Research Paper

Influence of the Smoking and Spitting Behaviors in Public Smoking Areas on the Microbial Contamination and Spread

Sung Woo Yang^{1,*} · Seung Hyeon Reo^{1,*} · Seung Jun Kim^{1,*} · Jeong Wook Jo^{1,*} ·
Yong-Keun Choi¹ · Hak Jin Song¹ · Kyung Bin Oh¹ · Ju Yeon Lee¹ · Yunseok Jung² ·
Hyung Joo Kim^{1,†}

¹Department of Biological Engineering, Konkuk University, Republic of Korea

²Department of Beauty & Cosmetology Jeju University, Republic of Korea

(Received November 5, 2021; Revised November 29, 2021; Accepted November 29, 2021)

Objectives : The purpose of this study was to investigate the effect of spitting behavior on microbial public health in smoking areas. Through this investigation, bacterial concentration and spread of bacteria from the smoking areas were evaluated for the prospective public health and environment.

Methods : The number of spitting and the spitting location in the smoking areas were measured visually by observers. For the microbial analysis, filter papers (5 × 5 cm) as sample collectors had been attached to the surface of the smoking areas for a given time. Using the collected filter paper, ATP bioluminescence measurement (RLU), colony forming unit (CFU) were measured. For the estimation of spitting behaviors in the smoking area on the spread microorganisms, saliva containing filters were selected from the areas, and fluorescent powder (0.01 g/cm²) was added to the papers. After 4 hours, the papers around the smoking areas were collected and the fluorescence activity was measured.

Results and Discussion : The results showed that there was a clear relationship between the spitting behavior and the microbial activity in the smoking areas. In the case of sampling area A, the highest number of spitting was observed at the lunch hour (102 ± 16 times), and the RLU from the sample collected near the smoking area showed about 5,139 ± 1,267 RLU. When the RLU around the smoking area was measured, the lowest values were found at distance of 11 and 17 m from the cigarette bin (1,329 ± 148 and 1,204 ± 203 RLU), and it was confirmed that smoking and spitting did not occur at this sampling points. In the case of sampling area B, the highest number of spitting (45 ± 6 times) was observed at evening hour, and the RLU from the sample collected near the smoking area showed about 5,274 ± 1,297 RLU. The lowest value was in the sampling area B shown at 11 and 18 m (1,181 ± 243 RLU and 1,148 ± 168 RLU) from the cigarette bin, and it was also confirmed that smoking and spitting did not occur at this sampling points. The results indicate that the spitting during the smoking induced the increases of the microbial contamination of the public environment. The fluorescence powder diffusion analysis indicated that the saliva on the ground surface would enhance the spread of the microorganisms from the smoking area.

Conclusions : Spitting in smoking areas can pose a high risk of microbial infection for smokers and non-smokers in smoking areas. Thus extensive and systematic attention related to the smoking manner must be paid to protect our public health.

Keywords : Smoking area, Spitting behaviors, Pathogens, Bacterial spread, Public health

The Korean text of this paper can be translated into multiple languages on the website of <http://jksee.or.kr> through Google Translator.

† Corresponding author

E-mail: hyungkim@konkuk.ac.kr

Tel: 02-2049-6111 Fax: 02-3437-8360

* These authors contributed equally to this work.

© 2021, Korean Society of Environmental Engineers

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

연구논문

공공 흡연장에서의 흡연 중 침 뱉기가 흡연장 주변 바닥의 미생물 오염도 변화와 미생물 확산에 미치는 영향

양성우^{1,*} · 여승현^{1,*} · 김승준^{1,*} · 조정욱^{1,*} · 최용근¹ · 송학진¹ · 오경빈¹ · 이주연¹ · 정윤석² · 김형주¹

¹건국대학교 공과대학 생물공학과

²제주대학교 건강뷰티향장학과

목적: 본 연구의 목적은 공공 흡연장에서 흡연 중 바닥에 직접 침을 뱉는 행위가 공중위생에 미치는 영향을 조사하는 것이다. 이 연구를 통하여 향후의 공중위생과 환경을 위해 흡연장에서의 세균 농도와 세균의 확산을 평가하였다.

방법: 흡연 구역에서 침 뱉는 횟수와 침 뱉는 위치를 관찰자들이 시각적으로 측정하였다. 미생물 분석을 위해 거름종이(5 × 5 cm)를 일정한 시간 동안 흡연 구역의 바닥 표면에 부착하여 샘플을 채취하였다. 샘플을 채취한 거름 종이를 이용하여 ATP bioluminescence (RLU), Colony forming unit (CFU)를 측정하였다. 흡연장에서 침 뱉는 행위를 통한 미생물의 확산을 확인하기 위해 흡연장에서 침이 존재하는 거름종이를 선정하여 형광분말(0.01 g/cm²)을 거름종이에 도포하였다. 4시간 후에 흡연장 주변의 거름종이를 수거하여 거름종이의 형광량(RFU, Relative Fluorescence Unit)을 측정하였다.

결과 및 토의: 흡연장 바닥의 침 뱉는 행위와 그에 따른 흡연장 바닥의 미생물 활성이 명확한 관계가 있다는 결과를 보여주었다. 시료를 채취한 A 구역의 경우, 점심시간에 가장 많은 침 뱉는 횟수(102 ± 16회)가 흡연통 주변에서 관찰되었다. 이때 흡연을 하면서 침을 뱉는 흡연통 근처의 15개 구역에서 채취한 시료의 평균 RLU는 5,139 ± 1,267로 측정되었다. 또한 흡연장 주변 RLU 측정 시, 흡연통으로부터 11 m, 17 m 떨어진 곳에서 가장 낮은 값이 확인되었으며(1,329 ± 148 RLU, 1,204 ± 203 RLU), 이 장소는 흡연 및 침 뱉기가 발생하지 않은 곳으로 확인되었다. 시료를 채취한 B 구역의 경우는 저녁 시간에 가장 많은 침 뱉는 횟수(45 ± 6회)가 관찰되었다. B 구역의 흡연을 하면서 침을 뱉는 흡연통 근처 15개의 장소 RLU는 5,274 ± 1,297 RLU로 측정되었으며, 흡연통에서 11 m, 18 m 떨어진 곳에서 가장 낮은 RLU (1,181 ± 243 RLU, 1,148 ± 168 RLU)가 측정되었다. 이 구역 또한 흡연 및 침 뱉지 않은 구역으로 확인되었다. 이상의 결과는 침 뱉는 행위 및 바닥의 침이 흡연장 바닥의 미생물 오염도에 영향을 준다는 것을 보여주고 있다. 형광분말 확산 분석 결과는 흡연장 표면에서 침의 존재가 흡연장으로부터 다른 지역으로 미생물의 확산을 유발할 수 있다는 것을 나타내고 있다.

결론: 침을 뱉는 행위는 흡연장에 있는 흡연자들과 비흡연자들이 미생물에 감염될 수 있는 위험을 유발할 수 있다. 따라서 공중위생을 안전하게 유지하기 위해서는, 흡연 중 침 뱉기의 위험성에 대한 설명과 주의가 필요하다고 판단된다.

주제어: 흡연장, 침 뱉기, 병원성 미생물, 세균 확산, 공중위생

1. 서론

2020년에 질병관리청에서 발표한 흡연 현황에 의하면, 우리나라의 흡연율은 2019년을 기준으로 남자는 35.7%, 여자는 6.7%인 것으로 확인된다. 또한, 통계청의 조사결과에 따르면 국내 국민의 흡연율의 경우 남자는 2018년에 비하여 1.1%p 감소해 1998년 이후로 가장 낮고, 여자는 2018년과 유사하다.¹⁾

2018년에 서울연구원에서 발표한 금연구역과 흡연구역 현황에 의하면 2018년 서울시를 기준으로 금연구역은 18,485곳, 흡연구역은 79곳으로 나타났다.²⁾ 이를 통해 국민들의 흡연 비율에 비해 흡연구역은 현저히 적고, 그로 인해 사람들은 한정된 구역에 모여서 흡연을 한다고 판단할 수 있다. 흡연장의 상황은 COVID-19 전후로 관찰되는 일상생활의 변화와 달리 전과 동일했다. 협소한 흡연구역 안에서 흡연자들은 마스크를

내리고 흡연을 하는 것으로 나타난다. 심지어 카페나 PC방 내에 있는 흡연장은 2인 이상 입장금지를 시행함에도 불구하고 2-3명씩 입장하여 흡연을 하는 것을 관찰할 수 있다.

흡연자와 비흡연자의 구강 내에 존재하는 세균을 동정해보면 흡연자와 비흡연자 간의 구강 내 미생물의 분포에 큰 차이점은 존재하지 않는다.³⁾ 그러나 타액 분비량은 흡연자의 경우가 많은 것으로 나타났다.⁴⁾ 이로 인해 흡연을 하는 사람들은 흡연을 하는 과정에서 입 속에 생긴 침을 바닥에 뱉는 경우가 많다.

침에는 다양한 미생물이 존재한다. 다양한 환자들의 침 속 바이러스를 확인한 연구에 따르면, 에볼라 출혈열 환자로부터 에볼라 바이러스가⁵⁾, 인체 면역결핍 바이러스에 걸린 환자로부터 인체 면역결핍 바이러스가⁶⁾, 다양한 환자 그룹으로부터 헤르페스 바이러스-1이⁷⁾, 재발성 편두통 환자로부터 인플루엔자 A 바이러스가 발견되었다.⁸⁾ 심지어 입원 환자에서 광견병 바이러스가 발견되고⁹⁾, 건강한 어른으로부터 헤르페스 바이러스-6이 발견되었다.¹⁰⁾ 이와 같이 전염병에 걸린 사람뿐만 아니라 건강한 사람의 침에서도 전염병 바이러스가 존재할 수 있기에 불특정다수가 흡연장에서 뱉은 침에도 전염병을 일으키는 미생물이 존재할 가능성이 있다. 사람들이 감염병에 전파되는 경로는 매우 다양하고 그 중 공기매개를 통한 감염은 예방하기가 쉽지 않다. 공기매개를 통한 감염은 대다수가 공기를 통해 전파되지만 일부는 침의 방울 형태인 비말을 통해 전파된다.¹¹⁾ 또한 에어로졸 입자를 통해 전염병에 감염될 가능성이 있다는 것도 이미 많은 연구를 통해 입증되었다.¹²⁾ 하지만 비말이나 에어로졸이 아닌 침을 통한 직접적인 전파사례에 대해서는 명확하게 밝혀진 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 흡연자가 흡연장 주변 바닥에 침을 뱉음으로써 발생할 수 있는 공중 위생상의 문제점을 확인하기 위하여, 국내 종합대학 내, 2개소의 흡연장에서 흡연자가 흡연 중 바닥에 침을 뱉는 횟수를 조사하고 주변의 시료를 채취하여 ATP bioluminescence 기반 미생물의 오염도 및 CFU의 측정을 진행하였다. 또한 형광분말을 이용하여 흡연자가 뱉은 바닥의 침이 미생물의 확산에 미치는 영향에 대한 추정을 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 흡연장의 위치

본 연구를 위하여 서울 소재 종합대학 내 2곳의 흡연장(A흡연장: 37°32'26.1"N, 127°04'45.3"E, B 흡연장: 37°32'29.4"N, 127°04'32.2"E)을 선정하고, 선정된 흡연장에서의 침 뱉는 횟수 분석, 미생물 분석 및 형광분말 확산 실험을 실시하였다.

2.2. 시약

본 실험에서는 거름종이(CAT No. 1002-110, GE Healthcare Life Science WhatmanTM, UK)를 사용하여 시료채취를 진행

하였다. 배지(BactoTM Tryptic Soy Broth soybean-Casein Digest Medium, Becton, Dickinson and Company, USA)와 한천(Agar, Samchun Pure Chemical, Korea) 등을 사용하여 미생물 CFU 분석을 진행하였으며, 생물발광법 기반 미생물 오염도 분석(ATP bioluminescence measurement)은 ATP 표면스왑 키트(Clean-TraceTM Test, 3M Health Care, USA)를 이용하여 측정하였다. 흡연장에서의 타액으로 인한 미생물 확산 범위는 분말형광안료(2388384969, Petit Art, Japan)를 이용하여 excitation 파장 490 nm, Emission 파장 590 nm에서 분석하였다.

2.3. 실험 기간

흡연장에서 흡연 및 침 뱉는 횟수의 측정 등, 흡연자 관찰 분석은 3명의 관찰자(A, B, C)가 육안으로 진행하였다. 우선 주변 건물 옥상에서 흡연장 주변을 사진 촬영하여 간이 지도를 만들고, 지도상에 실 거리 1 m 단위로 격자를 표시하였다. 관찰자 중 A와 B는 흡연장을 중심으로 약 50 m 떨어진 각각의 지점에서 흡연 위치와 침 뱉은 위치를 확인하였다. 관찰자 C는 흡연장 방문자의 수와 침 뱉은 횟수를 기록하였으며, 추가적으로 흡연장 근처를 지나간 유동인구수도 기록하였다. 흡연장에서의 관찰자 위치 등은 Fig. 1에 표시하였다.

실험기간은 2021년 4-5월이었으며, 우천일과 그 다음날을 피하여 진행하였다. 흡연자 관찰 분석 진행은 각각의 흡연장 실험장소에서 유동인구, 흡연자 수, 침 뱉는 횟수, 침 뱉은 위치 등을 조사하였으며, 측정 시간대는 9:30~10:30, 12:30~13:30, 17:00~18:00으로 나누어 1일 3회로 설정하였다. 관찰분석은 1주에 1일(1일 3회), 4주간에 걸쳐 총 12회에 걸쳐 진행하였으며, 미생물 및 형광 분석 실험은 상기 흡연자 수 분석일과 동일한 일자에 총 4회 진행하였다. 미생물 및 형광 실험 분석은 동일 시료를 3회 이상 측정하여 결과를 산출하였다. 수치분석은 통계 프로그램인 SPSS (Ver. 25)를 사용하여 구하였다.

2.4. 미생물 분석 시료의 채취

미생물 분석용 시료를 흡연장 주변 지면에서 채취하기 위하여, 거름종이를 사용하였다.¹³⁾ 각 흡연장을 기준으로 전체 측정 범위를 정하고, 이를 1 m × 1 m 단위로 구역을 나누었다. 5 cm × 5 cm의 거름종이를 양면테이프를 이용하여 각 구역의 중앙부 바닥에 1장씩 부착하였다. 이때 양면테이프는 거름종이의 가장자리 네 군데에 부착하였다. 양면테이프가 부착된 거름종이는 각 실험장에서 흡연자 관찰분석이 진행되는 실험일자 오전 10시에 각각의 흡연장 바닥에 부착하고, 오후 4시에 수거하였다. 수거된 거름종이는 중앙에 1 cm × 2 cm의 구멍이 있는 하드보드지(규격 4 cm × 4 cm)와 70% 에탄올로 소독을 진행한 surgical blade로 중앙부분에 해당되는 거름종이를 잘라낸 후 이를 분석에 사용하였다. 이 과정을 Fig. 1에

Fig. 1. The schematic illustration of the experiments in the smoking area: (A) filter paper for the sampling, (B) smoking area, (C) smoker(s), (D) cigarette bin, (E) observers, (F) sampling templet, (G) microtube for the analysis.

표시하였다.

2.5. 생물 발광법을 이용한 미생물 오염도 측정

생물발광분석법¹⁴⁾을 이용하여 채취된 거름종이 시료의 미생물 오염도를 측정하였다. 분석을 위하여 채취한 시료를 5 ml microtube에 넣은 후 증류수(D.W) 2 ml를 첨가하여 1분 30초간 vortex mixer를 이용하여 혼합을 하였다. 혼합한 시료 2 ml 중 1 ml를 ATP 측정기(Clean-Trace™ NG Luminometer, 3M Deutschland GmbH-Health Care Business, Germany)를 이용하여 RLU (Relative Luminescence Unit)를 측정하였으며, 동일한 실험을 3회 반복하였다. 혼합한 시료 2 ml 중 1 ml를 사용하고 남은 1 ml의 시료는 CFU 측정에서 사용하였다.

2.6. 시료의 CFU 측정

RLU값과 CFU (Colony Forming Unit) 사이의 상관관계를 확인하기 위하여 총 4회의 RLU 측정을 통해 각 흡연장에서 RLU가 가장 높았던 2곳과 RLU가 가장 낮았던 2곳을 선정하여, 총 4개의 시료를 채취한 후 미생물 오염도 측정에 사용하고 남은 1 ml의 시료 중, 100 µl씩 TSA배지 3개에 도말한 후 35℃에서 48시간 동안 배양을 진행하였다.¹⁵⁾ 48시간동안 배양을 진행한 후, 각 시료의 RLU 값과 CFU를 비교하였다.

2.7. 형광 분말을 이용한 미생물 확산도 분석

흡연장에서 흡연자가 뱉은 침은 흡연장을 지나가는 사람들이 밟게 되고, 이를 통하여 신발에 묻은 침은 사람들이 이동하며 다른 곳으로 확산된다. 이를 확인하고, 그 확산 정도를 분석하기 위하여 형광분말을 이용하여 실험을 진행하였다. 우선 흡연장 A와 B에 시료 채취용 거름종이를 2.4절에서의 미생물 분석과 동일한 방식으로 부착하였다. 각 실험일자의 오전 9시에 부착 후 방치하여 흡연자가 뱉은 침이 거름종이에 묻도록

하였다. 3시간 경과 후 흡연통에 근접한 침이 묻은 시료채취용 거름종이 3개를 선정하여 형광분말을 0.01 g/cm²를 도포하였다. 거름종이를 각 실험 일자의 오후 16시까지 방치하여 사람들이 충분히 거름종이를 밟고 지나가게 한 뒤, 각 실험 일자의 오후 16시에 거름종이를 2.4절에 언급한 방식으로 채취하여 2.5절과 같은 방식으로 증류수를 추가하고 혼합하였다. 미생물의 확산 범위를 조사하기 위해 형광물질이 방출하는 빛인 형광을 정량분석 할 수 있는 형광광도계(SpectraMax M2, Molecular Devices, USA)를 이용하여 Relative Fluorescence Unit (RFU)을 측정하였다.¹⁶⁾ 혼합된 시료들을 96 well에 옮긴 후, 96 well을 형광광도계로 excitation 파장은 490 nm으로, Emission 파장은 590 nm으로 설정하여 시료들을 동시에 분석하였으며, 동일한 실험을 3회 반복하였다. 대조군으로써, 측정 거리를 53 m로 연장하여, 흡연장에서 침이 묻지 않은 거름종이에 형광분말을 도포하고, 그 외 조건을 동일하게 진행하여 형광분말이 타액으로 인해 확산된 것인지를 확인하였다. 모든 실험은 3회 이상 반복하여 그 결과의 평균값을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 흡연장 방문자수, 방문자 중 흡연인원, 흡연 중 침 뱉는 횟수 및 유동인구 분석

A 흡연장과 B 흡연장에서의 유동인구, 흡연자 수, 침 뱉는 횟수의 총합을 Fig.2에 표기하였다. A 흡연장과 B 흡연장에서, 흡연장 유동인구 10명 중 8명(80.55 ± 5.51%)는 흡연자로 나타났으며, 흡연자 중 10명 중 7명(67.12 ± 9.27%)가 침을 뱉는 것으로 확인된다. 또한 침 뱉는 흡연자 1명당 3.5회(3.54 ± 0.81) 침을 뱉는 것으로 나타났다.

A 흡연장에서 실험 일자의 11:30~12:30에서 유동인구가 가장 많았고 그에 따라 흡연자 수, 침 뱉는 횟수의 총합 모두 가장 높았다. 이를 직접 관찰한 결과, 점심시간에 식사를 하러 외출하는 인원뿐만 아니라 배달음식으로 인한 배달원들의 왕래 및 출근 인구에 의한 것으로 보인다. 반면 실험 일자의 9:30~10:30에서 유동인구, 흡연자 수, 침 뱉는 흡연자 수, 침 뱉는 횟수의 총합 모두 가장 낮았다. 이는 A 흡연장이 소재하고 있는 건물 관련 인원의 평균적인 출근시간이 10:30분 이후라는 점에 의한 것으로 보인다.

B 흡연장에서는 유동인구, 흡연자 수, 침 뱉는 횟수의 총합 모두 실험 일자의 17:00~18:00에서 가장 높았다. 이는 B 흡연장이 소재한 건물에 도서관이 있고, 대다수의 학생 및 직원들의 해당 건물 이용 시간대가 17:00~18:00라는 점에 의한 것으로 보인다. 반면 실험 일자의 11:30~12:30에서 유동인구, 흡연자 수, 침 뱉는 흡연자 수, 침 뱉는 횟수의 총합 모두 가장 낮았다. 이는 B 흡연장이 소재하고 있는 건물에서 11:30~12:30에서 일반적으로 강의가 진행되기에 대부분의 인구가 해당 시간대에 건물 내에 있음에 의한 것으로 보인다. 따라서 흡연장에

Fig. 2. Average numbers of visitors and smokers, number of spitting during smoking in the smoking area: (A) is the smoking area located at 37°32'26.1"N, 127°04'45.3"E, and (B) is the smoking area located at 37°32'29.4"N, 127°04'32.2"E.

서의 침 뱉는 횟수는 시간대에 관계없이 흡연자의 수에 비례하고 있음을 나타내고 있다.

A와 B 흡연장에서 침 뱉은 위치와 횟수에 대한 결과를 Fig. 3에 표시하였다. A 흡연장의 경우 침 뱉은 구역은 대부분 흡연통과 근접한 구역이며 침 뱉은 횟수 또한 흡연통과 근접한 구역에서 증가하는 모습을 보여준다. 이는 사람들이 담배꽂이를 쉽게 버리기 위해 흡연통 주변에서 흡연하는 경향에 의한 것으로 보이며, 그 주변 구역이 유동인구가 많기에 그에 따라 침 뱉는 횟수도 증가하는 것으로 보인다. B 흡연장은 침 뱉은 구역이 대부분 흡연통에 근접한 구역이며 침 뱉는 횟수는 특정 구역을 제외하고는 유사하게 나타났다. B 흡연장의 경우 흡연통의 앞과 뒤에 화단이 존재하여 흡연통에 접근하는 길이 두 곳이다. 그곳의 흡연자들을 관찰한 결과, 건물과 더 가까운 방향에 있는 왼쪽 구역에서 담배를 많이 피우는 경향이 있어 왼쪽에서 침 뱉는 횟수가 많은 것으로 보인다.

3.2. 흡연장 주변 바닥에서의 RLU측정을 통한 미생물 오염도 및 CFU 확인

흡연장 바닥에서의 미생물 활성 분석을 위하여, 흡연장 바닥에 거름종이를 부착 후 일정 시간이 지난 후, 채취한 시료의 RLU를 측정하여 Fig. 3에 표시하였다. 또한 이 결과를 미생물

Fig. 3. The relationship among RLU values, the number of spitting, and CFU in the smoking areas A and B. The control areas and the cigarette bins are indicated at the maps (the bottom layers of the illustrations).

의 존재여부와 비교하기 위하여, RLU 실험에서 값이 가장 높았던 흡연통 근처 2곳과, RLU 값이 가장 낮았던 흡연통 바깥의 2곳을 선정하여 CFU를 측정하였다. 또한 침이 미생물의 증식에 영향을 주는지 확인하기 위해 흡연을 하지만 침을 뱉지 못하게 한 2 곳(Fig. 3의 control)에서도 CFU를 확인하였다. 각 흡연장에서 모두 6곳을 선정하여 채취한 시료를 TSA배지에 100 μ l 도말하고 35°C에서 48시간 배양하여 CFU를 확인하였다.

A 흡연장의 경우, 흡연을 하며 침을 많이 뱉는 흡연통 근처 15개의 구역에서의 평균 RLU는 $5,139 \pm 1,267$ 로 측정되었다. RLU 측정 지역 중 RLU가 가장 높았던 두 구역은 흡연통에서 반경 2 m 이내의 구역으로 RLU가 $6,475 \pm 749$ 및 $6,994 \pm 596$ RLU로 나타났으며, 각 구역에서의 CFU는 733 ± 41 및 898 ± 52 CFU/cm²으로 각각 측정되었다. RLU 측정 지역 중 RLU가 가장 낮았던 두 구역은 흡연통에서 약 11 m, 17 m 떨어진 구역으로 RLU가 각각 $1,329 \pm 148$ 및 $1,204 \pm 203$ RLU로 나타났으며, 각 구역에서의 CFU는 51 ± 11 및 46 ± 8 CFU/cm²으로 측정되었다. 이 구역은 관찰 분석 결과, 흡연을 하지 않으며 침 또한 뱉지 않는 구역으로 확인되었다. 침을 많이 뱉는 흡연통과 거리가 먼 곳의 RLU 및 CFU는 흡연통 주변 구역과 비교하였을 때, 모두 낮은 측정값을 보여주고 있

다. 이 경우 RLU가 높은 구역과 낮은 구역에서의 CFU/cm²이 대략 16.9배의 차이를 나타내는 것을 확인하였다. 침이 미생물 오염도에 영향을 주는지 확인하기 위한 대조 실험으로써, 기존의 흡연통에서 30 m 및 31.5 m 떨어진 위치(Fig. 3의 (A)에서 Control로 표시한 위치)를 설정하고, 관찰기간 동안 그 구역에서 흡연 중 침을 뱉지 못하도록 관찰자가 유도한 뒤, RLU를 두 곳에서 측정한 결과, 546 ± 51 RLU, 712 ± 66 RLU로 나타났다. 흡연을 하지만 침을 뱉지 못한 곳과 흡연을 하면서 침을 많이 뱉은 흡연통 주변 구역을 비교하면 RLU 값은 약 86.5% 감소하였다. 또한 두 곳에서의 CFU를 측정한 결과 7 ± 2 및 14 ± 2 CFU/cm²으로 측정되었다. 이는 흡연통 근처에서의 CFU/cm²과 비교하였을 때 1.29%에 해당하는 수치로 침이 없는 경우에는 미생물이 많이 존재하지 않는다고 판단된다.

B 흡연장에서도 동일하게 흡연을 하며 침을 많이 뱉는 흡연통 근처 15개의 구역에서 평균 RLU가 5,274 ± 1,297 RLU로 측정되었다. RLU 측정 지역 중 RLU가 가장 높았던 두 구역은 흡연통에서 반경 2 m 이내의 구역으로 RLU가 5,373 ± 540 및 6,638 ± 1,086 RLU로 나타났으며, 각 구역에서의 CFU는 513 ± 48 및 803 ± 76 CFU/cm²으로 측정되었다. RLU 측정 지역 중 RLU가 가장 낮았던 두 구역은 흡연통에서 약 11 m, 18 m 떨어진 구역으로 RLU가 1,181 ± 243 및 1,148 ± 168 RLU로 나타났으며, 각 구역에서의 CFU는 34 ± 10 및 38 ± 8 CFU/cm²으로 측정되었다. 이 구역은 관찰 분석 결과, 흡연을 하지 않으며 침 또한 뱉지 않는 구역으로 확인되었다. 이 경우도 역시, 침을 많이 뱉는 흡연통과 거리가 멀기 때문에 흡연통 주변 구역과 비교하여 적은 RLU, CFU/cm² 수치를 보여주고 있다. B 흡연장에서도 A 흡연장과 비슷하게 RLU가 높은 구역과 낮은 구역에서의 CFU/cm²이 대략 18.4배의 차이를 나타내는 것을 확인하였다. 침이 미생물 오염도에 영향을 주는지 확인하기 위한 대조 실험으로써, 기존의 흡연통에서 12 m 및 23 m 떨어진 위치(Fig. 3의 (B)에서 Control로 표시한 위치)를 설정하고, 관찰기간 동안 그 구역에서 흡연 중 침을 뱉지 못하게 한 뒤, RLU를 두 곳에서 측정한 결과, 752 ± 53 및 656 ± 49 RLU로 나타났다. 흡연을 하지만 침을 뱉지 못한 곳과 흡연을 하면서 침을 많이 뱉은 흡연통 주변 구역을 비교하면 대략 85.7% 감소하였다. 또한 두 곳에서의 CFU를 측정한 결과 20 ± 2 및 16 ± 3 CFU/cm²으로 측정되었다. 이는 흡연통 근처에서의 CFU/cm²과 비교하였을 때 2.68%에 해당하는 수치로 침이 없는 경우에는 미생물이 많이 존재하지 않는다고 판단된다.

두 흡연장에서 유사하게 유동인구가 많이 존재하고 침 뱉는 횟수가 많은 흡연통 주변 구역이 흡연통 바깥 구역과 침을 뱉지 않은 흡연 공간보다 높은 RLU 수치와 CFU/cm²을 나타냈다. 즉, 침을 많이 뱉은 곳이 RLU값이 높으며 이는 많은 미생물이 존재하기 때문에 높은 값의 CFU가 관찰될 수 있

며^{17,18,19}, 반대로 침을 뱉지 않는 곳은 RLU값이 낮으며 동시에 낮은 값의 CFU가 나타났다고 판단된다. 동일하게 사람들이 많이 다니기는 하지만 흡연통과 거리가 먼 구역 및 흡연을 하지만 침을 뱉지 못하게 한 구역(control 위치)에서는 흡연통 주변 구역에 비해 적은 RLU 및 CFU/cm² 수치를 나타냈다. 따라서 이상의 결과는 흡연 중 침을 뱉는 행위로 인한 침의 존재가 미생물이 증식하게 해줄 뿐만이 아니라 주변으로 확산될 수 있게 큰 영향을 준다고 판단된다.

3.3. 흡연자의 타액이 형광물질 확산에 미치는 영향

각 흡연장에서 흡연자의 타액에 첨가한 형광물질의 확산 범위를 확인한 결과를 Fig. 4에 표시하였다. A 흡연장의 경우 흡연통을 기준으로 3 m, 23 m 떨어진 구역에서의 RFU는 각각 1,985 ± 213 및 82 ± 20 RFU로 측정되었다. 20 m의 거리가 떨어지면 4.13%의 형광이 남아있었다. 흡연장 지도 범위 내에서, 흡연장은 아니지만 흡연을 한 곳에서 침을 뱉지 못하게 한 뒤, 두 곳(Fig. 4의 (A)에서 Control로 표시한 위치)에서 시료를 채취했을 때는 각각 0.74 ± 0.05 및 0.98 ± 0.08 RFU로 측정되었다.

B 흡연장에서 타액이 존재하는 경우에 형광의 확산 범위를 확인한 결과, A 흡연장에서 확인한 결과와 같이 처음 확산이 시작한 지 3 m 후의 RFU를 100%로 두었을 때 거리가 멀어질수록 RFU가 줄어드는 것을 확인할 수 있다. B 흡연장의 경우 흡연통을 기준으로 3 m, 28 m 떨어진 구역에서의 RFU는 각각 2,127 ± 284 및 49 ± 21 RFU로 측정되었다. 25 m의 거리가

Fig. 4. Diffusion of the fluorescence powder from the smoking areas A and B. The squares in the maps show the fluorescence intensity of the sampling papers. The blue lines indicate the fluorescence powder addition points. The control areas and the cigarette bins are indicated at the maps.

떨어지면 2.3%의 형광이 남아있었다. 흡연장 지도 범위 내에서 흡연장은 아니지만 흡연을 하는 곳에서 침을 뱉지 못하게 한 뒤 두 곳(Fig. 4의 (B))에서 Control로 표시한 위치)에서 시료를 채취했을 때는 각각 0.66 ± 0.05 및 0.82 ± 0.07 RFU로 측정되었다.

시료 분석용 거름종이에 타액이 존재하는 경우는 A와 B 흡연장소에서 모두 형광물질이 50 m 이상 확산됨을 알 수 있었다. 구체적으로 침이 존재하는 경우에는 3 m 떨어진 거름종이에서 평균 $2,029 \pm 121$ RFU로 측정되었고, 53 m 떨어진 거름종이에서는 119 ± 19 RFU로 측정되었다. 침이 존재하는 경우에는 거리가 50 m 멀어지면 5.85%의 형광이 잔존하였다. 그러나 침이 존재하지 않을 경우에는 3 m 떨어진 거름종이에서 $1,426 \pm 151$ RFU로 측정되었으며, 53 m 떨어진 거름종이에서는 28 ± 5 RFU로 측정되었다. 침이 존재하지 않는 경우에는 거리가 50 m 멀어지면 1.99%의 형광이 잔존하였다. 채취한 시료들의 RFU를 수치상으로 비교하였을 때, 침이 묻은 시료는, 침이 묻지 않은 시료보다 동일 거리(50 m)에서 약 2.94 배 이상 형광분말이 잔존할 수 있음을 보여주고 있다. 이와 같은 결과는 흡연자가 뱉은 침이 형광물질의 확산에 큰 영향을 주며, 앞서 진행한 RLU와 CFU 결과와 연계하여 볼 때 흡연자의 침이 공중 보건과 깊은 관련이 있고, 미생물에서의 분포 및 그 확산에 직접적으로 연관이 있음을 확인할 수 있었다.

4. 결론

본 연구의 결과, 흡연장에서 뱉는 침이 미생물의 흡연장 주변의 미생물 농도와 미생물의 확산에 영향을 주고 있음을 확인하였다.

1) ATP bioluminescence 측정 기반 RLU를 측정한 결과, 흡연장 주변 구역이 흡연장에서 거리가 먼 구역보다 높은 값이 측정되는 경향이 나타났다. A 흡연장 주변 구역에서는 $5,139 \pm 1,267$ RLU, 흡연장에서 거리가 11 m, 17 m 떨어진 곳에서는 $1,329 \pm 148$ 및 $1,204 \pm 203$ RLU로 측정되었다. B 흡연장도 유사하게 흡연장 주변 구역에서 $5,274 \pm 1,297$ RLU, 흡연장에서 거리가 11 m, 18 m 떨어진 곳에서는 각각 $1,181 \pm 243$ 및 $1,148 \pm 168$ RLU로 측정되었다. 또한 A 흡연장과 B 흡연장의 지도 범위 내에서 흡연 구역이 아닌 곳에서 담배를 피우는 사람들에게 침을 뱉지 못하게 한 뒤(대조군), RLU를 측정하였을 때 A 흡연장은 546 ± 51 및 712 ± 66 RLU, B 흡연장은 752 ± 53 및 656 ± 49 RLU로 각각 측정되었다. 이 결과를 통해 침을 뱉는 행위가 흡연장 주변 미생물 오염도에 영향을 줄 수 있음을 확인하였다.

2) TSA 배지를 이용해 미생물을 배양하여 CFU를 확인해본 결과, 침이 많았던 흡연장 주변 구역에서 CFU가 높게 측정되었다. 반면에 흡연장과 거리가 멀었던 구역에서는 CFU가 낮

게 측정되었다. 두 흡연장에서 흡연장 주변 구역과 흡연장에서 거리가 먼 구역에서의 CFU가 차이가 나타났다. 침 속에는 미생물이 생장하는 데 필요한 다양한 영양소(탄수화물, 단백질, 아미노산, 핵산, 비타민, 보조인자 등)가 존재한다.²⁰⁾ 또한 침의 특성상 다양한 물질의 부착이 가능하기 때문에 침을 많이 뱉은 흡연장 주변 구역에서 다양한 미생물이 많이 생장한 것으로 볼 수 있다.

3) 형광물질을 이용한 확산실험의 경우, 거리가 멀어질수록 RFU가 점차 줄어드는 추세를 확인하였다. 두 흡연장에서 침이 존재하는 경우에 형광의 확산을 확인했을 때, 거리가 멀어질수록 형광이 적게 남아있었다. 또한 거리를 늘려 침이 존재하는 경우와 존재하지 않는 경우에 형광의 확산을 확인했을 때, 침이 존재하는 경우가 같은 거리에서 더 많은 형광이 남아있고, 동일한 양의 형광이 남아있을 때의 거리를 비교하면 침이 존재하는 경우가 더 멀리 이동한 것을 확인했다. 형광을 이용해 침이 50 m 이상 이동이 가능하며, RLU와 CFU 결과를 토대로 미생물의 경우에도 동일하게 적용될 것이라 판단된다.

4) 이와 같은 실험을 통해 흡연장 바닥에 미생물이 존재하는 것을 확인했으며, 특히 침에 있는 미생물들이 사람들이 침을 밟고 지나감에 따라 확산되었음을 확인하였다. 침 속 미생물군은 사람마다 상이하며, 여러 병원성 미생물들이 존재할 수 있기 때문에 흡연장에서 담배를 피우면서 침 뱉는 행위를 자제하는 것이 공중위생 및 보건상 꼭 필요하다고 판단된다.

5) 본 연구의 결과는, 특정 대학교 내에 존재하는 한정적인 인원이 사용하는 흡연 구역에서 4-5월에 걸쳐 진행하였기 때문에, 더 많은 유동인구가 사용하는 일반적인 도로변에 존재하는 흡연 구역의 결과와 다를 수 있어 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

Acknowledgement

이 연구는 2021학년도 건국대학교의 드림학기제에 의해 지원되었습니다. 이에 감사드립니다.

References

1. Korea Disease Control and Prevention Agency Home page, <http://www.kdca.go.kr> (2020).
2. The Seoul Institute Home page, <http://www.si.re.kr> (2019).
3. H. J. Jeong, S. J. Kim, Distribution and antimicrobial susceptibility of bacteria in the oral cavity of smokers or non-smokers, Korean J. Microbiol., 46(4), 334-340(2010).
4. J. H. Kim, G. U. Kim, Effect of oral environment (salivary flow, taste recognition threshold) of adults over 40 years on oral health influence point (OHIP-14), J. Korean Soc Dent Hyg, 13(5), 749-757(2013).

5. D. G. Bausch, J. S. Towner, S. F. Dowell, F. Kaducu, M. Lukwiya, A. Sanchez, S. T. Nichol, T. G. Ksiazek, P. E. Rollin, Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites, *J. Infect. Dis.*, 196(Supplement_2), S142-S147(2007).
6. D. H. Coppenhaver, P. S. Woo, S. Baron, C. E. Barr, M. N. Qureshi, Correlation of nonspecific antiviral activity with the ability to isolate infectious HIV-1 from saliva, *NEJM*, 330(18), 1314-1315(1994).
7. K. Tateishi, Y. Toh, H. Minagawa, H. Tashiro, Detection of herpes simplex virus (HSV) in the saliva from 1,000 oral surgery outpatients by the polymerase chain reaction (PCR) and virus isolation, *J. Oral Pathol. Med.*, 23(2), 80-84(1994).
8. C. Vinagre, M. J. Martínez, L. F. Avendano, M. Landaeta, M. E. Pinto, Virology of infantile chronic recurrent parotitis in Santiago de Chile, *J. Med Virol*, 70(3), 459-462(2003).
9. S. Simani, A. Fayaz, P. Rahimi, N. Eslami, N. Howeizi, P. Biglari, A. Six fatal cases of classical rabies virus without biting incidents, Iran 1990-2010, *J. Clin. Virol.*, 54(3), 251-254(2012).
10. G. B. Harnett, T. J. Farr, G. R. Pietroboni, M. R. Bucens, Frequent shedding of human herpesvirus 6 in saliva, *J. Med Virol*, 30(2), 128-130(1990).
11. J. O. Kang, Occupational infections of health care personnel in Korea, *Hanyang Med. Rev.*, 31(3), 200-210(2011).
12. W. G. Lindsley, J. S. Reynolds, J. V. Szalajda, J. D. Noti, D. H. Beezhold, A cough aerosol simulator for the study of disease transmission by human cough-generated aerosols, *Aerosol Sci Tech*, 47(8), 937-944(2013).
13. S. T. El-Sayed, A. M. Ali, E. El-Sayed, W. G. Shousha, N. I. Omar, Characterization and potential antimicrobial effect of novel chitooligosaccharides against pathogenic microorganisms, *J. Appl. Pharm. Sci.*, 7, 6-12(2017).
14. J. S. Jang, S. H. Hwang, Evaluation of Hygienic Status of High School Foodservice using ATP Bioluminescence Assay & Microorganism Test Strips, *Korean J. Food & Nutr.*, 28(5), 918-925(2015).
15. D. K. Jeong, E. S. Lyu, The microbiological evaluation of environments and facilities at food service operations in elementary school, *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, 31(2), 216-220(2002).
16. J. Y. Lee, H. U. Im, H. J. Yun, H. R. Lee, A Study on the Quantitative Analysis of Fluorescent Whitening Agents in the Paper, Proceedings of the Korea Technical Association of the Pulp and Paper Industry Conference, *J. of Korea TAPPI*, Yongin, pp. 233-239(2005).
17. Y. S. Kim, H. K. Moon, S. I. Kang, E. J. Nam, Verification of the suitability of the ATP luminometer as the monitoring tool for surface hygiene in foodservices, *Korean J. Food & Nutr.*, 39(11), 1719-1723(2010).
18. R. Fushimi, M. Takashina, H. Yoshikawa, H. Kobayashi, T. Okudo, S. Nakata, M. Kaku, Comparison of adenosine triphosphate, microbiological load, and residual protein as indicators for assessing the cleanliness of flexible gastrointestinal endoscopes, *Am. J. Infect. Control*, 41(2), 161-164(2013).
19. A. Osimani, C. Garofalo, F. Clementi, S. Tavoletti, L. Aquilanti, Bioluminescence ATP Monitoring for the Routine Assessment of Food Contact Surface Cleanliness in a University Canteen, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11(10), 10824-10837(2014).
20. N. S. Jakubovics, Saliva as the Sole Nutritional Source in the Development of Multispecies Communities in Dental Plaque, Metabolism and Bacterial Pathogenesis, T. Conway, P. Cohen (Eds.), ASM PRESS, Washington, DC., pp. 263-277(2015).

Declaration of Competing Interest

This work was supported by the 2021 Dream Academic Semester Program of Konkuk University.

Authors and Contribution Statement

Sung Woo Yang

Department of Biological Engineering, Konkuk University, Undergraduate researcher, ORCID[®] 0000-0001-5612-0077: The observer, Sample handling, Data analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Writing original draft

Seung Hyeon Reo

Department of Biological Engineering, Konkuk University, Undergraduate researcher, ORCID[®] 0000-0003-3085-3250: The observer, Sample handling, Data analysis, Investigation, Methodology, Visualization

Seung Jun Kim

Department of Biological Engineering, Konkuk University, Undergraduate researcher, ORCID[®] 0000-0003-3075-819X: The observer, Sample handling, Investigation, Methodology

Jeong Wook Jo

Department of Biological Engineering, Konkuk University, M.S. Candidate, ORCID[®] 0000-0002-0782-4913: The observer, Sample handling, Investigation, Methodology, Resources, Writing-review & editing

Yong-Keun Choi

Department of Biological Engineering, Konkuk University, Ph.D., ORCID[®] 0000-0002-4535-8044: Methodology, Resources, Validation

Hak Jin Song

Department of Biological Engineering, Konkuk University, Ph.D. Candidate, ORCID[®] 0000-0001-8263-2703: Methodology, Resources, Validation

Kyung Bin Oh

Department of Biological Engineering, Konkuk University, M.S.
Candidate, ORCID[®] 0000-0001-9445-1125: Bacteria analysis,
Writing-review & editing, Validation

Ju Yeon Lee

Department of Biological Engineering, Konkuk University, M.S.
Candidate, ORCID[®] 0000-0001-6659-0937: The observer, Bacteria
analysis, Visualization, Validation

Yunseok Jung

Department of Beauty & Cosmetology, Jeju University, Professor,
ORCID[®] 0000-0002-0039-6370: Microorganisms analysis, Writing-
review & editing, Validation

Hyung Joo Kim

Department of Biological Engineering, Konkuk University,
Professor, ORCID[®] 0000-0001-6311-3748: Project management,
Data analysis, Investigation, Methodology, Writing-review &
editing