

## pH/온도-동시 민감성 Hydrogel의 합성조건에 따른 특성 연구

유형덕 · 정인식 · 박창호  
경희대학교 화학공학과, <sup>1</sup>유전공학과  
(접수 : 2000. 7. 25., 게재승인 : 2000. 9. 14.)

### Characterization of a pH/Temperature-Sensitive Hydrogel Synthesized at Different pH and Temperature Conditions

Hyung Duk Yoo, In Sik Chung<sup>1</sup>, and Chang-Ho Park<sup>†</sup>  
Departments of Chemical Engineering and <sup>1</sup>Genetic Engineering, Kyung Hee University, Yongin-si 449-701, Korea  
(Received : 2000. 7. 25., Accepted : 2000. 9. 14.)

A hydrogel, poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropylmethacrylamide), sensitive to both pH and temperature, was synthesized and characterized at 13~23°C and pH of 10.3~12.3. The gel was more transparent and mechanically stronger at lower preparation temperature and pH. Large pores observed in scanning electron microscope seem to be responsible for the lower biomolecular separation efficiency. The lower critical solution temperature (LCST) decreased at a higher polymerization temperature. At 25°C, which is lower than the LCST, the gel was swollen regardless of the solution pH. At 40°C, however, the gel was swollen at neutral and acidic pH's even though the temperature was higher than the LCST. The gel collapse pH, defined as the point at which the gel made its largest volume decrease per unit pH increment, increased as the gel preparation temperature increased.

**Key Words :** pH/temperature-sensitive, hydrogel, swelling behavior, LCST

#### 서 론

하이드로젤은 3차원적 그물구조를 갖는 가교된(cross-linked) 고분자로서, 이 물질이 갖는 독특한 열역학 및 생체의학적 특성 때문에 그 응용 기술의 연구와 개발이 폭 넓게 진행되고 있다. 그 중 자극 감응성 하이드로젤은 외부의 자극에 민감하게 반응하여 부피상전이 현상(volume phase transition phenomena)을 보인다. 즉, 팽윤과 수축을 가역적으로 하기 때문에(1-4) 약물의 방출, 생물분리정제(5), 효소나 세포 고정화(6, 7), 용질의 제어 전달(8) 등에 사용되고 있다. 그 외부 자극원으로서 화학적으로는 pH, 이온력, 혼합용매 등이 있고(9-10), 물리적으로는 온도, 전기장, 자기장, 전류, 압력 및 광 등이 있다(11-13).

최근에는 한가지 이상의 변수(예, 온도와 pH 등)에 의해 그 부피 변화가 동시에 영향을 받는 하이드로젤에 대한 연구도 이루어지고 있다(14-16). pH-민감성과 온도-민감성을 동시에 갖고있는 이 하이드로젤은 pH 및 온도에 각각 민감한 성분을 포함하는 친수성 고분자 그물조직(network)으로서,

온도에 민감한 성분은 젤이 중합되었을 때 물 속에서 lower critical solution temperature (LCST)를 나타내는 단량체이며, pH에 민감한 성분은 이온화가 가능한 단량체로서 젤 분자내에 포함(incorporation)되었을 때 이온화에 강력한 영향을 주어 젤 팽윤이 pH에 의존하게 하는 이온성 단량체이다(9).

온도 및 pH에 동시에 민감한 하이드로젤은 약물전달시스템(Drug Delivery System, DDS) 또는 생물분리정제에 응용할 수 있다. 예를 들면 인체 내의 소화기관은 각각 고유의 pH가 있는데 젤의 pH 민감성 때문에 적절한 위치의 소화기관에서 수축하여 약물을 전달하거나 인체의 필요한 부위에 외부에서 국소적으로 온도를 높여줌으로써(40°C 이상) 젤을 수축시켜 원하는 부위에 약물의 농도를 높일 수 있다. 하이드로젤을 이용한 생물분리공정은 일종의 한외여과 (ultrafiltration)로서 용질을 고압이나 높은 전단력 (shear force)에 노출시키지 않기 때문에 단백질의 기능 (효소의 활성)을 떨어뜨리지 않고 분리 정제할 수 있는 장점이 예상된다(12,13,17).

그런데 온도민감성 젤의 특성이 젤을 합성하는 온도에 따라 변화한다는 결과를 본 연구진이 보고한 바 있다(20). 본 연구에서는 pH와 온도에 동시에 민감한 하이드로젤, poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethyl-aminopropylmethacrylamide)를 서로 다른 합성온도(13, 15.5, 18, 20.5 및 23°C)와 다른 합성 pH (pH 10.3, 11.3 및 12.3)에서 합성하고 이 젤들의 외형, 기계적 강도, 젤 표면의 모양, LCST, 수축 pH 등의

<sup>†</sup>Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Kyung Hee University, Yongin-si, Kyunggi-do 449-701, Korea  
Tel : +82-31-201-2531, Fax : +82-31-202-1946  
E-mail : chpark@khu.ac.kr

젤의 물성과 팽윤 특성을 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 시 약

온도에 민감한 성분인 *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm)를 Acros Organics (Belgium)에서, pH에 민감한 성분인 *N,N'*-dimethylaminopropylmethacrylamide (DMAPMAAm)를 Polysciences (U.S.A.)에서 구입하였다. *N,N'*-methylene-bisacrylamide (MBAAm)를 가교제로 ammonium persulfate (APS)를 개시제로 그리고 *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED)를 가속제로 사용하였고 이들 시약은 electrophoresis 등급으로 Sigma사에서 구입하였다.

### 하이드로젤 합성

본 연구에서 사용한 하이드로젤은 poly(NIPAAm-co-DMAPMAAm)으로서 *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm) 3.557 g과 *N,N'*-dimethylaminopropylmethacrylamide (DMAPMAAm) 0.283 g을 각각 단량체로 하여 자유라디칼 공중합의 방법으로 합성하였다. NIPAAm은 젤에 온도민감성을 부여하며 DMAPMAAm은 pH 민감성을 부여한다. 합성에 사용된 DMAPMAAm의 양은 5 mol%이었다. 가교제로 *N,N'*-methylenebisacrylamide (MBAAm) 0.16 g을 단량체들과 함께 250 mL 삼각플라스크에서 20 mL 탈이온 증류수에 용해시킨 후 질소로 5분간 공급(sparging)하여 용존산소를 제거하였다. 용액을 유리실린더 반응기(내경 36 mm, 높이 191 mm)로 옮긴 후 가속제로 *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED)를 0.25 mL 첨가하고 다시 5분간 질소를 공급(sparging)한 후 개시제로 ammonium persulfate (APS)를 25 mg 첨가하였다. 합성온도에 관한 연구를 위하여 젤 중합을 13, 15.5, 18, 20.5 및 23°C에서 수행하였다. 이때 용액의 pH는 11.3으로 고정하였다.

합성 pH에 관한 실험을 위해서는 하이드로젤을 pH 10.3, 11.3 및 12.3으로 하여 제조하였다. 합성온도는 냉각수조 (Vision Scientific Co., Korea)에서 18°C로 고정하였다. pH를 위와 같이 설정한 근거는 2개의 단량체인 NIPAAm과 DMAPMAAm 그리고 가교제, 가속제 및 개시제를 삼각 플라스크 내에서 탈이온 증류수에 용해시킨 상태에서 측정된 pH가 11.3이었기 때문에 이를 중간값으로 하고 이보다 낮고 높은 값을 하나씩 택한 것이다.

용액의 점도가 뚜렷이 변하는 시점까지 질소를 공급(sparging) 하고, 마개로 실린더의 위쪽을 막음으로써 젤 합성을 종료하였다. 합성된 하이드로젤을 유리실린더에서 꺼내어 우선 탈이온 증류수로 세척하고, 탈이온 증류수에서 팽윤과 수축을 반복시켜 반응하지 않은 성분을 제거하였다. 합성된 실린더 형태의 젤은 1 mm 두께에 직경 10 mm의 젤 디스크 형태로 만들어 팽윤-수축실험에 사용하였다. 이렇게 만들어진 젤 디스크들은 실온에서 다량의 탈이온 증류수에 48시간 이상 보관하여 충분히 평형에 이르게 한 후 실험에 사용하였다.

### 합성조건에 따른 젤 외형 비교

합성온도에 관한 연구에서는 여러 온도에서 제조된 하이드로젤을 유리실린더에 담겨 있는 그대로의 색깔과 투명도를 비교하였다. 합성 pH에 관한 연구에서도 합성범위(pH 10.3 ~

pH 12.3)에서 중합된 젤을 유리실린더 내에 있는 그대로 색 깔과 투명도를 비교하였다.

### 기계적 강도 측정

여러 합성온도와 pH에서 제조된 하이드로젤의 기계적 강도를 Universal Testing Machine (UTM., Instron., Model 4201)을 이용하여 측정하였다. 실린더형태로 합성된 젤을 증류수로 씻은 후 절단기(cutter)를 사용하여 수평의 원통형태로 가공하였다. 가공된 젤의 높이는 20~30 mm이고 직경은 3.5~4.2 mm이었고 이를 실험 전 1주일동안 실온의 물 속에서 팽윤시켰다. 500 Kg Compression Load Cell을 사용하여 10 mm/min의 속도로 압축하였다. 측정결과로부터 다음 식을 이용하여 최대 stress와 최대 strain값을 구하였다.

$$\text{Stress} = \frac{\text{Force}}{\text{Area}}$$

여기서, Force는 Strength Curve로부터 얻은 최대 Force ( $N/m^2$ )이고, Area는 젤 실린더의 초기 단면적( $m^2$ )을 나타낸다.

$$\text{Strain} = \frac{(H_0 - H)}{H_0}$$

여기서  $H_0$ 는 압축 전 젤 시편의 초기높이이고,  $H$ 는 최대 Force로 압축된 젤 샘플의 높이이며,  $(H_0 - H)$ 는 압축으로 인해 수축된 길이이다.

### Gel 표면모양 관찰

하이드로젤을 동결 건조한 후 Scanning Electron Microscope (SEM, Leica Cambridge, Stereoscan 440)를 이용하여 표면을 관찰하였다. 디스크 형태로 절단한 하이드로젤을 동결건조용 비이커에 넣은 후 동결건조기 (EYELA, FD-81)를 사용하여 -80°C에서 5시간동안 동결시킨 후, 진공을 걸고 12시간동안 건조하였다. 이러한 동결 건조방법은 건조시 수축에 의한 형태의 변형을 최소화할 수 있는 방법으로 사료된다(18).

### Lower critical solution temperature (LCST) 측정

Differential Scanning Calorimeter (Perkin Elmer, DSC7)를 사용하여 LCST를 측정하였다. 하이드로젤 5~15 mg을 DSC용 liquid pan에 넣고 봉합한 후 온도를 20°C에서 50°C까지 2°C/min의 속도로 가열하며 전산화된 열분석기(thermal analyzer)가 젤이 수축을 시작하는 온도를 분석함으로써 측정하였다 (19,20).

### 젤의 팽윤 및 수축 실험과 water content의 측정

서로 다른 합성온도와 합성 pH에서 제조된 하이드로젤의 부피 변화 특성을 비교 분석하기 위하여 완충용액을 이용하여 pH를 1~12로 변화시키고 외부온도는 25°C 및 40°C에서 실험하였다. pH 완충용액으로 pH 1~6 범위에서는 0.05M citrate/0.05M NaCl 완충용액을 사용하였고, pH 7~12 범위에서는 0.05M phosphate/0.05M NaCl 완충용액을 사용하였다. 각 pH의 완충용액을 50 mL vial에 각각 15 mL씩 주입하여

25°C와 40°C로 각각 유지된 냉각수조 (Vision Scientific Co. Ltd)와 항온수조(Dong-a Co., Ltd)에 실험 전 담가두었다. 직경 10 mm, 두께 1 mm의 디스크 형태의 하이드로젤을 25°C와 40°C의 탈이온 증류수에 교대로 반복하여 담금으로써 수축 팽창을 반복하여 충분히 세척하였다. 젤 표면의 수분을 여과지로 흡수한 후 이 젤을 냉각수조 및 항온수조 내에서 각 pH의 vial에 투여하고 뚜껑을 봉하였다. 젤의 팽윤부피가 평형에 이르도록 24시간 기다린 후에 각 vial 속의 젤을 꺼내어 젤 표면의 수분을 여과지로 흡수한 후 팽윤된 무게 (swollen weight)를 측정하였다. 측정이 끝난 젤들을 미리 질량이 측정된 알루미늄 접시에 넣고 알루미늄 박지로 씌운 후 수분이 증발할 수 있는 미세한 구멍을 뚫은 다음 진공 oven에서 24시간 건조시킨 후 건조 무게(dry weight)를 측정하였다. 각 온도와 pH에서 젤의 수분함량(water content, wt%)을 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Water content (wt\%)} = \frac{\text{swollen weight} - \text{dry weight}}{\text{swollen weight}} \times 100$$

팽윤-수축 실험에 의해 젤의 부피가 가장 크게 변하는 pH를 발견하였으며 이를 수축 pH라고 명하였다.

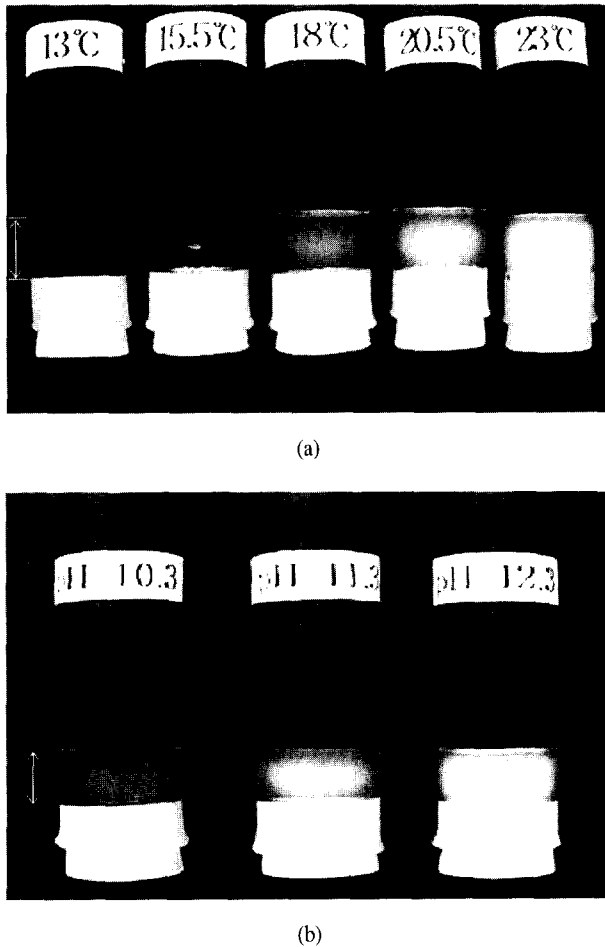


Figure 1. Effect of preparation temperature(a) and pH (b) on gel transparency. The gel part is represented by arrows (↔).

결과 및 고찰

합성온도 및 합성 pH가 젤외형에 미치는 영향

여러 합성 온도와 pH에서 합성한 젤의 외형은 합성온도 및 합성 pH에 크게 의존하였다. 합성온도가 높을수록 젤의 중심부분부터 불투명도가 증가하였다. 13°C에서 합성된 젤은 전체가 무색 투명하였고, 18°C에서 합성된 젤은 둘레부분은 무색 투명하였으나, 중심부분이 약간 불투명하였다. 23°C에서 합성된 젤은 전체가 희고 불투명하였다. 15.5°C에서 합성된 젤의 투명도는 13°C와 18°C에서 합성된 젤의 중간정도이었고, 20.5°C에서 합성된 젤 또한 18°C와 23°C에서 합성된 젤의 중간정도의 투명도를 보였다(Figure 1(a)).

이와 같은 현상은 젤 합성반응의 초기 단계에 형성된 단량체의 불용성 덩어리 (cluster)들이 gel network 속에 결합되어서 젤이 불균일하게 되고 이로 인해 불투명한 젤이 형성되기 때문에 나타난다(20).

합성 pH가 젤 외형에 미치는 영향을 보면 합성 pH가 높아질수록 젤이 불투명해지고 흰색의 젤로 변화되었다. pH 10.3에서 합성된 젤은 투명하지만 중심부분이 약간 흐리게 관찰되었고, 15.5 - 18°C에서 합성된 젤의 투명도와 유사하였다. pH 11.3에서는 18°C의 온도로 합성한 경우와 동일한 조건이므로 결과도 동일하여 젤 주변은 무색 투명하지만 중심부분이 약간 불투명하였다. pH 12.3에서 합성된 젤의 경우 23°C에서 합성한 젤과 마찬가지로 젤 전체가 희고 불투명하였다 (Figure 1(b)).

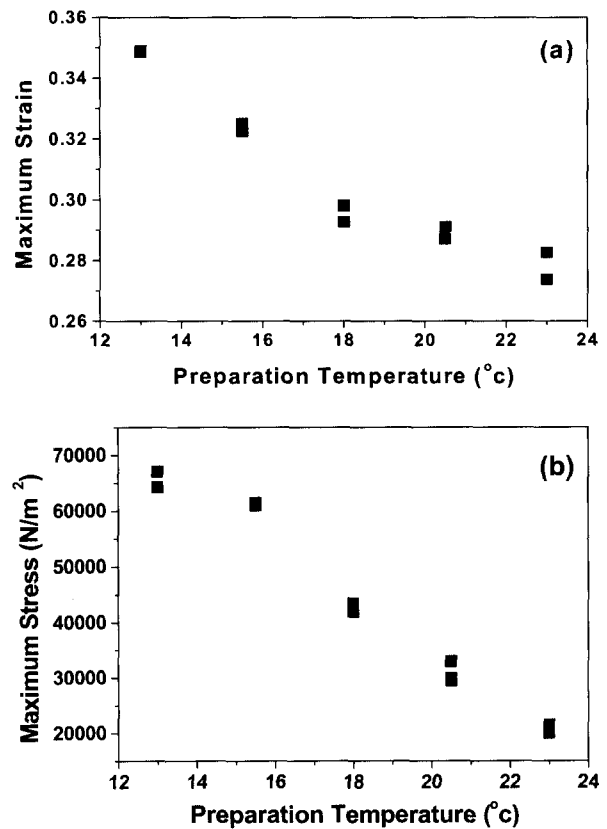


Figure 2. Dependence of maximum strain (a) and maximum stress (b) on gel preparation temperature.

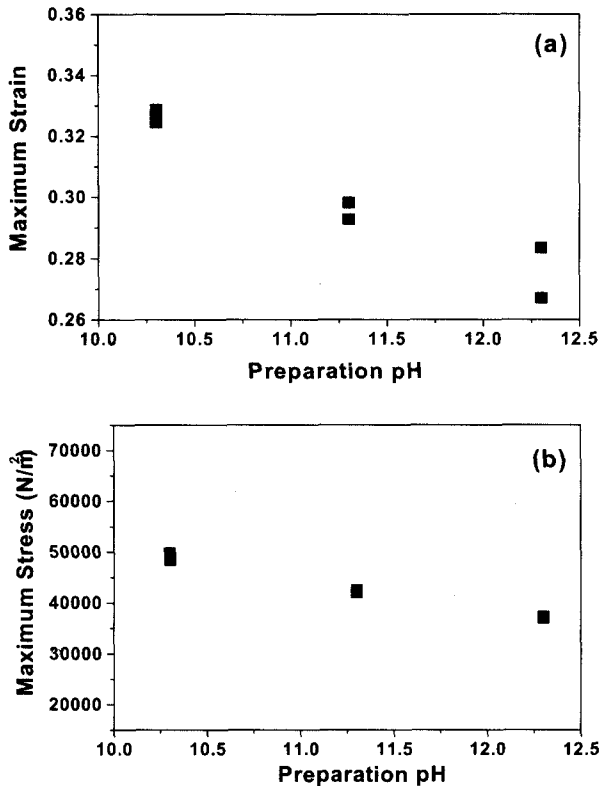


Figure 3. Dependence of maximum strain (a) and maximum stress (b) on gel preparation pH.

**합성조건에 따른 기계적 강도의 영향**

하이드로젤을 생물분리정제 공정에 활용할 경우 얇은 막, 작은 디스크 형태 등 적절한 형태로 만들어 사용하게 될 것이다. 본 실험에서는 디스크 형태의 하이드로젤의 기계적 강도를 UTM을 이용하여 측정하였다. 최대 stress와 최대 strain은 합성온도(13°C ~ 23°C)가 낮을수록 증가하였다. 13°C에서 합성한 젤의 최대 strain이 0.35로 가장 강도가 높았으며 이 값은 23°C에서 합성된 젤의 최대 strain인 0.28에 비하여 25%가 높은 값이다(Figure 2(a)).

이러한 결과는 높은 온도(20 및 23°C)에서 젤이 합성되는 동안 형성된 불균일성이 젤 강도를 저하시키는 원인이 되는 것으로 보인다. 즉 젤의 그물조직(network)내에 불균일성이 형성될 경우 가공의 효과가 저하되며, 이는 젤 구조 내에 약한 결합이 생기게 하는 원인이 된다. 상대적으로 많은 불균일성이 젤 그물조직(network)내에 존재할수록 젤의 결합력은 더욱 약해지며, 젤은 구조적으로 불안정하고 쉽게 부서진다. 문헌 보고(22)에 의하면 23°C에서 합성된 젤은 많은 불용성 고분자 덩어리(cluster)들이 젤 network내에 결합되어 있기 때문에 구조적으로 불안정하고 기계적 강도가 약한 젤이 된다. 반면에 투명한 젤은 불균일성이 매우 적으며 보다 구조적으로 안정하며 기계적 강도가 강하게 된다.

합성 pH가 낮을수록 최대 stress와 최대 strain이 증가하였다(Figure 3). 합성 pH가 10.3 일 때의 최대 strain(0.326) 합성 pH가 12.3일 때의 최대 strain(0.275)에 비하여 18.5% 높았다(Figure 3(a)).

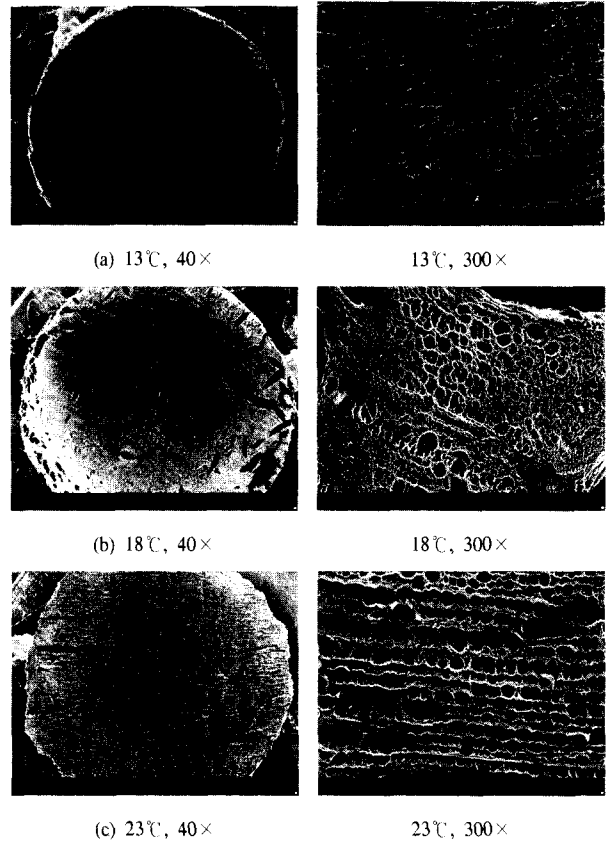


Figure 4. Scanning electron micrograph of freeze-dried hydrogels (synthesized at 13, 18, and 23°C).

합성온도나 pH가 낮을수록 젤의 기계적 강도가 증가하였으나 합성온도와 합성 pH의 영향을 비교하면 합성온도가 기계적 강도에 미치는 영향이 컸다. 최대 strain의 경우 pH 10.3에서 합성된 젤의 강도가 13°C에서 합성된 젤의 강도보다 약하였고 15.5°C에서 합성된 젤의 강도와 유사하였다(Figure 3(a)). 최대 stress의 경우 pH 10.3에서 합성된 젤의 강도는 합성온도가 15.5-18°C에서의 젤의 강도와 유사하였다.

**합성조건에 따른 Gel 표면 모양 비교**

합성조건(온도 및 pH)이 젤 표면의 모양에 미치는 영향을 SEM을 이용하여 관찰하였으나 일관성 있는 경향을 발견하지는 못했다(Figure 4). 그러나 단백질의 크기 보다 큰 많은 수의 pore들이 관찰되었다. 이러한 표면구조로 인하여 젤이 팽윤되면서 단백질 용액이 농축될 때 단백질이 이 pore내부로 들어갈 것이며 이것으로 문헌(5,12)에 보고된 분리효율(separation efficiency) 저하를 부분적으로 설명할 수 있을 것으로 보인다.

**합성조건이 LCST에 미치는 영향**

합성온도가 증가함에 따라 젤의 LCST는 낮아지는 경향을 나타내었다(Figure 5(a)). 합성온도가 13, 15.5, 18, 20.5 및 23°C인 젤의 경우 LCST는 38.2, 35.1, 34.5, 31.4 및 32°C로 측정되었다. 이러한 경향은 온도민감성 젤과 동일하나 측정된 LCST의 범위는 온도민감성 젤과 비교하여 0.5~1.0°C 정도 높았다(20).

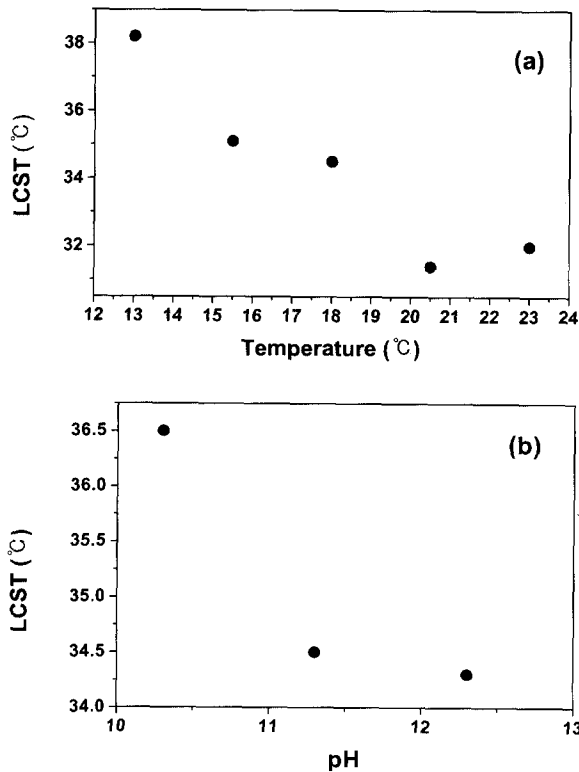


Figure 5. Dependence of LCST on preparation temperature (13, 15.5, 18, 21.5 and 23°C) (a) and preparation pH (10.3, 11.3, and 12.3) (b).

일반적으로 소량의 이온성 단량체를 함유하게되면 젤의 수축(collapse)온도가 크게 증가하거나 없어지는 것으로 보고되어 있다(9). pH민감 성분으로 (diethylamino)ethyl methacrylate (DEAEMA)를 함유한 pH/온도 동시민감성 젤의 경우 하전된 단량체의 양이 약 2.5 mol% 수준으로 감소되었을 때 젤 수축(collapse)이 일어나는 것을 발견하였다. 이는 pH민감성을 부여하는 단량체의 양이 증가하면, 고분자내에서 전하를 띤 단량체 성분이 임계 농도에 이르기 위해서 pH에 민감한 단량체의 많은 분율(fraction)이 양성자를 잃어야(deprotonated) 하며 이 과정이 흡열 과정이므로 수축(collapse)되는 상전이 온도가 증가하는 것으로 설명되었다(9). 본 실험에서 사용한 pH민감성 단량체인 DMAPMAAm도 유사한 효과를 나타내어 LCST의 온도가 온도민감성 젤에 비해 상승한 것으로 보인다. NIPAAm에 acrylamide나 다른 성분이 첨가된 공중합체의 경우 LCST가 변하는 것이 문헌에 보고되어 있다(10,21).

합성 pH가 증가함에 따라 LCST가 낮아지는 경향을 보였으나 pH 11.3과 12.3에서의 LCST는 거의 같은 값이었다 (Figure 5(b)). pH 10.3에서 합성된 젤의 LCST가 36.5°C로 가장 높았으며 pH 11.3 및 12.3에서 합성된 젤의 LCST는 각각 34.5°C와 34.3°C이었다.

#### 합성조건이 하이드로젤의 젤팽윤-수축에 미치는 영향

젤 합성온도와 합성pH가 pH/온도-동시 민감성 하이드로젤의 팽윤 및 수축에 미치는 영향을 연구하였다(Figure 6,7). 외부 pH는 1 - 12로 변화시켰으며 외부 온도는 25°C와 40°C의 두 온도를 사용하였다.

#### 합성온도의 영향

pH민감 성분이 포함되지 않은 온도민감성 하이드로젤인 poly(NIPAAm)의 경우 pH변화에 관계없이 LCST (32°C ~ 33°C) 보다 낮은 25°C에서는 팽윤되고 LCST 보다 높은 40°C에서는 수축된다고 보고되었다(5).

본 연구에 사용한 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤은 poly(NIPAAm)과 마찬가지로 25°C에서 젤은 전 pH에 걸쳐 수분함량이 90% 정도로 팽윤된 상태에 있었다. pH가 높을 때는 약간 수축하는 경향이 있기는 하였으나 그 정도는 미미하였다. 그러나 40°C에서는 5 mol%의 DMAPMAAm을 함유한 하이드로젤은 pH가 알칼리성 영역에서는 poly(NIPAAm)과 마찬가지로 젤이 대개 수축되어 있었으나 pH가 중성 및 산성에서는 LCST보다 높은 온도임에도 불구하고 젤은 팽창하였다(Figure 6,7).

이 실험결과를 젤 내부의 이온력과 소수성(hydrophobicity) 등으로 설명될 수 있다. 하이드로젤의 팽윤-수축 메커니즘은 세 가지의 힘, 즉, 젤을 팽윤 혹은 수축시키려는 힘인 고분자의 고무탄성력(rubber elasticity), 고분자-고분자간 친화력(polymer-polymer affinity), 그리고 수소-이온의 압력(hydrogelation pressure)의 합력 방향으로 나타난다(3). 즉, 하이드로젤이 수용액 중에 있을 때 젤 내부에는 젤을 팽창시키려는 힘과 수축시키려는 힘이 동시에 작용하며 이 두 개의 서로 반대되는 힘의 합력의 방향에 따라 젤은 팽창 또는 수축한다.

일반적으로 온도민감성 하이드로젤이 LCST보다 낮은 온도(25°C)에서는 친수성을 갖는 상태(hydrophilic state)가 되어 팽윤되고, 그보다 높은 온도에서는 부피 상전이(phase transition)가 되면서 소수성을 갖는 상태(hydrophobic state)가 되어 수축되게 된다(5). 그러나 pH 민감성 단량체인 DMAPMAAm이 함유되면 젤의 팽윤 거동이 달라지게 된다. 양전하를 갖는 DMAPMAAm에 있는 tertiary 아민 그룹이 고분자 그물조직(network)내에 결합됨으로써 낮은 pH 영역에서는 양성자를 얻은(protonated) 아민 그룹들 사이의 이온 반발력(ionic repulsion)이 발생하여 젤이 팽윤되게 되고, 높은 pH 영역에서는 아민 그룹들이 양성자를 얻지 못하기 때문에 수축하는 현상이 나타나게 되는 것으로 보인다(10).

합성온도가 증가함에 따라 수축 pH (팽윤-수축 실험에서 젤 부피가 가장 큰 폭으로 변하는 pH)가 더 높은 값을 나타내었다. 이와 같이 수축 pH가 높아진 것은 젤의 3차원 구조적인 특성으로 설명할 수 있을 것으로 보인다. 높은 합성온도에서 합성된 젤은 상대적으로 낮은 기계적 강도(Figure 2, 3)를 가지며 합성된 젤의 부피도 약간 커지는 것이 관찰되었다. 이러한 구조적 변화는 양성자가 이 고분자 그물조직(network) 사이로 쉽게 들어갈 수 있는 3차원적 구조를 형성할 것이다. 따라서 젤내의 아민 그룹에 동일한 수의 양성자가 결합하기 위해 필요한 pH 완충액 내의 양성자의 수가 낮은 온도에서 합성된 단단한(compact) 젤보다 적을 것이며 이로 인해 수축 pH가 높아진 것으로 사료된다.

13°C에서 합성된 젤은 15.5°C 이상의 온도에서 합성된 젤과는 다른 팽윤-수축 양상을 보였는데 그것은 알칼리성 pH영역에서도 비교적 많이 팽윤되어 있고 수축 pH가 관찰되지 않은 것이다. 합성온도에 따른 젤의 수분함량을 보면 13°C에서 합성된 젤은 pH 1에서의 수분함량이 85.34%이었고 pH 7

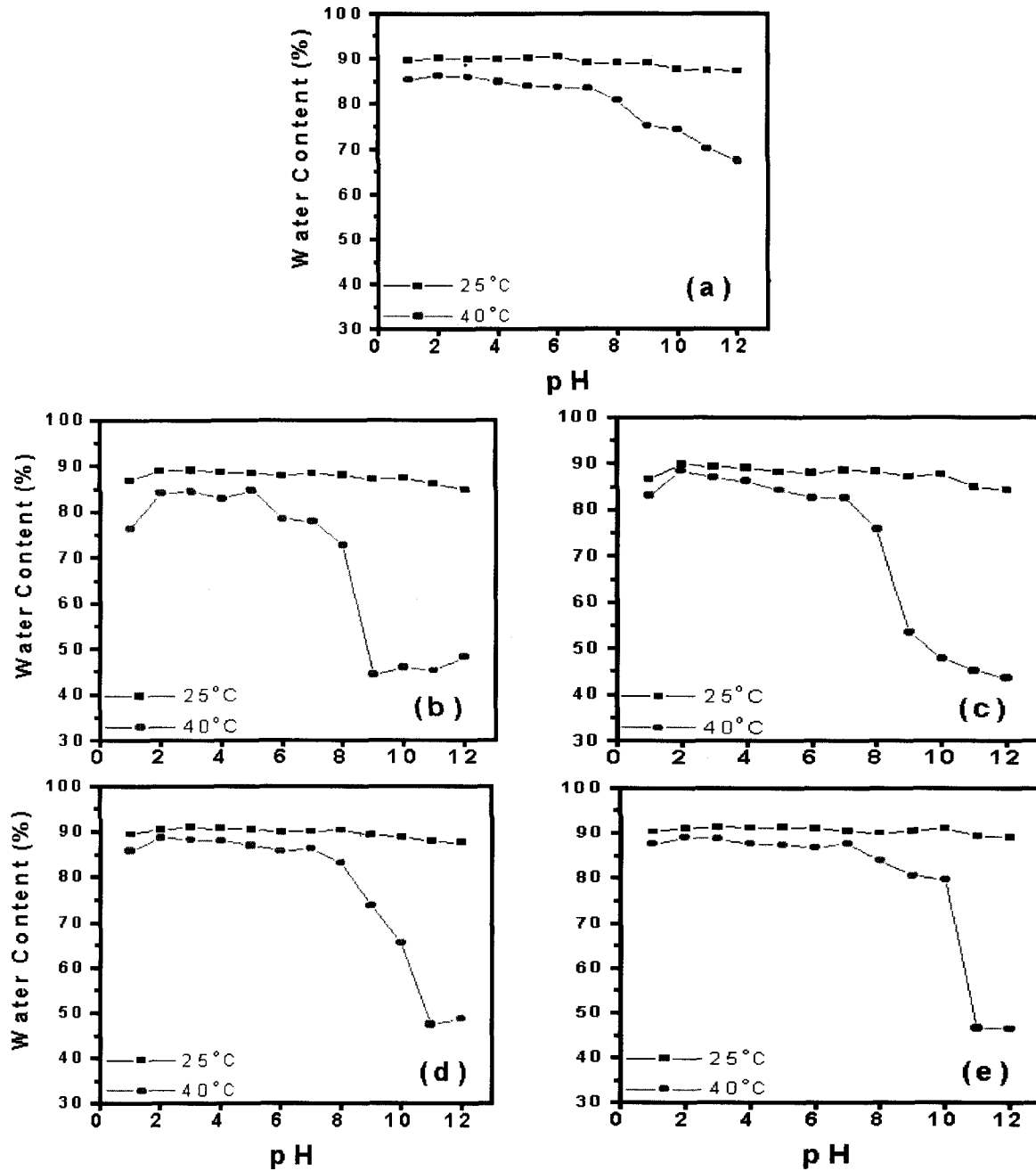


Figure 6. Water content in poly(NIPAAm-co-DMAPMAAm) prepared at 13°C (a), 15.5°C (b), 18°C (c), 20.5°C (d), and 23°C (e).

까지 거의 pH에 무관한 수분함량을 유지하다가 pH 8에서부터 두드러지게 감소하여 pH 12에서 67%이었다(Figure 6(a)). 15.5°C와 18°C에서 합성된 젤의 경우는 pH 1에서 수분함량이 각각 76.3%와 83.1%이었고 약간 상승 후 서서히 감소하다가 pH 8~9에서 수축 pH가 나타났으며 pH 12에서의 수분함량은 각각 48.2%와 43.5%를 나타내었다(Figure 6(b), (c)). 20.5°C에서도 pH 1에서 85.8%로 수분함량이 높았으나 pH 8에서부터 수분함량이 크게 감소하기 시작되어 pH 10-11 사이에서 단위 pH당 수분함량의 감소가 가장 두드러졌으며 pH 12에서는 47.4%까지 감소하였다(Figure 6(d)). 23°C에서는 pH1에서의 수분함량이 87.58%이었고 pH증가에 따라 수분함량

의 변화가 크지 않았으나 pH 10~11에서 급격히 감소하였으며 pH 12에서의 수분함량은 46.5%로 감소하였다(Figure 6(e)).

**합성 pH의 영향**

합성 pH의 팽윤-수축실험에서 합성pH의 변화에 따라 수축 pH는 크게 변하지 않았으며 합성 pH에 무관하게 pH 8~9범위에서 수축 pH가 관찰되었다(Figure 7).

40°C 항온조 내에서 행한 합성 pH에 따른 젤의 팽윤-수축 거동 실험 결과 pH 10.3에서 합성된 젤은 pH 1에서는 수분함량 84.8%로 팽윤 되어 있다가 pH 8까지 72.6%로 서서히 감소하였다. 그후 pH 8-9 사이에서 급격히 수축되어 pH 9에

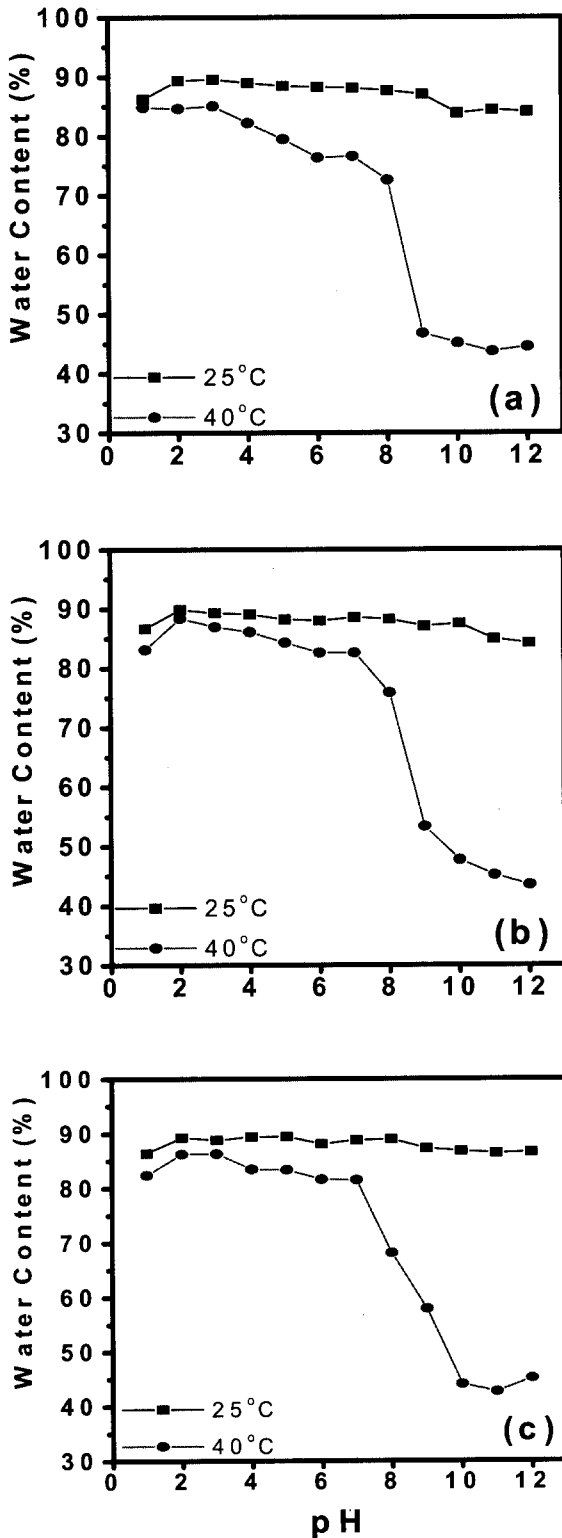


Figure 7. Water content in poly(NIPAAm-co-DMAPMAAm) prepared at pH 10.3 (a), 11.3 (b), and 12.3 (c).

서 수분함량이 46.8%로 낮아졌다(Figure 7(a)). pH 11.3에서 합성된 젤은 pH가 1 일때 83.1%로 시작하여 약간 상승 후 아주 서서히 감소하다가 pH 8~9에서 수축 pH가 나타났으며

pH 12에서의 수분함량이 43.5%이었다(Figure 7(b)). 합성pH가 12.3일 때는 pH 1에서 수분함량 82.4%의 팽윤된 상태에 있다가 pH 7 이후로 pH 10까지 감소가 현저하게 나타났으며 pH 11에서 42.7%의 낮은 수분함량을 가졌다(Figure 7(c)). 25°C의 항온에서는 합성 pH에 관계없이 전 pH 구간(1~12)에서 88% 전후의 수분함량을 유지하였다(Figure 7).

요 약

온도 및 pH에 동시에 민감한 하이드로젤 poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N'-dimethylaminopropylmethacrylamide)을 온도 (13, 15.5, 18, 20.5 및 23°C)와 pH (10.3, 11.3 및 12.3)를 달리 하여 합성하고 이 젤들의 외형, 기계적 강도, 젤 표면모양, LCST, 수축 pH 및 젤의 팽윤 특성을 연구하였다.

합성온도 및 합성 pH가 낮을수록 젤의 외형은 투명하였고 기계적 강도는 높았다. SEM 관찰 결과 단백질 보다 더 큰 pore들 때문에 분리효율이 감소되는 것으로 사료된다. 합성온도나 합성 pH의 증가는 LCST를 낮추었다. 외부온도가 LCST보다 낮은 25°C에서는 모든 합성온도와 합성 pH에 대하여 젤은 전 pH에 걸쳐 팽윤된 상태에 있었다. 40°C에서는 LCST보다 높은 온도임에도 불구하고 poly (NIPAAm-co-DMAPMAAm) 하이드로젤은 pH가 중성 및 산성 영역에서 팽윤되었다. 합성온도가 증가함에 따라 젤 부피가 가장 큰 폭으로 변하는 수축 pH가 더 높아졌다.

감 사

본 연구는 한국학술진흥재단의 '98년도 과학기술기초중점 연구비(생물화학공학, 과제번호 : 1998-020-E00028)에 의하여 지원되었습니다.

REFERENCES

1. Freitas, R. F. S. and E. L. Cussler (1987), Temperature-sensitive Gels as Extraction Solvents, *Chem. Eng. Sci.*, **42**, 97-103.
2. Tanaka, T. (1981), Gels, *Scientific American*, January, 124-138.
3. Tanaka, T., I. Nishio, S. T. Sun, and S. Ueno-Nishio (1982), Collapse of Gels in an Electric Field, *Science*, **218**, 467-469.
4. Lee, K. K., M. Marchetti, E. L. Cussler, and M. A. McHugh (1990), Pressure-dependent Phase Transitions in Hydrogels, *Chem. Eng. Sci.*, **45**, 766-767.
5. Park, C.-H. and I. Orozco-Avila (1992), Concentrating Cellulases from Fermented Broth Using a Temperature-sensitive Hydrogel, *Biotechnol. Prog.*, **8**, 521-526.
6. Dong, L. C. and A. S. Hoffman (1986), Thermally Reversible Hydrogels: III. Immobilization of Enzymes for Feedback Reaction Control, *J. of Control. Rel.*, **4**, 223-227.
7. Park, T. G. and A. S. Hoffman (1990), Immobilization of Arthrobacter simplex in a Thermally Reversible Hydrogel: Effect of Temperature Cycling on Steroid Conversion, *Biotechnol. Bioeng.*, **35**, 152-159.
8. Hoffman, A. S., A. Afrassiabi, and L. C. Dong (1986),

- Thermally Reversible Hydrogels: II. Delivery and Selective Removal of Substances from Aqueous Solutions, *J. of Control. Rel.*, **4**, 213-222.
9. Feil, H., Y. H. Bae, J. Feijen, and S. W. Kim (1992), Mutual Influence of pH and Temperature on the Swelling of Ionizable and Thermosensitive Hydrogels, *Macromolecules*, **25**, 5528-5530.
  10. Park, T. G. and A. S. Hoffman (1992), Synthesis and Characterization of pH-and/or Temperature-sensitive Hydrogels, *J. Appl. Pol. Sci.*, **46**, 659-671.
  11. Sassi, A. P., A. J. Shaw, S. M. Han, H. W. Blanch, and J. M. Prausnitz (1996), Partitioning of Proteins and Small Biomolecules in Temperature- and pH-sensitive Hydrogels, *Polymer*, **37**, 2151-2164.
  12. Park, C.-H. and I. Orozco-Avila (1993), Concentrating Cellulases Using a Temperature-sensitive Hydrogel: Effect of Gel Particle Size and Geometry, *Biotechnol. Prog.*, **9**, 640-646.
  13. Han, J., R. R. Ruan, and C.-H. Park (1995), Prediction of Hydrogel Pore Size by Pulse NMR and Neural Network, *Biotechnol. Tech.*, **9**, 637-642.
  14. Baker, J. P. and R. A. Siegel (1996), Hysteresis in the Glucose Permeability versus pH Characteristic for a Responsive Hydrogel Membrane, *Macromol. Rapid Comm.*, **17**, 409-415.
  15. Wu, J. Z., A. P. Sassi, H. W. Blanch, and J. M. Prausnitz (1996), Partitioning of Proteins between an Aqueous Solution and a Weakly-ionizable Polyelectrolyte Hydrogel, *Polymer*, **37**, 4803-4808.
  16. Kotte, H., B. Grundig, K. D. Vorlop, B. Strehlitz, and U. Stottmeister (1995), Methylphenazonium-modified Enzyme Sensor Based on Polymer Thick Films for Subnanomolar Detection of Phenols, *Anal. Chem.*, **67**, 65-70.
  17. Trank, S. J., D. W. Johnson, and E. L. Cussler (1989), Isolated Soy Protein Production Using Temperature-sensitive Gels, *Food Technol.*, **43**, 78-83.
  18. Vijay. R, Patel and Mansoor. M. Amiji (1996), Preparation and Characterization of Freeze-dried Chitosan poly(ethylene oxide) Hydrogels for Site-specific Antibiotic Delivery in the Stomach, *Pharm. Res.*, **13**, 588-593.
  19. Heskins, M. and J. E. Guillet (1968), Solution properties of poly(*N*-isopropylacrylamide), *J. Macromol. Sci.-Chem.*, **A2**, 1441-1455.
  20. Rathjen, C. M., C.-H. Park, P. R. Goodrich, and D. D. Walgenbach (1995), The Effect of Preparation Temperature on Some Properties of a Temperature-sensitive Hydrogel, *Pol. Gels and Network*, **3**, 101-115.
  21. Priest, J. H., S. L. Murray, R. J. Nelson, and A. S. Hoffman (1987), Lower Critical Solution Temperatures of Aqueous Copolymer of *N*-isopropylacrylamide and Other *N*-substituted Acrylamides, American Chemical Society.
  22. Suzuki, Y., Nozaki, K., Tetsuya, Y., Kiichi, I. & Nishio, I (1992), Quasielectric Light Scattering Study of the Formation of Inhomogeneities in gel, *J. Chem. Phys.*, **97**, 3808.