

Alginate/2-HEA/PEGDA를 이용한 pH 민감성 하이드로젤 합성 및 물리화학적 특성 연구

이재윤[†] · 박소현*

서울과학기술대학교 에너지바이오대학 화공생명공학과, *서울과학기술대학교 정밀화학과
(2017년 12월 17일 접수, 2018년 1월 31일 수정, 2018년 3월 2일 채택)

Synthesis and Physicochemical Characterization of pH Sensitive-hydrogels Based on Alginate/2-HEA/PEGDA

Je Yun Lee[†] and So Hyun Park*

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Seoul National University of Science and Technology,
232 Gongneung-ro, Nowon-Gu, Seoul 01811, Korea

*Department of Fine Chemistry, Seoul National University of Science and Technology,
232 Gongneung-ro, Nowon-Gu, Seoul 01811, Korea

(Received December 17, 2017; Revised January 31, 2018; Accepted March 2, 2018)

초록: 본 연구에서는 sodium alginate에 2-hydroxyethyl acrylate를 그래프팅 후, poly(ethylene glycol) diacrylate로 가교시켜 하이드로젤을 제조하였고, 가교제 비율에 따른 물리화학적 분석을 수행하였다. 주사전자현미경 관찰 결과, 하이드로젤은 다공성의 가교구조를 나타내었고, 공극 크기는 대략 10 μm 였다. 열적 중량 분석 결과, 가교 밀도가 증가할수록 중량 감소가 적었고 수분 결합력이 높았다. 팽윤 거동은 pH 7.4와 pH 2.5에서 수행되었고, 각각 400~900%, 150~190%의 팽윤을 보였다. 또한 다양한 팽윤 매질에 따라 텍스처 분석을 수행하였다. 증류수보다 buffer에 팽윤된 하이드로젤이 경도가 높았고, 가교 밀도가 증가할수록 경도가 높았다. 결과적으로, 새롭게 합성된 본 하이드로젤은 팽윤 매질 및 가교 밀도에 변화를 줌으로써 조직공학, 3D 프린터, 약물 전달체 등의 생체 재료로 이용가능성이 있음을 시사한다.

Abstract: In this study, hydrogels were prepared by grafting 2-hydroxyethyl acrylate onto sodium alginate and then cross-linking with poly(ethylene glycol) diacrylate. Properties were analyzed according to ratio of crosslinking agent. Scanning electron microscopy showed that the hydrogels were porous structure, and the pore size was about 10 μm . Thermal gravimetric analysis showed that weight loss decreased and water binding capacity was high as the crosslink density increased. Swelling behavior was carried out at pH 7.4 and pH 2.5, with swelling of 400-900% and 150-190%, respectively. Texture analysis was performed according to various swelling media. The hardness of hydrogels swollen in buffer was higher than that of distilled water, and the hardness was higher as the crosslink density increased. As a result, this novel hydrogel has possibilities to be used as biomaterials such as tissue engineering, 3D printer, and drug delivery system by changing swelling medium and crosslinking density.

Keywords: alginate, 2-hydroxyethyl acrylate, poly(ethylene glycol) diacrylate, hydrogel, radical polymerization.

서론

하이드로젤은 물에 녹지 않고 팽윤되어 구조 내에 많은 양의 수분을 함유할 수 있는 3차원 네트워크 구조를 갖는 친수성 고분자 물질이다.¹ 하이드로젤은 수용액에서 팽윤된 후 열

역학적으로 안정하고, 특유의 친수성과 유연성으로 인해 의약학적 분야에 다양하게 이용되고 있다. 예를 들면, 소프트 렌즈, 상처 치료용 드레싱, 바이오센서, 인공근육, 3D 프린터 등의 생체 재료 및 약물 전달 시스템 분야에서 하이드로젤을 이용하고 있다.^{2,3}

용액의 pH는 유기 작용기의 산도 혹은 염기도에 따라 그 이온성에 변화를 준다. 수용액의 경우, pKa 혹은 pKb가 1~14 정도의 범위에 있는 작용기에 유의미한 변화를 줄 수 있다. 또한 산염기 조건에서 유기반응이 가능한 작용기를 이용해

[†]To whom correspondence should be addressed.
good234@seoultech.ac.kr, ORCID[®] 0000-0001-9291-9513
©2018 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

pH 변화에 따른 반응을 유도할 수도 있다. 따라서 이러한 pH 민감성은 하이드로젤의 고분자 특성과 접목되어 다양한 방식으로 연구되고 있다. 약물 전달 시스템에서는 피부나 직장, 비강, 구강, 안구, 질 등 생체 pH를 고려한 효과적인 약물전달을 위해 pH 민감성을 이용하고 있다.^{4,6} 센서 분야에서는 pH에 따른 팽윤 정도를 이용해 CO₂ 분압을 감지하기도 한다.⁷ 이밖에도 다양한 분야에서 pH 민감성 하이드로젤이 유용하게 사용되고 있다.

알긴산(alginic acid)은 미역, 다시마 등 다세포성 해양생물인 갈조류의 세포막과 세포막간을 구성하는 물질이다.⁸ α(1→4)-L-gulosyluronic acid (G)와 β(1→4)-D-mannosyluronic acid (M)로 이루어진 직쇄의 공중합체로 된 이종다당류로, 알긴산의 (G)와 (M)은 각각 M 블록과 G 블록 또는 MG 블록들이 배열되어 있는 구조로 이루어져 있다.⁹ C, O, H만으로 구성되어 있는 알긴산은 그 작용기로 수산기(-OH)와 카복실기(-COOH)를 가지고 있으며, G 블록 카복실기의 pKa는 약 3.65이고 M 블록 카복실기의 pKa는 약 3.38이다. 따라서 이 작용기들은 중성에서 대부분 이온화되어 있고, pH에 따른 이온화 정도의 변화로 그 물리화학적 특성이 바뀌게 된다. 또한 수산기와 카복실기는 수소결합을 형성할 수 있어, 알긴산의 형태를 단단하게 할 수 있고 수분을 보유할 수 있다. 그러나 알긴산은 물에 불용이어서, 알긴산 나트륨과 같은 수용성 알긴산염(alginate)의 형태로 이용되고 있다. 알긴산은 알긴산 나트륨으로의 전환이 쉬워 가공성이 우수하고 값이 싸다는 장점이 있다. 이처럼 알긴산이 특유의 물리화학적 성질, 생체 적합성, 무독성 및 생분해성을 가지므로 안구, 성형, 조직공학, 약물전달과 같은 의학적 분야에서 널리 응용되어 사용되고 있다.

기능성 단량체 중 2-hydroxyethyl acrylate(2-HEA)는 수산기(-OH)를 가지고 있어, 친수성에 따른 접착성 개선의 장점이 있으며,^{10,11} 특히 2-hydroxyethyl methacrylate(2-HEMA)와 함께 콘택트렌즈에 많이 이용되는 생체적합성 재료이다. 그러나 2-HEMA에 비하여 2-HEA가 하이드로젤 물성에 미치는 영향에 대한 연구는 아직까지 부족한 실정이다.

하이드로젤의 팽윤은 가교 밀도와 네트워크 구조, 팽윤 매질과 같은 다양한 요소들의 영향을 받는다.^{12,13} 팽윤은 약물 전달 시스템으로의 적용에 있어 중요한 요소로 판단되는 약물의 수송 능력과 직접적으로 관련되어 있다. 따라서 하이드로젤의 적용을 위해 이들은 분명히 고려되어야 하며 다양한 요소들에 따른 특성의 분석이 요구된다.

따라서 본 연구에서는 천연 고분자인 알긴산에 2-HEA를 그래프팅시켜 공중합체 Alg-g-p(2-HEA)로 구성된 하이드로젤을 다양한 가교제 농도로 제조하였으며, 몇 가지 다른 조건에서 이들의 물리화학적 특성과 팽윤 특성 변화를 조사하였다. Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR)을 이용하여 하이드로젤의 화학적 특성을 분석하였으며, scanning

electronic microscope(SEM)을 이용하여 하이드로젤의 가교 네트워크를 형태학적으로 분석하였고, 하이드로젤의 결정적인 특성인 팽윤과 텍스처 특성에 있어 가교제 농도와 다양한 팽윤 매질의 영향을 조사하였다. 결과적으로 본 연구에서 새로이 합성된 하이드로젤은 알긴산 G 블록과 M 블록의 카복실기에 의해 pH 민감성을 가지며, 실험을 통해 알게 될 고유한 물성들을 고려하여 다양한 분야(조직공학, 3D 프린터, 약물 전달체 등)의 생체 재료로 이용되기를 기대한다.

실 험

시약 및 기기. 하이드로젤 합성에 사용된 sodium alginate from brown algae(medium viscosity), 2-hydroxyethyl acrylate, poly(ethylene glycol) diacrylate(PEGDA; Mn 575), potassium peroxydisulfate(KPS)는 모두 Sigma-Aldrich Co.(USA)에서 구입하였다. Phosphate buffered saline(PBS) 제조에 사용된 potassium phosphate monobasic(KH₂PO₄), sodium phosphate dibasic(Na₂HPO₄)는 Sigma-Aldrich Co.(USA)에서 구입하였고, sodium chloride(NaCl)는 Daejung chemicals & metals Co.(South Korea)에서 구입하였다. Ethanol, acetone과 같은 용매들은 분석용 특급 시약을, 증류수는 Milli-Q로 정제하여 사용하였다.

사용 장비에는 분석저울(CAS, CAY220), 교반기(Corning, PC-620D), oil bath(LK Korea, LO-BG160), 원심분리기(Hanil Science Industrial, FLETA40), 동결건조기(ilShinBioBase, FD8508), 오븐(Elba, L61-640), SEM(Tescan Korea, VEGA3), FTIR spectrometer(SensIR Technologies, US/Travel IR), 시차열중량분석기(Shimadzu, JP/DTG-60), 물성분석기(Zwick Roell, DE/Z0.5TS)를 사용하였다.

하이드로젤 제조. 하이드로젤은 가교제인 PEGDA의 농도를 달리하여 총 4가지로 제조하였으며 그 조성은 Table 1에 나타내었다.

증류수 50 mL에 sodium alginate(Alg)를 0.25 g 넣고, oil bath에서 75 °C, 400 rpm으로 교반하며 6시간 이상 용해시켰

Table 1. Composition of Initial Reaction Mixtures Used for the Preparation of Hydrogels

	Alginate (g)	2-HEA (mL)	PEGDA (mL)	KPS (g)
Alg-HEA-PEG-0.21	0.25 (0.466%)	3.0 (6.18%)	0.1 (0.208%)	0.004
Alg-HEA-PEG-0.52	0.25 (0.464%)	3.0 (6.16%)	0.25 (0.520%)	0.004
Alg-HEA-PEG-1.04	0.25 (0.462%)	3.0 (6.13%)	0.5 (1.035%)	0.004
Alg-HEA-PEG-2.05	0.25 (0.457%)	3.0 (6.07%)	1.0 (2.048%)	0.004

다. 용해된 Alg 용액에 N_2 gas를 30분간 주입하여 플라스크 내 산소분압을 충분히 낮춘 뒤, 라디칼 개시제인 KPS를 0.004 g 넣어주었다. 개시제 첨가 후 30분이 지나면, 2-HEA 3 mL를 넣어 그래프팅을 시작하였다. 2-HEA 주입 후 10~30 분 정도 후 색이 변할 때(열은 황색 → 무색 → 옅은 푸른색), PEGDA x mL를 모두 첨가하여 가교시켰다. 2-HEA를 넣은 시점부터 3시간이 지나면 합성물을 상온으로 충분히 식혀주었다. 합성하는 동안 교반 속도를 조절하여 균일한 합성을 유도하였다. 합성물은 5 L 증류수에서 3일 이상 투석하였고, 24 시간마다 증류수를 갈아주었다. 합성물 속에 단량체가 많은 경우, acetone:ethanol을 1:1로 섞은 용매에 24시간 교반시켜 추가 정제하였다. 정제가 끝난 합성물을 원심분리(3500 rpm, 15분)하여 젤을 분리하였고, desiccator, 오븐 또는 동결건조기를 이용하여 젤을 건조시켰다.

FTIR. Alginate, 2-HEA, PEGDA 및 건조된 하이드로젤은 FTIR spectrometer를 통해 확인하였다. Smart Orbit ATR accessory인 diamond crystal와 Omnic 8.0 software를 사용하여 $400\sim4000\text{ cm}^{-1}$ 범위에서 스캔하여 측정하였다.

형태학적 관찰. 제조된 하이드로젤은 동결건조기를 이용하여 48시간 동안 건조시켰다. 건조된 하이드로젤에 대하여 형태학적 관찰을 실시하였다. 하이드로젤의 네트워크 구조는 20 kV 가속 전압의 SEM을 이용하여 확인되었다. 건조된 하이드로젤은 Pt로 증착시킨 후 관찰하였고, 측정 시 voltage를 1.0~1.5 kV로 하여 각각의 sample을 $\times 1000$, $\times 3000$ 의 배율로 촬영하였다.

열적 중량 분석. 하이드로젤의 열적 중량 분석은 시차열중량분석기를 이용하여, 60°C 오븐에서 3일 동안 건조된 하이드로젤과 증류수로 3일 동안 수화된 하이드로젤을 측정하였다. 질소 하에서 속도 50 mL/min 으로 각각 5°C/min , 10°C/min 가열속도, $25\sim400^\circ\text{C}$, $25\sim600^\circ\text{C}$ 온도 범위에서 초기 무게 약 15, 20 mg으로 진행하였다. 표준물질은 α -alumina powder를 사용하였다.

하이드로젤의 팽윤. 하이드로젤의 팽윤 정도는 상온에서 pH 7.4와 pH 2.5 PBS 완충용액에서 측정되었다. 완충용액은 각각 4005000, 4000300(European Pharmacopoeia 5th Edition p433, p430) 제조법에 따라 제조하였다. 합성된 하이드로젤을 일정한 무게(0.1 g)로 절단한 뒤, 팽윤 매질에 담가두었다. 50 시간 동안 팽윤시키면서 일정한 시간마다 팽윤된 하이드로젤을 꺼내고 표면에 있는 물기만을 제거한 뒤 그 무게를 측정하였다. 팽윤 정도(swelling ratio)는 식 (1)을 이용하여 계산하였다:

$$\text{Swelling ratio (\%)} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

W_s : 팽윤된 하이드로젤의 무게(g)

W_d : 건조된 하이드로젤의 무게(g)

텍스처 분석. 하이드로젤의 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 접착성(adhesiveness), 탄성(springiness), 탄력성(resilience), 씹힘성(chewiness), 깨짐성(fracturability)을 측정하기 위해 10 kg의 로드 셀이 장착된 물성분석기를 이용하였다. 40 mm 직경의 원반 프로브로 하이드로젤을 30%의 변형률로 연속적으로 두 번 압착하였다. Pre-, test-, post 속도는 모두 2.00 mm/s 이었으며, 프로브는 젤의 표면 위에 위치하였다. 60°C 오븐에서 3일 동안 건조 후 증류수, pH 7.4 PBS, pH 2.5 PBS 속에서 각각 3일 동안 수화된 상태의 하이드로젤을 사용하였고, 젤은 약 $2\text{ cm} \times 2\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ (가로×세로×높이)의 직육면체 시편으로 제작하였다.

결과 및 토론

하이드로젤 합성. 하이드로젤 합성은 KPS를 개시제로, 열 조건에서 라디칼 중합반응에 의해 합성하였으며, 그 메커니즘을 Figure 1에 나타내었다. 라디칼반응은 개시, 전파, 종결의 3단계로 구분 지을 수 있으며, 단량체가 중합되는 전파 단

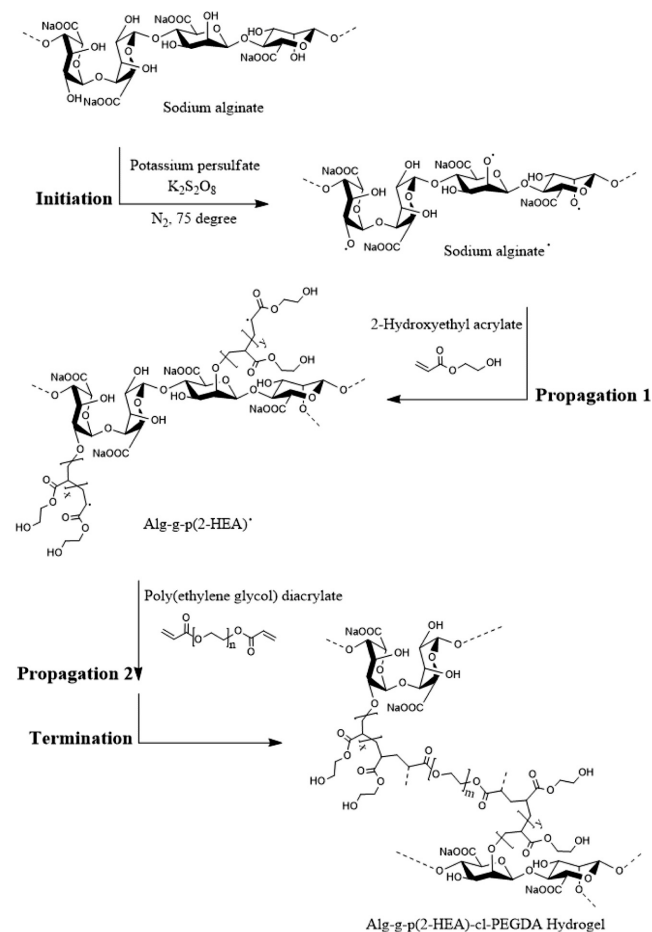


Figure 1. Synthesis mechanism of hydrogels through radical polymerization reaction.

계가 생성물의 상태를 결정짓는 가장 중요한 단계라고 할 수 있다. 따라서 N_2 gas 공급과 온도 조절을 통해, 라디칼의 양과 반응속도를 일관되게 하는 것이 원하는 생성물을 만드는 데에 중요한 영향을 미쳤다. 가교제 비율이 다른 4가지 하이드로젤에 일관성을 부여하기 위해, N_2 gas 공급과 온도 조절 뿐만 아니라 2-HEA와 PEGDA를 순차적으로 넣는 방법을 사용하였다. Alginate 용액에 2-HEA를 넣음으로써 Alg-g-p(2-HEA)^{*} 합성을 유도하였고, 일정 시간 후 PEGDA를 첨가하여 Alg-g-p(2-HEA)-cl-PEGDA를 합성하였다. 라디칼 반응은 매우 민감하고 그 진행 방향을 예측하기 힘들기 때문에, 단 몇 초 차이로 생성물의 상태를 완전히 바꿔놓을 수 있다. 따라서 가교제 첨가 전까지 동일한 조건과 환경으로 진행하였다. 하이드로젤의 합성 과정 및 색 변화를 Figure 2에 나타내었

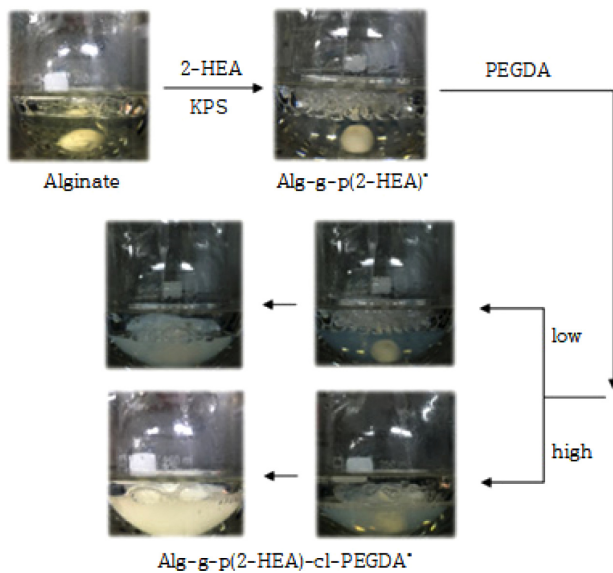


Figure 2. Schematic reaction process and color change.

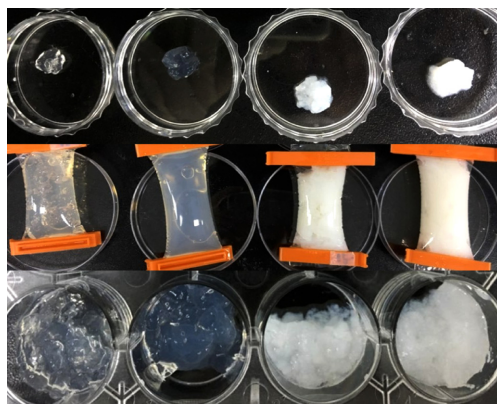


Figure 3. Images of Alg-HEA-PEG hydrogel appearances. From the left, shown are Alg-HEA-PEG-0.21, Alg-HEA-PEG-0.52, Alg-HEA-PEG-1.04, and Alg-HEA-PEG-2.05.

고, Alg-HEA-PEG-0.21, Alg-HEA-PEG-0.52, Alg-HEA-PEG-1.04, Alg-HEA-PEG-2.05의 외관을 Figure 3에 나타내었다.

FTIR. 양자화된 분자의 에너지 차이는 적외선 에너지를 이용한 유기분자의 작용기를 명확히 분석할 수 있도록 한다. 따라서 새로운 Alg-HEA-PEG 하이드로젤의 합성여부 및 작용기 비율을 비교하기 위해, alginate, 2-HEA, PEGDA와 동결 건조된 Alg-HEA-PEG 하이드로젤을 FTIR spectrometer로 확인하였다(Figure 4(A)). 2-HEA와 PEGDA의 FTIR spectrum

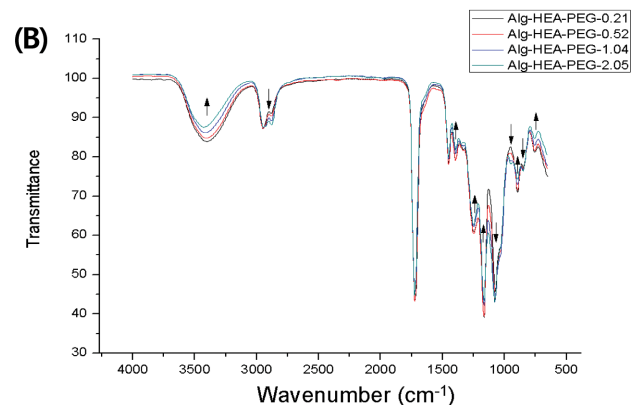
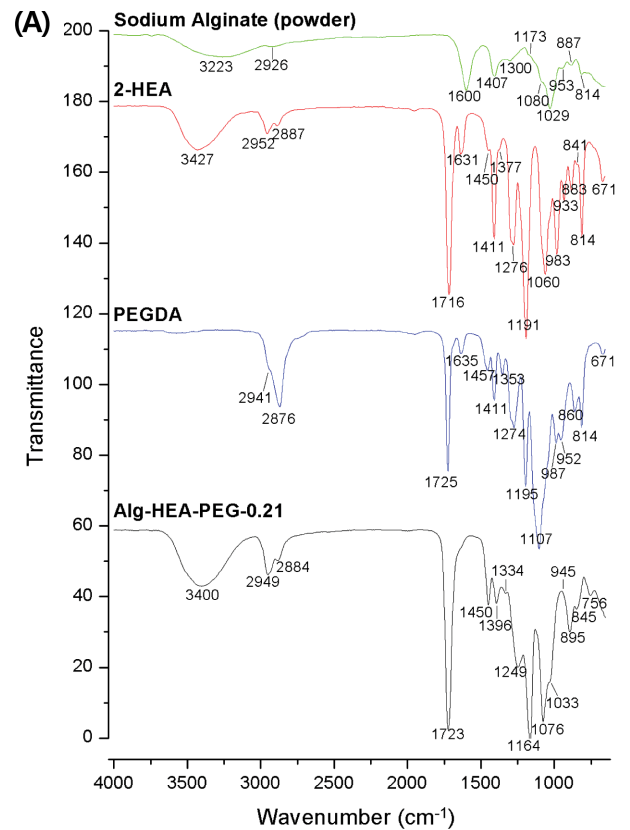


Figure 4. FTIR spectrum of (A) alginate, 2-HEA, PEGDA, and Alg-HEA-PEG-0.21; (B) changes in the spectrum pattern depending on the PEGDA concentration; (C) movement of the peak of Alg-HEA-PEG hydrogels.

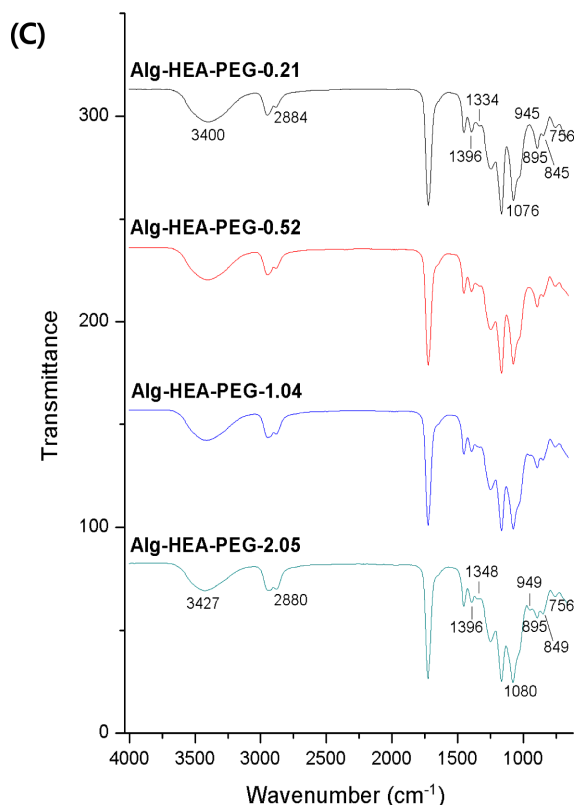


Figure 4. Continued.

에서 각각 1631, 1635 cm^{-1} 은 ester($-\text{COO}-$)로 컨쥬게이션된 $\text{C}=\text{C}$ 이중결합의 신축진동에 해당하는 흡수밴드이다. Alg-HEA-PEG은 컨쥬게이션된 $\text{C}=\text{C}$ 이중결합의 신축진동 ($1600\sim 1650\text{ cm}^{-1}$)에 해당하는 흡수밴드가 사라진 것으로 보아, 라디칼 반응을 통해 이중결합이 물질간 공유결합에 기여한 것으로 판단할 수 있다. 또한 2884, 1334, 845 cm^{-1} 는 각각 methyne(3차 탄소) C-H의 신축진동, 굽힘진동, C-C의 골격진동을 포함하는 흡수밴드로,¹⁴ 반응을 통해 3차 탄소가 형성된 것으로 사료된다.

이밖에, 하이드로젤의 FTIR spectrum에서 3400 cm^{-1} 는 알코올($-\text{OH}$) O-H의 신축진동 흡수밴드를 나타내며, 자유 알코올 O-H의 신축진동($3650\sim 3600\text{ cm}^{-1}$)에 비해 낮은 흡수밴드를 가지는 것은 수소결합을 통해 결합세기가 약화되었기 때문이다. 2949와 2884 cm^{-1} 은 각각 methylene($-\text{CH}_2-$) C-H의 비대칭 신축진동 흡수밴드와 methyne C-H의 신축진동을 포함하는 methylene C-H의 대칭 신축진동 흡수밴드이다. 1723 cm^{-1} 은 ester $\text{C}=\text{O}$ 의 신축진동 흡수밴드이며, 자유 ester $\text{C}=\text{O}$ 의 신축진동(1735 cm^{-1})에 비해 더 낮은 흡수밴드를 나타낸 것은 수소결합을 통해 결합세기가 약화되었기 때문이다. 1450 cm^{-1} 는 methylene C-H의 굽힘진동 흡수밴드이다.¹⁴ 1396 cm^{-1} 은 alginate 골격에 있는 카복실레이트($-\text{COO}^-$)의 대칭 신축진동 흡수밴드이다.¹⁵ 1249와 1164 cm^{-1} 는 ester C-O의 신축진

동 흡수밴드이며, 2-HEA의 1276, 1191 cm^{-1} 와 PEGDA의 1274, 1195 cm^{-1} 에 있는 ester C-O의 신축진동에 비해 낮은 파수에서 흡수밴드를 보이는 것은 α,β -unsaturated ester($-\text{C}=\text{C}-\text{COO}-$)의 이중 결합이 없어지면서 ester C-O 결합세기가 약화되었기 때문이다. 1076과 945 cm^{-1} 는 각각 2차 알코올 C-O의 신축진동을 포함하는 ether($-\text{COC}-$) C-O의 비대칭 신축진동 흡수밴드와 ether C-O의 대칭 신축진동 흡수밴드이며, PEGDA에 있는 ether C-O의 신축진동($1107, 952\text{ cm}^{-1}$)에 비해 낮은 파수에서 흡수밴드를 보이는 것은 수소결합에 의한 결합세기의 약화 때문일 것으로 사료된다.¹⁶ 1033 cm^{-1} 은 1차 알코올 C-O의 신축진동 흡수밴드이다. 895 cm^{-1} 는 alginate의 당 단위체간 glycoside linkage($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$)의 대칭 신축진동 흡수밴드이다.^{17,18} 845 cm^{-1} 는 methylene C-H의 변형진동을 포함하는 methyne C-C의 골격진동 흡수밴드로 사료된다.^{14,18} 756 cm^{-1} 은 alginate 고리 내 C-C의 신축진동 흡수밴드이다.¹⁸

주목할 점은 가교제 농도에 따른 spectrum 양상의 변화이다(Figure 4(B)). 가교제 농도가 증가할수록(Alg-HEA-PEG-0.21 $\rightarrow$ Alg-HEA-PEG-0.52 $\rightarrow$ Alg-HEA-PEG-1.04 $\rightarrow$ Alg-HEA-PEG-2.05), alginate와 2-HEA의 알코올 O-H에 해당하는 3400 cm^{-1} 과 alginate의 카복실레이트, glycoside linkage, 고리 내 C-C에 해당하는 1396, 895, 756 cm^{-1} 흡수량에 비하여, methyne에 해당하는 2884, 845 cm^{-1} 와 ether에 해당하는 1076, 945 cm^{-1} 흡수량이 증가하였다. 이를 통해, 하이드로젤 내의 2-HEA의 비율이 감소한 것과 alginate에 대해 ether 작용기 및 3차 탄소의 비율이 증가한 것을 알 수 있다. 이는 가교제의 농도가 증가함에 따라 이중결합의 붕괴로 더 많은 단량체들이 연결되어 가교밀도가 증가했음을 나타낸다. 또한 2-HEA와 PEGDA ester의 C-O에 해당하는 1249와 1164 cm^{-1} 흡수량에 비하여, PEGDA ether의 C-O에 해당하는 1080와 949 cm^{-1} 흡수량이 증가하였다. 이를 통해, 하이드로젤 내에서 ester 작용기에 비해 ether 작용기의 비율이 증가한 것을 알 수 있으며, 이는 2-HEA에 비해 PEGDA 비율이 증가하고 있음을 증명해준다. 또한 methylene C-H에 해당하는 2949, 1450 cm^{-1} 와 ester $\text{C}=\text{O}$ 에 해당하는 1723 cm^{-1} 의 흡수량은 일정한 것으로 보아, 가교제의 농도가 증가해도 합성된 하이드로젤 내의 methylene($-\text{CH}_2-$) 작용기와 ester($-\text{COO}-$) 작용기의 비율은 거의 변하지 않음을 알 수 있다.

다음으로 Figure 4(C)에서 피크의 이동을 살펴보면, 알코올 O-H 신축진동($3400\text{ cm}^{-1} \rightarrow 3427\text{ cm}^{-1}$), methyne의 C-H 굽힘진동($1334\text{ cm}^{-1} \rightarrow 1348\text{ cm}^{-1}$)이 변화한 것을 볼 수 있다. 이는 각각 가교제의 농도가 증가함에 따라, 합성된 하이드로젤에서 O-H 작용기에 의한 수소결합력의 약화와 methyne 작용기의 C-H 굽힘진동 에너지의 증가로 해석할 수 있다.

형태학적 관찰. SEM을 이용하여 동결 건조된 4가지 하이드로젤을 $\times 1000$ 과 $\times 3000$ 의 배율로 각각 2번 촬영하여 가교 구조를 확인하였다(Figure 5). 하이드로젤은 고분자 사슬이 연

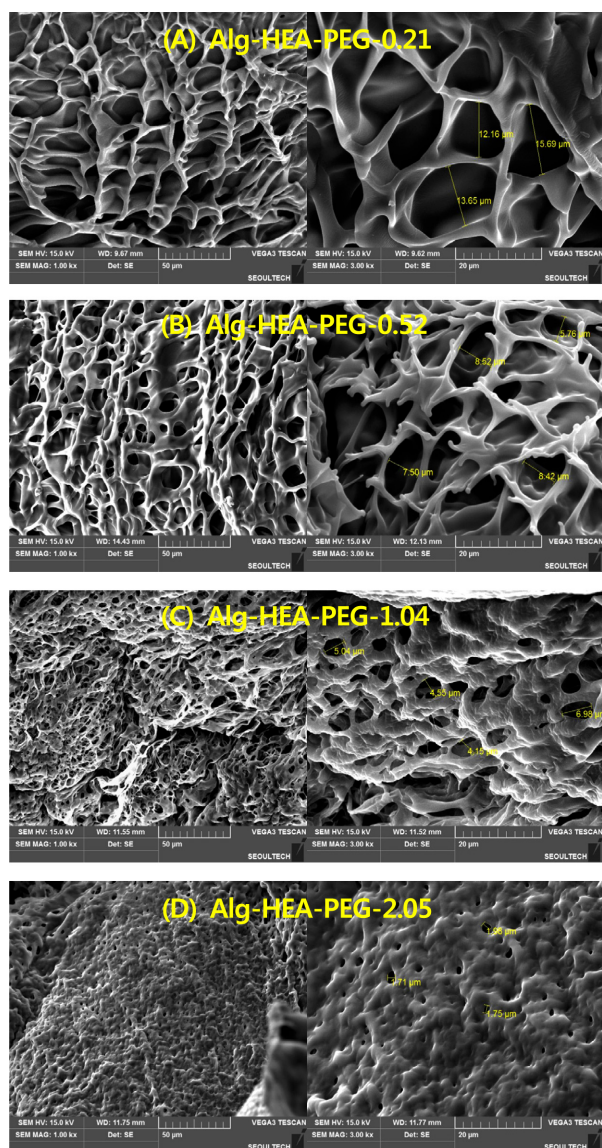


Figure 5. SEM images of the cross-sectional morphology of freeze-dried hydrogels (left is 1000 $\times$; right is 3000 $\times$ magnification).

결된 3차원 네트워크를 가져 높은 수분흡수능과 점탄성의 특징을 나타낸다. Figure 5에서와 같이 하이드로젤은 다공성 구조를 보였으며, 전체적으로 비슷한 형태로 관찰되었다. 가교제가 비교적 적게 들어간 Alg-HEA-PEG-0.21과 Alg-HEA-PEG-0.52에서 공극 크기는 대략 10 μm 정도로 관찰되었으며, 가교제 농도가 증가할수록 공극의 크기와 함께 공극률이 감소하였다. Alg-HEA-PEG-2.05의 경우, 그 내부의 네트워크 구조를 관찰하기 어려웠다. 모든 하이드로젤의 공극들은 비교적 균일한 분포를 나타내었다.

하이드로젤은 공극의 크기와 구조에 따라 4가지로 분류될 수 있다.¹⁹ 공극의 크기에 따라, 공극이 없는 non-porous, 100~1000 Å 직경의 공극을 가진 micro-porous, 0.1~1 μm 직

경의 macro-porous 및 수십에서 수백 μm 직경의 super-porous로 나뉘며, 이 중 non-porous, micro-porous, macro-porous는 공극간의 연결이 없는 closed cell 구조이다. 반면, 가교제 농도가 낮은 Alg-HEA-PEG의 경우, 이보다 큰 직경으로 내부 공극간에 서로 연결된 open cell 구조를 보이는 super-porous hydrogel(SPH)로 판단된다. SPH는 공극 구조 내부로 빠르게 수분을 포착하는 모세관 체계로 약물 전달 시스템이나 조직공학에 많이 이용되고 있다.^{19,20} 본 연구에서 합성된 Alg-HEA-PEG 하이드로젤은 SPH 중에서도 작은 직경의 공극을 가졌다고 할 수 있으며, 이는 약물 방출 시간을 지연시키는데 기여할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 약제의 서방적 방출 제형으로 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

열적 중량 분석. 열 중량 분석(thermo gravimetric analysis, TGA)은 물질들의 다양한 특징을 확인하기 위해 사용되는 기술이다. TGA 곡선은 온도에 따른 함수로써 물질의 질량 변화를 측정하여 다중 성분 물질의 성분 분석, 열적 안정도, 수분 함량과 같은 유용한 정보를 제공한다. 특히 약물전달 분야에서의 수분함량은 중요한 특징이다.

본 연구에서의 TGA 곡선은 하이드로젤의 수분 결합력, 수분 증발 속도 그리고 안정도를 평가하기 위해 사용되었다. 사용된 하이드로젤은 60 $^{\circ}\text{C}$ 오븐에 3일 동안 건조된 젤(dry)과 증류수에서 3일 동안 팽윤된 젤(wet)을 사용하였으며, 각각 5, 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 가열속도로 질량감소를 측정하였다(Figure 6). 60 $^{\circ}\text{C}$ 오븐에 건조된 젤은 하이드로젤 네트워크 속에 소량의 수분을 가지고 있다. Dry 젤 TGA 곡선에서 그 수분은 약 220~240 $^{\circ}\text{C}$ 정도부터 증발하였으며, 가교밀도가 증가함에 따라 증발 시작 온도가 약 220 $\rightarrow$ 228 $\rightarrow$ 235 $\rightarrow$ 240 $^{\circ}\text{C}$ 로 증가하였다. 이는 가교밀도 증가가 네트워크 내 수분 결합력을 증가시킨 것으로 사료된다. 젤이 직접적으로 타기 시작하는 온도는 약 375~380 $^{\circ}\text{C}$ 정도부터로 관찰되었다. Wet 젤의 TGA 곡선에서는 약 150 $^{\circ}\text{C}$ 가 되었을 때 대부분의 수분이 증발하였고, 약 375~400 $^{\circ}\text{C}$ 정도에서 젤이 타기 시작하였다.

여기서 주목할 점은 가교밀도가 증가함에 따라, 전체적으로 질량 감소율이 줄어들고 있다는 것이다. 이는 수분 결합력 증가에 따른 수분 증발 속도의 감소, 팽윤 정도의 감소에 따른 하이드로젤 내 수분함량의 감소에 의한 결과로 사료된다. 25~250 $^{\circ}\text{C}$ 까지 dry 젤은 각각 -19.4, -17.0, -13.6, -11.2%의 질량 감소를 보였고, wet 젤은 각각 -91.6, -89.9, -86.2, -85.3%의 질량 감소를 보였다.

가교밀도에 따른 Alg-HEA-PEG 하이드로젤의 안정성은 dry 젤 TGA 곡선에서 평가할 수 있다. 60 $^{\circ}\text{C}$ 오븐에서 3일 동안 건조된 젤은 하이드로젤 네트워크 내의 수분이 대부분 증발된 상태이다. 따라서 질량 감소율은 젤의 안정성을 나타낼 수 있다. 수분이 완전히 제거된 후 300 $^{\circ}\text{C}$ 에서의 남은 질량은 Alg-HEA-PEG-0.21(74.0%) < Alg-HEA-PEG-0.52(75.6%) < Alg-HEA-PEG-1.04(78.6%) < Alg-HEA-PEG-2.05(81.4%)로

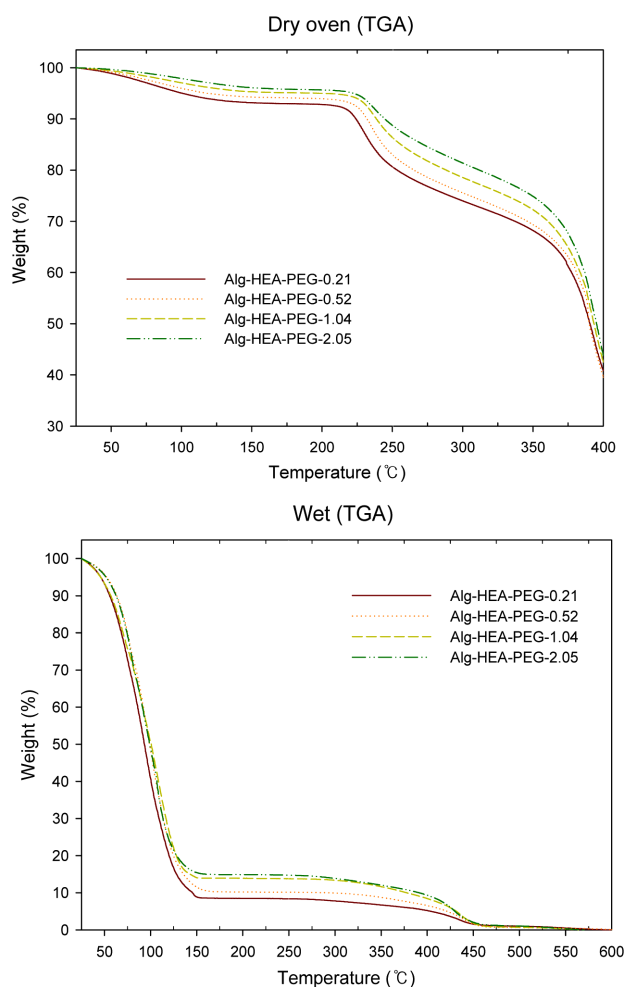


Figure 6. TGA curves of Alg-HEA-PEG hydrogels.

관찰되었다. 이를 통해, 가교밀도가 증가할수록 Alg-HEA-PEG의 안정성이 증가하는 것을 알 수 있다.²¹⁻²³

하이드로젤의 팽윤. 하이드로젤의 팽윤 정도는 용질의 확산과 유동성, 점탄성, 광학적 그리고 기계적인 특징에 큰 영향을 미치므로 생의학 및 약학 분야에서의 적용에 있어 팽윤 특성을 이해하는 것은 매우 중요하다.²⁴ 특히 약물 전달 시스템으로 응용될 시, 약물의 흡수와 방출 거동에 직접적으로 관련되어 있다. 중성의 하이드로젤 팽윤은 일반적으로 시스템의 자유에너지에 기여하는 고분자와 용매의 혼합과 네트워크의 탄력과 수축에 의해 설명된다. 반면, 알긴산과 같은 고분자 전해질로 구성된 하이드로젤의 팽윤 거동은 네트워크 자체의 이온화할 수 있는 그룹에 의해 염농도, pH와 같은 요인들이 관여한다.^{25,26} 염농도에 의한 팽윤을 매질 제조법에 따라 고려해보면, pH 7.4에 비해 pH 2.5 PBS에서 총 염농도가 약 5배 높다. Alg-HEA-PEG은 alginate에 카복실레이트(-COO⁻)가 있으며, 이와 같은 이온성 하이드로젤은 염농도가 증가할수록 팽윤 정도가 감소하게 된다. 이것은 반대 전하를 가진

이온들이 하이드로젤의 전하를 중화시키면서 야기되는 전하 차폐 효과에 기인된 것이며, 이는 하이드로젤 네트워크와 외부 용액 사이의 삼투압 감소로 나타난다.²⁷ 또한 전하의 중화에 의한 안팎의 전기적 구배 감소는 하이드로젤 표면에서의 전기장을 약화시키고, 전기장 내에서 전하를 띤 입자가 받는 전기력 식 (2)에 따라 쌍극자인 물 분자가 받는 전기력이 감소한다.

$$F = qE \quad (2)$$

q : 전하량

E : 전기장

따라서 염농도의 증가는 하이드로젤 내부로의 수분 포집 속도도 감소시킬 것으로 사료된다.

많은 고분자 전해질의 작용기는 하이드로젤의 pH 민감성 특성을 부가하기 위해 사용되고 있다.²⁸⁻³⁰ 알긴산의 카복실기는 pH가 증가할 때 이온화되어 카복실레이트를 형성하고, 이들의 음전하는 정전기적 반발을 일으켜 하이드로젤 네트워크 공극을 팽창시킨다. 따라서 본 실험에서는 Alg-HEA-PEG 하이드로젤의 pH 민감성에 대해 가교 밀도의 영향을 관찰하고자 하였다(Figure 7). 먼저, 앞서 언급했듯이 alginic acid의 G 블록 카복실기의 pKa는 약 3.65 M 블록 카복실기의 pKa는 약 3.38이다. 따라서 용매가 물인 경우, pH에 따라 Alg-HEA-PEG의 이온화도는 크게 달라질 수 있으며, 팽윤 정도가 달라질 수 있다. pH에 의한 영향을 판단하기 위해, Henderson-Hasselbalch 식을 이용해 팽윤 매질에서 Alg-HEA-PEG 하이드로젤의 이온화정도를 알아보았다.

$$pH = pKa + \log\left(\frac{[\text{짝염기}]}{[\text{산}]}\right) \quad (3)$$

K_a : 산해리상수

pH 7.4에서 alginate의 카복실 작용기는 -COOH:COO⁻가 약 1:10000으로 대부분 이온화된 상태로 존재하며, pH 2.5에서는 약 10:1로 이온화되지 않은 카복실 작용기가 더 많다. 따라서 Alg-HEA-PEG는 이온성이 높은 pH 7.4에서 수용액 상 용해도가 높고, 음전하의 정전기적 반발로 공극의 팽창 정도가 크며, 팽윤 정도가 클 것으로 사료된다. Figure 7에서 50 시간을 기준으로 pH 7.4에서 약 400~900%의 수분 흡수를 보인 반면, pH 2.5에서는 하이드로젤 모두 200%를 넘지 못했다.

하이드로젤의 공극이 팽창되는 것은 가교 사이의 고분자 사슬이 늘어나는 것과 관련되어 있으며, 그 정도는 고분자의 가교 밀도에 의해 결정된다.³¹ 앞선 형태학 연구에서 Alg-HEA-PEG의 가교밀도는 뚜렷하게 증가하는 것을 관찰할 수 있다. 동일한 pH에서는 가교밀도가 높을수록 팽윤율이 감소하였다(Figure 7). 이는 가교밀도가 증가함에 따라 물리적 팽창 정도와 전체 공극 부피가 감소된 결과로 이해할 수 있으

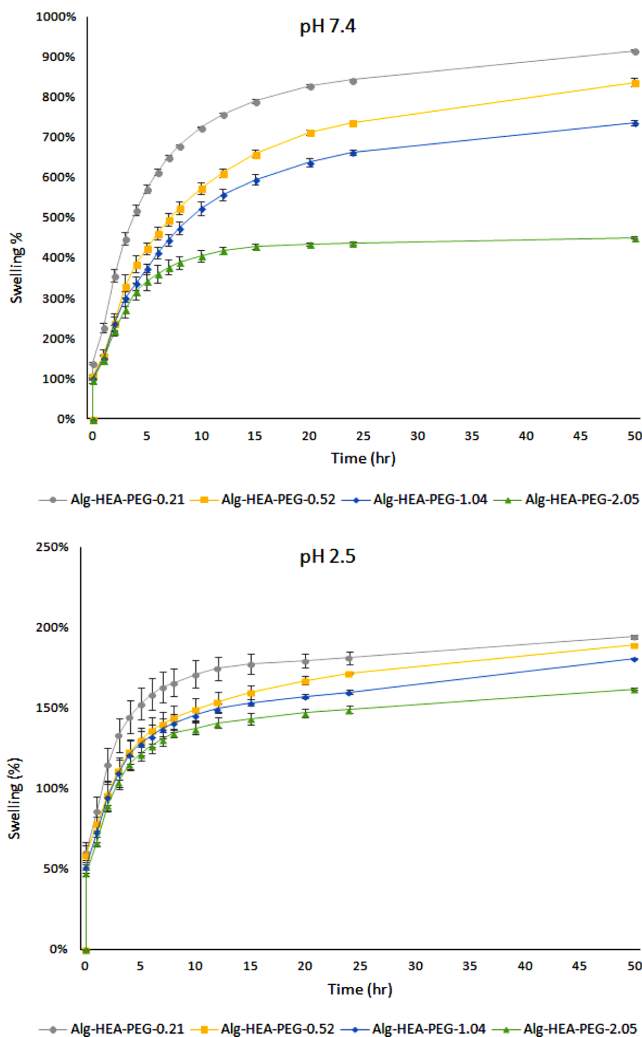


Figure 7. Swelling ratio in pH 7.4 and pH 2.5 according to eq. (1) for Alg-HEA-PEG hydrogels.

며, 부차적으로 -COO^- 작용기 비율의 감소를 생각해볼 수 있다. 조밀하게 가교된 네트워크에서 정전기적 반발력에 의한 공극의 팽창은 제한적이며, 동일 부피 내 공극이 차지하는 부피는 작다. FTIR spectrum 결과에서도 알 수 있듯이, 가교제 농도가 증가할수록 하이드로젤 내에 alginate 혹은 -COO^- 작용기 비율이 감소하기 때문에 하이드로젤의 이온성이 감소한다는 것 역시 원인이 될 수 있다. 또한 FTIR spectrum에서는 높은 가교 밀도일수록 -OH 작용기의 비율이 감소하고 그 수소결합력이 조금 약화되었는데, 수용액에서는 하이드로젤의 팽윤이 제한되므로 다르게 생각해볼 수 있다. 높은 가교 밀도에서 사슬간의 거리가 더 가깝고, 동일거리에 수소결합 가능한 작용기 수가 많아져 전체적으로 더 강한 수소결합이 있을 것으로 사료된다.

pH 민감성은 낮은 가교밀도에서 뚜렷하게 나타났으나, 높은 가교 밀도에서는 그 정도가 감소하는 것이 관찰되었다.

Table 2. Time Constant of Swelling Depending on pH and Crosslinker Concentration

Alg-HEA-PEG	Time constant (h)	
	pH 7.4	pH 2.5
Alg-HEA-PEG-0.21	5.2	2.5
Alg-HEA-PEG-0.52	8.1	3.8
Alg-HEA-PEG-1.04	7.6	3.4
Alg-HEA-PEG-2.05	3.8	2.9

Alg-HEA-PEG-2.05의 경우, 50시간에서 팽윤율이 pH 7.4는 약 450%, pH 2.5는 약 160%로 pH에 따른 팽윤율 변화가 가장 작았다. 이는 가교밀도 증가에 따라 공극의 팽창이 제한된 결과로 사료된다. 또한 이러한 결과는 pH에 민감한 카복실기의 수소결합에 의해 일부 설명될 수 있다. 하이드로젤 내 네트워크간의 수소결합은 pH 의존적인 수분 흡수에 영향을 미친다.³²

본 연구에서는 pH와 가교 밀도에 따른 시상수의 변화를 알아보았다(Table 2). 여기서 시상수는 50시간의 팽윤을 최대, 63.2% 팽윤까지의 시간으로 정의하였다.

시상수는 하이드로젤의 팽윤 속도를 나타내는 지표로 사용될 수 있으며, 초기 약물 방출 속도와 밀접한 관련이 있다. 시상수는 pH와 가교밀도뿐만 아니라 염농도, 작용기 비율, 공극의 크기 등 다양한 변수에 영향을 받을 것으로 사료된다. 실험 결과, PEGDA 0.52% 이상에서는 가교밀도가 높을수록 시상수가 작아졌고, 모든 하이드로젤은 pH 2.5에서보다 pH 7.4에서 시상수가 더 컸다. 하이드로젤을 공극의 크기와 구조로 분류했을 때, macro-porous hydrogel(MPH)은 0.1~1 μm 직경의 closed cell 구조로, 주된 팽윤 메커니즘은 팽창된 공극을 통한 확산이다.¹⁹ 반면, 수십 μm 이상의 직경의 open cell 구조를 가지는 SPH는 모세관력에 의해 팽윤되고, MPH와는 달리 sample 크기에 무관하게 빠른 팽윤속도를 보인다. 본 실험에서 합성된 Alg-HEA-PEG의 경우, 대략 10 μm 내외의 직경으로 MPH와 SPH의 사이에 있다고 할 수 있다. 따라서 팽윤속도에서 임계값이 존재할 수 있다고 판단된다. 그 임계값은 본 실험에서 시상수 변화로 드러났으며, PEGDA 0.21~0.52% 사이에서 주된 팽윤 메커니즘이 모세관력에서 확산으로 바뀌며 그 팽윤속도가 감소된 것으로 사료된다. 이를 통해 PEGDA 0.21~0.52%에서 공극의 크기가 팽윤속도의 주된 변수로 작용했음을 알 수 있다. 반면, PEGDA 0.52% 이상에서는 가교밀도가 증가함에 따라 나타난 팽창 정도와 공극 부피의 감소가 시상수의 감소에 영향을 미친 것으로 사료된다. pH에 따른 시상수 변화 역시 팽창 정도가 영향을 미친 것으로 판단된다. pH 2.5에 비해 pH 7.4에서 최대 팽윤율이 크기 때문에 팽창 시간이 고려되어 더 큰 시상수 값을 보였다.

텍스처 분석. 하이드로젤의 효과적인 활용을 위해서는 목

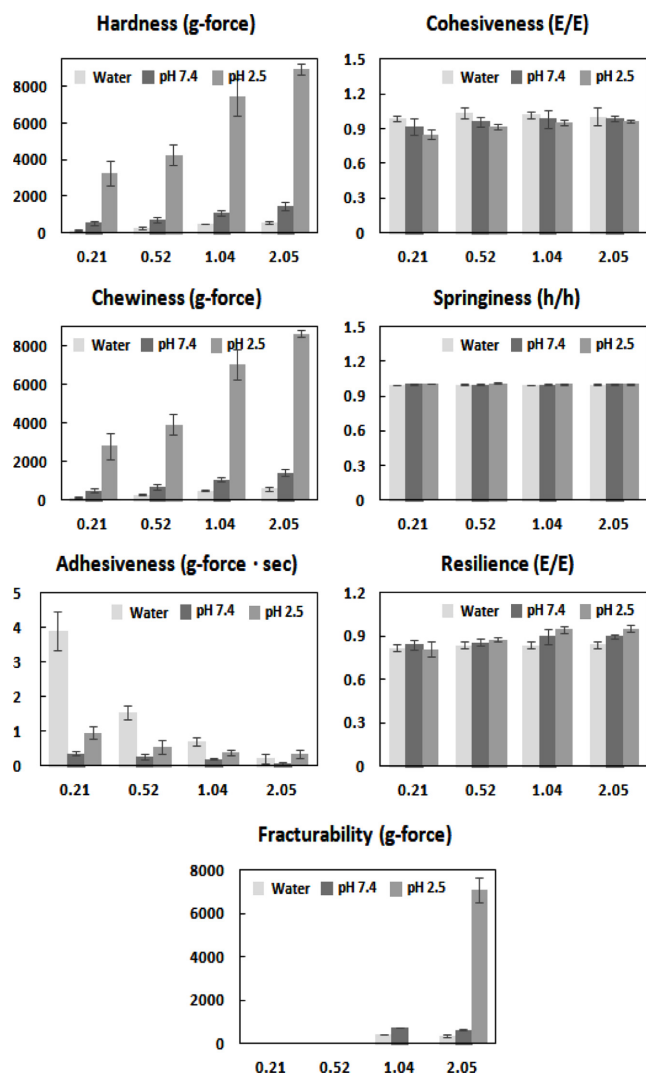


Figure 8. Texture properties of Alg-HEA-PEG hydrogels.

적에 맞는 적절한 텍스처와 기계적 특성이 요구되며, 하이드로젤에서 팽윤의 정도는 이를 결정하는 주요 요소이다. 따라서 팽윤 결과를 바탕으로 Alg-HEA-PEG 하이드로젤의 몇가지 텍스처 특성을 가교 밀도, 팽윤 매질에 따라 조사하였다 (Figure 8). 각각의 특성은 텍스처 분석 기기의 측정방법에 따라 정의하고 해석하였다.³³

먼저, 경도(hardness)는 첫 번째 압착 과정에서 정해진 변형에 도달하기 위해 필요한 힘으로 측정되며, g-force의 단위를 갖는다. 가교밀도가 증가할수록 경도는 높아졌으며, 팽윤 매질에 있어 pH 2.5에서 현저히 높았다. pH 2.5에서는 -COOH 작용기 대부분이 비이온화 됨으로써, 팽윤 정도가 크게 감소하고 젤 내부 수소결합 수 증가에 의해 내부 결합력이 강해지기 때문에 경도가 높게 측정된 것으로 사료된다. 접착성(adhesiveness)은 다른 물질과의 결합성으로 시료가 프로브에서 떨어지는데 요구되는 충격량으로 측정되며, g-force·sec의

단위를 갖는다. 접착성은 증류수에 팽윤된 젤이 높았으며, pH 7.4에 팽윤된 젤이 가장 낮았다. 또한 가교 밀도가 증가할수록 접착성은 낮아졌다. 그러나 Alg-HEA-PEG의 접착성 수치는 전반적으로 낮았다. 크롬과 철의 합금으로 이루어진 프로브와의 접착성은 수화된 하이드로젤과 프로브 표면 산화크롬과의 결합력이 강해질수록 높아질 것으로 사료된다. 이에 영향을 미치는 요인으로 하이드로젤의 이온성과 수소결합을 들 수 있다. 증류수에 팽윤된 젤의 경우, 고분자 상에서 이온화되어있는 카복실레이트가 대부분 온전한 음전하를 나타낸다. 때문에 정전기적인 반발을 고려하여 젤 내부 작용기간의 직접적인 수소결합보다는 수분과 강한 수소결합을 이루며 팽윤 상태를 유지할 것이다. 이렇게 젤과 수분간의 강한 네트워크가 산화크롬의 산소와 강한 수소결합을 이루게 하여 접착성을 증가시킬 것으로 사료된다. 반면에, pH 7.4이나 pH 2.5의 경우, 염 농도 증가에 따라 산화크롬과의 수소결합이 방해받기 때문에 상대적으로 접착성이 낮아질 것이다. 또한 pH 7.4의 경우, 염에 의해 하이드로젤의 이온성이 감소되어 수분과 약한 네트워크를 형성할 것으로 사료된다. 응집성(cohesiveness)은 두 번째 압착에 필요한 총 에너지를 첫 번째 압착에서 필요한 총 에너지로 나눈 값으로 측정되며, 단위는 무차원이다. 응집성은 구성성분 사이의 인력에 의한 물질의 내부적인 강도를 의미하며, 본 하이드로젤은 모든 조건에서 0.8 이상의 높은 응집성으로 측정되었다. 이는 하이드로젤의 점탄성에 기인한 결과로 사료된다. 한편, 가교 밀도와 팽윤 매질에 따라 그것의 미세한 차이를 보였는데, 팽윤 매질은 water > pH 7.4 > pH 2.5 순으로 응집성이 작아졌다. 탄성(springiness)은 초기 젤의 높이에 대한 압착 후 젤의 높이에 의해 측정되며, 단위는 무차원이다. 탄성은 가교밀도 및 팽윤 매질에 무관하게 거의 1의 값으로 측정되었다. 탄력성(resilience)은 첫 번째 압착의 downstroke 동안의 총 에너지를 첫 번째 압착의 upstroke 동안의 총 에너지로 나눈 값으로 측정되며, 단위는 무차원이다. 탄력성은 대부분 0.8~1.0 값으로 측정되었고, 가교 밀도가 높아질수록 증가하는 경향을 보였다. 씹힘성(chewiness)은 경도×응집성×탄성 값으로 측정되며, 단위는 g-force이다. 씹힘성은 경도와 거의 비슷한 경향을 보였다. 깨짐성(fracturability)은 젤이 부서질 때만 측정되어 부서지는 피크에서 힘의 크기로 나타나며, 단위는 g-force이다. 깨짐성은 가교밀도가 낮은 Alg-HEA-PEG-0.21와 Alg-HEA-PEG-0.52에서는 관찰되지 않았으며, 가교밀도가 가장 높은 Alg-HEA-PEG-2.05를 pH 2.5에서 팽윤시켰을 때 가장 높은 값을 보였다. 또한 Alg-HEA-PEG-2.05는 팽윤 매질에 무관하게 잘 부서지는 경향을 보였다. 높은 가교밀도에서는 경도의 증가로 변형에 의한 젤의 부서짐이 쉬운 것으로 판단되며, pH 2.5에서 높은 깨짐성은 젤 내부 결합력이 증가했기 때문으로 사료된다. 팽윤의 결과와 함께 이러한 텍스처 특성들을 고려할 때, 하이드로젤의 텍스처는 단순히 팽윤 정도에 의해 결정되는 것은 아니며, 적합

한 특성을 위해서는 가교 네트워크와 팽윤이 적절하게 조절되어야 할 것임을 시사한다.

결 론

본 연구에서는 라디칼 중합반응을 통해 sodium alginate에 2-hydroxyethyl acrylate를 그래프팅시킨 후, poly(ethylene glycol) diacrylate로 가교시켜 하이드로젤을 합성하였다. 또한 가교제 PEGDA의 비율을 증가시킴에 따라 제조된 4가지 하이드로젤의 물리화학적 특성을 분석하였다.

1) FTIR 분석에서 C=C 이중결합의 소멸과 3차 탄소의 형성을 통해 젤 합성을 확인하였고, 가교제 농도 증가에 따른 가교밀도의 증가를 확인하였다. 또한 가교제 농도가 증가할수록 -OH 비율은 감소했고 -COC- 비율은 증가했다.

2) SEM을 통해 관찰한 결과, 하이드로젤은 다공성의 3차원 가교구조를 나타내었고, 공극의 크기는 대략 10 μm 이었다. 가교제 비율이 증가할수록 공극 크기는 감소하였고, 조밀한 기공 구조를 나타내었다.

3) 열적 중량 분석(TGA) 결과, dry 젤에서 가교 밀도가 증가할수록 -19.4, -17.0, -13.6, -11.2%의 질량 감소를 보였고, wet 젤은 가교 밀도가 증가할수록 -91.6, -89.9, -86.2, -85.3%의 질량 감소를 보였다. 가교 밀도가 증가할수록 중량 감소가 적고, 수분 결합력이 높게 나타났다.

4) 팽윤 거동은 pH 7.4와 pH 2.5에서 수행되었고, 각각 400~900, 150~190%의 팽윤을 보임으로써 pH가 증가할수록 팽윤율이 높았다. 또한 동일한 pH에서는 가교 밀도가 증가할수록 팽윤율이 감소하였다.

5) 다양한 팽윤 매질(증류수, pH 2.5 및 7.4 buffer)에 따라 텍스처 분석을 수행하였다. 증류수 < pH 7.4 buffer < pH 2.5 buffer 순으로 경도가 높았고, 가교 밀도가 증가할수록 경도가 높았다. 가교 밀도가 증가할수록 점착성은 낮아졌으며, 깨짐성이 나타났다.

결과적으로, 새롭게 합성된 Alg-HEA-PEG 하이드로젤은 팽윤 매질 및 가교 밀도에 변화를 줌으로써 다양한 분야(조직공학, 3D 프린팅, 약물 전달체 등)의 생체 재료로 이용 가능성이 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. J. Chen, S. Jo, and K. Park, *Handbook of Biodegradable Polymers*, Overseas Publishers Association, Amsterdam, p 203 (1997).
2. N. A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, and H. Ichikawa, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 27 (2000).
3. S. J. Park and C. H. Kim, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **4**, 471 (2007).
4. S. S. Kwon, B. J. Kong, and S. N. Park, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **92**, 146 (2015).
5. A. Puranik, L. Pao, V. White, and N. Peppas, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **108**, 196 (2016).
6. B. Demirdirek and K. Urich, *Int. J. Pharm.*, **528**, 406 (2017).
7. S. Herber, W. Olthuis, P. Bergveld, and A. van den Berg, *Sens. Actuators B*, **103**, 284 (2004).
8. A. Pourjavadi, M. S. Amini-Fazl, and H. Hosseinzadeh, *Macromol. Res.*, **13**, 45 (2005).
9. S. M. Han, C. W. Nam, and S. W. Ko, *J. Korean Fiber Soc.*, **37**, 365 (2000).
10. C. H. Park, S. J. Lee, T. H. Lee, and H. J. Kim, *React. Funct. Polym.*, **100**, 130 (2016).
11. J. Kajtna, B. Alic, M. Krajnc, and U. Sebenik, *Int. J. Adhes.*, **49**, 130 (2014).
12. Y. Bao, J. Ma, and N. Li, *Carbohydr. Polym.*, **84**, 76 (2011).
13. L. Messenger, N. Portecop, E. Hachet, V. Lapeyre, I. Pignot-Paintrand, B. Catargi, R. Auzely-Velty, and V. Ravaine, *J. Mater. Chem. B*, **1**, 3369 (2013).
14. J. Coates, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Wiley, New Jersey, p 10815 (2000).
15. Q. A. Xiao, X. H. Gu, and S. O. Tan, *Food Chem.*, **164**, 179 (2014).
16. S. P. Zhang, F. U. Xiang-ka, and Y. F. Gong, *Nanocomposite electrolytes in Oxymethylene-linked Polyoxyethylene Multi-block Polymer: FT-IR, Spectral transmittance and Conductivity studies*, Sciencepaper Online, China (2006. 3).
17. M. Sekkal, V. Dincq, P. Legrand, and J. P. Huvenne, *J. Mol. Struct.*, **349**, 349 (1995).
18. R. Z. Kizil, I. D. Joseph, and S. T. Koushik, *Food Chem.*, **50**, 3912 (2002).
19. F. Ganji, S. Vasheghani-Farahani, and E. Vasheghani-Farahani, *Iran. Polym. J.*, **19**, 375 (2010).
20. F. A. Dorkoosh, J. C. Verhoef, G. Borchard, M. Rafiee-Tehrani, J. H. M. Verheijden, and H. E. Junginger, *Int. J. Pharm.*, **247**, 47 (2002).
21. S. Z. Zu and B. H. Han, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 13654 (2009).
22. Z. Weian, L. Wei, and F. Yue'e, *Mater. Lett.*, **59**, 2876 (2005).
23. B. Guo, A. F. Wistrand, and A. C. Albertsson, *Biomacromolecules*, **12**, 2601 (2011).
24. N. A. Pepas and A. S. Hoffman, "Hydrogels", in *Biomaterials Science*, Third Edition, Academic Press, United States, Vol **35** (2013).
25. P. J. Flory and Jr J. Rehner, *J. Chem. Phys.*, **11**, 521 (1943).
26. L. Brannon-Peppas and N. A. Peppas, *Chem. Eng. Sci.*, **46**, 715 (1991).
27. J. Grignon and A. M. Scallan, *J. Appl. Polym. Sci.*, **25**, 2829 (1980).
28. Y. F. Zeng, S. J. Tseng, I. M. Kempson, S. F. Peng, Y. T. Wu, and J. R. Liu, *Biomaterials*, **33**, 9239 (2012).
29. Y. Wang, X. N. Shi, W. B. Wang, and A. Q. Wang, *Turk. J. Chem.*, **37**, 149 (2013).
30. R. Liu, D. Li, B. He, X. Xu, M. Sheng, Y. Lai, G. Wang, and Z. Gu, *J. Controlled Release*, **152**, 49 (2011).
31. N. A. Peppas and A. R. Khare, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **11**, 1 (1993).
32. R. Barbucci, A. Magnani, and M. Consumi, *Macromolecules*, **33**, 7475 (2000).
33. M. Pons and S. M. Fiszman, *J. Texture Stud.*, **27**, 597 (1996).