

영양원의 제한에 의한 수돗물에서의 세균재증식능 억제

오 정 우[†]

동경대학 대학원 도시공학과 환경공학전공

(2005년 1월 12일 접수, 2005년 4월 22일 채택)

Controlling Bacterial Regrowth Potential by the Limitation of Nutrients in Drinking Water

Oh, Jung-Woo[†]

Department of Urban Engineering, School of Engineering, University of Tokyo

ABSTRACT : In this study, the profiles of the bacterial regrowth of indigenous bacteria in tap water and *Pseudomonas fluorescence* P17 were investigated for cases when carbon (glucose), and/or nitrogen (NO_3^- -N), and/or phosphorus (PO_4^{3-} -P) were added below sufficient nutrient concentration (SNC) and when carbon sources (glucose and acetate) and nitrogen sources (NH_4^+ -N and NO_3^- -N) were added together. The bacterial regrowth was decreased with limitation of nutrients, and were lowered relatively in the sample, which plural nutrients were limited. In addition, phosphate might be the effective nutrient to control the bacterial regrowth in drinking water because the bacterial regrowth was significantly decreased by the limitation of phosphate. In contrast, the bacterial regrowth was retarded with increasing the concentration of NO_3^- -N. For simultaneously adding carbon (glucose or acetate) and nitrogen sources (NH_4^+ -N and NO_3^- -N), the regrowth counts appeared highly in the condition, for both glucose and acetate. And, the regrowth was increased with increasing NH_4^+ -N concentration as a nitrogen source.

Key Words : Bacterial Regrowth, Sufficient Nutrient Concentration (SNC), Nutrient, Drinking Water

요약 : 본 연구에서는, 총축농도를 기준으로 영양원을 제한한 경우와 탄소원 및 질소원이 각각 두 종류씩 혼재되어 있는 경우에 대해, 수돗물 토착세균 및 *Pseudomonas fluorescence* P17을 접종균으로 한 BRP법을 이용하여 세균의 재증식 특성을 연구하였다. 세균재증식능은 영양원의 제한에 의해 억제되는 것으로 나타났으며, 두가지 이상의 영양원이 동시에 제한된 경우, 세균재증식능의 억제가 더욱 증가되는 상승효과를 관찰할 수 있었다. 특히 제한된 영양원에 인이 포함되어 있는 경우, 상대적으로 더욱 낮은 세균재증식능을 나타내고 있었다. 그러나 NO_3^- -N에 대해서는 농도가 증가할수록 세균재증식능이 감소하는 것으로 나타났다. 탄소원으로 Glucose 및 Acetate, 질소원으로 NH_4^+ -N 및 NO_3^- -N가 혼재되어 있는 경우를 대상으로 세균의 재증식 특성을 조사한 결과, 탄소원에 대해서는 Glucose 및 Acetate가 혼재되어 있는 경우가 각각의 탄소원을 단독으로 주입했을 경우보다 세균재증식능이 높게 나타났다. 또한 질소원에 대해서는 NH_4^+ -N의 주입비율이 높아짐에 따라 세균재증식능이 증가하는 것으로 나타났다.

주제어 : 세균재증식, 총축농도, 영양원, 상수도

1. 서론

수돗물의 수질은 원수의 수질 및 정수장의 처리효율 등에 따라 영향을 받을 뿐 아니라, 배급수관로의 공급과정에 있어서도 영향을 받는다. 그 중에서 배급수관로에서 발생하는 수질변화, 특히 세균 등 미생물의 재증식에 기인하는 2차오염은, 수돗물의 안전성에 가장 중요한 인자로 인식되어져 왔다. 이러한 세균재증식을 억제하기 위해서는, 염소 등의 잔류성이 있는 소독제를 주입하는 방법과, 소독제의 주입농도를 증가시키지 않고, 수중의 영양원을 제거하는 방법 등이 적용되고 있다. 그러나 전자의 경우, 높은 농도의 잔류염소를 유지하여도 세균의 재증식이 발생된다는 것이 보

고되고 있다.^{1,2)} 또한 잔류염소는 수중의 유기물과 반응하여 인체에 유해한 소독부산물을 생성하는 등, 다른 측면에서의 안전성에 위협이 되고 있으며, 맛이나 냄새 등의 심미적 문제도 유발한다.^{3,4)} 따라서, 최근에는 세균의 재증식에 기여하는 수중의 영양원을 제거하는 방법에 대한 장점이 부각되고 있다.

일반적으로 수돗물에서 세균의 재증식에 영향을 미치는 영양원으로는 생물동화가능한 유기탄소(Assimilable organic carbon, AOC)가 우선적으로 고려되었다.^{5~7)} 그러나 최근의 연구에 따르면, 지역적 특성에 따라 AOC의 농도가 상대적으로 높게 유지되는 곳이 다수 존재하며, 이 경우 세균의 재증식은 AOC가 아닌 다른 영양원에 의해 영향을 받는 것으로 보고되고 있다.^{8~11)} 따라서, 다양한 영양원의 조건과 세균재증식과의 관계에 대한 종합적 검토 등, 세균재증식의 제어를 위해, 영양원에 대한 다양한 측면에서의 가이드라인적 연구가 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 Oh¹²⁾가

[†] Corresponding author

E-mail: ohjungwoo@hotmail.com

Tel: +81-3-5841-6248

Fax: +81-3-5841-8530

제한한 충족농도(Sufficient nutrient concentration, SNC)의 개념을 도입해, 제시된 충족농도를 기준으로 두종류 혹은 세종류의 영양원을 동시에 제한한 경우, 수돗물 토착세균 및 *Pseudomonas fluorescence* P17에 대해 세균재증식 억제 효과(Synergy effect)를 분석하였다. 또한 탄소원 및 질소원이 각각 두 종류씩 혼합되어 있는 경우를 상정해 세균의 재증식 특성을 연구하였다. 본 연구에서 세균의 재증식능을 표현하기 위한 방법으로는 BRP법^{10,13)}을 이용하였다.

2. 실험방법

2.1. 배양에 사용된 실험기구의 멸균처리

세균의 배양에 사용된 시험관은 다음과 같은 과정에 의해 세정 및 멸균처리 되었다. ① 시험관을 세제와 수돗물을 이용하여 세정한다. ② 세정 후, 고농도 세제용액(특수 세제(dcn 90, AR Brown Co. Ltd.) 500 mL + RO수 12 L (RO water; Microfiltration → Activated carbon → Reverse Osmosis → Deionize))에 24시간 이상 담가둔다. ③ 고농도 세제용액에 담가두었던 시험관을 꺼내, RO수 및 초순수 (Milli-Q water (Millipore Corp.); RO → Activated carbon → Ion exchange → Microfiltration)를 이용 3~4회 세정한다. ④ 세정에 이어서 묽은 염산용액(2% HCl 용액)에 24시간 이상 담가둔다. ⑤ RO수 및 초순수에 3~4회 세척한다. ⑥ 180°C에서 4시간 이상 고열처리한다.

2.2. 접종세균액의 제작

본 연구에서 사용한 접종세균은 순수균으로 *Pseudomonas fluorescence* P17 (ATCC 49642)와 혼합세균으로써 수돗물의 토착세균을 이용하였다. *Pseudomonas fluorescence* P17는 Nutrient broth 배지(Peptone : 5.0 g/L, Meat extract : 3.0 g/L, NaCl : 5.0 g/L, pH 7.0)를 이용해 20±2°C에서 배양한 후, 적당량을 초순수에 희석한 것을 *Pseudomonas fluorescence* P17의 접종세균액(세균농도 약 10⁵ cell/mL)으로 사용하였다. 또한 수돗물의 토착세균은 동경대학 혼코캠퍼스의 수돗물로부터 분리되었으며, 분리과정은 뮌 등¹³⁾에 의해 개발된 방법에 따랐다.

2.3. 인공수돗물 시료의 제작

앞서 서술한 방법에 의해 멸균처리된 50 mL 시험관에 공경 0.2 μm의 막(지름 47 mm의 Polycarbonate membrane; 120°C에서 15분간 Autoclave 멸균한 후, 초순수 500 mL로 세정한 막)에 의해 세균처리된 초순수를 19 mL씩 시험관에 넣은 후, 10 mgC/L 당량의 무기영양염류(Table 1)를 첨가하였다.¹³⁾ 또한 각각의 실험에 있어 주입한 탄소원, 질소원 및 인산염 인의 종류 및 농도는 다음과 같다.

(1) 영양원 제한에 따른 세균재증식능의 제어특성 실험 조건

충족농도를 기준으로 영양원을 제한했을 경우 세균재증

Table 1. Required nutrients as a final concentration (10 mgC/L equivalent)

Compounds	Added concentration (μg/L)
Na ₂ SO ₄	442.91
CaCl ₂ · 2H ₂ O	183.78
MgCl ₂ · 6H ₂ O	418.31
FeCl ₃ · 6H ₂ O	96.88
KCl	190.66
CoCl ₂ · 6H ₂ O	4.039
CuCl ₂ · 2H ₂ O	5.366
MnSO ₄ · 5H ₂ O	219.403
ZnCl ₂	2.085
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	1.288

Table 2. Final concentration of carbon, nitrogen, and phosphorus for the experiment of bacterial regrowth characteristics under simultaneous limitation of three nutrients

	C,N,P<SNC		C,N<SNC P>SNC		C,P<SNC N>SNC		N,P<SNC C>SNC	
	Carbon, mgC/L	0.1	0.5	0.1	0.5	0.1	0.5	1.0
Nitrogen, mgN/L	0.1	0.3	0.1	0.3	0.5	0.5	0.1	0.3
Phosphorus, μgP/L	1.0	5.0	10.0	10.0	1.0	5.0	1.0	5.0

	C,N>SNC P<SNC		C,P>SNC N<SNC		N,P>SNC C<SNC		C,N,P>SNC	
	Carbon, mgC/L	1.0	1.0	1.0	1.0	0.1	0.5	1.0
Nitrogen, mgN/L	0.5	0.5	0.1	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5
Phosphorus, μgP/L	1.0	5.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

Glucose, NO₃⁻-N, and PO₄³⁻-P were added as carbon, nitrogen, and phosphorus sources, respectively.

The term 'SNC' means the sufficient nutrient concentration.

식능 억제효과를 조사한 실험에서, 탄소, 질소 및 인의 주입농도 조건은 Table 2와 같다. 실험에서 사용된 탄소원, 질소원 및 인의 종류는 각각 Glucose, NO₃⁻-N 및 PO₄³⁻-P를 사용하였다.

(2) 두 종류의 탄소원 및 질소원이 혼재된 경우에 대한 세균재증식 특성 실험 조건

두 종류의 각각 다른 탄소원 및 질소원이 함께 주입된 실험에 대해, 탄소원은 Glucose 및 Acetate를 이용하였으며, 총탄소의 농도를 0.5 mgC/L로 설정한 후, 각각의 탄소원을 0.0 : 0.5, 0.2 : 0.3 및 0.5 : 0.0의 농도비율로 주입하였다. 질소원은 NH₄⁺-N 및 NO₃⁻-N을 이용하였으며, 총질소의 농도를 0.3 mgN/L로 설정한 후, 각각의 질소원을 0.0 : 0.3, 0.05 : 0.25 및 0.10 : 0.20의 농도비율로 조정하여 주입하였다. 또한 PO₄³⁻-P를 5 μgP/L의 농도로 전체시료에 주입하였다(Table 3).

2.4. 세균의 접종, 배양 및 시료의 고정처리

제작된 인공수돗물 시료에 대해, 앞서 준비된 접종세균액 1 mL를 접종하였다. 각 조건에 대해 두개씩 측정시료를 만들어 45° 경사판의 회전배양기(회전속도 50 rpm; RT-50,

Table 3. Final concentration of carbon, nitrogen, and phosphorus for the experiment of bacterial regrowth characteristics under combination condition of carbon and nitrogen sources

Glucose : Acetate, mgC/L	NH ₄ ⁺ -N : NO ₃ ⁻ -N, mgN/L	PO ₄ ³⁻ -P, µgP/L
0.0:0.5	0.0 : 0.3	5.0
	0.05 : 0.25	
	0.1 : 0.2	
0.2:0.3	0.0 : 0.3	
	0.05 : 0.25	
	0.1 : 0.2	
0.5:0.0	0.0 : 0.3	
	0.05 : 0.25	
	0.1 : 0.2	

Taiteq. Corp.)를 이용하여 20±2℃에서 5일간 배양하였다.¹⁰⁾ 배양이 종료된 각 시료로부터 1 mL씩 분석용 시료를 채수한 후, 25% Glutaraldehyde용액을 100 µL씩 첨가하여 세균을 고정처리하였다. 고정처리된 시료는 분석때까지 -20℃에서 보관하였다.

2.5. 세균재증식능의 평가지표

본 연구에서는 수돗물에서 세균재증식능을 평가하기 위한 지표로써, Sathasivan 등¹⁰⁾이 개발하고 뒀 등¹³⁾에 의해 수정개선된 BRP법을 이용하였다. BRP법은, 수돗물에서 세균재증식능을 측정하기 위해 일반적으로 적용되어 왔던 AOC방법의 단점을 보완하기 위해 개발된 방법으로, 특정 지표세균(*Pseudomonas fluorescens* P17 및 *Spirillum* sp. NOX)을 접종균으로 이용하는 AOC방법의 한계성을 극복하기 위해, 수돗물에서 직접 분리한 토착세균을 접종균으로 써 이용하는 방법이다.¹⁰⁾

2.6. 세균수의 측정

세균수의 측정을 위하여, 시료속의 세균은 핵산 염색시약인 SYBR Green I (Molecular Probes Inc.)에 의해 염색되었다. 세균수는 EPICS ALTRA Flow cytometer (Beckman Coulter Corp.)를 이용하여 측정하였으며, 이때 사용된 필터는 Right angle light scatter (RALS, 488±15 nm)와 Green fluorescence (525±15 nm)를 이용하였다.¹³⁻¹⁵⁾

3. 결과 및 고찰

3.1. 충족농도(Sufficient nutrient concentration, SNC)

Oh¹²⁾는 *Pseudomonas fluorescens* P17를 접종균으로 하여 탄소원, 질소원 및 인산염 인의 형태별, 농도별 재증식 특성을 조사하고, 실험결과를 근거로 수돗물에서 세균재증식능을 억제하기 위한 각 영양원의 제어목표치로써 충족농도의 개념을 도입, 제시한 바 있다. 본 논문에서는 전체적인 내용의 이해를 돕기 위해, Oh가 제시한 충족농도에 대

해 간단히 재서술하고자 한다. Fig. 1에 각 조건에 대한 *Pseudomonas fluorescens* P17의 재증식능(재증식 속도)을 나타내었다. 세균은 제한된 영양원의 주입농도가 높아짐에 따라 재증식능이 급격히 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 이러한 급격한 증가패턴은 어떤 농도를 기준으로 상대적으로 완만한 증가패턴으로 바뀌는 것이 관측되었다. 각 영양

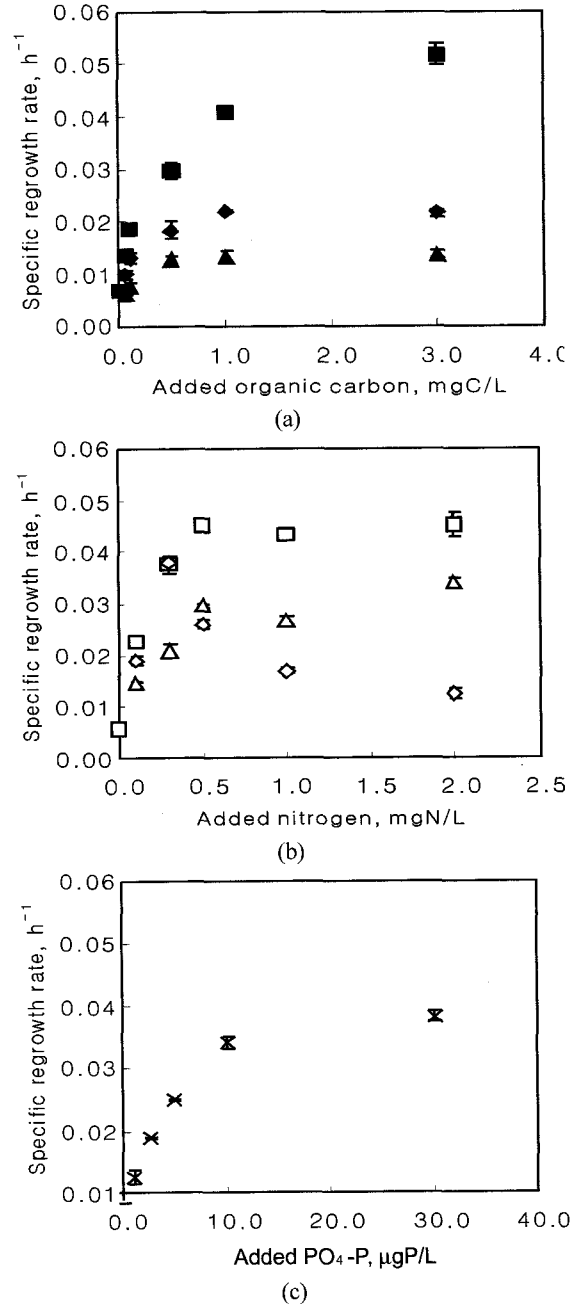


Fig. 1. Profiles of specific regrowth rates for the different concentrations and forms of nutrient sources. The vertical error bars through the symbol indicate the maximum and minimum values (n=8). (A) carbon, (B) nitrogen, (C) phosphate. ■, glucose; ◆, acetate; ▲, humic acids; □, NH₄⁺-N; ◇, NO₂⁻-N; △, NO₃⁻-N; ×, phosphate

원에 대해 증가패턴이 바뀌는 농도는 탄소원으로써 주입된 Glucose 및 Acetate가 1.0 mgC/L(또 다른 탄소원인 Humic acids에 대해서는 세균재증식의 증가가 관측되지 않았기 때문에 충족농도가 정의되지 않았다), 질소원에 대해서는 NH_4^+ -N 및 NO_3^- -N이 0.5 mgN/L, NO_2^- -N이 0.3 mgN/L, PO_4^{3-} -P가 10 $\mu\text{gP/L}$ 인 것으로 나타났다. 이렇게 증가패턴이 바뀌는 농도를 Oh는 각 영양원에 대한 충족농도로 정의하였다. 즉 충족농도는 세균의 재증식 속도가 대상 영양원의 주입농도에 의존하지 않는 최소농도를 의미한다. 또한 도출된 충족농도를 수돗물에서 세균재증식을 억제하기 위하여 허용될 수 있는 최대 농도, 즉 수돗물 공급과정에서 제거되어야 할 각 영양원의 가이드라인치로써 제시하였다. Van der Kooij⁶⁾는 수돗물에서 세균재증식을 방지하기 위한 AOC의 가이드라인치로 10 $\mu\text{g actate-C/L}$ 을 제시한 바 있다. 그러나 이 가이드라인 이하의 AOC농도에서도 대장균 등 세균의 재증식이 관측되었다. 또한 현실적으로 세균재증식을 완전히 방지할 수는 없으며, 현 기존정수처리 공정에 의해 AOC의 가이드라인치를 만족하는 것은 매우 어려운 것이 사실이다. 따라서 Oh가 제시한 충족농도의 개념은, 수돗물 공급계통에서 세균재증식이 최대로 발생하는 것은 적어도 파악할 수 있다는 공학적인 관점에서 의미가 있다고 할 것이다.

3.2. 영양원 제한에 따른 세균재증식능의 제어 특성

본 연구에서는 영양원 및 세균재증식능의 관계를 보다 실질적이고 복합적으로 조사하기 위해, 앞서 고찰된 충족농도를 기준으로, 탄소, 질소 및 인의 세가지 영양원 중 한가지, 두가지 혹은 세가지를 동시에 제한할 경우에 대해 세균재증식능의 제어효과를 평가하였다. Fig. 2에 각각의 조건에 대한 수돗물 토착세균 및 *Pseudomonas fluorescens* P17의 세균재증식능을 나타내었다. 전체적인 세균재증식능은 충족농도 이상을 만족하는 조건(C,N,P > SNC)에 비해 영양원이 제한된 조건에서 세균재증식능이 억제되는 것으로 나타났다. 그러나 질소원으로 주입된 NO_3^- -N이 충족농도 이하의 제한요소로 작용할 경우는 세가지의 영양원이 모두 충족농도 이상을 만족하는 경우보다 세균재증식능이 오히려 증가하는 것으로 나타났다. 또한 두 가지 이상의 영양원이 동시에 제한될 경우, 세균재증식능의 억제가 더욱 증가되는 상승효과(Synergy effect)를 일으키는 것으로 판단되었다. 특히, 제한 영양원에 인이 포함되어 있는 경우, 상대적으로 더욱 낮은 세균재증식능을 나타내었다. 이것은 인이 세균재증식능을 조절할 수 있는 새로운 인자로서 중요함을 시사하는 결과로 판단된다.

일반적으로 탄소는 세균의 재증식에 가장 중요한 영양원으로 고려되어 왔다. 정수처리된 수돗물에 포함되어 있는 용존유기탄소(Dissolved organic carbon, DOC)의 농도는 0.1~10.0 mgC/L의 범위로서, 평균 1.5 mgC/L의 농도로 존재한다고 보고된 바 있다.¹⁶⁾ 그러나 수돗물에서 세균이 증식에 이용할 수 있는 동화가능유기탄소(Assimilable organic

carbon, AOC)의 양은 총 DOC중에 극히 일부분으로써, 약 0.1~9.0%에 불과하는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 따라서 수돗물에서의 세균재증식은 탄소의 제한을 받는 것으로 간주되어 왔으며, 실제 수돗물에 존재하는 AOC의 농도는 Oh가 제시한 탄소의 충족농도보다 낮을 것으로 예상된다. 그러나 이러한 세균재증식에 대한 탄소의 제한은 지역에 따라 달라질 수 있음이 최근의 연구결과에서 보고되고 있다. 예를 들면 핀란드의 수돗물에는 매우 높은 농도의 AOC를 포함하고 있으며,^{9,18,19)} 일본 및 호주에서는 수돗물에서 세균의 재증식이 탄소보다는 인에 의해 제한되고 있음이 보고된 바 있다.^{11,20)} 이상의 기존 연구결과와 함께, 본 연구에서도 도출된 인에 의한 세균재증식능의 억제효과는 수돗물에서 세균재증식능을 제어하기 위해 영양원을 제한할 경우 다양한 영양원의 효과를 검토하여 결정할 필요가 있으며, 경우에 따라서는 인이 탄소보다 더욱 효과적인 제한인자가 될 수 있음을 나타내는 것으로 판단된다.

살아있는 세균속에서 인은 자유인산이온(Free phosphate ions; PO_4^{3-})이나 세포의 유기인산성분(Organic phosphate constituents) 등 +5가의 산화환원전위 형태로 존재한다. 그러나 자연수계에 존재하는 대부분의 인은 세균이 이용 불가능한 유기인의 형태로 존재한다.^{21,22)} Miettinen 등⁹⁾의 연구에 의하면 수돗물에서 인의 농도는 일반적으로 2.0 $\mu\text{gP/L}$ 이하로 매우 낮으며, 이것은 Oh가 제시한 인에 대한 충족농도(10.0 $\mu\text{gP/L}$)보다도 훨씬 낮은 농도이다. 따라서 이와같이 낮은 인의 농도는 상대적으로 탄소에 우선하여 세균의 재증식에 제한요소로 작용할 수 있을 것으로 판단된다. 이와같은 관점에서 볼 때, 정수처리 과정 및 수돗물 공급과정에서 인의 관리는, 세균의 재증식을 억제하기 위해 AOC를 제어하는 기존의 관념으로부터 새롭게 검토되어야 할 부분으로 판단된다. 원수에 포함되어 있는 인의 대부분은 정수처리 공정 중 특히 응집공정에 의해 제거되며, 따라서 인이 세균재증식의 제한인자로 작용할 경우, 응집제의 적절한 선택이 중요한 제어방법으로 검토되어야 할 것으로 판단된다.

본 실험으로부터, 탄소 및 인 등 다른 영양원의 농도조건이 일정할 경우, 질소원으로 주입된 NO_3^- -N의 농도가 증가할수록 세균재증식능이 오히려 감소하는 것으로 나타났다. 일반적으로 세균은 그들의 대사작용을 위해 탄소, 질소 및 인을 100 C : 10 N : 1 P의 비율로 요구한다.²³⁾ 그러나 본 실험에서 NO_3^- -N 농도의 증가에 따른 세균재증식능 억제효과가 발생한 영양원의 조건은, 앞서 서술한 물비에 비해 상대적으로 질소원의 비율이 높다. Chawala 등²⁴⁾은 NO_3^- -N이 높게 존재할 경우 세균의 증식은 억제될 수 있으며, 이 현상을 NO_3^- -N의 증식방해작용으로 추정된 바 있다. 본 실험의 조건들 중에서 세균의 대사작용에 요구되는 영양원 물비와 가장 근접한 조건이 C1.0N0.1P10.0이다. 이 경우 본 실험조건 중에서 세균의 재증식량이 가장 높게 나타났다. 이상을 종합해 볼 때, 세균이 요구하는 물비를 상회하는 NO_3^- -N은 세균의 재증식을 방해하는 인자로 작용할 수 있는 것으로 판단된다.

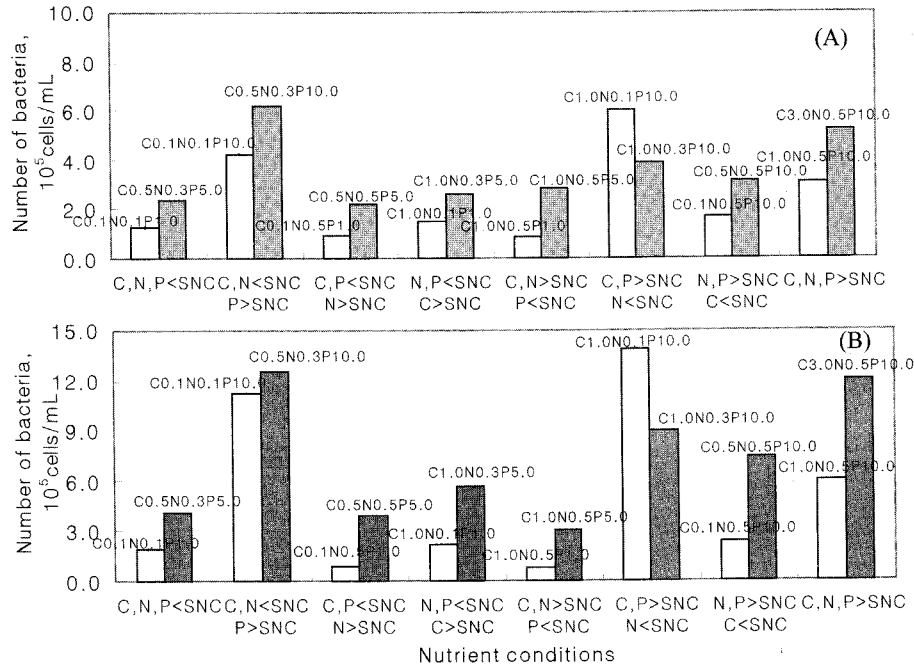


Fig. 2. Bacterial regrowth counts under simultaneous limitation of three nutrients. The numbers in figures represent the concentration of nutrient, and the units are mgC/L with glucose, mgN/L with NO_3^- -N, and $\mu\text{gP/L}$ with PO_4^{3-} -P (For example, C0.1N0.1P10.0 = Glucose 0.1 mgC/L, NO_3^- -N 0.1 mgN/L, PO_4^{3-} -P 10.0 $\mu\text{gP/L}$). “SNC” means the sufficient nutrient concentration. (A) Indigenous bacteria, (B) *Pseudomonas fluorescens* P17.

3.3. 두 종류의 탄소원 및 질소원이 혼재된 경우에 대한 세균재증식 특성

앞서 Fig. 1 및 Fig. 2에서 설정된 실험 조건은 탄소원 및 질소원이 각각 한가지의 화합물 형태로써 존재할 경우를 상정하였다. 그러나 자연수계에는 다종류의 영양원이 다양한 농도비율로 혼합되어 있다. 따라서 본 연구에서도, 탄소원으로써 Glucose 및 Acetate, 질소원으로 NH_4^+ -N 및 NO_3^- -N이 혼재되어 있는 경우(Table 3의 조건)를 대상으로 세균의 재증식 특성을 조사하였다. Fig. 3에 수돗물 토착세균 및 *Pseudomonas fluorescens* P17에 대한 재증식능을 나타내었다. 우선 탄소원에 대해서는, Glucose 및 Acetate가 혼재되어 있는 경우가 각각의 탄소원을 단독으로 주입했을 경우보다 세균재증식능이 높게 나타났다. 이어서 Acetate를 단독으로 주입한 경우가 Glucose단독으로 주입한 경우보다 세균재증식능이 높은 것으로 나타났다. 또한 질소원에 대해서는 NH_4^+ -N의 주입비율이 높아짐에 따라 세균재증식능이 증가하는 것으로 나타났다.

세균은 그들의 증식 메카니즘에 있어서 다양한 형태의 영양원이 혼재되어 있는 경우 우선적으로 선호하는 형태의 화합물을 먼저 소비하게 되며, 선호하는 영양원에 의한 세균 증식량이 다른 영양원의 조건에 비해 높게 나타나는 것이 일반적이다. 예를들어 *Pseudomonas*종은 Glucose를 다른 탄소원에 비해 경쟁적으로 이용한다고 보고된 바 있다.^{25,26)} 반면에 *Spirillum* sp. NOX는 Glucose와 같은 탄수화물(Polymeric carbohydrates) 보다는 Acetate와 같은 카르복실산(Carboxylic acids) 형태의 탄소원을 선호하는 것으로 알

려져 있다.²⁷⁾ 수돗물 토착세균과 *Pseudomonas fluorescens* P17을 접종균으로써 사용한 본 연구에서는, 우선 탄소원에 대해 Glucose가 탄소원으로써 단독으로 주입한 경우 세균재증식능이 가장 높을 것으로 예상하였다. 그러나 실험결과 오히려 Glucose가 탄소원으로써 단독으로 주입된 경우가 다른 경우에 비해 상대적으로 가장 낮은 세균재증식능을 기록하였다. 이와같은 현상은 접종균으로써 사용한 수돗물 토착세균과 *Pseudomonas fluorescens* P17에 대해 동일하게 나타났다. 이는 첫째로 상대적으로 높은 질소원의 몰비가 세균의 Glucose섭취를 방해하였다고 판단된다. 즉 앞질의 고찰에서 세균의 증식에 요구되는 탄소원과 질소원의 몰비(100C:10N)에 비해 질소원, 특히 NO_3^- -N의 농도가 비정상적으로 높은 경우 세균의 재증식이 억제되는 현상을 관찰하였다. 본 절의 실험조건에서도 주입된 NO_3^- -N의 농도가 정상적인 몰비를 훨씬 초과하며, 따라서 상대적으로 높은 NO_3^- -N의 농도가 세균의 Glucose이용에 방해요소로 작용한 것으로 판단된다. 또 다른 추론으로써는, 주입된 질소원을 소비하기 위한 탄소원의 선택적 이용가능성이다. 즉, 본 실험에서 주입된 질소원에는 NO_3^- -N이 포함되어져 있으며, 이 NO_3^- -N을 질소원으로 동화하기 위한 탄소원으로는 Glucose보다는 Acetate가 우선적으로 선호되는 것으로 판단된다.

질소원에 대한 수돗물 토착세균과 *Pseudomonas fluorescens* P17의 재증식 특성은 NH_4^+ -N의주입비율이 높아짐에 따라 세균재증식능이 증가하는 것으로 나타났다. Christophe 등²⁶⁾은 *Pseudomonas fluorescens*를 대상으로 한 연구에서

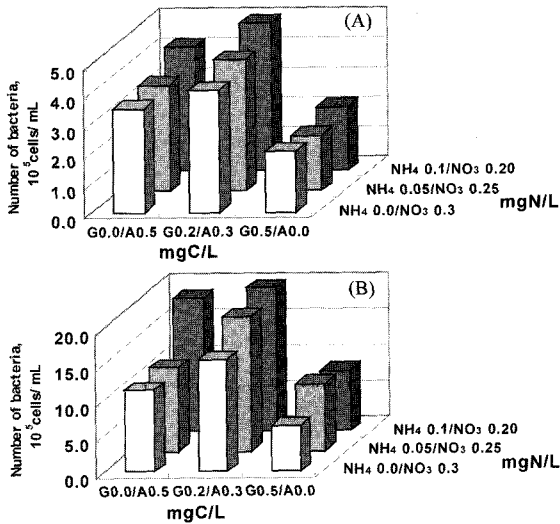


Fig. 3. Bacterial regrowth counts for addition of different carbon and nitrogen sources. (G : Glucose, A : Acetate, NH₄ : NH₄⁺-N, NO₃ : NO₃⁻-N). (A) Indigenous bacteria, (B) *Pseudomonas fluorescens* P17

NH₄⁺-N은 세균의 증식에 우선적으로 선호되는 질소원이라고 보고한 바 있다. 또한 NH₄⁺-N은 다른 질소원과 동시에 존재할 경우, 세균이 NO₃⁻-N 등의 다른 질소원을 이용하는 것을 방해하며, 세균의 NO₃⁻-N 소비는 NH₄⁺-N의 소비가 완료된 이후 발생하는 것으로 보고하였다. 본 실험의 질소원에 대한 재증식 특성은 이상의 기존연구결과와 일치하는 것으로 판단된다.

4. 결론

본 연구에서는, 총축농도의 개념을 도입하여 총축농도를 기준으로 영양원을 제한한 경우와, 탄소원 및 질소원이 각각 두 종류씩 혼합되어 있는 경우에 대해, BRP법을 이용하여 세균의 재증식 특성을 연구하였다.

총축농도를 기준으로, 탄소, 질소 및 인의 세가지 영양원을 단독 혹은 복수로 동시에 제한할 경우에 대해 세균재증식능의 제어효과를 평가하였다. 실험결과, 세균재증식능은 총축농도 이상을 만족하는 조건에 비해 영양원이 제한된 조건에서 억제되는 것으로 나타났다. 그러나 NO₃⁻-N의 농도가 증가할수록 세균재증식능이 감소하는 것으로 나타났으며, 이는 세균이 요구하는 물질을 초과하는 NO₃⁻-N은 세균의 재증식을 오히려 방해하는 인자로 작용할 수 있는 것으로 판단되었다. 또한 두 가지 이상의 영양원이 동시에 제한될 경우, 세균재증식능의 억제가 더욱 증가되는 상승효과를 관찰할 수 있었으며, 특히 제한 영양원에 인이 포함되어 있는 경우, 상대적으로 더욱 낮은 세균재증식능을 나타내고 있었다. 따라서 인은 세균재증식능을 조절할 수 있는 새로운 인자로서 중요할 것으로 판단되었다.

탄소원으로 Glucose 및 Acetate, 질소원으로 NH₄⁺-N 및 NO₃⁻-N이 혼재되어 있는 경우를 대상으로 세균의 재증

식 특성을 조사하였다. 탄소원에 대해서는, Glucose 및 Acetate가 혼재되어 있는 경우가 각각의 탄소원이 단독으로 존재했을 경우보다 세균재증식능이 높게 나타났다. 이는 상대적으로 높은 질소원의 물비가 세균의 Glucose섭취를 방해하였거나, NO₃⁻-N을 소비하기 위해 요구되는 탄소원으로 Glucose보다는 Acetate가 우선적으로 선호되는 것으로 판단되었다. 또한 질소원에 대해서는 NH₄⁺-N의 존재비율이 높아짐에 따라 세균재증식능이 증가하는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. LeChevallier, M. W., Cawthon, C. D., and Lee, R. G., "Inactivation of bacterial biofilm," *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 2492~2499(1988).
2. Van der Kooij, D., "Assimilable organic carbon (AOC) in drinking water," p. 57-87. In G. A. McFeters (ed.), *Drinking Water Microbiology-1990*. Springer-Verlag, New York, N.Y.(1990).
3. Bellar, T. A., Lichtenberg, J. J., and Kroner, R. C., "The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters," *J. AWWA*, **66**, 703~707(1974).
4. Meier, J. R., Ringhand, H. P., Coleman, W. E., Schenk, K. M., Munch, J. W., Streicher, R. P., Kaylor, W. H., and Kopfler, F. C., "Mutagenic by-products from chlorination of humic acid," *Environ. Health Perspect.*, **69**, 101~107(1986).
5. LeChevallier, M. W., Schulz, W., and Lee, R. G., "Bacterial nutrients in drinking water," *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 857~862(1991).
6. Van der Kooij, D., "Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth," *J. AWWA*, **84**, 57~65(1992).
7. Owen, D. M., Amy, G. L., Chowdhury, Z. K., Paode, R., McCoy, G., and Viscosil, K., "NOM characterization and treatability," *J. AWWA*, **87**, 46~63(1995).
8. Miettinen, I. T., Vartiainen, T., and Martikainen, P. J., "Contamination of drinking water," *Nature*, **381**, 654~655(1996).
9. Miettinen, I. T., Vartiainen, T., and Martikainen, P. J., "Phosphorus and bacterial growth in drinking water," *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 3242~3245(1997).
10. Sathasivan, A., Ohgaki, S., Yamamoto, K., and Kamiko, N., "Role of inorganic phosphorus in controlling regrowth in water distribution system," *Water Sci. Technol.*, **35**, 37~44(1997).
11. Sathasivan, A., and Ohgaki, S., "Application of new bacterial regrowth potential method for water distribution system a clear evidence of phosphorus limitation," *Water Res.*, **33**, 137~144(1999).

12. Oh, J. W., "Evaluation of bacterial regrowth potential in drinking water system using cell cycle parameters," Doctoral thesis, Univ. of Tokyo(2004).
13. 吳政祐, 渡部 雅智, 神通 浩二, 片山 浩之, 大垣 眞一郎, "フロ-サイトメトリ-を用いた細菌再増殖能測定法の開発及びその適用に関する研究," 日本水道協會雜誌, **73**(2), 2~15(2004).
14. Philippe, L., Servais, P., Agogue, H., Courties, C., and Joux, F., "Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic system?," *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 1775~1782(2001).
15. Stephan, J., Partensky, F., Marie, D., Casotti, R., and Vaultot, D., "Cell cycle regulation by light in *Prochlorococcus* strains," *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 782~790(2001).
16. Symons, J. M., et al., "Natural organics reconnaissance survey for halogenated organics," *J. AWWA*, **67**, 634~647(1975).
17. Van der Kooij, D., Visser, A., and Hijnen, A. M., "Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water," *J. AWWA*, **74**, 540~545(1982).
18. Vartiainen, T., Liimatainen, A., and Kauranen, P., "The use of size exclusion columns in determination of the quality and quantity of humus in raw waters and drinking waters," *Sci. Total Environ.*, **62**, 75~84(1987).
19. Markku, J. L., Miettinen, I. T., Vartiainen, T., and Martikainen, P. J., "A New Sensitive Bioassay for Determination of Microbially Available Phosphorus in Water," *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 3242~3245(1999).
20. Chandy, J. P., and Angles, M. L., "Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay," *Water Res.*, **35**, 2677~2682(2001).
21. Roger, Y. S., Ingraham, J. L., Wheelis, M. L., and Painter, P. R., "The microbial world," Prentice-Hall (1986).
22. Wetzel, R. G., "Limnology," W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA(1975).
23. Toolan, T., Wehr, J., and Findlay, S., "(Inorganic phosphorus stimulation of bacterioplankton production in a meso-eutrophic lake," *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2074~2078(1991).
24. Chawala, C. and Ju, L. K., "Degradation of n-Hexadecane and its metabolites by *Pseudomonas aeruginosa* under microaerobic and anaerobic denitrifying condition," *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 493~498(2000).
25. Ma, J. F., Hager, P. W., Howell, M. L., Phibbs, P. V., and Hassett, D. J., "Cloning and Characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* zwf gene encoding glucose-6-phosphate dehydrogenase, an enzyme important in resistance to methyl viologen (Paraquat)," *J. Bacteriol.*, **180**, 1741~1749(1998).
26. Christophe, R. and Olsson, L., "Dynamic responses of *Pseudomonas fluorescens* DF57 to nitrogen or carbon source addition," *J. Biotech.*, **86**, 39~50(2001).
27. Van der Kooij, D. and Hijnen, W. M., "Substrate utilization by an oxalate-consuming *Spirillum* species in relation to its growth in ozonated water," *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 551~559(1984).