

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2019.11.2.036>

ISSN 2383-5400 (Online)

키틴을 이용한 폴리(L-젯산)(Poly(L-lactic acid)(PLLA)) 전기방사 나노섬유의 기계적 보강

Mechanical Reinforcement of Electrospun Poly(L-lactic acid)(PLLA) Nanofibers with Chitin

문현우¹, 최승환², 황동수^{3,*}

Hyunwoo Moon¹, Seunghwan Choy², Dong Soo Hwang^{3,*}

¹대학원생, 포항공과대학교, 환경공학부, 포항, 37673, 대한민국

²박사후연구원, 포항공과대학교, 융합생명공학부, 포항, 37673, 대한민국

³교수, 포항공과대학교, 환경공학부, 융합생명공학부, 포항, 37673, 대한민국

¹Division of Environmental Science and Engineering, Pohang University of Science and Technology (POSTECH), 77 Chengam-ro, Nam-gu, Pohang-si 37673, Republic of Korea

²Division of Integrative Biosciences and Biotechnology, Pohang University of Science and Technology (POSTECH), 77 Chengam-ro, Nam-gu, Pohang-si 37673, Republic of Korea

³Division of Environmental Science and Engineering and Division of Integrative Biosciences and Biotechnology, Pohang University of Science and Technology (POSTECH), 77 Chengam-ro, Nam-gu, Pohang-si 37673, Republic of Korea

(Received 21 June 2019, Revised 18 November 2019, Accepted 18 November 2019)

Abstract This study was conducted to analyze the difference in mechanically improved properties by distinguishing α -chitin and β -chitin for Poly(L-lactic acid)(PLLA). First, dissolution of chitins was established by mixing polar solvents hexafluoroisopropanol (HFIP) and trifluoroacetic acid (TFA) in appropriate proportions. Under these conditions, the dissolved chitin was used for electrospinning with other polymers. The electrospun nanofibers of the PLLA and chitins were successfully produced. Compared to the pristine state, when chitin was added to PLLA, the tensile strength increased 1.41 times (α -chitin), by 1.61 times (β -chitin), respectively. Based on this, it was confirmed that α - and β -chitin could be strategically used for different polymers. The results also suggest that chitin can be applied to various fields as good reinforcing material as well as electrospinning.

Keywords : chitin; Poly(L-lactic acid)(PLLA); electrospinning; mechanical property

서론

환경 문제로 인해 플라스틱 제품 및 폐기물의 수가 점점 늘어나고 있다. 우리가 생활에서 편리하게 사용하는 플라스틱은 석유를 기반으로 하는 합성 고분자로 가공이 편리하며 저렴한 가격으로 제조된다. 그러나 제조 과정에서 발생하는 에너지 낭비, 환경

오염 물질 발생 및 플라스틱의 낮은 생분해성으로 인해 토양 및 해양에서 분해되지 않아 유기생물체의 내부의 축적이 심각한 수준에 도달했다. 따라서 지속 가능한 발전을 위해 보다 환경 친화적인 고분자를 개발하는 것이 시급한 과제이다. 이러한 경향에 따라 생분해성 물질 및 플라스틱에 대한 많은 연구가 수행되고 있다. 특히, 무척추 해양 생물에서 유래

* Corresponding author
Phone: +82-54-279-9505 Fax: 054-279-8299
E-mail: dshwang@postech.ac.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

한 키틴을 이용하려는 노력이 이루어지고 있다[1-3]. 키틴은 유망한 천연 중합체로 풍부하고 저렴하며 생체 적합성이 우수하고 생분해성이 뛰어나다[2]. 이러한 특성을 바탕으로 beads, 기능성 코팅물질, 섬유, 필름, 하이드로겔 등으로 가공되어 바이오메디컬 및 고분자 첨가제 등으로 활용되고 있다.

키틴의 화학 구조는 N-아세틸 글루코사민 단량체가 β(1-4) 결합으로 연결되어 있으며 분자의 배열 구조에 따라 α, β 2가지의 이형태(allomorph)가 존재한다[4,5]. α-키틴은 가장 풍부하고 균류, 효모 세포, 게, 조개류, 곤충 상피, 새우 껍질 등에 나타난다. 또한 α형은 다양한 해양 생물에도 존재한다. α-키틴 구조의 특징은 색소(pigment), 방해석(calcite) 및 단백질과 같은 불순물이 없는 높은 결정성을 가진다[6]. β-키틴은 오징어 펜(pen)[4]의 단백질 및 유수동물(pogonophora)과 vestimetiferan worms에서 얻을 수 있다[7,8]. 키틴은 낮은 면역반응, 생분해성, 무독성 및 항균성을 나타내어 뛰어난 생체적합성을 가지며 바이오메디컬 및 기타 산업에서 널리 사용된다[9]. 키틴의 생분해성은 많은 연구에서 입증되었으며 쉽게 소변으로 배설되고 인간을 포함한 유기체에 해롭지 않음이 알려져 있다[10,11]. 이러한 특성을 바탕으로, 정형외과, 치주, 조직 공학, 상처 치유 및 약물 및 유전자 전달에 사용되었다[12]. 이러한 키틴을 활용하기 위해 여러 가지 형태로 가공하려는 노력이 이루어졌다. 키틴은 하이드로겔(hydrogel), 멤브레인(membrane), 나노섬유(nanofibers), 비즈(beads), 미립자(microparticles), 나노입자(nanoparticles), 지지체(scaffolds) 및 스폰지(sponges)에 지속적으로 적용되어 왔다[13]. 특히, 나노섬유는 표면적이 크고 다공성이 크기 때문에 조직 공학, 여과, 금속 이온 회수, 치과, 약물 방출, 촉매 및 효소 운반체, 에너지 저장, 방호복, 화장품, 바이오 센서, 의료용 임플란트 및 상처 치유 등에 다양하게 활용된다[14,15].

폴리젯산(Poly(lactic acid),PLA)은 생분해성 열가소성 폴리에스터로 석유화학 합성 고분자를 대체할 수 있는 잠재력이 가장 큰 고분자 소재이다. 생체적합성과 높은 환경친화성 외에도 폴리에틸렌글라이콜(Polyethylen glycol, PEG), 폴리카프로락톤(Polycaprolactone, PCL) 등의 다른 바이오플라스틱에 비해 우수한 열적 가공성을 가진다. 그러나 낮은

내충격성이 단점으로 지목되어 이를 극복하기 위한 노력이 이루어지고 있다. 이에 본 연구에서는 이러한 한계를 극복하기 위해 키틴을 첨가하여 장력(tensile strength), 영률(young's modulus), 인성(toughness)의 물리적인 특성을 강화시키고자 한다.

본 실험에서 수행한 전기방사는 고분자를 나노섬유 형태로 만드는 매우 유용한 방법이다. 외부의 강한 전기장을 이용하여 비접촉 방식으로 섬유가 방사되기 때문에 다른 기계적인 방사법보다 훨씬 더 얇고 균일한 직경을 갖는 섬유를 얻는 것이 수월하다. 전기 방사에 필요한 장비는 고전압 전원 공급 장치, 금속 바늘 및 수집기(collector) 역할을 하는 접지된 금속 도체의 세 가지 주요 구성 요소로 구성된다. 전계가 가해지면, 전하는 바늘로부터 공급된 고분자 용액의 액적 표면에 균일하게 분포된다. 정전기적 반발력이 표면 장력을 초과하게 되면, 테일러 콘(Taylor cone)이라 불리는 원추형 방울이 형성되고, 고분자 액체가 뽀족한 부분으로부터 수집기(collector)를 향해 배출된다. 제트(jet) 가닥은 용매의 빠른 증발을 거치며, 이것은 길고 가는 실을 형성하는 휘핑(whipping) 공정이다. 그 결과, 무작위로 배향된 섬유가 수집기 표면 위에 부직포 형태의 멤브

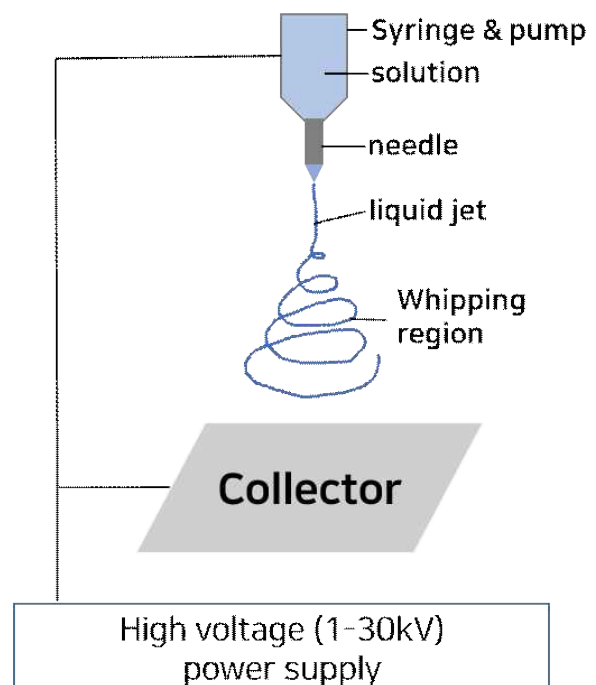


Figure 1. Schematic illustration for electrospinning

라인으로 얻어진다. 이와 같이 얻어진 섬유는 10 내지 1000m²/g의 넓은 표면적 대 질량비를 제공한다 [16].

따라서 본 연구에서는 전기방사법을 이용하여 폴리-L-젯산(PLLA)에 키틴(α -, β -chitin)을 혼합한 블렌딩 용액을 나노섬유로 제작하고 인장도를 측정하여 물리적인 보강효과를 분석하였다.

재료 및 방법

실험 재료

Sigma-Aldrich와 AraBio co., ltd.에서 고순도 α -chitin (C9752)과 β - 키틴 (ARA-170124FC)을 구입하였다. Poly-L-(L-lactic acid)(PLLA,18402)는 Polysciences Inc.에서 구입하였다. 극성 용매 Hexafluoro-2-propanol (HFIP, A1247, Alfa Aesar) 및 trifluoroacetic acid (TFA, L06374, Alfa Aesar) 을 사용하여 PLA 및 두 종류의 키틴을 용해시켰다.

키틴 용해 실험

HFIP, TFA 두 극성 용매의 혼합 용액에 키틴이 잘 용해되는 조건을 정립하기 위하여 다양한 비율의 HFIP/TFA 이원용매를 사용하여 키틴의 용해 실험을 진행하였다. 용해 실험에 사용된 키틴은 앞서 언급한 α -chitin을 사용하였고, HFIP와 TFA의 비율을 정수비로 1:9부터 9:1까지 9가지 조건으로 설정하였다.

전기 방사

PLLA, α -키틴, β -키틴 및 이들의 혼합물을 HFIP/TFA (85:15, v/v) 용매에 11% (w/v)의 농도로 완전히 용해시켰다. PLLA/키틴 혼합은 10:1의 비율로 제조하였다. PLLA/키틴 혼합 비율은 α -키틴과 β -키틴 용매인 HFIP에 둘 다 최대로 녹는 지점을 선택하였다. 키틴의 완전한 용해를 위해, 키틴에 상응하는 양을 먼저 40 °C 오븐에서 용매에 용해시키고, 이어서 PLLA를 첨가 하고 12시간을 추가적으로 용해하였다. 대조군으로서 사용하기 위한 순수한 PLLA를 10% (w/v)의 농도로 12 시간 동안 용해시켰다. 전기 방사기는 주문 제작된 전기 방사기 (Nano NC, Seoul, Korea)와 시린지 펌프 (KDS100, KD Scientific)로 수행되었다. 고분자 용액을 26게이지 바늘이 달

린 1 ml 주사기에 넣고 바늘에 양극인 클램프를 연결하고 음극인 콜렉터를 고전압 전원에 연결하였다. 수집기(collector)로 2 × 2 × 1cm 철판을 놓았다. 폴리머 제트(jet)로부터의 바늘 말단과 수집기 사이의 거리는 8-10 cm로 설정하였다. 바늘로부터 강한 전기장에 의해 생성된 폴리머 제트는 수집기로 내려오는 동안 나노 섬유로 형성되어 멤브레인 형태로 축적된다. 인가된 전압 및 용액 공급 속도는 각각 10-20 kV 및 0.25 ml/h로 조정되었다. 모든 실험은 실온에서 40 ± 2 %의 상대 습도에서 수행되었다. 모든 멤브레인 샘플의 인장도를 측정하기 전, 잔류 용매를 제거하기 위해 40 °C 오븐에서 overnight 동안 건조시켰다.

나노섬유 형태 관찰

전자 주사 현미경 (Scanning electron microscopy, SEM) (JSM-6010LV, JEOL, Japan)을 가속 전압 10kV에서 전기방사 나노섬유의 형태를 관찰하는데 사용하였다. 스퍼터 코팅(sputter coating)은 코팅기 (108 Auto Sputter Coater, Cressington Scientific Instruments, LTD.)에서 100 초 동안 수행하였다. SEM 사진을 기반으로 나노 섬유의 지름을 Image J 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

인장 시험

전기방사된 PLLA/키틴 멤브레인의 기계적 성질을 확인하기 위해 인장 시험 측정기(universal testing machine, UTM, 3344, Instron, USA)를 사용하였다. 모든 샘플을 5mm × 20mm로 제단하고, 지그(jig)에 의해 고정된 부분은 상하 방향으로 5 mm, 연신되는 부분의 길이는 10 mm로 조정하였다. 인장 속도는 10 mm/min으로 조정되었다. 인장 시험은 실온에서 상대 습도 40 ± 2%에서 진행하였다. 두께는 각 샘플을 Digimatic Micrometer (293-240, Mitutoyo, Japan)로 5포인트를 측정하여 평균값을 사용하였다.

결과 및 고찰

키틴 용해 실험

키틴의 단단한 결합 구조 때문에, 적절한 용매를 찾는 것이 매우 중요한 과제이다. 극성 용매로서 높

은 휘발성을 가진 HFIP와 TFA가 전기 방사에 널리 사용되어 오고 있다[17,18]. 그러나 각 용제가 단독으로 사용될 때, 키틴을 완전히 녹이지 못하였다. 따라서 키틴이 완전히 용해 될 수 있는 HFIP/TFA의 이원 용액을 만들기 위해 각 비율에 따라 용매를 준비하는 것이 필요하다. HFIP와 TFA의 상이한 비율로 1% (w/v)의 키틴을 1:9 내지 9:1의 비율로 용해시키는 실험을 수행하였다. Fig. 2의 결과에 의하면 HFIP/TFA 비율이 8:2, 9:1일 때, 키틴이 완전히 용해되는 것을 확인 할 수 있다.



Figure 2. From left to right, the yellow number indicates the ratio of HFIP to TFA. α -chitin (from Sigma-Aldrich Co., Ltd.) powders were not dissolved when they were added in HFIP-TFA binary solutions ranging from 1:9 to 6:4. It was confirmed to be completely soluble in the ratio of 7:3 to 9:1.

전기 방사

전기방사 된 나노섬유의 특성은 크게 3 가지 요인에 의해 결정된다. 첫째, 용매의 유형, 점도, 농도, 분자량 및 전도도가 포함되는 용액의 고유 특성이 다. 두 번째는 전압 및 피드(feed) 속도와 같은 기계적인 작동 조건이며, 마지막은 습도 및 온도와 같은 환경 요인이다. 전압은 용액의 표면 장력을 극복 할 만큼 강한 전계가 가해지도록 인가되어야 하며, 균일한 직경의 나노 섬유를 얻기 위해 고분자 블랜딩 용액을 일정하고 지속적으로 공급해야 한다. 습도에 따라 나노 섬유의 표면 형태가 다를 수 있으며, 온도에 따라 점도가 달라지기 때문에 외부 요인을 일정하게 유지하는 것이 중요하다[19]. 그러나 가장 중요한 조건은 용매의 유형과 용액의 점도가 전기 방사에서 가장 중요한 변수이다. 휘발성이 낮은 용매를 사용하는 경우, 용제가 수집기에 떨어질 때까지 용매가 완전히 증발하지 않기 때문에 나노섬유를 얻는 것이 어렵다. 또한 농도와 점도가 너무 낮으면 나노 섬유가 끊어지거나 전기스프레이(electrospray)가 될 수 있다[20]. 적절한 용매 시스템의 농도와 고분자의 비율을 최적화하는 것이 전기 방사의 성공을 결정짓는 중요한 요소이다. 키틴 용해도 테스트 결과를 바

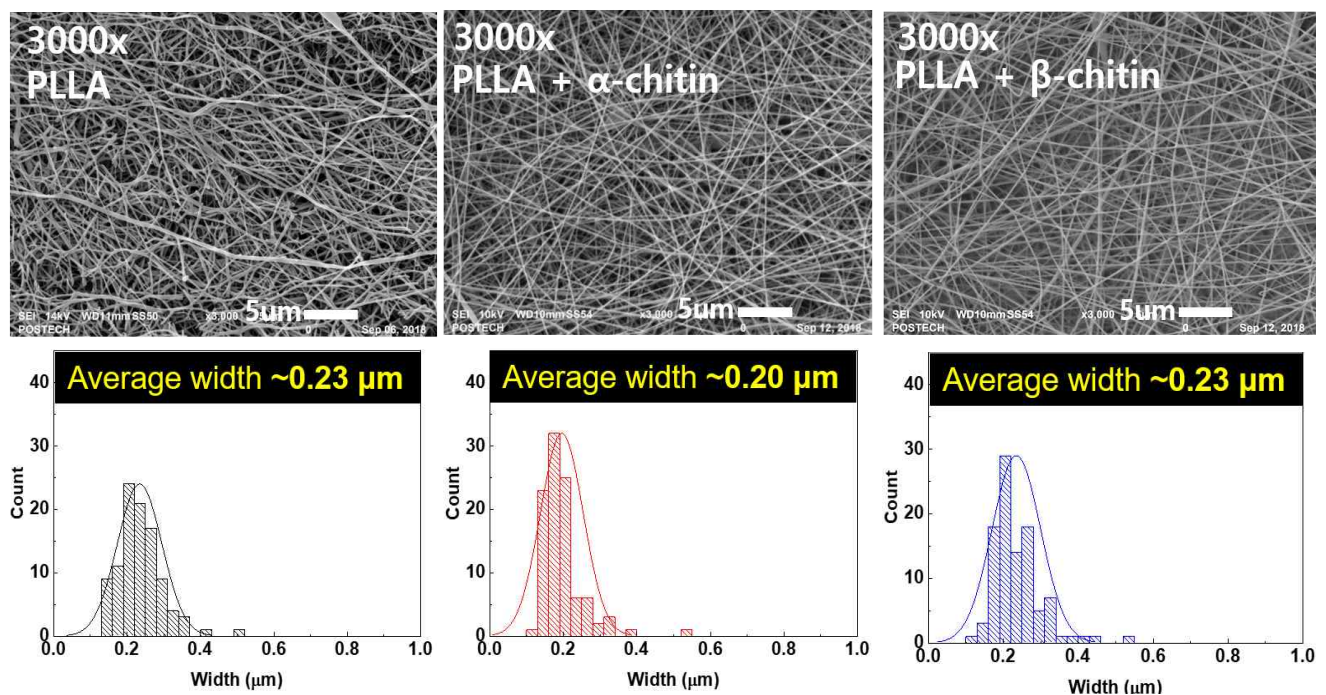


Figure 3. SEM observation of electrospun PLLA, PLLA/ α -chitin, and PLLA/ β -chitin mats and corresponding width distributions of constituting nanofibers (n=100).

탕으로, 여러가지 비율의 이원 용매를 사용하여 전기방사를 진행했을 때, 최적의 비율을 찾을 수 있었다. 그 결과, HFIP/TFA를 8.5 : 1.5의 양으로 혼합한 용매가 가장 적합하다는 것이 밝혀졌다. Fig. 3는 HFIP/TFA 이원 용매에 PLLA 10 wt%/ α - β -키틴 1wt % 로 용해된 고분자 용액을 전기방사해서 얻은 나노섬유를 전자주사현미경으로 관찰한 모습이다. 전기방사 결과, 비드(bead)가 없고 균일한 직경을 가진 나노섬유가 제작되었음을 확인할 수 있다. 또한 두 종류의 키틴이 PLLA에 첨가되었을 경우 나노섬유의 직경의 변화가 순수한 PLLA와 비교하여 오히려 소폭 감소(α -키틴)하거나 변화가 없는 양상(β -키틴)을 나타내었다. 이는 키틴과 PLLA의 블렌딩된 고분자에서 상의 분리가 일어나지 않고, 균일하게 혼합되었다는 것을 의미한다.

인장 강도 실험

인장 시험(uniaxial tensile test)은 PLLA와 키틴이 혼합 될 때 분자 수준에서의 상호 작용으로 인한 거시적인 기계적인 특성을 관찰하기 위해 수행되었다. Fig. 4의 결과에 따르면 PLLA에 α -키틴을 첨가한 경우 순수한 PLLA와 비교하여 인장 강도가 약 1.41배, β -키틴의 경우 약 1.61배가 증가함을 확인할 수 있다. 이것은 키틴이 PLLA와 균일하게 혼합되어 새로운 수소결합이 형성되어 물리적인 보강효과가 일어났다고 판단된다. 또한 같은 조건에서 β -키틴이 첨가되었을 때 α -키틴보다 더 좋은 기계적인 물성을 가지는 것으로 보아, β -키틴이 가지는 느슨한 분자 구조 덕분에 PLLA와 결합하는 과정에서 α -키틴보다 더 낮은 열역학적 에너지가 필요함을 알 수 있다. 이러한 차이를 이해하기 위해서는 α - β -키틴의 분자 구조 특성을 이해하는 것이 중요하다. 앞서 언급한 대로 키틴은 자연계에 2가지의 이형태가 존재하며 α -키틴의 단위정(unit cell)은 역평행한 배열을 갖 사방정계(orthorhombic)로 구성되어 있다. 이 구조는 시트(sheet)간 수소 결합을 포함한 사슬간의 3차원적인 수소 결합의 용이성으로 인해 α -키틴이 β -키틴보다 열역학적으로 더 안정해지게 한다. β -키틴은 단사정계(monoclinic)의 평행한 사슬 배열을 갖는 층상 구조(lamellar)로 이루어져있다. 이방성(anisotropic) 구조와 층(layer) 사이의 약한 결합은 α -키틴보다 용해 및 분자간의 쉬운 해리가 가능하게 한다. 따라서

PLLA와의 결합에서 α -키틴보다 더 효과적인 결합을 형성하여 높은 물리적인 보강효과를 나타낼 수 있다.

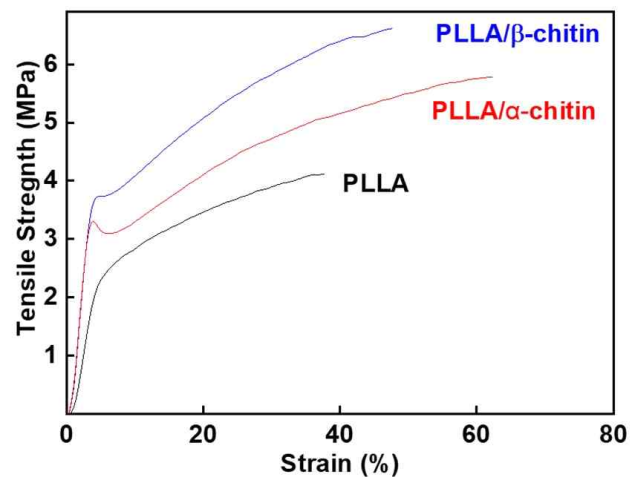


Figure 4. Mechanical improvement of PLLA by adding α - and β -chitin.

결론

본 연구는 친환경적이고 경제적인 바이오고분자로 주목받고 있는 키틴을 활용하여, 생체적합성이 우수한 폴리젯산(PLLA)의 낮은 내충격성을 보완할 수 있도록 하였다. 또한 전기방사법을 이용하여 바이오메디컬분야에 응용이 가능한 나노섬유 멤브레인을 제작하는 조건을 정립하였다. 이를 통해 제작된 샘플의 기계적 특성을 측정하여 키틴이 효과적인 보강소재로 활용됨을 확인하였다. 또한 α - β -키틴의 분자 구조의 차이에 따른 영향을 관찰하기 위해 두 가지 키틴을 구별하여 멤브레인을 제작하고 나노섬유의 형태와 강도를 측정하였다. 연구 결과를 통해 α -키틴보다 느슨한 구조를 가진 β -키틴이 PLLA와 효과적으로 결합하여 보강효과를 나타낼 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2019년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임 (과제명: 키토산 기반 고부가가치 면역 조절제 개발을 위한 키토산 분자량과 탈아세틸화 규명, PJT201228)

References

1. Abbott, A. P., Ballantyne, A. D., Conde, J. P., Ryder, K. S. and Wise, W. R. 2012. Salt modified starch: sustainable, recyclable plastics. *Green Chem.* **5**, 1302-1307.
2. Shamchina, J. L., Berton, P. and Rogers, R.D. 2019. Advances in functional chitin materials: a review. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **7**, 6444-6457.
3. Zierdt, P., Theumer, T., Kulkarni, G., Daumlich, V., Klehm, J., Hirsch, U., Weber, A. 2015. Sustainable wood-plastic composites from bio-based polyamide 11 and chemically modified beech fibers. *SM&T.* **6**, 6-14.
4. Rudall, K. M. and Kenchington, W. The chitin system. 1973. *BIOL. REV.* **40**, 597-636.
5. Blackwell, J., 1973. Chitin. In: Walton A.G and Blackwell J. (eds), *Biopolymers*, New York Academic Press, pp 474-489.
6. Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog. Polym. Sci.* **31**, 603-632.
7. Blackwell, J., Parker, K. D. and Rudall, K. M. 1965. Chitin in pogonophore tubes. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* **45**, 659-661.
8. Gaill, F., Persson, J., Sugiyama, P., Vuong, R. and Chanzy, H. 1992. The chitin system in the tubes of deep sea hydrothermal vent worms. *J. Struct. Biol.* **109**, 116-128.
9. Pillai, C. K. S., Paul, W. and Sharma Chandra, P. 2009. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. *Prog. Polym. Sci.* **34**, 641-678.
10. Pulapura, S. and Kohn, J. 1992. Trends in the development of bioresorbable polymers for medical applications. *J. Biomater. Appl.* **6**, 216-250.
11. Onishi, H. and Machida, Y. 1999. Biodegradation and distribution of water soluble chitosan in mice. *Biomaterials* **20**, 175-182.
12. Khor, E. and Lim, L. 2003. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials* **24**, 2339-2340.
13. Jayakumar, R., Prabakaran, M., Nair, S. V. and Tamura, H. 2010. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechnol. Adv.* **28**, 142-150.
14. Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y. and Sheng, J. 2005. Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats. *Eur. Polym. J.* **41**, 423-432.
15. Fang, J., Niu, H., Lin, T. and Wang, X. 2008. Applications of electrospun nanofibers. *Sci. Bull.* **53**, 2265-2286.
16. Lee, J. S., Choi, K. H., Ghim, H. D., Kim, S. S., Chun, D. H., Kim, H. Y. and Lyoo, W. S. 2004. Role of molecular weight of atactic poly(vinyl alcohol) (PVA) in the structure and properties of PVA nanofabric prepared by electrospinning. *J. Appl. Polym. Sci.* **93**, 1638-1646.
17. Chen, Z., Mo, X., He, C. and Wang, H. 2008. Intermolecular interactions in electrospun collagen-chitosan complex nanofibers. *Carbohydr. Polym.* **72**, 140-148.
18. Matthews, J. A., Wnek, G. E., Simpson, D. G. and Bowlin, G. L. 2002. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules* **3**, 232-238.
19. Li, D. and Xia, Y. 2004. Electrospinning of Nanofibers: reinventing the wheel? *Adv. Mater.* **16**, 14.
20. Gupta, P., Elkins, C., Long, T. E., Wilkes, G. L. 2005. Electrospinning of linear homopolymers of poly(methylmethacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer* **46**, 4799-4810.