

**PREPARATION OF BIOPOLYMER NANOPARTICLES AND
NANOFIBERS**

Vipasri Kanchanason

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
Case Western Reserve University and Institut Français du Pétrole

2006

ISBN 974-9990-08-0

Thesis Title: Preparation of Biopolymer Nanoparticles and Nanofibers
By: Vipasri Kanchanason
Program: Polymer Science
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Rathanawan Magaraphan
Asst. Prof. Manit Nithitanakul

Accepted by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Master of Science.

.....*Nantaya Yanumet*..... College Director
(Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

Thesis Committee:

.....*R. Mag*.....
(Assoc. Prof. Rathanawan Magaraphan)

.....*MN*.....
(Asst. Prof. Manit Nithitanakul)

.....*Nantaya Yanumet*.....
(Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

.....*R. Rathapol*.....
(Dr. Rathapol Rangkupan)

ABSTRACT

4772032063: Polymer Science Program

Vipasri Kanchanason: Preparation of Biopolymer Nanoparticles and Nanofibers.

Thesis Advisors: Assoc.Prof. Rathanawan Magaraphan and

Asst. Prof. Manit Nithitanakul 65 pp. ISBN 974-9990-08-0

Keywords: Sericin/ Polyacrylamide/ Solution Blending/ Esterification reaction/
Electrospinning process/ Nanoparticles/ Nanofibers

The aim of this study was to prepare sericin in nanoparticles and nanofibers by using electrospinning process. Sericin was difficult to spin into nanofibers. Attachment of sericin with synthetic polymer was one way to solve this problem. In this research, sericin was modified by using solution blending or chemical reaction with polyacrylamide then electrospun into nanoparticles and nanofibers. Various electro spray and electrospinning conditions i.e. the concentration, the power supply voltage, and tip to target 15 cm were studied. For modified sericin by solution blending, the sericin content was varied from 10% wt to 50% wt. The best condition to observe nanofibers was using 10% of sericin content with 90% of PAM content and using 20 kV of applied high voltage, and the average diameter observed at 134 nm. For modified sericin by chemical reaction, the modified sericin was obtained by esterification reaction between the reactive sites of sericin and polyacrylamide derivative. The ratio of sericin and polyacrylamide derivative was varied in 1:1, 1:5, 1:10 w/w. All of these ratios were observed as particles and the best condition to obtain nanoparticles were using ratio 1:10 w/w. The average of particles size was observed in range 182 to 239 nm.

บทคัดย่อ

นางสาววิภาศรี กาญจนสนธิ์: การเตรียมอนุภาคและเส้นใยระดับนาโนเมตรของสารชีวโมเลกุล (Preparation of Biopolymer Nanoparticles and Nanofibers) อ. ที่ปรึกษา: รศ.ดร. รัตนาวรรณ มกรพันธุ์ และ อ. ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.มานิตย์ นิธิชนากุล 65 หน้า ISBN 974-9990-08-0

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อนำเชริซินหรือโปรตีนกาวไหมมาผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงเพื่อทำให้อ่อนนุ่มหรือเส้นใยระดับนาโนเมตร ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้ทำการดัดแปลงเชริซินด้วยพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีชื่อว่าพอลิอะคริลาไมด์ ซึ่งพอลิเมอร์สังเคราะห์ชนิดนี้สามารถที่จะทำให้เป็นเส้นใยระดับนาโนเมตรได้ง่าย วิธีการทำการดัดแปลงเชริซินในงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ ใช้วิธีการเชื่อมโมเลกุลของสารทั้งสองในสารละลาย หรือเชื่อมโมเลกุลของสารทั้งสองโดยผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า เอสเทอร์ฟิเคชัน แล้วจึงนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปผ่านกระบวนการทางอิเล็กโตรสปินนิงโดยได้ทำการศึกษาถึงผลของความเข้มข้นและศักย์ไฟฟ้าแรงสูงที่ให้เข้าไป ผลที่ได้คือ เชริซินที่ทำการดัดแปลงด้วยวิธีการเชื่อมโมเลกุลในสารละลายสามารถทำให้เป็นเส้นใยระดับนาโนเมตรได้เมื่อมีปริมาณของเชริซิน 10 ส่วนต่อพอลิอะคริลาไมด์ 90 ส่วน โดยน้ำหนักโดยให้ศักย์ไฟฟ้าแรงสูงที่ระดับ 20 กิโลโวลต์และเส้นใยที่ได้มีขนาดเฉลี่ยอยู่ที่ 134 นาโนเมตร ในส่วนของเชริซินที่ทำการดัดแปลงด้วยกระบวนการทางเคมีไม่สามารถที่จะทำให้เป็นเส้นใยได้แต่สามารถทำให้เป็นอนุภาคระดับนาโนเมตรได้ โดยสัดส่วนที่เหมาะสมของเชริซินและพอลิอะคริลาไมด์ที่สามารถทำให้เกิดอนุภาคระดับนาโนเมตรได้คือ ใช้เชริซิน 1 ส่วนต่อพอลิอะคริลาไมด์ 10 ส่วน โดยน้ำหนัก อนุภาคที่ได้มีขนาดเฉลี่ยอยู่ที่ 182 ถึง 139 นาโนเมตร

ACKNOWLEDGEMENTS

This work would not have been possible without the assistance of the following individuals.

The author gratefully acknowledges the partial scholarship and partial funding of the thesis work provided by Postgraduate Education and Research Programs in Petroleum and Petrochemical Technology (PPT Consortium).

This thesis work is funded by Polymer Processing and Polymer Nanomaterials Research Units.

The author would like to gratefully give special thanks to her advisors, Associated Professor Rathanawan Magaraphan and Assistant Professor Manit Nithitanakul for their intensive suggestions, valuable guidance and vital help throughout this research work. The author deeply thanks to Assoc. Prof. Nantaya Yanumet and Dr. Ratthapol Rangkupan for serving on her thesis committee

Special thanks go to all of the Petroleum and Petrochemical College's faculties who have tendered invaluable knowledge and go to the college staffs who give me invaluable assistance. Department of Food Technology and Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University where assisted in the instruments.

In addition, the author would like to thank all her PPC friends for their friendly assistance, cheerfulness, creative suggestions, and encouragement.

Finally, the author is greatly indebted to her family for their support, love and understanding. Without them, this work would have been successful.

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
Title Page	i
Abstract (in English)	iii
Abstract (in Thai)	iv
Acknowledgements	v
Table of Contents	vi
List of Tables	ix
List of Figures	x
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
 II LITERARURE REVIEWS	 9
 III EXPERIMENTAL	 13
3.1 Materials	13
3.1.1 Silk cocoons	13
3.1.2 Chemicals	13
3.2 Equipment	13
3.2.1 Autoclave	13
3.2.2 Freeze Drying Machine	13
3.2.3 High Voltage Power Supply	14
3.2.4 Fourier-Transform Infared Spectrometry	14
3.2.5 Proton Nuclear Magnetic Resonance	14
3.2.6 Thermogravimetric Analyzer	14
3.2.7 Gel Permeation Chromatography	14
3.2.8 Scanning Electron Microscope	14

CHAPTER	PAGE
3.3 Methodology	15
3.3.1 Preparation of Sericin	15
3.3.2 Modified Sericin by Solution Blending (SS/PAM)	15
3.3.3 Electrospinning of Modified Sericin (SS/PAM)	15
3.3.4 Modified Sericin by Chemical Reaction (SS-PAM)	15
3.3.4.1 Preparation of PAM Derivative a	15
3.3.4.2 Preparation of PAM Derivative b	16
3.3.4.2 Synthesis of Modified Sericin (SS-PAM)	16
3.3.5 Electrospinning of Modified Sericin (SS-PAM)	16
IV RESULTS AND DISCUSSION	17
4.1 Preparation of Sericin	17
4.1.1 FT-IR Characterization	17
4.1.2 ¹ H-NMR Characterization	17
4.1.3 Thermal Gravimetry Characterization	18
4.2 Modified Sericin (SS/PAM) by Solution Blending	18
4.2.1 FT-IR Characterization	18
4.2.2 ¹ H-NMR Characterization	19
4.2.3 Thermal Gravimetry Characterization	21
4.3 Electrospinning of Modified Sericin (SS/PAM)	22
4.3.1 Scanning Electron Microscope Characterization	22
4.4 Modified Sericin (SS-PAM) by Chemical Reaction	31
4.4.1 Preparation of PAM Derivative a	31
4.4.1.1 FT-IR Characterization	32
4.4.1.2 ¹ H-NMR Characterization	32
4.4.1.3 Thermal Gravimetry Characterization	33
4.4.2 Preparation of PAM Derivative b	34
4.4.2.1 FT-IR Characterization	34
4.4.2.2 ¹ H-NMR Characterization	34
4.4.2.3 Thermal Gravimetry Characterization	35

CHAPTER	PAGE
4.4.3 Preparation of Modified Sericin (SS-PAM)	36
4.4.3.1 FT-IR Characterization	37
4.4.3.2 ¹ H-NMR Characterization	38
4.4.3.3 Thermal Gravimetry Characterization	40
4.4.3.4 Gel Permeation Chromatography Characterization	41
4.5 Electrospinning of Modified Sericin (SS/PAM)	42
4.5.1 Scanning Electron Microscope Characterization	42
V CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	47
REFERENCES	48
APPENDIX	52
CURRICULUM VITAE	65

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
1.1 Amount of the key amino acids in sericin	3
4.1 ¹ H-NMR chemical shifts of sericin	17
4.2 ¹ H-NMR chemical shifts of modified sericin by solution blending (SS/PAM)	20
4.3 Temperature degradation and % weight loss of modified sericin by solution blending (SS/PAM)	22
4.4 ¹ H-NMR chemical shifts of PAM derivative a	33
4.5 ¹ H-NMR chemical shift of PAM derivative b	35
4.6 ¹ H-NMR chemical shifts of modified sericin by chemical reaction (SS-PAM)	39
4.7 Temperature degradation and % weight loss of modified sericin by chemical reaction (SS/PAM)	41
4.8 Retention time of sericin, PAM, modified sericin (SS-PAM)	41

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
1.1 Three layers of sericin	2
1.2 Chemical structure of protein	3
1.3 Chemical structure of polyacrylamide	4
1.4 Essential features of the electro spray interface	5
1.5 Droplet production in the electro spray interface	6
1.6 The droplets formation of electro spray process	7
1.7 Schematic of an electro spinning device	8
4.1 IR spectra of modified sericin by solution blending (SS/PAM): PAM (0/100), 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, and sericin (100/0)	19
4.2 Molecular interactions between sericin and PAM chains	20
4.3 SEM images of electro spun PAM 50 %wt at 15, 20, and 25 kV	24
4.4 SEM images of electro spun 10/90 w/w of SS/PAM at 15, 20, and 25 kV	25
4.5 SEM images of electro spun 20/80 w/w of SS/PAM at 15, 20, and 25 kV	26
4.6 SEM images of electro spun 30/70 w/w of SS/PAM at 15, 20, and 25 kV	27
4.7 SEM images of electro spun 40/60 w/w of SS/PAM at 15, 20, and 25 kV	28
4.8 SEM images of electro spun 50/50 w/w of SS/PAM at 15, 20, and 25 kV	29
4.9 SEM images of electro spun sericin 10 %wt at 20 kV	30
4.10 Chemical reaction of PAM derivative a	31
4.11 IR spectra of PAM, PAM derivative a , PAM derivative b , Sericin, and SS-PAM modification (1:1 w/w)	32

FIGURE	PAGE
4.12 TG/DTA curves of PAM derivative a	33
4.13 Chemical reaction of PAM derivative b	34
4.14 TG/DTA curves of PAM derivative b	36
4.15 Chemical reaction of modified sericin (SS-PAM)	37
4.16 IR spectra of SS-PAM modification 1:1, 1:5, and 1:10 w/w	38
4.17 Chemical structure of modified sericin (SS-PAM)	39
4.18 TG/DTA curves of SS-PAM (1:1 w/w)	40
4.19 Crosslink structure between sericin and PAM derivative	42
4.20 SEM images of electrospun 1:1 w/w of SS-PAM at 15, 20, and 25 kV:	
(a) 20% w/v in 50% formic acid, (b) 30% w/v in 50% formic acid	44
4.21 SEM images of electrospun 1:5 w/w of SS-PAM at 15, 20, and 25 kV:	
(a) 40% w/v in 50% formic acid, (b) 50% w/v in 50% formic acid	45
4.22 SEM images of electrospun 1:10 w/w of SS-PAM at 15, 20, and 25 kV:	
(a) 40% w/v in 50% formic acid, (b) 50% w/v in 50% formic acid	46