

下水중 腸內細菌에 對한 太陽光線 및 捕食微生物의 殺菌效果

崔敬和 · 鄭惠慶 · 金致卿

(忠北大學校 自然大 生物學科)

Effects of sunlight and predacious microorganisms on survival of enteric bacteria in sewage water

CHOI, Kyung-Hwa, Hye-Kyung CHUNG, and Chi-Kyung KIM

(Dept. of Biology, College of Natural Sciences, Chung-buk National University)

ABSTRACT

The disinfection effects of sunlight and predacious microorganisms on enteric bacteria of *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris* were examined in sewage water at 22 to 26°C. The test organisms were disinfected by 4 to 5 logs during 6-hour a day exposure to sunlight for seven days. The effect was proportional to the light intensity and was proved to be due to the action of the visible light of short wavelength which can transmit the soft glass of a flask, not the ultraviolet light which can not transmit the flask glass. The predacious microorganisms decreased the test organisms by about 3 to 4 logs during 7 days. The complex actions of sunlight and predacious microorganisms were variable depending upon the test organisms, but the total effects of those environmental factors were yet completely understood.

緒 論

腸内に 기생하는 病原性 細菌이 排泄物을 통하여 下水에 유입되고 이 세균으로 오염된 음식물이나 음식물을 먹을때 水因性 疾病이 발생하게 되므로 上水 및 下水에 대하여 물리적 또는 화학적 방법으로 殺菌 處理를 하는 것은 保健學上 매우 중요한 일이다. 下水에 오염된 腸內細菌들은 인공적인 살균처리를 하지 않더라도 潮水나 下川 등의 地表水에서 太陽光線, 捕食微生物(predacious microorganisms), lytic bacteriophage, algae 및 他 細菌들이 생성하는 毒素物質과 物理的인 precipitation, blocculation 등에 의하여 自然減少 된다는 것은 널리 인식되어 왔다(chamberlin과 Mitchell, 1978). 자연의 이와같은 自淨作用(self purification)중 가장 강력한 살균력

을 갖는 환경요소는 太陽光線이라는 것이 Gamson과 Gould(1975) 그리고 Chamberlin과 Mitchell (1978)에 의하여 증명되었다.

Coliform bacteria에 대한 太陽光線의 殺菌效果는 특히 下水가 放流되는 海水에서 여러 사람에게 의하여 연구되었다(Bellair 등, 1977; Gamson과 Gould, 1975; Chamberlin과 Mitchell, 1978). Fujioka등 (1981)은 최근에 24°C 정도의 海水 또는 인산 완충액에서 실험한 結果, fecal coliform은 30~90분의 태양광선에 의하여 약 90%가 살균되었다. 태양광선의 이와같은 殺菌力은 3.3m의 맑은 海水層이나 실험용기의 유리 또는 투명한 polyethylene을 투과한다고 보고하였으며 이러한 살균효과는 자외광선이 아닌 可視光線에 의한 작용이라고 그들은 해석했다. 腸內細菌에 대한 포식미생물의 살균작용에 대해서는 estuarine water에서도 많이 연구되었는데,

Enzinger와 Cooper (1976)는 estuarine water에서 *Escherichia coli*의 감소는 주로 捕食原生動物에 의한 것이며, 捕食細菌의 영향은 없었다고 지적했다. 또 McCambridge와 McMeekin(1980)은 10일간의 실험기간 중 처음 2일간에는 주로 原生動物의 捕食作用에 의하여 *Escherichia coli*의 수가 감소되지만 포식세균에 의한 영향은 매우 적으나 지속적으로 일어난다고 보고했다.

Estuarine water에서 태양광선과 포식미생물이 腸內細菌의 生存에 미치는 영향에 대하여 연구한 McCambridge와 McMeekin(1981)의 최근 보고에 의하면, *E. coli*에 대한 태양광선 및 포식미생물의 살균효과는 비슷하지만 두가지 환경요소가 單獨으로 작용할 때보다 함께 작용할 때 그 살균효과는 더 커졌다. 그리고 포식미생물에 대한 光線의 영향은 없었고 장내세균에 대한 光線의 살균효과는 세균의 종류에 따라 차이가 있다고 보고했다. 이와같이 腸內細菌에 대한 태양광선 및 포식미생물의 살균효과는 海水 또는 estuarine water를 사용하여 여러모로 연구되었으나, 家庭下水가 유입되는 湖水나 河川과 같은 地表水에서는 별로 보고된 바가 없다.

그러므로 본 연구자들은 인공적인 살균처리를 철저히하지 못하는 우리나라의 下水管理 실정을 감안하여, 下水로 오염된 河川水에서 腸內세균들이 환경요소에 의하여 얼마나 殺菌作用을 받고 死滅 되어 가느냐 하는 것은 保健學上 의미 있는 과제라 생각하여, 2종의 대표적인 enteric bacteria를 시험세균으로 선정하여 殺菌성이 가장 높은 환경요소인 태양광선과 포식미생물에 의한 殺菌效果를 알아보고자 하였다.

材料 및 方法

1) 시험세균 및 그 培養

下水에서 미생물 汚染度를 측정할때 指標細菌으로 사용하는 *Escherichia coli*와 함께 *Proteus vulgaris*를 시험세균으로 선정하여, nutrient broth에서 37°C로 1일간 배양한후 2000 rpm의 속도로 20분간 원심분리하여 침전된 세균을 멸균된 생리식 염수에 현탁시켜 세균수를 약 $10^9 \sim 10^{10}$ cell/ml로 조정하여 사용하였다.

2) 太陽光線 및 捕食微生物의 殺菌

下水로 오염되어 다량의 有機物과 미생물이 포함되어 있는 河川水를 사용하여 그 살균효과를 시험하기 위해, 忠北大學校의 캠퍼스를 관류하는 下水를 채취하여 數를 이미 알고 있는 각 시험세균의 현탁액을 혼합하였다. 下水의 溫度와 pH는 試料의 채취현장에서 측정하였으며, BOD(biochemical oxygen demand)와 total coliform의 수는 채취 즉시 Standard Method (1975)에 의하여 측정하였다. 下水의 시료 49ml를 200ml의 삼각 flask에 각각 넣고 일정 수의 시험세균이 포함된 각 현탁액을 1ml씩 혼합하였다 (McCambridge와 McMeekin, 1981). 太陽光線만의 살균효과를 시험하기 위해서는 멸균된 下水와 시험세균의 혼합용액을 태양광선에 노출시켰으며, 捕食微生物만의 살균효과는 멸균하지 않은 下水에 시험세균을 혼합하여 aluminum foil로 flask를 포장하였고, 태양광선과 포식미생물의 효과를 함께 시험하기 위해서는 멸균하지 않은 하수와 세균의 혼합액에 태양광선을 쬔었다. 對照實驗群은 멸균된 하수에 시험세균을 혼합한 후 flask를 aluminum foil로 포장하여 실험군의 flask와 함께 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 恒溫水槽에서 매일 연속하여 6시간씩 태양광선에 노출시켰으며 그이외 시간에는 같은 온도의 항온수조에 넣어 暗室에 보관했다.

3) 紫外光線의 殺菌效果

태양광선의 살균작용중 紫外線에 의한 효과를 시험하기 위하여 波長 200~300nm의 자외선을 내는 日本 三共電機會社の UV lamp를 사용하여 매일 6분간씩 20cm의 거리에서 照射하였다. 200ml의 軟質 flask에 멸균된 下水 49ml와 일정 수의 시험세균을 넣고 flask의 유리를 통하여 자외광선을 照射하는 한편, 하수와 시험세균의 혼합액을 멸균된 beaker에 같은 깊이로 넣고 자외선을 직접 照射하여 살균효과를 비교하였다. 자외선에 전혀 노출시키지 않고 暗室에 보관한 세균 및 하수의 혼합액을 對照群으로 하여 실험군과 함께 매일 生存細菌의 수를 측정하였다.

4) 生存細菌數 및 포식미생물 數의 측정

매일 6시간씩 태양광선에 노출시킨 후 즉시 각 flask로부터 1ml의 試料를 채취하여 十進法으로 희석한 후 0.2ml의 각 희석액을 3개의 nutrient agar 또는 MacConkey agar plate에 도말하여

37°C에서 1~2일간 배양한 후 colony의 수를 측정하고 희석배율로 환산하여 CFU (colony forming unit)/ml를 구했다. 멸균하지 않은下水의 경우, 試料의 희석액을 選別培地에서 배양한 후 시험세균의 colony는 그 모양, 크기, 및 색에 의하여 하천수에 既存하고 있던 他細菌으로부터 區別하여 계산하였다.

멸균하지 않은下水의 試料중 *Escherichia coli*에 대한 포식미생물의 수는 McCambridge와 McMeekin (1980)의 double-layer plate 방법에 의하여 측정하였다. 즉 1.5%(wt/vol)의 Bacto-agar를 넣은下水를 멸균하여 직경 9cm의 petri dish에 基層을 만든 후, 0.7%(wt/vol)의 Bacto-agar를 첨가한 하수를 멸균하여 약 45°C로 식힌 다음 0.5ml의 *E. coli* 현탁액과 0.5ml의 시험하수를 혼합하여 基層위에 上層을 만들었다. 25°C에서 1~3일간 배양한 후 3개의 Petri dish로 부터 plaque의 수를 평균하고 희석배율로 환산하여 PFU(plaque forming unit)/ml를 구했다.

5) 日射량의 측정

시험기간 중 태양광선을 쬔 6시간 동안의 日射量(light intensity)은 日本 Ogawa회사의 meteorological station, solar radiation meter를 사용하여 측정하였고. 평균치를 $\text{cal}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ 로 환산하였다. 전체 光線의 日射量과 함께 400~700 nm 波長의 光선에 의한 日射量도 구분하여 측정하였다.

結果 및 考察

본 연구에 사용한 試驗下水의 특성은 Table 1

Table 1. Characteristics of the sewage sample

Temperature (°C)	22~26
pH	7.25~7.5
BOD(ppm)	70~75
Total coliform(MPN/100ml)	1500~1700

과 같다 BOD는 70~75ppm이고, total coliform의 수는 1500~1700 MPN/100ml로 다량의 有機物과 미생물이 汚染되어 있는 전형적인下水였다. 이下水를 사용하여 *E. coli*에 대한 태양광선과 포식미생물의 살균효과를 시험한 결과는 Fig. 1과 같다. 7일의 시험기간 동안 제2일 부터 제

5일까지는 뜨거운 햇빛이 비치는 여름철의 대표적인 날씨로 平均 日射量이 $55\text{cal}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ 이상이였다. 對照群의 *E. coli*는 제7일에도 세균수가 약

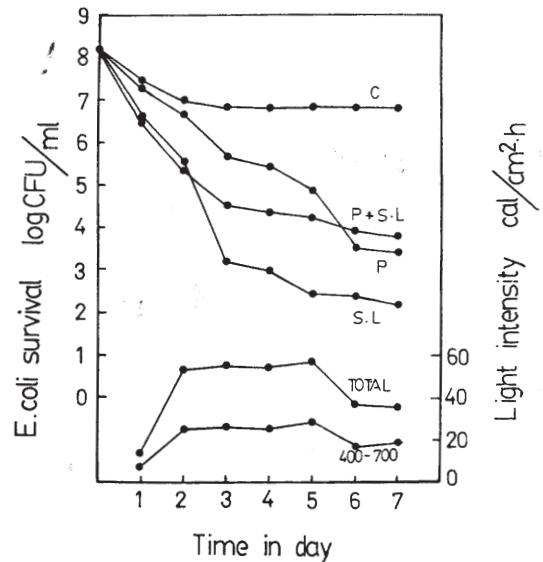


Fig. 1. Effects of sunlight and predacious microorganisms on survival of *E. coli*. The effects of sunlight (S.L), predators (P), and predators and sunlight (P+S.L) on *E. coli* survival were compared to control (c). Light intensities were measured by total sunlight and by 400 to 700nm wave-length of light.

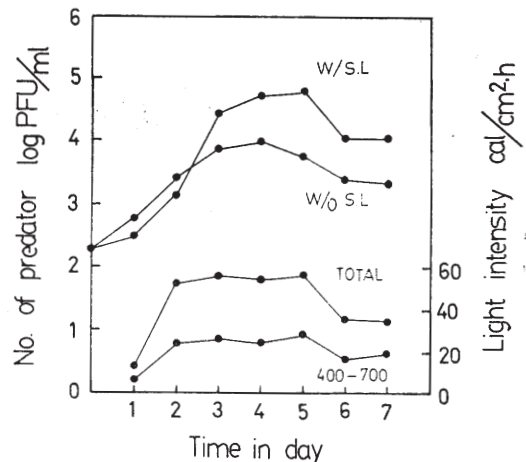


Fig. 2. Changes in number of predacious microorganisms. The predators were counted in the samples exposed to sunlight (W/S.L) and covered to sunlight (W/O S.L). Light intensities were measured in the same way as in Fig. 1.

1 log밖에 감소되지 않은데 비하여, 태양광선과 포식미생물의 작용에 의해서는 제5일에 각각 약 5 logs와 3 logs의 減少를 보였으며 제7일에는 약 6 logs와 5 logs의 감소가 나타났다. 그러나 태양광선과 포식미생물의 작용을 함께 받은 *E. coli*의 수는 서서히 減少하여 제7일에는 약 4 logs가 감소되었다. 두 환경요소의 複合的인 살균효과가 單獨的인 효과보다 낮았다는 것은 McCambridge와 McMeekin(1981)의 결과와는 상반되었으나, 태양광선과 포식미생물의 독립적인 殺菌

효과가 單一 環境要素의 효과보다 낮았다는 것은 2회의 본 실험 결과에서는 同一하였지만 그原因에 대해서는 더 연구해 볼 과제라고 생각된다.

Enzinger와 Cooper(1976)는 estuarine water에서의 포식 작용은 bacteria가 아닌 原生動物에 의한 것이라고 했고 McCambridge에 McMeekin (1980)은 두가지의 미생물이 비슷한 효과를 갖고 있다고 했지만, 본 연구에서는 predator의 種類를 구분하지 않고 全體 포식미생물의 수와 그 살균효과를 살펴 보았다.

Table 2. Kinetics of *E. coli* survival in sewage samples by sunlight and the ratio of *E. coli* (prey) to predator.

Incubation time (day)	Sunlight			No sunlight		
	Prey (CUE/ml)	Predator (PFU/ml)	Ratio of Prey to Predator	Prey (CFU/ml)	Predator (PFU/ml)	Ratio of Prey to predator
0	1.14×10^8	1.35×10^2	844,444.5	1.14×10^8	1.35×10^2	844,444.5
1	2.69×10^5	3.52×10^2	7,642.5	1.55×10^7	8.73×10^2	17,754.9
2	2.58×10^5	1.23×10^3	209.8	3.78×10^6	2.50×10^5	1,512.0
3	7.05×10^4	3.44×10^4	2.6	2.34×10^5	9.65×10^5	24.2
4	7.00×10^4	4.25×10^4	1.7	2.22×10^5	1.30×10^4	17.1
5	2.02×10^4	3.90×10^4	0.5	5.90×10^4	8.35×10^3	7.1
6	1.13×10^4	9.02×10^3	1.3	1.03×10^4	2.60×10^5	4.0
7	1.01×10^4	1.04×10^4	1.0	4.05×10^3	2.20×10^3	1.8

효과는 매우 유사하다.

태양광선을 받았을 경우와 받지 않았을 경우, 포식미생물의 수는 Fig. 2에서와 같이 변하였으며 제3일부터 태양광선을 받았을 경우, 포식미생물의 수는 태양광선을 받지 않은 경우보다 약 10배나 增加하였다. 또 태양광선을 받을때와 받지 않을때, Prey (*E. coli*)대 predator의 數的比率은 Table 2에서와 같이 시간에 따라 감소하였다. 두 경우 모두 그 비율이 약 200 이하가 될때 부터 predator수의 增加는 완만해지기 시작하였고 실제적인 減少는 광선을 받을 때에 그 비율이 0.5인 제5일 부터 그리고 광선을 받지 않을 때인 그 비율이 보다 높은 17.1인 제4일부터 나타났다. 그러므로 태양광선을 받을때 포식미생물의 수가 많은 것은 그들의 먹이가 되는 *E. coli*의 수가 감소 되더라도 이 predator들은 光合成能力을 갖고 있거나 또는 광선에 의하여 增殖이 촉진된 것이라고 할 수 있다. 그럼에도 불구하고 포식미생물과 태양광선의 複合的인 살균

*Proteus vulgaris*를 시험세균으로 하여 같은 실험

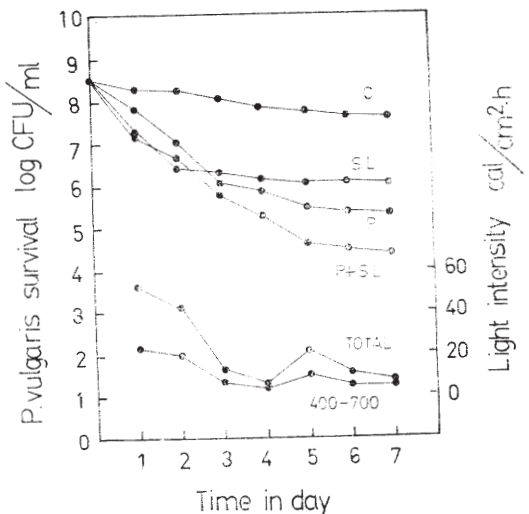


Fig. 3. Effects of sunlight and predacious microorganisms on survival of *P. vulgaris*. The numbers of *P. vulgaris* and light intensities were measured in the same way as in Fig. 1.

험을 한 결과는 Fig. 3과 같다. 이 경우의 平均日射量은 제3일 이후부터 *E. coli* 실험의 경우보다 3분의1 내지 4분의1에 불과한 $20\text{cal}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ 이었다. 7일간의 시험결과를 보면 對照群에서는 약 1 log가 감소되었으나, 태양광선 또는 포식미생물의 살균작용에 의해서는 약 2.5~3.0 logs가減少되었다. 태양광선과 포식미생물의 효과를 함께 시험했을 때에는 약 4 logs의 감소가 일어나 單一 환경요소의 효과보다 컸다. 이 경우, 日射量이 약 3배 많았던 *E. coli* 경우보다 태양광선 및 포식미생물에 의한 全體的인 살균효과는 훨씬 낮았다. 이는 살균효과가 日射量과 비례된다는 McCambridge와 McMeekin(1981)의 보고와 일치하지만, enteric bacteria의 種類에 따라서 그 感受性에 차이가 있는지는 더 연구해야 할 과제이다. 본 실험은 年中 日射量이 가장 많은 7, 8, 9월에 시행하였는바, 日射量의 변화에 따라 살균효과도 差異가 나타났다. 그러나 日射量의 季節的인 變化에 의하여 살균효과가 달라진다고 보고한 Gameson과 Gould(1975)의 결과에 대해서는 검토하지 못했다.

태양광선의 살균효과가 유리를 투과하는 可視光線에 의한 것이라고 한 Fujioka등(1981)의 보고를 재확인하기 위하여, 人工紫外光線을 軟質 flask의 유리를 통하여 照射하였을 때의 *Proteus vulgaris*의 生存數의 변화를 알아보았다. 그 결과는 Fig. 4에서와 같이 제1일에는 유리를 통하여 照射한 경우 1 log, 유리를 통하지 않고 직접 조사한 경우 약 3 logs의 감소를 나타냈고, 제7일에는 더욱 현저한 差異를 나타냈다. 그러나 유리를 통하여 紫外光線을 조사한 경우 *P. vulgaris*의 生存數는 7일간의 실험기간 중 계속 對照群과 큰 차이가 없었다. 두께 3mm의 軟質유리에 대하여 紫外光線은 거의 투과하지 못하고 可視光線은 大部分 투과한다는 實驗值(cowan 1976)와 *myxococcus* 세균에서 300~700nm 波長의 光

線으로 시험한 결과 410nm의 광선이 가장 높은 photolysis를 일으켰다는 Chamberlin과 Mitchell (1978)의 보고에 근거를 두고 볼 때, 軟質유리

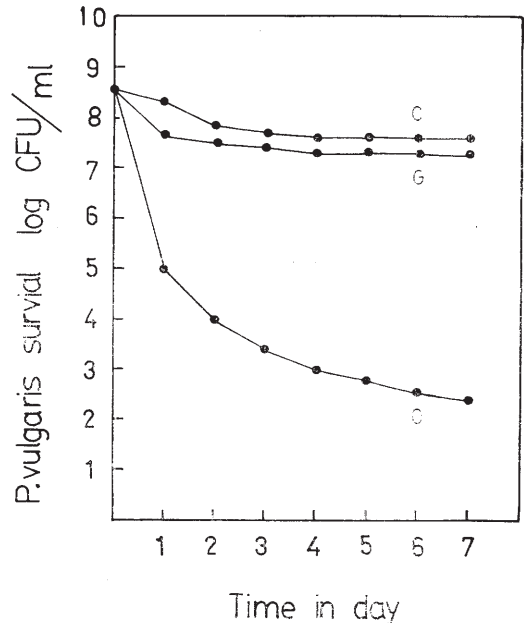


Fig. 4. Effect of UV light on survival of *P. vulgaris*. The numbers of *P. vulgaris* counted in the samples irradiated by UV light directly(O) and through flask glass(G) were compared to control(C).

의 flask를 통하여 200~300nm波長의 紫外光線을 조사한 본 실험에서, 세균에 대한 살균효과가 전혀 없었던 결과는 適當하다고 생각된다. 또 본 실험기간 동안에 측정된 波長 400~700nm의 광선에 의한 平均 日射量이 全光線에 의한 日射量의 약 半에 해당되는(Fig. 1, 2, 3) 측정으로 본다면, 본 실험에서 나타난 태양광선의 살균효과는 파장이 짧은 可視光線에 의한 것이라고 할수 있으며, 이 결과는 Fujioka등(1981)의 실험 결과와 一致한다.

摘 要

下水에 오염되어 있는 腸內細菌을 殺菌하는 환경요소에 의하여 일어나는 自然의 自淨效果는 하수처리가 철저히 수행되지 못하는 우리나라의 실정을 감안할때 保健學上 매우 중요한 意義를 갖고있다. 그러므로 環境要素중에서 太陽光線과 捕食微生物을, 그리고 장내세균 중에서 *Escherichia coli*와 *Proteus vulgaris*를 시험세균으로 선정하여 22~26°C의 下水를 사용하여 본 研究를 수행하였다. 두 시험세균에 대하여 太陽光線의 살균효과는 매일

6시간씩 7일간 노출에 의하여 4~5 logs의 세균이 殺菌되었으며 이 효과는 평균 일사량과 비례하여 증가하였다. 이 殺菌효과는 자외선이 아닌 flask 유리를 透過할수 있는 짧은 波長의 可視光線에 의한 작용인 것이 證明되었다.

下水중에 서식하는 捕食微生物에 의해서는 7일동안에 3~4 logs의 시험세균이 감소되었으며 포식미생물과 태양광선중 單一要素에 의한 殺菌효과에 비하여 두가지 요소에 의한 複合효과는 細菌의 종류에 따라 차이가 나타났다.

謝 辭

본 연구중 일사량의 측정에 편의를 도모해 주신 한국인삼연구연구소 증명인삼시험장의 양덕조 박사님과 하수의 수질검사를 도와주신 충북 보건연구소의 신태당 선생님께 심심한 사의를 드립니다.

引用文獻

1. American Public Health Association. 1975. Standard methods for the examination of water and wastewater, 14th ed. American Public Health Association, New York.
2. Bellair, J.T., G.A. Parr-Smith, and I.G. Wallis. 1977. Significance of diurnal variation in fecal coliform die-off rates in the design of ocean outfalls. J. water Pollut. Control Fed. **49** : 2022~2030.
3. Chamberlin, C.E., and R. Mitchell. 1978. A decay model for enteric bacteria in natural water, p. 325~348. In R. Mitchell (ed.), Water pollution microbiology, Vol. 2. John Wiley and Sons, New York.
4. Cowan, D.O., and R. L. Drisko 1976. Elements of organic Photochemistry. Plenum Press, New York.
5. Enzinger, R.M., and R.C. Cooper. 1976. Role of bacteria and protozoa in the removal of *Escherichia coli* from estuarine waters. *Appl. Environ. Microbiol.* **31** : 758~763.
6. Fujioka, R.S., H.H. Hashimoto, E.B. Siwak, and R.H.F. Young. 1981. Effects of sunlight on survival of indicator bacteria in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* **41** : 690~696.
7. Gameson, A.L.H., and D.J. Gould. 1975. Effects of solar radiation on the mortality of some terrestrial bacteria in sea water. p. 209~219. In A.L.H. Gameson (ed.), Discharge of sewage from sea outfalls, Pergamon Press, London.
8. McCambridge, J., and T.A. McMeekin. 1980. Relative effects of bacterial and protozoan predators on survival of *Escherichia coli* in estuarine water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **40** : 907~911.
9. McCambridge, J., and T.A. McMeekin. 1981. Effects of solar radiation and predacious microorganisms on survival of fecal and other bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **41** : 1083~1087.