

Most Probable Number 방법을 이용하여 측정한 중랑천 河床土壤의 혐기성 세균의 수와 수질과의 상관 관계

박두현¹ · 김병홍* · 임시근 · 최영효²

한국과학기술연구원 환경연구센터, ¹서경대학교 생물공학과, ²중랑하수처리사업소 수질분석과

Correlation between the Number of Anaerobic Bacteria in the Sediment Determined by MPN Method and Organics of the Overlying Water in the Jungnang-cheon. Doo-Hyun Park¹, Byung-Hong Kim*, Si-Keun Lim and Young-Hyo Choi². *Environmental Research Center, Korea Institute of Science and Technology, 39-1 Hawologok-dong, Sungpook-ku, Seoul 130-791, Korea, ¹Seo Kyung University, Department of Biological Engineering 16-1 Jeonneung-dong Sungpook-ku, Seoul 136-704, Korea, ²Jungnang Sewage treatment Plant, Department of water analysis 73 Sungjong-dong, Sungdong-ku, Seoul 133-160, Korea* — Sediments collected from the Jungnang-cheon and its tributaries were used to enumerate anaerobic bacteria by most probable number (MPN) methods. A simple method was developed to detect ferrous ion in the culture fluid in order to count the number of iron ion reducers, and sulfate-reducing bacteria (SRB) and methanogens were detected by the presence of FeS precipitate in the culture or methane in the head space, respectively. The numbers of iron reducer was in the range of $10^7 \sim 10^8$ /g in the sediment of the stream containing higher organic content than the tributaries. The sediments of tributaries were analyzed to contain iron reducers less than 10^7 cells/g. With one exception the numbers of SRB and methanogens were less than 10^3 cells/g in the sediment. From these results it is concluded that organics in the sediment support the growth of iron reducers, which out-compete SRB and methanogens.

중랑천은 경기도 의정부시와 서울 북동부의 여러 인구 밀집 지역에 산재하는 10여개의 지천을 가지고 있는 비교적 큰 규모의 한강 지천이다. 1992년까지는 이 지역에서 발생하는 생활하수와 소규모 공장의 폐수를 운반하는 기능을 갖고 있었기 때문에 오염도가 매우 높았으나 1993년 이후 분류 하수관의 정비로 하수와 폐수의 유입량이 크게 감소하였고, 중랑천으로 유입되는 대부분의 지천 또한 빗물과 생활하수를 분리하여 수질이 크게 개선되었다. 분류 하수관이 설치되기 전에 측정된 중랑천 하류 산긱리의 BOD는 75 ppm이었고 중랑천에 연결된 주요 지천의 BOD는 최저 44 ppm에서 최고 210 ppm으로 오염된 유기물의 농도가 매우 높았다(1).

혐기성 생태계에 유입된 유기물은 발효와 혐기성 호흡 경로를 통해서 이산화탄소와 메탄으로 분해된다(2). 질산염을 전자수용체로 이용하는 탈질 반응을 제외한 대부분의 혐기성 호흡 경로에서는 각종 당류, 아미노산, 고분자중합체 등은 직접 이용되지 못한다(3). 따라서 이들은 혐기성 발효를 통해 유기산, 알코올, 수소 등으로 부분 산화된 다음 혐기성 호흡을 통해 대사된다(4). Fe(III), Mn(IV) 등 산화 금속염을 전자수용체로 이용하는 금속염환원세균도 발효 산물을 전자공여체로 이용하며, 방향족 화합물 등 난분해성 물질을 이용하는

에도 있다(5, 6). 대부분의 황산염환원세균과 모든 메탄생산세균은 금속염환원세균과 같이 발효 대사 산물을 전자공여체로 이용한다(7).

금속염 호흡세균이 알려지기 전에는 황산염의 농도가 높은 해양 생태계에서 황산염 호흡이 그리고 담수 생태계에서는 메탄생산이 혐기 조건에서 가장 중요한 유기물 제거 작용으로 생각되었다. Fe(III) 등 산화 금속이온은 자연계에 풍부하게 분포되어 있으며, 미생물의 작용으로 환원된 Fe(II)는 산소와 작용하여 쉽게 Fe(III)으로 산화된다. 늪지의 토양 생태계에서 소비되는 산소의 약 50%가 Fe(II)의 산화 반응에 이용되는 것으로 확인되었다(8). 이것은 특정한 생태계에서 금속염 호흡에 의해 제거되는 유기물의 양이 산소 호흡에 의해 산화되는 유기물의 양과 서로 비슷함을 보여주는 것이다. 늪지나 논, 토양과 같이 주기적으로 산소의 공급이 허용되는 혐기성 환경에서는 산소에 의해 Fe(III)가 재생될 수 있기 때문에 많은 양의 유기물이 금속염환원세균에 의해 제거될 수 있다. 극지방의 호수에서 50% 이상의 유기물이 Fe(III) 호흡을 통해 산화되는 것으로 확인되었으며(9), Kamura 등(10)과 Saito and Wada(11)에 의하면 논, 토양 유기물의 35~65%가 Fe(III)를 전자수용체로 이용하는 금속염환원세균에 의해 제거되는 것으로 나타났다.

Fe(III), Mn(IV) 등을 전자수용체로 이용하는 반응은 금속염을 생합성에 이용하기 위해 환원하는 반응과 다르기 때문에 이화적 금속염 환원이라고 한다(12). 금속

*Corresponding author.

Key words: Most probable number, metal reducing bacteria, SRB, Methanogen

염 호흡으로 성장하는 미생물이 발견되기 전에는 자연계에 이루어지는 금속염의 환원이 비생물학적 작용에 의해 환원되는 것으로 인식되어 왔다(13). Fe(III)는 토양의 주성분으로 풍부하게 존재하기 때문에 오염된 지하수, 호소, 하천 등의 침전물과 쓰레기 매립장의 침출수 중에 존재하는 많은 양의 유기물은 금속염환원세균에 의해 제거될 수 있다(14, 15). 자연계로부터 많은 종류의 금속염환원세균이 분리되어 대사 특성이 확인되었고 혐기성 생태계의 물질 순환과 관련된 다양한 기능이 규명되고 있다.

생균수를 측정하기 위해 일반적으로 사용하는 평판계측법은 혐기성 환경의 유지, 기체상 기질의 농도 유지, 기체상 대사산물의 보존 등이 어렵기 때문에 절대 혐기성 세균의 균체수 측정을 위해 적당하지 않다. 그러나 적절한 용기를 이용하는 MPN 방법은 평판 배지를 사용할 때 발생하는 문제를 보완할 수 있고 평판배지를 사용할 수 없는 미생물의 생균수를 측정하는 데 이용될 수도 있다.

본 연구에서는 중랑천과 3개 지천을 선정하여 수질과 하상 토양의 혐기성 세균의 상관관계를 확인하였으며, 이를 분류 하수관을 설치하기 전과 비교하였다. 아울러 금속염환원세균을 MPN 법으로 측정하는 새로운 방법을 개발하여 이를 보고한다.

재료 및 방법

시료채취

중랑천 본천의 시료는 1995년 9월 14일(목)에 도봉동, 녹천교, 월능교, 석관동, 군자교, 행당동 등 6개 지점에서, 그리고 지천의 시료는 1995년 10월 24일(화)에 우이천, 정능천, 성북천의 상류와 하류 각 2개 지점씩 전체 6개 지점에서 채취되었다(Fig. 1). 수질 분석을 위한 시료는 수면으로부터 약 20 cm 아래 부분의 물을 취하였다. 토양 시료는 PVC 관(ID 2 cm)을 이용하여 河床으로부터 10~20 cm 아래 부분의 토양(침전물)을 혐기적으로 채취하여 실험실로 운반하였다. 운반된 시료는 질소 환경 하에서 125 ml serum vial로 옮겨 혐기상태를 유지하면서 실험에 사용하였다. 중랑천의 경우 하상에서 5 cm 이상의 유기성 침전물이 확인되었으나 지천의 경우 관찰되지 않았다.

분석

젖산염과 아세트산염은 이온교환칼럼(Bio-Rad, HPX-87H)을 장착한 HPLC(Spectra Physics, model P-1000)로 분석하였다. Eluent는 0.005N의 황산용액(유속, 0.8 ml/min)을 사용하였다. 유기산의 농도는 자외선 검출기를 이용하여 210 nm에서 흡광도를 기록하고 표준물질과 비교하였다. CH₄는 열전도검출기(TCD)를 장착한 GC(Varian 3400)로 분석하였다. 칼럼은 PoraPak-Q

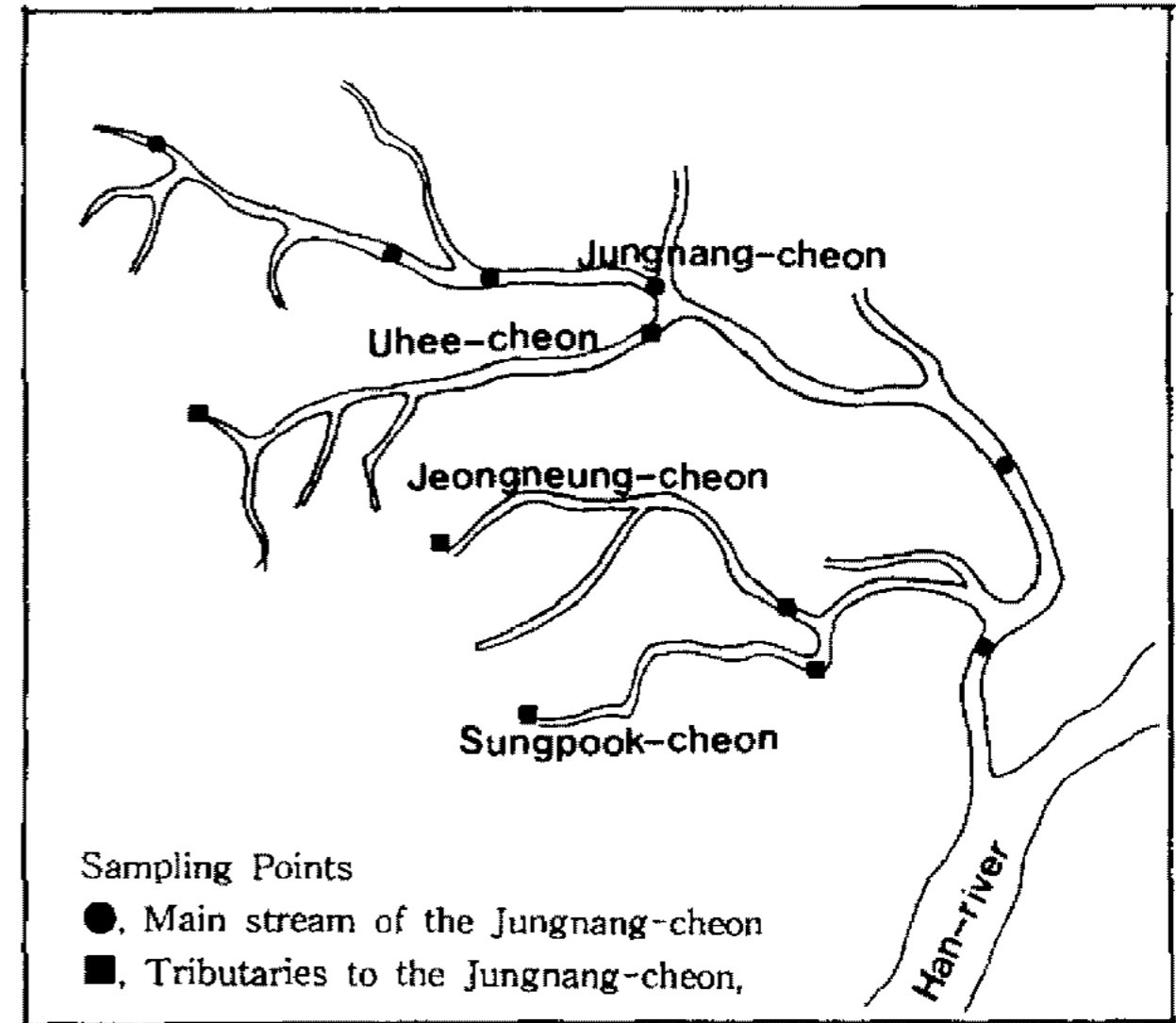


Fig. 1. Map of the Jungnang-cheon and its tributaries showing the sampling point.

- , Main stream of the Jungnang-cheon
- , Tributaries to the Jungnang-cheon

(10 ft, Altech Co.)를, 운반기체는 Helium(유속, 20 ml/min)을 사용하였다. 칼럼, 주입기, 검출기의 온도는 각각 50°C, 70°C, 90°C로 조절하였다. Fe(II)와 Fe(III)의 함량은 oxalate 추출법(16)을 이용하여 정량하였다. 토양 시료의 철이온 함량은 수분 함량을 측정하여 건조 중량(1 g) 기준으로 환산하였다.

생균수의 측정

Most probable number(MPN) 법으로 생균수를 측정하였다(17). 모든 배지는 혐기적으로 준비하였으며, pH는 6.9±0.1로 조절하였다. Fe(III) 환원세균은 10 g/L Fe(III)-citrate와 4 g/L의 젖산염 또는 아세트산염을 첨가한 carbonate-buffered basal medium(CBBM)(18)을 이용하여 25°C에서 20일간 배양하였다. 불용성 Fe(III)를 전자수용체로 이용하는 배지를 만들 때는 Fe(III)-citrate 대신 FeOOH를 사용하였다(16). 메탄생산세균은 4 g/L acetate와 head space에 N₂/CO₂ 대신 H₂/CO₂(4 : 1)을 첨가한 CBBM 배지를 이용하여 30°C에서 20일간 배양하였다. 황산염환원세균은 Postgate C medium(19)를 이용하여 30°C에서 15일간 배양하였다. Pressure tube(15 ml, Bellco Glass Co. Vineland, NJ)에 5 ml의 배지를 채우고 head space는 H₂/CO₂ 또는 N₂/CO₂으로 완전히 치환하여 초기 압력을 2.0 kg·cm⁻²으로 조절하였다. 사용된 모든 기체는 350°C로 가열된 가스정제용 구리 칼럼을 통과시켜 오염된 산소를 완전히 제거하였다. 시료는 혐기적으로 만든 생리 식염수를 이용하여 10⁻³~10⁻⁸ 사이에서 희석하여 준비된 배지에 2%(v/v)씩 접종한 후 15~20일간 배양하였다. 황산염 환원세균의 MPN을 결정하기 위하여 FeS가 생성되어 검은 색의 침전물이 생성된 배양액을 양성으로 판정하

였고 메탄생산세균의 MPN은 균체의 생장이 확인된 배양액을 GC-TCD로 분석하여 CH_4 를 $15 \mu\text{M}$ 이상 생산한 배양액을 양성으로 판정하였다. 철이온환원세균의 MPN을 결정하기 위하여 균체의 생장이 확인된 모든 배양액을 oxalate 추출법으로 Fe(III)을 추출하고 Fe(II)을 ferrozine으로 발색하여 OD_{562} 가 0.09 이상인 culture를 양성으로 판정하였다(16). 이것은 환원된 Fe(II)을 선택적으로 정량할 수 있기 때문에 Fe(III) 환원세균의 MPN을 결정하기 위해 효과적인 방법이지만 방법이 복잡한 단점이 있다. 따라서 이 방법을 변형하여 직접 배양 시험관에서 Fe(II)를 검출하는 방법을 개발하였다 이 방법은 결과 및 고찰에서 상세히 기술하였다.

결과 및 고찰

MPN법에 의한 철이온환원세균의 측정

MPN 방법으로 철이온환원세균의 수를 측정하기 위해 중랑천 지천에서 채취한 시료를 희석하여 젖산염과 Fe(III)-citrate를 함유하는 CBBM 배지에 접종한 후 20 일 동안 배양한 다음 배양액의 탁도와 배양액 일정량을 취하여 Fe(II)의 농도를 측정하여 일반 세균과 철이온환원세균의 생장을 확인하였다(Table 1). 희석 배율이 높은 일부를 제외한 대부분의 시험관에서 일반세균의 생장이 관찰되었으나, 철이온환원세균의 생장은 이보다 낮은 빈도로 관찰되었다. 이 결과는 lactate-Fe(III) 배

Table 1. Example of MPN enumeration of Fe (III)-reducing bacteria grown on lactate by MPN method in sediments of soil of three tributaries to the Jungnang-cheon.

Tributaries	MPN series	Tube cell grown ¹⁾				OD at 562 nm ²⁾				Fe (II) (mM) ³⁾
		10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
Uhee-cheon (Ssangmun-dong)	1	+	+	+	+	0.098	0.003	0.005	0.004	0.883
	2	+	+	+	+	0.181	0.004	0.108	0.003	1.250
	3	+	+	+	-	0.208	0.116	0.123	0.003	1.279
	4	+	+	+	-	0.108	0.201	0.006	0.005	1.334
	5	+	+	-	+	0.137	0.005	0.005	0.004	-
Uhee-cheon (Sugkwan-dong)	1	+	+	-	-	0.005	0.004	0.006	0.005	-
	2	+	+	+	-	0.004	0.003	0.007	0.005	-
	3	+	+	-	-	0.005	0.002	0.005	0.004	-
	4	+	-	-	-	0.003	0.003	0.006	0.003	-
	5	+	-	-	-	0.003	0.005	0.006	0.004	-
Jeongneung-cheon (Kukmin Univ.)	1	+	+	+	+	0.133	0.005	0.005	0.006	1.179
	2	+	+	-	-	0.003	0.004	0.006	0.006	-
	3	+	+	+	+	0.003	0.003	0.003	0.005	-
	4	+	+	+	-	0.003	0.006	0.003	0.005	-
	5	+	+	-	-	0.005	0.006	0.004	0.004	-
Jeongneung-cheon (Jongam bridge)	1	+	+	-	-	0.003	0.006	0.003	0.003	-
	2	+	+	+	-	0.004	0.007	0.005	0.006	-
	3	+	+	+	+	0.005	0.006	0.187	0.006	1.636
	4	+	+	-	-	0.007	0.005	0.003	0.006	-
	5	+	-	+	+	0.004	0.006	0.004	0.005	-
Sungpook-cheon (Sungpook-dong)	1	+	+	+	-	0.102	0.007	0.005	0.005	0.917
	2	+	+	+	-	0.202	0.007	0.006	0.008	1.763
	3	+	+	+	+	0.131	0.006	0.006	0.007	1.162
	4	+	+	+	+	0.008	0.007	0.007	0.007	-
	5	+	+	-	-	0.007	0.006	0.005	0.005	-
Sungpook-cheon (Dongjin bridge)	1	+	+	-	+	0.189	0.009	0.011	0.006	1.653
	2	+	+	+	-	0.009	0.008	0.007	0.007	-
	3	+	+	+	-	0.245	0.008	0.008	0.007	2.127
	4	+	+	+	-	0.122	0.007	0.007	0.009	1.086
	5	+	+	-	-	0.153	0.007	0.009	0.008	1.348

¹⁾(+), positive reaction, (-), negative reaction

²⁾After colour development by Fe (II) by oxalate-ferrozine method.

³⁾Average of positive tubes.

지에서 탁도 만으로는 프로피온산 세균 등 젖산염을 발효하는 혐기성 세균의 성장 때문에 철이온환원세균의 성장을 확인할 수 없다는 것을 나타낸다. 또한 높은 희석 배율에서 일반세균의 생장이 확인되었으나 Fe(III)가 환원되지 않는 것은 본 실험의 환경에서는 일반세균이 생산하는 환원성 대사산물에 의해 Fe(III)가 비생물적으로 환원되지 않으며, Fe(III)의 환원은 이를 전자수용체로 이용하는 세균에 의해 이루어진다는 것을 나타낸다.

미생물 배양에서 직접 Fe(II)를 확인하여 동시에 많은 수의 시료를 처리하는 MPN 방법으로 철이온환원세균의 생균수를 측정하는 간단한 방법을 개발하기 위해 다음의 실험을 실시하였다. Oxalate가 없는 조건에서 Fe(II)과 수용성의 Fe(III)-citrate는 ferrozine에 의해 모두 발색 반응을 나타내기 때문에 수용성의 Fe(III)를 사용하는 배양액에서 선택적으로 Fe(II)를 확인하기 위해서 oxalate를 첨가할 필요가 있다. Ferrozine 법으로 철이온을 분석하는 방법(16)에서는 oxalic acid와 ammonium oxalate로 oxalate 시약을 만들 수 있으나 이들의 수용성이 낮고 결정이 크기 때문에 10배 농도의 oxalate 시약을 만들었을 때 균일한 현탁액을 얻을 수 없었다. 따라서 3.3M의 sodium oxalate를 10배 농도의 oxalate 시약으로 사용하였다. 3.3M의 sodium oxalate 현탁액 1 ml를 배양액에 가하여 상온에서 4시간 동안 진탕(50 strokes/min)한 다음 ferrozine 용액 0.5 ml를 가하였다. 토양시료를 접종, 배양하여 균체가 성장한 배양액 가운데 ferrozine과 반응하여 즉시 발색반응을 나타내는 배양액은 Fe(II)이 생성된 것으로 판정하였고 토양 시료를 접종하지 않은 배지를 대조군으로 사용하였다. 대조군으로 사용한 배지에는 Fe(II)이 없기 때문에 oxalate로 처리하면 ferrozine에 의해 발색반응을 나타내지 않는다. 이상의 결과를 토대로 Fig. 2와 같은 철이온환원세균의 생균수를 측정하기 위한 MPN 법을 확립하였다.

불용성의 Fe(III)OOH는 ferrozine과 반응하지 않기 때문에 Fe(III)-citrate 대신 FeOOH를 전자수용체로 사용한 실험에서는 배양액을 oxalate로 처리하지 않고 직접 ferrozine 용액을 사용하여 철이온환원세균의 성장을 확인할 수 있었다. 배양액에서 SRB가 성장할 경우 황화수소(sulfide)가 생산되어 비생물적으로 Fe(III)가 Fe(II)로 환원되기 때문에 양성 반응을 나타낸 culture를 결정하는데 문제가 발생할 수 있다. 그러나 철이온환원세균의 배양 배지에는 황산염이 첨가되지 않았기 때문에 황산염환원세균에 의한 H₂S의 생산은 불가능하다.

MPN 법에 의한 SRB와 메탄생산세균의 생균수 측정

GC를 이용하여 생산되는 메탄 가스를 분석하여 메탄생산세균의 생균수를 측정할 수 있었으며, SRB의

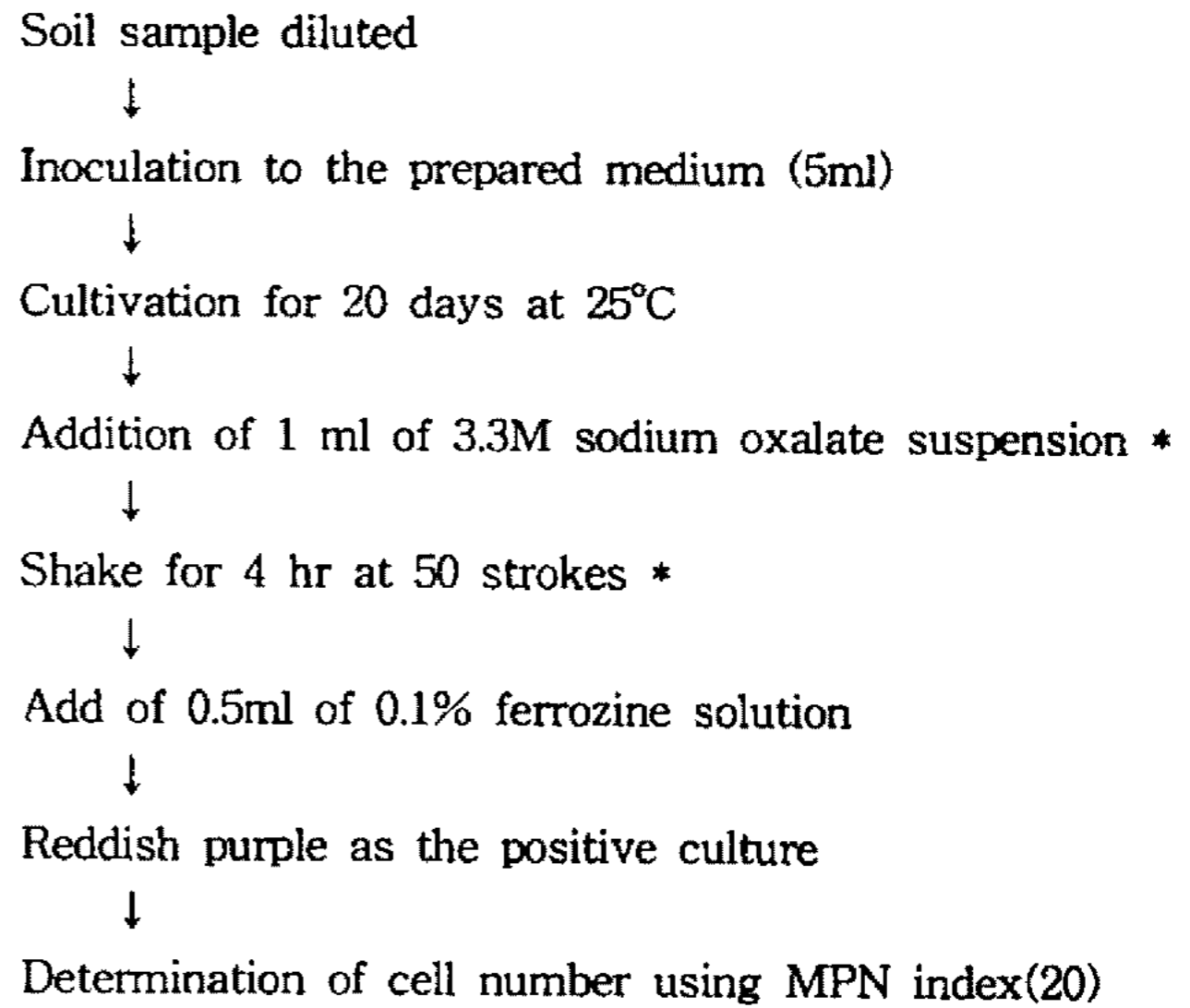


Fig. 2. Protocol for enumeration of iron reducing bacteria by most probable number method.

When FeOOH is used the steps indicated as * mark can be omitted.

경우 FeS 침전을 관찰하여 쉽게 MPN에 이용할 수 있었다. 이러한 결과는 다른 연구에서도 보고된 바 있다 (21, 22).

중랑천의 수질과 하상 토양의 철이온환원세균의 관계

중랑천 6개 지점에서 수층의 BOD, COD 및 DO를 측정하고 인접한 지점에서 하상 토양(sediment) 2점을 채취하여 철이온, 젖산염, 아세트산염의 농도와 각각 젖산염과 아세트산염을 전자공여체로 이용하는 철이온 환원세균의 수를 측정하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 BOD 값이 3.3~15 ppm으로 1987년 7월에 중랑천 각 지점에서 측정된 BOD 값 44~210 ppm에 비해 월등히 낮은 수치를 보였다(1). 이는 분류하수관 설치로 나타나는 당연한 결과로 용존산소 농도 또한 7 ppm 이상으로 높게 측정되었다. 하상 토양의 유기산 농도와 철이온환원세균의 수도 위치에 따라 차이를 보였으나, 수질과의 상관 관계는 희박하였다. 전체적으로 판단할 때 수질에서 예상되는 수치보다 하상 토양 중의 유기산 농도와 타력 영양 세균인 철이온 환원세균의 수가 많은 특징이 있다. 이는 분류하수관의 설치 이전에 오염된 각종 침전물이 남아서 혐기성 미생물에 의해 대사되고 있는 것으로 판단된다. 같은 지점에서 5~10 m 간격을 두고 채취한 시료간의 차이도 매우 큰 것은 불용성의 침전물이 미생물에 의해 대사 되면서 국지적으로 높은 농도의 유기산이 축적되기 때문으로 판단된다. 또한 하류 쪽으로 갈수록 철이온환원세균의 활성이 높은 경향을 보였다. 이는 하류로 갈수록 홍수 등의 영향으로 더 많은 양의 침전물이 축적되었기 때문으로 판단된다. BOD/COD 비율도 하류 쪽에서 높은 값을 나타냈다.

Table 2. BOD, COD and DO and the number of iron reducers in the sediment of the Jungnagn-cheon.

Sampling Points	Water: ppm				Soil: μM			Number of iron reducer	
	BOD	COD	DO	COD/BOD	Fe-ion	lactate	acetate	on lactate	on acetate
Dobong 1	12.6	34	7.7	2.7	252.4	338	<0.1	1.6×10^8	3.6×10^7
Dobong 2					196.3	14	0.28	2.0×10^7	$<1.0 \times 10^5$
Nokchun 1	7.3	38	7.8	5.2	731.7	172	2.7	1.6×10^8	1.7×10^8
Nokchun 2					876.3	403	5.1	5.4×10^7	4.0×10^7
Wolneung 1 ¹⁾	4.9	27	7.5	5.5	850.1	41	0.12	5.4×10^9	2.6×10^8
Wolneung 2					1855.9	5.8	305	1.8×10^8	9.2×10^7
Sukgwuan 1 ²⁾	7.0	42	7.3	6.0	720.6	187	33	6.2×10^9	1.0×10^8
Sukgwuan 2					235.2	<1.0	172	3.5×10^{10}	3.9×10^8
Gunja 1	15.0	27	8.8	1.8	491.8	85	71	3.5×10^{10}	2.1×10^9
Gunja 2					807.8	4042	369	6.2×10^9	4.0×10^7
Haengdang 1 ³⁾	3.3	53	7.6	16.1	404.3	919	156	1.6×10^9	2.0×10^7
Haengdang 2					539.5	6087	555	8.1×10^9	1.7×10^8

¹⁾Joint of Mukdong-cheon

²⁾Joint of Mukdong-cheon and Uhee-cheon

³⁾Chunggye-cheon receiving effluent from Jungnang Sewage Treatment Plant

Table 3. Anaerobes in sediment and BOD, COD and DO of overlying water of three tributaries to the Jungnang-cheon.

Tributaries	Water: ppm			Soil: μM			Number of anaerobes (MPN)			
	BOD	COD	DO	Fe-ion	lactate	acetate	IR-L ¹⁾	IR-A ²⁾	SRB ³⁾	MTG ⁴⁾
Uhee-cheon (Ssangmun-dong)	1.5	3.9	11.4	476.6	<1.0	338.3	9.5×10^7	4.6×10^7	1.4×10^8	7.8×10^5
Uhee-cheon (Sugkwan-dong)	3.8	11.7	9.3	363.1	19.6	96.5	$<1.0 \times 10^5$	$<1.0 \times 10^5$	$<1.0 \times 10^3$	$<1.0 \times 10^3$
Jeongneung-cheon (Kukmin Univ.)	8.2	31.0	7.9	325.1	<1.0	195.2	7.8×10^6	2.2×10^7	$<1.0 \times 10^3$	$<1.0 \times 10^3$
Jeongneung-cheon (Jongam bridge)	14.2	35.0	7.3	386.1	21.7	<3.0	1.3×10^7	$<1.0 \times 10^5$	$<1.0 \times 10^3$	$<1.0 \times 10^3$
Sungpook-cheon (Sungpook-dong)	10.3	58.0	6.6	182.8	22.7	<3.0	2.0×10^6	6.1×10^6	$<1.0 \times 10^3$	$<1.0 \times 10^3$
Sungpook-cheon (Dongjin bridge)	17.8	63.0	7.0	355.0	<3.0	<3.0	1.8×10^6	2.0×10^6	$<1.0 \times 10^3$	$<7.8 \times 10^5$

¹⁾Iron reducer on lactate; ²⁾Iron reducer on acetate; ³⁾Sulfate-reducing bacteria; ⁴⁾Methanogen

군자천의 1.8을 제외하면 도봉천의 2.7을 시작으로 중류에서는 5.2~6.0으로 중간 정도이었으며, 하류에서는 16.1로 매우 높은 비율로 나타났다. 하수 처리장의 유입수가 합류하는 하류에서 COD/BOD 비율이 높은 것은 생물학적 처리로 BOD는 낮아진 반면 난분해성 물질이 남아있기 때문이며 COD/BOD 비율이 높은 환경에서 Fe(III) 환원세균의 활성이 높은 것은 Fe(III) 환원세균이 난분해성 물질의 대사능력과 관계가 있는 것으로 생각된다.

중랑천 지천의 수질과 혐기성 호흡 세균의 분포

앞 실험에서 하상에 유기성 침전 층이 형성되어 있을 경우 수층의 수질과 하상 토양의 철이온환원세균간에는 서로 상관 관계가 없는 것으로 나타났다. Table 3은 중랑천 지천 가운데 비교적 오염도의 차이가 뚜렷한 3개 지천의 상류와 하류지역의 혐기성 세균의 분포와 수질과의 관계를 비교한 결과이다. BOD와 DO를 기준으로 상류와 하류의 수질 환경은 뚜렷한 차이를 보였으나 하저 토양의 혐기성 미생물 군총의 분포는 본천과

같이 수질과 상관관계를 보이지 않았다. 철이온환원세균의 경우는 본천에 비해 전체적으로 낮은 빈도를 나타내었는데 이것은 지천의 수심이 30 cm 이내로 매우 낮고 유속이 빨라 유기성 침전물이 형성되기 어렵기 때문으로 생각된다. 시료를 채취한 지점 중에서 수층의 BOD와 COD로 측정된 유기물 함량이 가장 낮은 우이천 상류에서 SRB, 메탄생산세균, 철이온환원세균의 수가 모두 높게 나타났다. 이것은 토양 시료를 유속이 낮은 지점에 채취하였기 때문으로 생각된다. 시료를 채취한 시기에 정능천, 성북천과 달리 우이천에는 창동으로부터 상류로 올라 갈수록 흐르는 물의 양이 줄고 바닥이 낮은 곳을 중심으로 수심이 깊은 沼(소)가 형성되어 있었다. 흐르지 않는 물의 하상 토양은 쉽게 혐기성화 될 수 있기 때문에 산화-환원전위가 낮은 혐기성 서식 환경을 요구하는 절대 혐기성 세균의 생장에 유리할 것이다. 이와 반대로 흐르는 물의 하상 토양은 산소가 쉽게 공급될 수 있기 때문에 절대 혐기성 세균의 생장이 크게 저해될 것이다. 이러한 이유 때문에 수층의 유기물 함량이 우이천에 비해 4~5배 높은 정능천과 성북천에서 SRB와 메탄생산세균이 낮은 희석 배율에서도 검출되지 않았을 것으로 생각된다.

본 연구에서 조사한 중랑천 및 이의 지천에서 철이온환원세균이 높은 농도로 조사되었으며, 이들과 전자공여체의 농도간에는 상관관계가 낮았다. 분류하수관이 설치되기 이전에 비교적 오염도가 높았으며 현재도 침전층이 형성되어 있는 중랑천 본천의 경우 철이온환원세균이 $10^7 \sim 10^8$ cells/g 단위로 높게 나타났으며, 비교적 오염 정도가 낮은 지천의 경우 10^7 cells/g 단위 이하로 조사되었다. 우이천 상류 지역을 제외하면 SRB와 메탄생산세균은 10^3 cells/g 이하로 조사되었다. 이러한 결과는 조사된 중랑천 하상이 환원전위가 높은 전자수용체가 우선적으로 이용되기 때문에 금속염 환원 세균이 SRB나 메탄생산세균 보다 우세하다는 일반적인 혐기성 생태계로 이루어짐을 나타내는 것이다. 우이천 상류의 경우 철이온환원세균과 SRB와 메탄생산세균이 높게 조사되었다. 이처럼 다른 지점과 달리 SRB와 메탄생산세균이 높게 조사되는 까닭은 SRB와 메탄생산세균이 오염된 하수가 유입되고 있거나 철이온환원세균의 생장이 억제되는 환경이 형성되고 있는 것으로 판단된다.

요 약

중랑천의 하상 토양의 혐기성 호흡세균의 분포를 MPN법으로 조사하였다. 철이온환원세균을 조사하기 위해 배양액 중의 Fe(II)을 확인하는 변형된 oxalate-ferrozine 법을 개발하였으며, 황산염환원세균(SRB)과 메탄생산세균을 각각 FeS 침전과 head space의 CH₄를 검출하는 방법을 채택하여 중랑천 지천과 본천의 혐기

성 미생물 분포를 조사한 결과 오염 정도가 상대적으로 높은 본천에서 철이온환원세균이 $10^7 \sim 10^8$ cells/g 정도로 조사되었으며 지천의 경우 10^7 cells/g이었다. 우이천 상류를 제외한 모든 조사 지점에서 SRB와 methanogen이 10^3 cells/g이었다. 이 결과는 분류 하수관의 설치로 유기물의 유입이 낮아진 조건에서도 하상의 침전층에서 유래하는 유기물을 이용하여 철이온환원세균이 생장할 수 있으며, SRB와 methanogen의 생장은 철이온환원세균에 의해 방해를 받는다는 것을 나타낸다.

참고문헌

1. 김해영, 김태성, 김병홍, 김재문. 1992. 한강 지류의 유기물 농도와 황산염환원세균수의 상관관계. 한국산업미생물학회지 20: 233-235.
2. Nedwell, D.B. 1984. The input and mineralization of organic carbon in anaerobic aquatic sediments. *Adv. Microbial Ecol.* 7: 93-131.
3. Knowles, R. 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46: 43-70.
4. Thauer, R.K. and J.G. Morris. 1984. Metabolism of chemotrophic anaerobes: old views and new aspects. *Soc. Gen. Microbiol. Symp.* 36: 123-168.
5. Lovley, D.R., M.J. Baedeker, D.J. Lonergan, I.M. Cozzarelli, E.J.P. Phillips and D.I. Siegel. 1989. Oxidation of aromatic contaminants coupled to microbial iron reduction. *Nature (London)* 339: 297-299.
6. Lovley, D.R. 1991. Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction. *Microbiol. Rev.* 55: 259-287.
7. Hansen, T.A. 1993. Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria. Odom, J.M. and Singleton, R. (Eds). *The sulfate-reducing bacteria: contemporary perspective* Springer-Verlag, New York. Pp. 21-40.
8. Howeler, R.H. and D.R. Bouldin. 1971. The diffusion and consumption of oxygen in submerged soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35: 202-208.
9. Cornwell, J.C. 1986. Diagnostic trace-metal profiles in arctic lake sediments. *Environ. Sci. Technol.* 20: 299-302.
10. Kamura, T., Y. Takai and K. Ishikawa. 1963. Microbial reduction mechanism of ferric iron in paddy soils. Part 1. *Soil Sci. Plant Nutr.* 9: 171-175.
11. Saito, M. and H. Wada. 1984. Effect of molecular hydrogen on the reduction process of submerged soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 30: 255-259.
12. Lovley, D.R. and E.J.P. Phillips. 1988. Novel mode of microbial energy metabolism: Organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1472-1480.
13. Ghiorse, W.C. 1988. Microbial reduction of manganese and iron. In A.J.B. Zehnder (ed.), *Biology of anaerobic microorganisms*. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp 305-331.
14. Jones, J.G., S. Gardener and B.M. Simon. 1984. Bacterial reduction of ferric iron in a stratified eutrophic lake. *J. Gen. Microbiol.* 129: 131-139.

15. Jones, J.G., S. Gardener and B.M. Simon. 1983. Reduction of ferric iron by heterotrophic bacteria in lake sediments. *J. Gen. Microbiol.* **130**: 45-51.
16. Philillips, E.J.P. and D.R. Lovley. 1987. Determination of Fe (III) and Fe (II) in oxalate extracts of sediment. *Soil Sci. Am. J.* **51**: 938-941.
17. Koch, A.L. 1981. Growth measurement. In "Manual of methods for General Microbiology". American Society for Microbiology, Washington, DC. Pp. 179-207.
18. Schink, B. and M. Bomar. 1991. The genera *Acetogenium*, *Acetoanaerobium*, and *Acetitomaculum*. in Balows, A., H.G. Trueper, M. Dworkin, W. Harder and K.H. Schleifer (eds.) 'The Prokaryotes' 2nd ed., Springer Verlag, New York. Pp. 1923-1936.
19. Postgate, J.R. 1984. The sulphate-reducing bacteria. 2nd ed. Cambridge Univ. Press Cambridge.
20. Franson, M.A.H. ed. 1981. Standard methods 15th edition: 908D. Estimation of bacterial density. Pp. 82. American Public Health Association, NW. Washington, DC.
21. Battersby, N.S., D.J. Stewart and A.P. Sharma. 1985. A simple most probable number method for the enumeration of sulphate-reducing bacteria in biocide containing waters. *J. Appl. Bacteriol.* **58**: 425-429.
22. Ahring, B.K. 1995. Methanogenesis in thermophilic biogas reactors. *Intern. J. Gen. Microbiol.* **67**: 91-102.

(Received 10 February 1996)