

활성슬러지공정 하수종말처리장의 분원성 지표세균의 농도 및 비교

이동근* · 성기문** · 정미라*** · 박성주****†

*신라대학교 제약공학과, **대전대학교 대학원 미생물학과,
한국생명공학연구원 장수과학센터, *대전대학교 임상병리학과
(2010. 2. 15. 접수/2010. 3. 10. 수정/2010. 3. 26. 채택)

Enumeration and Comparison of Fecal Indicator Bacteria in a Sewage Treatment Plant Using Activated Sludge Process

Dong-Geun Lee* · Gi Moon Sung** · Mira Jung*** · Seong Joo Park****†

*Department of Pharmaceutical Engineering, Silla University, Busan 617-736, Korea

**Department of Microbiology, Graduate School, Daejeon University

***Aging Research Institute, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

****Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, 300-716, Korea

(Received February 15, 2010/Revised March 10, 2010/Accepted March 26, 2010)

ABSTRACT

Indicator bacteria of fecal pollution were enumerated and compared by various detection methods for influent and final effluent of a sewage treatment plant. Total coliforms were enumerated by four methods including most probable numbers, chromogenic enzyme substrate test, membrane filtration, and plate counts and were about 10^4 for influent and 10^2 ~ 10^3 CFU/ml for final effluent. Fecal coliforms ranged between 10^3 and 10^4 for influent and 10^2 CFU/ml for effluent by chromogenic enzyme substrate test and membrane filtration. Fecal streptococci counts were 1-log less than fecal coliforms counts, 10^2 ~ 10^3 for influent and 10^1 CFU/ml for effluent. Total coliforms numbers by plate count both in influent and in effluent showed 1-log higher than by the other three methods. Statistical analysis revealed that numbers of total coliforms by plate count in final effluent had the highest average of correlation ($r=0.778$, $p<0.01$) compared with those by the other three methods. In addition, total coliforms numbers by plate count showed most significant correlation ($r=0.835$, $p<0.01$) with those by chromogenic test which is well-known as its highest recovery efficiency. These results suggest that the plate count would be the optimum detection method for total coliforms in wastewater treatment plants which are the only microbiological standard of final effluent from wastewater treatment plants in the Republic of Korea, considering economic aspects and difficulties in laboratories.

Keywords: fecal indicator bacteria, total coliforms, fecal coliforms, fecal streptococci, sewage treatment plant

I. 서 론

2006년 말을 기준으로 우리나라의 하수도 보급률은 85.5%, 344개 공공 하수종말처리시설의 시설용량은 23,273천 m^3 /일이며, 2015년까지 하수도 보급률 90%를 목표로 하고 있다.¹⁾ 2008년부터 시행된 호소 등의 부영양화 방지를 위한 공공하수처리시설의 방류수 수질 기준 강화에 따라 새로 설치하는 공공하수처리시설은

질소와 인 처리 위주로 시설을 설치하고, 기존 시설에 대해서도 고도처리시설을 설치하도록 하고 있다.¹⁾

한편 물환경관리 기본계획에 따르면 수질환경기준 및 평가기법도 인체 위해성 평가 관리를 강화하는 한편, 생물학적 지표 도입과 함께 생태, 이화학, 용수이용 등을 고려한 종합평가기법을 개발할 계획이다. 현재 적용되는 수질 및 수생태계 환경기준은 건강보호기준과 생활환경기준이 있는데, 건강보호기준은 17개 항목으로 호소와 하천에 공통적으로 적용된다. 건강보호기준에서 물리화학적 항목은 호소와 하천에 따라 다르지만, 생물학적 인자인 대장균군은 호소와 하천에 공통적으로 적용된다. 대장균군은 다시 총대장균군(Total coliform,

†Corresponding author : Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University
Tel: 82-42-280-2441, Fax: 82-42-280-2904
E-mail : psjj@dju.kr

TC)과 분원성대장균군(Fecal coliforms, FC)으로 구분된다.¹⁾

대장균군은 분원성오염 지표세균으로서 병원성 미생물 존재에 대한 지표이므로 건강과 밀접한 연관이 있다. 바이러스, *Giardia*, *Cryptosporidium* 같은 소독공정에 대한 내성 미생물 등을 고려할 때 분원성 오염지표인 대장균군의 오염양상을 파악하는 것이 병원성 미생물의 관리 측면에서 중요하다.^{2,3)} 또한 2008년부터 강화된 하수종말처리시설 방류수 수질기준을 보면 대장균군수는 m/당 3,000개 이하이어야 하고, 청정지역과 상수도 보호구역 등은 m/당 1000개 이하로 더욱 엄격하다.¹⁾

따라서 하수처리장 방류수에서 사람의 건강과 법적 기준에 중요한 대장균군의 정확한 계수는 중요하다. 현재 수질오염공정시험기준에서 대장균군을 검출하는 방법은 최적확수시험법(최적확수법, MPN(most probable number) 법; 이하 MPN 법으로 표기), 막여과시험방법(막여과법, MF(membrane filtration) 법; 이하 막여과법으로 표기), 평판집락시험방법(평판집락법, 평판계수법, Plate count 법; 이하 평판계수법으로 표기) 등이 있다.⁴⁾ 한편 일반적으로 사용되는 총대장균군 검사는 분원성이 아닌 환경에서 서식하는 대장균군도 검출할 수 있는 한계가 있어 분원성대장균군과 대장균(*E. coli*) 검사를 권장하기도 한다. 분원성대장균군에 대한 검사는 MPN법과 막여과법이 수질오염공정시험기준에 지정되어 있다.⁴⁾

기존의 자료들은 MPN법으로 측정한 경우가 많기는 하지만 실험준비와 검사에 4일 이상의 시간이 소요되고 실험방법이 복잡한 단점이 있다.⁵⁾ 이외에도 대장균군 검출방법으로 더 짧은 실험시간으로 대체할 수 있는 효소발색법(chromogenic enzyme substrate test; 이하 효소발색법으로 표기)은 효소반응으로 생성된 산물의 색깔을 이용하여 대장균군과 대장균을 구별한다. 비용이 많이 든다는 단점에도 불구하고 실험방법이 간편하고 실험시간도 비교적 적게 소요되는 장점 때문에 현재 먹는물 시험 등에 많이 이용되고 있지만,^{6,7)} 수질오염공정시험기준에는 포함되어 있지 않다.

본 연구에서는 대전시 하수종말처리장 하수 시료를 대상으로 하여, 첫째, 하수처리장 수질기준으로서 중요한 대장균군의 검출을 위하여 총대장균군(TC), 분원성대장균군(FC), 그리고 분원성연쇄상구균(fecal streptococci, FS)을 계수하여 하수처리장의 미생물학적 처리효율을 평가하였으며, 둘째, MPN법, 효소발색법, 막여과법, 평판계수법 등 다양한 시험방법별로 계수된 지표세균수의 비교검토, 셋째, 가장 적합한 하수종말처리장의 지표세균 검출법을 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료

연속흐름혼합반응조(CFSTR, continuous flow-stirred tank reactor)의 활성슬러지공정으로 처리되고 있는 대전시 하수종말처리장의 유입수와 최종방류수 시료를 2003년 5월에서 12월 사이에 총 20회 채취하였다. 이 시기에 소독공정은 실시되지 않고 있었다.

2. 분원성 지표세균

지표세균의 존재가 분원성오염의 지표로 아주 중요하게 먹는물이나 먹는샘물과는 달리, 본 연구는 하수를 대상으로 세균수, 처리효율, 검출방법 등을 제시하는 것이 목적이므로 완전시험이나 동정은 하지 않았다. 지표세균 계수에 필요한 배지 등은 Fluka와 BBL 등에서 구하였고, 기타 시약은 Sigma에서 구하였다. 본 연구에서 수행한 분원성 지표세균의 계수방법은 수질오염공정시험기준⁴⁾과 먹는물 수질공정시험방법⁷⁾에 기재된 방법과 동일하지만 본 연구는 수질오염공정시험기준⁴⁾과 먹는물 수질공정시험방법⁷⁾ 발표 이전에 수행되었다.

3. 총대장균군(TC) 계수

총대장균군은 수질오염공정시험기준⁴⁾에 제시된 MPN법, 막여과법, 평판계수법과 함께 먹는물에 적용하는 효소발색법으로 검출하였다. MPN법은 희석배수마다 5개의 발효관에 lauryl tryptose broth(LTB) 배지와 기포포집관(Durham관)을 넣고 여기에 1/10씩 연속희석된 시료를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한다. 배양 후 기포가 발생된 발효관을 양성으로 간주하여 양성시험관수를 세었으며, MPN 표를 이용하여 대장균군수를 추정하는 추정-MPN법을 사용하였다. 막여과법은 시료 일정량을 여과한 여과지를 m-Endo LES 한천배지에 올려놓고, 35°C, 24시간 배양하여 나타나는 세균집락(colony) 가운데 붉은 색의 반짝이는 금속광택을 내는 것만을 전형적인 대장균군 양성 세균집락으로 간주하였다. 평판계수법은 연속희석된 시료 일정량을 desoxycholate 한천배지에 접종하여 도달한 뒤, 35°C, 24시간 배양하여 나타나는 세균집락 가운데 붉은 색의 집락만을 전형적인 대장균군 양성 세균집락으로서 계수하였다. 효소발색법은 대장균군이 공통으로 가진 효소인 β -galactosidase의 기질에 형광물질을 붙인 4-methylumbelliferyl- β -D-galactoside(MUG)를 LTB 배지에 0.1 g/l 첨가하고, 1/10씩 연속희석된 시료 일정량을 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 나타나는 형광을 366 nm 파장의 자외선을 쬐어 확인하였으며 MPN 표를 이용하여

계수하였다. MPN법에서는 기포가 발생된 시험관을 양성으로 간주하였으며, 효소발색법에서는 형광이 확인된 시험관을 양성으로 간주하였다. 효소발색법의 계수는 MPN 표를 이용하여 MPN법과 동일하게 하였으며, 분원성대장균군과 분원성연쇄상구균에 적용된 효소발색법의 계수도 총대장균군과 동일하였다.

4. 분원성대장균군(FC) 계수

분원성대장균의 계수에는 수질오염공정시험⁴⁾에 명시된 막여과법과 효소발색법을 이용하였다. 막여과법은 시료 일정량을 여과한 여과지를 분원성대장균군 선택배지인 m-FC 한천배지에 올려놓고, 44.5°C에서 24시간 배양한 뒤 나타나는 파란 색의 세균집락을 전형적인 양성 분원성대장균군으로 계수하였다. 효소발색법은 분원성대장균군 선택배지인 enteric coliform(EC) 액체배지에 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide(MUG)를 0.1 g/l로 첨가하고, 연속회석된 시료 일정량을 접종하여 44.5°C에서 24시간 배양한 후 형광을 발생시키는 발효관만을 양성으로 간주하여 MPN 표에 의거하여 계수하였다.

5. 분원성연쇄상구균(FS) 계수

분원성연쇄상구균의 계수법은 분원성대장균군과 같이 막여과법과 효소발색법을 사용하였다. 막여과법은 시료 일정량을 여과한 여과지를 분원성연쇄상구균 선택배지인 m-Enterococcus 한천배지에 올려놓고, 35°C에서 24시간 배양한 후 나타나는 세균집락 가운데 붉은 색 계통의 집락만을 전형적인 양성 분원성연쇄상구균으로 간주하여 계수하였다. 효소발색법은 분원성연쇄상구균 선택배지인 azide dextrose broth(ADB) 배지에 4-methylumbelliferyl-β-D-glucoside(MUG)를 0.1 g/l 첨가하였다. 연속회석된 시료 일정량을 배지에 첨가하여 35°C에서 24시간 배양한 후, 형광이 발생하는 양성 시험관수를 MPN 표에 적용하여 계수하였다.

6. 통계분석

지표세균 항목간의 상호연관성을 파악하기 위하여, SPSS 14.0K for windows 프로그램으로 비모수상관 계수인 Nonparametric Spearman Rank Correlation Coefficients를 수행하였다. 유의수준은 p-value 0.01로 분석하였다.

III. 결과 및 토의

1. 지표세균수

Table 1은 하수처리장 유입수와 최종방류수에 포함된

총대장균군(TC), 분원성대장균군(FC), 분원성연쇄상구균(FS)의 수를 나타낸 것이다. TC의 평균을 보면 유입수에서 MPN법, 효소발색법, 막여과법, 평판계수법 모두 10⁴ CFU/ml 수준으로 검출되었고, 방류수에서는 평판계수법만 10³ CFU/ml, 나머지는 10² CFU/ml 수준이었다. FC의 경우 유입수에서 효소발색법으로 10³ MPN/ml, 막여과법 10⁴ CFU/ml 수준이고, 방류수는 두 시험법 모두 10² MPN/ml 혹은 CFU/ml 수준으로 나타났으며, 최대값과 최소값에도 큰 차이가 없었다. FS는 효소발색법보다 막여과법이 항상 적게 검출되었다. 분원성오염은 인간의 건강에 매우 중요하여 법적으로 규제를 하고 있으며, 방류수에서는 총대장균군을, 하천과 호소는 총대장균군과 분원성대장균군을, 먹는물에서는 총대장균군과 분원성대장균군 또는 대장균을, 먹는 샘물은 분원성연쇄상구균을 추가하여 관리한다.¹⁾ TC, FC와 같은 세균은 분원성오염의 지표로 부적합하다는 보고²⁾가 있지만 장관계 바이러스 검출법에 비해 검출 시간과 방법이 용이하므로 널리 사용되고 있다.

방류수 중의 TC 농도범위는 MPN법으로 2.3×10¹~4.0×10³ MPN/ml, 효소발색법으로 2.4×10¹~6.0×10³ MPN/ml, 막여과법으로 1.2×10²~3.0×10³ CFU/ml로 나타났고(Table 1), 현행 하수종말처리장 방류수 수질기준인 3,000개/ml을 각 1회씩 초과하였다. MPN법과 효소발색법은 10월에, 막여과법은 7월에 기준을 각각 초과하였다. 평판계수법의 경우 방류수 수질기준을 초과한 경우가 없었다.¹⁾ 전반적으로 수질기준을 만족시키고 있기는 하지만, ml 당 10³CFU 혹은 MPN 수준으로 검출된 횟수가 총 시험횟수 20회 중 MPN법이 5회, 효소발색법이 2회, 막여과법이 4회, 평판계수법이 11회였다. 본 연구에서 시료 특히 유입수의 경우 탁도나 부유물질 농도가 높기 때문에, 평판계수법이나 막여과법에서 양성으로 추정된 세균집락의 색깔과 금속광택이 애매한 경우에도 이를 모두 양성으로 처리하였으므로 과대평가된 것으로 사료된다. 또한 확정시험 등을 수행하지 않은 결과이므로 실제로는 이보다 적은 수의 대장균이 존재하고 있을 것이다.

2. 지표세균 처리효율

Table 2는 하수종말처리장의 지표세균의 처리효율을 나타낸 것으로서, 시험방법별로 최종방류수와 유입수의 세균수 차이로서 산출하였다. 시험방법별 평균 제거효율을 비교하면, TC는 평판계수법으로 최대인 97%, MPN법으로 최소인 75%를 기록하였다. FC 평균 제거효율은 효소발색법으로 94%, 막여과법으로 95%로서 서로 비슷하였고, FS 평균 제거효율 역시 효소발색법

Table 1. Numbers of indicator bacteria in influent and effluent of Daejeon sewage treatment plant

Indicator bacteria		Method	MPN ¹⁾ (MPN/ml)	MUG ²⁾ (MPN/ml)	MF ³⁾ (CFU ^{5)/ml)}	Plate ⁴⁾ (CFU/ml)	
Total	Average	Influent	2.4×10^4	4.2×10^4	3.8×10^4	7.9×10^4	
		Effluent	8.2×10^2	6.0×10^2	8.0×10^2	1.3×10^3	
	Maximum	Influent	1.3×10^5	1.7×10^5	8.7×10^4	2.9×10^5	
		Effluent	4.0×10^3	6.0×10^3	3.0×10^3	2.6×10^3	
	Minimum	Influent	1.9×10^2	1.4×10^3	2.3×10^3	7.0×10^3	
		Effluent	2.3×10^1	2.4×10^1	1.2×10^2	3.1×10^2	
	S.D. ⁶⁾	Influent	3.4×10^4	5.7×10^4	2.7×10^4	6.9×10^4	
		Effluent	1.1×10^3	1.4×10^3	7.5×10^2	6.8×10^2	
	Fecal Coliforms	Average	Influent	- ⁷⁾	4.7×10^3	1.6×10^4	-
			Effluent	-	2.1×10^2	1.9×10^2	-
Maximum		Influent	-	2.4×10^4	5.2×10^4	-	
		Effluent	-	2.4×10^3	9.1×10^2	-	
Minimum		Influent	-	2.0×10^2	4.1×10^2	-	
		Effluent	-	1.0×10^{-1}	1.0×10^0	-	
S.D.		Influent	-	6.2×10^3	1.5×10^4	-	
		Effluent	-	5.2×10^2	2.5×10^2	-	
Fecal Streptococcus		Average	Influent	-	5.0×10^3	8.6×10^2	-
			Effluent	-	4.7×10^1	1.2×10^1	-
	Maximum	Influent	-	1.3×10^4	2.0×10^3	-	
		Effluent	-	1.3×10^2	5.5×10^1	-	
	Minimum	Influent	-	0	1.4×10^2	-	
		Effluent	-	0	0	-	
	S.D.	Influent	-	3.6×10^3	6.0×10^2	-	
		Effluent	-	3.3×10^1	1.3×10^1	-	

¹⁾MPN: most probable numbers method

²⁾MUG: chromogenic enzyme substrate method

³⁾MF: membrane filtration method

⁴⁾Plate: loading on agar plate method

⁵⁾CFU: colony forming unit

⁶⁾S.D.: standard deviation

⁷⁾-: not tested

99%, 막여과법 98%로서 서로 비슷한 수준이었다.

FS는 9월 시료에서 유입수와 방류수 모두 효소발색법으로는 검출되지 않았으며(Table 1), 이 경우 처리효율의 계산이 불가능하므로 불검출된 경우는 제외하고 처리효율을 계산하였다. TC보다는 FC와 FS 제거효율이 더 높았다. TC의 최저 제거효율을 보면 MPN법과 효소발색법에서 음수를 기록한 적이 있는데(Table 2), 이는 최종방류수가 유입수에 비해 TC가 많이 검출된 경우가 10월에 1회 있었기 때문이다.

총대장균군이 분원성대장균군 등에 비하여 고농도로 검출되었는데 이러한 경향은 지표수²⁾와 상수원수¹³⁾에서도 동일한 것이었다. 백과 손⁹⁾은 하수처리장 방류수 중

의 유기물 농도가 대장균군의 농도에 영향을 미친다고 보고하였다. 대전시 하수종말처리장의 경우 전반적으로 방류수 수질기준을 만족하고 있기는 하지만 항상 운전 상황을 주시해야 할 필요가 있었다. 따라서 수질기준을 안정적으로 만족하기 위해서는 소독공정의 도입도 고려할 수 있을 것이다. 이를 위하여 이미 하수종말처리장에서 소독시설의 설치와 가동에 대한 연구결과가 보고된 바 있다.^{9,10)}

3. 지표세균 검출법 비교

현재 수질오염공정시험기준에서 하수와 지표수 등에서 대장균군을 검출하는 방법으로서 MPN법, 막여과법,

Table 2. Treatment efficiency of indicator bacteria in Daejeon sewage treatment plant

Indicator	Method	MPN (%)	MUG (%)	MF (%)	Plate (%)
Total coliforms	Average	74.99	86.53	94.85	96.57
	Maximum	99.77	99.97	99.74	99.53
	Minimum	-73.91	-33.33	79.78	87.50
	S.D.	42.78	35.03	6.60	3.69
Fecal Coliforms	Average	-	93.65	94.98	-
	Maximum	-	100.00	100.00	-
	Minimum	-	66.43	60.00	-
Fecal Streptococcus	Average	-	98.67	98.09	-
	Maximum	-	99.77	99.97	-
	Minimum	-	97.38	93.71	-
	S.D.	-	0.74	1.93	-

See Table 1 for MPN, MUG, MF, Plate, S.D., and -.

평판계수법 등을 제시하고 있다.⁴⁾ 먹는물 수질공정시험 방법에는 TC와 대장균에 대하여 시험관법, 막여과법, 효소발색법이 규정되어 있다. 시험관법은 MPN법과 유사하며, FC는 TC가 양성일 때만 시험관법으로 수행하게 되어 있다. 대장균과 FC 계수에는 MUG가 들어간 배지를 사용한다.⁷⁾ TC 등 검출대상은 동일하더라도 검출시료와 시험방법에 따라 배지 등이 다른데, 시험방법의 선택은 민감도, 특이성, 시험의 난이성, 시험기간, 경제성 등을 고려하여야 할 것이다.

효소발색법은 대장균이 공통적으로 가진 효소 β-galactosidase가 형광기질인 MUG(4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide)를 분해할 때 발생하는 형광을 자외선으로 검출하는 방법으로서, 간편하며 확인실험이 필요하지 않으며, 24시간 이내에 실험이 가능하고 민감도와 특이성이 높다고 장점이 보고되었다.¹¹⁾ 하지만 검출비용이 비싸고 지표수에서 거짓양성(false-positive)과 거짓음성(false-negative)의 비율이 TC가 각각 7.4%와 3.5%, 대장균이 각각 9.6%, 6.3%라는 보고도 있어¹²⁾ 과신할 수만은 없는 실정이다. 따라서 추정양성 세균집락에 대해 순수분리와 동정을 행한다면 확실한 결과를 얻을 수 있지만,¹³⁾ 하수처리장 방류수는 m/ 당 3,000 혹은 1,000 이하로 대장균 검출을 허용하고 있으므로,¹⁾ 많은 수의 추정양성 세균집락이 검출되는 하수에서 항상 동정까지 한다는 것은 현실적으로 불가능하다.

Table 1에서 TC의 경우 유입수에서 4가지 방법 모두 평균과 표준편차가 m/ 당 10⁴ 수준으로서 어느 방법을 사용해도 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 한편 방류수의

TC는 평판계수법만이 다른 방법보다 1 log 높고, 표준편차는 막여과법과 평판계수법이 MPN법과 효소발색법에 비해 1 log 낮았다. 효소발색법을 표준으로 했을 때 MPN법과 막여과법 역시 사용 가능한 방법인 것으로 판단된다. 그리고 Table 2의 처리효율을 보면 MPN법과 효소발색법에서는 음수로 나타나는 경우도 있었지만, 막여과법과 평판계수법은 모두 양수로 나타났다. 따라서 TC의 평균농도와 표준편차, 그리고 처리효율을 비교하였을 때 막여과법이 가장 좋은 것으로 나타났다.

효소발색법의 계수결과를 토대로 지수함수 부분을 세균(평균, 표준편차)로 표시하면 유입수가 TC(10⁴, 10⁴), FC(10³, 10³), FS(10³, 10³), 방류수는 TC(10², 10³), FC(10², 10²), FS(10¹, 10¹)로 나타났다(Table 1). 막여과법은 유입수가 TC(10⁴, 10⁴), FC(10⁴, 10⁴), FS(10², 10²), 방류수가 TC(10², 10²), FC(10², 10²), FS(10¹, 10¹)으로서, 효소발색법과 막여과법의 계수결과가 유입수에서는 TC가 모두 비슷하고, 방류수는 TC의 표준편차만 제외하고는 비슷하였다. 따라서 본 연구범위 내에서는 막여과법은 비싼 효소발색법을 대체할 수 있는 것으로 나타났다. 하지만 하수 특히 유입수 중의 탁도와 부유물질이 막여과법에서 세균검출을 방해한다는 단점이 드러났다. 즉 탁도나 부유물질 농도가 높은 유입수 시료는 막여과법에서 양성으로 추정된 세균집락의 색깔과 금속광택이 애매한 경우가 많았다. 하지만 탁도나 부유물질 농도가 낮은 방류수 시료는 그런 경우가 드물었다.

세균집락에 대한 동정을 실시하지 않아 TC의 절대수는 파악할 순 없었지만, MPN법으로 지표수를 계수한 김 등¹⁴⁾의 보고에 따르면 추정양성 TC의 43%와 추정양성 FC의 49%가 분원성과는 상관없는 *Klebsiella* 속 세균이었다. 그리고 막여과법의 경우 본 연구와 동일한 배지를 TC, FC, FS에 사용하였는데, TC 배지 분리세균의 11%와 FC 배지 분리세균의 89%가 대장균이라고 보고하면서 FC를 막여과법으로 시험하는 것이 가장 우수하다고 보고하였다. 또한 장과 이¹³⁾ 역시 상수원 지표수를 이용한 연구에서 김 등¹⁴⁾과 유사한 동정 결과를 얻었으며, FC가 다른 지표세균과의 상관관계도 우수하므로 FC를 분원성 오염의 지표로 제시하였다. 하지만 이들은 하수처리장 방류수가 아닌 지표수를 사용한 결과이다.

김 등¹⁴⁾은 지표수의 분원오염지표세균 연구에서 TC와 FC에는 MPN법과 막여과법을, FS에는 막여과법을 적용하였을 때, TC_MF와 FC_MF 사이에 상관계수가 0.936으로 가장 높은 반면 TC_MPN의 *p* 값이 높아 상관관계에 의미가 없다고 보고하였다. 장과 이¹³⁾는 상

Table 3. Spearman rank correlation ($p < 0.01$) among numbers of indicator bacteria by enumeration method in Daejeon sewage treatment plant

	TC_MPN	TC_MUG	TC_MF	TC_Plate	FC_MUG	FC_MF	FS_MUG	FS_MF
TC ¹⁾ _MPN		0.770	0.655	0.773	0.793	0.586	0.743	0.608
TC_MUG	0.770		0.762	0.756	0.784	0.723	0.739	0.803
TC_MF	0.655	0.762		0.825	0.805	0.825	0.610	0.828
TC_Plate	0.773	0.756	0.825		0.727	0.819	0.713	0.835
FC ²⁾ _MUG	0.793	0.784	0.805	0.727		0.644	0.736	0.676
FC_MF	0.586	0.723	0.825	0.819	0.644		0.611	0.805
FS ³⁾ _MUG	0.743	0.739	0.610	0.713	0.736	0.611		0.630
FS_MF	0.608	0.803	0.828	0.835	0.676	0.805	0.630	
Minimal	0.586	0.723	0.610	0.713	0.644	0.586	0.610	0.608
Maximum	0.793	0.803	0.828	0.835	0.805	0.825	0.743	0.835
Average	0.704	0.762	0.759	0.778	0.738	0.716	0.683	0.741
S.D.	0.086	0.027	0.090	0.049	0.061	0.103	0.063	0.099

¹⁾TC: total coliforms

²⁾FC: fecal coliforms

³⁾FS: fecal streptococci

See Table 1 for MPN, MUG, MF, Plate, and S.D.

수원수인 지표수에 대한 막여과법으로 TC, FC, FS를 조사한 보고에서 TC_MF와 FC_MF가 0.840으로 상관 계수가 제일 높았다. 이와 이⁵⁾는 하수 방류수에 대해 대장균만 조사하였는데, MPN법과 평관계수법만을 적용하여 두 방법 사이에 상관관계가 유의하지 않다고 보고하였다.

본 연구의 특징은 TC, FC, FS를 MPN법, 효소발색법, 막여과법, 평관계수법의 4가지 방법으로 검출 계수함으로써, 다른 연구^{5,13,14)}에 비하여 지표세균과 검출방법을 조합한 경우의 수가 훨씬 많다는 것이다. Table 3은 대전시 하수종말처리장에서 지표세균 시험방법별 상호연관성을 파악하기 위하여 비모수상관계수를 수행한 결과로서 통계학적 유의수준은 모두 $p < 0.01$ 이었다. 상관계수는 총대장균군_MPN법(TC_MPN)과 분원성대장균군_막여과법(FC_MF)이 0.586으로 최저, 총대장균군_평관계수법(TC_Plate)과 분원성연쇄상구균_막여과법(FS_MF)이 0.835로 최대이었다. 다른 시험방법들과의 상관계수를 평균한 결과는 최하위 2개는 FS_MUG(0.683)와 TC_MPN(0.704)이었고, 최상위 2개는 TC_Plate(0.778)와 TC_MUG(0.762)이었다. 표준편차를 보면 TC_MUG(0.027)와 TC_Plate(0.049)가 최하위, FC_MF(0.103)와 FS_MF(0.099)가 최상위였다. 다른 검출법과의 상관계수에서 평균은 높고 표준편차가 낮은 것이 우수한 방법일 것이다. 평균/표준편차 비율은 TC_MUG(28.22), TC_Plate(15.88), FC_MUG(12.10), FS_MUG(10.84)이었다.

TC_MUG법이 가장 우수한 것으로 나타났지만 다른 시험방법들과의 높은 상관성과 평균/표준편차 비율을 고려하면 TC_plate법이 하수처리장의 분원성 지표세균 검출법 중에서 최적인 것으로 판단된다. 더욱이 TC_plate법은 수질오염공정시험기준¹⁰⁾에도 포함되어 있으며, 기존의 수많은 하수처리장 대장균군 자료들이 평관계수법에 의한 것임을 고려한다면 그 효용성은 더욱 커질 것이다.

TC_plate 법이 하수처리장의 분원성 지표세균 검출법으로서 갖는 또 다른 장점들은 첫째 양성집락만을 계수하는 계수의 용이성이다. 하수처리장의 경우 처리효율보다는 최종방류수의 TC가 3,000/ml 이하의 절대값을 유지하는 것이 중요한데, MPN법에서는 MPN 표에 없는 양성시험관수가 나오는 경우 정량에 문제가 생기며, 효소발색법에서도 역시 이런 MPN 표를 이용하여 계수한다. 둘째, 최종방류수에는 탁도나 부유물질 등 세균검출에 대한 방해물질이 많이 제거된 상태이므로 거짓양성 및 거짓음성의 소지가 줄어 결과의 정확성이 상대적으로 높아진다. 셋째, 효소발색법에 비해 훨씬 경제적인 사실이다. 효소발색법의 거짓양성과 거짓음성의 비율이 10%를 초과한다는 보고¹²⁾는 효소발색법의 특이성이 절대적이지 않다는 것을 말해주는 것이므로 이 경우 경제성은 간과할 수가 없다. 넷째, MPN법에 비해 실험기간이 짧고 실험과정 또한 간단하다.

또 다른 방류수 수질기준인 분원성대장균군(FC)은 본 연구에서 막여과법과 효소발색법의 두 가지 시험법만

비교하였다. 막여과법에서 과란색의 양성 세균집락은 다른 집락과 쉽게 구별되고, 효소발색법에 비해 경제적이며, 계수결과도 효소발색법과 큰 차이를 보이지 않으므로 막여과법을 사용하는 것이 상대적으로 유리할 것으로 판단된다.

IV. 결 론

하수종말처리장 유입수와 최종방류수를 대상으로 2003년 5월에서 12월 사이에 총 20회에 걸쳐 분원성오염의 지표세균을 다양한 검출방법으로 계수하고 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. MPN법, 효소발색법, 막여과법, 평판계수법 등 4종류 계수법에 의한 총대장균군수는, 유입수가 4종류 모두 10^4 CFU, MPN/ml 수준, 방류수는 평판계수법이 10^3 CFU/ml, 나머지는 10^2 CFU, MPN/ml이었다.
2. 효소발색법과 막여과법 등 2종류 계수법으로 파악한 유입수에서의 분원성대장균군수는, 막여과법이 10^4 CFU/ml로 효소발색법의 10^3 MPN/ml 보다 1-log 많았고, 분원성연쇄상구균수는 효소발색법이 10^3 MPN/ml로 막여과법의 10^2 CFU/ml보다 각각 1-log 많았으며, 방류수에의 두 지표세균수는 두 가지 검출법에서 별다른 차이를 보이지 않았다.
3. 방류수의 총대장균군수는 평판계수법이 다른 세 방법에 비해 통계적으로 가장 높은 상관관계를 보였다 ($r=0.778, p<0.01$). 가장 정확하다고 알려진 효소발색법과도 가장 높은 상관관계를 나타내어($r=0.835, p<0.01$) 경제적 측면과 실험의 난이도 등을 고려하였을 때, 하수처리장 방류수에 대한 미생물학적 수질기준인 총대장균군 계수법은 평판계수법이 가장 적당한 방법이라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 대전·충남지역 대전환경기술개발센터(과제번호: 03-2-10-16)의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Ministry of Environment Republic of Korea : 2008 White paper on Environment. Seoul, 362-364, 2009.
2. Lee, G. C. and Lee, H. S. : Total coliforms and fecal

coliforms as microbial indicators of waterborne enteric viruses in Korean surface water. *Journal of the Korean Society of Water and Wastewater*, **20**, 885-892, 2006.

3. Jung, H. M., Im, Y. T. and Ryu, J. G. : Interpretation of coliform data in natural water by statistical analysis of frequency and seasonal distribution. *Proceedings of Korean Society on Water Quality*, Seoul, 39-42, 1999.
4. Ministry of Environment Republic of Korea : Water and Wastewater Technology, 2008.
5. Lee, M. A. and Lee, S. H. : Comparative study on detecting methods for total coliform in sewage effluent. *Korean Journal of Environmental Health*, **33**, 422-427, 2007.
6. Jang, H. J., Lee, M. Y., Choi, S. Y., Lee, E. K., Oh, S. J. and Park, S. W. : Comparison chromogenic enzyme substrate test with the standard multiple tube fermentation method and membrane filtration method for detection of coliforms in drinking water. *Journal of Korean Society on Water Quality*, **18**, 501-508, 2002.
7. Ministry of Environment Republic of Korea : Drinking Water Technology, 2008.
8. Harwood, V. J., Levine, A. D., Scott, T. M., Chivukula, V., Lukasik, J., Farrah, S. R. and Rose, J. B. : Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 3163-3170, 2005.
9. Beck, Y. S. and Sohn, J. S. : Studies on chlorine demand and its decay kinetics in chlorinated sewage effluents. *Journal of Korean Society on Water Quality*, **21**, 176-183, 2005.
10. Lee, O. M., Kim, T. H., Nam, Y. K., Lee, M. J. and Yu, S. H. : Reactivation study and comparison of disinfection efficiency of coliform bacteria in municipal wastewater treatment using UV and gamma ray. *Applied Chemistry*, **12**, 221-224, 2008.
11. American Water Works Association Research Foundation : Colilert system for Total Coliform and *Escherichia coli*. 1991.
12. Chao, K. K., Chao, C. C. and Chao, W. L. : Evaluation of Colilert-18 for detection of coliforms and *Escherichia coli* in subtropical freshwater. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 1242-1244, 2004.
13. Jang, H. J. and Lee, Y. O. : A study on investigation of fecal contamination indicator bacteria for management of source water quality. *Korean Journal of Environmental Health*, **29**, 19-27, 2003.
14. Kim, S. D., Cho, J. R., Kim, S. H., Lee, H. J. and Lee, Y. O. : Comparative studies on detecting methods of fecal indicators (coliforms) in surface water. *Journal of Korean Society on Water Quality*, **22**, 1052-1059, 2006.