



전라북도 지역 농업용수의 미생물학적 특성 및 온도와 수질에 따른 농업용수의 병원성대장균 O157:H7 밀도 변화

황인준^{1†}, 함현희^{2†}, 박대수¹, 채효빈¹, 김세리¹, 김황용¹, 김현주³, 김원일^{1*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀, ²농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과, ³농촌진흥청 국립식량과학원 작물기초기반과

Microbiological Quality of Agricultural Water in Jeollabuk-do and the Population Changes of Pathogenic *Escherichia Coli* O157:H7 in Agricultural Water Depending on Temperature and Water Quality

Injun Hwang^{1†}, Hyeonheui Ham^{2†}, Daesoo Park¹, Hyobeen Chae¹, Se-Ri Kim¹, Hwang-Yong Kim¹, Hyun Ju Kim³ and Won-Il Kim^{1*} (¹Microbial Safety Team, Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea, ²Crop Protection Division, Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea, ³Crop Foundation Division, National Institute of Crop Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea)

Received: 18 October 2019/ Revised: 28 October 2019/ Accepted: 29 October 2019

Copyright © 2019 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Injun Hwang

<https://orcid.org/0000-0001-8960-9354>

Won-Il Kim

<https://orcid.org/0000-0001-9032-1921>

Abstract

BACKGROUND: Agricultural water is known to be one of the major routes in bacterial contamination of fresh vegetable. However, there is a lack of fundamental data on the microbial safety of agricultural water in Korea.

METHODS AND RESULTS: We investigated the density of indicator bacteria in the surface water samples from 31 sites collected in April, July, and October 2018, while the groundwater samples were collected from 20 sites within Jeollabuk-do in April and July 2018. In surface water, the mean density of coliform, fecal coliform, and *Escherichia coli* was 2.7±0.55, 1.9±0.71, and 1.4±0.58 log CFU/100 mL, respectively, showing the highest bacterial density in July. For groundwater, the mean density of coliform, fecal

coliform, and *E. coli* was 1.9±0.58, 1.4±0.37, and 1.0±0.33 log CFU/ 100mL, respectively, showing no significant difference between sampling time. The survival of *E. coli* O157:H7 were prolonged in water with higher organic matter contents such as total nitrogen (TN), and nitrate-nitrogen (NO₃-N). The reduction rates of *E. coli* O157:H7 in the water showed greater in order of 25, 35, 5, and 15°C.

CONCLUSION: These results can be utilized as fundamental data for prediction the microbiological contamination of agricultural water and the development of microbial prevention technology.

Key words: Groundwater, Human pathogenic bacteria, Reduction rate of *E. coli* O157:H, Surface water, Water quality

서론

최근 미국에서 병원성 대장균이 오염된 로메인 상추로 인한 식중독 사고가 발생하는 등(CDC, Centers for Disease Control

† These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: Won-Il Kim

Phone: +82-63-238-3396; Fax: +82-063-238-3840;

E-mail: kimwi@korea.kr

and Prevention, 2018) 채소류에 의한 식중독 사고가 발생함에 따라 농산물의 미생물학적 안전성에 대한 관심이 높아지고 있다(Mikhail et al., 2018; Oh et al., 2018; FDA, 2018; Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2017). 우리나라 식중독 발생 통계 자료에 따르면 2012년에서 2016년 사이 발생한 원인이 밝혀진 식중독 사고 중 41.8%는 채소류에 의한 것으로 육류나 어류에 의한 식중독 사고보다 비중이 높은 것으로 보고되었다(MFDS, 2017).

농산물의 식중독 세균 오염 경로는 가축분뇨, 미부숙 퇴비, 오염된 토양, 농업용수, 작업자 등으로 알려져 있다. 이 중 농업용수는 농산물의 재배 과정 중에 작물의 가식부위에 직접 닿을 수 있기 때문에 식중독 세균의 교차오염원이 될 수 있다 (Van Der Linden et al., 2014; Steele and Odumeru, 2004). 농업용수로 인한 농산물의 식중독 세균 오염 사례로는 최근 발생한 미국 로메인 상추의 *E. coli* O157:H7 오염 사건을 들 수 있다. 미국 질병통제예방센터(CDC, 2018)와 미국 식품의약국(FDA, 2018)의 합동 조사 결과에 따르면, 식중독 세균에 감염된 환자의 분변에서 검출된 병원성 대장균과 로메인 상추와 농장 주변 수로에서 검출된 병원성 대장균의 유전형질이 일치하여, 농업용수를 병원성 대장균의 주요 오염원으로 파악하였다. 또한 2005년 스웨덴에서 발생한 양상추의 *E. coli* O157 오염 사건과 같은 해 미국에서 발생한 토마토의 식중독 세균 오염 사건 역시 작물 재배에 사용된 농업용수가 주된 오염원으로 지목되었다(Pagadala et al., 2015). 여러 선행연구 결과가 식중독 세균이 농업용수를 통해 농산물로 전파될 수 있다는 것을 보여준다(Allende and Monaghan, 2015; Steele and Odumeru, 2004). 미국, 캐나다, 호주 등의 국가에서는 농산물의 안전성 향상을 위해 농업용수의 미생물 안전기준을 설정하여 유해미생물 관리를 강화하고 있지만(Uyttendaele et al., 2015), 국내에서는 농업용수의 유해미생물 오염실태 파악조차 미비한 상태이다. 따라서 국내 농산물의 미생물학적 안전성 확보를 위해 지속적인 농업용수 유해미생물 오염실태 파악과 미생물학적 위해성 연구가 필요하다.

일반적으로 농업용수의 유해미생물 오염도평가는 위생지표세균인 대장균군(coliforms)을 이용한다. 대장균군은 수원이 동물이나 인간의 분변에 오염되어 있을 가능성을 알려주는 지표이며, 병원성대장균을 비롯한 여러 병원성 세균이 존재할 수 있다는 것을 알려주는 지표이기 때문에 위생지표세균으로 이용되고 있다(Pachepsky et al., 2016; Divya and Solomon, 2016; Tran et al., 2015). 농산물에 의한 식중독 사고의 원인 세균으로는 *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio* 등으로 알려져 있다. 식품의약품안전처 보고(MFDS, 2017)에 따르면 국내 식중독사고 원인균 중 병원성 *E. coli*가 노로바이러스 다음으로 가장 빈번하게 발생하는 것으로 알려져 있다. *Escherichia coli*는 그람음성의 간균으로 대부분 인체에 유해성을 나타내지 않지만, *E. coli* O157과 같은 일부 항원형의 경우 식중독을 일으키고 심하면 사망에 까지 이르게 할 수 있다. 따라서 본 연

구에서는 전북지역 농업용수 내 위생지표세균을 파악을 통해 미생물학적 오염도를 파악하고자 하였다. 또한 온도와 수질이 농업용수에 존재하는 *E. coli* O157:H7의 생존력에 미치는 영향을 조사하였다. 본 연구 결과는 우리나라 농업용수의 미생물학적 안전성과 위해성 평가를 위한 기초자료로 활용될 수 있고, 병원성 세균의 발생예측을 위한 과학적 근거로 활용될 것으로 기대한다.

재료 및 방법

전북지역 농업용수의 유해미생물 오염도 조사

조사지점 및 시기

농업용수의 조사 지점은 농촌진흥청에서 시행하고 있는 농업환경변동조사(환경부 수질오염공정시험기준, 환경부고시 제 2017-57호, 2017)에 따라 선정되었다. 시료 수집 지점은 Fig. 1과 같이 전북지역 내 지표수 31지점, 지하수 20지점으로 하였다. 조사 시기는 2018년 4월부터 2018년 10월까지 지표수는 4월, 7월, 10월에 걸쳐 총 3차례 시료를 수집하였고 지하수는 4월, 7월로 총 2차례 시료를 수집하였다.

시료 수집 방법

지표수 시료는 비커봉(Angular beaker, Bürkle GmbH, Germany)을 이용해 중앙지점에서 수면으로부터 2 m 이내로 채수하였고, 지하수 시료는 지하수 펌프를 5분 이상 가동하여 취수정 내의 고인물을 제거한 후 채수병을 이용하여 채수하였다. 시료별 교차오염을 예방하기 위해 각각 지점별로 각기 다른 멸균된 비커와 무균채수병을 사용하였다. 시료는 시료채집 후 아이스박스에 보관하였고 실험실로 이송하여 4°C에 보관 후 24시간 이내에 분석하였다.

총대장균군, 분원성대장균군, 대장균 정량분석

총대장균군(Total coliforms; TC), 분원성대장균군(Fecal

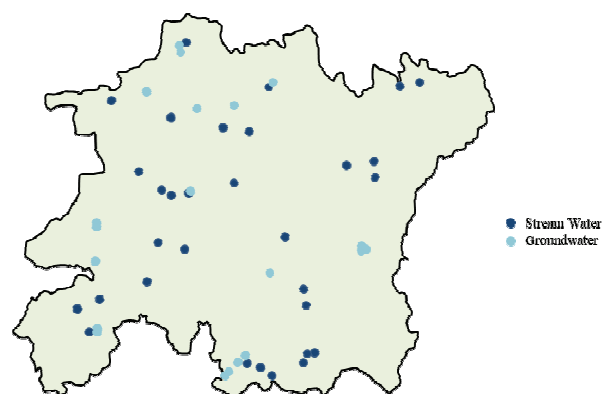


Fig. 1. Geographical location of sampling sites at the North jeolla province of south korea.

coliforms; FC), 대장균(*Escherichia coli*; EC)의 정량분석은 막여과법을 이용하였다. 시료 100 mL를 0.45 µm 여과막에 여과시킨 후 여과막을 목적에 맞는 배지에 올려 배양하였다.

총대장균군은 m-Endo LES (Membrane Endo's Lawrence Experimental Station Agar) Agar 배지(Difco Laboratories, MI, USA)에 여과막을 올려 35±0.5°C의 배양기에서 24시간 배양한 후 금속성의 붉은 집락을 계수하였다. 대장균은 총대장균군 정량분석에서 이용한 여과지를 NA-MUG (Nutrient Agar with MUG) 배지(Difco Laboratories, MI, USA)에 올려 35±0.5°C의 배양기에서 4시간 배양한 후 UV (366nm)상에서 형광을 나타내는 붉은색 금속성 집락을 계수하였다. 분원성대장균군은 m-FC Agar (Membrane Fecal Coliform Agar) 배지(Difco Laboratories, MI, USA)에 여과막을 올려 41±0.5°C의 배양기에서 24시간 배양한 후 청색 집락을 계수하였다. 집락수는 아래의 (1)식과 같이 계산하였고 log 값으로 환산한 값으로 표기하였다.

$$\text{집락수}/100\text{mL} = \frac{\text{생성된 집락수}}{\text{여과한 시료량(mL)} * 100} \quad (1)$$

온도에 따른 농업용수 내 *Escherichia coli* O157:H7 생존력 조사

시험균주

시험균주는 *E. coli* O157:H7 (ATCC[®]43889, ATCC[®]43890, ATCC[®]13890, ATCC[®]43894) 4종에 대해 Rifampicin (50 µg/mL)에 저항성이 있는 균주를 제작하여 실험에 사용하였다. 저항성 유도는 TSA (Tryptic Soy Agar; Oxoid, Basingstoke, England)에서 배양한 균주(*E. coli* O157:H7 표준균주 4종)를 1 loop 취하여 50 µg/mL의 rifampicin이 함유된 LB broth (Luria bertani broth; Oxoid, England)에 접종한 뒤 37°C에서 24시간 배양하는 방법을 이용했다. 실험에 사용된 균주는 50 µg/mL의 Rifampicin을 첨가한 TSB에 접종하여 37°C 조건에서 배양한 뒤 이용하였다.

시료 수집

본 실험에 이용된 농업용수는 전북지역의 조사대상 농업용수 중 미생물 오염도가 가장 높은 지역(SW1, GW1), 중간 지역(SW2, GW2), 낮은 지역(SW3, GW3)을 선택해 지표수와 지하수 각각 3지점씩 8 L를 채수하였다.

실험 방법

채취한 시료는 수질오염공정시험기준(환경부, 2017)에 따라 pH, DO, BOD, COD, T-P, T-N, NO₃-N, Chloride, TOC 분석을 수행하였다. 또한 각 샘플은 기준에 오염되어 있는 미생물을 제거하기 위해 0.45 µm 여과막으로 거른 뒤 각각 centrifuge tube (Daihan Scientific, Korea)에 50 mL씩 담

아 온도별, 지점별, 경과시간별로 나누어 실험하였다.

배양된 4종의 *E. coli* O157:H7 균을 각각 균수 10⁹ (O.D600=1)로 맞춘 뒤 혼합하고 PBS(Phosphate Buffered Saline) 용액(Difco Laboratories, MI, USA)에 10⁵ CFU/mL 농도로 희석한 뒤 용수가 담긴 centrifuge tube에 첨가한 후 균질화 하였다. 균주를 접종한 농업용수의 균주 밀도를 조사한 뒤 밀봉상태를 유지하며 5°C, 15°C, 25°C, 35°C 조건의 배양기에 넣고 총 60일 동안 매 5일마다 주기적으로 *E. coli* O157:H7 접종 균주 밀도를 조사하였다. 균주 밀도 조사는 접종한 샘플로부터 시료를 1 mL 취한 뒤 0.1% Peptone water에 10⁻¹, 10⁻² 희석하고, Rifampicin (50µg/mL)이 첨가된 LB 배지에서 35±0.5°C, 22~24시간 조건으로 배양 후 집락을 계수하였다. 온도 조건별 집락 계수는 3반복으로 실시하였다.

결과 및 고찰

전북지역 농업용수의 총대장균군, 분원성대장균군, *E. coli* 오염도

2018년 4월 부터 2018년 10월 까지 지표수 93점, 지표수 40점의 샘플에서 총대장균군, 분원성대장균군, 대장균을 조사하였고, 조사시기별 지표수와 지하수 내 평균 검출량(log CFU/100 mL)과 표준편차, 분리검출 지점수를 Tables 1 ~ 3에 나타내었다. 평균값과 표준편차는 불검출 데이터를 제외한 후 산정하였다.

조사시기별 농업용수 중 총대장균군 밀도는 Table 1과 같다. 4월 지표수의 경우 31지점 중 모든 지점(100%)에서 총대장균군이 검출되었고 밀도는 평균 2.9±0.63 log CFU/100 mL로 나타났다. 4월 지하수의 경우 20지점 중 12지점(60%)이 검출되었고 밀도는 2.1±0.85 log CFU/100 mL로 나타났다. 7월 지표수의 경우 31지점 중 모든 지점(100%)에서 검출되었고 밀도는 3.0±0.64로 나타났다. 7월 지하수의 경우 20지점 중 15지점(75%)이 검출되었고 밀도는 1.7±0.58로 나타났다. 10월 지표수의 경우 31지점 중 모든 지점(100%)에서 검출되었고 밀도는 2.3±0.65로 나타났다. 총대장균군은 대부분의 지점에서 검출되었는데 지표수의 경우 모든 지점에서 검출되었고, 지하수에서는 4월 60%, 7월 75%의 지점에서 검출되었다. 채수시기별 밀도를 비교해보면 지표수의 경우 7월에 평균 3±0.64로 가장 높은 수가 검출되었지만 4월과 7월 밀도는 통계적인 유의한 차이는 없었고 10월은 4월, 7월에 비해 적은 수가 검출되었다. 지하수에서는 4월이 7월과 비교해 검출지점은 적지만 더 높은 밀도를 보였다.

분원성대장균군 밀도 조사 결과는 Table 2와 같이 나타났다. 4월 지표수의 경우 31지점 중 20지점(65%)에서 검출되었고 밀도는 1.7±0.67로 조사되었다. 4월 지하수의 경우 20지점 중 2지점(10%)이 검출되었고 밀도는 1.5±0.01로 조사되었다. 7월 지표수의 경우 31지점 중 25지점(81%)에서 검출되었고 밀도는 2.5±0.68로 조사되었다. 7월 지하수의 경우 20지점 중 9지점(45%)이 검출되었고 밀도는 1.4±0.49로 조사되었다.

Table 1. Density and detection rates of total coliform in agricultural water

	Apr.	Jul.	Oct.
Stream water (log CFU/100 mL)	2.9 ± 0.63	3.0 ± 0.64	2.3 ± 0.65
No. of positive sites/Total No. of sites (detection rate, %)	31 / 31 (100)	31 / 31 (100)	31 / 31 (100)
Groundwater (log CFU/100 mL)	2.1 ± 0.85	1.7 ± 0.58	-*
No. of positive sites/Total No. of sites (detection rate, %)	12 / 20 (60)	15 / 20 (75)	-

* not analyzed.

Table 2. Density and detection rates of fecal coliform in agricultural water

	Apr.	Jul.	Oct.
Stream water (log CFU/100 mL)	1.7 ± 0.67	2.5 ± 0.68	1.1 ± 0.39
No. of positive sites/Total No. of sites (detection rate, %)	20 / 31 (65)	25 / 31 (81)	17 / 31 (55)
Groundwater (log CFU/100 mL)	1.5 ± 0.01	1.4 ± 0.49	-*
No. of positive sites/Total No. of sites (detection rate, %)	2 / 20 (10)	9 / 20 (45)	-

* not analyzed.

Table 3. Density and detection rates of *Escherichia coli* in agricultural water

	Apr.	Jul.	Oct.
Stream water (log CFU/100 mL)	1.6 ± 0.57	1.9 ± 0.78	0.8 ± 0.29
No. of positive sites/Total No. of sites (detection rate, %)	21 / 31 (68)	15 / 31 (48)	17 / 31 (55)
Groundwater (log CFU/100 mL)	1.1 ± 0.14	1.0 ± 0.47	-*
No. of positive sites/Total No. of sites (detection rate, %)	3 / 20 (15)	5 / 20 (25)	-

* not analyzed.

10월 지표수의 경우 31지점 중 17지점(55%)에서 검출되었고 밀도는 2.3±0.65로 조사되었다. 분원성대장균군은 지표수의 경우 7월>4월>10월 순으로 많은 지점에서 검출되었고 세균 밀도 또한 앞에 순서와 일치하여 7월에 가장 높은 밀도를 보였고 10월에 가장 낮은 밀도를 보였다. 지하수의 경우 4월과 7월 세균 밀도에 통계적 차이는 없었다.

대장균 검출결과는 Table 3과 같다. 4월 지표수의 경우 31지점 중 21지점(68%)에서 검출되었고 밀도는 1.6±0.57로 조사되었다. 4월 지하수의 경우 20지점 중 3지점(15%)이 검출되었고 밀도는 1.1±0.14로 조사되었다. 7월 지표수의 경우 31지점 중 15지점(48%)에서 검출되었고 밀도는 1.9±0.78로 조사되었다. 7월 지하수의 경우 20지점 중 5지점(25%)이 검출되었고 밀도는 1.0±0.47로 조사되었다. 10월 지표수의 경우 31지점 중 17지점(55%)에서 검출되었고 밀도는 0.8±0.29로 조사되었다. 대장균은 지표수의 경우 4월에 가장 많이 검출되었고 10월, 7월 순으로 많은 지점에서 검출되었다. 세균 밀도로 보면 7월에 가장 높은 밀도를 보였고, 4월, 10월 순으로 높은 밀도를 보였다. 지하수의 경우 4월과 7월 세균 밀도의 통계적인 차이는 보이지 않았다.

Table 4에는 시기별, 유형별(지표수, 지하수) 대장균군에 대한 분원성대장균군과 대장균의 비율을 나타냈다. 지표수의

경우 7월>4월>10월 순으로 분원성대장균군과 대장균의 비율이 높게 나왔고, 지하수의 경우 7월>4월 순으로 분원성대장균군과 대장균의 비율이 높게 나왔다.

위의 결과를 종합해보면 7월의 지표수는 4월과 10월의 지표수에 비해 미생물학적 오염도가 상대적으로 높았고, 지하수의 경우 지표수에 비해 미생물학적 오염도가 낮았으며 통계적으로 계절에 따른 미생물학적 오염도 차이는 없었다. 7월에 세균밀도가 높은 원인에는 계절에 따른 강우량, 기온, 수질 변화 등이 있을 수 있다(LeChevallier et al., 1996; Kleinheinz et al., 2010; Zhang et al., 2011; Wang and Doyle, 1998). 강우량은 Auld 등(2004)과 Kleinheinz 등(2010)의 실험을 통해 유력한 지표수 세균밀도 증가 원인으로 지목된 바 있는데, 강우가 증가할 경우 축사나 하수처리장 등 미생물 오염원에서 강물로 오염원이 유입이 증가한다는 결과를 보였다. 2018년 전북지역 강우량 통계(Korea Meteorological Administration, 2019)를 보면 평균 강우량이 4월 113.7 mm, 7월 191 mm, 10월 145.7 mm로 7월에 강우량이 가장 많았다. 본 실험의 경우도 Auld 등(2004)과 Kleinheinz 등(2010)의 실험 결과처럼 강우량이 높은 시기에 세균밀도가 높게 나온 것으로 보아 강우량이 지표수 세균밀도 증가에 영향을 주었을 것으로 생각된다. 하지만 본 실험의 경우 조사주기가 길고 수온과 수질과 연계한 분석이

Table 4. Percentage of fecal coliform and *Escherichia coli* within the total coliform

	Apr.	Jul.	Oct.
Fecal coliform / Total coliform*100 in Stream Water	58.6%	83.3%	47.8%
Fecal coliform / Total coliform*100 in Groundwater	71.4%	82.4%	-*
<i>Escherichia coli</i> / Total coliform*100 in Stream Water	55.2%	63.3%	34.8%
<i>Escherichia coli</i> / Total coliform*100 in Groundwater	52.4%	58.8%	-

* not analyzed.

부족하기 때문에 정확한 오염도 증가 원인 파악이 어렵다. 따라서 정확한 오염도 증가 원인을 파악하고 오염원을 추적하기 위해서는 주기적인 모니터링이 필요하고 수온과 수질에 관한 데이터도 연계한 연구도 수행되어야 한다.

농업용수의 이화학적 특성과 온도에 따른 *E. coli* O157:H7의 생존력

실험에 이용한 농업용수(지표수 3지점, 지하수 3지점)의 이화학적 조사 결과는 Table 5에 나타났다. 수소이온농도(pH)는 지표수의 경우 6.63 ~ 6.82 범위, 지하수는 6.09 ~ 6.68 범위로 나타났고, 용존산소량(DO)은 지표수 7.11 ~ 8.67 범위, 지하수 7.79 ~ 8.9 범위로 pH와 DO 모두 지표수와, 지하수, 지점별 큰 차이가 나타나지 않았다. 생물학적산소요구도(BOD)와 화학적산소요구량(COD)은 지표수의 경우 각각 7.9 ~ 11.1, 11 ~ 20.5 범위, 지하수의 경우 각각 2.8 ~ 3.9, 3 ~ 5.4 범위로 지표수의 경우 지하수보다 BOD, COD가 높게 측정되었다. 총 인(T-P)은 모든 지역에서 0.33 ~ 0.10 범위로 지표수와 지하수 간 차이가 크지 않았고, 질산성 질소(NO₃-N)는 지표수에서 0.47 ~ 1.08 범위, 지하수에서 4.67 ~ 26.71 범위로 지하수에서 더 높은 경향이 보였다. 염화물(Chloride)은 SW3 지점을 제외하고 22.16 ~ 36.57 범위로 비슷하였지만 SW3 지점에서 200으로 높게 측정되었다. TOC는 지표수에서 6.3 ~ 11.3 범위, 지하수에서 0.2 ~ 0.7 범위로 지표수에서 높은 경향을 나타냈다. 종합적으로 BOD, COD, TOC 항목의 경우 지표수가 더 높은 경향을 보였고, T-N, NO₃-N 항목의 경우 지하수가 더 높은 경향을 보였다.

Chloride의 경우 SW3 한 지점에서 높은 경향을 보였고 다른 지역 간에는 큰 차이가 없었다. 나머지 pH, DO, T-P 항목은 지표수와 지하수 간, 지점 간 차이가 크지 않았다.

시료수집지점에 따른 병원성대장균 밀도 조사결과는 Fig. 2에 나타났다. 시료수집지점에 따른 회귀직선의 기울기를 비교하면 SW2>SW3>GW1>GW3>SW1>GW2 순으로 높은 감소율을 보였다. SW2 시료에 처리한 병원성 대장균이 가장 높은 감소율을 보였고, GW2에서 가장 낮은 감소율을 보였다. 시료별 이화학적 분석 결과와 비교해 보면 NO₃-N 항목과 가장 연관성이 높았다. 시료별 NO₃-N의 함량은 GW2>GW3>GW1>SW1>SW3>SW2로 NO₃-N가 높게 측정된 시료에서 대장균 감소율이 낮고 NO₃-N가 낮게 측정된 시료에서 대장균 감소율이 높은 결과를 보였다. 이는 앞선 연구에서 생존에 필요한 질소 등의 유기물이 풍부한 물에서 미생물의 생존이 오랫동안 지속된다는 보고와 유사한 결과를 나타낸다(Korhonen and Martikainen, 1991; Henis et al., 1989). 이화학적 데이터 중 SW3 시료에서 특이적으로 높은 Chloride가 검출되었지만 이번 연구에서는 미생물 생존과 Chloride 간 특이적인 반응은 관찰되지 않았다.

시료를 지표수와 지하수로 나누어 분석한 결과, 지하수에서 지표수보다 균의 감소율이 낮고 더 오래 생존하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 지표수와 지하수의 이화학적 조사결과를 비교해 보면 지표수는 지하수에 비해 BOD, COD, TOC 항목이 높고, T-N, NO₃-N 항목이 낮게 나왔다. 이 결과는 앞선 시료종류에 따른 생존률 차이와 같은 양상을 보였다. 상대적으로 T-N, NO₃-N 등의 유기성분이 많은 시료에서는 *E. coli* O157:H7이

Table 5. Characteristics of water in North jeolla province

Parameters (Units)	SW*1	SW2	SW3	GW*1	GW2	GW3
pH (pH unit)	6.73	6.63	6.82	6.68	6.09	6.23
DO (mg/L)	8.67	7.11	7.89	8.9	8.84	7.79
BOD (mg/L)	7.9	11.1	9.2	2.8	3.9	3.9
COD (mg/L)	11	20.5	16.9	3	3.2	5.4
T-P (mg/L)	0.039	0.101	0.118	0.038	0.033	0.038
T-N (mg/L)	1.64	2.16	1.74	5.11	14.05	9.69
NO ₃ -N (mg/L)	1.08	0.47	0.75	4.67	26.71	12.53
Chloride (mg/L)	22.64	36.57	200	22.16	25.37	30.37
TOC (mg/L)	6.3	11.3	6.6	0.6	0.2	0.7

* SW= Stream water, GW= Groundwater

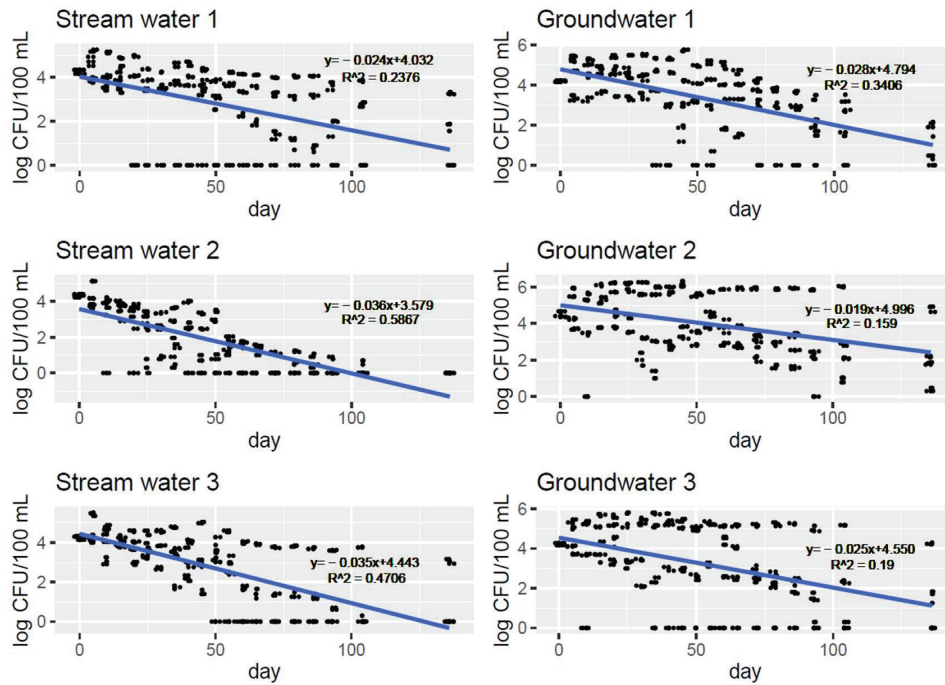


Fig. 2. Effect of water quality on survival of *E. coli* O157:H7.

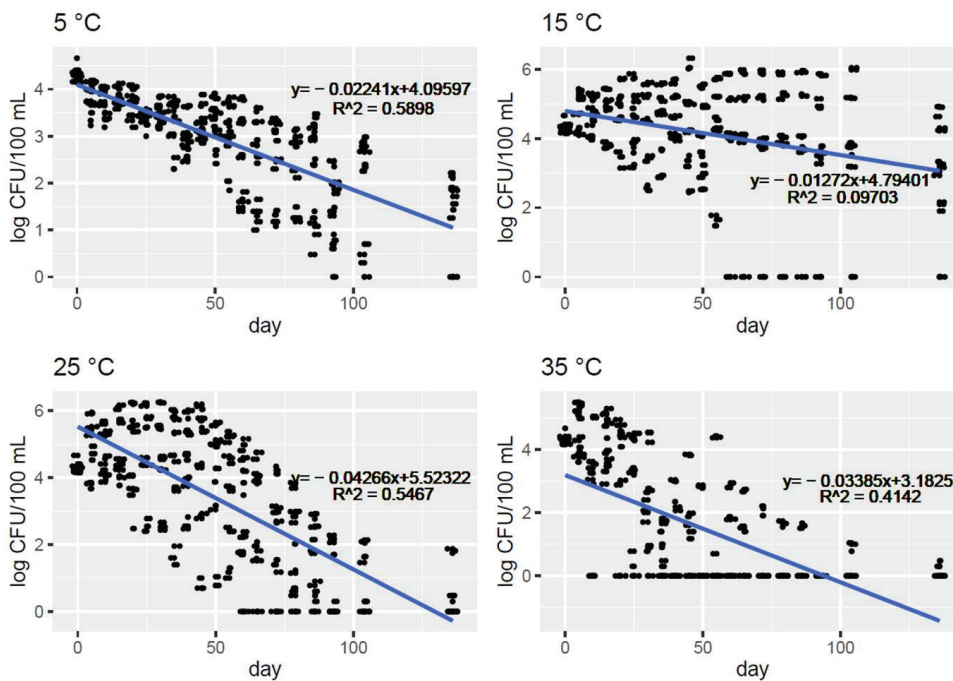


Fig. 3. Effect of water type on survival of *E. coli* O157:H7.

오랫동안 생존할 수 있는 것으로 보였고 이는 앞선 실험에서 증명된 결과와 일치하였다(Korhonen and Martikainen, 1991; Henis et al., 1989).

온도에 따른 회귀직선의 기울기를 비교하면 25°C > 35°C > 5°C > 15°C 순으로, 25°C에서 가장 급격히 밀도가 감소하고 15°C에서 가장 오래 생존하는 것으로 나타났다(Fig. 4). Czajkowska

등(2005)과 Clavero와 Beuchat (1996)은 실험을 통해 높은 온도에서 균 밀도가 급격하게 줄어들고 낮은 온도에서 균 밀도가 장기간 유지된다는 결과를 내었다. 본 실험의 경우 상대적으로 고온인 25°C와 35°C가 상대적으로 저온인 5°C와 15°C 보다 균 밀도가 급격하게 줄어드는 결과가 나타났지만 온도에 따른 정비례적인 생존력 변화는 확인할 수 없었다.

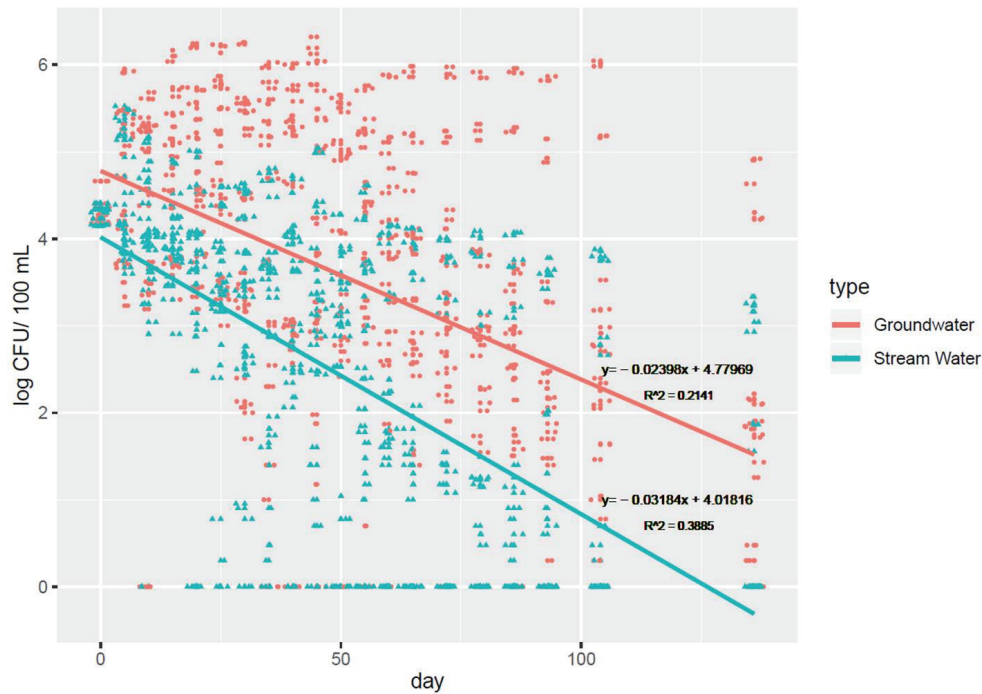


Fig. 4. Effect of temperature on the survival of *E. coli* O157:H7 in agricultural water.

종합적으로 보면 *E. coli* O157:H7은 상대적으로 질소 등의 유기물 함량이 높은 시료에서 더 장기간 생존하였고, 온도 별로 비교해보면 높은 온도에서는 처음에 밀도가 증가하지만 급격히 사멸하여 짧은 생존기간을 보였고 낮은 온도에서는 밀도의 증가는 적었지만 긴 생존기간을 보였다. 이번 실험결과를 토대로 볼 때 농산물의 미생물학적 안전성을 확보하기 위해서는 농업용수 내 유기물 유입을 최소화하는 방안 마련이 필요하고 계절별 온도에 따른 농업용수와 농산물의 유해 미생물 오염도에 관한 연구가 추가적으로 이뤄져야 될 것으로 생각된다. 또한 본 연구는 *E. coli* O157:H7을 인위적으로 접종하여 농업용수에서의 생존력을 확인한 것으로서 실제 농업환경 내 생존력을 알기 위해서는 지속적인 환경요인 및 유해미생물 오염도 조사와 분석을 통해 환경요인과 병원성 세균 간의 상관관계를 구명할 필요가 있다.

요 약

농업용수는 채소류의 식중독세균 오염의 주요 경로 중 하나임에도 불구하고 우리나라에서는 농업용수의 미생물학적 안전성 대한 기초 자료가 부족한 실정이다. 본 연구에서는 전라북도에서 2018년 4월, 7월, 10월에 31지점에서 수집한 지표수 시료와 2018년 4월 7월에 20지점에서 수집한 지하수 시료의 위생지표세균 밀도를 조사하였다. 지표수에서는 평균적으로 대장균군이 2.7 ± 0.55 log CFU/100 mL, 분원성대장균군 1.9 ± 0.71 log CFU/100 mL, 대장균 1.4 ± 0.58 log CFU/100 mL로 나타났고, 7월에 가장 높은 밀도를 보였다. 지하수의 경우 평균적으로 대장균군이 1.9 ± 0.58 log CFU/100 mL, 분원

성대장균군 1.4 ± 0.37 log CFU/100 mL, 대장균 1.0 ± 0.33 log CFU/100 mL로 나타났고 조사시기 간의 유의한 차이가 나타나지 않았다. 총질소량(T-N), 질산성질소($\text{NO}_3\text{-N}$) 등 유기물 함량이 높은 용수에서 *E. coli* O157:H7의 생존이 연장되는 것으로 나타났다. 물에서의 *E. coli* O157:H7 감소율은 $25^\circ\text{C} > 35^\circ\text{C} > 5^\circ\text{C} > 15^\circ\text{C}$ 순으로 높게 나타났다. 이러한 결과는 전북 지역 농업용수의 미생물학적 오염도와 수질과 온도가 *E. coli* O157:H7의 생존에 미치는 영향을 보여준다. 이러한 결과는 농업용수의 미생물학적 오염도를 예측하고 미생물 제어 기술 개발의 기초자료로서 활용될 수 있다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ01419401), National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

Allende, A., & Monaghan, J. (2015). Irrigation water quality for leafy crops: a perspective of risks and potential

- solutions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 7457-7477.
- Auld, H., MacIver, D., & Klaassen, J. (2004). Heavy rainfall and waterborne disease outbreaks: the Walkerton example. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(20-22), 1879-1887.
- Clavero, M., & Beuchat, L. R. (1996). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in broth and processed salami as influenced by pH, water activity, and temperature and suitability of media for its recovery. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(8), 2735-2740.
- Czajkowska, D., Witkowska-Gwiazdowska, A., Sikorska, I., Boszczyk-Maleszak, H., & Horoch, M. (2005). Survival of *Escherichia coli* serotype O157: H7 in water and in bottom-shore sediments. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14(4), 423-430.
- Divya, A., & Solomon, P. (2016). Effects of some water quality parameters especially total coliform and fecal coliform in surface water of Chalakudy river. *Procedia Technology*, 24, 631-638.
- Henis, Y., Gurijala, K. R., & Alexander, M. (1989). Factors involved in multiplication and survival of *Escherichia coli* in lake water. *Microbial ecology*, 17(2), 171-180.
- Kleinheinz, G. T., McDermott, C. M., Hughes, S., & Brown, A. (2010). Effects of rainfall on *E. coli* concentrations at Door County, Wisconsin beaches. *International Journal of Microbiology*, 2009, 1-9, <https://doi.org/10.1155/2009/876050>.
- Korhonen, L. K., & Martikainen, P. (1991). Survival of *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* in untreated and filtered lake water. *Journal of Applied Bacteriology*, 71(4), 379-382.
- LeChevallier, M. W., Welch, N. J., & Smith, D. B. (1996). Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(7), 2201-2211.
- Mikhail, A. F. W., Jenkins, C., Dallman, T. J., Inns, T., Douglas, A., Martín, A. I. C., Fox, A., Cleary, P., Elson, R., & Hawker, J. (2018). An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 associated with contaminated salad leaves: epidemiological, genomic and food trace back investigations. *Epidemiology & Infection*, 146(2), 187-196.
- Oh, S. Y., Nam, K. W., & Yoon, D. H. (2018). Analysis of Pathogenic Microorganism's Contamination on Organic Leafy Vegetables at Greenhouse in Korea. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 33(1), 31-37.
- Pachepsky, Y., Shelton, D., Dorner, S., & Whelan, G. (2016). Can *E. coli* or thermotolerant coliform concentrations predict pathogen presence or prevalence in irrigation waters? *Critical Reviews in Microbiology*, 42(3), 384-393.
- Pagadala, S., Marine, S. C., Micallef, S. A., Wang, F., Pahl, D. M., Melendez, M. V., Kline, W. L., Oni, R. A., Walsh, C. S., Everts, K. L., & Buchanan, R. L. (2015). Assessment of region, farming system, irrigation source and sampling time as food safety risk factors for tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, 196, 98-108.
- Steele, M., & Odumeru, J. (2004). Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. *Journal of food protection*, 67(12), 2839-2849.
- Tran, N. H., Gin, K. Y.-H., & Ngo, H. H. (2015). Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater. *Science of the Total Environment*, 538, 38-57.
- Uyttendaele, M., Jaykus, L. A., Amoah, P., Chiodini, A., Cunliffe, D., Jacxsens, L., Holvoet, K., Korsten, L., Lau, M., McClure, P., Medema, G., Sampers, I., & Jasti, P. R. (2015). Microbial hazards in irrigation water: Standards, norms, and testing to manage use of water in fresh produce primary production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), 336-356.
- Van Der Linden, I., Cottyn, B., Uyttendaele, M., Berkvens, N., Vlaemynck, G., Heyndrickx, M., & Maes, M. (2014). Enteric pathogen survival varies substantially in irrigation water from belgian lettuce producers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(10), 10105-10124.
- Wang, G., & Doyle, M. P. (1998). Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in water. *Journal of food protection*, 61(6), 662-667.
- Zhang, J., Zeng, G., Chen, Y., Yu, M., Yu, Z., Li, H., & Huang, H. (2011). Effects of physico-chemical parameters on the bacterial and fungal communities during agricultural waste composting. *Bioresource Technology*, 102(3), 2950-2956.