

# Chapter 6 미생물의 성장과 환경

[미생물 성장측정, 환경인자(영양소, 환경인자), 식품저장]

## 1. 미생물의 성장

- \* 세균 : 세균은 이분법에 의하여 증식
  - 증식속도가 빠르기 때문에 미생물의 성장을 연구하는 데 이상적인 대상
  - **성장기간은 영양, 유전적 요인 및 환경**에 의하여 많은 차이가 남
- \* 곰팡이 : 균사의 번식 속도로 성장률 측정
- \* 효모 : 출아법으로 증식

### 1) 성장률 측정

- **미생물의 성장** :
  - **세포수(microbial cell)의 증가나 균체량(biomass)의 증가로 측정**
- **성장률(growth rate)** : 단위시간당 균수 혹은 균체량의 변화
- **대수증식기(exponential phase)** :
  - 매 단위 시간당 세포수가 배가되는 세포 증식기
- **대수증식기 동안 세균수 측정** : 대수기에서의 세포수의 증가 (p112 참조)
  - $N = N_0 2^n$   
(N = t분 후의 균수,  $N_0$  = 최소균수, n = 대수기 동안(t)의 세대수)
  - 양변에 log를 취하면  
 $\log N = \log N_0 + n \log 2$   
 $\log N - \log N_0 = n \log 2$

$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2} = \frac{\log N - \log N_0}{0.301}$
--
- **대수기 동안의 세대기간**은 미생물학에서 여러 가지 목적으로 사용된다.
  - 세포의 **생리적 상태의 척도**로 사용
  - 특정처리가 균의 생육에 미치는 영향
- **균주의 streaking method (Seratia)**

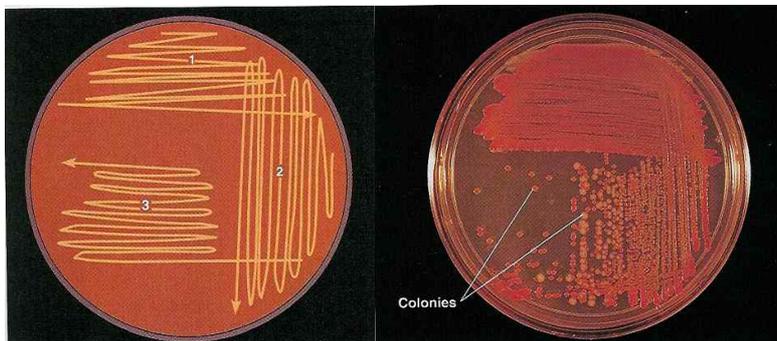


Fig. The streak plate method for isolating pure bacterial cultures.

○ 세대기간(generation time) 혹은 배가시간(doubling time) :

- 세포수가 배가되는 데 소요되는 시간

<표 최적조건에서 세균의 성장속도>

균 주 명	온도(℃)	세대기간(time)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	60	11
<i>Escherchia coli</i>	37	20
<i>Bacillus subtilis</i>	37	27
<i>Bacillus mycodies</i>	37	28
<i>Staphylococcus aureus</i>	37	28
<i>Streptococcus lactis</i>	37	30
<i>Pseudomonas putida</i>	30	45
<i>Lacobacillus acidophilus</i>	37	75
<i>Vibrio marinus</i>	15	80
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	37	360
<i>Rhizobium japonicum</i>	25	400
<i>Nostoc japonicum</i>	25	570
<i>Anabaena cylindrica</i>	25	840
<i>Treponema pallidum</i>	37	1980

2) 성장 측정법

① 현미경 직접 계수법(direct microscopic count)

- 일정량의 시료를 slide glass 건조 고정하거나 액체상태의 시료를 직접 검경

\* 단점 : 사균과 생균의 구별이 불가능

아주 작은 세포는 현미경 관찰이 어렵다

정밀도가 낮고, 균수가 적은 시료 부적합

② 생균수 측정법(viable count)

\* 생균수 측정방법 중 가장 자주 사용되는 법은 : 평판계수법, MPN법

A. 평판계수법 (Plate count)

- 평판계수법(plate count)은 미생물 성장에 적합한 한천배지 상에서 균이 형성하는 colony수를 측정하는 방법으로 **집락계수법(colony count)**이라고도 한다.

◎ 표면 평판법(spread plate method)

- 적절히 희석된 시료 0.1ml를 한천 배지에 도말하여 배양한 후 colony를 측정하는 방법으로 열감수성 미생물의 측정에 적합

- 시료를 적절히 희석(25 - 250개/plate)

- 집락(colony) 수는 접종량, 배지, 배양조건 등에 영향을 받는다.

- **집락형성 단위(colony-forming unit, cfu/ml)로 표현**

[Plate counts and serial dilutions]

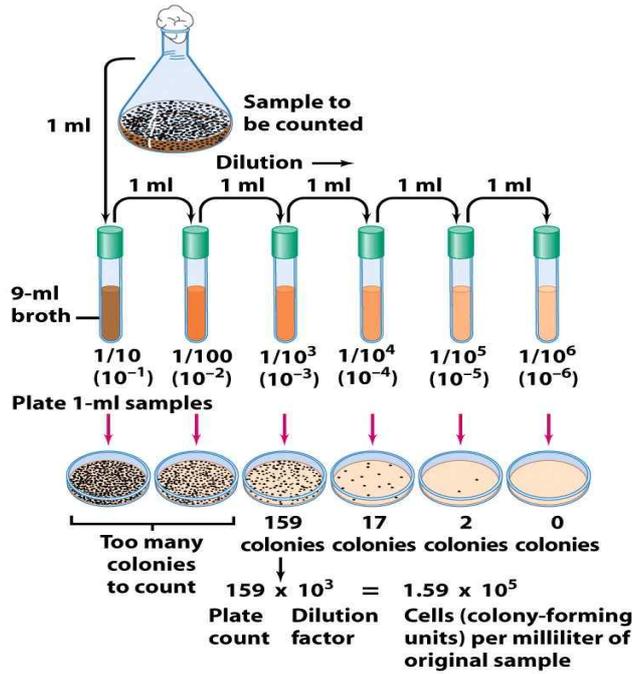
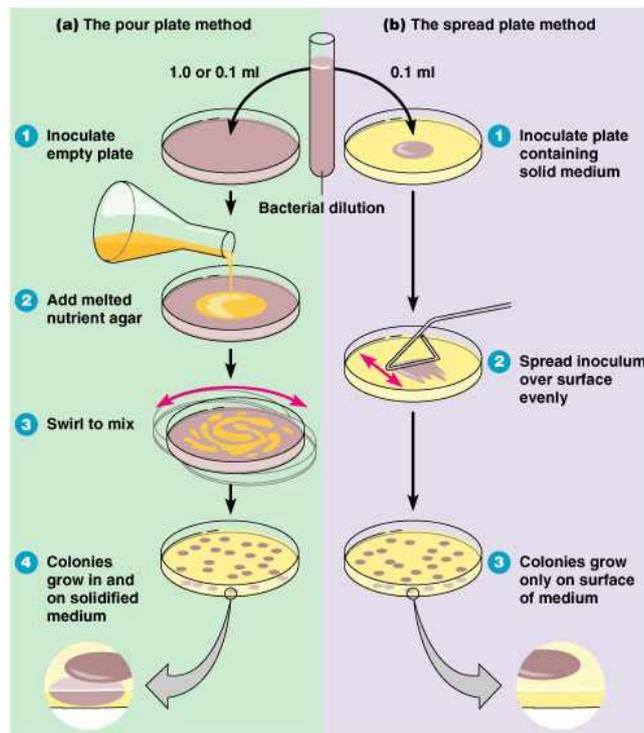


Figure 6-11 Brock Biology of Microorganisms 11/e  
 © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

○ 주입 평판법(pour plate method)

- 적절히 희석한 시료를 45°C 한천배지와 잘 섞어 배양한 후 집락수를 측정

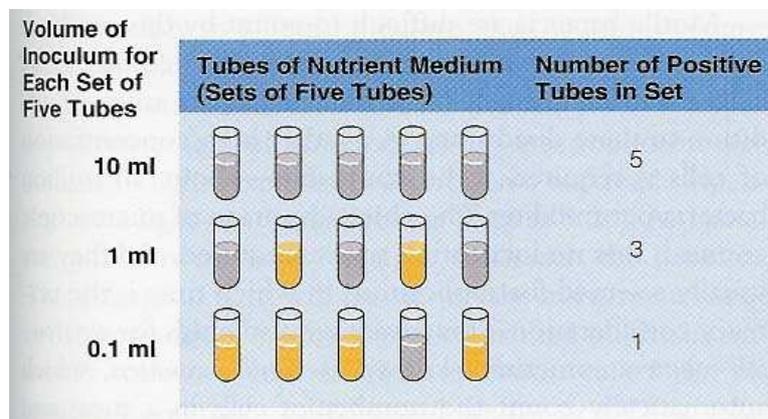


Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fig. Methods of preparing plates for plate counts

## B. 최확수법 (Most probable number procedure, MPN 법)

- 균체농도를 알 수 없는 균현탁액을 10배씩 여러 단계로 희석하여 각 단계의 일정량(예 : 1ml)을 시험관 배지에 5개씩 각각 접종하여 배양한 후 생육을 관찰하는 방법으로 **정확도는 낮지만 평판계수법보다 간단히 측정가능**
  - 5-20의 code에 따라 MPN 표에 의해서 쉽게 계산할 수 있다.
  - 시료 중 미생물의 농도가 낮을 경우 적합하다
  - **음용수 중의 대장균수를 측정하는데 사용**
- ex)  $10^{-5}$  : 전부 생육,  $10^{-6}$  : 2개 생육  $10^{-7}$  모두 생육하지 않음  
 균수 측정 : MPN 값 x 희석배수 =  $110 \times 10^{-5} - 10^{-6}/\text{ml}$



Combination of Positives	MPN Index/ 100 ml	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
4-2-0	22	9	56
4-2-1	26	12	65
4-3-0	27	12	67
4-3-1	33	15	77
4-4-0	34	16	80
5-0-0	23	9	86
5-0-1	30	10	110
5-0-2	40	20	140
5-1-0	30	10	120
5-1-1	50	20	150
5-1-2	60	30	180
5-2-0	50	20	170
5-2-1	70	30	210
5-2-2	90	40	250
5-3-0	80	30	250
5-3-1	110	40	300
5-3-2	140	60	360

Fig. The most probable number (MPN) method

### ③ 균체량 측정법 (간접적인 균수 측정법)

- Dry weight(건물량) : mold 측정에 적합
- Coulter counter(콜터카운터) : 전기전도율을 이용하여 측정하는 방법

### C. 탁도(Turbidity)

- 분광광도계(spectrophotometer)로 흡광도를 측정하여 균수 측정하는 방법
- 단점은 생균과 사균의 구분이 어렵다
- 흡광도(absorbance)는 때때로 optical density(OD)로 불린다.

### D. Metabolic activity : 대사산물의 양을 분석 균수 측정

④ 기타방법 : DNA양, ATP를 측정하여 간접적으로 균수를 측정할 수 있다

## 3) 성장곡선(growth curve)

- \* 배양시간에 따른 균수(또는 균체중량)를 그래프로 표시한 것
- \* 영양분과 공간이 제한된 회분배양(batch culture)시에 대장균의 성장곡선

### ① 유도기(Lag phase) = 지체기

- 세포분열이 거의 일어나지 않고 균이 환경에 적응하는 시기로 배양조건에 따라 유도기간이 다르다.
- 이시기의 세포는 세포의 구성물질들과 효소의 합성이 왕성하고 호흡활동도 높다.

### ② 대수기(Log phase, exponential growth phase)= 대수증식기

- 이 시기에는 급속한 세포분열이 시작되고 최대속도로 성장이 이루어진다.
- 이 시기는 세대기간이 15 - 20 분으로 대수적으로 균수가 증가한다.

### ③ 정지기(Stationary phase)

- 영양분의 결핍, 대사산물의 축적, pH 변화 등으로 성장이 정지된다.
- 항생물질, 효소 등과 같은 2차 대사산물이 합성된다.
- 포자 형성균(*Bacillus*, *Clostridium*)은 이 시기에 포자 형성

### ④ 사멸기(Death phase) :

- 세포에너지의 고갈, 배지의 pH 변화, 대사상의 독성물질 등으로 세포사멸 및 생존수가 감소한다.

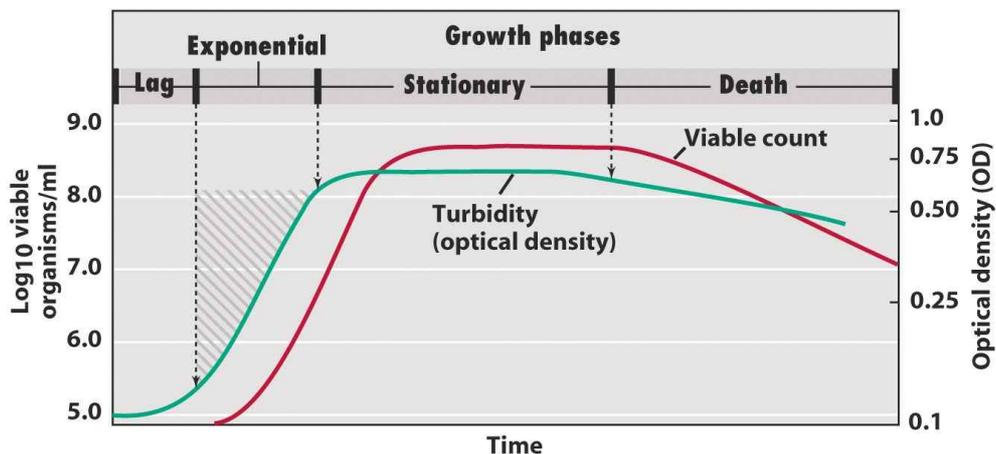


Figure 6-8 Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Fig. A bacterial growth curve, showing the four typical phases of growth