

상전이를 통한 Poly(L-lactide) 스캐폴드 막의 제조에서의 용매의 효과

조 유 송* · 김 영 경* · 구 자 경*[†] · 박 종 순**

*한국기술교육대학교 에너지·신소재·화학공학부, **㈜글로윈
(2014년 3월 12일 접수, 2014년 3월 24일 수정, 2014년 3월 26일 채택)

Effects of Solvent on the Fabrication of Poly(L-lactide) Scaffold Membranes through Phase Inversion

Yu Song Cho*, Young Kyoung Kim*, Ja-Kyung Koo*[†] and Jong Soon Park**

*School of Energy·Materials and Chemical Engineering, Korea University of Technology and Education,
1600 Chungjeolno, Byungchonmyun, Chonan, Chungnam 330-708, Korea

**GLO-ONE Co. LTD, 190 Maesilro, Sojeongmyeon, Sejong City, Korea

(Received March 12, 2014, Revised March 24, 2014, Accepted March 26, 2014)

요약: 상전이 과정을 통하여 poly(L-lactic acid) 재질의 다공성 스캐폴드 막을 제조하였다. 비용매로는 에탄올을 사용하였고, 용매로서 chloroform, dichloromethane 및 1,4-dioxane을 사용하였으며, 제조한 스캐폴드 막의 모폴로지와 기계적 강도 및 물질전달 특성은 각각 SEM, 인장강도실험 및 당 확산실험을 통하여 측정, 평가하였다. chloroform을 용매로 사용한 스캐폴드 막과 dichloromethane을 용매로 사용한 스캐폴드 막은 서로 유사한 모폴로지와 기계적 특성을 보였다. 이들 스캐폴드 막은 공극 직경 3-10 μm 의 다공성 스펀지 구조를 보였으며, 범위 50-80%의 공극률을 보였다. 1,4-dioxane 용매의 용액으로부터 제조된 스캐폴드 막은 공극률 80% 이상의 나노섬유 형태를 보였다. 캐스팅 용액 내의 고분자 함량이 4% 이하로 낮추었을 때에는 나노섬유 구조의 바탕에 수십 μm 의 거대 공극이 존재하는 높은 공극률(90%)을 갖는 스캐폴드 막이 얻어졌다. 이러한 결과를 통하여 스캐폴드 막의 구조에 대하여 용매는 중요한 효과를 미치며, 상전이 과정에서 용매선택과 캐스팅 용액의 농도 조절을 통하여 다양한 구조의 스캐폴드 막을 제조할 수 있다는 결론을 도출하였다.

Abstract: Porous poly(L-lactic acid)(PLLA) scaffold membranes were prepared via phase separation process. Chloroform, dichloromethane and 1,4-dioxane were used as solvent and, ethyl alcohol was used as non-solvent. Morphologies, mechanical properties and mass transfer characteristics of the scaffold membranes were investigated through SEM, stress-strain test and glucose diffusion test. The scaffold membranes obtained from the casting solutions with chloroform and with dichloromethane showed similar morphologies. They showed sponge-like porous structure with the pore size in the range of 3-10 μm and, their porosities were in 50-80% range. Using 1,4-dioxane as solvent, nano-fibrous scaffold membranes with porosities over 80% were fabricated. When the polymer content in the solution with 1,4-dioxane was lowered to 4%, highly porous, macroporous and nano-fibrous scaffold membranes were obtained. The size of the macropore was tens of the microns and the porosity was around 90%. These results indicate that the solvent has significant effect on the scaffold membrane structure and, that scaffold membranes with various structures can be fabricated through phase separation method by choosing solvent and by controlling polymer concentration in the casting solution.

Keywords: phase inversion; poly L-lactic acid; scaffold membrane; tissue engineering; morphology

1. 서론

본 연구의 목적은 상전이법을 통하여 조직공학적인 기

능의 분리막인 스캐폴드 막을 개발하며, 상전이법에서 캐스팅 용액에 사용된 용매별 스캐폴드 막의 특성을 관찰하는 것이다. 조직공학이란 주로 외상이나 수술 등을 통해 손상된 생체조직의 대체체를 만들고 이를 생체 내

[†]교신저자(e-mail: jay@kut.ac.kr)

에 이식함으로써 조직을 복원, 회복시키는 방안을 연구하는 분야이다. 이러한 목적의 대체재로서 일반적으로 알려진 것은 건강한 기증자로부터의 조직을 들 수 있으며, 현재에도 기증자로부터의 조직 이식 수술이 널리 시행되고 있다. 하지만 치유의 목적으로 타인의 이질적인 생체조직을 환자에게 이식할 경우 면역 불일치로 인한 이식거부 등의 부작용의 가능성이 문제점이 대두되며, 현재 조직 기증자 수가 수요에 비하여 심각하게 부족한 것이 가장 큰 문제로 제시되고 있다. 이러한 문제점들을 해결하기 위해 인공 조직의 개발이 절실하게 요구되고 있고, 이러한 인공 조직 중 대표적인 것으로는 일종의 분리막 형태의 다공성 스캐폴드 막이 있다. 다공성 스캐폴드 막은 인체에 이식된 이후 조직을 보호, 유지하는 구조적 지지체로 기능하며, 체액 내의 확산을 통하여 각종 영양분과 산소 등의 물질 및 정보의 전달, 공급을 활성화하고, 세포의 흡착, 증식, 분화와 세포사 등의 기본적인 세포 기능을 제어하는 세포외기질(extra-cellular matrix, ECM)의 역할을 수행하게 되므로 인공 세포외기질이라고도 한다. 스캐폴드 막은 이러한 세포외기질의 역할을 임시적으로 수행하면서 손상부위의 치유를 촉진하며 치유가 완료되는 시점까지 생분해 되어 소멸하게 된다. 이러한 스캐폴드 막의 재료는 세포독성, 거부반응 등의 가능성이 없는 생체적합성을 보여야 하며, 기계적 안정성 및 가공성과 함께 생분해성 등 여러 가지 조건을 만족시켜야 한다. 현재 다공성 스캐폴드 막의 재료로는 천연고분자 및 합성고분자가 관심을 받고 있다. 천연고분자로는 콜라겐, 키토산 및 키틴 등이 사용되고 있으며 피부, 골격, 연골 및 신경 등 다양한 부위조직 재생을 위한 스캐폴드 막의 재료로 연구되어왔다. 이들 천연고분자는 생체 조직으로부터 얻어지는 만큼 합성고분자에 비해 생체 친화력이 월등하다는 장점으로 큰 주목을 받아온 반면, 생체로부터 추출해야 하므로 공급량이 한정되고 대량생산이 어렵다는 단점이 있다. 천연고분자에는 또한 성형, 공극조절 등의 가공성과 기계적 물성 그리고 생체안정성(biostability)이 떨어진다는 단점도 아울러 존재한다. 특히, 가장 전형적 천연 고분자인 콜라겐의 경우 생체안정성이 크게 떨어져서 체내의 조건과 유사하게 조성된 환경 내에서 12시간 만에 그 구조가 대부분 생분해되었다고 보고된 바도 있다[1]. 이러한 단점을 극복하기 위하여 생분해성 합성 고분자를 이용한 스캐폴드 막의 제조에 대한 연구가 이루어져 왔으며, 스캐폴드 막 제조의 재료로서 FDA 인증을 획득한 poly-

lactide(PLA)와 poly glycolic acid(PGA) 및 그 공중합체인 poly lactic acid-co-glycolic acid(PLGA)를 이용한 연구가 그 주종을 이루어 왔다.

천연 생분해성 고분자 소재의 다공성 스캐폴드 막을 제조하기 위한 방법으로는 소금 입자를 혼입하여 용융, 성형한 후 소금 입자를 물에 용해시켜 공극을 형성시키는 염 추출법(salt-leaching method), 고분자에 CO₂를 이용, 발포하여 공극을 형성시키는 발포법(foaming method), 고분자 용액을 급랭하여 동결한 채로 용매를 건조시키는 동결건조법(freeze drying method) 그리고 고분자 용액에서의 상대 용해도의 차이 및 변화로 인한 상분리 거동을 이용한 상전이법(phase inversion method) 등이 알려져 있다. 이들 중 상전이법은 정수처리막 등과 같은 일반적인 다공성 분리막을 제조하는 용도로 널리 사용되는 방법으로서 고분자와 용매 및 비용매 간의 용해도 차이를 이용하는 용매교환법(solvent exchange method)[2-4]과 고분자의 온도에 따른 용해도 변화를 이용하는 열유도 상전이법(thermally induced phase separation method)[5,6] 등이 있다. 이들 중 용매교환법에 의한 상전이법은 현재 다공성 고분자 분리막을 제조하는 가장 일반적인 방법으로 알려져 있으며, 용매와 비용매의 선택, 고분자의 농도 그리고 첨가제의 사용 등에 의하여 다양한 형태의 분리막을 제조할 수 있다는 장점이 있다. 본 연구에서는 원료 고분자로서는 poly(L-lactide) (PLLA)를 사용하고 용매로는 chloroform, dichloromethane 및 1,4-dioxane을 사용하며 비용매로는 ethanol을 사용하여 다공성 스캐폴드 막을 제조하였으며 사용된 용매별 스캐폴드 막의 공극률, 모폴로지, 기계적 강도 및 당 확산도 등의 특성을 관찰하였다.

2. 실험

2.1. 시약

스캐폴드 막 제조의 원료로는 고분자는 poly(L-lactic acid) (PLLA, NatureWorks, USA, Mn = 116,300 g/mol, Mw = 270,000)를 사용하였고, 용매로는 chloroform (Samchun, 99.8%), dichloromethane (Duksan, 99.9%) 및 1,4-dioxane (Samchun, 99.8%)을 사용하였으며, 비용매로는 ethanol (Duksan, 99.9%)을 사용하였다. PLLA는 에탄올 및 물로 세척한 후 50°C, 진공으로 12시간 이상 건조하여 수분을 충분히 제거한 후 사용하였으며, 용매와 비용매는 전처리 없이 사용하였다.

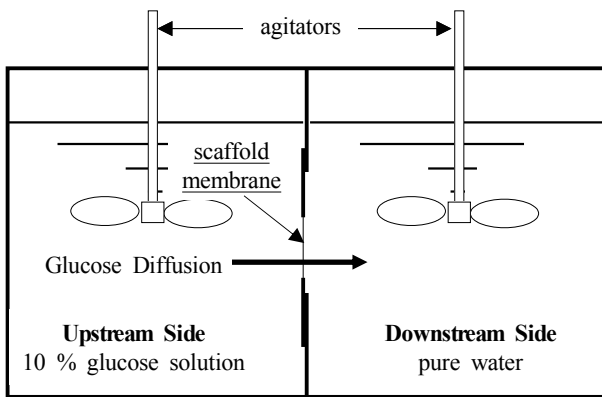


Fig. 1. Schematic representation of glucose diffusion device.

2.2. 스펀지 막의 제조

PLLA는 3%-7% 범위로 함량을 조절하여 각각의 용매에 혼합, 용해하여 캐스팅 용액을 제조하였다. Papenburg 등[7]은 PLLA의 함량을 최저 5% 이상의 범위로 연구에 임한 것에 비해, 본 연구에서는 더 높은 공극률과 공극직경의 스펀지막을 얻고자 하여 PLLA 함량을 최저 3%로 낮추어 연구에 임하였다. 캐스팅 용액을 유리 기판 위에 doctor blade를 사용하여 500 μm의 두께로 캐스팅한 후 즉시 비용매인 에탄올로 채워진 상온의 항온조에 침지하여 용매교환을 유도하고 막을 형성시켰다. 용매교환이 이루어져 형성된 막은 18시간 동안 비용매를 교체하며 비용매 항온조에 담긴 상태를 유지하여 캐스팅 용액과 주변의 비용매 간 완전한 용매교환이 이루어지도록 하였으며, 이후, 추가로 증류수로 채워진 상온의 항온조 내에 8시간 동안 담가서 잔류용매 성분을 제거하였다. 이후 제조한 분리막은 상온, 진공에서 12시간 이상 건조하여 스펀지막을 제조하였다.

2.3. 공극률 측정

스펀지 막의 공극률은 막의 전체 부피에 대한 공극 부피의 비로 정의하였다. 이때에 공극의 부피는 막의 전체 부피와 스펀지 막의 질량으로부터 산출하였다. 막의 전체 부피, VS는 막의 면적(A)과 두께(δ)를 이용하여 $A \times \delta$ 로 계산하며 스펀지 막 내에서 고분자(PLLA)가 점유하는 부피, VP는 스펀지 막의 무게(WS)와 고분자(PLLA)의 밀도(ρS)를 이용하여 $WS/\rho S$ 로 계산하여 구할 수 있다. 이러한 방법으로 구한 전체부피와 고분자가 점유하는 부피를 이용하여 아래의 식을 통하여 공극률을 구할 수 있다.

$$Porosity(\%) = \frac{V_S - V_P}{V_S} \times 100$$

이 방법에서 PLLA의 밀도는 pycnometer를 사용하여 측정하였으며 그 결과 값은 1.27 g/cm³이다.

2.4. SEM

상전이법을 통하여 제조한 스펀지 막의 표면공극과 단면의 모폴로지는 scanning electron microscopy(SEM, CX-200TA)를 통하여 관찰하였다. SEM 촬영을 위하여 샘플은 액체질소를 이용하여 극저온 처리 후 절단하였으며, 촬영 이전에 샘플의 표면에 금 코팅하여 촬영하였다.

2.5. 스펀지 막의 기계적 특성

스펀지 막은 체내에서 세포의 증식, 분화 및 성장을 보조하여 조직의 회복을 보조하는 역할 이외에도 조직을 보호하는 장벽으로서의 지지체 역할도 수행한다. 그러므로 스펀지 막은 입체적 특성뿐만 아니라 인장강도와 같은 기계적 특성 역시 중요한 요소로 작용하게 된다. 이러한 기계적 특성을 평가하기 위하여 본 연구에서는 상온에서 인장강도 측정기(H5KT, Tinius Olsen)를 통해 스펀지 막의 인장강도를 측정하였다.

2.6. 스펀지 막의 물질전달 특성

스펀지 막에서의 영양분 전달 특성을 평가하기 위하여 포도당 확산실험을 수행하였다. 포도당은 신체 조직의 주 영양성분 중의 하나로서 포도당의 확산계수는 스펀지 막 내에서의 영양분 전달특성에 대한 지표로 삼을 수 있다. 확산실험은 Papenburg에 가 수행한 방법[7]과 동일하게 진행되었으며, 확산실험을 위한 포도당은 Sigma로부터 구입한 Ultra D-(+)-glucose를 사용하였다. 확산실험의 포도당 농도는 혈중 농도의 1/10 (10g/L)로 조절하여 사용하였다. Fig. 1은 확산실험 장치를 나타낸다. 장치는 2L의 plexiglass 용기로 이루어져 있으며, 이 용기는 칸막이에 의해 1 L씩으로 반분되고, 각각 막 상류부 및 막 하류부로 나누어져 있다. 칸막이에는 40 × 40 mm의 통로가 뚫려 있으며, 이 통로 부위에 스펀지 막을 설치하였다. 스펀지 막은 알루미늄 포일 테이프를 사용하여 칸막이의 통로 부위에 부착, 설치하였으며, 스펀지 막의 확산면적은 알루미늄 포일 테이프에 뚫린 구멍의 면적(2.25 cm²)을 통하여 조절하였다. 막 상류부에는 포도당 용액으로 채우고, 막 하류부에는 증류수로 채운 후 확산실험을 수행하였다.

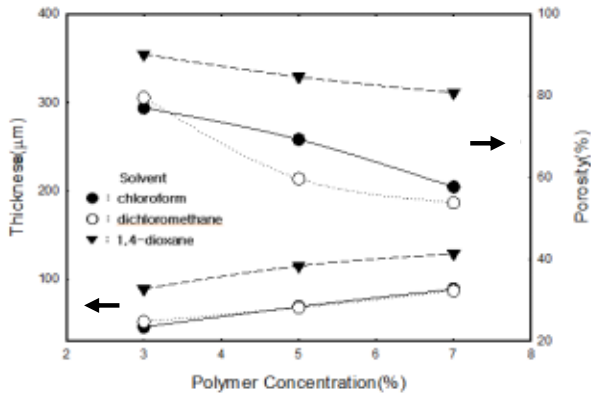


Fig. 2. Porosity and thickness of PLLA scaffold membranes.

확산실험 동안 장치는 37°C로 채운과 동일한 온도가 유지되는 오븐 내에 설치하였으며, 막의 상류부와 하류부를 각각 교반하여 그 농도를 각각 균일하게 유지하였다. 막 상류부와 하류부 간의 농도차이로 인하여 상류부 용액 내의 포도당은 하류부로 확산되며, 확산실험동안 상류부와 하류부로부터 매 시간 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 Sigma에서 구입한 효소(PGO enzyme)를 이용한 효소정량법을 통하여 측정하였다. 시료중의 포도당은 효소와 반응하여 주황색으로 변색되며, 변색된 시료 내 포도당의 농도는 UV 측정 장치를 이용, $\lambda=450$ nm의 자외선에 대한 흡광도를 측정하여 평가하였다.

확산도 계수는 Fick's first law에서 유래하며, 확산과정이 정상상태에 도달한 경우 Fick's first law는 아래의 식 (1)로 표현될 수 있다.

$$J = D \frac{\Delta C}{L} \quad (1)$$

위의 식 (1)에서 J는 포도당의 확산 플럭스, D는 포도당의 확산도계수, ΔC 는 막 상류부와 하류부 간의 포도당 농도차 그리고, L은 확산이 이루어지는 스케폴드 막의 두께를 각각 의미한다. 확산플럭스와 확산도 계수는 확산실험을 통하여, 그리고 아래의 식 (1) 및 식 (2)를 통하여 각각 측정 평가하였다.

$$J = \frac{V(C_{t_2} - C_{t_1})}{A(t_2 - t_1)} \quad (2)$$

$$D = \frac{J}{\Delta C/L} \quad (3)$$

Table 1. Porosity and Thickness of PLLA Scaffold Membranes

Solvent	Polymer Concentration (wt%)	Final Thickness (μm)	Porosity (%)
Chloroform	3	46	77.0
	5	69	69.3
	7	89	57.7
Dichloromethane	3	52	79.5
	5	68	59.7
	7	87	53.8
1,4-dioxane	3	89	90.1
	5	115	84.6
	7	129	80.7

위의 식에서 V는 막 하류부의 부피, C_{t_1} 및 C_{t_2} 은 각각 확산실험중의 시점 t_1 및 t_2 에서 측정된 포도당의 농도 그리고, A는 실험 중 확산이 이루어진 면적을 각각 의미한다.

3. 결과 및 토의

3.1. 스케폴드 막의 공극률 및 모폴로지

캐스팅 용액 내의 고분자 함량과 용액제조에 사용한 용매는 스케폴드 막의 두께와 공극률에 큰 영향을 미쳤다. Table 1은 캐스팅 용액 제조 시 사용한 용매와 용액 내의 고분자 함량별 스케폴드 막의 두께 및 공극률을 나타낸다. 모든 경우에 있어서 제조한 스케폴드 막의 두께는 초기 캐스팅 두께(500 μm)에 비해 크게 감소한 것을 볼 수 있다. 그 이유는 용매교환시 낮은 고분자 밀도의 다공성 막이 형성되면서 공극이 압축되는 (compressed) 현상[7,8]으로 보이며, 아울러 낮은 함량의 고분자를 함유하는 저점도 용액을 캐스팅 할 시에 관찰되는 흐름현상[2,3]일 가능성도 배제할 수 없다. 그러나, 본 연구의 결과에 있어서는 반복실험 시에 두께의 재연성이 매우 높은 점으로 보아 흐름현상 보다는 제막 과정 중의 공극 압축현상이 그 주된 이유인 것으로 판단된다. Fig. 2는 각 용매별 캐스팅 용액 내의 고분자 함량 변화에 따른 스케폴드 막의 두께와 공극률의 변화 추세를 나타낸다. 본 연구에서 제조한 스케폴드 막의 공극률은 Papenbure[7]에 의해 유사한 조건에서 제조한 것에 비해 다소 낮은 공극률을 보였다. 이는 본 연구에서는 비교적 높은 분자량의 PLLA를 사용하였기 때문인 것으로 추정된다. 캐스팅 용액 내의 고분자 함량의 증가에 따라 스케폴드 막의 공극률은 감소하며,

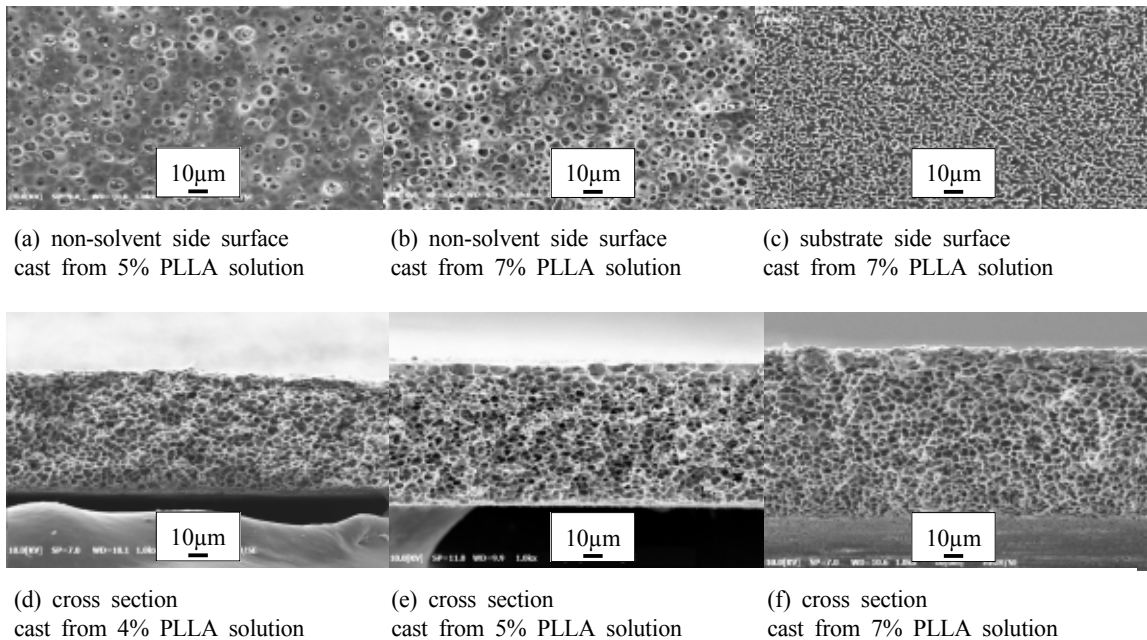


Fig. 3. SEM images of the scaffold membranes obtained from casting solutions with chloroform solvent.

두께는 증가하는 추세를 볼 수 있었다. 캐스팅 용액 중의 고분자 함량 증가에 따른 공극률의 감소 추세는 용액 중의 고분자 함량이 증가하면서 용액의 점도는 증가하고 증가하는 점도는 캐스팅 용액과 비용매 간의 용매 교환에 대한 저항으로 작용하는 것을 그 이유로 볼 수 있다. 캐스팅 용액 중의 고분자 함량의 증가에 따른 두께의 증가추세는 고분자 함량의 증가 비율에 미치지 못하는 듯 하였으며, 이는 고분자 함량의 증가에 따른 스캐폴드 막의 공극률 감소로 인한 것이다.

캐스팅 용액에 사용한 용매 간의 비교에 있어서는 우선 chloroform과 dichloromethane을 용매로 사용한 스캐폴드 막은 두께와 공극률에 있어서 서로 유사한 경향과 절대치를 볼 수 있다. 반면, 1,4-dioxane을 용매로 사용한 스캐폴드 막에 있어서는 chloroform 및 dichloromethane을 사용한 경우에 비하여 월등하게 높은 공극률과 두께를 보여주었으며 이는 모폴로지의 차이로 인한 것으로 판단된다.

Fig. 3은 chloroform용매의 캐스팅 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막의 SEM 사진을 나타낸다. 캐스팅 용액의 농도가 높아지면서 공극률은 감소하였으나, SEM 촬영을 통하여 관찰한 모폴로지를 통하여서는 용액의 농도별로 큰 차이를 볼 수 없었다. 비용매측 표면은 직경 10 µm에 약간 못 미치는 크기의 공극이 산재하는

형태를 보였으며, 공극의 내부에는 다른 공극과 연결되는 통로를 관찰할 수 있었고, 이는 스캐폴드 막의 구조에서 필수적인 공극 간의 상호연결이 이루어졌다는 것을 입증하였다. 반면, 기관측 표면은 기관과 부착되었던 흔적으로서의 굴곡과 함께 낮은 공극 빈도의 형태를 보였다. 스캐폴드 막의 단면은 모든 함량의 캐스팅 용액에서 제조한 스캐폴드 막 모두 공히 3-7 µm 가량의 직경의 공극으로 이루어진 스펀지 형태를 보였다. 3% 및 4%의 캐스팅 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막의 단면 공극은 폭 2-3 µm, 길이 4-7 µm의 크기로 수평방향으로 길쭉한 형태를 볼 수 있으며, 이는 용매교환 중의 압축현상으로 인하여 공극이 변형된 것으로 판단된다. 이러한 압축현상으로 인한 공극 변형 현상은 캐스팅 용액 내의 고분자 함량이 5% 및 7%로 증가하면서 약화되어 7% 함량의 캐스팅 용액으로부터 제조된 스캐폴드 막의 단면 공극은 상하 직경과 좌우 직경이 비교적 동일한 원형에 가까운 형태를 보여주었다.

Fig. 4는 dichloromethane 용매의 캐스팅 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막의 SEM 사진을 나타낸다. dichloromethane 용매의 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막은 chloroform 용매의 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막과 대략적으로 유사한 모폴로지를 모였으나, 단면 공극의 경우 공극의 크기가 chloroform 용액으로부터 제

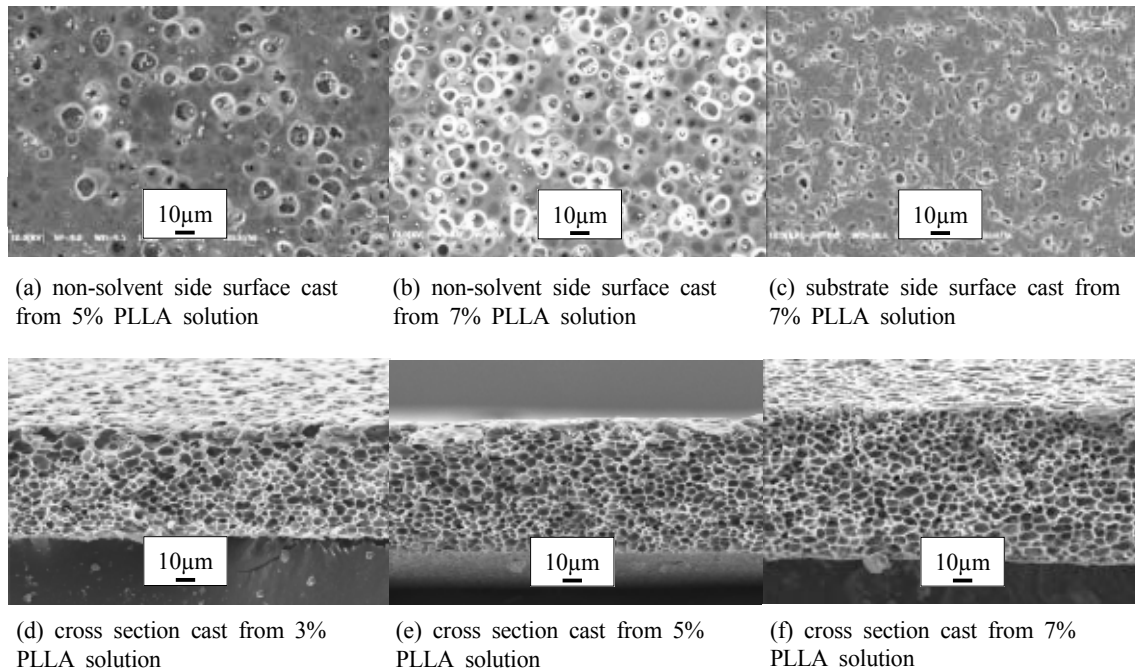


Fig. 4. SEM pictures of the scaffold membranes obtained from casting solutions with dichloromethane solvent.

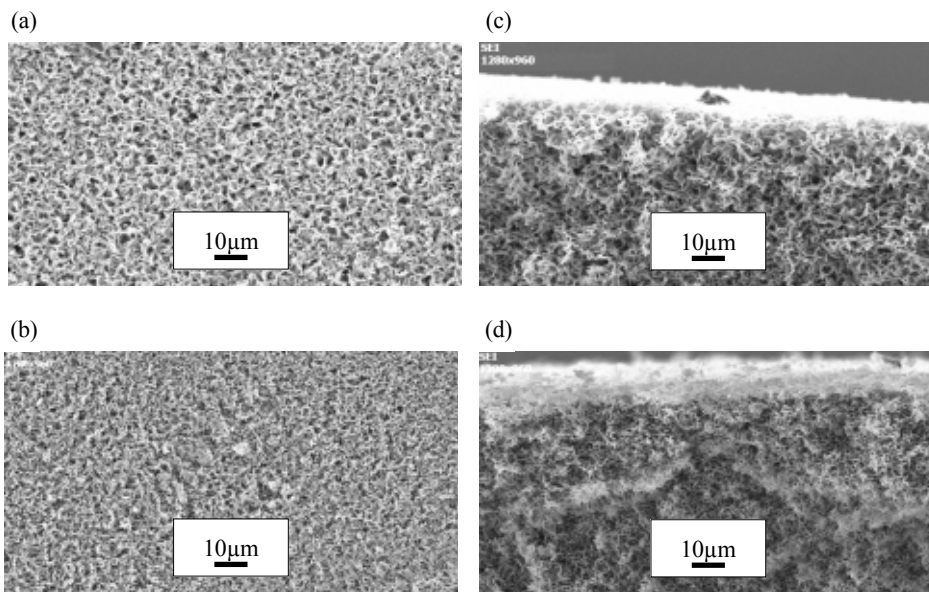


Fig. 5. SEM images of the scaffold membranes obtained from 5% and 7% PLLA solutions 1,4-dioxane solvent, non-solvent side surface cast from (a) 5% solution, (b) 7% solution, cross section cast from (c) 5% solution, (d) 7% solution.

조한 스캐폴드 막에 비하여 다소 큰 직경을 보였다. 3% 용액으로부터 제조된 스캐폴드 막에 있어서는 chloroform을 용매로 사용한 경우와 유사한 공극의 압축현상에 의한 형태를 관찰할 수 있었다. 그 공극의 크기에 있어서는 폭 4-6 μm , 길이 7-10 μm 로서 chloroform의

경우보다 큰 분포를 보였다. 5% 및 7% 용액으로부터의 스캐폴드 막에 있어서는 chloroform의 3% 용액으로부터의 스캐폴드 막에서 보였던 공극 압축현상이 약화된 형태를 볼 수 있었으며, 이는 chloroform 용액의 경우와 같았다.

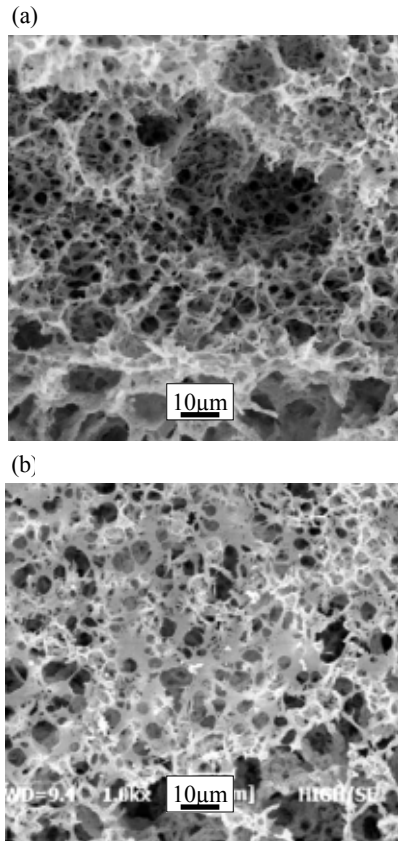


Fig. 6. SEM pictures of the scaffold membranes obtained from 4% PLLA solutions with 1,4-dioxane solvent, (a) cross section (b) non-solvent side surface.

Fig. 5는 1,4-dioxane 용매와 5% 및 7% 함량의 PLLA 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막의 SEM 사진을 나타낸다. 1,4-dioxane 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막의 경우는 chloroform 용액이나 dichloromethane 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막과는 전혀 다른 모폴로지를 보였다. Chloroform 용액과 dichloromethane 용액으로 제조한 스캐폴드 막은 비교적 고밀도의 바탕에 직경 μm 단위 크기의 공극으로 이루어진 다공성 구조를 보인 반면, 1,4-dioxane 용액으로 제조한 스캐폴드 막의 경우 그 표면과 단면 모두 굵기 $1\ \mu\text{m}$ 이하의 미세 섬유가 복잡하게 엉켜있는 상태이며, 그 사이사이에 직경 $1\ \mu\text{m}$ 이하의 미세 공극이 산재하는 저밀도의 구조를 보였고, 이러한 모폴로지의 차이로 인하여 1,4-dioxane 용액으로 제조한 스캐폴드 막은 다른 용매의 용액으로 제조한 스캐폴드 막에 비하여 동일한 PLLA 농도의 용액으로 제조한 스캐폴드 막의 경우에도 높은 공극률과 두께를 갖게 된 것으로 보인다. 이는 이른바 나노섬유(na-

no fiber)로 알려진 전형적인 구조의 모습으로서, 조직공학의 다양한 응용분야에서 매우 선호하는 구조이다. 나노섬유는 세포 주위를 감싸는 생체조직에 가까운 형태를 지녔으며[9-12], 특히 세포외기질의 주종을 이루는 콜라겐 섬유와 매우 유사한 구조를 보이는 것으로 알려져 있다[10]. 나노섬유형태의 스캐폴드 막은 그 제조법과는 무관하게 신체 내에서 세포의 부착, 증식, 이동 및 분화가 매우 원활하게 이루어지도록 작용하는 것으로 보고된 바 있다[8]. 이와 같은 높은 효용성으로 인해 현재 많은 연구자들에 의해 나노섬유 구조의 스캐폴드 막을 제조하려는 시도가 다양한 방법으로 이루어져 오고 있으며, 전기방사법[9,13-15], 열유도상전이법[6] 등의 방법이 발표된 바 있다.

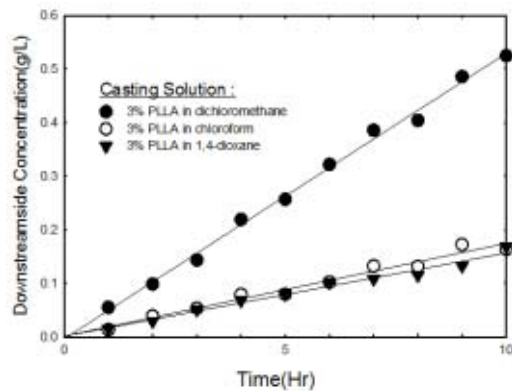
Fig. 6은 고분자 4%를 함유하는 1,4-dioxane 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막의 SEM 사진이다. 그림을 통하여 앞서 높은 비교적 높은 고분자 함량의 용액으로부터 제조한 스캐폴드 막에서 볼 수 있었던 나노섬유의 구조를 보였으나, 그 밀도는 매우 저하된 것을 볼 수 있다. 비용매 측 표면에는 나노구조의 바탕에 직경 $3\text{-}10\ \mu\text{m}$ 의 비교적 큰 공극이 매우 높은 빈도로 산재하는 구조를 보였으며, 그 단면사진 역시 나노섬유 구조의 바탕에 직경 $10\text{-}30\ \mu\text{m}$ 의 비교적 큰 공극이 산재하여 분포하는 것을 볼 수 있다. 이러한 낮은 밀도의 구조로 인하여 3% 함량의 PLLA 용액으로 제조한 스캐폴드의 막이 5% 용액 및 7% 용액으로 제조한 경우보다 크게 낮은 기계적 강도를 보인 것으로 판단된다. 이상의 결과를 통해 상전이법에 의하여 PLLA 스캐폴드 막을 제조하는 데에 있어서 용매와 고분자의 함량을 조절함에 따라 나노섬유 및 μm 단위 구경의 공극구조 등 다양하고 유용한 형태의 스캐폴드 막을 제조할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다. 특히 조직공학적 기능이 뛰어난 나노섬유 구조의 스캐폴드 막이 그 제조에 있어서 전기방사법 혹은 열유도상전이법 등의 복잡한 방법이 아닌 매우 간단한 방법인 LIPS 법을 통하여 제조하였으며, 제조시의 캐스팅 용액의 농도조절만으로 그 구조를 조절할 수 있었다는 점이 본 연구결과의 가장 큰 성과라 할 수 있다.

3.2. 스캐폴드 막의 기계적 특성

Table 2는 본 연구에서 제조한 스캐폴드 막의 기계적 특성을 보여준다. Chloroform과 dichloromethane을 용매로 사용한 스캐폴드 막은 각각의 농도 조건에서 서로

Table 2. Mechanical Properties of Scaffold Membranes

Solvent	Polymer concentration (wt%)	Modulus of elasticity (MPa)	Yield strength (MPa)	Strain at break (%)
Chloroform	3	55.15	6.73	52.0
	5	98.36	10.53	52.7
	7	416.67	13.89	67.7
Dichloromethane	3	149.74	5.69	53.3
	5	165.27	10.12	70.7
	7	511.02	13.38	69.3
1,4-dioxane	3	2.641	0.24	4.87
	5	3.783	0.42	5.00
	7	4.841	0.47	7.60

**Fig. 7.** Graph of glucose diffusion through scaffold membrane toward downstream side.

매우 유사한 인장강도 값을 보였으며, 그 절대값은 Bettahalli[16] 등이 LIPS법을 통해 제조한 중공사막 형태의 스캐폴드 막에 비해 높은 값을 보였다. 캐스팅 용액 중의 PLLA 농도가 감소하면서 이를 통하여 제조한 스캐폴드의 강도는 감소하였으며, 이는 용액 중 PLLA 농도의 감소에 따라 증가하는 공극률로 인한 것으로 볼 수 있다. 또한, Table 2를 통해 1,4-dioxane을 용매로 사용하여 제조한 스캐폴드 막은 다른 용매를 사용하여 제조한 스캐폴드 막에 비해 그 인장강도가 매우 떨어지는 것을 볼 수 있다. 이는 1,4-dioxane 용매를 사용한 스캐폴드 막은 나노섬유의 구조를 갖기 때문인 것으로 보이며, 본 연구에서 제조한 나노섬유 구조의 스캐폴드는 그 인장강도에 있어서 전기방사법[13] 등 여타의 방법을 통하여 제조한 나노섬유 구조의 스캐폴드와 유사한 범위의 인장강도 값을 보인 것을 알 수 있다. Table 2에서는 또한 1,4-dioxane 용매를 사용한 스캐폴드 막에서 PLLA 함량이 5%에서 7%로 증가한 경우에 그 기계적 강도의 증가분이 3%에서 5%로 증가하였을 때에

Table 3. Glucose Diffusion Coefficients Through Scaffold Membranes from 3% PLLA Casting Solutions

Casting solution	Porosity (%)	diffusion coefficient (m^2/s)
3% PLLA in chloroform	77.0	1.07×10^{10}
3% PLLA in dichloromethane	79.5	3.08×10^{10}
3% PLLA in 1,4-dioxane	90.1	1.88×10^{10}

비해 매우 떨어지는 것을 볼 수 있다. 이는 앞서의 모델로 관찰에서 들어났듯이 캐스팅 용액 중의 PLLA 함량이 낮은 경우에는 나노섬유 구조에 직경 비교적 큰 공극이 산재하는 반면, PLLA 함량이 높아지면서 이러한 큰 공극은 사라지고, 촘촘하고 균일한 구조로의 변화를 갖게 되는 것을 볼 수 있었다. 이러한 변화의 구간에서 인장강도는 비교적 크게 변화할 것으로 예측할 수 있었으며, 이 구간은 PLLA 함량 4%에서 5% 사이의 구간이었고, 실제로 이 구간을 포함하는 3%-5% 사이의 구간에서 인장강도의 변화는 타 구간에 비해 큰 것으로 관찰되었다. 나노섬유 구조의 스캐폴드 막은 다른 구조에 비하여 그 강도가 매우 떨어지는 것으로 알려져 있다. 이러한 나노섬유 스캐폴드 막의 약한 강도는 그 탁월한 기능상의 장점에 대비되는 단점으로서 이를 사용하는 데에 큰 제약으로 작용하는 것은 널리 알려진 사실이다[14,15]. 이러한 문제점에 대한 해결책으로는 나노섬유상의 스캐폴드 막을 강도 높은 다른 형태의 스캐폴드 막과의 복합막 형태로 제조하는 것이다. 이를 통하여 나노섬유의 스캐폴드 막은 세포의 증식에서의 장점을 제공하고, 다른 형태의 복합막을 통하여 기계적인 강도를 제공하는 방안이 제시된 바 있다[6].

3.3. 스키펠드 막의 물질전달 특성

스캐폴드 막을 통한 확산실험 과정에서 시간에 따른 막 하류부 포도당 농도의 변화는 Fig. 7과 같이 얻을 수 있었으며, 시간에 따른 농도 변화의 기울기와 식 (2) 및 식 (3)을 이용하여 확산도계수를 구하였고, 그 결과를 Table 3에 정리하였다. 본 연구에서 제조한 스키펠드 막을 통한 포도당의 확산도계수는 모든 용매를 사용한 경우에서 3% 용액으로부터의 스키펠드 막에 있어서 Papenburg의 연구결과[7] 중 가장 양호한 결과에 근접한 값 혹은 그 이상의 값을 보였다. Papenburg는 5% PLLA/1,4-dioxane 용액으로 제조한 스키펠드를 제조하는 데 있어서 그 표면에 나타나는 낮은 공극률 층의 형성을 억제하고, 이를 통하여 스키펠드 막 전반에 걸친 총괄적인 확산도계수를 높이기 위하여 비용매의 온도를 4°C로 낮게 조절한 후 용매교환에 임하도록 권유하였다. 이에 비해 본 연구에서 실험한 스키펠드 막은 상온의 상태에서의 용매교환을 통하여 제조하였음에도 높은 확산도 계수를 낼 수 있었다. 이러한 결과는 그 원인으로서 3%의 낮은 고분자 함량의 캐스팅 용액으로 제조하였기 때문인 것으로 보인다. Dichloromethane 용매의 용액으로부터 제조한 스키펠드 막은 chloroform 용매의 용액으로부터 제조한 스키펠드 막과 그 공극률 및 외견상의 구조는 매우 유사함에도 포도당 확산도에 있어서는 3배에 가까운 높은 값을 보였다. 이는 dichloromethane 용매의 용액으로부터의 스키펠드 막이 chloroform 용매의 스키펠드 막에 비해 그 공극의 크기가 크기 때문인 것으로 보인다. 1,4-dioxane 용매의 용액으로부터 제조한 스키펠드 막은 높은 공극률로 볼 때에 다른 스키펠드 막에 비해 월등히 높은 포도당 확산도가 기대되었으나, 실험 결과로는 chloroform 용매의 용액으로부터 제조한 스키펠드 막의 경우 보다 약간 높은 확산도 값을 보이는 데에 그쳤다. 이는 1,4-dioxane 용매의 용액으로부터의 스키펠드 막은 나노섬유 형태를 갖기 때문인 것으로 보인다. 나노섬유의 미세한 섬유가닥 사이의 작은 틈새를 통한 확산은 그 저항이 비교적 컸던 것으로 판단된다. 이상의 결과를 통하여 스키펠드 막을 제조함에 있어서 낮은 농도의 캐스팅 용액을 사용함으로써 비용매조의 냉각 및 온도조절의 절차 없이도 단순한 상온에서의 용매교환만을 통하여 충분히 높은 물질 확산도를 지닌 스키펠드 막을 제조할 수 있다는 결론을 내릴 수 있었다.

4. 결 론

상전이법을 통하여 PLLA 다공성 스키펠드 막을 제조하였으며, 용매로는 각각 chloroform, dichloromethane 및 1,4-dioxane을 사용하였고, 비용매로는 ethyl alcohol을 사용하였다. 제조한 다공성 스키펠드 막 구조, 기계적 특성 및 포도당 확산특성에 대한 용매의 종류 및 고분자 함량의 영향을 관찰하였다. 그 결과 아래와 같은 결과를 얻었다.

1) Chloroform과 dichloromethane을 용매로 사용한 스키펠드 막은 서로 유사한 두께와 공극률 및 모폴로지를 보였다. 이 두 가지 스키펠드 막은 모두 캐스팅 용액 내의 PLLA의 함량이 3%에서 7%로 증가함에 따라 두께는 50 μm 내외에서 90 μm 내외의 값으로 증가하였고, 공극률은 55% 내외에서 80% 내외의 값으로 감소하였다. 모폴로지에 있어서는 이 두 가지 유형의 스키펠드 막 모두 캐스팅 용액 내의 고분자의 함량의 큰 영향 없이 서로 유사한 구조를 보였으며, 공극의 직경은 3-10 μm 사이의 분포를 보였다.

2) 반면, 1,4-dioxane을 용매로 사용한 스키펠드 막에 있어서는 앞서의 두 가지 스키펠드 막과 다른 두께와 공극률 및 모폴로지를 보였다. 1,4-dioxane을 용매로 사용한 스키펠드 막은 캐스팅 용액 내의 PLLA의 함량이 3%에서 7%로 증가하면서 두께는 90 μm 에서 130 μm 내외의 값으로 증가하였으며, 공극률은 각각 90%에서 80%로 감소하였다. 전반적으로 1,4-dioxane을 캐스팅 용액의 용매로 사용한 스키펠드 막은 다른 두 유형의 스키펠드 막에 비하여 높은 공극률과 두께를 보였다. 모폴로지에 있어서는 μm 단위의 공극으로 이루어진 앞서의 두 가지 유형의 스키펠드 막과는 전혀 다르게 굵기 1 μm 이하의 섬유가 엉켜있으며 그 사이로 직경 1 μm 이하의 공극이 산재하는 이른바 나노섬유의 구조를 보였다.

3) Chloroform과 dichloromethane을 용매로 사용한 캐스팅 용액으로부터 제조한 스키펠드 막은 비교적 우수한 기계적 특성을 보였으며, 6-13 MPa 범위의 인장강도 값을 보였다. 반면, 1,4-dioxane을 용매로 사용한 경우의 스키펠드 막은 낮은 값의 인장강도를 보였으며, 이는 나노섬유 형태의 구조를 갖기 때문인 것으로 보인다.

4) 본 연구에서 제조한 스키펠드 막은 비용매조의 냉각 및 온도조절의 절차 없이 제조하였음에도 충분히 높

은 물질확산도를 보였다.

이상의 결과를 통하여 PLLA 용액의 LIPS법을 통하여 스캐폴드 막을 제조하는 경우 용매의 선택과 용액 내 고분자 함량의 조절을 통하여 다양한 형태의 스캐폴드 막을 얻을 수 있다는 결론을 내릴 수 있었다.

감 사

본 연구는 2014년도 미래창조과학부 과학벨트 기능지구 지원사업에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. J. L. Ma, C. Gao, Z. Mao, J. Zhou, J. Shen, X. Hu, and C. Hun, "Collagen/chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineering", *Biomaterials*, **24**, 4833 (2003).
2. J. M. J. Kim, S. D. Lee, and K. H. Youm, "Effect of Inorganic Salt Additives on Formation of Phase Inversion Polyethersulfone Ultrafiltration Membrane", *Membrane Journal*, **12**, 2, 75 (2002).
3. J. D. H. Yu, M. A. Jeong, J. W. Rhim, H. S. Byun, C. H. Jeong, Y. M. Lee, M. S. Seo, and S. Y. Nam, "Preparation and Characterization of Microporous PVDF Membrane for Li-ion rechargeable battery", *Membrane Journal*, **3**, 233 (2007).
4. J. B. G. Park, S.-H. Kong, and S. Y. Nam, "Phase behavior and morphological studies of polysulfone membranes; The effect of alcohols used as a non-solvent coagulant", *Membrane Journal*, **15**, 4, 272 (2005).
5. J. M. Ebrahimiyan-Hosseinabadi, F. Ashrafizadeh, M. Etemadifar, and S. S. Venkatraman, "Evaluating and Modeling the Mechanical Properties of the Prepared PLGA/nano-BCP Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering", *J. Matr. Sci. Technol.*, **27**, 12, 1005 (2011).
6. J. T. Lou, X. Wang, and G. Song, "Fabrication of nano-fibrous poly(L-lactic acid) scaffold reinforced by surface modified chitosan micro-fiber", *Int. J. Biomed. Macromol.*, **61**, 353 (2013).
7. J. B. J. Papenburg, L. Vogelaar, L. Bolhuis-Versteeg, R. Lammertink, D. Stamatialis, and M. Wessling, "One-step fabrication of porous micropatterned scaffolds to control cell behavior", *Biomaterials*, **28**, 1998 (2007).
8. J. B. J. Papenburg, L. Bolhuis-Versteeg, D. W. Grijpma, J. Feijen, M. Wessling, and D. Stamatialis, "A facile method to fabricate poly (L-lactide) nano-fibrous morphologies by phase inversion", *Acta Biomaterialia*, **6**, 2477 (2010).
9. J. U. Boudriot, R. Dersch, A. Greiner, and J. H. Wendorff, "Electrospinning Approaches toward Scaffold Engineering - a brief overview", *Artif. Organs*, **10**, 785 (2006).
10. J. R. Chen and J. A. Hunt, "Biomimetic materials processing for tissue-engineering processes", *J. Mater. Chem.*, **38**, 3974 (2007).
11. J. L. Moroni, J. R. De Wijn, and C. A. Van Blitterswijk, "Integrating novel technologies to fabricate smart scaffolds", *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **5**, 543 (2008).
12. J. M. M. Stevens and J. H. George, "Exploring and engineering the cell surface interface", *Science*, **5751**, 1135 (2005).
13. J. B. M. Whited, J. R. Whitney, M. C. Hofmann, Y. Xu, and M. N. Rylander, "Pre-osteoblast infiltration and differentiation in highly porous apatite-coated PLLA electrospun scaffolds", *Biomaterials*, **32**, 9, 2294 (2011).
14. J. E. P. S. Tan and C. T. Lim, "Mechanical characterization of nanofibers - A review", *Compos. Sci. Technol.*, **66**, 9, 1102 (2006).
15. J. S. Liao, R. Murugan, C. K. Chan, and S. Ramakrishna, "Processing nanoengineered scaffolds through electrospinning and mineralization suitable for biomimetic bone tissue engineering", *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, **1**, 3, 252 (2008).
16. J. N. M. S. Bettahalli, H. Steg, M. Wessling, and D. Stamatialis, "Development of poly(L-lactic acid)hollow fiber membranes for artificial vasculature in tissue engineering scaffolds", *J. Membr. Sci.*, 117 (2011).