한국생물공학회지 제 14권 제 1호
Korean J. Biotechnol. Bioeng.
Vol. 14, No. 1, 58-65(1999)

pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤의 팽윤 특성

손 창 규 · [1]정 인 식 · †박 창 호
경희대학교 화학공학과, [1]유전공학과, 경희대학교 재료과학기술연구부
(접수 : 1998. 9. 15., 게재승인 : 1998. 12. 29.)

Swelling Characteristics of a Hydrogel, poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N*, *N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide), Sensitive to Both pH and Temperature

Chang Kyu Son, In Sik Chung,[1] and Chang-Ho Park†
Department of Chemical Engineering.
[1]Genetic Engineering and Institute for Material Science and Technology, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea
(Received 1998 9. 15., Accepted 1998. 12. 19.)

A hydrogel, poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide), sensitive to both pH and temperature was synthesized and characterized for its swelling behavior, lower critical solution temperature (LCST), and its appearance. The hydrogel with 5 mol% of *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide (DMAPMAAm) increased its volume phenomenonally in a lower pH range (pH 1~8) even at temperatures (37℃ and 40℃) higher than LCST. This behavior was unique compared to the temperature-sensitive hydrogel which did not exhibit any swelling in the same pH range. The hydrogel with 20 mol% of DMAPMAAm was swollen significantly at a higher pH of 12. With pH decrease from 12 to 2 water content in the gel increased from 38.8 wt% and 60.6 wt% to 84.7 wt% and 90.8 wt% for 5 mol% and 20 mol% gel, respectively. The transition pH that pH effect overwhelmed temperature effect occurred at a lower pH for a higher temperature (40℃) and a lower mol% (5 mol%) of DMAPMAAm. Transparency and LCST of the gel increased with higher DMAPMAAm mol%.

Key Words : pH/temperature-sensitive, hydrogel, swelling behavior, phase transition, LCST

서 론

온도, pH, 이온력, 전기장, 혼합용매, 압력 등에 의해 부피상 전이현상(volume phase transition phenomena)을 갖는 하이드로젤에 대하여 그 팽윤 특성이 연구되어 왔다 (1-10). 하이드로젤은 화학적으로 crosslink된 고분자 물질로서 그 부피 변화가 가역적이어서 용질의 분리공정(11-14), 효소나 세포의 고정화 (15, 16), 용질의 제어전달(17, 18) 등에 사용되고 있다.

pH 민감성 하이드로젤은 음이온성 또는 양이온성 고분자 network로서 이온조성과 고분자 분자구조에 따라 외부 pH에 따른 팽윤특성이 다르며 이를 약물전달에 유용하게 사용하고 있다. 이러한 부피 변화를 일으키는 주된 추진력(driving force)은 외부 pH의 변화에 의해 젤 matrix에 결합된 전하 group들 사이의 이온반발력(ionic repulsion)이다.

온도민감성(temperature-sensitive) 하이드로젤은 어떤 전이 온도를 전후하여 그 부피가 불연속적으로 변하는 특이한 열역학적 성질을 갖는다. Poly(*N*- isopropylacrylamide) gel의 경우 25℃ 수용액 중에서 그 건조 중량의 30배까지 부풀어오르나 온도가 상승함에 따라 연속적으로 부피가 감소하다가 33℃에 이르러 불연속적으로 부피가 감소되고 더 이상의 가열에도 부피는 추가로 감소하지 않는다. 이러한 pH 또는 온도에 민감한 하이드로젤이 가지고 있는 중요한 특성은 이러한 부피 변화가 가역적 (reversible)이며, 비교적 작은 pH 또는 온도 변화로도 재생하여 반복 사용할 수 있다는 것이다.

온도와 pH 두 변수에 의해 동시에 영향을 받는 하이드로젤에 대하여 연구되어 왔다(19-24). pH 민감성과 온도민감성을 동시에 갖고 있는 하이드로젤은 pH와 온도에 각각 민감한 성분을 포함하는 친수성 고분자 network로서, 온도에 민감한 성분은 젤이 lower critical solution temperature (LCST)를 나타내게 하는 단량체이며(25), pH에 민감한 성분은 젤의 이온화에 강력한 영향을 주어 젤의 팽윤이 pH에 의존하게 하는 이온성 단량체이다(19). Feil 등은 온도에 민감한 성분으로 *N*-isopropylacrylamide를, pH에 민감한 성분으로 (diethylamine)ethylmethacrylate (DEAEMA)를, 젤의 기계적 안정성 (기계적 강도 보존)을 증가시키기 위해 butyl methacrylate (BMA)를 사용하여 하이드로젤을 합성하여 이 젤의 팽윤이 pH 및 온도 각각에 어

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Kyung Hee University, Yongin, Kyunggi 449-701, Korea
Tel : 0331-201-2531, Fax : 0331-202-1946
e-mail : chpark@nms.kyunghee.ac.kr

떻게 영향을 받는가를 보고하였다(19).

온도 및 pH에 동시에 민감한 하이드로젤은 서방성 약물전달 또는 생물분리정제에 응용할 수 있다. 서방성 약물전달의 경우 예를 들면 인체 내에서 소화기관마다 고유의 pH가 있는데 pH에 민감한 하이드로젤이 이 소화기관의 위치에 따라 수축하여 약물을 전달할 수 있다 생물분리정제공정의 경우 하이드로젤을 이용한 분리공정은 일종의 한외여과 (ultrafiltration)로서 용질을 고압이나 높은 shear 상태에 노출시키지 않기 때문에 단백질의 기능 (효소의 활성)을 떨어뜨리지 않고 분리 정제할 수 있어 유용성이 클 것으로 예상되고 있다(11-14).

pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤을 생물 분리정제 공정에 응용할 수 있는 기본 원리는 다음과 같다. 우선 수축된 (collapsed) 젤을 분리하고자 하는 macromolecule 이 녹아있는 희석된 (dilute) 용액에 넣는다. 이 용액의 온도/pH는 닞기 때문에 젤은 부풀면서 저 분자량인 용매 (물) 및 작은 크기의 용질을 흡수한다. 고 분자량의 용질은 흡수되지 않고 젤 밖에 머물게 된다 이렇게 해서 농축된 고 분자량의 용질이 들어 있는 raffinate로부터 부풀어 오른 젤을 여과나 원심분리를 이용하여 분리한다. 분리된 젤의 온도/pH를 올려주면 젤은 수축되고 젤 내부에 흡수되었던 용매와 저 분자량의 용질이 젤 밖으로 나오게 된다. 이렇게 수축된 젤을 용매로부터 분리해내면 한 cycle을 마치게 되고 다음 cycle에도 같은 방법으로 젤을 재사용 할 수 있는 것이다.

온도민감성 하이드로젤이나 pH민감성 하이드로젤과는 달리 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤의 경우 겔이 수축되는 LCST보다 높은 온도에서도 pH에 의해 팽윤되는 특성을 가지고 있기 때문에 유용할 것으로 생각된다

본 연구에서는 *N*-isopropylacrylamide를 온도에 민감한 성분으로 사용하였고, *N,N'*-methylenebisacrylamide를 가교제로 사용하였다. Initiator 및 accelerator는 ammonium persulfate 및 *N,N,N',N'*-tetraethylmethylenediamine를 첨가하였다. pH에 민감한 부분을 만들기 위하여 *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide를 여러 가지 몰분율로 가해주어 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤을 합성하고, 겔 외형, 상전이 온도, 상전이 pH 등의 특성을 파악하며, 이 젤의 팽윤 특성에 미치는 외부 온도(25℃~40℃)와 외부 pH (1~12)의 영향을 조사하였다.

또한 본 연구에서는 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤이 인체내 약물전달 재료로 응용될 수 있는 특성이 있을 것으로 판단되어 인체온도와 유사한 37℃에서, 그리고 pH의 경우 위장의 pH를 포함하는 pH 1~12의 영역에서 젤 팽윤-수축 실험을 수행하였다

재료 및 방법

시 약

본 연구에서 *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm)는 Eastman Kodak사에서, *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide (DMAPMAAm)는 Virginia Chemical사에서 구입하여 사용하였다. *N,N'*-methylene-bis-acrylamide (MBAAm)와 ammonium persulfate (APS) 그리고 *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED)은 electophoresis grade로 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

하이드로젤 합성

본 연구에서 하이드로젤은 monomer로 NIPAAm과 DMAPMAAm을 여러 몰분율로 섞은 후 free-radical copolymerization의 방법으로 합성하였다. 합성된 poly(*N*- isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide) (이하 PND로 명명함) 내에 포함된 NIPAAm과 DMAPMAAm의 조성은 Table 1에 명시하였다. Crosslinker로써 MBAAm을 0.16g씩 첨가하였고, monomer들과 함께 250mL 삼각플라스크에서 20mL 탈이온 증류수에 용해시킨 후 질소로 5분간 sparging하여 잔존 산소를 제거하였다. 용액을 유리실린더(내경 36mm, 높이 191mm)로 옮긴 후 TEMED를 accelerator로 0.25mL 첨가하고 다시 5분간 질소로 sparging한 후 initiator로 APS를 25mg 첨가하였다. 중합은 18℃의 cooling water bath (Vision Scientific Co., Korea)에서 수행하였으며, 용액의 점도가 뚜렷이 변하는 시점까지 질소로 sparging 하고, stopper로 위쪽을 막음으로써 종료하였다. 합성된 하이드로젤을 유리실린더에서 꺼내어 우선 탈이온 증류수로 세척하고, 25℃와 40℃의 탈이온 증류수에서 팽윤과 수축을 반복시켜 미반응성분을 제거하였다. 합성된 실린더 형태의 젤은 1mm 두께로 얇게 자른 후 punch로 직경 10mm의 겔 디스크 형태로 만들어 사용하였다. 모든 겔 디스크들은 25℃로 유지된 다량의 탈이온 증류수에서 48시간 이상 보관하여 충분히 평형에 이르게 한 후 실험에 사용하였다

Table 1. Composition of hydrogel, poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide).

Gel code	Molar ratio (NIPAAm/ DMAPMAAm)	NIPAAm (g)	DMAPMAAm (g)	MBAAm (g)
PND 0%	100 / 0	3.840	0	0.16
PND 5%	95 / 5	3.557	0.283	0.16
PND 20%	80 / 20	2.786	1.051	0.16

: Monomers and the crosslinker were dissolved in 20mL of deionized-distilled water. MBAAm was 4 wt% of the total monomer PND 0%, PND 5% and PND 20% mean poly (*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide) hydrogel containing 0 mol%, 5 mol% and 20 mol% of *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide, respectively.
NIPAAm : *N*-isopropylacrylamide
DMAPMAAm : *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide
MBAAm : *N,N'*-methylene-bis-acrylamide.

하이드로젤 외형 비교

DMAPMAAm 몰분율을 0, 5, 20 mol%로 하여 제조된 각각의 하이드로젤에 대하여 젤화(gelation)가 끝난 후 유리실린더에 담겨 있는 그대로의 젤 색깔과 투명도로 비교하였다

Lower critical solution temperature (LCST) 측정

LCST의 측정은 differential scanning calorimeter (DSC) (Perkin Elmer, DSC7)를 사용하였다. 하이드로겔 1~4mg을 알

루미늄 재료의 DSC용 liquid pan에 넣고 봉합한 후 온도를 20℃에서 45℃까지 2℃/min의 heating rate로 올리며 computer thermal analyzer가 젤이 수축하는 onset 온도를 분석함으로써 측정하였다(26, 27).

젤의 팽윤 및 수축 실험과 함수율(water content) 측정

DMAPMAAm 몰분율이 각각 0%, 5% 및 20%로 제조된 하이드로젤의 부피 변화 특성을 비교 분석하기 위하여 외부 pH (1~12)와 외부온도(25℃~40℃)를 변화시켜가며 실험하였다. 외부 pH를 변화시키는 실험은 pH 완충용액을 이용하여 수행하였는데 pH 1~6 범위에서는 0.05M citrate/0.05M NaCl buffer를 사용하였고, pH 7~12 범위에서는 0.05M phosphate/0.05M NaCl buffer를 사용하였다. pH 1~12의 완충용액 solution을 55mL vial에 각각 15mL씩 주입하여 25℃, 37℃ 및 40℃로 각각 유지된 넹각순환 항온조(Vision Scientific Co., Korea)에 미리 담가두었다. 직경 10mm, 두께 1mm의 디스크 형태의 하이드로젤을 25℃와 40℃의 탈이온 증류수에 교대로 반복하여 담금으로써 수축 팽창을 통한 세척을 충분히 하여 준비하였다. 젤 표면의 수분을 filter paper로 흡수한 후 이 젤을 항온조 내에 있는 각 pH의 vial에 투여하고 뚜껑을 봉하였다. 팽윤 평형(swelling equilibrium)에 이르도록 24시간 후에 각 vial 속의 젤을 꺼내어 젤 표면의 수분을 filter paper로 흡수한 후 swollen weight를 측정하였다. 여기서 팽윤평형 시간을 24시간으로 정한 것은 예비실험을 통해 2~3시간 간격으로 부피 변화를 monitoring했을 때 24시간 후에는 평형 부피에 도달한 것에 근거한다. 문헌(17, 20)에 의거하여 젤 표면의 수분을 filter paper로 흡수하였다. 이 방법을 이용하였을 때 젤의 swollen weight에 대한 오차율은 0.3~1.8% (평균 1.1%) 이었고, 이로부터 구한 함수율의 오차율은 0.1~0.3% (평균 0.2%) 이었다. 이 실험오차는 증류수에서 꺼낸 젤 표면의 수분을 filter paper로 흡수시키고 질량을 측정한 다음, 다시 증류수에 넣었다가 꺼내어 앞의 방법으로 질량을 측정하는 것을 3회 반복하여 오차율을 구하였다. 측정이 끝난 젤들을 미리 질량이 측정된 알루미늄 접시에 넣고 알루미늄 호일로 씌운 후 수분이 증발할 수 있는 미세한 구멍을 뚫은 다음 vacuum oven에서 24시간 건조시켰다. 건조가 끝난 후, 건조된 젤이 담긴 알루미늄 접시의 질량을 측정하여 건조된 젤의 dry weight를 계산하였다. 측정된 값을 가지고 각 온도와 pH에서 젤의 함수율 (wt%)을 다음과 같이 계산하여 각 하이드로젤의 부피 변화 특성을 비교 분석하였다.

$$\text{Water content (wt\%)} = \frac{\text{swollen weight} - \text{dry weight}}{\text{swollen weight}} \times 100$$

pH swing에 의한 젤의 부피 변화 특성 분석

pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤을 인체 내에서 서방성 약물전달 system으로 사용 가능한지의 여부를 검검하기 위하여 체온과 유사한 37℃에서 pH swing에 의한 젤 부피 변화 특성을 분석하였다. PND 5%젤을 특정 pH buffer에서 24시간 동안 팽윤 또는 수축시켜 평형부피에 이르게 한 후, 다른 pH로 옮겨서 다시 24시간 동안 팽윤 또는 수축시킨 후 함수율의 변화를 조사하여 그 부피 변화 특성을 분석하였다. 우선 pH 2의 buffer에 6개 sample을 넣고 pH 7, pH 8, pH 11의 buffer에는 각각 2개씩의 sample을 넣은 후 24시간동안 평형부피에 도달하게 하였다. 24시간 후 pH 2 buffer 속에 있던 6개의 젤들을 pH 7, 8, 11 buffer로 각각 2개씩 옮겨 넣고, pH 7, 8, 11 buffer 속의 젤들은 pH 2의 buffer를 담은 3개의 vial에 각각 2개씩 옮겨 넣었다. 다시 24시간 동안 평형부피에 도달하게 한 후 옮겨진 buffer의 pH 변화와 젤의 함수율의 변화를 조사하였다.

결과 및 고찰

pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤의 부피변화 특성

NIPAAm와 DMAPMAAm를 95:5의 몰분율로 합성한 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤 (PND 5%), poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide), 이 외부 pH (1~12)와 외부온도(25℃, 37℃, 40℃) 변화에 따라 나타내는 부피변화 특성을 Figure 1에 나타내었다. 이 팽윤-수축 메카니즘은 젤을 팽윤시키거나 수축시키려는 힘인 고분자의 고무탄성력(rubber elasticity), 고분자-고분자간 친화력(polymer-polymer affinity), 그리고 수소-이온의 압력(hydrogen-ion pressure)의 합력 방향으로 나타나는 것으로 문헌에 보고되어있다(4). 즉, 하이드로젤은 수용액 중에 있을 때 젤을 팽창시키려는 힘과 수축시키려는 힘이 동시에 작용한다. 젤을 팽창시키려는 힘은 젤과 물간의 작용력과 물 속의 수소이온의 힘에 기인한다. 또한 젤의 팽창을 방해하는 방향으로 고분자간의 힘과 고분자의 탄성력이 작용하여 이 두 개의 서로 반대되는 힘의 합력의 방향에 따라 젤은 팽창 또는 수축한다. 온도 민감성 하이드로젤인 poly(NIPAAm)의 경우 25℃에서는 팽윤되어 있고 LCST (32℃ - 33℃)보다 높은 온도 에서는 완전히 수축되어 있다. 본 연구에 사용한 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤의 경우 외부온도가 LCST보다 낮은 경우인 25℃에서는 높은 pH에서 젤이 약간 수축하는 경향이 있기는 하나 젤은 전 pH에 걸쳐 팽윤된 상태에 있었다. 37℃ 나 40℃ 에서는 LCST보다 높기 때문에 pH민감성분이 포함되지 않은 온도

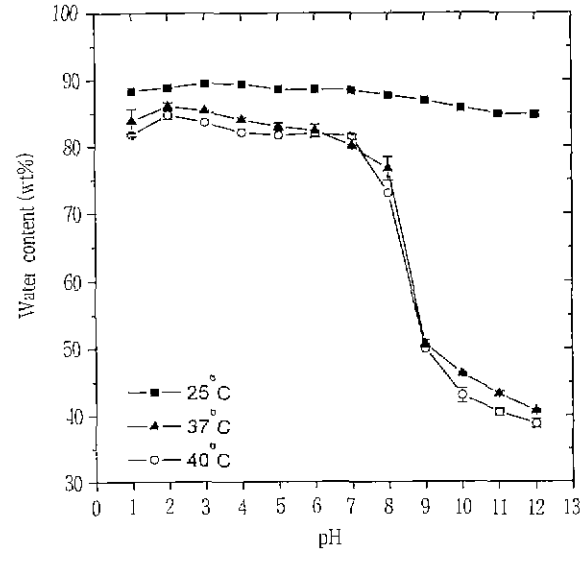

Figure 1. Water content in poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide) (5 mol%) gel at different pH and temperatures

민감성 하이드로젤인 poly(NIPAAm)의 경우 젤은 pH 변화에 관계없이 수축되어 있게된다 그러나 5%의 DMAPMAAm을 함유한 poly(NIPAAm-co-DMAPMAAm)의 경우 pH가 알카리성 영역으로 갈수록 젤이 거의 수축되어 있었으나 pH가 9이하로 낮아지면서 LCST보다 높은 온도임에도 불구하고 젤은 팽창하였고 특히 pH가 9에서 8로 낮아질 때 젤은 급격히 팽창하였다 pH 8이하에서도 팽창은 계속되나 단위 pH당 팽창정도는 점차 감소하였다. 이 실험결과는 온도민감성 하이드로젤에 5%정도의 소량의 pH민감성분을 가하여도 젤의 성질이 완전히 바뀌어 LCST보다 높은 고온에서도 젤이 팽창함을 보여주었다.

이와 같은 현상은 젤 내부의 이온력과 hydrophobicity 등으로 설명될 수 있다. 일반적으로 온도민감성 하이드로젤이 LCST보다 낮은 온도에서는 친수성을 갖는 상태(hydrophilic state)가 되어 팽윤되고, 그보다 높은 온도에서는 부피 상전이가 되면서 소수성을 갖는 상태(hydrophobic state)가 되어 수축되게 된다 (11). 그런데 이 온도민감성 하이드로젤에, 이온화되어 pH 민감성을 갖게 하는 단량체인 DMAPMAAm가 결합되면 그 팽윤거동이 달라지게 된다. 즉 양전하를 갖는 tertiary amine group이 고분자 network에 결합됨으로써 low pH 영역에서는 protonated amine group들 사이의 이온 반발력(ionic repulsion)이 발생하여 젤이 팽윤되게 되고, high pH 영역에서는 amine group들이 protonate되지 않기 때문에 수축하는 현상이 나타나게 된다 (20). 이와 같은 분자 내의 현상은 결국 젤이 온도 조건보다 외부 pH에 더 민감하여져서 온도 조건에 의하면 수축되어야할 37~40℃에서도 pH에 의해 팽윤되는 현상이 발생하게 되는 것이다. 또한 팽윤되는 정도는 수소이온 농도가 커지는 낮은 pH에서 더욱 두드러진다.

LCST보다 높은 고온임에도 불구하고 5 mol%의 pH민감 부분의 도입으로 낮은 pH에서 젤이 팽창하는 경향이 확실히 관찰되었다. 이때 가장 두드러지게 겔이 팽창하는 pH 영역, 즉 상대적으로 큰 부피변화가 생기기 시작하는 전이 pH 영역은 37℃에서는 pH 8~9영역이었다. 이 전이 pH 영역이 외부온도가 높으면 (40℃) 더 낮은 pH인 7~9로 옮겨졌다

이러한 전이 pH 영역의 변화는 이온화도(degree of ionization)와 젤의 hydrophobicity의 관계로 설명할 수 있을 것으로 보인다. 즉, 일정 조성으로 합성된 젤은 특정 온도에서 외부 pH의 변화에 의해 이온화도 (degree of ionization)가 변하게 되고, 이 변화는 이어서 젤의 hydrophobicity를 변화시킨다 반면, 특정 pH에서의 외부 온도 변화가 젤의 hydrophobicity를 변화시키고, 이 변화는 이어서 이온화도가 바뀌게 한다고 할 수 있다(19) 일반적으로 온도를 증가시키면 젤의 hydrophobicity가 증가되고, hydrophobicity가 증가되면 이온화도가 감소되는데, 이는 이온화가 가능한 전하(ionizable charges) 부근의 유전체 상수(dielectric constant)를 낮추게 됨으로써, 전이(transition)에 필요한 수소 이온(hydrogen ion)이 더 많이 필요로 하게 되기 때문에 40℃에서 이 젤의 전이 pH는 더 낮은 pH로 옮겨지는 것으로 사료된다(20)

젤 조성이 젤 외형에 미치는 영향

문헌상 NIPAAm의 농도가 78g/L로 합성된 온도민감성 하이드로젤의 경우 합성되는 온도에 따라 젤의 투명도가 달랐으며 이때 투명도가 다른 젤 간의 물리적 강도의 차이가 있다고 보고된 바 있다(27). 본 연구에서는 문헌보고상의 투명한 겔이 합성되는 온도(18℃)에서 NIPAAm의 농도를 다르게 하고, DMAPMAAm이라는 pH 민감부분을 첨가시킬 경우에 젤의 투명성의 차이 여부를 조사하였다.

젤 조성 중 pH 민감부분인 DMAPMAAm의 몰분율이 증가될수록 젤의 투명도는 증가되었다 (Figure 2) DMAPMAAm이 0 mol%인 젤(PND0%), 즉 NIPAAm 단일성분으로만 합성한 하이드로젤은 젤 전체가 희고 완전히 불투명하였고, DMAPMAAm이 20 mol%인 젤(PND20%)은 겔 전체가 무색이고 완전히 투명하였다 5 mol%의 DMAPMAAm을 함유한 젤(PND5%)도 거의 무색 투명하였으나, 중심부분이 약간 희고 불투명하였다. 겔 강도의 경우, 완전 불투명한 젤인 PND0%는 상당히 부르고 부드러우며 찰기가 있었으나, 완전 투명한 젤인 PND20%는 비교적 단단한 반면에 잘 쪼개어지는 특성이 있었다.

PND0% 겔의 경우, 문헌(27) 보고상 같은 온도(18℃)에서 합성한 하이드로젤이 무색 투명했던 것과는 달리 희고 불투명한 것은 용액 중의 단량체 농도 차이 때문이라 생각된다. 문헌에 보고된 용액중의 NIPAAm 농도는 78 g/L이었으나 본 연구에서는 이보다 약 2.5배나 높은 192 g/L를 사용하였다. 용액 중에 단량체의 양이 이와 같이 과량 존재하게 되면 일부의 단량체가 균일하게 용해되지 않을 수 있고, 이 때 gel network 사이에는 inhomogeneities가 형성될 수 있다. Suzuki는 초기 반응 단계(initial reaction stage)에서 형성된 insoluble monomer cluster들이 겔화(gelation)되는 동안 gel network 속에 질합되는 과정에서 inhomogeneities가 발생될 수 있고, 이 inhomogeneities가 불투명한 젤을 만들게 되는 원인이 될 수 있다고 보고한 바 있다(27). 본 실험에서 DMAPMAAm의 첨가량을 증가시키면 더 투명하고 맑은 젤이 합성되는 것은 DMAPMAAm이 물에 쉽게 이온화가 되는 매우 soluble한 성분이어서 NIPAAm내의 inhomogeneities에 의한 영향을 상쇄시킨 것으로 사료된다.

젤 조성이 상전이 온도(LCST)에 미치는 영향

DMAPMAAm의 몰분율이 LCST에 미치는 영향을 조사하였다. 몰분율이 0%, 5%, 및 20%인 젤에 대하여 differential scanning calorimeter로 젤의 LCST를 측정한 결과 DMAPMAAm의 몰분율이 0 mol%인 젤의 LCST는 32.7℃, 5 mol%인 젤은 32.8℃, 그리고 20 mol%인 젤은 33.1℃로서, DMAPM

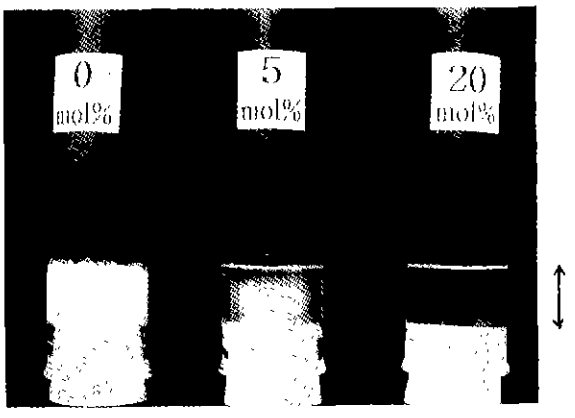

Figure 2. Effect of *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide mol% on gel transparency. The gel part is represened by an arrow (↔)

AAm의 몰분율이 증가될수록 젤의 LCST는 약간씩 증가하였다. 이 실험 결과는 LCST를 수십여회 반복하여 측정한 결과로써 DMAPMAAm의 몰분율 증가에 따른 젤의 LCST 측정값의 상대적 상승 추이는 모든 실험에서 동일하게 관찰되었다 이것은 DMAPMAAm을 일정 함량이상 증가시키면, 고분자내의 전하를 띤 단량체 성분이 임계 농도에 이르기 위해서 DMAPMAAm의 많은 부분이 deprotonation되어야 하므로(19) 수축되는 상전이 온도가 증가하는 것으로 생각된다

NIPAAm에 acrylamide를 첨가한 copolymer 하이드로젤의 경우 LCST가 더 높은 온도로 바뀌어지는 현상이 보고되었다 (20). *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm)에 다른 성분이 첨가된 공중합체의 경우 LCST가 변하는 것이 문헌에 보고되어 있다(28). N-alkyl acrylamide중에서 methyl이나 ethyl group을 가진 성분과 공중합되면 NIPAAm의 조성이 적어질수록 LCST가 증가하고, *N*-butyl group이나 t-butyl group을 가진 성분과 공중합되면 NIPAAm의 조성이 적어질수록 오히려 LCST가 감소한다. 이것은 methyl, ethyl이나 butyl과 같은 alkyl group들과 *isopropyl group* 사이의 치환효과 때문에 발생하는 현상이라고 보고되었다(28).

젤 조성이 팽윤 거동 및 특성에 미치는 영향

젤의 조성이 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤 poly (NIPAAm-co-DMAPMAAm)의 팽윤 특성에 미치는 영향을 연구하였다 DMAPMAAm의 몰분율을 0%, 5% 및 20%로 하여 합성된 젤에 대한 팽윤실험을 외부 온도 25℃와 40℃, 외부 pH 1~12 조건에서 수행하였다. DMAPMAAm의 몰분율이 0 mol%인, 즉 온도민감성 부분인 NIPAAm으로만 합성한 젤 (PND0%)의 경우 외부 pH의 영향을 받지 않았고 LCST 이하의 온도인 25℃에서는 젤이 팽윤되었고, LCST 이상의 온도인 40℃에서는 수축하였다(Figure 3).

DMAPMAAm을 5 mol% 함유한 젤의 경우 25℃에서는 전 pH에 걸쳐 팽윤되었으나 높은 pH에서 약간 수축하였다. 40℃에서는 pH가 높을 때는 LCST보다 높은 온도의 잉향으로 젤이 수축되었고 pH 12인 경우 온도민감성 하이드로젤의 collapse부피와 거의 같은 부피 (함수율 40% 정도)로 수축되었으나 pH가 낮아지면서 젤의 팽윤정도가 증가하여 pH가 9에서 8로 낮아지는 범위에서 단위 pH당 부피팽윤정도가 가장 큰 값을 나타내었다. pH 8이하에서는 단위 pH당 증가하는 젤 부피가 점차 감소하여 25℃에서의 젤 부피에 근접하였다(Figure 1)

DMAPMAAm의 첨가량이 20 mol%인 젤(PND20%)의 팽윤 거동은 PND5% 젤과 유사하였다(Figure 4). 25℃에서 젤은 팽윤되어 있고 pH 감소에 따른 함수율의 증가가 극히 제한적이었다 40℃에서는 함수율이 PND5% 겔보다 전체적으로 더 높았다 PND5% 겔과 비교하여 pH가 낮은 영역 (pH 1~8)에서 함수율은 25℃에서의 값에 더욱 접근하였으며, pH 9~12의 영역에서도 PND5% 젤보다 함수율이 높았고 pH 12에서도 60%의 함수율을 함유하여 PND0% 젤에 비하여 부피가 증가하였다 NIPAAm만으로 형성된 하이드로젤은 LCST보다 높은 온도 (40℃)에서는 부피 상전이가 발생되면서 소수성을 갖는 상태 (*hydrophobic state*)가 되어 수축되게 된다. 그런데 이 겔에 pH에 민감한 단량체인 DMAPMAAm의 함량이 증가될수록 젤 내에 전하를 띤 group이 증가하여 hydrophobicity가 감소되어 LCST 보다 높은 외부 온도에서도 pH에 의해 팽윤되는 정도가 증가하는 것으로 사료된다. DMAPMAAm의 몰분율이 5%일 때에는 높은 pH (pH 12)에서는 아직 pH 민감성분의 효과가 미미하여 젤이 수축되어 있었고 pH 8이하에서 효과가 두드러져 젤이 팽창한 반면 몰분율이 20%일 때에는 pH 12에서부터 pH 민감성분의 효과가 두드러져 젤이 팽창하였다

DMAPMAAm의 함량이 0 mol%인 젤의 25℃에서의 팽윤된 부피와 40℃에서의 수축된 부피차이를 100으로 하여 DMAPMAAm의 함량이 5 mol%와 20 mol%인 경우의 상대적 부피차이를 Figure 5에 표시하였다. 25℃와 40℃에서 갖는 부피의 차이는 DMAPMAAm의 함량이 증가할수록 감소하며 특히 낮은 pH에서 이 현상이 두드러졌다. DMAPMAAm이 5 mol%인 경

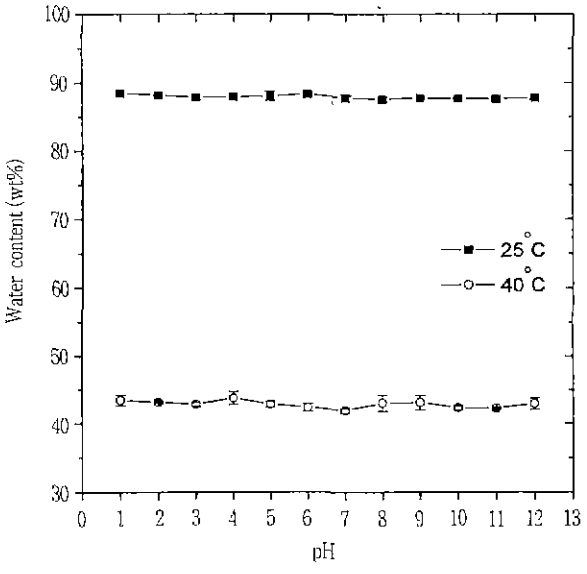

Figure 3. Water content in poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N'-dimethylaminopropyl methacrylamide) (0 mol%) gel at different pH and temperatures.

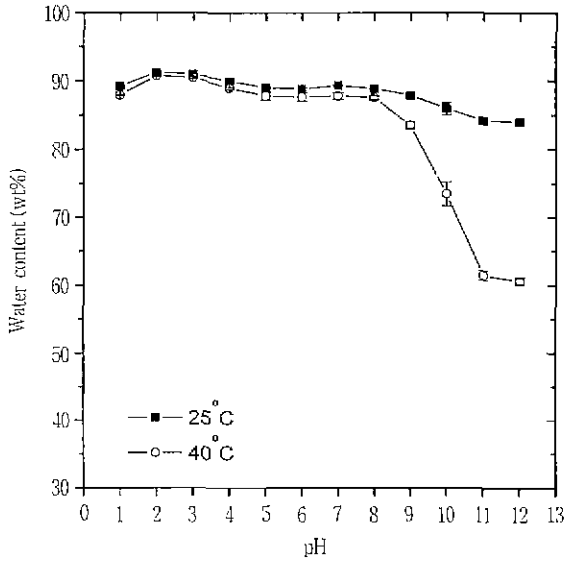

Figure 4. Water content in poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N'-dimethylaminopropyl methacrylamide) (20 mol%) gel at different pH and temperatures.

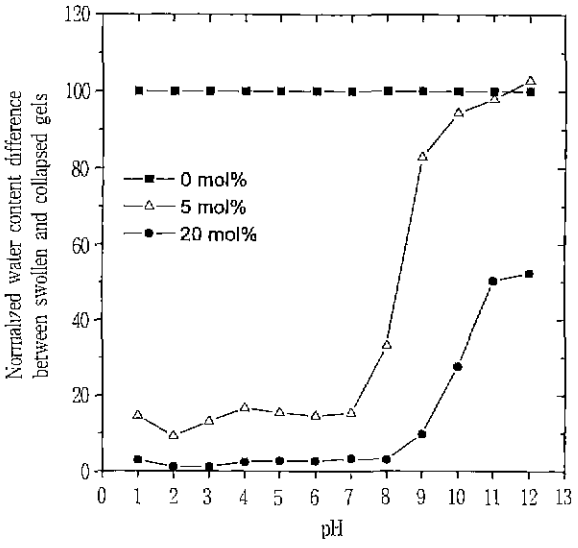

Figure 5 Effect of *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide mol% on the difference between the water content within swollen (25℃) gel and that of collapsed (40℃).

$$\text{Normalized water content difference} = \frac{\text{water content difference of the pH/temperature-sensitive hydrogel at the same condition}}{\text{water content difference of the temperature-sensitive hydrogel at a specific pH and temperature}} \times 100$$

우 높은 pH (11 이상)에서는 0 mol% 경우에 근접한 (98% 이상) 부피차이를 나타내었으나 pH 7이하에서는 9~17%에 불과하였다. DMAPMAAm이 20 mol%인 경우에는 pH 8이하에서는 아주 작은 (2% 미만) 부피 차이를 나타내었고 pH 12에서도 52%에 불과하였다.

pH가 12부터 감소함에 따라 젤의 팽창이 이루어지는데 가장 급격히 함수율이 변화하는 pH 영역이 PND5%의 경우 9에서 7 사이였으나 PND20% 젤의 경우 pH 11에서 9사이로서 DMAPMAAm의 몰분율을 증가시키면 더 높은 pH에서 전이가 일어났다. 이는 pH에 민감한 단량체인 DMAPMAAm의 함량이 증가될수록 젤 내에 전하를 띤 group의 양이 증가되어 이온화도가 증가되고 이는 이온화가 될 수 있는 전하(ionizable charges) 부근의 유전체 상수(dielectric constant)를 높이게 됨으로써, 전이에 필요한 수소 이온이 더 적게 필요로 하게 되기 때문인 것으로 사료된다. DMAPMAAm의 량을 5 mol%이하로 감소시키면 체온 37℃에서 physiological pH인 7.4 근처에서 급격한 부피 변화가 있는 젤을 합성할 수 있을 것으로 예상된다.

pH swing에 의한 젤의 부피 변화 특성 분석

pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤 (PND 5%)을 37℃의 특정 pH buffer에 24시간동안 넣어두어 평형부피에 이르게 한 후 다른 pH로 옮겨서 다시 24시간 동안 팽윤 또는 수축시킨 후 젤의 함수율 변화와 pH buffer 용액의 pH변화를 조사하였다. 낮은 pH에서 팽윤 평형에 있었던 젤을 높은 pH로 옮긴 경우와 그 반대의 경우에서 모두 젤이 새로 옮겨진 용액의 pH의 변화정도가 ±0.1~0.25 이내였다. 이는 팽윤되었을 때 젤 내부에 유입된 용액이 젤 수축과 함께 유출되어 나가서 pH를 약간 변화시킨 것으로 생각된다. 낮은 pH에서 높은 pH로 또는 높은 pH에서 낮은 pH로 pH가 swing되었을 때 젤의 함수율은 젤을 탈이온 증류수에 48시간 이상 보관하였다가 각 pH buffer로 옮겨 넣어 24시간이 경과하였을 때의 젤의 함수율(Figure 1)과 큰 차이가 없었다 (Table 2). 예를 들어 증류수에 있던 젤을 pH 2로 옮긴 후 24시간이 경과되었을 때의 젤 함수율은 86.1%이고 (Figure 1), pH 2에서 pH 7로 pH swing 시켰을 때 pH 2에서의 젤 함수율은 86.4% (Table 2), pH 7에서 pH 2로 pH swing 시켰을 때 pH 2에서의 젤 함수율은 85.6%이었으며 (Table 2), 이 세가지 함수율이 모두 유사하였다 이러한 결과를 통하여 이 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤을 반복적인 분리공정에 활용할 경우 24시간을 평형 부피에 이르는 시간으로 하여 조업할 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과로서, 온도민감성 하이드로젤에 pH 민감성을 부여하는 DMAPMAAm의 첨가량이 증가하면 부피상전이현상이 발생하는 pH도 높아짐을 알 수 있었으며, 이때 합성된 pH 및 온도에 동시에 민감한 하이드로젤인 poly(NIPAAm-co-DMAPMAAm)는 pH민감성분(DMAPMAAm)의 조성을 증가시키면 온도민감성 하이드로젤의 경우 젤이 수축되는 LCST 이상의 온도(37℃, 40℃)에서도 팽윤되는 특성이 있다. 이러한 젤의 성질을 분리공정이나 약물전달 재료 등에 응용할 수 있을 것으로 사료된다

요 약

온도 및 pH에 동시에 민감한 하이드로젤 poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide)

Table 2. Effect of pH swing on hydrogel swelling at 37℃.

Gel moved from pH→to pH	Swollen weight [g] varied from → to	Dry weight [g]	Water content [wt%] varied from → to	Water content [wt%] of Fig. 1.
2 → 7	0.2882 → 0.2196	0.0394	86.4 → 82.1	80.0
2 → 8	0.1697 → 0.1209	0.0238	86.0 → 80.3	76.6
2 → 11	0.1886 → 0.0477	0.0278	85.3 → 41.7	43.3
7 → 2	0.1660 → 0.2139	0.0308	81.4 → 85.6	86.1
8 → 2	0.1096 → 0.1561	0.0240	78.2 → 84.7	86.1
11 → 2	0.0701 → 0.2679	0.0417	40.4 → 84.4	86.1

을 합성하고, 그 팽윤 특성을 연구하였다. pH민감성분인 *N,N'*-dimethylaminopropyl methacrylamide (DMAPMAAm)의 몰분율이 5%인 하이드로젤의 팽윤정도는 lower critical solution temperature (LCST) 이상의 온도 (37℃ 및 40℃)에서 pH가 낮은 범위 (pH 1~8)일 때 크게 증가하였다. 이는 온도민감성 하이드로젤이 같은 pH범위에서 전히 팽윤이 일어나지 않는 것과 대조되었다. DMAPMAAm의 몰분율이 20%인 경우에는 높은 pH (pH 12)에서도 젤이 상당히 팽창하였다. 40℃ 에서 pH가 12에서 2로 감소할 때 겔의 수분함량은 5 mol%겔의 경우 38.8 wt%에서 84.7 wt%로 증가하였고, 20 mol%젤의 경우 60.6 wt%에서 90.8 wt%로 증가하였다. 온도 및 pH에 동시에 민감한 하이드로젤의 부피 변화에 대해 이와 같이 pH의 영향이 온도의 영향을 압도하게되는 현상이 일어나는 pH는 온도 및 겔 조성의 영향을 받아 37℃에서 (pH 8)보다 40℃에서 (pH 7) 더 낮아졌고, 5 mol%에서 (pH 7)보다 20 mol%일 때 (pH 9) 증가하였다. LCST이하의 온도 (25℃)에서는 젤의 팽윤정도가 pH에 의해 크게 영향받지 않았다. 젤의 투명도와 LCST는 DMAPMAAm의 몰분율에 따라 증가하였다.

감 사

본 연구는 교육부의 '97년도 생물화학공학 학술연구조성비 (과제번호 : 97-C-13) 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Freitas, R. F. S. and E. L. Cussler (1987), Temperature-sensitive gels as extraction solvents, *Chem. Eng. Sci.*, 42, 97-103.
2. Kondo, A. and H. Fukuda (1997), Preparation of thermo-sensitive magnetic hydrogel microspheres and application to enzime immobilization, *J. of Fermentation & Bioeng.*, 84, 337-341.
3. Huglin, M. B., Y. Liu, and J. L. Velada (1997), Thermo-reversible swelling behaviour of hydrogels based on *N*-isopropylacrylamide with acidic comonomers, *Polymer*, 38, 5785-5791
4. Tanaka, T. (1981), Gels, *Scientific American*, January, 124-138
5. Carelli, V., G. Dicilo, M. Gesi, F. Martini, and E. Nannipieri (1997), Mechanism of drug release from silicone microspheres containig polycarbophil, *International J. of Pharmaceutics*, 153, 105-114
6. Bilia, A., V. Carelli, G. Dicolo, and E. Nannipieri (1996), In vitro evaluation of a pH-sensitive hydrogel for control of GI drug from silicone-based matrices, *International J. of Pharmaceutics*, 130, 83-92
7. Ravichandran, P., K. L. Shantha, and K. P. Rao (1997), Preparation, swelling characteristics and evauation of hydrogels for stomach specific drug delivery, *International J. of Pharmaceutics*, 154, 89-94
8. Ende, M. T. A. and N. A. Peppas (1997), Analysis of drug distribution in hydrogels using Fourier transform infrared microscopy, *Pharmaceutical Research*, 12, 2030-2035.
9. Tanaka, T., I. Nishio, S. T. Sun, and S. Ueno-Nishio (1982), Collapse of gels in an electric field, *Science*, 218, 467-469.
10. Lee, K. K., M. Marchetti, E. L. Cussler, and M. A. Mc Hugh (1990), Pressure-dependent phase transitions in hydrogels, *Chem. Eng. Sci.*, 45, 766-767.
11. Park, C.-H. and I. Orozco-Avila (1992), Concentrating cellulases from fermented broth using a temperature-sensitive hydrogel, *Biotechnol. Prog.*, 8, 521-526.
12. Park, C.-H. and I. Orozco-Avila (1993), Concentrating cellulases using a temperature-sensitive hydrogel: Effect of gel particle size and geometry, *Biotechnol. Prog.*, 9, 640-646.
13. Han, J., R. R. Ruan, and C.-H. Park (1995), Prediction of hydrogel pore size by pulse NMR and neural network, *Biotechnol. Tech.*, 9, 637-642.
14. Trank, S. J., D. W. Johnson, and E. L. Cussler (1989), Isolated soy protein production using temperature-sensitive gels, *Food Technol.*, 43, 78-83
15. Dong, L. C. and A. S. Hoffman (1986), Thermally reversible hydrogels III. Immobilization of enzymes for feedback reaction control, *J. of Controlled Release*, 4, 223-227.
16. Park, T. G. and A. S. Hoffman (1990), Immobilization of *Arthrobacter simplex* in a thermally reversible hydrogel: effect of temperature cycling on steroid conversion, *Biotechnol. Bioeng.*, 35, 152-159.
17. Hoffman, A. S., A. Afrassiabi, and L. C. Dong (1986), Thermally reversible hydrogels: II. Delivery and selective removal of substances from aqueous solutions, *J. of Controlled Release*, 4, 213-222.
18. Bae, Y. H., T. Okano, and S. W. Kim (1988), A new thermo-sensitive hydrogel interpenetrating polymer networks from *N*-acryloylpyrrolidine and Poly(oxyethylene), *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, 9, 185-189.
19. Feil, H., Y. H. Bae, J. Feijen, and S. W. Kim (1992), Mutual influence of pH and temperature on the swelling of ionizable and thermosensitive hydrogels, *Macromolecules*, 25, 5528-5530.
20. Park, T. G. and A. S. Hoffman (1992), Synthesis and chracterization of pH-and/ortemperature-sensitive hydrogels, *J. Appl. Pol. Sci.*, 46, 659-671.
21. Baker, J. P. and R. A. Siegel (1996), Hysteresis in the glucose permeability versus pH characteristic for a responsive hydrogel membrane, *Macromolecular Rapid Communications*, 17, 409-415.
22. Wu, J. Z., A. P. Sassi., H. W. Blanch, and J. M. Prausnz (1996), Partitioning of proteins between an aqueous sol-

ution and a weakly-ionizable polyelectrolyte hydrogel, *Polymer*, 37, 4803-4808

23. Kotte, H., B. Grundig, K. D. Vorlop, B. Strehlitz, and U. Stottmeister (1995), Methylphenazonium-modified enzyme sensor based on polymer thick films for subnanomolar detection of phenols, *Analytical Chemistry*, 67, 65-70.
24. Sassi, A. P., A. J. Shaw, S. M. Han, H. W. Blanch, and J. M. Prausnitz (1996), Partitioning of proteins and small biomolecules in temperature- and pH-sensitive hydrogels, *Polymer*, 37, 2151-2164
25. Freitas, R. F. S. (1986), Extraction with and phase behavior of temperature-sensitive gels, Ph.D. Thesis, University of Minnesota, Minneapolis, MN, USA.
26. Heskins, M. and J. E. Guillet (1968), Solution properties of poly(*N*-isopropylacrylamide), *J. Macromol. Sci.-Chem.*, A2, 1441-1455
27. Rathjen, C. M., C.-H. Park, P. R. Goodrich, and D. D. Walgenbach (1995), The effective of preparation temperature on some properties of a temperature-sensitive hydrogel, *Polymer Gels and Network*, 3, 101-115.
28. Priest, J. H., S. L. Murray, R. J. Nelson, and A. S. Hoffman (1987), Lower critical solution temperatures of aqueous copolymer of *N*-isopropylacrylamide and other *N*-substituted acrylamides, American Chemical Society.