

## 용융 압출 발포에 의한 폴리락틱산 지지체 가공

이종록 · 강호종<sup>†</sup>

기능성 고분자 신소재연구센터, 단국대학교 고분자공학과  
(2004년 12월 27일 접수, 2005년 2월 28일 채택)

### Preparation of Poly(L-lactic acid) Scaffolds by Melt Extrusion Foaming

Jong Rok Lee and Ho-Jong Kang<sup>†</sup>

Center for Advanced Functional Polymers,  
Dept. of Polymer Sci. and Eng., Dankook University,  
#8 Hannam-dong, Yongsan-ku, Seoul 140-714, Korea  
(Received December 27, 2004; accepted January 28, 2005)

**초록** : 용융 압출 발포에 의하여 폴리락틱산(PLLA) 지지체를 제조하고 발포 조건이 지지체의 구조와 기계적 특성에 미치는 영향을 살펴보고 이를 염 추출법에 의하여 제조된 지지체와 비교하였다. 발포제를 함유한 PLLA 용융체가 압출기 및 다이에서 체류하는 시간이 발포제의 무게를 최대로 감소시키는 시간과 일치하여야 최적의 PLLA 지지체의 구조를 얻을 수 있음을 확인하였다. PLLA 지지체의 구조를 유지하기 위해서는 발포제의 함량을 10 wt% 이하로 조절해야 하며 PLLA 지지체의 다공도는 PLLA의 압출기에서의 체류시간에 가장 큰 영향을 받을 수 있었다. 용융 압출 발포에 의하여 얻어진 지지체는 일반적으로 염 추출법에 의하여 제조된 지지체보다 다소 낮은 다공도를 갖지만 발포 조건의 조절에 의하여 적절한 다공 크기와 다공의 연결성을 가지며 동시에 우수한 기계적 특성을 가져 경조직 재생(hard tissue regeneration)용으로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

**Abstract**: Melt extrusion foaming process for the preparation of poly(L-lactic acid) (PLLA) scaffolds was carried out and the effects of foaming conditions on the pore structure of PLLA scaffolds and their mechanical properties were investigated. The porosity and mechanical properties of fabricated scaffolds were compared with the scaffolds obtained from the salt leaching method as well. It was found that the optimum pore structure was achieved when the PLLA melt was kept in extruder for the maximum decomposition time of blowing agent. In order to maintain the proper scaffolds structure, the blowing agent content should be less than 10 wt%. It can be concluded that melt extrusion foaming process allows for the production of scaffold having higher mechanical properties with reasonable pore size and open cell structure for hard tissue regeneration even though it has less porosity than scaffolds made by salt leaching process.

**Keywords**: biodegradable polymers, poly(L-lactic acid), scaffolds, melt extrusion foaming, blowing agent.

## 1. 서론

조직공학에서 많이 사용되는 지지체(scaffolds)는 조직세포의 용이한 부착과 부착된 세포가 성장할 수 있도록 인체 내의 대사물질의 전달이 가능하도록 다공의 크기와 구조를 가져야 하며 동시에 사용 용도에 따라 적절한 기계적 강도를 유지할 수 있도록 제조되어야 한다.<sup>1,3</sup> 이러한 지지체의 기본적인 물성은 poly(L-lactic acid) (PLLA), poly(glycolic acid)(PGA)를 비롯하여 이들의 공중합체인 poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)(PLGA)와 같은 다양한 생체적합성 고분자 소재에<sup>4</sup> 적용에 의하여 조절되어 질 수 있으며 또한 다양한 지지체의 제조 방법에 의하여 변화될 수 있다.

현재 가장 많이 사용되는 지지체 제조 방법으로는 PGA의 부직포를 이용한 섬유 압착,<sup>5</sup> 염 추출법,<sup>6,9</sup> 상분리법,<sup>10</sup> 이산화탄소를 이용한 고압기체 팽창법<sup>11</sup>, 유화동결 건조법,<sup>12</sup> 입자 소결법,<sup>13</sup> 3차원 인쇄법 등을<sup>14</sup> 들 수 있으나 이러한 제조 방법에 의하여 제조된 지지

체는 대체적으로 기계적 특성에 취약점을 가지고 있어 특히 뼈를 대체하거나 혹은 지지체를 인체로 삽입 시 응력에 견뎌야하는 정형외과(orthopedics)와 경조직 재생용도로<sup>15-17</sup> 사용하는 데는 커다란 문제를 갖는다. 이를 해결하기 위한 방법으로 용융가공에<sup>18-22</sup> 의하여 지지체를 제조하는 방법에 대한 연구가 진행되어져 왔다. 사용 용융 가공 방법으로는 압출,<sup>18,19</sup> 사출<sup>20,21</sup> 그리고 용융압착법 등이<sup>22</sup> 사용되어지고 있으며 용융 가공시 다공을 형성하기 위하여 carboxylic acid와 citric acid를 기본 재료로 하는 발포제가 다양한 생체 고분자에 첨가되어 사용되어져 왔다. 용융 가공에 의한 지지체 제조는 현재 가장 많이 사용되는 염 추출법에<sup>6,9</sup> 비하여 우수한 기계적인 특성을 가지며 동시에 가공이 간편하여 대량 생산이 가능하며 다양한 모양의 지지체를 제조할 수 있는 장점을 갖는다. 하지만 염 추출법에 비하여 다공의 균일한 조절이 상대적으로 어려운 문제점을 갖고 있다.

본 연구에서는 무독성 발포제를 사용하여 발포 조건 및 압출 조건이 PLLA 지지체의 다공 구조에 미치는 영향과 이에 따른 기계적 특성 변화를 고찰하여 보고 아울러 이들의 다공도와 기계적

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: hjkang@dku.edu

특성을 염 추출법에 의하여 제조된 PLLA 지지체와 비교 검토하였다.

## 2. 실험

### 2.1 재료 및 시료 제조

본 연구에 사용한 시료는 중량 평균 분자량( $M_w$ ) 145000인 PLLA를 Cargill-Dow사에서 구입하여 사용하였으며 무독성 발포제로는 Cellcom-A(구조 :  $H_2NCON=NCNH_2$ , FDA CITE : 21CFR172.806)를 Kumyang사로부터 구입하여 사용하였다. 온도 및 시간에 따른 발포 조건을 확인하기 위하여 Mettler Toledo사의 TGA(Model : TGA-50)를 이용하여 190~250 °C에서 등온 분해 시험을 수행하여 각 온도에서 시간에 따른 발포제의 분해 정도를 무게의 감소로 확인하였다. 염 추출법에 의한 다공성 지지체를 제조하기 위하여 sodium chloride(NaCl)를 Samchun Pure Chemical사에서 구입하여 자체 제작한 ball mill과 sieve shaker를 이용하여 NaCl 입자 크기를 125  $\mu$ m로 조절하여 사용하였다. 클로로포름( $CHCl_3$ )은 Samchun Pure Chemical Co.사의 특급 시약을 그대로 사용하였다.

### 2.2 PLLA 지지체 제조

용융 압출 발포에 의한 다공성 지지체는 PLLA에 발포제 5~20 wt% 첨가한 후 dry blender를 이용하여 혼합하고 HAAKE사의 이축 압출기(Model : Rheomex 300P)를 사용하여 PLLA 지지체를 제조하였다. 이때 압출기 앞에 rod 다이를 부착하고 다이의 온도는 발포 조건인 190~250 °C로 설정하여 PLLA 지지체를 얻었다. 또한 최적의 발포 조건을 얻기 위하여 스크류의 회전속도를 10~40 rpm으로 조절하여 PLLA 용융체의 압출기와 다이에서의 체류시간을 1~10 min으로 조절하였다. 염 추출에 의한 PLLA 지지체를 제조하기 위하여 NaCl 함량이 88 wt%인 PLLA/NaCl 혼합물을 상온에서 4시간 동안 클로로포름에 녹여 교반하여 PLLA/NaCl/ $CHCl_3$  용액을 제조하였다. 이때 PLLA/ $CHCl_3$ 의 농도가 0.02 wt%가 되도록 PLLA의 함량을 조절하였다. 제조된 PLLA/NaCl/ $CHCl_3$  용액의 두께를 3 mm가 되도록 culture dish에 넣고 이를 온도가 60 °C인 진공오븐 속에서 체류시켜  $CHCl_3$ 을 제거하여 PLLA/NaCl 복합체를 제조하였다. 제조된 복합체는 온도가 25 °C인 항온조에 침지시켜 NaCl을 제거하여 PLLA 다공성 지지체를 얻었다.

### 2.3 다공의 형태 및 구조 분석

용융 압출 발포와 염 추출법에 의하여 제조된 PLLA 지지체의 다

공 크기 및 이들의 구조를 확인하기 위하여 Hitachi사의 전자주사 현미경(SEM Model : S-2500C)을 사용하였다. 얻어진 SEM 사진으로부터 Media Cybernetics사의 이미지 분석 프로그램(Image-pro plus)을 사용하여 다공도를 계산하였다. 또한 LLOYD사의 만능재료시험기(UTM Model : LR-10K)를 이용하여 KS M 3006 규정에 따라 기계적 물성을 측정하였다.

## 3. 결과 및 토론

### 3.1 발포 조건이 지지체의 다공 구조에 미치는 영향

Figure 1에 발포 온도에 따른 용융 압출 발포에 의하여 제조된 PLLA 지지체의 다공의 크기와 균일 정도를 SEM 사진으로 나타내었다. 이때 발포제의 함량은 5 wt%였으며 screw의 rpm은 10이었다. 그림에서 보는 바와 같이 발포 온도가 상대적으로 낮은 190 °C와 발포 온도가 높은 230 °C 이상에서는 그림에서 보는 바와 같이 다공의 크기가 지지체로서 요구되는 100  $\mu$ m보다 작으며 다공의 크기도 매우 불균일하게 분포되어 있음을 알 수 있다. 또한 다공의 구조 또한 close cell을 형성하고 있어 open cell의 형태가 요구되는 조적공 확용 지지체로서 요건을 갖추지 못하고 있음을 알 수 있다. 이와는 달리 210 °C의 경우 100~150  $\mu$ m 정도 크기의 균일한 분포를 갖는 다공이 형성되어 있으며 구조 또한 open cell로 되어 있어 조적공 확용 다공성 지지체로서의 적절한 다공이 형성되었음을 알 수 있다. 이러한 다공 구조의 형성은 사용 발포제의 분해 거동과 매우 밀접한 관계를 갖는다. 특히 PLLA 용융체의 압출기 및 다이에서의 체류시간과 발포제의 최대 분해 시간의 일치하는 다공의 구조에 절대적인 영향을 미친다. 각 온도에서 최대 발포가 일어나는 시간을 확인하기 위하여 Figure 2(a)에 사용 발포제의 등온 분해거동을 나타내었고 얻어진 분해곡선을 미분하여 최대 발포가 일어나는 시간을 Figure 2(b)에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 발포온도가 높을수록 최대 발포 분해 시간이 짧아짐을 알 수 있다. 실험 결과 10 rpm으로 압출기 스크류를 회전시키는 경우, 발포제가 함유된 PLLA가 발포에 의해 생성된 기체를 압출기 외부로 유출시킬 수 있는 다이에 위치하는 체류시간은 3~4분임을 알 수 있었으며 이는 Figure 3에서 보는 바와 같이 210 °C에서 최대 발포 시간과 일치함을 확인할 수 있다. 따라서 210 °C에서 Figure 1(b)와 같이 최적의 다공성 지지체를 얻을 수 있음을 알 수 있는 반면, 그 이외의 온도에서는 최대 분해가 일어나지 못하거나(190 °C) 너무 빠른 시간에 발포가

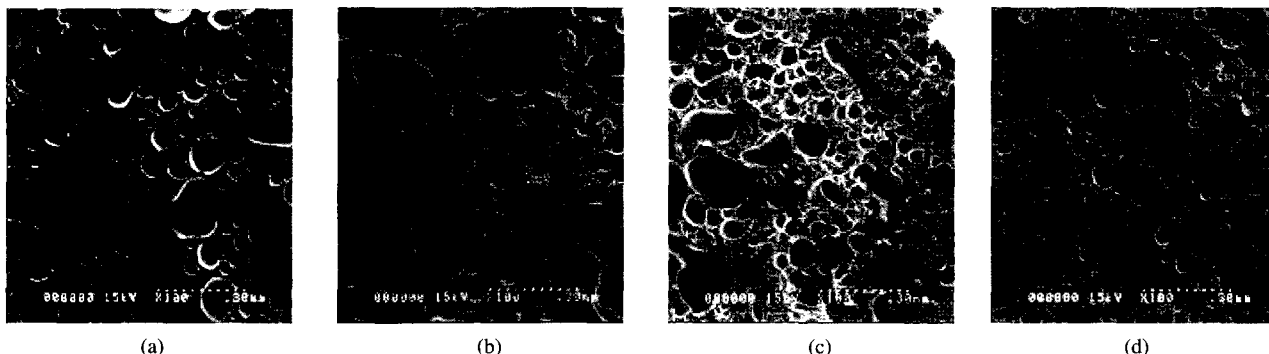


Figure 1. SEM microphotographs of PLLA scaffolds obtained by the melt extrusion foaming process at (a) 190, (b) 210, (c) 230, and (d) 250 °C (blowing agent content: 5 wt%, screw rpm: 10).

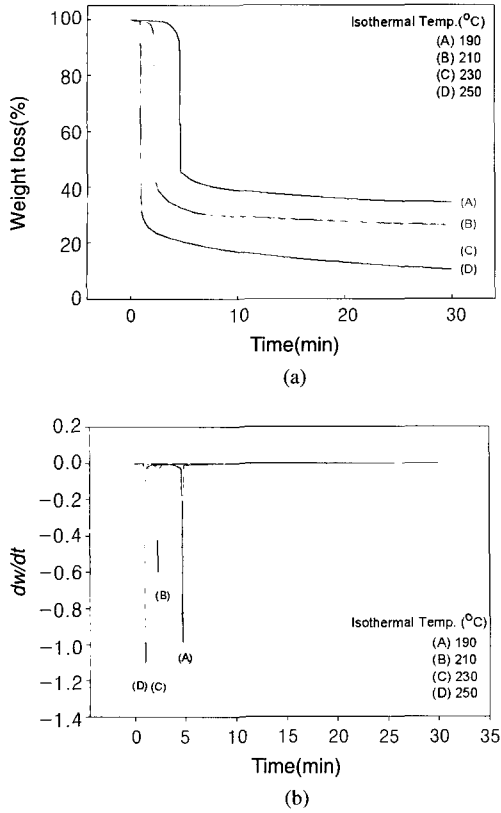


Figure 2. TGA thermogram of blowing agent used in this study (a) isothermal spectrum and (b) differential spectrum.

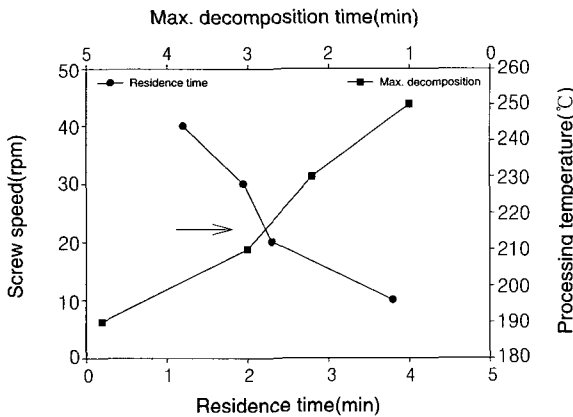


Figure 3. Relationship between the residence time of PLLA melt in the extruder and the maximum decomposition time of blowing agent at various blowing temperature.

발현되어 PLLA에 다공 형성이 용의하지 않으며 그 결과 open cell을 갖지 못함을 알 수 있었다.

Figure 4에 210 °C에서 발포한 경우 스크류의 rpm 즉 다이까지의 발포제가 함유된 PLLA의 체류시간의 변화에 따른 다공 구조 변화를 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 rpm이 증가할수록 즉, PLLA의 발포 온도에서의 체류시간이 감소할수록 다공의 크기가 작아짐을 알 수 있다. 체류시간이 짧을 경우 발포제가 분해되어 이산화탄소가 형성되는 시간이 짧아 충분한 발포가 이루어지지 않

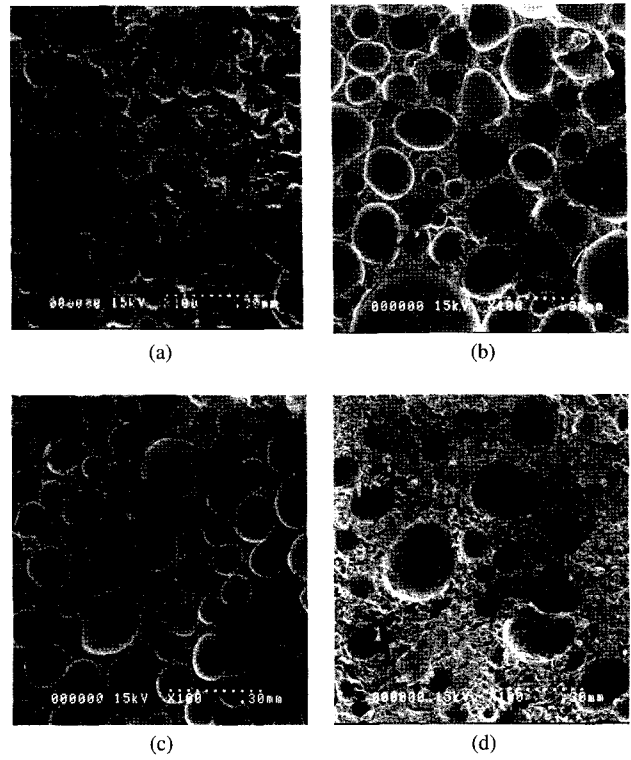


Figure 4. Effect of the residence time of PLLA melt in the extruder on the pore structure of PLLA scaffolds (blowing agent: 5 wt%, temperature: 210 °C). (a) 10, (b) 20, (c) 30, and (d) 60 rpm.

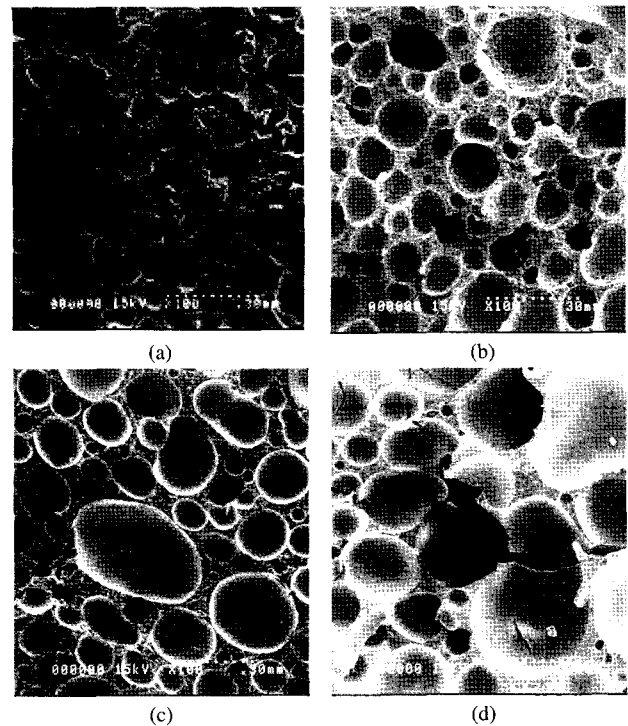


Figure 5. Effect of the blowing agent content on the pore structure of PLLA scaffolds (screw rpm: 10, temperature: 210 °C). (a) 5, (b) 10, (c) 15, and (d) 20 wt%.

음을 알 수 있고 이로 인하여 다공의 크기 및 수가 감소하는 것을 알 수 있다. Figure 5에 발포제의 함량에 따른 다공 구조의 변화를 SEM 사진으로 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 발포제의 함량이 15 wt% 이상되면 독립적인 pore가 형성됨을 알 수 있다. 이는 발포제의 함량이 지나치게 많은 경우 이산화탄소의 생성이 많아져 다공도가 증가하고 이들은 약간의 open cell을 형성하나 형성된 open cell은 구조적으로 매우 취약하여 지지체로의 적용시 조직세포의 성장을 방해하게 된다.

Figure 6에 발포 온도와 screw rpm 그리고 발포제 함량에 따른 다공도의 변화를 나타내었다. Figure 6(a)에서 보는 바와 같이 발포제 함량과 screw rpm을 각각 5 wt%와 10 rpm으로 하여 210 °C에서 압출 하였을 때 최대의 다공도를 가짐을 알 수 있었으며 같은 조건에서

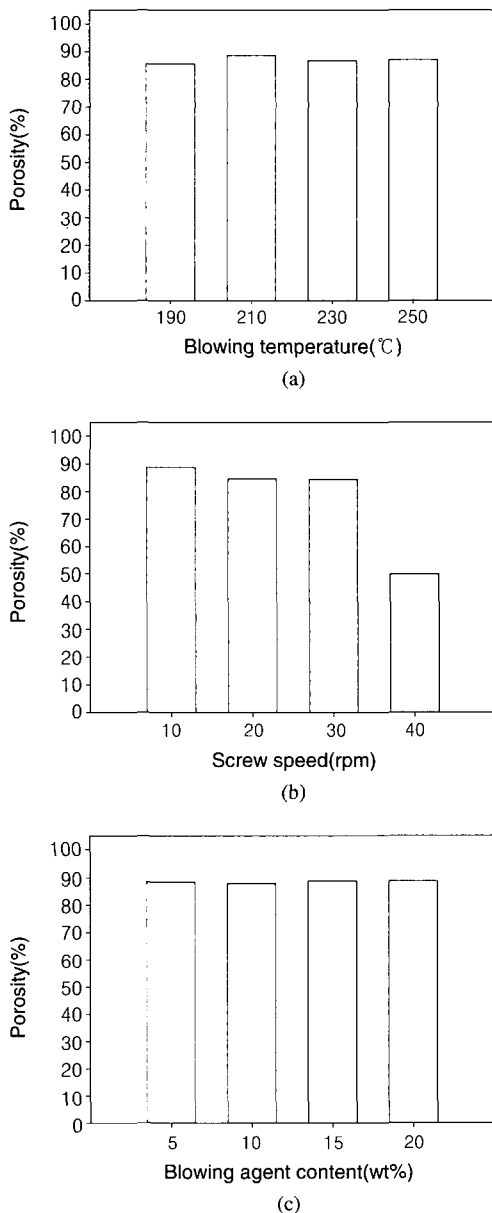


Figure 6. Porosity of PLLA scaffolds obtained by melt extrusion foaming process as a function of (a) blowing temperature, (b) screw rpm, and (c) blowing agent content.

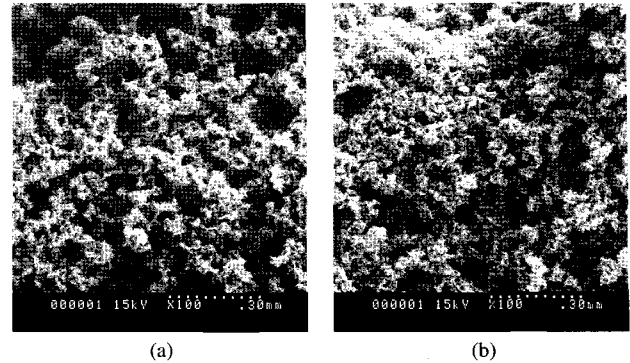


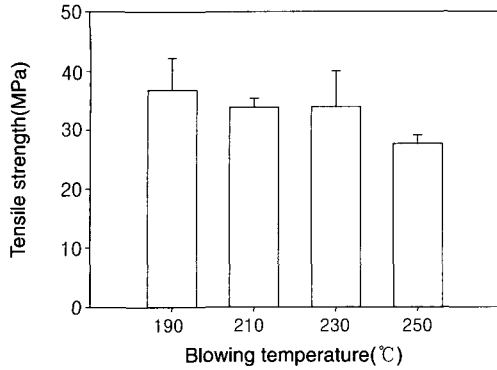
Figure 7. SEM microphotographs of PLLA scaffolds obtained by salt leaching method : (a) pore size : 100~150 μm, porosity : 85% and (b) pore size : 100~150 μm, porosity : 75%.

screw rpm을 증가시킬수록, 즉 체류시간이 짧아질수록 다공도가 급격히 감소함을 알 수 있다. 또한 동일한 조건에서 발포제 함량이 증가할수록 Figure 5에서 보는 바와 같이 다공의 크기는 증가하나 다공도는 크게 증가하지 않음을 알 수 있었으며 발포제의 함량이 10 wt% 이상일 경우 close pore가 형성됨을 확인할 수 있었다. 이상의 결과로 보아 본 연구에서 사용한 Cellcom A를 발포제로 사용하는 경우 210 °C에서 체류시간을 3~4분(10 rpm)으로 조절하여 발포하는 경우 조직 공학용 지지체로서 최적의 다공 크기, 균일성 그리고 open cell 구조를 갖는 지지체가 얻어짐을 알 수 있었다. 또한 일반적으로 조직공학용 지지체로서의 역할을 하기 위해서는 80% 이상의 다공도를 가져야 하며 용융 압출 발포에 의하여 이러한 다공도를 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다.

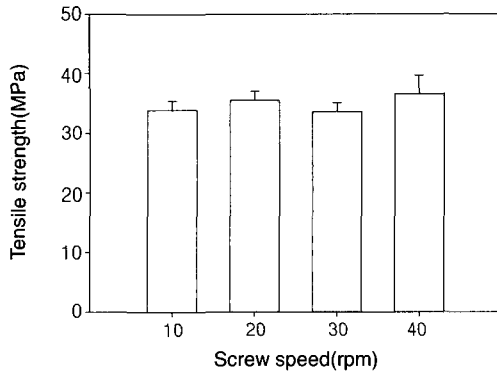
Figure 7에 염 추출법에 의하여 얻어진 PLLA 지지체의 다공의 크기 및 구조를 SEM 사진으로 비교하여 나타내었다. Figure 7에서 보는 바와 같이 염 추출법에 의하여 제조된 지지체는 염의 함량 및 크기에 의하여 다공의 크기를 자유롭게 조절이 가능하며 아울러 open cell을 형성할 수 있어 다공의 크기 및 균일성의 조절 및 cell의 연결성 조절이 압출 용융 발포에 비하여 우수함을 알 수 있다. 하지만 용융 압출 발포에 의해서도 Figure 1(b)와 같이 발포 조건만 조절하여 준다면 염 추출법에 의해 제조된 지지체보다는 상대적으로 불균일하지만 적절한 다공의 크기를 가지며 open cell 구조를 갖는 지지체를 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다.

### 3.2 지지체의 발포조건에 따른 기계적 특성 변화

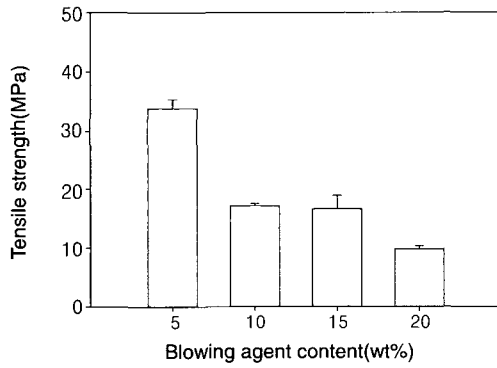
Figure 8에 발포조건에 따른 다공성 지지체의 인장강도를 나타내었다. Figure 8(a)에서 보는 바와 같이 250 °C에서 발포한 경우를 제외하고 모두 비슷한 인장강도를 가짐을 알 수 있었다. 또한 Figure 8(b)에서 보는 바와 같이 동일 조건에서 screw rpm이 증가할수록 Figure 6에서 언급된 바와 같이 다공도는 감소되나 인장강도는 증가됨을 알 수 있었으며, Figure 8(c)에서 보는 바와 같이 동일 조건에서 발포제의 함량이 증가함에 따라 인장강도는 감소함을 알 수 있었다. 이러한 현상은 지지체의 기계적 물성이 다공의 크기와 다공도 그리고 이들의 연결성과 밀접한 관계를 가지고 있기 때문이다. 즉, 발포제 함량의 증가는 다공도의 증가와 생성된 다공의 연결성을 증가시켜 기계적 물성의 감소를 초래하며 발포시간의 감소는 다공도 감소와 이들의 연결성을 감소시켜 기계적 물성의 증가를 초래한다. Figure 9에 염 추출법으로 제조된 PLLA 지지체와 용융 압출



(a)



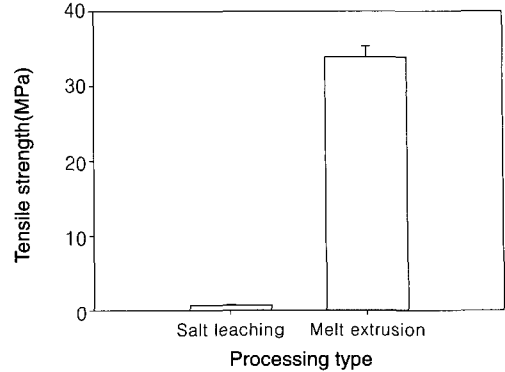
(b)



(c)

**Figure 8.** Tensile strength of PLLA scaffolds obtained by melt extrusion foaming process with various blowing conditions at 210 °C.

발포에 의하여 제조된 지지체의 기계적 특성을 상대 비교하였다. 이때 용융 압출 발포에 의하여 제조된 지지체는 최적의 다공의 크기 및 분포 그리고 연결성을 갖는 발포온도, screw rpm 그리고 발포제의 함량이 각각 210 °C, 10 rpm, 5 wt%의 조건으로 발포된 지지체와 염 추출 방법에 의하여 제조된 지지체는 용융 압출 발포에 의하여 제조된 지지체와 유사한 다공도를 갖는 시료를 상대 비교하였다. 그림에서 보는 바와 같이 염 추출법에 비하여 월등히 우수한 기계적 특성을 가짐을 알 수 있다. 이는 염 추출의 경우 용매를 사용하여 이를 제거하는 방법에 의하여 제조되어 지지체를 구성하고 있는 PLLA 매트릭스에 용매 증발에 의한 미세공이 존재하여 밀도가 낮은 반면 용융 압출 발포에 의하여 제조된 경우 상대적으로 밀도가 높은 PLLA 매트릭스를 구성하게 된다. 그 결과, 용융 압출 발포



**Figure 9.** Tensile modulus of PLLA scaffolds obtained by melt extrusion foaming and salt leaching method with similar porosity.

의 경우 상대적으로 보다 우수한 기계적 특성을 가지는 것으로 사료되어 진다. 이상의 결과로 용융 압출 발포에 의하여 제조된 지지체의 경우 조직공학 용도 사용에 무난한 정도의 다공도를 발현시킬 수 있으며 다공의 크기 및 연결성도 가지고 있고 아울러 우수한 기계적 강도를 가지고 있어 경조직 재생용으로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 용융 압출 발포에 의하여 PLLA 지지체를 제조하고 발포 조건이 다공의 크기 및 구조 그리고 이들의 기계적 특성에 미치는 영향을 고찰하였고 이를 염 추출법에 의한 다공성 지지체와 비교하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 무독성 발포제로 Cellcom A를 사용하는 경우 발포제의 함량 5 wt%, 발포온도 210 °C 및 체류시간 3~4분에서 최적의 다공의 크기와 균일성 그리고 다공의 연결성을 갖는 지지체를 제조할 수 있었다.
- 2) 용융 압출 발포에 의하여 지지체를 얻기 위해서는 10 wt% 이내의 발포제를 사용하는 것이 적절하며 발포온도와 발포제의 함량은 다공도에 거의 영향을 미치지 않으나 체류시간이 감소할수록 다공도와 다공의 연결성이 감소됨을 확인할 수 있었다.
- 3) 발포조건에 따라서 조절된 다공의 크기, 다공도 그리고 다공의 연결성에 의하여 지지체의 기계적 물성이 크게 달라짐을 확인하였다.
- 4) 압출 용융 발포에 의하여 제조된 지지체는 염 추출법에 의하여 제조된 지지체에 비하여 다공의 크기와 연결성은 다소 감소하는 반면 우수한 기계적 특성을 가짐을 확인하여 경조직 재생용으로 사용이 가능할 것으로 기대된다.

**감사의 글 :** 이 연구는 2004학년도 단국대학교 대학연구비의 지원과 김정철 박사님의 도움으로 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

#### 참고문헌

1. D. W. Hutmacher, *Biotechnology*, **12**, 689 (1994).
2. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
3. L. G. Cima, J. P. Vacanti, D. Ingber, D. Mooney, and R. Langer, *J. Biomech. Eng.*, **113**, 143 (1991).

4. D. L. Wise, *Biopolymeric Controlled System*, Vol. 1, CRS Press, Boca Raton, Ch. 8, 1985.
5. Y. Bae, L. G. Cima, D. Ingber, J. P. Vacanti, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 183 (1993).
6. S. Gogolewski and A. J. Pennings, *Colloid Polym. Sci.*, **261**, 477 (1983).
7. A. G. Mikos, A. J. Sarakinos, S. M. Leite, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**, 323 (1993).
8. A. G. Mikos, A. J. Thorsen, L. A. Czerwonka, Y. Bae, R. Langer, D. N. Winslow, and J. P. Vacanti, *Polymer*, **35**, 1068 (1994).
9. L. E. Freed, J. C. Marquis, A. Nohria, J. Emmanuel, A. Mikos, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 27 (1993).
10. Y. S. Nam and T. G. Park, *Biomaterials*, **20**, 1783 (1999).
11. L. D. Harris, B. S. Kim, and D. J. Mooney, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, 396 (1998).
12. K. Whang, C. H. Tomas, K. E. Healy, and G. Nuber, *Polymer*, **36**, 837 (1995).
13. K. P. Andriano, Y. Tabata, Y. Ikada, and Y. Heller, *J. Biomed. Mater. Res.*, **48**, 602 (1999).
14. A. Park, B. Wu, and L. G. Griffith, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **9**, 89 (1998).
15. T. Hayashi, *Prog. Polym. Sci.*, **19**, 663 (1994).
16. K. P. Andriano, T. Pohojonen, and P. Tormala, *J. Appl. Biomater.*, **5**, 133 (1994).
17. C. M. Agrawal, G. G. Niederauer, and K. A. Athanasiou, *Tissu Eng.*, **1**, 24 (1995).
18. M. E. Gomes, A. S. Ribeiro, P. B. Malafaya, R. L. Reis, and A. M. Cunha, *Biomaterials*, **22**, 883 (2001).
19. A. J. Salgado, M. E. Gomes, A. Chou, O. P. Coutinho, R. L. Reis, and D. W. Huttmacher, *Mater. Sci. Eng.*, **C20**, 27 (2002).
20. M. E. Gomes, J. S. Godinho, D. Tchalamov, A. M. Cunha, and R. L. Reis, *Mater. Sci. Eng.*, **C20**, 19 (2002).
21. J. F. Mano, C. M. Vaz, S. C. Mendes, R. L. Reis, and A. M. Cunha, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **10**, 857 (1999).
22. R. C. Thomson, M. J. Yaszemski, J. M. Powers, and A. G. Mikos, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **7**, 23 (1995).