Journal of Radiation Industry 12(4) : 343~348(2018)

감마선 이용 친수성 PLLA 시트 기능화 및 특성 평가

권희정[1,*] · 정진오[1,2] · 정성린[1] · 박종석[1] · 임윤묵[1]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소 공업환경연구부, [2]광주과학기술원 신소재공학부

Functionalization of PLLA Sheet Using Gamma-ray Irradiation

Hui-Jeong Gwon[1,*], Jin-Oh Jeong[1,2], Sung In Jeong[1], Jong-Seok Park[1] and Youn-Mook Lim[1]

[1]*Research Division for Industry & Environment, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, 1266 Sinjeong-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 56212, Republic of Korea*
[2]*School of Materials Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST), Gwangju 61005, Republic of Korea*

Abstract - Preliminary study was perfomed to develop a biocompatible filter material using radiation energy. Electrosppined PLLA nano sheets were surface-modificated with hydrophilic groups (acrylic group) by using radiation. The physico-chemical and morphological characteristics of modified PLLA sheets were measured by ATR, SEM, contact angle, and hydrophilic (acryl group) introduction rate (TBO). As a result, there was no morphological (fiber structure) structure change due to radiation, and it was confirmed that an acrylic group was successfully introduced onto PLLA fiber sheet by radiation.

Key words : Poly (L-lactide), Electrospinning, Gamma-ray irradiation, Acrylic acid, Fiber sheet

서 론

기능화된 소재를 개발하기 위해 특정 활성기를 소재에 도입하기 위한 그라프트 방법이 사용되는데, 그라프팅은 두 가지 이상의 물질을 결합시켜 각각의 물질의 필요한 특성을 취할 수 있어 기능성 하이브리드 소재 제조에 유용하게 사용될 수 있다. 이때 화학 개시제 또는 그라프팅 시약을 첨가하여 제조하는 전통적인 화학적 합성법보다는, 방사선을 조사함으로써 사용된 화학약품을 제거할 필요가 없고 이들 물질의 잔류로 인한 독성문제를 해결하고, 그라프팅과 동시에 멸균을 겸할 수 있는 방사선 조사기술을 이용하는 방법이 주목을 받고 있다(Pierpoint *et al*. 2001; Benson 2002; Zhang *et al*. 2005; Choi *et al*. 2008; El-Sawy *et al*. 2011; Ping *et al*. 2011; Lim *et al*. 2015). 특히 최근에는 인체적용을 위한 생체재료용 고분자 소재표면에 목적에 맞는 기능기를 도입하기 위한 방법으로 방사선 에너지를 이용하여 생체적합성이 보다 향상된 소재 개발을 위한 연구가 주목받고 있다(Jeong *et al*. 2017; Shin *et al*. 2017).

생체적합성 소재를 개발하기 위해 사용되는 대표적인 생체적합성 고분자로는 Poly (L-lactida-co-glycolide) (PLGA), Polycaprolactone (PCL), Poly (L-lactide-co-ε-caprolactone) (PLCL), Poly (L-lactide) (PLLA) 등이 있다(Xu *et al*. 2004; Jeong *et al*. 2005; Kang *et al*. 2013). PLLA는 생체적합성이 우수하며, FDA 승인을 통해 체액과 접촉하는 용도에 사용될 수 있는 고분자이다. 또한 기계적 강도가 우수하며, 소수성을 나타내고 분해 속도가 느린 고분자이기 때문에 다양한 연구

* Corresponding author: Hui-Jeong Gwon, Tel. +82-63-570-3087, Fax. +82-63-570-3079, E-mail. hjgwon@kaeri.re.kr

에 사용되고 있다(Rasal *et al*. 2010; Shin *et al*. 2011). 이와 같은 생체적합성 고분자를 이용하여 제조된 지지체로는 하이드로겔, 필름, 나노섬유 등이 있으며, 인체에 삽입하여 사용될 때 세포 외 기질과 같은 3차원 다공성 구조가 요구된다.

전기방사법은 대표적인 다공성 구조를 제작하는 방법 중 하나로써 다양한 고분자와 조성에 따라 다양한 특성을 나타내는 지지체를 개발할 수 있으며, 소량의 용액으로도 다양한 직경을 갖는 지지체를 개발할 수 있다. 또한 세포 외 기질과 유사한 지지체를 개발할 수 있으며, 부피에 대한 표면적이 크기 때문에 조직공학용 지지체로 다양한 연구가 진행 중이다(Ma *et al*. 2005; Vaz *et al*. 2005; Jeong *et al*. 2012). 하지만 고분자를 이용하여 제작된 지지체의 경우 표면이 소수성을 띄고 있기 때문에 세포의 점착 및 증식이 낮으며, 혈액적합성에 문제점이 나타나고 있다. 이러한 문제점을 개선하고자 지지체 표면에 기능기를 부여하여 친수성을 증가시켜 줄 수 있는 단량체 또는 단백질과 같은 생체활성인자를 지지체에 도입하는 연구가 진행 중이다.

본 연구에서는 폴리에스터계의 고분자인 poly (L-lactide) (PLLA)를 전기방사법을 이용하여 평균 약 1 μm의 직경을 갖는 섬유형 시트를 제작하고, 제조된 PLLA 시트 표면을 친수화시키기 위해 방사선을 이용하여 아크릴산을 도입하여 기능화시켰으며, 향후 혈액 적합성 필터 소재로 활용해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

L-lactide는 Purac Biochem (Netherlands)에서 구입하였으며, 2,2,2-trifluoroethanol (TFE), toluidine blue O, ε-caprolactone, stannous octoate, toluene, and acrylic acid (AAc)는 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하였다. Dichloromethane (DCM)은 Showa chemical (Japan)에서 구입하여 사용하였다.

2. 전기방사 이용 나노섬유형 PLLA 시트 제조

생분해성 합성 고분자인 poly (L-lactide) (PLLA)를 디클로로메탄 (dichloromethane, DCM)과 트리플루오로에탄올 (trifluoroethanol, TFE)의 혼합 용매에 3 wt%의 농도로 용해한 후, 15 kV의 전압을 가하여 전기방사를 실시하였다. 상기의 전기방사 조건은 선행연구 과정에서 도출된 시트 제작을 위한 최적화된 조건을 적용하였다.

3. 감마선 이용 PLLA-AAc 제조

전기방사로 제작된 PLLA 시트는 70% 에탄올과 증류수로 세척한 후, 1~10%의 아크릴산(acrylic acid, AAc) 수용액에 담지하고, 10, 25 kGy (선량률: 5 kGy·hr^{-1})의 감마선(^{60}Co)을 조사하여 아크릴산 그라프트를 수행하였다. 감마선으로 아크릴기가 그라프팅된 PLLA 시트는 반응에 참여되지 않은 아크릴산 단 분자의 제거를 위해 증류수로 반복 세척하고 상온에서 건조한 후, 데시케이터에 보관하여 특성분석을 실시하였다.

4. 주사전자현미경(SEM)을 이용한 형태 분석

섬유 표면 구조의 변화를 확인 하기 위해서 sputter coating을 65초간 작동시켜 섬유의 표면에 골드코팅을 실시하였으며, 10 kV의 전자 빔 세기, 10 mm의 측정거리 조건에 주사전자현미경 (JSM-6390, JEOL, Japan) 을 이용하여 관찰하였다. 그리고 fibers의 직경은 Image-J (NIH, USA) 프로그램을 사용하여 측정하였다.

5. 접촉각 측정

PLLA와 PLLA-AAc 시트의 친수화도는 접촉각 측정기 (Phoenix-300, surface electro optics Ltd., Korea)를 이용하여 평가하였다. 접촉각은 1초 간격으로 5초 동안 측정하였으며, 물방울은 10 μL를 떨어뜨렸다.

6. 감쇠 전반사 적외선 분광 분석(ATR-FTIR)

PLLA와 PLLA-AAc 시트는 ATR-FTIR spectrophotomer (Truker TEMSOR 37, Bruker AXS. Inc., Germany)를 이용하여 측정 하였으며, 500~4000 cm^{-1}의 파장 범위에서 4 cm^{-1}의 해상도로 측정하였고 64 scan으로 하였다.

7. PLLA-AAc의 아크릴산 그라프트율 분석

섬유에 그라프트된 아크릴산의 양을 측정하기 위하여 toluidine blue O (TBO) 염색방법을 통하여 분석하였다. 아크릴산이 그라프트된 섬유를 TBO 용액(20 mg 염화나트륨, 0.01 M 염산, 4 mg toluidine blue O chloride)에 24시간 동안 상온에서 반응시켰으며, 이후 반응하지 않고 남은 toluidine blue O를 2차 증류수를 이용하여 제거하였다. 이후에 에틸알코올과 0.1 M 수산화나트륨(4 : 1, v/v) 혼합용액에서 염색된 TBO를 초음파 처리를 통하여 완전히 용출시켰다. 이렇게 용출된 용액은 microplate spectrophotometer (PowerWave XS, Bioteck, USA)를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. PLLA-AAc 시트의 특성 평가

본 연구에서는 앞서 제시된 방법으로 제조된 섬유형 PLLA 시트를 방사선 그라프팅 기술을 이용하여 친수성의 아크릴

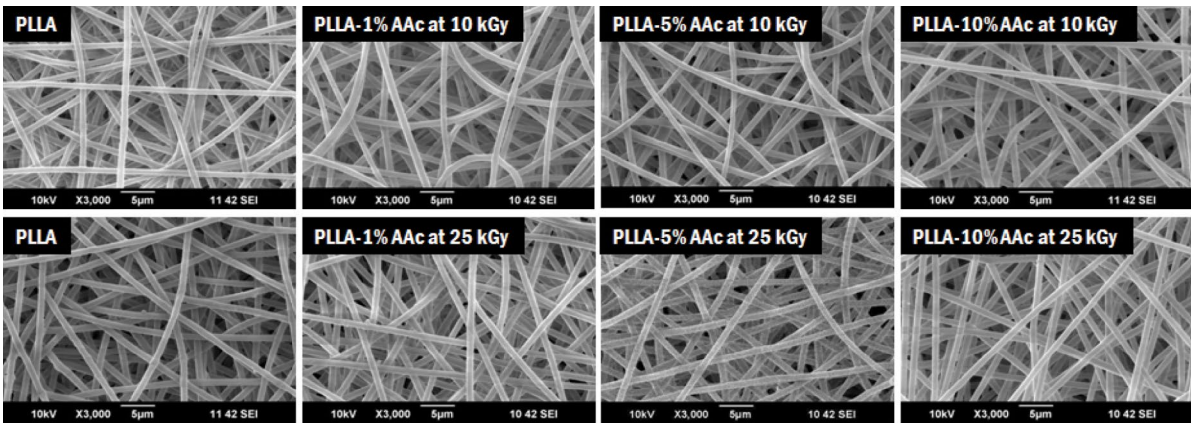

Fig. 1. SEM images of modified PLLA sheet.

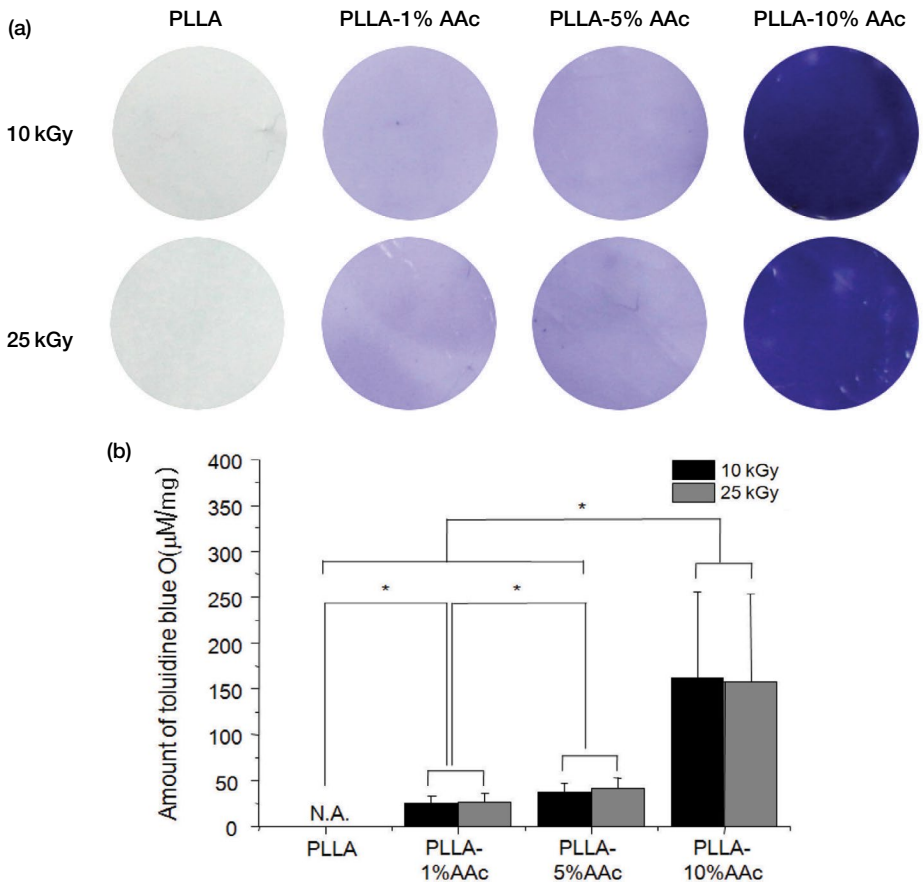

Fig. 2. TBO staining study of modified PLLA sheet; color changes (a) and grafting yield (b).

단량체를 도입시키는 표면개질을 시도하였다. Fig. 1에 방사선 조사에 의한 아크릴산이 그라프트된 PLLA 시트의 SEM 표면 사진을 나타내었다. 아크릴산의 농도는 1~10%로 그라프트하였으며, 방사선 그라프트 전·후의 변형된 구조는 발견되지 않았으며, 또한 방사선 조사선량을 25 kGy로 증가시킨 경우, 10 kGy 조사결과와 외형상 차이는 발견되지 않았다.

2. PLLA-AAc의 아크릴산 그라프트율 분석

전기방사된 PLLA 시트의 아크릴산 그라프트율의 변화는 톨루이딘블루오(toluidine blue O, TBO) 염색을 통해 확인할 수 있는데, Fig. 2(a)에서 보는 바와 같이 저농도의 아크릴산에서는 낮은 그라프트율을 보여 주었으나, 아크릴산의 농도

가 고농도일 경우 그라프트율이 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 톨루이딘블루오의 염색 경향은 정량적으로 분석할 수 있는데, 시트에 염색된 톨루이딘블루오를 용출시킨 후 흡광도를 측정해 본 결과, Fig. 2(b)에서 보는 바와 같이 아크릴산의 농도가 증가함에 따라 그라프트율이 농도 의존적으로 증가하는 양상을 보였다. 이러한 결과로 보아 아크릴산의 농도가 그라프트율에 중요한 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었고, 방사선 그라프팅의 일반적인 반응 수율인 그라프트율로 환산하였을 때, 톨루이딘블루오 정량 결과로부터 도출해낸 식은 다음과 같다.

Table 1. Grafting yield of modified PLLA sheet as functions of acrylic acid contents

Concentration of acrylic acid (%)	Grafting yield (%)[a]	Grafting yield (%)[b]
0	0	0
1	448.36	105.64
5	914.40	215.45
10	3224.08	759.66

*a: TBO Conversion of TBO adsorption, b: AAc Conversion of acrylic acid grafting

$$\text{Degree of graft}\,(\%) = (Wg \times 72.06) / W_0 \times 100$$

여기서 W_0는 그라프트 전의 시트의 무게이며, Wg는 정량된 톨루이딘블루오의 값이고, 72.06이라는 수치는 아크릴산의 분자량이다. PLLA 시트의 그라프트율은 Table 1에서 보는 바와 같이 아크릴산의 농도가 증가할수록 급격히 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 방사선 조사량을 25 kGy로 증가시키더라도 조사량 10 kGy와 큰 변화는 일어나지 않으므로, 10 kGy에서 표면개질하는 것이 바람직하다고 판단된다.

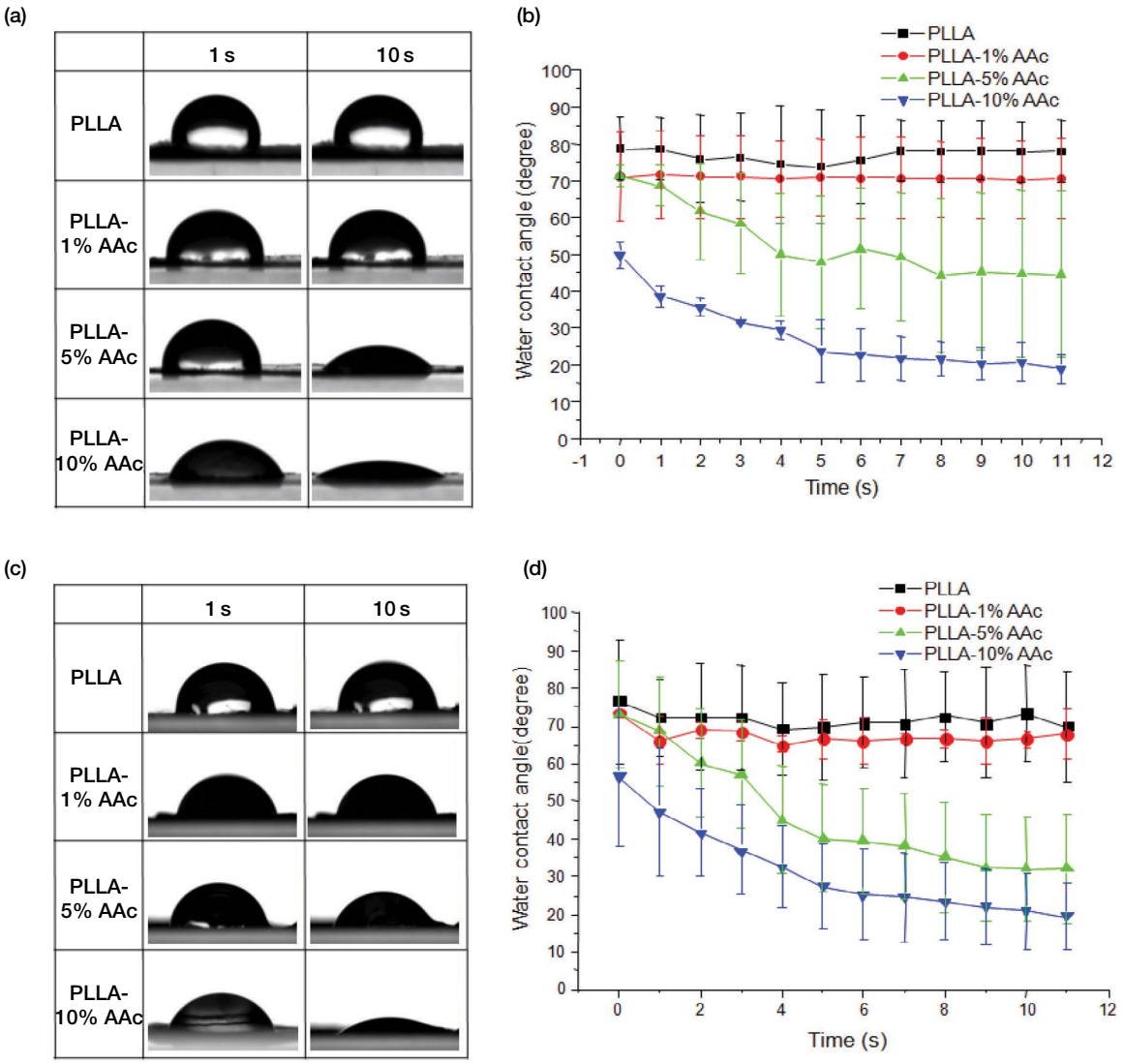

Fig. 3. Contact angle analysis of modified PLLA sheet as functions of acrylic acid contents; 10 kGy ((a), (b)) and 25 kGy ((c), (d)).

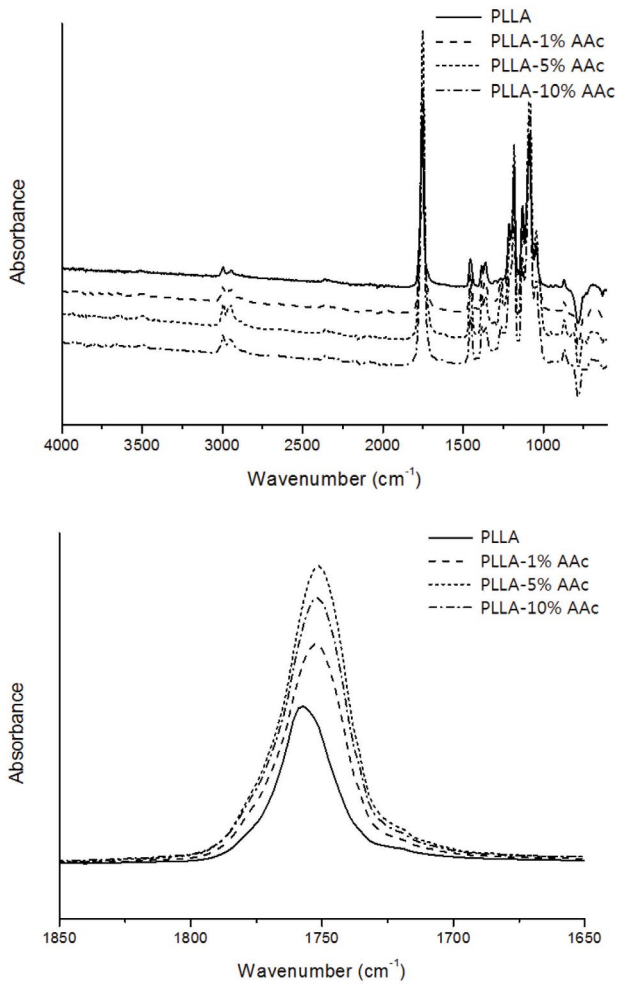

Fig. 4. ATR-FTIR analysis of modified PLLA sheet.

3. 감마선이 조사된 PLLA 시트의 표면 친수성 평가

감마선이 조사된 PLLA 시트의 표면 친수성을 평가를 통해 개발된 시트의 혈액친화성을 판단하고자 하였다. 다양한 농도로 아크릴산이 그라프트된 시료의 물 접촉각을 분석하였고, 순수한 PLLA 시트는 약 80°의 물 접촉각을 보여주었는데, 이는 아크릴산의 그라프트율에 따라 감소하여 10 wt% 아크릴산에서는 초기에 약 50°였던 접촉각이 시간이 흐름에 따라 약 20°까지 감소되었다. 또한 아크릴산의 농도가 증가할수록 접촉각의 감소폭이 커지는 것으로 나타났다. 감마선 25 kGy가 조사된 PLLA에서는 10 kGy와 비교하여 5% 아크릴산에서 접촉각 감소 수치가 약간 달라졌지만 전체적인 아크릴산 농도에 따른 경향은 비슷하였다(Fig. 3).

4. PLLA-AAc의 화학구조 분석

감마선에 의해 아크릴산이 도입된 PLLA 시트의 표면 특성 분석을 위해 ATR-FTIR 분석을 수행하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 PLLA 시트는 아크릴산의 그라프트에 따라 아크릴산의 COOH 피크(1740 cm^{-1})가 관찰되었다. PLLA 시트에 그라프트된 아크릴산이 표면 특성에 영향을 주고 있음을 확인할 수 있었다. 감마선 조사량이 25 kGy로 증가된 이후에도 COOH 피크를 확인할 수 있었으며, 10 kGy와 큰 차이는 나타내지 않았다.

결 론

본 연구에서는 생분해성 합성고분자인 PLLA를 전기방사법을 이용하여 섬유를 제작하였으며 높은 소수성을 가진 PLLA를 γ-ray를 이용하여 친수화시켜 보고자 하였다. 그 결과 PLLA 용액의 농도가 높아짐에 따라 섬유의 직경이 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 아크릴산이 그라프트 되어도 섬유의 구조에는 영향을 끼치지 않은 것을 주사전자현미경을 통하여 확인할 수 있었다. 젖음성 측정 실험에서는 아크릴산이 그라프트된 섬유가 젖음성이 높은걸 확인 할 수 있었으며, toluidine blue O 염색 및 용출분석을 통해 아크릴산이 그라프트된 것을 확인할 수 있었다. 상기의 결과를 토대로 γ-ray는 PLLA 섬유의 표면에 카르복실기를 도입하여 친수성 소재를 제조하는 데에 매우 유용한 수단임을 확인할 수 있었고, 제조된 친수성 PLLA 섬유시트는 향후 인체적합성 필터 소재, 특히 혈액정화용 필터 소재로도 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 과학기술정보통신부 지원 방사선기술개발사업(NRF-2017M2A2A6A01019324)에 의하여 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

Benson RS. 2002. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B.* **191**:752-757.

Choi JH, Jung CH and Kim DK. 2008. Radiation-induced grafting of inorganic particles onto polymer backbone: a new method to design polymer-based nanocomposite, *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. B* **266**:203-206.

El-Sawy NM, Abd El-Rehim HA and Elbarbary AM. 2011. Radiation grafting of VAc/HEMA binary monomers onto PFA films for biomedical applications. *Adv. Polym. Technol.*

30:21-32.

Jeong JO, Jeong SI, Park JS, Gwon HJ, Ahn SJ, Shin H, Lee JY and Lim YM. 2017. Development and characterization of heparinimmobilized polycaprolactone nanofibrous scaffolds for tissue engineering using gamma-irradiation. *RSC Adv*. **7**:8963-8972.

Jeong SI, Kwon JH, Lim JI, Cho SW, Jung Y, Sung WJ, Kim SH, Kim YH, Lee YM, Kim BS, Choi CY and Kim SJ. 2005. Mechano-active tissue engineering of vascular smooth muscle using pulsatile perfusion bioreactors and elastic PLCL scaffolds. *Biomaterials* **26**:1405-1411.

Jeong SI, Jeon O, Krebs MD, Hill MC and Alsberg E. 2012. Biodegradable photo-crosslinked alginate nanofibre scaffolds with tuneable physical properties, cell adhesivity and growth factor release. *Eur. Cells Mater*. **24**:331-343.

Kang TY, Hong JM, Kim BJ, Cha HJ and Cho DW. 2013. Enhanced endothelialization for developing artificial vascular networks with a natural vessel mimicking the luminal surface in scaffolds. *Acta biomater*. **9**:4716-4725.

Lim YM, Jeong SI, Shin YM, Park JS, Gwon HJ, Nho YC, An SJ, Choi JB, Jeong JO and Choi JW. 2015. Physicochemical characterization of gelatin-immobilized, acrylic acid-bacterial cellulose nanofibers as cell scaffolds using gamma-irradiation. *Biotechnol. Bioproc. E* **20**:942-947.

Ma Z, Kotaki M, Yong T, He W and Ramakrishna S. 2005. Surface engineering of electrospun polyethylene terephthalate (PET) nanofibers towards development of a new material for blood vessel engineering. *Biomaterials* **26**(15):2527-2536.

Pierpoint S, Silverman J and Al-Sheikhly M. 2001. Effects of ionizing radiation on the aging of polyester based polyurethane binder, *Radiat. Phys. Chem*. **62**:163-169.

Ping X, Wang M and Ge X. 2011. Surface modification of poly (ethylene terephthalate) (PET) film by gamma-ray induced grafting of poly (acrylic acid) and its application in antibacterial hybrid film, *Radiat. Phys. Chem*. **80**:567-572.

Rasal RM, Janorkar AV and Hirt DE. 2010. Poly (lactic acid) modifications. *Prog. Polym. Sci*. **35**:338-356.

Shin YM, Kim WJ, Park JS, Gwon HJ, Nho YC and Lim YM. 2011. Polydopamine coating behaviors on the acrylic acid grafted-nanofibers. *Journal of Radiation Industry* **5**(4): 371-376.

Shin YM, Lim JY, Park JS, Gwon HJ, Jeong SI, Ahn SJ, Shin H and Lim YM. 2017. Modulation of human mesenchymal stem cell survival on electrospun mesh with co-immobilized epithelial growth factor and gelatin. *RSC Adv*. **5**:55948-55956.

Vaz CM, Tuijl S, Bouten CVC and Baaijens FPT. 2005. Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique. *Acta Biomaterialia* **1**(5):575-582.

Xu CY, Inai R, Kotaki M and Ramakrishna S. 2004. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials* **25**:877-886.

Zhang G, Zhang Z, Hu Z and Xi H. 2005. Seeded-emulsion polymerization of styrene with waterborne polyurethane stabilizer via ^{60}Co gamma ray, *Colloid Surface A*. **265**:37-42.

Received: 3 November 2018
Revised: 27 November 2018
Revision accepted: 13 December 2018