

나노셀렌용액의 제조 및 물리화학적특성

장현성, 강명수

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《정보기술, 나노기술, 생물공학은 현시대 과학기술발전의 핵심기초기술입니다.》

(《김정일선집》 증보판 제22권 20~21페이지)

나노셀렌은 무기 및 유기셀렌에 비하여 안전성이 높고 생물활성 특히 생체내의 항산화활성과 면역기능을 훨씬 높여 심장혈관계통질환, 간장질환, 암, 염증 등과 같은 질병의 발생과 로화를 방지하는것으로 하여 보건의약품소재료로, 면역분석의 감도를 높이는 표식자로 널리 쓰이고있다.[6]

선행연구[3, 5]에 의하면 암, 동맥경화증, 뇌혈전증을 비롯한 질병들의 발생과 로화에서 활성산소와 과산화기름질의 작용이 명백하게 밝혀짐에 따라 그것을 막기 위한 다종다양한 항산화제들이 많이 연구되고있다.

지금까지 나노셀렌은 아셀렌산용액을 여러가지 분산안정제를 첨가한 조건에서 환원시켜 콜로이드를 형성시키거나 분산안정제를 넣지 않고 직접 혼합환원제로 환원시키는 방법으로 만들었다.[1, 2, 4] 그러나 나노셀렌생성과 나노셀렌용액의 분산성을 지표로 하여 나노셀렌용액제조조건을 밝히고 그 몇가지 물리화학적특성을 밝힌 구체적인 연구자료는 발표된것이 없다.

우리는 아셀렌산용액에 분산안정제 및 지지체로 생체고분자인 키토산을, 환원제로서 아스코르빈산을 넣고 나노셀렌용액의 최대흡수파장 및 두파장측정법을 리용하여 나노셀렌의 생성량과 나노셀렌콜로이드용액의 분산성을 동시에 평가하는 방법으로 나노셀렌용액의 최적제조조건을 검토하였으며 제조한 나노셀렌용액의 몇가지 물리화학적특성을 밝혔다.

재료와 방법

시약 및 기구 키토산(탈아세틸화도 95.6%, 분자량 320 000), 아셀렌산나트륨, 아스코르빈산, 초산은 모두 분석순이었으며 실험기구로는 수자식전자천평(《LIBROR AEL-40SM》), 나노레이자립도분석기(《BT-90》), 주사탐침현미경(《CSPM-5500》), 주사전자현미경(《JSM-6610A/EDX》), 원자흡광분석기(《PERKIN ELMER 5100-PC-ZL》), 자외가시선분광광도계(《UV-2201》), 가시선분광광도계(《VIS-7220N》)와 항온수욕조를 썼다.

방법 나노셀렌용액은 선행연구자료[4]에 있는 콜로이드형성방법을 일부 변경시켜 다음과 같이 제조하였다. 10mL들이 눈금새긴 시험관들에 먼저 각이한 농도의 키토산용액을 넣고 아셀렌산나트륨용액을 최종농도가 각이하게 되게끔 넣은 다음 끌고루 혼합하고 잠깐 놓아두었다. 여기에 해당 농도의 비타민 C용액을 일정한 량 넣었다. 증류수로 10mL 눈금선까지 맞춘 다음 흔들어 혼합한 후 방온도에서 일정한 시간 반응시켜 나노셀렌콜로이

드용액(간단히 나노셀렌용액)을 얻었다. 이때 나노셀렌의 평균립자크기는 대략 58nm이다. 최대흡수파장(320nm)과 두 파장(410, 490nm)에서 흡광도를 측정하고 흡광도비값(A_{410}/A_{490})을 계산한다.

선행연구자료[4]에 의하면 콜로이드용액에서 립자의 직경을 반영하는 파라미터값(B)은 다음과 같이 표시된다.

$$B = \lg(A_2 / A_1) / \lg(\lambda_1 / \lambda_2)$$

식에서 보는바와 같이 파장 λ_1 , λ_2 를 고정한 상태에서 흡광도비값(A_2/A_1)이 변하지 않으면 B 값이 일정하며 따라서 립자의 직경이 달라지지 않는 안정상태에 있다고 볼수 있다. 두 파장은 나노셀렌용액제조에 참가하는 아스코르빈산, 키토잔, 아셀렌산나트륨의 흡수가 나타나지 않는 가시선대역에서 2개(410, 490nm)를 선택하였다.[4]

셀렌의 정량은 수소화물발생-공기첨가셀렌원자흡광분석법을 리용하여 다음과 같이 진행하였다.

시료 1.0g을 정확히 평량하여 도가니에 넣고 회화보조제(200mL의 증류수에 80g의 $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 와 5g의 MgO 를 넣고 세계 흔들어서 얻은 현탁액) 5mL를 넣은 다음 잘 적시여준다. 105°C의 건조로에 도가니를 넣어 시료를 완전히 말리운다. 도가니를 가열판위에 옮기고 천천히 가열하여 시료를 태운다. 다 탄화되면 회화로에 옮기고 온도를 천천히 올려 500°C에서 회화시킨다. 6가셀렌을 4가셀렌으로 환원시키기 위하여 도가니를 꺼내어 식히고 10mL의 증류수와 5mL의 질은 염산을 넣어 재를 푼 다음 200°C이하의 가열판위에 놓고 거의 마를 때까지 가열한다. 이 분해시료를 염산용액에 풀어 수소화물발생장치에 넣고 수소화물발생-공기첨가원자흡광측정조건(염산농도 2mol/L, 시료체적 10mL, 환원제농도 0.5%, 환원제주입량 4mL, 공기첨가량 10mL/min, 원자화온도 800°C, 원자화시간 40s)에서 셀렌함량을 측정하였다.

1 000 $\mu g/mL$ 의 셀렌(IV)표준용액은 1.630g의 아셀렌산(H_2SeO_3 , 분석순)을 계단식으로 묽게 하여 1 $\mu g/mL$ 용액으로 만들어 썼다.

결과 및 론의

1) 나노셀렌용액의 제조조건검토

나노셀렌용액제조에 미치는 아셀렌산나트륨농도의 영향 나노셀렌용액의 제조에 합리적인 아셀렌산나트륨의 농도를 결정하기 위하여 아셀렌산나트륨농도에 따르는 용액의 흡광도(A_{320} , A_{410} , A_{490})변화와 A_{410}/A_{490} 을 본 결과는 표 1과 같다.

표 1. 아셀렌산나트륨의 농도에 따르는 A_{320} , A_{410}/A_{490} 의 변화

구분	아셀렌산나트륨의 농도(mmol/L)				
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
A_{320}	0.358±0.001	0.559±0.002*	0.559±0.002**	0.560±0.002**	0.558±0.002**
A_{410}/A_{490}	1.608±0.004	1.790±0.004*	1.801±0.003**	1.801±0.004**	1.790±0.004**

$n=3$, 키토잔농도 $2.8 \cdot 10^{-4}\%$, 아스코르빈산농도 4mmol/L, 방온도 20°C, 반응시간 5h, 10배 희석,

* $p < 0.05$ (0.5mmol/L와 비교), ** $p > 0.1$ (농도 1.0mmol/L와 비교)

표 1에서 보는바와 같이 A_{320} 은 아셀렌산나트륨농도가 1.0mmol/L이상일 때 최대값을 나타냈으며 A_{410}/A_{490} 값도 아셀렌산나트륨농도 1.0mmol/L이상에서 거의 일정하였다.

이로부터 반응계의 아셀렌산나트륨이 최대로 환원되었다는 것을 알 수 있다. 그러므로 합리적인 아셀렌산나트륨의 농도를 1.0mmol/L로 정하였다.

아스코르빈산농도의 영향 합리적인 환원제의 농도를 결정하기 위하여 아스코르빈산농도에 따르는 용액의 흡광도(A_{320} , A_{410} , A_{490})변화와 A_{410}/A_{490} 을 본 결과는 표 2와 같다.

표 2. 아스코르빈산의 농도에 따르는 A_{320} , A_{410}/A_{490} 의 변화

구분	아스코르빈산의 농도/(mmol·L ⁻¹)				
	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0
A_{320}	0.453±0.001	0.508±0.002	0.559±0.002*	0.560±0.002	0.558±0.002**
A_{410}/A_{490}	1.692±0.003	1.741±0.004	1.790±0.004*	1.789±0.004	1.789±0.004**

$n=3$, 키토잔농도 $2.8 \cdot 10^{-4}\%$, 아셀렌산나트륨농도 1mmol/L, 방온도 20°C, 반응시간 5h, 10배 희석, * $p<0.05$ (3.0mmol/L와 비교), ** $p>0.1$ (4.0mmol/L와 비교)

표 2에서 보는바와 같이 A_{320} 은 아스코르빈산농도가 4.0mmol/L일 때 최대값을 나타냈으며 A_{410}/A_{490} 값도 아스코르빈산농도 4.0mmol/L부터 일정하였다. 이로부터 아스코르빈산의 합리적인 농도를 4.0mmol/L로 하였다.

분산안정제농도의 영향 나노셀렌용액의 제조에 합리적인 분산안정제농도를 결정하기 위하여 키토잔농도에 따르는 용액의 흡광도(A_{320} , A_{410} , A_{490})변화와 A_{410}/A_{490} 을 본 결과는 표 3과 같다.

표 3. 키토잔농도에 따르는 A_{320} , A_{410}/A_{490} 의 변화

구분	키토잔농도/($\cdot 10^{-4}\%$)				
	0.4	1.2	2.0	2.8	3.6
A_{320}	0.524±0.002	0.535±0.002	0.547±0.002	0.559±0.002*	0.558±0.002**
A_{410}/A_{490}	1.693±0.003	1.728±0.004	1.770±0.003	1.790±0.004*	1.790±0.004**

$n=3$, 아셀렌산나트륨농도 1mmol/L, 아스코르빈산농도 4mmol/L, 방온도 20°C, 반응시간 5h, 10배 희석, * $p<0.1$ (2.0·10⁻⁴%와 비교), ** $p>0.1$ (2.8·10⁻⁴%와 비교)

표 3에서 보는바와 같이 키토잔농도가 $2.8 \cdot 10^{-4}\%$ 일 때 A_{320} 이 최대값을 나타냈으며 A_{410}/A_{490} 값도 분산안정제의 농도 $2.8 \cdot 10^{-4}\%$ 에서 포화되었다. 이로부터 합리적인 분산안정제의 농도를 $2.8 \cdot 10^{-4}\%$ 로 정하였다.

반응시간의 영향 나노셀렌용액의 제조에 합리적인 반응시간을 결정하기 위하여 반응시간을 변화시키면서 용액의 흡광도(A_{320} , A_{410} , A_{490})변화와 A_{410}/A_{490} 을 본 결과는 표 4와 같다.

표 4. 반응시간에 따르는 A_{320} , A_{410}/A_{490} 의 변화

구분	반응시간/h					
	1	2	3	4	5	6
A_{320}	0.356±0.001	0.488±0.002	0.540±0.002	0.551±0.001	0.559±0.002*	0.558±0.001**
A_{410}/A_{490}	1.567±0.003	1.716±0.004	1.743±0.004	1.770±0.003	1.790±0.004*	1.789±0.003**

$n=3$, 키토잔농도 $2.8 \cdot 10^{-4}\%$, 아셀렌산나트륨농도 1mmol/L, 아스코르빈산농도 4mmol/L, 방온도 20°C, 10배 희석, * $p<0.1$ (4h와 비교), ** $p>0.1$ (5h와 비교)

표 4에서 보는바와 같이 5h동안 반응시켰을 때 A_{320} 이 최대값을 나타냈으며 A_{410}/A_{490} 값도 반응시간 5h에서 거의 포화되었다. 이로부터 합리적인 반응시간을 5h로 정하였다.

나노셀렌용액제조에 미치는 단인자실험결과로부터 아셀렌산나트륨과 환원제, 분산

안정제의 합리적인 농도와 반응시간을 각각 1.0, 4.0mmol/L, $2.8 \cdot 10^{-4}\%$, 5h로 정하였다.

또한 나노셀렌용액제조과정에 반응계의 아셀렌산나트륨이 최대로 환원되면서 나노셀렌의 생성량과 두 파장에서의 흡광도비값이 선형적으로 증가하였으므로 나노셀렌의 생성량을 지표로 하여 나노셀렌용액제조조건에 통계적최적화를 위한 실험을 진행하였다.

2) 품질공학수법에 의한 나노셀렌용액제조조건에 최적화

단인자실험결과에 기초하여 인자와 수준을 표 5와 같이 정하고 $L_9(3^4)$ 형직교표를 작성하였으며 나노셀렌용액제조조건에 통계적최적화를 위한 실험을 하였다.

표 5. 인자와 수준

수준	인자			
	아셀렌산나트륨	아스코르빈산농도(B)	안정제농도(C)	반응시간(D)
	농도(A)/(mmol·L ⁻¹)	/(mmol·L ⁻¹)	/($\cdot 10^{-4}\%$)	/h
1	0.9	3.5	2.4	4.5
2	1.0	4.0	2.8	5
3	1.1	4.5	3.2	5.5

위의 인자들을 $L_9(3^4)$ 형직교표에 배치하고 나노셀렌용액제조실험을 진행한 다음 3회 반복측정한 값에 기초하여 망대특성의 SN비를 구하였다.(표 6)

직교표의 자료에 토대하여 보조표(표 7)를 작성하고 분산분석을 진행하였다.(표 8)

표 6. $L_9(3^4)$ 직교표와 실험값

No.	A	B	C	D	A_{320}			SN비
					1	2	3	
1	1	1	1	1	0.468	0.466	0.470	-6.595
2	1	2	2	2	0.483	0.485	0.481	-6.321
3	1	3	3	3	0.490	0.489	0.491	-6.196
4	2	1	2	3	0.545	0.545	0.544	-5.272
5	2	2	3	1	0.567	0.561	0.573	-4.928
6	2	3	1	2	0.571	0.578	0.564	-4.867
7	3	1	3	2	0.588	0.590	0.586	-4.612
8	3	2	1	3	0.591	0.591	0.590	-4.568
9	3	3	2	1	0.599	0.598	0.599	-4.451

표 7. 보조표

수준	인자			
	A	B	C	D
1	-19.11	-16.48	-16.03	-15.97
2	-15.07	-15.82	-16.04	-15.80
3	-13.63	-15.51	-15.74	-16.04

표 8. 분산분석표

인자	S	F	V	분산비	기여률/%
A	5.38	2	2.69	337	96.3
B	0.162	2	0.081	10.1	2.64
C	0.020	2	0.010		
D	0.010	2	0.005		
(e)	0.030	4	0.008		1.08

분산분석결과에서 보는바와 같이 인자 C, D는 통계적으로 의의가 없었으며 인자 A, B만이 $p=0.05$ 수준에서 유의하였다. 얻어진 최적조건은 $A_3B_3C_1D_1$ 이었다.

유효한 인자 A, B에 대하여 최적조건에서의 공정평균을 구하고 믿음성한계를 추정하였다. ($F_{2, 4, 0.05}=6.94$) 이때 $\mu_{\text{최}}=-4.504 \pm 0.181$ 이다.

합리적인 단인자조건 및 최적조건에서 확인 실험을 진행한 결과는 표 9와 같다.

표 9에서 보는바와 같이 최적조건에서의 SN비가 믿음성구간에 들어가므로 결국 합리적인 단인자조건에 비하여 나노셀렌용액의 흡광도가 약 7.14% 더 높아졌다.

표 9. A_{320} 에서 확인실험결과

구분	측정값	SN비
최적조건	0.602 ± 0.002	-4.413
합리적인 단인자조건	$0.559 \pm 0.002^*$	-5.057

$n=3$, * $p<0.05$ (최적조건과 비교)

3) 나노셀렌용액의 몇가지 물리화학적특성

나노셀렌용액에서 셀렌립자의 분포특성 나노레이자립도분석기를 리용하여 측정 한 나노셀렌용액속의 셀렌립자크기에 따르는 분포특성을 분석한 결과는 그림 1과 같다.

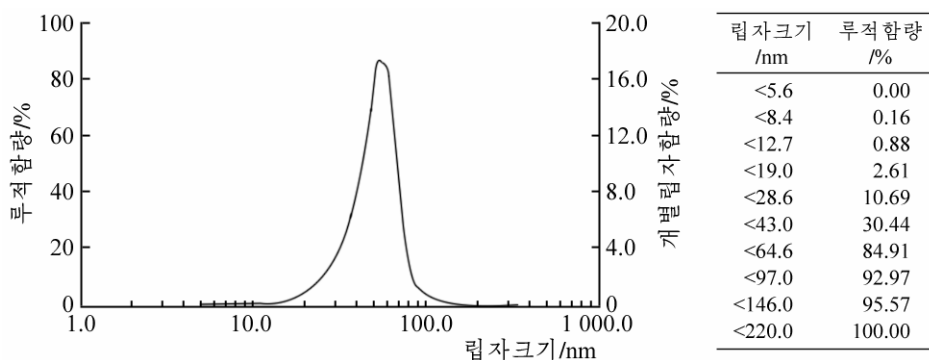


그림 1. 나노셀렌용액에서 셀렌립자의 분포특성

그림 1에서 보는바와 같이 나노셀렌용액에서 셀렌립자들은 직경이 8.43~220nm사이에 분포되어있으며 루적함량이 50%인 립자의 직경 D50은 57.8nm였다.

나노셀렌의 주사전자현미경사진 주사전자현미경을 리용하여 관찰한 셀렌립자크기는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 나노셀렌립자들은 밝은색점들(천연색화상에서는 풀색점들)로 나타났는데 서로 겹침이 없이 골고루 분포되어있으며 대다수 셀렌립자의 크기는 100nm이하라는것을 알수 있다.

나노셀렌의 주사탐침현미경사진 주사탐침현미경을 리용하여 나노셀렌용액속의 셀렌립자형태를 관찰한 결과는 그림 3과 같다.

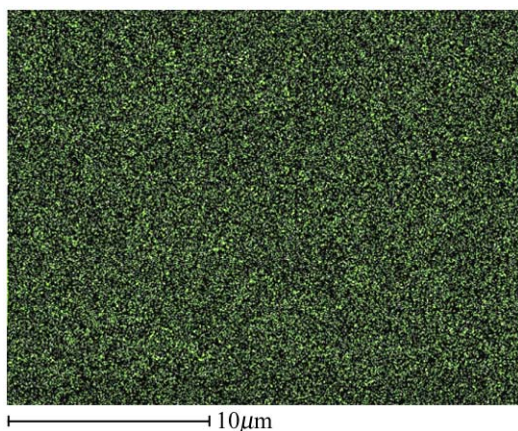


그림 2. 나노셀렌의 주사전자현미경사진
배율 5 000, 화소수 1 024×768

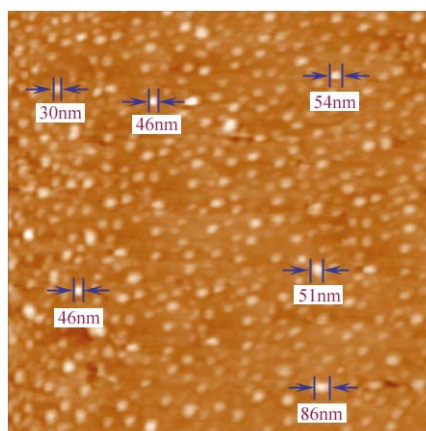
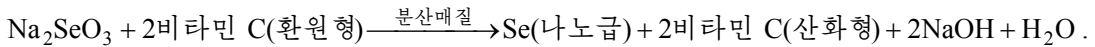


그림 3. 나노셀렌의 주사탐침현미경사진
화상크기 2 187nm×2 187nm

그림 3에서 보는바와 같이 주사탐침현미경을 리용하여 나노셀렌용액속의 셀렌립자형태를 관찰한 결과 구형의 알갱이들이 분산되어있다는것을 알수 있다. 이것은 나노셀렌용액을 제조할 때 산성조건에서 아셀렌산음이온(SeO_3^{2-})과 고분자키토산을 구성하는 단량체들의 NH_3^+ 사이에 이온결합이 형성되어 이미 분산결합 및 포괄고정화가 이루어진 상태에

서 아스코르빈산에 의해 SeO_3^{2-} 이 환원되면서 나노셀렌이 생기기때문에 셀렌립자들사이의 응집과 립자의 성장이 방지되고 나노셀렌이 용액속에서 분산된 상태로 안정하게 존재한다고 볼수 있다.[4] 즉



나노셀렌용액속의 셀렌함량 제조한 나노셀렌용액속의 셀렌함량을 수소화물발생원자흡광법으로 결정하는데 의하면 $(79 \pm 2) \mu\text{g/mL}$ 였다.

나노셀렌용액의 빛흡수특성 나노셀렌용액의 빛흡수특성을 밝히기 위하여 제조한 나노셀렌용액의 흡광도를 자외가시선분광광도계를 리용하여 측정 한 결과는 그림 4와 같다.

그림 4에서 보는바와 같이 320nm근방에서 최대흡수가 나타났다. 이것은 이미 알려진 나노셀렌의 최대흡수파장[1]과 잘 일치한다.

나노셀렌용액의 콜로이드화학적특성 먼저 제조한 나노셀렌용액을 광전비색계의 큐베트에 넣고 콜로이드용액에 특징적인 틸탈원추효과를 검토하는데 의하면 대조용액에서는 틸탈원추효과가 나타나지 않았으나 나노셀렌용액에서는 뚜렷이 나타났다.(표 10)

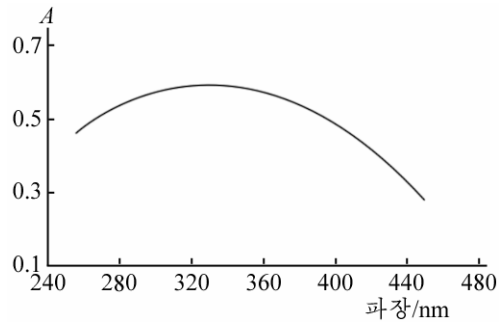


그림 4. 나노셀렌용액의 빛 흡수특성

표 10. 나노셀렌용액의 콜로이드화학적특성

구분	틸탈원추 효과	원심침전 효과	ζ -포텐셜 /mV
나노셀렌 용액	+	+	-35.2
1% 카라멜색소용액	-	-	-

다음으로 분산액을 원심분리관에 넣고 고속원심분리기(12 500r/min)에서 30min동안 원심분리할 때 나노셀렌용액에서는 침전효과가 나타났으나 대조용액에서는 그러한 효과가 나타나지 않았다.

또한 계면전기영동장치를 리용하여 전압 122V, 극간거리 25.5cm인 조건에서 나노셀렌용액의 ζ -포텐셜을 측정 한 결과 -35.2mV 였다. 이것은 콜로이드계의 립계포텐셜 ($|\zeta_{\text{립}}|$)인 25~30mV보다 큰 값으로서 나노셀렌콜로이드용액의 안정성이 비교적 높다는것을 보여준다.

맺 는 말

아스코르빈산을 환원제로, 키토잔을 분산안정제 및 지지체로 하여 나노셀렌용액을 제조하고 제조에 합리적인 아셀렌산나트륨과 환원제, 분산안정제의 농도, 반응시간을 밝혔다. 아셀렌산나트륨과 환원제, 분산안정제의 합리적인 농도와 반응시간은 각각 1.1, 4.5mmol/L, $2.4 \cdot 10^{-4}\%$, 4.5h이다.

제조한 나노셀렌용액에서 셀렌립자들은 직경이 8.43~220nm사이에서 분포되어있으며 루적립자분포가 50%인 립자의 직경 D50은 57.8nm이다. 나노셀렌용액속의 셀렌립자형태는 구형이며 셀렌함량은 $(79 \pm 2) \mu\text{g/mL}$ 이다. 나노셀렌용액은 틸탈원추효과와 원심침전효과가 나타나는 콜로이드용액이며 그것의 ζ -포텐셜은 -35.2mV 이다.

참 고 문 헌

- [1] 김영남 등; 나노과학기술, 4, 23, 주체95(2006).
- [2] 유경숙 등; 나노과학기술, 3, 9, 주체100(2011).
- [3] M. C. Denis et al.; PLOS ONE, 8, 1, e53725, 1, 2013.
- [4] 王红艳 等; 应用化学, 21, 8, 788, 2004.
- [5] 王培席 等; 河南医药信息, 9, 7, 2001.
- [6] 高学云; 卫生研究, 1, 57, 2000.

주체106(2017)년 1월 5일 원고접수

Preparation of Selenium Nanoparticle Solution and Its Physical and Chemical Characteristics

Jang Hyon Song, Kang Myong Su

Selenium nanoparticles have been synthesized in an aqueous solution by using chitosan(CTS) as a soft template. The factors on synthesis, such as reaction time and concentration of reactants were studied.

The uniform stable selenium nanospheres were obtained in conditions of $2.4 \cdot 10^{-4}$ (mass fraction) CTS, $nVc : nNa_2SeO_3 = 4.1 : 1$ and 4.5h after the initiation of the reaction at room temperature.

The average particle size of selenium is about 57.8nm and decreases with increase of the total concentration of the reactants.

The products were characterized by LPSA, SEM, STM, zeta potential and so on.

Key words: selenium nanoparticle, chitosan, soft template