Journal of the Korean Chemical Society
2009, *Vol. 53, No. 5*
Printed in the Republic of Korea

은을 포함한 공중합체의 항균성 및 물리적 특성에 관한 연구

예기훈 · 조수현 · 성아영*
대불대학교 안경광학과
(접수 2009. 7. 31; 수정 2009. 8. 12; 게재확정 2009. 8. 13)

Study on the Antibiosis and Physical Properties of Copolymer Containing Silver

Ki-Hun Ye, Su-Hyeon Cho, and A-Young Sung*
Department of Ophthalmic Optics, Daebul University, Jeonnam, 526-702, Korea
(Received July 31, 2009; Revised August 12, 2009; Accepted August 13, 2009)

요 약. 최근 들어 은(Ag)은 항균성 및 높은 전도성 등의 특징으로 다양한 분야에서 응용되고 있다. 본 연구는 은을 첨가하여 많은 환경적 요인들로부터 눈을 보호 할 수 있는 고 기능성 안 의료용 소재를 제조하였다. 기존 콘택트렌즈 재료와 $AgNO_3$을 혼합하여 교반한 후, 70 °C 중탕기에 넣고 약 1시간 동안 중합하여 생성된 소재의 항균성과 물리적 특성을 평가하였다. 항균 테스트의 균 배양실험으로 고체배지와 액체배지를 사용하였으며, $AgNO_3$ 첨가하였을 때 항균성이 매우 양호한 것으로 나타났다. 또한 물리적 특성으로는 함수율 32.35%와 가시광선 투과율 88.34%를 각각 나타내었다. 본 실험 결과로 볼 때 항균성을 가지면서 기존의 콘택트렌즈의 물리적 특성에도 부합되는 공중합체가 생성된 것으로 판단된다.

주제어: 은, 항균성, 고기능성

ABSTRACT. Recently, silver has been applied to various fields due to antimicrobial property and high conductivity. We manufactured high-performance ophthalmic material containing silver which could protect eye from environmental factors. We mixed $AgNO_3$ with conventional contact lens material. And then we copolymerized at 70 °C for 40 minutes under water bath, and estimated antimicrobial activity and physical properties. We used solid culture and liquid culture medium for antimicrobial test. The results of contact lens containing silver showed good antibiosis. In case of physical properties, the results showed 32.35%(water content) and 88.34% (visible transmittance) for each. We judged that we made the copolymer with antimicrobial and physical properties which is suitable for conventional contact lens.

Keywords: Silver, Antimicrobial, High-performance

서 론

최근 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 건강과 관련된 산업이 크게 부각되고 있다. 또한 산업의 첨단화가 이루어지면서 제품 본래의 기능뿐 아니라 부수적인 기능이 첨가된 복합적인 기능을 갖는 제품들로 변모해 가고 있다. 이런 기능을 충족시키기 위한 노력으로 다양한 소재 산업이 접목 되어졌다.[1] 다양한 기능을 충족시켜 주는 소재 중 하나로 은이라는 소재가 부각되고 관심이 집중되었다. 은(Ag)은 전성과 연성 그리고 전기 및 열 전도도가 크고 고온에서도 내산화성이 좋은 금속이다. 따라서 각종 공업제품과 장식품으로 많이 사용되고 있다. 또한 은 소재 제품은 각종 질병들로부터 균을 박멸하는 항균성과 살균성을 지니고 있어 체내로 들어오는 병원균으로부터 인체를 보호할 수 있는 기능을 가지고 있다.[2-3] 이러한 장점을 이용하여 기존 제품에 적절하게 적용 및 응용함에 따라 생체 친화성을 갖는

소재 및 제품으로 그 활용 분야가 점점 확대되고 있다.[4-6] 본 연구에서는 은의 이와 같은 특성을 안 의료용 소재에 적용하였다.

안구는 6.5 cc의 부피를 가지며, 구성요소로는 물, 근육, 신경, 섬유 그리고 전해질들로 이루어져 있다. 그리고 빛을 통과시켜 망막에 상을 맺게 하는 기능을 하며, 인체의 다른 기관과 달리 노출이 가장 심한 곳 중 하나이다. 이로 인해 눈은 외부의 자극에 예민하며, 병원균 등이 쉽게 침투할 수 있는 부분이다. 현대인들은 시력 보정의 목적으로 안경과 콘택트렌즈를 많이 사용한다. 그 중 콘택트렌즈는 눈에 직접 착용하여 눈의 굴절이상을 보정하는 안 의료용 기구로서 많은 안과학적인 문제점을 발생시키는 요인 중의 하나로 볼 수 있다. 이러한 안과학적인 문제점을 극복하기 위해 고 기능성 제품이 연구 되고 있다.[7] 본 연구에서는 최근 급속도로 사용이 증가되고 있는 콘택트렌즈 소재에 은을 첨가하여 많은 환경적 요인들로부터 눈을 보호 할 수 있는 고 기능성 안 의료용 기구로의 응용 가능성을 알아보았다.

실 험

시약 및 재료

본 실험에 사용된 2-hydroxyethyl methacrylate 및 azobisisobutyronitrile은 JUNSEI사 제품을, methyl methacrylate와 methacrylic acid는 Crown Guaranteed Reagents사 제품을, ethylene glycol dimethacrylate는 Acros사 제품을 구입하여 더 이상의 정제 과정 없이 사용하였다. 또한 사용된 $AgNO_3$는 Sigma-Aldrch사의 제품을 사용하였다.

실험 방법

고체배지에 의한 항균성 실험

실험에 사용된 sample을 비교하기 위해 균 배양만 적용된 sample을 Blank로, 일반적인 콘택트렌즈인 HEMA를 주 재료로 제조한 콘택트렌즈를 Reference라 명명하였다. 또한 HEMA와 Silver를 혼합하여 제조한 콘택트렌즈를 Sample이라 명명하였으며, 이에 대하여 각각 항균성 유무를 실험하여 비교하였다. McFarland's nephelometer standards에 따라 균을 배양시킨 후 이 배양액 1 mL에 멸균 증류수를 100 mL로 하여 잘 교반 시켜 균질화 시킨 후 다시 이 용액 1 mL를 멸균 증류수를 넣어 100 mL로 제조하였다.

Petri-dish에 멸균 후 40 ^{o}C～45 ^{o}C로 냉각 시킨 액체상태의 Nutrient Agar 배지를 넣고 여기에 균부유액 1 mL, 건조-분쇄시켜 가루로 만든 Reference와 Sample 각각 5 peace 분량을 넣어 잘 교반시킨 후 배지를 굳혔다. 또한 비교 군으로 사용하기 위해 별도로 Blank(배지 + 균부유액 1 mL)를 제조하였다. 실험에 사용된 균을 E.coli와 S.aureus, 두 종류의 균에 대하여 각각을 실험하였고, 모든 실험은 3개의 Petri-dish를 1개 군으로 한 후, 37 ^{o}C에서 24시간 배양시켜 CFU(colony forming unit)를 측정하였다.

액체배지에 의한 항균성 실험

일반적인 콘택트렌즈 재료로 사용되는 HEMA를 주재료로 제조한 콘택트렌즈를 Reference라 명명하였으며, HEMA와 Silver를 혼합하여 제조한 콘택트렌즈를 Sample이라 명명하였다. 이에 대하여 항균성 유무를 각각 실험하여 그 결과를 비교하였다. 1종의 균주 E.Coli ATCC 10536을 Nutrient Agar 배지에서 37 ^{o}C에서 48시간씩 3회에 걸쳐 계대 배양하여 균을 활성화시켰다. 세단계 계대배양에서 잘 발육된 독립 colony 3개씩 백금이로 Nutrient Broth 배지에 접종 후 McFarland's nephelometer standards에 균을 배양하였다. 이 배양액 10 mL에 멸균증류수를 가해 150 mL로 한 용액을 균부유액으로 하였다. 실험재료인 Reference와 Sample을 정제수로 3회 씻어낸 다음 85% 소독용 Ethanol에 1시간 침적시켜 소독 살균 시킨 후 Clean-Bench 내의 무균조건에서 멸균 증류수로 3회 씻어내어 무균 처리하였다. Nutrient Broth 배지를 깨끗하게 닦고 Sponge stopper로 마개를 막은 60 mL 시험관과 기타 무균시험용 기구 등을 121 ^{o}C/30 min 조건으로 고압 멸균 처리 하였다.

시험액은 배지에 균부유액 1 mL를 넣은 시험관에 Sample을 3개, 6개씩을 넣어 3개 군으로 제조하였으며, Reference에 대해서도 동일하게 제조하였다. 균의 증식여부를 확인하기 위해 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험에 배양된 균의 특성

본 실험에 사용된 균종의 하나인 포도상 구균(staphylococcus aureus)에 의한 안과 질환으로는 급성누낭염(acute dacryocystitis), 안와봉와직(orbital cellulitis), 변연각막궤양(marginal corneal ulcer), 만성세균결막염(chronic bacteri al conjunctivitis), 중심각막궤양(central corneal ulcer)의 질환을 유발한다.

또한 대장균(escherichia coli)의 경우는 아급성카타르성결막염(subacute catarrhal conjunctivitis)의 원인이 되며, 콘택트렌즈 보관용기에 오염이 잘되는 특성을 가지고 있다.[8-11]

고분자 중합 및 제조

고분자 중합을 위해 사용된 HEMA (100 g), MA (5 g), EGDMA (5 g), MMA (5 g), AIBN (0.5 g)을 flask에 넣은 후 약 30분 동안 교반한 다음 $AgNO_3$ (1 g)을 첨가하여 다시 교반하였다. 항균성을 가진 silver nanoparticle은 여러 가지 방법으로 제조할 수 있으나 본 실험에서는 가장 안전한 방법을 시도하였다. Metal nanoparticle는 암모니아 용액 속에서 적절한 금속염의 환원을 통하여 만들 수 있으나, 본 실험에서는 질산은($AgNO_3$)을 콘택트렌즈 주 재료인 HEMA에 첨가하여 Ag^+ 이온과 NO_3^- 이온으로 분리시켜 polymer 중합 시 개시제인 AIBN을 환원제로 사용하여 nanoparticle 형태로 합성하였다. 완성된 콘택트렌즈는 캐스팅 몰드 방법을 사용하여 제조하였다. 제조방법으로는 몰드에 용액을 주입 후 70 °C 열 중탕기에 넣고 약 1시간 동안 열 중합하였다. 수율(yield)은 98%로 계산되었으며, 연한 갈색 고체의 고분자가 생성되었다. 제조된 콘택트렌즈의 물리적 특성을 실험하기 위해 각각 3번씩 측정하여 평균값을 나타내었다.

결과 및 고찰

고체배지에 의한 항균성 실험

균을 접종시킨 배지에 건조, 분쇄하여 가루로 만든 Reference와 Sample을 각각 넣고 배양시킬 때 항균성 유무에 따라 CFU수가 다르게 된다는 원리를 이용하여 항균성을 실험하였다.

Blank, Reference, Sample의 Petri-dish 각각에 균

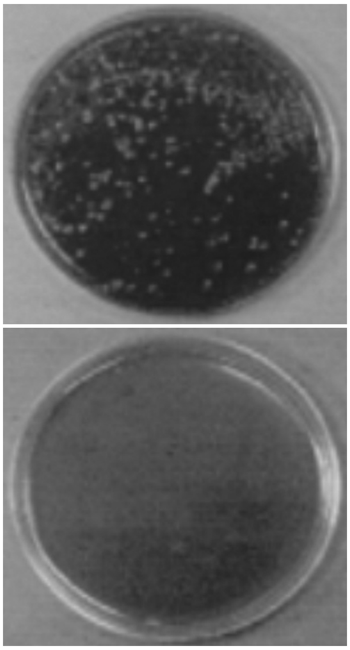

Fig. 1. Culture photograph after 24 hour.

부유액 1 mL씩 을 넣고 37 °C하에서 24시간 배양 후의 균 발생을 *Fig*. 1에 비교하여 나타내었다.

CFU를 계산한 결과, E.coli의 경우 Blank에서는 680 CFU, Reference에서는 867 CFU, Sample에서는 17 CFU를 나타내었으며, S.aureus의 경우 Blank에서는 421 CFU, Reference에서는 387 CFU, Sample에서는 0 CFU로 나타났다. 이 결과를 *Fig*. 2에 비교하여 나타내었다.

이러한 결과로 볼 때, $AgNO_3$을 첨가할 경우 항균성이 매우 양호한 것으로 나타났다.

액체배지에 의한 항균성 실험 결과

액체배지에 인위적으로 균을 이식하여 항균성을 지닌 물질과 항균성이 없는 물질을 같은 조건으로 배양시킬 때 균의 증식속도가 균의 종류와 항균성 물질의 농도에 따라 증식속도가 다르게 나타났다. 배지에서 균이 시간에 따라 증식하게 되는데 증식여부와 증식속도에 따라 배지의 탁도가 달라지며, 균의 증식이 많이 될수록 배지의 흡광도가 비례적으로 높아지게 되어 균의 증식과 증식속도가 다르게 결정되었다. 액체 배지에 균을 접종하고 여기에 silver를 첨가한 콘택트렌즈

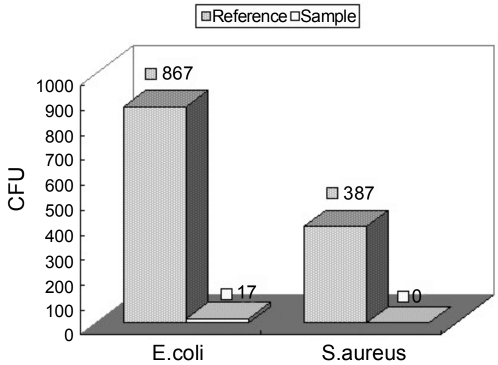

Fig. 2. Antimicrobial test with the E.coli and S.aureus.

(Sample)와 silver를 첨가하지 않은 콘택트렌즈(Reference)를 배지에 넣고 배양시킨 후 660 nm 파장의 흡광도에 따른 균의 증식을 실험하였다.

시료명 S는 일반적인 콘택트렌즈인 HEMA를 주재료로 제조한 콘택트렌즈이며, S1은 S를 3개, S2는 S를 6개 첨가한 것으로 각각 분류하여 명명하였다. 또한 시료명 R은 HEMA와 Silver를 혼합하여 제조한 콘택트렌즈이며, R1은 R을 3개, R2는 R을 6개 첨가한 것으로 각각 분류하여 명명하였다.

Silver를 함유한 콘택트렌즈 시험액의 흡광도 변화를 24시간 단위로 측정하여 균의 증식여부를 실험한 결과, E.coil 대한 흡광도의 경우 Reference 3개(R1)와 Reference 6개(R2)를 넣은 시험액에서 배양 1일 째부터 균이 생성되기 시작하여 일정한 증가를 나타내었으며, Sample 3개(S1)를 넣은 시험액에서는 배양 4일째 균이 생성되었다. 또한 Sample 6개(S2)를 넣은 시험액의 경우는 배양 7일부터 균이 생성됨을 알 수 있었다. 따라서 은을 함유한 콘택트렌즈는 E.coli 균에서 다소 높은 항균성을 나타내었으며, 그 결과를 *Table* 1과 *Fig*. 3에 정리하여 나타내었다.

고분자 중합 및 물리적 특성

기존에 사용된 콘택트렌즈 재료인 HEMA, MA, EGDMA, MMA에 개시제로 사용되는 AIBN과 $AgNO_3$을 넣고 교반하였으며, 몰드에 용액을 주입 후 70 °C 열 중탕기에 넣고 약 1시간 동안 열 중합하여 콘택트렌즈를 제조하였다.

실험 결과, 기존에 사용되는 콘택트렌즈의 재료에 $AgNO_3$을 적용시킨 콘택트렌즈의 물리적 특성의 결과를 일반적인 콘택트렌즈의 특성과 비교하였으며, sample은 S와 R로 명명하여, 사용된 배합비를 *Table* 2에 나타내었다.

중합된 sample의 물리적 특성을 알아보기 위해 S1과 S2 그리고 R1과 R2의 함수율과 가시광선 투과율을 측정하여 각각 *Table* 3과 *Fig*. 4에 나타내었다. S와 R의 평균 함수율은 32.35% 그리고 평균 가시광선 투과율은 88.34%를 각각 나타내었으

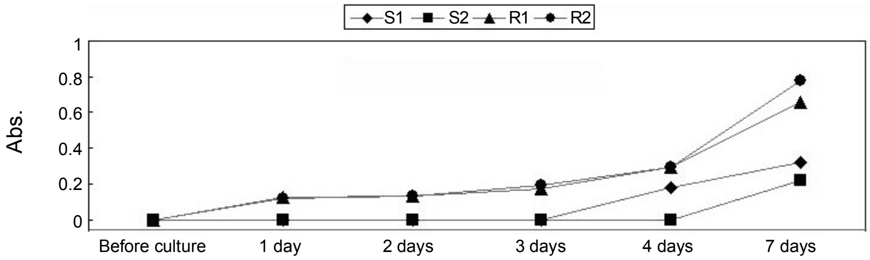

Fig. 3. Antimicrobial test with the E.coli.

Table 1. Result of antimicrobial test on the E.coli.

unit : Abs.

		Before culture	1 day	2 days	3 days	4 days	7 days
S	S1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.181	0.320
	S2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.217
R	R1	0.000	0.126	0.130	0.170	0.294	0.655
	R2	0.000	0.119	0.131	0.189	0.291	0.780

Table 2. Compositions of samples.

unit : %

	HEMA	MMA	MA	EGDMA	AIBN	$AgNO_3$
S	85.85	4.29	4.29	4.29	0.43	0.85
R	86.58	4.33	4.33	4.33	0.43	-

－S : 일반적인 콘택트렌즈인 HEMA를 주재료로 제조
－R : HEMA와 Silver를 혼합하여 제조

Table 3. Water content and Visible transmittance of contact lens.

unit : %

		Water content	Visible transmittance
S	S1	32.48	88.25
	S2	32.22	88.36
R	R1	32.35	88.57
	R2	32.37	88.19
Average		32.35	88.34

며, Sample 과 Reference는 별다른 차이를 나타내지 않았다.

결 론

본 연구는 항균성을 가진 은을 $AgNO_3$ 형태로 기존 안 의료용 재료와 공중합하여 포도상 구균(staphylococcus aureus)과 대장균(escherichia coli)에 대한 항균성 및 물리적 특성을 실험하였다. 실험 결과, $AgNO_3$를 첨가한 경우 항균성이 매우 양호한 것으로 나타났다. 또한 물리적 특성을 실험한 결과, 함수율에서는 32.35%, 또한 가시광선 투과율에서는 88.34%를 나타내어 기존의 콘택트렌즈와 큰 차이를 나타내지 않았다. 본 실험 결과로 볼 때, 항균성을 지니면서 기존 콘택트렌즈의 물리적 특성에도 부합되는 공중합체가 생성된 것으로 판단되며, 앞으로 지속적인 연구를 통해 의료용 소재 산업에 응용될 것으로 기대된다.

Acknowledgments. This research was financially supported by ministry of Eduction, Science Technology (MEST) and Korea Institute for Advancement of Technology (KIAT) through the Human Resource Training Project for Regional Innovation.

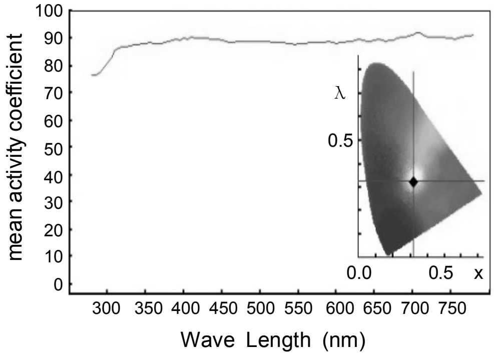

Fig. 4. Visible transmittance of contact lens.

REFERENCES

1. Uh, Y.; Hwang, G. Y.; Yoon, K. J.; Kim, H. Y.; Uh, H. S.; Kwon, O. K. *Korean J Clin. Microbiol*. **2007**, *10*, 42.
2. Lansdown, A. B. *Curr Probl Dermatol*. **2006**, *33*, 17.
3. Kim, T. N.; Feng, Q. L.; Kim, J. O.; Wu, J.; Wang, H.; Chen, G. C.; Cui, F. Z.; *J. Mater. sci. Mater. Med.* **1998**, *9*, 129.
4. Gang, H. Y.; Jung, M. J.; Jung, Y. K. *The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering* **2000**, *15*(5), 521.
5. Im, Y. T.; Choe, H. K.; An, Y. H. *The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering* **2001**, *16*(2), 123.
6. Jo, K. H.; Park, S. K. *The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry* **2004**, *15*(8), 952.
7. Ye, K. H.; Kim, T H.; Sung, A. Y. *The Korean Ophthalmic Optics Society* **2008**, *10*(1), 63
8. Kim, M. S.; Chung, B. S.; Choi, K. C. *Korean J. Dermatol*. **2006**, *44*, 805.
9. Isabel, C. V.; Robert, S. K.; Francisco, A. K. *J. Am. Acad. Dermato*. **2004**, *50*, 845.
10. Jung, D. S.; Jo, J. H.; Lee, J. B.; Kim, M. B.; Oh, C. K.; *Jang H. S. Korean J. Dermatol*. **2004**, *42*, 16.
11. Hans, A. F.; Grekin, R. C. *J. Am. Acad. Dermatol*. **1995**, *32*, 155.