

수돗물에서의 대장균군 재생장과 손상 대장균군

박성주·조재창·김상종

서울대학교 자연과학대학 미생물학과

Coliform Regrowth and Injured Coliforms in Public Water Supply

Seong Joo Park, Jae Chang Cho and Sang Jong Kim

*Department of Microbiology, College of Natural Sciences
Seoul National University*

Abstract

Densities of total and injured coliforms in treated water(TW) and three tap water samples(Taps K1, K2 and K3) of Ku-eui water treatment plant and one tap water sample(Tap T) of Tuk-do water treatment plant were measured 23 times from 1991 to 1992. Coliform regrowth in the water distribution system occurred three times during the study period. When the regrowth episode occurred, injured coliforms were always but total coliforms were not always detected in treated water. Mean densities of total coliforms in TW, and Taps K1, K2, K3 and T were 0.8, 2.3, 1.9, 1.4 and 2.1 cfu/100mℓ by membrane filtration method using m-T7 agar and those of injured coliforms were 3.4, 2.8, 2.5, 2.7 and 2.9 cfu/100mℓ using mEndo-LES agar. The injury rates of TW and Taps K1, K2, K3 and T were 89.5, 77.4, 67.9, 82.8 and 75.9%, respectively. The high injury rate of coliform bacteria in Seoul water supply can cause regrowth problems in distribution systems due to the repair of injured cells under an appropriate condition. It is recommended the injured coliforms should be measured in drinking water since they can lead to a significant underestimation of total coliforms and result in an inaccurate evaluation of the potential health risks.

I. 서 론

상수도 계통에서의 미생물은 그것이 병원성 일 경우 이를 직접 마시는 사람에게 있어서 급성 질병을 일으켜서 심할 경우 죽음에 이를 수 있게 하므로 대단히 중요한 수질항목이 된다. 최근 미국의 경우 정수장에서는 검출되지 않던 대장균군(coliforms)이 수돗물에서 검출되거나 수돗물에서 갑자기 많은 일반세균이 검출되었는데, 이에 대한 원인을 규명하는 과정에서 배급수관(water distribution systems)으로부터의 대장균군 및 일반세균의 재생장(regrowth)에 기인하는 것으로 보고되었다^{5,10}.

LeChevallier 등¹⁰은 배급수계통에서 대장균군 재생장이 일어나는 것은 정수 과정에서 염소와 같은 소독제에 의하여 완전히 죽지 않은 준가사상태(sublethal)로서 생리적으로 손상만 입은 대장균군이 배급수관으로 누출된(breakthrough) 후 관의 내부 표면에 부착하여 생물막(biofilms)을 형성함으로써 이것이 수중으로 유리되어 나오기 때문이라고 보고하였다. 이런 손상 대장균군은 정상적인 대장균군이 성장할 수 있는 환경에서 성장할 수 없으나¹², 환경이 적합해지면 다시 정상 대장균군으로 회복될 수 있다⁹. 손상 대장균군의 이러한 특성은 전통적인 대장균군 검출배지인 m-Endo 배지에 들어 있는 특정한 성분, 즉 de-soxycholate 및 bile salts에 의하여 생장이 저해받기 때문인 것으로 밝혀졌다¹². 그래서 LeChevallier 등⁹은 손상 대장균군의 검출을 위하여 이러한 생장 저해성분이 들어있지 않고 손상 대장균군의 검출효율을 증가시키는 성분이 포함된 m-T7 배지를 개발하였다. 그 후 Calabrese와 Bissonnette⁴는 염소에 의한

대장균군의 손상은 염소가 세균의 세포막에 작용하여 세포막에 존재하는 각종 효소의 활성을 감소시키는 것으로 생각하였다. 이들은 염소에 의하여 손상된 *E. coli*는 catalase의 활성이 현저히 감소되는 것을 확인하였고, 이 효소의 활성 감소는 곧 체내에 과산화수소(H_2O_2)의 축적을 유발하여 세포 자체가 극히 약해지는 손상된 상태로 된다고 판단하였다.

이러한 손상 대장균군의 중요성은 수중에서 병원성 세균이 전혀 검출되지 않거나 질병을 유발할 수 없을 정도로 적은 개체수가 검출되는 경우에도 수인성 질병이 흔히 발생한다는 데 있다. 이런 경우 아마도 손상을 입은 병원균이 사람의 몸안에서 다시 정상 세포로 회복되어 질병이 발생하였을 가능성이 매우 높은 것으로 보기 때문이다. 따라서 공중보건의 측면에서 볼 때 수질오염의 지표세균인 대장균군은 손상 대장균군을 포함하여 그 검출효율이 매우 높아야 할 필요가 있는 것이다⁶.

본 연구는 서울지역의 정수장에서 처리된 정수와 가정으로 공급되는 수돗물에서의 총 대장균군 및 손상 대장균군을 계수하여 배급수계통에서의 대장균군 재생장을 확인하고 이들이 공중보건에 미칠 수 있는 악영향을 평가하는데 그 목적이 있다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 채취

서울시 구의수원지 정수는 송수펌프장의 송수관로(TW)에서 채취하였고 수돗물은 이 정수가 공급되는 단일 배급수관을 따라 수원지로부터 각각 3.0km 지점의 수도꼭지(Tap K1), 6.5km 지점의 수도꼭지(Tap K2), 13.0

km 지점의 수도꼭지(Tap K3) 등 3개의 수도물 시료를 각각 채취하였다. 그리고 쪽도수원지 수계의 수도물로서 이 정수장으로부터 약 7km 떨어진 수도물 시료(Tap T)도 추가로 1개 채취하였다.

1991년 9월부터 1992년 9월까지 월평균 2회씩(총 23회) 시료를 채취하였으며, 모든 시료는 수도꼭지를 개방하여 약 1분간 물을 흘러버린(flushing) 다음 채수하였다. 시료는 채수즉시 10% sodium thiosulfate를 첨가하여 탈염소시켰으며, 냉장 보관하여 실험실로 이동한 후 분석하였다. 기타 시료 채수방법 및 보관법은 Standard methods³⁾의 시료 채수방법 및 보관법을 따랐다.

2. 수은 및 유리잔류염소의 측정

수은은 휴대용 봉상온도계를 이용하여 현장에서 직접 측정하였고, 수중의 유리잔류염소량(free chlorine residuals)은 시료 10ml에 o-toluidine 용액 0.5ml를 떨어뜨려 발색시킨 후 5초 이내에 잔류염소 측정기(ADVANTEC, 일본 동양제약소)로 측정하였다.

3. 총대장균군 및 손상 대장균군의 계수

총대장균군(total coliforms)의 계수는 시료 100ml와 500ml를 공극 0.45 μ m의 멸균된 막 여과지(지름 47mm)를 통하여 여과한 다음 이것을 mEndo-LES 한천배지(dehydrated, Difco)(Table 1)에서 35°C, 24시간 배양한 후 형성된 콜로니중 금속광택을 내는 흑적색의 것만을 계수하였다³⁾.

손상 대장균군수(injured coliforms)는 시료 100ml와 500ml를 멸균된 공극 0.45 μ m의 막 여과지를 통하여 여과한 다음 m-T7 한천배

지에서³⁾(Table 2) 35°C, 24시간 배양한 후 연노란색을 띠는 콜로니를 계수하였다.

Table 1. Composition of mEndo-LES agar media for recovering total coliform bacteria.

Ingradiant	Concentration(g/ℓ)
Yeast extract	1.2
Casitone	3.7
Thiopeptone	3.7
Tryptose	7.5
Lactose	9.4
K ₂ HPO ₄	3.3
KH ₂ PO ₄	1.0
NaCl	3.7
Sodium desoxycholate	0.1
Sodium lauryl sulfate	0.05
Na ₂ SO ₃	1.6
Basic fuchsin	0.8
Agar	15.0

Ingradients were rehydrated in 1ℓ distilled water containing 20ml 95% ethanol, heated to boiling to dissolve completely, and then promptly cooled to 45-50°C.

Table 2. Composition of m-T7 agar media for recovering injured coliform bacteria.

Ingradiant	Concentration(g/ℓ)
Protease peptone No.3	5.0
Yeast extract	3.0
Lactose	20.0
Tergitol 7	0.4ml
Polyoxyethylene ether W1	5.0
Bromthymol blue	0.1
Bromcresol purple	0.1
Agar	15.0

Media were adjusted to pH 7.4 with 0.1 N NaOH after sterilization at 121°C for 15 min.

III. 결 과

1. 정수 및 수돗물중의 대장균군 분포

정수중의 총대장균군은 1991년 10월의 17.5 cfu/100ml를 제외하고는 100ml의 시료에서 거의 검출되지 않았다. 이 때의 유리잔류염소 농도는 0.2mg/l로서 측정치중 가장 낮은 농도를 유지하였다. 그러나 손상 대장균군은 총대장균군이 검출되었을 때 27cfu/100ml로서 최대치가 검출되었을 뿐만 아니라 1992년 4월부터 7월에 이르는 기간 동안에도 1~24.5cfu/100ml의 범위에서 항상 검출되었다. 이 당시의 유리잔류염소 농도는 최대 2.0mg/l를 나타내어 이렇게 높은 잔류염소 농도에서도 대장균군이 죽지 않고 손상만 입은 상태로 존재한다는 사실을 확인하였다(Fig. 1).

수돗물에서의 총대장균군수를 23회 측정값의 산술평균으로 나타낸 결과 Tap K1, Tap K2, Tap K3 및 Tap T에서 각각 0.8, 2.3, 1.9, 1.4, 2.1cfu/100ml로서 정수(TW)에서의 평균인 0.8cfu/100ml보다 약 2-3배 증가한 것으로 나타났다. 총대장균군수를 같은 정수장수계인 Tap K1, K2, K3에서의 변화 양상을 살펴본 결과 정수장에서 가장 가까운 배급수관에서 가장 많은 수의 대장균군이 검출되었

고 이후 점차 감소되었다. 손상 대장균군수의 경우 TW, Tap K1, K2, K3 및 T에서 각각 3.4, 2.8, 2.5, 3.6, 2.0cfu/100ml로서 정수에서의 세균수가 배급수관에서도 변화없이 거의 같은 수준으로 검출되었다(Table 3). 배급수관에서 유리잔류염소는 정수에서 가장 높은 1.1mg/l였고, 이후 배급수관을 따라 흘러가면서 점차 감소하는 경향을 보여, Tap K1에서 0.9, Tap K2에서 0.5, Tap K3에서 평균 0.2mg/l의 농도를 나타내었다. 그리고 다른 정수장수계인 Tap T에서는 평균 0.7mg/l의 수준이었다(Table 3).

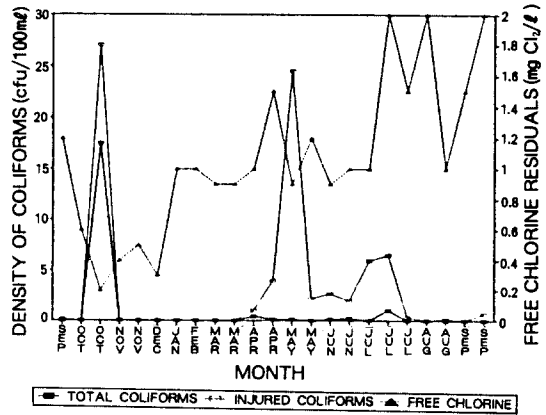


Fig. 1. Temporal variation of total and injured coliform bacterial densities and free chlorine residuals in Ku-eui treated water (TW) from 1991 to 1992.

Table 3. The mean values of treated water and tap water qualities in Seoul from 1991 to 1992.

Parameters	Unit	TW(0.0km)	Distribution systems			
			Tap K1(3.0km)	Tap K2(6.5km)	Tap K3(13.0km)	Tap T
Water temperature	°C	16.4(1.3-25.8)	16.5(1.5-26.5)	16.8(2.0-26.5)	17.7(3.0-28.0)	16.6(1.6-26.0)
Free chlorine	mg Cl ₂ /l	1.1(0.2-2.0)	0.9(0.2-2.0)	0.5(0.1-1.0)	0.2(0-0.7)	0.7(0.2-1.0)
Total coliforms	cfu/100ml	0.8(0-17.5)	2.3(0-47.5)	1.9(0-37.5)	1.4(0-25.5)	2.1(0-42)
Injured coliforms	cfu/100ml	3.4(0-27)	2.8(0-35)	2.5(0-30)	2.7(0-27.5)	2.9(0-48)

Values in parentheses represent the range of observed data.

23회의 조사 가운데 정수에서보다 배급수관 즉 수도물에서의 총대장균군수가 증가한 대장균군 재생장 현상은 1991년 10월, 1992년 7월과 8월 모두 3회 관찰되었으며, 이 가운데 재생장 현상이 가장 현저하였던 1991년 10월에는 정수에서 17.5이던 것이 정수장에서 가장 가까운 지점인 Tap K1에서는 정수의 2.7배인 47.5cfu/100ml가 검출되었다. 1992년 7월과 8월에는 정수에서 전혀 검출되지 않았던 총대장균군이 수도물에서는 각각 2.5 및 2.6 cfu/100ml가 검출되었다(Fig. 2a). 이와 동시에 대장균군의 재생장이 일어난 때에 손상

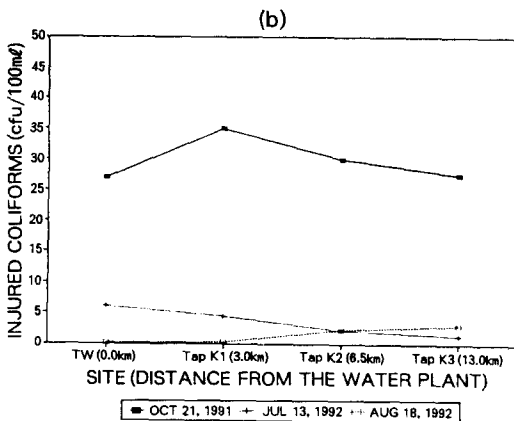
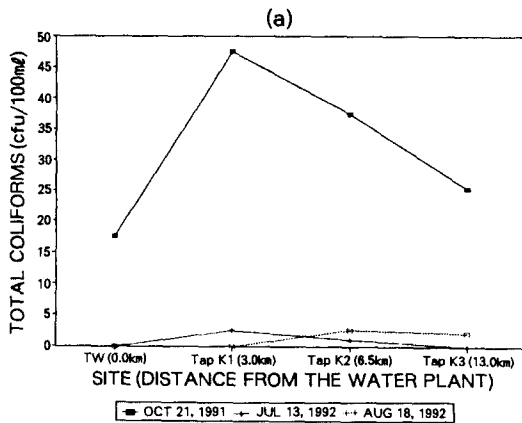


Fig. 2. Change of total and injured coliform densities in the distribution system during the re-growth periods.

대장균군수의 변화를 관찰한 결과 손상 대장균군수는 총대장균군수와는 달리 배급수관의 수도물에서 별다른 변화를 나타내지 않았다(Fig. 2b). 대장균군 재생장이 일어났던 때의 수온은 15~26°C, 그리고 유리잔류염소량은 0.1~1.0mg/l의 범위를 나타내었다.

2. 대장균군의 손상률

정수와 수도물 시료에서 검출된 총대장균군수와 손상 대장균군수를 비교하였다. 모두 115개의 시료 가운데 두 종류의 대장균군이 모두 검출되지 않은 것이 전체의 42%인 48개, 두 종류의 개체수가 같은 것이 2%인 2개, 총대장균군수가 손상 대장균군수보다 많은 것이 4%인 5개, 그리고 52%에 해당하는 나머지 60개 시료에서는 손상 대장균군수가 총대장균군수보다 많이 검출되었다. 이들 60개 시료의 대장균군수를 이용하여 대장균군의 손상률을 다음과 같이 계산하였다.

$$\left(\frac{\text{손상 대장균군수} - \text{총대장균군수}}{\text{손상 대장균군수}} \right) \times 100$$

계산결과 정수(TW)에서의 대장균군 손상률은 평균 89.5%, Tap K1 77.4%, Tap K2 67.9%, Tap K3 82.8%, Tap T 75.9%로서 전체 평균 78.7%를 기록하였다(Fig.3).

IV. 고 찰

주로 염소소독에 의하여 일어나는 수도물 중의 대장균군 손상은 잔류염소 농도 외에도 다른 여러가지 요인에 의하여 영향을 받는다. 즉 수온, 영양염류, 세균의 종류 및 생리 상태와 같은 환경요인을 비롯하여 시료의 보관이

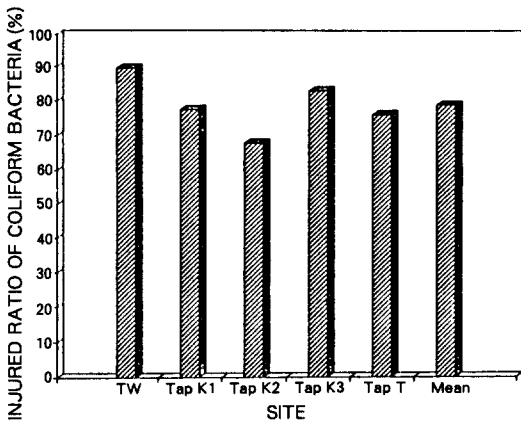


Fig. 3. Mean injured ratios of total coliforms in treated and tap waters.

나 처리방법에 따라서도 대장균군의 손상률이 달라진다는 것이다⁶⁾. 본 연구에서는 '91년 9월부터 '92년 3월까지 '91년 10월을 제외하고는 총대장균군 및 손상 대장균군이 전혀 검출되지 않다가 겨울을 지나 수온이 15°C에 가깝게 되는 4월부터 총대장균군은 거의 검출되지 않는데 비하여 손상 대장균군의 수가 급격하게 증가하였다(Fig. 1).

이 때의 잔류염소 농도가 1mg/l로서 비교적 높은 농도를 유지하고 있음에도 대장균군이 완전 사멸되지 않고 손상만 입은 상태로 많이 존재한다는 사실은 잔류염소뿐만 아니라 수온이나 세균의 생리상태와 같은 다른 요인이 대장균군의 손상에 영향을 미치고 있음을 보여주는 것이다. '91년 10월에 갑자기 많은 수의 대장균군이 검출된 것은 아마도 투입된 잔류염소의 농도가 극히 낮았기 때문으로 보이는데, 이 때의 잔류염소 농도가 측정된 값 중 가장 낮은 0.2mg/l인 것으로 미루어 대장균군 살균을 위해서는 최소한 0.3mg/l 이상은 유지되어야 하는 것으로 생각된다.

정수장에서 공급된 물이 배급수관을 따라

흐르는 과정에서 나타난 대장균군의 변화 가운데 특징적인 것은 대장균군 재생장이 일어난 모든 경우에 비록 정수에서 총대장균군은 검출되지 않았어도 손상 대장균군은 검출된다는 점이다(Fig. 2). 이것은 정수과정에서 염소소독에 의하여 완전히 죽지 않고 손상만 입은 대장균군이 배급수관으로 유입될 수 있다는 것을 의미한다. 대장균군의 손상은 가역적인 것으로서 손상을 입은 후 수온이나 영양분과 같은 환경 조건이 적합하게 되면 다시 손상된 세포 부위가 치료되어 정상적인 세포로 돌아올 수가 있다⁶⁾. 또한 조 등²⁾에 의하면 입자에 부착한 *Enterobacter cloacae*는 물속에 부유하고 있는 때보다 염소에 대한 내성이 47.6배 높기 때문에 정수과정에서 염소살균을 피하거나 사멸되지 않고 손상만 입을 수 있으며 이렇게 염소살균을 피한 입자부착 대장균군이 배급수관에 유입되면 관에 흡착되어 생물막을 형성할 가능성도 있다고 하였다.

배급수관에서의 총대장균군의 변화는 정수장에서 가장 가까운 지점이며 상대적으로 잔류염소 농도가 높은 Tap K1의 수돗물에서 가장 많은 수가 검출되었고 이후 개체수가 점점 감소한다는 것이다(Table 3 및 Fig. 2a). 이러한 결과는 곧 배급수관에서의 대장균군 재생장은 정수장에서 가장 가까운 지점에서 발생한다는 사실로서 대장균군은 많은 양의 영양분을 요구하는 copiotroph이기 때문에 유기물질의 양이 상대적으로 많이 존재하는 정수장에 보다 가까운 배급수계통에서 발생할 가능성이 많기 때문인 것으로 설명하고 있다⁷⁾. 박 등¹⁾은 대장균군 재생장의 원인을 수돗물의 빈영양환경, 높은 잔류염소 농도, 정수장으로부터 재생장이 일어난 배급수관까지의 짧은

물 도달시간(정수장에서 Tap K1까지의 물 도달시간은 25분이고 이곳에서 다시 Tap K2까지는 25분) 등과 같은 조건을 모두 검토하여 정수장에서 대장균군의 누출이 아닌 배급수관 내부에 형성된 생물막에서 생존하던 대장균군의 분리에 기인한 것으로 판단하였다. 그리고 이들은 재생장의 원인이 생물막에 있다는 것을 정수 및 수돗물에서 검출된 대장균군의 종 조성 및 다양성을 이용하여 밝혔다. 즉 정수에서는 단 3개 종의 대장균군만 검출되어 종 다양성지수가 0.4인데 비하여 배급수관의 수돗물에서는 이들 3개 종 외에 6개 종이 추가로 검출되었으며 다양성 지수도 1.3까지 증가하였다는 것이다. 이러한 결과로 보아 이들은 배급수계통에서 대장균군 수의 갑작스런 증가가 정수에서 유입된 세균이 증식하여 나타난 결과라면 정수에서 검출된 것과 같은 종류의 세균만이 수돗물에서 검출되어야 하는데 정수에는 없던 새로운 종류의 세균이 나타난 것은 배급수계통에서 형성된 생물막이 탈착되거나 생물막 세균이 분리된 것으로 결론지었다. 그리고 이들은 정수나 수돗물에서 검출된 손상 대장균군 가운데는 세균성 이질을 유발하는 *Shigella dysenteriae*가 포함되어 있다고 보고함으로써 배급수관에서의 대장균군 재생장은 수인성 질병을 일으킬 가능성도 있다고 보여진다. LeChevallier 등¹⁰⁾도 미국의 수돗물에서 정수보다 20배 많은 대장균군을 검출하였으며 이러한 대장균군 재생장의 원인을 정수에서 세균의 누출이 아니라 배급수관에 형성된 생물막으로부터의 대장균군의 분리의 가능성이 매우 높다고 보고하였다.

본 연구결과 나타난 정수와 수돗물에서의 대장균군 평균 손상률인 78.7%(Fig. 3)를 위

국의 자료와 비교해 보았다. 대장균군 손상률은 손상 대장균군을 검출하는 방법이나 사용하는 배지에 따라 크게 달라질 수 있으므로⁶⁾ 본 연구에서 사용된 배지인 m-T7 배지를 이용하여 연구한 결과만을 비교하였다. LeChevallier 등^{8,9)}은 본 연구결과보다 낮은 손상률인 65%와 66.8%를, 그리고 McFeters 등¹¹⁾과 Calabrese와 Bissonnette⁴⁾는 각각 본 연구결과보다 높은 96.8%와 90% 이상을 보고하였다.

V. 결 론

본 연구는 배급수관에서의 대장균군 재생장 현상과 수돗물에서의 손상 대장균군의 분포를 이해하기 위하여 1991년과 1992년에 걸쳐서 수행되었으며, 본 연구결과를 통하여 다음과 같은 결론에 이를 수 있었다.

- 1) 23회의 조사 가운데 배급수계통에서 총 대장균군 재생장이 3회에 걸쳐 발생하였고, 이 때의 수온은 모두 15°C 이상이였다.
- 2) 대장균군 재생장이 일어났을 때 정수에서 언제나 손상 대장균군이 검출되었다.
- 3) 손상 대장균군의 검출은 m-T7 한천배지로서 막여과법을 사용하여 효과적으로 검출할 수 있었으며, 정수와 수돗물에서의 평균 손상률은 약 79%이였다.
- 4) 검출된 손상 대장균군 가운데는 병원성 세균도 검출되었으므로 이들에 의한 수인성 질병의 가능성도 배제할 수 없다.
- 5) 따라서 세균학적으로 안전한 수돗물을 생산하기 위해서는 총 대장균군의 검출 이외에도 손상 대장균군도 검출할 필요성이 대두되었다.

참고문헌

1. 박성주, 조재창, 김상중, 상수도계통에서의 세균 분포 및 변화, 한국미생물학회지 31, 245-254, 1993.
2. 조재창, 박성주, 김상중, 생물막 세균의 염소소독제에 대한 내성, 한국미생물학회지 31, 255-260, 1993.
3. APHA- AWWA- WPCF, Standard methods for the examination of water and wastewater, 17th ed., 1989.
4. Calabrese, J. P., and G. K. Bissonnette, Improved membrane filtration method incorporating catalase and sodium pyruvate for detection of chlorine-stressed coliform bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 3558-3564, 1990.
5. Chracklis, W. G., Bacterial regrowth in distribution systems, Research Report. AWWA Research Foundation Denver, CO., 1988.
6. LeChevallier, M. W., and G. A. McFeters, Enumerating injured coliforms in drinking water. *Jour. AWWA.* 77(6), 81-87, 1985.
7. LeChevallier, M.W., and G. A. McFeters, Interactions between heterotrophic plate count bacteria and coliform organisms, *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1338-1341, 1985.
8. LeChevallier, M. W., P. E. Jakanovski, A. K. Camper, and G. A. McFeters, Evaluation of m-T7 agar as a fecal coliform medium, *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 371-375, 1984.
9. LeChevallier, M. W., S. C. Cameron, and G. A. McFeters, New medium for the improved recovery of coliform bacteria from drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 484-492, 1983.
10. LeChevallier, M. W., T. W. Babcock, and R. G. Lee, Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2714-2724, 1987.
11. McFeters, G. A., J. S. Kippin, and M. W. LeChevallier, Injured coliforms in drinking water, *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1-5, 1986.
12. McFeters, G. A., S. C. Cameron, and M. W. LeChevallier, Influence of diluents, media, and membrane filters on detection of injured waterborne coliform bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 97-103, 1982.