



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0021048
(43) 공개일자 2022년02월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

B29C 64/112 (2017.01) A61L 27/20 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01) B29C 64/314 (2017.01)
B33Y 10/00 (2015.01) B33Y 30/00 (2015.01)
B33Y 40/00 (2020.01) B33Y 70/00 (2020.01)
B33Y 80/00 (2015.01) C09D 11/14 (2006.01)
B29K 1/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

B29C 64/112 (2017.08)
A61L 27/20 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0100903

(22) 출원일자 2020년08월12일

심사청구일자 2020년08월12일

(71) 출원인

경북대학교 산학협력단

대구광역시 북구 대학로 80 (산격동, 경북대학교)

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)

(72) 발명자

정영훈

대구광역시 북구 복현로 50, 206동 1103호(
복현동, 복현블루밍브라운스톤 명문세가지아파트)

김준태

대구광역시 달서구 신당로 55, 209동 1307호(신당
동, 성서주공2단지아파트)

박기언

대구광역시 북구 대학로9길 25, 띠아모 306호(산
격동)

(74) 대리인

위병갑

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 및 3D 프린팅 방법

(57) 요약

본 발명은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 및 3D 프린팅 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물은 인쇄 적합성이 우수하고, 원하는 모양으로 인쇄가 용이하며, 빠른 가교결합의 형성 및 프린팅 후 적절한 기계적 특성을 나타내며, 우수한 생체적합성 및 생체친화성으로 인해 생체 소재, 약물전달체 및 조직공학용 지지체로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도8



(52) CPC특허분류

A61L 27/56 (2013.01)
B29C 64/209 (2017.08)
B29C 64/314 (2017.08)
B29C 64/321 (2017.08)
B33Y 10/00 (2013.01)
B33Y 30/00 (2013.01)
B33Y 40/00 (2013.01)
B33Y 70/00 (2013.01)
C09D 11/14 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711106883
과제번호	2020R1C1C1005251
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	신진연구지원사업
연구과제명	생물친화형 공정을 이용한 지방대체 나노셀룰로오스 유도체 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	경북대학교 산학협력단
연구기간	2020.03.01 ~ 2025.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1405004427
과제번호	2020225C10-2022-AC01
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	한국임업진흥원
연구사업명	목재자원의 고부가가치 소재 개발
연구과제명	목재 셀룰로오스 기반 생분해성 냉장식품용 포장재 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	경북대학교 산학협력단
연구기간	2020.04.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

마이크로피브릴화 셀룰로오스(Microfibrillated Cellulose) 및 구아검(Guar Gum)을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 3D 프린터에 충전하고, 3D 프린팅을 수행하여 3D 구조체를 프린팅하는 단계(단계1); 및

상기 단계 1의 3D 구조체를 가교제를 사용하여 경화시키는 단계(단계 2); 를 포함하는 3D 바이오 프린팅 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 단계 1은 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물 100 중량부 기준 마이크로피브릴화 셀룰로오스 0.47 내지 1.43 중량부 및 구아검 2.3 내지 7.2 중량부 포함하는 것을 특징으로 하는 3D 바이오 프린팅 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 단계 2는 0.05 내지 1M 농도의 가교제에 상기 단계 2의 3D 구조체를 20 내지 60분간 침지하여 경화시키는 것을 특징으로 하는 3D 바이오 프린팅 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 단계 2의 가교제는 붕사(borax)인 것을 특징으로 하는 3D 바이오 프린팅 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 단계 1은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 충전밀도 40 내지 60%, 충전속도 5 내지 12mm/s 및 노즐직경 0.6 내지 1.5mm의 조건으로 3D 프린팅을 수행하여 3D 구조체를 프린팅하는 것을 특징으로 하는 3D 바이오 프린팅 방법.

청구항 6

제1항의 방법에 따라 제조된 3D 생체 소재.

청구항 7

제6항의 3D 생체 소재를 포함하는 약물 전달체.

청구항 8

제6항의 3D 생체 소재를 포함하는 조직공학용 지지체.

청구항 9

마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물; 및

상기 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 경화시키는 가교제; 를 포함하는 3D 바이오 프린팅용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 및 3D 프린팅 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 3D 프린팅 기술이 점차 발전함에 따라 좀 더 정밀하고 세밀한 3D 형상을 제조할 수 있게 되면서, 이를 의료·바이오 분야에 접목시켜 의료기기 부품이나 실제 인간의 조직을 거의 그대로 모방한 미세 및 거대 조직 구조체인 인체모형, 피부조직 및 신체 장기 재생을 제조하는데 활용되고 있다.

[0003] 초반에는 고체 필라멘트를 녹여서 한층 한층 적층시키면서 3D 프린팅하는 방식인 FDM 기술에 열가소성 생체적합 고분자를 적용하여 조직공학용 인공지지체를 제조하였으나, 최근에는 조직공학용 지지체 이외에도 수술시물레이션 및 수술 임플란트 제작, 개인별 맞춤형 보형물 제작, 인공 혈관, 인공 장기 등 의학·바이오 분야에서 다양하게 적용될 수 있도록 연구개발이 진행되고 있다.

[0004] 특히, 조직공학용 지지체는 구성재료의 선택과 구조제어 기술이 매우 중요하다. 즉, 지지체는 자가복구기능을 통해 손실된 조직을 재생시키기 위하여 조직과 조직을 이어주는 다리와 같은 역할을 하며, 이를 위하여 조직재생이 원활히 이루어지도록 세포친화성이 뛰어나야 한다. 또한, 세포가 3차원적으로 성장할 수 있도록 영양분 및 배설물 등의 교환이 잘 이루어질 수 있도록 일정한 크기 영역에서 3차원적으로 연결되어 있는 기공구조를 가져야 하며, 조직의 재생속도에 맞추어 분해되어 없어지는 생분해성과 조직이 재생되는 동안 형태를 유지시켜줄 수 있는 기계적 강도를 가져야하며, 생체안정성 또한 뛰어나야 한다. 특히, 뼈와 치아와 같은 경조직 재생에 있어서는 재생부위에 따른 기계적 물성확보가 중요하다.

[0005] 따라서, 이러한 조직공학용 지지체 뿐만 아니라 나아가서는 수술시물레이션 및 수술 임플란트 제작, 개인별 맞춤형 보형물 제작, 인공 혈관, 인공 장기 등의 바이오 구조체를 제조할 수 있는 재료인 바이오 잉크는 앞서 언급한 조건을 만족하기에는 아직까지 많은 한계점을 나타내고 있다.

[0006] 3D 바이오 프린팅에 사용되기 위해 요구되는 바이오 잉크의 특성으로는 먼저, 우수한 생체적합성이 요구되고, 노즐을 통하여 프린팅되는 3D 프린터를 사용시 미세구경의 디스펜싱 노즐(dispensing nozzle)을 원활히 통과하여 원하는 패턴으로 프린팅 될 수 있는 물리적 성질을 가져야 한다. 또한, 3D 프린팅 후 세포-특이적 신호를 제공하면서 기계적인 지지체 역할을 유지할 수 있어야 한다.

[0007] 이에 본 발명자들은 MFC 및 구아검을 포함하는 바이오 잉크 조성물로 3D 프린팅하여 가교결합하는 경우, 인쇄적합성이 우수하고, 원하는 모양으로 인쇄가 용이하며, 빠른 가교결합의 형성 및 프린팅 후 적절한 기계적 특성을 나타내며, 생체적합성 및 생체친화성을 띄어 생체소재, 약물전달체 및 조직공학용 지지체로 유용한 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국공개특허 10-2020-0029656호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 3D 바이오 프린팅 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 상기 3D 바이오 프린팅 방법에 따라 제조된 3D 생체 소재를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 3D 생체 소재를 포함하는 약물 전달체를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 상기 3D 생체 소재를 포함하는 조직공학용 지지체를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물; 및

[0014] 상기 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 경화시키는 가교제; 를 포함하는 3D 바이오 프린팅용 키트를 제

공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 상기 목적을 해결하기 위하여,
- [0016] 본 발명은 마이크로피브릴화 셀룰로오스(Microfibrillated Cellulose) 및 구아검(Guar Gum)을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 3D 프린터에 충전하고, 3D 프린팅을 수행하여 3D 구조체를 프린팅하는 단계(단계1); 및
- [0017] 상기 단계 1의 3D 구조체를 가교제를 사용하여 경화시키는 단계(단계 2); 를 포함하는 3D 바이오 프린팅 방법을 제공한다.
- [0018] 또한, 본 발명은 본 발명의 3D 바이오 프린팅 방법에 따라 제조된 3D 생체 소재를 제공한다.
- [0019] 나아가 본 발명은 상기 3D 생체 소재를 포함하는 약물 전달체를 제공한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상기 3D 생체 소재를 포함하는 조직공학용 지지체를 제공한다.
- [0021] 나아가 본 발명은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물; 및
- [0022] 상기 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 경화시키는 가교제; 를 포함하는 3D 바이오 프린팅용 키트를 제공한다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명에 따른 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물은 인쇄 적합성이 우수하고, 원하는 모양으로 인쇄가 용이하며, 빠른 가교결합의 형성 및 프린팅 후 적절한 기계적 특성을 나타내며, 우수한 생체적합성 및 생체친화성으로 인해 생체 소재, 약물전달체 및 조직공학용 지지체로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 본 발명의 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 사용한 3D 구조체의 진폭 스윙 테스트 결과이다.
- 도 2는 본 발명의 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 사용한 3D 구조체의 시간 스윙 테스트 결과이다.
- 도 3은 본 발명의 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 사용한 3D 구조체의 주파수 스윙 테스트 결과이다.
- 도 4는 본 발명의 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 사용한 3D 구조체의 치수 오차를 확인한 결과이다.
- 도 5는 충전 밀도에 따른 3D 구조체의 치수 오차를 확인한 결과이다.
- 도 6은 인쇄 속도에 따른 3D 구조체의 치수 오차를 확인한 결과이다.
- 도 7은 노즐 직경에 따른 3D 구조체의 치수 오차를 확인한 결과이다.
- 도 8은 본 발명의 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 사용한 다양한 모양의 3D 구조체 인쇄 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0027] **3D 바이오 프린팅 방법**
- [0028] 본 발명은 마이크로피브릴화 셀룰로오스(Microfibrillated Cellulose) 및 구아검(Guar Gum)을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 3D 프린터에 충전하고, 3D 프린팅을 수행하여 3D 구조체를 프린팅하는 단계(단계1); 및
- [0029] 상기 단계 1의 3D 구조체를 가교제를 사용하여 경화시키는 단계(단계 2); 를 포함하는 3D 바이오 프린팅 방법을 제공한다.
- [0030] 본 발명의 3D 바이오 프린팅 방법에 있어서, 상기 단계 1은 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물 100 중량부

기준 마이크로피브릴화 셀룰로오스 0.47 내지 1.43 중량부 및 구아검 2.3 내지 7.2 중량부 포함할 수 있으며, 바람직하게 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물 100 중량부 기준 마이크로피브릴화 셀룰로오스 0.7 내지 1.2 중량부 및 구아검 3.5 내지 4.8 중량부 포함할 수 있다.

[0032] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 조성의 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 사용할 경우, 강한 전단 감소 경향을 지니고, 높은 점성을 지니며, 치수 오차가 적어 3D 프린팅이 용이한 장점이 있다.

[0033] 본 발명의 3D 바이오 프린팅 방법에 있어서, 상기 단계 2는 0.05 내지 1M 농도의 가교제에 상기 단계 2의 3D 구조체를 20 내지 60분간 침지하여 경화시킬 수 있으며, 바람직하게 0.07 내지 0.5M 농도의 가교제에 상기 단계 2의 3D 구조체를 25 내지 50분간 침지하여 경화시킬 수 있으며, 보다 바람직하게 30분 이상 침지하여 경화시킬 수 있다.

[0034] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 붕사(borax)를 사용할 수 있으며, 가교제로 붕사를 사용할 경우, 경화시간이 단축되고, 3D 구조체의 강도가 증가하는 장점이 있다.

[0035] 본 발명의 3D 바이오 프린팅 방법에 있어서, 상기 단계 1은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 충전밀도 40 내지 60%, 충전속도 5 내지 12mm/s 및 노즐직경 0.6 내지 1.5mm의 조건으로 3D 프린팅을 수행하여 3D 구조체를 프린팅할 수 있으며, 바람직하게 충전밀도 45 내지 55%, 충전속도 8 내지 11mm/s 및 노즐직경 0.6 내지 1.0mm의 조건으로 3D 프린팅을 수행하여 3D 구조체를 프린팅할 수 있다.

[0037] 3D 생체 소재

[0038] 본 발명은 상기 3D 바이오 프린팅 방법에 따라 제조된 3D 생체 소재를 제공한다.

[0040] 약물 전달체

[0041] 본 발명은 상기 3D 생체 소재를 포함하는 약물 전달체를 제공한다.

[0042] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 3D 생체 소재에 약물을 주입시켜 체내에 안정적으로 전달하는 용도로 사용될 수 있다.

[0044] 조직공학용 지지체

[0045] 본 발명은 상기 3D 생체 소재를 포함하는 조직공학용 지지체를 제공한다.

[0046] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 3D 생체 소재를 생체 조직의 형태로 만들어 이식함으로써 신체의 기능을 유지, 향상 또는 복원하는 것을 목적으로 하는 조직 공학(tissue engineering) 분야에서 사용될 수 있는 모든 지지체를 포함하는 의미로 조직공학용 지지체로 사용될 수 있다.

[0048] 3D 바이오 프린팅용 키트

[0049] 본 발명은 마이크로피브릴화 셀룰로오스 및 구아검을 포함하는 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물; 및

[0050] 상기 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 경화시키는 가교제; 를 포함하는 3D 바이오 프린팅용 키트를 제공한다.

[0051] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 3D 바이오 프린팅용 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물 100 중량부 기준 마이크로피브릴화 셀룰로오스 0.47 내지 1.43 중량부 및 구아검 2.3 내지 7.2 중량부 포함할 수 있으며, 바람직하게 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물 100 중량부 기준 마이크로피브릴화 셀룰로오스 0.7 내지 1.2 중량부 및 구아검 3.5 내지 4.8 중량부 포함할 수 있다.

[0052] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 붕사(borax)를 사용할 수 있으며, 0.05 내지 1M 농도의 가교제에 20 내지 60분간 침지하여 경화시킬 수 있으며, 바람직하게 0.07 내지 0.5M 농도의 가교제에 25 내지 50분간 침

지하여 경화시킬 수 있으며, 보다 바람직하게 30분 이상 침지하여 경화시킬 수 있다.

하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물의 제조 및 3D 프린팅

<1-1> 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물의 제조

3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 제조하기 위하여 마이크로피브릴화 셀룰로오스(microfibrillated cellulose; MFC)가 1% 되도록 10g의 마이크로피브릴화 셀룰로오스와 990ml의 증류수를 넣은 다음 32,000rpm에서 120분 이상 블렌딩하였다. 그 후, 구아검(Guar gum; GG)을 각각 1, 3, 5, 7%를 첨가하여 혼합한 뒤, 호모게나이저로 8,000 rpm에서 2분씩 3번 수행하였다. 주사기에 샘플을 넣은 뒤 90 ℃에서 20분간 워터배스에 넣은 뒤, 냉장보관 하였고, 사용하기 1시간 전에 꺼내 실온에 놔둔 뒤 실험을 진행하였다.

표 1

구분	MFC (중량%)	구아검 (중량%)
실시예 1-1-1	1	1
실시예 1-1-2	1	3
실시예 1-1-3	1	5
실시예 1-1-4	1	7

<1-2> 3D 바이오 프린팅

상기 실시예 1에서 제조한 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 조성물을 하기 표 2의 3D 프린팅 조건으로 주사기(10ml) 압출 모드가 장착된 3D-바이오 프린터(Invivo, Rokit healthcare, Korea)를 사용하여, 3D 구조체를 프린팅하였다. 보다 구체적으로, 노즐의 직경은 800 μm, 3D 물체의 밀도는 50%, 프린팅 속도는 첫 레이어 5mm/s, 그 외의 레이어 5mm/s, layer height는 400 μm, 프린팅 온도는 30 ℃로 맞추어 실험을 진행하였다.

표 2

프린팅 매개변수	값
노즐 직경(nozzle diameter)	800 μm
충전밀도(infill density)	50%
충전타입(infill type)	Line
프린팅 속도(printing speed)	First layer : 5mm/s
	infill : 5mm/s
층 높이(layer height))	400 μm
프린팅 온도(printing temperature)	30℃

<1-3> 가교결합

상기 실시예 1-2에서 3D 바이오 프린팅하여 제조한 3D 구조체를 0.1M의 붕사(borax, Sigma-Aldrich, USA) 현탁액에 30분간 가교결합을 진행하여 경화시켰다.

<실험예 1> 유연물성 확인

[0070] 상기 실시예 1-2에서 제조한 3D 구조체의 유변물성 확인 실험은 다음과 같은 조건에서 진행하였다. 샘플의 동적 점탄성은 25mm 직경의 사포 평행 플레이트 (PP25 / S) 형상 및 1mm의 갭으로 작동하는 control-stress rheometer (AR2000, TA 기기)를 사용하여 관찰하였다. 약 1.5ml의 샘플을 평행판에 로딩한 후, 잔류힘을 제거하기 위해, 모든 샘플을 10 분 동안 정지시켰다.

[0071] <1-1> 진폭 스위프 테스트(Amplitude sweep test)

[0072] 동적 점탄성 측정은 Stress sweep mode를 사용하여, 0.01-100Pa 범위의 선형 비스커스(linear viscous) 영역에서 10 rad/s의 속도로 선형 영역을 수득하고 측정하였다.

[0073] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 입력 응력(input stress)에 의해 파괴되지 않고 특성을 유지하는 것을 확인하였으며, G' 및 G'' 값의 평탄영역(plateau region)은 0.01 내지 10Pa의 범위에서 관찰되었다. 따라서, 후속의 진동 테스트(oscillatory test)는 0.4Pa에서 수행하였다.

[0075] <1-2> 시간 스위프 테스트(Time sweep test)

[0076] 측정동안 샘플이 증발하는지 확인하기 위해 시간 스위프 테스트를 수행하였다. 시간 스위프 테스트는 저장 모듈러스(G') 및 손실 모듈러스(G'')의 변화는 10분에 걸쳐 10rad/s의 속도로 측정되었다.

[0077] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 초기 지점 0.14 초에서 57.01Pa의 G' , 12.27Pa의 G'' 는 512.9초의 진동 후에 11.41Pa의 59.41Pa의 G' , 11.41Pa의 G'' 로 거의 유지되었다. 따라서, 10%의 허용범위 내의 값으로 인해 증발에 따른 구조적 재배열이 없는 것으로 확인되었다.

[0079] <1-3> 주파수 스위프 테스트(Frequency sweep test)

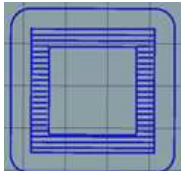
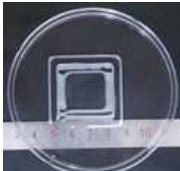
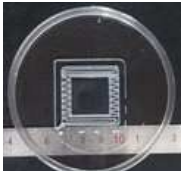
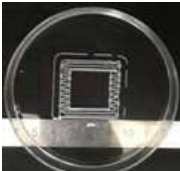
[0080] 진폭 테스트에 나타난 선형 영역에서 Pa에서 측정된 신호를 유지하기 위해 주파수 스위프 테스트가 수행되었다. 저장 모듈러스, 손실 모듈러스 및 복합 점도는 0.1-100rad/s의 범위에서 측정되었다.

[0081] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 진동이 증가함에 따라 MFC의 복합 점도는 지속적으로 감소하여 MFC가 비 뉴턴 운동, 전단 박화 및 유사 소성 거동을 나타냈다. 구아검의 양이 증가함에 따라 모든 응력 범위에서 점도가 0.1rad/s에서 100rad/s로 감소하였다. 또한, G''/G' 로 정의되는 탄젠트 델타를 보게 되면 3% 구아검을 첨가하는 실시예 1-1-2 부터 주파수에 따라 감소하는 영향을 보이는데 이는 겔형 구조를 가질 수 있다는 것을 의미한다.

[0083] <실험예 2> 3D 바이오 프린팅 결과 확인

[0084] 상기 실시예 1-1에서 제조한 바이오 잉크 조성물을 이용하여, 3D 프린팅으로 2D 물체를 뽑아, 확인한 결과, 하기 표 3에 나타난 바와 같이, 실시예 1-1-1은 액체의 성질이 띄는 것을 볼 수 있다. 또한 길이를 재었을 때 서로 붙어있으려는 성질이 강하다보니 원했던 총 길이 보다는 작게 프린팅 된 것을 볼 수 있었다. 또한 실시예 1-1-2와 실시예 1-1-3의 경우는 설정했던 모양과 비슷하면서 길이와 폭도 비슷하게 나온 것을 볼 수 있었고, 실시예 1-1-4의 경우는 이 잉크의 점탄성이 높아 3D 프린팅으로 모양이 나오지 않는 것을 확인하였다. 또한, 상기 실시예 1-1-2 내지 1-1-4의 바이오 잉크 조성물을 사용하여 3D 물체를 뽑아, 치수 오차를 확인한 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 실시예 1-1-3이 가장 치수 오차가 적어 이후 실험에 사용하였다.

표 3

	Designed shape	실시예 1-1-1	실시예 1-1-2	실시예 1-1-3	실시예 1-1-4
[0086]					

Width (cm)	3.2	$3.11 \pm 0.01^{1)b2)}$	3.21 ± 0.01^a	3.21 ± 0.01^a	N.E. ³⁾
Length (cm)	0.6	0.57 ± 0.04^a	0.61 ± 0.03^a	0.58 ± 0.01^a	N.E.
¹⁾ Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation (n=3) ²⁾ a-b means with different letters with in a same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test ³⁾ N.E. : Not extruded					

[0089] <실험예 3> 프린팅 조건 테스트

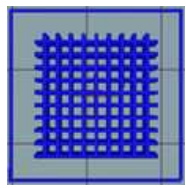
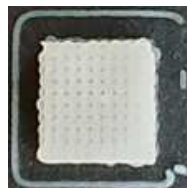
[0090] 압출 형태에 대한 프린팅 효과를 평가하기 위해, 3D 큐브 테스트(1.6cm $\times$ 1.6cm $\times$ 1.0cm)를 사용하여 샘플 밀도, 인쇄 속도 및 노즐 직경에 대한 실험을 수행 하였다. 길이, 너비 및 높이는 버니어 캘리퍼(PITA20, Kanon, Japan)로 분류되고 부피 치수 오차로 표시되었다.

[0091] <3-1> 충전 밀도

[0092] 30, 40, 50 및 60%에서 충전 밀도 차이를 확인하기 위해 테스트를 수행하였다. 다른 조건은 상기 표 2의 조건과 동일하게 수행하였다.

[0093] 그 결과, 표 4에 나타낸 바와 같이, 폭과 길이는 충전 밀도에 크게 영향을 받지 않았다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 30%의 충전 밀도에서 제품의 오차는 설계된 형상과 비교하여 약 20%였으며, 충전 밀도를 30%에서 50%로 증가시키면 제품의 정확도가 약 70%에서 90%로 증가하였다. 충전 밀도의 증가는 폭과 길이 모두 더 큰 편차를 나타내었다. 따라서, 부피 및 치수 오차를 고려하면 50%의 충전 밀도가 가장 적합한 것을 확인하였다.

표 4

Infill density (%)	Designed shape	30	40	50	60
					
Width (cm)	1.6	$1.45 \pm 0.04^{1)}$	1.42 ± 0.00	1.56 ± 0.01	1.73 ± 0.01
Length (cm)	1.6	1.51 ± 0.03	1.49 ± 0.02	1.48 ± 0.02	1.73 ± 0.00
Height (cm)	1.0	0.80 ± 0.05	0.96 ± 0.02	0.99 ± 0.01	0.96 ± 0.00
Volume (cm ³)	2.56	$1.79 \pm 0.01^{d2)}$	2.02 ± 0.03^c	2.33 ± 0.02^b	2.85 ± 0.03^a
¹⁾ Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation (n=3) ²⁾ a-d means with different letters with in a same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test					

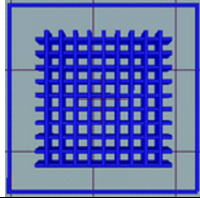
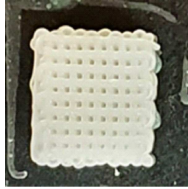
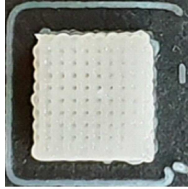
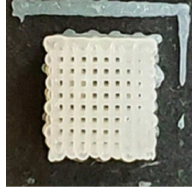
[0097] <3-2> 인쇄 속도

[0098] 1, 5 및 10mm/s의 인쇄 속도에 따른 모양 차이를 확인하기 위해 실험을 수행하였다. 속도가 특정 값을 초과하면

모터가 손상될 수 있으므로 최대 10mm/s의 속도로 수행하였다. 다른 조건은 상기 표 2의 조건과 동일하게 수행하였다.

[0099] 그 결과, 하기 표 5 및 도 6에 나타난 바와 같이, 폭, 길이, 높이 및 부피는 인쇄 속도에 따른 차이가 없는 것을 확인하였다. 따라서 효율성을 고려하여 가장 빠른 10mm/s의 인쇄 속도를 선택하였다.

표 5

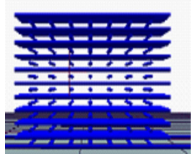
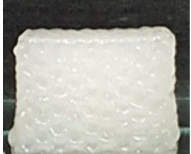
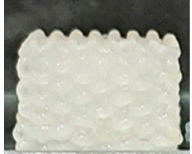
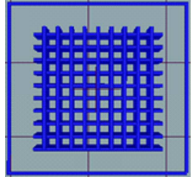
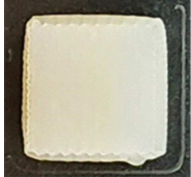
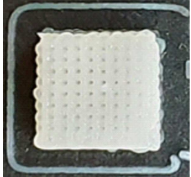
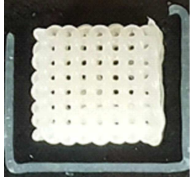
Printing speed (mm/s)	Designed shape	1	5	10
				
Width (cm)	1.6	$1.50 \pm 0.02^{1)}$	1.56 ± 0.01	1.60 ± 0.03
Length (cm)	1.6	1.54 ± 0.01	1.48 ± 0.02	1.55 ± 0.03
Height (cm)	1.0	0.98 ± 0.01	0.99 ± 0.01	0.96 ± 0.01
Volume (cm ³)	2.56	$2.25 \pm 0.03^{b2)}$	2.33 ± 0.02^a	2.39 ± 0.02^a
¹⁾ Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation (n=3) ²⁾ a-b means with different letters with in a same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test				

[0102] <3-3> 노즐 직경

[0103] 0.4, 0.8, 1.0 및 1.5mm 노즐 직경 차이에 따른 효과를 확인하였다. 다른 조건은 상기 표 2의 조건과 동일하게 수행하였다.

[0104] 그 결과, 하기 표 6 및 도 7에 나타난 바와 같이, 노즐 직경 0.8, 1.0 및 1.5mm에서 인쇄된 제품은 큰 차이를 보이지 않았으나, 0.4mm 노즐에서 인쇄된 제품의 경우 치수오차가 큰 것을 확인하였다. 또한, 0.8mm의 노즐 직경에서 인쇄할 경우 치수 오차가 가장 적은 것을 확인하였다.

표 6

Nozzle diameter (mm)	Designed shape	0.4	0.8	1.0	1.5
					
					
Width (cm)	1.6	$1.83 \pm 0.02^{1)}$	1.56 ± 0.01	1.66 ± 0.02	1.51 ± 0.04
Length (cm)	1.6	1.81 ± 0.03	1.48 ± 0.02	1.65 ± 0.01	1.52 ± 0.03

Height (cm)	1.0	1.00±0.01	0.99±0.01	1.02±0.02	1.04±0.02
Volume (cm ³)	2.56	3.28±0.08 ^{a2)}	2.33±0.02 ^b	2.34±0.02 ^b	2.50±0.05 ^b
¹⁾ Data are expressed as mean±standard deviation (n=3) ²⁾ ^{a-b} means with different letters with in a same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test					

[0108] <실험예 4> 텍스처 특성 확인

[0109] 상기 실시예 1-2의 방법으로 제조한 3D 구조체를 붕사에 0분, 15분, 30분, 45분 및 60분간 침지하여 가교결합하였다. 그 후, 텍스처 분석기(실제 사용 기기 이름)를 이용하여 TPA(Texture Profile Analysis)를 구하였다. 구한 TPA 곡선으로부터 강도(Hardness), 점착성(Adhesiveness), 탄력성(Springness) 및 응집성(Cohesiveness)의 특성치를 비교하였다.

[0110] 강도(Hardness)는 주어진 강도에서 시편을 수축시키는데 필요한 최대 힘으로 정의되며, 텍스처 프로파일 분석(TPA)을 측정 할 때, 물리적 특성을 나타내는 대표적인 값으로 강도(Hardness)가 일반적으로 사용된다. 점착성(Adhesiveness)은 샘플에 점성이 있는 경우 샘플이 프로브에 달라붙고 초기 수축 과정에서 프로브가 수축하여 프로브가 아래쪽으로 이동하는 것을 의미한다. 탄력성(Springness)은 샘플이 형성된 후 샘플이 원래 모양으로 돌아갈 수 있는 능력을 나타내며, 응집성(Cohesiveness)은 샘플 부분의 점착성 및 응집력의 지표로서 사용될 수 있다(J Hurler et al., 2012, KS Sandhu et al., 2010).

[0111] 그 결과, 하기 표 7에 나타낸 바와 같이, 붕사(borax)로 가교결합하는 경우, 강도가 높아지는 것을 확인하였으며, 특히 붕사로 30분 및 45분간 침지하여 가교결합하는 경우, 가장 높은 강도를 갖는 것을 확인하였다. 또한, 붕사로 15분 또는 60분간 침지하여 가교결합하는 경우, 30분 또는 45분에 비해 강도가 떨어지는 것을 확인하였으며, 따라서, 30분간 가교결합하는 것이 가장 바람직한 것을 확인하였다.

표 7

시간	강도(N)	점착성(mJ)	탄력성(N)	응집성(N)
0분	1.52±0.55	1.34±0.02	0.17±0.42	0.30±0.02
15분	52.04±3.72	0.15±0.01	0.32±0.42	0.07±0.01
30분	73.05±4.60	0.30±0.71	0.53±0.02	0.07±0.02
45분	73.05±4.88	0.32±0.18	0.47±0.75	0.04±0.03
60분	57.45±5.87	0.27±0.11	0.43±0.01	0.03±0.03

[0115] <실험예 5> 저장시간 동안 모양의 변화 확인

[0116] 하기 표 8과 같이 바이오 잉크 조성물을 제조하고, 이를 상기 실시예 1-2의 방법으로 3D 바이오 프린팅 하여, 제조한 3D 구조체를 하기 표 8의 가교제를 사용하여 30분간 침지하여 가교한 후, 저장시간 동안 모양 변화를 확인하기 위해 24시간 동안 70% 습도와 실온에서 실험을 진행하였다. 큐브 테스트로 가로, 세로 1.6cm 높이 1.0cm의 직육면체를 만들어서 저장시간 동안의 모양 변화를 관찰하였다.

표 8

구분	바이오 잉크 조성물		가교제
	구성 1 (1 중량%)	구성 2 (5 중량%)	
실시예 1-3	MFC	구아검	붕사

비교예 1	MFC	구아검	CaCl ₂
비교예 2	MFC	알긴산	-
비교예 3	MFC	알긴산	붕사
비교예 4	MFC	알긴산	CaCl ₂
비교예 5	MFC	옥살산	-
비교예 6	MFC	옥살산	붕사
비교예 7	MFC	옥살산	CaCl ₂
비교예 8	NFC	구아검	-
비교예 9	NFC	구아검	붕사
비교예 10	NFC	구아검	CaCl ₂
비교예 11	NFC	알긴산	-
비교예 12	NFC	알긴산	붕사
비교예 13	NFC	알긴산	CaCl ₂
비교예 14	NFC	옥살산	-
비교예 15	NFC	옥살산	붕사
비교예 16	NFC	옥살산	CaCl ₂

[0120] 그 결과, 하기 표 9에 나타낸 바와 같이, 실시예 1-3의 MFC 및 구아검을 포함하는 바이오 잉크 조성물로 3D 프린팅을 하여 3D 구조체를 제조하고, 이를 붕사로 가교결합하는 경우, 3D 프린팅 후 모양이 원하는 사이즈로 만들어지고, 유지시간이 증가하여도 모양이 변화가 없는 것을 확인하였다. 비교예 1 내지 16의 경우, 3D 프린팅을 하였을때 모양이 제대로 만들어 지지 않거나, 또는 모양은 제대로 만들어 지나, 모양이 장시간 유지되지 않아, 가로, 세로의 길이가 늘어나고, 높이가 줄어드는 것을 확인하였으며, 또한, 수분이 빠져나가면서, 가로, 세로 및 높이의 길이가 줄어들다가 모양이 유지되지 않고, 가로, 세로의 길이가 늘어나는 것을 확인하였다.

표 9

		0H	3H	6H	12H	24H
실시예 2	가로(cm)	1.59±0.03	1.60±0.02	1.58±0.04	1.57±0.01	1.57±0.02
	세로(cm)	1.60±0.01	1.59±0.03	1.58±0.02	1.58±0.02	1.57±0.01
	높이(cm)	1.00±0.02	1.00±0.04	0.99±0.02	0.97±0.02	0.96±0.04
비교예 1	가로(cm)	1.57±0.01	1.59±0.02	1.61±0.03	1.54±0.01	1.43±0.02
	세로(cm)	1.61±0.03	1.66±0.01	1.61±0.04	1.57±0.02	1.46±0.01
	높이(cm)	0.99±0.02	1.04±0.01	1.10±0.01	0.95±0.02	0.88±0.01
비교예 2	가로(cm)	1.56±0.02	1.59±0.01	1.62±0.04	1.68±0.01	1.71±0.04
	세로(cm)	1.56±0.04	1.58±0.01	1.64±0.02	1.66±0.02	1.69±0.01
	높이(cm)	1.01±0.01	0.96±0.02	0.84±0.04	0.80±0.01	0.75±0.02
비교예 3	가로(cm)	1.54±0.01	1.37±0.01	1.21±0.04	1.20±0.01	1.20±0.04
	세로(cm)	1.54±0.03	1.38±0.04	1.33±0.01	1.24±0.02	1.04±0.01
	높이(cm)	0.99±0.02	0.87±0.02	0.76±0.03	0.62±0.02	0.55±0.05
비교예 4	가로(cm)	1.56±0.02	1.52±0.04	1.47±0.02	1.58±0.04	1.68±0.04
	세로(cm)	1.57±0.01	1.50±0.02	1.42±0.01	1.57±0.03	1.66±0.03
	높이(cm)	0.97±0.04	0.96±0.01	0.94±0.02	0.84±0.02	0.75±0.01
비교예 5	가로(cm)	1.54±0.02	1.59±0.02	1.64±0.02	1.69±0.04	1.74±0.01
	세로(cm)	1.59±0.01	1.64±0.02	1.69±0.01	1.72±0.02	1.78±0.02
	높이(cm)	1.01±0.01	0.89±0.02	0.82±0.04	0.77±0.01	0.65±0.01
비교예 6	가로(cm)	1.52±0.02	1.41±0.02	1.35±0.02	1.25±0.02	1.17±0.04
	세로(cm)	1.50±0.01	1.44±0.01	1.33±0.04	1.26±0.03	1.21±0.04
	높이(cm)	0.97±0.04	0.91±0.02	0.86±0.03	0.74±0.03	0.66±0.01
비교예 7	가로(cm)	1.55±0.01	1.48±0.04	1.56±0.02	1.59±0.04	1.68±0.04
	세로(cm)	1.54±0.01	1.50±0.02	1.57±0.01	1.60±0.03	1.71±0.03
	높이(cm)	0.94±0.02	0.95±0.01	0.96±0.02	1.02±0.02	1.09±0.01

비교예 8	가로(cm)	1.50±0.01	1.64±0.02	1.68±0.04	1.72±0.01	1.78±0.02
	세로(cm)	1.49±0.01	1.58±0.04	1.62±0.05	1.74±0.02	1.77±0.02
	높이(cm)	0.92±0.01	0.78±0.01	0.75±0.02	0.74±0.01	0.71±0.01
비교예 9	가로(cm)	1.51±0.01	1.47±0.02	1.34±0.04	1.30±0.03	1.23±0.03
	세로(cm)	1.51±0.01	1.46±0.01	1.42±0.01	1.47±0.04	1.35±0.03
	높이(cm)	0.95±0.01	0.94±0.02	0.91±0.03	0.85±0.02	0.78±0.04
비교예 10	가로(cm)	1.53±0.01	1.50±0.02	1.62±0.04	1.67±0.01	1.71±0.04
	세로(cm)	1.47±0.01	1.45±0.01	1.59±0.01	1.70±0.02	1.73±0.02
	높이(cm)	0.94±0.01	0.91±0.05	0.81±0.02	0.75±0.01	0.68±0.04
비교예 11	가로(cm)	1.51±0.02	1.67±0.02	1.76±0.04	1.89±0.01	2.02±0.04
	세로(cm)	1.54±0.02	1.70±0.01	1.82±0.01	1.86±0.02	1.99±0.02
	높이(cm)	1.03±0.03	0.91±0.05	0.81±0.02	0.75±0.01	0.68±0.04
비교예 12	가로(cm)	1.52±0.01	1.41±0.01	1.35±0.04	1.22±0.01	1.12±0.04
	세로(cm)	1.52±0.03	1.39±0.04	1.31±0.01	1.27±0.02	1.25±0.01
	높이(cm)	0.96±0.02	0.91±0.02	0.83±0.03	0.81±0.02	0.74±0.05
비교예 13	가로(cm)	1.51±0.02	1.49±0.04	1.41±0.02	1.52±0.01	1.66±0.02
	세로(cm)	1.49±0.01	1.41±0.02	1.34±0.04	1.47±0.03	1.71±0.03
	높이(cm)	0.89±0.03	0.81±0.01	0.76±0.02	0.71±0.02	0.69±0.01
비교예 14	가로(cm)	1.52±0.01	1.60±0.02	1.67±0.02	1.74±0.04	1.81±0.01
	세로(cm)	1.57±0.01	1.71±0.02	1.75±0.01	1.79±0.02	1.84±0.02
	높이(cm)	1.04±0.01	0.75±0.02	0.61±0.03	0.59±0.01	0.55±0.01
비교예 15	가로(cm)	1.50±0.01	1.40±0.02	1.36±0.02	1.26±0.02	1.21±0.03
	세로(cm)	1.50±0.04	1.42±0.01	1.37±0.04	1.29±0.01	1.27±0.03
	높이(cm)	0.94±0.04	0.86±0.02	0.82±0.03	0.76±0.01	0.71±0.01
비교예 16	가로(cm)	1.51±0.01	1.42±0.04	1.56±0.02	1.72±0.04	1.88±0.03
	세로(cm)	1.53±0.01	1.41±0.02	1.57±0.01	1.74±0.03	1.91±0.02
	높이(cm)	0.91±0.02	0.88±0.01	0.85±0.01	0.71±0.02	0.62±0.01

[0124] <실험예 6> 다양한 모양의 3D 구조체 인쇄

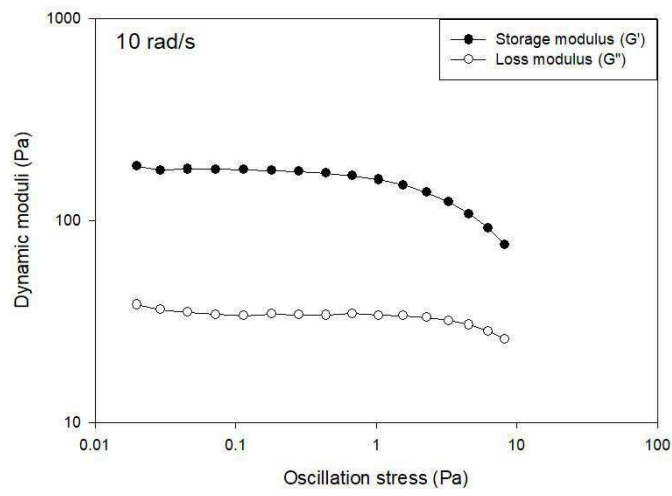
[0125] 상기 실험예 3에서 확인한 프린팅 조건으로 3D 구조체 샘플을 인쇄하였다. 그 결과, 도8에 나타난 바와 같이, 우수한 해상도와 매끄러운 표면을 가진 샘플을 얻을 수 있었다.

[0126] 따라서, 본 발명의 MFC 및 구아검을 포함하는 바이오 잉크 조성물로 3D 프린팅하여 3D 구조체를 제조하고, 이를 봉사로 가교결합하는 경우, 인쇄 적합성이 우수하고, 원하는 모양으로 인쇄가 용이하며, 빠른 가교결합의 형성 및 프린팅 후 적절한 기계적 특성을 나타내며, 생체적합성 및 생체친화성을 띄어 생체소재, 약물전달체 및 조직 공학용 지지체로 유용한 것을 확인하였다.

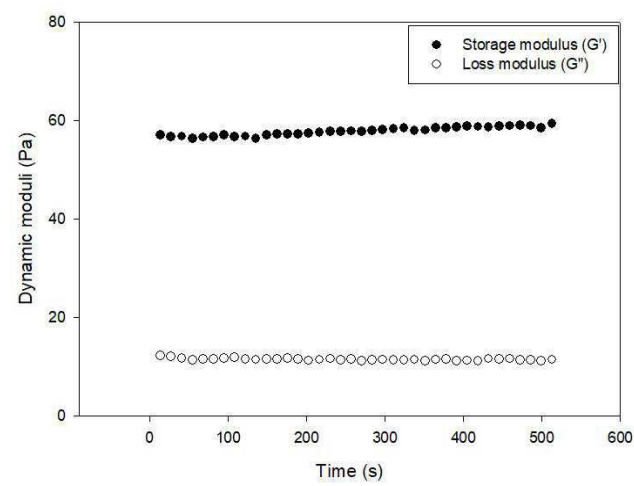
[0128] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

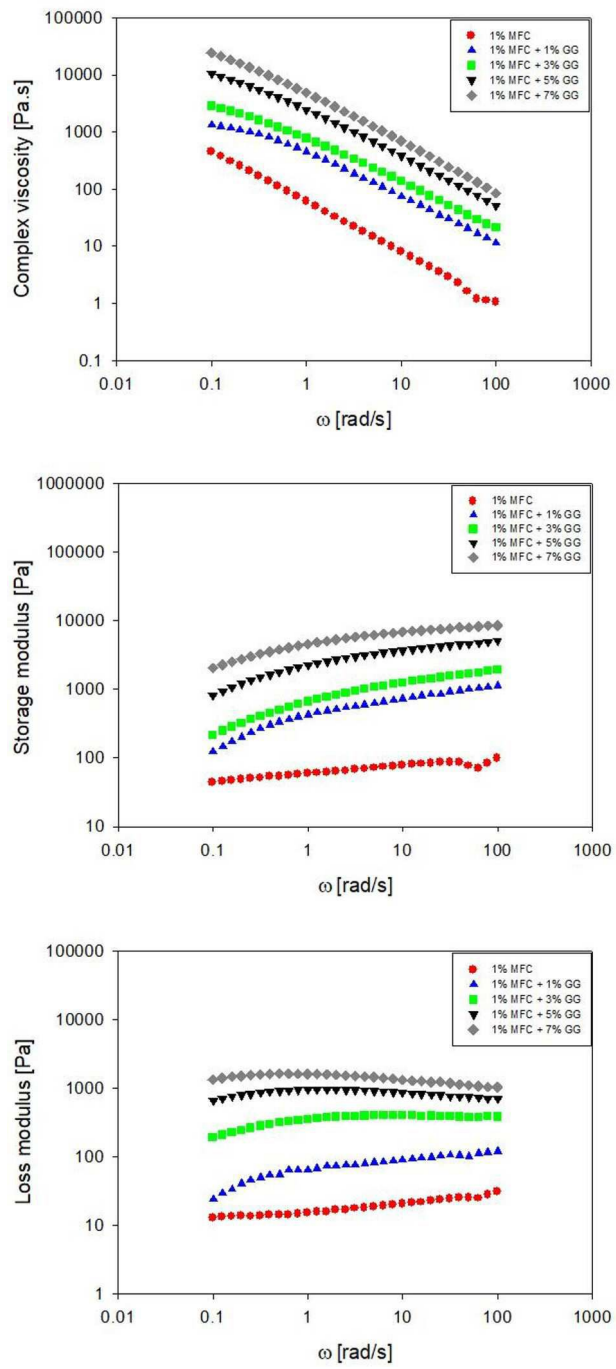
도면1



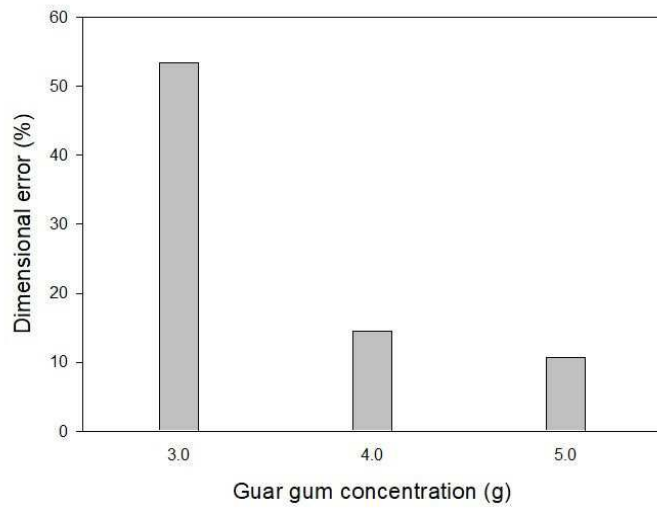
도면2



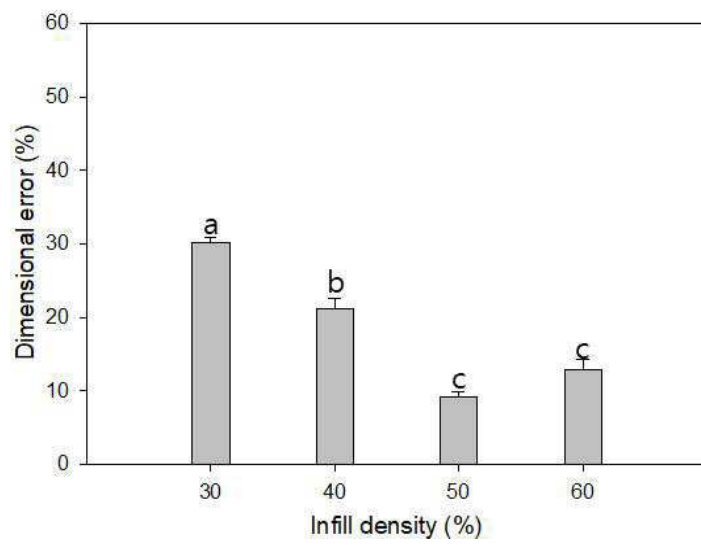
도면3



도면4

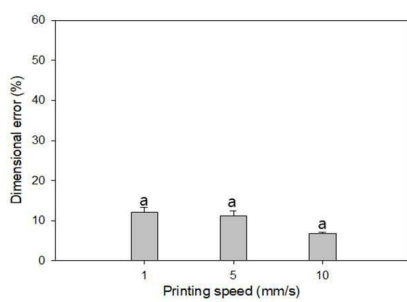


도면5

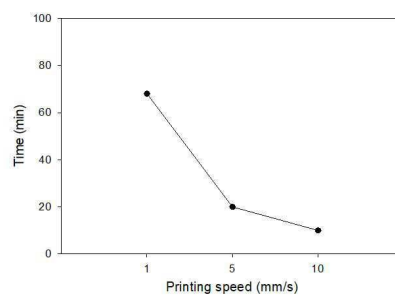


도면6

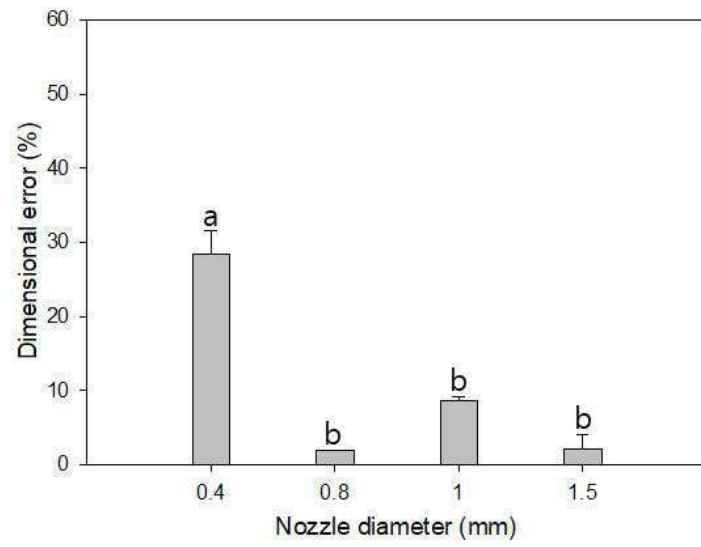
A



B



도면7



도면8

