

Diethylaminoethyl Chitin 유도체의 제조와 그들의 응집거동에 관한 연구

김 천 호 · 김 소 연 · 정 병 옥* · 김 재 진* · 최 규 석

한양대학교 공과대학 공업화학과, *한국과학기술연구원 고분자 연구부
(1996년 11월 4일 접수, 1997년 2월 4일 채택)

Synthesis of The Diethylaminoethyl Chitin Derivatives and Their Flocculating Behavior

Chun-Ho Kim, So-Yeon Kim, Byung-Ok Jung*, Jae-Jin Kim*, and Kyu-Suk Choi,

Dept. of Industrial Chemistry, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

*Div. of Polymer Science and Engineering, KIST, Seoul, 130-650, Korea

(Received November 4, 1996, Accepted February 4, 1997)

요 약 : DEAE-chitin은 alkali-chitin 용액에 DEAE·HCl을 이용하여 제조하였다. 제조된 DEAE-chitin은 물과 유기용매에 대한 향상된 용해성을 나타내었다. DEAE-chitin은 chitin의 탈아세틸화반응보다 온화한 조건인 sodium borohydride를 함유하고 있는 10% 수산화나트륨 수용액으로 80℃에서 9시간동안 탈아세틸화반응을 행하여 DEAE-chitosan을 제조하였고, DEAE-chitin의 양이온성을 증가시키기 위해 ethyl halide를 이용하여 4차화시킴으로써 4차 암모늄기를 가진 TEAE-chitin 유도체를 각각 합성하였다. 이들 합성유도체들의 반응에 따른 구조변화는 FTIR, ¹H NMR 등으로 확인하였고, 카올린 현탁액을 이용한 응집실험결과 pH가 약 알칼리일 때, 그리고 수지농도가 8ppm일 때 최적의 응집성능을 나타냄을 알 수 있었다.

Abstract : A DEAE-chitin was prepared with DEAE·HCl in an aqueous alkali-chitin solution. The resulting DEAE-chitin exhibited a highly improved affinity to water and organic solvents. It was *N*-deacetylated by heating in aqueous 10% sodium hydroxide containing sodium borohydride for 9 h at 80℃ to produce DEAE-chitosan. These conditions were milder than those for the *N*-deacetylation of chitin. In order to increase its cationic character, the DEAE-chitin was treated with ethyl halide to give TEAE-chitin. The structural changes in the chitin derivatives were confirmed by using both FT-IR and ¹H NMR, and their flocculating behavior, in kaoline suspension showed the optimum property at a weak alkaline pH and 8ppm concentration of resin conditions.

1. 서 론

근래에 와서 자원, 에너지, 환경 등의 문제로 천연고분자의 중요성이 주목되면서, 최근 천연고분자의 하나로 종래에는 이용되지 않고 있던 생물자원인 chitin·chitosan을 기능성다당으로써 이용하기 위한 많은 연구내용 등이 발표되고 있다. Chitin, poly[β -(1→4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose]은 갑각류, 오징어의 뼈, 세균의 세포벽 등에 존재하는 무독성, 생체적합성 및 생

분해성이 우수한 고분자 재료(1)로서, 최근에 와서 chitin의 여러 금속이온들에 대한 우수한 킬레이트 형성능과 상처 치유효과 등(1)과, 이 chitin의 탈아세틸화물인 chitosan, poly[β -(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose]의 유리 일차 아미노기가 가지는 중금속이온에 대한 우수한 선택적 흡착능으로 중금속 흡착제(2) 및 해수 중의 우라늄 등의 유용금속 포집제(3), 그리고, 이온교환체, 화장품, 의약품, 의료용 재료, 기능성 식품, 토지개량제 등(1, 4)에 관한 연구가 발표되었으며, 이러한 특

성들을 향상시키기 위하여 chitin 과 chitosan의 고기능성 유도체들에 관한 연구도 활발하다.

한편, 폐수처리에 응용하기 위해서 폐수처리제는 수용성이며 수용액 상태에서 이온성을 띠어야 하고 현탁된 입자에 흡착할 수 있어야 하며, 침강효과를 증대시키기 위해서는 적정 평균분자량도 가져야 한다(5). 그러나 chitin은 입체배위에서 분자내 및 분자간에 많은 수소결합을 이루어 강한 미셀 형태를 이루고 있기 때문에 그 자체만으로는 용융되지도 않고 유기용매에 대한 용해성 뿐만 아니라 화학적 반응성이 굉장히 낮다. 이와 같은 chitin의 특성 때문에 현재까지 보고된 chitin을 녹일 수 있는 용매는 그 수가 많지 않고, 같은 다당류로서 cellulose에 비해 산업적인 이용이 매우 제한되어 왔다. 따라서 용해성 및 반응성을 향상시키는 것이 산업적 이용의 관점으로 볼 때 매우 중요하며, 본 연구실에서도 이미 폐수처리제로서 응용이 되고 있는 chitin의 탈아세틸화합물인 chitosan에 화학적 개질 또는 친수성 수용성기를 그래프트시켜 이들을 이용한 수처리제로서의 응용을 다각적으로 살펴보고, 모두 chitosan에 비해 우수한 성질을 발휘함을 발표(6, 7)한 바 있다.

본 연구에서는 생체기원의 천연고분자이고 유해금속 이온에 대한 선택적 흡착능이 있는 chitin을 출발물질로 하여 활성단의 고밀도화라는 고분자 본질에 근거한 특징과 고분자재료로서 필름상, 입자상 등 여러 가지 형태로 가공할 수 있다는 고분자재료로서의 성질을 최대한 이용할 수 있는 수용성 polycation 응집제를 제조하는데 목적이 있다.

즉, 계꺾질에서 단리한 chitin에 양이온성을 띠는 diethylamioethyl(이하 DEAE)기를 도입시켜 수용성 chitin 유도체인 diethylamioethyl chitin(이하 DEAE-chitin)를 합성하였다. 그리고 DEAE-chitin를 기존의 탈아세틸화 방법보다 온화한 조건에서 탈아세틸화시켜 유리 아민기를 가진 DEAE-chitosan을 제조하였고, 또한 DEAE-chitin의 DEAE기를 다시 alkyl halide를 이용하여 4차화시켜 triethylamioethyl chitin(이하 TEAE-chitin)을 제조하여 이들의 물성 및 응집제로서의 가능성을 살펴보고, 이들 유도체는 유사한 구조를 가진 다당에 DEAE기를 도입한 DEAE-cellulose, DEAE-Sephadex 등이 단백질이나 핵산같은 생체물질의 분리에 이용되고 있는 것을 고려해 볼 때, 생체물질의 분리, 효소의 고정화 담체, 킬레이트제, 이온교환수지, 화장품에 이용되는 수용성 고분자 및 수처리제같은 여러분야에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

2. 실험

2.1. 시약 및 시료

Chitin은 계꺾질로부터 Hackman법을 개량한 단리법(2)으로 제조한 순백색의 chitin chip을 ball mill로 분쇄하여 80~140 mesh의 분말을 40°C에서 진공 건조하여 출발물질로 사용하였고, 염산, 초산, 수산화나트륨 등은 Kanto Chemical Co.의 시약 1급을, *N,N*-디에틸아미노에틸 클로라이드 염산염(DEAE·HCl)은 Aldrich사 제품을 사용하였다. NaBH₄는 Wako Pure Chem.사의 시약 1급을 사용하였고, C₂H₅I, NaI 등은 Janssen Chemical의 시약 1급을 그대로 사용하였다. *N*-methyl-2-pyrrolidone(NMP)은 Aldrich사의 1급 시약을 감압증류한 후 molecular sieve(4Å)에 넣어 보관하여 사용하였고, 효소 활성 측정에 사용된 lysozyme(EC 3.2.1.17; 계란 흰자에서 추출)과 cellulase(*Trichoderma reesei*)는 각각 Sigma Chemical Co.와 Novo Nordisk Ferment사에서 구입하였다. 그 외 시약은 특급시약을 그대로 사용하였으며 유기용매는 감압증류하여 사용하였다.

2.2. Chitin 유도체의 제조

2.2.1. DEAE-Chitin의 제조

Chitin 5g을 42% NaOH 수용액 100ml에 가하고 감압하에서 실온에서 3시간 동안 교반하고 알칼리가 충분히 침투되도록 냉장고에 24시간 동안 방치한 다음, 탈이온수로 만든 분쇄된 얼음 250g을 가하여 alkalichitin 수용액을 제조한다. 한편 chitin에 대해 10몰비의 DEAE·HCl을 100 ml의 증류수에 녹여 이것을 alkalichitin 수용액에 천천히 가하면서 0°C에서 2시간 동안 교반시킨 후, 실온에서 24시간 방치하고 혼합물을 투석용 cellulose tube(cutoff size 3000)에 옮겨 탈이온수에서 5일간 투석시킨 다음, 농축하여 과량의 acetone으로 석출시키고 동용매로 충분히 세척하고 감압건조하여 DEAE-chitin을 제조하였다.

2.2.2. DEAE-chitosan의 제조

DEAE-chitin 2.6g을 10% NaOH 수용액 130ml에 가해 80°C에서 9시간 반응시켰다. 이때 분자량의 감소와 DEAE기의 절단을 감소시키기 위하여, 일반적으로 oxygen scavenger로 사용되는 thiophenol, sodium borohydride 등을 첨가하여 그 영향을 살펴보고, 열원을 제거하고 실온으로 냉각한 다음, acetic acid 수용액으로 중화시키고, 그 혼합물을 약 150ml가 될때까지 감압 하에서 농축시킨다. 농축된 용액을 acetone으로 석출시키고 충분히 세척한 후, 감압건조하여 DEAE-chitosan을 합성하였다.

2.2.3. TEAE-chitin의 제조

DEAE-chitin 5g을 실온에서 NMP 250ml에 12시간 동안 팽윤시킨 다음 1.4M NaOH 수용액을 가하고 70°C로 온도를 상승시킨다. 질소기류 하에서 도입된 DEAE기에 대해 15mol배의 ethyl iodide를 가하고, NaI가 전 용액에 대해 0.2M이 되도록 부가한 다음 12시간 반응시킨 후 ethanol로 석출시켰다. 여액이 중성이 될때까지 동 용매로 충분히 세척하고 40°C에서 진공건조하여 TEAE-chitin을 제조하였다.

2.3. 분석 기기

합성된 각 수용성 chitin 유도체의 구조 분석은 KBr pellet법을 이용한 적외선분광분석기(FT-IR, Nicolet Model 5-DX)와, $^1\text{H-NMR}$ spectrometer(Varian VX 300)로 D_2O 에 각 수용성 chitin 유도체를 녹여, 표준물질로는 TMS를 사용하여 구조를 확인하였다. X-선 회절 분석기(Rigaku Denky Model RAD-C)는 측정조건 50 kV, 180 mA에서 Ni 필터, $\text{CuK}\alpha$ 를 사용하여 $2\theta = 5 \sim 30^\circ$ 의 범위에서 chitin 유도체간의 결정성 정도를 비교 분석하였다. 제조한 각 유도체의 열적안정성은 열중량 분석기(Du Pont Instrument model, 951 thermogravimetric analyzer)를 사용하였고, 치환도의 측정은 원소 분석(Foss Heraeus Analysentechnik GmbH)과 $^1\text{H-NMR}$ 및 중화적정법을 사용하였다. 즉, 먼저 0.1M의 HCl 용액 5ml와 탈이온수 60ml를 혼합하고 여기에 시료를 일정량 녹인 후 0.033M의 NaOH 수용액으로 적정하여 이로부터 치환도를 계산하였다. 또한 TEAE-chitin의 4차화도는 Silver nitrate titration (Silver electrode SCE electrode)으로 reference 물질로는 caromel 전극을 사용하여 유리되는 요오드를 적정(7, 8)하여 구하였다. 겔보기점성도는 점성도계(Brookfield model rheoset)를 사용하여 효소 가수분해시의 경시변화에 따른 분해정도를 관찰하였고, 환원당 측정에 사용된 자외선 분광 분석기는 Shimadzu사의 UV-2101 PC를 사용하였다.

2.4. 용해성 시험

Chitin 및 DEAE-chitin의 용해성 시험은 각각의 10ml 시험관에 시료 0.1g 과 용매 5ml를 넣고 25°C의 실온에서 7일동안 shaking 하여 용해 정도를 측정하였다.

2.5. 효소 활성 측정

DEAE-chitin을 pH 6.8의 0.05M citric acid-0.1M Na_2HPO_4 완충용액에 녹여 이 용액 1.5ml에 lysozyme

또는 cellulase 용액 0.2ml를 가하여 40°C에서 30분간 반응시킨 다음, 효소의 활성을 제거하기 위해 반응액을 수용액 중에서 5분간 끓여 반응을 정지시키고 바로 원심분리기를 이용하여 변성된 효소를 제거하였다. 상등액을 취하여 변성 Schale법(9)으로 생성된 환원당을 측정하여 그 값으로 효소 활성을 비교하였다. 효소활성 1단위는 1분 동안 $1\mu\text{mol}$ 의 *N*-acetyl glucosamine에 상당하는 환원당을 생성하는 효소량으로 정의하였다.

2.6. 환원당 측정

가수분해된 생성물의 환원당의 측정은 변성 Schale법(9)을 따랐다. 즉, 0.5 M sodium carbonate 용액 11에 0.5g potassium ferricyanide을 녹여 지시약을 제조한 다음, 이 용액 2ml를 검량범위에 맞추어 녹인 가수분해 시료 용액 1.5ml와 혼합하여 알루미늄 호일로 덮은 시험관에 넣고 끓는물 중에서 30분간 배양한다. 식힌 후, 비색계를 이용하여 420nm에서 흡광도를 물에 대해서 측정하여 *N*-acetyl-D-glucosamine을 기준으로 생성된 환원당을 정량하였다.

2.7. 응집실험

응집실험은 0.5 wt% 카올린 현탁액에 대한 투과도 측정과 침강속도를 측정하고, 각각의 결과로서 응집작용을 평가하였다. 측정은 20°C의 항온조 중에서 제조한 chitin 유도체를 투입하고, 20분간 정치시킨 후, 상등액을 취하여 500nm에서 UV 흡광분석기(Perkin-Elmer Lambda 5)를 이용하여 증류수의 투과도를 100으로 하여 측정하였다(7, 10).

3. 결과 및 고찰

3.1. Chitin 유도체의 합성

수산계 폐기물인 계껍질로부터 단리한 순백색의 chitin 분말을 출발물질로 하여, chitin 및 chitosan 단위구조의 C-6 위치에 DEAE기가 도입된 DEAE-chitin, DEAE-chitosan과 이 DEAE 기를 4차화시킨 TEAE-chitosan을 Fig. 1에서 보는 바와 같이 합성하였다.

Fig. 2는 Hackman법을 개량한 단리법으로 제조한 chitin과 그 유도체들의 $400 \sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 영역의 FT-IR 스펙트럼으로 DEAE-chitin의 경우 (Fig. 2(b)), chitin에 비해 (Fig. 2(a)) 확연한 차이는 확인할 수 없었지만, 2950 cm^{-1} 부근에서의 C-H의 신축진동에 귀속되는 band가 chitin에 비해 강하게 나타나며, 특히 1640과 1630에서 chitin의 수소결합에 의한 결정성 흡수(11)가 하나의

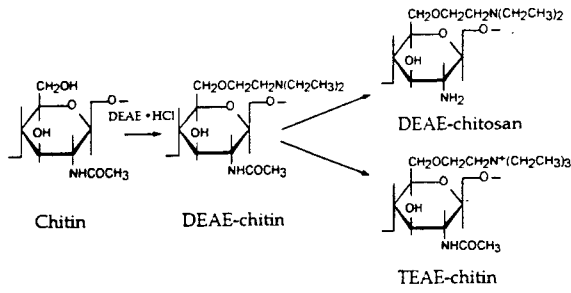


Fig. 1. Schemetic structure of DEAE-chitin derivatives.

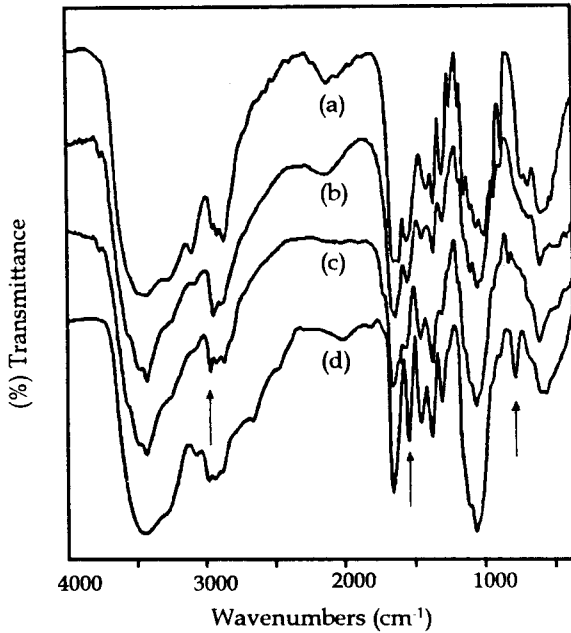


Fig. 2. FT-IR spectra of Chitin and DEAE-chitin derivatives : (a) Chitin, (b) DEAE-chitin, (c) DEAE-chitosan and (d) TEAE-chitin.

band로 나타난 것은 DEAE기의 도입 영향으로 추정하였다. 또한 1660cm^{-1} 와 1590cm^{-1} 부근에서의 각각 amide I, amide II에 기인한 흡수가 출발물질인 chitin에 비해 약해짐을 볼 수 있다. 이것은 DEAE기가 도입된 영향도 있지만, 강알칼리 내에서의 반응 도중 탈아세틸화가 일부 진행된 것으로 생각된다. 또한 DEAE기의 도입은 C-3 위치와 C-6 위치의 수산기에서 모두 일어날 수는 있지만, 본 실험의 반응 조건으로는 C-6 위치의 히드록시기가 반응성이 훨씬 크기 때문에 주로 이 위치에서 반응이 진행될 것으로 생각되며, 이는 Blackwell 등(12)이 제시한 바와 같이 α -chitin의 입체구조에서 C-3 위치의 히드록시기가 두 종류의 수소결합으로 안정화되기 때문에 이 위치에서의 반응은 매우 힘이 들고 특히 carboxymethyl-chitin의 합성(13)에서 볼 수 있듯이 치

환도가 1이상의 것을 얻기 힘들다는 연구보고 등으로 설명이 될 수 있다.

한편, DEAE-chitosan의 합성은 이미 Kim 등(14(a))과 저자들(14(b))도 보고한 바 있다. 이 때, chitosan의 C-6 위치의 수산기에 선택적으로 DEAE기를 도입시키기 위해, chitin의 탈아세틸화물인 chitosan을 출발물질로 하여 반응성이 뛰어난 유리 아민기를 aldehyde로 schiff base를 형성함으로써 유리아민기에 DEAE기가 도입되는 것을 방지하였으나, 본 실험에서는 먼저 DEAE-chitin을 탈아세틸화시켜 DEAE-chitosan을 제조하는 것을 시도하였다. 즉, 일반적인 chitin의 탈아세틸화 반응에는 50% 내외의 NaOH 수용액 내에서 약 100°C , 3시간 처리를 반복하는 방법이 거의 사용되고 있으나 본 실험에서는 탈아세틸화가 일어나면서 C-6위치의 DEAE기가 탈리되는 것을 방지하기 위해 sodium borohydride를 사용하여, DEAE-chitin을 기존의 탈아세틸화 방법보다 온화한 조건으로 반응시켰다. 이 방법으로 합성된 DEAE-chitosan의 경우 N-acetylamide기를 탈아세틸화함으로써 C-6 위치에 선택적으로 DEAE기가 도입된 DEAE-chitosan을 얻을 수 있었다. 이는 Fig. 2(c)에서 보는 바와 같이 DEAE-chitin에 비해 DEAE-chitosan에서는 1660cm^{-1} 에서 C=O 신축진동에 귀속되는 흡수가 약하게 관찰됨으로써 탈아세틸화 반응이 진행되었음을 알 수 있었다. 그러나 이 때 sodium borohydride를 사용하지 않고 thiophenol 혹은 NaOH 만으로 탈아세틸화반응을 시켰을 때는 DEAE기의 함량이 감소된다는 것을 원소분석의 C/N비로서 확인할 수 있었고(Table 1), 특히 thiophenol을 사용한 경우는 분자량의 감소를 줄일 수 있다는 것을 알 수 있었다. 이로서 chitosan의 6번 수산기에 작용기를 도입시키고자 할 때 반응성이 뛰어난 chitosan의 유리아민기를 protect 등의 방법을 취하지 않고도 선택적으로 수산기에 적절한 작용성기를 도입시킬 수 있으며, 조건을 적절히 변화시킴으로서 적정 분자량 및 치환도를 가진 에테르형태의 chitosan 유도체를 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

한편, 4차 암모늄기를 도입시킨 TEAE-chitin(Fig. 2(d))에서는 2900cm^{-1} 에서 methyl기에 기인하는 흡수 peak가 증가하였고, 특히 1450cm^{-1} 와 800cm^{-1} 근처에서 도입된 알킬기에 기인한 흡수가 반응이 진행됨으로써 더욱 크게 관측됨으로써 4 차화 반응이 진행되었음을 확인하였다.

합성한 각 DEAE-chitin 유도체들의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 Fig. 3에 나타내었다. DEAE-chitin의 경우 chitin 자체의 pyranose 고리와 N-acetyl기의 methyl에 각각

Table 1. Effect of Oxygen Scavenger on the *N*-Deacetylation of Deae-Chitin

Samples	Slurry composition ¹⁾	C (%)	H (%)	N (%)	C/N ratio	Viscosity in cPs ²⁾
1	-	41.20	7.30	6.94	5.94	2.8
2	Thiophenol 0.1 ml	39.80	7.08	6.71	5.93	52.5
3	Sodiumborohydride 0.1g	36.15	6.81	6.27	5.76	13.5
4	Thiophenol 0.1 ml + sodiumborohydride 0.1g	33.00	6.34	5.69	5.80	27.5

1) 10 wt% aq. NaOH 50 ml : DEAE-chitin 1g at 80°C for 9h.

2) SI unit : 1 Ps = 0.1 Pa · s

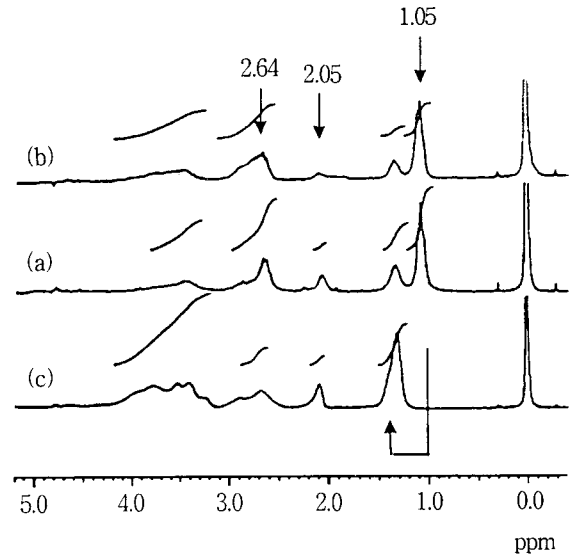
Viscosity determined at 20 °C, shear rate of 70.0s⁻¹.

기인하는 chemical shift인 3.4~4.0 ppm, 2.05 ppm, 그리고 도입된 DEAE기의 methylene과 methyl기에 기인하는 chemical shift가 각각 2.64 와 1.65 ppm 에서 확인됨으로서 반응이 진행되었음을 확인할 수 있었고, DEAE-chitosan 은 2.05 ppm에서 *N*-acetyl기의 proton에 기인된 peak가 감소됨으로서 탈아세틸화가 진행되었음을 알 수 있었다. 또한 TEAE-chitin의 경우 DEAE기가 4차화되면서 1.25~1.4 ppm 부근의 두 개의 peak가 하나로 합쳐지는 shift가 관측되었다. 이는 DEAE기가 도입된 dextran (15)에서 DEAE기의 4차화에 의해 나타나는 chemical shift의 경향과 일치하므로써 반응이 진행되었음을 확인할 수 있었다.

¹H-NMR 스펙트럼과 원소분석 및 적정법으로 구한 각 유도체의 치환율 및 탈아세틸화도를 Table 2에 나타내었다. DEAE-chitin의 경우 DEAE 기의 도입율을 나타낸 것으로 DEAE 염산염을 10mol비로 사용하였을 때 약 81%의 치환율을 얻을 수 있었고 sodium borohydride를 이용한 탈아세틸화반응에서 DEAE기의 도입율은 67%이고 탈아세틸화도는 73%임을 확인할 수 있었다. 따라서 DEAE기의 함량의 감소는 완전히 피할 수는 없지만, DEAE기의 도입율이 Kim 등의 방법을 통해 얻은 치환율이 약 29%(14)인 것과 비교하면 그 치환율이 거의 2배이상 향상된 DEAE-chitosan을 얻을 수 있었고, 4차화 유도체인 TEAE-chitin의 4차화율은 Silver nitrate 적정을 이용하여 47%임을 알 수 있었다.

3.2. DEAE-chitin유도체의 X-선 회절분석

Fig. 4는 chitin과 합성한 DEAE-chitin유도체의 X-선

**Fig. 3.** ¹H NMR spectra of DEAE-chitin derivatives : (a) DEAE-chitin, (b) DEAE-chitosan and (c) TEAE-chitin.**Table 2.** Elemental Analysis and Degree of Substitution of DEAE-Chitin Derivatives

Samples	C (%)	H (%)	N (%)	C/N (%)	Degree of substitution ¹⁾	
					D.A.(%) ²⁾	D.S.(%) ³⁾
DEAE-chitin	51.61	8.97	8.72	5.92	0.41	0.81 ³⁾
DEAE-chitosan	48.46	8.52	8.49	5.71	0.73	0.67 ³⁾
TEAE-chitin	35.18	6.46	5.84	6.02	0.48	0.47 ⁴⁾

1) Relative areas of ¹H NMR signals

2) Degree of deacetylation

3) Degree of substitution of DEAE groups

4) Degree of quaternization: silver nitrate titration

회절분석 결과를 나타낸 것이다. $2\theta=10^\circ$ 부근의 (001)과 (100)면에 해당하는 peak와 $2\theta=20^\circ$ 부근의 (101)과 (002)면에 해당하는 chitin의 특성 peak가 DEAE기가 도입되면서 감소함을 관찰할 수 있었고, 또한 DEAE-chitosan, TEAE-chitin으로 갈수록 더욱 감소하여 4차화된 유도체인 TEAE-chitin의 경우 거의 결정성을 보이지 않았다. 이는 DEAE기와 TEAE기 등이 도입되면서 입체장애로 인해 사슬간의 수소결합력의 약화되면서 결정성이 감소되는 것으로 생각되며, 또한 $2\theta=6^\circ$ 근처에서 새로운 결정성이 약하게 나타난 것은 도입된 알킬기에 기인

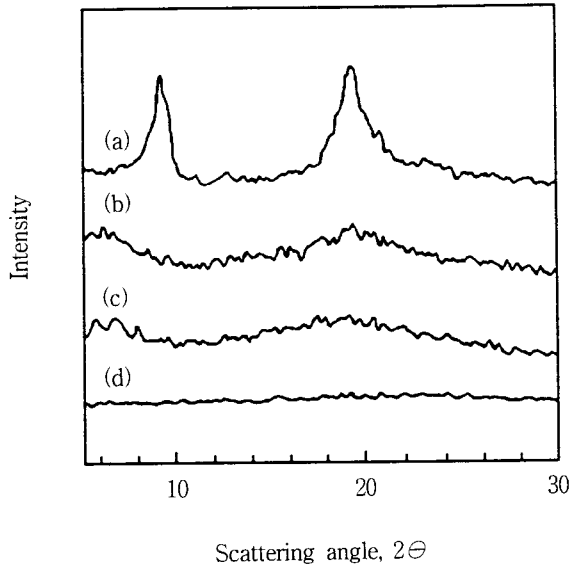


Fig. 4. X-ray diffraction pattern of Chitin and DEAE-chitin derivatives : (a) Chitin, (b) DEAE-chitin, (c) DEAE-chitosan and (d) TEAE-chitin.

한 것(7)으로 추측하였다. 따라서 분자내 수소결합 등 강력한 미셀 구조때문에 결정성이 매우 발달된 chitin과는 달리, DEAE-chitin 유도체의 경우 무정형 영역이 증가하여 용해성에 있어서도 chitin보다 우수해질 것으로 생각할 수 있었다.

3.3. 열적성질

Fig. 5에 chitin 및 DEAE-chitin 유도체들의 열적안정성을 조사한 결과를 나타내었다. Chitin의 경우 분해가 293 °C부터 시작되는데 비해 DEAE기가 도입된 DEAE-chitin과 DEAE-chitosan, 그리고 TEAE기가 도입된 TEAE-chitin의 경우 초기 분해온도는 각각 274, 247, 그리고 185°C로 크게 저하됨을 확인하였다. 반응이 진행됨에 따라서 초기 분해온도가 점점 낮아지는 이러한 경향은 고분자 내에서 인접한 고분자 사슬사이에 형성된 수산기의 수소원자가 치환되므로써 분자내 수소결합력의 감소로 인해 분해온도가 감소하게 된다는 것으로 설명될 수 있다(7, 16). 따라서 반응이 진행됨에 따라서 수소결합이 약화되어 초기 분해온도가 감소하는 것으로 생각하였으며, 이와 같은 결과는 X-선 회절분석을 통하여 얻어진 분자내 수소결합력의 변화에 따른 결정성의 감소 경향과 일치하였다.

3.4. 용해성 시험

Table. 3은 실온에서 shaking해주면서 1주일이 경과되었을때 chitin과 DEAE-chitin의 용해성정도를 비교한

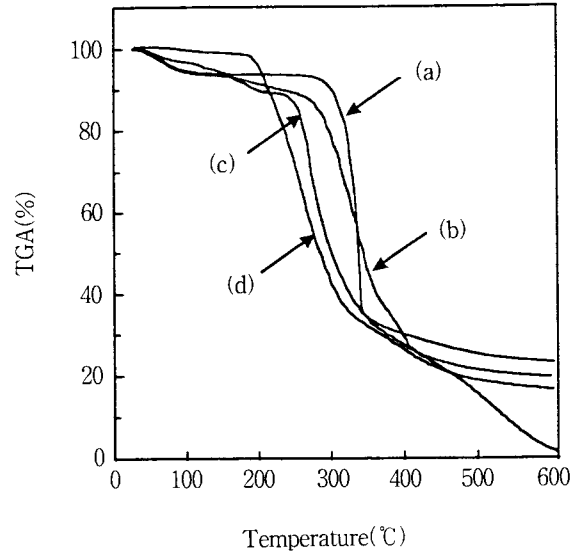


Fig. 5. TGA of Chitin and DEAE-chitin derivatives : (a) Chitin, (b) DEAE-chitin, (c) DEAE-chitosan and (d) TEAE-chitin.

것으로, chitin의 경우 5% LiCl-DMAc에서만 약간 용해되었을 뿐, 다른 모든 용매에 대해 불용성을 나타내었다. 반면에 DEAE-chitin의 경우 물에 완전히 용해되었으며 다른 유기용매에 대해서도 용해성이 크게 향상됨을 관찰할 수 있었다. 이상과 같이 그 용해성의 증가는 FT-IR, X-선 회절분석 및 TGA 결과에서 추측한 바와 같이 chitin 분자 내의 수소결합에 기인한 강력한 미셀 형성능(12)에 의해서 유기용매에 대한 불용성이 DEAE기가 도입되므로써 bulking effect(17)에 의해 고분자 구조에 용매가 쉽게 침투될 수 있기 때문으로 생각된다.

3.5. 효소에 대한 분해능

Fig. 6은 DEAE-chitin 유도체의 cellulase와 lysozyme을 이용한 두가지 효소에 대한 가수분해 정도를 37°C와 55°C에서 조사한 결과로서 각각 겔보기점성도의 변화에 의해 이들의 분해정도를 살펴보았다. 겔보기점성도의 감소는 단시간에 이루어졌고, 온도가 높을수록 그 경향은 더욱 촉진되었다. 특히 DEAE-chitin의 효소에 의한 가수분해는 cellulase보다 lysozyme이 더 우수함을 볼 수 있다. 이로서 cellulose의 분해에 이용되는 cellulase와 chitin질을 분해하는 lysozyme의 두 효소에 대해서 DEAE-chitin 역시 쉽게 가수분해될 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 이들 효소에 대한 DEAE-chitin 유도체의 효소 활성을 측정하여 Table 4에 나타내었다. Lysozyme의 경우 *N*-acetyl-glucosamine이 기질로 크

Table 3. Solubility Test for Chitin and DEAE-Chitin in Various Solvents

Solvents	Chitin	DEAE-chitin
Water	×	◎
Ethanol	×	○
Isopropanol	×	○
Acetic acid	×	○
Acetonitrile	×	○
Benzene	×	○
DMSO	×	○
DMAc	×	○
Ethyleneglycol	×	○
Formic acid	×	◎
DMAc-5% LiCl	○	◎

× : insoluble ○ : slightly soluble ◎ : soluble

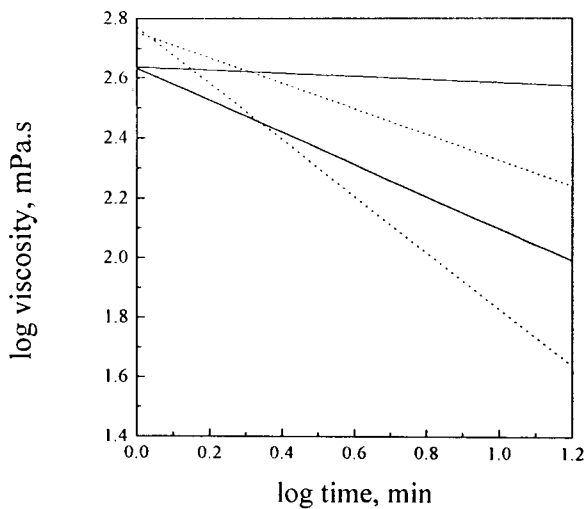


Fig. 6. Viscosity as a function of contact time between DEAE-chitin and two enzymes at two different temperatures: 37 and 50 °C. Data for the first contact minute are not included. Freshly prepared solutions (25 g/liter) from DEAE-chitin: Upper two curves; 37 °C, lower two curves; 50 °C: solid; cellulose, dot; lysozyme

기 때문에 chitosan의 탈아세틸화도에 따라 분해되는 정도의 차이가 있음이 보고(18)되고 있으며 또한 *T. reesei*와 같은 cellulase는 lysozyme과 달리 chitin보다 chitosan쪽의 β -1, 4 구조를 가수분해하는 것(19)으로 알려져 있기 때문에 DEAE-chitin의 경우는 lysozyme이

Table 4. The Susceptibility of Lysozyme and Cellulase on DEAE-Chitin Derivatives

Samples	Reducing sugar value(μ mol/min)	
	Lysozyme	Cellulase
DEAE-chitin	1.395	0.941
DEAE-chitosan	1.041	0.993
TEAE-chitin	2.177	2.098

DEAE-chitosan의 경우에는 cellulase가 더 활성을 나타내는 것으로 추정하였고, TEAE-chitin의 경우에는 여러 가지 요인이 있겠지만 X-선 회절분석 결과에서 나타난 바와 같이 결정성 감소에 의해 이들 효소의 침투가 용이하고 또한 정전기적인 인력이 크게 작용하기 때문으로 추측하였다.

3.6. 응집성능

Figs. 7, 8은 제조한 각 chitin 유도체들의 응집성능을 알아보기 위해 0.5 wt%의 카올린 용액을 대상으로 pH와 응집제의 농도에 따른 투과도를 알아본 결과이다. 먼저 pH의 영향을 살펴본 결과 각 chitin 유도체들은 알칼리 영역에서 투과도가 높은 경향을 나타내었고, 양이온성의 함량에 따라 그 응집능은 증가되는 것을 알 수 있었다. DEAE-chitosan이 가장 높은 투과도를 나타내었고, 4차 암모늄염이 도입된 유도체는 오히려 낮았지만 DEAE-chitosan의 경우 약알칼리영역에서 특히 높음을 알 수 있었다. 이것은 DEAE-chitin 유도체가 수용액상태를 이루며 고액분리, 즉 물분자를 배제하기 위해 물분자와의 친수성을 잘 조절하는데 역점을 두고 수용액 상태에서의 이온성에 의해 그 기능을 발휘하게 되는데 pH에 따라 그 성능이 달라질 수 있기 때문에 그 최적 pH가 존재하는 것으로 추측되며, 응집작용에서 첨가농도의 영향에 관해서는 카올린 입자에 대한 도입된 아민기가 정전기적인 상호작용에 기인하며, 그 외 chitin 주쇄의 수산기, 아마이드기 부분은 수소결합에 기여하였다고 생각된다. 또한, 첨가농도가 증가하면 카올린입자 표면에 과잉의 응집제가 흡착되어 분자간 반발에 따라 오니 분산을 일으키고, 그 결과 응집작용은 감소하기 때문에(20) chitin 유도체의 첨가 농도가 8 ppm일 때 최적의 응집작용을 나타내는 것으로 추측하였다.

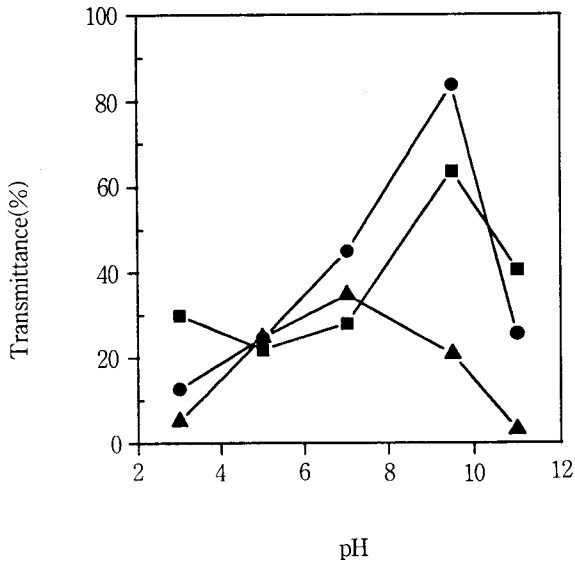


Fig. 7. Rate of transmittance in variation to pH in 0.5 wt% kaoline suspension at 8 ppm of flocculant dosage : (○) DEAE-chitin, (□) DEAE-chitosan and (△) TEAE-chitin.

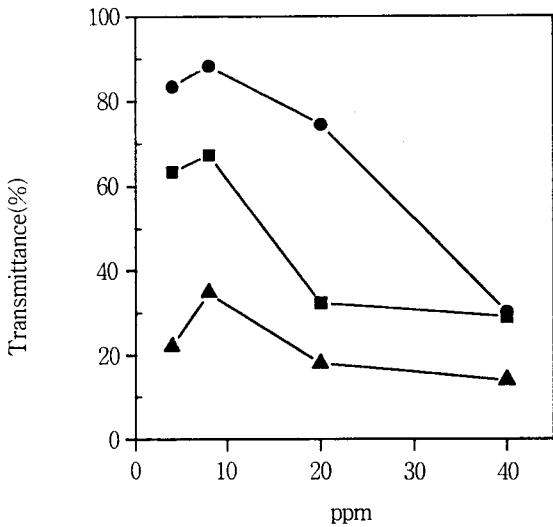


Fig. 8. Rate of transmittance in variation to concentration in 0.5 wt% kaoline suspension at pH 9.5 : (○) DEAE-chitin, (□) DEAE-chitosan and (△) TEAE-chitin.

4. 결 론

1) DEAE-chitin 은 alkali-chitin 용액에 DEAE · HCl 을 이용하여 제조하였고, 제조된 DEAE-chitin은 물에 완전히 용해되었으며 다른 유기용매에 대해서도 용해성이 크게 향상됨을 관찰할 수 있었다.

2) DEAE-chitosan 제조시 일반적인 chitin의 N-탈아세틸화반응에 비해 다소 온화한 조건으로 반응을 시켰는데 이때 sodium borohydride 를 사용한 경우가 thiophenol 혹은 이들이 전혀 첨가되지 않았을때보다 가장 높은 탈아세틸화도 및 DEAE기의 함량을 가진 DEAE-chitosan 을 얻을 수 있었고 thiophenol를 사용할 경우 특히 분자량의 저하를 줄일 수 있음을 알 수 있었다.

3) 제조한 각 유도체들에 대한 효소분해정도를 살펴본 결과 pH 5.6에서 cellulase보다 lysozyme에 대한 분해성이 더 크게 나타났지만, DEAE-chitosan의 경우에는 cellulase가 다소 높은 활성을 나타내었다.

4) 0.5 wt% 의 카올린 용액을 대상으로 한 응집실험 결과, 양이온성의 함량에 따라 그 응집능은 증가되는 것을 알 수 있었고, DEAE-chitosan이 가장 높은 응집능을 나타내었고, 특히 수지의 농도가 8ppm일 때가 최적의 응집능을 나타내었다.

감 사

본 연구는 한국과학재단 기능성 고분자 신소재 연구센터(ERC)의 지원을 받아 수행하였으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. R. A. A. Muzzarelli, "Chitin", Pergamon Press, Oxford (1977).
2. K. S. Choi and Y. M. Kim, *Polymer (Korea)*, **9**, 435 (1985).
3. K. S. Choi, *Macromol. Chem., Macromol. Symp.*, **33**, 55 (1990).
4. R. A. A. Muzzarelli, C. Jeuniaux and G. W. Gooday (eds.), "Chitin in Nature and Technology", Plenum Press, New York, NY (1986).
5. H. Unno, *Chem. Ind.*, **74**, 178 (1984).
6. C. H. Kim, J. W. Lee, B. O. Jung, B. K. Chang, K. S. Choi, and J. J. Kim, *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry*, **6**, 130 (1995).
7. C. H. Kim, B. O. Jung, K. S. Choi, and J. J. Kim, *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry*, **7**, 118 (1996).
8. Dormard M. Rinaudo and C. Terracin, *Int. J. Biol. Macromol.*, **8**, 105 (1986).
9. T. Imoto and K. Yagishita, *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 1154 (1971).

10. H. Serita et al., *Kobunshi Ronbunshu*, **40**, 143 (1984).
11. O. Somorin, N. Nishin, S. Tokura and J. Noguchi, *Polym. J.*, **11**, 391(1979).
12. J. Blackwell, R. Minke, H. Gardner, in "Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan", ed. by R. A. A. Muzzarelli and E. R. Pariser, MIT Sea Grant Report, 108 (1978).
13. S. Tokura, N. Nishi *et al.* in "Chitin, Chitosan and Related Enzyme", ed. by J. P. Zikakis, Academic Press, Inc., London, UK, p.303 (1986).
14. (a) J. H. Kim and Y. M. Lee, *Polymer*, **34**, 1952 (1993). (b) C. W. Jin, C. H. Kim and K. S. Choi, *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry*, **6**, 482 (1995).
15. S. Katsura, A. Isogai, F. Onabe and M. Usuda, *Carbohydrate Polym.*, **18**, 283 (1992).
16. R. D. Deanin, *Polymer Structure, Properties and Application*, Cahnors Press, USA, 311 (1972).
17. E. Gruenwald, E. Price, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 4617 (1964).
18. S. Nishimura, N. Nishi, S. Tokura, K. N. Shimura and I. Azuma, *Carbohydr. Res.*, **146**, 251 (1986) .
19. E. Muraki, F. Yaku, and H. Kojima, *Carbohydr. Res.*, **239**, 227 (1993).
20. H. Serita, *Kobunshi Ronbunshu*, **52**, 410 (1995).