

## 키틴과 셀룰로우스의 복합체로부터 새로운 생체흡수성 봉합사의 개발

이 충 우 · \*홍 영 근 · \*\*이 화 섭 · 윤 정 원

수원대학교 공과대학 유전공학과

\*수원대학교 공과대학 고분자공학과

\*\*한국과학기술연구원 섬유고분자연구실

### Development of New Biocompatible Fiber form Composite of Chitin and Cellulose

Chung-Woo Lee, \*Young-Keun Hong, \*\*Hwa-Seop Lee and Jeong-Weon Yoon

Dept. of Genetic Engineering and

\*Dept. of Polymer Engineering, College of Engineering, The University of Suwon

\*\*Lab. of Fiber & Polymer, Korean Institute of Science & Technology

#### ABSTRACT

Chitin-based fibers have low mechanical strength and hence cannot be used as surgery fiber due to fast degradation in tissues. A new fiber Chitulose was made by mixing chitin with cellulose, both of which have similar structure. A mixture of dimethylacetamide(DMAC) and 6% lithium chloride(LiCl) was found to be an effective solvent system for dissolving chitin and cellulose. The Chitulose fiber made by wet spinning of a mixture of chitin and cellulose resulted in the highest degree of strength and flexibility when the ratio of chitin to cellulose was 1.5; 0.2. The fiber maintained mechanical structure even after autoclaving, indicating thermal stability. A biodegradability test of the Chitulose fiber by imbedding in a rat showed that degradation was initiated in 14 days and completely done in 40 days.

#### 서 론

생분해성 고분자섬유는 수술용 흡수성 봉합사, 인공힘줄 또는 인공혈관 등 이식용 장기간 흡착분해성 거즈, 인공피부 등 그 이용도가 다양하고 고부가가치가 있으므로 생분해성 플라스틱과 더불어 연구개발 및 상업화가 활발히 진행되고 있다(1). Chitin은 poly(N-acetyl-O-glucosamine)으로 된 다당류로, 갑각류의 외골격 등 천연에 널리 존재하고 있는 고분자 물질(2, 3) 중의 하나로서, chitin을 섬유화하여 생체흡수성 봉합사(4, 5)로 사용하는 것이 개발되고 있으나, chitin은 인장강도가 약하여 생체조직 내에서 흡수도가 너무 빨라 수술 후 2주일 정도의

강도유지밖에 못하는 단점(6, 7) 등이 있다. 국내에서는 폴리글리콜산을 이용하여 흡수성 봉합사를 개발하였으나, 원료가 불안정한 물질이며 제조공정이 까다롭고 방사하는 공정이 어렵다. 국외에서는 동물의 소장에서 추출한 장선(catgut), 합성물질인 polyglycolic acid(PGA), polylactic acid(PLA), glycolide와 lactide의 공중합체 등이 개발되었으나, 장선은 수술시 매듭은 잘 만들어지나, 강도가 약하고 인체조직과 반응성이 있으며 감염의 가능성이 크고, 합성봉합사는 질기며 강도의 유지시간을 예측할 수 있고, 강도가 오랫동안 유지된다는 장점은 있으나 매듭짓기가 어렵고, 조직내에서 풀어지는 단점이 있다(8). 그러므로, 본 연구는 그 구조가 서로 비

슷한 chitin과 cellulose를 혼합하여 새로운 물리, 화학적 물성이 개선된 Chitulosе 필름의 개발 (9)에 이어, 유연성이 크며 인장력이 증대되고 흡수율이 적당한 새로운 생체흡수성 봉합사를 개발하여 이에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 기기

Dimethylacetamide(DMAC), lithium chloride (LiCl), acetic acid, hydrochloric acid, sodium hydroxide는 일본 순정화학의 시약특급을 사용했고, methanol은 공업용을 사용했다. Chitin은 Sigma Co. 제품으로서 게로부터 추출한 것이고, cellulose도 Sigma Co. 제품으로 목질에서 추출한 것을 사용하였다.

### Chitin과 $\alpha$ -Cellulose의 전처리

Sigma Co. 제품의 chitin은 탄산칼슘과 단백질 등의 이물질들을 제거하기 위하여 Fig. 1과 같은 방법으로 전처리하였다.  $\alpha$ -cellulose는 증류수에 하룻동안 침지시킨 다음 여과지로 거른 후 다시 methanol에 침지시켜서 여과한 것을 DMAC로 활성화시키고

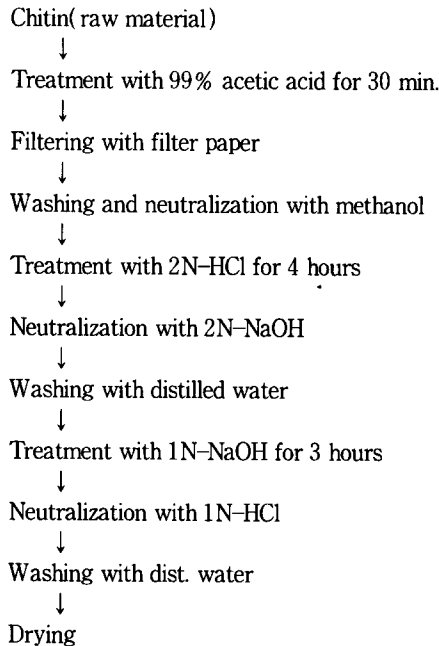


Fig. 1. Pretreatment of Chitin.

여과한 다음 실온에서 건조하여 사용하였다.

### DMAC/LiCl 용매계에 의한 Chitin, $\alpha$ -Cellulose, Chitin+ $\alpha$ -Cellulose 혼합물의 용해

전처리를 거친 chitin,  $\alpha$ -cellulose, 또는 chitin+ $\alpha$ -cellulose를 DMAC에 대한 LiCl의 농도를 1%에서 12%까지 변화시키면서 용해도를 광학현미경으로 관찰하여 용해여부를 판단하였다.

### 방사

방사용액은 round bottomed flask에 교반기를 장치해 실온에서 용해시킨 후 2일 정도 실온에서 숙성시키고 탈포된 것을 확인한 후 아래 Fig. 2와 같은 방사장치(10)를 통해 chitin emulsion을 스테인레스 원통에 넣은 후 질소가스를 연결하여 압력을 100psi로 가한 다음 직경이 0.15mm이며 구멍이 3개인 노즐을 통하여 방사시키면서 실온의 methanol 응고액 속에 받아서 응고시킨 후, 권취기에 70rpm으로 권취했다. 섬유방사 후 증류수에 2일 정도 담가두어 용매를 완전히 회수한 다음 브호너 깔대기로 증류수를 여과하고 섬유를 실온에서 건조시켰다.

### 섬유의 강도시험

Instron형 4201 강도측정기를 이용하여 실온에서 인장속도 10mm/min, gauge length 25mm의 조건 하에서 건강도와 습강도를 시험했으며, 습강도 측정은 섬유를 증류수에 1분 동안 담가둔 후에 측정하였다.

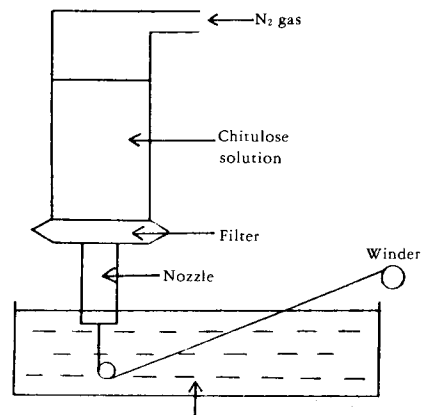


Fig. 2. Apparatus for Wet Spinning of CHITULOЕ fiber.

**섬유의 토양내에서의 분해도 관찰**

토양에서의 분해정도를 알아보기 위해 3ℓ 짜리 화분에 섬유를 20cm 깊이에 매몰한 후, 시간의 경과에 따른 변화를 주사전자현미경(Model No. HITACHI S-510)으로 표면관찰했다.

**섬유의 생체적합도 및 생체분해도 측정**

생체 내에서의 적합도 및 분해정도를 관찰하기 위해 400~500g되는 백서의 등피하에 섬유를 매몰한 후 시간의 경과에 따른 강도 변화 및 생체조직과 섬유와의 적합도와 섬유의 분해정도를 주사전자현미경과 형광현미경으로 관찰했다. 형광현미경 관찰을 위해서 조직을 iodine solution으로 염색하였다. 생체 흡수도와 토양에서의 분해도는 섬유 두께의 변화로써 가름하였다.

**결과 및 고찰**

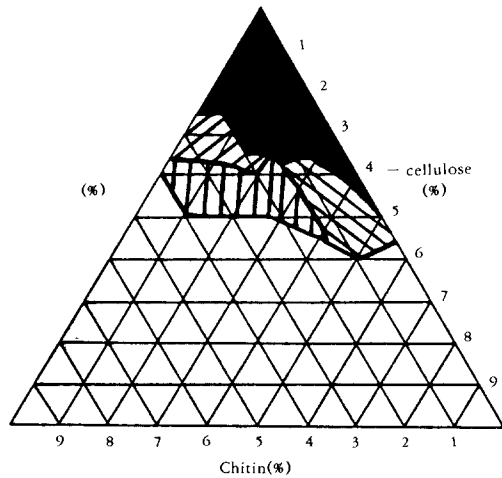
**Chitin과 α-Cellulose의 전처리**

Chitin과 cellulose는 그 자체의 분자 내 그리고 분자간의 수소결합으로 인하여 웬만한 용매에는 잘 용해되지 않는다. 전처리는 대상물질의 내부구조를 팽윤시켜 용매가 잘 침투되게 하여 용해를 돕는다. 계겉질은 chitin, 단백질, 그외 다른 유기물 혹은 탄산칼슘을 주체로 하는 무기물이 혼합되어 있으며 출처에 따라 그 조성비율이 다르다(11, 12). Sigma Co. 제품의 chitin은 chitin외에도 단백질, 탄산칼슘이 잔존하고 있어 DMAc/LiCl 용매에 전혀 녹지 않으므로 약 5% 염산수용액에서 탄산가스의 발생이 멈출 때까지 실온에서 침지하여 탈회시켰고, 약 5% NaOH로 60℃ 정도에서 처리해서 탈단백질시켜 순백색의 순수한 chitin을 얻었다. α-cellulose 역시 전처리를 거쳐, 사용한 용매계에 용해시켰다.

**DMAc/LiCl 용매에 의한 Chitin, α-Cellulose, Chitin+α-Cellulose 혼합물의 용해**

Chitin은 cellulose와 구조가 비슷하지만, acetamide group간의 결합력으로 강한 micelle을 형성하여 일반 화학약품에 강하다. 반면에 강한, fluoro-alcohols, hydrotropic salt 용액에 녹지만, 고분자의 붕괴(13)가 일어나 사용성이 없게 된다. DMAc는 그 자체만으로는 chitin을 녹일 수 없으나, LiCl이 첨가 되면 chitin의 구조를 붕괴시키지 않고 용해시킨다(14). Chitin의 경우 DMAc에 대한 LiCl 농도가 4% 이하인 경우에는 용해가 일어나지 않았고 LiCl 5

%에서 키틴 2%가 잘 용해되어 투명하고 점성도 좋은 것으로 보였다. LiCl 5% 이상에서는 키틴 용해가 적어지는 동시에 용액도 둔탁해지는 경향이 있는데, 이는 LiCl 양이 많아질수록 DMAc와 chitin의 상호작용(interaction)이 약해지는 것으로 생각된다. cellulose의 경우는 chitin에서와 마찬가지로 LiCl 농도가 4% 이하인 경우에는 용해가 일어나지 않았고 5% 이상 10%까지의 범위에서 용해되었으나 7% 근처에서 DMAc/LiCl은 가장 큰 용해력을 나타내었다. Chitin-cellulose 혼합물의 용해는 LiCl 농도 4% 이하에서는 거의 일어나지 않았고, 6%에서 chitin: cellulose의 중량비(%)가 1.5:0.5, 0.5:2 및 1:2 정도가 잘 용해(Fig. 3)되었지만 chitin 보다 cellulose양이 많아지면 바람직한 생체흡수성 봉합사로서의 성질인 생체흡수성이 낮아지므로 cellulose양보다 chitin양을 많이하여 용해한 6% LiCl에 chitin: cellulose의 중량비(%)가 1.5:0.5, 1.5:1과 7% LiCl에 1:0.5 정도가 좋다고 생각되었다. DMAc에 대한 LiCl 농도가 8%, 9%, 10%에서는 혼합물의 용해량이 적어져서, 이 액제로 성형물인



**Fig. 3. Phase Diagram for CHITULOSE Complex in DMAc/LiCl at Room Temperature (LiCl: 6%).**

- : Chitin, Cellulose; complete solution
- : Chitin, Cellulose; incomplete solution
- ▬ : Chitin; complete solution
- ▬ : Cellulose; incomplete solution
- ▬ : Chitin; incomplete solution
- ▬ : Cellulose; complete solution
- ▨ : Chitin, Cellulose; partial solution

생체흡수성 봉합사를 제조했을 때, 성형성도 좋지 않고 품질도 저하되는 것으로 나타났다. Chitin과 cellulose를 DMAc/LiCl 용매에 용해시킬 때 실온에서 실시했을 때는 80%의 용해력을 나타냈고, 용해시간도 24시간 걸린 반면, 온도를 30℃~40℃로 유지하면 용질의 용해력이 100%로 되고 용해시간도 4시간으로 단축시킬 수가 있었다. 이는 용해 온도조건을 30℃~40℃로 해줌으로써 chitin과 cellulose의 분자구조를 이완시키고 용매의 활성이 높아져 용해가 잘되는 것으로 생각된다. 용해온도를 80℃에서 3시간 정도되면 연노랑색으로 변색이 되었는데 이는 용질의 고분자 붕괴가 일어난 것으로 여겨진다.

**DMAc/LiCl 용매에 의한 Chitulose 용액의 방사 후 표면구조의 관찰**

Chitulose 용액을 습식방사하고 건조시킨 후, 섬유의 표면을 주사전자현미경으로 관찰하였다(Fig. 4). 섬유는 강도에 공헌하는 fibril로 구성되어 있고 표면이 고르고 매끄러워 봉합사 등에 이용하기 좋은 형태를 갖추고 있었다.

**섬유의 강도시험**

Chitulose 섬유의 물성은 cellulose 함량에 따라 변하는데, cellulose가 0.2% 첨가되었을 때, 즉, chitin 대 cellulose비가 1.5:0.2일 때가 가장 높았다. 이때의 건강도, 습강도, 매듭강도는 각각 평균 5.5, 3.2 및 4.3g/d이었다(Table 2, 3). 비교 예로서 섬유소가 첨가되지 않은 chitin fiber의 경우에는

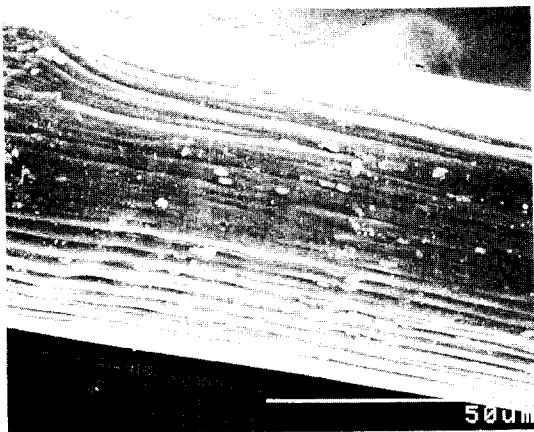


Fig. 4. SEM Photograph of Outer Surface of Chitulose Fiber(chitin: cellulose=1.5:0.2wt%)

**Table 1. Physical properties of Chitin fiber using DMAc:LiCl(20:1.5, w/w)**

Sample (Number)	A					
	Dry Strength				Wet Strength	Knot Strength
	a	b	c	d	d	d
1(10)	4.3	12.3	8.2	1.5	1.3	1.3
2(10)	5.9	13.2	8.3	1.6	1.8	1.3
3(10)	6.2	12.7	8.3	1.5	1.1	1.7
Average	5.5			1.5	1.4	1.4

chitin: cellulose(%)

A 1.5 0

a: extensibility(%), b: breaking force(g),

c: denier, d: strength(g/d)

**Table 2. Physical properties of CHITULOSE fiber using DMAc:LiCl(20:1.5, w/w).**

Sample (Number)	B				C				D			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1(10)	5.0	27.0	8.3	3.3	3.9	35.7	8.3	4.3	3.6	27.0	8.4	3.3
2(10)	2.5	26.2	8.3	3.2	4.6	20.3	8.3	6.5	6.5	28.2	8.3	3.4
3(10)	3.7	20.2	8.3	2.4	8.7	46.7	8.3	5.7	3.1	22.3	8.3	2.7
Average	3.7			3.0	5.7			5.5	4.4			3.1

chitin:cellulose(%)

B: 1.5 0.1, C: 1.5 0.2, D: 1.5 0.4

a: extensibility(%), b: breadking force(g), c: denier, d: strength(g/d)

1.4g/d이었다(Table 1). 이와 같이 키틴에 대한 cellulose 함량의 변화에 따른 강도변화가 생기는 메카니즘은 chitin의 딱딱하면서도 부드러운 성질을 가져오는 chitin의 당사슬과 사슬 사이의 수소결합과 사슬내에서의 수소결합에 cellulose가 갖는 질긴 성질을 가져오는 수소결합이 뭉쳐 두 물질을 혼합 용액 화시켰을 때 유연하면서도 질긴 성질을 갖는 봉합사가 되는 것으로 추정된다.

**CHITULOSE fiber의 생체적합성 및 생분해성**

단사[C]를 모아 30가닥으로 하여, 멸균 후 400~500g되는 쥐의 등 근육에 매물하고 시간의 경과에 따라 채취하여 분해정도를 주사전자현미경과 Instron으로 조사한 결과 15일 경과 후 원래의 강도 62%를 유지하고, 30일 경과 후 20%를 유지하였으며, 40일 경과 후는 기기측정을 할 수 없을 정도로

Table 3. Wet strength(g/d) and knot strength(g/d) of CHITULOSE fiber.

Sample (Number)	B		C		D	
	Wet	knot	Wet	knot	Wet	knot
1(10)	2.4	2.4	2.6	4.0	1.9	2.8
2(10)	4.2	2.7	4.4	3.5	2.0	2.5
3(10)	2.4	3.0	2.5	5.5	2.6	2.7
Average	3.0	2.7	3.2	4.3	2.2	2.7

chitin : cellulose(%)

B: 1.5 0.1, C: 1.5 0.2, D: 1.5 0.4

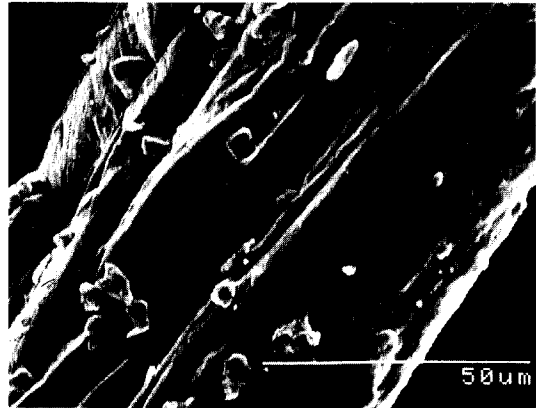


Table 4. Physical properties CHITULOSE fiber (C) after subcutaneous imbedding in rate (Chitin:Cellulose=1.5:0.2).

Day of imbeding (Number)	0 day				after 15 days				after 30 days			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1(5)	3.9	35.7	8.3	4.3	10.1	36	8.37	4.7	3.3	17	15.4	1.1
2(5)	4.6	20.3	8.3	6.5	6.8	23	10.0	2.3	5.3	16	15.1	1.1
3(5)	8.7	46.7	8.3	5.7	6.8	30	9.0	3.3	3.3	16	14.8	1.1
Average	5.7			5.5	7.9			3.4	4.0			1.1

a: extensibility(%)

c: denier

b: breakoing force(g)

d: strength(g/d)

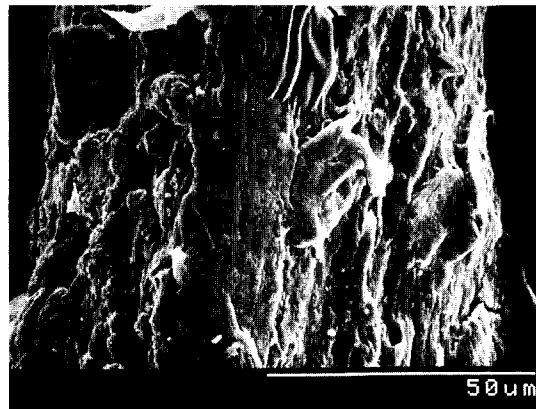


Table 5. Degree of degradation of CHITULOSE fiber after burying

Sample / Month(Number)	A	B	C	D
1(3)	18(%)	17(%)	16(%)	20(%)
2(3)	29	26	25	30

강도를 잃었다(Table 4). 따라서 ChitULOSE 섬유는 흡수 성불합사로 적당한 강도를 유지하였다. 불합사의 지름을 측정된 결과, 생체흡수도는 40일 경과 후 50%가 흡수되고 70일 후에는 완전히 흡수되었다.

섬유들의 토양(야산에서 채취)에서의 분해정도를 마이크로미터와 주사전자현미경으로 측정된 결과, 1개월 후에는 대략 18% 정도 분해되었고, 2개월 후에는 28% 정도 분해되었으며 6개월 후에는 완전히 분해되어 없어졌다(Table 5). 그러므로 ChitULOSE 섬유는 토양속에 존재하는 미생물들에 의해 쉽게 분해되는 것을 관찰할 수 있었다.

Fig. 5. SEM Photograph of Outer Surface of CHITULOSE after 7 Days (left), 14 Days (right) Subcutaneous Imbedding in Rat(chitin: cellulose=1.5:0.2 wt%).

요 약

Chitin 섬유는 인장강도가 기대치 보다 약하며 생체조직 내에서 흡수도가 너무 빨라 수술 후 2주일 정도의 강도 유지밖에 못하는 단점 등이 있으므로, chitin과 그 구조가 비슷한 cellulose와 혼합하여 인장력과 유연성이 크게 증대된 ChitULOSE 섬유를 개발하였다. 우선 chitin과 cellulose가 잘 용해되어 혼합될 수 있는 용매로서 DMAc/LiCl을 탐색하였으며 이 용매계에 용해시킨 ChitULOSE 용액을 가지고 습식방사하여 얻은 ChitULOSE 섬유 중, 용매에 대한 chitin : cellulose 함량비가 1.5:0.2일 때, Instron 시험결과 강도와 유연성이 가장 좋았으며, 멸균시

autoclave해도 변화되지 않아 열에 매우 안정한 것으로 나타났다. 이 섬유를 가지고 400~500g되는 백서의 피하조직에 매몰시킨 후, 생체 내 분해흡수도를 관찰한 결과, 매몰 후 14일부터 분해되기 시작하여 40일 후에는 완전히 분해흡수되었다.

### 참고문헌

1. 윤정원(1991), 생리활성물질 Chitin의 개발, 생분해성 고분자연구회 심포지움, 86-92.
2. R. H. Hackman(1958), *Aust. J. Biol. Sci.*, **7**, 168.
3. R. a. A. Muzzarelli(1977), "Chitin", Pergamon, Oxford.
4. Jap. Pat., 84212448, 1984.
5. R. A. A. Muzzarelli(1977), "Chitin", 139-150, Pergamon, Oxford.
6. 홍영근(1991), 한국섬유공학회지, **28**, 3.
7. 김진복외(1987), "최신 외과학", 304, 일조각.
8. Y. K. Hong(1990), *J. of Kor. Fib. Soc.*, **28**, 3.
9. 윤정원, 홍범식, 유영석, 이충우.,(1993) 한국생물공학회지, 게재중.
10. 홍영근(1991), "방정과 방사", 1993, 거춘사.
11. D. J. Knorr(1982), *Food Sci.*, **47**, 593.
12. D. J. Knorr(1984), *Food Technol.*, **38**, 85.
13. T. Sannan, K. Kurita, K. Ogura and Y. Iwakura(1978), *Polymer*, **19**, 45 .
14. U. S. Pat., 4062921, 1976.