

Biological Clean 시설에서의 생물학적 오염물질의 측정방법

김 광 영
(주) 신성기연 / 소장

1. 서 론

Biological Clean Room, Biohazard 시설·장치 등에 있어서 제어대상은 부유 또는 낙하생물 입자임에도 불구하고 관련 측정방법 및 관리 기준 등이 아직 확립되어 있지 않으며, 각 사용자 입장에서 나름대로 실시하고 있는 실정이다.

미국에서는 Biological Clean 시설에 관해 NASA의 기준(표1)¹⁾이 있으며, Biohazard 관련 장치에 관해 NSF²⁾기준이 만들어져 있으며, 미생물측정에 관해 명기되어 있다.

생물학적 오염물질은 일반의 비생물입자에 비교해서 갯수가 적으며, 소량에 의해서도 문제가 되며, 비교적 크기가 크며, 일단 포집해서 배양한 후 평가해야 하는 측정상의 특성을 가지고 있기 때문에, 측정목적·측정법의 특성·환경공간에서의 오염물질의 거동특성을 고려해서 측정방법을 선정해야 한다.

본고에서는 생물학적 오염물질의 측정방법, 측정조건, 문제점 등에 관해 기술한다.

2. 측정방법

측정방법에는 Biological Clean 시설내에서 일정의 시간내에 일정의 면적에 자연낙하하는 미생물량을 측정하는 공중낙하세균측정방법(낙하법)과, 일정용량의 공기를 강제적으로 흡인해서 공기중에 포함된 미생물량을 측정하는 공중부유세균측정방법이 있다. 그외에도 시설내의 작업대, 바닥, 벽 등에 부착한 미생물량을 측정하는 부착세균측정방법이 있다. 표2에 오염제어 대상물에 따른 측정방법을 나타낸다.

표1. 공기의 청정도 Class별 생물입자량의 NASA기준(NHB 5340.2, 1967)

공기청정도 Class(meter식)	1ft ³ 당 생물입자 최대수 (1ℓ 당)	1ft ² 당 일주일간 낙하하는 생물입자 최대수 (1m ² 당)
100 (3.5)	0.1 (0.0035)	1,200 (12,900)
10,000 (350)	0.5 (0.0176)	6,000 (64,600)
100,000 (3,500)	2.5 (0.0884)	30,000 (323,000)

표2. 오염에서 대상물에 따른 측정방법

제어대상	방 법	오염량 표현의 예
공기중의 부유미생물	표3 참조	개/ℓ, 개/ft ³
낙하미생물	표3 참조	개/샤레·5분
표면오염	진공흡인법	개/cm ²
	로터크플레이트 법 Swab법	
의류	흡인법	개/cm ²
	로터크플레이트 법 세정법	
피부	Tape 법	개/cm ²
소형물체	세정법	

2.1 공중낙하세균측정방법

공중낙하세균측정방법은 일정면적의 한천 배지 (Koch법), 또는 금속편 (스텐레스 강판 법, 그림1) 등을 일정시간 정치시켜서, 그위에 낙하하는 미생물입자를 포집, 배양해서 형성된 세균집락(Colony)을 측정하는 방법이다. Koch법은 다른 측정방법에 비교해서 취급이 간편하고 경비가 적은 잇점을 가지고 있어서 가장 많이 사용되고 있다. 한편 이와 같은 낙하법은 측정오차가 크며, 측정치로부터 공기 중의 세균농도를 구하기가 어려운 점, 환경조건이 다른 측정치의 상호비교가 어려운 점 등의 결점이 있다. 그러나 동일 측정장소에서

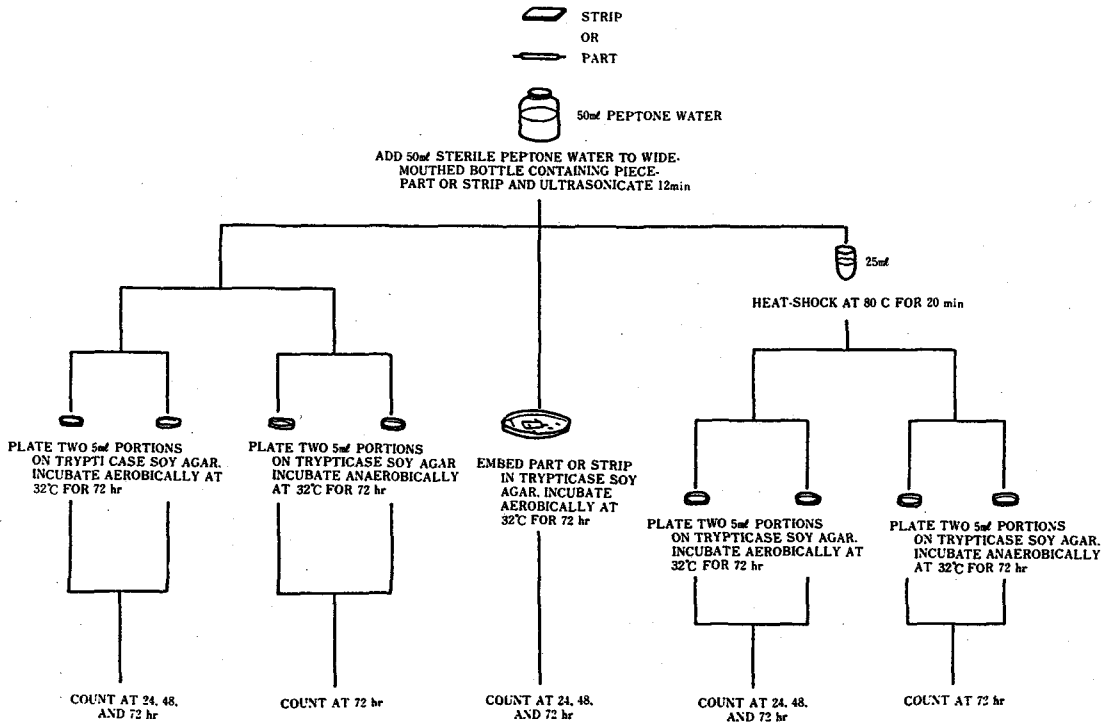


그림1 NASA 기준의 스텐레스 강판법

의 시간경과에 따른 미생물오염상태를 조사하는 하나의 측정방법으로서 사용가능하다.³⁾

일본약학회의 위생시험법에 명기되어 있는 Koch⁴⁾는 표준한천평배지 3매를 사용하며, 그것이 들어 있는 사레의 뚜껑을 열어서 5분간 노출시켜서 37°C, 48시간 호기배양후 Colony를 측정해서 사레 1개당의 낙하세균수를 산출한다. 이와같은 Koch법을 Biological Clean 시설에 사용하려면 적어도 시간단위의 노출이 필요하다.

측정법에 관한 NASA의 기준⁵⁾에서는 그림 1의 스텐레스 강판법을 사용해서 호기성 배양과 혐기성 배양을 동시에 행해서 측정한다.

2.2 공중부유세균측정방법

공중부유세균측정방법은 공기중의 미생물의 측정방법으로서는 가장 많이 사용되고 있는 방법이다.⁶⁾ 이 측정방법에서는 측정결과로부터 공기중의 세균농도를 알수 있으며, 환경조건이 다른 측정치의 상호비교가 가능한 잇점이 있다. 본 측정방법은 세균을 포집하는 기구상 5종류로 분류할 수 있다.

1) 충돌

세균을 증식시키는 고형배지표면에 샘플링공기를 충돌시키는 기구를 가지는 Slit, Sieve, Andersen, Pinhole, RCS법 등의 샘플러가 있으며, Impinger를 사용해서 액체배지에 샘플링공기를 충돌시키는 방법으로서의 Greenberg-Smith All-Glass, Capillary, Tangential Jet, Midget등의 샘플러가 있다.

2) 여과

샘플링공기를 각종의 필터로 여과해서, 필터에 남은 미생물을 측정하는 방법으로서, 필터매디어로서 Membrane (아세테이트 막), 그루타민산소다, 유리비스, Glass Wool, Cotton,

Gelatin등이 사용된다.

3) 정전기

전기적으로 하전된 표면에 입자가 부착하는 성질을 이용해서 미생물을 포집하는 방법으로서, 샘플러로서 Electrostatic Precipitator가 있다.

4) 온도차

고온과 저온의 2매의 판사이에 샘플링공기를 통과시키면, 공기중의 입자는 저온부로 이동하는 성질을 이용해서 미생물을 포집하는 방법이다. Thermal Precipitator-Water Cooled, Thermal Predipitator-Hotwire방식의 샘플러가 있다.

5) 원심력

샘플링 공기중의 입자를 원심력에 의해 포집하는 방법으로서, 세균의 입경분포로 알수 있으며, Wells샘플러가 있다.

전술한 NASA기준에 있어서 공중부유세균 측정기로서, Andersen Sampler, Elliot Sampler, Reyniers Sampler가 있으며, NSF 기준에서는 All Glass Impinger, Slit Sampler가 지정되어 있다. 표3에 이상의 측정방법을 정리요약한다.

古橋⁷⁾에 의한 병원의 수술실에서 수술중에 Pinhole Sampler와 Andersen Sampler를 사용해서 동시측정을 한 결과, 1ft³당 공기중에 전자에서는 7.1±1.56개, 후자에서는 4.6±1.02개의 Colony가 확인되었다. 또, FT식 Slit Sampler(高砂熱學)와 Pinhole Sampler(三基學工藝)를 사용해서 동시에 수술중에 측정한 결과, 공기 1ft³당 평균 4.4±0.8개, 후자에서는 11.8±2.15개의 세균이 포집되었다고 보고되어 있다.

Biological Clean시설에서 상기의 측정기들로 미생물학적 청정도를 측정하는 경우, 본래 미생물학적 청정도가 매우 높기 때문에 소량

표3. 미생물 측정방법

포집기구	측정법	주기기	보조기기	소모품	샘플링		조작성		비 고
					공기량(ℓ)	시간(분)	운반성	기구별균	
낙하	낙하법	평판한천배지	페트리접시 (유리,플라스틱)	• 한천배지 • 페트리접시		5~15	A	A	
	스텐레스강판법	스텐레스강판		액체배지				A	
충돌	Slit법	Slit Sampler 본체	페트리접시, 유량계, 펌프	• 한천배지 • 페트리접시 • 전원	26~30	3~60	B	C	시각변동 측정가능
	Pinhole법	본체	상동	상동	26~30	2	B	C	
	다공판법	본체	상동	상동			B	B	
	다단다공판법	Andersen Sampler	• 페트리접시 (전용) • 유량계 • 펌프	• 한천배지 • 페트리접시 • 전원	28.3	5~10	B	B	입경분포 측정가능
원심충돌	원심충돌법	RCSSampler	• 고히한천배 지역 (전용)	• 전용고형 배지판 • 전지	40	1~5	A	C	• 운반성이 양호 • 전용배지판사용
충돌세정	Impinger법	Impinger (A.G.I)	• 액체배지 • 소포재 • 유량계, 펌프 • Membrane 필터	• 액체배지 • Membrane 필터 • 전원	12.5	30	B	A	
여과	• Membrane 필터법	• Membrane 필터	• Holder • 유량계 • 펌프	• Membrane 필터 • 전원	10			B	B
	• 제라틴 필터법	• 제라틴 필터	상동	• 제라틴필터 • 전원	20~ 40			B	A

주) 비교적 입수하기 쉬운 기구의 예임

의 샘플링유량의 것으로는 정확히 측정할 수
가 없다. 측정시에는 대유량을 샘플링할 수
있도록 장시간형의 측정기를 사용하는 것이
바람직하다.

2.3 부착세균 측정방법

Biological Clean시설내의 기구·작업대·바다·
벽 등에 있어서의 미생물학적 청정도를 측정
하는 방법은 크게 다음의 3가지가 있다.

1) Stamp법

일정면적의 고행배지, 스폰지(액체에 젖어 있는 것)등을 직접 시험대상물이나 장소에 가볍게 눌러 닿게한 후 배양하는 방법이다. 고행배지를 이용하는 방법으로서 로닥크플레이트법, 아가소세지법, 스탬프아가영연법 등이 있으며, 스폰지를 이용하는 방법으로서 스탬프스프레이트법이 있다.

2) Swab Test법

생리식염수에 젖은 면등으로 검사장소의 일정면적을 닦아 낸후에 부착된 세균을 씻어 내든가 또는 가벼운 초음파처리에 의해 취출된 액을 배양하는 방법으로서, 미국, 영국, 캐나다 등에서 널리 사용되고 있다.

닦아내는 재료로서 탈지면·가제·특수섬유포 등이 있으며, 젖시는 용수로서는 생리식염수·각종완충액·액체배지 등이 있다.

3) 진공흡인법

전기소제기와 같은 기구로서, 검사장소에서 항시 일정한 거리, 풍량, 풍량을 유지하는 특수 흡인용 노즐에 의해 공기를 흡인해서 Membrane 필터를 여과시킨후 막에 부착한 세균을 배양, 검출하는 방법이다.

이상의 부착세균측정방법은 검사대상의 장소, 물건등의 형태에 따라 선정 사용되어야 한다. Stamp법은 검사장소, 물건이 평면의 경우에는 이용가능 하지만, 곡면인 경우에는 맞지 않는 측정방법이다. Swab Test는 평면, 곡면 어느 경우에도 이용가능하다. 진공흡인법은 어느경우에도 이용가능 하지만, 곡면에 있어서는 조금 맞지 않는다.

3. 미생물학적 청정도 측정조건

3.1 배지

일반적으로 미생물학적 청정도평가는 일정 공기중의 미생물농도, 일정공기중의 미생물의 질을 측정하는 것으로 크게 분류할 수 있다. Biological Clean시설에서는 미생물농도(총세균수)가 문제가 되기 때문에 각종 세균이 증식가능한 적정의 배지가 사용되어야 한다. 일본에서는 보통한천 또는 표준한천배지가 일반적으로 사용되고 있으며, NASA 및 NAF의 기준에서는 고행배지로서 Trypticase Soy Agar가 사용되고 있다.

Trypticase Soy Agar는 미국 BBL사(배지회사)의 제품이며, 이것과 동일한 성분을 가진 것으로서 트리프트소이한천배지(일, 영연), 트리프트소야한천배지(일수), Tryptone Soya Agar(Oxid), Tryptic Soy Agar (Difco) 등이 있다.

일본에서는 낙하법, Slit법, Pinhole법, 다단 다공판법에 있어서 총세균수 측정용으로 상기의 배지가 사용되고 있다. All Glass Impinger법에서는 증류수 1ℓ 중에 Bact제라틴 2g, 무수인산카리 4g, 브레인하트인후존배지 37g, 소포제 0.1ml의 비율의 액체배지를 사용한다. Membrane필터법은 표준법, 모니터법과 함께 전용 앰플에 들어 있는 액체배지를 사용한다. 진균(곰팡이)검출을 목적으로 하는 경우에는 고행배지로서 샤브로한천, 포테이토크스트로스한천, 클로렘페니콜부가의 포테이토크스트로스한천등을 사용한다. 이상의 것들은 호기성 세균의 배지이나, NASA기준에서는 호기성 세균외에 혐기성 세균의 측정도 포함되어 있어서, 이러한 혐기성 세균용 고행배지로서는 GAM한천배지, EG한천배지 등이 있다.

3.2 사례(빠트리 접시)

낙하법(Koch법), Casella Slit Sampler, FT식 Slit Sampler, Pinhole Sampler는 시판의 표준 사례(직경 9cm, 유리 또는 플라스틱)를 사용하며, NSB, PBI M/G Slit Sampler 및 Pinhole LT Sampler는 시판의 대형 사례(직경 15cm, 12cm, 유리 또는 플라스틱)를 사용하며, Andersen Sampler는 전용의 사례를 사용한다. Biological Clean시설의 특성에서 보면, 대형 사례를 사용하는 것이 바람직하며, 낙하법(Koch법)에서는 대형사례(15cm)를 사용해야 한다.

3.3 배양온도, 배양시간

일본에서는 공중세균측정을 위해서 배양온도 37°C, 48시간의 배양조건이 표준적으로 사용되고 있지만, NASA 및 NSF의 기준에서는 32°C, 48시간으로 되어있다. 여러 연구결과에 의하면 공중의 일반세균측정(총세균수 측정)에는 31°C, 48시간 배양조건이 최적이라고 보고되고 있어서, 전술한 NASA, NSF의 기준도 고려해서 31°C~32°C, 48시간이 적당하리라 사료된다. 진균의 측정에는 전술한 진균용배지를 사용해서 25°C, 96시간 배양이 적합하다.

표4에 배지 및 배양조건의 예를 타나낸다.

표4. 배지 및 배양조건의 예

종 류	배지종류	배양조건	비 고
세균	Trypticase Soy Agar	32°C [24시간 48시간 72시간 호기성 혐기성	NASA
	Typticase Soy Agar	37°C, 48시간	
	보통한천배지	37°C, 48시간	
	혈액한천배지	37°C, 48시간	
진균 (곰팡이)	샤브로한천배지	25°C, 96시간	
	왁스만 한천배지	25°C, 96시간	
	Photato-dextrose Agar +클로렐페니콜	25°C, 96시간	

4. 결 론

이상, Biological Clean시설·장치에서의 미생물학적 청정도 측정에 필요한 공중세균 측정법 및 측정기구에 대해 소개했다.

미생물학적 오염물질의 측정은 일반부유입자 측정과는 달리 측정상의 조건·목적·측정기구 등의 특성등을 충분히 고려해서 행해야 하며, 그외에도 측정기구의 유량의 정확성,

교정, 샘플링 프리브의 위치선정, 발생소음 등에 유의해야 한다.

- 참고 문헌 -

- 1) NASA Standards for Clean rooms and Work Stations to the microbially Controlled environment. NHB 5340. 2, August 1967
- 2) NSF Class II (laminar flow) biohazard cabinetry, standard No. 49, June 1976.
- 3) 山崎省二：空中細菌測定法，空氣清淨17卷7號(1980) 26-33.
- 4) 日本藥學會編：衛生試驗法注解，金原出版，東京，(1980)，1182.
- 5) NASA Standard procedures for the micro-biological examination of space hardware : NHB 5340. 1 August (1967)
- 6) Public Health Monograph No. 60, Sampling microbiological U.S.P.H.S., (1959)
- 7) 古橋正吉：空中浮遊菌の測定法·臨床検査，21卷 9號(1977)，17-22.

뉴스

엔지니어링-基本기술 확보 시급

플랜트건설등 엔지니어링의 기본기술확보방안으로 해외도입기술을 이용. 실험공장을 짓도록하는 파일럿 프로젝트 제도의 도입등 기술개발지원책 마련이 시급한 것으로 지적되고 있다. 10월 28일 엔지니어링업계에 따르면 국내의 엔지니어링 기본 기술 수준은 미국, 일본등의 50%수준에 머물고 있는 상황이나 외국의 기술이전기피로 기술확보에 큰 어려움을 겪고있는 실정이다. 뿐만아니라 첨단기술개발도 부진. 중국, 러시아등 해외시장을 거의 일본등에 빼앗기는등 외국과의 경쟁에 애를 먹고있는 상황이다.

업계는 이에따라 해외기술도입시 파일럿플랜트를 의무적으로 건설토록해 국내에서 이를 활용할수 있도록 하는등 기본기술확보를 위한 제도마련이 필요하다고 주장했다.

또 국내에서 개발된 신기술을 적극 이용토록 신기술 이용자에 대한 세계상의 혜택을 부여, 기술개발을 촉진하는 신기술지정제도를 활성화시켜야 한다고 강조했다. 신기술 지정 제도는 현재 건설기술관리법에 규정된 제도로 시공등에만 적용되고 있으나 이를 엔지니어링기술개발에도 적극 활용해야 한다는 것이 이들의 주장이다. 업계관계자는 일본에서 이미 외국기술도입시 정부 주도로 파일럿 플랜트를 건설토록하는등 기술확보에 적극적인 정책을 펴고있으며 「국내.건설시장 개방을 앞두고 기술 경쟁력 확보를 위해서는 엔지니어링 기술개발제도 마련이 시급하다」고 주장했다.

『한국경제신문 10월 29일』