

총대장균군-평판집락법
(Total Coliform-Pour Plate Method)

2025

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 물속에 존재하는 총대장균군을 분석할 때 검사결과의 정확성과 통일성을 제공하는 데 필요한 제반사항을 규정함을 목적으로 한다.

1.2 적용범위

이 시험방법은 하·폐수에 적용할 수 있다.

1.3 “내용 없음”

2.0 용어정의

2.1 총대장균군

그람음성·무아포성 간균으로서 락토오스를 분해하여 기체 또는 산을 생성하는 모든 호기성 또는 통성 혐기성균 혹은 베타-갈락토오스 분해효소(β -galactosidase)의 활성이 있는 세균을 말한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 배양기

배양온도를 (35 ± 0.5) °C로 유지할 수 있는 것을 사용한다.

3.2 페트리접시

지름 약 90 mm, 높이 약 15 mm인 유리제품이나 1회용 플라스틱제품으로서 멸균된 것을 사용한다.

3.3 피펫 또는 자동피펫

부피 1 mL ~ 10 mL인 눈금피펫이나 자동피펫(플라스틱 피펫 팁 포함)으로서 멸균된 것을 사용한다.

3.4 항온 수조

수온을 45 °C 내외로 유지할 수 있는 것을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 배지

표 1. 평판집락법 배지(desoxycholate agar) 조성

성 분	조 성
펩톤(peptone)	10.0 g
락토오스(lactose, $C_{12}H_{22}O_{11}$, 분자량: 342.30)	10.0 g
데속시콜레이트나트륨(sodium desoxycholate)	1.0 g
염화나트륨(sodium chloride, NaCl, 분자량: 58.50)	5.0 g
인산일수소칼륨(dipotassium phosphate, K_2HPO_4 , 분자량: 174.18)	2.0 g
구연산제이철암모늄(ferric ammonium citrate, $C_6H_8O_7 \cdot Fe \cdot NH_3$, 분자량: 264.85)	1.0 g
구연산나트륨(trisodium citrate, $Na_3C_6H_5O_7$, 분자량: 258.07)	1.0 g
뉴트럴레드(neutral red)	0.03 g
한천[agar, $(C_{12}H_{18}O_9)_n$]	15.0 g

정제수 1 L에 표 1의 조성대로 넣고 pH를 (7.3 ± 0.2)로 맞춘다. 배지를 완전히 끓여서 녹인 후 45 °C ~ 50 °C 까지 식혀 사용한다.

[주 1] 고압증기멸균하지 않는다.

4.2 희석액

ES 04701.1 총대장균군-막여과법의 4.2 희석액에 따른다.

5.0 시료채취 및 관리

ES 04130.1 시료의 채취 및 보존 방법에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

6.1 대조군 시험

6.1.1 이 시험방법을 처음 실시하거나 사용하던 배지, 시약 등의 제조사가 바뀔 때마다 양성대조군과 음성대조군 시험을 동시에 실시해야 하며, 양성대조군 시험결과는 양성, 음성대조군 시험결과가 음성으로 나왔을 때만 유효한 결과값으로 판정한다.

6.1.2 양성대조군은 *Escherichia coli* 표준균주를 사용하고, 음성대조군은 멸균 희석액을 사용한다.

7.0 분석절차

7.1 페트리접시에 평판집락법 배지를 약 15 mL 넣은 후 항온수조를 이용하여 45 °C 내외로 유지한다.

[주 2] 3시간을 경과하지 않는 것이 좋다.

7.2 평판집락 수가 30개 ~ 300개가 되도록 시료를 희석한 후 1 mL씩을 시료당 페트리접시 2매에 넣는다.

[주 3] 시료의 희석부터 배지를 페트리접시에 넣을 때까지 조작시간은 20분을 초과하지 말아야 한다.

7.3 균기 전에 좌우로 10회전 이상 흔들어 시료와 배지를 완전히 섞은 후 실온에서

균한다.

7.4 균한 페트리접시의 배지 표면에 다시 45 ℃로 유지된 평판집락법 배지를 3 mL ~ 5 mL 넣어 표면을 얇게 덮고 실온에서 정치하여 균한 후 (35 ± 0.5) ℃에서 18시간 ~ 20시간 배양한 다음 진한 전형적인 적색 집락을 계수한다.

[주 4] 필요시, 집락계수기(colony counter) 또는 자동화된 집락계수기(automated colony counter)를 사용할 수 있다.

7.5 정확성을 기하기 위하여 실험할 때마다 1개 이상 음성대조군 시험을 위 방법과 동일한 조건에서 같이 실시해야 하며, 이때 음성대조군 평판에서는 전형적인 총대장균군의 집락이 없어야 한다.

8.0 결과보고

8.1 집락수가 30개 ~ 300개 범위인 것을 산술평균하여 ‘총대장균군 수 / mL’로 표기하고, 반올림하여 유효숫자 2자리로 나타낸다. 결과값의 유효숫자가 2자리 미만이면 1자리로 표기한다. 다만, 결과값이 소수점을 포함하면 반올림하여 정수로 표기한다.

8.2 수질이 양호하면 검출되는 총대장균군 수가 일반적으로 낮으므로 모든 집락을 계수하여 표기한다.

9.0 참고자료

9.1 일본 상수시험방법 8.2.1, “대장균군-대속시콜산염 한천배지법”, (2001)

9.2 EPA Method 9132, “Total coliform: Membrane-filter technique”, (1986)

10.0 “내용 없음”