

## 지하수 세균 군집에 미치는 물리화학적 환경요인의 영향

### The Effects of Physico-Chemical Factors on the Microbial Population in Groundwater

안영범(Young - Beom Ahn)\* · 김여원(Yeo - Won Kim)\* · 이대영(Dae - Young Lee)\* · 민병례(Byung - Re Min)\*\* · 최영길(Yong - Keel Choi)\*

**요 약** : 지하수 세균 군집에 미치는 환경요인의 영향을 분석하기 위하여, 서울 시내에서 음용수로 사용하는 2개 정점과 음용수의 생활용수로 사용하고 있는 8개 정점을 대상으로 조사하였다. 물리·화학적 환경요인과 중금속의 농도, 및 세균 군집의 분포 등 40개 변수를 분석한 결과, 음용수로 사용하는 정점을 제외한 나머지 정점에서 질산성 질소와 암모니아가 용수목적별 수질기준의 기준치 이상으로 측정되었다. 총세균은  $5.1 \sim 41.4 \times 10^5$  cells/ml 범주로, 중속영양세균과 기능성 세균군집은  $0.01 \sim 29.6 \times 10^4$  cfu/ml의 범주로 조사되었다. 세포외 효소의 활성도는  $0.005 \sim 11.3 \mu\text{M/l/hr}$ 의 범주로 나타났고, lipase, phosphatase,  $\beta$ -glucosidase, cellulase, chitinase, amylase 순으로 활성도가 나타났다. 정점별로 조사된 세균 군집에 미치는 환경요인의 상호관계는 대응분석(correspondence analysis)과 다차원 척도법 분석(multidimensional scaling; MDS)으로 하였으며, 그 결과 4개의 집단으로 구분되었으며, 세균 군집에 미치는 주요한 환경요인은 정점별 잠재오염원과 일치하는 양상을 보였다.

**Abstract** : The objective of this study was to investigate the effects of physico-chemical environmental factors on the changes of bacterial population from two sites used for drinking water and eight sites polluted with various pollutant in Seoul city. In all the stations except for two sites used for drinking water, the concentrations of nitrate-nitrogen and ammonia were in excess of the criteria of groundwater quality by the result of analysis of 40 variations including physicochemical environmental factors, heavy metals, and bacterial populations. The numbers of total bacteria, heterotrophic bacteria and functional groups of bacteria were ranged from  $5.1$  to  $41.4 \times 10^5$  cells/ml and from  $0.01$  to  $29.6 \times 10^4$  cfu/ml, respectively. The activities of extracellular enzymes showed the ranges of  $0.005 \sim 11.3 \mu\text{M/l/hr}$  and its order to lipase, phosphatase,  $\beta$ -glucosidase, cellulase, chitinase, amylase. The results of correspondence and multidimensional scaling analysis between bacterial populations and its physico-chemical environmental factors were explained the effects of physico-chemical environmental factors according to site characters and separated four group, which is accord with potential pollutants at wells.

## 서 론

인구증가와 도시 집중, 그리고 생활수준의 향상으로 인한 가정 하수량의 증가, 산업폐기물에서 유출되는 중금속 등은 담수의 이용 범위를 축소시키고 있다. 이러한 지표수의 오염이 날로 심각해짐에 따라 지하수의 이용률과 이용가능성에 대한 관심도가 날로 증가하고 있는 실정이다. Wolters와 Schwartz에 의해서 지하수 미생물의 존재를 확인한 이후 1970년대 미국과 독일에서 지하수를 대상으로 기초적인 생물학적 연구가 수행되었다(Gounot, 1994). 지하수의 이용율이 급증하고, 오염이 가속화되면서 1980년대에는 지하수 미생물에 대한 연구로, 자생의(autochthonous) 미생물 개체군의 존재여부, 생체량, 대사 활성도 등에 관한 연구가 진행되었다(Balkwill *et al.*, 1989). 또한 심

대수층의 오염과 폐기물 매립에 따른 오염, 방사능 오염 등에 관한 연구가 미생물학자, 지구수질학(geohydrologist), 지구화학(geochemistry)의 합동 연구로 수행되고 있다. 이러한 연구는 지하수 생태계에서 미생물의 기초적인 연구와 이를 통한 생물학적 복원(bioremediation)을 목적으로 하고 있다(Gounot, 1994).

한편 국내에서도 지하수에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데 대부분 수리지구화학적 특성에 관한 연구(지상우 등, 1997; 정상용 등, 1997; 이종운 등, 1997a; 이종운 등, 1997b)에 집중되고 있는 실정이며, 지하수계의 미생물에 관한 연구는 미생물과 환경요인과의 상관관계를 분석한 연구에 국한되어 있다(안연준 등, 1995). 생태계에서 미생물은 생태계의 유지를 위한 물질순환과 에너지 흐름 과정에 매우 중요한 역할을 담당하고 있는데 이는 거의 대부분 중속영양 미생물에 의해 수행되고 있다(Rheinheimer, 1985). 이러한 기능 자체가 지하수 환경으로 유입되는 각종 오염물질에 대한 자정 기능을 나타내어 지하수 생태계의 자기제어 기능까지도 담당하고 있으므로, 중속영양세균 및 기능성 특성군 군집의 분포와 동태를 이해하는 것은

\*한양대학교 생물학과(Department of Biology, Hanyang University, Seoul 133-791)

\*\*상명대학교 생물학과(Department of Biology, Sangmyong University, Seoul 110-743, Korea)

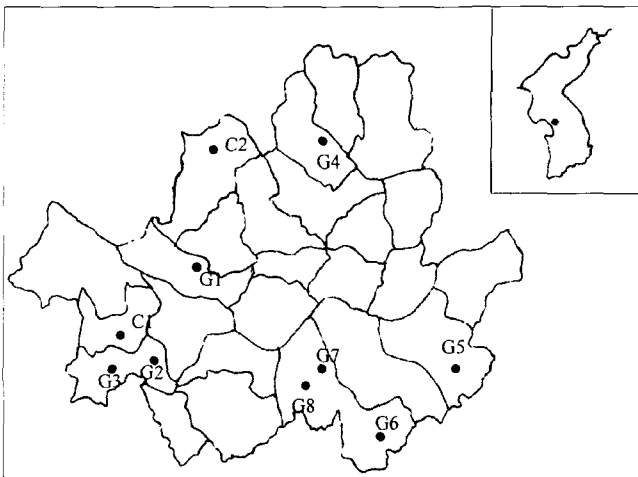
이들의 유기물의 분해와 흡수 등 생태적 기능을 이해하는데 매우 중요하다. 따라서 산업폐수 및 생활하수에 의한 지하수 오염이 가속화되고 있는 국내의 실정에서 중속영양세균의 군집 동태 및 생태학적 기능에 대한 영향 평가는 필요하다.

본 연구에서는 서울시의 수질오염모형 선정 지구를 대상(서울특별시, 1996)으로 지하수 세균 군집의 구조와 기능에 미치는 환경요인의 영향을 분석하고자 하였다. 이에 지하수 오염이 가속화 될 지점으로 예상되어지는 8곳과 음용수 적합 판정으로 현재 음용수로 이용되어지는 2곳의 시료를 대상으로, 물리화학적 환경요인, 중금속의 농도, 미생물 군집 크기 및 기능성 특성 군집에 대해 측정하였다. 또한 대응분석과 다차원 척도법으로 지하수 생태계에서 중속영양세균, 기능성 특성 세균의 분포에 미치는 물리화학적 환경요인 영향을 분석하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료채취

서울시 지하수 관리 계획 기본 조사 보고서(서울특별시, 1996)에 보고가 되어 있는 결과를 토대로 지하수 음용수 기준 초과항목을 갖고 있거나 오염원이 근접하여 차후 오염 우려가 있다고 판단되는 지역을 대상으로 1998년 6월에 채수 하였다(Figure 1). 시료의 채취는 관정으로부터 지하수를 20분간 충전



| Site No. | Major pollutant        | Pollutant   | Lithosphere | Hydrosphere   |
|----------|------------------------|---|-------------|---------------|
| G1       | Arsenic                | <i>E. coli</i> , As   | Gneiss      | Honjechon     |
| G2       | Chrome                 | Cr <sup>6+</sup> , NO <sub>3</sub> -N, <i>E. coli</i> , TCE | Gneiss      | Anyangchon    |
| G3       | Zinc                   | Zn, NO <sub>3</sub> -N                                      | Gneiss      | Anyangchon    |
| G4       | Nitrate                | <i>E. coli</i> , NO <sub>3</sub> -N                         | Granite     | Chungnangchon |
| G5       | general pollutant      |   | Gneiss      | Tanchon       |
| G6       | <i>E. coli</i>         | <i>E. coli</i> , NH <sub>3</sub> -N                         | Gneiss      | Tanchon       |
| G7       | Perchloroethylene(PCE) | TCE, PCE  | Gneiss      | Panpochon     |
| G8       | Trichloroethylene(TCE) | TCE, PCE  | Gneiss      | Panpochon     |
| C1       |                        | Drinking water  | Gneiss      | Anyangchon    |
| C2       |                        | Drinking water  | Gneiss      | Honjechon     |

Figure 1. Location and description of surveyed groundwater in Seoul city.

히 흘러 보낸 후 멸균된 500 ml 채수병에 채수 하였다. 세균 군집의 분석을 위한 시료는 냉장 보관하여 24시간 이내에 실험실에서 분석하였다. G1은 서울시의 유일한 화력 발전소 인근 지역으로 한강과 인접하고 있으며, G2와 G3는 구로 공단 인접 지역으로 주변에 주유소와 세탁소가 산재하고 있다. G4, G6, G7 및 G8은 주택가 밀집지역이며, G5는 비닐 하우스로 농작물을 경작하는 지역이다. C1과 C2는 주위에 오염원이 비교적 적은 은평구 약수터와 북한산 국립공원내의 정점으로 오염된 지하수와 비교 지역으로 선정하였다.

#### 물리, 화학적 환경요인의 분석

pH, 온도, 전기전도도와 탁도는 수질종합분석 측정기(Horiba U-10, Horiba, Japan)로 시료 채취시 측정하였다. 채수한 시료는 membrane filter(0.45 μm)로 여과하고, 기초과학지원연구소 서울 분소의 정밀분석연구그룹내에 있는 ion chromatography(Dionex, DX 500)를 이용하여 음이온(F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 및 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)을 분석하였다. 또한 standard method(American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 1992)에 따라 암모니아염 질소(ammonia-N), 아질산염 질소(nitrite-N), 인산염 인(phosphate-P)의 양을 발색 반응을 통하여 정량 하였다. 총유기물량은 TOC analyzer를 이용하여 분석하였다(Ahn et al., 1995).

양이온중 Fe, Mg, Na, K, As 및 Se은 ICP-AES(Inducible coupled plasma atomic emission spectrophotometry; Shimadzu)로, Cr, Cu, Zn, Cd, Pb, 및 Hg는 ICP-MS(Inducible coupled plasma mass spectrophotometry; Shimadzu)를 이용하여 분석토록 기초과학지원연구소 서울 분소의 정밀분석연구그룹에 의뢰하였다.

#### 미생물 군집의 분석

총 세균 : 0.2 μm membrane filter에 여과한 0.01% acridine orange 용액 9 ml에 시료 1 ml을 첨가한 후 3분간 염색하고, sudan black B로 염색된 membrane filter(0.2 μm)에 여과시킨 다음 형광현미경(Epifluorescence microscope, Axioplan, Zeiss, Germany)을 이용하여 membrane filter 상에 형광염료로 염색된 총 세균을 20군데 이상을 계수 하여 평균치로 총세균수는 계산하였다(Hobbie et al., 1977).

생존 세균 : 시료 5 ml에 nalidixic acid와 yeast extract를 각각 최종농도가 0.002% 및 0.025%가 되도록 첨가하여 25°C에서 6시간 배양한 후, 총세균수 관찰과 같은 방법으로 형광현미경을 이용하여 몸이 부풀어올랐거나 길이가 길어진 세균을 계수 하였다(Kogure et al., 1984).

중속영양세균과 장내세균 : 중속영양세균은 희석한 시료 0.1 ml을 nutrient agar (NA; Difco)와 R2A agar(Difco)에, 장내세균은 EMB(cosine methylene blue) agar에 도말하여 25°C 항온기에서 3일간 호기적인 조건에서 배양한 후 나타난 균체수를 계수 하였다.

#### 기능성 특성 세균군

가. 지방 분해세균 : 지방 분해세균은 Tween 80을 함유하는 펩톤 고체배지 (peptone 10 g, CaCl<sub>2</sub> 0.1 g, agar 20 g, Tween

80 10 ml, 증류수 990 ml)에 희석 도달하고 25°C에서 3일간 배양한 후, 균체 주위에 불투명한 결정체가 나타난 균체를 지방 분해세균(Cowan, 1974)으로 판정하여 계수 하였다.

나. 전분 분해세균 : 전분 분해세균은 soluble starch가 함유된 배지(peptone 10 g, CaCl<sub>2</sub> 0.5 g, MgCl<sub>2</sub> 5 g, MgSO<sub>4</sub> 2 g, KCl 1 g, FeSO<sub>4</sub> 0.001 g, starch 5 g, agar 20 g, 증류수 1 l)에서 25°C로 3일간 배양하여 나타난 균체에 Gram's Iodine 용액을 첨가하여 균체 주위에 투명대를 형성하는 균체수로 계수 하였다.

다. 섬유소 분해세균 : 섬유소 분해세균의 측정은 CMC 배지(carboxymethylcellulose 5 g, MgSO<sub>4</sub> 2 g, CaCl<sub>2</sub> 0.5 g, KCl 1.0 g, FeSO<sub>4</sub> 0.001 g, peptone 5 g, agar 20 g, 증류수 1 l)에서 25°C로 5일간 배양 후 0.5% congo red 용액을 균체에 떨어뜨려 주위에 투명대를 나타내는 균체수로 계수하였다.

라. 단백질 분해세균 : 단백질 분해세균의 측정을 위하여 gelatin을 함유하는 배지(beef extract 3 g, peptone 5 g, gelatin 5 g, agar 15 g, 증류수 1 l)에서 나타난 균체에 1% tannic acid 수용액을 첨가하고 gelatin 배지에서 희미한 결정체를 나타낸 균체를 단백질 분해세균(Cowan, 1974)으로 계수 하였다.

마. 포자형성세균 : 포자형성세균의 측정을 위하여 시료 10 ml를 80°C에서 20분간 처리하여 nutrient agar에 접종한 후, 25°C에서 5일간 배양하였을 때 나타나는 집락을 계수 하였다.

세포의 효소활성도의 측정

중속영양세균의 세포의 효소 활성의 영향을 평가하기 위하여, 각 정점 별로 채취한 시료로부터 lipase, phosphatase, amylase, cellulase, glucosidase 및 chitinase의 활성도를 측정하였으며, 이들 세포의 효소의 반응 기질로는 각각 4-methylumbelli-

ferly butylate, 4-methylumbelliferly phosphate, 4-methylumbelliferly- $\alpha$ -D-glucoside, 4-methylumbelliferly- $\beta$ -D-cellobiopyranoside, 4-methylumbelliferly- $\beta$ -D-glucoside 및 4-methylumbelliferly-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide 등의 형광기질을 사용하였다. 세포의 효소활성의 측정은 각각의 반응기질을 5 mM이 되게 methyl cellosolve에 녹여 -20°C의 암실에서 보관한 후 시료 5 ml에 각 반응기질을 용액의 최종 농도가 25  $\mu$ M이 되게 첨가하였다. 4시간 동안 암실에서 반응시킨 후 효소활성에 따른 형광은 spectrofluorometer(DQ 200, Hofer)을 이용하여 excitation은 365 nm, emission은 450 nm의 조건에서 측정하였다(Hoppe, 1983; Somville, 1984). 각 효소의 활성 단위(unit)는 emission intensity와 기질의 농도 그리고 반응시간을 환산하여  $\mu$ M/l/hr로 나타내었다.

자료의 통계분석

모든 자료의 평균, 표준편차 등의 기본 통계치와 대응분석 및 다차원 척도법 분석은 SAS package(SAS Institute, 1996)를 이용하여 분석하였다.

결 과

물리화학적 환경요인의 변화

각 정점별로 채취한 시료에서 측정된 환경요인들의 결과는 표 1과 같다. 시료 채취시 측정된 pH, 온도 및 염분도는 정점에 따른 유의한 차이가 없었으나, 전기전도도는 비닐하우스 경작지인 G5가 1.12 mS/cm로 가장 높게 나타났으며 음용수로 사용하는 C1과 C2는 0.26과 0.13 mS/cm으로 낮게 나타났다. 전기전도도는 지하수에 용해되어 있는 전해질의 차이에 의해

Table 1. Physico-chemical environmental factors from two drinking and eight waste groundwater in Seoul city

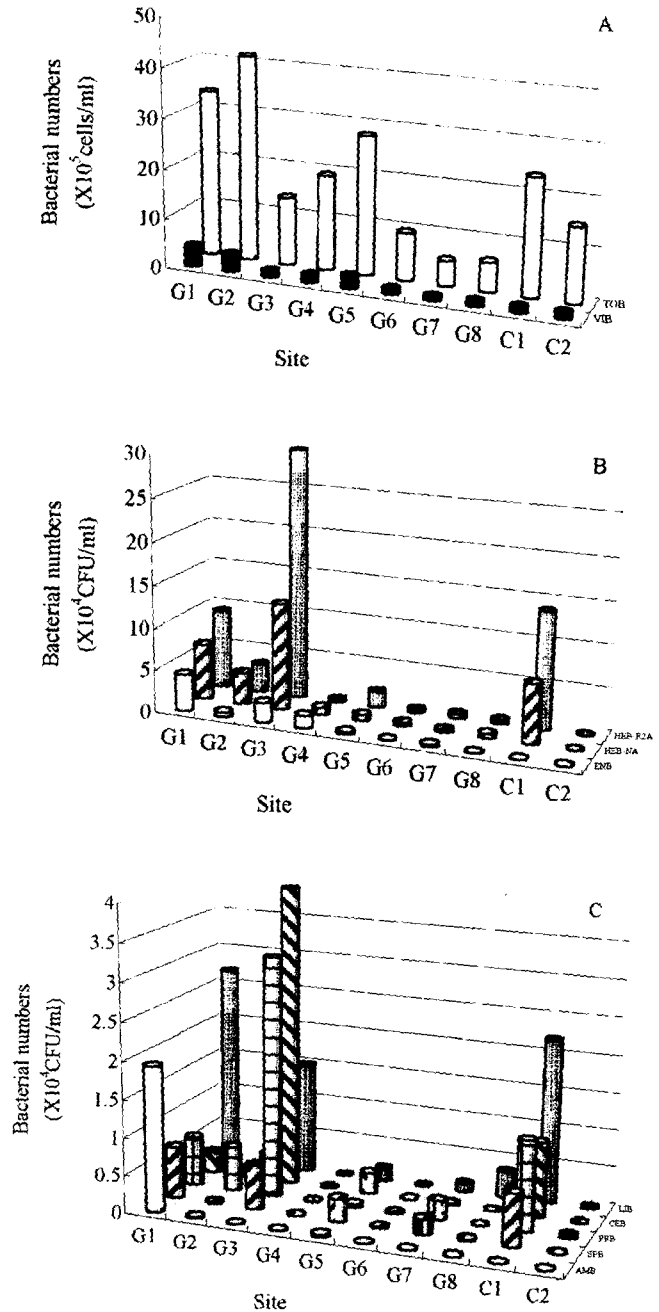
|   | G1     | G2     | G3     | G4     | G5     | G6     | G7     | G8     | C1     | C2     | Criterion of drinking water |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------------------|
| pH                                      | 7.26   | 6.19   | 6.74   | 6.49   | 6.74   | 7.04   | 7.03   | 7.43   | 7.01   | 6.79   | 5.8 - 8.5                   |
| Conductivity(mS · cm <sup>-1</sup> )    | 0.67   | 0.78   | 0.42   | 0.52   | 1.12   | 0.14   | 0.39   | 0.14   | 0.26   | 0.13   |                             |
| Temperature(°C)                         | 17.2   | 18.2   | 17.8   | 17.8   | 14.8   | 14.8   | 18     | 18.2   | 17.1   | 14.8   |                             |
| Salinity(‰)                             | 0.02   | 0.03   | 0.01   | 0.02   | 0.05   | 0      | 0.01   | 0      | 0.01   | 0      |                             |
| F(mg · l <sup>-1</sup> )                | 0      | 0.76   | 0      | 0.81   | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0.12   | <1.5                        |
| Cl(mg · l <sup>-1</sup> )               | 72.86  | 141.47 | 56.58  | 62.3   | 132.32 | 6.27   | 48.65  | 12.12  | 20.98  | 14.46  | <150                        |
| Br(mg · l <sup>-1</sup> )               | -      | -      | -      | -      | 1.27   | -      | -      | -      | -      | -      |                             |
| SO <sub>4</sub> (mg · l <sup>-1</sup> ) | 61.57  | 72.71  | 41.63  | 53.84  | 198.58 | 6.11   | 40.36  | 13.22  | 39.68  | 10.98  | <200                        |
| PO <sub>4</sub> (mg · l <sup>-1</sup> ) | 0.0077 | 0.0041 | 0.0282 | 0.0051 | 0.0128 | 0.0064 | 0.0077 | -      | 0.0018 | 0.0064 |                             |
| NO <sub>2</sub> (mg · l <sup>-1</sup> ) | 0.0019 | 0      | 0.0071 | 0      | 0.0016 | 0.0042 | 0      | 0.0048 | 0.0012 | 0.0062 |                             |
| NO <sub>3</sub> (mg · l <sup>-1</sup> ) | 0.85   | 96.46  | 28.83  | 97.35  | 50.90  | 9.84   | 33.1   | 7.35   | 1.23   | 1.1    | <10                         |
| NH <sub>4</sub> (mg · l <sup>-1</sup> ) | 0.53   | 1.11   | 0.11   | 1.10   | 0.08   | 0.08   | 0.08   | 0.10   | 0.03   | 0.11   | <0.5                        |
| TOC(mg · l <sup>-1</sup> )              | 1.535  | 0.922  | 0.871  | 0.819  | 2.154  | 0.579  | 0.898  | 1.340  | 0.539  | 0.657  |                             |
| Mg(mg · l <sup>-1</sup> )               | 24.3   | 28.3   | 12.3   | 7.51   | 33.0   | 3.77   | 8.77   | 3.49   | 8.01   | 1.63   |                             |
| Na(mg · l <sup>-1</sup> )               | 29.7   | 41.6   | 20.0   | 39.2   | 40.1   | 4.83   | 15.3   | 3.18   | 6.51   | 7.37   |                             |
| K(mg · l <sup>-1</sup> )                | 2.75   | 7.72   | 1.91   | 3.21   | 3.65   | 0.907  | 1.92   | 1.10   | 0.641  | 0.525  |                             |
| Fe(mg · l <sup>-1</sup> )               | 0.08   | 0.037  | 0.047  | 0.03   | 0.067  | 0.047  | 0.046  | 0.073  | 0.071  | 0.078  | <0.3                        |
| Zn( $\mu$ g · l <sup>-1</sup> )         | 40.2   | 45.5   | 66.1   | 54.7   | 49.1   | 89     | 32.6   | 41.1   | 30.5   | 42.1   | <1000                       |
| Pb( $\mu$ g · l <sup>-1</sup> )         | 3.9    | 1.45   | 2.69   | 2.75   | 3.78   | 3.14   | 1.73   | 3.64   | 4.65   | 6      | <50                         |
| Cd( $\mu$ g · l <sup>-1</sup> )         | 0.1    | 0.19   | 0.1    | 0.1    | 0.1    | 0.1    | 0.1    | 0.1    | 0.1    | 0.1    | <10                         |
| Hg( $\mu$ g · l <sup>-1</sup> )         | 0.2    | 0.2    | 0.2    | 0.2    | 0.2    | 0.2    | 0.2    | 0.2    | -      | -      | -                           |
| As(mg · l <sup>-1</sup> )               | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.05                       |
| Se(mg · l <sup>-1</sup> )               | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.01                       |
| Cr( $\mu$ g · l <sup>-1</sup> )         | 3.85   | 9.74   | 18.8   | 5.43   | 4.69   | 3.25   | 2.85   | 30.9   | 3.67   | 14.5   | <50                         |

결정되기 때문에 오염되지 않은 지하수에 비해 오염된 지하수가 전기전도도의 값이 높게 나타난다. 용수목적별 지하수 수질 기준에 의하면 측정된 9개 항목중 질산성 질소와 암모니아의 농도만 기준치 이상으로 측정되었다. 즉, 공단 밀집 지역인 G2와 G3에서 96.46 mg/l와 28.83 mg/l, 주택가 밀집 지역인 G4와 G7에서 97.35 mg/l와 33.1 mg/l, 비닐 하우스 경작지인 G5에서 50.90 mg/l로 조사되었다. 이는 지하수 먹는물 수질 기준치(10 mg/l)의 2~9배, 생활용수 기준치(20 mg/l)의 1~5배 이상으로, 정점 G2, G3, 및 G4에서 질산성 질소 농도가 20 mg/l 이상으로 조사된 서울시 조사 결과와 유의한 양상을 보인다(서울특별시, 1996). 또한 암모니아성 질소는 G1이 0.53, G2가 1.11 및 G4가 1.10 mg/l로 먹는물 수질 기준치(0.5 mg/l)보다 1~2배 이상으로 조사되었다.

지하수에서 중금속의 중요한 원천은 토양과 침전물, 암반에서의 풍화작용으로 인한 흡착과 침적의 복합체(complex competition)형성 과정에서 결정된다. 지하수에서 중금속은 수질의 기준치뿐만 아니라 종속영양세균의 대사경로를 저해하는 작용이 있기 때문에 물질순환과 세균 군집의 구조와 기능을 이해하는데 중요한 요인으로 작용한다(Vallee and Ulmer, 1972). 이에 조사정점에서 8개 항목의 중금속 농도를 분석한 결과는 Table 1과 같다. 음용수로 사용하고 있는 정점인 C1과 C2에서 철의 농도가 0.071 mg/l과 0.078 mg/l로 G8 정점(0.073 mg/l)을 제외한 나머지 생활용수로 사용하고 있는 정점보다 높게 나타났다. 아연은 G6에서 89 µg/l, 6가 크롬은 G8에서 30.9 µg/l로 가장 높게 검출되었으나, 조사정점에서 측정된 중금속 항목의 농도는 용수 목적별 지하수 수질 기준치 이하로 측정되었다. 또한 인체에 유해한 납, 수은 및 카드뮴은 미량 검출되었으며, 음용수 정점에서 납이 4.65와 6 µg/l로 생활용수 정점에서 보다 오히려 높게 나타났으나 정점별 차이는 미미하였다.

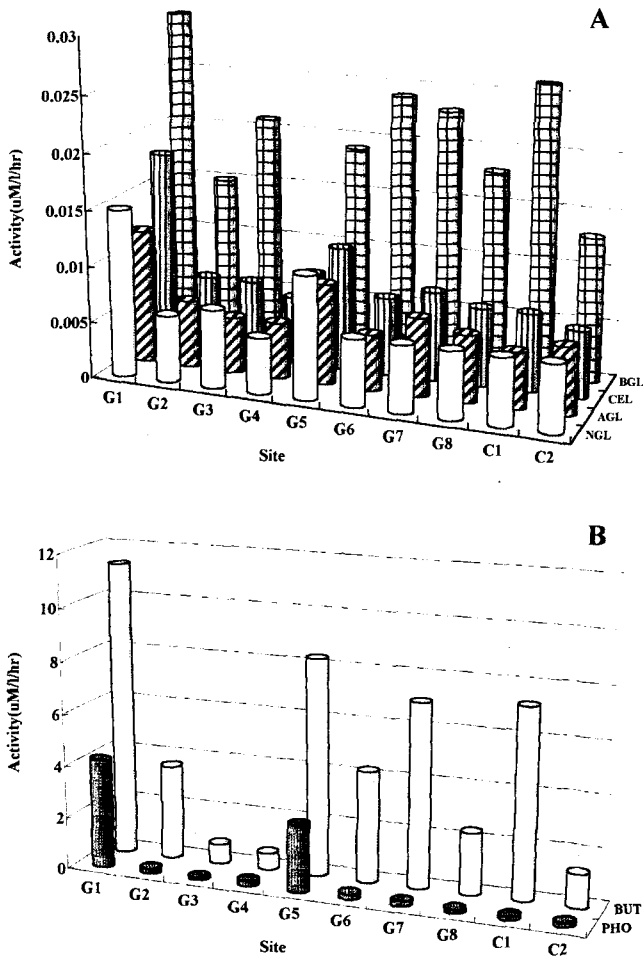
**세균 군집의 변화**

지하수에서 세균 군집의 분포는 Figure 2와 같다. 총세균 군집은 5.1~41.4×10<sup>5</sup> cells/ml 범주로 조사되었으며, 공단지역에 위치한 G2와 G1에서 41.4와 33.53×10<sup>5</sup> cells/ml로 가장 많이 분포하였다. 경작지인 G5에서도 27.88×10<sup>5</sup> cells/ml로 비교적 많이 검출되었다. 한편 음용수로 사용하고 있는 C1과 C2에서도 23.7과 15.05×10<sup>5</sup> cells/ml로 주택가 밀집 지역인 G6, G7 및 G8에 비하여 많이 조사되었다. 생존 균체수는 0.7~3.95×10<sup>5</sup> cells/ml의 범주로 나타났으며, 총세균 군집의 개체수가 많은 G2와 G1에서 3.3과 3.95×10<sup>5</sup> cells/ml로 가장 많이 검출되었다. 종속영양세균 군집은 NA 배지와 R2A 배지를 사용하여 조사한 결과, 0.01~12.6×10<sup>4</sup> cfu/ml와 0.05~29.6×10<sup>4</sup> cfu/ml 범주로 각각 조사되었으며 NA 배지에서 보다 빈영양 배지인 R2A에서 비교적 많이 조사되었다. 주택 밀집 지역인 G3에서 29.6×10<sup>4</sup> cfu/ml로 가장 많이 분포하였으며 음용수로 사용하고 있는 C1에서도 13.85×10<sup>4</sup> cfu/ml로 많이 검출되었다. 전체 조사정점에서 기능성 특성균 군집을 전체 평균값으로 비교한 결과, 지방분해세균(0.72×10<sup>4</sup> cfu/ml), 단백질 분해세균(0.6×10<sup>4</sup> cfu/ml), 섬유소 분해세균(0.57×10<sup>4</sup> cfu/ml), 전분 분해세균(0.197×10<sup>4</sup> cfu/ml), 포자형성세균(0.026×10<sup>4</sup> cfu/ml)



**Figure 2.** Comparisons of populations of total bacteria, heterotrophic bacteria and functional groups of bacteria in various groundwater in Seoul City. A: Total bacteria (TOB) and viable bacteria (VIB), B: Entericbacteria (ENB) and heterotrophic bacteria (HEB-NA, HEN-R2A), C: Amylolytic bacteria (AMB), sporeforming bacteria (SPB), proteolytic bacteria (PRB), cellulolytic bacteria (CEB), and lipolytic bacteria (LIB).

ml)순으로 분포하였다. 주택 밀집 지역인 G3에서 섬유소 분해세균(4.0×10<sup>4</sup> cfu/ml)과 단백질 분해세균(3.2×10<sup>4</sup> cfu/ml)이, 발전소 주변에 위치한 G1에서 장내세균(4.37×10<sup>4</sup> cfu/ml), 지방분해세균(2.7×10<sup>4</sup> cfu/ml), 전분분해세균 군집(1.93



**Figure 3.** Comparisons of activity of extracellular enzyme in various groundwater in Seoul City. A: Chitinase (NGL), amylase (AGLU), cellulase (CEL), glucosidase (BGLU), B: Phosphatase (PHO), Lipase (BUT).

$\times 10^4$  cfu/ml), 및 포자형성 세균( $0.7 \times 10^4$  cfu/ml)이 가장 많이 분포하였다.

**세포의 효소 활성도의 변화**

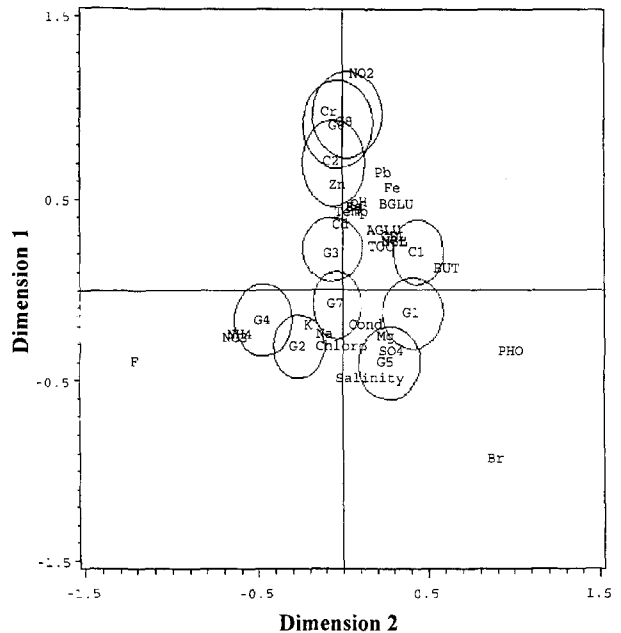
정점별 지하수 세균 군집의 세포의 효소의 활성도 변화는 Figure 3과 같다. 지하수 환경에서 세포의 효소 활성도는 lipase ( $4.689 \mu\text{M/l/hr}$ ), phosphatase( $0.809 \mu\text{M/l/hr}$ ),  $\beta$ -glucosidase ( $0.019 \mu\text{M/l/hr}$ ), cellulase( $0.008 \mu\text{M/l/hr}$ ), chitinase( $0.007 \mu\text{M/l/hr}$ ), amylase( $0.006 \mu\text{M/l/hr}$ ) 순으로 나타났다. 발전소 주변에 위치한 G1에서 lipase( $11.3 \mu\text{M/l/hr}$ ), phosphatase( $4.189 \mu\text{M/l/hr}$ ),  $\beta$ -glucosidase( $0.03 \mu\text{M/l/hr}$ ), cellulase( $0.018 \mu\text{M/l/hr}$ ), chitinase( $0.015 \mu\text{M/l/hr}$ ), amylase( $0.012 \mu\text{M/l/hr}$ )로 모든 세포의 효소 활성도가 가장 높게 나타났다.

**세균 군집에 미치는 환경요인의 영향 분석**

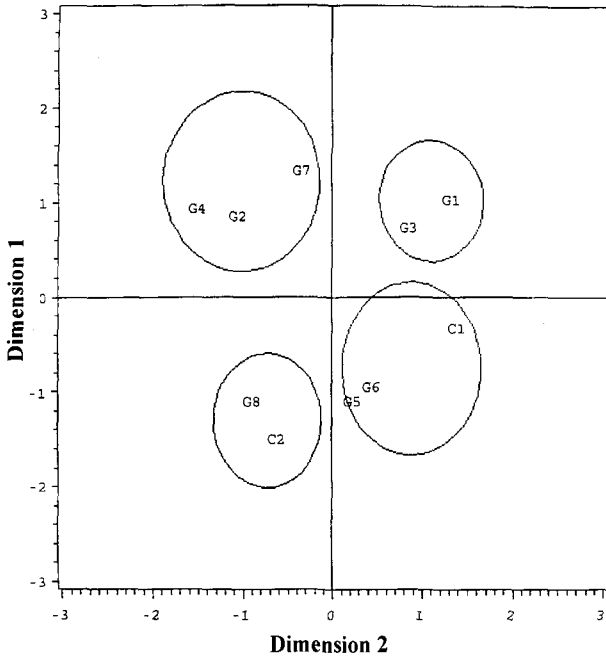
세균 군집에 미치는 환경요인의 영향을 분석하기 위하여 물리화학적 환경요인과 세포의 효소 활성도를 포함한 40개의 변수를 이용하여 대응분석을 실시하였다. 가장 큰 고유값(principal

inertias)은 0.17841과 0.08205로 전체 분석값의 51.6%와 23.73%를 차지함으로써 2차원의 대응관계로 해석이 가능하다. 대응분석에 따른 수치를 Dimension 1에는 정점별로, Dimension 2에는 물리화학적 환경요인을 대응시켜 정점에 따른 환경요인의 영향을 기하학적으로 나타내었다(Figure 4). 음용수로 사용하고 있는 정점 C1은 총 유기물량(TOC)과 세포의 효소 활성도(BUT, AGLU, CEL, NGL)에 의해, C2는 중금속(Zn, Pb, Fe)에 의해 주로 영향을 받는 것으로 나타났다. G1은 전기전도도와 Mg, G2는 K, Na, 및 Cl, G3는 pH, 온도, Cd, 및 비소, G4는  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4$ , G5는 염분도,  $\text{SO}_4$ , G6와 G8은 Cr,  $\text{NO}_2$ , G7은 전기전도도에 의해 영향을 받는 것으로 조사되었다.

대응 분석을 통하여 세균 군집에 미치는 중요한 환경요인은 정점별로 차이가 나타났으나, 고유의 환경요인만 독립적으로 영향을 미치는 것은 아니므로 공통적으로 영향을 미치는 환경요인에 따라 정점을 구분하기 위하여 다차원 척도법으로 분석하였다(Figure 5). 정점별로 세균 군집과 물리화학적 환경요인의 유사성 행렬(similarity matrix)을 작성하고, 이들을 다차원 척도법으로 분석하여 정점간의 분포를 기하학적으로 도식화하였다. 그 결과 4개의 집단으로 구분되었는데, Dimension 1축의 양의 방향과 Dimension 2축의 양의 방향에는 G1과 G3이, Dimension 1축의 양의 방향과 Dimension 2축의 음의 방향에는 G2, G4 및 G7이 분포하였다. Dimension 1축의 음의 방향과 Dimension 2축의 양의 방향에는 C1, G5 및 G6이 Dimension 1축의 음의 방향과 Dimension 2축의 음의 방향에는 C2 및 G8이 분포하였다. 즉, 발전소 및 공단 밀집 지역(G1과 G3)에서는 온도, pH, 및 총 유기물, 주택 밀집 지역(G2, G4 및 G7)에



**Figure 4.** Correspondence analysis for physico-chemical environmental factors and bacterial population from two drinking water and eight wastewater samples. Dimension 1 and Dimension 2; first two correspondence analysis axes. Letters denote site codes and environmental factor codes. Site codes are the same as Figure 1.



**Figure 5.** Multidimensional scale analysis for physico-chemical environmental factors and bacterial population of groundwater. The relationships between samples is compared in dissimilarity index. Dimension 1 and Dimension 2; first two multidimensional scale axes. Letters denote sampling site codes. Site codes the same as Figure 1.

서는 질산성 질소와 암모니아, 경작지(C1, G5 및 G6)에서는 세포의 효소 활성도, C2 및 G8은 크롬, 아연에 의해 세균 군집이 영향을 받는 것으로 분석되었다.

### 고 찰

서울시에서는 수질검사 자료중 용수목적별 수질기준 초과 항목에 대한 통계자료와 오염물질 최대 검출동 및 토양 시료의 화학성분과 DRASTIC MAP을 참고로 하여 14개 지구를 수질오염모형 지구로 선정하였다(서울특별시, 1996). 서울시는 산업시설의 집중화와 과밀 인구조로 인한 환경상의 문제가 이미 야기되고 있으며, 수질 잠재 오염원이 집중되어 있어 지속적인 오염이 예상되고 있다. 본 연구에서 선정할 정점은 공단 지역, 주택 밀집 지역 및 경작지로 크게 구분할 수 있으며, 잠재 오염원이 밀집되어 있어 향후 지하수 오염이 가속화 될 것으로 예상되는 정점이다.

물리화학적 환경요인의 분석 결과, 질산성 질소와 암모니아의 농도를 제외한 환경요인이 용수 목적별 지하수 수질 기준치 이하로 측정되었다. 오하이오주의 알칼리성 지하수에서 계절별로 질산성 질소와 암모니아의 농도 변화를 측정된 결과, 질산성 질소와 암모니아성 질소는 각각 2~9 mg/l와 0.1~0.7 mg/l의 범주로 나타났다. 또한 인산염은 0~5 mg/l의 범주로 총 유기물량은 2~12 mg/l의 범주로 보고하였으며, 하계의 강수에 의한 침출로 환경요인의 양이 증가함을 보고하였다(Gshell et al., 1997). 본 연구 결과 탄소원과 인산염의 농도는 0.5~2.1 mg/l과 0.001

~0.01 mg/l로 알칼리성 지하수보다 10~100배 정도 낮게 나타났다. 질산성 질소와 암모니아의 농도는 0.85~97.35 mg/l과 0.08~1.11 mg/l로 10배 정도 높게 나타났다. 이러한 양상은 공단 밀집 지역과 주택 밀집 지역인 본 연구의 조사정점 특성을 반영한 결과로 생활하수의 지하 침출에 따른 결과로 사료된다.

지하수내 세균 군집은 지표면으로부터 능동적인 또는 수동적인 투과와 측면적 이동에 의해 지하수 환경내로 들어와 군집을 이룬다(Ghiorse and Wilson, 1988; Sargent and Fliermans, 1989; Madsen and Ghiorse, 1993). 이러한 세균 군집은 지하수 환경에서 질산화, 탈질산화, 질소고정, 황화합물의 환원, 및 유기 탄소원의 분해등 물질 순환에 기여한다(Seppänen, 1988). 이에 암반의 화학적 성상, 깊이, 지질학적 특성등 다양한 지하수를 대상으로 세균 군집의 개체수를 분석한 결과, 총세균 군집과 생존 세균 군집은 각각  $0.5 \sim 3 \times 10^5$  cells/ml과  $0.02 \sim 3 \times 10^5$  cells/ml의 범주로 나타났다. 또한 생존 세균 군집은 총세균의 4~90%가 분포하였다(Zheng and Kellogg, 1994). 본 연구 결과에서는 총세균 군집에 대한 생존 세균 군집이 비는 8.82%로 나타났는데, 이는 빈영양화된 지하수의 전형적인 세균 분포라고 할 수 있다. 한편 기능성 특성 세균 군집중 혐유소 분해세균 군집과 전분 분해세균군집은  $0.02 \sim 4.0 \times 10^4$  cfu/ml과  $0.01 \sim 1.93 \times 10^4$  cfu/ml의 범주로 조사되었는데, 총유기물량의 농도와 상관관계를 보였다. 즉 총유기물량의 농도가 상대적으로 높은 G1(1.535 mg/l)과 G5(2.514 mg/l)에서 혐유소 분해세균 군집과 전분 분해세균군집도  $0.29 \times 10^4$  cfu/ml와 0.03,  $1.93 \times 10^4$  cfu/ml으로 다른 정점에 비해 높게 나타났다. 이러한 양상은 이용가능한 탄소원의 농도가 높을수록 종속 영양세균 군집의 개체수가 증가하였다는 결과와 일치한다(Ghiorse and Wilson, 1988; Madsen and Ghiorse, 1993). 한편, 지하수에는 다양한 경로로 유입된 유기물이 다량 함유되어 있으며, 이는 종속영양 세균 군집과 기능성 특성군들이 분비하는 효소들에 의해 분해된다. 유기물의 95% 이상이 단백질, 다당류 및 에스테르 등과 같은 고분자 물질로 구성되어 있으므로, 세포의 효소에 의해 제한적으로 저분자 물질로 분해된 후 세균이 이용하게 된다. 이러한 세포의 효소는 수온, pH, 및 기질의 종류 등과 같은 물리 화학적 환경요인에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Sinsabaugh, 1994). 본 연구에서 세포의 효소 활성도는 모든 정점에서 lipase ( $4.689 \mu\text{M/l/hr}$ )와 phosphatase( $0.809 \mu\text{M/l/hr}$ )가 다른 세포의 효소 활성도에 비해 가장 높게 나타났으며, 총유기물량의 농도가 상대적으로 높은 G1과 G5 정점에서 가장 높게 나타났다. 이러한 양상은 lipase와 phosphatase의 활성도가 다른 물리화학적 환경요인의 영향보다는 고농도의 인산염과 에스테르 등과 같은 기질의 영향으로 사료된다.

생태계는 생물체와 기능적으로 서로 관련이 있는 물리 화학적 환경의 여러 성분으로 구성되므로 생태계를 구성하는 성분의 조합에 따라 복잡 정도가 다양하게 나타난다. 지하수 세균 군집의 변화에도 많은 요인이 작용하는 것으로 알려져, 물리 화학적 환경요인과 세균군집간의 관계를 분석하는 연구가 시도되었다(안연준 등, 1995; Gshell et al., 1997). Gshell 등(1997)의 알칼리화된 높지의 지하수에서 세균 군집의 변화는 pH, 수온, 질산성 질소와 양의 상관관계를 보였다고 하였으며, 안연준등(1995)은 용

존 산소와 양의 상관관계를 보였다 하였고. 그러나 이들의 연구는 조사 정점의 전체적인 자료를 해석하여 정점별 특성을 반영하지는 못하였다. 즉, 지하수의 환경에서 세균 군집은 정점별 지질화학적 특성에 따라 물리화학적 환경요인과 복합적 상호관계로 다양하게 나타나게 되므로, 서울시의 대표적인 잠재 오염원에 따른 세균 군집의 영향을 분석하기 위해서는 정점별 분석이 필요하다. 이에 정점별로 조사된 환경요인과 세균 군집간의 대응 분석과 다차원 척도법 분석을 시도하였으며, 이는 정점의 특성을 최대로 반영하는 분석 방법이었다. 조사정점에서 대응분석 결과, 세균 군집에 미치는 주요한 환경요인을 확인할 수 있었다. 또한 다차원 척도법에 의한 정점별 환경요인의 영향을 분석한 결과, 크게 4개의 집단으로 구분되었으며 온도, pH, 총 유기물, 질산성 질소, 암모니아, 세포의 효소 활성도, 및 중금속이 세균 군집의 분포에 영향을 주는 것으로 나타났다. 이러한 양상은 서울시의 대표적인 잠재 오염원의 분포와 일치하며, 잠재 오염원이 세균 군집의 변화에 영향을 미치는 사실을 알 수 있다.

### 결 론

1. 생활용수 및 공업용수로 사용하고 있는 정점에서 분뇨등 유기물질이 원인인 질산성 질소와 암모니아가 음용수 기준 초과 항목으로 조사되었으며, 중금속에 의한 오염은 나타나지 않았다. 이는 생활폐수나 정화조등의 오염물질이 서울지역의 지하수계로 유입되었음을 시사한다.

2. 총세균 군집과 생존 세균 군집은  $5.1 \sim 41.4 \times 10^5$  cells/ml 과  $0.7 \sim 3.95 \times 10^5$  cells/ml의 범주로 나타났으며, 기능성 특성군 군집은 지방분해세균( $0.72 \times 10^4$  cfu/ml), 단백질 분해세균( $0.6 \times 10^4$  cfu/ml), 섬유소 분해세균( $0.57 \times 10^4$  cfu/ml), 전분 분해세균( $0.197 \times 10^4$  cfu/ml), 포자형성세균( $0.026 \times 10^4$  cfu/ml)순으로 분포하였다.

3. 세포의 효소 활성도는 lipase( $4.689 \mu\text{M}/\text{l}/\text{hr}$ ), phosphatase( $0.809 \mu\text{M}/\text{l}/\text{hr}$ ),  $\beta$ -glucosidase( $0.019 \mu\text{M}/\text{l}/\text{hr}$ ), cellulase( $0.008 \mu\text{M}/\text{l}/\text{hr}$ ), chitinase( $0.007 \mu\text{M}/\text{l}/\text{hr}$ ), amylase( $0.006 \mu\text{M}/\text{l}/\text{hr}$ ) 순으로 나타났으며, 조사정점에서 활성도에 미치는 인자는 인산염과 에스테르 등과 같은 고분자 기질의 농도로 분석되었다.

4. 다차원 척도법에 의한 정점별 환경요인의 영향을 분석한 결과, 발전소 및 공단 밀집 지역(G1과 G3)에서는 온도, pH, 및 총 유기물, 주택 밀집 지역(G2, G4 및 G7)에서는 질산성 질소와 암모니아, 경작지(C1, G5 및 G6)에서는 세포의 효소 활성도, C2 및 G8은 크롬, 아연에 의해 세균 군집이 영향을 받는 것으로 분석되었다.

5. 정점별로 조사된 환경요인과 세균 군집간의 대응분석과 다차원 척도법 분석은 정점의 특성을 최대로 반영하였으며, 세균 군집에 미치는 주요한 환경요인은 정점별 잠재오염원과 일치하는 양상을 보였다.

### 사 사

본 연구는 서울대학교 분자생물학 연구센터를 통한 한국과학

재단 우수연구센터 지원금과 한국학술진흥재단 지원 한양대학교 기초과학연구소 연구과제(1998-015-D00231)의 연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 서울특별시, 1996, 서울특별시 지하수 관리계획 기본조사보고서-제 2권 지하수 기본조사 및 지하수보전, 서울특별시, p. 783-811.
- 안연준, 민병례, 최영길, 1995, 지하수 미생물과 환경요인의 상호관계, 지하수환경, 2(2), p. 85-92.
- 이중운, 전효택, 전용원, 1997a, 국내 화강암질내 심부지하수의 지구화학적 특징, 지하수환경, 4(4), p. 199-211.
- 이중운, 전효택, 전용원, 1997b, 국내 화강암질내 심부지하수의 지구화학적 특징, 지하수환경, 4(4), p. 212-222.
- 정상용, 권해우, 이강근, 김윤영, 1997, 부산 석대 폐기물 매립지 일원의 수질 환경, 지하수환경, 4(4), p. 175-184.
- 지상우, 김선준, 안지현, 1997, 문경 단봉탄광 폐석장 유출수의 조성변화, 지하수환경, 4(4), p. 169-174.
- Ahn, Y. B., Cho, H. B. and Choi, Y. K., 1995. Effects of hydrogen ions on aquatic microbial populations in Korea, Jour. Microbiol., 33, p. 184-190.
- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 1992, Standard methods for the examination of water and coast water, 18th ed., American Public Health Association, Washington D.C.
- Balkwill, D. L., Fredrickson, J. K. and Thomas, J. M., 1989. Vertical and horizontal variations in the physiological diversity of the aerobic chemoheterotrophic bacterial microflora in deep southeast costal plain subsurface sediments, Appl. Environ. Microbiol., 55, p. 1058-1065.
- Cowan, S. T., 1974, Manual for the identification of medical bacteria, Cambridge University Press.
- Ghiorse, W. C. and Wilson, J. T., 1988, Microbial ecology of the terrestrial subsurface, Adv. Appl. Microbiol., 33, p. 107-172.
- Gounot, A. M., 1994, Microbial ecology of groundwaters, in Gilbert, J., Danielpol, D. L. and Stanford, J. A., Ed., Groundwater ecology, Academic Press, p. 189-215.
- Gshell, T. C., Holben, W. E. and Ventullo, R. M., 1997. Characterization of the sediment bacterial community in groundwater discharge zones of an alkaline fen: a seasonal study, Appl. Environ. Microbiol., 63, p. 3111-3118.
- Hobbie, J. E., Daley, R. J. and Jasper, S., 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy, Appl. Environ. Microbiol., 33, p. 1225-1228.
- Hoppe H. G., 1983, Significance of exoenzymatic activities in the ecology of backish water : Measurements by means of methylumbelliferyl-substrates, Mar. Ecol. Prog. Ser., 11, p. 299-308.
- Kogure, K., Simidu, U. and Taga, N., 1984, An improved direct viable count method for aquatic bacteria, Arch. Hydrobiol., 102, p. 117-122
- Madsen, E. L. and Ghiorse, W. C., 1993, Groundwater microbiology: Subsurface ecosystem processes, in Ford, T. E., Ed., Aquatic Microbiology: An ecological approach, Blackwell, Boston, p. 167-213.
- Rheinheimer, G. 1985, Aquatic Microbiology, John Wiley and

- Sons, New York.
- Sargent, K. A. and Fliermans, C. B., 1989, Geology and hydrology of the deep subsurface microbiology sampling sites at the Savannah River Plant, South Carolina, *Geomicrobiol. J.*, 7, p. 3-13.
- SAS Institute, Inc. 1996, SAS User's Guide: Statistics, Ver.5 (ed.), SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Seppänen, H., 1988, Groundwater: A living ecosystem, *Water Sci. Technol.*, 25, p. 95-100.
- Sinsabaugh, R. L., 1994, Enzymic analysis of microbial pattern and process, *Biol. Fertil. Soils*, 17, p. 69-74.
- Somville, M., 1984, Measurement and study of substrate specificity of exoglucosidase activity in eutrophic water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, p. 1181-1185.
- Vallee, B.L., and Ulmer, D.D., 1972, Biochemical effects of mercury, cadmium and lead, *Ann. Rev. Biochem.*, 41, p. 91-128.
- Zheng, M., and Kellogg, S.T., 1994, Analysis of bacterial populations in a basalt aquifer, *Can. J. Microbiol.*, 40, p. 944-954.