

견피브로인/Poly(vinyl alcohol) 블렌드 필름의 형태학적 구조

엄인철 · 박영환

서울대학교 농업생명과학대학

Morphology of Silk Fibroin/Poly(vinyl alcohol) Blend Film

In Chul Um and Young Hwan Park

College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT

The morphology of silk fibroin/poly(vinyl alcohol)(PVA) blend films was investigated using optical microscopy and confocal laser scanning microscopy. The effects of blend ratio and molecular weight of silk fibroin and PVA on phase separation were studied. Macro-phase separation occurred for the silk fibroin-rich/poor region whereas micro-phase separation took place for the dispersed/continuous phase. In spite of differences in molecular weight and blend ratio, it is observed that the dispersed phase and continuous one are composed of silk fibroin and PVA component, respectively. As the molecular weight of silk fibroin and silk fibroin content in blend ratio are decreased, the compatibility of blend films is increased due to the reduction of micro-phase separation.

Key words : Silk fibroin/PVA blend film, Phase separation, Dispersed phase, Continuous phase, Compatibility

서 론

견피브로인은 생체적합성이 우수하며 필름 제조시 습윤상태에서 산소투과성이 우수한 것으로 알려져 생물공학 및 의용재료로서 견피브로인 필름의 응용에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(Sakabe *et al.*, 1989, Minoura *et al.*, 1990). 그러나 필름 제조시 건조 상태에서 brittle한 성질을 나타내는 등 견피브로인 소재 자체만으로는 물성에는 한계가 있기 때문에 견피브로인의 응용범위를 넓히기 위하여 천연고분자 또는 합성고분자와의 블렌드에 관한 연구가 진행되어 왔다.

그 중에서 poly(vinyl alcohol)(PVA)은 생체적합성이 우수하고 생분해성을 나타내는 수용성 합성고분자이며 또한 우수한 필름형성 능력과 뛰어난 기계적 성질을 가지고 있어 효소, heparin등을 고정화시키는 매트릭스로서의 응용가능성이 있기 때문에(Chandy *et al.*, 1992, Azuma *et al.*, 1992) 견피브로인/PVA 블렌드의 구조와 물성에 관하여 많은 연구들이 진행되고

있으며 최근에는 견피브로인/PVA 블렌드를 이용한 biosensor로의 응용가능성에 대하여 보고되고 있다(Tsukada *et al.*, 1994, Yamaura *et al.*, 1990, Liu *et al.*, 1997, Tanaka *et al.*, 1997).

일반적으로 고분자 블렌드의 물리적·화학적·역학적 성질은 형태학적 구조, 특히 블렌드의 상분리 정도에 따라 좌우되는 것으로 알려져 있다(Hayashi *et al.*, 1994, Toy *et al.*, 1997). 또한 물질의 상용성에 영향을 미치는 상분리 거동은 블렌드를 구성하는 각 성분의 이화학적 특성뿐만 아니라 온도, 용매, 농도, 혼합비율 등 제조조건에 따라 다르게 나타나며 특히 분자량 및 분자량분포는 고분자 블렌드의 상용성에 영향을 미치는 주요한 인자로 알려져 있다(Koyama and Doi, 1997, Prahsarn and Jamieson, 1997).

견피브로인/PVA 블렌드 필름의 형태학적 구조에 대한 기존의 연구는 상분리가 일어난다고 보고하고 있을 뿐 여러 가지 인자에 대한 구체적인 상분리거동에 관한 고찰은 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 견피브로인 및 PVA 분자량, 혼합비율을 달리

하여 건피브로인/PVA 브랜드 필름을 제조한 후 광학 현미경 및 공초점레이저 주사현미경 관찰을 통하여 브랜드 필름의 상분리 거동을 관찰함으로써 이들 인자들이 형태학적 구조에 미치는 영향에 대하여 고찰하였다.

재료 및 방법

1. 건피브로인 용액의 제조

시료로는 가잠의 누에고치를 사용하였다. 정련은 마르세이유 비누 0.5 % (o.w.f), sodium carbonate 0.3 % (o.w.f) 수용액으로 1:50의 용비, 95°C에서 1시간 동안 2회에 걸쳐서 행하였고 따뜻한 물과 찬물로 반복 수세하여 정련제를 제거한 후 데시케이터에 보관하였다가 실험재료로 사용하였다.

건피브로인의 용해는 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} : \text{EtOH} = (1 : 8 : 2)$ mol 비의 혼합용매로 용비 1:50, 85°C에서 reflux 장치를 이용하여 용해하였으며 0.5시간, 2시간, 20시간으로 용해시간을 조절하여 분자량 및 분자량 분포가 다른 건피브로인 용액을 제조하였다. 불용분을 제거하기 위해 용해후 원심분리하였으며 중성염과 에탄올을 제거하기 위하여 셀룰로오스 투석막(molecular weight cut-off=12,000~14,000)을 이용하여 4일 동안 증류수에 투석한 후 재생 건피브로인 용액을 얻었다.

2. PVA 수용액의 제조

본 실험에 사용한 PVA는 분자량이 브랜드 필름의 형태학적 구조에 미치는 영향을 고찰하기 위하여 4가지 서로 다른 분자량값을 갖는 PVA를 사용하였고 이들의 분자량 및 가수분해도를 표 1에 나타내었다. 브랜드 제조에 사용한 PVA 수용액은 이들 PVA를 물에 용해하여 얻었다.

3. 브랜드 필름의 제조

건피브로인 수용액과 PVA 수용액을 각각 1.5%(w/

v)의 농도로 준비하여 90°C에서 일정비율의 부피비로 혼합한 후 petri-dish에 부어 40°C의 건조 오븐에서 건조하였고 50 μm 정도의 일정한 두께를 가진 브랜드 필름을 얻었다.

브랜드 필름의 상용성에 영향을 미치는 제조조건들을 살펴보기 위하여 브랜드 용액의 혼합비율을 100:0, 70:30, 50:50, 30:70, 0:100로 변화시켜 필름을 제조하였다. 또한 건피브로인 분자량과 PVA 분자량이 서로 다른 혼합용액으로부터 필름을 제조하여 분자량의 효과도 살펴보았다.

4. 분석

1) 전기영동

용해시간 변화에 따른 재생 건피브로인의 분자량과 분자량 분포를 파악하기 위하여 SDS PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis)를 행하였으며 running gel 농도는 12.5%로 조절하였다. 전기영동은 0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1% SDS 완충용액 (pH 8.3)을 사용하여 130 V의 전압으로 3시간 가량 행하였다. 전기 영동이 끝난 겔은 0.05 % Coomassie Brilliant Blue R-250으로 12시간 동안 염색한 후 고정액 (초산:메탄올:물=1:4:5)으로 충분히 탈색하였다.

2) 광학현미경 관찰

브랜드 필름의 형태학적 구조를 분석하기 위하여 광학현미경을 이용하였다. 시료를 작게 자른 후 슬라이드 위에 시료를 놓은 다음 mount oil를 이용하여 500배의 배율에서 관찰하였다.

3) 공초점레이저 주사현미경 관찰

브랜드 필름에서 상분리된 영역을 이루고 있는 성분을 규명하기 위하여 공초점레이저 주사현미경 (confocal laser scanning microscope, 1024, Biorad, U. K)을 이용하였고 시료는 200°C에서 1.5시간, 메탄올에서 1시간 동안 처리하여 불용화한 후 형광염료인 acridine orange로 10분 동안 염색하여 현미경관찰을 행하였다.

결과 및 고찰

1. 용해시간 변화에 따른 건피브로인의 분자량분포

건피브로인은 $\text{CaCl}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ 혼합용매에 용해시 분자쇄 절단에 따른 분자량 감소가 일어나게 되고 용해시간이 길수록 분자량 감소효과가 커질 것으로 예상된다. 분자량이 다른 건피브로인을 얻기 위하여 용해시간을 조절하여 제조된 재생 건피브로인의 분자량 분포에 대한 전기영동 결과는 그림 1과 같다. 그림에서 보는 바와 같이 혼합용매에 용해하여 얻은 재생

Table 1. Characteristics of PVA used for experiments

Molecular weight	Hydrolysis (mol %)	Supplier
22,000	97.5~99.5	Yakuri Pure Chemicals co.
44,000	99	Fluka Chemika
66,000	99	Wako Pure Chemical Industries, Ltd
85,000~146,000	98~99	Aldrich Chemical Company, Inc

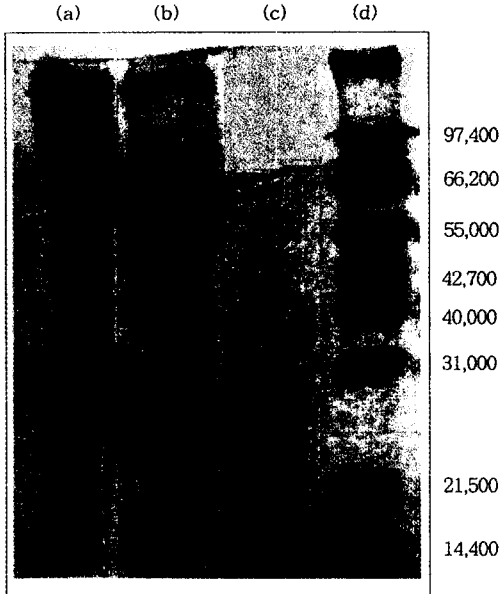


Fig. 1. Electrophoresis of silk fibroin prepared by various dissolution times: (a) 0.5 hr., (b) 2 hr., (c) 20 hr., (d) molecular weight marker.

견피브로인의 분자량 분포는 크게 40,000~90,000, 30,000, 14,000 세부분으로 이루어져 있는 것으로 나타났다. 14,000 이하의 분자량은 투석시 12,000~14,000 범위의 공극을 갖는 투석막을 사용했기 때문에 투석막 밖으로 빠져나가서 전기영동 측정 결과에는 나타나지 않았다.

용해시간 2시간까지는 세부분의 분자량대가 존재 하였으며 견피브로인의 분자량분포에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 다만 용해시간 2시간의 경우 0.5시간에 비하여 다소 낮은 분자량 분포대를 갖고 있으며 14,000부분이 상대적으로 많이 분포하였다. 그러나 20시간으로 용해시간이 증가한 경우에는 40,000~90,000 범위의 분자량대는 아주 소량 존재하는 것으로 나타났으며 대부분 분자량이 상대적으로 적은 30,000과 14,000 부분으로 이루어져 있었다.

위의 결과로부터 CaCl₂/H₂O/EtOH의 혼합용매로 용해하여 제조된 견피브로인은 모두 크게 세 부분으로 이루어진 분자량 분포를 갖고 있었으며 용해시간이 상당히 긴 경우(20시간 정도) 분자쇄의 분해정도가 증가하므로써 대부분 저분자량대(14,000~30,000)의 재생 견피브로인을 얻을 수 있었다.

2. 현미경을 이용한 형태학적 구조분석

고분자 블렌드에 있어서 광학현미경은 구성하고

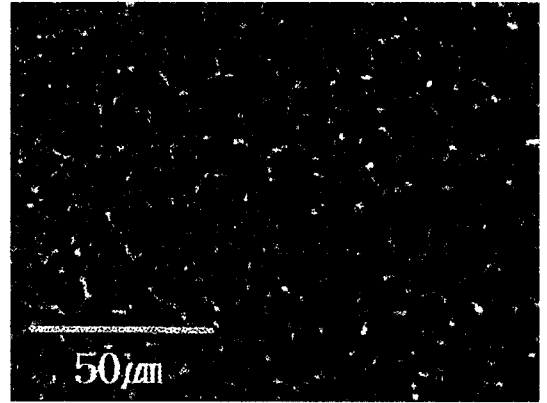


Fig. 2. Optical microscope photograph of Silk Fibroin/PVA 50:50 blend film.

있는 물질의 굴절률 차이에 의해 물질간의 경계를 나타내 줌으로써 상분리가 일어나는 지 여부를 쉽게 파악할 수 있는 장점을 가지고 있다. 그러나 상분리가 일어나는 경우 각 phase를 구성하고 있는 성분과 dispersed phase/continuous phase의 경계를 명확히 규명하기는 어렵다. 그림 2는 견피브로인/PVA 50:50 블렌드 필름의 광학현미경 사진이다. 원형으로 분산된 형태를 띤 dispersed/continuous phase 구조를 나타냈으며 상분리된 것이 겹쳐서 각 상의 경계가 뚜렷하게는 관찰되지 않았다.

한편 공초점레이저 주사현미경은 형광성을 띠고 있는 시료에 레이저를 조사하여 발산하는 형광을 이미지로 나타내는 원리를 가지고 있기 때문에 블렌드를 이루고 있는 고분자물질의 염색성에 차이가 있는 경우 시료 측정전에 형광염료로 염색하여 두 성분을 구별할 수 있다. 따라서 상분리된 형태학적 구조를 정확히 분석할 수 있는 장점이 있다.

그림 3은 견피브로인, PVA 및 블렌드 필름의 공초점레이저 주사현미경 사진이다. 견피브로인 필름은 형광염료에 염색이 되어 형광성을 띄게 됨으로서 밝은 부분으로 나타나는 반면에 PVA 필름은 염색이 되지 않아서 어두운 부분으로 나타난다. 이들 결과를 토대로 블렌드 필름의 공초점레이저 주사현미경 사진을 분석한 결과 PVA matrix위에 견피브로인이 분산되어 있는 상분리 형태를 띄고 있음을 알 수 있었다. 형광염료에 대한 염색성 차이에 의해서 어두운 부분은 PVA 성분으로서 continuous phase를 나타내고 밝은 부분은 dispersed phase로서 견피브로인 성분으로 이루어져 있음을 알 수 있었다.

견피브로인/PVA 블렌드에서는 관찰하는 범위에 따라 크게 두 가지로 상분리가 일어나는 것으로 관찰

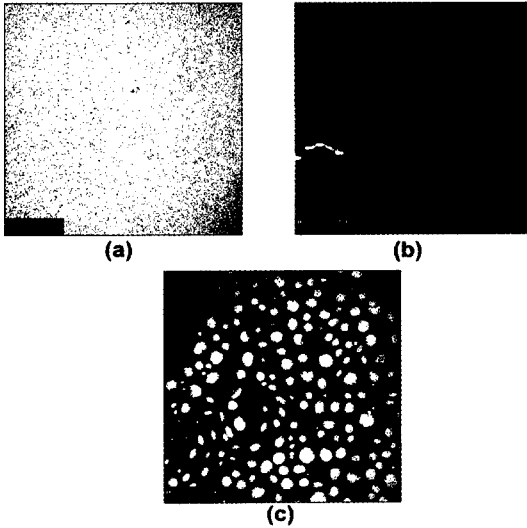


Fig. 3. Confocal laser scanning microscope photographs of (a) Silk Fibroin, (b) PVA and (c) Silk Fibroin/PVA blend.

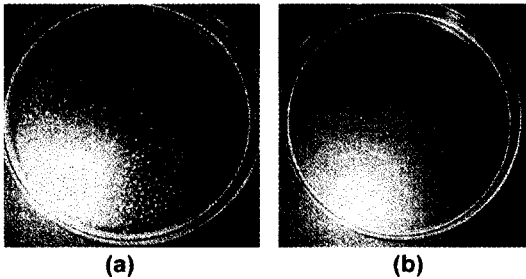


Fig. 4. Photographs of Silk Fibroin/PVA blend film with (a) macro-phase separation and (b) micro-phase separation.

되었는데 하나는 그림 4(a)에서 보는 바와 같이 육안에서 관찰될 만큼 큰 범위에서 상분리되는 macro-phase separation으로서 필름에 반점이 나타나는 경우이다. 물론 견피브로인이 dispersed phase로 상분리가 일어나는 상황에서 이 반점들은 단지 fibroin-rich 영역과 fibroin-poor 영역을 구분하는 경계를 의미한다. 본 연구에서는 fibroin-rich/poor 구조가 나타남으로써 macro-phase separation이 일어나는 견피브로인/PVA 블렌드 필름에 대하여 그림 5에서 보는 바와 같이 반점 안쪽부분과 바깥쪽 부분이 동시에 포함되도록 시편을 준비하여 광학현미경 관찰을 행하였다. 다른 하나(그림 4(b))는 육안에서는 관찰되지 않았으나 현미경관찰(그림 2)에 의해서 dispersed/continuous phase로 상분리가 일어남이 관찰되는 micro-phase separa-

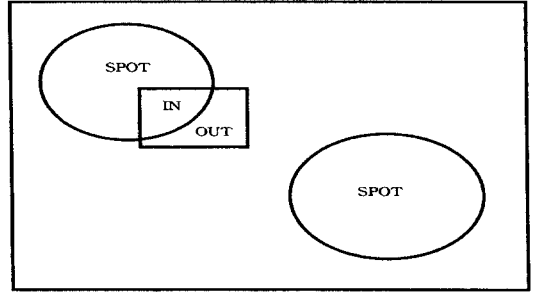


Fig. 5. Scheme of sample preparation of Silk Fibroin/PVA blend film containing silk fibroin-rich /poor region for optical microscope observation.

tion이다.

3. 분자량의 영향

견피브로인과 PVA 분자량이 블렌드 필름의 형태학적 구조에 미치는 영향을 고찰하기 위하여 서로 다른 분자량을 가진 견피브로인과 PVA를 50:50의 비율로 혼합하여 블렌드 필름을 제조하였으며 이들의 광학현미경 관찰을 행하였다. 그림 6과 7은 PVA 분자량 변화에 따른 견피브로인/PVA 블렌드 필름의 광학현미경 사진이다. 그림 6에서 보면 견피브로인 분자량이 40,000~90,000 범위를 갖는 블렌드 필름은 PVA 분자량이 낮거나 높은 경우 육안으로도 필름 표면에 반점이 관찰되는 macro-phase separation이 일어났다. 반점 안쪽(IN)은 fibroin-poor 영역, 바깥쪽

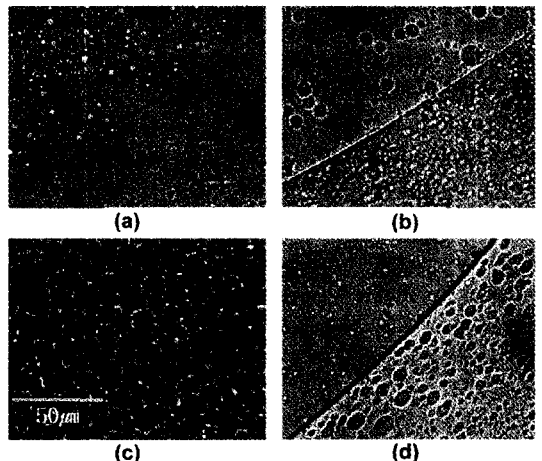


Fig. 6. Optical microscope photographs of Fibroin(2hr. dissolution time)/PVA blend films prepared with different molecular weight of PVA. (a) $M_w=22,000$, (b) 44,000, (c) 66,000 and (d) 85,000~146,000.

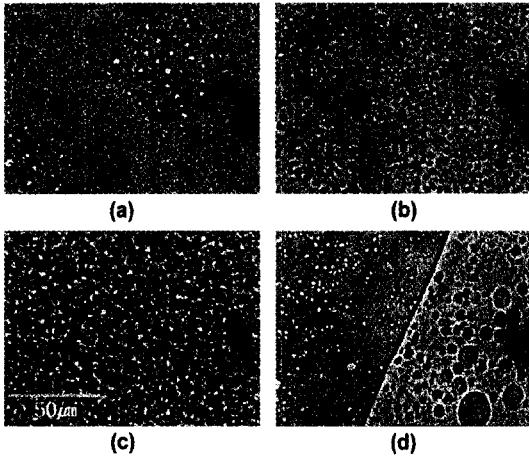


Fig. 7. Optical microscope photographs of Fibroin (20hr. dissolution time)/PVA blend films prepared with different molecular weight of PVA. (a) $M_w=22,000$, (b) 44,000, (c) 66,000 and (d) 85,000~146,000.

(OUT)은 fibroin-rich 영역으로서 각 영역의 견피브로인 분포가 많은 부분과 적은 부분 구분되는 fibroin-rich/poor 구조 특징을 나타낸다.

특히 PVA 분자량이 66,000인 경우 단지 dispersed/continuous phase 구조를 띤 micro-phase separation만 일어나는 것으로 관찰되었다. 이는 전기영동 결과 견피브로인의 분자량값이 대부분 40,000~90,000 범위로 넓게 분포하고 있음을 고려하여 볼 때 블렌드를 구성하고 있는 두 성분의 분자량 또는 분포값의 차이가 큰 경우 macro-phase separation이 일어나게 된다.

한편 용해시간이 증가하여 견피브로인의 분자량이 감소하는 경우($M_w=14,000\sim30,000$) 그림 7에서 보는 바와 같이 fibroin-rich/poor영역을 나타내는 반점이 사라지고 단지 micro-phase separation만 일어나는 것으로 나타났다. 그러나 PVA 분자량이 100,000 정도의 값을 갖는 시료(그림 7(d)) 견피브로인과의 분자량 차이가 크므로 macro-phase separation이 일어나는 것으로 관찰되었으나 표면에 나타나는 반점의 수는 감소하고 전체적인 상분리도 감소하는 경향을 보였다.

따라서 견피브로인/PVA 블렌드 필름의 macro-phase separation은 주로 견피브로인의 분자량값에 의존하는 경향이 크며 견피브로인/PVA 분자량비에 따라서도 상분리가 영향을 받게된다. 응용측면에서 macro-phase separation은 달갑지 않으며 블렌드 필름의 상용성을 향상시키기 위해서는 견피브로인의 분자량은 되도록 낮은 것이 바람직하고 적절한 분자량의 PVA 성분을 선택하는 것이 중요하다.

그림 8은 PVA 분자량이 66,000이고 분자량이 서

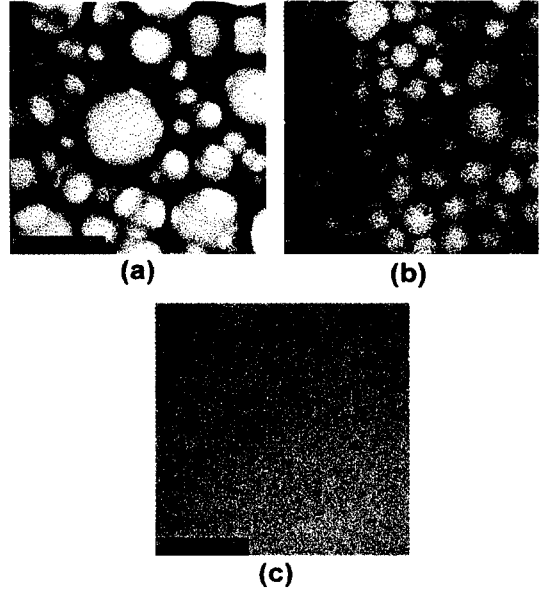


Fig. 8. Confocal laser scanning microscope photographs of fibroin/PVA blend film. (a) high M_w of fibroin (0.5 hr. dissolution time), (b) medium M_w of fibroin (2 hr. dissolution time) and (c) low M_w of fibroin (20 hr. dissolution time)

로 다른 견피브로인을 20℃에서 혼합한 블렌드 필름의 공초점레이저 주사현미경 사진이다. 견피브로인 분자량에 관계없이 dispersed phase는 견피브로인이고 continuous phase는 PVA 성분으로 이루어져 있음을 확인하였으며 견피브로인의 분자량이 감소함에 따라 dispersed phase(견피브로인 성분)의 입자크기가 점점 작아짐을 알 수 있었다. 특히 견피브로인의 분자량이 14,000~30,000 범위의 값을 갖는 경우 현미경관찰에 의해서는 상분리가 일어나지 않는 결과를 보였다.

견피브로인은 수소결합 등 분자쇄간 강한 상호작용에 의해서 응집하려는 특성이 있으며 특히 분자량이 큰 경우 이러한 경향은 두드러지게 나타난다. 이는 견피브로인/PVA 블렌드 필름에서 견피브로인의 분자량에 관계없이 상분리가 일어나 dispersed phase를 형성하는 원인으로 작용하게 된다. 그러나 견피브로인의 분자량을 저하시킴으로써 fibroin domain의 크기를 최소화시킬 수 있으며 이에 따른 블렌드필름의 상용성 향상이 가능할 것으로 기대된다.

4. 혼합비율의 영향

일반적으로 고분자 블렌드의 상분리는 구성성분의 혼합비율(blend ratio)에 따라 크게 영향을 받으며 블렌드의 상용성과 관련있는 상분리 거동은 블렌드 물

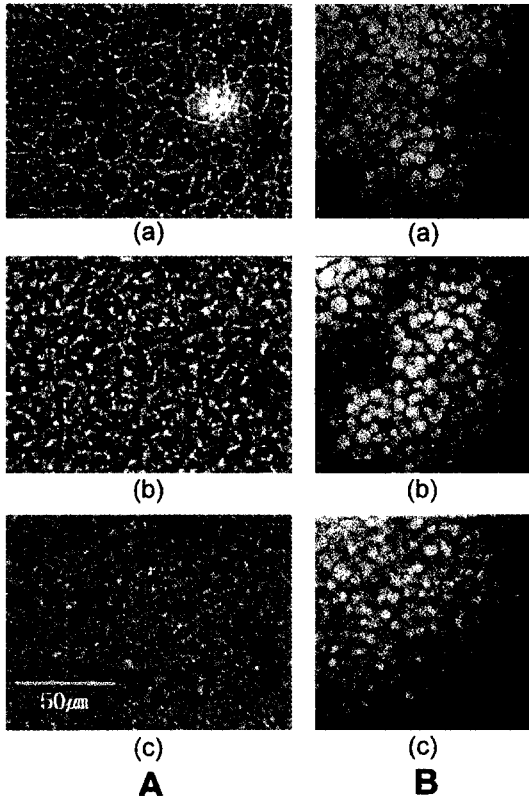


Fig. 9. Optical(A) and confocal laser scanning(B) microscope photographs of fibroin(2hr. dissolutin time)/PVA($M_w=66,000$) blend film prepared with various blend ratios. (a) 70:30, (b) 50:50 and (c) 30:70.

질의 물리·화학적 성질에 영향을 끼치는 중요한 요인으로 작용한다.(Paul et al., 1989) 본 연구에서는 견피브로인/PVA 혼합비율이 브랜드 필름의 상분리에 따른 형태학적 구조의 변화에 끼치는 영향을 고찰하고자 광학현미경 및 공초점레이저 주사현미경 관찰을 행하였다.

그림 9는 PVA 분자량 66,000 시료에 대하여 혼합비율을 달리하여 제조한 견피브로인/PVA 브랜드 필름의 현미경사진이다. 모든 혼합비율에서 dispersed/continuous phase 구조를 띄고 있으며 각 phase를 구성하고 있는 성분은 견피브로인과 PVA로서 브랜드 필름을 구성하고 있는 견피브로인의 함량변화와 관계없이 dispersed phase는 항상 견피브로인 성분으로 이루어짐을 알 수 있다. 또한 견피브로인의 함량이 감소할수록 견피브로인으로 이루어져 있는 dispersed phase 입자의 크기가 감소하였다.

고분자 브랜드에 있어서 상분리는 혼합비율이 많은 성분이 continuous phase, 적은 성분이 dispersed

phase를 이루고 성분비에 따라 phase conversion이 일어나는 것이 일반적인 현상이다. 일반적인 고분자 브랜드와는 달리 견피브로인/PVA 브랜드에서 dispersed phase가 항상 견피브로인 성분으로 이루어지는 것은 두 고분자가 혼합용매인 물에 대한 안정성이 차이가 있는 데에 기인하는 것으로 생각된다. 즉, PVA의 경우 1.5%(w/v) 정도의 낮은 농도에서는 안정한 상태를 유지하나 견피브로인의 경우 수용액상에서 용해된 상태라기 보다는 콜로이드상으로 존재하고 있으므로 응집에 의한 침전이나 겔이 형성되는 등 수용액상에서 불안정하며 농도가 높을수록 더 불안정해지게 된다. 따라서 견피브로인 성분은 건조시 용액이 농축됨에 따라 더욱 불안정해지게 되고 이때 수용액상에서 안정한 PVA에 비하여 분자들이 균일하게 분포하지 못하고 응집되어 고형화되었을 때 dispersed phase 성분을 이루게 된다.

적 요

견피브로인 및 PVA 분자량과 혼합비율을 달리하여 견피브로인/PVA 브랜드 필름을 제조하였으며 상분리에 따른 형태학적 구조의 변화에 대하여 현미경 관찰을 행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 견피브로인/PVA 브랜드 필름은 대부분 상분리가 일어나는 것으로 관찰되었고 fibroin-rich/poor 구조의 macro-phase separation과 dispersed/continuous phase의 micro-phase separation이 나타났으며 dispersed phase 및 continuous phase를 이루고 있는 성분은 각각 견피브로인과 PVA이었다.

2. 견피브로인의 분자량이 감소함에 따라 상분리정도가 감소하였는데 fibroin-rich/poor구조의 macro-phase separation은 주로 견피브로인 분자량에 의존하며 견피브로인/PVA 분자량 비율에 따라서도 영향을 받는 것으로 나타났다.

3. 브랜드의 혼합비율에 관계없이 dispersed/continuous phase를 나타내었고 dispersed phase는 항상 견피브로인 성분으로 이루어져 있으며 견피브로인의 함량이 감소함에 따라 dispersed phase의 크기와 상분리 정도가 감소하였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 농업특정연구개발사업 과제인 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Azuma, Y., N. Yoshie, M. Sakurai, Y. Inoue, and Ch ūjō (1992) Thermal behaviour and miscibility of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(vinyl alcohol) blends. *Polymer*. **33** : 4763.
- Chandy, T. and C. P. Sharma (1992) Prostaglandin E 1-immobilized poly(vinyl alcohol)-blended chitosan membranes: blood compatibility and permeability properties. *J. Appl. Polym. Sci.* **44** : 2145.
- Hayashi, H., M. Kakimoto, and Y. Imai (1994) Compatibility and mechanical properties of binary blends composed of aromatic poly(ether sulfone) and poly(m-phenyleneisophthalamide) by solution blending. *Polymer Journal*. **26** : 527.
- Koyama, N. and Y. Doi (1997) Miscibility of binary blends of poly[(R)-3-hydroxybutyric acid] and poly[(S)-lactic acid]. *Polymer*. **38** : 1589.
- Liu, Y., J. Qian, X. Fu, H. Liu, J. Deng, and T. Yu (1997) Immobilization of glucose oxidase with the blend of regenerated silk fibroin and poly(vinyl alcohol) and its application to a 1,1'-dimethylferrocene -mediating glucose sensor. *Enzyme and Microbio technology*. **21** : 154.
- Minoura, N., M. Tsukada, and M. Nagura (1990) Fine structure and oxygen permeability of silk fibroin membrane treated with methanol. *Polymer*. **31** : 265.
- Paul, D. R., J. W. Barlow, and H. Keskkula (1989) Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. Volume 12. 2nd ed. John Wiley & Sons Press, pp 399.
- Prahsam, C and A. M. Jamieson (1997) Morphology studies of binary homopolymer/block copolymer blends: effect of molecular weight. *Polymer*. **38** : 1273.
- Sakabe, H., H. Ito, T. Miyamoto, Y. Noishiki, and W. S. Ha (1989) In vivo blood compatibility of regenerated silk fibroin. *Sen-i Gakkaishi*. **45** : 487.
- Tanaka, T., M. Suzuki, T. Tanigami, and K. Yamaura (1997) Phase separation structure in poly(vinyl alcohol)/silk fibroin blend films. *Polymer International*. **42** : 107.
- Toy, L. G., B. D. Freeman, and R. J. Spontak (1997) Gas permeability and phase morphology of poly(1-(trimethylsilyl)-1-propyne)/poly(1-phenyl-1-propyne) blends. *Macromolecules*. **30** : 4766.
- Tsukada, M., G. Freddi, and J. S. Crighton (1994) Structure and compatibility of poly(vinyl alcohol)-silk fibroin(PVA/SF) blend film. *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.* **32** : 243.
- Yamaura, K., N. Kuranuki, M. Suzuki, T. Tanigami, and S. Matsuzawa (1990) Properties of mixtures of silk fibroin/syndiotactic-rich poly(vinyl alcohol). *J. Appl. Polym. Sci.* **40** : 2409.