อิทธิพลของมวลโมเลกุลของไคโตซานต่อสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนและไคโตซาน

นายฉลองลาภ ตั้งศรัทธาคุณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548
ISBN 974-53-2562-7

THE INFLUENCE OF MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN ON PHYSICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF COLLAGEN/CHITOSAN SCAFFOLDS

Mr. Chalonglarp Tangsadthakun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-53-2562-7

Thesis Title	THE INFLUENCE OF MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN ON PHYSICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF COLLAGEN/CHITOSAN SCAFFOLDS
By	Mr. Chalonglarp Tangsadthakun
Field of Study	Chemical Engineering
Thesis Advisor	Associate Professor Siriporn Damrongsakkul, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Sorada Kanokpanont, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Engineering, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

..... Dean of the Faculty of Engineering
(Professor Direk Lavansiri, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Chirakarn Muangnapoh, Dr. Ing.)

..... Thesis Advisor
(Associate Professor Siriporn Damrongsakkul, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Sorada Kanokpanont, Ph.D.)

..... Member
(Assistant Professor Sarawut Rimdusit, Ph.D.)

..... Member
(Piyamas Sumrejkanchanakit, Ph.D.)

ฉลองลาภ ตั้งศรัทธาคุณ : อิทธิพลของมวลโมเลกุลของไคโตซานต่อสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนและไคโตซาน. (THE INFLUENCE OF MOLECULAR WEIGHT OF CHTIOSAN ON PHYSICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF COLLAGEN/CHITOSAN SCAFFOLDS) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ดร. โศรดา กนกพานนท์, 148 หน้า. ISBN 974-53-2562-7.

พอลิเมอร์ชีวภาพผสมระหว่างคอลลาเจนและไคโตซานมีศักยภาพสำหรับนำมาผลิตเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างมวลโมเลกุลของไคโตซานกับสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนและไคโตซานยังไม่มีการรายงานที่ชัดเจน ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของมวลโมเลกุลของไคโตซานต่อสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนและไคโตซาน โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ในการทดลองเตรียมโดยกระบวนการทำแห้งด้วยความเย็นของสารละลายผสมและเชื่อมโยงพันธะระหว่างสายโซ่โมเลกุลโดยการใช้ความร้อนภายใต้สภาวะสูญญากาศ โครงเลี้ยงเซลล์ถูกเตรียมโดยเปลี่ยนมวลโมเลกุลของไคโตซาน 4 ค่า (ในช่วง 4,800 ถึง 880,000) และสัดส่วนการผสม Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy พิสูจน์ให้เห็นว่าอันตรกิริยาระหว่างคอลลาเจนและไคโตซานเป็นแบบกายภาพในทุกสัดส่วนการผสม โดยไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีในระดับโมเลกุล จากการทดสอบค่ามอดูลัสของการกดทำให้ทราบว่าค่ามอดูลัสจะลดลงเมื่อสัดส่วนของไคโตซานเพิ่มขึ้น แต่สำหรับไคโตซานที่มีมวลโมเลกุลสูงจะให้ค่ามอดูลัสเพิ่มขึ้นที่สัดส่วนการผสมของไคโตซาน 30 เปอร์เซ็นต์ โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักจะมีสัดส่วนการบวมน้ำที่สภาวะสมดุลซึ่งมีค่าประมาณ 6-8 เท่าของน้ำหนักโครงเลี้ยงเซลล์แห้ง ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 7.4 (เท่ากับค่าทางสรีรวิทยา) การทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพแสดงให้เห็นว่าการเติมไคโตซานโดยเฉพาะมวลโมเลกุลสูงทำให้ความสามารถในการย่อยสลายตัวของโครงเลี้ยงเซลล์ช้าลง การทดสอบการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังชั้นในของหนูและของมนุษย์ พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนและไคโตซานมวลโมเลกุลต่ำสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังชั้นในอย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจน และโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนและไคโตซานมวลโมเลกุลสูง โดยเฉพาะที่สัดส่วนการผสมของไคโตซาน 30 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงถึงความเป็นไปได้อย่างยิ่งในการใช้พอลิเมอร์ชีวภาพผสมระหว่างคอลลาเจนและไคโตซานมวลโมเลกุลต่ำเป็นวัสดุชนิดใหม่ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4770251421 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEY WORD: COLLAGEN/ CHITOSAN/ MOLECULAR WEIGHT/ SCAFFOLD/ FIBROBLAST/ TISSUE ENGINEERING

CHALONGLARP TANGSADTHAKUN : THE INFLUENCE OF MOLECULAR WEIGHT OF CHTIOSAN ON PHYSICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF COLLAGEN/CHITOSAN SCAFFOLDS. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF. SIRIPORN DAMRONGSAKKUL, Ph.D., THESIS COADVISOR : SORADA KANOKPANONT, Ph.D., 148 pp. ISBN 974-53-2562-7.

Biopolymer blends between collagen and chitosan have good potential for production of biocompatible scaffolds. However, the relationship between the molecular weight of chitosan and its effect on physical and biological properties of collagen/chitosan scaffolds have not been clearly elucidated. This research aims to investigate the effects of molecular weight of chitosan on physical and biological properties of collagen/chitosan scaffolds. Porous scaffolds were fabricated by freeze drying solutions of collagen, chitosan, and collagen/chitosan blends and then crosslinked by dehydrothermal treatment (DHT). Various scaffolds were prepared using four chitosan samples with various molecular weights (M_v, 4.8k-880k) and blending compositions. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy proved that collagen/chitosan scaffolds in all blending compositions contained only physical but not chemical interaction in molecular level. The compressive modulus of scaffolds decreased with increasing the compositions of chitosan, but, for collagen blended with high molecular weight chitosan (880k), the compressive modulus increased, especially at blending composition of 30% chitosan. Equilibrium swelling ratios of approximately 6-8, carried out in phosphate buffered saline at physiological pH (7.4), were found in case of collagen dominate scaffolds. The lysozyme biodegradation test demonstrated that the presence of chitosan, especially the high molecular weight, could significantly prolong the biodegradation of collagen/chitosan scaffolds. *In vitro* culture of L929 mouse connective tissue fibroblasts and Detroit 551 human dermal fibroblasts evidenced that collagen scaffold with lower molecular weight chitosan was more effective to promote and accelerate cell proliferation than pure collagen and collagen/high molecular weight chitosan scaffolds, particularly for scaffolds containing 30% of chitosan. The results elucidated that the blends of collagen with low molecular weight chitosan have a high possibility to be applied as new materials for skin tissue engineering.

Department..... Chemical Engineering..... Student's signature.....

Field of study.....Chemical Engineering..... Advisor's signature.....

Academic year...2005.....Co-advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to express his sincere gratitude to Associate Professor Dr. Siriporn Damrongsakkul, who supervised, suggested and encouraged him throughout this work, to Dr. Sorada Kanokpanont for her guidance and valuable suggestions. The author is also grateful to Associate Professor Dr. Chirakarn Muangnapoh, Assistant Professor Dr. Sarawut Rimdusit and Dr. Piyamas Sumrejkanchanakit for serving as the chairman and the members of the thesis committee, respectively, whose comments were constructively and especially helpful.

The author would like to thank Dr. Rath Pitchyangkura at the Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for his help in preparation of different molecular weight chitosans and his worth suggestions.

The author would like to thank Associate Professor Dr. Prasit Pavasant and Assistant Professor Dr. Neeracha Sanchavanakit at the Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University for his and her kind attentions and suggestions in cell culture as well as facilities.

The author would like to thank the staffs of Analytical Instrument Center and Laboratory for their helps with experiments. He would like to extend his grateful thanks to all members of Polymer Engineering Research Group at the Department of Chemical Engineering as well as all members of Tissue Culture Laboratory at the Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University.

Finally, his greatest thank should go to his family especially his parents, who always support, undoubtfully believe and understand him.

CONTENTS

PAGE

PAGE

PAGE

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**