

Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus에 대한 은 이온의 항균효과

- 연구노트 -

김현진 · 이승철*

경남대학교 생명과학부 식품생물공학전공

Antimicrobial Activity of Silver Ion against *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*

Hyun-Jin Kim and Seung-Cheol Lee*

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

Abstract

Antimicrobial activity of silver ion was tested against 3 kinds of food-borne microorganisms—*Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*—using paper disk and broth medium methods. In paper disk method, silver ion showed antimicrobial activity against *S. typhimurium* and *V. parahaemolyticus* at the concentration above 2 ppm and 10 ppm, respectively, where as it was not detected in *S. aureus* with 20 ppm of silver ion concentration. In broth medium, the growth of *S. typhimurium* and *V. parahaemolyticus* could be retarded at 0.3 ppm and 0.5 ppm of silver ion concentration respectively. In the presence of 1.0 ppm of silver ion, the growth of *S. typhimurium* was inhibited completely. In *S. aureus*, the growth was retarded at 5 ppm and was inhibited at 15 ppm completely.

Key words: antimicrobial activity, silver ion, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*

서 론

은(Ag, silver)의 항균 작용은 예로부터 알려져서 질산은은 소독 및 살균에 사용되었고, 녹농균 제거에는 구연산 은을 사용하였다(1,2). 은은 일부 내성균을 제외하고는 대부분의 균에 대하여 광범위한 항균효과를 나타낸다고 보고되어 있으며(3, 4), 은 전극에 직류를 통과시켜 생성된 은 이온이 우수한 항균 효과를 나타낸다고 한다(5-7). 최근에는 은 이온 뿐만 아니라 amino acid, sulfadiazine 유도체 등과 결합한 은 이온의 복합물에 대한 항균 연구도 활발하게 진행되고 있다(8,9). 특히 silver sulfadiazine과 같은 은 복합물은 항균특성 뿐만 아니라 임상적으로 상처 치료 및 화상 후 감염 치료에도 탁월한 효과를 가진다고 보고되고 있다(10-12).

한편, 식품 유해 미생물에 의해 지속적으로 야기되는 식중독은 통조림(13), 육류(14), 혼제어류(15) 등의 다양한 식품에서 발생되고 있으며, 발생 규모가 대단위인 경우가 많아 사회적인 문제가 되고 있다(16). 세균성 식중독은 *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. 등에서 주로 발생하고 있고, 이들 균에 의한 발병 사례도 많이 보고되고 있다(16,17).

본 논문에서는 세균성 식중독 세균인 *Salmonella typhi*

murium, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 은 이온의 항균효과를 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

은 이온은 은 이온 제조기(Bio Silver, 베스트바이오(주))를 이용하여 제조한 20 ppm 용액을 베스트바이오(주)로부터 공급받아, 0.45 µm Sterile Syringe Filter(Corning Incorporated, NY, USA)로 여과한 후 멸균 증류수로 각각의 농도에 맞게 희석하여 사용하였다. 실험에서 사용된 미생물은 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* KCTC 2199, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802로서 경상남도 보건환경 연구원에서 분양받아 사용하였다. *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Vibrio*의 배양매지는 각각 Nutrient Broth, Tryptic Soy Broth, Nutrient Broth(2.5% NaCl)를 사용하였다. 항균력 조사를 위한 Paper Disk(Advantec Co., Osaka, Japan)는 직경이 8 mm인 것을 사용하였다.

은 이온의 항균력 검색

은 이온의 항균력 검색 방법으로 확산법의 일종인 Paper

*Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

Disk 법(18)을 변형하여 사용하였다. 미리 제조해 둔 평판배지 (2.5% NaCl, Nutrient Broth, agar 1.5%)에 agar를 test tube에 0.8% 첨가한 같은 조성의 배지 7 mL을 멸균시킨 후 45°C water bath에 일정 시간 둔 후 미리 배양한 각 균의 배양액 0.1 mL을 첨가하여 균질화시킨 배지를 부은 다음 agar가 굳으면 직경이 8 mm인 Paper Disk를 배지 위에 붙인 후 은 이온 용액을 20 µL 첨가하여 각각의 균주를 37°C에서 24시간 배양 후 항균효과를 측정하였다. 각 균에 대한 은 이온의 항균효과는 Paper Disk를 포함한 생육 저해한 크기의 지름(mm)으로 나타내었다.

식중독 미생물의 생육에 대한 은 이온의 영향

은 이온의 *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Vibrio*에 대한 생육 억제 추이를 알아보기 위해 48시간 동안 두 번 계대배양한 각각의 균주 1 mL를 각각의 배양배지 100 mL를 첨가한 500 mL 삼각플라스크에 첨가해 37°C에서 시간별로 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정은 UV-visible Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하였다.

결과 및 고찰

은 이온의 항균력 검색

Paper Disk 법으로 조사한 식중독 미생물에 대한 은 이온의 항균 효과를 Table 1에 나타내었다. 은 이온의 항균효과는 조사된 3균들 중에서 *S. typhimurium*에 대해 가장 크게 나타났으며, 다음으로 *V. parahaemolyticus*에 대해 항균효과가 나타났다. *S. aureus*에 대해서는 첨가한 은 이온의 농도 범위 내에서 항균효과가 나타나지 않았다. *S. typhimurium*와 *V. parahaemolyticus*의 경우 각각 2, 10 ppm의 은 이온 농도에서 생육 저해현상이 발견되었으며 농도가 증가함에 따라 생육 저해한 크기가 더 커지는 경향을 나타내었다. 이는 은 이온이 *S. typhimurium*와 *V. parahaemolyticus*에 대해서 농도 의존적으로 항균 효과를 나타냄을 의미한다. 본 실험에서 실시한 균주들에 대한 결과는 은 이온의 미생물에 대한 항균력이 *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 등의 Gram(-)균에서 높게 관찰되며, 상대적으로 *Bacillus subtilis*와 같은 Gram(+)균에서는 낮거나 약하게 나타났다는 결과와 일치하였다(19,20).

한편, 은 이온은 sulfhydryl, amino, imidazole, carboxyl,

phosphate group과 쉽게 결합하고 또한 chloride와 결합하여 복합물을 형성한다고 알려져 있다(21,22). 배지 성분에 대한 은 이온의 작용에 대해서는 은 이온의 상당 부분이 배지내의 일정한 성분과 결합하여 불활성화되며 초기에 유리된 은 이온이 가장 효과적인 항균효과를 낸다는 보고(7)와 은 이온이 배지내의 성분과 결합하여 복합물을 형성하더라도 지속적인 항균 효과를 낸다는 보고가 있다(4). 은 이온의 항균작용 기작은 일반적으로 전자 전달 방해, DNA 결합, 세포막과의 상호작용에 의해 항균 효과를 낸다고 보고되어 있으며(1), 특히 단백질에 결합하는 물질이 은 이온과 쉽게 결합하여 미생물에 효과적인 항균작용을 나타낸다고 한다(19). 아울러 은을 포함한 중금속 이온의 항균 작용은 이들 중금속의 산화력에 의해 단백질 및 핵산이 불활성화되어 발생된다는 보고도 있다(23). 실제로 식품에서 은 이온이 식중독 미생물을 저해하는 항균 작용을 알기 위해서는 보다 다양한 요인을 검토해 볼 필요가 있다.

식중독 미생물의 성장에 대한 은 이온의 저해 효과

배양액에서의 은 이온의 농도가 각각 0.1, 0.3, 0.5, 1.0 ppm 되도록 첨가하여 3 종류의 식중독 미생물의 성장곡선을 관찰하였다(Fig. 1). *S. typhimurium*의 경우에 은 이온이 0.1 ppm 첨가된 경우에는 은 이온을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 성장 저해 효과를 관찰할 수 없었으나, 0.3 ppm을 첨가한 경우에 약 8시간의 성장 억제 효과를 나타내었다. 은 이온 농도 0.5 ppm에서는 24시간이 지나도 성장하지 못하였으나 30시간을 전후로 군 성장이 시작되었다. 한편 1 ppm에서는 균이 성장하지 못하였다.

*S. aureus*는 다른 균들에 비해 은 이온에 대한 내성이 강하게 나타났다(Fig. 1(B)). *S. typhimurium*와 *V. parahaemolyticus*에서 은 이온 1 ppm은 현저한 생육 억제 및 사멸효과를 보였지만 *S. aureus*는 같은 농도에서는 생육저해 효과를 보이지 못했으며, 5 ppm에서부터 생육억제 효과를 보이다가 15 ppm에서 성장하지 못하였다.

*V. parahaemolyticus*에 대한 은 이온의 생육 저해 결과는(Fig. 1(C)) *S. typhimurium*과 비슷한 생육억제 현상을 보였다. 30시간이 지나면서부터 은 이온용액 1 ppm에서도 생육하는 것을 볼 수가 있었다. *S. typhimurium*보다는 상대적으로 은 이온 용액에 대한 내성이 더 강한 것을 볼 수가 있었다.

3종류의 식중독균에 대한 은 이온용액의 항균효과를 추이를 알기 위한 실험 결과 은 이온용액이 식중독균에 대한 효과가 있음을 확인하였다. 은 이온용액의 농도가 높아질수록 각각 식중독균의 생육억제 시간이 길어지거나 균이 사멸되는 현상을 볼 수가 있었다. 한편, 항균력 검색에서의 은 이온 농도(Table 1)와 식중독균에 대한 성장 변화에서의 생육 억제 농도(Fig. 1)가 다른 것이 관찰되었다. 이것은 실험 방법상에 의해 은 이온이 식중독 미생물에 접촉되는 농도가 다르기 때문으로 추측된다. 비록 상기의 두 방법에서 식중독균에 대한 항균 효과 농도는 다르게 나타났지만, 각 균들에 대한 항균 효과 경향은 비슷하게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

Table 1. Antimicrobial activity of silver ion against 3 kinds of food-borne microorganisms

Silver ion (ppm)	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	Clear zone on plate		
	Mean (mm)		
0	8.0	8.0	8.0
2	9.0	8.0	8.0
10	10.0	8.0	10.0
15	16.0	8.0	12.3
20	20.0	8.0	15.0

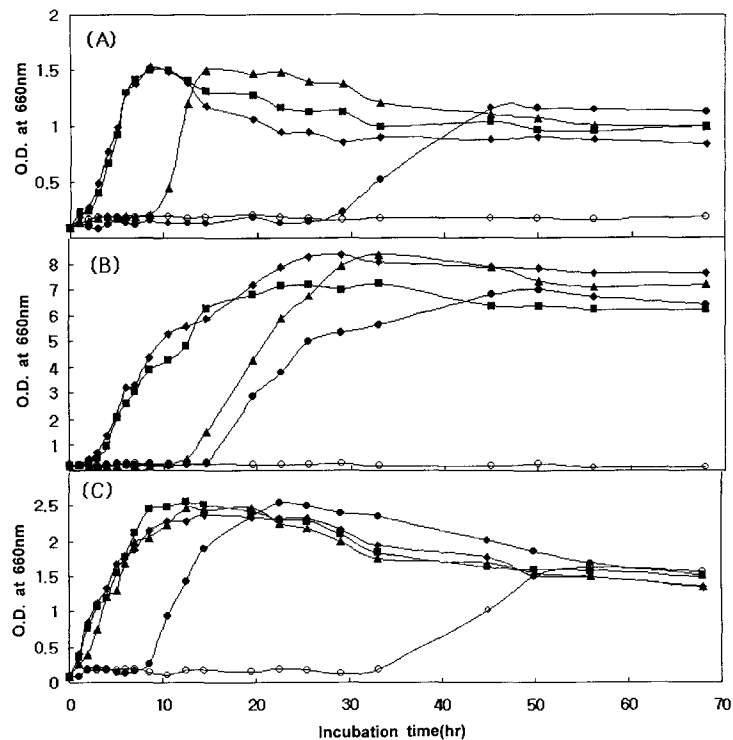


Fig. 1. Growth inhibition of silver ion against 3 kinds of food-borne microorganisms.

(A) *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. ◆◆, control; ■■, 0.1 ppm; ▲▲, 0.3 ppm; ●●, 0.5 ppm; ○○, 1 ppm.
 (B) *Staphylococcus aureus* KCTC 2199. ◆◆, control; ■■, 1 ppm; ▲▲, 5 ppm; ●●, 10 ppm; ○○, 15 ppm.
 (C) *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802. ◆◆, control; ■■, 0.1 ppm; ▲▲, 0.3 ppm; ●●, 0.5 ppm; ○○, 1 ppm.

요 약

식중독 미생물 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* KCTC 2199, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802에 대한 은 이온의 항균력을 Paper Disk 방법과 액체 배양법에서 조사하였다. *S. typhimurium*와 *V. parahaemolyticus*의 경우 각각 2, 10 ppm의 은 이온 농도에서 생육 저해환이 발견되었으며 농도가 증가함에 따라 생육 저해의 정도가 증가하였다. 그러나 *S. aureus*는 20 ppm의 은 이온 농도에서도 생육 저해환이 관찰되지 않았다. 액체 배양에서 은 이온의 항균 능력은 *S. typhimurium*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*에 대해서 각각 0.3 ppm, 0.5 ppm, 5 ppm 이상에서 관찰되었고, 은 이온의 농도가 증가함에 따라 생육 저해는 크게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2002학년도 경남대학교 학술논문게재연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Thurman RB, Gerba CP. 1989. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *CRC Crit Rev Environ Control* 18: 295-315.

2. Eiji H. 1991. Control for environmental situation. *J Antibact Antifung Agents* 19: 523-531.
 3. Hendry AT, Stewart IO. 1979. Silver-resistant enterobacteriaceae from hospital patients. *Can J Microbiol* 25: 915-921.
 4. Kramer SJ, Spadaro JA, Webster DA. 1981. Antibacterial and osteoinductive properties of demineralized bone matrix treated with silver. *Clin Orthop* 161: 154-162.
 5. Barranco SD, Spadaro FA, Berger TJ, Becker RO. 1974. *In vitro* effect of weak direct current on *Staphylococcus aureus*. *Clin Ortho* 100: 250-255.
 6. Berger TJ, Spadaro JA, Bierman SE, Richard SE, Chapin SE, Becker RO. 1976. Antifungal properties of electrically generated metallic ions. *Antimicrob Agents Chemother* 10: 856-860.
 7. Berger TJ, Spadaro JA, Chapin SE, Becker RO. 1976. Electrically generated silver ions. Quantitative effects of bacterial and mammalian cells. *Antimicrob Agents Chemother* 9: 357-358.
 8. Stefano B, Jean HU, Ralph BD, Robert JS. 2001. Prolonged antimicrobial activity of a catheter containing chlorhexidine-silver sulfadiazine extends protection against catheter infections *in vivo*. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1535-1538.
 9. Antonio M, Andrea S, Claudiu TS. 2000. Antifungal activity of silver and zinc complexes of sulfadrag derivatives incorporating arylsulfonylureido moieties. *Eur J Pharm Sci* 11: 99-107.
 10. Wright JB, Lam K, Hansen D, Burrell RE. 1999. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. *Am J Infect* 27: 344-350.
 11. Marone P, Monzillo V, Perversi L, Carretto E. 1998. Comparative *in vitro* activity of silver sulfadiazine, alone and in

- combination with cerium nitrate, against staphylococci and gram-negative bacteria. *J Chemother* 10: 17-21.
12. Singer AJ, Berrutti L, McClain SA. 1999. Comparative trial of octyl-cyanoacrylate and silver sulfadiazine for the treatment of full thickness skin wounds. *Wound Repair Regen* 7: 356-361.
 13. Hardt-English P, York G, Stier R, Cocotas P. 1990. Staphylococcal food poisoning outbreaks caused by canned mushrooms from China. *Food Technol* 44: 74-76.
 14. Korsak N, Daube G, Ghafir Y, Chahed A, Jolly S, Vindevogel H. 1998. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J Food Prot* 61: 534-541.
 15. Heintz ML, Hohnson JM. 1998. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. *J Food Prot* 61: 318-323.
 16. Peter MM. 1996. Bacteriocins for control of *Listeria* spp. in food. *J Food Prot Supplement*: 54-63.
 17. Ishi E. 1992. Current topics of bacterial food-borne and water-borne diseases. *Seikatsu Eisei* 36: 197-207.
 18. Davidson PM, Parish ME. 1989. Methods for testing the efficiency of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148-154.
 19. Kenji N, Satoshi T, Ryusuke N, Satomi N, Toshio T, Munehiro O. 2000. Synthesis and characterization of water-soluble silver (I) complexes with L-histidine and (S)-(-)-2-pyrrolidone 5-carboxylic acid showing a wide spectrum of effective antibacterial and antifungal activities. Crystal structures of chiral helical polymers $[Ag(His)]_n$ and $\{[Ag(Hpyrrld)]_2\}_n$ in the solid state. *Inorg Chem* 39: 3301-3311.
 20. Shin CH, Jung SH, Park DK. 1997. Effect of inorganic antimicrobial agents exchanged with silver ion on the respiration rate of activated sludge. *J Korean Soc Environ Engineers* 19: 177-185.
 21. Spadaro JA, Becker RO, Bachman CH. 1970. Size specific metal complexing sites in native collagen. *Nature* 225: 1134-1136.
 22. Webster DA, Spadaro JA, Becker RO, Kramer SJ. 1981. Silver anode treatment of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop* 161: 105-114.
 23. Lund E. 1963. The significance of oxidation in chemical inactivation of poliovirus. *Arch Ges Virusforsch* 12: 648-660.

(2002년 5월 15일 접수; 2002년 11월 20일 채택)