

먹는물의 세균항목 확대 적용 평가

최성화* · 이경심 · 김미희 · 김정아 · 김효진

수질보전과

Evaluation of Expanding Application of Bacteriological Items in Drinking water

Seung-Hwa Choi[†], Kyung-Sim Lee, Mi-Hee Kim, Jeong-A Kim and Hyo-Jin Kim

Water Conservation Division

Abstract

This study was conducted to evaluate the characteristics of current indicator bacteria and the necessity of expanding application of indicator items in drinking water using 197 groundwater and 187 spring water samples in Busan area. We investigated current items such as Standard plate count bacteria (SPC), Total coliforms (TC), Fecal coliforms (FC) pertaining to the standards for drinking water quality in Korea and additional items such as Fecal streptococci (FS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Salmonella* spp., *Shigella* spp., regulated in foreign countries, which could waterborne epidemic.

TC was detected maximum value of 51%, and FC, SPC, FS and PA were detected 18.1%, 8.9%, 3.9%, and 1.3%, respectively, but *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. were not detected at all. The detection rate of groundwater was about 2~7 times higher than that of spring water. The results of identification of the detected TC was *E. coli* (31.9%), *Enterobacter* spp. (25.5%), *Klebsiella* spp. (20.2%) *Serratia* spp. (16.0%), *Citrobacter freundii* (3.2%), *Kluyvera* spp. (2.1%) and *Hafnia alvei* (1.1%), while that of detected FC was *E. coli* (80.6%), *Klebsiella pneumoniae* (9.7%), *Enterobacter sakazakii* (3.2%), *Enterobacter cloacae* (3.2%) and *Citrobacter freundii* (3.2%).

In the results of this study, FC could be estimated as a proper indicator item for fecal contamination in drinking water because FC showed much more specificity on feces than FS. Even though FC was not detected in spring water, FC was detected with isolation rate of 5.3%. Therefore, FC was estimated as a important item for inspecting spring water quality. Additionally *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. are needed to monitor for screening waterborne epidemic in drinking water.

Key Words: Indicator bacteria, Groundwater, Spring water

서 론

인구의 증가, 산업의 발달 등에 따라 수계는 각종 경로로 급격히 오염되어 생태계의 혼란을 야기시키고, 인간의 식수마저도 위협받게 되었다. 과거와 비교하여 수인성 전염병의 위험은 현저히 줄었으나, 아직 세계 어느 나라에서도 수인성 전염병을 근절하지는 못하고 있으며, 먹는물에서 건강상 중요한 과제는 병원성 미생물에 의한 감염사고의 예방이라 할 수 있다. 지구 상에서 물이나 부적당한 위생에 기인하는 질병이 모든 질병의 80% 정도로 추정되며, 세계 병원의 병상 절반은 물과 관련된 질병으로 고통받는 사람들에 의하여 점유된다고 세계보건기구는 밝히고 있다¹⁾. 수인성 전염병에 의한 오염은 오랜 세월을 걸쳐 누적되어 나타나는 만성적인 질병을 유발하는 대부분의 화학물질과 달리, 급성질환을 유발하여 단기간에 결과가 나타나고 2차 감염에 의한 확산의 우려가 있기 때문에 그 예방이

매우 중요하다.

따라서, 병원성 미생물의 존재여부를 미리 안다면 이러한 수인성 질병을 미연에 방지할 수 있겠으나 직접적인 병원성 미생물의 검사는 방법상의 장애, 경제적 문제 등 현실적으로 어려움이 많아, 간접적으로 총대장균군이나 분원성 대장균군 혹은 대장균, 분원성연쇄상구균 등과 같은 지표미생물을 사용하여 수인성 질병의 주원인인 분원성오염여부를 상시로 진단하여 수인성 질병의 가능성을 미연에 예방하고자 하고 있다.

한편, 선진국에서는 수질규제 항목으로 상시모니터링 하지는 않더라도 먹는물과 관련하여 문제가 예상되는 미생물에 대해 관심을 가지면서 활발하게 연구하고 있다 (Table 1)²⁾. 일례로 미국은 CCL (Drinking water contaminant candidate list)을 만들어서 향후 미규제 물질의 기준화를 검토하고 있는데, CCL에 포함되면 발생분포, 위해성 등의 연구를 진행하여 규제대상에 우선적으로 고려하고 있다. 또한 유

[†] Corresponding author. E-Mail: csw95@busan.go.kr
Phone: 051-757-7504, Fax: 051-757-2879

Table 1. Microbial items mainly managed by foreign countries

| USEPA | EU | AUSTRALIA |
|---|---------------------------------|-------------------------------|
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Aeromonas</i> |
| <i>Mycobacterium avium intracellulare</i> (MAC) | Pathogenic <i>staphylococci</i> | <i>Campylobacter</i> |
| <i>Helicobacter pylori</i> | Fecal bacteriophages | <i>Legionella</i> |
| <i>Acanthamoeba</i> | Enteroviruses | <i>Klebsiella</i> |
| <i>Microsporida</i> | Parasite | <i>Mycobacterium</i> |
| <i>Adenoviruses</i> | Algae | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| <i>Calciiviruses</i> | Animalcules(worms-larva) | <i>Salmonella</i> |
| <i>Coxsakiiviruses</i> | | <i>Shigella</i> |
| <i>Cyanobacteria, toxin</i> | | <i>Vibrio</i> |
| | | <i>Yersinia</i> |
| | | <i>Acanthamoeba</i> |
| | | <i>Cryptosporidium</i> |
| | | <i>Giardia</i> |
| | | <i>Adenoviruses</i> |
| | | <i>Enteroviruses</i> |
| | | <i>Hepatitis viruses</i> |
| | | <i>Norwalk viruses</i> |
| | | <i>Rotaviruses</i> |
| | | <i>Reoviruses</i> |
| | | Toxic algae |

Table 2. Current microbial regulation of groundwater and spring water in Korea

| Parameter | Groundwater | Spring water |
|-------------------------|--------------------------------|------------------|
| Standard plate count | below 100 CFU ¹ /mL | below 100 CFU/mL |
| Total coliforms | ND ² /100mL | ND/100mL |
| Fecal coliforms | ND/100mL | ND/100mL |
| <i>Escherichia coli</i> | ND/100mL | ND/100mL |
| <i>Yersinia</i> spp. | - | ND/2L |

¹ Colony forming unit, ² Not detectable.

립연합은 구체적인 기준이 없더라도 법령 내에 위해한 병원체가 없을 것을 수질요건으로 명시하여 지속적인 관심을 갖도록 하고 있다. 호주에서도 규제 및 모니터링 항목에는 대장균군류만이 포함되어 있으나, 미생물에 대하여 세균, 원생동물, 독성조류, 바이러스로 구분하여 호주 먹는물 지침 (Australian Drinking Water Guidelines)에 포함시켜 관리하고 있다.

이에 반해 현재 국내에서는 먹는물의 음용여부를 결정하는 미생물항목은 일반세균과 총대장균군, 분원성대장균군 혹은 대장균을 주로 규정하여 관리하고 있으나 (Table 2)³⁾, 수환경오염의 심화와 분석기술의 발달로 과거에는 알려지지 않은 새로운 수인성 질병에 노출되고, 지금의 주요 지표 세균 만으로는 병원균으로부터의 안전성과 일치한다고 볼 수는 없다. 서울시에서 상수 원수 및 정수, 그리고 배급수관망을 거친 상수도 계통에서 먹는물의 세균학적 수질감시를 강화하고 적정 관리를 위한 세균 현황과악을 위해 현재 먹는물 수질기준 항목인 총대장균군과 일반세균 이외에 서울시 감시항목으로 관리되고 있는 분원성대장균군 및 분원성연쇄상구균과 97년부터 서울

시에서 연구해온 저온일반세균, 아황산환원혐기성포자형성균, 여시니아균, 레지오넬라균 그리고 신규항목으로 대장균을 추가하여 분포조사를 실시한 바 있다⁴⁾. 그러나, 실제로 시민다수가 별다른 처리시설을 갖추지 않은 지하수나 약수터수를 믿고 음용하고 있지만 이러한 시설들에 대한 세균학적 분석이나 지표세균 검증에 관한 문헌이 거의 없는 실정이다.

따라서, 본 연구는 부산시민 다수가 이용하는 관내 민방위비 상급수시설 등의 지하수 및 약수터수에 대하여 현재 국내 수질 기준에서 규정하고 있는 일반세균 (Standard plate count), 총대장균군 (Total coliforms), 분원성대장균군 (Fecal coliforms) 항목과 외국의 현행 수질기준 항목이나 수인성질병과 관련하여 문제가 예상되는 항목인 분원성연쇄상구균 (Fecal streptococci), 녹농균 (*Pseudomonas aeruginosa*), 살모넬라 (*Salmonella* spp.), 쉬겔라균 (*Shigella* spp.)에 대한 조사를 실시하여 현재 규정하고 있는 지표세균에 대한 특성 비교와 아울러 미생물 감시항목 및 수질기준 확대 적용 필요성에 대해 고찰하였으며 향후 관련 규정 개정 시에 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

재료 및 방법

연구재료

2005년 4월부터 9월까지 부산 시내 민방위비상급수 등 지하수 197건과 약수터수 187건을 사용하였다.

균의 검출 및 확인 동정시험

균의 검출 및 확인시험은 먹는물수질오염공정시험방법²⁾, Standard Method³⁾에 따라 실시하였다.

일반세균(Standard Plate Count)

적당한 농도 (1mL당 세균수가 30-300개로 추정될 수 있는 농도)로 희석한 검수를 1mL 씩 각 페트리접시 2매씩 넣고 미리 멸균시켜 45±0.5℃로 유지시킨 plate count agar (Difco)를 10~12mL씩 분주하여 검수가 잘 혼합되도록 좌우로 회전 시킨후 35±0.5℃ 48±2시간 배양하여 형성된 집락을 계수하였다.

총대장균군 (Total Coliforms)

2배 농후젓당배지 (Difco) 10mL씩 들어있는 중시험관 10개에 검수 10mL씩 접종하여 35±0.5℃ 48±2 배양한 다음 가스가 발생한 것에 대해 1백금이씩 취하여 brilliant green lactose broth (BGLB, Merck) 10mL씩 들어있는 시험관에 접종하여 35±0.5℃ 48±3시간 배양하여 가스가 생성된 것을 양성으로 하였다.

분원성대장균군 (Fecal coliforms)

총대장균군 추정시험에서 가스가 발생하였거나 증식이 많은 시험관 또는 산을 생성한 모든 시험관에 대하여 1백금을 취하여 EC broth (Merck)가 든 시험관에 이식한 후 44.5±0.2℃ 24±2시간 배양하여 가스발생이 있는 것을 분원성대장균군 양성으로 판정하였다.

함 등⁴⁾의 방법에 따라 총대장균군과 분원성대장균군은 양성으로 판명된 brilliant green lactose broth (BGLB, Merck)와 EC broth (Merck)에서 1백금이씩 취하여 eosin methyleneblue lactose agar (EMB agar, Merck)에서 lactose를 분해한 집락을 선택하여, tryptic soy agar (TSA, Difco) 배지에서 단일 균으로 순수 분리하여 API 20E kit (bioMerieux)를 사용하여 종까지 동정하였다.

분원성연쇄상구균 (Fecal streptococci)

검수 50mL씩을 5개의 3배 농후 azid dextrose broth (Merck)가 25mL씩 들어있는 대시험관에 접종시킨 다음 35±0.5℃ 48±3까지 배양하여 배지의 혼탁 유무를 관찰하고 혼탁한 시험관으로부터 1백금이씩 취하여 파이자 장구균 선택한천배지에 희석 이식하여 35±0.5℃ 24±2시간 배양한 후 갈색의 테두리가 있는 흑갈색의 집락이 형성된 것을 추가 확인

시험을 위해 6.5% NaCl이 포함된 brain heart infusion broth (Difco)에 옮겨 45℃에서 24±2시간 배양하였다. 종명 동정을 위해 tryptic soy agar (TSA, Difco)에서 단일 균으로 순수 분리배양하여 API 20 STREP kit (bioMerieux)를 이용하여 최종 동정하였다.

녹농균 (*Pseudomonas aeruginosa*)

검수 50mL씩을 5개의 3배 농후 아스파라진배지 (Sigma)가 25mL씩 들어있는 대시험관에 접종시킨 다음 35±0.5℃ 48±3시간 까지 배양하여 자외선 (365nm부근)을 조사해서 녹색 형광이 나타나는 것을 추정시험 양성으로 하고 상층부에서 백금이로 3회 취하여 각각 아세트아미드 한천사면배지에 골고루 이식하여 35±0.5℃ 24-36시간 배양하여 1개의 시험관이라도 적자색을 나타내는 것으로 확정시험 양성으로 판정하고 tryptic soy agar (TSA, Difco)에서 41.5±0.5℃ 48시간 배양하여 성장여부를 관찰하고 그람염색, API 20 NE kit (bioMerieux)를 이용하여 최종 동정하였다.

살모넬라 (*Salmonella* spp.) 및 쉬겔라 (*Shigella* spp.)

검수 50mL씩을 3배 농후 selenite enrichment broth (Merck)가 25mL씩 들어있는 시험관 5개에 접종하여 37℃ 18~24시간 배양한 후 살모넬라는 비스무스 한천 선택배지에, 쉬겔라는 XLD한천선택배지 (Merck)에 희석접종하여 35℃에서 24시간 배양 후 집락을 관찰하고 48시간후 재관찰하여 가장자리에 하얀테를 두른 검고 반짝이는 집락 혹은 녹색집락이 생성된 것을 API 20 E kit를 이용하여 최종 동정하였다.

결과 및 고찰

지표세균의 분포 및 분리 특성

먹는물 수질에 대한 지표미생물을 평가하기 위해 부산시내 지하수 197건, 약수터수 187건, 총 384건 대한 일반세균, 총대장균군, 분원성대장균군, 분원성연쇄상구균, 녹농균, 살모넬라 및 쉬겔라에 대한 균 분리 결과는 Table 3과 같았다. 세균 중 총대장균군의 검출율이 51.0%로 가장 높았으며 분원성대장균군이 18.1%, 일반세균이 8.9%, 그 외 분원성연쇄상구균, 녹농균이 3.9%, 1.3% 순이었으며 살모넬라, 쉬겔라는 전지점 불검출이었다. 지하수와 약수터수의 경우 일반세균은 9.6%와 8.0%이고 녹농균은 1.0%와 1.6%로 비슷하였으나, 총대장균군은 36.0%와 66.3%, 분원성대장균군은 11.2%와 25.1%, 분원성연쇄상구균은 1.0%와 7.0%로 나타나, 지하수에 비해 약수터수의 검출률이 2~7배 정도 높게 나타나 (Fig. 1), 지하수에 비해 지표수인 약수터수의 미생물 오염 요인이 많음을 시사하였다.

일반세균 (Standard plate count: SPC)

주요 지표세균인 일반세균은 물 속의 일반적인 세균농도의 측정에 사용되나 물 속에 있는 모든 세균을 나타내는 것이 아

Table 3. Results of isolation of indicator bacteria

| Source | No. of samples | No. (%) of isolates | | | | | | |
|--------------|----------------|---------------------|-----------|----------|---------|--------|--------|--------|
| | | SPC ¹ | TC | FC | FS | PA | Sal. | Shi. |
| Ground water | 197 | 19(9.6) | 71(36.0) | 22(11.2) | 2(1.0) | 2(1.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| Spring water | 187 | 15(8.0) | 124(66.3) | 47(25.1) | 13(7.0) | 3(1.6) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| Total (%) | 384 | 34(8.9) | 195(51.0) | 69(18.1) | 15(3.9) | 5(1.3) | 0(0.0) | 0(0.0) |

¹⁾ SPC, standard plate count; TC, total coliforms; FC, fecal coliforms; FS, fecal streptococci; PA, *Pseudomonas aeruginosa*; Sal, *Salmoella* spp.; Shi, *Shigella* spp.

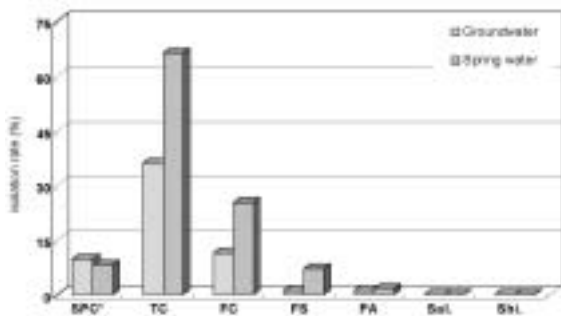


Fig. 1. Isolation rate of indicator bacteria in ground water and spring water.

*SPC, standard plate count; TC, total coliforms; FC, fecal coliforms; FS, fecal streptococci; PA, *Pseudomonas aeruginosa*; Sal, *Salmoella* spp.; Shi, *Shigella* spp.

나라, 사용한 배지에서 일정 조건의 온도와 배양시간 동안 가시화된 집락을 형성하며 증식할 수 있는 종속영양세균을 나타내는 것이다²⁾. 어떠한 수계에나 대장균군보다 상대적으로 많이 분포하며 특히 유기영양분이 많을 경우 높은 농도로 검출되며, 일반적으로 병원성 세균이거나 분변성오염의 지표세균이 아니므로 그 자체로 건강상에 해를 끼치지 않으며 총대장균군보다도 높은 염소저항성을 가진 것들이 있어 분변 오염 이외의 오염일 때에도 민감하게 반응하는 것이 많으므로 정수장에서 소독 효과를 확인할 수 있는 지표로 이용하고 있다³⁾. 먹는물 수질기준에서는 1mL 당 100 CFU (colony forming unit) 이하로 규정하고 있는 바³⁾, 본 시험에서는 대상 시료 총 384건 중 34건 (8.9%)이 기준을 초과하는 것으로 나타났다. 최소 0에서 최대 8700 CFU까지 분포하였으며, 지하수에서 9.6%, 약수터수는 8.0% 만이 100 CFU 이상으로 부적합이었고, 지하수는 61.4%, 약수터수에서는 44.4%가 10 CFU 이하로 가장 많은 부분을 차지하는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

또한, 총대장균군의 부적합율이 총 384건 중 195건 (51.0%)인 것에 비해 일반세균 부적합율은 34건 (8.9%)으로 상대적으로 낮았다. 그러나, 일반세균 부적합 중 지하수 7건 (46.7%), 약수터수 4건 (21.1%) 총 11건 (2.9%)에 대해서는 총대장균군은 적합이었으나 일반세균만 부적합한 것으로 나타났고 (Fig. 3), 지하수 민방위비상급수시설 1개소에서 기회성병원균인 녹농균을 직접 분리해낸 집 등을 미루어 볼 때, 일반세균은 일반

적인 위생지표로서 뿐만 아니라 총대장균군이 스트레스 등으로 억제되었을 때 기회성병원균 등에 대한 보충적인 정보를 제공할 수 있는 것으로 사료되었다.

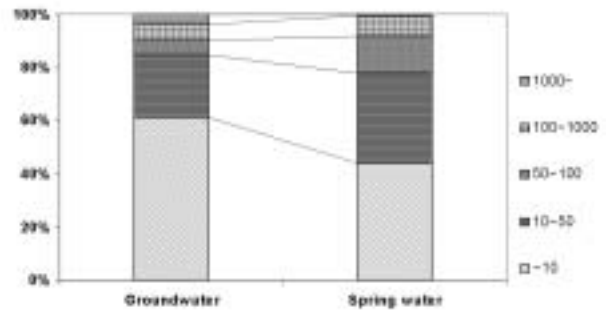


Fig. 2. Comparison of standard plate count in groundwater and spring water.

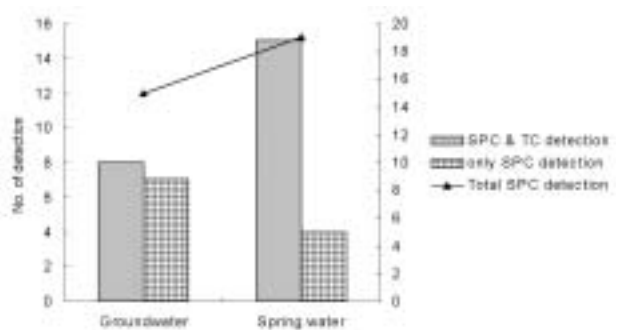


Fig. 3. Comparison of standard plate count and total coliforms in groundwater and spring water.

총대장균군 (Total coliforms) 및 분원성대장균군 (Fecal coliforms)

총대장균군은 *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*속 등을 포함하는 가장 오래된 지표세균으로 거의 모든 나라의 수질 기준에 가장 보편적으로 사용되고 있으며, 가장 높은 검출율을 나타내어 큰 폭의 안전도를 제공한다는 점에서 먹는물 처리수에서 중요한 지표세균으로 사용되고 있다. 장독성 *E. coli*와 같은 극소수 병원성 미생물을 이원적으로 포함하나 실제 검출되는 총대장균군에 포함되어 있을 가능성은 상대적으로 희박하고, 항온동물의 장내에 서식하는 정상세균

총으로서 가장하수 및 오수, 축산폐수 등에 의한 오염 지표로 작용한다. 상대적으로 분원성대장균군은, 배양온도를 온혈동물의 장내 입계 온도인 $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 로 높여서 자연환경에 있는 세균의 성장을 억제하면서 장내세균이 선택적으로 잘 자랄 수 있도록 함으로서 분변 오염 지표로서의 신뢰성을 높인다^{2,7,9}.

본 연구에서 총대장균군과 분원성대장균군 시험결과 총 384건 중 각각 195건 (51.0%)과 69건 (18.1%)이 검출되었으며 총대장균군이 지표세균 중 가장 높은 검출율을 보였고, 검출된 총대장균군 195건 중 69건 (35.3%)만이 온혈동물의 분변 등에 의한 오염을 암시하는 분원성대장균군이었다. 나머지 126건 (64.7%)은 비분원성이었으며, 지하수의 경우 총대장균군 검출 71건 중 49건 (69.0%)이, 약수터수는 124건 중 77건 (62.1%)이 자연계에서 기인하는 비분원성을 나타내어 (Fig. 4), 총대장균군이 분원성대장균군에 비해 분변오염에 대한 결정적인 판단의 근거를 제공하지는 못함을 보여주었다. 그러나, 지하수와 지표수인 약수터수 중 비분원성대장균군의 비율이 64.7%와 62.1%로 거의 비슷하게 나타난 것은 지하수의 경우, 깊은 지하수에서는 대체적으로 오염원의 유입이 적어 지하수 수질의 변동이 적지만, 얇은 지하수에서는 분변오염 이외에 빗물 등의 영향으로 수질의 변동에 영향을 줄 수 있음⁸을 감안해 볼 때 지하수 및 약수터수에 대한 총대장균군 검사는 빗물 등의 유입, 채수과정에서의 오염, 급수과정에 의한 오염 등을 검증해 볼 수 있는 지표로서 가치가 있는 것으로 여겨진다.

총대장균군과 분원성대장균군이 지하수는 각각 36.0%와 11.2% 그리고, 약수터수는 66.3%와 25.1%의 검출율을 보임에 따라 총대장균군이 분원성대장균군에 비해 3배 정도 검출률이 높았다. 시료별로는 약수터수가 지하수에 비해 검출률이 2배 정도 높은 것은 송 등¹⁰이 약수터수는 빗물, 계곡수, 토양, 지질 등의 복합적인 환경요인에 영향을 받는다고 보고하였고, 실제로 본 시험 결과에서도 지표수인 약수터수가 세균 오염이 높음을 증명하여, 약수터수에 대한 미생물 감시가 보다 더 철저해야 할 것으로 판단되었다.

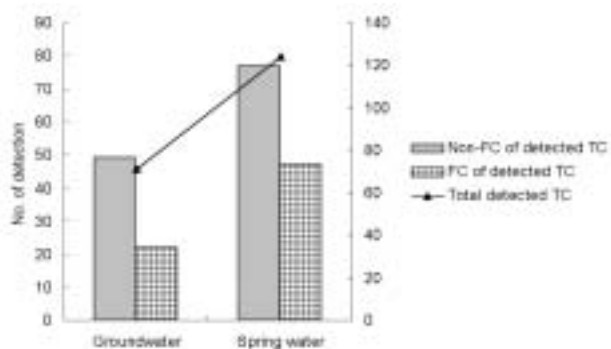


Fig. 4. Comparison of Total coliforms and Fecal coliforms in groundwater and spring water.

분원성연쇄상구균 (Fecal streptococci : FS)

분원성연쇄상구균은 총 15건 (3.9%)이 검출되었으며 시료별

로는 지하수에서 2건 (1.0%)이었으나 약수터수에서 13건 (7.0%)으로 약수터수에서 7배 정도 높은 비율로 검출되었다. 분원성연쇄상구균의 지표로서의 특징은 사람과 온혈동물의 분비물에 고농도로 존재하고, 하수나 분비물에 오염된 환경에서 존재하며, 환경에서 재증식하지 않으며, 환경에서 유해물질에 대한 저항성이 대장균보다 강하고, 대부분의 온혈동물의 분변에 분원성대장균군보다 더 많은 수로 존재한다는 것이다¹¹. 현재 국내에서는 지하수나 약수터수에 대해 분원성연쇄상구균을 규제하고 있지는 않으나, 유럽에서는 먹는물, 자연수 등 수질의 지표로서 분원성연쇄상구균을 널리 사용되고 있으며 WHO도 자연수의 분원성오염 지표로서 분원성대장균군과 함께 권장하고 있다. 따라서, 수도물에 대한 막연한 불신으로 갈수록 지하수나 약수터수 인구가 증가하고 있고, 특히 지하수에 비해 약수터수 중 분원성연쇄상구균의 검출율이 7배 정도 높음을 감안해 볼 때 약수터수에 대해서는 분변 오염 지표세균으로서 의의가 있을 것으로 사료되었다.

녹농균 (*Pseudomonas aeruginosa*)

녹농균은 식물, 곤충, 어류, 양서류, 파충류, 새, 포유류 등 자연계에 널리 분포하고 수분이 많은 환경에 흔히 존재하며, 환자 뿐 아니라 정상인에게도 정착하는 것이 가능한 균으로서 면역력이 저하된 사람에서는 병을 일으킬 수 있는 기회성 감염균¹²으로, 병원, 수영장, 목욕장 등에서는 녹농균이 주요 감시의 대상이다⁹.

본 연구에서 녹농균은 384건 중 총 5건 (1.3%)이 분리된 바, 지하수와 약수터수에서 각각 2건 (1.0%) 과 3건 (1.6%)이 분리되었다. 이 중 현행 먹는물 규격 세균항목에는 부적합이면서 녹농균이 검출된 경우가 4건 (1.0%)이었고, 규격 적합이면서 녹농균이 분리된 경우는 단 1건 (0.3%)으로 나타났다. 정 등¹³이 현재 먹는샘물중에서 녹농균에 의한 부적합이 약 1.6%정도를 보고하였던 바 지하수 및 약수터수에 대한 본 시험결과 (1.3%)와 비슷한 부적합율을 보였다. 녹농균은 사람에게 있어서 상처에 감염되거나 환자의 호흡기, 눈에 감염하며 병원 감염성폐렴의 주 원인이 될 수 있고¹⁴, 브라질, 캐나다, 독일, 스페인, 프랑스, 미국 등을 비롯한 여러 나라의 먹는샘물 (Bottled water)에서도 녹농균이 검출되었고, 증류수와 같은 유기물이 최소화된 환경에서도 생존능이 뛰어나므로⁹ 지하수 및 약수터수에서도 추후 감시가 필요한 항목으로 사료된다.

살모넬라 (*Salmonella* spp.) 및 쉬겔라 (*Shigella* spp.)

살모넬라는 2000여 종의 혈청형으로 구분되며 그 가운데 병원성을 갖고 있는 것은 일부에 한정된다. 그 중 *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* A, B, C 등은 사람에게 장티프스나 파라티프스의 원인균이 되고, 이들 법정전염병의 원인이 되는 형을 제외한 대부분의 살모넬라는 급성 위장염을 일으키는 식중독의 원인이 된다. 쉬겔라는 대장의 급성 세균성 감염증인 세균성 이질의 원인균이며, 발열, 복통, 설사를 주요 증상으로 하

며, 중증인 경우 농집상 혈변을 야기한다. 세계 전 지역에서 발생되며 소량의 세균으로도 감염이 성립된다⁸⁾.

본 연구에서는 지하수나 약수터수에서 살모넬라 및 쉬겔라 모두 불검출로 나타났으나, 오염사고 발생시에는 대량의 집단 발병으로 이어질 수 있으므로 지속적인 감시가 필요하다고 판단된다.

세균의 분리 특성

총대장균군 (Total coliforms)

총대장균군의 종 구성을 알아보기 위해 4월부터 9월에 걸쳐 총대장균군 검출 총 195건 중 94건 (지하수 34건, 약수터수 60건)에 대해 분리 동정한 결과 Table 4와 같았다. *E. coli*, *Enterobacter*속, *Klebsiella*속이 각각 전체 분리균의 31.9%, 25.5%, 20.2%를 차지하여 우점종으로 나타났고, *Serratia*속이 16.0%를 차지하였고 그 외 *Citrobacter freundii*, *Kluyvera* 속, *Hafnia alvei*가 각각 3.2%, 2.1%, 1.1%로 나타났다. 그리고, 지하수인 경우 *E. coli*와 *Klebsiella*속, *Enterobacter*속이 각각 26.5%, 29.4%, 20.6% 순이었으며, 약수터수는 *E. coli*, *Enterobacter*속, *Klebsiella*속 순으로 각각 35.0%, 28.3%, 15.0%로 나타나 지하수의 결과와는 약간 차이를 보였다. 이 결과는 함 등¹⁰⁾이 1997년 6월과 7월에 서울지역 웅달샘 유래 대장균군 112주와 지하수 유래 대장균군 24주를 분리 동정한 결과, 총 23개 종이 나타났으며 그 중

대표적인 종류로서 *Escherichia*속이 28.6%, *Klebsiella*속이 23.5%, *Enterobacter*속이 22.1%, *Serratia*속이 14.0%, *Citrobacter*속이 4.4%, *Kluyvera*속이 3.0% 그리고 기타 속이 4.4%로 나타났다고 하여 본 시험결과와 대체적으로 비슷하게 나타났다. 그러나, 박 등¹¹⁾이 구의 상수원수에서 *Enterobacter agglomerans*가 75%, 이 밖에 *Serratia plymuthica*, *Enterobacter cloacae* 등 5개종이 검출되었다고 보고하였고, 장 등¹²⁾이 서울지역 수도권 상수원수에서 *Enterobacter*, *Klebsiella*가 31.6%, 23.7%를 차지하고 그 외 *Citrobacter freundii*, *E. coli* 가 각각 16.0%, 7.0%등이 분리되었다는 보고와는 차이를 보였다.

총대장균군에 속하는 세균 중에서 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*는 분변유래균이지만, 기타 *Klebsiella*속, *Enterobacter*속은 분변 및 자연계에 모두 존재하는 중간형이고, *Serratia*속, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*는 식물, 토양, 물 등에서 유래하는 자연환경형 균으로 알려져 있다^{10, 11)}. 본 연구에서도 동정된 총대장균군 중 분변유래 균주인 *E. coli*와 *Klebsiella pneumoniae*가 차지하는 백분율이 31.9%와 10.6%로 실제로 검출된 총대장균군의 42.5%가 분변오염과 관련이 있는 것으로 나타났다 (Fig. 5).

이상과 같이 총대장균군의 측정결과, 상당수 분변오염과 실제 연관이 없는 곳에서 유래하는 균종이 포함되어 이들의 검출로 인해 실제보다 수질이 더 나쁘게 평가될 수 있음을 알 수 있었다.

Table 4. Classification data of total coliforms isolated from groundwater and spring water

| Strain | No. (%) of isolates | | |
|-----------------------------|---------------------|--------------|------------|
| | Ground water | Spring water | Total |
| <i>Escherichia coli</i> | 9 (26.5) | 21 (35.0) | 30 (31.9) |
| <i>Klebsiella</i> | 10 (29.4) | 9 (15.0) | 19 (20.2) |
| <i>Kleb. pneumoniae</i> | 6 (17.6) | 4 (6.7) | 10 (10.6) |
| <i>Kleb. oxytoca</i> | 2 (5.9) | 4 (6.7) | 6 (6.4) |
| <i>Kleb. omithinolytica</i> | 1 (2.9) | 1 (1.7) | 2 (2.1) |
| <i>Klebsiella spp.</i> | 1 (2.9) | 0 (0.0) | 1 (1.1) |
| <i>Enterobacter</i> | 7 (20.6) | 17 (28.3) | 24 (25.5) |
| <i>Ent. sakazakii</i> | 2 (5.9) | 6 (10.0) | 8 (8.5) |
| <i>Ent. cloacae</i> | 2 (5.9) | 4 (6.7) | 6 (6.4) |
| <i>Ent. aerogenes</i> | 1 (2.9) | 3 (5.0) | 4 (4.3) |
| <i>Ent. agglomerans</i> | 1 (2.9) | 3 (5.0) | 4 (4.3) |
| <i>Enterobacter spp.</i> | 1 (2.9) | 1 (1.7) | 2 (2.1) |
| <i>Serratia</i> | 6 (17.6) | 9 (15.0) | 15 (16.0) |
| <i>Ser. liquefaciens</i> | 1 (2.9) | 4 (6.7) | 5 (5.3) |
| <i>Ser. odorifera</i> | 2 (5.9) | 3 (5.0) | 5 (5.3) |
| <i>Ser. marcescens</i> | 1 (2.9) | 1 (1.7) | 2 (2.1) |
| <i>Ser. fonticola</i> | 1 (2.9) | 1 (1.7) | 2 (2.1) |
| <i>Ser. ficaria</i> | 1 (2.9) | 0 (0.0) | 1 (1.1) |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 2 (5.9) | 1 (1.7) | 3 (3.2) |
| <i>Kluyvera spp.</i> | 0 (0.0) | 2 (3.3) | 2 (2.1) |
| <i>Hafnia alvei</i> | 0 (0.0) | 1 (1.7) | 1 (1.1) |
| Total | 34 (100.0) | 60 (100.0) | 94 (100.0) |

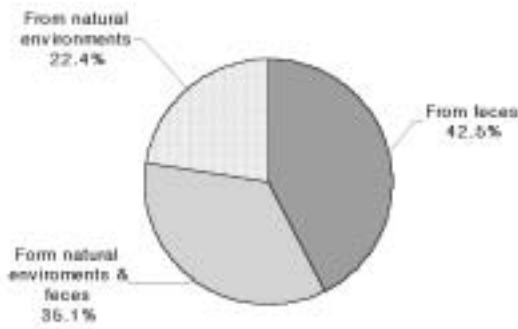


Fig. 5. Classification of origin in total coliforms isolates.

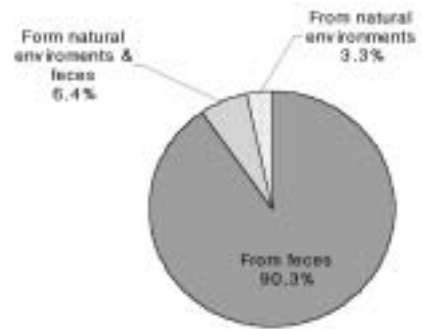


Fig. 6. Classification of origin in fecal coliforms isolates.

분원성대장균군 (Fecal coliforms)

37℃, 젖당배지에서 성장한 총대장균군이 반드시 모두 분원성인 것은 아니므로 배양온도를 장내세균의 입계온도인 44.5 ± 0.2℃로 높여서 분원성이 아닌 것을 배제하고 대장균군과 같은 기능을 갖는 균을 분원성대장균군이라 정의하며, 이 방법에 의해 온혈동물의 분변에서 발견되는 대장균군의 93%가 검출된다⁶⁵고 하였다. 분원성대장균군의 균종별 분포를 알아보기 위하여 분원성대장균군이 검출된 69건 중 31건 (지하수 11건, 약수터수 20건)에 대해 균 분리 동정을 실시한 결과 *E. coli*의 구성비율이 80.6%로 가장 높았고, 그 다음으로 *Klebsiella pneumoniae*가 9.7% 이었으며 그밖에 *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*가 분리되었다. 지하수 및 약수터수로 구분해 본 경우에도 *E. coli*가 각각 81.8%와 80.0%로 비슷하게 우점하는 것으로 나타났다 (Table 5).

이와 유사하게 장 등⁶⁶은 서울지역 수도권 상수원수에서 분원성대장균군 집락 64개를 분리 동정한 결과 *E. coli*의 구성비율이 85.9%로 가장 높았고, 그 다음으로 *Klebsiella pneumoniae*가 7.8%이었으며, 그밖에 *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Erwinia nigrifluens*, *Escherichia fergusonii*가 각각 1.6%씩 분리되었다고 하였다. Clark 등⁶⁸도 원수 및 다양한 단계의 처리수에서 수집한 312개의 시료를 조사한 결과, 1139개의 분리주가 검출되었고 그 중에 *E. coli*의 비율은 각 시료에서 51~93% 범위를 차지하였으며, 나머지는 주로 *Klebsiella pneumoniae*로 32~40%로 나타났다고 하였다.

분원성연쇄상구균 (Fecal streptococci)

분원성 연쇄상구균은 *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. gallinarum*의 종들이 있다. 이들은 Lancefield's group D 항체에 양성반응을 나타내며 모두 온혈동물의 분비물에서 분리되었다. 분원성연쇄상구균의 서식지는 온혈동물의 소화기계이며, 인간의 분뇨 내에 존재하는 분원성연쇄상구균의 80%가 장내연쇄상구균(*Enterococcus* spp.)에 속하며 이것이 인간 특이적인 지표로서 더 큰 의의가 있다⁷.

장내연쇄상구균은 분원성연쇄상구균의 일부 그룹으로 구성되어 *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium* 등을 포함한다. 장내연쇄상구균은 위락용수 혹은 수욕수 (recreational water)의 분원성 오염 정도의 결정에 중요한 지표세균이다. 해양과 담수의 수욕수에서 연구결과 수욕에 의한 장염이 직접적으로 수욕수 수질과 상관관계가 있고 장내연쇄상구균이 가장 우수한 지표세균으로 나타났다⁶⁹.

본 연구에서 분원성연쇄상구균의 종 조성을 알아보기 위해 총 28개의 검출 건 중 장내연쇄상구균만 총 15건 (지하수 2건, 약수터수 13건)을 분리 동정하였으며, Table 6에서 보는 바와 같이 *Ent. faecium*과 *Ent. durans*가 각각 40.0%로 가장 높은 비율을 나타내었고, *Ent. faecalis*와 기타 *Enterococcus* 속이 각각 13.3%, 6.7%를 차지하였다. 이는 장 등⁶⁶이 서울시 상수 원수에서 분리한 분원성연쇄상구균에 대한 종 동정 결과, 장내연쇄상구균만이 분리되어 *Ent. faecium*과 *Ent. durans*가 전체 56%를 차지하고, *Ent. faecalis*와 *Ent. avium*이 각

Table 5. Classification data of fecal coliforms isolated from groundwater and spring water

| Strain | No. (%) of isolates | | |
|-------------------------------|---------------------|--------------|------------|
| | Ground water | Spring water | Total |
| <i>Escherichia coli</i> | 9 (81.8) | 16 (80.0) | 25 (80.6) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 (9.1) | 2 (10.0) | 3 (9.7) |
| <i>Enterobacter</i> | 0 (0.0) | 2 (10.0) | 2 (6.5) |
| <i>Enterobacter sakazakii</i> | 0 (0.0) | 1 (5.0) | 1 (3.2) |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 0 (0.0) | 1 (5.0) | 1 (3.2) |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 1 (9.1) | 0 (0.0) | 1 (3.2) |
| Total | 11 (100.0) | 20 (100.0) | 31 (100.0) |

Table 6. Identification result of fecal streptococcus isolated from groundwater and spring water

| Strain | No. (%) of isolates | | |
|------------------------------|---------------------|--------------|------------|
| | Ground water | Spring water | Total |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 1 (50.0) | 5 (38.5) | 6 (40.0) |
| <i>Enterococcus durans</i> | 1 (50.0) | 5 (38.5) | 6 (40.0) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 0 (0.0) | 2 (15.4) | 2 (13.3) |
| <i>Enterobacter spp.</i> | 0 (0.0) | 1 (7.6) | 1 (6.7) |
| Total | 2 (100.0) | 13 (100.0) | 15 (100.0) |

Table 7. Percent relationship of coliforms from groundwater and spring water

| FC/TC ¹ (%) | <i>E. coli</i> /TC (%) | <i>E. coli</i> /FC (%) |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| 35.4 | 31.9 | 80.6 |

¹ FC : fecal coliforms, TC : total coliforms

각 17%와 12%를 차지한 것으로 보고한 것과 유사하였다.

한편, 먹는물수질오염공정시험법상의 파이자 장구균 선택한천배지에서 갈색의 테두리가 있는 흑갈색의 집락을 형성한 유사 집락 13건에 대해서는 동정한 결과, 분원성연쇄상구균이 아닌 *Aerococcus viridans*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc spp.* 등의 기타 유산균 종들이 분리되어, Standard method에서 장내연쇄상구균은 6.5% 염분도와 pH 9.6, 그리고 10°C와 45°C 성장능을 가진다고 하여 추가 시험을 실시한 결과 장내연쇄상구균 이외의 종 등은 배제되는 것을 확인할 수 있었으므로, 먹는물수질오염공정시험법 상에 분원성연쇄상구균에 대한 확인시험 과정 추가에 대한 검토가 필요하다고 사료되었다.

분변지표세균 간 특성 비교

대장균군 그룹 [총대장균군, 분원성대장균군, 대장균]

총대장균군(total coliforms)과 분원성대장균군(fecal coliforms), 그리고 대장균(*E. coli*)은 미생물의 분류상 구분이라기 보다는 검사방법에 의하여 구분되는 특징을 갖는다. 대장균은 분원성대장균군에 포함되고 분원성대장균군은 총대장균군에 포함된다. 대장균은 단일종의 세균으로 인간이나 온혈동물의 장내 우집을 이루는 통성혐기성세균으로 사람의 분변에 10⁹/g가량 분포하여, 분변 오염에 대한 특이성이 가장 높아 가장 신뢰할 수 있는 분원성 오염 지표이다⁷⁾.

본 연구 결과, 총대장균군 검출 건 중 35.4%만이 분원성대장균군이었고, 총대장균군 중 31.9%만이 대장균이었으며, 분원성대장균군 중 80.6%가 대장균으로 나타났던 바 (Table 7), 분변오염의 지표로서 분원성대장균군이 총대장균군에 비해 결정적인 판단의 근거를 제공하는 것으로 판단되었다.

분원성대장균군과 분원성연쇄상구균

지하수 및 약수터수 총 384건에 대한 분원성대장균군 검출은 총 69건 (18.1%)이었던데 반해, 분원성연쇄상구균은 총 15건 (3.9%)이 검출되었다. 그 중 분원성대장균군 및 분원성연쇄

상구균이 모두 검출인 경우는 4건 (지하수 1건, 약수터수 3건) 뿐이었으며, 나머지 11건 (지하수 1건, 약수터수 10건)은 분원성대장균군은 불검출이면서 분원성연쇄상구균은 검출인 것으로 나타났다. 따라서, 지하수는 전체 건수 대비 0.5%, 약수터수는 5.3%가 분원성연쇄상구균은 검출이면서 분원성대장균군은 검출되지 않았으므로, 약수터수에 대해서는 분원성연쇄상구균이 분원성대장균군과 함께 분변오염지표세균으로서 보충적인 정보를 제공할 수 있을 것으로 보여진다.

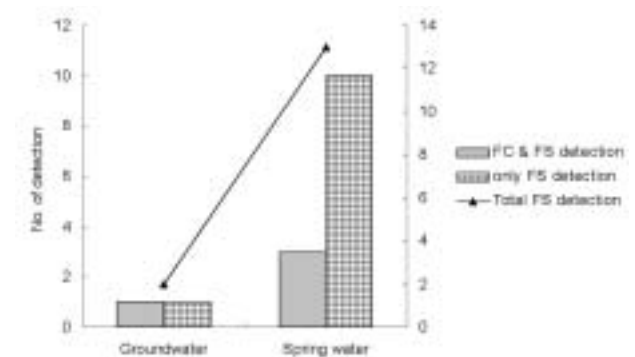


Fig. 7. Comparison of the detected fecal coliforms and fecal streptococci in groundwater and spring water.

결론

본 연구는 부산시민 다수가 이용하는 민방위비상급수시설 등의 지하수 및 약수터수를 중심으로 4월부터 9월에 걸쳐 현재 먹는물 수질 규격 기준에서 규정하고 있는 일반세균, 총대장균군 및 분원성대장균군 항목과 아울러, 외국의 현행 수질기준 항목이나 수인성질병과 관련하여 문제가 예상되는 항목인 분원성연쇄상구균, 녹농균, 살모넬라 및 쉬겔라에 대한 분리현황 및 그 구성 종을 파악하였으며, 지표세균간의 특성 비교 및 수질기준 확대 적용 필요성에 대하여 고찰하였다.

1. 먹는물 수질에 대한 지표미생물을 평가하기 위해 부산시 내 먹는물 384건 (지하수 197건, 약수터수 187건)에 대해서 일반세균, 총대장균군, 분원성대장균군, 분원성연쇄상구균, 녹농균, 살모넬라 및 쉬겔라에 대한 시험 결과 총대장균군의 검출율이 51.0%로 가장 높게 나타났으며, 분원성대장균은 18.1%, 일반세균이 8.9%, 그 외 분원성연쇄상구균, 녹농균이 3.9%, 1.3% 순이었고, 살모넬라, 쉬겔라는 모두 불검출이었다. 지하수와 약수터수를 구분하여 보았을 때, 일반세균 (9.6%, 8.0%)과 녹농균 (1.0%, 1.6%)은 비슷한 검출율을 나타내었으나, 총대장균군은 지하수와 약수터수에서 각각 36.0%와 66.3%, 분원성대장균군은 11.2%와 25.1%, 분원성연쇄상구균은 1.0%와 7.0%로 나타나, 지하수에 비해 약수터수의 세균 검출율이 2~7배 정도 더 높은 것으로 나타난 것으로 보아, 지하수에 비해 지표수인 약수터수에 대한 세균 관리가 보다 더 철저해야 할 것으로 사료되었다.

2. 검출된 총대장균군 94건을 분리 동정한 결과 *E. coli*, *Enterobacter*속, *Klebsiella*속이 각각 전체 분리균의 31.9%, 25.5%, 20.2%를 차지하여 우점종으로 나타났고, *Serratia*속이 16.0%를 차지하였고 그 외 *Citrobacter freundii*, *Kluyvera*속, *Hafnia alvei* 가 각각 3.2%, 2.1%, 1.1%로 나타났다. 분원성대장균군 31건에 대해서는 *E. coli*가 80.6%로 가장 높았고, *Klebsiella pneumoniae*가 9.7%, 그 외 *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*가 각각 3.2% 순으로 나타났다. 분원성연쇄상구균 15건은 *Ent. faecium*과 *Ent. durans*가 각각 40.0%로 가장 높은 비율을 나타내었고, *Ent. faecalis*와 그 외 *Enterococcus*속이 각각 13.3%, 6.7%를 차지하였다.

3. 분원성대장균군은 총 384건 중 69건(18.1%), 분원성연쇄상구균은 15건(3.9%)이 검출되었다. 검출된 분원성대장균군 중 순수 분변지표세균인 *E. coli*가 그 중 80.6%를 차지한 것으로 보아, 전체적으로 분원성대장균군이 분원성연쇄상구균에 비해 분변에 대한 지표특이성이 훨씬 높은 것으로 나타났다. 그러나, 분원성연쇄상구균 검출 15건 중 11건은 분원성대장균군은 불검출이면서 분원성연쇄상구균은 검출된 것으로 나타났으며, 이 중 지하수는 1건으로 전체 건수 대비 0.5%를, 약수터수는 10건으로 5.3%를 차지하였다. 따라서, 약수터수에 대해서는 분원성연쇄상구균이 분원성대장균군과 함께 분변오염지표세균으로서 보충적인 정보를 제공할 수 있을 것으로 보여진다.

4. 녹농균은 전체 384건 중 총 5건이 분리되어 1.3%의 분리율을 보였으며, 그 중 현행 먹는물 규격 세균항목에는 적합했으나 녹농균이 분리된 경우는 단 1건 (0.3%)으로 낮은 분리율을 보였다.

이상의 결과로 볼 때, 먹는물에 대해서는 분원성대장균군이

분원성연쇄상구균에 비해 분변에 대한 지표 특이성이 훨씬 높은 것으로 나타나, 현행 먹는물 수질기준의 분원성대장균군이 분변 지표 항목임이 타당하다고 보여진다. 그러나, 약수터수의 경우 분원성연쇄상구균 항목을 분변지표세균으로 확대 적용할 필요성이 있는 것으로 판단되었다. 또한, 기회감염균인 녹농균은 비교적 낮은 분리율을 보였으며, 살모넬라 및 쉬겔라균은 모두 불검출이었으나 오염사고 발생 시에는 대량의 집단 발병으로 이어질 수 있으므로, 녹농균, 살모넬라 및 쉬겔라균은 먹는물 감시항목으로 두는 것이 타당하다고 사료되었다.

참 고 문 헌

1. WHO, World Health Organization Home Page, .who.int, Water, sanitation and hygiene links to health November 2004.
2. 서울시상수도사업본부, “상수도계통에서 세균 검사 강화방안 연구”, 수도기술연구집(1999)
3. 환경부, 환경부령 제122호, 먹는물수질기준 및 검사 등에 관한 규칙(2002)
4. 장현정, 이용욱, “상수원 수질관리를 위한 분변오염 지표세균에 관한 연구”, 한국환경위생학회지, 29(1), 19~27(2003)
5. 환경부, 환경부 고시 제2002-91호, 먹는물수질공정시험법(2002)
6. APHA-AWWA-APCF, Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed., APHA, Washington, D.C(1998)
7. 정현미, “먹는물 및 먹는샘물의 미생물 검사”, 경희대학교 지구환경연구소 지구환경논문집, 9(1), 71-87(1998)
8. 박석기, 안승구, 엄석원, 먹는물의 수질관리, 동화기술, pp.195~207(1998)
9. 정팔진, 곽동희, 권영호, “먹는물의 세균학적 안전성 평가”, 대한환경공학회지, 19(4), 521~528(1997)
10. 송희봉, 김남연, 정동숙, 이영주, 전현숙, “대구 달비약수터의 수질과 영향인자”, 대한환경공학회지, 25(12), 1570~1577(2003)
11. Krieg, N. R., and Holt, J.G., Bergey's manual of systematic bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore, pp.498~506(1984)
12. Jawetz, Melnick, Adelger's, Medical Microbiology, 21th ed, Appleton & Lange(1999)
13. 정현미, 김동빈, 조일형, 윤승모, 류재근, “수질지표로서의 녹농균의 검사방법 개선에 관한 연구”, 한국수질보전학회 추계학술발표회 논문초록집 pp.189~192(1997)
14. 함희진, 안미진, 박석기, “식수에서 분리한 대장균군의 생화학적 성상에 의한 균종별 분포”, 식품위생안전성학회지,

- 14(3), 227~232(1999)
15. 박성주, "상수도계통에서의 세균분포 및 변화", 미생물학회지, 31(3), 245~254(1993)
16. Clark, J. A. and A.H. Shaarawi, "Evaluation of commercial presence-absence test kits for detection of total coliforms, *E. coli* and other indicator bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 380~388(1993)