

## N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머의 물리화학적 특성에 관한 연구

이 옥 섭 · 하 병 조\* · 김 준 오\*\* · 박 성 규 · 이 윤 식

서울대학교 공과대학 공업화학과, \*서울보건전문대학 피부관리과, \*\*태평양기술연구원 제품개발연구소  
(1996년 12월 13일 접수, 1997년 3월 25일 채택)

### Study of Physico-Chemical Properties of N,N-Diacyl, O-Acyl Chitosan Oligomer

Ok-Sub Lee, Byung-Jo Ha\*, Jun-Oh Kim\*\*, Soeng-Kyu Park, and Yoon-Sik Lee

Dept. of Chem. Tech., College of Eng., Seoul Nat'l Univ., Seoul 151-742, Korea

\*Dept. of Skin Care, Seoul Health Junior College, Kyounggi-do 461-250, Korea

\*\*Pacific R&D Center, Kyounggi-do 449-900, Korea

(Received December 13, 1996, Accepted March 25, 1997)

**요 약 :** 천연 고분자인 키토산의 1차 아민기를 아질산 나트륨에 의해 oxidative-deamination 반응을 일으켜 reducing end에 알데히드기를 갖는 키토산 올리고머를 얻었으며, 이를 수소화붕소산나트륨으로 환원하여 2,5-anhydro-D-mannitol로 전환하였다. 얻어진 키토산 올리고머의 평균 중합도는 겔 투과 크로마토그래피를 통해 2정도임을 알 수 있었고, 키토산에 비해 친유성 유기 용매에 대한 높은 용해성을 나타내었다. 키토산 올리고머에 아실클로라이드를 4-디메틸아미노피리딘 촉매하에서 반응시켜 N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머를 합성하였다. 시차주사열량 분석을 실시한 결과 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머의 경우 액정 영역을 나타내었고, 편광현미경을 통해 이를 확인할 수 있었다. X-선 회절분석 실험결과 키토산 올리고머와 달리 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머는 높은 결정성 구조를 나타냄을 알 수 있었다.

**Abstract :** Chitosan oligomer having aldehyde group at reducing end was prepared by oxidative-deamination reaction of chitosan by using sodium nitrite, and the resulting aldehyde group was reduced to 2,5-anhydro-D-mannitol group. The obtained chitosan oligomer showed an average degree of polymerization(DP) 2 by GPC analysis. It was highly soluble in lipophilic solvents. N,N-diacyl, O-acyl chitosan oligomer was obtained from the reaction between chitosan oligomer and acyl chloride under 4-dimethoxyaminopyridine catalyst. From DSC measurement, N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer showed mesophase region, which was confirmed by polarizing microscope as thermotropic liquid crystalline state. X-ray diffraction pattern revealed that N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer was highly crystalline, whereas chitosan oligomer was not.

### 1. 서 론

키토산은 N-아세틸-D-글루코사민 단위체가  $\beta$ -1,4 결합을 한 키토신의 아세틸기가 제거된 일종의 아미노폴리사카라이드이다[1]. 키토신은 게, 새우, 가재 등의 갑각류의 외피를 이루는 물질로 지구상에서 셀룰로오즈 다음으로 풍부하다. 키토신을 탈아세틸화하여 얻어지는 키토산은 1970년경 폐수처리용 중금속 흡착제로 처음 사용된 이

후 식품 및 섬유공업 등 다방면에서 응용하고자하는 연구가 활발하다[2]. 키토신과 키토산은 생체적합성, 생체내 lysozyme 등의 효소에 의한 생분해성이 우수할 뿐만 아니라 인체에 대한 독성이 거의 없으며, 면역반응 등의 부작용이 적어 미국, 일본 등에서는 의료용 신소재 및 약물전달체로의 이용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[3].

최근, 일본의 Unitika사는 키토신을 이용한 인공피부와

수술용봉합사를 상품화한 바 있다. 한편, 키토산은 질병에 대한 면역성 및 저항성을 향상시켜줄 뿐만 아니라 암에 대한 저항력 및 콜레스테롤 저하능까지 알려져 있어 최근 건강 보조식품으로도 개발되고 있다. 그러나 키토산의 분자량이 높을 경우 체내 흡수가 나빠 약리적인 효능, 효과를 기대하기 어렵다. 따라서 최근의 연구방향은 주로 저분자의 키토산 올리고머에 초점이 주어지고 있다. 현재까지 알려진 키토산 올리고머의 제조방법으로는 산 가수분해법, 산화적 분해법, 효소 가수분해법 등이 알려져 있다[4-6]. 이러한 키토산 올리고머의 제조방법 중 산 가수분해법의 경우 첨가해준 산에 의해 키토산의 아민기가 먼저 양성자화되므로 글루코시드 결합에 위치한 산소 원자에 대한 수소이온의 결합이 정전기적 반발력에 의해 방해받게 된다. 이로 인해 강한 산성 조건이 필요하게 되고 가혹한 반응 조건에서 반응을 실시해야 하며, 그 결과 피라노오즈 고리가 파괴되는 등의 문제점이 있다. 과산화수소에 의한 산화적 분해의 경우 생성되는 히드록시 라디칼의 반응성을 조절하기 어려운 문제가 있다. Lysozyme과 같은 효소를 사용할 경우 과량의 수용액을 사용해야 할 뿐만 아니라 반응 후 효소의 완전 제거가 어렵고 또한 분자량 1000 이하의 키토산 올리고머가 용이하게 얻어지지 않는다. 반면, 아질산에 의한 oxidative deamination-reduction법은 균일한 용액 상에서 반응이 진행되므로 원하는 분자량의 키토산 올리고머가 쉽게 얻어지며, 반응이 매우 온화한 조건에서 이루어지므로 공업적 규모의 대량생산이 용이한 장점이 있다[7-9].

최근 Sugiura 등은 산 가수분해법으로 얻어진 키토산 올리고머로부터 아미드 결합과 에스테르 결합을 갖는 N,O-아실화 키토산 유도체를 각각 합성한 후, 시차주사 열분석법(DSC; differential scanning calorimetry)과 X-선 회절분석(X-ray diffraction analysis)을 통해 이방성이 나타나는 영역을 관찰한 결과 지방산이 에스테르 결합을 하고 있는 셀룰로오즈 올리고머 유도체에 비해 상당히 넓은 온도 범위에서 이방성을 나타낸다는 것을 보고한 바 있다[10]. 그러나 키토산 올리고머가 이미드 결합과 에스테르 결합을 갖는 N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머의 물리화학적 성질에 대한 연구 결과는 아직 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 산 가수분해법과 달리 아질산을 사용한 oxidative deamination-reduction법에 의해 합성된 2,5-anhydro-D-mannitol 말단의 키토산 올리고머로부터 이미드 결합과 에스테르 결합을 가진 아실화 키토산 올리고머를 합성하고, 이들의 물리화학적 특성을

살펴 보고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 재료 및 기기

키토산은 Hackman법[11]에 의해 게 껍질로부터 추출하여 얻은 것을 분쇄하여 사용하였다. 수산화나트륨은 Shinyo Pure Chemical 사의 특급 시약을 사용하였다. 염산(35%, w/v), 암모니아수(28%, w/v)는 Junsei사, 아질산 나트륨, 수소화붕소산나트륨, 4-디메틸아미노피리딘, MBTH(3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone), 라우로일 클로라이드, 올레오일 클로라이드는 Sigma사에서 구입하여 사용하였다. 이외의 시약들은 모두 시약급을 사용하였으며, 일반적인 방법에 따라 정제하였다[12]. 한외여과 장치는 Amicon사의 YM-1 disk membrane을 사용하였다. 제조한 키토산올리고머의 분자량 분포 및 분석을 위하여 Waters사의 Model 510 pump와 RI detector가 부착된 액체크로마토그래피를 사용하였다. 자외선 흡수스펙트럼은 Cecil사의 CE 5501R Spectrophotometer를 사용하여 측정하였다. 적외선 분광스펙트럼은 Bomem사의 Model MB-100을 사용하였다. 열적 성질은 Perkin-Elmer DSC 7 series를 사용하였다. X-선 회절기는 Rigaku-Denki wide angle camera에 Ni로 필터된  $\text{CuK}\alpha$ 선을 사용하였다. 액정성은 hot stage가 부착된 Nikon 편광현미경을 사용하여 관찰하였다. 초순수 제조장치는 Barnstead사의 Nanopure II를 사용하였다.

### 2.2. 키토산의 제조

키토산은 Mima 등의 방법[13]에 따라 키토산으로부터 제조하였다. 즉, 키토산 20g을 47% (w/v) 수산화나트륨 수용액 400 ml에 넣고, 질소 기류하에서 110 °C에서 5시간 동안 탈아세틸화 반응을 진행시켰다. 반응 후 용액을 냉각하고 증류수로 수회 세척한 후 여과하였다. 얻어진 키토산을 1% (w/v) 아세트산에 녹인 후 불용성 물질을 여과하여 제거한 다음, 여액을 4% 수산화나트륨 용액에 서서히 가하여 침전을 일으켜 고체상의 키토산을 얻었다. 증류수로 여액의 액성이 중성이 될 때까지 수회 세척하고 무수에탄올, 아세톤, 에테르의 순으로 씻고  $\text{P}_2\text{O}_5$ 가 들어 있는 drying pistol로 진공 건조하였다.

### 2.3. 키토산의 점도평균 분자량 측정

0.2 M 아세트산-0.1 M NaCl-4 M urea (1:1:1, v/v) 용액에 진공 건조된 키토산 분말을 각각 0.05% (w/v), 0.1% (w/v), 0.15% (w/v), 0.2% (w/v) 되도록 용해하고

냉암소에 1일간 방치하였다.

25 °C 항온조에서 Ubbelodhe형 점도계를 사용하여 모세관 통과시간을 측정, 고유점도 $[\eta]$ 를 계산하고 다음식 (1)로 부터 분자량을 구하였다[14].

$$[\eta] = 8.93 \times 10^{-4} M_w^{0.71} \quad (1)$$

#### 2.4. 탈아세틸화도 측정

30 °C에서 24시간 동안 진공 건조한 분말상의 키토산 약 3mg을 KBr 400mg에 잘 혼합하여 disk로 만든 후 적외선 분광스펙트럼에서 1550  $\text{cm}^{-1}$  (amide II band)의 2878  $\text{cm}^{-1}$  (C-H stretching band)에 대한 상대적인 흡수비를 다음식 (2)에 넣어 탈아세틸화도를 구하였다[15].

$$*D(\%) = 98.03 - 34.68 (A_{1550} / A_{2878}) \quad (2)$$

#### 2.5. 키토산 올리고머의 제조

2.2에서 얻어진 키토산 25g을 1% (v/v) 염산수용액 500ml에 녹인 후, ice-bath를 장치하고 10% (w/v) 아질산 나트륨 용액(36ml)을 서서히 적가시켰다. 약 5시간 동안 2~4 °C의 온도를 유지하며 교반시킨 후 반응을 종결시키고 28% 암모니아수로 용액의 액성을 pH 7로 중화시켰다. 이때 미량의 불용성 물질은 여과하여 제거하고 여액을 모은 후 여기에 수소화붕소산나트륨 2.93g (80mmol)을 30분간 조금씩 첨가해 주었다. 3시간 동안 교반하여 반응을 종결시키고, 증류수로 2배의 부피로 희석하고 한외여과기(압력: 0.6~0.7  $\text{kgf/m}^2$ )를 사용하여 초기 부피의 1/6이 되도록 농축하였다. 농축액을 과량의 아세톤에 침적시킨 후 5시간 동안 교반하여 흰색의 침전물을 얻었다. 에탄올, 메탄올로 세척하고 50 °C에서 24시간 진공건조하여 키토산 올리고머 약 8g을 얻었다.

#### 2.6. MBTH법에 의한 반응의 확인(16-17)

2.5에서 얻은 키토산 올리고머에 아질산 나트륨을 가한 후 반응시켜 얻은 용액 1ml를 취한 다음 여기에 12.5% (w/v) 암모늄 설페이트를 첨가하고 5분간 교반시켰다. 여기에 0.5% (w/v) MBTH (3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone) 수용액 1ml를 첨가하고 1시간 동안 반응시켰다. 이렇게 얻어진 용액을 다시 0.5% (w/v) MBTH 수용액 1ml와 염화철 수용액 1ml가 혼합된 용액에 첨가하고 30분간 방치한 후 653nm에서의 흡광도 변화를 관찰하였다.

#### 2.7. 키토산 올리고머의 분석

키토산 올리고머의 평균 분자량 측정을 위하여 겔 투

과 크로마토그래피(GPC)를 수행하였다. 표준물질로 99% (w/w)이상의 순도를 가진 표준물질로 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 6000, 4450, 1500, 970, 600, 420)을 사용하였다. 이때 사용한 컬럼은 OHPak KB-802, 803 (8mm I.D. × 300mm, GPC column)이었고 컬럼의 온도는 40 °C를 유지하였다. 용출액은 0.1 M  $\text{NaNO}_3$ 를 사용하였으며, 유속은 1 ml/min로 고정하였다. 고속액체크로마토그래피에 의한 키토산 올리고머의 분석에는 ELSD (Model: Sedex 55, SEDERE) 검출기를 25 °C, 2.1 bar를 유지하며 사용하였다. 표준물질로는 Seikagaku Co.(Tokyo, Japan)의 키토산 올리고사카라이드(chitobiose, chitotriose, chitotetraose, chitopentaose, chitohexaose hydrochloride)를 이용하였다. 이때 사용한 컬럼은 Carbohydrate Analysis Column (Waters P/N 84038, 3.9 × 300mm)이었고 컬럼의 온도는 35 °C를 유지하였다. 용출액은 아세트니트릴/증류수 (67:33, v/v)를 0.8 ml/min의 유속으로 흘려 주었다.

#### 2.8. 아실화 키토산올리고머의 합성

2.2에서 제조한 키토산 올리고머 0.2g을 피리딘 5ml에 1시간 동안 침적시킨 후 감압하에서 피리딘을 제거하였다. 다시 피리딘 5ml, 클로로포름 30ml의 혼합용액에 분산시키고 질소 기류하에서 교반하였다(방법 A). 동일한 조건에서 4-메틸아미노피리딘 2.0g을 첨가하고 교반하였다(방법 B). 각각의 용액에 아실클로라이드 3ml를 실온에서 적가하고 40 °C에서 24시간 내지 72시간 반응시켰다. 반응용액을 실온으로 냉각시킨 후 과량의 메탄올에 가하여 침전을 생성시키고 여과하여 미반응 아실클로라이드를 제거하였다. 침전물을 80% 메탄올로 수회 세척한 후 24시간 진공건조하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 키토산 올리고머의 합성과 물성

적외선 분광 스펙트럼의 결과 제조된 키토산은 탈아세틸화도가 80%이었으며 고유점도로부터 계산된 분자량은 300,000이었다. 이 키토산을 산성 용액상에서 아질산 나트륨에 의해 oxidative deamination 반응을 일으켜 reducing end에 알데히드기를 갖는 키토산 올리고머를 얻었다. Fig. 1.에는 키토산으로부터 키토산 올리고머의 제조 과정을 나타내었다. 즉, oxidative deamination 반응에 의해 생성된 말단에 알데히드기를 가진 키토산 올리고머를 수소화붕소산나트륨으로 환원시켜 2,5-anhydro-D-mannitol 말단의 키토산 올리고머를 제조하였다. 이

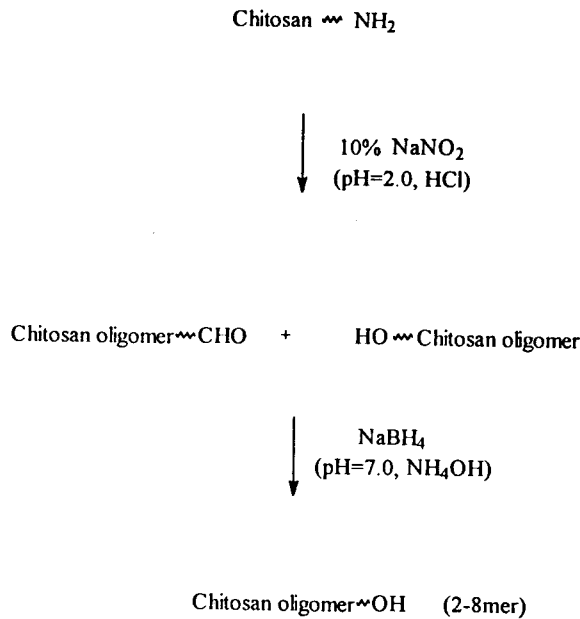


Fig. 1. Synthetic scheme of chitosan oligomer.

때 알데히드의 환원여부를 정성적으로 확인하기 위하여 MBTH법으로 추적한 결과 Fig. 2.에서와 같이 수소화붕소산나트륨으로 3시간 정도 반응시켰을 경우 658 nm에서의 알데히드기에 기인한 최대 흡수파장이 거의 소멸한 것을 보아, 환원 반응이 거의 완결되었음을 알 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 MBTH법을 이용하여 키토산 올리고머 용액 중에 존재하는 알데히드기의 소멸여부를 UV/Vis 흡수 스펙트럼에 의해 평가할 수 있었다.

한편, 열무게 측정분석(TGA, thermogravimetry analysis)을 통해 생성된 키토산 올리고머의 열적 성질을 키토산과 비교하여 관찰한 결과 Fig. 3.에서와 같이 100 °C 부근부터 물분자의 이탈에 의한 무게 감소를 보여주고 있으며, 또한 키토산에 비해 낮은 열안정성을 보였다. 즉, 키토산의 중합도가 감소되면서 상대적으로 물 분자와 수소결합을 할 수 있는 확률이 증가하게 되므로, 키토산 올리고머의 경우 수분에 의한 무게 감소가 상대적으로 크게 나타난 것으로 볼 수 있다. 또한 키토산의 경우 340 °C 부근에서 급격한 무게의 감소를 나타내고 있는데 반해, 키토산 올리고머의 경우는 약 260 °C 부근에서 급격한 무게의 감소를 보이고 있다. 그러나 50% 무게 감소의 온도를 비교해 볼 때 키토산과 키토산 올리고머는 거의 유사함을 볼 수 있다. 즉, 키토산 올리고머의 경우 분자 사슬의 길이가 짧아지고 저분자화됨에 따라 고분자 사슬사이의 상호 인력이 감소되고 그 결과 열적 안정성이 저하된 것으로 생각할 수 있다.

키토산 올리고머의 수용액 및 각종 유기용매에 대한

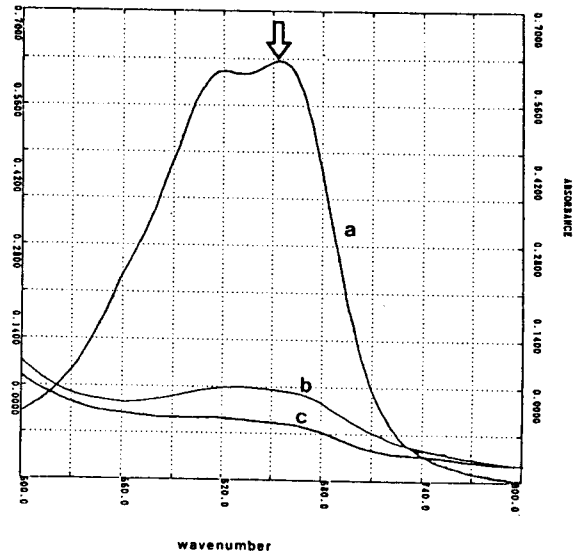


Fig. 2. Visible absorption spectra of chitosan oligomer treated with MBTH. (a) before NaBH<sub>4</sub> addition, (b) after 2 hr, and (c) after 3 hr.

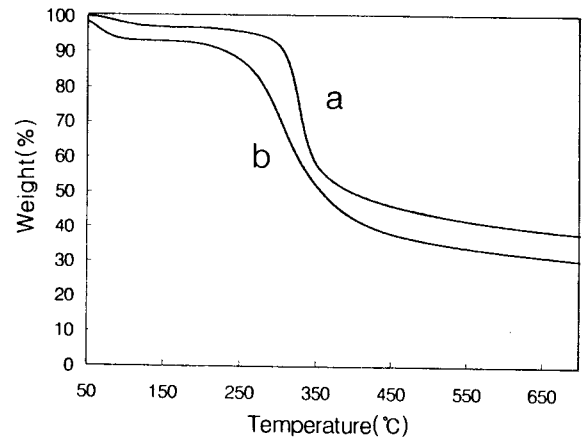


Fig. 3. TGA diagram of (a) chitosan and (b) chitosan oligomer.

용해성을 조사한 결과 키토산과 달리 물에 대한 용해성이 있을 뿐 아니라 알칼리성 수용액에서도 용해되는 성질을 나타내었다(Table 1). 또한 Table 1에서 볼 수 있듯이 키토산 올리고머는 DMF, DMSO 등의 극성 비양성자성 유기용매에도 용해되는 성질을 나타내었다. 즉, 중합도가 낮은 키토산 올리고머의 경우 극성 유기용매가 사슬사이의 수소 결합을 쉽게 끊어 줄 수 있어 그 결과 중합도가 높은 키토산에 비해 쉽게 용해되는 것으로 볼 수 있다.

Table 1. Solubilities of Chitosan and Chitosan Oligomer

Solvent	Chitosan	Chitosan Oligomer
Water	×	○
1N-NaOH	×	○
DMF	×	○
DMSO	×	○
50% EtOH	×	○
Ethanol	×	△
Acetone	×	×
iso-PrOH	×	×

(○: Soluble, △: Swelling, ×: Insoluble)

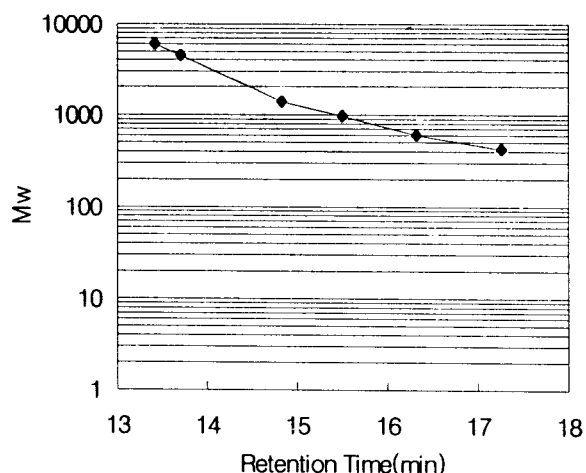


Fig. 4. Standard calibration curve of polyethylene glycols in GPC.

Column: OHpak KB-802, 803, solvent: 0.1 M NaNO<sub>3</sub>, flow rate: 1 ml/min, column temp: 40 °C, detector: RI.

3.2. 키토산 올리고머의 평균분자량 및 분자량 분포측정  
 겔 투과 크로마토그래피(GPC, gel permeation chromatography)를 사용하여 키토산 올리고머의 평균 분자량을 측정된 결과 대부분 분자량이 400 부근으로 중합도 2에 해당하는 키토산 올리고머의 분자량인 367과 거의 유사함을 알 수 있었다. Fig. 4에 분자량 보정 곡선과 Fig. 5에 크로마토그래피 양상을 그래프로 나타내었다.

또한 액체 크로마토그래피를 사용하여 키토산 올리고머를 분석한 결과 Fig. 6.에서 볼 수 있듯이 합성된 키토산 올리고머의 머무름 시간은 대체로 중합도 2의 키토산 올리고머에 해당하였으며 중합도 3 이상의 키토산 올리고머의 비율은 비교적 적은 것으로 나타났다.

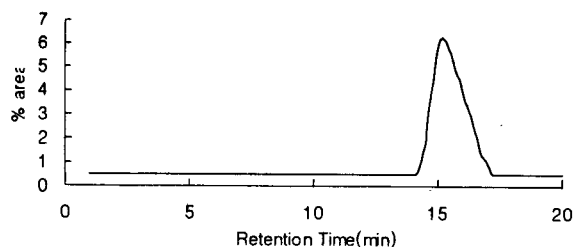


Fig. 5. GPC pattern of chitosan oligomer. Column: OHpak KB-802, 803, solvent: 0.1 M NaNO<sub>3</sub>, flow rate: 1 ml/min, column temp: 40 °C, detector: RI.

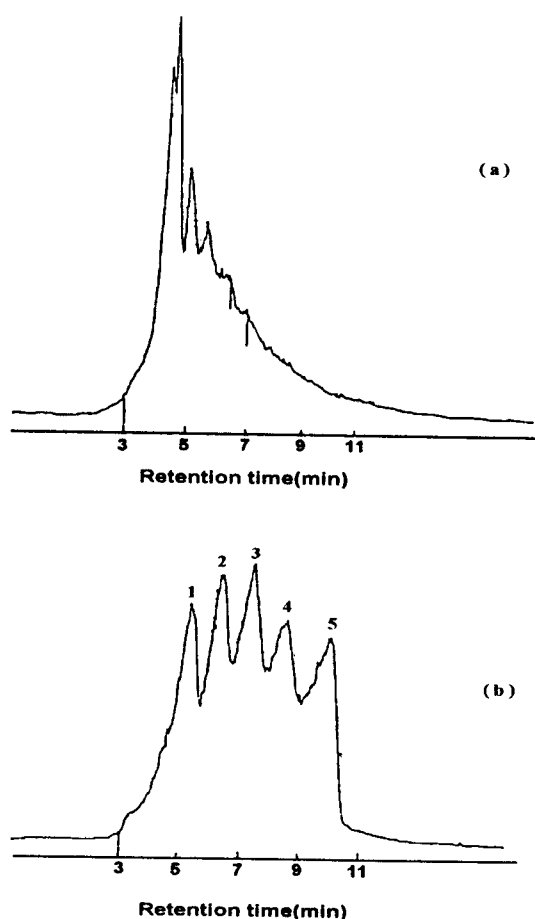


Fig. 6. HPLC pattern of (a) chitosan oligomer, and (b) chitosan standard(1: chitobiose, 2: chitotriose, 3: chitotetraose, 4: chitopentaose, 5: chitohexaose), Column: carbohydrate, solvent: acetonitrile / water = 67: 33 (v/v), flow rate: 0.8 ml/min, column temp: 35 °C, detector: ELSD (temp: 25 °C, pressure: 2.1 bar).

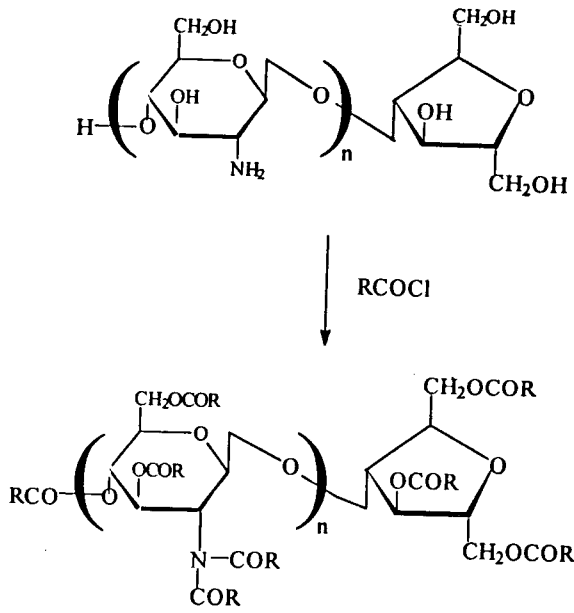


Fig. 7. Synthetic scheme for N,N-diacyl, O-acyl chitosan oligomer.

3.3. N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머의 합성

N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머의 합성 경로를 Fig. 7.에 나타내었다. Fig. 7.에서 보는 바와 같이 키토산 올리고머와 아실 클로라이드와 반응시켜 N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머의 합성을 시도하였다. 이때 아실 클로라이드로는 라우로일 클로라이드와 올레오일 클로라이드를 각각 사용하였다. 이때 반응 촉매로서 디메틸아미노피리딘과 피리딘을 사용한 경우와, 디메틸아미노피리딘 만을 사용한 경우로하여 반응시켰다. 평균 중합도가 2인 키토산 올리고머에 디메틸아미노피리딘과 피리딘을 촉매로 아실화 반응을 실시한 결과 Fig. 8(a)에서와 같이 2920 cm<sup>-1</sup>과 2850 cm<sup>-1</sup>에서 아실기의 C-H stretching band의 피이크, 721 cm<sup>-1</sup>에서 C-H bending band의 피이크를 확인할 수 있었고, 1650 cm<sup>-1</sup>의 amide I band의 피이크가 강하게 나타나는 것으로 보아 아마이드(amide) 형태의 생성물이 얻어졌음을 알 수 있었다. 시간 경과에 따른 피이크의 변화를 관찰한 결과 48시간 후에는 Fig. 8(b)에서 보는 바와 같이 뚜렷한 변화를 보이지 않았으나 72시간이 지나면서 Fig. 8(c)에서 보는 바와 같이 1705 cm<sup>-1</sup> 부근에서 이미드(imide) 결합에 기인되는 피이크가 약하게 생성되었음을 볼 수 있었다. 그러나 디메틸아미노피리딘 만을 촉매로 사용한 경우 Fig. 9(a)에서 보는 바와 같이 24시간 반응 후 1650 cm<sup>-1</sup>의 amide I band의 피이크 이외에 1705 cm<sup>-1</sup>의 이미드 결합에 의한 피이크가 강하게 나타남을 볼 수 있었다. 또

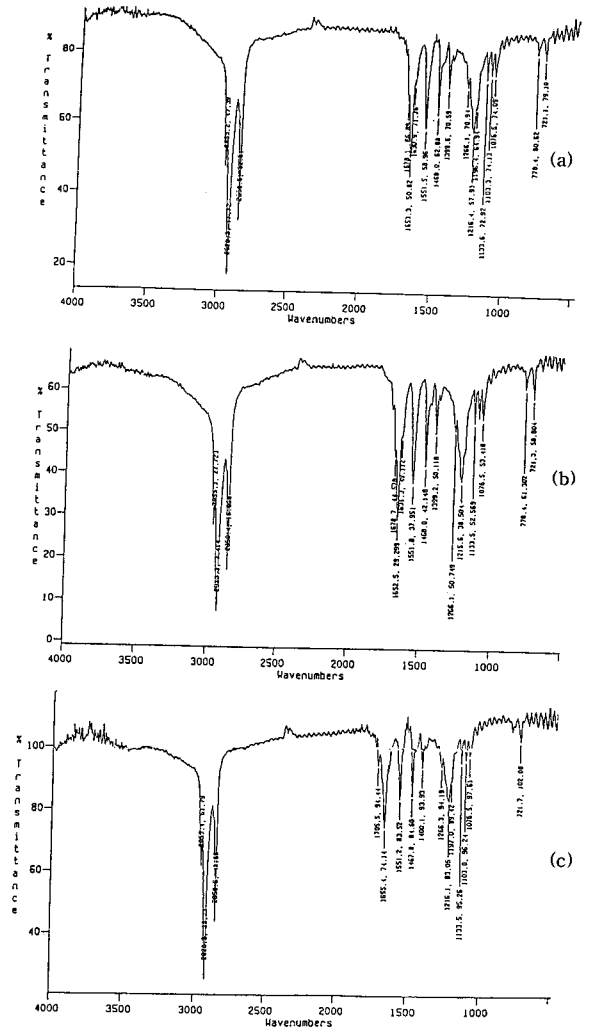


Fig. 8. FT-IR spectra of N-lauroyl chitosan oligomer. (a) after 24hr reaction, (b) after 48hr reaction, (c) after 72hr reaction.

한 1750 cm<sup>-1</sup> 부근에서 에스테르 결합의 피이크가 약하게 생성되었음을 볼 수 있다. 그러나 48시간 경과 후에는 Fig. 9(b)에서 보는 바와 같이 1650 cm<sup>-1</sup>의 amide I band의 피이크는 완전히 소멸됨을 볼 수 있었고, 대신 1750 cm<sup>-1</sup>의 에스테르의 피이크가 강하게 나타남을 볼 수 있었다. 즉, 디메틸아미노피리딘과 피리딘을 혼용 사용하는 경우는 일반적인 아마이드 형태로 아실클로라이드가 결합되며, 반면 디메틸아미노피리딘을 단독으로 사용하면 수산기와 아마이드기도 친핵체로 작용하여 에스테르와 이미드 형태의 결합이 형성되는 것으로 여겨진다.

한편 피리딘과 디메틸아미노피리딘의 작용을 비교하여 볼 때 디메틸아미노피리딘이 피리딘보다 강한 염기로 작용하여 수산기와 아마이드로부터 쉽게 양성자를 떼어내어 각각의 친핵성을 증가시키거나, 디메틸아미노피

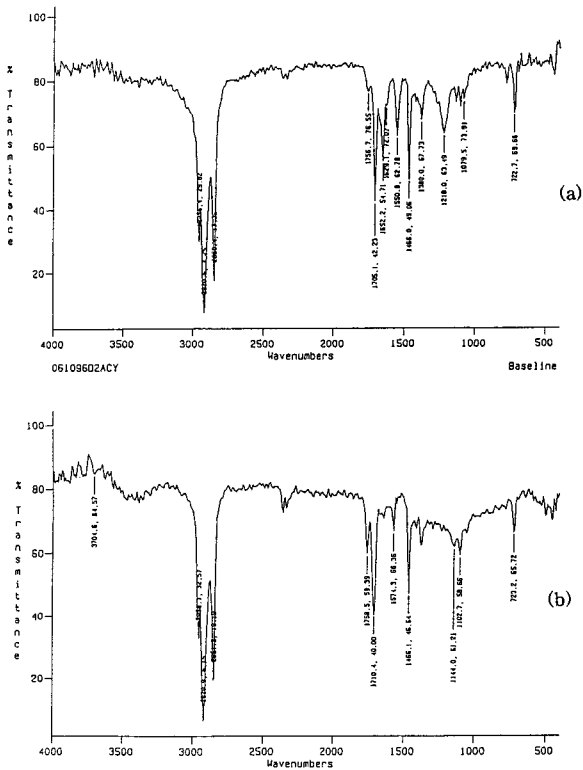


Fig. 9. FT-IR spectra of N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer. (a) after 24hr reaction, (b) after 48hr reaction.

리딘이 피리딘 보다 친핵성이 강하기 때문에 아실 클로라이드와 빨리 반응을 하여 아실기의 반응성을 증가시키기 때문으로 추측된다.

3.4. N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머의 물리화학적 특성

합성된 N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머들의 물리화학적 특성을 각각 비교하였다. 포화 탄화수소를 결사슬로 갖는 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머의 경우는 흰색 분말로 얻어졌으나, N,N-디올레오일, O-올레오일 키토산 올리고머의 경우는 오일상으로 얻어졌다. 즉, 올레오일의 경우는 중간에 위치한 시스형 이중결합에 의해 분자간 인력이 저하되어 고체상으로 얻어지지 않은 것으로 볼 수 있다. Table 2에는 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머의 몇가지 용매에 대한 용해성을 나타내었다. Table 2에서 볼 수 있듯이 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머는 키토산 올리고머와는 달리 수용해성을 거의 나타내지 않고 에테르, 메틸렌클로라이드, 헥산과 같은 소수성 용매에 용해되는 성질을 나타내었고, 또한 liquid paraffin,

Table 2. Solubilities of N,N-Lauroyl, O-Lauroyl Chitosan Oligomer

Solvent	Solubility
Water	×
Ether	○
MC	○
Hexane	○
Liquid paraffin	○
IPM	○
CEH <sup>*)</sup>	○
ODO <sup>*)</sup>	○

\*) CEH : Cetyethyl hexanoate  
ODO : Capylic/Caplic triglyceride

isopropyl myristate, CEH(cetyethyl hexanoate), ODO (capylic/caplic triglyceride)와 같은 화장품용 유성물질에도 좋은 용해성을 보였다.

N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머의 열적인 성질을 키토산 올리고머와 비교해 보았다. TGA 분석을 실시한 결과 Fig. 10.에서 보는 바와 같이 350 ℃ 이하의 온도에서는 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머가 키토산 올리고머에 비해 열안정성이 우수하였으나, 350 ℃ 이상의 온도에서는 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머의 경우 급격히 안정성이 저하되는 것이 관찰되었다. 즉, 350 ℃ 이하의 온도에서 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머가 알킬 사슬의 분자간 인력에 의해 일정하게 stacking된 분자구조를 가지게 되어 열안정성이 높게 나타나지만, 온도의 상승과 함께 분자들의 mobility가 증가하여 stacking이 어렵게 되고, 그 결과 분자 집합체가 급격히 무너지게 되고 열적으로 불안정해져 무게 감소가 급속히 진행된 것으로 볼 수 있다.

한편, 편광현미경을 통해 관찰한 결과 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머는 실온에서 전형적인 spherulite형 결정구조를 나타내었다(Fig. 11). 시차주사 열량 분석 결과 Fig. 12.에서 볼 수 있듯이 승온시에는 58 ℃에서 흡열에 기인하는 T<sub>m</sub>을 보였으며 64 ℃에서 T<sub>i</sub>를 나타내었다. 반면, 냉각시에는 46 ℃와 52 ℃에서 각각 T<sub>m</sub>과 T<sub>i</sub>를 나타내어, 소위 말하는 enantiotropic liquid crystal의 영역을 보였다. 이 영역에서 편광현미경을 통해 관찰한 결과 전형적인 라멜라형의 액정구조를 확인할 수 있었다(Fig. 13). 즉, 반데르발스 인력에 의한 알킬 사슬간의 인력이 약해지면서 일종의 반고형 상태

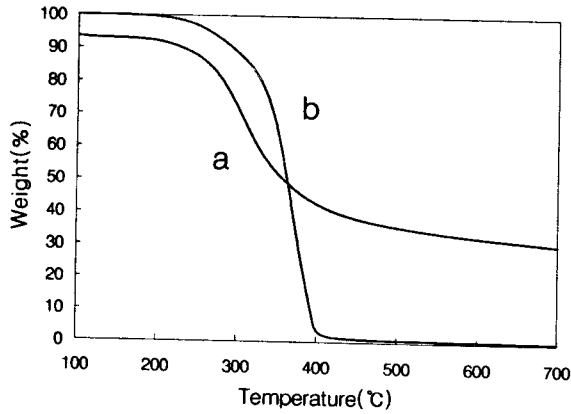


Fig. 10. TGA diagram of (a) chitosan oligomer and (b) N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer.

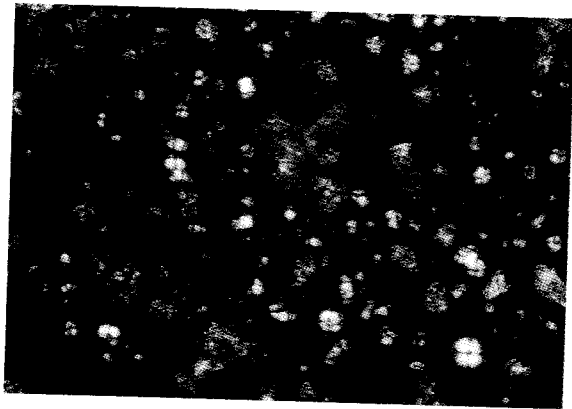


Fig. 11. Polarizing microscopic view of N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer at room temperature(x150).

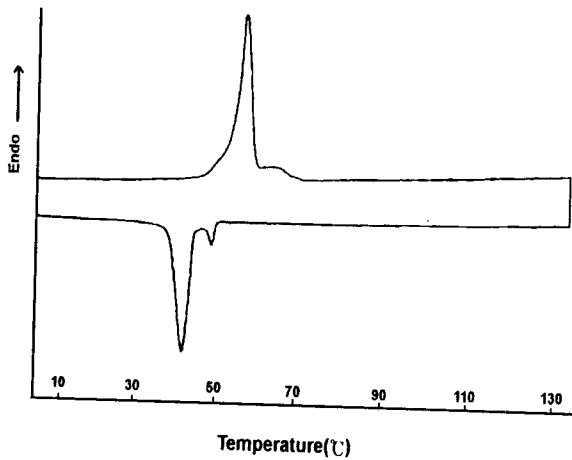


Fig. 12. DSC curve of N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer.

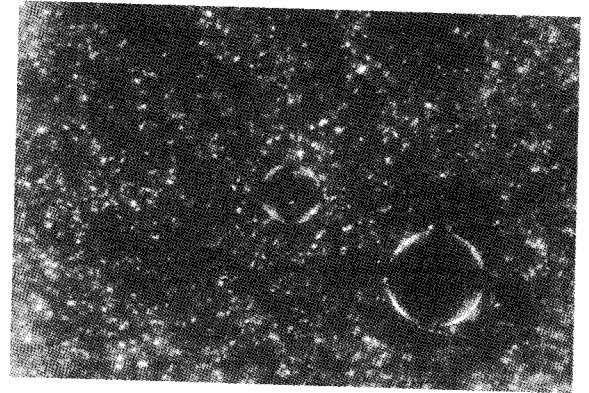


Fig. 13. Polarizing microscopic view of N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer at 60°C(x320).

의 분자 집합체가 형성되고, 이때 분자 집합체는 키토산 올리고머 분자간 수소결합력에 의해 유지된다. 올리고머 분자간 수소결합력(intermolecular hydrogen bond)과 알킬 치환체에 의한 상호작용에 의해 분자내 질서(intramolecular order) 및 분자간 질서(intermolecular order)를 유지할 수 있어 액정을 형성하는 것으로 생각된다. 그러나 온도 상승과 함께 분자간 및 분자내 질서는 무너지며 그 결과 등방성 용액으로 된다고 볼 수 있다. 한편 키토산 올리고머에 올레오일기를 치환시킨 결과 결정성이 완전히 소멸되었으며 액정성도 사라졌다. 그 이유는 정확히 설명하기 어려우나 올레오일의 9번과 10번 위치의 시스형 이중결합의 존재에 의해 분자간 인력이 저하되고, 그 결과 결정 형성이 방해를 받고 액정 형성이 저하된 것으로 볼 수 있다.

### 3.5. 결정성 분석

X-선 회절분석에 의해 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머와 키토산 올리고머의 결정성을 측정할 결과를 Fig. 14에 나타내었다. Fig. 14에서 볼 수 있듯이 키토산 올리고머의 결정성은 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머에 비해 매우 broad하게 나타났다. 이것은 키토산 올리고머가 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머에 비해 낮은 결정성을 가지고 분자간 배열이 보다 무질서하다는 것을 나타낸다. 즉, 라우로일기의 도입에 의해 분자간 배열이 일정해지고 질서가 증가하는 것으로 볼 수 있다.

## 4. 결 론

계 껍질로부터 추출한 키틴으로부터 키토산과 키토산 올리고머를 제조하였으며 키토산 올리고머의 1차 아민



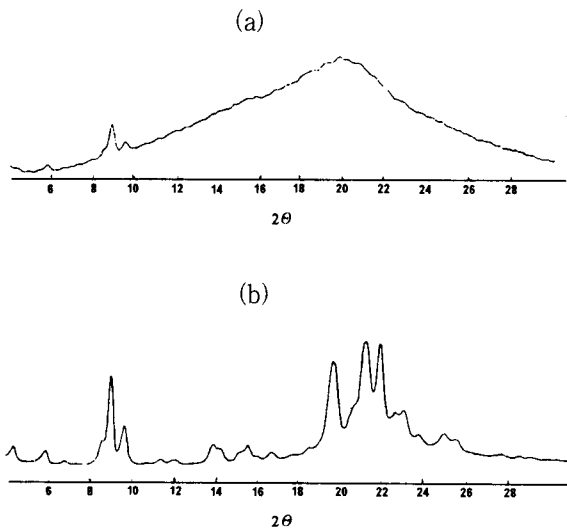


Fig. 14. Wide-angle X-ray diffraction patterns of (a) chitosan oligomer, and (b) N,N-dilauroyl, O-lauroyl chitosan oligomer.

기와 수산기에 소수성의 알킬 사슬을 도입하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다. 첫째, 키토산에 아질산 나트륨을 처리하여 reducing end에 알데히드기를 갖는 키토산 올리고머를 얻었으며, 이를 수소화붕소산나트륨으로 환원하여 2,5-anhydro-D-mannitol로 전환시킬 수 있었다. 이때 MBTH 테스트 방법으로 알데히드기의 환원 여부를 정성적으로 확인할 수 있었다. 둘째, 겔 투과 크로마토그래피와 고속액체크로마토그래피에 의해 키토산 올리고머의 평균 중합도는 2정도임을 알 수 있었다. 셋째, 키토산 올리고머는 키토산에 비해 높은 수용해성과 낮은 열안정성을 나타내었다. 넷째, 키토산 올리고머에 아실클로라이드를 디메틸아미노피리딘 촉매하에서 반응시켜 N,N-디아실, O-아실 키토산 올리고머를 합성할 수 있었다. 다섯째, N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머의 경우 시차주사열량 분석에 의해 라멜라형의 액정 영역이 관찰되었고, 편광현미경을 통해 이를 확인할 수 있었다. 여섯째, X-선 회절분석 실험결과 N,N-디라우로일, O-라우로일 키토산 올리고머는 키토산에 비해 높은 결정성 구조를 나타내었다.

## 참고 문헌

1. R. A. A. Muzzarelli, "Chitin", Pergamon Press, New York (1977).
2. R. A. A. Muzzarelli, "Natural Chelating Polymer", Pergamon Press, New York (1973).
3. C. J. Brine, P. A. Sandford, and J. P. Zikakis, "Advances in Chitin and Chitosan", Elsevier Applied Science, New York (1992).
4. S. T. Horowitz, S. Roseman, H. J. Blumenthal, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 5046(1957).
5. R. L. Whistler and M. L. Wolfrom, "Methods in Carbohydrate Chemistry", Vol. 1, Academic Press, 1962, New York, p. 305.
6. J. A. Rupley, *Biochim. Biophys. Acta*, **83**, 245 (1964).
7. E. Nakao, U. S. Patent No. 5,312,908.
8. G. G. Allan and M. Peyron, *Carbohydr. Res.*, **277**, 257(1995).
9. G. G. Allan and M. Peyron, *Carbohydr. Res.*, **277**, 282(1995).
10. M. Sugiura, M. Minoda, J. Watanabe, and T. Miyamoto, *Polym. J.*, **26**, 1236(1994).
11. R. H. Hackman, *J. Biol. Sci.*, **7**, 168(1954).
12. D. D. Perrin and W. L. F. Armmaergo, "Purification of Laboratory Chemicals", 3rd ed., Pergamon Press, Oxford (1988).
13. S. Mima, M. Miya, R. Iwamoto, and S. Yoshikawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **28**, 1909(1983).
14. F. A. Rutherford III and P. R. Austin, *Proc. Int. Conf. Chitin/Chitosan 1st*, 182(1978).
15. T. Sannan, K. Kurita, K. Ogawa, and Y. Iwakura, *Polymer*, **19**, 458(1979).
16. A. Tsuji, T. Kinoshita, and M. Hoshino, *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1505(1969).
17. E. Sawicki, H. R. Hauser, T. W. Stanley, and W. Elbert, *Anal. Chem.*, **33**, 93(1961).