Poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) 하이드로겔에서의 silver nanoparticles의 제조

박종석 · 김현아 · 최종배 · 권희정 · 임윤묵 · 노영창*

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소

Preparation of Silver Nanoparticles on the Poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) Hydrogel

Jong-Seok Park, Hyun-A Kim, Jong-Bae Choi, Hui-Jeong Gwon, Youn-Mook Lim and Young-Chang Nho*

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

Abstract - Silver nano-particles (AgNPs) have attracted much attention for centuries due to their unique optical properties, electrical conductivities, oxidative catalysis, and antibacterial effect. In this study, AgNPs have been prepared by using aqueous $AgNO_3$ solution in the poly(vinyl alcohol) (PVA)/poly(ethylene glycol) (PEG) hydrogels. PVA and PEG powders were dissolved in deionized water, and then irradiated by a gamma-ray with a radiation dose of 50 kGy to make hydrogels. PVA/PEG hydrogels were dipped into 1.0×10^{-2} M $AgNO_3$ solution for 1 hour. After that, the swollen hydrogels were irradiated by gamma-ray for the formation of AgNPs. FE-SEM is used to observe the formation of AgNPs as a function of the content of PEG and the irradiation dose. Also, AgNPs in the PVA/PEG hydrogels were monitored by UV-Vis. It is observed that the content of PEG and gamma-ray irradiation in the hydrogel is crucial to the formation of AgNPs. Finally, antibacterial tests indiacted that the hydrogel containing silver nanoparticle has antibacterial activity.

Key words : Silver nanoparticle, PVA, PEG, Hydrogel, Gamma-ray

서 론

은 나노입자(AgNPs)는 고유의 광학적 특성, 전기 전도성, 산화촉매 같은 특성으로 많은 관심과 연구가 진행되고 있으며, 그 응용분야 또한 전기/전자 제품, 의류 및 일반생활 용품, 화장품, 식/의약품 등으로 확산 되어가고 있다(Kim *et al*. 2010). 특히, 인간의 생활환경 속에서 자주 발생하는 박테리아, 효모, 바이러스 등에 대한 항균 활성이 매우 우수한 것으로 알려져 있다(Cho and Park 2004). 또한, 은 나노입자를 고분자에 응용한 복합체를 의료용 기구에 적용하는 연구가 진행되고 있다(Nam *et al*. 2008).

은 나노입자를 제조하는 방법으로는 화학적 환원법,

* Corresponding author: Young-Chang Nho, Tel. +82-63-570-3060, Fax. +82-63-570-3079, E-mail. ycnho@kaeri.re.kr

전기 분해법, 방사선 조사법 등이 있다(He *et al*. 2004; Sun and Luo 2005; Huang *et al*. 2010; Tolaymat *et al*. 2010). 그 중에서 방사선 조사에 의한 환원법은 제조과정이 간단하고, 완전히 환원된 은 나노입자를 제공하며, 순도가 높고, 환원제가 필요하지 않아 환경 친화적인 장점이 있다(Naghavi *et al*. 2010).

하이드로겔은 우수한 생체 적합성 및 수분 보유능력을 가지고 있어, 조직공학, 콘택트렌즈, 상처치료용 드레싱으로 자주 사용된다(Choi *et al*. 2003).

폴리비닐알코올(PVA) 하이드로겔은 다른 생체 재료보다 생체 적합성이 우수하고 다공성 구조로 인하여 인공연골의 재료로 사용하는데 많은 장점을 가지고 있지만 기계적 강도가 낮은 단점이 있다(Qi *et al*. 2004; Zhang *et al*. 2009).

폴리에틸렌글리콜(PEG) 하이드로겔은 수분 흡수능력이 뛰어나며, 독성이 없고 화학적으로 쉽게 개질되어 상처치료제, 약물전달 시스템, 조직공학의 재료로 많이 사용되고 있다(Sagle *et al*. 2009; Sanborn *et al*. 2009).

카르복시메틸셀룰로오스(CMC) 하이드로겔은 수분의 흡수성이 우수하고, 상당한 양의 수분을 보유할 수 있으며, 독성이 없고, 생체 적합성, 생분해성 특성을 가지고 있어 상처 치료용 드레싱 및 약물 전달체계 등에 응용되고 있다(Coviello *et al*. 2007).

본 연구에서는 PVA 하이드로겔 내부에 은 나노입자를 제조 하는데 있어서, PEG의 함량 및 감마선 조사가 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험의 재료

본 연구에서 사용된 poly(vinyl alcohol) (PVA)는 Sigma-Aldrich Co., ltd (St. Louis, USA)에서 구입하였으며, 분자량(Mw)은 85,000～124,000인 것을 사용하였다. Poly(ethylene glycol) (PEG)는 Sigma-Aldrich Co., ltd (St. Louis, USA)에서 구입하였으며, 분자량(Mn)은 400인 것을 사용하였다.

2. 하이드로겔의 제조

PVA를 Table 1과 같은 조성으로 증류수에 넣고 오토클레이브(121°C, 20분)를 이용하여 용해시켰다. 용해된 PVA 용액에 Table 1과 같은 조성으로 PEG를 넣은 뒤, 두 고분자가 잘 섞일 수 있도록 75°C를 유지하면서 저어준다. 이때, PEG는 미리 75°C를 유지해 주어 온도차

Table 1. Composition of PVA/PEG hydrogel

	PVA	PEG	Water
PEG-00	15	0	85
PEG-05	15	5	80
PEG-10	15	10	75
PEG-15	15	15	70

이로 인한 비섞임이 없도록 해준다. PVA 용액과 PEG의 혼합과정에서 생긴 기포를 없애기 위해 PVA/PEG 용액을 75°C의 항온수조(water bath)에 담가둔다. 기포가 빠진 PAV/PEG 용액을 스퀘어디쉬에 40 g씩 넣고 감마선을 이용하여 10 kGy · hr^{-1}의 선량율로 50 kGy 조사하여 PVA/PEG 하이드로겔을 제조하였다.

3. 은 나노입자 제조

$AgNO_3$ 파우더를 물에 녹여 0.05 M 질산은 수용액을 제조하였다. 감마선을 조사하여 제조된 PVA/PEG 하이드로겔을 13×13 mm로 준비한 후, 0.05 M 질산은 수용액에 1시간 동안 침지 후, 팽윤된 하이드로겔을 꺼내 1 kGy · hr^{-1} 선량율로 0, 1, 3, 5, 8, 10 kGy의 감마선을 재조사하였다.

4. 구조 및 물성 분석

하이드로겔의 겔화율은 PVA/PEG 하이드로겔을 37°C 항온수조에서 48시간 동안 침지 시키고, 교반하였다. 침지된 하이드로겔을 꺼내어 겔표면의 물기를 닦아 60°C 오븐에 넣어 48시간 동안 건조하였다. 겔화율은 식(1)에 나타낸 바와 같이 건조된 겔의 무게(W_d)를 초기 겔의 무게(W_i)로 나누어 백분율로 표시하였다.

$$\text{겔화율}(\%)=\frac{W_d}{W_i}\times 100 \quad (1)$$

팽윤도는 함수율로 측정하였다. 하이드로겔의 팽윤도를 측정하기 위하여 일정크기로 자른 후, 무게를 측정했다. 각각의 표본을 정제수가 담긴 디쉬에 넣고 주기적으로 표본의 무게를 측정하였다.

$$\text{팽윤도}(\%)=\frac{(W_s-W_d)}{W_d}\times 100 \quad (2)$$

상기 식(2)에서 W_s는 팽윤된 표본의 무게, W_d는 건조된 표본의 무게이다.

PVA/PEG 하이드로겔에 함유된 은 나노입자는 UV 흡수 분광도(BioTek Instruments, Inc., USA)에 의해 정성적으로 분석하였다. 하이드로겔 내부에 생성된 은 나노입자

의 모폴로지는 전계방사 주사현미경(FE-SEM) (Hitachi S-4700, Japan) 을 통하여 관찰하였으며, 시료 내 수분을 제거하기 위하여 60˚C 진공오븐에서 3시간 정도 건조한 후 이를 gold coating하여 측정하였다.

5. 항균성 평가

은 나노입자 함유 하이드로겔의 항균성을 측정하기 위하여 *Escherichia coli* (*E. coli*)와 *Straphylococcus aureus* (*S. aureus*) 균주를 사용하여 하이드로겔의 항균활성을 평가하였다. 먼저 균주를 Nutrient broth (Difco Co., USA)에 접종하여 37˚C에서 24시간 동안 배양한 후, 각 균주를 $O.D._{600}$ 0.1로 조정하여 Nutrient agar (Difco Co., USA)에 100 µl 도말하고 고체배지를 punch (diameter 8 mm)로 well을 만든 후에 샘플들을 well 속에 담은 후에 37˚C에서 24시간 동안 배양하였다. 항균 활성은 생육저지환의 크기를 측정하여 평가하였다.

또한, 시험관에 배양액 9 ml를 넣고 *E. coli*와 *S. aureus* 세균액 1 ml를 혼합한 다음 배양기 안에서 37˚C, 150 rpm의 속도로 흔들면서 24시간 동안 배양 후, 하이드로겔을 1 g씩 첨가하고 3시간마다 미생물 성장측정장치 (SCINCO S-3100)를 이용하여 흡광도 측정법 (600 nm)으로 세균의 성장 정도를 측정하였다.

결과 및 논의

Fig. 1은 물과 혼합된 PVA/PEG 수용액을 감마선으로 50 kGy 조사하여 제조된 하이드로겔의 PEG의 농도에 따른 겔화율을 나타냈다. 제조된 하이드로겔은 PEG의 농도가 증가 할수록 겔화율이 감소하였다.

Fig. 2는 PEG 농도에 따른 하이드로겔의 팽윤도를 나타냈다. Fig. 2와 같이, PEG 농도가 증가 할수록 하이드로겔의 팽윤도는 증가하였다. 이는 겔화율의 결과와 반비례하는데, 겔화율이 클수록 하이드로겔 내부의 가교밀도 향상으로 겔내부에 수분의 침투가 용이 하지 않기 때문이다.

Fig. 3은 감마선 조사로 인하여 Ag NPs가 생성된 정도를 알아 보기 위해 자외선 분광도를 나타냈다. 각각의 조건의 표본들을 BioTek® Power Wave XS을 이용하여 측정하였다. UV 스펙트럼 조사시, 은 콜로이드 흡수영역인 약 400～450 nm 근처의 peak 높이는 단위 부피당 은 입자의 밀도(개수)와 비례하므로 이 peak의 높이 값이 클수록 입자의 수가 많은 것으로 볼 수 있으며, 같은 은의 농도라 해도 입자크기가 작을수록 입자 밀도는 높으

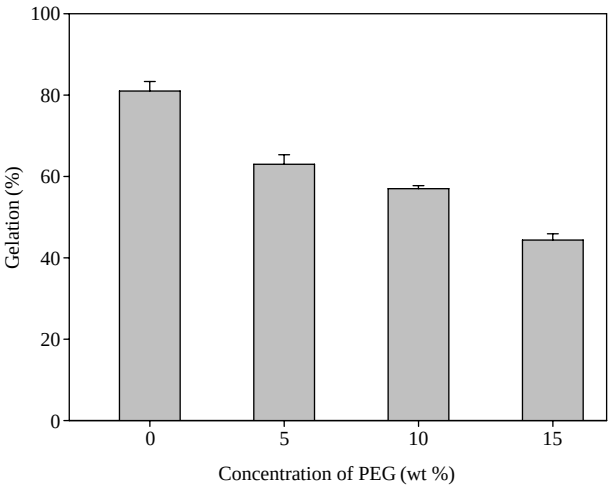

Fig. 1. Gelation of the PVA/PEG hydrogel with different PEG concentration; the radiation dose is 50 kGy.

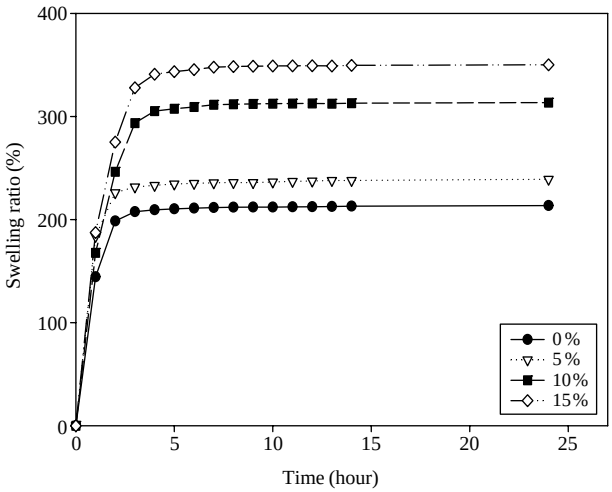

Fig. 2. Swelling ratio of the PVA/PEG hydrogel with different PEG concentration; the radiation dose is 50 kGy.

므로, peak의 높이가 클수록 보다 안정된 작은 크기의 은 입자 농도가 높다고 할 수 있다(Kim 2003). Fig. 3 의 (a), (b)는 각각 PEG의 함량이 0, 5%인 PVA 하이드로겔의 자외선/가시광 분광 광도를 나타낸다. 감마선 조사선량이 증가할수록 420 nm 부근의 은 나노입자의 dipole resonance와 연관된 흡수 peak의 intensity가 증가하였다. 이의 결과는 감마선의 조사에 의하여, Ag 이온을 환원시켜 쉽게 Ag NPs 생성되기 때문인 것으로 사료된다. 또한 PEG 함량이 증가할수록 420 nm의 파장대에서 흡수성이 높은 경향성을 나타냈다. 이의 결과는 Fig. 2의 하이드로겔의 팽윤도 결과에서, PEG 함량이 많아질수록 하이드로겔의 팽윤도가 증가되어, PVA 하이드로겔 내부에 더

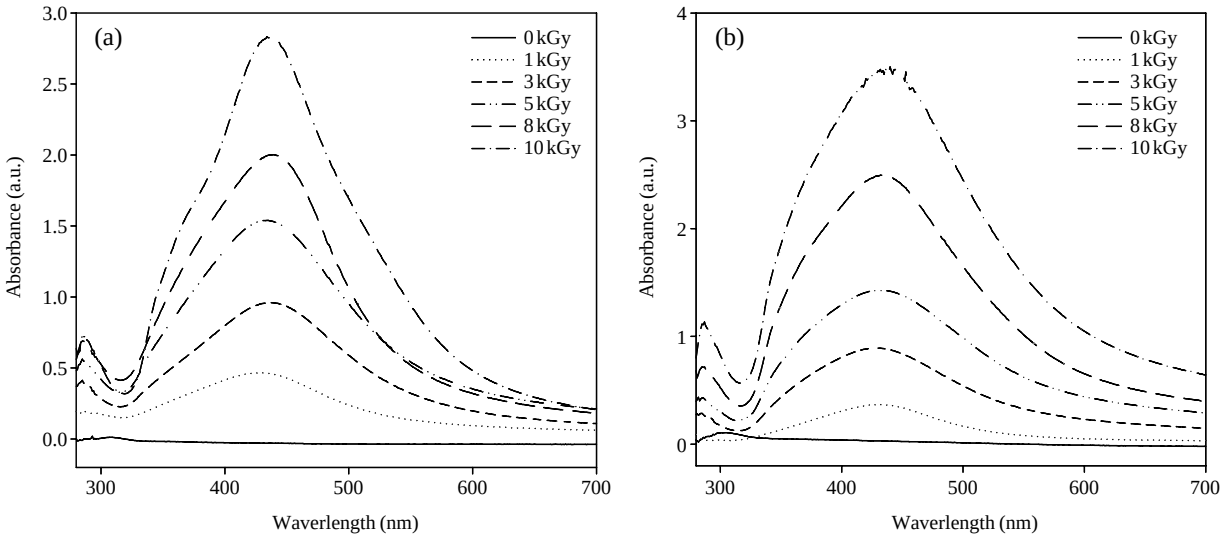

Fig. 3. UV/vis absorption spectra of the Ag nano-particles prepared in the crosslinked PVA/PEG hydrogel with increasing radiation dose; (a) PEG-00, (b) PEG-05.

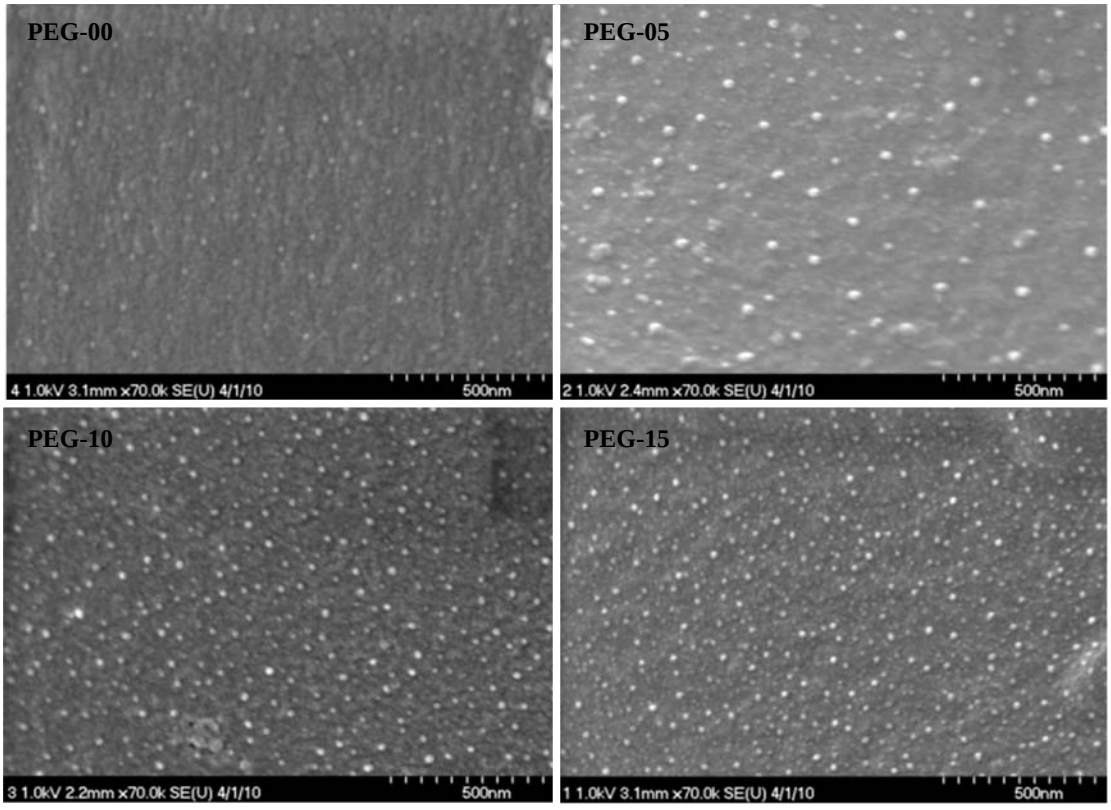

Fig. 4. The SEM micrographs of the Ag nano-particles prepared in the crosslinked PVA/PEG hydrogel with an increasing the content of PEG; the irradiation dose is 10 kGy.

많은 질산은 수용액을 흡수하면서, 은 나노입자의 생성이 증가되는 것으로 사료된다.

하이드로겔 내부에 Ag NPs 생성정도와 입자의 크기를 확인하기 위하여 FE-SEM을 측정하였다. Fig. 4는 PEG 농도에 따라 생성된 하이드로겔 내부 은 나노입자의 FE-SEM 이미지이다. Fig. 3의 자외선 분광도의 결과와 같

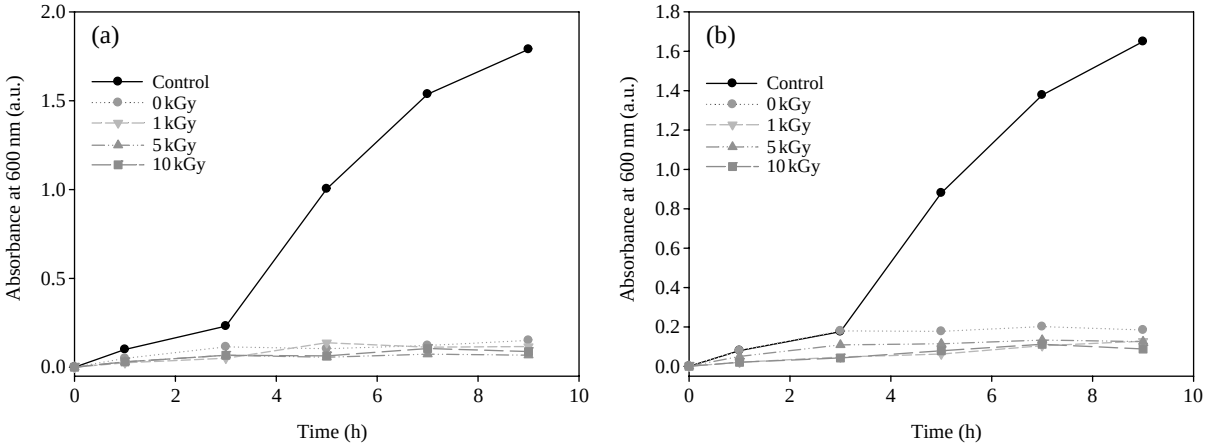

Fig. 5. Time dependence of optical density of PEG-10 with different gamma irradiation doses against (a) *S. aureus* and (b) *E. coli*.

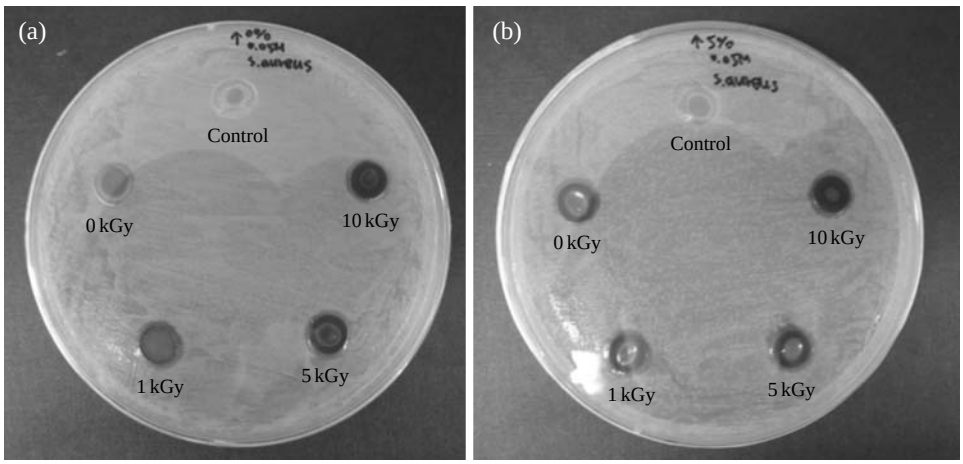

Fig. 6. Clear ratios of PEG-10 with different gamma irradiation doses against (a) *S. aureus* and (b) *E. coli*.

이, PEG 농도가 증가 할수록 은 나노입자의 생성이 증가 되는 것을 확인하였다.

PVA/PEG 하이드로겔에 생성된 은 나노입자의의 항균 효과를 확인하기 위해 10^9 CFU (균총형성단위) 생성된 100 ml 액체배지에 표본을 넣고, 시간에 따라 생성되는 *E. coli*와 *S. aureus*을 자외선 분광기 (SCINCO S-3100)를 통해 관찰하였다. Control 표본은 $AgNO_3$ 용액에 침지 시키지 않은 PVA 하이드로겔이다.

Fig. 5 에서 $AgNO_3$ 용액과 반응시키지 않은 하이드로겔은 Ag NPs가 함유하고 있지 않아 균의 생성이 이루어지지만, Ag NPs가 존재하는 표본에서는 균이 생성되지 못함을 보이고 있다. 이것은 하이드로겔에 존재하는 Ag NPs가 균의 생성을 억제하고 있음을 보여주고 있다.

또한 *E. coli*와 *S. aureus*가 함유 된 고체배지에 대해 각각의 표본에 대한 실험을 수행하였다. Fig. 6은 배양 후 24시간 후에 측정된 결과이다. Fig. 6에서 보는 바와 $AgNO_3$ 용액에 침지 시키지 않은 control 표본에 대해서는 항균성이 나타나지 않으나, Ag NPs이 존재하는 표본에 대해서는 모두 항균성이 나타남을 보여주고 있다. 또한, 방사선의 조사량이 증가 할수록 항균성이 증가함이 관찰되었다. 이와 같은 결과로부터 PVA/PEG 하이드로겔에 함유 된 AgNPs는 *E. coli*와 *S. aureus*에 대해 강한 항균성을 보임을 알 수 있다.

결 론

본 연구에서는 PVA 하이드로겔 내부에 은 나노입자를 제조 하는데 있어서, PEG의 함량 및 감마선 조사가 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

PVA 하이드로겔에서 PEG 함량이 증가 할수록, 하이드로겔의 팽윤도가 증가되어, PVA 하이드로겔 내부에

더 많은 질산은 수용액을 흡수하면서 은 나노입자의 생성이 증가되었다. 또한, 감마선의 조사량이 증가 할수록 하이드로겔 내부에 은 나노입자의 생성이 증가되는 것을 확인 하였으며, *E. coli*와 *S. aureus* 대해 강한 항균성을 나타냈다.

사 사

이 논문은 교육과학기술부의 재원으로 시행하는 한국연구재단의 원자력기술개발사업으로 지원받았습니다.

참 고 문 헌

Cho KH and Park SG. 2004. Study on the antibacterial effects of silver nanoparticles prepared by sonication method. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* **15**:952-955.

Choi EK, Kim HI, Park KR and Nho YC. 2003. Preparation and characterization of PVA/PVP/PEG/Chitosan hydrogels by freezing/thawing and radiation crosslinking. *J. Korean. Ind. Eng. Chem.* **14**:505-510.

Coviello T, Matricardi P, Marianecci C and Alhaique F. 2007. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *J. Control Release* **119**:5-24.

He B, Tan JJ, Liew KY and Liu H. 2004. Synthesis of size controlled Ag nanoparticles. *J. Mol. Catal. A-Cehm.* **221**:121-126.

Huang NM, Lim HN, Radiman S, Khiew PS, Chiu WS, Hashim R and Chia CH. 2010. Sucrose ester micellar-mediated synthesis of Ag nanoparticles and the antibacterial properties. *Colloid. Surface. A* **353**:69-76.

Kim SN, Roh J, Kang MS, Han YA, Lee BS, Kim Y, Park K, Choi K and Park EJ. 2010. Comparison of distribution and inflammatory response by diameter and shape of silver nanoparticles. *Environ. Health Toxicol.* **25**:215-222.

Kim YH. 2003. The effect of zeta-potential on the stabilization of silver nanoparticle colloid prepared by alcohol reduction method wih PVP. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* **14**:487-492.

Naghavi K, Saion E, Rezaee K and Yunus WMM. 2010. Influence of dose on particle size of colloidal silver nanoparticle synthesized by gamma radiation. *Rad. Phys. Chem.* **79**:1203-1208.

Nam KY, Lee CJ and Jung MJ. 2008. The study of synthesis and characterization for Silver/PMMA nanocomposites. *J. Korean Chem. Soc.* **52**:345-349.

Qi M, Gu Y, Sakata N, Kim DH, Shirouzu Y, Yamamoto C, Hiura A, Sumi S and Inoue K. 2004. PVA hydrogel sheet macroencapsulation for the bioartificial pancreas. *Biomaterials* **25**:5885-5892.

Sagle AC, Ju H, Freeman BD and Sharma MM. 2009. PEG-based hydrogel membrane coatings. *Polymer* **50**:756-766.

Sanborn TJ, Messersmith PB and Barron AE. 2002. In situ crosslinking of a biomaterials peptide-PEG hydrogel via thermally triggered activation of factor XIII. *Biomaterials* **23**:2703-2710.

Sun X and Luo Y. 2005. Preparation and size control of silver nanoparticles by a thermal method. *Mater. Lett.* **59**:3847-3850.

Tolaymat TM, Badawy EL, Genaidy AM, Scheckel KG, Luxton TP and Suidan M. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Sci. Total Environ.* **408**:999-1006.

Zhang DK, Wang DG, Duan JJ and Ge SR. 2009. Research on the long time swelling properties of poly(vinyl alcohol)/hydorxylapatitie composite hydrogel. *J. Bionic Eng.* **6**:22-28.

Manuscript Received: May 13, 2011
Revision Accepted: May 27, 2011