

생체 고분자의 팽윤현상연구를 위한 핵자기공명 현미영상법의 응용

이동훈·김승수¹·조장희^{2,3}·김영백⁴

= Abstract =

Application of NMR Microscopy for the Study of the Swelling Effect in Biopolymers

D.H. Lee, S.S. Kim¹, and Z.H. Cho^{2,3}, Y.B. Kim⁴

Novel measurement method has been performed for the noninvasive study of the swelling effect detected in hydrophilic polymers using Magnetic Resonance Microscopy. ¹H NMR images were acquired to measure geometric changes due to the swelling effect occurred in the polymer specimens. In addition to the geometric changes, the water ingress process was visualized noninvasively. The measurement method performed in the present study utilized some of NMR's valuable properties, both noninvasiveness and parameter selectivity. It is believed that the method used in the present study may be applicable to the study of biopolymers in which noninvasiveness is particularly important.

Key words : Magnetic Resonance Microscopy, Swelling effect, Polymers, Noninvasiveness

서 론

외부 환경의 물리적이거나 화학적인 변화에 따른 고분자 내부의 스핀밀도, 확산현상, 완화현상 등의 변화과정을 비파괴적으로 관찰할 수 있다면 고분자의 물성을 연구하는데 큰 기여를 할 수 있을 것이다. 예를 들면, 고분자 시료에 액체가 침투할 때 고분자의 변형에 따른 팽윤현상이나, 혹은 시료 외부의 pH, 온도 등의 변화에 따른 고분자 시료의 반응 및 약물 전달체계(drug delivery system)에서 약물 유출 과정 등을 들 수 있을 것이다. 이와 같이 매우 다양한 반응과정을 비파괴적으로 관찰함으로써 고분자의 생의학적인 이용 및 산업적인 응용 등에 매우 유용한 기여를 할 수 있을 것이다. 특히, 고분자 물질에 대한

연구에서 팽윤현상에 대한 이해는 가장 기본적으로 이루어야 할 요소 중의 하나이다. 고분자의 팽윤현상에 대한 연구에서 일반적으로 이용되어 오고 있는 방법에는 고분자 물질의 수분 흡수에 따른 함수율 측정이나, 이때 팽창된 부피에 대한 실측에 의존하는 측정 등이다[1-3]. 그런데, 이러한 기존의 팽윤현상의 분석 기법은 기법 상에 있어서 비파괴성이 다소 결여되어 있으며, 이로 인한 측정 결과의 일관성 등이 부족하다. 또한, 이와 같은 고분자 물질이 생체에의 응용을 목적으로 하는 생체 고분자인 경우, 팽윤현상 측정에서 비파괴성이 매우 중요한 조건으로 될 것이다.

핵자기공명 현미영상법(Magnetic Resonance Microscopy 혹은, MR Microscopy)은 앞에서 기술한 요구를 충

배재대학교 물리학과

Department of Physics, Pai Chai University, Taejon

¹한국화학연구소 생체고분자실

¹Biomaterials Division, KRICT, Taejon

²한국과학기술원 정보 및 통신공학과, 캘리포니아 주립대학교 방사선과학과

²Department of Information and Communication, KAIST, Seoul

³캘리포니아 주립대학교 방사선 과학과

³Department of Radiological Sciences, University of California, Irvine, USA

⁴배재대학교 고분자 재료공학과

⁴Department of Polymer Engineering, Taejon

이 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

통신저자 : 이동훈, (302-735) 대전광역시 서구 도마2동 439-6 배재대학교 물리학과, Tel.(042)520-5609, Fax.(042)533-7354

측시시킬 수 있는 기법이라 할 수 있다. 핵자기공명 현미영상법은 의학에서 많은 이용도를 보이고 있는 핵자기공명 영상법의 원리인 비파괴성과 매개변수 선택성 등의 중요한 특성을 기본으로 하여 작은 시료 내에서 더욱 향상된 해상도를 얻을 수 있는 기법인데, 생의학적인 물질을 비롯한 다양한 물질 분석에 대한 이용도가 점차 증가되고 있다[4,5].

핵자기공명 영상법은 시료에 가해지는 물리적이거나 화학적인 작용에 따른 시료 표면 및 내부의 상태 변화과정을 비파괴적인 방법으로 관찰할 수 있는 매우 유용한 기법이다[6-9]. 이러한 비파괴성 때문에 핵자기공명 영상법은 생의학에서 생체 내의 병변 진단 등에 많이 이용되어 오고 있다. 최근, 이러한 핵자기공명 영상법을 응용한 핵자기공명 현미영상법의 등장으로 수소(¹H) 핵을 이용한 생체 중심의 연구에서 그 응용범위를 확장시켜 고체를 포함한 다양한 물질의 연구에도 큰 유용성을 보여 가고 있다[10,11]. 이와 같은 큰 유용성을 갖는 이유는 핵자기공명 영상법이 갖고 있는 영상매개변수(imaging parameters) 중 확산현상, 완화현상, 흐름현상 등을 이용할 수 있어, 시간의 흐름에 따른 고분자 물질의 팽윤효과(swelling effect), pH 변화, 약물전달체계 등 고분자 연구에서 중요한 여러 분야들을 비파괴적으로 연구할 수 있기 때문이다.

본 연구에서는 핵자기공명 현미영상법의 비파괴성과 매개변수 선택성을 이용하여 고분자 물질의 팽윤현상에 대한 실험적인 분석을 시도했다. 먼저, 수소 핵자기공명 현미영상을 통하여 기하학적인 차이에 따른 팽윤과정에 대한 비파괴적인 가시화를 시도했다. 그리고, 수소 핵자기공명 현미영상법을 이용한 영상을 통하여, 각기 다른 세 가지 가교율을 갖는 폴리비닐알콜(PVA-polyvinyl alcohol)의 가교율 차이에 따른 팽윤현상의 변화에 대한 가시화 및 정량적인 분석을 시도했다. 중합된 폴리비닐알콜은 안과재료 중 콘택렌즈나, 인공각막(keratoprotheses) 등에 쓰이며[12], 인조혈관의 항혈전 내벽코팅제[13], 안과수술 시 흡수제, 축농증 수술 시 지혈제 등으로 이용되고 있다.

실험 방법

예비적인 영상획득 시에 이용되었던 다공성 폴리비닐알콜(porous PVA-Polyvinyl Alcohol) 시료는 다음과 같은 방법으로 제조되었다. 중합도가 1500인 폴리비닐알콜 10wt% 수용액 100g에 촉매작용을 하는 50wt% 황산수용액 15g과 가교 및 발포작용을 하는 35% 포름알데히드(formaldehyde) 5g을 넣고 잘 혼합한다. 이 혼합액을 유리판으로 만든 모형틀(cast)에 넣고 80°C에서 8시간 동

안 반응시킨다. 제조된 다공성 폴리비닐알콜 시료는 2차 증류수로 완전히 세척한 후 직경 13mm의 펀치(punch)를 이용하여 시료를 만든 후 동결 건조 하였다. 최종적으로 제조된 다공성 폴리비닐알콜 시료의 기공에 대한 정보를 알기 위해서 수은기공측정기(mercury porosimeter: Autopore II 9220, Micromeritics, USA)를 이용하였고, 표면의 기공 분포상태에 대한 전자현미경(Scanning Electron Microscope) 영상도 함께 얻었다.

다공성시료와 더불어, 비다공성 폴리비닐알콜 고분자 시료를 세 가지의 서로 다른 가교율을 갖도록 제조했다. 10%의 폴리비닐알콜을 증류수에 용해시키고 여기에 염화망간(MnCl₂) 5g을 첨가했다. 이렇게 만들어진 혼합용액을 가교율에 따라 서로 다른 양의 글루타알데히드(glutaraldehyde)를 더했다. 이 모든 혼합액을 형틀에 넣고 80°C에서 24시간 동안 고형화 시켰다. 제조된 시료는 메탄올과 증류수의 혼합액에서 다음과 같은 방법으로 건조 시켰다. 여섯 개의 병에 메탄올 대 증류수의 비율을 각각 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 100:0 으로 준비하고 시료를 50:50 비율의 혼합액에서 시작하여 마지막으로 순수한 메탄올 용액(100:0 비율)에 이르기까지 각 병에 24시간씩 넣어 최종적으로 순수한 메탄올 용액의 병에서는 수분이 완전히 제거되어 있는 상태가 되게 만들었다. 이렇게 메탄올의 비율을 서서히 증가해 가며 건조시킨 이유는 급격한 건조 시에 빠른 수분 방출로 인한 시료의 형태 변형을 막기 위함이다.

비다공성 폴리비닐알콜 시료에 대한 팽윤과정을 연구하기 위해서 제조된 시료를 직경 5~6mm, 길이 5~6mm로 준비하고 이를 시료 고정기에 넣어 모두를 내경이 17mm인 유리병 안에 위치시켰다. 다음, 병에 증류수를 채우고 시간의 경과에 따른 물의 침투 상황과 시료의 팽창 등에 대한 관찰을 위해서 이차원적인 영상을 얻는데 약 6분 걸렸으며, 각 영상은 20분 간격으로 획득 되었다. 작은 시료에 대한 현미영상을 획득하기 위해서 시료의 크기에 적당한 솔레노이드형의 rf 코일과 고경사자기장을 발생시키는 고경사자기장 코일을 함께 제작하였다. 고경사자기장 코일은 내경이 6cm의 원통에 개선된 Golay형으로 제작되었다.

본 연구에서 이용된 핵자기공명영상장치의 주자기장은 2.0-Tesla로서 신호획득을 위한 고주파진동수(radio-frequency)는 약 85.27MHz 였다. 이차원 영상을 얻기 위해서 스핀에코펄스방법(spin echo pulse sequence)을 이용하였다. 다공성 시료의 경우, 영상의 실제 크기가 되는 영상시야(field of view)는 10mm, 영상의 두께는 1mm, TR(repetition time:90° 펄스가 가해지는 시점에서 다음번 90° 펄스가 가해질 때까지 경과된 시간)/TE(time to echo:90° 펄스가 가해지는 시점에서 에코신호의 중심을

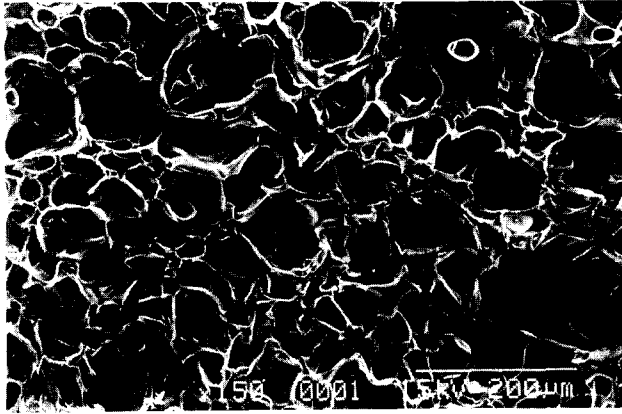


그림 1. 전자현미경을 이용하여 획득된 다공성 폴리비닐알콜 시료 표면의 기공 분포 영상
Fig. 1. SEM image for the pore distribution on the surface of the porous PVA specimen.

언을 때까지 경과된 시간)=200/30ms 이었다. 비다공성 시료의 경우 영상의 크기는 30mm, 이차원 영상의 두께는 2mm, TR/TE=300/30ms 이었다.

비다공성 시료에서 획득된 이차원 영상에서 밀도곡선(density profile)-시료를 가로지르며 화소(pixel) 한 개의 두께를 갖는 직선을 따른 신호 강도 분포 곡선-을 측정하였다. 이러한 밀도곡선을 이용하여 시료의 일정한 지점으로 유입되는 물의 분포 변화를 정량화 하였다. 주자기장 방향을 향하고 바닥 면에 수평인 횡단면(coronal plane)에서 얻는 원형의 영상과 주자기장 축방향에 수직을 이루는 면인 종단면(axial plane)의 사각형 영상 등, 일정한 지점에서의 밀도곡선을 구했다. 서로 인접한 화소(pixel)들 사이의 신호세기를 미분하여 물과 시료의 경계 위치를 파악하고 시료 밖의 물 신호를 제거 했으며, 배경의 잡음신호의 평균적인 세기를 계산하여 이를 배경신호(background signal)로 간주하고 실제 시료로부터 발생되는 신호에서 이 배경신호의 세기를 제거 했다. 이상과 같은 방법으로 시료 밖의 물 신호 및 배경신호를 제거하여 시료 내로 유입된 순수한 물의 신호만을 얻었다. 순수한 물 신호를 적분하여 일정한 시점의 동일지점에 유입된 물의 양을 계산하였다. 그리고, 물의 유입과정에 대한 측정과 더불어, 팽윤효과에 의한 시료의 영상단면에서 넓이 및 부피 변화를 시간경과에 따라 측정하기 위하여, 획득된 이차원 영상을 이용하여 영상분석기에서 정확한 크기를 측정하였다.

결 과

그림1에서는 전자현미경을 이용해서 획득된 다공성 폴리비닐알콜 시료 표면에 대한 영상이다. 이때, 관측된 시

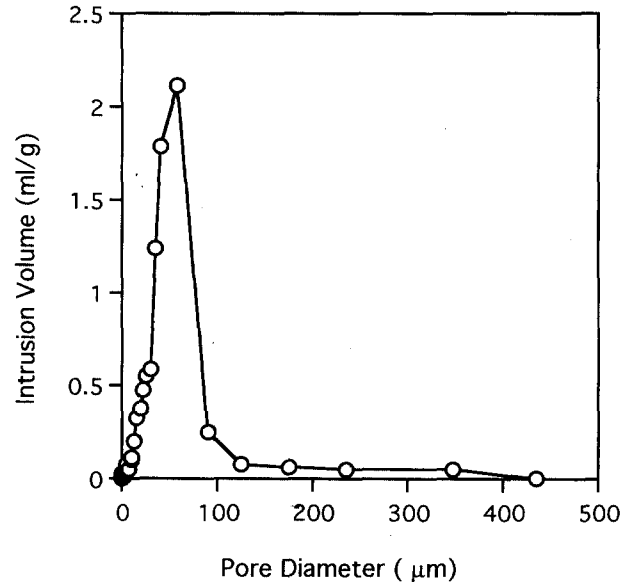


그림 2. 다공성 폴리비닐알콜 시료 내의 기공크기에 따른 수은의 유입분포
Fig. 2. Intrusion volume distribution of mercury in pores for the porous PVA specimen

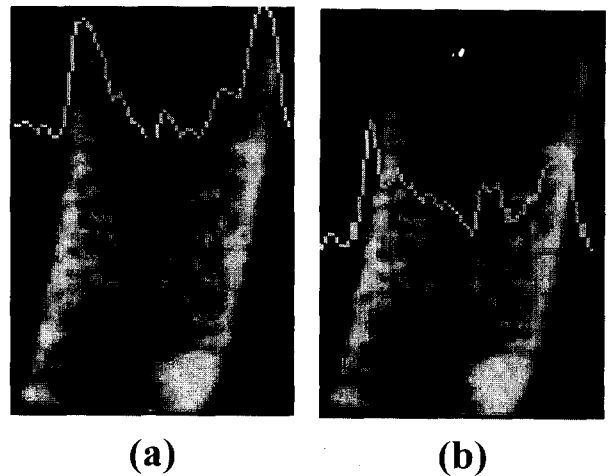


그림 3. 핵자기공명 현미영상법을 이용한 다공성 폴리비닐알콜의 2차원적인 비파괴영상과 시료의 중심(a)과 가장자리(b)에서의 가로밀도곡선
Fig. 3. 2D NMR Microscopic images obtained for the porous PVA specimen along with horizontal density profiles at both the center (a) and the edge (b)

료내의 기공의 분포를 통하여, 계산된 기공직경의 평균값은 $36.2 \pm 2.3 \mu\text{m}$ 이고 기공측정기의 이용 시에 쓰였던 수은의 평균유입부피는 $9.5 \pm 0.6 \text{ml/g}$ 이다. 기공크기에 대한 정보는 그림2에서 기공직경에 대한 수은의 유입부피의 그래프에서 잘 나타나 있다.

그림3의 이차원영상에서는 다공성시료내에 존재하는

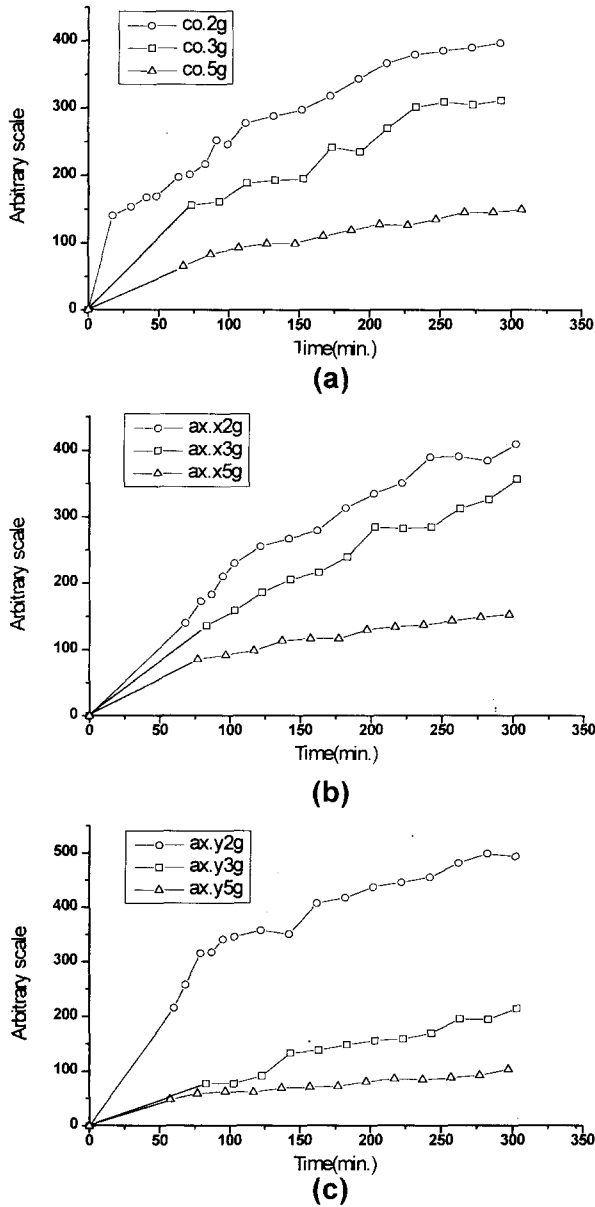


그림 4. 비파괴적으로 획득된 핵자기공명 현미영상을 이용하여 분석된 세 가지 비다공성 폴리비닐알콜에서 시간경과에 따른 물의 침투상황. 서로 다른 가교율에 따른 물 침투현상의 차이를 잘 보이고 있다. (a) 횡단면 영상의 가로밀도곡선으로부터 얻은 물의 침투상황. 종단면 영상의 가로(b) 및 세로(c) 밀도곡선으로부터 획득된 물의 침투상황
 Fig. 4. Time dependent water ingress process for the three different nonporous PVA specimens using the noninvasively obtained NMR Microscopic images. The graphs display clearly the relation of cross-link densities with water ingress behavior. (a) Water ingress processes detected from the horizontal density profiles obtained by coronal plane images. Water ingress behavior observed from both the horizontal (b) and the vertical (c) density profiles obtained by axial plane images

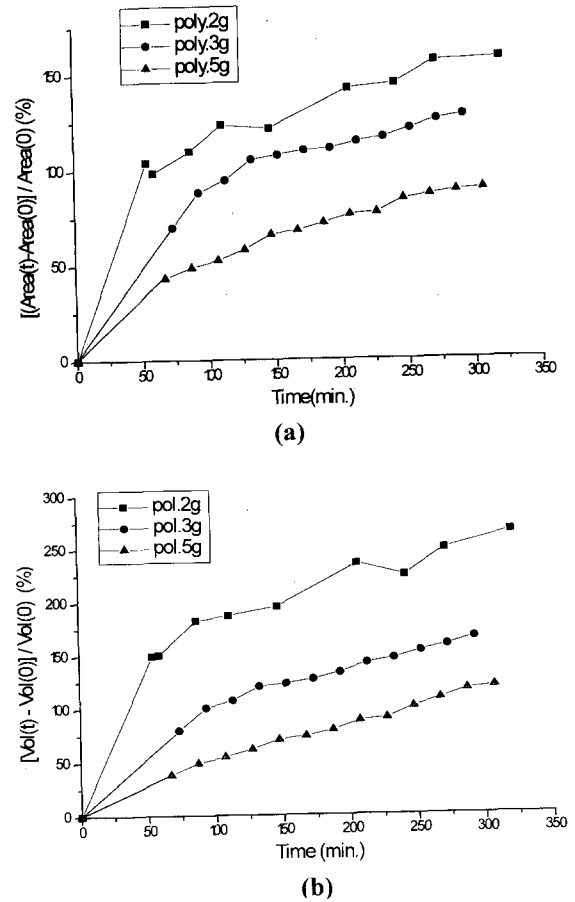


그림 5. 비파괴적으로 획득된 핵자기공명 현미영상을 이용하여 분석된 세 가지 비다공성 폴리비닐알콜에서 시간경과에 따른 단면적 (a) 및 부피의 (b) 변화상황. 서로 다른 가교율에 따른 시료의 팽윤정도의 차이를 잘 보이고 있다
 Fig. 5. Time dependent changes of area (a) and volume (b) for the three different nonporous PVA specimens using the noninvasively obtained NMR Microscopic images. This result depicts well different swelling behavior depending on the cross-link densities of the specimens

물의 분포상태를 보이고 있다. 시료를 물에 넣은지 4시간 경과 후, 비어 있는 용기에 시료만을 넣고 코일 내에 위치시켰다. 영상에서 보이는 시료의 크기는 약 $4 \times 8 \text{mm}^2$ 이다. 물의 침투가 시료의 넓은 표면을 통해 일률적으로 균일하게 이루어지지 않고 있음을 쉽게 관찰할 수 있다. 즉, 시료 중심부분에서의 밀도곡선(그림3a)과 가장자리 부분에서의 밀도곡선(그림3b)이 서로 다른 양상을 보이는데, 물이 유입될 수 있는 면적이 작은 시료의 가장자리 부위에서 보다 유입면적이 넓은 중심부분에서 활발한 물의 확산과정을 보이고 있다. 물분자의 확산이 시료의 기하학적인 형태에 따라 다르게 일어날 수 있다는 증거를 가시화 했다고 볼 수 있을 것이다[14]. 이는 확산에 대한

이론적인 계산결과를 비파괴적인 실험을 통해 영상화했다는 데에 큰 의미를 갖는다.

세 가지 가교율을 갖는 비다공성 폴리비닐알콜 시료의 시간경과에 따른 물 침투율을 그림4의 그래프에서 볼 수 있다. 가교율 차이에 따른 물의 유입과정 및 분포상황을 보이고 있다. 그림4에서 표시된 2g, 3g, 5g 등은 가교율의 차이를 유발시키기 위해서 시료 제조 시에 가한 글루타알데히드의 양이다. 즉, 글루타알데히드의 양이 증가할수록 시료의 가교율도 함께 증가하게 된다. 물의 유입 정도는 가교율과 반비례 관계가 있음을 볼 수 있다. 가교율이 작을수록 시료가 물에 놓인 직후 급격한 물의 침투 및 고분자의 팽윤효과의 급증 등을 관찰할 수 있다. 영상 획득이 시작된 시간이 시료에 물이 가해지고 약 30~50분 경과된 이유는 실험 할 때 shimming 조건을 최적으로 맞추는데 시간이 소모되었기 때문이다. 핵자기공명 현미영상 실험에서는 영상획득 직전에 항상 rf 코일 내 시료주위의 자기장을 균일하게 하기 위한 shimming 조건을 맞추어야 한다.

그림4b와 4c에서 보이는 종단면(axial plane) 영상의 경우 밀도곡선의 방향(x:가로, y:세로)에 따라 서로 차이 있는 물의 침투 효과를 보인다. 이는 다공성 폴리비닐알콜의 영상에서 볼 수 있듯이 물의 확산현상이 시료의 절태에 따라 차이를 갖는 다른 사실에 기인한다. 일반적으로 가교율이 높은 시료의 경우에는 낮은 가교율의 시료에 비교할 때, 더 빠른 물의 침투 현상을 보이고 있다. 팽윤현상을 기술하는데 있어 중요한 시료 부피의 변화는 시료의 가교율에 따라 차이를 갖는다. 낮은 가교율을 갖는 2g 시료의 경우 가교율이 큰 3g, 5g 시료에 비교할 때 높은 부피의 변화율을 보인다. 특히, 시료에 물이 최초로 가해지는 초반에 급격한 부피의 증가를 보인다.

그림4에 보이는 세 가지 그래프에서 볼 수 있는 공통점은 물의 유입량이 가교율과 반비례하며, 가교율이 작을수록 물의 유입량이 증가하는 정도는 초기에 매우 커짐을 알 수 있다. 이러한 사실은 그림5의 그래프를 통해서 쉽게 관측할 수 있는데, 그림5에서는 세 가지의 비다공성 폴리비닐알콜 시료에 대하여 시간 경과에 따른 단면적과 부피의 변화과정을 보이고 있다. 즉, 시료의 단면적 및 부피의 변화가 가교율과 반비례 관계를 가지며, 가교율이 작을수록 초기의 단면적 및 부피의 변화율도 매우 급격한 증가를 보인다. 여기서, 면적 및 부피 변화율은 초기값에 비교된 변화의 백분율을 의미한다. 가교율이 작을수록 전반적인 변화율은 크며, 특히 초기의 변화정도는 매우 큼을 알 수 있다. 이는 고분자 시료의 팽윤현상이 가교율의 크기에 반비례함을 뜻하며, 높은 가교율을 갖는 시료의 경우 팽윤현상은 비교적 선형적이며, 가교율의 감소에 따라 초기에 팽윤현상의 급증과 더불어 팽윤현상의 비선형

성을 나타내고 있다.

논의 및 결론

본 연구에서는 시간 경과에 따른 친수성 고분자의 물속에서의 부피 변화와 더불어 시료 내로 확산 되가는 물의 침투 상황에 대한 비파괴적인 관찰을 할 수 있었다. 또한 고분자 시료의 기하학적인 형태에 따른 물의 확산 차이에 대한 가능성 혹은, 다공성 시료에서 기공의 크기나 분포의 비균일성에 대한 정보를 얻을 수 있을 가능성 등을 얻었다. 본 연구의 실험 결과를 통해 볼 때, 그 비파괴성 및 다양한 매개변수 선택성을 가진 핵자기공명 현미영상법이 생체고분자의 팽윤현상에 대한 분석에 유용할 수 있다는 사실을 알 수 있었다. 이러한 결과는 약물전달 체계 및 다양한 용도의 생체고분자의 팽윤현상에 대한 비파괴연구에 응용 가능할 것으로 기대된다. 그러나, 정확성이 보다 더 높은 정보를 얻기 위해서, 신호대잡음비의 저하를 방지하며 영상획득시간을 다소 단축해야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. C.A.C. Sequeira, L.P.S. Araujo, and F.D.S. Marquis, "Effect of crosslinking sulphochlorinated polyethylene with polyvinyl chloride", *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* vol. 230, pp.191-196, 1993.
2. A. Hakiki, and J.E. Herz, "A study of the kinetics of swelling in cylindrical polystyrene gels: mechanical behavior and final properties after swelling", *J. Chem. Phys.* vol. 101, pp.9054-9059, 1994.
3. H. Kanbara, S.J. Huang, and J.F. Johnson, "Measurement of crosslinking degree of electron beam irradiated block copolymers", *Polym. Engin. Sci.* vol. 34, pp.691-694, 1994.
4. D.H. Lee and Z.H. Cho, "Observation of the Time-Dependent Drug Release in a Drug Delivery System Using NMR Microimaging", *J. of the Korean Phys. Soc.* vol. 29, pp.682-685, 1996.
5. Z.H. Cho, C.B. Ahn, S.C. Juh, H.K. Lee, R.E. Jacobs, S. Lee, J.H. Yi and J.M. Jo, "Nuclear magnetic resonance microscopy with 4-um resolution: Theoretical study and experimental results", *Med. Phys.* vol. 15, pp.815-824, 1988.
6. P. Mansfield, and P.G. Morris, *NMR imaging in biomedicine*, New York, Academic Press, pp.32-83, 1982.

7. A. Oppelt, and T. Grandke, "Magnetic resonance imaging", Supercond. Sci. Tech. vol. 6, pp.381-395, 1993.
8. F.W. Wehrli, "The origins and future of nuclear magnetic resonance imaging", Phys. Today vol. 45, pp.34-42, 1992.
9. P.C. Lauterbur, *NMR in biology and medicine*, New York, Raven Press, 1986.
10. C.D. Eccles, and P.T. Callaghan, "High-resolution imaging. The NMR microscope", J. Magn. Reson. vol. 68, pp.393-398, 1986.
11. P.T. Callaghan, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Imaging*, Oxford, Clarendon Press, pp. 93-172, 1991.
12. H. Kobayashi, Y. Ikada, T. Moritera, Y. Ogura, and Y. Honda, "Tissue reactions induced by modified poly(vinylalcohol) hydrogels in rabbit cornea", J. Biomed. Mater. Res. vol. 26, pp.1583-1598, 1992.
13. Y. Ikada, H. Iwata, F. Horii, T. Matsunaga, M. Taniguchi, M. Suzuki, W. Taki, S. Yamagata, Y. Yonekawa, H. Handa, "Blood compatibility of hydrophilic polymers", J. Biomed. Mater. Res. vol. 15, pp.697-718, 1981.
14. Y. Li, and T. Tanaka, "Kinetics of swelling and shrinking of gels", J. Chem. Phys. vol. 92, pp. 1365-71, 1990.

=국문초록=

핵자기공명 현미영상법을 응용한 친수성 고분자의 비파괴적인 팽윤현상 연구에 대한 새로운 방법의 측정을 시도했다. 팽윤현상 측정을 하기 위해서 시간의 경과에 따른 일련의 핵자기공명 현미영상을 획득하고 밀도 측정기법을 이용했으며, 기하학적인 모양의 변화를 측정함으로써 팽윤현상에 대한 정량적인 분석을 했다. 또한, 시간 경과에 따른 물의 침투 상황을 비파괴적으로 가시화 할 수 있었다. 본 논문에서 시도된 방법에서는 핵자기공명법이 가지는 비파괴성과 매개변수 선택성 등이 이용되었으며, 특히 약물전달체계, 생체이식물질 등 생체에 응용성이 있는 생체고분자의 연구에서 요구되는 비파괴성을 만족시킬 수 있을 것으로 판단된다.