

생물고분자로 이루어진 저독성 흡수제의 팽윤거동

정진희 · 김 진 · 이기영^{*,†}

전남대학교 신화학소재공학과, *전남대학교 응용화학공학부 & 촉매연구소
(2013년 1월 30일 접수, 2013년 3월 13일 수정, 2013년 3월 15일 채택)

Swelling Behavior of Low Toxic Absorbent Based on Biopolymer

Jin Hee Jung, Jin Kim, and Ki-Young Lee^{*,†}

Department of Advanced Chemicals and Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

*Faculty of Applied Chemical Engineering & The Research Institute for Catalysis,
Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

(Received January 30, 2013; Revised March 13, 2013; Accepted March 15, 2013)

초록: 본 연구에서는 식품첨가물로 승인되어 있는 생물고분자 물질을 이용하여 신속팽윤성과 고흡수성을 갖는 하이드로젤을 제조하고 팽윤특성을 분석하였다. 하이드로젤을 제조하는 과정에서 기포발생제를 이용하여 기공을 형성시켜 기존 하이드로젤의 팽윤성 향상을 시도하였고 각 하이드로젤의 평형 팽윤도, 팽윤속도 및 세포독성을 비교하였다. Alginate hydrogel에서는 digital microscope 관찰을 통해 수백 μm 크기의 열린 채널로 다공성 구조를 관찰하였으며 제조된 모든 하이드로젤들은 poly(acrylic acid)에 비해 높은 세포생존율을 보였다.

Abstract: In this study, hydrogels with fast swelling and high absorbent properties were prepared using biopolymers approved as a food additive and their swelling properties were characterized. To improve the swelling properties of conventional hydrogels, we formed gas bubbles using a foaming agent in the process of preparing hydrogels and characterized in terms of equilibrium swelling ratio, swelling kinetics and cytotoxicity. In particular, alginate hydrogels observed by a digital microscope have an open-pore channels structure with the sizes of hundreds micrometers. Also, the cell viability of all hydrogels were found to be much higher than that of poly(acrylic acid).

Keywords: fast swelling, high absorbent, biopolymer, low cytotoxicity.

서 론

하이드로젤은 3차원 망상구조의 친수성 고분자로 수성 환경 하에서 용해되지는 않으나 많은 양의 물을 흡수하여 팽윤하는 성질을 가진 물질이다.¹ 구성성분과 제조방법에 따라 다양한 형태와 성질을 가진 하이드로젤이 만들어질 수 있으며 다량의 수분을 함유하고 있으므로 액체와 고체의 중간 성질을 갖는다. 이러한 특성으로 주로 흡수성을 기반으로 하는 위생용품, 약물전달시스템, 생체재료, 조직공학 등 매우 광범위한 분야에서 유용하게 이용되고 있다.

일반적으로 하이드로젤은 확산현상에 의해서 팽윤하기 때문에 건조상태에서 물을 흡수하기 시작하여 더 이상 팽윤되지 않는 완전한 평형 팽윤상태에 이르기까지 짧게는 수 분에서 길게는 수 일 이상의 긴 팽윤시간이 필요하다.²

기존의 고흡수성 수지는 합성고분자인 폴리아크릴산이나

폴리아크릴아미드가 주성분인데 이들은 독성을 가지고 있어 일회용 기저귀나 여성용 생리대에 적용하였을 때 가려움증 등의 부작용이 우려된다. 현재 폴리아크릴산에 전분을 그래프트 중합시킨 폴리아크릴산-전분 그래프트 고분자나 천연고분자와 합성고분자를 혼합한 형태의 생분해성 고분자에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나³ 다소 팽윤특성이 떨어지더라도 합성고분자를 사용하지 않는 위생적이고 안전한 흡수제의 개발이 필요하다.

본 연구는 저독성을 고려하여 식품첨가물로 승인되어 있는 생물고분자 물질을 중심으로 시행되었다.

알긴산은 미역, 다시마와 같은 갈조류의 중요 구성 성분이다. 알긴산은 생체 적합성이 뛰어나고 독성이 낮으며 가격이 비교적 저렴한 장점이 있다. 또한 알긴산 수용액은 2가 양이온과 결합하여 하이드로젤을 비교적 쉽게 생성한다.⁴ 알긴산은 식품첨가물 소재로서 조직공학뿐만 아니라 다양한 분야에서 사용되어 왔고, *in vitro* 및 *in vivo* 조건에서 생체친화성이 뛰어나고 독성이 낮은 것으로 알려져 있다.⁵

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: kilee@chonnam.ac.kr

카파-카라기난은 홍조류에서 추출된 이온성 생물고분자로서 K⁺의 존재 하에서 단단한 젤을 형성하며⁶ 높은 친수성, 기계적 강도, 생체적합성, 생분해성을 가지고 있기 때문에 젤화제, 안정제, 증점제로 식품산업에서 널리 사용된다.⁷ 그러나 카라기난은 하이드로젤을 형성했을 때 젤에 함유되어 있는 물이 젤 밖으로 분리되어 나오는 이수현상이 보고되고 있다.⁸

아미드 펙틴은 감귤류 또는 사과 등을 열수 또는 산성수용액 등으로 추출하여 얻은 펙틴을 암모니아로 처리하여 얻는 정제된 탄수화물 중합체로서 카르복실기의 일부는 메틸에스테르화 및 아미드화되어 있으며⁹ 사용목적에 따라 당류를 첨가하여 물성을 표준화시키거나 산도조절의 목적으로 완충제와 같은 식품첨가물로 활용되고 있다.

Sodium carboxymethyl cellulose(CMC)는 수용성 고분자로서 값이 저렴하고 물에 잘 녹으며 생체 적합성이 뛰어나 많은 분야에 폭넓게 사용되고 있다. CMC 하이드로젤 역시 인체에 무해하며 높은 수분 흡수성과 우수한 생체 적합성 등의 특징을 갖고 있어 생체재료로서 널리 이용되고 있다.¹⁰

본 연구에서는 건조된 하이드로젤의 빠른 팽윤을 위해 기포형성을 시도하였다. 효과적인 기포형성을 위해서는 다음의 조건이 충족되어야 한다.

첫째, 기공이 하이드로젤 내에 도입되어야 하고 그 기공들은 연결되어 모세관통로 즉 개방통로가 형성되어야 한다. 둘째, 기공의 크기는 효과적인 모세관 적십이 일어날 수 있도록 적당히 커야 한다. 개방통로 구조를 갖는 건조된 하이드로젤이 수용액 안에 존재한다면 물은 glassy층을 통해 확산되지 않고 모세관효과에 의해 개방통로로 흘러가서 하이드로젤을 빠르게 팽윤시킨다.¹¹

본 연구에서는 생물고분자와 기포발생제를 이용하여 빠른 흡수속도와 높은 흡수량을 가지는 저독성 흡수제를 제조하고 팽윤특성 및 세포독성을 비교 분석하였다.

실 험

시약 및 시료. Sodium alginate(SA), sodium carboxymethyl cellulose(CMC), karaya gum(KG), bovine serum albumin(BSA), sodium sulfate(Na₂SO₄)는 Sigma-Aldrich co., Ltd에서 구입하였다. κ -Carrageenan(κ C)은 한국카라겐(주)에서 제공받았고 amide pectin(AP)은 (주)이에스기술연구소에서 제공받았으며 calcium chloride(CaCl₂)는 Kanto chemical. co에서 구입하였고 magnesium chloride(MgCl₂)는 Yakuri co., Ltd에서 구입하였다. Sodium bicarbonate(NaHCO₃), acetic acid glacial(AA), ethyl alcohol, potassium hydroxide(KOH), monoammonium phosphate(NH₄H₂PO₄), ammonium phosphate((NH₄)₂HPO₄)는 덕산화학에서 구입하였다. Alum, potassium chloride(KCl), sodium chloride(NaCl)은 대정화학에서 구입하였고 poly(acrylic acid)는 Wako chemical industries, Ltd에서

구입하였다.

하이드로젤의 건조방법. 본 연구에서는 제조한 하이드로젤을 동결건조 혹은 열건조 방법으로 건조하였다. 동결건조는 약 -70 °C에서 급속냉동 후 동결건조기(FD8508S; IIsin lab.co., Ltd, Korea)로 진공건조하는 방법이며, 열건조는 열풍건조기(HB-105SG; Hanbaek co., Inc)로 50 °C에서 24시간 동안 건조하는 방법이다.

하이드로젤의 기포형성방법. 하이드로젤은 수성환경 하에서 친수성 고분자의 이온가교에 의하여 합성된다. 다공성 구조 생성을 위해 기포발생제인 NaHCO₃를 이용하여 CO₂ 가스를 생성시켰고, 형성된 기포가 안정하게 유지될 수 있도록 발포안정제로 BSA를 첨가하였다. 기포는 하이드로젤을 제조하는 과정 중 가교하는 과정에서 발생된다. 기포크기는 AA와 NaHCO₃의 양에 따라 달라지며 균일하게 분포된 기체기포를 갖는 하이드로젤을 제조하기 위해서는 가교과정과 기포발생과정이 동시에 일어나야 한다. 기포발생제를 첨가하지 않고 만든 하이드로젤을 대조군 하이드로젤로 삼았다.

알긴산 하이드로젤의 제조. 알긴산 하이드로젤 제조과정은 Srimornsak 등의 방법을 일부 수정하여 사용하였다.¹² 증류수 100 mL에 SA(2 g, 2 wt%), NaHCO₃(0.9 g, 0.9 wt%), BSA(0.15 g, 0.15 wt%)를 녹인 후 5 mL를 취해 cell strainer(pore size: 40 μ m, SPL Lifesciences co., Ltd)에 담고, 0.34 M의 CaCl₂ 수용액 100 mL에 AA(10 mL, 10%(v/v))를 혼합한 수용액에 10 mL에 담기놓았다. 제조된 하이드로젤을 취하여 증류수에 담기놓고 증류수를 갈아주었다. 그 후 하이드로젤을 건져내어 잠시 동안 실온에 방치한 후 조각 내어 동결건조하였다. 대조군 하이드로젤은 증류수 100 mL에 SA(2 g, 2 wt%)를 녹인 용액 5 mL를 취해 0.34 M의 CaCl₂ 수용액 10 mL에 가교시켰고, 이 후 같은 과정을 거쳐 건조된 하이드로젤을 얻었다(Table 1).

카파-카라기난/카라야 겔 하이드로젤의 제조. 카파-카라기난으로만 제조한 하이드로젤은 이수현상을 보이기에 카라야 겔을 첨가하였다. 증류수 100 mL에 κ C(1.5-2 g, 1.5-2 wt%)과 NaHCO₃(0.9 g, 0.9 wt%), BSA(0.15 g, 0.15 wt%)를 녹인 후 각각 다른 양의 KG(0-0.75 g, 0-0.75 wt%)을 첨가하여 혼합하였다. 혼합 수용액 20 g을 각각 petri dish(50×12 mm²)에 붓고 잠시 동안 방치하였다. 그 후 AA(10 mL, 10%(v/v))를 포함한 0.1 M의 KOH 수용액 100 mL에 5분 동안 침지시켰다. 제조된 하이드로젤을 취하여 에탄올로 세척한 후 열건조 혹은 동결건조하여 카파-카라기난/카라야 겔 하이드로젤을 얻었다. 대조군 하이드로젤은 증류수 100 mL에 κ C(1.5-2 g, 1.5-2 wt%)과 각각 다른 양의 KG(0-0.75 g, 0-0.75 wt%)을 첨가하여 혼합하였다. 혼합 수용액 20 g을 각각 petri dish에 붓고 잠시 동안 방치한 후 0.1 M의 KOH 수용액 100 mL에 5분 동안 침지시켰다. 이 후 같은 과정을 거쳐 건조된 하이드로젤을 얻었다(Table 1).

Table 1. Compositions of Biopolymer Hydrogels

Component	Sodium alginate	κ -Carrageenan/ Karaya gum	Amide pectin	Carboxymethyl cellulose (CMC)
Cross-linker(gelling agent)	CaCl ₂	KOH	CaCl ₂	Alum
Surfactant	BSA	BSA	BSA	BSA
Foam maker	NaHCO ₃ /AA	NaHCO ₃ /AA	NaHCO ₃ /AA	NaHCO ₃ /AA

BSA(bovine serum albumin), AA(acetic acid).

아미드펙틴 하이드로젤의 제조. 증류수 100 mL에 AP(2 g, 2 wt%), NaHCO₃(0.9 g, 0.9 wt%), BSA(0.15 g, 0.15 wt%)를 녹인 후 5 mL를 취하여 cell strainer에 담고, 0.34 M의 CaCl₂ 수용액 100 mL에 AA(10 mL, 10%(v/v))를 혼합한 수용액 10 mL에 담가놓았다. 이 후 아미드펙틴 하이드로젤의 제조과정은 알긴산 하이드로젤의 제조과정과 유사하며, 대조군 하이드로젤은 대조군 증류수 100 mL에 AP(2 g, 2 wt%)를 녹인 용액 5 mL를 취하여 0.34 M의 CaCl₂ 수용액 10 mL에 가교시켰고, 이 후 위에 명시된 과정을 거쳐 건조된 하이드로젤을 얻었다(Table 1).

CMC 하이드로젤의 제조. 증류수 100 mL에 CMC(2 g, 2 wt%)와 NaHCO₃(0.9 g, 0.9 wt%), BSA(0.15 g, 0.15 wt%)를 녹인 후 5 mL를 취하여 cell strainer에 담고, 증류수 100 mL에 Alum(0.3 g, 0.3 wt%)과 AA(10 mL, 10%(v/v))를 혼합한 수용액 10 mL에 담가놓았다. 대조군 하이드로젤은 증류수 80 mL에 CMC(2 g, 2 wt%)를 녹인 후 20 mL의 Alum(0.3 g, 0.3 wt%) 수용액을 혼합하였다. 10000 rpm에서 homogenizer(Basic T25; IKA co.)를 이용하여 균질화한 후 열건조하여 건조된 하이드로젤을 얻었다(Table 1).

하이드로젤의 구조분석. 제조된 하이드로젤의 내부구조는 digital microscope(AM-413ZT; AnMo Electronics co.)으로 관찰하였다.

팽윤거동 측정. 각 샘플 모두 증류수(distilled water) 및 인공뇨(artificial urine)에서 팽윤도를 측정하였다. 인공뇨는 증류수 1 L에 Na₂SO₄(20 g, 0.2 wt%), KCl(20 g, 0.2 wt%), MgCl₂(0.5 g, 0.05 wt%), CaCl₂(0.25 g, 0.025 wt%), NH₄H₂PO₄(0.85 g, 0.085 wt%), (NH₄)₂HPO₄(0.15 g, 0.015 wt%)을 함유하는 수용액이다.

팽윤 전 건조된 샘플의 무게를 측정 후 정해진 시간마다 팽윤된 샘플의 무게를 측정하였다. 무게를 잴 때 표면에 과잉으로 묻어있는 물은 여과지를 이용하여 닦아 내었다. 3개의 샘플을 측정하고 평균을 구하였다. 팽윤도는 식 (1)을 이용해서 계산하였다.

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

W_s : 팽윤된 샘플의 무게

W_d : 건조된 샘플의 무게

세포독성실험(MTT Assay). 하이드로젤의 세포독성을 평가하기 위해서 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay를 실시하였다.¹³ 대식세포 RAW 264.7 세포를 사용했으며, 한국세포주은행(KCLB: Korean cell line bank)으로부터 구입하여 사용하였다. RAW 264.7 세포는 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco)과 1% 항생제(Gibco)를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; Gibco) 배지에서 37 °C, 5% CO₂ 조건 하에 배양하였으며 2~3일 간격으로 계대 배양하여 실험에 사용하였다. RAW 264.7 세포를 96 well tissue culture plate에 1×10^5 cells/ml로 각각 well 당 100 μ L 씩 분주하여, 24시간 동안 배양 후 실험에 사용하였다. RAW 264.7 세포에 1000, 500, 250, 100, 50 ppm 농도로 제조한 각각의 하이드로젤 용출물을 처리하여 37 °C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였다. 24시간 후 용출물이 포함되어 있는 배지에 MTT 용액을 처리하여 37 °C에서 4시간 동안 반응시킨 후, 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 첨가한 후, 570 nm에서 ELISA Reader(ELX808; Biotek Instruments)를 이용하여 흡광도를 측정하여 세포독성을 평가하였다. 각 실험은 모두 3번 반복 수행했으며 흡광도를 측정한 후 식 (2)를 이용하여 세포생존율을 계산하여 세포독성을 판정하였다.

$$\text{세포생존율}(\%) = \left(\frac{Abs_{\text{test}}}{Abs_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Abs_{test} = 실험군의 흡광도

Abs_{control} = 대조군의 흡광도

결과 및 토론

Figure 1은 알긴산나트륨, 카파-카라기난, 아미드펙틴, CMC의 구조를 나타낸 것이다.

알긴산 하이드로젤의 팽윤거동. Figure 2는 건조방법, 기공형성 여부에 따른 알긴산 하이드로젤의 증류수 혹은 인공뇨에서 시간에 따른 팽윤도 변화를 나타낸 것이다. 열건조한 하이드로젤과 비교했을 때 동결건조한 하이드로젤은 두 시간 안에 팽윤상태에 도달하는 신속팽윤성을 보였다. 이는 팽윤상태에 있는 하이드로젤이 진공건조되면서 하이드로젤 표면에 있는 일부 닫힌 기공(closed pore)이 열린 기공(open pore)화되는 현상이 발생하여 열건조 하이드로젤보다 더 많은 수

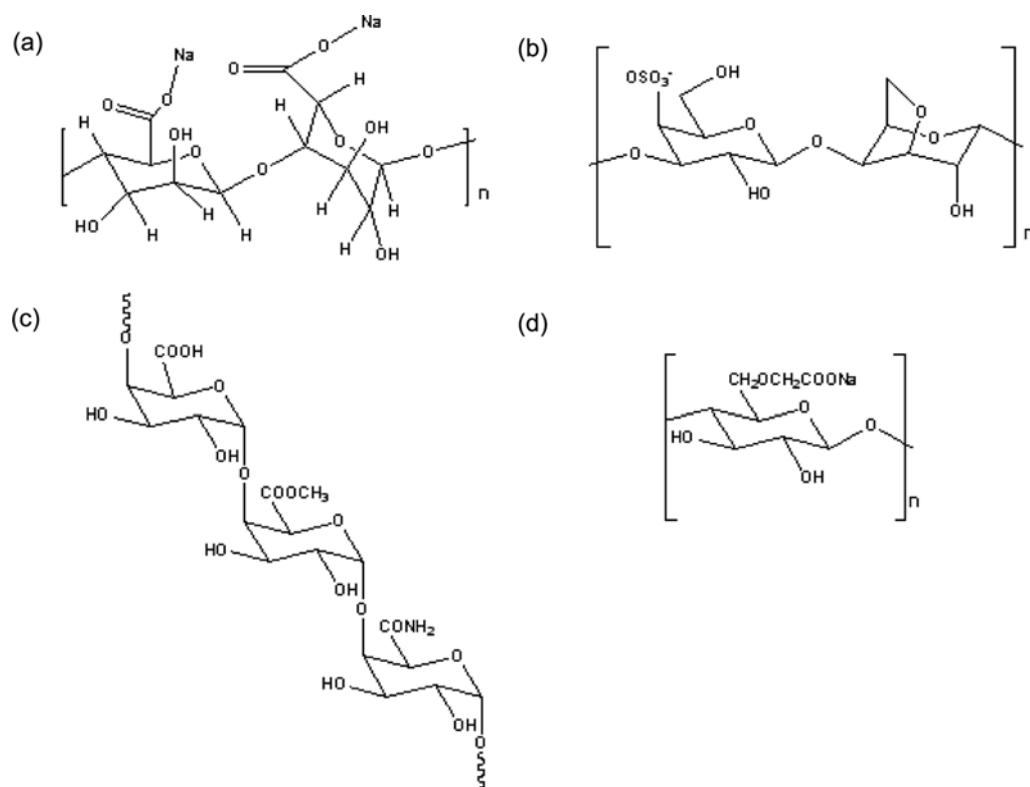


Figure 1. Structures of (a) sodium alginate; (b) kappa-carrageenan; (c) amide pectin; (d) sodium carboxymethyl cellulose.

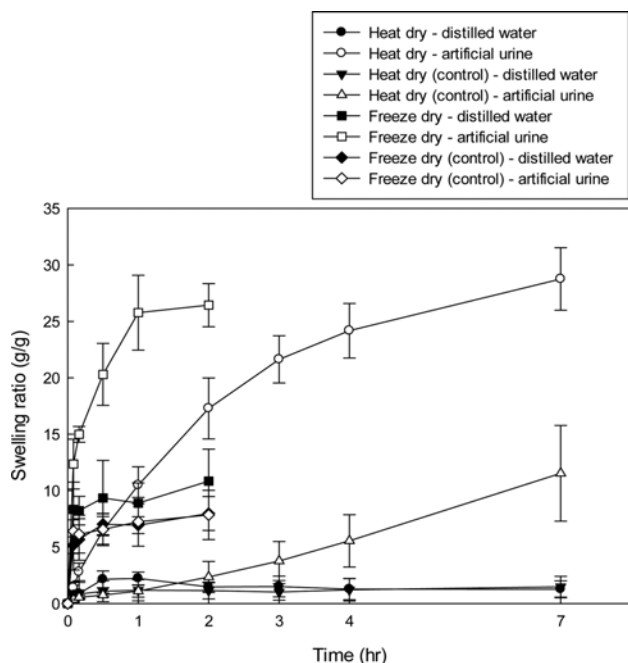


Figure 2. Swelling kinetics of alginate hydrogels in distilled water (● heat dried porous hydrogel; ▼ heat dried control hydrogel; ■ freeze dried porous hydrogel; ◆ freeze dried control hydrogel) or artificial urine (○ heat dried porous hydrogel; △ heat dried control hydrogel; □ freeze dried porous hydrogel; ◇ freeze dried control hydrogel). Control hydrogels were prepared without forming bubbles.

분을 흡수하는 것으로 사료된다. 또한 기공을 형성시킨 알긴산 하이드로젤이 기공을 형성시키지 않은 알긴산 하이드로젤과 비교했을 때 증류수, 인공뇨에서 모두 높은 팽윤도와 빠른 팽윤속도를 보였다. 이는 기공을 형성함으로써 형성된 내부의 연속적으로 연결된 열린 구조가 표면의 미세한 기공을 통하여 외부와 연결되어 있어 수분의 원활한 이동이 이루어졌기 때문에 수분흡수량이 증가하였음을 알 수 있다. 알긴산 하이드로젤은 증류수에서 보다 인공뇨에서 높은 팽윤도를 보였다. 이것은 알긴산 하이드로젤의 경우 과량의 염 수용액에 존재하는 Na⁺, K⁺ 등의 양이온이 알긴산 하이드로젤의 COO⁻와 이온결합하고 그 양이온들이 알긴산 하이드로젤의 Ca²⁺과 이온교환이 이루어짐에 따라 높은 팽윤도를 가지는 것으로 판단된다. 이와 비슷한 현상으로 폴리아크릴아미드 하이드로젤이 염화나트륨, 염화칼륨 수용액에서 증류수에서 보다 높은 팽윤도를 보인다는 보고가¹⁴ 있었다.

알긴산 하이드로젤의 구조분석. Figure 3은 기공을 형성시킨 알긴산 하이드로젤과 기공을 형성시키지 않은 알긴산 하이드로젤의 내부구조를 digital microscope으로 관찰한 사진이다.

Figure 3(a)는 기포발생제를 첨가하지 않은 알긴산 하이드로젤의 내부구조 사진으로 겹겹이 층이 형성된 구조를 보인다. Figure 3(b)는 기포발생제를 첨가한 알긴산 하이드로젤의 내부구조 사진으로 500 μm 이상의 공극들이 서로 연결되어 3차

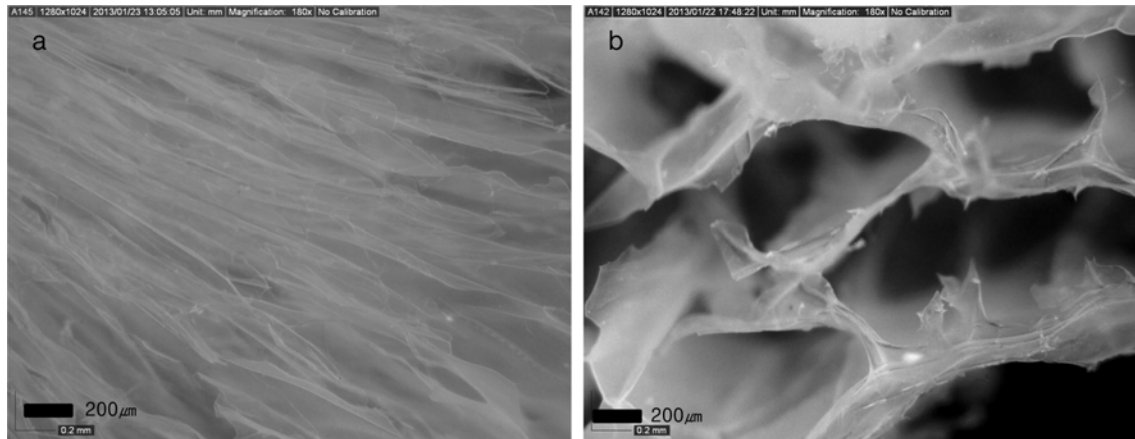


Figure 3. SEM images of freeze dried alginate hydrogels: (a); control alginate hydrogel (b); porous alginate hydrogel.

Table 2. Porosities of Alginate Hydrogels

	Porosity(%)
Control hydrogel	35.56±3.84
Porous hydrogel	63.05±3.37

원적으로 열린 채널의 다공성 구조를 이루고 있는 것을 확인할 수 있다. Table 2는 알긴산 하이드로젤의 공극률 측정 결과이다. 하이드로젤의 공극률을 측정하기 위해 미리 측정된 일정한 부피의 에탄올(V_1)에 하이드로젤을 침지시킨 후, 부피를 측정하였다(V_2). 하이드로젤을 제거한 후 남은 에탄올 부피(V_3)를 측정하였고 하이드로젤의 전체부피(V_T)는 식 (3)에 의해 계산하였다. 공극률은 식 (4)에 의해 계산하였다.¹⁵

$$V_T = V_2 - V_3 \quad (3)$$

$$\text{공극률(\%)} = \left(\frac{V_1 - V_3}{V_T} \right) \times 100 \quad (4)$$

기공을 형성시키지 않은 대조군 알긴산 하이드로젤의 공극률은 35.56±3.84%로 측정되었고 기공이 형성된 알긴산 하이드로젤의 공극률은 63.05±3.37%로 대조군 하이드로젤보다 높은 공극률을 가진 것을 확인하였다. 모세관 현상에서 액면의 높이와 기공의 안쪽지름은 반비례하므로¹⁶ 보다 더 작은 기공크기를 가진다면 더 빠른 흡수속도와 높은 팽윤도를 가질 것으로 사료된다.

카파 카라기난/카라야 검 하이드로젤의 팽윤거동. Figure 4는 카파-카라기난/카라야 검 하이드로젤의 증류수에서의 팽윤거동이다. 대조군인 카파-카라기난으로만 만든 하이드로젤은 60분에 35 g/g의 팽윤도를 나타낸 이후부터 급격한 이수현상으로 인해 16 g/g까지 팽윤도가 감소하는 것을 볼 수 있으나 카라야 검이 첨가된 실험군은 모두 60분 이후에 35 g/g 이상의 팽윤도를 유지하였으며 이후 120분까지도 이수현상이 크게 줄어든 것을 관찰할 수 있다. 이것은 카라야 검이 수

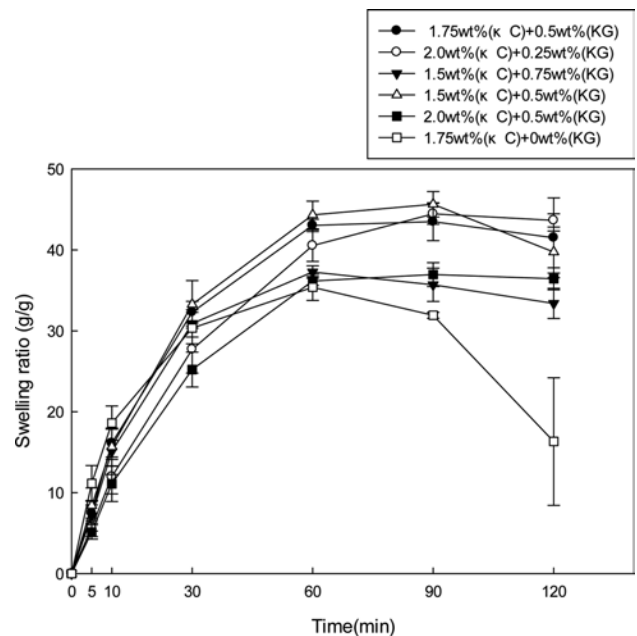


Figure 4. Swelling kinetics of κ -carrageenan/karaya gum(κ C/KG) hydrogels in distilled water; ● 1.75:0.5 wt%; ○ 2:0.25 wt%; ▼ 1.5:0.75 wt%; △ 1.5:0.5 wt%; ■ 2:0.5 wt%; □ 1.75:0 wt%.

화됨으로써 검 입자와 물 사이의 친화력이 증가함에 따라 높은 팽윤도를 유지하는 것으로 보인다.¹⁷ 최적의 조성비를 갖는 하이드로젤은 60분부터 120분까지 40 g/g 이상의 팽윤도를 유지하고 있는 카파-카라기난과 카라야 검을 각각 1.75:0.5 wt%와 2:0.25 wt%의 비율로 혼합한 하이드로젤임을 알 수 있다. 카파-카라기난과 카라야 검을 2:0.25 wt% 비율로 혼합하여 제조한 하이드로젤은 다른 비율로 제조된 하이드로젤보다 느리게 팽윤상태에 도달하므로 이수현상이 보다 천천히 일어나 낮은 카라야 검 함량에도 120분까지 높은 팽윤도를 유지하는 것으로 판단된다. 한편, 기포발생제를 첨가한 하이드로젤은 기포발생제를 첨가하지 않은 하이드로젤과 비교하

였을 때 불안정한 팽윤거동을 보였고 카파-카라기난/카라야검 하이드로젤은 식염수, 인공뇨 등 염을 첨가한 수용액에서는 증류수보다 낮은 팽윤도를 보이는 것을 예비실험으로 확인하였다. 일반적으로 하이드로젤이 증류수 대신 염 용액에 침지되어있을 때 하이드로젤 내부와 외부환경, 즉 염 용액 사이의 삼투압 차이는 염 용액의 삼투압 때문에 감소한다. 따라서 염용액에서 하이드로젤의 최종적인 팽윤도는 증류수에서 보다 낮다.¹⁸

아미드펙틴 하이드로젤의 팽윤거동. Figure 5는 건조방법에 따른 아미드펙틴 하이드로젤의 증류수, 생리적 식염수, 인공뇨에서의 시간에 따른 팽윤도를 나타낸 것이다. 그림에 나타난 바와 같이 동결건조한 아미드펙틴 하이드로젤들은 열건조한 아미드펙틴 하이드로젤보다 10~30분 안에 평형팽윤 상태에 도달하는 신속팽윤성을 보였다. 또한 증류수, 식염수, 인공뇨에서의 팽윤거동을 관찰한 결과 증류수, 식염수, 인공뇨의 순으로 우수한 팽윤거동을 보였는데 이는 식염수, 인공뇨에서 보다 증류수에서 하이드로젤의 삼투압이 크게 작용하기 때문인 것으로 보인다. 앞에서 다뤘듯이 하이드로젤은 염 용액 안에 잠길 때 외부용액과 내부 하이드로젤 사이의 삼투압 차이는 외부용액의 삼투압에 의해 감소되므로 하이드로젤에서의 팽윤도는 증류수인 경우에 비해 염 용액일 때 낮아진다.¹⁸ 한편, 기포발생제를 넣지 않은 하이드로젤이 기포발생

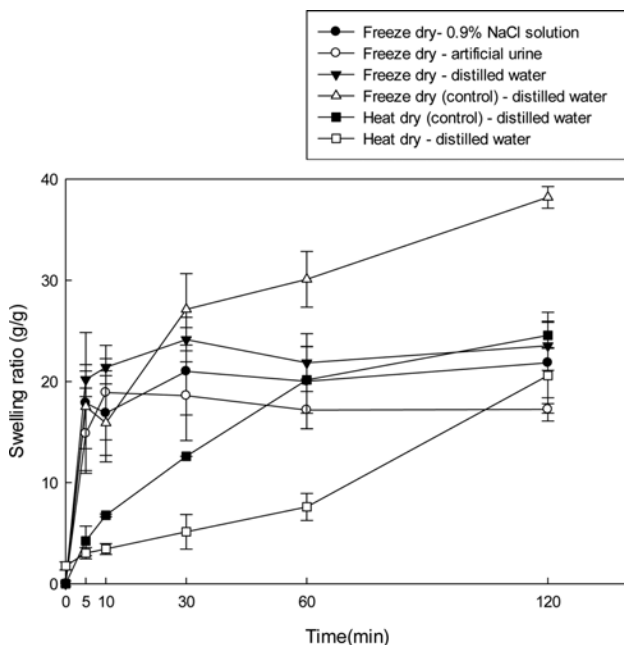


Figure 5. Swelling kinetics of amide pectin hydrogels in 0.9% NaCl solution(● freeze dried porous hydrogel), artificial urine(○ freeze dried porous hydrogel), or distilled water(▼ freeze dried porous hydrogel; △ freeze dried control hydrogel; ■ heat dried control hydrogel; □ heat dried porous hydrogel). Control hydrogels were prepared without forming bubbles.

제를 넣어 기공을 형성시킨 하이드로젤보다 높은 팽윤도를 보였는데 이것은 기공을 형성시킨 아미드펙틴 하이드로젤을 동결건조하는 과정에서 형성된 기공의 형태가 변형되고 구조가 무너졌기 때문인 것으로 판단된다(예비실험결과).

Figure 6은 pH 5.5, 6.2인 인공뇨 완충액에서 시간에 따른 아미드펙틴 하이드로젤의 팽윤도를 나타낸 그래프이다. 팽윤 시간 120분 전후 pH 5.5와 6.2의 팽윤비는 약 1 g/g의 차이의 일시적인 역전현상이 관찰되었다. pH 5.5에서는 빠른 시간 내에 팽윤상태에 도달하지만 팽윤도가 낮은 것을 확인할 수 있었다. pH 6.2에서는 5.5에서 보다 두 배의 시간 후에 팽윤상태에 도달되는 현상을 관찰하였다. 하지만, pH 8.1일 때가 6.2 혹은 5.5일 때보다 팽윤도가 가장 높았다. 이는 pH가 약산성일 때는 하이드로젤 안의 카르복실기가 COOH를 취하다가 pH가 증가함에 따라 COO⁻ 기리 반발하여 팽윤도가 증가한 것으로 보인다.

하이드로젤 안의 물의 확산현상은 확산과 고분자 이완의 상대 속도에 따라 2가지 형태로 분류된다. 첫째, 확산속도가 이완속도보다 아주 늦을 때는 case I 혹은 Fickian 확산이 일어난다. 둘째, 확산이 이완보다 매우 빠를 때는 case II 확산(이완제어형 전달)이 일어난다.¹⁹ 팽윤시간과 하이드로젤 내부로 침투한 물의 흡수분율(M_t/M_∞) 사이의 관계에서 흡수분율이 0.6보다 작은 부분에 대해서는 식 (5)로 표현되는 수학적 관계를 적용할 수 있다.²⁰

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^n \quad (5)$$

여기서, M_t 는 시각 t 에서 하이드로젤 네트워크로 흡수된 물의 질량, M_∞ 는 네트워크 내부로의 흡수가 평형에 도달하였을 때의 물의 질량, k_1 은 하이드로젤의 특성상수(characteristic constant), n 은 특성지수(characteristic exponent)로서 용매의

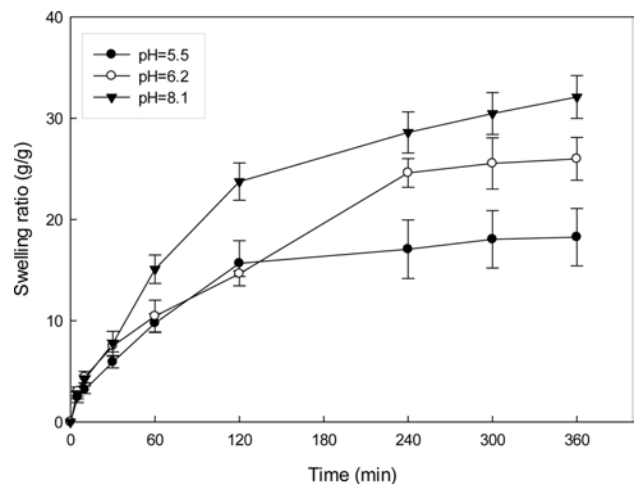


Figure 6. Swelling kinetics of amide pectin hydrogels in pH 5.5, 6.2, and 8.1 artificial urine.

Table 3. Parameters n , k_1 of eq. (3) for Amide Pectin Hydrogels Swollen in pH 5.5, 6.2, and 8.1 Artificial Urine

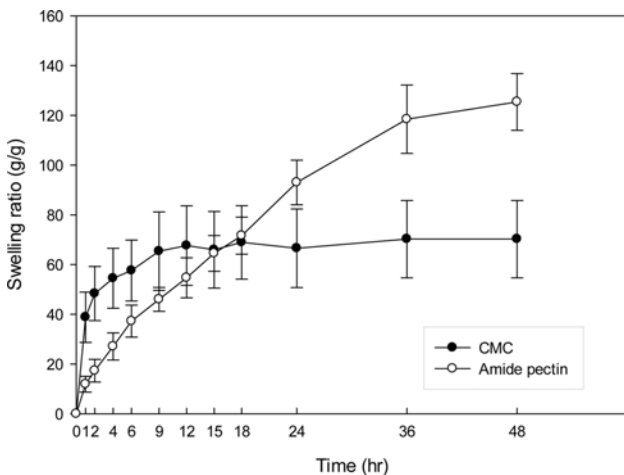
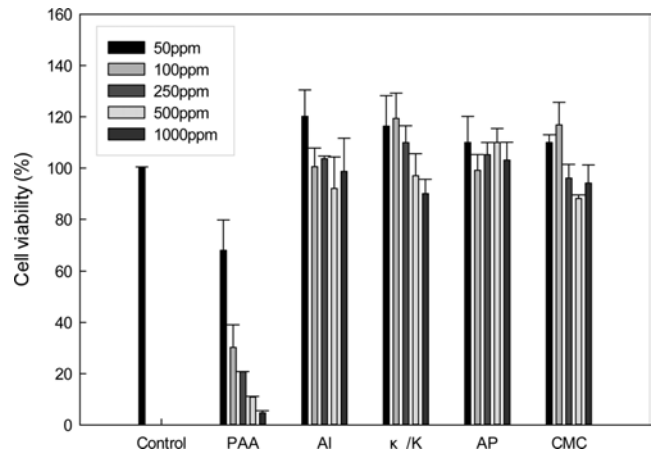
	n	k_1 (min ⁻ⁿ)
pH 5.5	0.558	0.051
pH 6.2	0.494	0.053
pH 8.1	0.557	0.052

침투 메카니즘의 유형을 나타낸다. 이 n 값에 따라 다른 용매 침투 메카니즘을 갖는데, $n=0.5$ 이면 Fickian 확산이고 $n=1$ 이면 Case II 확산을 의미한다.²¹

실험데이터를 이용하여 $\ln(M_t/M_\infty)$ vs $\ln t$ 를 계산해서 plot 하면 기울기와 절편으로부터 각각 상수 n 과 k_1 을 구할 수 있었다.

실험데이터는 3번 실험한 평균값을 사용하였으며 계산한 n , k_1 은 Table 3에 정리하였다. pH가 6.2일 때 n 은 0.49라는 0.5에 가장 근접한 값을 가지는 것을 알 수 있었고 그것은 용매의 침투 메카니즘이 전형적인 Fickian 확산이라는 것을 의미한다. pH가 5.5일 때와 8.1일 때 n 이 0.56 정도이므로 이완 제어형 확산이 가미된 Fickian 확산임을 알 수 있다.

CMC 하이드로젤의 팽윤거동. Figure 7은 열건조한 CMC 하이드로젤과 아미드펙틴 하이드로젤의 증류수에서의 팽윤도를 나타낸 것이다. CMC 하이드로젤은 9시간 후에 팽윤상태에 도달하였으며 약 70 g/g의 팽윤도를 보였다. 아미드펙틴 하이드로젤은 48시간 후에 팽윤상태에 도달하였으며 약 125 g/g의 높은 팽윤도를 보였다. 아미드펙틴 하이드로젤은 아미드기 때문에 칼슘이온과 가교결합하는 자유 카르복실기가 감소하나²² 아미드펙틴은 칼슘결합 능력의 감소에도 아미드화된 부분과 수소결합 형성을 통해 안정한 겔을 형성한다.²³ 아미드펙틴 하이드로젤과 비교했을 때 CMC 하이드로젤은 더 빨리 팽윤하는 거동을 보이는데, 이는 CMC 분자의 높은 친수

**Figure 7. Swelling kinetics of CMC hydrogels and amide pectin hydrogels in distilled water.****Figure 8. Cytotoxicity of hydrogels in Raw 264.7 cells for 24 hr using MTT assay(n = 3). PAA: poly(acrylic acid); AI: alginate hydrogel; κ /K: κ -carrageenan/karaya gum hydrogel; AP: amide pectin hydrogel; CMC: CMC hydrogel.**

성에 기인하며 아미드펙틴 하이드로젤이 더 높은 팽윤도를 가지는 이유는 낮은 가교밀도로 인해 더 많은 물이 흡수되기 때문일 것이다.²⁴ 한편, 기포발생제를 첨가한 CMC 하이드로젤을 제조하는 실험과정 중 homogenizer를 사용하는 과정에서 기포발생제에 의해 거품이 발생하고 점성이 감소하는 현상에 의해 불안정한 겔이 형성되고 팽윤도의 측정이 불가능하였다. 이러한 결과는 발포제를 첨가함에 따라 CMC 사이의 결합이 약해졌기 때문인 것으로 사료된다.

아미드펙틴 하이드로젤이나 CMC 하이드로젤은 식생매트로 유용할 것으로 보인다.

세포 독성실험. Figure 8은 하이드로젤의 세포독성 결과이다. 사용된 MTT assay는 생육된 RAW 264.7세포를 통해 독성을 판정하는 방법으로서 흡광도를 측정하는 것이다. 폴리 아크릴산의 세포독성이 높은 것으로 나타났고 알긴산, 카파-카라기난/카라야 검, 아미드펙틴, CMC 하이드로젤의 세포독성 평가는 모든 농도에서 세포독성이 매우 낮은 것으로 나타났다.

결론

본 연구에서는 생물고분자를 이용하여 빠른 흡수속도와 높은 흡수량을 가지는 저독성 흡수제를 제조하였다. 제조한 하이드로젤들은 신속팽윤성 또는 고흡수성을 나타냈으며 낮은 세포독성을 보였다. Digital microscope을 이용하여 알긴산 하이드로젤의 기공구조를 확인하였으며 용매의 침투 메카니즘을 수학적으로 해석하여 pH 6.2의 인공뇨에서 아미드펙틴 하이드로젤의 팽윤이 Fickian 확산을 따른다는 것을 확인하였다.

신속팽윤성을 보이는 알긴산 하이드로젤과 카파-카라기난/카라야 검 하이드로젤은 기저귀 및 위생용품에 적용할 수 있

고 팽윤속도는 더디나 높은 평형팽윤도를 보이는 CMC 하이드로젤과 아미드펙틴 하이드로젤은 식생매트로 활용 가능할 것으로 기대된다.

본 실험에서 제조한 하이드로젤은 다양한 생물고분자를 이용하여 하이드로젤의 공극구조 형성 및 조성비의 조절을 통해 앞으로 다양한 분야에서의 응용이 기대된다.

감사의 글: 본 연구는 교육과학기술부와 한국연구재단의 지역혁신 인력양성사업에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. H. Omidian, J. G. Rocca, and K. Park, *J. Contr. Rel.*, **102**, 3 (2005).
2. R. A. Gemeinhart, H. Park, and K. Park, *Polym. Adv. Technol.*, **11**, 617 (2000).
3. S. G. Kang, *Polymer Science and Technology*, **13**, 4 (2002).
4. W. L. Nelson and L. H. Cretcher, *J. Am. Chem. Soc.*, **51**, 1914 (1929).
5. U. Zimmermann, G. Klock, K. Federlin, K. Haning, M. Kowalski, R. G. Bretzel, A. Horcher, H. Entenmann, U. Siebers, and T. Zekorn, *Electrophoresis*, **13**, 269 (1992).
6. E. R. Morris, D. A. Rees, and C. Robinson, *J. Molecular Biology*, **138**, 349 (1980).
7. K. B. Guiseley, N. F. Stanley, and P. A. Whitehouse, *Carrageenan in handbook of watersoluble gums and resins*, McGraw-hill, New York, 1980.
8. R. K. Richardson and F. M. Goycoolea, *Carbohydr. Polym.*, **24**, 233 (1994).
9. M. Axelos, C. Garnier, J. F. Thibault, and C. Renard, *Progress in Biotechnology*, **14**, 35 (1996).
10. P. F. Liu, M. L. Zhai, J. Q. Li, J. Peng, and J. L. Wu, *Radiat. Phys. Chem.*, **68**, 771 (2003).
11. S. K. Bajpai, M. Bajpai, and L. Sharma, *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.*, **43**, 507 (2006).
12. P. Sriamornsak and R. A. Kennedy, *J. Pharmaceutics*, **434**, 72 (2006).
13. T. Mosmann, *J. Immunol. Methods*, **65**, 55 (1983).
14. J. Theil and G. Maurer, *Fluid Phase Equilibria*, **165**, 224 (1999).
15. P. Eiselt, J. Yeh, R. K. Latvala, L. D. Shea, and D. J. Mooney, *Biomaterials*, **21**, 1921 (2000).
16. P. Atkins and J. D. Paula, *Physical Chemistry*, Oxford University, New York, p 648 (2010).
17. B. Singh and L. Pal, *J. Eur. Polym.*, **44**, 3222 (2008).
18. J. Crank and G. S. Park, *Diffusion in Polymers*, Academic Press, New York, p 377 (1968).
19. T. Alfrey, E. F. Gurnee, and W. G. Lloyd, *J. Polym. Sci., Part C*, **12**, 249 (1966).
20. P. L. Ritger and N. A. Peppas, *J. Contr. Rel.*, **5**, 37 (1987).
21. B. S. Kim, *Korean Chem. Eng. Res.*, **43**, 299 (2005).
22. W. J. Kim, V. N. M. Rao, and C. J. B. Smith, *J. Food Sci.*, **43**, 572 (1978).
23. M. Alonso-Mougan, F. Mejjide, A. Jover, E. Rodriguez-Nunez, and J. Vazquez-Tato, *J. Food Eng.*, **55**, 123 (2002).
24. P. Sriamornsak and R. A. Kennedy, *J. Pharmaceutics*, **358**, 205 (2008).