Journal of Radiation Industry 9(4) : 199~207(2015)

방사선 가교 기술을 이용한 유효성분 방출력이 우수한 하이드로겔 제조 및 특성 분석

황승현[1] · 안성준[1] · 박종석[1] · 정성린[1] · 권희정[1] · 이동윤[2] · 임윤묵[1,*]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소 공업환경연구부
[2]한양대학교 생명공학과

Characterization and Preparation of the Hydrogel has Excellent Release Effect of the Active Ingredients Using a Radiation Cross-linking Technology

Seung-Hyun Hwang[1], Sung-Jun Ahn[1], Jong-Seok Park[1], Sung In Jeong[1], Hui-Jeong Gwon[1], Dong Yun Lee[2] and Youn-Mook Lim[1,*]

[1]*Research Division for Industry & Environment, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 56212, Korea*
[2]*Department of Bioengineering, Division of Applied Chemical and Bio Engineering, Hanyang University, Seoul, Korea*

Abstract - Typical radiation cross-linked hydrogels has the characteristic that high water content, but low emission efficiency of active ingredients. Therefore, the hydrogel was prepared by the addition to collagen, which is closely related to the formation of skin wrinkles in biocompatibility and highly water-soluble carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC) in order to preparation of hydrogels has excellent emission efficiency of active ingredients. Hydrogels were prepared by dissolving CMC and collagen each of 0.5%, 10% concentration in deionized water. Then, prepared hydrogels are performed by gamma-radiation at 1, 3, 5 kGy irradiation dose. The results showed that the gel fraction of after irradiated 3 kGy hydrogel was higher than before irradiated gelation as long as the 55.3%. The swelling rate of irradiated 3 kGy hydrogel was lower than the non-irradiated sample. The compressive strength of 3 kGy irradiated hydrogel was the highest. The visco-elastic did not show any significant differences, even after irradiation. The CMC hydrogel in this study suggested a potential use as a material for the mask pack for improved emission efficiency of the active ingredient and anti-wrinkles.

Key words : Hydrogel, collagen, Carboxymethyl cellulose sodium salt, Gamma-radiation, Drug delivery system

* Corresponding author: Youn-Mook Lim, Tel. +82-63-570-3065, Fax. +82-63-570-3079, E-mail. ymlim71@kaeri.re.kr

서 론

사람의 피부는 자외선, 환경오염 등의 외적 요인과 연령의 증가, 정신적 스트레스 등의 내적 요인에 의해 진행되는 노화로 인하여 피부가 지닌 정상적인 기능이 저하되게 된다. 이 중에서도 특히 자외선에 의해서 피부의 주름 생성, 탄력 저하, 색소침착과 더불어 피부 장벽 손상으로 인한 피부 수분량 감소가 나타나게 되면 피부 표면 각질층의 유연성이 상실되고 건성피부나 거친 피부로 변하게 된다. 따라서 건강한 피부를 유지하기 위해서 피부의 수분량과 탄력성을 유지하는 것이 매우 중요하다(Haratake *et al*. 1998; Jiang *et al*. 2007; Park *et al*. 2008; Kim *et al*. 2009). 최근 피부의 탄력을 높여주기 위해 피부 내 콜라겐 양을 높여주는 방법에 대한 연구들이 다수 진행되고 있다(Han *et al*. 2008). 콜라겐(collagen)의 주된 기능은 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포분할과 분화 유도 기능 등에 대해서 알려져 생체 의료용 재료로 주목 받고 있다(Lim *et al*. 2008). 이러한 콜라겐의 기능적 특성은 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다(Gwon *et al*. 2009). 피부는 표면에서부터 순서대로 표피, 진피, 피하조직으로 구성되고 진피층에 있는 콜라겐과 탄력을 유지해주는 탄성단백질이 피부의 탄력을 유지해주는 역할을 한다. 인체에 주름이 발생하는 원인은 진피층에 있는 콜라겐이나 히알론산이 줄어들게 되면서 피부의 탄력이 줄어 주름을 유발하게 되고 나이가 들어 노화가 진행되면 이들 콜라겐과 탄성단백질의 연결을 저해하는 효소가 작용하게 되면서 피부의 탄력이 줄어들게 되어 주름을 유발하는 요인으로 작용하게 된다. 따라서 체내 콜라겐을 늘리기 위한 방법으로 다양한 기술들이 개발되고 있으며 대표적인 방법으로는 경피 흡수를 통한 방법, 경구 투여 및 주사제로 직접 콜라겐을 주사하거나, 진피층에 상처를 내어 생성을 유도하는 방법들이 있다. 이러한 체내 콜라겐량을 증가시키거나 흡수시키는 방법들 중 최근 하이드로겔을 이용한 경피 전달 기술이 화장품 형태로 폭넓게 활용되고 있다. 하이드로겔은 혈액, 체액 및 생체조직과 접촉했을 때 우수한 생체친화성을 갖고, 수술 없이 주입이 가능하며 목표 조직 내에 고정화 됨으로써 주변조직에 안정적으로 약물을 전달할 수 있는 장점을 갖고 있다. 경피 전달 기술에 활용되고 있는 하이드로겔의 형태는 크게 수용성 및 불용성 하이드로겔이 주를 이루고 있으며 주로 화장품 형태로 응용되고 있는 수용성 하이드로겔은 친수성 고분자가 물리적 또는 화학적 방법에 의해 공유 또는 비공유 결합으로 가교되어 3차원 망상구조를 형성한다(Yuk *et al*. 2010; Lee *et al*. 2013). 일반적으로 이러한 하이드로겔은 수용액 상에서 용해되지 않고, 물을 다량으로 함유하고 있는 구조체를 말한다. 하이드로겔은 생체조직의 세포 외 기질(Extracellular matrix)과 유사한 구조 및 특성 그리고 역할을 가지고 있기 때문에 생체적합성이 뛰어나며(이 등 2014), 코스메틱 분야에 있어 하이드로겔은 피부미용에 효과 및 효능이 우수한 성분을 담지시켜 경피 흡수를 통한 유효성분의 전달을 통해 주름 개선 및 미백 등의 효과를 갖는 기능성 화장품으로 응용 범위가 넓어지고 있다. 이러한 하이드로겔은 주로 고분자의 화학적 가교를 유도하는 방법으로 제조하였으나 이러한 화학적 가교 방법은 화학 가교제 및 유통을 위한 방부제의 첨가로 인해 피부 트러블을 유발할 수 있는 단점을 갖고 있어 최근에는 무방부제 및 화학성분의 첨가를 최소화 하는 연구들이 진행되고 있으며 이러한 방법들 중 방사선 조사에 의한 하이드로겔을 제조 방법은 화학 가교제 및 방부제의 첨가 없이도 하이드로겔을 제조할 수 있는 방법으로 현재 하이드로겔에 사용되는 천연고분자는 낮은 선량에 방사선 조사에도 물성이 크게 저하되는 단점이 있어 본 연구에서는 방사선 조사에 의해 가교되는 천연고분자인 Carboxymethyl cellulose (CMC)를 이용하여 고선량의 방사선을 조사하여도 요구되는 물성을 발현할 수 있는 하이드로겔을 제조하였다. 방사선 가교형 하이드로겔의 제조에 사용된 CMC는 자연상태에서 풍부하게 존재하며 값이 저렴하고, 생체적합성 및 수용성이 뛰어나 많은 분야에 폭넓게 사용되고 있다(Jo *et al*. 2009). 따라서 본 논문에서는 이러한 CMC를 활용하여 생체 유해한 가교제 및 촉매를 첨가하지 않고 방사선 조사에 의한 가교 결합을 유도하였으며 주름 개선에 효과적인 콜라겐 성분을 하이드로겔에 담지시켜 경피 흡수를 통한 주름 개선 기능이 강화된 하이드로겔을 제조하여 기존 화학적 가교방법으로 제조된 하이드로겔과 물성 비교 및 콜라겐 방출 효율에 대한 평가를 실시하여 코스메틱 분야에서의 응용 가능성을 제시하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

본 연구에서 사용된 Sodium carboxymethyl cellulose (CMC)는 분자량(Mw)이 250,000이며, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였으며, 1.3-buthylene glycol은 Junsei Chemical Co. (Tokyo)에서 구입하여 사용하였다. 또한 Carrageenan, Locust Bean Gum (LBG)은 한국카라겐에서 구입하여 사용하였고 돈피 콜라겐은 (주)리온에서 구입하여 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 모든 시약과 용매는 추가적인 정제 과정 없이 사용하였다.

2. CMC (Sodium carboxymethyl cellulose) 하드로겔의 제조

방사선 조사에 의한 가교 결합을 유도하여 하이드로겔을

제조하기 위해 먼저 CMC 0.5 w%와 돈피 콜라겐 10 w%를 삼차 증류수에 넣고 Homomixer Mark II (Primix co.)를 이용하여 900~1000 rpm, 60°C에서 용해시켰다. 또한 방사선 조사 전 프리겔(freegel) 상태 즉 CMC의 가교 결합이 이루어지기 전 물성을 유지할 수 있도록 다음과 같은 천연고분자를 각각 카라기난(Carrageenan) 1.2 w%, 로커스트 콩검(Locust Bean Gum, LBG) 2.5 w%를 1.3-buthylene glycol 10 w%에 분산시켜 CMC가 용해된 수용액의 온도가 60°C에 도달했을 때 첨가하여 추가로 10분간 3000 rpm으로 용해시켜 최종 하이드로겔 수용액을 제조하였다. 제조한 하이드로겔 수용액은 상온에서 이형지에 캐스팅(Casting)하여 온도 저하에 의한 프리겔 상태의 하이드로겔을 제조한 후 성형을 실시하였다. 프리겔 상태로 제조된 하이드로겔은 한국원자력연구원 첨단방사선연구소의 Co^{60}을 선원으로 하는 감마선을 이용하여 실온에서 10 kGy h^{-1} 선량률로 1, 3, 5 kGy 선량으로 조사하여 CMC의 가교결합을 유도하여 제조하였다.

3. 주사전자현미경 (Scanning electron microscopy)

제조된 하이드로겔의 방사선 조사에 의한 모폴로지 변화를 관찰하기 위해 표면과 단면의 SEM 이미지를 주사전자현미경 (JSM-6390, JEOL, Japan)으로 관찰하였다. 샘플을 동결건조 시킨 후 일정한 모양으로 절단하여 sputter coater로 65초 동안 백금 코팅을 하였으며, 10 kV의 전자 빔, 40 mm의 거리의 조건으로 SEM 이미지를 촬영하였다.

4. 가교율 테스트 (Gelation Test)

방사선 조사에 의해 제조된 CMC 하이드로겔의 가교율을 측정하기 위해 상온에서 12시간 동안 교반하면서 수세하여 가교 반응에 참여하지 않고 남아있는 고분자를 제거하였다. 수세과정을 거친 수화젤은 표면의 물기를 제거하고 40°C의 오븐에서 48시간 동안 건조 시켰다. 가교율은 식(1)에 나타낸 바와 같이 건조된 겔의 무게(W_d)를 초기 사용한 고분자 무게(W_i)로 나누어 백분율로 표시하였다.

$$\text{겔화율}(\%) = \frac{W_d}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

5. 팽윤율 테스트 (Swelling Test)

방사선 조사에 의해 제조된 CMC 하이드로겔의 팽윤율을 측정하기 위해 건조된 겔을 상온에서 증류수에 침지시킨 후 시간 경과에 따른 무게변화를 평형에 이를 때까지 측정하여 제조된 하이드로겔의 팽윤율을 측정하였다. 팽윤율은 식(2)에 나타낸 바와 같이 팽윤된 겔의 무게(W_s)와 건조된 겔의 무게(W_d)차를 건조된 겔의 무게로 나누어 백분율로 나타냈다.

$$\text{팽윤도}(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (2)$$

6. 기계적 강도 테스트 (Texture Analyzer)

제조된 하이드로겔의 기계적 강도를 측정하여 방사선 가교에 의한 기계적 강도 특성을 평가하기 위해 Texture Analyzer Specifications (TA.XT2i)를 이용하여 하이드로겔의 압축 강도와 점탄력을 측정하였다. 하이드로젤의 압축강도는 상온에서 측정하였으며, 압축 강도 측정을 위하여 두께 5 mm, 지름 20 mm 시편의 제작하였다. 각 조성마다 5개의 시편을 제조하여 측정하였다. 압축강도 측정 시, 측정속도는 5 mm min^{-1}이였으며, 시편이 30% 변형이 이루어질 때의 값을 측정하였다. 감마선 조사 전의 하이드로겔 강도를 Control로 하여, 감마선 조사 선량에 따른 기계적 강도에 대한 평가를 실시하였다. 또한, 물리적 변형이 이루어졌을 때 원래의 상태로 복구되는 복원력, 즉 점탄력(Springiness)은 압축강도 측정 조건과 동일한 조건의 하이드로겔을 제조하여 상온에서 측정하였다(Tommasina *et al*. 2003). 측정 속도는 5 mm min^{-1}이였으며, 시편이 30% 변형이 이루어질 때의 값을 측정하였다. 점탄력은 식(3)에 나타낸 바와 같이 두 번째 그래프의 X절편에서 Peak까지의 시간(T_2)을 첫 번째 그래프의 원점에서 Peak까지의 시간(T_1)을 나눈 값으로 나타내었다.

$$\text{점탄력}(\text{Springiness}) = \frac{T_2}{T_1} \quad (3)$$

7. 적외선 분광 측정 (FT-IR/ATR)

제조된 하이드로겔의 구조 변화를 측정하기 위해 FT-IR/ATR (TENSOR 37, BRUKER)를 사용하였고, DLa TGS detector를 사용하여 4 cm^{-1} 해상도로 128회 scan하여 1800~800 cm^{-1} 파장범위에서 분석하였다. 이 분석은 하이드로겔을 40°C에서 건조시킨 후 측정하였다.

8. 열 분석 테스트 (DSC)

제조된 하이드로겔의 열적 특성 즉, 방사선 조사에 따른 CMC의 유리전이온도(glass transition)의 변화를 확인하기 위하여 본 분석을 실시하였다. 열 분석은 DSC-Q100 (TA instruments, Korea)을 이용하여 50 ml min^{-1}의 질소 기류 하에서 −30~200°C까지 10°C min^{-1}의 승온 속도로 분석하였다. Aluminum pan에 시료의 양은 5 mg으로 고정하였다. DSC 분석을 통해 가교 결합 내 결정성 및 구성 성분간에 존재하는 분자 내 상호작용을 확인하였다(Razzak *et al*.

1999; Eum *et al*. 2002; Lee *et al*. 2013). CMC의 유리전이온도는 −12°C로 −12°C에서 방사선 조사 선량에 따른 Peak의 변화를 분석하였다(Lim *et al*. 1991; Lim *et al*. 2004).

9. 약물 방출 테스트

제조된 하이드로겔의 방사선 조사 선량에 따른 약물 방출 거동을 알아보기 위하여 다음과 같이 약물 방출 실험을 실시하였다. 각 시료를 일정한 무게로 절편 한 후 3차 증류수가 담긴 conical tube에 넣고, 항온수조(SI-300, Lab companion, Korea)에서 37°C, 60 rpm 속도로 약물을 용출시켰다. 각각 조사량에 따라 방출되는 약물 농도를 패치의 표준 곡선을 그린 후, 일정 시간 간격(0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120분)으로 UV vis spectrophotometer (S-3100, scinco, Korea)를 이용하여 전형적인 콜라겐 peak 218 nm에서 OD값(x)을 측정하여 식(4)에 대입해 시간 t 동안 용출된 활성 성분의 양(Mt)의 값을 도출하였다. Korsmeyer-Peppas 모델을 이용해 시간 t 동안 용출된 활성 성분의 양(Mt)을 전체의 활성 성분의 양(M)으로 나눠 100을 곱해 약물 방출량(%)을 측정했다. OD값과 약물방출량의 계산은 아래의 식을 이용하였다(Kim *et al*. 2004; Lin *et al*. 2006; Lee *et al*. 2013).

$$Mt = \frac{x + 0.0027}{25.45} \quad (4)$$

$$\text{Release}\,(\%) = \frac{Mt}{M} \times 100 \quad (5)$$

결 과

1. 주자전자 현미경(Scanning electron microscopy, SEM)

콜라겐을 함유한 CMC (Sodium carboxymethyl cellulose) 하이드로겔의 방사선 조사에 의한 모폴리지 변화를 확인하기 위해 SEM 분석을 실시한 결과, Fig. 1(a), (c), (e), (g) CMC 하이드로겔 표면으로 방사선 조사 선량이 증가할수록 기공의 형성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, (b), (d), (f), (h)는 CMC 하이드로겔 단면 이미지로 조사하지 않은 겔보다 감마선 조사를 실시한 하이드로겔 단면이 층(layer)구조와 다공성 구조의 형성이 높아짐을 확인할 수 있다.

2. 가교율 테스트(Gelation Test)

Fig. 2는 방사선 조사 선량에 따른 0.5% CMC gel의 가교율을 보여준다. CMC는 방사선의 이온화 에너지에 의해 비교적 결합력이 약한 부분의 결합을 절단함에 따라 자유 라디칼을 형성하여 가교반응을 유도할 수 있다. 방사선 조사를 실시하지 않은 0.5% CMC 하이드로겔은 가교율이 약 22.5%로 가장 낮고, 1 kGy 31.3%, 3 kGy 55.4%로 3 kGy 하이드로겔의 가교율이 가장 높았고, 5 kGy부터 17.8%로 가교율이 낮아진 것을 확인할 수 있었다.

3. 팽윤율 테스트(Swelling Test)

Fig. 3은 방사선 조사 선량에 따른 CMC 하이드로겔의 팽윤율을 비교한 그림으로 CMC 하이드로겔을 각각 0, 1, 3, 5 kGy로 감마선 조사하여 40°C에서 열풍 건조시킨 뒤, 삼차 증류수에 침지시켜 팽윤된 하이드로겔의 측정 시간에 따른 무게 변화를 확인한 것이다. 하이드로겔이 팽윤하는 이유는 고분자 사슬의 −OH, −COOH, −CONH, $-CONH_2$, $-SO_3H$ 기능기들과 물 사이의 수화 현상 및 삼투압현상, 모세관현상이 작용하기 때문이다(Han *et al*. 2011). (b)는 측정된 하이드로겔의 팽윤율을 식(2)로 계산하여 산출된 계산값을 나타낸 그래프이다. Fig. 3에서는 방사선 조사 선량 3 kGy인 하이드로겔의 팽윤율이 측정 시간 150분까지 가장 낮았으며, 이후 측정부터는 1, 5 kGy의 하이드로겔의 팽윤율이 더 낮은 것을 확인할 수 있었다. 이는 측정 시간 150분까지가 CMC 하이드로겔의 최대 팽윤 상태로 사료되며, 따라서 이후 측정된 하이드로겔의 무게는 가교되지 않은 부분의 고분자가 떨어져 나감에 따른 무게 감소에 의한 흡수율 저하로 사료된다. 150분까지의 측정 결과를 확인한 결과 방사선 조사 선량이 증가될수록 팽윤율이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 방사선 선량이 높아짐에 따라 CMC의 가교율이 증가하고 동일 체적 내에 존재할 수 있는 수분량은 가교율이 증가될수록 낮아진 것으로 사료된다.

4. 기계적 강도 테스트(Texture Analyzer)

Fig. 4는 콜라겐을 함유한 CMC 하이드로겔의 감마선 조사 선량에 따른 압축 강도를 측정한 결과이다. CMC 하이드로겔의 압축강도는 시편의 변형이 30% 이루어질 때까지 측정하였다. 제조된 하이드로겔의 압축강도는 방사선 조사 선량에 따라 각각 약 352, 159, 219, 183 g를 나타내었으며, 방사선 조사를 실시하지 않은 CMC 하이드로겔의 강도가 352 g로 가장 높았고, 3 kGy로 방사선 조사를 실시한 CMC 하이드로겔이 219 g로 가장 높은 강도를 보였다. Table 1은 방사선 조사선량에 따른 CMC 하이드로겔의 점탄력(springiness)을 측정한 결과를 나타낸 값으로 하이드로겔의 복원력 즉, 외부 압력에 의해 변형된 샘플이 힘이 제거된 후에 원래의 상태로 돌아가려는 성질을 측정한 것이다. 측정결과 완전 복원되는 값이 1이라고 했을 때, 방사선 조사 선량에 따른 점탄력은 통계적 유의성에 있어서 차이를 확인할

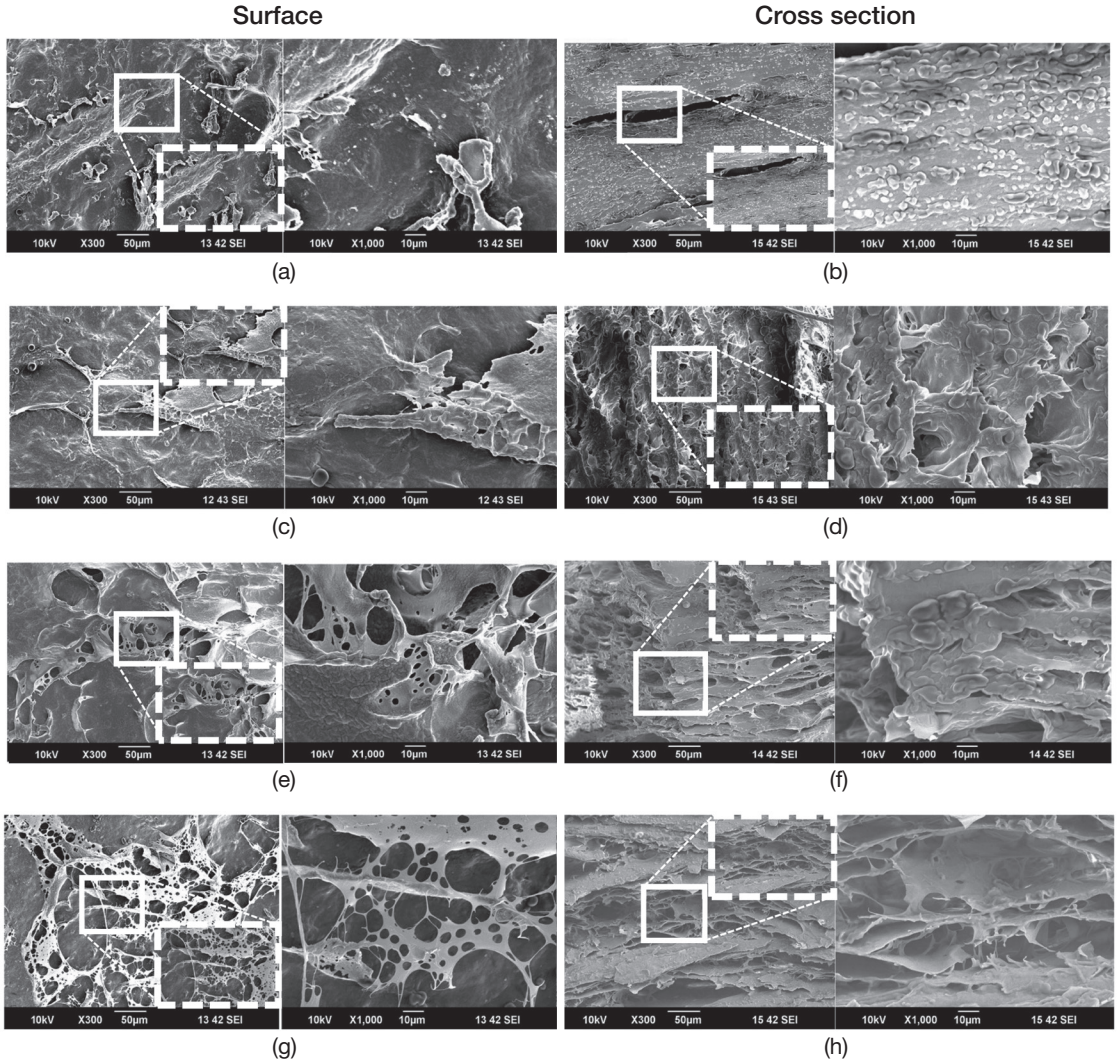

Fig. 1. SEM images of CMC hydrogels. The surface morphology of hydrogels: (a), (c), (e), (g). The cross section morphology of hydrogels: (b), (d), (f), (h). (a), (b) is 0 kGy. (c), (d) is 1 kGy. (e), (d) is 3 kGy. (g), (h) is 5 kGy. White boxes are enlarged images of 500 magnifications.

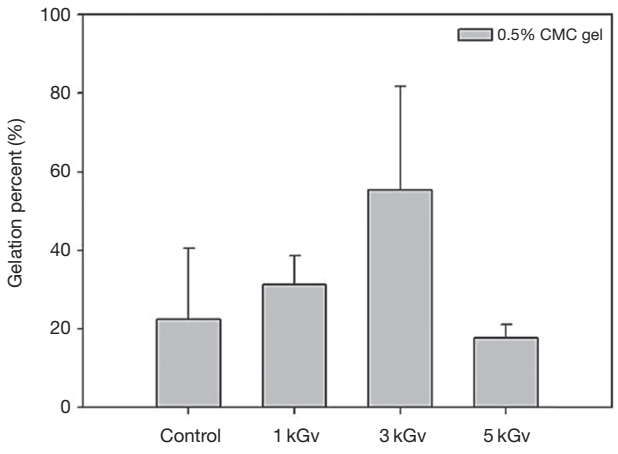

Fig. 2. Gel fraction ratio of CMC hydrogels before (0 kGy) and after gamma-ray irradiation (1, 3, 5 kGy).

수 없었다.

5. 적외선 분광기 측정(FT/IR-ATR)

감마선을 조사한 하이드로겔의 구조변화를 확인하기 위해 FT-IR/ATR spectrophotometer를 이용하여 분석하였다. Fig. 5의 그래프에서 COO^-그룹은 1584 cm^{-1}, C-O그룹은 1239 cm^{-1}, O-H그룹은 950 cm^{-1}을 나타낸다. 그래프상에서 감마선 조사 전과 후의 큰 차이는 없었다. 따라서 감마선 조사 도입 후 고분자들의 변화가 없음을 확인할 수 있었다.

6. 열 분석 테스트(DSC)

Fig. 6은 방사선 조사 선량에 따른 CMC하이드로겔의 DSC 계측 결과를 나타낸 그림이다. 고분자 CMC의 유리

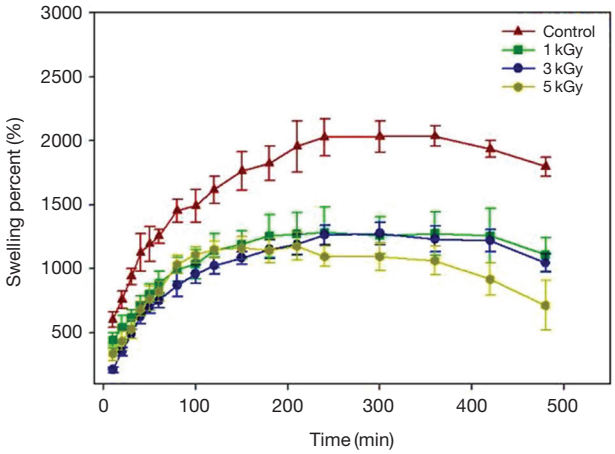

Fig. 3. Swelling ratio of CMC hydrogels before (0 kGy) and after gamma-ray irradiation (1, 3, 5 kGy).

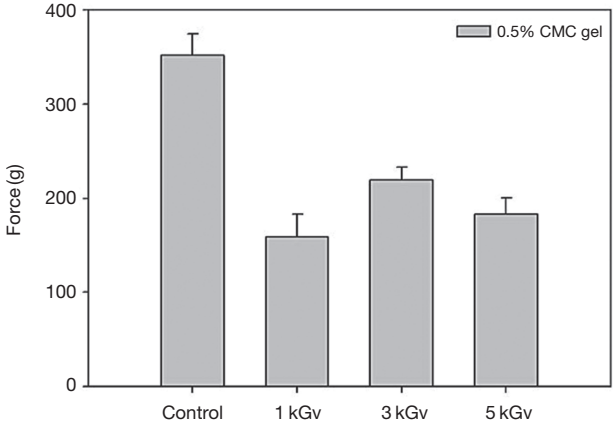

Fig. 4. Compressive strength of CMC hydrogels prepared by radiation dose.

Table 1. Viscoelastic behavior of CMC hydrogels prepared by radiation dose.

	Control	1 kGy	3 kGy
Springiness	0.96±0	0.96±0.039	0.93±0.058

전이온도는 −12°C로 −12°C에서 방사선 조사 선량에 따른 Peak의 변화를 확인하였는데(Lim *et al*. 1991; Lim *et al*. 2004), Fig. 4에서와 같이 하이드로겔의 Tg 값들이 대부분 약 −20~−23°C로 낮아졌다. 가교가 되어있지 않은 하이드로겔과 3 kGy 하이드로겔의 Tg 값은 약 −20.8°C로 다른 피크들에 비해 상대적으로 낮은 흡열 피크를 보인다. 감마선 조사로 인해 가교결합을 한 CMC 하이드로겔은 조사를 하지 않은 하이드로겔보다 넓은 흡열 피크를 확인할 수 있었다. 그러나 온도 변화는 1 kGy: −21.4°C, 3 kGy: −20.8°C, 5 kGy: −23.3°C로서 일정한 결과로 보인다.

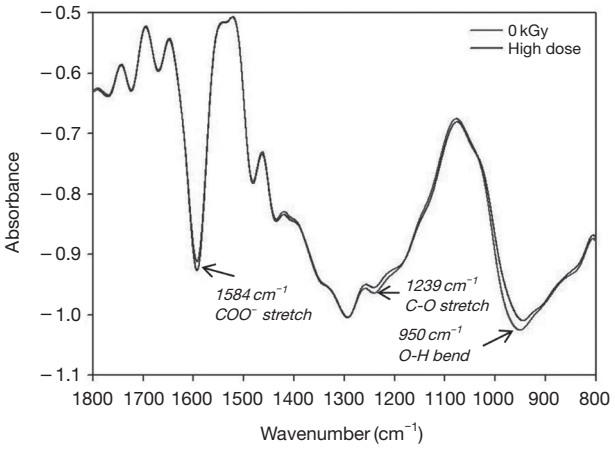

Fig. 5. FT-IR/ATR spectra profiles of hydrogels. Red line: before irradiation. Blue line: High dose (3 kGy) irradiated gamma-ray.

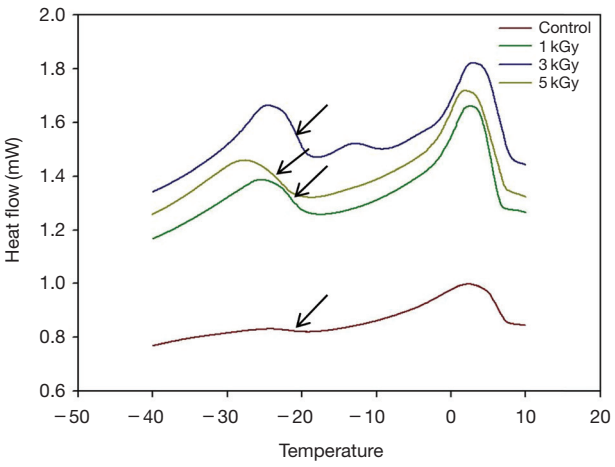

Fig. 6. DSC thermograms of CMC hydrogels prepared by radiation dose.

7. 약물 방출 테스트

Fig. 7은 CMC (Sodium carboxymethyl cellulose) 하이드로겔의 콜라겐 농도에 따른 약물 방출 거동에 대한 결과를 나타낸 것이다. UV spectrums의 콜라겐의 대표적인 피크는 218 nm에서 나타난다(Yung *et al*. 2006). 일반적으로 마스크팩의 사용 시간은 15~20분 정도로 20분 동안 증류수에서 용출 후 상층액을 채취하여 콜라겐 방출량을 측정하였다. 측정결과 다음과 같이 방사선 조사 선량에 따라 각각의 측정값을 나타내었다. 방사선 조사를 실시하지 않은 CMC 하이드로겔의 경우 0.67%, 1 kGy 방사선 조사를 실시한 CMC 하이드로겔은 0.18%, 3 kGy의 경우 0.16%, 5 kGy의 경우 0.99%로 측정되었으며, 총 120분까지의 측정 결과에서는 Control과 5 kGy 하이드로겔의 경우 측정시간 20분까지 최대 방출량을 나타냈으나 20분 후부터는 방출량이 급격히

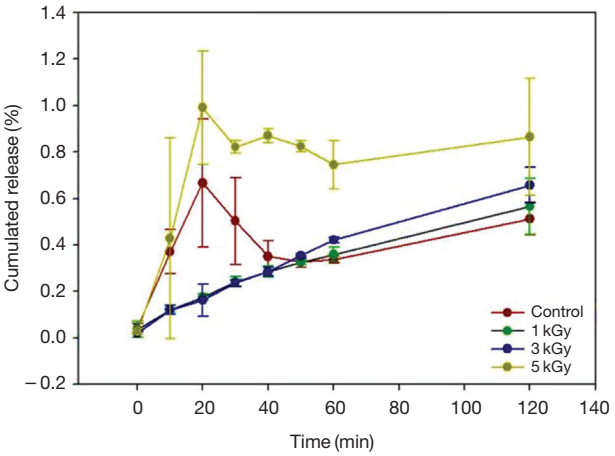

Fig. 7. Drug release ratio of CMC hydrogels according to the concentration of the collagen.

감소되는 것을 확인할 수 있었다. 반면 1, 3 kGy 하이드로겔의 경우 측정시간 120분까지 비교적 안정적인 방출률을 보였다.

고 찰

본 연구에서는 주름 개선에 효과적인 콜라겐 성분을 하이드로겔에 담지 시켜 가교제 및 촉매를 첨가하지 않고 방사선 조사에 의해 가교결합을 유도하여 하이드로겔을 제조하였다.

감마선 조사 선량에 따라 하이드로겔의 모폴로지를 확인하기 위해 주사전자현미경(SEM) 분석을 실시하였다. 분석을 실시한 결과 표면과 단면이 방사선 조사 선량이 증가될수록 기공 형성과 층(layer)구조의 형성이 증가되는 것을 알 수 있었다. 이는 감마선 조사 선량이 높아짐에 따라 CMC 고분자의 가교율이 증가하여 가교결합에 의한 3차원 망상구조 형성이 증가되었기 때문으로 사료된다.

방사선 조사는 이온화 에너지에 의해 결합력이 약한 부분을 절단함으로써 자유 라디칼을 형성하여 가교결합을 유도시킨다. CMC의 가교가 잘 되었는지 확인하기 위해 겔화율 테스트와 팽윤율 테스트를 실시하였다. 실험 결과 3 kGy로 감마선 조사를 한 하이드로겔이 가교율이 55.4%로 가장 높았고, 팽윤도는 가장 낮은 값으로 측정되었다. 외관상 방사선 조사를 실시하지 않은 하이드로겔과 3 kGy로 감마선 조사를 실시한 하이드로겔의 물성이 비슷해 보이지만, 가교율을 측정한 결과 방사선 조사를 실시하지 않은 하이드로겔은 3 kGy 하이드로겔보다 약 30% 정도의 낮은 가교 특성을 보였다. 이는 방사선 조사 전 하이드로겔은 CMC가 가교되지 않고 천연고분자인 Carrageenan과 LBG (Locust Bean Gum)에 의한 이온 결합이 이루어져 비교적 낮은 가교율을 띠는 것으로 사료되며, 방사선 조사 선량이 증가될수록 CMC의 공유결합에 의해 가교율이 증가된 것으로 사료된다. 반면에 방사선 조사 선량이 5 kGy일 때는 가교율이 저하되는 것을 확인할 수 있는데 이는 방사선 선량이 5 kGy는 CMC의 가교 반응보다는 방사선의 고 에너지에 의한 분해 반응으로 가교율이 저하되었을 것으로 사료된다. 팽윤도 테스트에서는 측정 시간 150분까지가 CMC 하이드로겔의 최대 팽윤 상태로 사료되며, 따라서 이후 측정된 하이드로겔의 무게는 가교되지 않은 부분의 고분자가 떨어져 나감에 따른 무게 감소에 의한 흡수율 저하로 사료된다. 150분까지의 측정 결과를 확인한 결과 방사선 조사 선량이 증가될수록 팽윤율이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 방사선 선량이 높아짐에 따라 CMC의 가교율이 증가하고 동일 체적 내에 존재할 수 있는 수분량은 가교율이 증가될수록 낮아진 것으로 사료된다.

방사선 가교에 의한 제조된 하이드로겔의 기계적 강도를 측정하기 위해 Texture Analyzer Specifications을 이용하여 압축강도와 점탄력을 측정하였다. 압축 강도 측정 결과 방사선 조사를 실시하지 않은 CMC 하이드로겔이 352 g로 가장 높은 강도를 보였고, 3 kGy로 방사선 조사를 한 CMC 하이드로겔이 219 g로 조사를 실시한 하이드로겔 중 가장 높은 강도를 보였다. 이는 방사선을 조사하지 않은 하이드로겔의 강도는 천연고분자의 이온결합에 의한 물성유지로 인해 압축강도가 높게 측정되었으나 방사선 조사 후에는 천연고분자의 이온결합이 저하됨과 동시에 CMC의 공유결합이 증가되어 방사선 조사 선량이 증가될수록 가교율이 증가하는 것과 마찬가지로 강도 또한 증가된 것으로 사료된다. Table 1은 하이드로겔의 복원력을 측정한 결과로 방사선 조사하지 않은 하이드로겔과 방사선 조사한 하이드로겔의 측정값이 통계상 차이가 없었다. 이는 하이드로겔의 복원력를 비교하였을 때 카라기난과 로커스트 콩검의 이온결합으로 이루어진 하이드로겔과 감마선 조사로 가교된 CMC 하이드로겔의 복원력은 비슷하다고 사료가 된다.

감마선 조사한 하이드로겔의 구조 변화를 확인하기 위해 적외선 분광 측정을 실시하였다. CMC, 카라기난과 로커스트 콩검의 COO^-그룹, C-O그룹, O-H그룹 기능기는 1584 cm^{-1}, 1239 cm^{-1}, 950 cm^{-1}에서 나타나는 것을 확인하였다. 그래프상에서 감마선 조사 전과 후의 큰 차이는 없었다. 따라서 감마선 조사 도입 후 고분자들의 변화가 없음을 확인할 수 있었다.

CMC의 유리전이온도(Tg)는 −12°C로 방사선 조사 선량에 따른 Peak의 변화를 확인하기 위해 열 분석 테스트를 실시하였다. 그 결과 하이드로겔의 Tg는 대부분 −20∼−23 °C로 낮았고, 가교가 되어 있지 않은 하이드로겔과 3 kGy로 감마선 조사한 하이드로겔은 약 −20.8°C로 다른 하이드로겔에 비해 비교적 낮았다. 방사선 조사를 하지 않은 하이드

로겔의 Tg가 높은 이유는 천연고분자의 이온결합에 의해 유동성이 적어져 상대적으로 높은 측정 값을 나타내었으며, 피크 폭이 넓은 것은 층간 간격이 넓이가 다양하게 존재하거나 결정면이 굴곡져 있는 것으로 설명할 수 있다(Youn *et al*. 2011).

마지막으로 콜라겐의 방출 효율을 확인하기 위해 약물 방출 테스트를 실시하였다. 총 120분까지의 측정 결과에서 control과 5 kGy 하이드로겔에서 20분까지 최대 방출량을 나타냈지만 20분 후부터 급격히 감소되고, 1, 3 kGy는 120분 동안 안정적으로 방출하는 것을 확인하였다. 이는 방사선 조사에 의해 가교된 CMC 하이드로겔의 약물 방출 효율이 방사선 조사를 실시하지 않은 CMC 하이드로겔보다 약물 방출 효율이 뛰어남을 확인할 수 있으며, 가교율이 증가될수록 약물 방출 효율 또한 증가됨을 알 수 있었다.

결 론

본 연구에서는 하이드로겔의 응용에 있어 코스메틱 분야에 하이드로겔의 적용 및 응용을 위해 방사선 조사를 통한 고분자의 가교결합으로 하이드로겔을 제조하였으며, 방사선 조사에 의해 제조된 하이드로겔은 주름개선에 효과적인 콜라겐을 첨가하여 주름개선에 효과적이고, 가교제 및 방부제의 첨가 없이도 하이드로겔의 물성 유지와 멸균을 동시에 실시할 수 있는 특성을 부여하여 그 특성에 대한 평가를 실시하였다. 특성 평가 결과 방사선 조사에 의해 가교된 샘플 중 3 kGy 하이드로겔의 기계적 강도가 우수하고 장시간 동안 안정적으로 약물 방출하였으며, 열분석 및 가교율 측정을 통해 방사선 조사에 의한 CMC의 가교 결합을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구를 통해 제조된 CMC 하이드로겔은 가교제의 첨가 없이 방사선 조사에 의해 가교되어 우수한 물성을 유지하면서 주름 개선에 효과적인 콜라겐의 안정적 방출 효과로 인해 주름 개선 효과가 우수하여 화장품 분야에 응용이 가능할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2015년 미래창조과학부의 한국연구재단 재원으로 원자력연구개발 사업(2012M2A2A6013196)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

이해신, 유지현, 홍상현. 2014. 하이드로겔을 이용한 약물전달 시스템. 한국생물공학학회지. **21**(2):9-16.

Coviello T, Coluzzi G, Palleschi A, Grassi M, Santucci E and Alhaique F. 1999. The characterization of dres- sing component materials and radiation formation of PVA-PVP hydrogel. *Radiation Physics and Chemistry* **55**(2):153-165.

Eum SH, Lee JW, Han KJ, Kim YS and Kim YH. 2002. A study on the evaluation of the properties change of aircraft composites parts during repair by thermal analysis test. *KSME* 44-48.

Han CJ and Kang SM. 2008. The effect of collagen supplementation from pork skin on serum collagen, serum sex steroid hormone, serum lipid and skin crack in Korean middle-aged women. *KJCN* **13**(6):912-921.

Han IS, Lim YM, Gwon HJ, Park JS and Nho YC. 2011. Preparation and characterization of polyvinylpy-rrolidone-/k-carrageenan/hexanediolhydrogelbyGamma-rayirradiation. *POLYM-KOREA* **35**(1):13-16.

Haratake A, Uchida Y and Schmuth M. 1988. UVB-induced alterations in permeability barrier function: Roles for epidermal hyperproliferation and thymocyte-mediated response. *J. Invest. Dermatol*. **108**:769-775.

Jiang SJ, Chu AW, Lu ZF, Pan MH, Che DF and Zhou XJ. 2007. Ultraviolet B-induced alterations of the skin barrier and epidermal calcium gradient. *EXD* **16**:985-992.

Jo SY, Lim YM, Youn MH, Gwon HJ, Park JS, Nho YC and Shin HS. 2009. Fabrication and charact-erization of PVA/CMC hydrogels by freezing-thawing technique and gamma-ray irradiation. *POLYM-KOREA* **33**(6):551-554.

Kim H, Nho YC and Son TI. 2003. Antibiotic delivery characteristic of poly (vinyl pyrrolidone)/chitosan hydrogelpreparedbyirradiation. *JIEC* **15**(3):283-287.

Kim JK, Lee HJ, Yang MS, Seo DB and Lee SJ. 2009. Beneficial effect of collagen peptide supplement on anti-aging against photodamage. *Korean J. Food Sci. Technol*. **41**(4):441-445.

Kwon MC, Kim CH, Kim HS, Abdul QS, Hwang BY and Lee HY. 2007. Anti-wrinkle activity of low molecular weight peptides derived from the collagen isolated from asterias amurensis. *Korean J. Food Sci. Technol*. **39**(6):625-627.

Lee MH, Kim SJ and Park SN. 2013. Development of porous cellulose-hydrogel system for enhanced transdermal delivery of Quercetin and Rutin. *POLYM-KOREA* **37**(3):347-355.

Lim JY, Kim SH, Khang G and Rhee JM. 2008. Preparation and characterization of tissue engineered scaffold using porcine small intestinal submucosa and hyaluronic acid *POLYM-KOREA* **32**(5):415-420.

Lim MH and Reid DS. 1991. Studies of reaction kinetic in relation to the Tg' of polymers in frozen modelsystems. *Adv. Exp. Med. Biol*. **302**:103-22.

Lin, YK and Deng CL. 2006. Comparison of physical-chemical

properties of type I collagen from differentspecies. *Food Chem*. **99**(2):244-251.

Miang H, Lim JE, McFetridge and Jens L. 2004. Frozen food components and chemical reactions. *Food Science And Technology-new York-Marcel Dekker* **5**:67-82.

Park CS. 2008. Skin barrier and beauty foods. *Korean J. Food Sci. Technol*. **40**:19-26.

Tommasina C, Gina C, Antonio P, Mario G, Eleonora S and Franco A. 2003. Structural and rheological characterization of scleroglucan/borax hydrogel for drug delivery. *Int. J. Biol. Macromol*. **32**:83-92.

Youn KL and Deng CL. 2006. Comparison of physical-chemical properties of type 1 collagen from different species. *Food Chem*. **99**:244-251.

Youn LS and Kim YC. 2011. Study on fabrication and thermal properties of the ABS/silicate composites. *Korean J. Chem. Eng*. **49**(3):301-305.

Yuk KY, Kim YT, Im SJ, Garmer J, Fu Y, Park KN, Park JS and Huh KM. 2010. Preparation and characterization of biodegradable hydrogels for tissue expander application. *POLYM-KOREA* **34**(3):253-260.

Received: 10 December 2015
Revised: 13 December 2015
Revision accepted: 15 December 2015