

모형 수도관에서 염소와 모노클로라민에 의한 생물막 제거 특성 비교

박세근[†] · 최성찬* · 김영관

강원대학교 환경공학과 · *한림대학교 환경생명공학과

(2005년 6월 7일 접수, 2005년 12월 29일 채택)

Comparison of Biofilm Removal Characteristics by Chlorine and Monochloramine in Simulated Drinking Water Distribution Pipe

Se-Keun Park[†] · Sung-Chan Choi* · Yeong-Kwan Kim

Department of Environmental Engineering, Kangwon National University

*Department of Environmental Science & Biotechnology, Hallym University

ABSTRACT : This study investigated the characteristics of the biofilm removal by free chlorine or monochloramine. The simulated drinking water distribution pipes on which biofilms had been formed were supplied with tap water containing 0.5, 1.0, 2.0 mg/L of free chlorine or monochloramine residuals. The biofilm removal was characterized by measurement of attached HPC and biomass on pipe surfaces. Chlorine was more effective in both inactivation of attached viable heterotrophic bacteria and removal of biofilm biomass compared to monochloramine. Biofilm matrix was not much eliminated from the surfaces by monochloramine disinfection. Free chlorine residual of 2.0 mg/L was found to be effective in biomass removal. However, biofilm level as low as 10 CFU/cm² of attached HPC and 5 µg/cm² of biomass still remained on the surfaces at 2.0 mg/L of chlorine residual. The measurement of biomass appeared to be a useful means in evaluating the characteristics of biofilm removal.

Key Words : Biofilm, Drinking Water Distribution Pipe, Chlorine, Monochloramine, Biomass

요약 : 본 연구에서는 염소와 모노클로라민을 이용하여 생물막이 제거되는 특성을 알아보았다. 염소와 모노클로라민을 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 농도로 잔류시킨 수도물을 생물막이 형성되어 있는 모형 수도관에 연속적으로 공급하고, 관 표면으로부터 부착성 HPC와 biomass를 측정하였다. 염소는 생물막을 구성하는 미생물의 비활성화와 표면으로부터 생물막 matrix를 제거하는데 높은 효과를 나타낸 반면에 모노클로라민은 생물막 matrix를 제거하는데 염소보다 상대적으로 낮은 효율을 나타냈다. 특히 모노클로라민을 이용한 소독 처리에서는 세균과 EPS가 결합된 생물막 matrix가 관 표면으로부터 대부분 제거되지 않은 상태로 존재하였다. 비록 2.0 mg/L의 잔류염소가 생물막 제거에 높은 효과를 보였지만, 관 표면에는 여전히 낮은 수준(<10 CFU/cm² as 부착성 HPC, <5 µg/cm² as biomass)의 생물막이 잔류하고 있었다. 생물막의 제거 특성을 평가하는데 있어서 biomass의 측정이 효과적인 수단인 것으로 판단되었다.

주제어 : 생물막, 수도관, 염소, 모노클로라민, Biomass

1. 서론

정수처리 과정에서 생존하여 배·급수 시스템으로 유입된 미생물들은 배·급수관 또는 저장탱크의 내벽에 부착·생장하고, 그들의 성장 과정에서 분비된 체외분비물질(EPS; extracellular polymeric substances)과 결합하여 관 표면에 층을 형성하는데 이러한 층을 생물막(biofilm)이라고 한다.¹⁾ 배·급수관 내부 표면에서의 생물막 형성은 수도물의 화학적 및 미생물학적 수질에 부정적인 영향을 미칠 뿐만 아니라 소독제의 소독 효과를 감소시켜 소독제의 사용량을 증가시키는 원인이 되기도 한다.²⁾

생물학적으로 안정한 수도물을 공급하기 위해서는 배·급수관에서 생물막이 형성되지 않도록 하는 것이 최우선이겠지만, 고도처리공정을 적용하고 있는 정수시설에서도 미생물 생장을 방지할 수 있을 정도로 원수에 포함되어 있는 모든 물질을 제거하지는 못하기 때문에 배·급수관내에서 생물막이 형성될 수 있는 가능성은 여전히 존재한다. 배·급수 시설에서의 생물막 형성이 수도물의 오염 원인이 될 경우 수도물의 안정성을 유지하기 위해서는 생물막의 제거가 필수적이다. 생물막을 제거할 수 있는 방법에는 소독제를 이용한 방법이 있다.

전통적으로 배·급수 시스템에서 세균 생장과 생물막 형성을 방지하기 위해 사용되고 있는 대표적인 소독제는 염소(chlorine)와 모노클로라민(monochloramine)이다. 이들 소독제는 수도물에 존재하는 세균이라든가 생물막에 대해 작용하는 능력이 서로 다른 것으로 보고되었다.²⁾ 국내를 비롯하여 광

[†] Corresponding author
E-mail: parkphd@emapl.com
Tel: 033-241-6350

Fax: 033-254-6357

은 국가에서 사용하고 있는 염소는 virus와 세균에 대해서는 효과적이지만, 병원균에 대해서는 제한적인 효과만을 갖는 소독제로 알려져 있다.³⁾ 일부 연구자들은 모노클로라민이 염소에 비해 긴 접촉시간을 필요로 하는 단점을 갖고 있지만, 배·급수 시스템에서 생물막을 제어하는데 있어 염소보다 더 효과적인 소독제로 보고하기도 하였다.^{4~6)} 소독제의 종류에 따라 미생물 제어에 미치는 효과가 차이를 나타내고 있으므로 국내와 같이 소독제에 대한 의존도가 큰 경우에는 무엇보다도 효과적인 소독제의 선택이 중요할 것으로 판단된다.

소독제와 관련된 연구는 주로 세균의 비활성화(inactivation) 이거나 살균이다. 즉, 대부분 생물막에 대한 소독제의 효과는 생물막을 구성하는 세균수(viable cell count)의 감소로 평가되어 왔다. 이러한 방법은 표면으로부터 생물막의 제거보다는 세균의 비활성화 효과에 대한 정보를 제공하는데 우선한다. 그러나 소독제에 의해 손상을 입은 세균일지라도 여전히 표면에는 세포를 비롯한 생체구성물질들이 부착되어 남아 있을 수 있다. 이러한 현상은 생물막 제어에 있어 부정적인 측면으로 작용할 수 있을 것이다. 그러므로 소독과정에서 표면으로부터 생물막의 제거 여부를 고려할 필요가 있을 것으로 판단되는데, 이러한 측정은 생물막에 대한 소독제의 효과를 평가하는데 있어 좀더 유익한 정보를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 수도물에 염소와 모노클로라민을 잔류시켜 관 표면에 형성된 생물막과 연속적으로 접촉시키면서 염소와 모노클로라민에 의한 생물막의 제거 특성을 분석 비교하였다. 염소와 모노클로라민의 잔류 농도에 따른 생물막의 제거 정도는 생물막을 구성하는 세균수와 biomass의 변화에 근거하여 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험장치

실험은 Fig. 1과 같이 GAC(granular activated carbon) column, 접촉조, PVC(polyvinyl chloride) 관으로 구성된 실험실 규모의 모형 수도관 시스템을 이용하여 수행하였다. Fig. 1의 GAC column(직경 10 cm × 높이 80 cm)은 수도물에 잔류되어 있는 염소와 유기탄소를 제거하기 위한 용도로서, 8~30 mesh 크기의 GAC(SLS 100, 삼천리활성탄소) 4 kg을 column에 채우고 EBCT(empty bed contact time) 5분으로 운전하였다. 실험기간 동안 GAC column은 하루에 한번씩 종류수로 세척을 하였으며, 5~7일 간격으로 GAC를 교체 사용하였다. Table 1은 GAC column으로 처리한 수도물의 수질 특성이다. 실험기간 동안 column을 통과한 수도물에서 잔류염소는 검출되지 않았으며, 평균 TOC(total organic carbon) 농도(0.23 mg/L)는 column을 통과하기 이전의 수도물에서 측정된 평균 TOC(total organic carbon) 농도(0.58 mg/L)보다 낮은 수준이었다. GAC column을 교체하기 전 사용기간(5-7일) 중에는 유출수내 TOC 농도가 0.3 mg/L을

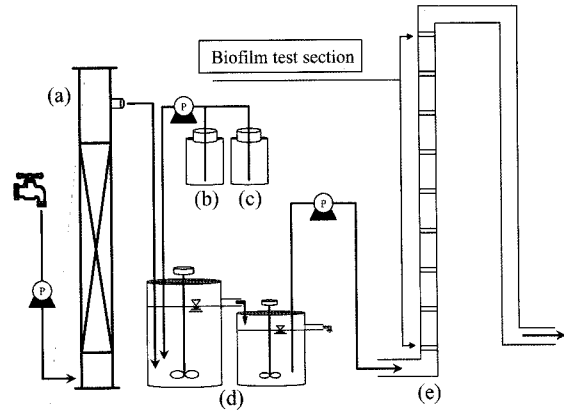


Fig. 1. Schematic diagram of the model pipe system used in experiment.

Table 1. Characteristics of the tap water sample treated by GAC column during the experimental periods

Parameters	Average	Range
pH	6.90	6.75 ~ 7.03
Alkalinity (mg/L as CaCO ₃)	30.0	25 ~ 40
Hardness (mg/L as CaCO ₃)	35.0	30 ~ 45
Free chlorine residual (mg/L)	ND ^a	ND ^a
NH ₃ -N (mg/L)	0.010	0 ~ 0.015
PO ₄ -P (mg/L)	0.010	0.005 ~ 0.030
TOC (mg/L)	0.23	0.12 ~ 0.30
BDOC (mg/L)	0.10	0.05 ~ 0.20
HPC (CFU/mL)	70	5 ~ 4.5 × 10 ²

^a ND = not detected

초과하지 않았다. 접촉조는 PVC 관에 수도물을 일정하게 공급하기 위한 유량 조정 기능과 더불어 소독제의 잔류농도를 일정하게 유지시키기 위하여 사용하였다. 그리고 사용한 PVC 관은 전체 길이가 2 m로서, 생물막 분석을 위해 관의 분리와 연결이 원활하도록 직경과 길이가 각각 1.6 cm와 10 cm인 PVC 관을 연결하여 제작하였다.

2.2. 생물막 형성 과정

본 연구에서는 염소와 모노클로라민에 의한 생물막의 제거 특성을 알아보기에 앞서 예비 단계로서 관 표면에 생물막을 형성시키는 과정을 수행하였다. 즉, 생물막 형성을 위해 Fig. 1과 같이 배·급수 계통을 거쳐 실험실로 공급되는 수도물을 GAC column으로 처리한 다음, 소독제 대신에 sodium acetate solution을 GAC column으로 처리한 수도물(Table 1)에 첨가하여 BDOC(biodegradable dissolved organic carbon) 농도가 2.0 mg/L이 되도록 유지시켜 300 mL/min의 유량으로 PVC 관에 공급하였다. 생물막 형성 과정은 약 10°C의 수온에서 40일 동안 진행되었다.

2.3. 소독제를 이용한 생물막 제거 실험

생물막 형성 과정을 거쳐 PVC 관 표면에 형성된 생물막을

제거하기 위한 실험에서는 유기탄소가 소독제에 미치는 효과를 제어하기 위하여 GAC column으로 처리한 수돗물(Table 1)을 이용하였다. 실험에 적용한 염소와 모노클로라민의 잔류농도는 각각 0.5, 1.0, 2.0 mg/L이었다. 잔류염소 농도(0.5, 1.0, 2.0 mg/L)는 접촉조내에서 GAC column을 연속적으로 통과하는 수돗물에 유효염소 농도를 다르게 제조한 NaOCl stock solution(0.06, 0.12, 0.22%)을 1 mL/min의 유량으로 주입하여 연속적으로 생성시켰다. 이때 접촉조의 이론적인 체류시간은 20분이었다. 그리고 모노클로라민의 잔류농도(0.5, 1.0, 2.0 mg/L)는 NaOCl(0.06, 0.12, 0.22%)과 NH₄Cl stock solution (0.01, 0.02, 0.04 M)을 이용하여 접촉조에서 Cl₂와 NH₃를 3:1(w:w)⁷⁾의 비율로 반응시켜 연속적으로 생성시켰다. 수돗물에서 유리잔류염소와 모노클로라민의 잔류농도는 *N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine ferrous titrimetric method를 이용하여 측정하였다.⁸⁾

염소와 모노클로라민에 의한 생물막의 제거 효과는 염소와 모노클로라민을 각각 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 농도로 잔류시킨 수돗물을 생물막이 형성되어 있는 PVC 관에 300 mL/min의 유량으로 공급하면서 1, 2, 5, 10일 이후에 관 표면으로부터 생물막을 분석함으로써 평가하였다. 관을 통과하는 수돗물의 유속과 Reynolds number(Re)는 각각 2.5 cm/sec와 450이었으며, 수돗물의 수온은 약 10°C이었다.

2.4. 분석방법

2.4.1. 생물막 시료 회수

PVC 관 표면에 형성된 생물막 시료는 cell scraper(Becton & Dickinson Co.)와 초음파세척기(Model 8210, Branson[®])를 이용하여 회수하였다.⁹⁾ 먼저 시스템으로부터 PVC 관 시편(직경 1.6 cm × 길이 10 cm)을 분리시킨 후 가역적으로 부착한 생물막을 증류수로 제거한 다음, 관 시편 하단 부분을 parafilm으로 밀봉시켜 20 mL 인산염 완충용액(0.3 mM, pH 7.2)을 첨가한 후 cell scraper로 수회 긁어 생물막을 표면으로부터 분리시켰다. 그리고 시편 상단을 parafilm으로 밀봉시킨 후 시편을 초음파세척기에 넣고 5분씩 3회 처리하였다. 회수한 생물막 현탁액을 Pyrex bottle에 옮기고, 다시 위의 과정을 1회 반복하였다. 생물막 회수 과정은 멸균 조작법⁸⁾에 준해서 수행하였으며, 사용된 모든 용액과 용기는 멸균 후 사용하였다.

2.4.2. 부착성 HPC

생물막 시료 중의 부착성 HPC는 저영양성 배지인 R2A agar(Difco[™])를 이용한 도말평판법과 막여과법으로 28°C에서 7일간 배양⁸⁾하여 CFU(colony-forming units)/cm² 단위로 나타냈다.

2.4.3. Biomass

생물막의 biomass는 시료로부터 단백질(protein)과 탄수화물(carbohydrate)을 각각 측정한 후 이들을 합하여 µg/cm²로 나타냈다.¹⁰⁾ 단백질은 Bradford 방법¹¹⁾에 따라 생물막 시료

를 Coomassie brilliant blue(BioRad)와 반응시켜 595 nm에서 흡광도를 측정하고, 표준물질로서 bovine serum albumin(Sigma)을 이용하여 작성한 검량선으로부터 정량적으로 분석하였다. 그리고 탄수화물은 시료를 phenol과 sulfuric acid로 반응시켜^{10,12)} 485 nm에서 흡광도를 측정하고 glucose(Sigma)를 이용하여 작성한 검량선으로부터 정량적으로 분석하였다.

2.4.4. 생물막 관찰

관 표면에 형성된 생물막은 주사형 현미경(SEM, scanning electron microscope)을 이용하여 관찰하였다. 먼저, 임의의 크기로 절단한 시편 조각을 2.5%(w/v) glutaraldehyde에 옮기고 4°C에서 생물막을 고정시켰다. 그리고 고정된 시편 조각을 0.1M phosphate buffer(pH 7.2)로 세척한 후에 ethanol의 농도를 50~100%까지 10%씩 증가시키면서 탈수(dehydration)시키고 임계점건조기(critical point dryer)로 건조시켰다. 건조한 조각은 ion sputter(Model E-1010, HITACHI)에서 Pt-Pd로 coating한 후 SEM(Model S-4300, HITACHI)을 이용하여 적당한 배율에서 생물막을 관찰하였다.

2.4.5. 수돗물 분석

수돗물의 수질은 Standard Methods⁸⁾에 준하여 분석하였다. pH는 pH meter(Model 710A, Orion)를 이용하여 측정하였으며, 경도와 알칼리도의 분석에는 ethylenediaminetetraacetic acid를 이용한 적정법과 mixed bromocresol green-methyl red indicator를 이용한 적정법을 각각 사용하였다. 그리고 잔류염소는 *N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine ferrous titrimetric method로 분석하였고, 암모니아성 질소와 인산염 인은 각각 Phenate 방법과 Ascorbic acid 방법으로 분석하였다. TOC는 TOC analyzer(Model Phoenix 8000, Dohrmann)를 이용하여 측정하였으며, BDOC는 미생물이 부착된 모래 100±10 g를 수돗물 시료 300 mL에 첨가하여 5일간 배양한 후 DOC 차이로 측정하였다.¹³⁾ 수돗물에 존재하는 부유성 HPC는 R2A agar를 이용한 막여과법과 도말평판 방법으로 분석하였다.

3. 결 과

3.1. 부착성 HPC의 제거 특성

Fig. 2는 생물막을 구성하는 부착성 HPC가 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 잔류염소와 모노클로라민에 의해 비활성화되는 경향을 나타낸 결과이다. 소독제를 사용하기 이전 40일 동안의 생물막 형성 과정을 거치면서 관 내부 표면에 부착한 HPC의 수준은 $4.0 \times 10^5 \sim 6.9 \times 10^5$ CFU/cm²이었다. 대부분 부착성 HPC의 99% 이상이 염소와 모노클로라민에 의해 1일 이내에 비활성화 되었다. 관 표면에 형성된 생물막을 염소로 10일 동안 소독했을 때 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 농도에 의해 비활성화된 부착성 HPC의 수준은 각각 2.83, 4.33, 5.63 log이었다. 그리고 동일 기간 동안 모노클로라민 농도 0.5, 1.0, 2.0 mg/L에 의해 비활성화된 수준은 각각 2.77, 4.22, 5.09 log이었다.

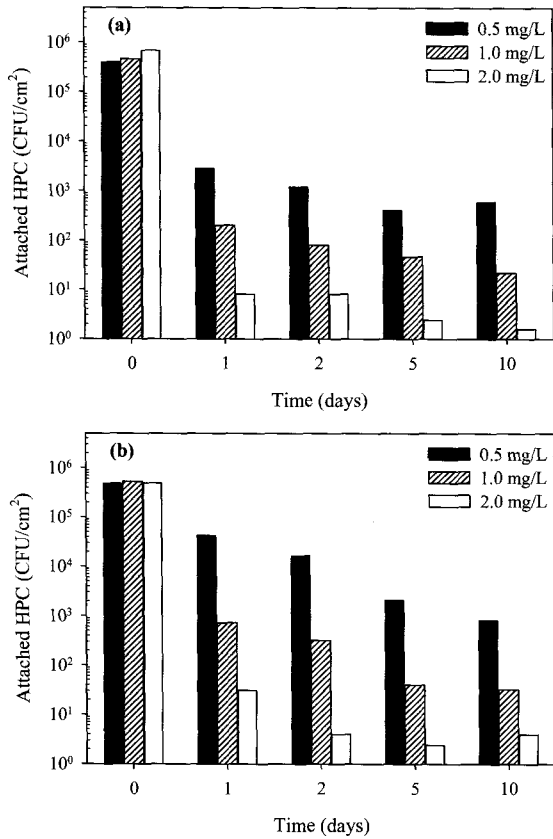


Fig. 2. Inactivation of attached heterotrophic bacteria within biofilm by (a) free chlorine and (b) monochloramine at different residual concentrations in the simulated water distribution pipe. Zero-day values indicate HPC levels within biofilm before disinfection.

염소와 모노클로라민으로 소독 처리하기 전의 생물막내 부착성 HPC를 $N_0(\text{CFU}/\text{cm}^2)$, 소독 과정에서 생존한 부착성 HPC를 $N(\text{CFU}/\text{cm}^2)$ 이라고 했을 때, 각 소독제의 농도별 소독 처리기간에 따른 생존율의 변화를 식으로 나타내면 다음과 같다:

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = a[1 - \exp(-k_I \cdot t)] \quad (1)$$

여기서, N/N_0 : 부착성 HPC의 생존비
 a : 상수
 k_I : 상수, day^{-1}
 t : 소독 처리기간, day

Table 2는 비선형 회귀분석(nonlinear regression analysis)을 이용하여 추정한 상수 값들을 요약한 결과이다. 염소와 모노클로라민의 비활성화 속도상수를 서로 비교했을 때 동일한 농도에서 염소의 상수 값(k_I)이 상대적으로 더 크게 나타났다.

3.2. Biomass의 제거 특성

Fig. 3은 염소와 모노클로라민에 의해 관 표면으로부터 생

Table 2. Best fit kinetic parameters for inactivation of attached heterotrophic bacteria by free chlorine and monochloramine at different residual concentrations

Disinfectant	Residual concentration	a	k_I (day ⁻¹)	R^{2*}	n^\dagger
Cl ₂	0.5 mg/L	-2.8767±0.0798	1.2885±0.1611	0.9931	5
	1.0 mg/L	-4.1085±0.1196	1.6156±0.2560	0.9919	5
	2.0 mg/L	-5.3841±0.1714	2.3212±0.6127	0.9896	5
NH ₂ Cl	0.5 mg/L	-2.5173±0.0791	0.4889±0.0453	0.9948	5
	1.0 mg/L	-4.1109±0.1838	1.0104±0.1747	0.9832	5
	2.0 mg/L	-5.2170±0.0647	1.6579±0.1151	0.9985	5

* R^2 = The coefficient of determination that denotes the proportion of the total variability in the dependent variable that is accounted for by the regression equation

† n = the number of data points used for the regression

물막의 biomass가 제거되는 경향을 보여주는 결과이다. 소독 처리하기 전 관 표면에서 측정된 biomass 수준은 38.17~43.93 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었다. 실험 결과에서 동일한 잔류농도와 소독처리기간에서 볼 때 염소가 모노클로라민 보다 상대적으로 biomass 제거율이 현저히 높았다. 생물막을 각각 0.5, 1.0,

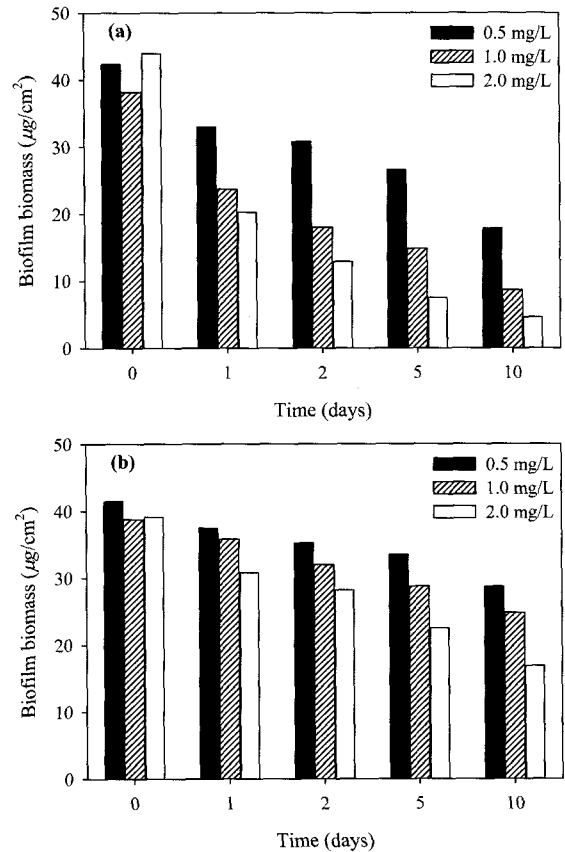


Fig. 3. Removals of the biomass by disinfection with (a) free chlorine and (b) monochloramine at different residual concentrations in the simulated water distribution pipe. Zero-day values indicate levels before disinfection.

2.0 mg/L의 잔류염소 농도로 10일 동안 소독 처리한 이후 관 표면의 biomass 수준은 소독 처리하기 전의 biomass 수준과 비교해서 각각 57.9, 77.4, 89.6%가 제거된 17.85, 8.64, 4.58 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었다. 그리고 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 모노클로라민으로 10일 동안 소독 처리한 이후 관 표면의 biomass 수준은 각각 30.8, 36.0, 56.9%가 제거된 28.70, 24.80, 16.87 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었다.

염소와 모노클로라민에 의한 관 표면의 biomass 제거 특성을 식으로 나타내면 식 (2)와 같다:

$$\frac{1}{C} = k_b \cdot t + \frac{1}{C_0} \quad (2)$$

- 여기서, C : 소독 처리 이후의 biomass, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$
- C_0 : 소독 처리하기 이전의 biomass, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$
- k_b : 상수, $\mu\text{g}^{-1}\text{cm}^2\text{day}^{-1}$
- t : 소독처리기간, day

Table 3은 biomass 제거와 관련된 상수 값들을 회귀분석으로 추정하여 요약한 결과이다. 염소의 biomass 제거 속도 상수 값이 모노클로라민의 상수 값보다 약 6배 정도 큰 것으로 나타났다. Table 3의 속도상수에 근거하여 biomass의 90%가 제거될 수 있는 시간을 이론적으로 계산하면, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 잔류염소 농도로 소독 처리할 경우 각각 필요한 시간은 약 76, 34, 15일이다. 그리고 모노클로라민의 경우 잔류농도 0.5, 1.0, 2.0 mg/L에 대해 각각 소요되는 이론적 시간은 228, 174, 78일이다. 비록 이론적인 추정치이기는 하지만, 이러한 결과는 염소나 모노클로라민을 이용하여 관 표면에 형성된 생물막의 biomass를 제거하는데 있어 많은 시간이 소요될 수 있음을 나타내고 있다.

Table 3. Best fit kinetic parameters for removal of biomass by free chlorine and monochloramine at different residual concentrations

Disinfectant	Residual concentration	$1/C_0$ ($\mu\text{g}^{-1}\text{cm}^2$)	k_b ($\mu\text{g}^{-1}\text{cm}^2\text{day}^{-1}$)	R^{2*}	n^\dagger
Cl_2	0.5 mg/L	0.0252±0.0014	0.0030±0.0003	0.9738	5
	1.0 mg/L	0.0315±0.0040	0.0083±0.0008	0.9738	5
	2.0 mg/L	0.0313±0.0052	0.0192±0.0010	0.9917	5
NH_2Cl	0.5 mg/L	0.0253±0.0006	0.0010±0.0001	0.9522	5
	1.0 mg/L	0.0270±0.0008	0.0014±0.0002	0.9637	5
	2.0 mg/L	0.0279±0.0011	0.0032±0.0002	0.9862	5

* R^2 = The coefficient of determination that denotes the proportion of the total variability in the dependent variable that is accounted for by the regression equation

† n = the number of data points used for the regression

4. 고찰

염소와 모노클로라민을 수돗물에 잔류시켜 관 표면에 형성되어 있는 생물막을 연속적으로 소독 처리했을 때 잔류염소와 모노클로라민은 생물막을 구성하는 부착성 미생물의 비활성화와 더불어 biomass를 감소시키는 효과를 나타냈다. 특히 관 표면으로부터 생물막의 biomass를 제거하는데 있어 염소가 모노클로라민 보다 더욱 효과적이었다.

생물막의 biomass 제거에 대한 염소와 모노클로라민의 상이한 효과는 관 표면을 SEM으로 관찰한 결과에서도 확인할 수 있었다. Fig. 4는 소독 처리하기 전의 생물막과 2.0 mg/L의 잔류염소와 모노클로라민으로 10일 동안 소독 처리한 이후의 관 표면을 각각 SEM으로 관찰한 사진이다. 생물막 형성 과정을 거치면서 PVC 관 표면에 많은 수의 세균과 EPS가 결합하여 층을 이루고 있었던 생물막(Fig. 4(a))은 잔

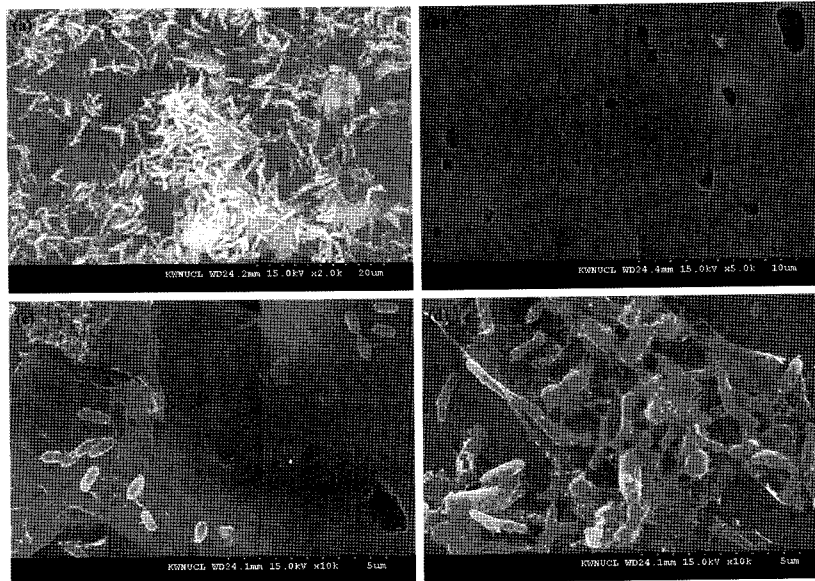


Fig. 4. Photos of scanning electron microscopes; (a) biofilms attached to PVC surface before disinfection, (b) & (c) surfaces after 10 days exposure to free chlorine of 2.0 mg/L, and (d) biofilms attached to surface after 10 days exposure to monochloramine of 2.0 mg/L.

류염소에 의해 Fig. 4(b)와 같이 대부분 표면에서 제거되었거나, 또는 Fig. 4(c)와 같이 단지 일부 표면에서 상대적으로 크기가 작은 간상형 세균이 드문드문하게 부착되어 있는 것이 관찰되었다. 그러나 Fig. 4(d)와 같이 모노클로라민으로 소독 처리한 경우에는 세균과 EPS가 결합된 생물막이 대부분 제거되지 않은 상태로 존재하고 있었으며, 대부분의 세균은 EPS에 둘러싸여 부착되어 있었다. 이처럼 관 표면에 EPS와 함께 부착되어 있었던 세균의 대부분은 죽은 상태이거나 또는 살아있지만 배양이 불가능한(viable but non-culturable, VBNC) 세균일 것으로 판단된다. 이러한 해석은 모노클로라민에 의해 나타났던 부착성 HPC의 비활성화 결과에 근거한다(Fig. 2(b)). 그러므로 모노클로라민을 이용한 소독 처리 과정에서 관 표면으로부터 제거되지 않고 남아있던 대부분의 생물막은 비활성화된 상태의 미생물 군집으로 이루어졌을 것으로 판단되어진다.

본 실험의 결과들은 염소와 모노클로라민이 세균과 EPS로 구성된 생물막 matrix에 작용하는 소독 효과가 서로 차이가 있음을 보여주고 있다. 즉, 관 표면에 형성된 생물막 matrix는 모노클로라민에 의해 잘 제거되지 않는다는 것을 의미한다. 이러한 차이점을 표면으로부터의 생물막 제거 측면에서 볼 때, 염소가 모노클로라민 보다 더 효과적인 소독제로서 고려할 수 있는 근거가 될 수 있을 것이다. 관 표면으로부터 세균과 EPS가 결합된 생물막의 완전한 제거는 새로운 미생물의 부착이라든가 새로운 생물막의 형성을 제어하는 데 중요할 수 있기 때문이다. 특히 부분적인 제거는 생물막 내부에 있는 세균에게 더 많은 영양물질을 공급할 수 있고, 비활성화된 상태라든가 또는 사멸 상태의 세균이 표면에 남아 있을 경우 이들은 살아있는 세균에 대한 영양물질의 공급원이 될 가능성이 있어 생물막 제어에 부정적인 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

또한 실험의 결과들은 생물막을 제어하는데 있어 반응성은 작지만 지속성이 높은 모노클로라민이 염소보다 더 효과적이라고 보고한 연구들⁴⁻⁶⁾과 대조된다. 실험 결과들에서는 모노클로라민이 염소 보다 생물막 미생물의 비활성화를 비롯하여 생물막 biomass 제거에 있어 더 효과적이라는 증거는 전혀 발견되지 않았다. 생물막에 대한 염소의 효과는 동일한 농도와 소독 기간에서 모노클로라민과 비교하여 유사하거나 오히려 더 크게 나타났다. 특히 염소와 유사한 소독 효과를 얻기 위해서는 상대적으로 높은 농도의 모노클로라민이 필요하였다. Momba 등⁶⁾은 monochloramine이 다른 소독제들(염소, 오존, 자외선, H₂O₂)과 비교해서 생물막에 대한 살균력이 더 효과적이었음을 보고하였다. 모노클로라민은 생물막 내부로의 침투력이 커서 생물막 미생물에 대한 소독 효과가 높은 것으로 보고되었는데,⁴⁾ 이는 모노클로라민이 EPS나 ribose 같은 당류와는 반응하지 않는 대신에 세포의 핵산(nucleic acid), tryptophane 및 황을 포함한 아미노산(amino acid)과 특이적으로 반응하는 성질에 기인한다.¹⁴⁾ 반면에 염소는 세균 세포를 구성하는 대부분의 화합물과 산화, 가수분해 혹은 탈아미노 반응을 일으키지만, 세포에 손상을 입

히기 전에 생물막 미생물을 둘러싼 EPS와의 반응으로 소모됨으로써 결국 세균 세포에 대한 소독력이 감소할 수 있는 것으로 보고되었다.⁴⁾ 실험 결과들에서 생물막에 대한 모노클로라민의 효과는 EPS와 반응하지 않는 모노클로라민의 성질이 반영되어 나타난 결과로 볼 수 있지만, 염소는 생물막 matrix에 의해 소모되기보다는 관 표면으로부터 생물막 matrix를 분리시킨 작용을 한 것으로 볼 수 있다.

Fig. 5는 관으로 유입되는 수돗물과 유출되는 수돗물로부터 염소와 모노클로라민의 잔류 농도를 측정하여 생물막을 제거하는 과정에서 생물막에 의한 염소와 모노클로라민의 손실이 발생하는지 여부를 조사한 결과이다. 소독 처리를 시작한 이후부터 2 시간 이내에서 생물막에 의한 것으로 예상되는 잔류염소의 소멸(<0.5 mg/L)과 모노클로라민의 소멸(<0.3 mg/L)이 나타났으나, 2시간 이후부터는 두 소독제 모두 약 0.1 mg/L 이하의 낮은 소멸을 나타내었거나 두 소독제 모두 손실되지 않는 것으로 조사되었다. 소독제의 손실이 발생했던 짧은 기간을 제외하고는 손실이 없었다는 점을 고려했을 때, 지속적인 소독 과정에서 생물막 matrix는 유리 잔류염소와 모노클로라민으로 포화되었을 것으로 판단되어진다. 이러한 과정 동안 염소는 세균과 EPS로 구성된 생물막 matrix의 결합력을 감소시켜 관 표면으로부터의 탈리를 촉진시킨 것으로 판단된다.

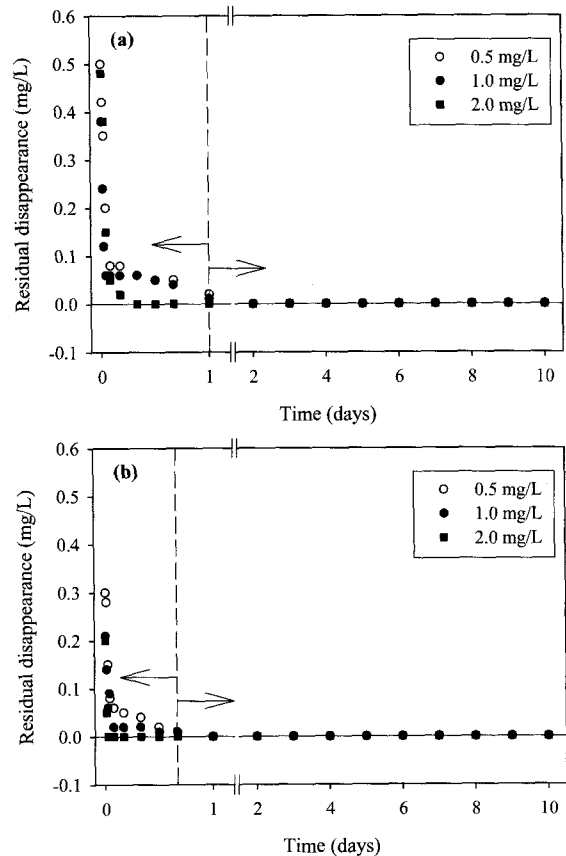


Fig. 5. Measurement of loss of (a) free chlorine and (b) monochloramine residuals from the effluents of PVC pipes.

본 실험에서는 유기탄소 농도가 낮은 조건에서 염소와 모노클로라민을 일정한 농도로 유지시킨 수돗물을 약 40초의 수리학적 체류시간으로 생물막이 형성되어 있는 관에 일정하게 공급하였다. 비록 인위적으로 잘 조절된 실험 조건이기는 하지만, 실험 결과들은 소독제를 이용하여 생물막을 제거하는데 있어 잔류 소독제 농도를 일정하게 유지시키는 것이 중요하다는 것을 의미한다. 생물막에 대한 염소와 모노클로라민의 소독 효과를 평가한 과거의 연구들에서는 소독제의 공급이 한정적인 회분식 실험 조건이라든가 유기탄소 농도가 높은 조건 등과 같이 소독제의 효과가 제한적으로 나타날 수 있는 조건에서 수행된 경우가 많았는데, 이러한 경우 소독제의 효과가 과소평가될 수 있는 원인이 될 뿐만 아니라 지속성이 상대적으로 큰 모노클로라민의 소독 효과가 더 크게 나타날 수 있었을 것으로 보인다. 실제 배·급수 시스템의 수돗물에서는 유기탄소 농도가 1.0 mg/L 이상인 경우도 많은데, 생물막에 대한 두 소독제의 효과에 대한 좀더 나은 이해를 위해서는 이러한 경우에 대해서도 상대적인 검토가 필요할 것으로 보인다.

소독제를 이용하여 생물막을 제거하는데 있어 생물막을 관 표면으로부터 완전히 제거하기 위해서는 높은 농도의 소독제와 시간이 소요될 것으로 보인다. 생물막은 상대적으로 제거 효율이 높았던 2.0 mg/L의 잔류염소에 의해서도 완전히 제거되지 않았다. 비록 낮은 수준이지만 관 표면에 여전히 부착되어 있었던 세균을 비롯하여 생물막의 biomass는 소독제에 의해 생물막이 100% 제거되지 않았음을 의미한다. 이러한 현상은 소독 처리 과정에서 소독제에 대한 생물막의 저항에 기인한 것으로 볼 수 있다. 생물막의 저항성은 유기탄소가 낮은 빈영양성 수돗물에서 잔류 소독제와의 지속적인 접촉에 따른 생물막 구성 미생물의 생리적 특성 변화로 야기되는 phenotype 또는 내인적(intrinsic) 저항성의 결과로 추정된다. 저항성의 증가는 주어진 성장 조건에서 미생물이 나타내는 민감성(susceptibility)의 감소를 의미한다.¹⁵⁾ 소독제에 대한 미생물의 민감성은 세포의 생리적 상태와 서식지의 특성에 의해 변화할 수 있다.¹⁶⁾ 특히 소독제에 대한 미생물의 저항성은 세포가 기아(starvation) 상태에 있거나 생장이 느린 미생물일수록 증가할 수 있다.^{17,18)} 비록 본 실험에서 제거 대상이었던 생물막은 소독제가 없는 조건에서 형성된 생물막이었지만, 소독제에 대한 생물막의 저항성은 소독제가 존재하는 조건에서 형성된 생물막일 경우 더 크게 나타날 수 있을 것이다. 이러한 점으로 볼 때 소독제가 잔류되어 있는 배·급수관에서 형성된 생물막을 소독제로 완전히 제거하는 것은 어려울 것으로 보이며, 오히려 생물막이 형성되지 되지 않도록 사전에 제어하는 것이 더 중요하다고 할 수 있다.

마지막으로 생물막의 제거 효율을 평가하는데 있어 biomass의 측정이 효과적일 것으로 보인다. 실험에서 생물막의 biomass는 단백질과 탄수화물의 합으로써 측정하였는데, 이러한 물질은 세포 구성 성분인 동시에 EPS를 구성하는 주요 성분에 해당한다.¹⁹⁾ 그러므로 생물막의 제거 과정에서 biomass의 측정은 관 표면으로부터 세균과 EPS으로 구성된 생물막 matrix의 제거 여부를 판단할 수 있는 자료가 될 것으

로 판단된다.

5. 결론

염소와 모노클로라민을 이용하여 관 표면에 형성된 생물막이 제거되는 특성을 조사한 실험으로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 염소와 모노클로라민을 이용한 PVC 관 표면에 형성된 생물막의 연속적인 소독 처리에서 염소와 모노클로라민은 생물막 형성 미생물을 비활성화시키고, 관 표면으로부터 biomass를 제거하는 효과를 나타냈다. 염소와 모노클로라민에 의한 생물막내 부착성 HPC의 비활성화 경향은 1차 반응식, 그리고 biomass 제거 경향은 2차 반응식의 관계로 설명할 수 있었다.
- 2) 생물막 matrix에 작용하는 염소와 모노클로라민의 소독 효과는 서로 차이를 나타냈으며, 관 표면으로부터 생물막을 제거하는 효과는 동일한 농도와 기간에서 염소가 모노클로라민 보다 상대적으로 높은 효율을 보였다. 생물막을 10일 동안 소독 처리했을 때 염소의 biomass 제거율은 약 90%인 반면에 모노클로라민은 약 59%의 biomass 제거율을 나타냈다.
- 3) 염소가 생물막에 대한 제거 효과가 높더라도 관 표면으로부터 생물막을 완전히 제거하기 위해서는 높은 농도와 기간이 소요될 것으로 판단되었다. 이러한 원인에는 생물막 구성 미생물의 생리적 특성 변화로 야기되는 소독제에 대한 생물막의 저항성과 관련이 있는 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구(R01-2003-000-10494-0)의 지원을 받아 수행하였으며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. van der Wende, E. and Characklis, W. G., "Biofilms in potable water distribution system," *Drinking Water Microbiology: Progress and Recent Developments*, McFeters, G. A.(Ed.), Springer-Verlag, New York, pp. 249~268(1990).
2. LeChevallier, M. W., "Coliform regrowth in drinking water: a review," *J. AWWA*, **82**(11), 74~86(1990).
3. Payment, P., "Poor efficacy of residual chlorine disinfectant in drinking water to inactivate waterborne pathogens in distribution systems," *Can. J. Microbiol.*, **45**, 709~715(1999).
4. LeChevallier, M. W., Cawthon, C. D., and Lee, R. G., "Inactivation of biofilm bacteria," *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**(10), 2492~2499(1988).
5. Neden, D. G., Jones, R. J., Smith, J. R., Kirmeyer, G.

- J., and Foust, G. W., "Comparing chlorination and chloramination for controlling bacterial regrowth," *J. AWWA*, **84**(7), 80~88(1992).
6. Momba, M. N. B., Cloete, T. E., Venter, S. N., and Kfir, R., "Evaluation of the impact of disinfection processes on the formation of biofilms in potable surface water distribution systems," *Water Sci. Technol.*, **38**(8-9), 283~289(1998).
 7. Hass, C. N., "Disinfection," *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*, Letterman, R. D.(Ed.), McGraw-Hill, New York, NY, pp. 877~932(1999).
 8. APHA, AWWA, and WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed., Washington, DC(1998).
 9. Gagnon, G. A. and Slawson, R. M., "An efficient biofilm removal method for bacterial cells exposed to drinking water," *J. Microbiol. Meth.*, **34**, 203~214(1999).
 10. Chandy, J. P. and Angles, M. L., "Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay," *Water Res.*, **35**(11), 2677~2682(2001).
 11. Bradford, M. M., "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Anal. Biochem.*, **72**, 248~254(1976).
 12. Underwood, G. J. C., Paterson, D. M., and Parkes, R. J., "The measurement of microbial carbohydrate exopolymers from intertidal sediments," *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1243~1253(1995).
 13. Park, S. K., Pak, K. R., Choi, S. C., and Kim, Y. K., "Evaluation of bioassays for analyzing biodegradable dissolved organic carbon in drinking water," *J. Environ. Sci. Health Part A*, **39**(1), 103~112(2004).
 14. Jacangelo, J. G. and Olivieri, V. P., "Aspects of the mode of action of monochloramine," *Water Chlorination, Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*, Jolley, R. L., Bull, R. J., Davis, W. P., Katz, S., Roberts, M. H. Jr., and Jacobs, V. A.(Eds.), Lewis Publishers Inc., Chelsea, MI, pp. 575~586(1985).
 15. Chapman, J. S., "Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance," *Intl. Biodeter. & Biodegra.*, **51**, 271~276(2003).
 16. Cloete, T. E., "Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds," *Intl. Biodeter. & Biodegra.*, **51**, 277~282(2003).
 17. Lisle, J. T., Broadaway, S. C., Prescott, A. M., Pyle, B. H., Fricker, C., and McFeters, G. A., "Effects of starvation on physiological activity and chlorine disinfection resistance in *Escherichia coli* O157:H7," *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(12), 4658~4662(1998).
 18. Stewart, M. H. and Olson, B. H., "Physiological studies of chloramine resistance developed by *Klebsiella pneumoniae* under low-nutrient growth conditions," *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**(9), 2918~2927(1992).
 19. Flemming, H. -C., Wingender, J., Griebe, T., and Mayer, C., "Physico-chemical properties of biofilms," *Biofilms: Recent Advances in Their Study and Control*, Evans, L. V.(Ed.), Harwood Academic Publishers, Amsterdam, pp. 19~34(2000).