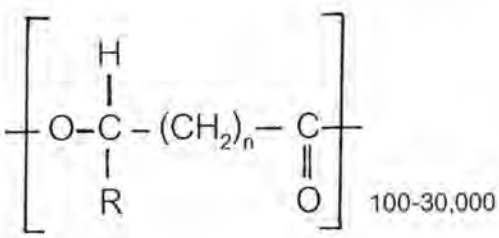
บทที่ 2

ทฤษฎี แนวคิด และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates : PHA)

PHA เป็นโพลีเอสเทอร์ของ กรดไฮดรอกซีอัลคาไนอิค (HA) ที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์หลายชนิด สะสมไว้ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ภายใต้ภาวะที่จำกัดสารอาหารบางอย่างเช่น ไนโตรเจน แต่มีปริมาณคาร์บอนมากเกินพอ (Byrom, 1994) สูตรโครงสร้างทั่วไปของ PHA ดังรูปที่ 2-1



		Polymer
n=1	R=hydrogen	Poly(3-hydroxypropionate)
	R=methyl	Poly(3-hydroxybutyrate)
	R=ethyl	Poly(3-hydroxyvalerate)
	R=propyl	Poly(3-hydroxyhexanoate)
	R=pentyl	Poly(3-hydroxyoctanoate)
	R=nonyl	Poly(3-hydroxydodecanoate)
n=2	R= hydrogen	Poly(4-hydroxybutyrate)
n=3	R= hydrogen	Poly(5-hydroxyvalerate)

รูปที่ 2-1 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ PHA (Lee, 1995)

โพลีเมอร์เหล่านี้เป็นเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) มีคุณสมบัติตั้งแต่ที่มีความแข็งและเปราะ จนถึงมีคุณสมบัติยืดหยุ่นเป็นยางที่มีความแข็งแรง (Dawes, 1990) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของหมู่ R ในโครงสร้างที่แสดงข้างต้น ได้มีการศึกษาถึงการสร้าง PHA และการปรับปรุงการผลิตโพลีเอสเทอร์จากแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่มีหมู่ฟังก์ชันต่างๆกัน จนในปัจจุบันมี PHA มากกว่า 80 ชนิด (Lee, 1995) น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยมีช่วงตั้งแต่ 2×10^5 ถึง 3×10^6 ดาลตัน (Byrom, 1994) PHA อาจแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (Ottenbrite, 1996) คือ

1) PHA สายสั้น (SCL) มีคาร์บอนในโมโนเมอร์ 3 - 5 อะตอม เช่น PHB (C_4) และ PHBV (C_4 - C_5)

2) PHA สายยาว (LCL) มีคาร์บอนความยาวปานกลาง ได้แก่ PHO (C_8) และ PHN (C_9)

3) PHA สายยาวที่มีหมู่ฟังก์ชันมาต่อ (FSC) เช่น PHU ที่มีพันธะคู่ของคาร์บอนมาต่อ และ PHPV ที่มีหมู่เฟนิลต่อเป็นต้น

ตารางที่ 2-1 **แสดงการแบ่งกลุ่มและตัวอย่างของ PHA** (Ottenbrite, 1996)

Name	Composition **R** Groups	Polymer	PHA Type
PHB	$-CH_3$	C4 Homopolymer	PHA (SCL)
PHO	$-(CH_2)_2-CH_3$ $-(CH_2)_4-CH_3$ $-(CH_2)_6-CH_3$	C6, C8 & C10 Terpolymer	PHA (LCL)
PHOU	$-(CH_2)_x-CH_3$ $-(CH_2)_x-CH=CH_2$	A Copolymer of PHO & Polyhydroxyundecanoic acid, 17% Unsaturated.	PHA (FSC)
PHPV	$-CH_2-C_6H_5$	Homopolymer	PHA (FSC)

แบคทีเรียหลายชนิดที่สร้าง PHA จะสะสม PHAอยู่ในรูปของกรานูล (granules) ที่อยู่ภายในส่วนของโซโตพลาสซึม (cytoplasm) โดยมีขนาดและจำนวนของกรานูลแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรีย และชนิดของสารคาร์บอนที่ใช้ ปัจจุบันมีแบคทีเรียประมาณ 300 ชนิดที่มีการรายงานว่าสามารถสะสม PHA ดังตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 **แสดงสกุลของแบคทีเรียที่สะสม PHA** (Byrom, 1987)

Acinetobacter	Gamphosphaeria	Photobacterium
Actinomycetes	Haemophilus	Pseudomonas
Alcaligenes	Halobacterium	Rhizobium
Aphanothece	Hyphomicrobium	Rhodobacter
Aquaspirillum	Lamprocystis	Rhodospirillum
Azospirillum	Lampropedia	Sphaerotilus
Azotobacter	Leptothrix	Spirillum
Bacillus	Methylobacterium	Spirulina
Beggiatoa	Methylocystis	Streptomyces
Beijerinckia	Methylosinus	Syntrophomonas
Caulobacter	Micrococcus	Thiobacillus
Chlorofrexeus	Microcoleus	Thiocapsa
Chlorogloea	Microcystis	Thiocystis
Chromatium	Moraxella	Thiodictyon
Chromobacterium	Mycoplana	Thiopedia
Crostridium	Nitrobacter	Thiosphaera
Derxia	Nitrococcus	Vibrio
Ectothiorhodospira	Nocardia	Xanthobacter
Escherichia	Oceanospirillum	Zoogloea
Ferrobacillus	Paracoccus	

PHA และ PHB

Polyhydroxybutyrate (PHB) เป็น PHA ชนิดแรกที่พบในปี 1926 (Lemoigne และคณะ, 1926) โดยได้จากเชื้อ *Bacillus megaterium* และต่อมาในปี 1974 ได้ค้นพบ PHA ที่เป็นเฮทเทอโรโพลีเมอร์ (Heteropolymer) จากกากตะกอนบำบัดน้ำเสีย (Wallen และคณะ, 1974) คุณสมบัติของ PHB มีความคล้ายคลึงกับโพลีโพรไพลีน (polypropylene : PP) คือมีจุดหลอมเหลวใกล้ 180 องศาเซลเซียส แต่ PHB มีความแข็ง และเปราะมากกว่า (Holme, 1985) สมบัติทางเคมีต่างกันคือ PHB จะทนตัวทำละลายได้น้อยแต่ทนแสงอัลตราไวโอเลต (UV)ได้ดีกว่า PHA ที่เป็นโคโพลีเมอร์ (copolymer) ของไฮดรอกซีบิวทีเรต (HB) และไฮดรอกซีวาลีเรต (HV) ที่รู้จักในชื่อทางการค้าว่า "BIOPOL" ถูกพัฒนาให้มีความแข็งและความเปราะลดลง มีความเหนียว (impact strength) และความยืดหยุ่นมากขึ้น (ค่า Young's modulus ลดลง) โดยการเพิ่มปริมาณไฮดรอกซีวาลีเรตให้เหมาะสม ดังแสดงในตารางที่ 2-3 PHA อื่นๆ ส่วนใหญ่ต่างกับ PHB ตรงที่ PHA มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าและละลายในเอธานอลร้อน (Wallen และ Rohwedder, 1974)

ประโยชน์ของ PHA (Brandl และคณะ, 1990 และ Luzier, 1992)

PHA ถูกนำไปผลิตเป็น

- แผ่นฟิล์มเคลือบ ถุง และบรรจุภัณฑ์ต่างๆ
- ตัวนำพายา ยาฆ่าแมลง ยากำจัดศัตรูพืชที่ออกฤทธิ์ระยะยาว
- ส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ครั้งเดียว เช่น มีดโกน ผ้าอ้อม และ ผ้าอนามัย
- อุปกรณ์ในการศัลยกรรม ตกแต่งบาดแผล
- วัสดุที่ใช้ในการต่อกระดูก เชื่อมเส้นเลือด

ตารางที่ 2-3 แสดงการเปรียบเทียบสมบัติของโพลีเมอร์ชนิดต่าง ๆ (Lee, 1995)

Polymer	Melting temperature (^{0}C)	Young's modulus (GPA)	Tensile strength (Mpa)	Elongation to break (%)	Notched izod impact strength (J/m)
P(3HB)	179	3.5	40	5	50
P(3HB-co-3HV)					
3 mol% 3HV	170	2.9	38	___[a]	60
9 mol% 3HV	162	1.9	37	___	95
14 mol% 3HV	150	1.5	35	___	120
20 mol% 3HV	145	1.2	32	___	200
25 mol% 3HV	137	0.7	30	___	400
P(3HB-co-4HB)[b]					
3 mol% 3HB	166	___	28	45	___
10 mol% 3HB	159	___	24	242	___
16 mol% 3HB	___	___	26	444	___
64 mol% 3HB	50	30	17	591	___
90 mol% 3HB	50	100	65	1080	___
P(4HB)[c]	53	149	104	1000	___
P(3HHx-co-3HO)[d]	61	___	10	300	___
Polypropylene	170	1.7	34.5	400	45
Polyethylene-terephthalate	262	2.2	56	7300	3400
Polystyrene	110	3.1	50	___	21

[a] Data not available.

[b] Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate).

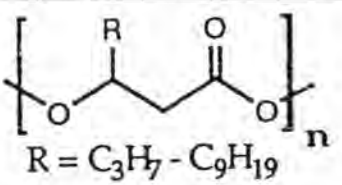
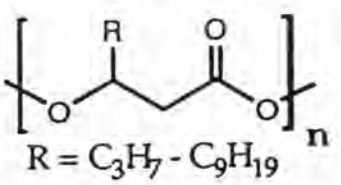
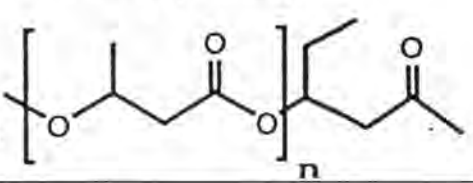
[c] Poly(4-hydroxybutyrate).

[d] Poly(3-hydroxyhexanoate-co-3-hydroxyoctanoate).

Pseudomonads และการสร้าง PHA

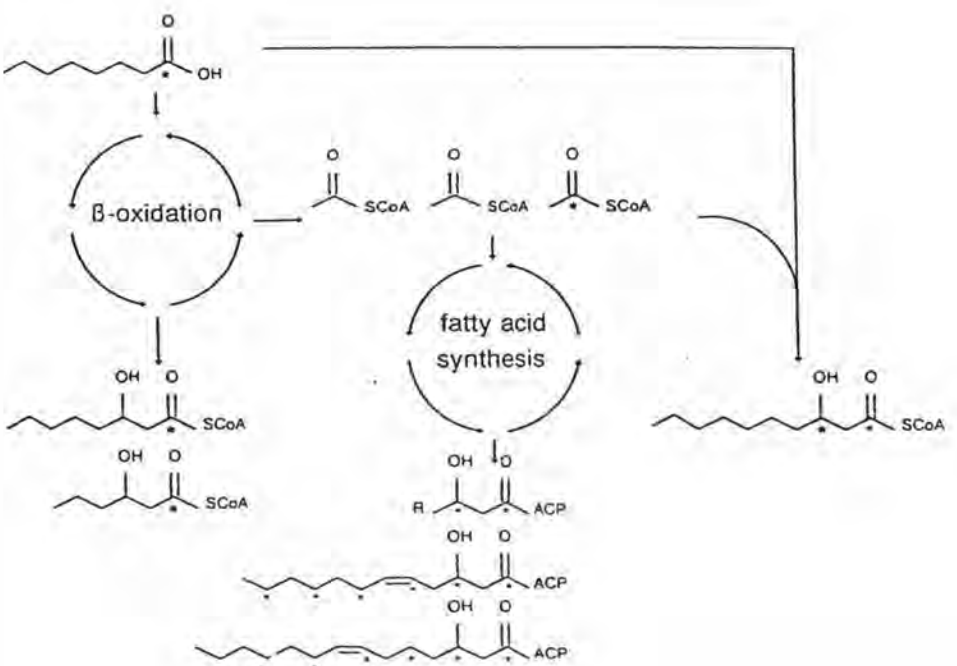
แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง พบได้ทั่วไปทั้งในแหล่งน้ำและในดิน มีความสามารถในการสะสมกรานูลของ PHA (Stanier, 1966) เมื่ออยู่ในภาวะที่ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน ออกซิเจน หรือแมกนีเซียมถูกจำกัด *Pseudomonas* กลุ่มฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent pseudomonads) สร้าง PHA ที่หน่วยโครงสร้าง (structural unit) เปลี่ยนแปลงไปตามการสร้างเฉพาะตัวของเชื้อแบคทีเรีย ธรรมชาติของสารตั้งต้นและระบบเมทาบอลิซึม และไม่สร้าง PHB (Doudoroff, 1974) โดยทั่วไป PHA ที่สร้างเป็นโคโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวที่มีหมู่ไฮดรอกซี (-OH) จำนวนมาก มีความยาวของคาร์บอนระหว่าง 6 - 14 อะตอม ดังตัวอย่างโครงสร้างของโพลีเมอร์ ในตารางที่ 2-4 จากโครงสร้างดังกล่าวทำให้ทราบว่า PHA ของ Pseudomonads เป็นเทอร์โมพลาสติก ที่มีความยืดหยุ่นมากขึ้น(Holmes,1988) หน่วยโครงสร้างที่แตกต่างกันในโคโพลีเมอร์ จากเชื้อ Pseudomonads เป็นที่คาดหวังว่าอาจพบ PHA ที่มีคุณสมบัติที่ดี และสามารถเลือก PHA ให้มีสมบัติตามต้องการได้ โดยการเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนในอาหาร

ตารางที่ 2-4 **แสดงตัวอย่างโครงสร้างของ PHA จาก Pseudomonads** (People, 1990)

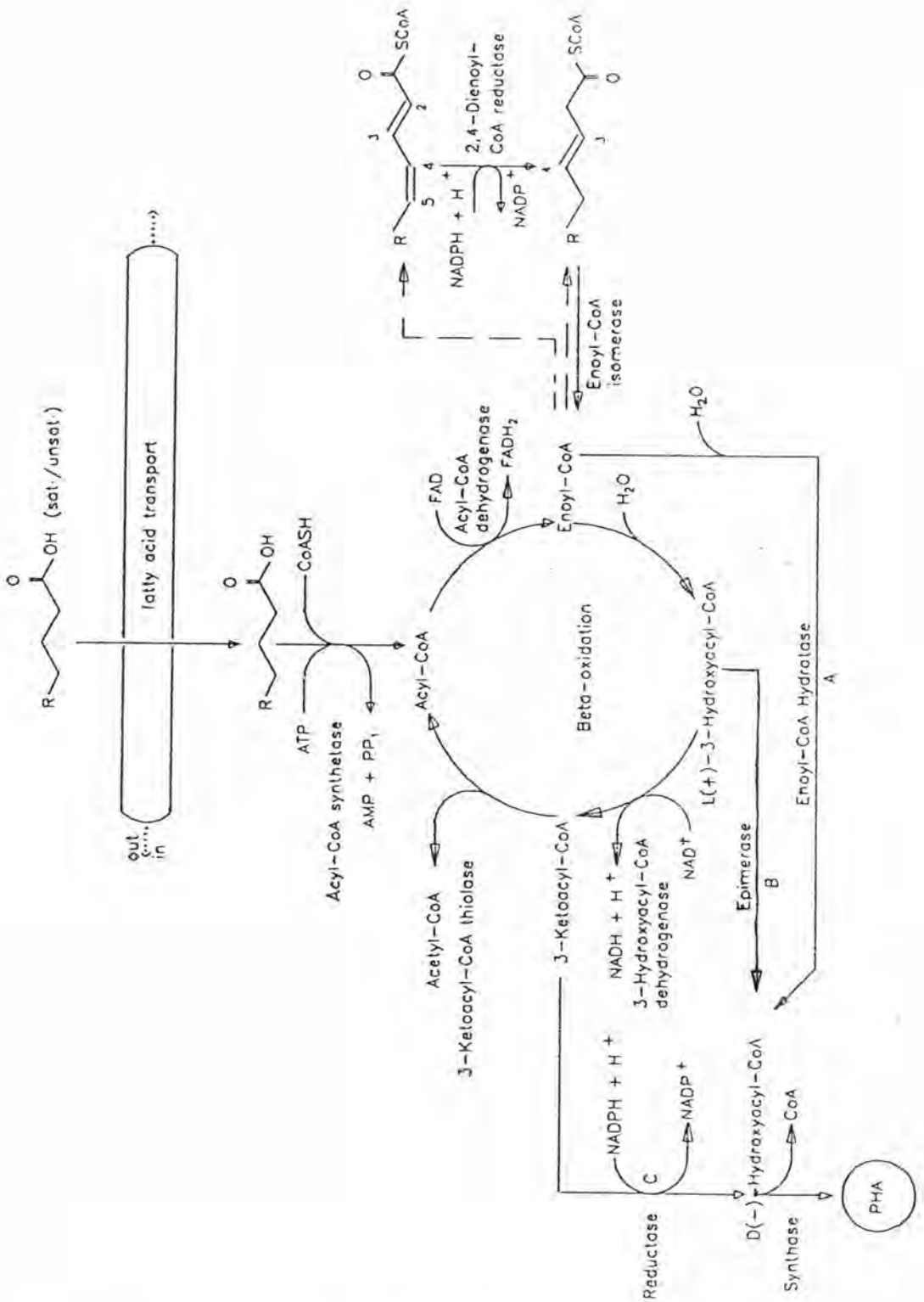
Organism	Precursor	Polymer
P. oleovarans	n-alkanes > C_5 n-alkenes > C_5 fatty acids > C_5	 $R = C_3H_7 - C_9H_{19}$
P. fluorescens	fatty acids > C_6	 $R = C_3H_7 - C_9H_{19}$
P. testosterone	3-OH-butyrate> C_5	

กลไกการสร้าง PHA ใน Pseudomonads

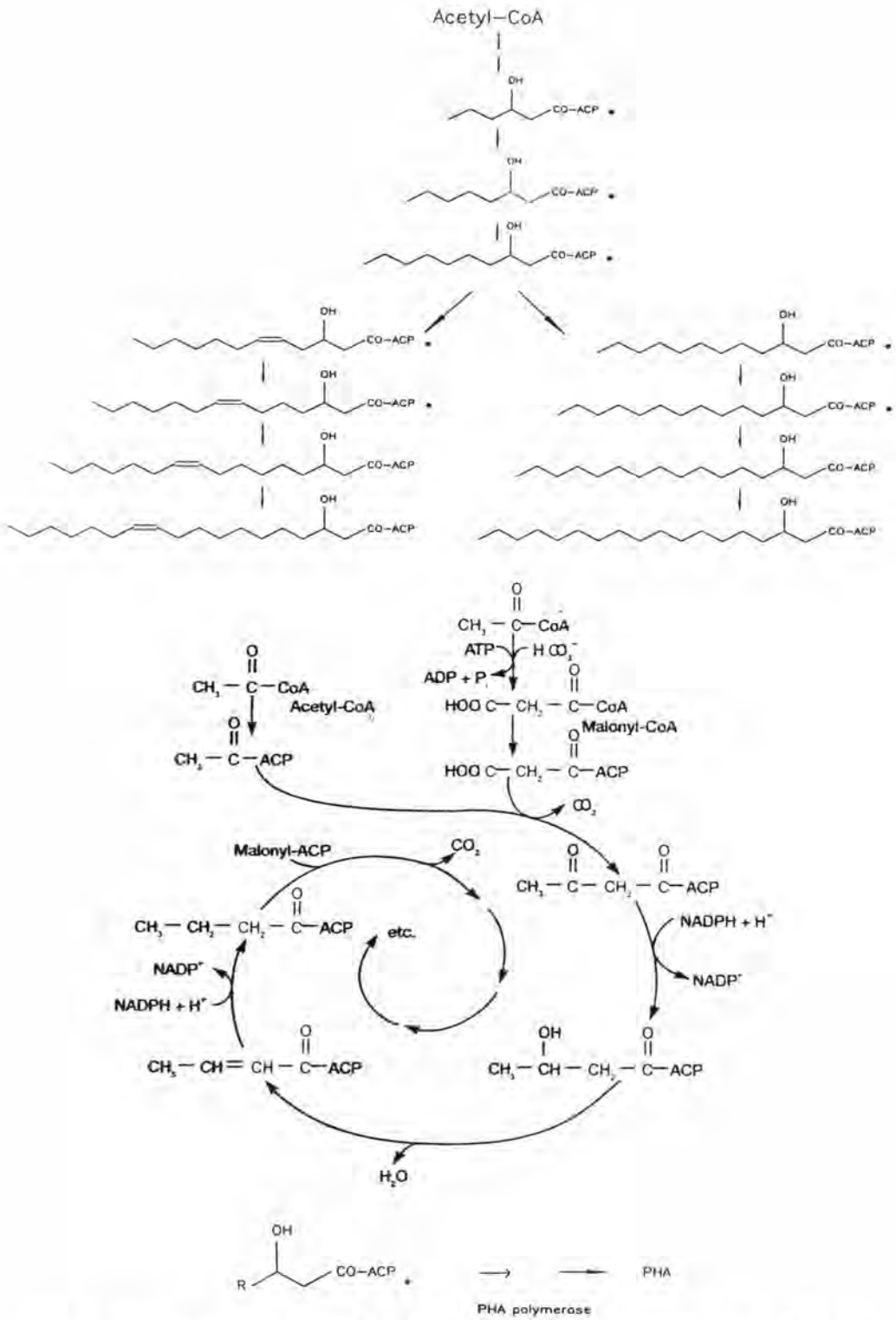
จากการศึกษากระบวนการเมทาบอลิซึม พบว่า ไฮดรอกซีเอซิล-โคเอ (Hydroxyacyl Co-A) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยาบีตา-ออกซิเดชัน (β - oxidation) (Lageveen และคณะ, 1988 และ Huijberts และคณะ, 1994) และปฏิกิริยาการสร้างกรดไขมันขึ้นใหม่ (De novo fatty acid synthesis) (Huijberts และคณะ, 1992) สามารถนำไปสร้าง PHA ได้ดังรูปที่ 2-2 โดย หน่วยโครงสร้างร้อยละ 97 จะสร้างโดยปฏิกิริยาบีตา - ออกซิเดชัน ร้อยละ 3 มาจากการต่อสายของกรดออกตะโนอิค และผ่านทางการสร้างกรดไขมันใหม่ไม่ถึงร้อยละ 1 เมื่อ *Pseudomonas* spp. เจริญบนอาหารที่มีกรดไขมันสายยาว จะสร้างสารตั้งต้นของPHAโดยการต่อสายกรดไขมันเหล่านี้ด้วย อะเซทิลโคเอนไซม์-เอ (Acetyl Co-A) โดยปฏิกิริยาย้อนกลับของเอนไซม์คีโตไธโอเลส (3-Ketothiolase) (Huijberts และคณะ, 1994) ยกเว้นใน *P. oleovorans* จะสร้าง PHA จากอะเซทิลโคเอนไซม์-เอ ผ่านทางการสร้างกรดไขมันใหม่ ดังแสดงในรูปที่ 2-4 (Huijberts และคณะ, 1992)



รูปที่ 2-2 **ความสัมพันธ์ระหว่างเมทาบอลิซึมของกรดไขมัน กับการสร้าง PHA ใน *Pseudomonas* spp.** (Egging และคณะ, 1995)



รูปที่ 2-3 แสดงวิถีการสร้าง PHA ในกลุ่ม Pseudomonads (Schulz, 1987)

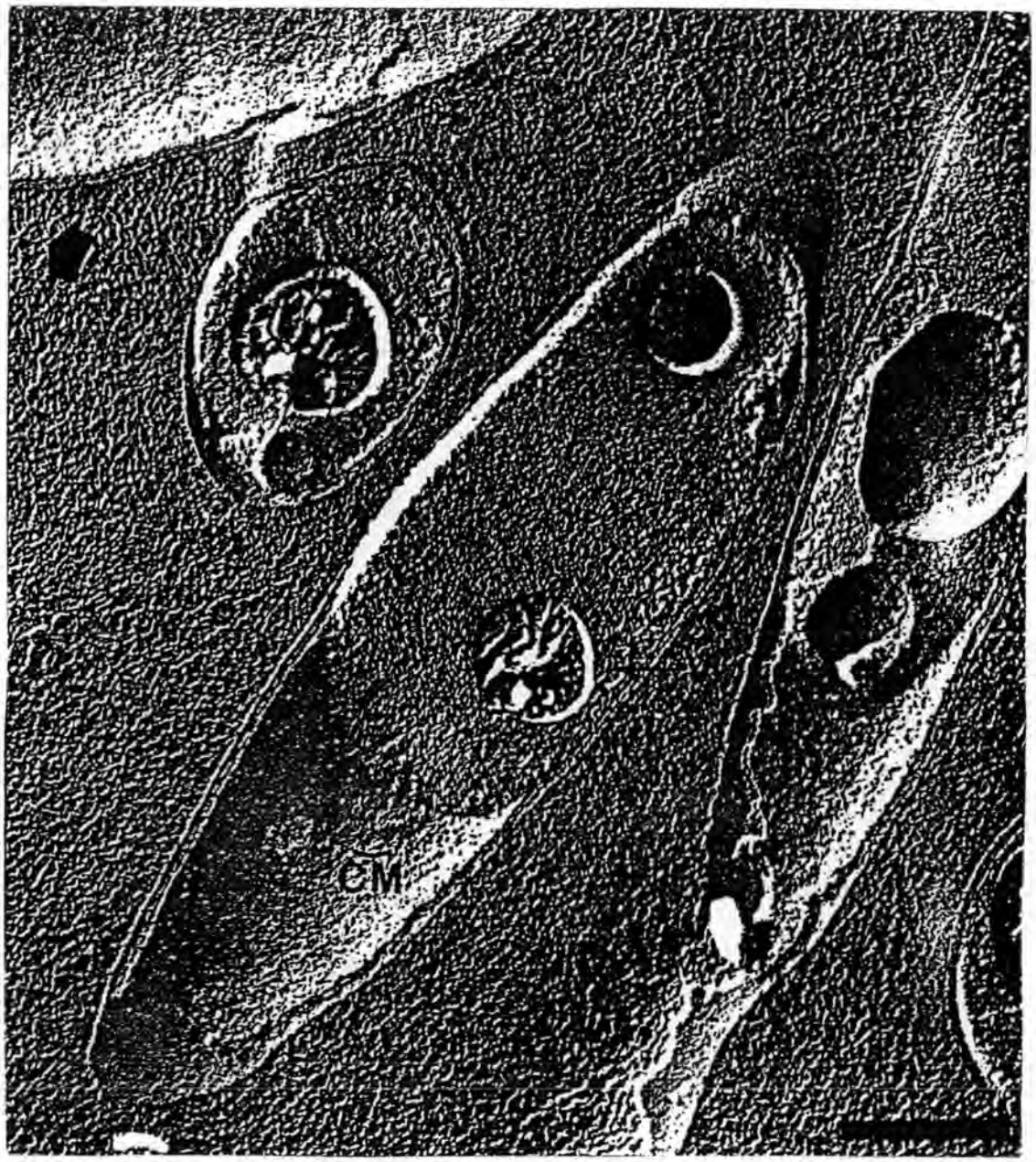


รูปที่ 2-4 แสดงการสร้าง PHA ใน *P. oleovorans* จากอะเซทิลโคเอนไซม์-เอ (Huijberts และคณะ, 1992)

การสร้าง PHA ใน *Pseudomonas oleovorans*

P. oleovorans อยู่ในกลุ่มฟลูออเรสเซนต์ สร้าง PHA เมื่ออยู่ในภาวะที่จำกัดไนโตรเจน เป็น PHA สายยาวปานกลางที่มีความหลากหลาย แตกต่างกันไปตามชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้เลี้ยง (Brandl และคณะ, 1988 และ De Smet และคณะ, 1983) ครั้งแรกแยกสายพันธุ์นี้ได้จากของเหลวทำความเย็น ในโรงงานผลิตโลหะ (Lee, 1941) เมื่อนำมาศึกษาโดยเลี้ยงในอาหารที่มีออกเทน 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการสะสมกรานูลที่คล้ายคลึงกับ PHB ต่อมาจึงทราบว่าเป็น PHA (De Smet และคณะ, 1983) ดังแสดงในรูปที่ 2-5 *P. oleovorans* เป็นสายพันธุ์หนึ่งของ *Pseudomonas putida* ที่มีพลาสมิด OCT ทำให้สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนสายตรงที่มีความยาวปานกลางได้แก่ อัลเคน (alkane) หรืออัลคีน (alkene) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน (Galli, 1992) นอกจากนั้นยังเจริญบนอัลคานอล (alkanol) และอัลคาโนเอต (alkanoate) ด้วย

เมื่อใช้อัลเคนชนิดเดียวเป็นแหล่งคาร์บอน ตั้งแต่เฮกซะโนเอต (hexanoate : C_6) ถึง ดีคาโนเอต (decanoate :C_{10}) พบว่าโพลีเมอร์ที่ได้จะมีหน่วยโครงสร้างหลักสะท้อนถึงสารคาร์บอนที่ใช้เป็นสารตั้งต้น (Lageveen และคณะ, 1988) การใช้ออกตะโนเอตและโนนาโนเอต (nonanoate :C_9) เป็นแหล่งคาร์บอนชนิดเดียว จะได้โพลีเมอร์ปริมาณมากกว่าการใช้อัลคาโนเอตชนิดอื่นๆ (Gross และคณะ, 1989) *P. oleovorans* สามารถสร้างโพลีเอสเทอร์ชนิดใหม่ ๆ ที่ไม่ได้เกิดตามธรรมชาติโดยวิธีโคเมทาบอลิซึม (Cometabolism) คือเมื่อแบคทีเรียเจริญในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนซึ่งปกติไม่สามารถนำมาสร้างโพลีเมอร์ได้เมื่อใช้เพียงชนิดเดียว แต่เมื่อเติมลงไปร่วมกับแหล่งคาร์บอนอีกชนิดหนึ่ง จะสามารถนำมาสร้างเป็นโคโพลีเมอร์ได้ (Lenz และคณะ, 1992)



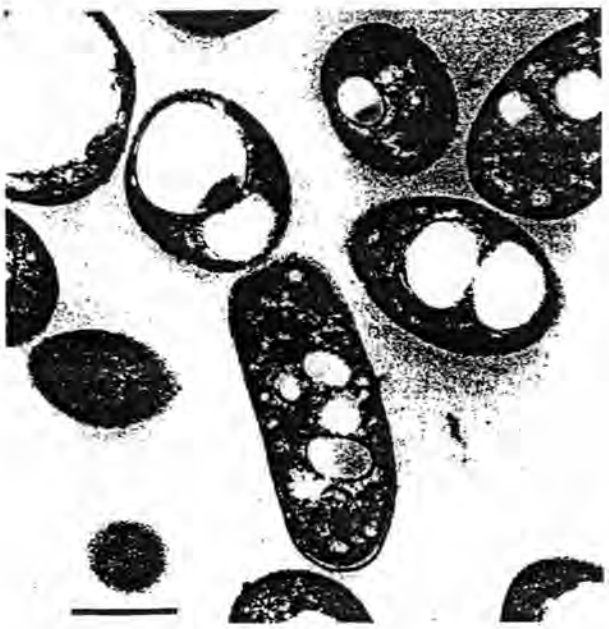
รูปที่ 2-5 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงกรานูลของ PHA ในเซลล์ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 เมื่อเลี้ยงใน นอร์มัลออกเทน 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เส้นที่แสดงมีความยาวเท่ากับ 0.5 ไมครอน CM แสดงเยื่อหุ้ม ไซโตพลาสซึม (De Smet และคณะ, 1983)

รูปที่ 2-6 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงกรานูลของ PHA ในเซลล์ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 เมื่อเลี้ยงใน ออกทีน (1-octene) 50 เปอร์เซ็นต์ เส้นที่แสดงมีความยาวเท่ากับ 1.0 ไมครอน CM แสดงเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Galli, 1992)

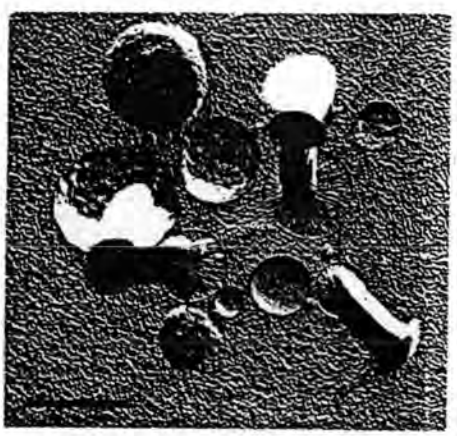
มีการศึกษากระบวนการหมักที่ทำให้ได้ PHA เพิ่มมากขึ้นใน *P. oleovorans* ได้แก่ การผลิต PHA โดยเลี้ยงเซลล์แบบต่อเนื่อง(Continuous culture) พบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตโคโพลีเมอร์ของเฮกซะโนเอตและออกตะโนเอตได้ 11.6 g/L *P. oleovorans* สามารถอยู่ในภาวะมีผลิต PHA ได้อย่างน้อย 1 เดือน โดยปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่น การเลี้ยงแบบต่อเนื่องจึงมีความเหมาะสมสำหรับการผลิต PHA ให้ได้ปริมาณมาก (Preusting และคณะ, 1993a) เมื่อเลี้ยงในถังหมักที่ออกแบบให้มีการถ่ายเทออกซิเจนได้ดีโดยวิธี การเลี้ยงเซลล์แบบเติมอาหารเป็นระยะ (Fed-batch cultivation) ใช้ออกเทนเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าได้เซลล์ 37.1 g/L ปริมาณ PHA 12.1 g/L ใช้เวลาเลี้ยง 38 ชั่วโมง (Preusting และคณะ, 1993b)

มีการปรับปรุงคุณสมบัติของ PHA โดยเลี้ยงในแหล่งคาร์บอนชนิดใหม่ เช่น เมื่อเลี้ยงโดยใช้กรดวาเลริค (valeric acid) กรดออกตะโนอิค แล้วเติมกรดโนนาโนอิคหรือเฟนิล-วาเลริค จะได้ PHA ที่มีหมู่เฟนิล อยู่ในหมู่ R ทำให้มีจุดหลอมเหลวสูงขึ้นเป็น 95 ^{0}ซ จากปกติประมาณ 50-60 ^{0}ซ (Curley และคณะ, 1996)

การศึกษาการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อย PHA มาใช้เป็นพลังงาน พบว่าในสภาวะที่แบคทีเรียขาดอาหาร หรือ เมื่อแหล่งคาร์บอนในอาหารหมดลง แบคทีเรียจะย่อยโพลีเมอร์ที่เก็บไว้มาใช้เป็นพลังงาน โดยเอนไซม์ดีโพลีเมอเรส (depolymerase) จะเพิ่มขึ้นขณะที่ เอนไซม์โพลีเมอเรส (polymerase)ลดลง ทำให้สามารถปรับการให้สารคาร์บอนในการหมัก ให้เป็นภาวะที่พอเหมาะกับการผลิต PHA และลดการย่อย PHA ภายในเซลล์ให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด (Stuart และคณะ, 1996)



รูปที่ 2-7 **แสดง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ที่สะสม PHA ปริมาณ ร้อยละ 20-25 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ในภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัด เส้นที่แสดงมีความยาว เท่ากับ 0.5 ไมครอน** (Lageveen และคณะ, 1988)



รูปที่ 2-8 **แสดงกรานูลของ PHA ที่แยกจาก *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 เมื่อนำไปแช่แข็ง (freeze-fractured) เกิดการยืดตัวออกคล้ายดอกเห็ด เส้นที่แสดงมีความยาว เท่ากับ 0.5 ไมครอน** (De Smet และคณะ, 1983)

การผลิต PHA โดยใช้กรดไขมันสายยาวเป็นแหล่งคาร์บอนใน Pseudomonads

เริ่มแรกมีผู้ศึกษาการใช้กรดไขมันที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ในรูปเกลือ ตั้งแต่ที่มีคาร์บอน 4 ถึง 22 อะตอม ในปริมาณน้อย 2 - 20 มิลลิโมลาร์ ละลายในสารลดแรงตึงผิวเลี้ยง Pseudomonads กลุ่มฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งรวมทั้ง *P. oleovorans* ด้วย เพื่อศึกษาว่าสามารถสร้าง PHA ได้หรือไม่ การเลือกใช้กรดไขมันบริสุทธิ์ในรูปเกลือเนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้ไม่มีพลาสมิด OCT เหมือน *P. oleovorans* จึงเลือกเกลือของกรดไขมันบริสุทธิ์เป็นแหล่งคาร์บอนแทนการใช้ออกเทน ผลการศึกษาพบว่าการสร้าง PHA เป็นคุณสมบัติของแบคทีเรียกลุ่มนี้ (Huisman และคณะ, 1989) จากนั้นจึงมีการใช้กรดไขมัน และน้ำมันพืชเลี้ยงแบคทีเรียกลุ่ม Pseudomonads เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ

มีการศึกษาการสร้าง PHA ใน *P. putida* KT 2442 โดยใช้กรดโอเลอิค(oleic acid) และลิโนเลอิค (linoleic acid) เป็นแหล่งคาร์บอนชนิดเดียว จะได้ PHA ที่หน่วยโครงสร้างมีพันธะคู่ คือ 3-ไฮดรอกซี-5-ซิส-เตตระดีคาโนเอต (3-hydroxy-5-cis-tetradecanoate) และ 3-ไฮดรอกซี-5-ซิส-โดดีคาโนเอต (3-hydroxy-5-cis-dodecanoate) ตามลำดับ จากการศึกษาโครงสร้างพบว่าโพลีเมอร์ที่ได้มาจากสารตัวกลางในกระบวนการย่อยไขมัน โดยย่อยกรดโอเลอิคผ่านทาง อิโนอิล-โคเอ ไอโซเมอเรส (enoyl-CoA isomerase) และย่อยกรดลิโนเลอิคผ่านทางไดอิโนอิล-โคเอ รีดักเทส (dienoyl-CoA reductase) (de Waard และคณะ, 1993)

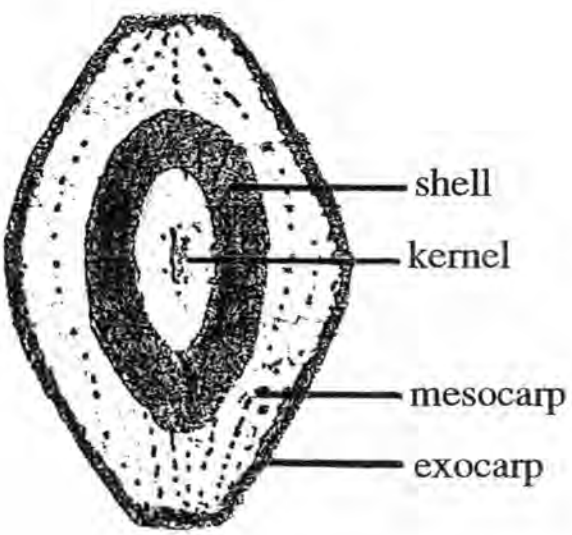
ต่อมามีการผลิต PHA ชนิดใหม่จาก *P. aeruginosa* 44T1 โดยใช้น้ำมันละหุ่งเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อศึกษาโครงสร้างของ PHA ที่ได้จากสเปกตรัม NMR พบว่าหน่วยโครงสร้างร้อยละ 7 มาจากกรดริซิโนเลอิค (ricinoleic acid : C 18:1) ซึ่งเป็นกรดไขมันหลักในน้ำมันละหุ่ง (Eggink และคณะ, 1995) จากนั้นมีการใช้ไขสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูกยิ่งขึ้นเลี้ยง *P. oleovorans* *P. resinovorans* *P. putida* และ *P. citronellosis* โดยใช้ส่วนที่เป็นกรดไขมันและส่วนไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) พบว่าเมื่อใช้ไตรกลีเซอไรด์จากไขสัตว์ มีเพียง*P. resinovorans* สายพันธุ์เดียวที่สามารถเจริญได้และสร้าง PHA แต่ทุกสายพันธุ์เจริญได้

เมื่อใช้กรดไขมันจากไขสัตว์ PHA ที่สร้างประกอบด้วยหน่วยโครงสร้างตั้งแต่มีความยาวคาร์บอนตั้งแต่ 4 ถึง14 อะตอม โดยมี C_8 มากที่สุด รองลงมาเป็น C_{10} (Cromwick และคณะ, 1996)

ในประเทศมาเลเซียมีการสร้าง PHA โดยใช้น้ำมันเมล็ดปาล์ม เนื่องจากเป็นประเทศที่มีการผลิตน้ำมันเมล็ดปาล์มมาก แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตคือ *P. putida* PGA1 ซึ่งสายพันธุ์นี้ไม่สามารถย่อยน้ำมันได้ จึงต้องนำน้ำมันเมล็ดปาล์มมาผ่านการสะพอนิฟายก่อน พบว่าแบคทีเรียเจริญได้และสร้าง PHA ที่มีหน่วยโครงสร้างไนโพลีเมอร์ตั้งแต่ C_6 ถึง C_{14} โดยมี C_8 มากที่สุด (Tan และคณะ, 1997)

น้ำมันปาล์มดิบ (Crude Palm Oil : CPO)

น้ำมันปาล์มดิบที่ได้จากส่วนกาบ (mesocarp) ของผลปาล์ม มีสีส้มแดงเนื่องจากมีสารบีตา-แคโรทีน (β-carotene) และ แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) เป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณสูง



รูปที่ 2-8 แสดงส่วนประกอบของผลปาล์ม

รูปที่ 2-9 แสดงน้ำมันปาล์มดิบ

ตารางที่ 2-5 **คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของน้ำมันปาล์ม**

รายการที่	คุณลักษณะ	น้ำมันปาล์มธรรมชาติ
1.	ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) ที่ 50/20 °ซ	0.891-0.899
2.	ดัชนีหักเห (refractive index) ที่ 50 °ซ	1.455-1.456
3.	จุดขุ่น	ไม่กำหนด
4.	น้ำและสารที่ระเหยได้ที่อุณหภูมิ 105 °ซ ร้อยละโดยน้ำหนักไม่เกิน	0.2
5.	สิ่งอื่นที่ไม่ละลาย (insoluble impurities)ร้อยละโดยน้ำหนักไม่เกิน	0.05
6.	ค่าไอโอดีนแบบวิจส์ (iodine value, Wijs)	50-55
7.	ค่าสะพอนิฟิเคชัน (saponification value) มิลลิกรัมโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อตัวอย่าง 1 กรัม	190-209
8.	สารที่สะพอนิฟายไม่ได้ (unsaponifiable matter)กรัมต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม ไม่เกิน	12
9.	ค่าของกรด (acid value)มิลลิกรัมโปแตสเซียม ไฮดรอกไซด์ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ไม่เกิน	4
10.	ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) มิลลิกรัมสมมูลเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม ไม่เกิน	10
11.	สบู่ ร้อยละโดยน้ำหนักไม่เกิน	0
12.	บีตา-แคโรทีน (β-carotene) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	500-2,000

ที่มา กระทรวงอุตสาหกรรม "น้ำมันปาล์มสำหรับบริโภค". วารสารสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 2535 ; เล่มที่ 109 : ตอนที่ 52.

ตารางที่ 2-6 ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์ม

Fatty acids	chain lengths	palm oil	palm stearin	palm olein
Lauric	C 12:0	0.2	0.3	0.2
Myristic	C 14:0	1.1	1.3	1.0
Palmitic	C 16:0	44.0	55.0	39.8
Stearic	C 18:0	4.5	5.1	4.4
Oleic	C 18:1	39.2	29.5	42.5
Linoleic	C 18:2	10.1	7.4	11.2
Others		0.8	0.7	0.9

ที่มา Selected Readings on Palm Oil and its Uses (Kuala Lumpur: Palm Oil Research Institute of Malaysia, 1994), p. 162.