

미세유체장치를 이용한 생분해성 Polycaprolactone의 단분산성 미세입자 생성제어

정헌호*

전남대학교 공학대학 화공생명공학과
59626 전라남도 여수시 대학로 50

(2019년 10월 7일 접수; 2019년 10월 30일 수정본 접수; 2019년 10월 30일 채택)

Controlled Production of Monodisperse Polycaprolactone Microparticles using Microfluidic Device

Heon-Ho Jeong*

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Chonnam National University
50 Daehak-ro, Yeosu-si, Jeollanam-do 59626, Republic of Korea

(Received for review October 7, 2019; Revision received October 30, 2019; Accepted October 30, 2019)

요 약

단분산성 마이크로입자는 약물캡슐화 및 전달을 위한 다양한 응용분야에서 사용되고 있다. 미세유체장치는 매우 균일한 액적을 생산할 수 있는 중요한 장치이며 이 액적은 단분산성 마이크로입자를 생성할 수 있는 중요한 템플레이트(template)로의 역할을 한다. 미세유체장치는 마이크로 크기의 채널로 구성되어 표면장력과 점성력 간의 균형을 정교하게 조절할 수 있으며, 이는 단분산성 액적을 형성하는 필수적인 기술 중의 하나이다. 본 연구는 유동집적채널 기반의 미세유체장치에서 매우 균일한 polycaprolactone (PCL) 생분해성 고분자 입자를 제조하는 방법을 제안한다. 유동집적채널 기반의 미세유체장치는 polydimethylsiloxane (PDMS) 기반의 소프트리소그래피(soft-lithography) 방법을 통해 제작된다. 액적 생성에서 중요한 요소는 마이크로 액적의 크기와 단분산성을 조절하는 것이다. 이를 위해, 본 연구에서는 이 미세유체장치에서 오일용액 분산상과 수용액 연속상의 부피유속을 제어하여 단분산성 액적 형성 조건을 최적화하였다. 그 결과 균일한 액적을 형성할 수 있는 dripping 영역에 대한 최적화된 유속조건을 확인하였다. 그런 다음, 마이크로입자를 생성하기 위해 PCL 고분자를 포함한 액적을 장치에서 형성한 후 용매의 증발에 의해 입자화 하였다. 입자의 크기는 부피유속과 미세유체채널의 크기에 의해 조절되며 입자의 단분산도는 변동계수(coefficient of variation, CV)값이 5% 이하로 제어될 수 있다.

주제어 : 미세유체장치, Polycaprolactone, 단분산성 미세입자

Abstract : Monodisperse microparticles has been particularly enabling for various applications in the encapsulation and delivery of pharmaceutical agents. The microfluidic devices are attractive candidates to produce highly uniform droplets that serve as templates to form monodisperse microparticles. The microfluidic devices that have micro-scale channel allow precise control of the balance between surface tension and viscous forces in two-phase flows. One of its essential abilities is to generate highly monodisperse droplets. In this paper, a microfluidic approach for preparing monodisperse polycaprolactone (PCL) microparticles is presented. The microfluidic devices that have a flow-focusing generator are manufactured by soft-lithography using polydimethylsiloxane (PDMS). The crucial factors in the droplet generation are the controllability of size and monodispersity of the microdroplets. For this, the volumetric flow rates of the dispersed phase of oil solution and the continuous phase of water to generate monodisperse droplets are optimized. As a result, the optimal flow condition for droplet dripping region that is able to generate uniform droplet is found. Furthermore, the droplets containing PCL polymer by solvent evaporation after collection of droplet from device is solidified to generate the microparticle. The particle size can be controlled by tuning the flow rate and the size of the microchannel. The monodispersity of the PCL particles is measured by a

* To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jeonghh29@jnu.ac.kr; Tel: +82-61-659-7298; Fax: +82-61-659-7299

doi: 10.7464/ksct.2019.25.4.281 pISSN 1598-9712 eISSN 2288-0690

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.

coefficient of variation (CV) below 5%.

Keywords : Microfluidic device, Polycaprolactone, Monodisperse Microparticle

1. 서론

마이크론크기의 입자는 의료, 화장품, 생활용품, 전자재료, 의약, 에너지 등 다양한 분야에서 이용되고 있으며 최근 이를 지속가능하며 청정소재인 생분해성 고분자로 대체하려는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 생분해성 소재는 화석에너지를 대체할 뿐만 아니라 온실가스, 지구온난화로 인한 환경 관련 규제가 강화됨에 따라 난분해성 소재의 대체재로서 관심을 받고 있다. 특히 기능성이 부여된 단분산성 미세입자는 기존의 불균일한 크기분포를 갖는 입자보다 우수한 성능을 제공하여 의학, 약학, 생물, 화학, 반도체 등 다양한 분야에 응용이 가능하다[1-3]. 이러한 입자의 제조를 위한 일반적인 방법은 화학적 또는 물리적 방법에 의해 생성될 수 있는 단분산 액체-액체 분산액을 주형으로 사용하여 용매 증발 또는 추출을 통해 분산된 액적을 고체로 전환시킬 수 있다[4-5]. 현재 마이크로에멀전 중합반응 같은 화학적 방법은 매우 낮은 계면장력의 화학적 성질의 한계로 인해 일반적으로 800 nm 보다 작은 나노미터 범위의 균일한 크기의 입자를 생산하기 위해 두개의 비혼합 액체의 계면 특성을 이용한다. 대조적으로, 미세유체전단[8-9] 및 공동유동(co-flowing) [10-12] 뿐만 아니라 유동 집중 방법(flow-focusing) [13-15]은 시스템 내에서 물리적 힘을 조작하여 단분산 액적을 생성할 수 있는데 직경이 수십마이크로미터 이상이다[6-8]. 따라서 단분산 입자가 화학적 또는 물리적 방법으로 쉽게 생성될 수 없는 ~800 nm와 낮은 수십 마이크로 사이의 크기 차이가 존재한다. 하지만, 근육 내 주사를 통한 약물 방출 조절과 같은 일부 응용 분야에서 적절한 크기 범위는 이러한 극단적인 갭 내에 있어 입자 크기를 손쉽게 제어할 수 있어야 한다[9-10].

액적은 dripping 또는 jetting이라고 불리는 두 가지 광범위한 유체 조건의 물리적 방법에 의해 형성될 수 있다. Dripping 영역에서 액적은 노즐에서 개별적으로 형성되는 반면, jetting 영역에서는 Rayleigh 불안정성의 결과로 노즐에서 분사된 제트의 끝에 형성된다[11-12]. Dripping 영역에서 형성된 물방울의 크기는 분사 노즐의 직경과 선형적인 관계가 있다. 다른 한편, jetting 영역에서 형성된 액적의 크기는 액적이 끊어지는 지점에서 제트의 직경에 의해 결정된다. 유체흐름 방식에서 2가지 유형의 제트가 관찰되었다. Type 1 제트는 제트 직경이 팽창하는 반면 Type 2 제트는 하류측 수축이다. 노즐에서 분사되는 제트의 초기 직경은 분사 노즐의 크기에 의해 결정된다. 수 μm 의 분사 노즐 입구를 정확하고 일관되게 제작하는 것은 매우 어렵다. 또한 마이크로 크기의 노즐을 사용하면 높은 배압과 막힘 문제가 발생할 수 있다. 공동유동 공정에서 액적 형성 지점에서의 제트의 직경은 외부와 내부유체 유량의 비율을 증가시킴으로써 감소될 수 있다. 그러나 이러한 접근 방식에서는 각각의 유동장치에서 제트직경이 감소될 수

있는 문제가 있다. 각 유체의 비율이 너무 높으면 제트류가 불안정하고 불연속적으로 되어 액적의 크기가 다시 커지게 된다[13-14].

이론적으로, 액체의 화학적 성질과 물리적 성질을 모두 이용하는 공정은 갭 영역에서 입자를 생성할 수 있어야 한다. 사실, 화학적 성질을 이용하여 액적을 생성하기 위해 부분적으로 혼합 가능한 액체를 이용하여 종래의 교반 방법에 적용하려는 시도를 해왔다. 이 방법은 원하는 크기 범위에서 고체 입자를 생성했지만 크기 분포는 매우 넓은 문제가 있다. 종래의 교반 시스템에서는 전단응력 및 전단력이 매우 복잡하여 액적의 크기를 쉽게 제어할 수 없다는 것을 고려하면 예상치 못한 결과는 아닐 것이다. 또한 제어의 어려움은 시스템 내의 두 액상 사이에서 조용매(cosolvent)의 확산에 의해 더욱 극대화 된다.

본 연구에서는 유동집적 발생기(flow-focusing generator, FFG) 기반의 미세유체장치를 이용하여 고분자 용액의 매우 균일한 액적을 생성할 수 있는 시스템을 개발하였다. 또한, 용매 증발을 통해 입자를 고형화하여 단분산성 고분자 입자를 제조하였다. 이는 미세유체장치를 제작함에 있어서 기존의 불균일한 입자의 크기를 균일하게 제작할 수 있다. 또한 고분자 미세유체장치 내에서 유체들의 부피유속을 조절함으로써, 고체입자의 크기를 제어할 수 있음을 확인하였다.

2. 실험 및 방법

2.1. 재료

미세유체를 제작하기 위해 polydimethylsiloxane (PDMS, Sylgard 184, Dow corning, USA)를 이용하였으며, 액적 형성을 위해 연속상은 계명활성제 PVA (87-90% hydrolyzed polyvinyl alcohol, Sigma-Aldrich, USA)가 포함된 수용액과 분산상은 PCA (polycaprolactone, sigma-aldrich, USA)이 포함된 DMC (dimethyl carbonate, Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였다.

2.2. 미세유체장치 제작

미세유체장치를 제작하기 위해 하드 마스터(hard master)인 SU-8 패턴이 있는 실리кон 웨이퍼와 PDMS 고분자를 이용한 소프트리소그래피 방법을 이용하였다. 하드 마스터를 제작하기 위해 50 μm 두께의 SU-8을 먼저 실리кон 웨이퍼에 스핀 코팅(spin-coating) 한다. 액적생성기가 디자인이 되어 있는 포토마스크(photomask)를 사용하여 SU-8을 자외선에 노출시킨다. UV에 경화되지 않은 부분을 현상액으로 제거함으로써 특정 높이의 SU-8 패턴이 형성된다. 이렇게 형성된 실리кон 웨이퍼는 하드 마스터로 사용한다. 제작된 실리кон 웨이퍼에 tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyl-1-trichlorosilane을 처리하여 PDMS가 SU-8패턴으로부터 쉽게 탈착이 되도록 한다.

PDMS 소프트 마스터는 10:1 비율의 가교제와 혼합된 PDMS를 SU-8 패턴에 붓고 12시간 동안 65 °C에서 경화하여 몰드 제작한다. PDMS 몰드를 완전히 떼어 낸 후 유리기판을 플라즈마 처리를 통해 본딩을 한다.

2.2. 미세유체장치 표면개질

PVA 를 물에 녹이기 위해 1 wt%를 증류수에 첨가한 후 60 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 완성된 미세유체장치를 15 min동안 플라즈마 처리를 한 후 즉시 1 wt% PVA 수용액을 10 min동안 주입하였다. 미세유체채널내에 존재하는 PVA 용액은 질소가스로 불어내어 제거를 한 후 100 °C에서 30 min동안 가열을 하였다.

2.3. 액적 생성

액적 생성 장치는 분산상을 위한 하나의 주입구, 연속상을 위한 하나의 주입구, 및 생성된 액적을 받는 하나의 출입구로 구성되어 있다. 연속상에는 2 wt% PVA가 포함된 1차 증류수를 주입하고, 연속상에는 2 wt% PCL이 포함된 DCM을 주입한다. 각 유체는 시린지펌프를 사용하여 주입한다. 액적 생성을 광학이미지로 촬영하기 위해 높은 분해능을 가지는 CCD (charge-coupled device) 카메라가 장착된 도립 광학 현미경 (Nikon Ti2-U inverted microscope)을 사용하였다. 생성된 액적은 ImageJ 프로그램으로 크기를 측정하였다.

3. 결과 및 토의

본 연구에서는 단분산성 생분해성 고분자 입자를 제조하기 위해 유동집적 발생기 미세유체장치를 제작하였다. PCL 생분해성 고분자는 유기용매인 DMC에 매우 잘 녹는 물질이며, 이를 기반으로 액적을 형성하기 위해 oil-in-water (O/W) 에멀전 시스템이 필요하다. 하지만 PDMS 기반의 미세유체장치는 고유의 소수성 성질 때문에 주로 water-in-oil (W/O) 시스템에 최적화 되어 있다. 따라서 O/W 에멀전 시스템을 구현하기 위해 PDMS 미세유체장치의 플라즈마 표면개질을 통한 친수화 과정이 필요하다(Figure 1(A)). PDMS를 플라즈마 처리를 하면 표면에 라디칼이 생성이 되어 친수성 성질을 띄게 되어 접촉각이 0°에 가까워진다. 하지만 이는 지속적이지 못해 다시 PDMS의 고유 접촉각으로 되돌아가는 성질이 있다. 따라서 PDMA의 친수성을 지속적으로 유지해주기 위해 플라즈마 처리를 통해 라디칼을 형성한 후 PDMS와 PVA간의 공유결합을 유도하였다. 플라즈마 처리 후에는 silanol groups (Si-OH), alcoholic hydroxyls (C-OH), carboxylic acids (COOH)가 형성되며 이러한 작용기들이 PVA 분자들과 공유결합을 하게 된다. Figure 1(B)에서는 PDMS의 표면개질에 따른 접촉의 변화를 보여주고 있다. PDMS는 고유의 소수성 성질 때문에 100° 이상의 높은 접촉각을 보여주고 있다. 표면개질을 위해 플라즈마처리를 한 후 접촉각이 0°에 가깝게 낮아졌으며 PVA로 표면개질을 한 후에는 대략 62°의 비교적 친수성 표면으로 개질이 되었음을 확인하였다. 친수성 고분자인 PVA

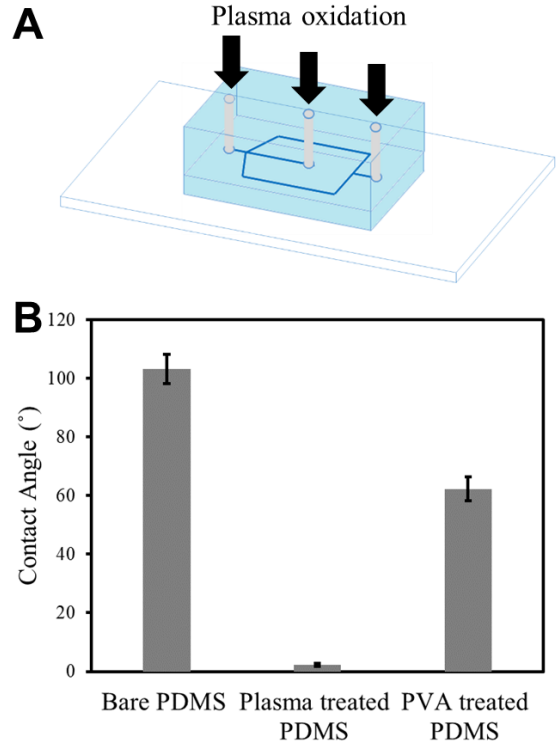


Figure 1. Surface modification method using plasma treatment. (A) Oxidation of microfluidic channel. Oxygen species generated by the plasma diffuse into the open inlets, treating the channels to make them hydrophilic. (B) Quantification of water contact angle measurement for bare, plasma treated, and PVA treated PDMS.

로 표면개질된 PDMS는 1주일 이상 친수성을 유지하고 있었으며 O/W 에멀전을 형성하기에 적합한 표면을 제공할 수 있음을 확인하였다.

플라즈마 처리를 통한 PVA 코팅 방법을 미세유체장치에 적용하기 위해 플라즈마 처리시간을 최적화 하였다. 채널이 기판과 본딩 후에 장치가 제작되기 때문에 PVA 코팅을 위한 플라즈마처리는 다른 공정조건이 필요하다. 본딩을 위한 플라즈마처리는 접촉면을 위쪽으로 향하게 하여 가능하지만 완성된 미세유체장치는 채널이 내부에 숨어져있기 때문에 직접적인 플라즈마처리가 어렵다. 또한 플라즈마처리를 통한 본딩은 미세유체장치의 본딩을 강화하기 위해서는 베이킹 시간이 필요하며, 이 시간 동안 PDMS는 소수성으로 점차 변하기 때문에 O/W 에멀전을 형성하기에 적합하지 않다. 따라서 완성된 미세유체장치내의 채널을 플라즈마처리를 통해 친수화하기 위해서는 라디칼이 채널내로 확산되어 이동할 수 있는 충분한 시간을 통해 이루어져야만 한다. 산소라디칼이 채널내로 확산이 되기 위해서는 채널의 주입구와 배출구가 모두 열려있는 상태에서 플라즈마처리를 통해 가능하다. 미세유체 채널 내부의 코팅을 위한 플라즈마 처리를 10 min 한 경우에는 액적이 생성되는 지점에서 오일상이 채널벽에 젖음현상이 발생하였다. 이는 플라즈마 상태에서 산소라디칼이 채널 내부의 깊은 부분까지 이동이 일어나지 못해 발생할 수 있다.

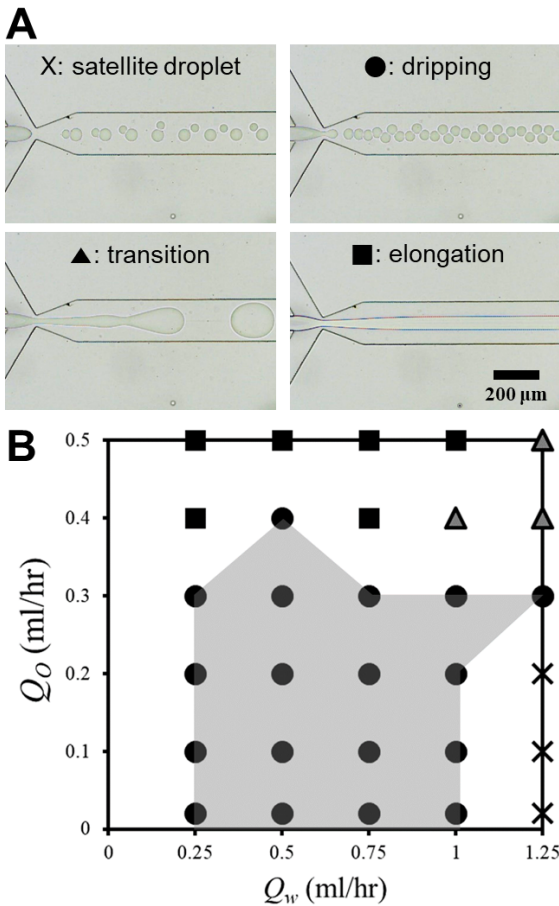


Figure 2. The flow patterns as flow rate in the microfluidic device. (A) Representative optical images of the four flow regions. (B) Phase diagram as a function of volumetric flow rates of water (Q_w) as continuous phase and oil (Q_o) as dispersed phase. A gray region represents the optimal flow condition for droplet dripping.

따라서 플라즈마 처리를 15 min 동안 수행한 경우에는 액체의 젖음현상 없이 O/W 액적이 안정적으로 생성되는 것을 확인하였다.

단분산성 PCL 마이크로입자를 제조하기 위해서 DMC를 용매로 사용하는 오일상 용액의 유동패턴을 유동집적 발생기 미세유체장치 내에서 정교하게 제어하여 원하는 입자의 크기를 형성할 수 있어야 한다. 두상이 채널 내에서 만나면 대표적으로 4가지의 유동패턴을 보인다(Figure 2). 이러한 유동패턴은 연속상인 수용액의 부피유속(Q_w)과 분산상인 오일의 PCL 용액의 부피유속(Q_o)에 따라 변화한다. Figure 2(A)는 서로 다른 크기의 액적이 형성되는 위성액적(satellite droplet), 균일한 액적 생성 영역(droplet dripping), 전이(transition), 늘어진 유동(elongation)의 패턴에 대한 광학이미지를 보여주었고 있다. 이러한 유동패턴은 부피유속에 따라 작성된 상도표에서 특정 영역을 명확하게 확인할 수 있다(Figure 2(B)). 이러한 거동은 주로 관성력과 점성력(μ), 표면장력(γ)의 영향을 받게 된다. 수용액의 부피유속 보다 PCL 용액의 부피유속이 낮은 조건에서 다수의 작은 위성액적들이 형성되고 있으며, 이는 채널 내에서 유체의 모세관수($Ca = \mu U / \gamma$)

와 연관이 있으며 연속상 용액의 선속도(U) 증가로 인해 모세관수가 증가하면서 두상의 계면이 불안정해 지기 때문이다. 반대로 수용액의 부피유속이 PCL 용액의 부피유속보다 낮은 조건에서는 유체의 선속도보다 점성과 계면장력의 영향을 지배적으로 받기 때문에 점차 늘어진 유동의 안정화된 패턴으로 변화하게 된다. 따라서 적절한 유체의 조건하에 균일한 크기의 액적이 형성되고 있으며, 이러한 특정영역내에서 액적의 크기를 자유자재로 조절할 수 있어야 한다. PCL 용액이 dripping 거동으로 균일한 액적이 안정적으로 형성되는 조건은 연속상의 부피유속이 $0.25 \sim 1.00 \text{ ml hr}^{-1}$, 분산상의 용액이 $0.02 \sim 0.3 \text{ ml hr}^{-1}$ 이다(Figure 2(B)).

미세유체장치는 유동집적 액적 발생기를 기반으로 디자인이 되어 있어 고분자입자의 크기를 제어하기 위해서는 액적 발생기의 오리피스스의 규격과 부피유속의 변화를 통해 제어가 가능하다. 본 연구에서는 부피유속에 따른 액적의 크기변화를 관찰하기 위해 오리피스스의 크기는 $60 \mu\text{m}$ 로 고정하였다. dripping의 액적거동 영역 내에서 액적을 형성하였으며 분산상의 부피유속은 0.1 ml hr^{-1} 로 고정하였고 연속상의 부피유속을 $0.2 \sim 1.0 \text{ ml hr}^{-1}$ 변화를 주었다. 생성된 액적은 배출수에서 포집하여 현미경을 이용하여 관찰을 하였다(Figure 3(A)). 그 결과 액적이 매우 안정적으로 에벌전형태를 유지하고 있었으며, 액적들이 마름모꼴 형태(hexagonal pattern)로 모여있는 것은 개별적인 액적의 크기가 매우 균일함을 의미한다. 또한, 연속상의 부피유속이 증가함에 따라 액적의 크기가 작아지고 있으며, 이를 정량적으로 분석하였다(Figure 3(B)). 그 결과 액적의 크기는 $55.2 \sim 80.1 \mu\text{m}$ 범위 내에서 제어가 가능하였으며 모든 유속 조건에서 액적의 크기 분포도를 나타내는 CV 값이 1.59% 이하로 계산되어 매우 균일한 액적이 형성되었음을 증명하였다.

생분해성 고분자 마이크로입자를 제조하기 위해 상기의 액적 제어 시스템을 바탕으로 PCL 고분자가 녹아있는 용액을 이용하여 매우 균일한 액적을 형성 한 후 상온에서 DMC 용매를 증발시키는 방법을 적용하였다. 이때 PDMS 기반의 미세유체장치는 유기용매의 영향을 받아 채널이 좁아지기 때문에 적절한 용매의 선택이 필요하다[15]. DMC는 PDMS 채널에 큰 영향을 미치지 않으며 PCL에 대한 용해도가 높아 용매로 사용하기에 매우 적합하다. PCL 마이크로입자의 크기 변화를 제어하는 방법에는 생성되는 액적의 크기를 제어하는 방법과 액적에 녹아있는 PCL의 농도를 제어하는 두 가지 방법이 있다. 본 실험에서는 PCL의 농도변화에 따른 마이크로입자의 크기 변화를 확인하기 위해 액적의 크기는 평균 $61.9 \mu\text{m}$ 로 형성하였으며, PCL 농도는 1, 3, 5 wt%로 변화를 주었다(Figure 4(A)). 그 결과 PCL 액적의 농도에 따라 마이크로입자의 크기는 $14.2 \sim 26.7 \mu\text{m}$ 범위 내에서 제어가 가능하였으며 모든 농도 조건에서 마이크로입자 크기의 CV값은 0.68% 이하로 계산되어 매우 균일한 마이크로입자가 제조되었음을 확인하였다. 이 결과에서 생성된 마이크로입자의 CV값이 액적의 CV보다 더욱 작은 값을 보이고 있으며, 이는 각 입자의 크기가 더욱 균일하게 변화했음을 의미한다. 이는 액

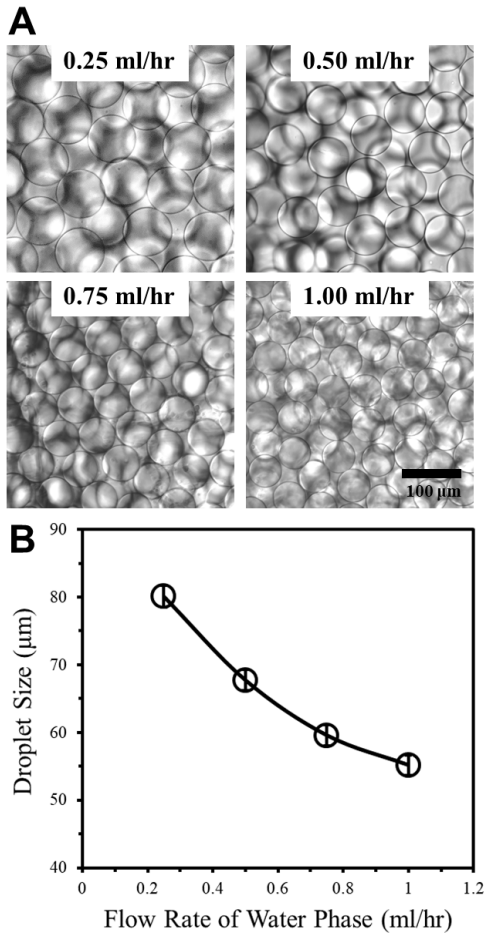


Figure 3. Control of monodisperse droplet size. (A) Optical images of collected droplets as changing flow rate for continuous phase. (B) Controlled droplet size of PCL droplets by flow rate of water phase.

적의 크기분포의 변화보다 액적에 녹아져 있는 PCL 고분자의 몰수의 변화가 더욱 작기 때문에 결과적으로 PCL 마이크로입자의 크기 분포가 더욱 낮아졌을 것으로 해석된다.

4. 결론

본 연구는 미세유체장치 기반의 유동집적 액적 발생기를 제작하여 생분해성 고분자 입자를 매우 균일하게 형성하는 방법을 제안하였다. 고분자입자는 에멀전을 템플레이트로 하여 용매를 증발시키는 방법으로 제작을 하였다. PDMS 기반의 미세유체장치를 이용하여 O/W 에멀전을 형성하기 위해 표면개질을 하였다. 표면개질은 플라즈마처리를 통해 PVA를 PDMS 표면에 공유결합을 시켜 소수성 표면을 친수화하였다. 친수화된 PDMS 미세유체채널을 이용하여 고분자 입자를 형성하기 위한 O/W 에멀전을 안정적으로 형성하였다. 생분해성 고분자입자는 PCL 고분자를 녹인 DMC 용액을 이용하여 미세유체장치로 액적을 형성한 후 DMC 용매를 완전히 증발시켜 형성하였다. 미세유체장치의 장점을 이용하여 매우 균일한 생분해성 PCL 고분자입자를 형성할 수 있었다. 본 연구

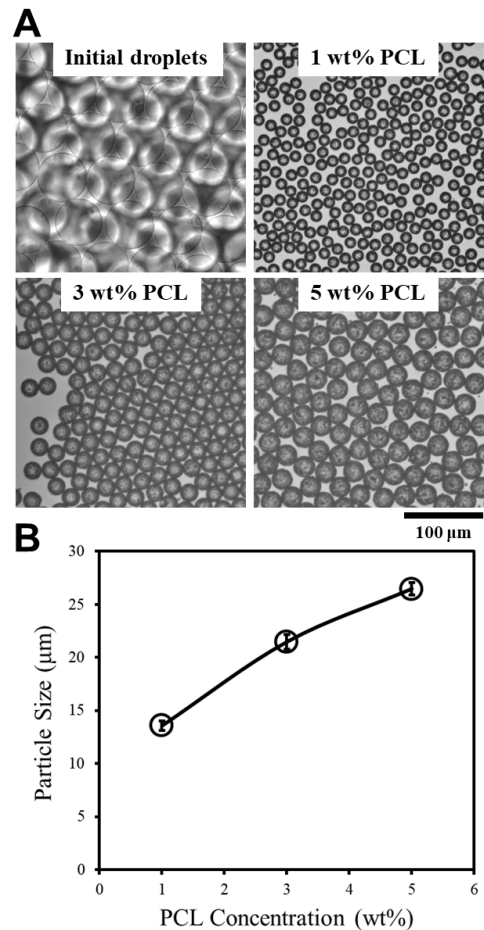


Figure 4. Control of monodisperse PCL microparticle. (A) Optical images of collected initial droplet (before evaporation) and microparticle (after evaporation) as changing concentration of PCL. (B) Controlled microparticle size by PCL concentration.

를 통해 제조된 단분산성 고분자입자는 생체물질의 저장 및 전달, 초소형 운반체로 활용가능하며, 이는 제약, 화장품, 식품 등 다양한 분야에서 고기능성을 갖는 물질로 활용될 것으로 기대한다.

감사

이 논문은 전남대학교 학술연구비(과제번호: 2019-0238) 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Zhao, C. X., "Multiphase Flow Microfluidics for the Production of Single or Multiple Emulsions for Drug Delivery", *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **65**(11-12), 1420-1446 (2013).
2. Ganan-Calvo, A. M., Montanero, J. M., Martin-Banderas, L., and Flores-Mosquera, M., "Building Functional Materials for Health Care and Pharmacy from Microfluidic Principles and Flow Focusing", *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **65**(11-12),

- 1447-1469 (2013).
3. Chou, W. L., Lee, P. Y., Yang, C. L., Huang, W. Y., and Lin, Y. S., "Recent Advances in Applications of Droplet Microfluidics", *Micromachines*, **6**(9), 1249-1271 (2015).
 4. Watanabe, T., Ono, T., and Kimura, Y., "Continuous Fabrication of Monodisperse Polylactide Microspheres by Droplet-to-Particle Technology using Microfluidic Emulsification and Emulsion-Solvent Diffusion", *Soft Matter*, **7**(21), 9894-9897 (2011).
 5. Majedi, F. S., Hasani-Sadrabadi, M. M., Emami, S. H., Shokrgozar, M. A., VanDersarl, J. J., Dashtimoghadam, E., Bertsch, A., and Renaud, P., "Microfluidic Assisted Self-Assembly of Chitosan Based Nanoparticles as Drug Delivery Agents", *Lab Chip*, **13**(2), 204-207 (2013).
 6. Anna, S. L., Bontoux, N., and Stone, H. A., "Formation of Dispersions using "Flow Focusing" in Microchannels", *Appl. Phys. Lett.*, **82**(3), 364-366 (2003).
 7. Utada, A. S., Lorenceau, E., Link, D. R., Kaplan, P. D., Stone, H. A., and Weitz, D. A., "Monodisperse Double Emulsions Generated from a Microcapillary Device", *Science*, **308**(5721), 537-541 (2005).
 8. Utada, A. S., Fernandez-Nieves, A., Stone, H. A., and Weitz, D. A., "Dripping to Jetting Transitions in Coflowing Liquid Streams", *Phys. Rev. Lett.*, **99**(9), 094502 (2007).
 9. Cheng, X. J., Liu, R. L., and He, Y. H., "A Simple Method for the Preparation of Monodisperse Protein-Loaded Microspheres with High Encapsulation Efficiencies", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **76**(3), 336-341 (2010).
 10. He, T. X., Liang, Q. L., Zhang, K., Mu, X., Luo, T. T., Wang, Y. M., and Luo, G. A., "A Modified Microfluidic Chip for Fabrication of Paclitaxel-Loaded Poly(l-lactic acid) Microspheres", *Microfluid. Nanofluid.*, **10**(6), 1289-1298 (2011).
 11. Nie, Z. H., Xu, S. Q., Seo, M., Lewis, P. C., and Kumacheva, E., "Polymer Particles with Various Shapes and Morphologies Produced in Continuous Microfluidic Reactors", *J. Am. Chem. Soc.*, **127**(22), 8058-8063 (2005).
 12. Castro-Hernandez, E., Gundabala, V., Fernandez-Nieves, A., and Gordillo, J. M., "Scaling the Drop Size in Coflow Experiments", *New J. Phys.*, **11**, (2009).
 13. He, Y. H., "Application of Flow-Focusing to the Break-up of an Emulsion Jet for the Production of Matrix-Structured Microparticles", *Chem. Eng. Sci.*, **63**(9), 2500-2507 (2008).
 14. Montanero, J. M., Rebollo-Munoz, N., Herrada, M. A., and Ganan-Calvo, A. M., "Global Stability of the Focusing Effect of Fluid Jet Flows", *Phys. Rev. E*, **83**(3), (2011).
 15. Lee, J. N., Park, C., and Whitesides, G. M., "Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices", *Anal. Chem.*, **75**(23), 6544-6554 (2003).