

# ATP 발광측정법에 의한 항균가공섬유 제품의 항균성 평가에 관한 연구

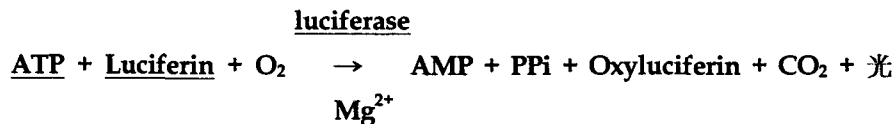
송선혜, 송병갑, 윤석한, 김종원, 윤남식\*

한국염색기술연구소, \*경북대학교 섬유시스템공학과

## 1. 서 론

항균가공섬유제품의 항균성 평가는 정성적인 방법(할로테스트)과 정량적인 방법(균수 측정법)으로 크게 나뉘어져 있다. 정량적 방법인 균수 측정법은 결과를 얻을 때까지 3~수일이 걸리며, 세균에 관한 전문지식도 필요할 뿐 아니라, 노동력이나 비용도 많이 소요된다. 이러한 이유 중 가장 큰 요인은 미생물을 배양, 계수하는데 있다. 미생물 수의 계수에는 약 100년 전에 개발된 한천평판배양에 의한 colony 계측법이 주로 이용되는데, 이는 그 특성상 판정 시까지 많은 시간이 소요될 뿐 아니라 검사 작업에 수반되는 오염 risk 등의 문제를 가진다. 이러한 문제점을 보완하기 위해 ATP 발광측정법을 선진국에서는 항균측정 시 도입하여 사용하고 있으나, 아직 국내 섬유제품의 항균성 평가에는 시도되지 않고 있다.

ATP(adenosine triphosphate)는 모든 살아있는 세포 중에 함유되어, 에너지의 저장, 운반 등 대다수의 에너지 대사에 관여하는 물질이다. ATP 발광측정법은 반딧불의 발광원리인 luciferin:luciferase 반응을 이용한 것으로, 반딧불의 효소 luciferase와 그 기질인 luciferin 및 ATP가 마그네슘 이온과 효소의 존재 하에 접촉하게 되면 발광하며, 그 발광량은 luminometer를 이용하여 RLU(Relative Light Unit) 값으로 표시된다.



## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 균주

luciferin-luciferase reagent, ATP eliminating reagent, ATP releasing reagent, sample dilution buffer 및 ATP 표준시약은 모두 일본 KIKKOMAN 제품을 사용하였고, Berthold 사의 luminometer를 사용하여 발광량을 측정하였다. 실험에 사용한 균주는 *Staphylococcus Aureus*(ATCC6538P), *Klebsiella pneumoniae*(ATCC4352), *Pseudomonas aeruginosa* (KCCM32396), *Escherichia coli*(KCCM11266)이다.

## 2.2. 실험방법

ATP 발광측정법은 ATP 시험균액 및 추출액에 apyrase와 adenosine D-amylase를 함유한 ATP eliminating reagent를 넣어 균체 외의 ATP를 소거하고, ATP releasing reagent를 이용해 ATP를 추출한 후, luciferin-luciferase reagent를 넣어 luminometer로 그 발광량을 측정하는 순서로 이루어진다.

## 3. 결 과

Fig. 1은 배양 시간에 따른 세균수를 ATP 발광측정량과 colony forming unit으로 나타낸 것으로, 세균수는 배양시간의 증가에 따라 대수적 증가를 보이며 그 양상이 매우 유사하게 나타남을 확인할 수 있다. Fig. 2는 발광량으로 구해진 Cell 농도(CFU/ml)와 agar plate 법에 의해 구해진 Cell 농도(CFU/ml)를 비교한 것으로, 각각의 결과가 거의 일치함을 알 수 있다. 위 실험결과 기존의 colony 계측법과 본 연구에서 도입하고자 하는 ATP 발광측정법이 상당한 상관관계에 있음을 확인하였고, 이로써 항공가공 섬유제품의 평가 중 균수 측정시에 ATP 발광측정법이 도입되어도 그 정확성에 있어서 문제가 없을 것으로 판단된다.

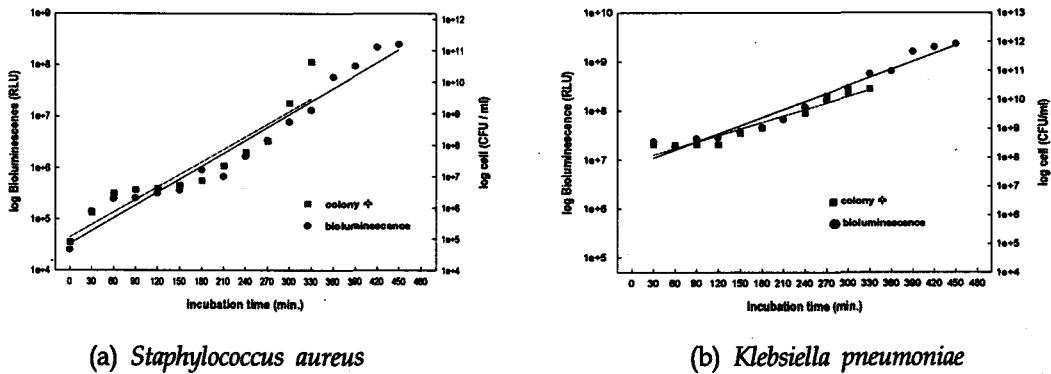


Fig. 1. ATP bioluminescence and colony forming unit according to incubation time.

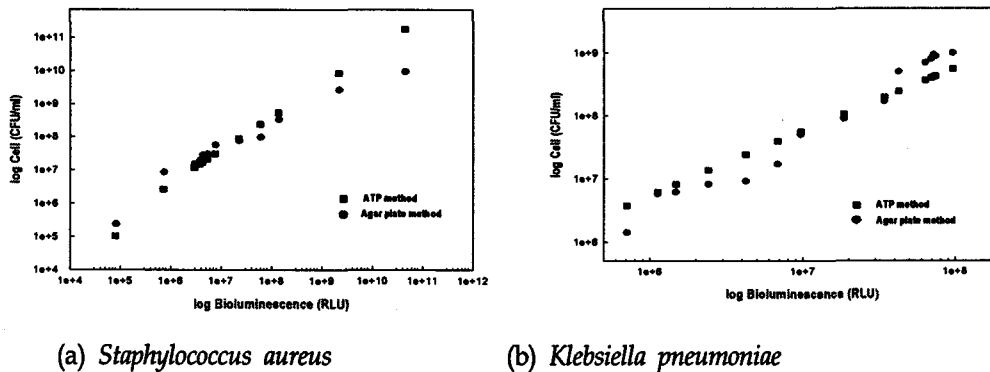


Fig. 2. Cell concentration by bioluminescence and colony count.

Fig 3은 8종의 시료를 KS K 0963법에 기초하여 항균성 실험을 한 후, 위의 2가지 방법으로 균수를 계수한 결과를 각 10회 이상 시험하여 비교한 것으로, ATP 발광측정법의 경우 기존의 방법에 비해 훨씬 정밀한 실험 결과를 얻을 수 있었으며, CV(변동계수)를 비교한 결과 신뢰성 및 재현성도 월등히 뛰어난 것을 확인할 수

있다. 이는 ATP 발광측정법의 경우 배양, 단계희석, colony 계수 등의 실험과정이 대폭 생략되면서 그 과정에서 발생할 수 있는 오차가 줄었기 때문인 것으로 생각된다. 또한 이러한 생략화에 따라 실험 시간도 매우 단축된다. 예를 들어 기존의 배양법의 경우 시료에서 얻어진 추출액을 단계희석을 시작으로 한천배지에의 접종, 배양, 계수에 이르기까지 27시간 이상이 소요되지만, ATP 발광측정법의 경우 검체로부터 추출액이 얻어지고 30분후 그 결과를 확인할 수 있어 매우 효율적이며 간편하다.

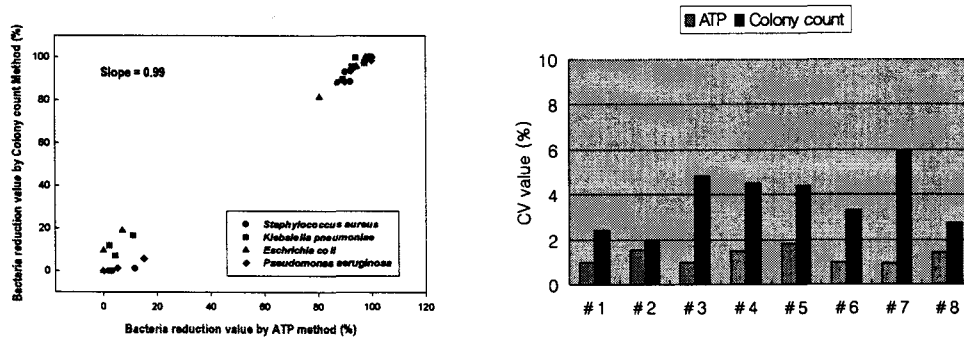


Fig. 3. Responsibility by colony count and ATP bioluminescence.

#### 4. 결 론

종래의 배양법은 그 결과를 얻기까지 24시간 이상이 필요하지만, ATP 발광측정법을 이용하면 검체로부터 추출액을 얻고 30분 안에 그 결과를 얻을 수 있다. 더욱 배양법에 동반되는 복잡한 단계희석, 혼탁배양, colony 계수 등의 과정이 생략되기 때문에 오차가 줄어 신뢰성을 높일 수 있으며, 살레 등의 폐기물의 감소와 노동력 절감 등의 부가적인 효과도 기대할 수 있다.

#### 참고문헌

- 1) "Analytical methods-Rapid microbiological methods", *Biopharm international.*, 0(0), 31-47, (2005)
- 2) 微生物の簡易迅速検出法ならびに同定法の現状と進歩 : ATP bioluminescenceの特徴とその導入及び評価事例  
*Bokin Bovai* Vol.33,473-483 (2005)