

방사선을 이용한 느릅나무 추출 다당류가 함유된 하이드로젤의 제조 및 항염증성 평가

권희정[#] · 박은지^{*#} · 최종배 · 임종영 · 정진오 · 신영민 · 정성린 · 박종석 · 임윤목[†] · 최영훈^{**} · 김상숙^{**}

한국원자력연구원 첨단방사선연구소 공업환경연구부, ^{*}(주)큐젠바이오텍, ^{**}농촌진흥청 국립원예특작과학원
(2013년 8월 26일 접수, 2013년 10월 14일 수정, 2013년 10월 17일 채택)

Radiation Synthesis and Anti-inflammatory Evaluation of Polysaccharide Hydrogels from *Ulmus Davidiana* Var. *Japonica*

Hui-Jeong Gwon[#], Eun Ji Park^{*#}, Jong-Bae Choi, Jong-Young Lim, Jin-Oh Jeong, Young-Min Shin, Sung In Jeong, Jong-Seok Park, Youn-Mook Lim[†], Young-Hun Choi^{**}, and Sang-Suk Kim^{**}

Research Division for Industry & Environment, Korea Atomic Energy Research Institute,
1266 Sinjeong-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do, 580-185, Korea

^{*}Quegenbiotech, Co., Ltd, Incheon 429-931, Korea

^{**}Citrus Research Station, Rural Development Administration, Seogwipo 699-943, Korea

(Received August 26, 2013; Revised October 14, 2013; Accepted October 17, 2013)

초록: 본 연구에서는 방사선 기술을 이용하여 항염증 특성을 가지는 천연 추출물을 함유하는 고분자 하이드로젤을 제조하여 항염증 패치로서의 유용성을 확인하였다. 천연 추출물로는 오래 전부터 전통 민간요법으로 항염제나 궤양 및 종양 치료 등에 사용되고 있는 느릅나무를 사용하였고, 생체 적합성 고분자인 poly(vinyl alcohol)(PVA)와 보습을 향상을 위해 글리세린을 첨가하여 감마선 가교에 의해 다당류 함유 고분자 하이드로젤을 제조하였다. 제조된 하이드로젤은 항염증 패치로 사용하기에 우수한 기계적 물성을 나타내었고, 사이토카인 분비를 효과적으로 억제함은 물론 세포독성도 나타나지 않는 것을 확인하였다. 결론적으로 느릅나무 추출 다당류가 함유된 하이드로젤은 항염증 패치로써 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

Abstract: In this study, polysaccharide-poly(vinyl alcohol) (PVA) hydrogels were prepared by using γ -ray and evaluated for potential application as an anti-inflammation patch. *Ulmus davidiana* var. *japonica* (UD), one of polysaccharides has been particularly used as an oriental remedy for the treatment of inflammation and ulcers. PVA as a biocompatible polymer and glycerin as a moisturizer were blended with the UD, and its hydrogels were prepared by radiation crosslinking. Characterizations for UD hydrogels were performed by using cytotoxicity assay, antioxidant activity test, and physicochemical test such as gel fraction ratio, and swelling behavior. The results showed that these UD hydrogels had excellent physical properties, anti-inflammation activity, and non-cytotoxicity on the cells. Therefore, these polysaccharide based-UD hydrogels can be effectively used as an inflammation patch.

Keywords: *Ulmus davidiana* var. *japonica*, anti-inflammation, hydrogels, γ -ray irradiation.

서 론

의학의 발전에 따라 각종 항생제들이 개발되어 염증치료에 이용되고 있는 반면, 이러한 항생제의 지속적인 사용에 따른 부작용이 문제가 되고 있다. 따라서 인체독성과 부작용이 적고 항염작용 및 궤양치료 등에 효과가 입증된 천연물을 이용한 대체요법과 개발의 필요성이 증가되면서 천연물을 이용한 치료제 개발연구가 증가하고 있다.¹⁻³

이러한 연구의 일환으로 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. *japonica*)(UD)는 느릅나무과에 속하는 낙엽성 활엽 교목으로 높이가 30 m에 달하는 크기의 나무로서 우리나라 전국의 산야에서 자생하며 지리적으로 만주, 일본, 중국에 널리 분포되어 있다. 느릅나무는 위염, 위궤양 등에 대한 항염증 및 항암 특성을 갖는 것으로 알려져 있으며^{4,5} 항균 활성과 더불어 느릅나무 수피의 페놀성 화합물들이 높은 항산화 활성을 갖는다고 보고되어 있다.^{6,7} 그리고 느릅나무 껍질에는 플라보노이드, 사포닌, 탄닌질 등 많은 양의 점액질의 성분이 함유되어 있는데, 이들에 의한 수렴작용, 항염증 작용도 보고되고 있다.^{8,9} 또한 느릅나무 뿌리껍질은 위궤양, 십이지장궤양, 소장

[#]These two authors contributed equally to this works.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ymlim71@kaeri.re.kr

퀘양, 대장퀘양 등 갖가지 퀘양에도 뛰어난 효과가 있는 것으로도 알려져 있다.¹⁰ 현재까지 알려진 느릅나무와 관련된 오랜 전통 민간요법에는 열매, 뿌리를 물에 담가두어 용출되는 끈끈한 점액질을 고약으로 만들어 염증 및 종창 환부에 도포하여 항염제로 이용하거나, 중탕 추출하여 소화기 퀘양 및 종양치료 등에 이용하는 것이다.¹¹

하이드로젤은 다량의 수분을 함유한 3차원 망상구조로서 poly(vinyl alcohol)(PVA),^{12,13} poly(*N*-vinyl pyrrolidone)(PVP)과 같은 생체적합성 합성 고분자 및 키토산,¹⁴ 알지네이트¹⁵ 등의 천연 고분자로 제조할 수 있다. 특히 PVA를 이용하여 제조된 하이드로젤은 우수한 생체적합성을 가지고 있고, 특히 약물 및 여러 유용성분이 함유된 패치형태로 성형하기가 용이하여 상처 치료용 하이드로젤 드레싱제로 많이 이용되고 있다.¹⁶ 이러한 하이드로젤을 제조하는 방법에는 물리적 가교 결합, 가교제에 의한 화학적 가교결합, 수소결합, 결정화, 전하 상호작용, 방사선 가교법 등이 있다.¹⁷ 그 중에 방사선 가교 기술은 인체에 유해한 화학 가교제나 개시제를 사용하지 않기 때문에 가교 후 잔류 가교제나 개시제를 제거할 필요가 없고, 가교와 동시에 멸균을 결합할 수 있어 간편하다는 장점이 있다. 그리고 제조과정에서 열을 가하지 않아도 되고, 냉각상태에서도 제조가 가능한 특징이 있다. 또한 조성물을 변화시킬 필요 없이 방사선 조사량 조절 만으로도 물리적 특성을 자유롭게 조절할 수 있는 특징이 있어 하이드로젤 제조에 있어 현재 많이 이용되고 있다.^{18,19}

따라서 본 연구에서는 방사선 가교 기술을 이용하여 항염증 효과가 있는 느릅나무 열수 추출 다당류가 함유된 고분자 하이드로젤을 제조하고, 제조된 하이드로젤의 물성평가와 세포독성 평가를 통해 염증치료용 패치로서 사용가능성을 확인해 보고자 하였다.

실 험

시약 및 재료. 느릅나무는 (주)신흥과학상사를 통해서 구입하였다. 고분자 하이드로젤 제조를 위한 PVA(98% hydrolyzed)(Sigma-Aldrich, USA)는 평균 분자량이 $8.5 \times 10^4 \sim 1.46 \times 10^5$ 인 것을 사용하였고, glycerin은 DAE JUNG Co. (Korea)에서 구매하였다. 모든 실험에서 용매는 3차 증류수를 사용하였다. 세포독성 실험을 위해 흰쥐의 섬유아세포(L929)와 NIH 3T3를 한국세포주은행에서 구입하였고, 세포 배양액은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, GIBCO, USA)에 10% fetal bovine serum(FBS, GIBCO, USA)와 1% penicillin-streptomycin(P/S, GIBCO, USA)을 첨가한 것을 사용하였다. 배양된 세포 처리시 trypsin-EDTA(GIBCO, USA)와 phosphate buffered saline(PBS, GIBCO, USA)를 사용하였으며, 세포독성 평가를 위해 cell counting kit-8(CCK-8) (Dojindo Co., Kumamoto, Japan)을 이용하였다. 항염증반응

실험을 위한 비만세포(HMC-1)는 한국세포주은행에서 구입하였고, 세포 배양액은 Iscove's modified Dulbecco's medium(IMDM)에 10% FBS, 100 unit/mL의 penicillin과 100 unit/mL의 streptomycin을 첨가한 것을 사용하였다.

느릅나무 추출물(UD)의 제조. 건조된 느릅나무 근피 80 g을 3차 증류수 1 L에 넣은 후, 90 °C 항온조에서 24시간 동안 열수 추출한 후 삼베망을 이용하여 추출물을 여과하였다. 여과된 추출물은 에탄올에 침전시켜 whatman paper(No.5)로 재여과시켜 고형분을 얻은 후 다시 3차 증류수에 용해시켰다. 상기 과정을 3번 반복한 후 0.45 μm 필터로 여과하고 에탄올에 재침전시킨 후 동결 건조하여 미황색의 분말을 획득하였다.

세포독성 평가. UD 추출물의 세포 독성여부는 CCK-8 assay를 이용하여 평가하였다. L929 cell을 96 well plate에 1×10^4 cells/well, NIH 3T3 cell을 96 well plate에 1×10^6 cells/well이 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. UD 추출 고형분은 0.6, 1.2, 1.8, 2.1, 2.4, 2.7, 그리고 3 mg/mL의 농도로 DMEM 배지에 녹여 세포가 배양된 96 well plate에 처리하였다. 이를 하루 동안 배양하여 CCK-8을 처리한 후, 2시간 배양 후, ELISA microplate reader(Bio-Tak instruments, Winooski, VT, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도(OD)를 측정하여 세포생존율을 평가하였다.

UD 하이드로젤의 제조. 추출된 UD 고형분을 3, 5, 8, 10 wt%의 농도로 제조한 혼합수용액에 PVA 20 wt%와 glycerin 5 wt%를 넣어 잘 혼합한 후 오토클레이브(autoclave, 120 °C, 1.2 atm)에서 완전히 용해시킨 후, 상온에서 square-dish($125 \times 125 \times 20$ mm³)에 부어 5 mm 두께로 성형하고, -76 °C에서 물리적 가교결합을 위한 동결/용해 과정을 2 회 반복한 후에, 10, 15, 25, 35, 50 kGy(선량률 10 kGy/h)의 감마선을 조사하여 UD 하이드로젤을 제조하였다. 이때, 방사선으로 감마선(⁶⁰Co)(MDS Nordion, Canada, IR 221n wet storage type C-188, 한국원자력연구원 첨단방사선연구소, 정읍)을 사용하였다.

젤화율. 방사선 가교에 의해 제조된 UD 하이드로젤의 젤화율(gel fraction ratio) 측정을 위해 오븐에서 60 °C에서 48시간 동안 건조시킨 후 초기무게(W_0)를 측정하였다. 가교되지 않고 남아있는 고분자를 제거시키기 위하여 실온에서 증류수에 48시간 동안 세척하였다. 세척된 하이드로젤을 다시 오븐에 넣어 60 °C에서 48시간 동안 건조시킨 후 무게(W_d)를 측정하였다. 젤화율은 건조된 젤의 무게(W_d)를 초기 젤 무게(W_0)로 나누어 백분율로 하여 측정하였다.

팽윤도. UD 하이드로젤의 수분흡수력을 비교평가하기 위해 각각의 조건별로 제조된 하이드로젤을 상온에서 증류수에 침지시켜 시간에 따른 무게변화가 평형에 이를 때까지 무게를 측정하였다. 평형 팽윤도는 평형에 이른 젤의 팽윤 무게를 초기 젤의 무게로 나누어 백분율로 측정하였다.

압축강도. 제조된 UD 하이드로젤의 기계적 강도를 평가하기 위해 Instron UTM(model 4467, Canton)을 이용하여 상온에서 압축강도를 측정하였다. 이때 시편의 지름은 12 mm, 두께는 3 mm로 하였으며, cross-head 속도는 5 mm/min, 하중은 5 kN으로 하여, 시편이 50% 변형이 이루어질 때의 값을 측정하였다. 감마선 조사 전의 UD 하이드로젤 강도를 대조군으로 하여, 감마선이 젤의 강도에 미치는 영향을 알아보았다.

항염증 활성 평가. HMC-1을 24 well plate에 5×10^5 cells/mL로 접종 후 2.7 mg/mL의 추출물 농도로 제조된 UD 하이드로젤을 1시간 동안 전처리하였다. 전처리가 끝난 후 phorbol myristate acetate(PMA, sigma) 0.05 mM과 ionophore A23187(Sigma-Aldrich, USA) 1 mM로 7시간 동안 자극하고 원심분리하여 얻은 세포 부유액을 ELISA kit(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 각각의 사이토카인(TNF- α , IL-6, IL-8)을 측정하였고, 최종 흡광도 값을 측정하기 위해 micro-plate scanning spectrophotometer(BioTek, USA)를 사용하였다.

통계처리. 본 연구에서 모든 실험은 최소 세번 이상 수행하였으며 모든 결과 값들은 mean \pm standard deviation(S.D.)으로 나타내었다. 실험군에 따른 데이터간의 통계적 유의성 검정을 위해 ANOVA와 student's t-test를 수행하였다($p < 0.05$).

결과 및 토론

세포독성. UD 추출 고형분이 L929와 NIH 3T3에 미치는 세포독성을 알아보기 위하여, DMEM 배지에 1.5, 1.8, 2.1, 2.4, 2.7 그리고 3 mg/mL 농도로 제조하여 CCK-8 assay를 시행하였다. ISO 19003-5에 따르면 세포생존율이 70% 이상일 때 세포독성을 나타내지 않는 것으로 규정하고 있다. L929에

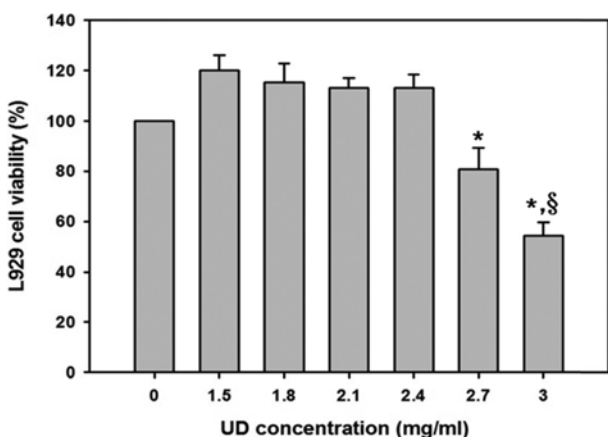


Figure 1. *In vitro* cytotoxicity of UD extracts against L929 cells with various UD concentrations. Each value is the mean \pm S.D. ($n \geq 3$). “*” indicates statistical significance relative to the UD concentration of 2.4 mg/mL, and “\$” relative to the UD concentration of 2.7 mg/mL ($p < 0.05$).

대한 세포독성평가 결과 UD 추출 고형분의 농도가 2.7 mg/mL까지는 80% 이상의 세포생존율을 나타내었고, NIH 3T3에 대한 세포독성평가 결과에서는 2.7 mg/mL의 농도까지는 70% 이상의 세포생존율을 나타내었다. 그러나 3.0 mg/mL 농도에서는 모두 세포독성을 나타내었다(Figures 1, 2).

젤화율. Figure 3은 UD 추출물의 농도와 감마선 조사선량에 따른 젤화율 값을 나타내었다. 그 결과 UD 농도별 하이드로젤은 전체적으로 80% 이상의 높은 젤화율을 나타내었고, 전체적으로 조사선량이 증가할수록 젤화율 값도 증가하였다. 이는 조사선량이 증가할수록 방사선 에너지가 고분자

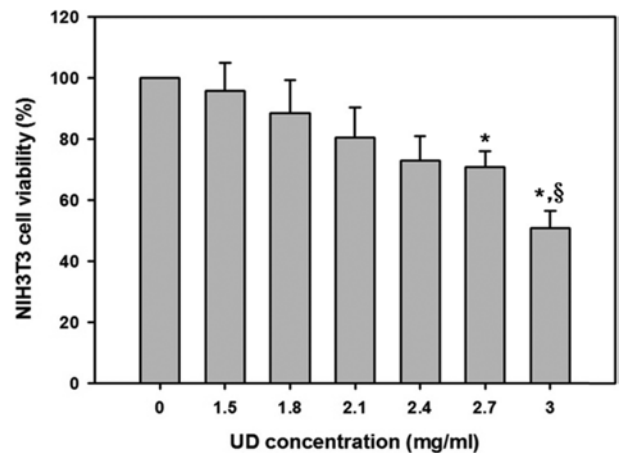


Figure 2. *In vitro* cytotoxicity of UD extracts against NIH 3T3 cells with various UD concentrations. Each value is the mean \pm S.D. ($n \geq 3$). “*” indicates statistical significance relative to the UD concentration of 2.4 mg/mL, and “\$” relative to the UD concentration of 2.7 mg/mL ($p < 0.05$).

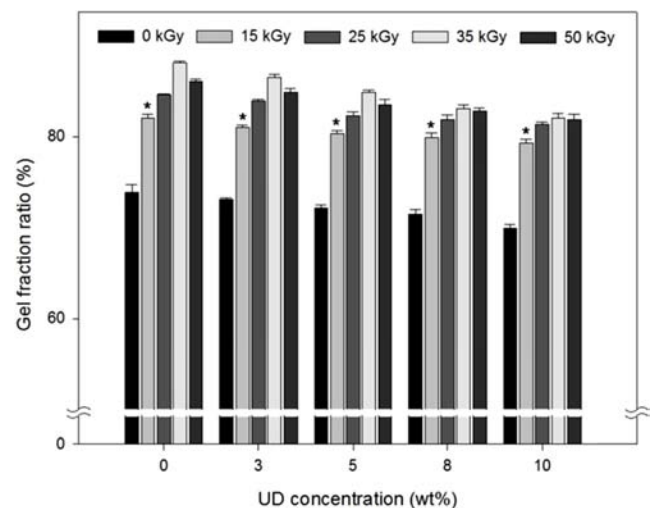


Figure 3. Gel fraction ratio of PVA/glycerin hydrogels as a function of UD extracts concentration and irradiation dose. Each value is the mean \pm S.D. ($n \geq 3$). *: $p < 0.05$ compared to the non-irradiated UD hydrogel.

재료에 라디칼 형성을 증가시켜 가교율을 높이기 때문에 설명될 수 있다. 그러나 조사선량이 50 kGy에서는 젤화율 값이 감소되는 것으로 나타났는데, 이는 조사선량이 증가함에 따라 하이드로젤을 형성시키는 가교반응과 더불어 일부분에서는 방사선에 의한 분해반응이 진행되었기 때문인 것으로 판단된다.^{20,21} UD 추출물의 농도가 증가할수록 젤화율 값의 감소가 나타나는데 이것은 고분자 사슬간의 가교반응에 있어서 UD 추출 다당류에 의한 물리적 거리 및 고분자 사슬 세그먼트의 이동에 부정적인 영향을 주기 때문인 것으로 판단된다.²²

팽윤도. Figure 4는 UD 추출물의 농도와 감마선 조사선량에 따른 팽윤도 값을 각 조건에서의 최대 팽윤도 값으로 비교하여 나타내었다. 증류수에 침지시킨 UD 하이드로젤은 전체적으로 200% 이상의 높은 팽윤도를 나타내었다. 조사선량이 증가할수록 팽윤도는 감소하는 경향을 나타내고 있는데, 이는 조사선량이 증가될수록 고분자 내부의 가교밀도가 증가되어 상대적으로 수분 흡수율이 떨어지기 때문이다. 그리고 하이드로젤 내부의 일부 분해작용에 의해 50 kGy에서 제조된 하이드로젤은 증가된 팽윤도 값을 나타내었다. 또한 UD 추출물 함량의 증가에 따라서는 젤화율 감소와는 반대로 증가하는 경향을 나타내고 있다. 문헌에서도 일반적으로 조사선량이 증가할수록 젤화율은 증가하고 팽윤도는 감소하는 경향을 나타내는 것으로 보고하고 있다.²³

젤강도. Figure 5는 UD 추출물의 농도와 감마선 조사선량에 따른 UD 하이드로젤의 압축강도를 나타내었다. 조사선량이 증가할수록 앞서 설명된 가교율과 마찬가지로 증가된 가교밀도로 인해 UD 하이드로젤의 내부의 강한 망상구조의 형

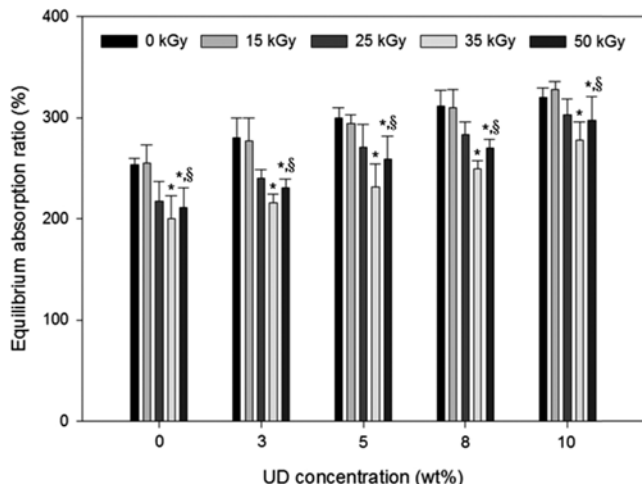


Figure 4. Equilibrium absorption ratio of PVA/glycerin hydrogels as functions of UD extracts concentration and irradiation dose. Each value is the mean±S.D. (n≥3). “*” indicates statistical significance relative to the non-irradiated UD hydrogel, and “§” relative to the 35 kGy irradiated UD hydrogel ($p < 0.05$).

성으로 인해 젤강도가 증가되어 압축강도도 증가되는 경향을 나타내었다.²⁴ 반면 UD 추출물 농도가 높아질수록 압축강도는 감소하는데, 이것도 역시 앞서 설명한 바와 같이 UD 추출 다당류가 하이드로젤 가교구조 형성에 부정적인 영향을 주기 때문인 것으로 판단된다(Figure 5).

항염증 활성. HMC-1은 비만 세포주로서 TNF- α , IL-6, IL-8 등 세포내 염증성 인자를 다량으로 함유하고 있어 비만세포 의존적 알레르기 반응 매커니즘 해명 및 치료법의 연구에 다양하게 이용되고 있다. 본 연구에서는 느릅나무 열수 추출물을 함유한 고분자 하이드로젤을 제조하여 사이토카인 생성의 억제현상을 통해 항염증 활성을 평가해 보고자 하였다. 대조군으로 PMA 및 ionophore A23187로 자극한 HMC-1에서의 사이토카인 분비양상과 UD 하이드로젤로 처리된 후 PMA

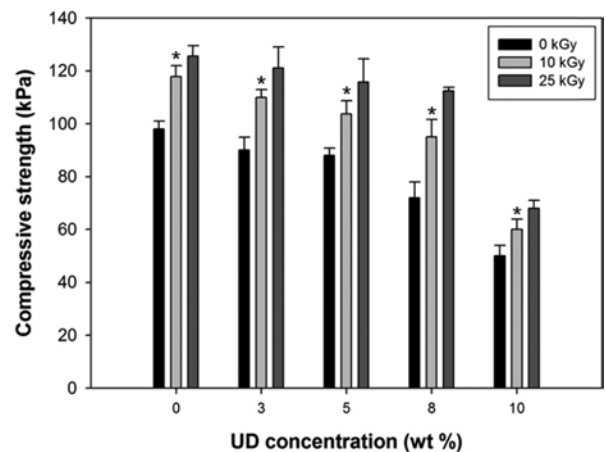


Figure 5. Compressive strength of PVA/glycerin hydrogels as functions of UD extracts concentration and irradiation dose. Each value is the mean±S.D. (n≥3). *; $p < 0.05$ compared to the non-irradiated UD hydrogel.

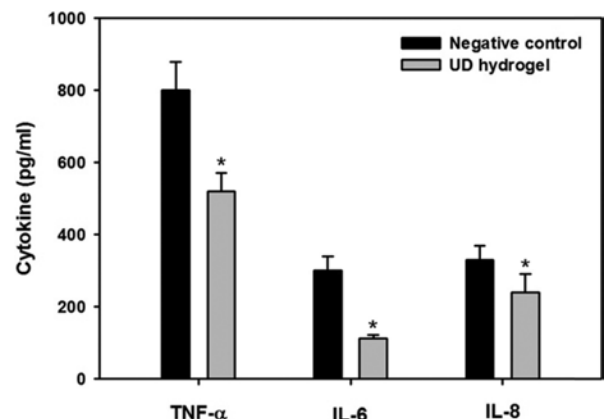


Figure 6. Effects of UD hydrogels on the production of TNF- α , IL-6 and IL-8 in A23187 and PMA stimulated HMC-1 cells. Each value is the mean±S.D. (n≥3). *; $p < 0.05$ compared to the negative control.

및 ionophore A23187로 자극한 실험군과 비교해본 결과, 실험군에서 TNF- α , IL-6, IL-8의 분비가 현저하게 감소된 것을 확인하였다(Figure 6).

결 론

본 연구에서는 항염증 특성을 가지는 천연물인 느릅나무를 열수 추출한 후 PVA, glycerin과 혼합하여 화학 가교제의 사용없이 방사선 가교기술을 이용하여 느릅나무(UD) 추출 다당류 함유 고분자 하이드로젤을 제조하였다. 제조된 하이드로젤의 물성을 평가해 본 결과 80% 이상의 우수한 젤화율과 200% 이상의 팽윤도를 나타내었다. 또한 UD 추출물은 비만 세포 매개 염증반응을 효과적으로 억제하였으며, 세포독성 평가 결과에서도 느릅나무 추출 고형분의 농도가 2.7 mg/mL까지는 세포 생존율이 70% 이상으로 무해한 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서 방사선 기술로 제조된 UD 하이드로젤은 인체독성이 없는 우수한 염증 치료용 패치는 물론 상처 치료용 드레싱제로도 충분한 응용가능성을 확인하였다.

감사의 글: 본 연구는 교육과학기술부에서 주관하는 원자력연구개발사업과 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ009510012013)의 지원에 의해 이루어진 것으로, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. L. Biolory, *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **93**, 45 (2004).
2. H. K. Kim, Y. M. Lim, D. K. Kim, and Y. C. Nho, *Lab. Anim. Res.*, **24**, 1 (2008).
3. E. J. Hwang, Y. U. Cha, M. H. Park, J. W. Lee, and S. Y. Lee, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **33**, 487 (2004).
4. E. B. Lee, O. K. Kim, C. S. Jung, and K. H. Jung, *J. Pharm. Soc. Korea*, **39**, 671 (1995).
5. M. Y. Lee, C. S. Seo, H. K. Ha, D. Y. Jung, H. Y. Lee, N. H. Lee, J. A. Lee, J. H. Kim, Y. K. Son, and H. K. Shin, *J. Ethnopharmacol.*, **130**, 61 (2010).
6. Y. Yang, J. W. Hyun, K. H. Lim, H. J. Kim, E. R. Woo, and J. Park, *Kor. J. Pharmacogn.*, **27**, 105 (1996).
7. Y. M. Kwon, J. H. Lee, and M. W. Lee, *Kor. J. Pharmacogn.*, **33**, 404 (2002).
8. S. Y. Eom, C. B. Chung, Y. S. Kim, J. H. Kim, K. S. Kim, Y. H. Kim, S. H. Park, Y. I. Hwang, and K. H. Kim, *J. Cosmet. Sci.*, **57**, 355 (2006).
9. G. Y. Lee, D. S. Jang, J. Kim, C. S. Kim, Y. S. Kim, J. H. Kim, and J. S. Kim, *Planta Medica*, **74**, 1800 (2008).
10. S. Hiroshi, Y. Seiichi, and H. Michio, *Mokuzai Gakkaishi*, **18**, 623 (1972).
11. L. Y. Yang and Y. J. Kim, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**, 561 (2001).
12. K. Burczak, T. Fujisato, M. Hatada, and Y. Ikada, *Biomaterials*, **15**, 231 (1994).
13. T. Hirai, T. Okinaka, Y. Amemiya, K. Kobayashi, M. Hirai, and S. Hayashi, *Angew. Makromol. Chem.*, **240**, 213 (1996).
14. J. Berger, M. Reist, J. M. Mayer, O. Felt, N. A. Peppas, and R. Gurny, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **57**, 19 (2004).
15. A. D. Augst, H. J. Kong, and D. J. Mooney, *Macromol. Bio.*, **6**, 623 (2006).
16. T. Hirai, T. Okinaka, Y. Amemiya, K. Kobayashi, M. Hirai, and S. Hayashi, *Angew. Makromol. Chem.*, **240**, 213 (1996).
17. W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 13 (2002).
18. J. H. Shin, Y. M. Lim, J. P. Jeun, and Y. C. Nho, *J. Ind. Eng. Chem.*, **13**, 1001 (2007).
19. T. Kojima, M. Bessho, M. Furuta, S. Okuda, and M. Hara, *Radiat. Phys. Chem.*, **71**, 233 (2004).
20. S. J. Zhang and H. Q. Yu, *Water Research*, **38**, 309 (2004).
21. B. Wang, S. Mukataka, E. Kokufuta, and M. Kodama, *Radiat. Phys. Chem.*, **59**, 91 (2000).
22. R. L. Clough and S. W. Shalaby, *Radiation Effects on Polymers*, Maple Press. Inc., New York, PA, p 271 (1990).
23. J. Ricka and T. Tanaka, *Macromolecules*, **17**, 2916 (1984).
24. K. R. Park, D. P. Kim, and Y. C. Nho, *J. Korea Ind. Eng. Chem.*, **12**, 718 (2001).