



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0021954
(43) 공개일자 2009년03월04일

(51) Int. Cl.

B82B 3/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0086884

(22) 출원일자 2007년08월29일

심사청구일자 2007년08월29일

(71) 출원인

경남도립남해대학 산학협력단

경상남도 남해군 남해읍 남변리 195

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 가좌동 900

(72) 발명자

한상우

경남 진주시 주악동 360번지 주악 현대APT 107동
1202호

허진화

경남 진주시 상봉동동 857-12

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

진천웅, 정종욱, 조현동

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 은 나노입자 콜로이드의 제조방법 및 이에 따른 은나노입자 콜로이드

(57) 요약

본 발명은 은(Ag) 나노입자 콜로이드의 제조방법 및 이에 따른 은 나노입자 콜로이드에 대한 것으로, 특히 정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액이 혼합된 혼합액을 교반시키고, 별도의 제2환원제 수용액을 첨가한 다음 안정화제를 더 포함시켜 혼합하는 것을 특징으로 한다. 이러한 본 발명은 상기 제1환원제로서 시트레이트(citrate)와 제2환원제로서 수소붕소화나트륨(sodium borohydride)을 모두 포함하고 상기 제1환원제 및 제2환원제를 구분하여 교반함으로써, 은 나노입자의 균일한 생성을 더욱 용이하게 하며, 이렇게 생성된 은 나노입자는 유해 미생물의 성장을 현저히 우수하게 저해할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

양재경

경남 진주시 호탄동 579-1번지 대동 APT 103동 30
2호

최명석

경남 진주시 금산면 장사리 북진주아이파크 107동
1301호

특허청구의 범위

청구항 1

유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 것으로, 은(Ag) 나노입자를 포함하는 은 나노 콜로이드의 제조 방법에 있어서,

정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액이 혼합된 혼합액을 교반하는 단계;

상기 교반한 혼합액에 제2환원제 수용액을 첨가하는 단계; 및,

상기 제2환원제 수용액이 첨가된 혼합액에 안정화제를 첨가하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 은염은 질산은(AgNO_3)이고, 상기 제1환원제는 시트레이트(citrate)이며, 제2환원제는 수소붕소화나트륨(sodium borohydride)인 것을 특징으로 하는 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 은염 1당량에 대하여, 상기 제1환원제는 3당량, 상기 제2환원제는 5당량으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 질산은(AgNO_3) 1당량에 대하여, 상기 시트레이트는 3당량, 상기 수소붕소화나트륨은 5당량으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법.

청구항 5

유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 것으로, 은(Ag) 나노입자를 포함하는 은 나노 콜로이드의 제조 방법에 있어서,

정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액이 혼합된 혼합액을 교반하는 단계;

상기 교반한 혼합액에 제2환원제 수용액을 첨가하는 단계;

상기 제2환원제 수용액이 첨가된 혼합액에 안정화제를 첨가하는 단계; 및,

상기 안정화제를 첨가한 혼합액에 가시광선을 조사하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 비구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법.

청구항 6

유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 것으로, 은(Ag) 나노입자를 포함하는 은 나노 콜로이드의 제조 방법에 있어서,

정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액 및 보조 환원제로서 과산화수소(hydrogen peroxide)가 혼합된 혼합액을 교반하는 단계;

상기 교반한 혼합액에 제2환원제 수용액을 첨가하는 단계; 및,

상기 제2환원제 수용액이 첨가된 혼합액에 안정화제를 첨가하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 비구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 제조방법에 의해 제조되어, 은 이온의 농도가 $3\mu\text{g/ml}$ 내지 $20\mu\text{g/ml}$ 인 것을 특징으로 하는 은 나노입자 콜로이드.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 은(Ag) 나노입자를 포함하는 콜로이드의 제조방법에 대한 것으로, 특히 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액 및 제2환원제 수용액을 이용하여, 더욱 많은 은 나노입자를 균일하게 포함하는 콜로이드를 제조하는 것이고, 이러한 콜로이드 용액을 통하여 유해 미생물의 성장을 효과적으로 저해하기 위한 것이다.

배경 기술

- <2> 은(Silver)은 오랫동안의 많은 경험과 실험 결과, 지구상에 거의 모든 단세포 병원균을 제어하는 것으로 입증되었으며, 이러한 이유에서 오래 전부터 은수저, 은 식기류, 은반지, 은단(銀緞) 및 한의약에서도 은이 사용되어 왔다. 은(Silver)의 항균 기능에 대해서는, 은(Silver)이 병원균의 신진대사에 관여하는 특수한 촉매 작용에 반응하여 무력화시킴으로써, 결국 병원균을 살균한다고 해석하고 있다.
- <3> 특히, 은(Silver)이 나노기술을 이용하여 나노상태로 되면, 강력한 항균 및 살균 메커니즘을 가지게 되어, 연구 보고에 의하면 650 종의 세균과 바이러스를 멸균할 수 있고, 균류에도 아주 탁월한 효과를 발휘한다. 이러한 은 입자는 입자가 작으면 작을수록 표면적이 상대적으로 넓어지므로, 항균/제균력이 더욱 탁월해지며, 현재 실험한 자료들을 근거하면, 대장균, 황색 포도상구균, 살모넬라균, 비브리오균, 이질균, 폐렴균, 장티푸스균 및 내성이 가장 강한 MRSA(메티실린내성 황색포도상구균)까지 99.9% 항균 및 살균한다고 보고되고 있다.
- <4> 이러한 은 나노입자는 종래의 염소계열보다 수십배 강력한 살균력을 가지면서도 인체에는 전혀 무해하여 최근 각종 염증에 유용한 치료제로 기대되고 있으며, 항균 방취 가공에 적용하여, 나노실버를 함유하는 다양한 기능성 제품이 출시되고 있다. 따라서 이 분야의 기술은 탁월한 효과를 가진 은 나노입자를 대량생산하고, 생산된 은 나노입자를 수용액에 효과적으로 함유하는 방법이 관건이다.
- <5> 종래에, 은 나노입자를 포함하는 콜로이드의 제조방법은 전기적인 방법, 화학적인 방법, 분쇄법이 있고 이들 콜로이드의 품질은 보통 색깔로 구분하며 가장 이상적인 색깔은 금색(golden yellow)으로 알려져 있다. 그리고 입자의 활용기술에서 입자의 크기가 미세단위(300nm이하)로 작게 되면 입자의 물성 및 성능이 입자 크기가 마이크로 미터 크기 이상인 경우와는 매우 다르게 된다. 이는 입자의 표면 대 질량의 비율이 증가되어 단위 질량당 표면적이 증가되어 입자의 성능이 향상되고 입자의 용접이 감소되는 등 물성이 변화되며 입자의 색상까지 크기에 따라 변화되는 등 큰 입자의 경우와는 다른 성질을 나타낸다.
- <6> 또한, 입자의 활용기술에서 입자를 작게 하는 것만큼 형성되는 입자의 크기를 균일하게 하는 것도 매우 중요하다. 입자의 크기가 불균일하면 각각의 입자마다 성능 및 물성이 다르므로 첨단분야에의 응용에 제한을 받게 된다. 일례로 입자형태의 소재는 촉매, 센서, 정보기록 매체 (자성체), 연마제, 항균 및 살균 입자, 의약품, 전자파 차단 목적, 디스플레이 분야 등 넓은 분야에 이용됨으로 입자의 크기를 작고 균일하게 제조하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 상기와 같이 제조되는 콜로이드 상태의 은이 가져야 할 물리적인 상태는 가능하면 은의 입자가 많을수록 좋고 그리고 은의 입자가 장기간 물속에서 브라운 운동을 계속하는 콜로이드 상태여야 하며 입자크기가 균일해야 한다는 것이다.
- <7> 상기 방법 중 전기적인 방법은 고순도의 은 콜로이드를 얻을 수 있지만 고농도를 실현시키기 어렵고, 분쇄법은 입자크기와 분산, 분쇄 효율 등 여러 면에서 실현시키기 어렵다. 화학적인 방법은 제조 공정에서 발생하는 불필요한 음이온을 제거할 수 만 있다면 고농도를 실현시킬 수 있는 장점이 있어 산업용으로 응용이 가능하다.
- <8> 이에 본 발명자들은 화학적인 환원방법으로 은 콜로이드를 제조하는 방법을 연구하면서, 은염(silver salt) 수용액에 서로 다른 제1환원제 및 제2환원제를 모두 포함하고 상기 제1환원제 및 제2환원제를 일정한 양으로 구분하여 교반하는 경우, 고농도, 고순도로 입자 크기가 미세하고 균일한 은 콜로이드를 제조할 수 있음을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <9> 본 발명의 목적은 서로 다른 환원제를 2종 이상 구분하여 교반하는 화학적인 환원방법에 의해 고농도,

고순도의 나노 미터 크기의 은 콜로이드를 제조하는 것이다.

- <10> 본 발명의 다른 목적은 은염 수용액과 제1환원제 수용액 및 제2환원제 수용액에 포함된 상기 은염과 제1환원제 및 제2환원제를 일정한 당량 비율로 혼합함으로써, 구형의 은 나노입자를 더욱 균일하게 생성할 수 있는 콜로이드 용액을 제조하기 위한 것이다.
- <11> 본 발명의 또 다른 목적은 상기와 같은 은 나노입자 콜로이드 제조과정에서 과산화수소를 더 포함시키거나 가시광선을 조사함으로써, 상기 콜로이드에 포함된 은 나노입자의 형상을 구형에서 비구형으로 변형시키는 것이다.
- <12> 본 발명의 또 다른 목적은 상술한 바와 같은 제조방법에 따라 제조되어 일정한 범위 내의 은 이온의 농도를 가짐으로써, 유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 은 나노입자가 포함된 콜로이드를 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <13> 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명은, 유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 것으로 은(Ag) 나노입자를 포함하는 은 나노 콜로이드의 제조방법에 있어서, 정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액이 혼합된 혼합액을 교반하는 단계; 상기 교반한 혼합액에 제2환원제 수용액을 첨가하는 단계; 및, 상기 제2환원제 수용액이 첨가된 혼합액에 안정화제를 첨가하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법이다.
- <14> 본 발명은 은(Ag) 나노입자를 포함하는 콜로이드를 제조하고, 이것으로 유해 미생물의 성장을 저해하고자 함이다. 이러한 본 발명은 항균 및 살균 작용을 가지는 가지는 다양한 제품으로 사용될 수 있다.
- <15> 이를 위한 본 발명은 먼저, 정제된 물에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액을 혼합시키고, 이를 격렬하게 교반하는 것이다. 이렇게 충분히 교반이 이루어진 다음에는 상기 교반한 혼합 용액에 제2환원제 수용액을 넣어주고 다시 교반시킨다. 본 발명은 이와 같이 서로 다른 환원제를 2종 이상 구분하여 교반하는 화학적인 환원방법에 의해 고농도, 고순도의 나노 미터 크기의 은 콜로이드를 제조하는 것이다.
- <16> 상기 은염 수용액은 미세하게 분쇄된 은(Ag)입자를 무기산과 같은 산(acid)에 용해시켜 제조된 것으로, 이러한 은염 수용액에 포함된 은 이온은 정제된 물과 혼합하여 나노미터 크기인 상태로 물 분자 사이에 원할하게 분산되어 있으며, 상기 은 이온은 제1환원제와 먼저 교반됨으로써 미세한 크기의 균일한 출발물질을 생성할 수 있고, 이어서 제2환원제에 의하여 상기 형성된 출발물질로부터 균일한 크기의 은 나노입자를 다량으로 생성할 수 있는 것이다.
- <17> 여기서, 상기 은염은 질산은(AgNO_3), 과염소산은(AgClO_4), 염소산은(AgClO_3), 아세트산은(silver acetate), 탄산은(silver carbonate) 중 하나일 수 있고 그 중에서도 질산은(AgNO_3)인 것이 바람직하며, 상기 제1환원제는 시트레이트(citrate), 상기 제2환원제로는 수소붕소화나트륨(sodium borohydride)인 것이 더욱 바람직하지만, 이외에 히드라진(hydrazine), 수소화붕소리튬(lithium borohydride), 리튬알루미늄하이드라이드(lithium aluminumhydride) 등을 이용하는 것도 가능하다.
- <18> 본 발명의 다른 특징은 상기 은염 수용액과 제1환원제 수용액 및 제2환원제 수용액에 포함된 상기 은염과 제1환원제 및 제2환원제를 일정한 당량 비율로 혼합함으로써, 구형의 은 나노입자를 더욱 균일하게 생성할 수 있는 콜로이드 용액을 제조하는 것이다. 즉, 상기 은염 1당량에 대하여 상기 제1환원제는 3당량, 상기 제2환원제는 5당량으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 것이고, 이는 상기 질산은(AgNO_3) 1당량에 대하여 상기 시트레이트는 3당량, 상기 수소붕소화나트륨은 5당량으로 첨가되는 것으로 구체화될 수 있다.
- <19> 은염 수용액에 환원제를 혼합시켜서 은 나노입자를 형성하는 경우, 상기 형성되는 은 나노입자의 크기 및 균일성은, 초기 은 입자 또는 은 이온의 농도와 첨가되는 환원제의 양 및 환원제가 첨가되는 속도에 의해 영향을 받는데, 본 발명은 상기 은염 대비 제1환원제의 양을 1:3 당량으로 하고, 상기 은염 대비 제2환원제의 양을 1:5 당량으로 함으로써, 구형의 은 나노입자를 더욱 균일하게 생성할 수 있음을 확인하였다.
- <20> 본 발명의 또 다른 특징은 상기와 같은 은 나노입자 콜로이드의 제조과정에서, 과산화수소를 더 포함시키거나 가시광선을 조사함으로써, 상기 콜로이드에 포함된 구형 은 나노입자의 형상을 비구형으로 변형시키는 것이다. 상기 비구형이라 함은 구형을 제외한 삼각형, 사각형 등과 같은 다각형을 의미하고, 본 발명은 그 중에서도 삼각형 나노프리즘 형상인 것이 바람직하다. 본 발명은 이와 같은 비구형 입자로의 변형 과정을 통하여, 기 형성된 구형 은 나노입자의 크기를 간단한 방법으로 증가시키면서 은 나노입자의 크기를 용이하게 조절할 수 있는

것이다.

- <21> 이를 위한 본 발명은, 상기와 같이 유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 것으로, 은(Ag) 나노입자를 포함하는 은 나노 콜로이드의 제조방법에 있어서, 정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액이 혼합된 혼합액을 교반하는 단계; 상기 교반한 혼합액에 제2환원제 수용액을 첨가하는 단계; 상기 제2환원제 수용액이 첨가된 혼합액에 안정화제를 첨가하는 단계; 및, 상기 안정화제를 첨가한 혼합액에 가시광선을 조사하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 비구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법이다.
- <22> 또한, 이와 같이 안정화제를 첨가한 혼합액에 가시광선을 조사하는 것 이외에, 본 발명은 정제수와 은염 수용액 및 제1환원제 수용액의 혼합액에 과산화수소를 더 포함시키는 것을 특징으로 하는 비 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조방법이다. 즉, 본 발명은 유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 것으로, 은(Ag) 나노입자를 포함하는 은 나노 콜로이드의 제조방법에 있어서, 정제수(水)에 은염(silver salt) 수용액과 제1환원제 수용액 및 보조 환원제로서 과산화수소(hydrogen peroxide)가 혼합된 혼합액을 교반하는 단계; 상기 교반한 혼합액에 제2환원제 수용액을 첨가하는 단계; 및, 상기 제2환원제 수용액이 첨가된 혼합액에 안정화제를 첨가하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 할 수도 있다.
- <23> 이러한 본 발명은 은염 수용액과 제1환원제 수용액의 혼합액에 과산화수소를 더 포함시키거나, 상기와 같이 제조된 은 나노입자 콜로이드에 가시광선을 조사함으로써, 상기 콜로이드에 포함된 은 나노입자의 형상을 구형에서 비구형으로 변형시킬 수 있는 새로운 제조방법이고, 이것은 기 형성된 구형 은 나노입자의 크기를 간단한 방법으로 증가시키면서 은 나노입자의 크기를 용이하게 조절할 수 있는 것이다.
- <24> 본 발명의 또 다른 특징은 상술한 바와 같은 제조방법에 따라 제조되어 $3\mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 범위 내의 은 이온 농도를 가지는 것을 특징으로 하는 은 나노입자 콜로이드일 수 있고, 이러한 콜로이드 입자는 유해 미생물의 성장을 현저히 우수하게 저해할 수 있는 효과가 있다.
- <25> 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명 및 도면들에 포함되어 있다. 이하, 본 발명의 구체적인 실시형태 상세하게 설명하기로 한다.

효 과

- <26> 상술한 바와 같이, 본 발명은 서로 다른 환원제를 2종 이상 구분하여 교반하는 화학적인 환원방법에 의해, 나노 미터 크기를 가지는 은 입자를 고농도, 고순도로 가지는 은 콜로이드를 제조할 수 있다.
- <27> 또한, 본 발명에 따라 은염 수용액과 제1환원제 수용액 및 제2환원제 수용액에 포함된 상기 은염과 제1환원제 및 제2환원제를 일정한 당량 비율로 혼합함으로써, 구형의 은 나노입자를 더욱 균일하게 생성할 수 있는 콜로이드 용액을 제조할 수 있다.
- <28> 이와 함께, 본 발명은 은염 수용액과 제1환원제 수용액의 혼합액에 과산화수소를 더 포함시키거나, 상기와 같이 제조된 은 나노입자 콜로이드에 가시광선을 조사함으로써, 상기 콜로이드에 포함된 은 나노입자의 형상을 구형에서 비구형으로 변형시킬 수 있는 새로운 제조방법을 제공할 수 있다.
- <29> 나아가, 본 발명은 상술한 바와 같은 제조방법에 따라 제조되어 일정한 범위 내의 은 이온의 농도를 가짐으로써, 유해 미생물의 성장을 저해할 수 있는 은 나노입자가 포함된 콜로이드를 제공할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <30> 이하에서는 본 발명의 바람직한 하나의 실시형태를 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명하기로 한다. 본 발명은 하기의 실시예에 의하여 보다 더 잘 이해 될 수 있으며, 하기의 실시예는 본 발명의 예시 목적을 위한 것이며, 첨부된 특허청구범위에 의하여 한정되는 보호범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.
- <31> 실시예 1: 은 나노입자 콜로이드의 제조
- <32> 실시예 1-1: 구형 은 나노입자 콜로이드의 제조
- <33> 도 1은 본 발명에 따른 구형 은 나노입자 콜로이드의 일례를 나타내는 수용액 사진이고, 도 2는 이것의 전자 현미경 사진이다.
- <34> 이러한 구형 은 나노입자 콜로이드는 은염(AgNO_3)과 시트레이트(citrate)가 혼합된 수용액에 수소붕소화나트륨(Sodium borohydride)을 넣음으로써 제조된다.

<35> 즉, 정제된 물 47.5 mL 에 은염(AgNO₃) 10 mM 수용액 0.5 mL 와 시트레이트(citrate) 30mM 수용액 0.5 mL 을 섞고, 이 용액을 격렬하게 교반하면서 환원제인 수소붕소화나트륨(sodium borohydride) 50 mM 수용액 0.5 mL 을 한번에 넣어준 후, 나노입자 안정화 물질인 폴리바이닐피롤리돈((Polyvinyl prrolidone), 평균분자량=55000)을 0.1 mg/mL 비율로 넣어주었다. 다시 말해서, 은염 1당량에 대하여 시트레이트 3당량, 수소붕소화나트륨 5당량으로 혼합시켰다. 이후 폴리바이닐피롤리돈(Poly(vinyl prrolidone), 평균분자량=55000)을 나노입자 안정화 물질로 넣었다. 이렇게 제조된 은 나노입자 수용액은 노란색을 띄고 있었고(도 1), 여기에 포함된 은 나노입자의 크기는 10 nm 이하였으며(도 2), 은 이온의 농도는 3 µg/mL였다.

<36> 실시예 1-2: 비구형 은 나노입자 콜로이드의 제조

<37> 도 3은 본 발명에 따라 빛을 이용한 비구형 은 나노입자 콜로이드를 제조하는 과정의 일례를 개략적으로 나타내는 사진과 이것의 전자 현미경 사진이다. 여기에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 비구형 은 나노입자 콜로이드는 상기 실시예 1-1에 의해 제조된 콜로이드 용액에 가시광선을 일정한 시간 동안 조사하여 나노프리즘 구조를 가지는 은 나노입자를 합성하는 것이다.

<38> 이에 따라, 은염의 수용액에 콜로이드 안정화 리간드 물질을 투입한 상태에서 환원제를 가하여 일차적으로 크기의 분포가 조밀한 구형의 나노입자를 합성한 다음, 이러한 구형 은 나노입자 콜로이드 100 mL를 반응용기에 넣어서 삼파장 램프(45W)를 이용해서 광반응시켰다. 반응용기는 500 mL 둥근바닥 플라스크를 이용했다. 램프와의 거리는 1cm로 아주 근접해서 실험을 진행했다.

<39> 도 4 내지 도 7은 각각 본 발명에 따른 구형 은 나노입자 콜로이드에 빛을 조사하기 전(도 4), 빛을 1시간 조사한 후(도 5), 빛을 2시간 조사한 후(도 6) 및 빛을 4시간 조사한 후(도 7)의 콜로이드를 나타내는 사진(좌)과, 이것의 전자 현미경 사진(중앙) 및 여기에 포함된 은 나노입자의 평균크기를 나타내는 그래프(우)의 일례이다.

<40> 여기에 도시된 바와 같이, 삼파장 램프에 의한 가시광선 조사 반응이 시작된 후 1시간 정도가 지나면 콜로이드 용액의 색이 노란색(도 4)에서 녹색으로 변하고, 이러한 용액을 취해서 투과 전자현미경으로 분석해 보면 은 나노입자의 평균 변의 길이가 19 nm 이고 두께는 6.5 nm 였다(도 5). 가시광선 조사 반응을 2 시간 진행하면 상기 녹색의 용액은 푸른색 용액으로 변했고, 이렇게 형성된 은 나노프리즘은 변의 길이가 평균 66 nm 이고 두께는 6.5 nm 였다(도 6). 계속해서 반응을 시작하지 4시간이 지나면 용액은 보라색을 띄게 되며, 이 용액을 투과 전자현미경으로 분석하게 되면 프리즘의 변의 길이는 69 nm가 되었고 두께는 6.5 nm로 유지되어 있었다(도 7).

<41> 도 8은 상기와 같이 가시광선 조사를 통하여 비구형 은 나노입자의 크기를 조절하는 본 발명의 특징을 개략적으로 정리한 사진이다. 즉, 본 발명은 구형 은 나노입자 콜로이드에 빛을 조사하는 시간을 다르게 조절함으로써, 형성되는 은 나노프리즘의 크기를 조절할 수 있는 것이다.

<42> 한편, 도 9는 앞선 도 4 내지 도 7에 도시된 4가지 은 나노입자 콜로이드의 자외선-가시광선 분광 스펙트럼 그래프이고, 이에 따르면 최초의 구형 은 나노입자 콜로이드의 경우 400 nm파장에서 흡수를 가졌다. 이러한 흡수 특성은 광반응이 1시간 진행함에 따라서 400 nm 파장에서 흡수는 작아졌고 650 nm 파장에서의 새로운 흡수가 생겼다. 반응 2시간 후에는 600 nm 파장 부근에서 최대흡수를 가졌고 반응 4시간 후에는 560 nm 부근에서 최대 흡수 파장을 가졌다.

<43> 이와 함께, 본 발명자들은 상기한 광학적 방법에 의해 비구형 은 나노입자를 제조하는 것 이외에 적당한량의 보조 환원제인 과산화수소를 투입하여 비구형의 은 나노입자를 대량 합성하는 방법도 개발하였다. 이는 상기 실시예 1-1에서, 정제된 물에 은염(AgNO₃) 수용액과 시트레이트(citrate) 수용액을 섞음에 있어서, 과산화수소를 일정량 더 포함시킴으로써 제조하였다. 도 10은 본 발명에 따라 과산화수소를 첨가하여 크기가 조절되도록 합성된 구형 또는 비구형 은 나노프리즘 콜로이드의 투과 전자 현미경 이미지이다.

<44> 본 발명자들은 상기와 같은 방법으로, 용매 내에서 살균성을 갖는 은 나노입자를 대량으로 합성할 수 있었고, 이하에서는 이러한 은 나노입자를 포함하는 콜로이드 입자가 실제로 유해 미생물의 성장을 저감할 수 있는지 여부를 용액상 유해 미생물과 고체상 유해 미생물로 구분하여 그 저감 효율을 측정한 결과이다.

<45> 실시예 2: 용액상 유해 미생물의 저감 효율 측정

<46> 실시예 2-1: 용액상 유해 미생물의 성장 관찰

<47> 미생물의 프로토 타입으로 E. coli strain B(이하 E. coli)를 선택하여 미생물 성장을 관찰하였다. E. coli는 Nutrieunt broth를 실험 배지로 사용해서 30 °C에서 200 rpm으로 stirring 하면서 성장시켰다. 최적의

실험 조건을 찾기 위해 전배양한 E.coli를 초기 접종량을 A, B, C로 변화 시키면서 배양했다. 전배양은 3mL Nutrient Broth에 Glycerol stock 50 μL를 접종해서 12시간 배양해서 사용하였다. Control E.coli strain B의 성장곡선을 획득하기 위해서 250mL 삼각플라스크에 30mL의 Nutrient Broth와 E.coli 30 μL 접종해서 30분 단위로 OD(optical density)를 λ=600 nm에서 측정했다.

<48> 도 11은 초기 접종량에 따른 E.coli의 시간에 따른 Optical density의 변화를 보여준다. 여기에 도시된 결과 중에서 B의 성장조건을 대조구(control)로 해서 은 나노입자의 유해미생물의 성장 저감 효율 측정 실험을 진행하기로 하였다.

<49> 실시예 2-2: 구형 및 비구형 은 나노입자 콜로이드의 용액상 유해 미생물 저감 효율 측정

<50> 상기 실시예 2-1에 따른 E.coli를 액체배양을 하면서 control(나노입자 넣지 않음)과 구형 및 크기가 조절된 비구형 나노프리즘 형태의 나노입자가 포함된 콜로이드 10mL를 넣은 배양액의 성장곡선 상에서 μ

($\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt}$) 값을 비교하였다. 본 발명에 따른 콜로이드로는 구형 은 나노입자 콜로이드(노란색), 빛을 1시간 조사한 후의 콜로이드(초록색), 및 빛을 4시간 조사한 후의 콜로이드(보라색)를 사용하였고, 여기서 사용한 은 나노입자의 농도는 3 μg/mL로 모두 동일하였다.

<51> 도 12는 용액상 유해 미생물 배지에 본 발명에 따른 은 나노입자 콜로이드를 투입한 경과 시간에 따른 상기 미생물의 성장곡선 그래프이다. 여기에 도시된 바와 같이, 은 나노입자가 들어갈 경우 상당한 성장저해가 일어날 수 있었다. control의 경우 성장률이 0.92를 가졌다. 은 나노입자가 적용된 후에는 성장률이 0.6 정도로 낮아져 성장저해가 상당히 일어났다. 최종적으로 생성되는 E.coli의 농도 또한 control에 비해 떨어진 것을 확인하였다. 하지만, 은 나노입자를 적용한 후에도 유해미생물은 성장을 멈추지 않았다. 그래서, 보다 높은 농도의 은 나노입자를 적용할 필요가 있었다.

<52> 본 발명자들은 상술한 세 가지의 은 나노입자 중에서 구형의 10 nm 이하의 은 나노입자를 이용해 고농도에서의 실험을 진행했다. 이 때 사용한 은 나노입자의 농도는 20 μg/mL 였다. 처음 사용한 농도에 비해 7배정도 더 높은 농도이다. 또한 투입 시점에 대한 은 나노입자의 성장저해를 확인해 보기 위해서 한 시간 단위로 투입 시점을 변화시켰다. 도 13은 본 발명에 따른 은 나노입자 콜로이드의 투입시점에 따른 유해미생물의 성장을 측정한 결과 그래프이다. 도 13의 결과로 알 수 있듯이 충분한 농도의 은 나노입자를 초기(1시간 후)에 투입하면 미생물의 성장 저해가 완벽하게 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 이로써 초기에 용매 내에 충분한 농도의 은 나노입자를 적용할 경우 유해 미생물의 성장저감 효과를 크게 볼 수 있음을 확인하였다.

<53> 실시예 3: 고체상 유해 미생물의 저감 효율 측정

<54> 실시예 3-1: 고체상 유해 미생물의 성장 관찰

<55> 액상 배양과 달리 고체 배양에서는 펠트리디쉬 배지에 형성된 CFU (Colony-forming Units)의 개수를 측정하여 살균효과를 측정하였다. 고체 배지는 Nutrient agar를 이용했다. 성장 조건은 30 °C에서 24 h 동안 배양했다. Control 실험으로 serial dilution 통해 OD에 따른 CFU를 측정하였다. 용액상 control 실험 용액 100μL를 Nutrient agar에 접종해서 24시간 배양해서 각각의 OD에 따른 CFU 그래프를 획득했다. 이를 통해 medium에 접종할 E. coli의 대략적인 농도 파악했다. 하기의 표 1은 serial dilution 을 통하여 CFU를 측정한 결과를 나타내는 것이고, 도 14는 이것의 예시를 보여주는 사진이다.

<56> [표 1: serial dilution 을 통한 CFU 측정 결과]

CFU depended OD₆₀₀

Time	0:00	0:30	1:00	1:30	2:00	2:30	3:00	3:30	4:00
OD ₆₀₀	0.2070	0.3391	0.9635	1.1370	1.8370	2.7195	4.4405	4.7865	5.3960

Colony count data

	0:00	0:30	1:00	1:30	2:00	2:30	3:00	3:30	4:00
10 ⁻³	so many	so many	so many	so many	X	X	X	X	X
10 ⁻⁴	208	258	367	333	570	X	X	X	X
	230	207	370	387	508				
	185	220	424	418	577				
10 ⁻⁵	23	17	42	29	72	104	X	X	X
	18	16	43	23	59				
	23	16	45	38	54				
10 ⁻⁶	X	X	X	1	7	5	19	34	68
				0	5	8	21	41	76
				1	2	5	19	30	75
10 ⁻⁷	X	X	X	0	1	X	3	8	7
				0	0		2	1	6
				0	0		2	6	6

X= 배양하지 않음

<57>

<58> 은 나노입자의 저감 효율을 측정하기 위해 Nutrient agar를 만들 때 정해진 농도의 은 나노입자를 첨가하여 배지를 준비하였다. 도 15는 고체 배지에 은 나노입자를 적용하는 후의 모습을 보여주는 사진이다. 은 나노입자를 적용하기 전의 고체배지는 연한 노란색을 띄었지만, 구형의 은 나노입자가 적용된 고체배지는 은 나노 입자의 농도에 따라 진한 노란색을 띄고 있음을 알 수 있다.

<59> 실시예 3-2: 구형 은 나노입자의 고체상 유해 미생물 저감 효율 측정

<60> 미생물 저감효과에 대한 평균과 표준편차를 구하기 위해 3~5 가짓수의 시료에 동시에 접종하였으며, 은 나노입자가 첨가된 medium과 아무것도 들어 있지 않은 agar의 CFU를 비교해서 생장억제 및 살균효과를 측정하였다. 도 16은 은 나노입자를 적용하기 전인 control 실험과 은 나노입자를 적용한 후의 결과를 비교한 예시 사진이고, 하기 표 2는 고체배지에서 은 나노입자의 미생물 저감 효과 실험 결과이다.

<61> [표 2: 고체배지에서 구형 은 나노입자의 미생물 저감 효과 실험 결과]

Cultured at OD ₆₀₀ = 0.714						
CFU number						
Dilution rate	control A	control B	control C	yellow A	yellow B	yellow C
no dilution	so many			so many		
10 ⁻¹	so many			11	9	2 &
10 ⁻²	so many			1		
10 ⁻³	so many			x		
10 ⁻⁴	951	X	X	x		
10 ⁻⁵	73	81	81	x		
10 ⁻⁶	4	7	6	x		
10 ⁻⁷	2	1	1	x		

Final concentration of silver nanoparticles: 3 µg/mL

<62>

<63> 상기 표 2와 도 16에서 알 수 있듯이, control에서는 배지의 표면에 E. coli 가 셀 수 없을 정도로 많이 자란 것을 확인할 수 있었다. 반면, 은 나노입자가 적용된 배지에서는 표면이 깨끗하게 남아 있었다. 이는 은 나노입자가 배지에 적용되면서 유해미생물의 성장을 저해한 결과이다. 본 발명자들은 고체배지에 나노입자의 농도를 조절해서 실험해 보았다. 즉, 고체 배지에 은 나노입자의 농도를 1에서 20 µg/mL 농도로 조절해서 실험하였고, 도 17은 은 나노입자의 농도에 따른 유해미생물의 성장 저감 효과를 보여주는 결과 사진이다. 여기에서 알 수 있는 바와 같이, 용액상 실험결과와 마찬가지로 고 농도의 은 나노 입자가 적용된 배지에서 CFU가 적게 관찰되었다.

<64> 실시예 3-3: 구형과 비구형 은 나노입자의 고체상 유해 미생물 저감 효율 측정

<65> 접종균의 농도와 구형과 비구형의 은 나노입자가 적용된 실험도 동시에 수행하였다. 도 18은 여러 조건에 따라 미생물의 성장 정도를 고체 배양 상태에서 측정한 결과이다. 여기에 도시된 바와 같이, 은 나노입자를 고체 배지에 투여하였을 경우 상당한 미생물 저감효과가 있는 것을 관찰할 수 있었으며, 은 나노프리즘 입자의 경우 입자의 크기에 따라 미생물 저감효과가 달라짐을 알 수 있다. 액체 배양에서와 마찬가지로 고체 배양에서도 은 나노입자는 미생물 저감에 좋은 효율을 지니는 제제에 응용될 수 있음을 알 수 있었다.

<66> 한편, 상기에서는 본 발명을 특정의 바람직한 실시예에 관련하여 도시하고 설명하였지만, 이하의 특허 청구범위에 의해 마련되는 본 발명의 기술적 특징이나 분야를 이탈하지 않는 한도 내에서 본 발명이 다양하게 개조 및 변화될 수 있다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진에게 명백한 것이다.

산업이용 가능성

<67> 상기와 같이 제조된 은 콜로이드는 유해 미생물의 성장을 현저히 우수하게 저해할 수 있는 효과가 있어서, 다양한 항균 제품에 적용될 수 있다. 또한, 이렇게 제조된 은 콜로이드를 수분산 폴리우레탄, 수분산 아크릴 등의 수용성 고분자 기지에 분산시킨 항균 및 살균성, 연마성, 대전방지성, 전자파 차단성, 자외선 차단성, 방충성, 감광성 및 탈취성을 갖는 필름으로 제조할 수도 있다. 또한, 은 콜로이드가 도포되어 은 나노입자의 기능성이 부여된 유리, 금속 및 세라믹을 제조할 수도 있다. 또한, 본 발명에 따라 제조된 은 콜로이드로 된 표면 증강 라만 산란(Surface Enhanced Raman Scattering Spectroscopy, SERP)용 증강제, 잉크의 활성부분의 첨가제, 또는 다양한 전기 제품에 들어가는 전도성 접착제를 제조하는 것도 가능하다.

도면의 간단한 설명

<68> 도 1은 본 발명에 따른 구형 은 나노입자 콜로이드의 일례를 나타내는 수용액 사진이고,

<69> 도 2는 상기 도 1에 따른 콜로이드의 전자 현미경 사진이고,

<70> 도 3은 본 발명에 따라 빛을 이용한 비구형 은 나노입자 콜로이드를 제조하는 과정의 일례를 개략적으로 나타내는 사진과 이것의 전자 현미경 사진이고,

<71> 도 4 내지 도 7은 각각 본 발명에 따른 구형 은 나노입자 콜로이드에 빛을 조사하기 전(도 4), 빛을 1시간 조사한 후(도 5), 빛을 2시간 조사한 후(도 6) 및 빛을 4시간 조사한 후(도 7)의 콜로이드를 나타내는 사진(좌)과, 이것의 전자 현미경 사진(중앙) 및 여기에 포함된 은 나노입자의 평균크기를 나타내는 그래프(우)의 일례이고,

<72> 도 8은 본 발명에 따라 가시광선 조사를 통하여 비구형 은 나노입자의 크기를 조절하는 것을 개략적으로 정리한 사진이고,

<73> 도 9는 상기 도 4 내지 도 7에 도시된 4가지 은 나노입자 콜로이드의 자외선-가시광선 분광 스펙트럼 그래프이고,

<74> 도 10은 본 발명에 따라 과산화수소를 첨가하여 크기가 조절되도록 합성된 구형 또는 비구형 은 나노프리즘 콜로이드의 투과 전자 현미경 이미지이고,

<75> 도 11은 초기 접종량에 따른 E.coli 의 시간에 따른 Optical density의 변화를 보여주는 그래프이고,

<76> 도 12는 용액상 유해 미생물 배지에 본 발명에 따른 은 나노입자 콜로이드를 투입한 경과 시간에 따른 상기 미생물의 성장곡선 그래프이고,

<77> 도 13은 본 발명에 따른 은 나노입자 콜로이드의 투입시점에 따른 유해미생물의 성장을 측정한 결과 그래프이고,

<78> 도 14는 serial dilution 을 통하여 CFU를 측정한 결과를 나타내는 사진이고,

<79> 도 15는 고체 배지에 은 나노입자를 적용하는 후의 모습을 보여주는 사진이고,

<80> 도 16은 은 나노입자를 적용하기 전인 control 실험과 은 나노입자를 적용한 후의 결과를 비교한 예시 사진이고,

<81> 도 17은 은 나노입자의 농도에 따른 유해미생물의 성장 저감 효과를 보여주는 결과 사진이고,

<82>

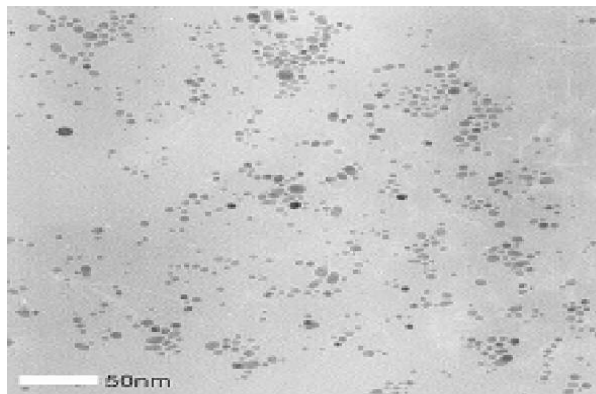
도 18은 여러 조건에 따라 미생물의 성장 정도를 고체 배양 상태에서 측정한 결과 사진이다.

도면

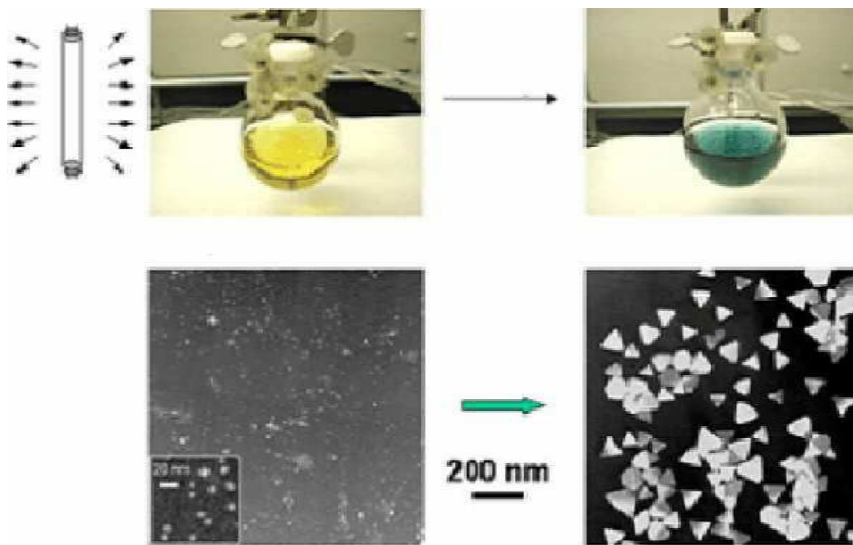
도면1



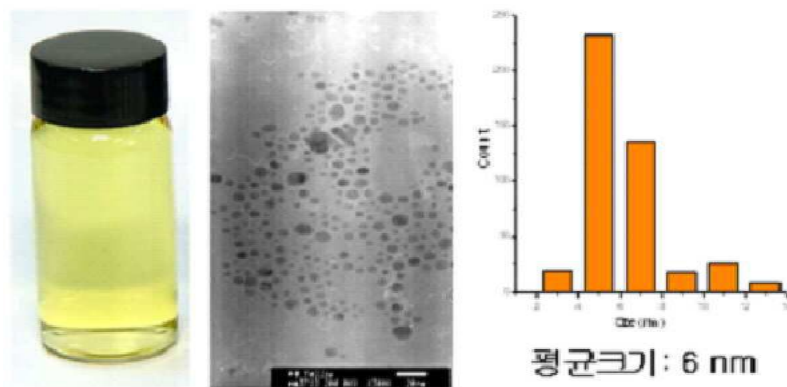
도면2



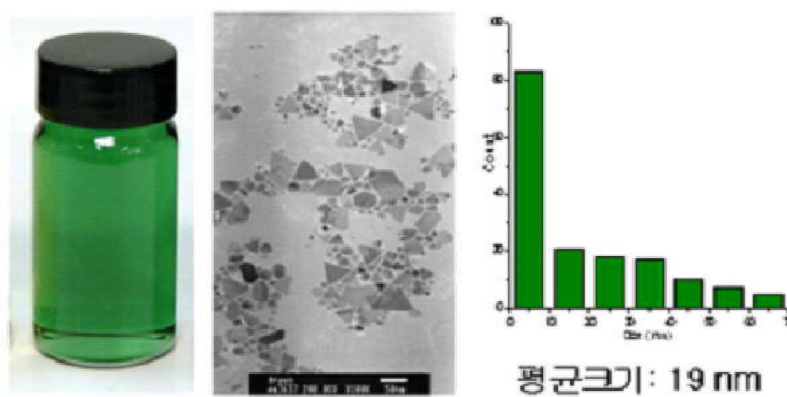
도면3



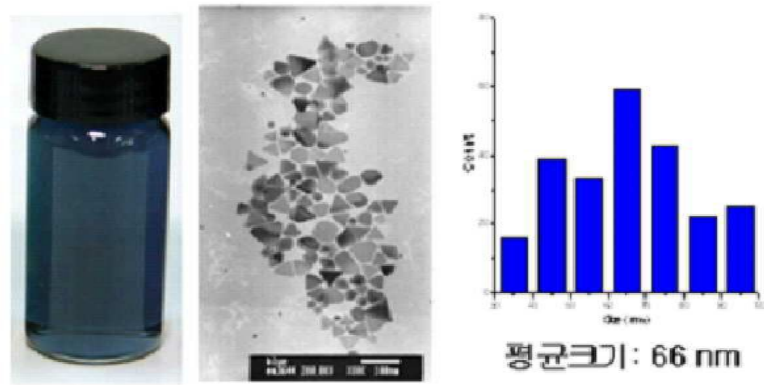
도면4



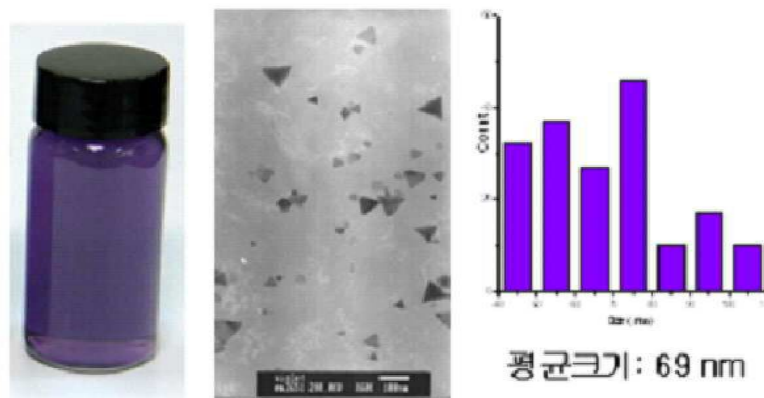
도면5



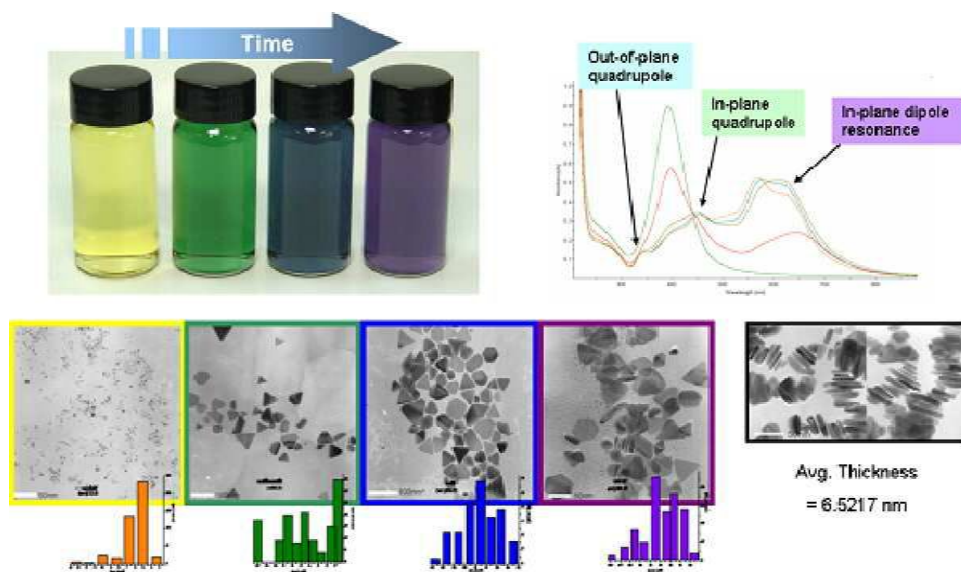
도면6



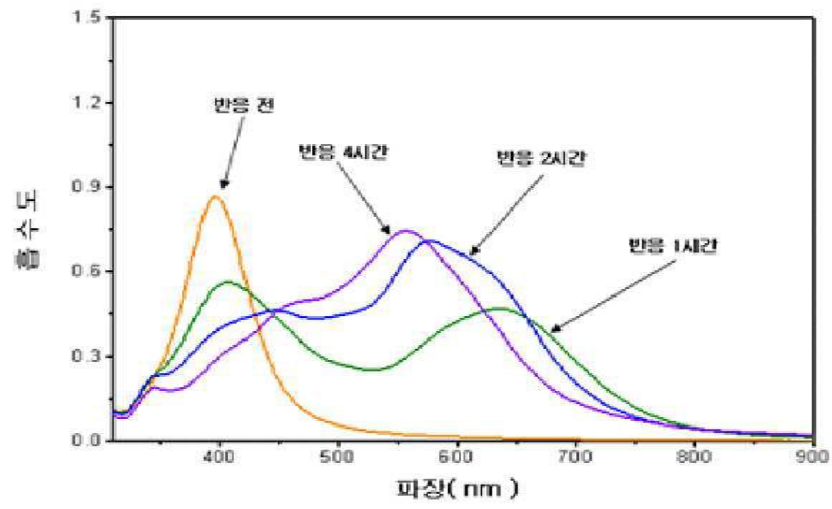
도면7



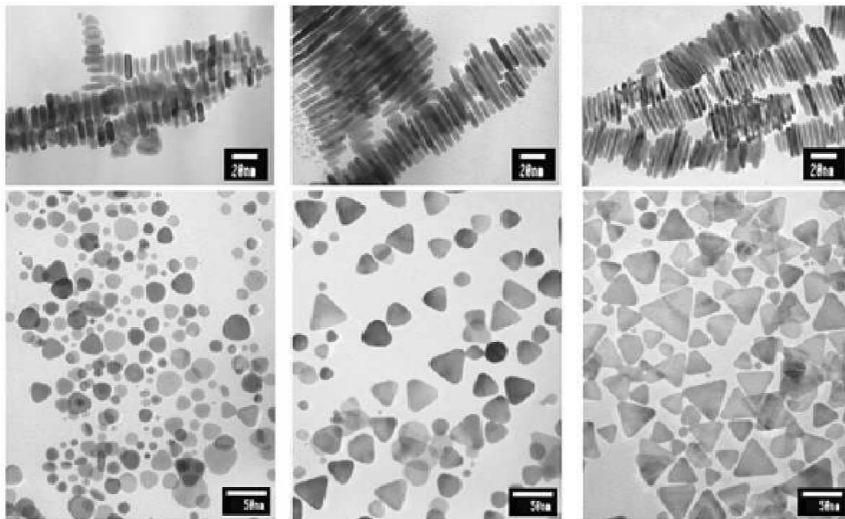
도면8



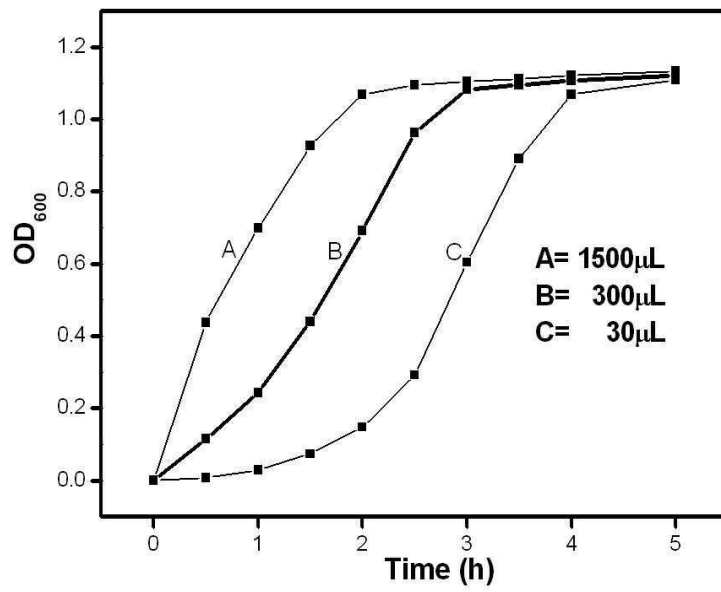
도면9



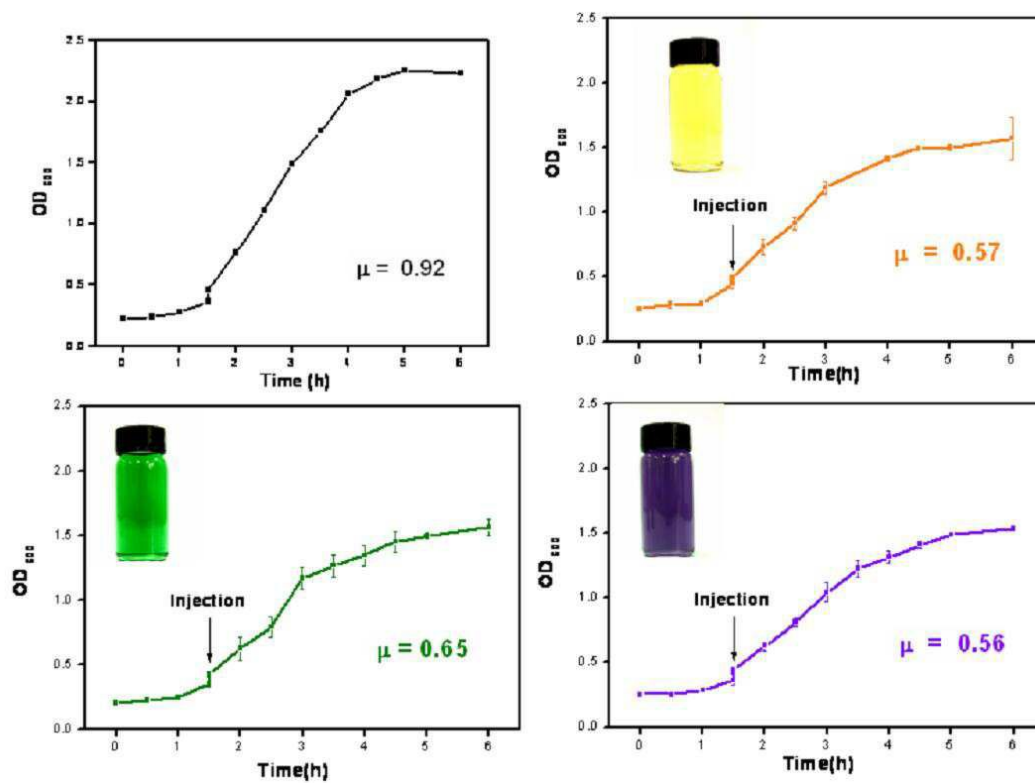
도면10



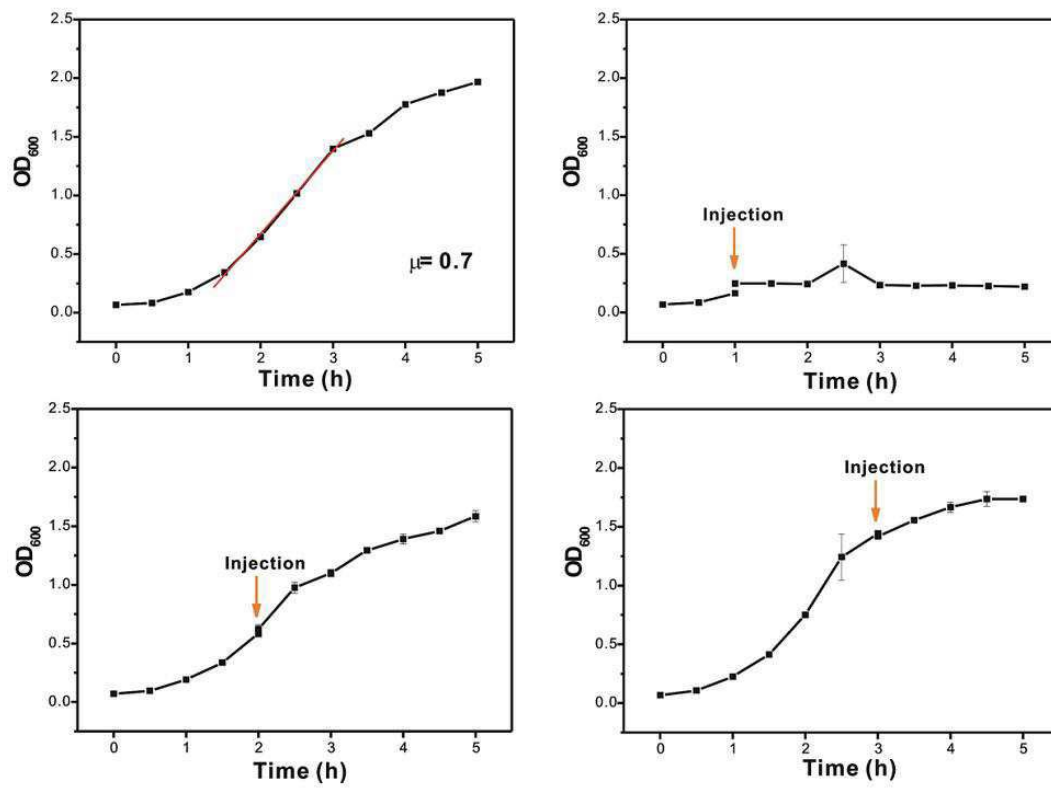
도면11



도면12



도면13



도면14



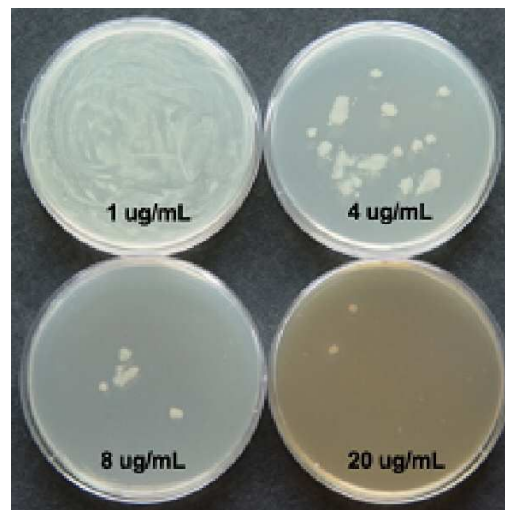
도면15



도면16



도면17



도면18

