

## Quinone profile를 이용한 하천생태계의 미생물군집구조 해석 Analysis of Microbial Community Structure in River Ecosystem Using Quinone Profiles

임병란<sup>1,\*</sup> · 이기세<sup>1</sup> · 안규홍<sup>2</sup>

Lim, Byung-Ran<sup>1,\*</sup> · Lee, Kisay<sup>1</sup> · Ahn, Kyu-Hong<sup>2</sup>

1 명지대학교 환경생명공학부

2 한국과학기술연구원

(2006년 6월 15일 논문 접수: 2006년 9월 14일 최종 수정논문 채택)

### Abstract

The differences in microbial community structures between planktonic microorganism and biofilm in rivers were investigated using respiratory quinone profiles. The compositions of microbial quinone for 4 tributaries of the Kyongan Stream located in/flowing through Yongin City, Gyeonggi-Do were analyzed. Ubiquinone(UQ)-8, UQ-9, menaquinone(MK)-6 and Plastoquinone(PQ)-9 were observed in all samples of planktonic microorganism and biofilm for the sites investigated. Most planktonic microorganism and biofilm had UQ-8(15 to 30%) and PQ-9(over 30%) as the dominant quinone type. These results indicated that oxygenic phototrophic microbes(cyanobacteria and/or eukaryotic phytoplankton) and UQ-8 containing proteobacteria constituted major microbial populations in the river. The quinone concentration in the river waters tested, which reflects the concentration of planktonic microorganisms, increases with increasing DOC. Further research into this is required. The microbial diversities of planktonic microorganism and biofilm calculated based on the composition of all quinones were in the range from 4.2 to 7.5, which was lower than those for activated sludge(ranging from 1.1 to 14.8) and soils(ranging from 13.4 to 16.8). The use of quinone profile appears to be a useful tool for the analysis of microbial community structure in river.

**Key words:** microbial community structure, microbial diversity, quinone profile, river

**주제어:** 미생물군집구조, 미생물다양성, 퀴논프로파일, 하천

### 1. 서 론

우리나라는 818개 취수장에서 취수하고 있는 상수

원의 91.7%가 하천수와 저수지등의 지표수이다. 그러나 경제개발에 따른 산업화 및 인구의 도시집중 현상은 하천의 수질오염을 악화시켜왔으나 지난 수십년간 하천은 취수면에서의 개발 및 관리에 치우쳐 환

\*Corresponding author Tel: +82-31-330-6689, FAX: -82-31-336-6336, E-mail: limbr@hotmail.com (Lim B.-R.)

경오염문제가 도외시 되어 왔다. 또한, 도시주변의 하천에는 가정하수, 공장폐수와 함께 여러 가지의 혼합물질이 유입되어 수질오염의 문제는 오염이 상당히 진행된 후에 그 심각성을 나타내게 되며, 한 지역 및 지류에서의 오염은 하천 하류부에 영향을 미치므로 이에 대한 대책이 중요한 사회문제로 대두되고 있는 실정이다. 또한, 최근 하수 및 공장폐수에서 어떠한 물질이 유입되고 있는지를 조사하는 것은 매우 어렵지만, 그 중에는 변이원성물질이라든지 암을 유발하는 물질도 혼합되어 있을 것이다(Helen et al., 2000). 하천에 유입된 많은 물질은 수중의 미립자에 흡착되어 하천의 저질에 퇴적됨으로써 저질에는 물에 비교하여 다량의 물질이 존재함으로써 생물군집구조에 급격한 변화가 국내외적으로 발생되고 있다(Horowitz, 1991). 그러나 오염원의 수가 많아질수록 자연오염과는 판별이 어려워지면, 수질조사도 더욱 복잡해지고 오염원인 규명도 곤란해진다.

하천 및 오수 등의 생활용수원의 보전에는 종래부터 환경수질을 평가하는 지표로서 생물학적 산소요구량(Biological oxygen demand, BOD), 총 질소(T-N), 총 인(T-P) 등의 수질 오염물질 농도를 사용하여 왔다. 그러나 우리나라 수돗물에서 조사된 미량유해물질에는 다이옥신을 포함한 유기 염소계 화학물질, 산업용 화학물질 및 제초제 등 광범위한 유해화학물질이 포함되며, 이들이 환경 중에 방출되면 야생생물에 대한 생식기능 장애와 기형 등을 유발하여 생태계에 심각한 위협을 초래하는 것으로 알려져 있으므로 단지 오염물질량을 파악하는 것으로는 충분한 수질관리를 행하기가 어려워지고 있다(나 등 2005). 특히 내분비계 장애물질 중에서 잔류성 유기오염물질(Persistent Organic Pollutants: POPs)에 속하는 것들은 환경 중에서 매우 안정하여 광화학적·생물학적 및 화학적 분해가 되지 않고 먹이사슬을 통해 동식물 체내 축적을 통한 폐해발생 우려가 있어 이에 대한 적절한 조사 및 관리 대책의 수립이 필요하다. 따라서 양호한 생태계를 유지하고 있는 하천환경은 안전하고 쾌적한 인간 활동을 유지하기 위해서는 불가역적이며, 종래의 오염물질량에 더해, 하천생태계의 질의 변화를 모니터링 하는 새로운 시점에서의 하천 관리지표의 확립이 요구되어 지고 있다(배 등, 2003). 그러나 하천 및 호수 등의 개방된 조건에서의

혼합 배양계 미생물의 군집구조 및 양변화의 간이적인 해석방법이 없기 때문에 하천생태계의 변화는 육안, 현미경에 의한 관찰, 한천 plate를 이용한 콜로니의 계수에 의해서 행하여졌으며(신 등, 2001), 최근 FISH(이 등, 2003) 등을 이용한 방법이 연구되고 있으나 숙련과 많은 시간을 필요로 하기 때문에 쉽게 도입할 수 있는 방법이 없었다. 최근 퀴논프로파일(Quinone profile)법을 이용하여 활성슬러지공정이나 토양, 하천 등의 미생물군집구조를 파악한 연구가 많이 보고되고 있다(Fujie et al., 1998, Kunihiro et al., 2002, Lim et al., 2002, 2005). 퀴논(Quinone)이란 호흡쇄 및 광합성전자전달물질이며, 미생물의 세포벽에 존재하고 있으며, 호기 및 혐기호흡 또는 광합성에 의해 에너지를 얻는 미생물에 존재한다. 퀴논은 주로 유비퀴논(ubiquinone: UQ), 메나퀴논(menaquinone: MK), 비타민(Vitamin) K1(VK1) 및 플라스토퀴논(plastoquinone: PQ)이 있으며, isoprenoid 측쇄의 길이에 따라서 각각 UQ-n(Hx), MK-n(Hx) 및 PQ-n으로 표시된다. 여기서 x는 포화된 수소의 분자수를 나타낸다. Quinone profile은 혼합액내의 각 퀴논을 몰비로서 정의되며, 미생물군집구조의 변화의 지표로 나타내는데 사용할 수 있다.

본 연구에서는 경안천에 영향을 줄 수 있는 용인시의 지천을 대상으로 오염물질을 대표로하는 수질과 하천생태계의 보전이라는 관점에서 Quinone profile을 도입하여 하천에 서식하고 있는 미생물의 양 및 군집구조를 해석하여 이 수역의 미생물학적 수질변화를 조사하였다. 이러한 연구는 하천의 수질과 생태계를 동시에 감시하기 위한 지표로서 하천의 관리에 있어서 필요한 기초 자료로 활용될 수 있다.

## 2. 연구방법

### 2.1. 시료채취 및 조류배양

경안천은 팔당호의 지류로 용인시 호동에서 발원하여 북류하며 용인시 김광장동에서 용인시내를 관통하는 금학천과 합류한 뒤, 모현면 일산리에서는 큰지류인 능원천과 합류하고, 다시 광주시 지월리에서 곤지암천과 합류하고 계속 북류하다가 팔당호로 유입된다. 경안천의 총 유로연장은 49.5km이고 직할하천 2개와 준용하천 77개소를 포함하고 있다. 경안천 유

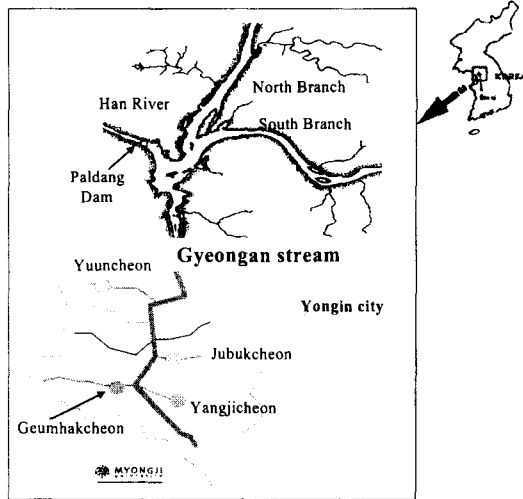


Fig. 1. Sampling sites in the Gyeongancheon.

역의 인구밀도는 466.6인/km<sup>2</sup>이고 유역면적 당 가축 수도 1966.8두/km<sup>2</sup>로 다른 유역보다 오염원이 많이 분포하고 있어 발생하는 생활하수와 축산폐수가 많을 것으로 예상된다. 또한 지리적인 특성상 하천으로 유입된 오염물질이 하천에서 정화되지 못하고 팔당호에 직접 유입되어 2000만 수도권 주민상수원의 수질에 영향을 주고 있다. 본 연구에서 시료를 채취지점은 Fig. 1과 같으며 경기도 용인시에 위치한 경안천에 유입되는 지천을 대상으로 하천수 및 생물막을 채취하여 분석하였다. 수질 및 수생미생물이 강우의 영향을 받지 않게 하기 위해서 선행 미강우일수가 많을 날을 선택하도록 노력하였다. 본 연구에서 측정된 지천 중에서 양지천의 유량이 연평균 0.11m<sup>3</sup>/s로 가장 많았고, 금학천, 주북천이 0.07m<sup>3</sup>/s 이상이었다. 이 하천은 대부분이 경안천 본류의 유량에 영향을 주는 지천들이므로 수질에 미치는 영향 또한 클 것으로 사료된다.

## 2.2. 실험방법

### 2.2.1. 수질분석

측정항목으로는 먼저 현장에서 수층의 물리·화학적 환경요인들로 표층수의 유량, 수온, pH 및 용존산소를 각각 pH meter(Orion, model 750A), DO meter(sension156, Hach, U.S.A)를 사용하여 측정하였다. 채취한 표층수는 실험실로 옮겨 Chl-a와 SS는 Standard method(APHA 1998)에 근거하여 분석하였

다. 환경수층의 용존유기탄소(Dissolved organic carbon, DOC)는 0.45 $\mu$ m 멤브레인 필터를 이용하여 여과한 후 TOC analyzer(Shimadzu 5000A)를 사용하여 분석하였다. T-N과 T-P 분석 방법은 Hach 시험법(DR/2010 Spectrophotometer, Hach, U.S.A)에 준하여 측정하였다. 하상부착생물막의 채취는 하상 1m<sup>2</sup> 중 돌을 10개 이상 실험실에 가져와 초음파 또는 브러시를 이용하여 탈리시킨 다음 퀴논분석 및 Chl-a 등의 분석에 이용하였다.

### 2.2.2. Quinone 분석

미생물군집구조를 파악하기 위하여 채취한 하천수 10-20L를 0.7 $\mu$ m의 GF/F와 0.2 $\mu$ m의 cellulose nitrate membrane filter로 순차적으로 미생물을 포집한 후 퀴논분석을 행하였다(Hu et al., 1999a). 포집한 하천수 및 하천생물막의 pellet을 클로로폼:메탄올(2:1, v/v) 혼합액을 넣어 초음파 처리 후 30분간 진탕하여 하층의 지용성 성분을 여과지로 여과하여 flask에 회수하였다. 플라스크에 회수한 추출물을 헥세인으로 재추출하여 농축한 다음 Sep-Pak<sup>®</sup> Plus Silica cartridges에 흡착시킨 다음 2% 디에틸에터/헥세인(diethylether/hexane)으로 menaquinone(MK)을 플라스크에 회수하고, 10% 디에틸에터/헥세인으로 ubiquinone(UQ)을 분리 회수하였다. 회수한 퀴논을 질소로 증발 건조시킨 다음 아세톤으로 최종 액량을 조절하여 PDA(Photo Diode Array) detector가 부착되어 있는 HPLC(10ADvp, SHIMADZU)로 분석하였다. 분석컬럼은 ODS(Dupont, 4.6(ID) × 250mm, Shimadzu, Japan)을 이용하였으며 UQ는 흡수파장을 275nm, MK는 270nm로 설정한 다음 이동상은 메탄올/이소프로필에테르(9:2, v/v)를 혼합하여 유량 1.0 ml/min으로 공급하였다. Ubiquinone과 MK를 정량화하기 위한 표준물질로 Coenzyme Q10(Sigma-Aldrich Co.)과 Vitamin K1(Sigma-Aldrich Co.)을 이용하였다.

또한 조류 종별로 함유하고 있는 quinone type 분포 파악을 위하여 녹조류 2종, 남조류 4종, 규조류 6종을 국립환경과학원에서 분양받아 주기적으로 배양하여 원심 분리한 다음 quinone 분석에 이용하였다. 녹조류와 남조류는 CB 배지에 규조류는 M Chu No. 10 배지에 순수배양 시켰고, 실제 자연광과 가장 비슷한 5파장 램프를 광원으로 사용하였다.

**Table 1.** Water qualities of sampling sites in Gyeongangcheon

	pH(-)	DO(mg/L)	DOC(mg/L)	T-N(mg/L)	T-P (mg/L)	SS(mg/L)	Chl-a(mg/m <sup>3</sup> )
Geumhak cheon(G)	7.66	8.26	6.96	2.8	0.23	20	3.44
Yuun cheon(Y-1)	7.85	12.3	4.82	3.6	0.57	1.5	8.0
Yangji cheon(Y-2)	7.85	8.5	5.78	2.8	0.1	4.0	18
Jubuk cheon(J)	6.96	9.7	4.58	1.9	1.72	25	1.4

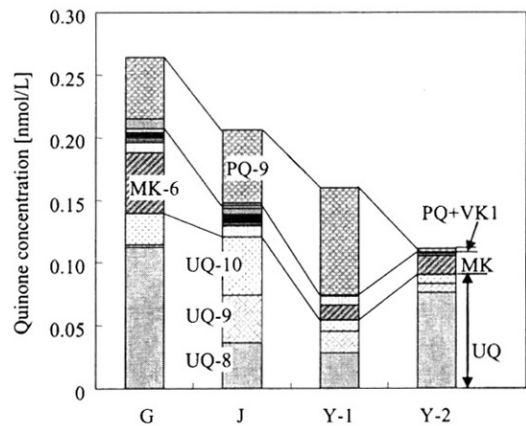
### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 수질특성

하천의 수질분석결과를 **Table 1**에 나타내었다. 용인시가지를 관통하는 금학천과 양지천의 DOC 농도는 5.0mg/L 이상으로 나타났으며, T-N은 양지천이 3.0mg/L 이상으로 높게 나타났으며, T-P의 경우는 주북천이 가장 높게 나타났다. 특히 도시 중심을 흐르는 금학천이 다른 지천보다 수질 오염도가 가장 좋지 않은 것으로 나타났으며 한강유역환경청에서 보고한 결과와 유사한 결과를 나타내었다(한강유역관리청, 2001).

#### 3.2. 부유 및 부착미생물의 군집구조

시료채취장소에 따른 부유미생물의 퀴논프로파일과 퀴논 양을 **Fig. 2**에 나타내었다. 경안천 지류에서 채취한 하천수중에서 Y-2 및 G는 호기성미생물들이 함유하고 있는 UQ-8과 통기성 및 혐기성미생물이 함유하고 있는 MK-6의 존재비가 높게 나타났다. 하천 J에서는 UQ-10의 존재비가 가장 높았으며 Y-1에서는 조류 및 광합성세균이 함유하고 있는 PQ-9의 존재비가 가장 높게 나타났다. 이는 인의 농도가 Y-1이 다른 장소보다 높고, 유속이 느리기 때문인 것으로 사료된다. 그리고 퀴논양과 DOC 농도와의 상관관계를 분석한 결과(PQ+VK1)양과 DOC와의 상관관계는 찾을 수가 없었으나 DOC 농도가 상승하면 UQ 및 MK량이 증가하는 것을 알 수 있었다. 이것은 중속영양성인 박테리아의 증식이 용존 유기물에 의해 촉진되었음을 나타내고 있다(Kunihiro et al., 2003, Ying et al., 1993). 그러나 하천 J의 경우는 다른 지천과 경향이 다르게 나타나 이는 DOC 및 질소와 인의 농도의 영향뿐 아니라 주변 환경조건이 다르기 때문인 것으로 사료된다. 또한 SS농도가 높을수록 퀴논양



**Fig. 2.** Microbial quinone compositions and concentration of suspended microorganism.

도 높은 것을 알 수 있었으며 환경수중의 SS는 대부분이 미생물양을 나타내고 있음을 알 수 있었다(Hiraishi, 1999).

반면 하상부착미생물의 군집구조를 조사한 결과 **Fig. 3**과 같다. 여기서 Y-1의 경우는 하천수와 달리 하수 및 축산폐수를 연계 처리하여 방류하는 지점에서 생물막을 채취하여 분석하였다. **Fig. 2**의 부유미생물의 군집구조와 비교하여 볼 때 부착미생물의 군집구조가 다양한 퀴논이 검출되었으며 구조의 차이가 있는 것을 알 수 있었다. 특히 부착미생물에서는 광합성에 관여하는 PQ-9의 존재비가 30% 이상을 차지하는 것을 알 수 있었으며 G와 Y-1의 생물막에서는 UQ-8의 존재비가 PQ-9와 거의 유사하였다. 이는 하수 및 축산폐수처리장의 처리수에 함유되어 있는 유기물 및 질소, 인의 농도의 영향뿐 아니라 하천의 흐름 등 환경조건에 따라 미생물군집구조 또한 차이가 있을 것으로 사료된다(조 등, 1998). 또한 이번 연구 결과에서는 DOC 농도와 부착미생물의 퀴논 양과의 상관관계가 나타나지 않았다. 이것은 자갈하상에 부착되어 있는 생물막의 두께에 관계가 있는 것으로 사

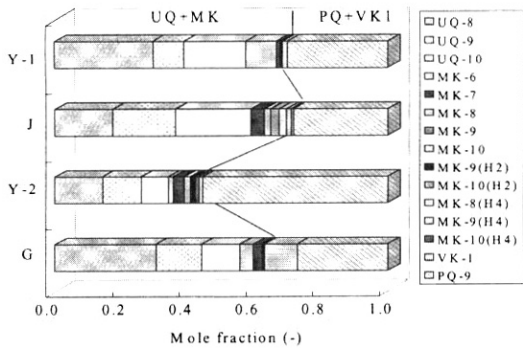


Fig. 3. Microbial quinone compositions of sessile microorganisms.

료된다.

또한 남조류, 규조류, 녹조류 등 각각의 대표적인 균주를 순수 배양하여 퀴논을 분석한 결과 남조류 (*Microcystis*, *Phormidium*)는 VK-1을 우점으로 함유하고 있었으며, 규조류(*Achnanthes*, *Anabena*) 및 녹조류(*Selenastrum*, *Scenedesmus*)는 PQ-9을 우점으로 함유하는 것으로 나타났다. 부유 및 부착미생물의 퀴논분석결과, 대부분이 규조류 및 녹조류가 분포하고 있는 것을 알 수 있었으며, 남조류는 다른 하천보다 G하천에서 높게 검출되었다.

또한 퀴논의 몰비를 바탕으로 부유 및 부착미생물의 UQ/MK와 (UQ+MK)/(PQ-9+VK1)의 비를 계산하였다. 부유미생물의 UQ/MK 값은 2.0~4.95의 범위를 나타내었으며, 부착미생물은 3.7~7.35로 부유미생물보다 더 높게 나타났다. 유비퀴논과 메나퀴논은 호기성호흡과 혐기성호흡을 하는 미생물을 의미하므로 UQ/MK 값이 1보다 크다는 것은 본 연구에서 조사한 부유 및 부착 미생물에는 호기성박테리아가 우점을 차지하고 있음을 의미한다. (UQ+MK)/(PQ-9+VK1)비의 값은 부유미생물에서는 하천유량이 다른 곳 보다 적은 J(유량: 0.07 CMS)와 Y-1(유량: 0.053 CMS)의 경우가 1.0 이하로 나타났으며 부착미생물에서는 다른 하천지류보다 하천유량이 많은 Y-2(유량: 0.116 CMS)에서 1.0 이하로 나타났다. 이것은 광합성으로 에너지를 획득하는 미생물 및 조류 등이 우점을 차지하고 있음을 의미한다. 일반적으로 부착성이 강한 조류 등이 자갈 등에 다량 부착 성장할 것으로 사료되었으나 부유되어 있는 조류의 양이 많은 것으로 나타나 이는 수질의 의한 영향보다는 주변 환

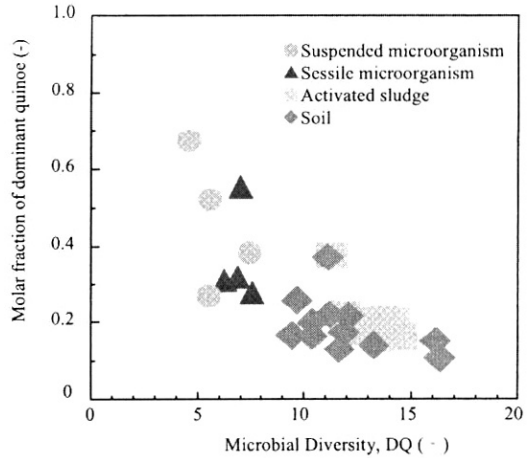


Fig. 4. Microbial diversity index of suspended and sessile microorganisms.

경조건에 따른 영향인 것으로 사료된다.

부착미생물과 부유미생물의 다양성과 우점퀴논의 존재비를 비교하기 위하여 ubiquinone과 menaquinone profile을 지표로 하여 미생물 혼합 배양계의 다양성을 나타내는 지표인 미생물 다양성지표(DQ, Hu et al., 1999b)를 계산하여 Fig. 4에 나타내었다. Respiratory quinone의 다양성은 우점 퀴논종 하나에 많은 미생물들이 포함되어 있기 때문에 토양미생물의 분류학적 다양성지표이다. DQ값은 퀴논 분자종의 수가 많을수록 크게 되며 전부의 분자종이 평등하게 존재할 때 퀴논 분자종의 수와 동등하다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 부유미생물에 비해서 부착미생물은 우점퀴논존재비가 높으나 다양성은 큰 차이가 없었으며, 부유미생물보다 부착미생물이 퀴논분자종이 많은 것으로 나타났다. 이것은 하천수중에는 부착미생물막 쪽이 미생물이 서식하기 쉽고 미생물의 종류가 많기 때문인 것으로 사료된다. 또한 부유 및 부착미생물은 토양(Fujie et al., 1998)과 생활하수처리장 활성슬러지(임 등, 2001, Hu et al., 2001)의 미생물보다 다양성이 작은 것으로 나타났다.

#### 4. 결 론

Quinone profile법을 이용하여 하천수의 부유 및 부착미생물의 군집구조를 분석한 결과, 부유 및 부착미생물에서 우점을 차지하고 있는 퀴논종은 UQ-8과

PQ-9으로 나타났으며, 하천의 유속이 느릴수록 부유 미생물의 PQ-9+VK1의 값이 높게 나타났다. 특히 J와 Y-1의 하천은  $(UQ+MK)/(PQ-9+VK1)$ 의 값이 부유미생물보다 부착미생물이 더 높은 것으로 나타났다. 이는 다른 하천보다 인 농도도 높고 유속도 느리나 수심이 깊기 때문에 큰 영향을 받지 않은 것으로 사료된다. 그리고 DOC농도가 높을수록 하천수내에 존재하는 퀴논의 양도 높게 나타났으며, 퀴논 종도 다양하게 분포하는 것으로 나타났다. 반대로 부착미생물의 경우는 하천의 유속이나 유기물농도에 관계없이 미생물의 다양성은 6.2~7.5로 거의 유사하게 분포하고 있음을 알 수 있었다. 이상으로부터 하천의 수질 및 환경조건에 따라 크게 영향을 받는 것은 부유미생물인 것을 알 수 있었으나 좀 더 추가적으로 계절적 변화라든지 오염분포가 다른 하천수중의 미생물군집구조에 대한 data를 축적해 비교할 필요가 있다.

## 사 사

본 연구는 2004년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2004-050-D00011)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 나진성, 김기태, 김상돈 (2005) 독성 반응곡선을 이용한 수계 주요 오염물질의 혼합독성평가. *대한환경공학회지*, **27**(1), pp. 67-74.
2. 배연재, 원두희, 이용재, 송현우 (2003) 하천생태계에 대한 환경영향평가 기법과 생물다양성 관리시스템의 개발 및 적용. *Korean J. Environ. Biol.*, **21**(3), pp. 223-233.
3. 신재기, 박경미, 황순진, 조경제 (2001) 경안천과 팔당호에서 총세균수의 분포 및 동태. *Korean J. Limnol.*, **34**(2), pp. 119-125.
4. 이영옥, 박지은, 신승필, 안영희 (2003) FISH법을 이용한 낙동강 상·중·하류의 세균군집 구조 분석. *한국물환경학회지*, **19**(3), pp. 311-320.
5. 임병란, 홍준석, 안규홍 (2003) 퀴논프로파일을 이용한 하수처리장 공정내 미생물군집구조 해석. *대한환경공학회 추계학술연구발표회 논문집*, paper on CD-ROM.
6. 조경제, 신재기 (1998) 낙동강 하류에서 동·하계 무기 N·P 영양염류와 식물플랑크톤의 동태. *Korean J. Limnol.*, **31**(1), pp. 67-75.
7. 한강유역환경청 (2001) 경안천 유역의 오염부하량조사 보고서.
8. Fujie, K., Hu, H-Y., Tanaka, H., Urano, K., Saito, K., and Katayama, A. (1998) Analysis of Respiratory Quinones in Soil for Characterization of Microbiota, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **44**(3), pp. 393-404.
9. Helen, C., Sarakinos, N.B., Paul, A.W., Joseph, B.R. (2000) Correspondence between Whole Effluent Toxicity and the Presence of Priority Substance in Complex Industrial Effluents, *Environ. Toxicol. Chem.*, **19**(1), pp. 63-71.
10. Hiraishi, A. (1999) Isoprenoid Quinones as Biomarkers of Microbial Populations in the Environment, *J. Biosci. Bioeng.*, **88**, pp. 449-460.
11. Horowitz, A.J. (1991) *A primer on sediment-trace element chemistry*, Lewis Publishers, Chelsea.
12. Hu, H.-Y., Fujie, K. and Urano, K. (1999a) Development of a Novel Solid Phase Extraction Method for the Analysis of Bacterial Quinones in Activated Sludge with a Higher Reliability, *J. Biosci. Bioeng.*, **87**(3), pp. 378-382.
13. Hu, H-Y., Fujie, K., Nakagome, H., Urano, K., and Katayama, A. (1999b) Quantitative Analyses of the Change in Microbial Diversity in a Bioreactor for Wastewater Treatment Based on Respiratory Quinones, *Wat. Res.*, **33**(15), pp. 3263-3270.
14. Hu, H.-Y., Lim, B.-R., Goto, N., Bhupathiraju, V. K., and Fujie, K. (2001) Characterization of Microbial Community in an Activated Sludge Process Treating Domestic Wastewater using Quinone Profiles, *Wat. Sci. Tech.*, **43**, pp.99-106.
15. Kunihiro, T., Hu, H.-Y., Lim, B.-R., Goto, N. and Fujie, K. (2002) Analysis of the Differences in Microbial Community Structures between Suspended and Sessile Microorganisms in River based on Quinone Profile, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **48**(1), pp. 35-41.
16. Lim, B-R., Hu, H.-Y., Huang, X. and Fujie, K. (2002) Effect of Seawater on the Treatment Performance and Microbial Population in a Biofilter Treating Coke-oven Wastewater, *Process Biochemistry*, **37**, pp. 943-948.
17. Lim, B-R. and Ahn, K.-H. (2004) Analysis of Microbial Community Structure in a Biofilm on Membrane Surface in the Submerged Membrane Bioreactor Treating Domestic Wastewater on the Basis of Respiratory Quinone Profiles, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **50**(4), pp. 197-202.
18. Ying, a., Omura, T., Umita, T., Aizawa, J., Sato, Y., and Kaito, T. (1993) Aquatic Environmental Evaluation by the Benthic Animal Species in the River with Non-point Pollution Source, *日本水環境學會*, **16**(11), pp.804-814.