

수도관의 생물막 형성에 미치는 잔류염소와 파이프 재질의 영향

Effects of Chlorine Residual and Pipe Material on the Biofilm Formation in Drinking Water Distribution Pipe

박 세 근* 박 재 우** 성 권 식*** 최 성 찬**** 김 영 관*****
Park, Se-Keun Park, Jae-Woo Sung, Kwon-Shic Choi, Sung-Chan Kim, Yeong-Kwan

Abstract

This laboratory study examined the impact of free chlorine residual and pipe material on the formation of biofilm in drinking water distribution pipe surfaces. Results of heterotrophic plate counts(HPC) of the biofilm in the tap water-supplied reactor averaged 2.17×10^6 CFU/cm² on PVC and 2.43×10^6 CFU/cm² on STS 316, respectively. HPCs on the surface exposed to the tap water containing 0.2mg/L of free chlorine residual averaged 4.24×10^4 CFU/cm² on PVC and 6.54×10^4 CFU/cm² on STS 316, respectively. Average of HPC/Total direct counts in the tap water-supplied reactor ranged from 1.08%(PVC) to 1.26%(STS 316) and from 0.38%(PVC) to 0.65%(STS 316) in the reactor supplemented with disinfectant, respectively. No correlation was observed between disinfectant addition and biofilm density. With regard to the biofilm formation, little difference existed between PVC and STS 316. Yellow and red pigmented bacteria were the dominant expressions in bulk fluid, whereas non-pigmented bacteria were found dominant in the biofilm. Pink/red pigmented bacteria were found to be facultative anaerobic, while yellow pigmented bacteria and non-pigmented bacteria were found to be obligate aerobic.

키워드 : 수도관, 생물막, 유리잔류염소, 관재질

Keywords : *drinking water distribution pipe, biofilm, free chlorine residual, pipe material*

1. 서론

수 처리 및 수질 관리 분야에서 수돗물의 생물학적 안정성(biological stability)에 대한 관심이 증가하고 있으며, 수돗물의 생물학적 안정성은 대장

균군(coliform group)과 중속영양세균(heterotrophic bacteria) 등의 미생물 재생장(regrowth) 관점에서 평가되고 있다. 배·급수 시스템에서 미생물의 재생장은 부적절한 정수처리 공정과 소독공정을 피한 미생물이 배·급수관으로 누출(breakthrough)된 후 관 내부 표면에 부착하여 생물막(biofilm)을 형성하고, 이로부터 부착 미생물이 수중으로 탈리되어 발생한다[1,2].

배·급수관내에서 생성되는 생물막은 polymeric matrix와 결합된 미생물들로 구성되어 있으며, 배·급수관 표면에 대한 미생물 부착

* 강원대학교 환경공학과 박사과정
** 한림대학교 생명과학부 석사과정
*** 강원대학교 환경공학과 석사과정
**** 한림대학교 생명과학부 교수
***** 강원대학교 환경공학과 교수

및 생물막 생성과 관련된 인자로는 수온, 소독제 농도, BOM(biodegradable organic matter), 관 재질, 유속, 정수처리 공정 등이 있다[3-10].

생물막으로부터 미생물의 탈리는 수질에 영향을 미칠 수 있다. 생물막을 구성하고 있는 몇몇 미생물들은 물에서 맛과 냄새를 유발하거나[11,12], 병원성을 나타내기도 한다[13,14]. 또한 생물막은 배·급수 시스템에서 소독제 요구량을 증가시키거나, 관의 부식을 촉진시키기도 한다[15,16].

배·급수 시스템의 생물막 형성에 대한 대부분의 연구들이 실험실 규모에서 수행되었다. 그러나 실제 관망에 대한 현장 조사는 생물막의 제거가 어렵고, 관망으로부터 관 부위를 절단하거나 수도관에 시편을 설치하는데 많은 비용이 든다[17].

본 연구에서는 실험실 규모의 실험장치를 이용하여 춘천시에서 공급되는 일부 수도물을 대상으로 하여 소독제의 잔류농도와 수도관 재질에 따른 배·급수관의 생물막 생성 정도에 대하여 알아보 고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 장치 및 방법

생물막 실험장치로는 급·배수 시스템을 모사할 수 있도록 고안된 Annular Biofilm Reactor (Biosurface Technologies Corporation Model 1120LS)를 사용하였다. Annular Biofilm Reactor는 외부 실린더(I.D.156mm×H180mm)와 내부 실린더(O.D.140mm×H155mm), 그리고 내부 실린더의 회전을 위한 모터로 구성되어 있다. 내부 실린더 표면에는 20개의 생물막 형성 기저(stratum)를 장착할 수 있다. Annular Biofilm Reactor는 continuously-flow stirred tank reactor(CFSTR)로 되었으며, 내부 실린더의 회전으로 전단력(shear stress)을 발생시킬 수 있다. 반응기의 총 유효용량은 약 1L이며, 유입유량으로 수리학적 체류시간(hydraulic retention time)을 제어할 수 있다.

실험에 사용된 시료는 강원도 춘천시에 소재한 “S” 정수장으로부터 실험실로 공급되는 수도물을 사용하였다. 100,000m³/day 규모의 “S” 정수장은 소양호를 수원으로 하여 응집-침전-여과-염소소독 공정을 거쳐 배·급수관으로 수도물을 공급하고 있다. Table 1은 실험 기간 동안 실험실에서 채취한 수도물을 분석한 결과이다. 실험실로 공급된 수도물의 평균 pH와 유리잔류염소는 각각 7.02와 0.13mg/L이었으며, 수도물의 생물학적 안정성 지표인 AOC(assimilable organic carbon)와 BDOC(biodegradable dissolved organic carbon)의 평균 농도는 각각 36.5μg/L와 0.1mg/L을 나타냈다. 일반

적으로 수도물의 AOC 농도는 TOC(total organic carbon)의 0.1~9% 범위이며[18], BDOC 농도는 TOC의 10~30%에 해당하는 것으로 보고되고 있다[19]. van der Kooij[20]는 10μg/L의 AOC 농도를 생물학적으로 안정한 수도물로 규정하였으며, Servais 등[21]은 0.15mg/L의 BDOC 농도를 한계 농도로 제시하였다. 수도물 시료에서는 평균 11.3CFU/mL의 heterotrophic plate counts(HPC)가 검출되었으며, 총대장균군과 분변성 대장균군은 검출되지 않았다.

Table 1. Water quality of the tap water

Items	n ¹⁾	Range	Average
Temperature(°C)	25	12.9~18.7	15.60
pH	25	6.95~7.08	7.02
DO(mg/L)	25	8.67~11.26	9.64
Alkalinity(mg/L as CaCO ₃)	25	15.16~24.1	19.20
Hardness(mg/L as CaCO ₃)	25	27.6~34.8	30.30
Free Chlorine(mg/L)	25	0.1~0.2	0.13
NH ₃ -N(mg/L)	25	0.009~0.024	0.02
PO ₄ -P(mg/L)	25	0.02~0.07	0.04
TOC(mg/L)	25	0.58~0.91	0.71
BDOC(mg/L)	25	0.07~0.13	0.10
AOC(μg/L)	25	0.9~43.5	36.5
HPC(CFU/mL)	25	0~97	11.3
Coliform Group(CFU/mL)	25	ND ²⁾	ND

¹⁾n = number of samples analyzed

²⁾ND = not detected

Table 2. Operating conditions of the Annular Biofilm Reactor

Conditons	ABR1	ABR2
Water sample	Tap water with NaOCl	Tap water
HRT, hr	2	2
Shear stress, N/m ²	0.03	0.03
Temperature, °C	15~17	15~17
Substratum	PVC ¹⁾ (10ea) STS ²⁾ (10ea)	PVC(10ea) STS(10ea)

¹⁾PVC(polyvinyl chloride) : 13mm×143mm

²⁾STS(stainless steel 316) : 13mm×150mm

잔류염소 농도가 생물막 형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시험군으로서 sodium hypochlorite

(NaOCl) 용액을 이용하여 반응기내의 잔류염소 농도를 약 0.2mg/L로 유지시킨 반응기(ABR1)와 아무런 처리를 하지 않은 수돗물을 이용한 반응기(ABR2)를 대조군으로 하여 15~17°C 조건에서 각각 50일 동안 운전하면서 10일 간격으로 분석하였다. 국내에서는 잔류염소의 농도를 최종 소비단계에서 0.2mg/L 이상으로 유지하도록 규정되어 있다 [22]. ABR1과 ABR2에는 생물막 형성 기저로서 수도관 재료로 사용되는 있는 polyvinyl chloride (PVC)와 stainless steel(STS) 316을 설치하여 수도관 재료에 따른 생물막 생성 정도를 조사하였다. Annular Biofilm Reactor의 운전 조건은 Table 2에 제시한 바와 같다. 시료는 정량펌프(peristaltic pump)를 이용하여 500mL/hr의 유량으로 반응기에 공급하였으며, 반응기의 수리학적 체류시간과 전단력은 각각 2시간과 0.03N/m²이었다.

Fig. 1은 실험실 규모의 실험장치를 나타낸 사진이다. Annular Biofilm Reactor는 실험을 수행하기에 전에 멸균(121°C, 15min) 처리하였으며, 공기로부터 반응기내 수돗물의 오염을 차단하기 위한 수단으로 ventilation을 위하여 연결된 tube 상단에 air filter를 설치하였다. 생물막 형성 기저인 STS 316과 PVC는 알코올과 자외선으로 살균 처리하여 반응기에 장착하였다.

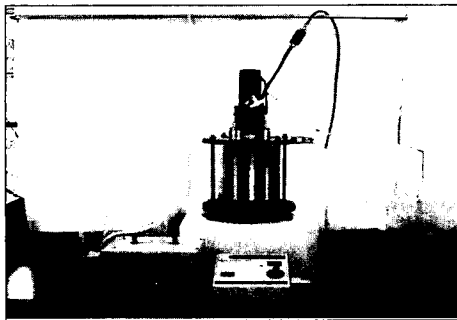


Fig. 1. Photograph of the laboratory experimental unit.

2.2 분석

수돗물의 물리·화학적 특성 분석은 수돗물을 0.1N HCl로 세척하여 멸균한 pyrex bottle(1L)에 채취한 후 Standard Methods[23]에 준하여 유리잔류염소(N,N-diethyl-p-phenylenediamine(DPD) Colorimetric Method), 경도(EDTA Titrimetric Method) 및 암모니아성 질소(Phenate Method) 농도 등을 분석하였다. TOC는 UV-persulfate TOC analyzer(Dohrman)를 이용하였다.

AOC는 *Pseudomonas fluorescens* strain P17, *Aquaspirillum* sp. strain NOX Method를 이용하였으며, 농도 계산을 위해 사용한 P17과 NOX의

수율 값(yield value)은 각각 4.1×10^6 CFU/ μ g acetate-C와 1.2×10^7 CFU/ μ g acetate-C이었다 [20,24]. DOC의 생분해 부분을 결정하고자 할 때 이용되는 지표인 BDOC는 Servais 등[25]이 제안한 방법을 응용하였다.

수돗물 중의 HPC는 R2A 배지를 이용한 spread plate 방법으로 30°C에서 5일간 배양하여 형성된 집락수를 세어 측정하였다. 수인성 진염병과 밀접한 관련을 지니고 있는 총대장균군과 분변성 대장균군은 m-Endo, m-FC, m-Enterococcus 배지를 이용하여 Membrane Filter Method로 분석하였다.

시편에 형성된 생물막은 가역적으로 부착된 미생물을 멸균 증류수로 flushing 시킨 후 cell scrapers(FANCON)를 이용하여 멸균된 50mL의 인산염 완충용액(phosphate buffer solution, pH 7.2)에 넣어낸 다음, 시편을 borosilicate glass tube에 넣고 멸균 인산염 완충용액을 200mL이 되도록 첨가하여 1분간 5회 정도 BRANSONIC Ultrasonic Cleaners(Model 2210)로 초음파 처리하여 분리하였다[26].

생물막 시료 중의 HPC는 R2A 배지 이외에 PCA(plate count agar)를 이용한 spread plate 방법으로 분석하였으며, 총세균수는 AODC (acridine orange direct count) 방법을 이용하여 측정하였다 [27]. AODC는 직접계수법으로서 formaldehyde(최종농도 2%(V/V))로 10mL의 시료를 고정한 다음, 0.2 μ m Nucleopore polycarbonate black filter로 고정된 시료를 여과한다. 그리고 filter를 2분 동안 0.01%(W/V) acridine orange stock solution 1mL로 염색하고, 멸균 증류수로 filter를 세척한 후 filter에 염색된 세균을 halogen lamp가 장착된 형광현미경(epifluorescence microscope)으로 계수한다.

또한 생물막 시료에서는 총대장균군과 분변성 대장균군의 분석 이외에 m-T7 배지를 이용하여 손상 대장균군을 분석하였다. m-T7 배지는 수돗물에서 손상된 대장균군의 검출을 위해 고안되었다[28].

3. 결과 및 고찰

소독제의 잔류염소와 관 재료에 따른 생물막 생성 정도를 알아보기 위하여 반응기로부터 시편을 회수하여 생물막 형성 미생물의 분포를 조사하였다.

HPC 분석은 배·급수관 표면에 대한 미생물 생장을 평가하거나 급수계통의 미생물 재생장을 측정하는데 유용하게 이용되어 왔다. 전통적으로 수돗물의 HPC 수준을 측정하기 위해 PCA를 이용한 pour plate 방법이 사용되었으나, 1980년 중반에 R2A와 같은 저영양성 배지를 이용한 spread plate

방법이 빈영양성(oligotrophic) 미생물의 회수를 위해 제안되었다[23].

본 연구에서는 생물막 생성 정도를 알아보기 위하여 생물막으로부터 HPC를 분석하였다. Fig. 2는 반응기내 잔류염소를 0.2mg/L로 유지시킨 수돗물과 접촉시켰을 때 각 재질에 형성된 생물막을 R2A 배지로 분석하여 계수한 HPC 수준을 나타낸 결과이다. HPC로 측정된 생물막은 PVC와 STS 표면에서 운전 초기부터 형성되었다. 잔류염소 농도를 약 0.2mg/L로 유지시킨 ABR1의 STS와 PVC 표면으로부터 검출된 평균 HPC는 각각 $6.54 \times 10^4 \text{CFU/cm}^2$ ($1.09 \times 10^3 \sim 1.34 \times 10^5 \text{CFU/cm}^2$)와 $4.24 \times 10^4 \text{CFU/cm}^2$ ($4.22 \times 10^3 \sim 1.35 \times 10^5 \text{CFU/cm}^2$)이었다. 생물막으로부터 검출된 부착성 HPC는 시간의 경과에 따라 조금씩 변화하였는데, 이는 생물막의 불균일성에 의한 원인으로 판단된다. 생물막은 서로 다른 영양 요구성을 가진 미생물군들로 구성되었으며, 상이한 생리적 특성을 가진 미생물군들은 시간이 경과하면서 변화한다[26,28,29]. 급·배수 관망내에서 세균 군집의 생리학적 불균일성은 사멸(death), 휴면(dormancy) 또는 손상 세균 및 정상적인 세균이 복잡하게 혼합된 데 기인한다[30].

아무런 처리를 수행하지 않은 수돗물과 접촉시킨 ABR2의 STS와 PVC 표면으로부터 각각 분석한 부착성 HPC 수준을 Fig. 3에 나타냈다. 반응기내에서 0.1mg/L 미만의 상대적으로 낮은 잔류염소를 함유한 수돗물과 접촉한 ABR1의 STS와 PVC 표면에서 검출된 평균 부착성 HPC는 각각 $2.43 \times 10^5 \text{CFU/cm}^2$ ($1.41 \times 10^5 \sim 4.46 \times 10^5 \text{CFU/cm}^2$)와 $2.17 \times 10^5 \text{CFU/cm}^2$ ($7.54 \times 10^3 \sim 4.04 \times 10^5 \text{CFU/cm}^2$)이었다. 잔류염소 농도가 상대적으로 높은 시험군에서 검출된 HPC 수준과 비교했을 때 약 4~5배 정도 많은 부착성 HPC가 검출되었다.

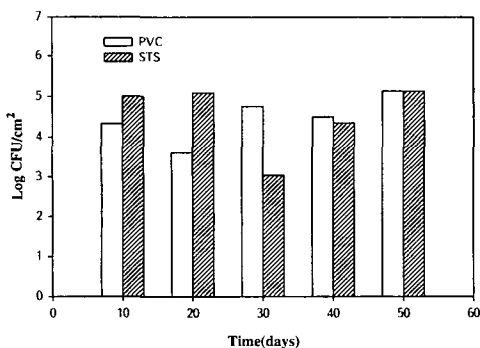


Fig. 2. Heterotrophic plate counts(HPC) on R2A medium in the biofilm formed on PVC and STS surfaces exposed to the tap water containing 0.2mg/L of free chlorine residual.

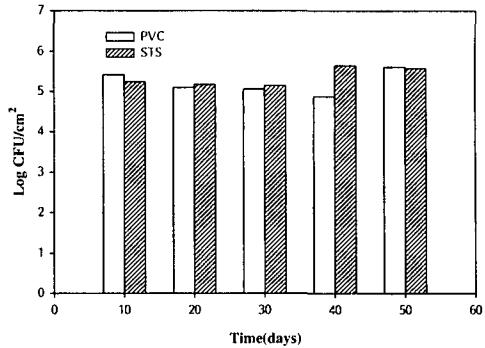


Fig. 3. Heterotrophic plate counts(HPC) on R2A medium in the biofilm formed on PVC and STS surfaces exposed to the tap water-supplied reactor(ABR2).

전반적으로 고영양성 미생물 배지인 PCA에 비하여 저영양 배지인 R2A 배지에서 평균적으로 3 배 정도(최대 10배) 많은 HPC가 검출되었다(결과 미제시). 이는 수돗물과 같은 빈영양 상태의 시료에서 미생물을 검출할 때 저영양성 R2A 배지를 사용하는 방법이 회수율을 높일 수 있다는 Reasoner와 Geldreich[31]의 연구 결과를 확인시켜 주었다. 최근에는 수인성 병원균과 결합되어 있을 수 있는 HPC 세균을 평가하기 위해 고영양성 배지인 5% sheep blood agar(TSA-SB)를 이용한 spread plate 방법이 제안되었다[32,33].

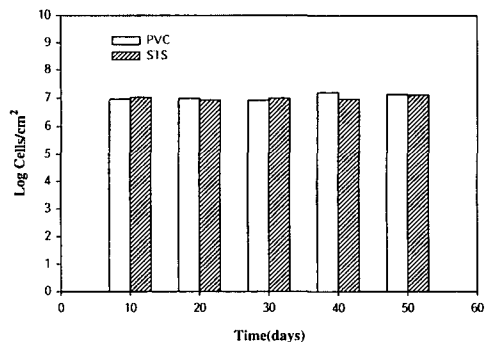


Fig. 4. Total direct counts in the biofilm formed on PVC and STS surfaces exposed to the tap water containing 0.2mg/L of free chlorine residual.

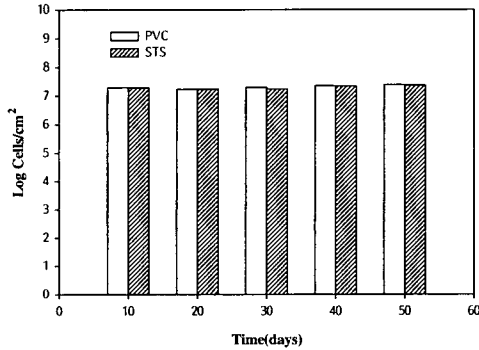


Fig. 5. Total direct counts in the biofilm formed on PVC and STS surfaces exposed to the tap water-supplied reactor(ABR2).

AODC 방법을 이용하여 생물막으로부터 측정된 총세균수의 분포를 Fig. 4와 5에 나타냈다. 잔류염소 농도를 0.2mg/L로 유지시킨 수도물과 접촉한 STS와 PVC 표면에서는 각각 평균적으로 1.01×10^7 cells/cm²와 1.13×10^7 cells/cm² 수준의 총세균수가 검출되었으며(Fig. 4), 잔류염소가 상대적으로 낮은 ABR2의 기저 표면에서는 2배 정도 높게 나타났다(Fig. 5).

Servais 등[35]의 연구에 근거하여 배·급수 계통에 존재하는 세균의 세포 당 평균 탄소함량을 20fg C라고 했을 때, 잔류염소가 상대적으로 낮은 상태의 수도물과 접촉한 ABR2의 STS와 PVC 표면에 생성된 부착성 세균의 biomass는 각각 0.34~0.46μg C/cm²와 0.34~0.48μg C/cm² 범위에 해당한다.

잔류염소 농도를 0.2mg/L로 유지시킨 수도물과 접촉한 STS와 PVC 표면의 부착성 HPC는 각각 총세균수의 0.65%와 0.38%에 해당하였으며, 대조군의 STS와 PVC 표면에서 검출한 부착성 HPC는 총세균수의 1.26%와 1.08%를 각각 차지하였다.

수도관 재료는 생물막을 형성하고 있는 미생물 조성에 영향을 미칠 수 있으며[36,37], 재료의 조도(roughness)는 미생물 부착에 영향을 미치는 중요한 인자 중 하나이다[26,38]. 그러나, 실험 결과에서 나타난 바와 같이 생물막 생성 정도를 나타내는 부착성 HPC와 총세균수는 재료에 따라 명확한 차이를 나타내지는 않았으며, 관 재료는 잔류염소보다 생물막 생성에 덜 영향을 미치는 것으로 조사되었다.

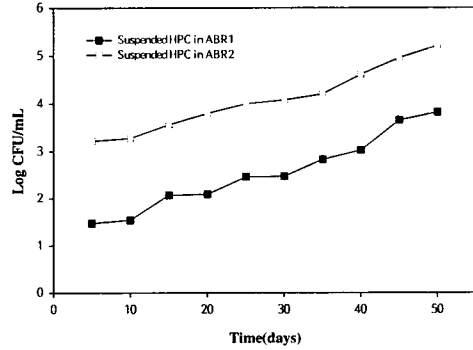


Fig. 6. Numbers of the suspended heterotrophic plate counts(HPC) on R2A medium from the bulk fluid of each reactor.

Fig. 6은 시간의 경과에 따른 반응기내 부유성 HPC의 변화 추이를 나타낸 결과이다. 잔류염소 농도를 0.2mg/L로 유지시킨 ABR1의 수중에서 측정된 부유성 HPC는 5일째에 30CFU/mL 수준이었으며, 점차적으로 증가하여 50일째에는 6.67×10^3 CFU/mL 수준을 나타냈다. 또한 상대적으로 잔류염소가 낮은 ABR2의 수중에서 검출한 부유성 HPC의 개체수는 5일째에 1.65×10^3 CFU/mL이었으며, 50일째에는 1.60×10^5 CFU/mL 수준을 나타냈다. 여러 연구자들은 생물막으로부터 세균의 탈리가 수중의 세균을 증가시키는 실질적인 원인이 된다고 하였다[1,37,39]. 본 실험에서 시간의 경과에 따른 반응기내 부유성 HPC의 수적인 증가가 생물막의 탈리에 의한 결과인지 여부는 불명확하다. 그러나, 반응기내 부유성 세균이 세균의 생장을 통하여 개체수가 증가한 것 같지는 않다. 만약 세균의 생장이 부유성 HPC의 증가에 직접적인 원인이 되었다면, 증가현상이 나타난 이후에 정상상태(steady state)에 도달했을 것이다. 그러나, ABR1과 ABR2에서 측정된 부유성 HPC는 시간이 경과함에 따라 계속해서 증가하였다. 이러한 결과들은 생물막이 액상에서의 세균수에 실질적인 원인이 될 수 있기 때문에 배·급수 시스템의 관리 방안을 고려했을 때 중요한 의미를 갖는다[40]. Block 등[41]은 부유성 세균과 부착성 생물막 세균들 사이에 선형적인 상호관계가 존재하며, 배·급수 시스템으로 유입되는 세균들을 제어하는 것이 시스템의 생물학적 안정성을 향상시킬 수 있는 방법이라고 제시하였으나, 최근의 연구에서는 물에 존재하는 세균과 관 표면에 부착하는 세균들은 서로 다르기 때문에 물에 존재하는 세균이 생물막에 미치는 영향은 작다고 하였다[37]. 생물막을 구성하는 주된 세균은 그람 음성(gram negative) 세균인 반면에 염소처리된 물에서는 대부분 그람 양성

(gram positive) 세균으로 존재한다. 비록 물에 존재하는 세균이 초기에는 관 표면에 군체를 형성하더라도 생물막은 특이한 생태계를 가지고 독특한 방식으로 발전한다. 그러나 물에 존재하는 세균은 배·급수 시스템에 삽입된 새로운 관의 접종원 (inoculum)이 될 수 있다.

생물막에 존재할 수 있는 대장균군을 분석하기 위하여 선택적 배지를 이용한 분석 결과 총대장균군과 분변성 대장균군은 잔류염소의 존재 유무와 관 재질에 관계없이 검출되지 않았으나, m-T7 배지를 통한 손상대장균군이 50일째에 ABR2의 STS와 PVC 생물막 시편에서 각각 65.86CFU/cm²와 58.78CFU/cm² 수준으로 검출되었다. Fass 등[42]은 pilot 규모의 수도물 급수시스템을 이용하여 *E. coli*의 발생을 연구하였다. 연구에 따르면 *E. coli*는 급수관 표면에 급속히 부착하였으며, 잔류염소가 없는 생물막내에서 조금씩 수가 증가하였다고 밝혔다. Szewzyk 등[43]은 병원성 *E. coli*가 HPC의 생물막에 집락을 형성할 수 있다고 보고하였다. 일반적으로 수도물 계통의 오염, 부적절한 정수과정 및 불충분한 소독제는 병원성 미생물이 수도물의 급수계통에 침투할 수 있는 원인이 된다.

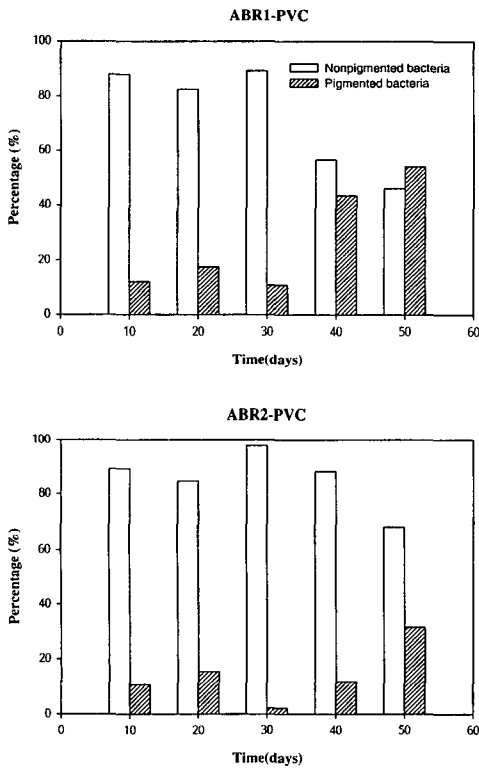


Fig. 7. Distribution of non-pigmented and pigmented colonies on R2A medium from the biofilm formed on PVC surface.

HPC 세균의 phenotype 특성은 수질을 조사하는데 도움이 될 수 있으며, 특히 pigment 세균은 수도물의 세균학적 수질과 관련하여 유용한 marker로 이용할 수 있다[44,45]. 일반적으로 pigment 세균은 생장이 느리며, 저영양성 물이나 염소처리된 수도물에서 많이 발견된다. Fig. 7과 8은 R2A 배지로 검출한 부착성 및 부유성 HPC를 phenotype에 근거하여 pigment와 non-pigment 세균으로 분류하여 나타낸 결과이다. Fig. 8에 제시된 바와 같이 pigment 세균이 PVC 표면에 부착한 HPC 세균에서 차지하는 부분은 상대적으로 낮았으며, 부착성 HPC 세균의 상당 부분은 non-pigment 세균들로 이루어져 있었다. 특히 잔류염소가 상대적으로 낮은 수도물과 접촉한 PVC 표면에서 pigment 세균이 차지하는 부분은 평균 15% 수준이었다. R2A 배지에서 검출된 pigment 세균은 주로 노란색, 빨간색, 분홍색을 지닌 세균이었으며, 노란색을 지닌 pigment 세균이 많은 비중을 차지하는 것으로 나타났다. STS 표면에서도 PVC와 유사한 경향을 나타냈다(결과 미제시).

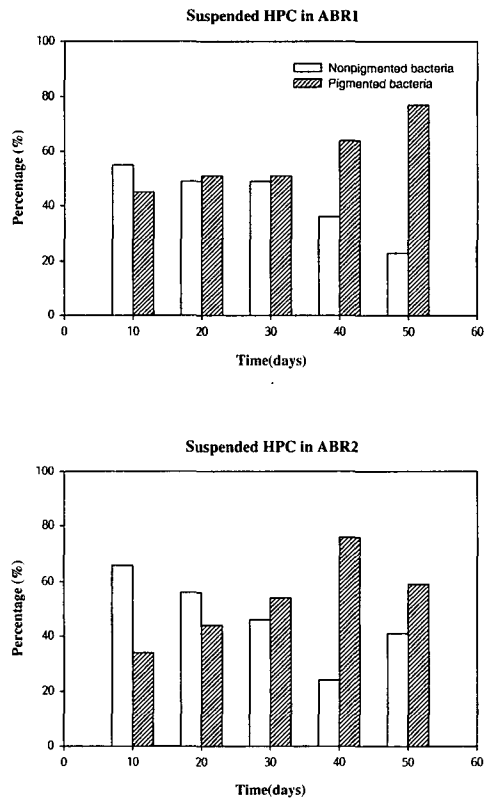


Fig. 8. Distribution of non-pigmented and pigmented colonies on R2A medium from the bulk fluid.

생물막에서 non-pigment 세균이 두드러지게 나타났던 결과와는 반대로 반응기내의 물에서는 주로 노란색을 지닌 pigment 세균이 두드러지게 존재하는 것으로 조사되었다(Fig. 8). 이상의 결과는 배·급수 시스템의 생물막 시료에서 pigment 세균이 차지하는 구성 비율이 bulk 시료보다 높다는 Carter 등[46]의 연구 결과와 상반된다. Reasoner 등[44]은 pigment 세균들을 포함한 높은 수준의 HPC를 수온이 16°C 보다 높고, 잔류염소가 없는 배·급수 시스템의 관말 지역에서 발견하였다. 이들 연구에서는 수온이 16°C 보다 낮고, 잔류염소가 존재하는 물에서 가장 낮은 수준의 HPC가 발견되었으나, 이러한 조건에서 가장 낮은 수준의 pigment 세균들이 검출되지는 않았다. 잔류염소가 0.6mg/L 이상인 물에서도 pigment 세균들은 90% 이상의 구성 비율을 나타냈다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 영양물의 농도와 관 재질 및 잔류염소 등과 같은 배·급수 시스템의 환경 요인은 생물막을 구성하는 세균의 성장율과 개체수를 변화시킬 뿐만 아니라 생물막을 형성하고 있는 개체군의 조성도 변화시킬 수 있을 것으로 판단된다.

R2A 배지 상에서 나타나는 colony들 중에서 형태적으로 구분이 가능한 4종의 세균을 순수 분리하여 단당류의 발효를 통해 유기산을 생성할 수 있는 세균인지를 확인하여 보았다. Triple Sugar Iron agar(Difco)를 이용하여 실험을 수행한 결과 분홍색/빨간색의 pigment를 지닌 세균은 lactose와 sucrose를 발효하여 유기산을 생성하는 통성혐기성(facultative anaerobic) 세균인 것으로 판정되었다. 그러나 노란색의 pigment와 non-pigment를 지닌 2종의 세균은 glucose, lactose 및 sucrose 중 어떠한 탄수화물도 발효시키지 않았다. 따라서, 노란색의 pigment와 non-pigment를 지닌 세균들은 당(sugar) 대사에 있어서 산화적 인산화(oxidative phosphorylation)에 전적으로 의존하는 절대호기성(obligate aerobic) 세균으로 여겨진다.

이상의 실험 결과로 볼 때 0.2mg/L의 잔류염소를 유지하기 위해 첨가한 NaOCl과 생물막 형성 미생물 사이에서 뚜렷한 dose-effect의 관계는 발견되지 않았다. 대조군을 비롯하여 잔류염소를 유지한 시험군에서도 생물막은 관 표면에서 빠르게 형성되었다. Norton과 LeChevallier[37]의 연구에서도 1~2mg/L의 높은 잔류 염소 농도에서 생물막은 빠르게 생성되었다. McFeters 등[47]은 살균을 위하여 염소소독을 실시하는 경우 수중의 많은 세균이 완전히 사멸되지는 않으며 정상 세균이 성장할 수 있는 환경에서 성장할 수 있는 능력만이 손상된 상태로 존재한다고 하였으며, Harson 등[48]은 소독을 실시한 수돗물에서 세균이 생존할 수 있는 가능성은 주로 입자에 부착하여 성장하는데 원인이 있다고 하였다. 생물막의 생성을 제어하는

데 있어 수온, 유기물, 수리학적 조건 및 수중에 존재하는 세균 등과 같은 인자들이 잔류염소나 관 재질보다 더욱 영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서도 이러한 인자들이 실험에서 사용한 시험 변수(잔류염소, 관 재질)만큼이나 생물막 생성에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다.

Lund와 Ormerod[49]는 5°C 미만의 온도에서는 잔류염소를 0.04~0.05mg/L로 유지해도 생물막의 제거가 가능하다고 하였다. 본 연구에서의 수온은 대부분 15°C 이상이었으며, 이 온도는 배·급수 시스템에서 세균의 수적인 증가와 밀접히 관련되어 있다[3,6,44]. 수온은 성장을 뿐만 아니라 부착에서 성장까지의 시간(지연기) 및 세포 수율에 영향을 미친다[50]. 따라서 여러 가지 인자들에 의존하여 생성되는 생물막에 대해 특정 인자만으로 효과를 예측하기는 어려울 것으로 여겨지며, 효과적으로 생물막을 제어하기 위해서는 수온, 소독제의 농도, 영양물의 농도, 부식 등 여러 가지 인자들을 동시에 다루어야 할 것으로 판단된다. 생물학적으로 안정한 수돗물의 공급과 낮은 수온은 배·급수 시스템에서 소독작용을 향상시켜 미생물 재증식을 효과적으로 억제시킬 수 있을 것으로 여겨진다.

4. 결론

수도관의 생물막 형성 특성에 대한 실험실 규모의 실험으로 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 수온이 15°C 이상인 조건에서 0.2mg/L 수준의 잔류염소가 수도관의 생물막 생성에 미치는 효과는 상당히 적은 것으로 조사되었다.
- 2) 수도관 재질에 따른 생물막 생성 정도를 고려해 보았을 때 PVC와 STS 316 사이에서는 뚜렷한 차이가 발견되지 않았다.
- 3) 종속영양세균을 phenotype에 근거하여 분류해 보았을 때 물에서는 노란색을 지닌 pigment 세균이 주로 검출되었으며, 관 표면의 생물막에서는 non-pigment 세균이 두드러지게 검출되었다.
- 4) 분홍색/빨간색의 pigment를 지닌 세균들은 통성혐기성 세균인 것으로 판정되었으며, 노란색을 지닌 pigment와 non-pigment를 지닌 세균들은 절대호기성 세균인 것으로 판정되었다.

사사

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(2000-2-30900-001-3) 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- [1] M. W. LeChevallier, T. M. Babcock, and R. G. Lee, "Examination and characterization of distribution system biofilms", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 53, No. 12, pp. 2714-2274, 1987.
- [2] W. G. Characklis, "Bacterial regrowth in distribution systems", AWWA Research Foundation, Denver, Colo., 1988.
- [3] M. W. LeChevallier, W. Schulz, and R. G. Lee, "Bacterial nutrients in drinking water", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 57, No. 3, pp. 857-862, 1991.
- [4] R. M. Donlan, and W. O. Pipes, "Selected drinking water characteristics and attached microbial population density", *J. AWWA*, Vol. 80, No. 11, pp. 70-76, 1988.
- [5] M. W. LeChevallier, C. D. Lowry, and R. G. Lee, "Disinfecting biofilms in a model in drinking water", *J. AWWA*, Vol. 82, no. 7, pp. 87-99, 1990.
- [6] D. van der Kooij, "Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth", *J. AWWA*, Vol. 84, No. 2, pp. 57-65, 1992.
- [7] D. M. Owen, G. L. Amy, Z. K. Chowdhury, R. Paode, G. McCoy, and K. Viscosil, "NOM characterization and treatability", *J. AWWA*, Vol. 87, no. 1, pp. 46-63, 1995.
- [8] P. Niquette, P. Servais, and R. Savoir, "Impacts of pipe materials on densities of fixed bacterial biomass in a drinking water distribution system", *Wat. Res.*, Vol. 34, No. 6, pp. 1952-1956, 2000.
- [9] S. L. Percival, J. S. Knapp, D. S. Wales, and R. G. J. Edyvean, "The effect of turbulent flow and surface roughness on biofilm formation in drinking water", *J. Ind. Microbiol. Biotech.*, Vol. 22, pp. 152-159, 1999.
- [10] M. Prévost, A. Rompré, J. Coallier, P. Servais, P. Laurent, B. Clément, and P. Lafrance, "Suspended bacterial biomass and activity in full-scale drinking water distribution systems: impact of water treatment", *Wat. Res.*, Vol. 32, No. 5, pp. 1393-1406, 1998.
- [11] L. A. Nagy, and B. H. Olson, "Occurrence and significance of bacteria, fungi and yeasts associated with distribution pipe surfaces", In *Technology Conference Proceedings, Advanced in water analysis and treatment*, AWWA, Houston, pp. 213-237, 1985.
- [12] F. Astier, J. L. Paquin, L. Mathieu, M. Morlot, and P. Hartemann, "Study of the development of the musty taste in water according to its ageing process in pilot plant", *Environ. Technol.*, Vol. 16, pp. 955-965, 1995.
- [13] R. Armon, J. Starosvetzky, T. Arbel, and M. Green, "Survival of *Legionella pneumophila* and *Salmonella typhimurium* in biofilm systems", *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 35, No. 11-12, pp. 293-300, 1997.
- [14] F. Quignon, L. Kiene, Y. Levi, M. Sardin, and L. Schwartzbrod, "Virus behaviour within a distribution system", *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 35, No. 11-12, pp. 311-318, 1997.
- [15] D. M. Holt, V. Gauthier, N. Merlet, and J. C. Block, "Importance of disinfectant demand of materials for maintaining residuals in drinking water distribution systems", *Water Supply*, Vol. 16, pp. 181-191, 1998.
- [16] M. W. LeChevallier, C. D. Lowry, R. G. Lee, and D. L. Gibbon, "Examining the relationship between iron corrosion and the disinfection of biofilm bacteria", *J. AWWA*, Vol. 85, No. 7, pp. 111-123, 1993.
- [17] N. B. Hallam, J. R. West, C. F. Forster, and J. Simms, "The potential for biofilm growth water distribution systems", *Wat. Res.* Vol. 35, No. 17, pp. 4063-4071, 2001.
- [18] D. van der Kooij, and W. A. M. Hijnen, "Measuring the concentration of easily assimilable organic carbon in water treatment as a tool for limiting regrowth of bacteria in distribution systems", pp. 729-744. In *Proc. AWWA Water Quality Technology Conf.*, AWWA, Denver, 1985.
- [19] J. C. Joret, Y. Levi, and C. Volk, "Biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) content of drinking water and potential regrowth of bacteria", *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 2, pp. 95-101, 1991.
- [20] D. van der Kooij, "Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth", *J. AWWA*, Vol. 84, No. 2, pp. 57-65, 1992.
- [21] P. Servais, G. Billen, P. Laurent, Y. levi, and G. Randon, "Impact of biodegradable

- dissolved organic carbon(BDOC) on bacterial dynamics in distribution system", pp. 963-980, In *Proc. AWWA Water Quality Technology Conf.*, AWWA, Denver.
- [22] 환경부, 상수도 시설 기준, 한국수도협회, 1997.
- [23] APHA, AWWA, WEF, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed., American Public Health Association, Washington, D.C., 1995.
- [24] M. W. LeChevallier, N. E. Shaw, L. A. Kaplan, and T. L. Bott, "Development of a rapid assimilable organic carbon method for water", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 59, No. 5, pp. 1526-1531, 1993.
- [25] P. G. Servais, Billen, and M. C. Hascoet, "Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matters in waters", *Wat. Res.*, Vol. 21, No. 4, pp. 445-450, 1987.
- [26] S. L. Percival, J. S. Knapp, R. G. J. Edyvean, and D. S. Wales. "Biofilms, mains water and stainless steel", *Wat. Res.*, Vol. 32, No. 7, pp. 2187-2201, 1998.
- [27] J. E. Hobbie, R. J. Daley, and S. Jasper, "Use of Nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 33, No. 5, pp. 1225-1228, 1977.
- [28] M. W. LeChevallier, S. C. Cameron, and G. A. McFeters, "New medium for the improved recovery of coliform bacteria from drinking water", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 45, No. 2, pp. 484-492, 1983.
- [29] D. van der Kooij, H. R. Veenendaal, C. Baars-Lorist, D. W. van der Klift, and Y. C. Drost, "Biofilm formation on surfaces of glass and teflon exposed to treated water", *Wat. Res.*, Vol. 29, No. 7, pp. 1655-1662, 1995.
- [30] M. T. S. Lutterbach, and F. P. de Franca, "Biofilm formation in water cooling systems", *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol. 12, pp. 391-394, 1996.
- [31] A. Maul, A. H. El-Shaarawi, and J. C. Block, "Bacterial distribution and sampling strategies for drinking water networks", In G. A. McFeters(ed.), *Drinking Water Microbiology*, Springer-Verlag New York, Inc., 1990.
- [32] D. Reasoner, and E. E. Geldreich, "A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 49, No. 1, pp. 1-7, 1985.
- [33] D. J. Lye, and A. P. Dufour, "Virulence characteristics of heterotrophic bacteria commonly isolated from potable water", *Environ. Toxicol. Wat. Qual.*, Vol. 8, pp. 13-23, 1993.
- [34] P. Payment, E. Coffin, and G. Paquette, "Blood agar to detect virulence factors in tap water heterotrophic bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 60, No. 4, pp. 1179-11837, 1994.
- [35] P. Servais, P. Laurent, and G. Randon, "Comparison of the bacterial dynamics in various French distribution systems", *Aqua*, Vol. 44, No. 1, pp. 10-17, 1995.
- [36] T. Schwartz, S. Hoffmann, and U. Obst, "Formation and bacterial composition of young, natural biofilms obtained from public bank-filtered drinking water systems", *Wat. Res.*, Vol. 32, No. 9, pp. 2787-2797, 1998.
- [37] C. D. Norton, and M. W. LeChevallier, "A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 66, No. 1, pp. 268-276, 2000.
- [38] K. Pedersen, "Biofilm development on stainless steel and PVC surfaces in drinking water", *Wat. Res.*, Vol. 24, No. 2, pp. 239-243, 1990.
- [39] E. van der Wende, W. G. Characklis, and D. B. Smith, "Biofilms and bacterial drinking water quality", *Wat. Res.*, Vol. 23, No. 10, pp. 1313-1322, 1989.
- [40] Chandy, J. P., and M. L. Angels. 2001. Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay. *Wat. Res.* 35(11): 2677-2682.
- [41] J. C. Block, K. Haudidier, J. L. Paquin, J. Miazga, and Y. Levi, "Biofilm accumulation in drinking water distribution system", *Biofouling*, Vol. 6, pp. 333-334, 1993.
- [42] S. Fass, M. L. Dincher, D. J. Reasoner, D. Gatel, and J.-C. Block, "Fate of *Escherichia coli* experimentally injected in a drinking water distribution pilot plant", *Wat. Res.*, Vol. 30, No. 9, pp. 2215-2221, 1996.
- [43] U. Szewzyk, W. Manz, R. Amann, K. H. Schleifer, and T. A. Stenström, "Growth and

- in situ detection of a pathogenic *Escherichia coli* in biofilms of a heterotrophic waer-bacterium by use of 16S- and 23-rRNA-directed fluorescent oligonucleotide probes", *FEMS Microbiol. Ecol.*, Vol. 13, pp. 169-176, 1994.
- [44] D. J. Reasoner, J. C. Blannon, E. E. Geldreich, and J. Barnick, "Nonphoto synthetic pigmented bacteria in a potable water treatment and distribution system", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 55, No. 4, pp. 912-921, 1989.
- [45] P. A. Rusin, J. B. Rose, and C. P. Gerba, "Health significance of pigmented bacteria in drinking water", *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 35, No. 11-12, pp. 21-27, 1997.
- [46] J. T. Carter, E. W. Rice, S. G. Buchberger, and Y. Lee, "Relationship between levels heterotrophic bacteria and water quality parameters in a drinking water distribution system", *Wat. Res.*, Vol. 34, No. 5, pp. 1495-1502, 2000.
- [47] G. A. McFeters, S. C. Cameron, and M. W. LeChavallier, "Influence of diluents, media, and membrane filters on detection of injured waterbone coliform bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 43, No. 1, pp. 97-103, 1982.
- [48] D. S. Harson, B. McGonigle, M. A. Payer, and K. H. Baker, "Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from chlorination", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 53, pp. 1178-1180, 1987.
- [49] V. Lund, and K. Ormerod, "The influence of disinfection processes on biofilm formation in water distribution systems", *Wat. Res.*, Vol. 29, No. 4, pp. 1013-1021, 1995.
- [50] G. Fransolet, G. Villers, and W. J. Masschelin, "Influence of temperature on bacterial development in waters", *Ozone Sci. Eng.*, Vol. 7, pp. 205-227, 1985.