

압력센서를 이용한 대장균 측정기의 제작

이찬원*, 양기섭**, 박종식***, 이재운^o, 김재철***, 권우현***, 김승호^o

Development of coli meter using pressure sensor

Chan Won Lee*, Ki Sub Yang**, Jong Sik Park***, Jae Yoon Lee,^o
Jae Chul Kim*** and Woo Hyen Kwon***, Sung Ho Kim^o

요약

본 논문에서는 물 속에 있는 대장균의 양을 측정하는 새로운 방법을 제안하였다. 이는 대장균의 배양시 생성되는 CO_2 가스 생성에 의한 압력의 증가율을 측정함으로써 이루어진다. 압력 및 온도 센서를 이용하여 제작된 계측기에 의하여 측정된 결과 4~6시간만에 대장균의 양을 측정할 수 있어 기존의 방법에서 소요되는 24~72시간보다 신속한 측정이 가능함을 확인하였다.

Abstract

We propose a new method for measuring coliform group in water. In this method we measure the pressure increase rate with time due to the generation of CO_2 gas formed during the fermentation of coli. Experimental results by constructed instrument using pressure and temperature sensors show that we can determine the amounts of coli in 4~6 hours, which usually takes 24~72 hours by conventional methods.

1. 서론

약수, 지하수, 수돗물 등 음용수와 수질 모니터링,

상하수처리 등 여러 분야에서 대장균 측정은 필수적이다. 대장균군은 그람음성, 무아포성의 간균으로 유당을 분해하여 가스 또는 산을 발생하는 모든 호기성 또는 통성혐기성균으로 정의된다. 대장균은 수질의 지표 미생물^[1]로 측정되며 대장균이 다량 검출됨은 수계에 사람을 포함한 동물의 배설물이 유입되고 있음을 의미한다. 대장균의 수를 나타내기 위하여 최적확수(MPN/100ml)를 사용하는데 이는 검수 100ml에 있는 대장균의 수를 의미한다. 먹는 물의 대장균 수질기준은 시료 50ml에서 검출되지 않아야 한다^[2]. 국내에서는 1996년부터 하폐수처리장 방류수에도 대장균을 측정하게끔 규정하고 있다. 미국에서는 1993년 undercooked ground beef에서 대장균이 검출되고 위생적으로 문제가 발생한 이후 신속하며 신뢰성 있는 측정 방법을 개발하는 것이 시급하다고 보고되고 있다^[3]. 기존의 대장균 측정 방법은 시료를 유당이 포함된 배지에서 배

* 경남대학교 환경보호학과
(Dept. of Environ. Protection, KyungNam Univ.)

** 경남대학교 환경문제연구소
(Environmental Research Institute, KyungNam Univ.)

*** 경북대학교 전자전기공학부
(Dept. of Electronics & Electrical Eng., KyungPook Nat. Univ.)

o 국방과학연구소
(Agency for Defense Development)

oo 경북대학교 컴퓨터공학부
(Dept. of Computer Engineering, KyungPook Nat. Univ.)

<접수일자 : 1996년 3월 2일>

양할 때, 대장균군이 증식하면서 가스를 생성하는데, 이 때의 양성시험관수를 확실적인 수치인 최적확수로 표시하는 방법인 MPN^[45]법과 시료를 유당이 함유된 한천배지에 배양할 때, 한 마리의 대장균이 증식하면서 산을 생산하고 동시에 하나의 집락을 형성하는데, 이때 생산된 산은 지시약을 진한 적색으로 변화시켜 대장균군의 집락을 식별하는 집락(colony)계수법^[44]이 있다. 이 방법은 측정을 위하여 48~72시간이 소요되며 현장에서의 측정은 불가능하다. 대장균측정을 위하여 U.S Standard Methods(18th edition)에 선택적 배지(Selective media)를 이용하여 측정하는 방법^[6]이 개발되어 있으나, UV lamp에 의한 비색법으로 측정하는 방법도 있다.

본 논문에서는 Coliform과 *E.coli* 측정을 위하여 개발되어 있는 기질로 각각 ONPG (O-nitrophenyl galactose)와 MUG(4-methyl-umbelliferyl Glucuronide)를 사용하고 측정 장치로 압력센서를 사용하여 발효 가스 발생량을 측정하는 대장균 측정기를 개발하였다. 본 연구에서 개발된 측정기는 발생 가스량을 온-라인(on-line) 모니터링 할 수 있는 압력센서와 프로그램을 이용한다.

II. 대장균의 특성 및 측정 원리

1. 대장균의 특성

대장균군에 속하는 미생물은 유당(lactose)을 35°C에서 48 시간 이내에 발효시켜 가스를 생성하는 모든 호기성 및 통기성 그람음성 비포자형성균들을 말한다. 이는 인간의 장내에서 사는 미생물중 우점종균으로 많은 수가 사람의 배설물에서 발견된다. 이런 이유로 자연수에서 대장균군의 발견은 물의 배설물 오염의 표시로 해석된다. 또한, 환경 변화에 따라 분포양상이 변하여 환경변화의 정도를 나타내므로 지표미생물(indicator microorganism)로 이용된다. 대장균은 lactose broth와 같은 영양물질이 풍부한 배지에서 20~30분만에 배증하는 번식속도가 빠른 특성을 갖고 있으므로 선택적 배양에 의한 측정이 가능하다.

2. 대장균 측정기의 원리

측정하고자 하는 시료에 선택성을 갖는 배지를 첨가하고 밀폐된 용기에 배양 조건을 갖추어 주면 대장균

의 발효에 의하여 CO₂가 발생되어 용기내의 압력이 증가하게 된다. 따라서 압력의 시간당 변화율을 측정하면 정량화된 기준표에 의하여 시료에 있는 대장균의 양을 얻을 수 있다. 그림 1에 본 논문에서 제작한 대장균 측정기 prototype 시스템의 개요도를 표시하였다.

압력센서와 온도센서로부터 들어오는 아나로그 입력 값을 Z-80 마이크로 프로세서를 가진 측정기는 디지털 값으로 변환하고 신호 처리를 한후 IBM PC와 RS-232C를 통하여 처리된 데이터를 전송한다.

측정방법

(1단계)

대장균 측정기의 반응기(부피 335ml)에 Lactose broth배지 100ml를 취한후 약 20~40ml의 시료를 첨가한 다음 35±0.5°C의 항온조에서 12~24시간동안 실험하면서 압력변화를 측정한다.

(2단계)

대장균군에 높은 선택성을 갖는 ONPG 및 MUG를 첨가하여 1단계의 최적조건에서 압력증가곡선을 작성한다. 또한 *E.coli* 순수 배양체(KCTC1043)의 희석 배수를 달리하면서 기존의 MPN/100ml의 압력증가곡선과의 상호관계를 분석한다.

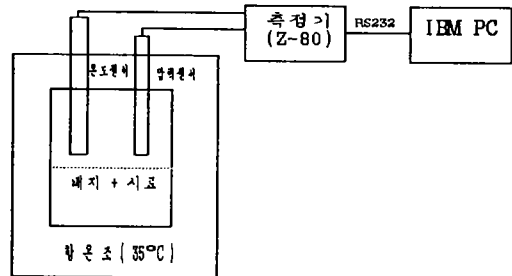


그림 1. 대장균 측정기의 개요도

Fig. 1. Concept diagram of coli meter.

III. 대장균 측정기의 구조

본 연구에서 만들어진 대장균 측정기의 블록 다이어그램은 그림 2와 같다. 대장균 측정기는 마이크로 프로세서 Z-80을 중심으로 ROM(27256), SRAM(6264), USART(8251), CTC, A/D 변환기, 압력센서 그리고 온도센서로 이루어져있다.

압력센서와 온도센서는 일본 Copal Electronics사의

PA-800-102G-05 압력센서(0~1기압)를 사용하였고, 실리콘 반도체 온도센서를 사용하였다. 온도센서는 실리콘 다이오드의 온도 특성에 따라 $-2mV/^\circ C$ 의 온도 변화율을 가진다. 측정기는 센서로부터 들어오는 아날로그 입력값을 가산 회로를 사용하여 오프셋 값을 제거하고 증폭시켜서 A/D 변환을 한다. 이 디지털로 변환된 데이터 값을 Z-80에서 읽어 들어서 적절한 데이터 값으로 처리후 RS-232C 인터페이스를 통하여 PC로 전송한다. 측정은 CTC 타이머는 인터럽트 방식을 이용하여 Z-80이 센서의 측정값을 읽도록 한다. 그리고 측정시간은 PC에서 제어 가능하도록 하였다. 그림 3는 제작된 대장균 측정기의 ROM 프로그램의 흐름도를 나타내었다.

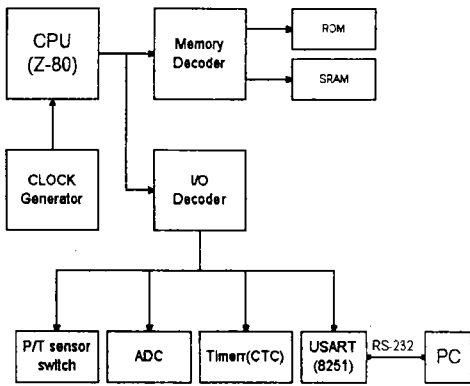


그림 2. 대장균 측정기의 하드웨어 블록 다이어그램.
Fig. 2. H/W block diagram of coli meter.

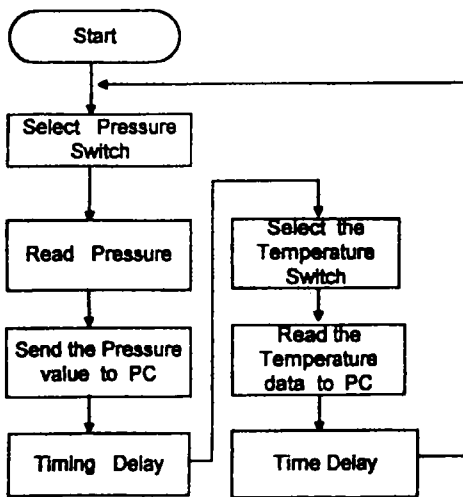


그림 3. 대장균 측정기의 ROM 프로그램의 흐름도.
Fig. 3. Flowchart ROM program of coli meter.

IV. 실험 결과 및 고찰

Monod 방정식^[7]을 이용한 회분식 반응기의 기질 소비에 관한 물질 수지식은 다음과 같이 표시된다.

$$V \frac{dS}{dt} = V r_{su} \quad (1)$$

$$V \frac{dS}{dt} = V \left(-\frac{kXS}{K_s+S} \right) \quad (2)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{kXS}{K_s+S} \quad (3)$$

V : reactor의 부피, S : Substrate(기질) 농도
 r_{su} : 기질 소비율, X : 미생물(대장균) 농도
 K_s : 반속도 상수 (Half velocity constant)
 k : μ_{max}/Y 단위 무게의 미생물당 최대 기질 소비율
 μ_{max} : 최대비성장률
 Y : 최대미생물 생산계수

대장균 증식에 관한 물질 수지식은 다음과 같다.

$$V \frac{dX}{dt} = V r_g \quad (4)$$

$$V \frac{dX}{dt} = V (-Yr_{su} - k_d X) \quad (5)$$

$$\frac{dX}{dt} = Y \left(\frac{kXS}{K_s+S} \right) - k_d X = -Y \frac{dS}{dt} - k_d X \quad (6)$$

r_g : 미생물 증식률

k_d : 내생 감소계수

Y (Yield): 단위 질량 기질당 생산되는 미생물 량

$S_0=100mg/\ell$, $k_d=0.04 d^{-1}$, $k=2.0h^{-1}$, $Y=0.4kg/kg$,
 $K_s=80mg/\ell$ 그리고 $X_0=200mg/\ell$ 일때 이론적인 증가곡선은 그림 4와 같다. 미생물의 증식속도가 누적 CO_2 생성량(압력증가)과 비례하므로 압력증가 실측곡선은 그림 4와 유사한 경향으로 증가할 것이다. 대장균 측정 반응기를 압력 측정 장치와 연결하여 $35^\circ C$ 에서 연속 자동 측정된 결과를 그림 5에 나타내었다. 배

지 및 시료의 부피와 배지의 강도를 변화시킨 측정조건에 따라 압력증가의 정도가 달랐지만 전반적인 압력 증가 곡선의 형태는 이론적인 증가 곡선과 일치하였다.

이영진과 전재근^[8]의 김치발효 가스압력 변화 측정 시스템에서는 2단 압력증가의 김치숙성 곡선을 얻었다. 이는 김치발효에 많은 종류의 미생물이 작용하고 크게 2가지 양상을 갖는 발효가 진행되는 것으로 추측된다. 하지만 대장균 측정기의 경우 단지 대장균균에 의한 압력 증가가 일어날 것이므로 그림 4의 이론 곡선 및 그림 5의 실측치와 같은 단순 증가 곡선을 나타내는 것으로 고려된다.

(1) Headspace(배지 및 시료의 부피)가 측정시간 및 압력증가 곡선에 미치는 영향

측정 시작 후 약 20-30분간의 적응기(lag period)를 갖는 경우가 있었지만 그 후 정상적으로 증가하였으며 초기 약 1시간 내에 대수적으로 압력이 증가하였다. 최대압력은 배지와 시료의 부피를 증가시켜 headspace를 줄인 경우 즉 배지 150ml+30ml의 경우에 측정되었다.

(2) 배지의 강도가 압력증가 곡선에 미치는 영향

배지 100ml + 시료 20ml의 경우 그림 6에서 보는 바와 같이 배지(Lactose broth)의 강도를 2배 증가

시켰을 경우 5시간까지는 유사한 형태로 증가하고 그 후 계속 직선으로 증가한 후 평형상태에 도달하였다.

배지 150ml + 시료30ml의 경우 가스압력증가는 그림 7에서와 같이 압력이 높았으며 또한 가스압력 증가의 형태가 이론치와 유사하게 증가하였고 6시간 이후에 정체기에 도달하였다.

V. 결론

본 논문에서는 선택적 배지를 사용하여 대장균을 밀폐된 공간에서 배양할 때 대장균의 발효로 발생하는 이산화탄소에 의한 압력을 측정함으로써 물 속의 대장균의 양을 신속하게 측정할 수 있는 새로운 측정기를 설계·제작하였다. 개발된 측정기로 대장균을 측정하는데 4~6 시간 정도가 소요되었다. 본 연구의 결론을 다음과 같이 요약한다.

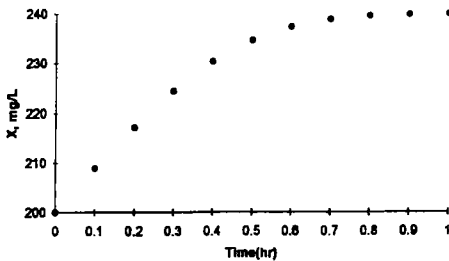


그림 4. 대장균의 이론적인 성장 곡선.
Fig. 4. Theoretical growth curve of coli.

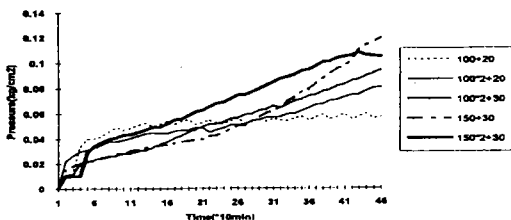


그림 5. 대장균 측정기에 의한 압력 증가 이력 곡선.
Fig. 5. Pressure increase profile by coli meter.

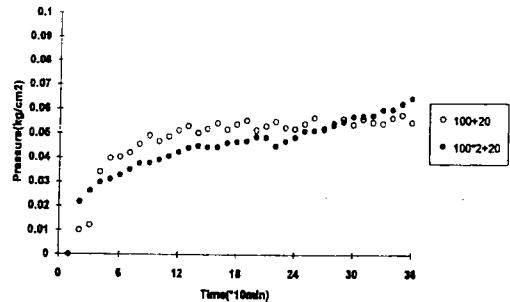


그림 6. 100ml 배지 + 20ml 시료 대하여 가스 발생에 관한 시료의 효과
Fig. 6. Effect of medium strength on gas production with 100ml medium + 20ml sample.

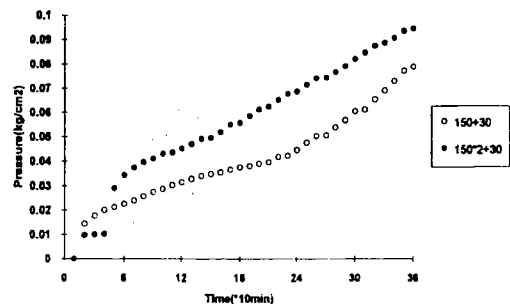


그림 7. 150ml 배지 + 30ml 시료 대하여 가스 발생에 관한 시료의 효과
Fig. 7. Effect of medium strength on gas production with 150ml medium + 30ml sample

- (㉞) 대장균에 대한 특이성과 선택성이 있는 시약을 사용함으로써 다른 미생물의 성장에 따른 오차가 없다.
- (㉟) 단일 반응기(single reactor)에 의한 본 실험의 결과 4~6hr내에 측정이 가능하여 기존의 24~72hr의 측정 보다 훨씬 신속하며, 개발된 계측기의 최적 측정 조건으로 일반 Lactose broth 농도의 2배(26g/l)를 첨가하고 배지와 시료의 양을 증가시켜 headspace를 줄이는 것이 바람직하였다.
- (㊱) 시료채취, 반응 및 온라인 측정이 본 계측 시스템에서 동시에 수행되는 신속 간편하며 독창적인 환경측정 장비 개발이다.
- (㊲) 기존의 MPN방법과 개발된 대장균 측정기의 압력증가와의 상관관계는 향후 multi-reactor를 제작하여 실험하여야 할 것이다.

참 고 문 헌

- [1] 안승구, 김상진, 안태석, 이건형, 안태영, 조기성, 권오섭, 박성주, 환경미생학, 신광문화사, pp.294-299, 1995.
- [2] 류회정, 신항식, 신형우, 위생공학, 신광문화사, pp.22, 1995.
- [3] James Giease, "Rapid microbiological testing kits and instruments", Food Technol. Vol, 49(7), pp.64-71, 1995.
- [4] 조순행, 구자공, 한상욱, 서용찬, 수질관리, 동화기술, pp.111-112, 1995.
- [5] 이장훈, 실험 환경미생물, 동화기술, pp.60-64, 1992.
- [6] APHA. 1992. Standard methods for examination of water and wastewater, 18th Ed. American public Association, Washington, D.C.
- [7] Metcalf & Eddy, Waste water Engineering, 1992, McGrawhill.
- [8] 이영진, 전재근, 김치발효 중 가스 압력 변화와 압력 측정 시스템의 개발, Korean J. Food Sci. Technol. Vol. 22(6) , pp.686-689, 1990.

著 者 紹 介



이 찬 원

1954년생, 1977년 서울대학교 식품공학과 졸업(공학사), 1979년 서울대학교 대학원 식품공학과 졸업(공학석사), 1987년 University of Florida, Dept. of Environmental Eng. & Sciences 졸업(공학박사),

1988년~현재 경남대학교 환경보호학과 부교수, 주관심분야 : 수질오염방지



이 재 윤

1967년생, 1993년 경북대학교 전자공학과 졸업(공학사), 1996년 경북대학교 대학원 전자공학과 석사과정 졸업(공학석사), 1996년~현재 국방과학연구소 연구원, 주관심분야 : 마이크로프로세서 응용 시스템 설계



양 기 섭

1967년생, 1993년 경남대학교 환경보호학과 졸업(이학사), 1995년 경남대학교 대학원 환경보호학과 석사과정 졸업(이학 석사), 1996년 현재 경남대학교 환경문제연구소



김 재 철

1964년생, 1990년 경북대학교 전자공학과 졸업(공학사), 1992년 경북대학교 대학원 전자공학과 석사과정 졸업(공학석사), 1993년~현재 경북대학교 대학원 전자공학과 박사과정, 주관심분야 : 실시간 영상처리



박 종 식

1953년생, 1976년 서울대학교 물리학과 졸업(이학사), 1978년 한국과학원 수학 및 물리학과 졸업(이학석사), 1987년 University of Florida, 전기공학과 졸업(공학박사), 1978년~1981년, 1987년~현재 경북

대학교 전자전기공학부 부교수, 주관심분야 : VLSI 설계, DSP

권 우 현

『센서학회지 제2권 제2호』 논문93-2-2-05, p.37 참조
현재 : 경북대학교 전자전기공학부 교수, 학장보



김 승 호

1958년생, 1981년 경북대학교 전자공학과 졸업(공학사), 1983년 한국과학기술원 전산학과 졸업(공학석사), 1994년 한국과학기술원 전산학과 졸업(공학박사), 1985년~현재 경북대학교 컴퓨터공학과 부교수, 주관심분야 : 알고리즘 설계, HCI