



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0060238
(43) 공개일자 2017년06월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B22F 9/24 (2006.01) A01N 59/00 (2006.01)
B22F 1/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B22F 9/24 (2013.01)
A01N 59/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0164330
(22) 출원일자 2015년11월23일
심사청구일자 2015년11월23일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
양덕춘
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1842 111동 301호 (보라동, 현대모닝사이드2차아파트)
김연주
경기도 성남시 분당구 동판교로 275 107동 801호 (삼평동, 풍성신미주아파트)
성, 프리앙카
경기도 수원시 영통구 덕영대로 1731(영통동, 애지원기숙사)
(74) 대리인
손민

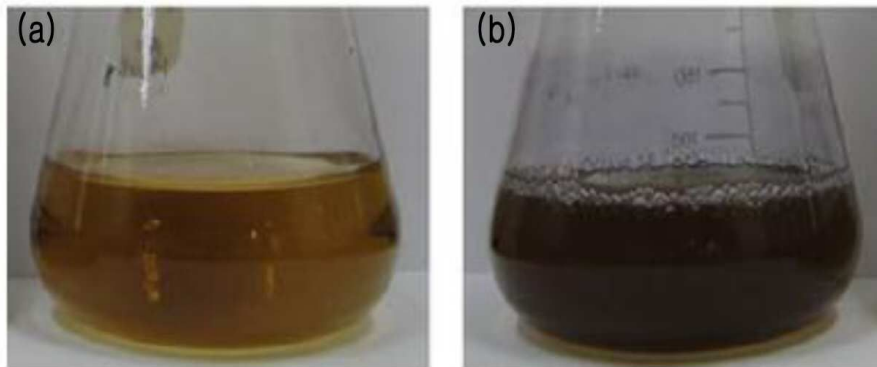
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 금속 나노입자 제조방법 및 이의 이용

(57) 요약

본 발명은 바게바 (*Bhargavaea*)속 미생물을 이용한 금속 나노입자의 제조방법, 상기 방법에 의해 제조된 금속 나노입자 및 금속 나노입자를 포함하는 항균용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 금속 나노입자는 병원성 미생물에 대해 우수한 항균활성을 가지는 바, 이를 포함하는 조성물은 다양한 산업에 매우 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

B22F 1/0003 (2013.01)

B22F 2301/255 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1545009680

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산물기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발사업

연구과제명 한국형 미생물의 기능성 검정 및 제품화 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2013.11.20 ~ 2016.11.19

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 바게바 (*Bhargavaea*)속 미생물 또는 이의 배양물과 (b) 금속 전구체를 반응시키는 단계를 포함하는, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 금속은 금(Au), 은(Ag), 구리(Cu), 팔라듐(Pd), 백금(Pt) 및 로듐(Rd)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 금속 전구체는 테트라클로로금(III)산 (HAuCl_4), 질산은 (AgNO_3), 염화구리 및 질산팔라듐 ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 반응은 10 내지 40℃에서 수행되는 것인, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 반응은 12 내지 72시간 동안 수행되는 것인, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 반응에 사용되는 금속 전구체의 농도는 0.01 내지 100 mM인 것인, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 미생물은 바게바 인디카 (*Bhargavaea indica*)인 것인, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 반응액을 원심분리하여 금속 나노입자를 회수하는 단계를 추가로 포함하는, 금속 나노입자의 제조방법.

청구항 9

바게바 (*Bhargavaea*)속 미생물 또는 이의 배양물을 포함하는, 금속 나노입자 제조용 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 금속은 금(Au), 은(Ag), 구리(Cu), 팔라듐(Pd), 백금(Pt) 및 로듐(Rd)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 금속 나노입자 제조용 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 미생물은 바게바 인디카 (*Bhargavaea indica*)인 것인, 금속 나노입자 제조용 조성물.

청구항 12

제1항의 제조 방법에 의해 제조된, 금속 나노입자.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 금속은 금(Au), 은(Ag), 구리(Cu), 팔라듐(Pd), 백금(Pt) 및 로듐(Rd)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 금속 나노입자.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 금속이 금인 경우 나노입자의 모양은 화형 (flower shape)인 것인, 금속 나노입자.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 금속이 은인 경우 나노입자의 모양은 다각형, 구형 또는 이들의 조합인 것인, 금속 나노입자.

청구항 16

제12항에 있어서, 상기 금속 나노입자는 크기가 3 내지 1000 nm인 것인, 금속 나노입자.

청구항 17

제1항의 제조 방법에 의해 제조된, 금속 나노입자를 포함하는 항균용 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 조성물은 비브리오 (*Vibrio*)속 미생물, 살모넬라 (*Salmonella*)속 미생물, 스테피로코커스 (*Staphylococcus*)속, 바실러스 (*Bacillus*) 속 미생물, 에스케리치아 (*Escherichia*)속 및 칸디다 (*Candida*)속 미생물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상에 대해 항균 활성을 가지는 것인, 항균용 조성물.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 조성물은 림코마이신 (lincomycin), 올레안도마이신 (oleandomycin), 및 리팜피신 (rifampicin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 항생제를 추가로 포함하는, 항균용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 바게바 (*Bhargavaea*)속 미생물을 이용한 금속 나노입자의 제조방법, 상기 방법에 의해 제조된 금속 나노입자 및 금속 나노입자를 포함하는 항균용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 금속 나노입자는 특유의 전자성, 자기성, 촉매성 및 광학적인 특성으로 인해 생의학 분야, 광학 및 전자학 등 다양한 분야에서 다양하게 응용되고 있다. 일반적으로 금속 나노입자의 제조에는 화학적 합성방법, 물리적 제조 방법 및 생물학적 합성방법 등이 이용되고 있으며, 화학적 합성방법은 비교적 공정이 간단하나 비용이 많이 들고 시약의 안정성 등이 문제시 되고 있다. 또한, 물리적 방법은 나노입자의 크기 제어가 어렵고 고가의 제조 설비가 요구되는 등의 문제가 있어 효과적인 금속 나노입자의 제조가 어렵다는 단점이 있다.

[0003] 이와 같은 이유로, 최근에는 친환경적이며 안정적인 미생물을 이용한 생광물화작용 (biomineralization)을 통한 나노입자의 합성 연구가 활발히 진행되고 있다. 구체적으로, 미생물을 통한 생물학적 합성방법은 입자의 직경이 고른 나노입자의 합성이 가능하며, 미생물의 표면 또는 내부에 존재하는 환원물질에 의해 금속이온을 환원시키기 때문에 별도의 환원제 등의 화학물질을 사용하지 않아 친환경적, 경제적 및 인체에 무해한 방법으로 금속 나노입자를 제조할 수 있다는 장점이 있다.

[0004] 이 중, 금 나노입자 및 은 나노입자는 고기능성, 고가치성, 고부가가치성을 추구하고자, 그 연구가 활발하게 진행되고 있는 산업적 응용가능성이 매우 큰 금속으로, 특히, 항균작용 및 살균효과가 뛰어나며 전기전도성도 크기 때문에, 다양한 산업에서 재료로 이용되고 있다(Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014, 121: 474-483). 또한, 금 나노입자는 뛰어난 항암효과를 갖는다고 알려져 있으며, 화형의 금 나노입자가 구형의 금 나노입자보다 10 배이상 높은 항암효과를 갖는다고 보고되고 있다. 이러한 내용으로부터, 화형의 금 나노입자가 구형의 금 나노입자보다 생리활성이 뛰어나함을 알 수 있다(Nanotechnology, 2015, 6: 26(5)).

[0005] 그러나, 미생물을 이용한 생산이기 때문에 반응이 느리다는 점, 또한, 은(Ag)의 경우, 항균활성이 높아 미생물을 이용한 합성이 용이하지 않다는 점, 성장조건과 은 재료 물질의 농도 조절이 어렵다는 점 등의 문제점이 보고되고 있다.

[0006] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 미생물을 이용하여 금속 나노입자의 제조방법을 개발하기 위해 예의 노력한 결과, 바게바 속 미생물이 매우 우수한 금속 나노입자 제조능을 가지며, 상기 미생물에 의해 제조된 금속 나노입자가 매우 우수한 항균활성을 가지고, 금속 나노입자 및 항생제의 조합이 시너지적인 항균활성 가짐을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 하나의 목적은 (a) 바게바 (*Bhargavaea*)속 미생물 또는 이의 배양물과 (b) 금속 전구체를 반응시키는 단계를 포함하는, 금속 나노입자의 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물을 포함하는, 금속 나노입자 제조용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법에 의해 제조된 금속 나노입자를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법에 의해 제조된 금속 나노입자를 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 바게바 (*Bhargavaea*) 속 미생물 또는 이의 배양물과 (b) 금속 전구체를 반응시키는 단계를 포함하는 금속 나노입자의 제조방법을 제공한다.

[0012] 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물은 금속 나노입자 제조활성을 가지거나, 이를 이용한 본원발명의 제조방법은 화학적 합성방법 및 물리적 합성방법에 비해 친환경적이며 안정적으로 금속 나노입자를 제조할 수 있어, 다양한 산업에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

[0013] 이하, 본 발명의 금속 나노입자의 제조방법을 상세히 설명한다.

[0014] 본 발명의 용어 "바게바 (*Bhargavaea*)속 미생물"이란, 바게바 속에 포함되는 하나 이상의 미생물을 의미하는 것으로, 본 발명에서 바게바 속 미생물이 금속 나노입자 제조활성을 가짐을 최초로 규명하였다. 상기 바게바 속 미생물은 금속 나노입자 제조활성을 가지는 한 제한은 없으나, 구체적으로, 바게바 진센 (*Bhargavaea ginseng*), 바게바 세셈벤시스 (*Bhargavaea cecembensis*), 바게바 게이진젠시스 (*Bhargavaea geijingensis*), 또는 바게바 인디카 (*Bhargavaea indica*)일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 바게바 인디카 (*Bhargavaea indica*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 미생물은 다양한 암석이나 광물에 포함되는 금속류를 전구체로서 산화-환원대사함으로써 나노입자를 형성한다.

[0015] 본 발명의 일 실시예에서는 바게바 인디카 DC1(KCTC33595)을 이용하여 금속 나노입자를 제조하였다.

[0016] 본 발명에서 바게바 인디카 DC1은 DC1과 혼용된다.

[0017] 본 발명의 용어 "배양물"은 미생물을 배양한 다음 수득한 산물을 의미한다. 상기 배양물은 미생물을 포함하는 형태 및 상기 미생물을 포함하는 배양액에서 원심분리 등으로 미생물을 제거한 형태도 모두 포함하는 개념이다.

[0018] 본 발명의 금속 전구체로는 제조하고자 하는 나노입자의 금속 종류에 따라 다양한 종류의 화합물을 선택하여 사용할 수 있다. 예를 들어, 금 나노입자의 제조에는 테트라클로로금(III)산 (HAuCl_4), NaAuCl_3 , 및 AuCl_3 로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0019] 또한, 은 나노입자의 제조에는 AgBF_4 , AgCF_3SO_3 , AgClO_4 , AgNO_3 , $\text{Ag}(\text{CH}_3\text{COO})$, AgPF_6 및 $\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO})$ 로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0020] 또한, 구리 나노입자의 제조에는 CuCl_2 , CuF_2 , CuBr_2 , CuI_2 , $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$, $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 및 CuSO_4 로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0021] 본 발명의 제조방법은 사용하는 금속 전구체에 따라 다양한 금속 나노입자를 제조할 수 있으며, 예를 들어, 금(Au), 은(Ag), 구리(Cu), 팔라듐(Pd) 또는 로듐(Rd) 등의 나노입자를 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0022] 본 발명의 제조방법에서, 반응 온도는 금속 나노입자 제조에 영향을 미칠 수 있다. 본 발명의 반응 온도는 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물이 금속 나노입자를 제조할 수 있는 한 제한되지 않으나, 구체적으로 반응 온도는 5 내지 50℃, 더욱 구체적으로는 10 내지 40℃일 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 제조방법에서, 반응 시간은 금속 나노입자 제조에 영향을 미칠 수 있다. 본 발명의 반응 시간은 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물이 금속 나노입자를 제조할 수 있는 한 제한되지 않으나, 구체적으로 1 내지 100시간 더욱 구체적으로는 12 내지 72시간일 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 제조방법에서, 금속 전구체의 농도는 금속 나노입자의 제조에 영향을 미칠 수 있다. 본 발명의 금속 전구체의 농도는 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물이 금속 나노입자를 제조할 수 있는 한 제한되지 않으나, 구체적으로 0.001 내지 1000 mM, 더욱 구체적으로는 0.01 내지 100 mM일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 제조방법은 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물과 금속 전구체의 반응액을 원심분리하여 금속 나노입자를 회수하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 바게바 인디카 DC1 균주의 배양 상청액과 1 mM의 테트라클로로금(III)산을 25℃, 200 rpm에서 48시간 반응시켜 금 나노입자를 제조하였다(실시예 2-1).
- [0027] 또한, 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 은 바게바 인디카 DC1의 배양 상청액과 1 mM의 질산은을 25℃, 200 rpm에서 48시간 반응시켜 은 나노입자를 제조하였다(실시예 2-2).
- [0028] 본 발명의 다른 하나의 양태는 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물을 포함하는, 금속 나노입자 제조용 조성물을 제공한다.
- [0029] 본 발명의 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물은 우수한 금속 나노입자 제조활성을 가지므로, 이를 포함하는 본 발명의 조성물은 친환경적이며 안전한 금속 나노입자를 제조하는 데에 매우 유용하게 활용될 수 있다.
- [0030] 상기 "바게바 속 미생물", "배양물" 및 "금속 나노입자"는 전술한 바와 같다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조방법에 의해 제조된 금속 나노입자를 제공한다.
- [0032] 상기 "금속 나노입자"는 전술한 바와 같다.
- [0033] 본 발명의 금속 나노입자는 의료용, 생물학적 분석용, 연료용, 전자부품 재료의 용도로 사용될 수 있으며, 구체적으로, 금 나노입자는 고유의 빛 전도 특성으로 인해 유기태양전지, 센서프로브, 생물의학용 드러그 딜리버리, 전도재료 및 촉매제로 이용될 수 있고, 은 나노입자는 광학특성, 전도성 및 항균성으로 인해, 항균제, 정량검출을 위한 바이오센서, 광학분석법 등에 이용될 수 있다. 또한, 본 발명의 금속 나노입자는 크기나 형태, 표면의 화학적 특성 또는 응집상태를 변화시킴으로써, 입자의 광학적, 전자적 특성을 조절할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 금속 나노입자의 모양은, 금 나노입자의 경우 화형(flower shape)이고, 은 나노입자의 경우 다각형, 구형 또는 이들의 조합일 수 있으며, 구체적으로, 원삼각형(truncated triangle), 삼각형, 정사각형, 오각형, 육각형, 구형, 나노바(nanobar), 20 면체 또는 이들의 조합일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0035] 또한, 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 금속 나노입자의 크기는 구체적으로 3 내지 1000 nm, 더욱 구체적으로 30 내지 100 nm일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0036] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 DC1의 배양 상청액을 이용하여 제조한 금 나노입자가 30 내지 100 nm의 크기의 화형(flower shape)을 가짐을 확인하였다(실시예 3-2).
- [0037] 또한, 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 DC1의 배양 상청액을 이용하여 제조한 은 나노입자가 30 내지 100 nm의 크기를 나타내고, 원삼각형, 삼각형, 정사각형, 오각형, 육각형, 구형, 나노바, 20 면체 등 다양한 형태를 갖는 것을 확인하였다(실시예 3-3).
- [0038] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조방법에 의해 제조된 금속 나노입자를 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [0039] 본 발명의 금속 나노입자는 병원성 미생물에 대해 우수한 항균 활성을 가지는 바, 이를 포함하는 조성물은 다양

한 산업에 매우 유용하게 활용될 수 있다.

- [0040] 본 발명의 항균용 조성물은 세균, 진균 또는 효모에 대해 항균활성을 가질 수 있으며, 구체적으로 비브리오 (*Vibrio*)속 미생물, 살모넬라 (*Salmonella*)속 미생물, 스테피로코커스 (*Staphylococcus*)속, 바실러스 (*Bacillus*) 속 미생물, 에스케리치아 (*Escherichia*)속 및 칸디다 (*Candida*)속 미생물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상에 대해 항균 활성을 가질 수 있으며, 더욱 구체적으로, 비브리오 파라헤몰리티쿠스, 살모넬라 엔테리카, 스테피로코커스 오우리스, 바실러스 안트라시스, 바실러스 세레우스, 에스케리치아 콜라이 및 칸디다 알비칸스로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상에 대해 항균 활성을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0041] 구체적으로, 본 발명의 은 나노입자 또는 상기 은 나노입자를 포함하는 조성물은 병원성 미생물에 대한 항균활성이 일반적인 은 나노입자보다 매우 우수한 바, 화장품, 의약품, 의약품, 식품 등의 다양한 분야에서 널리 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 항균용 조성물은 린코마이신 (lincomycin), 올레안도마이신 (oleandomycin), 노보비오신 (novobiocin), 반코마이신 (vancomycin), 페니실린G (penicillin G) 및 리팜피신 (rifampicin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 항생제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0043] 금속 나노입자와 항생제를 함께 처리할 경우, 금속 나노입자 또는 항생제 각각 보다 병원성 미생물에 대해 매우 높은 항균 활성을 가지는 바, 이를 포함하는 조성물은 다양한 산업에 매우 유용하게 활용될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 바게바 인디카 DC1에 의해 제조된 은 나노입자가 칸디다 알비칸스에 대한 항균활성이 가장 높음을 확인하였고, 다음으로, 비브리오 파라헤몰리티쿠스, 스테피로코커스 오우리스, 바실러스 안트라시스, 바실러스 세레우스, 살모넬라 엔테리카, 에스케리치아 콜라이의 순으로 항균활성을 나타냄을 확인하였다(실시예 4-2). 또한 은 나노입자와 시판의 항생제인 린코마이신 (lincomycin), 올레안도마이신 (oleandomycin), 노보비오신 (novobiocin), 반코마이신 (vancomycin), 페니실린G (penicillin G) 및 리팜피신 (rifampicin)를 함께 처리할 경우, 살모넬라 엔테리카, 에스케리치아 콜라이 및 비브리오 파라헤몰리티쿠스에 대해 항균활성이 매우 크게 증가함을 확인하였다(실시예 5-2).

발명의 효과

- [0045] 본 발명은 바게바 속 미생물 또는 이의 배양물과 금속 전구체를 반응시켜 제조한 금속 나노입자는 다양한 병원성 미생물에 대해 항균활성을 가짐으로써, 화장료 조성물, 의약품 조성물, 약학적 조성물, 항균용 조성물 또는 방부제 조성물 등의 다양한 분야에서 널리 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0046] 도 1은 TSA 플레이트상의 바게바 인디카 DC1의 콜로니형태를 나타낸다.
- 도 2는 DC1 균주의 상청액과 1 mM의 테트라클로로금(III)산 ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)을 48시간 반응시킨 후의 대조군 플라스크(a) 및 실험군 플라스크(b)의 색의 변화를 나타낸 도면이다.
- 도 3은 DC1 균주의 상청액과 1 mM의 질산은 (AgNO_3)을 48시간 반응시킨 후의 대조군 플라스크(a) 및 실험군 플라스크(b)의 색의 변화를 나타낸 도면이다.
- 도 4는 UV-vis를 통한 금 나노입자의 생성여부를 확인한 도면이다.
- 도 5는 FE-TEM을 통한 금 나노입자의 구조적 특징을 100 nm(a), 50 nm(b), 20 nm(c) 및 10 nm(d)로 나타낸 도면이다.
- 도 6은 EDX 분석을 통한 금 나노입자의 순도(a), 원소매핑을 통한 금 나노입자 펠렛 용액의 TEM사진(b) 및 금 나노입자의 TEM사진(c)를 확인한 도면이다.
- 도 7은 X선 회절을 통한 금 나노입자의 회절패턴을 나타낸 도면이다.
- 도 8은 금 나노입자의 용량(volume), 강도(intensity) 및 수(number)를 바탕으로 크기분포 프로파일 결과를 나타낸 도면이다.
- 도 9는 UV-vis를 통한 은 나노입자의 생성여부를 확인한 도면이다.
- 도 10은 FE-TEM을 통한 은 나노입자의 구조적 특징을 100 nm(a) 200 nm(b)로 나타낸 도면이다.

도 11은 EDX 분석을 통한 은 나노입자의 순도(a), 원소매핑을 통한 은 나노입자 펠렛 용액의 TEM사진(b) 및 은 나노입자의 TEM사진(c)를 나타낸 도면이다.

도 12는 X선 회절을 통한 은 나노입자의 회절패턴을 나타낸 도면이다.

도 13은 은 나노입자의 용량(volume), 강도(intensity) 및 수(number)를 바탕으로 크기분포 프로파일 결과를 나타낸 도면이다.

도 14는 은 나노입자의 항균활성을 나타낸 도면이다.

도 15는 병원성 미생물에 대한 시판 항생제의 항균활성(a) 및 시판 항생제와 은 나노입자를 함께 처리한 경우의 항균활성(b)을 나타낸 도면이다(1: 린코마이신 15 g/디스크, 2: 올레안도마이신 15 g/디스크, 3: 노보비오신 30 g/디스크, 4: 반코마이신 30 g/디스크, 페니실린G 10 g/디스크 및 리팜피신 5 g/디스크, 시클로헥사미드(CHX) 10 g/디스크).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

실시예 1: 신규 미생물의 분리 및 동정

4년생 인삼 근원의 토양을 채취하여 트립틱 소이 아가 (Tryptic soy agar, TSA)에서 균주를 배양(도 1), 분리하였다. 상기 분리한 균주를 동정하기 위해, 시판의 게노믹 DNA 추출 키트 (Core Bio System)를 이용하여 게노믹 DNA를 추출하고, 유니버설 박테리아 프라이머 (universal bacterial primer) 세트 27F, 518F, 800F 및 1512R을 사용하여 상기 균주의 DNA로부터 16S rRNA를 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물을 정제하고 Genotech (Daejeon, Korea)를 통해 염기서열을 분석하였다. GeneBank 데이터베이스 및 EzTaxon-e-server로부터 얻은 16S rRNA 유전자 서열로부터 상기 균주의 상동성을 조사한 결과, 상기 신규한 균주가 바게마 인디카 (*Bhargavaea indica*)와 99.79%의 유사성을 나타냄을 확인하였다.

이에, 본 발명자들은 상기 균주를 "바게마 인디카 (*Bhargavaea indica*)DC1으로 명명하고, 한국생명공학연구원 생물자원센터에 기탁하여 기탁번호 KCTC33595를 부여받았다.

실시예 2: 나노입자의 제조 방법

실시예 2-1: DC1 균주를 이용한 금 나노입자의 제조방법

DC1 균주를 이용하여 금 나노입자의 합성을 수행하였다. DC1 균주를 트립틱 소이 배양액 (Tryptic soy broth, TSB)에서 37℃, 120 rpm으로 24시간 배양한 다음, 배양상청액을 8000 rpm에서 5분간 원심분리하여 회수하고 세포 바이오매스를 제거하였다. 상기 회수한 상청액을 미생물 바이오매스가 남지 않도록 같은 조건으로 더 원심분리한 후, 이를 금 나노입자의 미생물 생합성에 사용하였다. 최종농도 1 mM의 테트라클로로금(III)산 ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)을 상기 배양상청액에 첨가하고 200 rpm, 25℃의 회전 교반기에서 48시간 더 배양하였다. 여기서, 배양액의 색 변화를 육안으로 관찰하였다.

도 2에서 나타내는 바와 같이, DC1 균주의 상청액과 1 mM의 테트라클로로금(III)산 ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)을 포함하는 배양액의 색이 배양 48시간 이내에 옅은 푸른색으로 점차 변하였고(도 2a), 반면에, 세균이 들어있지 않은 대조군 배양액에서는 색의 변화가 관찰되지 않았다(도 2b). 이 옅은 푸른색은 표면 플라즈몬 (surface plasmon)진동에 의한 것이고, 반응혼합액 중에서 금 나노입자의 형성에 의해 발생하는 것이다. 따라서 DC1 균주에 의해 금 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있다. 배양 후의 나노입자의 정제와 회수를 위해, 2000 rpm에서 5분간 원심분리하여 배지의 성분을 제거한 다음, 16000 rpm에서 10분간 원심분리하여 금 나노입자를 회수하였다. 상기 산물을 멸균수로 수차례 세척한 후에 펠렛형태의 금 나노입자를 최종적으로 회수하였다.

실시예 2-2: DC1 균주를 이용한 은 나노입자의 제조방법

DC1 균주를 이용하여 은 나노입자의 합성을 수행하였다. DC1균주를 트립틱 소이 배양액 (TSB)에서 37℃, 120 rpm으로 24시간 배양한 다음, 상기 배양액을 8000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상청액을 은 나노입자 제조에 이용하였다. 상기 배양상청액에 질산은 (AgNO_3)을 1 mM의 농도에 이를 때까지 첨가하면서, 상기 반응혼합물을 200 rpm, 25℃의 회전교반기에서 배양하였다. 이때, 배양액의 색 변화를 육안으로 관찰하였다.

[0057] 도 3에서 나타내는 바와 같이, 질산은 (AgNO_3)의 첨가로 배양액이 점차 갈색으로 변함으로써 은 나노입자가 제조되었음을 확인하였다(도 3a). 반면, 균주를 포함하지 않는 대조군 배양액에서는 색의 변화가 관찰되지 않았다(도 3b). 이 갈색은 표면 플라즈몬(surface plasmon)진동에 의한 것이고, 반응혼합물 중의 은 나노입자 형성에 의해 발생하는 것이다. 따라서, DC1 균주에 의해 은 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있다. 배양완료 후, 상기 반응 혼합물을 2000 rpm에서 5분간 원심분리하여 배지성분을 제거한 후, 16000 rpm에서 20분간의 고속 원심 분리함으로써 은 나노입자를 회수하였다. 상기 회수한 배양산물을 원심분리로 수차례 세척하고 물에 재현탁하여 변환되지 않은 은 이온과 배지조성물을 제거하였다.

[0058] **실시예 3: DC1 균주를 이용하여 제조한 나노입자의 특성분석**

[0059] **실시예 3-1: 분석방법**

[0060] 상기 DC1 균주를 통해 제조한 나노입자를 자외선/가시광선 분광법(Ultraviolet/Visible Spectroscopy, UV-vis), 전계 방출형 주사전자현미경(Field-emission transmission electron microscopy, FE-TEM), 에너지 분산형 X선 분석(energydispersive X-ray spectrometer, EDX spectra), 원소 매핑(elemental mapping) 및 동적광산란법(Dynamic Light Scattering, DLS)을 이용하여 나노입자의 크기, 모양, 구성 및 특성을 분석하였다. 실시예 2에서 제조된 나노입자를 UV-vis를 통해 300 내지 700 nm의 파장 범위내에 걸친 반응혼합물의 흡광도를 스캔함으로써 생체환원을 분석하였다. 또한, FE-TEM, EDX 및 원소 매핑 분석을 위해, 탄소 코팅된 구리 그리드(carbon-coated copper grid)상에 정제한 나노입자 펠렛 수용액을 적하하고 60℃의 오븐에서 건조하여 시료를 제조하였다. 제조된 시료를 FE-TEM을 통해 나노입자의 구조적 특성을 분석하였고, EDX 및 원소 매핑을 통해 원소의 분포를 분석하였다.

[0061] 또한, 상기 제조된 나노입자를 X선 회절(X-ray diffraction)분석을 통해 X선 회절계(X-ray diffractometer, D8 Advance, Bruker, Germany)상에서 40 kV, 40 mA의 $\text{CuK}\alpha$ 방사(radiation)로 6°/분의 스캔률, 0.02의 스텝 사이즈, 20 내지 80°의 2θ범위에 걸쳐 분석을 수행하였다.

[0062] 또한, 동적광산란법((Dynamic Light Scattering, DLS), particles size analyzer, Photal, Otsuka Electronics, Japan)을 통한 분석을 위해, 상기 금 또는 나노입자를 멸균수로 수회 원심분리 및 세척하여 회수한 다음, 최종적으로 건조하여 분말형태의 나노입자를 제조하였다. 상기 제조한 은 나노입자를 DLS를 통해, 은 나노입자의 사이즈 분포 프로파일을 분석하였다. 유체역학적 직경(Hydrodynamic diameters)과 다분산지수(polydispersity index, PDI)는 25℃에서 분석하였고, 참고 분산매질로서 굴절률 1.3328, 점성 0.8878 및 유전율(dielectric constant)을 갖는 순수를 사용하였다.

[0063] 또한, 은 나노입자의 안정성을 실온에서 다른 시간간격으로 이방성 은 나노입자 반응혼합물을 유지시킴으로써 관찰하였다. 또한, pH 변화에 따른 은 나노입자의 안정성 평가는 수산화나트륨 수용액을 pH 4 내지 10 범위로 첨가한 다음, UV-vis를 통해 관찰하였다.

[0064] **실시예 3-2: DC1 균주를 이용하여 제조한 금 나노입자의 특성분석 결과**

[0065] 1. 자외선/가시광선 분광법(Ultraviolet/Visible Spectroscopy, UV-vis) 분석

[0066] DC1 균주를 이용한 금 나노입자의 제조여부를 UV-vis분석을 통해 확인한 결과, 300 내지 800 nm 범위를 스캔하여 536 nm의 주요 흡광 피크를 갖는 금 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있었다(도 4).

[0067] 2. 전계 방출형 주사전자현미경(Field-emission transmission electron microscopy, FE-TEM)분석

[0068] FE-TEM을 통해, 실시예 2-1에서 제조된 금 나노입자의 구조적 특징을 분석하였다. 그 결과, 도 5에서 알 수 있듯이, 상기 금 나노입자는 30 내지 100 nm의 크기의 화형(flower shape)을 가졌다. 화형의 금 나노입자를 각각 100 nm, 50nm, 20nm 및 10nm에서 관찰한 결과를 도 5a 내지 도 5d에 나타내었다.

[0069] 3. 에너지 분산형 X선(Energy Dispersive X-Ray Analysis, EDX)분석

[0070] EDX분석을 통해, 실시예 2-1에서 제조된 금 나노입자의 순도를 측정하였다. 그 결과, 도 6a에서 나타내는 바와 같이, 상기 금 나노입자는 2.3 keV에서 광학적인 흡광 밴드 피크를 나타냄을 확인하였다. 이는 나노 금속의 특성으로 알려져 있고 금 나노입자의 표면 플라즈몬 공명 특성에 상응하므로, 이러한 결과로 금 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있다.

[0071] 4. 투과전자현미경(Transmission electron microscope, TEM)분석

- [0072] 원소 매핑을 통해, 실시예 2-1에서 제조된 금 나노입자의 분포를 분석하였다. 도 6b에서 나타내는 바와 같이, 정제된 금 나노입자 펠렛 용액을 전자현미경을 통해 관찰하였고, 원소 매핑의 결과로부터 금 나노입자의 퇴적물 (deposition)이 69.96%라는 것을 확인하여 금 나노입자가 제조되었음을 확인하였다(도 6c).
- [0073] 5. X선 회절 (X-ray diffraction, XRD)분석
- [0074] XRD 분석 분석을 통해, 실시예 2-1에서 제조된 금 나노입자의 회절패턴을 분석하였다. 그 결과, 도 7에서 나타내는 바와 같이, 금 나노입자의 XRD 패턴에서 금 나노입자는 모든 스펙트럼에서 20 내지 80° 범위의 2θ 값의 강한 피크를 나타냄을 확인하였고, 이는 금 나노 크리스탈의 Bragg's reflection와 유사한 값을 나타내므로, 이러한 결과로 금 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있다.
- [0075] 6. 동적광산란법 (Dynamic Light Scattering, DLS)분석
- [0076] 실시예 2-1에서 제조된 금 나노입자의 용량 (volume), 강도 (intensity) 및 수 (number)를 바탕으로 입자 크기 분포 프로파일을 작성하여, 화형의 금 나노입자가 평균지름이 106 nm이고 다분산지수 (PDI)가 0.178인, 50 내지 150 nm의 크기를 나타내는 것을 확인하였다(도 8).
- [0077] **실시예 3-3: DC1 균주를 이용하여 제조한 은 나노입자의 특성분석 결과**
- [0078] 1. 자외선/가시광선 분광법 (Ultraviolet/Visible Spectroscopy, UV-vis) 분석
- [0079] DC1 균주를 이용한 은 나노입자의 제조여부를 UV-vis분석을 통해 확인하였다. 도 9에서 나타내는 바와 같이, UV-vis분석 결과로부터, 300 내지 700 nm 범위를 스캔하여 460 nm에서 주요 흡광 피크를 갖는 은 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있었다. 도 9에서 나타내는 브로드 피크 (broad peak)는 은 나노입자의 이방성 성질 (anisotropic nature)로 인해 나타나는 현상이고, 이 영역은 은 나노입자의 표면 플라즈몬 공명 (Surface Plasmon Resonance, SPR)에 상응하는 영역이라고 보고되고 있다.
- [0080] 2. 전계 방출형 주사전자현미경 (Field-emission transmission electron microscopy, FE-TEM)분석
- [0081] FE-TEM을 통해, 실시예 2-2에서 제조된 은 나노입자의 구조적 특징을 분석하였다. 그 결과, 도 10에서 나타내는 바와 같이, 상기 은 나노입자는 30 내지 100 nm의 크기를 나타내고, 원삼각형 (truncated triangle), 삼각형, 정사각형, 오각형, 육각형, 구형, 나노바 (nanobar), 20 면체 등 다양한 형태를 갖는 것을 확인하였다.
- [0082] 3. 에너지 분산형 X선 (Energy Dispersive X-Ray Analysis, EDX)분석
- [0083] EDX를 통해, 실시예 2-2에서 제조된 은 나노입자의 순도를 측정하였다. 그 결과, 도 11a에서 나타내는 바와 같이, 상기 은 나노입자는 3 keV에서 광학적인 흡광 밴드 피크를 나타냄을 확인하였다. 이는 은 나노 금속 입자의 특징으로 알려져 있고 은 나노입자의 표면 플라즈몬 공명에 상응하므로, 이러한 결과로 은 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있다.
- [0084] 4. 투과전자현미경 (Transmission electron microscope, TEM)분석
- [0085] TEM을 통해, 실시예 2-2에서 제조된 은 나노입자의 분포를 분석하였다. 도 11b에서 나타내는 바와 같이, 정제된 은 나노입자 펠렛 용액을 전자현미경을 통해 관찰하였고, 원소 매핑의 결과로부터, 55.95%의 최대 침적의 은 나노입자, 12.65%의 탄소와 28.68%의 구리가 포함된 요소가 관찰되었음을 확인하여 은 나노입자가 제조되었음을 확인하였다(도 11c).
- [0086] 5. X선 회절 (X-ray diffraction, XRD)분석
- [0087] XRD 분석을 통해, 실시예 2-2에서 제조된 은 나노입자의 회절패턴을 분석하였다. 그 결과, 도 12에서 나타내는 바와 같이, 은 나노입자의 XRD 패턴에서 은 나노입자는 모든 스펙트럼에서 20 내지 80° 범위의 2θ 값의 강한 피크를 나타냄을 확인하였다. 이 패턴은 은 나노입자의 Bragg's reflection과 유사한 값을 나타내므로, 이러한 결과로 은 나노입자가 제조되었음을 확인할 수 있다.
- [0088] 6. 동적광산란법 (Dynamic Light Scattering, DLS)분석
- [0089] 실시예 2-2에서 제조한 은 나노입자의 용량, 강도 및 수를 바탕으로 입자의 크기 분포를 프로파일을 작성하여 은 나노입자의 평균 지름이 111 nm이고, 다분산지수 (Polydispersity Index, PDI)가 0.233인 50 내지 150 nm의 크기를 나타내는 것을 확인하였다(도 13).
- [0090] **실시예 4: 은 나노입자의 항균활성 평가**

[0091] **실시예 4-1: 측정방법**

[0092] 상기 DC1 균주에 의해 제조된 은 나노입자의 항균활성을 측정하기 위해, 한천 확산법 (Agar well diffusion method)을 이용하여 은 나노입자의 병원성 미생물에 대한 항균활성을 검토하였다. 항균활성 평가 시험에 사용된 병원성 미생물은 비브리오 파라헤몰리티쿠스 (*Vibrio parahaemolyticus*), 살모넬라 엔테리카 (*Salmonella enterica*), 스테피로코커스 오우러스 (*Staphylococcus aureus*), 바실러스 안트라시스 (*Bacillus anthracis*), 바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*), 에스케리치아 콜라이 (*Escherichia coli*) 및 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*)를 이용하였다.

[0093] 상기 각 균주를 뮐러-힌톤 아가 (Muller-Hinton agar, MHA)플레이트에 하룻밤 배양하고 유리 스프레더를 이용하여 상기 병원성 미생물을 MHA 플레이트 상에 전체적으로 퍼 바른 후, 제조된 은 나노입자 반응혼합액 50 μ l를 4 곳에 도포하여 37°C에서 24시간 배양하였다.

[0094] **실시예 4-2: 항균활성 측정 결과**

[0095] 상기 DC1 균주에 의해 제조된 은 나노입자의 항균활성을 측정한 결과, 도 14에서 나타내는 바와 같이, 칸디다 알비칸스에 대한 항균활성이 가장 높음을 확인하였고, 다음으로, 비브리오 파라헤몰리티쿠스, 스테피로코커스 오우러스, 바실러스 안트라시스, 바실러스 세레우스, 살모넬라 엔테리카, 에스케리치아 콜라이의 순으로 항균활성을 나타냄을 확인하였다. 동일한 실험을 2번 반복하였고 그 평균값을 표 1에 나타내었다.

[0096] [표 1] 은 나노입자를 포함하는 반응혼합물을 이용한 병원성 미생물에 대한 저해영역 직경측정

	병원성 미생물	저해영역(mm)
1	<i>Candida albicans</i> [KACC 30062]	23 $\pm$ 0.5
2	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> [ATCC 33844]	22 $\pm$ 1
3	<i>Staphylococcus aureus</i> [ATCC 6538]	18 $\pm$ 0.8
4	<i>Bacillus anthracis</i> [NCTC 10340]	16 $\pm$ 0.6
5	<i>Bacillus cereus</i> [ATCC 14579]	15 $\pm$ 0.4
6	<i>Salmonella enterica</i> [ATCC 13076]	14 $\pm$ 1
7	<i>Escherichia coli</i> [ATCC 10798]	10 $\pm$ 1

[0097] **실시예 5: 은 나노입자와 시판 항생제를 함께 처리시의 항균활성 평가**

[0099] **실시예 5-1: 측정 방법**

[0100] 은 나노입자와 시판 항생제와의 감수성 증대효과를 확인하기 위해, 디스크 확산법 (disk diffusion method)을 수행하였다. 먼저, MHA 플레이트상에 각 병원성 미생물을 퍼 바른 다음, 각 시판의 항생제 (린코마이신, 올레안도마이신, 노보비오신, 반코마이신, 페니실린G 및 리팜피신)에 대한 항생제 디스크 (antibiotic disk)를 플레이트에 놓고, 그 위에, 은 나노입자 용액 3 μ g (100 ppm, 30 μ l)를 첨가하였다. 은 나노입자를 포함하지 않는 항생제 디스크를 음성 대조군으로서 사용하였다. 상기 플레이트를 건조시킨 다음, 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후, 상기 병원성 미생물에 대한 감염패턴을 한천 확산법 (Agar well diffusion method) 및 디스크 확산법 (disk diffusion test)의 저해영역을 측정함으로써 검출하였다. 마찬가지로, 동일한 농도의 은 나노입자를 사용하여 칸디다 알비칸스의 시클로헥사미드 (cycloheximide, CHX)에 대한 항균활성을 산출하여 비교하였다(도 15).

[0101] **실시예 5-2: 항균활성 측정 결과**

[0102] 상기 DC1 균주에 의해 제조된 은 나노입자와 시판의 항생제와의 감수성 증대효과를 측정한 결과, 표 2 및 도 15에서 나타내는 바와 같이, 시판의 항생제는 살모넬라 엔테리카, 에스케리치아 콜라이 및 비브리오 파라헤몰리티쿠스의 3종류의 병원성 미생물에 대해 항균활성이 전혀 없었으나, 이와 달리, DC1 균주에 의해 제조된 은 나노입자와 시판 항생제를 함께 처리한 경우, 살모넬라 엔테리카, 에스케리치아 콜라이 및 비브리오 파라헤몰리티쿠스의 병원성 미생물에 대해 항균활성이 매우 증가함을 확인하였다.

[0103] 또한, 시판의 항생제는 바실러스 안트라시스, 바실러스 세레우스, 및 스테피로코커스 오우러스의 병원 미생물에

대해 항균활성을 가지나, DC1 균주에 의해 제조된 은 나노입자와 시판의 항생제를 함께 처리한 경우, 항균활성이 더욱 높아짐을 확인하였다.

[0104] [표 2] 병원성 미생물에 대한 시판의 항생제와 은 나노입자 조합의 시너지 효과 검토

병원성 균주	MY15 (a)	MY15 + AgNPs (b)	FA [‡]	OL15 (a)	OL15 + AgNPs (b)	FA [‡]	NV30 (a)	NV30 + AgNPs (b)	FA [‡]
<i>S. enterica</i>	0 [†]	12 ± 0.5	3	0 [†]	12 ± 0.2	3	0 [†]	14 ± 0.9	4.44
<i>E. coli</i>	0 [†]	13 ± 0.3	3.69	0 [†]	13 ± 0.6	3.69	0 [†]	14 ± 1	4.44
<i>V. parahaemolyticus</i>	0 [†]	15 ± 0.4	5.25	0 [†]	15 ± 0.3	5.25	0 [†]	17 ± 0.6	7.02
Average			3.98			3.98			5.3
<i>B. anthracis</i>	14 ± 0.1	16 ± 0.1	0.31	15 ± 0.4	18 ± 0.2	0.44	19 ± 0.2	22 ± 0.3	0.34
<i>B. cereus</i>	16 ± 0.2	18 ± 0.6	0.26	22 ± 0.3	24 ± 0.5	0.19	22 ± 0.1	25 ± 0.4	0.29
<i>S. aureus</i>	25 ± 0.1	28 ± 0.5	0.25	22 ± 0.2	25 ± 0.7	0.29	30 ± 0.3	34 ± 1	0.28
평균			0.27			0.31			0.30
병원성 균주	VA30 (a)	VA30 + AgNPs (b)	FA [‡]	P10 (a)	P10 + AgNPs (b)	FA [‡]	RD5 (a)	RD5 + AgNPs (b)	FA [‡]
<i>S. enterica</i>	0 [†]	12 ± 0.3	3	0 [†]	12 ± 1	3	0 [†]	13 ± 0.5	3.69
<i>E. coli</i>	0 [†]	13 ± 0.4	3.69	0 [†]	13 ± 1.2	3.69	0 [†]	13 ± 0.2	3.69
<i>V. parahaemolyticus</i>	0 [†]	14 ± 0.2	4.44	0 [†]	14 ± 1.5	4.44	0 [†]	15 ± 0.3	5.25
Average			3.71			3.71			4.21
<i>B. anthracis</i>	15 ± 0.5	19 ± 0.7	0.6	0 [†]	15 ± 0.5	5.25	12 ± 0.2	16 ± 0.7	0.78
<i>B. cereus</i>	17 ± 0.2	20 ± 0.6	0.38	8 ± 0.3	16 ± 0.8	3	13 ± 0.3	15 ± 0.4	0.33
<i>S. aureus</i>	16 ± 0.4	20 ± 0.2	0.56	36 ± 0.5	40 ± 0.8	0.23	27 ± 0.4	29 ± 0.6	0.15
평균			0.52			2.83			0.42
병원성 균주	CHX			CHX + AgNPs			FA [‡]		
<i>C. albicans</i>	0 [†]			13 ± 0.5			3.69		

미생물 성장 저해 영역의 흡광도에 있어서, 디스크의 직경(6mm)을 폴드 증가를 산출하기 위해 사용하였다.. 폴드 영역의 증가(fold area, FA)= $(b^2 - a^2)/a^2$.

MY15: 린코마이신 15 µg/디스크, OL15: 올레안도마이신 15 µg/디스크, VA30: 반코마이신 30 µg/디스크, NV30: 노보마이신 30 µg/디스크, P10: 페니실린G 10 µg/디스크, 및 RD5: 리팜피신 5 µg/디스크; CHX: 시클로헥사미드, 10 µg/디스크; AgNPs: 생합성된 이방성은 나노입자 30 µL (100ppm).

[0105]

[0106]

이와 같은 결과로부터, DC1 균주에 의해 제조된 은 나노입자는 시판의 항생제와 함께 처리할 경우, 살모넬라 엔테리카, 에스케리치아 콜라이, 비브리오 파라헤몰리티쿠스, 바실러스 안트라시스, 바실러스 세레우스, 및 스테피로코커스 오우러스의 병원성 미생물에 대한 항생제 감수성을 증대시킴을 알 수 있었다.

[0107]

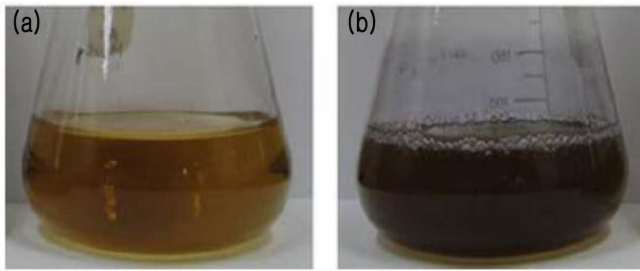
이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예 및 실험예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

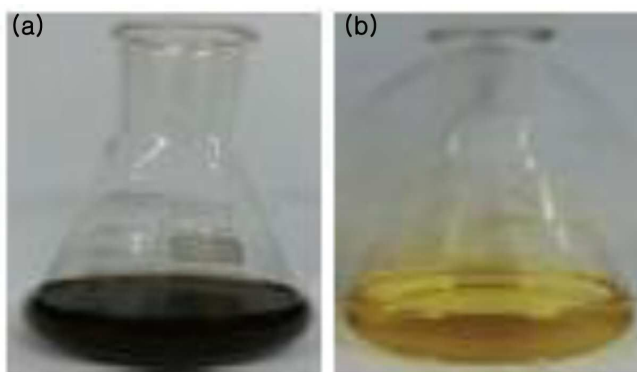
도면1



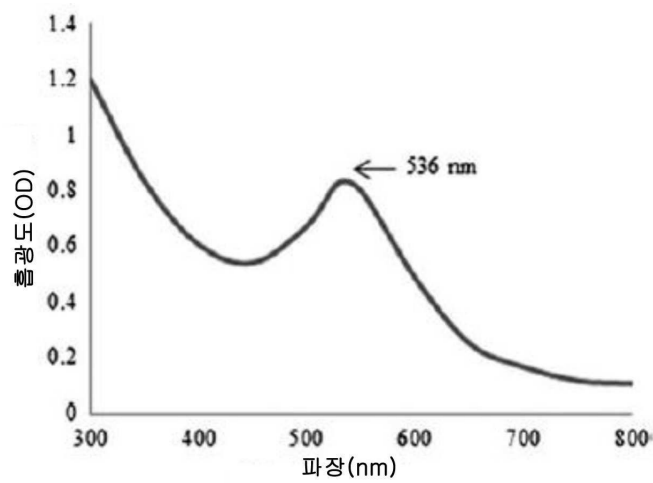
도면2



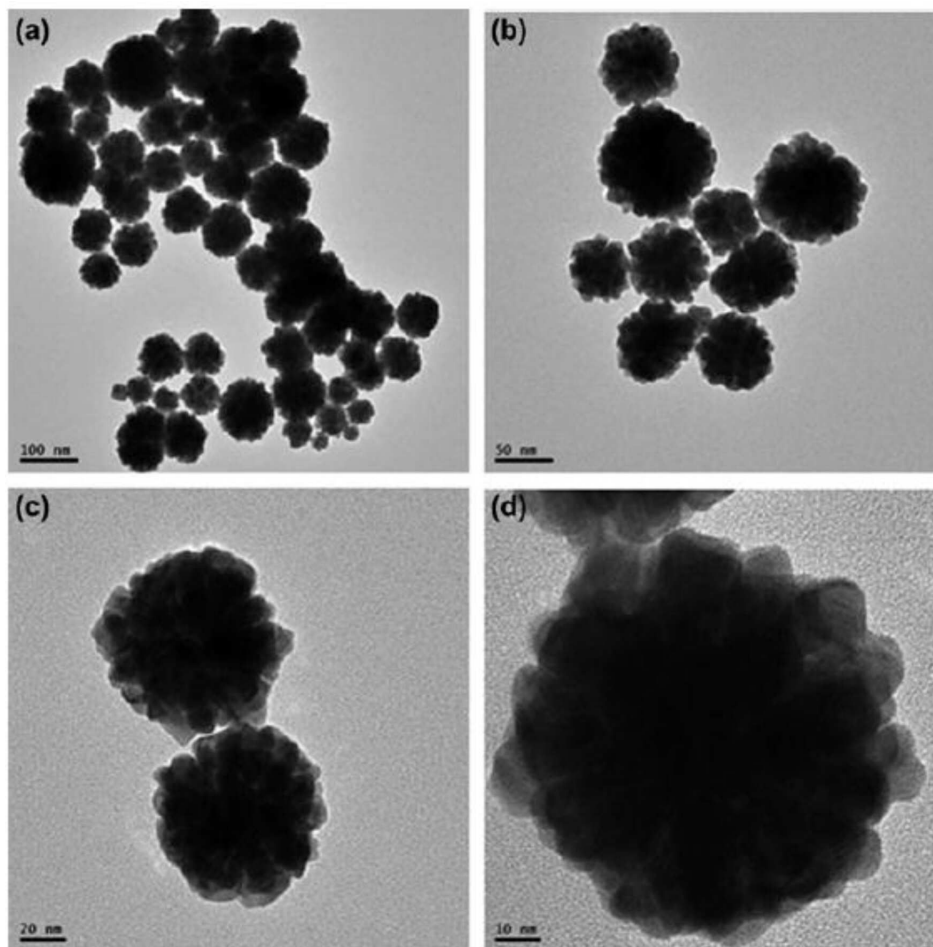
도면3



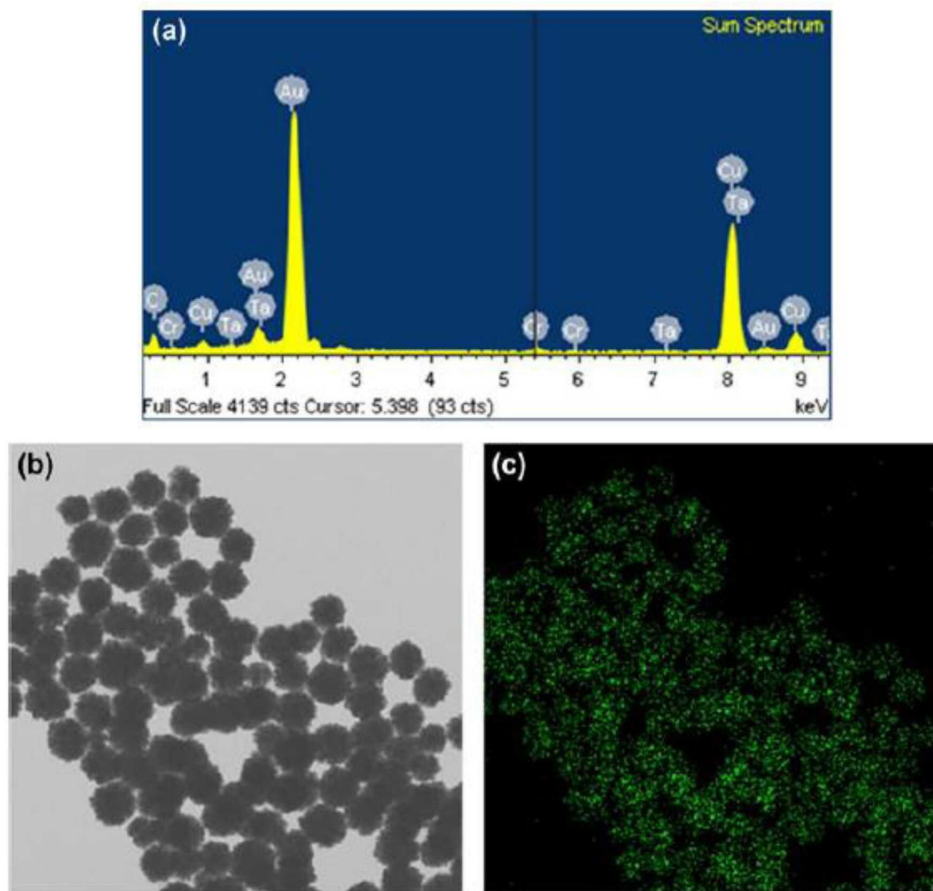
도면4



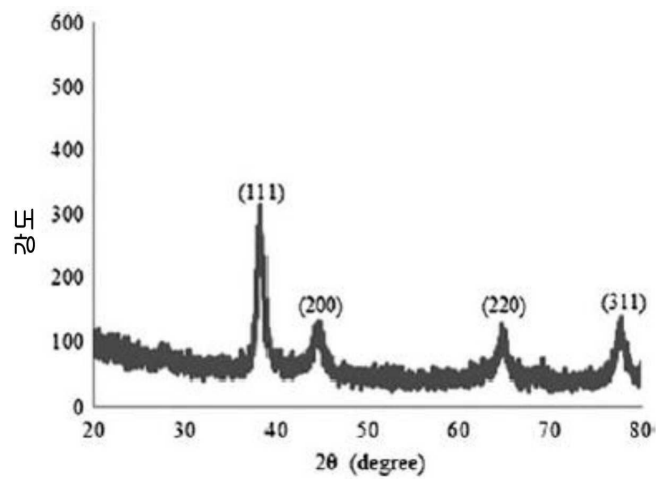
도면5



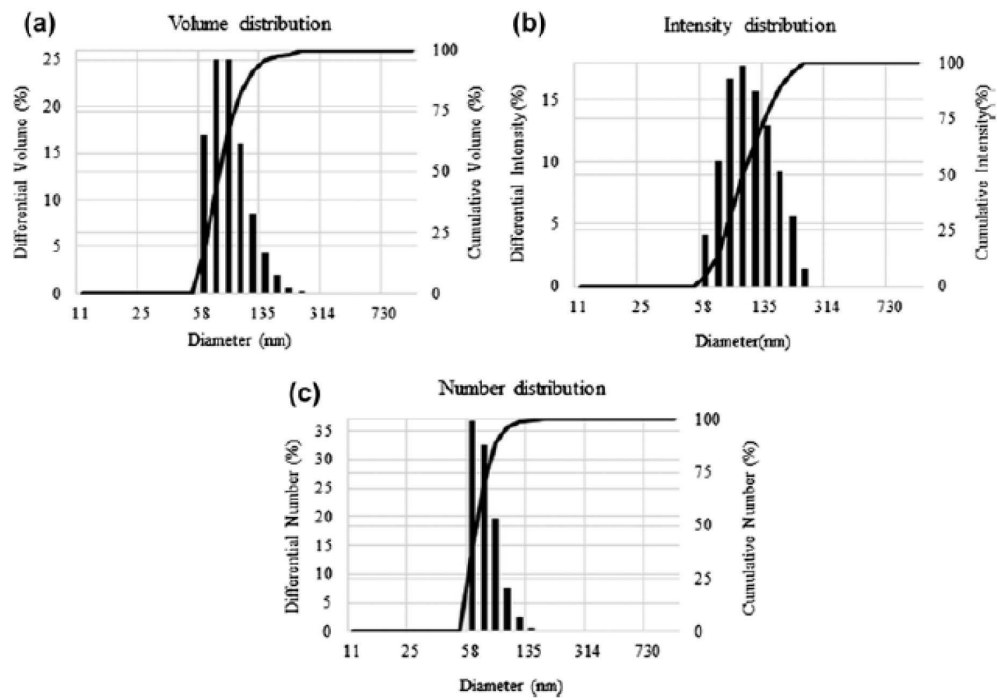
도면6



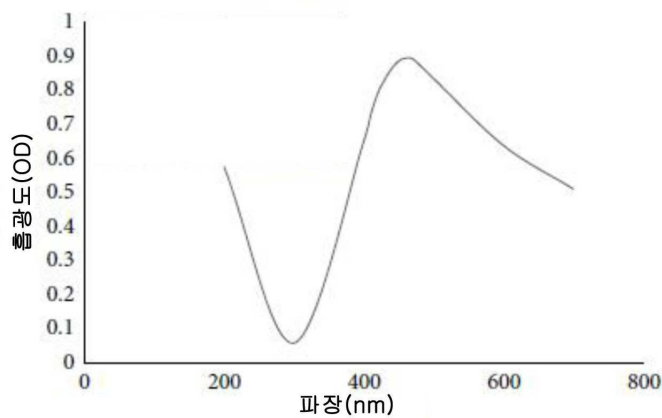
도면7



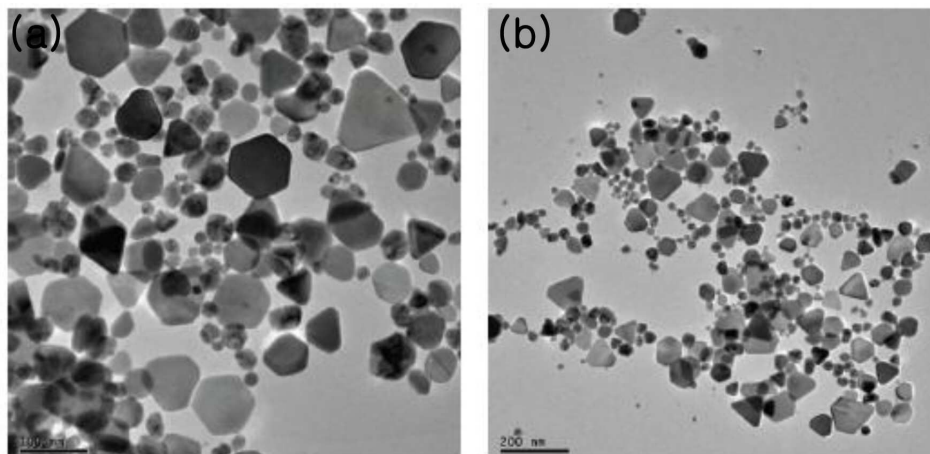
도면8



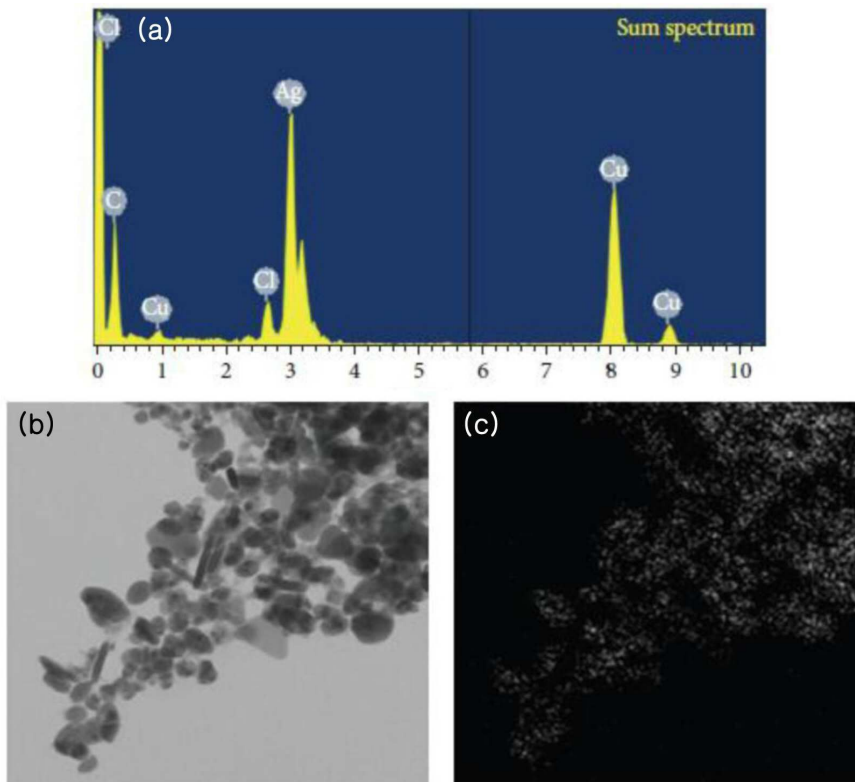
도면9



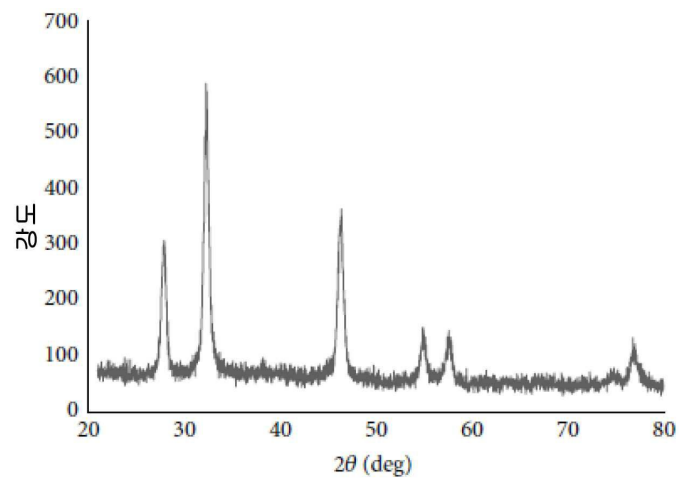
도면10



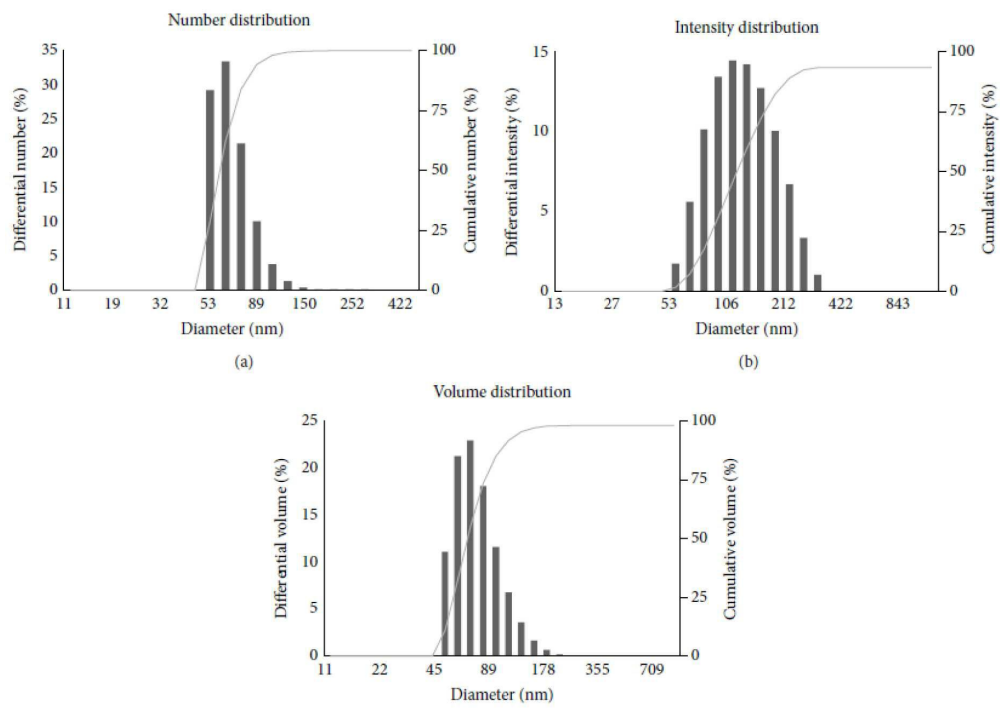
도면11



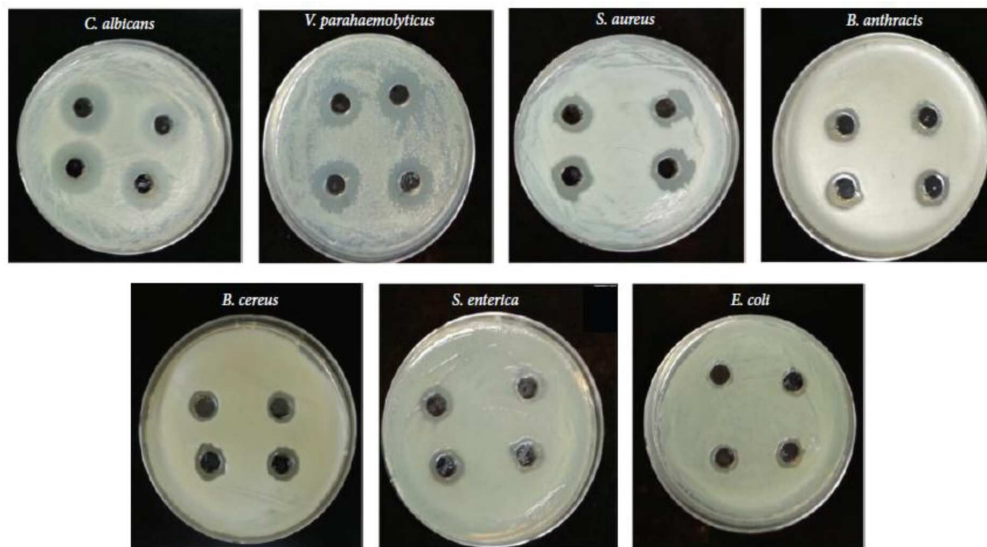
도면12



도면13



도면14



도면15

