

LOP와 Petri Dish의 수분 보호능에 관한 비교 연구

이진성*, 서유미*, 강창열*, 정용대*, 이상수**, 오정균**

*(주)나래바이오테크 미생물소재연구소, **(주)나래바이오테크

e-mail: lejis@naraebio.com, seayumi@naraebio.com,
hip7610@naraebio.com, ted@naraebio.com, mask2k@naraebio.com
and joh@naraebio.com

Comparative Studied on Moisture-Protection Ability of LOP and Petri Dish

Jin-Sung Lee*, Yu Mi Seo*, Chang Youl Kang*,
Young Dae Jeong*, Sang Soo Lee**, and Jung Kyun Oh**

*Research Institute of NaraeBioTech Co., Ltd,

**NaraeBioTech Co., Ltd

요 약

현재 가장 범용적으로 사용되는 미생물 배양 용기인 Petri Dish는 배지 제조 후 냉장과 실온 보관 시 수분 증발에 대한 보호 효과가 적어 세 달 이상 보관하기 어려운 단점이 있어 즉시 사용 배지(pre-plated media) 개발에 장애가 되고 있다. 본 연구는 미생물 배지의 장기 저장에 가능하도록 고안된 LOP plate의 수분 보호능에 관한 것으로, LB 배지를 표준 배지로 해서 4, 25, 32 및 37°C 네 개의 온도 영역과 진공 포장 및 비 포장 조건에서 Petri Dish와 비교한 결과, 각 온도 조건별로 LOP의 탁월한 수분 보호능을 확인 할 수 있었다. 따라서 향후 LOP를 이용한 장기 저장과 즉시 사용이 가능한 pre-plated media와 관련된 제품 개발이 가능할 것으로 기대된다.

1. 서론

Petri Dish는 현재 가장 범용적으로 사용되는 미생물 배양용기로서 미생물의 배양, 증균, 확인 및 동정 시험에 필수적인 소모성 재료이다. 하지만 상부와 하부의 단순한 구조로 인해서 배지 제조 후 수분의 증발이 빨라 통상 4°C에서 1~3개월 미만의 짧은 배지 품질이 유지되는 단점으로 인해 pre-plated media 제품 개발에 장애가 되고 있다. 또한, 목적균의 신속한 선별 및 감별을 위한 chromogenic media[1] 및 이를 응용한 다양한 즉시 사용 배지에 대한 수요자 측면의 제품화 요구성을 맞추는 데에도 어려움을 겪는 이유가 되고 있다.

미생물 배양에 있어서 가장 중요한 요인은 수분, pH, 온도, 산소 등이 있는데[2] 그 중에서 수분은 pH 함께 pre-plated media 제조에 있어서 배지 최적 품질을 유지하기 위한 가장 어려운 용기적인 측

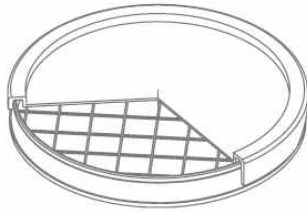
면에서의 주요 고려 사항 중의 하나이다[2].

따라서 본 연구는 제조된 배지의 수분 보호 기능에 있어서 단점을 갖는 Petri Dish를 대체할 수 있는 역시 끼우기 방법으로 고안된 LOP(Lab On a Plate)의 수분 보호 효과 및 최적 pH 유지 능력을 Petri Dish와 비교함으로써 pre-plated media 용기로서의 LOP(그림 1, 2)의 가능성을 탐색하고자 본 연구를 수행하였다.

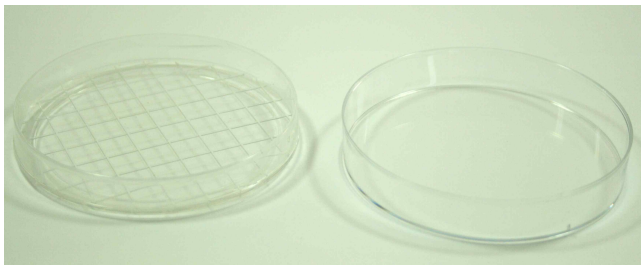
2. 재료 및 방법

본 연구에서는 Himedia사(Mumbai, India)의 LB 배지(Casein enzymic hydrolysate 10g, Yeast extract 5g, NaCl 10g/1000 ml)를 표준 배지로서 사용하였다. LB 배지의 제조는 실온에서 완전히 교반하고 1.5% agar(15g/1000 ml)를 첨가한 다음, 멸균하여 준비하였고 샘플의 제조는 배지 제조 전에 청

량된 LOP와 Petri Dish에 미리 준비한 LB 배지를 12.5 ml씩 분주하고 30분 간 식힌 후, 배지가 주입된 용기 무게를 칭량하여 준비하였다. 4℃(실제 배지 보관온도), 25℃, 32℃, 37℃의 네 가지의 보관 온도 조건에서의 수분 증발에 대한 실측 및 가속 실험을 수행하였다. 이때 각 온도별로 보관 되는 용기의 포장 조건은 포장하지 않은 Petri Dish(P.N.), 진공포장 한 Petri Dish(P.V.), 포장하지 않은 LOP(L.N.) 및 진공포장 한 LOP(L.V.) 등 네 가지로 하였다.



(그림 1) LOP 구조 개념도



(그림 2) LOP(왼쪽)과 Petri Dish의 하부 구조 사진



그림 3) LOP(왼쪽)과 Petri Dish의 상부 구조 사진

수분 증발 측정 기간은 저장하기 전을 T₀로 하고 이후 4일 간격으로 T₁, T₂, T₃을 설정해서 각 보관 온도 별, 포장 조건별 샘플의 전체 무게를 측정한다. T₀ 시점에서 미리 칭량된 배지의 중량에서 뺀 값인 실제 수분 변화가 일어난 실제 배지 중량을 계산해서 T₀을 기준으로 4일 간격의 T₁, T₂, T₃에 대한 수분 변화를 백분율로 하여 계산하였다[표 1].

pH 변화율(유지능력)은 포장시점인 T₀의 pH

7.5(±0.2)을 기준으로 각 보관온도 및 포장 조건별로 배지 샘플을 소량 절개한 후 1 g을 칭량(OHAUS)한 다음, 1.5 ml tube에 넣고 10초간 1,000 xg에서 원심분리 하였다. pH의 측정은 유제품 전용의 pH 미터(pH Spear, EUTECH)를 사용하여 3회 반복 측정 후 이를 평균하여 계측하였다.

3. 결과

3.1. 수분 변화

본 연구를 통해서 LOP와 Petri Dish는 각각 보관 온도가 높아질수록 수분 증발도 상대적으로 증가하는 것으로 나타났다(표 1). 또한, 표 1에서와 같이 동일한 보관 온도조건에서는 진공 포장 한 것이 하지 않은 것보다 상대적으로 높은 수분 증발 억제 효과가 있음을 확인 할 수 있었다.

(표 1) LOP와 Petri Dish의 보관온도 및 용기보관 조건에 따른 수분 함량 비교

보관 온도	포장 조건	T ₀ (%)	T ₁ (%)	T ₂ (%)	T ₃ (%)
4℃	P.N		98.65	98.28	95.48
	P.V.		99.68	98.70	99.68
	L.N.		100.00	100.00	99.84
	L.V.		100.00	100.00	99.58
25℃	P.N		93.08	86.60	91.90
	P.V.		99.60	99.59	99.50
	L.N.	100	99.92	98.26	99.83
	L.V.	(12.3±0.3g)	99.92	100.00	99.92
32℃	P.N		78.01	56.78	30.14
	P.V.		98.72	96.55	94.26
	L.N.		99.13	97.90	96.50
	L.V.		99.45	98.84	98.28
37℃	P.N		59.29	19.44	4.56
	P.V.		97.20	95.12	88.30
	L.N.		98.63	96.26	94.99
	L.V.		99.18	99.44	95.26

특히, 37℃ 보관온도 조건에서 12일째 경과한 T₃ 시점에서의 비 포장 조건으로 포장 조건이 동일한 LOP와 Petri Dish의 수분 증발율은 각각, 3.5%와 69.85%로 LOP가 Petri Dish보다 약 19.96배의 수분 증발 억제능을 가지는 것으로 나타났다(표 1). 또한, T₃의 37℃ 온도 조건에서 진공포장 된 Petri Dish와 LOP의 수분 증발은 각각 11.7%와 4.74%로 LOP가 약 2.46배의 수분 증발 억제효과가 있음을 알 수 있었다(표 1).

수분 함량을 배지의 품질 요소로 고려할 때 A.Ulisse[3]가 정한 5℃±3℃에서 5%이내의 수분 함도를 적용해 보면 Petri Dish는 4℃의 모두 포장 조

건 및 25℃ 진공포장(P.V.) 조건에서만 허용 기준이 내인 반면에 LOP의 경우는 모든 온도 및 포장 조건에서 5% 이내의 수분 감소 허용 기준 안에 들어가는 것으로 나타났다.

3.2. pH 변화

LB 배지를 표준배지로 해서 T₀ 시점의 pH 7.6(±0.2)로 설정하여 세 가지의 온도 구간과 2가지 조건의 포장 조건으로 4일 간격으로 12일간의 pH 변화를 관찰한 결과, 전체적으로 시간의 경과에 따른 pH의 감소가 관찰되기는 하였으나 일정한 pH의 변화율은 확인되지 않았다(표 2). 하지만, LOP의 경우보다는 Petri Dish의 pH 변화가 모든 온도 구간에서 상대적인 편차가 높음을 알 수 있었다. 그리고 이러한 pH의 변화에 대한 편차를 통상의 배지 보관 온도인 4℃ 온도조건과 비교해 보면 보관 온도가 증가하면서 pH 변화의 편차도 상대적으로 높아진다는 것을 알 수 있었다(표 2).

보관 조건에 따른 pH의 변화를 보면 진공포장한 것이 하지 않은 조건보다 진공 포장 한 조건에서의 pH 변화가 보다 안정적이며 같은 보관 조건에서의 pH 변화는 Petri Dish 보다는 LOP가 훨씬 더 안정적임을 확인 할 수 있었다(표 2).

[표 2] LOP와 Petri Dish의 보관온도 및 용기보관 조건에 따른 pH의 변화 비교

보관 온도	포장 조건	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
4도	P.N	7.5 (±0.2)	7.52	7.54	7.51
	P.V.		7.64	7.66	7.52
	L.N.		7.58	7.57	7.60
	L.V.		7.68	7.66	7.63
25도	P.N	7.55	7.20	7.40	
	P.V.	7.66	7.65	7.61	
	L.N.	7.65	7.67	7.52	
	L.V.	7.66	7.65	7.40	
32도	P.N	7.46	7.48	7.34	
	P.V.	7.62	7.59	7.64	
	L.N.	7.71	7.58	7.66	
	L.V.	7.62	7.59	7.61	
37도	P.N	7.57	7.00	7.06	
	P.V.	7.67	7.60	7.59	
	L.N.	7.61	7.60	7.60	
	L.V.	7.69	7.60	7.55	

pH 7.5로 제조된 Himedia사의 LB 배지의 pH의 허용 한도 기준을 ± 0.2로 설정 하면[4] Petri Dish의 경우는 25℃의 P.N. 조건에서 T₂와 T₃, 32℃의 P.N. 조건에서 T₁, T₂, T₃, 그리고 37℃ P.N. 조건의 T₂, T₃ 등 총 7 개의 영역에서 허용 범위를 초과하

였으나 LOP의 경우는 25℃의 L.V 조건 T₃, 32℃의 L.N 조건 T₁ 등 총 2개의 영역에서 LB 배지의 pH 제조 오차 범위를 초과하였다.

결론적으로 본 연구의 평가기간 내에서 보면 LOP의 pH 유지능력이 Petri Dish 보다는 훨씬 더 안정적임을 알 수 있었다(표 2).

3. 결론

본 연구는 가장 일반적인 미생물 평판 배양 용기인 Petri Dish가 갖는 제조 후 장기간 보전이 어려운 단점을 개선할 수 있는 대안으로 Petri Dish의 규격과 기능을 유지하면서 억지 끼우기 구조를 적용하여 밀폐성을 강화한 새롭게 개발된 LOP를 대상으로 Petri Dish와의 수분 증발 억제 능력과 pH의 유지력을 비교한 것이다.

일반적으로 Petri Dish로 제조된 배지는 통상적으로 별도의 포장을 보안 함에도 불구하고 4℃에서 불과 1~3 개월 미만의 짧은 품질 보전력을 가지고 있어 유통에 필요한 시간, 온도 및 구매 후 실제 사용하면서 소진되는 시간과 보관온도를 고려한 6개월 이상의 장기 보관이 가능한 pre-plated media 개발에 최대의 단점으로 지적되고 있다. 하지만 본 연구를 통해서 LOP가 수분 증발 억제능에 있어서 기존의 Petri Dish 보다 실제 배지 보관온도인 4℃는 물론 25℃, 32℃ 및 37℃의 세 가지의 가속 온도 구간 모두에서 탁월한 수분 보호 효과가 있음이 확인되어 향후 pre-plated media의 개발에 가장 큰 장애 중에 하나인 장기간 보전에 따른 배지의 건조 문제를 LOP의 사용으로 해결 될 수 있을 것으로 생각된다.

한편, LOP와 Petri Dish의 pH 유지 능력에 대한 평가는 4개의 보관 온도 구간 모두에서 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 이러한 이유로는 첫째, pH 변화가 일어나기 위해 필요한 절대적 시간이 충분하지 못할 수 있다는 점, 즉 평가기간이 짧다는 것과 둘째, pH의 변화가 수분 증발과 보관 온도 측면에서 상관성이 높지 않다는 것 등으로 해석할 수 있다. 따라서 이러한 점을 고려하여 향후의 연구는 다양한 온도 구간 및 평가 기간을 장기적으로 설정하여 LOP와 Petri Dish 용기에 대한 수소 이온 농도 유지능에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구를 통해 수분 증발의 억제능에서 LOP가 기존의 Petri Dish보다 탁월한 효과가 있음이 확인되어 앞으로 6개월 이상의 냉장조건과 상온조건 모두에서 장기 보전성을 갖는 pre-plated media과 관

련한 다양한 제품개발의 가능성을 확인할 수 있었다.

※ 본 연구는 2008년 중소기업청의 “산학협력 기업부설연구소 설치 지원사업”으로 지원 받은 과제입니다.

4. 참고문헌

- [1] Biolife Manual, INGRAF Milano, 3rd Ed., Rev. 1. Biolife, Milan, Biolife Italiana SRL 2000.
- [2] 김신무외 18인, 임상미생물학 실습(제3판), 고려의학, 2006.
- [3] S. Ulisse, A. Peccio, G. Orsini & B. Di Emidio, "A study of the shelf-life of critical culture media", Veterinaria Italiana 42(3):237-247., 2006.
- [4] The HiMedia Manual from www.himedialabs.com