

# 市內 藥水의 水質 汚染度 調査 研究

疫學調查科

閔尚基·朴孝珍·盧在淳·吳盛郁·河相泰·李秉圭

## A sanitary study on the mountain water in Pusan area

Epidemiology Division

S. K. Min, H. J. Park, J. S. Roh, S. U. Oh, S. T. Ha, B. G. Lee

### Abstracts

We surveyed the mountain water (so called jaksu) distributed in Busan area during spring term(4~5month) and Summer term (7~8month).

The results were as follows.

1. The 23 sample out of total 88 were neighbored with contaminatable sources.
2. No. of unestablished waterpipe and gathering basin was respectively 8(9%), 28(30%), so seemed exist of secondary contaminatable possibility.
3. Spring term 33(37.5%), Summer term 54(67.5%) samples excessed the criteria for potable water.
4. The detected coliform species from human feces were E. coli, K. oxytoca, C. freundii but from mountain water were E. coli, E. aerogenes, C. deversus in order.
5. The cross reactions between BGLB/44.5°C and EC/44.5°C of isolated fecal coliforms showed almost same results.

6. The antimicrobial susceptibility test of isolated fecal coliform showed that almost agent but Bacitracin, Carbenicillin, Penicillin were sensitive
7. The isolated E. coli from mountain water was not pathogenic by serological tests.
8. The coliform group detection methods is seeming revised because the group contains so many non fecal species and deversity.

## I. 緒論

近年 產業化 工業化에 依한 上水 源水의 汚染은 市民들이 水道水를 不信하기에 充分하였고, 이에 시민들은 俗稱 藥水라 일컫는 山間水를 食水로서 利用하고 있다. 그런데 이 俗稱 藥水는 周邊의 地形的 人為的 環境 要人으로 因한 汚染原 流入 可能性, 管理 處置 等으로 자칫 保健衛生學的 見地에서 오히려 危險性이 露出되어 있을 수도 있다.<sup>1~6</sup> 이에 市에서는 週期的으로 飲用適否 試驗을 實施하여 一時的인 汚染 狀態인가 아니면 源水 自體가 飲用水 規格에 맞지 않는가를 試驗하여 管理하고 있다. 이에 細菌學的 檢查의 一環으로 一般細菌數와 大腸細群 檢查가 實施되고 있는데 이를 檢查는 腸管內 起源 痘原 細菌의 汚染 可能性을 間接的으로 推定하는 生物學的 指標로서 意義가 있다. 一般細菌數의 境遇 飲用水 水質基準에 依據한 實驗 規定上 100CFU/ml 以下로 規定하고 있으나 食品公典에 나타난 아이스 크림 등의 乳製品에서는 100,000CFU/ml 以下로 規格이 緩化되어 있는 點 等으로 미루어 이 數值 自體가 衛生 危害를 誘發한다고 斷定 못하고, 단지 깊은 地下水源 간이 動搖되지 않은 水質은 地表水와 달리 固有한 細菌叢을 가지므로 菌數와 菌種이 多樣해지면 地表層 等의 外部로 부터 汚染 物質 流入이란 推定이 可能하다. 大腸菌群도 飲用水 水質 基準에 선糞便 汚染의 指標로서 檢查되어 지지만 이 菌群에 屬하는 菌種도 多樣하여 非糞便 由來가 짙은걸로 밝혀져 있다. 한편 大腸菌群의 範圍는 사람 動物의 糞原에서 由來하는 *Escherichia*屬 *Klebsiella*屬 等의 一部와 물 흙 植物 等의 非糞原性 自然界에서 由來하는 *Citrobacter*屬 *Hafnia*屬 *Serratia*屬 *Erwinia*屬 *Ari-zona*屬 等과 糞便 善 等의 中間 位置에 栖息하는 *Enterobacter*屬의 一部分으로 大分되어 넓은 菌種을 包含한다는 報告도 있다.<sup>7,8</sup> 또 推定試驗 確定試驗 完全試驗을 마친 大腸菌群의 MPN치 (TC)와 EC/44.5°C gas(+)로 부터 完全試驗을 마친 糞便性 大腸菌群 試驗法의 MPN치(FC)를 比較한 實驗을 通해 TC/FC의 比率이 水原에 따라相當한 差異를 보이고<sup>9</sup> 確定試驗까지 마친 MPN試驗에서 分離된 菌種도 Coliforms가 아닌 菌種도 檢出된다는 報告<sup>10</sup> (Austin, et al. 1981) 및 BGLB/44.5°C法이 EC/44.5°C法 보다 糞便系 大腸菌群 選擇性이 높다는 報告<sup>11</sup>等으로 미루어 大腸菌群 中 糞便 由來 菌種의 同定이 不明確하고 그 分離同定法도 確立되지 않은것 같다. 따라서 糞便 汚染 指標菌으로서의 大腸菌群에 關해서는 그 衛生學的 意義 附與에 矛盾된 點과

그妥當性 및確實性도試如된點이 있다고思料된다. 그러나腸管內細菌叢의主力常在菌인絕對嫌氣性菌의檢出보다標準化된大腸菌群檢出이實際腸內病原性細菌檢出과 더높은相關성이있다는報告<sup>10</sup>等으로糞便污染指標로서大腸菌群의評價意義는低下될수없다.

本研究에서는藥水터水源에서大腸菌群各菌屬의分離同定과 그糞原性有無를 사람糞에서分離同定한80株의糞便性大腸菌群을對照菌群으로使用하여剖었고 덧붙여水質污染의糞便污染指標微生物인大腸菌群을糞便性大腸菌群으로의改定可能性과分離된大腸菌群을現行糞便性大腸菌試驗法인EC/44.5°C法과BGLB/44.5°C法에서Cross培養하여兩試驗法의大腸菌群分離選擇性을比較해봤다.

## II. 調查對象 및 實驗方法

### 1. 調查對象

市内散在하는一日平均利用客數50人以上의藥水터88個所를4~5月,7~8月各2回에걸쳐滅菌廣口採水瓶으로採水하였고,糞便系大腸菌群對照菌群으로人糞에서分離한80株와國立保健院으로부터分譲받은E.coliATCC25922,EnterobactercloaceaeATCC13047,CitrobacterfreundiiATCC6750,KlebsiellapneumoniaATCC10031,ProteusvulgarisATCC6380,EnterobacteraerogenesATCC13408,ProvidenciaalcalifaciensATCC12013,SerratiamarcescensATCC13880를大腸菌群對照菌株로使用했다.

### 2. 實驗方法

1)一般細菌數測定:試料속에生存하는中溫性好氣性通性嫌氣性有機營養性細菌(mesophilic,aerobic or facultative anaerobic,chemoheterotrophic bacteria)의數를말하는것으로plate上에30~300CFU/ml程度計數되도록原試料를適當段階稀釋後滅菌petri dish에1ml加한後미리高壓滅菌되어45°C程度로식혀진Bacto plate count agar(Difco)14±2ml씩을分注하여冷却凝固後뒤집어37±1°C에서46±2hr培養後Fisher colony counter로計數하였다.

2)大腸菌群試驗:Gram(-),無芽胞桿菌으로乳糖을分解하여acid와gas를生成하는모든好氣性通性嫌氣性菌을包含한다.試驗方法은保社部制定飲用水水質檢査法에準해實施했다.分離된菌株중Nitrate reduction test(+)Oxidase test(-)을大腸菌群屬으로推定하여IMViC test,H<sub>2</sub>S生成,Gelatin液化및44.5°C에서發育을調查하여菌型을分類했다.

3)糞便系大腸菌群:Standard Methods(APHA-AWWA-WPCF)에依한m-FC法으로행했다.

試料 100ml를 滅菌 milipore filter paper(pore size 0.45μm)에 滤過하여 滤過紙를 미리 高壓 烘乾되어 굳여진 m-PC Agar(Difco) plate petri dish(Φ 47mm) 위에 얹어 44.5°C에서 24±2hr incubation하여 주문색을 띠는 colony를 鑑定하여 一旦 黃便系 大腸菌群으로 판단 KIA培地 (A/A GAS+)에서 純粹 分離 後 IMViC시험을 중심으로 LDC, PPA, Gelatine液化 試驗을 행했고 最終 同定은 API 20E를 使用했다. 最終 確認된 균주는 EC/44.5°C와 BGLB/44.5°C에서 cross培養하여 각 시험법의 檢出率을 比較했다.

4) 黃便系 大腸菌群의 抗菌剂 感受性 試驗：抗菌劑에 抵抗性을 갖고 있는 大腸菌群은 藥剤耐性 R-plasmid를 轉接한 痘原菌에도 傳達할 수 있으므로 그 항균제 感受性 試驗은 意義가 있다.<sup>10</sup> 試驗 方法은 市販 Sensi Disk(Difco)를 使用한 Disk diffusion method로 그 感受性 및 내성도를 測定했다. 시험원 化學療法剤는 Polymyxin B(300units), Chloramphenicol(30mcg), Nalidixic acid(30mcg), Bacitracin(10units), Tetracycline (30mcg), Ampicillin(10mcg), Colistin (10mcg), Gentamycin(10mcg), Carbenicillin(50mcg), Erythromycin(15mcg), Neomycin(30 mcg), Penicillin(10units), Kannamycin(30mcg), Cephalothin(30mcg)이다.

5) 大腸菌의 血清學的 試驗：m-PC에서 分離되어 生化學 試驗에서 *E. coli*로 同定된 菌株을 Bacto-*E. coli* OK Poly A B C D E Antiserum(Difco)으로 slide聚集 反應을 보아 血清型을決定했다.

6) 理化學的 實驗(NH<sub>3</sub>-N와 5개 項目)：保健部 制定 飲用水 水質 檢查法에 按依 實驗했다.

### III. 結果 및 考察

1) 營水터 周邊 汚染原 究學 調査：釜山 市內 燕水터 88개소를 對象으로 周邊 30m 이내의 轉接 環境污染原(化粧室, 烧却場, 住宅, 農耕地, 家畜舍 有無 등)과 環境衛生 施設(集水槽, 流水管 設置 與否, 유수관의 材質 等)을 調査한 結果는 Table 1 및 Table 2와 같다.

Table 1. Distribution of environmental pollution sources in 30m

No of sample	Source of pollution				Total(%)
	Toilet(%)	Burning area(%)	Farming area(%)	Residence area(%)	
88	2(2.2%)	6(6.8%)	5(5.6%)	10(11.3%)	23(26.1%)

Table 2. Distribution of gathering basin and flowing water pipe establishment.

No of sample	Flowing water pipe				
	stainless (%)	PVC (%)	Pump (%)	Unestablished (%)	Total
88	30 (34.1%)	49 (55.7%)	1 (1.1%)	8 (9.1%)	88 (100%)

總 88個所 中 23個所(26.1%)가 汚染源이 隣接한 것으로 나타나 周邊 環境 衛生이 아직 未備하여 汚染 可能性이 存在하는 것으로 나타났고 薬水를 採取 方式에 있어서 流水管 未設置도 8個所(9.1%)로 Pipe를 通하여 直接 받지 않고 고여 있는 물을 바가지 등을 利用하여 採取하여야 하므로 使用者들에 의한 2차 汚染 可能性이 높았다.

## 2) 一般細菌數

上半期 88個所 下半期 80個所 薬水의 一般 細菌數 汚染度를 調査한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3. General viable bacterial count in each season

SPC Level (CFU/ml)	No of detected sample	
	Spring(4-5month)	Summer(7-8month)
Below 30	44(50%)	19(23.7%)
30 - 100	22(25.5%)	20(25%)
100 - 1000	15(16.5%)	28(35.0%)
1000 over	7(8.0%)	13(16.3%)
Total	88(100%)	80(100%)

우리나라와 日本 等에서 정한 一般細菌數의 飲用水 規格 基準은 100CFU/ml以下인데 本 調査에선 上半期 24.5%, 下半期 51.3%가 이 規格 基準을 超過했다. 특히, 下半期 水質이 더 不適合率이 높은 것은 好適한 氣溫 上昇으로 細菌 增殖度의 增加와 雨等으로 인한 地表層 汚染物의 流入 可能성이 增加된 것에 起因한 것이라 思料된다.

## 3) 大腸菌群(TC) 및 黢便性 大腸菌群(FC) 檢出率

前章 實驗 方法에 의한 大腸菌群 및 黢便性 大腸菌群의 汚染 程度는 Table. 4와 같다.

Table 4 Contamination of total coliforms and fecal coliforms in each season

No of sample	TC(+)/50ml	FC(+)/100ml	Rate of TC/FC
Spring(88)	30(34%)	11(12.5%)	2.7
Summer(80)	53(66%)	15(18.7%)	4.4
Total (168)	83(49%)	26(13.8%)	3.1

大腸菌群에 대한 韓國 및 日本의 飲用水 規格 基準에는 50ml당 不檢出로 標定되어 있어 本 調査에서는 總 試料의 49%가 飲用水 規格 基準에 不適合하였고 黢便性 大腸菌群 汚染率도 試料의 13.8%로 나타났다.

그러나 水質에서의 細菌 試驗은 常在 細菌叢의 一過性(transient), 他地性(allochthonous)으로 原水 自體의 汚染源 把握은 長期的이고 定期的인 疫學調查 뒤에 判斷되어져야 할 절로 思料된다.

Table 5. Biochemical characteristics of coliforms that isolated from human feces and mountain water.

Indol	Biochemical characteristics				Gelatin liquefaction	No of coliforms			Subgroups (representative species)
	MR	VP	Citrate	Growth at 44.5°C		Isolated from human feces	Spring (%)	summer (%)	
+	+	-	-	+	-	38 (47.5%)	7 (23)	12 (22.6)	E.coli I (Escherichia coli)
-	+	-	-	-	-	2 (2.5%)	2 (6.6)	4 (7.5)	E.coli II
+	+	-	-	-	-	2 (2.5%)	1 (3)	3 (5.6)	E.coli III
-	+	-	+	V	-	9 (11.2%)	3 (10)	3 (5.6)	C.freundii I (C.freundii)
+	+	-	+	-	-	5 (6.2%)	3 (10)	9 (16.9)	C.freundii II (C.deversus)
-	-	+	+	V	V	4 (5%)	6 (20)	8 (15)	Kaerogenes I (E.aerogenes)
+	V	+	+	-	-	12 (15%)	1 (3)	0 (0)	Kaerogenes II (K.oxytoca)
-	-	+	+	-	+	1 (1.2%)	3 (10)	4 (7.5)	K.cloacea (E.cloacea)
-	-	+	+	-	+	2 (2.5%)	2 (6.6)	2 (3.7)	E.cartovora
Atypical						5 (6.2%)	2 (6.6)	8 (15)	
Total						80 (100%)	30 (100)	53 (100)	

(V) : 10% to 89.9% positive within 48hrs

4) 分離된 大腸菌群의 型別 分類：人糞에서 分離한 80株와 上半期에 分離된 30株 下半期에 分離된 53株의 大腸菌群을 主要 生化學的 特徵을 통해 形別 分類한 결과는 Table.5와 같다.

大腸菌群의 粪便 有無 對照菌群으로 使用된 人糞에서 分離한 80株는 4菌屬 9菌型으로 大別되어 그 중 *E. coli*가 47.5%로 가장 많고 *K. oxytoca*, *C. freundii*順이었으며 藥水器에서 分離한 大腸菌群도 *E. coli*, *E. aerogenes*, *C. deversus* 順으로 많이 검출되었다.

여기에서 現行 EC/44.5°C을 통한 *E. coli*만을 粪便 由來로서 衛生學的 意義를 附與하는 것은 본 實驗을 통해 *C. freundii*, *K. oxytoca*등의 菌型도 粪便에서 分離 된다는 點과 *E. coli*중에는 乳糖을 늦게 또는 非酶解性 菌株가 있고 또 乳糖 酶解性 *E. coli*중에서도 가스 비생성 군주가 10.4% 存在한다는 報告 등으로 미루어 菌型 判別에 의한 衛生學的 意義는 확실치 않은 점이 있다고 想料된다.

#### 5) 分離된 大腸菌群의 BGLB/44.5°C法과 EC/44.5°C法에서의 Cross培養

現行 食品 公典에 의한 分便계 大腸菌 實驗法은 EC/44.5°C法으로 規定되어 있으나 BGLB培地造成의 Brilliant green 의한 Gram(+)군의 混害로 大腸菌群의 選擇性가 높다는 보고에 따라 兩 培地를 44.5°C에서 比較實驗한 結果는 Fig. 1과 같다.

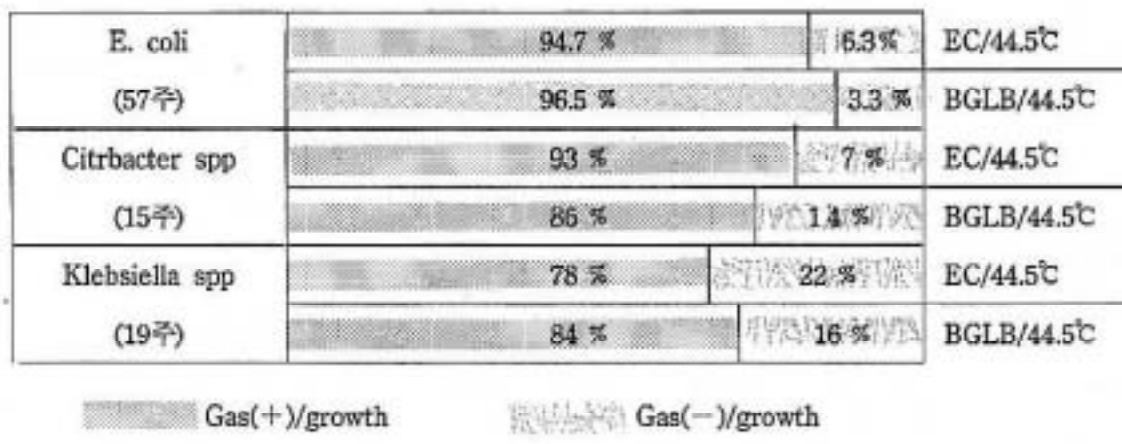


Fig. 1 Comparison of EC/44.5°C and BGLB/44.5°C as fecal coliform detection methods.

Fig. 1에서와 같이 分離된 大腸菌群의 BGLB/44.5°C와 EC/44.5°C 양시험에서 가스生成率을 比較한 結果 *Citrbacter spp*를 除外하고 BGLB/44.5°C에서 *E. coli*는 1.8% *Klebsiella spp*는 6% 씩 각각 높은 절로 나타났다. 이것은 各本 浩一의 實驗 결과<sup>11)</sup>와 거의 差異가 없었으며 BGLB/44.5°C법도 分便계 대장균군 檢出 試驗에 適合한 절로 想料된다.

6) 分離된 粪便系 大腸菌群의 抗菌劑 感受性 試驗 結果

分離된 大腸菌群은 대부분의 항균제에 감수성이 있으나 Bacitracin, Carbenicillin, Penicillin에는抵抗性 있는걸로 나타나 이들 藥劑에는 耐性 R-plasmid를 가진 걸로 推測된다.

7) *E. coli*의 血清學的 試驗 結果

*E. coli*의 血清型은 腸內 痘因性 大腸菌의 동정과一致하지 않으나 密接한 關係가 있다는 보고에 따라 본 실험은 행해졌다. 그 結果는 Table. 6과 같다.

Table. 6 Serotype of *E. coli* isolated from human feces and mountain water.

Serogroup	Containing serotypes	No of culture	
		Feces (38)	Mountain water
OK Poly A	* o26 : k60, * o55 : k59 * o111 : k58, * o127 : k63	0	0
OK Poly B	* o86 : k61, * o119 : k69 o124 : k72, ** o125 : k70 * o126 : k71, o128 : k67	2(5.3%)	0
OK Poly C	* o18 : k77, * o20 : k61 o20 : k84, ** o28 : k73 o44 : k74	0	0
OK Poly D	o2 : k56, *** o8 : k25 o9 : k57, o18 : k76	1(2.6%)	0
OK Poly E	* o112 : k68, o113 : k75 * o127 : k65, ** o136 : k78	1(2.6%)	0
Non agglutination		34(89.5%)	19(100%)

\* : EPEC(entropathogenic *E. coli*)

\*\* : EIEC(entroinvasive *E. coli*)

\*\*\* : ETEC(entrotoxigenic *E. coli*)

Table. 6에서와 같이 人糞에서 분리된 *E. coli*의 10.5%가 痘因性 大腸菌으로 나타났고 薬水에서分離된 *E. coli* 19주에서는 痘因性 大腸菌이 檢出되지 않아 市内 일원의 약수 중 痘因性 大腸菌의汚染은 나타나지 않았다.

8) 理化學的 試驗 不適合率: 시내 散在 약수터 上半期 88개소 下半期 80개소의 이화학적 시험結果는 Table. 7과 같다.

Table. 7 Undrinkable rates by physical and chemicl tests

No of sample	Items	taste	order	color	turbidity	ammonia-N	nitrate-N
	standard	NO <sup>(a)</sup>	NO	5°	2°	0.5ppm	10ppm
Spring(88)	0	0	0	2(2.2%)	2(2.2%)	0	0
Autumn(80)	0	0	1(1%)	5(6.3%)	2(2.5%)	0	0
total(168)	- 0	0	1 -	7(4.1%)	4(2.3%)	0	0

(1) NO : Non Offensive

上半期 下半期 全體 試料 168개소 중 이화학적 要因에 의한 飲用 不適合率은 色度 1개소 (0.6%) 濁度 7개소 (4.1%) 암모니아성 氮素 4개소(2.3%)로 나타나 전체 12개소 (7.1%)로 세균 시험 부작용에 비해 훨씬 낮았다.

#### IV. 結論

釜山 市內 散在 漢水터를 1次(4~5월) 88個所, 2次(7~8월) 80個所를 調査 및 實驗한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 30m 以內 漢水터 隣接 汚染源의 痘學 調査 結果 全體 88個所 中 23個所(26.1%)가 汚染源과 隣接해 있었다.
2. 全體 漱水터 88個所 중 流水管이 未設置된 곳은 8개소(9%)이었으며 集水槽 未設置는 28개소로 나타나 使用者에 의한 2次 汚染 可能성이 尚存했다.
3. 一般 細菌數는 上半期 24.5% 下半期 51.3% 가 飲用水 規格 準備를 超過했다.
4. 大腸菌群은 上半期 34% 下半期 66% 各各 飲用水 規格 基準에 不適合했다.
5. 理化學的 試驗(Ammonia-N와 5개 項目)結果 전체 168개소 중 12개소(7.1%)가 飲用 수 규격 기준을 超過했다.
6. 上記 3項目이 取合된 飲用 不適合 件數는 상반기 33개소(37.5%) 하반기 54개소(67.5%) 전체 87건(51.7%)로 나타났다.
7. 黃便系 大腸菌群 檢出에 대한 大腸菌群 檢出 比率은 上 下半期 全體 平均 3.1%로 나타났다.
8. 人糞에서 分離한 大腸菌群은 E. coli, K. oxytoca, C. freudii 등으로 많았고 水原에서 分離한 大腸菌群은 E. coli, E. aerogenes, C. deversus 등으로 많이 檢出되었다.

9. 分離된 粪便系 大腸菌群의 BGLB/44.5°C法과 EC/44.5°C法의 Cross 培養 結果 BGLB/44.5°C法도 분변계 대장균군 檢出 試驗에 適合하다고 思料된다.
10. 분리된 분변계 대장균군의 항생제 감수성 시험 結果 Bacitracin, Carbencillin, Penicillin제를 제외한 거의 모든 항균제에 感受性이 있는 걸로 나타났다.
11. 葉水에서 분리된 E. coli의 血清學的 시험 결과 病原性 大腸菌은 검출되지 않았다.
12. 대장균군의 넓은 菌種 포함으로 粪便 由來 菌種의 보다 정확한 실험방법이 再考되어 할걸로 思料된다.

## 參 考 文 獻

1. 서울특별시 보건 환경 연구소보, 제19권(1983), 시판 상수 및 약수의 성분에 관한 조사
2. 서울특별시 보건 환경 연구소보, 제22권(1986), 등산로변 셈터물의 시계별 오염도 변화에 관한 조사
3. 김용관 외 1명, 부산 시내에 산재하는 몇몇 약수터 약수의 수질, 한수지18(6), 1985.
4. 정갑열 외1명, 부산 일부 등산 지역 음료수원의 수질 상태에 관한 조사, 부산 의대 잡지 제21권 제6호, 1985.
5. 서울특별시 보건 환경 연구소보, 제22권(1986), 서울시 일원 약수의 위생학적 조사
6. 부산 전문 대학 논문집 제12집(1989), 부산 시내 일부 약수터 약수의 Microflora.
7. 渡部一仁 외 4인, 微生物を 生物 指標とした 浪川 水系の水質 調査 日本 公衛誌 제28권 제28호.
8. 角野猛 외 1인, 食品 環境 および 粪便 由來 大腸菌について, 日本 公衛誌 제33권 제8호.
9. いわゆる 大腸菌群の菌種 同定 システム API 20ECの評價, 日本 食衛誌 Vol 28 No 2.
10. Marcel Dekker inc, New method for indicator organisms, ift Basic symposium series, 1986.
11. 各本 浩一 외1인, 環境 水域に おける 粪便性 大腸菌群に 關する 研究, 日本 公衛誌 제31권 제5호.
12. 都留信也 編著, 微生物と その應用 6, 環境と微生物, 公立 出版, p. 189.
13. 오염 수역과 청정 수역에서 Coliform bacterial plasmids 분포에 관한 연구, 한양 대학교 석사 논문집 1985.