

## Ag<sub>2</sub>O 함량에 따른 Phosphate계의 항균 특성에 관한 연구

윤 영 진\* · 이 용 수\* · 권 면 주\* · 강 원 호\*

### Antibacterial Effect of Phosphate System as Ag<sub>2</sub>O Addition

Young Jin Yoon\*, Yong Soo Lee\*, Myun Joo Kwon\*, and Won Ho Kang\*

**요약** 인산염계 (5-X)Li<sub>2</sub>O · XAg<sub>2</sub>O · 36CaO · 20TiO<sub>2</sub> · 27P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>를 기본 조성으로 선정하여 항균 특성을 발현하는 글라스 세라믹스를 제조하고자 하였다. 용융법에 의하여 보유리블 제조한 후, 최적 핵형성과 최고 결정성장의 두단계 열처리를 통하여 LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(LTP), AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(AgTP)와 β-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>) 결정상을 갖는 글라스 세라믹스를 제조하였으며, Ag<sub>2</sub>O 함량에 따른 항균 효과 및 특성을 비교하고자 하였다. 항균 특성 평가를 위해서 사용된 균주는 그람 양성세균인 *Staphylococcus aureus*와 그람 음성세균인 *Salmonella typhi*이며, 시편 첨가 후 모든 균주에 대해 3시간 이후부터 급격한 감소를 보이며, 5시간 이후부터는 모든 균이 소멸되는 것으로 관찰되었다.

**Abstract** Glass ceramics composed of (5-X)Li<sub>2</sub>O · XAg<sub>2</sub>O · 36CaO · 20TiO<sub>2</sub> · 27P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(X=1 to 5) were prepared by melting process and 2 step heat treatment for nucleation at 610°C and crystallization at 730°C. Fabricated crystal phases were LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(LTP), AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(AgTP) and β-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>). Antibacterial effects and characterizations of the glass ceramics as Ag<sub>2</sub>O content were investigated. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* bacteria were used in this study. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* bacteria were removed 5 hours added after glass ceramics.

**Key Words** : Glass ceramics, Heat treatment, Antibacterial, Bacteriostatic

## 1. 개 요

Antibacterial 또는 bacteriostatic 재료로서 Ag 이온을 함유한 zeolites나 hydroxyapatite를 시작으로 그 외에 TiO<sub>2</sub>, 인산지르코늄, 실리카겔, 유리 등에 은을 담지시킨 무기계 항균제 등이 현재 상업적으로 사용되어지고 있다[1]. 또한 항균작용을 하는 금속이온을 안정하게 담지하며, 시간에 따라 Ag<sup>+</sup>이온을 시시히 용출시키면서 원형을 유지하고, 지속적인 살균효과를 가질 수 있는 방법이 모색되었으며, 이에 적합한 재료로서 유리를 결정화시킨 후 결정상태에서 금속이온을 용출할 수 있는 글라스 세라믹스에 대한 연구가 활발히 진행되어지고 있다[2,3].

규산염계 혹은 유사 규산염계 글라스 세라믹스[4]와는 달리 실리카를 함유하지 않으며, 인공뼈나 치아 등의 생체재료와 폐기시 환경의 부하가 적은 환경친화적인 재료 및 전자재료 등으로의 응용가능성까지도 보여주고

있는 인산염계를 이용하여 글라스 세라믹스를 제조한 연구가도 있으며, H. Hosono와 Y. Abe 등이 그들이 다.[5] CaO-TiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>계 유리의 제이된 결정화를 통해 nasicon 구조를 갖는 CaTi<sub>4</sub>(PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>와 β-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 결정상을 갖는 글라스 세라믹스를 제조할 수 있음을 보고하였다[6,7].

본 연구에서는 항균특성을 나타내는 Ag<sup>+</sup>이온을 안정하게 담지하며, 폐기시 환경의 부하가 적은 인산염계를 기반으로 하이 글라스 세라믹스를 제조하고자 하였다. 생성하는 주결정상으로는 LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>와 AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>를 기본 골격구조로 가지며, Ag<sup>+</sup> ion이 점차적으로 용출되어짐으로써 항균특성을 발현할 수 있는 새로운 형태의 bacteriostatic 재료를 개발하고자 하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1. 시편제조

출발 원료로는 1급 시약인 Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(Junsei, 99%),

\*단국대학교 신소재공학과

본 논문은 2001년도 농림부 특별과제 자금의 지원을 받아 (주)동부화학한공과 공동 개발하였으며, 그 핵심내용은 환경친화성 항균 제품의 기술개발이다. (Tel: 041-550-3532)

Ag<sub>2</sub>O (Kojima, 99%), CaCO<sub>3</sub>(Duksan Co., 98%), TiO<sub>2</sub> (anatasc)와 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(Dukson Co., 85%) 용액을 사용하였다. 본 연구에서 선정된 화학 조성을 Table 1에 나타내었다. 조합된 원료를 증류수와 함께 균질한 slurry를 얻기 위하여 12시간 동안 볼밀을 실시하였으며, 얻어진 slurry를 150℃의 온도로 건조로에 넣어 24시간 건조하였다. 건조되어진 원료를 분말상태로 분쇄한 후 백금도 가니에 넣어 고온 전기로에서 1250~1300℃에서 용융하였으며, 청정을 위하여 1200~1250℃에서 30분간 유지하였다. 끓어 넘치는 것을 막기 위하여 하소온도인 800℃에서 1시간 유지하였으며, 용융까지의 승온속도는 10℃/min로 선정하였다. 용융된 유리는 미리 가열된 흑연판 위에 부어 모유리를 제조하였다. 제조된 모유리는 TG-DTA (Rigaku Co. TAS 100)를 사용하여 열분석을 실시하였다. 최적 핵형성 온도의 산출은 Marotta법을 이용하였으며, 결정성장 온도의 산출을 위해서는 열분석과 XRD를 이용하였다. Figure 1에 본 연구에서 사용한 전반적인 실험에 대한 모식도를 나타내었다. 열분석 결과를 토대로하여 최적 핵형성과 최고 결정성장을 위하여 2단계의 열처리를 실시하였다. 최적 핵형성과 최고 결정성장을 위하여 핵형성 온도까지는 5℃/min의 속도로 승온하였으며, 핵형성부터 결정성장 온도까지는 3℃/min로 승온하였다. 또한 각각의 단계에서 20시간 동안 유지하였다. 제조된 시편의 결정상을 분석하기 위하여 X-선 회절 분석기 (Shimadzu Co., XD D1)를 사용하였으며, 분석 조건은 2θ = 10~60 deg., Scanning Speed = 4 deg/min로 선정하였다.

### 2.2. 항균 특성 측정

본 연구에서 사용된 균주는 그람 양성세균인 *Staphylococcus aureus* (포도상 구균)와 그람 음성세균인 *Salmonella typhi*(장티프스)였다. 균주를 성장시키기 위하여 배지를 만들어 agar와 혼합하였으며, 혼합량은 배지의 경우에는 8 g/l 로 agar의 경우에는 20 g/l 로 하였다. magnetic stirrer flate위에서 잘 저어준 후, 멸균기에서 121℃로 15분간 멸균을 실시하였다. 멸균된

Table 1. Chemical composition (mole ratio)

Samles	Ag <sub>2</sub> O	Li <sub>2</sub> O	CaO	TiO <sub>2</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
A-1	0	5	36	20	27
A-2	1	4			
A-3	2	3			
A-4	3	2			
A-5	4	1			
A-6	5	0			

배지를 냉각하면서 약 60~70℃ 사이에서 petri dish에 15~20 ml 정도 부어 2시간 동안 자연건조 한 후, 수분의 증발을 막기 위하여 incubator에 넣어 24시간 유지시켰다. phosphate buffer solution(PBS)에 사용 균주를 5 × 10<sup>5</sup>/ml 되도록 첨가하였다. 제조된 샘플은 121℃에서 15분간 멸균한 후, 측정 시편을 각각 2.5 mg씩 채취하여 tube에 균주가 첨가된 PBS용액 5 ml씩과 함께 혼합하여 37℃에서 잘 흔들어서 주었다. 시간별로 PBS용액을 50μl씩 채취하여 이미 만들어진 영양배지에 주입하였다. 최종적으로 균이 주입된 영양배지를 incubator에 넣어 24시간 동안 배양한 후, 살아있는 균의 수를 count하였다. Figure 2에 본 연구에서 사용한 항균 테스트에 대한 모식도를 나타내었다.

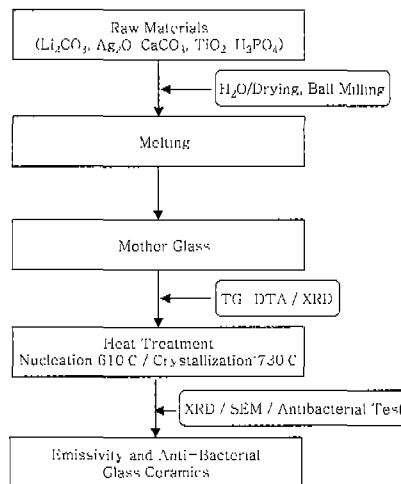


Figure 1. Flow chart of experimental procedure for fabrication of anti-bacterial glass ceramics.

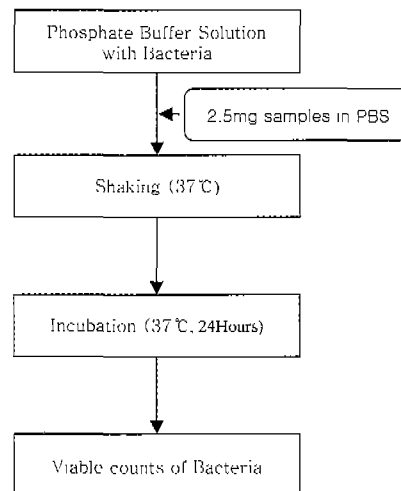
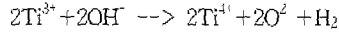


Figure 2. Flow chart of bacteriostat test.

### 3. 결과 및 고찰

Figure 3에 A2 시편의 제조된 모유리와 결정화되어진 후의 사진을 나타내었다. 제조된 모유리의 색상은 짙은 갈색을 나타내고 있으나 열처리 후에는 거의 색상이 없는 백색을 나타내고 있다. 이것은 열처리 되어지는 동안 Ti<sup>3+</sup> 이온들은 Ti<sup>4+</sup> 이온을 형성하기 위해 산화되어지며, 이로 인하여 짙은 갈색의 유리에서 거의 색상이 없는 백색으로 변화하는 것으로 판단되어진다.



이러한 메카니즘은 Ti가 분산된 SiO<sub>2</sub> glass에서 열에 의해 탈색되어지는 현상에서 제안되어진다[8].

제조되어진 각각의 시편을 최적 핵형성 온도와 최고 결정성장 온도에서 두 단계의 열처리를 실시한 후의 XRD 분석 결과를 Figure 4에 나타내었다. 생성되는 결정상은 XRD pattern에서 보이는 바와 같이 LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상과 AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상 및 β-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 결정상의 혼정이었다. Ag<sub>2</sub>O의 함량이 증가함에 따라 LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상에서 AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상으로 변화되었으며, 주 피크도 24.4°에서 32.2°로 변화하였다. 또한 LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상의 주 피크는 Ag<sub>2</sub>O의 함량이 증가하면서 점차적으로 감소하는 경향을 보이다가 Ag<sub>2</sub>O의 함량이 3 mol 이상이 되면서부터 다시 증가하는 현상을 보이고 있다. 이것은 Ag<sub>2</sub>O의 함량이 증가함으로써 주 피크의 위치가 이동됨에 따라 LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상의 주 피크는 감소하나, LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상의 주 피크의 위치는 AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상의 이차 피크와 일치하므로 Ag<sub>2</sub>O의 mole ratio가 Li<sub>2</sub>O 보다 많아지는 3 mol부터 다시 증가하는 것으로 사료되어진다.

열처리를 통하여 제조된 시편을 평균입도(d=32) 1.3 μm로 분쇄한 후의 Ag의 함량 변화에 따른 항균 특성 발현을 Figure 5.(A)~(B)에 나타내었다. 사용된 균주는 대표적 양성 세균인 *Staphylococcus aureus*(포도상 구균)와 음성 세균인 *Samonella typhi*(장티프스균)을 사

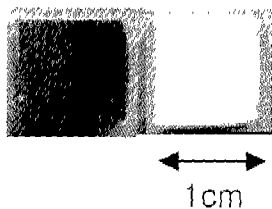


Figure 3. Photograph of prepared mother(left) and glass ceramics after heat treatment(right).

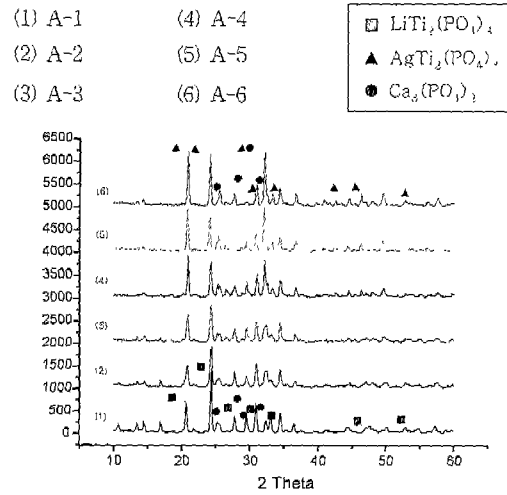


Figure 4. XRD patterns as Ag<sub>2</sub>O addition.

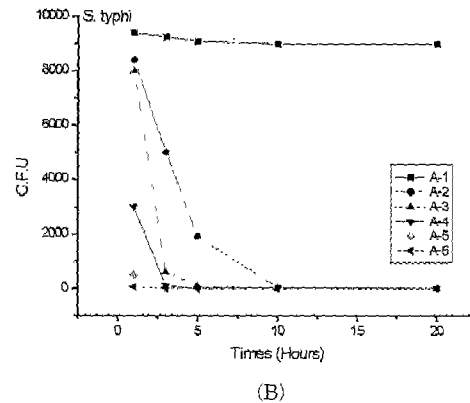
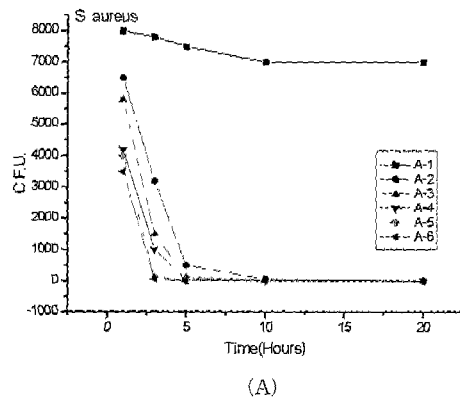


Figure 5. (A) Result of Bacteriostatic Activity of *S. aureus*, (B) Result of Bacteriostatic Activity of *S. typhi*.

용하였다. 양성세균인 *Staphylococcus aureus* 균주와 음성세균인 *Salmonella typhi* 균주에 대해서 제조 샘플들인 항균 분말을 첨가한 후 3시간 이후에 급격한 균주들의 감소볼 보이고 있으며, 5시간 이후에 모든 균이 소멸

하는 것으로 관찰되었다. 또한 표준 샘플인 Ag를 함유하지 않은 조성에서는 다소 항균성은 있으나 큰 폭의 균주의 감소는 보이지 않는 반면에, Ag의 함량이 증가할수록 항균특성의 발현은 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 이것은 3차원 망목구조를 갖는 nasicon구조를 기본 골격으로 하는  $RM_2(PO_4)_3$ 에서(where R=Li<sup>+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, M=Ti<sup>4+</sup>, Zr<sup>4+</sup>, Sn<sup>4+</sup>) PO<sub>4</sub>사면체는 3차원 망목구조를 형성하기 위해 그들의 각 코너를 MO<sub>6</sub>와 서로의 꼭지점을 공유한다. Li<sup>+</sup>, Ag<sup>+</sup>이온 등은 구조내에서 두 개의 서로 다른 전도대에 위치하며, 화학적으로 안정한 빠른 Li<sup>+</sup>, Ag<sup>+</sup> 이온 전도체로서 작용한다. 따라서 이러한 구조를 갖는 AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>는 전도대에 위치한 Ag<sup>+</sup>이온이 점차적으로 용출 되어짐으로 인해 항균특성을 나타낸다고 사료되어진다.

#### 4. 결 론

안정한 유리 형성 범위에서 우수한 항균 특성을 발현할 수 있으며, LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 결정상과 β-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 결정상을 갖는 글라스 세라믹스를 제조를 위하여 (5-X)Li<sub>2</sub>O · XAg<sub>2</sub>O · 36CaO · 20TiO<sub>2</sub> · 27P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>를 기본 조성으로 선정하여 Ag<sub>2</sub>O의 함량을 0~5 mole ratio로 일정하게 변화시켜 Ag를 함유한 글라스를 제조하였다. 핵형성과 결정성장의 두 단계의 열처리를 통하여 nasicon type의 결정상을 갖는 AgTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, LiTi<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>와 β-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 혼정이 존재하는 글라스 세라믹스를 제조할 수 있었으며, 열처리되어진 시편은 평균입도(d=32) 1.3 μm로 분쇄하여 각각의 Ag 함량에 따른 항균 및 살균 특성을 관찰하였다. Ag의 함량이 증가함에 따라 항균 특성은 증가하였으며, 각각의 조성에 대해 시편 첨가 후 3시간 이후에는 급격한 균주들의 감소를 보이고 있으며, 5시간 이후에는 모든 균주들이 소멸되는 것으로 관찰되었다.

#### 감사의 글

이 논문은 2001년도 농특과제 연구비에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

- [1] 최세영, "수용성유리 '방균, 방미, 방오용'", 요업재료의 과학과 기술, 8(4), pp. 381~390, 1993.
- [2] T. Yazawa, H. Tnaka, T. Seiyama, "Porous Materials", J. Am. Ceram. Soc., pp.213, 1993.
- [3] M. A. Res, J. Bendnarik, J. T. Fourie J. L. Albain, "Preparation and sintering of a porous glass ceramic in the system Na<sub>2</sub>O-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Ga<sub>2</sub>O<sub>3</sub>", J. Am. Ceram. Soc., vol. 67, No. 12, pp. 264~266, 1984.
- [4] M. A. Res, J. Bendnarik, J. T. Fourie J. L. Albain, "Preparation and sintering of a porous glass ceramic in the system Na<sub>2</sub>O-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Ga<sub>2</sub>O<sub>3</sub>", J. Am. Ceram. Soc., vol. 67, No. 12, pp. 264~266, 1984.
- [5] H. Hosono, Y. Abe, "porous glass ceramics composed of a titanium phosphate crystal skeleton," J. Non-cryst. Solids, 190, pp. 185~197, 1995.
- [6] H. Hosono, Y. Sakai, Y. Abe, "Pore size control in porous glass-ceramics with skeleton of NASICON-type crystal CaTi<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, Non-Cryst. Solids, 139, pp. 90~92, 1991.
- [7] Y. Abe, H. Hosono, M. Nogami, T. Kasuga, M. Nagase, "Development of porous glass-ceramics in Ag-Titanium Phosphates and its antibacterial effects", Bio., Ceram., Vol 8, pp. 247~251, 1995.
- [8] D. S. Carson and R. D. Maurer, "Optical Attenuation in Titania-Silica Glasses", J. Non-Cryst. Solids, vol. 11, pp. 368~380, 1973.