

대장균-효소기질정량법

2024

(*Escherichia coli*-Quantitative Enzyme Substrate Method)

1.0 개요

1.1 목적

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

1.2 적용범위

이 시험기준은 하천수, 호소수, 지하수, 물놀이형 수경시설 등에 적용할 수 있다.

1.3 간섭물질

시료 자체에 탁도와 색도가 있으면 수질검사 결과에 영향을 미칠 수 있다. 이때는 막여과법이나 시험관법 등을 이용해야 한다.

2.0 용어정의

2.1 대장균

그람음성·무아포성 간균으로서 베타-글루쿠론산 분해효소(β -glucuronidase)의 활성이 있는 모든 호기성 또는 통성 혐기성균을 말한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 배양기

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

3.2 피펫 또는 자동피펫

부피 1 mL ~ 25 mL인 눈금피펫이나 자동피펫(플라스틱 피펫 팁 포함)으로서 멸균된 것을 사용한다.

3.3 자외선 램프

365 nm ~ 366 nm(6 와트) 범위로 파장 조사를 할 수 있어야 한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 효소기질 시약

상용화된 효소기질 시약을 이용하여 대장균을 시험할 때 효소기질 시약은 대장균이 분비하는 효소인 베타-글루쿠론산 분해효소(β -glucuronidase)에 형광을 나타내는 기질을 포함해야 한다. 막여과법 또는 시험관법을 이용하여 대장균을 분석하는 방법과 동등 또는 이상의 신뢰성 있고 정량할 수 있는 상용화된 제품을 사용한다.

[주 1] 보관 조건, 유효기간 및 사용방법 등은 제조사의 설명서를 따른다.

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 이 시험기준을 처음 실시하거나 사용하던 제품, 시약 등이 바뀔 때마다 막여과법 또는 시험관법을 이용하여 대장균을 분석하는 방법과 동등 또는 이상의 결과값을 확보한 후에 실험을 진행한다.

6.2 양성대조군과 음성대조군 시험을 동시에 실시하여야 하며, 양성대조군은 *Escherichia coli* 표준균주를 사용하고, 음성대조군은 멸균 희석액을 사용하도록 한다.

7.0 분석절차

7.1 “내용 없음”

7.2 시험방법

7.2.1 상용화된 용기와 시약을 사용하고, 무균조작으로 시료 100 mL와 상용화된 효소 기질 시약을 넣어 완전히 혼합하고 제품의 사용설명서에 따라 적정시간 (35 ± 0.5) °C에서 배양 후 자외선 램프(365 nm ~ 366 nm, 6와트)를 사용하여 암실에서 형광을 관찰하여 MUG(4-methyl-umbelliferyl- β -D-glucuronide)에 의한 형광이 관찰되면 대장균 양성으로 판정하여 정량한다.

[주 2] 정량방법은 제품의 설명서를 따른다.

7.2.2 모든 시험은 음성대조군 시험을 동시에 실시하여 음성대조군 시험결과는 음성으로 나왔을 때만 유효한 결과값으로 판정한다.

7.2.3 위양성으로 추정되는 시료는 총대장균군 시험관법 또는 막여과법으로 확인할 수 있다.

8.0 결과보고

시험 결과는 ‘대장균 수 / 100 mL’로 표기하며 반올림하여 유효숫자 2자리로 표기한다. 결과값의 유효숫자가 2 미만이 될 경우에는 1자리로 표기한다. 다만, 결과값이 소수점을 포함하면 반올림하여 정수로 표기한다.

9.0 참고자료

9.1 Standard Method 9223, “Enzyme substrate coliform test”, 23rd edition, (2017)

9.2 HPA National Standard Method, W18, “Enumeration of coliforms and *Escherichia coli* by IDEXX(Colilert 18) Quanti-TrayTM”, (2005)

9.3 일본 상수시험방법 8.2.2.1, “대장균 특정효소기질배지법”, (2001)

9.4 먹는물공정시험기준 ES 05705.3, “대장균-효소기질정성법”, 환경부, (2024)

9.5 KS I ISO 9308, “수질-*Escherichia coli*와 대장균군의 검출 및 계수”, 환경부, (2014)

10.0 “내용 없음”