

감마선에 의해 제조된 Poly(vinyl alcohol) 하이드로젤에서 Silver Nanoparticle의 제조 및 항균 특성

김현아 · 박종석[†] · 최종배 · 임윤묵 · 노영창

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소 방사선공업환경연구부
(2011년 7월 4일 접수, 2011년 7월 25일 수정, 2011년 8월 3일 채택)

Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles in Poly(vinyl alcohol) Prepared by Gamma-Ray Irradiation

Hyun-A Kim, Jong-Seok Park[†], Jong-Bae Choi, Youn-Mook Lim, and Young-Chang Nho

Korea Atomic Energy Research Institute, 1266 Sinjeong-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 580-185, Korea

(Received July 4, 2011; Resived July 25, 2011; Accepted August 3, 2011)

초록: 본 연구는 폴리(비닐 알코올)(PVA) 하이드로젤 안에 AgNO₃ 용액을 이용하여 은 나노입자(AgNPs)를 제조하였다. PVA 입자를 증류수에 용해시킨 후, 50 kGy 감마선을 조사하여 PVA 하이드로젤을 제조하였다. 감마선을 이용하여 제조된 PVA 하이드로젤을 0.01, 0.05 M 질산은 수용액에 1시간 동안 침지후, 팽윤된 하이드로젤을 꺼내 감마선을 재조사하여 PVA 하이드로젤 내부에 AgNPs를 제조하였다. AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤의 UV 흡수 특성 및 FE-SEM 측정 결과, 감마선 조사량이 증가할수록 AgNPs의 생성이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 같은 조사량에서 AgNO₃ 용액의 농도가 클수록 AgNPs 생성이 증가하였다. 액체배지 및 고체배지를 이용하여 그람 음성 세균인 E.coli와 S.aureus에 대한 PVA 하이드로젤에 생성된 AgNPs의 항균 실험 결과 매우 우수한 항균 효과를 나타냈다.

Abstract: In this study, silver nanoparticles (AgNPs) have been prepared by using aqueous AgNO₃ solution in the poly(vinyl alcohol) (PVA) hydrogels. PVA powders were dissolved in deionized water, and then irradiated by gamma-ray with a radiation dose of 50 kGy to make hydrogels. PVA hydrogels were dipped into 0.01 and 0.05 M AgNO₃ solution for 1 h respectively. After that, the swollen hydrogels were irradiated by gamma-ray at various doses to form AgNPs. UV-vis analysis indicated that the concentration of Ag NPs was enhanced by increasing absorbed dose and the concentration of AgNO₃. FE-SEM measurements provided further evidence for the successful formation of Ag NPs in PVA hydrogels. Also, the antibacterial effect of PVA hydrogels stabilized AgNPs against Gram-negative bacteria (S.aureus and E.coli) in liquid as well as on solid growth media has been investigated. The AgNPs consolidated in PVA hydrogel networks have an excellent antibacterial effect.

Keywords: silver nanoparticle, PVA, hydrogel, antibacterial, gamma-ray.

서 론

은 나노입자(AgNPs)는 고유의 광학적 특성, 전기 전도성, 산화촉매같은 특성으로 많은 관심과 연구가 진행되고 있으며, 그 응용분야 또한 전기/전자 제품, 의류 및 일반생활용품, 화장품, 식/의약품 등으로 확산되어가고 있다.¹ 특히, 인간의 생활환경 속에서 자주 발생하는 곰팡이, 박테리아, 바이러스 등의 미생물 감염을 막기 위하여 AgNPs의 항균 활성이 매우 우수한 것으로 알려져 있다.^{2,4} 은은 인체에

해가 없고 독성이 없으며, 미생물 체내의 신진대사 기능을 다방면으로 억제하여 650여 종류의 유해 세균을 죽이는 것으로 알려져 있다.^{5,6} AgNPs를 제조하는 방법으로는 화학적 환원법, 전기 분해법, 방사선 조사법 등이 있다.⁷⁻¹² 그 중에서 방사선 조사에 의한 환원법은 제조과정이 간단하고, 완전히 환원된 AgNPs를 제공하며, 순도가 높고, 환원제가 필요하지 않아 환경친화적인 장점이 있다.¹³

하이드로젤은 우수한 생체적합성 및 수분 보유능력을 가지고 있어, 조직공학, 콘택트렌즈, 상처치료용 드레싱으로 자주 사용된다.¹⁴⁻¹⁷ 그 중 폴리(비닐 알코올)(PVA) 하이드로젤은 친수성 고분자로서, 높은 팽윤도와 고유의 무독성, 우수한 생체적합성으로 의학 및 제약분야로의 응용에 많은 관심

[†]To whom correspondence should be accessed.
E-mail: jspark75@kaeri.re.kr

을 받고 있다.¹⁸ PVA 하이드로젤은 생체 조직에 대하여 친화성을 갖고 있어서 약물 전달체, 콘택트 렌즈, 상처 드레싱 등에 응용되어 사용되고 있다.

하이드로젤을 제조하는 방법으로는 여러 가지 방법들이 있는데 주로 화학적 가교,¹⁹ glutaraldehyde와 같은 가교제 첨가,²⁰ 감마선 가교,^{21,22} UV 가교²³ 등이 사용되고 있으나, 감마선 조사에 의한 하이드로젤 제조법은 가교제를 첨가하지 않으며, 감마선 조사만으로 가교와 동시에 멸균도 같이 되기 때문에 약물전달체나 상처 치료용 드레싱 등에 사용하기에 매우 유리한 장점을 가지고 있다.

최근에 폴리아크릴아마이드와 같은 하이드로젤 내부에 AgNO₃ 수용액을 사용하여 AgNPs를 제조하는 방법이 소개되었다.²⁴⁻²⁶ 하지만 하이드로젤 제조시 가교제나 개시제가 사용되고 또한 AgNPs의 생성을 위해 NaBH₄를 추가적으로 사용해야 하는 단점을 가지고 있다. 가교제나 개시제, 환원제를 추가적으로 사용하지 않고 은나노입자가 함유된 하이드로젤 제조에 관한 연구 논문은 아직 보고되지 않고 있다.

본 연구의 목적은 각종 첨가제를 사용하지 않고, 순수 감마선 조사만으로 AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤을 제조하는 것이다. 또한 PVA 하이드로젤 내부에 AgNPs를 제조하는데 있어서, 감마선조사의 영향성과 그에 따른 항균특성에 관하여 조사하였다.

실 험

재료. 연구에서 사용된 poly(vinyl alcohol) (PVA)는 Sigma-Aldrich Co., Ltd(St. Louis, USA)에서 구입하였으며, 분자량(Mw)은 85000~124000인 것을 사용하였다. AgNO₃는 Showa Chemical Co., Ltd(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

PVA 하이드로젤의 제조. PVA(분자량 85000~120000) 15 g을 85 mL의 증류수에 넣고 오토클레이브(121 °C, 20분)를 이용하여 용해시켰다. 용해된 PVA의 기포를 제거하기 위해 PVA 용액을 75 °C의 항온수조(water bath)에 담가둔다. 기포가 빠진 PVA 용액을 스퀘어디쉬에 30 g씩 넣고 10 kGy/hr의 선량률로 50 kGy 감마선을 조사하여 PVA 하이드로젤을 제조하였다.

AgNPs 제조. AgNO₃ 파우더를 물에 녹여 0.01, 0.05 M 질산은 수용액을 제조하였다. 감마선을 이용하여 제조된 PVA 하이드로젤을 13 × 13 mm로 준비한 후, 0.01, 0.05 M 질산은 수용액에 1시간 동안 침지 후, 팽윤된 하이드로젤을 꺼내 1 kGy/hr 선량률로 0, 1, 3, 5, 8, 10 kGy의 감마선을 조사하여 PVA 하이드로젤 내부에 AgNPs를 제조하였다.

물성 분석. AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤의 자외선/가시광선 분광 정도를 spectrophotometer(BioTek Instruments, Inc., USA)를 이용하여 300~600 nm의 파장 범위에서 측정하였다.

하이드로젤 내부에 생성된 AgNPs의 모폴로지는 전계방사 주사현미경(FE-SEM)(Hitachi S-4700, Japan)을 통하여 관

찰하였으며, 시료 내 수분을 제거하기 위하여 60 °C 진공 오븐에서 3시간 정도 건조한 후 이를 gold coating하여 측정하였다.

항균성 평가. AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤의 항균성을 측정하기 위하여 E. coli와 S. aureus 균주를 사용하여 하이드로젤의 항균활성을 평가하였다. 먼저 균주를 nutrient broth(Difco Co., USA)에 접종하여 37 °C에서 24시간 동안 배양한 후, 각 균주를 O.D.₆₀₀ 0.1로 조정하여 nutrient agar(Difco Co., USA)에 100 µL 도말하고 고체배지를 punch(diameter 8 mm)로 well을 만든 후에 샘플들을 well 속에 담은 후에 37 °C에서 24시간 동안 배양하였다. 항균 활성은 생육저지환의 크기를 측정하여 평가하였다.

또한 시험관에 배양액 9 mL를 넣고 E.Coli 와 S. aureus 세균액 1 mL를 혼합한 다음 배양기 안에서 37 °C, 150 rpm의 속도로 흔들면서 24시간 동안 배양 후, 하이드로젤을 1 g씩 첨가하고 3시간마다 미생물 성장측정장치(SCINCO S-3100)를 이용하여 흡광도 측정법(600 nm)으로 세균의 성장 정도를 측정하였다.

접착강도. AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤의 접착력의 접착력을 확인하기 위해 젤을 건조시켜 필름형태로 만들었다. 필름 형태의 표본과 돼지 구강 점막과 닿는 부위를 20 × 20 mm로 일정하게 조절한 후 만능시험기(INSTRON 5569)를 이용하여 crosshead speed 50 mm/min으로 고정하여 접착강도를 측정하였다.

결과 및 토론

AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤의 UV 흡수 특성을 알아보기 위하여 spectrophotometer로 측정하였다. Figure 1(a)는 PVA 하이드로젤을 0.01 M AgNO₃ 용액, (b)는 0.05 M AgNO₃ 용액에 1시간 동안 침지시킨 후, 감마선을 1, 3, 5, 8, 10 kGy 조사하여 얻은 자외선 분광 광도를 나타냈다. UV 스펙트럼 조사시, 은 콜로이드 흡수영역인 약 400~450 nm 근처의 피크 높이는 단위 부피당 은 입자의 밀도(개수)와 비례하므로 이 피크의 높이 값이 클수록 입자의 수가 많은 것으로 볼 수 있으며, 같은 은의 농도라 해도 입자크기가 작을수록 입자 밀도는 높고, 피크의 높이가 클수록 보다 안정된 작은 크기의 은 입자 농도가 높다고 할 수 있다.²⁷ Figure 1(a), (b)에서 보는 것과 같이 감마선 조사량이 증가할수록 AgNPs의 생성이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 같은 조사량에서 0.05 M AgNO₃ 용액에 침지된 PVA 하이드로젤이 0.01 M AgNO₃ 용액에 침지된 PVA 하이드로젤보다 420 nm 파장에서 더 높은 흡수 피크를 나타냈다. 또한 감마선의 조사량이 증가할수록 UV 흡수 피크가 장 파장 영역으로 이동(red shift)한 것이 관찰되었다. AgNPs 형성에 있어서 UV 흡수 피크는 입자의 크기와 모양에 민감하게 나타나는데, 이의 결과는 감마선 조사량이 증가할수록 PVA 하이드로젤 내부에 생성된 AgNPs의 크기가 작아지는 것을 나타냈다.^{28,29}

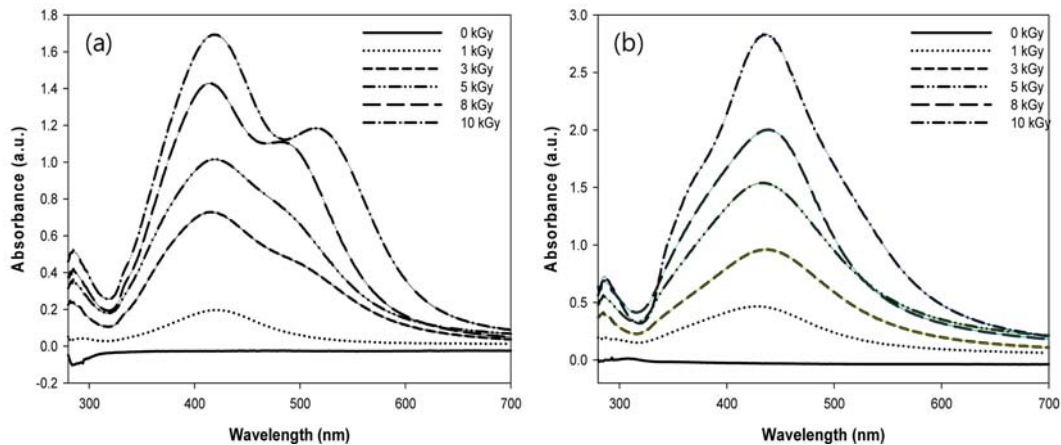


Figure 1. UV/vis absorption spectra of the Ag nanoparticles prepared in the crosslinked PVA hydrogel with increasing radiation dose; (a) 0.01 M AgNO_3 ; (b) 0.05 M AgNO_3 .

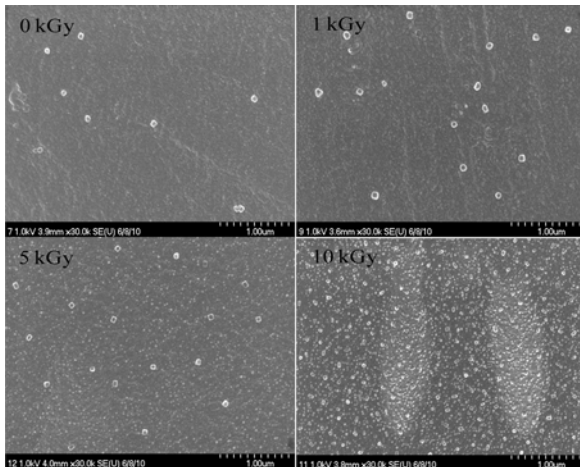


Figure 2. SEM micrographs of the Ag nanoparticles prepared in the crosslinked PVA hydrogel with increasing radiation dose; 0.01 M AgNO_3 used.

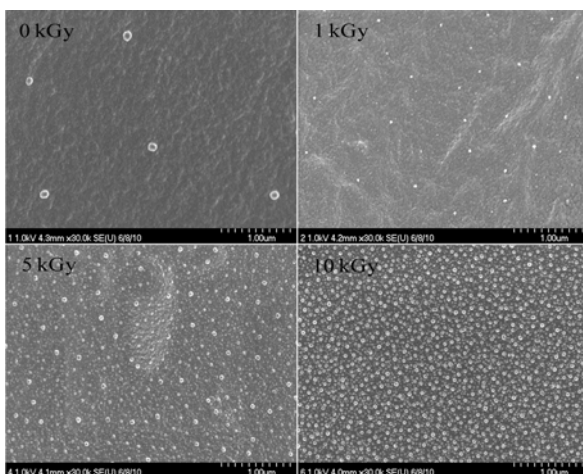


Figure 3. SEM micrographs of the Ag nanoparticles prepared in the crosslinked PVA hydrogel with increasing radiation dose; 0.05 M AgNO_3 used.

Figure 1의 결과를 확인 하기 위하여 전계방출형 주사 현미경(FE-SEM)을 이용하여 PVA 하이드로젤 내부 AgNPs의 생성 정도와 입자크기를 관찰하여 Figures 2, 3에 나타냈다. Figures 2, 3에서 보는 것과 같이, 조사량이 증가할수록 AgNPs의 생성이 증가하였으며, 같은 조사량에서는 0.05 M AgNO_3 용액에 침지된 PVA 하이드로젤에서 더 많은 AgNPs가 생성되는 것을 확인하였다. 이는 감마선 조사에 의하여 Ag^+ 가 쉽게 환원되어 은(Ag) 입자를 생성하기 때문이다.

또한 감마선의 조사량이 증가할수록 Figure 1의 UV 흡수 피크의 blue shift 현상과 같이 AgNPs의 크기가 작아지는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 이의 결과는 감마선의 조사에 의하여 PVA 하이드로젤 내부에 생성되는 AgNPs의 크기를 조절할 수 있음을 나타낸다.

PVA 하이드로젤에 생성된 AgNPs의 항균 효과를 확인 하기 위해 10^6 CFU (균총형성단위) 생성된 100 mL 액체배지에 표본을 넣고, 시간에 따라 생성되는 E.coli와 S.aureus을 자외선 분광기(SCINCO S-3100)를 통해 관찰하였다. Control 표본은 AgNO_3 용액에 침지시키지 않은 PVA 하이드로젤이다. Figure 4는 0.05 M AgNO_3 용액에 침지된 PVA 하이드로젤의 (a) E.coli와 (b) S.aureus에 대한 균의 생성 정도를 나타냈다. Control 표본은 AgNPs가 함유하고 있지 않아 균의 생성이 자유롭게 이루어지는 반면에, AgNPs가 존재하는 표본에서는 균이 생성되지 못함을 보이고 있으며, 감마선의 조사량이 증가할수록 균의 생성이 더욱 억제되고 있는 것이 관찰되었다.

또한 E.coli와 S.aureus가 함유된 고체배지에 대해 각각의 표본에 대한 실험을 수행하였다. Figure 5는 배양 후 24시간 후에 측정된 결과이다. 그림에서 보는 바와 AgNO_3 용액에 침지시키지 않은 control 표본에서는 항균성이 나타나지 않으나, AgNPs가 존재하는 표본에서는 모두 항균성이 나타남을 보여주고 있다. 이와 같은 결과로부터 PVA 하이드로젤에 함유된 AgNPs는 E.coli와 S.aureus에 대해 강한 항균성을 보임을 알 수 있다.

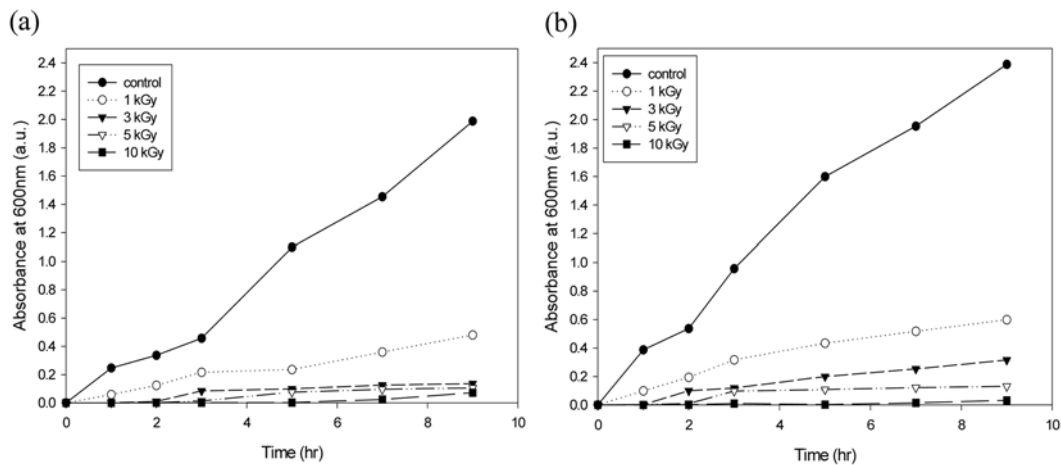


Figure 4. Time dependence of optical density of the Ag nanoparticles prepared in the crosslinked PVA hydrogel against (a) E.coli; (b) S.aureus; 0.05 M AgNO₃.

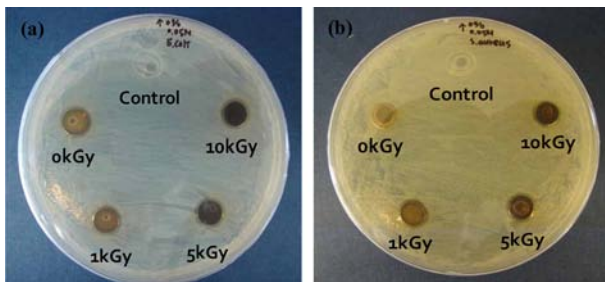


Figure 5. Antibacterial image of the Ag nanoparticles prepared in the crosslinked PVA hydrogel against (a) E.coli; (b) S.aureus; 0.05 M AgNO₃.

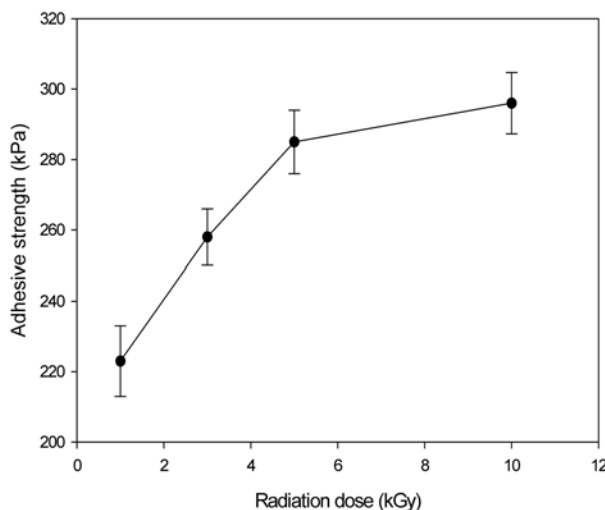


Figure 6. Adhesive strength of the Ag nanoparticles prepared in the crosslinked PVA hydrogel with increasing radiation dose; 0.05 M AgNO₃.

Figure 6은 AgNPs가 함유된 PVA 하이드로젤의 방사선 조사량에 따른 돼지 점막과의 접착강도를 나타냈다. Figure 6에서 보는 바와 같은 방사선 조사량이 증가할수록

점막과의 접착력은 증가하는 효과를 나타내는데, 이 결과는 방사선 조사로 인하여 은나노 입자의 형성이 증가함과 동시에, PVA 하이드로젤의 가교도 같이 증가함으로써 점막과의 접착력이 향상된 것으로 사료된다.

결론

본 연구에서는 감마선에 의해 제조된 PVA 하이드로젤에서 AgNPs의 제조 및 항균 특성에 관하여 조사하였다.

감마선 조사선량이 증가할수록 AgNPs의 생성이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 같은 조사량에서 0.05 M AgNO₃ 용액에 침지된 PVA 하이드로젤이 0.01 M AgNO₃ 용액에 침지된 PVA 하이드로젤에서 보다 많은 AgNPs가 생성되는 것을 확인하였다.

또한 감마선 조사량에 의해 하이드로젤 내부에 생성되는 AgNPs의 크기 조절이 가능하며, E.coli와 S.aureus에 대한 우수한 항균성을 나타냈다.

각종 첨가제를 사용하지 않고, 방사선 조사로 인하여 가교와 멸균이 동시에 이루어지는 효과를 얻을 수 있으며, 방사선 조사로 인한 점막과의 접착력 향상 효과도 나타낼 수 있어서, 점막이나 상처에 직접 사용할 수 있는 장점을 가지고 있는 것으로 사료된다.

감사의 글: 본 연구는 교육과학기술부에서 주관하는 원자력연구개발사업의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. S. N. Kim, J. Roh, M. S. Kang, Y. S. Han, B. S. Lee, Y. Kim, K. Park, K. Choi, and E. J. Park, *Environ. Health Toxicol.*, **25**, 215 (2010).

2. K. H. Cho and S. G. Park, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **15**, 952 (2004).
3. T. N. Kim, Q. L. Fen, O. J. Kim, J. Wu, H. Wang, G. C. Chen, and F. Z. Cui, *J. Mater. Sci. Med.*, **9**, 129 (1998).
4. C. J. Lee, D. Y. Kim, and B. S. Kim, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **18**, 396 (2007).
5. I. S. Hwang, J. Y. Cho, J. H. Hwang, B. Hwang, H. Choi, J. Lee, and D. G. Lee, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **39**, 1 (2011).
6. J. Y. Kim, T. Y. Kim, and J. Y. Yoon, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **20**, 251 (2009).
7. B. He, J. J. Tan, K. Y. Liew, and H. Liu, *J. Mol. Catal. A-Chem.*, **221**, 121 (2004).
8. N. M. Huang, H. N. Lim, S. Radiman, P. S. Khiew, W. S. Chiu, R. Hashim, and C. H. Chia, *Colloid Surface A*, **353**, 69 (2010).
9. X. Sun and Y. Luo, *Mater. Lett.*, **59**, 3847 (2005).
10. T. M. Tolaymat, E. L. Badawy, A. M. Genaidy, K. G. Scheckel, T. P. Luxton, and M. Suidan, *Sci. Total Environ.*, **408**, 999 (2010).
11. V. K. Rana, O. S. Kushwaha, R. Singh, S. Mishra, and C. S. Ha, *Macromol. Res.*, **18**, 713 (2010).
12. B. C. Ji, E. M. Lee, and J. H. Yeum, *Polymer(Korea)*, **34**, 341 (2010).
13. K. Naghavi, E. Saion, K. Rezaee, and W. M. M. Yunus, *Rad. Phys. Chem.*, **79**, 1203 (2010).
14. E. K. Choi, H. I. Kim, K. R. Park, and Y. C. Nho, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**, 505 (2003).
15. K. R. Park and Y. C. Nho, *Polymer(Korea)*, **26**, 792 (2002).
16. Y. Zheng, M. K. Nguyen, C. He, C. T. Huynh, and D. S. Lee, *Macromol. Res.*, **18**, 1096 (2010).
17. M. K. Nguyen and D. S. Lee, *Macromol. Res.*, **18**, 284 (2010).
18. W. S. Ryu, S. J. Lee, W. S. Choi, S. S. Lee, and J. Y. Lee, *News and Information for Chemical Engineers*, **20**, 143 (2002).
19. D. A. Ossipov and J. Hilborn, *Macromolecules*, **39**, 1709 (2006).
20. K. H. Purss, G. G. Qiao, and D. H. Solomon, *J. Appl. Polym. Sci.*, **96**, 780 (2005).
21. Z. Ajji, *Radiat. Phys. Chem.*, **74**, 36 (2005).
22. S. Benamer, M. Mahlous, A. Boukrif, B. Masouri, and Y. S. Larbi, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, **248**, 284 (2006).
23. P. Marthens and K. S. Anseth, *Polymer*, **41**, 7715 (2000).
24. Y. M. Mohan, K. Lee, T. Premkumar, and K. E. Geckeler, *Polymer*, **48**, 158 (2007).
25. P. S. Gils, D. Ray, and P. K. Sahoo, *Int. J. Biol. Macromol.*, **46**, 237 (2010).
26. Y. M. Mohan, K. Vimala, V. Thomas, K. Varaprasad, B. Sreedhar, S. K. Bajpai, and K. M. Raju, *J. Colloid Interface Sci.*, **342**, 73 (2010).
27. Y. H. Kim, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**, 487 (2003).
28. F. K. Liu, Y. C. Hsu, M. H. Tsai, and T. C. Chu, *Mater. Lett.*, **61**, 2402 (2007).
29. Y. S. Liu, S. M. Chen, L. Zhong, and G. Z. Wu, *Radiat. Phys. Chem.*, **78**, 251 (2009).