

CÁC ỨNG DỤNG CỦA PHB TRONG ĐỜI SỐNG VÀ SẢN XUẤT

ThS Huỳnh Văn Hiếu

Khoa Khoa học nông nghiệp - Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

Lê Tuấn Lộc, TS Trần Hoàng Dũng

Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

TS Chung Anh Dũng

Phòng Công nghệ sinh học, Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

PGS.TS Phạm Công Hoạt

Bộ Khoa học và Công nghệ

Polyhydroxybutyrate (PHB) là một polymer nguồn gốc sinh học, có thể được tổng hợp từ nhiều loại sinh vật trong điều kiện môi trường không thuận lợi với vai trò là chất dự trữ năng lượng (nổi bật nhất là các vi khuẩn *Ralstonia eutropha*, *Alcaligenes latus* và các chủng tái tổ hợp của vi khuẩn *Escherichia coli*). Nhờ các đặc tính quan trọng như: là nguyên liệu tái tạo có thể được tổng hợp bằng con đường sinh học, có khả năng tự phân hủy sinh học, không độc hại và tương thích với cơ thể sống, PHB có khả năng ứng dụng trong y học, sinh học cũng như làm nguyên liệu thay thế cho các polymer có nguồn gốc dầu mỏ. Bài viết cung cấp một cái nhìn tổng quan về những ưu thế của PHB và các ứng dụng của hợp chất này trong thực tiễn.

PHB là một nhóm polymer thuộc họ polyhydroxyalkanoate (PHA), đó là các polyester có các đơn phân là nhiều nhóm R-hydroxyalkanoate, trong đó 3-hydroxybutyrate (3-HB) là đơn phân cơ bản nhất. Loại PHB thuần túy chứa đơn phân 3-HB - còn được ký hiệu là P(3HB) - chính là thành viên đầu tiên của họ PHA được khám phá và là loại phổ biến nhất, đồng thời cũng giành được nhiều sự quan tâm của các nhà nghiên cứu trên thế giới. PHB (PHA nói chung) được tổng hợp từ nhiều loại sinh vật trong điều kiện môi trường không thuận lợi với vai trò là chất dự trữ năng lượng, trong đó nổi bật nhất là các vi khuẩn *eutropha*, *latus* và các chủng tái tổ hợp của vi khuẩn *E. coli*. Các ứng dụng của PHB trong nhiều

lĩnh vực như y học, thực phẩm, mỹ phẩm, nông nghiệp, điện tử vô tuyến đã được thực hiện. Có thể kể ra một số sản phẩm dùng nguyên liệu PHB như màng sinh học, chỉ khâu y học, gạc đắp vết thương, kháng sinh, vitamin, mùi hương... Bài viết này sẽ cung cấp một cái nhìn tổng quan về những ưu thế của PHB và các ứng dụng của hợp chất này.

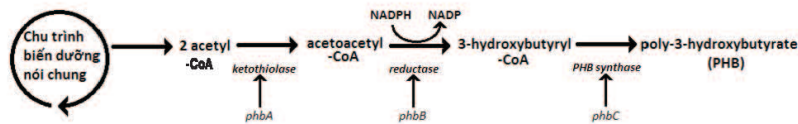
Một số đặc tính sinh học ưu việt của PHB

Có 3 đặc tính sinh học nổi bật của PHB là khả năng được tổng hợp bằng con đường sinh học, tính tương thích cao với cơ thể sống và không độc hại, và khả năng bị phân hủy sinh học bằng nhiều con đường khác nhau.

PHB là polymer được tổng hợp bằng con đường sinh học

PHB (PHA nói chung) có thể được tổng hợp bởi nhiều sinh vật khác nhau như các vi sinh vật tự nhiên/tái tổ hợp, các thực vật biến đổi gen. Các vi khuẩn tự nhiên (*R. eutropha*, *A. latus*) và các chủng tái tổ hợp của *E. coli* được nghiên cứu nhiều hơn cả, đặc biệt là *E. coli* tái tổ hợp vì nó không có enzyme tiêu thụ mất lượng PHB tích lũy được. Nguồn cơ chất tổng hợp PHB cũng có thể là các vật liệu ít tốn kém như các phụ phẩm nông nghiệp: rỉ đường, bột gỗ, cỏ rơm hay thậm chí là chất thải. Đây là một ưu thế quan trọng khi vấn đề cạn kiệt tài nguyên và chất thải ô nhiễm đang gây nhức nhối trong xã hội.

Tuy nhiên, việc sản xuất PHB gặp nhiều khó khăn, giá thành sản phẩm PHB vẫn còn rất cao. PHB sản xuất bởi *R. eutropha* đắt gấp 18 lần so với polypropylene.



Hình 1: giản đồ quá trình sinh tổng hợp PHB

Nguyên nhân chủ yếu là chi phí nguyên liệu và các công đoạn xử lý, làm sạch, tách chiết; nguyên liệu đắt tiền có thể chiếm đến 30-40% tổng chi phí, còn nguyên liệu rẻ như rơm rạ, cỏ khô, bột gỗ tồn chi phí xử lý sơ bộ. Có nhiều nỗ lực tìm kiếm các giải pháp giảm chi phí sản xuất và giá thành sản phẩm như tìm kiếm nguyên liệu ít tốn kém hay cải thiện phương pháp xử lý nguyên liệu và thu hồi sản phẩm. Một hướng đi khác là kết hợp PHB với các nguyên liệu rẻ tiền để giảm chi phí tổng thành nhưng vẫn đảm bảo đặc tính ưu việt cần có.

PHB có thể bị phân hủy bằng con đường sinh học

PHB có thể bị phân hủy bởi nhiều sinh vật trong tự nhiên, chủ yếu là vi khuẩn và nấm. Điều này mang ý nghĩa lớn trước tình trạng con người đang phải đối mặt với lượng rác thải khổng lồ, trong số đó bao hàm nhiều vật liệu chất dẻo với thời gian tự phân hủy có thể lên đến hàng trăm năm. Phần lớn sinh vật phân hủy PHB sống trong đất mùn, một số ít sống trong nước sông, hồ, biển, bùn thải. Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự phân hủy PHB như độ ẩm, nhiệt độ, pH, cấu trúc phân tử PHB... và quá trình này có thể kéo dài từ vài tuần đến vài năm. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy PHB phân hủy dễ dàng và nhanh chóng hơn so với một số chất dẻo thông dụng khác. Việc phân hủy sinh học đương nhiên cần tác động trực tiếp của

sinh vật, vì vậy, các PHB có thể được bảo quản gần như vô hạn định trong môi trường không khí và nhiều sản phẩm làm từ PHB có thể được bảo quản trong điều kiện bình thường.

PHB cũng tự phân hủy trong cơ thể sống và sinh ra các sản phẩm ít độc hơn và ít gây phản ứng sung, viêm hơn, ví dụ như nó ít độc hơn 2 lần so với các hydroxyacid sinh ra từ polyglycolic acid (PGA) và polylactic acid (PLA). Đó là ưu thế quan trọng trong ứng dụng y học như làm màng cấy ghép, chỉ khâu y tế, chất phân tán thuốc... chúng sẽ dần tự tiêu hủy nên không cần phải tái phẫu thuật để gỡ bỏ. Tốc độ phân hủy của vật cấy PHB phù hợp với với tốc độ phục hồi của mô sống và độ bền của nó vẫn được duy trì cho đến khi hoàn thành nhiệm vụ, tuy nhiên nhìn chung PHB phân hủy chậm hơn các vật liệu khác như polylactide-glycolide (PGLA).

PHB không độc hại và tương thích với cơ thể sống

PHB tồn tại trong cơ thể rất nhiều loài sinh vật, chúng đã được tìm thấy trong bơm Ca^{2+} -ATPase của hồng cầu người và là một chất trung gian của quá trình biến dưỡng chất béo, tồn tại trong huyết tương người với nồng độ khoảng 3,5 mg/l. Các sản phẩm phân hủy của PHB cũng ít độc hại, các phản ứng sung viêm, phù nề, hoại tử xảy ra ở mức độ ít, tương đương so với các vật liệu y học khác như tơ sợi, ruột mèo.

Khi tiếp xúc với máu, PHB cũng không gây phản ứng tiểu cầu hay kích hoạt các hệ thống đi kèm và mức độ tương thích gần giống như polyvinyl chloride (PVC). Việc này có nghĩa là, các vật cấy ghép, màng sinh học, chỉ khâu y tế, chất phân tán thuốc... sản xuất từ PHB rất ít độc hại với vật chủ. Đây là điều mang ý nghĩa lớn nếu xét đến các vật liệu cấy ghép truyền thống như silicone bị cho là có thể gây ung thư.

Các ứng dụng của PHB

Căn cứ theo các tính chất của PHB và các họ hàng liên quan, các ứng dụng khả thi nhất của PHB có thể gồm 2 nhóm: một là các sản phẩm dùng một lần (tã giấy, bao rác, bao bì...), hai là sử dụng trong y học (màng cấy ghép, chỉ khâu, chất phân tán thuốc...). Việc sản xuất quy mô công nghiệp PHA (và PHB nói riêng) đã được thực hiện ở một số quốc gia, trong đó PHBV (P(3HB-co-4HB)) là sản phẩm đầu tiên được thương mại hóa với tên thương hiệu là BIOPOL®. Nhược điểm quan trọng của PHB vẫn là giá thành cao và việc thay thế hoàn toàn các polymer dầu mỏ bằng PHB hiện nay vẫn chưa khả thi.

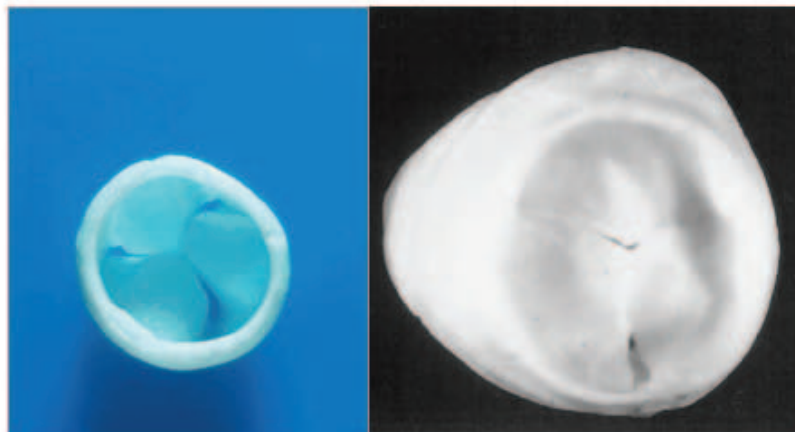
Trong y học

Như đã đề cập ở trên, khả năng bị phân hủy trong cơ thể sống, không độc hại, không sinh ra các chất độc là điều lý tưởng cho các ứng dụng trong y học của PHB, và trên thực tế đây là một trong những ứng dụng sâu rộng nhất của polymer này. Tuy nhiên, các thách thức đang phải đối mặt là chi phí sản xuất và mức độ tinh sạch của sản phẩm ở quy mô

công nghiệp.

Màng khung PHB trong kỹ thuật cấy ghép mô: nuôi cấy mô là một lĩnh vực đa ngành, bao hàm sinh học, khoa học vật liệu, tái tạo phẫu thuật, mục đích của nó là cung cấp các mô sống cho cơ thể nhằm phục hồi các thương tổn, duy trì hoặc cải thiện chức năng các mô cơ thể. Williams và cs (1999) nêu ra 5 tính chất quan trọng để màng khung nuôi cấy mô có thể hoàn thành tốt chức năng của mình: 1) Tương thích sinh học; 2) Duy trì sinh trưởng và đảm bảo độ bám dính của tế bào; 3) Định hướng và sắp xếp tế bào; 4) Cho phép tế bào phát triển vào trong và dẫn chất dinh dưỡng và chất thải ra/vào; 5) Tự hủy sinh học và không sinh ra sản phẩm độc hại. Các thực nghiệm đã cho thấy tác dụng của màng PHB trong phân chia và biệt hóa của tế bào gốc trên nó và trong việc cấy ghép để phục hồi mô tổn thương. Ngoài ra, PHB còn có ưu thế lớn về khả năng tùy chỉnh cấu trúc, thiết kế, gia công để tạo ra các sản phẩm thích hợp cho từng nhu cầu và hoàn cảnh.

Nuôi cấy mô cơ tim và mô mạch máu: tính dẻo rất cao và dễ thao tác, tạo hình khiến cho P(4HB) trở thành một vật liệu tiềm năng cho lĩnh vực nuôi cấy và ghép các loại mô tim và mô mạch máu. Đặc biệt, P(4HB) được thử nghiệm nhiều trong nuôi cấy các van ba lá vì chúng dễ dàng được gia công thành các khung vừa khít với bộ phận này. Sodian và cs (2002) đã thử nghiệm phương pháp in thạch bản lập thể (stereolithography) với sự hỗ trợ của phần mềm vi tính để chế tạo màng khung hình dạng van ba



Hình 2: màng khung nuôi cấy van ba lá từ P(4HB)

lá, bằng cách này có thể "in 3D" các màng khung mà không cần phải gia công tạo hình bằng các phương pháp như may khâu. Các thử nghiệm cơ - lý cho thấy sản phẩm tạo ra bằng phương pháp này hoàn toàn có thể được sử dụng trong y học. Thử nghiệm với tế bào động mạch cầu cho thấy màng P(4HB) có tính chất tương đương so với màng bằng vật liệu khác như PGA, tuy nhiên mức độ bám dính và lượng collagen thấp hơn. Màng nuôi cấy mô mạch máu P(4HB) đã được thử nghiệm thành công trên cầu và polymer này được đánh giá cao về tính dẻo cũng như tốc độ tự hủy. Điểm trừ lớn của màng cấy này cũng vẫn là mức độ sản sinh các vi sợi như elastin còn thấp, điều này ảnh hưởng tiêu cực đến độ bền và chức năng.

Hồi phục mô da thương tổn: màng khung PHA đã được nghiên cứu ứng dụng trong điều trị phục hồi da bị thương tổn và điều trị vết thương. Trong các PHB, PHBV là một thành viên được nghiên cứu kỹ lưỡng và nổi bật với các ứng dụng trong phục hồi mô da và chữa bỏng. Thực nghiệm của

Sundaramurthi và cs (2013) với tế bào sừng cho thấy, màng nuôi cấy được tinh diện bằng các sợi PHBV có các tính chất ưu việt về độ xốp, khả năng dẫn oxy và tương tác với tế bào, nó kích thích sự sinh sôi, bám dính, tương tác và duy trì hoạt động chức năng của mô tế bào sừng nuôi cấy. Đồng thời màng cũng không gây ra các phản ứng sưng viêm hay kích thích các tế bào miễn dịch. Những tính chất này cho thấy PHBV là vật liệu đầy hứa hẹn trong các ứng dụng y tế như điều trị thương tổn và cấy ghép mô.

Ống dẫn phục hồi mô thần kinh: PHB đã được ứng dụng làm vật liệu tự hủy để chế tạo các màng khung cấy ghép mô thần kinh có dạng ống dẫn, được cấy vào các đoạn khuyết thiếu do thương tổn của sợi thần kinh và định hướng các tế bào phát triển lấp đầy những chỗ thiếu đó. Các tế bào cấy thường là tế bào Schwann vốn có vai trò quan trọng trong hệ thần kinh ngoại vi như truyền dẫn xung thần kinh, phát triển, phục hồi, nuôi dưỡng mô thần kinh, sản sinh các chất nền ngoại bào của tế bào thần

kinh, sản sinh neurotrophin, điều hòa hoạt động của các synap thần kinh - cơ.

Tác dụng của ống dẫn PHB trong việc đẩy nhanh quá trình phục hồi phần thương tổn đã được chứng thực trên mèo. Ở đây, ống dẫn thần kinh phải bền, khỏe và không quá cứng, giòn. Tuy nhiên, P(3HB) là vật liệu cứng và quá giòn với ứng suất đến 40 MPa và gãy khi chỉ kéo dài 4%. Vì vậy, Kanjirathumutil (2012) đã thử kết hợp P(3HB) với P(3HO) mềm dẻo hơn và kết luận tỷ lệ HO:HB = 5:1 là phù hợp hơn cả với ứng suất 1,5 MPa và độ kéo dài tối đa mà không gãy vỡ là 160%. Hiệu năng của ống dẫn này có thể được cải thiện hơn nữa bằng cách kết hợp với các dược phẩm bảo vệ thần kinh như Ginsenoside Rg1 để tăng cường mức độ phục hồi mô.

Cấy ghép mô xương và sụn: P(3HB) và polymer tổng hợp của nó với 45S5 Bioglass® kích cỡ micro và nano có mức độ tương thích cao với nguyên bào xương người dòng MG-63. Bổ sung thêm vitamin E sẽ làm tăng mức độ gắn kết, sinh sôi và biệt hóa của tế bào P(3HB) trong màng che các chỗ khuyết của hộp sọ, chỗ hở kín miệng sau 9 tháng, không nhiễm trùng và các mô phát triển tốt trên cấu trúc màng. Một vật liệu khác là P(3HB-co-3HHx) cũng được chú ý với nhiều đặc tính ưu việt hơn trong việc kích thích sự bám dính, sinh sôi và biệt hóa của tế bào tủy xương. Còn PHBV kết hợp với hydroxyapatite có độ bền cơ rất giống với xương và có tiềm năng trong điều trị rạn gãy xương.

Chỉ khâu y học và vật liệu phẫu thuật: nghiên cứu ứng dụng PHB làm chỉ khâu y học đã có từ

giữa thế kỷ XX. PHB đủ bền để giữ niêm kín vết thương, đủ dẻo để thao tác, phân hủy đủ chậm để đảm bảo cấu trúc chức năng trong quá trình phục hồi thương tổn, đồng thời các phản ứng sưng viêm, miễn dịch ở mức độ thấp và không khác biệt nhiều so với các vật liệu khác như tơ sợi hay ruột mèo. Trong nhóm PHB, P(4HB) được ứng dụng nhiều để chế tạo chỉ khâu y tế, với sản phẩm thương mại đầu tiên được cấp phép tại Mỹ là Tephaflex vào năm 2007. Một sản phẩm khác là MonoMax được cấp phép ở châu Âu năm 2009. Chúng đều thể hiện các tính chất lý - hóa phù hợp với vai trò vật liệu phẫu thuật.

PHB cũng được dùng để chế tạo màng ngăn chống lại sự dính liền bất thường của các nội tạng do phẫu thuật, màng PHB trong trường hợp này được thiết kế để có ái lực thấp với nước và ngăn cản sự tiếp xúc của tế bào.

Chất phân tán thuốc: nhiều loại PHB đã được nghiên cứu làm chất phân tán cho nhiều loại dược phẩm khác nhau (kháng sinh, nội tiết tố, vaccine...) ở nhiều dạng khác nhau (thuốc viên uống, tiêm dưới da, bóng phủ thuốc ở mạch máu...). Trong đó, chủ yếu là các nghiên cứu về P(3HB) và PHBV. Tốc độ phân tán thuốc và dung lượng thuốc phụ thuộc vào nhiều yếu tố, như khối lượng phân tử, thành phần HV/HB và kích thước các phần tử. Hàm lượng HV cao thường sẽ giảm tốc độ phân tán thuốc. Không có phản ứng phụ đáng kể khi dùng PHBV làm chất phân tán. Tuy nhiên, tốc độ phân hủy của PHBV và P(3HB) khá chậm so với các vật liệu khác, vì vậy chúng thường được kết hợp

với các polymer tự hủy khác để điều chỉnh các tính chất (độ xốp, tốc độ phân hủy, tốc độ phân tán thuốc...) sao cho đạt được ở mức độ mong muốn.

Ngoài PHBV, các polymer khác như P(4HB), P(3HB-co-4HB) và P(4HB-co-glycolate) cũng được thử nghiệm ở một số loại thuốc như Sulperazone™ và Ducoid. Trong đó, P(3HB-co-4HB) được ưu ái vì tính dẻo cao, dễ thao tác so với PHBV và bền so với các vật liệu khác, ưu thế này khiến chúng được nghiên cứu làm chất nền phân tán kháng sinh tetracycline.

Trong lĩnh vực công nghiệp và thực phẩm

Do các tính chất cơ học gần giống như polymer dầu mỏ, nhưng có thêm khả năng tự phân hủy sinh học, người ta đã nỗ lực sử dụng PHB để thay thế cho polymer truyền thống trong các vật dụng chất dẻo dùng một lần (như làm các bao bì, chai lọ đựng mỹ phẩm, ly cốc dùng một lần...). Đặc biệt, tính chất chống thấm nước và chống thấm oxy giúp PHB tìm được chỗ đứng của mình trong các loại bao bì và chai lọ. Ngoài ra, PHB cũng được dùng làm chất phân tán tự hủy cho các thuốc diệt cỏ và côn trùng với liều lượng tác động thời gian dài, vật dụng hạt giống, ống phun nước tưới ruộng. Vật liệu tự phân hủy nên không cần phải gỡ bỏ sau khi thu hoạch nông phẩm.

PHB đã được sản xuất ở quy mô công nghiệp và thương mại hóa để ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Một vật liệu hỗn hợp giữa P(3HB) và P(3HO) của Công ty Metabolix (Hoa Kỳ) đã được Cục Quản lý thực phẩm và

được phẩm Hoa Kỳ (FDA) cấp phép sử dụng làm chất phụ gia dùng cho thực phẩm. Metabolix cũng sản xuất loại PHBV mang thương hiệu BIOPOL® dùng trong bao bì, bìa cứng, khuôn thổi và màng polymer. Polymer này kháng tĩnh điện và có thể được dùng làm bao bì của các sản phẩm điện tử. Công ty Biomer (Đức) đã sản xuất P(3HB) ở quy mô công nghiệp từ vi khuẩn *Alcaligenes latus* dùng làm lược chải tóc, bút và gia công tạo hình chất dẻo cổ điển...

Trong lĩnh vực xử lý chất thải

Một ứng dụng tiềm năng của PHB là cơ chất rắn cho quá trình khử nitrogen trong nước và nước thải. Phương pháp khử nitrogen bằng cơ chất rắn nói chung và bằng PHB nói riêng đang được đẩy mạnh nghiên cứu để thay thế cho phương pháp truyền thống dùng cơ chất lỏng vốn rất khó kiểm soát và giữ ổn định liều lượng cơ chất, dễ gây quá liều hay thiếu hụt, ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng nước; năng suất khử nitrogen cũng kém và thiếu ổn định. Nhiều loại cơ chất rắn như gỗ, vỏ cây, rơm rạ... đã được thử nghiệm, và PHB là ứng cử viên thích hợp nhất, nó có thể dung chứa các vi sinh vật và có thể được xử lý để vi khuẩn tận dụng trong điều kiện khử nitrogen và kỵ khí.

Việc sử dụng cơ chất rắn là PHB mang lại nhiều ưu thế so với cơ chất lỏng. Thứ nhất, PHB không tan trong nước nhưng dễ bị phân hủy sinh học, vì vậy chúng là nguồn chất khử ổn định cho quá trình khử nitro. Thứ hai, PHB không giải phóng các carbon hòa tan làm giảm chất lượng nước.

Thứ ba, PHB là giá thể cho sự hình thành của màng vi sinh vật xử lý nước thải. Màng sinh vật này có thể tiếp tục hình thành và phát triển chừng nào nguồn PHB còn dồi dào. Các tính chất này khiến PHB là ứng cử viên tiềm năng trong việc xử lý nước thải. Tuy nhiên, giá thành vẫn là trở ngại lớn cho việc ứng dụng PHB, chi phí sử dụng PHB cao gấp nhiều lần so với methane và polycaprolactone (PCL) mặc dù cách tính này chưa đề cập đến chi phí duy trì và điều khiển hệ thống.

Một ứng dụng khác của PHB trong xử lý chất thải là chất chiết trong pha tĩnh của quá trình chiết pha rắn dùng để tách chiết các kim loại nặng trong nước, mẫu vật để kiểm tra mức độ ô nhiễm của chúng. Một ứng cử viên là polyhydroxybutyrate-b-polydimethyl siloxane (PHB-b-PDMS) được chú ý vì các ưu thế về tính đơn giản và khả năng tiết kiệm thời gian, chi phí, cũng như khả năng tái sử dụng nhiều lần.

Kết luận

Vì có các tính chất cơ - lý gần giống như các polymer có nguồn gốc dầu mỏ, lại có các ưu thế về khả năng tự hủy sinh học, tương thích với cơ thể sống và được tổng hợp bằng con đường sinh học, PHB đã nhận được sự chú ý đáng kể của giới nghiên cứu với các ứng dụng tiềm năng trong các lĩnh vực y học và công nghiệp. Tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất của PHB là giá thành sản xuất cao, và điều đó đã hạn chế đáng kể phạm vi ứng dụng của PHB trong đời sống. Do vậy, cần có nhiều nghiên cứu sâu rộng hơn về các phương pháp cải thiện năng suất

và giảm chi phí sản xuất PHB ở quy mô công nghiệp để PHB có thể hoàn toàn thay thế các chất dẻo có nguồn gốc dầu mỏ trong mọi lĩnh vực của cuộc sống ☞

Tài liệu tham khảo

1. Kanjirathumutil (2012), *Novel Polyhydroxyalkanoate blends: their characterisation and possible applications (Master thesis)*, University of Westminster, UK.
2. Li Z.T, Zhang Y, Chen G.Q (2008), "Nanofibrous polyhydroxyalkanoate matrices as cell growth supporting materials", *Biomaterials*, **29**, pp.3720-3728.
3. Sodian R, Loebe M, Hein A, Martin D.P, Hoerstrup S.P, Potapov E.V, Hausmann H, Lueth T, Hetzer R (2002), "Application of Stereolithography for Scaffold Fabrication for Tissue Engineered Heart Valves", *American Society for Artificial Internal Organs Journal*, **48**, pp.12-16.
4. Sundaramurthi D, Krishnan U.M, Sethuraman S (2013), "Biocompatibility of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Nanofibers for Skin Tissue Engineering", *Journal of Biomedical Nanotechnology*, **9**(8), pp.1383-1392.
5. Tang H, Ishii D, Mahara A, Murakami S, Yamaoka T, Sudesh K, Samian R, Fujita M, Maeda M, Iwata T (2008), "Scaffolds from Electrospun polyhydroxyalkanoate copolymers: Fabrication, characterization, bioabsorption and tissue response", *Biomaterials*, **29**, pp.1307-1317.
6. Williams S.F, Martin D.P, Horowitz D.M, Peoples O.P (1999), "PHA applications: addressing the price performance issue: I Tissue engineering", *International Journal of Biological Macromolecules*, **25**, pp.111-121.