

분원성대장균군-막여과법
(Fecal Coliform-Membrane Filtration Method)

2025

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 수돗물, 먹는물공동시설 등에 존재하는 분원성대장균군을 분석할 때 검사결과와 정확성과 통일성을 제공하는 데 필요한 제반사항을 규정함을 목적으로 한다.

1.2 적용범위

이 시험기준은 「먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙」 제2조의 규정에 따른 수돗물, 먹는물공동시설 등의 수질검사에 적용한다.

1.3 “내용 없음”

2.0 용어정의

2.1 분원성대장균군

온혈동물의 배설물에서 발견되는 그람음성·무아포성의 간균으로서 44.5 °C에서 락토오스를 분해하여 기체 또는 산을 생성하는 모든 호기성 또는 통성 혐기성균을 말한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 여과막

공경 (0.45 ± 0.02) μm , 지름 47 mm 이상 크기의 미생물 분석용 여과막으로서 막의 한 면에 격자가 그려진 멸균된 것을 사용한다.

3.2 여과장치

여과막을 끼워서 여과할 수 있게 하는 장치로서 무균조작할 수 있어야 하며, 멸균하여 사용한다.

3.3 멸균흡수패드

두꺼운 여과지나 스펀지 또는 유리섬유여과막으로 지름 47 mm 크기의 원형패드를 멸균하여 사용한다.

3.4 필터깔때기

10 mL ~ 250 mL의 시료를 담을 수 있는 부피로 미리 멸균처리한 것을 사용한다.

3.5 피펫 또는 자동피펫

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

3.6 페트리접시

지름 60 mm와 높이 15 mm, 지름 50 mm와 높이 12 mm 또는 적절한 크기의 멸균된 것을 사용한다.

3.7 핀셋

끝이 뾰족하고 넓으며 여과막을 집어 올릴 때 여과막을 손상하지 않는 형태의 것으로서 화염멸균할 수 있는 것을 사용한다.

3.8 마개 달린 유리시험관 또는 유리용기

고압증기멸균이 가능하며 투명한 재질의 마개가 달린 약 15 mL 부피의 유리시험관이나 유리병 또는 이에 상응하는 용기를 사용한다.

3.9 다람 (Durham)시험관

중시험관용 다람시험관(안지름 6 mm, 높이 30 mm)을 사용한다. 고압증기멸균할 수 있어야 하며 기체 포집 위해 거꾸로 집어넣는다.

3.10 접종루프 (Inoculation loop)

고리의 안지름이 약 3 mm인 접종루프를 사용한다.

3.11 항온수조 또는 배양기

온도를 $(44.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 로 유지할 수 있는 항온수조를 사용하거나 동등한 사양의 배양기를 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 막여과법 확정시험용 배지

상용화된 완성제품을 사용할 수 있으며, 제조하여 사용할 때는 정제수 1 L에 표 1 또는 표 2의 조성대로 넣고 가열하여 녹인 후 pH가 (6.9 ± 0.2) 가 되도록 조정한 다음 다람시험관이 들어 있는 시험관에 10 mL씩 나누어 넣고 121°C 에서 15분간 고압증기 멸균한다.

표 1. 막여과법 확정시험용 배지(EC 배지) 조성

성 분	조 성
트립톤(tryptone)	20.0 g
락토오스(lactose, C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ , 분자량 : 342.30)	5.0 g
바일솔트 3번(bile salts No. 3)	1.5 g
인산일수소칼륨(dipotassium phosphate, K ₂ HPO ₄ , 분자량 : 174.18)	4.0 g
인산이수소칼륨(monopotassium phosphate, KH ₂ PO ₄ , 분자량 : 136.09)	1.5 g
염화나트륨(sodium chloride, NaCl, 분자량 : 58.44)	5.0 g

표 2. 막여과법 확정시험용 배지(EC-MUG 배지) 조성

성 분	조 성
트립톤(tryptone)	20.0 g
락토오스(lactose, C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ , 분자량 : 342.30)	5.0 g
바일솔트 3번(bile salts No.3)	1.5 g
인산일수소칼륨(dipotassium phosphate, K ₂ HPO ₄ , 분자량 : 174.18)	4.0 g
인산이수소칼륨(monopotassium phosphate, KH ₂ PO ₄ , 분자량 : 136.09)	1.5 g
염화나트륨(sodium chloride, NaCl, 분자량 : 58.44)	5.0 g
MUG(4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide)	0.05 g

4.2 “내용 없음”

5.0 시료채취 및 관리

5.1 멸균된 시료용기를 사용하여 무균적으로 시료를 채취하고 빨리 시험해야 한다. 빨리 시험할 수 없다면 빛이 차단된 1 ℃ ~ 5 ℃ 냉장 보관 상태에서 30시간 이내에 시험해야 한다.

5.2 잔류염소가 존재하는 경우, 잔류염소 제거를 위한 시약은 잔류염소 4 mg/L 이하인 시료 1 L 기준으로 멸균한 티오황산나트륨 용액 (80 g/L) 1 mL에 준하는 양을 첨가하며, 잔류염소의 농도에 따라 첨가량을 조절한다.

5.3 수도꼭지에서 시료를 채취할 때는 수도꼭지를 틀어 수돗물을 2분 ~ 3분간 흘려버린 후 채취한다. 수도꼭지에 연결된 부착물은 제거하고 깨끗한 헝겊이나 휴지로 이물질 을 닦아낸 후 시료를 채취한다. 필요하면 가스버너 등으로 수도꼭지 입구를 충분히 소독 한다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

6.1.1 이 시험기준을 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.

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

7.0 분석절차

7.1 “내용 없음”

7.2 시험방법

7.2.1 추정시험

총대장균군 막여과법 추정시험과 동일하다.

7.2.2 확정시험

총대장균군 추정시험이 양성일 때 수행한다.

7.2.2.1 총대장균군 막여과법 추정시험이 양성이면 금속성 광택을 띠는 분홍이나 진홍색 계통 또는 광택이 없더라도 검붉은색 집락을 확정시험용 배지(EC 배지 또는 EC-MUG배지)가 10 mL씩 들어 있는 시험관(다람시험관이 들어 있는 시험관)에 접종시켜 $(44.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 로 (24 ± 2) 시간 배양한다.

7.2.2.2 이때 기체가 발생하지 않으면 분원성대장균군은 음성, 기체 발생이 관찰되었을 때는 분원성대장균군은 양성으로 판정한다.

7.2.3 모든 시험은 음성대조군 시험을 동시에 실시하며 음성대조군 시험결과는 음성으로 나왔을 때만 유효한 결과값으로 판정한다.

8.0 결과보고

8.1 결과 표기

분원성대장균군이 검출되지 않으면 ‘불검출/100 mL’로, 검출되면 ‘검출/100 mL’로 표기한다.

9.0 참고자료

9.1 Standard Method 9222, “Membrane filter technique for members of the coliform group”, 23rd edition, (2017)

9.2 수질오염공정시험기준 ES 04702.1, “분원성대장균군-막여과법”, 환경부, (2024)

10.0 “내용 없음”