제주도내 서귀포시 해안가 저지대용천수의 미생물학적 오염도 조사

한용재*, 김만철*, 문영건**, 허문수*
*제주대학교 해양과학대학 수산생명 의학과 해양 응용 미생물 & 어류질병 제어 연구실
**(주)해이래
e-mail:msheo@jejunu.ac.kr

Microbiological Pollution Investigation of Spring water in Seogwipo city of Jeju Island

Yong-Jae Han*, Man-Chul Kim*, Yung-Gun Moon**, Moon-soo Heo*
*Marine Applied Microbes and Aquatic Organism Disease Control Lab, Department of Aquatic Biomedical Sciences, College of Ocean Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, South Korea
**Haeirae Inc.

요 약

The bacteriological examination of spring water in Seogwipo-city was conducted. A total 11 spring water samples were performed from January to April, 2010. During the study period, the range of temperature was from 0.7 to 15.4℃, and result of the analyses showed that hydrogen ion concentrations (pH) for spring water was 0.33 to 7.8. salinity levels for sample average of 0.5 to 1.04‰, as the result of measuring dissolved oxygen (DO) for spring water showed that water dissolved oxygen were 1.02 to 7.14 ㎎/ℓ. The range of total coliform of spring water sample at 11 stations located in the designated spring water were <1.8~>1,600 MPN/100mL. And the range of geometric mean of total coliform were 1.9~117.1 MPN/100mL, The range of fecal coliform of spring water sample at 11 stations located in the designated spring water were <1.8~>1,600 MPN/100mL. And the range of geometric mean of fecal coliform were 1.8~68.1 MPN/100mL, respectively. Level of microbial contamination was examined in 11 samples for indication of bacterial contamination such as heterophic bacteria, *Escherichiacoli*O157;H7, *salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp. Were frequently detected from the spring water. *Salmonella* spp., *S.aureus* were detected in the range of 0~1.0x10^1, 0~3.0x10^1 CFU/ml, respectively, And the *Escherichia coli* O157;H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella* spp. Were not detected from the examined spring water samples.

1. 서론

인류의 생활에서 물은 없어서는 안 되는 귀중한 생명자원이다. [1-2] 제주도는 해안을 따라 곳곳에서 지층이나 암석의 틈을 통해 용출되는 용천수가 분포하고 있으며, 용천수는 상수도가 보급되지 않았던 1980년대 이전까지 식수원뿐만 아니라 생활 및 농업용수로 이용되어온 제주의 생명수였다.[3-5] 인구의 증가와 생활수준의 발달로 인한 생활 쓰레기 및 원예작물들의 생산성을 증대하기 위한 화학 비료와 축산폐기물 등의 오염원증가에 따른 수질오염 등으로 음용수로 쓰이는 지하수에 대한 중요성이 날로 부각되어지고 있다.[6-7] 이러한 수질오염을 평가하는데 있어서 미생물지표를 이용하여 수질을 관리하고 평가하는 연구가 오래 전부터 시도되어왔고, 이미 세계 각국은 오염 정도를 파악할 수 있는 기준을 마련하고, 정확한 수질관리를 위한 연구를 진행하고 있다. 호소수질환경기준에는 총대장균과 분원성 대장균군이 포함되어 있다.[8-11] 미생물의 대한 기준을 수질관리에 적용하기 위한 연구가 우리나라에도 폭넓게 진행되고 있으며,[12-14] 기준이 점차 강화되는 경향을 보이고 있다. 수질오염을 평가하기 위한 미생물학적인 지표로서 분원성대장균(Fecalcoliform), 총대장균군(Totalcoliform), 대장균(*E. coli*)등이 대표적이다. 이들은 사람과 환경 내에 많이 분포하고 환경의 변화에 안정하여 지표미생물로의 기본 조건을 충족시키

며 오염원에 대한 특이성을 가지고 있어 수질을 평가하는데 널리 이용되고 있다.[15,16] 본 연구를 통하여 해안으로 용출되는 서귀포시에 위치한 용천수에서 미생물학적인 수질오염의 평가와 비교를 하여 고찰해보자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 조사기간 및 조사정점

본 연구에서 현장조사 및 시료채취는 2010년 1월, 2월, 3월, 4월에 실시하였으며, 조사 정점은 제주도 내 서귀포시 해안가에 위치한 용천수 지역을 조석간만의 차이에서 간조 시 해수와 혼합이 적고 채집이 용이하고 11개 지점을 선정하였다.

2.2 시료의 채취 및 이화학적 분석

본 실험에 사용된 용천수는 멸균된 250㎖ 채수병에 담아 4℃의 냉장상태를 유지하면서 실험실로 운반하여 미생물 분석실험을 실시하였다. 수온 및 염분, pH, 용존산소(DO)는 YSI 556 MPS의 probe module을 현장에서 그 측정값을 산출하였다.

2.3 총대장균군(Total coliform) 측정

본 연구에 사용한 대장균 검사는 미국 APHA의 Recommended Procedures for the Examination of Sea Water and Shellfish (1970)에 따랐으며 최확수법(MPN; Most Probable Number Method)에 따라 lauayl tryptose Broth를 사용하여 10ml에 접종 후 35±0.5℃에서 24±2 시간 배양 하고 24시간 단위로 가스 생성을 관찰, 가스가 생성된 것은 추정시험 양성으로 기록하고 확정시험을 실시하였다. 확정시험은 brilliant green lactose bile broth에 접종하여 35.0±0.5℃의 incubator에서 배양하며 24시간마다 관찰 및 발효관에 가스가 관찰시 에는 확정 판단하였다.[18]

2.4 분변계대장균(Fecal coliform) 측정

가스가 생성 된 것을 EC broth에 접종한 후 44.5±0.2℃ water bath에서 배양하여 발효관에 가스가 관찰 시에는 확정 판단하였다.

2.5 일반세균 측정

채취한 용천수 시료는 1㎖을 취하여 9㎖의 멸균된 0.85% 생리식염수에 단계별 희석하여 Plate counter Agar를 사용하여 일반세균을 측정 하였다.

2.6 *Staphylococcus aureus* 측정

시료를 Tryptic Soy Broth에 접종 후 37℃에서 24시간 배양 후 Mannitol Salt Agar에 도말하여 37℃에서 24시간 배양한 후 mannitol 분해능이 있는 황색불투명 집락과 주변에 혼탁한 백색환이 있는 집락에 대해 확정 시험으로 Gram staining을 실시하였고, catalase test, DNase test로 확인 하였다.[18,19]

2.7 *Escherichia coli* O157:H7 측정

용천수 시료를 EC broth에 접종 하여 37℃의 Water base에서 24시간의 증균 과정을 거친 후 *E. coli* O157:H7의 선택배지인 MacConkey Sobitol agar에 접종하여 도말한 후 37℃에서 배양한 후, Sobitol을 분해하지 못하는 white colony를 선별하여 확정 시험은 Eosin Methylene Blue agar를 사용하여 확인하였다. 최종 분리된 균은 API 20E kit 를 사용하여 확정 시험을 측정 실시하였다.[18,19]

2.8 *Salmonella* spp. 측정

시료 1 ㎖을 MacConkey agar에 도말하여 37 ℃에서 24시간 배양하여 자란 무색투명한 colony를 선택하여 확인시험을 하였다. 확정 시험은 Triple Sugar Iron Agar를 사용하여 확인하고, API 20E kit으로 동정하였다.[20]

2.9 *Vibrio parahaemolyticus* 측정

용천수 시료를 선택배지인 TCBS배지에 도말하여 청녹색 단일 집락을 확인한 후 확인시험은 선택배지상에서 의심되는 집락을 선택하여 Triple Sugar Iron Agar에서 확인한 후 API 20NE kit을 이용하여 동정하였다.[18,19]

2.10 *Shigella* spp. 측정

용천수 시료를 *Shigella* spp. 선택배지인 XLD Agar에 도말 후 24시간 동안 관찰하여 종 특이적인 콜로니를 보이는 집락을 선택하고, 감별 배지인 Triple Sugar Iron Agar에서 확인한 후 API 20E kit으로 동정하였다. [20]

3. 결과 및 고찰

3.1 용천수의 정점별 수온, 염분, pH, DO 측정 결과

2010년 1월부터 4월까지 서귀포시의 해안가에 위치한 총 11곳의 용천수 일반수질을 2010년 1월부터 4회 조사한 결과를 정점별로 평균값을 (Table 1)에 나타내었다. 용천수의 모든 정점별 평균 수온 값은 15.4±0.77℃를 나타냈다. 염분농도의 평균값은 0.50±1.05‰를 나타냈다. 이는 용천수가 해안가에 위치해 있어서 만조시 연안 해역과 혼합이 되어 염분이 올라간 것이라 사료된다. 용천수의 pH 조사결과 7.80±0.34로 전반적으로 pH 7~8 범위안의 조사결과를 얻었으며 표준편차 또한 1.0이하의 값을 나타내었다. 용존산소량은 화학적 산소 요구량과 같이 수질의 유기물 오탁지표로 사용되는 지표로서 조사결과 7.14±1.02 ㎎/ℓ로 대부분의 지점에서 평균 6~7 ㎎/ℓ의 용존산소량을 보였다.

[Table 1] Springwater quality in Seogwipo city by sampling station

St	Temp(℃)		Salinity		pH		DO(㎎/ℓ)	
	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average
1	15.1-16.1	15.6±0.38	0.0-0.4	0.2±0.17	7.82-8.11	8.00±0.11	7.06-9.35	8.10±0.82
2	14.7-16.8	15.7±0.80	0.1-0.4	0.2±0.14	7.61-8.11	7.92±0.20	6.35-8.97	7.58±0.93
3	13.9-16.4	14.7±0.99	0.1-0.3	0.2±0.08	7.65-7.96	7.75±0.12	5.92-6.20	6.06±0.10
4	14.8-15.3	15.1±0.21	0.1-0.2	0.2±0.03	7.77-8.04	7.88±0.11	5.53-5.88	5.71±0.12
5	14.7-16.8	16.1±0.86	0.1-3.6	1.0±1.49	7.25-7.69	7.50±0.17	5.84-7.90	7.12±0.79
6	14.6-17.0	15.4±0.94	0.1-0.4	0.2±0.13	7.78-8.06	7.93±0.12	6.41-7.37	6.89±0.34
7	14.8-15.7	15.3±0.31	0.0-0.2	0.1±0.06	7.20-7.94	7.57±0.28	6.03-9.40	7.55±1.21
8	14.7-17.0	15.7±0.82	0.0-0.4	0.1±0.15	7.40-8.02	7.76±0.24	5.32-9.43	7.20±1.47
9	14.9-15.7	15.2±0.29	0.0-0.1	0.1±0.02	7.28-8.45	7.88±0.41	7.69-8.65	7.93±0.42
10	14.5-15.2	14.8±0.24	0.0-0.2	0.1±0.05	7.62-8.63	8.02±0.37	7.47-7.52	7.48±0.02
11	15.6-16.4	15.9±0.32	2.4-4.1	3.3±0.66	6.56-8.03	7.57±0.60	6.81-7.19	6.96±0.15
tota	13.9-17.0	15.4±0.77	0.0-4.1	0.50±1.05	6.56-8.63	7.80±0.34	5.32-9.43	7.14±1.02

3.2 용천수의 Total coliform과 Fecal coliform 측정

용천수의 대장균군과 분변계대장균을 정점별로 검사한 결과를 (Table 2)에 나타내었다. 전체적으로 총대장균군 범위는 <1.8->1,600 MPN/100㎖로 조사되었으며, 분변계대장균의 경우 <1.8->1,600 MPN/100㎖를 나타나는 것으로 조사되었다. 분변계대장균수의 범위를 정점별 평균값을 살펴보면 3, 5, 11의 용천수 정점에서 기하평균치가 14 MPN/100㎖ 이상의 평균값을 나타냈으며, 그중 3번 정점에서 GM 68.1 MPN/100㎖ 로 가장 높은 값을 나타내었다.

[Table 2] Bacteriological water quality in Spring water by sampling station.

St.	Mon.	MPN/100 ml			
		Coliform		Fecal coliform	
		Rnage	GM[1]	Rnage	GM[1]
1	1~4	<1.8~11.0	4.1	<1.8~11.0	4
2	1~4	<1.8~33.0	3.6	<1.8~33.0	3.6
3	1~4	13.0~>1600.0	143.1	<1.8~1600.0	68.1
4	1~4	<1.8~17.0	3.3	<1.8~2.0	1.8
5	1~4	49.0~>1600.0	117.1	<1.8~920.0	30.6
6	1~4	<1.8~2.0	1.9	<1.8~2.0	1.8
7	1~4	2.0~79.0	15.5	2.0~11.0	4.5
8	1~4	2.0~130.0	22.1	<1.8~79.0	13.4
9	1~4	7.8~33.0	16.5	<1.8~33.0	11.3
10	1~4	<1.8~4.5	3.2	<1.8~4.5	2.4
11	1~4	17.0~250.0	75.6	4.0~49.0	23.2

[1] Geometric mean

3.3 용천수의 병원성 세균 측정

음용수 및 식품 일반에 대한 미생물 규격(수질오염공정시험기준, 식품공전)에서 정하고 있는 식중독균을 포함한 총 6종의 미생물(일반세균, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E. Coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Stapylococcus aureus*) 을 검사하였다. 월별 모니터링을 한 결과를 (Table 3~6)에 나타내었다. *Salmonella* spp. 같은 경우 주위 환경에 교차감염에 의해 전이가 되며, 주로 축산동물, 개, 쥐, 바퀴, 파리 등에 의해 오염이 이루어지며, *Stapylococcus aureus* 은 먼지나 사람, 하수 등에서 오염이 이루어진다. 제주도는 지역경제 특성상 농업과 어업 그리고 관광업에 치중하고 있는 지역으로서 이 이외에는 비점원적 오염을 유발할 수 있는 산업이 매우 적다. 따라서 농수산업 경제활동에 의해 비점원적 오염원이 될 수 있는 주된 부분은 경작활동과 마을공동목장의 운영을 들 수 있으며, 이러한 병원성 미생물들은 수온의 상승과, 장마 등에 의한 외부 환경에 의해 더욱 나타날 것으로 사료된다. 또한 올레길 주변에 많이 발달해있어 관광객들의 음용에 대해서는 특별한 주위가 요구된다.

[Table 3] Cell number of heterotrophic and pathogenic bacteria isolated in the spring water in January 2010

(CFU/ml)

St.	*Salmonella* SPP.	*Shigella* SPP.	*E.Coli* O157:H7	*Vibrio parahaemolyticus*	*S. aureus*	Heterophic bacteria
1	ND	ND	ND	ND	ND	6.4×10^4
2	ND	ND	ND	ND	ND	7.1×10^4
3	ND	ND	ND	ND	ND	1.4×10^4
4	ND	ND	ND	ND	ND	1.2×10^5
5	ND	ND	ND	ND	ND	2.9×10^5
6	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
7	ND	ND	ND	ND	ND	4.0×10^3
8	ND	ND	ND	ND	ND	2.2×10^4
9	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
10	ND	ND	ND	ND	ND	1.0×10^3
11	ND	ND	ND	ND	ND	1.0×10^4

[Table 4] Cell number of heterotrophic and pathogenic bacteria isolated in the spring water in February 2010

(CFU/ml)

St.	*Salmonella* SPP.	*Shigella* SPP.	*E.Coli* O157:H7	*Vibrio parahaemolyticus*	*S. aureus*	Heterophic bacteria
1	ND	ND	ND	ND	ND	8.0×10^3
2	ND	ND	ND	ND	2.0×10^1	2.0×10^3
3	ND	ND	ND	ND	ND	6.0×10^3
4	ND	ND	ND	ND	ND	1.1×10^4
5	1.0×10^1	ND	ND	ND	ND	5.4×10^4
6	ND	ND	ND	ND	ND	1.4×10^4
7	ND	ND	ND	ND	ND	4.3×10^4
8	ND	ND	ND	ND	ND	7.0×10^3
9	ND	ND	ND	ND	2.0×10^1	6.0×10^3
10	ND	ND	ND	ND	ND	6.0×10^3
11	1.0×10^1	ND	ND	ND	ND	1.0×10^3

[Table 5] Cell number of heterotrophic and pathogenic bacteria isolated in the spring water in March 2010

(CFU/ml)

St.	*Salmonella* SPP.	*Shigella* SPP.	*E.Coli* O157:H7	*Vibrio parahaemolyticus*	*S. aureus*	Heterophic bacteria
1	ND	ND	ND	ND	ND	4.0×10^3
2	ND	ND	ND	ND	ND	5.0×10^3
3	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
4	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
5	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
6	ND	ND	ND	ND	ND	1.0×10^3
7	ND	ND	ND	ND	ND	1.2×10^4
8	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
9	ND	ND	ND	ND	1.0×10^1	1.0×10^3
10	ND	ND	ND	ND	ND	4.0×10^3
11	ND	ND	ND	ND	ND	3.0×10^3

[Table 6] Cell number of heterotrophic and pathogenic bacteria isolated in the spring water in April 2010

(CFU/ml)

St.	*Salmonella* SPP.	*Shigella* SPP.	*E.Coli* O157:H7	*Vibrio parahaemolyticus*	*S. aureus*	Heterophic bacteria
1	ND	ND	ND	ND	ND	1.4×10^4
2	ND	ND	ND	ND	ND	6.0×10^3
3	ND	ND	ND	ND	3.0×10^1	4.9×10^4
4	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^4
5	ND	ND	ND	ND	ND	1.0×10^3
6	ND	ND	ND	ND	ND	3.0×10^3
7	ND	ND	ND	ND	ND	4.0×10^3
8	ND	ND	ND	ND	ND	2.0×10^3
9	ND	ND	ND	ND	ND	1.0×10^3
10	ND	ND	ND	ND	ND	3.0×10^3
11	ND	ND	ND	ND	3.0×10^1	2.0×10^3

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 광역경제권 선도산업 인재양성사업의 연구결과입니다.

References

[1] 농어촌 진흥공사 : 토목지질실무지침서, 293pp, 1994.

[2] 농어촌 진흥공사 : 직무교육교재, 412pp, 1997.

[3] 박원배등. : 제주 물 용천수의 효율적인 관리・보전 방안모색. 103호, 2010.

[4] 제주도 : 제주의 물 용천수, 1999.

[5] 제주도 ・ 한국수자원공사 : 제주도 수문지질 및 지하수자원종합조사 3, 2003

[6] 박근영등. : 먹는물 수질감시항목 분석법 연구(Ⅰ). 강원도보건환경연구원보, 10,pp. 125~130(1999)

[7] 제주도 지하수와 용출수의 오염기원 조사 및 판별 기법개발, 송성준, 2003.

[8] 정현미, 박상정, 정원화, 권오상, 박준수, 오덕화, 오상헌, 대장균군의 하천 및 호소 수질

[9] 환경기준 적용성에 관한 연구, 국립환경연구원보, 23, pp. 315-328, 2001.

[10] 환경부, 수질오염공정시험방법, 환경부고시 제 2004-188호, 2004.

[11] Korea Water Resources Corporation : A Fundamen- tal Law Environmental Policy, 2006

[12] Chung, H. M., Park, S. J., Jheong, W. H., Kwon, O. S., Park, J. S., Oh, D. H. : The appli-cability of coliforms as a fresh water quality stan-dard. *Report of NIER, Korea*, 23, 315-328, 2001

[13] Park, J. E., Kim, S. D., Cho, J. R., Kim, S. H., Lee, H. J., and Lee, Y. O. : Comparative studies on detect-ing methods of fecal indicators (coliform) in surface water. *Jounal of the Korean Society of Water and Wastewater*, 22(6), 1052-1059, 2006.

[14] Lee, M. A. and Sung, I. W. : Comparative study on detecting methods for total coliform in sewage efflu-ent. *Korean Jounal of Environmetal Health*, 33(1), 422-427, 2007.

[15] U.S EPA : Manual of methods for Virology. 2001.

[16] Geldreich, E. E., Kenner, B. A. and Kabler, P. W. : Occurrence of coliforms, fecal coliforms, and fecal streptococci on vegetation and insects. *Applied Envi-ronmental Microbiology*, 12(1), 63-69, 1964.

[17] APHA-AWWA-WPCF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. APHA. N. Y, 1995.

[18] Kim, H. Y., Park, J. Y., Chung, D. H. and Oh, S. S. : Microbiological evaluation for HACCP inplementation of wholesale bakery products. *J. Fd. Hyg. Safety*, 19, 185-192, 2004.

[19] Kim, Y. B., Moon, Y. G., Ha, J. H., K, C. H., Kam, S. K., Song, C. B., Oh, M. C. and Heo, M. S. : Ivestigation of Microbial Contamination the Level in Fish Farm of Jeju East Coast. *Korean Jounal of Life Science*, 18, 395-402, 2008.

[20] Lee, J. M., Park, j. y., Lee, R. H., Lee, M. S., Yoon, S. Y., Chung, D. H., Lee, J. M. and Oh, S. S. : Microbiological evaluation for HACCP guideline of Korean traditional cookies. *J. Fd. Hyg. Safety*, 20, 36-41, 2005.