pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 40, No. 4, pp. 317~324 (2025)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2025.40.4.317

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

벼메뚜기(*Oxya chinensis sinuosa*) 탈지 추출물을 이용한 은나노입자 생합성: 특성 분석 및 항균 활성 평가

김세민[1,2] · 김태용[1] · 최윤상[3] · 옥경식[1] · 임민철[1,4]*

[1]한국식품연구원 안전유통연구단
[2]중앙대학교 일반대학원 식품공학부 식품생명공학과
[3]한국식품연구원 가공공정연구단
[4]과학기술연합대학원대학교 식품생명공학스쿨

Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Defatted *Oxya chinensis sinuosa* Extract: Characterization and Antibacterial Evaluation

Se-Min Kim[1,2], Tai-Yong Kim[1], Yun-Sang Choi[3] Gyeongsik Ok[1], Min-Cheol Lim[1,4]*

[1]*Research Group of Food Safety and Distribution, Korea Food Research Institute, Wanju, Korea*
[2]*Department of Food Science and Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong, Korea*
[3]*Research Group of Food Processing, Korea Food Research Institute, Wanju, Korea*
[4]*Department of Food Biotechnology, Korea University of Science and Technology, Daejeon, Korea*

(Received May 20, 2025/Revised Ausugt 8, 2025/Accepted August 14, 2025)

ABSTRACT - In this study, the potential for green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using defatted *Oxya chinensis sinuosa* extract was evaluated, and the physicochemical properties and antibacterial activity of the synthesized AgNPs were investigated. AgNP formation was initially indicated by a visible color change of the reaction solution and further confirmed by the appearance of a characteristic surface plasmon resonance absorption peak at approximately 448 nm in the UV–Vis spectrum. Dynamic light scattering (DLS) and zeta potential analyses revealed an average particle size of 98.4±0.9 nm and a zeta potential of −22.8±0.5 mV, indicating good colloidal stability. Transmission electron microscopy (TEM) and high-resolution X-ray diffraction (HR-XRD) confirmed the spherical morphology and crystalline nature of the particles. Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy demonstrated that protein-derived functional groups in the extract were involved in reducing and stabilizing AgNPs. The antibacterial activity was assessed using a disk diffusion assay, and the AgNPs significantly inhibited four foodborne pathogens: *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*. These findings suggest that defatted *Oxya chinensis sinuosa* extract can serve as an effective biomaterial for the green synthesis of AgNPs, with potential applications in food safety.

Key words: Silver nanoparticles, Green synthesis, *Oxya chinensis sinuosa*, Physicochemical characterization, Antibacterial activity

최근 나노 소재의 생물학적 기능성과 응용 가능성이 주목받으며 다양한 분야에서 활발히 연구되고 있다. 특히 은나노입자(silver nanoparticle, AgNPs)를 포함한 다양한 형태의 나노 입자에 대한 생합성 및 물리화학적 특성 분석은 주요한 연구 주제로 자리잡고 있다. 나노입자는 일반적으로 1-100 nm 범위의 크기를 가지는 입자 형태의 물질을 의미하며, 나노기술을 기반으로 제조된다[1]. 나노 입자는 금, 은, 구리, 산화아연(ZnO) 등 다양한 소재를 이용하여 제작할 수 있으며 넓은 표면적, 전하 입자 형태, 분산 안정성 등 고유의 물리화학적 특성을 나타낸다[2]. 그 중, AgNPs는 항균, 항바이러스, 항진균, 항산화 등의 다양한 생물학적 활성을 나타내며, 이로 인해 식품 포장재, 바이

*Correspondence to: Min-Cheol Lim, Research Group of Food Safety and Distribution, Korea Food Research Institute, Wanju 55365, Korea
Tel.: +82-63-219-9310, Fax: +82-63-219-9876
E-mail: mclim@kfri.re.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

오센서, 항균 소재 등으로 활용되고 있다[3,4]. 여러 연구에 따르면 AgNPs는 생물학적 활성 대비 상대적으로 낮은 세포독성을 나타낸다[5,6]. 이러한 특성을 활용하기 위해 최근에는 식품 포장 등 실용적 응용을 위한 AgNPs의 항균 활성 연구가 활발히 진행되고 있다.

AgNPs의 합성 방법은 일반적으로 물리적(physical), 화학적(chemical), 생물학적(biological) 방법으로 구분된다[7,8]. 물리적 합성 방법은 주로 고체 상태의 원료를 기계적 및 열적 처리를 이용해 나노 입자 형태로 분해하는 원리를 사용한다[9]. 그러나 이 경우, 많은 시간과 비용, 높은 에너지 수준을 요구하기 때문에 효율성이 떨어지며, 나노 입자의 표면을 정교하게 조절하기 어려울 수 있다. 화학적 합성 방법은 원자 단계부터 나노 입자를 형성하는 방법으로, 입자의 특성 조절이 자유롭다는 특징이 있다. 현재까지 가장 널리 사용되고 있는 방법이지만, 유해 화학물질의 사용과 부산물 발생으로 환경적 문제가 제기된다[10]. 이러한 단점을 보완하기 위해 최근에는 보다 친환경적인 생물학적 합성법에 대한 관심이 높아지고 있다. 생물학적 합성은 식물, 곰팡이, 조류, 미생물 등 다양한 생체 자원을 환원제 또는 안정화제로 이용하여 Ag^+를 환원시키는 방식이며, 그 중에서도 식물 추출물을 활용한 AgNPs 합성에 관한 연구는 가장 활발하게 진행되고 있다[7]. 하지만 식물 외에도 보다 저렴하고 생물학적으로 안전한 소재를 이용한 연구의 필요성이 꾸준히 제기되고 있으며, 이에 따라 식용 곤충은 매우 유망한 대체 소재로 주목받고 있다.

식용 곤충은 성장 속도가 빠르고, 넓은 공간을 요구하지 않아 많은 비용이 필요하지 않다는 장점을 가진다[11]. 영양학적인 측면에서도 단백질, 지방, 미네랄, 비타민 등의 좋은 공급원으로써 평가받고 있다. 현재 국내에서 식용이 허가된 곤충은 벼메뚜기를 포함한 총 7종이며, 이 중 벼메뚜기는 가장 오랜 기간 식용 및 약용으로 사용되어온 소재이다[12]. 이전의 연구에 의하면 건조된 벼메뚜기는 건조 중량 대비 지방이 3%, 단백질 74%, 탄수화물 18% ash 4% 로 구성되어 있으며, Ca, P, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn, B, Mo 등 다양한 미네랄을 함유하고 있는 것으로 밝혀졌다[13]. 특히 곤충 원료는 탈지(de-fatting) 처리를 통해 저장 안정성과 감각 특성을 향상시킬 수 있다. 또한 최근 보고에 따르면, 생물학적 AgNPs 합성 과정에서 바이오매스 내의 단백질, 페놀류, 탄수화물 등 극성 생체 분자는 Ag^+의 환원 및 안정화에 관여할 수 있는 반면, 지방과 같은 소수성 물질은 나노 입자의 형성과 분산 특성에 부정적인 영향을 줄 가능성이 있는 것으로 제시되고 있다[14]. 즉, 극성 성분의 상대적 비율이 높아질수록 AgNPs의 환원 반응 및 안정화에 유리할 수 있다. 이에 따라 탈지 과정을 통해 환원제 역할을 하는 극성 물질의 비율을 높이고, 비활성 지질의 간섭을 줄이는 방식은 AgNPs 생합성의 효율을 높일 수 있는 유효한 전략이 될 수 있다.

이러한 배경을 바탕으로 본 연구에서는 벼메뚜기 탈지 분말로부터 추출물을 제작하고, 이를 이용하여 친환경적 방법으로 AgNPs를 합성하는 것을 목표로 하였다. 합성된 AgNPs는 UV-Vis 분석, DLS 및 zeta potential 분석, Bio-TEM, HR-XRD, FT-IR 등의 기기 분석을 통해 물리·화학적 특성을 규명하였으며, 4종 식중독균을 대상으로 항균 활성을 평가하여 그 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

Materials and Methods

재료 및 시약

동결 건조된 벼메뚜기는 FARMBANG (Sunchang, Korea)에서 구매하였다. 탈지 공정을 위한 *n*-hexane, 추출물을 제작하기 위한 0.1 M NaOH 용액, pH 조정을 위한 1 N HCl 그리고 질산은 (silver nitrate)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다. AgNPs의 항균 활성 확인을 위한 tryptic soy broth (TSB) 및 tryptic soy agar (TSA)는 BD Biosciences (Sparks, MD, USA)에서 구매하였다. 합성된 AgNPs의 워싱에는 a 10 kDa MWCO centrifugal filter device (Amicon Ultra-15, Millipore, Billerica, MA, USA)를 사용하였다.

벼메뚜기 탈지 분말 제작

벼메뚜기 탈지 분말 제작 공정은 Kim 등[15]의 방법을 참고하여 수행하였다. 분쇄된 벼메뚜기 분말 200 g과 99% *n*-hexane 1,000 mL을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 교반 후 지방을 함유한 *n*-hexane 잔류물을 제거하고, 동일한 과정을 반복하여 추출액이 투명해질 때까지 총 5회 반복하였다. 추출 후 잔류한 유기 용매는 20°C에서 12시간 동안 흄 후드 내에서 자연 휘발시켜 제거하였다.

벼메뚜기 탈지 추출물 준비 및 AgNPs 합성

곤충 추출물 및 AgNPs 합성 방법은 Kim 등[16]의 방법과 동일하게 진행하였다. 탈지된 벼메뚜기 분말 0.5 g과 0.1 M NaOH 용액 20 mL을 유리 바이알에 넣은 후, 90°C 드라이오븐에서 1시간 동안 반응시켜 추출물을 제조하였다. 추출 후 1 N HCl을 활용하여 추출물의 pH를 7로 조정하였다. pH가 조정된 추출물 49 mL과 0.1 M $AgNO_3$ 용액 1 mL을 혼합한 후, 상온에서 반응시켜 AgNPs를 합성하였다. 합성 용액의 상등액 20 mL을 필터 튜브에 넣은 후, 7,200×g로 10분간 원심분리하여 AgNPs를 분리하였다. 분리된 입자는 증류수로 3회 세척하였으며, 최종적으로 증류수에 분산시켜 샘플을 준비하였다. 합성된 AgNPs는 실험 전까지 4°C의 어두운 조건에서 보관하였고, 실험 직전 재분산하여 사용하였다.

합성된 AgNPs의 특성 분석

자외선-가시광선 분광 분석

자외선–가시광선 분광법(UV–Vis spectroscopy)을 활용하여 AgNPs의 생성 여부를 확인하고, 반응 경과에 따른 흡광 특성의 변화를 관찰하였다. 스펙트럼은 300-700 nm의 파장 범위에서 측정되었으며, 분석에는 마이크로플레이트 리더기(SpectraMax i3X, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)가 사용되었다.

입자 크기 및 zeta potential 분석

합성된 AgNPs의 입자 크기 분포 및 표면 전하는 동적 광산란법(Dynamic Light Scattering, DLS)을 이용하여 분석하였다. 측정은 Zetasizer Nano ZS90 분석기(Malvern Instruments, Malvern, UK)를 사용하였으며, 660 nm 파장에서 25°C 조건으로 입자 크기 및 zeta potential을 측정하였다.

투과전자현미경 분석

AgNPs의 형태와 크기는 생물학용 투과전자현미경(Biological Transmission Electron Microscopy, Bio-TEM)을 사용하여 관찰하였다. 분석에는 H-7650 electron microscope (Hitachi, Japan)을 사용하였다. 시료는 탄소 코팅된 200 mesh copper grid (Ted Pella, Redding, CA, USA)위에 AgNPs 합성 용액을 떨어뜨린 뒤, 실온에서 데시케이터를 이용해 24시간 동안 건조한 뒤 관찰에 사용하였다.

푸리에 변환 적외선 분광 분석

합성된 AgNPs에 존재하는 표면 작용기를 분석하기 위해 푸리에 변환 적외선 분광 분석(Fourier-transform infrared spectroscopy, FT-IR)을 실시하였다. 분석은 벼메뚜기 탈지 추출물과 AgNPs 시료 간의 스펙트럼 차이를 비교하는 방식으로 진행되었으며, FT-IR 분광기(6300FV+IRT5000, Jasco, Easton, MD, USA)를 사용하였다.

고해상도 X-선 회절 분석

AgNPs의 결정성은 고해상도 분말 X-선 회절 분석(High-Resolution X-ray Diffraction, HR-XRD)을 통해 확인하였다. 분석은 Empyrean 분석기(Malvern PANalytical, Almelo, Netherlands)를 사용하였으며, Cu Kα선(λ=0.15418 nm)을 방사원으로 하여 40 kV, 40 mA의 조건에서 2θ 범위 10°–80°로 측정하였다. 시료는 슬라이드 글라스 위에 용액을 점적한 후, 데시케이터에서 24시간 동안 실온 건조하여 분석에 사용하였다.

항균 활성 평가

탈지 벼메뚜기 추출물로부터 합성된 AgNPs의 항균 활성을 평가하기 위해 디스크 확산법을 적용하였다. 시험균으로는 그람 음성균인 *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 과 *Escherichia coli* (ATCC 10536, 국제표준 항균제품 시험에서 권장되는 비병원성 지표균), 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)와 *Bacillus cereus* (KCTC 1094)를 선정하였다. 각 균주는 TSB 5 mL에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 10^7 CFU/mL로 희석하여 멸균된 면봉으로 TSA 평판 배지에 도말하고 실온에서 건조하였다. 이후 각 평판에 멸균된 셀룰로오스 디스크를 배치한 후, 시료를 각각 30 μL씩 점적하였다. AgNPs의 정확한 항균 활성을 확인하기 위해 음성 대조군으로 멸균 증류수와 1 mM $AgNO_3$를 사용하였고, 양성대조군으로는 모든 균주에 작용하는 항생제인 kanamycin (30 μg)을 사용하였다. 또한 추출물 자체의 항균 활성 유무를 확인 및 비교하기 위해 벼메뚜기 탈지 추출물도 동일한 방식으로 디스크에 처리하였다. 모든 시료 처리 후, 평판은 37°C에서 24시간 배양하였으며, 배양 후 형성된 저해환(inhibition zone)의 직경을 측정하여 항균 활성을 평가하였다. 각 시료 및 균주 조건별로 3회 반복 실험을 수행하였으며, 획득된 저해환 데이터는 평균±표준편차로 나타내었다. 두 시료($AgNO_3$와 AgNPs) 간 억제 영역의 통계적 유의성 비교를 위해 독립 표본 t-검정(Welch's t-test)을 사용하였고, 유의수준은 P<0.05로 설정하였다. 모든 통계 분석은 Python의 SciPy 라이브러리를 활용하여 수행하였다.

Results and Discussion

AgNPs의 형성 및 초기 특성 확인

AgNPs의 합성 여부는 용액의 색상 변화를 통해 시각적으로 확인할 수 있었다. Fig. 1에 제시된 이미지에서 볼

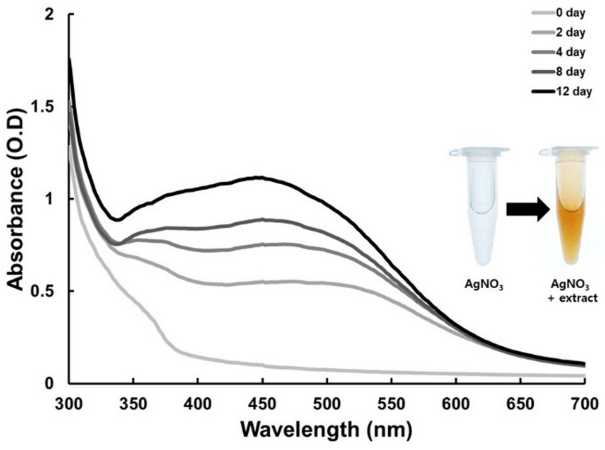

Fig. 1. Time-dependent UV-Vis absorption spectra for AgNP synthesis using defatted *Oxya chinensis sinuosa* extract and 1 mM $AgNO_3$. Inset image shows the color change from transparent $AgNO_3$ solution (left) to a yellow–brown colloid (right), visually indicating AgNP formation.

Table 1. Hydrodynamic size, polydispersity index, and surface charge (zeta potential) of synthesized AgNPs

Source of AgNP synthesis	Mean size (nm)	Zeta potential (mV)	Polydispersity index (PDI)
Defatted *Oxya chinensis sinuosa* extract	98.4±0.9	-22.8±0.5	0.220

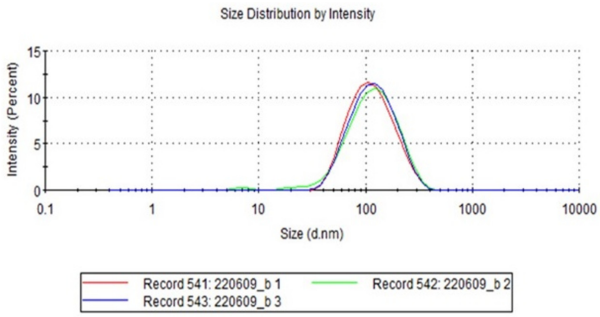

Fig. 2. Dynamic light scattering (DLS) analysis showing the hydrodynamic size distribution of biosynthesized AgNPs.

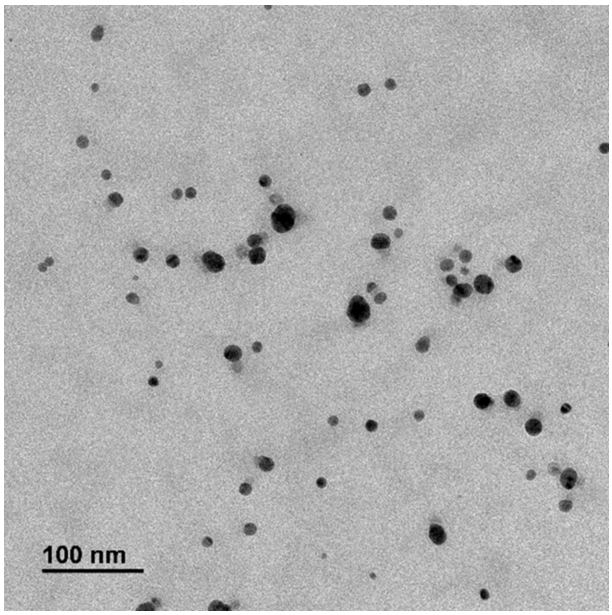

Fig. 3. Transmission electron microscopy (TEM) image of synthesized AgNPs (scale bar=100 nm).

수 있듯이, 벼메뚜기 탈지 추출물과 1 mM $AgNO_3$을 혼합한 용액이 반응 후 반투명한 색에서 밝은 갈색으로 변하였다. 이러한 변화는 AgNPs 입자의 표면 표면 플라스몬 공명에 기인한 결과로, AgNPs의 형성을 의미한다[17]. AgNPs의 합성을 보다 명확하게 확인하기 위해, 300-700 nm의 파장 범위에서 UV-Vis 스펙트럼을 측정하였다. 기존 연구에 따르면, 생물학적 방법으로 합성된 AgNPs는 일반적으로 400-450 nm 부근에서 특유의 흡광 피크를 나타낸다[18]. 벼메뚜기 탈지 추출물로부터 합성된 AgNPs의 경우 약 448 nm에서 최대 흡광도를 나타냈다. 또한, 합성 시간에 따라 해당 파장 부근의 흡광 피크 강도가 급격히 증가하는 양상이 관찰되었으며, 이를 통해 AgNPs의 형성이 성공적으로 이루어졌음을 확인하였다. 이러한 결과는 벼메뚜기 탈지 추출물이 환원제로 작용하여 AgNPs의 생합성이 성공적으로 이루어졌음을 시사한다.

AgNPs의 물리·화학적 특성 분석

AgNPs의 입자 크기 및 표면 전하 분석

AgNPs의 합성 여부가 확인된 후, 이들의 입자 특성을 평가하였다. 합성된 AgNPs의 hydrodynamic size, zeta potential, 및 polydispersity index (PDI)는 DLS 기법을 이용하여 측정하였으며, 결과는 Table 1에 제시하였다. 생성된 AgNPs의 평균 입자 크기는 약 98.4±0.9 nm이며, 입자의 크기 분포가 비교적 일정하게 나타났다(Fig. 2). PDI는 입자 크기 분포의 균일성을 나타내는 지표로, 0에 가까울수록 단분산, 1에 가까울수록 다분산 특성을 나타낸다[19]. 본 연구에서의 PDI 값은 0.220으로, 이는 상대적으로 균일한 크기 분포를 나타낸다. 또한, AgNPs의 zeta potential은 -22.8±0.5 mV로 나타났다. AgNPs 표면의 음의 zeta potential은 입자간의 정전기적 반발을 유도하여 콜로이드 상태의 용액 내에서 나노 입자의 분산 안정성 유지에 기여한다[20]. 선행 연구에 의하면, zeta potential의 절대값이 20 mV 이상일 경우 일반적으로 안정한 분산 시스템으로 간주되며, 값이 클수록 입자 응집이 억제되어 안정성이 증가하는 경향이 있다[21]. 본 연구에서 합성된 AgNPs는 상대적으로 안정적인 분산 상태를 유지하는 것으로 판단된다.

AgNPs의 입자 형태 및 크기 분석

형성된 AgNPs의 형태 및 크기는 Bio-TEM을 통해 분석하였다(Fig. 3). 분석 결과, 생성된 AgNPs는 대부분 구형이며, 고르게 분산되어 있는 형태를 나타냈다. 이는 생합성 방법을 통해 제조된 AgNPs의 대표적인 특징 중 하나이다. 일반적으로 AgNPs의 크기가 작고 고르게 분포할수록 표면적이 넓어져 병원성 미생물에 대해 더 높은 활성을 나타낼 수 있다. 한편, TEM 이미지에서 측정된 입자 크기와 DLS 결과 간에는 차이가 나타났다. 이는 TEM이 국소적인 일부 입자를 관찰하는 반면, DLS는 용액 내 전체 입자의 평균 크기를 측정하기 때문이다. 이러한 결과를 통해 벼메뚜기 탈지 추출물을 활용한 AgNPs가 일정한 형태로 균일하게 합성되었음을 확인하였다.

푸리에 변환 적외선 분광 분석

FT-IR 분석을 통해 벼메뚜기 탈지 추출물과 이로부터 합성된 AgNPs의 작용기를 식별하고 비교하였다(Fig. 4). FT-IR 스펙트럼은 500-4000 cm^{-1} 범위로 측정하였으며, 각 스펙트럼의 주요 피크는 Table 2에 정리하였다. 분석 결과, AgNPs 시료에서는 추출물 대비 새로운 피크가 나타나거나, 비교적 강해지는 등의 스펙트럼 형태에서 전반적인 차이를 보였다. AgNPs 스펙트럼에서는 3392, 2923, 1648, 1535, 1384, 1236, 1072, 667 cm^{-1} 부근에서 주요 피크를 나타냈다. 3392 cm^{-1}의 피크는 O–H 신축 진동으로, 이는 phenolic compound 또는 carbohydrate 유래 hydroxyl group이 AgNPs 표면에 존재함을 시사한다[22,23]. 1648 cm^{-1} 및 1535 cm^{-1} 부근에서 각각 관찰된 피크는 단백질의 C=O 신축 진동(amide I band)과 N–H 굽힘 진동(amide II band)에 해당하며, 이는 AgNPs 표면에 단백질성 안정화제가 결합되어 있음을 나타낸다[20]. 1384 cm^{-1}의 peak는 아미노산의 카르복실산 이온(COO^-)의 대칭 신축 진동에 해당하며, AgNPs에서의 강도 증가를 통해 해당 작용기가 나노 입자의 환원 및 안정화 과정에 적극 관여했음을 시사한다[24]. 또한 1236 및 1074 cm^{-1} 부근에서 나타난 피크는 단백질 유래 C–N 신축 진동에 해당하며, 아민기 및 펩타이드 결합 구조가 표면 안정화에 기여했음을 보여준다[24,25]. 667 cm^{-1}에서의 피크는 Ag–O 결합의 굽힘 진동으로 해석된다. 전반적으로 AgNPs 시료에서 관찰된 피크 강도의 증가와 일부 파수 이동은, 벼메뚜기 탈지 추출물 내 생체분자들이 Ag^+의 환원 및 나노 입자 안정화 과정에 관여했음을 뒷받침한다. Fig. 4에서는 단백질 유래 작용기에 해당하는 주요 진동 영역을 색상으로 표시하여, 시각적으로 차이를 강조하였다.

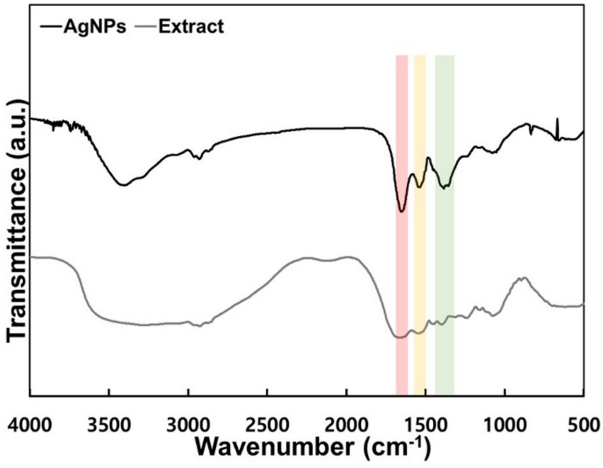

Fig. 4. Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra of defatted *Oxya chinensis sinuosa* extract and AgNPs. Colored bands highlight protein-related vibrational regions: red, amide I (C=O stretching); yellow, amide II (N–H bending); green, amide III (C–N stretching).

고해상도 X-선 회절 분석

AgNPs의 결정 특성은 HR-XRD를 통해 분석하였다. Fig. 5는 벼메뚜기 탈지 추출물을 사용하여 생합성된 AgNP의

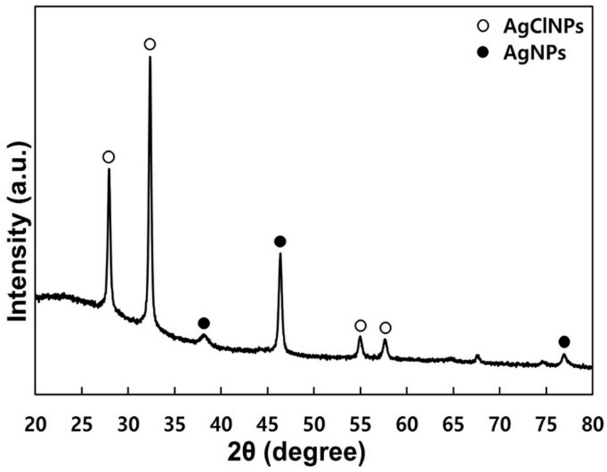

Fig. 5. High-resolution X-ray diffraction (HR-XRD) pattern of AgNPs. Peaks marked with filled circles (●) indicate metallic silver (Ag^0); open circles (○) represent silver chloride (AgCl).

Table 2. FTIR peak assignments for defatted *Oxya chinensis sinuosa* extract and AgNPs

Absorption Peak (cm^{-1})		Assignment
AgNPs	Extract	
3392	-	O–H stretching vibration
2923	2021	C–H stretching vibration
1648	1654	C=O stretching vibration (amide I band)
1535	1519	N–H bending (amide II band)
1384	1384	COO^- symmetric stretching vibration
1236	1226	C–N stretching vibration (amide III band)
1072	1072	C–N stretching vibration (aliphatic amines)
667	–	Ag-O bending vibration

XRD 패턴을 나타낸다. 이 중에서 38.4°, 46.3°, 77.1°의 피크는 각각 face–centered cubic structure (FCC)를 가진 AgNP의 결정면 (111), (220), (311)에 해당한다. 특히 38.4°에서의 (111)면 피크는 상대적으로 낮은 강도이지만, 은 결정의 주요 회절면에 해당하는 것으로, AgNPs가 결정 구조를 가진 형태로 생성되었음을 의미한다[26]. 그 외의 27.9°, 32.3°, 55.0°, 57.7°, 67.7°의 피크는 각각 AgCl의 평면 (111), (200), (311), (222) 및 (400)과 상관 관계가 있다[25]. 이를 통해 벼메뚜기 탈지 추출물에 염화물 이온 (Cl^-)이 존재하는 것으로 추정되며, 이로 인해 silver chloride nanoparticle (AgClNP)이 생성되었을 가능성이 있다[27]. 따라서 최종적으로 합성된 입자는 AgNPs와 AgClNPs가 공존하는 결정성 혼합 구조를 가진 것으로 판단된다.

AgNPs의 항균활성 확인

은 나노입자(AgNPs)는 균, 바이러스, 곰팡이 등 다양한 미생물에 대해 광범위한 항균 활성을 가지는 것으로 알려져 있으며, 특히 식중독균 제어를 위한 응용 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 벼메뚜기 탈지 추출물을 이용하여 합성한 AgNPs의 식중독균에 대한 항균 활성을 평가하였다.

실험에는 그람음성균 2종(*Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*)과 그람양성균 2종(*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*)을 사용하여, 세포벽 구조 차이에 따른 항균활성 변화를 함께 살펴보았다. 총 4종 균주에 대해 disk diffusion assay를 수행하였으며, 각 플레이트에는 양성 대조군(kanamycin 30 μg), 음성 대조군(멸균 증류수, 1 mM $AgNO_3$), 그리고 벼메뚜기 탈지 추출물을 각각 처리하였다. 모든 실험은 3회 반복하였다.

각 시료($AgNO_3$ 및 AgNPs)에 대한 4종 식중독균의 저해환 측정 결과는 Table 3에 제시되었다. 실험 결과, AgNPs 처리군에서는 모든 균주에서 뚜렷한 저해환이 형성되었으며, 평균 직경은 *S.* Typhimurium 14.03±1.05 mm, *E. coli* 13.17±0.83 mm, *S. aureus* 14.37±1.47 mm, *B. cereus* 12.36 ±1.58 mm였다. 이는 AgNPs가 4종 식중독균 모두에 대해 항균 활성을 나타낸다는 것을 보여준다. 또한, 그람양성과 그람음성 균주 간의 저해환 크기에서 뚜렷한 경향성이나 특이 차이는 관찰되지 않아, AgNPs가 세포벽 구조와 관계없이 광범위한 항균 활성을 가질 가능성을 시사한다.

양성 대조군과 비교했을 때도 AgNPs의 저해환은 명확하게 나타났으며, 벼메뚜기 탈지 추출물 단독 처리군에서는 저해환이 형성되지 않아, 항균 활성은 AgNPs 생성에 기인함을 확인하였다. Fig. 6은 $AgNO_3$ (1 mM)와 AgNPs 처리군 간의 저해환 크기를 균주별로 비교한 결과를 나타낸다. $AgNO_3$ 처리군에서도 일부 항균 효과가 확인되었으나, 모든 균주에서 AgNPs의 항균 활성이 더 강하게 나타났다. 통계 분석 결과, AgNPs는 *S.* Typhimurium, *E. coli*, *S. aureus*에 대해 $AgNO_3$보다 유의적으로 높은 항균 활성을 나타냈다(P<0.05). 반면 *B. cereus*의 경우 두 처리군 간 유의미한 차이가 관찰되지 않았다(P>0.05). 특히 *B. cereus*의 저해환 크기는 상대적으로 작았는데, 이는 해당 균주의 생장 특성에 기인한 것으로 판단된다.

Table 3. Inhibition zone diameters of AgNPs and $AgNO_3$ (1 mM) against four foodborne pathogens

Bacteria	Sample	Zone of inhibition (mm, mean±SD)
S. Typhimurium	$AgNO_3$	10.59±0.36
	AgNPs	14.03±1.05
E. coli	$AgNO_3$	10.06±0.27
	AgNPs	13.71±0.83
S. aureus	$AgNO_3$	10.35±0.71
	AgNPs	14.37±1.47
B. cereus	$AgNO_3$	9.15±0.35
	AgNPs	12.36±1.58

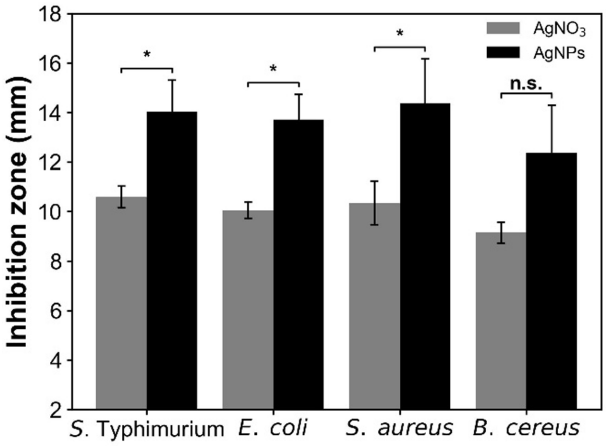

Fig. 6. Antibacterial Activity of $AgNO_3$ and AgNPs against four foodborne pathogens. Data are presented as mean±standard deviation (n=3). Statistical significance between treatments was determined by Welch's t-test (P<0.05). Asterisks indicate the level of significance (P<0.05), and n.s. denotes no significant difference.

AgNPs의 항균 기전에 대해서는 여러 가설이 제시되고 있으나 명확히 규명되지는 않았다. 일부 연구에서는 Ag^+ 이온 방출과 AgNPs의 세포 표면 부착을 통한 세포막 손상, 세포 투과성 증가, 막 결합 효소의 비활성화 및 ATP 생성 억제를 통한 세포 사멸 유도 등을 제시한다. 본 연구에서도 $AgNO_3$ 처리군에서 일정 수준의 항균 활성이 관찰되어, Ag^+ 이온의 기여 가능성 역시 배제할 수 없다. 또한, 균주 간 항균 활성의 차이는 AgNPs에 대한 민감도 차이에 기인한 것으로 보인다.

결론적으로, 벼메뚜기 탈지 추출물로 합성한 AgNPs는

4종 식중독균에 대해 명확하고 재현성 있는 항균 활성을 보였다.

Conclusion

본 연구에서는 벼메뚜기 탈지 추출물로부터 AgNPs의 생합성이 가능함을 확인하였다. 합성된 AgNPs에 대해 다양한 기기 분석을 통해 물리·화학적 특성을 분석했고, 식중독균에 대한 항균 활성을 평가하였다. AgNPs의 합성은 추출물과 1 mM $AgNO_3$를 반응시킨 후 용액 색상의 변화로 시각적으로 확인되었으며, UV-Vis 분석에서는 448 nm 부근에서 특유의 표면 플라스몬 공명 흡광 피크가 관찰되었다. 합성 경과에 따른 흡광 강도의 증가는 AgNPs가 비교적 안정적으로 형성되었음을 시사한다. DLS 및 zeta potential 분석 결과, AgNPs의 평균 입자 크기는 약 98.4±0.9 nm였으며, -22.8±0.5 mV의 zeta potential은 안정한 콜로이드 분산 상태를 나타냈다. TEM 이미지를 통해 관찰된 입자는 주로 구형이며, 균일하게 분산된 형태를 보였다. 또한 HR-XRD 분석 결과, 합성된 AgNPs가 결정성을 가진 입자임이 확인되었다. FT-IR 분석에서는 벼메뚜기 탈지 추출물 내 단백질성 작용기가 AgNPs의 환원 및 안정화 과정에 관여했음을 보여주었다. 항균 활성 시험은 disk diffusion assay를 통해 수행되었으며, 합성된 AgNPs는 *S.* Typhimurium, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*를 포함한 식중독균 4종에 대해 유의미한 항균 활성을 나타냈다. 결론적으로, 본 연구는 벼메뚜기 탈지 추출물을 이용한 생물학적 AgNPs 합성이 가능함을 입증하였으며, 생성된 입자는 항균 소재로의 응용 가능성을 지닌다. 향후 합성 조건의 최적화 및 작용 기전의 구체적 규명을 통해, 식품 보존제나 항균 포장재 등 실질적 응용 분야로의 확대가 가능할 것으로 기대된다.

Acknowledgement

본 연구는 과학기술정보통신부의 지원을 받아 한국식품연구원 주요사업(과제번호: E0210701)의 일환으로 수행되었습니다.

국문 요약

본 연구에서는 벼메뚜기 탈지 추출물을 이용한 친환경적인 은나노입자(AgNPs)의 생합성 가능성을 확인하고, 합성된 AgNPs의 물리·화학적 특성과 항균 활성을 평가하였다. AgNPs의 형성은 용액 색상 변화와 함께, 448 nm 부근에서 특유의 표면 플라스몬 공명 흡광 피크가 관찰된 UV-Vis 스펙트럼을 통해 확인되었다. DLS 및 zeta potential 분석 결과, 평균 입자 크기는 98.4±0.9 nm, zeta potential은 -22.8±0.5 mV로 안정적인 분산 특성을 나타냈다. TEM 및 HR-XRD 분석을 통해 구형의 결정성 입자가 관찰되었고, FT-IR 결과에서는 단백질 유래 작용기가 AgNPs의 환원 및 안정화에 관여한 것으로 나타났다. 항균 활성은 disk diffusion assay를 통해 확인되었으며, 합성된 AgNPs는 *S.* Typhimurium, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*를 포함한 4종 식중독균에 대해 유의미한 항균 효과를 보였다. 이상의 결과는 벼메뚜기 탈지 추출물이 AgNPs의 생합성 소재로 활용 가능함을 시사하며, 향후 식품안전 응용에 활용될 수 있는 가능성을 제시한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Se-Min Kim https://orcid.org/0009-0003-5597-4793
Tai-Yong Kim https://orcid.org/0000-0003-3825-9520
Yun-Sang Choi https://orcid.org/0000-0001-8060-6237
Gyeongsik Ok https://orcid.org/0000-0001-8528-6068
Min-Cheol Lim https://orcid.org/0000-0002-1009-0316

References

1. Kumar, D., Singh, R., Upadhyay, S.K., Verma, K.K., Tripathi, R. M., Liu, H., Dhankher, O.P., Tripathi, R.D., Sahi, S.V., Seth, C.S., Review on interactions between nanomaterials and phytohormones: Novel perspectives and opportunities for mitigating environmental challenges. *Plant Sci*., **340**, 111964 (2024).
2. Zhao, Z.Y., Li, P.J., Xie, R.S., Cao, X.Y., Su, D.L., Shan, Y., Biosynthesis of silver nanoparticle composites based on hesperidin and pectin and their synergistic antibacterial mechanism. *Int. J. Biol. Macromol*., **214**, 220-229 (2022).
3. Majumder, S., Huang, S., Zhou, J., Wang, Y., George, S., Tannic acid-loaded halloysite clay grafted with silver nanoparticles enhanced the mechanical and antimicrobial properties of soy protein isolate films for food-packaging applications. *Food Packag. Shelf Life*, **39**, 101142 (2023).
4. Raza, M.A., Ahmad, A., Saeed, F., Hussain, M., Afzaal, M., Rasheed, A., Maize bran arabinoxylans mediated green synthesis of silver nanoparticles and their incorporation in gelatin-based packaging film. *Food Packag. Shelf Life,* **43**, 101301 (2024).
5. Loo, Y.Y., Rukayadi, Y., Nor-Khaizura, M.A.R., Kuan, C.H., Chieng, B.W., Nishibuchi, M., Radu, S., In vitro antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles against selected gram-negative foodborne pathogens. *Front. Microbiol.*, **9**, 1555 (2018).
6. Yan, X., He, B., Liu, L., Qu, G., Shi, J., Hu, L., Jiang, G., Antibacterial mechanism of silver nanoparticles in Pseudo-

monas aeruginosa: proteomics approach. *Metallomics*, **10**, 557-564 (2018).
7. Ahmed, B., Tahir, M.B., Sagir, M., Hassan, M., Bio-inspired sustainable synthesis of silver nanoparticles as next generation of nanoproduct in antimicrobial and catalytic applications. *Mater. Sci. Eng. B*, **301**, 117165 (2024).
8. Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S.V., Zolfaghari, B., Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res. Pharm. Sci.*, **9**, 385-406 (2014).
9. Das, R., Nath, S.S., Chakdar, D., Gope, G., Bhattacharjee, R., Synthesis of silver nanoparticles and their optical properties. *J. Exp. Nanosci.*, **5**, 357-362 (2010).
10. Oves, M., Aslam, M., Rauf, M.A., Qayyum, S., Qari, H.A., Khan, M.S., Alam, M.Z., Tabrez, S., Pugazhendhi, A., Ismail, I.M., Antimicrobial and anticancer activities of silver nanoparticles synthesized from the root hair extract of *Phoenix dactylifera*. *Mater. Sci. Eng. C*, **89**, 429-443 (2018).
11. Rumpold, B.A., Schlüter, O.K., Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.*, **57**, 802-823 (2013).
12. Kim, W.S., Han, J.M., Song, H.Y., Byun, E.H., Seo, H.S., Byun, E.B., Edible *Oxya chinensis sinuosa*-derived protein as a potential nutraceutical for anticancer immunity improvement. *Nutrients*, **12**, 3236 (2020).
13. Kim, S.K., Weaver, C.M., Choi, M.K., Proximate composition and mineral content of five edible insects consumed in Korea. *CyTA-J. Food*., **15**, 143-146 (2017).
14. Gárate-Osuna, A.J., Valdez-Ortiz, A., Abo Markeb, A., Font, X., Barrena, R., Franco-Nava, M.A., Santos-Ballardo, D.U., Potential microalgae biorefinery cascade: effect of temperature in *Nannochloropsis oculata* biomass for biofuels and nanoparticles green-synthesis for heavy metals remediation. *Biomass Convers. Biorefin.*, **15**, 21297-21310.
15. Kim, T.K., Yong, H.I., Kim, Y.B., Jung, S., Kim, H.W., Choi, Y.S., Effects of organic solvent on functional properties of defatted proteins extracted from *Protaetia brevitarsis* larvae. *Food Chem.*, **336**, 127679 (2021).
16. Kim, S.M., Kim, T.Y., Choi, Y.S., Ok, G., Lim, M.C., Characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized from *Oxya chinensis sinuosa* (Grasshopper) extract. *Microorganisms.*, **12**, 2089 (2024).
17. Krishnaraj, C., Jagan, E.G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P.T., Mohan, N.J.C.S.B.B., Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica leaf* extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **76**, 50-56 (2010).
18. Zain, M., Nayab, S., Rashid, Z., Aleem, A., Raza, H., Yousif, M.D., Biosynthesis and in vivo wound healing abilities of *Dactyloctenium aegyptium*-mediated silver nanoparticles used as hydrogel dressing. *Process Biochem*., **147**, 31-38 (2024).
19. Khorrami, S., Zarrabi, A., Khaleghi, M., Danaei, M., Mozafari, M.R., Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *Int. J. Nanomed*., **13**, 8013-8024 (2018).
20. Li, H.F., Pan, Z.C., Chen, J.M., Zeng, L.X., Xie, H.J., Liang, Z.Q., Wang, Y., Zeng, N.K., Green synthesis of silver nanoparticles using *Phlebopus portentosus* polysaccharide and their antioxidant, antidiabetic, anticancer, and antimicrobial activities. *Int. J. Biol. Macromol*., **254**, 127579 (2024).
21. Yang, X., Niu, Y., Fan, Y., Zheng, T., Fan, J., Green synthesis of *Poria cocos* polysaccharides-silver nanoparticles and their applications in food packaging. *Int. J. Biol. Macromol*., **269**, 131928 (2024).
22. Ali, M.Y., Mahmoud, A.S., Abdalla, M., Hamouda, H.I., Aloufi, A.S., Almubaddil, N.S., Modafer, Y., Hassan, A.M.S., Eissa, M.A.M., Zhu, D., Green synthesis of bio-mediated silver nanoparticles from *Persea americana* peels extract and evaluation of their biological activities: *In vitro* and *in silico* insights. *J. Saudi Chem. Soc*., **28**, 101863 (2024).
23. Ugwoke, E., Aisida, S.O., Mirbahar, A.A., Arshad, M., Ahmad, I., Zhao, T.K., Ezema, F.I., Concentration induced properties of silver nanoparticles and their antibacterial study. *Surf. Interfaces*, **18**, 100419 (2020).
24. Pasieczna-Patkowska, S., Cichy, M., Flieger, J., Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in characterization of green synthesized nanoparticles. *Molecules*, **30**, 684 (2025).
25. Sarkar, J., Naskar, A., Nath, A., Gangopadhyay, B., Tarafdar, E., Das, D., Chakraborty, S., Chattopadhyay, D., Acharya, K., Innovative utilization of harvested mushroom substrate for green synthesis of silver nanoparticles: a multi-response optimization approach. *Environ. Res*., **248**, 118297 (2024).
26. Bao, Y., Chen, K., AgCl/Ag/gC 3 N 4 hybrid composites: preparation, visible light-driven photocatalytic activity and mechanism. *Nano-Micro Lett*., **8**, 182-192 (2016).
27. Wasilewska, A., Klekotka, U., Zambrzycka, M., Zambrowski, G., Święcicka, I., Kalska-Szostko, B., Physicochemical properties and antimicrobial activity of silver nanoparticles fabricated by green synthesis. *Food Chem.*, **400**, 133960 (2023).
28. Kanniah, P., Chelliah, P., Thangapandi, J. R., Gnanadhas, G., Mahendran, V., Robert, M., Green synthesis of antibacterial and cytotoxic silver nanoparticles by *Piper nigrum* seed extract and development of antibacterial silver based chitosan nanocomposite. *Int. J. Biol. Macromol*., **189**, 18-33 (2021).