

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

오승한 · 조종호* · 최세영 · 오영제**

연세대학교 세라믹공학과

*삼성전관 주식회사

**한국과학기술연구원 세라믹스부

(1996년 10월 31일 접수)

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

Seung-Han Oh, Jong-Ho Jo*, Se-Young Choi and Young Jei Oh**

Department of Ceramic Engineering, Yonsei University

*Samsung Display Device Co., Ltd.

**Division of Ceram., Korea Institute of Sci. and Tech.

(Received October 31, 1996)

요 약

은 이온과 구리 이온을 동시에 함유하는 살균용 인산염계 수용성 유리를 용융법으로 제조하였다. 분말상의 유리 시편을 상온의 증류수에 넣어 조성과 시간에 따른 용해 특성을, bulk상 시편에 대해서는 용해 전·후의 표면변화를 각각 관찰하였고, 살균 효과 및 세포독성을 평가하였다. 은 이온:구리 이온=1:1 인 조성에서 최대 용해량을 나타내었으며 용해거동은 초기부터 total dissolution이 지배적이었다. 시간의 경과에 따라 용해는 진행이 되지만, 표면에 생성되는 새로운 층은 관찰되지 않았다. *Pseudomonas sp.*, *e. coli*, *staphylococcus aureus*, 및 *salmonella*균에 대한 살균 효과는 용해량의 증가에 따라 증가하여 우수한 살균효과를 나타내었다. L929 세포에 대한 독성 실험 결과, 은 이온의 농도가 10 ppm 이상에서만 독성을 나타내었다.

ABSTRACT

Water-soluble phosphate glasses containing Ag and Cu ion were prepared through melting process. Dissolution characteristics, bactericidal effect and cytotoxicity were investigated with composition and time in D. I. water using the powdered sample. Surface change were observed with increasing dissolution time using the bulk specimen. Dissolution amount was maximum at the molar Ag:Cu ratio of 1 and increased with increasing time. The behavior of dissolution was total dissolution from the early stage. But no new layer was observed at the glass surface during dissolution. The bactericidal effect for *pseudomonas sp.*, *e. coli*, *staphylococcus aureus*, and salmonella increased with increasing dissolution amount and therefore great bactericidal effect appeared. The result of cytotoxicity experiment to L929 showed that solution with more than 10 ppm of Ag ion had strong cytotoxicity.

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

1. 서 론

유리는 일반적으로 화학적 내구성이 뛰어난 공업재료이지만, 화학적 내구성은 화학조성에 따라 다르며, 또 같은 조성이라도 침식액의 종류나 농도, 유리의 표

면상태 및 침식조건 등에 따라서도 다르다. 지금까지는 유리의 화학적 내구성을 더 향상시키기 위해서 조성의 다양화와 표면처리 등에 의한 연구가 많이 진행되어 왔다.¹⁾ 그러나, 이를 거꾸로 생각하면 조성의 변화 등을 통하여 화학적 내구성이 좋지 않은 유리, 즉 물에 용해

되기 쉬운 수용성 유리의 제조가 가능하다.²⁾ 이러한 idea를 기초로 하여 실용화를 도모하고 있는 것으로는 유리비료나 방귀, 방미, 방오용의 수용성 유리를 예로 들 수 있으며, 유리의 쉬운 성형성을 이용하여 분말상, 섬유상 및 구슬 등 여러 가지 형태로 응용이 가능할 뿐만 아니라 조성의 변화에 따라 용해속도의 조절이 가능하여 장기간에 걸쳐 지속적으로 사용할 수 있고 생체계에 미치는 독성을 적게 할 수 있는 장점을 가지고 있다. 더욱이 최근 인구가 증가하고 산업이 집중화됨에 따라 생활하수의 많은 발생과 식수원의 오염이 심각한 사회 문제로 대두되고 있고, 물의 수요가 급증하고 있어 식수원의 오염을 방지하고 생활하수를 안전하게 처리할 수 있는 새로운 재료가 요구되고 있다. 그러므로, 수용성 유리에 살균 효과를 가진다고 알려져 있는 Ag^+ 나 Cu^+ , Cu^{2+} ^{3,4)} 등의 이온들을 함유시켜 살균효과를 가지는 수용성 유리의 제조를 기대할 수 있으며 다음과 같은 이유로 인하여 수용성 유리가 각광을 받는다. 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 망목 구조의 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.⁵⁾ 유리의 경우는 용출된 Ag^+ , Cu^+ , Cu^{2+} 등의 이온들이 망목 형성 산화물의 가교 산소와 결합을 하고 있거나, 4 배위의 붕소나 인에 결합하여 BO_4M^+ 나 PO_4M^+ 등의 구조단위를 형성하기 때문에 구리나 은의 이온들은 유리가 용해되어 용액 내에서도 그 상태가 그대로 안정하게 유지되는 것으로 추측되고 있다.⁶⁾ 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 것이다.⁷⁾ 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.

액체에 의한 유리의 침식은 대부분의 경우 유리중의 알칼리 이온이나 알칼리 토류 이온이 침식액 중의 성분과 이온교환으로 시작하여 장시간이 지난 후에는 유리 골격을 형성하는 망목을 절단, 더 나가서는 표면층의 용출 또는 박리까지 진행한다. 따라서 규산염계 유리의 경우는 이온교환에 의한 용액의 pH 상승을 가져오고 계속된 pH의 증가는 유리의 망목형성 산화물을 붕괴시키는 total dissolution의 단계로 전이되어 전체적인 유

리의 붕괴가 이루어진다. 하지만 규산염계 유리의 경우는 이온교환에 의한 선택적 용출단계에서 silica가 표면에 용출되어 새로운 층을 형성하기 때문에 total dissolution이 일어나기까지는 상당한 시간을 필요로 한다.^{8,12)} 그렇기 때문에 규산염계 유리를 이용하여 살균 특성을 가진 금속 이온을 함유한 수용성 유리를 제조하였을 경우 우수한 화학적 내구성으로 인하여 금속이온의 용해량이 많아야 하는 수용성 유리로서의 사용에는 문제점이 있다. 따라서, 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 연구에서는 Ag^+ , Cu^+ , Cu^{2+} 등의 금속이온을 동시에 함유하는 인산염계 수용성 유리를 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 비교 평가하였다.

2. 실험 방법

2.1. 유리의 제조 및 용출 실험

2.1.1. 수용성 유리의 제조

본 연구의 전체적인 실험 공정도는 Fig. 1과 같다. 망목 형성 산화물인 P_2O_5 의 공급원으로는 H_3PO_4 (Duksan Pharmaceutical Co. Ltd., 85%, Korea)를, 은 이온의 공급원으로는 Ag_2O (Kojima Chemical Co. Ltd., 99%, Japan)를, 구리 이온의 공급원으로는 Cu_2O (Kanto Chemical Co. Ltd., 92%, Japan)를 각각 사용하였다. 위의 원료들을 조성에 따라 batch로 한 후, 알루미늄나 도가니에 담아 800~1200°C의 온도범위에서 용융하였다. 유리 용융액은 구리관에 부어 급냉시켜 모유리를 제조하였으며, Table 1에 실험에 사용된 시편 유리들의 조성을 나타내었고, Fig. 2는 제조된 유리의 유리 형성 범위 중에서 본 실험에 사용된 유리의 조성영역을 나타내었다.

2.1.2. 분말 시편 제조

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

2.1.3. Bulk 시편 제조

용해 후 유리 표면의 변화를 관찰하기 위하여 2.1.1과

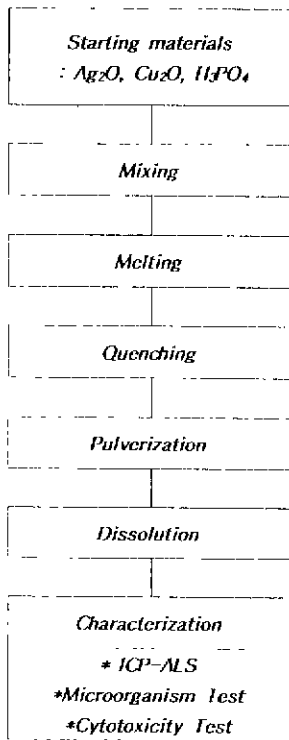


Fig. 1. Schematic diagram of experimental procedures.

Table 1. Compositions of the Glasses.

Specimen	Composition
AC3010	30Ag ₂ O-10Cu ₂ O-60P ₂ O ₅
AC2515	25Ag ₂ O-15Cu ₂ O-60P ₂ O ₅
AC2020	30Ag ₂ O-10Cu ₂ O-60P ₂ O ₅
AC1525	30Ag ₂ O-10Cu ₂ O-60P ₂ O ₅

같이 제조한 모유리를 육면체가 되도록 자른 후, 각 면을 220, 800, 1000, 1200번의 연마용 SiC paper와 입경 0.03 μm의 연마용 알루미나 분말로 ethanol을 사용해 차례로 연마하여 bulk 시편을 제조하였다.

2.1.4. 용해 실험

제조된 분말 시편 0.2 g 당 100 ml의 D. I. water를 사용하여 상온의 PE 병 안에 넣어 상온에서 용해시간을 1~48 시간으로 변화시키며 실시하였다. 용해 후 용해액은 여과지(Watman 40, England)로 여과하였다.

2.1.5. 분석 및 측정

용해 전·후 용액에 대한 pH의 변화는 microprocessor pH meter(SP-2000A, Suntex, Taiwan)를 사용하여 측정하였고, 용해 후 용해액 내의 각 성분 원소 분석과 용해기구의 규명을 위해 분말 시편의 용해 후 용해액 내의 각 성분 원소의 농도를 ICP-AES(ICP S1000 III,

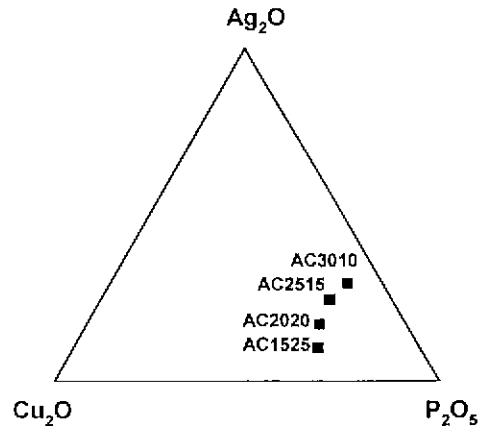


Fig. 2. Glass forming region of the system Ag₂O-Cu₂O-P₂O₅(mol %)

Shimadzu, Japan)로써 2회씩 분석하여 평균으로 값을 구하였다.

Bulk 편이 용해 전 후의 표면 변화를 관찰하기 위하여 광학현미경(Optical microscope, Optiphot, Nikon, Japan) 과 SEM(Scanning electron microscope, S 2700, Hitachi, Japan)을 사용하여 분석하였고, 용해 전·후 bulk 시편 표면 화학결합의 변화를 관찰하기 위하여 IRRS(1800 FT/IR, Perkin Elmer, Germany)로써 측정하였다.

2.2. 살균 효과 측정

Staphylococcus aureus, *pseudomonas sp*, *e. coli*의 세 가지 그람 양성 및 음성 세균 균주와 *salmonella* 균주를 미리 제조한 전배양 배지에 무균적으로 접종하여 12 시간동안 전배양한 후 유리 용해액과 증류수를 각각 5 ml씩 넣은 test tube에 전배양한 균주를 5 vol %가 되게 접종하고 시간을 변화해가며 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

위의 피하조직 내 섬유세포에서 주화한 L929 세포와, 5%의 우태아혈청(fetal calf serum)이 첨가된 Eagle's minimum essential medium (Eagle's MEM, Ha-

zleton Biologic, Inc., U.S.A.)에 1 m²당 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 4~5 일에 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 4일째에 실험액과 접촉하지 않고 정상적으로 성장한 control의 세포가 지수증식에 있어 2.8×10⁴ 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±1°C, 탄산가스 농도 5%의 항온기에서 24시간 배양하여 세포를 부착시킨 다음, 4, 24, 48시간 동안 용해시킨 AC3010, AC2515, AC2020, AC1525의 용해액들을 autoclave시켜 MEM 배지(x2)로 2배 희석한 후 0.10 ml씩 분주하여 항온기에서 24, 48, 96 시간씩 배양하였다. control에는 MEM(x1)배지 0.10 ml 만을 분주하였다. 각각의 배양이 끝나는 날 phosphate-buffered saline (PBS)에 녹인 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, C₁₈H₁₆N₅SBr(MTT) 용액(5 mg/ml) 0.05 ml를 각 well에 넣고 4시간 배양한 후 배지와 MTT 용액을 버리고 여기에 다시 dimethylsulfoxide (DMSO) 0.05 ml를 각 well에 넣고 결정이 남아 있지 않

도록 잘 혼든 후에 ELISA reader(Model E1 308, Biotek Instruments Inc., U.S.A)로 570 nm의 파장범위에서 각 조건당 4개의 시편에서 흡광도(optical density)를 측정하여 세포독성 정도를 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 인산염계 수용성 유리의 용해 특성

Fig. 3은 은 이온과 구리 이온을 동시에 함유하는 AC3010, AC2515, AC2020, AC1525 조성의 유리의 시간에 따른 용해량을 P₂O₅의 양으로서 비교하여 나타낸 것으로 각 유리 조성에서 이 시편들의 P₂O₅의 양은 모두 60 mol %로 같았고 이때 Ag:Cu의 양은 AC3010, AC2515, AC2020, AC1525의 순서로 Ag가 많지만 P₂O₅의 용해량은 이중 Ag:Cu의 몰 비가 1:1인 AC2020 유리에서 다른 시편들의 P₂O₅의 용해량의 수십에서 백 배 이상으로 훨씬 많음을 보여주고 있다. 유리에서 나타나는 anomaly 현상¹⁷⁾이란 유리의 조성에 물성의 linear additivity로 부터의 모든 deviation으로, 어느 특정 조성비에서 물성의 최대 혹은 최소값을 가지게 된다. 본 실험에서 보여지는 용해거동은 여러 가지 anomaly현상 중에서 공존하는 이온들에 의한 현상으로 Ag 대 Cu의 몰 비가 1:1일 때 화학적 내구성이 최소로 용해량의 최대값을 가져오는 결과를 보여주고 있다.

위의 시편들 중 AC2020 유리에 대하여 용해 시간에 따른 각 성분 원소들의 용해량을 Fig. 4에 나타내었고,

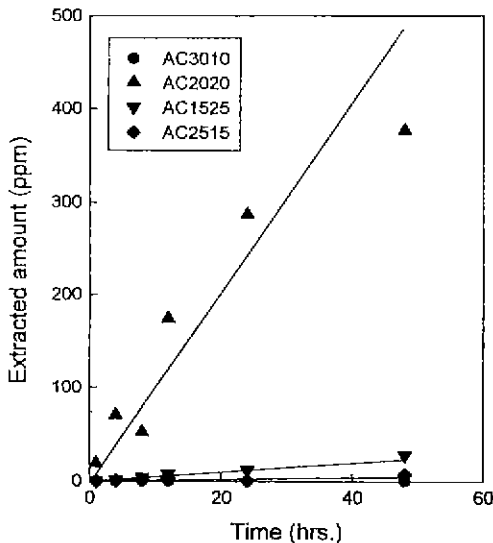


Fig. 3. Change of dissolved P amount with dissolution time of the glass AC3010, AC2515, AC2020 and AC1525.

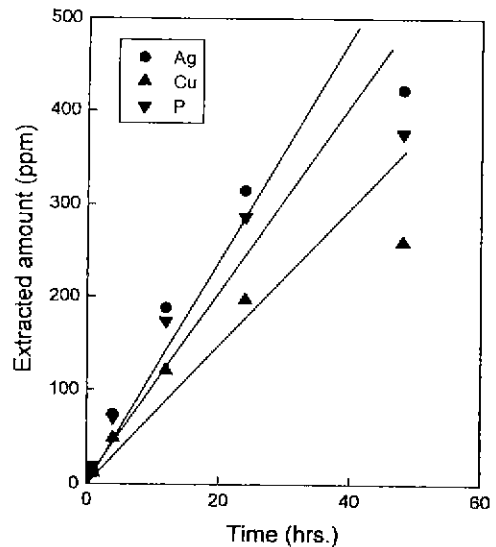


Fig. 4. Change of extracted Ag, Cu and P amount with dissolution time of the glass AC2020.

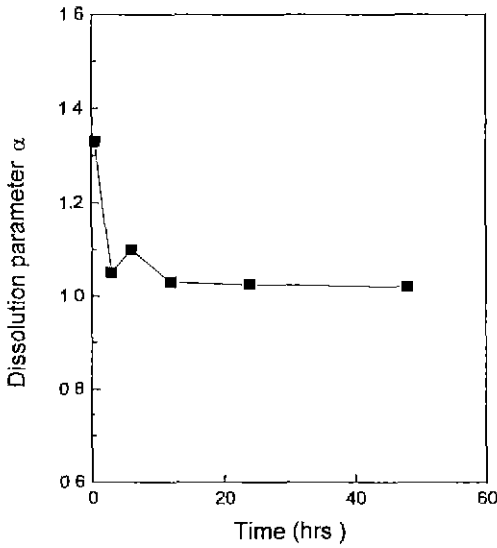


Fig. 5. Dissolution parameter change during the dissolution of the glass AC2020.

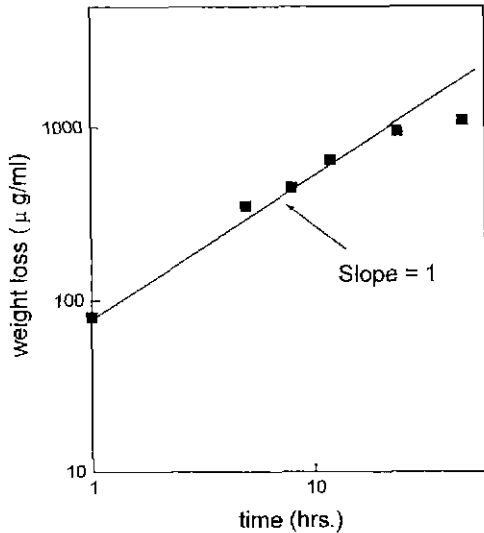


Fig. 6. Weight loss vs. dissolution time of the glass AC2020. (calculated)

이 값들로부터 dissolution parameter^{9,12)}와 시간 대 무게 감량을 log로 계산한 값을 구하여 Fig. 5과 6에 나타내었다. 여기에서 dissolution parameter α 란 용해의 단계를 나타내어 주는 parameter로서 일반적으로 아래의 식으로 나타내어진다.

$$\alpha = \frac{Y(\text{solution})}{X(\text{solution})} \cdot \frac{Y(\text{glass})}{X(\text{glass})}$$

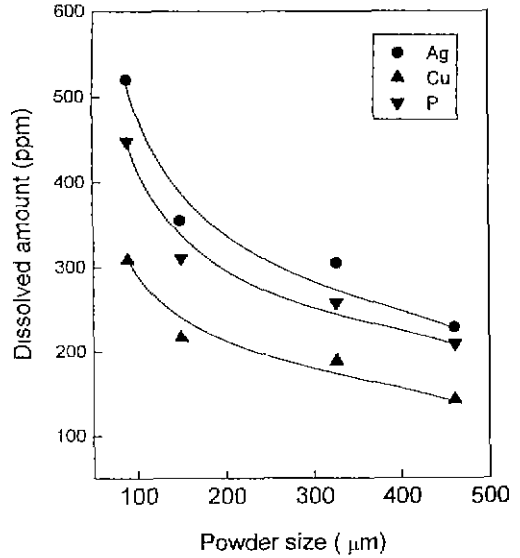


Fig. 7. Change of dissolved Ag, Cu and P amount with powder size of the glass AX2020. (Dissolved for 12 hrs.)

$$= \left(\frac{\text{PPM SiO}_2}{\text{PPM R}^+} \right) \left(\frac{\text{MW R}^+}{\text{MW SiO}_2} \right) \left(\frac{P_m}{1-P_m} \right)$$

여기서, Y는 SiO₂의 몰 수, X는 금속 산화물의 몰 수, P_m은 유리 내에서의 금속 산화물의 몰 수, MW는 분자량, PPM SiO₂는 용액 내의 SiO₂의 농도, PPM R⁺은 용액 내의 금속 이온의 농도이다. 원래 유리 조성에서의 각 성분들의 몰 비와 용해액 내의 각 성분들의 몰비가 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 전체적인 망목의 붕괴를 가져오는 total dissolution이 우세하면 1에 가까운 값을 갖게 된다. 본 실험에서는 dissolution parameter는 용해 시간에 관계없이 계속 1 이상의 값을 가짐이 관찰되고 있고, 은과 구리를 각각 함유한 수용성 유리¹⁶⁾와 비교해보면 log단위로 표현된 용해 시간 대 무게 감량의 그래프는 기울기가 0.5(선택적 용출)에서 1 (total dissolution)로 전이하지 않고 처음부터 기울기 1의 직선을 따라가고 있다. 이런 결과로부터 은 이온과 구리 이온을 각각 함유한 유리와는 달리 동시함유한 AC2020 유리의 용해는 용해의 시작부터 total dissolution이 지배적임을 알 수 있다. Fig. 7에 AC2020 유리에 대하여 시편 분말의 크기에 따른 용해량을 나타내었다. 용해란 유리와 물과의 계면에서 발생하는 반응이기 때문에 일정한 무게의 분말 시편에

대하여 분말의 입도가 커짐에 따라 분말 시편 전체의 표면적이 감소하므로 용해량이 적어지는 결과를 보이고 있다.

용해가 진행되는 동안 용해량이 컸던 AC2020, AC1525 유리의 용해액의 pH의 변화를 Fig. 8에 나타내었다. 실험에 사용한 D. I. water의 용해 전 pH는 4.85였고 용해가 진행됨에 따라 pH 값은 계속 감소하는 경향을 보였다. 규산염계 유리에서는 알칼리 이온과 OH기의

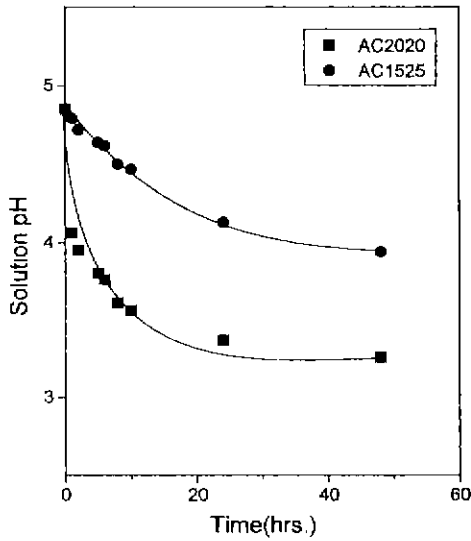
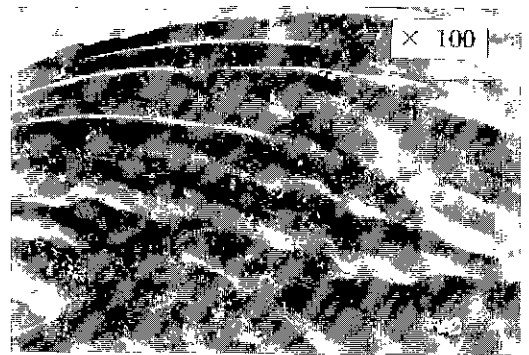
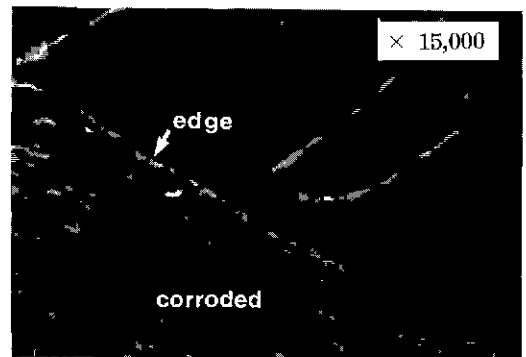


Fig. 8. Solution pH change during the dissolution of the glass AC1525 and AC2020.

이온교환에 의해서 용액 내의 pH는 염기 쪽으로 진행하게 되는 반면, 인산염계 유리에서는 P₂O₅가 물 속으로



a) Surface



b) Fractured surface

Fig. 10. SEM photographs of the corroded surfaces of the glass AX2020. (Dissolved for 96 hrs.)

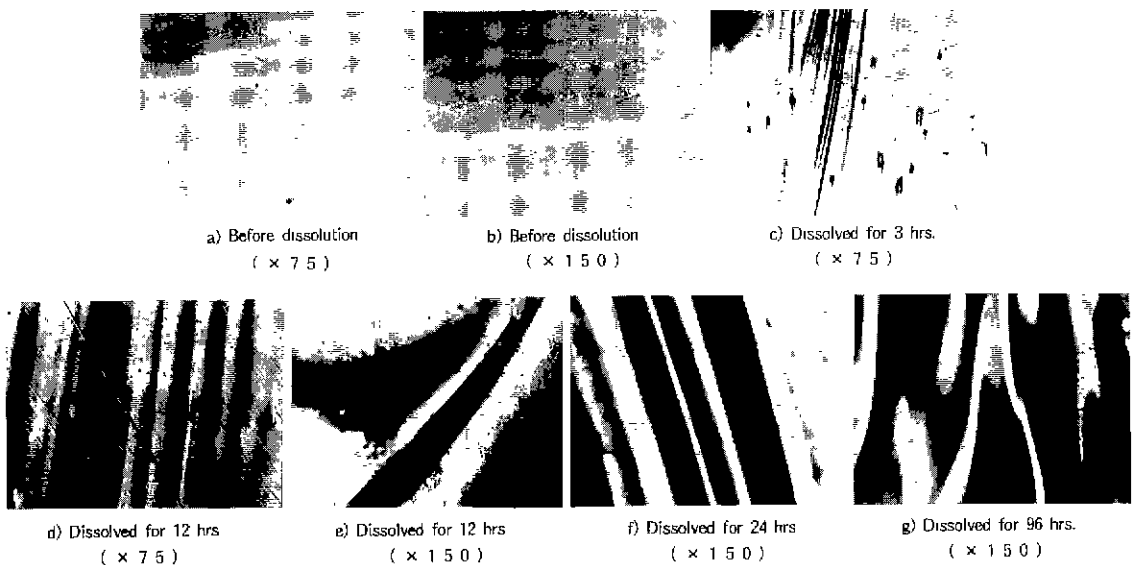


Fig. 9. Photographs of the corroded surfaces of the glass AX2020.

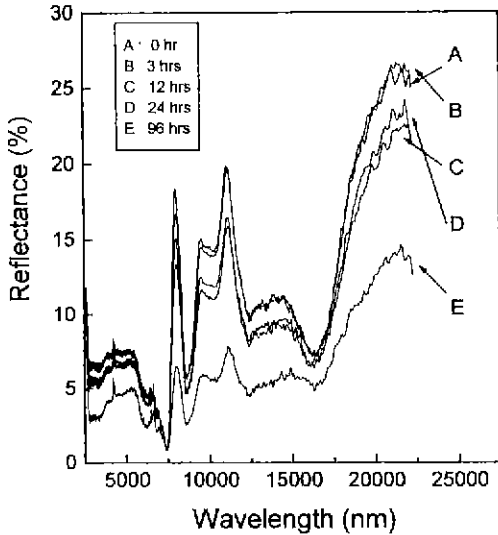


Fig. 11. IR reflection of the glass AC2020 corroded for various time.

용해되어 나오면서 인산을 형성하기 때문에 반대로 pH가 산성 쪽으로 이동하게 된다.

Bulk상 AC2020 유리의 용해의 진행에 따른 표면 상태의 변화를 광학 현미경과 SEM으로 관찰하여 Fig. 9과 10에 나타내었다. 용해 전의 사진과 비교해보면 3시간 용해 후 유리 표면에는 바늘로 긁은 듯한 자국이 보이고 있고 시간이 계속 경과함에 따라 점점 굵은 줄의 형태로 용해가 진행되어 96 시간 후에는 유리 표면 전체에 큰 용기를 보여주고 있다. SEM 관찰로 96 시간 용해 후 표면의 roughness를 파단면과 비교하여 관찰할 수 있었으나 용해 표면에 새로운 층이 형성되었는지의 여부는 확인을 할 수 없었기 때문에 infrared reflection spectra를 비교함으로써 이를 간접적으로 확인하고자 하였으며 이를 Fig. 11에 나타냈다. 각 용해시간 후의 spectra를 비교해 보면 어떠한 peak의 이동이나 새로운 peak의 생성을 관찰할 수 없다. 규산염계 유리의 경우는 용해 후 표면에 알칼리의 용출에 의해 silica가 풍부하여 보호층 구실을 하는 새로운 층이 생성됨으로써 표면에서의 새로운 결합에 의한 peak의 이동이나 생성을 보이는데, 위의 결과로부터 용해된 유리의 표면에는 원래 유리와의 다른 어떠한 결합을 갖는 새로운 층도 형성시키지 않는다는 것을 알 수 있다.

3.2. 용해액의 살균효과

은 이온과 구리 이온을 동시에 함유하는 수용성 유리의 용해액이 *staphylococcus aureus*, *pseudomonas sp.*, *e. coli*의 그람 양성 및 음성 세균과 *salmonella*에 대해 나타

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

Glass	Dissolution time (hrs.)	Cell Conc.(CFU/ml) at the treatment time		
		2 hrs.	12 hrs.	24 hrs.
AC3010	Control	3.0×10^1	4.4×10^1	2.5×10^1
	1	7.5×10^1	5.5×10^1	1.4×10^1
	4	5.0×10^1	1.7×10^1	1.1×10^1
	8	1.6×10^1	2.1×10^1	2.5×10^1
	12	4.4×10^6	3.1×10^6	1.1×10^5
	24	3.5×10^6	2.0×10^6	9.7×10^4
	48	2.1×10^6	1.7×10^6	5.3×10^4
AC2515	1	5.3×10^6	3.5×10^6	1.4×10^6
	4	5.0×10^6	1.7×10^6	1.1×10^5
	8	4.5×10^5	2.1×10^5	2.5×10^4
	12	4.0×10^6	1.0×10^6	2.5×10^4
	24	3.2×10^6	7.7×10^5	7.8×10^4
	48	2.2×10^6	1.4×10^5	1.1×10^3
AC2020	1	3.3×10^6	1.1×10^4	0
	4	5.0×10^1	0	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
AC1525	1	5.5×10^1	3.5×10^5	1.5×10^3
	4	5.0×10^6	1.7×10^6	6.7×10^2
	8	1.6×10^6	2.1×10^6	2.3×10^2
	12	4.4×10^6	5.5×10^4	0
	24	3.5×10^6	1.2×10^4	0
	48	2.1×10^6	1.7×10^5	0

내는 살균 효과를 유리의 용해 시간과 세균의 배양 시간을 변화시켜가며 측정하여 Table 2~5에 나타내었다. 여기에서 control이란 처음 무균 상태에서 해당 시간동안 아무런 처리를 하지 않고 세균만을 배양하였을 때의 세균 수를 측정한 것이다. Table에서 보여주듯이 은과 구리를 단독으로 함유한 수용성 유리에 대한 살균능에 비하여¹⁶⁾ 은과 구리를 동시에 함유한 수용성 유리는 위 네 가지 세균들에 대하여 모두 뛰어난 살균능을 보여주고 있고, 은 이온이나 구리 이온의 용해량이 가장 많았던 AC2020 유리의 살균능이 가장 뛰어나다는 것을 알 수 있는데, 그람양성세균인 *staphylococcus aureus*에서 보다는 그람 음성 세균인 *pseudomonas sp.*, *e. coli*와 *salmonella*에 대해 더 큰 살균능을 보여주는 결과를 얻을 수 있었다.

3.3. 용해액의 세포독성 평가

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

Glass	Dissolution time (hrs.)	Cell Conc.(CFU/ml) at the treatment time		
		2 hrs.	12 hrs.	24 hrs.
AC3010	Control	1.5×10^1	1.7×10^1	6.8×10^6
	1	5.5×10^6	6.4×10^5	3.2×10^2
	4	4.8×10^6	1.2×10^5	0
	8	3.2×10^5	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
AC2515	1	7.4×10^6	1.2×10^4	3.3×10^2
	4	2.1×10^5	4.5×10^2	0
	8	1.5×10^4	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
	AC2020	1	0	0
4		0	0	0
8		0	0	0
12		0	0	0
24		0	0	0
48		0	0	0
AC1525		1	5.0×10^4	0
	4	6.8×10^4	3.2×10^3	0
	8	1.5×10^6	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 and Cu Containing Glasses.

Glass	Dissolution time (hrs.)	Cell Conc.(CFU/ml) at the treatment time		
		2 hrs.	12 hrs.	24 hrs.
AC3010	Control	8.4×10^1	6.0×10^1	1.1×10^5
	1	6.5×10^6	3.2×10^5	1.1×10^3
	4	5.2×10^6	6.4×10^4	0
	8	7.8×10^5	5.1×10^2	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
AC2515	1	7.2×10^1	3.3×10^5	1.6×10^3
	4	1.3×10^1	7.9×10^4	4.1×10^1
	8	5.6×10^1	1.3×10^1	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
	AC2020	1	0	0
4		0	0	0
8		0	0	0
12		0	0	0
24		0	0	0
48		0	0	0
AC1525		1	1.1×10^6	2.4×10^2
	4	5.0×10^5	0	0
	8	1.4×10^5	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0

각 유리의 용해액들이 생체에 미치는 독성을 관찰하기 위해 백서들을 대상으로 독성실험을 행하고 있으나 아직 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었기 때문에 MTT 검정법으로 세포독성을 평가하였다. 세포독성의 정도는 relative growth rate(R.G.R)로 평가하여 Table 6에 나타내었다. 이때, R.G.R(%) 값은 control의 흡광도와 실험 조건하에서의 흡광도의 백분율로 아래의 식으로 나타내어진다.

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

각 용해액들의 세포 독성 정도를 R.G.R 값을 기준으로 평가하여 Table 7에 나타내었다. 독성치가 0 이나 1 이면 독성을 무시할 수 있을 정도라고 할 때, 용해시간

이 하루 이상인 AC2020 유리의 용해액은 배양시간이 하루 이상만 되어도 독성이 검출되었다. 24시간 동안 용해시킨 AC2020 유리의 용해액 중 은의 농도는 약 300 ppm 이었고, 실험에 사용했던 용해액 중 그 다음으로 용해도가 높았던 AC1525 유리의 용해액 중 24 시간 용해시 은의 농도는 약 10 ppm 으로 독성이 거의 없는 것으로 판정되었으나 48 시간 용해했을 경우 약 25 ppm으로 독성이 있는 것으로 판정되었으므로, 은의 농도가 10 ppm 이상이 되면 세포에 독성을 미칠 가능성이 있는 것으로 추정할 수도 있으나, 독성에 영향을 미치는 인자는 용해에 따른 용액의 산성화도 영향을 미친다고 추정할 수 있으며, 이러한 원인에 대한 규명은 앞으로 더 연구해야 한다고 생각한다. 그 이외의 은과 구리 이온을 함유한 용해액에서는 어디에서나 독성이 거의 없든지 아니면 단지 무시할 수 있는 정도의 독성만이 검출되었다.

Table 5. Change of *Salmonella* Attacked by the Solution after Dissolution of Ag and Cu Containing Glasses.

Glass	Dissolution time (hrs.)	Cell Conc.(CFU/ml) at the treatment time		
		2 hrs.	12 hrs	24 hrs.
AC3010	Control	3.5×10^4	7.5×10^3	8.0×10^1
	1	3.1×10^3	2.4×10^1	0
	4	8.9×10^2	1.1×10^1	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
AC2515	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
AC2020	1	0	0	0
	4	0	0	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0
AC1525	1	1.1×10^3	0	0
	4	0	0	0
	8	0	0	0
	12	0	0	0
	24	0	0	0
	48	0	0	0

Table 6. Definition and Classification of Cytotoxicity Scores Based on Relative Growth Rate (R.G.R.).

Classification	Score	R.G.R.(%)
Noe	0	≥ 100
Weak	1	75~99
Moderate	2	50~74
Marked	3	25~49
Strong	4	1~24
Extreme	5	0

4. 결 론

용융법으로 제조한 은 이온과 구리 이온을 동시에 함유하는 인산염계 수용성 유리의 용해특성, 살균효과 및 세포독성에 대한 실험의 결과는 다음과 같다.

1. 은 이온과 구리 이온을 동시에 함유하고 있는 유리

Table 7. Cytotoxicity Scores Based on Relative Growth Rate (R.G.R.).

Glass	Incubation time (hrs.)	Dissolution time (hrs.)		
		4	24	48
AC3010	24	0	1	1
	48	0	1	1
	96	1	1	2
AC2515	24	0	1	0
	48	1	1	1
	96	1	1	2
AC2020	24	4	4	4
	48	4	4	4
	96	4	4	4
AC1520	24	0	1	4
	48	1	1	4
	96	1	2	4

의 용해속도는 두 이온의 몰비가 1:1일 때 최대를 나타내었으며 이 비에서 멀어질수록 용해량은 감소했고, 용해는 은과 구리를 각각 함유한 수용성 유리와는 다르게 처음부터 total dissolution이 지배적이었다. 용해시 새로운 층을 형성하는 규산염계 유리와는 다르게 용해가 진행되어도 표면에는 어떠한 새로운 층도 생성되지 않았다.

2. *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas sp.*, *e. coli*의 그람 양성 및 음성 세균과 *salmonella*균에 대한 살균실험 결과, 20Ag₂O-20Cu₂O-60P₂O₅ 유리의 살균능이 은과 구리를 각각 함유하는 수용성 유리에 비하여 더 우수함을 나타냈다.

3. *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas sp.*, *e. coli*의 그람 양성 및 음성 세균과 *salmonella*균에 대한 살균실험에 있어서 그람 양성 세균인 *staphylococcus aureus*에서 보다는 그람 음성 세균인 *pseudomonas sp*나, *e. coli* 와 *salmonella*에 대해 더 큰 살균효과를 나타냈다.

4. L929 세포에 대한 독성 실험 결과, 은의 농도가 약 10 ppm 이상일 경우에 독성이 있는 것으로 판정되었고, 그 이외의 용해액에서는 어디에서나 독성이 거의 없든지 아니면 단지 무시할 수 있는 정도의 독성만이 검출되었다.

감사의 글

본 연구는 1995년도 한국과학재단 협력연구과제지원(과제번호 94-06-00-02-3)에 의해 이루어진 것으로 이

에 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), pp. 40~44 (1983).
3. Le A. Krisky, *銀處理水*, 1987.
4. 김형일, 은 ion의 항균 작용에 관한 연구, 석사 학위 논문, 단국대학교, 1989.
5. 최세영, 수용성 유리; -방균, 방미, 방오용-, 요업재료의 과학과 기술, 8(4), pp. 381~390 (1993)
6. *ニューガラスハンドブック*, *ニュー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.
7. *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, pp. 237, 1991.
8. L. L. Hench, "Physical Chemistry of Glass Surface," *J. Non-Cryst. Solids*, 25, pp. 343~369 (1977).
9. 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.
10. R. W. Douglas, and T. M. M. El-Shamy, "Reactions of Glasses with Aqueous Solutions," *J. Am. Ceram. Soc.*, 50(1), pp. 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*, 28(1), pp. 11~16 (1987).
12. D. M. Sanders, and L. L. Hench, "Mechanisms of Glass Corrosion," *J. Am. Ceram. Soc.*, 56(7), pp. 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, pp. 291~316 (1984).
14. A. E. R. Westman, and Joan Crowther, "Constitution of Soluble Phosphate Glasses" *J. Am. Ceram. Soc.*, 37(9), pp. 420~427 (1954).
15. 作花濟夫, "ガラスの辭典," 朝倉書店, 東京, 1985.
16. 조종호, 이용근, 최세영, 신철수, 김경남, "용융법에 의한 수용성 유리의 제조 및 특성(I): 용해특성, 살균 효과 및 세포 독성" *한국요업학회지*, 32(10), pp. 1093~1102 (1995).
17. Milo B. Volf, *Chemical Approach to Glass*, pp. 103~119, Elsevier Science Publishing Company, New York, 1984.