

저비용 고기능성 항균강화유리 개발을 위한 연구

김준섭
한국교통대학교 생명공학과

Development of Low-Cost High-Performance Antibacterial Tempered Glass

Jun-Sub Kim
Department of Biotechnology, Korea National University of Transportation

요약 다양한 건축시설 및 생활제품에 적용하기 위한 기능성 항균강화유리개발을 위해 국산 소재들의 항균력을 조사하여, 특정농도에서 99% 이상의 항균력을 갖는 은, 구리, 아연으로 강화유리 시편을 제작하였다. 은, 구리, 아연을 Ethylene glycol + Glycerol로 분산시킨 시편의 항균력은 모두 99% 이상으로 측정되었고, Ethylene glycol과 Glycerol을 단독으로 사용했을 때는 항균력이 감소되었다. 표면분석기를 사용하여 세척에 의한 결합된 금속소재의 두께 변화를 측정된 결과, 물을 포함한 다양한 종류의 세제로 세척한 시편에서는 표면에 도포된 소재의 두께가 1% 미만으로 감소하였지만, 염기성 세제에서는 약 10%의 표면두께 감소가 확인되었다. 또한, 시편의 인체 안전성을 확인하기 위해, MTT 분석법을 통한 세포독성실험을 수행하였고, 항균물질들이 도포된 시편에서의 세포독성은 대조군과 비교하였을 때 거의 나타나지 않았다. 마지막으로, 시제품의 항균력이 99% 이상임을 Bacterial Live/dead kit을 이용하여 확인하였고, 공인인증기관의 필름밀착법으로 다시 한 번 시제품의 항균력을 검증하였다. 결국, 본 연구에서는 국산소재들의 항균력을 검증과 함께 이를 이용한 고기능성 항균효과 갖는 강화유리를 개발하였다.

Abstract To develop an antibacterial tempered glass for applications to various building facilities and household products, the antibacterial activity of domestic materials was investigated, and a tempered glass sample was produced with silver, copper, and zinc, having an antibacterial activity of 99% or more at a specific concentration. The measured antibacterial activity of the samples, in which silver, copper, and zinc were dispersed in ethylene glycol + glycerol, was more than 99%. Measurements of the thickness of the coated metal material by washing using a surface analyzer showed that the thickness decreased by less than 1% in various types of detergents, including water, but only approximately 10% in the alkaline detergents. To check the human safety of the samples, a cytotoxicity test was performed through an MTT assay; the samples showed no cytotoxicity. Finally, a Live/Dead kit or film adhesion method showed that the antibacterial activity of the prototype was more than 99%. Therefore, the high-functional antibacterial effect of tempered glass was developed using domestic materials and may be used in various products in the future.

Keywords : Antibacterial Tempered Glass, Antibacterial Activity, Silver, Copper, Zinc

이 논문은 2018학년도 한국교통대학교의 해외파견연구교수지원금을 받아 수행한 연구임.

*Corresponding Author : Jun-Sub Kim(Korea National University of Transportation)

email: junskim@ut.ac.kr

Received August 25, 2020

Revised September 9, 2020

Accepted January 8, 2021

Published January 31, 2021

1. 서론

여기부터 논문을 작성한다 항균유리의 개발은 여러 가지 보건 이슈들과 위생에 대한 시장의 니즈를 반영하여 최근 전 세계적으로 기술개발 및 상품개발이 활발히 이루어지고 있다. 항균유리는 주로 엄격한 위생관리가 필요한 병원, 수술실, 실험실 등 제한된 시설에 적용되어 왔지만, 식품, 군수용품, 일반가정 등 많은 분야로 그 시장이 확대되고 있다[1]. 특히, 최근에는 스마트폰과 태블릿 등 각종 IT 디스플레이 가전에서 항균유리를 가장 활발히 적용하고 있으며, 전 세계의 많은 기업들과 대학들의 연구경쟁이 심화되고 있다[2]. 하지만, 항균 유리분야에서 미국 (코닝), 일본 (아사히글라스), 중국의 제조업체들이 대부분의 시장을 점유하고 있고[1], 국내에는 대량생산을 하는 제조업체가 없는 실정이다.

유리에 항균능력을 더하기 위해 주로 항균제 및 항균 필름을 이용하여 왔지만, 현재에는 다양한 졸 코팅 방법으로 은이나 구리를 유리에 직접 코팅시켜 항균유리를 개발하고 있다[3]. 항균유리에 적용되는 대표적인 금속소재로는 은이 가장 많이 사용되고 있으며, 구리, 아연, 알루미늄, 지르코늄, 티타늄 등 다양한 금속 소재들 또한 항균능력이 알려져 있기 때문에 유리에 접목이 가능하다 [4].

일반유리는 열적, 화학적, 물리적 강화를 통해 강화유리로 만들 수 있으며[3], 스마트폰에 적용되는 강화유리는 주로 화학적 강화를 통해 만들어지고, 제조비용이 비교적 높은 반면, 건축물에 사용되는 강화유리는 주로 열적 강화에 의한 비교적 제조공정이 쉽고 빠르며, 제조비용 또한 낮다.

㈜글라스윈은 일반유리를 열강화 공정으로 강화유리를 생산하는 기업으로, 이미 2012년에 항균강화유리제작에 대한 방법을 개발하여 특허를 획득하였지만, 이때 사용한 재료는 일본산 소재 및 연구용 재료로서 대량생산을 위한 양산품에 적용하기에는 무리가 있었다. 결국, 본 연구에서는 ㈜글라스윈의 국내 중소협력업체로부터 제공받은 은, 구리, 아연, 지르코늄의 항균력을 검증하여, 이를 통한 저비용 고기능성 항균강화유리를 개발하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 항균소재, 시편, 시제품의 제조

본 연구에 사용한 항균소재들인 은 (AgNO_3), 구리 (CuSO_4), 아연 (ZnSO_4), 지르코늄 (ZrSiO_4) 은 ㈜글라스윈의 국내 협력업체로부터 제공받았다.

항균시편 및 시제품 제조를 위해 항균소재들은 분산용매로 Ethylene glycol + Glycerol (EG + G), ethylene glycol (EG), 또는 Glycerol (G) 에 혼합한 후, 항균혼합액을 유리에 도포하여 도포된 일반유리를 건조기에서 500-800 °C의 온도로 1~60분 범위로 가열 건조한 후, 상기 가열된 유리를 30~70 °C 범위의 바람으로 급냉하여 강화유리로 제작하였다 (항균유리 제조방법 및 그에 의하여 제조되는 항균유리, 대한민국 특허 10-1174402).

2.2 항균력 측정

2.2.1 진탕 플라스크 시험법

배양된 대장균 (*E. coli*, ATCC 25922)을 OD 값은 0.2로 맞춘 후, 총 100 ml의 배양액에 항균시료를 다양한 농도 (0 - 100 $\mu\text{g/ml}$) 로 처리하거나 (Fig. 1), 1 mg/cm^2 의 농도로 은, 구리, 또는 아연이 용착된 2 X 2 cm^2 의 시편을 넣었다 (Fig. 2). 24시간 후에 생존 균수를 광도계를 사용하여 흡광도 600 nm 에서의 흡광도를 정량하여 항균효과 (%)를 확인하였다.

2.2.2 Bacterial Live/Dead kit

LIVE/DEAD® BacLight Bacterial Viability Kit (Cat. No. L7012)을 이용하여 Invitrogen사가 제공하는 방법으로 실험을 진행하였다. 살아있는 균은 녹색형광을 죽은 균은 빨간색 형광으로 염색이 되기 때문에, 이를 형광광도계를 이용하여 시제품의 항균력을 시간별로 정량하였다. 이때 양성대조구로는 Phosphate-buffered saline (pH 7.4)를 사용하였고, 음성대조구로는 70% EtOH을 처리해 미리 대장균을 죽인 후 사용하였다 (Fig. 5b).

2.2.3 필름밀착법 (JIS Z 2801)

필름밀착법 시험은 공인인증기관에 의뢰하여 진행하였다. 대장균과 살모넬라균 (*S. enterica*, ATCC 8326)을 시제품의 표면에 접촉한 후, 필름을 덮고 24시간 동안 배양하였다. 필름에 배양된 균들은 회수하여 고체배지에서 다시 24시간 배양 후 생균수를 측정하였다 (Fig. 5c).

2.3 항균강화유리 시편의 안정성 조사

강화유리에 용착된 항균소재들의 안정성을 확인하기

위해, 제조된 시편을 다양한 종류의 세정제로 세척한 후, 표면분석기 (ET-3000i, KOSAKA)를 사용하여 강화유리 표면의 두께 변화를 조사하였다. 표면 세척을 위해 대조구로서 물이 사용되었고, chlorine 세제 (브레프클로린, 헨켈홈케어코리아), fluorine 세제 (파로독탁스, GSK 컨슈머헬스케어코리아), alkaline 세제 (Mucocit®, GmBH)를 사용하여 일주일에 2회씩 총 24번 세정 후, 한국교통대학교 공동실험실에 의뢰하여 진행하였다.

2.4 항균강화유리 시편의 세포독성 조사

제조된 항균강화유리에 대한 인간피부세포주 (HaCaT cells)의 세포생존율을 확인하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 배양된 세포에 다양한 시편조각 (2 X 2 cm²)을 넣은 후, 24시간 마다 MTT 반응을 통한 Formazan 형성을 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 6일 동안 진행하였고, 항균강화유리 시편을 넣지 않고 배양시킨 대조군 세포를 100% 하였을 때의 상대적인 세포생존율을 정량하였다 (Fig. 4).

3. 결과 및 고찰

3.1 항균소재의 항균력 조사

([※]글라스원으로부터 제공받은 강화유리에 코팅될 항균무기소재들인 은, 구리, 아연, 지르코늄의 항균력을 진탕 플라스크 시험법 (ASTM E2149)을 이용하여 측정하였다 (Fig. 1). 은, 구리, 아연 모두 100 µg/ml의 농도에서 99% 이상의 항균력이 나타났고, 지르코늄은 약 40%의 항균력을 나타내었다. 특히, 은의 항균력은 0.1 µg/ml의 농도에서도 약 90% 이상으로 나타났으며, 구리와 아연도 각각 70%와 60%의 항균력이 확인되었다. 은을 포함한 다양한 무기소재들의 항균력은 소재의 크기와 농도에 따라 달라지며[6], 많은 연구들에서 AgNO₃의 항균농도로 10 - 100 µg/ml을 사용하고 있다[7]. 결국, 본 연구에서 사용되어진 국산소재들은 충분한 항균력이 검증되었기 때문에, 이 실험에서 검증된 국산소재들을 이용하여 다음 연구에 사용될 시편들을 제작하였다.

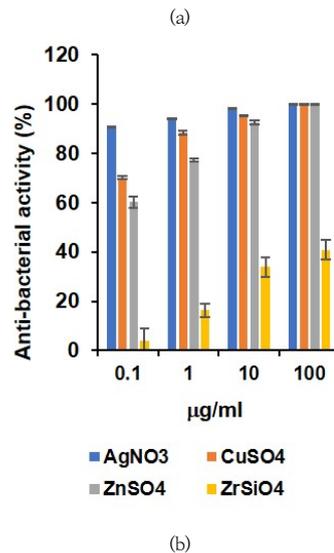
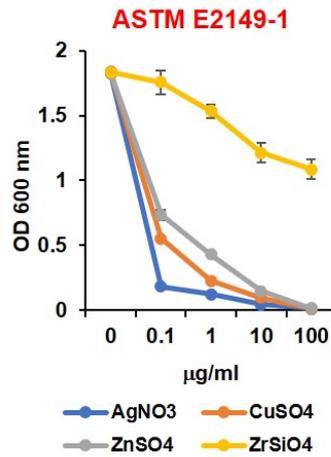


Fig. 1. Antibacterial activities of AgNO₃, CuSO₄, ZnSO₄, and ZrSiO₄. (a) Optical density of *E. coli*, (b) Comparison of antibacterial activity.

3.2 항균강화유리 시편의 항균력 조사

소재들에 대한 항균력 실험결과를 바탕으로, 99% 이상의 항균력을 갖는 강화유리 개발을 위해 다음으로 진행될 실험들의 항균강화유리 시편은 상대적으로 낮은 항균력을 갖는 지르코늄을 제외하고 시편을 제작하였다. 시편에서는 은, 구리, 아연이 유리표면에 고정되어 대장균과의 접촉 표면적이 감소할 뿐만 아니라 접촉 기회가 떨어져 항균력이 감소할 가능성이 있기 때문에, 은, 구리, 아연을 이전 실험결과의 농도보다 높은 1 mg/cm²의 농도를 갖는 2 X 2 cm²의 크기의 시편으로 제작하였다

(Fig. 2a). 또한, 시편 제작 시 소재들의 균일한 분산과 안정성을 위해 Ethylene glycol + Glycerol (EG + G), ethylene glycol (EG), 또는 Glycerol (G)을 사용하였다[8].

총 9개 시편의 항균력을 측정한 결과, EG+G로 분산시킨 시편에서는 항균력이 3가지 소재 모두에서 99% 이상을 나타내는 반면, EG인 경우는 은에서 95%, 구리에서 91%, 아연에서 92%를 나타내었고, G인 경우에는 은에서 91%, 구리에서 80%, 아연에서 80%로 조사되었다 (Fig. 2b). 이는 소재들의 균일한 분산 및 안정성이 EG+G에서 가장 높게 작용했기 때문으로 생각된다.

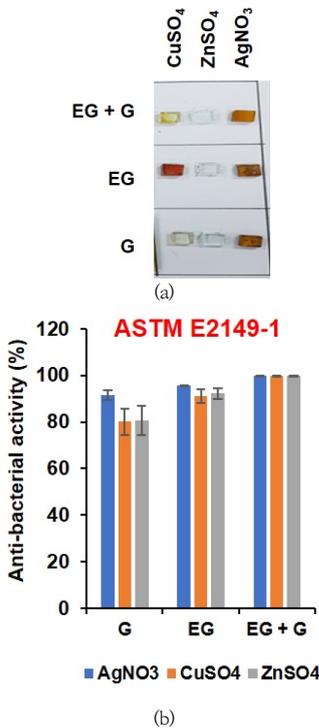


Fig. 2. (a) Antibacterial tempered glass (sample). (b) Antibacterial activities of antibacterial tempered glass (Sample).

3.3 항균강화유리 시편의 안정성 조사

강화유리에 코팅된 항균소재들의 안정성을 확인하기 위해, 다양한 종류의 세정제를 사용하여 일주일 2회씩 총 24번 세정 후, 표면 분석기를 사용하여 강화유리 표면의 두께 변화를 조사하였다. 세정을 하지 않은 대조군에 비해 두께의 변화가 water, chlorine-, fluorine- 계열에서는 1% 미만으로 나타났지만, alkaline- 계열의 세정제를 사용하였을 경우에는 약 10%의 두께감소가 확인되었다 (Fig. 3). 결국, alkaline- 계열의 세정제의 사용은

항균력 감소와 제품의 안정성에 문제를 야기할 수 있음이 예상된다.

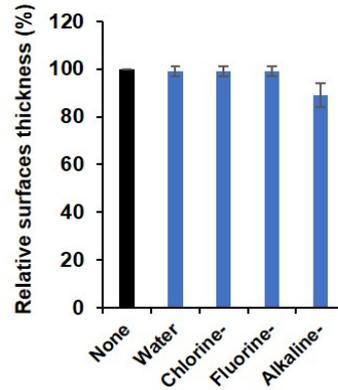


Fig. 3. The change in surfaces thickness of antibacterial tempered glass (sample).

3.4 항균강화유리 시제품의 안전성 조사

본 연구 및 항균유리개발에 사용된 소재들은 세균뿐만 아니라 인체에도 독성이 알려져 있고[9, 10], 유리제품의 특성상 사람들의 피부접촉이 가능하기 때문에, 코팅된 소재가 쉽게 벗겨지거나 용출되면 인체에 해를 줄 수 있다. 이러한 이유로 제품의 안전성을 확인하기 위하여 시편의 세포독성 실험을 실시하였다. EG + G로 분산된 은, 구리, 아연이 용착된 시편을 사람의 피부세포와 함께 배양한 후, 세포생존율을 MTT 분석법을 이용하여 측정하였다. 일주일간의 측정결과 3 종류의 시편 모두 유의있는 세포독성이 나타나지 않았다 (Fig. 4). 이러한 결과는 용착된 항균소재들이 유리로부터 용출되지 않았음을 의미하며, 개발된 항균시편의 안정성과 안전성에 문제가 없음을 말해준다.

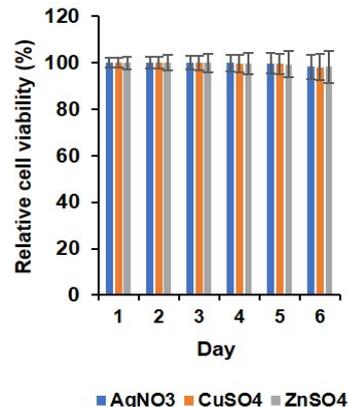


Fig. 4. Cytotoxicity effect of antibacterial tempered glass (Sample)

3.5 항균강화유리 시제품의 항균력 측정

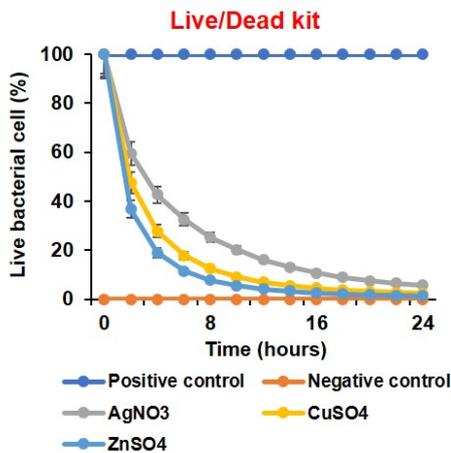
소재 및 시편의 실험결과들을 토대로 시제품을 개발하였지만, 개발된 시제품은 여러 가지 모양으로 디자인되어 시편과는 다르게 유리표면 전부에 도포되지 않았다 (Fig. 5a). 결국, 시제품의 항균력을 재검증하기 위해 Bacterial Live/dead kit을 이용하여 항균효과를 시간 별로 확인하였다. 은, 구리, 아연으로 제작된 모든 시제품에서 24시간 이내에 99% 이상 대장균에 대한 항균효과를 확인하였다 (Fig. 5b). 또한, 공인인증기관의 필름밀착법을 통한 시험결과에서도 대장균과 살모넬라균에 의한 항균시험에서 모두 99.9% 이상의 항균효과가 검정되었다 (Fig. 5c).

본 연구를 진행하는 동안 항균유리제품에 대한 항균력 측정방법에 대한 국내 및 국제표준이 없기 때문에 본 연구에서는 다양한 방법의 항균력 조사방법을 사용하여 항균강화유리의 효과를 검증해야만 했다. 결국, 국내의 항균유리 시장이 급속히 커지고 있고, 생산자와 소비자가 만족할만한 제품이 개발될 수 있게 빠른 시간 안에 항균유리에 대한 국내 및 국제표준 시험법이 필요해 보인다.



Prototype

(a)



(b)

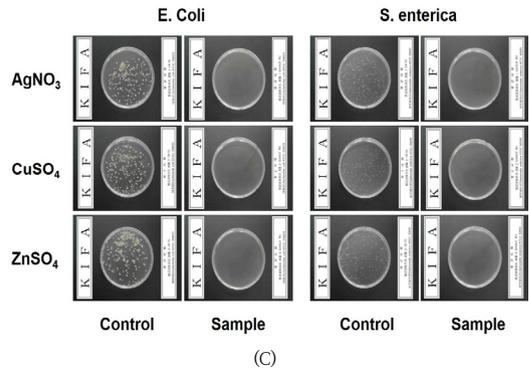


Fig. 5. (a) Antibacterial tempered glass (prototype). (b) Antibacterial activities by Bacterial Live/Dead kit of antibacterial tempered glass. (c) Antibacterial activities by film adhesion method of antibacterial tempered glass.

4. 결론

본 연구에서는 은, 구리, 아연이 코팅된 항균강화유리 개발을 위해 다양한 방법을 이용하여 항균력을 조사하였다. 소재와 시편 그리고 시제품에 이르기까지 99% 이상의 항균력을 검증하였고, 제품의 안정성과 인체안전성도 확인하였다. 이번에 개발된 제품은 최신기술이 접목된 고부가가치의 제품은 아니지만, 기존 강화유리 생산공정에 접목하여 비교적 쉽게 항균강화유리를 생산할 수 있을 뿐 만 아니라, 사용된 소재들 모두 국내에서 공급받아 저비용 고기능성의 항균유리를 개발할 수 있게 되었다. 향후 은, 구리, 아연을 혼합하여 조성별 항균효과를 확인한다면 생산자의 원가절감에 도움이 되리라 사료된다.

본 연구에서 개발된 항균강화유리는 지속적인 품질개발 및 마케팅을 통하여 의료시설, 교육시설, 복지시설 등에 빠른 시간 안에 적용 되어질 수 있으며, 냉장고의 선반, 샤워실의 부스 등 다양한 제품으로 활용이 가능할 수 있을 것으로 기대한다.

References

- [1] Antibacterial Glass Market - Global Industry Analysis Report, Share, Size, Growth, Price Trends and Forecast 2015 - 2022 [Internet]. Fractovia [cited 2016 June 19] Available From: <https://www.fractovia.org/news/industry-research-report/antibacterial-glass-market> (accessed Aug. 24, 2020)
- [2] H. J. Choi, J. S. Choi, B. J. Park, J. H. Eom, S. Y. Heo,

"Enhanced transparency, mechanical durability, and antibacterial activity of zinc nanoparticles on glass substrate", *Sci Rep*, Vol.4, e6271, Sep. 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1038/srep06271>

- [3] S. N. Choi, *AA Study on the Preparation of Antimicrobial Glass Using Silver Ion*, Master's thesis, Chungnam National University, Daejeon, Korea, pp.7-23, 2015.
- [4] S. Rajendran, A. Mukherjee, T. A. Nguyen, C. Godugu, R. Shukla, Nanotoxicity (Prevention and Antibacterial Applications of Nanomaterials), p504, Elsevier, 2020, pp241-274
- [5] Y. Qing, L. Cheng, R. Li, G. Liu, Y. Zhang, "Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies", *Int J Nanomedicine*, Vol.13, pp.3311-3327, Jun. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S165125>
- [6] H. Alhmod, B. Delalat, X. Ceto, R. Elnathan, A. Cavallaro, "Antibacterial properties of silver dendrite decorated silicon nanowires" *RSC Adv*, Vol.6, e65976, July. 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA13734B>
- [7] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V. Mirmohammadi, B. Zolfaghari, "Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods", *Res Pharm Sci*. Vol.9, No.6, pp.385-406, Nov-Dec. 2014.
- [8] G. Mulley, A. T. Jenkins, N. R. Waterfield, "Inactivation of the antibacterial and cytotoxic properties of silver ions by biologically relevant compounds", *PLoS One*, Vol.9, No.4, e94409, Apr. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094409>
- [9] L. Chen, L. Ma, Q. Bai, X. Zhu, J. Zhang, "Heavy metal-induced metallothionein expression is regulated by specific protein phosphatase 2A complexes", *J Biol Chem*, Vol.289, No.32, pp.22413-22426, Aug. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.548677>

김 준 섭(Jun-Sub Kim)

[정회원]



- 2005년 2월 : 한림대학교 의과대학 (의학박사)
- 2005년 8월 ~ 2009년 2월 : 미국 스크립스 연구소 (포스트닥)
- 2009년 3월 ~ 2012년 8월 : 한림대학교 의과대학 연구교수
- 2012년 9월 ~ 현재 : 한국교통대학교 생명공학과 부교수

<관심분야>

생화학, 면역학, 세포생물학