

열처리에 의해 가교된 다공성 키토산-알지네이트-젤라틴 지지체의 특성

최민수[†] · 한희동 · 성하수 · 박은석[†] · 지상철[†] · 신병철^{*}

한국화학연구원 생체분자전달제어연구팀

[†]성균관대학교 약학대학

(2006. 3. 30 접수)

Characteristics of porous Chitosan-Alginate-Gelatin Scaffold Cross-linked by Heat-treatment

Min Soo Choi[†], Hee Dong Han, Hasoo Seong, Eun Seok Park[†],
Sang Cheol Chi[†], and Byung Cheol Shin^{*}

Bioactive Molecules Delivery & Control Research Team, Korea Research Institute of Chemical Technology,
Daejeon 305-600, Korea

[†]College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-476, Korea

(Received March 30, 2006)

요 약. 천연고분자 소재로 제조된 다공성 지지체의 기계적 물성 향상을 위해서 사용되는 가교제는 세포독성으로 인해 지지체의 생체적합성을 저하시킨다. 본 연구에서 키토산, 알지네이트 및 젤라틴으로 제조된 다공성 지지체는 가교제를 사용하지 않고 열처리에 의해 가교시키고, 가교된 다공성 지지체의 물성을 조사하였다. FT-IR분광분석을 통해 열처리된 다공성 지지체의 가교는 고분자 세간의 아마이드 또는 에스테르 결합에 의해 형성되었음을 확인하였다. 열처리 다공성 지지체는 100~200 μm 크기의 연결된 공극 구조를 형성하였고, 가교제 처리 다공성 지지체에 비해 수분 흡수력은 2배 이상 향상되었다. 열처리 다공성 지지체의 인장강도는 가교하지 않은 다공성 지지체에 비해 130% 이상 향상되었고, 최대 신장률은 가교처리 다공성 지지체보다 11.3% 향상되었다. 따라서 열처리로 물성을 증가시킨 천연고분자 소재의 다공성 지지체는 생체적합성이 우수한 조직공학용 지지체로서 유용하다.

주제어: 다공성 지지체, 천연고분자, 열처리, 조직공학

ABSTRACT. Cross-linking agents used for enhancing mechanical properties of porous natural scaffolds, reduces biocompatibility of the scaffolds, due to their inherent cytotoxicity. In this study, scaffolds which was composed of chitosan, alginate and gelatin were cross-linked by using heat treatment instead of cross-linking agent and mechanical properties of the cross-linked scaffold were investigated. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analysis confirmed that cross-linking of heat-treated scaffold was formed via amide or ester linkage between the polymer chains. The heat-treated scaffold had interconnected pores with mean diameter of 100~200 μm and showed more than two fold increase of water uptake in comparison with chemically cross-linked scaffold. Tensile strength of the heat-treated scaffold increased up to 130% compared to non cross-linked scaffold and average maximum elongation was 11.3%. The porous cross-linked scaffold with the improved mechanical property may be suitable as a biocompatible scaffold for tissue engineering.

Keywords: Porous scaffold, Natural polymer, Heat-treatment, Tissue engineering

서 론

고분자 다공성 지지체는 상처치유, 화상치유, 약물 전달 및 손상조직 재생을 위한 지지체로서 널리 응용되고 있다.¹ 특히 손상된 조직의 재생을 위한 지지체는 소량의 조직면으로부터 추출, 분리한 세포를 충분한 양으로 배양하는데 적합한 구조와 안정성이 요구되며 체내 이식 후 부작용이 나타내지 않는 생체 적합성과 생분해성을 가지고 있어야 한다.² 따라서 세포의 재생과 성장을 효과적으로 실현하기 위한 생분해성 지지체는 조직세포가 지지체의 표면에 접촉하여 3차원 구조의 조직을 형성할 수 있는 다공성 구조를 가져야 하며 이상적인 다공성 지지체는 100-200 μm 크기의 공극이 서로 연결된 구조를 형성함으로써 수분과 세포성장인자 등의 이동이 용이하고 세포의 부착과 성장에 적합하여야 한다.³ 또한 다공성 지지체는 체내에 이식된 후 주위 조직과 잘 융화되어야 하며 염증반응 등의 부작용이 없고, 조직이 재생된 후에는 스스로 생분해되어 이물질로 잔류하지 않아 높은 생체적합성을 갖고 있어야 한다. 따라서 생체 적합성, 생분해성, 그리고 기계적 물성이 우수한 다공성 지지체는 조직의 재생과 복원에 필수적이다.^{3,4}

현재 조직 재생용 다공성 지지체의 제조에 이용되고 있는 고분자 재료로는 콜라겐, 젤라틴, 알지네이트 및 키토산 등의 천연고분자 재료와 폴리(아미노산), 폴리(아나하이드라이드), 폴리 ϵ -카프로락톤, 폴리(오르쏘에스테르), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산) 및 이들의 공중합체 등의 합성고분자 재료가 사용되고 있다.³⁻⁸ 특히 다공성 지지체의 제조에 사용되는 천연고분자 소재들은 생체 친화성이 높고 체내 이식 시에 체내 대사물로 분해되어 체외로 방출되거나 체내 독성을 갖고 있지 않아 다공성 지지체 소재뿐만 아니라 의료용 고분자 소재로써 널리 이용되고 있다.

한편, 고분자 지지체는 다공성 구조로 제조하기 위한 여러 가지 방법들이 시도되고 있다. 다공성 지지체의 제조방법으로는 고분자 수용액에 일정한 크기의 단결정 소금을 혼합하여 건조한 후 소금을 용해시켜 추출하는 방법,⁹ 고분자 섬유를 부직포로 만들어 매쉬 형태로 제조하는 방법,¹⁰ 고분자를 용해시킨 용액과 물을 혼합하여 유화 용액으로 만든 후 액체 질소로 냉동시키고 동결 건조하는 방법 등이 활용되고 있다.^{3,4,11} 이들 방법으로 제조한 지지체의 특성은

기공 크기와 구조 및 다공도에 따라 결정된다. 합성 고분자를 사용하여 제조한 다공성 지지체에 비해 천연 고분자를 사용한 다공성 지지체는 생체적합성이 우수한 장점이 있는 반면, 약한 기계적 물성과 수분이나 체액에 의하여 고분자 지지체가 쉽게 용해되는 문제점을 수반한다.¹² 따라서 대부분의 천연고분자 소재를 사용한 지지체는 가교제와 같은 화학적 처리를 통해 지지체의 기계적 물성을 향상시키는 것이 일반적이다.^{3,6,13-15} 화학적 처리에 이용되는 가교제는 EDC (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride), 글루타알데히드(glutaraldehyde), β -GP (β -Glycerol-phosphate) 등이 사용되며 고분자 사슬간의 가교결합을 형성시켜 수분과 체액에 의해 지지체가 용해되는 것을 억제하고 기계적 강도를 증가시킨다. 그러나 가교제가 사용된 다공성 지지체는 내부에 잔류하는 미량의 가교제로 인해 세포독성을 나타낼 뿐만 아니라 체내 이식 후 가교제로 인한 주변 장기에 대해 독성을 나타낼 수 있다. 따라서 가교제의 사용을 최소화하거나 가교제를 사용하지 않고 지지체의 기계적 물성을 증가시키기 위한 연구가 요구되고 있다.

본 연구에서는 키토산과 알지네이트 및 젤라틴을 열처리하여 아마이드 결합 또는 에스테르 결합이 형성된 다공성 지지체를 제조하였다. 열처리 다공성 지지체의 고분자 사슬간의 가교결합 형성을 FT-IR 분석을 통해 확인하였고, 처리조건에 따른 표면과 내부의 다공구조를 전자주사현미경을 사용하여 관찰하였다. 또한 다공체의 수분흡수도, 인장강도 및 신장률을 측정하여 물리적 및 기계적 특성을 평가하였다.

실 험

시약 및 기기

시약, 다공성 지지체를 제조하기 위한 기본 천연고분자 소재로서 키토산(75-85% 탈아세틸화, 점도: 5-20 cps), 알지네이트(점도: 250 cps), 그리고 젤라틴을 각각 Showa Chem. Inc. (Kyoto, Japan), Sigma-Aldrich Co. (MO, USA), 그리고 Yakuri Pure Chem. Co. (Kyoto, Japan)에서 구입하여 사용하였고 본 실험에서 사용한 천연고분자의 화학구조를 Fig. 1에 나타내었다. 가교제로 사용된 EDC는 Sigma-Aldrich Co. (MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖에 실험에 사용한

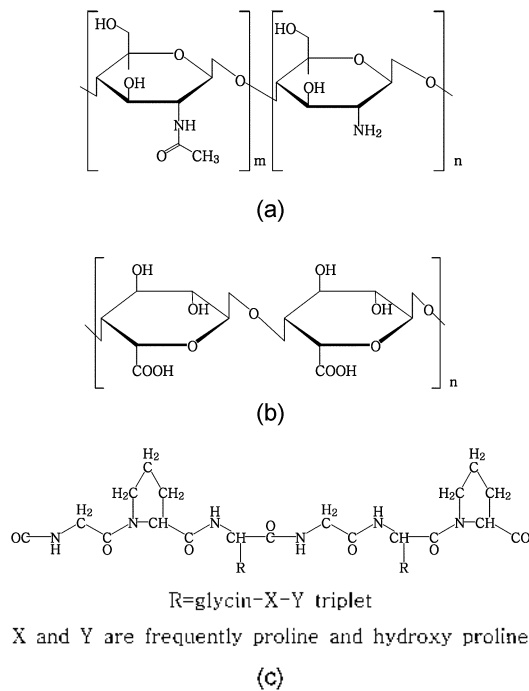


Fig. 1. Structure of natural polymers. (a) Chitosan (degree of deacetylation is 75-85 %). (b) Alginate and (c) Gelatin.

시약 및 용액은 일급 또는 특급시약을 그대로 사용하였다.

기기, 고분자 수용액의 혼합을 위하여 고속교반기(Ultra-turrax T25, IKA Lab., Germany)를 사용하였고, 다공성 지지체의 건조를 위하여 동결건조기(FD5505S, Iljin Lab. Korea)를 사용하였다. 인산염 완충 용액에서 다공성 지지체의 용해도를 측정하기 위하여 진동 배양기(Companion Lab. SI-600, Korea)를 사용하였다. 다공성 지지체의 두께는 Dial indicator (547-520, IDS TYPE)를 사용하여 측정하였고, 지지체의 다공 구조는 주사전자현미경(Model S-2250N, Hitachi Co., Japan)을 사용하여 관찰하였다. 다공성 지지체의 화학구조는 Fourier transform infrared spectrophotometry (FT-IR, FT 165, Bio-Rad, USA)를 사용하여 관찰하였고 인장강도와 최대 신장률은 인장기(Instron 4482, Instron Co., MA, USA)를 사용하여 측정하였다.

다공성 지지체의 제조

키토산, 알지네이트 및 젤라틴으로 구성된 대조군 다공성 지지체를 제조하기 위하여 2% (w/v) 키토산

수용액, 2% (w/v) 알지네이트 수용액, 그리고 2% (w/v) 젤라틴 수용액을 각각 제조하였다. 이때 키토산은 3% (v/v) 아세트산 수용액에 용해하였다. 2% (w/v)의 농도로 제조한 키토산 수용액, 알지네이트 수용액, 젤라틴 수용액은 6:2:2의 부피 비율로 총량이 5 ml가 되도록 혼합하고 고속교반기를 사용하여 13,000 rpm에서 10분간 교반 후 기포를 제거하기 위하여 4 °C에서 12 시간동안 숙성하였다. 혼합 용액 5 ml를 직경 55 mm의 배양접시에 붓고 -20 °C에서 냉동시킨 후 동결건조기를 사용하여 3일간 건조하였다.

시험군인 열처리 다공성 지지체는 대조군 다공성 지지체를 제조하는 방법과 동일하게 제조한 후 진공 80 °C의 조건에서 12시간동안 건조하여 제조하였다.

가교제인 EDC를 사용하여 가교처리한 다공성 지지체는 다공성 지지체를 제조하는 일반적인 방법¹³에 따라 제조하였다. 90% (v/v) 에탄올에 0.3% (w/v)로 용해된 EDC용액 100 ml에 대조군 다공성 지지체를 침지한 후 25 °C, 100 rpm의 진동 배양기에서 24시간 동안 가교 반응시켰다. 가교된 다공성 지지체는 아세트산, EDC 및 에탄올을 제거하기 위하여 증류수 300 ml로 상온에서 20분 동안 세척하였으며 이 과정을 3회 반복하였다. 수세한 다공성 지지체는 -20 °C로 냉동시킨 후 3일간 동결 건조하여 가교처리 다공성 지지체로 제조하였다.

다공성 지지체의 구조 및 FT-IR 측정

다공성 지지체의 미세구조는 다공성 지지체의 표면 또는 절단한 단면을 백금코팅하여 주사전자현미경으로 관찰하였다. 한편, 대조군, 열처리 그리고 가교처리 다공성 지지체의 고분자 사슬간의 결합형성 여부를 관찰하기 위하여 제조한 시료를 FT-IR을 이용하여 분광분석하였다.

다공성 지지체의 안정성과 수분흡수도

다공성 지지체의 수분에 대한 안정성은 2 cm×2 cm의 크기로 절단한 대조군, 열처리 그리고 가교처리한 다공성 지지체를 인산염 완충 용액(pH 7.4, 80 ml)에 침지하여 37 °C의 조건에서 200 rpm으로 회전하는 진동 배양기에서 3시간동안 숙성시킨 후 지지체의 형태를 관찰하여 평가하였다.

수분흡수도는 건조된 다공성 지지체를 2 cm×2 cm로 절단한 시료의 건조 무게를 측정 후, 60초 동안 증

류수에 침지하여 꺼낸 후 시료의 무게를 측정하여 다음 식 (1)에 의하여 계산하였다.

$$\text{Water Uptake, } Wu = \frac{W'_w - W'_d}{W'_d} \quad (1)$$

이때 W'_w 는 젖은 다공성 지지체 시료의 무게이고 W'_d 는 건조한 다공성 지지체 시료의 무게이다.

다공성 지지체의 인장 강도 및 신장률

다공성 지지체의 기계적 강도를 조사하기 위하여 인장강도와 신장률을 측정하였다. 다공성 지지체를 3 cm x 1 cm의 크기로 절단한 시편의 두께를 측정 후 두께와 폭을 곱하여 단면적을 계산하였다. 시편의 양끝을 고정하고 인장기를 사용하여 0.5 mm/s의 속도로 상온에서 시편을 인장하였고 파단점에서 인장강도와 최대 신장률을 식 (2)와 (3)에 의하여 계산하였다.

Tensile strength (KPa, 10^3 N/m^2)

$$\frac{\text{Load(N)}}{\text{Cross-sectional Area(m}^2)} \cdot 10^3 \quad (2)$$

$$\text{Maximum elongation (\%)} = \left[\frac{(e_f - e_i)}{e_i} \right] \quad (3)$$

이때 식 (2)의 σ 는 파단점에서 인장응력이고 d 는 파단점에서 시편의 두께이다. 한편 식 (3)의 e_f 는 인장응력이 없는 대조군이고 e_i 는 파단점에서 시편의 길이이다.

결과 및 토의

다공성 지지체의 결합에 대한 FT-IR 분석

Fig. 2는 대조군, 열처리 및 가교처리 다공성 지지체를 FT-IR 분광분석한 결과를 나타낸 것이다. 키토산, 알지네이트 및 젤라틴의 3성분으로 제조된 다공성 지지체의 스펙트럼에서 1654 cm^{-1} 의 아미드 I 피크, 1549 cm^{-1} 의 아미드 II, 1406 cm^{-1} 의 카르복실기의 신축진동 피크, 1100 cm^{-1} 의 에스테르 결합 피크 그리고 1075 cm^{-1} 에서 케톤의 신축진동 피크를 확인하였다. 열처리 다공성 지지체의 스펙트럼을 대조군 다공성 지지체의 스펙트럼과 비교하였을 때 새롭게 생성되거나 사라진 피크는 발견되지 않았다. 다만 열처리 다공성 지지체는 아미드 I에 의한 피크가 증가

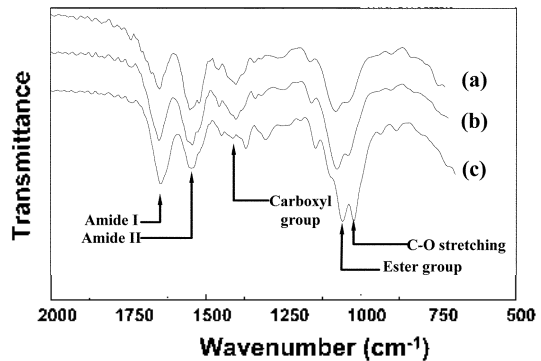


Fig. 2. FT-IR spectra of Chitosan-Alginate-Gelatin scaffolds. (a) Control scaffold, (b) Heat-treated scaffold and (c) Cross-linked scaffold.

하여 열처리에 의하여 아미드 결합이 증가되었음을 확인하였다. 한편, 가교처리 다공성 지지체는 아미드 I, 에스테르 결합, 그리고 케톤기에 의한 피크의 크기가 증가하고 카르복실기에 의한 피크가 감소한 것을 확인하였다. 가교처리 다공성 지지체에서 에스테르, 결합과 케톤기에 의한 피크가 증가하고 카르복실기에 의한 피크의 크기가 감소하는 것은 알지네이트 또는 젤라틴의 카르복실기와 키토산 또는 젤라틴의 아민기 사이에 HIC를 이용한 반응에 의해 아미드 결합이 생성되었기 때문인 것으로 생각된다. 결과적으로 가교처리 다공성 지지체의 분자구조는 가교제의 화학결합에 의하여 변화되었으나, 열처리 다공성 지지체는 열에 의한 부분적인 아미드 결합 또는 에스테르 결합으로 고분자 사슬간의 가교결합이 형성된 것으로 판단된다.

다공성 지지체의 표면구조

Fig. 3은 대조군, 열처리 및 가교처리 다공성 지지체 각각의 표면 미세구조를 주사전자현미경으로 관찰한 사진이다. Fig. 3(a)에 나타난 대조군 다공성 지지체의 표면은 막으로 둘러싸인 매끄러운 표면위에 타원형의 기공을 갖는 구조를 보이고, Fig. 3(b)에 나타난 열처리 다공성 지지체의 표면은 100-200 μm 크기의 미세한 기공이 형성된 구조를 보였다. Fig. 3(c)에 나타난 가교처리 다공성 지지체의 표면은 표면의 일부가 함몰된 거친 형태로 기공이 거의 발견되지 않았다. 동결건조는 지지체에 존재하는 용매를 승화시킴으로써 지지체의 형태를 유지한 상태에서 건조시

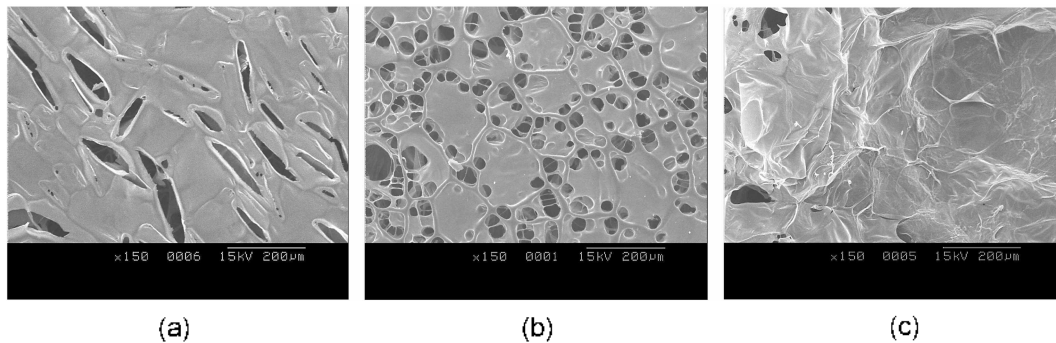


Fig. 3. SEM images of the surface of Chitosan-Alginate-Gelatin scaffolds. (a) Control scaffold, (b) Heat-treated scaffold and (c) Cross-linked scaffold (original magnification of $\times 150$).

키는 방법으로서, 지지체 용액을 동결시키는 과정에서 형성된 지지체 표면 막에 기공을 형성시킨다. 지지체에 형성된 기공은 지지체 내부로 필요한 세포와 영양분을 이동시키는 이동로 역할을 한다. 따라서 다공성 지지체 표면에 기공이 없을 경우에는 세포와 영양분의 이동이 용이하지 않아 세포종식이 원활하지 못한 문제점이 야기된다.¹¹ 그러므로 다공성 지지체 내부로 세포와 영양분의 이동이 원활하게 해주기 위해서는 다공성 지지체 표면에 많은 기공을 형성시켜야 한다. 본 연구에서 제조된 다공성 지지체는 동결과정에서 표면에 막을 형성한다. 따라서 대조군 지지체의 기공은 표면에 형성된 막에 동결건조 과정에서 승화된 물이 외부로 방출되기 위하여 형성된 통로이다. 그러나 가교처리 다공성 지지체는 제조과정을 고려할 때 1차 동결건조에서 형성된 기공구조가 가교반응에 의해 닫힌 것으로 생각된다. 반면, 열처리 다공성 지지체는 열처리 과정에서 증발되는 초산 기체

가 표면에 형성된 기공의 수와 면적을 증가시켜 가장 많은 기공을 형성한 것으로 판단된다.

다공성 지지체의 단면구조

Fig. 4는 대조군, 열처리 및 가교처리 다공성 지지체의 단면 구조를 주사전자 현미경으로 관찰한 사진이다. 대조군, 가교처리 및 열처리 다공성 지지체의 단면공극의 크기는 각각 150, 200 그리고 200 μm 의 연속적인 열린 구조의 형태를 이루고 있는 것을 확인하였다. 특히 가교처리와 열처리한 다공성 지지체의 공극 모양은 대조군 다공성 지지체의 공극에 비하여 구형에 가까운 형태임을 확인하였다. 한편, Doillon 등은 다공성 지지체의 기공이 연속적으로 형성된 열린 구조일 때 섬유아세포가 빠르게 이동하여 조직재생을 촉진한다고 보고하였다.¹² 이것은 연속적으로 연결된 공극사이를 섬유아세포와 영양분이 빠르게 이동하여 조직 형성을 촉진하기 때문이다. 따

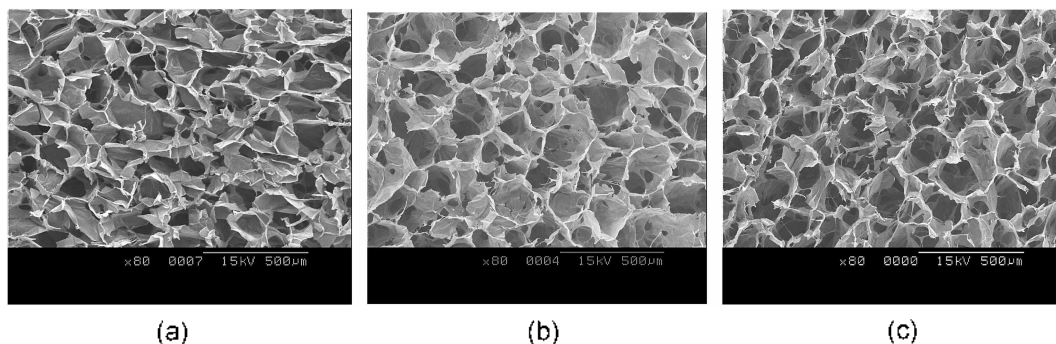


Fig. 4. Cross-sectional SEM images of Chitosan-Alginate-Gelatin scaffolds. (a) Control scaffold, (b) Heat-treated scaffold and (c) Cross-linked scaffold (original magnification of $\times 80$).

라서 다공성 지지체 공극의 열린 구조는 세포의 부착과 증식에 중요한 요소이다. 대조군 다공성 지지체의 공극이 타원형의 구조를 갖는 것에 반하여 열처리와 가교처리한 다공성 지지체의 공극이 구형이고, 크기가 50 μm 이상 증가한 것은 공극의 외벽이 아미드 결합이나 에스테르 결합에 의해 가교되었기 때문인 것으로 생각된다. 대조군 다공성 지지체에 잔류하는 미량의 초산은 공기 중의 수분 접촉 만으로도 지지체의 강도를 약화시켜 공극의 외벽이 무너지고 수축현상이 나타나 결과적으로 지지체의 공극을 파괴시킨다. 반면, 열처리와 가교처리 다공성 지지체는 아미드 결합 또는 에스테르 결합에 의해 연결된 공극구조를 가짐으로써 강도가 증가하여 공극의 외벽이 무너지지 않고 수축현상이 발생하지 않아 공극의 구조를 유지할 수 있는 것으로 생각된다. 특히, 열처리 다공성 지지체는 가교제를 사용하지 않고 부분적인 아미드 결합 또는 에스테르 결합이 형성되어 수분으로 인한 공극의 수축현상을 일으키지 않으면서 형태를 유지할 수 있어 세포와 영양분의 공급이 원활한 열린 구조를 유지하는 것을 관찰하였다.

다공성 지지체의 안정성

다공성 지지체의 수분에 대한 안정성을 조사하기 위하여 각각의 다공성 지지체를 37°C에서 인산염 완충용액에 침지하여 3시간 교반한 후의 형태를 관찰하였고 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 대조군 다공성 지지체는 인산염 완충용액 내에서 용해되어 형태를 관찰할 수 없었다. 그러나 열처리 다공성 지지체와 가교처리한 다공성 지지체는 인산염 완충용액 내

에서 용해되지 않고 고유의 형태를 유지하였고, 자료로 제시하지는 않았으나 24시간 후에도 고유의 형태를 유지하고 있었다. 세포는 다공성 지지체의 내부벽면에 부착한 후 증식하여 일정한 형태와 기능을 갖춘 조직으로 형성된다. 따라서 다공성 지지체는 조직이 형성되면서 생분해될 수 있어야 하나 세포가 부착하고 증식하는 동안 혈액이나 수분에 의해 급격히 분해되지 않고 형태를 유지하여야 한다. 그러므로 열처리 다공성 지지체와 가교처리 다공성 지지체는 수분에 의해 급격히 분해되지 않고 세포가 증식하는 동안 안정한 형태를 유지할 수 있을 것으로 생각된다.

고분자 사슬간의 인력이 존재하지 않는 대조군 다공성 지지체는 인산염 완충 용액에서 쉽게 용해되어 형태를 유지할 수 없다. 그러나 가교처리 다공성 지지체는 EDC에 의해 활성화된 알지네이트의 카르복실기가 키토산 또는 젤라틴과 공유결합을 형성하면서 고분자 사슬간의 가교결합을 형성하여 수분에 의해 용해되지 않았다. 특히, 열처리 다공성 지지체가 인산염 완충 용액에 용해되지 않는 것은 80°C에서 열처리하여 고분자 사슬간에 부분적인 아미드 결합 또는 에스테르 결합이 형성되었기 때문으로 생각된다.¹⁶

수분흡수력

다공성 지지체의 수분흡수력은 체내에 이식된 다공성 지지체가 혈액 속에 포함된 세포를 수용할 수 있는 능력을 결정하는 중요한 요소이다. Fig. 6에 본 연구에서 제조된 다공성 지지체의 수분흡수도를 나타내었으며 가교처리와 열처리 다공성 지지체의 수분흡수도는 각각 60.13과 110.78로써 열처리 다공성

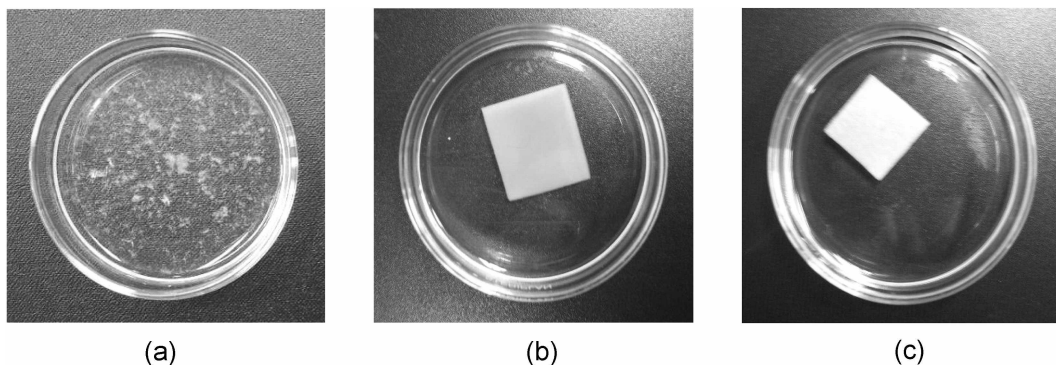


Fig. 5. Morphology of Chitosan-Alginate-Gelatin scaffolds in PBS buffer solution at 37°C after 3 hours incubation. (a) Control scaffold, (b) Heat-treated scaffold and (c) Cross-linked scaffold.

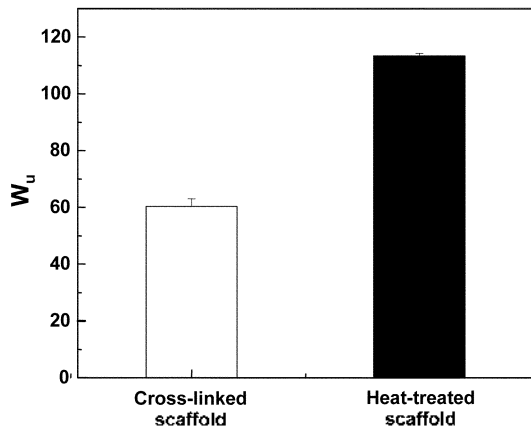


Fig. 6. Water uptake (W_u) of heat-treated or cross-linked scaffolds. (□) Cross-linked scaffold and (■) Heat-treated scaffold.

지지체가 가교처리 다공성 지지체에 비하여 약 2배의 수분흡수율을 나타내었다. 한편, 대조군 다공성 지지체는 인산염 완충 용액에 용해되어 수분흡수율의 측정이 불가능하였다(Fig. 5). 이러한 결과는 EDC로 인해 지지체의 친수화도가 감소되었기 때문으로 사료된다. Fig. 4에 나타난 것처럼 가교처리 지지체의 표면 막은 지지체 내부로 수분의 이동을 방해하며 지지체의 수분흡수가 용이하지 않아 수분흡수도가 감소한다. 반면, 열처리 다공성 지지체는 내부의 연속적으로 연결된 열린 구조가 표면의 미세한 기공을 통하여 외부와 연결되어 있어 수분의 원활한 이동이 이루어 졌기 때문에 수분흡수도가 증가하였다.

인장강도와 최대 신장률

제조한 다공성 지지체의 인장 강도를 Table 1에 나타내었으며 대조군, 열처리 및 가교처리 다공성 지지체의 인장 강도는 각각 8.1 ± 1.5 KPa, 10.7 ± 2.5 KPa 그리고 12.8 ± 3.1 KPa 이었다. 인장강도는 시편의 단위면적 당 가해지는 인장응력으로써 같은 면적에서의 인장응력을 나타낸다. 가교처리 다공성 지지

Table 1. Tensile strength and maximum elongation of Chitosan-Alginate-Gelatin scaffolds

Scaffold	Tensile strength (KPa, 10^3 N/m ²)	Maximum elongation (%)
Control	8.1 ± 1.5	8.4 ± 1.3
Heat-treated	10.7 ± 2.5	11.3 ± 3.6
Cross-linked	12.8 ± 3.1	4.9 ± 0.8

체는 대조군 다공성 지지체에 비하여 인장강도가 4.7 KPa 증가하여 가장 높은 인장강도를 갖고 있었다. 이것은 가교결합에 의해 천연고분자 사슬간의 결합력이 증가하였기 때문이다. 한편, 열처리 다공성 지지체는 가교처리 다공성 지지체에 비하여 인장강도가 낮았으나 열처리만으로 다공성 지지체의 결합력을 2.6 KPa 이상 향상시킬 수 있음을 확인하였다.

한편, 대조군, 열처리, 가교처리 다공성 지지체의 최대 신장률은 $8.4 \pm 1.3\%$, $11.3 \pm 3.6\%$ 그리고 $4.9 \pm 0.77\%$ 이었다. 열처리 다공성 지지체의 최대 신장률은 대조군 다공성 지지체에 비하여 3%이상 증가하였으나 가교처리 다공성 지지체는 최대 신장률이 3.5%감소하였다. 열처리 다공성 지지체는 사슬간의 물리적 얽힘(entanglement)으로 결합된 대조군에 비하여 부분적인 아미드 결합 또는 에스테르 결합으로 가교밀도가 증가되었기 때문에 신장률이 증가된 것으로 생각된다. 그러나 지나치게 높은 가교밀도는 물질의 경도를 증가시켜 인장력을 가할 경우 물질이 신장되지 않고 깨어져 신장률은 현저히 감소한다. 따라서 가교처리 다공성 지지체는 너무 높은 가교밀도로 깨어짐 현상이 나타나 최대 신장률이 감소한 것으로 사료된다. 결과적으로 열처리 다공성 지지체는 가교처리 지지체에 비해 인장강도가 약하지만 신장률을 향상시킬 수 있어 체내의 체액이나 인산염 완충 용액에서 팽윤 현상으로 인한 지지체의 파손을 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 지지체내에 잔존하는 초산을 열처리로 완전히 제거하였고 고분자 사슬 간에 얼을 이용한 부분적인 아미드 결합 또는 에스테르 결합을 형성하였다. 열처리 다공성 지지체는 수분에 의한 급격한 부해를 막을 수 있었고, 수분흡수도는 가교처리 다공성 지지체에 비하여 2배 이상 증가 하였다. 또한 열처리 다공성 지지체의 공극의 크기는 세포가 조직을 형성하기 위한 영양분의 원활한 이동이 적당한 100~200 μ m인 연속적인 열린 구조를 나타내는 것을 확인하고 신장률과 인장응력을 증가시켜 체내에서 다공성 지지체의 파손을 최소화할 수 있었다. 따라서 열처리로 물성을 증가시킨 다공성 지지체는 기존의 화학적인 가교제를 사용한 지지체보다 생체적

합성이 우수하고, 가교제의 사용 없이 물성을 증가시킬 수 있어 새로운 조직공학용 지지체로서 활용이 기대되어 진다.

본 연구는 산업자원부 차세대 성장 동력 개발 사업으로 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

인 용 문 헌

1. Lee, S. B.; Joen, H. W.; Lee, Y. W.; Lee, Y. M.; Song, K. W.; Park, M. H. Y.; Nam, S.; Ahn, H. C. *Biomaterials* **2003**, *24*, 2503.
2. Pierre, S.; Xavier, Roy; Basil, D. F. *Biomaterials* **2004**, *25*, 5965.
3. Shin, H. W.; Kim, S. H.; Jang, J. W.; Kim, M. S.; Cho, S. H.; Lee, H. B.; Khang, K. S. *Polymer(Korea)* **2004**, *28*, 194.
4. Jeon, E. K.; Whang, H. J.; Kang, G. G.; Lee, I.; Rhee, J. M.; Lee, H. B. *Polymer(Korea)* **2001**, *25*(6), 893.
5. Choi, Y. S.; Hong S. R.; Lee, Y. M.; Song, K. W.; Park, M. H.; Nam, Y. S. *Int. J. Bioed. Mater. Res.* **1999**, *23*, 631.
6. Yilmaz, G.; Jongboom R. O. J.; Feil, H.; Hemink, W.E. *Carbohydr. Polym.* **2001**, *45*, 403.
7. Choi, M. S.; Han, H. D.; Kim, T. W.; Song, C. K.; Park, E. S.; Shin, B. C. *J. Kor. Pharm. Sci.* **2005**, *35*, 25.
8. Caren, C.; Bernd, W. M. *Int. J. Pharm.* **2000**, *194*, 229.
9. Jang, J. W.; Lee, B.; Han, C. W.; Lee, I. W.; Lee, H. B.; Khang, K. S. *Polymer(Korea)* **2003**, *27*, 226.
10. Bhattarai, N.; Edmondson, D.; Veiseh, O.; Matsen, F. A.; Zhang, M. *Biomaterials* **2005**, *26*, 6176.
11. Choi, Y. S.; Lee, S. B.; Hong S. R.; Lee, Y. M.; Song, K. W.; Park M. H. *J. Mater. Sci.* **2001**, *12*, 67.
12. Li, Z.; Ramay, H. R.; Hauch, K. D.; Xiao, D.; Zhang, M. *Biomaterials*, **2005**, *26*, 3919.
13. Mao, J. S.; Liu, H. F.; Yin, Y. J.; Yao, K. D. *Biomaterials* **2003**, *24*, 1621.
14. Smitha, B.; Sridhar, S.; Khan, A. A. *Eur. Polym. J.* **2005**, *41*, 1859.
15. Park, S. N.; Park, J. C.; Kim, H. O.; Sung, M. J.; Suh, H. *Biomaterials* **2002**, *23*, 1205.
16. Pitthidej, G. C.; Phaechanud, T.; Koizumi, T. *Int. J. Pharm.* **2002**, *232*, 11.
17. Doillon C. H.; Silver, F. H. *Biomaterials* **1986**, *7*, 3.