

하수 방류수에서 대장균군의 검출방법의 비교

이미애 · 성일화*†

한국과학기술연구원 수질환경연구센터, *가천의과학대학교 보건환경시스템학과
(2007. 8. 28. 접수/2007. 10. 15. 채택)

Comparative Study on Detecting Methods for Total Coliform in Sewage Effluent

Mi-Ae Lee · Il-Wha Sung*†

Water Environment Research Center, Korea Institute of Science and Technology

*Department of Sanitary & Environmental System Engineering, Gachon University of Medicine and Science

(Received August 28, 2007/Accepted October 15, 2007)

ABSTRACT

The purposes of this study were to investigate the concentration of total coliforms in sewage effluents during the period from August 2004 to October 2005. The removal efficiency range of multi-tube method and plate count method were 31.3~99.5% and 66.8~99.2%, respectively. Though a correlation between the multi-tube method and the plate count method in the same sample is low, not only is an experimental procedure very simple, but the time required also is short. The seasonal correlation between methods showed more sensitive spring and summer than autumn and winter. So the study indicated plate count method can be used in rapid and reliance identification of total coliform more than the multi-tube method.

Keywords: total coliform, sewage effluent, correlation, MPN(the most probable number), CFU(colony-forming units)

I. 서 론

2005년 말을 기준으로 우리나라에서 가동되고 있는 하수종말처리시설은 294개소로서 시설용량은 22,469천톤/일이다. 이 중 72%는 생물학적 처리를 하고 있으며, 27%는 질소·인 처리를 위한 고도처리방법으로 나머지는 물리화학적 방법으로 처리하여 인근 하천이나 바다로 방류하고 있다.¹⁾ 따라서 생물학적 처리를 대부분을 차지하는데 생물학적 처리의 단점은 유입수의 부하조건에 변동이 심할 때 대처능력이 약하고, 탈질조가 없어 질소, 인의 처리에는 한계가 있다. 더구나 점차 중소도시 및 농어촌의 하·폐수에서 배출되는 질소, 인까지 고려하면 하천의 부영양화를 가중시켜 상수원으로서 수질등급을 떨어뜨리는 원인이 되므로 신설되는

하수처리장은 고도처리공법이 도입되고 있으며, 기존의 처리장도 질소, 인처리를 위한 고도처리로 개조 및 보완이 이루어지고 있다. 또한 하수종말처리장에서는 최종적으로 투입되는 염소소독은 최소한의 염소를 주입하여야 하지만 방류수에 남게 되는 과잉의 잔류염소의 농도는 담수 및 해양생태계에 영향을 미칠 수 있고, 염소소독을 하지 않을 경우는 하수처리수가 공공수역에 방류됨으로써 보건 위생적인 문제가 발생한다. 방류수 내의 대장균은 온도의 변화, 태양광선 및 환경요인인자 등에 의해 생존율이 지장을 받고는 있지만 하천수의 수질오염농도와 대장균의 생존기간의 상관관계가 높고, 방류수가 방류되는 지점의 하천의 오염도와는 밀접한 상관관계가 있음을 여러 연구에서 보여 주고 있다. 즉 오염된 하천에 미처리된 대장균이 흘러 들어가면 대장균의 생존율을 더욱 증가시켜 장기적으로 생존하게 되는 것이 이차적인 보건문제의 요인이 되고 있다. 그 외 질산화에 의한 고도처리를 한 방류수에서는 대장균의 농도가 낮아졌고, COD 농도는 대장균군 농도와 직접적인 상관관계가 높아 COD 감소율이 높으면 대장균군

†Corresponding author : Department of Sanitary & Environmental System Engineering, Gachon University of Medicine and Science

Tel: 82-32-820-4262, Fax: 82-32-820-4261

E-mail : iwsung@gachon.ac.kr

의 농도도 감소한다고 하였다.²⁾

더구나 2003년에 개정된 하수도법 시행규칙에 의하면 하수처리장, 분뇨처리장 등의 오·폐수를 종말처리할 때의 최종방류기준을 기존의 항목인 BOD, 총질소, 총인의 농도를 강화시켰을 뿐 아니라 COD와 대장균군수(3000개/ml)의 항목을 추가하였으며, 청정지역, 상수원보호구역 및 그 경계구역으로부터 상류로 유하거리 10 km 이내 지역 또한 취수시설로부터 상류로 유하거리 15 km 이내 지역은 대장균군수를 1000개/ml로 강화하여 적용한다고 하였다.

또한 수질환경보전법상 환경기준에 의하면 하천, 호소에서 총 대장균군(총대장균군수/100ml)을 생활환경 1등급에서는 50이하로, 2등급에서는 1,000이하로, 3등급에서는 5,000이하로 해역에서는 1, 2등급에서 모두 1,000로 강화하였다.

따라서 하수종말처리장 방류수에서의 방류수질기준에 적합여부를 판정하기 위해서 환경기준의 적합여부를 알기 위하여 연속측정을 해야 하는 이화학실험에 숙련된 사람이라도 대장균군 실험은 미생물실험으로 까다롭고 불편한 실험법상의 문제점이 있고, 수질환경공정시험법상에서는 최적확수시험법(MPN)과 막여과시험방법(MF), 평판집락시험방법 등이 있지만 기존의 자료들을 보면 최적확수시험법(MPN)으로 측정된 경우가 많은데 최적확수 시험법은 다람관을 넣은 시험관에 유당발효에 따른 산과 가스의 발생여부로 대장균을 확인하는데, 실험준비와 검사에 4일 이상의 시간이 소요되는 등 실험방법이 복잡하다. 이외에도 대장균군 검출방법으로 더 짧은 실험시간으로 대체할 수 있는 효소 발색법은 24-48 시간이 소요되어 분석이 간편하고 신속한 장점으로 정수장이나 급수 및 배수계통에서 미생물에 의한 수질오염이 의심되는 시기에 24시간 배양 후 판정하는 방법으로 긴급한 분변오염 파악을 위해 현장에서 바로 적용할 수 있어서 상대적으로 효과적이지만 재료비가 시험관법에 비해 3.7배가 비싸다는 단점이 있다.³⁾

따라서 간편하고 경제적인 실험에 적합한 평판집락시험방법은 적은량의 시료량을 취해야하는 단점이 있지만 간편한 실험방법 및 절차가 장점으로 대두되므로 본 실험에서는 하수를 고도처리하여 기존의 최적확수시험법과 평판집락시험법으로 방류수의 대장균군수를 비교 분석하여 간편하고 경제적인 방법을 제시하고자한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에서 사용한 시료는 구리하수종말처리장의 유

입수를 별도의 질소·인 제거를 위한 고도처리공정에서 처리 후의 유출수로서 2004년 8월부터 2005년 10월까지 대장균군 실험을 최적확수시험법과 평판집락법으로 수행하였다.

2. 분석방법

1) 대장균(최적확수시험법)

유당부이온(Lactose broth, LB) 배지와 다람발효관이 함께 멸균된 tube에 시료를 10, 1, 0.1, 0.01 ml의 희석단계별로 각 5개씩 접종하고, 35±1°C에서 24±2시간 배양하여 한 개 이상의 시험관에서 가스를 발생시킬 경우 대장균군 추정시험 양성으로 판단하고 반응이 없을 경우 48±2시간까지 배양하여 판단하였으며, 가스가 발생된 양성 발효관은 BGLB(Brilliant Green Lactose Bile) 배지에 이식하여 다시 35±1°C에서 24시간과 48시간 배양하고 가스생성을 확인하였다. 이때 가스가 발생된 양성관을 확정시험 양성으로 하였다.

대장균의 존재 여부가 분뇨오염의 지표로서 문제시되는 음료수의 경우와는 달리, 본 연구는 하수의 경우로서 농도나 처리효과 파악이 목적이므로 완전시험까지 실시하지 않고 확정시험까지만 시행하였다.

2) 대장균(평판집락 시험법)

멸균된 페트리디쉬에 시료를 10, 1, 0.1, 0.01 ml씩 단계별로 희석하고 각 희석단계마다 3개의 페트리디쉬에 접종한 후, 미리 준비하여 45°C로 가온한 데속시클레이트 한천배지(Desoxycholate Agar) 약 15 ml를 접종된 각 페트리디쉬에 넣은 후 굳기 전에 좌우로 10회 전 이상 흔들여 검액과 배지를 완전히 섞은 후 냉각하여 굳힌 다음 다시 3~5 ml의 배지를 넣어 배지표면을 얇게 덮은 후 35~37°C에서 24시간 배양하여 집락을 계수하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 유출수에서의 대장균군

구리하수종말처리장의 유입하수를 별도의 고도처리를 거친 유출수에 대한 대장균군을 최적확수시험법과 평판집락법으로 비교 실험한 1년간의 측정자료를 Table 1에 나타내었다.

유입수에서의 대장균군실험은 유입수가 생수로서 고농도이고 본 논문에서는 대장균군의 제거율보다는 하수도법에서 제시되는 방류수 수질기준에 적합여부가 더 관련이므로 유출수 실험할 때마다는 못하였고 계절별로 한 것을 평균 내었으며, 최적확수시험법에 의한 것

Table 1. The results of total coliform in effluents

Date	Coliforms		Date	Coliforms		Date	Coliforms	
	MPN/100 ml	CFU/ml		MPN/100 ml	CFU/ml		MPN/100 ml	CFU/ml
04'8.17	110	930	12.02	*	257	3.29	270	31
8.19	45	700	12.07	2400	137	3.31	*	138
8.24	250	234	12.09	*	112	4.07	*	195
8.26	130	760	12.14	3500	38	4.12	9200	139
8.31	3500	850	12.16	*	29	4.19	330	43
9.02	560	655	12.21	5400	117	4.26	520	133
9.07	1100	995	12.23	*	158	5.03	1100	39
9.09	490	1430	12.28	1300	104	5.1	330	80
9.14	*	1045	12.3	*	280	5.17	*	179
9.16	270	245	05'1.04	2400	119	5.24	1300	200
9.21	1700	110	1.06	*	102	5.31	2800	570
9.23	*	1460	1.11	5400	64	6.07	790	76
10.01	3300	86	1.13	*	156	6.14	270	129
10.05	2400	267	1.18	4300	400	6.28	140	840
10.07	78	89	1.2	*	263	7.05	790	260
10.12	3500	34	1.25	1400	203	7.12	790	168
10.14	*	32	1.27	*	695	7.26	490	152
10.19	490	109	2.01	9200	226	7.28	*	93
10.21	*	38	2.03	*	57	8.04	*	587
10.26	110	22	2.15	790	64	8.09	3500	230
10.28	*	26	2.17	*	290	8.16	1300	140
11.02	1300	22	2.22	*	155	8.23	490	88
11.04	*	380	2.24	*	352	8.3	330	172
11.09	11000	126	3.03	*	182	9.06	640	270
11.11	*	138	3.08	2400	118	9.13	*	1037
11.16	790	59	3.1	*	142	9.27	2400	610
11.18	*	111	3.15	1600	317	10.04	1400	640
11.23	4300	500	3.17	*	167	10.11	*	152
11.25	*	44	3.22	400	89	10.18	9200	178
11.3	16000	310	3.24	*	400	10.25	790	84

은 16,000 MPN/100 ml으로 평판집락법에 의한 것은 2,800 CFU/m으로 정하여 제거율을 산정하였다. 이 평균값을 적용하여 계산된 제거율은 최적확수시험법에서는 31.3~99.5%로 평균 86%이었고, 평판집락시험법에서는 66.8~99.2%로 평균 92%로 평판집락시험법에서 제거율이 더 높았다. 제거율로 보아서는 높지만 두 방법 간의 차이는 크지 않았다.

Fig. 1은 두 가지 방법으로 분석한 대장균군의 경시적인 변화를 나타낸 것으로 유입수를 고도처리를 한 후의 유출수에서 최적확수시험법에서는 45~16,000 MPN/100 ml의 범위를 보였으며, 평균은 2346 MPN/100 ml으로 값의 변화가 심하였다. 반면 평판집락시험법으로는 22~1460 CFU/ml의 범위에서 평균 305 CFU/ml로 최적확수시험법보다는 비교적 안정된 값을 보였으며 Table

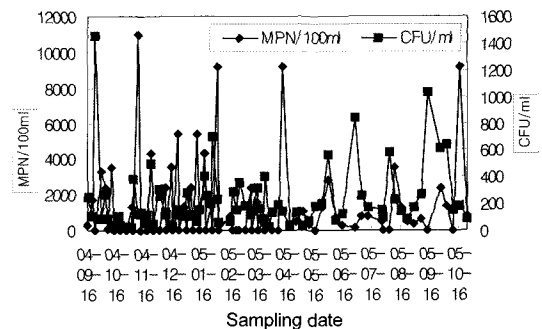


Fig. 1. Diagram of total coliform values.

2에는 월 평균값과 그 범위를 정리하여 Fig. 2에 나타내었다.

Table 2. Average of total coliform in effluents

Date	MPN/100 ml		CFU/ml	
	Mean	Range	Mean	Range
04 '8	807	45~3500	695	234~930
9	824	270~1700	849	110~1460
10	1646	78~3300	78	22~267
11	6678	790~16000	188	22~500
12	3150	1300~5400	137	29~280
05 '1	3375	1400~5400	250	64~695
2	4995	790~9200	191	57~352
3	1168	270~2400	176	31~400
4	3350	330~9200	128	43~195
5	1383	330~2800	214	39~570
6	400	140~790	348	76~840
7	690	490~790	168	93~260
8	1405	330~3500	243	88~587
9	1520	640~2400	639	270~1037
10	3797	790~9200	264	84~640

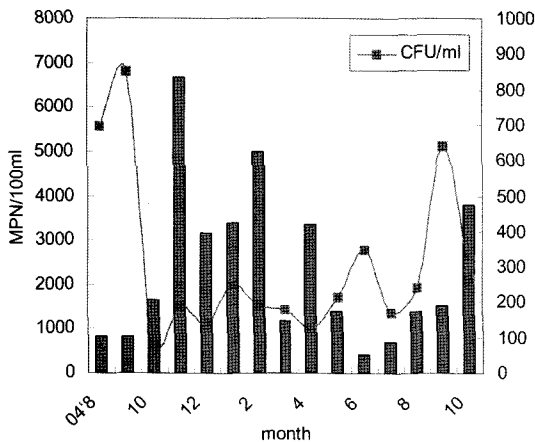


Fig. 2. Monthly change of total coliform.

우리나라 방류수 수질기준상의 대장균군의 규제농도는 청정지역의 경우는 1,000개/ml, 기타지역은 3,000개/ml 미만으로 규정되어 있는데 평판집락시험법으로는 유출수 시료 중에서 4.4%만이 청정지역 수질 기준을 벗어나고 95.6%는 1000 CFU/ml의 수질기준을 만족시켰다.

반면에 최적확수시험법으로 측정된 것에서는 농도변화가 심하였으며 CFU/ml는 집락수이고 MPN/100 ml 최적확수이므로 직접 비교해 보기에는 무리가 있지만 이 실험의 목적이 대장균을 실험을 연속적으로 해야 하는 경우와 처리공정개발을 위한 운전효율 검토를 측정하려는 실험에서 기존의 실험 결과와 비교할 때 또한 앞으로는 방류수수질기준에서 표현방식이 m²/당 대장균

군 개수로 표현하게 됨으로서 평판집락시험법이 더 신뢰성 있고 간편하고 빠른 실험결과를 나타낼 수 있는 방안임을 알 수 있었다.

또한 대장균군과 유기물의 상관관계를 연구한 논문에서 하수종말처리장 방류수에 대해서 대장균군과 COD 간에는 0.7이라는 높은 상관성을 나타내었는데 이는 유기물 농도가 높을수록 대장균군 농도도 높다는 것으로 유기물 제거에 대장균군도 영향이 크다는 것을 의미하는 것이며, 수온이 높으면 하수 원수중의 대장균군 농도가 증가하여 상대적으로 방류수의 대장균군의 농도도 상승함을 의미한다고 하였다.²⁾

점차 수질환경에 대한 요구가 커지는 상황에 맞춰 유기물은 물론 질소·인 제거의 효율을 높이는 고도처리에 있어서 앞으로 보건학적인 지표생물인 대장균군수 파악으로의 관점이 높아질 것으로 사료된다. 따라서 아무리 간편한 실험방법이라 할지라도 재료비나 실험경비를 판단하여 볼 때 경제성을 갖춘 시험법이 제시되어야 할 필요가 있다. 미생물 실험에는 미생물 증식에 필요한 시간이 주어져야 하고 멸균작업도 수행되어야 하므로 수질환경인자와 대장균군의 상관관계가 높고 실험이 간편하며 경제적인 장점을 가진 평판집락법이 크게 유리하게 제시된다.

2. 두 방법간의 대장균군에 대한 상관성

고도처리 유출수에 대하여 1년간의 대장균군 전체자료에 대해 최적확수법과 평판집락시험법 간에 존재하게 될 검사방법에 따른 상관성을 비교하여 Fig. 3에 나타내었다. 두 방법으로 측정된 자료가 정규분포를 이루지 못하므로 최적확수법과 평판집락시험법간의 상관관계를 spearman's rho(SPSS program V.14)로 분석하였을 때 두 변수간의 상관관계는 유의하지 않은 것으로

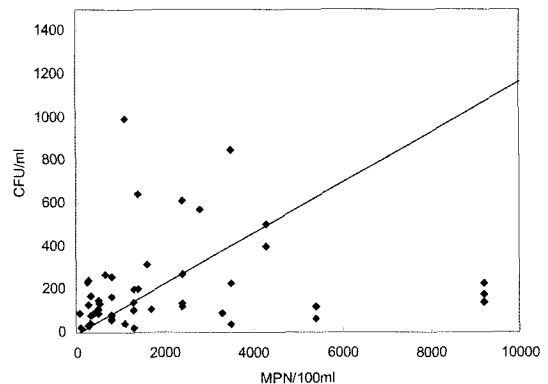


Fig. 3. Correlations between plate count method (CFU/ml) against multi-tube method (MPN/100 ml).

($r=0.081$, $P=0.380$) 나타났지만 최소자승법으로 구한 상관성은 R^2 가 0.28로 낮게 나타났다. 단위가 최적확수법은 MPN/100 ml이고, 평판집락법은 CFU/ml인 배지에 있는 집락의 수로 나타낸 것이라 직접 비교하기에는 무리가 있다. 그러나 평판집락법에 의한 대장균군의 결과치의 단위(CFU/ml)를 최적확수법의 단위(MPN/100 ml)와 동일하게 하기 위하여 평판집락법의 결과치에 100을 곱한 결과 상관관계는 R^2 가 0.28보다 더 낮아졌다.

따라서 본 실험에서 구한 두 방법간의 상관성의 의미는 회귀직선식을 구해 평판집락법 측정치를 가지고 최적확수법 측정값을 예측하기 보다는 기존의 최적확수방법이 많이 이용되기는 하나 방법이 지닌 단점으로 인해 간편하고 경제적인 평판집락법의 장점을 나타내기 위함이고, 또한 앞으로는 방류수 수질기준이 평판집락

법에 의한 대장균군으로 표현되어야 하기 때문이다.

김⁸⁾는 CFU/ml에 100을 곱한 평판집락법에 의한 총대장균군의 농도가 최적확수법을 이용한 총대장균군 농도값을 비교하였더니 500배 이상이 평판집락법에서 높았다고 하였다. 여기에 사용한 실험방법은 Standard Methods of the Heterotrophic Plate Count Method(9215C)의 변형인 Petrofilm을 보조수단으로 사용한 방법과 Multiple Tube Fermentation Technique(9213F)으로 본 연구방법과의 차이는 있다.

1년간의 전체자료에 대한 상관성이 낮은 것은 실외에 설치된 고도처리장치가 운전상 비정상상태일 때와 정상상태일 때의 모든 기간이 포함되어있고 온도에 민감한 미생물들의 활동에서 온 연유로 계절을 나누어 온도에 대한 영향을 보기 위하여 3월~5월까지의 data를 봄으로 구분하고 6월~8월까지의 자료를 여름으로 하여 계절에 대한 영향에 대해 알아보았고 Fig. 4에 나타내었다.

봄에는 R^2 가 0.58이었고 여름에는 R^2 가 0.48로 나타났으나 가을(R^2 가 0.014)과 겨울(R^2 가 0.078)에는 상대적으로 낮은 값을 보였다. 이는 대장균군 발생이 환경인자인 온도에 매우 민감하다는 것을 나타내며, 대장균군 발생에 영향을 주는 가장 큰 수질인자는 수온과 COD라고 한 연구결과²⁾와도 같은 맥락으로 대장균군 농도와 수온과의 밀접한 관계가 있음을 보여주었다.

IV. 결 론

대장균(*Escherichia coli*)은 인간이나 온혈동물의 분변에 함유된 총대장균의 90% 이상을 차지하므로 분변에 의한 오염을 지표하는 가장 정확하고 효과적인 지표세균이라 할 수 있으며, 93%의 국가에서 대장균을 지표 미생물로써 법적기준을 설정하여 하수방류수 환경에 대한 영향을 위생학적으로 평가하는데 폭넓게 적용되고 있으나, 우리나라 수질환경공정시험법상에서는 최적확수시험법(MPN)과 막여과시험방법(MF), 평판집락시험방법 등이 있다.

본 연구에서는 구리하수종말처리장의 유입수를 2004년 8월부터 2005년 10월까지 '질소·인 제거를 위한 고도처리공정'으로 처리한 후의 유출수에 대하여 대장균군 실험방법으로서 최적확수시험법과 평판집락시험법을 비교하여 두 방법 간의 관련성을 찾아보았다.

고도처리공정에서의 대장균군의 제거율은 최적확수시험법에서 31.3~99.5%로 평균 86%이고, 평판집락시험법에서는 66.8~99.2%로 평균 92%이었다.

평판집락시험법에 의한 측정치들이 최적확수시험법에

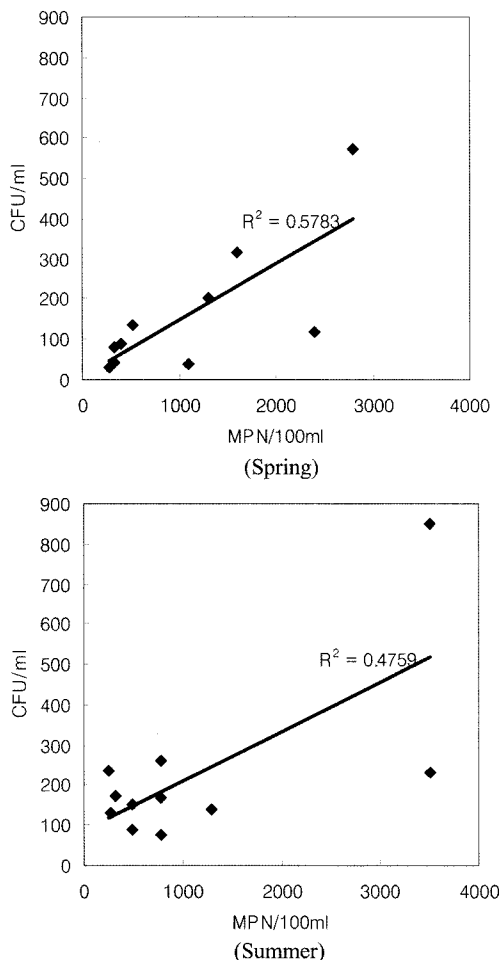


Fig. 4. Relationship between plate count method(CFU) and multi-tube method(MPN) in Spring and Summer.

의한 측정치보다 변화폭이 더 작았고 실험이 간편하고 경제적이라는 장점을 가지므로 방류수 수질기준의 적합여부를 판단할 때 대장균군 표현방법에서 더 편리하다고 판단되었다.

전체적인 자료에서는 최적확수시험법과 평판집락시험법간의 상관성은 낮았으나 계절적으로 구분하여 볼 때는 대장균군이 온도에 민감하여 봄과 여름의 상관성이 상대적으로 더 높게 나타났다.

참고문헌

1. 환경부, 환경백서, 2006.
2. 백영석, 손진식 : 하수방류수의 대장균군 발생에 영향을 미치는 수질인자에 관한 연구. 한국물환경학회지, **22(6)**, 166-171, 2006.
3. 황인달, 기노석, 정인호, 최문철, 이재형 : 만경강 주요 이화학적 검사 및 대장균군의 분포에 관한 연구. 한국환경위생학회지, **15(2)**, 11-23, 1989.
4. 박지은, 김선덕, 조주래, 김상현, 이혜진, 이영옥 : 지표수에서의 분변오염지표세균(대장균군) 검출방법의 비교연구. 한국물환경학회지, **22(6)**, 1052-1059, 2006.
5. 장현정, 이복영, 최선영, 이의광, 오세중, 박수환 : 먹는물의 대장균군 검출을 위한 시험관법, 막여과법, 효소발색법 동시 비교평가. 한국물환경학회지, **18(5)**, 501-508, 2002.
6. 정현미, 정원화, 박상정, 조일형, 임연택 : 먹는물 수질 강화를 위한 총대장균군 기준 및 분석방법 연구. 한국물환경학회·대한상수도학회, 공동추계학술발표회 논문집.
7. 강호, 신경숙, 김유리, 한범수 : 전자선조사를 이용한 하수처리장 방류수내 대장균 제거. 한국물환경학회, 상하수도학회 공동추계학술발표회 논문집, C87-C90, 2002.
8. 김건화 : 합류식 하수관거 월류수의 지표미생물 배출 특성. 상하수도학회지, **20(4)**, 627-635, 2006.
9. 최화순 : 수질중 대장균군의 분포비와 그 기준검토에 관한 연구. 서울대학교 보건대학원 석사논문, 1987.
10. 류승희, 박석기 : PCR법을 이용한 웅달샘물의 대장균군 및 대장균검출. 한국환경위생학회지, **28(2)**, 193-202, 2002.
11. 정완영 : 하수처리장에서의 대장균제거방안에 관한 연구. 건국대학교 농축대학원, 석사논문, 2003.
12. 박현주 : 바실러스를 이용한 하수처리공정에서 총대장균군제거 특성에 관한 연구. 홍익대학교 대학원, 석사논문, 2004.
13. APHA, AWWA, WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21 ed. 2005.
14. 정지연, 정문식 : 약수에서 분리한 대장균군의 일부 중금속 및 항생제내성에 관한 연구. 한국환경위생학회지, **15(1)**, 63-73, 1989.