

## 자연수 및 먹는 물 중의 생물학적 분해가능한 용존유기탄소의 측정방법 개선에 관한 연구

이윤진 · 윤재섭\* · 박준석 · 남상호  
아전국대학교 환경공학과 · (주)그린기술산업\*

## Upgrading the Measurement Method of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Natural Water or Drinking Water

Yoon Jin Lee · Jae Seop Yun\* · Joon seok Park · Sang Ho Nam  
*Department of Environment Engineering, Konkuk University*  
*Green Engineering & Construction Co., LTD.\**

### Abstract

It is well known that bioassay on the low organic matters in water have developed from the two methods. One is assimilable organic carbon(AOC) that makes use of the maximum growth biomass of the pure strains for the standard substrates, the other is biodegradable dissolved organic carbon(BDOC) that determines the fraction of dissolved organic carbon(DOC) available for microbial utilization.

The purpose of this study was to upgrade the measurement method of BDOC in natural water or drinking water. BDOC was determined by means of the bacterial growth and the DOC decrease at the same time. The origin inoculums were used to the suspended bacteria from Han River water.

The initial optimum biomass and incubation time for initial DOC were induced by variation of nutrient repression and inoculums. The time reached to minimum DOC was selected as incubation time. The initial optimum biomass for Han river water was about 1000~5000 CFU/mL, respectively. In a sufficient biomass, suitable incubation time was about 3~5 day.

It was indirectly calculated BDOC on maximum growth rate by measuring growth yield of indigenous bacteria. But it was difficult to adapt growth yield coefficient because of irregular bacterial growth.

The measured 3 day BDOC was close to BDOC calculated with our proposed experimental equation between DOC and BDOC. It shows that the quantification of BDOC with this experimental equation can be used indirectly.

## I. 서 론

생물학적으로 분해가능한 유기탄소는 배양수 계통에 미생물의 재증식을 일으킬 수 있으며 이를 제어하기 위해서 고농도의 염소를 주입하게 되면 인체에 유해한 소독부산물을 형성시킬 수 있으며 정수의 pH를 감소시켜 상수관재의 부식을 초래할 수 있다.<sup>1,2)</sup>

자연수 중의 유기물은 매우 저농도로 존재하고 이 중 생물학적으로 분해가능한 유기물은 매우 낮아, 일반적 유기물 정량법인 BOD 및 COD로는 정확한 측정이 어렵다.<sup>3)</sup> 선진 외국에서는 생물학적으로 분해 가능한 유기물의 분석방법에 대한 연구가 상당히 진행되어 왔으나, 아직까지 체계적인 평가기준이 정해져 있지 않고, 연구자들마다 서로 다른 정량법을 제시하고 있다.<sup>4-6)</sup> 국내에서도 최근 그 필요성이 높아지고 있어 이에 대한 관심이 높아지고 있으나 아직까지 연구결과가 미미한 실정이다. 그 대표적인 분석방법으로는 생물학적 분해가능한 용존유기탄소(Biodegradable Dissolved Organic Carbon)와 탄소동화 가능한 유기탄소(Assimilable Organic Carbon)분석방법이 있다.<sup>7,8)</sup>

BDOC는 연구자들마다 배양시간, 접종량 등이 다소 차이가 있으나, 시료를 여과멸균시키고, 미생물을 접종하여 일정 기간 배양하여 정량한다. Servais 등<sup>8)</sup>은 세느 강물을 대상으로 2  $\mu\text{m}$ 의 여지에 여과한 후, 이 접종액(indigenous mixed bacteria)을 여과멸균된 시료 500 mL당 3~5 mL을 접종하여, 20°C의 암실에서 28일간 배양하여 BDOC를 측정하였다. Joret 등<sup>4)</sup>은 미생물이 부착된 모래(Biological Activated Sand; BAS)를 여재로 이용하여 여과멸균된 시료 300mL을 넣고 약 8일간 배양하였다. Murply 등<sup>9)</sup>은 종속영양세균이 이용할 수 있는 DOC를 BDOC라 정의하였으며, Frias는 시료를 생물막이 부착된 여재에 연속적으로 순환시켜 감소한 DOC 농도 차를 이용하여 BDOC를 측정하였다.<sup>6)</sup>

AOC는 일반적으로 Acetate, Oxalate와 같은 표준기질에서 일정시간 배양 후, 순수 미생물종의 최대증식량을 측정하여 증식계수를 구한다. 이 증식계수를 이용하여 실제 시료에서 공시균주의 최

대증식량으로 미생물에 의해 이용된 유기물농도를 산출한다.<sup>10)</sup> Van der Kooij 등<sup>10)</sup>은 60°C에서 30분간 저온멸균한 시료에 *Pseudomonas fluorescens*, *Spirillum*과 같은 순수미생물을 접종하여, 4~8일 배양후 최대 미생물증식량을 측정하였다. 공시균주의 증식계수를 이용한 AOC의 경우, acetate와 oxalate 등의 표준기질이 다양하고 복잡한 자연수의 유기물을 대표할 수 없으며, 공시균주는 자연수에 존재하는 혼합미생물의 증식과 비교할 수 없는 단점이 있다.<sup>11)</sup>

본 연구에서는 현재까지 명확하게 표준방법이 제시되어 있지 않은 자연수 및 먹는 물에서의 BDOC 측정 방법에 대해 최적 접종량 및 배양시간 등을 도출하여 이를 체계화하는 데 있다. 또한 증식계수 및 DOC와 BDOC와의 관계식을 도출하여 이를 이용하여 BDOC를 산출하고 이에 대해 비교·검토한다.

## II. 실험장치 및 방법

### 1. 실험 재료

본 연구의 접종액은 한강수계의 영동대교 인근에서 임의채취 방법으로 채수하여 수중의 원생동물을 제거하기 위해 공극 2.5  $\mu\text{m}$ 의 여과지(Wattman No. 42)로 여과한 후 4°C이하의 저온암실에 보관하였다. 실험에 이용하는 초자들은 황산원액에 24시간 방치한 후 증류수로 수회 세척하여, 60°C에서 2시간 이상 건조시킨 후 550°C에서 1시간 열처리 하여 유기탄소를 제거하였다. 0.45  $\mu\text{m}$  공극의 PVDF(polyvinylidene defloride)로 여과한 접종액 500 mL를 갈색경질유리 배양병에 첨가한 후 온도 20 $\pm$ 1°C에서 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20일 동안 시료를 배양하였다.

### 2. 분석 방법

DOC는 시료를 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 combustion/non-dispersive detection방식인 TOC-analyzer(TOC 5000, Shimadzu)로 Table 1과 같은 분석조건에서 측정하였다. BDOC는 배양 초기와 배양 이후의 DOC 농도 차이로 산정하였다.

Table 1. Operating Conditions for the TOC Analyzer.

Item	Analyzing Condition
TC Catalyst	High Sensitive
TC Furnace Temperature	680°C
Cyringe Size	250 $\mu$ L
Number of Washes	4
Number of Injects	4
Max Number of Injects	5
Carrier Gas	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>
SD(standard deviation)	200
CV(%)	2.0

UV254는 10 mm cell을 이용하여 UV-Visible Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu)를 이용하여 파장 254 nm에서 측정하였다. 일반세균(HPC)은 빈 영양배지인 표준한천배지에 평판도말법으로 접종하였고 35 $\pm$ 2 °C에서 48 $\pm$ 2hr동안 배양한 후 집락수를 세어 CFU(Colony Forming Unit/mL) 단위로 나타내었다.<sup>12)</sup>

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 용존 유기탄소의 측정방법 고찰

수중의 유기탄소는 총 탄소와 무기탄소의 차이로 산정하거나 시료의 pH를 2이하로 감소시켜 순수 가스로 무기탄소를 제거한 후 NPOC를 측정하는 방법에 의해 분석된다.

한강수에 대하여 두 측정방법을 이용하여 분석한 결과는 Table. 2와 같다. TC-IC 및 NPOC로 용존 유기탄소를 정량한 값들은 각각 2.85, 1.91 mg/L로 전자의 값이 보다 높은 값을 나타냈으며 표준편차는 각각 0.52, 0.09 mg/L로 NPOC로 측정하는 값이 재현성이 더 높았다. 지표수 및 지하수에서 총유기탄소에 대한 VOC(Volatile organic carbon)는 무시할 정도로 낮은 것으로 보고되고 있다.<sup>13)</sup> 따라서, 본 연구에서 용존유기탄소의 측정에 NPOC를 도입하였다.

Table 2. Comparison between TC-IC and NPOC for the Han River.

	TC-IC(mg/L)	NPOC(mg/L)
1	2.350	2.075
2	2.751	1.834
3	3.127	1.873
4	3.765	1.933
5	2.259	1.827
Mean	2.850	1.908
S. D	0.522	0.091

#### 2. 초기접종 미생물 농도에 따른 변화

BDOC의 측정시 최적 초기 접종 미생물의 농도를 구하기 위해 초기 미생물의 농도를 2.65 $\times$ 10<sup>2</sup>, 1.87 $\times$ 10<sup>3</sup>, 3.53 $\times$ 10<sup>4</sup> CFU/mL으로 변화시켜 주입한 후 각 배양시간에서 용존 유기탄소 및 일반세균의 농도를 도시하면 Fig. 1, 2와 같다.

배양 시간에 따른 용존 유기물의 농도는 초기 주입 미생물농도에 따라 큰 영향을 받지 않았다. 용존 유기물은 배양 3일에 최소의 농도를 나타내었다. 배양 5일에서 주입 미생물이 2.65 $\times$ 10<sup>2</sup>, 1.87 $\times$ 10<sup>3</sup>, 3.53 $\times$ 10<sup>4</sup> CFU/mL일때 용존 유기물 농도는 각각 1.84, 1.85, 1.91, 1.91 mg/L이었고 배양 20일 이후에는 각각 1.81, 1.84, 1.87, 1.84 mg/L로 배양 5일 이후에 용존 유기물의 농도는 0.01~0.06 mg/L 범위에서 소폭 감소하였다. 이러한 현상은 접종한 미생물이 한강수에서 채취한 충분히 순화된 미생물을 접종하였기 때문이라고 생각된다.

미생물 농도는 초기에 접종한 미생물 농도가 2.65 $\times$ 10<sup>2</sup>, 1.87 $\times$ 10<sup>3</sup> CFU/mL일때 배양 2일 후 각각 6.9 $\times$ 10<sup>4</sup>, 1.2 $\times$ 10<sup>5</sup> CFU/mL로 최대로 증식하였으나, 3.53 $\times$ 10<sup>4</sup> CFU/mL의 미생물을 접종한 경우에는 Fig. 2에서와 같이 미생물의 대수성장기와 감소성장기가 거의 구분되지 않았다.

Servais<sup>3)</sup>는 BDOC 측정시 접종액은 충분한 미생물을 주입하는데 그 목적이 있으며 접종시료의 양은 전체 시료의 1%이어야 한다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 한강수의 경우 미생물접종량 변화는 BDOC측정에 직접적인 영향을 주지 않았고 약

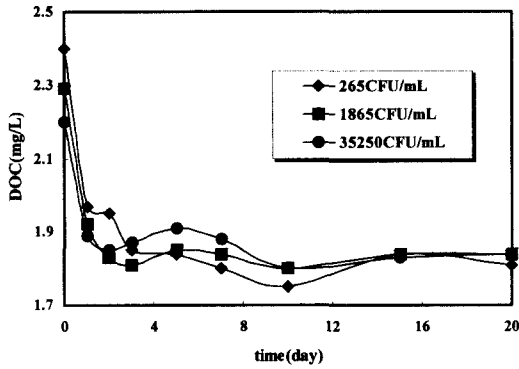


Fig. 1. Variations of dissolved organic carbon depending on initial bacterial biomass.

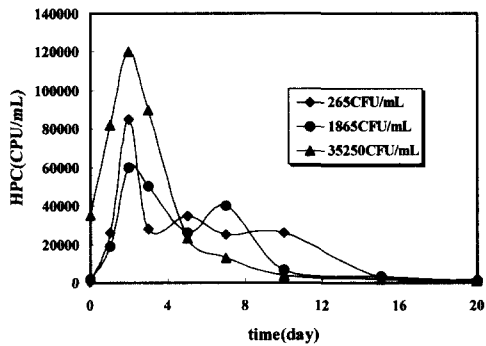


Fig. 2. Variations of the amount of bacterial biomass depending on initial dosing bacterial biomass.

1000~5000 CFU/mL의 한강수를 2~5 mL를 접종하므로써 편리하게 일정한 미생물량을 유지시킬 수 있었다.

### 3. 용존 유기물의 농도에 따른 변화

BDOC 측정시 초기 DOC 조건과 배양시간과의 관계를 고찰하기 위하여 미생물 접종량이 동일한 조건에서 초기 DOC 농도를 변화시켰을 경우의 미생물 증식율과 용존유기탄소의 변화를 고찰한 결과는 Fig. 3과 같았다.

미생물은 초기 용존유기탄소의 농도에 관계없이

반응 3일에 최대 증식했으며 그 후에 감소하던 미생물의 수는 SMPs에 의해 소폭 증가하는 현상을 보였다. 초기 용존 유기물의 농도가 2.23, 2.45, 3.51 mg/L일 때 초기 미생물의 농도는 각각  $3.7 \times 10^3$ ,  $4.3 \times 10^3$ ,  $4.5 \times 10^3$  CFU/mL이었고 미생물의 농도가 최대 증식한 반응 3일에는 각각  $6.0 \times 10^4$ ,  $1.3 \times 10^5$ ,  $2.4 \times 10^5$  CFU/mL이었다. 배양 10일 이후의 초기 용존 유기물 농도가 2.23, 2.45, 3.51 mg/L일 때 각각  $1.8 \times 10^3$ ,  $4.6 \times 10^2$ ,  $2.1 \times 10^3$  CFU/mL으로 배양 초기 미생물수보다 낮았다.

미생물의 변화와 동일하게 용존유기탄소는 최대 증식량을 나타낸 반응 3일 이후에 점차 감소하였고 미생물이 소폭 증가하는 추세를 보이던 배양 15일에 용존유기탄소도 최소값에 비해 증가하는 현상을 보였다. 초기 용존 유기물의 농도가 2.23, 2.45, 3.51 mg/L일 때 용존유기탄소의 농도가 최소가 되었던 배양시간 3일에서의 용존 유기물의 농도는 각각 1.9, 2.0, 2.0 mg/L이었다.

Servais<sup>3)</sup>은 BDOC 측정을 위한 배양기간을 약 20~30일로 보고한 바 있다. 그러나, 본 연구결과로부터 초기 3~5일 이후의 DOC 변동 폭은 0.1 mg/L 이내로 저농도의 생물학적 분해가능한 유기물 측정의 신속성을 고려한다면 배양기간은 초기 농도에 관계없이 약 3~5일이 적절할 것으로 생각된다.

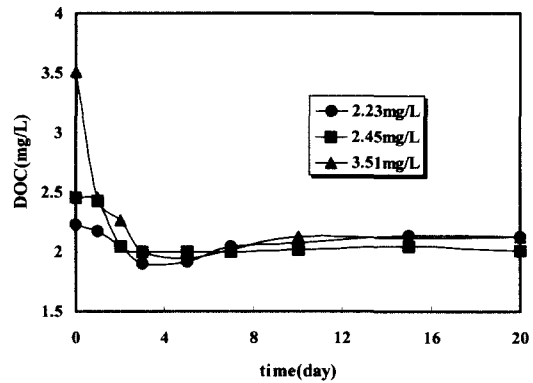


Fig. 3. Variations of DOC depending on initial DOC.

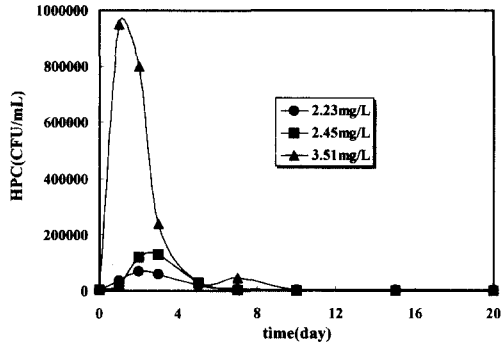


Fig. 4. Variations of the amount of bacterial biomass depending on initial DOC.

#### 4. 증식계수 및 용존유기탄소와 상관성 비교

AOC(Assimilable organic carbon)는 표준기질에 대한 공시균주의 증식계수를 이용한 생물학적으로 분해가능한 유기물을 정량하는 방법이다. 이러한 증식계수와 BDOC와의 상관성을 고찰하기 위해 한강수중의 미생물의 증식계수를 Fig. 5와 같이 산정하여 보았다. 한강수 중의 증식계수는  $6.83 \times 10^8$  CFU/mg BDOC이었고 상관계수는 0.94로 나타났다. Joret 등<sup>4)</sup>은 공시균주 *Ps. fluorescens*(P17)를 이용하여 자연수에서의 증식계수를 산정한 결과  $8.3 \times 10^8$  CFU/mg BDOC이었다고 보고한 바 있다.

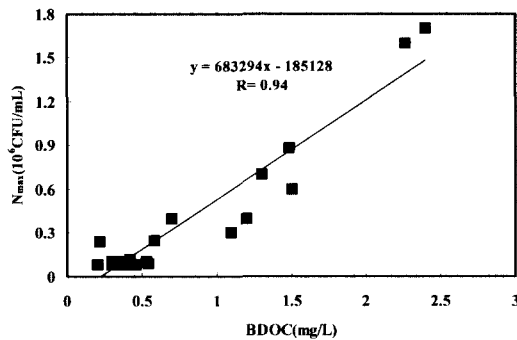


Fig. 5. Determination of growth yield for the Han River.

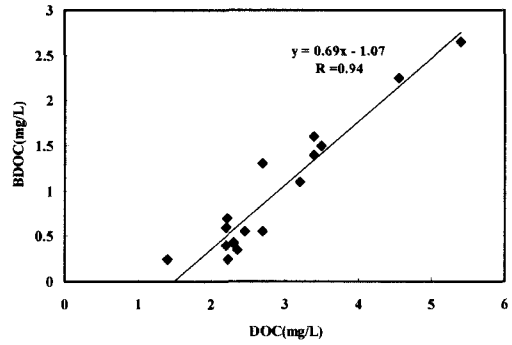


Fig. 6. Correlation between BDOC and DOC for the Han River.

한강수에서의 DOC와 BDOC와의 관계는 Fig. 6와 같이  $BDOC(mg/L) = 0.69DOC - 1.07$ 의 관계를 나타냈으며 상관계수는 0.94로 비교적 높았다. Kaplan은 지표수와 지하수를 대상으로  $BDOC = 0.105DOC + 0.054$ 의 관계를 보였다고 보고한 바 있다.<sup>14)</sup>

Fig. 5, 6의 결과를 토대로 미생물이 최대 증식한 배양일을 기준으로 실제 측정된 BDOC와 증식계수 및 DOC와 BDOC의 관계식을 이용하여 산출한 BDOC를 비교한 결과는 Table. 3과 같다.

자연수의 혼합부유미생물의 증식계수를 이용하여 BDOC를 산정한 결과 No. 1과 No. 3의 경우에는 3일의 BDOC와 유사하였으나, 나머지 경우는 매우 낮게 나타났다. 이러한 미생물의 불규칙한 증가는 AOC의 공시균주인 *Pseudomonas fluorescens*, *Spirillum*의 정량에서 문제점 중의 하나로 나타났다.<sup>15)</sup> 따라서, 미생물의 성장은 다양한 환경인자에 영향을 받으므로, 증식계수를 이용한 BDOC의 도출은 BDOC정량법으로 선택할 수 없다고 생각된다.

DOC와 BDOC의 상호관계식을 이용하여 산정한 BDOC는 3일 BDOC와 매우 근사한 값을 나타내었다. DOC 및 BDOC를 모니터링하여 경험적 관계식을 체계화시키면, DOC측정방법으로 BDOC의 간접적인 산정이 가능할 것으로 생각된다. Table 4에서 이상의 결과로부터 개선된 BDOC측정방법을 제시하였다.

Table 3. Comparison between observed and simulated BDOC for verification result if the growth yields and correlation equation between BDOC and DOC for the Han River.

	Initial DOC (mg/L)	Maximum of biomass (CFU/mL)	Observed BDOC after 3days (mg/L)	Observed BDOC after 5day (mg/L)	BDOC used growth yield	BDOC used Correlation between BDOC and DOC
No. 1	2.397	$7.31 \times 10^5$	0.627	0.293	0.585	0.799
No. 2	2.197	$2.75 \times 10^5$	0.404	0.263	0.447	0.131
No. 3	2.246	$4.28 \times 10^5$	0.399	0.320	0.481	0.355
No. 4	2.199	$1.41 \times 10^5$	0.433	0.265	0.449	-0.064
No. 5	2.208	$1.67 \times 10^5$	0.352	0.297	0.455	-0.027
No. 6	2.228	$2.86 \times 10^5$	0.423	0.176	0.469	0.148
No. 7	2.210	$2.02 \times 10^5$	0.101	0.319	0.456	0.024
Mean	2.410	$3.19 \times 10^5$	0.391	0.276	0.477	0.195
S. D	0.066	$1.90 \times 10^5$	0.144	0.046	0.045	0.278

4. BDOC와 미생물증식율과의 관계

Fig. 7은 일정량의 한강물중의 미생물을 배양시켜 최대값에 이른 값과 BDOC와의 관계를 도시한 것이다. 잔류염소가 존재하지 않는다고 가정한다면, BDOC가 약 0.2 mg/L에서도 미생물 증식이 가능하다는 것을 보여주고 있다. Van der kooij는 아세테이트 1 µg/L에서도 공시균주Pseudomonas fluorescens의 증식이 가능하다고 하였으며, 네델란드에서는 음용수의 미생물 재증식을 방지하기 위한 AOC농도를 10 µg/L이하로 규정하고 있다.<sup>10,16)</sup>

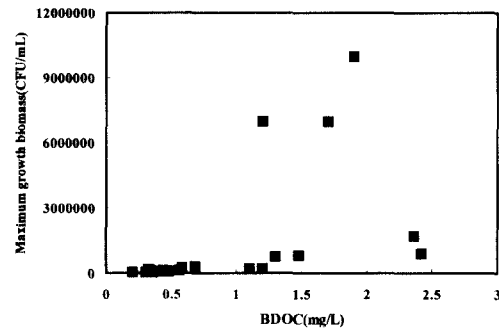


Fig. 7. Correlation between BDOC and DOC for the Han River.

Table 4. Improved BDOC measurement method.

Item	Existing measurement	Improved measurement
DOC measurement	TC-IC	NPOC
Initial dosing bacterial biomass	not presented	$1.0 \times 10^5 \sim 5.0 \times 10^5$ CFU/mL
Incubation time	28 day	3~5 day
Indirect estimation index	Growth yield coefficient	Correlation equation between BDOC and DOC

#### IV. 결론

본 연구는 현재까지 명확한 측정기준이 없는 자연수 및 음용수에 존재하는 저농도의 생물학적 분해가능한 용존유기탄소의 측정방법과 관련된 측정조건을 제시하고 현재 제시된 방법들에 대한개선방법을 도출하기 위해 수행되었다. 한강수를 대상으로 BDOC 배양시 DOC와 미생물의 농도변화를 측정하여 최적의 조건을 제시하고 AOC의 측정원리인 증식계수 및 용존유기물의 농도와의 상관식을 이용한 방법의 적용여부를 진단하여 보았다. 연구결과로부터 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 지금까지 연구된 BDOC 측정법에서 제시한 배양기간은 약 28일이었으며, 배양기간 선정과 미생물 접종량에 대한 정확한 근거가 없었으나 본 연구에서 한강수를 대상으로 측정한 결과 최적 배양기간은 3~5일이었다.

2. 초기 미생물의 접종량을  $2.65 \times 10^2 \sim 3.53 \times 10^4$ 의 범위에서 변화시켜 주입한 결과 미생물접종량 변화는 BDOC 측정에 직접적인 영향을 주지 않았고, 약  $1.0 \times 10^3 \sim 5.0 \times 10^3$  CFU/mL 범위의 한강수를 2~5mL를 접종하므로써 일정한 미생물량을 유지시킬 수 있었다. 이같은 결과는 BDOC 측정시 접종시료의 양은 전체 시료의 1%이어야 한다는 Servais의 연구결과와 상반된 결과를 보였다.

3. 한강수의 경우  $BDOC = 0.105DOC + 0.054$ 의 관계를 보였고, 이같은 관계식을 이용하여 산정된 BDOC는 실측한 3일 BDOC와 매우 근사한 값을 나타내었다. 따라서, DOC 및 BDOC를 모니터링하여 경험적 관계식을 체계화시키면, DOC 측정방법으로 BDOC의 간접적인 산정이 가능할 것으로 생각된다.

4. 한강수중의 유기물에 대한 미생물 증식계수 Y는  $6.8 \times 10^8$  CFU/mg BDOC이었다. 그러나, 증식계수를 이용한 BDOC정량법은 실제값보다 낮게 측정되어 그 값이 부정확하였다. 염소처리를 하지 않았을때 BDOC가 약 0.2 mg/L에서도 미생물 증식이 가능하였다.

#### 참고 문헌

1. Block, J. C., Mathieu, L., Servais, P., Fontvieille, D and Werner, P. : Indigenous Bacterial Inocula for Measuring the Biodegradable Dissolved Organic Carbon (BDOC) in Water, *Wat. Res.*, 26(4), 481-486, 1992.
2. Bonnet, M. C., Welte, B and Montiel, A. : Removal of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Water Treatment, *Wat. Res.*, 26(12), 1673-1680, 1992.
3. Servais, P. : Simple Method for Determination of Dissolved Organic in Water, *Applied and Environment Microbiology*, 55(10), 2732-2734, 1989.
4. Joret, J. C., Levi, Y and Volk, C. : Biodegradable Dissolved Organic Carbon (BDOC) Content of Drinking Water and Potential Regrowth of Bacteria, *Wat. Sci. Tech.*, 24(2), 95-101, 1991.
5. Prevost, A : Comparison of Biodegradable Organic Carbon(BDOC) Techniques for Process Control, *Aqua*, 41(3), 141-150, 1992.
6. Frias, J : A Method for the Measurement of Biodegradable Organic Carbon in Water, *Wat. Res.*, 26(2), 255-258, 1992.
7. Kemmy, F. A., Fry, J. C. and Bread, R. A. : Development and Operational implementation of a Modified and Simplified Method for Determination of Assimilable Organic Carbon(AOC) in Drinking Water, *Water. Sci. Tech.*, 21, 155-159, 1989
8. Servais, P., Billen, G. and Hascoet, M. C. : Determination of the Biodegradable Fraction of Dissolved Organic Matter in Water, *Wat. Res.*, 21(4), 445-450, 1987
9. Murphy, B., Amy, G., Siddiqui, M : Ozone-Induced Conversion of DBP Precursors(DOC) to Biodegradable by-Products(BDOC), *Proceedings of the 1993 AWWA Annual*

- Conference, 389-415, 1993.
10. Van der Kooij D. and Hijnen W. M. : Criteria for Defining the Biological Stability of Drinking Water as Determined with AOC Measurements, Proceedings of the AWWA Water Quality Technology Conference, 11-15, 1990.
  11. Tomas D. B and Michael T. M : Biology of Microorganisms(5th edition), Prentice-Hall, Inc., 315-323, 1988.
  12. Standard Method for Examination of Water and Wastewater(18th edition), APHA, AWWA, WEF, Washington, D.C., 1992.
  13. Pierre, S., : Determination of the Biodegradable Fraction of Dissolved Organic Matter in Water, *Wat. Res.*, 21(4), 445-450, 1987.
  14. Kaplan, L. A. : A survey of assimilable organic carbon, biodegradable organic carbon and coliform growth response in US drinking waters, *Revue des Sciences de L'eau, Journal of Water Science*, 5, 205-224, 1992.
  15. David, A. R. : The use of Chemical Surrogate for Assimilable Organic Carbon, Proceedings of the 1993 AWWA Annual Conference, 251-278, 1993.
  16. Cauchi, B., Billen, G and Servais, P. : The Elimination of Biodegradable Organic Carbon in Biological Contactor-Biological Carbon Filters, *Water Supply*, 11, 289-298, 1993.