การสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตที่ได้จากแบคทีเรียร่วมกับไฮดรอกซีอะปาไทต์และไตรแคลเซียมฟอสเฟสคอมโพสิตไมโครพาร์ทิเคิล

In-Situ Synthesis of PHA/HA/TCP from Bacteria Composite Microparticle

พศิณ กุญชรินทร์*[1] ณัฐพล ถนัดช่างแสง[1] ภูรินท์ นีละวงค์[1] ธรณัส พันธ์ทอง[1]
ธนดล ธนากรเกรียงไกร[1] ศนิ บุญญกุล[1] และ สุธี วังเตือย[2]

Pasin Kuncharin*[1] Nuttapol Tanadchangsaeng[1] Purin Neerawong[1] Taranuch Panthong[1]
Thanadol Thanakornkriengkrai[1] Sani Boonyagul[1] and Sutee Wangtueai[2]

[1]วิทยาลัยวิศวกรรมชีวการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ปทุมธานี ประเทศไทย
[2]วิทยาลัยการศึกษาและการจัดการทางทะเล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สมุทรสาคร ประเทศไทย
[1]College of Biomedical Engineering, Rangsit University, Pathum Thani, Thailand
[2]College of Maritime Studies and Management, Chiang Mai University, Samut-Sakhon, Thailand
**Corresponding author, E-mail: pasin.kuncharin@yahoo.com*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์คอมโพสิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตคอมโพสิตร่วมกับไฮดรอกซีอะปาไทต์และไตรแคลเซียมฟอสเฟส (PHA/HATCP Composite) ในแหล่งกำเนิดของแบคทีเรียแกรมลบชนิด *R. eutropha* และแกรมบวกชนิด *B. megaterium* โดยใช้กลีเซอรอลและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตซึ่งประสบความสำเร็จในการผลิต PHA/HA/TCP Composite Microparticle ได้ 0.143 ± 0.029 g และ 0.109 ± 0.012 g การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีตาพบว่าปริมาณ HA และ TCP มีผลทำให้ขนาดอนุภาคของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ที่ได้มีขนาดเพิ่มขึ้นเป็นระดับไมครอนซึ่งจากเดิมมีขนาด 900 nm และ PHA ยังสามารถช่วยเพิ่มค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาของการผสม HA และ TCP จาก -1.68 mV เป็น -35.65 mV งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการคอมโพสิต PHA ในแหล่งกำเนิดนั่นสามารถทำได้และ PHA ยังทำหน้าที่เป็นตัวประสารระหว่าง HA และ TCP ให้มีความเสถียรหรือเป็นเนื้อเดียวกันมากยิ่งขึ้นอีกด้วย

***คำสำคัญ**: พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต ไฮดรอกซีอะปาไทต์ ไตรแคลเซียมฟอสเฟส ในแหล่งกำเนิด คอมโพสิตไมโครพาร์ทิเคิล*

เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

Abstract

In this paper, polyhydroxyalkanoates composited with hydroxyapatite and tricalcium phosphate (PHA/HATCP composite) were *in situ* synthesized in *R. eutropha* (gram-negative) and *B. megaterium* (gram-positive) bacteria grown on glycerol and glucose as a growth carbon source. We successfully produced from both bacteria in PHA/HA/TCP composite microparticle of 0.143 ± 0.029 g and 0.109 ± 0.012 g. The analysis of particle size and zeta potential revealed that HA and TCP incorporation affected the particle size of PHA/HA/TCP composite microparticles. Their sizes increased to micrometer scale, which was initially 900 nm, and the zeta potential of the microparticles was also able to increase from -1.68 mV to -35.65 mV when the PHA gradually loaded to the HA/TCP composite. This research indicated that the in-situ PHA composites could be achieved, and PHA also connects HA TCP for more excellent stability and homogeneously.

Keywords: *Polyhydroxyalkanoates, Hydroxyapatite, Tricalcium phosphate, in situ, Composite microparticle*

1. บทนำ

พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) จัดเป็นพอลิเอสเตอร์ชีวภาพ (Biopolyester) ซึ่งเป็นวัสดุชีวภาพประเภทพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (Biodegradable) สามารถสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต (Verlinden et al., 2007) พบมากในจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียในรูปของเม็ดแกรนูล (Granule) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 ไมครอน โดย PHA ถูกจำแนกตามจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่มีอยู่ในหน่วยของโมโนเมอร์แบ่งเป็นชนิดโมโนเมอร์ความยาวสั้น (Short Chain Length PHAs; SCL-PHAs) ประกอบด้วยอะตอมคาร์บอน 3 ถึง 5 อะตอมและชนิดโมโนเมอร์ความยาวปานกลาง (Medium Chain Length PHAs; MCL-PHAs) ซึ่งประกอบด้วยอะตอมคาร์บอน 6 ถึง 14 อะตอม โดย SCL-PHAs จะมีคุณสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติก และ MCL-PHAs จะมีคุณสมบัติเป็นอีลาสโตเมอร์ (Tanadchangsaeng et al., 2014) ด้วยคุณสมบัติที่หลากหลายทำให้ PHA ได้รับความสนใจที่จะนำมาวิจัยและพัฒนาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์มากขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมาโดยเฉพาะงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่ต้องการวัสดุที่มีคุณสมบัติหลากหลายไปใช้ในการสร้างโครงร่างสำหรับเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ (Lim et al., 2017)

ในปัจจุบันการใช้ไฮดรอกซีอะปาไทต์ (Hydroxyapatite; HA) และไตรแคลเซียมฟอสเฟส (Tricalcium Phosphate; TCP) มาเป็นวัสดุกระดูกเทียม (Alloplastic Bone Graft) ด้านทันตกรรมกำลังเป็นที่แพร่หลายแต่มีข้อเสียที่สำคัญคือไม่มีความเสถียรของสาร (Unstable) และจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการคอมโพสิต PHA เข้ากับโครงสร้างของ HA นั้นสามารถเพิ่มคุณสมบัติเชิงกลได้ถึง 35 – 105 MPa (Porter et al., 2013) ทางผู้วิจัยจึงมีความต้องการที่จะสังเคราะห์ SCL-PHAs จากเชื้อแบคทีเรีย คอมโพสิตร่วมกับ HA และ TCP ด้วยการ Incorporate ในแหล่งกำเนิด (in

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

situ) ของ PHA โดยตรง เพื่อศึกษาและปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของ PHA/HA/TCP คอมโพสิตพอลิเมอร์ที่ได้นี้ให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในศาสตร์ทางการแพทย์ในการเป็นวัสดุกระดูกเทียมได้ดียิ่งขึ้น

2. วัตถุประสงค์

1) เพื่อสังเคราะห์และคอมโพสิต PHA เข้ากับ HA และ TCP ด้วยการ Incorporate ในแหล่งกำเนิด (in situ) ของ PHA โดยตรง

2) เพื่อศึกษาคุณลักษณะของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ที่ผลิตได้ด้วยการวิเคราะห์ขนาดอนุภาค และศักย์ไฟฟ้าซีตา (Particle Size & Zeta Potential)

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อสังเคราะห์ PHA

การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้สังเคราะห์ PHA โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia eutropha* และ *Bacillus megaterium* โดยเชื้อที่จะนำไปทำการทดลองจะเป็นเชื้อที่อยู่ในระยะ Stationary Phase ใน Flask ปริมาตรเชื้อ 250 mL พร้อมทั้งควบคุมสภาวะต่างๆเพื่อให้ได้พอลิเมอร์ชนิดที่เราต้องการ การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีขั้นตอนที่เหมือนกัน แตกต่างกันที่แหล่งคาร์บอนที่ใช้ ซึ่ง *Ralstonia eutropha* ใช้กลีเซอรอล 75% และ *Bacillus megaterium* ใช้กลูโคส 15 % โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ (Tanadchangsaeng et al., 2012)

1) นำหัวเชื้อแบคทีเรียกระตุ้นเชื้อใน Nutrient broth 5 mL ใช้อาหาร Mineral salts (MS) ซึ่งประกอบด้วย K_2HPO_4 7.34 g/L Na_2HPO_4 1.20 g/L และ $(NH_4)_2SO_4$ 2.00 g/L

2) นำเชื้อจาก Nutrient broth ที่เพาะเลี้ยงเชื้อมาแล้ว 24 ชั่วโมง ใส่ลงใน MS ปริมาตร 50 mL แล้วเติมแหล่งคาร์บอน 20 g/L และ $MgSO_4$ 0.5 g/L

3) นำเชื้อไปบ่มในเครื่องบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการเขย่าตลอดเวลาที่ 180 rpm

4) หลังจากครบตามเวลาที่กำหนดนำเชื้อที่บ่มมา 5% เพื่อเตรียมบ่มเชื้อในอาหาร MS 200 mL และเติมแหล่งคาร์บอน นำไปบ่มอีก 48 ชั่วโมงในเครื่องบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้เชื้อในปริมาตร 250 mL ดังรูปที่ 1

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

รูปที่ 1 แสดงกระบวนการในการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

3.2 การสกัดและคอมโพสิต PHA เข้ากับ HA และ TCP ในแหล่งกำเนิด

ขั้นตอนการสกัด PHA และการ Incorporate PHA จากเซลล์จุลชีพทั้ง 2 ชนิดปริมาตร 250 ml เข้ากับ HA และ TCP ด้วยวิธีเทคโนโลยีสะอาด โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) ทำละลายผนังเซลล์และแตกเซลล์ออกจาก PHA ด้วยสารละลายกรด 20% H_2SO_4 จนค่า pH ลดลงถึงประมาณ 2 (Porter & Yu, 2011) จากนั้นเติม HA และ TCP ตามอัตราส่วนที่กำหนดดังตารางที่ 1 ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่ง PHA จะแยกออกจากเซลล์ที่ถูกทำละลายเพื่อ Incorporate กับ HA และ TCP ได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้ความร้อนในการแตกเซลล์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 อัตราส่วน HA และ TCP ที่ใช้ Incorporate กับ PHA

รหัส	PHA (%)	HA (%)	TCP (%)
PH0T0	100	0	0
PH1T4	95	1	4
PH2T8	90	2	8
PH4T16	80	4	16
PH8T32	60	8	32

2) ปรับ pH ให้ได้ 13 ด้วยสารละลายเบส 5M NaOH เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

3) แขวนลอยผลึกแข็งคอมโพสิต PHA/HA/TCP ด้วยการเติมสารฟอกขาว NaHOCl ในอัตราส่วน 1:1 ที่น้ำหนัก 1 kg ของ PHA แห้ง ต่อ ปริมาตร 1 L ของสารละลาย NaHOCl บ่มเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

4) แยกผลึกแข็งคอมโพสิต PHA/HA/TCP ออกจากสารละลายเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วประมาณ 6000 rpm เป็นเวลา 20 นาที

5) ล้าง ด้วย DI water ในปริมาณที่เหมาะสมจะเกิดเป็นสารละลายสีขาวเนียน และบ่มเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วแยกผลึกแข็งคอมโพสิต PHA/HA/TCP ออกจากสารละลายสีขาวเนียนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง

6) ทำผลึกแข็งคอมโพสิต PHA/HA/TCP ให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

3.3 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา

ในขั้นตอนหลังจากล้างคอมโพสิต PHA/HA/TCP ด้วย DI water จนได้ สารละลายสีขาวเนียนดังรูปที่ 2 พอลิเมอร์ที่ได้จะถูกนำไปทดสอบขนาดอนุภาคและการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วย Zeta/Nano Particle Analyzer รุ่น NanoPlus (Micromeritics Instrument Co., Norcross, GA) ใช้โปรแกรม Delsa™ Nano ในการวิเคราะห์โดยใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง บรรจุตัวอย่างปริมาณ 2 mL ลงในเซลล์วัดขนาดอนุภาค (Size Cell) และเซลล์วัดประจุพื้นผิว (Flow Cell)

รูปที่ 2 คอมโพสิต PHA/HA/TCP ที่สังเคราะห์ได้หลังจากการล้างด้วย DI water

4. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการวิจัยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ Ralstonia eutropha และ Bacillus megaterium เพื่อสังเคราะห์ PHA คอมโพสิตกับ HA และ TCP

จากการศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* และ *B. megaterium* เพื่อผลิต PHA/HA/TCP composite polymer ดังตารางที่ 2 จากการเก็บตัวอย่างเชื้อ 2 mL ก่อนการสกัดเซลล์ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* และเชื้อแบคทีเรีย *B. megaterium* ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.078 g และ 0.076 g ตามลำดับ และจากการเก็บตัวอย่างเชื้อ 38 mL หลังการสกัดเซลล์และคอมโพสิตสามารถสังเคราะห์ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ได้เท่ากับ 0.143 g สำหรับแบคทีเรีย *R. eutropha* และสำหรับแบคทีเรีย *B. megaterium* ได้เท่ากับ 0.109 ซึ่งจะเห็นได้ว่าจากค่าความหนาแน่นของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle หากเพิ่มระดับการเลี้ยงเป็น 1 L แบคทีเรีย *R. eutropha* จะสามารถให้ผลผลิตได้มากกว่าแบคทีเรีย *B. megaterium*

ตารางที่ 2 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และการสังเคราะห์ PHA/HA/TCP Composite Microparticle (n=3)

รหัส	ตัวอย่าง 2 mL		ตัวอย่าง 38 mL	
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g)	ความหนาแน่นของเซลล์ (g/L)	PHA/HA/TCP Composite Microparticle (g)	ความหนาแน่น PHA/HA/TCP Composite Microparticle (g/L)
Re	0.0780 ± 0.016	38.98 ± 8.03	0.143 ± 0.029	3.772 ± 0.76
Bm	0.0761 ± 0.019	38.03 ± 9.40	0.109 ± 0.012	2.857 ± 0.31

Note: Re = *Ralstonia eutropha*, Bm = *Bacillus megaterium*

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

4.2 ผลการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา

จากการศึกษาผลของขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีตาของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle จากเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ดังตาราง 3 และ4 แสดงให้เห็นว่า ขนาดอนุภาคของ PH0T0 ซึ่งเป็น PHA ที่ไม่มีการ Incorporate มีขนาดที่ใหญ่ขึ้นเป็นระดับไมโครเมตรจากเดิมมีขนาดเพียง 900 nm ด้วยการ Incorporate สาร HA และ TCP เข้าไปในแหล่งกำเนิดของ PHA หากเพิ่มปริมาณ HA และ TCP จะยิ่งทำให้ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ที่ได้มีขนาดใหญ่มากขึ้น โดยเฉลี่ยอยู่ระหว่างช่วงประมาณ 400 µm สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* และ 180 µm สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *B. megaterium* ดังรูปที่ 3 ในส่วนของค่าศักย์ไฟฟ้าซีตานั้นการ Incorporate สาร HA และ TCP ที่อัตราส่วน PH4T16 ของเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* มีค่าที่เสถียร (Stable) ที่สุดคือเท่ากับ -35.65 mV และเชื้อแบคทีเรีย *B. megaterium* นั้นที่อัตราส่วน PH2T8 มีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเสถียร (Stable) ที่สุดคือเท่ากับ -33.47 mV ซึ่งถ้าหากต่ำกว่า -30 mV ถือว่าไม่มีความเสถียร (Unstable) (Hartmann et al., 2014)

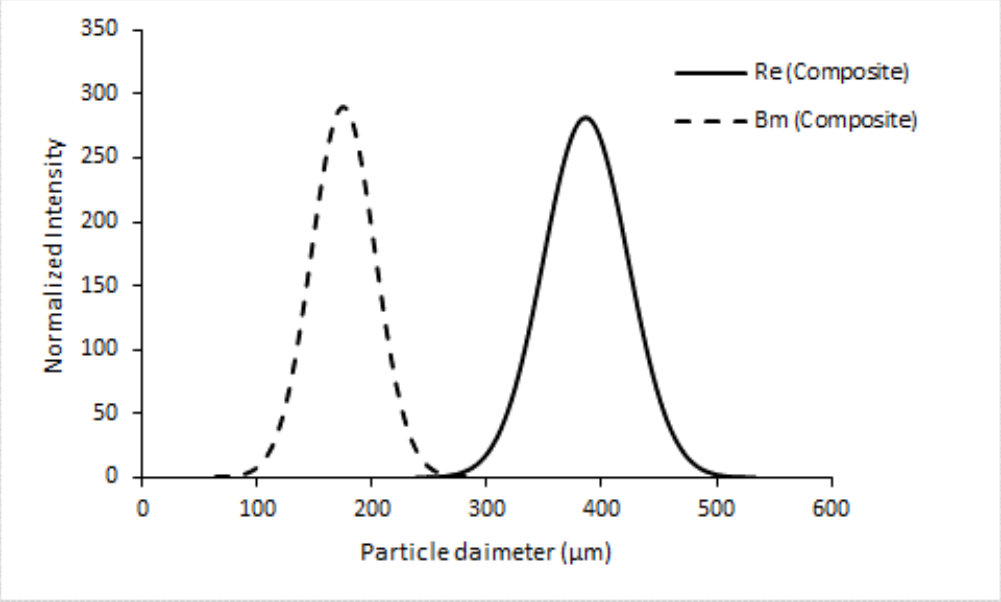
ตารางที่ 3 ผลขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีตา PHA/HA/TCP Composite Microparticle จากแบคทีเรีย *R. eutropha* (n=3)

รหัส	Particle size (µm)	Zeta Potential (mV)
RePH0T0	0.9 ± 0.08	-47.24 ± 1.79
RePH1T4	111.31 ± 13.42	-16.60 ± 1.69
RePH2T8	220.70 ± 31.92	-21.80 ± 1.57
RePH4T16	332.96 ± 27.18	-35.65 ± 2.48
RePH8T32	386.02 ± 36.83	-31.40 ± 1.63

ตารางที่ 4 ผลขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีตา PHA/HA/TCP Composite Microparticle จากแบคทีเรีย *B. megaterium* (n=3)

รหัส	Particle size (µm)	Zeta Potential (mV)
BmPH0T0	0.9 ± 0.16	-46.86 ± 5.83
BmPH1T4	84.56± 12.27	-19.57 ± 2.49
BmPH2T8	142.86 ± 17.25	-33.47 ± 0.74
BmPH4T16	146.64 ± 22.32	-18.68 ± 0.91
BmPH8T32	174.90 ± 27.56	-30.46 ± 1.02

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต



รูปที่ 3 กราฟขนาดอนุภาคของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ของเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* (Re) และ *B. megaterium* (Bm)

หากเปรียบเทียบค่าไฟฟ้าศักย์ซีตาของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle กับค่าศักย์ซีตาของสาร HA 80% ผสม TCP 20% ดังตารางที่ 5 จะแสดงให้เห็นว่า การ Incorporate สาร HA และ TCP ในแหล่งกำเนิดของ PHA นั้นสามารถเกิดขึ้นได้มาจากการดึงดูดกันของประจุไฟฟ้ารอบอนุภาคของ PHA กับ HA และ TCP ซึ่งส่งผลให้ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาหลังการ Incorporate นั่นลดลงจาก -47.05 mV เป็น -35.65 mV และ -33.47 mV ซึ่งหมายความว่า PHA ช่วยในการประสารกันของ HA และ TCP ให้รวมกันเป็นเนื้อเดียวกันและมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบศักย์ไฟฟ้าซีตาของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle กับ HA และ TCP

รหัส	Zeta Potential (mV)
PHA	-47.05
HA80/TCP20	-1.61
RePH4T16	-35.65
BmPH2T8	-33.47

5. สรุปผลการศึกษา

จากผลการวิจัยสามารถสังเคราะห์ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ได้ด้วยการสังเคราะห์ PHA จากเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* และ *B. megaterium* และ Incorporate กับ HA และ TCP ในแหล่งกำเนิดได้ในขั้นตอนการสกัดจากการแตกเซลล์ด้วยสารละลายกรด pH 2 โดยเชื้อแบคทีเรีย *R. eutropha* จะให้ผลผลิตที่มากกว่า *B. megaterium* หากเพิ่มระดับการเลี้ยงเชื้อเป็น 1 ลิตร และจากการศึกษาคุณลักษณะของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ที่

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

ผลิตได้ด้วยการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีตาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยโดย Michael M. Porter และ Steve Lee เรื่องการคอมโพสิต HA และ TCP ด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง (Porter et al., 2013) การคอมโพสิตด้วยวิธีการเติม HA และ TCP ในแหล่งกำเนิดของ PHA นี้มีผลทำให้ขนาดอนุภาคของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle ที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นจากระดับนาโนเป็นระดับไมโครเมตร และ PHA ยังสามารถช่วยให้การประสารกันของ HA และ TCP มีความเสถียรหรือเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ส่งผลให้สมบัติเชิงกลและชีวภาพมีความสม่ำเสมอมากขึ้น (Hayati et al., 2012) ซึ่งสามารถพิสูจน์ได้จากค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาที่เพิ่มขึ้นของ PHA/HA/TCP Composite Microparticle เป็นการยืนยันถึงศักยภาพที่เพิ่มขึ้นของคอมโพสิตพอลิเมอร์นี้ในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุกระดูกเทียมได้ในอนาคต

6. กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) โครงการ Flagship ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 กลุ่มเรื่อง Zero Waste Thailand ภายใต้ชื่อโครงการนวัตกรรมการสกัดไฮดรอกซีอะพาไทต์จากของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการแปรรูปผลิตภัณฑ์ทางทะเลเพื่ออุตสาหกรรมชีวการแพทย์ รหัสโครงการ: 7147

7. เอกสารอ้างอิง

Hayati, A. N., Hosseinalipour, S.M., Rezaie, H.R., and Shokrgozar. M.A. (2012). Characterization of poly(3-hydroxybutyrate)/nano-hydroxyapatite composite scaffolds fabricated without the use of organic solvents for bone tissue engineering applications. *Materials science and engineering*, *32*(3), 416-422.

Hartmann, N. I. B., Skjolding, L. M., Hansen, S. F., Baun, A., Kjølholt, J., and Gottschalk, F. (2014). Environmental fate and behaviour of nanomaterials: New knowledge on important transfomation processes. *Danish Environmental Protection*, *1594*, 96-98.

Lim, J., You, M., Li, J., and Li, Z. (2017). Emerging bone tissue engineering via Polyhydroxyalkanoate (PHA)-based scaffolds. *Materials Science and Engineering*, *79*, 917-929.

Porter, M., and Yu, J. (2011). Crystallization Kinetics of Poly(3-Hydroxybutyrate) Granules in Different Environmental Conditions. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, *2*(3), 301-310.

Porter, M., Lee, S., Tanadchangsaeng, N., Jaremko, M.J., Yu, J., Meyers, M., and McKittrick, J. (2013). Porous Hydroxyapatite-Polyhydroxybutyrate Composites Fabricated by a Novel Method Via Centrifugation. *Mechanics of Biological Systems and Materials*, *5*, 63-71.

Tanadchangsaeng, N., and Yu, J. (2012). Microbial synthesis of polyhydroxybutyrate from glycerol: Gluconeogenesis, molecular weight and material properties of biopolyester. *Biotechnology and Bioengineering*, *109*(11), 2808-2818.

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต

Tanadchangsaeng, N. (2014). Structure, chemomechanical properties and degradability of polyhydroxyalkanoates: A review. *Bulletin of Health, Science and Technology*, *12*(1), 9-21.

Verlinden, R. A. J., Hill, D. J., Kenward, M. A., Williams, C. D., and Radecka, I. (2007). Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Applied Microbiology*, *102*(6), 1437-1449.

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2564
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2564 มหาวิทยาลัยรังสิต