

젤라틴 나노섬유 구조에 대한 이온염의 영향

김영진[†]

대구가톨릭대학교 의공학과

(2008년 2월 27일 접수, 2008년 5월 29일 수정, 2008년 5월 29일 채택)

Effect of Ionic Salts on the Structure of Electrospun Gelatin Nanofibers

Young-Jin Kim[†]

Department of Biomedical Engineering, Catholic University of Daegu,

330 Geumnak 1-ri, Hayang-eup, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea

(Received February 27, 2008; Revised May 29, 2008; Accepted May 29, 2008)

초록: 전기방사방법으로 이온염을 함유하는 TFE/중류수 혼합용매를 이용하여 젤라틴 나노섬유를 제조하였으며, 얻어진 나노섬유의 평균직경은 110~125 nm였다. 이온염의 농도가 증가할수록 비드의 발생이 줄어들고 균일한 나노섬유 제조가 가능하였다. 이는 이온염의 첨가에 의한 젤라틴 용액의 점도 및 전도도가 증가함에 기인하는 것으로 확인되었다. 특히 일가이온보다 이가이온을 사용할 경우 점도 및 전도도의 증가에 더 효과적이었다. 이들 이온염은 분자간 소수성 상호작용뿐만 아니라 젤라틴 분자의 입체구조 정렬에도 영향을 주었다. 그러나 이온염 농도에 따른 나노섬유의 직경변화는 관찰되지 않았다. 제조된 나노섬유를 이용한 XRD 분석 결과 이온염의 농도가 증가할수록 젤라틴 분자의 재결정화에 의해 나노섬유의 결정화도가 높아졌다.

Abstract: The fabrication of gelatin nanofibers by electrospinning has been examined using the TFE/DW co-solvent system. It has been found that no beads-on-string structure was formed for the solution containing ionic salts. The resulting fibers exhibited a uniform diameter ranging from 110 to 125 nm. As the concentration of ionic salts increases, the beads become smaller and more spindle like, due to the increase of viscosity and conductivity. The addition of ionic salts induces a higher charge density on the surface of ejected jet during spinning, leading that higher elongation forces are applied to the jet. The higher enhancement of viscosity and conductivity was observed in gelatin solutions by the use of divalent salt. However, the concentration of ionic salts scarcely affected the variation of fiber diameter. While very low crystallinity was observed from XRD pattern for the sample containing no ionic salt, which increased with increasing the concentration of ionic salts.

Keywords: electrospinning, gelatin, nanofiber, ionic salt.

서론

콜라겐이 열변성 또는 물리적·화학적으로 가수분해된 형태인 젤라틴은 가격이 매우 저렴한 생체재료임과 동시에 생체흡수성 및 생리활성은 물론 제조조건에 따라 우수한 물리화학적 특성의 확보 가능성을 가지고 있어 다양하게 이용되고 있다. 게다가 생분해성, 비항원성의 생체유래 천연고분자로서 대식세포의 활성화 및 우수한 지혈효과 등 많은 장점을 가지고 있다.¹⁻³ 또한 최근의 많은 연구 결과에 따르면 조직공학용 지지체로서의 젤라틴은 다양한 세포외기질(extracellular matrix, ECM) 고분자 중에서도 세포의 부착, 뻗음, 증식과 같은 세포와의 상호작용을 유도하는 물질로 평가되고 있다.⁴⁻⁶

초극세사를 제조하는 방사기술로는 복합방사, 멜트블로운 방사, 플래시 방사, 전기방사 등이 알려져 있으나 적용고분자의 다양성, 제조

공정의 단순성, 상용화의 가능성, 다양한 기술로의 응용성을 고려할 때 전기방사가 가장 우수한 초극세사 제조기술로 인정되고 있다.^{7,8} 또한 전기방사에 의해 제조된 나노섬유는 섬유의 생성과 동시에 3차원 네트워크로 응축된 형태의 다공성 웹을 형성하며, 단위 부피/질량 당 높은 비표면적과 기공도를 가지므로 고효율 초기능성 분리소재, 의료재, 인공혈관, 나노복합재료 등으로 응용이 가능하며, 이와 관련된 많은 연구가 진행되고 있다.⁹⁻¹²

한 예로 천연고분자를 이용하여 제조된 나노섬유 부직포는 구조적으로 나노미터 크기의 섬유상이 3차원적 네트워크를 형성하고 있는 ECM의 콜라겐과 유사하기 때문에 세포의 점착, 성장 및 분화를 촉진시킨다.¹³ 또한 큰 비표면적을 가지므로 상처부위와의 접촉면이 넓어져 통증 완화 및 상처치유 속도가 매우 빠르고 나노섬유로 구성되는 부직포에 존재하는 많은 기공과 미세 공간 때문에 상처에서 배출되는 체액의 흡수능력 등이 우수함은 물론이고 산소 투과성이 좋기 때문에 창상피복재나 혈관이식 및 조직공학용 지지체 등에 응용 가능하다.¹⁴⁻¹⁷

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: yjkim@cu.ac.kr

그러나 천연고분자는 합성고분자에 비해서 사용가능한 용매가 제한적이고 유기용매상에서의 섬유형성능력이 떨어지므로 전기방사법으로 균일한 나노섬유의 제조가 매우 어렵다.^{18,19} 그러므로 천연고분자 중에서도 저가이며 공업적으로도 많이 사용되고 있는 젤라틴을 이용한 나노섬유의 제조에 대한 시도는 매우 제한적이었다.

전기방사에 의한 나노섬유의 형태학적 특성에 영향을 미치는 공정 변수로는 크게 방사용액의 성질과 방사조건을 들 수 있으며, 이들 공정 변수 중에서도 방사조건보다 방사용액의 성질을 조절하는 것이 성공적인 나노섬유의 제조를 위해 매우 중요하다.

최근 극성 유기용매인 2,2,2-trifluoroethanol (TFE)과 formic acid를 이용한 젤라틴 나노섬유의 제조에 관해서 보고되어 있다.^{20,21} 이들 결과에 의하면 TFE를 이용할 경우 고농도에서의 젤라틴 나노섬유의 제조가 불가능하며, formic acid를 용매로 사용할 경우 용매의 강산성에 의해서 방사용액에서의 시간경과에 따른 젤라틴 분자의 가수분해가 관찰되었다. 특히 방사용액의 젤라틴 농도가 높을수록, 방사용액 제조시간이 길어질수록 가수분해가 더 많이 진행되므로 최종 전기방사된 젤라틴 나노섬유의 물성을 저하시킬 가능성이 존재한다.

따라서 본 연구에서는 이온염을 함유한 TFE/중류수 혼합용매를 이용하여, 시간의 경과에 따른 젤라틴의 가수분해반응이 없으며 고농도에서도 전기방사가 가능한 방사용액을 제조하고, 이를 이용한 균일한 나노섬유의 제조에 관하여 조사하였다. 특히 방사용액의 점도 및 전도도(conductivity)의 변화를 측정하여 이온염의 종류 및 농도에 따른 나노섬유의 직경 및 표면 특성에 대해서 검토하였다.

실 험

시약 및 재료. 젤라틴(type A powder, 250 Bloom)은 우피(calf skin)에서 분리한 것을 (주)젤텍에서 구입하여 사용하였으며, 2,2,2-trifluoroethanol (TFE), sodium chloride 및 calcium chloride는 Sigma-Aldrich Co. 제품을 사용하였다.

방사용액 제조. 젤라틴을 TFE와 중류수의 5 : 5 혼합용매를 이용하여 12 w/v%의 방사용액을 제조하였다. 나노섬유 형성에 미치는 이온염의 종류에 따른 영향을 조사하기 위해서 일가이온(monovalent)인 염화나트륨(NaCl)과 이가이온(divalent)인 염화칼슘(CaCl₂)이 함유된 방사용액을 제조하였으며, 또한 이온염의 농도에 따른 영향을 알아보기 위해서 0.01-0.2 M의 다양한 농도의 이온염을 사용하여 방사용액을 제조하였다.

점도 및 전도도 측정. 이온염 종류 및 농도에 따른 방사용액의 점도변화를 LVDV II+ Pro Viscometer (Brookfield)를 이용하여 측정하였으며, 방사용액의 전도도 변화는 SevenMulti Conductivity Meter (Mettler Toledo)를 이용하여 측정하였다. 또한 이온염 첨가에 따른 젤라틴 분자의 집합체(aggregate) 형성을 동적광산란(Dynamic Light Scattering, DLS-6006US, Otsuka Electronics Co., Ltd.)을 이용하여 측정하였다.

전기방사. 나노섬유를 제조하기 위해 사용한 전기방사장치는 0-40 kV의 전압공급이 가능한 고전압 공급장치(high voltage DC power supply unit, 청파 EMT), 평판형태(200×200 mm, stainless steel)의 집전판(collector), 고분자용액을 일정하게 토출해 줄 수 있는 주사기펌프(syringe pump, KDS100), 주사기(gastight and

needle lock type 10 mL, Hamilton), 금속주사기바늘(22 G, Hamilton) 등으로 구성하였다. 나노섬유의 제조조건은 방사거리 12 cm, 인가전압 15 kV, 유체속도 1.0 mL/h, 방사용액 농도 12 w/v%로 고정시키고 방사용액에 함유된 이온염의 종류 및 농도를 변화시키면서 나노섬유를 제조하였다.

표면분석. 섬유 직경 및 직경분포를 조사하기 위해 Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM, S-4800, Hitachi)와 영상분석기(TDISE V3.1.73, TECHSAN Co., Ltd.)를 이용하였다. 먼저 FE-SEM을 통해 얻어진 나노섬유의 사진 이미지를 영상분석기 프로그램을 이용하여 평균직경, 표준편차, 직경분포 등을 얻어내었다. 또한, 나노섬유상에서의 젤라틴 분자구조 변화를 확인하기 위해서 ATR-FTIR (Nicolet 5700, Thermo Electron Co.)을 이용하였으며, 이온염의 젤라틴 분자의 결정구조 변화에 미치는 영향을 X-ray Diffractometer (XRD, D/MAX-2000, Rigaku)를 이용하여 조사하였다. XRD 분석에서 X-ray tube는 Cu K α 를 사용하여 40 kV, 30 mA의 조건으로 조사하였다. Diffractogram은 10-40°의 범위의 2 θ 를 10°/min의 속도로 측정하였다.

결과 및 토론

나노섬유 제조. 2,2,2-Trifluoroethanol (TFE) 및 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFP)과 같은 플루오르화 알코올에 대해 콜라겐이나 젤라틴과 같은 단백질은 높은 용해성을 보인다. 그러나 TFE에 용해시킨 젤라틴 용액을 이용하여도 유기극성용매에서 젤라틴은 섬유형성 능력이 떨어지므로 전기방사를 이용한 젤라틴 나노섬유를 제조하는 것이 어려웠다.¹⁸ 따라서 젤라틴의 섬유형성 능력을 개선시키기 위해서 합성고분자를 사용하기도 한다. 또한 TFE/중류수(distilled water, DW) 혼합용매계를 이용할 경우 수용액 상에서 젤라틴에 있는 아민기와 카복실기가 가수분해에 의해 이온화되는 고분자전해질(polyelectrolyte)의 특성을 이용하여 젤라틴 나노섬유를 제조할 수 있다고 보고되어 있다.¹⁸ 그러나 TFE/중류수의 5 : 5 혼합용매에서는 균일한 나노섬유의 제조가 불가능하였으며 비드(bead)의 발생도 관찰되었다(Figure 1). 반면에 젤라틴 용액에 염화나트륨(NaCl) 또는 염화칼슘(CaCl₂)과 같은 이온염을 첨가할 경우 동일한 방사조건에서도 직경 110-125 nm 전후의 균일한 나노섬유를 제조할 수 있었다. 이들 이온염은 방사용액의 전도도를 증가시켜 전기방사에 의한 나노섬유 제조를 가능하게 할 뿐만 아니라 단백질 분자내(intramolecular) 또는 분자간(intermolecular) 소수성 상호작용(hydrophobic interaction)을 강하게 하여 연속상 섬유의 제조를 가능하게 하는 것으로 판단되어 진다.¹⁹

이온염 농도 변화에 따른 젤라틴 용액 특성. 이온염의 첨가가 젤라틴 나노섬유 제조에 미치는 영향을 알아보기 위해서 먼저 이온염 종류 및 농도 변화에 따른 젤라틴 용액의 특성을 조사하였다. Figure 2에서 볼 수 있는 것처럼 이온염의 농도가 높아질수록 젤라틴 용액의 전도도가 0.4에서 5.2 mS/cm 및 7.3 mS/cm까지 높아지는 것을 알 수 있었으며, 특히 일가이온(monovalent)인 염화나트륨보다 이가이온(divalent)인 염화칼슘의 사용이 전도도의 증가에 더 효과적인 것을 알 수 있었다.

이온염 농도 변화에 따른 용액의 점도 변화를 측정한 결과 이온염

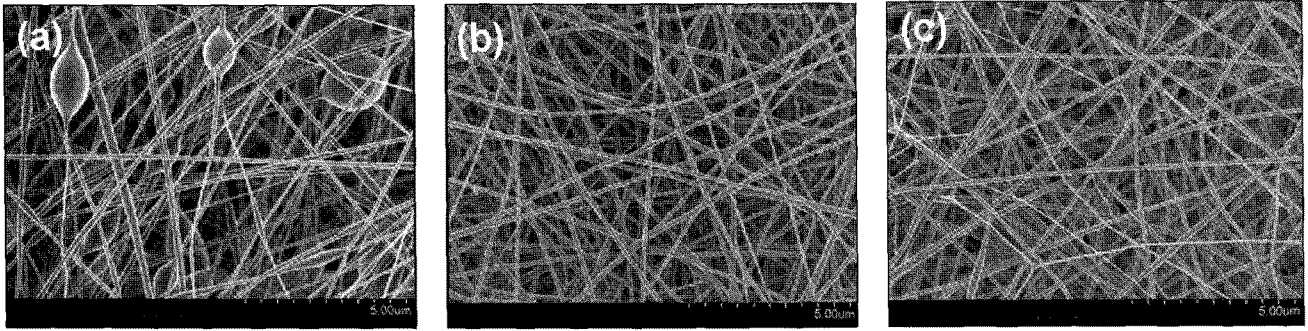


Figure 1. SEM micrographs of electrospun gelatin nanofibers by the use of TFE/DW as a solvent containing (a) no ionic salt, (b) 0.1 M NaCl, and (c) 0.1 M CaCl₂.

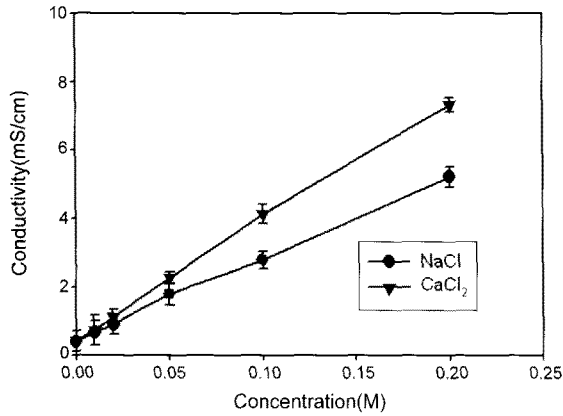


Figure 2. Conductivity of gelatin solutions dissolved in TFE/DW as a function of the concentration of ionic salts.

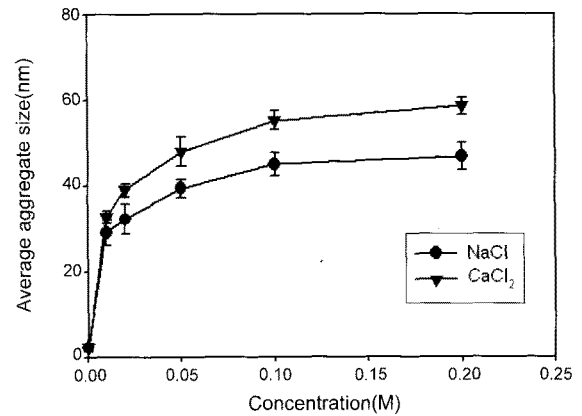


Figure 4. Variation of aggregate size for gelatin solutions containing different concentration of ionic salts.

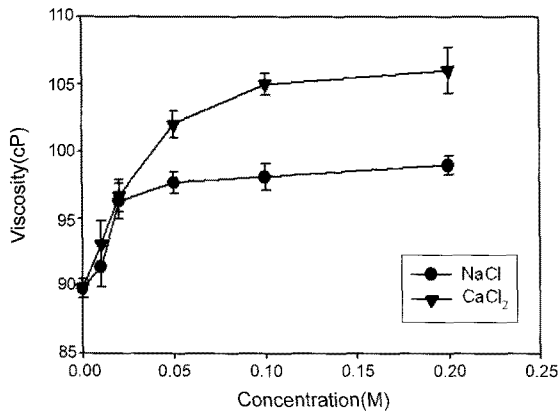


Figure 3. Viscosity of gelatin solutions dissolved in TFE/DW as a function of the concentration of ionic salts.

농도의 증가에 따라 용액의 점도가 90에서 106 cP로 증가되는 것이 관찰되었으며 전도도에서도 마찬가지로 이가이온의 사용이 점도의 증가에 더 효과적인 것을 알 수 있었다(Figure 3). 이는 일가이온은 젤라틴의 분자내 또는 분자간 수소성 상호작용에만 영향을 주지만, 반면에 이가이온은 인접한 젤라틴 분자들에 존재하는 카르복시산(carboxylic acid)과 정전기적 상호작용에 기인하는 결합(-COO⁻-Ca²⁺-OOC-)을 형성하여 triple helix 구조를 만들고 또한 두 개의 triple helix 구조를 다리(ladder) 형태로 연결하는 2차

가교도 형성되므로 이가이온의 사용이 점도의 증가에 더 효과적이라고 할 수 있다.^{19,22} 계속해서 이온염 첨가에 따른 용액의 점도변화에 대한 원인을 동적광산란(dynamic light scattering, DLS)을 이용하여 조사하고 그 결과를 Figure 4에 나타내었다.

이온염을 함유하지 않는 젤라틴 용액에서는 거의 단백질 응집체(aggregate)가 형성되지 않았으나 이온염의 농도가 증가됨에 따라 60 nm까지 응집체의 크기가 증가되었다. 이들 결과는 이온염을 첨가함으로써 젤라틴의 비극성 아미노산 잔기에 의한 분자내 또는 분자간 수소성 상호작용이 강하게 작용하였을 뿐만 아니라 Ca²⁺ 이온에 의한 젤라틴 분자의 입체구조 정렬(conformational ordering) 및 응집체의 형성에 기인하는 것으로 판단된다.^{19,22,23} 이러한 이유로 젤라틴 용액에 이온염을 첨가하면 겔전이온도(gel transition temperature) 및 물리적 겔의 기계적 강도가 증가되고 이가이온의 사용이 일가이온보다 효과적이다. 또한 단백질 수용액에 염화나트륨 또는 염화칼슘과 같은 이온염을 첨가할 경우 단백질의 비공유결합성 자기 집합(self-assembly)에 의해 유체역학반경(hydrodynamic radius)이 증가되는 것으로 보고되어 있다.²⁴

나노섬유에 대한 이온염 농도의 영향. 위에서 서술한 것처럼 이온염을 함유하지 않은 젤라틴 용액을 전기방사할 경우 균일한 나노섬유의 제조가 불가능하였으며 다량의 비드도 발생하였으나 이온염을 첨가함에 의해 균일한 나노섬유의 제조가 가능하게 되었다. 따라서 이온염 농도 변화에 따른 나노섬유 제조에 미치는 영향을 살펴보았다.

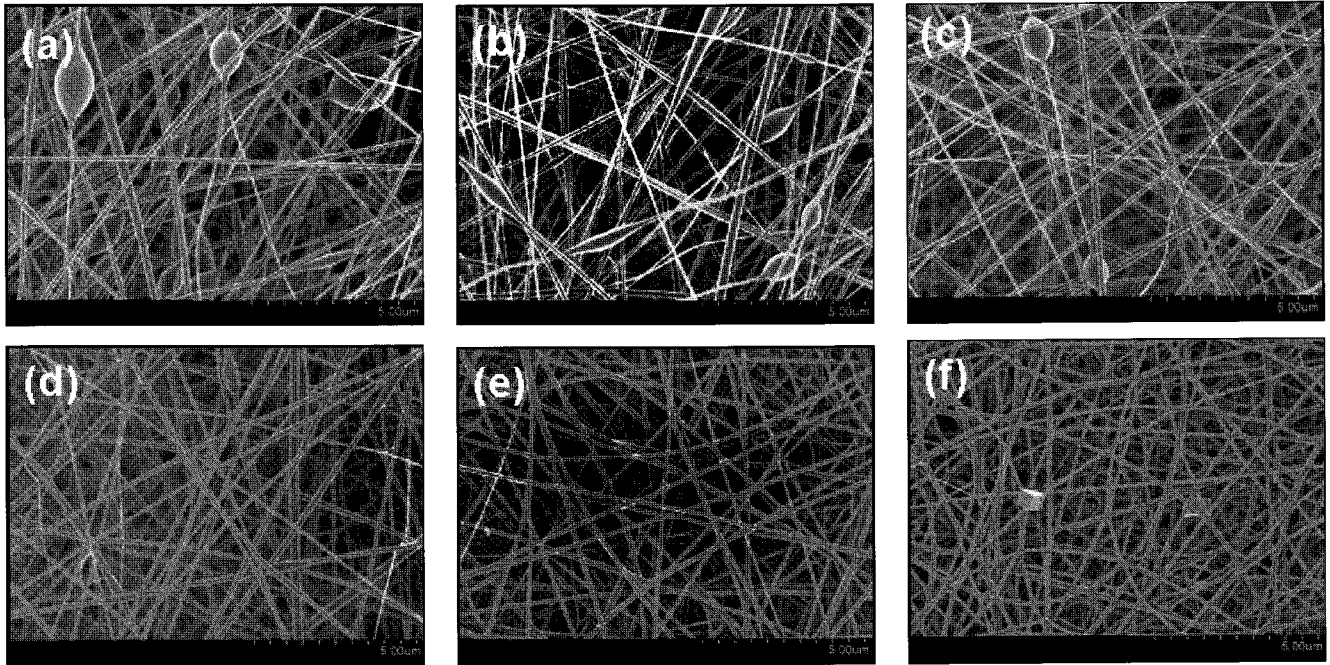


Figure 5. SEM micrographs of electrospun gelatin nanofibers with different concentration of monovalent salt (NaCl). (a) 0 M, (b) 0.01 M, (c) 0.02 M, (d) 0.05 M, (e) 0.1 M, and (f) 0.2 M.

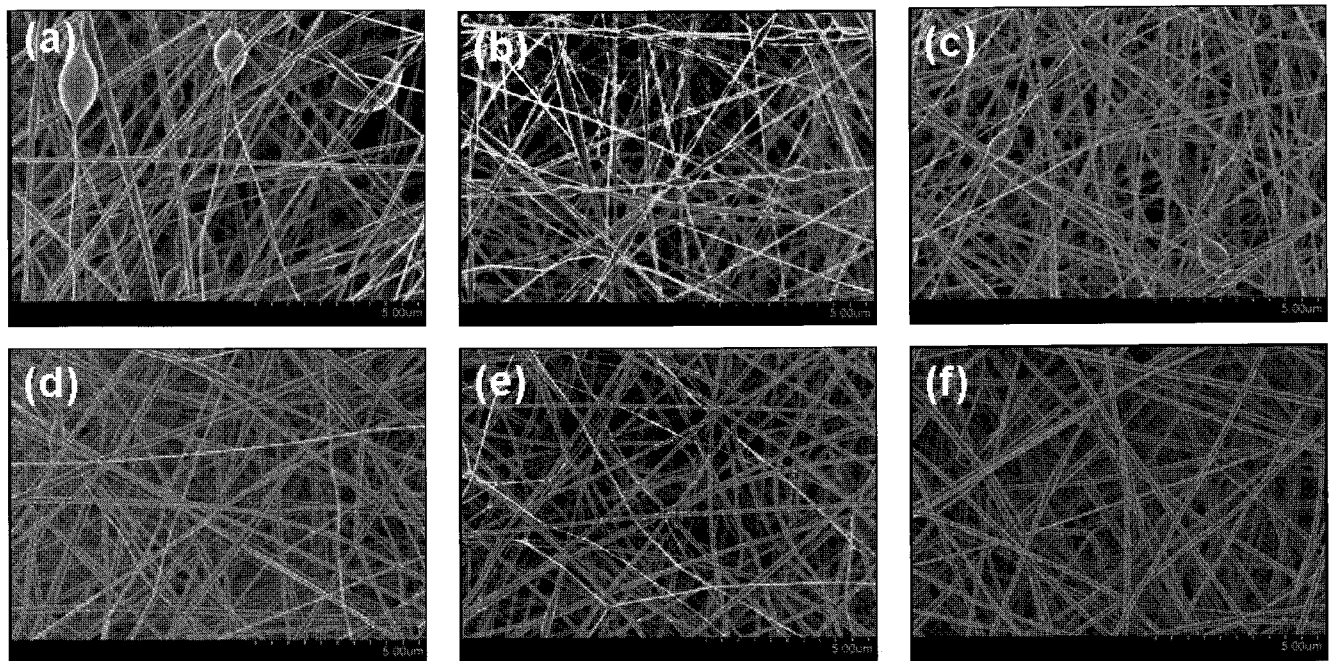


Figure 6. SEM micrographs of electrospun gelatin nanofibers with different concentration of divalent salt (CaCl_2). (a) 0 M, (b) 0.01 M, (c) 0.02 M, (d) 0.05 M, (e) 0.1 M, and (f) 0.2 M.

Figure 5에서 볼 수 있는 것처럼 염화나트륨을 저농도로 사용할 경우에는 비드의 발생이 관찰되었지만 고농도를 사용할수록 균일한 나노섬유의 제조가 가능하였다. 즉 0.05 M까지는 비드가 일부 관찰되었지만 0.1 M부터는 균일한 나노섬유가 제조되었다. 이온염을 첨가할 경우 전기방사가 진행되는 동안 방사되는 고분자 젯의 표면에 높은 전하밀도가 형성되어 전기장 하에서 방사되는 고분자 젯에 높

은 연신력이 가해지므로 균일한 섬유상이 형성된다. 따라서 전하밀도가 높아질수록 비드가 더 작아져서 방추체(spindle) 형태로 변하고 최종 섬유의 직경은 더 가늘어 진다. 또한 이온염 첨가에 의해 젤라틴의 비극성 아미노산 잔기에 의한 분자내 또는 분자간 소수성 상호작용이 강하게 작용하여 용액의 점도가 증가한다. 그 결과 나노섬유의 직경이 110 nm 전후인 균일한 나노섬유의 제조가 가능하였으나

이온염의 농도가 나노섬유의 직경변화에 미치는 영향은 관찰되지 않았다. 그 이유는 이온염 첨가에 따라 전도도도 증가하였지만 비드의 감소 및 Figures 3과 4에서 볼 수 있는 것처럼 젤라틴 용액의 점도와 응집체의 크기가 일부 증가하였기 때문이라고 판단된다. 또한 0.2 M에서는 일부 염화나트륨이 석출되어 결정상을 형성하는 것이 관찰되었다.

염화칼슘도 염화나트륨과 유사한 결과를 보였으며 저농도로 사용하면 비드의 발생이 관찰되지만 고농도로 갈수록 비드의 발생이 줄어들고 균일한 나노섬유의 제조가 가능하였다(Figure 6). 즉 0.02 M까지는 비드가 일부 관찰되지만 0.05 M부터는 비드의 발생이 없고 균일한 나노섬유가 제조되었다. 이들 결과로부터 염화칼슘이 염화나트륨보다 더 소량을 첨가하여도 균일한 나노섬유의 제조가 가능하다는 것을 알 수 있었다. 이는 점도 및 전도도 결과에서 볼 수 있는 것처럼 젤라틴 용액의 점도 및 전도도 증가에 염화칼슘의 사용이 더 효과적이라는 사실에 기인한다고 판단된다. 나노섬유의 직경은 125 nm 전후로서 염화나트륨을 사용한 경우처럼 이온염의 농도가 나노섬유의 직경변화에 미치는 영향은 관찰되지 않았다. 그러나 염화나트륨을 사용했을 때보다 염화칼슘을 사용한 경우가 전반적으로 나노섬유의 직경이 10~20 nm 정도 증가하는 것을 볼 수 있었다. 이는 방사용액에 첨가된 이온의 크기가 작을수록 방사되는 고분자 젯에서 더 높은 전하밀도와 전하의 유동성을 보인다. 따라서 고분자 젯에 더 높은 연신력이 가해져서 나노섬유의 직경이 감소하는 것으로 생각되어진다.²⁵

나노섬유 표면분석. 이온염 첨가에 따른 젤라틴 분자의 구조적 변화 가능성을 조사하기 위해서 이온염이 첨가되지 않은 젤라틴 나노섬유와 염화나트륨 또는 염화칼슘이 첨가된 젤라틴 나노섬유의 ATR-FTIR 스펙트라를 비교해 보았다.

Figure 7에서 볼 수 있는 것처럼 모든 샘플에서 일반적인 단백질의 아마이드(amide) 결합에 의한 amide I과 amide II 피크가 1635 cm^{-1} 과 1530 cm^{-1} 에서 관찰되었으며, 이들 특성피크는 C=O와 C-N의 stretching과 N-H의 bending에 기인한다. 그러나 amide I 피크는 젤라틴의 random coil과 α -helix 구조 모두에 영향을 받으므로 ATR-FTIR의 결과로는 이온염 첨가에 따른 젤라틴 분자 구조에의 영향을 찾아낼 수가 없었다. 따라서 이온염이 젤라틴 분자의 구조변화에 미치는 영향을 X-ray diffractometer(XRD)를 이용하여 조사하였다.

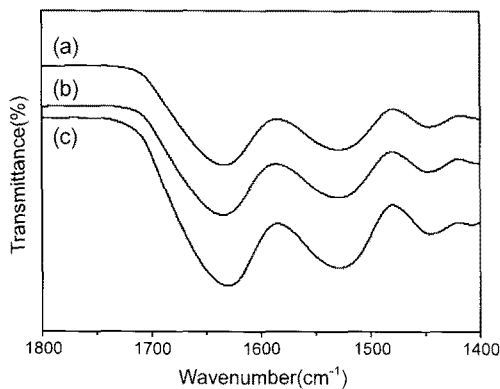


Figure 7. ATR-FTIR spectra of electrospun gelatin nanofibers containing (a) no ionic salt, (b) 0.1 M NaCl, and (c) 0.1 M CaCl₂.

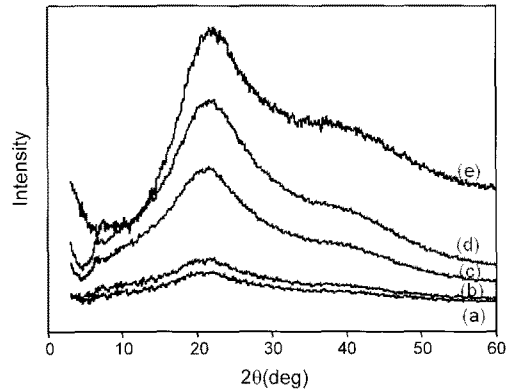


Figure 8. X-ray diffraction patterns of electrospun gelatin nanofibers with different concentration of monovalent salt (NaCl). (a) 0 M, (b) 0.01 M, (c) 0.02 M, (d) 0.05 M, and (e) 0.1 M.

이온염 첨가가 젤라틴 분자의 결정구조 및 결정화도에 미치는 영향을 XRD를 이용하여 조사하고 그 결과를 Figure 8에 나타내었다. Figure 8(a)에서 볼 수 있는 것처럼 이온염을 첨가하지 않을 경우 대부분 비결정구조(amorphous structure)를 보이며 결정화도는 매우 낮은 것을 알 수 있다. 이 결과는 수용액상으로 제조한 젤라틴 필름에서의 결과와 유사하며 용액상에서 젤라틴의 결정구조가 대부분 파괴되고 재결정화가 진행되지 않기 때문이라고 판단된다.²¹ 그러나 이온염의 농도가 증가함에 따라 젤라틴 분자의 α -helix 및 삼중나선구조(triple-helical)에 기인하는 전형적인 XRD 패턴을 보였다. 이는 이온염 첨가에 의해 용액상에서 젤라틴 분자의 재결정화가 일어나기 때문이라고 생각된다.

결론

젤라틴은 ECM 고분자 중에서도 세포와의 상호작용을 유도하는 물질로 평가되고 있으며, 또한 젤라틴을 이용하여 제조된 나노섬유 부직포는 구조적으로도 ECM의 콜라겐과 유사하기 때문에 세포의 정착, 성장 및 분화를 촉진시킨다. 따라서 조직공학용 인공 ECM의 개발을 위해서는 화학적 및 구조적으로도 생체내 ECM과 유사한 지지체를 제조하는 것이 중요하다. 본 연구에서는 이온염을 함유한 TFE/증류수 혼합용매를 이용하여, 시간의 경과에 따른 젤라틴의 가수분해반응이 없으며 고농도에서도 전기방사가 가능한 방사용액을 제조하였으며, 또한 이를 이용하여 평균직경 110-125 nm의 균일한 젤라틴 나노섬유를 제조하였다.

이온염을 함유하지 않은 젤라틴 용액을 사용할 경우는 나노섬유 제조시 비드의 발생이 많았고 또한 균일한 나노섬유의 제조가 어려웠지만 이온염의 농도가 증가할수록 비드의 발생이 줄어들고 균일한 직경의 나노섬유 제조가 가능하였다. 이는 이온염의 첨가에 의한 젤라틴 용액의 점도 및 전도도 증가에 기인하는 것으로 확인되었다. 또한 DLS를 이용하여 이온염 농도 증가에 따른 젤라틴 분자 응집체의 크기가 증가하는 것도 관찰할 수 있었다. 제조된 나노섬유를 이용한 XRD 분석 결과 이온염의 농도가 증가할수록 용액상에서 젤라틴 분자의 재결정화가 진행되어 최종 나노섬유의 결정화도도 매우 높은 것을 알 수 있었다. 이러한 결과가 기존의 천연고분자를 이용한 나노섬유의 제

조 및 인공 ECM의 개발에 많은 도움이 될 것이라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Y. Marois, N. Chakfé, X. Deng, M. Marois, T. How, M. W. King, and R. Guidoin, *Biomaterials*, **16**, 1131 (1995).
2. J. L. Cuy, B. L. Beckstead, C. D. Brown, A. S. Hoffman, and C. M. Giachelli, *J. Biomed. Mater. Res.*, **67A**, 538 (2003).
3. Y. Zhu, C. Gao, T. He, and J. Shen, *Biomaterials*, **25**, 423 (2004).
4. J. S. Mao, H. F. Liu, Y. J. Yin, and K. D. Yao, *Biomaterials*, **24**, 1621 (2003).
5. P. Buijtenhuijs, L. Buttafoco, A. A. Poot, W. F. Daamen, T. H. van Kuppevelt, P. J. Dijkstra, R. A. de Vos, L. M. Sterk, B. R. Geelkerken, J. Feijen, and I. Vermes, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **39**, 141 (2004).
6. Q. Lu, K. Gancsan, D. T. Simionescu, and N. R. Vyavaharc, *Biomaterials*, **25**, 5227 (2004).
7. H. Fong, I. Chun, and D. H. Reneker, *Polymer*, **40**, 4585 (1999).
8. X. Zong, K. Kim, D. Fang, S. Ran, B. S. Hsiao, and B. Chu, *Polymer*, **43**, 4403 (2002).
9. H. Guan, C. Shao, S. Wen, B. Chen, J. Gong, and X. Yang, *Mater. Chem. Phys.*, **82**, 1002 (2003).
10. H. Yoshimoto, Y. M. Shin, H. Terai, and J. P. Vacanti, *Biomaterials*, **24**, 2077 (2003).
11. J. Zeng, X. Xu, X. Chen, Q. Liang, X. Bian, L. Yang, and X. Jing, *J. Control. Release*, **92**, 227 (2003).
12. Z. M. Huang, Y. Z. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, *Compos. Sci. Technol.*, **63**, 2223 (2003).
13. B. M. Min, G. Lee, S. H. Kim, Y. S. Nam, T. S. Lee, and W. H. Park, *Biomaterials*, **25**, 1289 (2004).
14. L. Huang, R. A. McMillan, R. P. Apkarian, B. Pourdeyhimi, V. P. Contocello, and E. L. Chaikof, *Macromolecules*, **33**, 2989 (2000).
15. R. A. Caruso, J. H. Schattka, and A. Greiner, *Adv. Mater.*, **13**, 1577 (2001).
16. Z. Chen, M. D. Forster, W. Zhou, H. Fong, and D. H. Reneker, *Macromolecules*, **34**, 6156 (2001).
17. W. J. Li, T. Laurencin, E. J. Caterson, R. S. Tuan, and F. K. Ko, *J. Biomed. Mater. Res.*, **60**, 613 (2002).
18. Y. J. Kim and O. H. Kwon, *Key Engineering Materials*, **342**, 169 (2007).
19. L. Buttafoco, N. G. Kolkman, P. Buijtenhuijs, A. A. Poot, P. J. Dijkstra, I. Vermes, and J. Feijen, *Biomaterials*, **27**, 724 (2006).
20. Z. M. Huang, Y. Z. Zhang, S. Ramakrishna, and C. T. Lim, *Polymer*, **45**, 5361 (2004).
21. C. S. Ki, D. H. Baek, K. D. Gang, K. H. Lee, I. C. Um, and Y. H. Park, *Polymer*, **46**, 5094 (2005).
22. S. Chatterjee and H. B. Bohidar, *Int. J. Biol. Macromol.*, **35**, 81 (2005).
23. S. Kara, C. Tamerler, H. Bermek, and Ö. Pekcan, *Int. J. Biol. Macromol.*, **31**, 177 (2003).
24. M. Nakano, J. R. Shen, and K. Kamino, *Biomacromolecules*, **8**, 1830 (2007).
25. X. Zong, K. S. Kim, D. Fang, S. Ran, B. S. Hsiao, and B. Chu, *Polymer*, **43**, 4403 (2002).