Journal of Life Science **2010** Vol. 20. No. 7. 1073~1077 ©JLS / ISSN 1225-9918

Isolation and Managemental Method of Fungi Genera in Raw Water

Hong-Gi Park*, Eun-Young Jung, Dong-Jin Cha, Jong-Moon Jung and Jin-Tack Choi

Water Quality Institute, Water Works HQ of Busan Metropolitan City, Kyoungnam, 621-813, Korea

Received April 5, 2010 / Accepted April 21, 2010

Fungi, including allergenic, pathogenic or toxigenic species, may have direct effects on human health, interfere with the disinfection process and maintenance of chlorine residual, and add to taste and odor problems. We surveyed distribution of waterborne fungi from raw water in Busan metropolitan city using the EPA standard method. According to the survey, conducted from March 2008 to October 2008, the number of fungi in raw water was high in September and low in April. Quantitative enumeration of fungi per 100 ml of raw water ranged from 5 to 64 CFU, and a higher number was detected in the Mulgum region compared to the Maeri region. Total fungi numbers highly correlated with pH, water temperature and total coliform in this area. Predominant fungi genera grown in medium were identified as *Aspergillus*, *Penicillum*, *Histoplasma*, *Rhizopus*, *Trichophyton*, *Mucor* and *Sporthrix* species. A*spergillus flavus* and *Penicillum notatum* were particularly dominant in both areas. There were a total of 6 and 9 species detected in the Mulgum and Maeri regions respectively, and the number of species was more verified in the Maeri region than the Mulgum region.

Key words : Fungi, taste and odor problems, *Aspergillus flavus*, *Penicillum notatum*

서 론

곰팡이류란 균의 영양세대(vegetative stage)의 대부분이 사상의 긴 세포 즉 균사체를 형성하는 미생물을 총칭한 것이며, 일부는 무성생식을 하나 대부분이 유성생식을 한다. 곰팡이는 분류학상 진균에 속하며 육안으로는 청, 녹, 황, 적, 흑 등으로 착색된 포자를 가진 미세한 깃털 모양의 형태를 나타낸다. 포자는 대기, 수중, 토양에 방출되어 부착을 한 후 적당한 환경조건이 되면 발아하여 균사체를 생성하여 정착을 하여 성장을 하게 된다. 곰팡이는 오래 전부터 인류의 일상생활과 깊은 관련을 맺어왔다. 보관중인 식품이나 장마철의 의복 등에 쉽게 곰팡이가 피어나는 것을 흔히 보게 된다. 이처럼 곰팡이는 많은 식품을 부패시키고 썩히는 등 우리에게 해를 주는 작용을 하는 반면에 한편으로는 발효식품에 오래 전부터 널리 활용되어 왔으며 발효식품 뿐만 아니라 의약품의 항생제 생산, 식품용 효소 생산 등 공업적으로 많이 이용되고 있다. 종류로는 편모균류, 접합균류, 불완전균류 등이 있으며 생물계에서 생물의 유체나 유기물을 분해하는 역할을 하고 있다[1,9,13].

오래전부터 먹는 물에서 병원성 미생물에 의한 감염사고 예방을 위하여 병원성 미생물의 존재여부 확인을 위한 검사를 실시하고 있으나, 직접적인 검출을 위한 방법상의 장애 등 현실적으로 어려움이 많다. 따라서 간접적인 방식으로 대장균군이나 분원성 대장균군, 대장균, 분원성연쇄상구균 등과 같은 지표미생물을 사용하여 분원성 오염여부를 상시로 진단하여 수인성 질병을 미연에 예방하고 있다. 그러나 최근까지 수계에서의 곰팡이의 역할과 발생에 대해서는 아무런 관심을 가지고 있지 않고 간과하고 있는 실정이다. 핀란드 Niemi 등의 연구에 의하면 수돗물 취수원인 강과 호수에서 많은 수의 곰팡이를 확인하였고 미국의 Nagi 등은 염소처리된 지표수에서도 곰팡이를 검출하여 분리 동정한 것으로 보고한 바 있다[13].

수돗물 급배수체계에 존재하는 곰팡이는 사람의 건강(알레르기, 병원성, 독소 등)에 직접적인 영향을 미치며 소독과정에서 잔류염소 농도 유지에 많은 어려움을 주고 있는 것으로 조사되고 있다. 특히 면역체계가 현저히 저하된 노약자나 환자에게는 치명적인 질환을 유발시킨다고 알려져 있고 수돗물 질을 저하시키는 맛과 냄새를 유발하며, 또한 분무된 곰팡이 포자는 옥내의 수도꼭지, 샤워기 등을 통과하면서 사람들에게 호흡기 질환을 일으키고, 관로중의 생물막에 부착・재증식 및 탈리되어 수도꼭지에 검출되는 등 외국에서는 많은 문제점이 발생되고 있는 실정이다[2].

본 연구는 현재 외국에서 많은 문제가 되고 있는 병원성 미생물 일종인 곰팡이에 대한 기초 자료를 확보하고자 부산시 상수원수인 물금, 매리 지점을 대상으로 분포실태 및 분리 동정을 실시하여 계절적으로 분포현황을 확인하고 아울러 관리방안도 함께 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

조사기간 및 대상

2008년 3월에서 10월까지 연중 식물플랑크톤의 분포가 높

*Corresponding author
Tel : +82-51-669-4644, Fax : +82-51-669-4609
E-mail : phk111@korea.kr

은 낙동강 하류의 상수원수인 물금, 매리 지점을 월 1회 채취하여 총 16개 시료를 대상으로 분석하였다(Fig. 1).

곰팡이속 분석

부산시 상수원인 취수원수 100 ml를 먼저 0.45 µm 여과지로 여과시킨 후 여지를 미리 멸균시킨 rose bengal과 streptomycine이 첨가된 Sabouraud Dextrose Agar 배지에 옮겨 26°C에서 3~4일간 배양하였다. 배양 후 포자의 형태와 색깔을 기준으로 도감을 참조하여 곰팡이속 수를 측정하였다. 측정한 각각의 곰팡이속을 단일종으로 분리하기 위하여 2% malt extract agar 배지에 획선을 그어 접종하였다. 26°C에서 3~4일간 배양한 후 Lactophenol Blue Solution으로 염색하여 현미경으로 관찰, 동정하였다[1].

이화학 및 미생물학적 항목 조사

수질조사 항목의 모든 분석은 Standard method 따라 실시하였다[1]. 먼저 수온, pH는 각각 온도계, pH meter (Orion, Model 260)로 현장에서 즉시 측정하였으며, Chl-a 농도는 500 ml의 시료를 0.45 µm filter로 여과시킨 후 90% acetone 용액에서 24시간 chlorophyll을 추출하였다. 이때 chlorophyll의 안정화를 위하여 포화 $MgCO_3$ 용액으로 세척하였다. 추출된 용액을 4,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취해 각각 750, 664, 647, 630 nm에서의 흡광도를 측정하여 trichromatic method의 계산식에 따라 측정하였다[1]. 그리고 식물플랑크톤의 세포수는 표층수 1 l를 채수하여 15 µm 체로 걸려 최종적으로 20 ml 되게 농축한 후 중성 포르말린 1~2 ml으로 고정하여 Sedgwick-Rafter chamber로 계수하였으며, ml당 세포수로 환산하여 현존량으로 표시하였다[1].

총대장균군(Total coliforms)은 적당량의 시료를 멸균된 희석수로 적당히 희석하여 0.45 µm filter로 여과시킨 후 m-Endo LES 한천배지에 옮겨 35°C 배양기에서 1~2일 배양한 후 붉은색의 금속성 광택을 띄는 집락을 측정하였다. 종속영양세균은 R2A agar (Difco) 평판배지에 시료 1 ml를 도말 한 후 25°C 배양기에서 7일간 배양하여 형성된 집락을 계수하였다[1].

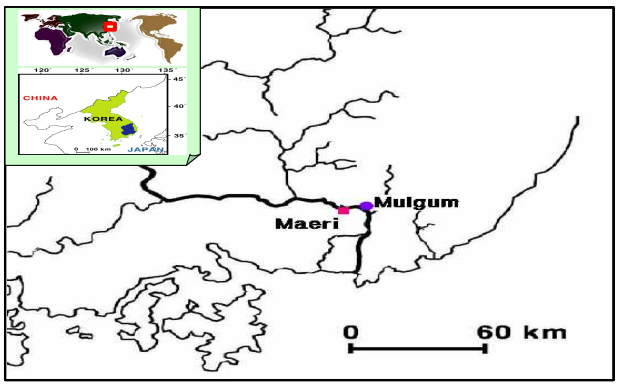

Fig. 1. Sampling sites for surveying of fungi in Nakdong river (No.1 site: Mulgum, No.2 site: Maeri).

결과 및 고찰

곰팡이속 분포실태 및 검출농도

2008년 3월에서 10월까지 조사한 원수중의 곰팡이속 분포결과는 Fig. 2와 같다. 조사결과 곰팡이는 4월에 최소, 9월에 최대로 분포하는 특성을 보였다. 곰팡이의 최대 성장조건은 수소이온농도 9 전후, 온도는 25°C 내외인데 9월중의 수온 및 수소이온농도가 앞의 조건과 거의 일치하여 곰팡이가 최대로 성장한 것으로 보여 진다. 검출농도는 5~64 CFU/100 ml 범위로 나타났는데 이는 핀란드 등 외국에서 조사한 18~62 CFU/100 ml 범위와 비슷한 수치를 보였다[4]. 그리고 정수에서는 모두 검출되지 않아 부산시 수돗물은 안전함을 확인할 수 있었다.

조사한 시료들의 물리·화학적 및 미생물학적 실험결과를 살펴보면 먼저 수온은 생물의 활성을 지배하는 중요한 환경요인으로 미생물의 영양요구성의 정도를 변화시킬 뿐만 아니라 세포내의 생화학적 반응을 결정하기도 한다. 조사기간 중 수온은 3월에서 5월까지는 20°C 이하의 낮은 수온을 유지하였고 6월에서 10월까지는 25°C 이상의 높은 수온을 보였다.

대부분의 수계는 생물의 생명활동에 적합한 pH 6~8 범위를 나타내지만 부영양화에 의한 수화현상이 심화되는 pH 9.5 이상 상승하는 경우가 많다. 이렇게 pH 수치가 높은 이유는 하계의 *Microcystis aeruginosa*, 동계의 *Stephanodiscus hantzschii*에 의한 식물플랑크톤 등이 대량 증식하였기 때문인 것으로 생각되어진다[11]. 조사기간 동안의 pH는 3월부터 6월까지는 8.0 이하의 비교적 낮은 수치를 보였으나 7월부터 10월까지는 9.0 전후의 높은 수치를 보였고 이때의 Chl-a 농도는 평균 33 mg/m^3를 보였는데 이 농도는 OECD 기준으로 평가할 때 이미 부영양화 상태에서 과영양화 상태로 전이한 것으로 보여진다. 지표성 미생물 항목인 총대장균군 실험결과 물금지점은 92~700 MPN/100 ml, 매리지점의 경우에는 83~800 MPN/100 ml 범위를 보여 매리지점의 수치가 약간 높은 것으로 나타났으며 수온이 높은 하계에 미생물 검출량이 상대적으로 높은 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 동일한 방법으로 2001년과

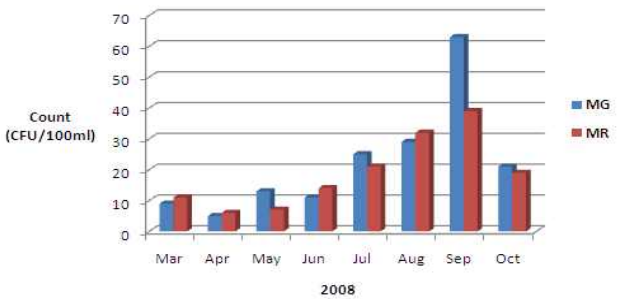

Fig. 2. Distribution of Fungi in environmental water samples.

2002년 걸쳐 같은 지점을 대상으로 조사한 총대장균군 10~8,100 MPN/100 ml 보다는 낮은 분포를 보였다.

조사기간 동안 분석되어진 수질인자를 곰팡이 농도와 비교한 결과 수소이온농도, 수온, 그리고 총대장균군과 상관관계가 있는 것으로 확인되었으며(Table 1), 지점별로는 물금(평균 23 CFU/100 ml)지점이 매리(평균 19 CFU/100 ml)지점 보다 농도가 높은 것으로 나타났다.

Table 1. Water quality at the Mulgum and Maeri station from the Nakdong River

Parameter / Date	Fungi Density (CFU/100 ml)	Water Temp. (°C)	pH	Total Coliform (MPN/100 ml)
Mar.	11	10.2	7.7	110
Apr.	6	10.0	7.6	92
May.	10	12.2	7.8	83
Jun.	13	14.1	8.1	120
Jul.	25	19.8	9.0	150
Aug.	32	25.2	9.1	430
Sep.	51	25.5	9.5	700
Oct.	20	20.1	9.1	250

Values are expressed as average from two station measurements during March to October, 2008.

곰팡이속 종 동정

상수원수별로 곰팡이속을 동정한 결과는 Table 2와 같다[9,12]. 조사결과 물금, 매리 두 지점 모두 *Aspergillus*, *Penicillum*, *Histoplasma*, *Rhizopus*, *Trichophyton*, *Mucor* 그리고 *Sporthrix*속 순으로 검출되는 것으로 나타났다. 이는 Gunhild 등이 조사한 연구결과 *Aspergillus*, *Penicillum*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Cladosporium*속 등이 있는 것으로 알려진 결과와 비슷한 경향을 보였다[4]. 우점종은 *Aspergillus flavus*와 *Penicillum notatum* (Fig. 3)으로 나타났는데[9] 이는 외국에서 조사된 결과와 유사한 분포실태를 보였다[2]. 그리고 지점별로는 물금에서 6종, 매리에서 9종이 검출되어 매리지점이 물금지점보다 종 수는 많은 것으로 조사되었다.

이번 조사에서 우점종으로 조사되어진 *Aspergillus*, *Penicillum* 속의 가장 큰 문제점은 곰팡이 독소(Mycotoxins)를 함유하고 있는 것인데 이 독소는 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로 주로 사람과 동물에 질병 및 이상 생리작용 유발하는 인자로서 노약자나 환자에게 전이 되었을 때 치사까지 이르게 할 수 있다. 현재 국립환경과학원에서는 공기 중의 곰팡이 분포실태를 연구수행 중에 있으며 향후 실내 공기질

Table 2. Fungi species isolated from raw water samples

Strain	MG								MR							
	Month								Month							
	3	4	5	6	7	8	9	10	3	4	5	6	7	8	9	10
Aspergillus fumigus	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-
Aspergillus flavus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aspergillus niger	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-
Histoplasma capsulatum	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-
Mucor pusillus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Penicillum notatum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhizopus spp.	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
Sporthrix schenclcii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Trichophyton mentagrophytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-

+: Detected, **-**: Not Detected, Detection limit= 〈1 CFU/100 ml
MG: Mulgum, MR: Maeri

Fig. 3. Dominant species of Fungi in environmental water samples. *Penicillum notatum* (Left), *Aspergillus flavus* (Right).

관리항목에 곰팡이를 추가할 예정이다. 그러나 수중에서는 실내 공기보다 곰팡이 농도가 낮은 것으로 조사되고 있어 우려할 정도는 아니지만 수중에서 곰팡이가 이상 증식할 경우에는 사람에게 많은 문제점을 발생시킬 개연성은 충분하기 때문에 이에 대한 준비는 사전에 이루어져야 할 것으로 판단된다[2,8,13,14].

곰팡이속 관리방안

정수처리 공정에서 완전히 제거되지 않고 잔존하는 유기물질들은 급·배수관망 내에서 잔류염소의 손실을 초래하며[5], 잔류염소와 반응하여 염소 소독부산물들을 생성시키고 또한 미생물이 분해하여 성장할 수 있는 생물학적으로 분해 가능한 유기물질(Biodegradable Organic Matter: BOM)이 함유된 경우 상수관망 내에서 병원균이나 미생물, 무척추동물(macroinvertebrate)들의 증식을 야기하여 관망 내에서의 2차 오염을 유발한다고 알려져 있다[3,6,7,8]. 이러한 BOM들은 종속영양 박테리아가 새로운 세포성 물질을 생산하는데 필요한 에너지와 탄소원을 제공하여 관망 내에 생물막을 형성하여 지속적으로 성장하게 된다. 앞에서 언급한 내용과 외국의 사례에서 볼 수 있듯이 배급수 과정을 거쳐 가정에 수돗물이 공급되는 과정 중에 관로에 존재하고 있는 여러 가지 병원성 미생물 가운데 곰팡이 포자가 사람이 섭취 또는 피부에 노출되었을 때 심각한 문제를 유발 하는 것으로 알려져 있으며, 특히 환자가 상주하고 있는 일반 병원의 배급수관에서 적절하게 처리되지 않은 곰팡이를 비롯한 많은 기회성 병원성 미생물에 의해 이·취미 문제와 2차 감염을 유발한다고 보고되고 있다[2,4]. 따라서 우리나라도 배급수중의 기회성 병원 미생물 누출여부에 대한 정확한 조사가 이루어지지 않았기 때문에 이에 대한 발생 가능성을 간과할 수 없어 다음과 같은 관리방안이 이루어져야 할 것으로 생각되어진다.

먼저 곰팡이 같은 병원성 미생물의 재증식 가능성에 대비하여 성장에 필수적인 영양물질 유입방지 및 저감 그리고 관내 적절한 잔류염소 농도 유지와 주기적 세척을 실시하여 관로내 생물막 성장을 억제해야 할 것이다. 둘째 곰팡이뿐만 아니라 신규 병원성 미생물에 대한 가이드라인 또는 수질기준을 조속히 설정하여 지속적으로 분포실태를 실시하여 수돗물의 미생물학적 안전성을 확보하여야 할 것이다[7]. 수중의 곰팡이속은 배급수 과정 중에는 미량으로 존재하고 형태학적으로 서로 유사하기 때문에 현재의 현미경을 이용한 방법으로는 검출 및 종 동정에 많은 시간이 소요된다. 따라서 이러한 단점을 극복하고자 최근에 가장 많이 사용하고 있는 분자생물학적 방법인 유전자검색법(PCR) 및 DNA 염기서열 분석으로 각 정수장 정수처리 공정별로 추가 조사를 실시하여 수돗물에 대한 안전성을 정확하게 확인하여야 할 것으로 판단된다.

References

1. APHA. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA-AWWA-WPCF, 19th, New York.
2. Elias, J. A, S. L. Stratton, M. C. Dignani, C. K. Lee, R. C. Summerbell, and J. H. Rex. 2003. Pathogenic molds(including *Aspergillus* species) in hospital water distribution systems: a 3-year prospective study and clinical implications for patients with hematologic malignancies. *Blood* **101,** 2542-2546.
3. Geldreich, E. E. 1996. Microbial quality of water supply in distribution systems. CRC Press, Boca Raton, Fla.
4. Gunhild, H., A. K. Knutsen, P. Gaustad, G. S. Hoog, and I. Skaar. 2006. Diversity and significance of mold species in norweign drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* **72,** 7586-7593.
5. LeChevalliier, M. W., C. D. Cawthon, and R. G. Lee. 1988. Inactivation of biofilm Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **54,** 2492.
6. Levy, R. W., F. L. Hart, and R. D. Cheetham. 1986. Occurrences and Public Health Significance of Invertebrates in Drinking Water Systems. *AWWA* **78,** 105-106.
7. LeChevallier, M. W., T. M. B Abcock, and R. G. Lee. 1987. Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* **53,** 2714-2715.
8. LeChevallier, M. W., W. Schulz, and R. G. Lee. 1991. Bacterial nutrients in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* **57,** 857-862.
9. Lee, K. S. 1999. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* pp. 229-250, 3th eds., Korea Medical Publishing company, Seoul.
10. Metzer, S. D. 2000. Characterization of fungi biofilms within a municipal distribution system. *Appl. Environ. Microbiol.* **66,** 1249-1251.
11. Park, H. K. 1999. The relationship between phytoplankton productivity and water quality in downstream of Nakdong River. *J. of the Korean Environmental Sciences Society* **8,** 101-106.
12. Robert, A. S., E. S. Hoekstar, and J. C. Frisvad. 2004. Introduction to food and airborne fungi. 7th, Netherlands.
13. Warris, A. P. and E. Verweij. 2001. Hospital sources of *Aspergillus fumigatus* species: new routes of transmission. *Rev. Iberoam. Micol.* **18**, 156-162.
14. William, D. R., H. Minnigh, and W. O. Pipes. 1986. Fungi in portable water distribution systems. *AWWA* **78,** 53-106.

초록 : 수계에 존재하는 곰팡이속 분리동정 및 관리방안 조사

박홍기* · 정은영 · 차동진 · 정종문 · 최진택
(부산광역시 상수도사업본부 수질연구소)

병원성과 독성을 포함하는 곰팡이속은 사람의 건강에 직접적인 영향을 끼치며, 수계에 분포할 경우 수처리 공정에서 소독과정을 방해할 뿐만 아니라 잔류염소의 유지를 어렵게 하여 여러 가지 맛과 냄새문제를 야기 시키는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 부산시 상수원으로 사용하고 있는 물금, 매리 지점을 대상으로 수계에 존재하는 곰팡이속에 대한 분포실태를 2009년 3월부터 10월까지 조사하였다. 곰팡이속은 4월에 최소, 9월에 최대 농도를 보이는 특성을 보였으며, 검출농도는 5~64 CFU/100 ml 범위로 분포하였다. 그리고 곰팡이 농도는 여러 가지 수질인자 가운데 수소이온농도, 수온 및 총대장균군과 상관관계를 보였으며 지점별로는 물금 지점이 매리 지점보다 개체수가 높게 나타났다. 검출되어진 곰팡이속을 대상으로 종 동정을 실시한 결과 *Aspergillus fumigus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Mucor pusillus*, *Penicillum notatum* 등 9종이 분리되었으며, 이중 *Aspergillus flavus*, *Penicillum notatum*이 우점종으로 조사되었다. 그리고 지점별로는 물금에서 6종, 매리에서 9종이 검출되어 매리 지점이 물금 지점보다 종 수는 많은 것으로 확인되었다.