방사선 이용 항균성 천연추출물 함유 하이드로겔 제조 및 특성 연구

권희정* · 박은지[1] · 최종배 · 임종영 · 정진오 · 신영민
정성린 · 박종석 · 임윤묵

한국원자력연구원 첨단방사선연구소 공업환경연구부
[1](주)큐젠바이오텍

Radiation Preparation and Characterization of Antimicrobial Hydrogels

Hui-Jeong Gwon*, Eun Ji Park[1], Jong-Bae Choi, Jong-Young Lim, Jin-Oh Jeong, Young Min Shin, Sung In Jeong, Jong-Seok Park and Youn-Mook Lim

Research Division for Industry & Environment, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea
[1]*Quegenbiotech, Co., Ltd, Incheon 429-931, Korea*

Abstract - ***Taraxacum platycarpum*** **(TP) has been used for years without restriction on usual dose for its non-toxic nature and nonexistence of the side effects. To develop antimicrobial hydrogel, poly (vinylalcohol) (PVA) hydrogels containing the aqueous extracted TP as an antimicrobial agent were prepared by using gamma-rays irradiation. The antimicrobial activities of the TP hydrogels were tested against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* by disc diffusion method. The inhibition zones (IZ) of the TP extracts and TP hydrogels against *S. aureus* were 16 mm and 20 mm and against *S. epidermidis* was 10 mm and 13 mm, respectively. In conclusion, the TP hydrogel that has an excellent antimicrobial activity was proved to be a valuable material for functional skin care.**

Key words : Antimicrobial hydrogel, *Taraxacum platycarpum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, Gamma-ray irradiation

서 론

피부 질환의 예방, 개선 또는 치료를 목적으로 항균성 천연물질을 함유한 하이드로겔이 많이 사용되고 있는데, 하이드로겔은 습윤 상태가 지속적으로 요구되는 화상치료 또는 피부 재생을 목적으로 사용되는 재료로서 대개 60% 이상의 수분이 함유되어 있다 (Hassan and Peppas 2000; Martens and Anseth 2000). 하이드로겔은 체액을 잘 흡수하고, 박테리아로부터 감염을 막을 수 있으며, 상처 또는 피부에 탈부착이 용이하다는 장점이 있고, 투명성과 산소 투과성이 좋을 뿐만 아니라, 약물 제어가 가능하고, 취급이 용이하여 사용이 계속 증가하고 있다

* Corresponding author: Hui-Jeong Gwon, Tel. +82-63-570-3087, Fax. +82-63-570-3069, E-mail. hjgwon@kaeri.re.kr

(Gwon *et al.* 2010). 이러한 하이드로겔은 방사선을 이용하여 기존의 화학적 가교법과 비교시 인체에 유해한 가교제나 개시제의 사용없이 매우 효과적으로 제조할 수 있다. 또한 방사선 조사선량을 조절하면 조성물의 변화없이 손쉽게 원하고자 하는 물리적 특성에 맞게 조절할 수 있다(Park *et al.* 2001).

국화과(Compositae)의 여러 해살이 풀인 민들레(*Taraxacum platycarpum*)는 전 세계적으로 분포되어 있으며, 국내에서 일반적으로 포공영(浦公英)이란 한약재명으로 알려져 있다(Kim *et al.* 2000). 민들레는 hydroxycinnamic acid와 같은 페놀류(phenolic) 화합물과 비타민 C, tocopherol 등 비타민류가 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 뿌리에는 taraxasterol, β-sitosterol 등 많은 식물성 스테로이드 화합물과 chlorogenic acid, caffeic acid 등의 페놀류(phenolic) 화합물을 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다(Cheong *et al*. 1998; 신승렬 1999). 민들레는 병충해의 피해를 거의 받지 않고 생명력이 몹시 강하여 뛰어난 약성을 지니고 있어 급성 편도선염, 기관지염, 위염, 대장염, 피부염 등의 염증성 질환, 소화불량, 변비, 해열, 살충 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(한영실 등 1998). 특히 민간에서는 민들레 추출물을 이용한 여드름 및 화농성 피부질환의 개선 및 치료에도 많이 이용되고 있어(Jeong *et al.* 1991; Kim *et al.* 1998), 본 연구에서는 방사선 가교기술을 이용하여 천연 추출물인 민들레가 함유된 하이드로겔을 제조하여 피부 위생에 관련하는 미생물 및 피부 상재균의 생성 억제 및 항균 활성에 대해 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

실험에 사용한 민들레(*Taraxacum platycarpum*)(TP)의 건초는 신흥과학상사에서 구입하여 사용하였다. 하이드로겔 제조에 사용된 Poly(vinyl alcohol)(PVA)은 분자량 85,000～124,000인 것을 Aldrich사(WI, USA)에서 구입하여 별도의 정제과정 없이 사용하였다. 모든 실험에서 물은 3차 증류수를 사용하였다.

2. 민들레 추출물 제조방법

민들레 전초 5 g을 3차 증류수(500 ml)에 넣고, 24시간 동안 80˚C에서 열수 추출하여 민들레 열수 추출물(TP)을 제조하였다. 필요한 경우에는 냉동 건조시킨 분말을 녹여 사용하였다.

3. 하이드로겔의 제조

민들레 열수 추출물(80 wt%)과 PVA (20 wt%)를 혼합하여 120˚C에서 20분간 autoclave에서 용해시켰다. 제조된 용액을 petri dish (10 cm × 10 cm)에 2 mm 두께로 부어 성형한 후, 영하 76˚C에서 3분간 냉동한 후 다시 상온으로 용해하여 1차적으로 물리적 가교 구조를 형성하게 하였다. 물리적 가교를 이룬 하이드로겔을 포장하여 총 선량 25 kGy, 선량율 10 kGy h^{-1}로 감마선(^{60}Co)을 조사하여 하이드로겔 가교 및 멸균된 민들레 추출물 함유 하이드로겔을 제조하였다.

4. 실험균주 및 배지

항균활성 측정을 위해 사용한 균주는 KCTC (Korean Collection for Type Culture)에서 구입하여 50% glycerol stock으로 60˚C deep-freezer에 보관하였다. 실험 전 균주 0.1 ml을 액체배지 10 ml에 접종하여 24시간 35˚C에서 배양하였고, 이 배양액에서 0.1 ml를 새로운 배지 10 ml에 접종하여 18시간 동안 2차 배양하여 활성화 시킨 후 실험에 사용하였다. 이때 사용한 활성배지로는 Nutrient Broth (Difco, NB)를 사용하였다.

5. 항균활성

먼저 시험균주로는 주요 피부 상재균과 관련 원인균인 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*를 대상으로 시험하였다. 항균활성 측정을 위해 paper disc 법을 이용하였다. NB에서 배양한 각 균주를 각각의 선택배지가 분주된 멸균된 petri dish에 균일하게 섞은 후 실온에서 굳혔다. 굳은 배지 위에 민들레 함유 하이드로겔(직경 9 mm × 두께 2 mm)을 올려놓고, 이것을 35˚C 배양기에 넣어 24시간 동안 배양시켰다. 그 후 paper disc (8 mm) 주변에 형성된 성장 저지환(inhibition zone, mm)의 크기를 측정하여 항균 활성 정도를 측정하는 것으로, 이때 성장 저지환의 크기가 클수록 항균효과가 뛰어난 것으로 평가된다.

6. 하이드로겔의 겔화율 측정

제조된 하이드로겔의 가교도를 알아보기 위해 겔화율을 측정하였다. 진공 오븐에 65˚C, 48 hr 동안 하이드로겔을 건조한 후, 무게를 측정하였다. 이 무게가 초기 무게(W_i)이다. 가교에 참여하지 않은 고분자를 제거하기 위해 건조된 하이드로겔을 3차 증류수에 48 hr 침지시킨다. 이 하이드로겔을 다시 진공 오븐에 65˚C, 48 hr 동안 건조시킨다. 건조된 이 무게는 나중 무게(W_d)이다.

겔화율 (%)=$W_d W_i^{-1} \times 100$

7. 하이드로겔의 함수율 측정

민들레 열수 추출물을 함유하는 피부질환 개선 및 미용용 하이드로겔로서의 수분공급능력을 평가하기 위하여 함수율을 측정하였다. 제조된 하이드로겔을 2 cm × 2 cm가 되도록 절단하여 증류수에 시간별로 침지시켜 하이드로겔을 팽윤시켰다. 이후, 하이드로겔 표면의 여분의 물을 닦은 다음 팽윤된 겔의 무게를 측정하여 아래와 같은 수학식에 의해 함수율 (absorption ratio, %)을 측정하였다. 팽윤된 겔의 무게를 W_s, 팽윤된 겔을 진공 오븐에 넣어 65˚C에서 48시간 건조시킨 겔의 무게를 W_d로 나타낸다.

함수율 (%)=$(W_s - W_d)(W_d)^{-1} \times 100$

8. 하이드로겔의 겔강도 측정

제조된 TP 하이드로겔의 피부질환용으로 피부에 부착하여 이용하기에 적합한 강도를 갖는지 판단하기 위한 기계적 물성을 알아보기 위하여 겔 강도를 측정하였다. 겔강도는 INSTRON 5569 (Instron Co., USA)를 이용하여 상온에서 압축강도를 측정하였다. 압축강도 측정을 위하여 하이드로겔의 시편 두께는 10 mm ± 0.5 mm이고 지름은 10 mm으로 준비하였으며 각 조성마다 6개의 시편을 제조하여 측정하였다. 압축강도 측정 시 크로스 헤드 (cross head) 속도는 10 mm min^{-1}이었으며, 시편이 50% 변형이 이루어질 때의 값을 측정하였다.

결과 및 논의

1. 항균활성

Table 1에 나타난 바와 같이 민들레 추출물과 민들레 추출물 함유 하이드로겔의 성장 저지환 지름은 각각 *Staphylococcus aureus*에서 16 mm와 20 mm이었고, *Staphylococcus epidermidis*에서는 각각 10 mm와 13 mm이었다. 이로부터 민들레 추출물의 항균효과는 물론, 민들레 추출물 함유 하이드로겔의 경우는 겔 자체의 우수한 수분흡수 및 약물확산 기능으로 추출물 단독보다는 보다 우수한 항균 효과를 가지고 있는 것을 확인할 수 있었다.

2. 겔화율 측정

Fig. 1에 감마선을 조사하여 제조된 TP 하이드로겔의 겔화율을 나타내었다. 감마선 조사선량이 증가할수록 겔화율이 증가하는 것을 볼 수 있다. 겔화율, 즉 가교도는 감마선 조사에 의해 발생한 자유 라디칼에 의한 고분자 사슬 간의 화학적 가교밀도에 영향을 받는다. TP 하이드로겔의 기본을 이루는 PVA 고분자는 동결/융해 과정을 거치며 물리적 가교반응 외에 감마선 조사량에 의한 화학적 가교반응이 더해져 가교율, 즉 겔화율은 동결/융해 횟수, 감마선 조사선량이 증가함에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 TP 추출물이 함유된 경우 가교율이 낮아진 것은, 가교가 진행되는 PVA 고분자 사슬 사이에서 추출물의 entanglement에 의해 물리적 가교율이 낮아진 것으로 판단된다.

Table 1. Comparison of antibacterial properties of modified samples by inhibition zone test (inhibition zone, mm)

Bacterial strain	Only hydrogel (mm)	TP extract (mm)	TP hydrogel (mm)
S. aureus	0	16	20
S. epidermidis	0	10	13

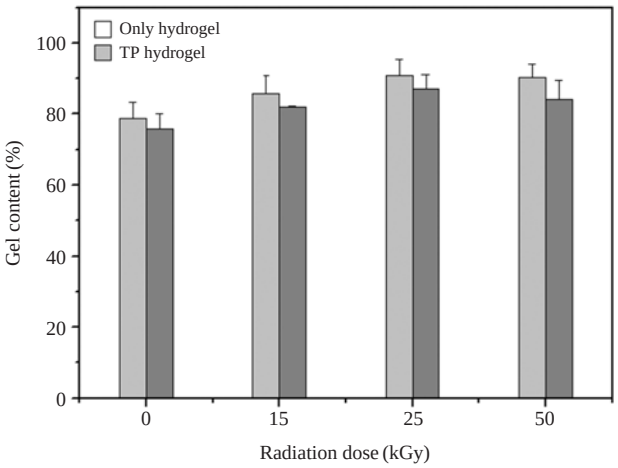

Fig. 1. Gel content of TP hydrogels as functions of TP concentration and irradiation dose.

3. 함수율 측정

함수율은 방사선에 의한 가교밀도에 의한 영향을 받는다. 가교밀도란 중합체 전부의 구조 단위 수에 대한 가교점수의 비율을 말하는데, 가교점이 많을수록 가교밀도는 높아지고, 가교밀도가 높을수록 겔 내부 구조는 더 촘촘해져서 그 안에 수분을 함유할 수 있는 공간이 줄어들게 되어 함수율이 감소하게 되는 것이다 (Miranda *et al.* 1999; Tranquilan-Aranilla *et al.* 1999). Fig. 2에 의하면, 민들레 추출물을 함유하지 않은 하이드로겔과 함유한

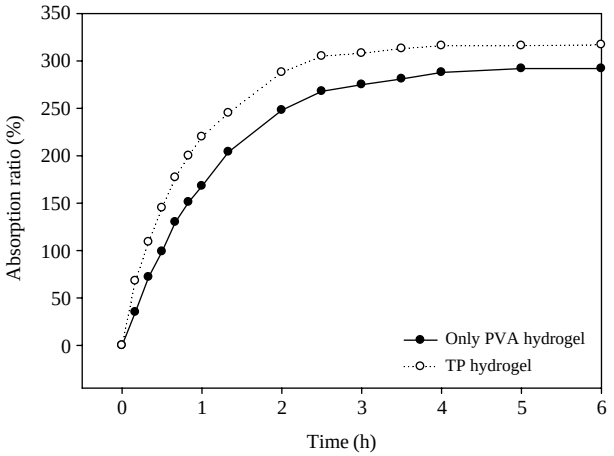

Fig. 2. Comparison of absorption ratio among PVA hydrogels with and without TP extracts.

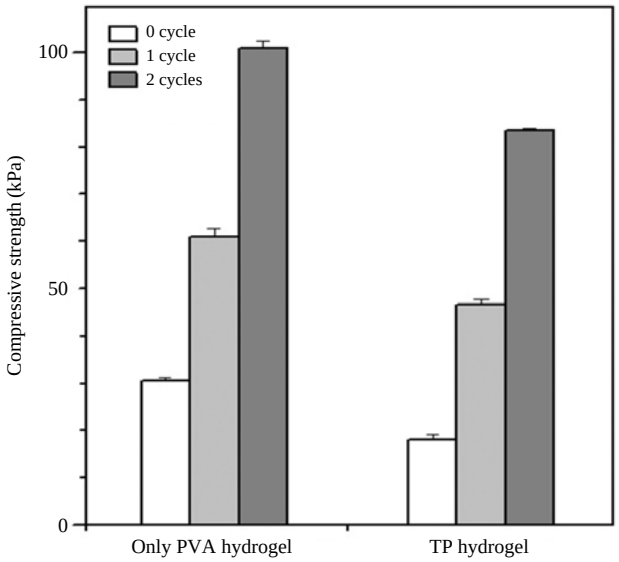

Fig. 3. Mechanical properties of TP hydrogels as a function of freezo cycles.

하이드로겔 모두 수분에 침지된 후 3~4시간이 지난 후 모두 평형 상태에 도달하여 일정한 함수율 값을 유지하였다. 민들레 추출물 함유 하이드로겔의 경우 약 50% 정도의 더 높은 평형 함수율 값을 나타내는데, 이는 민들레 추출물에 의한 PVA 고분자 사슬 간의 방사선 가교밀도 저하가 주원인으로 판단되며, 민들레 추출물 자체의 수분 흡수능에 따른 함수율 상승효과도 기여했을 것으로 판단된다.

4. 겔강도 측정

Fig. 3은 민들레 추출물 미함유 및 함유 하이드로겔의 겔강도를 나타내었다. 겔강도는 압축강도를 이용하여 시편의 변형이 50% 이루어질 때까지 측정하였다. 감마선 가교에 의해 겔 내부에 형성되는 3차원 망상구조에 의한 가교밀도는 겔의 기계적 강도와 비례적인 관계를 가지는 것으로 미루어 볼 때, 민들레 추출물 함유 하이드로겔의 경우 추출물에 의한 가교밀도의 저하로 인해 더 낮은 겔강도를 나타내는 것으로 판단된다. 또한 동결 융해 과정을 거쳐 제조된 겔의 경우, 감마선에 의한 화학적 가교와 더불어 물리적 가교에 의해 두 배 이상의 더 높은 겔강도를 나타내었으며 횟수가 증가할수록 겔강도도 비례적으로 증가하였다.

결 론

본 연구에서는 방사선을 이용하여 민들레 추출물을 함유하는 항균성 하이드로겔을 제조하였다. 천연항균 소재들 중 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있는 민들레의 열수 추출물을 함유하여 제조된 하이드로겔은 피부 부착용 하이드로겔로 사용에 적합한 겔강도와 함수율을 나타내었고, 대표적인 피부 상재균에 대해 우수한 항균효과를 나타내고 있어 향후 여드름, 종기 등의 염증성 피부 질환의 예방 및 개선용 약학적 또는 화장료 조성물로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 미래창조과학부의 재원으로 시행하는 한국과학재단의 방사선기술개발사업으로 지원받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

신승렬. 1999. 민들레의 영양성분에 관한 연구. 한국농산물저장유통학회 **6**:495-499.

한영실, 전희정, 김건희. 1998. 민들레 (*Taraxacum platycarpum*) 추출물의 항균성 검색. 한국조리과학학회지 **14**:114-118.

Cheong H, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM and Ryu SY. 1998. Desacetylmatricarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*. *Planta. Med*. **64**:577-578.

Gwon HJ, Lim YM, Nho YC and Baik SH. 2010. Humectants effect on aqueous fluids absorption of γ-irradiated PVA hydrogel followed by freeze thawing. *Radiat. Phys. Chem.* **79**:650-653.

Hassan CM and Peppas NA. 2000. Structure and applications of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods. *Adv. Polym. Sci*. **153**:37-65.

Jeong JY, Chung YB, Lee CC, Park SW and Lee CK. 1991. Studies on immunopotentiating activities of antitumor polysaccharide from aerial parts of *Taraxacum platycarpum*. *Arch. Pharm. Res*. **14**:68-72.

Kim KH, Chun HJ and Han YS. 1998. Screening of antimicrobial activity of the dandelion (*Taraxacum platycarpum*) extracts. *Kor. J. Soc. Food Sci*. **4**:114-118.

Kim SD, Kim MH and Kim DH. 2000. Effects of dandelion (*Taraxacum platycarpum* D.) extracts on the growth of lactic acid bacteria and gas formation from kimchi. *Korean J. Phstharvest. Sci. Technol*. **7**:321-325.

Martens P and Anseth KS. 2000. Characterization of hydrogels formed from acrylate modified poly(vinyl alcohol) macromers. *Polymer* **41**:7715-7722.

Miranda LF, Lugao AB, Machado LDB and Ramanathan LV. 1999. Crosslinking and degradation of PVP hydrogels as a function of dose and PVP concentration. *Radiat. Phys. Chem*. **55**:709-712.

Park KR, Kim DP and Nho YC. 2001. Preparation and its application for wound dressing of gelatin hydrogel and PVP/gelatin by radiation crosslinling. *J. Korean Ind. Eng. Chem*. **12**:718-723.

Tranquilan-Aranilla C, Yoshii F, Dela Rosa AM and Makuuchi K. 1999. Kappa-carrageenan-polyethylene oxide hydrogel blends prepared by gamma irradiation. *Radiat. Phys. Chem*. **55**:127-131.

Manuscript Received: July 7, 2013
Revised: July 26, 2013
Revision Accepted: August 1, 2013