

Petri dish와 LOP의 보관조건에 따른 수분함량 비교 연구

홍수영, 서유미, 강창열, 이병우*, 권무식*, 이진성[§]

(주)나래바이오테크 부설 미생물소재연구소

*성균관 대학교 유전공학과

e-mail:lejis@naraebio.com

Comparative Study of Moisture Content of LOP and Petri Dish by Storage Condition

Su Young Hong, Yu Mi Seo, Chang Youl Kang,

Byung Woo Lee, Moosik Kwon*, Jin-Sung Lee[§]

Research Institute of NaraeBioTech Co., Ltd

*Department of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University

요 약

현재 상용화되어 있는 petri dish는 미생물 배지의 보관기간이 4℃의 온도에서 15~50일 정도 되기 때문에 장기저장이 어렵다. 그래서 본 연구는 자체 고안된 LOP(Lab on a plate)와 petri dish에 고체배지를 제조하여 배지의 수분함량을 비교하기 위한 연구를 수행하였다. 본 연구에 사용한 배지는 *Bacillus cereus* 배양을 위한 MYP(Mannitol Egg Yolk Polymyxin) agar로 이용하여 제조하였으며 각각 진공포장 및 비포장하여 4℃와 25℃의 온도조건에서 6주 동안 매주 수분함량을 측정된 결과, LOP와 petri dish 모두 비포장 조건보다 진공포장조건의 수분보호능이 우수 하였으며 진공포장조건에서는 25℃가 4℃보다 상대적 수분 보호능이 좋음을 확인할 수 있었다. 또한, 비포장조건에서도 LOP가 4℃와 25℃ 모두 petri dish보다 수분보호능이 탁월하여 유통기간이 훨씬 더 연장될 수 있는 가능성을 보여 주어 앞으로 LOP를 이용한 장기 보관과 즉시 사용이 가능한 pre-plated media와 관련된 다양한 제품의 용기로 사용 가능할 것으로 기대된다.

1. 서론

Petri dish는 가장 보편적으로 사용되는 미생물 배양용기로서 미생물의 배양, 증균, 확인 및 동정 시험에 필수적인 소모성 재료이다. 하지만 상부와 하부의 단순한 구조로 인해서 배지 제조 후 수분의 증발과 배지 성분의 산화로 인한 성능의 보존이 어려워 배지의 품질유지 기간이 4℃에서 2주~2개월 미만인 단점으로 인해 pre-plated media 제품 개발에 장애가 되고 있다. 또한, 목적균의 신속한 선별 및 감별을 위한 chromogenic media[1] 및 이를 응용한 다양한 배지에 대한 수요자 측면에서 제품생산에 대한 요구성을 맞추는 데에도 어려움을 겪는 이유가 되고 있다.

미생물 배양에 있어서 가장 중요한 요인은 수분, pH, 온도, 산소, 영양분 등이 있는데 그 중에서 수분은 pH와 함께 pre-plated media 제조에 있어서 배

지 최적 품질을 유지하기 위한 사항이며 현재 petri dish의 측면에서는 이를 제어하기 어려운 실정이다 [2].

기존의 petri dish를 사용하여 전통적인 배양 배지 제조를 위해서는 매 단계마다 적절한 배지의 제조가 요구되며, 고압멸균기, 크린벤치, 교반기 등의 별도의 장비를 필요로 함은 물론 많은 시간(2일 정도)을 소모함으로써 식품 미생물 검사원들에게 있어서 미생물의 신속한 검출을 비효율적이게 하는 원인이 된다. 그래서 LOP는 이러한 문제점을 경감하기 위해 사용자가 사전에 제조된 배지를 사용함으로써 배지 제조와 같은 사전준비과정을 제거함으로써 전체적으로 시간 및 비용을 절감하고 설비의 요구를 경감하며 사용자간의 배지제조상의 편차를 제거함으로써 검사결과의 신뢰성을 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 제조된 배지의 수분 증발 억제 능력에 있어서 단점을 갖는 petri dish를 대체할 수 있는 밀폐성이 뛰어난 새로운 구조적 특징을 가지는 자체 고안된 LOP(Lab On a Plate)의 수분 보호 효과를 Petri dish와 비교함으로써 pre-plated media 용기로서의 LOP(Fig. 1.)의 제품 개발 가능성을 탐색하고자 본 연구를 수행하였다.

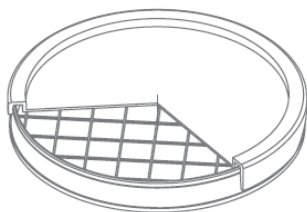
2. 재료 및 방법

2.1. 배지 준비와 제조

본 연구에서는 Himedia사(Mumbai, India)의 MYP Agar Base(Phenol Red Egg Yolk Polymyxin Agar Base, 23.0g./450ml)를 표준 배지로서 사용하였다. MYP 배지의 제조는 46.0g을 칭량하여 증류수 900ml을 첨가한 후 실온에서 완전히 교반하여 멸균하였다. 멸균된 배지를 55℃로 냉각한 후 교반하면서 Sterile Polymyxin B Selective Supplement 2vial과 Sterile Egg Yolk Emulsion 100ml을 첨가하여 골고루 혼합한 후 Petri dish와 LOP에 각각 15.0ml씩 분주하여 건조하였다.

2.2. 수분함량 측정

LOP와 petri dish는 배지 분주 전에 용기 무게를 먼저 측정했다(Blank). 준비한 MYP 배지를 LOP와 petri dish에 분주하고 1시간 냉각, 건조한 후 배지가 주입된 용기 무게를 칭량하여 4℃, 25℃의 보관 온도 조건에서의 수분 증발에 대한 실측 및 가속 실험을 2회 반복 수행하였다. 이때, 각 온도별로 보관되는 용기의 포장 조건은 포장하지 않은 petri dish(PN), 진공포장한 petri dish(PV), 포장하지 않은 LOP(LN) 및 진공 포장한 LOP(LV) 등 네 가지로 하였다.



[Fig. 1] Two-Dimensional structure of LOP

수분 증발 측정 기간은 저장하기 전을 T₀로 하고 이후 일주일 간격으로 T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆을

설정해서 각 보관 온도별, 포장 조건별 샘플의 전체 무게를 측정된 뒤 T₀ 시점에서 미리 칭량된 배지의 중량에서 뺀 값인 실제 수분 변화가 일어난 실제 배지 중량을 계산해서 T₀을 기준으로 일주일 간격의 T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆에 대한 수분 변화를 백분율로 하여 계산하였다(표 1).

3. 결과

3.1. 수분 변화

본 연구를 통해서 LOP와 petri dish는 각각 보관 온도가 4℃보다 25℃에서 수분 증발 정도가 많은 것으로 나타났고 동일한 보관 온도조건에서는 진공 포장한 것이 포장하지 않은 것보다 상대적으로 높은 수분 증발 억제 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[Table 1] Comparison of Moisture content by storage-temperature and packaging condition of LOP and Petri Dish using MYP Medium

1차	4℃		25℃		4℃		25℃	
	PN (%)	PV (%)	PN (%)	PV (%)	LN (%)	LV (%)	LN (%)	LV (%)
T ₁	91.29	99.42	82.87	99.99	98.98	99.82	98.02	100.0
T ₂	82.06	99.35	59.87	99.98	98.06	99.45	97.22	99.99
T ₃	76.43	98.91	39.61	99.98	97.17	99.50	96.41	99.99
T ₄	72.68	99.00	34.78	99.97	97.65	99.81	93.17	99.98
T ₅	58.90	98.95	20.83	99.96	95.41	99.41	90.74	99.98
T ₆	57.75	98.44	08.14	99.95	95.68	98.74	91.40	99.97

2차	4℃		25℃		4℃		25℃	
	PN (%)	PV (%)	PN (%)	PV (%)	LN (%)	LV (%)	LN (%)	LV (%)
T ₁	90.03	99.20	80.68	99.99	98.81	99.81	98.47	100.0
T ₂	82.17	99.14	57.80	99.98	98.82	99.68	94.83	99.98
T ₃	76.92	99.17	44.53	99.98	97.50	99.50	96.09	99.99
T ₄	75.47	99.07	24.97	99.97	97.05	99.42	95.04	99.99
T ₅	63.30	98.83	14.45	99.96	97.06	99.34	92.16	99.98
T ₆	61.23	98.21	07.88	99.95	96.36	98.86	88.47	99.97

특히, 포장하지 않은 petri dish(PN)는 25℃의 보관 온도 조건에서 2주(T₂) 후 59.87%, 57.80%로 수분 함량이 50% 정도 감소하였으며 6주(T₆) 후에는 8.14%와 7.88%로 약 90% 정도로 급격하게 감소하였다. 4℃ 보관 온도 조건에서는 수분 함량이 5주(T₅)~6주(T₆) 후에 57.75~63.30%로 40% 정도 감소하는 것으로 나타나 petri dish는 비포장조건에서 25℃에서 2주 미만, 4℃에서는 5~6주 미만의 유통기간을 가질 것으로 추정된다. 그런 반면 진공 포장한

petri dish(PV)는 4°C의 보관온도 조건에서 98.44%, 98.21%로 약 2% 정도 감소하였으며 25°C의 보관온도 조건에서는 둘다 95.95%로 거의 감소하지 않았다.

또한, 비포장한 LOP(LN)는 25°C의 보관온도 조건에서 수분함량이 91.40%, 88.47%로 약 9~11% 정도 감소하였으며 4°C 보관온도 조건에서는 95.68%, 96.36%로 약 4% 정도 감소하였다. 진공 포장한 LOP(LP)는 4°C의 보관온도 조건에서 98.74%, 98.86%로 약 1% 정도 감소하였으며 25°C 보관온도 조건에서는 둘다 99.97%로 거의 감소하지 않았다.

6주 경과한 T₆ 시점에서 비포장한 용기는 25°C 온도조건에서 LOP(LN)가 petri dish(PN)보다 약 10배 정도, 4°C 온도조건에서는 1.5배 정도 수분 증발 억제능력을 가지는 것으로 나타났으며 진공 포장한 용기는 모두 수분 증발 억제능력이 우수하였다.

수분 함량을 배지의 품질 요소로 고려할 때 A.Ulisse[3]가 정한 5°C±3°C에서 5% 이내의 수분 함도를 적용해 보면 petri dish는 4°C의 모든 포장 조건 및 25°C 진공포장(PV) 조건에서만 허용 기준이 내인 반면에 LOP의 경우는 모든 온도 및 포장 조건에서 5% 이내의 수분 감소 허용 기준 안에 들어가는 것으로 나타났다.

따라서, 진공포장한 용기는 미생물 배양배지의 유통기간을 연장시킬 수 있을 것으로 사료되며 일반 petri dish보다 LOP가 수분 억제능력이 뛰어나 향후 배양배지의 장기보관을 위한 용기로의 활용도가 높아질 것으로 기대된다.

4. 결론

본 연구는 기존의 일반 petri dish에서 배양배지의 보존 기간이 2주~2개월 미만으로 짧다는 것을 감안하여 수분의 증발과 배지 성분의 산화로 인한 배양배지 성능의 보존기간을 연장시키기 위한 대안으로 기존의 petri dish의 규격과 기능을 유지하면서 구조적으로 밀폐성을 강화한 LOP를 사용하여 일반 petri dish와의 배양배지 수분함량을 비교하였다.

최근 이슈로 떠오르고 있는 *B. cereus* 균주의 배양을 위해 MYP agar를 제조하여 각각 진공포장 및 포장하지 않은 조건에서 보관온도를 4°C, 25°C로 하여 6주(42일) 동안 매주 수분함량을 측정하였다. 그 결과 LOP의 진공포장 조건은 현재 가장 많이 사용되는 미생물 배양 용기인 petri dish의 진공 포장 조건보다 우수한 수분 보호 효과가 우수함이 확인되었

다. 마찬가지로 비포장조건에서도 LOP가 4°C와 25°C에서 petri dish보다 수분보호능력이 상대적으로 높음을 확인하였다.

기존의 미생물 배양용기인 petri dish에서의 배양 배지의 유통기한이 짧은 원인은 petri dish의 단순한 구조와 배지의 95% 이상을 차지하는 수분의 증발, 공기와의 접촉에 의한 배지성분의 산화 그리고 호기성 곰팡이류와 같은 포자형성 미생물들의 번식에 의한 오염 등 다양한 원인에 의해서 기인된다. 따라서 장기간 미생물 배양 배지의 품질을 유지하기 위해서는 우선 구조적으로 새로운 미생물 배양 용기의 개발이 선행되어야 한다. 이러한 이유로 개발된 LOP는 개선된 밀폐성과 함께 진공포장을 통해 외기와의 접촉을 차단하여 수분의 증발과 배지 산화를 방지함으로써 배지의 품질 보존력이 개선됨을 본 연구를 통해서 간접적으로 확인이 되었으며 앞으로 LOP를 이용한 즉시 사용 가능 미생물 배양 배지 제품의 상용화에 가장 큰 장애인 장기간 유통능력이 해결 될 수 있을 것으로 기대된다.

* 본 연구는 2008년 중소기업청의 “산학연협력 기업 부설연구소 설치 지원사업”으로 지원된 과제입니다.

5. 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.