

모델 시스템을 이용한 Poly(l-lactide)의 분해거동

민성기·문명준·이원기

부경대학교 응용화학공학부

(2005년 11월 11일 접수; 2006년 2월 20일 채택)

Degradation Behaviors of Poly(l-lactide) using Model Systems

Seong-Kee Min, Myong-Jun Moon and Won-Ki Lee

Division of Chemical Engineering, Pukyong National University, Busan 608-739, Korea

(Manuscript received 11 November, 2005; accepted 20 February, 2006)

The hydrolytic kinetics of biodegradable poly(l-lactide) (PLLA) have been studied by using two model systems, solution-grown single crystal (SC) and Langmuir monolayer techniques, for elucidating the mechanism for both alkaline and enzymatic degradations. The present study investigated the parameters such as degradation medium and time. The Langmuir monolayers of PLLA showed faster rates of hydrolysis when they were exposed to a basic subphase rather than they did when exposed to neutral subphase. Both degradation mediums had moderate concentrations to show a maximized activity, depending on their sizes. An alkaline degradation of SCs of PLLA showed the decrease of molecular weight of the remained crystals due to the erosion of chain-folding surface. However, the enzymatic degradation of SCs of PLLA occurred in the crystal edges thus the molecular weight of remained crystals was not changed. This behavior might be attributed to the size of enzymes which is much larger than that of alkaline ions; that is, the enzymes need larger contact area with monolayers to be activated.

Key Words : Poly(l-lactide), Langmuir monolayer, Solution-grown crystals, Degradation

1. 서론

고분자를 소재로 하는 제품은 가벼우면서도 투명성, 유연성 강성 등의 물성이 우수하며 특히 가공성이 뛰어나 다양한 분야에서 널리 사용되고 있다. 석유화학공업의 발달로 저렴한 플라스틱의 생산이 가능해짐에 따라 소비가 급격히 증가하고 있으며 전 세계적으로 고분자의 생산량은 연간 수십억 톤에 이르고 있다. 이 중에서 3분의 1정도가 제품 수명이 짧은 일회용품 및 포장재로서의 사용되고 있다^{1,2)}. 그러나, 최근 들어 이러한 대량의 고분자 폐기물의 처리에 따른 매립지 부족, 소각 및 장기간 미분해 등으로 야기되는 지구환경오염 문제가 심각하게 대두되면서 분해성 고분자에 대한 관심이 고

조되고 있다. 일반적으로 분해성 고분자는 생분해성 고분자, 생분괴성 고분자 및 광분해 고분자로 구별 된다¹⁾. 생분해성 고분자는 미생물이 생산하는 poly(hydroxybutyrate)와 같은 biopolymer, lactic acid와 같이 천연에서 얻어진 원료로부터 합성된 고분자, 그리고 다당류와 같은 천연화합물 등으로 분류된다. 생분괴성 고분자는 전분과 같은 분해성 고분자에 난분해성의 범용 고분자를 혼합하여 제조되는 것으로 완전한 분해성을 갖는 것은 아니지만 다른 분해성 고분자들에 비해 앞서 실용화가 되었다³⁾. 광분해성 고분자는 태양광의 자외선에너지에 의해 고분자 사슬을 절단하여 분해되는 고분자로서 고분자에 광 증감작용이 있는 전이금속과 광증감제를 첨가하여 광분해성을 부여하거나 고분자 사슬에 카보닐기와 같은 광증감기를 도입하여 제조되며 주로 햇빛에 노출되는 농업용 필름 등에 사용되고 있다⁴⁾. 이들 중 생분해성 고분자는 우수한 생체 적합 특성으로 인하여 의료분야에서 그 활용도가 높아지

Corresponding Author : Won-Ki Lee, Division of Chemical Engineering, Pukyong National University, Busan 608-739, Korea
Phone: +82-51-620-1689
E-mail: wonki@pknu.ac.kr

고 있는데, 수술용 봉합사, 방출 조절용 의약, 인공 피부이식 등의 대한 다양한 응용연구가 활발히 진행되고 있다^{1,2,5-7}.

생분해성 고분자의 분해는 주로 물 (인체)이나 토양 속의 미생물에 의해 가수분해 될 수 있는 주쇄 결합에서 일어나며 분해가 진행됨에 따라 분자량을 감소시키고 최종적으로 단량체로 재생되거나 물과 이산화탄소로 분해된다. 분해과정에서 생성되는 부산물은 독성을 가지고 있지 않으며 환경 친화적 재활용이 가능하다. 이러한 생분해성 고분자의 상업적 응용은 요구하는 시간 내에서 충분한 물성과 적절한 분해성을 가지도록 설계하는 측면으로부터 출발한다. 생분해성 고분자의 분해를 측정할 수 있는 방법은 여러 가지가 존재하지만 환경적인 요인들의 차이로 본질적으로 어려움을 가지고 있어 아직 완전히 정립되지 않은 상태이다. 현재, 널리 이용되고 있는 방법으로는 산소 소모량의 측정^{8,9}이나 효소, 미생물에 의한 무게변화^{10,11}, 표면 형상변화 및 분자량의 변화² 등을 측정하는 것이다. 동일한 구조의 생분해성 고분자에서도 분해성은 분자량^{12,13}, 모폴로지^{14,15}, 입체구조^{16,17}, 분해매체^{18,19}, 등에 의해 영향을 받는다. 일반적으로 반결정성 고분자의 분해는 밀도가 낮은 비결정영역에서 먼저 진행되고 조밀하게 채워진 결정영역으로 이동한다고 알려져 있다^{14,15}. 결정영역의 분해거동은 모델 시스템으로 단결정을 이용하여 연구되고 있는데 라멜라 단결정의 분해는 단결정내의 불규칙한 사슬에서 선호적으로 일어난다고 알려져 있다^{20,21}. 최근에 Lee 등^{19,22}은 알칼리 수용액에서 다양한 폴리에스테르 단분자막의 가수분해 속도를 정량적으로 측정하였다. 즉, 가수분해에 의해 생성되는 저분자 올리고머나 단량체는 물속에 용해되기 때문에 시간에 따른 단분자막의 점령면적 변화로서 분해속도를 정량적으로 측정할 수 있다. 따라서, 생분해성 고분자의 분해매체에 따른 분해속도의 연구는 재료의 상업적 응용에 있어서 제품의 수명을 결정하는 중요한 인자이다. 본 연구에서는 생분해성 고분자인 l-poly(lactide)(PLLA)의 알칼리 및 효소 분해거동을 모델시스템으로 단결정과 단분자막 기법을 이용하여 연구하였다.

2. 실험방법

2.1. PLLA의 합성 및 단결정의 제조

본 실험에 사용되어진 PLLA(Mw = 57,000, Mw/Mn = 2.3)는 무수 에틸아세테이트에서 재결정된 LLA와 촉매로서 stannous octoate를 사용하여 150. C의 진공반응기에서 개환중합에 의해 합성되

었다. 합성된 PLLA는 클로로포름에 녹여 과량의 메탄올에 침전시켜 미 반응 모노머 및 올리고머를 제거하였다. PLLA 단결정은 희박 아세토니트릴(acetonitrile) 용액을 5. C에서 등은 결정화하여 제조 하였으며 원심분리기를 이용하여 단결정을 분리하고 비용매인 메탄올에 분산시켜 보관하였다.

2.2. 알칼리 및 효소분해

알칼리분해 실험을 위해 분해매체는 초 순수(pH 7.3, Millipore Mega-Pure system MP-6A)에 1 N NaOH로 pH를 조절하여 사용하였고 효소분해는 Proteinase K(Sigma)를 25 mM Tris-HCl 완충용액(pH 8.5)에 첨가(단결정: 0.2 µg/ml, 단분자막: 0.001 µg/1600ml 완충용액)하여 사용하였다.

2.3. Langmuir trough를 이용한 분해거동

단분자막의 특성은 20 °C에서 KSV 2200 film balance(KSV Instruments Ltd. 면적: 15 × 45 cm²)를 이용하여 측정하였다. 단분자막 압축속도는 30 cm²/min였고 subphase는 1600 ml의 초 순수를 사용하였다. 분산용매로는 클로로포름(chloroform, Fisher, 99%+)을 사용하였으며 고분자용액의 농도는 2 µmol/mL였다. 용액분산 후 용매의 증발을 위해 1분간 방치한 후 측정을 하였다. 용매의 증발 시간은 순수의 subphase에서 시간에 따른 재현성 실험으로부터 확인하였다.

2.4. 단결정의 분해 특성 고찰

메탄올에 분산된 단결정 분산용액을 마이카 위에 떨어트린 후 용매를 증발시켜 시료를 제조하였다. 분해 전후의 표면 모폴로지 변화를 관찰하기 위하여 원자간력 현미경(atomic force microscopy, 이하 AFM) 측정을 행하였다. AFM측정은 SPI 3700분석모드로서 SPA 300(Seiko Industry Co. Ltd.)을 이용하여 20. C의 대기 중에서 측정하였으며, 척력영역에서 스프링 정수가 0.022 nN인 Si₃N₄제 침계(Olympus Co., Japan)를 사용하였다. 형상(topographic)과 편차(deflection) 이미지를 동시에 측정하였다. 편차 이미지는 높이에 대한 정보를 제공하지는 못하지만 시료의 거친 표면의 미세한 높이 변화를 관찰하는데 유용하다. 분해에 따른 분자량 변화는 겔 투과 크로마토그래피(gel permeation chromatography(GPC), Shimadzu 10A GPC-refractive index detector)를 이용하여 측정하였으며 용매로 클로로포름을 사용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 단결정을 이용한 분해 메커니즘

단결정을 이용한 연구는 반결정성 고분자재료에 대한 결정영역에서의 다양한 정보를 얻기 위한 모

델 시스템으로 널리 이용되고 있다. 본 연구에서도 반결정성 고분자인 PLLA의 효소 및 알칼리분해에 대한 결정영역의 분해거동을 고찰하기 위하여 단결정을 제조하여 관찰하였다. Fig. 1은 지온에서 아세트니트릴 희박용액에서 성장된 PLLA 라멜라 단결정에 대한 TEM 이미지와 회절패턴을 나타내었다. PLLA의 단결정 제조에 대한 여러 논문이 발표^{20,21,23)}되었지만 대부분 적층된 단결정과 마름모형과 육각형의 혼합 모폴로지의 단결정을 얻었으나 본 연구에서 제조된 PLLA 단결정은 균일한 단일 라멜라층 형상을 가지고 있고 각 면이 정확히 60°와 120°인 마름모형이었다. 고차까지 나타난 명확한 회절패턴으로부터 양호한 단결정이 생성되었음을 확인하였다. AFM의 모폴로지 측정으로부터 모노 단결정의 각 변의 길이는 11 μm이며 두께는 약 12 nm였다.

단결정을 이용한 생분해성 고분자의 효소분해에 대하여서는 주로 미생물합성 고분자인 poly(3-hydroxybutyrate)(P(3HB))에 집중되었다²⁴⁻²⁶⁾. 효소에 의한 부분분해 후의 막대 모양의 P(3HB)라멜라 단결정은 결정의 장축(길이 방향)의 수직방향으로 튼니 모양의 분해 모폴로지를 보였다²⁴⁾. 이러한 현상은 라멜라 결정의 사슬접힘(chain folding)방향에 수직으로 분해가 선호적으로 일어남을 의미하며 분해 방향으로 라멜라 단결정의 불규칙한 영역이 존재한다고 보고되어 있다^{25,26)}. 그러나 대부분의 라멜라 단결정을 이용한 효소분해거동의 연구는 분해 효소용액에 단결정을 분산하여 분해를 진행하고 잔존 결정을 원심분리로 분리한 후 측정하였다^{24,25)}. 이러한 원심분리법에 의해 분리된 단결정의 파괴를 수반 할 수 있기 때문에 초기 분해 거동을 정확히 측정하기 어렵다²⁶⁾. 본 연구에서는 마이카(mica) 상에 단결정을 부착한 후 효소분해거동을 측정하였다. Fig. 2A와 2B에서는 PLLA 단결정을 각각 1시간동안 효소분해와 알칼리분해(pH 10.7)를 진행한 후의 AFM 모폴로지를 나타내었다. 효소분해의 경우, 라멜라의 측면에서 분해가 일어나 다소 무디어졌음을 확인하였다. 아울러 단결정의 표면에서 일부가 분해되어 물결모양의 모폴로지 변화를 관찰하였다. 이러한 표면 층에서의 분해는 유한한 분자량을 가지는 고분자 사슬이 라멜라 단결정을 생성할 때 사슬 말단이 규칙적인 사슬접힘 구조를 이루지 않고 라멜라 표면에 무질서하게 존재하고 있다는 사실²¹⁾로 설명 할 수 있으며 P(3HB) 단결정의 효소분해 실험에서 단결정에 존재하는 무정형 영역에서 분해가 선호적으로 일어난다는 결과와 일치한다^{14,15)}.

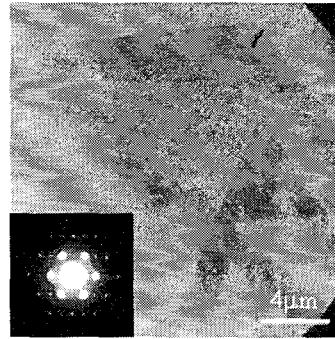


Fig. 1. Deflection image of solution-grown PLLA crystals. Inset : typical electron diffraction pattern.

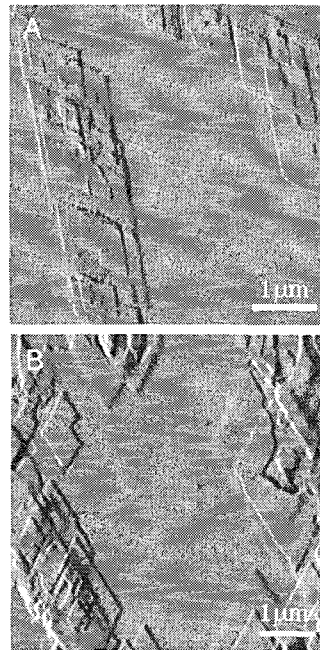


Fig. 2. Deflection images of solution-grown PLLA crystals: after enzymatic degradation (A) and alkaline (pH 10.7) degradation (B) of 1 hr.

반면 분해효소의 경우, 사슬이 조밀하게 충전된 영역에서는 충분한 접촉면적을 가지지 못해 분해활성을 보이지 않고, 넓은 접촉면적을 확보 할 수 있는 라멜라 단결정의 측면과 표면에 존재하는 무질서한 사슬을 선호적으로 분해시키는 것으로 설명할 수 있다. 반면에 Fig. 2B에 나타난 바와 같이 알칼리분해에 있어서는 라멜라 측면 뿐만 아니라 라멜라의 표면분해에 의해 생성된 구멍들을 관찰 할 수 있다. 이러한 현상들은 알칼리분해가 단결정의 측면과 표면에서 동시에 일어난다고 설명할 수 있다.

P(3HB)의 분해연구에서 라멜라 단결정은 사슬 접힘 구조를 가지고 있기 때문에 측면 분해에 의해

서는 분해에 따른 분자량 변화를 거의 보이지 않으나 표면 분해는 표면의 접힌 부분을 분해함으로써 분자량의 감소를 수반한다²¹⁾. 따라서 알칼리 및 효소분해 전후의 단결정의 분자량변화를 측정하였고 그 결과를 Fig. 3A에 나타내었다. 효소분해의 경우, 분해전후의 분자량은 거의 동일하였으나 알칼리분해에 있어서는 낮은 분자량(긴 시간)에서 새로운 피크를 관찰하였다. 이러한 현상은 분해효소의 크기가 수십 달톤 (dalton)인 Proteinase K는 규칙적인 사슬 접힘 표면에 활성을 보일만큼의 큰 접촉면적을 가지지 못하므로 일부 불규칙하게 존재하는 표면층 사슬과 측면공격 메카니즘에 의해 분해가 진행되므로 잔존하는 단결정의 분자량은 변화가 없는 것으로 판단된다. 반면, 아주 작은 Na⁺OH⁻ 이온들은 단결정의 표면에 존재하는 불규칙적인 사슬뿐만 아니라 규칙적인 라멜라 단결정의 사슬접힘 구조의 표면분해 메카니즘으로부터 분자량감소를 설명할 수 있으며 이러한 현상을 Fig. 3B에 모식도로서 나타내었다.

3.2. 단분자막을 이용한 분해속도

앞서 언급한 바와 같이 분해성 폴리에스테르의 분해속도를 측정하기위한 대부분의 연구들은 분해

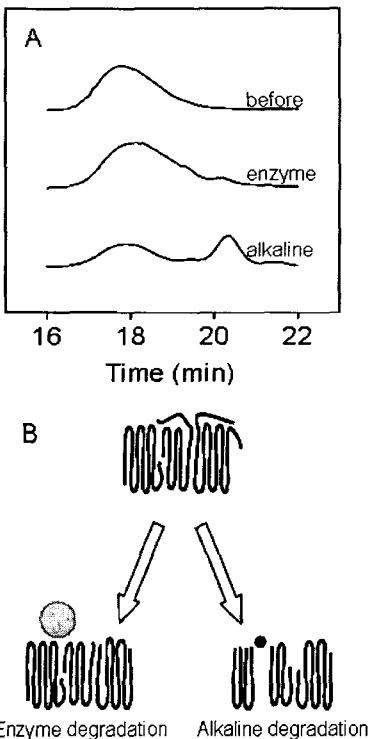


Fig. 3. Gel permeation chromatograms (A) and schematic representation (B) of solution-grown PLLA crystals before and after degradation.

매체 내에서의 분해성 재료의 단위시간당 중량감소와 형태변화에 대한 연구가 주된 관점이 되어 왔다. 한편, Langmuir 단분자막 기법은 공기/물 계면에서 분자수준의 배향, 분자의 면적 및 분자간의 작용력을 측정할 수 있는 아주 유용한 수단이다^{19,22,26)}. 고분자가 안정한 단분자막을 형성하기 위해서는 일반적으로 물에 대한 불용성(소수성)과 분산안정성을 위한 친수성기 등 양친매성을 가져야 한다. 대부분의 생분해성 폴리에스테르는 친수/소수특성과 단분자막의 분산용매로 널리 사용되는 용매에 대한 용해성을 가지고 있어 Langmuir 단분자막을 형성할 수 있다. Fig. 4에서는 pH 7.3(초 순수) 및 pH 10.5의 subphase에 전개된 PLLA 단분자막의 표면압력-면적(surface pressure-area, 이하 π -A) 곡선을 나타내었다. pH 7.3에서의 PLLA의 π -A곡선은 9 mN/m부근의 표면압력에서 평판영역을 보이는데 이러한 현상은 단분자막이 2차원에서 3차원으로 전이(단분자막에서 2층막으로)하는 것으로 보고되어져 있다²⁷⁾.

그러나, pH 10.5에서 전개된 단분자막의 π -A곡선에서는 이러한 전이현상이 나타나지 않는데 subphase의 pH가 증가함으로써 PLLA 단분자막과 subphase에 존재하는 Na⁺OH⁻ 이온들 간의 강한 상호작용으로 단분자막이 보다 안정한 상태에 있기 때문이다. 한편, 이들 두 π -A곡선들로부터 약 7 mN/m의 표면 압력에서 점령면적(단위밀도)이 거의 유사하다. 따라서, 이 압력에서 분해거동 등을 연구하면 단위 모노머의 점령면적이 동일(밀도가 동일)하므로 상호 비교가 가능할 것이다.

Fig. 5의 모식도와 같이 Langmuir 단분자 기법은 분자크기에서 분해성고분자의 분해속도를 측정하는데 아주 유용하게 응용할 수 있다^{19,26)}. 일정한 표면압력(일정한 밀도) 하에서 에스테르그룹의 가수분해에 의해 생성되는 저분자량의 올리고머나 단

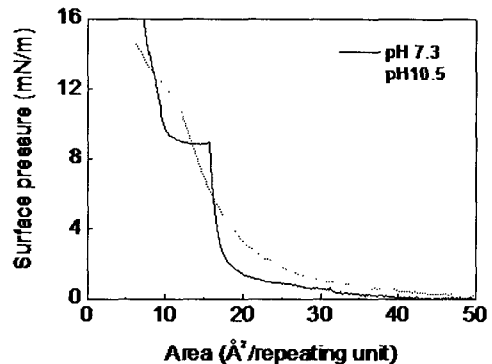


Fig. 4. Pressure-area isotherms of PLLA monolayers on the subphases of pH 7.3 and 10.5.

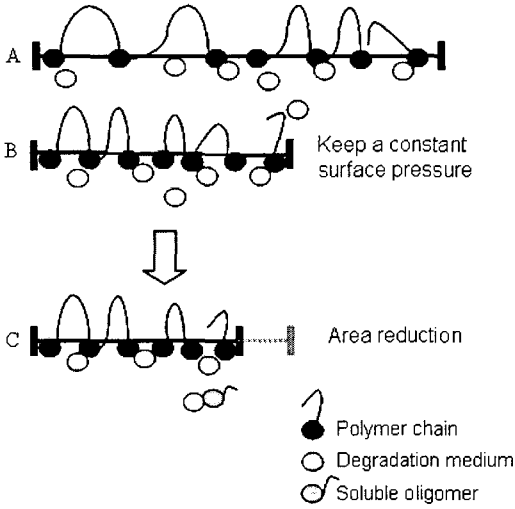


Fig. 5. Schematic representation of occupied area changes of polyester monolayers due to degradation.

량은 물속(subphase)에 용해되기 때문에 시간에 따른 단분자막의 점령면적 변화는 다음의 식과 같이 분해속도와 직접적으로 관련되며 분해시간에 따른 정량적 분석이 가능하다. 또한, 표면압력에 따라 단분자의 밀도(또는 배향)를 조절하여 분해 거동을 측정할 수도 있다.

$$x_t = A_t/A_0$$

여기서 A_0 와 A_t 는 각 시간 0와 t에서의 반복단위당 점령면적을 나타낸다. x_t 는 일정시간(t) 후에 잔존하는 단분자막의 분율을 의미한다. 즉, x_t 가 1의 값을 가지면 분해가 일어나지 않고 안정한 단분자막을 유지함을 의미한다.

본 연구에서는 PLLA의 알칼리와 효소에 의한 가수분해속도를 측정하기 위하여 NaOH 또는 Proteinase K를 포함하는 subphase에 클로로포름에 용해된 PLLA를 전개시켜 일정 표면 압력 하에서 시간에 따른 점령면적 변화를 관찰하였다. Fig. 6A는 다양한 알칼리 subphase상에 형성된 PLLA단분자막들이 7 mN/m의 일정표면압력 하에서 시간에 따른 면적변화(A/A_0)를 나타낸다. pH 7.3의 초순수에서는 시간변화에 따라 점령면적의 변화를 거의 보이지 않는데 이러한 현상은 초순수 상에서는 단분자막이 안정한 상태로 있음을 의미한다. 반면에, subphase의 pH가 증가할수록 분해속도가 빨라짐을 보여준다. 이러한 현상은 pH가 증가할수록 단위 subphase속에 존재하는 Na^+OH^- 매체의 수가 증가함으로서 분해를 보다 촉진 시키는 것으로 설명할 수 있다. Fig. 6B에서는 pH 9.6에 사용된 NaOH의

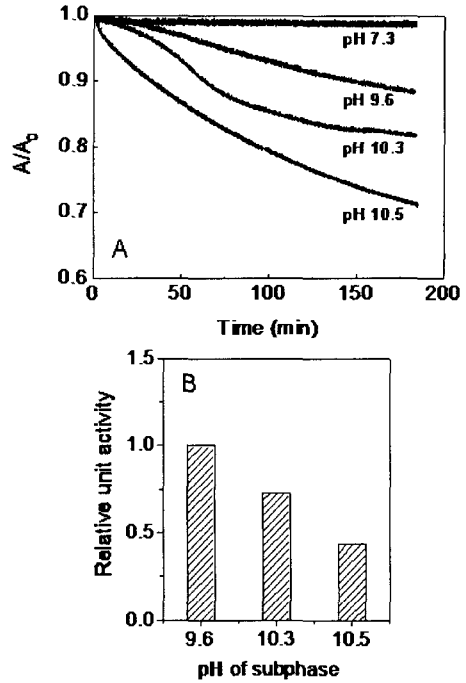


Fig. 6. Area ratio vs time for PLLA monolayers on subphases of different pHs at a constant surface pressure of 7 mN/m (A) and relative activity of unit alkaline ion after 2 h of degradation time (B).

양을 기준으로 하여 pH 10.3과 10.5에서 존재하는 단위 Na^+OH^- 매체에 대한 상대적인 분해활성도를 나타낸다. pH가 감소할수록 상대적인 단위 NaOH에 대한 분해 활성도는 증가하는데 이러한 현상은 subphase에 존재하는 Na^+OH^- 수가 감소함으로서 분해매체인 이온 간의 입체적 장애효과가 줄어드는 희석효과(dilute effect)로 설명될 수 있다.

한편, PLLA에 분해활성을 보이는 분해효소(Proteinase K)를 subphase에 첨가하여 효소분해 거동을 측정하였고 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 분해효소가 없는 완충용액에서는 앞서 보여준 초순수와 유사하게 시간변화에 따른 점령면적의 변화를 보이지 않는다. 반면에 subphase속의 분해효소를 첨가하면 시간경과에 따른 점령면적의 변화를 나타낸다. 분해속도는 분해효소의 양이 증가함에 따라 증가하였으나 단위 효소 량에 대한 상대적인 분해속도는 Fig. 7B에 보여진바와 같이 분해효소의 양이 0.048 mg에서 최대의 분해 효율을 나타내었다. 이러한 현상은 앞서 단결정을 이용한 분해실험에서도 설명하였듯이 분해매체의 크기가 아주 큰 분해효소는 농도가 증가함에 따라 상호간의 입체장애로 분해 활성이 감소하는 것으로 설명

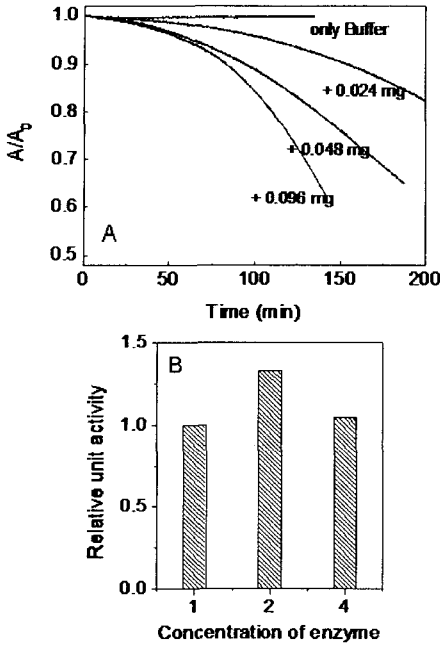


Fig. 7. Area ratio vs time for PLLA monolayers on subphases with different amounts of Proteinase K at a constant surface pressure of 7 mN/m (A) and relative activity of unit enzyme concentration after 2 h of degradation time (B), where X axis of Fig. 7B indicates relative concentration of enzyme in Fig. 7A.

할 수 있다.

4. 결 론

생분해성 고분자인 PLLA의 알칼리 및 효소 분해 거동을 측정하기 위하여 모델 시스템으로 단결정과 단분자막 기법을 이용하여 연구하였다. 회박용액에서 제조된 단결정의 효소 및 알칼리분해에 따른 모폴로지 관찰과 분자량 측정결과로부터 효소분해는 단결정의 조밀한 구조로 인하여 큰 접촉면적을 확보할 수 있는 측면 분해가 선호적으로 일어나며 분해 매체의 크기가 작은 알칼리분해는 측면과 표면분해를 수반하였다. 이러한 결과는 분해매체의 크기에 따라 활성 접촉면적의 차이로 설명하였다. 단분자막 장치를 이용한 실험에서는 알칼리 분해 속도는 분해 매체의 농도 증가와 함께 감소(희석효과)하는 반면 효소분해는 0.048 mg의 농도에서 최대 활성을 보였다. 이러한 현상은 단결정을 이용한 분해 결과와 유사하게 분해 매체의 크기에 따라 활성을 나타내는데 필요한 접촉면적의 차이로 설명할 수 있다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 부경대학교 연구년 교수지원

에 의하여 연구되었음(PS-2005-021).

참 고 문 헌

- 1) Scott, G., 2002, Degradable Polymers 2nd Ed.: Kluwer Academic Publ.: London, pp. 1-13
- 2) Doi, Y. and K. Fukuda, 1993, Biodegradable Plastics and Polymers: Elsevier Sci.: Amsterdam, pp. 79-91.
- 3) 김영욱, 조원영, 조동만, 1994, 전분충진형 생분해성 고분자의 특성, 고분자과학과 기술, 5, 19-23.
- 4) 강태규, 정호갑, 윤상준, 1994, 광분해성 고분자의 개발 현황, 고분자과학과 기술, 5, 24-28.
- 5) Bergsma, J. E., W. C. de Bruijn, F. R. Rorema, R. R. M. Bos and G. Boering, 1995, Late degradation tissue response to poly(l-lactide) bone plates and screws, Biomater, 16, 25-31.
- 6) Eliaz, R. E. and J. Kost, 2000, Characterization of a polymeric PLGA-injectable implant delivery system for the controlled release of proteins, J. Biomed. Mater. Res., 50, 388-396.
- 7) Furukawa, T., Y. Matsusue, T. Yasunaga, Y. Shikinami, M. Okuno and T. Nakamura, 2000, Histomorphometric study on high-strength hydroxyapatite/poly(l-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures, J. Biomed. Mater. Res., 50, 410-419.
- 8) Albertsson, A. C. and S. Karlsson, 1990, Degradable materials: Biodegradation and test methods for environmental and biomedical applications of polymers: CRC Press: Boca Raton, pp. 263-286.
- 9) Albertsson, A. C., C. Barenstedt and S. Karlsson, 1992, Susceptibility of enhanced environmentally degradable polyethylene to thermal and photooxidation, Polym. Degrad. Stab., 37, 163-171.
- 10) Abe, H., H. Aoki and Y. Doi, 1998, Morphologies and enzymatic degradability of melt-crystallized poly(3-hydroxybutyric acid-co-6-hydroxyheanoic acid), Macromol. Symp., 130, 81-89.
- 11) Lee, W. K., J. H. Ryou and C. S. Ha, 2003, Retardation of enzymatic degradation of microbial polyesters using surface chemistry:

- effect of addition of non-degradable polymers, *Surface Science*, 542(3), 235-243.
- 12) Nakamura, T., S. Hitomi, S. Watanabe, Y. Shimizu, S. H. Hyun and Y. Ikeda, 1985, Bioabsorption of polylactides with different molecular properties, *J. Biomed. Mater. Res.*, 23, 1115-1130.
 - 13) Mauduit, J., N. Bukh and M. Vert, 1993, Gentamycin/poly(lactic acid) blends aimed at sustained release local antibiotic therapy administered per-operatively: III The case of gentamycin sulfate in films of high and low molecular weight poly(dl-lactic acid), *J. Control. Rel.*, 25, 43-49.
 - 14) Chu, C. C., 1981, Hydrolytic degradation of poly(glycolic acid): tensile strength and crystallinity study, *J. Appl. Poly. Sci.*, 26, 1727-1734.
 - 15) Fredericks, R. J., A. J. Melverger and L. J. Dolegiewtz, 1984, Morphological and structural changes in a copolymer of glycolide and lactide occurring as a result of hydrolysis, *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.*, 22, 57-66.
 - 16) Reeve, M. S., S. P. McCarthy, M. J. Downey, R. A. Gross, 1994, Polylactides stereochemistry: Effect on enzymatic degradability, *Macromolecules*, 27, 825-831.
 - 17) Li, S. and S. McCarthy, 1999, Influence of crystallinity and stereochemistry on the enzymatic degradation of poly(lactide)s, *Macromolecules*, 32, 4454-4456.
 - 18) Chu, C. C., 1981, An in vitro study of the effect of buffer on the degradation of poly(glycolic acid) sutures, *J. Biomed. Mater. Res.*, 15, 19-27.
 - 19) Lee, W. K. and J. A. Gardella, Jr., 2000, Hydrolytic kinetics of biodegradable polyester monolayers, *Langmuir*, 16, 3401-3406.
 - 20) Miyata, T. and T. Masuko, 1997, Morphology of poly(l-lactide) solution-grown crystals. *polymer*, 38, 4003-4009.
 - 21) Iwata, T. and Y. Doi, 1999, Crystal structure and biodegradation of aliphatic polyester crystals, *Macromol. Chem. Phys.*, 200, 2429-2442.
 - 22) Lee, W. K., N. Richard and J. A. Gardella, Jr., 2002, The hydrolytic degradation of polyester blend monolayers at the air/liquid interface: effects of a slowly degrading component, *Langmuir*, 18, 2309-2312.
 - 23) Fujita, M. and Y. Doi, 2004, Annealing and melting behavior of poly(l-lactic acid) single crystals as revealed by in situ atomic force microscopy, *Biomacromolecules*, 4, 1301-1307.
 - 24) Nobes, G. A. R., R. H. Marchessault, H. Chanzy, B. H. Briese and D. Jendrossek, 1996, Spintering of poly(3-hydroxybutyrate) single crystals by PHB-depolymerase A from *Pseudomonas lemoignei*, *Macromolecules*, 29, 8330-8336.
 - 25) Iwata, T., Y. Doi, F. Kohubu and S. Teramachi, 1999, Alkaline hydrolysis of solution-grown poly(3-hydroxybutyrate) single crystals, *Macromolecules*, 32, 8325-8330.
 - 26) Lee, W. K., T. Iwata, H. Abe and Y. Doi, 2000, Studies on the enzymatic hydrolysis of solution-grown poly[(R)-3-hydroxybutyrate] crystals; defects in crystals, *Macromolecules*, 33, 9535-9541.
 - 27) Roberts, G., 1990, *Langmuir-Blodgett Films: Plenum Press: New York*, pp.18-19.