

탄소원 이용도 평가를 활용한 매립지 침출수로 오염된 지하수의 미생물 군집 특성 해석

구소연¹ · 김지영¹ · 김재수² · 고경석³ · 이상돈¹ · 조경숙^{1*} · 고동찬³

¹ 이화여자대학교 환경공학과, ² 경기대학교 생명과학과, ³ 한국지질자원연구원

Characterization of Microbial Communities in a Groundwater Contaminated with Landfill Leachate using a Carbon Substrate Utilization Assay

So-Yeon Koo¹ · Ji-Young Kim¹ · Jaisoo Kim² · Kyung-Seok Go³ · Sang Don Lee¹
Kyung-Suk Cho^{1*} · Dong-Chan Go³

¹Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University

²Department of Life Science, Kyonggi University

³Korea Institute of Geoscience & Mineral Resources

ABSTRACT

The microbial community properties of groundwater samples contaminated with landfill leachates were examined using Ecoplate including 31 sole carbon sources. The samples were KSG1-12 (leachate), KSG1-16 (treated leachate), KSG1-07 (contaminated groundwater), KSG1-08 (contaminated groundwater), and KSG1-13 (uncontaminated groundwater). Among the carbon sources used as substrates, 2-hydroxy benzoic acid, D,L- α -glycerol phosphate, and D-malic acid were not utilized in any sample, while D-xylose, D-galacturonic acid, L-asparagine, tween 80, and L-serine were utilized in all 5 samples. The rest of substrates showed very different patterns among the samples. Average well color development (AWCD) analysis demonstrated that the potential activity on 31 substrates was in the order of KSG1-16 > KSG1-12 > KSG1-07 > KSG1-08 > KSG1-13, which generally agrees with the degree of pollution, except KSG1-16. Principal component analysis (PCA) on similarity between samples showed two groups (KSG1-12, -07 and -08 vs KSG1-16 and -13), coinciding with contaminated and uncontaminated groups. Shannon index showed that the microbial diversities were similar among the samples.

Key words : Microbial communities, Carbon source utilization, Landfill leachate, Groundwater, Ecoplate

요 약 문

매립지 침출수로 오염된 지하수의 미생물 군집특성을 31가지 탄소원을 가지는 Ecoplate를 사용하여 조사하였다. 각 기질에 대한 탄소이용도는 시료에 따라 달랐고, 2-hydroxy benzoic acid, D,L- α -glycerol phosphate, D-malic acid는 모든 시료에서 기질로써 이용되지 못했고, D-xylose, D-galacturonic acid, L-asparagine, tween 80, L-serine는 모든 시료에서 탄소원으로 사용되었고, 나머지는 시료에 따른 차이를 보였다. AWCD에 의한 통계분석결과는 KSG1-16 > KSG1-12 > KSG1-07 > KSG1-08 > KSG1-13 순인데 예상대로 비오염 지하수 시료인 KSG1-13가 가장 낮았으며, 오염된 지하수 시료 KSG1-07과 KSG1-08는 이보다 높았으나 처리수인 KSG1-16이 높은 것은 의외이었다. PCA방법에 의한 통계 분석결과는 침출수(KSG1-12) 및 오염지하수(KSG1-07, KSG1-08)와 오염되지 않은 처리수(KSG1-16) 및 비오염 지하수(KSG1-13)로 크게 둘로 유사성이 구분되었다. 그러나, 미생물의 다양성을 나타내는 Shannon index 값에 의한 분석은 시료간의 별 차이를 나타내지 않아 서로 유사하였다.

주제어 : 미생물 군집, 탄소원 이용도, 매립지 침출수, 지하수, Ecoplate

*Corresponding author : kscho@ewha.ac.kr

원고접수일 : 2006. 6. 16 게재승인일 : 2007. 4. 19

질의 및 토의 : 2007. 6. 30 까지

1. 서 론

산업 사회가 가속화됨에 따라 수많은 폐기물이 발생되고, 이렇게 배출된 폐기물의 상당량이 매립되고 있는 실정이다. 하지만 적당한 치수막이 마련되어 있지 않은 오래된 매립지의 경우, 매립지로부터 배출되어 다양한 유기물질을 함유하고 있는 침출수가 지하 대수층으로 직접 유입되어 토양 및 인류의 중요 수자원 중 하나인 지하수를 오염시키는 문제점을 가지고 있다(Tian et al., 2005). 처리 및 복원이 매우 어려우며, 정화하는데 드는 비용 또한 매우 높은 지하수 오염은 현대 사회에서 인간 및 생태계의 건강에 악영향을 미치는 중요 문제로서 대두되고 있다.

매립지 침출수로 오염된 지하수 생태계 내 미생물 군집 구조와 수리지구화학적 특징 사이의 관계에 대한 연구는 환경 평가를 위해 사용되는 방법 중 하나로서 매우 유용하다(Rling et al., 2001). 미생물 군집 구조에 대한 연구는 특정 미생물과 오염원 사이의 상호관계를 파악할 수 있게 하여, 생태계 내 잠재하고 있는 생물학적 정화 능력의 지표로서 활용되어질 수 있으며, 이를 이용하여 정화가 진행되는 상황을 모니터링 할 수 있어 매우 유용하다(Röling et al., 2000). 이러한 미생물 군집의 구성을 가늠할 수 있게 하는 자료를 얻기 위해서는 단순하지만 정보가 풍부한 프로파일링 기법을 이용한다. 예를 들면, 16S rDNA 혹은 18S rDNA 일부분을 증폭하여 요소농도 구배를 이용하여 전기영동하는 denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) 추적방법을 이용하여 미생물 군집 내 우점종에 대한 정보를 알 수 있다(Heuer and Smalla, 1997; Muyzer and Smalla, 1998). 이러한 미생물 군집 구조에 대한 정보와 수리지구화학적 특성이 서로 밀접한 관계를 형성하고 있음을 밝힌 한 예로, 매립지 침출수로 인한 산화환원 상태의 변화가 미생물 군집 구조에도 영향을 미친다는 기존의 연구 보고가 있다(Röling et al., 2001). 하지만 이러한 분자생물학적인 방법은 미생물 군집 수준에서의 생리학적 능력에 대한 정보를 얻기에는 한계가 있다는 단점을 가진다.

미생물의 군집 수준에서 그들이 갖는 기능적인 다양성을 평가하는 방법 중 하나로 96-well Biolog(Biolog Inc., Hayward) microtiter plate를 이용하여 탄소원 이용 능력을 분석하는 기법이 있다(Garland and Mills, 2001). Biolog microtiter plate는 미지의 미생물 군집에 의한 다양한 탄소원 이용도를 빠르고 쉽게 조사할 수 있도록 개발되었으며, 이러한 community-level physiological profiling (CLPP) 접근 방법으로 환경 시료 내 미생물 군집의 특징

을 비교하는데 매우 유용하다(Garland, 1997; Konopka et al., 1998). 이 방법은 (1) 총 발색율, (2) well 간 반응의 풍부도(richness)와 균등성(evenness) 또는 (3) 다른 기질의 상대적 이용률을 포함한다.

본 논문에서는 이러한 Biolog microtiter plate 중 31가지의 탄소원을 가지는 Ecoplate를 이용하여 오염 및 비오염 지하수 시료와 침출수, 그리고 처리수 내 미생물 군집의 기능적 다양성 및 잠재적인 활동성(potential activity: metabolism & catabolism)을 간접적으로 평가하고 비교하고자 하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 시료 채취

시료 채취 장소인 생활폐기물 매립장(Fig. 1)의 지리적인 특성을 파악하기 위하여 시추 분석이 이루어 졌고, 관측정의 수리지구화학적 대표성을 알아보기로 온도, 수소이온농도(pH) 및 전기전도도(EC), 알칼리도, 산화환원전위(Eh), 이온 농도 등을 측정하였으며(Table 1 & 2), 방법 및 결과 비교는 김 등의 논문에 따른다(김재수 외, 2006).

매립장 침출수(KSG1-12) 및 처리된 방류수(KSG1-16)와 매립장과 가장 근접한 2 곳의 관정으로부터 매립장 침출수로 오염된 지하수(KSG1-07, 08), 비교 연구를 위한 오염되지 않은 지하수(KSG1-13)로 5개의 시료를 채취하였다(Table 3). 시료는 Biolog 분석을 위하여 멸균된 채수병에 공기가 들어가지 않도록 채웠으며, 채수 즉시 실험실로 옮겨 4°C에서 보관하였다.

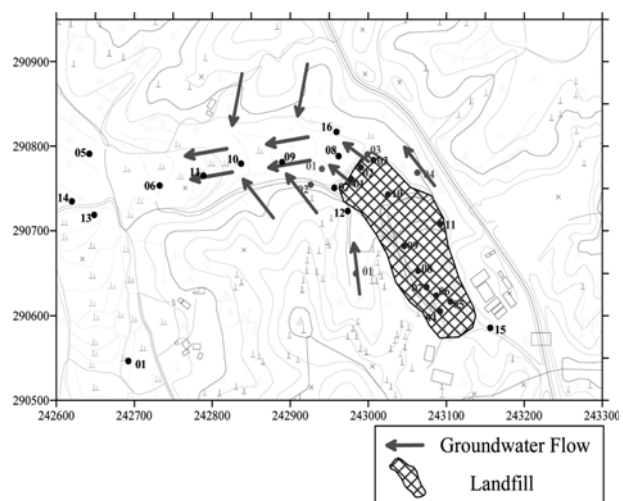


Fig. 1. A map showing the flow directions of groundwater and the location of landfill.

Table 1. The physico-chemical properties of leachate-contaminated groundwater samples and the concentrations of nitrogen compounds and trace elements

Sample	pH	Eh (mV)	EC (μS/cm)	SS (mg/L)	Nitrogen		Trace (μg/L)						
					NH ₃ -N	TN	Al	Ba	Fe	Li	Mn	Sr	Zn
KSG1-12	8.83	108	3710	86.45	200.5	205	8	53	199	408	267	560	5
KSG1-16	8.04	202	894	13.74	17.2	43	20	24	14	68	133	610	4
KSG1-07	6.87	47	1223	4.18	1	5	11	23	2190	35	10400	1520	20
KSG1-08	6.87	200	559	0.24	0	13	< 5	7	7	24	27.7	623	5
KSG1-13	6.53	154	169.9	11.91			< 5	4	16	10	12.1	174	10

Table 2. The concentrations of various cations and anions of leachate-contaminated groundwater samples

Sample	Cation (mg/L)					Anion (mg/L)							
	Na	Ca	K	Mg	SiO ₂	Cl	NO ₃	SO ₄	NO ₂	Br	HCO ₃	CO ₃	CO ₂ (aq)
KSG1-12	350	41.6	194.6	36.6	15.3	594.6	54.1	6.6	21.92	1.86	1479.8	36.4	4.2
KSG1-16	69.5	71.9	29.55	15	26.3	169.7	77.0	20.3			120.6	0.4	2.3
KSG1-07	111	133	7.26	18.5	20.3	282.7	1.9	38.1		1.332	479.4	0.1	122.3
KSG1-08	31.4	77.3	2.7	11.1	28.9	119.2	31.0	11.0			170.8		46.1
KSG1-13	13.9	16.9	0.998	2.58	28.2	15.4	32.4	0.6			45.9		25

Table 3. Samples used in this study

No.	Sample	Characteristics	Pollution source
1	KSG1-12	Leachate	
2	KSG1-16	Treated leachate	
3	KSG1-07	Contaminated groundwater	Leachate from landfill
4	KSG1-08	Contaminated groundwater	
5	KSG1-13	Uncontaminated groundwater	

2.2. Ecoplate를 이용한 미생물 군집 분석

시료 내 미생물 군집의 기능적 다양성 분석을 위하여 Biolog사의 Ecoplates(Biolog Ecoplate™, USA)를 사용하였다. Ecoplate는 96개의 microwell로 구성되어 있으며, 각각의 well에는 31가지의 서로 다른 탄소원과 비교 시료가 3 sets 씩 반복 된다. 여기서 control well은 어떠한 기질도 포함되어 있지 않은 well이다. Well 속 기질을 미생물이 유일 탄소원으로 이용하면서 세균성 호흡이 일어나면 well에 함유되어 있던 tetrazolium dye가 보라색으로 발현되도록 고안되어, 시료 속 미생물 군집의 기질 이용성 여부를 비교·평가할 수 있다.

Ecoplate에 각각의 시료를 150 μl/well 접종한 후, 20°C에서 배양하였다. 배양 기간 동안 각 well 내 시료의 색변화 정도를 microtiter-plate reader(Multiskan Ascent, Thermo Labsystem, Filand)를 이용하여 24시간 간격으로 595 nm에서 흡광도(optical density, OD)로 측정하였으며, 시료별 기질 이용 양상을 시간에 따라 비교분석하였다. 배

양은 시료 내 미생물 군집의 기질별 성장 곡선이 정체기에 도달할 때까지 11일간 하였다.

2.3. 통계 분석

Microtiter-plate reader로 측정된 Ecoplate의 각 well의 흡광도 값과 기질이 포함되어 있지 않은 비교 시료의 흡광도 값과의 차이를 시료별로 비교하기 위하여 시간 및 시료별 average well color development(AWCD)를 계산하였다. 여기서 AWCD는 Ecoplate의 전반적인 색 변화의 정도를 나타내며, 계산식은 다음과 같다(Garland and Mills, 1991).

$$AWCD = [\Sigma(C - R)] / n \quad (1)$$

위 식에서 C는 기질이 포함되어 있는 각 well의 OD_{595nm} 값을 의미하고, R은 control well의 OD_{595nm} 값, n은 기질의 수로 31이다. 이를 이용하여 시료 속 미생물 군집의 다양한 탄소원을 이용할 수 있는 잠재적인 능력을 파악할 수 있다.

각 시료 속 미생물 군집의 탄소원을 이용하는 데 있어서의 유사성을 통계적으로 분석하기 위하여 식 2을 이용하여 계산한 값을 이용하여 principal component analysis (PCA)를 수행하였다(SPSS 12.0K for Windows).

$$PCA \text{ data} = (C_{id} - R_{id}) / AWCD_{id} \quad (2)$$

PCA data는 기질 및 시료별로 나타내었으며, C_{id}는 배양

i 일째 각 well의 OD_{595nm} 값이고, R_{id} 은 배양 i 일째 control well의 OD_{595nm} 값이다. $AWCD_{id}$ 는 i 일째 $AWCD$ 값이다. 이렇게 계산된 PCA data는 0에서 약 4 사이의 값을 가지며, 1보다 작은 경우는 C-R이 $AWCD$ 보다 작음을 의미하고, 1보다 큰 것은 C-R이 $AWCD$ 보다 크음을 의미한다. PCA는 이렇게 구해진 수치들의 시료별 편차를 2개의 축(principal component 1, PC1; principal component 2, PC2)으로 나누어 탄소원 이용도에 있어서의 유사성을 알 수 있다. 여기서 같은 면에 속하는 시료들은 그렇지 않은 시료에 비하여 상대적으로 탄소원 이용도가 유사함을 의미한다(Garland and Mills, 1991).

또한 생태학에서 종 다양성을 나타내는 지수인 Shannon index 값을 시간 및 시료별로 식 3을 이용하여 계산하였다.

$$H = -\sum P_i \ln P_i \quad (3)$$

여기서 H 는 Shannon index를 나타내며, P_i 는 전체 OD_{595nm} 값에 대한 각각의 기질 OD_{595nm} 값으로, $P_i = C / \Sigma(C - R)$ 로 나타낼 수 있다.

3. 연구 결과 및 고찰

3.1. 탄소원 이용도에 의한 분석

생활 폐기물 매립지의 침출수로 인하여 오염된 지하수와 오염되지 않은 지하수, 그리고 침출수와 처리수 속 미생물 군집의 잠재적인 활동성 및 다양성을 파악하기 위하여 본 연구에서는 31가지의 탄소기질이 포함되어 있는 Biolog의 Ecoplate를 이용하였다. 앞서 수행된 김 등의 논문에 따르면 오염 지하수 시료인 KSG1-07와 KSG1-08은 오염되지 않은 지하수 KSG1-13과 비교하여 그 오염 정도가 심하지 않으며, 다만 매립장에 지리적으로 더 가까운 위치에서 채수한 KSG1-07이 KSG1-08에 비하여 오염이 좀 더 진행되어 있는 것으로 나타났다(김재수 외, 2006).

각 시료 속 미생물 군집의 31가지 탄소원 이용도를 조사한 결과 2-hydroxy benzoic acid, D,L- α -glycerol phosphate, D-malic acid는 모든 시료에서 기질로써 이용되지 못했고, D-xylose, D-galacturonic acid, L-asparagine, Tween 80, L-serine는 모든 시료에서 탄소원으로 사용되었고, 나머지는 시료에 따른 차이를 보였다(자료 미제시).

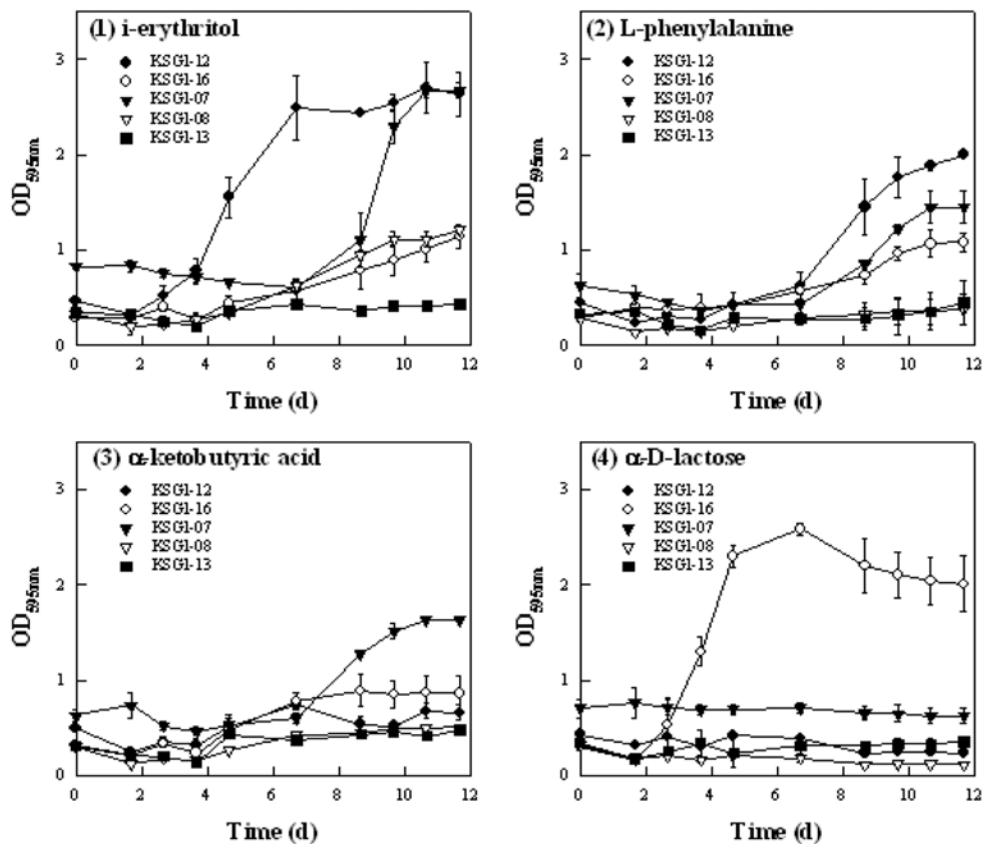


Fig. 2. Variation in carbon source utilization over time in Ecoplates.

Fig. 2는 대표적인 기질(*i*-erythritol과 α -D-lactose, L-phenylalanine, α -ketobutyric acid) 몇 가지만을 선택하여 도시하였다. 대부분의 경우, 배양 3~4일 후에 색 변화가 관찰되었으나, 몇몇 샘플의 경우에는 배양 시작 후 2일째부터 색 변화가 나타났다. 이는 시료 속 미생물 군집이 해당 탄소기질을 이용하는 속도가 비교적 빠르다는 것을 의미한다. 또한 배양의 마지막 12일 째에 대부분의 흡광도 값이 2 이하로 나타났으나, 몇몇 샘플의 경우 2에서 3사이의 흡광도 값을 가지는 것으로 나타났다. 마찬가지로 이 역시 해당 탄소원을 이용하는 능력이 다른 탄소원 이용 능력보다 뛰어나다는 것으로 해석할 수 있다.

Fig. 2-(1)의 *i*-erythritol의 경우, KSG1-13 시료 속 미생물 군집이 배양 기간 12일 동안 기질로서 전혀 이용하지 못하는 반면, KSG1-12 시료 속 미생물 군집은 배양 시작 2일 후부터 흡광도 값이 급격히 상승하여 이 기질을 매우 활발히 이용했음을 알 수 있다. 또한 KSG1-16의 경우에는 초기 배양 속도가 매우 느리나 8일 후 이용 속도가 급격히 증가하여 10일이 지난 후에는 KSG1-12와 같아지고 있다. 또한 Fig. 2-(4)의 α -D-Lactose 기질이 들어있는 well에서 다른 시료들의 흡광도 값은 배양 기간 동안 변화가 없는 반면 KSG1-16 시료의 흡광도만은 눈에 띄게 증가했다. 이는 KSG1-16 시료 속 미생물 군집만이 α -D-Lactose를 이용할 수 있다는 것을 의미한다. Fig. 2-(2)의 L-phenylalanine의 경우, 흡광도 2이하에서 KSG1-12가 가장 높았고 그 다음으로는 KSG1-07, KSG1-16순으로 기질 이용도를 나타냈으며 KSG1-08과 KSG1-13은 거의 용도가 없었다. 한편 α -ketobutyric acid인 경우, KSG1-07만 기질활성도가 있었고 나머지는 거의 없었다.

위의 결과를 토대로 볼 때 오염도가 가장 심할 것으로 추정되는 침출수(KSG1-12)인 경우 특별한 기질에 대한 확실한 우점종이 존재함을 알 수 있었고, 좀 더 심하게 오염된 지하수(KSG1-07)가 덜 오염된 지하수(KSG1-08)나 비오염 지하수(KSG1-13)에 비해 여러 기질을 이용할 수 있는 좀 더 다양한 종들이 우점하고 있음을 시사하고 있다.

3.2. AWCD에 의한 분석

측정된 배양 시간에 따르는 흡광도 값들을 시료별 AWCD 값으로 환산하여 각 시료 속 미생물 군집이 31가지 기질 이용성을 시간에 따라 도시하였다(Fig. 3). AWCD값은 개개의 기질이용도를 고려한 것이 아니기 때문에 군집의 기능적 다양성보다는 총체적인 활성도를 더 잘 반영한다(김재수 외, 2006).

AWCD의 변화양상은 모든 시료에서 S자 곡선의 형상

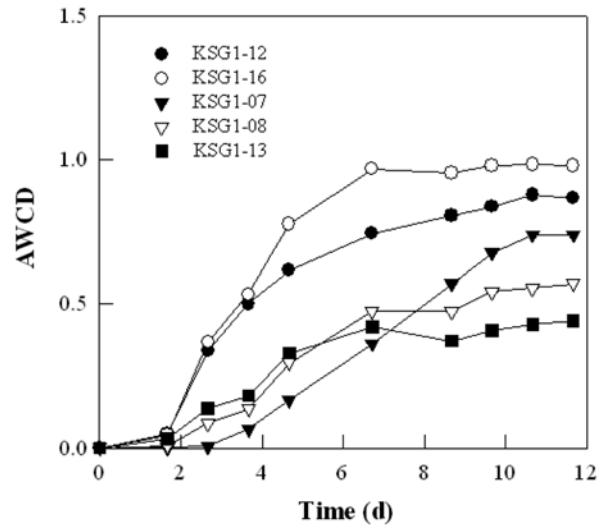


Fig. 3. Variation in average well color development over time in Ecoplates.

으로 나타났다. AWCD 값의 변화 정도를 비교하였을 때, KSG1-16이 가장 높았고, KSG1-12 > KSG1-07 > KSG1-08 > KSG1-13 순으로 나타났다. 예상대로 오염되지 않은 지하수 시료인 KSG1-13의 AWCD 값이 가장 낮았으며, 오염된 지하수 시료 KSG1-07과 KSG1-08의 AWCD는 KSG1-13보다 높았다. KSG1-07의 경우에는 배양을 시작한 후 7일까지는 가장 낮은 AWCD 값을 나타냈으나 그 이후 꾸준히 증가하여 9일 후 부터는 다른 지하수 시료보다 AWCD 값이 큰 것으로 나타났다. 또한 침출수 시료인 KSG1-12의 AWCD 값이 지하수 시료에 비하여 상대적으로 높았다. 하지만 침출수의 처리수 시료 KSG1-16의 경우, 침출수 시료 보다 AWCD 값이 컸다. 이 두 시료의 경우, 배양 시작 직 후부터 급격한 AWCD의 증가가 나타난 반면, 나머지 지하수 시료는 상대적으로 낮은 증가 양상을 나타냈다.

이와 같이 각 시료의 오염도 순으로 AWCD값이 나왔으나 KSG1-16이 가장 높게 나온 것은 예상 밖이다. 처리수라고 하지만 부유물질과 질소함유량이 비교적 많은 것으로 보아(Table 1) 처리가 잘 안되었거나 다른 유기탄소원의 유입이 있을 것이라 추정한다.

3.3. PCA에 의한 분석

각각의 시료 속 미생물 군집의 탄소원 이용도에 있어서의 유사성을 PCA를 통하여 통계적으로 분석하였다. PCA 분석에 이용된 자료는 대부분의 시료에서 배양 속도가 줄어들어 정체기가 시작되는 시점인 배양 10일 째의 AWCD 값으로 하였으며, 그 결과를 Fig. 4에 도시하였다.

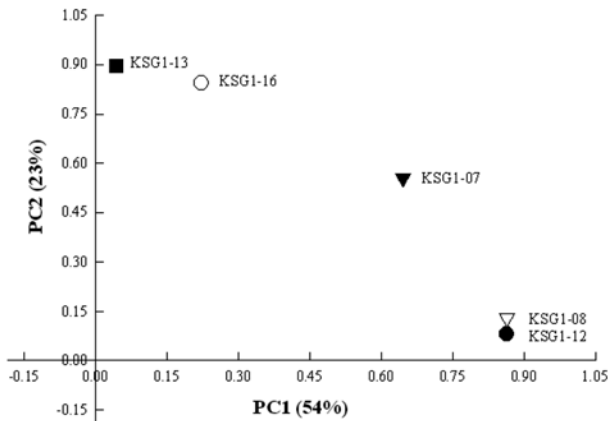


Fig. 4. Principal component analysis of average well color development of 10 days.

PC1과 PC2는 자료들 간 편차로서 각각 54, 23%로 나타났다. 따라서 31가지의 변수를 2로 줄이는데 나타난 자료들의 편차는 총 77%이다. 결과에 따르면 5가지의 시료 모두 PC1, PC2에 의해 나뉘지 않고 하나의 면에 분포하고 있지만, 오염되지 않은 비오염 지하수 시료인 KSG1-13과의 유사성을 비교해 보면 처리수 KSG1-16이 근접하게 위치하고 있어 비교적 가장 유사하며, 그 다음으로 오염 지하수 시료인 KSG1-07, 매립지 침출수 KSG1-12 및 오염 지하수 시료 KSG1-08 순으로 나타났다. 이 결과는 앞서 수행된 김 등(2006)의 연구에서 분자생물학적 방법(DGGE)으로 분석한 미생물 군집 분포의 시료간 유사도와 일치하고 있음을 확인할 수 있다. 매립장 침출수 시료인 KSG1-12는 매립지와 먼 관정에서 채수한 KSG1-08 시료와 미생물 군집의 탄소원 이용도에 있어서의 유사성이 매우 큰 것으로 나타났다. 이는 가까운 관정으로부터 채수한 KSG1-07는 오염도가 더 높아 산소의 고갈로 혐기성 미생물이 더 많은 반면 오염도가 낮은 KSG1-08은 상대적으로 산소고갈이 적어 호기성/반호기성 미생물이 더 많아 KSG1-12와 매우 유사하게 나타난 것 같다.

전체적으로 보았을 때 침출수(KSG1-12) 및 오염지하수(KSG1-07, KSG1-08)와 오염되지 않은 처리수(KSG1-16) 및 비오염 지하수(KSG1-13)로 크게 둘로 유사성을 나눌 수 있는데 이는 Röling 등(2000)의 매립지 침출수로 오염된 지하수에서의 오염지하수와 비오염 지하수간의 차이를 발견한 연구결과와 매우 유사하다.

3.4. Shannon index

각 시료의 배양시간에 따른 Shannon index의 변화를 Fig. 5에 도시하였다. 모든 시료에서 배양시간에 따라

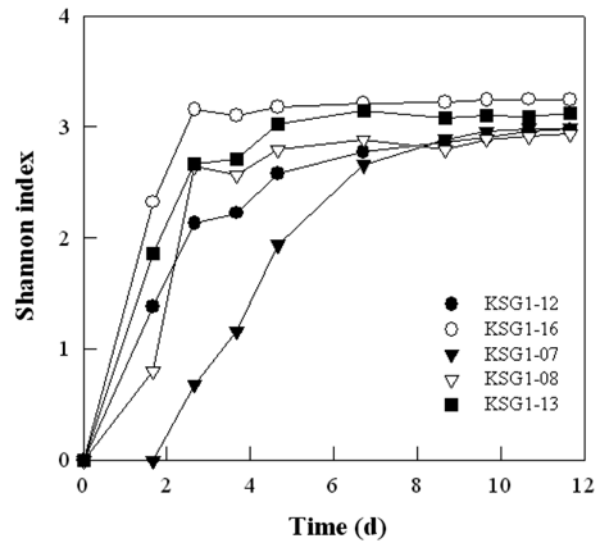


Fig. 5. Variation in Shannon index over time.

Shannon index가 증가하다가 일정해지는 경향이 관찰되었다. 각 시료들의 일정한 값에 도달한 Shannon index 값은 2.41에서 2.99 범위에 속하였고, KSG1-07이 가장 낮았고(2.41), KSG1-16이 가장 높았다(2.99). 하지만 모든 시료가 서로 비슷한 Shannon index를 가지고 있으며, 시간에 따른 변화 양상도 거의 유사한 것으로 보이고 있어 각각의 시료 내에 미생물의 종 다양성에 큰 차이점은 없는 것 같다. 좀 더 자세히 비교해보면, 비오염 지하수인 KSG1-13은 AWCD 값이 제일 낮았는데 Shannon index 값은 비교적 높게 나타나 미생물 종에 있어서 좀 더 다양성을 유지하고 있음을 알 수 있었고 처리수인 KSG1-16은 AWCD 값과 마찬가지로 제일 높게 나와 종의 활성화뿐만 아니라 다양성이 가장 큼을 알 수 있었다. 이러한 결과는 제초제(herbicides)로 오염된 지하수 침출물의 분석결과 Shannon index 값이 비오염 침출수에 비해 증가된 다른 연구결과와는 일치하지 않는 경향성이 있지만 (Röling et al., 2000; de Lipathay et al., 2004), 이 연구의 결과에서는 오염원이 달라서 그런지 종의 다양성은 오염된 지하수나 침출수 보다는 처리수나 비오염 지하수에서 높은 것으로 나타났다.

이러한 Shannon index값들은 이론적으로 DGGE band 수와 다양성을 보는 측면에서는 일치할 것으로 예상되었으나 정확히 일치하지 않았다(김재수 외, 2006). 이는 다른 연구에서와 마찬가지로 Shannon index값들은 배양이 가능한 균들만이 대상이 되지만 DGGE방법은 배양이 불가능한 미생물의 다양성도 포함하기 때문으로 생각된다 (de Lipathay, 2004).

4. 결 론

매립지 침출수로 오염된 지하수의 미생물 군집특성을 31가지 탄소원을 가지는 Ecoplate를 사용하여 조사하였다. 탄소 이용도 분석결과, 심하게 오염된 지하수 일수록 여러 기질을 이용할 수 있는 다양한 종들이 우점하고 있었다. AWCD는 군집의 총체적 활성도를 반영하는데 KSG1-16(처리수) 시료를 빼고 나머지 시료는 오염도 순으로 비례하였다. 또한 탄소원 이용도의 유사성을 알기 위해 PCA로 분석했는데, 역시 오염정도에 따라서 유사성이 결정되었다. Shannon index는 미생물의 다양성을 보여주는 값으로 이 연구에서는 서로 별다른 차이가 없어 심한 오염에 의한 다양성의 감소가 일어나지 않은 것으로 여겨진다. 한편, 배양 불가능한 종까지도 고려하는 DGGE 결과와는 일치하지 않았다.

사 사

본 연구는 공공기술연구회 정책 과제인 “지하수 환경 특성화를 위한 미생물, 미소생물의 생태학적 적용과 오염 물질 거동 특성 연구”의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

김재수, 김지영, 구소연, 고경석, 이상돈, 조경숙, 고동찬, 2000, DGGE를 이용한 매립지 침출수로 오염된 지하수의 세균군집분석, *한국미생물생명공학회지*, **34**(2), 166-173.

de Lipathay, J.R., Johnsen, K., Albrechtsen, H.-J., Rosenberg, P., and Aamand, J., 2004, Bacterial diversity and community structure of a sub-surface aquifer exposed to realistic low herbicide concentrations, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **49**, 59-69.

Garland, J.L., 1997, Analysis and interpretation of community-

level physiological profiles in microbial ecology, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **24**, 289-300.

Garland, J.L. and Mills, A.L., 1991, Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level, sole-carbon-source utilization, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2351-2359.

Garland, J.L. and Mills, A.L.A., 2001, Relative effectiveness of kinetic analysis vs single point readings for classifying environmental samples based on community-level physiological profiles (CLPP), *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 1059-1066.

Heuer, H. and Smalla, K., 1997, Application of denaturing gradient gel electrophoresis and temperature gradient gel electrophoresis for studying soil microbial communities, *Modern Soil Microbiology*, Marcel Dekker Inc, New York, p. 353-373.

Konopka, A., Oliver, L., and Turco, R.F., 1998, The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology, *Microb. Ecol.*, **35**, 103-115.

Muyzer, G. and Smalla, K., 1998, Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology, *Anton. Leeuwenhoek Int. J. Gen. Microbiol.*, **73**, 127-141.

Röling, W.F.M., van Breukelen, B.M., Braster, M., Goeltom, M.T., Groen, J., and van Verseveld, H.W., 2000, Analysis of microbial communities in a landfill leachate polluted aquifer using a new method for anaerobic physiological profiling and 16S rDNA based fingerprinting, *Microb. Ecol.*, **40**, 177-188.

Röling, W.F.M., van Breukelen, B.M., Braster, M., Lin, B., and van Verseveld, H.W., 2001, Relationships between microbial community structure and hydrochemistry in a landfill leachate-polluted aquifer, *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 4619-4629.

Tian, Y., Yang, H., Wu, X., and Li, D., 2005, Molecular analysis of microbial community in a groundwater sample polluted by landfill leachate and seawater, *J. Zhejiang Univ. SCI*, **6B**, 165-107.