

병재배 배지살균 시 배지내부의 실시간 온도측정 방법

정종천, 전창성, 이찬중, 오진아, 신평균
농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과

Methods of temperature measurement of medium in bottle during sterilization

Jong-Chun Cheong, Chang-Sung Jhune, Chan-Jung Lee, Jin-A Oh and Pyeong-Gyun Shin

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science,
Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

(Received May 11, 2011, Revised May 25, 2011, Accepted May 31, 2011)

ABSTRACT: This study was carried out to develop a method related to measuring the temperature of sterile medium in bottle cultivation. When the medium is sterilized, the device is able to be inserted inside of the medium and the temperature can be directly measured in real time although high temperature and pressure are detected in the sterilization. This device can be able to measure the sterilization temperature in short intervals inside of autoclave and medium used in bottle cultivation. As the method were applied to the field cultivation of mushroom, we could produce mushroom in consistent manner through the optimum sterilization of the medium.

KEYWORDS : Bottle cultivation, Mushroom, Sterile medium, Temperature measurement

서 론

버섯 재배에서 배지살균은 종균의 순수배양 및 배지내 버섯균의 우점을 확보함으로써 재배의 성패를 좌우하는 중요한 작업이다. 버섯 배지의 살균방법은 재배형태에 따라 다르다. 느타리, 양송이 등 간이재배시를 활용한 균상재배는 60~65℃로 저온살균(차 등, 1989)을 하고 있으며 미강, 밀기울, 건비지, 면실박 등 질소함량이 높은 재료를 영양원으로 사용하는 병재배나 봉지재배는 주로 121℃ 고압살균(박 등, 1978) 또는 100℃ 상압살균(박, 1997)을 하고 있다.

고압 또는 상압으로 배지를 살균할 경우, 살균기의 노후화, 온도 센서의 부정확, 스팀보일러의 용량 부족 등의 원인으로 배지 내부는 일정 온도까지 도달하는 시간이 지연되기도 한다. 이러한 원인으로 배지가 변질되면 버섯균은 배양, 발생, 생육 기간이 오래 걸리며 수량과 품질이 낮아질 수 있다(정 등, 2005).

따라서 본 시험은 버섯 배지살균시 배양병 내부의 온도변화와 121℃ 또는 100℃ 유지 시간을 조사하였다. 이를 위하여 고온고압에 견디며, 배지 내부에 삽입하여 온도 측정값을 실시간으로 저장할 수 있는 기기를 선택하여 살균기의 종류, 배지의 종류와 용량, 살균방법별로 일정한 시간 간격에 따라 배지의 온도변화와 살균온도 유지시간을 측정하였다. 이와 같은 방법과 결과는 버섯 재배현장에서 응용함으로써 알맞은 배지 살균으로 버섯의 안정생산에 기여할 것으로 기대된다.

재료 및 방법

측정기기 및 살균조건

버섯배지의 살균과정중에 온도변화측정을 위하여 iButton Temperature Data Logger DS-1922T (Co. Maxim Dallas) 제품을 이용하였다. 본 기기의 온도측정 시간을 1분 간격으로 설정하여 배지의 내부에 삽입하고 살균을 실시하였다 (Fig. 1). 살균이 끝난 후 꺼내어 USB Adapter DS-9490R과 Reader DS-1402D를 사용하여 컴퓨터에 연결하고 1-Wire Viewer 프로그램으로 측정온도를 분석하였다(Fig. 2).

- 온도 측정기기 : iButton Temperature Data Logger System (Dallas사 제품)
 - 1) 데이터로거(iButtondatalogger)DS-1922T(125℃, 최근 140℃1922E 출시)
 - 2) 어댑터(USB adapter) DS-9490R
 - 3) 데이터리더(Data reader) DS-1402D

* 1-Wire Viewer 프로그램으로 logger data 분석
- 배지의 종류 및 배양 용기
 - 1) 액체배지 : 250ml삼각플라스크, 500ml바이알
 - 2) 톱밥배지 : 직경30mm시험관, 250ml삼각플라스크, PP병(850, 1100ml)
- 살균 조건 : 100℃상압살균, 121℃고압살균
 - * 살균기 : 60L들이 Autoclave(HS-60, HB-506), 900병용 고압살균기

* Corresponding author : <jccheong@korea.kr>



Fig 1. Measurement devices, medium types, and culture vessel and a small autoclave.

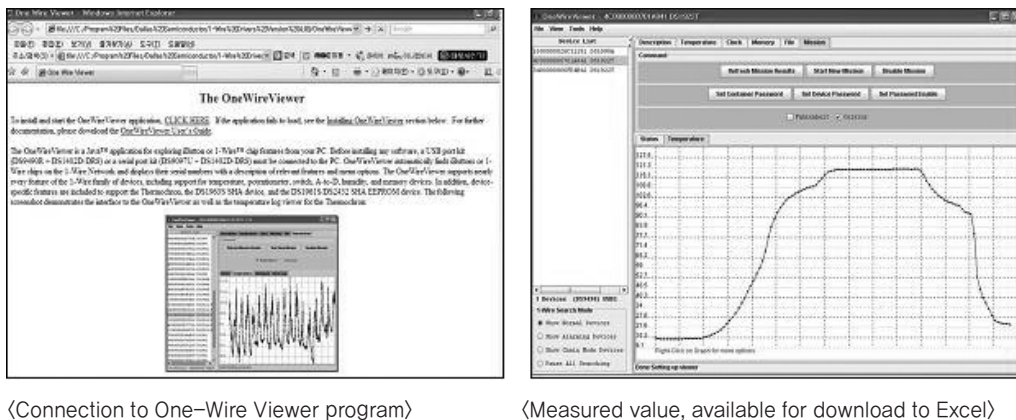


Fig 2. One-Wire Viewer program and measured value

배지종류별 살균온도 측정방법

액체배지 : 액체상태로 살균하는 250ml 삼각플라스크에는 배지량을 100ml씩, 500ml바이알에는 배지량을 500ml씩 온도측정기(데이터로거)와 함께 넣고, 삼각플라스크는 실리스토퍼 NO. 32로, 바이알은 마개로 막은 후, 소형고압살균기(Autoclave HB-506)로 121℃에서 20, 25, 30, 35, 40분간 각각 고압살균하였다.

톱밥배지 : 톱밥배지의 온도변화를 측정하기 위해 시험관, 삼각플라스크, P.P병에 톱밥배지를 넣고 살균과정중의 배지내부의 온도변화를 측정하였다. 톱밥배지는 수분함량을 65%로 조절한 후 70ml 시험관에 45g, 250ml삼각플라스크에는 120g씩 충전하였다. 배지가 충전된 시험관과 삼각플라스크는 실리스토퍼를 이용하여 입구를 막고, 소형고압살균기를 이용하여 살균하였다. 살균조건은 고압살균방법으로 121℃에서 각각 20, 25, 30, 35, 40, 60분간 3반복씩 처리하였다.

그리고 병재배 현장에서 사용하고 있는 850ml들이 PP병에는 수분함량이 65% 정도로 조절한 톱밥배지를 520g씩, 1,100ml 병에는 680g씩 충전하여 배지의 중심에 직경 15mm 정도의 구멍을 뚫어 각각의 마개를 막은 후 121℃에서 60, 90, 99분간 살균하였다. 이때 살균기 내부와 각각의 병에

담긴 톱밥배지의 중앙 내부에 온도측정기(데이터로거; DS-1922T)를 끼워 넣고 배지온도의 변화를 측정하였으며, 살균기와 배지의 온도 차이도 비교하였다. 또한 PP병의 톱밥배지 살균방법을 위의 스팀고압살균기에서 100℃로 6시간 유지하는 상압살균에서의 배지내부 온도변화도 조사하였다.

소형살균기의 사용연한 비교

구입연도가 1999년으로 10년간 사용한 HS-60(한신)과 2006년으로 3년간 사용한 HB-506(한백)의 소형살균기 내부온도를 121℃로 30분간 세팅하고 살균 과정중에 살균기 내부의 온도 변화를 조사하였다.

결과 및 고찰

배지종류 및 배양용기별 멸균온도 유지시간

액체상태와 고체상태 또는 수분함량의 차이 등 배지의 종류와 용량에 따라서 배지내부가 살균온도에 도달하기까지의 시간이 다르다. 또한 살균온도에 도달한 후 살균시간을 유지하는 정도를 알 수가 있어야 배지를 제조하여 살균기에 넣은 후부터의 살균기 조작시간을 결정할 수가 있다. 그

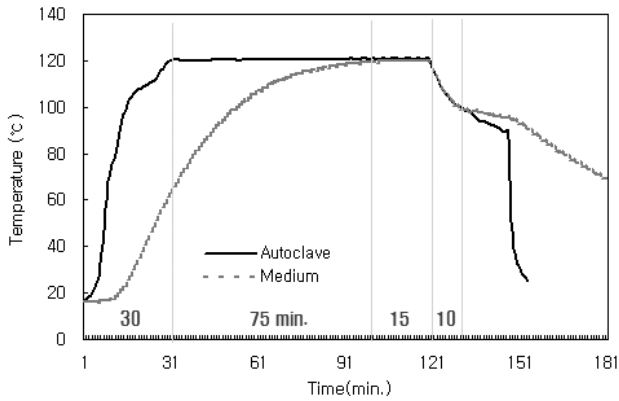


Fig. 3. Changes in internal temperature sterilization pot, and the medium (850 ml, PP bottle).

러나 지금껏 병버섯 재배용 배지의 고압살균시에 병 내부 배지의 온도변화를 측정할 기기가 보급되지 않아서 배지의 종류, 용기의 종류, 배지의 양 등 살균시간의 결정에 영향을 미치는 요인별로 어떤 차이가 있는지를 알지 못하여 막연하게 20분, 40분, 60분, 90분간 살균을 해 왔다. 본시험에 사용한 온도측정기기(DS-1922T)는 직경 17.3mm, 두께 6.2mm의 소형으로 외부에 노출되지 않고 배지 내부에 삽입함으로써 살균 시작부터 끝까지의 온도변화를 실시간으로 저장해 둘 수 있는 data logger 유형이다. 살균이 끝난 후 기기를 회수하여 USB adapter로 컴퓨터에 연결하고 데이터를 읽어 들여 수치 또는 그래프로 볼 수 있으며 Exell 파일로 저장하여 두고 편집도 가능하다(Fig. 3). Fig. 3은 60L(리터)들이 소형살균기(Autoclave)에 톱밥배지 520g씩 충전한 850ml PP병(poly propylene bottle) 28병을 넣고 90분간 살균하면서 살균기 내부와 배지 내부의 온도변화를 1분 간격

으로 측정한 그래프이다. 살균기 내부의 온도가 121°C까지 오르는 데는 30분 정도가 소요되었으나 배지 내부는 75분이 더 소요되었다. 이 때 살균시간 타이머를 90분으로 설정하였기 때문에 살균기 내부가 121°C를 90분간 유지하였을 뿐이고 배지 내부가 살균온도 121°C를 유지한 시간은 15분간이다. 이 경우에 배지 내부의 살균온도 유지시간을 20분간으로 하려면 살균기의 타이머를 95분으로 설정해 두어야 한다. 그리고 살균이 끝난 후 살균기 내부가 상압조건인 100°C 정도에 이른 시간은 살균이 끝나서 스팀 분사가 중단된 후 10분정도 경과되었음을 보여준다. 그후 살균기 내부의 온도가 급격하게 하강하는 것은 살균기의 문을 열었기 때문인 것으로 판단된다.

액체배지 : 액체배지의 경우 버섯균의 액체배양을 위하여 삼각플라스크에 담아서 살균을 하거나, 페트리디시에 분주하여 고체배양을 위하여 vial병에 담아서 살균을 한다. 이때 소형살균기의 내부온도 121°C에서 20, 25, 30, 35, 40분간 유지하였을 때, 250ml들이 삼각플라스크의 액체배지 100ml는 121°C를 18, 20, 23, 27, 33분간 각각 유지하였으며 500ml들이 vial병의 액체배지 500ml는 8, 11, 14, 17, 22분간을 각각 유지하였다. 따라서 배지 내부가 멸균상태에 이르는 121°C를 15~20분간 유지하기 위한 autoclave(소형살균기)의 살균시간 설정은 250ml들이 삼각플라스크가 20~25분간, 500ml들이 vial(바이알)은 35~40분간이 적당한 것으로 판단된다(Table 1).

톱밥배지 : 실험실에서 톱밥배지를 이용한 균사생장속도를 조사하기 위하여 시험관을 활용하기도 하고, 소량의 접종원 배양을 위하여 삼각플라스크를 활용하기도 한다. 이 때 소형살균기 내부온도를 121°C에서 20, 25, 30, 35, 40분간으로 살균하였을 때, 직경 30mm의 시험관 70ml 용량의 높

Table 1. The retention time of the sterilization conditions according to medium type and capacities by the sterilization time (unit : min/121°C)

Sterilization retention time (min./121°C)	Necessary time (min./total)	Liquid medium			Sawdust medium		
		Flask (250 ml)	Vial (500 ml)	Tube (70 ml)	Flask (250 ml)	PP bottle (850 ml)	PP bottle (1,100 ml)
		100 ml	500 ml	45 g	120 g	520 g	680 g
20	71	18	8	17	119°C, 4	-	-
25	85	20	11	23	12	-	-
30	87	23	14	27	15	-	-
35	95	27	17	31	18	-	-
40	98	33	22	38	22	116°C, 2	-
60	125	-	-	-	48	118°C, 4	117°C, 1
90	160	-	-	-	-	18	15
99	175	-	-	-	-	30	25

* Sterilization equipment: Autoclave HB 506

* Sawdust medium: sawdust+rice bran 4:1 (v/v), water content 65%.

Table 2. Appropriate sterilization time according to type and capacity of medium
(Liquid medium)

Sterilization method	Flask	Vial
	(100 mL) ^a	(500 mL)
Existing, Practice (Control)	20 ^b	20
Adjustment (Suggest)	20	25

^avolume of liquid medium, ^bappropriate sterilization time of medium (unit: minute).

(Sawdust medium)

Sterilization method	Test-tube	Flask	Bottle(850mL P.P.)	Bottle(1,100mL)
	(45 g) ^a	(150 g)	(520 g)	(680 g)
Existing, Practice (Control)	40 ^b	60	90	90
Adjustment (Suggest)	30	50	90	95-100

^aweight of water content 65% medium, ^bappropriate sterilization time of medium (unit: minute).

이에 톱밥배지를 45g씩 충전한 배지의 내부는 121℃를 17, 23, 27, 31, 38분간 각각 유지하였으며 250mL들이 삼각플라스크의 250mL 용량의 높이에 톱밥배지를 120g정도 충전한 경우 121℃를 20분간 유지하였을 때 배지의 내부 온도가 119℃에서 4분간을 유지한 채로 세팅한 시간이 경과되었다. 그러나 살균온도를 25, 30, 35, 40분간 유지하였을 때는 12, 15, 18, 22분을 각각 유지하였다. 이 경우에도 배지 내부가 멸균상태에 이르는 121℃를 15~20분간 유지(유 등, 2010)하기 위한 autoclave의 살균시간 설정은 직경 30mm의 시험관이 20~25분간, 250mL들이 삼각플라스크의 톱밥배지는 35~40분간이 적당한 것으로 판단된다(Table 1).

버섯 병재배 농가현장에서 활용하고 있는 PP(Polypropylene)병은 850mL들이와 1,100mL들이가 있다. 각각의 PP병은 담은 배지의 양이 다르기 때문에 살균에 소요되는 시간도 다를 것이나 병내부의 배지온도 변화를 조사하여 적절한 살균시간을 보고한 자료를 찾아볼 수가 없었다. 본 실험에서는 16구진동식자동입병기를 사용하여 용량 850mL, 병구직경 58mm인 PP병에 미송톱밥 80+미강 20 (v/v, %), 수분함량 65%로 조절한 톱밥배지를 520g 정도씩 입병하고, 용량 1,100mL, 병구직경 65mm인 PP병에는 680g정도씩 입병하여, autoclave의 내부온도 121℃에서 60, 90, 99분간 살균하고 나서 배지 내부의 온도변화를 조사하였다. autoclave의 내부온도 121℃를 60분간 유지하였을 때 PP병의 배지 내부온도는 850mL병이 118℃까지 4분간, 1,100mL병이 117℃까지 1분간을 유지하고 세팅한 시간이 경과되었다. 121℃를 90분간 유지하였을 때는 850mL병이 121℃를 18분간, 1,100mL병은 15분간을 유지하였다. 그리고 121℃를 99분간 유지하였을 때는 850mL병이 121℃를 30분간, 1,100mL병은 25분간을 유지하였다. 따라서 PP병의 톱밥배지 내부가 멸균상태

에 이르는 121℃를 15~20분간 유지하기 위한 살균시간 세팅은 850mL들이 PP병이 90~95분간, 1,100mL들이 PP병은 95~100분간이 적당한 것으로 판단된다(Table 1).

톱밥배지의 살균시간을 시험관 40분, 플라스크 60분, 850mL PP병 90분, 1,100mL PP병 90분간 실시하는 관행에 대하여 과다한 살균을 방지하고 안전한 살균을 위하여 Table 1에 근거하여 각각 30분, 50분, 90분, 95~100분간 실시하는 것을 제시한다(Table 2). 그러나 살균을 위한 설비와 기종, 노후 정도, 센서의 정확도, 배지의 수분함량 등에 따라서 살균온도에 도달하는 시간이 다르고, 설정한 온도편차에 따라서 살균온도를 유지하는 정도가 다르다. 따라서 본 시험의 방법을 준용하여 각 살균기별로 살균시의 온도변화를 조사해 보는 것이 좋을 것으로 본다.

살균방법과 배지온도 조사

용량 850mL, 병구직경 58mm인 PP병에 미송톱밥 80+미강 20 (v/v, %), 수분함량 65%로 조절한 톱밥배지를 520g 정도로 입병하고, 스팀보일러를 이용한 900병들이 고압살균기의 내부온도를 121℃(고압살균), 100℃(상압살균), 65℃(저온살균)로 각각 다르게 설정하여 살균하였을 때 배지내부의 온도변화를 조사하였다. 고압살균(121℃)시에는 살균기내부가 121℃까지 오르는데 30분정도가 소요되었으며 PP병의 배지내부 온도가 121℃까지 오르는데는 총 105분정도, 살균기 내부온도가 121℃에 도달하였을 때부터는 75분정도 소요되었다(Fig 3). 이때 살균온도를 90분간으로 설정하였는데 살균기 내부 온도가 121℃에 도달하였을 때부터 타이머가 작동되므로 배지내부는 121℃를 15분정도 유지한 것으로 보인다.

상압살균(100℃)에서는 살균기 내부가 100℃에 오르는

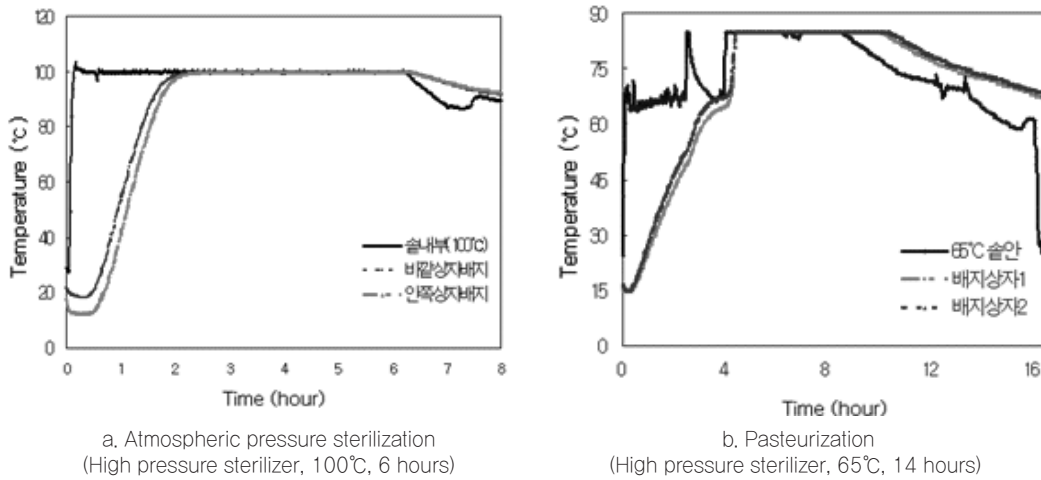


Fig. 4. Changes of the sterilizer and medium inside temperature at the atmospheric pressure sterilization and pasteurization using high pressure sterilizer.

데는 10분도 걸리지 않은 반면에 배지 내부가 100°C까지 도달하는데는 2시간이 소요되었다(Fig. 4. a). 이때 살균시간을 6시간으로 설정하므로 배지내부는 100°C를 4시간정도 유지한 것으로 보인다.

그러나, 스팀보일러와 고압살균기를 이용한 저온살균(65°C)에서는 살균기 내부와 배지 내부의 온도가 80°C까지 올라서 65°C로 일정하게 유지할 수가 없었다(Fig. 4. b). 저온살균 온도인 65°C를 유지할 수 없었던 점은 상압조건에서 수증기의 온도가 100°C이나 본 시험에 사용한 스팀보일러는 1.2 kg/cm²의 고압살균을 위한 것으로 스팀 분사시의 압력이 높기 때문에 900병들이의 작은 살균기에서는 상압을 유지하더라도 살균기 내부는 스팀 분사시의 열 100°C 이상과 설정한 온도 65°C 사이에서 온도 편차가 심하므로 배지 내부의 온도가 너무 높게 유지되는 것으로 보인다. 따라서 스팀보일러와 고압살균기를 이용하여 살균하는 경우 병재배 및 봉지재배용 배지에 활용하는 121°C 고압상압과 100°C 상압살균은 가능하지만, 균상재배 및 상자재배용 배지에 활용하는 65°C 저온살균은 어렵다는 것을 본 시험을 통하여 알았다.

소형살균기의 사용 연한

실험실에서 배지살균을 위하여 사용하고 있는 소형살균기(autoclave)의 종류 및 사용연한이 다른 2종류를 활용하여 살균기 내부온도를 조사하였다. 구입 후 10년간 사용한 HS-60과 3년간 사용한 HB-506의 소형살균기 내부온도를 121°C로 30분간 설정하여 살균이 끝난후 측정기기를 꺼내어 살균기 내부의 온도 변화를 비교하였다.

소형살균기(autoclave)의 사용연한에 따른 성능 비교에서 3년간 사용한 HB-506은 설정온도, 계기판의 표시온

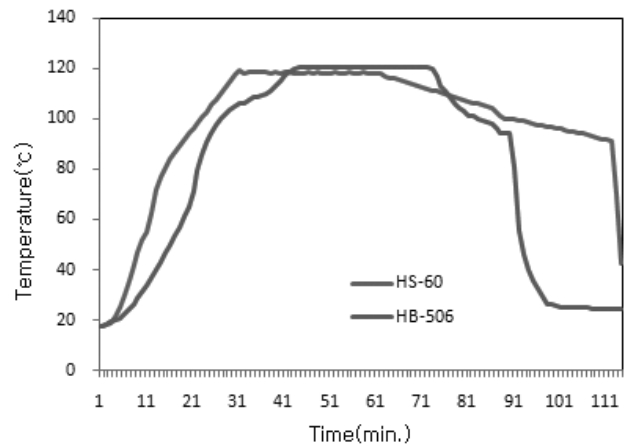


Fig. 5. Changes of the temperature on the type of the autoclave and using years.

도, 센서의 측정온도 간에 차이가 없었으나 10년간 사용한 HS-60의 경우 살균기의 표시온도 121°C에서 측정온도는 2°C가 낮았으며 이 자료를 근거로 수리를 실시한 후에는 온도차이가 없었다. 이러한 시도는 본 기기의 활용도를 높인 사례로 생각된다.

Fig. 5의 그래프에서 살균온도 도달시간이 다른 것은 살균기 내부에서 스팀발생용으로 사용하는 물의 공급방법과 양에 차이가 있기 때문으로 보인다. HB-506 기종은 솔내부에 있는 열선이 잠기도록 물을 직접 공급하는 반면에 HS-60 기종은 옆에 있는 물통에 따로 물을 채워두고 살균시간 설정에 따라 살균기 내부로 물의 흡입시간이 프로그램되어 있다. 따라서 위의 두 기종은 살균이 시작될 때 살균기 내부의 열선을 담고 있는 물의 양이 다르기 때문에 가열시부터 스팀발생 시간이 다름에 기인하는 것으로 보인다.

적 요

본 시험은 버섯 배지를 살균할 때 배지의 내부에 삽입하여 실시간으로 온도 측정값을 저장할 수 있고 고온고압에 견디는 기기(iButton Temperature Data Logger DS-1922T)를 사용하였다. 이 온도측정기는 살균기의 종류, 배지의 종류와 용량, 살균방법별로 일정한 시간 간격에 따라 살균기 및 배지 내부의 온도변화와 살균온도 유지시간의 측정이 가능하였다. 이 실험에 사용한 방법과 결과는 버섯 재배현장에서 응용함으로써 알맞은 배지 살균으로 버섯의 안정생산에 기여할 것으로 기대된다.

참고문헌

- 박용환, 장학길, 고승주, 차동열. 1978. 팽이버섯 병재배에 관한 연구. 농시연보 제 20집(농업기술편) : 129-134.
- 박용환. 1997. 최신버섯학 p324. 한국버섯원균영농조합.
- 유영복, 구창덕, 김성환, 서건식, 신현동, 이준우, 이창수, 장현유. 2010. 버섯학 p101. 자연과사람.
- 정종천, 전창성, 김승환, 원항연, 권재건. 2005. 고온기 팽이버섯 병재배 배지제조시 저온수 이용 효과. 한국버섯학회지 3 : 140-144.
- 차동열, 유창현, 김광포. 1989. 최신버섯재배기술 p142. 상록사.