

얇은 오일셸 이중에멀전을 이용한 고효율 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자 생산

김병진 · 정혜선 · 최창형[†]

대구한의대학교 화장품공학부
38609 경상북도 경산시 한의대로 1
(2021년 8월 17일 접수, 2021년 9월 22일 수정본 접수, 2021년 10월 1일 채택)

Highly Efficient Production of Monodisperse Poly(ethylene glycol) (PEG) Hydrogel Microparticles by Utilizing Double Emulsion Drops with a Sacrificial Thin Oil Shell

Byeong-Jin Kim, Hye-Seon Jeong and Chang-Hyung Choi[†]

Division of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University,
1, Hanuida-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38609, Korea
(Received 17 August 2021; Received in revised form 22 September 2021; Accepted 1 October 2021)

요 약

본 연구는 미세유체기술을 기반으로 매우 간단하고 효율적인 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자 제조 방법을 제안하였다. 구체적으로, 유리모세관 미세유체장치 내에서 형성된 이중에멀전은 자외선기반 자유라디칼 중합에 의해 빠르게 고형화가 이루어진다. 수용액에 분산됨과 동시에 계면활성제의 부족으로 인해 얇은 오일셸은 자발적으로 분리되어, 단분산성 하이드로젤 입자를 형성하였다(C.V.=1%). 본 연구의 결과는 water-in-oil (w/o) 단일에멀전 기반의 제조 방법과 달리 오일 부피를 최소한으로 사용하여 크기 및 조성 제어가 가능한 단분산성 하이드로젤 입자의 제조가 달성될 수 있음을 보여준다. 마지막으로, 상도표를 기반으로 미세유체장치 내 유동 패턴에 대한 심층 연구는 상대적인 부피 유속들 간의 중요한 상관관계를 나타내며 하이드로젤 마이크로 입자의 안정적인 제조를 위한 실험적 근거를 제시하였다.

Abstract – This study reports a microfluidic approach to produce monodisperse hydrogel microparticles in a simple and highly efficient manner. Specifically, we produce double emulsion drops with a thin oil shell surrounding an aqueous prepolymer solution, which is solidified via UV-induced free radical polymerization. When they are dispersed in an aqueous solution, the oil shell is dewetted due to the absence of surfactants, resulting in production of highly uniform hydrogel microparticles (C.V.=1%). Results show that production of monodisperse hydrogel microparticles with controllable size and composition can be achieved with minimal use of oil unlike water-in-oil (w/o) single emulsion-based approach. Furthermore, in-depth study of flow patterns in microfluidic device using a phase diagram exhibits a crucial relationship among relative flow rates while providing windows of readily controllable parameters for reliable manufacturing of hydrogel microparticles.

Keywords: Hydrogel, Microparticle, Microfluidics, Double emulsion

1. 서 론

하이드로젤(hydrogel)은 많은 양의 물을 함유할 수 있는 수용성 고분자로 물리적, 화학적 결합을 통해 3차원 망상구조를 이루고 있는 물질이다[1]. 생체적합성, 생분해성의 다공성 고분자 망상구조(network structure)를 제공하여 약물전달(drug delivery)[2,3], 바이

오센서(biosensor)[4], 생물학적 복원(bioremediation)[5] 등 다양한 연구분야에서 응용되고 있다[6,7]. 하이드로젤 입자는 기능성 생체 물질을 담지할 수 있으며 다공성 망상구조를 통해 물질을 외부 환경으로 방출 또는 흡수하는 특징을 가지고 있다[8,9]. 특히 약물 전달 시스템에서는 일정 기간 동안 약물 투여량을 조절하기 위해 입자의 크기를 제어하는 것은 약물 투여량과 생체 이용률을 결정하기 때문에 매우 중요하다[10]. 마이크로 크기의 입자는 좁은 간격의 통로 이동이 가능하고 물질 방출 속도를 빠르게 방출되도록 조절할 수 있다. 또한 하이드로젤의 다공성 망상구조를 변화시켜 입자의 기능성을 부여할 수 있다[11]. 그러나 하이드로젤 마이크로 입자 제조에 있어 단분산적인 입자 크기 제어, 하이드로젤 단량체 조성 변화는

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: cchoi@dhu.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.

정교한 입자 제조 기술이 요구된다.

하이드로젤 마이크로 입자의 제조를 위한 기존의 방법으로 포토 리소그래피(photolithography)[12,13], 마이크로몰딩(micromolding)[14,15] 등이 있다. 이는 입자의 크기, 모양에 대한 정밀한 제어와 확장성과 같은 많은 이점을 제공하지만 배치 방식(batch processing)의 특성으로 인해 결과적으로 낮은 생산량을 가진다는 한계가 있다. 최근 미세유체기술의 발전으로 혼합되지 않는 다상 흐름의 정밀한 제어를 가능하게 하여 크기 제어가 가능한 단분산성 입자의 연속적이고 신속한 생산을 제공한다; 일반적으로 미세유체기술은 병렬화를 통한 대량생산이 용이한 고분자기반의 미세유체장치와 다중에멀전 생산에 장점을 지닌 유리모세관 기반의 미세유체장치로 구분된다. 예를 들어, T-junction[16-18], flow-focusing[19-22] 방법으로 제조된 water-in-oil (w/o) 에멀전 액적은 다양한 중합 방식의 단분산성 입자를 생산하기 위한 템플릿으로 활용할 수 있다. 그러나, 이 경우 오일을 제거하는 별도의 세척과정이 필요해 입자 내에 담지된 생체 물질이 오일과 계면활성제에 장시간 노출되어 부정적인 영향을 끼칠 수 있다[23]. 또한, 생성된 입자를 유상에서 수상으로 옮기기 위한 추가적인 세척 단계가 필요하므로 시간과 노동력이 많이 소모되는 단점이 있다. 따라서, 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자의 간편하고, 보다 효율적인 생산 방법에 대한 연구가 필요하다.

본 연구에서는 얇은 오일층을 가진 이중에멀전을 템플릿으로써 활용하여 간단하면서 효율적으로 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자를 생산하였다. 기존의 하이드로젤 입자 제조 방법과 달리 오일과 계면활성제의 사용을 최소화하고 별도의 세척공정없이 간단히 하이드로젤 입자 제조 및 수집이 가능하기 때문에 생체적합성이 우수하며 경제적 효율성이 높은 입자 제조 방법이다. 유리모세관 기반 미세유체장치를 이용하여 매우 얇은 오일상에 둘러 싸인 하이드로젤 단량체 수용액의 동축 흐름을 형성하였다. 이는 연속상 수용액에 유화되어 균일한 이중에멀전 액적을 생성하였으며 자외선 자유라디칼 중합을 통해 하이드로젤 단량체 수용액만 선택적으로 고형화하여 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자를 생산하였다. 미세유체장치 내 유체의 부피유속을 제어하여 하이드로젤 입자의 크기를 폭넓은 범위에서 제어가 가능함을 보여주며 하이드로젤 단량체 조성을 변화시켜 기능성 하이드로젤 입자 생산이 가능함을 확인하였다. 또한 각 유체들의 유변학적 특성변화를 정량적으로 분석하여 균일한 액적 형성을 위한 최적화된 부피유속 조건을 제시한다.

2. 실험 및 방법

2-1. 재료

이중에멀전 액적을 생성하기 위해 하이드로젤 단량체 수용액으로써 10% (v/v) polyethyleneglycol diacrylate (PEG-DA, Mn 700, Sigma-Aldrich)을 사용하였다. 오일 상은 비이온성 계면활성제 (0.5% (v/v) Span 80, Sigma-Aldrich)가 포함된 Hexadecane (Alfa Aesar)을 사용하였으며 연속상은 5% (w/v) PVA (Polyvinyl alcohol, Mw 13,000-23,000, Sigma-Aldrich) 수용액을 사용하였다.

2-2. 미세유체장치 제작

유리모세관 기반 미세유체장치를 제작하기 위해 단면이 정사각형인 모세관(내경: 1.05 mm)과 단면이 원형인 모세관(내경: 0.58 mm, 외경: 1 mm)을 사용하였다. 단면이 원형인 모세관은 주입모세관

(Injection capillary)과 수집모세관(collection capillary)으로써 사용되며 추가적으로 작은 원형 모세관(small tapered capillary)은 주입 모세관 내 삽입되어 제작된다. 주입모세관의 외경(1 mm)보다 내부 너비(1.05 mm)가 큰 정사각형 모세관에 주입모세관을 삽입하였다. 다음으로 가스 토치를 이용하여 원형 모세관을 가열하고 당겨 작은 원형 모세관(내경: 50 μ m)을 제작하며 이는 혼합되지 않는 두 유체의 동시 주입을 위해 주입 모세관에 삽입된다; 수집모세관은 주입 모세관의 반대 방향으로 정사각형 모세관에 삽입이 된다. 마지막으로, 주입모세관을 소수성 표면처리를 위해 n-octadecyltrimethoxysilane (Sigma-Aldrich)를 사용하였고 수집모세관을 친수성 표면처리를 위해 2-[methoxy(polyethyleneoxy)-propyl] trimethoxy silane (Sigma-Aldrich)를 사용하였으며 소수성 표면처리는 3분간, 친수성 표면처리는 30분간 처리한 다음 각 표면의 세척을 위해 각각 이소프로필알콜(isopropyl alcohol, IPA)와 에탄올을 사용하였다.

2-3. 액적 생성

미세유체장치는 연속상 수용액을 위한 주입구, 하이드로젤 단량체 수용액 상을 위한 주입구, 오일 용액을 위한 주입구, 생성된 액적을 받는 수집구로 구성되어 있으며 연속상에는 5% (w/v) PVA 수용액을 주입, 단량체 수용액 상에는 10% (v/v) PEG-DA 수용액을 주입하고, 오일 상에는 0.5% (v/v) Span 80이 포함된 Hexadecane을 주입한다. 액적 생성 동안 유체의 주입은 주사기 펌프(Harvard Apparatus)에 의해 제어되고 이중에멀전 액적 및 하이드로젤 마이크로 입자 관찰을 위해 초고속카메라(MINI UX 50, Photron)와 도립 광학 현미경(Eclipse Ti2, Nikon)을 사용하였다. 형성된 액적 및 입자의 크기는 이미지분석기법(ImageJ)을 통해 수행하였다.

3. 결과 및 토의

본 연구에서는 하이드로젤 마이크로 입자를 생산하기 위해 유리 모세관 기반 미세유체장치를 이용하여 매우 얇은 오일층을 지닌 이중에멀전(water-in-oil-in-water, W/O/W)을 형성하였다(Fig. 1). 미세유체장치는 두 개의 단면이 원형인 모세관을 단면이 정사각형인 모세관에 삽입하여 제작되었으며, 미세유체장치의 제작방법은 실험 및 방법에 상세하게 기술하였다; 모세관 미세유체장치에 대한 계략도와 광학 현미경 이미지를 통해 확인할 수 있다(Fig. 1A and B). 각 유체의 원활한 공급을 위해 주입모세관을 소수성, 수집모세관을 친수성으로 표면 처리하였다. 주입모세관의 소수성 표면처리로 인해 유상 흐름의 강한 친화력이 생기고 하이드로젤 단량체 수용액(prepolymer solution)을 둘러싸는 매우 얇은 유층으로 구성되어 혼합되지 않는 두 유체가 동축흐름으로 유도된다. 우선, 각각의 주입구를 통해 하이드로젤 단량체 수용액과 오일을 주입하여 큰 단량체 방울이 오일에 의해 완전히 둘러싸인 부분과 오일만 주입되는 부분이 주기적인 흐름을 형성하고 정사각형 모세관과 주입모세관 사이로 수용액 연속상을 주입하여 흐름을 형성한다. 주입모세관으로부터의 동축 흐름은 수용액 연속상에 의해 Dripping 방식으로 유화되어 매우 얇은 오일층을 가진 단분산성 이중에멀전을 형성할 수 있다(Fig. 1B). 수집모세관 내 형성된 이중에멀전은 자외선에 노출되어 자유라디칼 중합이 일어나고 하이드로젤 단량체가 선택적으로 고형화가 이루어짐과 동시에 물에 수집된다(Fig. 1C(a), Fig. 1D(a)); 이와 동시에 생성되는 단일에멀전(오일방울)은 낮은 밀도(0.77 g/ml)

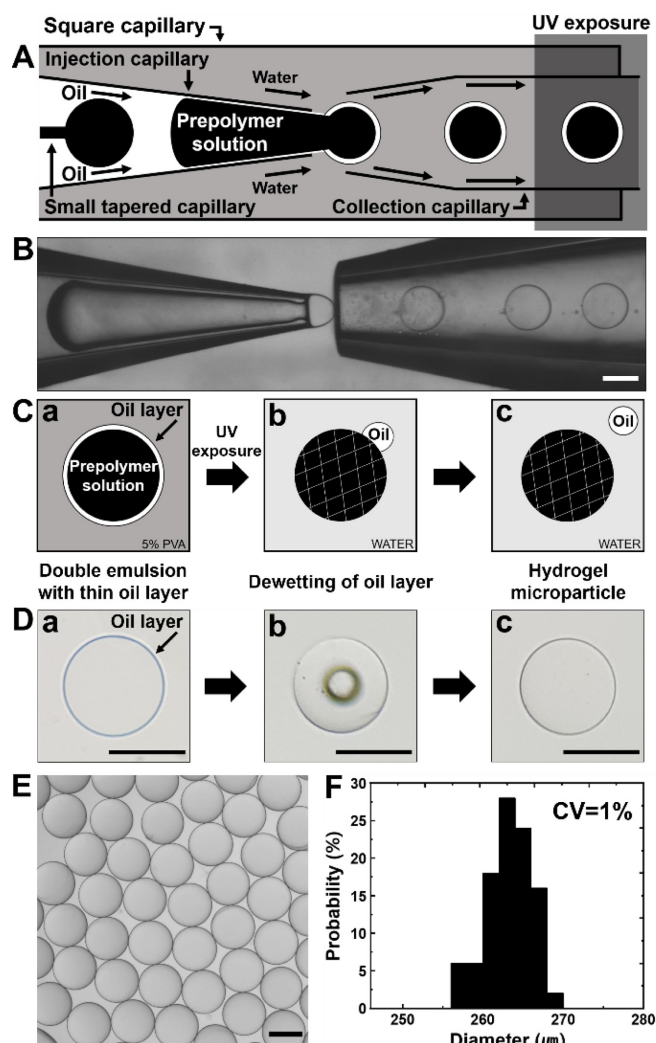


Fig. 1. One-step capillary microfluidic production of PEG hydrogel microspheres by utilizing double emulsion drops with a sacrificial oil shell. (A) Schematic diagram showing the glass capillary microfluidic device used to prepare double emulsion drops. These drops are crosslinked via UV-induced free radical polymerization and collected in water to separate the oil shell from the polymerized microspheres. (B) Optical micrograph showing the formation of double emulsion drops that flow through the collection capillary. (C) Schematic diagrams and (D) the corresponding micrographs showing the sequence of hydrogel microparticle (E) Bright-field micrograph of hydrogel microspheres with uniform size. (F) Size distribution of the hydrogel microsphere (CV=1%). Scale bars represent 200 μm .

로 인해 자발적으로 물의 상단에 분리된다. 연속상으로 사용된 계면활성제(5% PVA 수용액)로 인해 안정적으로 유지되던 오일셀은 물(중류수)에 분산됨과 동시에 계면활성제의 부재로 오일셀의 불안정성을 야기하고 하이드로젤 마이크로 입자 표면으로부터 디웨팅(Dewetting)이 발생된다(Fig. 1C-b, Fig. 1D-b). 일정시간 이후(대략 3분), 오일셀은 하이드로젤 입자로부터 완전히 분리되어 수용액 수면 위로 이동하며 최종적으로 물의 하단부에서 하이드로젤 마이크로 입자의 수집이 가능하다(Fig. 1C-c, Fig. 1D-c). 수집된 하이드로젤 마이크로 입자는 매우 균일하며(Fig. 1-e), 입자의 분산도(C.V., coefficient of variance)는 대략 1%로써 단분산성 입자가 제조되었

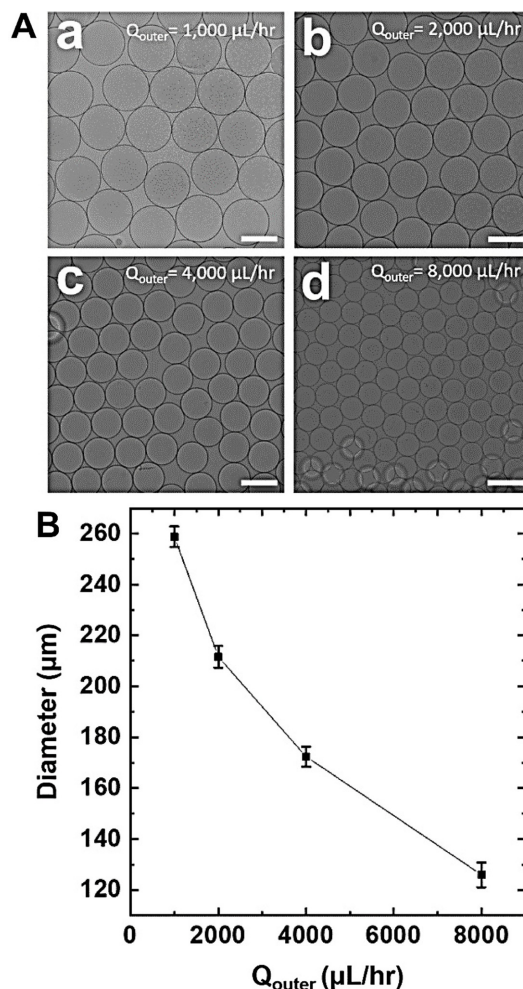


Fig. 2. Hydrogel microsphere with controlled sizes (A) Optical micrographs of microspheres with varying particle sizes. (B) Plot of particle size versus flow rates of outer phase (Q_{outer}). Scale bars represent 200 μm .

음을 증명하였다(Fig. 1-f). 이와 같은 방법은 매우 얇은 오일셀을 가진 이중에멀전을 통해 오일 사용을 최소화하여 높은 생체적합성과 경제적 이점을 가진 간단하고 균일한 하이드로젤 입자 생산이 가능하다(생산속도: 대략 400 입자/sec).

다음으로 부피유속의 변화를 통해 폭넓은 영역에서 하이드로젤 마이크로 입자 크기가 제어 가능함을 보여주었다(Fig. 2). 마이크로 입자의 크기는 물질 전달에 있어 물리적 특성을 결정짓는 중요한 요소이다. 동일한 부피를 기준으로 비교하였을 때, 크기가 작은 입자는 큰 입자보다 상대적으로 넓은 비표면적(specific surface area)을 갖는 지름을 가지고 있어 빠른 물질 방출 속도를 유도할 수 있다. 또한 크기가 작은 입자는 좁은 간격의 통로 이동에도 용이하여 입자 크기로 인한 물질전달체로써의 장벽을 해결할 수 있다. 본 실험을 위해 Dripping 방식으로 이중에멀전 액적을 형성하였으며 하이드로젤 단량체 수용액의 부피유속은 200 $\mu\text{L/hr}$ 로, 오일 용액의 부피유속은 800 $\mu\text{L/hr}$ 로 고정하였고 연속상 수용액의 부피유속(Q_{outer})을 1000~8000 $\mu\text{L/hr}$ 범위에서 변화시켜 실험을 진행하였다. Fig. 2A는 연속상 수용액의 부피유속에 따른 입자 지름의 변화를 보여주는 그래프이다. 본 그래프는 연속상의 부피유속 증가로 입자

지름이 감소되는 경향을 보여주며, 이는 한정된 미세유로공간 내 단위시간당 상대적으로 부피증가로 인한 결과를 의미한다. 하이드로젤 마이크로 입자의 크기는 대략 125 μm ~260 μm 범위에서 제어 가능하였으며 입자의 분산도는 모든 유속 범위에서 3.9% 미만으로 계산되어 단분산적임을 증명한다. 수집된 하이드로젤 마이크로 입자는 광학 현미경을 이용하여 관찰하였으며(Fig. 2B), 연속상의 부피유속(Q_{outer}) 1000~8000 $\mu\text{L/hr}$ 변화에 따라 크기가 감소되는 것을 확인할 수 있다(Fig. 2B-a,b,c,d). 결론적으로 하이드로젤 마이크로 입자의 크기를 유속변화로 매우 간단하게 제어 가능한 것을 보여주었다. 하이드로젤 입자 크기를 다양하게 변화시켜 방출 특성이 조절 가능한 물질 전달체로서 중요한 잠재력을 보여준다.

이중에멀전 액적의 유동패턴은 부피 유속의 정량적 분석을 통해 다양하게 제어할 수 있다(Fig. 3). 본 실험은 연속상 수용액의 부피 유속을 2000 $\mu\text{L/hr}$ 로 고정하였고 하이드로젤 단량체 수용액의 부피 유속은 100~3000 $\mu\text{L/hr}$ 로, 오일 용액의 부피 유속은 100~800 $\mu\text{L/hr}$ 의 범위에서 부피유속을 제어하였으며, 각 유동패턴은 초고속 카메라를 이용하여 관찰하였다. Fig. 3A는 하이드로젤 단량체 수용액 부피유속(Q_{inner})과 오일 용액 부피유속(Q_{middle})에 따른 이중에멀전 액적의 유동패턴 변화를 보여주는 상도표이다; 본 상도표는 Dripping (Fig. 3B-a), Jetting (Fig. 3B-b), No emulsion (Fig. 3B-c)

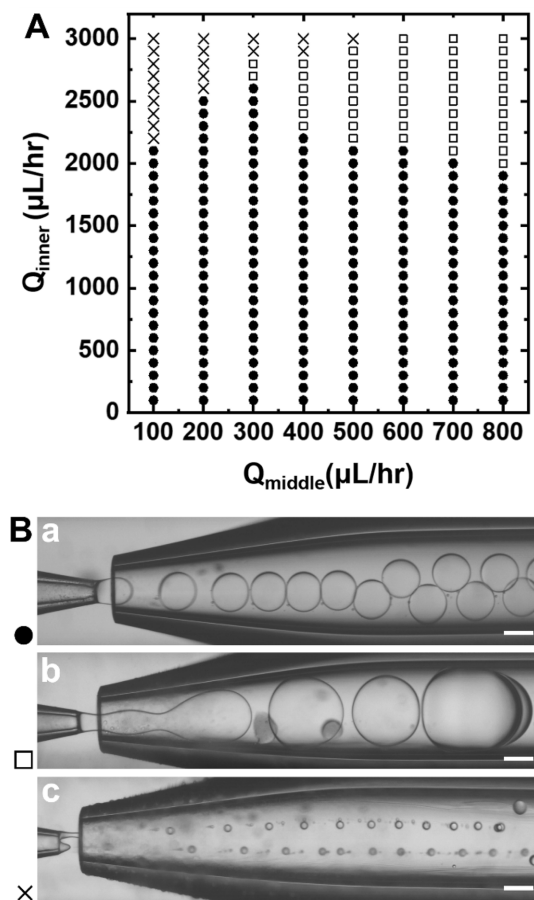


Fig. 3. Flow patterns generated in the capillary microfluidic device. (A) Phase diagram showing flow behavior as a function of flow rate of the prepolymer solution (Q_{inner} , y axis) and the middle oil phase (Q_{M}). (B) Optical micrographs showing (a) dripping, (b) Jetting, (c) no emulsion, which are denoted as solid, open square, and cross, respectively. Scale bars represent 200 μm .

형태로써 액적의 유동패턴을 분류하여 이를 정량적으로 분석하였다. 오일 용액의 낮은 부피유속 범위(100~400 $\mu\text{L/hr}$)에서 단량체 수용액의 부피유속(2200~3000 $\mu\text{L/hr}$)이 상대적으로 높을 경우 예멀전 형성이 불가(\times : cross)하며, 이는 높은 부피유속 비($Q_{\text{inner}}/Q_{\text{middle}}$)로 인한 불안정성이 나타남을 보여준다. 반면 오일 용액의 부피유속의 증가(300~800 $\mu\text{L/hr}$)는 Jetting (\square : open squares) 유동패턴을 형성하며 이는 주입되는 유체의 관성력이 표면장력보다 지배적으로 작용하기 때문에 발생한다. 마지막으로 수용액의 부피유속을 감소(100~2000 $\mu\text{L/hr}$)시킬 경우 모든 오일의 부피유속 범위(100~800 $\mu\text{L/hr}$)에서 Dripping (\bullet : solid circles) 유동패턴을 형성한다. 이는 주입되는 유체의 부피 유속이 낮을 경우에 발생하며 해당 유동 패턴의 이중에멀전 액적은 매우 얇은 오일셀을 가진 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자를 생성한다. Fig. 3의 내용을 종합하면, 상도표를 통해 각 유체의 부피유속 간의 상관관계와 유동패턴을 보여주며 이중에멀전 액적의 안정적인 제조를 위한 실험적 근거를 제시한다.

다음으로 하이드로젤 단량체 수용액 농도 변화를 통해 하이드로젤 마이크로 입자 구조의 조성제어가 가능함을 보여주었다(Fig. 4). 본 실험을 위해 50% (v/v), 100% 하이드로젤 단량체 수용액을 사용하였으며 연속상 수용액의 부피유속은 6000 $\mu\text{L/hr}$ 로 고정하였고 하이드로젤 단량체 수용액의 부피유속은 100 $\mu\text{L/hr}$ 로, 오일 용액의 부피유속은 500 $\mu\text{L/hr}$ 로 고정하였다; 사용된 각 단량체 수용액의 점도는 60 cP, 10 cP이다. Fig. 4A, B는 50%, 100% 단량체 수용액에 따라 생성된 하이드로젤 마이크로 입자를 관찰한 광학 현미경 이미지이며 이를 통해 사용된 조성에 상관없이 입자가 균일하게 형성 가능함을 확인할 수 있다. Fig. 4C, D는 각 단량체 수용액 농도

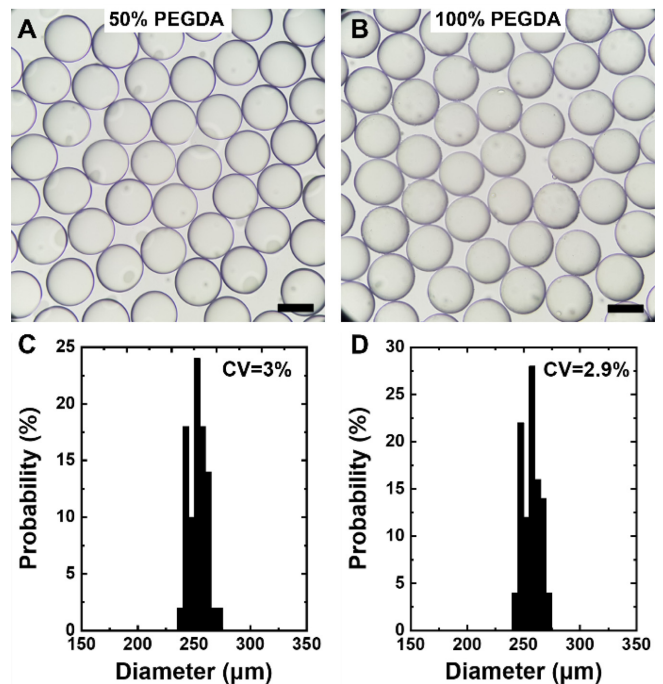


Fig. 4. Production of monodisperse hydrogel microparticle with varying compositions. (A, B) Optical micrographs and (C, D) corresponding size distribution plot of hydrogel microspheres consisting of 50% and 100% PEG-DA. Scale bars represent 200 μm .

에 따른 입자 크기의 분산도를 보여주는 그래프이며 이는 높은 농도의 단량체 수용액을 사용함에도 단분산성 하이드로젤 입자 제조가 가능함을 보여준다. 일반적으로, 높은 농도의 단량체 수용액은 점도 증가를 야기하며, 유체의 무차원수인 케펠러리 수($Ca = \mu U / \sigma$)에 의하여 단량체 수용액의 점도 증가는 케펠러리 수를 증가시키므로 유체의 계면의 불안정성을 야기하며 이는 Dripping 방식의 이중에멀전 액적 형성을 방해한다. 이를 해결하기 위해 본 실험에서 부피유속을 정밀 제어하여 상대적으로 높은 점도의 단량체 수용액을 사용함에도 불구하고 균일한 하이드로젤 입자를 생성할 수 있었다. 그 결과, 하이드로젤 마이크로 입자의 조성제어는 강성 및 다공성 등의 물리적 특성 변화를 유도하여 다양한 기능성 입자의 제조가 가능함을 보여준다.

4. 결 론

본 연구에서는 얇은 오일셀 기반 이중에멀전을 템플릿으로 활용하여 단분산성 하이드로젤 마이크로 입자를 생산하였다. 유리모세관 기반 미세유체장치를 통해 형성된 이중에멀전은 자외선 자유라디칼 중합에 의해 빠르게 하이드로젤로 고형화 되고, 별도의 세척 공정없이 간단하게 수집 가능하였다. 매우 얇은 오일층의 사용으로 유기용매의 사용을 최소화하여 생체적합적이며 매우 경제적인 하이드로젤 마이크로 입자 생산이 가능함을 보여준다. 또한 형성된 하이드로젤 마이크로 입자의 C.V. 값은 1%이며 이를 통해 매우 균일한 크기분포를 가지는 것을 보여준다. 하이드로젤 마이크로 입자는 연속상의 부피유속 제어를 통해 폭넓은 영역에서 손쉽게 크기제어가 가능하다. 추가적으로, 사용된 유체의 부피유속에 따른 미세유체장치 내 유변학적 특성변화를 관찰하여 상도표를 작성하였고 이를 통해 균일한 이중에멀전 및 마이크로 입자 형성을 위한 공정 최적화를 수행하였다. 마지막으로, 본 제안된 기술은 하이드로젤 단량체 조성변화에 따른 분산상의 점도가 증가함에도 불구하고 매우 균일한 이중에멀전 생성이 가능하였고, 이를 통해 기능성 하이드로젤 입자 생산이 가능함을 보여주었다. 본 연구를 통해 제조된 하이드로젤 마이크로 입자는 화장품, 제약, 식품, 바이오 분야 등 다양한 산업에서 물질의 저장 및 전달체로써 활용 가능할 것으로 기대한다.

감 사

이 논문은 2018년도 대구한의대학교 기린연구비 지원에 의한 것이며 이에 감사드립니다.

References

1. Ahmed, E. M., "Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review," *Journal of Advanced Research*, **6**(2), 105-121(2015).
2. Hoare, T. R. and Kohane, D. S., "Hydrogels in Drug Delivery: Progress and Challenges," *Poly.*, **49**(8), 1993-2007(2008).
3. Oh, J. K., Drumright, R., Siegwart, D. J. and Matyjaszewski, K., "The Development of Microgels/nanogels for Drug Delivery Applications," *Progress in Polymer Science*, **33**(4), 448-477(2008).

4. Le Goff, G. C., Srinivas, R. L., Hill, W. A. and Doyle, P. S., "Hydrogel Microparticles for Biosensing," *European Polymer Journal*, **72**, 386-412(2015).
5. Wang, J., Mignon, A., Snoeck, D., Wiktor, V., Van Vliergergh, S., Boon, N. and De Belie, N., "Application of Modified-alginate Encapsulated Carbonate Producing Bacteria in Concrete: a Promising Strategy for Crack Self-healing," *Front Microbiol.*, **6**, 1088-1088(2015).
6. Hoffman, A. S., "Hydrogels for Biomedical Applications," *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, 18-23(2012).
7. Nguyen, K. T. and West, J. L., "Photopolymerizable Hydrogels for Tissue Engineering Applications," *Biomaterials*, **23**(22), 4307-4314(2002).
8. Peppas, N. A., Hilt, J. Z., Khademhosseini, A. and Langer, R., "Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology," *Advanced Materials*, **18**(11), 1345-1360(2006).
9. Shrestha, P., Regmi, S. and Jeong, J.-H., "Injectable Hydrogels for Islet Transplantation: a Concise Review," *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **50**(1), 29-45(2020).
10. Zhao, C.-X., "Multiphase Flow Microfluidics for the Production of Single or Multiple Emulsions for Drug Delivery," *Advanced Drug Delivery Reviews*, **65**(11), 1420-1446(2013).
11. Li, J. and Mooney, D. J., "Designing Hydrogels for Controlled Drug Delivery," *Nature Reviews Materials*, **1**(12), 16071(2016).
12. Du, Y., Lo, E., Ali, S. and Khademhosseini, A., "Directed Assembly of Cell-laden Microgels for Fabrication of 3D Tissue Constructs," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**(28), 9522(2008).
13. Hoffmann, J. C. and West, J. L., "Three-dimensional Photolithographic Patterning of Multiple Bioactive Ligands in Poly(ethylene glycol) Hydrogels," *Soft Matter*, **6**(20), 5056-5063(2010).
14. Tekin, H., Tsinman, T., Sanchez, J. G., Jones, B. J., Camci-Unal, G., Nichol, J. W., Langer, R. and Khademhosseini, A., "Responsive Micromolds for Sequential Patterning of Hydrogel Microstructures," *Journal of the American Chemical Society*, **133**(33), 12944-12947(2011).
15. Yeh, J., Ling, Y., Karp, J. M., Gantz, J., Chandawarkar, A., Eng, G., Blumling, J., Langer, R. and Khademhosseini, A., "Micromolding of Shape-controlled, Harvestable Cell-laden Hydrogels," *Biomaterials*, **27**(31), 5391-5398(2006).
16. Garstecki, P., Fuerstman, M., Stone, H. and Whitesides, G., "Formation of Droplets and Bubbles in a Microfluidic T-junction - Scaling and Mechanism of Break-up," *Lab on a Chip*, **6**, 437-446(2006).
17. Tan, W. H. and Takeuchi, S., "Monodisperse Alginate Hydrogel Microbeads for Cell Encapsulation," *Advanced Materials*, **19**(18), 2696-2701(2007).
18. Thorsen, T., Roberts, R., Arnold, F. and Quake, S., "Dynamic Pattern Formation in Vesicle-Generating Microfluidic Device," *Physical Review Letters*, **86**, 4163-4166(2001).
19. Choi, C.-H., Jung, J.-H., Hwang, T.-S. and Lee, C.-S., "In situ Microfluidic Synthesis of Monodisperse PEG Microspheres," *Macromolecular Research*, **17**(3), 163-167(2009).
20. Foster, G. A., Headen, D. M., González-García, C., Salmerón-Sánchez, M., Shirwan, H. and García, A. J., "Protease-degradable

- Microgels for Protein Delivery for Vascularization,” *Biomaterials*, **113**, 170-175(2017).
21. Lee, J. N., Park, C. and Whitesides, G. M., “Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices,” *Analytical Chemistry*, **75**(23), 6544-6554(2003).
22. Pittermannová, A., Ruberová, Z., Zdražil, A., Bremond, N., Bibette, J. and Štěpánek, F., “Microfluidic Fabrication of Composite Hydrogel Microparticles in the Size Range of Blood Cells,” *RSC Advances*, **6**(105), 103532-103540(2016).
23. Noudeh, G., Khazaeli, P., Mirzaei, S., Sharififar, F. and S, N., “Determination of the Toxicity Effect of Sorbitan Esters Surfactants Group on Biological Membrane,” *Journal of Biological Sciences*, **9**, 423-430(2009).

Authors

Byeong-Jin Kim: Undergraduate student, Division of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea; byeongjin.kim17@dhu.ac.kr

Hye-Seon Jeong: Graduate student (Master degree), Division of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea; djs4736@dhu.ac.kr

Chang-Hyung Choi: Ph.D., professor, Division of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea; cchoi@dhu.ac.kr