

하구퇴적토 환경에서 *E. coli*의 부착에 영향을 주는 물리화학적 요인

이 건 형

군산대학 생물학과

Physicochemical factors affecting the adsorption of *E. coli* in estuarine sediments.

Geon-Hyoung Lee

Department of Biology, Kunsan National University

ABSTRACT: The higher bacterial numbers on clay than on sand were caused by different environmental factors. Such factors affecting the adsorption of *E. coli* ATCC 11775 in the sediment as follows; optimal pH range for the adsorption of *E. coli* ATCC 11775 was pH 7.5-pH 9.5. *E. coli* ATCC 11775 were shown maxima in the salinity of 18.75‰ on sand type sediment and 12.5‰ on clay type sediment. Bacteria attached better to clay typed sediment than to sand typed sediment when organic substance was eliminated. Beef extract of 0.5%-1% concentration was found to promote the attachment of *E. coli* ATCC 11775 effectively. Peptone of 0.5% was enhanced the attachment on the clay, and peptone of 0.3%-5%, on the sand. *E. coli* ATCC 11775 was found to adsorb onto bentonite with the highest efficiency and on celite with the lowest efficiency. Efficiency of adsorption by inorganic ions was shown due to higher values of ion. Adsorption was achieved in the order of Al^{3+} , Ca^{2+} , Na^{+} .

KEY WORDS □ *E. coli*, adsorption, estuarine sediment.

자연 생태계 내에는 다양한 형태의 계면(interface)이 존재하는데 대표적으로 액체와 액체간(물-기름, 수층: thermocline, halocline), 기체와 액체간(물-대기, 물-기포), 고체와 기체간(토양-대기) 및 고체와 액체간(물-부유물질, 물-퇴적물) 등이다. 이와 같은 계면들은 미생물의 분포와 활성도에 중요한 영향을 미친다(Codner, 1969; Newman, 1974). 계면에 대한 미생물의 부착에 관계되는 연구는 ZoBell과 Anderson (1936)에 의해서 처음 연구되었으며 그 이후 해양(Marshall *et al.*, 1971; Wiebe and Pomeroy, 1972)과 담수환경(Brown *et al.*, 1977; Geesey *et al.*, 1978; Paerl, 1980), 식물표면과 미생물과의 관계(Dazzo, 1980a, 1980b) 및 동물의 표면과의 관계(McMeekin *et al.*, 1979; Walker and Nagy, 1980)

뿐만 아니라 선체(Corpe, 1970)와 파이프라인(Tyler and Marshall, 1967), 1967), 치아의 플라크 형성에까지 다양하게 연구되고 있다. 이러한 계면중 특히 자연 생태계에서 액체-고체가 이루는 계면은 미생물의 활동에 가장 많은 영향을 주는 생태학적 영역중의 하나인데 이중 지구상에서 가장 큰 생태계의 하나인 퇴적토가 대표적인 예이다. 생태학적인 면에서 수계 환경에서 부착된 세균(attached bacteria)과 자유유영관계(free living bacteria)중에 어느 형태가 더 생존에 유리한가는 아직까지도 해결되지 않은 문제이다. 이러한 문제는 수년전에 밝혀진 바에 의하면 영양물질의 재순환율은 대사가 활발한 세균에 의해서 이루어지며 이러한 과정은 수계에 존재하는 입자에 비례한다고 하였다(Wangersky, 1977). 또한 부착된

세균의 heterotrophic uptake는 자유유형 세균에 비해 4배이상크며(Kirchman and Mitchell, 1982). 아미노산의 섭취율도 부착된 세균에서 증가된다고 보고하였다(Bell and Albright, 1982). 부착이 생존에 필수적인 예로는 저서성 해조류, planktonic algae의 표면 등을 들 수 있으며 사토와 점토 혹은 동물의 배설물과 같은 미세 환경에서도 찾아 볼 수 있다. 이 중에서 특히 사토나 점토와 같은 퇴적토 환경은 물리화학적 환경의 변화가 심하여 부착현상이 미생물 생존에 필수적인 곳이다. 그러므로 자연 생태계의 퇴적토에서 중속영양 세균의 부착에 대한 연구는 이 환경에서의 유기물 분해와 물질순환 과정을 이해하는데 커다란 도움이 될 수 있다.

따라서 본 연구에서는 퇴적토에서 세균이 부착되는 기작을 밝히기 위한 기초적인 연구로 실험실내에서 입자크기가 상이한 두 종의 퇴적토를 대상으로 온도, pH, 염분, 유기물함량, 이온 및 점토 종류의 변화를 주었을 때 이러한 환경요인이 세균의 부착에 미치는 효과를 알아보았다.

재료 및 방법

1. 해수에서의 세균의 생존도

본 실험에서 사용된 균주는 *E. coli* ATCC 11775로서 본 실험에 들어가기 전에 해수 자체내에서의 생존도를 알아보았다. 실험균주를 young culture 하여 균체수를 2.65×10^7 cells/ml로 되게 한 후 해수에 투여하여 1분, 5분, 10분, 30분, 60분, 120분, 240분, 1440분 간격으로 채취하여 생존도를 관찰하였다. 이때 해수는 군산 외해에서 채수한 후 0.2 μ m membrane filter (millipore)로 여과하여 자연상태를 유지한 해수를 사용하였으며, 균체수 측정에 사용된 배지는 MacConkey medium (Difco) 이었다.

2. 세균의 부착에 미치는 pH의 영향

사토와 점토형 퇴적토 각각 100g에 멸균한 ASW (Artificial seawater) (Oppenheimer, 1963)를 300ml의 비율(Scheraga *et al.*, 1979)로 첨가한 후 각 용액의 pH를 0.1N HCl과 0.1N NaOH에 의하여 각각 pH5.5, pH6.5, pH7.5, pH8.5, pH9.5 및 pH10.5로 만들어 기수역에서

측정된 pH값을 중심으로 그 인근 pH 범위내에서의 세균의 퇴적토에 대한 부착현상을 관찰하였다. 이때 부착된 세균의 측정방법은 Scheraga 등 (1979)의 방법을 사용하였으며 부착된 세균의 계산방법은 Bitton 등(1980)의 방법을 사용하였다.

3. 세균의 부착에 미치는 온도의 영향

2.와 동일한 방법으로 사토와 점토형 퇴적토에 ASW를 각각 첨가한 후 4°C, 20°C, 37°C로 유지시켜 시간별로 부착상태를 관찰하였다. 이때 4°C의 해수에서는 cold shock를 줄이기 위하여 young culture한 실험균주를 직접 넣지 않고 20°C에서 접종 후 30분간 4°C에서 적응시켜 4°C의 조건으로 만들었다.

4. 세균의 부착에 미치는 염분의 영향

25‰의 해수를 6.25‰, 12.5‰, 18.75‰, 25‰의 농도로 희석하여 간만조에 따라 염분 농도가 변화되는 기수역과 유사한 퇴적토 환경을 만들어 준 후 실험균주가 사토 및 점토형 퇴적토에서 부착되는 상태를 측정하였다.

5. 세균의 부착에 미치는 유기물의 영향

5.1. 유기물을 제거한 퇴적토에서의 부착 : 현장에서 채취한 사토 및 점토형 퇴적토를 600°C로 4시간 처리하여 유기물을 제거시킨 후 각각의 퇴적토 100g에 ASW 300ml의 비율(Scheraga *et al.*, 1979)로 첨가하여 진탕기에서 1분간 혼합시켰다. 여기에 6×10^9 cells/ml의 실험균주 *E. coli* ATCC 11775를 부착시킨 후 10분, 30분, 60분, 120분, 240분, 480분, 1440분 간격으로 물과 퇴적토를 채취하여 MacConkey medium (Difco)에 접종하여 부착된 세균수를 측정하였다.

5.2. 자연상태의 퇴적토에서의 세균의 부착 : 금강하구에서 퇴적토를 채취하여 멸균시킨 후 실험균주의 부착상태를 5.1.에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

5.3. Beef Extract 및 Bacto-Peptone의 농도에 따른 세균의 부착 : 실험실에서 유기물로서 Beef Extract (Difco) 및 Bacto-Peptone (Difco)을 금강하구에서 측정된 유기물 농도를 기초로 하여 멸균된 ASW에 각 0.1%, 0.5%, 1%, 3%, 5%씩을 가한 후 사토 및 점토형 퇴적토에 각각 투여하였을 때 실험균주의 부착 효과를 관찰하였다.

6. 점토의 종류에 따른 세균의 부착

사토와 점토형 퇴적토 대신 Activated clay (Junsei Chemical), Celite 505(Shinyo Pure Chemical), Kaoline (Junsei), Bentonite (Yakuri Pure Chemical)를 각 10g에 saline 30ml의 비율로 첨가후 실험균주를 6.85×10^6 cell/ml로 각각에 가하였을때 점토의 형태에 따른 세균의 부착상태를 관찰하였다.

7. 여러가지 양이온의 농도에 의한 세균의 부착

5.1.의 방법으로 유기물을 제거시킨 사토와 점토형 퇴적토 10g에 멸균된 증류수 30ml를 첨가한 후 Carson 등(1968)의 방법을 일부 수정하여 NaCl, CaCl₂, Al₂(SO₄)₃를 10⁻³M, 10⁻²M, 10⁻¹M의 농도로 만들었다. 여기에 사토에는 1.54×10⁸ cells/ml, 점토는 1.17×10⁸ cells/ml의 균체수를 갖는 실험균주를 각각에 첨가하여 여러가지 양이온이 사토 및 점토내에 존재할 때 부착효과를 측정하였다.

결과 및 고찰

해수에서의 세균의 생존도

하구의 기수역은 해수와 담수가 교차되는 지역이므로 이 지역의 퇴적토는 담수계의 퇴적토에서와는 달리 해수의 영향을 많이 받게된다. 또한 퇴적토에 존재하는 세균의 경우도 해수 환경에 적응되어야 생존할 수 있다. 따라서 실험실내에서 이러한 해수 환경하에서 *E. coli* ATCC 11775를 점토와 사토에 각각 부착시킬 경우와 해수 자체내의 환경에서의 생존도를 조사하였다. 실험결과 *E. coli* ATCC 11775는 해수 내에서는 접종 후 3시간만에 50%가 사멸됨을 알 수 있다(Fig. 1). 그러나 사토나 점토에 부착되었을 경우는 부착된 지 3시간후 30%가 사멸되었으며 3시간 이후부터는 사멸되는율이 크게 둔화된 상태로 존재하는 것을 알 수 있었다(Roper and Marshall, 1979). 이때 사토보다는 점토에 부착되었을 경우 생존율이 보다 높은 편이었다. 이와같이 같은 조건의 해수 환경이라도 상층수보다 퇴적토에 존재하는 세균이 더 오래 생존하는 것은 자연계에서는 UV나 X선(Bitton *et al.*, 1972), 탈수(Geeseey, 1982), 항생물질, 포식자(Roper and Marshall, 1979)등과 같은 외부환경으로부터 오는 충격에 대

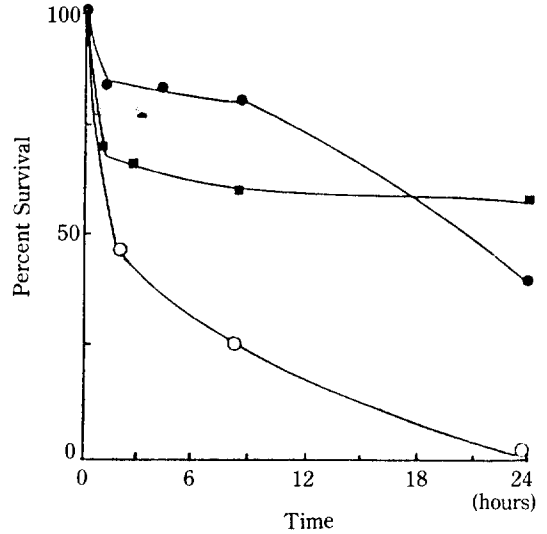


Fig. 1. Survival of *E. coli* ATCC 11775 in seawater and sediments.

해 보호를 받기 때문이며, 실험실에서도 이와 유사한 작용에 의한 것으로 생각된다.

세균의 부착에 미치는 pH의 영향

강염을 띤 Polystyrene anion exchange resin에 세균이 부착되는 실험은 Gillisen 등(1961)과 Zvaginsteve(1962)에 의해서 이루어진 적이 있는데, Gillisen 등(1961)에 의하면 Cation exchange resin에 여러 종류의 세균을 부착시킨 결과 부착이 거의 이루어지지 않았다는 보고가 있다. 또한 Ion Exchange resin과 세균간의 부착관계를 조사하기 위하여 Daniels(1972)는 6종의 세균을 batch system 내의 강염을 띤 Anion exchange resin에 부착시켰는데 이때 Ion exchange resin에서 세균은 "macroscopic zwitterion"으로 작용하여 pH 값이 세균보다 높은 경우에는 Anion exchange resin에 부착되고, pH 값이 세균보다 낮으면 Cation exchange resin에 부착된다고 하였다.

한편 자연계의 수계환경중 해수와 담수에서는 pH의 변화가 비교적 작은편이지만 기수역의 경우는 간만에 따라 pH의 상태가 변화되므로 이러한 pH의 변화에 따라 세균의 부착에도 영향을 줄 것이다. 따라서 실험실내에서 pH의 변화가 세균의 부착에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각 퇴적토의 환경에 pH의 변화를 주었을 때 세균의 부착효

과를 관찰하였다. 일반적으로 기수역의 상층수에서는 지역에 따라 차이가 있지만 측정되는 pH 값은 금강의 경우 pH6.85-pH8.3 (Oh *et al.*, 1985) 낙동강의 경우 pH6.18-pH8.17 (Hong *et al.*, 1987)의 범주에서 변화되었다. 따라서 실험실에서도 각 퇴적토의 pH 상태를 기수역에서 측정되는 pH 범주에 유사한 pH5.5-pH10.5로 변화시켰을 때 실험균주의 부착상태를 알아보았다. 그 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 사토형 퇴적토에서는 pH7.5에서 부착율이 56.2%로 가장 양호하였으나 pH7.5를 전후하여서는 부착율이 감소하여 pH5.5-pH6.5에서는 42%-48.7%, pH3.5-pH9.5에서는 18%의 부착율이 보였다. 그러나 점토형 퇴적토에서는 pH8.5에서 97.8%-99.3%로 최대의 부착율을 보였으며, pH5.5-pH6.5에서는 26.2%-59.7%, pH9.5에서는 55.3%로 부착율이 감소하여 해수 환경의 pH와 유사한 범주인 pH8.5에서 부착율이 최대를 나타냈다. 전반적으로 볼 때 사토형 퇴적토에서는 pH의 변화에 따라 세균부착에 커다란 영향을 주었으나 점토형 퇴적토의 경우 pH7.5-pH9.5 범주에서는 pH의 변화에 관계없이 부착이 잘 이루어졌다. 이와같은 결과는 본 실험의 pH범주와는 다소 다르지만 Hogg (1976)에 의하면 pH4-pH8 사이에서는 pH 값에 관계없이 수종의 그람음성 세균이 DEAE Cellulose에 잘 부착된다는 결과와 유사하였다.

세균의 부착에 미치는 온도의 영향

실험실내에서 각 퇴적토 환경의 온도를 4°C, 20°C, 37°C로 고정한 다음 실험균주인 *E. coli* ATCC 11775를 각각에 접종시켜 각 온도에 따른 부착효과를 관찰하였다(Fig. 2). 그 결과 사토형 퇴적토에서는 온도에 따른 부착변화가 심하여 4°C와 37°C에서는 초기 1시간에 80.6%-90.8%가 부착된 후 시간이 경과함에 따라 부착율이 오히려 감소하여 24시간후 4°C에서는 55.7%, 37°C에서는 61.6%의 부착율을 나타냈다. 그러나 20°C에서는 초기 1시간에 부착율은 18.3%로 낮았으나 시간이 경과됨에 따라 부착이 증가되어 24시간후에 66.6%의 부착율을 나타냈다. 한편 점토형 퇴적토에서는 사토형 퇴적토에서와는 달리 온도에 관계없이 초기에 95.5%-99%로 높은 부착율을 보였으며 시간이 경과되어도 부착율은 거의 감소되

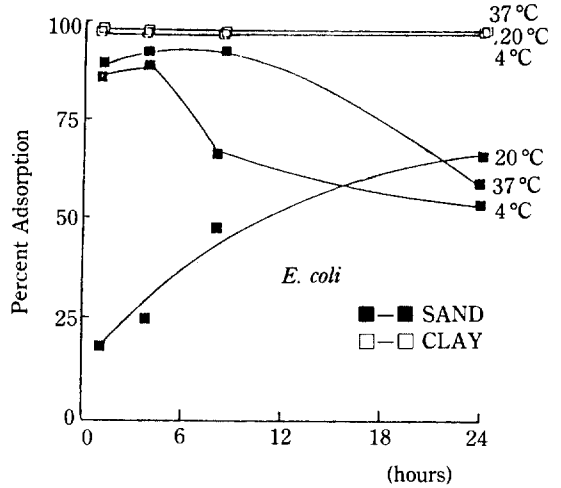


Fig. 2. Effect of temperature on percent adsorption of *E. coli* ATCC 11775 to sand-type and clay-type sediments.

지 않아 24시간 후에도 초기와 같이 부착율은 97.7%-99.5%로 높은 값을 유지하였다. 전반적으로 실험균주인 *E. coli* ATCC 11775는 온도 변화에 따라 사토형 퇴적토에서는 부착율의 변화가 심한 반면 점토형 퇴적토에서는 온도변화에 관계없이 비교적 안정된 부착율을 유지하였다.

세균의 부착에 미치는 염분의 영향

연안역이나 기수역에서는 강우량의 차이, 담수와 해수의 혼합효과, 담수의 유입 등에 의해서 염분농도의 변화가 다양하다. 따라서 이 지역 퇴적토에서의 세균의 부착 정도도 염분의 농도에 따라 변화될 것이다.

본 실험에서는 실험실내에서 사토 및 점토형 퇴적토 환경에서 기수역과 유사한 염분의 변화를 주었을때 세균의 부착효과를 살펴보았다(Table 2). 그 결과 담수상태의 사토형 퇴적토에서는 36.4%의 부착효과를 보였으나 기수역 환경과 유사한 6.25‰의 염분에서는 담수상태보다 다소 높은 39.

Table 1. Effect of pH in sediment environment on percent adsorption of *E. coli* ATCC 11775.

sediment type	pH of sediment environment (%)					
	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5
sand	48.7	42.0	56.2	18.0	18.2	ND*
clay	26.3	59.7	97.8	99.3	55.6	ND

ND* : Not determined

Table 2. Effect of concentration of seawater on percent adsorption of *E. coli* ATCC 11775.

sediment type	Concentration of seawater**(%)				
	0	25	50	75	100
sand	35.4	39.5	63.2	67.1	58.4
clay	72.9	84.8	87.0	86.4	84.1

** Initial salinity of seawater was 25‰

5%의 부착효과를 나타냈고 해수 환경으로 변화됨에 따라 부착효과가 점차 증가되었다. 또한 점토형 퇴적토에서는 사토형 퇴적토에서 보다 부착율이 더 높아 담수형태에서는 72.9%의 부착율을 보이다가 기수역 환경과 유사한 6.25‰에서는 84.8%를, 더 높은 농도에서는 부착율이 대체로 84.1%-87%를 유지하였다. 이와같이 염분의 농도에 따라 부착이 증가되는 것은 Roper와 Marshall (1979)의 보고에 의하면 세균을 Saline sediment에 첨가하면 첨가된 세균이 desorption되는 율은 전해질의 농도가 낮을수록 증가된다고 했다. 이와 마찬가지로 자연상태의 퇴적토에 존재하는 세균은 전해질의 농도를 낮추면 쉽게 desorption되고 전해질의 농도가 높으면 부착율이 증가되어 (Marshall, 1985) 퇴적토내에서 세균의 부착은 전해질의 농도에 따라 가역적으로 변화될 수 있는 것으로 생각되어진다.

세균의 부착에 미치는 유기물의 영향

유기물이 제거된 퇴적토에서의 부착 : 퇴적토 환경에서 미생물의 분포는 균일하지 않으며 (Gray *et al.*, 1968) 미생물의 분포는 토양 입자나 유기물의 분포 등에 의해서 크게 좌우된다 (Siala *et al.*, 1974). 따라서 본 연구에서도 실험실내에서 유기물이 제거된 퇴적토의 입자 크기에 따라 미생물의 부착상태를 살펴보았다. 유기물을 제거시킨 사토와 점토에 *E. coli* ATCC 11775를 접종하였을 경우 사토에서는 접종한지 10분에서 480분까지는 14%-18.5%가 부착되어 부착상태가 저조하다가 1440분 후에야 62%가 부착되었다. 그러나 점토에서는 접종한지 30분후에 33.3%가 부착되었으며 그 이후 부착율이 38.5%-40.2%로 일정한 값을 유지하였다 (Table 3). 이러한 결과는 금강하구 기수역의 퇴적토에서 조사된 토양입자의 크기와 미생물 분포간의 상관관

Table 3. Percent adsorption of *E. coli* ATCC 11775 as a function of time on sand and on clay. A) Treated with 600°C for four hours to eliminate organic substances. B) in situ condition. %

Sediment type	Time (min.)							
		10	30	60	120	240	480	1440
A	sand	14.0	18.0	17.0	24.0	17.7	18.5	62.0
	clay	3.2	33.3	38.5	39.7	39.3	40.2	39.9
B	sand	24.4	17.9	18.3	15.5	25.5	47.5	66.6
	clay	98.9	99.3	99.0	99.0	99.8	99.6	99.5

계에서도 입자의 크기와 미생물 분포간에는 일정한 상관관계가 있음을 알 수 있다 (Fig. 3).

자연상태의 퇴적토에서의 세균의 부착 : 한편 금강하구 기수지역에서 채취한 퇴적토를 멸균 후 사토에는 2.72×10^9 cells/ml, 점토에는 6.23×10^9 cells/ml의 균체수를 부착시킨 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 사토에서는 초기 10분에 24.4%가 부착되었으며 480분 후에는 47.5%, 1440분에는 66.6%까지 부착되었다. 반면 점토에서는 초기에 98.9%가 부착된 후 1440분까지 최초의 부착율이 유지되어, 유기물이 제거된 상태의 퇴적토에서는 서서히 부착되며 부착율이 40%로 측정되었으나 유기물이 존재할 때에는 부

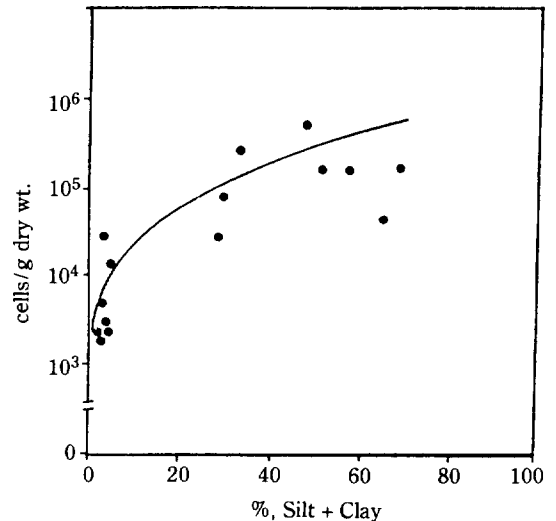


Fig. 3. A relationship between grain-size and heterotrophic bacterial densities in the Kum river estuarine sediments.

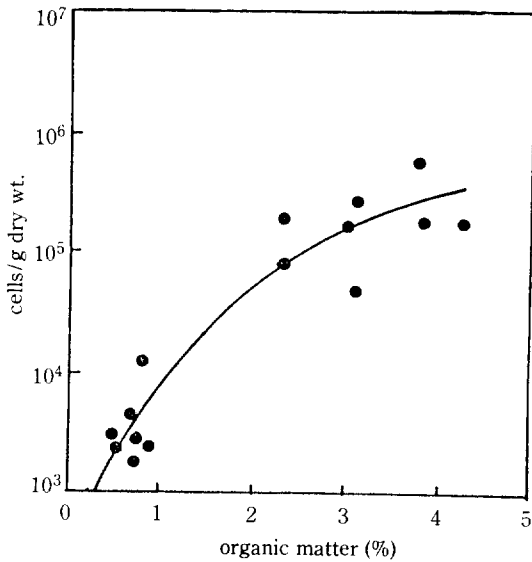


Fig. 4. A relationship between organic matter contents and heterotrophic bacterial densities in the Kum river estuarine sediments.

착율이 99%까지 유지되어 실험실 환경에서 유기물의 존재 유무에 따라 미생물의 부착에 상당한 차이가 있음을 알 수 있었다. 이러한 사실은 금강하구 기수역에서 조사한 결과와도 일치되어 퇴적토에 존재하는 유기물의 양이 미생물의 분포에 큰 영향을 미침을 알 수 있다(Fig. 4). 이와같이 자연환경상태에서 세균의 분포가 수계환경에서 보다 퇴적토 환경에서 더 높게 나타나는 것은 퇴적토의 표면은 전하를 띤 입자가 농축되어 있어 부착에 관여할 뿐만 아니라(Bitton and Marshall, 1980, Kefford *et al.*, 1982), 대부분의 표면은 유기물이나 무기물을 함유하여 영양원으로도 제공되기 때문이다. 유기물의 경우 아미노산, peptides, 지방, 유기산 및 다양한 polymer 등이 수계환경에 비해 수배 이상이 퇴적토 환경에 부착되어 있으며(Marshall, 1976; Paerl and Mekel, 1982), 무기물로는 인(Paerl and Merkel, 1982) 철(Stumn and Morgan, 1981), 칼슘, 구리(Wallace, 1982) 등이 자연환경에서 농축되어 있다. 더우기 퇴적토에서는 미생물 대사도 촉진되어(Fletcher, 1979; Kirchman and Mitchell, 1982), 자유유형 세균보다 입자에 부착된 세균이 유기물이나 인산염 인 등과 같은 영양염류의 섭취가 높으며 대사작용도 활발하여 성장이나 생산력

이 증진된다는 것이 밝혀졌다(Paerl and Goldman, 1972; Wangersky, 1977).

Beef Extract의 농도에 따른 세균의 부착 : 유기물이 제거된 사토 및 점토형 퇴적토에 Beef Extract를 각각 첨가하였을 때 *E. coli* ATCC 11775의 부착되는 율을 측정하였다(Table 4). 유기물이 제거된 사토에서는 18%의 부착율을 보였으나 Beef Extract를 0.1% 첨가하였을 때 31%, 0.5% 첨가시 40.9%로 부착율이 점차 증가되었다. 하지만 Beef Extract를 1% 첨가하였을 때는 35.8%, 5% 첨가시 34%로 부착율이 오히려 감소되어 0.5%첨가시 가장 높은 부착율을 보였다. 반면 점토형 퇴적토에서는 유기물이 제거된 상태에서는 33.3%의 부착율을 보였으나 Beef Extract를 첨가할수록 부착율이 증진되어 1% 첨가시 39.2%로 최대값을 보이다가 그 이후는 34.9%-35.8%의 부착율을 유지하였다. 따라서 인위적으로 유기물을 첨가하였을 때 유기물의 농도가 일정수준까지는 미생물의 부착이 증진되었으나 유기물의 농도가 높은 경우는 오히려 부착이 감소됨을 알 수 있었다.

Peptone 농도에 따른 세균의 부착 : 단백질로서 Peptone을 각기 다른 농도로 주었을 때 퇴적토 입자크기에 따라 *E. coli* ATCC 11775가 부착되는 효과를 관찰하였다(Table 4). 그 결과 사토에서는 첨가된 Peptone의 농도가 0.5%-1% 될 때에 47.1%-49.3%로 가장 높은 부착율을 보인 반면 점에서는 0.5%-1%의 Peptone을 첨가하였을 때는 35.2%-36.0%로 낮은 부착율을 나타내다가 Peptone을 3% 첨가하였을 때 56.9%로 가장 높은 부착율을 보였다. 이와같이 Peptone이 세균의 부착에 관계되는 것은 Peptone은 서로 다른

Table 4. Effect of organic substance concentration in sediment on percent adsorption of *E. coli* ATCC 11775.

Organic sources	sediment type	Concentration of Beef Extract(%)					
		0	0.1	0.5	1	3	5
Beef extract	sand	18.0	31.0	40.9	35.8	34.5	34.0
	clay	33.3	37.5	31.4	39.2	35.8	34.9
Bacto-Peptone	sand	18.0	15.9	47.1	49.3	23.5	18.4
	clay	33.3	33.8	35.2	36.0	56.9	49.0

pK 값을 갖는 아미노산으로 이루어져 있으며 pH 상태에 따라 양전하와 음전하의 비율이 달라진다. 또한 큰 분자의 Peptone은 퇴적토와 여러가지 물리적 결합의 형성을 촉진한다. 따라서 퇴적토에 존재하는 세균의 부착도 Peptone의 농도에 따라 영향을 받게되기 때문이다(Dashman and Stotzky, 1982, 1985).

점토의 종류에 따른 세균의 부착

점토의 종류에 따라 화학적 구성 성분이 각기 다르며 이에 따른 세균의 부착 정도도 달라질 것이다. 따라서 최근에 Clay, Silt, Hydroxyapatite와 같은 퇴적토 입자에 토양이나 수계에 존재하는 중속영양 세균이 부착되었을때 그 활성에 미치는 효과에 대한 연구가 활발하다(Kunc and Stotzky, 1977; Laanbroek and Geerligs, 1983; Martin et al., 1976).

본 실험에서는 각기 다른 점토로 Activated clay, Bentonite, Kaoline 및 Celite를 재료로 하여 실험균주를 부착시켰을 때 그 부착효과를 관찰하였다. Activated clay, Bentonite, Kaoline의 경우는 91.2%-98.6%로 부착율의 차이가 근소하였으나, Celite는 11.0%의 부착율을 보여 가장 낮은 부착효과를 보였다(Table 5). 이와같이 Activated clay, Bentonite, Kaoline 등에서 부착 효과가 높은 것은 구성성분중 trivalent aluminum(Al^{3+})이나 divalent magnesium(Mg^{2+}) tetravalent silicon(Si^{4+}) 등과 같은 다가 양이온이 많이 포함되어 있기 때문으로 생각된다(Stotzky, 1985).

여러가지 양이온의 농도에 의한 세균의 부착

무기 이온은 세균의 부착을 증진시킨다는 보고가 있다. 예를 들면 NaCl이나 KCl의 농도를 0.1M까지 증진시키면 *Streptococci faecium*의 부착이 증진되었고(Orstavik, 1977), 2가 이온중 Ca^{2+} 와 Mg^{2+} 이온은 몇몇 해양세균의 부착을 증

진시켰다는 보고가 있었으며(Marshall et al., 1971), 3가 이온인 Ca^{3+} 와 Al^{3+} 는 *Streptococci*의 부착을 증진시켰다(Olsson et al., 1976). 반면 해양세균인 *Pseudomonad*의 경우는 La^{3+} 나 Al^{3+} 을 첨가시키면 오히려 부착이 억제되었다(Fletcher, 1980). 이와같이 무기이온의 존재는 세균의 부착을 증진시키거나 억제시킬 수 있다. 따라서 여러가지 양이온이 퇴적토내에 존재할 때 이러한 양이온에 의하여 실험균주의 부착에 미치는 영향을 알아보기 위하여 사토 및 점토형 퇴적토에 Na^+ , Ca^{2+} , Al^{3+} 이온을 각각 $10^{-3}M$, 10^{-2}

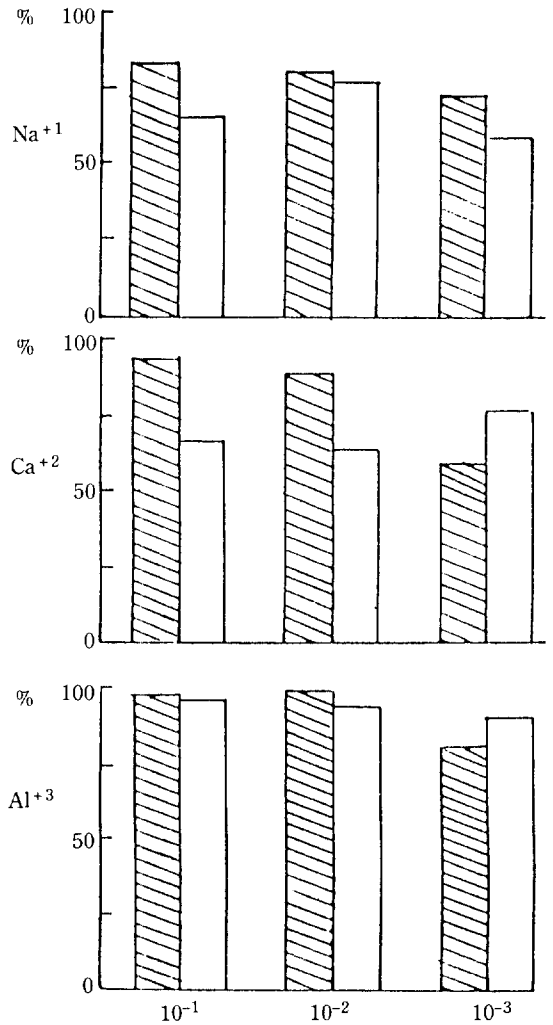


Fig. 5. Effect of ion concentrations on the adsorption of *E. coli* ATCC 11775 to sediments.
 [Hatched bar] SAND, [White bar] CLAY

Table 5. The effect of sediment types on the adsorption of *E. coli* ATCC 11775. %

Type of sediment	Activated clay	Celite 545	Kaoline	Bentonite
<i>E. coli</i> ATCC 11775	98.5	11.0	91.2	98.6

M, 10^{-1} M의 농도로 넣어준 다음 30분간 부착시켰다. 이때 대조 표준으로는 Table 3의 A를 참조로 하였다. 사토형 퇴적토에서는 Na^+ 이온을 첨가시켰을 때 농도에 따른 부착율은 72.3%-83.3%로 대조구에 비해 4배가량 부착이 증가되었다. 하지만 점토형 퇴적토에서는 점토 자체가 사토에 비해 세균에 대하여 부착율이 높기 때문에 (Table 3) Na^+ 이온을 첨가하였을 때 대조구에 비해 부착율은 2.5배가량 증가하였다. Ca^{2+} 이온을 첨가하였을 때는 Na^+ 이온을 첨가하였을 때 보다 사토형 퇴적토에서는 10^{-2} M- 10^{-1} M의 농도에서는 부착율이 89.1%-91.7%로 크게 향상되었지만 점토형 퇴적토에서는 Na^+ 이온을 첨가하였을 경우와 마찬가지로 Ca^{2+} 이온을 농도별로 첨가하였을 때 부착율이 크게 향상되지는 않았다. 한편 Al^{3+} 이온을 첨가하면 사토형 퇴적토에서는 Na^+ , Ca^{2+} 이온을

첨가하는 것 보다 부착율이 높아졌으며 점토형 퇴적토에서도 *E. coli* ATCC 11775의 부착에 상당한 효과를 주었다 (Fig. 5).

이상에서 보는 바와 같이 퇴적토의 입자 크기에 따라 이온 농도에 따른 부착 효과는 달랐으나 대체로 원자기가 높을수록 세균부착에 영향을 주고 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 Santoro와 Stotzky (1968)의 결과와도 일치하였다. 그들에 의하면 토양의 종류를 달리하여 퇴적토 입자에 세균을 부착시켰을 때 퇴적토와 세균간의 부착이 이루어지기 전에 먼저 두 물질간의 EKP (Electrokinetic Potential)의 감소가 필요하며 이러한 EKP의 감소는 다원자가를 갖는 양이온에 의해서 감소될 수 있다고 했다. 그러므로 양이온의 원자기가 증가될수록 퇴적토와 세균간의 부착이 쉽게 이루어질 수 있다고 하였다.

적 요

입자크기가 서로 상이한 두종의 퇴적토에서 주요 물리 화학적 환경요인의 변화가 *E. coli* ATCC 11775의 부착에 미치는 영향을 조사하였다.

pH는 점토형 퇴적토에서는 pH7.5-pH9.5에서, 사토형 퇴적토에서는 pH5.5-pH7.5에서 부착상태가 양호하였다.

염분의 영향을 살펴보면 기수역환경과 유사한 12.5%-18.75%의 염분도에서 부착율이 가장 좋았다.

유기물이 제거된 상태의 퇴적토에서는 입자크기가 작을수록 세균의 부착이 잘 되었으며, 자연상태의 퇴적토에서는 유기물이 많은 점토형 퇴적토가 사토형 퇴적토보다 부착효과가 더 좋았다. 한편 유기물로서 Beef Extract와 Bacto Peptone을 첨가한 결과 Beef Extract는 사토 및 점토에서 0.5%-1.5%의 농도일때 *E. coli* ATCC 11775의 부착이 가장 좋은 반면, Peptone의 경우 사토에서는 0.1%-0.5% 첨가시, 점토에서는 3%-5% 첨가하였을 때 부착효과가 가장 좋았다.

점토의 종류에 따른 부착효과를 살펴보면 Bentonite에서 98.6%로 부착율이 가장 좋은 반면 Celite에서는 11%로 부착율이 가장 낮았다.

또한 여러 이온가에 따른 부착효과는 대체로 Al^{3+} , Ca^{2+} , Na^+ 순으로 이온가가 높을수록 부착이 잘되었다.

REFERENCES

1. Bell, C.R. and L.J. Albright, 1982. Attached and free-living bacteria in a diverse selection of water bodies. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 1227-1237.
2. Bitton, G., Y. Henis, and N. Lahauu, 1972. *Appl. Microbiol.* **23**: 870.
3. Bitton, G. and K.C. Marshall, 1980. Adsorption of microorganisms to surfaces. John Wiley and Sons. New York.
4. Brown, C.M., D.C. Ellen, and J. R. Hunter, 1977. Growth of bacteria at surfaces: Influence of nutrient limitation. *FEMS Microbiol. Lett.* **1**: 163-166.
5. Carlson, G.F., Jr., F.E. Woodard, D.F. Wentworth and O.J. Sproul, 1969. Virus inactivation on clay particles in natural waters. *J. WPCF.* **40**: R89-106.
6. Codner, R.C., 1969. Solid solified growth media in microbiology. In: *Methods in Microbiology* (Eds. by J.R. Norris and D.W. Ribbons). **1**: 427-454 Academic Press. London.
7. Corpe, W.A., 1970. Attachment of marine

- bacteria to solid surfaces. In: Adhesion in Biological systems (Ed. by R.S. Manley). pp. 73-87. Academic Press. New York.
8. Daniels, S.L., 1972. The adsorption of microorganisms onto solid surfaces. A review. *Developments in Industrial Microbiology*. **13**: 211-253.
 9. Dashman, T. and G. Stotzky, 1982. Adsorption and binding of amino acids on homoionic montmorillonite and kaolinite. *Soil Biol. Biochem.* **14**: 447-456.
 10. Dashman, T. and G. Stotzky, 1985. Microbial utilization of amino acids and a peptide bound to homoionic montmorillonite and kaoline. *Soil. Biol. Biochem.*
 11. Dazzo, F.B., 1980a. Adsorption of microorganisms to roots and other plant surfaces. In: Adsorption of microorganisms to surfaces (Eds. by G. Bitton and K. C. Marshall). pp. 253-316. John Wiley and Sons. New York.
 12. Dazzo, F. B. 1980b. Microbial adhesion to plant surfaces. In: Microbial adhesion to faces. (Eds. by R.C.W. Berkeley, J.M. Lynch, J. Melling, P.R. Rutter and B. Vincent). pp. 311-328. Chichester, England: Ellis Horwood.
 13. Fletcher, M., 1979. A microautoradiographic study of the activity of attached free-living bacteria. *Arch. Microbiol.* **122**: 271-274.
 14. Fletcher, M., 1980. Adhesion of marine microorganisms to smooth surfaces. In: Bacterial adhesion (Ed. by E.H. Beachey). Chapman and Hall. London.
 15. Geesey, G.G., R. Mutch, J.W. Costerton, and R.B. Green., 1978. Sessile bacteria: An important component of the microbial population in small mountain streams. *Limn. Oceanogr.* **23**: 1214-1223.
 16. Geesey, G.G., 1982. Microbial exopolymers: Ecological economical considerations. *ASM News*. **48**: 9-14.
 17. Gillisen, G., H. Scholz, and C. Denhart, 1961. The treatment of microbial suspensions with ion exchangers. *Archiv fur Hygiene und Bakteriologie*. **145**: 145-152.
 18. Gray, T.R.G., P. Baxby, I.R., Hill, and M. Goodfellow, 1968. In: The ecology of soil bacteria (Eds. by T.R.G. Gray and P. Parkinson). p. 171. Liverpool U.P., Liverpool. U.K.
 19. Hogg, S.D., 1976. Studies on the interaction of selected Gram negative bacteria with DEAE cellulose. Ph. D. thesis University of Salford.
 20. Hong, S.W. *et al.*, 1987. The ecological baseline studies in the estuary of Naktong River. Industrial Sites & Water Resources Development Corporation.
 21. Kefford, B.S., S. Kjelleberg, and K.C. Marshall, 1982. Bacterial Scavenging: Utilization of fatty acids located at solid-liquid interfaces. *Arch. Microbiol.* **133**: 257-260.
 22. Kirchman, D.L. and R. Mitchell, 1982. Contribution of particle-bound bacteria to total microheterotrophic activity in five salt ponds and two marshes. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 200-209.
 23. Kunc, F. and G. Stotzky, 1977. Acceleration of aldehyde decomposition in soil by montmorillonite. *Soil Sci.* **124**: 167-172.
 24. Laanbroek, H.J. and H.J. Geerligts, 1983. Influence of clay particles (Illite) on substrate utilization by sulfate reducing bacteria. *Arch. Microbiol.* **134**: 161-163.
 25. Marshall, K.C. and R. Stout. 1971. Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J. Gen. Microbiol.* **68**: 337-348.
 26. Marshall, K.C., 1976. Interfaces in Microbial Ecology. Harvard University Press. Cambridge, Mass.
 27. Marshall, K.C., 1985. Mechanisms of bacterial adhesion at solid-water interfaces. In: Bacterial Adhesion-Mechanisms and physiological significance (Eds. by D.C. Savage and M. Fletcher). pp. 133-161.
 28. Martin, J.P. *et al.*, 1976. Effect of montmorillonite and humate on growth and metabolic activity of some Actinomycetes. *Soil Biol. Biochem.* **8**: 409-413.
 29. Mcmeekin, T.A., C.J. Thomas, and D. McCall, 1979. Scanning electron microscopy of microorganisms on chicken skin. *J. Appl. Bac-*

- teriol.* **46**: 195-200.
30. Newman, H.N., 1974. Microfilms in nature. *Microbios.* **9**: 247-257.
 31. Oh, S.H. and G.H. Lee, 1985. Hydrographic and physicochemical water quality of Kum River. *Bulltin of the KACN.* **7**: 5-16.
 32. Olsson, J., P.O. Grantz, and B. Krasse, 1976. Surface potential and adherence of oral streptococci to solid surfaces. *Scandinavian J. of Dental Research.* **84**: 240-242.
 33. Oppenheimer, C.H., 1963. Symposium. on marine microbiology. pp. 133-150. Thomas, Springfield, Illinois.
 34. Orstavik, D., 1977. Sorption of Streptococci to glass: Effect of macromolecular solutes. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica.* **85**: 47-53.
 35. Paerl, H.W. and C.R. Goldman, 1972. Stimulation of heterotrophic and autotrophic activities of a planktonic microbial community by siltation at Lake Tahoe, California, Mam. 1st Ital. Idrobiol. Suppl. **29**: 129-147.
 36. Paerl, H.W., 1980. Attachment of microorganisms to living and detrital surfaces in freshwater systems. In: Adsorption of microorganisms to surfaces(Eds. by G. Bitton and K.C. Marshall). pp. 375-402. John Wiley and Sons, N.Y.
 37. Paerl, H.W. and S. Merkel, 1982. The effects on particles on phosphorus assimilation in attached vs. free floating microorganisms. *Arch. Hydrobiol.* **93**: 125-134.
 38. Roper, M.M. and K.C. Marshall, 1979. Effect of salinity on sedimentation and of particulates on survival of bacteria in estuarine habitats. *Geomicrobiol. J.* **1**: 103-116.
 39. Santoro, T. and G. Stotzky. 1968. Sorption between microorganisms and clay minerals as determined by the electrical sensing zone particle analyzer *Can. J. Microbiol.* **14**: 229-307.
 40. Scheraga, M., M. Meskill, and C.D. Litchfield. 1979. Analysis of methods for the quantitative recovery of bacteria sorbed onto marine sediments. In: *Methodology of biomass determinations and microbial activity in sediments.* ASTM STP 673. (Eds. by C.D. Litchfield and P.L. Seyfried). pp. 21-39.
 41. Siala, A., I.R. Hill, and T.R.G. Gray. 1974. *J. Gen. Microbiol.* **81**: 183.
 42. Stotzky, G. 1985. Mechanisms of adhesion to clays with reference to soil systems. In: *Bacterial adhesion-Mechanisms and physiological significance.* Plenum Publishing Corp., N.Y.
 43. Stumm, W. and J.J. Morgan. 1981. *Aquatic Chemistry.* 2nd Ed., Wiley. N.Y.
 44. Tyler, P.A. and K.C. Marshall. 1967. Microbial oxidation of manganese in hydro-electric pipelines. *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. Serol.* **33**: 171-1832.
 45. Walker, P.D. and L.K. Nagy. 1980. Adhesion of organisms to animal tissues. In: *Microbial adhesion to surfaces*(Eds. by R.C.W. Berkeley *et al.*). pp. 473-494. Chichester, England: Ellis Horwood.
 46. Wallace, G.T. 1982. The association of copper, mercury and lead with surface active organic matter in coastal seawater. *Mar. Chem.* **11**: 379-385.
 47. Wangersky, P.T. 1977. The role of particulated matter in the productivity of surface water. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* **30**: 546-564.
 48. Wiebe, W.J. and L.R. Pomeroy. 1972. Microorganisms and their association with aggregates and detritus in the sea: A microscopic study. *Memorie dell'Istituto italiano di idrobiologia dott.* **29** (suppl.) 325-352.
 49. ZoBell, C.E. and D.Q. Anderson. 1936. Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea and the influence of oxygen tension and solid surfaces. *Biological Bulletin.* **71**: 324-342.

(Received June 14, 1988)