

키토산과 모노(2-메타크릴로일 옥시에틸)산 포스페이트 그라프트공중합과 그의 항균효과

정 병 옥[†] · 정 석 진 · 정 택 상* · 이 영 무** · 최 규 석** · 김 재 진*** · 한 승 희****

서울산업대학교 식품공학과, *서울산업대학교 화학공학과, **한양대학교 공과대학 공업화학과,
한국과학기술연구원 고분자연구부 생체재료연구센터, *광운대학교 화학공학과
(1998년 6월 29일 접수, 1998년 7월 24일 채택)

Graft Copolymerization of Chitosan and Mono(2-methacryloyl oxyethyl) Acid Phosphate and Its Antifungal Effect

Byung-Ok Jung[†], Suk-Jin Chung, Tak-Sang Chung*, Young-Moo Lee*, Kyu-Suk Choi**,
Jae-Jin Kim***, and Seung-Hee Han****

Department of Food Science & Technology, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743, Korea

*Department of Chemical Engineering, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743, Korea

**Department of Industrial Chemistry, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

***Biomaterial Research Center, Division of Polymer Science and Engineering, KIST, Seoul 130-650, Korea

****Department of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea

(Received June 29, 1998; accepted July 24, 1998)

요 약: 키토산에 음이온계 수용성의 합인계 모노머인 mono(2-methacryloyl oxyethyl) acid phosphate를 그라프트공중합시켜 새로운 유도체를 합성하였다. 그라프트공중합의 최적 그라프트율은 개시제농도 3.5×10^{-3} M, 모노머농도 0.19 M, 반응온도 40 °C에서 가장 높은 값을 나타내었고, 반응시간 4시간 이후로는 거의 같은 값을 나타내었다. 그라프트공중합체와 chitosan의 유리아민의 함량에 따른 항균성을 *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* 및 *Trichophyton violaceum*에 대하여 shake flask 법으로 조사한 결과, pH 5.75에서 가장 우수한 항균성능이 발현되고, 곰팡이 균류에 대한 선택성이 나타남을 확인할 수 있었다.

Abstract: New type of chitosan derivatives was synthesised by graft copolymerization of mono(2-methacryloyl oxyethyl) acid phosphate into chitosan. The reaction conditions showing the highest percentage of grafting were an initiator concentration of 3.5×10^{-3} M, monomer concentration of 0.19 M, and reaction temperature of 40 °C, while rate of grafting showed same value after elapsing 4 hours of reaction time. The antifungal activity of chitosan depending on content of free amine and kind of monomer was examined against *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton violaceum* by shake flask method. The pH value of buffer solution to show the highest antifungal activity was 5.75, and the selectivity of mold strain was observed.

Key words: Chitosan, Graft Copolymerization, Antifungal Effect, Mono(2-methacryloyl oxyethyl) Acid

1. 서 론

20세기가 남긴 기능성 다당이라고 하는 chitin과 chitosan은 자연계에 광범위하게 존재하는 천연 염기성 다당류이나[1-4], 불용성으로 인하여 오랫동안 이용되지 못하고 생물자원으로 방치되어 부패로 인한 심각한 환경공해를 유발하는 요인이 되어 왔으나, 최근에는 생분해성과 생체적합성이 좋은 천연고분자로서 chitin과 chitosan이 주목되고 있다.

Chitin은 게, 새우 등의 갑각류, 크릴의 피각, 투구풍뎅이, 메뚜기 등 곤충류의 갑피, 대합, 굴 등의 조개류, 오징어의 뼈, 세균의 세포벽 등에 존재하며, 셀룰로오스 다음으로 다량이 생합성되고 있다

고 추정되고 있다[1,5]. Chitin은 종래에는 폐기 되었으나, 최근에 와서 생체고분자로서 크게 각광을 받는 귀중한 자원으로 급성장하고 있다. 이 chitin의 탈아세틸화물인 chitosan, poly[β -(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose]는 생체적합성과 효소에 의한 생분해성이 뛰어나고 그 자체가 제산작용, 콜레스테롤 저하작용 및 종양 억제작용 등의 약리작용을 나타내기 때문에 약물전달체[6], 혈액응고방지제[7], 인공피부[8] 등의 의료용재료로서 연구되고 있으며, 식품첨가제[9]로서의 연구도 활발히 진행되고 있는 무해무독한 물질이다. 이러한 chitin 및 chitosan에 새로운 기능을 부여하기 위해 최근 인산계를 비롯한 여러 가지의 모노머를 그라프트중합시키려는 연구가 활발하다. Chitosan의 그라프트 중합에 개시제로는 Fe^{2+} - H_2O_2 , pyridine, ceric ammonium nitrate (CAN) 등이 있으나 이 중 CAN은 그 자신이 강한 산화제로서 수산화기, 아민기 등의 환원성기가 있는 유기물과 용이하게 착물을 형성하여, 매우 쉽게 그

[†] 주 저자 (e-mail: bojung@duck.snpu.ac.kr)

라프트중합을 개시하는 것으로 알려져 있다[10]. 비교적 저온중합이 가능하고 그라프트효율이 극히 높기 때문에 셀룰로오스계에 적용성이 좋으며 중합조작이 용이하여 redox 중합계에서의 개시제로 많이 사용되고 있다.

한편, chitosan 및 그 염산염에 의한 분해물이 식물병원성의 곰팡이에 대한 생육억제효과를 나타내는 것은 Allan[11]을 필두로 Kendra 등[12]과 Uchida[13]에 의해 밝혀지면서 이들의 항균능에 대한 연구가 급속히 진행되었다. 이와 같이, chitosan 및 그들의 유도체에서 나타나는 항균성은 이들 물질이 가지고 있는 polycation성 및 단백질과의 affinity로부터 유래된다고 생각할 수 있으며, 그 결과 세균 및 곰팡이에 대한 선택적인 항균능이 나타남을 알 수 있다. Kim 은[14] chitin에 아민기를 도입시킴으로서, 아민기와 그 치환된 작용기에 따라 chitin에서는 발현되지 않는 항균성이 나타나며, 그 항균능은 분자량과 도입된 작용성기에 크게 영향을 받는다는 것을 밝혔으며, 한편 chitosan에 알킬 길이가 다른 4차 암모늄기를 도입했을 때 알킬기의 길이에 따라 즉, 소수성의 증가에 따라 항균능은 비례하여 증가됨을 이미 발표[15]한 바 있다. 따라서, 지금까지 발표되고 있는 chitosan의 항균성을 종합해보면 chitosan은 아민기를 가진 높은 cation성 고분자이고, 미생물의 세포벽을 구성하는 sialic acid와 인지질 등의 음이온성과 정전기적으로 결합되기 때문에 미생물의 자유도가 구속되어 성장을 억제되게 한다는 것[13]으로 크게 요약되고 있다.

본 연구에서는 이와 같이 chitosan에 있어서 발현되는 항균성이 chitosan의 유리 아민기에 의해 나타나지만, 분자내의 견고한 수소결합 등으로 인해 산성영역에서만 용해되는 등 용해성이 제한적이기 때문에, 최근 인산염만을 첨가하여도 곰팡이의 생육억제효과가 있다[16]는 것에 착안하여, 음이온계 수용성 모노머를 그라프트시킨 새로운 수용성 chitosan 유도체를 제조하여 병원성 곰팡이에 대한 생육억제효과를 검토하였다. 먼저 chitosan에 음이온계 수용성 모노머인 mono(2-methacryloyl oxyethyl) acid phosphate (MAP)를 그라프트 공중합시켜, 양쪽성을 띤 새로운 수용성 chitosan 중합체를 합성하였다. 이들의 항균성은 chitosan의 탈아세틸화도와 함께 그라프트된 모노머의 종류에 따른 영향을 각종 감염증의 원인균인 *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* 및 *Trichophyton violaceum*에 대하여 조사하여 이들 효모와 곰팡이에 대한 선택성을 검토해 보았다.

2. 실험

2.1. 시 약

모노머로 사용한 mono(2-methacryloyl oxyethyl)acid phosphate (MAP)는 Tokyo Kasei Co. 제 시약 1급을 사용하였으며, ceric ammonium nitrate (CAN)은 GFS Chem. Co.의 시약 1급을 사용하였다.

그라프트중합에 사용된 chitosan은 홍계깍질(*Chionoecetes opilio*)에서 제조한 신영키토산 주식회사의 제품을 사용하였으며, 탈아세틸화도가 70%인 chitosan (DA-70)의 탈아세틸화도를 높이기 위해, Mima의 방법[17]으로 3회 반복 처리하였다. 즉, chitosan을 먼저 acetic acid에 녹이고 G4 glass filter로 불용분을 제거한 후 다시 NaOH를 가하여 재결정시켜, 식출된 결정을 증류수로 여액이 증성이 될때까지 충분히 세척한 다음 에탄올, 에테르 순으로 세척한 다음, 60 °C에서 감압건조하여 탈아세틸화도가 90%인 chitosan (DA-90)을 제조하였다. 탈아세틸화도는 potassium polyvinyl sulfate (PVSK)를 이용한 colloidal 침전법으로 구한 결과 90%임을 확인할 수 있었다.

2.2. Chitosan-g-MAP의 제조

Chitosan 2 g과 일정량의 모노머를 500 mL 분리형 반응기에 넣고 0.5 wt % 아세트산 200 mL를 첨가하여, 질소가스 주입하에서 1시간 교반하여 팽윤시키면서 반응하고자 하는 온도까지 승온시켰다. 개시제인 CAN 용액을 넣고 모노머의 양 및 반응시간을 변화시켜 가며 중합하였다. 반응혼합물을 아세톤 3000 mL에 침적시켜 잘 교반하여 생성된 침전물을 여과하고 감압오븐에서 50 °C로 6시간 동안 건조시킨 후 질량을 측정하였다. 그리고, 건조된 중합체를 Soxhlet 장치에서 24시간 동안 메탄올로 환류시켜 호모폴리머를 추출했고, 다시 50 °C, 6시간 감압건조하여 질량을 측정하였다. 그라프트율과 모노머의 그라프트효율 그리고 모노머의 총전환율은 다음 식으로 계산하였다[18].

$$\text{그라프트율(\%)} = \frac{W_{gm}}{W_c} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{그라프트 효율(\%)} = \frac{W_{gm}}{W_{gm} + W_{hm}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{총전환율(\%)} = \frac{W_{gm} + W_{hm}}{W_m} \times 100 \quad (3)$$

여기서, W_{gm} ; 그라프트된 단량체의 무게, W_{hm} ; homopolymer의 무게, W_c ; chitosan의 무게, W_m ; 단량체의 무게

2.3. 분 석

2.3.1. 구조분석

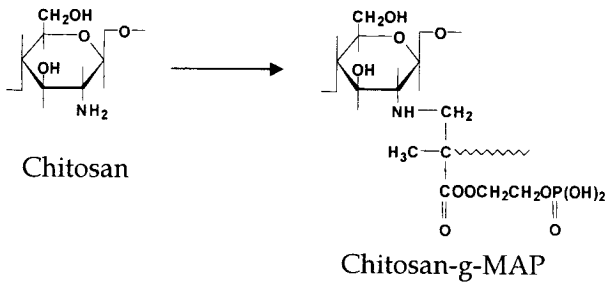
반응의 확인은 적외선분광분석기 (FT-IR, Nicolet Model 5-DX)를 이용하여 KBr 법으로 합성된 고분자들의 구조를 확인하였으며, 표면구조는 전자현미경 (SEM, Joel Model JSM-35CF)을 이용하여 확인하였다. 결정성의 분석은 X-선 회절분석기 (Rigaku Denky Model RAD-C)를 사용하여 확인하였다. Chitosan 및 chitosan-g-MAP는 solid state CP/MAS ^{13}C NMR spectrometer (Bruker ARX-300)를 이용해 MAS spin rate 4 kMz, NS 512, 그리고 AQ 0.043 sec의 조건으로 각각 분석하였다. 각 시료들의 원소분석은 Elemental Analysis (Foss Heraeus Analysentechnik GmbH)를 이용하였다.

2.3.2. 항균효과 시험

시험균으로는 각종 감염증의 원인균인 *Candida albicans* (ATCC 10231), *Trichophyton rubrum* (ATCC 44766) 및 *Trichophyton violaceum* (ATCC 8376)을 국립보건원으로부터 분양받아 사용하였으며, 이때 균체는 Potato Dextrose Agar (PDA) 배지(Difco 사 제품)에서 *C. albicans*은 25 °C에서 48시간, *T. rubrum* 및 *T. violaceum*은 28 °C에서 72시간 각각 배양하였다.

항균시험은 그라프트공중합체와 유리 아민기의 함량이 다른 chitosan을 각각 적정 pH의 acetate buffer에 녹여 0.5 wt %으로 제조한 뒤, 소정의 농도로 희석한 각 희석액을 0.5 mL씩 주입하여 shake flask 법으로 실험하였고, blank로는 희석액 대신으로 적정 pH의 acetate buffer를 투입하였다. Sample 및 blank를 각각 소정시간 배양한 후 다시 희석하여 적정 pH의 PDA 배지에(acetate buffer solution: 0.2 M acetic acid-0.2 M sodium acetate) *C. albicans*은 25 °C에서 48시간, *T. rubrum* 및 *T. violaceum*은 28 °C에서 72시간 배양한 후 colony 수를 세고 sample과 blank의 균체 농도를 계산하여 다음식[19]으로 항균력을 비교하였다.

$$\text{항균력} = \frac{\text{Blank의 CFU} - \text{Sample의 CFU}}{\text{Blank의 CFU}} \times 100$$



Scheme 1. Preparation route to grafted chitosan derivative.

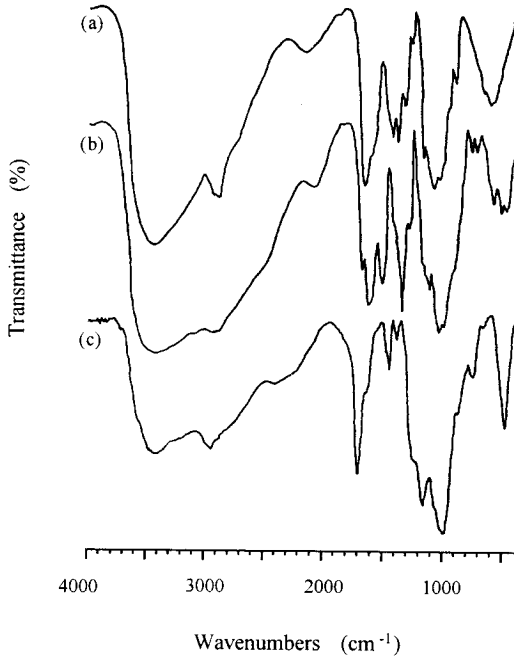


Figure 1. FT-IR spectra of (a) chitosan, (b) chitosan-g-MAP and (c) poly(MAP).

3. 결과 및 고찰

3.1. 그래프트 중합체의 확인

Chitosan과 MAP의 그래프트중합은 적외선 스펙트럼, 전자현미경, X-선 회절분석기를 이용하여 확인하였다. 우선, 적외선 스펙트럼을 나타낸 Figure 1에서 chitosan과 MAP의 호모폴리머, 그리고 중합체인 chitosan-g-MAP의 적외선스펙트럼을 비교해 볼 때 chitosan에서는 관측되지 않는 1700 cm⁻¹ 부근에서 MAP에 있는 카보닐기에 기인한 흡수가 중합체에서 관측되고 1000 cm⁻¹부근에서는 인산기와 C-O기에 기인한 특성 피크가 나타나는 것으로 chitosan에 MAP이 그래프트중합 되었음을 확인할 수 있었다. 한편 Figure 2은 탈아세틸화도가 70%인 chitosan과 chitosan-g-MAP 중합체의 solid state CP/MAS ¹³C NMR 스펙트럼으로 chitosan의 글루코오스 단위에 존재하는 6개 탄소의 존재를 확인하였고, chitin에 있는 아세틸기의 C=O와 CH₃에 기인한 chemical shift가 167.1과 22.8 ppm에서 각각 보인다. 이 chitosan에 MAP가 그래프트 중합시켜 제조한 chitosan-g-MAP의 경우 173.3, 64.2, 44.7 및 17.7 ppm에서 그래프트된 MAP기에 기인한 chemical shift가 관측되는 것으로 그래프트가 진행되었음을 확인할 수 있었다.

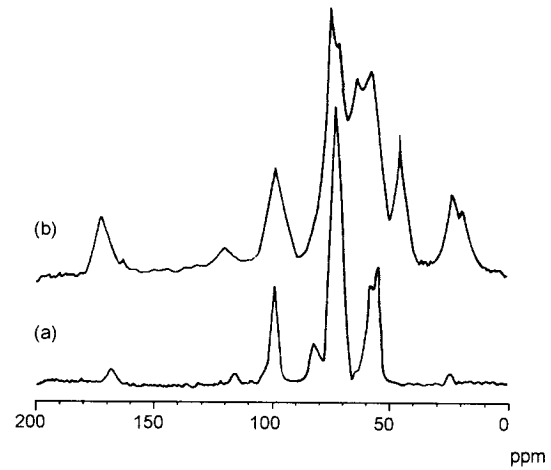


Figure 2. Solid state CP/MAS ¹³C NMR spectra of (a) chitosan and (b) chitosan-g-MAP.

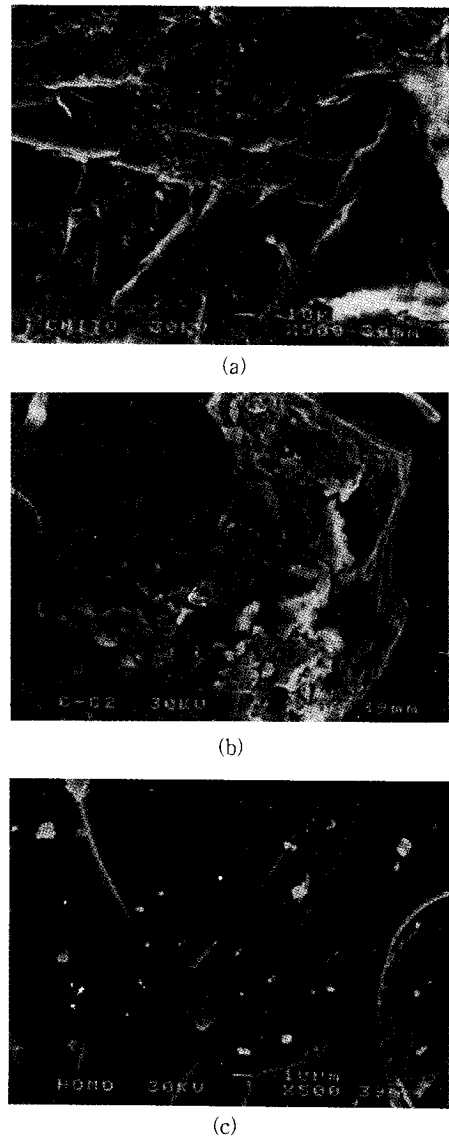


Figure 3. SEM micrographs of (a) chitosan, (b) chitosan-g-MAP and (c) poly(MAP).

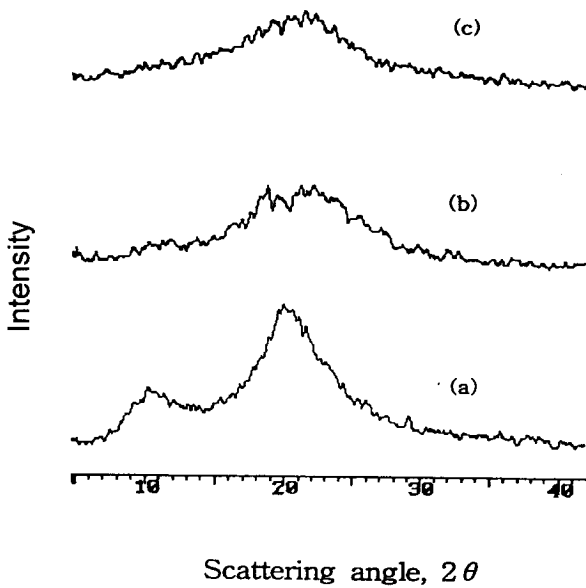


Figure 4. X-ray diffraction patterns of (a) chitosan, (b) chitosan-g-MAP and (c) poly(MAP).

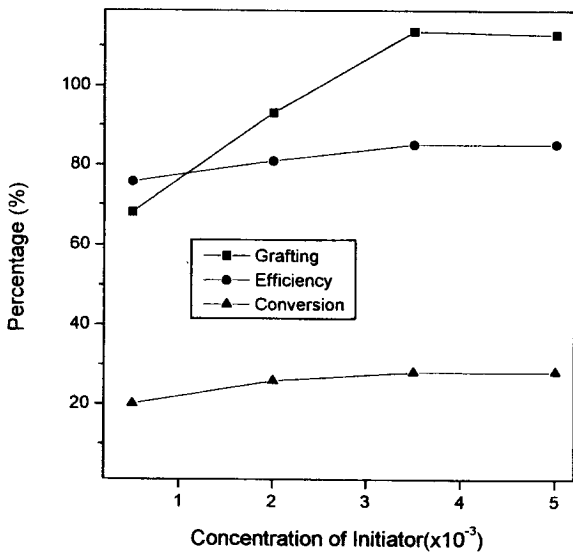


Figure 5. Reaction between percentage of grafting and ceric ammonium nitrate concentration at 40 °C. [chitosan: 2 g, acetic acid(0.5 wt %): 200 mL, MAP: 0.19 M and reaction time: 4 hrs]

Figure 3은 chitosan, chitosan-g-MAP과 호모폴리머의 표면구조를 전자현미경으로 찍은 사진으로 그래프트된 chitosan-g-MAP의 경우 chitosan의 조밀한 모양의 표면위에 poly(MAP)의 특징적인 rough 한 표면구조가 관측되어 그래프트가 되었음을 확인할 수 있었다.

X-선회절분석의 결과로 Figure 4에서는 chitosan인 (a)는 (001)과 (100) 면에 의한 $2\theta = 9.8^\circ$ 의 피크와 (101)과 (002)면의 혼합 결정에 의한 $2\theta = 19.5^\circ$ 의 피크가 나타났고, 그래프트중합체 (b)에서는 그 강도가 감소되는 것으로 보아 그래프트가 진행됨에 따라 chitosan 자체의 분자간 및 분자내의 강한 수소결합의 파괴에 의한 결정성이 감소되는 것으로 생각된다.

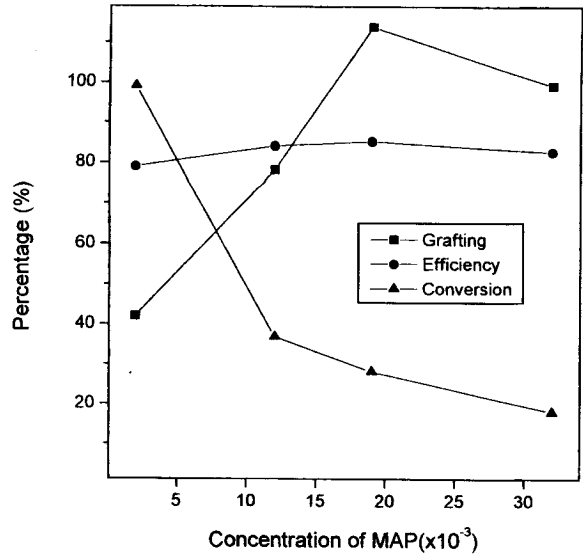


Figure 6. Reaction between percentage of grafting and MAP concentration at 40 °C. [chitosan: 2 g, acetic acid(0.5 wt %): 200 mL, CAN: 3.5×10^{-3} M and reaction time: 4 hrs]

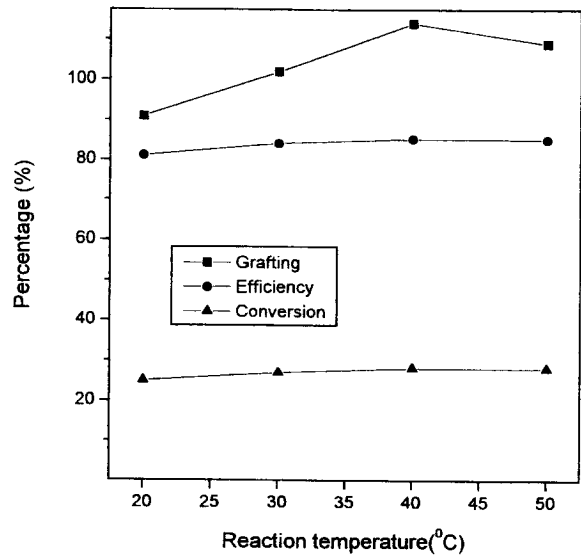


Figure 7. Reaction between percentage of grafting and reaction temperature. [chitosan: 2 g, acetic acid(0.5 wt %): 200 mL, MAP: 0.19 M, CAN: 3.5×10^{-3} M and reaction time: 3 hrs]

3.2. Chitosan-g-MAP의 제조

Cerium염은 환원성기를 갖는 고분자와 용이하게 착물을 형성하여 그래프트중합의 활성점을 생성한다. 이 반응에서 활성점이 되는 위치는 C₂-C₃와 C₆이지만, chitosan과 구조가 매우 비슷한 셀룰로오스에서는 C₂-C₃의 수산기가 C₆의 수산기보다 6배나 산화되기 쉽기 때문에 C₂-C₃이 활성점이 되는 것으로 알려져 있다[10]. 또, chitosan 말단의 경우 C₁-C₂에 활성점이 생기며, 라디칼의 안정성으로 보아 C₁ 위치에 라디칼 형성이 더 용이하다. 따라서, cerium염에 의한 chitosan의 산화반응에 의해 chitosan 분자상에 라디칼이 생성되어 그래프트중합이 개시된다. Figure 5~8은 각 반응조건에 따른 그래프트율을 나타내었다. Figure 5에서는 개시제의 농도 변화에 그래프트율을 나타낸 것으로 개시제인 CAN의 농도 $3.5 \times$

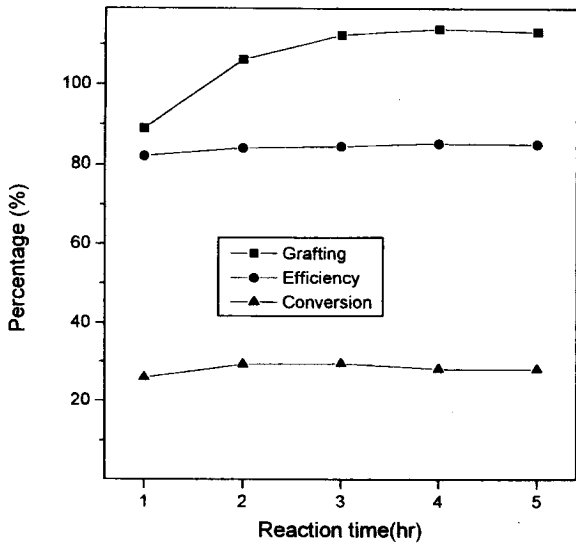


Figure 8. Reaction between percentage of grafting and reaction time at 40 °C. [chitosan: 2 g, acetic acid(0.5 wt %): 200 mL, MAP: 0.19 M and CAN: 3.5×10^{-3} M]

10^{-3} M에서 가장 높은 그라프트율을 나타내었다. 이와 같이 그라프트율에 최적의 개시제 농도가 존재하는 것은 개시제의 농도가 일정량 이상이면 chitosan의 개시라디칼 및 성장라디칼과 cerium 염이 반응해서 그라프트중합의 개시점을 소멸시키던가 혹은 성장을 정지시키는 것에 기인하기 때문으로 추측하였다[10].

Figure 6은 단량체인 MAP의 농도변화에 따른 그라프트율로써 MAP의 농도가 0.19 M 부근에서 최고의 그라프트율을 나타내었다. 이것은 모노머 농도가 과량으로 되면서 chitosan과의 그라프트중합 보다 모노머의 자체중합에 의한 호모폴리머 생성속도가 더 빨라지기 때문으로 추정된다. 한편 Figure 7에서는 반응온도가 40 °C 에서 최고의 그라프트율이 나타나는 것을 볼 수 있는데, 이는 CAN을 개시제로 사용하는 그라프트중합 반응의 일반적인 특징이다[10,20]. 또한, 그라프트율은 반응시간 4시간이 지나면 더 이상 증가하지 않는 것을 Figure 8에서 알 수 있다. 따라서 성장반응이 초기단계에서 지배적으로 일어나며 4시간 이후로는 더 이상 그라프트반응이 진행되지 않고 평형에 도달하는 것으로 사료된다.

3.3. 항균성

3.3.1. pH에 따르는 영향

C. albicans, *T. rubrum* 및 *T. violaceum*에 대해서 chitosan 및 chitosan-g-MAP의 pH에 따른 최적의 항균 조건을 살펴보기 위해 약 산성영역에서 항균실험을 한 결과를 Figures 9~11에 나타내었다. 먼저 Figure 9의 경우 *C. albicans*에 대한 항균능을 살펴본 것으로 DA-70과 90의 경우 최적 pH인 5.75에서는 거의 비슷한 경향으로 85% 정도의 항균력을 나타냈으며, DA-90의 경우 6.16에서는 80% 이하로 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 탈아세틸화반응이 진행될수록 chitosan 자체의 pKa 값이 낮아지는 것을 고려하면 항균성에 미치는 유리아민기의 영향을 예측할 수 있었다. 이러한 pH 의존성은 그라프트가 진행된 chitosan 유도체에서 그 경향은 더욱 크게 나타나는데 pH 5.0 및 5.75에서 95~98%의 항균력을 보이는 반면, pH 6.16에서는 10~15% 이하의 낮은 항균력을 나타내었다. 이것은 *C. albicans* 등과 같은 곰팡이류는 알칼리 영역으로 갈수록 성장이 촉진되는 것과 같은 맥락으로 생각할 수 있다. 한편 Figure 10의 경우는 곰팡이류는 인산염에 자체만에 의해

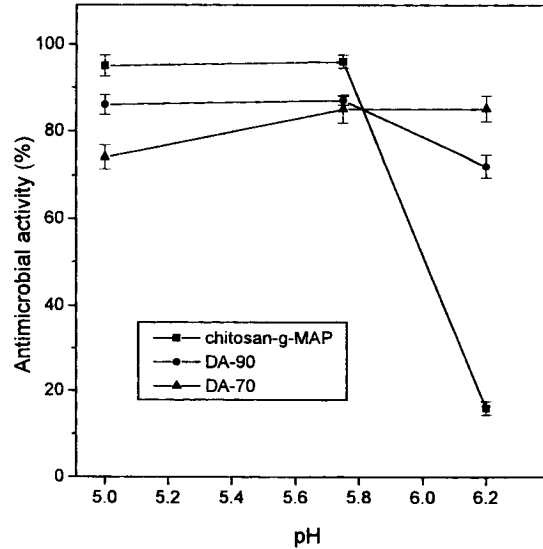


Figure 9. Effect of pH on the antimicrobial activity against *Candida albicans* at the dosage of 0.125 wt %.

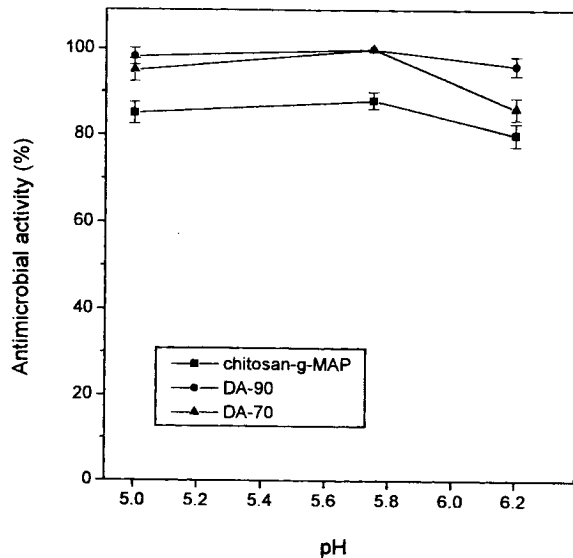


Figure 10. Effect of pH on the antimicrobial activity against *Trichophyton rubrum* at the dosage of 0.125 wt %.

서도 생육억제효과가 있다는 연구결과[16]에 의해 인이 함유되어 있고 chitosan의 단점인 불용성을 해결하기 위하여 수용성 모노머인 MAP를 chitosan에 그라프트 공중합시킨 중합물과 탈아세틸화도가 다른 chitosan과의 항균력을 비교한 결과로서 *T. rubrum*에 대한 항균능은 DA-70과 90이 95%이상의 비슷한 항균력을 나타냈으며, 그라프트된 공중합물인 chitosan-g-MAP은 DA-70과 90보다 10% 이상 항균력이 오히려 더 낮았다. 그러나, 탈아세틸화도가 DA-70의 경우 pH에 영향을 받아 알칼리 영역에 가까울수록 감소되는 경향을 보이지만, pH 5.0과 5.75에서 95% 이상의 높은 항균력을 나타내었다. 특히 그라프트공중합된 chitosan-g-MAP의 경우는 더 큰 폭으로 감소하였지만 전체적으로는 80% 이상의 항균력을 나타낼 수 있었다. 이러한 경향은 곰팡이류는 pH가 감소할수록 생육억제효과가 증가한다[21]는 결과와 일치하고 있다. Figure 11은 *T. violaceum*에 대한 것으로 *T. rubrum*에 대한 항

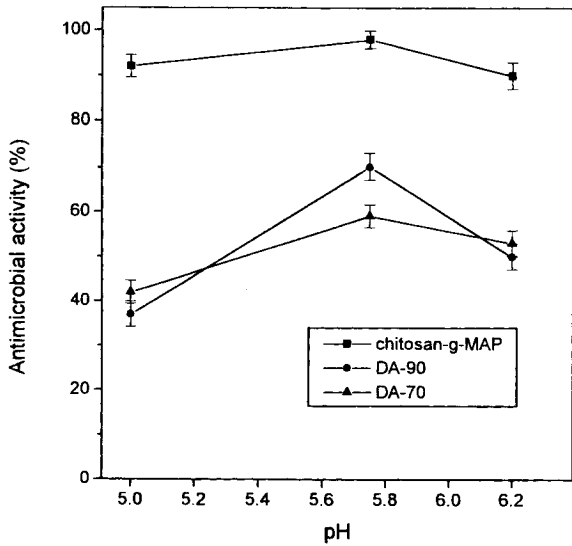


Figure 11. Effect of pH on the antimicrobial activity against *Trichophyton violaceum* at the dosage of 0.125 wt %.

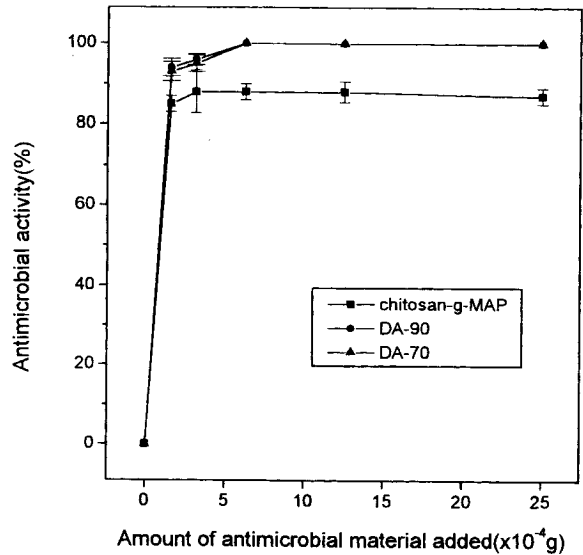


Figure 13. Effect of the antimicrobial material on the antimicrobial activity against *Trichophyton rubrum* at the pH 5.75.

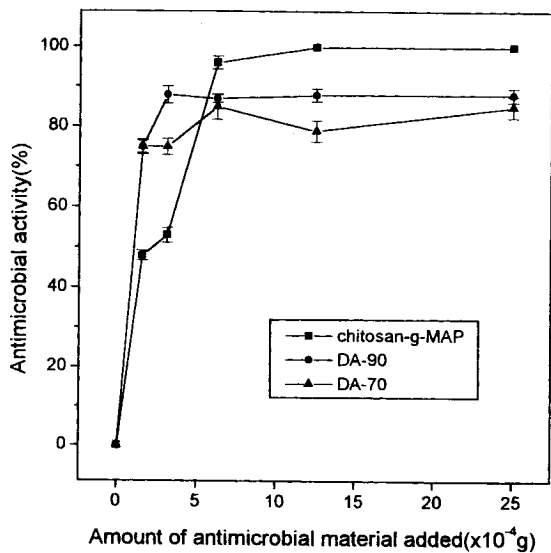


Figure 12. Effect of the dosage of antimicrobial material on the antimicrobial activity against *Candida albicans* at the pH 5.75.

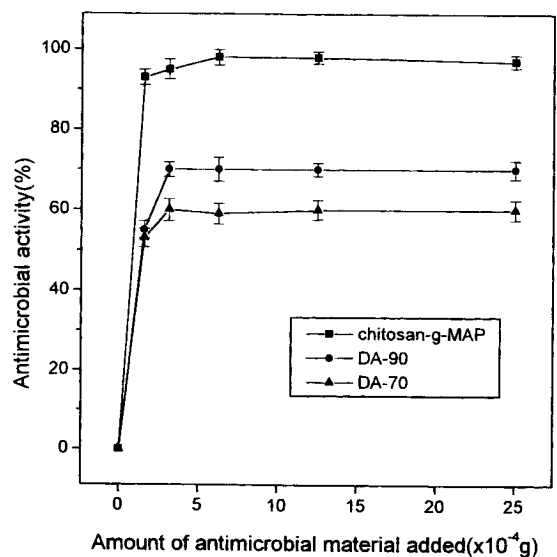


Figure 14. Effect of the dosage of antimicrobial material on the antimicrobial activity against *Trichophyton violaceum* at the pH 5.75.

균력과 비교해 볼 때 탈아세틸화도가 다른 chitosan인 DA-70과 DA-90은 음이온성 작용기가 그래프트된 chitosan-g-MAP과 서로 상반되는 항균력을 보이고 있다. 항균력이 40~70%를 나타내는 DA-70과 DA-90보다 그래프트된 chitosan-g-MAP이 월등히 우수한 95% 이상의 항균력을 나타냄을 알 수 있다. 따라서 pH가 5.75에서 가장 우수한 항균성능이 발현됨과, 곰팡이 균류에 대한 선택성이 나타남을 확인할 수 있었다. 이러한 특이성은 곰팡이류의 세포벽이 chitin과 cellulose, 그리고 β -glycan 등으로 이루어져 있기 때문[22]에 이들 chitosan 또는 그 유도체들과 곰팡이의 세포벽과의 친화력의 차이에서 오는 영향으로 추측하였다.

3.2.2. 농도에 따른 영향

Chitosan 및 chitosan-g-MAP의 농도에 따른 *C. albicans*, *T. rubrum* 및 *T. violaceum*에 대한 항균효과를 살펴본 결과를

Figure 12~14에 나타내었다. Figure 12는 최적의 pH 영역인 5.75에서 *C. albicans*에 대한 농도 변화에 따른 영향을 살펴본 결과 농도가 0.125 wt %일 때 모든 항균제의 최고의 항균력을 나타내었으며, 그 이상에서는 거의 변화가 없는 항균력을 나타냈다. Chitosan은 탈아세틸화도가 높을수록 더 좋은 항균력을 그래프트된 chitosan-g-MAP은 거의 100%에 가까운 항균력을 보였다. 앞서 언급한 바와 같이 곰팡이와 도입된 모노머와의 친화력 및 유리 아민기의 함량에 의한 영향으로 생각하였다. Figure 13은 *T. rubrum*에 대한 항균력으로 chitosan의 경우 DA-70과 90은 농도가 0.03125 wt %로도 90% 이상의 항균능을 나타내었으며 음이온성 작용기가 도입된 chitosan-g-MAP의 경우는 다소 떨어진 0.0625 wt %의 농도에서 85%의 항균력을 나타내었으며, 그 이상의 감소는 확인할 수 없었다. 그러나 chitosan의 경우는 DA-70은 0.125

wt % 농도로 완전히 곰팡이의 성장을 억제하였으며, 아민기 함량이 더 높은 DA-90 역시 0.125 wt % 만으로도 억제함을 확인할 수 있었다. 따라서 *T. rubrum*에 대한 항곰팡이성은 pH 변화에서도 나타난 바와 같이 아민기의 함량이 항균력에 미치는 영향은 거의 없음을 알 수 있었다. *T. violaceum*에 대한 항균능을 살펴본 Figure 14의 경우는 Figure 13와는 달리 아민기의 함량이 증가할 수록 항곰팡이성은 다소 증가하지만 그라프트화합물인 chitosan-g-MAP의 경우 훨씬 증가된 항곰팡이성을 확인할 수 있다. 즉, chitosan의 경우 DA-70과 90의 경우 0.0625 wt % 이상의 농도에서 각각 60% 및 70%의 항균력을 나타내지만 그 이상의 증가를 확인할 수 없었으며, chitosan-g-MAP는 0.3125 wt % 농도에서도 90% 이상의 높은 항균력을 나타내었다. 그라프트가 진행됨에 따라서 피라노즈 고리의 개환반응으로 유리 아민의 함량이 감소된다 [19]. 그러나 항균성에 있어서 활성기라고 할 수 있는 유리 아민기의 감소에도 불구하고 항균력이 증가하는 것은 진균세포막이 이중막으로 인지질을 함유하고 있기 때문에 이들이 그라프트된 MAP의 인산염과 친화성에 기인한 영향이 크게 받아 chitosan-g-MAP의 항균능이 증가되는 것은 인산염 자체만으로도 생육억제효과가 있다는 연구결과와 같은 경향을 나타내었다[16,23].

4. 결 론

1) 생체고분자인 chitosan을 이용하여 새로운 의약품재료로서의 응용가능성을 살펴보기 위해 수용성모노머인 MAP를 개시제로 CAN을 이용하여 새로운 양쪽성 chitosan 중합체를 합성하였으며, 이들의 구조 확인은 FT-IR과 solid state CP/MAS ¹³C NMR, SEM, X-ray 회절장치를 이용하여 확인하였다.

2) 그라프트 공중합은 개시제인 CAN의 농도 3.5×10^{-3} M, 모노머인 MAP의 농도 0.19 M, 그리고 온도 40 °C 부근에서 최고의 그라프트율을 나타내었고 반응시간 4시간 이후로 그라프트율은 더 이상 증가하지 않았다. 모노머의 그라프트효율도 그라프트율과 거의 같은 경향을 나타내었다.

3) *Candida albicans*의 경우 pH 5.0~5.75에서 모든 항균제가 75~98%의 항균력을 보였고, MAP은 pH 6.16에서 15% 미만의 항균력을 나타내었지만, *Trichophyton rubrum*의 경우에는 DA-70과 90은 pH 5.0~5.75에서 95% 이상의 항균력을 나타낸 반면 *Trichophyton violaceum*은 반대 현상으로 MAP이 90% 이상의 항균력을 나타내었다.

4) *Candida albicans*은 항균제의 농도가 0.125 wt %에서 MAP은 거의 100%에 가까운 항균력을 DA-70과 90은 85% 정도의 비슷한 항균력을 나타냈으며, *Trichophyton rubrum*은 항균제의 첨가량이 0.0625 wt % 이상에서는 85% 이상의 항균력을 나타냈으나 DA-70과 DA-90이 MAP보다 10% 정도의 더 좋은 항균력을 나타냈다. *Trichophyton violaceum*의 경우는 MAP은 90% 이상의 높은 항균력을 나타냈으며, DA-70과 DA-90은 60~70% 정도의 항균력을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. R. A. A. Muzzarelli, "Chitin", Pergamon Press, Oxford(1977).
2. R. A. A. Muzzarelli, and E. R. Pariser, Proc. 1st Conf. Chitin/Chitosan, MIT Cambridge (1987).
3. S. Hirano and S. Tokura, Proc. 2nd Conf. Chitin/Chitosan, The Japanese Society Chitin and Chitosan (1982).
4. J. P. Zikakis, Chitin, Chitosan and Related Enzyme, Academic Press, New York (1984).
5. 平野茂博 : 化學と生物, 21, 635(1984).
6. W. M. Hou, S. Miyazari, and M. Takoda, Chem. Pharm. Bull., 33, 3986(1985).
7. S. Hirano and Y. Noisiki, J. Biomed. Mat. Res., 19, 413(1985).
8. K. Kojima, M. Yoshikuni, and T. Suzuki, J. Appl. Polym. Sci., 24, 1587(1979).
9. M. A. Bough, Food Product Development, 11, 90(1977).
10. W. Li, Z. Li, W. Liao and X-D. Feng, J. Biomater. Sci. Polymer Edn., 4, 557(1993).
11. C. R. Allan and L. A. Hadwiger, Exp. Mycol., 3, 285(1979).
12. D. F. Kendra and L. A. Hadwiger, Exp. Mycol., 8, 276 (1984).
13. Y. Uchida, Food Chemical, 2, 22(1988).
14. C. H. Kim, S. Y. Kim and K. S. Choi, Polym. Adv. Technol., 8, 319(1997).
15. C. H. Kim, J. W. Choi, H. J. Chun and K. S. Choi, Polym. Bull., 38, 387(1997).
16. J. Y. Song, I. H. Kim and D. H. Chung, J. of Food Hygiene and Safety, 10, 199(1995).
17. S. Mima, M. Miya, R. Iwamoto and S. Yoshikawa, J. Appl. Polym. Sci., 28, 1909(1983).
18. I. Goni, M. Gurruchaga, M. Valeru and G. M. Guzman, J. Polym. Sci., 21, 2573(1983).
19. S. W. Fang, C. F. LI and D. Y. C. Shin, J. Food Protection, 57, 136(1994).
20. H. Ide, Graft Polymerization and Its Application, Chater 2, Polymer-Publication Conference, Kyoto, Japan (1977).
21. F. J. Post, G. B. Krihnmurty and M. D. Flanagan, Appl. Microbial., 11, 430(1963).
22. M. G. Shepherd et al., in Microbial Cell Wall Synthesis and Autolysis, ed. by C. Nombela, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 73(1984).
23. J. G. Creager, J. G. Black and V. E. Davison, Microbiology Principles and Application, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, U.S.A., 75(1990).