

## 시화호 저니(Sediment)에서의 유기물 및 중금속 농도와 혐기성호흡세균과의 상관관계

현문식 · 장인섭 · 박형수 · 김병홍\* · 김형주 · 이홍금<sup>1</sup> · 권개경<sup>1</sup>  
한국과학기술연구원 수질환경연구센터, <sup>1</sup>한국해양연구소 미생물연구실

**Relationship between the Organic Content, Heavy Metal Concentration and Anaerobic Respiration Bacteria in the Sediments of Shiwaha-ho.** Hyun, Moon-Sik, In-Seop Chang, Hyung-Soo Park, Byung-Hong Kim\*, Hyung-Joo Kim, Hong Kum Lee<sup>1</sup>, and Kae Kyoung Kwon<sup>1</sup>. *Water Environment Research Center, Korea Institute of Science and Technology, 39-1 Hawolgok-dong, Sungpook-ku, Seoul 133-791, Korea, <sup>1</sup>Microbiology Lab. Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan P.O. Box 29, Seoul 425-600, Korea* – Anoxic sediments collected from Shiwaha-ho area were used to find the relationship between the heavy-metal, organic content and anaerobic respiration bacteria by most probable number (MPN) method. Analysis of the sediments showed that COD content was higher in the sediments collected from Ansan-cheon and Shiwaha-ho than those collected from sea area nearby. Particularly noticeable was the fact that heavy metal concentration was much higher in the sediments of Shiwaha-ho than those of the other areas. Fe(III)-reducing bacteria were low in the sediments collected from Shiwaha-ho area contaminated by heavy-metal, although they were rich in electron donor and electron acceptor for Fe(III)-reducing bacteria. The number of Fe(III)-reducing bacteria using lactate as an electron donor was in the range of  $1.1 \times 10^6$ - $4.6 \times 10^7$  MPNs/ml in the sediments collected from the sea-side of the lake, which were lower in heavy-metal concentration and higher in Fe-Mn content than those from other region. The number of Fe(III)-reducing bacteria using acetate as an electron donor was in the range of  $4.3 \times 10^2$ - $8.1 \times 10^5$  MPNs/ml in the same sediments. Chromate-reducing bacteria were more populated ( $4.6 \times 10^4$ - $8.1 \times 10^5$  MPNs/ml) in the sediments contaminated by heavy metals. The number of sulfate-reducing bacteria was  $1.49 \times 10^7$  MPNs/ml in the sediments with higher COD. Higher sulfate-reducing bacteria were counted in the sediments collected from the more contaminated inner-side than those from the sea-side of the lake.

**Key words:** Fe(III)-reducing bacteria, chromate-reducing bacteria, sulfate-reducing bacteria, anaerobic respiration bacteria

혐기성 환경에서는 유기물이 발효미생물의 작용으로 알코올, 유기산 등과 같은 발효산물로 분해되며 이들 발효산물은 혐기성 호흡대사에 의해 이산화탄소로 산화되고, 이산화탄소가 전자수용체로 이용될 경우에는 메탄이 생산된다[28]. 그 외 혐기성 호흡에서 이용되는 전자수용체로는 질산염, Fe(III)과 Mn(IV) 등을 비롯한 금속염과 황산염 등을 들 수 있다[16].

금속염을 전자수용체로 이용하는 금속염환원세균은 비교적 최근에 알려지기 시작하였다. 최근까지 자연 생태계에서 발생하는 Fe(III)과 Mn(IV)의 환원은 혐기성 미생물에 의해 생성되는 H<sub>2</sub>S나 formic acid 등의 환원성 물질에 의해 비생물학적으로 일어나는 것으로 생각되어 왔다[12]. 그러나 1980년대 들어 산화된 금속이온을 혐기적 호흡에서 전자수용체로 이용하여 ferric iron[Fe(III)]을 ferrous iron[Fe(II)]으로, Mn(IV)을 Mn(II)로 환원시키는 *Shewanella*

*putrefaciens*가 밝혀지면서 미생물에 의한 금속염환원이 알려지기 시작하였다[22].

금속염 환원이 알려지기 전에는 황산염 농도가 높은 해양 생태계에서는 황산염호흡 그리고 담수생태계에서는 메탄생산이 혐기적 조건에서 가장 중요한 유기물 제거작용으로 생각되어 왔다[13]. 혐기적 조건에서 호흡하는 다양한 세균들 중 일부인 금속염환원세균의 에너지 대사에서 발생하는 환원력에 의한 Fe(III)과 Mn(IV)의 생물학적 환원은 강, 호수, 바다 등의 수생생태계의 혐기적 저니층에서 오염된 유기물을 분해하는 작용을 할뿐만 아니라 탄소와 금속이온의 생지화학적 순환(biogeochemical cycling)에 중요한 기능을 한다[10, 15, 33].

Cr(VI)을 환원하는 세균들로는 *Pseudomonas chromatophila*, *Ps. dechromaticans*, *Ps. ambigua* G-1, *Ps. aeruginosa* 등 *Pseudomonas* 속 세균은 물론 *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *D. vulgaris*, *Enterobacter cloacae* 등 통성 및 편성 혐기성세균이 Cr(VI)을 환원하는 것으로 알려지고 있으나 이들 세균에서

\*Corresponding author

Tel. 82-2-958-5831, FAX. 82-2-958-5389

E-mail: bhkim@kistmail.kist.re.kr

Cr(VI) 환원이 에너지 대사의 한 부분인지는 알려지지 않았다[9, 35, 40, 41]. 대부분 자연계에서 크롬은 불용성의 Cr(III)으로 존재하기 때문에 수생 생태계에서 수용성 크롬의 농도는 극히 낮다. 그러나 독성이 높고 수용성인 Cr(VI)이 전기도금이나 피혁처리 등 산업적으로 널리 사용되고 있으며 자연계에 방출되어 낮은 농도에서도 생물체에 암발생 등 치명적인 독성을 나타낸다[36]. 일반적으로 1 mM 정도의 Cr(VI)이 미생물의 성장을 억제하지만 *Enterobacter cloacae* HO1은 10 mM의 Cr(VI)에 내성을 보였으며[14], 높은 농도의 크롬(2,500 ppm)과 독성을 띠는 중금속이 오염되어 있는 폐수에서 consortium을 형성하는 황산염환원세균(SRB)들은 38.45 mM의 Cr(VI)을 제거한다고 한다. 이는 SRB에 의해 생성된 H<sub>2</sub>S에 의하여 비생물적으로 Cr(VI)이 환원되는 것으로 보고되었다[11].

SRB는 편성 혐기성세균으로 유기물함량이 높은 혐기성 생태계에서 금속염환원세균과 메탄생성균과 같이 발효 대사 산물을 전자공여체로 이용하여 유기물을 제거하는 작용을 한다[13]. SRB는 유기물을 기질로 그리고 전자수용체를 황산염으로 이용하여 유기물을 분해하는 동시에 황산염을 유독 가스인 H<sub>2</sub>S로 환원시켜 금속의 황화물을 형성하며 황산염 농도가 낮은 담수 생태계에서는 유기물을 CO<sub>2</sub>로 완전 산화시킨다. 황산염 농도가 비교적 높은 해양 생태계에서는 SRB가 많이 존재하나 담수 생태계에서는 SRB에 비해 메탄생성균이 더 많이 존재한다. 그리고 바다물이 혼합되거나 황산염이 오염된 수생 생태계에서는 SRB가 메탄생성균에 비해 더 잘 자라며 산소에 대한 내성이 강해 산소가 적은 호기성 생태계에서도 발견되고 있다[19]. 그리고 유기물 함량이 적은 생태계에서는 SRB와 메탄생성균이 철환원세균에 의해 생육이 저해를 받는다는 보고도 있다[29].

시화호는 경기도 안산시와 시흥시에 근접한 인공 담수호로 반월공단과 시화공단 그리고 농업지대가 인접하여 있고 그곳에 있는 여러 공장에서 발생하는 다양한 중금속을 포함한 공장폐수와 근교 도시에서 발생하는 생활폐수 그리고 농업폐수 등이 시화호로 유입되어 심하게 오염되어 사회적인 문제가 야기되고 있는 곳이다. 실험 시료를 공장폐수와 생활폐수로 오염되지 않은 안산천 상류의 논고랑과 안산시를 가로질러 흐르는 안산천 중류의 생활폐수가 오염된 곳 그리고 각종 공장폐수와 생활폐수로 오염된 시화호와 시화호 밖의 개펄지역에서 각각 시료를 채취하여 유기물과 중금속을 분석하여 혐기성 호흡세균과의 상관관계를 조사하는 것을 본 실험의 목적으로 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 시료채취와 전처리

시료는 크게 3구역으로 나누어 채취하였다. 1구역은 안산시를 가로질러 시화호로 흐르는 안산천의 상류, 중류와

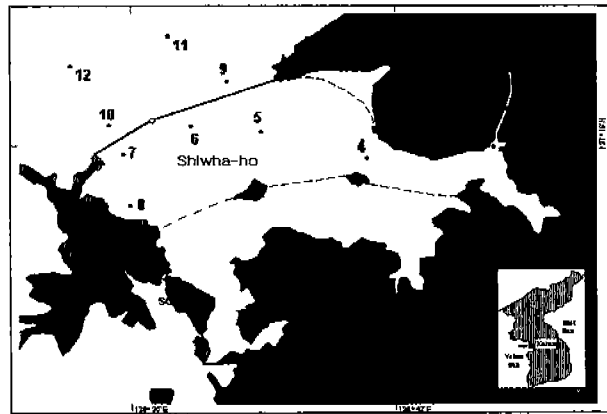


Fig. 1. Map of the the sampling point in the Shihwa-ho area.

시화호에 인접한 하류의 개펄지역(Sample No. 1-3), 2구역은 시화호내 구역(Sample No. 4-8), 3구역은 바다 쪽인 시화호의 구역(Sample No. 9-12)으로 나누었다. 시료번호 1-3은 1998년 6월 22일에 안산시를 가로질러 시화호로 흐르는 안산천의 상류, 중류 및 하류부분의 수심이 0.5 m 미만인 혐기저니층의 3개 지점에서 스테인레스 파이프(직경 약 10 mm)를 이용하여 3개의 시료를 혐기적으로 채취한 후 실험실에서 3개 시료를 혐기적으로 혼합한 다음 시료로 사용하였다. 시료번호 8-12는 Van-Veen Grab sampler를 이용하여 시화호 밖의 바다저니층의 표층 5 cm내외의 깊이에서 시료를 채취하였다. 그리고 시료번호 4-8은 1998년 7월 14일에 시화호 내에서 시료 9-12와 같은 방법으로 시료를 채취하였다. 시료 채취 장소는 다음과 같다(Fig. 1).

### 균의 배양 및 MPN법에 의한 생균수 측정

생균수의 측정은 most probable number법[17]으로 측정하였다. 모든 배지는 pressure tube(Belco Glass Inc., Vineland, NJ, U.S.A)에 4.5 ml의 배지를 채우고 혐기적으로 준비하였고 배지의 pH는 7.0으로 조절하였다. 철환원세균은 전자공여체로 30 mM lactate와 20 mM acetate 그리고 전자수용체로 FeOOH을 함유한 각각의 CBBM배지[26, 34]를 사용하였다. 시료의 접종은 시료 1 g을 혐기적으로 만든 10 ml 0.85% NaCl 용액에 희석하여 10분 정도 N<sub>2</sub> 가스를 주입하여 충분히 치환시켜 혐기적으로 만든 후, 10<sup>-3</sup>에서 10<sup>-9</sup>까지 각각 3개씩 CBBM배지에 희석하여 30 °C에서 30일간 배양한 후, ferrozine 방법[23]으로 철환원량을 측정하여 철환원세균을 확인하였다. 대조구로는 시료를 접종하지 않은 lactate와 acetate가 각각 함유된 CBBM배지를 사용하였다. SRB의 배양은 30 mM lactate를 함유하는 Postgate C 배지를 사용하였고 SRB가 생성하는 FeS에 의해 검은색의 침전물이 생성된 배양액을 양성으로 판정하였다[30]. Cr(IV) 환원균은 30 mM acetate와 0.5 mM potassium chromate(IV)가 함유된 KSC배지[40]를 사용하여 배양하였고 Cr(IV)의

환원량을 diphenylcarbazine방법으로 측정하여 Cr(IV) 환원균을 판별하였다[39].

중금속 및 황산염과 유기물 함량 분석

중금속 분석은 nitric/hydrochloric acid를 전처리하여 standard 방법[1]으로 분석하였고 기기는 atomic absorption spectrophotometer(Hitachi Z-8200, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 황산염의 농도는 turbidometric 방법[2]으로 660 nm에서 spectrophotometer(UviDec-610, Jasco, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 유기물 함량은 COD(chemical oxygen demand)로 측정하였고 측정방법은 closed reflux 방법[1]을 사용하였다. 분석기기는 HACH spectrophotometer(DR/3000; HACH, Loveland, Colorado, USA)를 사용하였다.

통계분석

미생물의 분포 및 활성과 환경요인간의 상호관계 규명을 위하여 Pearson correlation coefficients를 구하였다. 분석에는 SPSS PC+프로그램(ver 8.0)을 이용하였으며 정규도 90이하의 자료들에 대해서는 정규도 90이상 이 되도록 변환하여 주었다.

결과 및 고찰

pH, 중금속, 황산염 및 유기물 분석

시화호의 중금속 및 유기물 농도와 혐기성 호흡세균과의 상관관계를 조사하기 위해 중금속과 황산염 농도를 분석하고 유기물 농도를 COD로 측정하였다(Table 1).

제 1구역은 pH가 6.50에서 6.74로 약산성을 나타냈지만 다른 구역은 pH 7.44에서 8.05로 알칼리성을 나타냈다. 공장폐수의 오염이 비교적 적은 시료 1은 Fe(1,532 mg/kg), Cr(<5 mg/kg), SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>(134 mg/kg)의 농도가 다른 시료들에 비

해 가장 낮았다. 생활폐수가 오염된 시료 2는 다른 시료에 비해 COD 농도가 1,467(mg/kg)로 가장 높았고, Fe, Cr, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 농도도 시료 1에 비해 높았다. 공장폐수와 생활폐수가 함께 오염된 안산천 하류의 시료 3에서는 Cr(78.8 mg/kg), SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>(2,214 mg/kg), Zn(315.0 mg/kg), Mn(212.6 mg/kg), Cu(165.3 mg/kg)의 농도가 시료 1과 2에 비해 매우 높았고 특히 Cr, Zn, Cu의 농도는 다른 시료에 비해 가장 높았다. 이는 시료 3의 채취구역이 반월공단과 가장 인접한 구역으로 공단에서 나오는 각종 중금속에 의한 오염이 가장 심각한 구역이기 때문이라 사료된다.

제 2 구역의 시화호내의 시료 4-7에서는 중금속과 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 농도가 매우 높았다. 특히 Fe(16,154-26,894 mg/kg)과 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>(2,418-3,251 mg/kg)의 농도는 다른 시료에 비해 높았고, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 농도가 바다 쪽의 시료보다 높았다. 그 이유는 각종 공장에서 발생하는 황산염이 포함된 폐수의 유입에 의한 것으로 사료된다. COD의 농도는 제 1구역에 비해 별 차이가 없었다. 따라서 시화호는 생활폐수에 의한 유기물 오염보다는 각종 공장에서 발생하는 중금속에 의한 오염이 심각한 것으로 사료되며 시화호 자체에 의한 자정 능력도 떨어지는 것으로 사료된다. 시료 8은 다른 시료에 비해 오염농도가 매우 낮았다. 이는 시료채취 지역이 같은 시화호 내지만 반월공단에서 멀리 떨어져 있고 공장이 없는 대부도 쪽과 인접하여 있기 때문이라 사료된다.

시화호 밖의 3구역의 시료에서 COD의 농도(572-819 mg/kg)는 시화호내의 시료에 비해 50%정도가 낮았고 또한 중금속과 황산염 농도도 매우 낮았다. 특히 Cr(<5.0-9.5 mg/kg), Zn(30.9-39.1 mg/kg), Cu(6.5-9.5 mg/kg)의 농도는 다른 시료에 비해 가장 낮았다. 그리고 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 농도가 1구역의 안산천 시료에 비해 높은 이유는 일반적으로 바다 쪽이 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 농도가 더 높기 때문으로 사료된다[19]. 따라서 3구역의 시화호 밖의 지역은 유기물 및 중금속 오염이 적은 지

Table 1. The pH, COD, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> and metal concentration in the sediments collected from Ansan-cheon and Shihwa-ho

Sample No.	Location	pH	COD(mg/kg)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Heavy Metal Contents (mg/sediments, kg)				
					Fe	Cr	Zn	Mn	Cu
1	Ansancheon	6.50	1,256	134	1,532	<5.0	68.1	51.1	17.0
2		6.74	1,467	942	5,185	18.8	157.4	138.9	55.6
3		6.74	1,292	2,214	4,330	78.8	315.0	212.6	165.3
4	Inside of Shihwahho	7.87	1,380	3,251	16,154	38.5	238.5	338.5	100.0
5		7.61	1,125	2,731	24,945	44.1	207.9	277.2	94.5
6		7.50	1,234	2,418	21,102	31.5	110.2	275.6	55.1
7		8.05	1,433	3,110	26,894	34.1	116.0	348.1	47.8
8		7.70	732	980	11,348	<5.0	56.7	766.0	18.9
9	Outside of Shihwah-ho	7.39	586	1,591	4,180	9.5	38.0	200.0	9.5
10		7.44	761	1,578	5,560	7.7	30.9	247.1	7.7
11		7.32	819	1,489	4,219	7.8	39.1	257.9	7.8
12		7.62	572	1,449	4,343	<5.0	38.9	473.3	6.5

\*Samples No 1-3, 9-12 were collected on 22 June 1998 at the location marked in Fig. 1. Samples No 4-8 were collected on 14 July 1998 at the location marked in Fig. 1.

**Table 2. The number of Fe(III)-reducing bacteria, chromate-reducing bacteria and sulfate-reducing bacteria by MPN method in the sediments collected from Shiwha-ho**

Sample No.	Number of Fe(III) Reducer (MPNs/ml)		Number of Chromate Reducer (MPNs/ml)	Number of Sulfate Reducer (MPNs/ml)
	Lactate	Acetate	Acetate	Lactate
1	$9.3 \times 10^3$	$9.3 \times 10^3$	$4.2 \times 10^2$	$1.49 \times 10^6$
2	$4.6 \times 10^5$	$2.4 \times 10^4$	$1.2 \times 10^3$	$1.49 \times 10^7$
3	$8.1 \times 10^6$	$8.1 \times 10^5$	$2.4 \times 10^4$	$4.62 \times 10^6$
4	$2.4 \times 10^3$	$2.4 \times 10^3$	$1.5 \times 10^5$	$1.1 \times 10^5$
5	$4.3 \times 10^3$	$9.3 \times 10^2$	$4.6 \times 10^4$	$4.6 \times 10^4$
6	$2.4 \times 10^4$	$9.3 \times 10^3$	$1.1 \times 10^5$	$4.6 \times 10^4$
7	$2.4 \times 10^3$	$2.4 \times 10^3$	$8.1 \times 10^5$	$2.4 \times 10^4$
8	$1.1 \times 10^7$	$1.1 \times 10^5$	$1.3 \times 10^3$	$7.4 \times 10^3$
9	$8.1 \times 10^6$	$4.3 \times 10^2$	$4.6 \times 10^3$	$<10^3$
10	$4.3 \times 10^6$	$4.3 \times 10^3$	$2.4 \times 10^3$	$4.6 \times 10^3$
11	$1.1 \times 10^6$	$2.4 \times 10^3$	$1.5 \times 10^3$	$2.4 \times 10^4$
12	$4.6 \times 10^7$	$9.3 \times 10^3$	$4.2 \times 10^2$	$<10^3$

역으로 사료되며 이는 조류의 유동에 따른 회석작용 및 산소공급을 통한 정화작용 이외에도 방조제가 건설된 이후 시화호 안쪽은 유입된 공단폐수가 오염원으로 작용한 반면 외부는 영향을 크게 받지 않은 것도 한 요인으로 보여진다.

Fe(III) 환원세균과 중금속 및 유기물과의 상관관계

MPN 방법으로 철환원세균수를 측정하기 위해 시화호에서 채취한 시료를 회석하여 20 mM acetate와 30 mM lactate가 각각 함유된 FeOOH+CBBM배지에 접종하여 30일 동안 배양한 다음 배양액 일정량을 취하여 Fe(II)의 농도를 측정하여 철환원세균의 성장을 확인하였다(Table 2). 통계 분석을 통하여 철환원세균과 유기물 및 중금속들과의 상

관관계를 조사하였다(Table 3).

전자공여체로 lactate를 사용한 CBBM배지에서의 철환원세균을 고찰하여 보면 1구역에서 생활폐수와 공장폐수로 오염되지 않은 시료 1의 철환원세균수는  $9.3 \times 10^3$ (MPNs/ml)로 생활폐수로 오염된 시료 2( $4.6 \times 10^5$  MPNs/ml)와 공장폐수로 오염된 시료 3( $8.1 \times 10^6$  MPNs/ml)에 비해 적었다. 이는 시료 2와 3은 시료 1에 비해 철환원세균의 전자공여체로 사용하는 유기물의 농도는 비슷하나 전자수용체인 금속염 농도가 증가하였기 때문으로 사료된다.

COD 농도가 시료 1-3과 비슷하고 Fe과 중금속 농도가 높은 2구역에서 채취한 시료 4-7의 철환원세균수는  $2.4 \times 10^3$ 에서  $2.4 \times 10^4$  (MPNs/ml)으로 다른 구역의 시료에 비해 적었다. 그러나 Cr, Zn, Mn, Cu 등의 오염이 적은 시료 8의 철환원세균수는  $1.1 \times 10^7$ (MPNs/ml)으로 시료 4-7에 비해 훨씬 많았다. 따라서 철환원세균수는 Cr, Zn, Mn, Cu 등의 중금속에 의해 저해되는 것으로 사료된다. Cr인 경우, 일반적으로 Cr(VI) 농도 1 mM에서 대부분의 미생물 생장은 억제된다[18]. 따라서 철환원세균들은 전자공여체로 사용하는 유기물과 전자수용체로 사용하는 철의 농도와 관계없이 중금속 농도에 영향을 많이 받는 것으로 사료된다.

3구역에서 채취한 시료 9-12의 철환원세균수는  $1.1 \times 10^6$ 에서  $4.6 \times 10^7$ (MPNs/ml)으로 다른 구역의 시료에 비해 많았다. 그중 Cr과 Cu의 농도가 가장 낮은 시료 12의 철환원세균수가 가장 많았다.

전자공여체로 acetate를 사용한 CBBM배지에서의 철환원세균수는  $4.3 \times 10^2$ 에서  $9.3 \times 10^3$ (MPNs/ml)으로 lactate를 이용하는 철환원세균수에 비해 적었으나 대체로 유사한 경향을 나타냈다(Table 2). 따라서 자연 혐기적 생태계에서는 multi carbon 화합물을 완전히 산화시켜 CO<sub>2</sub>로 산화하는 *Geobacter*[25], *Desulfuromonas*[8], *Desulfuromusa*[20]와 *Geo-vibrio*[7]속에 속한 종들 보다 불완전 산화되어 acetate

**Table 3. Result of Pearson's correlation coefficients under the 95 and 99% confidence levels at the sediment samples of the Shiwha-ho(n=12)**

	pH	COD	Fe	Cr	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	FeR-Lac.	FeR-Ace.	Cr-R	SRB
pH									
COD									
Fe	.678*								
Cr		.653*							
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	.664*		.769#	.737#					
Zn		.682*		.913#					
Mn	.741#								
Cu		.731#		.945#	.590*	.981#			
FeR-Lac.		-.733#	-.688*						
FeR-Ace.									
Cr-R			.839#	.766#	.919#		.638*	-.641*	
SRB	-.668*	.822#				.667*	.660*		

\*95% confidence levels # 99% confidence levels

FeR-Lac. : Fe(III)-reducing bacteria using lactate as an electron donor. FeR-Ace. : Fe(III)-reducing bacteria using acetate as an electron donor  
Cr-R : Chromate-reducing bacteria. SRB : Sulfate-reducing bacteria.

로 되는 *Shewanella*[31], *Pelobacter*[24], *Ferrimonas*[32]와 *Ba-cillus*[6]속에 속한 종들이 많이 존재하는 것으로 추정된다. 따라서 바다쪽 시화호 밖의 구역에서 철환원세균수가 SRB 보다 많은 이유로는 철환원세균의 생육을 저해하는 중금속 이온(Cr, Zn, Mn, Cu) 농도가 낮고 철환원세균의 전자수용체로 사용하는 Fe과 Mn의 농도가 비교적 높기 때문이거나 바다생태계가 철환원세균의 생육에 적당한 조건을 갖추고 있기 때문으로 사료된다. 즉 조수에 의해  $Fe^{+2} \rightleftharpoons Fe^{+3}$  cycle이 가능하여 철환원세균이 보다 잘 생존하기 때문에 SRB가 자라지 못하게 되는 것으로 사료된다. Fe(III)/Fe(II), Mn(IV)/Mn(II) 등 금속염의 산화-환원 전위는 질산염과 비슷하여 SRB나 메탄생산세균보다 동일한 전자공여체로부터 많은 자유에너지를 얻을 수 있으며, 질산염보다 자연계에 광범위하게 분포되어 있기 때문에 혐기성 생태계에 유입되는 유기물의 50% 이상이 금속염환원세균에 의해 대사된다는 보고가 있을 정도로 자연계에 널리 분포되어 있다[3, 21, 27].

시화호 및 그 주변환경에서 채취한 시료로부터 측정된 항목들간의 통계분석 결과, 철환원세균 중 lactate를 전자공여체로 이용하는 그룹의 경우 COD와 음의 상관관계( $p=0.007$ ,  $r^2=-0.733$ )를 보이는 것은 물론 철의 농도와 음의 상관관계( $p=0.013$ ,  $r^2=-0.688$ )를 보이는 것으로 나타났다(Table, 3). 이와 같은 결과는 철환원세균이 SRB 및 크롬환원세균의 생육이 왕성한 조건에서는 생존하기 어려운 조건이 형성되기 때문으로 사료된다. 즉 중금속과 유기물 농도가 높은 시화호 내부의 경우 높은 유기물 농도로 인하여 SRB와 크롬환원세균의 성장에 좋은 조건이 만들어지는 반면 산화환원전위가 낮아져서 철환원을 통한 생존은 어려운 조건이 만들어졌을 수 있다[5]. 또한 Sørensen(1982)은 철의 산화는 질산염이 고갈된 직후 황산염 환원이 일어나기 전까지로 보고하고 있다[37]. 그리고 lactate를 전자공여체로 이용하는 철환원세균과 크롬환원세균의 분포는 음의 상관관계( $p=0.025$ ,  $r^2=-0.641$ )를 보이는 것으로 나타났다(Table 3).

Cr(VI) 환원세균과 중금속 및 유기물과의 상관관계

MPN 방법으로 크롬환원세균수를 측정하여 유기물과 중금속들과의 통계분석을 통하여 그 상관관계를 조사하였다(Table 2, 3).

생활폐수와 공장폐수로 오염되지 않은 시료 1과 시화호 내의 시료 8 그리고 시화호 밖의 시료 12은 Cr 농도가 5 mg/kg 이하로 크롬환원세균수도  $4.2 \times 10^2$ 에서  $1.3 \times 10^3$  (MPNs/ml)으로 매우 적었고 Cr의 농도가 낮은 바다쪽의 시료 9-12의 크롬환원세균수도  $4.2 \times 10^2$ 에서  $4.6 \times 10^3$  (MPNs/ml)으로 시료 4-7에 비해 적었다. Cr 농도(31.5 -44.1 mg/kg)가 높은 시화호내 시료 4-7의 크롬환원세균수는  $4.6 \times 10^4$ 에서  $8.1 \times 10^5$  (MPNs/ml)으로 많았다. 시료 4-7에서 철

환원세균들은 중금속에 의해 저해를 받았으나 크롬환원세균들은 오히려 생육을 잘 하였다. 대부분의 Cr(VI)을 환원하는 세균은 Cr(VI)에 대한 내성이 높은 것으로 보고되고 있다. 일반적으로 1 mM 정도의 Cr(VI)이 미생물의 성장을 억제하지만 *Enterobacter cloacae*는 10 mM의 Cr(VI)에 대한 내성을 보였으며, 혐기성 조건에서 이를 불용성의 Cr(III)로 환원한다[18]. 따라서 Cr 농도가 어느 정도까지는 높을수록 크롬환원세균은 증가되는 것으로 사료된다.

통계분석 결과, 크롬환원세균의 경우에는 황산염의 농도와 매우 높은 상관관계를 보였으며( $p=0.000$ ,  $r^2=0.919$ ) 철이온( $p=0.001$ ,  $r^2=0.839$ )과 크롬이온( $p=0.004$ ,  $r^2=0.766$ )과도 높은 상관관계를 보이는 것으로 나타났다. 한편 크롬의 경우 크롬환원세균 이외의 세균 분포와는 특별한 상관관계를 보이지 않는 것으로 나타났다. 그러나 철환원세균과 크롬환원세균간에 음의 상관관계를 보였으며 크롬환원세균과 크롬의 양 사이에는 양의 상관관계를 보이는 것으로 보아 크롬의 농도가 철환원세균의 분포에 상당한 영향을 주고 있는 것으로 사료된다.

황산염환원세균(SRB)과 중금속 및 유기물과의 상관관계 MPN 방법으로 SRB수를 측정하여 유기물과 중금속과의 통계분석을 통하여 그 상관관계를 조사하였다(Table 2, 3). 생활폐수가 오염되고 COD 농도가 가장 높은 시료 2의 SRB는  $1.49 \times 10^7$  (MPNs/ml)으로 다른 시료에 비해 가장 많았다. 생활폐수와 공장폐수가 오염된 시료 3의 SRB수가  $4.62 \times 10^6$  (MPNs/ml)으로 두 번째로 많았다. 그러나 COD 농도가 낮은 시료 9-12에서의 SRB수는  $<10^3$ 에서  $2.4 \times 10^4$  (MPNs/ml)으로 매우 적었다. 일반적으로 황산염 농도가 높은 바다생태계에는 SRB가 많이 존재하는 것으로 알려졌지만 반대의 결과가 나왔다. 따라서 SRB수는 황산염의 농도보다는 COD의 농도에 많은 영향을 받는 것으로 사료된다. 황산염 이온농도가 높은 시료 4-7의 SRB수는  $2.4 \times 10^4$ 에서  $1.1 \times 10^5$  (MPNs/ml)으로 바다쪽의 시료보다 많았다. 그 이유는 바다쪽은 조수에 의해  $Fe^{+2} \rightleftharpoons Fe^{+3}$  cycle이 가능하여 철환원세균이 보다 잘 생존하기 때문에 SRB가 자라지 못하게 되나 시화호 내에서는 높은 중금속 농도 때문에 철환원세균이 자라지 못하여 SRB의 생장이 우세하게 되는 것으로 사료된다. 또 다른 이유는 바다물이 혼입되거나 공장 폐수에 의한 황산염이 오염된 수생생태계에서는 SRB가 메탄생성균에 비해 더 잘 자라기 때문으로 사료된다[19]. 그리고 크롬으로 오염되어 있는 폐수로부터 분리한 SRB를 포함하는 혐기성 consortium의 경우 40 mM의 Cr(VI)을 함유하는 배지에서 혐기적으로 성장하면서 Cr(III)으로 환원할 수 있다는 보고가 있다[11]. 따라서 SRB는 Cr에 대한 내성이 높으므로 시료 4-7에서 SRB수가 철환원세균의 수에 비해 더 많이 존재하는 것으로 사료된다.

통계분석 결과, SRB는 황산염의 농도와는 상관관계를 보

이지 않는 반면 COD와는 99% 유의수준에서 0.822의 높은 상관계수를 보여 이들의 분포가 황산염보다는 이용 가능한 유기물의 농도에 영향을 받는 것으로 나타났다. 실제 SRB는 생리적으로 다양성이 극히 높은 그룹으로 유·무기의 다양한 전자공여체를 사용할 수 있을 뿐만 아니라 전자수용체로도 질산염, 철, 산소, 우라늄, 아황산염, 황 원소, 할로젠화 혹은 질산기를 가진 방향족 화합물 등을 이용할 수 있으며 황산염과 무관하게 분포하는 경우가 많은 것으로 여겨지고 있다[38]. 또한 유기물 부하가 주어질 경우 퇴적토 내의 다른 세균군집의 변화는 없이 SRB수만 증가하는 것도 보고된 바 있다[4]. 한편 COD는 SRB 외에 Cr, Cu, Zn 등과도 상관관계를 보이는 것으로 나타났는데 이것은 유기오염과 중금속오염이 병행하여 일어났기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 SRB가 Zn, Cu 등과도 상관관계를 보이는 것은 이들 중금속이 SRB의 분포에 중요하게 작용한다기 보다는 유기물과 중금속의 동시오염이라는 상황 때문일 것으로 사료된다.

## 요 약

시화호 근교의 저지에서 혐기성 호흡세균을 MPN법으로 조사하여 유기물과 중금속과의 상관관계를 조사한 결과, lactate를 전자공여체로 사용한 배지에서의 철환원세균은 중금속이온 농도가 낮고 전자수용체로 사용하는 Fe과 Mn의 농도가 비교적 높은 바다쪽 시료인 시료 9-12에서 철환원세균( $1.1 \times 10^6$ 에서  $4.6 \times 10^7$  MPNs/ml)이 많았고 유기물은 철환원세균의 존재에 큰 영향을 미치지 않았다. 전자공여체로 acetate를 사용한 배지에서의 철환원세균수는  $4.3 \times 10^2$ 에서  $8.1 \times 10^5$ (MPNs/ml)으로 lactate를 이용하는 철환원세균수에 비해 적었으나 유사한 경향을 나타냈다. 시화호 및 그 주변환경에서 채취한 시료로부터 측정된 항목들간의 통계분석 결과, 철환원세균 중 lactate를 전자공여체로 이용하는 그룹의 경우 COD와 음의 상관관계( $p=0.007$ ,  $r^2=-0.733$ )를 보이는 것은 물론 철의 농도와도 음의 상관관계( $p=0.013$ ,  $r^2=-0.688$ )를 보이는 것으로 나타났고 철환원세균과 크롬환원세균의 분포도 음의 상관관계( $p=0.025$ ,  $r^2=-0.641$ )로 나타났다.

크롬환원세균들은 중금속에 대한 내성이 강해 중금속의, 오염이 심한 시료 4-7( $4.6 \times 10^4$ 에서  $8.1 \times 10^5$  MPNs/ml)에서 많이 존재하였으나 철환원세균수는 적었다. 통계분석 결과, 크롬의 농도가 철환원세균의 분포에 상당한 영향을 주고 있는 것으로 사료된다.

SRB수는 황산염 농도보다는 COD의 농도(1,467 mg/kg)가 높은 시료 2에서  $1.49 \times 10^7$ (MPNs/ml)으로 가장 많이 존재하였고 바다쪽 보다는 바다물이 혼입되고 황산염 오염이 심하고 유기물 농도가 높은 시화호 내쪽에서 SRB가 많이 존재하였다.

## 감사의 말

본 연구는 KIST 특정연구과제 연구비(2E15471)로 이루어졌음에 감사드립니다. 그리고 부분적으로 한국해양연구소 기관고유과제(BSPE 98705)의 지원을 받아 수행되었습니다.

## REFERENCES

1. APHA. American Public Health Association. 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed. American Public Health Association, Washington DC.
2. APHA. American Public Health Association. 1989. *Standard Methods for the Examination of Water and Waste-water*, 17th ed. American Public Health Association, Washington DC.
3. Arnold, R. G., M. R. Hoffmann, T. J. Dichristina, and F. W. Picardal. 1990. Regulation of dissimilatory Fe(III) reduction activity in *Shewanella putrefaciens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 2811-2817.
4. Battersby, N. S. and C. M. Brown. 1982. Microbial activity in organically enriched marine sediments, pp. 147-170. In D. B. Nedwell and C. M. Brown(eds.), *Sediment Microbiology*. Academic Press, New York.
5. Billen, G. 1982. Modelling the processes of organic matter degradation and nutrients recycling in sedimentary system, pp. 15-52. In D. B. Nedwell and C. M. Brown(eds.), *Sediment Microbiology*. Academic Press, New York.
6. Boon, D. R., Y. Liu, Z.-J. Zhao, D. L. Balkwill, G. R. Drake, T. O. Stevens, and H. C. Aldrich. 1995. *Bacillus infernus* sp. nov., an Fe(III)- and Mn(IV)-reducing anaerobe from the deep terrestrial subsurface. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **45**: 441-448.
7. Caccavo, F. Jr., J. D. Coates, R. A. Rosselo-Mora, W. Ludwig, K. H. Schleifer, D. R. Lovley, and M. J. McInerney. 1996. *Geovibrio ferrireducens*, a phylogenetically distinct dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium. *Arch. Microbiol.* **165**: 370-376.
8. Coates, J. D., D. J. Lonergan, E. J. P. Phillips, H. Jenter, and D. R. Lovley. 1995. *Desulfuromonas palm- itatis* sp. nov., a marine dissimilatory Fe(III) reducer that can oxidize long-chain fatty acids. *Arch. Microbiol.* **164**: 406-413.
9. Cooke, V. M., M. N. Hughes, and R. K. Poole. 1995. Reduction of chromate by bacteria isolated from the cooling water of an electricity generating station. *J. Ind. Microbiol.* **14**: 323-328.
10. Cornwell, J. C. 1986. Diagnostic trace-metal profiles in arctic lake sediments. *Environ. Sci. Technol.* **20**: 299-302.
11. Fude, L., B. Harris, M. M. Urrutia, and T. J. Beveridge. 1994. Reduction of Cr(VI) by a consortium of

- sulfate-reducing bacteria (SRB III). *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 1525–1531.
12. Ghiorse, W. C. 1988. Microbial reduction of manganese and iron, pp. 305–331. In A.J.B. Zehnder(ed.), *Biology of Anaerobic Microorganisms*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
  13. Hansen, T. A. 1993. The sulfate-reducing bacteria. *Contemporary Perspective*, pp. 21–40. Springer-Verlag, New York.
  14. Imai, A. and E. F. Gloyna. 1990. Effect of pH and oxidation state of chromium on the behavior of chromium in the activated sludge process. *Wat. Res.* **24**: 1143–1150.
  15. Kamula, T., Y. Takai, and K. Ishikawa. 1963. Microbial reduction mechanism of ferric iron in paddy soils. Part I. *Soil Sci. Plant Nutr.* **9**: 171–175.
  16. Kim, B. H., H. J. Kim, and M. S. Hyun. 1998. The characterization and utilization of metal-reducing bacteria. *Biochemical engineering and Biotechnology.* **12**(1): 14–29.
  17. Koch, A. L. 1982. Growth measurement. *Manual of Methods for General Microbiology*, pp.179–207. American Society for Microbiology. Washington DC.
  18. Komori, K., A. Rivas, K. Toda, and H. Ohtake. 1990. A method for removal of toxic chromium using a chromate-reducing strain of *Enterobacter cloacae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**: 117–119.
  19. Krisjansson, J. K., P. Schoenheit, and R. K. Thauer. 1982. Different  $K_s$  values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate-reducing bacteria: An explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate. *Arch. Microbiol.* **131**: 278–282.
  20. Lonergan, D. J., H. L. Jenter, J. D. Coates, E. J. P. Phillips, T. M. Schmidt, and D. R. Lovley. 1996. Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria. *J. Bacteriol.* **178**: 2402–2408.
  21. Lovley, D. R. 1991. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiol. Rev.* **55**: 259–287.
  22. 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.
  23. Lovley, D. R. and E. J. P. Phillips. 1986. Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**: 683–689.
  24. Lovley, D. R., E. J. P. Phillips, D. J. Lonergan, and P. K. Widman. 1995. Fe(III) and  $S^0$  reduction by *Pelobacter carbinolicus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 2132–2138.
  25. Lovley, D. R., S. J. Giovannoni, D. C. White, J. E. Champine, E. J. P. Phillips, Y. A. Gorby, and S. Goodwin. 1993. *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. *Arch. Microbiol.* **159**: 336–344.
  26. McLaughlin, J. R., J. C. Ryden, and J. K. Syers. 1981. Sorption of inorganic phosphate by iron- and aluminum-containing components. *J. Soil. Sci.* **32**: 365–377.
  27. Myers, C. R. and J. M. Myers. 1997. Cloning and sequence of *cymA*, a gene encoding a tetraheme cytochrome c required for reduction of iron(III), fumarate, and nitrate by *Shewanella putrefaciens* MR-1. *J. Bacteriol.* **179**: 1143–1152.
  28. Nedwell, D. B. 1984. The input and mineralization of organic carbon in anaerobic aquatic sediments. *Adv. Microbiol. Ecol.* **7**: 93–131.
  29. Park, D. H., B. H. Kim, S. K. Lim, and Y. H. Choi. 1996. Correlation between the number of anaerobic bacteria in the sediment determined by MPN method and organics of the overlying water in the Jungnangcheon. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**(3): 363–370.
  30. Postgate, J. R. 1984. *The Sulphate-reducing Bacteria*, 2nd ed, pp. 30–50. Cambridge University Press, New York.
  31. Rosselo-Mora, R. A., F. Caccavo, K. Osterlehner, N. Springer, S. Spring, D. Schuler, W. Ludwig, R. Amann, M. Vannanneyt, and K. H. Schleifer. 1994. Isolation and taxonomic characterization of a halotolerant, facultatively iron-reducer bacterium. *Syst. Appl. Microbiol.* **17**: 569–573.
  32. Rosselo-Mora, R. A., W. Ludwig, P. Kampfer, R. Amann, and K.H. Schleifer. 1995. *Ferrimonas balearica* gen. nov. sp. nov., a new marine facultative Fe(III)-reducing bacterium. *Syst. Appl. Microbiol.* **18**: 196–202.
  33. Saito, M. and H. Wada. 1984. Effect of molecular hydrogen on the reduction process of submerged soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* **30**: 255–259.
  34. Schink, B. and M. Bomar. 1991. The genera *Acetogenium*, *Acetoanaerobium* and *Acetitomaculum*, pp. 1923–1936. In A. Balows, H.G. Trueper, M. Dworkin, W. Harder, and K.H. Schleifer(eds.), *The Prokaryotes*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
  35. Shen, H. and Y.-T. Wang. 1993. Characterization of enzymatic reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli* ATCC 33456. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 3771–3777.
  36. Shupack, S. I. 1991. The chemistry of chromium and some resulting analytical problems. *Environ. Health Perspect.* **92**: 7–11.
  37. Sørensen, J. 1982. Reduction of ferric iron in anaerobic, marine sediment and interaction with reduction of nitrate and sulfate. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 319–324.
  38. Ulrich, G. A., L. R. Krumholz, and J. M. Suflita. 1997. A rapid and simplified method for estimating sulfate reduction activity and quantifying inorganic sulfides.

- Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 1627–1630.
39. Urone, P. F. 1955. Stability of colorimetric reagent for chromium, s-diphenylcarbazine, in various solvents. *Anal. Chem.* **27**: 1354–1355.
40. Wang, P.-C., T. Mori, K. Komori, M. Sasatsu, K. Toda, and H. Ohtake. 1989. Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 1665–1669.
41. Wang, Y.-T. and H. Shen. 1995. Bacterial reduction of hexavalent chromium. *J. Ind. Microbiol.* **14**: 159–163.

(Received March 9, 1999)