

Microwave를 이용한 배지 용해와 공기 제거

정 윤 섭 · 이 귀 녕 · 이 삼 열

(연세대학교 의과대학 임상병리과)

Usefulness of microwave to melt rehydrated media and to remove oxygen from anaerobic tube media

Chong, Yunsop, Kui Nyung Yi, and Samuel Y. Lee

(Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Yonsei University)

ABSTRACT

The microwave of 2450 MHz, generated by a household cooking oven, was evaluated for its applicability to melt various rehydrated media and to remove dissolved oxygen from tubed media for anaerobic culture. The effect on the sterilization of *E. coli* in selective media was also evaluated. The following results were obtained.

- 1) The microwave oven was useful in saving time for melting media and in eliminating heat and combustion gas from the laboratory, which were inevitable by-products in the conventional flame method.
- 2) Dissolved oxygen could be removed without boiling over by exposing the tubes of anaerobic culture medium after putting them in a wire basket in a beaker with water.
- 3) The count of *E. coli* during the melting of MacConkey and EMB agar were similar to those treated with open flame. The microwave treatment was not considered a possible mean to replace autoclaving even in these selective media.

서 론

초고주파(microwave)는 전자파종에서 파장이 1~100cm의 것을 뜻하는 것이 보통이고 그 주파수는 $10^8 \sim 10^{10}$ Hz 정도가 된다. 미생물 실험실에서 microwave 응용에 관해서는 Latimer와 Matsen(1977)에 의한 배지중의 병원균 살균에 관한 실험과, Hanson과 Martin(1979)의 분말배지의 가수후 용해, 보관했던 고체배지의 재용해 및 혐기성 배양용 액체배지에서의 공기제거를 위

한 이용을 볼 수 있다.

저자들은 국산 microwave oven에 의한 분말배지의 가수후 용해, 혐기성 배양용 배지에서의 공기 제거 및 Eosine Methylene Blue(EMB)와 MacConkey 환천에서의 *Escherichia coli* 살균 효과에 관하여 검토하여 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

Microwave oven은 2450 MHz의 wave를 발생

시키는 내부용적 23.5×39.4×38.1cm인 model 700D(삼성전자)를 사용하였다.

배지의 용해에 소요되는 시간을 측정하기 위하여는 분말배지(Difco)에다 실온에 두었던 증류수를 넣고, 500ml를 1리터 유리(Pyrex) 혹은 플라스틱(Nalgene) Erlenmyer 플라스크에 넣어서 실험하였고, 배지가 끓기 시작할때 까지와, 한천이 완전히 녹을때까지의 시간을 측정하였다.

혐기성 배양용, 시험관에 분주된 배지에서의 공기 제거 효과를 보기 위하여는 methylene blue 와 1.5%의 한천이 첨가된 Tryptic soy broth (TSB)를 4ml씩 13×100mm시험관에 분주하고 플라스틱 마개(Bacicapall, S/P)를 하였다. 배지가 청색이 되도록 공기에 노출시킨 10개의 시험관을 wire basket에 넣고 이것을 300ml의 물이 든 1리터 비커에 넣어 바닥에서 1.5cm 높이가 되도록 하고 oven으로 가열하였고 지시약의 환원으로 공기 제거 효과를 판단하였다. Wire basket은 채논의 크기 약 0.7mm의 놋쇠 망을 재료로 지름 9cm, 높이 9.5cm의 원주형으로 만들었고 두께도 같은 재료로 만들었다.

공기제거 효과를 보기 위한 또한가지 방법으로는 상기 배지 대신에 Thioglycollate medium w/o dextrose or indicator에 탄수화물 0.5~1%를 첨가한것을 상기와 같은 방법으로 oven에 노출시키고 임상검체에서 분리된 혐기성 세균의 생화학적 시험에 사용하였다.

배지 제조시 그람음성 간균 제거 효과를 보기 위하여는 분말 EMB와 MacConkey 배지에 각각 500ml의 증류수를 넣고 여기에 *E. coli*(ATCC 25922)를 접종한후 oven 혹은 푸로판 불꽃에 노출시키고, 이것에서 검체를 채취하여 단계 희석 한후, 멸균한후 45°C로 식힌 MacConkey 한천과 섞어 pour plate를 만든후 24시간 배양하고 집락수를 세어 생균수로 하였다.

결 과

사용된 oven에는 6단계의 열 조절 장치와 timer 가 부착되어 있다. 각 단계에서의 wave 발생시간은 “고”에서는 97%로 알려져 있고, 그 이외에서는 대략 “중고” 90%, “중” 80%, “중저”

50%, “저” 30%, “보온” 5%이었다. 300ml의 증류수를 끓이기에 소요된 시간은 “고”에서 3.5분 “저”에서 29분이었다.

1리터 유리 플라스크에 든 500ml의 배지가 “고”에서 끓기 시작할때까지 소요된 시간은 4분이 이하였고, Brewer thioglycollate medium(BTM), MacConkey 한천, mannitol salt agar, 및 *Salmonella Shigella* agar(SS)는 끓일때 넘지 않으므로 “고”에서 계속 가열이 가능 하였고 5~7분후에는 한천이 완전히 용해되었다. GC medium base, Müller-Hinton medium, Tryptose blood agar base 및 Triple sugar iron agar는 넘기 때문에 “고”에서 계속 가열할수는 없었고 끓기 시작한 뒤에는 “중저”에서 가열하면 넘지 않고 9분이내에 용해시킬 수 있었다(Table 1). 유리대신에 플라스틱 플라스크를 사용해도 소요 시간은 비슷하였다. 2리터의 BTM을 녹일때는 4리터들이 유리 단지나 플라스틱 통을 사용할수 있었고 18분이 소요되었다.

이 oven에는 1리터 플라스크 6개를 동시에 넣을수 있으며, 끓이기에 소요되는 시간은 배지의 양에 비례하여 길어졌다. 즉 500ml씩들은 MacConkey 한천 플라스크 6개를 동시에 넣었을때는 평균 3.5~4.5분후에 끓기 시작하였다.

Table 1. The time required to melt 500 ml of rehydrated medium with the microwave oven

Medium	Approximate time(min)	
	Boiling	Complete melting
MacConkey agar	3	5
Mannitol salt agar	1.5	5
<i>Salmonella shigella</i> agar	3	7
Brewer thioglycollate medium	4	5
Triple sugar iron agar	3	5
Tryptose blood agar base	3	6.5
Müller-Hinton medium	3	5
GC medium base	2.5	9

1.5% 한천 첨가 TSB시험관 10개를 Wire basket에 넣고 물이 든 beaker에서 2분간 끓였을 때는 덜 환원된 시험관이 있었으나 3분간 끓이면 모두가 완전히 환원되었다. 끓인 시험관을 실온에 1일간 방치후 산화된 높이는 3, 4, 5분 처리된

것 모두가 8~10mm로 비슷하였다.

Thioglycollate medium w/o dextrose or indicator를 상기와 같은 방법으로 3분간 끓인후 임상검체에서 분리한 *Bacteroids fragilis*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* 등의 생화학적 성상 시험에 사용한바 그 증식은 양호하였고 배지 표면 밑 5~10mm까지 증식을 보여 만족스런 공기 제거 효과를 보였다.

EMB와 MacConkey 한천의 용해시 *E. coli*의 살균 효과를 보기 위한 시험에서 oven 작동후 처음 2분간은 생균수의 감소를 볼수 없었고, 끓기 직전인 4분후에는 급격한 감소를 보였다. 끓

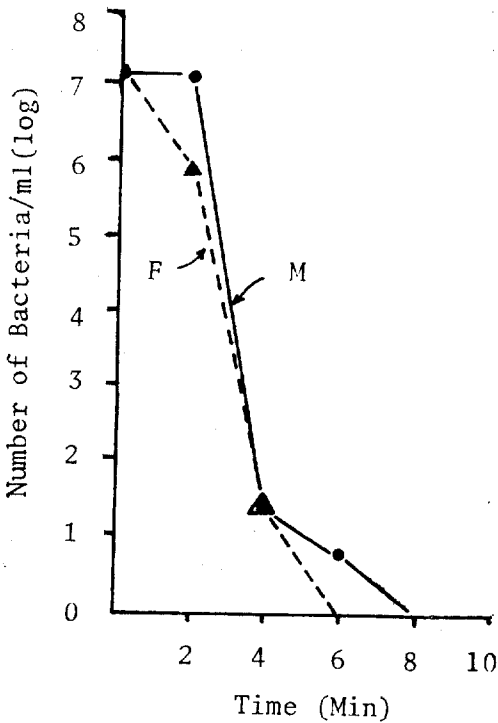


Fig. 1. Decrease in survival of *E. coli* in MacConkey agar exposed to microwave (M) and to open flame(F)

을 때까지의 시간이 oven의 경우와 비슷하도록 불꽃을 조절한 푸로판 불꽃에서 가열한 배지에서 생균수 감소도 oven으로 처리한 배지에서와 비슷하였다 (Fig. 1, 2).

고 찰

세균이나 진균배지를 만들 때는 분만배지에 물

을 넣고, 한천을 용해시키기 위하여 가열을 하게 된다. 때로는 시험관에 분주되어 보관했던 배지를 다시 용해시키어 혐기성 세균이 잘 증식될 수 있는 평판배지를 만들기 위하여 (Chong, 1976; Hanson and Martin, 1976; Holdeman and Moore,

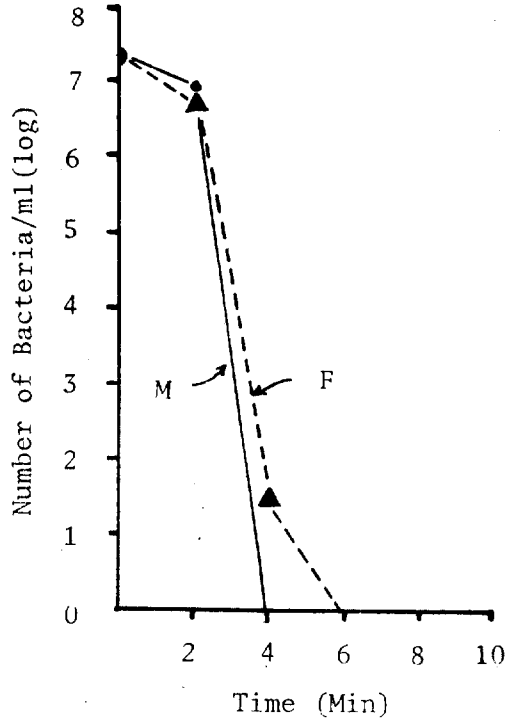


Fig. 2. Decrease in survival of *E. coli* in EMB agar exposed to microwave(M) and open flame(F)

1977), 혹은 혐기성 배양용 고층한천 배지에서 공기를 제거하기 위하여 (Dowell and Hawkins, 1974) 배지를 끓이게 된다. 이러한 조작을 배지가 든 용기를 끓는 물에 넣고 하여야 하지만 시간이 오래 걸리기 때문에 흔히 푸르판 불꽃으로 직접 가열하며 (Finegold et al., 1978) 따라서 배지가 눌기도 한다. 또한 푸로판 불꽃의 사용은 화재나 화상의 위험이 있고, 연소 가스의 발생과 실온 상승으로 실험실의 환경을 불쾌하게 만들게 된다 (Hanson and Martin, 1979).

2450 MHz의 microwave는 유리나 플라스틱은 투과하며, 금속에서는 반사된다. 분자쌍극자로 된 물 분자를 운동시켜 열을 발생시키므로 식

품의 조리에서 사용되어 왔다. Hanson과 Martin (1979)은 배지의 용해를 위해 microwave를 이용하면 시간을 절약하고 실내에서의 열의 발생을 줄일수 있어 편리함을 보고하였다. 저자들이 사용한 국산 oven은 배지의 용해에 소요되는 시간으로 평가할 때 그 성능은 Hanson과 Martin이 사용한 것과 비슷하다고 하겠다.

끓을때 넘지 않는 종류의 배지 용해를 위하여는 “고”에서 필요한 시간동안 timer를 맞추고 가열하면 되고, 끓어 넘는 배지는 끓기 시작할 때까지 “고”에서 가열하고 이어서 “중”지에서 4~7분간 더 가열하면 한천을 용해시킬수 있었다. 이렇게 하면 증탕에 의해 용해시킬 때보다 현저히 시간을 단축할 수 있고, 푸로판 불꽃에 직접 녹일때 보는 눈게되는 염려도 없었다. 이 oven으로는 푸라스텍 용기에 넣은 배지도 녹일수 있으므로 SS agar등 고압멸균을 필요로 하지 않는 배지나, 시험관에 분주후 멸균할 배지의 용해에는 굳이 고가의 경질유리 용기를 사용하지 않을 수도 있었다. 이 oven의 단점은 높이가 낮아서 1리터 푸라스크만을 넣을수 있으며 따라서 1개의 푸라스크에서 녹일수 있는 양은 500ml 밖에 되지 않는 점이였다.

혐기성 세균 배양용 시험관중의 배지는 즉시 제조된 것이 아니면 끓는 수조에서 8~10분간 가열하여 공기를 제거해야 한다. Hanson과 Martin(1979)은 이를 위해 microwave oven을 이용하였고, 이때 배지가 끓어 넘는 것을 막기 위하여 물이 들은 beaker에 시험관을 넣고 가열하였다.

그러나 저자들은 이러한 방법을 쓰더라도 넘는 것을 막을수 없었다. 시험관을 wire basket에 넣고 이것을 물이 들은 beaker에 넣어 처리하면 wave가 시험관중의 배지에 직접 도달하지 않으므로 넘치지 않아서 이 문제를 해결할 수 있었다. 이렇게 3분간 끓인 배지는 methylene blue가 완전히 환원되었고 혐기성 세균의 증식도 양호하였다. oven에 넣은 wire basket에서는 작은 불꽃이 튀는 일이 있으나 이것은 위험하지 않다는 것이 oven 제조자의 의견이였다.

특정 파장의 전자파는 살균작용이 크다(Wilson and Miles, 1975). microwave의 살균 효과에 대

해서는 상반되는 보고를 볼수 있다(Goldblith and Wang, 1967; Carroll and Lepez, 1969; Lochwich et al., 1969; Culkin and Fung, 1975). Latimer와 Matson(1977)은 2450 MHz의 microwave에서 병원성 세균이 단시간에 살균됨을 보고하였다. 그러나 microwave가, 병원균이 많이 들어 있는 배양폐기물의 처리에 사용되기에는 위험성의 염려가 없지 않겠고, 절대적인 무균성이 보장되어야 할 혈액천정의 멸균에는 사용될 수 없을것이 분명하다고 하겠다. 그러나 제조후 즉시 사용할 때는 고압멸균을 안해도 되며(Difco), 그람음성 간균만 완전히 살균되면 되는 선택배지인 EMB나 MacConkey배지에서 *E. coli* 생균수의 감소는 푸로판 불꽃에 처리한 경우와 비슷한 결과를 보여서 이들 배지에 있어서도 microwave oven 처리가 고압멸균을 대신할수는 없는 것으로 판단하였다.

摘 要

microwave oven의 배지 처리에의 이용에 관한 실험에서 다음 결론을 얻었다.

1) 배지 용해에 이용함으로써 시간을 단축하고, 푸로판 불꽃 사용시의 실내 공기 오염을 막을수 있었다.

2) 혐기성 배지에서 공기를 제거는 wire basket에 넣은 시험관을 물이 든 beaker에서 가열하므로써 끓어 넘는것을 막을 수 있었다.

3) 배지중의 *E. coli* 살균 효과는 불꽃처리 경우와 비슷하였으며 고압멸균을 대체할 수는 없을 것으로 판단되었다.

저자들의 실험실에서는 매일 5~6종의 배지를 만들기 위해 용해하며, 혐기성 세균 동정을 위해 40~50개의 반유동 배지에서 공기를 제거하는바 이를 위해 지난 수개월간 microwave oven을 이용하고 있고 편리함을 경험하고 있다.

引用文獻

1. Carroll, D.E., and Lopez, A.: Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food system. *J. Food Sci.*, **34**, 320-324, 1969.
2. Chong, Y.: Studies on the cultivation of non-

- sporeforming anaerobic bacteria. D.Sc. thesis, Kon-Kuk Univ., Seoul, 1976.
3. Culkin, K.A., and Fung, D.Y.C.: Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. *J. Milk Food Technol.*, **38**, 18—15, 1975.
 4. Difco: Difco manual. 9th ed., Difco laboratories, Detroit, 1971. p.131.
 5. Dowell, V.R., and Hawkins, T.M.: Laboratory methods in anaerobic bacteriology. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 1974. p.7.
 6. Finegold S.M., Martin, W.J., and Scott, E.G.: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 5th ed., C.V. Mosby, St. Louis, 1978. p.3.
 7. Goldblith, S.A., and Wang, D.I.C.: Effect of microwaves on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Appl. Microbiol.*, **15**, 1371—1375, 1967.
 8. Hanson, C.W., and Martin, W.J.: Evaluation of enrichment, storage, and age of blood media in relation to its ability to support growth of anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.*, **4**, 394—399, 1976.
 9. Hanson, C.W., and Martin, W.J.: Microwave oven for melting laboratory media. *J. Clin. Microbiol.*, **7**, 401—402, 1979.
 10. Holdeman, I.V., and Moore, W.E.C.: Anaerobic bacteriology manual. Anaerobe Laboratory, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 1977. p.122.
 11. Lochwich, R.V., Beuchat, L.R., Fox, K.I., and Webster, F.H.: Procedure for evaluating the effect of 2450-megahertz microwaves upon *Streptococcus fecalis* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol.*, **17**, 106—110, 1969.
 12. Latimer, J.M., and Matsen, J.M.: Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, **6**, 340—342, 1977.
 13. Wilson, G.S., and Miles, A.: Topley and Wilson's Principles of bacteriology, virology and immunology, 6th ed., Edward and Arnold, London, 1975. p.145.