

## 물 중 일반세균 정량에 대한 배지법과 건조필름법의 상관관계

강주영<sup>1a</sup> · 조아현<sup>1b</sup> · 박은지<sup>1c</sup> · 이한철<sup>1d</sup> · 박민지<sup>1e</sup> · 한진섭<sup>2a</sup> · 강성규<sup>2b</sup> · 김종범<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>순천대학교 식품공학과 · <sup>2</sup>애니랩 기업부설연구소

### Correlation between Plate Count Agar and Dry Rehydratable Film Method for Enumeration of Total Aerobic Bacteria in Water

Ju Yeong Kang<sup>1a</sup> · Ah Hyeon Jo<sup>1b</sup> · Eun Ji Park<sup>1c</sup> · Han Cheol Lee<sup>1d</sup> ·  
Min Ji Park<sup>1e</sup> · Jin Sub Han<sup>2a</sup> · Seong Gyu Kang<sup>2b</sup> · Jung Beom Kim<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Suncheon National University

<sup>2</sup>Anylab research institute

(Received 20 February 2020, Revised 26 March 2020, Accepted 27 March 2020)

#### Abstract

The quantitative accuracy of dry rehydratable film method was compared with the standard culture method to analyze the applicability of dry rehydratable film in the total aerobic bacteria test for water. The materials used in this study were 500 cases of water and were tested according to the Korean official test method for drinking water. The mean value of the total aerobic bacteria in plate count agar(PCA) and MC-Media Pad AC(MAC) were  $2.6 \pm 1.1$  Log cfu/mL and  $2.6 \pm 1.2$  Log cfu/mL. The  $p$  value and correlation coefficient( $R^2$ ) were 0.933 and 0.9985 between the PCA and MAC, respectively, indicating no significant difference and very high correlation. According to the water types, the  $p$  value and  $R^2$  were 0.887 and 0.9911 in the PCA and MAC. In the purified water, the  $p$  value was 0.973 and  $R^2$  was 0.9934 in the PCA and MAC of other water. In each type of water, there were no significant differences between the PCA and MAC, and the correlation was very high. Thus, it is suggested that the MAC would be available for total aerobic bacteria test for water.

**Key words** : Correlation, MC-Media Pad, PCA, Total aerobic bacteria, Water

<sup>1a</sup> 석사과정(M.S. Student), dudrkdnw3@naver.com, <https://orcid.org/0000-0001-9616-076X>

<sup>1b</sup> 석사과정(M.S. Student), 2090dkgus@naver.com, <https://orcid.org/0000-0001-7189-7837>

<sup>1c</sup> 석사과정(M.S. Student), dmswl0983@naver.com, <https://orcid.org/0000-0003-0094-7280>

<sup>1d</sup> 석사과정(M.S. Student), gkscjf7400@naver.com, <https://orcid.org/0000-0002-1772-3964>

<sup>1e</sup> 학사과정(B.S. Student), min981125@naver.com, <https://orcid.org/0000-0002-5107-7345>

<sup>2a</sup> 선임연구원(Senior Researcher), ys7066@naver.com, <https://orcid.org/0000-0002-3338-689X>

<sup>2b</sup> 연구소장(Research Director), ys7066@naver.com, <https://orcid.org/0000-0003-3728-6244>

<sup>1,†</sup> Corresponding author, 교수(Professor), okjbkim@sunchon.ac.kr, <https://orcid.org/0000000202902687>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 1. Introduction

인간의 생존에 필수적인 물은 인체의 약 60% 정도를 차지하며 체내에서 각종 영양분과 노폐물을 운반하는 등 생명 유지에 매우 중요한 역할을 한다(Seo et al., 2009). 물은 음용 외에 식품제조, 농업 등에 다양하게 이용되고 있으며, 2016년 기준 한 해에 약 372 m<sup>3</sup>로 많은 양의 물이 사용되고 있다(KOSIS, 2019). 지하수는 '지하의 지층이나 암석 사이의 빈틈을 채우고 있거나 흐르는 물'을 지칭한다(ME, 2018). 지하수는 농어촌 지역의 상수도와 생활용수(Lee et al., 2006)로 사용되고 식품업체의 제조용수 등으로 이용되어 2016년 기준 연간 4,093,738천 m<sup>2</sup>의 지하수가 사용되고 있다(ME, 2019). 지하수는 토양 및 암석층에 의해 자연 여과되어 병원성 미생물에 오염되지 않는 것으로 보고되어 왔으나(Lee et al., 2006), 최근 인구의 증가와 산업발달로 공장 폐수, 생활하수, 화학 비료 등 다양한 오염원에 의해 토양이 오염됨에 따라 지하수의 오염가능성 또한 증가하고 있다(Hamm et al., 2006). 2018년 경기도 보건환경연구원의 지하수 검사 결과 535건 중 239건이 음용에 부적합한 것으로 확인되었다(Choi et al., 2018). 또한 2018년 충남보건환경연구원 보고에 따르면 천안 농촌 지역의 음용 목적 지하수 수질검사 결과 206건 중 93건에서 부적합이 확인되었으며, 그중 29건이 일반세균 부적합으로 확인되어 지하수를 이용하는 국민들의 불안감이 증가되고 있다(Yu et al., 2016).

지하수는 먹는 물 관리법 또는 지하수법에 의하여 관리되며 먹는 물 수질공정 시험기준에 따라 수질검사를 실시하고 있다. 먹는 물 수질공정 시험기준에서 일반세균 시험방법으로는 시험용액 1 mL를 표준찬천배지(Plate count agar, PCA)에 접종하여 35 °C에서 48±2시간 배양하고 생성된 집락을 계수하여 희석배수를 곱한 후 일반세균수를 산출한다(NIER, 2018).

건조필름은 필름 위에 미생물의 생육에 필요한 각종 영양 성분들과 특정 미생물을 선택적으로 배양하기 위한 억제제 및 지시약이 도포되어 있어 간단하게 미생물 정량 실험이 가능하다. 건조필름은 배지 준비과정이 생략되어 실험 준비 인력과 시간이 기존 배지법에 비해 간편한 장점이 있으며 현재 식품공전에 등재(MFDS, 2019)되어 국가기관 및 기업체에서 이용하고 있다. 따라서 시간 및 노동력 절감을 위하여 음용수 등에 대한 건조필름법 적용 연구가 필요하다 하겠다. 그러나 현재까지 연구결과를 살펴보면 건조필름을 이용한 물의 일반세균 정량 정확도 연구는 Petrifilm을 이용한 물 중 대장균 및 대장균군 평가(Beloti et al., 2003), 물에 존재하는 일반세균, 대장균 및 대장균군에 대한 3M Petrifilm의 효능(Schraft and Watterworth, 2005), Petrifilm을 이용한 바닷물 중 일반세균수 평가(Kudaka et al., 2010) 등 국외 연구 결과만 보고되고 있다. 건조필름에 관한 국내 연구는 건조필름을 이용한 미생물학적 안전성 평가(Lee et al., 2008; Seo et al., 2009)에 한정되어 있고 일반세균 정량 정확도 평가에 대한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 물에 대한 일반세균 실험 시 건조필름 적용 가능성을 분석하고자 건조

필름법과 평판배지법을 이용한 일반세균 정량 정확도를 비교 분석하였다.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 실험재료

본 실험에 사용된 물은 지하수 292건, 정수기 물 164건, 목욕탕과 수영장 욕조수 등 기타 44건으로 총 500건을 대상으로 하였다. 각각의 물은 멸균된 50 mL Conical tube로 채수하였으며 미생물 증식을 통한 다양한 균수의 결과 값을 비교하기 위해 상온상태로 운반하여 실험에 사용하였다.

### 2.2 평판배지법

일반세균은 먹는 물 수질공정 시험기준에 따라 실험하였다(NIER, 2018). 필요한 경우 시료는 멸균인산완충희석액으로 희석하여 시험용액으로 사용하였으며 배지는 Plate count agar(PCA, MB cell, Seoul, Korea)를 사용하였다. 시험용액 1 mL를 페트리디쉬에 각각 접종하고 PCA 배지 약 15 mL를 분주하여 균일 뒤 35 °C에서 48시간동안 배양하였다. 배양 후 생성된 집락이 15~300개 되는 페트리디쉬를 선정하여 그 집락수를 계수하고 희석배수를 곱하여 일반세균수로 산출하였다.

### 2.3 건조필름법

시험용액 1 mL를 일반세균수용 MC-Media Pad Aerobic Count(MAC, JNC corp., Tokyo, Japan)에 각각 접종하고 35 °C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 생성된 집락이 15~300개 되는 건조필름을 선정하여 그 집락수를 계수하고 희석배수를 곱하여 일반세균수로 산출하였다(MFDS, 2019).

### 2.4 통계처리

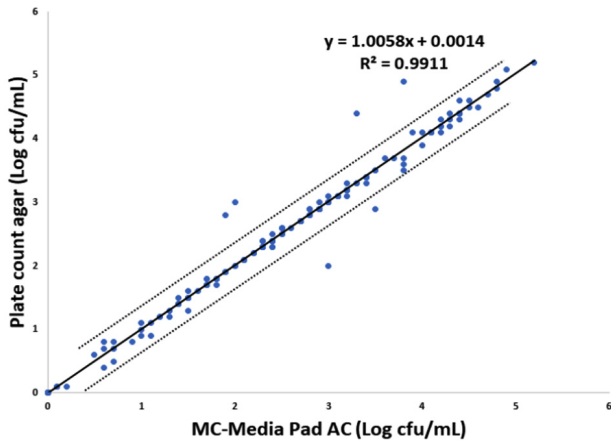
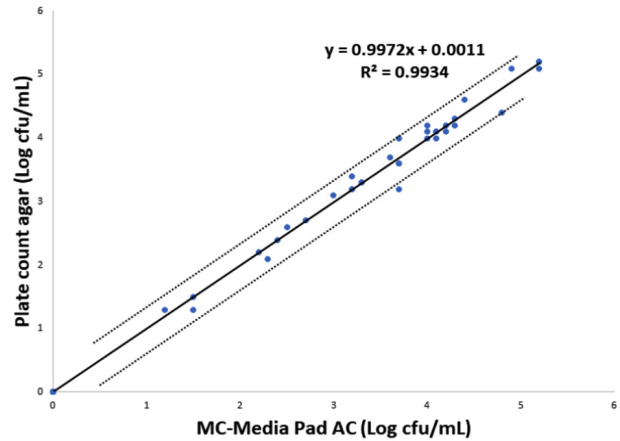
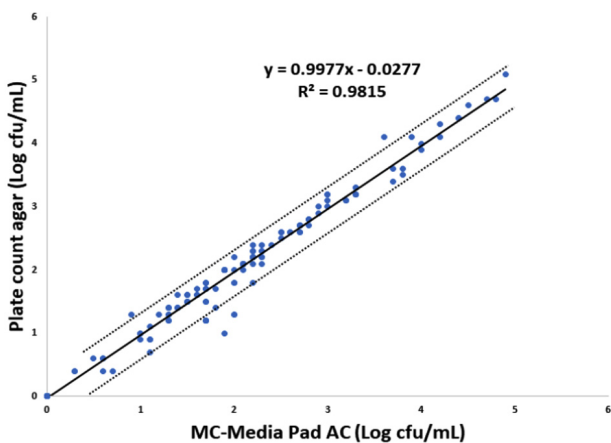
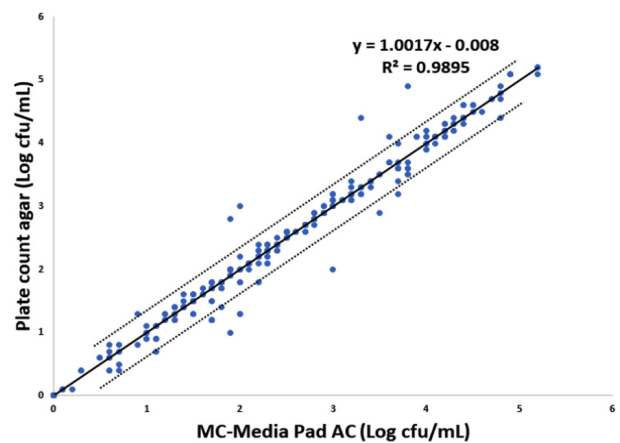
통계처리는 SPSS V25(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 수행하였으며, 사용한 통계 방법은 독립표본 T-test를 사용하여 집단 간의 평균값을 비교하고  $p < 0.05$  수준으로 평판배지법과 건조필름법을 이용한 일반세균수의 유의적인 차이를 검증하였다. 산점도는 건조필름법에 의해 분리된 일반세균수의 log값을 x축으로 하고, 평판배지법에 의해 분리된 일반세균수의 log 값을 y축으로 하여 두 방법에 의해 측정된 일반세균수 값을 나타내었다. 산점도 그래프를 이용해 추세선과 상관계수( $R^2$ ), 95% 신뢰구간을 산출하였다.

## 3. Results and Discussion

물의 종류에 따라 평판집락법(PCA)과 건조필름법(MAC)의 실험결과를 살펴보면 일반세균수는 지하수에서  $2.6 \pm 1.1$  Log cfu/mL,  $2.6 \pm 1.2$  Log cfu/mL로 검출되었으며,  $p$  value가 0.887로 나타나 두 방법 간의 일반세균수 정량값의 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 1). 또한, 두 방법 간의 상관계수( $R^2$ )를 산출한 결과 0.9911로 나타나 평판 집락법과

**Table 1.** Comparison of the total aerobic bacteria count between the Plate count agar and MC-Media Pad aerobic count in waters

Types	Number of samples	Number of detected samples (%)	Media		<i>p</i> value
			Plate count agar (CFU/mL)	MC-Media Pad (CFU/mL)	
Ground waters	292	171 (58.6)	2.6 ± 1.1	2.6 ± 1.2	0.887
Purified waters	164	130 (79.3)	2.2 ± 1.0	2.2 ± 1.0	0.750
Other waters	44	35 (79.5)	3.6 ± 1.0	3.6 ± 1.1	0.973
Total	500	336 (67.2)	2.6 ± 1.1	2.6 ± 1.2	0.933

**Fig. 1.** Correlation coefficient of the total aerobic bacteria count between the Plate count agar and MC-Media Pad aerobic count in ground waters. The dotted lines display a 95 % confidence interval.**Fig. 3.** Correlation coefficient of the total aerobic bacteria count between the Plate count agar and MC-Media Pad aerobic count in other waters. The dotted lines display a 95 % confidence interval.**Fig. 2.** Correlation coefficient of the total aerobic bacteria count between the Plate count agar and MC-Media Pad aerobic count in purified waters. The dotted lines display a 95 % confidence interval.**Fig. 4.** Correlation coefficient of the total aerobic bacteria count between the Plate count agar and MC-Media Pad aerobic count in total waters. The dotted lines display a 95 % confidence interval.

건조필름법은 매우 높은 상관관계를 나타내었다(Fig. 1).

정수기 물의 경우, 일반세균수가 각각  $2.2 \pm 1.0$  Log cfu/mL 와  $2.2 \pm 1.0$  Log cfu/mL로 산출되고, *p* value가 0.750으로 나타나 두 방법 간의 일반세균수 정량값의 유의적인 차이가 나타나지 않았으며(Table 1), 상관계수( $R^2$  값)를 산출한 결과 0.9815로 나타나 평판 집락법과 건조필름법은 매우 높은 상관관계를 나타내었다(Fig. 2).

목욕탕 욕조수 등 기타 물에서 일반세균수는  $3.6 \pm 1.0$  Log cfu/mL,  $3.6 \pm 1.1$  Log cfu/mL로 나타났으며, *p* value가 0.973으로 나타나 두 방법간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 1). 상관계수( $R^2$ )를 산출한 결과 0.9934로 나타나 평판 집락법과 건조필름법은 매우 높은 상관관계를 나타내었다(Fig. 3).

이러한 결과를 종합하여 물 500건에 대한 평판집락법과 건

조필름법의 일반세균수 평균은 각각  $2.6 \pm 1.1$  Log cfu/mL,  $2.6 \pm 1.2$  Log cfu/mL로 검출되었고,  $p$  value가 0.933으로 나타나 두 방법 간의 일반세균수 정량값의 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 1). 상관계수( $R^2$ )는 0.9895로 나타나 평판집락법과 건조필름법은 매우 높은 상관관계를 나타내었다(Fig. 4).

물의 분류에 따른 평판집락법과 건조필름법의  $p$  value를 분석한 결과  $p$  value가 0.05보다 크므로 물의 분류에 따른 평판집락법과 건조필름법이 일반세균 검출량은 유의적인 차이가 없는 것으로 판단되었다. 또한 상관계수( $R^2$ )가 0.7~1.0인 경우 매우 강한 상관관계, 0.4~0.7인 경우 상당한 상관관계, 0.4 미만인 경우 약한 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다(KSI, 2017). 본 연구에서 모든 종류의 물에서 상관계수가 0.9 이상으로 나타나 물 중 일반세균수 실험에 대한 평판집락법과 건조필름법은 매우 강한 상관관계가 있는 것으로 판단되었다.

MC-Media Pad AC는 전통적인 배지의 단점을 보완하기 위해 개발된 제품으로 부직포에 미생물의 생육을 돕는 영양 성분과 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)와 같은 발색제가 도포되어 있어 간단하게 미생물 정성 및 정량 실험이 가능하다(Hiroshi et al., 2003). 평판집락법과 건조필름법의 상관계수는 0.9895로 매우 높게 나타났으나 95%를 신뢰구간을 벗어난 정량 값이 지하수 6건, 정수기수 4건, 기타 1건으로 총 11건 나타났다. 이러한 결과는 유기물이 풍부한 식품 중 미생물을 검출하기 위해 개발된 건조필름의 경우 물 중 미생물 생육에 필요한 영양성분이 부족하여 일반세균수가 적게 관찰될 수 있으며, Petrifilm AC의 경우 일반세균수 정량 수치가 배지법 보다 낮게 산출되었다는 보고(Schraft and Watterworth, 2005)로 보아 95% 신뢰구간에 포함되지 않은 것으로 판단된다.

그러나 현재까지 건조필름을 이용한 물의 일반세균 연구결과와 비교하였을 때 Petrifilm을 이용한 물 중 대장균 및 대장균군 평가(Beloti et al., 2003)에서 Petrifilm EC와 기존의 방법 사이의 상관계수( $R^2$ )가 0.8689로 산출되었으며, 물에 존재하는 일반세균, 대장균 및 대장균군에 대한 3M Petrifilm의 효능(Schraft and Watterworth, 2005)에서 petrifilm AC와 기존방법의 상관계수( $R^2$ )는 0.775, Petrifilm을 이용한 바닷물 중 일반세균수 평가(Kudaka et al., 2010)에서 Petrifilm AC와 Marine agar를 비교한 결과 상관계수( $R^2$ )는 0.94로 산출되었다고 보고되고 있다. 선행 연구에서 보고된 상관계수( $R^2$ )와 본 연구에서 산출된 상관계수( $R^2$ )를 비교하였을 때 본 연구에서 산출된 상관계수( $R^2$ )는 0.9895로 기존 연구보다 높은 상관관계를 나타내었다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 먹는 물 수질공정시험기준의 시험방법과 MC-Media Pad를 이용한 시험법이 높은 상관관계를 나타내어 물에 대한 일반세균수 정량에 MC-Media Pad 사용이 가능할 것으로 판단되었다. 따라서 일반세균 실험에 건조필름 방법을 도입하기 위해 다수 실험실이 참여하는 건조필름의 일반세균 정량 정확도 검증이 필요한 것으로 판단된다.

## 4. Conclusion

본 연구에서는 물에 대한 일반세균수 실험 시 건조필름 적용 가능성을 분석하고자 평판배지법과 건조필름법을 이용한 일반세균수 정량 정확도를 비교 분석하였다. 먹는 물 수질공정 시험기준의 시험방법에 따라 지하수 등 물 500건을 분석하였다. PCA를 사용한 평판배지법과 MC-Media Pad AC를 이용한 건조필름법의 일반세균수는 각각  $2.6 \pm 1.1$  Log cfu/mL,  $2.6 \pm 1.2$  Log cfu/mL로 검출되었다.  $p$  value는 0.933로 나타나 일반세균수의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 상관계수( $R^2$ )가 0.9895로 매우 높은 상관관계를 나타내었다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 물에 대한 일반세균수 정량실험에 MC-Media Pad 사용이 가능할 것으로 판단되었다. 따라서 일반세균 실험에 건조필름 방법을 도입하기 위해 다수 실험실이 참여하는 건조필름의 일반세균 정량 정확도 검증이 필요한 것으로 판단된다.

## References

- Beloti, V., de Souza, J. A., de Aguiar, F. B., Nero, L. A., de Mattos, M. R., Gusmao, V. V., and de Moraes, L. B. (2003). Evaluation of petrifilm™ EC and HS for total coliforms and *Escherichia coli* enumeration in water, *Brazilian journal of microbiology : publication of the Brazilian Society for Microbiology*, 34(4), 301-304.
- Choi, P. K., Huh, P., Lee, K. H., and Cho, D. H. (2018). Study on water quality improvement in public drinking water facilities in gyeonggi-do, *Journal of the Korean Society for Environmental Analysis*, 21(3), 148-153. [Korean Literature]
- Hamm, S. Y., Kim, K. S., Lee, J. H., Cheong, J. Y., Sung, I. H., and Jang, S. (2006). Characteristics of groundwater quality in sasang industrial area, busan metropolitan city, *Journal of Economic Environmental Geology*, 39(6), 753-770. [Korean Literature]
- Hiroshi M., Masashi U., Shigeyuki A., and Mihoko I. (2003). Sensitivity and specificity of the sanita-kun aerobic count: Internal validation and independent laboratory study, *Journal of AOAC International*, 86(2), 355-366.
- Korean Statistical Information Service (KOSIS). (2019). *Water usage in 2016*, <http://kosis.kr/search/search.do?query=%EC%88%98%EC%A7%88> (accessed Nov. 2019).
- KSI. (2017). *Analysis of correlation*, [http://6025.co.kr/bbs/board.php?bo\\_table=cust\\_in&wr\\_id=13](http://6025.co.kr/bbs/board.php?bo_table=cust_in&wr_id=13) (accessed Nov. 2019).
- Kudaka, J., Horii, T., Tamanaha, K., Itokazu, K., Nakamura, M., Taira, K., Nidaira, M., Okano, S., and Kitahara, A. (2010). Evaluation of the petrifilm aerobic count plate for enumeration of aerobic marine bacteria from seawater and caulerpa lentillifera, *Journal of Food Protection*, 73(8), 1529-1532.
- Lee, E. H., Ko, J. Y., and Kim, J. S. (2008). Distribution and characteristics of heterotrophic plate count bacteria in water samples from drinking water dispensers, *The Microbiological Society of Korea*, 44(3), 244-250. [Korean Literature]

- Lee, I. H., Kim, S. K., Choi, Y. H, and Kim, J. S. (2006). Distribution and characteristics of coliform bacteria in groundwater of yeungnam province, *The Korean Journal of Microbiology*, 42(2), 95-102. [Korean Literature]
- Ministry of Environment (ME). (2018). *Groundwater Act*, <http://www.law.go.kr/%EB%B2%95%EB%A0%B9/%EC%A7%80%ED%95%98%EC%88%98%EB%B2%95> (accessed Nov. 2019).
- Ministry of Environment (ME). (2019). *Groundwater annual report*, [http://index.go.kr/potal/stts/idxMain/selectPoSttsIdxMainPrint.do?idx\\_cd=1216&board\\_cd=INDX\\_001](http://index.go.kr/potal/stts/idxMain/selectPoSttsIdxMainPrint.do?idx_cd=1216&board_cd=INDX_001) (accessed Nov. 2019).
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). (2019). *Food code*, [http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01\\_03.jsp?idx=362](http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=362) (accessed Nov. 2019).
- National Institute of Environmental Research (NIER). (2018). *The standard of official water quality testing of potable water*, [http://www.nier.go.kr/NIER/cop/bbs/selectNoLoginBoardArticle.do?menuNo=90001&bbsId=BBSMSTR\\_00000000031&ntId=24543&Command=READ](http://www.nier.go.kr/NIER/cop/bbs/selectNoLoginBoardArticle.do?menuNo=90001&bbsId=BBSMSTR_00000000031&ntId=24543&Command=READ) (accessed Nov. 2019).
- Schraft, H. and Watterworth, L. A. (2005). Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and escherichia coli in water: comparison of 3MTM petrifilm™ plates with standard plating procedures, *Journal of Microbiological Methods*, 60(3), 335-342.
- Seo, R. J., Park, S. H., and Lee, K. H. (2009). Microbiological water quality of water purifiers at elementary schools in gunsan area, *The Korean Journal of Microbiology*, 45(1), 74-81. [Korean Literature]
- Yu, J. H., Wang, C. K., Shin, I. C., Kim, D. U., and Park, K. S. (2016). Analysis of waterborne pathogenic bacteria among total coliform positive samples in the groundwater of chungcheongnam-do province, Korea, *Journal of Environmental Health Sciences*, 42(3), 189-195. [Korean Literature]