

키토산을 이용한 PVA 블랜드 필름의 항균특성

김경민 · 공승대 · 윤철훈 · 김용렬* · 이한섭**

명지대학교 화학공학과

*대전대학교 화학공학과

**용인대학교 환경보건학과

(2000년 8월 18일 접수 : 2000년 9월 18일 채택)

Antibiotic Activity of PVA Blending Films Using Chitosan

Kyung Min, Kim · Seung Dae, Kong · Cheol Hun, Yoon
Yong Yeul Kim*, Han Seob Lee**

Department of Chemical Engineering, Myongji Univ.

**Department of Chemical Engineering, DaeJin Univ.*

***Department of Environmental Health, YongIn Univ.*

(Received August 18, 2000 ; Accepted September 18, 2000)

Abstract : PVA blend films were prepared by solution blending method for the purpose of useful antibiotic polymers. Characteristics properties of blending films such as elongation and tensile strength were determined. Tensile strength and elongation were rapidly reduced as increasing the blending ratio of natural polymer. Blend films were found that phase separation was occurred as more than 25wt% increasing the blend ratio of chitosan. Also, The antibiotics of blend films were examined against gram(+) and gram(-) by disk susceptibility test. As a result, kind of blending films to show the highest antibiotics was chitosan 20wt% and the selectivity of mold strain was observed.

1. 서론

최근 환경과 보건문제에 대한 관심과 생활양식의 고급화에 따라 식품용기, 가전제품 및 생활용품 등으로 사용되는 재료에 대한 안전이 보장된 제품의 수요가 날로 높아지고 있다. 이에 부응하기 위하여 항균과 항진균 기능을 지닌 가정용과 공업용 플라스틱에 대한 연구가 증대되고 있다.¹⁾ 항균성 고분자의 가장 일반적인 형태는 금속이온과 같은 무기계 항균제를 고분자 소재에 첨가하는 것이다. 그러나 무기계는 항균지속성은 나타내지만 은, 구리 및 아연 등의 일부 금속이온은 수지를 열화시키거나 황변현상을 야기시켜 상품가치를 현저하게 저하시킬 우려가 있으므로 주의하여야 한다. 무기계는 일반적으로 평균입경이 수 마이크로(μm) 이상으로 크고 입도 분포폭도 넓기 때문에 미세한 섬유에 혼합하여 방사할 경우 절사의 원인이 될 수도 있으며 필름에 적용할 경우에는 필름의 투명도를 저하시키는

문제점을 지니고 있다. 가장 일반적인 형태로는 제올라이트(Zeolite)를 금속이온으로 처리한 무기계 항균제를 고분자 소재에 첨가하는 것이다. 무기항균제의 메카니즘은 두 가지로 나눌 수 있는데, 첫 번째는 금속이온에 의한 항균작용으로 이것은 담체에 결합된 항균금속은 이온화한 후 확산에 의해 미생물의 세포에 도달하여 단백질과 흡착하는 동시에 세포의 구조를 파괴하여 신진대사를 불가능하게 하는 것이고, 두 번째는 활성산소에 의한 항균작용으로 담체와 결합된 산소는 항균금속의 촉매작용에 의해 부분적으로 활성산소로 전환되어 이 활성산소가 오존과 과산화수소와 같이 강력한 살균력을 발휘하게 되는 것이다.^{2,3)}

반면에 유기계 항균제는 즉효성을 가지고 있으며, 저가이나 단점으로는 내열성이 떨어지며 내성균의 출현과 인체와 식품에는 사용이 불가능하다는 단점이 있다. 유기항균제의 메카니즘은 두 가지로 나눌 수 있는데, 첫 번째는 미생물대사 억제작용으

로 미생물이 플라스틱 표면에 접근하여 영양분을 섭취할 때 항균제의 활성기가 미생물과 반응하여 신진대사를 억제하고, 두번째는 미생물 파괴작용으로 항균제의 활성기가 미생물의 세포막을 파괴시킴으로서 미생물의 성장 및 번식을 차단하게 된다.^{4,5)}

본 연구에서는 무기, 유기계의 항균제의 단점인 인체 또는 식품용기에도 사용이 가능하며 항균력을 유지할 수 있는 항균성 고분자의 개발과 천연자원의 재활용이란 측면에서 점도차이에 의한 3종의 키토산을 이용하여 폴리비닐알콜(PVA)과 무게혼합비율(wt%)에 따른 용액 블렌딩법으로 블랜드 필름을 제조하고 이들의 기계적 특성과 일부 특정 세균에 대한 항균성을 디스크 확산법으로 측정하여 천연계인 키토산을 이용한 항균 블랜드 필름의 가능성을 연구하였다.

2. 실험

1. 시약 및 기기

블랜드 필름을 제조하기 위해 사용된 게껍질(Crab shell)로부터 75~85% 탈아세틸화되어 제조된 저(20-200cps), 중(200-800cps) 및 고점도(800-2000cps)의 키토산 3종은 Aldrich사제를 사용하였고, PVA(중합도:500)는 Junsei사제 특급시약을 사용하였으며 용매로는 Millipore사의 Milli-Q reagent water system을 사용하여 처리한 탈이온수를 사용하였으며 키토산 용해시에는 덕산화학의 초산용액에 무게혼합비율 2.0wt%로 제조한 수용액을 사용하였으며, 블랜드 필름을 제조하기 전에 공용대를 자외선으로 24시간동안 멸균 처리하여 사용하였다.

균의 배양과 접종에 사용된 배지는 Difco사제 Mueller Hinton Agar를 사용하였고 균은 국립보건원에서 분양 받은 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027와 *Escherichia coli* ATCC 8739인 Gram (+)과 (-)인 4종의 세균을 사용하였다. 항균 시험에 이용되는 약물 희석용 완충용액은 0.1M phosphate buffer와 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하였다.

2. PVA/키토산 블랜드 필름의 제조

키토산과 PVA⁶⁾의 블랜드 필름의 경우에는 2.0wt% 초산수용액을 공용매로 사용하여 PVA에 키토산의 무게 혼합비율에 따른 각각의 블랜드물을 공용매가 있는 비이커에 넣은 후 균일하게 용해되도록 교반하였으며 이때 일정간격을 두고 5분간의

초음파 반응을 실시하여 기포생성을 방지하였다. 이와 같이 얻은 겔형의 용액을 원통형 유리관에 일정 높이로 적가한 후 40°C에서 감압건조하여 블랜드 필름을 제조하였다. 그러나 PVA에 대한 천연고분자의 무게 혼합비율이 일반적으로 25wt%를 넘으면 제조한 블랜드필름이 육안적으로 상분리현상을 나타내어⁷⁾ 본 실험은 20wt%까지만 국한시켜 블랜드 필름을 제조하였다. 제조한 블랜드필름을 에탄올에 침지시키고 재건조하여 사용할 때까지 데시케이터에 보관하였다.

3. 블랜드 필름의 기계적 성질 측정

블랜드의 상용성은 기존 상용고분자와 비교하여 물리적 성질을 측정함으로써 간접적인 비교가 가능하다. 특히 상용화를 위한 블랜드계에서는 어느 정도 유사한 기계적 물성이 필요하다. 기계적 성질을 측정하기 위하여 한국공업규격 M3001에 의하여 시편을 제작하고 시편 두께측정기를 사용하여 125 ± 15g의 정압 하에서 시편두께를 위치에 따라 0.001mm의 치수까지 눈금을 확인하며 5회 측정하고 그중 최소값을 취하였다.⁸⁾ 최소값을 취한 이유는 인장, 신장 측정시 두께가 최소값을 나타내는 부위에서 절단되어 인장, 신장강도를 나타내기 때문이다. 인장강도, 신장율은 Instron 4301을 이용하여 인장, 신장강도는 측정기의 시편물림부의 이동속도를 500mm/min, Load cell 50kg의 하중으로, 각각의 시편 10개를 측정하여 산술 평균하였다.

4. 블랜드 필름의 항균성 측정

병원성 세균의 항균물질에 대한 감수성 여부를 검사하는 방법에는 액체배지 희석법(broth dilution method), 평판배지 희석법(agar dilution method), 디스크 확산법(disc diffusion method) 등이 있다.⁹⁾

실험방법으로는 평판배지 희석법과 동일한 방법으로 평판을 만들고 페트리디쉬에 배양액의 농도를 맞춘 후 15분 이내에 건조된 배지에 멸균된 면봉을 사용하여 배양액에 충분히 적시고 페트리디쉬 내벽에 돌리면서 과다한 균액을 제거하였다. 이 때 처음에는 전 표면에 한 방향으로 문질러 바르고 다시 되풀이하여 전 표면에 골고루 접종하였다. 디스크 디스펜서를 이용하여 필요한 디스크를 균이 골고루 접종된 페트리 디쉬 위에 올려 놓고 디스크 중앙을 가볍게 눌러 배지위에 고정하고 30분 이내에 배양기에 거꾸로 배양시켰다.

디스크 확산법의 판독은 zone reader를 사용하여 디스크 직경을 포함한 발육억제대 직경을 18시간 후에 측정하였고 발육억제대 주변에 미약한 발육이

나 작은 발육억제대안의 큰 집락이 생겼을 경우에는 계대 배양하여 재 실험하여 clean zone을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

1. 블랜드 필름의 기계적 성질

블랜드 필름의 상용화를 위해서는 기존 단일 고분자와 유사한 물리화학적 물성이 요구된다. 비록,

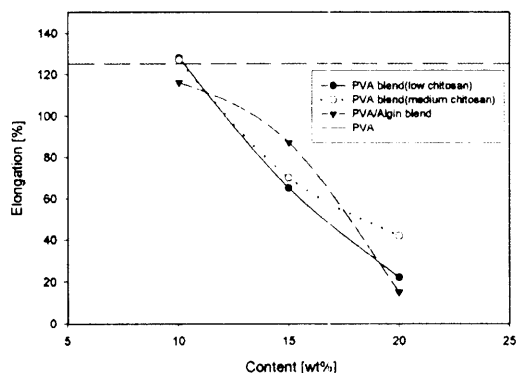


Fig. 1. Effects of composition on the ultimate tensile strength of PVA/Chitosan blend films.

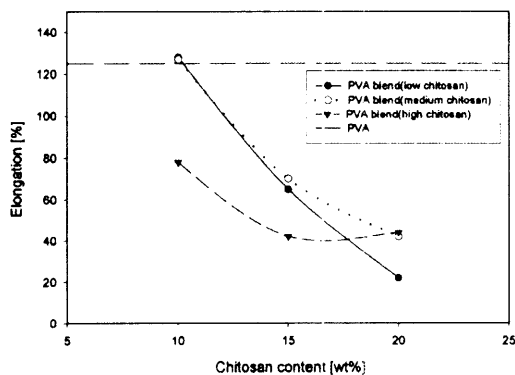


Fig. 2. Effects of composition on the ultimate elongation at break of PVA/Chitosan blend films.

화학적 상용성은 떨어지더라도 기계적 물성과 같은 물리적 물성이 유지되는 상용성을 나타내면 상용화할 수 있다.¹⁰⁾

인상강도를 나타낸 Fig. 1을 보면 순수 PVA와 비교하여 중점도 및 저점도 키토산을 사용하고 PVA와의 블랜딩 비율이 10wt%일때 비교적 유사한 물성을 나타내고 있다. 신장률을 나타낸 Fig. 2를 보면 역시 중점도 및 저점도 키토산을 사용하고 PVA와의 블랜딩 비율이 10wt% 정도가 비교적 순수 PVA와 유사한 신장률을 나타내고 있다. 이와 같이 블랜딩 비율과 키토산의 분자량(점도)에 따라 물성에 차이가 나타나는 것은 천연고분자와 PVA 간의 phase mixing에서의 분자간 상호작용에 의한 결합력의 차이와 키토산의 사슬 길이 및 수소결합력의 차이 때문이라고 생각된다.

2. 블랜드 필름의 항균성

디스크 확산법에 의한 감수성 측정 결과가 재현성이 있으며 신뢰할 만한 결과를 얻기 위해서는 검사방법과 기술이 표준화되어야 하며 엄격한 관리가 필요하다. 본 연구에서는 임상적으로 그 타당성이 인정된 Bauer-Kirby방법¹¹⁾을 응용하여 실험하였으며 18시간 후에 판독한 결과를 Table 1에 나타내었으며 Fig. 3과 4에 그람양성균과 그람음성균에 대한 항균실험 결과를 나타내었다.

Fig. 3과 4에서와 같이 키토산 블랜드 필름의 경우 키토산의 함량이 많아질수록 강한 항균력을 보였다. 또한 그람양성균보다는 그람음성균인 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*에 좋은 감수성을 나타내었다.

키틴과 그의 유도체에서 나타나는 항균성은 이들 물질이 지닌 폴리양이온성 및 단백질과의 친화성으로부터 유래되며 그 결과 세균과 곰팡이에 대한 선택적인 항균력이 나타난다. 특히, 키토산과 같이 키틴에 아민기를 도입함으로써 키틴에서는 발현되지 않는 항균성을 나타낼 수 있으며, 또한 항균능력은 분자량에도 영향을 받는다고 보고하고 있다.¹²⁾

보고된 아민기를 지닌 높은 양이온성 고분자인

Table 1. Disk Susceptibility Test of Synthetic Compound

Bacteria	Film	PVA	Blending 10wt%	Blending 15wt%	Blending 20wt%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P		0.0	2.63 ± 0.31	2.73 ± 0.28	2.88 ± 0.15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		0.0	2.62 ± 0.16	2.82 ± 0.09	3.05 ± 0.25
<i>Streptococcus pyrogenes</i> ATCC 21059		0.0	2.92 ± 0.39	2.87 ± 0.30	3.03 ± 0.17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027		0.0	2.30 ± 0.17	2.58 ± 0.18	2.57 ± 0.10

어 성장을 억제한다는 것¹³⁾과 세포내의 DNA에서의 RNA로 전사하는 것을 방해하여 성장을 억제한다¹⁴⁾는 두 가지로 크게 요약할 수 있다.

4. 결론

천연고분자인 키토산과 PVA를 용액블렌딩법으로 블랜드 필름을 제조하여 이들 필름의 상용성을 연구해 보았으며, 디스크 확산법으로 4종의 세균에 대한 항균력실험을 거쳐 항균력을 가지는 블랜드 필름을 제조하였다.

1. 제조한 블랜드 필름은 대체로 천연고분자의 혼합비율이 25wt%이내에서 부분적인 상용성을 나타내었다. 특히 블랜드 필름의 제조시 키토산의 경우에는 중점도 및 저점도 키토산과 PVA와의 블렌딩 비율이 10wt% 정도일 때가 물성이 비교적 양호하게 나왔고 블렌딩 함량이 증가할수록 물성의 저하현상이 나타났다.

2. 항균력은 순수 PVA의 경우에는 전혀 항균력을 나타내지 못하였으나 키토산의 블렌딩 함량이 증가할수록 우수한 항균력을 나타내었는데 이는 키토산 자체가 지닌 항균력 때문인 것으로 생각된다.

Fig. 3. Photographs of PVA(a), blending[10wt%](b), blending[15wt%](c) and blending [20wt%](d) blend films on *Pseudomonas aeruginosa*[G(-)] ATCC 9027 by Disk susceptibility test.

참고문헌

1. Y. Inoue, "Bactericide and Fungicide for a Comfortable Environment", Ch. 3, p.11 CMC, Tokyo(1992).
2. Y. Inoue, *Polymer Digest*, 46, 84(1994).
3. 임광민, "항균제 및 항균제품", (주)유공대덕기술원 화학제품연구팀, 105(1995).
4. S. H. Jang, "Characterizations and Application of Antibiotics and Antibacterial Resin", p.20, Samsung Plastic Technology, Spring(1994).
5. Williams & Wilkins, Baltimore, and R. E. Gosselin, "Clinical Toxicology of Commercial Products", 5th ed., Section III, p.348(1984).
6. I. Sakurada, "PVA Fibers", p.34, Marcel Dekler, New York(1985).
7. O. Olabish and L. M. Robenson, "Polymer-Polymer Miscibility", p.120, Academic Press, New York(1979).
8. 한국공업표준심의회, "한국공업규격", 농업용 필름 시험법, M3001, M3503, M3512, 한국공업표준협회(1993).

Fig. 4. Photographs of PVA(a), blending[10wt%](b), blending[15wt%](c) and blending [20wt%](d) blend films on *Staphylococcus aureus*[Gram(+)] ATCC 6538P by Disk susceptibility test.

키토산의 항균메카니즘으로는 미생물의 세포구성 성분인 sialic acid와 인지질 등의 음이온성과 정전기적으로 결합되기 때문에 미생물의 자유도가 저하되

9. G. D. Clayton and F. E. Clayton, "Patty's Industrial Hygiene and Toxicology", p.2567, vol. 2A, 3rd ed., Wiley-interscience, New York(1981).
10. M. J. Folkes and P. S. Hcpe, "Polymer Blends and Alloys", p.46, Blackie Academic & Professional, 1st ed., New York(1993)
11. V. Lorian and M. Davis, "Antibiotics in Laboratory Medicine", p.17, 3rd ed., New York(1980).
12. C. H. Kim and K. S. Choi, *Polymer Bull.*, **38**, 387(1997).
13. S. W. Fang and C. F. Li, *J. Food Protection*, **57**, 136(1994)
14. M. G. Shepherd, "In Microbial Cell Wall Synthesis and Autolysis", p.73, Elsevier Science Publisher(1984).