version of ERMI suitable for the distribution of fungal flora in Korea. Thirty dwellings in the Seoul and Incheon area were selected for sampling, and each was classified as 'Flooded, 'Water-damaged' or 'Non-water-damaged'.

Results: Dust on the floor and airborne sampling were collected using an MAS100 and a 'Dustream' collector. Samples were analyzed by quantitative polymerase chain reaction(QPCR) for the 36 molds belonging to ERMI. Student t-test and ANOVA tests were carried out using SAS software. The median ERMI values of flooded, water damaged, and non-water damaged dwellings were 8.24(range: -5.6 to 27.9), 5.47(-25. 4 to 32.7), and -15.30(-24.6 to 14.8), respectively. Significant differences were observed between flooded and non-water damaged dwellings (P=0.001) and between water-damaged and non-water damaged dwellings (P=0.032).

Conclusion: Our findings indicate that ERMI values attributed to dust samples in Korea could be applicable for the identification of flooded or water damaged buildings. However, much data is needed for continuously developing the Korean version of ERMI values.

Key words: Mold, fungi, water-damaged, ERMI environmental relative moldiness index, US EPA environmental protection agency.

I. 서 론

실내 환경에는 휘발성유기화합물, 폼알데하이드와 같은 가스상 오염물질과 세균, 곰팡이 등과 같은 생물학적 오염물질, 미세먼지 등의 입자상 오염물질 등 다양한 오염물질이 존재한다. 대부분의 오염물질은 눈에 잘 보이지 않지만, 곰팡이는 건물 내벽 등에 부착하여 미관상 나쁜 영향을 미칠 뿐 아니라, 건축자

*Corresponding author: SungChul Seo, Tel: 82-51-510-0630, E-mail: sseo@cup.ac.kr
Department of Industrial Health, Catholic University of Pusan, 57 Oryundae-ro, Geumjeong-gu, Busan, Republic of Korea
Received: November 6, 2017, Revised: December 20, 2017, Accepted: December 26, 2017

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.

재나 실내표면에서 쉽게 번식하여 인체에 악영향을 미치게 된다. 곰팡이가 피부에 접촉되면 알러지를 유발시키고, 공기 중으로 부유하면 호흡기에 영향을 줄 수 있다(Kim et al., 2016). 특히 실내 수분과 곰팡이는 천식과 관련된 호흡기질환을 30~50% 증가시키는 것으로 보고되고 있으며(Vesper et al., 2009), 일반성인 보다는 면역력이 약한 영유아, 어린이 및 노인 등 민감계층에게 더 악영향을 미칠 수 있다(Clark et al, 2004). 이에 환경부에서는 2018년부터 의료기관, 어린이집 및 노인요양시설 등 민감계층이 이용하는 시설을 대상으로 실내공기질 권고기준에 곰팡이를 추가하여 실내 중 부유곰팡이를 관리할 예정이다.

미국, 유럽 연합, 캐나다 및 싱가포르 등의 국가에서는 실내 환경 중 인체에 위해를 줄 수 있는 곰팡이 오염원에 대한 연구 조사를 실시하여, 생물안전등급을 정하고, 주거공간의 오염에 대한 권고 기준을 제시하고 있다(WHO, Singapore : 500 CFU/m^3). 그러나 국내는 주거공간에서의 실내곰팡이에 대한 권고 기준이 없으며, 주거공간에 대한 실내 곰팡이에 대한 연구 또한 미비한 실정이다(WHO, 2009).

국내 대부분의 부유곰팡이 연구는 공기 중 곰팡이를 배지에 충돌시켜서 번식하기 쉬운 온·습도 조건에서 배양시킨 후 집락수를 세어 그 농도를 환산하는 방법(충돌법)을 사용하였다. 그러나 곰팡이는 종 다양성, 환경조건 등에 따라 공기 중 바닥면, 벽면에 각기 다르게 번식할 수 있으므로 곰팡이 오염정도를 체계적이고, 정량적으로 파악할 수 있는 방법이 필요하다. 국외에서는 다양한 방법으로 곰팡이에 대한 연구가 진행되고 있는데, 특히 미국 EPA에서는 미국 내 1,700여세대의 거실과 침실에서 바닥먼지를 채취하여, 분자생물학적인 DNA에 기반한 곰팡이 분석방법(Mold specific quantitative polymerase chain reaction, MSQPCR)을 개발하여, 바닥먼지내 곰팡이 DNA를 분석하고, 주택 내 곰팡이 오염정도를 파악할 수 있는 ERMI(Environmental Relative Moldiness Index) 지수를 개발하였다(Park 2009).

ERMI 지수(Figure 1)는 미국에서 어린 천식환자가 있는 주택의 곰팡이 오염도와 천식 위험도를 파악하는데 주로 이용하고 있으며(Baughman, A., 1996; Méheust, D., 2013), 핀란드와 프랑스 에서는 바닥먼지를 이용한 곰팡이 피해를 평가할 수 있는 척도로 활용되고 있다

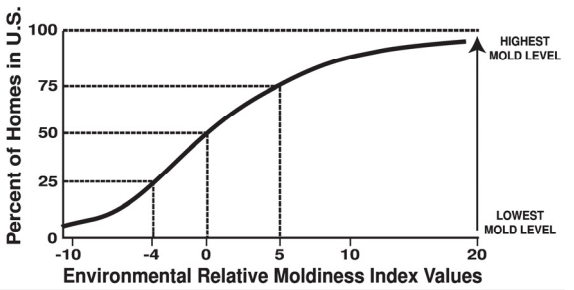

Figure. 1. ERMI graph in US EPA

(Park, 2000; Kim, 2005). 따라서 본 연구에서는 주택 실내 곰팡이 오염농도 뿐만 아니라 곰팡이 오염도를 평가 할 수 있는 방법을 도출하고자, 국내 실정(주택특성, 기후 등)에 적합한 ERMI 지수를 산출하고자 한다. 또한 곰팡이의 유전자 분석 방법을 개발하고, 더 나아가 ERMI 지수와 정량PCR(polymerase chain reaction) 분석이 침수주택의 곰팡이 오염도를 예측할 수 있는 신속한 분석방법으로 활용하고자 한다(Vesper et al., 2008; Nonnenmann et al., 2012).

Ⅱ. 연구방법

1. 연구내용

본 연구에서는 서울, 인천, 경기 지역의 일반주택(대조군)과 누수·결로가 있는 주택 및 침수피해 주택 30세대를 선정하였다.

Table 1은 주택의 특성으로 곰팡이피해 원인, 건축년도, 평수, 곰팡이 발생여부 등으로 구분하였다. 주택 내 곰팡이 오염도 조사는 2016년 1월부터 12월까지 실시하였으며, 시료채취는 장마 전(5~6월)과 장마 후(9~10월)로 구분하여 2회에 걸쳐 실시하였다. 연구대상 오염물질은 부유곰팡이, 부유세균, 바닥먼지 중 곰팡이를 대상으로 하였다.

Table 1. PCR conditions for amplification of fungi

Condition	Fungi
DNA Denaturation	96℃ 2 min, 96℃ 30 sec
Anealing	50℃ 30 sec
Extention	72℃ 1 min
Final extention	72℃ 10 min
Cycle	30

2. 연구방법

부유곰팡이는 부유세균의 공정시험방법에 따라 충돌법을 이용하였으며, Merck사의 MAS-100(Merck Inc)을 이용하여 100 L/min으로 1분 동안 시료채취 하였다. 배지는 MEA(Malt extract agar)를 사용하였으며, 채취 후 시료를 25℃에서 120시간동안 배양하였다. 배양된 시료는 24시간 경과마다 집락수를 계수하였으며, positive hole conversion table을 이용하여 집락수를 보정하였다. 배양이 완료된 시료는 단일 콜로니 배양, DNA 추출, 유전자증폭반응, 염기서열분석의 과정으로 분석하였다. 바닥먼지는 부유곰팡이 시료채취가 끝난 후에 진공청소기 흡입구에 dustream collector(Indoor biotechnology)를 장착한 후, 포집기(collector)에 가득 찰 수 있도록 최대한 많은 양의 먼지를 채취하였다.

부유곰팡이 중 단일 콜로니 배양은 대상주택에서 채취하여 배양이 된 시료 중 특이하거나 빈도수가 높은 콜로니를 선택하여 단일 콜로니를 배양하였다. 곰팡이는 백금이(platinum loop)를 이용하여 콜로니의 일부분을 계대배양 세포증식을 위해 새로운 배양접시에 옮겨 세포의 대를 계속 이어서 배양하는 방법 하였으며, 단일 콜로니를 배양을 위해 최소 2번의 계대를 실시하였다.

DNA 추출은 마이크로원심분리기 튜브(microcentrifuge tube)에 배양된 단일콜로니 300 mg과 TSE(Tris/Sucrose/EDTA) buffer 300 μL를 넣고, 전동드릴을 이용하여 얼음 속에서 2분간 파쇄하였다. 그리고 1분 동안 식힌 후 다시 2분간 파쇄 하였다. 파쇄가 끝나면 3M sodium acetate 150 μL를 넣고 -20℃에서 10분간 반응하였다. 상층액 300 μL를 microcentrifuge tube에 넣고 300 μL의 페놀(phenol)을 넣어 13,000 rpm로 10분간 4℃에서 원심분리 하였다. 원심분리가 끝난 후, 상층액 200 μL와 동량의 아이소프로판올(isopropanol)을 넣고 실온에서 20분간 반응시켰다. 20분 반응이 끝나면, 4℃에서 13,000 rpm로 10분간 원심분리한 후, DNA pellet을 남기고 상층액을 제거하였다. 70% 에탄올 1 mL 넣고 13,000 rpm으로 원심분리한 후 다시 상층액을 제거하고 상온에서 DNA pellet을 건조시켰다. 에탄올이 다 건조되면 TE(Tris/EDTA) buffer 50 μL를 넣고 냉동보관 하였다.

유전자증폭반응(PCR, polymerase chain reaction)은 중합효소연쇄반응기(DNA thermal cycler, Applied Biosystems)를 이용하였다. 프라이머(Primer)는 ITS region의 primer인 ITS5F(5'-GGAAGTAAAA GTCGTAA CAAGG-3), ITS4R(5'-TCCTCCGCTTATTTGAT ATGC-3)를 사용하였다. PCR mixture는 총 20 μL로 EmeraldAmp GT(RR310A, TaKaRa)를 이용하여 1 μL의 template, 1 μL의 각 프라이머와 멸균 증류수를 첨가하였다.

Table 2는 유전자증폭을 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 1% ethidium bromide stained agarose gel에서 100V로 전기영동(electrophoresis)하여 단편을 확인하였다. 그리고 PCR purification(NAVIGEN, PC250KI) kit를 이용하여 PCR 산물을 정제하였다. 정제한 시료는 분석의뢰(Macrogen사) 하였고, Mega 5.1 프로그램과 미국 국가생물공학센터(NCBI, National Center for Biotechnology Information)에서 제공한 blast 프로그램을 이용하여 유사성 99% 이상의 유사성을 가진 종 동정 결과를 확인하였다.

Ⅲ. 연구결과 (또는 연구결과 및 고찰)

1. 생활환경 특성에 따른 실내 오염물질 오염도 현황

대상 주택의 실내공기 중 부유 세균, 부유 곰팡이의 평균 농도분포는 Table 2와 같다. 부유세균은 평균 농도가 523.7 CFU/m^3로, 실내공기질관리법의 부유 세균 유지기준 800 CFU/m^3 이하로 측정되었다. 반면에 부유 곰팡이는 908.7 CFU/m^3로 측정되어 권고기준(500 CFU/m^3)을 초과하였다. 실내오염물질의 실내 · 외 농도비를 살펴보면, 부유세균은 3.5로 나타

Table 2. Concentration of indoor air contaminants(n=30)

Source	Indoor					Outdoor					I/O** ratio
	AM*	GM†	STD†	Min§	Max‖	AM*	GM†	STD†	Min§	Max‖	
Total bacteria	523.7	395.5	412.1	71.9	1928.4	151.3	124.3	114.3	55.6	146.6	3.5
Total mold	908.7	588.3	1152.1	166.4	5657.8	1029.1	701.1	1471.9	228.4	8219.7	0.9

* AM : arithmetic mean, † GM : geometric mean, † STD : standard deviation, § Min : Minimum, ‖ Max : Maximum
** I/O : Indoor / Outdoor

나, 다른 오염물질과 다르게 실내에 오염원이 있음을 알 수 있었다.

2. 실내/실외 부유 곰팡이 종 동정 분석

물피해(침수, 누수/결로) 주택 실내 및 실외 부유 곰팡이 종 동정결과와 검출률은 Table 2에 나타내었다. Table 3은 실내에서 주로 검출된 종은 *Penicillium* 속(35%), *Cladosporium* 속(28%), *Alternaria* 속(9%), *Aspergillus* 속(9%)으로 나타났다. 이러한 종들은 실내에서 우점종으로 주로 검출되는 종으로 알려져 있다. 가장 다양한 종이 검출된 곰팡이는 *Penicillium* 속으로 15종이 검출되었다. EPA ERMI의 group I, II와 비교해

Table 3. Species identification between indoor and outdoor in water damage residence

Indoor	%	Outdoor	%
Alternaria sp.	9	*Alternaria sp.*	20
A. tenuissima	5	*A. tenuissima*	3
A. alternata	4	*A. alternata*	7
Aspergillus sp.	9	*A. porri*	1
A. niger	2	*A. burnsii*	7
A. ochraceus	1	*Aspergillus sp.*	1
A. flavus	1	*A. westerdijikiae*	1
A. versicolor	2	*Cladosporium sp.*	20
A. flavipes	1	*C. tenuissimum*	8
A. tubigensis	1	*C. gossypiicola*	3
Cladosporium sp.	28	*C. cladosporiodes*	5
C. tenuissimum	15	*C. perangustum*	3
C. gossypiicola	1	*C. subuliforme*	1
C. cladosporiodes	6	*Cf. cladosporium*	1
C. halotolerans	2	*Penicillium sp.*	16
C. sphaerospermum	1	*P. polonicum*	2
C. funiculosum	1	*P. brasilianum*	1
Penicillium sp.	35	*P. commune*	3
P. brevicompactum	1	*P. expansum*	2
P. brasilianum	2	*P. glabum*	2
P. polunicum	4	*P. aurantiacobrunneum*	1
P. glabrum	2	*P. sumatrense*	1
P. expansum	4	*P. crustosum*	1
P. commune	1	*P. chrysogenum*	1
P. oxalicum	2	*Epicoccum sp.*	7
P. crustosum	1	*E. nigrum*	6
P. chrysogenum	2	*Trichoderma sp.*	6
P. cordubense	1	*T. atroviride*	3
P. chloroleucon	1	*T. harzianum*	1
P. citrinum	4	*T. paratroviride*	1
P. biourgeianum	1	*Fusarium sp.*	3
P. rubens	5	*F. verticillioides*	1
P. rudallense	1	*F. equiseti*	1
Phoma sp.	2	*Phoma sp.*	6
Epicoccum sp.	4	*P. medicaginis*	3
E. nigrum	4	*P. herbarum*	1
Fusarium sp.	1	*Others sp.*	14
Fusarium tricinctum	1	*Uncultured fungus*	3
Others sp.	7		
Uncultured fungus	4		

보면, group I에 속하는 곰팡이는 *Aspergillus niger, A. ochraceus, A. flavus, A. versicolor,* P*enicillium brevicompactum, P. crustosum, C. sphaerospermum* 7종이 검출되었다. 또한, group II에 속하는 곰팡이는 *A. alternata, C. cladosporioides, Epicoccum nigrum*로 EPA ERMI group에 속하는 곰팡이는 총 10종이 검출되었다. 하지만, 해당 곰팡이의 검출률은 1~2%로 낮게 나타났다.

Table 4는 바닥먼지 중 곰팡이 정량분석에 따르면, 본 연구에서는 미국 ERMI의 곰팡이 36종 중에서 32종의 곰팡이를 대상으로 정량분석하였으며, 표준 균주의 정량분석을 실시한 결과는 Table 4와 같으며, 먼지 mg 당 검출된 곰팡이 셀 수의 로그값을 이용하여 산출하였다.

Figure 2, 3은 EPA에서 개발한 ERMI 지수는 4단계로 나누어지며, level이 높을수록 곰팡이 피해가 심

Table 4. The average log10 concentration of ERMI value among residence

Division	Mean log10(cell number)/mg dust		
Group 1	Flood	Water leakage/ condensation	General
Aspergillus flavus	0.281	0.217	0.705
Aspergillus fumigatus	-1.598	-0.914	-1.009
Aspergillus niger	1.214	0.620	0.577
Aspergillus ochraceus	0.419	0.087	0.000
Aspergillus restrictus	4.817	3.335	1.071
Aspergillus sclerotiorum	-0.761	-1.021	-0.513
Aspergillus sydowii	2.650	0.823	-0.627
Aspergillus unguis	-0.981	-1.668	-2.431
Aspergillus versicolor	2.386	1.161	-1.550
Chaetomium globosum	0.691	1.516	-0.515
Cladosporium sphaerospermum	0.793	-0.472	-2.189
Eurotium group	3.115	1.981	0.629
Paecilomyces variotii	-1.424	-1.576	-1.794
Penicillium brevicompactum	1.181	0.830	0.372
Penicillium corylophilum	-0.144	-0.241	0.000
Penicillium spinulosum	-0.291	-0.008	-0.295
Penicillium crustosum	0.892	0.756	-1.221
Penicillium purpurogenum	-1.389	-0.969	-1.041
Penicillium variabile	0.463	0.000	-1.565
Scopulariopsis brevicaulis	0.168	0.394	-0.520
Scopulariopsis chartaum	0.631	0.638	-0.917
Stachybotrys chartarum	-1.524	-1.278	-0.653
Wallemia sebi	1.188	0.493	-0.800
Sum	12.776	4.704	-14.286
Group 2			
Acremonium strictum	-0.504	-0.792	-0.709
Alternaria alternata	0.749	0.358	0.353
Aspergillus ustus	-0.376	-0.641	-0.294
Cladosporium cladosporioides type 1	1.297	0.462	0.118
Cladosporium cladosporioides type 2	1.095	0.380	-1.017
Cladosporium herbarum	-0.761	-0.520	-0.601
Mucor group	0.642	0.076	-0.060
Penicillium chrysogenum type 2	1.416	1.869	-0.507
Rhizopus stolonifer	-1.915	-2.399	-1.205
Sum	1.643	-1.207	-3.922
ERMI (∑Group 1-∑Group 2)	11.13	5.91	-10.36

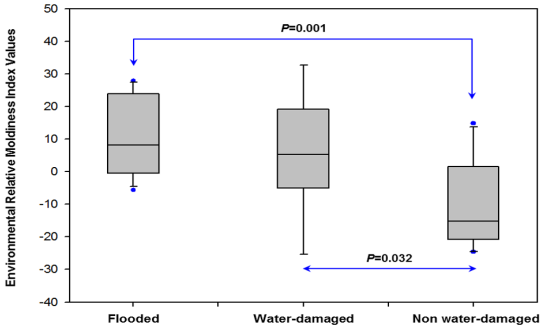

Figure. 2. The boxplot results of ERMI values for flooded, water damaged, and mon-water damaged dwellings

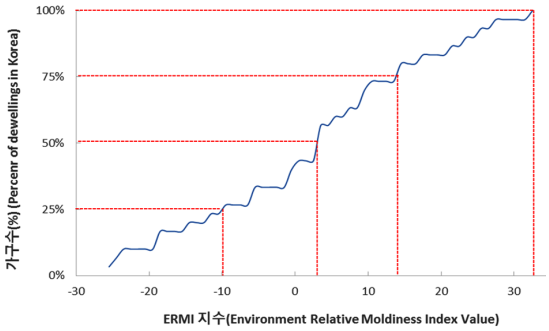

Figure. 3. Relationship of ERMI values with percentage of dwellings in Korea

Table 5. ERMI value in flood residence

Division	log10(cell number)/mg dust										
Group I	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Aspergillus flavus	-1.6	-0.4	0.7	2.1	0.0	1.3	0.2	0.4	0.0	1.5	-1.6
Aspergillus fumigatus	-2.2	-3.4	-1.3	-0.8	-1.0	-2.9	-2.4	-0.9	0.0	-2.5	-0.5
Aspergillus niger	-0.9	0.9	1.2	1.8	-0.2	1.0	1.6	-0.6	2.4	3.9	2.8
Aspergillus ochraceus	0.0	1.8	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0
Aspergillus restrictus	2.7	3.9	7.8	2.7	4.9	6.0	8.7	4.3	0.0	3.6	5.5
Aspergillus sclerotiorum	-1.5	0.3	-1.3	-0.1	-1.4	-1.8	-1.5	0.7	0.0	-0.4	-0.3
Aspergillus sydowii	0.2	1.7	4.7	2.7	1.9	4.7	4.3	2.5	5.8	0.3	1.4
Aspergillus unguis	-1.9	-1.5	-0.1	-1.9	-0.9	-0.1	0.6	-1.7	0.0	-1.0	-1.9
Aspergillus versicolor	0.3	1.3	5.1	0.4	3.0	5.0	6.4	0.8	0.4	-0.2	2.2
Chaetomium globosum	0.5	5.0	4.1	1.3	2.6	0.5	-2.4	-0.7	0.0	0.0	-1.6
Cladosporium sphaerospermum	-0.7	-1.8	2.8	0.0	0.8	3.4	3.8	-0.1	-1.2	-1.2	0.7
Eurotium amstelodami	1.9	2.1	4.6	3.8	1.5	4.5	5.1	2.2	1.5	2.2	3.7
Paecilomyces variotii bainier	0.0	-2.7	-2.1	-0.9	-2.1	-2.7	0.0	-2.1	0.0	-1.5	-1.5
Penicillium brevicompactum	-0.6	0.1	2.9	0.1	0.5	1.5	2.7	-0.9	0.0	2.7	2.9
Penicillium corylophilum	0.0	0.0	-0.4	0.0	0.0	-0.7	-0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
Penicillium spinulosum	0.0	0.0	-1.2	-0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.0
Penicillium crustosum	-2.5	0.5	2.9	0.3	-0.5	1.9	2.9	-1.4	0.0	3.4	1.7
Penicillium purpurogenum	-1.3	-1.8	-1.9	0.2	-2.0	-1.8	-1.5	-1.3	0.0	-1.3	-2.1
Penicillium variabile	-0.7	-1.6	1.3	1.2	-0.8	-0.4	4.3	-0.1	0.0	0.1	0.5
Scopulariopsis brevicaulis	-0.3	-6.1	1.7	3.4	-0.9	-1.6	2.1	-1.1	0.0	0.3	1.1
Scopulariopsis chartarum	-1.4	4.9	1.5	1.9	2.2	-1.3	1.0	-0.2	0.0	0.5	-0.3
Stachybotrys chartarum	-2.4	-2.6	-1.2	-0.6	-2.2	-2.5	-0.9	-1.2	0.0	-0.9	-2.0
Wallemia sebi	0.9	0.7	2.6	1.7	1.6	2.0	1.4	1.0	-2.1	0.1	1.2
Sum	-11.5	1.4	36.3	18.6	7.0	15.9	36.2	0.9	6.7	9.5	10.9
Group II											
Acremonium strictum	-0.8	-2.3	0.5	-0.1	-0.9	-1.9	-0.5	-1.1	0.0	1.7	-0.7
Alternaria alternata	0.4	0.2	2.1	1.0	1.1	0.2	0.4	-1.3	0.0	1.8	1.6
Aspergillus ustus	-0.4	-1.2	-1.2	-0.4	-1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-1.8
Cladosporium cladosporioides 1	-0.1	1.0	3.5	0.0	1.1	0.9	2.1	-0.4	1.6	2.1	2.4
Cladosporium cladosporioides 2	-1.1	-1.8	3.8	-1.2	1.2	3.2	2.9	-0.1	3.6	0.2	1.3
Cladosporium herbarum	0.0	0.0	0.0	-2.3	-2.2	-2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.1
Mucor group	-0.1	-0.2	1.5	0.4	0.2	0.4	1.5	0.6	0.6	2.0	0.2
Penicillium chrysogenum 2	-1.3	-0.2	2.2	-0.5	0.3	3.4	4.7	0.3	1.6	2.8	1.6
Rhizopus stolonifer	-2.5	-2.3	-1.7	-2.3	-2.5	-3.0	-2.8	-0.7	0.0	-2.5	0.0
Sum	-5.9	-6.7	10.6	-5.4	-3.1	1.2	8.3	-2.8	7.3	10.0	3.4
ERMI (∑Group 1-∑Group 2)	-5.6	8.1	25.7	23.9	10.1	14.6	27.9	3.7	-0.6	-0.5	7.4
ERMI level	1	4	4	4	4	4	4	3	1	2	4

Table 6. ERMI value in water leakage/condensation residence

Division	log10(cell number)/mg dust								
Group I	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aspergillus flavus	-0.4	-0.8	0.7	-0.1	1.5	0.8	-0.7	0.1	0.8
Aspergillus fumigatus	0.0	-1.3	-1.3	-1.1	0.0	-2.2	0.0	-0.8	-1.5
Aspergillus niger	0.6	0.5	0.5	-1.7	2.0	0.7	-0.4	1.7	1.6
Aspergillus ochraceus	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.0
Aspergillus restrictus	1.2	5.8	1.2	0.2	4.3	0.6	4.9	8.7	3.1
Aspergillus sclerotiorum	0.0	-1.6	-2.1	0.0	0.0	0.0	-3.0	-0.4	-2.1
Aspergillus sydowii	1.0	1.4	1.1	-3.8	0.4	3.1	-0.5	4.4	0.4
Aspergillus unguis	-2.5	-0.7	-2.4	-3.6	-0.9	-1.5	-1.5	0.1	-1.9
Aspergillus versicolor	-1.7	5.7	-0.3	-3.5	2.0	1.3	1.2	4.7	0.9
Chaetomium globosum	4.8	-1.1	-0.1	-2.9	2.1	4.9	0.7	5.1	0.3
Cladosporium sphaerospermum	-1.1	-1.0	-1.3	-4.4	1.5	-0.8	-0.1	2.6	0.5
Eurotium amstelodami	2.9	2.9	1.8	-1.3	2.9	1.0	1.9	5.9	-0.1
Paecilomyces variotii bainier	-3.1	-2.0	-2.3	-1.0	-2.4	-1.1	0.0	-2.2	0.0
Penicillium brevicompactum	-0.9	1.5	1.4	-1.3	5.9	-1.9	0.6	2.6	-0.3
Penicillium corylophilum	0.0	0.0	-0.7	0.0	0.6	-0.9	-0.8	-0.4	0.0
Penicillium spinulosum	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.0
Penicillium crustosum	-2.0	0.4	2.3	-2.6	2.9	0.8	1.7	2.7	0.5
Penicillium purpurogenum	-1.1	-1.7	-1.4	0.0	-1.5	-1.9	0.0	-1.1	0.0
Penicillium variabile	-1.1	3.5	-1.6	-1.2	-0.2	1.5	-1.9	0.7	0.2
Scopulariopsis brevicaulis	1.8	-1.8	-0.7	0.0	2.5	1.0	0.1	0.7	-0.2
Scopulariopsis chartarum	2.0	2.5	-1.7	-1.7	3.2	0.9	-1.8	1.9	0.5
Stachybotrys chartarum	0.0	-1.5	-2.6	0.0	-2.0	-1.1	-2.4	-1.2	-0.6
Wallemia sebi	-0.7	2.3	-0.7	-1.6	0.3	0.1	0.9	3.4	0.5
Sum	-0.5	13.0	-10.2	-31.8	25.0	5.3	-1.1	39.9	2.7
Group II									
Acremonium strictum	0.0	-0.5	-1.7	0.0	-1.9	-1.0	-1.3	-0.2	-0.5
Alternaria alternata	-0.7	0.0	0.7	0.3	0.5	0.6	-0.2	0.3	1.6
Aspergillus ustus	0.0	-0.8	-2.7	0.0	0.0	0.3	0.0	-1.7	-0.8
Cladosporium cladosporioides 1	-0.9	0.5	0.9	-1.1	0.5	0.4	0.2	3.0	0.6
Cladosporium cladosporioides 2	-0.4	-0.2	-0.2	-2.9	2.8	-1.3	0.8	3.8	1.0
Cladosporium herbarum	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.7	0.0	0.0	-3.0
Mucor & Rhizopus	0.0	-0.5	-0.4	0.0	0.6	-0.6	-0.2	1.6	0.1
Penicillium chrysogenum 2	-0.6	-0.7	4.3	-1.1	4.6	2.3	3.7	2.9	1.3
Rhizopus stolonifer	-3.3	-2.0	-1.7	-1.6	-3.1	-2.7	-3.2	-2.5	-1.5
Sum	-5.8	-4.1	-0.8	-6.4	3.9	-3.6	-0.2	7.3	-1.1
ERMI (∑Group 1-∑Group 2)	5.3	17.1	-9.3	-25.4	21.1	9.0	-0.9	32.7	3.7
ERMI level	4	4	1	1	4	3	1	4	2

각하다는 것을 의미한다. 미국의 ERMI 그래프에 따르면, 5이상의 4등급에 해당한다. 조사대상 주택의 총부유곰팡이 농도 분포에 따른 시료채취 시기에 따른 부유곰팡이 농도결과는 Figure 2에 나타내었다.

Table 5는 침수주택 11세대를 대상으로 2회 시료채취 평균값으로 ERMI 지수를 산출한 결과는 Table 5와 같으며, 지수는 -5.6~27.9로 나타났다. 11세대 중에서 ERMI level이 4등급 주택이 7세대로 측정되었다.

누수 · 결로 주택의 ERMI 지수는 Table 6와 같으며, ERMI 지수는 -25.4~32.7로 산출되었으며 분포를 살펴보면 침수주택보다 오염도가 낮은 주택이 있음을 알 수 있다.

Ⅳ. 고 찰

본 연구결과에 따라 30세대의 ERMI 지수를 이용하여 ERMI 그래프 및 다양한 작성하였으며, 백분위수(25, 50, 75, 100%)에 해당하는 지수를 산출하여 나타

낸 결과 미국의 정량분석과 일관된 것을 확인 하였다. 기하평균 농도결과를 살펴보면, 침수주택은 375.3 CFU/m^3에서 582.4 CFU/m^3으로, 누수・결로 주택은 395.1 CFU/m^3에서 551.6 CFU/m^3으로 증가하는 것을 알 수 있었다. 일반주택도 311.5 CFU/m^3에서 537.9 CFU/m^3으로 증가하여, 장마 시기가 지난 이후에는 수분 등 환경영향으로 곰팡이 성장이 빨라지면서, 부유곰팡이가 늘어나는 것으로 판단된다. 이에 본 연구에서는 침수피해와 누수/결로 피해주택은 Aspergillus restrictus가 가장 높게 검출되었으며, 그 외에는 *A. versicolor, Eurotium group, A. sydowii* 이 높게 측정되었다. Eurotium group은 미국의 천식환자가 거주하는 주택에서도 일반주택과 비교하여 유의하게 높게 검출된 곰팡이로 높은 ERMI 지수에 큰 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Vesper et al., 2007). Vesper et al., 2008의 연구에 따르면 미국 Kansas시의 천식환자가 있는 주택의 평균 ERMI 지수는 9.31이었으며, Group I의 A. niger와 Group II의 *Cladosporium cladosporiodes* type I, C. *herbarum, Penicillium chrysogenum* type 2가 높게 측정되었다(Vesper et al, 2011). 본 연구에서도 group II 의 곰팡이 중에서는 *Cladosporium cladosporiodes* type I, *Penicillium chrysogenum* type 2가 높게 나타났다. 핀란드에서 연구한 결과를 살펴보면, *A. restrictus, Penicillum brevicompactum* 등이 높게 측정되었다(Martin et al, 2004). 반면에 미국에서는 *Aspergillus fumigatus, Wallemia sebi*도 높은 농도로 검출되고 있다. 본 연구결과를 살펴보면, 침수와 누수・결로 피해주택의 평균 ERMI 지수는 11.13, 5.91로 나타났다. 5 이상의 지수는 미국에서는 어린이가 7살 이상이 되면, 천식을 일으킬 수 있는 가능성을 지닌 것으로 알려져 있다(Taubel et al., 2016). 반면에 일반주택의 평균 ERMI 지수는 -10.36으로 낮게 나타났다. 각각의 특성에 따른 논의사항에 따른 결과에서, 주택 실내 부유곰팡이 오염도 결과는 부유곰팡이 오염도는 실내공기질 관리법의 권고기준 500 CFU/m^3을 초과한 세대가 50%에 해당하며 침수주택과 누수주택은 유사한 농도로 측정되었다. 부유 곰팡이 종 동정 결과에 따르면 물피해(침수, 누수/결로) 주택 실내에서 주로 검출된 종은 *Penicillium* 속(35%), *Cladosporium* 속(28%), *Alternaria* 속(9%), *Aspergillus* 속(9%)으로 나타났다. 그 중에서 검출률은 낮았지만, *Aspergillus flavus, A.ochraceus, Penicillium brevicompactum* 등 물피해와 관련 있는 종들이 검출되었다. 바닥먼지 중 곰팡이 정량 분석은 바닥먼지 중 곰팡이는 *Aspergillus restrictus, A. versicolor* 등이 일반가정과 비교하여 침수나 결로 주택에서 높게 검출되었으며, 알레르기 질환을 일으키는 Eurotium group이 높게 측정되었다.

본 연구를 통해서 미국의 ERMI 분석방법을 이용하여, 우리나라 실정에 맞는 ERMI 분석방법을 개발하고자 하였으나, 적정한 지수를 산출하기엔 연구대상세대수가 적고, EPA ERMI group에 해당하는 36종 곰팡이 중에서 32종을 대상으로 실시한 한계점을 지니고 있다. 또한, 카펫을 주로 이용하는 미국이나 국외의 상황과 달리 우리나라는 생활환경이 다르기 때문에 계속적인 연구가 필요한 실정이다. 하지만 본 연구에서 주택 특성별로 ERMI 지수를 비교한 결과, 물 피해 주택의 ERMI 지수가 누수・결로주택, 일반주택과 비교하여 높은 것을 확인하였다. 따라서 분자생물학적인 분석방법을 이용한 바닥먼지내의 곰팡이 DNA 정량분석방법은 침수 등 물 피해 주택에 대한 곰팡이 평가방법으로 이용 가능할 것으로 판단된다.

Ⅴ. 결 론

주택 실내 부유곰팡이 오염도는 실내/외 비는 일반주택(0.6) < 누수 및 결로 주택 (0.8) < 침수주택 (1.6)으로 측정되어 물피해나 곰팡이 피해가 있는 주택일수록 실내에 오염원이 있음을 알 수 있었다. 반면 부유 곰팡이 종 동정 결과에서는 수분활성도가 높은(0.85이상) 곰팡이 종이 검출되어 실내에 수분의 영향을 받은 환경임을 알 수 있었다. 바닥먼지 중 곰팡이 정량의 결론은 ERMI 지수값을 살펴보면, 일반주택(-10.36)보다 침수 또는 누수・결로 등의 피해가 있는 주택의 평균 ERMI 값(11.13, 5.91)이 높게 나타났다. 본 연구를 통한 정량분석 방법은 침수주택의 곰팡이 피해를 예측할 수 있는 지수로 활용 가능할 것으로 판단 되어 진다. 다만, 한국형 ERMI 개발을 위한 보다 심도 깊은 연구의 추진이 필요할 것으로 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 환경부 “환경 기술 개발사업(과제명: 실

내외 환경유해인자에 의한 수용체 중심 노출 평가 플랫폼 개발, 과제번호: 2017001350002)"에 의하여 수행된 연구 지원을 받았다.

References

Baughman A, Arens E. Indoor Humidity and Human Health – Part 1 : Literature Review of Health Effects of Humidity-Influenced Indoor Pollutants. ASHRAE Transaction 1996;102(1):193-211

Clark NM, Ammann HM, Brunekreef B. Damp Indoor Spaces and Health. The National Academics Press 2004

Kim HJ, Jo CU, Kim DS, Yook HS, Byun MW. Microbiological Contamination of Ice Cream Commercially Available in Korea and its Irradiation Effect. Journal of Animal Science and Technology 2005;47(5):867~876

Kim YH, Lee SY, Lee E, Cho HJ, Kim HB, et al. The change in food allergy prevalence of elementary school children in Seoul since the last 20 years and the risk factor analysis. Allergy, Asthma &Respiratory Disease 2016;4(4):276-283

Méheust D, LeCann P, Reponen T, Wakefield J, Vesper S, et al. Possible application of the Environmental Relative Moldiness Index in France: A pilot study in Brittany. International Journal of Hygiene and Environmental Health 2013;216(3):333-340

Meklin T, Haugland RA, Reponen T, et al. Quantitative PCR analysis of house dust can reveal abnormal mold conditions. Journal of Environmental Monitoring 2004;6(7):615-620

Nonnenmann MW, Coronado G, Thompson B, Griffith WC, Hanson JD, et al. Utilizing pyrosequencing and quantitative PCR to characterize fungal populations among house dust samples. Journal of Environmental Monitoring 2012;14(8):2038-2043

Pakr JG. International Movement of Biocides Regulation. Environmental Health and Toxicology 2000;15(4): 115-122

Park JH. Exposure assessment of biological agents in indoor environments. Korean Journal of Environmental Health Sciences 2009;35(4):239-248

Taubel M, Karvonen AM, Reponen T, Hyvarinen A, Vesper S, et al. Application of the Environmental Relative moldiness index in Finland. Applied and Environmental Microbiology 2016;82:578-584

Vesper S, McKinstry C, Ashley P, Haugland R, Yeatts K, et al. Quantitative PCR analysis of molds in the dust from homes of asthmatic children in North Carolina. Journal of environmental Monitoring 2007;9(8):826-830

Vesper S, McKinstry C, Cox D, Dewalt G. Correlation between ERMI values and other moisture and mold assessments of homes in the American Healthy Homes Survey. Journal of Urban Health 2009;86(6):850-860

Vesper S, McKinstry C, Haugland R, Neas L, Hudgens E, et al. Higher environmental relative moldiness index (ERMI sm) values measured in Detroit homes of severely asthmatic children. Science of the total environment 2008;394(1):192-196

Vesper S, Wakefield J, Ashley P, Cox D, Dewalt G, et al. Geographic distribution of Environmental Relative Moldiness Index molds in USA homes. Journal of environmental and public health 2011

World Health Organization (WHO) Europe. WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Dampness and Mould. WHO, Copenhagen, Denmark 2009