THE STUDY OF SILK SERICIN/CLAY AEROGEL STRUCTURE

Saowanee Likitamporn

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,
and Case Western Reserve University
2013

Thesis Title:	The Study of Silk Sericin/Clay Aerogel Structure
By:	Saowanee Likitamporn
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Assoc. Prof. Rathanawan Magaraphan

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

..... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

.....

(Assoc. Prof. Rathanawan Magaraphan)

.....

(Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan)

.....

(Dr. Orasa Onjun)

ABSTRACT

5472035063: Polymer Science Program
Saowanee Likitamporn: The Study of Silk Sericin/Clay Aerogel Structure.
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Rathanawan Magaraphan 141 pp.
Keywords: Silk sericin/ Clay aerogel/ Bentonite/ Scaffold/ Porous structure

Clay aerogel is light weight, low density and high porosity material produced from bentonite via freeze-drying technique which the morphology is suitable for several biotechnological applications including 3D scaffold. In this study, silk sericin/PVA/clay aerogel, the new material to use as scaffold for tissue engineering, was prosperously prepared. Silk sericin, the glue like protein from silk cocoon, is cooperated with clay aerogel due to the ability to enhance cell growth and cell viability. Silk sericin was extracted from 4 species of traditional Thai silk cocoon; Nang Noi, Nang Lai, Dok Bua and Luang Pairote. Nevertheless, silk sericin/clay aerogel forms fragile material. To over this problem, poly(vinyl alcohol) was employed to improve the mechanical properties. The aim of this study was to prepared silk-sericin/PVA/clay aerogel by freeze-drying technique using glutaraldehyde as cross-linked agent and studied the influence of silk sericin, clay contents, cross-linked agent and species of silk to the properties of the aerogel. The increasing of silk sericin content powerfully increased in thermal and mechanical properties. In contrast, the increasing of clay and glutaraldehyde strongly increased mechanical properties but reduced the thermal stability. Base on *in vitro* direct contact test and MTT assay using human gingival fibroblast cell, the silk sericin/PVA/clay aerogel can be a good candidate for 3D scaffold for tissue engineering in order to uses in periodontal disease. Additionally, silk sericin content, glutaraldehyde concentration, species of silk and variable of human cell had an influence on the cell viability and mitochondria activities.

บทคัดย่อ

เสาวนีย์ ลิขิตอัมพร : การศึกษาโครงสร้างเคลย์แอโรเจล/ผงไหมซิริซิน (The Study of Silk Sericin/Clay Aerogel Structure) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. รัตนวรรณ มกรพันธุ์ 141 หน้า

เคลย์แอโรเจลเป็นวัสดุที่มีน้ำหนักเบา ความหนาแน่นต่ำ และมีความเป็นรูพรุนสูง เคลย์แอโรเจลสามารถสร้างขึ้นจากการนำดินเบนโทไนต์ไปผ่านกระบวนการที่เรียนว่าการแช่แข็งแห้ง เมื่อพิจารณาโครงสร้างของเคลย์แอโรเจลที่เกิดขึ้น โครงสร้างที่มีความพรุนสูงและรูพรุนเป็นแบบต่อเนื่องมีความเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในงานทางด้านวัสดุเทคโนโลยีชีวภาพ รวมถึง โครงเลี้ยงสามมิติ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ในการเตรียมเคลย์แอโรเจล/ผงไหมซิริซินโดยกระบวนการแช่แข็งแห้ง เนื่องด้วยมีงานวิจัยพบว่าผงไหมซิริซินมีคุณสมบัติในการเร่งการเจริญเติบโตทั้งในไฟโบรบลาสและออสทีโอบลาสเซลล์ เคลย์แอโรเจลชนิดใหม่นี้มุ่งหวังเพื่อนำไปใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์สามมิติเพื่อใช้สำหรับงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ มุ่งเน้นในการรักษาโรคทางด้านปริทนต์ ผงไหมซิริซินถูกสกัดมาจากไหมแตกต่างสายพันธุ์ทั้งหมดสี่ชนิด คือ นางน้อย นางลาย ดอกบัวและเหลืองไพโรจน์ เนื่องด้วยเคลย์แอโรเจล/ผงไหมซิริซินเกิดเป็นวัสดุที่มีสมบัติเชิงกลต่ำ ดังนั้นพอลิไวนิลแอลกอฮอล์จึงถูกนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกล นอกจากนี้กลูตารัลดีไฮด์ถูกนำมาใช้เพื่อจุดประสงค์ให้เกิดการสร้างการเชื่อมขวางของผงไหมซิริซินและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพื่อทำให้โครงสร้างของเคลย์แอโรเจลสามารถคงรูปอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ได้ จากงานวิจัยพบว่า การเพิ่มปริมาณของผงไหมซิริซินส่งผลให้เกิดการปรับปรุงทางด้านสมบัติเชิงกลและสมบัติทางความร้อน แต่เมื่อปริมาณของดินเบนโทไนต์และกลูตารัลดีไฮด์มากขึ้นส่งผลให้เกิดการปรับปรุงสมบัติเชิงกล แต่สมบัติทางความร้อนต่ำลง จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกายมนุษย์ โดยใช้เซลล์เหงือกจากอาสาสมัคร พบว่า เคล์แอโรเจล/ผงใหม่ซิริซินสามารถนำไปใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์สามมิติทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อรักษาโรคทางด้านปริทนต์ได้ โดยการเจริญเติบโตของเซลล์ขึ้นอยู่กับปริมาณของผงไหมซิริซิน ความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ สายพันธุ์ของไหม รวมถึงความแตกต่างของเซลล์ในแต่ละบุคคลด้วย

ACKNOWLEDGEMENTS

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

First of all, this thesis would not be possible without sincerely acknowledging Assoc. Prof. Rathanawan Magaraphan, my research advisor for her intensive suggestions, valuable guidance, encouragement and vital help throughout research work. The author would like to gratefully thank Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan and Dr, Orasa Onjun for kindly serving on her thesis committees.

The author is grateful for the scholarship and funding of the thesis work provided by the Petroleum and Petrochemical College; and the National Center of Excellence for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials, Thailand. The author would also thanks the National Research Council of Thailand (NRCT) and the government budget 2012 for the funding support.

Special thanks go to Prof. Somporn Swasdison for her meanuseful knowledge and recommendation on the biological testing and fundamental of dental implant and also her assistant, Mr. Somchai Yodsanga for his kindly support. Furthermore, the author greatly appreciates all of the Petroleum and Petrochemical college faculties for their beneficial knowledge and to the all of college staff for their voluntarily support and reassurance.

Finally, I would like to take this opportunity to thank all of my PPC friends and my seniors especially RM and HM groups and MS 37 friends for their great friendship, helpfulness, cheerfulness, creative suggestions and encouragement.

Finally, all of this achievement would not be accomplish if there was no supporting, understanding, encouragement and carefulness from my family.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

CHAPTER VI

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

CHAPTER V

FIGURE **PAGE**

CHAPTER VI

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

ABBREVIATIONS

Cel	Cellulose
DB	Dok Bua species
Gel	Gelatin
GC	Glyceraldehyde
GT	Glutaraldehyde
HGF	Human gingival fibroblast cell
LP	Luang Pairote species
MBA	N, N-methylene-bisacrylamide
MMT	Montmorillonite clay
MTT	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
NL	Nang Lai species
NN	Nang Noi species
NR	Natural rubber
OD	Optical density
PVA	Poly(vinyl alcohol)
SS	Silk sericin
SR	Swelling ratio
T	Temperature

SYMBOLS

ρ	Mass density
M	Mass
V	Volume
d	Interlayer spacing
λ	X-ray wavelength
θ	Diffraction angle