

# การตรวจสอบลักษณะโครงยึดที่มีรูพรุนของไหมไฟโบรอินผสมเจลาตินที่เตรียมโดยวิธี particulate sucrose leaching

## Characterization of porous silk fibroin/gelatin blend scaffolds fabricated by particulate sucrose leaching method

วันวิศา นันรุง<sup>1</sup>, ประสงค์ สีหานาม<sup>2\*</sup>

Wanwisa Nunrung<sup>1</sup>, Prasong Srihanam<sup>2\*</sup>

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมโครงยึดผสมระหว่างไหมไฟโบรอิน/เจลาตินที่มีรูพรุนด้วยวิธี particulate sucrose leaching จากสารละลายผสมที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน โครงยึดที่ได้กลุ่มหนึ่งนำไปจุ่มในเมทานอล แล้วนำโครงยึดไปตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของอนุภาคเคราตินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ผลการทดลอง พบว่า โครงยึดมีสัณฐานวิทยารวมทั้งรูพรุนแตกต่างกันตามอัตราส่วนของพอลิเมอร์ โดยโครงยึดกลุ่มที่ไม่ได้แช่เมทานอล จะมีรูพรุนขนาดใหญ่และเนื้อโครงยึดมีลักษณะเป็นแท่ง มีพื้นผิวขรุขระ ส่วนในกลุ่มที่นำไปจุ่มในเมทานอล พบว่า จะมีรูพรุนในโครงสร้างกระจายทั่วพื้นผิว ขนาดรูพรุนแปรผกผันกับปริมาณไหมไฟโบรอิน โดยพบว่ารูพรุนจะมีขนาดเล็กเมื่อปริมาณไหมไฟโบรอินเพิ่มขึ้น การแช่ในเมทานอลส่งผลให้พื้นผิวของโครงยึดเรียบแต่เนื้อแน่นอย่างเด่นชัด การเกิดรูพรุนส่งผลให้สมบัติเชิงความร้อนของโครงยึดเปลี่ยนไป โดยพบว่าจุดแตกสลายของโครงยึดลดลงอย่างไรก็ตาม ผลจากกราฟ DTG แสดงให้เห็นว่า การแช่เมทานอลเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างพันธะระหว่างไหมไฟโบรอินและเจลาติน ผลการทดลองที่ได้มีประโยชน์สำหรับนำไปใช้พัฒนาวิธีการเตรียมโครงยึดไหมไฟโบรอินที่มีรูพรุนให้มีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัสดุสำหรับเลี้ยงเซลล์

**คำสำคัญ :** โครงยึด รูพรุน สัณฐานวิทยา สมบัติเชิงความร้อน ไหมไฟโบรอิน

### Abstract

The objective of this work was to prepare porous silk fibroin/gelatin blend scaffolds by particulate sucrose leaching method from different blend ratios. The obtained scaffolds were divided for immersing in methanol solution before observing their morphology under scanning electron microscopy (SEM). The results show that the obtained scaffolds have variable porous and morphology depending on using ratio of polymer. Without methanol treatment, large pore size and dense texture with rod shape as well as rough in surface of scaffold were observed. With methanol treatment, dispersive porous on the surface was obtained. The porous size of

---

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

<sup>1</sup> Master degree 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.

\*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

scaffold was converse to silk fibroin content since it was decreased when silk fibroin content was increased. Methanol shows dramatically affected on smooth surface and dense texture of scaffolds. Moreover, porosity of the scaffold reflects to thermal property changed which can be known by decreasing the maximum decomposition temperature. DTG curves indicated that methanol helped to induce the interaction between silk fibroin and gelatin. The results from this work might be applied for preparation suitable porous silk fibroin scaffold for using as cell culture material.

**Keywords :** scaffold, porous, morphology, thermal property, silk fibroin

## บทนำ

พอลิเมอร์ธรรมชาติกลุ่มโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต รวมทั้งอนุพันธ์ของสารทั้งสอง ได้รับความนิยมในการนำมาประยุกต์ใช้งานด้านการแพทย์มากขึ้นในช่วงเวลา 10 ปีที่ผ่านมา<sup>1,2</sup> รายงานวิจัยเกี่ยวกับการนำพอลิเมอร์ธรรมชาติไปใช้ประโยชน์ที่กำลังได้รับความนิยม คือ สำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering)<sup>3</sup> ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการฟื้นฟูและซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหาย<sup>4</sup> อย่างไรก็ตามความสำเร็จของงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อมีหลายปัจจัยมาเกี่ยวข้อง โดยปัจจัยอย่างหนึ่งที่มีความสำคัญและส่งผลโดยตรงต่อความสำเร็จ คือ วัสดุค้ำจุนหรือโครงยึด (scaffold) เพราะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและพัฒนาการเป็นเนื้อเยื่อของเซลล์ ดังนั้น จึงมีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมและศึกษาเอกลักษณ์ของโครง-ยึดจำนวนมาก<sup>5,6</sup>

ไหม (silk) เป็นโปรตีนธรรมชาติประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด คือ ไฟโบรอิน (fibroin) และ เซอริซิน (sericin) ที่มีการนำเส้นไหมมาใช้ประโยชน์มาตั้งแต่อดีตคือ ด้านสิ่งทอ จนกระทั่งปัจจุบัน ไหมถูกนำมาใช้ประโยชน์หลากหลายด้าน โดยเฉพาะไหมไฟโบรอิน ที่ได้รับการศึกษาสำหรับใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์<sup>7</sup> เพราะไฟโบรอิน เป็นเส้นใยที่มีความแข็งแรงสูง<sup>8</sup> เข้ากันได้ได้ดีกับเซลล์ของร่างกาย ก่อให้เกิดการอักเสบต่ำ<sup>9</sup> สามารถแตกสลายโดยกระบวนการของสิ่งมีชีวิต และส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์หลากหลายชนิด<sup>10</sup> ด้วยเหตุนี้ ไหมจึงมีความเหมาะสมในการเตรียมเป็นโครงยึดสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ<sup>11,12</sup> นอกจากนี้ไหมไฟโบรอิน ยังสามารถเตรียมได้หลากหลายรูปแบบ เช่น เจล ฟองน้ำ ผง ฟิล์ม เส้นใย และ อนุภาค<sup>13</sup> ซึ่งรูปแบบของวัสดุที่แตกต่างกันนี้ มีความเหมาะสมต่อ

การเจริญเติบโตของเซลล์ต่างชนิดกัน จากรายงานการศึกษาชี้ให้เห็นว่า โครงสร้าง 3 มิติของโครงยึดเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งส่งผลต่อการพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อ<sup>14,15</sup> ซึ่งโครงยึดรูปทรงแปรผันสามารถเตรียมได้ด้วยวิธีต่างๆ เช่น freeze-drying<sup>16</sup>, electrospinning<sup>17</sup> และ particulate-leaching<sup>13</sup> แต่ละวิธีมีข้อดีข้อด้อยแตกต่างกัน ทั้งนี้การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์และความสะดวกของการจัดหาเครื่องมือ

ประเทศไทยมีการส่งออกไหมเป็นอันดับต้นๆของโลก โดยส่วนใหญ่จะนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นหลัก แต่ในทางการแพทย์ ยังมีการนำไหมไฟโบรอินน้อยมากโดยเฉพาะงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ทั้งนี้ไหมสายพันธุ์ไทย มีขนาดเส้นใยเล็กและแข็งแรง หากมีการวิจัยที่สามารถนำไหมไปใช้งานทางด้านทางการแพทย์อาจเป็นทางหนึ่งที่จะทำให้ไหมมีมูลค่าสูงขึ้นและเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้คุ้มค่ามากที่สุด

เจลาติน (gelatin) เป็นอนุพันธ์ของคอลลาเจน มีสมบัติที่ดีและเหมาะสมหลายประการสำหรับนำไปใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เช่น เข้ากับร่างกายของสิ่งมีชีวิต และสามารถแตกสลายได้ด้วยกระบวนการชีวภาพ ช่วยส่งเสริมการเกาะ การอพยพ การเพิ่มขนาดและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์<sup>18</sup> เจลาติน ถูกนำไปใช้เป็นสารเชื่อมต่อนเนื้อเยื่อ สารสมานแผล วัสดุทางการแพทย์และตัวนำส่งยาในทางเภสัชกรรมซึ่งกำลังได้รับความนิยมในการศึกษามาก<sup>19,20</sup> นอกจากนี้ เจลาตินยังสามารถนำไปใช้ได้เลยหรือผสมกับพอลิ-เมอร์ อื่นๆได้อีกด้วย<sup>21</sup>

การเตรียมวัสดุผสมมีหลักการพิจารณาที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ วัสดุต้องสามารถเข้ากันได้ดีและสามารถสร้างพันธะเชื่อมโยงกันได้ โดยเฉพาะพันธะ



ไฮโดรเจน ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะเตรียมโครง-ยึดที่มีรูพรุนจากไหมไฟโบรอินของไหมสายพันธุ์ไทยผสมกับเจลาตินโดยใช้วิธี sucrose leaching เพราะเป็นวิธีที่สะดวกและไม่ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพง ก่อนที่จะนำโครงยึดที่ได้ไปตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาและสมบัติเชิงความร้อน ซึ่งข้อมูลที่ได้น่าจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาและเตรียมโครง-ยึดรูพรุนที่มีสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้งานต่อไป

## วัตถุดิบและวิธีการทดลอง

### การเตรียมสารละลายไหมไฟโบรอิน

นำรังไหมสายพันธุ์ไทย คือ พันธุ์นางลาย ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์นวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มาสกัดกาวไหมเซรีซินโดยการต้มในสารละลาย 0.02 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้น ล้างด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 2 ครั้ง แล้วทำการต้มอีกครั้งภายใต้สภาวะเดิม นำรังไหมที่ผ่านการลอกกาวแล้ว ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้ง จากนั้นนำมาตัดให้มีขนาดเล็กก่อนนำไปแช่ในสารละลายผสมระหว่าง CaCl<sub>2</sub>:ethanol:H<sub>2</sub>O (1:2:8 by mol) โดยใช้อัตราส่วนไหม 1 กรัม ต่อปริมาตรตัวทำละลาย 10 มิลลิลิตร ระหว่างนั้น ให้ความร้อนพร้อมกับการปั่นกวนตลอดเวลาจนไหมละลาย แล้วนำสารละลายไหมที่ได้มากรองเพื่อกำจัดส่วนที่ไม่ละลายออก ก่อนนำไปไดอะไลซิสด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 3 วัน ทำการเปลี่ยนน้ำทุกๆ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ไหมไฟโบรอินที่ปราศจากตัวทำละลาย

### การเตรียมโครง-ยึดรูพรุน

นำสารละลายไหมไฟโบรอินที่ผ่านการไดอะไลซิส ความเข้มข้น 3.5% w/v มาผสมกับเจลาตินในอัตราส่วนไหมไฟโบรอินต่อเจลาตินที่แตกต่างกัน คือ 100/0, 75/25, 62.5/37.5 และ 50/50 v/v นำส่วนผสมแต่ละส่วนมาเทลงบนจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ก่อนนำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 6 ชั่วโมง สารละลายจะเริ่มข้นขึ้น จากนั้นเติมน้ำตาลซูโครสลงไปในแต่ละ

ส่วนผสมให้กระจายทั่วพื้นผิว แล้วนำไปอบต่อจนกระทั่งแห้ง ที่อุณหภูมิเดิม ประมาณ 48 ชั่วโมง นำโครงยึดที่เตรียมได้ไปแช่น้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อละลายน้ำตาลออก แบ่งโครงยึดออกเป็น 2 ชุด โดยชุดแรกนำไปแช่ใน เมทานอล ที่มีความเข้มข้น 50 % (v/v) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โครงยึดอีกชุดนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องแช่ในเมทานอล สุดท้ายเก็บโครงยึดไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

### การตรวจสอบสมบัติของโครง-ยึด

#### ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ของโครง-ยึดผสมไฟโบรอิน/เจลาตินที่เตรียมได้ ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM; LEO-1450) โดยนำโครง-ยึดมาตัดให้มีขนาดพอเหมาะ ติดบนที่วาง (stub) นำไปเคลือบด้วยทองคำ (gold) เพื่อเหนี่ยวนำอิเล็กตรอนที่บริเวณผิวหน้า ก่อนนำไปส่องดูกล้อง

#### สมบัติเชิงความร้อน

นำโครง-ยึดทั้งหมดมาชั่งน้ำหนักให้อยู่ในช่วง 5-10 มิลลิกรัม แล้วบรรจุในถ้วยแพททินัม (platinum pan) จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิตั้งแต่ 50-600 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการให้ความร้อน 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้สภาวะของแก๊สไนโตรเจน ปรับอัตราการไหลของแก๊สที่ 100 มิลลิลิตรต่อนาที

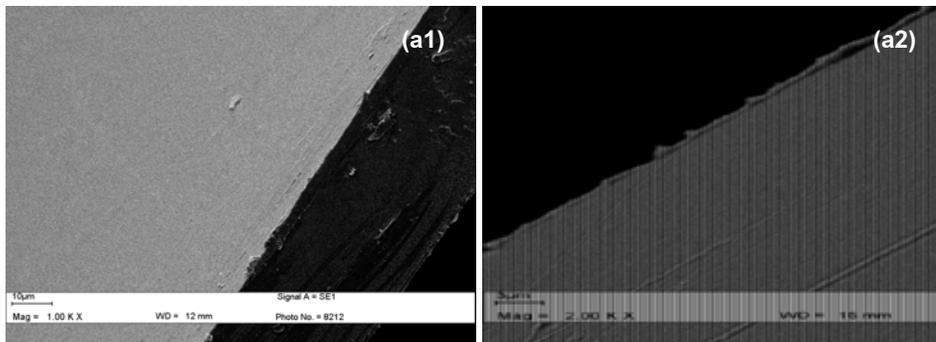
### ผลการทดลอง

Figure 1 แสดงภาพถ่าย SEM ของโครง-ยึดที่เตรียมจากไหมไฟโบรอิน จากภาพจะเห็นว่า โครง-ยึดทั้งพื้นผิว (a1) และภาคตัดขวาง (a2) จะเรียบ เนื้อเกาะกันเรียบเนียน และไม่ปรากฏการแยกวัฏภาค (phase) ให้เห็น เมื่อผสมสารละลายไหมไฟโบรอินและเจลาตินก่อนนำไปเตรียมเป็นโครง-ยึด แล้วนำไปแช่ในเมทานอลเพื่อละลายน้ำตาลและเหนี่ยวนำให้โครงสร้างแน่นขึ้น ผลการทดลองแสดงดัง Figure 2 ในอัตราส่วนไหมไฟโบรอินต่อเจลาตินเป็น 50/50 (Fig. 2b) พื้นผิวมีลักษณะขรุขระเมื่อเปรียบเทียบกับโครง-ยึดใหม่

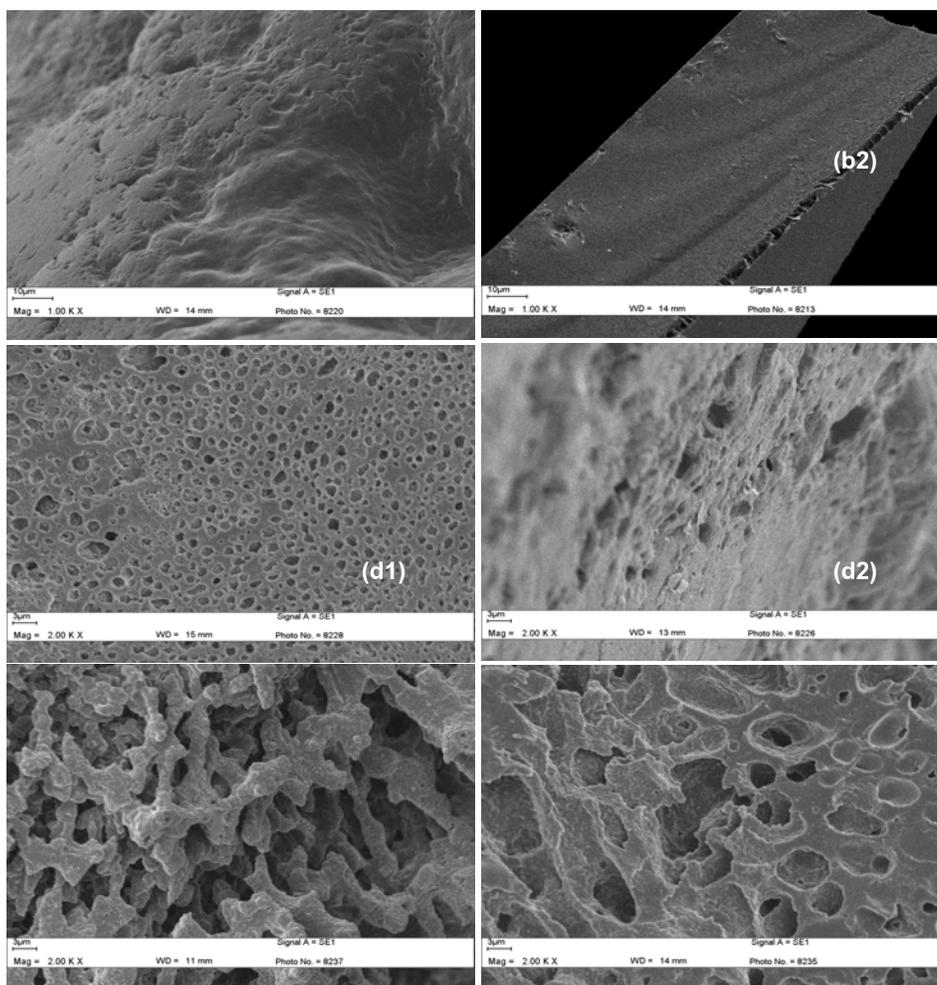
ไฟโบรอิน อย่างไรก็ตาม ภาคตัดขวาง ยังเรียบและไม่ปรากฏการแยกวัฏภาค ในอัตราส่วนนี้ไม่มีรูพรุน อาจเป็นเพราะว่า ไหมไฟโบรอินเข้ากันได้ดีมากกับเจลาติน ทำให้น้ำแทรกเข้าไปในโครงยึดไม่ได้ ในอัตราส่วน 62.5/37.5 v/v (Fig. 2c) จะปรากฏรูพรุนกระจายทั่วบริเวณของโครงยึด ลักษณะของรูคล้ายอนุภาคของน้ำตาลที่หลุด (leaching) ออกมาจากโครงยึด ขนาดและรูปร่างของรูแตกต่างกันและกระจัดกระจายแบบสุ่ม ส่วนภาคตัดขวางจะปรากฏรอยแยกและมีผิวขรุขระ ซึ่งความขรุขระน่าจะมาจากปริมาณที่แตกต่างกันระหว่างส่วนผสม นอกจากนี้ อาจเกิดจากความแตกต่างของขนาดโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในไหมไฟโบรอินและเจลาติน และในส่วนผสมอัตราส่วน 75/25 v/v (Fig.

2d) โครงยึดที่เตรียมได้ จะมีลักษณะพรุนเป็นแท่งจำนวนมากทับซ้อนกัน ส่วนที่ผิวหน้าจะเป็นรอยที่เกิดจากการฝังตัวของน้ำตาลและมีรอยลึกลงไป ซึ่งน่าจะมาจากส่วนของเจลาตินที่ละลายออกหรือแยกออกจากไหมไฟโบรอินเพราะมีปริมาณน้อยกว่า

โดยภาพรวม จะเห็นว่า โครงยึดที่เตรียมจากการผสมระหว่างไหมไฟโบรอินและเจลาติน ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติกลุ่มโปรตีน มีลักษณะพื้นฐานวิทยาแตกต่างกันตามอัตราส่วนระหว่างส่วนผสมทั้งสอง ในอัตราส่วนที่ปริมาณเจลาตินต่ำกว่า โครงยึดจะเกิดรูพรุนและมีช่องว่างเกิดขึ้นจำนวนมาก ซึ่งลักษณะเช่นนี้เหมาะสำหรับใช้เป็นวัสดุสำหรับเลี้ยงเซลล์<sup>22</sup> เพราะจะช่วยในการยึดเกาะและการเคลื่อนย้ายได้ดี



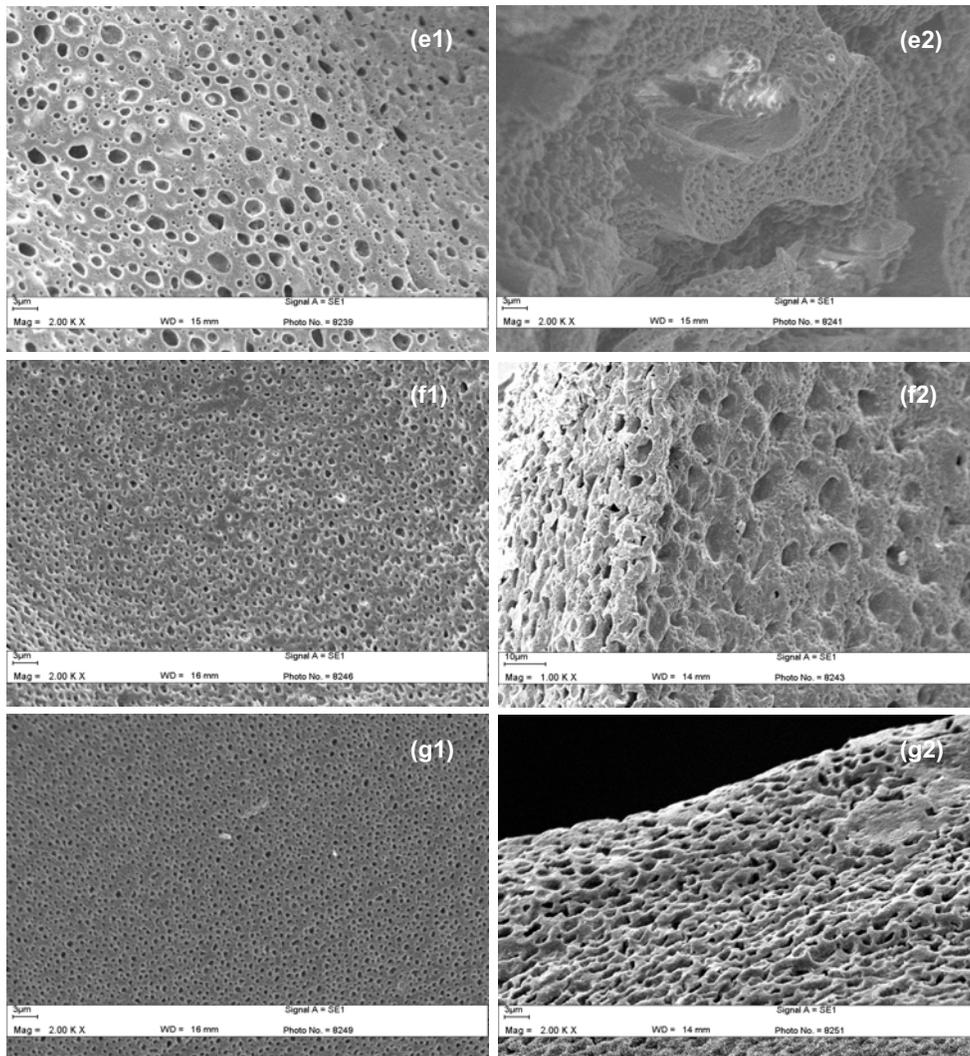
**Figure 1** SEM micrographs of silk fibroin scaffolds; surface (a1) and cross-section (a2).



**Figure 2** SEM micrographs of silk fibroin (SF)/gelatin (G) blend scaffolds at different ratios; SF/G at 50:50 (b), 62.5:37.5 (c) and 75:25 %v/v (d) after immersion in water. No. 1 presented as surface and no.2 presented as cross-section.

ในกลุ่มที่ทำการกำจัดน้ำตาลออกโดยการแช่น้ำแล้วนำไปจุ่มในเมทานอล โดย Figure 3 แสดงภาพถ่าย SEM ของโครงยัดที่เตรียมจากอัตราส่วนไหมไฟโบร-อิน ต่อเจลาตินเป็น 50/50 (Fig. 3e) จะเห็นว่า โครงยัดมีพื้นผิว (e1) ประกอบด้วยรูพรุนจำนวนมากขนาดประมาณ 3-5 ไมโครเมตร กระจายทั่วทั้งบริเวณผิวหน้า และภาคตัดขวาง (e2) ก็พบว่า มีรูพรุนกระจายจัดกระจายทั่วทั้งพื้นที่ มีลักษณะแข็ง ขรุขระ แต่รูพรุนไม่เชื่อมโยงกัน ในอัตราส่วน 62.5/37.5 v/v (Fig. 3f) จะปรากฏรูพรุนกระจายทั่วบริเวณของโครงยัดเช่นกัน ขนาดเล็กกว่าที่อัตราส่วน 50:50 รูมีขนาดใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาที่ภาคตัดขวาง (f2) จะเห็นรูพรุนมีขนาดใกล้เคียงกัน เนื้อของโครงยัดแน่น

แข็งและมีลักษณะเชื่อมต่อกัน และในส่วนผสมอัตราส่วน 75/25 v/v (Fig. 3g) โครงยัดที่เตรียมได้จะมีลักษณะรูพรุนละเอียดกว่าอัตราส่วนอื่น รูมีขนาดเล็กเป็นวงรีเชื่อมกันเป็นตาข่ายอย่างเด่นชัดเมื่อพิจารณาที่ภาคตัดขวาง (g2) โครงยัดที่ผ่านการจุ่มในเมทานอลจะมีลักษณะวิทยา แตกต่างจากที่แช่น้ำเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะลักษณะของรูพรุน ได้แก่ ขนาดรูปร่างและผิวของรูพรุน โดยพบว่า โครงยัดที่เตรียมโดยผ่านการจุ่มในเมทานอลจะมีผิวเรียบและดูแน่น ซึ่งลักษณะเช่นนี้ เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัสดุสำหรับเลี้ยงเซลล์ที่ต้องการความแข็งแรงสูง เช่น เซลล์กระดูก<sup>23</sup> นอกจากนี้ เมทานอล ยังช่วยในการดึงน้ำตาลออกจากโครงยัดส่งผลให้มีเนื้อแน่นแข็งและดูหนา<sup>24</sup>



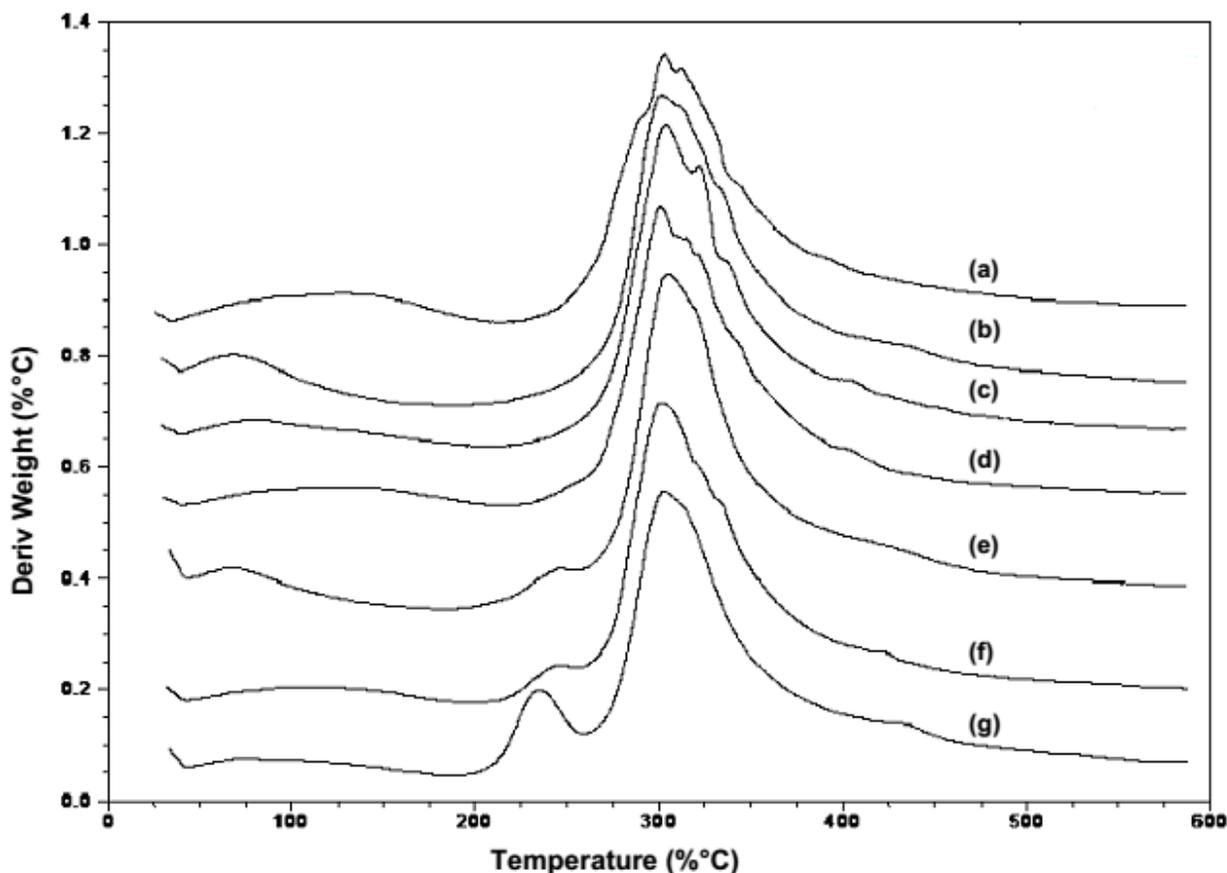
**Figure 3** SEM micrographs of silk fibroin (SF)/gelatin (G) blend scaffolds at different ratios; SF/G at 50:50 (e), 62.5:37.5 (f) and 75:25 %v/v (g) after immersion in water and treatment by methanol. No. 1 presented as surface and no.2 presented as cross-section.

สมบัติเชิงความร้อนของโครงยัดแสดงด้วยกราฟ differential thermogravimetric (DTG) (Fig. 4) โดยโครงยัดไหมไฟโบรอินจะแตกสลายที่อุณหภูมิจุดเดียวประมาณ 302 องศาเซลเซียส (Fig. 4a) แต่โครงยัดผสมระหว่างไหมไฟโบรอินและเจลาติน จะพบอุณหภูมิที่แตกสลายอย่างน้อย 2 ตำแหน่ง ซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของไหมไฟโบรอินและเจลาติน โครงยัดทั้งหมดปรากฏจุดแตกสลายที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส ซึ่งตำแหน่งดังกล่าวเกิดจากการระเหยของน้ำ นอกจากนี้ ยังมีจุดแตกสลายที่อุณหภูมิประมาณ 230-245 องศาเซลเซียส ซึ่งจะปรากฏเฉพาะ

โครงยัดที่ผ่านการแช่ในเมธานอลเท่านั้น แสดงให้เห็นว่า บริเวณดังกล่าวคือจุดแตกสลายของพันธะที่เกิดจากการเหนียวนาโดยเมธานอล และเมื่อพิจารณาที่จุดแตกสลายอื่น จะพบตำแหน่งการแตกสลาย 2 บริเวณคือ ที่อุณหภูมิประมาณ 302-305 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นจุดแตกสลายของไหมไฟโบรอิน และอุณหภูมิประมาณ 310-320 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นจุดแตกสลายของเจลาติน โดยปกติแล้ว เจลาตินจะมีตำแหน่งแตกสลายที่อุณหภูมิสูงกว่า 330 องศาเซลเซียส ผลจากการทดลองในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ความเสถียรต่อความร้อนของโครงยัดลดลง ซึ่งน่าจะมาจากการเกิด

รูพรุนในโครงสร้าง และส่งผลให้การสร้างพันธะ

ไฮโดรเจนระหว่างพอลิเมอร์ทั้งสองลดลง



**Figure 4** DTG curves of silk fibroin (a) and silk fibroin (SF)/gelatin (G) blend scaffolds at different ratios; SF/G at 50:50 (b), 62.5:37.5 (c) and 75:25 %v/v (d), and blended scaffolds after immersion in methanol; SF/G at 50:50 (e), 62.5:37.5 (f) and 75:25 %v/v (g).

### สรุปผลการทดลอง

สามารถเตรียมโครงยัดรูพรุนจากไหมไฟโบรอินผสมเจลาตินได้โดยใช้วิธี particulate sucrose leaching โดยรูพรุนและสัดส่วนวิทยาของโครงยัดมีลักษณะแตกต่างกันตามอัตราส่วนที่ใช้เตรียม โดยหากปริมาณไหมไฟโบรอินมาก รูพรุนจะเล็กและกระจุกกระจาย มีขนาดใกล้เคียงกัน โครงยัดที่ไม่แช่เมธานอลจะมีผิวขรุขระเหมาะสำหรับการเกาะของเซลล์ แต่เมื่อแช่โครงยัดในเมธานอล จะทำให้มีผิวเรียบและเนื้อโครงยัดแน่นขึ้น รวมทั้งมีรูพรุนเชื่อมโยงกันดี เหมาะสำหรับใช้เป็นวัสดุเลี้ยงเซลล์ที่ต้องการความแข็งแรงสูง การผสมระหว่างไหมไฟโบรอินและเจลาติน ทำให้สมบัติเชิงความร้อนเปลี่ยนแปลงไป โดยเกิดการสร้างพันธะใหม่เมื่อจุ่มในเมธานอลและทำให้จุดแตกสลายลดต่ำลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองในครั้งนี้ ถือว่า

ประสบความสำเร็จในการเตรียมโครงยัดรูพรุน 3 มิติที่มีความหลากหลายทั้งขนาดและพื้นผิว ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการเตรียมโครงยัดรูพรุนจากไหมไฟโบรอิน ที่มีความเหมาะสมสำหรับเลี้ยงเซลล์ต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสำหรับตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของโครงยัด

## เอกสารอ้างอิง

1. Siraporn S, Sorada K, Rattapol R, Juthamas R, Siriporn DI. Development of electrospun beaded fibers from Thai silk fibroin and gelatin for controlled release application. *Int J Biol Macromol* 2013;55:176-184.
2. Shuqin Y, Qiang Z, Jiannan W, Yu L, Shenzhou L, Mingzhong L, Kaplan DL. Silk fibroin/chondroitin sulfate/hyaluronic acid ternary scaffolds for dermal tissue reconstruction. *Acta Biomater* 2013;9:6771-6782.
3. Chinmoy P, Sarmistha T, Tatyana N, Siva RV, Christian M, Banani K, Subhas CK, Felix BE. Silk protein fibroin from *Antheraea mylitta* for cardiac tissue engineering. *Biomaterials* 2012;33:2673-2680.
4. Jung-Ho K, Faheem AS, Hyung WJ, Hyun JP, Bo MM, Ok JL, Chan HP. 3D silk fibroin scaffold incorporating titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticle (NPs) for tissue engineering. *Int J Biol Macromol* 2014;68:158-168.
5. Bhardwaj N, Nguyen QT, Chen AC, Kaplan DL, Sah RL, Kundu SC. Potential of 3-D tissue constructs engineered from bovine chondrocytes/silk fibroin-chitosan for in vitro cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2011;32:5773-5781.
6. Badylak SF. The extracellular matrix as a biologic scaffold material. *Biomaterials* 2007;28:3587-3593
7. Meinel L, Fajardo R, Hofmann S, Langer R, Chen J, Snyder B. Silk implants for the healing of critical size bone defects. *Bone* 2005;37:688-698.
8. Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J. Silk-based biomaterials. *Biomaterials* 2003;24:401-416.
9. Meinel L, Hofmann S, Karageorgiou V, Kirker HC, McCool J, Gronowicz G. The inflammatory responses to silk films in vitro and in vivo. *Biomaterials* 2005;26:147-155.
10. Huixu X, Zhipeng G, Chuansong L, Christopher F, Jianyun w, Longjiang L, Neil M, Qingsong Y, Changxiu W. A novel bioceramic scaffold integrating silk fibroin in calcium polyphosphate for bone tissue-engineering. *Ceram Int* 2016;42:2386-2392.
11. Kim HJ, Vunjak NG, Min BH, Kaplan DL. Influence of macroporous protein-scaffolds on bone tissue engineering from bone marrow stem cells. *Biomaterials* 2005;26:4442-4452.
12. Kai X, Puyuan W, Rutian L, Jia W, Huizi S, Yajun Z, Xiqun J, Ying H, Lixia Y, Baorui L. Facile preparation of a novel mulberry silk fibroin scaffold for three-dimensional tumor cell culture. *Mater Lett* 2015;143:8-11.
13. Hyun JP, Ok JL, Min CL, Bo MM, Hyung WJ, Jung ML, Jung HK., Dong WK., Chan HP. Fabrication of 3D porous silk scaffolds by particulate (salt/sucrose) leaching for bone tissue reconstruction. *Int J Biol Macromol* 2015;78:215-223.
14. Guillaume V, Thomas B, Aneta J, Mieszawska, Rossella C, Claire R, Pascale V, Jean LD, David LK, Christophe E. Enhanced cellular adhesion on titanium by silk functionalized with titanium binding and RGD peptides. *Acta Biomater* 2013;9:4935-4943.
15. Abbas T, Mohammad A, Rahmatollah E, Jalil L, Alireza NC. Preparation characterization degradation and biocompatibility of different silk fibroin based composite scaffolds prepared by freeze-drying method for tissue engineering application. *Polym Degrad Stab* 2015;121:18-29.



16. Sionkowska A, Lewandowska K, Michalska M, Walczak M, Characterization of silk fibroin 3D composites modified by collagen. *J Mol Liq* 2016;215:323-327
17. Thurber AE, Fiorenzo G, Omenetto, David L, Kaplan. In vivo bioresponses to silk proteins. *Biomaterials* 2015;71:145-157
18. Thein H, W W, Saikhun J, Pholpramoo C, Misra R.D.K, Kitiyanant Y. Chitosan gelatin scaffolds for tissue engineering physicochemical properties and biological response of buffalo embryonic stem cells and transfectant of GEP-buffalo embryonic stem cell. *Acta Biomater* 2009;5:3453-3466.
19. Gil ES, Frankowski DJ, Hudson SM, Spontak RJ. Silk fibroin membranes from solvent crystallized silk fibroin/gelatin blends: Effects of blend and solvent composition. *Mater Sci Eng C* 2007;27:426-431.
20. Lee J, Tae G, Kim YH, Park IS, Kim SH, Kim SH. The effect of gelatin incorporation into electrospun poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) fibers on mechanical properties and cytocompatibility. *Biomaterials* 2008;29:1872-1879.
21. Simchuer W, Srisuwan Y, Baimark Y, Srihanam P. Silk fibroin/gelatin hybrid films for medical applications: Study on chlorhexidine diacetate. *J Biol Sci* 2010;10(5):455-459.
22. Sionkowska A, Ptanecka A. Preparation and characterization of silk fibroin/chitosan composite sponges for tissue engineering. *J Mol Liq* 2013;178:5-14.
23. Teimouri A, Azadi M, Emadi R, Lari J, Chermahini AN. Preparation, characterization, degradation and biocompatibility of different silk fibroin based composite scaffolds prepared by freeze-drying method for tissue engineering application. *Polym Degrad Stab* 2015; 121:18-29.
24. Ong-chiari W, Srisuwan Y, Simchuer W, Srihanam P. Morphology, secondary structure and thermal properties of silk fibroin/gelatin blend film. *Pak J Biol Sci* 2009;12(23):1526-1530.