31F06

키토산 제4급 암모늄 유도체의 항미생물성과 동적 점탄성 거동

최재원, 김영호, 이명학*, 임채근

*숭실대학교 섬유공학과, *한국섬유기술연구소*

1. 서 론

키토산은 분자 내에 화학 반응성이 큰 히드록시기와 아민기가 함께 존재하는 다관능성 물질이다. 이러한 반응성이 큰 관능기를 이용하여 새로운 기능기를 도입시켜 유도체를 합성[1,2]하면 키토산의 제한된 용해성을 개선하고 고유의 생체적합성, 무독성, 이온 흡착성, 항미생물성 등의 특성[3]에 상승효과를 부여할 수 있다. 키토산을 4급 암모늄화시킨 유도체의 경우 분자쇄 내에 도입된 암모늄기에 의해 치환도가 어느 정도 이상으로 커지면 액의 pH와 관계없이 물에 용해하게 된다. 본 연구에서는 이러한 점을 고려하여 키토산의 아민기에 4급 암모늄염 화합물인 glycidyltrimethylammonium chloride(GTMAC)와 반응시킨 N-(2-hydroxy)-3-propyltrimethyl ammonium chitosan chloride(HTCC)와 methyl iodide(CH_3I)를 반응시킨 N-Trimethyl Chitosan Ammonium Iodide(TMCI) 및 TMCI의 보다 안정한 염소염 형태인 N-Trimethyl Chitosan Ammonium Chloride(TMCC)를 합성하였다. 이들 유도체들을 IR, NMR을 사용하여 분석하고, 동적 점탄성 거동 및 열적 성질을 측정하여 출발물질인 키토산과 비교하였다. 또한 이들 유도체들의 항미생물성을 조사하였으며, 이들을 실제로 면직물에 처리하여 그 처리 직물의 항미생물성을 측정하여 섬유용 가공제로서의 가능성을 검토하였다.

2. 실 험

2.1 HTCC의 합성

탈아세틸화도 87%, 분자량 약 29만인 키토산을 정제한 후[4] 물에 분산시키고 교반하면서 GTMAC와 80℃에서 24시간 반응시켰다. 이 반응물을 여과하여 수용성분과 불용성분으로 분리한 뒤 수용성분을 재침전시켜 여과하고 반복 수세하여 분말상의 생성물을 얻었다. 이 시료의 염소원자 함량을 개량 연소 플라스크법에 의해 구하고 치환도를 계산한 결과 1.01이었다.

2.2 TMCI의 합성

키토산을 N-methyl-2-pyrrolidone(NMP)에 분산시킨 뒤 CH_3I, NaI, NaOH 수용액을 넣은 후 60℃에서 반응시켰다. 이 반응물을 여과하여 NMP에 녹아 있는 성분과 녹지 않는 성분으로 분리한 뒤 재침전시켜 여과후 반복 수세하여 분말상의 생성물을 얻었으며 개량 연소 플라스크법에 의한 요오드 함량으로부터 구한 치환도는 0.81이었다.

2.3 TMCC로의 전환

수용성 TMCI를 물에 용해한 뒤 에탄올에 염산을 첨가한 용액에 서서히 적하하여 TMCC를 형성시켰다. 이를 여과한 후 다시 물에 용해하며, 이 과정을 2~3회 반복하여 분말상의 TMCC를 얻었다.

2.4 HTCC, TMCI, TMCC의 분석

각 시료를 필름이나 KBr 펠렛으로 만들어 적외선 분광분석기로(Perkin Elmer, Spectrum 2000) IR 스펙트럼을 얻었고, D_2O에 용해하여 AMX 500(500 MHz, Bruker)을 사용하여 H^1-NMR 스펙트럼을 얻었다. TGA(Seiko, TG/DTA 6200)를 사용하여 등온 분해거동과 비등온 분해거동을 비교 검토하였으며, 분말 시료로 하여 X선 회절장치(MAC Science, M18XHF)로 X선 회절곡선을 얻었다. 또한 시료를 필름으로 만든 뒤 DMA(Seiko, DMS 210)를 사용하여 tension mode로 동적 점탄성 거동을 분석하였다.

2.5 HTCC, TMCI, TMCC의 항미생물성

HTCC, TMCI, TMCC를 액체희석 배지법으로 실험하여 균 최소억제농도를 측정하였다. 또한 이들을 여러 농도의 수용액으로 하여 면직물에 처리한 후 건조하여 AATCC 100[5]에 의해 각각 그람 음성균인 *Klebsiella pneumoniae*(A.T.C.C. No.4352)와 그람 양성균인 *Staphylococcus-aureus*(A.T.C.C. No.6538)를 공시균으로 하여 항미생물성을 시험하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

Fig. 1은 키토산과 이들 유도체들의 비등온 열중량 분석 결과를 나타낸 것이다. 키토산의 경우 약 150℃에서부터 초기 분해가 시작되어 290℃ 부근에서 최대속도로 분해가 일어난다. 그러나 HTCC, TMCI, TMCC 모두 약 200℃까지 수분 증발 외에는 무게 감소가 일어나지 않고 있어서 200℃ 이내 범위의 실용상에 문제가 없음을 알 수 있다.

본 연구에서 사용한 키토산과 이들 유도체들에 대해서 DSC에 의해 분석했을 때 수분 피크를 제외하고는 분해 전 용융이나 결정화에 의한 피크는 관찰할 수 없었다. 따라서 이들은 비결정성 고분자이거나 결정성이더라도 용융되기 전에 분해되는 고분자로 생각할 수 있다. 이를 확인하기 위해 실험에 사용한 키토산과 HTCC(치환도 1.01), TMCI(치환도 0.81), TMCC의 X선 회절곡선들을 나타낸 것이 Fig. 2이다. 일반적으로 키토산은 탈아세틸화도가 높아질수록 새로운 결정의 형성으로 $2\theta=10°$ 및 $20°$ 부근에 피크가 형성되는데 본 실험에 사용한 키토산의 경우도 이와 일치하고 있다. HTCC의 경우는 키토산에 비해 결정성의 큰 감소는 없으나, TMCI의 경우는 거의 무정형에 가깝게 나타나고 있어 실험에 사용한 키토산의 경우보다 현격한 결정성의 감소를 보여주고 있다. 반면 TMCC의 경우는 $2\theta=10°$ 부근에서 피크가 나타나는데, 이는 NH_3^+에 의한 피크로 Sakurai 등[6]의 연구 결과와 일치하고 있다.

일반적으로 천연 고분자의 경우 유리전이온도를 측정하는 것은 매우 까다롭기 때문에 DSC보다 훨씬 분자쇄의 거동을 민감하게 인지할 수 있는 DMA에 의해 $\tan\delta$의 최대 피크 온도에 의해 유리전이온도를 측정하였다. 한편 키토산을 유기산에 녹인 뒤 필름으로 제조하는 경우 키토산의 아민기는 산과 염을 형성한 채로 존재한다. 이들 시료들의 유리전이온도 등은 중화시킨 키토산과 다르게 될 것으로 생각된다. 이를 확인하기 위해 실험에 사용한 키토산을 각각 아세트산과 포름산에 용해하여 필름을 제조한 후 중화처리 한 것과 하지 않은 시료에 대해서 $\tan\delta$ 값의 변화를 나타낸 것이 Fig. 3이다. 키토산 포름산염인 경우 α,β,γ-이완이 모두 나타나는 반면 아세트산염의 경우에는 α,β-이완만 나타나며 α-이완온도는 약 140℃로 이를 유리전이온도로 볼 수 있다. 중화시킨 필름의 경우에는 γ-이완만 나타나며 여기에서 키토산의 아민기에 도입된 분자쇄에 따라 분자쇄의 거동은 달라질 수 있음을 예측할 수 있다. Fig. 4는 HTCC, TMCI 및 TMCC의 $\tan\delta$ 값 변화를 보여 주고 있다. HTCC의 경우 아민기에 도입된 치환기의 영향에 의해 주쇄의 회전이 방해되므로 γ-이완만이 -50℃ 부근에서 나타나고 있다. 반면 TMCI, TMCC의 경우는 아민기에 메틸화된 메틸기의 영향으로 α-이

완점이 감소되고 있음을 보여준다.

키토산과 4급 암모늄화된 유도체인 HTCC, TMCI, TMCC의 항미생물성을 알아보기 위해 균주에 대한 최소억제농도를 측정한 결과를 나타낸 것이 Table 1이다. HTCC, TMCI, TMCC의 경우 모두 3종류의 균에 대해 MIC가 약 60~125㎍/ml로 매우 우수한 자체 항미생물성을 나타내었다. 한편 키토산의 경우는 물에 녹지 않으므로 1% 아세트산에 용해하여 실험한 결과 250~500㎍/ml로 나타났다. 그러나 순수한 물에 녹인 HTCC나 TMCI, TMCC와는 달리 키토산인 경우에는 계 내에 아세트산이 존재한다. 미생물 균주의 성장이 이루어지는 최적 pH가 6.5~7.0 정도라는 것을 감안할 때 키토산 용매로 사용한 아세트산에 대한 균주의 성장 정도를 동시에 검토하여야 한다. 그 결과 아세트산만 사용하는 경우에도 MIC는 0.5㎍/ml로 나타났다. 따라서 키토산 자체의 항미생물성의 발현이라기 보다는 계 내에 존재하는 아세트산이 미생물의 성장을 억제하였기 때문이라고 생각할 수 있다. 그러나 새로이 합성된 4급 암모늄 유도체들의 경우는 이들이 고분자량 임에도 불구하고 높은 항미생물성을 나타내고 있어 4급 암모늄화에 의해 항미생물성이 향상되었음을 알 수 있다.

Table 2는 키토산과 이들 유도체를 0.1% 농도로 하여 면직물에 처리하고 처리직물의 항미생물성을 나타낸 결과이다. 키토산으로 처리한 경우 수세 후 중화한 것과 중화하지 않은 시료에 대해 황색 포도상구균이나 폐렴균 모두 균감소율이 14~19%이나 HTCC, TMCI, TMCC의 경우는 균감소율이 100%로 월등히 높은 수치를 나타내주고 있다. 키토산 처리의 경우 중화하지 않은 시료가 중화한 시료보다 균감소율이 약간 높으며 이는 역시 아세트산 때문인 것으로 보인다.

참고문헌

1. R.A.A. Muzzareli, F. Tanfani, and S. Mariotti, *Carbohydrate Research*, **107**, 199(1985).
2. S. Grant, H.S. Blair and G. Mckay, *Polymer Communication*, **29**, 333(1988).
3. P.A. Sandford, "Chitin and Chitosan"(G.Sajak-Braek, T.Anthonsen, and P.A.Sandfords Ed.), p.51, Elsevier Applied Science, London, 1992.
4. H. Fukuda, and Y. Kikuchi, *Bull. Chem. Soc.*, **51**, 1142(1978).
5. AATCC, "AATCC Technical Manual", **68**, p.148, 1993.
6. K. Sakurai, T. Shibano, and T. Takahashi, *Memoirs of the Faculty of Eng. Fukui University*, **33**, 71(1985).

Table 1. Minimum inhibitory concentration(MIC) against bacteria by HTCC, TMCI, TMCC, and chitosan.

Bacteria	Minimum Inhibitory Concentration (㎍/㎖)				
	HTCC	TMCI	TMCC	chitosan	acetic acid
Staphylococcus aureus (A.T.C.C. No.6538)	125	125	62.5	500	0.5
Klebsiella pneumoniae (A.T.C.C. No.4352)	125	62.5	62.5	500	0.5
Escherichia coli (A.T.C.C. No.25922)	125	125	125	250	0.5

Table 2. Antimicrobial activity of cotton fabrics treated with 0.1% solution of chitosan and its derivatives.

Bacteria	Reduction of bacteria (%)				
	HTCC	TMCI	TMCC	chitosan with neutralization	chitosan without neutralization
Staphylococcus aureus (A.T.C.C. No.6538)	100	100	100	11.6	19.9
Klebsiella pneumoniae (A.T.C.C. No.4352)	100	100	100	10.5	14.2

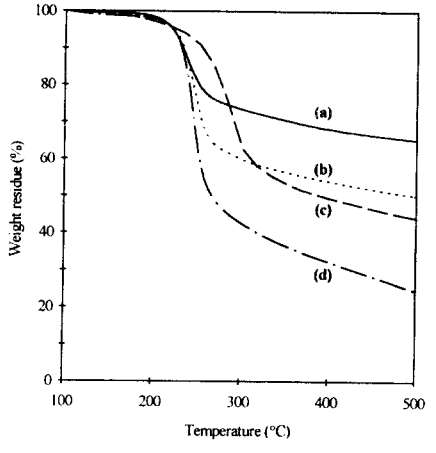

Fig. 1. Nonisothermal TGA curves of (a) TMCC, (b) TMCI, (c) chitosan and (d) HTCC. Heating rate : 10°C/min

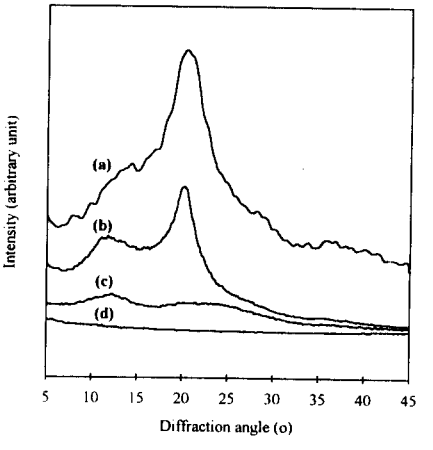

Fig. 2. X-ray diffraction curves of (a) HTCC, (b) chitosan, (c) TMCC and (d) TMCI.

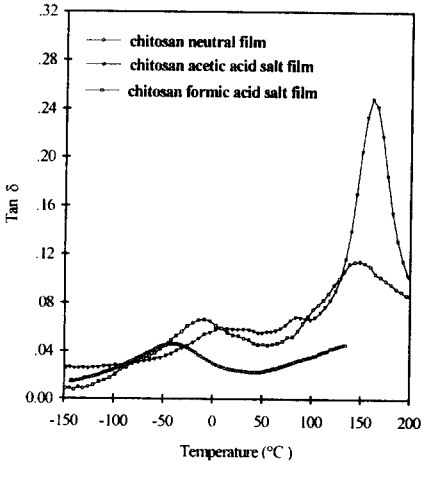

Fig. 3. Temperature dependence of tan δ mesuread at 10Hz for chitosan films.

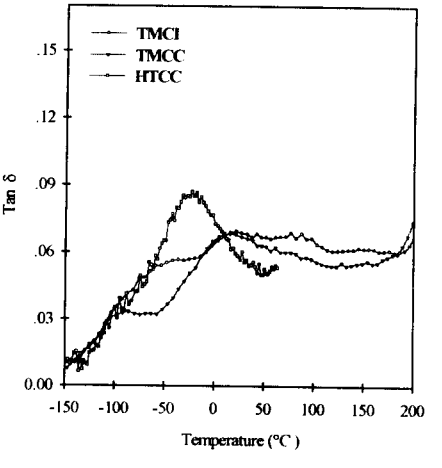

Fig. 4. Temperature dependence of tan δ mesuread at 10Hz for chitosan quaternary ammonium derivatives.