

미세 채널에서 칼슘이온 물질전달을 이용한 단분산성 알지네이트 하이드로젤 입자의 실시간 젤화

송영신 · 이창수[†]

충남대학교 화학공학과
305-764 대전광역시 유성구 대학로 99
(2014년 3월 4일 접수, 2014년 5월 9일 수정본 접수, 2014년 5월 14일 채택)

In situ Gelation of Monodisperse Alginate Hydrogel in Microfluidic Channel Based on Mass Transfer of Calcium Ions

YoungShin Song and Chang-Soo Lee[†]

Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea
(Received 4 March 2014; Received in revised form 9 May 2014; accepted 14 May 2014)

요 약

본 논문은 가교제의 물질전달을 통한 실시간 생체고분자의 젤화 과정으로 단분산성을 갖는 구형의 알지네이트 하이드로젤을 미세유체 채널 내에서 제조하는 방법에 관한 연구이다. 먼저 미세유체 채널 내에서 단분산성 알지네이트 액적들을 형성하고 연속상에 분산된 염화칼슘 분자들의 물질전달 과정을 통해 실시간 젤화과정이 이루어지게 하여 알지네이트 하이드로젤 입자를 제조하였다. 이때, 미세유체 채널에서 형성되는 액적의 크기는 손쉽게 케필러리 수(capillary number)와 분산상의 유속 조절을 통하여 제어할 수 있다. 본 방법은 미세유체 채널 내에서 안정적인 액적을 형성할 수 있고 칼슘 가교제로 제조된 알지네이트 하이드로젤 입자들은 균일한 크기 분포를 가지며(C.V=2.71%) 유속, 점도, 및 계면장력의 조절을 통하여 30 μm 에서 60 μm 까지의 다양한 크기의 알지네이트 하이드로젤 입자를 제조할 수 있다. 본 논문에서 제시한 간단한 미세유체 접근방법을 통해 제조되는 단분산성을 갖는 알지네이트 하이드로젤 입자는 생체물질들을 손쉽게 함입(encapsulation)할 수 있으며 이는 식품, 화장품, 잉크 및 약물 등의 전달체로 활용이 가능하고 생체적합성이 뛰어나 세포이식 분야에도 활용될 가능성이 있다.

Abstract – A microfluidic method for the *in situ* production of monodispersed alginate hydrogels using biocompatible polymer gelation by crosslinker mass transfer is described. Gelation of the hydrogel was achieved *in situ* by the dispersed calcium ion in the microfluidic device. The capillary number (Ca) and the flow rate of the disperse phase which are important operating parameters mainly influenced the formation of three distinctive flow regions, such as dripping, jetting, and unstable dripping. Under the formation of dripping region, monodispersed alginate hydrogels having a narrow size distribution (C.V=2.71%) were produced in the microfluidic device and the size of the hydrogels, ranging from 30 to 60 μm , could be easily controlled by varying the flow rate, viscosity, and interfacial tension. This simple microfluidic method for the production of monodisperse alginate hydrogels shows strong potential for use in delivery systems of foods, cosmetics, inks, and drugs, and spherical alginate hydrogels which have biocompatibility will be applied to cell transplantation

Key words: Hydrogel, Alginate, Monodispersity, Microfluidic, Mass Transfer

1. 서 론

가교가 일어나는 친수성 고분자인 하이드로젤은 많은 양의 물을 흡수해도 용해되지 않는 특징을 가진다[1]. 하이드로젤의 우수한 생

체적합성은 콘택트렌즈, 인공 장기, 약물전달시스템, 향장산업 등에 적용된다[2]. 하이드로젤은 생체 적합성뿐만 아니라 높은 함수율과 팽윤/수축 특성, 낮은 표면 장력을 지니고 있으며 액체와 고체의 중간적 성질을 가진다. 특히 구형의 하이드로젤 비드는 생체적합성, 습윤성, 높은 면역성뿐만 아니라 생물분자를 함입할 수 있는 성질을 갖기 때문에 세포전달시스템, 세포이식에 적용할 수 있고 이미지 분석이 손쉽다[3-6]. 또한, 다분산성을 갖는 하이드로젤의 경우, 하이드로젤에 함입되는 약물이나 생물 분자의 크기 및 개수 제어가 불가능한 데 반면, 단분산성을 갖는 하이드로젤은 다분산성을 갖는 하이드로

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: rhadam@cnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

젤에 비해 검출, 모니터링, 시물레이션과 같은 외부 자극에 대한 반응의 관찰이 가능하다는 장점을 보여준다[5,7-9]. 그러므로 화학적 반응과 이를 적용하는 관점에서 단분산성을 갖는 구형의 하이드로젤의 제조방법은 매우 중요하다[10]. 특히 하이드로젤의 종류 중 하나인 알지네이트는 갈조류에서 추출되는 천연고분자로 독성이 없고, 높은 생체분해성과 같은 특징을 가진다. 알지네이트는 β -D-만누론산(β -D-mannuronic acid)과 α -L-글루론산(α -L-guluronic acid)으로 이루어진 선형공중합체이고 칼슘과 같은 이가 양이온과 글루론산이 결합하여 젤화가 일어난다[11].

기존의 알지네이트 하이드로젤을 생산하는 방법에는 유화처리, 분무건조법, 퇴괴현상법(coacervation) 등이 있다[11-14]. 기존의 연구 방법으로 제조된 알지네이트 하이드로젤은 크기의 제어가 어려우므로 다분산성(polydispersity)을 갖는 하이드로젤을 제조하며 표준편차가 크다는 단점을 가진다. 단분산성을 갖는 하이드로젤 제조가 어렵다는 기존의 문제점을 미세유체(microfluidic) 시스템을 이용함으로써 해결할 수 있고 또한, 정교한 제어를 통해 크기가 균일한 단분산성을 갖는 하이드로젤 제조가 가능하다.

최근에 구형 입자를 생산하기 위한 다양한 방법들이 개발되고 있고, 그 중 미세유체 접근법은 시약의 소모량이 적고, 화학적 반응 검출 감도가 높다는 장점을 갖는다[15-19]. 특히 본 논문에서 제시하는 미세유체 접근법을 사용하여 알지네이트 하이드로젤을 제조할 경우 미세유체 채널의 지형학, 미세유체의 유속 조절을 이용하여 다양한 크기의 단분산성을 갖는 하이드로젤 제조가 가능하도록 했다[20,21].

미세유체 접근법을 이용하여 알지네이트 하이드로젤을 제조하는 방법에는 크게 내부젤화법, 유체 역학 집중 방법이 있다. 내부젤화법의 경우, 형성된 알지네이트 액적이 연속상에 존재하는 이가 양이온에 의해 젤화가 일어나는데 이때, 사용되는 산의 영향으로 알지네이트 하이드로젤에 함유된 세포나 기타 생물분자에 좋지 않은 영향을 끼칠 수 있다[22]. 또한, 유체 역학 집중 방법은 가교가 일어나지 않은 알지네이트 액적을 칼슘 수용액 내로 방출시켜 미세유체 채널 외부에서 가교를 일으키는 방법으로, 이 경우 가교되지 않은 알지네이트 액적이 갖는 높은 점도와 약한 기계적 강도 때문에 칼슘 수용액 내로 방출되기 어렵다는 한계점을 가진다[23].

본 연구에서는 기존 연구들의 한계점을 해결하고자 새로운 미세유체 접근법을 사용하여 미세유체 채널 내에서 연속상에 분산된 염화칼슘에 의해 칼슘이온의 물질전달을 통해 실시간으로 알지네이트 액적에 젤화를 일어나게 하고 이에 따라 단분산성을 갖는 구형의 알지네이트 하이드로젤을 제조하였다. 미세유체 내에서 알지네이트 액적은 알긴산 나트륨 수용액이 교차지점을 통과하면서 연속상에 의한 전단력(shear force)에 의해 형성된다. 이전의 방식과는 다르게 미세유체 접근법을 사용함으로써 좁은 크기분포를 갖는 단분산성 알지네이트 액적 형성을 가능하게 하였다. 또한, 본 연구에서는 알지네이트 액적이 형성될 때 계면장력, 점성력, 부피유속의 조절을 통해 알지네이트 액적의 크기 조절을 가능하게 하였다.

2. 실험방법

2-1. 재료

알지네이트 하이드로젤을 제조하기 위한 sodium alginate, calcium chloride, mineral oil, sorbitan monooleate(span 80)은 Sigma-aldrich chemicals에서 구매하였다. Poly(dimethylsiloxane)(PDMS)은 Dow

Corning sylgard 184를 구매하여 사용하였고 SU-8 photoresist와 developer 용액은 Microchem(MA, USA)에서 구매하였다.

2-2. 미세유체 채널의 제조

실리콘 몰드는 SU-8 photoresist를 실리콘 웨이퍼 위에 도포한 뒤 반도체 공정 기술인 광식각방법을 이용하여 제작하였다. PDMS 고분자와 가교제를 10:1의 비율로 혼합한 뒤 실리콘 마스터 위에 붓고 기포를 제거하기 위하여 진공오븐에 넣어둔다. 기포가 모두 제거된 이후에 65 °C 오븐에서 약 6시간 가교시킨다. 그 뒤 마스터로부터 미세유체가 새겨진 실리콘 몰드를 떼어내고 주입을 원하는 부위를 펀치로 뚫고 연결라인을 형성한다. 얇은 PDMS 펄판과 미세유체가 새겨진 실리콘 몰드는 플라즈마 처리로 표면이 활성화되고 접촉을 통해 미세유체 채널이 형성된다.

2-3. 알지네이트 하이드로젤 제조

알지네이트 하이드로젤은 미세유체 채널을 통해 제조된다(Fig. 1). 섞이지 않는 두 유체인 염화칼슘 수용액이 분산된 미네랄 오일과 알긴산 나트륨 수용액이 마이크로 시린지 펌프에 의해 미세유체 채널 내로 유입된다. 염화칼슘 수용액이 주입된 미네랄 오일을 만들기 위해서 미네랄 오일과 염화칼슘 수용액을 3:1의 부피비율로 섞어 준비하고 이것을 10분 동안 초음파처리(ultra-sonification)로 유화를 형성한다. 형성된 유화는 90 °C에서 10분간 회전 증발기(rotary evaporator)를 작동시켜 물을 증발시키고 남아있는 오일은 연속상으로 사용된다. 분산상인 알긴산 나트륨 수용액은 왼쪽에 치우친 주입구에 주입되고 연속상인 미네랄 오일은 나머지 주입구를 통해 주입된다. 채널 내에 존재하는 교차구간에서 알지네이트 액적이 형성되고 이때 연속상에 분산되어있는 칼슘 이온에 의해 젤화가 일어난다. 제조된 알지네이트 하이드로젤은 미세시험관(micro-tube)에 모이고 하이드로젤을 기름(mineral oil)층으로부터 분리해내기 위해 약하게 원심분리 시켜준다[24,25].

2-4. 분석기기

본 연구에서의 알지네이트 하이드로젤의 광학이미지는 높은 분해능의 CCD 카메라(Coolsnap, Roper Science, USA)를 갖춘 형광현미경(NIKON, TE2000, Japan)을 사용하여 촬영하였다. 이미지 측정을 위해 이미지 프로그램 Image pro plus(Media cybematics, CA, USA)와 Image J(<http://rsb.info.nih.gov/ij/>)가 사용되었다. 미세유체 채널 내에서 형성된 알지네이트 액적의 크기 분산도(CV: coefficient of variation)는 측정된 알지네이트 액적 크기의 표준편차를 평균으로 나누어 계산된다. 두 개의 유체간의 계면장력은 pendant drop method(optical tensiometer, KSV Instruments, Finland)를 사용하여 측정하였다.

3. 결과 및 토의

본 연구에서는 PDMS 미세유체 채널 내에서 연속상인 염화칼슘이 분산된 미네랄오일과 분산상인 알긴산 나트륨 수용액으로 섞이지 않는 두 유체를 사용하여 알지네이트 하이드로젤을 제조하였다(Fig. 1). 본 실험에서 사용한 미세유체 채널의 치수는 높이 100 μ m, 폭 200 μ m에 해당하고 실험에서 사용된 모든 채널의 치수는 동일하다. 미네랄 오일 내에 분산된 칼슘이온은 알지네이트에 가교를 일으키는 가교제로서 형성된 알지네이트 액적에 실시간으로 물질전달을 일으켜 젤화를

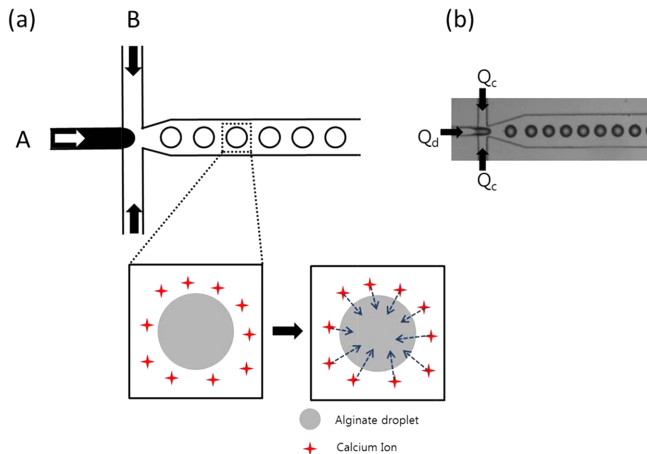


Fig. 1. A schematic diagram of the microfluidic device. (a) the micro-channels composed of two injection lines for the alginate solution (A) and mineral oil (B). (b) optical microscopy image of generating alginate droplets.

유도한다. 연속상과 분산상은 각각 다른 채널을 통해 주입되며 섞이지 않는 두 유체는 PDMS 미세유체 채널 내의 교차점 구간에서 처음 접촉한다. 분산상과 연속상 모두 좁은 교차점 구간으로 흐름이 집중되고 연속상의 전단력에 의해 연속적으로 균일한 크기의 액적이 형성된다. 형성된 알지네이트 액적은 미세유체 채널을 따라서 분산된 칼슘이온에 의해 실시간으로 젤화가 일어나게 되어 알지네이트 하이드로젤을 제조하고 배출구를 통해 나온 알지네이트 하이드로젤은 염화칼슘 수용액 저장조에서 이차적인 젤화가 일어난다. 이 때, 오일상에 존재하는 부분 젤화가 일어난 알지네이트 액적들이 염화칼슘 수용액 저장조에 배출되면서 알지네이트 액적은 가교로 인해 그 크기가 감소하게 된다.

미세유체 시스템을 통해 알지네이트 하이드로젤 제조의 최적화 및 유체형태에 대한 유동형태 기반의 상도표를 작성하였다[26,27]. 각 유동형태는 펌프기반 부피유속조절을 통해 단위 시간당 주입되는 부피를 손쉽게 제어하고 이를 현미경으로 실시간 관찰하였다. 미세유체 채널 내에서 형성되는 액적의 형태는 케필러리 수에 영향을 받게 된다.

$$Ca = \mu U / \gamma \quad (1)$$

케필러리 수는 연속상의 선속도(U), 연속상의 점도(μ)와 연속상과 분산상 사이의 계면장력(γ)으로 수식화되며, 이는 물리적으로 점성력(viscous stress)과 계면장력(interfacial tension)의 상관관계에 따른다[28]. 여기서, 연속상의 선속도(U)는 채널 내로 주입되는 부피유속을 채널 단면적으로 나눈 값으로 도출한다. 케필러리 수는 무차원수로서, 계면장력에 크게 영향을 받는 마이크로 채널 내부 유체의 유동을 정의하는데 널리 사용되고 있다. 이에, 케필러리 수(Ca)와 분산상의 부피유속(Q_d)의 두 수학적 변수를 이용하여 유동 현상에 대한 상도표를 완성하였다. 다음과 같은 상도표를 작성하기 위해 2% 알지네이트 용액과 2%의 계면활성제가 분산된 연속상을 사용하여 매 실험마다 알지네이트 수용액의 농도와 계면활성제의 농도는 일정하게 유지되었고 분산상과 연속상의 유속에만 변화를 주어 실험을 진행하였다. 이때 연속상의 유속은 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 에서 30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 까지 변화를 주었고 분산상의 유속은 0.1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 에서 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 까지 변

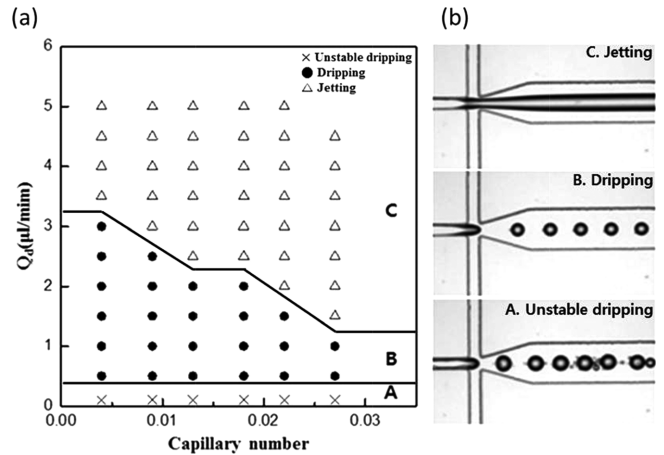


Fig. 2. The flow patterns observed in the microfluidic device. (a) Flow pattern diagram as a function of the disperse phase flow rate (Q_d) and of the capillary number. Three distinct regimes were observed: (A) Unstable Dripping, (B) Dripping, and (C) Jetting flow pattern. (b) A snapshot image of the three regimes. In this experiments, the disperse phase was composed of alginate (2 wt%) and the continuous phase was mineral oil containing surfactant (span 80, 2 wt%) and dispersed calcium chloride solution. The capillary number denotes the ratio of the viscous force to the interfacial force $Ca = \mu U / \gamma$, where U (m/s) is the average velocity of the continuous phase, μ (cP) is the viscosity of the continuous phase, and γ (mN/m) is the interfacial tension between the disperse and continuous phases.

화를 주었다.

본 연구에서는 미세유체 채널의 내부에서 덮개 유동에 의해 세 가지 유체의 형태가 관찰되며, 이는 균일 액적(Dripping)(A), 늘어진 유동(Jetting)(B), 불균일 액적(Unstable Dripping)(C)으로 나누어진다(Fig. 2). 분산상의 유속이 지나치게 느리면($Q_d < 0.1 \mu\text{L}/\text{min}$) 미세 채널 내에서 불안정한 형태의 액적이 형성된다. 또한 연속상의 유속과 비교해봤을 때 분산상의 유속이 상대적으로 높으면 늘어진 유동을 나타낸다. 분산상의 부피유속과 연속상의 부피유속이 높으면 채널의 교차지점에서 액적이 끊어지지 못하고 늘어진 유동을 나타내게 된다. 즉, 케필러리 수가 증가함에 따라 늘어진 유동이 발생하는 영역이 증가함을 알 수 있다[29-31]. 균일 액적은 제한된 영역에서의 케필러리 수 $Ca(0.3 \times 10^{-1} \sim 0.5 \times 10^{-4})$ 와 특정 분산상 유속 $Q_d(0.5 \sim 3 \mu\text{L}/\text{min})$ 에서 형성된다. 케필러리 수를 고정하고 분산상의 유속을 점차 증가시키면, 알지네이트 액적이 분리되기 시작하는 구간에 도달하고 이 구간은 불안정한 액적에서 안정적인 액적이 형성되는 구간으로 바뀌는 구간이다(Fig. 2). Region B에서는 계속해서 안정적인 액적이 형성된다. 이때, 안정적인 액적이 형성되는 구간은 유체가 평행한 흐름으로 주 채널로 들어가는 것을 확인할 수 있고 이에 의해 교차지점으로부터 액적이 불안정해지면서 끊어지게 된다. 액적이 교차지점으로부터 끊어지는 이유는 미세알 오일이 채널 벽과 두 유체 사이의 서로 다른 젖음성에 의해 수용액 액적을 감싸기 때문이다. 또한 분산상의 유속 증가함에 따라 안정적 액적이 형성되는 구간이 줄어든다. 즉, 분산상의 유속이 증가하게 되면 Region C와 같이 교차구간으로부터 알지네이트 액적이 끊어질 만큼 전단력이 크지 않기 때문에 단분산성을 가진 알지네이트 액적을 형성할 수 없다.

형성된 알지네이트 액적의 균일도를 측정하기 위해서 알지네이트 액적의 구조 및 형태에 대한 관찰이 필요하다. 미세유체 채널에서 형

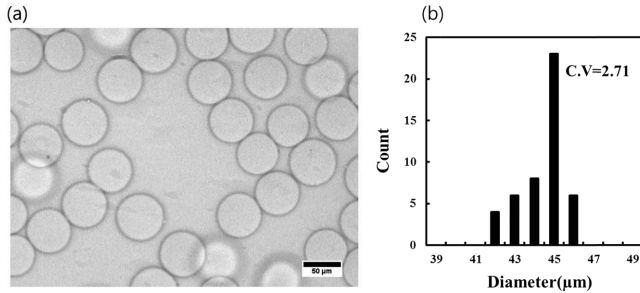


Fig. 3. Generation of monodisperse alginate hydrogels in the microfluidic device. (a) Optical microscopy image of the monodispersed alginate hydrogels formed using the microfluidic device. (b) The size distribution of the microgels obtained at $Q_c=20 \mu\text{l/min}$ and $Q_d=3 \mu\text{l/min}$.

성된 알지네이트 액적은 2차적인 젤화를 위하여 채널 외부의 염화칼슘 수용액 저장소로 모아진다. 광학 현미경을 이용하여 미세 유체 채널 외부로 나와 염화칼슘 수용액 저장소에서의 2차 젤화가 일어난 알지네이트 하이드로젤을 측정하였다(Fig. 3(a)). Fig. 3(b)는 형성된 알지네이트 액적의 크기 분포를 나타낸다. 해당 데이터는 단분산성을 보이며 CV(coefficient of variance), 액적의 표준편차를 평균 지름으로 나눈 값으로 계산하여 2.71%를 얻었다. 미국 NIST(National Institute of Standard and Technology)에서는 CV가 5% 이하의 값을 보일 때 단분산성이라고 정의하고 있음을 고려해 볼 때, 이는 균일한 알지네이트 액적이 형성되었음을 보여주는 값이다.

미세유체 채널 내에서 액적의 크기는 케펠러리 수와 분산상의 부피유속에 따라 조절된다. 분산상의 부피유속을 일정하게 유지하면서 케펠러리 수를 증가시키게 되면 전단력이 증가하고 이에 의해 더 작은 액적이 형성된다. 분산상의 부피유속 또한 액적의 크기를 조절하는데 이용된다. 케펠러리 수를 일정하게 유지하면서 분산상의 부피유속을 증가시키면 더 큰 액적이 형성된다.

미세유체 채널 내에서 액적을 형성하는 메커니즘에 의하면 액적의 크기는 점도, 계면장력, 유체의 속도, 젖음 성질 등에 의해 결정된다[20,21,29]. 본 연구에서는 연속상의 끊어짐 현상에 의해 액적이 형성될 때의 계면장력의 효과를 알기 위해 연속상(mineral oil) 내의 계면활성제 농도를 변화시킴에 따라 액적의 크기를 측정하였다. 이 때, 계면활성제의 농도에 따른 계면장력의 값은 12.06 mN/m에서 71.71 mN/m로 변화한다. 분산상에 계면활성제가 존재하지 않은 상태일 때의 유체의 흐름은 늘어진 형태로 존재한다(Fig. 2). 하지만 일정 양 이상의 계면활성제를 사용할 경우 안정적인 액적을 쉽게 얻을 수 있다. 두 상의 계면장력을 줄여주기 위해 연속상 내에 계면활성제의 한 종류인 span 80(nonionic surfactant, sorbitan monooleate)을 주입하였고 계면활성제는 젤화가 일어나기 이전에 액적의 합체를 막아준다. 연속상 내의 계면활성제 농도가 증가할수록 계면장력이 감소하기 때문에 계면장력이 감소할수록 하이드로젤의 지름은 작아진다(Fig. 4). 그러므로 알지네이트 하이드로젤의 크기는 미네랄 오일 내에 존재하는 계면활성제의 농도에 의존적이다. 계면 장력과 연속상의 유속이 하이드로젤의 크기에 어떠한 영향을 끼치는지를 보여준다. 계면장력과 전단력의 균형에 따라 미세유체 채널에서 형성된 액적의 크기가 결정되고 일정한 계면장력 값에서 미네랄 오일의 부피유속이 빨라질수록 더 큰 전단력이 형성되면서 크기가 더 작은 액적이 형성된다[32]. 따라서 하이드로젤의 사이즈는 미네랄 오일의 부피유속에 변화를 주

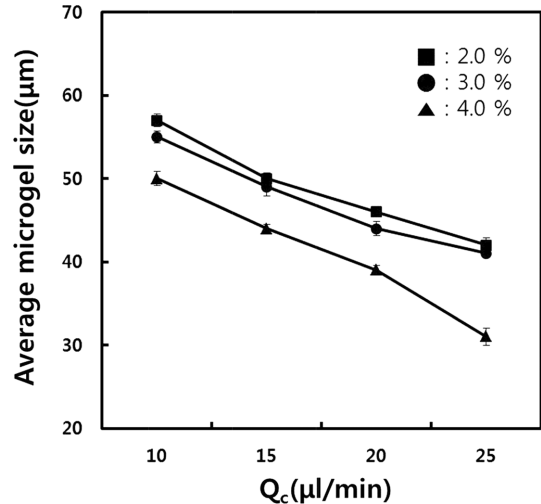


Fig. 4. Effect of surfactants and flow rate of the continuous phase on the hydrogels size. Dependence of the size of the hydrogels *in situ* produced in the microfluidic device on the rate of the continuous phase and the interfacial tension between the continuous and disperse phases, with the addition of different concentrations of surfactant (SPAN 80) from 2(12.06 mN/m) to 4(71.71 mN/m) %.

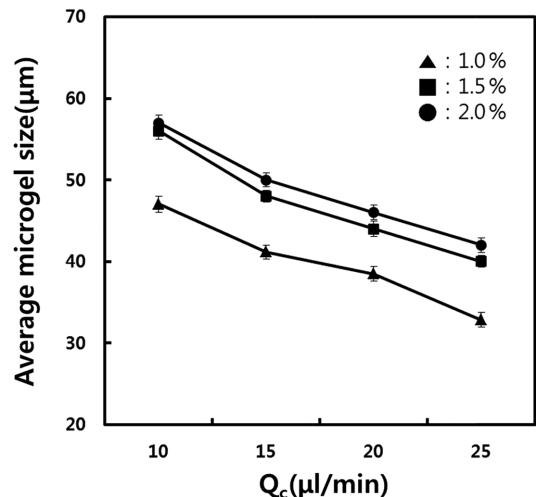


Fig. 5. Effect of viscosity of the disperse phase. Hydrogels size as a function of the flow rate of the continuous phase for three alginate solutions with different viscosities. Triangle 1.0% alginate (80cP), square 1.5% alginate (180cP), circle 2.0% alginate (250cP).

거나 연속상에 계면활성제를 첨가하여 계면장력을 변화시켜줌에 따라 조절된다.

본 실험에서는 분산상의 점도 효과를 확인하고자 알지네이트 농도에 따라 연속상의 속도를 측정하여 알지네이트 하이드로젤을 제조하였다. 알지네이트의 점도는 알지네이트의 농도를 증가시키기에 따라 증가한다(Fig. 5). 알지네이트의 농도를 1%(80cP) 알긴산 나트륨 수용액(alginate solution)에서 2%(250cP) 알긴산 나트륨 수용액까지를 범위로 하여 하이드로젤의 평균 크기에 알지네이트의 점도가 어떤 영향을 끼치는지 보여준다. 알긴산 나트륨 수용액의 농도가 증가할수록 크기가 큰 알지네이트 하이드로젤이 제조된다. 그러므로 하이드로젤의 크기는 분산상의 점도를 변화시킴으로써 조절될 수 있다.

4. 결 론

본 연구는 간단한 미세유체 채널의 제작공정을 통해 *in situ*에서 실시간 물질전달을 사용하여 단분산성을 갖는 구형의 알지네이트 하이드로젤을 제조하는 방법을 제안하였다. 미세유체 채널 내에서 알지네이트 하이드로젤을 제조하는 것은 높은 점도를 갖는 알긴산 나트륨 수용액으로 단분산성을 갖는 알지네이트 하이드로젤 즉, 하이드로젤을 연속적으로 제조한다는 점에서 매우 중요하다. 미세유체 반응기에 의해 제조되는 알지네이트 하이드로젤의 크기는 미세유체 내에서의 부피유속, 점도, 계면장력에 의해 쉽게 조절된다. 본 연구에서 제조할 수 있는 하이드로젤의 크기는 30 μm 에서 60 μm 이지만, 채널의 지형학이나 부피유속 조절에 의해 더 작거나 큰 하이드로젤의 제조가 가능하다. 특히 알지네이트가 갖는 무독성, 무공격성이라는 특징과 알지네이트 하이드로젤을 단분산성을 갖는 구형의 하이드로젤로 제조하는 공정이 매우 간단하고 빠르다는 점에서 본 논문에서 제안한 알지네이트 하이드로젤은 약물전달시스템, 생물센서, 미세반응기 등에 적용될 수 있고, 세포를 연구하기 위한 세포기반의 미세구간(microcompartmentalization)으로도 다양하게 적용될 수 있다.

감 사

이 논문은 2013년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단 기초연구사업(No. NRF-2011-0017322) 및 우주핵심기술개발사업(No. NRF-2013M1A3A3A02042262)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Nomenclatures

Ca : Capillary Number
 μ : viscosity of continuous phase [cP]
 U : average velocity of continuous phase [m/s]
 γ : interfacial tension between disperse and continuous phase [mN/m]
 Q_d : flow rate of disperse phase [$\mu\text{l}/\text{min}$]
 Q_c : flow rate of continuous phase [$\mu\text{l}/\text{min}$]

References

- Desai, A., Kisaalita, W. S., Keith, C. and Wu, Z. Z., "Human Neuroblastoma (SH-SY5Y) Cell Culture and Differentiation in 3-D Collagen Hydrogels for Cell-based Biosensing," *Biosens Bioelectron*, **21**(8), 1483-1492(2006).
- Norton, L. W., Tegnell, E., Toporek, S. S. and Reichert, W. M., "In vitro Characterization of Vascular Endothelial Growth Factor and Dexamethasone Releasing Hydrogels for Implantable Probe Coatings," *Biomaterials*, **26**(16), 3285-3297(2005).
- Frykman, S. and Srien, F., "Quantitating Secretion Rates of Individual Cells: Design of Secretion Assays," *Biotechnol Bioeng*, **59**(2), 214-226(1998).
- Xu, B., Iwata, H., Miyamoto, M., Balamurugan, A. N., Murakami, Y., Cui, W., Imamura, M. and Inoue, K., "Functional Comparison of the Single-layer Agarose Microbeads and the Developed Three-layer Agarose Microbeads as the Bioartificial Pancreas: an in vitro Study," *Cell Transplant*, **10**(4-5), 403-408(2001).
- Dove, A., "Cell-based Therapies Go Live," *Nat Biotechnol*, **20**(4), 339-343(2002).
- Borisov, S. M. and Wolfbeis, O. S., "Temperature-sensitive Europium(III) Probes and Their Use for Simultaneous Luminescent Sensing of Temperature and Oxygen," *Anal Chem*, **78**(14), 5094-5101(2006).
- Goponenko, A. V. and Asher, S. A., "Modeling of Stimulated Hydrogel Volume Changes in Photonic Crystal Pb^{2+} Sensing Materials," *J Am Chem Soc*, **127**(30), 10753-10759(2005).
- Ben-Moshe, M., Alexeev, V. L. and Asher, S. A., "Fast Responsive Crystalline Colloidal Array Photonic Crystal Glucose Sensors," *Anal Chem*, **78**(14), 5149-5157(2006).
- Tan, Y. C., Hettiarachchi, K., Siu, M., Pan, Y. R. and Lee, A. P., "Controlled Microfluidic Encapsulation of Cells, Proteins, and Microbeads in Lipid Vesicles," *J Am Chem Soc*, **128**(17), 5656-5658(2006).
- Choi, C. H., Jung, J. H., Rhee, Y. W., Kim, D. P., Shim, S. E. and Lee, C. S., "Generation of Monodisperse Alginate Microbeads and in situ Encapsulation of Cell in Microfluidic Device," *Biomed Microdevices*, **9**(6), 855-862(2007).
- Silva, C. M., Ribeiro, A. J., Figueiredo, I. V., Goncalves, A. R. and Veiga, F., "Alginate Microspheres Prepared by Internal Gelation: Development and Effect on Insulin Stability," *Int J Pharm*, **311**(1-2), 1-10(2006).
- Sugiura, S., Oda, T., Aoyagi, Y., Matsuo, R., Enomoto, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., Satake, M., Ochiai, A., Ohkohchi, N. and Nakajima, M., "Microfabricated Airflow Nozzle for Microencapsulation of Living Cells into 150 Micrometer Microcapsules," *Biomed Microdevices*, **9**(1), 91-99(2007).
- Sugiura, S., Oda, T., Izumida, Y., Aoyagi, Y., Satake, M., Ochiai, A., Ohkohchi, N. and Nakajima, M., "Size Control of Calcium Alginate Beads Containing Living Cells Using Micro-nozzle Array," *Biomaterials*, **26**(16), 3327-3331(2005).
- Halle, J. P., Leblond, F. A., Pariseau, J. F., Jutras, P., Brabant, M. J. and Lepage, Y., "Studies on Small (< 300 microns) Microcapsules: II-Parameters Governing the Production of Alginate Beads by High Voltage Electrostatic Pulses," *Cell Transplant*, **3**(5), 365-372(1994).
- Whitesides, G. M., "The Origins and the Future of Microfluidics," *Nature*, **442**(7101), 368-373(2006).
- Huh, Y. S., Jeon, S. J., Lee, E. Z., Park, H. S. and Hong, W. H., "Microfluidic Extraction Using Two Phase Laminar Flow for Chemical and Biological Applications," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**(3), 633-642(2011).
- Min, S. K., Lee, B. M., Hwang, J. H., Ha, S. H. and Shin, H. S., "Mathematical Analysis of Colonial Formation of Embryonic Stem Cells in Microfluidic System," *Korean J. Chem. Eng.*, **29**(3), 392-395(2012).
- Jeong, H. H., Lee, S. H. and Lee, C. S., "Pump-less Static Microfluidic Device for Analysis of Chemotaxis of *Pseudomonas Aeruginosa* Using Wetting and Capillary Action," *Biosens. Bioelectron*, **47**, 278-284(2013).
- Jung, J. H. and Lee, C. S., "Droplet Based Microfluidic System," *Korean Chem. Eng. Res.*, **48**(5), 545-555(2010).
- Nie, Z. H., Xu, S. Q., Seo, M., Lewis, P. C. and Kumacheva, E., "Polymer Particles with Various Shapes and Morphologies Produced in Continuous Microfluidic Reactors," *J. Am. Chem. Soc.*

- 127(22), 8058-8063(2005).
21. Zourob, M., Mohr, S., Mayes, A. G., Macaskill, A., Perez-Moral, N., Fielden, P. R. and Goddard, N. J., "A Micro-reactor for Preparing Uniform Molecularly Imprinted Polymer Beads," *Lab on a Chip*, **6**(2), 296-301(2006).
 22. Tan, W. H. and Takeuchi, S., "Monodisperse Alginate Hydrogel Microbeads for Cell Encapsulation," *Adv. Mater.*, **19**(18), 2696(2007).
 23. Huang, K. S., Lai, T. H. and Lin, Y. C., "Manipulating the Generation of Ca-alginate Microspheres Using Microfluidic Channels As a Carrier of Gold Nanoparticles," *Lab on a Chip*, **6**(7), 954-957(2006).
 24. Agarwal, P., Zhao, S. T., Bielecki, P., Rao, W., Choi, J. K., Zhao, Y., Yu, J. H., Zhang, W. J. and He, X. M., "One-step Microfluidic Generation of Pre-hatching Embryo-like Core-shell Microcapsules for Miniaturized 3D Culture of Pluripotent Stem Cells," *Lab on a Chip*, **13**(23), 4525-4533(2013).
 25. Zhang, H., Tumarkin, E., Peerani, R., Nie, Z., Sullan, R. M. A., Walker, G. C. and Kumacheva, E., "Microfluidic Production of Biopolymer Microcapsules with Controlled Morphology," *J. Am. Chem. Soc.*, **128**(37), 12205-12210(2006).
 26. Dreyfus, R., Tabeling, P. and Willaime, H., "Ordered and Disordered Patterns in Two-phase Flows in Microchannels," *Phys. Rev. Lett.*, **90**(14), (2003).
 27. Xu, J. H., Luo, G. S., Li, S. W. and Chen, G. G., "Shear Force Induced Monodisperse Droplet Formation in a Microfluidic Device by Controlling Wetting Properties," *Lab on a Chip*, **6**(1), 131-136(2006).
 28. Choi, C. H., Jung, J. H. and Lee, C. S., "in situ Microfluidic Method for the Generation of Uniform PEG Microfiber," *Korean Chem. Eng. Res.*, **48**(4), 470-474(2010).
 29. Nie, Z. H., Seo, M. S., Xu, S. Q., Lewis, P. C., Mok, M., Kumacheva, E., Whitesides, G. M., Garstecki, P. and Stone, H. A., "Emulsification in a Microfluidic Flow-focusing Device: Effect of the Viscosities of the Liquids," *Microfluidics and Nanofluidics*, **5**(5), 585-594(2008).
 30. Yobas, L., Martens, S., Ong, W. L. and Ranganathan, N., "High-performance Flow-focusing Geometry for Spontaneous Generation of Monodispersed Droplets," *Lab Chip*, **6**(8), 1073-9(2006).
 31. Zhou, C., Yue, P. and Feng, J. J., "Formation of Simple and Compound Drops in Microfluidic Devices," *Physics of Fluids*, **18**(092105), 1-14(2006).
 32. Peng, L., Yang, M., Guo, S. S., Liu, W. and Zhao, X. Z., "The Effect of Interfacial Tension on Droplet Formation in Flow-focusing Microfluidic Device," *Biomed Microdevices*, **13**(3), 559-64(2011).