

Chitosan-g-Poly(vinyl alcohol) 공중합체막의 분해에 관한 연구

권동진* · 강두환† · 정낙진**

단국대학교 고분자공학과, *진우(주) 재료분석실, **재능전문대 공업화학과
(1998년 4월 23일 접수)

A Study on the Degradation of Chitosan-g-Poly(vinyl alcohol) Copolymer Membranes

Dong Keon Kweon*, Doo Whan Kang†, and Nak Jin Chung**

Department of Polymer Science and Engineering, College of Engineering, Dankook University

*Material Analysis Dept. of Jin Woo Hi-Tech. Co.

**Department of Industrial Chemistry, Jaeneung College

†e-mail : polysyn@unitel.co.kr

(Received April 23, 1998)

요약: 생체적합성과 생분해성이 뛰어난 키토산에 수용성 고분자인 폴리비닐알콜(PVA)을 그래프트시켜 chitosan-g-PVA 공중합체를 합성한 후 여러 조건 변화에 따른 분해도와 기계적 강도 및 임계표면에너지 변화를 살펴보았다. 분해효소로 lysozyme을 사용하여 chitosan-g-PVA 공중합체막의 분해도를 살펴본 결과, pH 6.7, 7.4, 8.2에서는 초기 1주일내에 급격하게 분해가 일어나 인장강도가 크게 감소하며, pH 6.7과 7.4에서 분해도가 가장 우수함을 알 수 있었다. Chitosan-g-PVA 공중합체막의 임계표면에너지 변화를 측정한 결과, 키토산막의 경우 임계표면에너지는 32 dyne/cm인 반면에 chitosan-g-PVA 공중합체막의 경우 26~29 dyne/cm으로서 키토산에 비해 임계표면에너지가 낮아지게 됨을 알 수 있었다.

ABSTRACT: Chitosan-g-PVA copolymer was prepared by grafting poly(vinyl alcohol) (PVA), a water soluble polymer, onto chitosan which has an excellent biocompatibility and biodegradation. Its biodegradation, tensile strength and critical surface tension were studied according to various conditions. The biodegradable characteristics of chitosan-g-PVA copolymer were studied using the lysozyme as a degrading enzyme under pH 1.2, 6.7, 7.4, and 8.2. Chitosan-g-PVA copolymer rapidly degraded at pH 6.7, 7.4 and 8.2 within the first week, and the tensile strength decreased. Especially, the most biodegradable pH range for chitosan-g-PVA copolymer was 6.7~7.4. While critical surface tension of chitosan was about 32 dyne/cm, that of chitosan-g-PVA copolymer was a little decreased about 26~29 dyne/cm.

Keywords: chitosan-g-poly(vinyl alcohol) copolymer, biodegradation, tensile strength, contact angle, critical surface tension.

서론

비독성이며 인체와 식물의 섬유조직에 대해 매우 뛰어난 생체 적합성을 가지고 있는 천연 고분자물질인 키틴이나 키토산은 생분해성도 우수하여 근래에 들어 지구 환경오염 문제와 생태학적인 면에서 주목

받고 있다.¹⁻³

키틴이나 키토산은 동물과 식물 등에 존재하고 특히, 인체의 침, 눈물 및 콧물 등의 외분비액에 존재하며 여러 다당류를 가수분해시키는 역할을 하는 효소단백질의 일종인 lysozyme에 의해 올리고 키틴이나 키토산으로 분해된 후 체내의 대사작용에 의해 글

리코겐이나 글리코 프로타인으로 흡수되거나 이산화탄소로 배출되게 된다.

한편, 인체내 장기의 손상이나 기능저하에 의한 장기의 대용으로서 사용하기 위하여 의료용재료를 선택하는데 있어서 생체적합성과 더불어 중요시 되는 것이 바로 혈액적합성, 즉 항혈전성이다. 의료용재료가 혈액과 접촉시 혈액응고를 일으키는 문제를 해결하고자 장기간에 걸쳐 연구가 수행되어 왔으나 인체가 아주 복잡다단하고 혈액응고에 영향을 미치는 인자가 많아 아직까지 명확하게 밝혀진 바는 없다. 그러나 일반적으로 의료용재료의 표면자유에너지가 크면 혈액과 재료표면과의 상호작용이 커서 혈액 중의 단백질이 재료표면에 흡착되어 이것이 혈소판의 점착을 유발함으로써 혈액이 응고되는 것으로 알려져 있다. 키토산이나 실리콘 등의 생체적합성이 뛰어난 고분자 물질을 항혈전성 재료로 활용하기 위하여 Ratner 등은 poly(hydroxyethyl methacrylate)와 poly(ethylene glycol) 및 poly(methylmethacrylate) 등과 같은 친수성이 우수하거나 표면에너지가 낮은 물질을 도입시켜 표면에너지를 낮추어 단백질의 흡착을 억제 하므로써 혈액의 응고를 방지하여 항혈전성 재료로 활용하고자 하는 연구를 수행하고 그 결과를 발표한 바 있다.⁴ 그러나 이들 hydrogel들은 생체적합성 재료로 사용하기에는 충분한 강도를 지니고 있지 못하여 이들을 가교시키거나 polyurethane이나 silicone rubber를 보강재로 가하여 생체적합성 재료로 활용하고자 하는 연구가 시도되고 있다.⁵

따라서 본 연구에서는 결정성의 조절과 기계적 강도가 우수한 chitosan-g-PVA 공중합체를 전보의 방법에⁶ 의해 합성한 후 이를 10% 아세트산에 의해 solvent 캐스팅하여 막으로 제조한 다음 이들 공중합체막을 *in vitro*하에서 인체내 장기에서와 유사한 각종 pH 범위에서의 생분해도와 분해에 따른 기계적 강도변화를 조사하고 이들을 생체적합성 재료로의 활용 가능성을 알아보고자 여러 조건 변화에 따른 임계 표면에너지 변화를 측정하였다.

실험

시 약. 키토산과 lysozyme은 일본 Tokyo Kasei Co. 제품을 그대로 사용하였다. PVA는 일본

Shinyo Pure Chem. Co. 제품을 90 °C에서 중류수에 녹인 후 아세톤에 가하고 침전시킨 다음 건조하여 사용하였다. 이의 가수 분해율은 89.0%, 분해전과 후의 수평균 분자량은 각각 44000과 2200, polydispersity index는 2.1이었다. 수용성 개시제인 ceric ammonium nitrate (CAN)은 일본 Shimakyu's Pure Chem. Co. 특급시약을 그대로 사용하였으며 가교제인 글루타알데히드는 Junsei Chem. Co. 제품으로 실험 바로 직전에 1.0 vol% 수용액으로 희석하여 사용하였고, 기타 다른 시약은 일급시약을, 용매는 증류하여 사용하였다.

그래프트 공중합. 교반기, 환류냉각기, 온도계, 질소 유입구가 장치된 500 mL 4구 플라스크에 질소를 유입시켜 주면서 키토산 1g과 5 wt% 아세트산 100 mL를 가하고 40 °C에서 1시간정도 충분히 팽윤시킨 후 전보의 방법에⁶ 의해 1,2-diol함량이 1.9%로 확인된 PVA를 100 mL의 물에 녹인 용액과 일정량의 1N 질산 용액에 개시제 CAN을 녹인 용액을 가하여 40 °C에서 4시간동안 교반 반응시켰다. 반응 완료 후 미반응 PVA를 제거하기 위하여 과량의 물에 반응물을 적가하여 상분리시키고 NaOH 수용액으로 중화시켜 하루동안 방치하여 생성된 침전물을 여과하였다. 침전된 반응생성물을 물로 여러번 세척한 후 50 °C, 진공 하에서 건조하여 chitosan-g-PVA 공중합체를 얻었다. 공중합체의 그래프트율은 다음의 식에 의해서 구하였다.

$$\text{그래프트율} = \frac{\text{그래프트 공중합체의 무게} - \text{키토산의 무게}}{\text{키토산의 무게}} \times 100$$

공중합체막의 제조. 10% 아세트산에 24시간동안 chitosan-g-PVA 공중합체를 녹인 후 여과하여 불용물을 제거한 다음 캐스팅하여 상온에서 2~3일동안 건조하여 Table 1에 나타난 것과 같은 공중합체막을 제조하였다. 제조한 막을 질소기류 하 60 °C로 유지된 오븐 속에서 3시간동안 열처리하거나 1% 글루타알데히드 수용액에 침지시켜 열처리 chitosan-g-PVA 공중합체막과 전보의⁷ 방법을 참조로 하여 10 wt% 아세트산에 대한 swelling ratio 측정을 통해 간접적으로 구한 결과 가교도가 5.29인 가교 chitosan-g-PVA 공중합체막을 얻을 수 있었다.

Table 1. Preparation of Chitosan and Chitosan-g-PVA Copolymer Membranes

sample	grafting %	membrane thickness (mm)
chitosan		0.130
chitosan-g-PVA	18.3	0.135
copolymer	48.7	0.130
	54.0	0.135
	64.2	0.137
heat treated copolymer	64.2	0.135
crosslinked copolymer	64.2	0.130

분해도 측정. Table 1의 chitosan-g-PVA 공중합체막의 여러 조건 변화에 따른 생분해도 변화를 알아보기 위하여 pH 1.2 (위), pH 6.7 (담)과 pH 7.4 (유사체액과 장) 및 pH 8.2 (소화장액)에서 lysozyme 용액 (1 mg/mL)이 50 mL 함유된 각 각의 시험관에 각 고분자막 0.5 g을 넣어 배양기에서 37 °C를 유지시켜 시간의 변화에 따른 무게 감소의 비율로 분해 정도를 측정하였다.

기기분석.

적외선 분광 분석: FT-IR은 Shimadzu사제 DR-8011을 사용하여 측정하였으며 시료는 Nujol과 혼합한 다음 KBr디스크를 이용하여 측정하였다.

핵자기 공명장치: NMR은 solid state CP/MAS ^{13}C -NMR로 Bruker사제 ARX-300을 사용하여 측정하였다.

기계적 특성: 키토산, chitosan-g-PVA 공중합체막과 열처리 및 가교 chitosan-g-PVA 공중합체막의 인장강도는 Instron universal testing machine model 1000을 사용하여 측정하였으며 시험편의 크기는 50×5 mm로, cross-head speed는 50 mm/min, grip간 거리는 30 mm로 하였다.

접촉각 측정: Table 2에 나타낸 여러 용매에 대한 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막의 접촉각은 Busscher의⁸ 방법을 참조로 하여 독일의 KRÜSS사의 모델 G 10을 사용하여 37 °C에서 한 시료에 대해 평균 10회씩 측정하여 평균값을 접촉각으로 하였다.

결과 및 고찰

그래프트 공중합체의 확인. 키토산 1 g에 CAN 8.83

Table 2. Surface Tension of Various Solvents at 37 °C

solvent	surface tension (dyne/cm)
<i>m</i> -cresol	34.50
ethylene glycol	46.92
nitroaniline	57.00
water	72.50

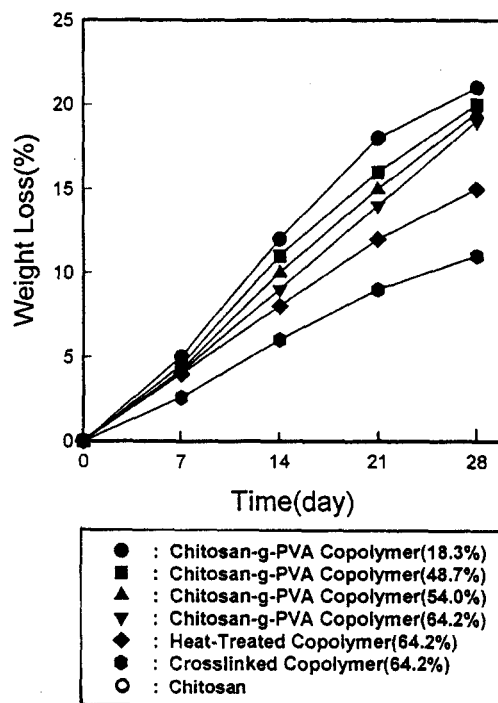


Figure 1. Degradable kinetics by lysozyme at pH 1.2.

$\times 10^{-2}$ mol/L을 사용하여 PVA 1 g을 반응온도 40 °C에서 4시간동안 그래프트 반응시켜 얻어진 공중합체의 구조 확인을 위하여 FT-IR과 ^{13}C -NMR을 측정하였는데, 그 결과를 보면 $-\text{C}=\text{O}$ 에 기인한 피크가 각각 1660 cm^{-1} 과 171.6 ppm 에서 나타나는 것으로 보아⁶ chitosan-g-PVA 공중합체가 잘 생성되었음을 확인할 수 있었다.

분해도 측정. Table 1의 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막에 대해 pH 1.2, 6.7과 7.4 및 8.2에서 시간에 따른 무게감소비를 측정하여 이 결과로부터 분해도를 구하여 그 결과를 Figs. 1~4에 나타내었다.

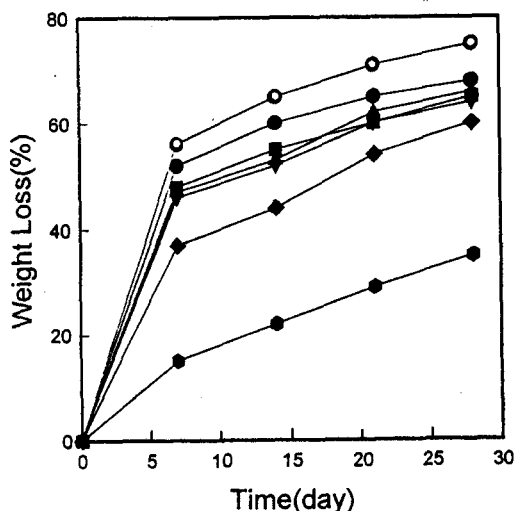


Figure 2. Degradable kinetics by lysozyme at pH 6.7. Symbols are same as in Figure 1.

pH 1.2에서의 chitosan-g-PVA 공중합체막에 대한 분해도를 나타낸 Fig. 1을 보면 키토산의 경우 용해되어 무게감소비의 측정을 통한 분해도를 측정하기가 곤란하였으며, chitosan-g-PVA 공중합체의 경우 PVA 그래프트율이 18.3%에서 64.2%로 증가함에 따라 4주 경과시 분해도는 21%에서 19% 정도로 약간 감소하고, 그래프트율이 64.2%인 공중합체의 경우, 열처리와 가교에 의해 분해도는 각각 15%와 10%로 감소됨을 알 수 있었다.

pH 6.7에서의 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막에 대한 분해도를 나타낸 Fig. 2를 보면 가교 공중합체를 제외한 모든 고분자막들은 초기 1주일 내에 급격히 분해되었고 4주 경과시 키토산의 경우 분해도는 75% 정도인데 비해 chitosan-g-PVA 공중합체막의 경우 분해도는 68%~64% 정도로 약간 감소됨을 알 수 있었다. 즉 pH 1.2와 6.7에서는 chitosan-g-PVA 공중합체의 경우 키토산에 비해 swelling ratio가 감소하므로⁹ 공중합체 내로 분해효소 lysozyme의 침투가 곤란하게 되어 분해도도 약간씩 감소됨을 알 수 있었다. 그리고 그래프트율이 64.2%인 chitosan-g-PVA 공중합체막의 경우 열처리와 가교에 의해 분해도는 각각 60%와 35% 정도로 감소됨을 알 수 있었다.

pH 7.4에서의 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합

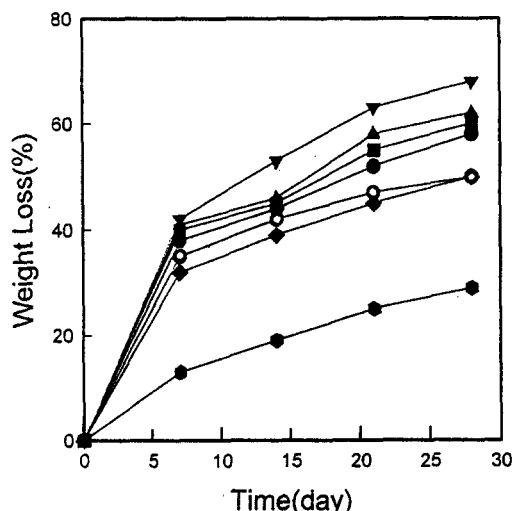


Figure 3. Degradable kinetics by lysozyme at pH 7.4. Symbols are same as in Figure 1.

체막에 대한 분해도를 나타낸 Fig. 3을 보면 키토산의 분해도는 4주 경과시 50%인데 비해 chitosan-g-PVA 공중합체막의 경우 PVA 그래프트율이 18.3%에서 64.2%로 증가함에 따라 분해도 역시 58%에서 68%로 증가됨을 알 수 있었다. 그리고 열처리와 가교에 의해 분해도는 각각 50%와 29% 정도로 감소됨을 알 수 있었다.

pH 8.2에서의 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막에 대한 분해도를 나타낸 Fig. 4를 보면 pH 7.4의 경우와 거의 유사한 경향을 나타냄을 알 수 있었다. 즉, pH 7.4와 8.2에서는 공중합체 내의 PVA 그래프트율이 증가함에 따라 swelling ratio가 증가하여⁹ 공중합체 내로 분해효소 lysozyme의 침투가 용이하게 되어 분해도도 증가됨을 알 수 있었다.

다음으로 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막의 pH 변화에 따른 lysozyme에 의한 분해도의 변화를 나타낸 Fig. 5를 보면 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막의 경우, pH 6.7과 7.4에서 분해도가 가장 뛰어남을 알 수 있었다. 또한 키토산에 비해 chitosan-g-PVA 공중합체막의 경우 pH 변화에 따른 분해도의 변화가 작아지고 열처리와 가교에 의해 pH 변화에 따른 분해도의 변화가 더욱 작아짐을 알 수 있었다.

분해에 따른 기계적 강도 변화 측정. pH 1.2, 6.7

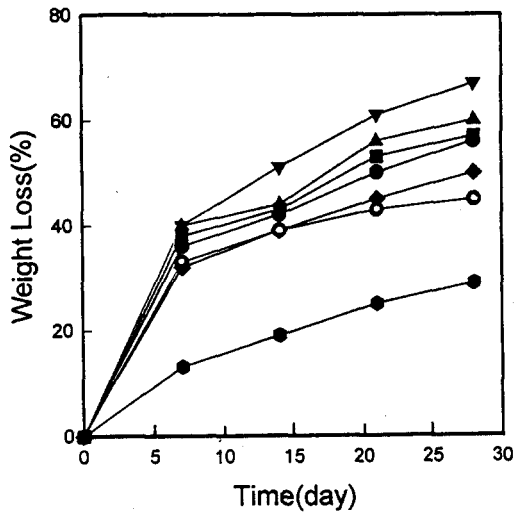


Figure 4. Degradable kinetics by lysozyme at pH 8.2. Symbols are same as in Figure 1.

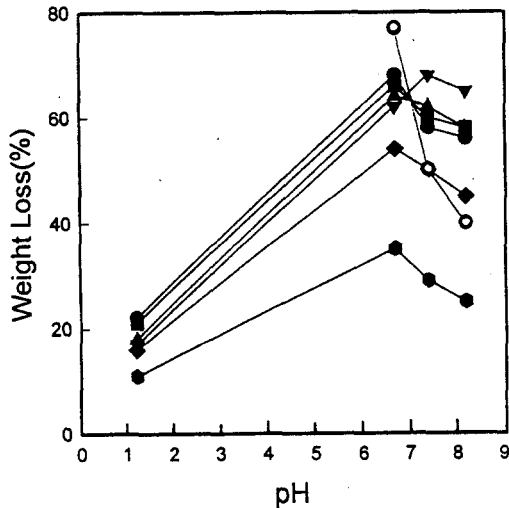


Figure 5. Degradation by lysozyme according to pH. Symbols are same as in Figure 1.

과 7.4 및 8.2에서의 키토산과 chitosan-g-PVA 공중합체막의 분해 시간에 따른 인장강도 변화를 측정하고 그 결과를 Figs. 6~9에 나타내었다.

pH 1.2에서 분해시간에 따른 인장강도 변화를 나타낸 Fig. 6을 보면 키토산의 경우에는 분해시간이 3일 경과시 분해와 용해로 인해 변형되어 인장강도를 측정하기 곤란하였으며 또한 가교 공중합체를 제외한

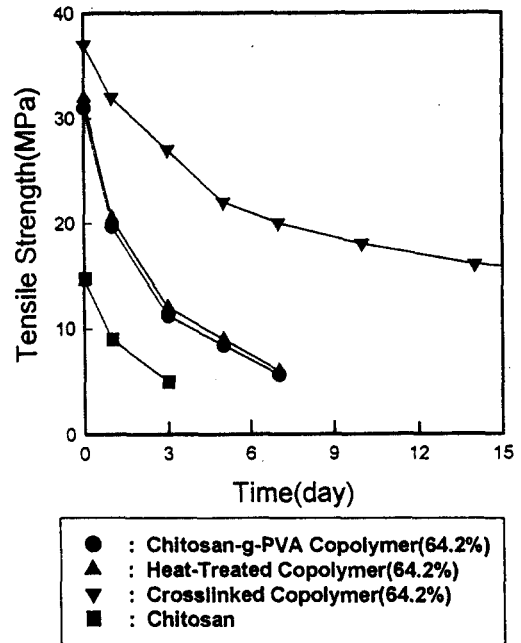


Figure 6. Change of tensile strength according to degradation time at pH 1.2.

chitosan-g-PVA 공중합체막과 열처리 공중합체는 분해시간이 7일 경과시 변형되어 인장강도의 측정이 불가능하였다.

pH 6.7에서 분해시간에 따른 인장강도 변화를 나타낸 Fig. 7을 보면 가교 공중합체막을 제외한 모든 고분자막은 7일내에 인장강도가 크게 감소됨을 알 수 있는데 이는 앞의 분해도 결과에서 알 수 있는 바와 같이 7일 내에 급격한 분해가 진행되어 상대적으로 인장강도 역시 크게 감소되는 것이라 사료된다. 그리고 분해시간이 7일 경과시 가교 공중합체를 제외한 모든 고분자막은 변형되어 인장강도의 측정이 불가능하였다.

pH 7.4에서 분해시간에 따른 인장강도 변화를 나타낸 Fig. 8을 보면 pH 6.7에서와 유사한 경향이 나타나나 분해시간이 14일 경과시 가교 공중합체를 제외한 모든 고분자막은 변형되어 인장강도의 측정이 불가능하였다.

pH 8.2에서 분해시간에 따른 인장강도 변화를 나타낸 Fig. 9를 보면 pH 7.4와 유사한 경향이 나타남을 알 수 있었다.

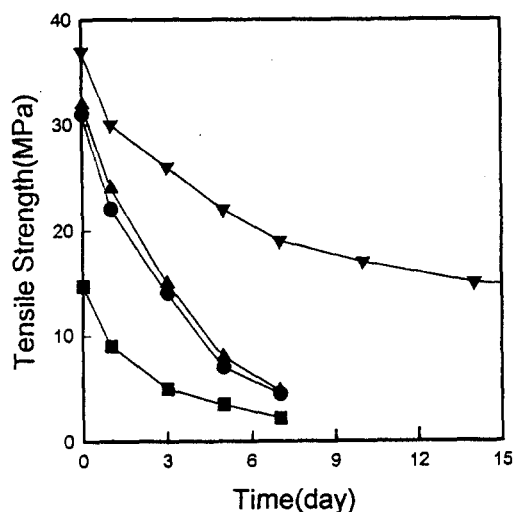


Figure 7. Change of tensile strength according to degradation time at pH 6.7. Symbols are same as in Figure 6.

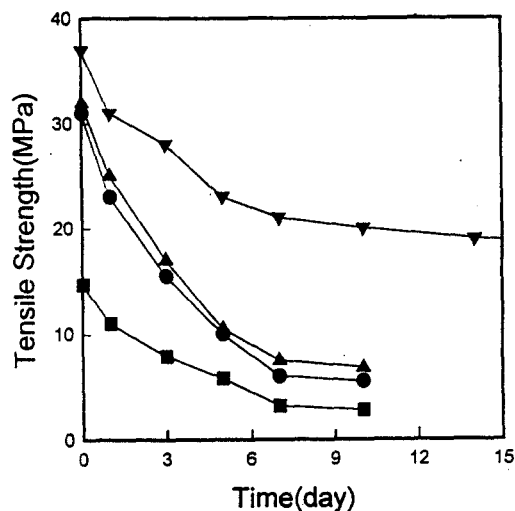


Figure 9. Change of tensile strength according to degradation time at pH 8.2. Symbols are same as in Figure 6.

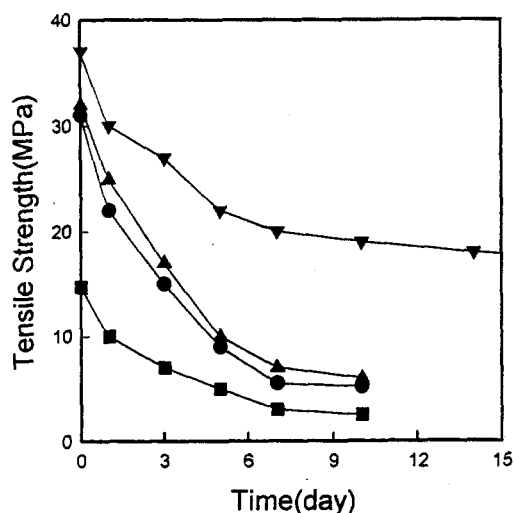


Figure 8. Change of tensile strength according to degradation time at pH 7.4. Symbols are same as in Figure 6.

임계표면에너지 측정. 고분자의 표면자유에너지 (임계표면에너지)는 직접 측정할 수 없으므로 Zisman의 방법을¹⁰ 참고로 하여 표면에너지를 알고 있는 액체와의 접촉각을 측정함으로써 간접적으로 임계표면에너지를 측정할 수 있다. 즉, 고분자의 표면

에너지 (γ_p)와 고체의 표면에너지 (γ_s)간의 관계가 $\gamma_p \approx \gamma_s$ 라는 가정하에 고분자의 표면에 대한 여러 가지 액체의 접촉각, θ 를 측정하여 기지의 액체 표면에너지에 대한 접촉각, $\cos \theta$ 를 도시하면 직선관계가 성립하게 된다. 이 직선을 $\cos \theta=1$ 까지 외삽하여 얻은 표면에너지가 바로 각 고분자막의 임계표면에너지 (γ_c)이다.

Table 2에 나타난 용매를 사용하여 키토산과 chitosan-*g*-PVA 공중합체막의 접촉각 (θ)을 측정하고 $\cos \theta$ 와 각 용매의 표면에너지 관계를 Fig. 10에 나타내었다. Fig. 10의 각 직선을 $\cos \theta=1$ 까지 외삽하여 구한 키토산막과 chitosan-*g*-PVA 공중합체막의 임계표면에너지를 Table 3에 나타내었다. 일반적으로 임계표면에너지의 값이 항혈전성에 영향을 미치는 절대적인 인자는 아니지만 Baier 등은 재료의 임계표면에너지가 25~30 dyne/cm의 값을 갖는 경우 항혈전성이 좋다고 보고한 바 있다.¹¹ Table 3에서 보면 PVA 그래프트율이 증가함에 따라 θ 가 감소하는 것으로 보아 친수성이 증가됨을 알 수 있었으며 또한 키토산의 경우 임계표면에너지가 32 dyne/cm 인데 반하여 chitosan-*g*-PVA 공중합체의 경우 임계표면에너지가 26~29 dyne/cm로 약간 낮아짐을 알 수 있었다.

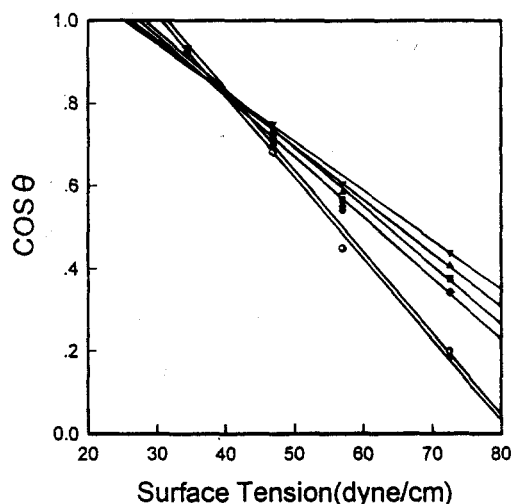


Figure 10. Critical surface tension by Zisman plot. Symbols are same as in Figure 1.

Table 3. Contact Angle and Critical Surface Tension of Chitosan and Chitosan-*g*-PVA Copolymer Membranes

sample	grafting %	θ	$\cos \theta$	critical surface tension (dyne/cm)
chitosan		78.5	0.199	32
chitosan- <i>g</i> -PVA	18.3	70.0	0.342	28
copolymer	48.7	67.9	0.375	29
	54.0	65.9	0.407	27
	64.2	64.0	0.438	26
heat treated copolymer	64.2	70.0	0.342	30
crosslinked copolymer	64.2	79.9	0.174	31

θ : Contact angle of chitosan and chitosan-*g*-PVA copolymer membranes to water.

결 론

생체적합성과 분해성이 뛰어난 키토산에 친수성과 결정성 및 기계적 강도가 우수한 PVA를 그래프트시켜 chitosan-*g*-PVA 공중합체를 합성한 다음 이를

in vitro 하에서 분해도와 임계표면에너지 변화를 살펴 본 결과 얻은 결론은 다음과 같다.

1. Chitosan-*g*-PVA 공중합체막의 경우, pH 7.4와 8.2에서는 공중합체 내의 PVA 그래프트율이 증가함에 따라 생분해도가 증가하였으며, pH 1.2와 6.7에서는 공중합체 내의 PVA 그래프트율이 증가하더라도 생분해도는 거의 일정함을 알 수 있었다.

2. Chitosan-*g*-PVA 공중합체막의 경우, pH 6.7과 7.4에서 분해도가 가장 우수함을 알 수 있었다.

3. Chitosan-*g*-PVA 공중합체막의 경우, 키토산에 비해 분해도의 pH 의존성이 감소함을 알 수 있었다.

4. 키토산의 경우 임계표면에너지는 32 dyne/cm 인 반면에 키토산에 PVA가 그래프트됨에 따라 임계표면에너지는 26~29 dyne/cm로 낮아짐을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. S. Miyazaki, *J. Biomed. Mater. Res.*, **10**, 477 (1976).
2. K. Ishihara, "Biomedical Applications of Polymeric Materials", CRC Press, Boca Raton, FL, 1993.
3. Andrade, *J. Med. Instrum.*, **7**, 110 (1976).
4. B. D. Ratner, "Plasma Deposition and Treatment for Biomaterial Application", Academic, New York, 1990.
5. J. C. Salamone, "Polymeric Materials Encyclopedia", CRC Press, New York, 1996.
6. D. K. Kweon, D. W. Kang, and W. G. Kim, *Polymer (Korea)*, **19**(2), 153 (1995).
7. H. J. Park, D. W. Kang, and K. S. Yeum, *Polymer (Korea)*, **19**(1), 27 (1995).
8. H. J. Busscher, A. W. J. van Pelt, H. P. de Jong, and J. Arends, *J. Colloid Interf. Sci.*, **95**, 23 (1983).
9. D. K. Kweon and D. W. Kang, *Polymer (Korea)* are scheduled to press in 1998.
10. W. A. Zisman and H. Y. Fox, *J. Colloid Sci.*, **7**, 109 (1952).
11. R. E. Baier, *Bull. N. Y. Acad. Med.*, **48**, 257 (1972).