

Gelatin과 Poly(vinyl alcohol)(PVA)과의 相互作用*

曹鍾中 · 李榮旻 · 蔡奎皓 · 金在汶

全南大學校 工科大学 化工科

(1981년 11월 30일 접수)

Interaction between Gelatin and Poly(vinyl alcohol)

Chong-Su Cho, Chan-Min Lee, Kyu-Ho Chae and Jai-Moon Kim

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Chonnam National University, Kwang-ju 500, Korea.

(Received November 30, 1981)

要約: 水溶液에나 gelatin과 PVA와의 相互作用에 對하여 檢討하였다. gelatin과 PVA의 全體混合 濃度와 pH와의 關係를 30°C에서 phase diagram으로 나타내면 液-液相分離(coacervation)가 일어나는 영역과 相分離가 일어나지 않는 均一溶液領域으로 나누어 진다. 液-液相分離의 強度는 gelatin의 등전점 부근인 pH5에서 가장 컸고 또한 濃度가 짙을수록 強度는 증가 하였으나 온도는 높을수록 強度는 감소하였다. gelatin水溶液과 PVA水溶液 사이에 液-液 相分離가 일어나는 이유는 兩 polymer 間에 水素結合으로 因하여 생긴다고 생각된다. 相分離가 일어나지 않는 領域에서도 gelatin과 PVA 사이에는 相互作用을 하고 있고 相分離가 일어나는 領域과 같이 gelatin은 PVA에 의하여 PVA는 gelatin에 의하여 各各構造變化를 일으킴을 알 수 있었다.

Abstract: The interaction between gelatin and PVA in aqueous solutions was investigated. Two regions existed in the total coacervation-pH diagram; one was a coacervation region consisting of two liquid phases, and the other a non-coacervation region consisting of a homogeneous liquid phase. In the latter it appears that hydrogen bonding between gelatin and PVA occurs. The intensity of coacervation was the strongest at pH5, increased with the increase of temperature. It maybe regarded that the coacervation phenomenon is attributed to the hydrogen bonding between the two polymers. We know that the conformational changes of two polymers occurred because of the interaction between them.

I. 序 論

高分子과 高分子의 相互作用은 1890年頃부터 蛋白質과 炭水化物を 다른 混合物에서 分離하러

는 데서 부터 出發하여¹⁾ 1930年頃에 Bundenberg de Jong에 依해 처음으로 高分子과 高分子의 相互作用에서 얻어진 液-液相分離에서 complex coacervation이라는 이름이 붙어졌다²⁾. Watson

등⁴⁾은 核酸의 情報傳達은 高分子間의 相互作用에 依한 것이라고 보고를 하였고 其他의 生體內의 反應 및 生合成의 거의가 高分子間의 複合體를 形成하여 生體의 機能發現과 밀접한 關係가 있다고 보고된 바 있다. 이러한 生體內에서의 高分子間의 相互作用의 관점 외에도 高分子間의 相互作用에 의하여 얻어진 複合體는 反應前의 各各의 高分子에서 볼 수 없는 새로운 特性을 나타냄으로 인하여 ion-交換樹脂膜, 醫料材料 및 電導性 polymer 등의 새로운 機能性 高分子開發에 對한 研究로서도 活潑히 進행되었다^{4), 5)}.

Gelman等⁶⁾과 曹等⁷⁾은 關節組織의 機能發現이 蛋白質과 多糖과의 相互作用에 依한다는 것⁸⁾에 着眼하여 合成 polypeptides와 多糖과의 相互作用을 poly(amino acid)의 구조변화로 검토하였던 바 反應條件에 따라서 poly(amino acid)는 α -helix가 形成되는(α -helix directing effect) 것과 α -helix가 파괴되는(α -helix breaking effect) 등의 구조변화를 가져 왔다.

본 研究에서는 단백질로서는 collagen의 變性蛋白質인 gelatin과 多糖 model化合物로서는 구조가 간단한 PVA와의 相互作用에 對한 것들 pH, 온도 및 농도에 따라서 檢討하였다.

II. 實驗

1. 試藥

gelatin은 市販特級品(日本和光純藥製品)을 진공건조하여 使用하였다. PVA는 市販特級品(日本和光純藥製品, DP1,500, 겹화도 98.5~99%)을 진공건조하여 使用하였다.

2. 實驗方法

2-1. gelatin과 PVA水溶液의 混合.

항근조에서 온도와 濃度 및 pH가 일정한 gelatin水溶液을 같은 온도와 濃度 및 pH의 PVA水溶液에 떨어 뜨리면서 교반하여 混合 하였다.

2-2. 원심분리

위에서 얻은 sample을 Hitachi 20-5型的 centrifuge를 使用하여 10,000r.p.m의 속도로서

원심분리 시켰다.

2-3. 濃度 및 부피 測定

2) 항에서 상분리된 平衡 상태하의 상층의 농도와 하층(coacervate)의 농도를 굴절계를 使用하여 측정하고 아울러 상하층의 부피도 측정하였다.

2-4. 液-液相分離의 강도 測定

液-液相分離의 강도는 Veis의 方法⁹⁾에 따라서 우선 total농도와 total부피에서 하층에 분리된 fraction ρ 와 상층농도와 하층농도의 비($\epsilon = C_C/C_L$)를 구해 $\theta = \rho \times \epsilon$ 의 式에 의해 각각의 pH, 온도, 농도에 따라서 산출하였다.

2-5. 광학 현미경의 관찰

相分離가 일어난 coacervation 現象을 광학 현미경을 使用하여 관찰하였다.

2-6. gelatin/PVA복합체 水溶液의 透過度の 測定

상분리가 일어나지 않는 영역에서의 相互作用을 검토하기 위하여 gelatin/PVA 복합체 수용액을 Varian제 Super Scan-3型 可視分光光度計를 使用하여 波長 400mm에서 透過度を 測定하였다

2-7. I.R Spectrum의 測定

液-液相分離 영역에서의 상, 하층 및 non-coacervation영역의 各各의 sample의 구조변화를 알기 위해 gelatin/PVA複合體를 film狀으로 만들어 Shimadzu IR-43型 赤外分光光度計를 使用하여 측정하였다.

III 結果 및 考察

1. gelatin/PVA 복합체 수용액의 phase diagram

Fig.1은 gelatin과 PVA의 weight 比가 1일때 30°C에서 양 polymer의 全體濃도와 pH와의 關係를 phase diagram으로 나타낸 것이며, 이 그림에서 나타내는 바와같이 液-液相分離가 일어나는 領域과 相分離가 일어나지 않는 均一溶液領域으로 나누어짐을 알 수가 있었다.

2. 溫度變化에 따른 液-液相分離의 강도의 測定

Fig.2는 Fig. 1에서 낮은 濃度에서도 液-液相分

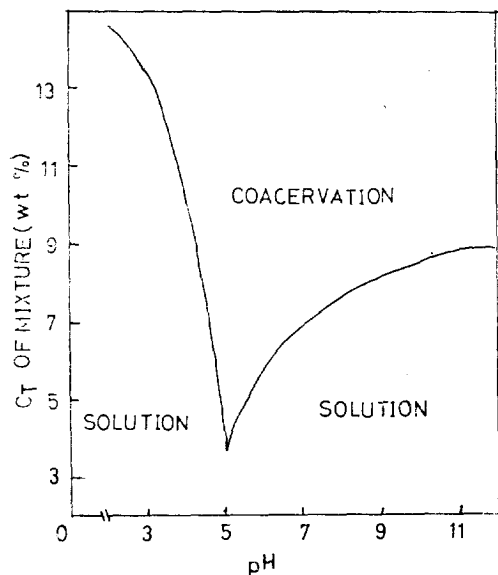


Figure 1. Phase diagram of the gelatin/PVA mixture. gelatin/PVA=1(wt/wt), temperature=30°C.

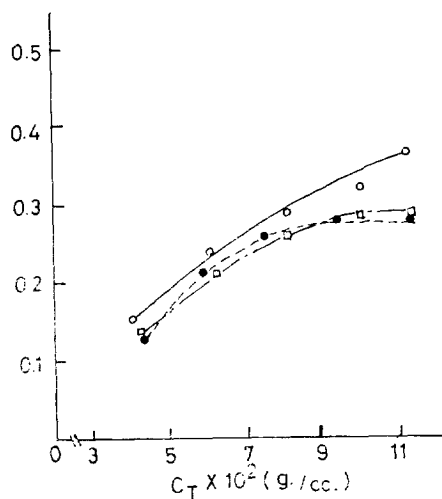


Figure 2. The fractions of polymers in the coacervate phase as a functions of the initial concentration. Temperature: 30°C(○), 40°C(□) and 50°C(●) respectively. pH, 5.1.

離가 일어나는 pH 5부근에서의 液-液相分離의 강도를 조사하기 위하여 溫度變化에 따른 최초

의 兩 polymer의 混合濃度와 ρ 값의 관계를 나타낸 것으로서 농도가 증가 할 수록 ρ 값은 증가하고 온도가 높을수록 ρ 값은 감소하는 경향을 나타내었다. Fig. 3은 같은 조건에서의 ϵ 값을 나타낸 것으로 농도에서는 경향을 잡을 수 없었으나 溫度가 높을수록 ϵ 값은 감소하고 있었다. Fig 2.의 ρ 값과 Fig 3의 ϵ 값을 綜合한 θ 값을 Fig 4에 나타내었는데 그림에서 나타나는 바와같이 θ 값은 濃度가 클 수록 커지지만 溫度는 높을수록 작아지는 경향을 얻을 수 있었다. 여기에 대한 이유로서는 濃度가 커지면 커질수록 gelatin分子와 PVA分子間에 충돌횟수가 많아져 θ 값은 커지지만 溫度가 높으면 兩分子間에 發生하는 水素結合력이 弱해지기 때문에 θ 값은 작아진다고 생각된다.

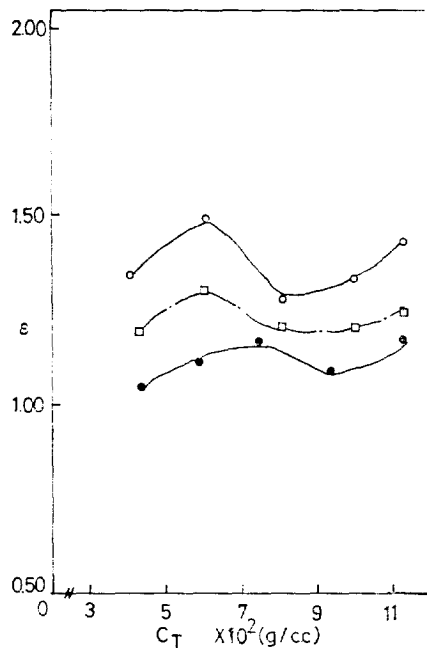


Figure 3. The ratio of the coacervate and equilibrium liquid polymer concentrations as a functions of the initial concentration. Temperature: 30°C(○), 40°C(□) and 50°C(●) respectively. pH, 5.1.

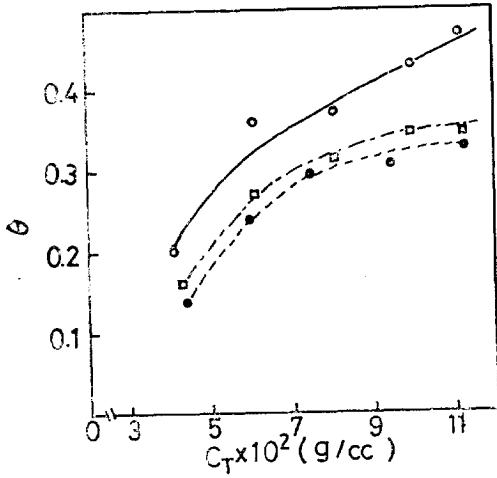


Figure 4. The intensity of coacervation as a functions of the initial concentration. Temperature: 30°C (○), 40°C (□) and 50°C (●) respectively. pH, 5.1.

3. pH變化에 따른 液-液相分離의 강도의 測定

Fig. 5는 30°C에서 pH와 ρ값을 나타낸 것으로 濃도가 질수록 ρ값은 커짐을 알 수가 있었다.

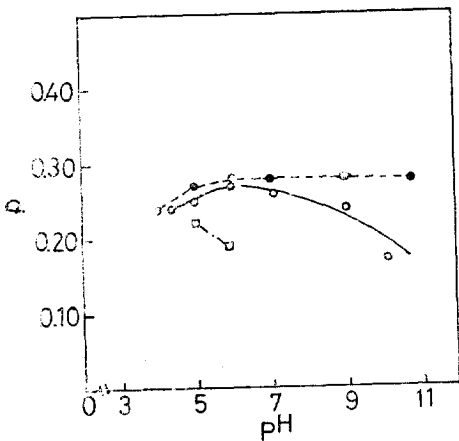


Figure 5. The fractions of polymers in the coacervate phase as a functions of the pH values. polymer initial concentration: 6.0% (□) and 12.6% (●) respectively. Temperature 30°C.

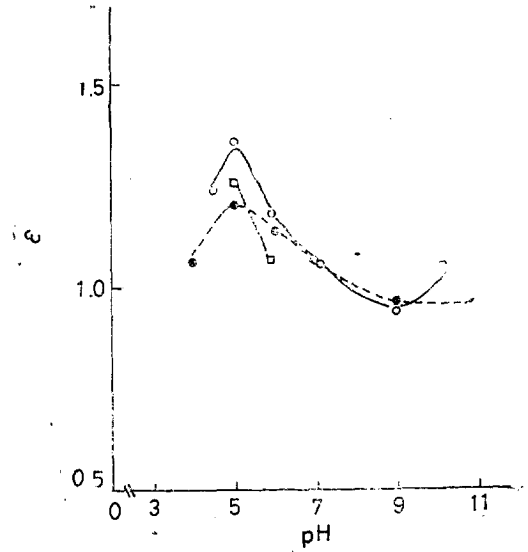


Figure 6. The ratio of the coacervate and equilibrium liquid polymer concentrations as a functions of the pH values. polymer initial concentration: 6.0% (□), 8.8% (○) and 12.6% (●) respectively. Temperature 30°C.

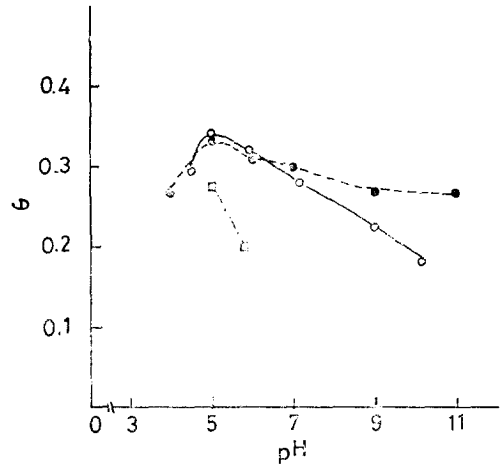


Figure 7. The intensity of coacervation as a functions of the pH values. polymer initial concentration: 6.0% (□), 8.8% (○) and 12.6% (●) respectively. Temperature 30°C.

Fig. 6은 같은 조건에서의 ϵ 값을 나타낸 것으로서 농도에 대한 경향은 얻을 수 없었으나 gelatin의 등전점 부근인 pH 5에서 가장 큰 ϵ 값을 얻었다. Fig. 5의 ρ 값과 Fig. 6의 ϵ 값을 종합한 θ 값을 Fig 7에 나타내었는데 그림에서 나타내는 바와 같이 등전점 부근인 pH 5에서 θ 값은 가장 크고 농도는 높을수록 θ 값은 증가함을 알 수가 있었다. gelatin의 등전점 부근에서 液-液相分離의 강도가 가장 크게 나타난 것은 Fig. 1의 phase diagram에서도 pH 5부근에서는 묽은 농도에서도 상분리가 일어나고 있는 것으로 보아 液-液相分離와 gelatin의 등전점과의 사이에 밀접한 관계가 있다고 생각된다.

4. 광학 현미경에 의한 液-液相分離의 觀察

광학 현미경으로 液-液相分離現象을 관찰한 것이 Fig. 8로서 사진에서 나타내는 바와 같이 작은 물방울과 같은 것을 볼 수가 있었다. 대칭적으로 液-液相分離의 강도가 큰 수록 작은 물방울이 분집해 있는 것을 알 수가 있었다.

5. 液-液相分離의 生成機構

液-液相分離의 生成機構에 對한 것을 간단한 모델로서 說明하면 Fig. 9와 같다. (A)의 모델은 polyion-polyion complex 形成에서 정전기적 인력이 클때는 液-固體의 相分離가 일어나는데에 대해서, 정전기적 인력이 작을때는 (B)와같은 液-液相分離現象인 液-液相分離가 일어나고 있는

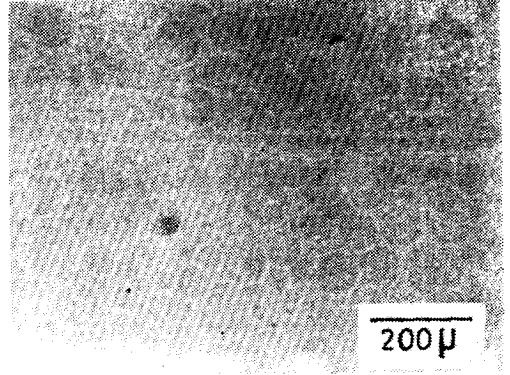


Figure 8. Optical micrograph of coacervate form of gelatin/PVA mixture.

것에 관해 Voorn¹⁰⁾은 열역학적으로 說明을 하였고, Veis¹¹⁾는 熱力學的의에 solute와 solvent의 상호 parameter로서 說明을 하였다. 그러나 PVA와 gelatin사이에는 ion과 ion이 아니고 ion과 dipole관계로서 위에서 說明한 mechanism과 달리 說明을 해야 되리라 믿는다. 즉 gelatin의 COO⁻group과 NH₃⁺group이 PVA의 OH group과의 사이에 水素結合이 생성됨으로 인하여 gelatin과 PVA사이에서 液-液相分離現象이 일어난다고 우선 정성적으로 說明하였다. 이것을 모델로서 나타내면 (C)와 같이 나타내진다.

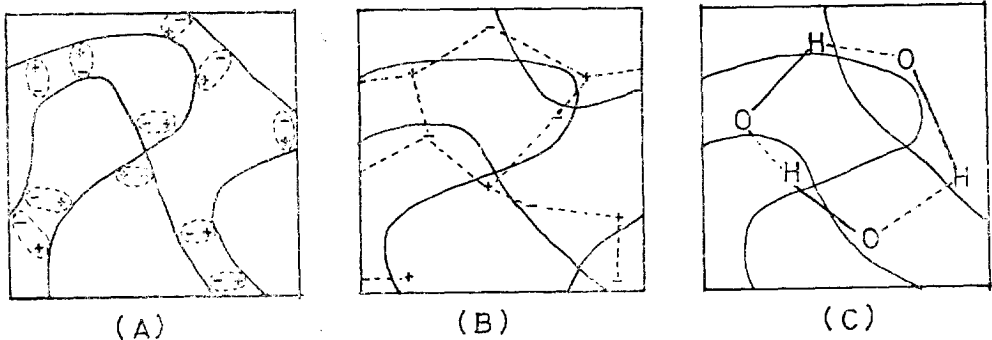


Figure 9. Models for coacervates: polyion complex(A), coacervate in Coulomb's force(B) and coacervate in hydrogen bonding(C) respectively.

6. gelatin/PVA複合體水溶液의 투과도 測定

Fig. 1의 phase diagram中 non-coacervation領域에서는 gelatin과 PVA가 相互作用이 없는 단지 두 polymer가 混合物로서만 存在하는 가를 確認하기 위하여, 一定量の PVA水溶液에 gelatin量을 添加시키면서 pH 5에서 混合物의 透過도를 測定한 것이 Fig. 10이다. 그림에서 나타내는 바와같이 30°C에서는 gelatin量이 PVA量보다 20倍以上의 狀態에서야 相互作用을 觀測할 수 있었다. 5°C의 낮은 溫度에서는 gelatin/PVA(wt/wt)=1부터 현저히 turbid하기 시작하는 것으로 보아 gelatin과 PVA와는 non-coacervation영역에

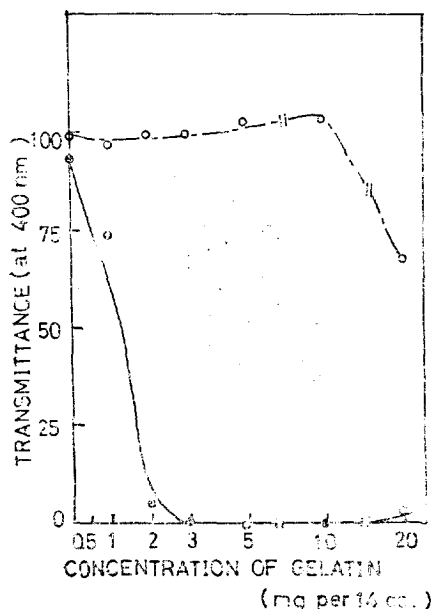


Figure 10. Transmittance changes of gelatin/PVA complexes in aqueous solutions according to the concentration of gelatin. Temperature: 30°C (○) and 5°C (●) respectively. pH, 5.

서도 水糲結合을 하고 있다고 생각된다. pH 3.2와 9.8에서도 같은 경향을 나타내었다.

7. gelatin/PVA複合體의 IR spectra의 測定

gelatin과 PVA와의 相互作用에 의해서 各各의 polymer의 구조변화에 대하여 IR spectra로써 검토를 했는데 coacervation領域과 non-coacervation領域 둘 다 같은 경향을 나타내고 있어 gelatin은 random coil에서 PVA에 의하여 α -helix와 β -structure가 形成되고 있고 PVA의 결정영역은 gelatin에 의하여 파괴되어 비결정영역으로 구조변화를 일으키고 있음을 觀測할 수 있었다. 여기에 대한 자세한 것은 더 연구되어야 할 과제로 사료된다.

※ 이 論文은 1981年度 “특성화공대지원” 文教部 學術연구구성비로 研究되었음.

참 고 문 헌

- 1) A. Kossel, *Z. Physiol. Chem.*, **22**, 176(1896)
- 2) H.G. Bungenberg de Jong, *Kolloid-Z.*, **79**, 223(1937)
- 3) J.D. Watson and F.H.C. Crick, *Nature*, **171**, 737(1953)
- 4) A. Michaelis, L. Mir and N. Schneider, *J. phys. Chem.*, **69**, 1447(1965)
- 5) A. Michaelis, *Ind. Eng. Chem.*, **57**, 32(1965)
- 6) R. A. Gelman and J. Blackwell, *Archm. Biochem., Biophys.*, **159**, 427(1973)
- 7) C.S. Cho, A. Nagakami, T. Komoto and T. Kawai, *Makromol. Chem.*, **181**, 193(1980)
- 8) A. Pusztai, *Biochem. J.*, **99**, 93(1966)
- 9) A. Veis and C. Aranyi, *J. Phys. Chem.*, **64**, 1203(1960)
- 10) M.J. Voorn, *Fortschr. Hochpolym.-Forsch.*, **1**, 192(1959)
- 11) A. Veis, *J. Phys. Chem.*, **65**, 1798(1961)