

Principal Component Analysis와 Multi-Dimensional Scaling 분석을 이용한 시화공단 시흥천의 수질지표 및 미생물 군집 분포 연구

서경진 · 김주미 · 김민정 · 김성근 · 이지은 · 김인영 · 조경덕 · 고광표[†]

서울대학교 보건대학원 환경보건학과

(2009. 11. 2. 접수/2009. 11. 26. 수정/2009. 12. 5. 채택)

Assessing Water Quality of Siheung Stream in Shihwa Industrial Complex Using Both Principal Component Analysis and Multi-Dimensional Scaling Analysis of Korean Water Quality Index and Microbial Community Data

Kyeong-Jin Seo · Ju-Mi Kim · Min-Jung Kim · Seong-Keun Kim · Ji-Eun Lee ·

In-Young Kim · Kyung-Duk Zoh · Gwang-Pyo Ko[†]

Department of Environmental Health, Graduate School of Public Health, Seoul National University

(Received November 2, 2009/Revised November 26, 2009/Accepted December 5, 2009)

ABSTRACT

The water quality of Lake Shihwa had been rapidly deteriorating since 1994 due to wastewater input from the water-sheds, limited water circulation and the lack of a wastewater treatment policy. In 2000, the government decided to open the tidal embankment and make a comprehensive management plan to improve the water quality, especially inflowing stream water around Shihwa and Banwol industrial complex. However, the water quality and microbial community have not as yet been fully evaluated. The purpose of this study is to investigate the influent water quality around the industrial area based on chemical and biological analysis, and collected surface water sample from the Siheung Stream, up-stream to down-stream through the industrial complex. Samples were collected in July 2009. The results show that the downstream site near the industrial complex had higher concentrations of heavy metals (Cu, Mn, Fe, Mg, and Zn) and organic matter than upstream sites. A combination of DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) gels, lists of K-WQI (Korean Water Quality Index), cluster analysis, MDS (Multi-Dimensional Scaling) and PCA (Principal Component Analysis) has demonstrated clear clustering between Siheung stream 3 and 4 and with a high similarity and detected metal reducing bacteria (*Shewanella* spp.) and biodegrading bacteria (*Acinetobacter* spp.). These results suggest that use of both chemical and microbiological marker would be useful to fully evaluate the water quality.

Keywords: Shihwa and Banwol Industrial Complex, Siheung Stream, DGGE, principal component analysis, multi-dimensional scaling

I. 서 론

1994년 경기만 대규모 간척사업의 일환으로 농업용수를 공급하기 위해 방조제가 설립되면서 인공호수인 시

화호가 생겨나게 되었다.¹⁾ 그러나 시화호는 해수 교환이 이루어 지지 못한 폐쇄 상태에서 주변의 공단 폐수, 인근 거주지의 생활하수, 목축 및 농경지에서 유입되는 오·폐수 등이 유입되어 수질 오염이 급격하게 악화되었다. 그 결과 호수 내에는 식물 플랑크톤의 대증식으로 말미암아 연중 적조가 발생하였다. 그리고 담수화 과정에서 형성된 밀도 성층으로 인하여 상, 하층간의 교환이 원활하지 않게 되고 저층에서는 유기물 분해에 많은 산소가 소모되어 용존산소가 고갈되어, 어폐

[†]Corresponding author: Institute of Health and Environment, Department of Environmental Health, School of Public Health, Seoul National University
Tel: 82-2-3668-7881, Fax: 82-2-762-9105
E-mail: gko@snu.ac.kr

류가 집단 폐사되는 등의 심각한 생태학적 결과를 초래하였다.²⁾ 또한 공단 폐수에 존재하는 중금속은 환경 중에 유입되면 분해되지 않는 특성을 가지고 있는 지속성 오염 물질로 분류된다. 이는 생물에 농축(bioaccumulation) 될 뿐 아니라, 생태계의 먹이사슬을 통해 고차 생물로 갈수록 축적 정도가 커지는 생물 확대(biomagnification) 과정을 거쳐 섭취되면 인체에 해를 입히게 된다.³⁾

2001년에는 이러한 수질오염을 정화하고자 하는 일환으로 하수처리장의 확장, 인공습지 조성, 조력발전소 건설 계획 등 시화호 종합관리계획을 수립하여 진행하고 있다.⁴⁾ 그리고 2004년에는 시화호 수질개선 대책의 일부로 2007년부터 '시화 인공수로 자연형 하천공사' 실시를 시행한 바 있다. 그러나 현재 시화 산단을 경유하는 하천과 인공천은 수질 개선 계획과 취지와는 달리 하천기능을 여전히 상실하고 있어 시화호 수질오염의 주요원인으로 남아있는 실정이다. 특히 제 4 간선수로 는 단지 내 우수를 배제하기 위한 인공 하천으로 설립되었으나, 공단의 우수관으로부터 오염물질이 다량 유입되고 수질이 매우 악화되어 있어 인공 하천 중에서도 중요한 오염원으로 간주되고 있다.⁵⁾ 본 연구에서는 시화호에 유입되는 인공 하천 중에서 가장 오염이 심하기로 알려진 제 4 간선수로 시흥천(시흥교를 지나는 천에서 공단을 지나기 전과 후의 점진적인 수질의 오염 변화 정도를 파악하였다. 이를 위하여 대표적인 하천수 수질기준 항목에 해당하는 화학적 분석과 난분해성 물질 혹은 장기 오염 노출 정도를 예측해 볼 수

있는 미생물의 군집 분포 분석을 측정하여 multi-dimensional scaling(MDS) 및 principle component analysis(PCA)를 수행하였다.

II. 연구 방법

1. 시료 채수 지점 선정 및 시료 수집

본 연구에서는 시흥시와 안산시의 주거지역과 공단을 가로질러 흐르는 4개의 인공하천(옥구천, 군자천, 정왕천, 시흥천) 중에서, 시흥천이라고 불리는 제 4간선수로에서 채수를 수행하였다(Fig. 1). 채수 지점은 시흥천 상류에서 하류로 내려가는 방향으로 약 5 km 지점마다 5군데를 지정하여 2009년 7월 1일부터 3일까지 아침 11시에서 12시 사이에 채집하였다.

시료는 복수시료채취방법인 수질 공정 시험 방법⁶⁾에 따라 하천의 단면에서 수심이 가장 깊은 수면의 지점과 그 지점을 중심으로 하여 좌우로 수면 폭을 2 등분한 각각의 지점에서 채수하였다. 수면으로부터 수심 2 m 미만이었으므로 수로의 중앙에서 깊이 1/3 윗부분을 만족하는 부위에서 30분 이상 간격으로 1일 2회 실시하였다. 채수 지점을 선별한 각 5 지점마다 미생물학적 분석을 위한 시료는 1L, 이화학적 분석을 위한 시료는 3L로 실시하여 3일간 동일하게 채취하였다. 채취한 물은 무균의 폴리에틸렌 재질의 1L 채수병을 이용하여 각 시료 채취 위치의 시료로 3회 이상 평균 다음 수집하였고, 침전물이 부상하여 혼입되지 않도록 하였다. 이후 공기와의 접촉이 없도록 가득 채워서 즉시 아이스



Fig. 1. Map showing the sampling locations in the streams near Lake Shihwa in this study. Site 1 : 37°21'26N 126°47'11E, Site 2 : 37°20'25N 126°46'15E, Site 3 : 37°19'46N 126°44'54E, Site 4 : 37°19'46N 126°44'54E, Site 5 : 37°18'18N 126°44'53E.

박스에 넣어 실험 장소로 이동하여 분석하였다.

2. 이화학적 분석

1) 현장 분석

시료 채수 후 현장에서 수온과 pH, 탁도 등을 측정하였다. 수온과 pH 분석은 pH/ISE/Conductivity meter 415CP(ISTEK)로 수행하였고, 탁도는 2100P Turbiditymeter(HACH)로 측정하였다.

2) 수질 오염 지표의 이화학적 분석

유기물 분석 항목은 total organic carbon(TOC), biochemical oxygen demand(BOC), chemical oxygen demand(COD) 등을 측정하였다. TOC는 SHIMADZU 사의 TOC-5000A로 분석하였고, BOD는 환경부 수질 오염 공정 시험법에 따라 분석하였다.⁷⁾ TOC 분석은 시료를 IC sparger에 넣어 산 처리로 무기탄소를 제거해 전 처리하고 산화되어 생성된 이산화탄소의 양을 UV Reactor에 주입시켜 유기 탄소의 양을 계산하였다. COD 분석은 HS-COD-U kit(Humas, Korea)에 시료 2 ml을 주입하여 150°C로 유지시킨 반응기에 2시간 가열하여 10분 방치 후 HS 2300 Plus로 분석하였다. 부유물질(suspended solid) 분석은 시료 200 ml을 GF/C 여과지를 감압 여과기에 부착하여 여과 후 건조기로 105-110°C에서 2시간 건조 후 중량을 측정하였다. T-P(총인)과 T-N(총질소)는 환경부 수질 오염 공정 시험법에 따라 과황산칼륨분해법으로 분석하였다.⁷⁾ 중금속 역시 환경부 수질오염 공정 시험법에 따라 질산-염산에 의한 분해 전처리 과정을 거친 후 총 15개 원소(Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mn, Ni, P, Pb, Ti, V 및 Zn)를 측정할 수 있도록 고안되어 있는 ICP/MS(Perkin Elmer, Optima 3100DV)로 분석하였다.⁷⁾ 모든 시료는 채수 후 아이스 박스에 보관하여 이동하였고, H₂SO₄를 가해 pH 2.0 이하로 맞추어 4°C에 보관하였다.

3. 분변 오염 지표 미생물 농도 분석

분변 오염 지표미생물로서 총대장균군, 대장균, 장구균 등을 환경부 수질 오염 공정 시험법에 따라 효소발색법(defined substrate technology [DST])을 이용한 Colilert®와 Enterolert®(IDEXX, USA) kit를 사용하여 정량분석을 하였다.⁷⁾ 채수한 물 중 100 ml을 Quanti-Tray®/2000에서 계수할 수 있을 정도의 희석배수를 하고, 총대장균군(total coliform)과 대장균(*E. coli*)은 Colilert® 시약을 사용하여 35±0.5°C에서 24시간 배양하였다. 장내연쇄상구균(*Enterococci* spp.)은 Enterolert®

시약을 사용하여 44±0.5°C에서 24시간 배양하였다. 이후 색 변화 정도를 comparator와 비교하여 더 진한 경우 총대장균군 양성으로, 대장균과 장내연쇄상구균은 10 cm 거리에서 UV 램프로 파란색 형광을 나타낸 것을 양성으로 판정하였다. 이후 IDEXX에서 제공하는 최적확수 시험법(most probable number [MPN])에 의해 MPN/100 ml 단위로 판독하여 CFU/100 ml로 환산하였다. 모든 시료는 채수 후 24시간 이내에 분석하였다.

4. 미생물 군집 분포 분석

1) 표본수의 농축

미생물 군집 분석을 하기 위해서 각 조사 시점의 하천 시료로부터 total DNA 추출을 해야 한다. 각 조사 시점의 시료 50 ml을 막여과법(pore size 0.45 µm, 직경 47 mm, Whatman, cat no. 7141 104)을 이용해 농축하고, 여과 후 여과막을 멸균된 인산완충용액(phosphate buffered saline) 20 ml이 담긴 Falcon tube에 넣어 vortexer로 30분 동안 탈착하였다. 미생물이 용출되어 포함된 용액을 10,000 g으로 5분간 원심분리하여 1 ml의 멸균된 3차 증류수로 재 부유시킨 후 이중 300 µl를 MoBio soil DNA Extraction kit를 이용하여 total DNA 40 µl를 buffered Tris-EDTA(pH 8.0)에 녹여 -20°C에 보관하였다.

2) 시료의 총 DNA 추출 및 16S r DNA 증폭

추출한 DNA는 총 박테리아 서열에 붙는 primer 27F/1492R를 이용하여 증폭시켜 QIAquick PCR purification kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용해 정제하였다.⁸⁾ 그 다음 환경 시료의 단점을 보완할 nested PCR을 수행하기 위해서 primer는 16S rDNA V3영역의 염기서열을 이용하였다.⁹⁾ 증폭하기 위한 primer는 40 bp의 GC-Clamp가 포함된 GC-341F (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3')와 534R(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GCT GG-3')을 사용하였다.¹⁰⁾ PCR 반응 조건은 94°C에서 45초, 25 cycles을 94°C에서 45초 denaturing한 후 55°C에서 45초 annealing시키고 72°C에서 50초 extension 후 72°C에서 6분 동안 final extension한 후 1% agarose gel 전기영동을 통해 233 bp의 증폭을 확인하였다.

3) Denaturant gradient gel electrophoresis (DGGE) 분석

PCR을 통해 얻은 amplicon을 QIAquick PCR puri-

fication kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)로 정제 후 DGGE gel에 로딩에 사용하였다. Denaturing gradient gel은 urea와 formamide가 포함된 변성제를 30%에서 60%까지 농도 구배가 연속적으로 형성되도록 하였고, PCR amplicon 1000 ng을 사용하여 TAE buffer에서 60°C, 60 V로 16시간 전기영동 하였다.¹¹⁾ 전기영동이 끝난 gel은 EtBr로 염색과 탈색을 마친 후 UV로 band를 확인해 gel에서 잘라내어 회수하였고, 회수된 product는 TE buffer 100 µl을 4°C 24시간 용출하여 얻었다. DGGE band 패턴 분석 실시 및 통계처리는 Bionumerics 소프트웨어 버전 6.0(Applied Maths NV, Sint-Martens-Latem, Belgium)을 이용하여 실시하였다.

4) DGGE 밴드 염기서열 분석

용출하여 얻은 DNA에 대해 341F(GC-Clamp를 제외한)와 518R primer를 이용해PCR을 수행하여 증폭하였고, 1% agarose gel 전기영동을 통해 확인된 product를 QIAquick PCR purification kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)로 정제하였다. 이렇게 정제된 DNA fragment를 pGEM-T easy vector(Promega, Madison, WI, USA)로 cloning 한다. Cloning 과정을 통해 선별된 colony로부터 plasmid DNA(Plasmid mini prep kit, Cosmo, Korea)를 추출한 후 염기서열 분석을 회사(Cosmo Genetech Co., Seoul, Korea)를 통하여 분석 의뢰하였다. 확인이 끝난 시료의 DNA 염기서열은 ribosomal database project(RDP)와 NCBI BLAST를

통해 서열 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 이화학적 특성

시료를 채취한 7월 1일부터 3일까지 현장에서 수온을 측정하였다. 나무가 많고 산지에서 흘러 내려 오는 물로 햇빛이 닿지 않아 온도가 낮았던 시흥천 제 1 지점을 제외하고는 모두 비슷한 온도로 측정되었다. 수소이온농도는 특이적으로 높거나 낮은 지역 없이 중성 조건이었다. 탁도는 시흥천 제 2 지점에서 가장 높았으며, 중금속 분석 시 공단 지역인 시흥천 제 3, 4, 5 지점에서 높은 함량비를 보였다(Table 1). 특히 Cu, Mn, Fe, Mg가 세 지역에서 비슷한 농도로 측정되었다. 시흥천 제 5 지점에서 높은 농도를 보였던 금속은 Zn 이었다. 측정하였으나 표에 제시되지 않은 중금속 항목은 채수 지점별로 측정된 함량이 유의한 차이를 보이지 않거나 검출이 되지 않았다.

시흥천의 수질 오염 정도를 파악하기 위한 유기물 농도 측정 결과 BOD, COD, TOC 모든 항목에서 비슷한 양상을 보였다. 특히 시흥천 제 2 지점은 모든 항목에서 일반 하천 기준치보다 3배 정도 높은 측정치가 나왔다. 나머지는 시흥천 제 1 지점을 제외하고 기준치를 넘어서는 수준의 측정치로 유기물 농도가 일반 하천보다 높은 것으로 보였다(Table 2). 총인과 총질소 함량 또한 일반 하천보다 10배 가까운 비율로 농도 측정이 되어 부영양화 현상이 우려되었다. 특히 시흥천

Table 1. Summary of environmental conditions and chemical characteristics in Siheung Stream of Lake Shihwa

	Temp. (°C)*	pH*	Cu (mg/l)*	Mn (mg/l)*	Fe (mg/l)*	Mg (mg/l)*	Ni (mg/l)*	Zn (mg/l)*
Site 1	16.85(±0.92)	7.37(±0.17)	0.02(±0.00)	0.03(±0.01)	0.60(±0.09)	4.93(±1.37)	0.01(±0.00)	0.00(±0.00)
Site 2	27.08(±2.60)	7.59(±0.05)	0.03(±0.01)	0.22(±0.03)	1.62(±0.57)	11.67(±0.80)	0.01(±0.00)	0.01(±0.01)
Site 3	24.33(±0.98)	8.09(±0.24)	0.05(±0.06)	0.73(±0.14)	1.19(±0.71)	23.19(±4.84)	0.02(±0.04)	0.00(±0.00)
Site 4	26.30(±1.05)	7.96(±0.23)	0.18(±0.23)	0.91(±0.33)	1.65(±0.76)	25.01(±9.49)	0.10(±0.15)	0.01(±0.02)
Site 5	25.33(±1.86)	7.97(±0.19)	0.70(±0.30)	0.92(±0.20)	1.63(±0.64)	17.17(±4.27)	0.19(±0.04)	0.14(±0.19)

*mean (±standard deviation)

Table 2. Summary recreational water qualities listed on Korean Water Quality Index (K-WQI)

	BOD (mg/l)*	COD (mg/l)*	TOC (mg/l)*	T-N (mg/l)*	T-P (mg/l)*	Pb (mg/l)*	SS (mg/l)*
Site 1	0.40(±0.26)	>5.00	18.02(±2.53)	1.41(±0.45)	0.06(±0.03)	0.01(±0.03)	6.9(±2.87)
Site 2	24.10(±0.40)	19.06(±0.18)	66.91(±10.02)	4.30(±0.52)	0.51(±0.10)	0.10(±0.14)	30.81(±11.95)
Site 3	10.53(±3.79)	20.63(±0.22)	54.04(±7.45)	2.96(±0.41)	0.30(±0.06)	0.06(±0.04)	14.69(±3.50)
Site 4	7.10(±2.52)	13.31(±10.31)	50.89(±9.17)	2.84(±0.24)	0.45(±0.14)	0.07(±0.02)	20.39(±7.60)
Site 5	7.27(±1.08)	10.23(±11.20)	45.44(±7.34)	2.52(±0.12)	0.22(±0.05)	0.02(±0.03)	18.78(±4.69)

*mean (±standard deviation)

제 2 지점에서 가장 높게 측정되고, 납과 부유물질 항목에서는 시흥천 제 2 지점을 제외하고는 일반 하천과 비슷한 농도 수준이었다(Table 2). 결과적으로 가장 상류지점이었던 시흥천 제 1 지점은 물이 흘러 드는 시작점으로 산에서 내려오는 자연수와 만나고 있다. 수온 증가에 영향을 미치는 햇빛이 들지 않고, 나무와 숲 사이에 위치해 물이 차고 흐름도 빠르고 유기물의 농도가 낮은 환경조건 등으로 미생물이 증식이 많이 이루어 지지 않은 것으로 보인다. 또한 유기물과 중금속 함량이 공단 지역과 비교하여 일부는 거의 10배 이상 차이가 나고 있는데, 이는 공단 지역이 오염원인으로서 지적될 수 있는 가능성을 높이고 있다. 시흥천 제 2 지점은 공단과 거주지역과 인접해 있지 않았으나, 육안으로부터도 수질 상태가 좋지 못할 정도였다. 분석 결과도 공단 지역보다 인과 질소와 같은 유기물 함량이 높거나 공단지역에 준할 만큼의 Mn, Fe, Mg의 중금속 함량이 높은 것으로 미루어, 주변 농가의 토양에서 흘러나오는 오염된 물질이 배출되고 있는 원인으로 사료된다. 그 오염 물질의 원인은 비료나 농약 사용에 대한 일반적인 사례가 있는데 그 중 복합비료에 대표적으로 포함되는 물질로는 N, P, K는 물론이고 Mg, S, B, Fe, Zn, Mn, Cu 등이 사용되고 빗물에 씻겨 내려와 농업용수를 오염시키는 등의 환경오염의 원인이 되고 있다.¹²⁾ 공단 초입부인 시흥천 제 3 지점과 시화 공단과 반월 공단을 거쳐 흐르는 시흥천 제 4 지점에서 거의 모든 결과값이 비슷하게 나온 가장 큰 이유는 시흥천 제 3 지점에서 흐르는 물이 시흥천 제 4 지점에 거의 고여있는 상태로 물의 순환이 거의 이루어지지 않고 있었다는 점에 있다. 시흥천의 가장 하단부에 흐르는 제 5 지점은 바다와 만나는 곳으로, 해수의 유입이 공단지역인 시흥천 제 3과 제 4 지점만큼 수질 오염 정도가 심하지 않을 것으로 예상되었으나 이화학적 분석결과로는 확연한 차이를 보기 힘들었다.

대부분의 수치는 폐수의 방류수에 준하는 수준이었던

데 이것은 TOC 분석 자료로서도 증명되었다. 일반적인 결과로 볼 때 폐수에 가까울수록 BOD와 COD 결과가 TOC 결과와 상관성이 매우 높게 측정되었다. 이번 연구에서 SAS® Enterprise Miner™를 이용해 구한 Pearson 상관계수 값을 보면 TOC 분석결과가 BOD와 COD와의 상관성 분석 시 각각 0.80과 0.83으로 높은 상관계수 값을 보인 것을 알 수 있다. TOC 항목은 다른 모든 항목에 가장 높게 상응하는 것으로 보여졌다. 대부분의 다른 항목 들은 비슷한 양상을 보였으나 납 측정치가 가장 상관관계가 낮게 측정되었다(Table 3). 이러한 점으로 미루어 보아 이 하천의 오염 지표로서 납이나 부유물질이 대표적인 측정 항목으로서는 미흡하다는 사실을 알 수 있다. 또한 보편적으로는 하천수의 수질기준을 평가할 때 BOD와 COD가 수중의 유기물의 양을 측정하는 지표이지만, 시흥천과 같이 오염원이 많이 존재하는 수질의 경우에는 수질의 총 유기물 양을 나타내는데 측정값이 나타내는 유기물 양에 한계점이 있다고 판단하였다.¹³⁾ 선진국에서는 수중의 유기물질의 총량을 측정하여 환경 모니터링과 산업폐수 처리 공정 관리 측면에서 TOC 분석을 수질 상태 검사 항목에 포함시키고 있다.¹⁴⁾ 따라서 폐수나 오수의 수질 검사 항목에 단시간에 효과적인 TOC 분석이 포함될 필요성이 보였다.

2. 미생물 분석

1) 분변오염 지표 미생물 분포 농도

미생물 분포 농도 시험 시 표본 수 마다 계수하기 알맞은 희석 배수를 통해 최적확수시험법(MPN) 표를 기준으로 실험을 실시하였다. 현재 하천수 수질기준 3등급 기준¹⁵⁾은 총대장균군은 5,000(CFU/ml) 이하로 허용하나, 시흥천 제 1 지점을 제외한 모든 하천에서 기준치를 넘었다. 또한 시흥천 제 4 지점은 물의 순환이 일어나지 않고 오랜 시간 고여있는 이유로 시흥천 제 2와 제 3 지점의 양 보다 50% 증가한 양을 확인하였

Table 3. Summary of Pearson correlation coefficients and test between various chemical factors

	BOD*	COD*	TOC*	T-N*	T-P*	Pb*	SS*
BOD	1.00						
COD	0.74(<.0001)	1.00					
TOC	0.80(<.0001)	0.83(<.0001)	1.00				
T-N	0.90(<.0001)	0.74(<.0001)	0.90(<.0001)	1.00			
T-P	0.70(<.0001)	0.73(<.0001)	0.86(<.0001)	0.79(<.0001)	1.00		
Pb	0.42(0.0215)	0.40(0.0265)	0.41(0.0229)	0.33(0.0749)	0.38(0.0371)	1.00	
SS	0.74(<.0001)	0.59(0.0006)	0.68(<.0001)	0.77(<.0001)	0.66(<.0001)	0.11(0.5564)	1.00

*Pearson correlation coefficient (P-value).

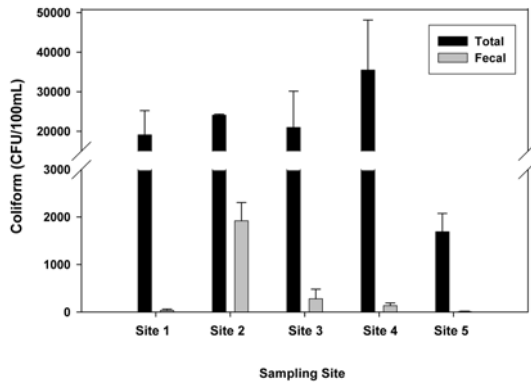


Fig. 2. Levels of indicator microorganisms in Siheung Stream of Lake Shihwa.

다. 분원성대장균군은 시흥천 제 2 지점이 기준치 1,000(CFU/m)을 넘었고, 시흥천 제 3과 제 4 지점보다 4배 높은 농도였다. 시흥천 제 1과 제 5 지점에서는 불검출 혹은 미량의 양이 확인되었다(Fig. 2). 이러한 결과는, 시흥천 제 1 지점을 제외한 나머지는 여름의 기온으로 수온이 비교적 높은 상태가 유지되어 대장균 증식에 영향을 미쳤을 것으로 보인다. 특히 시흥천 제 2 지점과 같은 경우 농업지대에 위치해 비료 사용 및 비점오염의 증가로 대장균 수치가 높게 나왔음을 예측하게 한다. 시흥천 제 3, 4, 5 지점에서는 철새를 비롯한 조류 및 가축의 분뇨가 기인할 것으로 사료된다.

2) 미생물 군집 분포 분석

DGGE 밴드의 다양성 정도는 'Simpsons index of diversity' 지수가 12.87%, 'Shannon-Weaver index of diversity' 지수가 0.2449로 나왔다. 그리고 밴드 분포 양상을 3차원 구조인 MDS로 분석한 결과, 각 채수 지점별로 그룹화 되는 것을 알 수 있었다. 특히 시흥천 제 1, 2, 5 지점은 각각의 특성을 지닌 채로 다른 지점과 상관도가 멀었고, 시흥천 제 3과 제 4 지점은 상관도가 매우 높게 나왔다(Fig. 3). 특히 시흥천 제 1 지점과 제 2 지점은 공단 지역이 아닌 곳으로 나머지 지점과는 밴드 분포가 다르게 나왔으며, 제 5 지점에서도 3과 4 지점과 공통되는 부분과 나머지 4 지점에서 나오지 않았던 또 다른 위치에서 밴드가 보였다. 공단 특성이 강할 것으로 예상되는 시흥천 제 3과 제 4 지점이 밴드 분포가 거의 같게 나왔음을 미루어 본 결과, 공단 지역에서 유입되는 특수한 오염원이 추가적으로 배출될 수 있는 가능성을 예상할 수 있었다.

수질오염의 중요한 요인 및 패턴을 추가적으로 분석

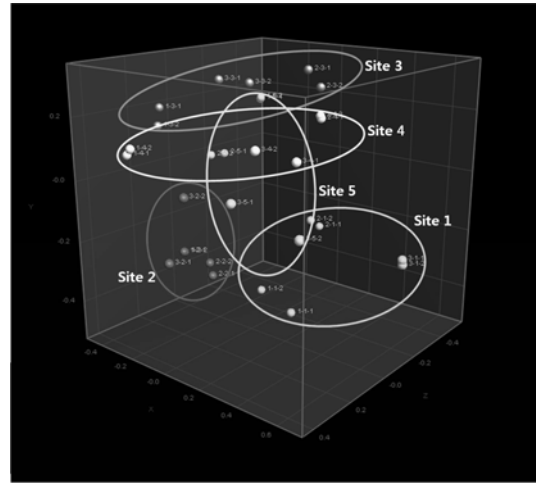


Fig. 3. Multi-dimensional scaling (MDS) analysis using DGGE DNA fingerprinting data. Surface Water samples were collected two times each day for the 3 days at 5 Siheung Stream site. Label of these spots indicate that first number is sampling day, second one is sampling site and third one is trial number.

하기 위하여, DGGE 밴드 분포 양상과 하천수 수질 기준의 대표적인 항목들(BOD, COD, TOC, T-N, T-P, Pb, SS)을 PCA에 1:1비율의 중요도로 판단하여 분석을 수행하였다. PC 1과 PC 2에 따라 그룹화가 이루어지는 양상에 따라 상관관계가 있는지를 보고자 하는 것으로, PC 1과 PC 2는 채수한 물의 시료에 각각 작용한 실험 조건을 의미한다. 각각의 특성을 1:1로 동일한 가중치를 준 분석을 했기 때문에, 특정 분석이 PCA 분석 결과를 좌지우지하지 않을 것으로 판단된다. 총 분석한 개수는 30개 인데 이를 선정할 때 채수를 3일간 하여, 채수 일 별로는 하루에 10개로 그룹이 묶이게 되었다. 그리고 채수 지점 별로는 총 5 군대를 하였으므로 채수 지점별로 각 6개씩 그룹이 묶이게 하였다. 일수 별로 표현한 결과 Fig. 4의 (b)에서 볼 수 있듯이 각 채수 지점마다의 특성이 나타났으며 제 1 지점과 2 지점보다도 특히 제 5 지점의 경우가 다른 지점과 섞이지 않고 가장 특수한 성격이 나타났다. 이는 바로 인접한 바다물의 유입의 영향으로 환경이 바뀌어진 영향이 아닌가라는 짐작을 하게하였다. 이전 연구에서도 해수의 유입이 중금속이나 다른 유기물에 따른 오염과 생태계 개선에 따른 영향이 있다고 밝혀진 연구가 있다.⁶⁾ 그러나 이화학적 분석으로는 제 5 지점의 수질 상태가 제 3, 4 지점보다 좋아졌다거나 분석 함량이 달라졌다는 판단을 가질 수 없었으나, 미생물 군집 분석으로는 공단지역의 상·중부인 제 3, 4 지역

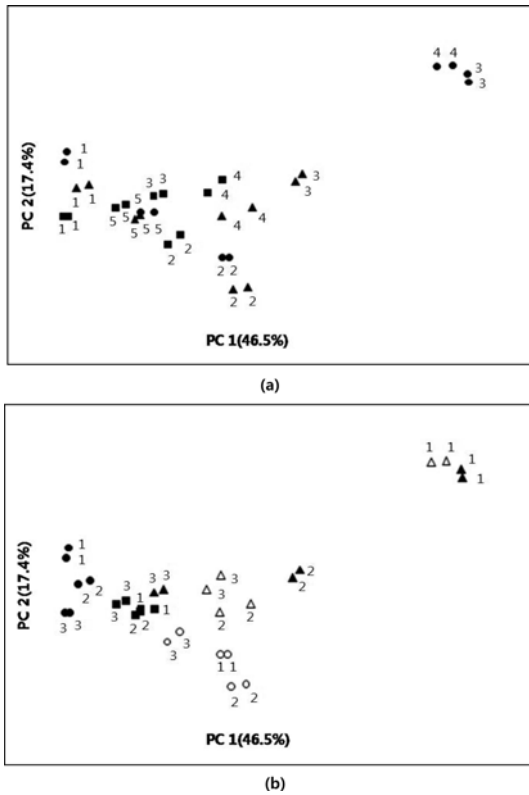


Fig. 4. Principal component analysis (PCA) using both DGGE fingerprint and K-WQI data. (a) PCA analysis in different sampling days. Circles : day 1 (n=10); triangles : day 2 (n=10); squares: day 3 (n=10). Each number indicates the sampling site, (b) PCA analysis in different sampling sites. Closed circles : site 1 (n=6), opened circles : site 2 (n=6), closed triangles: site 3 (n=6), opened triangles : site 4 (n=6), closed squares : site 5 (n=6). Each number indicates the sampling day.

과는 현저히 다른 군집 양상으로 보여 미생물 생태의 환경변화를 제시하였다. 여전히 공단 특성이 강한 시흥천 제 3과 제 4 지점은 가장 상관성이 높았다(Fig. 4). 채수 일별로 표현했을 경우에 Fig. 4의 (a)에서 볼 수 있듯이 각 채수 지점의 특성이 강하여 채수 일별로 그룹화가 이루어지기보다는 채수 지점별로의 구분이 이루어지고 있음을 볼 수 있다. 시료 채수 일을 달리하더라도 각 채수 지점별로 그룹을 형성하였고, 제 3과 4 지점은 채취 지점보다는 시료 채수 일별로 그룹을 형성하는 경향을 보였으며 각 시료 채수 일별로도 그룹을 형성하여 제 3과 4 지점 간의 상관관계가 높음을 알 수 있다. 이것은 또한 채수한 3일 동안의 결과 편차도 크지 않음을 알 수 있고, 이러한 결과는 채수의 일수 차 이보다 지점별로의 특성이 중요한 것으로 사료된다.

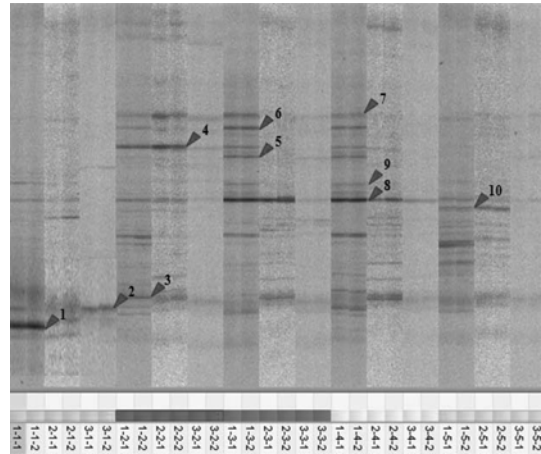


Fig. 5. DGGE band patterns and specific bands for subsequent DNA sequencing in this study. Each number indicates an excised band listed in Table 4. Surface water samples were collected two times each day for the 3 days at 5 Siheung Stream site. Label of these squares indicate that first number is sampling day, second one is sampling site and third one is trial number.

3) DGGE 밴드의 염기서열 분석

채수한 각 다섯 지점의 미생물 분포 양상은 3일간 하루에 두 번씩 한 것으로 최종적으로는 채수 지점별로 나누어 정리한 것이 Fig. 5에 나타나 있다. DGGE 밴드를 잘라내어 얻은 10개의 염기서열을 Lasergene 6 software program (DNASTar, USA)으로 정렬하여 분석한 결과는, Table 4에 정리되어 있다. 대부분의 채수 지점에서는, 오·폐수에서 검출되는 미생물로 알려져 있는 *Campylobacter*와 *Arcobacter* 속 세균이 서식하고 있는 것으로 보인다. 이는 가금류의 분뇨에 의해 오염되어 있는 지표¹⁷⁾로 우리가 채수한 시흥천이 가축에 의한 오수에 노출되고 있을 가능성을 짐작하게 한다. 철새나 조류의 영향이 일단 가장 큰 것으로 보인다. 또한 중요한 것은 이 *Arcobacter* 속 세균의 일부가 철강이나 구리, 플라스틱 등에 부착하여 살 수 있을 정도로 내성이 강하다는 특이성이 있다.¹⁸⁾ 일반적으로 보통 다양한 물체의 표면에서 많게는 전체의 64%로 우세하게 분리되며 토양과 같은 조건에서 발견이 잘 되고 있는 이 세균은 우리가 채취한 수심의 윗부분 1/3 지점에서 발견되기 어려울 수 있다. 그러나 이 세균이 수면에서도 우점종으로 결과가 나온 것으로 미루어 보아 그 양이 그만큼 많이 존재하기 때문으로 보인다. 또 다른 우점종인 *Rhodocyclaceae*와 *Cloacibacterium*는 특성에 관한 많은 연구 결과는 아직 부족하지만, 대체로 슬러지나 오·폐수에서 발견되는 미생물¹⁹⁾이나 철이 50 mg/

Table 4. Identification of specific microorganisms from DGGE analysis

Excised band	Accession no.	Identified microorganism	Percent identity
1	AM268366.1	Uncultured <i>Rhodocyclaceae</i> bacterium	100%
2	GQ345341.1	<i>Pseudomonas</i> spp.	98%
3	GQ240227.1	<i>Rheinheimera</i> spp.	98%
4	FJ002586.1	<i>Shewanella</i> spp.	99%
5	FM163102.1	<i>Campylobacteraceae</i> bacterium	99%
6	GQ390427.1	Uncultured <i>Arcobacter</i> spp.	100%
7	FJ646327.1	Uncultured <i>actinobacterium</i>	98%
8	FJ544401.1	<i>Cloacibacterium normanense</i> strain	100%
9	FN434434.1	Uncultured <i>Flavobacteriaceae</i> bacterium	100%
10	GQ374919.1	<i>Flectobacillus</i> spp.	99%

이 포함된 상태에서도 분리 가능한 생광화 능력이 있는 것으로 보고된 바가 있다.²⁰ 좀 더 구체적인 연구 결과로는 제지 기계에 바이오 필름을 형성하여 스테인레스 철강에서도 서식할 수 있는 것으로 알려져 있다.²¹ 이는 오염된 다른 지역에서 우세하게 분리되는 균이 시흥천에서도 역시 분리되었다는 점을 미루어 수질 상황이 좋지 못함을 알 수 있다. *Shewanella* spp.는 금속 환원을 하여 생광화작용 능력이 있는 균으로 이온상태의 3가 철과 금속 이온인 비소와 셀레늄을 환원시킬 수 있다.²² 이는 물속에 금속 이온이 많이 녹아 있음을 알려주는 것으로 이들 원소는 석유화학, 유리, 세라믹, 전자제품 공장 등에서 노출 위험이 있는 금속 이온으로 알려져 있다. *Acinetobacter* spp.는 카드뮴 내성이 있으며 방향족 물질과 탄화수소 고리를 분해하는 역할로 항생제 내성이 있는 균이다.²³ 이에 더 구체적인 연구로는 제약 조제 공장이나 병원의 하수구에서 방류수에서 항생제 저항성 균으로 분리된 보고가 있다.²⁴

대부분의 시흥천에서 분리된 미생물들은 금속과 난분해성 물질에도 적응하며 살 수 있는 능력을 지니며, 이러한 미생물이 우점하는 이유로는 다른 미생물이 살지 못하는 극한 환경이라는 점으로 대변될 수 있다. 이러한 중금속이나 유기물의 높은 농도의 오염된 물에서 살 수 있는 내성균이 대체로 검출되었다는 점은, 다른 오·폐수 지역에서 분리되는 우점종의 박테리아와도 비슷한 경향이 나타낸다. 이러한 오염 수위라면 처리가 필요한 오·폐수 수준으로서 오염 정도를 완화시킬 수 있는 대책이 필요하다. 또한 이렇게 오염 지표로 설명될 수 있을 종류의 미생물 검출은 이전에 보고되었던 연구들과 시흥천 주변에 위치하는 다양한 공장들의 특수성이 다소 일치하는 경향이 보이며 영향을 주는 인자로서 어느 정도의 가능성을 예측하는데 보조자료로서 사용할 수 있을 것으로 보인다.

IV. 결 론

본 연구에서는 시화호 오염에 주된 영향을 미치고 있는 인공하천 유입수의 수질 오염 정도를 파악하고자 이화학적, 미생물학적 분석을 실시하였다. 분석 결과 거주지와 공단을 거쳐 흐르는 인공하천인 시흥천의 수질 상태는 전체적으로 일반 하천에 비해 기준 미달이었다. 또한 DGGE 분석을 통해 얻어진 균의 특성이나 군집 양상으로도 공단 지역에서 배출되는 물질이 하천으로 유입될 가능성이 있는 것으로 보여졌다. 또한 이화학적 분석과 생물학적 분석이 같이 동반되었을 때 오염원 배출 추적이나 생태적인 문제에 있어서도 좀 더 가능성 있는 예측을 가져올 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 미생물학적인 특성은 인간의 삶과 밀접한 수질 관리에 중요한 요인으로 작용하기 때문에 의미 있는 연구결과로 예상된다.²⁵ 이러한 연구를 토대로 오염원 배출 규제 강화를 비롯한 빠르고 정확한 오염원 추적기술 도입 역시 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 서울대학교 환경보건학과 실습 교과목인 지역사회보건실습의 목적으로 수행된 연구로서 지원해주신 서울대학교 관계자 여러분들께 감사 드립니다. 또한 차세대 핵심 환경기술개발 사업(900-20080010)의 지원금으로 일부 수행한 바 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. Korea Maritime Institute : Developing Watershed Management Regime on Shihwa Coastal Area, 2001.
2. Yoo, J. K., Jeong, J. H., Nam, E. J., Jeong, K. M., Lee, S. W., Myun, C. S. : Zooplankton community

- and distribution in relation to water quality in the Saemangeum area, Korea : Change in Zooplankton community by the construction of sea Dyke. *Ocean and Polar Research*, **28**(3), 305-315, 2006.
3. Kim, K. T., Kim, E. S., Cho, S. R., Park, J. K., Kim, J. K., Lee, J. M. : Distribution of TOC and metals in the surface sediments of the Lake Shihwa. *The Korean Society of Marine Environment and Safety*, **5**, 159-164, 2008.
 4. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries : Shihwa Management Strategy and Regional Initiatives, 2001.
 5. Commission on Sustainable Development of Shihwa Area. Available from : http://www.kwater.or.kr/Kwateruser/Common/DownLoad.aspx?table=KOWACO_INFOOPEN_ATT&seq=182. Accessed December, 2004.
 6. Ministry of Environment Republic of Korea : Water and Wastewater Technology, 2004.
 7. Ministry of Environment Republic of Korea : Water and Wastewater Technology, 2007.
 8. Lane, D. J. : 16 S/23 S rRNA sequencing. John Wiley and Sons Inc., New York, 115-175, 1991.
 9. Hoefel, D., Monis, P. T., Grooby, W. L., Andrews, S., Saint, C. P. : Profiling bacterial survival through a water treatment process and subsequent distribution system. *Journal of Applied Microbiology*, **99**(1), 17586, 2005.
 10. Muyzer, G., DeWaal, E. C., Uitterlinden, A. G. : Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**(3), 695-700, 1993.
 11. Lee, S. H., Choi, B., Yi, S. M., Ko, G. P. : Characterization of microbial community during Asian dust events in Korea. *Science of the Total Environment*, **407**(20), 5308-5314, 2009.
 12. Cesar, M. R., Ronald, E. S. : Biosolids application in the Chihuahuan Desert: Effects on runoff water quality. *Journal of Environmental Quality*, **30**(1), 160-170, 2001.
 13. Guardabassi, L., Petersen, A., Olsen, J. E., Dalsgaard, A. : Antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**(9), 3499-3502, 1998.
 14. European Norm : Guideline for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC), 1997.
 15. Korean Water Quality Index. Available from : <http://www.kewi.re.kr>. Accessed December, 2008.
 16. Lie, H. J. : Changing Phases in coastal environment of the Saemangeum area by tideland reclamation project, mid-west of Korea. *Ocean and Polar Research*, **28**(3), 353-360, 2006.
 17. Lehner, A., Tasara, T., Stephan, R. : Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen. *International Journal of Food Microbiology*, **102**(2), 127-135, 2005.
 18. Cervenka, L., Kristlova, J., Peskova, I., Vytrasova, J., Pejchalova, M., Brozkova, I. : Persistence of *Arcobacter butzleri* CCUG 30484 on plastic, stainless steel and glass surfaces Brazilian. *Journal of Microbiology*, **39**(3), 517-520, 2008.
 19. Quan, Z. X., Im, W. T., Lee, S. T. : *Azonexus caeni* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from sludge of a wastewater treatment plant. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, **56**(5), 1043-1046, 2006.
 20. Sharma, J., Fulekar, M. H. : Phylogenetic Analysis of the potential microorganism for remediation of heavy Metals from the contaminated environment. *International Journals of Biometric and Bioinformatics*, **3**(2), 19-30, 2009.
 21. Tirola, M., Lahtinen, T., Vuento, M., Oker-Blom, C. : Early succession of bacterial biofilms in paper machines. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **36**(7), 929-937, 2009.
 22. Roh, Y., Gao, H., Vali, H., Kennedy, D. W., Yang, Z. K., Gao, W., Dohnalkova, A. C., Stapleton, R. D., Moon, J. W., Phelps, T. J., Fredrickson, J. K., Zhou, J. : Metal reduction and Iron biomineralization by a psychrotolerant Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella* sp. strain PV-4. *Applied and Environmental Microbiology*, **9**(4), 1-3, 2006.
 23. Rajbanshi, A. : Study on heavy metal resistant bacteria in Guheswori sewage treatment plant. *An International Biological Journal*, **6**(1), 52-57, 2008.
 24. Lee, J. Y., Kang, M. : Evaluation of treatment efficiency using non-control indicator in drinking water treatment process. *The Journal of Engineering Geology*, **16**(2), 153-159, 2006.
 25. Lee, H. T., Kim, H. Y., Park, H. J., Cho, Y. E., Ryu, S. Y., Lee, K. J., Jung, J. S., Ko, G. P. : Evaluation of influent water quality using indicator microorganisms in Lake Shihwa. *Korean Society of Environmental Health*, **34**(1), 86-94, 2008.