



수돗물의 C/N 비율이 생물막 성장에 미치는 영향

Influence of C/N ratio on biofilm growth in tap water

조지민·김영관*

Ji-Min Cho·Yeong-Kwan Kim*

강원대학교 환경공학과, 강원도 춘천시 강원대학길 1, 24341

Kangwon National University, Department of Environmental Engineering, Gangwon-do Chuncheon-si Gangwondaehak-gil 1, 24341

pp. 479-485

pp. 487-497

pp. 499-505

pp. 507-515

pp. 517-526

pp. 527-533

pp. 535-550

pp. 551-557

pp. 559-572

pp. 573-581

ABSTRACT

Microorganisms detected in the biofilm not only cause secondary pollution of drinking water such as taste, odor and pathogenic disease but also increase the amount of disinfectant due to microbial regrowth during the transportation of tap water. In this work, the influence of C/N ratio in tap water on the characteristics of biofilm growth was examined. The C/N ratio of the tap water sample was controlled at 100:5, 100:10, 100:20, 100:30, and 100:40 by adding appropriate amounts of dextrose and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Of the five C/N ratios, heterotrophic plate counts (HPC) was highest at the ratio of 100:10. Following the initial formation in all the five experimental conditions, natural detachment of the biofilm was observed. Extracellular enzyme activity (EEA) analyses showed that the change of the EEA during the experimental period was similar to that of the HPC, demonstrating a positive correlation between HPC and EEA. For TOC concentration in the tap water sample, approximately 75% of the TOC was consumed in 7 days of the experiment and 96% in 28 days. The TOC appeared to be relatively rapidly consumed at the initial phase of the biofilm growth. Consumption pattern of the ammonia nitrogen was different from the TOC consumption pattern showing the different role of ammonia nitrogen on the growth of biofilm.

Key words: Biofilm, Tap water, C/N ratio, Heterotrophic plate count, Extracellular enzyme activity

주제어: 생물막, 수돗물, C/N 비율, 종속영양세균수, 제외분비효소활성도

1. 서론

수도관 내부에서 형성되는 생물막은 여러 가지 물리적, 화학적 요인에 의해서 영향을 받는다. 영향을 미치는 요인들을 열거하면 수돗물에서의 영양물질의 농도, 잔류 소독제 농도, 수온(Donlan and Pipes, 1988; LeChevallier et al., 1987; Lund and Ormerod, 1995; van der Wende and Characklis, 1990)과 같은 수질특성, 수도관 표면의 물리적 특성을 나타내는 관 재질(Nagy and Olson, 1985; Zacheus et al., 2000), 그리고 수돗물

의 흐름상태(Percival et al., 1999) 등이 있다.

배·급수관망의 생물막에는 다양한 종류의 세균이 번식한다. 세균류는 생물막 군집에서 가장 많이 발견되는 미생물로서 종속영양세균은 일반적으로 평판도말법(spread plate count)으로 측정한다. 수도관속의 세균류는 소독과정에서 살아남았거나, 관의 보수과정에서 유입되기도 하지만 일반적으로 세균류의 발생원은 확실하게 규명되어 있지 않다. 기회성 병원균은 수인성 병원균 중 가장 많이 발견되는 종류로서 평상시에는 병원성을 나타내지 않지만 미생물의 생물 저항력이 감소할 경우 병원성이 증가하게 된다 (Jarvis, 1990). 일반세균에는 잠재적, 기회성 병원균인 *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Serratia*,

Received 10 September 2018, revised 17 October 2018, accepted 20 November 2018.

*Corresponding author: Yeong-Kwan Kim (E-mail: yeong@kangwon.ac.kr)

Pseudomonas 그리고 *Xanthomonas* 등이 있다. 소독제 저항성 세균은 소독 처리 된 수돗물 내에서 살아남은 세균을 칭하며 대부분 관 표면에 부착되어 있거나, 캡슐 형성과 같은 응집, 변종의 형성을 통해 생존하게 된다. 이때 세균이 표면에 부착할 경우 소독제에 대한 내성이 600배 이상 증가되기도 한다 (LeChevallier et al., 1988; Herson et al., 1987).

대부분의 생물막에서 미생물은 건조 질량의 10% 미만을 차지하는데, 미생물 중에 따라 관 내벽에 직접 부착하거나 glycoalyx라고 불리는 세포외중합체 (extracellular polymeric substances, EPS)를 이용하여 관 내벽에 부착한다 (Geldreich, 1996; Bitton and Marshall, 1980). 한편, 생물막은 관 내부에서 발생하는 erosion, abrasion, sloughing 같은 물리적 요인에 의해 탈리된다. Erosion은 전단력에 의해서, abrasion은 입자들의 충돌과 같은 물리적 현상에 의한 탈리이다. Sloughing은 생물막의 두께가 두꺼워져서 내부에 영양물질의 전달이 어렵거나 생물막 내에 산소가 고갈되었을 때 발생하는 탈리 현상으로 두꺼운 생물막에서 빈번하게 발생한다 (Costerton et al., 1995).

생물막에서 검출되는 미생물들은 맛과 냄새, 병원성 질병 등의 2차 오염을 유발할 뿐만 아니라 수도관 내에서의 미생물 재생장으로 인하여 소독제 사용량을 증가시키는 원인이 된다. 수도관에 부착된 박테리아 세포의 증가는 수돗물내의 영양염류 농도와 상관 관계가 있다. 유기탄소는 미생물의 에너지원으로서 새로운 세포물질을 생산하는데 이용되는데 아주 낮은 농도로 수돗물 내에 존재하고 있으나 미생물 성장에 필요한 주요 영양원으로서 세균이 성장하는데 있어 수돗물에 존재하는 다른 영양물질의 영향보다 크다. 수돗물에 함유된 유기탄소는 AOC (assimilable organic carbon)와 BDOC (biodegradable organic carbon)로 세분되며 수돗물의 AOC와 BDOC 농도는 생물학적 안정성을 평가할 수 있는 지표로 사용되고 있는데 이들만으로 생물막의 형성에 대한 구체적인 자료로는 사용될 수 없다 (Kim and Choi, 2003). 일반적으로 수돗물의 안정성은 수송과정에서 세균의 재생장 가능성 여부로 판단되는데, 정수 후 수돗물에 소량의 미생물이 존재하거나 미생물이 이용할 수 있는 AOC와 BDOC 성분이 잔류되어 있을 경우 미생물 재생장이 일어날 수 있는 가능성이 존재하게 된다 (Sung, 2002).

질소와 인은 미생물의 성장에 직접적인 영향을 미

치는 영양염류로서 수돗물에 존재하는 질소의 형태는 미생물의 성장에 이용될 수 있는 유기성 질소, 암모니아성 질소, 아질산성 질소, 질산성 질소이다. 질소가 미생물의 재생장과 생물막 형성에 미치는 영향에 관한 연구는 소수에 불과한데, 일부 연구(Donlan and Pipes, 1988)에서는 수돗물의 질소농도가 매우 낮을 경우에는 미생물 성장과 질소 사이에 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 수돗물에서 대부분의 인은 유기성 형태로 존재하며 미생물의 성장에 영향을 미치는 제한인자이다. 관망에서는 관의 부식을 제어하기 위해 방청제로서 인산염을 첨가하기도 하는데, 인산염의 첨가에 따른 잠재적인 부정적 효과가 나타나기도 한다 (Miettinen et al., 1997; Sathasivan and Ohgak, 1999).

유기탄소 또는 질소 각각의 농도에 따른 미생물 성장 특성에 대한 연구는 진행되어 있으나, 탄소/질소(C/N) 비율이 미생물 재생장에 미치는 영향에 대한 연구는 진행된 바가 많지 않다. 본 연구에서는 수도관에서 생물막 형성에 영향을 미치는 다양한 환경 인자들 중에서, 생물막 형성과 관련이 있는 TOC와 NH₃-N의 농도, 즉 C/N 비율에 따른 생물막 형성 특성을 평가하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1 수돗물 시료

실험에 사용한 수돗물 시료는 강원도 춘천시에서 응집, 침전, 여과, 소독공정을 거쳐 공급되는 수돗물을 사용하였으며 수돗물시료의 특성은 Table 1과 같다. 시료의 C/N 비율은 탄소원으로 dextrose (Extra pure, 대정화금), 그리고 질소원으로 (NH₄)₂SO₄ (Kanto chemical co.)를 적정량 첨가하여 시료의 C/N 비율을 100:5, 100:10, 100:20, 100:30, 그리고 100:40으로 조절하여

Table 1. Characteristics of the tap water sample

Parameters	Average	Range
TOC ($\mu\text{g/L}$)	2.36	2.02 ~ 2.76
HPC (CFU [*] /ml)	12.20	11.48 ~ 12.98
NH ₃ -N (mg/L)	0.11	0.07 ~ 0.15
PO ₄ -P (mg/L)	0.03	0.01 ~ 0.05
pH	6.92	6.89 ~ 7.04
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	23.2	22.60 ~ 25.90

*: Colony Forming Units



실험을 진행하였다. 이러한 C/N 비율은 일반적으로 미생물에게 필요한 C:N:P 비율이 100:5:1인 점을 감안하여 결정하였다. C/N 비율은 각 시료의 탄소농도를 동일하게 한 후 질소의 첨가량을 조절하여 비율을 맞추었다.

2.2 실험 및 분석방법

2.2.1 실험 재료 및 방법

생물막이 형성될 수 있는 기저표면으로 polyvinyl chloride(PVC) 시편(coupon)을 사용하였으며 시편의 크기는 가로 1 cm, 세로 5.5 cm²로 총 면적은 5.5 cm²이다. 시편은 사용 전 메탄올로 3~4회 세척하고 잔류되어 있는 메탄올은 증류수로 세척한 후 105°C dry oven에서 2시간 건조시킨 후 150 mL serum vial 내에 설치하였다.

진균류에 의한 수돗물의 오염을 방지하기 위해 serum vial에 PVC 시편을 한 개씩 넣은 후, 입구는 멸균된 스펀지와 탈지면을 거즈로 감싸 만든 마개를 이용하여 산소공급은 이루어지지 외부에 의한 오염은 차단하였으며, 빛에 의한 생물막 성장을 방지하기 위해 실험은 암실에서 수행되었다. Serum vial의 수돗물 시료는 수돗물 80 mL에 탄소원과 질소원 stock solution을 각각 10 mL 첨가 후 최종 부피를 100 mL로 하고 20°C에서 4주간 정지 배양하였으며, 세균 생장은 약 7일 간격으로 측정하였다.

2.2.2 수질 및 생물막 분석

생물막 회수 후 수돗물 시료의 total organic carbon (TOC), 암모니아성 질소(NH₃-N), 인산염 인(PO₄-P), 종속영양세균수(heterotrophic plate counts, HPC), 체외분비효소활성도(extracellular enzyme activity, EEA) 5가지 항목을 분석하였다. 암모니아성 질소와 인산염 인은 phenate와 ascorbic acid 방법, TOC는 TOC analyzer (Model Sievers 5310 C)를 이용하여 측정하였다. 회수한 생물막에 대해서도 HPC와 EEA를 측정하였으며 분석항목별 방법은 Table 2와 같다.

Coupon에 부착된 생물막은 cell lifter (SPL, ISO 9001)를 사용하여 멸균된 20 mL 부피의 0.3mM PBS (phosphate buffer solution)에 긁어낸 다음 초음파 발생기 (Sonicator, Model Branson®)를 사용하여 1분씩 2회 탈리시키면서 회수하였다. 생물막은 실험 개시 후 3, 7, 14, 21, 그리고 28일 째에 회수하여 멸균된 PBS가

담긴 glass bottle에 옮겨 담은 후 분석하였다. 사용된 모든 초자류와 용액은 멸균 후 사용하였다. 회수한 생물막은 standard methods (APHA et al., 1995)를 이용하여 종속영양세균수와 체외분비효소 활성을 분석하였다.

Table 2. Analytical methods

Analytes	Methods
pH	pH meter
TOC	TOC analyzer
NH ₃ -N (mg/L)	Phenate method
PO ₄ -P (mg/L)	Ascorbic method
HPC (CFU/ml)	Plate count
EEA	MUF assay

*CFU: Colony Forming Units.

(1) 종속영양세균수 (heterotrophic plate counts, HPC)

C/N 비율을 조절한 시료의 생물막에 있는 종속영양세균수가 너무 많아 colony를 계수 할 수 없을 경우를 대비하여 희석정도를 판단하고자 예비 분석으로 배양 기간이 짧은 M9 minimal medium (M9 salt 10X, CaCl₂ 0.015 g/L, Na₂HPO₄ 6 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, NaCl 0.5 g/L, NH₄Cl 1 g/L, MgSO₄ 0.5 g/L, Glucose 2.0 g/L)을 사용하였는데 이는 첨가되어 있는 모든 성분을 알 수 있는 최소 배지로서 특정 성분이 세포의 증식 및 성장 특징에 미치는 영향 및 기능 등에 대해 확인할 수 있는 장점이 있다. 본 실험에서는 빈영양성 배지(R2A agar)를 사용하였고, 앞서 시행한 예비실험을 바탕으로 시료를 1/10, 1/100, 1/1000 비율로 희석한 후 0.1 mL spreader를 이용하여 도말평판법으로 접종하였다. 접종은 3회 반복되었으며 30°C incubator에서 5일간 배양한 후 나타난 colony를 계수하고 평균값을 계산하여 CFU(colony-forming units)/cm² 단위로 나타냈다.

(2) 체외분비효소 활성도 (extracellular enzyme activity, EEA)

체외 효소(extracellular enzymes)는 영양염류의 활용단계에서 가장 먼저 관여하므로 체외효소활성도는 영양염류의 활성 정도를 나타내는 지표로 쓰일 수 있다. 체외분비효소 분석과정에서 미생물에 의해 생성되는 표준물질인 MUF(4-methylumbelliferone, Sigma)를 함유한 기질분해 효소에 의해 형광기질이 형광물질과 기질로 분리된다. 이때 free MUF가 생성되며 364 nm 빛에 여기(excited)

pp. 479-485

pp. 487-497

pp. 499-505

pp. 507-515

pp. 517-526

pp. 527-533

pp. 535-550

pp. 551-557

pp. 559-572

pp. 573-581

되어 445 nm에서 형광을 발생시킨다. MUF stock solution은 100 mL의 D.I. water (deionized water)에 17.62 mg의 MUF를 용해시켜 제조하여 0.05~1.5 μM의 농도범위로 희석하여 사용하였다. 이 실험은 빛에 민감하므로 회수한 시료에 대해서는 암실에서 모든 과정을 실시하였으며, 초자류 또한 갈색 amber microtubes (Coming Axygen®, MCT-200-X)을 사용하였다.

생물막을 회수한 시료 1.3 mL를 centrifuge tube에 옮긴 후 10 μM의 농도를 가진 형광기질(MUF-butyrate, MUF-α-D-glucopyranoside, MUF-β-D-glucopyranoside)을 기질 별로 각각 0.13 mL씩 총 0.39 mL 첨가하고 30°C 배양기에서 약 1 시간 반응시킨다. 반응이 완료된 시료에 0.1 M Tris-buffer (pH 10.3)를 0.3 mL씩 첨가한 후 빛의 영향을 받지 않는 형광측정 전용 cuvette (methacrylate E6093)에 옮긴 후 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 생물막 시료의 분석결과

3.1.1 생물막 시료의 종속영양세균 분석

실험기간동안 PVC coupon으로부터 회수한 생물막 시료에서의 C/N 비율별 종속영양세균수(HPC) 분석결과는 Fig. 1과 같다. Fig. 1에서와 같이 실험개시일로부터 7일까지는 C/N 비율 100:5에서 29 CFU/cm², 100:10에서 41 CFU/cm², 100:20에서 36 CFU/cm², 100:30에서 33 CFU/cm², 그리고 100:40에서는 26 CFU/cm²로 모든 C/N 비율에서 낮은 개체수를 나타냈다. 그러나 이후 급격히 증가하여 14일 경과 시 100:5에서 294 CFU/cm², 100:10에서 506 CFU/cm², 100:20에서 397 CFU/cm², 100:30에서 319 CFU/cm², 그리고 100:40에서 284 CFU/cm²로 높은 세균수를 보였다.

세균수는 실험 개시 후 7일과 14일까지 100:10 비율에서 가장 높게 나타났고 100:20, 30, 40으로 N 농도가 높아질수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나, 이러한 경향은 21일 경과 후에는 유사하였으나 개체수가 가장 많았던 100:10 비율에서 HPC의 수가 급격히 감소하였는데 이는 21일 경과 후 생물막이 성숙기에 도달하여 자연적인 탈리가 이루어졌기 때문인 것으로 판단되었다. 그 후, 28일 경과 후에는 21일 경과 시에 나타난 현상처럼 100:10의 비율 다음으로 개체수가

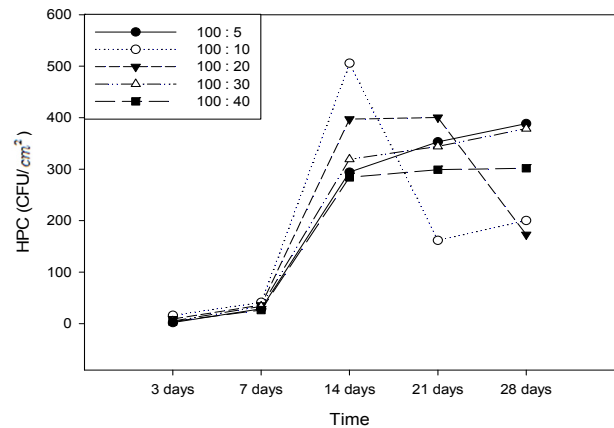


Fig. 1. Changes in the HPC of the biofilm formed at the C/N ratio.

많았던 100:20 비율에서 자연적인 탈리가 이루어졌던 것으로 판단된다. 생물막 형성 초기에는 생물막이 호기성 상태를 유지하지만 점차 두꺼워지면서 수도관 표면에 부착한 생물막 내부는 혐기성 상태가 되며 이때 혐기성미생물에 의해 생성된 황화수소(H₂S) 가스가 생물막 탈리를 진행시키게 되는데 이러한 현상은 본 연구에서의 실험 결과와 유사하였다.

3.1.2 생물막 시료의 효소활성도 (extracellular enzyme activity, EEA) 분석

생물막을 형성하는 미생물에 의해 체외로 분비되는 기질분해 효소는 MUF-substrate를 형광물질(MUF)과 기질로 분해시킨다. 형광기질을 이용하여 실험 기간에 따른 EEA 분석 결과는 Fig. 2와 같다. 실험 개시일로부터 7일까지는 다른 비율에 비하여 100:10, 100:20의 비율에서 높은 효소활성을 보였으며 14일 경과 후에는 효소활성이 급격히 높아지는 경향을 나타낸 반면 상대적으로 효소활성도가 높았던 100:10의 비율에서 21일 경과 후에는 급격히 감소하였다. 이와 유사하게 100:20 비율에서 28일 경과 후 효소활성도가 급격히 줄어든 것으로 보아 RFU의 값이 가장 높았던 100:10의 비율에서부터 자연적인 탈리가 진행되었다고 판단된다.

실험기간 동안의 각 C/N 비율별 효소활성도의 변화 형태는 HPC의 변화 형태와 유사하였으며, 생물막의 HPC가 증가함에 따라 효소활성도 또한 증가하여 체외분비효소의 활성과 HPC 사이에 양의 상관관계를 나타내었다.

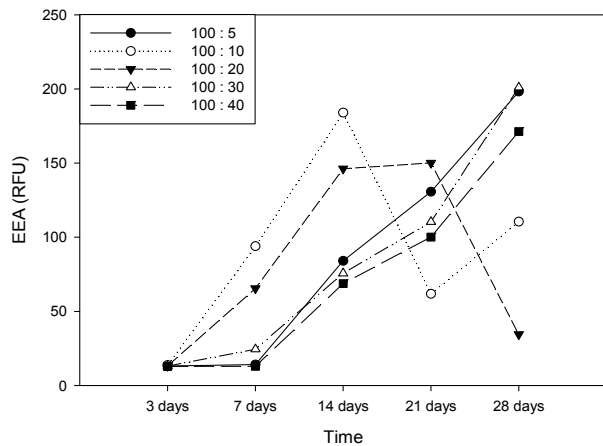


Fig. 2. Changes in the EEA of the biofilm formed at various C/N ratio.

3.1.3 생물막 형성으로 인한 수돗물 시료의 TOC 변화

Serum vial로부터 coupon을 회수하고 난 후 수돗물에 존재하는 TOC 측정 결과, 실험 개시 7일 후부터 빠른 속도로 감소하였으며 이러한 TOC 감소 형태는 모든 C/N 비율에서 유사하게 나타났다. 실험 초기 TOC 농도가 동일하였음을 고려할 때 수돗물의 질소 농도와 관계없이 거의 동일한 양의 유기탄소가 미생물에 소모되었으며 그 결과는 Fig. 3과 같다.

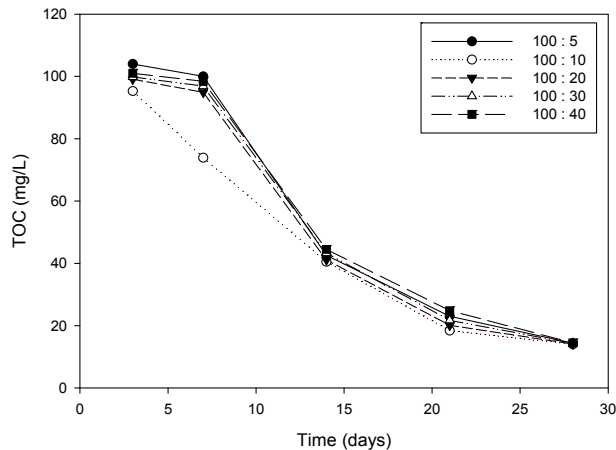


Fig. 3. The concentration of TOC consumed at various C/N ratio.

3.1.4 생물막 형성으로 인한 암모니아성 질소 농도와 인 농도 분석

Serum vial로부터 coupon을 회수하고 난 후 수돗물에 존재하는 암모니아성 질소의 농도 측정 결과, Fig. 4와

같이 C/N 비율 100:5의 경우를 제외하고 유사한 형태로 감소하였으나 TOC의 감소 형태와는 다르게 나타났다. 암모니아 질소 농도는 모든 C/N 비율의 경우 실험 개시 후 7일부터 14일 사이에 가장 많이 감소하였는데, 이러한 결과는 생물막 생성과 효소활성도가 7일부터 14일 사이에 가장 높게 나타난 결과와 일치하고 있다.

암모니아성 질소의 경우, coupon 설치 14일 후 가장 많은 농도 감소가 나타났으며 그 중 100:10의 비율에서 60%의 감소를 보였다. 28일 경과 후 100:10의 비율에서 70%로 가장 많이 생물막 형성에 소모된 것을 확인할 수 있었다.

미생물의 증식에 필요한 인의 농도는 본 연구에서는 추가적으로 조절을 하지 않았다. 실험 초기 인의 농도는 0.03 mg/L 이었으며 실험기간동안 모든 C/N 비율에서 인의 농도는 0에 가까운 값을 나타냈다 (Cho, 2018).

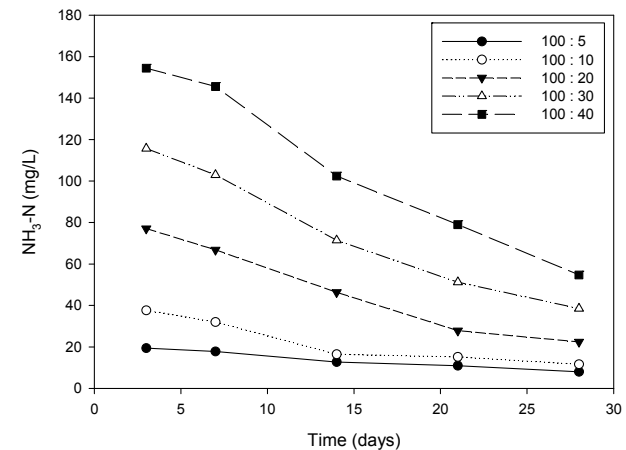


Fig. 4. The concentration of nitrogen consumed at various C/N ratio.

4. 결 론

본 연구에서는 수돗물의 C/N 비율에 따라 수도관 생물막의 성장에 미치는 영향을 비교·분석하였다. 먹는물 수질공정시험법에 의거하여 일반세균에 대한 분석과 생물막 미생물의 체외분비효소활성도, 수돗물의 NH₃-N, PO₄-P, TOC 분석을 통하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1) 수돗물속에 유기성 탄소성분이 충분히 존재할

경우 생물막 형성 수준에 크게 영향을 미치는 인자는 암모니아성 질소의 농도인 것으로 분석되었다. 실험 범위 내에서 탄소원인 glucose의 농도를 400 mg/L C로 고정시킨 다음 (NH₄)₂SO₄를 이용하여 N의 농도를 5, 10, 20, 30, 40의 비율로 변화시켰을 때, 100:10의 비율에서 다른 비율에 비해 가장 많은 세균수를 보이며 생물막이 가장 높은 수준으로 형성되었다.

2) Coupon으로부터 회수된 생물막시료의 HPC 분석 결과, 실험개시 초기에는 개체수의 증가를 보이다가 그 후 생물막의 자연적인 탈리에 의해 개체수가 감소함을 나타냈다.

3) 형광기질을 이용하여 체외분비효소 활성도를 분석한 결과, 설치일로부터 시간경과에 따른 변화 패턴은 전체적으로 종속영양세균수의 변화와 유사한 양상을 나타내었으며 이는 체외분비효소의 활성과 세균수 사이에 높은 상관성이 있음을 보여주었다.

4) 생물막 회수 후 수돗물에 잔류된 TOC 농도를 비교하면, 실험개시 3일 경과 시까지 모든 C/N 비율에서 약 75% 정도 소모되었으나 28일 경과 후에는 약 96%가 소모되었다. 이는 생물막 형성에 탄소가 주요 에너지원으로 사용된 것으로 확인되었으며 생물막이 초기에 빨리 성장되는 것으로 판단되었다.

5) 암모니아성 질소의 농도 분석 결과, 14일 경과 후부터 급격하게 감소하였는데 TOC의 결과와 달리 암모니아성 질소의 농도는 비율에 따라 농도감소가 다르게 나타났으며, 이는 질소의 농도에 따라 수도관 생물막 생장에 미치는 영향이 다르다는 것을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 2017년도 강원대학교 대학회계학술연구 조성비로 연구하였습니다(관리번호 520170176).

References

- American Public Health Association; American Water Works Association; and Water Environment Federation. (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed., Washington D.C., USA.
- Bitton, G., and K.C. Marshall. (1980). *Adsorption Microorganisms Surfaces*. Wiley-Interscience, New York.
- Cho, J.M. (2018). *Biofilm Growth Characteristics According to C/N Ratio of Drinking Water*, Master's Thesis, Kangwon National University, Korea.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R., and Lappin-Scott, H.M. (1995). Microbial biofilms, *Annu. Rev. Microbiol.*, 49, 711-745.
- Donlan, R.M. and Pipes, W.O. (1988). Selected drinking water characteristics and attached microbial population density, *J. AWWA*, 80(11), 70-76.
- Geldreich, E.E. (1996). *Microbial Quality of Water Supply in Distribution Systems*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Herson. D.S., McGonigle. B., Payer. M.A., and Baker. K.H. (1987). Attachemnt as a factor in the protection of *Enterobactercloacae* from chlorination, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1178-1180.
- Jarvis, W.R. (1990). *Opportunistic Pathogenic Microorganisms in Biofilms*. Centers for Disease Control. Washington, DC.
- Kim, Y.K. and Choi, S.C. (2003). *Development of the Biostability FActor of Potable Water and the Sensitivity Analysis*, Korea Sci. Eng. Found., R01-2000-000-00341-0, 98-100.
- LeChevallier, M.W., Babcock, T.M. and Lee, R.G. (1987). Examination and characterization of distribution system biofilm, *Appl. Environ. Microbiol.* 53(12), 2514-2676.
- LeChevallier, M.W., Schulz, W., and Lee, G.R.(1998). Inactivation of biofilm bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.* 54(10), 2492-2499.
- Lund V, Ormerod K. (1995). The influence of disinfection processes on biofilm formation in water distribution systems, *Water Res.*, 29, 1013-1021.
- Miettinen, I., Vartiainen, T., and Martikainen, P.J. (1997). Microbial growth and assimilable organic carbon in Finnish drinking waters, *Water Sci. Technol.*, 35(11-12), 301-306.
- Nagy, L.A. and Olson, B.H. (1986). Occurrence and significance of bacteria, fungi, and yeasts associated with distribution pipe surfaces, *Proc. Water Quality Technol., Conference*, Houston, TX.
- Percival, S.L. and Walker, J.T. (1999). Potable water and biofilms: a review of public health implications, *Biofouling*, 42(2) 99-115.
- Sathasivan, A. and Ohgaki, S. (1999). Application of new bacterial regrowth potential method for water distribution system a clear evidence of phosphorus limitation, *Water Res.*, 33(1), 137-144.
- Sung, K.S. (2002). *Characteristics of Biofilm in Tap Water*, Master's Thesis, Kangwon National University, Korea
- Van der Wende, E. and Characklis, W.G. (1990). Biofilms in



potable water distribution system, 251-271. In G.A. McFeters (ed.), *Drinking Water Microbiology*, Springer-Verlag, New York.

Zacheus. O.M., Livanainen. E.L., Nissinen. T.K., Lehtola. M.J., and Martikainen. P.J. (2000). Bacterial biofilm formation on polyvinyl chloride, polyethylene and stainless steel exposed to ozonated water, *Water Res.*, 34(1) 63-70.

pp. 479-485

pp. 487-497

pp. 499-505

pp. 507-515

pp. 517-526

pp. 527-533

pp. 535-550

pp. 551-557

pp. 559-572

pp. 573-581