

# เคราตินที่สกัดจากเส้นผมมนุษย์: การเตรียมอนุภาคด้วยวิธี emulsification-diffusion

## Keratin extracted from human hairs: Preparation of particles by emulsification-diffusion method

มณฑิรา รุ่งวิสัย<sup>1</sup>, ประสงค์ สีหานาม<sup>2\*</sup>

Montira Rungvisai<sup>1</sup>, Prasong Srihanam<sup>2\*</sup>

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้รายงานสภาวะที่ใช้เตรียมอนุภาคเคราตินด้วยวิธี water-in-oil emulsion solvent diffusion โดยใช้ความเข้มข้นของเคราตินและอัตราส่วน W:O ที่แตกต่างกัน รวมทั้งผลของสารลดแรงตึงผิว คือ Span80 ต่อลักษณะของอนุภาคที่เตรียมได้ ทำการตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาของอนุภาคเคราตินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) เพื่อเปรียบเทียบขนาดและพื้นผิวของอนุภาค ผลการทดลอง พบว่า อนุภาคเคราตินมีรูปร่างหลากหลาย มีพื้นผิวรวมทั้งรูพรุนภายในอนุภาคแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเคราตินและอัตราส่วนของ W:O ที่ใช้ในการเตรียม โดยอนุภาคเคราตินจะมีขนาดเล็กเมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำและมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเคราตินเพิ่มขึ้น อนุภาคเคราตินจะแยกกันมากขึ้นตามความเข้มข้นของเคราตินที่เพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งความเข้มข้นเคราติน 1.6% w/v และอัตราส่วน W:O เท่ากับ 1.5:100 จะได้อนุภาคเคราตินที่มีขนาดใกล้เคียงกันและมีรูปร่างคล้ายทรงกลม นอกจากนี้ พื้นผิวของอนุภาคเคราตินยังเรียกว่าสภาวะอื่น เมื่อผสมสารลดแรงตึงผิว อนุภาคเคราตินที่เตรียมได้มีพื้นเรียบขึ้นและมีขนาดใกล้เคียงกันมากขึ้น โดยเฉพาะในอัตราส่วน W:O เท่ากับ 1.0:100 และความเข้มข้นเคราตินเท่ากับ 0.8% w/v ผลการทดลองที่ได้นี้มีประโยชน์สำหรับใช้เป็นวิธีเพื่อเตรียมอนุภาคเคราตินให้มีความเหมาะสมสำหรับบรรจุยาในงานด้านเภสัชกรรม

**คำสำคัญ:** เคราติน, สัณฐานวิทยา, อนุภาค, การเตรียม, สมบัติ

### Abstract

This study reports condition for fabrication keratin particles by water-in-oil emulsion solvent diffusion method. The variation concentration and W:O ratios as well as Span80, an emulsifier, on the keratin particles were also reported. The obtained keratin particles were analyzed by scanning electron microscopy (SEM). The keratin particles have varied in shape, surface and porous inside their particles, depending on both keratin concentration and W:O ratio used. Keratin particles have small in size when used lower keratin concentration and gradually increased following

<sup>1</sup> นิสิตปริญญาโท สาขาเคมีศึกษา<sup>2</sup> รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีและหน่วยวิจัยเคมีสร้างสรรค์และนวัตกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150 ประเทศไทย

<sup>1</sup>Master student (Education Chemistry), <sup>2</sup> Assoc. Prof., Department of Chemistry and Creative and Innovation Chemistry Research Unit, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand.

<sup>2\*</sup>Corresponding author: Prasong Srihanam, Department of Chemistry and Creative and Innovation Chemistry Research Unit, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand.

E-mail: psrihanam@gmail.com



concentration of keratin increased. At higher keratin ratio, the keratin particles were more separated than low concentration. The keratin concentration at 1.6% w/v and W:O ratio of 1.5:100 were suitable condition for keratin particle fabrication than other. With emulsifier, keratin particles had smooth surfaces and more homogeneous in size, especially at 0.8% w/v keratin and W:O ratio of 1.0:100. The results from this work might be used as method to prepare suitable keratin particle for drug loading carrier in pharmaceutical application.

**Keywords :** keratin, morphology, particle, fabrication, property

## บทนำ

การประยุกต์ใช้งานวัสดุจำพวกโปรตีนเริ่มได้รับความนิยมนมากขึ้นในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา โปรตีนที่เป็นเส้นใย เช่น คอลลาเจน เจลาติน อัลบูมิน ไหมไฟโบรอินและเคราติน<sup>1</sup> ได้รับความสนใจนำมาใช้งานมากกว่าวัสดุที่ได้จากการสังเคราะห์ เพราะสามารถแตกสลายด้วยกระบวนการชีวภาพ ซึ่งสอดคล้องกับกระแสความใส่ใจสุขภาพและสิ่งแวดล้อมในปัจจุบัน<sup>2,3</sup> งานวิจัยนี้สนใจศึกษาการเตรียมอนุภาคจากโปรตีนเคราติน (keratin) ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของร่างกายเคราตินประกอบด้วยกรด อะมิโนซิสเทอีน (cysteine) ประมาณร้อยละ 7-20 และเซอ-รีน (serine) ประมาณร้อยละ 15 ขึ้นอยู่กับแหล่งที่สกัด โดยเคราตินพบได้ในเนื้อเยื่อบุเซลล์ผิวของสัตว์มีกระดูกสันหลัง เช่น ขน เล็บ เขา กีบ และเส้นผม<sup>4</sup> ปัจจุบัน นำเคราตินมาใช้ประโยชน์มากขึ้นในงานหลากหลายด้านโดยเฉพาะด้านอุตสาหกรรม เช่น การทำเป็นเส้นใยผสมเพื่อเพิ่มมูลค่า<sup>5</sup> สำหรับผลิตภัณฑ์กระดาษ และฉนวนกันความร้อน<sup>6</sup> นอกจากนี้ เคราติน สามารถเตรียมให้มีรูปแบบสำหรับนำไปใช้งานได้หลากหลาย เช่น ฟิล์ม<sup>6,7</sup> ไมโครแคปซูล<sup>8</sup> ฟองน้ำ<sup>7</sup> และเส้นใย<sup>8,9</sup> แต่การเตรียมเคราตินในรูปแบบอนุภาคมีรายงานน้อยมากโดยเฉพาะในประเทศไทย ซึ่งหากสามารถเตรียมเคราตินในรูปแบบอนุภาคได้อาจจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้งานที่สำคัญ คือ การบรรจุและปลดปล่อยยาแบบควบคุมการปลดปล่อยในงานทางการแพทย์และเภสัชกรรมต่อไป ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอนุภาคเคราติน ด้วยวิธี emulsification-diffusion ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้เตรียมอนุภาคสารที่มีขั้ว เช่น โปรตีนและ

คาร์โบไฮเดรต<sup>10,11</sup> และตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาศาสตร์ของอนุภาคเคราตินในแต่ละสภาวะที่ใช้เตรียม

## วัตถุประสงค์และวิธีการทดลอง

### วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการสกัดเคราติน คือ เส้นผม โดยคัดเลือกเส้นผมที่มีสีดำและไม่ผ่านการทำสี ซึ่งเก็บจากร้านตัดผมในจังหวัดร้อยเอ็ด นำมาแช่ในแชมพูสระผม ล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด ตากให้แห้งและเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดปากถุงจนกว่าจะนำไปสกัด

### การสกัดเคราตินจากเส้นผม

ทำการสกัดเคราตินจากเส้นผม โดยดัดแปลงวิธีที่เคยรายงานมาก่อน<sup>9</sup> โดยนำเส้นผมที่เตรียมไว้ไปต้มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมากำจัดไขมันและสารที่ไม่ละลายน้ำโดยแช่ในเฮกเซน (hexane) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ขั้นตอนการสกัดทำได้โดยนำเส้นผมไปแช่ในตัวทำละลายผสมที่ประกอบด้วยยูเรีย (urea) 7 กรัม โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate) 2 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.8 กรัมและน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยใช้อัตราส่วนเส้นผม 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 10 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนและให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส จนเส้นผมละลาย นำสารละลายเคราตินที่ได้ไปทำการไดอะไลซิสในน้ำกลั่น พร้อมกับปั่นกวนเป็นเวลา 3 วัน โดยเปลี่ยนน้ำทุก 1 ชั่วโมง เพื่อให้ได้สารละลาย เคราติน จากนั้นคำนวณหาปริมาณเครา



ดินที่เตรียมได้ โดยเทคนิคการระเหยแห้ง ซึ่งทำได้โดย ชั่งน้ำหนักของสารละลายเคราติน ก่อนนำไปประเหยใน ตู้อบ แล้วชั่งน้ำหนักของเค-ราติน ที่เหลือ นำมา คำนวณหาปริมาณเคราตินในหน่วยร้อยละของน้ำหนัก (%wt)<sup>11</sup>

### การเตรียมอนุภาคเคราติน

อนุภาคเคราตินเตรียมด้วยวิธี water-in-oil (W/O) emulsification-diffusion<sup>11</sup> มีขั้นตอน ดังนี้ เตรียม สารละลายเคราตินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 1.6, 0.8 และ 0.4 %w/v จากนั้น นำสารละลายเคราตินมา เตรียมเป็นอนุภาคของเคราติน โดยการหยดสารละลาย เคราติน (จัดเป็นวัฏภาคน้ำ; water) ในปริมาตร 0.5, 1.0, 1.5 มิลลิลิตร ลงในตัวทำละลายอินทรีย์ (จัดเป็นวัฏภาค น้ำมัน; oil) คือ เอทิลอะซิเตต ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของ เคราติน แตกต่างกัน (1.6, 0.8 และ 0.4 %w/v) โดยในแต่ละความเข้มข้นจะใช้ปริมาตร แตกต่างกัน คือ 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตร จากนั้น ทำ การปั่นกวนส่วนผสมโดยใช้แท่งแม่เหล็กที่ความเร็ว 900 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนของ W : O คือ 0.5, 1.0, 1.5 (v/v) ระหว่างกระบวนการใช้อะลูมิเนียม ฟอยล์ปิดปาก บีกเกอร์ เพื่อป้องกันการระเหยของตัว ทำละลายอินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการแพร่กระจาย จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาทำการปั่นเหวี่ยง เพื่อให้ อนุภาคตกตะกอน แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมง

### การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของอนุภาค

ลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ของ อนุภาคเคราตินที่เตรียมได้ตรวจสอบด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด(scanning electron microscope, SEM; LEO 1450) โดยนำอนุภาคติดบนที่ วาง (stub) ก่อนนำไปเคลือบด้วยทองคำ (gold) เพื่อ เห็นยวหน้าอิเล็กตรอนที่บริเวณผิวหน้า การทดสอบใช้ กำลังไฟฟ้า 15 kV ก่อนนำไปส่องใต้กล้อง

### ผลการทดลอง

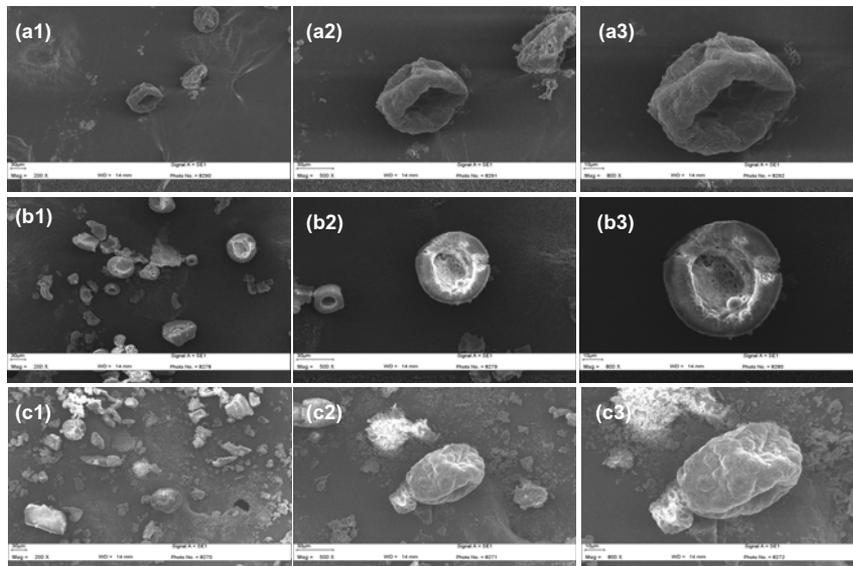
ปริมาณเคราตินที่สกัดได้จากการตรวจสอบโดยวิธีระเหย แห้งเท่ากับ 1.6 (%wt/v) เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะ สัณฐานวิทยาอนุภาคเคราตินด้วย SEM และแสดงดัง Figure 1 พบว่า อนุภาคที่เตรียมด้วยอัตราส่วน W:O เท่ากับ 0.5:100 และความเข้มข้นของเคราตินแตกต่างกัน คือ 0.4, 0.8, 1.6 (%w/v) จากรูปจะเห็นว่า อนุภาค เคราตินในอัตราส่วนที่ใช้นี้มีรูปร่างไม่เป็นทรงกลม มี ลักษณะกลวงไม่ครบวง มีผิวขรุขระและหยักในความ เข้มข้นต่ำ (Figure a) เมื่อความเข้มข้น เคราตินเพิ่มขึ้น อนุภาคเคราตินมีความเรียบเพิ่มขึ้นและเนื้ออนุภาคแน่น กว่า (Figure b) และที่ความเข้มข้นมากที่สุดอนุภาคจะ บรรจบกัน และมีรูปร่างเว้าตรงกลาง (Figure c) อย่างไรก็ตาม อนุภาคยังมีรูปร่างไม่แน่นอน แตกและมีขนาด กระจุกกระจาย

Figure 2 แสดงภาพถ่าย SEM ของลักษณะ สัณฐานวิทยาอนุภาคเคราติน เตรียมในอัตราส่วน W:O เท่ากับ 1.0:100 ที่ความเข้มข้นเคราตินแตกต่างกัน ในอัตราส่วนนี้ เคราตินสามารถจับกันเป็นอนุภาคได้ ดีกว่าอัตราส่วน 0.5:100 ที่ความเข้มข้นเคราตินต่ำ คือ 0.4 (%w/v) (Figure a) เคราตินเชื่อมติดกันและมีบาง อนุภาคที่แยกตัวออกจากกลุ่ม และอนุภาคมีทั้งผิวขรุขระ มีรอยเว้าตรงกลาง และอนุภาคที่มีผิวค่อนข้างเรียบ รูปร่างคล้ายทรงกลมและอัดแน่น เมื่อเพิ่มความเข้มข้น ของเคราตินเป็น 0.8 (%w/v) จะพบอนุภาคเคราตินมาก ขึ้น อนุภาคแยกออกจากกัน ผิวค่อนข้างเรียบ รูปร่างมี ความหลากหลายและตรงกลางเว้าไม่บรรจบกัน (Figure b) และที่ความเข้มข้นเคราตินเป็น 1.6 (%w/v) อนุภาคที่ ได้มีลักษณะรูปร่างและพื้นผิวคล้ายกับที่ความเข้มข้น 0.8 (%w/v) แต่บางจุดจะปรากฏรอยขรุขระคล้ายฟองน้ำ อนุภาคมีรูปร่างไม่แน่นอนแตกและมีขนาดกระจุก กระจาย (Figure c) เมื่อพิจารณาที่กำลังขยายสูง ภายใน อนุภาคจะมีรูพรุนกระจายทั่วบริเวณ

Figure 3 แสดงภาพถ่าย SEM ของลักษณะ สัณฐานวิทยาอนุภาคเคราติน ที่เตรียมอัตราส่วน W:O เท่ากับ 1.5:100 ที่ความเข้มข้นเคราตินแตกต่างกัน คือ

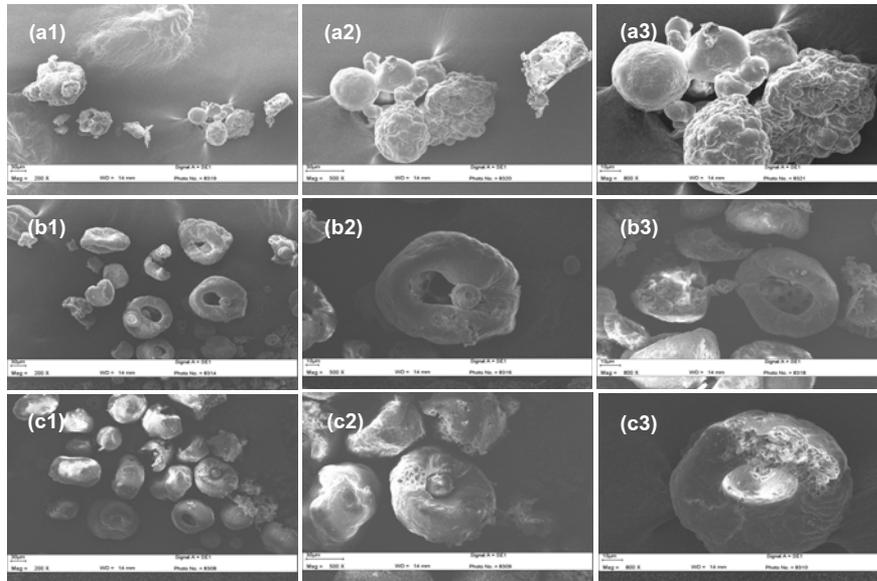
0.4, 0.8, 1.6 (%w/v) ในอัตราส่วนนี้ เคราตินสามารถจับกันเป็นอนุภาคได้ดีกว่าอัตราส่วนอื่น ที่ความเข้มข้นต่ำคือ 0.4 (%w/v) (Figure a) รูปร่างและขนาดอนุภาคเคราตินมีหลากหลาย แยกออกจากกัน บางส่วนไม่เกิดเป็นอนุภาค และอนุภาคมีทั้งตันและกลวงเว้าตรงกลาง ผิวหน้าค่อนข้างเรียบแต่ภายในขรุขระ อนุภาคไม่บรรจบกันและมีบรรจบกันบ้างแต่รูปร่างค่อนข้างแบน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเคราตินเป็น 0.8 (%w/v) อนุภาคเคราตินมีขนาดใกล้เคียงกัน และมีรูปร่างเป็นทรงกลมมากขึ้น อนุภาคค่อนข้างตันแต่รอยแตกภายในอนุภาคแสดงให้เห็นพื้นผิวที่ขรุขระ ผิวหน้าอนุภาคค่อนข้างเรียบ รูปร่างหลากหลายและแต่ตรงกลางอนุภาคเว้าไม่บรรจบกัน (Figure b) และที่ความเข้มข้นเคราตินเป็น 1.6 (%w/v) อนุภาคที่ได้มีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลมขึ้น เป็นแบบตันผสมกับแบนและเว้าตรงกลาง และพื้นผิวเรียบขึ้น (Figure c)

สารละลายเคราตินที่ใช้ อย่างไรก็ตาม อนุภาคที่เตรียมได้ส่วนใหญ่มีผิวค่อนข้างขรุขระ ทั้งนี้ อาจจะมีสาเหตุมาจากการแยกตัวก่อนที่จะมีการก่ออนุภาค ในระหว่างที่เกิดกระบวนการแพร่ของน้ำจากสารละลายเคราตินไปยังเอริลอะซีเตต (emulsification-diffusion process)<sup>12,13</sup> โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีความเข้มข้นเคราตินต่ำ (4% w/v) ในทุกความเข้มข้นของเคราตินและอัตราส่วนของ W:O จะปรากฏอนุภาคที่เกาะกันอยู่ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเคราตินจับกันได้ดีกับโมเลกุลของน้ำ จึงทำให้น้ำไม่เกิดการแพร่ไปยังอีกรั้วภาค<sup>14</sup> นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาจากอนุภาคที่แตกเพื่อดูลักษณะภายใน จะเห็นว่า มีลักษณะรูพรุนกระจายอยู่ทั่วไป ซึ่งเกิดจากความแตกต่างระหว่างรั้วภาคที่ใช้ในการเตรียม โดยรั้วภาคที่มีขั้วน้อยกว่า คือ เอริลอะซีเตต จะแพร่เข้าสู่โมเลกุลเคราตินและส่งผลให้ความสามารถในการละลายของเคราตินลดลง กลายเป็นอนุภาคของแข็งในที่สุด<sup>14</sup>

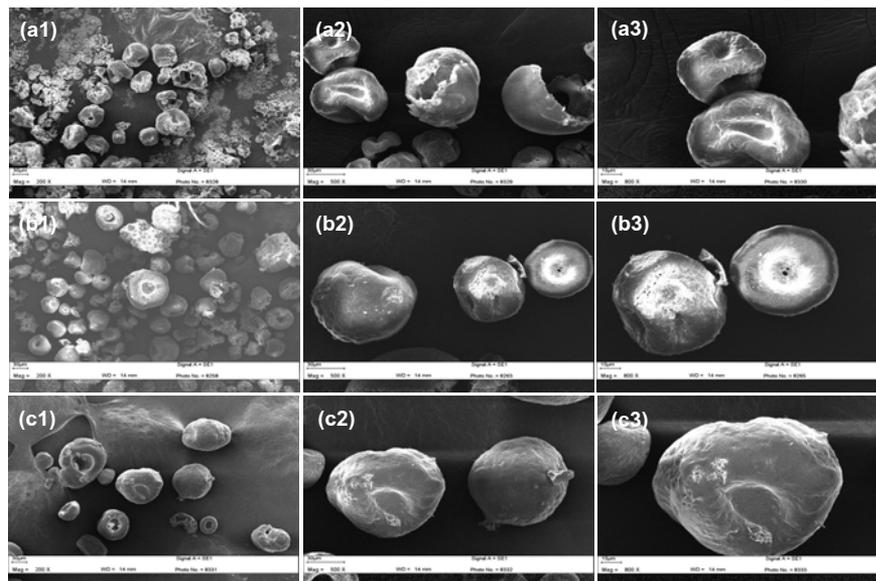


**Figure 1** SEM micrographs of keratin particles with W:O ratio of 0.5:100 using different concentrations

ผลจากการตรวจสอบด้วยกล้อง SEM พบว่าอัตราส่วนของ W:O ส่งผลต่อรูปร่างและลักษณะของอนุภาคแตกต่างกัน เช่นเดียวกับความเข้มข้นของ



**Figure 2** SEM micrographs of keratin particles with W:O ratio of 1.0:100 using different concentrations of keratin; 0.4 (a), 0.8 (b) and 1.6 %w/v (c) at 200 (1), 500 (2) and 800X (3) of magnifications.

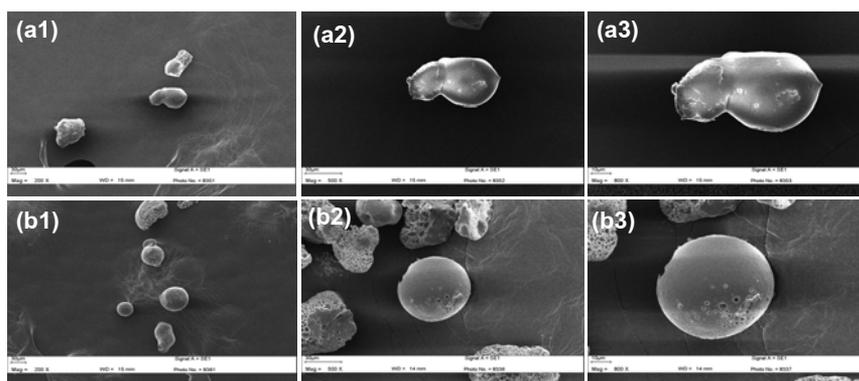


**Figure 3** SEM micrographs of keratin particles with W:O ratio of 1.5:100 using different concentrations of keratin; 0.4 (a), 0.8 (b) and 1.6 %w/v (c) at 200 (1), 500 (2) and 800X (3) of magnifications.

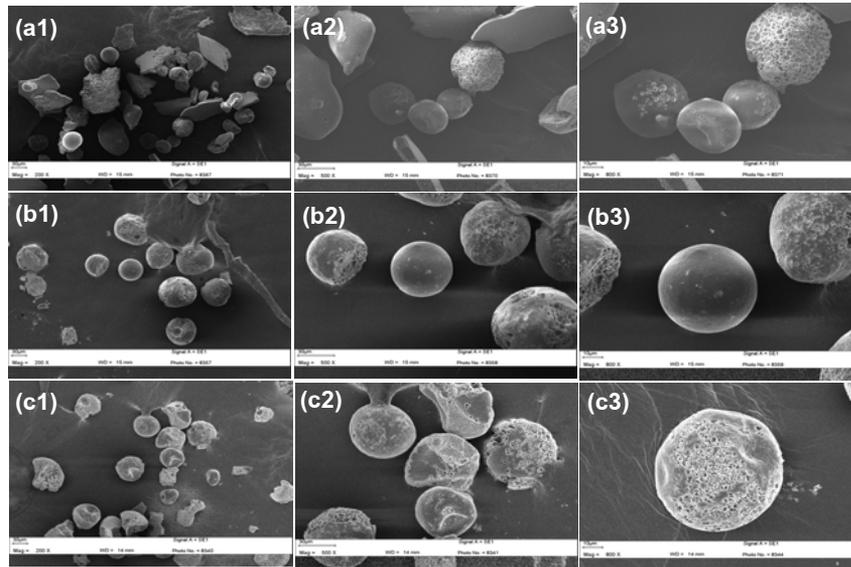
Srihanam และคณะ<sup>15</sup> ได้รายงานว่าสามารถปรับพื้นผิวอนุภาคที่ขรุขระให้เรียบขึ้นได้ โดยอาศัยสารลดแรงตึงผิว คือ Span80 ซึ่งสารดังกล่าวจะเหนียวน้ำให้อัตราการแพร่ของน้ำออกจากสารละลายเคราตินช้าลง ส่งผลให้การก่ออนุภาคเป็นของแข็งช้าลง และน่าจะช่วยให้พื้นผิวอนุภาคเรียบขึ้น Figure 4-6 แสดงอนุภาคเคราตินที่เตรียมโดยวิธี emulsification-diffusion โดยมีการเติม Span80 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงไปผสม โดยเลือกความเข้มข้นเคราตินที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ผ่านมาแล้ว ผลการทดลอง พบว่า อัตราส่วน W:O (0.5:100) (Figure 4) ความเข้มข้นเคราติน ที่เลือก คือ 0.8 และ 1.6 %w/v จากรูปถ่าย SEM จะเห็นว่าอนุภาคที่เตรียมจากเคราตินความเข้มข้น 1.6% มีลักษณะทรงกลม พื้นผิวเรียบและมี รูพรุนเล็กน้อย (Figure 4b) อัตราส่วน W:O (1.0:100) (Figure 5) ความเข้มข้นเคราตินที่เลือก คือ 0.4, 0.8 และ 1.6

ความเข้มข้นเคราติน 0.8% %w/v อนุภาคมีขนาดใกล้เคียงกัน มีหลายรูปแบบทั้งตัน กลวง กลมและรี ผิวหน้าดูเรียบ แต่ภายในอนุภาคเต็มไปด้วยรูพรุนจำนวนมาก (Figure 5b) ที่ความเข้มข้นเคราตินสูง คือ 1.6% w/v อนุภาคเคราติน มีความหลากหลาย มีหลายขนาด ผิวหน้าเรียบแต่มีบริเวณขรุขระกระจาย

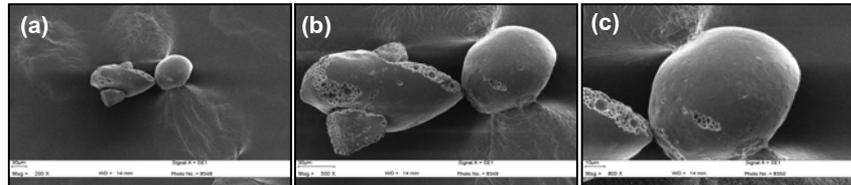
ทั่วทั้งก้อน มองเห็น รูพรุนภายในอนุภาค (Figure 5c) Figure 6 แสดงภาพถ่าย SEM อัตราส่วน W:O %w/v จากรูปถ่าย SEM จะเห็นว่าสามารถเตรียมอนุภาคเคราตินได้ทุกความเข้มข้น แต่มีลักษณะรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน ที่ความเข้มข้นเคราตินต่ำ เกิดอนุภาคเพียงเล็กน้อย มีขนาดเล็ก ผิวหน้าเรียบกว่าไม่เติม Span80 แต่ยังคงเว้าตรงกลาง อย่างไรก็ตาม ยังมีอนุภาคที่มีผิวขรุขระทั้งก้อนและดูแน่น (Figure 5a) (1.5:100) ที่ความเข้มข้นเคราตินเป็น 1.6 %w/v เนื่องจากเป็นสภาวะที่สามารถเตรียมอนุภาคได้ ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นไม่สามารถเตรียมอนุภาคได้เลย จะเห็นว่าอนุภาคมีรูปร่างคล้ายวงรี และมีอนุภาคไม่มาก ซึ่งอาจเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสม เพราะส่วนใหญ่จะแตกและไม่เป็นอนุภาค อย่างไรก็ตาม อนุภาคที่ได้มีผิวเรียบ ภายในอนุภาคเต็มไปด้วยรูพรุนจำนวนมาก



**Figure 4** SEM micrographs of keratin particles with W:O ratio of 0.5:100 using different concentrations of keratin; 0.8 (a) and 1.6 %w/v (b) mixed Span 80 at 500 (1) and 800X (2) of magnifications.



**Figure 5** SEM micrographs of keratin particles with W:O ratio of 1.0:100 using different concentrations of keratin; 0.4, 0.8 (a) and 1.6 %w/v (b) mixed Span80 at 200X (1), 500X (b) and 800X (c) of magnifications.



**Figure 6** SEM micrographs of keratin particles with W:O ratio of 1.5:100 using 1.6 %w/v keratin mixed Span 80 at 200X (a), 500X (b) and 800X (c) of magnifications.

### สรุปผลการทดลอง

เคราตินที่สกัดจากเส้นผมสามารถเตรียมเป็นอนุภาคได้ด้วยวิธี emulsification-diffusion โดยอนุภาคที่เตรียมได้มีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายเคราตินและอัตราส่วน W : O ผลการทดลอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเตรียมอนุภาคเคราติน คือ 1.6% w/v อัตราส่วน W:O เท่ากับ 1.5:100 นอกจากนี้ สามารถปรับผิวของอนุภาคให้เรียบขึ้นได้โดยการเติม Span80 อย่างไรก็ดีตาม เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิว สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมอนุภาค คือ 0.8% w/v

อัตราส่วน W:O เท่ากับ 1.0:100 ซึ่งทำให้ได้อนุภาคเคราตินที่มีขนาดใกล้เคียงกัน มีรูปร่างคล้ายกันและมีผิวเรียบกว่าสภาวะอื่น อนุภาคเคราตินที่เตรียมได้นี้ น่าจะนำไปประยุกต์ใช้ในการบรรจุยาเพื่อควบคุมการปลดปล่อย สำหรับงานด้านเภสัชกรรมต่อไป



## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่เอื้อเฟื้อกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสำหรับตรวจสอบสัณฐานวิทยาของอนุภาคเคราติน

## เอกสารอ้างอิง

- Rouse JG, Van-Dyke ME. A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. *Materials* 2010;3(2):999-1014.
- Lammel AS, Hu X, Park SH, Kaplan DL, Scheibel TR. Controlling silk fibroin particle features for drug delivery. *Biomaterials* 2010;31(16):4583-4591.
- Malafaya PB, Silva GA, Reis RL. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Adv Drug deliv Rev.* 2007;59(4):207-233.
- Tanabe T, Okitsu N, Tachibana A, Yamauchi K. Preparation and characterization of keratin-chitosan composite film. *Biomaterials* 2002;23(3):817-825.
- Barone JR, Schmidt WF. Effect of formic acid exposure on keratin fiber derived from poultry feather biomass. *Biores Technol.* 2006;97(2): 233-242.
- Yamauchi K, Maniwa M, Mori T. Cultivation of fibroblast cells on keratin-coated substrata. *J Biomat Sci-Poly E* 1998; 9(3):259-270.
- Tanabe T, Okitsu N and Yamauchi K. Fabrication, characterization of chemically crosslinked keratin films. *Mater Sci Eng* 2004; 24(3):441-446.
- Aluigi A, Varesano A, Montarsolo A, Vineis C, Ferrero F, Mazzuchetti G, Tonin C. Electrospinning of keratin/poly (ethylene oxide) blend nanofibers. *Jb Poly Sc* 2007; 104(2):863-870.
- Fujii T and Ide Y. Preparation of translucent and flexible human hair protein films and their properties. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2004;27(9):1433-1436.
- Baimark Y and Yaowalak S. Hollow chitosan microspheres prepared by an oil<sub>1</sub>-in-water-in-oil<sub>2</sub> double emulsion method. *Powder Technology.* 2013; 249:436-442
- Srisa-ard M and Baimark Y. Controlling conformational Transition of silk fibroin microspheres by water vapor for controlled release drug delivery. *Particul Sci Technol* 2013; 31:379-384
- Cheerarat O, Baimark Y. Biodegradable silk fibroin/chitosan blend microparticles prepared by emulsification-diffusion method. *E-Polymers.* 2015; 15(2):67-74.
- Srihanam P, Srisuwan Y, Imsombut T, Baimark Y. Silk fibroin microspheres prepared by the water-in-oil emulsion solvent diffusion method for protein delivery. *Korean J Chem Eng* 2011; 28(1):293-297
- Srisuwan Y, Baimark Y, Srihanam P. Preparation of regenerated silk sericin/silk fibroin blend microparticles by emulsification-diffusion method for controlled release drug delivery. *Particul Sci Technol* 2016; in press.
- Srihanam P, Srisuwan Y, Imsombut T, Baimark Y. Silk fibroin microspheres prepared by the water-in-oil emulsion solvent diffusion method for protein delivery. *Korean J Chem Eng* 2011; 28(1): 293-297.