

세균려과막을 리용하여 미생물검사의 효과성을 높이기 위한 연구

오희남, 김송이, 이정경

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《과학연구부문에서는 나라의 경제발전과 인민생활향상에서 전망적으로 풀어야 할 문제들과 현실에서 제기되는 과학기술적문제들을 풀고 첨단을 돌파하여 지식경제건설의 지름길을 열어놓아야 합니다.》

식료품생산실천에서 신속하면서도 실용적인 미생물검사방법을 완성하는것은 식료품의 안전성을 담보하고 질을 보다 높이기 위한 중요한 요구이다.

우리는 미생물에 의한 식료품손상[4]과 관련하여 손쉽게 적용할수 있는 지시약에 의한 미생물신속검사[1-3]를 보다 더 신속하면서도 실용적으로 진행하기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

배지로는 메틸렌청 또는 레자주린을 넣은 총세균 및 대장균신속검사배지[1-3]를 리용하였다.

세균려과막으로는 일반적으로 세균려과에 많이 리용하고있는 구멍직경이 $0.2\mu\text{m}$ 인 려과막을 리용하였다.

미생물검사는 총세균 및 대장균신속검사배지에서 색변화시간을 측정비교하는 방법으로 진행하였다.

결과 및 논의

1) 지시약에 의한 미생물신속검사에 미치는 세균려과막의 영향

현재까지 세균려과막은 미생물검사에서 액체시료속에 매우 희박하게 들어있는 미생물들을 집적하는데 응용되였다.[4] 즉 려과막으로 매우 적은 수의 미생물이 들어있는 다량의 액체시료를 려과한 다음 려과막을 평판배지위에 놓고 방치시켜 배양하면서 나타나는 균무지를 세는 방법으로 세균려과막을 리용한 미생물검사가 진행되였다. 이 방법은 다량의 시료속에 매우 희박하게 존재하는 미생물과 그 수를 검출가능하게 한다는 우점이 있지만 일반적인 평판배양에 의한 검사법과 같이 눈에 보이는 균무지가 형성될 때까지 적지 않은 시간이 걸리므로 미생물검사의 신속성을 보장하는데는 일정한 결함이 있다.

이로부터 우리는 려과막을 리용하여 미생물을 집적한 후 이 려과막을 미생물신속검사배지에 넣어주면 현재의 미생물신속검사방법을 보다 더 혁신할수 있다고 보고 실지 그것을 확인하기 위한 실험을 진행하였다. 그것은 지시약에 의한 미생물신속검사에서는 지시약의 감도, 미생물을 최대속도로 생장시킬수 있는 배지와 함께 초기시료에 들어있는 미생물수가 대단히 중요하기때문에 려과막을 리용하여 초기균수를 증가시키면 지시약의 변화시간이 더 빨라져 검사시간을 보다 더 단축할수 있기때문이다.

먼저 미생물이 확인된 물시료를 각이한 량만큼씩 세균려과기로 각각 려과한 후 그 려과막을 총세균신속검사배지에 넣어 37℃의 조건에서 방치하면서 색변화시간을 비교하였다. 려과량이 총세균신속검사배지의 색변화에 미치는 영향은 표 1과 같다.

표 1. 려과량이 총세균신속검사배지의 색변화에 미치는 영향

려과량/mL	2	4	8	16
색변화시간/h	9.50±0.23	8.60±0.18	7.60±0.21	6.90±0.14

$n=3, p<0.05$

표 1에서 보는바와 같이 려과량을 2배씩 늘일 때마다 거의 일정한 정도로 총세균신속검사배지의 색변화속도가 빨라졌는데 이것은 세균려과막을 리용하는 경우 지시약에 의한 세균신속검사시간을 보다 더 단축할수 있다는것을 보여준다.

다음으로 세균려과막을 대장균검사에 적용할수 있는가를 판정하기 위한 실험을 진행하였다. 그것은 대장균검사때 일반적으로 대장균은 시료에 대단히 적게 들어있으므로 많은 시료를 려과해야 하는데 이 경우 려과막에 다른 균들이 너무 많이 집적되어 선택배지에서 미처 대장균이 선택도 되기 전에 색변화가 일어나 결과를 확인할수 없는 경우도 있을수 있기때문이다.

이로부터 실험에서는 대장균신속검사배지에 대장균이 확인된 시료를 각이하게 려과한 려지를 넣고 그 색변화시간을 관찰하였다. 려과량이 대장균신속검사배지의 색변화에 미치는 영향은 표 2와 같다.

표 2. 려과량이 대장균신속검사배지의 색변화에 미치는 영향

려과량/mL	10	20	40
색변화시간/h	5.50±0.12	5.10±0.12	4.80±0.18

$n=3, p<0.05$

표 2에서 보는바와 같이 시료를 려과한 막을 대장균신속검사배지에 넣어줄 때 려과한 액량에 따라 일정한 정도로 배지의 색변화가 빨라졌는데 이것은 집적된 대장균이외의 세균들이 검사결과에 주는 영향이 거의나 없으며 려과막을 대장균검사에도 얼마든지 리용할수 있다는것을 보여준다.

2) 세균려과막을 신속검사에 리용할 때의 효과성판정

세균려과막을 미생물신속검사에 적용하려면 검사결과의 믿음성이 담보되어야 한다. 이로부터 려과막을 리용할 때와 리용하지 않을 때 결과들이 일치되는가를 확인하기 위한 실험을 진행하였다.

총세균신속검사배지를 원배지(농축하지 않은 배지), 2배농축배지, 3배농축배지로 만들고 여기에 시료를 려과한 막과 시료를 표 3에서와 같이 넣고 정온기에서 방치배양하면서 배지의 색변화시간을 보았다.

표 3. 각이한 시료 또는 려과막들이 총세균배지의 색변화에 미치는 영향

시료번호	1	2	3	4
색변화시간/h	8.60±0.12	7.90±0.14	8.70±0.12	8.00±0.14

1—2배 농축배지 1mL에 시료 2mL를 넣은것, 2—3배농축배지 1mL에 시료 3mL를 넣은것, 3—원배지 1mL에 시료 2mL를 려과한 려과막을 넣은것, 4—원배지 1mL에 시료 3mL를 려과한 려과막을 넣은것; $n=3, p<0.05$

표 3에서 보는바와 같이 배지에 직접 시료를 넣어줄 때와 려과막을 넣어줄 때 결과에서는 약간의 차이가 있었지만 그 차이는 그리 크지 않았다. 이것은 려과막에 의한 방법이 실험 결과에 큰 영향을 미치지 않는다는것을 보여주며 한편으로는 배지량을 줄이면서도 시료량을 임의로 조절할수 있기때문에 시료를 직접 쓰는 방법보다 보다 효과적이라는것을 보여준다.

끝으로 려과막에 의한 신속검사방법을 물에 있는 대장균검사에 적용할 때의 효과성을 보았다.

일반적으로 물에 있는 대장균검사는 시료 100mL를 취하여 대장균유무검사 또는 최확수검사(MPN)를 진행하는 방법으로 하고있다. 이 검사에 려과막에 의한 방법을 도입하면 배지를 적게 쓰면서도 검출시간을 높일수 있다고 보고 3배농축 대장균신속검사배지 50mL에 검사하려는 음료수 100mL(최확수검사결과 2MPN/100mL로 결정된것.)를 넣은것을 대조로 하고 대장균신속검사배지 10mL에 우와 같은 시료 100, 200mL를 려과한 려지들을 각각 넣어 색변화가 나타나는가와 색변화시간을 비교하였다. 시료를 직접 넣어줄 때와 려과한 려과막을 넣어주었을 때 대장균유무판정결과는 표 4와 같다.

표 4. 시료를 직접 넣어줄 때와 려과한 려과막을 넣어주었을 때 대장균유무판정결과

구분	대조구	시험구	
		1	2
색변화시간/h	7.80±0.14	7.90±0.12	7.30±0.16

1-대장균신속검사배지 10mL에 시료 100mL를 려과한 려지를 넣은것, 2-대장균신속검사배지 10mL에 시료 200mL를 려과한 려지를 넣은것; $n=3$, $p<0.05$

표 4에서 보는바와 같이 려과막을 쓸 때에는 배지를 매우 적게 쓰면서도 유무판정검사결과를 정확히 얻을수 있을뿐아니라 특히 려과량을 늘이는 방법으로 보다 검사시간도 단축할수 있다.

이와 같은 실험결과들을 통하여 시료를 려과한 막을 지시약에 의한 미생물신속검사에 적용하는 경우 보다 더 빠른 검사결과를 얻을수 있을뿐아니라 검사배지원가도 낮출수 있어 매우 효과적이라는것을 알수 있다.

맺 는 말

세균려과법을 지시약에 의한 세균신속검사에 적용하는 경우 초기균체량을 높여주는 방식으로 검사시간을 보다 단축할수 있다.

세균려과법에 의한 미생물신속검사방법은 검사시료량의 증가에 따르는 검사배지의 증가를 요구하지 않는다.

참 고 문 헌

- [1] 이정경 등; 생물학, 1, 33, 주체106(2017).
- [2] 이정경 등; 경공업과학, 2, 18, 주체106(2017).
- [3] 오철성 등; 생물학, 4, 36, 주체107(2018).
- [4] Y. Wang et al.; Food Spoilage Microorganisms Ecology and Control, CRC Press, 3~158, 2017.

Enhancement of Effectiveness of Microbiological Examination by Using Bacterial Filter Paper

O Hui Nam, Kim Song I and Ri Jong Gyong

In the case of using the bacterial filter papers in microbiological examination, the time of examination using indicator such as methylene blue or resazurin can be decreased, because the number of bacteria is more increased than that of non-filter method.

Keywords: rapid examination, bacteria, resazurin