

용융법에 의한 수용성 유리의 제조 및 특성 (I): 용해 특성, 살균 효과 및 세포 독성

조종호 · 이용근 · 최세영 · 신철수* · 김경남**

연세대학교 세라믹공학과

*연세대학교 식품·생물공학과

**연세대학교 치과대학

(1995년 6월 15일 접수)

Preparation and Characterization of Water-Soluble Glass through Melting Process (I): Dissolution Characteristics, Bactericidal Effects and Cytotoxicity

Jong-Ho Joe, Yong-Keun Lee, Se-Young Choi, Cheol-Soo Shin* and Kyong-Nam Kim**

Dept. of Ceram. Eng., Yonsei Univ.

*Dept. of Food and Biotech., Yonsei Univ.

**Dental College, Yonsei Univ.

(Received June 15, 1995)

요 약

은 이온이나 구리 이온을 함유하는 살균용의 인산염계 수용성 유리를 용융법에 의해 제조하였다. 제조된 유리를 분말상의 시편으로 하여 상온에서 증류수로 시간을 변화시켜가며 용해시켰다. 유리의 조성에 따른 용해 특성과 이들의 살균 효과 및 세포 독성을 관찰하였다. 용해량은 용해 시간에 대하여 일정하게 증가하였고 2성분계보다는 3성분계 유리가, 또 3성분계에 있어서는 금속 산화물의 양이 적을수록 용해 속도가 빨랐다. 또, 은 이온을 함유한 유리의 용해 속도가 구리 이온을 함유한 유리보다 빨랐으며, 세균들에 대한 살균 효과 또한 은 이온을 함유한 경우가 우수하였다. 은을 25 ppm 이상 함유한 경우 하루 이상 배양시 L929 세포에 독성을 나타내었으며, 이보다 낮은 은의 농도에서나 구리를 함유한 경우에는 독성을 거의 나타내지 않았다.

ABSTRACT

Water-soluble phosphate glasses containing Ag or Cu ion were prepared through melting process. Then the powdered glass samples were dissolved in D.I. water at room temperature with changing the dissolution time. In terms with the glass composition, dissolution characteristics, bactericidal effects and cytotoxicities were investigated. Dissolved amounts increased uniformly with dissolution time, and the dissolution rate was higher for ternary glass than for binary glass and with less metal oxide amount. And the dissolution rate of the glass with Ag ion was higher than that with Cu ion, and the bactericidal effect of the glass with Ag ion was also greater. Solution with more than 25 ppm of Ag was observed to have strong cytotoxicity to L929, and solutions of lower Ag concentration or with Cu seemed to have little cytotoxicity

Key words: Water-soluble, Phosphate glass, Ag ion, Cu ion, Dissolution, Bactericidal effect, Cytotoxicity

1. 서 론

유리는 일반적으로 화학적 내구성이 뛰어난 공업재료로서 조성의 다양화와 표면처리 등을 통해 유리의 내구성을 향상시키고자 하는 연구가 많이 행해져 왔다¹⁾.

그러나, 이를 거꾸로 생각하면 조성의 변화 등을 통하여 화학적 내구성이 좋지 않은 유리, 즉 수용성 유리의 제조가 가능하다²⁾. 이러한 수용성 유리에 살균 효과를 가진다고 알려져 있는 Ag⁺나 Cu⁺, Cu²⁺^{3,4)} 등의 이온들을 함유시켜 살균성을 가지는 수용성 유리의 제조를 기대할

수 있다. 현재까지 오염된 물은 주로 활성탄과 여러 살균제 등을 사용하여 살균 및 정화를 한 후 사용하고 있으며, 대표적인 살균제는 염소계 화합물과 오존 등이다. 그러나 염소계 화합물은 가격이 저렴하기는 하나 발암물질인 THM(Trihalomethane)의 발생과 악취가, 오존은 사용원가가 높다는 문제점을 가지고 있다⁶⁶⁾. 이와 같은 효과를 발휘하는 재료로서 유리가 각광을 받는 이유는 다음과 같다. 첫째, 물에 용해되었을 때 살균 효과를 낼 수 있는 Ag^+ , Cu^+ , Cu^{2+} 등의 이온이 유리 망목구조 안에서 안정하게 이온 상태로 함유될 수 있을 뿐만 아니라, 유리 망목구조의 붕괴와 함께 물 속으로 용해된 이들 금속 이온들이 장시간 환원되지 않고 물 속에 존재할 수 있다는 것이다. 금속 이온을 함유한 $AgNO_3$, $CuSO_4$, $CuCl_2$ 등의 수용액도 같은 살균 효과를 낼 수 있지만 쉽게 환원되어 버리므로 지속성에 문제가 있다. 유리의 경우는 용출된 Ag^+ , Cu^+ , Cu^{2+} 등의 이온들이 망목 형성 산화물의 가교 산소와 결합을 하고 있거나, 4 배위의 붕소나 인에 결합하여 $BO_4^-M^+$ 나 $PO_4^-M^+$ 등의 구조단위를 형성하기 때문에 구리나 은의 이온들은 유리의 용해시 용액 속으로 나와 있을 때에도 그 상태가 그대로 안정하게 유지되는 것으로 추측되고 있다⁶⁷⁾. 둘째, 유리 조성을 변화시킴에 따라 금속 이온들의 용출 속도를 조절할 수 있는데, 이는 다시 말해 다양한 조성의 선택에 따라 사용 목적 및 조건에 맞는 적절한 유리를 제조할 수 있다는 것이다⁶⁸⁾. 셋째, 용해된 성분들이 대부분 생체계에 무해하다는 것이다. 수용성 유리가 용해될 때 나오는 망목 형성 산화물과 금속 이온들의 생체에 대한 독성 실험에서 부작용은 아직 보고된 바 없다. 이와 같은 점들 때문에 다른 살균용 재료에 비하여 장점을 갖게 된다. 이런 살균용 수용성 유리는 유리 단독으로 사용하는 이외에도 다른 재료들과 함께 복합재료로서도 다양한 사용이 가능하며, Fig. 1⁷⁾에 이들 유리의 응용분야를 나타내었다.

수용액 내에서의 유리의 용해 기구는 일반적으로 두 단계로 나뉘어지는 것으로 알려져 있다¹³⁻¹²⁾. 첫번째 단계는 유리 내의 금속 이온과 수용액 중의 수소 이온이 서로 치환되어 금속 이온이 선택적으로 수중으로 용출되어 나오고 수소 이온이 유리 망목 안으로 치환되어 들어가는 ion exchange의 과정으로, 이는 금속 이온과 수소 이온 간의 상호 확산에 의한 과정이기 때문에 용해량은 시간의 평방근에 비례한다. 두번째 단계는 유리의 망목구조와 물이 직접 반응하여 유리 망목의 붕괴를 가져오는 total dissolution의 단계로, 용해량은 시간에 직선적으로 비례하게 된다. 규산염계 유리의 경우는 첫

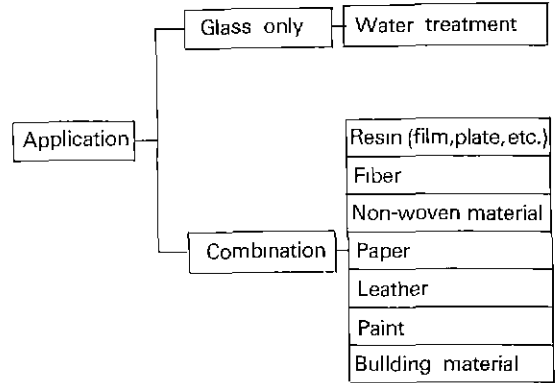


Fig. 1. Application fields (by Yamamoto).

번째 단계의 선택적 용출에 의해 수중의 수소 이온이 줄어들므로 용액 내의 pH 상승을 가져오고, 계속된 pH의 증가로 두번째 단계의 용해로 전이되어 망목 구조의 붕괴를 가져오게 된다. 이때 첫번째 단계 용출에 의해 표면에 silica가 풍부한 층이 형성되어 보호막 구실을 하기 때문에 두번째 단계로 전이하기 위해서는 많은 시간이 필요하다. 일반적으로 상용되고 있는 유리는 대부분이 규산염계 유리로, 이런 유리의 화학적 내구성은 상당히 우수하기 때문에 금속이온의 용해량이 많아야 하는 수용성 유리로서의 사용에는 문제점이 있다. 그러므로, 규산염계 유리보다는 화학적 내구성이 떨어지는 인산염계 유리^{13,14)}나 붕산염계 유리를 제조함으로써 수용성 유리로서의 효과를 기대할 수 있다. 또한 규산염계 유리에 대한 은 이온의 용해도는 0.5 mol% 이하로 극히 제한되어 있으므로¹⁵⁾ 살균효과를 나타내는 은 이온의 담지에도 규산염계 유리는 문제가 있다. 본 실험에서는 Ag^+ , Cu^+ , Cu^{2+} 등의 금속이온을 함유하는 인산염계 수용성 유리를 Na_2O 와 함께 조성을 변화시켜가며 제조하였고 물 속에서의 용해 실험을 행하여 이들 유리의 용해 특성을 알아보았으며, 미생물 실험을 통하여 용해액들의 여러 세균에 대한 살균효과를 관찰하였다. 또한, 이들 용해액들이 생체 세포에 대하여 나타내는 독성을 평가하여 보았다.

2. 실험방법

2.1. 유리의 제조 및 용해 실험

2.1.1. 수용성 유리의 제조

본 연구의 전체적인 실험 공정도는 Fig. 2와 같다. 망목 형성 산화물인 P_2O_5 의 공급원으로는 H_3PO_4 (Duksan

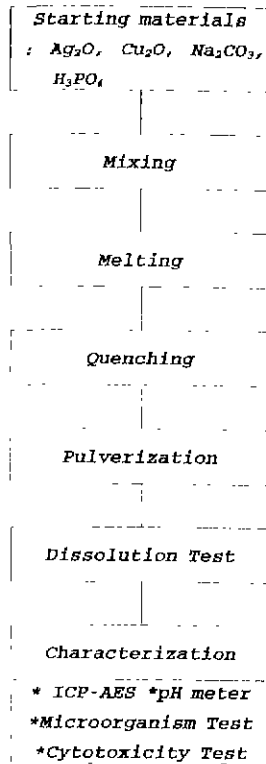


Fig. 2. Schematic diagram of experimental procedures.

Pharmaceutical Co. Ltd., 85%, Korea)를, 은 이온의 공급원으로는 Ag₂O(Kojima Chemical Co. Ltd., 99%, Japan)를, 구리 이온의 공급원으로는 Cu₂O(Kanto Chemical Co. Ltd., 92%, Japan)를, 알칼리 산화물인 Na₂O의 공급원으로는 Na₂CO₃(Junsei Chemical Co. Ltd., 99%, Japan)를 각각 사용하였다. 위의 시료들을 일정한 비로 배합하여 각각 batch를 만들고, 알루미늄 도가니에 담아 800~1200°C의 온도범위에서 용융하였다. 용융액은 냉각수를 돌려 냉각한 구리판에 부어서 급냉시켜 모유리를 제조하였다.

2.1.2 분말 시편 제조

위와 같이 제조된 모유리틀 알루미늄 유발에서 전식 분쇄한 후 체가름을 하여 분말 상의 용해 시편으로 제조하였다. 이 때 분말의 입도는 -40+60 mesh(250~425 μm)로 하였다.

2.1.3 용해 실험

제조된 분말 시편 0.2g 당 100 ml의 D.I. water를 사용하여 상온에서 PE 병 안에서 1시간에서 48시간까지 용해시간을 변화시키며 같은 조건에서 3회씩 실시하였다. 용해 후 용해액은 여과지(Watman 40, England)로

여과하였다.

2.1.4. 분석 및 측정

유리의 형성 여부를 확인하기 위하여 X선 회절 분석기(D-max III, Rigaku, Japan)를 이용하여 다음의 분석조건으로 측정하였다.

- Target: CuKα
- Filter: Ni
- Power: 30 kV-10 mA
- Scanning speed: 8°/min
- Full scale: 400 cps

용해 전후 용액의 pH의 변화는 microprocessor pH meter(SP-2000A, Suntex, Taiwan)를 사용하여 측정하였고, 용해 후 용해액 내의 각 성분 원소는 ICP-AES(ICP S1000III, Shimadzu, Japan)로써 3회씩 분석하여 평균으로 값을 구하였다.

2.2. 살균 효과 측정

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas* sp, *E. coli*의 세 가지 그람 양성 및 음성 세균 균주를 미리 제조한 전배양 배지에 무균적으로 접종하여 12시간동안 전배양한 후, 유리 용해액과 증류수를 각각 5 ml씩 넣은 test tube에 전배양한 균주를 5 vol%가 되게 접종하고 시간을 변화해 가며 배양하였다. 배양시간이 다른 각 tube로부터 0.1 ml씩을 취하여 적정 배수로 희석하고 미리 제조한 고체 배지(nutrient agar)에 무균적으로 0.1 ml를 도말한 후, 30°C incubator에서 24시간 배양하였다 이 고체 배지에 생성된 colony를 count하고 희석 배수를 곱하여 C.F.U. (Colony Forming Unit, 생균수/ml)를 계산함으로써 살균 효과를 측정하였다.

2.3. 세포 독성 실험

2.3.1. 세포 배양

쥐의 피하조직 내 섬유세포에서 주화한 L929 세포와, 5%의 우태아혈청(fetal calf serum)이 첨가된 Eagle's minimum essential medium(Eagle's MEM, Hazleton Biologic, Inc., U.S.A.)에 1 ml 당 2.2 mg의 sodium bicarbonate를 넣어 hepes buffer로 최종농도가 10 mM이 되게 하고 여기에 다시 250 μg의 streptomycin과 500 IU의 penicillin을 첨가하여 이를 배지로 사용하였고, stock culture중 배지교환은 4~5일에 한번씩 시행하였으며, 온도 37.0±1°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%의 항온기(Model 3158, Forma Scientific, Inc., U.S.A.)에서 배양하였다.

2.3.2. MTT 검정 실험

L929 세포의 증식속도를 측정하여 배양이 끝나는 4 일째에 실험액과 접촉하지 않고 정상적으로 성장한 control의 세포가 지수증식기에 있도록 2.8 ± 10^4 cells/ml로 세포수를 정하여 flat bottom, 96-well plate(Corning Co, U.S.A)의 각 well에 0.10 ml씩 분주하였다. 그 후 온도 $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 탄산가스 농도 5%의 항온기에서 24시간 배양 하여 세포를 부착시킨 다음, 4, 24, 48시간 동안 용해시킨 A, B, C, E, I, J의 용해액들을 autoclave시켜 MEM 배지 ($\times 2$)로 2배 희석한 후 0.10 ml씩 분주하여 항온기에서 24, 48, 96시간씩 배양하였다. control에는 MEM($\times 1$)배 지 0.10 ml만을 분주하였다. 각각의 배양이 끝나는 날 phosphate-buffered saline(PBS)에 녹인 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_6$ SBr(MTT) 용액(5 mg/ml) 0.05 ml을 각 well에 넣고 4 시간 배양한 후 배지와 MTT 용액을 버리고 여기에 다시 dimethylsulfoxide(DMSO) 0.05 ml을 각 well에 넣고 결 정이 남아 있지 않도록 잘 흔든 후에 ELISA reader(Mo- del E1 308, Bio-tek Instruments Inc., U.S.A)로 570 nm의 파장범위에서 각 조건당 4개의 시편에서 흡광도 (optical density)를 측정하여 세포독성 정도를 평가하였 다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 인산염계 수용성 유리의 용해 특성

Table 1에는 실험에 사용한 시편 유리들의 조성을 나 타내었다. 이때 조성 A, C, E, J는 은이나 구리 이온을 함유하는 2성분계 혹은 3성분계 인산염계 유리에 있어서 이들 금속 이온들의 유리 내 최대 용해량을 나타내는 조성이었다. 3성분계 유리의 경우 금속 산화물과 알칼리 산화물의 비는 1:1로 고정을 시켰다.

은 이온을 함유한 유리인 조성 A, B, C를 수중에서 용해시킨 후 Ag의 양으로 용해량을 비교하여 Fig. 3에 나타내었다. 2성분계인 A의 용해량은 약간 있기는 하였

으나 3성분계인 B나 C에 비하여 훨씬 작은 양이었고 같은 3성분계에서는 원래 조성에서는 Ag_2O 의 양이 더 많음에도 불구하고 금속 및 알칼리 산화물의 양이 적은 B에서 더 많은 양의 용해를 보였다. Fig. 4에는 구리

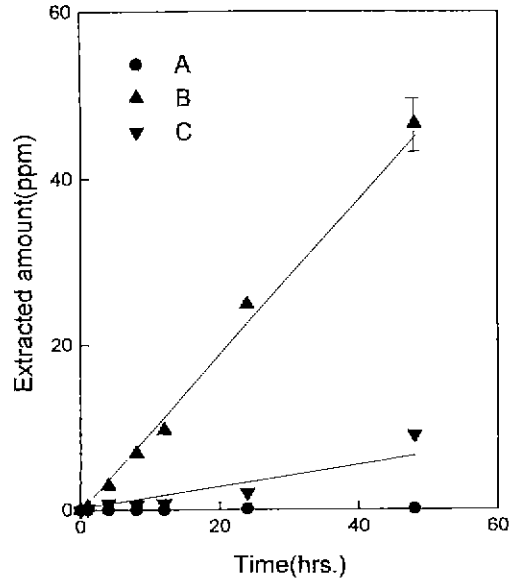


Fig. 3. Change of extracted Ag amount with dissolution time of the glass A, B and C

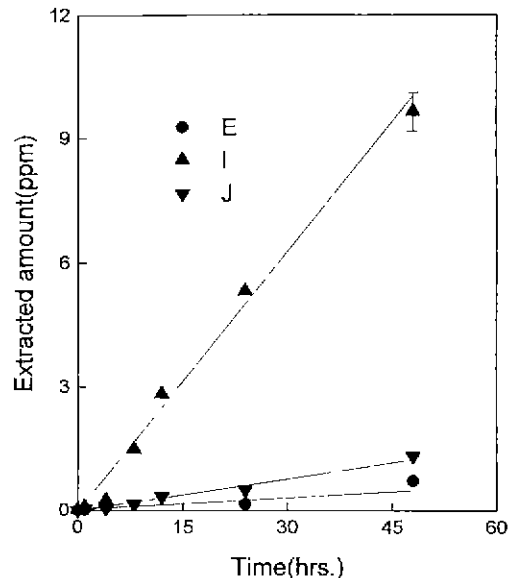


Fig. 4. Change of extracted Cu amount with dissolution time of the glass E, I and J

Table 1. Compositions of the Glasses.

Specimen	Composition
A	$20\text{Ag}_2\text{O}-80\text{P}_2\text{O}_5$
B	$15\text{Ag}_2\text{O}-15\text{Na}_2\text{O}-70\text{P}_2\text{O}_5$
C	$20\text{Ag}_2\text{O}-20\text{Na}_2\text{O}-60\text{P}_2\text{O}_5$
E	$30\text{Cu}_2\text{O}-70\text{P}_2\text{O}_5$
I	$15\text{Cu}_2\text{O}-15\text{Na}_2\text{O}-70\text{P}_2\text{O}_5$
J	$20\text{Cu}_2\text{O}-20\text{Na}_2\text{O}-60\text{P}_2\text{O}_5$

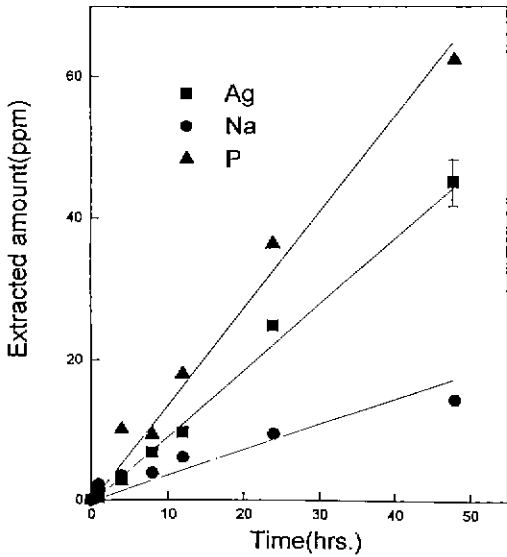


Fig. 5. Change of extracted Ag, Na and P amount with dissolution time of the glass B.

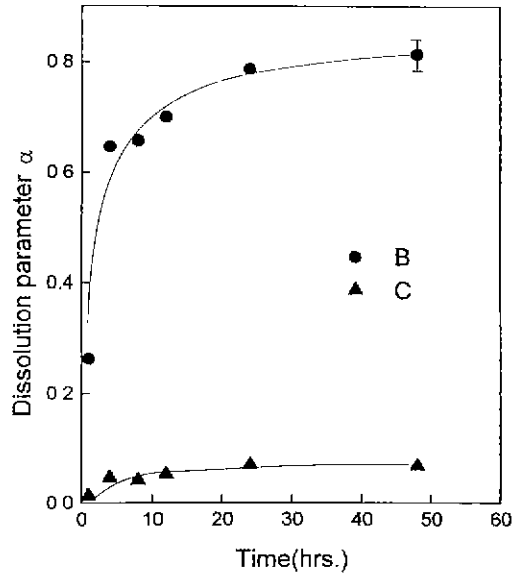


Fig. 7. Dissolution parameter change during the dissolution of the glass B and C.

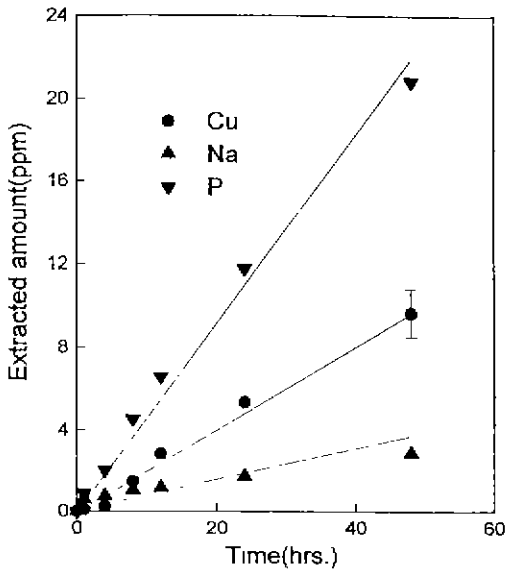


Fig. 6. Change of extracted Cu, Na and P amount with dissolution time of the glass I.

이온을 함유한 유리인 조성 E, I, J의 용해량을 Cu의 양으로 비교하여 나타낸 것이다. 이것도 역시 A, B, C와 같은 경향을 나타내어 2성분보다는 3성분계가, 또 3성분계에서는 금속 산화물이 적을 때 더 많은 용해량을 보인다. 3성분계에서 나타나는 현상은 인산염계 유리의 anti-branching rule¹⁵⁾로서 설명이 가능한데, 이 이론에

의하면 PO₄ group은 에너지가 불안정하므로 MO(M₂O)/P₂O₅<1에서는 [(MO(M₂O)+H₂O)/P₂O₅]->1로 되어, 공기 중의 수분을 분기점으로 끌어들이어(P-O-P+H₂O->P-OH+HO-P)의 보다 안정한 구조로 전환한다. 즉, 인산염계 유리의 화학적 내구성은 망목 수식 이온이 증가함에 따라 일반적으로 향상된다.

은 이온을 함유한 유리 중 용해 속도가 가장 빠른 B 유리의 용해 후 각 성분의 용해량을 Fig. 5에 보였다. 거의 시간에 비례하게 각 성분들이 일정한 비율로 용해량이 증가되는 것을 보여주는데 Fig. 6에 나타내어지는 I 유리의 용해에서도 역시 거의 시간에 비례하게 증가하는 것과 같은 경향임을 알 수 있다. 인산염계의 유리는 규산염계 유리와는 달리 polymeric chain structure^{13,14)}를 하고 있기 때문에 pH의 상승에 의하지 않고도 유리와 물과의 계면에서의 simple hydration에 의해서도 망목의 해체가 이루어지므로 시간에 대하여 일정한 비율로 용해되는 것을 이해할 수 있다.

Fig. 7에서는 용해의 진행에 따른 B, C 유리의 dissolution parameter¹²⁾의 변화를 나타내었다. 여기에서 dissolution parameter α 란 용해의 단계를 나타내어 주는 parameter로서 아래의 식으로 나타내어진다.

$$\alpha = \frac{Y(\text{solution})}{X(\text{solution})} \div \frac{Y(\text{glass})}{X(\text{glass})} = \left(\frac{\text{PPM SiO}_2}{\text{PPM R}^-} \right) \left(\frac{\text{MW R}^-}{\text{MW SiO}_2} \right) \left(\frac{P_m}{1-P_m} \right)$$

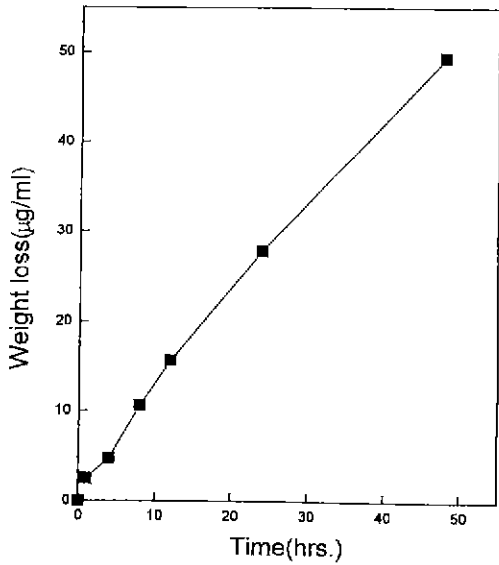


Fig. 8. Change of weight loss with the dissolution time of the glass I (calculated).

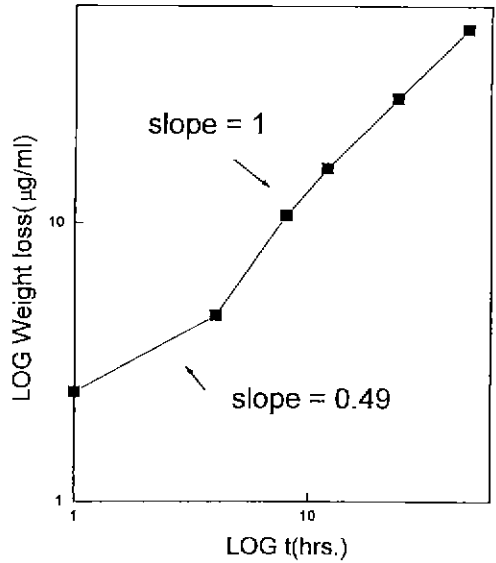


Fig. 9. Log weight loss vs. log dissolution time of the glass I (calculated).

여기서, Y는 SiO_2 의 몰 수, X는 금속 산화물의 몰 수, P_m 은 유리 내에서의 금속 산화물의 몰 수, MW는 분자량, PPM SiO_2 는 용액 내의 SiO_2 농도, PPM R^+ 은 용액 내의 금속 이온의 농도이다. 유리의 조성에서의 각 성분들의 비와 용해액 내의 각 성분들의 비가 같으면 α 는 1의 값을 갖고 용해액 내에 망목 형성 산화물이 전혀 존재하지 않으면 0의 값을 갖는, 다시 말해 용해에서 알칼리 이온의 선택적 용출이 우세하면 0에 가까운 값을 갖게 되고 total dissolution이 우세하면 1에 가까운 값을 갖게 된다. Fig. 7에서 알 수 있듯이 B 유리는 C 유리에 비해 큰 값으로 1에 근접한 값을 갖는데, 이로부터 B 유리는 C에 비해 용해량이 많을 뿐만 아니라 용해의 진행 또한 빠름을 알 수 있다.

Fig. 8에서는 I 유리의 용해 후 무게의 감량을 나타내었고, Fig. 9에서는 이 값들에서 용해 시간과 무게 감량을 log 값으로 취하여 도시한 것이다. 여기에서 무게 감량은 ICP로 측정된 각 성분들의 양으로부터 Cu는 Cu_2O 로, Na는 Na_2O 로, P는 P_2O_5 로 각각 환산하여 이들의 값을 모두 합하여 계산하였다. Fig. 8으로 보기는 단지 시간에 비례하여 용해량이 직선적으로 증가하는 듯이 보이지만 용해 시간과 무게의 감량을 log로 취한 Fig. 9에서는 약 0.5에서 1로 기울기가 변화하는, 다시 말해 용해량이 시간의 평방근에 비례하는 용해의 첫 단계에서 시간에 비례하는 두번째 단계로 이동하는 전이점을 확연히 보여준다. 이는 넓은 시간에서 보면 용해량은 시

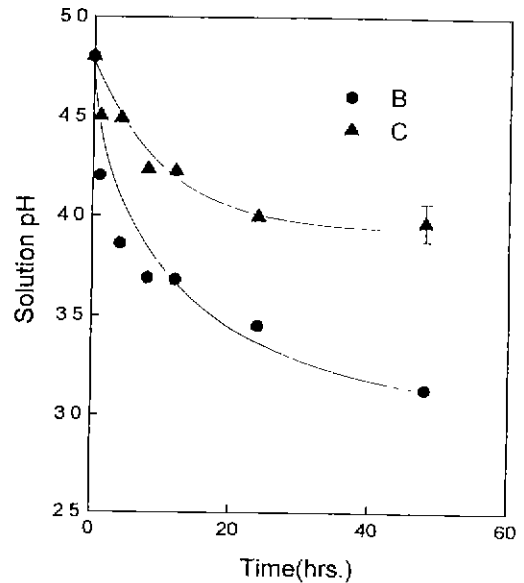


Fig. 10. Solution pH change during the dissolution of the glass B and C.

간에 대해 직선적으로 증가하지만 인산염계 유리에서도 용해는 두가지 단계로 진행된다는 것을 보여주는 것이다. 용해가 진행되는 동안 용액의 pH 변화를 B, C 유리에 대하여 알아보고자 Fig 10에 나타내었다 실험에 사용한 D.I. water의 원래 pH는 4.8이었고 용해가 진행됨에 따

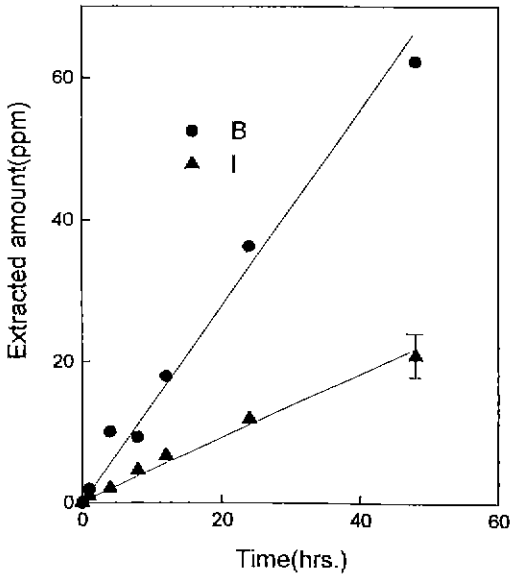


Fig. 11. Change of extracted P amount with dissolution time of the glass B and I.

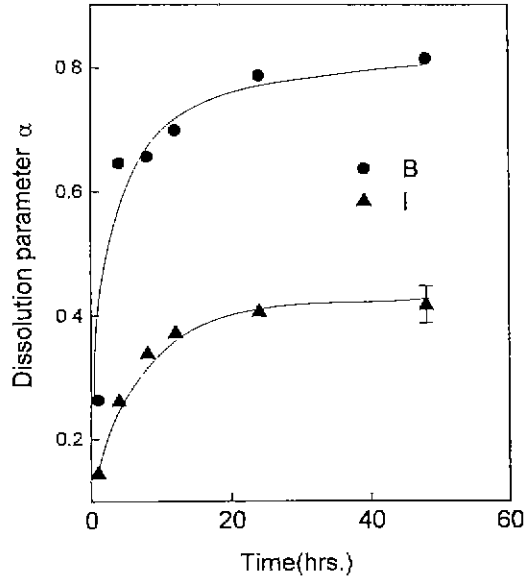


Fig. 12. Dissolution parameter change during the dissolution of the glass B and I.

라 pH 값은 계속 감소하여 산으로 가는 경향을 보였다. 규산염계 유리에서는 알칼리 이온과 OH기의 이온교환에 의해 용액 내의 pH는 염기 쪽으로 진행하게 되는 반면, 인산염계 유리에서는 P₂O₅가 물 속으로 용해되어 나오면서 인산을 형성하기 때문에 반대로 산 쪽으로 pH가 이동하게 된다.

은 이온과 구리 이온을 함유하는 유리의 용해를 각각 비교하기 위하여 B와 I 유리에 대하여 망목 형성 산화물인 P의 용해량과 dissolution parameter를 비교하여 Fig. 11과 12에 나타내었다. 원래 유리 조성에서의 P의 함량은 같았지만 은이 함유된 B에서의 용해량이 구리를 함유한 I보다 2배 이상 많았다. Dissolution parameter 또한 B가 높은 것으로 보아 은 이온을 함유한 쪽이 용해의 속도와 진행이 구리를 함유한 유리보다 빠름을 알 수 있다.

3.2. 용해액의 살균효과

A, B, C, E, I, J 6가지 유리의 용해액이 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp., *E. coli*의 그람 양성 및 음성 세균에 대해 가지는 살균 효과를 각각 용해 시간이 다른 용해액에 대하여 세균과의 배양 시간을 변화시켜 가며 측정하여 Table 2~7에 나타내었다. 여기에서 control이란 처음 무균 상태에서 해당 시간동안 아무런 처리를 하지 않고 세균만을 배양하였을 때의 세균수를 측정한

Table 2. Change of *Staphylococcus aureus* Attacked by the Solution After Dissolution of Ag Containing Glasses.

Glass	Leaching time (hrs.)	Cell Conc. (CFU/ml)		
		2 hr	12 hr	24 hr
B	Control	1.5×10 ⁸	9.9×10 ⁷	1.9×10 ⁸
	1	4.0×10 ⁶	0	0
	4	3.2×10 ⁶	0	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
C	1	5.6×10 ⁷	5.1×10 ⁷	1.3×10 ⁷
	4	1.4×10 ⁷	9.6×10 ⁶	2.0×10 ⁶
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0

것이다. Table 2~4에서 볼 수 있듯이 은 이온을 함유한 수용성 유리의 용해액은 위 세가지 세균에 대하여 B 유리가 C 유리보다 용해 속도가 빠르기 때문에, 혹은 용해 시간이 커짐에 따라 은 이온의 농도가 늘어날수록

Table 3. Change of *Pseudomonas* sp. Attacked by the Solution After Dissolution of Ag Containing Glasses.

Glass	Leaching time (hrs.)	Cell Conc. (CFU/ml)		
		2 hr	12 hr	24 hr
B	Control	1.6×10^8	1.1×10^8	9.7×10^7
	1	5.4×10^7	0	0
	4	0	0	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
C	1	1.1×10^8	9.2×10^7	4.8×10^7
	4	6.8×10^7	6.5×10^7	3.6×10^7
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0

Table 4. Change of *E. coli* Attacked by the Solution After Dissolution of Ag Containing Glasses.

Glass	Leaching time (hrs.)	Cell Conc. (CFU/ml)		
		2 hr	12 hr	24 hr
B	Control	1.1×10^8	8.5×10^7	7.0×10^7
	1	6.9×10^7	9.6×10^6	0
	4	9.6×10^6	0	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
C	1	6.0×10^7	2.6×10^7	4.4×10^7
	4	7.0×10^7	4.4×10^7	3.0×10^7
	8	2.6×10^7	x	0
	12	4.3×10^7	1.6×10^6	0
	24	4.5×10^7	0	0
	48	0	0	0

살균 효과가 커짐을 보여주고 있다. 또한 은 이온의 농도가 낮은 용해액에서도 수 시간 이내에 확실한 살균 효과를 나타내고 있어, *Staphylococcus aureus*나 *Pseudomonas* sp.에 대해서는 용해 시간이 8시간 이상인 용해액은 12시간 이내에 세균들을 모두 사멸시켰다. *E. coli*에

Table 5. Change of *Staphylococcus aureus* Attacked by the Solution After Dissolution of Cu Containing Glasses.

Glass	Leaching time (hrs.)	Cell Conc. (CFU/ml)		
		2 hr	12 hr	24 hr
I	Control	1.5×10^8	9.9×10^7	1.9×10^8
	1	8.6×10^7	9.3×10^7	8.4×10^7
	4	8.7×10^7	6.1×10^7	5.2×10^7
	8	8.1×10^7	8.0×10^7	4.8×10^7
	12	6.2×10^7	8.5×10^7	5.6×10^7
	24	6.3×10^7	2.8×10^7	2.8×10^7
	48	3.8×10^7	x	8.8×10^6
J	1	2.4×10^8	1.7×10^8	x
	4	2.6×10^8	2.4×10^8	1.5×10^8
	8	1.9×10^8	1.5×10^8	x
	12	2.2×10^8	1.5×10^8	x
	24	x	1.2×10^8	x
	48	2.3×10^8	3.0×10^8	x

Table 6. Change of *Pseudomonas* sp. Attacked by the Solution After Dissolution of Cu Containing Glasses.

Glass	Leaching time (hrs.)	Cell Conc. (CFU/ml)		
		2 hr	12 hr	24 hr
I	Control	1.6×10^8	1.1×10^8	9.7×10^7
	1	1.1×10^8	1.2×10^8	7.1×10^7
	4	7.3×10^7	1.8×10^8	x
	8	1.2×10^8	1.2×10^8	2.3×10^7
	12	1.3×10^8	4.6×10^7	5.4×10^7
	24	1.4×10^8	4.8×10^7	4.9×10^7
	48	1.1×10^8	x	2.4×10^7
J	1	2.0×10^8	5.2×10^7	4.6×10^7
	4	1.2×10^8	5.2×10^7	5.0×10^7
	8	1.8×10^8	4.9×10^7	x
	12	1.2×10^8	x	x
	24	1.7×10^8	4.7×10^7	2.5×10^7
	48	1.1×10^8	3.2×10^7	x

대해서도 24시간 이내에 세균들을 거의 모두 사멸시킬 수 있는 뛰어난 살균 효과를 보이고 있다. 반면, Table 5~7에서 볼 수 있듯이 구리 이온을 함유한 유리의 용해액의 경우는 위 세가지 세균에 대하여 control보다는

Table 7. Change of *E. coli* Attacked by the Solution After Dissolution of Cu Containing Glasses.

Glass	Leaching time (hrs.)	Cell Conc. (CFU/ml)		
		2 hr	12 hr	24 hr
I	Control	1.1×10^8	8.5×10^7	7.0×10^7
	1	9.6×10^7	3.7×10^7	5.7×10^7
	4	1.0×10^8	4.1×10^7	5.4×10^7
	8	7.9×10^7	7.4×10^7	5.2×10^7
	12	7.3×10^7	4.4×10^7	6.7×10^7
	24	5.3×10^7	5.2×10^7	3.9×10^7
	48	4.8×10^7	9.6×10^6	7.2×10^6
J	1	x	x	9.9×10^7
	4	5.5×10^7	x	x
	8	7.5×10^7	x	5.5×10^7
	12	7.8×10^7	7.5×10^7	4.4×10^7
	24	7.6×10^7	x	x
	48	1.0×10^8	6.7×10^7	x

Table 8. Definition and Classification of Cytotoxicity Scores Based on Relative Growth Rate (R.G.R).

Classification	Score	R.G.R (%)
None	0	≥ 100
Weak	1	75~99
Moderate	2	50~74
Marked	3	25~49
Strong	4	1~24
Extreme	5	0

약간의 세균수 감소를 보이기는 했으나, 농도의 증가나 배양시간의 지속에도 불구하고 그리 큰 살균 효과를 보이지는 않았다. 이에 은 이온의 살균 효과가 구리 이온의 살균 효과보다 훨씬 크다는 사실을 발견할 수 있었다.

3.3. 용해액의 세포독성 평가

각 용해액들이 생체 내에 미치는 독성을 관찰하기 위해 95년 2월부터 실험용 쥐들을 대상으로 독성실험을 행하고 있으나 아직 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었기 때문에 MTT 검정법으로 세포독성을 평가하였다. 세포독성의 정도는 relative growth rate(R.G.R)로 평가하며 Table 8에 이를 나타내었다. 이때, R.G.R(%) 값은 control의

Table 9. Cytotoxicity Scores Based on Relative Growth Rate (R.G.R).

sample	Incubation time (hrs.)	4	24	48
A	24	0	1	1
	48	0	1	1
	96	1	1	0
B	24	0	4	4
	48	0	4	4
	96	0	4	4
C	24	0	1	1
	48	0	1	0
	96	1	1	0
E	24	0	1	0
	48	1	0	0
	96	1	1	1
I	24	0	1	0
	48	0	1	1
	96	1	1	1
J	24	0	1	0
	48	1	0	0
	96	1	1	1

흡광도 값과 실험 조건하에서의 흡광도 값의 백분율로 아래의 식으로 나타내어진다.

$$R.G.R(\%) = \frac{\text{mean value in the experimental condition}}{\text{mean value in control}} \times 100$$

각 용해액들의 세포 독성 정도를 R.G.R 값을 기준으로 평가하여 Table 9에 나타내었다. 독성치가 0이나 1이면 독성을 무시할 수 있을 정도라고 할 때, 용해시간이 하루 이상인 B의 용해액은 배양시간이 하루 이상만 되어도 독성이 검출되었다. 24시간 동안 용해시킨 B 유리의 용해액 중 은의 농도가 약 25 ppm이었고, 실험에 사용했던 용해액 중 그 다음으로 은의 농도가 높았던 48시간 동안 용해시킨 C 유리의 용해액 중 은의 농도가 약 9 ppm이었는데 이것이 독성이 없는 것으로 판정되었으므로, 은의 농도가 10 ppm 이상이 되면 세포에 독성을 미칠 가능성이 있는 것으로 추정할 수 있다. 한편, 그 이외의 은이나 구리 이온을 함유한 용해액에서는 어디에서나 독성이 전혀 없든지 아니면 단지 무시할 수 있는 정도의 독성만이 검출되었다.

4. 결 론

용융법으로 제조한 은 이온이나 구리 이온을 함유하는 인산염계 수용성 유리를 시간을 변화시켜 가며 D.I. water로 상온에서 용해시켰을 때, 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 은 이온이나 구리 이온을 함유한 유리의 경우 모두 용해량은 시간에 대하여 일정하게 증가하였다. 용해속도는 2성분계 유리보다는 3성분계의 유리가, 또 같은 3성분계에서는 금속 이온의 함량이 적을수록 용해 속도가 빨랐고, dissolution parameter로 살펴 본 용해의 진행에서도 같은 경향을 나타내었다.

2. 은 이온을 함유하고 있는 유리의 용해속도는 구리 이온을 함유한 경우보다 컸으며, 용해의 진행에서도 구리 이온을 함유한 경우는 은 이온을 함유한 경우보다 느렸다. 인산염계 유리에서도 용해는 2단계로 진행됨을 알 수 있었으며, 용해액의 pH는 P₂O₅의 용해에 의하여 산 쪽으로 이동하였다.

3. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp., *E. coli*의 그람 양성 및 음성 세균에 대하여 은 이온을 함유한 유리는 저농도 은 이온에서도 수 시간만에 좋은 살균 효과를 보였지만, 구리 이온을 함유한 경우의 살균 효과는 그리 크지 않은 것으로 관찰되었다.

4. L929 세포에 대한 독성 실험 결과, 은이 25 ppm 이상 함유된 용해액에서는 하루 이상 배양시켰을 때 독성을 나타내었고 이 이하의 은 농도에서나 저농도의 구리 함유 용해액에서는 96시간까지 배양시켰을 때 독성을 거의 나타내지 않았다.

감사의 글

본 연구는 1994년도 한국과학재단 협력연구과제지원(과제번호: 94-06-00-02-3)에 의해 이루어진 것으로 이에

감사드립니다.

REFERENCES

1. R.K. Iler, Chemistry of Silica, pp. 161-164. Wiley-interscience, 1979.
2. 小西明男, "水溶性ガラス-防菌, 防霉, 防汚用-", *New Glass*, (1), 40-44 (1983).
3. Le A. Krisky, 銀處理水, 1987.
4. 김형일, "은 ion의 항균 작용에 관한 연구," 석사 학위논문, 단국대학교, 1989.
5. 뉴-ガラスハンドブック, 뉴-ガラスハンドブック編輯委員會 編, pp. 542-544, 丸善株式會社, 東京, 1991.
6. ガラス組成データブック, 日本硝子製品工業會, 技報堂, 東京, p. 237, 1991.
7. 山本幸一, "抗菌抗霉粉末ガラス," *New Glass*, 8(1), 40-44 (1993).
8. D.E. Clark, C.G. Pantano Jr., and L.L. Hench, Corrosion of Glass, pp. 1-4, Books for Industry and the Glass, New York, 1979.
9. L.L. Hench, "Physical Chemistry of Glass Surface," *J. Non-Cryst Solids*, 25, 343-369 (1977).
10. R.W. Douglas and T.M.M. El-Shamy, "Reactions of Glasses with Aqueous Solutions," *J Am Ceram. Soc.*, 50(1), 1-8 (1967).
11. K.B. Harvey, C.D Litke and C.A. Boase, "The Dissolution of a Simple Glass, Part 2. Behavior in Closed Glass/Water System." *Phys. Chem. Glasses*, 289(1), 11-16 (1987).
12. D.M. Sanders and L.L. Hench, "Mechanisms of Glass Corrosion," *J. Am. Ceram Soc.*, 56(7), 373-377 (1973).
13. B.C. Bunker, G.W. Arnold and J.A Wilder, "Phosphate Glass Dissolution in Aqueous Solutions," *J. Non-Cryst. Solids*, 64, 291-316 (1984).
14. A.E.R. Westman and Joan Crowther, "Constitution of Soluble Phosphate Glasses," *J Am Ceram. Soc.*, 37(9), 420-427 (1954).
15. 作花濟夫, "ガラスの辭典," 朝倉書店, 東京, 1985.