

졸-겔법을 이용한 은 담지 하이드록시아파타이트의 제조

문병배 · 김호건*
한양대학교 응용화학과

Preparation of Silver-doped Hydroxyapatite Using Sol-gel Method

Byung-Bae Mun and Ho-Kun Kim*

Department of Applied Chemistry, Hanyang University, Sa-1dong 1271, Ansan 425-791, Korea

(Received November 3, 2005; Accepted December 8, 2005)

Abstract In the present study, silver-doped antibacterial hydroxyapatites were successfully prepared by the sol-gel method. For the starting solution, the molar ratio of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, and H_2O was set to 0.075:0.045:20:0.135; AgNO_3 was added to a ratio of Ag to total cation concentration of 0.5-12 mol%. The prepared sol was dried at 100°C for 48h and heat-treated at 1000°C for 2h to obtain particles in the 200-500 nm size range. The product from the synthesis of silver-doped hydroxyapatite was investigated through X-ray diffraction experiments and scanning electron microscopy. The product showed high antibacterial properties, with a disinfection ratio of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) over 99.9% as calculated from an antimicrobial effects evaluation by the shake flask method.

Keywords : Ag-doped hydroxyapatite, anti-microbial properties, sol-gel method

1. 서 론

일반적으로 Ag를 담지한 세라믹 물질들은 우수한 항균특성을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 최근 Ag를 담지한 다양한 무기항균 물질들이 개발되어 상업적으로 사용되고 있다. 그러나, 기존의 항균제품들 대부분은 유기물질을 기초로 하였으며, 화학적 내구성이 요구되는 조건하에서는 사용될 수 없는 단점이 있기 때문에 Ag를 담지한 무기물질들이 화학적 내구성의 관점에서 유기물질을 기초로 한 것보다 더 유용한 것으로 평가되고 있다.

지금까지 Ag를 담지한 항균 무기물질들은 주로 제올라이트, 인산칼슘, 실리카겔, 보로실리케이트 유리 등을 중심으로 개발되어 왔다¹⁻³⁾. 이들 중 제올라이트를 기초로 한 물질은 높은 항균활성 및 화학적 내구성을 갖고 있지만, 기계적 강도가 낮은 단점이 있다. 보로실리케이트 유리를 기초로 한 물질은 무색이면서 높은 항균활성을 갖고 있지만, 낮은 화학적 내구

성과 인체에 해로운 붕산의 용출이라는 단점을 가지고 있다. 또한 인산칼슘 또는 실리카겔을 기초로 한 물질들은 제조의 간편성이 장점이지만, 낮은 항균활성과 색깔을 지니는 단점이 있다.

이밖에 생체 세라믹스 담체에 항균금속 즉 Ag 이온을 비롯한 전이금속계 이온들의 담지 및 이에 대한 항균효과는 여러 연구를 통해 확인되었다^{4,5)}. 그러나, 이러한 항균금속들이 이온상태로 있도록 하려면 수용액이나 이온교환특성이 있는 담체에 보관되어야 하는데, 특히 이온교환성 담체를 사용할 경우 고체상태의 재료에도 항균특성을 내재화할 수 있는 길이 열리므로 항균재료의 사용범위를 크게 넓힐 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 항균특성은 Ag 이온의 방출량과 직접적으로 관계가 있는 것으로 알려져 있기 때문에 이를 극대화하기 위해서는 그 담체의 미립화 및 양호한 분산이 필수적이다.

항균재료용 생체세라믹스 담체로서 하이드록시아파타이트는 우수한 생체친화성을 가지고 있으며, 특히

*Corresponding Author : [Tel : +82-31-400-5493; E-mail : hkkim@hanyang.ac.kr]

Ag를 담지할 경우 화장품, 식품, 생화학 및 공업재료 등으로 다양하게 응용할 수 있는 장점을 가지고 있기 때문에 인체나 식품 등에 접촉이 빈번한 항균소재로 적합한 것으로 알려져 있다.

하이드록시아파타이트에 Ag를 담지하기 위해서는 공침법 및 이온교환법이 주로 사용되고 있지만, 이러한 방법들은 pH 및 반응온도를 제어하는데 어려움이 있다. 또한 생성된 분말의 조성이 합성조건에 따라 달라지는 결과를 초래한다. 특히 공침법은 Ag 첨가량이 증가해도 XRD 분석에서 하이드록시아파타이트만 검출되는 단점이 있다. 본 연구에서는 이러한 문제점을 해결하기 위하여 pH를 제어하는데 전혀 문제가 없고, 상온에서도 합성이 가능한 알콕시드와 염을 이용하는 졸-겔 방법을 사용하였다. 또한 이 방법은 화학적 조성이 균일한 고순도의 분말을 얻을 수 있다는 장점이 있다. 합성된 분말에 대한 항균효과는 Ag 함량을 0.5 mol%, 1.0 mol%, 2.0 mol%로 변화시키면서 항균력을 비교하여 Ag 함량 변화에 따른 항균소재의 최적조건을 조사하였다.

2. 실험방법

2.1. Ag 담지 하이드록시아파타이트 제조

Ag/Ca의 몰비가 0.5~12%가 되도록 AgNO₃ (Polyscience, Inc., Warrington, PA) 및 Ca(NO₃)₂ · 4H₂O(Ducksan, 97%이상)을 에탄올에 용해시켰고 H₂O/P(OC₂H₅)₃ (Fluka, 97%이상)의 몰비가 3.3이 되도록 하여 에탄올에 용해시켰다. 출발물질에 대한 조성 변화를 표 1에 나타내었다. 두 용액을 혼합한 후 NH₄OH(DC Chemical, 28%)를 첨가하고 2시간 정

도 교반하였다. 상온에서 8시간 이상 교반하여 안정한 졸을 제조하였고, 합성된 졸은 100°C에서 48시간 건조하였다. 건조 후, 얻어진 분말에 대하여 1000°C에서 2시간 소결하여 결정상의 Ag를 담지한 하이드록시아파타이트를 제조하였다.

2.2. Characterizations

합성된 분말에 대한 확인 및 구조해석을 위하여 FT-IR(Avata 360E.S.P) 분석을 실시하였으며, 미세구조와 입자크기를 관찰하기 위하여 주사전자현미경(Hitachi, S-4700)을 사용하였고, 하이드록시아파타이트 및 Ag 금속의 결정상(crystal phase)을 확인하기 위하여 X-선 회절 분석(XRD-6000, Shimatsu)을 실시하였다.

2.3. 항균실험

항균력 시험은 SHAKE FLASK METHOD(KS M 0416-2003)에 의한 시험방법을 이용하였으며, 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538)과 대장균(*Escherichia coli* ATCC 25922) 2종류의 사멸율을 측정하였다. 먼저 시험시료 및 대조시료를 준비하고, 미리 조정하여둔 각각의 시험용액에 시험시료와 대조시료를 넣어 균 배양액을 1 ml씩 접종한다. 이때 Ag 이온을 담지한 하이드록시아파타이트의 농도는 1 wt%로 인산완충용액에 용해시켜 시험액으로 하였다. 시험용액은 접종한 시험시료와 대조시료를 37±1°C에서 120 rpm으로 24시간 진탕하여 배양하였다. 균 접종 초기 균수 및 배양 24시간 후 균수를 측정하여 감소율(%)을 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

일반적으로 금속 알콕시드는 염기성 하에서 OH⁻ 이온의 촉매작용 때문에 가수분해가 급격히 일어나게 전체에 불균일한 핵 형성이 일어나거나 빠른 가수분해 반응으로 인하여 중합반응에서 3차원적 망목 구조를 이루지 못하고, 선상고분자 중합체를 형성하기 때문에 불균일 입자가 얻어진다^{6,7)}. 반응 용액 내에서 침전물의 석출과정은 균일 핵 생성 또는 불균일 핵 생성으로 진행되는데, 일반적으로 균일 핵 생성 시 에너지 장벽은 불균일 핵 생성 때 보다 높아 그 속도가 느린 것으로 알려져 있다. 그러나, 이러한

Table 1. Compositions of starting solutions

Specimen	Composition/molar ratio			
	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	P(OC ₂ H ₅) ₃	C ₂ H ₅ OH	Ag/Ca+Ag
1	0.075	0.045	20.00	0.5 mol% Ag
2	0.075	0.045	20.00	1.0 mol% Ag
3	0.075	0.045	20.00	1.5 mol% Ag
4	0.075	0.045	20.00	2.0 mol% Ag
5	0.075	0.045	20.00	4.0 mol% Ag
6	0.075	0.045	20.00	6.0 mol% Ag
7	0.075	0.045	20.00	8.0 mol% Ag
8	0.075	0.045	20.00	10 mol% Ag
9	0.175	0.045	20.00	12 mol% Ag

예측과는 달리 본 연구에서는 염기성 분위기에서도 가수분해는 급격히 일어나지 않아 졸이 먼저 생성되고, 40시간 후에 결정이 석출되었기 때문에 균일 핵생성이 지배적인 것으로 판단된다. 또한 금속 알콕사이드의 가수분해, 축합에서의 화학적 반응성은 금속이온의 전기음성도 및 배위수, 알콕사이드의 입체장애에 영향을 받는다⁸⁾. P의 원료가 되는 $P(OC_2H_5)_3$ 에서는 alkoxy가 ethyl 그룹이므로 가수분해 및 축합 반응에 큰 영향을 미치지 않으나, P의 전기음성도가 2.11로 상당히 높고 partial charge는 +0.13 정도로 상당히 작기 때문에 가수분해가 잘 일어나지 않는다. 따라서 $P(OC_2H_5)_3$ 의 가수분해를 촉진시키기 위하여 증류수를 첨가해야 하며, $H_2O/P(OC_2H_5)_3$ 의 몰비 r은 3.3이 최적조건이었다. 그러나, 반응 중 r값이 상기 조건을 벗어난 경우 CaO 또는 b-TCP가 검출되었다. Ca의 원료로 사용한 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 및 $AgNO_3$ 는 ethanol에 쉽게 용해되어 Ag^+ , Ca^{2+} , NO_3^- 로 분리되고, P alkoxide의 가수분해와 중축합반응 및 치환반응을 도모한다.

$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $P(OC_2H_5)_3$, C_2H_5OH 및 H_2O 의 반응으로 생성된 졸을 100°C에서 건조한 뒤, 1,000°C에서 소결한 은 담지 하이드록시아파타이트 분말에 대한 FT-IR 흡수 스펙트럼 분석 결과를 그림 1에 나타내었다. 그림 1의 흡수 스펙트럼 패턴에서 나타나는 602 cm^{-1} 및 571 cm^{-1} 에서의 강한 흡수 band는 비대칭 O-P-O bending mode(n_4)이고, 473 cm^{-1} 및 436 cm^{-1} 에서의 약한 흡수 band 대칭 O-P-O bending mode(n_2)이다. 1,047 cm^{-1} 에서의 강하고 넓은 흡수 band는 비대칭 P-O stretching mode(n_3)로 나타나고, 960 cm^{-1} 에서의 약한 흡수 band는 대

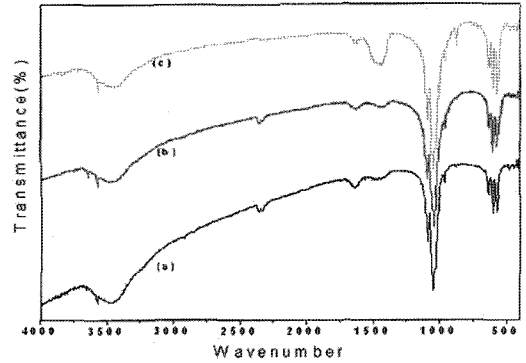


Fig. 1 FT-IR spectra of silver-doped hydroxyapatite powders. (a) HAP, (b) 2.0 mol% Ag-Hap and (c) 4.0 mol% Ag-Hap

칭 P-O stretching mode(n_3)의 결과이다. 3,571 cm^{-1} 에서의 흡수 band는 -OH stretching vibration을 나타낸다. 소결된 하이드록시아파타이트와 은이 담지된 하이드록시 아파타이트의 FT-IR 자료를 비교하여 볼 때 가장 현저한 차이는 흡수가 1720 cm^{-1} , 1480 cm^{-1} 에 나타나는 탄산기에 의한 흡수대의 변화였다. 은 함량이 증가함에 따라서 CO_3^{2-} 의 함량이 커짐을 알 수 있다. HAP 구조내의 Ag의 치환은 Ca^{2+} 와 Ag^+ 의 전하 차이를 맞추기 위하여 탄산 그룹의 증가를 초래한다고 생각된다.

그림 2에는 Ag 및 Ca의 몰 비율을 0.5~2.0%로 변화시키면서 얻은 분말에 대한 XRD 분석 결과를 나타내었다. 모든 피크들에 대한 패턴은 JCPDS card #9-432와 잘 일치하였으며, 이는 Tricalcium Phosphate (TCP), CaO 또는 SiO_2 등이 존재하지 않는 매우 순수한 하이드록시아파타이트로 판단된다. 그러나, Ag

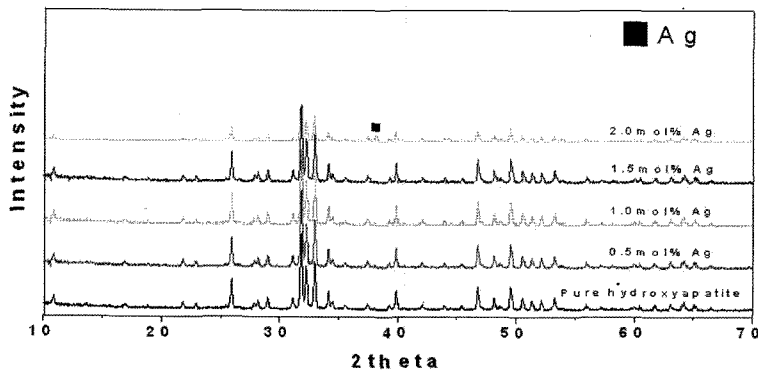


Fig. 2 XRD patterns of silver-doped hydroxyapatite powders (The amount of silver is 0.5~2.0 mol%).

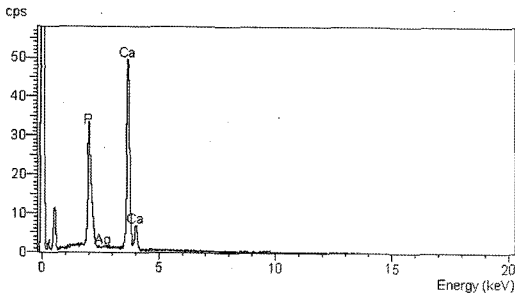


Fig. 3 EDS spectrum of 2.0 mol% silver-doped hydroxyapatite.

첨가량이 증가되면서 결정성이 감소됨을 알 수 있다. 또한, Ca에 대한 Ag 첨가량이 0.5~1.5 mol%인 경우에는 하이드록시아파타이트만이 관찰되었으나, 2.0 mol%에서는 Ag 금속에 대한 피크($2\theta=38.1^\circ$)가 검출되었다. 따라서, 하이드록시아파타이트 내에 Ag를 첨가할 경우 1.5 mol%까지 치환되는 것으로 판단되었다.

그림 3은 Ag 함량이 2.0 mol%인 경우, EDS spectrum 및 성분 분석 결과이다. XRD 분석결과와 마찬가지로 2.0 mol% 에서 은 금속 피크가 검출됨

을 알 수 있다.

하이드록시아파타이트에 Ag가 치환됨으로써 나타나는 두드러진 특징은 같은 온도에서 소결한 순수 하이드록시아파타이트와 Ag 담지 하이드록시아파타이트의 미세구조를 비교함으로써 확인할 수 있다. Ag 이온 담지에 따른 하이드록시아파타이트의 형태 변화를 주사전자 현미경사진으로 관찰한 결과를 그림 4에 나타내었다. 그림 4(a)는 순수 하이드록시아파타이트로서 400~500 nm의 길이를 가진 특유의 주상 입자가 관찰되고, (b)는 Ag 함량이 2.0 mol%로서 순수 하이드록시아파타이트와 같은 형태를 나타내고 있다. (c)는 Ag의 함량이 4.0 mol%의 경우로서 2.0 mol% 보다 입자크기가 감소하였음을 알 수 있다. 따라서, 순수 하이드록시아파타이트에 비하여 Ag가 치환되는 경우 입자 크기는 점차 감소되는 것을 알 수 있는데, 이는 Ag가 Ca 자리에 치환됨으로써 계 전체의 밀도가 감소하기 때문인 것으로 추정할 수 있다.

Ag 담지 하이드록시아파타이트 분말에 대한 항균 특성은 황색포상구균 및 대장균을 이용한 진탕플라스크법에 의해 박테리아 사멸율을 측정함으로써 평

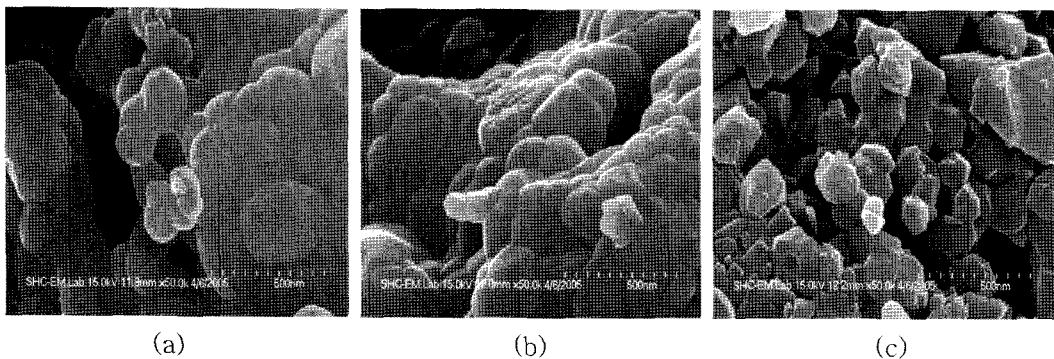


Fig. 4 SEM photographs of surface morphology. (a) Hap, (b) 2.0 mol% Ag-Hap and (c) 4.0 mol% Ag-HAP

Table 2. Antibacterial test results on *S. aureus* and *E. coli*

Bacteria	Case	Start	After 24h	Reduction rate of bacteria(%)
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	Blank	1.3×10^5	5.9×10^6	-
	0.5 mol% Ag	1.3×10^5	<10	99.9
	1.0 mol% Ag	1.3×10^5	<10	99.9
	2.0 mol% Ag	1.3×10^5	<10	99.9
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	Blank	1.5×10^5	6.6×10^6	-
	0.5 mol% Ag	1.5×10^5	<10	99.9
	1.0 mol% Ag	1.5×10^5	<10	99.9
	2.0 mol% Ag	1.5×10^5	<10	99.9

가하였다. 표 2에 구체적인 항균특성 시험 조건 및 그 결과를 나타내었다. Ca에 대한 Ag 함량 0.5 mol%, 1.0 mol%, 2.0 mol%인 하이드록시아파타이트의 항균특성을 시험한 결과, 24시간 incubation 후 박테리아의 사멸율은 황색포도상구균 및 대장균 모두 99.9% 이상인 것으로 나타났으며, Ag 함량이 적은 경우에도 그 항균력은 동일한 것으로 나타났다. 따라서 항균효과는 Ag 함량이 가장 적은 0.5 mol%의 경우에도 2.0 mol%와 같은 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

4. 결 론

P-알루미늄, Ca-염 및 AgNO_3 를 원료로 사용한 졸-겔 반응을 통하여 항균특성을 나타내는 Ag 담지 하이드록시아파타이트 분말을 합성하였다. Ag 치환에 따른 XRD 분석에 의하면 하이드록시아파타이트 내의 Ag 최대 치환량은 Ca에 대하여 약 1.5 mol%였고, Ag 담지 하이드록시아파타이트 분말에 대하여 진탕플라스크법을 이용한 항균효과 측정 결과, 황색 포도상구균(ATCC 6538) 및 대장균(ATCC 25922)의 사멸율이 99.9% 이상으로 매우 높은 항균 특성을 나타내었다. 또한, Ag의 치환량이 0.5 mol%일 경우

에도 2.0 mol% 치환된 경우와 동일한 항균효과를 나타냄으로써 극미량의 Ag 담지로 최대한의 항균효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구에서 합성된 Ag 담지 하이드록시아파타이트 분말은 인체나 식품 등에 접촉이 빈번한 생활용품, 포장재, 약취 제거 등 생체 항균소재로 적합할 것으로 예상되었다.

참고문헌

1. A. Ohtani: Ipc Press, Tokyo, (1997)1.
2. A. Nishino, T. Tomioka, K. Tomita and S. Kobayashi: Advisory Committee for Industry Press, Tokyo, (1996) 57, 101.
3. T. Yoshinari and M. Uchida: Ceramics, **28** (1993) 651.
4. T. N. Kim: J.Mater.Sci., **9** (1998) 129.
5. Y. J. Kim: Kor. J.Mat.Res., **11** (2001).
6. T. Ikemoto, K. Uematsu, N. Mizutani and M. Kato: Ceramics, **93** (1985) 261.
7. B. J. Yolda: Mater. Sci., **21** (1986) 1087.
8. M. Guglielmi and G. Cartuarn: J. of Non-Crystalline Solid, **100** (1988) 16.
9. L. Merker and H. Wondratschek: Z. Kristallogr. **109** (1957) 110.
10. L. Nover, K. D. Scharf and D. Neuman: Mol. Cell. Bio, **3** (1983) 648.