อภิวัฒน์ สัตย์ซ้ำ : การเพิ่มความเสถียรของเม็ดเจลอัลจิเนตด้วยยางธรรมชาติและไฮดรอกซีอะพาไทท์ชนิดนาโนเพื่อการตรึงเอนไซม์ (STABILITY IMPROVEMENT OF ALGINATE BEADS USING NATURAL RUBBER/HYDROXYAPATITE NANOCOMPOSITE FOR ENZYME IMMOBILIZATION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย วนภู, 93 หน้า.

แคลเซียมอัลจิเนต, ไฮดรอกซิอะพาไทท์และยางพาราเป็นวัตถุดิบที่ถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลาย ทั้งในการประยุกต์เพื่อการตรึงเอนไซม์และชะลอการปลดปล่อยหรือเพื่อควบคุมการปลดปล่อยของตัวยา โดยในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการผสมแคลเซียมอัลจิเนตเข้ากับไฮดรอกซีอะพาไทท์ซึ่งเตรียมได้จากส่วนผสมทางเคมีแบบเปียกและน้ำยางพารา ทำการแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่มคือ แคลเซียมอัลจิเนต/ยางพารา และแคลเซียมอัลจิเนต/ไฮดรอกซีอะพาไทท์/ยางพารา โดยทำการปรับเปลี่ยนปริมาณของน้ำยางพารา ซึ่งปริมาณของน้ำยางพาราในการทดลองครั้งนี้คือ 2.5%, 5%, 10%, 15% และ 20% จากการทดลองการเตรียมเม็ด เจลบีดพบว่า ปริมาณน้ำยางพาราที่ไม่สามารถใช้ได้คือ 15% และ 20% เพราะจะทำให้เม็ดเจลบีดที่ได้ลอยน้ำ ดังนั้นจึงใช้ปริมาณน้ำยางพาราตั้งแต่ 2.5-10% ในทุกๆการทดลองต่อไป

จากการทดสอบหาค่าความหนืดของสารละลายผสมทั้งหมดก่อนที่จะทำการขึ้นรูปเม็ดเจลบีดแสดงให้เห็นว่า เมื่ออุณหภูมิของสารละลายผสมเพิ่มขึ้น ความหนืดของสารละลายจะลดลง จากนั้นได้ทำการทดสอบค่าความแข็งแรง และค่าความคงตัวของเม็ดเจลบีด ผลปรากฏว่าที่การผสมยางพาราลงไป 10% มีผลทำให้เม็ดเจลบีดของทั้งกลุ่มการทดลอง แคลเซียมอัลจิเนต/ยางพารา และแคลเซียมอัลจิเนต/ไฮดรอกซิอะพาไทท์/ยางพารา มีค่าสูงที่สุด โดยความแตกต่างกันคือ ลักษณะการแตกของเม็ดเจลบีดที่ต่างกัน กล่าวคือลักษณะการแตกแบบครั้งเดียวพบในกลุ่มตัวอย่างแคลเซียมอัลจิเนต/ยางพารา และลักษณะการแตกสองครั้งพบในกลุ่มตัวอย่าง แคลเซียมอัลจิเนต/ไฮดรอกซิอะพาไทท์/ยางพารา หลังจากนั้นทำการทดลองค่าการดูดซับน้ำของตัวอย่างทั้งสองกลุ่มการทดลอง พบว่าเมื่อมีการผสมยางพาราลงไป ค่าการดูดซับน้ำของตัวอย่างลดลงตามสัดส่วนของยางพาราที่เพิ่มขึ้น และค่าการดูดซับน้ำลดลงมาที่สุดที่ปริมาณของยางพาราเท่ากับ 10% ทั้งนี้เนื่องมาจากยางพารานั้นดูดซึมน้ำได้น้อยมาก ซึ่งไปขัดขวางการดูดซับน้ำของเม็ดเจลบีด ยิ่งไปกว่านั้นอุณหภูมิ และ pH ก็ยังส่งผลต่อค่าการดูดซับน้ำของเม็ดเจลบีดอีกด้วยโดยค่าของอุณหภูมิ และ pH ที่ส่งผลดีที่สุดต่อการดูดซับน้ำของเม็ดเจลบีด คือ pH 4-7 และอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส จากการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องส่องผ่านพบว่า เนื้อของยางพาราและอัลจิเนตเข้ากันได้ดี แต่ไฮดรอกซีอะพาไทท์นั้นมีลักษณะเป็นแท่งคริสตัลอยู่ทั่วบริเวณ ซึ่งการผสมกันของสารดังกล่าวได้ถูกนำไป

ทดสอบด้วยเทคนิค FT-IR เพื่อยืนยันการผสมกันจากการเปลี่ยนแปลงของพันธะเคมี ซึ่งพบว่าพันธะเคมีของยางพารามีการเปลี่ยนแปลงโดยมีลักษณะการย้ายตำแหน่ง

การทดสอบการตรึงเอนไซม์ จากการทดสอบดังกล่าวพบว่าในการเปลี่ยนแปลงปริมาณยางพาราและอุณหภูมิในระหว่างการขึ้นรูปเม็ดเจลบีดนั้น ที่ปริมาณยางพาราและอุณหภูมิสูง (40 และ 50 องศาเซลเซียส) พบว่าแทบจะไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้น นั้นเป็นเพราะเมื่อยางพาราได้รับอุณหภูมิสูง (40 และ 50 องศาเซลเซียส)ในขณะขึ้นรูป จะมีผลทำให้ยางพาราเกิดการขยายหรือพองตัวจนไปปิดรูพรุนภายในโครงสร้างของเม็ดเจลบีดจนหมด และทำให้ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้น ซึ่งเหตุการณ์ดังกล่าวกลับไม่พบเมื่อมีการเติมไฮดรอกซิอะพาไทท์ลงไป โดยไฮดรอกซิอะพาไทท์นั้นไปทำหน้าที่ในการขัดขวางการปิดกั้นรูพรุนของยางพารา และสอดคล้องกับการทดสอบความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาซึ่งพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีไฮดรอกซีอะพาไทท์มีความเร็วมากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีการเติมไฮดรอกซิอะพาไทท์ และผลการทดสอบการนำกลับมาใช้ของเม็ดเจลบีดที่ตรึงเอนไซม์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันมานักสำหรับเม็ดเจลบีดชนิด แคลเซียมอัลจิเนต, แคลเซียมอัลจิเนต/ไฮดรอกซิอะพาไทท์/ยางพารา และ แคลเซียมอัลจิเนต/ไฮดรอกซิอะพาไทท์/ยางพารา (10%) เมื่อใช้ไป 8 ครั้ง แต่สำหรับเม็ดเจลบีดชนิด แคลเซียมอัลจิเนต/ยางพารา (10%)สามารถนำกลับมาใช้ได้เพียงสองครั้ง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2555 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

APIWAT SATSUM : STABILITY IMPROVEMENT OF ALGINATE BEADS USING NATURAL RUBBER/HYDROXYAPATITE NANOCOMPOSITE FOR ENZYME IMMOBILIZATION. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. CHOKCHAI WANAPU, Ph.D., 93 PP.

CALCIUM ALGINATE/HYDROXYAPATITE/LATEX/NANOCOMPOSITE

Calcium alginate (CA) is applied to enzyme immobilization for prolonging enzymatic activity. In this study CA composite with hydroxyapatite (HA) was prepared by using a wet chemical method and then mixed with various Latex (LX) concentrations into groups of CA/LX and CA/HA/LX in various LX concentrations. LX solutions at 2.5%, 5%, 10%, 15% and 20% were used and it was found that between 15% and 20% of their beads were floating. Thus 2.5-10% LX with CA and CA/HA were used for the entire experiment. At the gel forming stage, all solutions showed decreased viscosity when the temperature was increased.

The results of a texture profile showed that both the strength and stability of the bead structure at 10% LX addition from each group of CA/LX and CA/HA/LX were higher than the control group. There were differences in the texture profile for CA/LX and CA/HA/LX groups which showed different cracking pattern. A single crack was found in the CA/LX group and a double crack was found in the CA/HA/LX group. Bead swelling of 10% LX decreased because the LX's hydrophobic character obstructed the swelling of defective CA/LX and CA/HA/LX beads. Moreover, pH and temperature had an affect on the swelling of the beads. The best conditions were found between pH 4-7 at 25°C. The morphology of all the groups was studied by SEM and TEM and it was found that the LX material was homogeneous in CA and

CA/HA, and that the HA in CA/LX resulted in crystallization. The material was proved by the result of FT-IR analysis when it was found that the CA/LX and CA/HA/LX had changed the wave number at 1325-1380 cm^{-1} which was the character's bands of CH_2 from LX. The bands shifted towards a higher number of waves in the composite beads.

Finally, the enzyme was immobilized in all the composite beads. The most important result of the enzyme immobilization experiment was shown in the high concentration of LX at 40°C and 50°C at the gel forming stage. The LX in CA/LX was inflated and blocked the flow of the substrate. However, this did not occur in CA/HA/LX. It is possible that the HA in CA/HA/LX bead expanded the pores inside the beads, whereas the LX expansion was inadequate to seal the expanded pores. In addition, LX determined the rate of relative enzyme activity for CA/LX and CA/HA/LX. HA also caused the enzymatic initial velocity of CA/HA/LX bead to be higher than that for the CA/LX bead. The results of reused immobilized beads showed no differences in the relative activity of CA, CA/HA and CA/HA/(10%) LX for 8 cycles, but for CA/(10%) the LX beads were only reused for 2 cycles.

School of Biotechnology Student's Signature_____

Academic Year 2012 Advisor's Signature_____