

TiAg 합금의 광촉매용  $\text{TiO}_2$   
코팅층을 이용한 치아우식 유발  
세균에 대한 항균효과

연세대학교 대학원

치 의 학 과

최 정 윤

TiAg 합금의 광촉매용  $\text{TiO}_2$   
코팅층을 이용한 치아우식 유발  
세균에 대한 항균효과

지도교수 김 경 호

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2005년 6월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

최 정 윤

# 최정윤의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

연세대학교 대학원

2005년 6월 일

## 감사의 글

우선 하나님께 모든 영광을 돌립니다. 본 논문을 완성하기까지 각별하신 지도와 세심한 배려를 해주신 김경호 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 논문의 작성과 심사에 아낌없는 애정으로 조언과 격려를 하여주신 박영철 교수님, 백형선 교수님, 김경남 교수님, 오근택 교수님께도 진심으로 감사를 드립니다. 또한 많은 관심과 도움을 준 백민규, 이지환, 주욱현, 이덕창, 강동국, 박지호, 심형민 선생님에게도 깊은 감사를 드립니다.

본 논문을 완성하도록 이해와 배려로 큰 도움을 준 하얀미소치과 배은경, 김은정, 신미란, 구지숙에게 진심으로 감사를 드립니다.

아울러 지금까지 믿어주시고 후원을 아끼지 않으신 부모님, 시부모님, 온 가족들에게 감사를 드립니다. 끝으로 사랑하는 남편 신승우와 사랑하는 딸 지나와 이 모든 기쁨을 같이하고자 합니다.

2005년 6월

저자 씀

# 목 차

국문요약 .....	v
I. 서 론 .....	1
II. 연구 재료 및 방법 .....	4
1. 연구 재료 .....	4
2. 연구 방법 .....	4
가. 시편 제작 .....	4
나. TiO <sub>2</sub> 코팅(산화) .....	5
다. 표면 결정 구조 분석 .....	5
라. 표면 형상 분석 .....	5
마. 세균 배양 .....	5
바. 광촉매 코팅 방법에 따른 항균효과 측정 .....	6
사. 광촉매 반응 시간 경과에 따른 항균효과 측정 .....	7
아. 세포독성 실험 .....	8
자. 통계 .....	8
III. 연구 결과 .....	9
1. 표면 형상-주사전자현미경 분석 .....	9
2. 코팅층 X-선 회절 분석 .....	10
3. 광촉매 코팅 방법에 따른 항균효과 .....	12
4. 광촉매 반응 시간 경과에 따른 항균효과 .....	15
5. 섬유아세포의 세포독성 .....	19
IV. 총괄 및 고찰 .....	21
V. 결 론 .....	30

참고문헌 .....	32
Abstract .....	40

## 그림 목차

Fig. 1. Schematic diagram of photocatalytic experiment .....	7
Fig. 2. SEM images of each specimens .....	10
Fig. 3. X-ray diffraction patterns of the specimens .....	11
Fig. 4. Effects of UVA illumination(60 min.) and TiO <sub>2</sub> film formed by different oxidation methods on the viability of <i>S. mutans</i> cells( $4.8 \times 10^6$ CFU/ml) in each specimen .....	13
Fig. 5. Effects of UVA illumination(60 min.) and TiO <sub>2</sub> film formed by different oxidation methods on the viability of <i>L. acidophilus</i> cells( $4.4 \times 10^7$ CFU/ml) in each specimen .....	14
Fig. 6. Kinetics of inactivation in <i>S. mutans</i> induced by photocatalysis using TiO <sub>2</sub> film formed by different oxidation methods in each specimen ...	16
Fig. 7. Kinetics of inactivation in <i>L. acidophilus</i> induced by photocatalysis using TiO <sub>2</sub> film formed by different oxidation methods in each specimen ...	18
Fig. 8. Principle of photocatalysis .....	23
Fig. 9. Crystal structures of TiO <sub>2</sub> .....	26

## 표 목차

Table 1. Duncan's grouping of CFU of <i>S. mutans</i> as a function of irradiation time after photocatalytic reaction using TiO <sub>2</sub> film formed by different oxidation methods in each specimen .....	17
Table 2. Duncan's grouping of CFU of <i>L. acidophilus</i> as a function of irradiation time after photocatalytic reaction using TiO <sub>2</sub> film formed by different oxidation methods in each specimen .....	19
Table 3. Cytotoxicity of Ti and TiAg .....	20



## 국 문 요 약

### TiAg 합금의 광촉매용 TiO<sub>2</sub> 코팅층을 이용한 치아우식 유발 세균에 대한 항균효과

교정치료로 인한 법랑질 탈회 및 치아우식증이 문제가 되고 있으며, 그 원인 중 하나가 구강 내 세균 수의 증가이다. 최근 광에너지를 받아 활성화된 전자와 정공(hole)으로 미생물을 살균하는 광촉매를 타일, 유리, 금속 등에 코팅하여 항균화하려는 시도가 있다.

본 연구는 TiO<sub>2</sub>(Titanium dioxide) 산화막으로 코팅된 금속면이 대표적인 치아우식 유발세균인 *Streptococcus mutans*와 *Lactobacillus acidophilus*에 대하여 광촉매 항균효과를 나타내는지 알아보기 위하여 시행되었다. TiO<sub>2</sub>의 두 가지 결정형 즉, rutile과 anatase의 광촉매 항균효과를 비교하기 위하여 각각 thermal oxidation(TO)과 anodic oxidation(AO)으로 산화막을 형성하였고, TiAg 합금에 형성된 TiO<sub>2</sub> 산화막과 Ti에 형성된 TiO<sub>2</sub> 산화막의 광촉매 항균효과를 비교하였다.

TiO<sub>2</sub> 산화막의 표면 형상과 결정을 분석하였으며, Ti와 TiAg 시편 위에  $4.8 \times 10^6$  colony forming unit(CFU)의 *S. mutans*와  $4.4 \times 10^7$  CFU의 *L. acidophilus*가 들어있는 부유액을 각각 떨어뜨린 후 자외선 A( $2 \times 15$  W, black light, 356 nm)를 20분 간격으로 100분간 조사한 후 반응액을 배양하여 세균 수를 세어 살균효과를 비교하고, 쥐의 섬유아세포인 L-929세포에 대한 독성 실험을 수행하였다.

주사전자현미경 관찰 결과 TO에 의하여 처리된 시편 표면은 평활하고 산화층이 두께가 얇았으며, AO에 의하여 처리된 시편 표면은 "crater"를 형성하였고 거칠게 나타났다. X선 회절 분석 결과 TO의 경우 코팅되지 않은 대조군에 비하여

뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며, AO에 의하여 처리된 경우 Ti, TiAg 모두 표면에 아나타제를 비교적 안정적으로 형성하였다.

*S. mutans*의 경우 TiO<sub>2</sub> 광촉매 코팅 방법 중 아나타제형이 형성되는 AO 방법이 루틸형이 형성되는 TO 방법보다 항균 효과면에서 우수한 것으로 나타났다. 또한 TiAg 합금에 형성된 TiO<sub>2</sub> 산화막이 순수 Ti의 산화막에 비해 탁월한 광촉매 살균 효과를 지닌 것으로 나타났다. *L. acidophilus*의 경우 Ti와 TiAg 합금 모두 광촉매에 의한 시편간의 항균 효과의 차이가 없는 것으로 나타났다.

세포독성 실험 결과, Ti와 TiAg합금은 TO와 AO 방법으로 산화 처리 했을 때 독성이 없는 것으로 나타났다.

TiO<sub>2</sub> 광촉매는 고정식 교정장치에 적용되어 세균 수를 줄여 법랑질 탈회 및 치아우식증을 예방하는데 기여할 수 있을 것이다.

---

핵심되는 말: TiO<sub>2</sub>, 광촉매 항균효과, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, 열산화법, 양극산화법, TiAg, 세포 독성

# TiAg 합금의 광촉매용 TiO<sub>2</sub> 코팅층을 이용한 치아우식 유발 세균에 대한 항균효과

연세대학교 대학원 치의학과

(지도 김경호 교수)

최 정 윤

## I. 서 론

교정식 교정장치 장착 시 구강 위생상태가 저하되어 밴드나 브라켓 주변에 치태가 침착되고, 치태 내 세균에 의해 산이 형성되어 법랑질 표면의 탈회 및 치아우식이 나타난다(Bloom 등, 1964; Gorelick 등, 1982). Houte 등(1981)은 *Lactobacilli*와 *Streptococcus mutans*의 타액 내 농도가 높아지면 높은 우식 이환율을 나타내는 지표로 볼 수 있다고 하였다. 구강 내 세균을 감소시키는 방법으로는 치면 열구 전색법(Sandham 등, 1991), 전동칫솔(Burch, 1994), 그리고 불소, 클로르헥시딘, 항생제 등 보조약물을 이용한 방법(Svanberg와 Rolla, 1982; Sansham 등, 1992; Slots과 Rams, 1990)이 있다. Zachrisson(1976)에 의하면 일반적으로 교정환자들에게 치태침착과 우식증 발생 빈도가 증가하는 이유는 교정장치가 치태제거에 방해되기 때문인데, 교정장치 자체에 우식증 예방을 위한 처리가 시도된 바가 없다.

최근 금속에 TiO<sub>2</sub>(Titanium dioxide) 광촉매를 코팅하여 항균화하는 시도가 이루어지고 있다(Köhn 등, 2003). 광촉매는 광 에너지를 받아 활성화된 전자(electron)와 정공(hole)을 이용하여 강력한 산화력을 갖는 하이드록시라디칼(OH·)

을 생성하여 유기물 및 유독물질을 이산화탄소와 물로 분해시키며 미생물을 살균하는 능력을 가지고 있다(Mills와 Le Hunte, 1998). Fujishima와 Honda(1972)에 의해 TiO<sub>2</sub> 광촉매 전극을 이용한 정수방법이 처음 개발된 이래 물이나 공기 중의 유독 물질을 정화하는데 사용한 연구가 많이 발표되었으며 상수 처리에 미세한 TiO<sub>2</sub> 입자와 수은 램프 같은 강한 빛을 사용였다. 대부분의 실험은 TiO<sub>2</sub> 입자 부유액을 환경 유해물질, DNA, 내독소, 바이러스, 미생물에 첨가하여 시행되었다. 이후 타일, 유리나 금속면에 TiO<sub>2</sub>를 코팅하여 셀프클리닝 효과를 발휘하려는 새로운 시도(Sunada 등, 1998)가 있으며, 강한 빛이 아닌 생활 자외선(UVA)을 사용한 살균효과가 보고되었다(Sunada 등, 2003). 의학분야의 연구로 적용된 것은 TiO<sub>2</sub> 광촉매로 암세포를 사멸시키는 연구가 있으며(Blake 등, 1999), 카테터(catheter) 등의 의료기구를 항균화하려는 시도가 있었다(Ohko 등, 2001).

TiO<sub>2</sub> 코팅막은 유리, 금속 등을 액상의 코팅제에 넣었다가 고형화시키는 졸겔(sol-gel)법(Samuneva 등, 1993)이나 Ti 금속 자체를 산화처리 하는 방법(Zhu 등, 2002) 등으로 얻을 수 있다. Ti는 우수한 내식성, 생체적합성, 낮은 비중 등의 장점으로 치과용 임플란트, 교정용 브라켓, 교정용 선재, 교정용 스크류 등에 사용되고 있으며, Ti의 강도, 내마모성이 떨어지는 단점을 보완하기 위하여 TiAg 합금을 교정용 골내 고정원 장치, 교정용 선재, 치과 임플란트 등의 생체재료로 적용하려는 시도가 있다(오 등, 2002; 박, 2001; 우, 2003). Ti 브라켓이 마찰력, 뒤틀림 변형, 강도 등의 물리적 성질이 스테인레스 스틸 브라켓과 필적할 만하다는 연구가 있으며(Kusy 등, 1998; Kapur 등, 1999; Zinelis 등, 2003), Koa 등(2002)은 금속 브라켓에 TiN plating을 하여 부식저항성 및 생체적합성을 높이려는 시도를 한 바 있다. 기존의 스테인레스 스틸 브라켓에 TiO<sub>2</sub>를 코팅하는 방법이나 Ti 나 TiAg 브라켓에 산화처리하여 광촉매를 적용할 수 있을 것이므로 고정성 교정장치 자체를 항균화하려는 시도로서 광촉매 TiO<sub>2</sub>가 코팅된 금속의 우식유발 세균에 대한 항균 효과를 알아보려고 하였다.

TiO<sub>2</sub>에는 루틸(rutile), 아나타제(anatase), 브루카이트(brookite) 등 3종류의 결정구조가 있는데 공업용으로 이용되는 것은 주로 루틸형과 아나타제형이다. 많은 연구가 광촉매 살균에 아나타제형 TiO<sub>2</sub> 를 이용하였으며 Nagame 등(1989)은 루틸형 TiO<sub>2</sub> 분말을 이용한 바 있다. 본 연구에서는 TiO<sub>2</sub> 산화막 상인 아나타제와

루틸의 살균력을 전자의 경우 양극산화법(anodic oxidation, AO), 후자의 경우 열산화법(thermal oxidation, TO)에 의해 표면처리하여 비교하였다.

또한  $\text{TiO}_2$ 가 광여기(photo-excited) 생긴 전자와 정공이 재결합을 해버리면 광촉매의 효과가 떨어지게 되는데 이러한 전자-정공의 재결합(recombination)을 가능한 막아 많은 전자와 정공이 반응에 관여하면 광촉매의 효율을 높일 수 있다.  $\text{TiO}_2$  표면에 백금이나 팔라듐 등의 귀금속을 첨가하면 전자-정공의 재결합 방지가 잘 되는 것으로 알려졌다(Saito 등, 1992; Matsunaga 등, 1985). 최근 Ag가 저농도에서 항균성을 지니고 있어 의료재료로 많이 사용되고 있는데(Bellantone 등, 2002), 본 연구에서는  $\text{TiO}_2$  산화막에 Ag가 첨가될 경우 Ag의 항균성과 전자-정공 재결합 방지 효과로 인하여 항균 효과가 향상되는지 알아보기 위하여 고내식, 고강도 특성을 갖는 TiAg 합금에 AO, TO 방법으로 각각  $\text{TiO}_2$  산화막을 형성시켜 광촉매 반응에 의한 살균력을 Ti 합금의 산화막과 비교하였다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

순수 Ti (Grade III, ASTM F67, Supra Alloys, Inc. California, USA)와 TiAg 계 합금(Ti-2.0at%Ag, Biomaterialskorea, Seoul, Korea) 판재를 5mm×5mm×1mm 크기로 절단하여 사용하였다.

### 2. 연구 방법

#### 가. 시편 제작

TiAg 합금 용해를 위한 원소재는 sponge Ti와 입상의 Ag를 사용하였고 Ag 함량은 2.0 at%로 하였다. 계량 후 아크 용해로를 이용하여 30 g을 3회 반복하여 용해하였다. 용해에 의해 얻어진 주물은 조성 균질화를 위하여 950°C의 온도가 유지된 진공로에서 72 시간 동안 열처리하여 주조 편석을 제거하였다. 이것을 950°C에서 열간 압연(rolling)하여 약 1 mm의 균일한 두께로 만들고 이 때 생성된 산화물(scale)을 산세(acid washing, 불산:질산:증류수의 비, 1:3:7)하여 제거하였다. 다시 950°C의 진공로에서 1 시간 동안 용체화 처리(solution annealing)하여 열간 압연 시 발생한 석출물 등을 제거하고 상온의 수중에서 냉각(quenching)하였다. 이것을 5×5 mm<sup>2</sup> 크기로 절단하고 600번 사포(emery paper)로 연마한 후 아세톤 및 에틸알코올로 초음파 세척하였다.

#### 나. TiO<sub>2</sub> 코팅(산화)

제작된 Ti와 TiAg 시편을 각각 thermal oxidation과 anodic oxidation으로 표면 처리 하였다. TO의 경우는 muffle furnace에서 400℃에서 1 시간 동안 대기 열 처리한 후 노냉하였다. AO의 경우는 0.04 M β-glycerophosphate disodium salt pentahydrate 및 0.4 M calcium acetate 혼합 용액 내에서, 산화전극인 시편과 환원 전극인 Pt 판 사이에 250 V의 전위를 3분간 가하였다.

#### 다. 주사 전자현미경 분석

시편 표면의 산화층 형성 양상을 관찰하기 위하여 주사 전자 현미경(S-2700, S-4200, Hitachi, Japan)을 이용하여 15000 배율로 관찰하였다.

#### 라. X-선 회절 분석

시편 표면 산화물의 종류를 정성분석하기 위하여 X-선 회절 분석기(D-Max Rint 2400, Rigaku, Japan)를 이용하였다. Target으로는 Cu Kα<sub>1</sub>을 이용하였고 scan range와 rate는 각각 20-80°, 1°/min이었다.

#### 마. 세균 배양

*S. mutans*(KCTC 3298)는 20 mL의 BHI(brain heart infusion) 배지에, *L. acidophilus*(KCCM 32820)는 20 mL의 Lactobacilli MRS 배지에 넣어 37℃에서 12 시간 배양하고 4000 rpm에서 흔들여 주었다. 세균의 농도는 phosphate-buffered saline(PBS) 용액에 희석하여 *S. mutans*는  $4.8 \times 10^6$  colony forming unit(CFU)로, *L. acidophilus*는  $4.4 \times 10^7$  CFU로 만들었다.

#### 바. 광촉매 코팅 방법에 따른 항균효과 측정

Ti, Ti(TO), Ti(AO), TiAg, TiAg(TO), TiAg(AO) 시편에 자외선 A를 조사하여 실험군으로 하고, 실험 동안 세균의 안정성을 검증하기 위하여 각각의 시편을 검은 천으로 가려 대조군으로 삼았다.

실험군과 대조군 시편 위에  $4.8 \times 10^6$ 의 *S. mutans*와  $4.4 \times 10^7$ 의 *L. acidophilus*가 들어있는 PBS 용액 100  $\mu$ L를 피펫으로 각각 떨어뜨린 후 자외선 A(Philips,  $2 \times 15$  W, black light 356 nm peak emission)를  $1.0 \text{ mW/cm}^2$ 의 강도(UVmeter, Matts, USA)로 60 분간 조사하였다. 광조사 시 온도 상승으로 인한 건조를 방지하기 위해 얼음 물을 채운 petri dish 위에 시편을 놓았고, 시편과 UVA 램프 간의 거리는 7 cm이었다(Fig. 1). 광조사 후 각 반응용액을 pH 7.2의 PBS 900  $\mu$ L에 넣고 10배 단위로  $10^{-5}$ 까지 희석하여 10 분간 혼든 후(Vortex 200 rpm) 각 100  $\mu$ L의 샘플을 삼각 플레이트(plater)로 *S. mutans*는 BHI 한천배지에, *L. acidophilus*는 Lactobacilli MRS 한천배지에 도말하였다. 각 반응용액마다 한 쌍의 플레이트를 도말하였다. 플레이트를 36 시간동안  $37^\circ\text{C}$ 에서 배양하여 세균수를 세어 CFU를 계산하였다. 실험은 4번 반복하였으며 다음과 같은 용어를 사용하여 살균효과를 나타내었다.

$$\text{생존율(\%)} = \text{광조사 후 세균 수} / \text{광조사 전 세균 수} \times 100$$



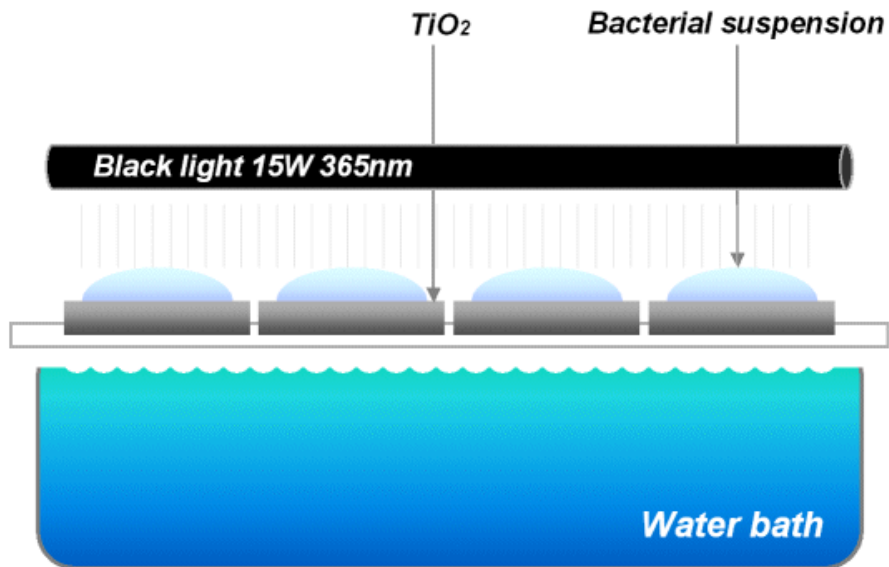


Fig. 1. Schematic diagram of photocatalytic experiment.

#### 사. 광촉매 반응 시간 경과에 따른 항균효과 측정

Ti, Ti(TO), Ti(AO), TiAg, TiAg(TO), TiAg(AO) 각각의 시편별로 자외선 A 조사 후 20분(1단계), 40분(2단계), 60분(3단계), 80분(4단계), 100분(5단계)까지 20분 간격으로 100  $\mu$ L의 반응용액을 채취하여 앞의 실험방법 중 '6. 광촉매 코팅 방법'에 따른 항균효과 측정'과 동일하게 균액을 도말하여 광촉매 반응 시간에 따른 세균의 사멸 정도를 측정하였다. 항균효과는 시간에 대한 생존 곡선 그래프로 나타내었고 다음과 같이 표현하였다.

$$\text{살균 속도 상수} = (\text{이전 단계 생존율} - \text{현 단계 생존율}) / 20(\text{분})$$

#### 아. 세포 독성 실험

세포 독성을 측정하기 위해 시편을 agar와 접촉 면적이  $5 \times 5 \text{ mm}^2$ 가 되도록 가공하여 모든 면을 SiC 연마지로 #4000번까지 연마하고 멸균 증류수로 세척한 후 ethylene oxide gas로 멸균하였다. 양성 대조군은 Gutta percha(metabiomed, Korea)를 사용하였고 음성 대조군은 Glass를 사용하였다. 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco, U.S.A)이 첨가된 RPMI(Gibco, U.S.A) 배지에서 쥐의 섬유아세포인 L-929세포(fibroblast connective tissue of 100-day old male mouse)를 배양하여 부유액을 만들고 petri dish에 세포 부유액 10 mL를 첨가한 다음 24 시간 동안 배양하였다. RPMI 배지를 제거하고 45-50°C의 Eagle's agar medium과 RPMI배지를 1:1로 혼합하여 10mL를 각각의 petri dish에 첨가하여 30분간 실온에서 방치하였다. 배지가 고체화된 후 중앙에 neutral red vital stain 용액 6 mL를 천천히 첨가하여 염색약이 전면에서 퍼지게 한 다음, 1 시간 동안 방치하였다. 염색약을 제거한 즉시 시편을 한천에 밀착되도록 얹은 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 100% 습도를 유지하는 CO<sub>2</sub> 배양기(VS-9108MS, Vision Scientific Co., Korea) 내에서 24 시간 동안 세포를 배양하였다. Petri dish를 백지 위에 놓고 탈색 범위의 크기를 관찰하여 탈색지수(Zone index)를 구하고, inverted phase contrast microscope(CK2, Olympus, Japan)로 세포가 사멸된 비율을 계산하여 세포사멸지수(Lysis index)를 구하였다. 시편 4개의 Zone index 및 Lysis index를 평균하여 반응지수(Response index, ISO 7405:1997(E))를 구하였다.

#### 자. 통계

광촉매 코팅 방법에 따른 항균 효과 실험에서 시편별 유의성을 검증하기 위하여 Analysis of variance test를 하였고, 광촉매 반응 시간 경과에 따른 항균 효과 실험에서 각 단계에서 시편별로 유의한 차이가 있는지는 One way analysis of variance test를 하였다.

### III. 연구 결과

#### 1. 주사전자현미경 분석

TO과 AO에 의하여 처리된 합금 시편의 표면 형상(surface topography)을 주사전자현미경(SEM)으로 관찰한 결과를 Fig. 2에 제시하였다.

TO는 약 100, AO는 1-2  $\mu\text{m}$ 의 두께의 피막을 지니고 있었으며, TO에 의하여 처리된 Ti 및 TiAg 시편 표면은 AO 처리 시편 표면에 비하여 평활하고 산화층이 얇아 원 모재에 존재하였던 연마흔이 남아 있었다(Fig. 2(a), (c)).

AO에 의하여 처리된 Ti 및 TiAg 시편 표면을 Fig. 2(b) 및 (d)에 각각 나타내었다. AO에 의하여 처리된 시편은 Ti 및 TiAg 모두 표면에 내부 지름 2, 외부지름 5  $\mu\text{m}$  가량의 "crater"를 형성하였고 TO 시편에 비하여 표면거칠기가 높게 나타났다. 이것을 45° 기울여 촬영한 결과인 Fig. 2(b)는 이것을 잘 나타내고 있다.

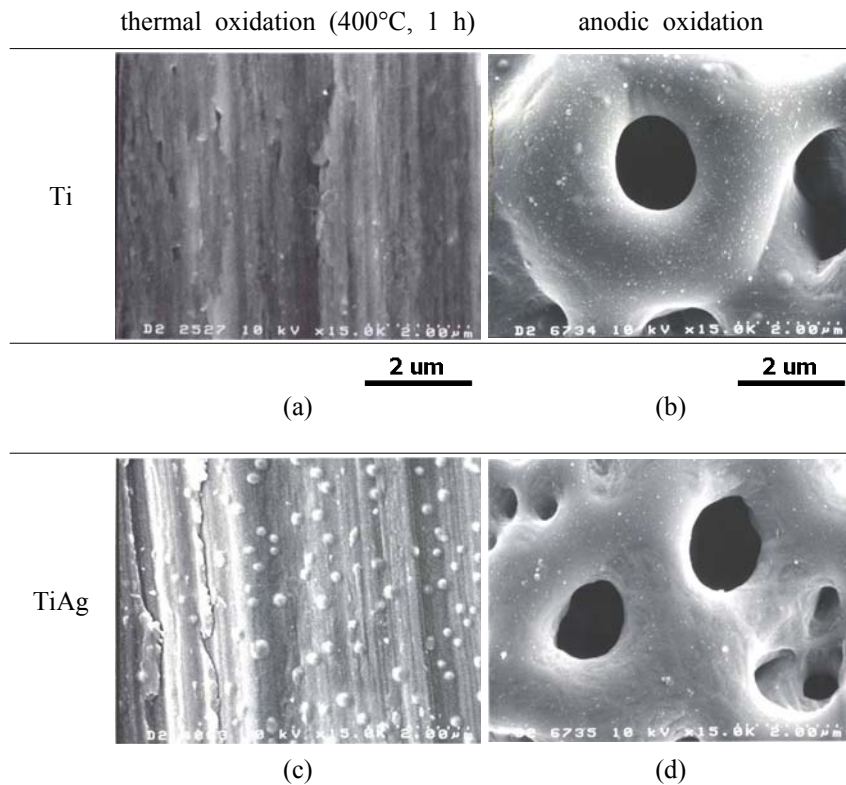
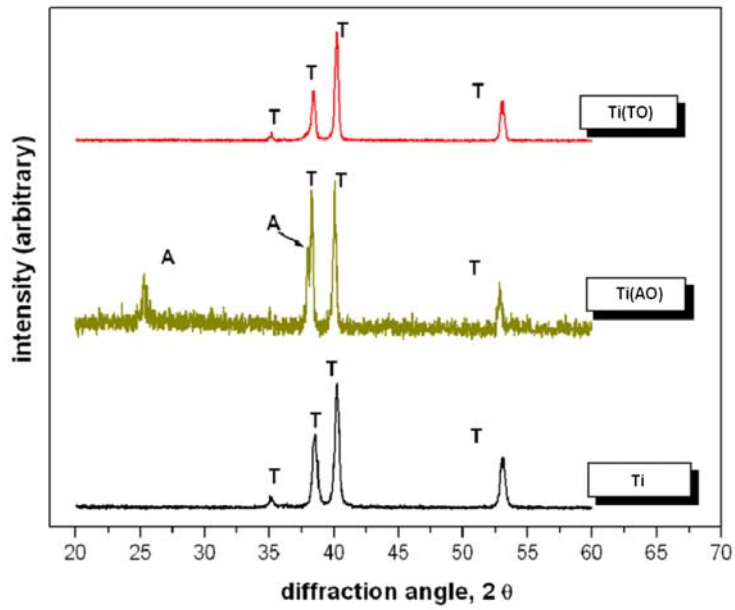


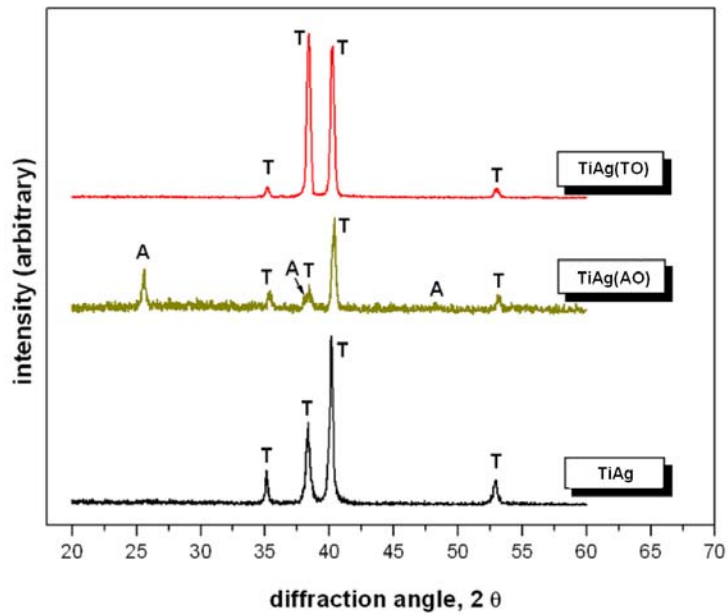
Fig. 2. SEM images of each specimens: the surface morphology of Ti thermally oxidized at 400°C for 1 hour, (a); Ti anodic oxidized at 250 V for 3 min., (b); TiAg thermally oxidized at 400°C for 1 hour, (c); TiAg anodic oxidized at 250 V for 3 min., (d).

## 2. X-선 회절 분석

Fig. 3은 Ti와 TiAg의 산화 처리 방법에 따른 시편 표면의 X선 회절 분석 결과를 산화 처리하지 않은 대조군 시편의 결과와 함께 나타내었다. Ti의 표면 분석 결과는 (a)에, TiAg의 결과는 (b)에 나타내었다. TO로 열처리한 경우 Ti, TiAg 모두 대조군에 비하여 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 AO에 의하여 처리된 경우 Ti, TiAg 모두 후처리 없이도 표면에 아나타제를 비교적 안정적으로 형성하였음을 알 수 있다.



(a)



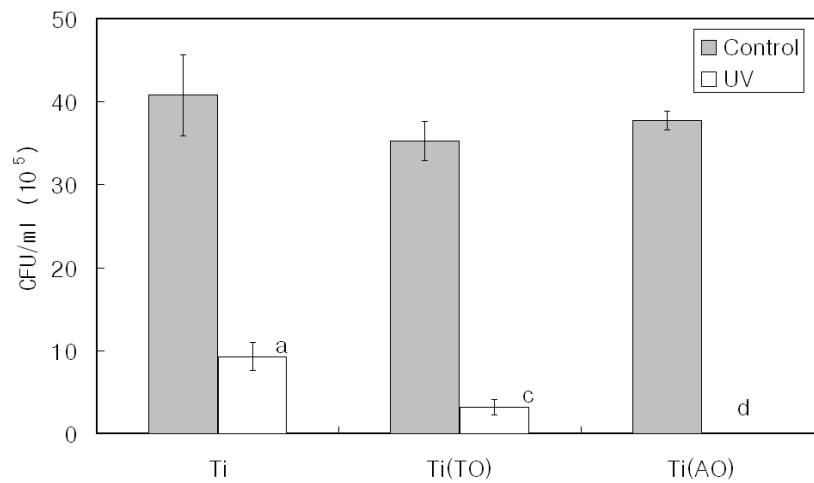
(b)

Fig. 3. X-ray diffraction patterns of the specimens: for Ti, (a) and for TiAg, (b). TO and AO means thermally oxidized at 400°C for 1 hour and anodic oxidation-treated at 250 V for 3 min., respectively. T: Ti(substrate); A: Anatase.

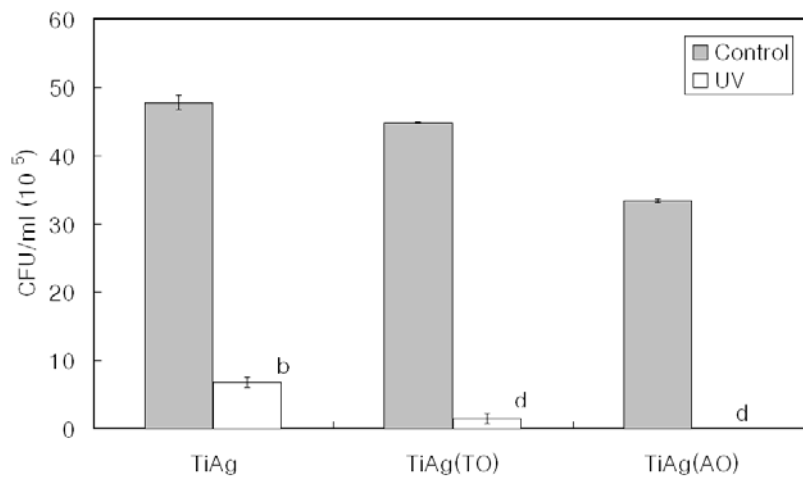
### 3. 광촉매 코팅 방법에 따른 항균효과

Ti, Ti(TO), Ti(AO), TiAg, TiAg(TO), TiAg(AO) 시편에  $4.8 \times 10^6$ 의 *S. mutans*를 떨어뜨리고 60분간 자외선 A를 조사하여 생존한 균수를 Fig. 4에 나타내었다. 대조군인 광조사 하지 않은 시편들은 Ti가 85%, Ti(TO)가 73.5%, Ti(AO)가 73.5%의 생존율을 보여 유의한 차이가 없었으나( $P > 0.05$ ) 실험군은 Ti가 19.4%, Ti(TO)가 6.7%, Ti(AO)가 0%의 생존율을 보여  $Ti > Ti(TO) > Ti(AO)$ 순으로 유의차를 나타내었다( $P < 0.05$ )(a). TiAg 합금에서는 대조군은 TiAg가 99.6%, TiAg(TO)가 93.3%, TiAg(AO)가 69.6% 생존율을 나타내어 유의한 차이가 없었고( $P > 0.05$ ), 실험군은 TiAg가 14.2%, TiAg(TO)가 3.1%, TiAg(AO)가 0% 생존율을 보여  $TiAg > TiAg(TO) > TiAg(AO)$  순으로 유의한 차이를 보였다( $P < 0.05$ )(b).

각 시편에  $4.4 \times 10^7$ 의 *L. acidophilus*를 떨어뜨리고 60분간 자외선 A를 조사하여 생존한 균수를 Fig. 5에 나타내었다. 대조군은 Ti가 68%, Ti(TO)가 80.7%, Ti(AO)가 85.9%의 생존율을 보여 유의한 차이가 없었고( $P > 0.05$ ), 실험군은 대조군에 비해서 낮은 생존율을 보였으나 Ti가 30.2%, Ti(TO)가 35.2%, Ti(AO)가 27.0%의 생존율을 보여 시편별로 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ )(a). TiAg 합금에서는 대조군에서 TiAg가 88.4%, TiAg(TO)가 83.0%, TiAg(AO)가 99.8% 생존율을 나타내어 유의한 차이가 없었고( $P > 0.05$ ), 실험군은 대조군에 비해 낮은 생존율을 나타냈으나 TiAg가 30.7%, TiAg(TO)가 38.8%, TiAg(AO)가 29.8% 생존율을 보여 시편간의 유의성을 보이지 않았다( $P > 0.05$ )(b).



(a)



(b)

Fig. 4. Effects of UVA illumination(60 min.) and  $\text{TiO}_2$  film formed by different oxidation methods on the viability of *S. mutans* cells( $4.8 \times 10^6$  CFU/ml) in each specimen: for Ti, (a) and for TiAg, (b) (TO and AO means thermally oxidized at  $400^\circ\text{C}$  for 1 hour and anodic oxidatized at 250 V for 3 min., respectively) Controls were covered with black cloth. Means with the same letters are not significantly different. ( $\alpha = 0.05$ ).

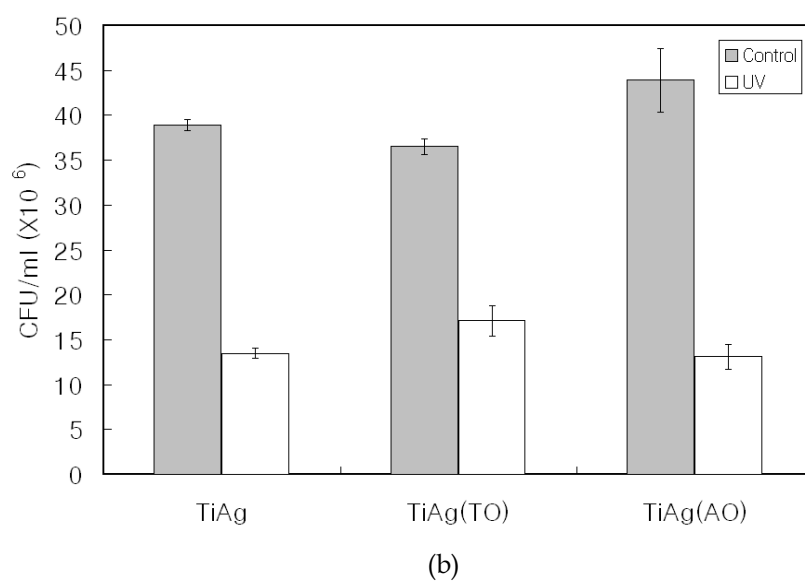
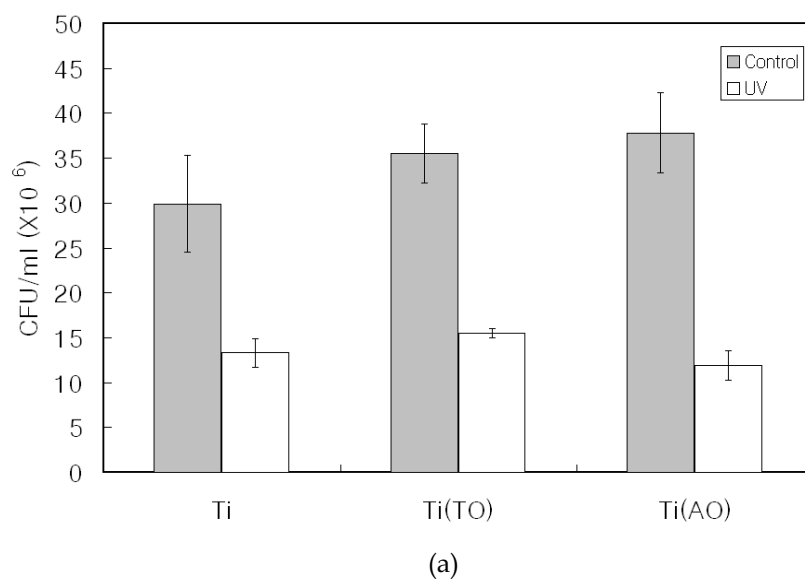


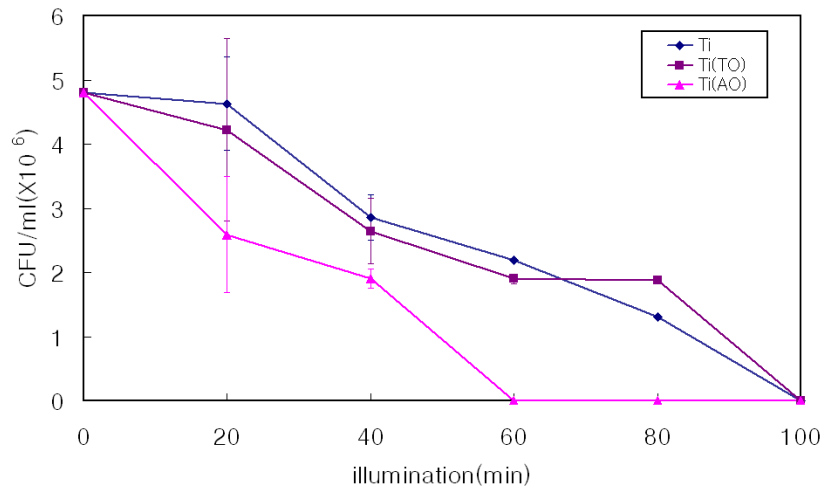
Fig. 5. Effects of UVA illumination(60 min.) and TiO<sub>2</sub> film formed by different oxidation methods on the viability of *L. acidophilus* cells( $4.4 \times 10^7$  CFU/ml) in each specimen: for Ti, (a) and for TiAg, (b) (TO and AO means thermally oxidized at 400°C for 1 hour and anodic oxidized at 250 V for 3 min., respectively) Controls were covered with black cloth.



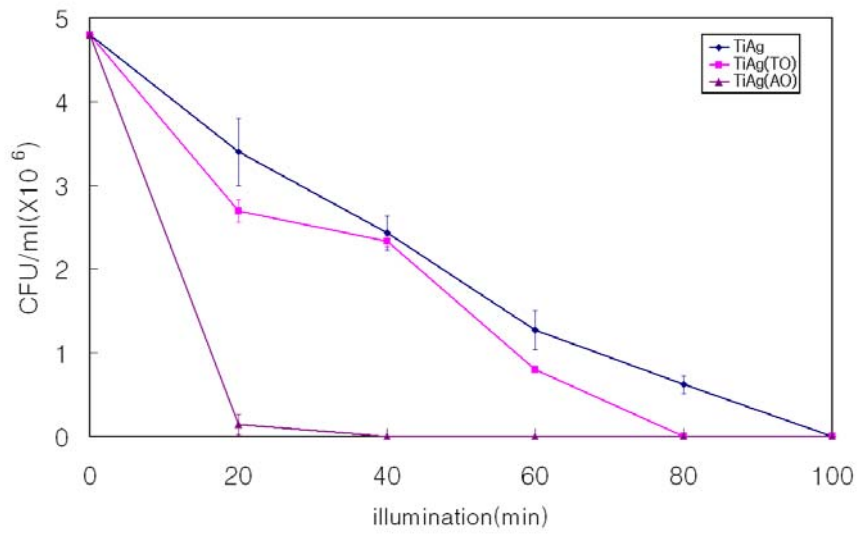
#### 4. 광촉매 반응 시간 경과에 따른 항균효과

Ti, Ti(TO), Ti(AO), TiAg, TiAg(TO), TiAg(AO) 시편에  $4.8 \times 10^6$ 의 *S. mutans*를 떨어뜨리고 자외선 A 조사 20분, 40분, 60분, 80분, 100분 후 균액을 채취하여 생존한 균수를 Fig. 6에 나타내었다. Ti의 경우 모든 시편에서 광조사 시간이 경과함에 따라 생존율이 감소하였는데 Ti와 Ti(TO)가 100분이 되어서 100% 멸균된 것에 비해 Ti(AO)가 급격한 경사로 생존율이 감소하여 광조사 60분에 모든 균이 사멸하였다(a). 세균 생존 곡선은 1차 함수의 형태를 따르고 있었으며 Ti와 Ti(TO)는 1단계까지는 낮은 살균 속도 상수를 보였으나 2단계에서부터 각각 1.8과 1.6의 살균 속도 상수를 나타내며 급속하게 감소하기 시작하였다. 이에 비해 Ti(AO)는 1단계부터 2.3이라는 높은 살균 속도 상수를 보이며 급격하게 생존율이 감소하였다. TiAg의 경우 역시 모든 시편에서 광조사 시간에 따라 생존율이 감소하였으며 Ti와는 달리 모든 시편에서 1단계부터 급격하게 생존율이 감소하였으며 특히 TiAg(AO)가 1단계 살균 속도 상수가 4.8로 가장 높아 거의 대부분의 균이 20분에 사멸되었으며 TiAg(TO)는 80분에, TiAg는 100분에 100% 사멸하였다(b).

Ti는 각 단계마다  $Ti > Ti(TO) > Ti(AO)$ 의 순으로 유의성 있게 작은 수치를 나타내었고 TiAg 합금 역시 단계별로  $TiAg > TiAg(TO) > TiAg(AO)$ 의 순으로 작게 나타났다(Table 1).



(a)



(b)

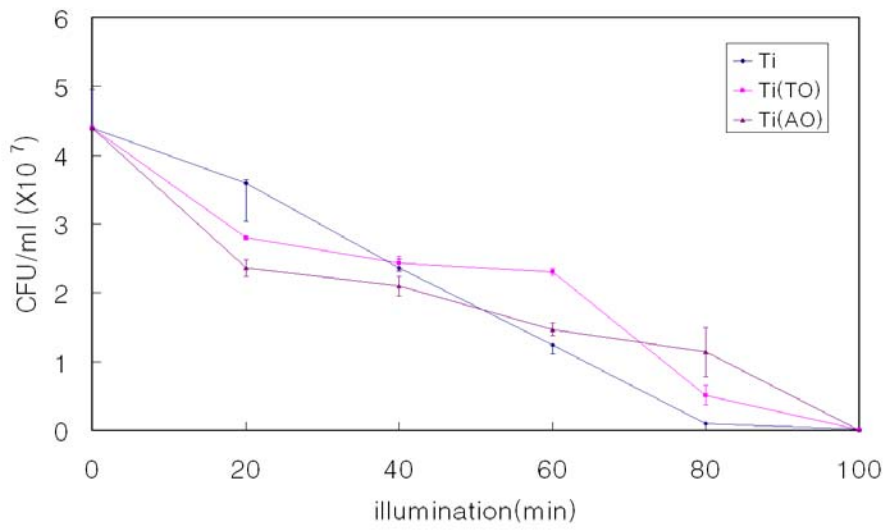
Fig. 6. Kinetics of inactivation in *S. mutans* induced by photocatalysis using  $\text{TiO}_2$  film formed by different oxidation methods in each specimen: for Ti, (a) and for TiAg, (b) (TO and AO means thermally oxidized at  $400^\circ\text{C}$  for 1 hour and anodic oxidized at 250 V for 3 min., respectively).

Table 1. Duncan's grouping of CFU of *S. mutans* as a function of irradiation time after photocatalytic reaction using TiO<sub>2</sub> film formed by different oxidation methods in each specimen

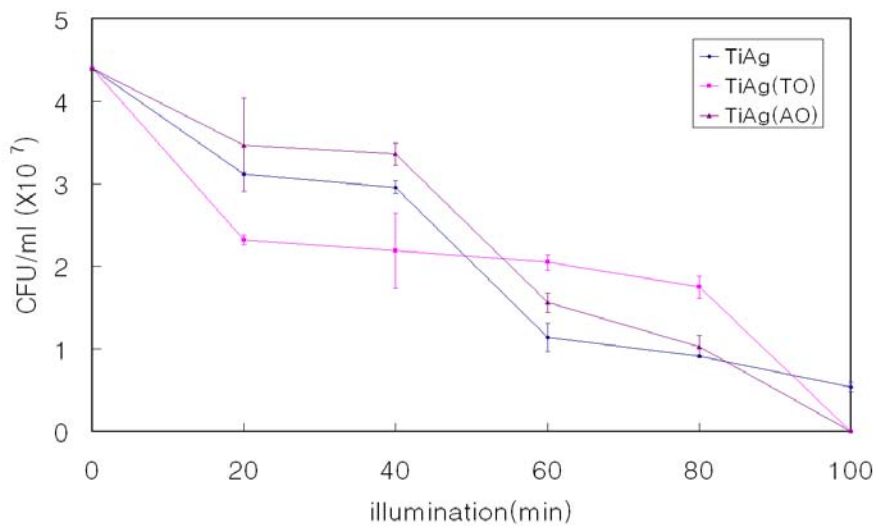
	20 minutes		40 minutes		60 minutes		80 minutes		100 minutes	
	Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group
Ti	4.63×10 <sup>6</sup>	a*	2.86×10 <sup>6</sup>	ab+	2.19×10 <sup>6</sup>	c#	1.3×10 <sup>6</sup>	b^	0	a†
Ti (TO)	4.22×10 <sup>6</sup>	a*	2.64×10 <sup>6</sup>	ab+	1.9×10 <sup>6</sup>	b#	1.88×10 <sup>6</sup>	a^	0	a†
Ti (AO)	2.59×10 <sup>6</sup>	b*	1.91×10 <sup>6</sup>	c+	0	d#	0	c^	0	a†
TiAg	3.4×10 <sup>6</sup>	ab*	2.43×10 <sup>6</sup>	a+	1.27×10 <sup>6</sup>	a#	6.2×10 <sup>5</sup>	b^	0	a†
TiAg (TO)	2.69×10 <sup>6</sup>	b*	2.33×10 <sup>6</sup>	bc+	8×10 <sup>5</sup>	c#	0	c^	0	a†
TiAg (AO)	1.4×10 <sup>5</sup>	c*	0	d+	0	d#	0	c^	0	a†

The initial cell concentration was 4.8×10<sup>6</sup>CFU/mL. Means with the same letters are not significantly different. ( $\alpha = 0.05$ )

각 시편에 4.4×10<sup>7</sup>의 *L. acidophilus*를 떨어뜨리고 광 조사 20분, 40분, 60분, 80분, 100분 후 균액을 채취하여 생존한 균수를 Fig. 7에 나타내었다. Ti와 TiAg 모든 시편에서 광조사 시간이 경과함에 따라 생존율이 *S. mutans*에 비해 서서히 감소하였다. 시편간의 살균 속도는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며(Table 2), Ti와 TiAg는 100분에 거의 대부분 살균되었고, Ti(TO), Ti(AO), TiAg(TO), TiAg(AO)는 100분에 100% 사멸하였다.



(a)



(b)

Fig. 7. Kinetics of inactivation in *L. acidophilus* induced by photocatalysis using  $\text{TiO}_2$  film formed by different oxidation methods in each specimen: for Ti, (a) and for TiAg, (b) (TO and AO means thermally oxidized at  $400^\circ\text{C}$  for 1 hour and anodic oxidized at 250 V for 3 min., respectively).

Table 2. Duncan's grouping of CFU of *L. acidophilus* as a function of irradiation time after photocatalytic reaction using TiO<sub>2</sub> film formed by different oxidation methods in each specimen

	20 minutes		40 minutes		60 minutes		80 minutes		100 minutes	
	Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group
Ti	3.6×10 <sup>7</sup>	a*	2.36×10 <sup>7</sup>	b+	1.24×10 <sup>7</sup>	cd#	1×10 <sup>6</sup>	d^	2×10 <sup>5</sup>	b†
Ti (TO)	2.8×10 <sup>7</sup>	ab*	2.43×10 <sup>7</sup>	b+	2.31×10 <sup>7</sup>	a#	5.1×10 <sup>5</sup>	cd^	1×10 <sup>4</sup>	b†
Ti (AO)	2.36×10 <sup>7</sup>	b*	2.1×10 <sup>7</sup>	b+	1.47×10 <sup>7</sup>	bc#	1.14×10 <sup>7</sup>	b^	0	b†
TiAg	3.12×10 <sup>7</sup>	ab*	2.96×10 <sup>7</sup>	a+	1.14×10 <sup>7</sup>	d#	9.1×10 <sup>6</sup>	bc^	5.4×10 <sup>6</sup>	a†
TiAg (TO)	2.32×10 <sup>7</sup>	b*	2.19×10 <sup>7</sup>	b+	2.05×10 <sup>7</sup>	a#	1.75×10 <sup>7</sup>	a^	0	b†
TiAg (AO)	3.47×10 <sup>7</sup>	a*	3.36×10 <sup>7</sup>	a+	1.56×10 <sup>7</sup>	b#	1.03×10 <sup>7</sup>	b^	0	b†

The initial cell concentration was 4.4×10<sup>7</sup>CFU/mL. Means with the same letters are not significantly different. (α=0.05)

## 5. 섬유아세포의 세포독성

TiO<sub>2</sub>가 섬유아세포 독성에 미치는 영향을 측정하기 위하여 섬유아세포인 L-929에 대한 세포 독성을 agar overlay 실험을 통하여 평가한 결과 모든 시편에서 탈색지수, 세포사멸지수, 반응지수 모두 0으로 본 연구에서 사용된 Ti와 TiAg 합금의 TiO<sub>2</sub> 산화막은 섬유아세포에 대하여 독성이 없는 것으로 나타났다(Table 3).

Table 3. Cytotoxicity of Ti and TiAg

Sample	Zone Index	Lysis Index	Response Index	Cytotoxicity
Ti	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none
Ti(TO)	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none
Ti(AO)	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none
TiAg	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none
TiAg(TO)	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none
TiAg(AO)	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none
Positive (Gutta Percha)	3	3	3/3	toxic
	3	3	3/3	toxic
Negative (glass)	0	0	0/0, 0/0	none
	0	0	0/0, 0/0	none

TO and AO means thermally oxidized at 400°C for 1 hour and anodic oxidation-treated at 250 V for 3 min. respectively.

#### IV. 총괄 및 고찰

교정치료기간 중 발생하는 법랑질탈회 및 치아우식증은 교정치료의 큰 장애가 되고 있다. 교정장치 장착으로 인한 구강 내 환경변화는 우식증 유발세균으로 알려진 *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* 등과 여러 세균들에게 좋은 서식처를 제공하게 된다(Sakamaki와 Bahn, 1968).

특히 법랑질 탈회는 고정식 교정장치로 치료 시 나타나는 여러 부작용 중 가장 흔하게 관찰되는 손상 중 하나로 구강 내 미생물군이 증가함에 따라 미생물 대사산물로 탄수화물이 치태 내에 동시에 증가하여 치태의 점착성이 증가되고 치면에 대한 타액의 자정능이 저하되며, 아울러 산에 대한 완충력도 저하되므로 산에 의한 치면의 탈회가 일어나게 된다(Balenseifen 등, 1970). 이는 법랑질 표면의 탈회, 변색, 치아우식증 같은 일시적이거나 영구적인 변화를 나타내어 심미적, 법적으로 심각한 문제를 야기하기도 한다(Bjorn 등, 1988).

Gorelick 등(1982)은 교정치료를 받은 환자 중 50%에서 흰색 반점이 증가하였다고 하였고, Diedrich(1981)는 산의 부식시간, 산의 농도, 산이 도포되는 부위, 법랑질의 손상정도, 불소 도포 유무, 타액, 구강 내에서 오염 정도에 의하여 탈회가 좌우된다고 하였으며, Bloom 등(1964)은 고정식 교정장치 장착 시 구강 위생상태가 저하되어 밴드나 브라켓 주변에 치태가 침착되고, 치태 내 세균에 의해 산이 형성되어 법랑질 표면의 탈회가 나타난다고 하였다. 이러한 탈회는 증가된 치태의 양보다는 치태의 침착과 더불어 치아우식을 유발할 수 있는 미생물의 출현으로 나타난다. 그러한 미생물군총의 변화는 세포 내외의 다당류의 증가를 야기하며 산형성 박테리아의 높은 분포를 가져온다(Balenseifen과 Madonia, 1970). 치간 부위와 브라켓 주위는 치아우식 병소의 초기 유발에 중요한 미생물인 *S. mutans*의 숫자가 불가피하게 증가되어 치아우식에 이환될 위험도 높아진다(Gorelick, 1982). Houte 등(1981)은 *Lactobacilli*와 *S. mutans*의 타액 내 농도가 높아지면 높은 우식 이환율을 나타내는 지표로 볼 수 있다고 하였다.

이러한 부작용의 예방을 위한 대표적인 방법으로는 치면 세마(Lutz 등, 1993), 식

이조절법(Johnson 등, 1980), 치면세균막 관리법(Clark, 1976), 세균의 성장을 억제하는 화합물 이용법(Bludevold 등, 1963), 불소 화합물 이용법(Svanberg와 Rolla, 1982), 치면열구전색법(Sandham 등, 1991), 치면 coating법(Schaeken과 Hoeven, 1989), 불소를 방출하는 여러 가지 교정장치와 재료(Wilson과 Gregory, 1995; Wiltshire 등, 1995), 전동칫솔(Burch, 1994) 등의 방법이 개발되어 소개되고 있다.

치면 세마는 자주 시행하기가 힘들고 치면 열구 전색법은 열구 부위에만 적용 가능하며, 가정에서의 관리법은 전적으로 교정 환자의 협조를 필요로 한다. 불소는 과다하게 사용하면 불소증이나 불소독성의 원인이 될 수 있으며 법랑질 바깥층의 탈회층에서 표층이 폐쇄되어 불소의 투과를 막고 재광화를 막게 된다(Silverstone 등, 1981). 클로르헥시딘은 구강 내 생태학적 불균형, 치아 변색, 치석 형성 증가 등의 단점이 있어 단기간 사용으로 국한되어야 한다(Lang, 1978). 또한 불소나 클로르헥시딘 등의 약제는 초기에 많은 양이 유리되며 시간에 따른 약제 효과의 지속성이 떨어져 주기적인 도포가 필요하다(Petersson 등 1991).

최근 항균을 위해 광촉매가 많이 사용되고 있는데 광촉매란 '자신은 반응 직후에 변화하지 않지만, 빛을 흡수함으로써 반응을 촉진하는 것'으로서  $TiO_2$ 가 대표적이다. 광촉매를 이용해 오염된 공기와 물을 정화하는 연구가 활발히 시행되어 왔다(Fujishima와 Honda, 1972; Huang 등, 2000).  $TiO_2$ 은 3.0 eV 이상의 밴드갭(가전자대와 전도대 사이의 에너지차, band gap)을 가진 반도체이다. 385 nm 이하의 파장을 가진 광 에너지를 받으면  $TiO_2$  표면에 전자와 정공이 생성된다(Fig. 8). 가전자대(valence band)의 정공은 표면에 흡수된  $H_2O$ 나 hydroxide ion과 반응하여 하이드록시라디칼( $OH\cdot$ )을 생성하고, 전도대(conduction band)의 전자는  $O_2$ 를 환원하여 슈퍼옥사이드아니온( $O_2^-$ )을 생성한다. 하이드록시라디칼은 산화력이 매우 강하여 근접한 유기물 및 세균을 산화시켜 이산화탄소와 물로 분해시킨다. 유기물이 직접 정공과 반응하여 산화 분해되는 경우도 있다. 슈퍼옥사이드아니온은 산화반응의 중간체(화학반응의 중간에 생기는 불안정한 분자종)에 붙어서 과산화물을 생성하거나, 과산화수소( $H_2O_2$ )를 경유하여 물이 된다. 그 외에도 공기 중에서는 원자상산소( $\cdot O$ )가 생성되어 유기물의 탄소와 탄소 결합에 직접 작용한다는 설도 있다(Blake 등, 1999).



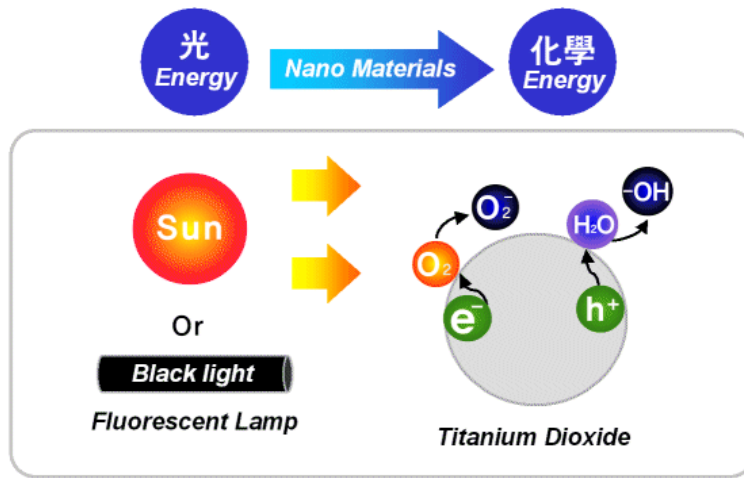


Fig. 8. Principle of photocatalysis.

Ti는 치과용 임플란트, 교정용 브라켓, 교정용 선재, 교정용 스크류 등에 사용되고 있으며 기존의 Ti과 Ti 합금이 갖는 낮은 가공성 및 구조성, 낮은 경도 및 강도, 독성 이온 용출 등의 단점을 보완하기 위하여 Ag를 첨가한 Ti-Ag 합금이 최근 개발되어 우수한 기계적 특성과 생체 적합성이 확인되었다(오 등, 2002; 박, 2001; 우, 2003).

이에 본 연구에서는 광촉매 반응에 주로 쓰이는  $\text{TiO}_2$  산화막 상인 아나타제와 루틸의 살균력을 전자의 경우 양극산화법, 후자의 경우 열산화법에 의해 표면처리하여 비교하였고,  $\text{TiO}_2$  산화막에 Ag가 첨가될 경우 항균 효과가 향상되는지 알아보기 위하여 고내식, 고강도 특성을 갖는 TiAg 합금에 AO, TO 방법으로 각각  $\text{TiO}_2$  산화막을 형성시켜 광촉매 반응에 의한 살균력을 Ti의 산화막과 비교하였다.

주사전자현미경 사진 분석으로 Ti와 TiAg 모두 TO방법으로 제작된 시편은 polishing된 상태의 얇은 코팅층이 형성된 것을 관찰하였고, AO방법으로 제작된 시편은 1-2  $\mu\text{m}$  정도의 micropore가 형성된 crater 형상을 하고 있었다. Ti와 TiAg는 비슷한 크기의 pore를 가지고 있었고, crater 형상도 비슷하게 나타나 합금의 조성에 따른 표면 형상은 큰 차이가 없는 것으로 판단된다.

X선 회절 분석에서는 TO코팅 방법으로 루틸 층이 아주 얇게 코팅되어 X선

회절분석 상에 peak로서 존재하지 않았지만 육안으로 관찰하여 금색의 TiO<sub>2</sub> 층을 형성한 것으로 보아 루틸형일 가능성이 높다. 반면에 AO코팅에서는 anatase peak가 명확히 관찰되어 AO코팅층은 아나타제 결정을 갖는 것으로 판단되었다. Lavcevic과 Turkovic(2002)은 Ti에 thermal oxidation 할 경우 루틸형이 형성됨을 보고하였고, Zhu 등(2002)은 Ti에 anodic oxidation 처리하여 다공성의 불균일한 코팅층인 아나타제가 형성됨을 보고하였다.

광촉매 반응의 타겟에 대한 광촉매 효과를 관찰한 결과 *S. mutans*에 비해 *L. acidophilus*는 더 오랜 시간 후에 살균되었다. *S. mutans*는 구균이며 0.5-2.0 μm의 크기이며 *L. acidophilus*는 간균이며 0.6-0.9×1.5-6.0 μm의 크기이므로 *L. acidophilus*의 살균에 더 오랜 시간이 필요한 것으로 추측할 수 있다.

세균에 대한 광촉매 분해 작용의 첫 번째 단계는 세포벽(cell wall)을 하이드록시라디칼이 공격하는 것으로 시작되는 부분적 분해이다(Sunada 등, 2003). 초기의 부분적 분해 반응으로 세포의 효력을 빠르게 잃게 되는 것은 아니지만 반응 라디칼의 투과성이 증가하게 된다. 투과성 변화로 인해 라디칼들은 세포막(cytoplasmic membrane)에 도달하여 세포막을 파괴하고 막지질을 과산화시킨다. Jacoby 등 (1998)은 TiO<sub>2</sub>와 자외선을 이용하여 *E. coli*의 광촉매 반응 동안 생성되는 malondialdehyde를 관찰하여 지질 과산화로 인한 세포막의 구조적, 기능적 장애로 세포는 생존 능력을 잃게 된다고 하였다. 많은 연구가 TiO<sub>2</sub> 광촉매의 살균 효과는 세포막의 파괴에 근거한다고 보고하고 있다(Saito 등, 1992; Sunada 등, 2003). 모든 미생물의 세포막은 다양한 정도로 불포화된 다양한 지질로 구성되어 있어 세포 호흡 등 중요한 기능을 수행한다. 이러한 살균 기전은 다른 세균 종류에도 적용될 수 있을 것으로 추측된다.

광촉매 반응의 타겟에 따른 살균력을 비교한 연구로 Köhn 등(2003)은 *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans*에 대한 TiO<sub>2</sub> 코팅면의 광촉매 살균 효과를 평가하였는데 *E. coli* > *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. faecium* > *C. albicans*의 순으로 살균 효과가 높은 것을 보고하였고 이는 세포벽의 두께에 기인한다고 하였다. Huang 등(2000)은 TiO<sub>2</sub> 광촉매 반응의 감수성은 virus>bacterial cell>bacterial spore 순이며 이는 미생물의 종류

에 따라 구조적으로, 특히 세포벽의 두께와 복잡성이 다르기 때문이라고 하였다. Oppezzo와 Pizarro(2001)는 그람 음성 간균인 *Enterobacter cloacae*에 대한 자외선 A의 성장 억제 효과가 *E. coli*나 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 적어 세균 중에 따라 oxidative damage에 저항성이 다르다고 주장하였는데, 본 연구에서 *L. acidophilus*는 *S. mutans*와 달리 광촉매 코팅된 시편이 대조군과 살균 효과에 차이가 없었으며 살균시간이 더 소요되었는데 이는 세균의 형태와 크기 차이 및 세균의 저항성 차이 때문이라고 판단되며 현재 *Lactobacillui*에 대한 깊이 있는 실험실적인 연구가 되어있지 않아 이들의 특성에 대한 연구가 필요하다.

광촉매 반응물의 형태는 분말과 코팅막이 있다.  $\text{TiO}_2$  분말의 부유액을 이용한 것으로서, Watts 등(1995)은  $5 \times 10^7$  CFU/ml 대장균(coliforms)을 아나타제형  $\text{TiO}_2$  분말로 40 W black light(BL)과 태양을 이용한 광촉매 반응을 시도하여 150분에 99% 사멸됨을 보고하였다. Maness 등(1999)은  $\text{TiO}_2$  분말과 2개의 40 W BL을 이용하여  $9.1 \times 10^2 - 5 \times 10^8$  CFU/mL의 *E. coli*에 대한 30분간 살균 효과를 연구하여  $9.1 \times 10^2$  군에서는 2.2%,  $5 \times 10^8$  군에서는 30.8%의 생존율을 보고하였다.  $\text{TiO}_2$  분말을 이용해 구강 내 세균을 살균하고자 하는 연구도 있었다. Nagame 등(1989)은 루틸형의  $\text{TiO}_2$  분말을 이용하여  $10^4$  CFU/mL의 *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus rattus*, *Actinomyces viscosus*에 578nm의 형광등을 조사하여 *S. crecetus*는 60분 후에 50%, *S. rattus*는 60분 후에 100%, *A. viscosus*는 15분 후에 100% 살균되었음을 보고하였다. Saito 등(1992)은  $10^5$  CFU/mL의 *S. mutans* 종의 하나인 *Streptococcus sobrinus*를  $\text{TiO}_2$  분말로 20 W BL을 이용하여 90분에 100% 사멸됨을 보고하였다.

교정장치에  $\text{TiO}_2$  광촉매를 적용하기 위해서는 지속적이고 균일한 항균 반응을 위해  $\text{TiO}_2$ 가 합금의 표면에 코팅된 고형막 형태로 만들어주는 것이 바람직하다.

$\text{TiO}_2$  코팅막에 대해서는 Kikuchi 등(1997)이  $10^5$  CFU/mL의 *E. coli*를  $\text{TiO}_2$  코팅된 유리판 상에서 15 W BL로 조사하여 60분 후에 100% 사멸됨을 보고한 바 있다. Köhn 등(2003)은  $2 \times 15$  W의 자외선 A로 *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecium*, *C. albicans*에 대한  $\text{TiO}_2$  코팅 유리면의 광촉매 살균 효과를 평가한 결과 60-90분에 100% 살균이 가능하다고 하였다. Sunada 등(2003)은 *E. coli*를  $\text{TiO}_2$  코

팅된 금속면 상에서  $2 \times 10^5$  -  $2 \times 10^8$  CFU/mL 까지 다양한 농도의 균액으로 15 W BL를 조사한 결과  $2 \times 10^5$  균액에서는 90분에 100% 살균되었고 더 높은 농도의 균액은 더 오랜 시간이 소모되었다.

본 연구에서 초기 균수는 구강 내 조건과 비슷한  $4.8 \times 10^6$  -  $4.4 \times 10^7$  CFU/mL로 하였다. *S. mutans*의 경우 Ti, Ti(TO), TiAg, TiAg(TO)는 이전의 다른 세균에 대한 멸균 시간(Sunada 등, 2003; Köhn 등, 2003)과 비슷하게 80-100분 사이에 100%의 살균 효과를 보였고, 특히 Ti(AO)는 60분에 100% 살균되었고 TiAg(AO)는 20분에 97%가 살균되는 탁월한 광촉매 살균 반응을 나타내었다.

TiO<sub>2</sub> 코팅 방법에 따른 항균 효과 실험 결과에서 *S. mutans*에 대해서 아나타제 결정을 갖는 AO 방법의 코팅이 Ti와 TiAg 모두에서 더 높은 광촉매 활성을 나타내었다. 60분 동안의 광촉매 항균 실험에서 Ti(AO)와 TiAg(AO)는 100% 살균되어 우수한 광촉매 효과를 가진 것으로 나타났고, Ti, Ti(TO), TiAg, TiAg(TO)는 이에 비해 살균력이 낮은 것으로 판단된다. TiO<sub>2</sub>의 결정구조는 루틸은 TiO<sub>2</sub> 원자가 2개 포함되어 있고, 아나타제는 직선상의 TiO<sub>2</sub>를 4개 가지고 있는 구조이다 (Fig. 9). 아나타제가 루틸에 비해 강한 환원력을 가지고 있는데 이는 결정구조의 차이에 기인한 것은 아니고 TiO<sub>2</sub>가 광에너지를 흡수하여 전자가 생성되는 전도대의 위치가 아나타제형이 루틸형보다 더 마이너스의 위치에 있기 때문이다(Mills와 Le Hunte, 1997). 따라서 루틸형 결정을 갖는 AO 코팅 방법의 경우 근자외선인 자외선 A만으로 만족할 만한 항균 효과를 나타내므로 광촉매 코팅 방법으로는 AO가 적합하다고 할 수 있다.

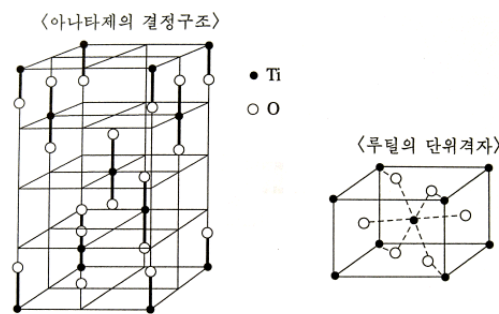


Fig. 9. Crystal structures of TiO<sub>2</sub>.

태양 빛을 구성하는 빛의 주된 부분은 가시광이므로, 광 램프 없이도 광촉매 반응의 효율을 올리기 위해서는 전자-정공의 재결합 방지 효과를 이용하는 것이 바람직하다고 생각된다. 본 연구에서는 Ag의 전자-정공의 재결합 방지 효과를 검증하고자 하였는데 시간 경과에 따른 *S. mutans*에의 광촉매 효과 실험에서 *S. mutans*에 대해 Ti의 경우는 Sunada 등(2003)의 결과와 비슷하게 1단계에서는 낮은 비율로 감소하다가 2단계에서 급격하게 감소되는 양상을 보였으나 TiAg 합금의 경우 1단계에서부터 급속하게 균수가 감소하여 세포벽을 파괴하는 과정을 짧게 하는 데 Ag가 기여했으리라 추측할 수 있었다. Huang 등(2000), Sunada 등(2003)은 *E. coli*에 대한 광촉매 살균 실험에서 *E. coli*의 생존곡선이 처음 단계에서는 낮은 비율로 감소하다가 높은 비율로 감소하는 2단계를 거친다고 하였으며, 이에 대해 Sunada 등(2003)은 광촉매 반응 시 세포벽의 구성 성분인 lipopolysaccharide와 peptidoglycan의 농도를 측정하여 첫 번째 단계는 *E. coli*의 외벽을 파괴하는 과정이며 두 번째 단계는 세포막(cytoplasmic membrane)을 파괴하는 과정으로 두 단계를 거친다고 하였다. 본 연구에서 Ti에 비해 TiAg의 항균 효과가 높은 것은 Ag의 전자-정공의 재결합 방지 효과에 의한 것으로 생각할 수 있으며 TiO<sub>2</sub>에 Ag를 코팅하는 방법이 아닌 TiAg 합금 자체에 표면처리를 하여 TiO<sub>2</sub>을 만들었기 때문에 더 영구적인 Ag의 효과를 기대할 수 있으리라 생각된다.

생체 재료의 세포 독성에 대한 연구는 재료의 생물학적 적합성 평가에 있어 중요한 과정 중 하나이다. 일반적으로 TiO<sub>2</sub>는 non-pathogenic, inert mineral로 알려져 있다(Donaldson 등, 1988). 동물실험으로 Bernard 등(1989)은 쥐에게 TiO<sub>2</sub>를 경구 투여하여 독성 증상이나 암 유발이 나타나지 않음을 보고하였고, Bischoff와 Bryson(1982)은 쥐에게 TiO<sub>2</sub>를 정맥 투여하여 독성이 없음을 관찰하였다. 그러나 Driscoll 등(1990)과 Schapira 등(1995)은 쥐에게 TiO<sub>2</sub>를 흡입하도록 하여 폐렴을 유발할 수 있음을 보고하였고, Lee 등(1985)은 쥐에게 TiO<sub>2</sub>를 만성적으로 노출시켜 bronchioalveolar adenomas나 keratinizing squamous cell carcinomas가 형성됨을 보고하였다. 본 연구에서는 쥐의 섬유세포인 L-929 세포를 이용하여 agar overlay 실험을 수행하여 세포독성을 평가한 결과 섬유아세포에의 독성은 없는 것으로 관찰되었다.

TiO<sub>2</sub> 광촉매는 강력한 산화 분해력 외에도 초친수성과 세균 잔해 및 독소까지 분해한다는 장점이 있다.(Fujishima 등, 2000; Sunada 등, 1998).

그러나 현재로서는 광촉매가 기능을 발휘하기 위해 자외선을 흡수하는 것이 필요하다. TiO<sub>2</sub>이 흡수 가능한 것은 빛의 파장이 약 385 nm 이하인 자외선이다. 지표면에서 측정되는 햇빛의 파장은 280-3000 nm의 파장, 즉 자외선 B(280-320 nm), 자외선 A(320-400 nm), 가시광선(400-760 nm) 및 적외선(760-3000 nm)으로 구성되어 있으며 자외선 C를 포함한 280 nm이하의 파장은 성층권의 오존층에서 대부분 흡수 및 산란되어 지표면에는 거의 도달하지 못한다(김, 1993). 따라서 강도 1mW/Cm<sup>2</sup>인 옥외의 자외선이나 자외선 A 램프를 사용해야 한다.

현재 살균용으로 주로 사용되는 자외선 C(<280 nm)는 생물의 DNA에 흡수되어 피리미딘의 2량체(dimer)가 형성되는 등 DNA에 해를 끼친다(Pathak과 Fitzpatrick, 1993). TiO<sub>2</sub> 광촉매의 경우 254 nm와 같은 에너지가 크고 인체에 유해한 자외선이 필요하지 않고 태양 빛, 형광등에도 포함되어 있는 비교적 장파장의 근자외선 빛에서 반응한다는 점에서 우수한 성질을 갖고 있다고 할 수 있다(Watts 등, 1995). 피부 테닝용으로도 사용되는 자외선 A는 1974년 Dr. Parrish가 건선환자를 치료한 이래 백반증, 균상식육증, 아토피피부염, 소양성 결절, 유건선, 편평태선 등 피부에 생기는 질환뿐만 아니라 내부장기에 생기는 암도 치료하는데 사용되고 있다(박, 1993).

자외선 중 자외선 B가 자외선 A보다 인체에 더욱 강한 영향을 미치지만 자외선 A도 지속적으로 노출 시 일광화상 반응, 광독성 반응, 광알레르기 반응 등 유해한 영향을 초래할 수 있으므로 자외선 A를 조사할 때 교정장치에만 집중적으로 조사하고 다른 부위는 보호할 수 있어야 한다. 조사한 자외선 A에 의해 금속에 기계적, 화학적 안정성에 미치는 영향과 인체에 미치는 독성에 관해서는 추가적인 연구가 필요하다.

광촉매 반응의 효율을 올리기 위해서는 광 램프 없이 태양 빛을 구성하는 주된 부분인 가시광을 이용하는 것이 바람직하다. 광촉매의 가시광화를 위해서는 TiO<sub>2</sub>에 산화텅스텐과 같은 물질을 첨가하여 밴드갭을 낮추거나 전자-정공의 재결합 방지 효과를 이용해야 한다. 가시광화가 실현되면 교정장치의 자가살균 능력으

로 환자의 별다른 협조 없이 실내에서도 물 양치로 구강 내 세균과 오염물질을 줄이는 것이 가능할 것이다.

그 밖의  $TiO_2$  광촉매의 사용 가능 분야로서 브라켓, 와이어, 밴드 등의 고정성 교정장치로서의 사용 외에 열구전색제나 치아 코팅제에  $TiO_2$  분말을 첨가하여 자외선 A나 태양에 의한 항균 효과를 기대할 수도 있으며, 칫솔모에  $TiO_2$  코팅을 하여 광활성되는 칫솔을 개발할 수도 있다. 교정용 미니 임플란트도 Titanium이 주재료로 사용되는데  $TiO_2$  광촉매의 항균 능력, 탈취 작용, 초친수성으로 인한 셀프클리닝 효과를 적용하면 자외선소독기에서 손쉽게 소독이 가능하며 생체적합성도 우수한 미니 임플란트의 개발이 가능하여 실로  $TiO_2$ 의 응용 범위는 광범위할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

TiO<sub>2</sub> 산화막으로 코팅된 금속면의 치아우식 유발세균인 *S. mutans*와 *L. acidophilus*에 대한 항균효과를 평가하기 위하여 Ti와 TiAg 합금에 anodic oxidation(AO)과 thermal oxidation(TO) 방법으로 각각 TiO<sub>2</sub> 산화막을 형성시켜 산화막의 표면 형상과 결정 분석을 하고, 세균액에 15W 자외선 A를 100분까지 조사하여 광촉매 반응 후 항균 효과를 측정하고 세포독성에 관한 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 주사전자현미경으로 산화층 표면의 미세 양상을 관찰한 결과 TO에 의하여 처리된 Ti 및 TiAg 시편 표면은 AO 처리 시편 표면에 비하여 평활하고 산화층이 얇아 원 모재에 존재하였던 연마흔이 남아 있었다. AO에 의하여 처리된 Ti 및 TiAg 시편 표면은 내부 지름 2 μm, 외부지름 5 μm 가량의 "crater"를 형성하였고 TO 시편에 비하여 표면 거칠기가 높게 나타났다.
2. Ti와 TiAg의 광촉매 코팅 방법에 따른 시편 표면의 X선 회절 분석 결과 400°C에서 1시간 동안 열처리한 TO의 경우 Ti, TiAg 모두 코팅하지 않은 대조군에 비하여 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며, AO에 의하여 처리된 경우 Ti, TiAg 모두 후처리 없이도 표면에 아나타제를 비교적 안정적으로 형성하였다.
3. 광촉매 코팅 방법에 따른 항균 효과 실험 결과 *S. mutans*의 경우 광조사 60분 후 Ti가 19.4%, Ti(TO)가 6.7%, Ti(AO)가 0%, TiAg가 14.2%, TiAg(TO)가 3.1%, TiAg(AO)가 0%의 생존율을 보여 코팅된 시편이 코팅되지 않은 시편에 비해 광촉매 항균 효과가 좋게 나타났으며 특히 AO에 의한 항균 효과가 TO보다 우수한 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ).
4. 광촉매 반응 시간 경과에 따른 항균 효과 실험 결과 *S. mutans*의 경우 모든 시편에서 광조사 시간이 경과함에 따라 균 생존율이 감소하였는데 AO와 TO 모두 Ti보다는 TiAg 합금에 처리한 경우 항균 효과가 우수한 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). Ti(AO)가 60분에 100% 사멸된 것에 비해 TiAg(AO)는 20분



에 거의 대부분의 균이 사멸되었다.

5. *L. acidophilus*의 경우 Ti와 TiAg 합금 모두 코팅되지 않은 시편과 TO, AO 방법으로 코팅한 시편간의 균생존율이 유의한 차이를 보이지 않아( $P>0.05$ ) 광촉매에 의한 시편간의 항균 효과의 차이가 없는 것으로 나타났다.
6. 세포독성 실험 결과, Ti와 TiAg합금은 TO와 AO 방법으로 산화 처리 했을 때 독성이 없는 것으로 나타났다.

결론적으로  $\text{TiO}_2$  광촉매 코팅을 위한 산화막 처리는 아나타제형이 형성되는 AO 방법이 루틸형이 형성되는 TO 방법보다 항균 효과면에서 우수한 것으로 나타났다. 또한 TiAg 합금에 형성된  $\text{TiO}_2$  산화막이 순수 Ti의 산화막에 비해 탁월한 광촉매 살균 효과를 지닌 것으로 나타났다.  $\text{TiO}_2$  광촉매는 고정식 교정장치에 적용되어 세균 수를 줄여 범람질 탈회 및 치아우식증을 예방하는데 기여할 수 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

- 김상태: 광보호. *대한의학협회지* 36: 765-773, 1993.
- 김호중: 열산화 처리에 따른 Ti-Ag 합금의 표면 특성 변화. 박사학위 논문, 연세대학교 대학원 치의학과, 서울, 2003.
- 박기호: 은(Ag) 첨가에 따른 교정용 Titanium 합금의 특성. 박사학위 논문, 연세대학교 대학원 치의학과, 서울, 2001.
- 박윤기: 광치료. *대한의학협회지* 36: 788-792, 1993.
- 오근택: 치과용 Ti-Ag 합금의 특성. *대한치과기재학회지* 29: 221-228, 2002.
- 우재영: 교정용 골내 고정원장치 제작을 위한 Ti-Ag 합금의 특성. 박사학위 논문, 연세대학교 대학원 치의학과, 서울, 2003.
- Balenseifen JW, Madonia JV: Study of dental plaque in orthodontic patients. *J Dent Res* 49: 320-324, 1970.
- Baxter DH: The effect of orthodontic treatment on alveolar bone adjacent to the cemento-enamel junction. *Angle Orthod* 37: 35-47, 1967.
- Bellantone M, Willians HD, Hench LL: Broad-spectrum bacterial activity of Ag(2)O-doped bioactive glass. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 1940-1945, 2002.
- Bernard BK, Osheroff MR, Hofman A, Mennear JH: Toxicology and carcinogenesis studies of dietary titanium dioxide-coated mica in male and female Fischer 344 rats. *J Toxicol Environ Health* 28: 415-426, 1989.
- Bischoff F, Bryson G: Tissue reaction to and fate of parenterally administered titanium dioxide. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 38: 279-290, 1982.
- Blake DM, Maness P, Huang Z, Wolfrum EJ, Huang J: Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and the killing of cancer cells. *Sep Purif Meth* 28(1): 1-50, 1999.
- Bloom RH, Brown LR: A study of the effects of orthodontic appliances on

- the oral microbial flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 17: 658-668, 1964.
- Bludevold F, Savory A, Gardner DE, Spinelli M: A study of acidulated fluoride solution-I: in vitro effects on enamel. *Archs Oral Biol* 8: 167-177, 1963.
- Burch JG: A two-month study of the effects of oral irrigation and automatic toothbrush use in an adult orthodontic population with fixed appliances. *Am J Orthod. Dentof Orthop* 106: 121-126, 1994.
- Butterfield IM, Christensen PA, Curtis TP, Gunlazuardi JG: Water disinfection using an immobilised titanium dioxide film in a photochemical reactor with electric field enhancement. *Wat Res* 31: 675-677, 1997.
- Cai R, Kuboto Y, Shuin T, Sakai H, Hashimoto K, Fujishima A: Induction of cytotoxicity by photoexcited TiO<sub>2</sub> particles. *Cancer Res* 52: 2346-2348.
- Clark JR: Oral hygiene in the orthodontic practice. Motivation, responsibilities, and concepts. *Am J Orthod* 69: 72-82, 1976.
- Davies TM, Shaw WC, Worthington HV: The effect of orthodontic treatment on plaque and gingivitis. *Am J Orthod Dentof Orthop* 99: 155-161, 1991.
- Degling TE: Orthodontics, bacteremia, and the heart damaged patient. *Angle Orthod* 42: 399-402, 1972.
- Diedrich P: Enamel alteration from bracket bonding and debonding: A study with the scanning electron microscope. *Am J Orthod* 79: 500-521, 1981.
- Donaldson K, Bolton RE, Jones A, Brown GM, Robertson MD, Slight J, Cowie H, Davis JMG: Kinetics of the bronchoalveolar leucocyte response in rats during exposure to equal airborne mass concentrations of quartz, chrysotile asbestos, or titanium dioxide. *Thorax* 43: 525-533, 1988.
- Driscoll KE, Lindenschmidt RC, Maurer JK, Higgins JM, Ridder G: Pulmonary response to silica or titanium dioxide: inflammatory cells, alveolar macrophage-derived cytokines, and histopathology. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2: 381-390, 1990.

- Fujishima A, Honda K: Electrochemical photocatalysis of water at a semiconductor electrode. *Nature* 238: 37-38, 1972.
- Fujishima A, Rao TN, Tryk DA: Titanium dioxide photocatalysis. *J Photochem Photobiol C: Photochem* 1: 1-21, 2000.
- Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ: Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod* 81: 93-98, 1982.
- Houte JV, Aasenden R, Peebles TC: Lactobacilli in human dental plaque and saliva. *J Dent Res* 60: 2-5, 1981.
- Huang NP, Xu MH, Yuan CW, Yu RR: The study of the photokilling effect and mechanism of ultrafine TiO<sub>2</sub> particles on U937 cells. *J Photochem Photobiol A: Chem* 108: 229-233, 1997.
- Huang Z, Maness PC, Blake CM, Wolfrum EJ, Smolinski S, Jacoby WA: Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *J Photochem Photobiol A: Chem* 130: 163-170, 2000.
- Ibanez JA, Litter MI, Pizarro RA: Photocatalytic bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> on *Enterobacter cloacae* comparative study with other gram (-) bacteria. *J Photochem Photobiol A: Chem* 157: 81-85, 2003.
- Ireland JC, Klostermann P, Rice EW, Clark RM: Inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. *Appl Environ Microbiol* :59(5): 1668-1670, 1993.
- Jacoby WA, Maness PC, Wolfrum EJ, Blake DM: Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air. *Environ Sci Technol* 32: 2650-2653, 1998.
- Kapur R, Sinha PK, Nanda RS: Comparison of frictional resistance in titanium and stainless steel brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 116: 271-274, 1999.
- Koa CT, Ding SJ, Chen YC, Huang TH: The anticorrosion ability of titanium nitride (TiN) plating on an orthodontic metal bracket and its

- biocompatibility. *J Biomed Mater Res* 63: 786-792, 2002.
- Kikuchi Y, Sunada K, Iyoda T, Hashimoto K, Fujishima A: Photocatalytic bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> thin films: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect. *J Photochem Photobiol A: Chem* 106: 51-56, 1997.
- Kubota Y, Shuin T, Kawasaki C, Hosaka M, Kitamura H, Cai R, Sakai H, Hashimoto K, Fujishima A: Photokilling of T-24 human bladder cancer cells with titanium dioxide. *Br J Cancer* 70: 1107-1111, 1994.
- Köhn KP, Cahberny IF, Massholder K, Stickler M, Benz VW, Sonntag H, Erdinger L: Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere* 53: 71-77, 2003.
- Kusy RP, Whitley JQ, Ambrose WW, Newman JG: Evaluation of titanium brackets for orthodontic treatment: part I. The passive configuration. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 114: 558-572, 1998.
- Lang NP: Chemische Plaquekontrolle. In: Peters S(ed): Prophylaxe. Ein Leitfadens für die zahnärztliche Praxis. Berlin, *Quintessenz*, 245-267, 1978.
- Laurie JB: The effect of a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse on orthodontic patients aged 11 through 17 with established gingivitis. *Am J Orthod Dentop Orthop* 100: 324-329, 1991.
- Lavcevic ML, Turkovic A: Small-angle X-ray scattering and wide-angle X-ray diffraction on thermally annealed nanostructured TiO<sub>2</sub> films. *Thin solid films* 419: 105-113, 2002.
- Lee KP, Trochimowicz HJ, Reinhardt CF: Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) by inhalation for two years. *Toxicol Appl Pharmacol* 79: 179-192, 1985.
- Lopez JEO, Jacoby W: Microfibrous mesh coated with titanium dioxide: a self-sterilizing, self-cleaning filter. *J Air Waste Manage Assoc* 52:1206-1213, 2002.

- Lutz F, Sener B, Imfeld T, Barbakow F: Self-adjusting abrasiveness: A new technology for prophylaxis pastes. *Quintessence Int* 24: 53-63, 1993.
- Maness P, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ, Jacoby WA: Bacterial Activity of Photocatalytic TiO<sub>2</sub> Reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Appl Environ Microbiol*: 65(9): 4094-4098, 1999.
- Matsuanga T, Okochi M: TiO<sub>2</sub>-mediated photochemical disinfection of Escherichia coli using optical fibers. *Environ Sci Technol* 29: 501-505, 1995.
- Matsunaga T, Tomoda R, Nakajima T, Nakamura N, Komine T: Continuous-sterilization system that uses photoconductor powders. *Appl Environ Microbiol* 54: 1330-1333, 1988.
- Matsunaga T, Tomoda R, Nakajima T, Wake H: Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiol Lett* 29: 211-214, 1985.
- Mills A, Le Hunte S: An overview of semiconductor photocatalysis. *J Photochem Photobiol A* 108: 1-35, 1998.
- Morioka T, Saito T, Nara Y, Onoda: Antibacterial action of powdered semiconductor on a serotype g Streptococcus mutans. *Caries Res* 22: 230-231, 1988.
- Nagame S, Oku T, Kambara M, Konishi K: Antibacterial effects of the powdered semiconductor TiO<sub>2</sub> on the viability of oral micro-organisms. *J Den Res* 68: 1696-1697, 1989.
- Ohko Y, Utsumi Y, Niwa C, Tatsuma T, Kobayakawa K, Satoh Y, Kubota Y, Fufishima A: Self-sterilizing and self-cleansing of silicone catheters coated with TiO<sub>2</sub> photocatalyst thin films: A preclinical work. *J Biomed Mater Res* 58: 97-101, 2001.
- Oppezzo OJ, Pizarro RA: Sublethal effects of ultraviolet A radiation on Enterobacter cloacae. *J Photochem Photobiol: B* 62: 158-165, 2001.

- Pathak MA, Fitzpatrick TB: Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun-protective agents. In *Dermatology in general medicine*. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, eds., 4th ed., 1993, pp. 1689-1717, McGraw-Hill, New York.
- Petersson LG, Maki Y, Twetman S, Edwardsson S: Mutans streptococci in saliva and interdental spaces after topical applications of an antimicrobial varnish in school-children. *Oral Microbiol Immunol* 6: 284-287, 1991.
- Saito T, Iwase T, Horie J, Morioka T: Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO<sub>2</sub> on mutans streptococci. *J Photochem Photobiol: B* 14:369-379, 1992.
- Sakamaki ST, Bahn AN: Effects of orthodontic banding on localized oral lactobacilli. *J Dent Res* 47: 275-279, 1968.
- Samuneva B, Kozhukharov V, Trapalis C, Kranold R: Sol-gel processing of titanium-containing thin coatings. *J Mater Sci* 28: 2353-2360, 1993
- Sandham HF, Brown J: Clinical trial in adults of an antimicrobial varnish for reducing Mutans Streptococci. *J Dent Res* 70: 1401-1408, 1991.
- Sandham HF, Nadeau L, Phillips HI: The effect of chlorhexidine varnish treatment on salivary mutans streptococcal levels in child orthodontic patients. *J Dent Res* 71: 32-35, 1992.
- Schaeken MJM, Hoeven JS: Effects of varnishes containing chlorhexidine on the human dental plaque flora *J Dent Res* 68: 1786-1789, 1989.
- Schapiro RM, Ghio AJ, Effros RM, Morrissey J, Almagro UA, Dawson CA, Hacker AD: Hydroxyl radical production and lung injury in the rat following silica or titanium dioxide instillation in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol* 12: 220-226, 1995.
- Silverstone LM, Wefel JS: Zimmerman BF, Clarkson BH, Featherstone MJ: Remineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel. *Caries Res* 15: 138-157, 1981.

- Sjogren JC, Sierka R: Inactivation of phage MS2 by iron-aided titanium dioxide photocatalysis. *Appl Environ Microbiol* 60: 344-347, 1994.
- Slots J, Rams TE: Antibiotics in periodontal therapy: Advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol* 17: 479-493, 1990.
- Sopyan I, Watanabe M, Murasawa S, Hashimoto K, Fujishima A: An efficient TiO<sub>2</sub> thin-film photocatalyst: photocatalytic properties in gas-phase acetaldehyde degradation: *J Photochem Photobiol A: Chem* 98: 79-86, 1996.
- Sunada K, Kikuchi Y, Hashimoto K, Fujishima A: Bactericidal and detoxification effects of TiO<sub>2</sub> film photocatalysts. *Environ Sci Technol* 32: 726-728, 1998.
- Sunada K, Watanabe T, Hashimoto K: Studies on photokilling of bacteria on TiO<sub>2</sub> thin film. *J Photochem Photobiol A: Chem* 156: 227-233, 2003.
- Svanberg M, Rolla G: Streptococcus mutans in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF<sub>2</sub>. *Scand J Dent Res* 90:292-298, 1982.
- Wamer WG, Yin JJ, Wie RR: Oxidative damage to nucleic acids photosensitized by titanium dioxide. *Free Radic Biol Med* 23: 851-858, 1997.
- Watts RJ, Kong S, Orr MP, Miller GC, Henry BE: Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent. *Water Res* 29: 95-100, 1995.
- Wei C, Lin WY, Zainal Z, Williams NE, Zhu K, Kruzic AP, Smith RL, Rajeshwar K: Bactericidal activity of TiO<sub>2</sub> photocatalyst in aqueous media: toward a solar-assisted water disinfection system. *Environ Sci Technol* 28: 934-938, 1994.
- Wilson TG, Gregory RL: Clinical effectiveness of fluoride releasing elastomers. I: salivary Streptococcus mutans numbers. *Am J Orthod Dentof Orthop* 107: 293-297, 1995.
- Wiltshire WA, Sophia D, Rensburg JV: Fluoride release from four visible light-cured orthodontic adhesive resins. *Am J Orthod Dentof Orthop* 108:



278-283, 1995.

Wolfrum EJ, Huang J, Blake DM, Maness P, Huang Z, Fiest J: Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces. *Environ Sci Technol* 36: 3412-3419, 2002.

Yashinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K: Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. *Biomaterials* 22: 2043-2048, 2001.

Zachrisson BU: Cause and prevention of injuries to teeth and supporting structures during orthodontic treatment. *Am J Orthod* 69: 285-300, 1976.

Zhang P, Scudato RJ, Germano G: Solarcatalytic inactivation of *Escherichia coli* in aqueous solutions using  $TiO_2$  as catalyst. *Chemosphere* 28: 607-611, 1994.

Zhu X, Kim KH, Ong JL, Jeong YS: Surface analysis of anodic oxide films containing phosphorus on titanium. *Int J Oral Max Implant* 17: 331-336, 2002.

Zinelis S, Annousaki O, Eliades T, Makou M: Metallographic structure and hardness of titanium orthodontic brackets. *J Orofac Orthop* 64: 426-433, 2003.

## ABSTRACT

### Photocatalytic antibacterial effect of TiO<sub>2</sub> film of TiAg on cariogenic bacterias

**Jung-Yoon Choi**

*Department of Dentistry*

*The Graduate School, Yonsei University*

*(Directed by Prof. Kyung-Ho Kim, D.D.S., Ph.D.)*

Intraoral fixed orthodontic appliance can cause reversible or irreversible damages such as enamel decalcification and dental caries. Such adverse effects are brought by increase microorganism in dental plaque as well as oral flora. Preventive methods of such adverse effects include pit and fissure sealant, use of chemical agents that inhibit bacterial growth, use of orthodontic appliances that release fluoride, and automatic tooth brushing kit, but there has never been an attempt to treat orthodontic metal bracket for prevention of dental caries. Lately TiO<sub>2</sub> photocatalyst has been receiving increasing attention since the first report of water disinfection. When TiO<sub>2</sub> is irradiated with near-UV light, this semiconductor exhibits strong bactericidal activity. In this paper we present the possibility that the TiO<sub>2</sub> photocatalyst is used for orthodontic appliance by testing the antibacterial effect on cariogenic microorganisms, *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. To compare the antibacterial effect of two crystalline forms of TiO<sub>2</sub>, rutile and anatase, we applied thermal oxidation and anodic oxidation respectively. We also compared the antibacterial effect of TiO<sub>2</sub> film on TiAg with that on Ti. Bacterial solutions were pipetted onto the coated specimen and illuminated with UVA(2×15 W, black light, 356 nm) for 100 minutes and the reaction solutions were incubated and the

colony forming unit were counted. The antibacterial effect of TiO<sub>2</sub> film formed by anodic oxidation method was better than that of TiO<sub>2</sub> film formed by thermal oxidation method. With the illuminated time the antibacterial effect of TiO<sub>2</sub> film formed on TiAg specimen was better than that of TiO<sub>2</sub> film formed on Ti specimen. In terms of cytotoxicity, TiO<sub>2</sub> films formed on Ti and TiAg specimen exhibited none cytotoxicity on L-929 cell of mouse. This results suggest that the bacteria-reducing effect would ideally be usable in the prevention of enamel decalcification and dental caries by reducing the microorganisms attached the fixed orthodontic appliances like brackets, wires and bands.

---

**Key words:**

**TiO<sub>2</sub> photocatalysis, antibacterial effect, thermal oxidation, anodic oxidation, TiAg, cytotoxicity**