

입체화학을 이용한 생분해성 고분자의 분해속도에 관한 연구

박찬영 · 최용해 · 이원기

부경대학교 응용화학공학과

(2009년 4월 18일 접수; 2009년 5월 20일 수정; 2009년 6월 26일 채택)

Study on Degradation Rates of Biodegradable Polymers by Stereochemistry

Chan Young Park, Yong-Hae Choi and Won-Ki Lee

Division of Chemical Engineering, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

(Manuscript received 18 April, 2009; revised 20 May, 2009; accepted 26 June, 2009)

Abstract

To control degradation rate of biodegradable poly(lactide)s (PLA), the stereochemical PLAs with different ratios of *d*-lactide and *l*-lactide units were synthesized by the ring open polymerization and the their degradation kinetics were measured by a Langmuir film balance. The alkaline (pH=11) degradation of poly(*l*-lactide) (*l*-PLA) monolayer showed the faster rate at a surface pressure of 4 mN/m in the ranges from 0 to 7 mN/m. However, the enzymatic degradation of *l*-PLA with Proteinase K did not occur until 4 mN/m. Above a constant surface pressure of 4 mN/m, the degradation rate was increased with a constant surface pressure. These behaviors might be attributed to the difference in the contacted area with degradation medium: alkaline ions need small contact area with *l*-PLA while enzymes require much bigger one to be activated due to different medium sizes. The stereochemical PLA monolayers showed that the alkaline degradation was increased with their optical impurities while the enzymatic one was inversed. These results could be explained by the decrease of crystallinity with the optical impurity and the inactivity of enzyme to *d*-LA unit.

Key Words : Poly(lactide)s, Stereochemistry, Langmuir, Alkaline, Enzyme

1. 서 론

과학기술의 발전은 새로운 가능성을 갖는 다양한 합성 플라스틱의 개발을 이끌어 왔으며 합성 플라스틱이 가지고 있는 반영구적인 물성, 저렴한 비용 및 제조의 용이성 등으로 인하여 천연 고분자의 물

성 한계와 제한된 공급을 극복하여 많은 분야에서 사용되어오고 있다. 그러나 환경 문제가 크게 대두되면서 기존의 반영구적인 플라스틱 소재의 폐기에 따른 환경오염문제가 심각한 사회문제로 대두되고 있다¹⁾. 이러한 친환경적 흐름에 따라 대체 물질로 생분해성 고분자 물질을 이용한 인체에 무해하고 환경 친화적인 재료에 대한 관심이 증대하고 있다. 생분해성 고분자란, 박테리아, 조류, 곰팡이와 같은 자연에 존재하는 미생물, 빛 수분 등에 의해 물과 이산화탄소 또는 물과 메탄가스로 완전히 분해되는

Corresponding Author : Won-Ki Lee, Division of Chemical Engineering, Pukyong National University, Busan 608-739, Korea
Phone: +82-51-629-6451
E-mail: wonki@pknu.ac.kr

플라스틱이다. 일반적인 폐플라스틱의 처리방법으로 소각, 재활용 및 매립이 있다. 소각은 환경에 유해한 유기물질의 방출과 더불어 대기 온난화의 원인을 제공하며, 재활용의 경우, 분별수집의 어려움과 이에 따른 재생품의 물성저하로 인해 가격 경쟁력을 상실하여 크게 활성화 되고 있지 않으며 매립 시에는 다량의 폐플라스틱으로 인한 매립지의 부족과 분해 부산물에 의한 수질 오염을 유발하기도 하는 문제점을 가지고 있다²⁾.

생분해성 고분자는 크게 천연 생분해성 고분자와 합성 생분해성 고분자로 나누어진다. 이 중에서 천연 생분해성 고분자는 원료가 천연물이므로 환경에 대한 친화력이 높고, 물리적인 성능이나 생체에 대한 적응성도 상당히 높으나, 대량생산이 힘들고 고가이며 물성을 임의적으로 조절하기가 어려운 것이 약점으로 지적되어지고 있다. 반면, 합성 생분해성 고분자는 천연 생분해성 고분자와 달리, 물성의 인위적 조절이 용이하고 대량생산이 가능하여 상업적으로 높게 평가되어지고 있는 추세이다. 합성 생분해성 고분자 소재 중, poly (glycolide) (PGA)와 Poly(lactide) (PLA) 등은 물성이 우수하고, 환경과 생체에 대한 친화성 및 무독성 등으로 인하여 의학 분야를 비롯하여 다양한 용도로 사용되고 있다. 특히, PLA는 옥수수 등으로부터 단량체를 제조할 수 있어 대량생산이 가능하며 의료용 재료, 섬유, 농업 재료, 약물전달시스템 등에 친환경적인 물질로서 많이 사용되고 있다. PLA는 D와 L 형태의 입체 이성질체를 가지고 있으며 D체와 L체의 비율을 조절하면 무정형에서 결정성까지 다양한 물성을 갖는 PLA를 합성 할 수 있다¹⁾.

생분해성 고분자의 물성 중에서 분해속도는 재료의 응용면에 있어서 아주 중요한 요인 중의 하나이다. 일반적으로 생분해성 고분자의 분해가 시작되면 물성은 급격히 저하되기 때문에 재료의 응용분야와 함께 적절한 분해 거동을 요구한다³⁾. 수술용 봉합사와 같이 초기 일정기간동안 재료의 물성을 요구하는 반면 약물전달시스템과 같은 분야에서는 일정한 분해속도를 가지도록 재료를 설계하여야 한다. 초기분해 속도의 조절에 관하여 Lee 등은 플라즈마처리⁴⁾ 및 블렌드⁵⁾를 이용한 재료의 표면 특성 조절은 생분해성 고분자의 분해속도를 조절할 수

있는 유용한 수단으로 보고하였다. 분해속도의 측정은 일반적으로 분해전후의 무게차를 이용한 분석이 주류를 이루고 있다^{1,3,5)}. 최근 Lee 등^{6,7)}은 단분자막을, Kikkawa등⁸⁾은 수정진동자를 이용하여 분자수준에서 재료의 분해속도를 연구하기도 하였다. 본 연구에서는 이성질체인 D-lactide (DLA)와 L-lactide (LLA)의 공중합체의 분해속도를 단분자막 장치를 이용하여 분자수준에서 광학 이성질 (stereochemistry) 공중합체의 조성에 따른 분해속도를 분해매체로서 알칼리 이온 및 분해효소를 이용하여 실시간으로 측정하여 분해거동을 연구하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 고분자 합성 및 박막의 제조

PLA 공중합체의 합성을 위하여 광학 이성질 단량체인 LLA와 DLA는 Purac사의 제품을 사용하였으며 합성 전에 무수 에틸아세테이트로 재결정하여 사용하였다. 다른 유기용매들은 특급의 시약을 별도의 정제과정 없이 그대로 사용하였다. 다양한 광학 이성질 PLA (L100, L98, L95, D100)는 LLA와 DLA 모노머 비를 달리하여 진공 중합관에서 촉매로 노랄 핵산에 희석된 stannous octoate를 단량체 대비 0.1 wt%를 첨가하여 진공 하에서 휘발성 불순물을 충분히 제거 한 후 밀봉하여 140°C에서 개환중합으로 합성하였다. 여기서 샘플코드는 공중합체 내의 이성질 모노머의 함량을 의미한다. 예를 들면, L98은 LLA 98 mol%와 DLA 2 mol%의 광학 이성질 PLA를 나타낸다. 합성된 고분자는 클로로포름에 녹여 과량의 메탄올에 2회 침전시켜 미 반응 모노머 및 저 분자량의 올리고머를 제거하였다. 고분자 박막은 2 wt%의 클로로포름용액을 스핀코팅에 의해 실리콘 웨이프 상에 제조하였다. 박막의 두께는 약 10 μm 였고 안정화된 결정성을 위하여 상온에서 2일 이상 방치한 후 사용하였다.

2.2. 알칼리 및 효소분해용액의 제조

알칼리분해 매체는 초 순수(pH 7.3, Millipore Mega-Pure system MP-6A)에 1N NaOH로 pH를 조절하였고 효소분해는 Proteinase K(Sigma)를 25 mM Tris-HCl 완충용액(pH 8.5)에 일정한 농도로 녹여 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/min로 고정하였고 subphase는 1600 ml의 초 순수를 사용하였다. 분산용매로는 클로로포름을 사용하였으며 단분자막 실험을 위한 고분자용액의 농도는 2 μmol/mL였다. 용액분산 후 분산용매의 증발을 위해 1분간 방치한 후 측정을 하였다.

2.4. 분석

합성된 고분자의 분자량은 polystyrene을 표준시료로 하여 겔 투과 크로마토그래피(gel permeation chromatography(Shimadzu 10A GPC-refractive index detector)를 이용하여 측정하였으며 용매로 클로로포름을 사용하여 측정하였다. 유리전이온도(glass transition temperature, Tg)와 용융온도(melting temperature, Tm)는 differential scanning calorimeter (DSC, Perkin-Elmer, Pyris-1)를 이용하여 질소 분위기에서 10°C/min의 승온속도로 측정하였다. 박막의 분해 전후 모폴로지 변화를 관찰하기 위하여 atomic force microscopy(AFM, Seiko 3700) 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 침체를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 고분자의 합성

이성질 단량체인 LLA와 DLA을 이용한 개환중합은 동일한 반응속도에 의하여 주입량과 동일한 조성을 가진 불규칙한 고분자를 생성한다고 알려져 있다^{9,10}. Fig. 1에 합성한 stereochemical PLA의 DSC 거동을 나타내었다. 호모폴리머 (L100, 광학적순도 100%)의 경우, Tm은 178°C 부근에서 나타나나 DLA가 혼합됨에 따라 입체 규칙성의 저하로 Tm이 낮아짐을 보여 준다. 90%의 광학적 순도를 가진 L90은 주어진 조건에서 결정성을 보이지 않았다. 이러한 결과는 광학적 순도의 감소에 따른 규칙성 저하로 인하여 결정화하기 어렵기 때문이다⁹⁻¹¹. 합성한 고분자들의 특성을 Table 1에 나타내었다.

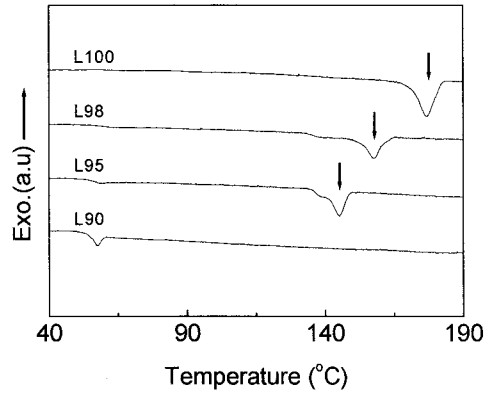


Fig. 1. DSC curves of stereochemical PLAs. The arrows indicate melting temperatures.

Table 1. Characteristics of polymers used in this study

Stereochemical PLAs	Mn (Mw/Mn)	Tg (°C)	Tm (°C)
L100	66,000 (2.0)	59	178
L98	520,000 (1.6)	57	155
L95*	450,000 (1.7)	55	145
L90	570,000 (1.7)	55	-
D100	160,000 (1.6)	58	177

* L95 indicates the stereochemical polymer with LLA 95 and DLA 5 mol%.

3.2. Stereochemical PLA의 가수분해 속도

생분해성 고분자의 분해속도는 상업적 응용 면에 있어서 아주 중요한 요소 중의 하나이다. 생체 재료로서의 응용에 있어서 분해속도는 재료의 물성과 아주 밀접한 연관을 가진다. Hocking 등¹¹)은 생분해성고분자에서 분해가 시작되면 재료의 물성을 급격히 저하된다고 보고하였다. 즉, 초기 5%의 중량감소에 대하여 거의 70%정도의 기계적 물성을 상실한다. 따라서 초기분해속도가 재료의 수명을 결정하는 아주 중요한 요인이 된다. 일반적으로 생분해성 고분자의 분해 속도는 분해매체 내에서의 분해시간에 따른 고분자의 중량감소로 측정하여 왔다. 이러한 중량감소에 의한 분해속도의 해석은 동일한 두께 및 크기의 시편을 요구하며 오차를 줄이기 위해 큰 시편을 사용할 경우 장시간의 실험을 요구한다. Lee 등^{6,7})은 Langmuir 단분자막 기법은 공기/물 계면에서 분자단위로 분자의 배향 및 분자간의 작용력

을 측정할 수 있을 뿐만 아니라 분자 수준에서 분해속도를 실시간으로 측정할 수 있는 유용한 도구임을 밝혔다. Fig. 2A와 2B는 각각 분해매체로서 알칼리(NaOH) 및 분해효소(Proteinase K)를 포함하는 수용액 상에 단분자막을 분산한 후, 지연시간(pause time)에 따른 L100 단분자막의 표면압력-면적(surface pressure-area, 이하 p-A) 곡선의 변화를 나타내었다. 지연시간은 단분자막이 수용액 표면상에서 무질서한 기체 상태와 같이 존재하며 수용액과의 접촉면적도 아주 적은 상태를 나타낸다. Fig. 2로부터 분해매체에 따라 지연시간 0(Fig.에서 as-spread로 표시)에서 서로 다른 p-A 곡선을 나타내는데 이러한 현상은 분해매체와의 상호 작용력의 차이이며 이전의 연구결과에서 설명하였다⁶⁾. 지연시간에 따른 단분자막의 점령면적의 변화(감소)는 지연시간 동안 단분자막의 분해정도를 나타내며 분해가 일어나지 않을 경우, 단분자막의 점령면적(또는 p-A곡선)은

거의 변화하지 않는다. Table 2는 Fig. 1A로부터 표면 압력 7 mN/m에서 점령면적의 변화로부터 계산된 지연시간에 따른 단분자막의 분해정도를 나타낸다. 알칼리 수용액 상에서 L100 단분자막의 점령면적은 지연시간의 증가와 더불어 감소하는 경향을 나타내었으며 30분간의 지연시간에 거의 70%의 단분자막이 가수분해에 의해 알칼리 수용액 상으로 용해되었음을 나타낸다. 반면에 분해효소를 가진 수용액 상에서는 1시간의 지연시간에도 불구하고 점령면적이 조금 증가함을 보여준다. 이러한 증가 경향은 용액상의 분해효소가 수용액의 표면에 부분적으로 존재함에 따른 현상으로 유사한 경향을 poly(ϵ -caprolactone)에서 관찰되었다⁹⁾. 이러한 점령면적이 거의 변화하지 않음은 주어진 조건에서 분해가 일어나지 않음을 의미한다. 분해효소의 농도가 희박하여 분해가 느리게 진행할 수도 있으나 이러한 부분에 대하여서는 뒤에서 다시 설명할 것이다.

Fig. 3A와 3B는 각각 알칼리와 분해효소 상에서 stereochemical PLA 단분자막의 분해거동을 표면압력에 따라 측정된 결과를 나타내었다. 표면 압력의 증가는 단분자막의 밀도를 증가시키고 밀도증가에 따라 수용액과의 접촉면적을 감소시키나 단분자막이 수용액 상으로 더 많이 잠김을 의미하며 전체적인 개략도를 Fig. 4에 나타내었다.

L100의 경우, pH 11에서 알칼리 분해속도는 표면 압력이 감소함에 따라 증가하는 경향을 나타낸다. 표면 압력의 증가는 단분자막이 접촉하는 알칼리 subphase의 면적을 감소시킨다. 따라서 30분간의 분해 후, 단위면적당 상대적인 분해속도를 계산하여 Table 3에 나타내었다. 표면 압력 4 mN/m에서 최고의 분해 속도를 보이는데 이러한 결과는 4 mN/m에서 L100 단분자막의 배향과 밀도가 알칼리용액이 활성화하기 최적의 조건임을 의미한다. Fig. 3으로

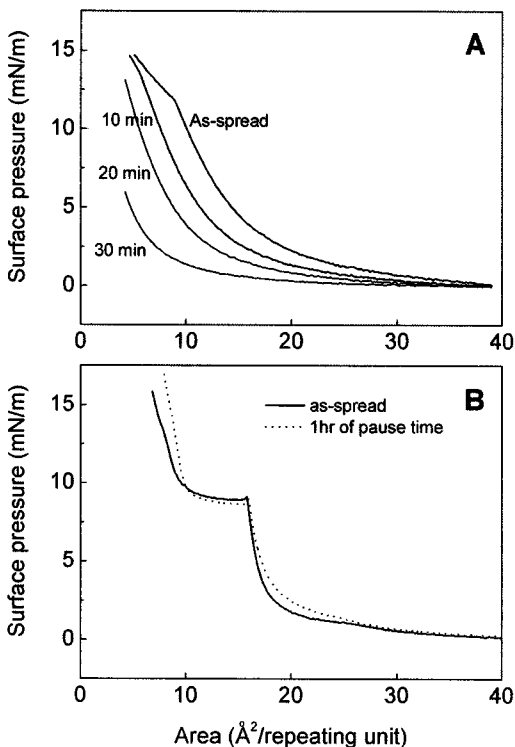


Fig. 2. p-A isotherm curves of L100 monolayers at subphases of pH 11 (A) and with Proteinase K (B) as a function of pause time.

Table 2. Degradation of PLLA monolayers with different pause times at pH 11 and surface pressure 7 mN/m

Pause time (min)	10	20	30
Degradation (%) ^a	22	41	70 ^b

^aCalculated by $(1-A/A_0) \times 100$ where A_0 is the occupied area at 0 of pause time.

^bExtrapolated data.

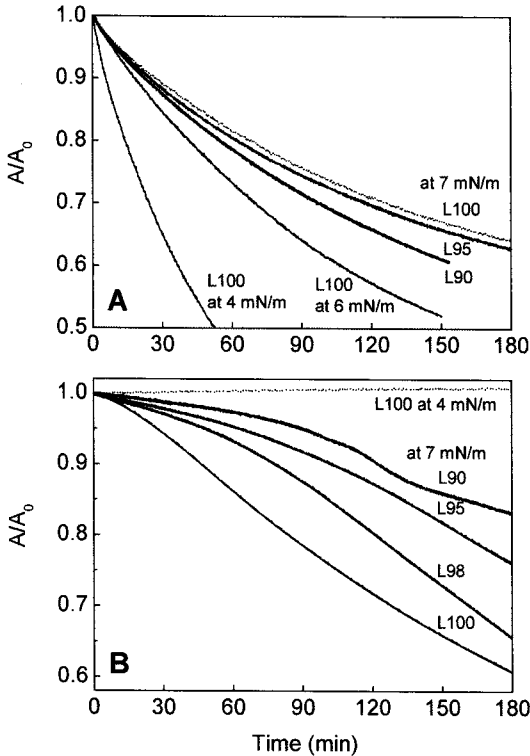


Fig. 3. Kinetic curves of stereochemical PLA monolayers at subphases of pH 11 (A) and with Proteinase K (B) The dash lines indicate D100 monolayers.

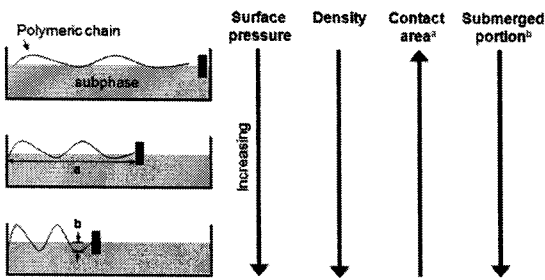


Fig. 4. Schematic representation of polymeric monolayers at different surface pressures.

부터 광학적 순도에 따른 분해속도는 L95까지는 유사한 분해속도를 보이거나 L90에서 다소 빠른 분해속도를 보인다. 이러한 결과는 결정화도의 감소로 인한 분해속도의 증가와 일치한다.

Proteinase K 분해효소의 경우, 알칼리 분해와 달리 표면 압력 4 mN/m까지는 L100 단분자막의 분해가 일어나지 않고 7 mN/m의 표면압력에서는 효소 분해가 진행됨을 알 수 있다. 표면 압력의 증가는 밀도의 증가와 더불어 단분자막 사슬의 부분이 subphase 내로 들어가는 것을 의미한다. 따라서 단분자막이 subphase내의 분해효소가 활성을 나타낼 수 있도록 충분한 접촉면적을 가져야 함을 의미한다. 앞서 설명하였듯이 Proteinase K는 PLA에서 L형의 이성질체에만 선택적으로 분해를 일으키기 때문에 PLA재료의 광학적 순도가 감소할수록 느린 분해속도를 보였다.

Fig. 5는 stereochemical PLA의 얇은 필름을 용매 주조 방식으로 제조하여 Proteinase K를 이용한 효소분해 전후의 표면 모폴로지를 관찰하였다. DSC 측정으로부터 L100, L98 및 L95는 결정성을 가지고 있는 것으로 나타난 바와 같이 표면에서 피브릴을 가진 구정을 관찰할 수 있다. 반면에 무정형인 L90의 경우 어떤 결정 형태의 모폴로지도 관찰되지 않았다. 분해 후에는 결정성고분자의 경우, 구정의 피브릴사이에서 분해가 진행됨을 보여주고 무정형 고분자인 L90은 필름전체에서 분해가 진행되었음을 나타낸다. 이러한 현상은 분해효소에 의한 분해는 무정형 부분에서 우선적으로 진행된다는 결과와 일치한다. 반면 D100의 경우 분해효소에 대한 비활성으로 모폴로지의 변화를 관찰하지 못하였다.

4. 결론

본 연구에서는 생분해성 고분자인 poly(lactide)의 분해속도를 조절하기 위하여 조성을 달리하는 광학

Table 3. Degradation of L100 monolayers with different pause times at pH 11 after 30 min of degradation

Constant surface pressure (mN/m)	0	4	6	7
Degradation (%) ^a	70	35	15	11
Occupied area per repeating unit	60	15.9	13.2	12.2
Relative degradation rate per unit area*	1.17	2.2	1.1	0.9

* Calculated by Degradation/Occupied area per repeating unit

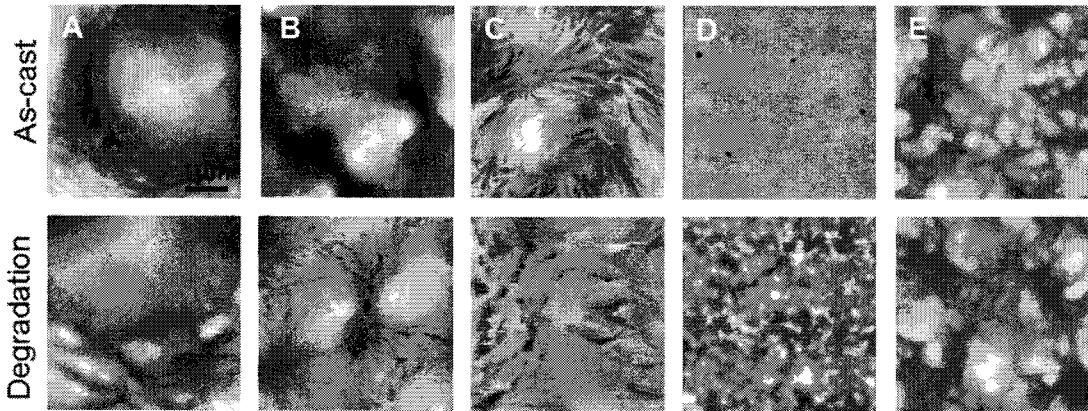


Fig. 5. AFM topographical images of stereochemical PLA films: (A) L100, (B) L98, (C) L95, (D) L90, (E) D100. The bottom images are corresponding to the images after the enzymatic degradation of 2 hr at 25 °C.

이성질 공중합체를 합성하여 단분자막 장치를 이용하여 분자수준에서 실시간으로 분해속도를 측정하였다. 알칼리분해의 경우, 표면압력과 관계없이 분해가 일어났으며 표면 압력 4 mN/m에서 가장 빠른 분해속도를 나타내었다. 또한 광학적 순도가 감소할수록 결정성의 저하로 인하여 빠른 분해속도를 나타내었다. 반면 효소분해의 경우, 표면 압력 4 mN/m까지는 분해가 일어나지 않았으며 4 mN/m 이상의 표면압력에서는 표면압력의 증가와 더불어 분해속도가 증가하는 경향을 나타내었다. 광학적순도에 따른 효소분해속도는 분해효소의 선택적 분해로 인하여 l-lactide의 함량이 증가할수록 증가하였다. 이러한 결과로부터 알칼리분해는 분해매체와 최소한의 접촉으로도 분해가 진행됨을 의미하고 효소분해의 경우, 효소가 분해 활성을 나타내기 위하여서는 높은 표면압력, 즉 분해효소와 큰 접촉면적을 요구함을 의미한다.

감사의 글

이 논문은 2008학년도 부경대학교 연구년 교수 지원사업에 의하여 연구되었으며 지원에 감사드립니다. (PS-2008-052)

참고 문헌

- 1) Scott G., Gilead D., 1995, Degradable Polymers, Chapman & Hall, 1-42.
- 2) Hwang H. H., Yoon K. S., 1994, Biodegradable

- Aliphatic Polyester, Polym. Sci. Tech., 5, 13-18.
- 3) Buchanan F., 2008, Degradable rate of bioresorbable materials, CRC press, 1-18.
- 4) Ryou J. H., Ha C. S., Kim J. W., Lee W. K., 2003, Control of Enzymatic Degradation of Microbial Polyesters by Plasma Modification, Macromol. Biosci., 3, 44-50.
- 5) Lee W. K., Ryou J. H., Ha C. S., 2003, Retardation of enzymatic degradation of microbial polyesters using surface chemistry: effect of addition of non-degradable polymers, Surf. Sci., 542, 235-243.
- 6) Lee W. K., Norwak R., Gardella J. A., 2002, The Hydrolytic Degradation of Polyester Blend Monolayers at the Air/liquid Interface: Effects of a Slowly Degrading Component, Langmuir, 18, 2309-2312.
- 7) 민성기, 문명준, 이원기, 2006, 모델 시스템을 이용한 Poly(l-lactide)의 분해거동, 한국환경과학회지, 15(2), 177-184.
- 8) Kikkawa Y., Yamashita K., Hiraishi T., Kanetsato M., Doi Y., 2005, Dynamic Adsorption Behavior of Poly(3-hydroxybutyrate) Depolymerase onto polyester Surface Investigated by QCM and AFM, Biomacromolecules, 6(4), 2084-2090.
- 9) Reeve M. S., McCarthy S. P., Downey M. J., Gross R. A., 1994, Polylactide stereochemistry: effect on enzymatic degradability, Macromolecules, 27, 825-831.
- 10) Wiggins J. S., Hassan M. K., Mauritz K. A., Storey R. F., 2006, Hydrolytic degradation of poly(d,l-lactide) as a function of end group: Carboxylic acid vs. hydroxyl, Polymer, 47(6), 1960-1969.
- 11) Hocking P. J., Marchessault R. H., Timmins M. R., Lenz R. Z., Fuller R. C., 1996, Enzymatic Degradation of Single Crystals of Bacterial and Synthetic Poly(β-hydroxybutyrate), Macromolecules, 29, 2472-2478.