creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

[UCI]I804:24011-200000265444

2016년 2월

석사학위 논문

은-시트레이트 나노로드 및 항균효과

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 과

장 형 주

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

은-시트레이트 나노로드 및 항균효과

Silver Citrate Nanorods and Their Antimicrobial Activity

2016년 2월 25일

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 과

장 형 주

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

은-시트레이트 나노로드 및 항균효과

지도교수 임 종 국

이 논문을 이학석사학위신청 논문으로 제출함.

2016년 2월

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 과

장 형 주

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

장형주의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 이 범 규 (인)

위 원 조선대학교 교수 이 종 대 (인)

위 원 조선대학교 교수 임 종 국 (인)

2016년 2월

조 선 대 학 교 대 학 원

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

TABLE OF CONTENTS

TABLE OF CONTENTS I
Abstract II

Silver Citrate Nanorods and Their Antimicrobial Activity

1. 소 개 2
2. 실 험 5
2.1 사용된 시약 5
2.2 은 나노입자가 함유되지 않은 은-시트레이트 나노로드 6
2.3 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드 7
2.4 은-시트레이트 나노로드 측정 8
3. 실험결과 및 토의 9
3.1 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 나노로드 9
3.2 은 나노입자가 함유되어 있는 은-시트레이트 나노로드 13
3.3 은-시트레이트 항균테스트 21
4. 결 론 25
5. 참고문헌 26

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Abstract

Silver Citrate Nanorods Synthesized by Mechanical Stirring and Their Antimicrobial Activity

Jang, Hyung Ju
Advisor : Prof. Lim, Jong Kuk, Ph.D,
Department of Chemistry,
Graduate School of Chosun University

Silver has been known as biocidal materials for a long time. In 1800s', $AgNO_3$ solutions were frequently used in clinical space for the premature baby or the patient of burn wounds. However, their action mechanism is not still clear, and several plausible mechanisms have been suggested. Since many organic molecules also have antimicrobial activity, people expected some synergistic effect or complexes of silver and organic molecules. Recently, it has been reported that silver citrate complexes prepared in amorphous bulk can exhibit strong antimicrobial activity. Herein, we introduce antibiotic silver citrate nanorods, which are prepared by just mechanical stirring the mixture of $AgNO_3$ and sodium citrate solutions. The silver citrate nanorods are characterized using scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and X-ray diffractometry (XRD). The silver citrate nanorods showed antimicrobial activity stronger than silver sulfadiazine which is generally used in clinical space.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Silver Citrate Nanorods and Their Antimicrobial Activity

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

1. 소 개

인체에 유해한 다양한 박테리아 및 세균들에 의한 피해가 많이 있었다. 살모넬라균, 포도상 구균, 대장균등 다양한 유해 박테리아 및 세균들을 일상생활 중에서 접하고 있다. 이러한 박테리아 및 세균의 피해를 방지 또는 치료하기 위해 많은 항생제, 추출물들이 개발되고 있다. 하지만 이에 내성을 갖는 새로운 박테리아 및 세균들이 출현함으로써 질병치료에 난항을 겪고 있다 [1]. 이러한 내성을 가지고 있는 박테리아 및 세균에 항균효과를 갖는 물질의 개발이 증가하고 있다. 은이 다양한 세균에 대해 미생물 불활성화 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다. 식기나 수저 등의 생활용품에도 사용되어 왔고, 예로부터 항균과 아주 밀접한 관련을 가지고 있는 금속이다. 은(Silver)은 미생물 체내의 신진대사 기능을 억제하여 유해 세균을 죽이는 것으로 알려져 있다 [2]. 은의 항균 역할이 쓰인 예로 약 6000년 전 고대 이집트에서 상처부위를 은을 얇게 펼쳐 만든 은박으로 감싸였고, 물을 살균하기 위해 은으로 만든 주전자를 이용하여 물을 끓여 먹거나 저장하였다. 또한 나폴레옹 전쟁 때 당시 식수가 병원균으로 오염되어 있었다. 병사들은 주석으로 된 물 컵을 장교들은 은으로 된 물 컵을 사용하였고, 병원균으로 오염된 물을 은이 항균작용을 하여 은컵을 사용한 장교들만 살아남았다고 한다. 19세기 중반은 화합물을 의료현장에 처음 사용한 사람은 독일인 산부인과 의사인 크레데 박사 였다. 19세기 전 유럽에는 임균성 결막염으로 인하여 신생아들의 눈이 머는 일이 많이 발생했다. 크레데 박사는 1%의 질산은 용액을 신생아용 안약으로 사용하였다. 그 결과 임균성 결막염이 예방되거나 치료가 되는 임상효과를 얻게 되었으며, 지금까지 “크레데 점안법” 으로

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

알려졌다. 크레데 박사의 질산은 용액을 사용한 점안법이 알려지자 의사들은 당시 난치병으로 알려진 매독의 치료와 각종 박테리아 및 바이러스성 감염질환에 질은용액을 투약하기에 이르렀다. 현재 은이 함유된 연고를 화상치료제로 사용 하고 있다. 화상을 입게 되면 세균감염에 취약해 지게 된다. 이때 은의 항균효과를 이용해서 감염을 막고 화상을 치료하는 Silver sulfadiazine 연고가 시중에 많이 이용되고 있다. 모두 은으로 만든 도구가 항균 작용을 나타냈기 때문이다. 최근 나노기술이 발전하면서 기존 벌크상태의 은보다 은 나노 구조물이 뛰어난 항균 효과를 나타낸다는 사실을 확인 하였다. 은 나노입자의 항균효과 성능은 2004년 Sondi 연구팀에 의해보고 되었다. 은 나노입자 용액에 대장균을 넣었을 때 대장균의 세포막 손상에 관한 실험을 하였다 [3]. 은 이온의 항균효과를 나타내는 메커니즘은 은 나노 입자는 물속에 산소와 반응하여 산화되어 은이온을 방출하고 활성산소 종을 만들어낸다. 물 분자가 은 이온에 의해 산화가 일어나고 H^+ 와 OH 라디칼로 전환되고 활성산소 종류를 생성하게 된다. 그리고 은 이온은 다시 전하를 띄지 않는 Ag0의 상태로 된다 [4]. 여기서 발생된 활성화 산소는 미생물의 세포질 막에 있는 K^+ 이온 을 방출시킴으로써 미생물을 불활성화 시키는 메커니즘이 알려져 있다. 또한 효소 등의 단백질을 구성하고 있는 아미노산의 하나인 시스테인(cysteine)의 -SH기와 은 이온이 반응함으로써 S-Ag가 형성되어 미생물을 불활성화 시킨다고 알려져 있다 [5,6,7]. 은 나노입자는 박테리아 표면의 음이온에 정전기적 인력에 의해 흡착이 잘된다. 흡착한 뒤 세포막의 기능인 투과성과 호흡 작용을 방해하고 더 나아가 세포 안으로 투입되어 단백질의 기능을 저하시키거나 DNA 손상을 유발함으로써 불활성화 되는 것으로 추측되고 있다 [8]. 은 나노 구조물을 항균제로 상용

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

화 시키려는 많은 연구가 진행 되고 있다. 이번에 합성한 나노로드는 기존에 많이 알려진 한 가지 물질로 이루어 지지 않은 와이어 이다. 은과 소듐 시트레이트가 결합이 되어있는 은 시트레이트 나노로드 형태에 은 나노입자가 함께 있는 나노로드를 발견 하였다. 기존에 은 시트레이트와 은 나노입자는 각각 항균효과를 가지고 있다고 밝혀져 있다. 또한 항균성을 가지고 있는 두 가지 물질을 함께 사용하면 시너지 효과가 있다고 알려져 있다. 그리고 나노로드 모양의 복합체는 재생의학에 사용된다고 알려져 있다. 이에 따른 은 나노입자와 은 시트레이트를 결합한 와이어를 체계적인 항균테스트 연구가 진행 중이다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2. 실 험

2.1 사용된 시약

질산은 ($AgNO_3$, 99.9+%)은 Alfa Aesar 로부터 구입하였으며, 소듐 시트레이트 (Trisodium citrate dihydrate, $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$, 99.0%)는 덕산에서 구입하여 사용하였고, 은 설파디아진 ($C_{10}H_9AgN_4O_2S$, >98.0%) TCI에서 구입하여 사용하였다. 사용된 증류수는 고순도로 정제된 증류수(18.2MΩcm)로서 QPAK1 (MILLI Pore)를 사용하여 제조되었다. 모든 시약은 재결정 없이 사용되었다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2.2 은 나노입자가 함유되지 않은 은-시트레이트 나노로드

은나노입자가 함유되지 않은 은-시트레이트 나노로드 용액은 질산은($AgNO_3$) 용액과 소듐 시트레이트 ($Na_3C_6H_5O_7$) 용액을 각각 준비한 뒤에 이를 혼합하여 제조한다. 질산은 용액이 물에 용해되어 Ag^+와 NO_3^-가 되고 소듐 시트레이트 용액은 $3Na^+$와 $C_6H_5O_7^{3-}$가 된다. 용액중 $3Ag^+$와 $C_6H_5O_7^{3-}$가 만나 $Ag_3C_6H_5O_7$이 된다. 반응식은 아래와 같다 [9].

$$3AgNO_3 + Na_3C_6H_5O_7 \rightarrow Ag_3C_6H_5O_7\downarrow + NaNO_3.$$

소듐 시트레이트 용액으로 만들 경우 용액의 pH는 7로 중성이다. 소듐 시트레이트를 이용하지 않고 시트르산을 이용할 경우에도 은-시트레이트가 만들어지긴 하지만 같이 생성되는 질산에 의해 침전물이 녹아 생성된 은-시트레이트 화합물은 용해된다. 반응식은 아래와 같다.

$$3AgNO_3 + H_3C_6H_5O_7 \longleftrightarrow Ag_3C_6H_5O_7 \downarrow + 3HNO_3.$$

수산화나트륨과 시트르산을 같이 사용할 경우에는 다음과 같은 반응이 일어나 은-시트레이트 화합물이 형성된다.

$$2AgNO_3 + 2NaOH \rightarrow Ag_2O\downarrow + 2NaNO_3 + H_2O$$
$$3Ag_2O\downarrow + 3H_3C_6H_5O_7 \rightarrow 2Ag_3C_6H_5O_7\downarrow + 3H_2O$$

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2.3 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드

나노 입자를 합성할 때 사용되는 대표적인 방법으로는 P. C. Lee and D. Meisel 에 의해 보고된 방법이 있다 [9]. 이 방법에서는 질산은 용액과 소듐시트레이트 용액이 사용되는데 혼합용액을 가열할 경우 시트레이트 이온이 환원제 역할을 하여 은 이온이 환원되고 결국 은 나노입자가 형성된다. 본 연구에서는 이와 유사한 과정을 통해 위에서 제조된 은 나노입자가 함유되지 않는 은-시트레이트 나노로드를 이용해서 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드 용액을 만들었다. 혼합용액의 pH는 7 정도의 중성이었으며, pH가 7보다 낮아질 경우에는 은-시트레이트 침전물이 용해된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2.3 은-시트레이트 나노로드 측정

위에서 제조된 나노로드들의 형상을 전자현미경으로 관찰하기 위해서 용액을 실리콘 표면위에 drop-coating 한 뒤 말려서 관찰하였다. 은 나노입자가 함유되지 않은 은-시트레이트 나노로드의 경우 물로 표면을 세척할 경우 실리콘 표면 위에서 쉽게 떨어져 나가기 때문에 물로 세척을 하지 않고 대신 전도성을 부여하기 위해 플래티늄 코팅을 하여 사용하였다. 나노입자가 함유되지 않은 은-시트레이트 나노로드 용액을 실리콘 웨이퍼에 적당량 떨어뜨린 후 말려서 이온 증착기 (Ion Sputter, E-1030; Hitachi)를 사용하여 180초 동안 백금(Pt)을 코팅한 후 관찰 하였다. 그럼에도 불구하고 전자현미경으로 관찰할 때 charging이 심하게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 반면 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드의 경우에는 물로 세척을 하여도 실리콘 표면에 잘 붙어있는 것을 확인하였고 전자현미경으로 관찰할 경우에도 chgarging이 심하게 되지 않았기 때문에 표면 형상을 쉽게 관찰할 수 있었다. 은-시트레이트 나노로드의 관찰은 전계방사형 주사 전자 현미경 (FE-SEM, S-4800; Hitachi)을 사용하였고, 동일 기기 FE-SEM 에 장착된 에너지 분산 분광기 (EDS)을 사용하였다. 합성된 물질이 실버-시트레트로 구성되어 있음을 확인하기 위해 X-ray diffraction (XRD, X'Pert PRO Multi Purpose; PANALYTICLL) 와 적외선 분광기(FT-IR NICOLET 6700; THERMO)를 사용하였다. 은-시트레이트 나노로드의 은 나노입자를 확인하기 위해 투과 전자 현미경 (TEM, JEM-2100F; JEOL)를 사용하고, 탄소 필름으로 코팅된 구리 그리드에 로딩 하여 가속전압을 200 kV 로 사용하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

3. 실험결과 및 토의

3.1 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 나노로드

은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 용액을 만든 직후 용액을 위에서 설명한 실험방법대로 실리콘 웨이퍼에 코팅하여 주사전자현미경으로 그 형상을 관찰하였다. 아래 그림을 보면 군데군데 구형이나 무정형의 화합물도 보이지만 대부분은 나노로드 형태로 합성되었음을 알 수 있다. 전체적인 모양은 나노로드의 형태지만 확대해서 보았을 때 나노로드의 두께나 길이가 균일하지 않다는 사실을 알 수 있었다. 나노로드의 표면이 울퉁불퉁하였으며 하나의 나노로드에서도 두께가 약간씩 다르다는 것을 알 수 있었다. 은-시트레이트 나노로드의 평균 두께는 약 100 nm 이며, 길이는 1 ~ 2 μm에 걸쳐 존재하였다. 실험조건에 따라 두께나 길이는 어느 정도 제어가 가능하였으며 나노로드 표면의 굴곡도 실험조건에 따라 어느 정도 범위 안에서 조절 가능하였다.

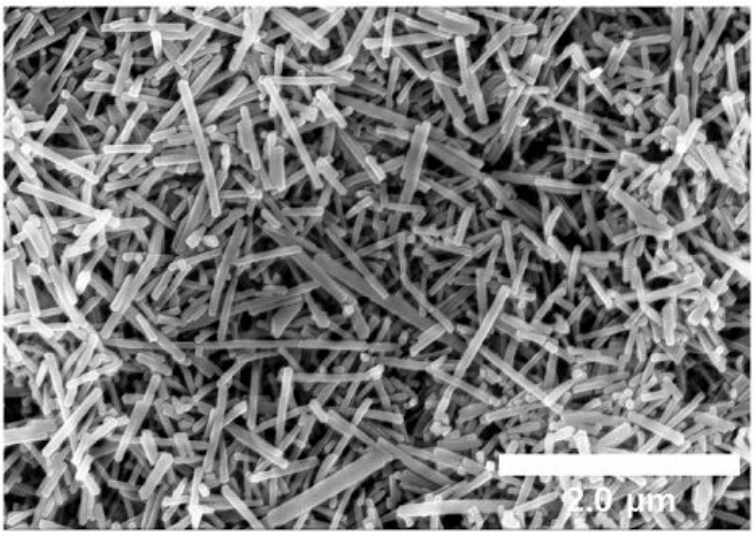

Figure 1. SEM image of silver citrate nanorods.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

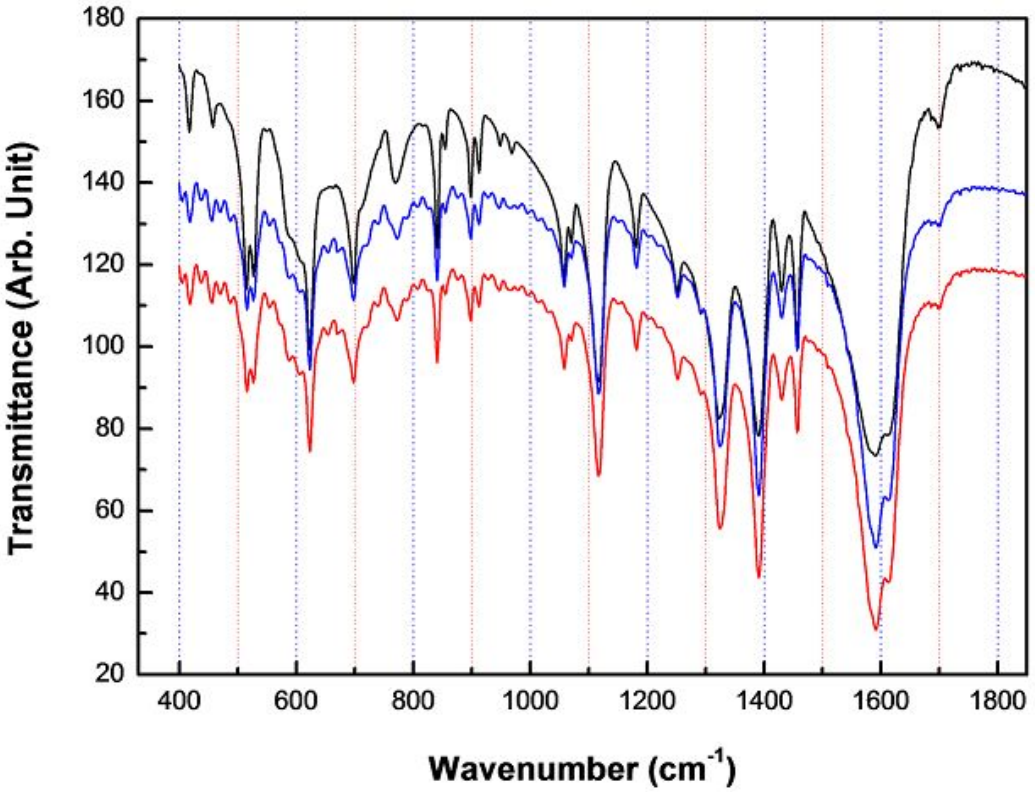

Figure 2. FT-IR spectra for silver citrate.

그림 2는 샘플의 성분이 같은지 확인하기 위해서 적외선 분광법을 사용하여 측정한 데이터 이다. 검정색 라인은 시중에서 구입한 은-시트레이트 화합물이고, 파란색 라인과 빨간색 라인은 본 연구에서 설명한 방법에 의해 제조된 은-시트레이트 화합물이다. 샘플 로딩은 파우더 형식으로 얻은 후 KBr를 이용하여 펠렛을 만든후 FT-IR 로 측정하였다. 본 실험에서는 본 실험실에서 합성된 화합물이 은-시트레이트가 맞는지 확인하기 위해 은-시트레이트 화합물을 시중에서 구매하여 같이 측정, 비교하였다. 그림 2 에서 볼 수 있는 바와 같이 각 스펙트럼의 절대적인 세기는 조금씩 다르지만 상대적인 세기는 모두 비슷하다는 사실을 확인하라 수 있었다. 무엇보다도 3가지 샘플에서 나타나는 모든 피크의 위치가 동일하였는데 이러

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

한 비교를 통해 실험실에서 합성된 화합물은 은-시트레이트 화합물이라는 사실을 알 수 있었다.

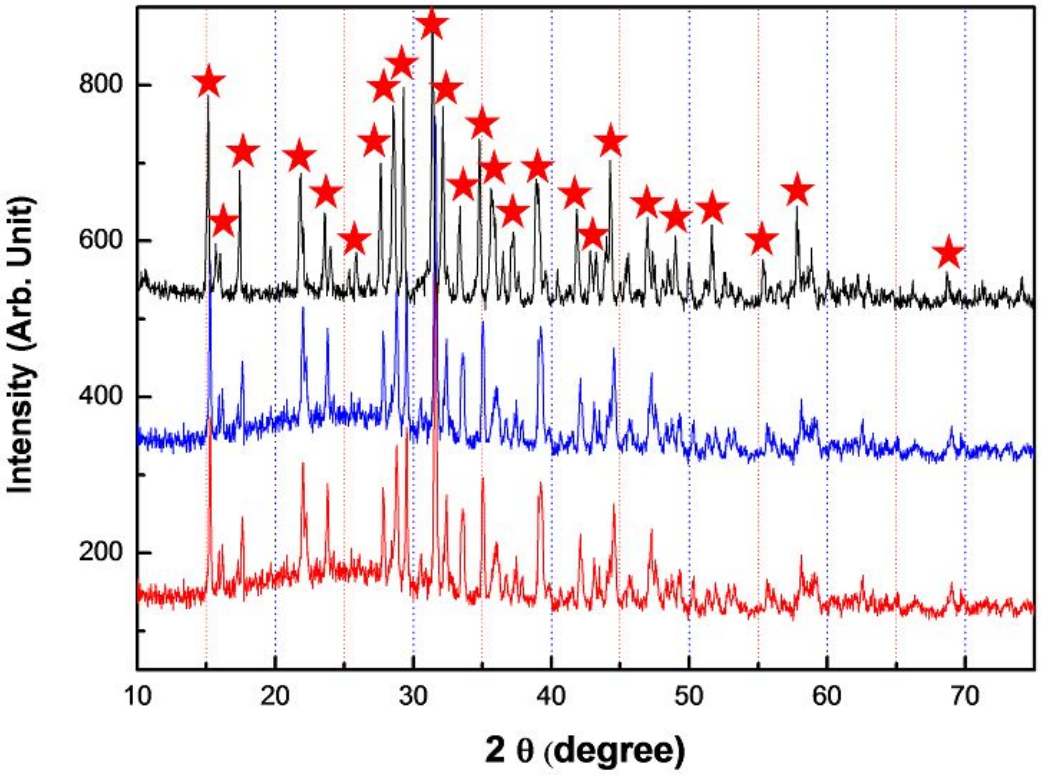

Figure 3. X-ray diffraction pattern for silver citrate.

비교하고자 하는 물질이 서로 같은 물질이라는 것을 확인하기 위해 사용될 수 있는 또 다른 방법 중 하나가 바로 엑스레이 회절을 이용하는 것이다. 실험실에서 합성된 나노로드의 구성 성분이 은-시트레이트 라는 것을 다시 한 번 확인하기 위해서 X-선 회절 분석법을 사용하였다. 위 스펙트럼에서 검은색 라인은 시중에서 구매한 은-시트레이트 화합물이며, 파란색과 빨간색 라인은 실험실에서 위에서 언급된 방법을 통해 제조된 나노로드 화합물이다. 적외선 스펙트럼에서 확인하였듯

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

이 모든 스펙트럼의 절대적 세기는 샘플마다 조금씩 다르지만 상대적인 세기, 그리고 피크의 위치들이 모두 일치한다는 사실을 확인할 수 가 있다. 이를 통해 합성된 나노로드 화합물이 은-시트레이트로 구성되어 있음을 알 수 있었다. 검은색 라인 위에 있는 빨간색 별표는 알려져 있는 은-시트레이트 화합물의 X-선 회절 피크의 위치들로서 여기서 얻은 스펙트럼과 거의 일치함을 확인할 수 있다. [9].

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

3.3 은 나노입자가 함유되어 있는 은-시트레이트 나노로드

위에서 확인한 바와 같이 본 실험실에서 합성된 나노로드 화합물은 은-시트레이트 화합물로서 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 상태이다. 은 나노입자의 경우 은 이온 보다 높은 항균작용을 나타낼 수 있다고 여겨지기 때문에 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 화합물을 합성할 경우 더욱 큰 항균효과가 나타나리라고 기대할 수 있다. 은 나노입자의 합성법은 이미 잘 알려져 있는데 대표적인 방법은 P. C. Lee 와 D. Meisel 이 제안한 방법이다 [9]. 본 연구에서는 위에서 합성된 은-시트레이트 나노로드와 기조에 나노입자 합성법으로 알려져 있는 P. C. Lee 와 D. Meisel 방법을 이용해서 은 나노입자가 함유된 은-시트레이튼 나노로드를 합성하였다.

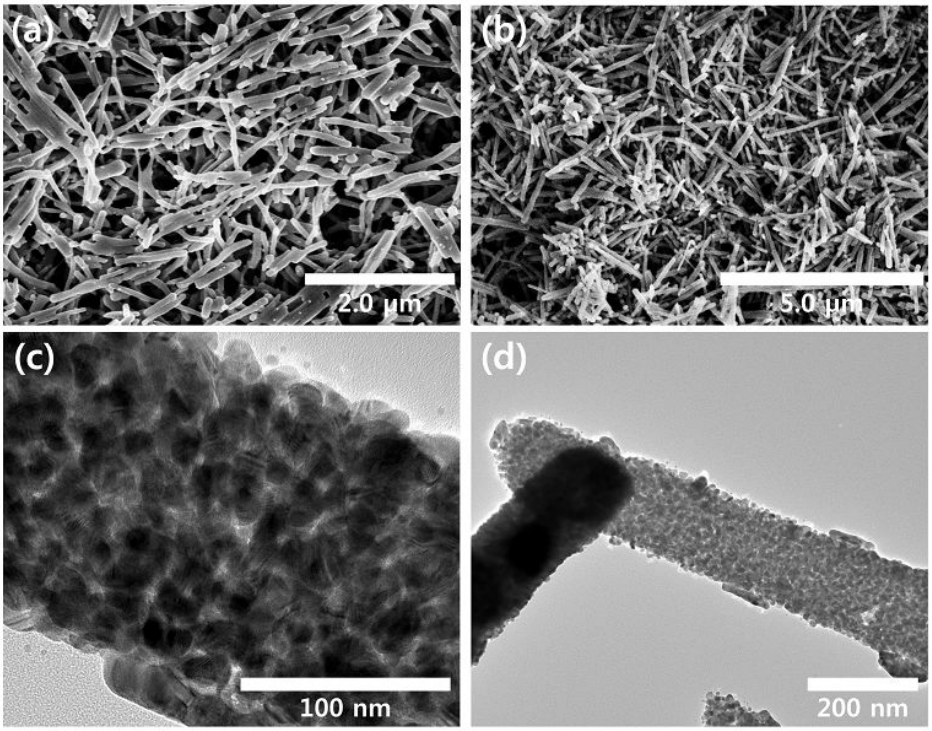

Figure 4. FE-SEM and TEM images of silver nanoparticles-embedded silver citrate nanorods.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

그림 4는 P. C. Lee 와 D. Meisel 방법과 위에서 합성된 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 나노로드를 이용해서 만들어진 은 나노입자가 함유된나노로드 화합물의 전자현미경 이미지들이다. (a), (b)는 주사 전자 현미경 이미지들이고, (c), (d)는 투과 전자 현미경으로 관찰한 이미지들이다. 주사 전자 현미경으로 관찰해 보았을 때 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 화합물과 유사한 나노로드 형태의 화합물이 형성되었음을 확인할 수 있다. 모양뿐만 아니라 나노로드의 길이와 두께도 비슷하다는 사실을 알 수 있었다. 한 가지 다른 점은 나노입자가 함유되어 있지 않는 나노로드와는 달리 나노로드 표면에 구형의 나노 입자들이 약간씩 붙어 있다는 것이었다. 주사전자현미경으로 이용해서는 이러한 나노로드들이 은 나노입자를 함유하고 있는지 함유하고 있지 않은지 확인할 수 가 없기 때문에 투과 전자 현미경으로 다시 관찰하였다. 투과전자 현미경 이미지에서 볼 수 있는 바와 같이 나노로드 안에 나노 입자들이 함유되어 있다는 것을 확인할 수 있었다. 함유되어 있는 은 나노입자의 밀도와 은 나노입자의 크기는 실험조건에 따라 약간씩 달라지는데 그림 8과 같은 경우에는 은 나노입자가 높은 밀도를 함유되어 있음을 알 수 있고, 함유된 은 나노입자의 크기는 대략 수 십 nm가 된다는 사실을 투과전자 현미경 이미지로부터 확인할 수 있다. 위와 같은 나노로드 형태의 물질들이 과연 은 나노입자를 함유하고 있는 은-시트레이트 화합물인지 확인하기 위해서 앞서 사용하였던 적외선 분광기와 X-선회절 분석법을 사용하여 그 성분을 분석하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

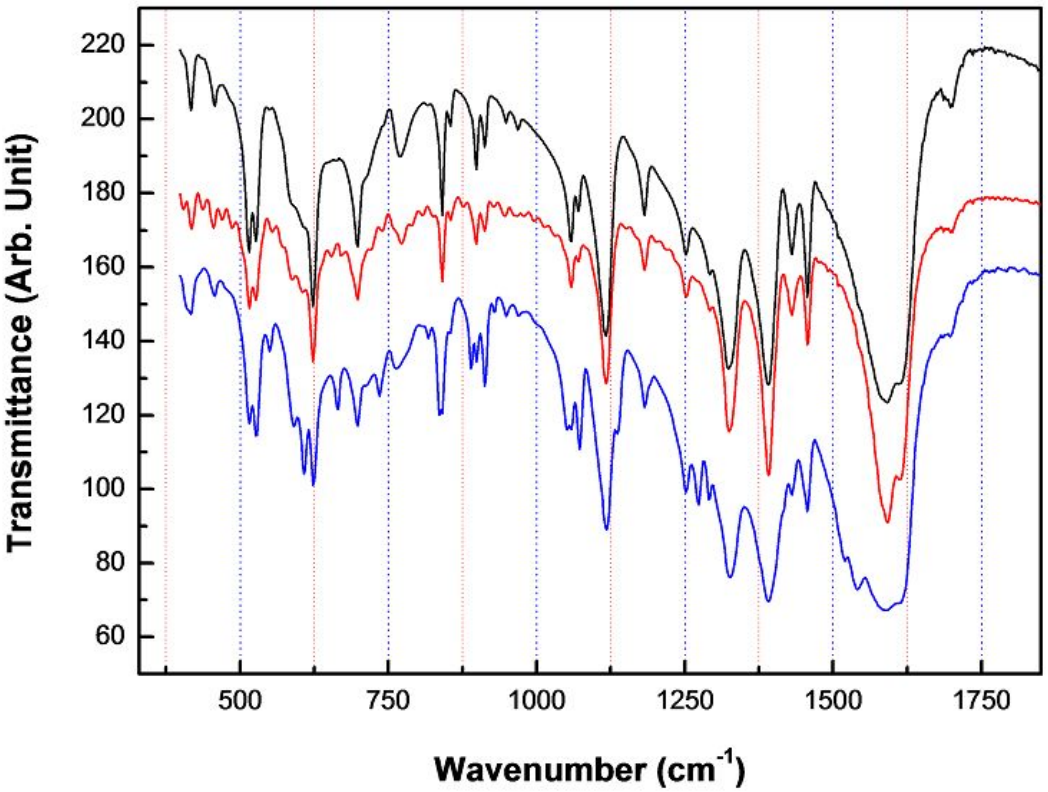

Figure 5. FT-IR spectra for silver nanoparticles-embedded silver citrate nanorods.

그림 5 는 적외선 분광기를 이용해 측정한 결과이다. 검은색 라인은 Alfa Aesar에서 구매한 은-시트레이트 이고, 파란색과 빨간색 라인은 우리가 제조한 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드의 스펙트럼이다. 전반적으로 3개의 스펙트럼은 거의 일치하는 양상을 나타내고 있으나 자세히 비교해 볼 경우 약간 다른 피크들이 나오고 있음을 볼 수 있다. 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 화합물의 적외선 스펙트럼의 경우 시중에서 구매한 은-시트레이트 화합물의 적외선 스펙트럼과 거의 일치하였으나 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드 화합물의 적외선 스펙트럼에서는 시중에서 구매한 은-시트레이트 화합물과는

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

약간 다른 피크들이 나오고 있음을 확인할 수 있다. 전반적으로 스펙트럼이 일치하는 것으로 보아 은 나노입자와 은-시트레이트 화합물간의 결합에 의해 몇 개의 피크들이 이동하거나 새로 나오고 있다고 해석할 수 있다.

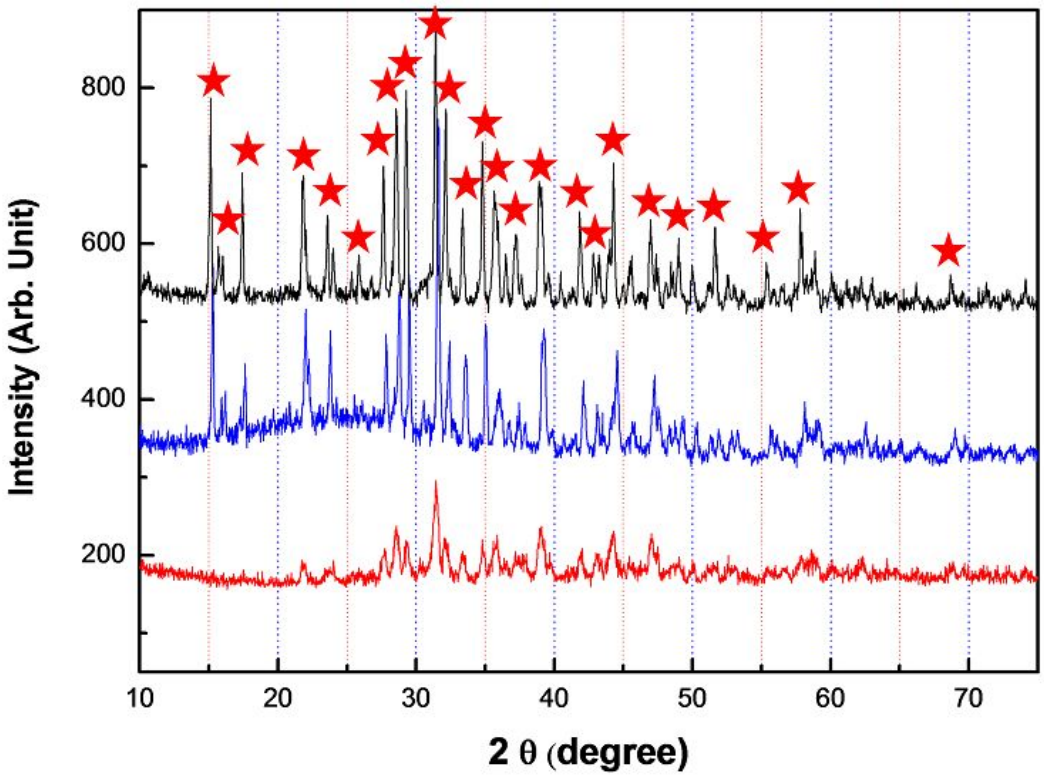

Figure 6. X-ray diffraction pattern for silver nanoparticles-embedded silver citrate nanorods.

그림 6 은 X-선회절 분석법을 이용한 데이터 이다. 빨간색 별표는 기존에 알려져 있는 은-시트레이트 화합물의 X-선 회절 패턴이 나타나는 지점들이다. 검은색 라인은 Alfa Aesar에서 구매한 은-시트레이트, 파란색과 빨간색 라인은 우리가 제조한 은 나노입자가 함유된 은-시트레이트 나노로드 화합물의 X-선 회절 스펙트럼이다.X 축 값의 15에서 20사이의 피크가 약간 다르긴 하지만 전체적으로 보았을 때

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

은-시트레이트 피크와 비슷한 양상을 띠고 있는 것을 볼 수 있다.

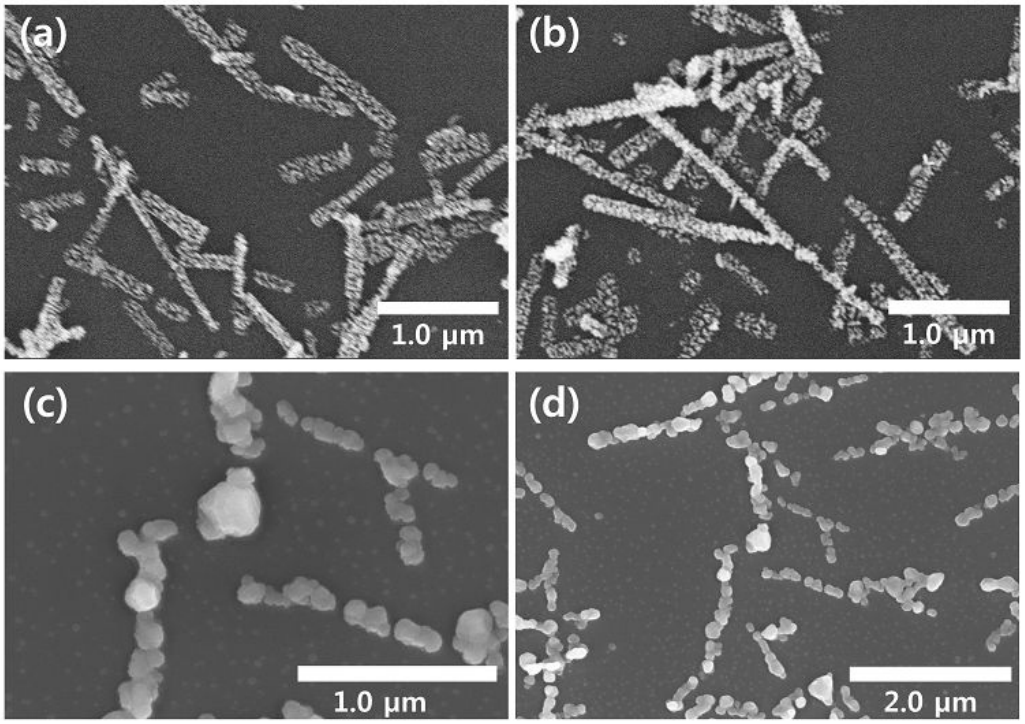

Figure 7. FE-SEM images of silver nanopartile-embedded silver citrate nanorods treated by plasma cleaner for 1 min (a, b), and furnace for 2 hrs at 300℃ (c, d).

그림 7 는 은-시트레이트 나노로드안에 함유되어 있는 입자들이 은 나노 입자들인지 유기물인지 확인하기 위해 플라즈마 클리너와 퍼니스를 이용한 높은 온도로 가열해 유기물을 제거한 후 주사 전자 현미경으로 관찰 해보았다. (a), (b) 는 플라즈마 클리너를 1분동안 처리하여 유기물을 제거해 주사 전자 현미경 으로 관찰한 이미지 이다. 나노로드형태에 중간 중간 유기물들이 제거되어서 나노 입자들만 남아있는걸 확인 할수 있었다. (c), (d) 는 퍼니스를 이용해 300℃ 온도로 2시간동안 가열하여 유기물을 제거한 후 주사 전자 현미경으로 관찰한 이미지이다. 플라

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

즈마 처리한 이미지와 비슷하게 나노로드 형태에 유기물이 날아가 나노 입자들이 남아 있다. 하지만 플라즈마 클리너로 처리한 이미지와 다르게 입자 크기가 약간 크다는 걸 확인 하였다. 이는 퍼니스의 300℃ 온도 때문에 나노 입자들이 녹아서 뭉쳐서 굳어진 걸로 예상하고 있다.

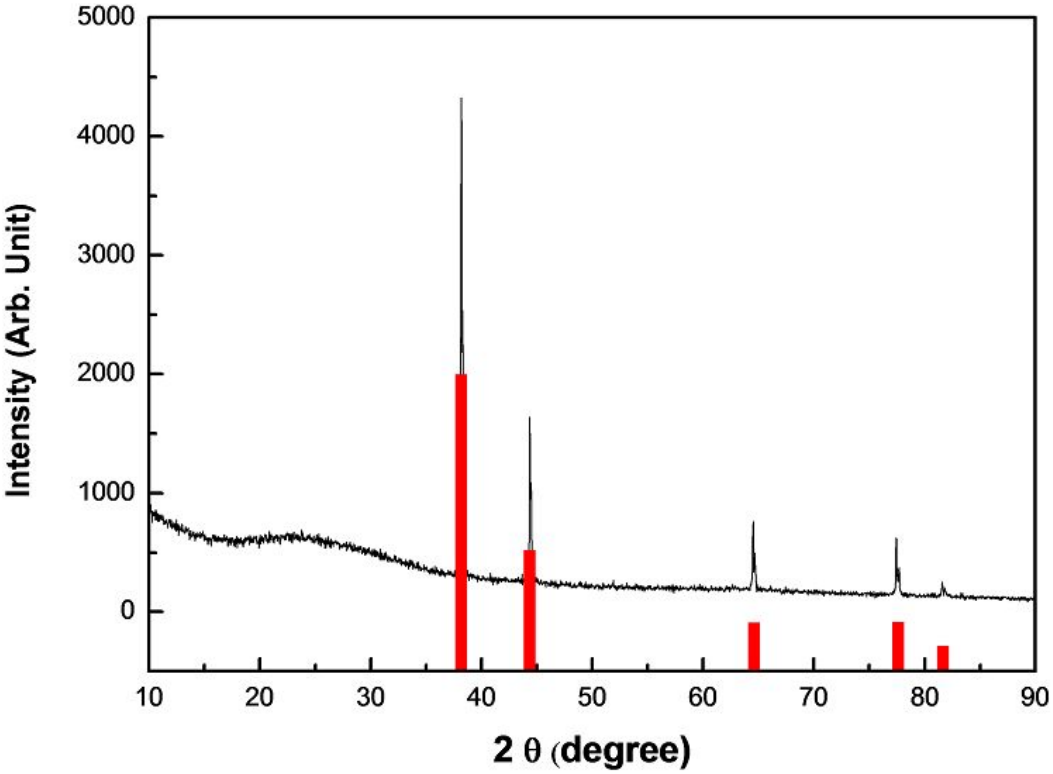

Figure 8. X-ray diffraction pattern for silver nanoparticles-embedded silver citrate nanorods treated by furnace for 2 hrs at 300℃.

그림 8 는 은-시트레이트 나노로드 화합물 안에 박혀있던 입자들이 은 나노입자인지 확인하기 위해 X-선회절 분석법을 사용하였다. 은 나노입자가 함유되어 있는 은-시트레이트 나노로드 용액을 만든 뒤에, 용액을 1 cm X 1 cm 정도 크기의 유리

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

판에 떨어뜨린 후 건조한 뒤, 퍼니스를 이용하여 300℃ 온도로 2시간동안 가열하여 유기물을 제거하였다. 박혀있는 입자들이 은 나노입자라면 퍼니스에서 가열할 후 남아있을 것이고 이 물질의 X-선 회절 패턴을 분석하여 보면 박혀있던 나노입자들이 은이었는지 혹은 다른 물질인지 확인할 수 있다. 검은색 라인은 이렇게 해서 얻어진 남아있는 입자들의 X-선 회절 패턴이고, 빨간색 라인은 알려져 있는 은의 전형적인 X-선 회절 패턴이다. 실험에서 얻은 피크의 위치가 기존에 알려져 있는 은의 피크와 일치하는 곳에서 나오고 있음을 확인할 수 있다. 이와 같이 X-선 회절 분석법을 통하여 은-시트레이트 나노로드 안에 박혀있던 입자들이 은 나노입자 이었다는 걸 확인 하였다.

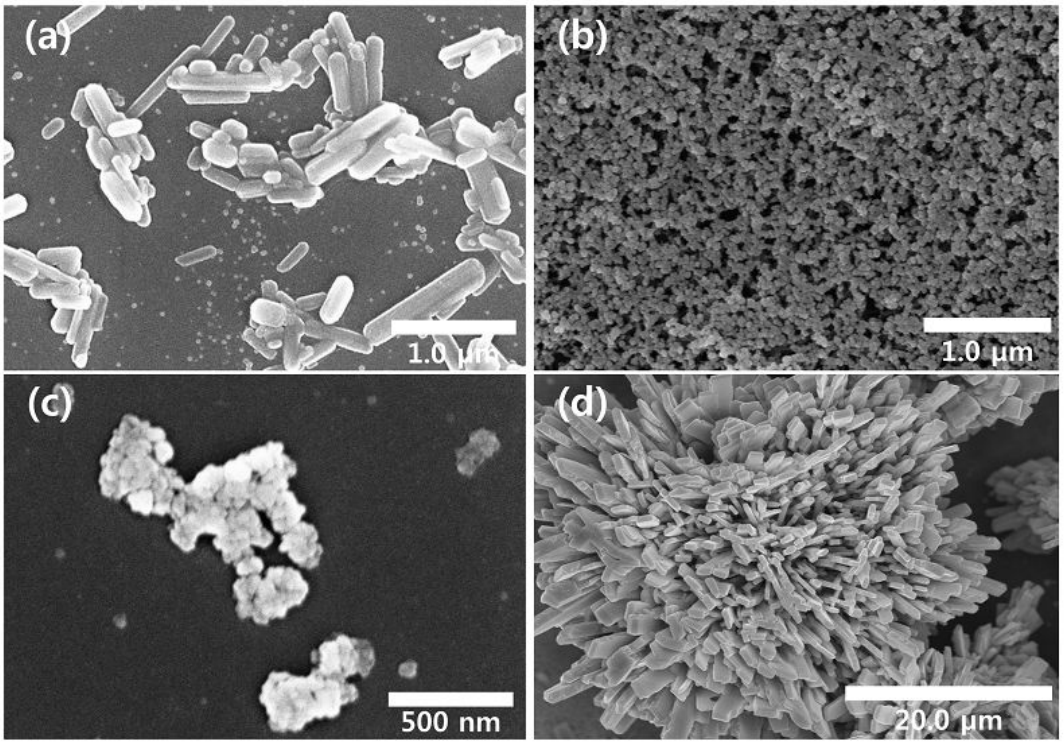

Figure 9. FE-SEM images for silver citrate nanorods prepared at various condition.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

여러 가지 조건을 조절하여 나노 로드의 모양이나 길이 두께 등을 바꾸려고 해 보았다. 그림 9 (a)는 질산은과 소듐시트레이트 용액을 바이알에 넣어 섞고 뚜껑을 닫아 손으로 격렬하게 흔든 뒤 찍은 주사 전자 현미경 이미지 이다. 나노로드가 형성이 되었지만 길이와 두께 등이 일정하지 않는 모양이 나왔다. (b)는 바이알에 질산은 용액을 넣고 소듐 시트레이트 용액을 스포이드로 한 방울 한 방울씩 떨어뜨려서 합성한 화합물을 주사 전자 현미경 으로 관찰한 이미지다. 원형의 나노 입자형태가 만들어졌을 뿐 나노로드의 형태가 만들어지지 않았다. (c) 는 질산은과 소듐 시트레이트를 바이알에 넣고 소니케이션을 15분 동안 한 용액의 주사 전자 현미경 이미지 이다. (b) 와 마찬가지로 로드 형태가 형성되지 않고 입자 모양이 형성 되었다. (d) 는 질산은과 소듐 시트레이트 용액을 얼음물 중탕에서 넣고 반응시킨 화합물의 주사 전자 현미경 이미지 이다. 은-시트레이트가 큰 결정형태로 뭉쳐져 있는 모습이다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

3.4 은-시트레이트 항균테스트

은과 시트레이트는 항균 효과가 있다고 잘 알려져 있다. 우리가 제조한 은-시트레이트 로드가 항균효과가 있는지 실험을 하였다.

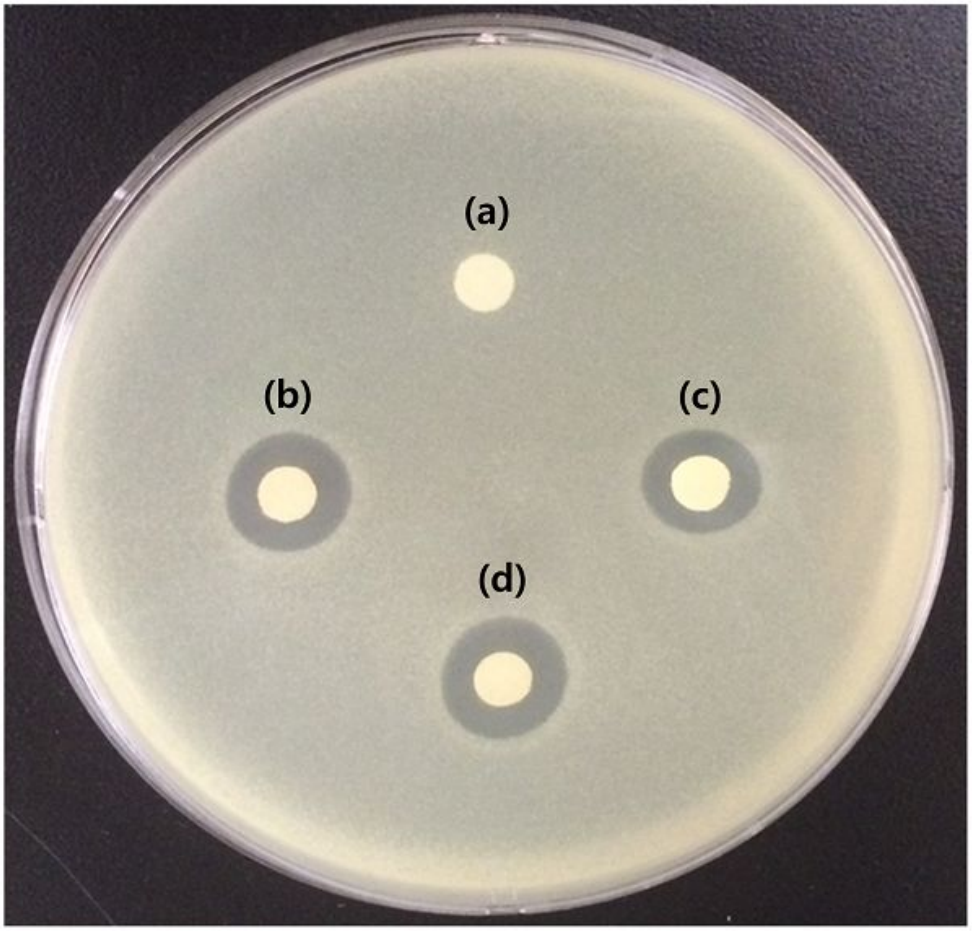

Figure 10. photo image for E.coli clear zone formation antibacterial test

그림 10 샬렛에 대장균을 키운 후 그 위에 항균물질을 놓아 항균물일 주위에 형성되는 클리어 존 으로 항균능력을 테스트 하는 실험을 하였다. 모든 샘플은 동일한

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

양을 측정하여 로딩하여 사용하였다. (a) 는 증류수로 항균능력이 없으므로 클리어 존이 형성 되지 않았다. (b) 는 우리가 제조한 은-시트레이트를 스터링 시키기 전 용액이다. (b) 샘플 주위로 클리어 존이 형성 되어 이는 항균 능력이 있는걸로 확인된다. (c) 는 은-설파디아진 으로 시중에 화상 연고제로 많이 사용되는 있는 물질이다. 은-설파디아진 은 화상을 입었을 때 세균감염을 막기 위해 사용되며 항균능력을 가지고 있다. 은-설파디아진을 대조군으로써 우리가 제조한 은-시트레이트와 비교해 어느 정도 항균 능력이 있는지 테스트 하기 위해 사용하였다. 은-설파디아진도 클리어 존 형성하여 항균능력을 가지고 있었다. (d) 는 우리가 제조한 은-시트레이트 용액을 340 RPM 으로 15분간 스터링한 로드형태의 은-시트레이트이다. 은-시트레이트 로드 형태도 항균능력이 있는 걸로 확인 하였다. 모두 항균능력이 있다는 걸 확인 하였다. 하지만 클리어 존 크기가 샘플마다 차이가 거의 없었다. 어느 샘플이 항균 능력이 뛰어나다는걸 확인하기 위해 다른 실험이 필요했다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

	은 나노입자가 함유된 Ag-citrate 나노로드 (16 μg/mL)			은 나노입자가 함유되어 있지 않는 Ag-citrate (16 μg/mL)		
1	8	8	8	8	8	8
2	4	4	4	4	4	4
3	2	2	2	2	2	2
4	1	1	1	1	1	1
5	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
6	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
7	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
8	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
	Ag-sulfadizine (16 μg/mL)			은 나노입자가 함유되어 있지 않는 Ag-citrate 나노로드(16 μg/mL)		
1	8	8	8	8	8	8
2	4	4	4	4	4	4
3	2	2	2	2	2	2
4	1	1	1	1	1	1
5	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
6	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
7	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
8	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07

Sample	Ag nanoparticle	은 나노입자가 함유된 Ag-citrate 나노로드	은 나노입자가 함유되어 있지 않는 Ag-citrate	은 나노입자가 함유되어 있지 않는 Ag-citrate 나노로드	Ag-sulfadizine
Unit (μg/mL)	0.11	0.25	0.25	0.13	0.50

Figure 11. MIC (Minimum Inhibitory Concentration) antibacterial test graph

그림 11은 MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 실험 결과 값이다. MIC 는 항균물질을 단계별로 희석하여 well plate에 넣고 동일한 농도의 균을 well plate에 넣었을 때 항균능력을 가질 수 있는 가장 최소 질량을 측정하는 방법이다. 이와 같은 MIC 실험방법을 이용해 우리가 제조한 샘플의 항균능력을 가질 수 있는 최소의 양을 측정하였다. MIC 실험 과정은 (a) well plate 에 1% peptone 100ul 씩 넣는다. (b) 각각의 샘플을 16μg/mL 농도로 만든다. (c) 샘플을 1:1 비율로 단계별

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

로 희석하여 well plate 넣는다. (d) 대장균을 키워 최종 2*10^6 CFU/ml이 되게끔 사용한다. (e) E.coli를 well plate에 100 μl씩 모두 넣은 후 37℃ incubator에서 16 hr 동안 배양 후 확인하였다. 실험결과 은-설파디아진이 0.50 ug /ml 으로 가장 낮게 나왔다. 은 나노입자가 함유되어 있지 않은 은-시트레이트 나노로드의 경우 0.13 ~ 0.25 ug/ml의 값이 나왔으며, 나노입자가 함유되어 있는 은-시트레이트 나노로드의 경우 0.25 ug/ml의 값이 나왔다. 은-시트레이트 화합물이 화상환자에게 현재 많이 사용되고 있는 기존 은-설파디아진보다 더 강한 항균효과를 나타낸다는 사실을 확인했다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

4. 결 론

우리는 질산은과 소듐시트레이트의 농도와, 온도 조절을 통한 은-시트레이트 로드 모양 제작하고 FE-SEM, HRTEM, FT-IR, XRD 등을 통하여 관찰 및 분석 하였다. 우리가 제조한 은-시트레이트는 시중에 판매하는 은-시트레이트와 동일하였고 기존에 은-시트레이트 제조한 데이터와 비슷한 경향이 나왔다. 기존에 은-시트레이트를 제작한 사례가 있었으나 모양의 제어가 되지 않았다. 항균테스트 또한 정성적인 분석을 하였다. 하지만 우리는 은-시트레이트를 로드 모양으로 제어하였다. 항균테스트로 화상 치료제로 시중에 자주 사용되는 은-설파디아진과 비교하였다. 체계적인 MIC 방법을 통하여 항균테스트를 정량적인 분석을 하였다. 우리가 제조한 은-시트레이트 로드는 항균력이 화상치료제로 사용되는 은-설파디아진 보다 뛰어난 걸로 확인되었다. 우리는 제작한 은-시트레트 로드를 하이드로 겔과 결합하여 패치 형태로 제작하는 실험이 진행 중이다. 이러한 분석을 통하여 제작한 은-시트레이트 로드는 새로운 항균물질로써 다양한 응용 가능성이 기대 된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

5. 참고문헌

[1] M. L. Cohen, Science 1992, 257, 1050.

[2] J. Y. Kim, T. Kim, J. Yoon, J. Korean Ind. Eng. Chem 2009, 20, 251

[3] I. Sondi, B. S. Sondi, J. Colloid Interface Sci 2004, 275, 177.

[4] Q. Yang, F. Wang, K. Tang, C. Wang, Z. Chen, Y. Qian, Mater. Chem. Phys 2002, 78, 495.

[5] Q. L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. N. Kim, J. O. Kim, J. Biomed. Mater. Res 2000, 52, 662.

[6] K. B. Holt, A. J. Bard, Biochemistry 2005, 44, 13214.

[7] H. J. Park, J. Y. Kim, J. Kim, J. H. Lee, J. S. Hahn, M. B. Gu, J. Yoon, Water Res 2009, 43, 1027.

[8] C. Lok, C. Ho, R. Chen, Q. He, W. Yu, H. Sun, P. K. Tam, J. Chiu, C. Che, J. Proteome Res 2006, 5, 916.

[9] Djokic, S. Bioinorg. Chem. Appl 2008, 436458, 7

[10] P. C. Lee, D. J. Meisel, Phys. Chem 1982, 86, 3395.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

감사의 글

학,석사 연계 과정으로 학부 때부터 대학원까지 입학하여 3년 이란 시간이 당시에는 길게 느껴졌습니다. 하지만 연구 활동을 하며 마지막에 돌아보니 정말 빠르게 지나갔던 것 같습니다. 처음에 많이 부족했던 저를 이끌어 주시며 조언을 해주신 지도교수님 임종국 교수님께 감사의 말씀을 드립니다. 또한 고문주 교수님, 이범규 교수님, 손홍래 교수님, 류설 교수님, 이종대 교수님, 김호중 교수님 지속적인 관심과 조언을 해주신 한분 한분께 정말 감사의 말씀을 드립니다. 실험실에 들어와 2년 동안 같이 생활하면서 여러 방면으로 도움을 정말 많이 준 대학원 13학번 지희에게 고맙다는 말을 하고 싶습니다. 그리고 대학원 14학번 동기 미애에게도 도움을 많이 받아 항상 고맙게 생각하고, 같이 생활 했던 환기, 병규, 다솔이 에게도 도움을 많이 받아 고맙게 생각하고 있습니다. 그리고 Riaz bibi에게 많은 도움을 못주고 떠나게 되서 미안하고 항상 밝고 열심히 대학원 생활을 했으면 좋겠습니다. 그리고 지금까지 저를 믿어주신 부모님과 동생에게 정말 사랑한다고 전하고 싶습니다. 아직도 부족하지만 앞으로 사회에 나가 노력하고 발전된 모습으로 전진 하겠습니다.

2016년 2월

장 형 주

Collection @ chosun