

## 심층피압지하수에서 세균군집의 분석에 의한 분변성 오염 평가

조장천 · 김상종\*

서울대학교 미생물학과 및 분자미생물학연구센터

세균군집의 분포에 따른 지하수의 세균학적인 안전성을 평가하기 위하여 음용을 목적으로 개발된 4곳의 관정에서 심층피압대수층(deep confined aquifer)의 지하수를 채수하여 물리화학적 환경요인, 세균의 분포와 활성, 지표세균의 분포 및 종속영양세균의 종조성을 조사하였다. 조사한 4개의 관정(A, B, C-1, C-2)은 모두 빈영양생태계의 특징을 나타냈으나 관정 C-2는 무기이온의 농도, 유기탄소, 종속영양세균의 수 및 활성, 지표세균의 수가 다른 관정에 비해 매우 높았다. C-1을 제외한 모든 관정에서 분변성 오염이 존재하였으며 특히, 관정 C-2는 다른 관정들에 비해 그람 양성 세균의 비율이 낮았으며, 총대장균, 분변성대장균, *fecal Streptococcus*가 각각 시료 250 ml에 최고 61, 33, 55 CFU로 존재하여 지표에서 분변성 오염물질이 지하수로 유입되고 있음을 확인되었다. 종속영양세균의 동정결과 지하수에 주로 존재하는 세균속은 *Acinetobacter*, *Eikenella*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* 속이었다. 한편, 지하수에 일반적으로 존재하지 않는 Enterobacteriaceae 그룹과 *Staphylococcus* 속과 *Enterococcus* 속이 조사관정에서 검출됨에 따라 이들 세균이 지하수 분변성 오염 관정의 지표세균으로 사용할 수 있음이 확인되었다.

KEY WORDS □ bacteriological safety, deep confined aquifer, groundwater, indicator bacteria

국내에서 지하수는 전체 수자원 사용량의 약 1% 정도에 그치고 있으나 최근 지표수 오염의 심화와 함께 먹는샘물의 개발로 인하여 많은 양의 지하수원이 개발되고 있어 지하수 자원의 보전과 음용에 대한 안전성 여부가 관심이 되고 있다(1). 대수층(aquifer)과 지하토양 및 암석에 존재하는 미생물에 대한 연구가 집중적으로 수행되기 전까지는 세균이 지하수층에 존재하지 않는 것으로 인식되어져 왔으나 최근 10년 동안의 연구결과는 세균 및 원생동물이 지하 깊은 곳에서까지 다양한 종류로 존재하며(4, 7, 11, 17, 25), 이들이 활성을 지니고 있음을 밝히고 있어(9, 19, 23, 24) 현재 더욱 많은 연구가 진행중에 있다. 그러나 지하수층에 존재하는 미생물에 대한 연구는 주로 오염토양 및 지하수의 생물학적인 복원의 관점에서 오염물질의 이동과 제거의 측면에서 수행되었기에(29) 지하수의 미생물학적인 안전성 판단을 위한 세균군집의 분석은 비교적 연구가 덜 진행된 상태이며, 국내의 경우에는 지하수 세균군집에 대한 연구는 전혀 이루어지지 않고 있는 실정이다. 지하수의 미생물학적인 안전성을 판정하기 위하여는 병원성 세균 및 지표세균의 존재확인(8), 오염원으로부터 유출 및 지하수층으로의 유입경로와 이동 경로(18), 세균의 분포 및 이동에 미치는 여러 물리화학·지질학적인 요인(27), 생존기간과 병원성의 여부(20) 등에 대한 조사를 수행해야 한다. 이중 가장 우선적으로 필요한 것은 지하수 세균의 분포 조사 및 분리된 세균의 동정을 통한 병원성 및 지표세균의 존재확인 및 오염여부의 파악이다.

지하수는 포화정도에 따라서 비포화대(vadose zone)지역에서의 불포화 대수층(unsaturated aquifer)과 포화대수층

(saturated aquifer)으로 구분되는데(12) 음용수로의 지하수는 포화 대수층을 대상으로 개발되기에 비포화대보다는 포화 대수층에서의 세균군집 분석이 중요하다. 이러한 점에서 본 연구에서는 포화대수층의 특징을 자나고 있으면서 음용을 목적으로 개발된 심층 대수층의 관정을 조사대상으로 하였다. 음용을 목적으로 개발된 관정은 오염원으로부터 멀리 떨어진 곳에 주로 위치하므로 국내 지하수자원 중 가장 청정하다고 볼 수 있다. 하지만 미생물학적인 안전성 여부는 확인되지 않았고 빈영양생태계에 존재하는 세균군집의 분포도 확인되지 않았기에 본 연구에서는 음용을 목적으로 개발된 지하수 관정 4곳에서 우선 물리화학적 환경요인 및 세균군집의 분포와 활성을 측정하였으며, 지표세균의 계수와 지하수에서 분리된 균주를 동정함으로써 지하수의 세균학적인 안전성을 평가하고자 하였다.

### 재료 및 방법

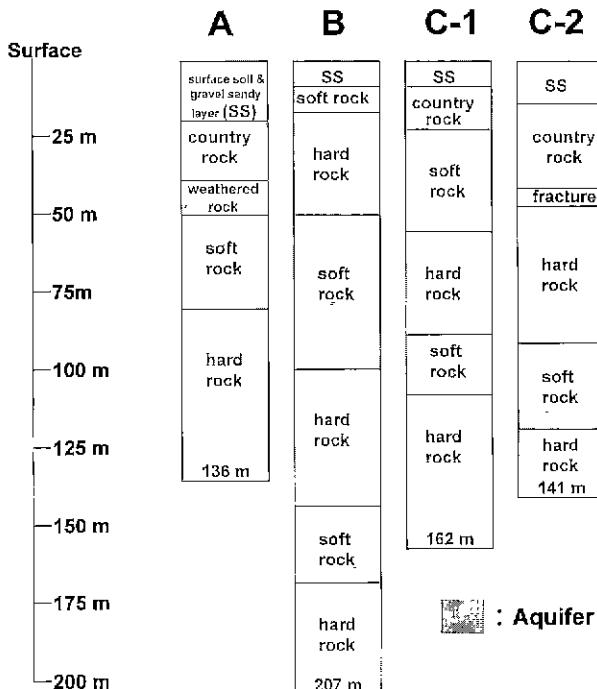
#### 양수정 및 지질학적 특징

본 연구에서는 총 3개 지역의 4개의 관정에서 시료를 채취하였다. 시료를 채취한 양수정은 모두 피압대수층(confined aquifer)의 지하수를 이용하기 위하여 개발된 관정이다. 관정 A는 강원도에, 관정 B 및 C-1, C-2는 충청북도에 위치하며 C-1과 C-2의 지표상의 거리는 약 50 m이다. 관정 A, B, C-1과 C-2는 깊이가 약 100-200 m가 되는 심층 피압대수층으로 모두 암반 지하수의 특징을 자나고 있다. 각 양수정의 수직적 지질구조에 따르면 4개의 양수정 모두 표토-전석층을 지나 연암과 경암이 반복되는 지질학적인 특징을 보이며, 대수층은 암반층에서 포화대(saturated zone)로 존재하고 있다(Fig. 1). 모든 관정에서 연암층에서 대수층이

\*To whom correspondence should be addressed

Tel : 02-880-6707, Fax : 02-889-9474

E-mail : sjkimm@plaza.snu.ac.kr



**Fig. 1.** The schematic description of vertical geological formations in deep confined aquifers. A, B, C-1, and C-2 represent the name of boreholes. The gray columns represent the aquifers.

존재하며 관정 C-2의 경우에는 파쇄대(fractured zone)에서도 대수층이 존재하고 있다. 관정 A, B, C-1, C-2에서 1995년 12월, 1996년 1월, 3월에 각각 3회에 걸쳐 지하수를 채취하였다. 채수는 관정에 설치된 전동펌프를 이용하였고, 채수시에는 관정 부피의 3배 이상의 지하수를 양수한 다음 멀균된 채수병에 담았다. 채수한 즉시 현장에서 수온, pH를 측정하였다.

#### 물리화학적 환경요인

모든 시료는 채수 당일에 Standard methods(2)에 따라 분석하였으며, 무기 이온의 분석은 여과막(membrane filter, 0.45 μm pore size, Nucleporc, MA, USA)으로 여과한 후 여과액을 사용하여 분석하였다. 경도(hardness)는 EDTA 적정법에 의하여 구하였다. 암모니아염 질소(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)는 phenate 방법, 아질산염 질소(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)는 azide 빨색법, 질산염 질소(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)는 cadmium column 환원법, 인산염 인(PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P)은 stannous chloride법으로 정량하였다. 유기탄소의 하나인 NPOC(Non-purgeable organic carbon)는 TOC analyzer(Shimazu 5000A, Shimazu, Kyoto, Japan)을 이용하여 구하였다(31).

#### 세균의 분포와 활성

총세균수의 측정은 AODC(acridine orange direct count)법을 사용하였다(30). 종속영양세균은 R2A 배지(26)를 사용, 주입평판 계수법으로 접종하여 20°C에서 2주일간 배양한 후 성장한 군체수를 측정하였다. 병원성 세균 존재의 지표로 사용하고 있는 지표세균(indicator bacteria)으로서 총대장균(total coliforms), 분변성대장균(fecal coliforms), fecal

*Streptococcus*를 막여과법(Membrane Filtration)에 의하여 구하였다(2). 총대장균, 분변성대장균, fecal *Streptococcus*의 검출을 위한 선택배지로는 각각 m-Endo agar, m-FC agar, m-Enterococcus agar(Difco laboratories, MI, USA)를 사용하였다. 시료 250 ml을 여과막(membrane filter, 0.45 μm pore size, Nucleporc, MA, USA)으로 여과한 후 여과막을 배지에 얹어 m-FC agar는 44°C, 다른 두 배지는 37°C에서 24-48시간 동안 배양한 후 성장한 전형적인 군체수를 계수하였다. 세균의 생산량은 <sup>3</sup>H-thymidine[<sup>3</sup>H-thymidine] DNA에 편입되는 속도로부터 구하였다(13). 측정된 dpm값으로부터 Parsons 등(22)에 의한 식을 이용하여 편입된 thymidine의 양을 계산하였다. Thymidine 1 mole 당 생성되는 세균수는 지하수를 대상으로 직접 구한 전환율  $1.8 \times 10^{18}$  cells · (moles of thymidine)<sup>-1</sup>을 곱하여 산출하였다. 생성된 탄소량은  $2.1 \times 10^{-13}$  g · C cell<sup>-1</sup>의 전환율로부터 구하였다(6).

#### 세균 분리 및 동정

지하수 시료를 R2A 배지에 주입, 배양한 후 100개 미만의 군체가 형성된 평판배지로부터 군체를 모두 순수 분리하였다. 분리된 군주를 대상으로 우선 그람 염색법으로 그람 음성과 양성을 판정하였고, 그람 음성으로 판정된 세균은 여러종류의 생화학적 분석을 통해 Bergey's manual(14)의 체계에 따라 ECOTAXA program(ver 1.0)을 사용하여 동정하였다. 그람 양성 세균은 API 20 STREP, API STAPH, API CHB(bioMérieux, Lyon, France)를 이용하여 동정하였다. 또한, m-Enterococcus agar에서 자란 붉은 색 군체가 fecal *Streptococcus*임을 확인하기 위하여 MIDI(Microbial Identification system, MIDI Inc., Delaware)를 이용한 지방산 분석을 통해 동정하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 지하수의 물리화학적 특징 및 세균군집의 분포

연구대상 지하수는 심층파압대수층의 특징을 지니고 있다. 조사한 피압대수층의 물리화학적 환경요인은 온도, pH, 경도, 무기이온(N, P), NPOC로서 Table 1에 제시되어 있다. 온도와 pH는 조사기간동안 일정하게 유지되었고 온도는 100-200 m의 깊이를 지니는 관정의 특징적인 온도(3)인 15°C 내외의 분포를 보였다. 유기탄소의 양을 나타내는 NPOC는 관정 A, B의 경우에는 평균  $0.9 \text{ mg l}^{-1}$ , 관정 C-1과 C-2는 각각 평균  $1.4$ 와  $1.9 \text{ mg l}^{-1}$ 로  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  미만의 농도로 존재하였고 여러 무기영양염류 역시 매우 낮게 검출되어 조사대수층이 비영양환경의 특징을 지니고 있음을 확인하였다.

관정 A, B, C-1은 물리화학적 요인들의 분포가 매우 유사한 반면, 관정 C-2에서는 NPOC나 무기이온의 농도가 다른 관정들에 비해 높은 값을 나타내어 관정 A, B, C-1과는 통계적으로 구분되는( $p < 0.05$ , ANOVA) 독특한 수질의 특징을 나타내었다. 오염되지 않은 심층 지하수에서는 물리화학적 환경요인과 미생물학적 요인이 시간에 따라 크게 변하지 않는다(5, 12). 그러나 관정 C-2에서는 95년 12월, 96년 1월, 3월의 물리화학적 환경요인이 관정 A, B, C-1들에 비해 변화의 폭이 커으며 그 값들도 다른 관정들에 비해 높았다.

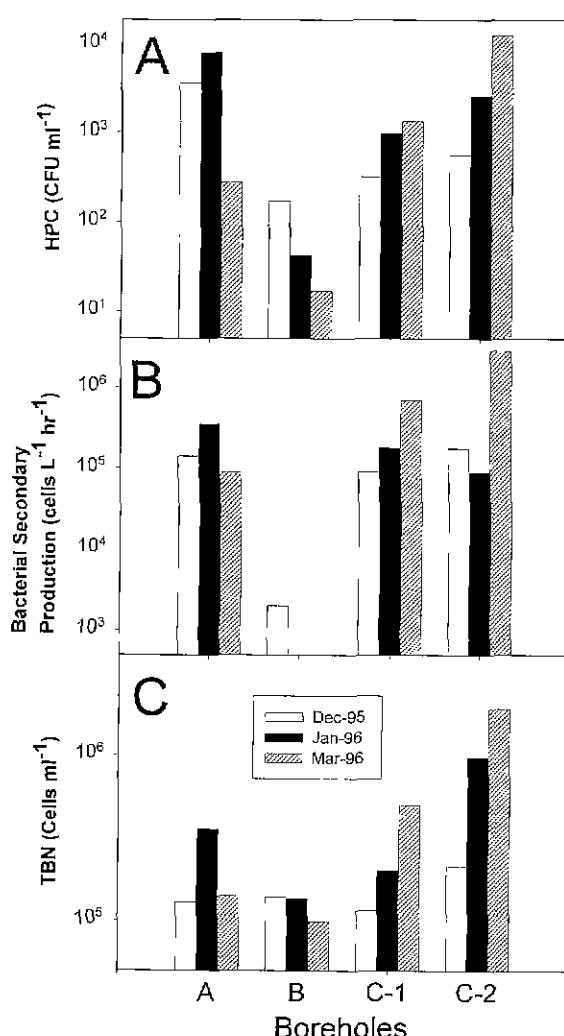
**Table 1.** Physicochemical characteristics of deep confined aquifers

|   | A <sup>a</sup>                | B                | C-1              | C-2              |
|---|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Temperature (°C)                        | 15.5-17.3 (15.5) <sup>c</sup> | 14.0-15.0 (14.3) | 14.5-16.0 (15.0) | 13.3-17.0 (15.3) |
| pH                                      | 6.9-7.3 (7.1)                 | 6.8-7.1 (6.9)    | 8.1-8.6 (8.3)    | 8.1-8.5 (8.3)    |
| Hardness (mg l <sup>-1</sup> )          | 196-240 (218)                 | 43-211 (102)     | 211-331 (284)    | 198-359 (297)    |
| NPOC <sup>b</sup> (mg l <sup>-1</sup> ) | 0.3-1.5 (0.9)                 | 0.5-1.7 (0.9)    | 0.9-1.8 (1.4)    | 1.4-2.5 (1.9)    |
| PO <sub>4</sub> (μg l <sup>-1</sup> )   | 0.1-3.1 (1.3)                 | 0.2-0.7 (0.5)    | 0.3-4.5 (2.4)    | 5.1-21.3 (13.0)  |
| NH <sub>4</sub> (μg l <sup>-1</sup> )   | 0.01-0.51 (0.23)              | 0.01-0.08 (0.05) | 0.02-0.53 (0.32) | 0.63-8.35 (3.74) |
| NO <sub>2</sub> (μg l <sup>-1</sup> )   | 1.9-26.1 (13.1)               | 1.9-4.5 (2.9)    | 2.5-15.1 (6.9)   | 19.3-56.1 (36.2) |
| NO <sub>3</sub> (μg l <sup>-1</sup> )   | 70-189 (127)                  | 6-360 (177)      | 150-986 (457)    | 569-2531 (1431)  |

<sup>a</sup>boreholes, <sup>b</sup>Non-purgeable organic carbon, <sup>c</sup>minimum-maximum (average) value

특히, 3월의 NPOC, 무기이온 및 세균수, 세균의 활성(Fig. 2)은 12월과 1월에 비해 매우 높게 나타나 지속적으로 지표수가 관정 C-2로 유입됨을 확인할 수 있었으며 또한 수온의 상승에 따른 세균활성의 증가현상을 관찰할 수 있었다. 생활하수나 분뇨에 의한 오염의 지표인 암모니아염 질소는 관정 C-2에서 3월에 8.35 μg l<sup>-1</sup>로 관정 A, B, C-1에서 조사된 최고치인 0.53 μg l<sup>-1</sup>를 크게 초과하였으며 지하수에서 다양으로 존재하며 청색증(blue baby syndrome)을 야기시키는 질산염 질소(28) 또한 관정 A, B, C-1에서는 모두 1.0 mg l<sup>-1</sup> 미만인데 비해 관정 C-2에서는 2.5 mg l<sup>-1</sup>로 높았다. 관정 C-1과 C-2는 지표상으로는 불과 50 m 밖에 떨어져 있지 않지만 관정 C-1은 산 중턱에 위치하고 있고 C-2는 경작지의 측면에 위치하고 있다. 또한 Fig. 1의 주상도에 따르면 관정 C-2에서는 파쇄대(fractured zone)가 발달되어 있다. 파쇄대 대수층에서는 연암층의 대수층에서보다 높은 투수계수(transmissibility coefficient)를 지니고 있어 지표로부터의 오염물질의 이동과 확산이 빠르다(21). 따라서 관정 C-2의 오염은 지리적 위치와 지질학적인 특징에서 기인된다고 할 수 있다.

종속영양세균수, 세균이차생산, 총세균수는 물리화학적 환경요인과 밀접한 관계를 지니며 분포하였으며 이들은 Fig. 2에 제시되어 있다. 관정 C-2에서는 종속영양세균수 및 총세균수는 질산염 질소와 가장 높은 상관관계(종속영양세균수,  $r^2=0.91$ ,  $p<0.1$ ; 총세균수,  $r^2=0.96$ ,  $p<0.05$ )를 나타냈다. 연구대상 대수층의 빈영양환경의 특징을 고려하여 사용된 R2A 배지에서 자란 종속영양세균수는 관정 B에서 평균  $7.7 \times 10^1$  CFU ml<sup>-1</sup>로 가장 적었으며, 관정 C-2에서는 평균  $5.3 \times 10^3$  CFU ml<sup>-1</sup> 수준이었다. 총세균수 및 세균이차생산도 관정 B에서 가장 적었으며 관정 C-2에서 가장 높은 값은 나타났다. 세균이차생산은 관정 B에서 세균의 활성을 제거한 대조군과 차이를 나타내지 않아 thymidine 편입법으로는 활성이 관찰되지 않을 정도로 미생물의 활성이 작았다. 전반적으로 총세균수는  $10^4$  cells ml<sup>-1</sup> 수준에서  $10^6$  cells ml<sup>-1</sup> 수준으로 분포하였다. 외국의 오염되지 않은 800 m의 깊은 화강암 지하수층의 총세균수인  $10^5$  cells ml<sup>-1</sup>(23) 수준과 비교하였을 때, 관정 B는 총세균수가 이보다 약간 적으며 관정 C-2는 이보다 더 많은 수준이라고 볼 수 있다. 오염되지 않은(pristine) 지하수에서 종속영양세균수는 100 CFU ml<sup>-1</sup> 이하로 나타나며 50 CFU ml<sup>-1</sup>을 넘지 않는다는 보고(15)로 보아 관정 B는 pristine한 지하수에 가깝다고 볼 수 있으며 나머지 관정들은 오염이 되었거나 진행되고 있는 지하수라-



**Fig. 2.** Comparisons of bacterial densities and activities of deep confined aquifers through the sampling periods. Panels A, heterotrophic plate counts; B, bacterial secondary production; C, total bacterial number.

고 관찰할 수 있다. 하지만, 종속영양세균수, 세균이차생산, 총세균수만으로는 지하수의 분변성 오염여부를 정확하게 판단하기란 어려우므로 종속영양세균의 동정과 지표세균의 분포를 조사하였다.

### 종속영양세균의 동정과 지표세균의 분포 : 지하수의 미생물학적 안전성

대수층의 지질학적인 특징과 지표에서의 지표수의 유입은 세균군집의 다양성과 종조성의 변화를 수반한다. 따라서 빈영양매지인 R2A배지에서 출현한 군주의 생리, 생화학적 동정을 통해 종조성을 살펴보았다. 종조성의 결과는 동정된 결과를 속(genus) 수준에서 재정리를 하여 Table 2에 나타내었다. 그람 염색의 결과, 관정 A, B, C-1, C-2에서 분리된 군주의 28.4%, 32.1%, 20.4%, 14.6%가 그람 양성으로 확인되었으며 지표수 유입의 영향을 받은 관정 C-2에서는 그람 양성 세균이 다른 관정에서보다 더 적게 분포하였다. 일반적으로 지하수에는 지표수보다 더 많은 그람 양성 세균이 존재한다고 알려져 있으며 지하수층에 존재하는 세균의 25-60%가 그람 양성세균이라는 보고도 있다(23). 관정 C-2에서 그람 양성세균이 다른 관정에서보다 상대적으로 적게 분포하는 것은 지표수에 존재하는 많은 수의 그람 음성 세균이 대수층으로 유입된 결과라고 판정되었다.

종속영양세균의 동정 결과 심층파입대수층에 항상적으로 존재하는 세균의 속과 지표수로부터 유입된 세균의 속들을 확인할 수 있었다. *Acinetobacter*, *Eikenella*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* 속들이 항상적으로 존재하고 있었으며, 가장 자주 출현하는 속들은 그람 음성세균의 경우 *Pseudomonas*, *Kingella*, *Acinetobacter*였으며 그람 양성세균은 *Micrococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* 속들이었다. 특이한 점은 자주 출현하는 속 중에서 일반적으로 지하수에는 존재하지 않는다고 보고된 세균들의 출현이었다. 이 중 대표적인 것으로서 그람 음성세균 중 Enterobacteriaceae group과 그람 양성 세균 중 *Staphylococcus*, *Enterococcus*를 들 수 있다. Enterobacteriaceae는 사람이나 동물의 장내와 배설물에 존재하므로 지하수에는 일반적으로 존재하지 않는 group(8)이며 *Staphylococcus*와 *Enterococcus* 역시 지하수에는 존재하지 않는 세균이기에 이들 종의 출현은 외부 오염원으로부터 지하수가 오염되어 있음을 나타내 준다. Capuano 등(8)은 *Staphylococcus*와 *Enterococcus*를 외부오염원으로부터 대수층의 오염을 알리는 하나의 지표로서 사용하였다. 그러므로 *Staphylococcus*와 *Enterococcus*를 직접 검출할 수 있는 방법을 지하수 군집구조의 분석에 적용하는 것은 지하수의 세균학적인 안전성 평가의 하나의 방법이 될 것이라 판단된다.

병원성 세균의 지표가 되며 지표수로부터 지하수로의 유입의 증거가 되는 지표세균의 분포는 Table 3에 제시되어 있다. 총대장균군은 12번의 조사에서 6회 검출되었으며 특히 관정 C-2에서는 250 ml에서 최고 61 CFU까지 검출되었다. 분변성대장균군 역시 관정 A, B, C-2에서 검출되었으며 fecal *Streptococcus*는 관정 B와 C-2에서 검출되었다. 지표세

**Table 3.** The abundance of indicator bacteria in deep confined aquifers

|  | A <sup>a</sup>       | B       | C-1     | C-2       |
|--|----------------------|---------|---------|-----------|
| Total coliforms<br>(CFU/250 ml)            | 0, 0, 4 <sup>b</sup> | 8, 0, 0 | 0, 0, 1 | 3, 18, 61 |
| Fecal coliforms<br>(CFU/250 ml)            | 0, 0, 2              | 3, 0, 0 | 0, 0, 0 | 2, 21, 34 |
| Fecal <i>Streptococcus</i><br>(CFU/250 ml) | 0, 0, 0              | 2, 1, 0 | 0, 0, 0 | 3, 21, 55 |

<sup>a</sup>boreholes, <sup>b</sup>the number of indicator bacteria in December-1995, January-1996, and February-1996 in sequential order.

**Table 2.** Summary of the genus of identified bacteria in deep confined aquifers

|                        | A <sup>a</sup>     |      |      |       | B    |      |      | C-1   |      |      | C-2  |      |      | sum |
|------------------------|--------------------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|------|------|-----|
|                        | 95/12 <sup>b</sup> | 96/2 | 96/3 | 95/12 | 96/3 | 96/1 | 96/3 | 95/12 | 96/1 | 96/3 | 96/1 | 96/3 | 96/1 |     |
| <i>Acinetobacter</i>   | 2 <sup>c</sup>     | 6    | 4    | 5     | 6    | 9    | 8    | 8     | 6    | 3    | 3    | 57   |      |     |
| <i>Chromobacterium</i> | 0                  | 0    | 1    | 1     | 0    | 0    | 0    | 0     | 0    | 0    | 0    | 2    |      |     |
| <i>Eikenella</i>       | 7                  | 10   | 3    | 7     | 3    | 14   | 4    | 4     | 13   | 3    | 3    | 68   |      |     |
| <i>Kingella</i>        | 1                  | 2    | 0    | 6     | 1    | 2    | 0    | 1     | 0    | 0    | 0    | 13   |      |     |
| <i>Moraxella</i>       | 3                  | 2    | 11   | 3     | 3    | 3    | 1    | 4     | 7    | 18   | 55   |      |      |     |
| <i>Neiseria</i>        | 2                  | 2    | 1    | 2     | 4    | 12   | 3    | 13    | 7    | 5    | 51   |      |      |     |
| <i>Pseudomonas</i>     | 2                  | 5    | 11   | 6     | 6    | 8    | 3    | 13    | 7    | 7    | 68   |      |      |     |
| <i>Achromobacter</i>   | 1                  | 0    | 1    | 0     | 0    | 1    | 2    | 1     | 0    | 1    | 7    |      |      |     |
| Enterobacteriaceae     | 0                  | 3    | 3    | 0     | 0    | 0    | 4    | 0     | 0    | 3    | 13   |      |      |     |
| <i>Bordetella</i>      | 0                  | 0    | 0    | 0     | 0    | 0    | 0    | 2     | 1    | 0    | 3    |      |      |     |
| <i>Flavobacterium</i>  | 0                  | 0    | 0    | 0     | 0    | 0    | 0    | 1     | 0    | 0    | 1    |      |      |     |
| <i>Pasteurella</i>     | 0                  | 0    | 0    | 0     | 0    | 0    | 2    | 0     | 0    | 0    | 2    |      |      |     |
| <i>Bacillus</i>        | 1                  | 1    | 5    | 4     | 1    | 1    | 1    | 1     | 1    | 2    | 18   |      |      |     |
| <i>Micrococcus</i>     | 1                  | 3    | 4    | 10    | 2    | 4    | 2    | 2     | 1    | 2    | 31   |      |      |     |
| <i>Streptococcus</i>   | 0                  | 1    | 0    | 2     | 1    | 2    | 0    | 0     | 0    | 2    | 8    |      |      |     |
| <i>Staphylococcus</i>  | 0                  | 2    | 2    | 1     | 0    | 0    | 3    | 0     | 1    | 2    | 11   |      |      |     |
| <i>Aerococcus</i>      | 2                  | 1    | 4    | 2     | 1    | 2    | 2    | 2     | 0    | 0    | 16   |      |      |     |
| <i>Enterococcus</i>    | 0                  | 0    | 6    | 0     | 1    | 3    | 0    | 2     | 1    | 3    | 16   |      |      |     |
| Unidentified           | 2                  | 2    | 1    | 2     | 4    | 13   | 3    | 13    | 7    | 6    | 53   |      |      |     |
| sum                    | 22                 | 38   | 56   | 49    | 29   | 62   | 35   | 54    | 45   | 52   | 442  |      |      |     |

<sup>a</sup>boreholes, <sup>b</sup>sampling time, <sup>c</sup>the number of identified isolates.

균의 검출결과에서도 관정 C-2에 분변성 오염물질이 포함된 지표수가 유입됨을 확인할 수 있었다. 총대장균군이나 분변성대장균군의 선택배지로 이용되는 m-Endo 배지와 m-FC 배지는 이미 국제적으로 공인되고 있는 배지이기에 이를 배지에서 양성으로 판명된 군체를 동정하지 않고도 지표세균으로 유용하게 쓸 수가 있으나(2) 새로운 지표세균으로 제시된 *fecal Streptococcus*의 경우는 동정을 통한 확인이 필요하므로 MIDI로 동정을 수행하였다. 동정을 수행한 결과 m-Enterococcus agar에서 자란 군체 중 80개 중 79개가 모두 *fecal Streptococcus*의 subgroup인 *Enterococcus* 그룹에 속했으며 이 중 56개는 *Enterococcus faecalis*(*Streptococcus faecalis*)와 *Enterococcus faecium*(*Streptococcus faecium*)였다. 특히 *E. faecalis*와 *E. faecium*은 빈영양 수환경에서 오래 생존한다는 보고(10)로 미루어 보아 빈영양 지하수에 유입되어 오래 생존하여 많은 수가 검출된 것으로 판단된다.

이상의 연구결과로써 분변성 오염이 존재하지 않을 것이라 예상되던 심층피압대수층에도 분변성 오염이 실재함이 밝혀졌다. 본 연구에서 체수한 지하수는 먹는샘물의 원수로 사용하기 위하여 개발된 관정이다. 국내의 먹는샘물기준에 따르면 250 ml에서 총대장균군, 분변성대장균군, *fecal Streptococcus*, *Salmonella*, *Shigella* 등이 존재해서는 안된다. 본 연구결과로 볼 때, 관정 C-2는 먹는샘물로서는 사용해서는 안되며 관정 A, B, C-1과 C-2도 세균학적인 안전성에 문제가 있음이 판명되었다. 미국의 경우에 분변성 오염을 조사한 지하수 콩 600개 중 350개에서 분변성 오염이 존재했다는 보고(16)로 보아 국내의 지하수 오염 역시 예상보다 더 심각할 것으로 보인다. 따라서, 본 연구결과를 기초로 하여 심층피압대수층으로 분변성 오염물질이 유입되는 경로와 지하수 매질에서의 이동, 세균 뿐만이 아니라 원생동물, virus의 분포 및 생존 등에 대한 연구가 이후에 진행되어야 할 것이다.

### 감사의 말

이 연구는 환경부 주관 G7 환경공학기술개발사업(9-2-4)의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

### 참고문헌

- 정 용, 구자진, 이자경. 1993. 지하수 환경기준 및 지하수오염 판정 기준설정에 대한 연구. 한국환경과학협의회.
- APHA-AWWA-WEF. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
- Appelo, C.A.J. and D. Postma. 1994. Geochemistry, groundwater and pollution. Balkema, Rotterdam
- Balkwill, D.L., J.K. Fredrickson and J.M. Thomas. 1989. Vertical and horizontal variations in the physiological diversity of the aerobic chemoheterotrophic bacterial microflora in deep southeast costal plain subsurface sediments. *Appl Environ Microbiol.* **55**, 1058-1065.
- Bitton, G. and C. P. Gerba. 1984. Groundwater pollution microbiology. John Wiley & Sons, New York.
- Bratbak, G. 1985. Bacterial biovolume and biomass estimation. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**, 1488-1493.
- Brown, D.A., D.C. Kamineni, J.A. Sawicki and T.J. Beveridge. 1994. Minerals associated with biofilms occurring on exposed rock in a granite underground research laboratory. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 3182-3191.
- Capuano, R.M., M.A. Siringan, R.Z. Jan and P. Jurshuk. 1995. Enhanced activity of oligotrophic endogenous bacteria in clay-rich sediments by nutrients injection. *Geomicrobiology J.* **13**, 165-179.
- Chapelle, F.H. and D.R. Lovely. 1990. Rates of microbial metabolism in deep costal plain aquifers. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1865-1874.
- Feacham, R. 1975. An improved role for faecal coliform to faecal streptococci ratios in the differentiation between human and nonhuman pollution sources. *Water Res.* **9**, 689.
- Fredrickson, J.K., F.J. Brockman, B.N. Bjornstad, P.E. Long, S.W. Li, J.P. McKinley, J.V. Wright, J.L. Conca, T.L. Kieft and D.L. Balkwill. 1993. Microbiological characteristics of pristine and contaminated deep vadose sediments from arid and arid Region. *Geomicrobiology J.* **11**, 95-107.
- Freeze, R.A. and J.A. Cherry. 1979. Groundwater. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall.
- Fuhrman, J.A. and F. Azam. 1982 Thymidine incorporation as a measure of bacterioplankton production in marine surface waters. *Mar. Biol.* **66**, 109-120.
- Krieg, N.R. 1984. Bergey's manual of systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, London.
- Köbel-Böelke, J., E.-M. Anders and A. Nehrkon. 1988. Microbial communities in the saturated groundwater environment II: Diversity of bacterial communities in a pleistocene sand aquifer and their in vitro activities. *Microb. Ecol.* **16**, 31-48.
- Macler, B.A. and F.W. Pontius. 1997. Update on the groundwater disinfection rule. *Jour. AWWA.* **89**, 16-22.
- Marmonier, P., P. Vervier, J. Gibert and M.J. Dole-Olivier. 1994. Biodiversity in groundwaters. *TREE* **11**, 392-395.
- Matthess, G. and A. Pekdeger. 1981. Concepts of a survival and transport model of pathogenic bacteria and virus in groundwater. *The science of the total Environments* **21**, 149-159.
- Murphy, E.M., J.A. Schramke, J.K. Fredrickson, H.W. Bledsoe, A.J. Francis, D.S. Sklarew and J.C. Linehan. 1992. The influence of microbial activity and sedimentary organic carbon on the isotope geochemistry of the Mid-dendorf aquifer. *Water Resour. Res.* **28**, 723-740.
- Nasser, A.M., Y. Tchorch and B. Fattal. 1993. Comparative survival of *E. coli* F<sup>+</sup> Bacteriophage HAV and poliovirus 1. *Wastewater and groundwater* **27**, 401-407.
- Noonan, D.C. and J.T. Curtis. 1990. Groundwater remediation and petroleum: A guide for underground storage tanks. Lewis Publishers, London.
- Parsons, T.R., Y. Maita and C.M. Lalli. 1984. A manual of chemical and biological methods for sea water analysis. Pergamon Press, New York.
- Pedersen, K. and S. Ekendahl. 1990. Distribution and activity of bacteria in deep granitic groundwaters of Southeastern Sweden. *Microb. Ecol.* **20**, 37-52.
- Pederson, K. and S. Ekendahl. 1992. Assimilation of CO<sub>2</sub> and introduced organic compounds by bacterial communites

- ties in groundwater from Southeastern Sweden deep crystalline bedrock. *Microb. Ecol.* **23**, 1-14.
25. Phelps, J.M., C.B. Fliermans, T.R. Garland, S.M. priffin-er and D.C. White. 1989. Methods for recovery for deep terrestrial subsurface sediments for microbiological studies. *J. Microbiol. Methods* **9**, 267-269.
  26. Reasoner, D.J. and E.E. Geldreich. 1985. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**, 1-17.
  27. Russel, C.E., R. Jacobson., D.L. Haldeman. and P.S. Amy. 1994. Heterogeneity of deep subsurface microorganisms and correlations to hydrogeological and geochemical parameters. *Geomicrobiology J.* **12**, 37-51.
  28. Stuart, M.A., F.J. Rich and G.A. Bishop. 1995. Survey of nitrate contamination in shallow domestic drinking water wells of the inner coastal plain of Georgia. *Groundwater* **33**, 284-290.
  29. Thomas, J.M. and C.H. Ward. 1992. Subsurface microbial ecology and bioremediation. *J. Hazard. Materials* **32**, 172-179.
  30. Watson, S.W., T.J. Novitskky, H.L. Quinby and F.W. Valois. 1977. Determination of bacterial number and biomass in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**, 940-946.
  31. Zacheus, O.M. and P.J. Martikainen. 1997. Physico-chemical quality of drinking and hot waters in Finnish buildings originated from groundwater or surface water plants. *The science of the total environment* **204**, 1-10.

(Received November 16, 1998/Accepted December 26, 1998)

---

## ABSTRACT: Evaluation of Bacteriological Safety in Deep Confined Aquifer

**Jang-Cheon Cho and Sang-Jong Kim\*** (Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea)

The study on the bacterial distribution was performed to evaluate the bacteriological safety in 4 deep confined aquifers drilled for drinking. All the investigated aquifers were oligotrophic, however, bacterial densities and activities and the number of indicator bacteria in C-2 boreholes were much higher than those in other boreholes. Fecal pollution was observed in 3 boreholes except C-1 borehole. The ratio of gram positive bacteria of the C-2 borehole was much lower than those of another boreholes. The numbers of total coliforms, fecal coliforms, and fecal *Streptococcus* in the C-2 boreholes were 61, 33, 55 CFU (250 ml)<sup>-1</sup>, respectively. The most frequently isolated genera in the deep confined aquifers were *Acinetobacter*, *Eikenella*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, or *Micrococcus*. The groups of Enterobacteriaceae, *Staphylococcus* and *Enterococcus*, which were generally known as non-existing organisms in aquifers, were found in the studied aquifers. From these results, it was expected that the surface water containing fecal pollutants has discharged into the aquifers.