

황사 발생 기간 낙하먼지에 포함된 미생물의 분포 및 특성

고지윤 · 장찬국 · 차민주 · 박교남 · 김민규 · 김종설*

울산대학교 자연과학대학 생명과학부

Distribution and Characteristics of Microorganisms Associated with Settled Particles During Asian Dust Events

Ji Yun Koh, Chan Gook Jang, Min Ju Cha, Kyo Nam Park, Min Kyu Kim, and Jongseol Kim*

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

(Received June 5, 2012 / Accepted June 27, 2012)

Asian dust storms originating in the arid desert of China and Mongolia usually occur from late winter through spring, and more than one million tons of dust per year is transported to the Korean Peninsula by the prevalent westerly winds. We supposed that these dust particles could include bioaerosols and act as carriers of microorganisms. In order to clarify the dynamics of microorganisms moving with these particles, the concentration and composition of microorganisms associated with settled particles were compared between samples collected during Asian dust events and those under non-dust periods. From February to April 2008, settled dust particles were collected at one location in Ulsan using rainfall meter of 200 mm diameter. During this period, there was one Asian dust event in Ulsan. The bacterial concentrations were higher in samples collected during Asian dust event than those under non-dust period, whereas fungal concentrations were rather similar regardless of the Asian dust event. We analyzed 16S rRNA gene sequences of 45 bacterial isolates obtained from the settled particle samples. These isolates belonged to either genus *Bacillus* or genus *Streptococcus* and were tentatively identified as *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhatai*, *B. atrophaeus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. methylophilus*, *B. pumilus*, *B. sonorensis*, *B. subtilis*, *B. vallismortis*, *S. epidermidis*, and *S. succinus*. In cases of fungal isolates, genera such as *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium*, and *Aspergillus* were tentatively identified from samples collected at both Asian dust and non-Asian dust periods. It appears that endospore-forming bacteria such as *Bacillus* sp. rather than fungal spores are more likely to be associated with Asian dust particles.

Keywords: Asian dust, bacteria, fungi, settled particle

황사(Asian dust)는 중국과 몽골의 사막지역과 중국 황하 중상류의 황토지대에서 바람에 의해 대기 중에 부유한 미세먼지가 상층 바람을 타고 멀리까지 날아가는 기상 현상을 말한다. 우리나라에서의 황사 발생은 발원지에서의 미세먼지 발생량, 이동에 필요한 강한 편서풍, 지표면에 낙하하기 위한 기상조건 등의 영향을 받는다(Chun *et al.*, 2001). 국내에서 황사는 일년 중 주로 3월에서 5월까지의 봄철에 높은 빈도로 발생하고 있다(Korea meteorological administration, 2012). 황사 발생시 큰 입자는 대부분 발원지와 그 주변 지역에 가라앉는다. 따라서 국내에서 관측되는 황사는 주로 10 μm 이하의 미세먼지(particulate matter 10, PM10)로 구성되며, 황사 발생시 공기중 미세먼지의 농도도 같이 증가한다(Chun *et al.*, 2001). 현재 국내에서는 황사로 인해

1시간 평균 400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 이상의 미세먼지 농도가 2시간 이상 지속할 것으로 예상될 때 황사주의보, 1시간 평균 800 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 이상의 미세먼지 농도가 2시간 이상 지속할 것으로 예상될 때 황사경보가 각각 발표된다(Korea meteorological administration, 2012).

기존 국내에서의 황사에 대한 연구는 modeling을 통한 이동 경로 분석, 미세먼지의 농도, 화학적 조성 및 입자의 크기 분포, 호흡기 질환과의 관계에 관한 역학 조사 등에 관한 것이 다수를 차지하고 있다(Lee *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2008; Yoo *et al.*, 2008). 국제적으로는 황사 먼지를 통한 미생물의 장거리 이동에 대한 여러 연구가 있다(Ichinose *et al.*, 2008; Iwasaka *et al.*, 2009). 이들 연구에서는 황사 먼지가 사람 보건에 미치는 영향과 함께 새로운 미생물 유입에 의한 생태계 교란의 가능성에 대해 언급하고 있다. 미생물은 그 자체로 또는 미세먼지나 수증기와 결합한 형태로 bioaerosol을 형성하여 대기에 유입된다. 이러한 bioaerosol은 감염, 알레르겐으로 작용, 염증반응 초래, 독소로서의 작용 등을 통해 사람의 건강에 나쁜 영향을 줄 수 있다. 실외

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

환경에서 bioaerosol은 식물과 가축의 질병 전파와 관련한 심각한 경제적인 문제를 야기하기도 한다. 실외에서 공기중 미생물의 분포는 시간, 공간에 따라 변화하며, 황사와 같은 기상학적 조건에 의해서도 많은 영향을 받는다(Griffin, 2007).

국내에서 황사 발생시 높은 농도로 측정되는 미세먼지는 분명히 bioaerosol을 포함하며, 황사 발생과 관련한 미세먼지 내 미생물의 분포에 대한 여러 결과가 발표되고 있다(Choi *et al.*, 1997; Bae *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2009). 하지만, bioaerosol의 발생원, 이동 경로 및 운명에 관한 정보는 여전히 부족한 실정이다. 특히 수도권이나 서해안 지방에 비해 황사 발생 빈도와 강도가 상대적으로 낮은 울산 지역에서 황사 먼지의 미생물 분포에 대한 연구는 매우 제한적이다. 따라서 본 연구에서는 황사가 주로 발생하는 2월에서 4월까지 낙하먼지의 포집 및 미생물학적 분석을 통해, 울산 지역에서 낙하먼지에 존재하는 미생물의 분포 및 종류, 그리고 황사 발생이 미생물 분포에 미치는 영향에 대한 기본 정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

낙하먼지의 포집

황사가 주로 발생하는 봄철 낙하먼지에 포함된 미생물의 분포와 종류를 비교하기 위해, 2008년 2월부터 4월까지 직경 200 mm의 강수량계를 이용하여 낙하먼지를 포집하였다. 울산광역시 소재의 도로 교통량의 영향을 적게 받고 주위에 고층 빌딩이 없는 주택가 3층 건물의 옥상(위도 35° 31' 21.5"N, 경도 129° 23' 58.2"E)에 2개의 강수량계를 설치하였으며, 하나는 낙하먼지의 정량에, 다른 하나는 미생물 분석에 사용하였다. 포집기간 동안 매주 2회(화요일 오전 7시와 금요일 저녁 7시)씩, 강수량계의 용기에 84시간 동안 낙하한 먼지를 멸균한 증류수 200 ml로 현탁한 후 멸균한 유리 용기에 옮겨 담았으며, 비가 왔을 경우 전체 빗물의 부피를 측정하고 빗물을 채수하였다.

낙하먼지의 정량은 표준시험법의 총 부유물질 측정법을 준용하였으며, 1개의 강수량계에서 포집한 낙하먼지 현탁액 혹은 빗물을 직경 47 mm, 공극 크기(pore size) 1.2 µm인 GF/C로 여과하여 측정하였다(American public health association, 1996).

낙하먼지의 미생물 분포

낙하먼지에 포함된 배양이 가능한 세균수와 진균수는 각각 plate count agar와 dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar를 사용하여 측정하였다(Atlas and Parks, 1996). 시료의 미생물 수 측정을 위한 접종은 채수 후 12시간 이내에 실험실에서 행하였으며, 도말평판법과 함께 막여과법도 병행하여 매 시료당 2개 농도에서 각각 duplicate로 접종하였다(American public health association, 1996). Plate count agar는 35°C에서 48시간 배양 후 생겨난 집락을 계수하였고, DRBC agar는 25°C에서 120시간 배양 후 나타난 집락을 계수하였다.

세균의 genomic DNA 추출, 16S rDNA 증폭 및 염기서열 분석

낙하먼지에 포함된 세균의 순수배양 및 잠정적 동정 실험은 2월 22일에서 4월 22일까지 2개월간 포집한 시료를 대상으로 진

행하였다. 매 시료마다 세균수 측정시 접종한 plate 중 임의의 1개 plate를 선정하고, 여기서 생겨난 집락 중 최대 15개의 임의의 집락을 새로운 plate count agar에 접종하여 최초 분리하였으며, 생겨난 집락을 동일 배지에 계대 배양하여 순수배양을 얻었다.

16S rRNA 유전자 염기서열에 기초한 분자적 세균 동정을 위해 분리한 세균을 Luria-Bertani broth (Atlas and Parks, 1996)에 접종하였으며, 배양한 세포로부터의 genomic DNA 추출에는 DNeasy[®] blood & tissue kit (QIAGEN, USA)을 사용하였다.

추출한 DNA로부터 16S rRNA 유전자를 증폭하기 위해 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACGA CTT-3') universal primer set를 사용하여 thermocycler (MJ Research, USA)로 PCR을 수행하였다(Lane, 1991). PCR 조건은 PCR buffer (50 mM Tris-HCl, 250 mM KCl) 6 µl, dNTP mixture(2.5 mM each) 3 µl, 10 pmol primer 6 µl, Taq polymerase (TaKaRa, Japan) 1.5 unit를 넣은 후, template DNA를 첨가하고 이차증류수로 최종 반응량을 30 µl로 맞추었다. PCR 증폭 과정은 94°C에서 5분간 pre-denaturation, 94°C에서 1분간 denaturation, 49.5°C에서 1분간 primer annealing, 72°C에서 1분간 extension을 총 34회 반복하고, 72°C에서 10분간 최종 반응시켰다. PCR 산물을 1% (w/v) agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide 용액에서 염색하여 1.5 kb 정도 크기의 DNA 밴드를 확인하였다.

증폭한 PCR 산물은 PCR purification kit (QIAGEN, USA)를 이용하여 정제하였다. 16S rRNA 유전자 절편의 서열 분석은 자동화된 DNA 서열분석기(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였으며, 27F와 1492R을 이용하여 양쪽 방향에서 염기서열을 분석하였다. 각각의 분리 세균으로부터 얻은 16S rDNA 부분 염기서열은 BioEdit version 7.0.5.3의 contig assembly program을 사용하여 배열하였으며, Basic Local Alignment Search Tool을 이용하여 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 GenBank에 등록된 서열과 비교하였다(Hall, 1999). 본 연구에서 분리한 세균의 염기서열은 GenBank에 제출되었으며, accession number JX094893-JX094937으로 등록되었다.

진균의 순수배양 및 동정

2월 22일에서 4월 22일까지 포집한 낙하먼지로부터 검출된 진균을 대상으로 순수배양 및 동정 실험을 진행하였다. 세균과 같은 방식으로 임의의 집락을 선정하였으며, 매 시료마다 임의의 15개 집락을 DRBC agar에 일차 접종한 후, 생겨난 집락을 동일배지에 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

황사 발생 현황

조사기간 중 울산지역에서 황사가 발생한 날은 3월 2일 오후

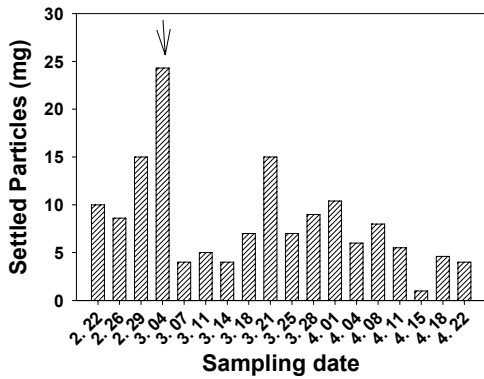


Fig. 1. Total amount of particles settled in a rainfall meter. Each date represents sampling points collecting 84-h settled particles. Arrow indicates the sampling date when the Asian dust event occurred in Ulsan.

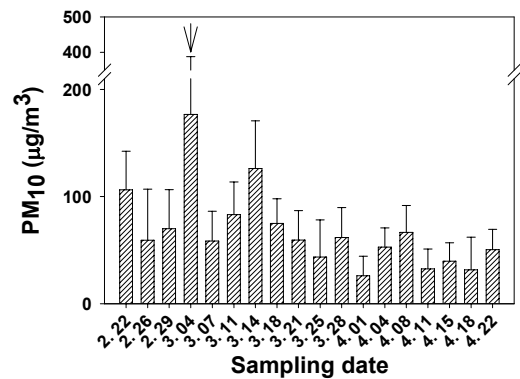


Fig. 2. Average concentration of airborne particles (PM10) measured at Hyomoon-dong during the sampling period of settled particles. Each sampling date represents 84-h sampling period of settled particles. Arrow indicates the sampling date when the Asian dust event occurred in Ulsan.

에서 3월 3일 오후까지 하루 동안이었으며, 3월 2일과 3월 3일에 걸쳐 황사주의보와 황사경보가 발령되었다. 낙하먼지를 포함한 지점과 인접한 울산광역시 효문동의 공기중 미세먼지(PM10) 농도 자동측정망 결과를 살펴보면, 24시간 평균값의 경우 3월 2일 147.2 µg/m³, 3월 3일 385.1 µg/m³로, 3월 1일의 52.8 µg/m³, 그리고 비가 내린 3월 4일의 22.0 µg/m³에 비해 매우 높은 농도를 보였다. 황사주의보 발령 기준인 1시간 평균 미세먼지 농도 400 µg/m³ 이상의 농도가 3월 3일 오전 2시에서 오후 2시까지 13시간 동안 지속되었으며, 황사경보 발령 기준인 1시간 평균 미세먼지 농도 800 µg/m³ 이상의 농도는 같은 날 오전 3시에서 오전 5시까지 3시간 동안 지속되었다.

조사기간 중 강수량계를 사용하여 84시간 간격으로 주 2회 포집한 낙하먼지의 양을 그래프로 나타내었다(Fig. 1). 18회에 걸쳐 포집한 낙하먼지의 양은, 4월 15일 최소값인 1.0 mg에서 3월 4일 최대값인 24.3 mg의 범위였으며, 전체 평균과 중앙값은 각각 8.2 mg과 7.0 mg이었다. 84시간의 포집 시간에 황사가 발생한 날(3월 2일과 3일)이 포함된 3월 4일의 낙하먼지 양이 24.3

mg으로 가장 높았다(Fig. 1). 낙하먼지 포집 지점과 인접한 울산시 효문동의 자동측정망에서 시간대별로 측정된 공기중 미세먼지의 농도를, 낙하먼지의 포집 시간 간격과 맞추어 84시간 동안의 평균값을 구하였다(Fig. 2). 84시간 평균 미세먼지 농도의 최소값은 4월 1일의 26.1 µg/m³, 최대값은 3월 4일의 176.6 µg/m³이었으며, 전체 평균과 중앙값은 각각 67.7 µg/m³와 59.3 µg/m³이었다. 낙하먼지 양과 마찬가지로 황사가 발생한 날이 포함된 3월 4일의 공기중 미세먼지 농도가 84시간 평균 176.6 µg/m³으로 가장 높았다(Fig. 2).

낙하먼지의 미생물 분포

낙하먼지에 포함된 배양이 가능한 세균수와 진균수의 측정 결과를 각각 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. 16회에 걸쳐 포집한 낙하먼지에 포함된 세균의 수는, 4월 22일 최소값인 40(±20) CFU에서 3월 4일 최대값인 32,400(±13,500) CFU의 범위였으며, 전체 평균과 중앙값은 각각 2,692 CFU와 385 CFU이었다. 황사가 발생한 날과 황사가 없었던 날의 낙하먼지 세균의 농도

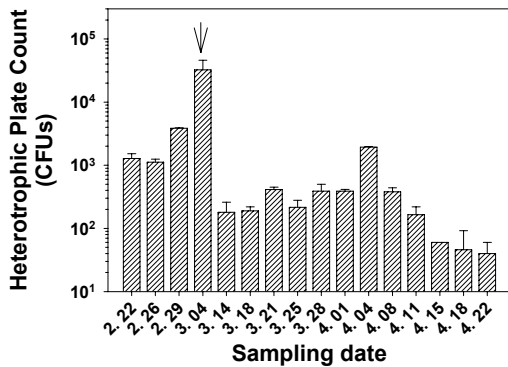


Fig. 3. Heterotrophic plate counts for the samples of settled particles collected in rainfall meter. Each date represents sampling points collecting 84-h settled particles. Arrow indicates the sampling date when the Asian dust event occurred in Ulsan.

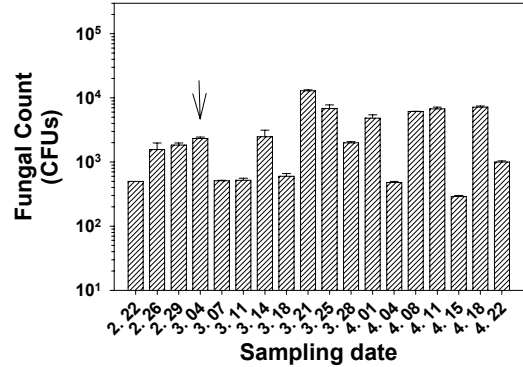


Fig. 4. Fungal counts for the samples of settled particles collected in rainfall meter. Each date represents sampling points collecting 84-h settled particles. Arrow indicates the sampling date when the Asian dust event occurred in Ulsan.

를 비교해보면, 84시간의 포집 시간에 황사가 발생한 날이 포함된 3월 4일의 세균수가 32,400 CFU로 가장 높았다(Fig. 3). 낙하먼지의 단위 질량당 세균수는, 4월 18일과 22일의 10 CFU/mg에서 3월 4일의 1,333 CFU/mg의 범위였다. 황사가 있었던 3월 4일의 시료에서 낙하먼지의 단위 질량당 세균수도 가장 높았다. 3월 7일과 3월 11에 포집한 시료의 경우, 낙하먼지의 현탁액에 사용한 멸균수의 세균 오염에 따라 분석 결과를 포함하지 않았다. 비가 왔던 3월 4일의 시료는 빗물을 채수하였고, 현탁액을 사용하지 않았다.

18회에 걸쳐 포집한 낙하먼지에 포함된 진균의 수는, 4월 15일 최소값인 290(± 10) CFU에서 3월 21일 최대값인 12,900(± 450) CFU의 범위였으며, 전체 평균과 중앙값은 각각 3,257 CFU와 1,915 CFU이었다(Fig. 4). 황사가 발생한 날과 황사가 없었던 날의 낙하먼지 진균의 농도를 비교해보면, 84시간의 포집 시간에 황사가 발생한 날이 포함된 3월 4일의 진균수는 2,322(± 135) CFU로, 황사 발생에 따른 진균수의 유의성 있는 증가는 없었다(Fig. 4). 낙하먼지의 단위 질량당 진균수는, 2월 22일의 50 CFU/mg에서 4월 18일의 1,560 CFU/mg의 범위였다. 황사가 있었던 3월 4일의 시료에서 낙하먼지의 단위 질량당 진균수는 96 CFU/mg이었다.

낙하먼지의 세균수와 진균수를 비교해보면, 중앙값 기준으로 진균수가 세균수보다 5배 정도 더 높았다.

세균과 진균의 순수배양 및 동정

포집한 낙하먼지로부터 최종적으로 87개 세균 집락의 순수배양을 얻었으며, 이중 45개 분리 세균의 16S rRNA 유전자 부분 염기서열을 대상으로 NCBI GenBank 데이터베이스의 등록된 서열과 비교하여 closest match를 조사하였다(Table 1). 16S rRNA 유전자 서열을 비교한 결과, 45개 분리 세균의 경우 *Bacillus* 속이 39개(87%), *Staphylococcus* 속이 6개(13%)였으며, 다른 속은 확인되지 않았다. 중별로 살펴보면 *Bacillus* 속의 *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *B. atrophaeus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. methylotrophicus*, *B. pumilus*, *B. sonorensis*, *B. subtilis*, *B. vallismortis*와 *Staphylococcus* 속의 *S. epidermidis*, *S. succinus*이 closest match로 선택되었다(Table 1).

황사가 발생한 날이 포함된 3월 4일의 시료를 접종한 plate에서 얻은 11개 분리 세균의 경우 *Staphylococcus epidermidis* 1개를 제외한 나머지 10개는 모두 *Bacillus* 속의 *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus* 등으로 확인되었으며, 이들 종은 황사가 없었던 날의 시료에서 분리한 세균에서도 확인되었다(Table 1).

낙하먼지를 포집하여 진균수를 측정하는 DRBC agar에 생겨난 집락을 대상으로, 임의의 집락을 동일배지에 연속적으로 계대 배양하여 최종적으로 152개의 순수배양을 얻었다(Table 2). 이중 형태적 특징에 기초하여 전체의 70%인 107개 집락을 잠정적으로 동정하였으며, 나머지 45개 집락은 형태적 특징만으로는 확인하기 어려웠다. 잠정적으로 동정한 107개 집락으로부터 모두 12속 10종의 진균을 확인할 수 있었는데, *Mucor* sp.가 32개로 가장 많았고, 다음으로 *Alternaria alternata* 20개, *Cladosporium* 속 13개, *Aspergillus* 속 13개 등이었으며, yeast인 *Saccharomyces*

*cerevisiae*와 *Schizosaccharomyces pombe*가 각각 9개와 3개씩이었다(Table 2). 이외에도 *Ulocladium chartarum* 6개, *Monascus ruber* 4개, *Penicillium glabrum*과 *Rhizopus* sp.가 각 2개, *Curvularia geniculata*와 *Debaryozyma hansenii*가 각 1개씩 확인되었다(Table 2). 황사가 발생한 날이 포함된 3월 4일의 시료로부터 모두 13개 집락의 순수배양을 얻었다. 이중 잠정적으로 동정한 9개 집락은 *Mucor* sp., *Alternaria alternata*, *Cladosporium* 속, *Schizosaccharomyces pombe*, *Aspergillus* sp., *Monascus ruber*, *Debaryozyma hansenii* 등 7속 5종이 확인되었으며, *Debaryozyma hansenii*는 3월 4일의 시료에서만 분리되었다(Table 2).

고찰

본 연구에서 낙하먼지의 배양 가능한 세균 농도는 황사가 없는 날에 비해 황사 발생시 더 높은 반면, 진균 농도는 황사 발생 여부에 큰 영향을 받지 않았다. 1986년에서 1988년에 걸쳐 대전 근교에서 조사한 연구에서도 황사가 발생하는 4월의 공기중 세균 농도가 평상시에 비해 4.3배 증가하는 반면, 공기중 진균 농도는 오히려 약간의 감소를 나타내었다(Choi *et al.*, 1997). 이러한 결과는 진균(포자) 보다는 내생포자를 형성하는 세균이 황사 먼지와외의 부착 혹은 이동과 더 연관이 있음을 시사한다. 2007년 4월부터 1년간 서울에서 공기중 미세먼지(PM2.5)를 포집하여 denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) 분석을 행한 실험의 결과도 황사 발생 기간과 비황사 기간 사이에 PM2.5 미생물 군집의 차이가 있음을 보여준다(Lee *et al.*, 2009).

본 연구에서 분리한 배양할 수 있는 낙하먼지 세균은 모두 *Bacillus* 속 또는 *Staphylococcus* 속이었으며, *Bacillus* 속 10종, *Staphylococcus* 속 2종의 세균이 확인되었다. 태안 지역에서 행한 조사에서도 황사 기간과 비 황사 기간에 채취한 시료 모두에서 *Bacillus* sp.와 *Staphylococcus* sp.가 동정되었다(Bae *et al.*, 2005). 반면 위의 DGGE 분석 연구의 경우, 16S rRNA 유전자의 작은 절편(196 bp)을 분석하여 종 수준의 정보는 제한적이지만 배양하지 못하는 세균도 분석할 수 있었는데, *Propionibacterium* sp., *Bacillus* sp., *Acinetobacter* sp. 등은 황사와 관련 없이, *Aquabacterium* sp. *Flavobacteriales* clone, *Prevotellaceae* clone 등은 황사 발생시의 PM2.5에서 확인되었다(Lee *et al.*, 2009). 한편 북경의 실외 공기에서 배양을 통해 분리한 세균을 생화학적 특징에 기초하여 동정한 결과, 우점하는 세균은 *Micrococcus* 속, *Staphylococcus* 속, *Bacillus* 속, *Corynebacterium* 속, *Pseudomonas* 속 등의 순서였다(Fang *et al.*, 2007).

본 연구에서 분리하여 동정한 낙하먼지 진균의 경우, 황사 발생과 관련 없이 *Mucor* 속, *Alternaria* 속, *Cladosporium* 속, *Aspergillus* 속의 순으로 많이 분포하였지만, 분리한 진균의 30%인 45개 집락은 형태적 특징만으로는 동정할 수가 없었다. 태안 지역의 경우, 황사 기간에는 *Penicillium* 속, *Alternaria* 속이, 비 황사 기간에는 *Mucor* 속, *Cladosporium* 속, *Alternaria* 속, *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속 등이 주로 배양되었다(Bae *et al.*, 2005). 2000년 봄의 황사 발생 기간에 서산 지역에서 포집한

Table 1. List of heterotrophic bacterial isolates and their closest match in GenBank based on 16S rRNA gene sequences

Accession no.	Sampling date	Closest match (GenBank accession no.)	Similarity (%)
JX094893	2-22	<i>Bacillus vallismortis</i> strain (JQ735970)	1318/1356 (97)
JX094894	2-22	<i>Bacillus methylotrophicus</i> strain (HQ831412)	1427/1446 (99)
JX094895	2-22	<i>Bacillus methylotrophicus</i> strain (JF460743)	1428/1442 (99)
JX094896	2-26	<i>Bacillus licheniformis</i> strain (JQ579622)	1179/1196 (99)
JX094897	2-26	<i>Bacillus</i> sp. (JF411338)	759/786 (97)
JX094898	2-29	<i>Staphylococcus epidermidis</i> strain (JF799902)	1243/1280 (97)
JX094899	2-29	<i>Staphylococcus</i> sp. (HQ385946)	1341/1365 (98)
JX094900	2-29	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain (JF899255)	1428/1476 (97)
JX094901	2-29	<i>Staphylococcus succinus</i> strain (HM209754)	1413/1459 (97)
JX094902	2-29	<i>Staphylococcus</i> sp. (JQ404464)	1345/1363 (99)
JX094903	2-29	<i>Bacillus sonorensis</i> gene (AB681416)	1439/1468 (98)
JX094904	3-4	<i>Bacillus</i> sp. (HQ317164)	1427/1433 (99)
JX094905	3-4	<i>Bacillus megaterium</i> strain (HQ647252)	1384/1401 (99)
JX094906	3-4	<i>Bacillus</i> sp. (HQ317168)	1410/1421 (99)
JX094907	3-4	<i>Bacillus</i> sp. (JF796142)	1394/1414 (99)
JX094908	3-4	<i>Bacillus</i> sp. (JF796142)	1405/1419 (99)
JX094909	3-4	<i>Bacillus</i> sp. (HQ317199)	1437/1449 (99)
JX094910	3-4	<i>Bacillus pumilus</i> strain (JQ435673)	1359/1435 (97)
JX094911	3-4	<i>Staphylococcus epidermidis</i> gene (AB680360)	991/1003 (99)
JX094912	3-4	<i>Bacillus licheniformis</i> (AB680252)	1429/1434 (99)
JX094913	3-4	<i>Bacillus licheniformis</i> (AB680252)	1433/1440(99)
JX094914	3-4	<i>Bacillus licheniformis</i> strain (HQ634209)	1435/1442 (99)
JX094915	3-18	<i>Bacillus subtilis</i> strain (HQ286641)	1429/1473 (97)
JX094916	3-18	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain (JN628977)	1426/1455 (98)
JX094917	3-18	<i>Bacillus aryabhatai</i> strain (JQ799103)	1333/1362 (98)
JX094918	3-18	<i>Bacillus subtilis</i> strain (JQ039972)	1428/1450 (98)
JX094919	3-18	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain (JF899275)	1438/1459 (99)
JX094920	3-18	<i>Bacillus</i> sp. (JQ819727)	1327/1361 (98)
JX094921	3-21	<i>Bacillus megaterium</i> (AB697153)	1327/1349 (98)
JX094922	3-25	<i>Bacillus pumilus</i> strain (FJ763649)	1434/1458 (98)
JX094923	3-25	<i>Bacillus megaterium</i> (AB697153)	1326/1356 (98)
JX094924	4-4	<i>Bacillus vallismortis</i> strain (JQ735970)	1301/1340 (97)
JX094925	4-4	<i>Bacillus pumilus</i> strain (EU500930)	1326/1345 (99)
JX094926	4-4	<i>Bacillus pumilus</i> strain (JQ780092)	1318/1332 (99)
JX094927	4-4	<i>Bacillus vallismortis</i> strain (JQ735970)	1293/1297 (99)
JX094928	4-4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain (JN700081)	806/824 (98)
JX094929	4-4	<i>Bacillus</i> sp. (GQ340495)	1035/1072 (97)
JX094930	4-4	<i>Bacillus pumilus</i> strain (HQ143609)	898/919 (98)
JX094931	4-4	<i>Bacillus subtilis</i> strain (JF496328)	761/780 (98)
JX094932	4-8	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (AB617572)	720/732 (98)
JX094933	4-8	<i>Bacillus pumilus</i> strain (JQ798393)	612/626 (98)
JX094934	4-11	<i>Bacillus atrophaeus</i> strain (JQ693811)	1294/1301 (99)
JX094935	4-15	<i>Bacillus</i> sp. (HM152752)	665/680 (98)
JX094936	4-15	<i>Bacillus licheniformis</i> (FN298317)	893/911 (98)
JX094937	4-22	<i>Bacillus pumilus</i> strain (HM103345)	1324/1341 (99)

공기중 부유물질은 *Fusarium* 속, *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속, *Basipetospora* 속 등으로 동정된 진균의 포자를 포함하였다 (Yeo et al., 2002). 한편 북경의 실외 공기에서 배양을 통해 분리한 진균은 *Cladosporium* 속, *Alternaria* 속, *Penicillium* 속, *Aspergillus* 속의 순으로 많이 분포하였으며, 미국 전역을 대상으로 행한 조사에서는 *Cladosporium* 속, *Penicillium* 속, *Aspergillus* 속이 가장 널리 분포하는 배양 가능한 진균임을 보

여준다(Shelton et al., 2002; Fang et al., 2005).

본 연구의 연구 기간 동안에 울산 지역의 황사 발생일수가 적어 황사 기간을 포함하는 시료를 충분히 얻지 못한 점이 있다. 2008년의 경우, 3월 2일과 3일 이외에 5월 31일에도 오전 1시에 서 5시까지 황사주의보가 발령되었다(Korea meteorological administration, 2012). 하지만 4월 22일 이후의 낙하먼지 시료에는 다량의 화분이 포함되어 미생물 분포 및 동정 실험을 진행하

Table 2. Tentative identification of fungi isolated from the samples of settled particles collected in rainfall meter

No. of colonies	Identification	Sampling date	
		March 4	Except March 4
	<i>Mucor</i> sp.	1	32
	<i>Alternaria alternata</i>	2	18
	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	1	10
	<i>Cladosporium</i> sp.	1	1
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		9
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	1	2
	<i>Aspergillus</i> sp.	1	6
152	<i>Aspergillus fumigatus</i>		6
	<i>Ulocladium chartarum</i>		6
	<i>Monascus ruber</i>	1	3
	<i>Penicillium glabrum</i>		2
	<i>Rhizopus</i> sp.		2
	<i>Curvularia geniculata</i>		1
	<i>Debaryomyces hansenii</i>	1	
	Unidentified	4	41
Sum		13	139

지 않았다. 참고로 울산지역에서 1998년부터 2007년까지 10년간 눈으로 확인하여 황사현상이 하루 중에 한번이라도 관측된 날은 총 73일(연평균 7.3일)이었으며, 연도별 황사발생일수는 2001년에 19일로 가장 많았고, 2005년에 2일로 가장 적었다. 월별로는 3월에 30일(평균 3일), 4월에 28일(평균 2.8일)로 전체 황사의 79%가 3월과 4월에 집중적으로 발생하였으며, 6월에서 10월까지, 그리고 12월에는 황사가 하루도 관측되지 않았다(Korea meteorological administration, 2012). 한편 연구 기간 행한 18회의 시료 채취 중 8회(2월 26일, 3월 4일, 3월 21일, 3월 25일, 4월 1일, 4월 8일, 4월 11일, 4월 18일)는 비가 온 날이 포함되어 낙하먼지를 멸균한 증류수로 현탁하지 않고 강수량계의 빗물을 채수하였으며, 이에 따른 차이는 확인하기 어려웠다.

낙하먼지에 포함된 미생물에 대한 정보를 얻기 위해, 본 연구에서는 배지에 시료를 접종한 후 생겨난 집락을 대상으로, 세균 집락은 16S rRNA 유전자 서열분석에 기초한 분자적 동정 시험을, 진균 집락은 형태적 특징에 기초한 잠정적 동정 시험을 행하였다. 환경 시료에 존재하는 미생물의 일부만이 배양될 수 있다는 것은 널리 알려져 있다(Pace, 1997). 따라서 본 연구에서 얻은 결과는 실험에 사용한 배지에서 집락을 형성할 수 있는 세균과 진균에 한정된 것으로 낙하먼지에 존재하는 전체 미생물 군집을 반영하는 것은 아니라는 한계를 지닌다. 군집의 genomic DNA 추출에 의한 분자적 군집 분석의 경우 증식이 가능한 살아있는 미생물과 대사 활성이 없는 죽은 상태의 미생물을 구분하기가 힘들다는 것을 고려할 때, 황사에 의해 유입되는 미생물이 생태계에 미치는 영향을 파악하기 위해서는 분자적 군집 분석과 함께 배양에 의한 미생물 분리 및 동정 시험을 함께 수행할 필요가 있다. 또한 본 연구에서는 배양 가능한 세균 중 *Bacillus* 속의 세균이 87%의 높은 빈도로 분리되었다. 하지만 *Bacillus* 속의 경우 16S rRNA 유전자 염기 서열만으로 종을 확정하는 것은 무리가 있으며, 분리한 세균에 대한 생리적, 생화학적 연구 및 장기간에

걸친 황사 먼지 시료의 채취와 분석이 필요하다고 생각된다.

적 요

황사는 중국과 몽골의 사막지역과 중국 황하 중상류의 황토 지대에서 바람에 의해 대기 중에 부유한 미세먼지가 상층 바람을 타고 멀리까지 날아가는 기상 현상을 말한다. 황사 먼지는 bioaerosol을 포함하며 미생물의 운반체로 작용할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 황사 발생 기간과 황사가 없는 기간 동안 각각 포집한 낙하먼지에서 미생물의 농도와 종 조성을 비교하고자 하였다. 2008년 2월부터 4월까지 울산 지역의 한 지점에서 직경 200 mm의 강수량계를 사용하여 낙하먼지를 포집하였으며, 조사 기간 동안 울산 지역에서 황사 현상은 3월 2일과 3일에 걸쳐 한번 발생하였다. 낙하먼지에 포함된 세균의 농도는, 황사 기간 동안 포집한 시료에서 황사가 없는 기간의 시료에 비해 크게 높았다. 하지만, 낙하먼지의 진균 농도는 비 황사 기간에 비해 황사 기간 동안 유의성 있게 증가하지 않았으며, 조사 기간 동안 세균에 비해 상대적으로 일정한 수준을 유지하였다. 낙하먼지 시료로부터 분리한 45개 세균의 16S rRNA 유전자 염기 서열을 분석하였으며, 이들 세균은 *Bacillus* 속의 *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhatai*, *B. atrophaeus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. methylotrophicus*, *B. pumilus*, *B. sonorensis*, *B. subtilis*, *B. vallismortis*와 *Staphylococcus* 속의 *S. epidermidis*, *S. succinus*로 확인되었다. 진균의 경우 *Mucor* 속, *Alternaria* 속, *Cladosporium* 속, *Aspergillus* 속 등을 황사 기간 및 비 황사 기간의 시료에서 모두 확인할 수 있었다. *Bacillus* 속과 같은 내생 포자를 형성하는 세균이 진균(포자)에 비해 황사 먼지에의 부착 및 이동과 더 연관이 있는 것으로 보인다.

감사의 말

본 연구는 2012년 울산대학교 연구비 지원에 의해 수행되었음.

참고문헌

- American public health association. 1996. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., USA.
- Atlas, R.M. and Parks, L.C. 1996. Handbook of microbiological media. CRC press, Boca Raton, Florida, USA.
- Bae, K.W., Kim, J.H., Kim, Y.S., Park, J.S., Jee, Y.K., and Lee, K.Y. 2005. Microbiological identification and distribution of metal components in suspended particulate matter during yellow sand phenomena at Taean region in 2003. *Tuber. Respir. Dis.* **58**, 167-173.
- Choi, D.-S., Park, Y.-K., Oh, S.-K., Yoon, H.-J., Kim, J.C., Seo, W.-J., and Cha, S.-H. 1997. Distribution of airborne microorganisms in yellow sands of Korea. *J. Microbiol.* **35**, 1-9.
- Chun, Y., Boo, K.-O., Kim, J., Park, S.-U., and Lee, M. 2001. Synopsis, transport, and physical characteristics of Asian dust in Korea. *J. Geophys. Res.* **106**, 18461-18469.

- Fang, Z., Ouyang, Z., Hu, L., Wang, X., Zheng, H., and Lin, X.** 2005. Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. *Sci. Total Environ.* **350**, 47–58.
- Fang, Z., Ouyang, Z., Zheng, H., Wang, X., and Hu, L.** 2007. Culturable airborne bacteria in outdoor environments in Beijing, China. *Microb. Ecol.* **54**, 487–496.
- Griffin, D.W.** 2007. Atmospheric movement of microorganisms in clouds of desert dust and implications for human health. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 459–477.
- Hall, T.A.** 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* **41**, 95–98.
- Ichinose, T., Yoshida, S., Hiyoshi, K., Sadakane, K., Takano, H., Nishikawa, M., More, I., Yanagisawa, R., Kawazato, H., Yasuda, A., and *et al.*** 2008. The effects of microbial materials adhered to Asian sand dust on allergic lung inflammation. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **55**, 348–357.
- Iwasaka, Y., Shi, G.-Y., Yamada, M., Kobayashi, F., Kakikawa, M., Maki, T., Naganuma, T., Chen, B., Tobo, Y., and Hong, C.S.** 2009. Mixture of Kosa (Asian dust) and bioaerosols detected in the atmosphere over the Kosa particles source regions with balloon-borne measurements: possibility of long-range transport. *Air Qual. Atmos. Health* **2**, 29–38.
- Korea meteorological administration.** 2012. Available at <http://www.kma.go.kr/weather/asiandust/density.jsp>.
- Lane, D.J.** 1991. 16S/23S rRNA sequencing, pp. 115–175. In Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. (eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Lee, S., Choi, B., Yi, S.-M., and Ko, G.** 2009. Characterization of microbial community during Asian dust events in Korea. *Sci. Total Environ.* **407**, 5308–5314.
- Lee, J.-T., Son, J.-Y., and Cho, Y.-S.** 2007. A comparison of mortality related to urban air particles between periods with Asian dust days and without Asian dust days in Seoul, Korea, 2000–2004. *Environ. Res.* **105**, 409–413.
- Pace, N.R.** 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science* **276**, 734.
- Park, E.-J., Kim, D.-S., and Park, K.** 2008. Monitoring of ambient particles and heavy metals in a residential area of Seoul, Korea. *Environ. Monit. Assess.* **137**, 441–449.
- Park, J.W., Lim, Y.H., Kyung, S.Y., An, C.H., Lee, S.P., and Jeong, S.H.** 2005. Detection of pathogenic viruses in the atmosphere during Asian dust events in Incheon city. *Tuber. Respir. Dis.* **59**, 279–285.
- 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.
- Shelton, B.G., Kirkland, K.H., and Flanders, W.D.** 2002. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 1743–1753.
- Watanabe, T.** 1994. *Pictorial atlas of soil and seed fungi-morphology of cultured fungi and key to species*. CRC press, Boca Raton, Florida, USA.
- Yeo, H.-G. and Kim, J.-H.** 2002. SPM and fungal spores in the ambient air of west Korea during the Asian dust (Yellow sand) period. *Atmos. Environ.* **36**, 5437–5442.
- Yoo, Y., Choung, J.T., Yu, J., Kim, D.K., and Koh, Y.Y.** 2008. Acute effects of Asian dust events on respiratory symptoms and peak expiratory flow in children with mild asthma. *J. Korean Med. Sci.* **23**, 66–71.