

미세유체 장치에서 수거 방법에 따른 펙틴 하이드로겔 입자의 특성 비교

김채연^{**‡} · 박기수^{**‡} · 강성민* · 김종민* · 송영신* · 이창수^{*†}

*충남대학교 공과대학 화학공학과

34134 대전광역시 유성구 대학로 99

**충남대학교 에너지과학기술대학원 에너지과학기술학과

34134 대전광역시 유성구 대학로 99

(2015년 6월 19일 접수, 2015년 7월 31일 수정본 접수, 2015년 8월 21일 채택)

Comparison of Pectin Hydrogel Collection Methods in Microfluidic Device

Chaeyeon Kim^{**‡}, Ki-Su Park^{**‡}, Sung-Min Kang*, Jongmin Kim*, YoungShin Song* and Chang-Soo Lee^{*†}

*Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34134, Korea

**Department of Energy Science and Technology, Graduate School of Energy Science and Technology,

Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34134, Korea

(Received 19 June 2015; Received in revised form 31 July 2015; accepted 21 August 2015)

요 약

본 연구는 미세유체 장치를 통해 제조가 이루어진 펙틴 하이드로겔 입자의 수거 방법을 다르게 하였을 때 각 방법에 따른 하이드로겔의 물리적 특성을 비교한 것이다. 펙틴 하이드로겔 입자는 미세유체 채널 내에서 미네랄 오일에 분산된 칼슘 이온에 의해 겔화되고 이후 각각 파이펫팅법, 튜브법, 침전법을 통해 수거하였다. 각 방법으로 수거된 펙틴 하이드로겔 입자의 단분산성을 분석한 결과 침전법의 변동 계수(Coefficient of variation)는 3.46으로 파이펫팅법(18.60)과 튜브법(14.76)의 변동 계수보다 월등히 낮아 가장 우수한 단분산성 하이드로겔 입자를 만들 수 있었다. 상기 침전법을 이용한 조건에서 분산상과 연속상의 부피유속 및 펙틴 용액의 점도를 조절함으로써 30 μm 에서 180 μm 까지의 다양한 크기를 갖는 단분산성 펙틴 하이드로겔을 제조할 수 있었다. 본 논문에서 제시한 펙틴 하이드로겔 입자는 생체 물질을 손쉽게 함입할 수 있으므로 이는 향후 약물전달, 식품, 그리고 생체적합성 재료 등으로 활용 가능할 것으로 기대된다.

Abstract – This study investigated the effect of different collection methods on physical properties of pectin hydrogels in microfluidic synthetic approach. The pectin hydrogels were simply produced by the incorporation of calcium ions dissolved in continuous mineral oil. Then, different collection methods, pipetting, tubing, and settling, for harvesting pectin hydrogels were applied. The settling method showed most uniform and monodispersed hydrogels. In the case of settling, a coefficient of variation was 3.46 which was lower than pipetting method (18.60) and tubing method (14.76). Under the settling method, we could control the size of hydrogels, ranging from 30 μm to 180 μm , by simple manipulation of the viscosity of pectin and volumetric flow rate of dispersed and continuous phase. Finally, according to the characteristics of simple encapsulation of biological materials, we envision that the pectin hydrogels can be applied to drug delivery, food, and biocompatible materials.

Key words: Microfluidics, Pectin, Hydrogel, Collection method, Monodisperse

1. 서 론

3차원 고분자 망상 구조를 갖는 하이드로겔(hydrogel)은 다량의 친수성 물질을 함입할 수 있는 특징 때문에 식품, 조직 공학, 상처 치유 그리고 약물 전달 등 생체적합성(biocompatibility)을 필요로

하는 다양한 분야로 적용되고 있다[1-3]. 또한 하이드로겔은 수분을 흡수하고 투과하는 성질을 가지고 있기 때문에 높은 팽윤, 수축성을 보이며 고분자 물질에 따라 극성, 표면 성질, 기계적 특성 등 손쉽게 조절 가능하다는 특징이 있다[4].

하이드로겔은 공유 결합으로 망상 구조를 형성하는 화학적 하이드로겔과 수소결합, 소수성 상호작용 또는 이온성 결합으로 망상 구조를 형성하는 물리적 하이드로겔로 나뉘어진다. 이 중 이온성 가교를 하는 대표적인 생체 고분자는 알지네이트(alginate), 키토산-폴리 리신(chitosan-polylysine)[5], 키토산-글리세롤 인산염(chitosan-glycerol phosphate salt)[6], 펙틴(pectin)[7] 등이 있으며 본 논문에서

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: rhadum@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.

[‡]Equally contributing authors to this work

서는 펙틴을 사용하였다. 펙틴은 식물의 세포벽, 감귤류 과일의 껍질 및 사과 등에 존재하는 천연 다당류로, 약물 및 바이오산업 등에 다양하게 적용되는 대표 물질이다[8,9].

일반적으로 하이드로겔 마이크로 입자를 제조하는 방법은 정전 발생 장치(electrostatic generator), 유화(emulsification) 처리, 동축 공기유동(coaxial air flow) 등이 소개된 바 있으며[10,11] 상기 방법으로 하이드로겔 마이크로 입자를 만들 경우 다분산성을 갖고 크기 조절이 어렵다는 한계점이 있다. 이러한 상기 문제들은 MEMS 기반의 미세유체 시스템(microfluidic system)을 통해서 해결할 수 있다[12,13]. 미세유체 장치 내부의 유체는 낮은 레이놀즈 수를 가지기 때문에 층류를 형성하고, 서로 섞이지 않는 두 유체의 흐름을 정교하게 제어할 수 있다. 미세유체 장치에서 제조된 단분산성을 갖는 구형의 하이드로겔은 합입하는 세포의 수, 약물의 양, 생체 분자의 농도를 정교하게 제어할 수 있는 생체 물질 분석 지지체로 사용될 수 있으며, 이를 통해 실시간 관찰과 분석, 예측 및 설계가 용이하다는 장점이 있다[14-18]. 따라서 균일한 크기를 갖는 하이드로겔의 제조는 예상치 못하는 부수적인 반응을 방지하고, 정교한 실험을 하기 위해 매우 중요한 변수로 여겨지고 있으며 미세유체 장치를 이용한 하이드로겔 입자제조 방법은 현재까지 활발하게 연구되고 있다[19,20].

기존 미세유체 장치 기반의 하이드로겔 입자제조 방법으로는 균일한 액적 형성 후 가교 공정을 거치는 순차적인 방법을 따르게 된다. 펙틴을 이용하여 하이드로겔 입자를 만드는 방법에는 크게 내부 겔화법(internal gelation), 외부 겔화법(external gelation)으로 구분할 수 있다[21].

예를 들어 칼슘을 가교제로 사용하는 경우, 내부 겔화법은 고분자 용액 내에 합입된 칼슘염이 산성에서 이온화되어 반대의 전하를 가진 이온끼리 반응하는 것을 말한다. 그러나 내부 겔화법은 사용되는 산의 영향으로 세포나 기타 생물 분자에 영향을 미칠 수 있으며, 기계적 성질이 우수한 미세 입자의 제조를 위해서는 과량의 칼슘염을 사용해야 하는 단점이 있다[22,23]. 반면 외부 겔화법은 칼슘 이온이 고분자 바깥에서 안으로 확산되어 겔화하는 것으로써 산성 용액과 같은 유독성의 물질을 필요로 하지 않는다. 그러나 이 방법 또한 이온성 고분자(알지네이트, 펙틴 등)를 외부 겔화법으로 수거할 경우 파이펫 또는 튜브를 사용했을 때 완전 가교되지 않은 상태의 액적이 쉽게 병합되어 균일한 크기의 액적을 얻기 어렵고, 연속상과 칼슘 이온이 들어있는 수용액 사이의 계면에서 비대칭적으로 겔화되면서 꼬리가 있는 겔이 만들어 질 수 있다[24-26]. 따라서 이온성 가교를 하는 하이드로겔은 초기에 부분적으로만 겔화되었기 때문에 최종적으로 수거할 때 외부의 물리적인 압력을 통한 하이드로겔의 변성이 이루어지며, 이는 하이드로겔의 단분산성을 감소시키는 한계점으로 남아있는 상황이다.

본 연구에서는 기존의 수거 방법이 가진 문제점을 해결하고자 새로운 수거 방법을 통해 제조된 펙틴 하이드로겔 입자의 물리적 특성을 비교하였다. 펙틴 하이드로겔 입자는 칼슘 이온이 분산된 미세알 오일을 연속상으로 사용하여 부분 겔화시키고[27], 이후 각각 파이펫팅법(pipetting method), 튜브법(tubing method), 그리고 침전법(settling method)으로 수거했다. 또한, 우수한 단분산성 하이드로겔을 얻을 수 있는 침전법을 이용하여 미세유체 장치에서 부피 유속의 조절을 통해 각 점도별 펙틴 액적의 크기 조절이 가능함을 보였으며 제조된 펙틴 하이드로겔 입자 안에 생체 물질을 물리적으로

고정시키고, 고정화된 물질이 하이드로겔을 제조하는데 영향을 주지 않는 것을 확인하였다.

2. 실험

2-1. 재료

펙틴 하이드로겔 입자를 제조하기 위해 실험에 사용된 calcium chloride, mineral oil, sorbitan monooleate(span 80), Polyethylene glycol sorbitan monolaurate(Tween 20), Fluorescein isothiocyanate labelled bovine serum albumin(FITC-BSA)은 Sigma-aldrich(MI, USA)에서 구매하였다. Phosphate Buffered Saline(pH 7.4)는 Gibco (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. Poly(dimethylsiloxane) (PDMS, sylgard 184)는 Dow corning(MI, USA)에서 구매하여 사용하였고, SU-8 감광제(photoresist, SU-8 3050)와 현상제(developer, SU-8 developer) 용액은 Microchem Crop.(MA, USA)에서 구매하였다. 저-메톡실 아민화 펙틴(Low-methoxyl amidated pectin, LM-106 AS-YA)은 Jupiter International CO., LTD.에서 제공받았다.

2-2. 미세유체 장치 제조

미세유체 장치는 전형적인 소프트리소그래피(Soft-lithography) 공정을 이용하여 제작하였다. PDMS 양각 마스터 몰드는 포토리소그래피(Photo-lithography) 공정을 이용하여 90 μm 높이로 제작했으며 음각 마이크로 몰드는 마스터 몰드 위에 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 섞은 고분자 혼합물을 부어 65 $^{\circ}\text{C}$ 에서 약 12 시간 동안 가교시킨다. 이후 PDMS에 직경 1.5 mm 크기의 유체 주입 구멍을 뚫고, PDMS를 얇게 코팅한 유리 기판과 산소 플라즈마 처리를 통해 붙여 미세유체 장치를 제작하였다.

2-3. 펙틴 하이드로겔 입자 제조

본 연구에서 사용된 펙틴 하이드로겔 입자는 미세유체 장치에서 외부 겔화를 통해 제조된다(Fig. 1). 서로 섞이지 않는 두 유체인 펙

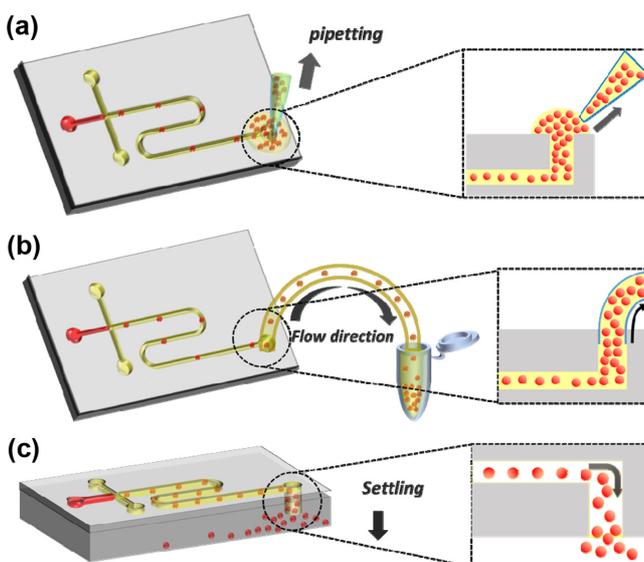


Fig. 1. Schematic images of collection methods. A schematic images of the collection methods including (a) pipetting method, (b) tubing method, and (c) settling method.

턴과 미세알 오일이 각각 분산상과 연속상으로써 채널의 접합부에서 만나게 되고, 분산상은 접합부에서 대칭적으로 발생하는 전단력을 통해 구형의 형태로 주 채널을 따라 흐르게 된다. 저-메톡실 펙틴이 겔화되는 원리는 Ca^{2+} , Zn^{2+} 와 같은 2가 양이온이 있을 때, 펙틴 분자에 있는 카복실기와 2가 양이온 사이의 이온성 가교반응에 의한 것이다[33]. 본 연구에서는 연속상으로 칼슘이온을 분산시킨 미세알 오일을 사용하여 채널 내에서 부분 겔화시킨 후에 최종적으로 염화칼슘 수용액(CaCl_2)에서 완전히 겔화 하였다. 칼슘 이온이 분산된 미세알 오일을 만들기 위해서, 미세알 오일과 염화칼슘 수용액을 각각 3:1의 부피 비율로 섞은 후 약 30 분간 sonification 하여 수중 유형 에멀션(W/O emulsion)을 만든다. 이후 85 °C에서 15 분간 회전 증발기(Rotary evaporator)를 이용하여 끓는점 차이에 의해 수분만 증발시키면 칼슘이온이 균일하게 분산된 미세알 오일을 얻을 수 있다[34].

2-4. 하이드로겔 수거 방법

본 연구에서는 미세유체 장치 내에서 부분 겔화시킨 액적을 서로 다른 세 가지 방법으로 수거하고, 최종적으로 염화칼슘 수용액에서 완전 겔화된 펙틴 하이드로겔 입자를 얻었다(Fig. 1). 파이펫팅법은 연속상의 흐름에 의해 배출구 위로 흘러나온 부분 겔화가 이루어진 액적을 파이펫을 이용해 수거하여 직접 염화칼슘 수용액에 넣어 완전히 겔화시킨다(Fig. 1(a)). 튜브법은 배출구에 tygon tube를 연결하여 생성된 액적을 염화칼슘 수용액에 직접 받아 하이드로겔을 얻는다(Fig. 1(b)). 마지막 Fig. 1(c)는 침전법으로, 직경 1.5 mm의 PDMS 칩 배출구와 PDMS를 얇게 코팅한 유리기판에 직경 2.5 mm의 구멍을 뚫어 두 배출구 위치를 일치시킨 후 중력방향으로 분산되는 액적을 완전히 겔화시켜 수거하였다.

2-5. 분석기기

본 논문에서 얻은 펙틴 하이드로겔 입자의 광학 및 형광 이미지는 형광 현미경(TE-2000, Nikon, Japan)과 CCD 카메라(Coolsnap cf, photometrics, AZ, USA)로 촬영되었다. 촬영된 이미지는 Image-pro plus(Media cybernetics, MD, USA)와 Image j(<http://imagej.nih.gov/ij/>)를 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 토의

3-1. 수거 방법의 차이점

본 연구에서는 제조된 펙틴 하이드로겔 입자의 분산도를 측정하고자 미세유체 장치 내에서 부분 겔화된 액적을 앞서 언급한 세 가지 방법을 통해 수거하였고, 이를 이미지 분석하였다(Fig. 2). 이때 미세유체 장치 내에서 분산상과 연속상의 유속을 각각 $2 \mu\text{L}/\text{min}$ 과 $4 \mu\text{L}/\text{min}$ 으로 고정하였다.

파이펫팅법으로 얻은 하이드로겔은 표준편차가 큰 것을 확인하였다(Fig. 2(a), (b)). 이러한 현상은 파이펫으로 수거하면서 생긴 유체의 불규칙한 흐름으로 인하여 완전히 겔화되지 못한 펙틴 액적들이 서로 병합되어 생성된 결과이다. 그리고 튜브법 또한 파이펫팅법과 유사한 다분산성을 보이는 것으로 확인되었다(Fig. 2(c), (d)).

튜브법은 유체가 미세유체 칩 내부의 채널을 따라 흐르다가 폭이 $500 \mu\text{m}$ 로 넓어진 튜브 내로 배출됨으로써 채널의 확장이 이루어져 동일한 유량이 통과할 때 유속은 상대적으로 느려지게 된다. 그 결

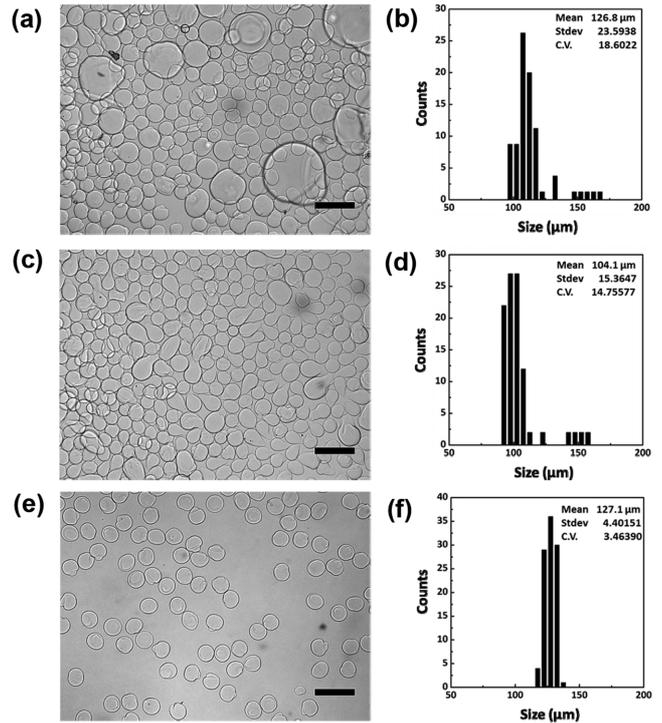


Fig. 2. Bright field images and analysis of generated hydrogels. Optical microscopy images and size distributions of the pectin hydrogels formed by the each collection method. The scale bars indicate $300 \mu\text{m}$. (a) Optical microscopy image of hydrogels harvested by pipetting method. (b) Size distribution of hydrogels harvested by pipetting method. (c) Optical microscopy image of hydrogels harvested by tubing method. (d) Size distribution of hydrogels harvested by tubing method. (e) Optical microscopy image of hydrogels harvested by settling method. (f) Size distribution of hydrogels harvested by settling method.

과 액적 간의 거리가 서로 가까워져 병합되고 다분산성 액적을 형성하게 된다[28,29]. 또한 미세유체 칩과 튜브가 연결된 부분은 배출구와 수직으로 연결되어 있기 때문에 액적이 수직 방향으로 흐름으로써 중력의 영향을 받아 유속은 급격하게 느려지게 된다. 이 두 가지 영향으로 인해 유체 내의 액적이 서로 가까워지면서 병합되고, 생성된 하이드로겔은 다분산성을 갖게 된다(Fig. 2(c), (d)). 수직으로 연결된 튜브를 따라 흐르던 액적은 연속상의 유속을 유지한 상태로 빠르게 염화칼슘 수용액과 만나게 되고, 충돌 속도(impact velocity)의 증가는 하이드로겔의 변형을 유도한다[25]. 또한 염화칼슘 수용액으로부터 먼저 겔화된 부분의 밀도가 증가하면서 액적은 더 빠르게 중력 방향으로 침전되고, 염화칼슘 수용액과 맞닿아 있지 않은 부분은 완전히 겔이 되지 못한 상태로 침전되기 때문에 밀도 구배가 생김으로써 액적은 긴 꼬리 모양의 형태를 가지게 된다[30].

침전법은 미세유체 채널을 따라 흐르던 미세알오일이 급격히 넓어진 배출구에서 감속되기 때문에 액적과 염화칼슘 수용액이 만나는 충돌 속도를 줄일 수 있다. 미세알오일은 염화칼슘 수용액과 서로 섞이지 않고, 수용액 표면을 따라 넓게 퍼지게 된다(Fig. 2(e), (f)). 이 때, 미세알오일 내에 있던 액적들 또한 넓게 퍼지게 되면서 서로 적층되지 않고, 단일입자층을 이루게 된다. 미세알오일(0.84 g/mL)에 비해 밀도가 상대적으로 큰 펙틴 액적(1.019 g/mL)은 중력에 의해 기름과 물의 계면으로 이동하게 된다. 넓게 분산된 액적들은 튜

브법을 통해 생성된 액적들과 비교했을 때, 느리게 침전되면서 겔화되기 때문에 침전법은 물리적 형태 변형을 최소화시킨 펙틴 하이드로겔 입자를 제조할 수 있다. 이를 통해 제조된 펙틴 하이드로겔 입자는 변동 계수(CV, coefficient of variation)값이 5%보다 낮은 것을 확인하였으며, 미국 NIST (US National Institute of Standard and Technology)에서는 CV 값이 5%이하일 때 단분산성을 갖는다고 정의하고 있다[31]. 이를 통해 침전법은 변동 계수 값이 3.46%를 가지므로 파이펫팅법, 튜브법보다 상대적으로 단분산성을 갖는 하이드로겔 제조에 유리한 방법임을 확인하였다.

3-2. 침전법을 이용한 단분산성 펙틴 하이드로겔 제조 및 크기 조절

본 연구에서는 단분산성 하이드로겔을 외부의 방해변수 없이 수거할 수 있는 방법인 침전법을 통해 부피유속 및 사용하는 분산상의 점도를 조절해 줌으로써 다양한 크기를 갖는 하이드로겔을 제조할 수 있었다(Fig. 3). 실험은 연속상의 부피유속 제어와 사용하는 분산상인 펙틴 수용액의 농도를 1 wt% (3.88 cP)에서 5 wt% (50.67 cP)까지 조절해 줌으로써 다양한 크기를 갖는 펙틴 하이드로겔 입자를 제조할 수 있었다.

먼저 1 wt%와 3 wt%의 펙틴 수용액에서는 연속상의 유속이 증가함에 따라 액적의 크기가 선형적으로 감소됨을 확인하였다. 본 조건에서의 펙틴 용액은 상대적으로 물의 비율이 높아 뉴턴 유체의 특성을 따르게 된다. 이는 곧 전단응력에 대한 전단속도가 선형적으로 감소하게 됨을 의미한다. 반면 5 wt%의 펙틴 수용액에서는 연속상의 유속이 증가함에 따라 액적의 크기가 급격하게 감소하다가 점차 일정해짐을 확인할 수 있다. 이때, 사용하는 펙틴 용액은 점도 증가로 인한 비뉴턴 유체의 흐름을 갖게 되며, 가소성 특징을 보이게 된다. 그러므로 전단응력의 증가에 따른 전단속도가 급격히 증가하다 점차 일정해진다. 이러한 펙틴 용액의 특성을 바탕으로 본 실험에서도 연속상의 유속 증가로 인해 액적의 크기가 급격히 감소하다가 점차 일정하게 감소됨을 확인할 수 있다. 따라서, 다양한 크기를 갖는 펙틴 하이드로겔 입자를 제조함에 있어 분산상과

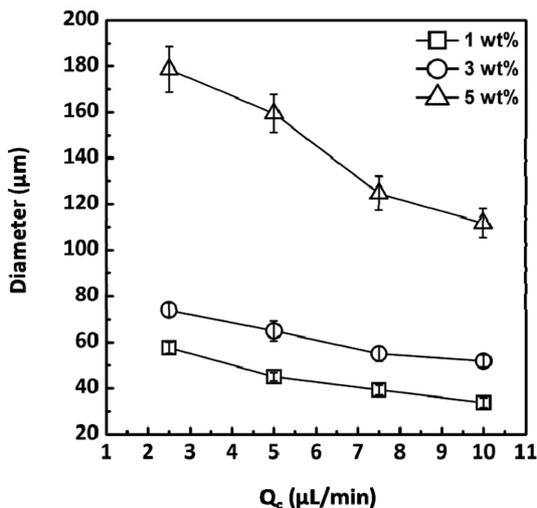


Fig. 3. Effect of viscosity of the dispersed phase. Hydrogels sized as a function of the flow rate of the continuous phase with different viscosity. Square, circle and triangle indicate 1 wt% pectin (3.88 cP), 3 wt% pectin (27.37 cP), 5 wt% pectin (50.67 cP), respectively. The flow rate of dispersed phase was kept at 2 μL/min.

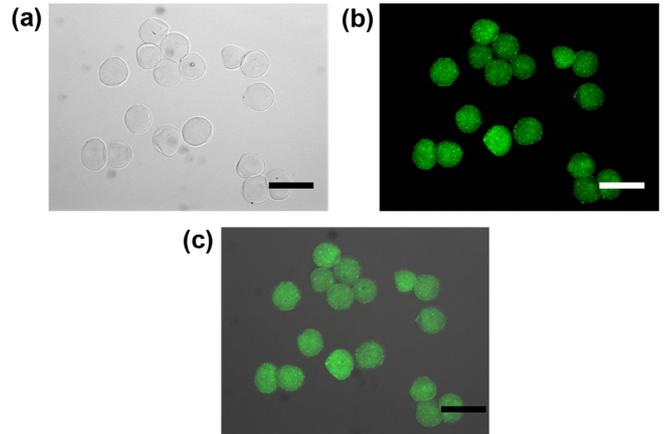


Fig. 4. Protein encapsulated pectin hydrogels. Encapsulation of protein (FITC-BSA) into pectin hydrogels. (a) Optical microscopy image of the encapsulated pectin hydrogels. (b) Green fluorescence microscopy image of the encapsulated pectin hydrogels. (c) Composite image showing the protein encapsulated hydrogel. The scale bars represent 300 μm.

연속상의 부피유속 조절 비와 분산상의 점도는 주요변수로 작용함을 알 수 있으며, 사용하는 유체의 특성을 파악함으로써 손쉽게 다양한 크기를 갖는 펙틴 하이드로겔 입자를 제조할 수 있다.

3-3. 생체 물질 함입이 가능한 펙틴 하이드로겔

본 실험에서는 펙틴 하이드로겔 입자 내부로 단백질을 함입시킴으로써 생체 물질의 저장 및 전달을 위한 지지체로 응용 가능성을 Fig. 4로 확인하였다. 생체 물질 중 하나인 단백질은 수용액 상태에서 3차원 구조를 유지할 수 있으나 건조한 상태로 고체 표면에 고정되면 3차원 구조를 잃고 변형된다[32]. 따라서 함수율(moisture content)이 높은 하이드로겔 내부에 단백질을 함입시킬 경우 수용액 상태와 동일하게 단백질의 3차원 구조 변형을 방지할 수 있다. 분산상은 펙틴 수용액 내부로 5 μM의 농도를 갖는 FITC-BSA를 분산시켜 제조하였으며 미세유체 장치를 거쳐 침전법을 통해 하이드로겔을 제조할 수 있었다. 제조된 펙틴 하이드로겔 입자는 광학 현미경 이미지 분석을 통해 일정한 크기 및 구형모양(circularity, $f_{circ} \approx 1$)이 유지되고 있음을 확인할 수 있으며, 망상구조 내부로 물리적인 생체 물질 함입이 이루어져 있음을 형광 현미경 분석을 통해 입증하였다(Fig. 4(a), (b)).

4. 결 론

본 연구에서는 간단한 미세유체 장치를 활용하여 파이펫팅법, 튜브법, 침전법에 따른 펙틴 하이드로겔 입자의 특성을 비교하였다. 파이펫팅법과 튜브법을 이용한 수거 방법으로 제조된 하이드로겔과 비교했을 때, 침전법에 의한 수거 방법으로 제조된 펙틴 하이드로겔이 가장 단분산성을 갖는 것을 확인하였고, 분산상과 연속상의 부피유속 및 사용하는 펙틴 용액의 점도 조절을 통해 손쉽게 크기 조절을 할 수 있음을 확인하였다.

이러한 실험적 결과를 바탕으로 침전법을 통한 수거 방법을 이용하여 펙틴 하이드로겔 입자를 제조함으로써 기존의 문제가 되고 있던 액적의 병합을 통한 다분산성 하이드로겔 제조의 한계점을 해

결하였다. 또한 이를 통해 균일한 양의 생체 물질을 함유한 하이드로겔 제조가 가능함을 보여주었다.

더 나아가, 본 실험을 통해 제조된 펙틴 하이드로겔 입자의 생체 물질의 저장 및 전달, 그리고 안정성 확보를 통해 펙틴 하이드로겔 입자는 초소형 운반체로 활용가능하며, 이는 산업사회에서 필요로 하는 제약, 화장품, 식품, 광학소자재료, 그리고 센서 등의 다분야에 맞춤형 재료로써 활용될 것으로 기대한다.

감 사

이 논문은 2015년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단 기초연구사업(No. NRF-2011-0017322)의 지원을 받아 수행된 연구로 이에 감사 드립니다.

References

1. Hoare, T. R. and Kohane, D. S., "Hydrogels in Drug Delivery: Progress and Challenges," *Polymer*, **49**, 1993-2007(2008).
2. Lian, Z. and Ye, L., "Synthesis and Properties of Carboxylated Poly(vinyl alcohol) Hydrogels for Wound Dressings," *J. Polym. Res.*, **22**, 1-11(2015).
3. Lee, E. and Kim, B., "Smart Delivery System for Cosmetic Ingredients Using pH-sensitive Polymer Hydrogel Particles," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 1347-1350(2011).
4. Enas M. A., "Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications: A Review," *J. Adv. Res.*, **6**, 105-121(2015).
5. Bajpai, A., Shukla, S. K., Bhanu, S. and Kankane, S., "Responsive Polymers in Controlled Drug Delivery," *Prog. Polym. Sci.*, **33**, 1088-1118(2008).
6. Zhao, Q. S., Ji, Q. X., Xing, K., Li, X. Y., Liu, C. S. and Chen, X. G., "Preparation and Characteristics of Novel Porous Hydrogel Films Based on Chitosan and Glycerophosphate," *Carbohydr. Polym.*, **76**, 410-416(2009).
7. Allwyn, S. R. A., Rubila, R. J. S. and Ranganathan, T. V., "A Review on Pectin: Chemistry Due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses," *Sci. Rep.*, **1**, 550-551(2012).
8. Munarin, F., Petrini, P., Tanzi, M. C., Barbosa, M. A. and Granja, P. L., "Biofunctional Chemically Modified Pectin for Cell Delivery," *Soft Matter*, **8**, 4731-4739(2012).
9. Ngoumazong, D. E., Jolie, R. P., Cardinaels, R., Fraeye, I., Van Loey, A., Moldenaers, P. and Hendrickx, M., "Stiffness of Ca²⁺-pectin Gels: Combined Effects of Degree and Pattern of Methyl-esterification for Various Ca²⁺ Concentrations," *Carbohydr. Res.*, **348**, 69-76(2012).
10. Munarin, F., Munarin, F., Guerreiro, S. G., Grellier, M. A., Tanzi, M. C., Barbosa, M. A., Petrini, P. and Granja, P. L., "Pectin-based Injectable Biomaterials for Bone Tissue Engineering," *Biomacromolecules*, **12**, 568-577(2011).
11. Silva, C. M., Ribeiro, A. J., Figueiredo, I. V., Gonçalves, A. R. and Veiga, F., "Alginate Microspheres Prepared by Internal Gelation: Development and Effect on Insulin Stability," *Int. J. Pharm.*, **311**, 1-10(2006).
12. Jeong, H. H., Jin, S. H., Lee, B. J., Kim, T. and Lee, C. S., "Microfluidic Static Droplet Array for Analyzing Microbial Communication on a Population Gradient," *Lab Chip*, **15**, 889-899(2015).
13. Jin S. H., Kim J., Jang S. C., Noh Y. M. and Lee C. S., "Stagnation of Droplet for Efficient Merging in Microfluidic System," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**, 106-112(2014).
14. Wieduwild, R., Krishnan, S., Chwalek, K., Boden, A., Nowak, M., Drechsel, D., Werner, C. and Zhang, Y., "Noncovalent Hydrogel Beads as Microcarriers for Cell Culture," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 3962-3966(2015).
15. Tan, Y. C., Hettiarachchi, K., Siu, M., Pan, Y. R., Lee, A. P., "Controlled Microfluidic Encapsulation of Cells, Proteins, and Microbeads in Lipid Vesicles," *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 5656-5658(2006).
16. Orive, G., Hernández, R. M., Gascón, A. R., Calafiore, R., Chang, T. M., De Vos, P., Hortelano, G., Hunkeler, D., Lacík, Shapirof, A. J. and Pedraz J. L., "Cell Encapsulation: Promise and Progress," *Nat. Med.*, **9**, 104-107(2003).
17. Vinogradov, S. V., Bronich, T. K. and Kabanov, A. V., "Nanosized Cationic Hydrogels for Drug Delivery: Preparation, Properties and Interactions with Cells," *Adv. Drug Deliv.*, **54**, 135-147(2002).
18. Sjostrom, S. L., Joensson, H. N. and Svahn, H. A., "Multiplex Analysis of Enzyme Kinetics and Inhibition by Droplet Microfluidics Using Picoinjectors," *Lab Chip*, **13**, 1754-1761(2013).
19. Park, K. J., Lee, K. G., Seok, S., Choi, B. G., Lee, M. K., Park, T. J., Park, J. Y., Kim, D. H. and Lee, S. J., "Micropillar Arrays Enabling Single Microbial Cell Encapsulation in Hydrogels," *Lab Chip*, **14**, 1873-1879(2014).
20. Chau, M., Abolhasani, M., Therien-Aubin, H., Li, Y., Wang, Y., Velasco, D., Tumarkin, E., Ramachandran, A. and Kumacheva, E., "Microfluidic Generation of Composite Biopolymer Microgels with Tunable Compositions and Mechanical Properties," *Biomacromolecules*, **15**, 2419-2425(2014).
21. Marquis, M. I., Davy, J., Fang, A. and Renard, D., "Microfluidics-Assisted Diffusion Self-Assembly: Toward the Control of the Shape and Size of Pectin Hydrogel Microparticles," *Biomacromolecules*, **15**, 1568-1578(2014).
22. Tan, W. H. and Takeuchi, S., "Monodisperse Alginate Hydrogel Microbeads for Cell Encapsulation," *Adv. Mater.*, **19**, 2696-2701(2007).
23. Chan, L., Lee, H. and Heng, P., "Production of Alginate Microspheres by Internal Gelation Using an Emulsification Method," *Int. J. Pharm.*, **242**, 259-262(2002).
24. Lin, Y. S., Yang, C. H., Hsu, Y. Y. and Hsieh, C. L., "Microfluidic Synthesis of Tail-shaped Alginate Microparticles Using Slow Sedimentation," *Electrophoresis*, **34**, 425-431(2013).
25. Mele, E., Fragouli, D., Ruffilli, R., De Gregorio, G. L., Cingolani, R. and Athanassiou, A., "Complex Architectures Formed by Alginate Drops Floating on Liquid Surfaces," *Soft Matter*, **9**, 6338-6343(2013).
26. Hu, Y., Wang, Q., Wang, J., Zhu, J., Wang, H. and Yang, Y., "Shape Controllable Microgel Particles Prepared by Microfluidic Combining External Ionic Crosslinking," *Biomicrofluidics*, **6**, 026502-026509(2012).
27. Song, Y. and Lee, C. S., "In situ Gelation of Monodisperse Alginate Hydrogel in Microfluidic Channel Based on Mass Transfer of Calcium Ions," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**, 632-637(2014).
28. Bremond, N., Thiam, A. R. and Bibette, J., "Decompressing Emulsion Droplets Favors Coalescence," *Phys. Rev. Lett.*, **100**, 024501-024504(2008).

29. Liu, K., Ding, H., Chen, Y. and Zhao, X. Z., "Droplet-based Synthetic Method Using Microflow Focusing and Droplet Fusion," *Microfluid Nanofluidics*, **3**, 239-243(2007).
30. Hu, Y., Azadi, G. and Ardekani, A. M., "Microfluidic Fabrication of Shape-tunable Alginate Microgels: Effect of Size and Impact Velocity," *Carbohydr. Polym.*, **120**, 38-45(2015).
31. Choi, C. H., Jung, J. H., Hwang, T. S. and Lee, C. S., "In situ Microfluidic Synthesis of Monodisperse PEG Microspheres," *Macromol. Res.*, **17**, 163-167(2009).
32. Zhang, S., "Hydrogels: Wet or Let Die," *Nat. Mat.*, **3**, 7-8(2004).
33. Thakur, B. R., Singh, R. K., Handa, A. K. and Rao, M. A., "Chemistry and Uses of Pectin-a Review," *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, **37**, 47-73(1997).
34. Agarwal, P., Zhao, S., Bielecki, P., Rao, W., Choi, J. K., Zhao, Y. and He, X., "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**, 4525-4533 (2013).