



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0042249
(43) 공개일자 2016년04월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08J 5/18 (2006.01) C08L 89/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0135136
(22) 출원일자 2014년10월07일
심사청구일자 2014년10월07일

(71) 출원인
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 완산구 농생명로 300 (중동)
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
권해용
경기 수원시 영통구 동탄지성로488번길 22, 104동 808호 (망포동, 벽산e빌리지아파트)
조유영
경기 용인시 처인구 중부대로 1348, 102동 1304호 (김량장동, 삼환나우빌아파트)
(74) 대리인
나동규

전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법

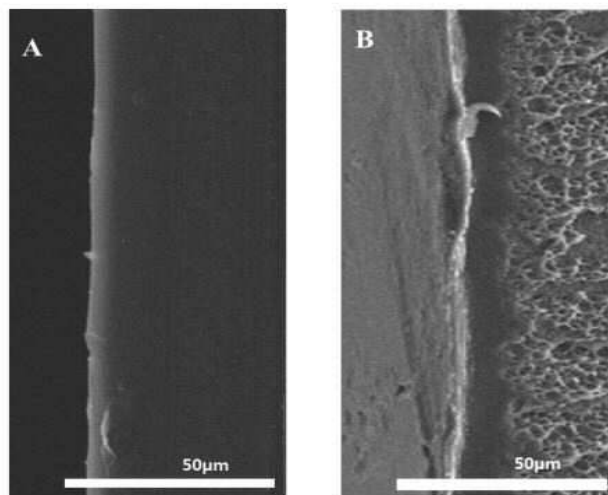
(57) 요약

본 발명은 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법은, 실크 피브로인을 포함하는 용액을 제조하는 제1단계; 및, 상기 용액은 원통에 담은 후, 이를 회전 건조시켜 판상의 형태를 갖는 실크 피브로인 필름을 제조하는 제2단계를 포함하는 것이 특징이다.

본 발명에 의해, 양 쪽 표면이 모두 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 제작 할 수 있으며, 기존 캐스팅 건조 방법 보다 빠른 시간에 필름을 제작함과 동시에 다양한 두께의 필름을 제작할 수 있는 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법이 제공된다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

이광길

경기도 수원시 권선구 탑동 42-1 우방아파트 105동 307호

김현복

경기 수원시 장안구 금당로39번길 33, 101동 1403호 (조원동, 주공뉴타운)

이희삼

경기 수원시 영통구 인계로 165, 522동 603호 (매탄동, 주공5단지아파트)

여주홍

경기 수원시 영통구 인계로 165, 523동 1302호 (매탄동, 주공5단지아파트)

강석우

경기 화성시 동탄중앙로 200, C동 2804호 (반송동, 메타폴리스)

박찬흠

강원 춘천시 지석로 67, 204동 1302호 (석사동, 현진에버빌2차)

이옥주

강원도 평창군 진부면 오대천로 703-2

이정민

경기도 구리시 원수택로 12번길 27, 201호, (수택동)

이민채

경기도 구리시 원수택로 6-15, 현암아파트 가동 201호,

김수현

경기도 남양주시 진건읍 독정로 124-9

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ009051

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 국립농업과학원

연구사업명 누에고치 단백질을 이용한 의료용 실크 소재 개발

연구과제명 실크단백질을 이용한 뼈 형성 소재 개발, 진피용 실크소재 연구

기 여 율 1/1

주관기관 국립농업과학원

연구기간 2012.05.01 ~ 2012.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

실크 피브로인을 포함하는 용액을 제조하는 제1단계 및,
상기 용액은 원통에 담은 후, 이를 회전 건조시켜 판상의 형태를 갖는 실크 피브로인 필름을 제조하는 제2단계를 포함하여, 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 형성하도록 하는 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 제1단계에서 상기 용액은 누에고치로부터 분리해 낸 후 정련하여 얻은 실크 피브로인을 용해시킨 다음, 이를 투석하여 제조한 것임을 특징으로 하는,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,
상기 제1단계에서 상기 용액에는 상기 실크 피브로인이 상기 용액 전체 중량대비 1~25 wt%로 포함되는 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,
상기 제2단계에서 상기 회전 건조는 상기 용액과 회전속도(rpm)간에 1:50~500로 이루어지는 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,
상기 제2단계에서 상기 회전 건조는 5 ml당 500~1500 rpm으로 24~27℃ 온도하에서 2 ~ 3시간동안 이루어져, 10 μ m ~90 μ m의 두께로 이루어진 필름을 제조하는 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,
상기 제2단계에서 상기 회전 건조 전에 상기 원통 내부에 패턴 또는 무늬를 각인 또는 삽입하여 패턴 또는 무늬

가 프린팅 된 필름을 제조하는 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 7

실크 피브로인 및 천연 고분자 또는 합성 고분자를 포함하는 용액을 제조하는 제1단계 및,
상기 용액을 회전 건조시켜 판상의 형태를 갖는 실크 피브로인 필름을 제조하는 제2단계를 포함하여, 매끄럽고
균일한 형태의 필름을 형성하도록 하는 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 8

제 7항에 있어서,
상기 제1단계에서 상기 천연 고분자 또는 합성 고분자의 종류는 콜라겐, 젤라틴, 키틴, 키토산, 케라틴, 셀룰로
오스, 피브로넥틴, 엘라스틴, 피브리노겐, 피브로모듈린, 라미닌, 테나신, 비트로넥틴, 알지네이트,
히알루론산, 실크 프로테인 및 그들의 유도체, 아가로스, 폴리락산(polylactic acid; PLA), 폴리글리콜산
(polyglycolic acid; PGA), 폴리락산과 폴리글리콜산의 공중합체(PLGA), 폴리카프로락톤(polycaprolactone;
PCL), 폴리{폴리(에틸렌옥사이드)테레프탈레이트-co-부틸렌테레프탈레이트}(PEOT/PBT), 폴리포스포에스터
(polyphosphoester; PPE), 폴리포스파젠(PPA), 폴리안하이드라이드(Polyanhydride; PA), 폴리오르쏘에스터
{polyortho ester; POE}, 플루로닉(pluronic) 127, 글리세린, 폴리(프로필렌푸마레이트)-디아크릴레이트
{poly(propylene fumarate)-diacrylate; PPF-DA} 및 폴리에틸렌글라이콜디아크릴레이트{polyethylene glycol
diacrylate; PEG-DA} 중 어느 하나 이상인 것이 특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 9

제 7항에 있어서,
상기 제1단계에서 상기 천연 고분자 또는 합성 고분자는 상기 용액 전체 중량 대비 1~10 wt%로 포함되는 것이
특징인,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 10

제 7항에 있어서,
상기 제1단계에서 상기 용액은 누에고치로부터 분리해 낸 후 정련하여 얻은 실크 피브로인을 용해시킨 다음, 이
를 투석하여 제조하는 것을 특징으로 하는,
회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 11

제 7항에 있어서,
상기 제1단계에서 상기 용액에는 상기 실크 피브로인이 상기 용액 전체 중량대비 1~25 wt%로 포함되는 것이 특
징인,

회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 12

제 7항에 있어서,

상기 제2단계에서 상기 회전 건조는 상기 용액과 회전속도(rpm)간에 1:50~500로 이루어지는 것이 특징인,

회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 13

제 7항에 있어서,

상기 제2단계에서 상기 회전 건조는 5 ml당 500~1500 rpm으로 24~27℃ 온도하에서 2 ~ 3시간동안 이루어져, 10 μ m ~90 μ m의 두께로 이루어진 필름을 제조하는 것이 특징인,

회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

청구항 14

제 7항에 있어서,

상기 제2단계에서 상기 회전 건조 전에 상기 원통 내부에 패턴 또는 무늬를 각인 또는 삽입하여 패턴 또는 무늬가 프린팅 된 필름을 제조하는 것이 특징인,

회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 실크 피브로인을 이용하여 표면이 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 제작하고자 개발한 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 실크 피브로인은 누에에서 추출하여 제조한 전형적인 자연 고분자 물질로 오랫동안 직물의 섬유소재 및 봉합사와 같은 의·공학 소재로 이용되어 왔다.

[0003] 실크 피브로인은 생체에 적용할 때 염증 반응을 거의 일으키지 않으면서 섬유모세포나 각질 세포 등에 세포 부착 능력과 증식효과가 뛰어나 생체 적합성이 우수한 인공피부의 소재로서 많은 관심이 모아지고 있다. 또한, 다른 천연 고분자 재료와 달리 실크 피브로인은 곤충을 통하여 순수한 단백질을 대량으로 쉽게 얻을 수 있으며 생체적합성이 우수하여 특별한 정제과정을 거치지 않아도 인체에 대한 거부 반응이 거의 일어나지 않고 분말, 막, 다공질체 및 겔 등 다양한 형태로 성형할 수 있다는 특징이 있다.

[0004] 최근 이러한 실크 피브로인을 이용하여 생체 의학적용 사용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이는 세포의 기질과 구조적, 물리적으로 비슷한 특성 때문이며, 신체 조직으로부터 실크 피브로인 표면의 내부로 세포 부착과 성장을 촉진시키는 좋은 재료로 평가받고 있다.

[0005] 관련 선행기술로는 일본공개특허공보 P2014-51579A(공개일: 2014년 03월 20일, 명칭: 건조 실크 피브로인 다공질체의 제조방법) 등이 있다.

[0006] 그러나 아무리 효과가 뛰어난 실크 피브로인도 일반적인 건조방식(캐스팅 건조방식)을 통해 실크 피브로인 섬유

막을 제작할 경우, 10 μm 이하의 얇은 막을 균일하게 제작하기 힘들뿐만 아니라 mm 단위의 두꺼운 두께의 필름을 위, 아랫면 모두 평평하고 매끄럽게 하는 것이 불가능하다. 또한, 필름 제작시간이 오래 걸리며, 인장 강도가 약해 실제로 임상에 적용하기 힘들다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 양쪽 표면이 모두 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 제작 할 수 있으며, 기존 캐스팅 건조 방법보다 빠른 시간에 필름을 제작함과 동시에 다양한 두께의 필름을 제작할 수 있는 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법을 제공하는데 있다.
- [0008] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법은, 실크 피브로인을 포함하는 용액을 제조하는 제1단계 및, 상기 용액은 원통에 담은 후, 이를 회전 건조시켜 판상의 형태를 갖는 실크 피브로인 필름을 제조하는 제2단계를 포함하여 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 형성하도록 하는 것이 특징이다.
- [0010] 상기 제1단계에서 상기 용액은 누에고치로부터 분리해 낸 후 정련하여 얻은 실크 피브로인을 용해시킨 다음, 이를 투석하여 제조한 것이 특징이다.
- [0011] 상기 제1단계에서 상기 용액에는 상기 실크 피브로인이 상기 용액 전체 중량대비 1~25 wt%로 포함되는 것이 특징이다.
- [0012] 상기 제2단계에서 상기 회전 건조는 상기 용액과 회전속도(rpm)간에 1:50~500로 이루어지는 것이 특징이다.
- [0013] 바람직하게는, 상기 제2단계에서 상기 회전 건조는 5 ml당 500~1500 rpm으로 24~27℃ 온도하에서 2 ~ 3시간동안 이루어져, 10 μm ~90 μm 의 두께로 이루어진 필름을 제조하는 것이 특징이다.
- [0014] 상기 제2단계에서 상기 회전 건조 전에 상기 원통 내부에 패턴 또는 무늬를 각인 또는 삽입하여 패턴 또는 무늬가 프린팅 된 필름을 제조하는 것이 특징이다.
- [0015] 또 다른 본 발명의 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법은, 실크 피브로인 및 천연 고분자 또는 합성 고분자를 포함하는 용액을 제조하는 제1단계 및, 상기 용액을 회전 건조시켜 판상의 형태를 갖는 실크 피브로인 필름을 제조하는 제2단계를 포함하여 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 형성하도록 하는 것이 특징이다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명에 의해, 양 쪽 표면이 모두 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 제작 할 수 있으며, 기존 캐스팅 건조 방법보다 빠른 시간에 필름을 제작 할 수 있으며, 10 μm 이하의 얇은 필름부터 mm 단위를 갖는 다양한 두께의 필름을 용이하게 제작 할 수 있으므로, 기존의 필름 제작 방법의 한계점을 극복 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 본 발명의 회전 건조 방법을 이용하여 실크 피브로인 필름의 제조과정을 나타낸 도면이다.
- 도 2는 실크 피브로인 필름의 투명도를 나타낸 도면이다.

A, C; 본 발명에서 개발한 회전 건조 방법을 통해 제작된 실크 피브로인 필름
B, D; 기존 건조 방식인 캐스팅 건조 방법을 통해 제작된 실크 피브로인 필름
도 3은 실크 피브로인 필름의 인장강도를 나타낸 도면이다.

A: 실크 피브로인 용액 농도 변화에 따른 필름의 인장강도

B: 12 wt% 실크 피브로인 용액을 대상으로 필름두께별 인장강도

C: 기존 캐스팅 건조 방법과 회전 건조 방식으로 제작된 필름의 인장강도

도 4는 실크 피브로인 필름의 주사전자현미경을 통한 표면 관찰 소견을 나타낸 도면이다

A: 회전 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름

; 굴곡이 없는 평평하고 균일한 표면을 나타냄.

B: 캐스팅 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름

; 거칠기가 거칠고 울퉁불퉁한 표면을 나타냄.

도 5는 실크 피브로인 필름의 원자현미경을 통한 표면 관찰 소견을 나타낸 도면이다

A: 회전 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름

; 표면은 굴곡이 없는 평평하고 균일한 표면을 나타냄.

B: 캐스팅 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름

; 표면이 거칠고 울퉁불퉁하며 굴곡을 이룸

도 6은 CCK-8을 통한 실크 피브로인 필름의 세포독성 및 증식률을 확인한 결과이다.

도 7은 DAPI 염색을 통한 세포 친화성 및 증식률을 나타낸 도면이다.

A, B, C; 회전 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름(1, 3, 7일차)

D, E, F; 캐스팅 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름(1, 3, 7일차)

도 8은 회전 건조 방식을 이용한 실크 피브로인 필름의 마이크로 패터닝 상태를 나타낸 도면이다. - 한 쪽 면은 매끄럽게 유지하며 다른 한쪽은 마이크로 패터닝을 하여 줄무늬를 나타냄 (A; 단면, B; 표면 1, C; 표면 2)

도 9는 회전 건조 방식을 이용한 실크 피브로인 필름의 렌즈 형태를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 명세서에 기재된 용어, 기술 등은 특별한 한정 없이, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 일반적으로 사용되는 의미로 사용된다. 이하, 본 발명을 상세히 설명하면 다음과 같다.

[0019] 본 발명의 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름 제조방법은 기존에 연구 및 보고 되어진 바가 없으며, 기존의 실크 피브로인 필름 제작 방법인 캐스팅 건조 방식의 한계점을 극복할 수 있는 새로운 방법이다.

[0020] 구체적으로 설명하면, 실크 피브로인은 천연 고분자로서, 합성 고분자나 혼합물 없이 단독으로 필름을 제작하는데 있어 여러가지 한계점을 가지고 있다. 그 중 대표적인 예로는 10 μ m 이하의 얇은 막을 균일하게 제작하기 힘들뿐 만 아니라 mm 단위의 두꺼운 두께의 필름을 위, 아랫면 모두 평평하고 매끄럽게 하는 것이 불가능 하였다. 또한 필름 제작 시간이 오래 걸리는 단점이 있다.

[0021] 하지만 본 발명에서 적용된 회전 건조방법은 실크 피브로인을 대상으로 10 μ m 이하의 얇은 필름부터 mm 단위의 두꺼운 필름을 선택적으로 용이하게 제작할 수 있도록 하며, 특히 건조 시간이 기존 필름 제작(캐스팅 건조방법)시간보다 단축된다는 장점이 있다. 이는 회전 속도를 조절하거나, 실크 피브로인 용액의 농도를 조절하거나, 사용하는 양을 조절하거나 원통의 지름의 크기를 바꾸게 되면 각 조건에 따라 다양한 두께의 필름이 용이하게 제작가능함을 의미한다.

[0022] 뿐만 아니라 캐스팅 건조 방식(통상의 필름 제작방식)으로 제작된 필름에 비해 더 우수한 인장 강도를 보여주었으며, 투명도 역시 월등히 뛰어남을 확인할 수 있었다.

- [0023] 이러한 결과를 바탕으로 본 발명에서 개발한 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름 제조방법은 천연 고분자인 실크 피브로인 또는 그 밖의 천연 고분자나 합성고분자, 천연고분자와 합성 고분자의 혼합물 등을 이용하여 윗면과 아랫면 모두 평평하고 매끈한 표면을 가지는 다양한 두께의 필름을 제작하여 생체막으로의 응용할 수 있을 뿐만 아니라, 콘택트렌즈 등 투명도를 요구하는 필름이나 굴절률을 요구하는 다양한 필름으로의 응용 가능성(도 9)과, 원통 내에 나노 또는 마이크로 단위의 패턴을 각인 또는 삽입하여 나노 단위의 패턴이나 마이크로 단위의 패턴이 있는 필름을 제작하여 약물 전달 시스템 등으로의 응용 가능성을 확인하였다.
- [0024] 본 발명의 회전 건조 방법을 이용한 실크 피브로인 필름의 제조방법을 도 1에 도시된 것을 토대로 실시예를 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0025] 1. 제 1단계; 실크 피브로인을 포함하는 용액 제조
- [0026] 본 단계는 실크 피브로인을 포함하는 용액을 제조하는 단계이다.
- [0027] 설명하면, 실크 피브로인은 누에고치로부터 뽑아낸 실에서 분리해 내는 것으로서, 생체친화성이 우수하여 주변의 어떤 조직에도 영향을 미치지 않기 때문에 분말, 젤, 수용액 등 여러 형태로 제조되어 식품, 의약품 등에 다양하게 사용될 수 있다.
- [0028] 이에, 본 단계에서는 상기 실크 피브로인을 용액 형태로 제조하기 위해 우선, 누에고치로부터 세리신과 불순물을 제거하는 정련과정을 통해 실크 피브로인 섬유를 추출해 염화칼슘 또는 브롬화리튬 수용액에 용해시킨 다음, 이를 투석하여 실크 피브로인을 포함하는 용액을 제조한다.
- [0029] 이때, 상기 용액에 함유된 실크 피브로인의 농도는 제작하고자 하는 필름의 두께에 따라 선택적으로 그 함량을 조절할 수 있으며, 보다 바람직하게 상기 실크 피브로인을 포함하는 용액에 실크 피브로인이 전체 중량대비 1~25wt%로 포함되는 것이 좋으며, 실크 피브로인의 농도조절을 위해서는 증류수를 혼합하여 희석하거나 폴리에틸렌 글리콜(Polyethylene Glycol)을 이용하여 농축하여 농도를 조절할 수 있다.
- [0030] 상기 실크 피브로인이 1 wt%미만으로 함유될 경우 하기 필름 제조과정에서 99%의 물이 증발하기 때문에 효율성이 낮게 되어 필름으로써의 제작이 불가하며, 25 wt%를 초과하여 함유될 경우에는 그 농도가 너무 높아 용액 상태가 불안정하여 하기 필름 제조과정에서 회전건조가 어려우므로 본 발명이 목적하는 매끈한 표면을 갖는 필름 형태를 갖추기에는 어렵게 된다.
- [0031] 또한, 본 단계에서는 상기 용액에 추가로 천연 고분자 또는 합성 고분자를 더 포함하여 제조하기도 한다.
- [0032] 다시 말해, 실크 피브로인 필름의 유연성을 개선해주기 위한 것으로서, 천연 고분자 또는 합성 고분자를 더 포함할 경우 인장강도나 탄성 값 등의 물리적 특성이 더 개선되어 탄성을 필요로 하는 용도로 용이하게 사용가능하게 된다.
- [0033] 이때, 사용되는 상기 천연고분자 또는 합성고분자의 종류로는 생체적용물질인 콜라겐, 젤라틴, 키틴, 키토산, 케라틴, 셀룰로오스, 피브로넥틴, 엘라스틴, 피브리노겐, 피브로모듈린, 라미닌, 테나신, 비트로넥틴, 알지네이트, 히알루론산, 실크 프로테인 및 그들의 유도체, 아가로스, 폴리락산(polylactic acid; PLA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid; PGA), 폴리락산과 폴리글리콜산의 공중합체(PLGA), 폴리카프로락톤(polycaprolactone; PCL), 폴리{폴리(에틸렌옥사이드)테레프탈레이트-co-부틸렌테레프탈레이트}(PEOT/PBT), 폴리포스포에스터(polyphosphoester; PPE), 폴리포스파젠(PPA), 폴리안하이드라이드(Polyanhydride; PA), 폴리오르쏘에스터{polyortho ester; POE}, 플루로닉(pluronic) 127, 글리세린, 폴리(프로필렌푸마레이트)-디아크릴레이트{poly(propylene fumarate)-diacrylate; PPF-DA} 및 폴리에틸렌글라이콜디아크릴레이트{polyethylene glycol diacrylate; PEG-DA} 중 어느 하나 이상인 것이 특징이며, 상기 천연 고분자 또는 합성 고분자는 상기 용액 전체 중량 대비 1~10 wt%로 포함되는 것이 좋다. 이는 1 wt% 미만으로 함유될 경우에는 실크 피브로인 단독사용 대비 더 상승된 물리적 특성을 얻기 어려우며, 10 wt%를 초과하여 함유될 경우에는 그 농도가 너무 높아 투명성 등 실크 피브로인 단독 필름의 장점이 저하되는 문제가 발생할 수 있기 때문이다.
- [0034] 이때, "투명", "투명성"이라는 용어는 완전한 투명 상태 외에도 막의 내부를 관찰할 수 있는 정도의 투명 상태를 포함하는 의미로 사용한다.

- [0035] 2. 제 2단계; 실크 피브로인 필름 제조
- [0036] 본 단계에서는 상기 용액을 원통에 담은 후, 이를 회전 건조시켜 관상의 형태를 갖는 실크 피브로인 필름을 제조한다.
- [0037] 설명하면, 상기 실크 피브로인을 포함하는 용액을 회전 건조시키기 위해, 우선 원통에 담는다. 이때, 원통의 지름 크기는 제작하고자 하는 필름의 두께에 따라 선택적으로 그 크기를 조절하며 이에 따라 하기 회전 건조 속도를 조절하여 필름을 제조한다.
- [0038] 상기 실크 피브로인을 포함하는 용액과 회전건조시 적용되는 rpm의 비율은 1:50~500 정도 적용하는 것이 적합하다. 이는 용액 1ml를 기준으로 회전 속도가 50 rpm 미만일 경우 용액이 받는 원심력($F=mrw^2$ / m=용액의 질량, r=원통의 반지름, w=원통의 rpm)을 계산했을 때, 0.01N 미만의 힘이 적용되어 본 발명이 목적하는 필름을 만들기 위한 최소한의 힘에 미치지 못하게 되므로 필름 표면이 매끄럽지 못하고 거친 상태로 제작되게 될 우려가 있으며, 500rpm을 초과할 경우에는 필름두께 변화가 미비하기 때문이다.
- [0039] 본 발명의 일실시예에서는 내부지름 80mm, 외부지름 90mm, 높이 100mm인 것을 사용하며, 이에 따른 회전 건조조건은 상기 용액 5 ml당 500~1500 rpm으로 24~27℃ 온도하에서 2 ~ 3시간동안 이루어져, 제조되는 실크 피브로인 필름의 두께는 10 μ m~90 μ m로 제작된다. 다시 말해, 실크 피브로인의 농도 12wt% 포함되어 있을 경우 500rpm에서는 실크 피브로인 필름의 두께가 평균적으로 70~90 μ m이며, 1000 rpm에서는 40~60 μ m, 1500rpm에서는 10~30 μ m로 제작됨을 확인하였다.
- [0040] 이와 같이, 본 발명은 상기 용액의 양, 원통크기, 회전수를 적절히 선택적으로 적용하여 단시간에 용이하게 다양한 필름 두께를 형성할 수 있음과 동시에 양 쪽 표면이 모두 매끄럽고 균일한 형태의 필름이 제작되어 기존의 필름 제작 방법의 한계점을 극복할 수 있게 된다.
- [0041] 또한, 본 단계에서는 도 8에 나타나 있듯이, 상기 회전 건조 전에 상기 원통 내부에 패턴 또는 무늬를 각인 또는 삽입하여 패턴 또는 무늬가 프린팅 된 필름을 제조함으로써, 약물 전달 시스템 등으로도 응용 가능하다. 이때 무늬를 삽입하는 방법으로는 OHP 필름 등에 프린팅 하고자 하는 무늬를 새겨 원통 내부에 부착한 다음 상기 회전 건조 과정을 거친 후 필름막이 완전히 마른 다음 부착된 OHP필름을 제거하여 무늬와 패턴이 필름에 옮겨지도록 하는 방법을 적용한다.
- [0042] 이하에서는 실시예 및 실험예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이나, 이들 실시예 및 실험예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.
- [0043] <실시예 1> 본 발명의 회전 건조장식을 이용한 실크 피브로인 필름 제조
- [0044] 1) 실크 피브로인 용액 준비
- [0045] Bombyx mori의 누에고치를 0.02 M Na₂CO₃ 수용액에서 60분 동안 100℃로 가열하고 증류수로 3회 반복 세척의 정련과정을 거쳐 세리신 단백질과 불순물 등을 제거하여 순수한 실크 피브로인을 얻었다. 정련된 실크 피브로인은 CaCl₂ : H₂O : EtOH = 1 : 8 : 2 mol 비의 혼합용매에 90℃에서 2시간 동안 용해시킨 다음 증류수에서 72시간 동안 투석하였고, 6 w/w%의 순수한 실크 피브로인 용액 (SF)을 제작하였다. 실크 피브로인의 다양한 농도를 위해 Polyethylene glycol (PEG)을 이용하여 농축하였다. 제조된 실크 피브로인 용액은 각각 8 wt%, 10 wt%, 12 wt%였다.
- [0046] 2) 실크 피브로인 필름 제조
- [0047] 도 1에 도시된 바와 같이, 실크 피브로인 필름은 다음과 같이 제작한다.
- [0048] 즉, 내부지름 80mm, 외부지름 90mm, 높이 100mm의 알루미늄 원통에 실크 피브로인 용액과 rpm 비율 1 : 200 기준으로 실크피브로인 용액 5 mL에 1000 rpm으로 평균온도 26° C에 실내에서 2 ~ 3시간 회전 건조 시켜 실크 피브로인 필름을 제작하였다.

- [0049] <비교예 1> 캐스팅 건조방법에 의해 제조된 실크 막
- [0050] 기존의 건조 캐스팅 방법으로 제작된 실크 피브로인 막을 이용하였다. 제작 방법은 90 × 15 mm 페트리디쉬에 5mL의 실크 피브로인 용액을 넣고 한쪽은 평균온도 26℃에 실내에서 48시간 동안 건조하여 평균 두께 40~60 μ m의 필름을 제작하였다. 이렇게 완성된 실크 피브로인 필름은 65℃에서 15분간 수화시켜 결정화하여 본 발명의 대조군으로 사용하였다.
- [0051] <실험예 1> 글씨 선명도 확인(Transparency of silk fibroin film)
- [0052] 1. 실험방법
- [0053] 캐스팅 건조 방법과 회전 건조 방법으로 제작된 두 가지 타입 필름의 투명도를 측정하였다. 실험 방법으로는 글씨가 적힌 바닥과 필름 간 거리를 1 cm로 유지하고, 글씨의 선명도를 확인하였다.
- [0054] 2. 실험결과
- [0055] 도 2에 나타나 있듯이, 캐스팅 건조 방법과 회전 건조 방식으로 제작된 실크 피브로인 필름의 투명도를 확인하기 위해 글씨가 쓰여진 바닥으로부터 1 cm 떨어진 높이에서 글씨가 보이는 정도를 확인하였다.
- [0056] 투명도 측정에 사용된 필름은 12% 실크 피브로인을 이용하여 제작된 필름이며, 두 군 모두 두께가 90 μ m로 제작 방법 이외의 조건은 동일하게 제작하였다. 기존의 필름 제작 방법인 캐스팅 건조 방법으로 제작된 필름 (B,D)는 회전 건조 방식으로 제작된 필름 (A,C)에 비해 투명도가 현저히 떨어지는 것을 관찰할 수 있었다.
- [0057] 또한, 캐스팅 건조 방법으로 제작된 필름 (B,D)는 실크 피브로인 필름이 위치한 부분이 전체적으로 혼탁하며 검정색의 글씨의 선명도 역시 떨어지는 것을 확인 할 수 있었다. 반면에 회전 건조 방식으로 제작된 실크 피브로인 필름 (A,C)는 캐스팅 건조 방법으로 제작된 필름 (B,D)에 비해 월등히 투명하고, 선명한 글씨 색을 보여주었다.
- [0058] 이러한 결과는 각 필름 표면의 거친 정도나 굴곡에 따라 빛이 굴절하는 정도가 다르기 때문이라고 추측되어진다. 따라서, 캐스팅 건조 방식보다 회전 건조 방식으로 제작된 실크 피브로인 필름이 매끄러운 표면과 높은 투명도를 나타내는 것을 알 수 있었다.
- [0059] <실험예 2> 강도 확인(Tensile strength)
- [0060] 1. 실험방법
- [0061] 실크 피브로인 용액을 이용하여 캐스팅 건조 방법과 회전 건조방법으로 필름을 제작하였으며, 각 필름의 인장강도 및 변화를 비교 측정하기 위해 인장강도기(QM100S, Qmesys, Korea)를 사용하였다. 시편 크기는 각 시료의 두께별로 폭 2.6 mm, 제한하중 50 Kgf, 제한변위 40 mm으로 평균화하였다. 평균화 된 실크 피브로인 막을 각각 인장강도기에 장착한 다음 인장력을 측정하였다. 인장실험은 각 샘플당 시험편 20개를 사용하여 측정하고 얻어진 값을 통계처리 하였다.
- [0062] 2. 실험결과
- [0063] 도 3은 본 발명에서 개발한 회전 건조식 방법을 통한 실크 피브로인 필름의 인장 강도를 나타낸 도표이다. 각각의 도표는 실크 피브로인 용액의 농도에 따라 제작된 필름의 인장강도 (A)와 실크 피브로인 필름 두께에 따른 인장강도 (B), 회전 건조식 방법을 통한 실크 피브로인 필름과 기존의 캐스팅 건조 방법으로 제작된 실크 피브로인 필름의 인장강도를 측정하여 비교 (C) 한 결과이다.
- [0064] 농도에 따른 실크 피브로인 필름은 모두 회전 건조식 방법을 통해 제작하였고, 평균 두께 40~60 μ m를 사용하여 인장강도를 측정하였다. 8 wt% 실크 피브로인 용액을 이용하여 제작된 필름의 인장강도는 평균 52.73 $\pm$ 10.61 MPa이며, 약1.7 %의 연신율을 보여주었다. 또한 10 wt%와 12 wt% 용액을 이용하여 제작한 필름의 인장강도는 각각 63.74 $\pm$ 13.39 MPa, 76.00 $\pm$ 1.38 MPa의 값이 측정되었으며, 연신율은 2.2 %와 2.3 %를 보여주었다.

- [0065] 이러한 결과를 보아 실크 피브로인의 농도가 높아짐에 따라 인장강도가 증가함을 알 수 있었다.
- [0066] (A)의 결과를 바탕으로 하여 가장 높은 인장강도를 나타낸 12 % 실크 피브로인 용액을 이용해 평균 10-30 μm (a), 40-60 μm (b), 70-90 μm (c)의 두께가 다른 3 종류의 필름을 제작하여 인장강도를 측정하였다 (도 3B). (a)의 평균 인장강도는 $34.73 \pm 11.29 \text{ MPa}$ 이며 (b)는 $42.64 \pm 6.04 \text{ MPa}$ 로 두께가 증가함에 따라 인장강도가 증가하는 양상을 보여주었다. 하지만 가장 두꺼운 필름(c)의 인장강도는 평균 $35.15 \pm 11.49 \text{ MPa}$ 로 (b) 보다 낮은 인장강도를 보여주었다.
- [0067] 이러한 결과는 70 μm 이상의 두께는 실크 피브로인 필름의 특성 중 하나인 탄성 저하(brittle) 현상이 일어나기 때문에 인장강도가 낮아지는 것으로 사료된다.
- [0068] 위의 결과를 토대로 가장 높은 인장강도를 나타낸 12 % 실크 피브로인 용액을 이용하여 회전 건조 방식과 캐스팅 건조 방식을 통해 두께 40-60 μm 의 필름을 제작하였다. 각각의 필름을 인장강도 측정해 본 결과 캐스팅 건조된 필름은 평균 $17.35 \pm 1.85 \text{ MPa}$ 였으며 회전 건조 방식으로 제작된 필름의 경우 $21.29 \pm 3.24 \text{ MPa}$ 로 보다 높은 인장강도를 보여준 반면, 연신율은 회전 건조 시킨 필름 (1.6 %) 보다 캐스팅 건조 필름의 연신율이 2.1 %로 0.5 % 더 높게 측정되었다.
- [0069] 즉, 회전 건조 방식은 기존의 캐스팅 건조 방식보다 약 4 MPa 정도 강한 힘을 견딜 수 있는 반면에 캐스팅 건조 필름은 인장강도가 낮은 반면 보다 좋은 연신율을 보여주었다.
- [0070] <실험예 3> 실크막의 단면 관찰(Scanning Electron Microscope(SEM))
- [0071] 1. 실험방법
- [0072] 캐스팅 건조 방법과 회전 건조 방법으로 만들어진 실크 피브로인 필름의 표면을 비교하기 위하여 각 필름을 결정화 시킨 후 절단하여 Au-Pd로 코팅 후 주사전자현미경(RUPRA55V VP-FESEM, Carl Zeiss, Germany)으로 그 단면을 관찰하였다. 주사전자현미경 관찰은 기초과학연구원(춘천)에서 이루어졌다.
- [0073] 2. 실험결과
- [0074] 도 4에 나타나 있듯이, 본 발명에서 개발된 회전 건조 방법과 기존의 캐스팅 건조 방법을 통해 제작된 실크 피브로인 필름의 표면을 주사전자현미경을 통해 관찰하였다. 회전 건조 방법과 캐스팅 건조 방법에 사용된 실크 피브로인 용액의 농도는 위의 결과를 바탕으로 가장 높은 인장강도를 보여준 12 %의 실크 피브로인 용액을 사용하여 각각의 필름을 제작하였고, 평균 두께 40-60 μm 의 필름의 절단부위를 통해 표면을 관찰하였다. SEM 이미지를 살펴보면, 기존의 캐스팅 건조 방법의 실크 피브로인 필름 (B)은 거칠기가 거칠고 울퉁불퉁한 표면을 나타내는 반면에 본 발명에서 개발한 회전 건조 방법을 이용하여 제작한 실크 피브로인 필름 (A)은 굴곡이 없는 평평하고 균일한 표면을 나타냄을 확인할 수 있었다.
- [0075] 따라서 회전하는 원통 내 원심력이 평평하고 균일한 표면의 대칭성을 갖게 하는 것을 확인 할 수 있었다.
- [0076] <실험예 4> 실크 막의 표면 거칠기 확인(Atomic Force Microscopy; AFM)
- [0077] 1. 실험방법
- [0078] 실크 피브로인 필름 표면에 거칠기를 비교 분석하기 위해 원자현미경(MultiMode 8, Bruker, Santa Barbara CA USA)를 이용하였다. 캐스팅 방법과 회전 건조 방법으로 제작된 각각의 필름 두께는 50 μm 이며, 실크 피브로인 용액의 농도는 12%로 고정하였다. 시료의 크기는 3 mm $\times$ 10 mm으로 준비하여 촬영하였다.
- [0079] 2. 실험결과
- [0080] 도 5는 캐스팅 건조 방법과 회전 건조 방법을 통해 실크 피브로인 필름을 제작하고, 제작 방법에 따른 각각의 필름 표면 (5 $\times$ 5 μm^2)을 원자력 현미경으로 관찰한 결과이다. (A)는 회전 건조 방법을 통해 제작된 실크 피브로인 필름이며 (B)는 기존의 필름 제작 방법인 캐스팅 건조를 통해 제작된 실크 피브로인 필름의 원자력 현미

경 사진이다. 각 필름의 두께는 50 μm 로 고정하였으며, z 값은 100 μm 로 설정하였다.

[0081] (A)의 경우 산술평균조도 (Ra)가 2.42 nm이며 최대 높이 (Rmax)는 74.7 nm인 반면에, (B)의 산술평균조도 값은 7.35 nm로 (A)에 비해 4.93 nm 정도 높은 수치를 보여주었다. 뿐만 아니라 최대높이 역시 104 nm로 74.7 nm인 (A) 보다 높음을 확인할 수 있었다.

[0082] 이러한 결과는 기존의 캐스팅 건조 방법보다 회전 건조식 방법에 의해 제작된 실크 피브로인 필름의 표면이 보다 매끄러우며 균일한 형태를 보여준다. (A)의 경우 산술평균조도가 2.42 nm이며 그래프상 거친 정도가 거의 나타나지 않았음에도 불구하고 최대 높이가 74.7 nm로 높게 측정되었는데, 이는 시료 준비 과정 중 포셉 사용 등 외부 자극에 의한 긁힘이나 먼지 등에 의한 것으로 사료되어진다.

[0083] <실험예 5> 세포 친화성 및 부착도 및 배양정도 확인 (Cell proliferation)

[0084] 1. 실험방법

[0085] 각 실크 피브로인 필름을 직경 8 mm의 biopsy punch 사용하여 원형으로 만든 후 48 well Cell Culture Plate 에서 293T GARTP 세포를 파종하여 1, 3, 7일 동안 배양하였다. 배양 1, 3, 7일 후 실크 피브로인 필름의 세포 친화성과 부착도 및 배양 정도를 알아보기 위해 CCK-8 assay를 시행하였고, 육안적 관찰을 위해 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)를 이용해 세포를 염색하였고, 형광현미경 (Imager. M2. Zeiss, USA)을 통해 관찰하였다.

[0086] 2. 실험결과

[0087] 도 6과 도 7은 회전 건조와 일반 건조 방법으로 만들어진 필름에 293T GARTP 세포를 파종한 후 7일간 배양하여 세포 친화도 및 증식을 확인한 결과이다. 세포파종에 사용된 각 시료는 12wt% 실크 피브로인 용액을 사용하여 제작된 필름이며, 평균 두께 50~60 μm 를 사용하였다. DAPI 염색법을 통해 세포의 핵을 염색한 후, 형광현미경으로 관찰하였다.

[0088] 도 6의 결과 회전 건조 방법과 캐스팅 건조 방법으로 제작된 필름에 파종된 세포의 수는 시간이 지남에 따라 점차 증가하는 양상을 보였다.

[0089] 도 7의 (A-C)는 회전 건조법에 따라 제작된 필름에 세포를 파종한 것이고, (D-F)는 캐스팅 건조법에 따라 제작된 필름에 세포를 파종한 것이다.

[0090] 두 군 모두 세포가 부착되어 증식하고 있는 것을 확인할 수 있었지만, 세포 파종 1일차에서 회전 건조법에 따라 제작된 필름(A)이 캐스팅 건조법에 의해 제작된 필름(D)보다 더 많은 세포가 관찰되었고, 시간이 지남에 따라 세포의 증식이 눈에 띄게 증가됨을 관찰 할 수 있었다. 이러한 결과는 캐스팅 건조 방법으로 제작된 필름 (D-F)의 표면이 회전 건조 방법으로 제작된 필름 (A-C)에 비해 표면의 거칠기가 더 거칠고, 굴곡이 있음에 따라 부착되는 세포의 형태도 그 표면을 따라 자라기에 세포가 동일 높이에 존재하는 것이 아니라 굴곡을 나타내기 때문에 모양은 일정하게 원형을 띄는 것에 비해 (D-F)에 파종된 세포의 핵은 퍼져있거나 선형으로 위치한 비정형적인 형태를 관찰할 수 있었다.

[0091] 이러한 결과는 캐스팅 건조 방법으로 제작된 필름 (D-F)의 표면이 회전 건조 방법으로 제작된 필름 (A-C)에 비해 표면의 거칠기가 더 거칠고, 굴곡이 있음에 따라 부착되는 세포의 형태도 그 표면을 따라 자라기에 세포가 동일 높이에 존재하는 것이 아니라 굴곡을 나타내기 때문에 핵의 모양이 비정형적으로 관찰되었으며, 매끄러운 표면을 가지는 (A-C)군에 부착된 세포는 모두 균일한 높이에 존재하기 때문에 선명하고 일정한 핵 모양이 관찰되는 것으로 사료되어진다.

[0092] 이상 상기와 같이, 본 발명은 실크 피브로인을 이용하여 표면이 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 제작하고자 개발한 방법으로, 기존 실크 피브로인을 이용하여 캐스팅 건조하여 얻은 필름의 단점을 극복하고자 한다. 다시말해, 기존 캐스팅 건조 방식으로는 mm 단위의 두꺼운 필름을 제작하지 못 할 뿐만아니라 양 쪽 표면이 매끄러운 필름 (또는 플레이트)을 제작하기 어려우며 필름 제작 (건조시간)이 오래 걸리는 단점이 있다. 하지만 본 연구에서 개발한 방법인 회전 건조 방식은 양 쪽 표면이 모두 매끄럽고 균일한 형태의 필름을 제작 할 수 있으며,

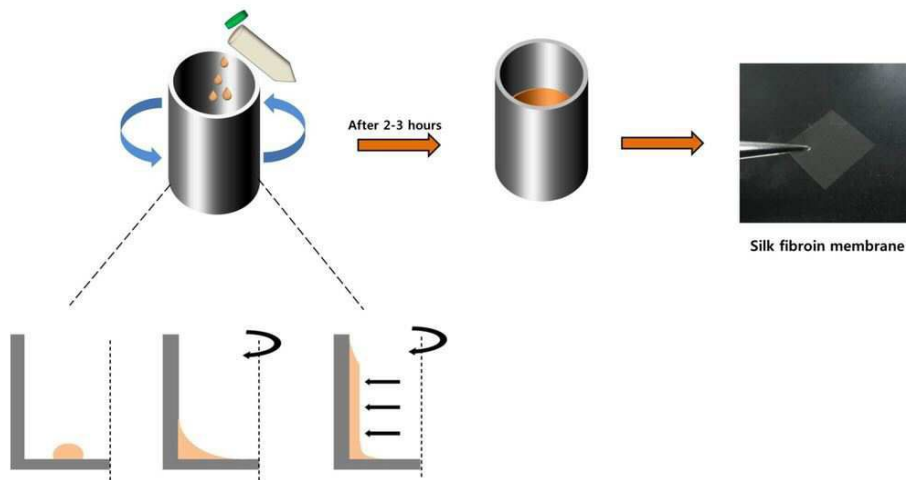
기존 캐스팅 건조 방법보다 빠른 시간에 필름을 제작 할 수 있다는 장점이 있다. 뿐만 아니라 $10\mu\text{m}$ 이하의 얇은 필름부터 mm 단위의 필름 (또는 플레이트)을 제작 할 수 있다. 따라서 기존의 필름 제작 방법의 한계점을 극복 할 수 있는 방법이 될 것이다.

[0093]

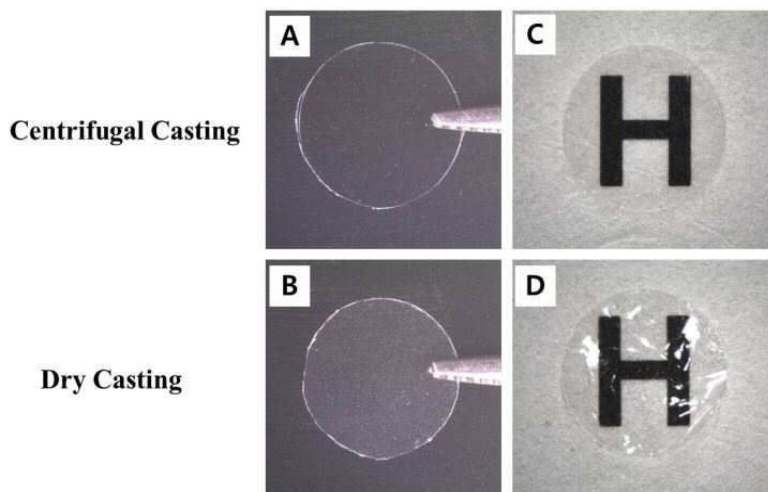
상기의 본 발명은 바람직한 실시예 및 실험예를 중심으로 살펴보았으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적 기술 범위 내에서 상기 본 발명의 상세한 설명과 다른 형태의 실시예 및 실험예들을 구현할 수 있을 것이다. 여기서 본 발명의 본질적 기술범위는 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

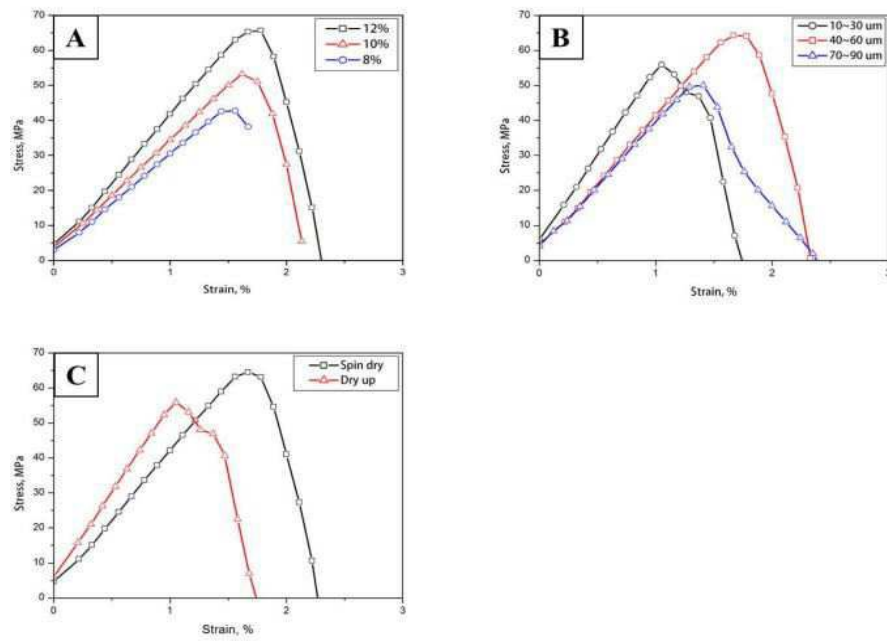
도면1



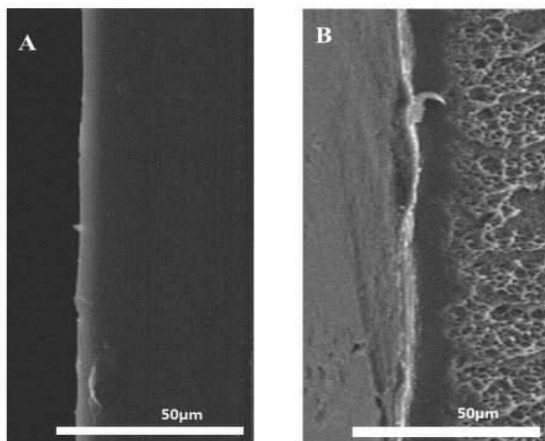
도면2



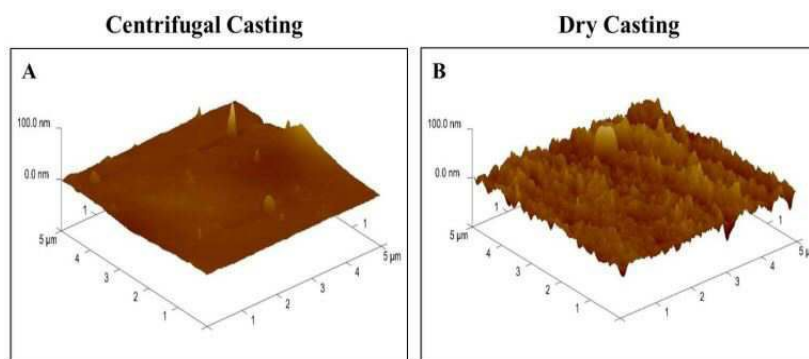
도면3



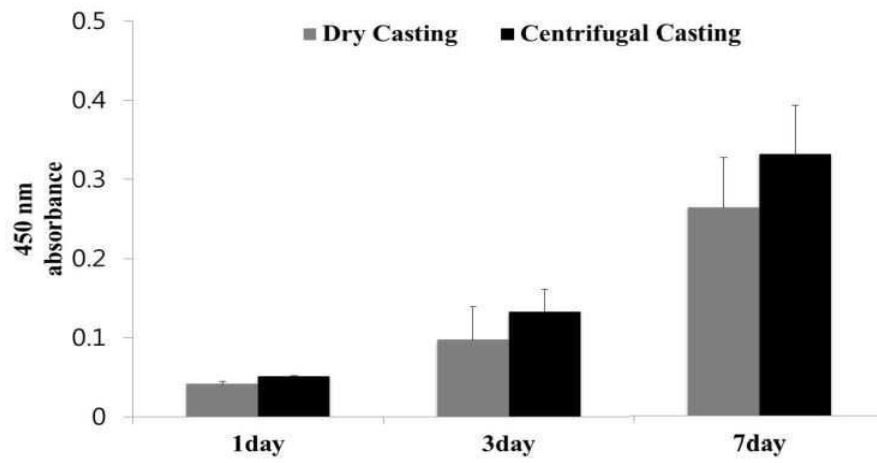
도면4



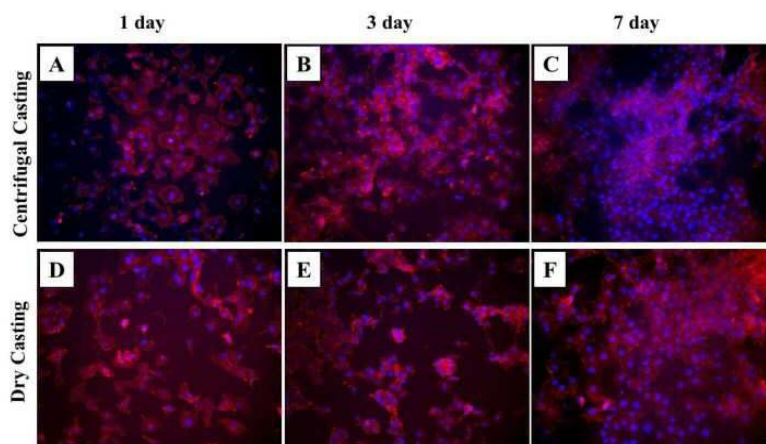
도면5



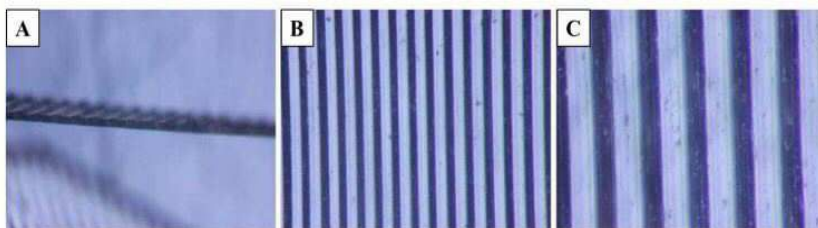
도면6



도면7



도면8



도면9

