บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

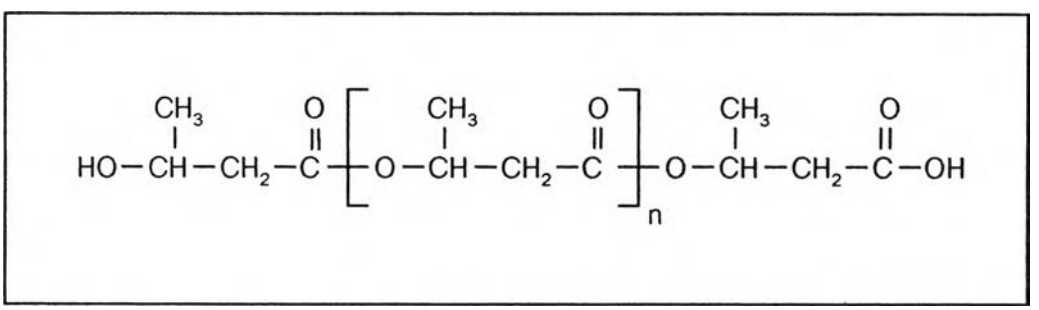
2.1 พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Poly-β-hydroxybutyrate, PHB)

2.1.1 การค้นพบพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือ PHB ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Lemoigne ในปีที่ ค.ศ.1926 ที่สถาบันปาสเตอร์ กรุงปารีส ซึ่งพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ถูกแยกออกจาก *Bacillus megaterium* โดยการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (Doi, 1990)

2.1.2 คุณลักษณะของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นสารพอลิเอสเทอร์ แบบโฮโมพอลิเมอร์ (Homopolymer) ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของ 3-hydroxybutyric acid จำนวน 23,000 ถึง 25,000 โมเลกุลมาต่อกัน (Byrom, 1987) ซึ่งมีสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในรูปที่ 2.1



เมื่อ n = 23,000 - 25,000

รูปที่ 2.1 แสดงสูตรโครงสร้างของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Doi, 1990)

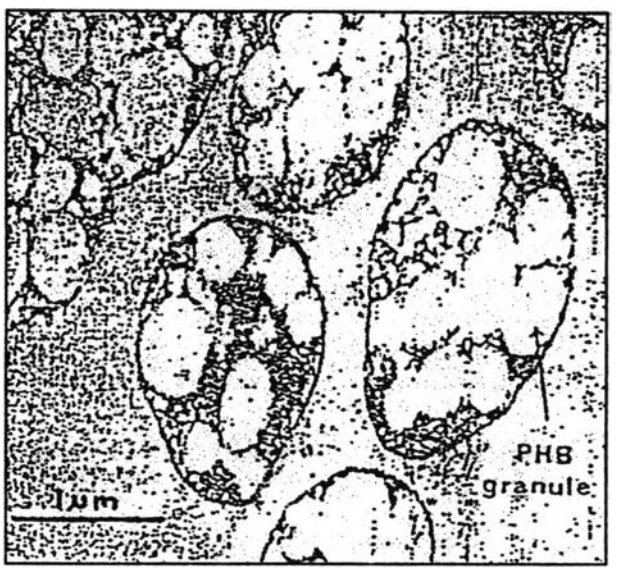
หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และจากการศึกษาพบว่า พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานให้กับเซลล์ โดยแบคทีเรียที่พบว่าสามารถสร้าง และสะสมพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้มีหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรียชนิดแกรมบวก แบคทีเรียชนิดแกรมลบ และไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้าง และสะสมพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตไว้ในเซลล์ (Byrom, 1987)

Actinomycetes	*Chromobacterium*	*Pseudomonas*
Alcaligenes	*Derxia*	*Rizobium*
Azotobacter	*Ferrobacillus*	*Rhopsedumonas*
Azospirillum	*Hypromicrobium*	*Rhodospirillum*
Bacillus	*Lampropaedia*	*Sphaeotilus*
Bijerinckia	*Methylobacterium*	*Spirillum*
Chlorogloea	*Micrococcus*	*Streptomyces*
Chromatium	*Nocardia*	*Vibrio*
		Zoogloea

พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือ PHB จะถูกสะสมอยู่ภายในแกรนูล (granule) ของเซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.2 ถึง 0.5 ไมครอน และมีเยื่อแผ่นที่ประกอบด้วยไขมัน และโปรตีนหนา 2 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.2

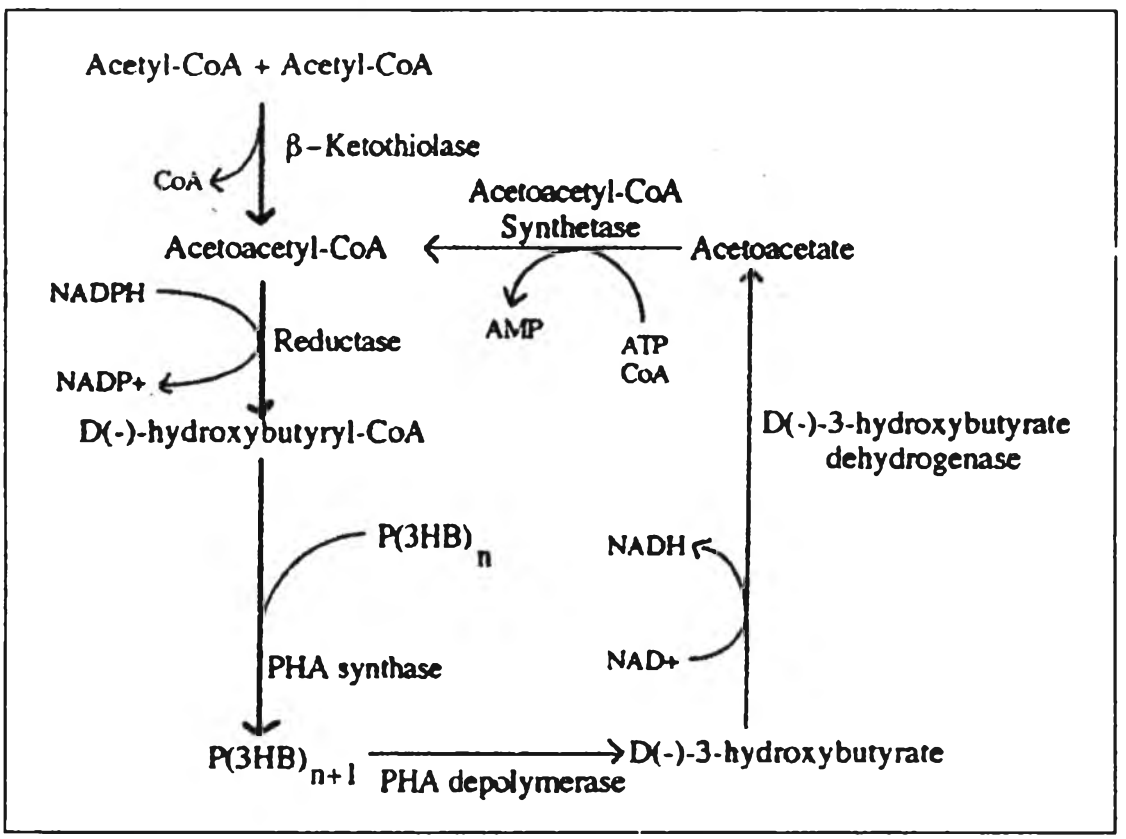


รูปที่ 2.2 แสดงพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตแกรนูล ภายในเซลล์ โดยภาพตัดขวางของเซลล์ *Alcaligenes eutrophus* จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Byrom, 1987)

Ballard และคณะ (1987) พบว่าเมื่อเลี้ยงเซลล์ในภาวะที่เอื้ออำนวยต่อการผลิตและสะสมพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต จำนวนแกรนูลต่อเซลล์จะอยู่ในช่วง 8 ถึง 12 แกรนูล และทำให้เซลล์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพิ่มขึ้นจาก 0.24 เป็น 0.50 ไมโครเมตร มีผลทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนจากยาวรีเป็นค่อนข้างกลม และในหนึ่งแกรนูลจะประกอบด้วยสายของ พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต อย่างน้อย 1,000 สาย อย่างไรก็ตามการสะสมพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต จะหยุดอยู่ที่ปริมาณหนึ่งถึงแม้ว่าเอนไซม์ และสารตั้งต้นที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะยังคงมีอยู่ก็ตาม ทั้งนี้เนื่องมาจากเนื้อที่ภายในเซลล์มีอยู่จำกัดนั่นเอง

2.1.3 การสังเคราะห์พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

การสะสมของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ในเซลล์จะเกิดขึ้นภายใต้ภาวะที่มีสารอาหารจำกัด และภาวะที่มีคาร์บอนมากเพียงพอ โดยเซลล์จะทำการเปลี่ยนแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส เมธานอล กรดอะซิติก และสารผสมระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับไฮโดรเจน เป็นต้น ไปเป็น acetyl-CoA จากนั้น acetyl-CoA จะถูกเปลี่ยนไปเป็น acetoacetyl-CoA โดยเอนไซม์ β-ketothiolase และ acetoacetyl-CoA จะถูกเปลี่ยนไปเป็น D(-)-3-hydroxybutyryl-CoA โดยเอนไซม์ NADPH-dependent reductase จากนั้นเอนไซม์ PHA synthase จะเชื่อมต่อ D(-)-3-hydroxybutyryl-CoA เป็น พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต นอกจากนี้แล้วการสลายตัวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ก็อยู่ในวัฏจักรเดียวกับการสังเคราะห์ด้วย ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงวัฏจักรการสังเคราะห์และการสลายตัวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในเซลล์ *Alcaligenes eutrophus* (Lee, 1996)

2.2 กระบวนการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Production of Poly-β-hydroxybutyrate)

การผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต สามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักโดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ไปเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ ซึ่งจะแบ่งลักษณะการเพาะเลี้ยงออกเป็น 3 ลักษณะได้ดังนี้

2.2.1 การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง

2.2.2 การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

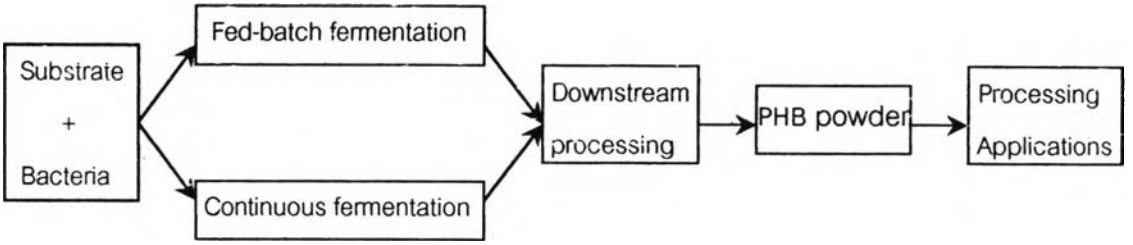
2.2.3 การหมักแบบต่อเนื่อง

ซึ่งได้มีผู้ศึกษาเอาไว้แล้วเช่น กระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (Tanaka และคณะ,1995) กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Yamane และคณะ,1996; Lee และคณะ,1994; Kim และคณะ,1992; Suzuki และคณะ,1986; ศิริพงษ์,1996) และกระบวนการหมักร่วมกับไมโครฟิลเตรชัน (อภิชาติ, 1996) ซึ่งจะให้ค่าอัตราการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ สารอาหาร และวิธีการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 2.2

Mathlouthi (1992) ได้กล่าวไว้ว่าในระยะ 10 ปีที่ผ่านมา ได้มีการพัฒนาการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในระดับการค้าดังแสดงในรูปที่ 2.4 ต่อมาในปี 1990 บริษัทอิมพีเรียลเคมีคอลอินดัสทรีส (Imperial Chemical Industries, ICI) ได้เริ่มต้นผลิตโคพอลิเมอร์ พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โควาเลอเรต (Poly-β-hydroxybutyrate-co-valerate) จาก *Alcaligenes eutrophus* ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องสองขั้นตอนโดยใช้กลูโคสและกรดโปรปิโอนิคเป็นแหล่งคาร์บอน โดยอัตราส่วนของกรดโปรปิโอนิคต่อกลูโคส มีผลต่อปริมาณบีตา-ไฮดรอกซีวาเลอเรตในพอลิเมอร์ ส่วนบริษัทออสเตรียน (Austrian) ได้พัฒนาการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมจาก *Alcaligenes latus* โดยใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ 2.2 แสดงการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากเชื้อจุลินทรีย์ และสารอาหารชนิดต่างๆ

เชื้อจุลินทรีย์	สารอาหาร	วิธีการเพาะ เลี้ยง	เวลาในการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของ PHB (กรัมต่อลิตร)	PHB ที่สะสม (% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง)	อัตราการผลิต PHB (กรัมต่อลิตร-ชั่วโมง)	รายการอ้างอิง
A.eutrophus	$H_2/O_2/CO_2$	ไม่ต่อเนื่อง	40	91.3	61.9	68	1.55	Tanaka,1995
A.eutrophus	$H_2/O_2/CO_2$	ไม่ต่อเนื่อง	40	91.3	61.9	68	1.55	Tanaka,1995
Protomonas extroquens	$H_2/O_2/CO_2$	กึ่งต่อเนื่อง	121	223	136	61	1.12	Suzuki,1986
Recombinant E.coli	Methanol	กึ่งต่อเนื่อง	42	117	89	76	2.11	Kim,1992
A.eutrophus	กลูโคส	กึ่งต่อเนื่อง	30	122	79.3	65	2.64	Lee,1994
A.eutrophus	ฟรุกโตส	กึ่งต่อเนื่อง	50	60.82	10.9	17.92	0.22	ศิริพงษ์,1996
A.eutrophus	ฟรุกโตส	การหมักร่วมกับไมโครฟิลเตรชัน	64	88.01	42.10	50	0.66	อภิชาติ,1996



รูปที่ 2.4 แสดงการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในระดับการค้า (Mathlouthi, 1992)

โดยทั่วไปแล้วประสิทธิภาพของการหมัก สามารถพิจารณาจากปัจจัย 3 ปัจจัยคือ ผลได้ของผลิตภัณฑ์ (product yield), อัตราการผลิต (production rate) และความเข้มข้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ ซึ่งทางบริษัทอิมพีเรียลเคมีคอลอินดัสทรีส สามารถพัฒนากระบวนการผลิตจนมีอัตราการผลิต 0.7 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ประมาณ 75 กรัมต่อลิตร ส่วนทางบริษัทออสเตรียน สามารถผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ได้ในอัตรา 1 ตันต่อสัปดาห์ในถังหมัก 15 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งคิดเป็นอัตราการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 0.4 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง นอกจากปัจจัยทั้งสามแล้วยังต้องคำนึงถึงต้นทุนของกระบวนการแยกผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ (downstream processing) ซึ่งส่งผลให้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตมีราคาสูงขึ้น ซึ่งต้นทุนการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสามารถลดลงได้โดยการใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูก เช่น กากน้ำตาล (molasses) น้ำมันพืช หรือกรดไขมันที่มีสายโซ่ยาวๆ (long chain fatty acids, LCFAs)

2.3 กระบวนการสกัดแยกผลิตภัณฑ์และทำให้บริสุทธิ์ (Downstream processing)

Griffin (1994) กล่าวไว้ว่าในการแยกพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีอัลคาโนเอต หรือ PHAs ที่สะสมอยู่ในเซลล์แบคทีเรีย จำเป็นต้องทำให้ผนังเซลล์แตกก่อน หลังจากนั้นทำการแยกพอลิเมอร์ออกจากซากเซลล์โดยขั้นตอนนี้จะต้องระวังการสลายตัวของพอลิเมอร์ด้วย ซึ่งถือเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในการผลิต PHAs และมีผลต่อความบริสุทธิ์และคุณภาพของพอลิเมอร์ ปัจจุบันการแยก PHAs สามารถทำได้ 4 วิธีใหญ่ๆ ดังนี้

2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

โดยทั่วไปการสกัดด้วยตัวทำละลายมักจะให้น้ำหนักโมเลกุลสูง PHAs ที่สกัดได้จากเซลล์แบคทีเรียจะถูกละลายในตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด เช่น คลอโรฟอร์ม เมทิลลีนคลอไรด์ 1,2- ไดคลอโรเอทเทน หรือ โพรพีลีนคาร์บอเนท จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองแยกซากเซลล์แบคทีเรียออก หลังจากนั้นทำการตกตะกอนพอลิเมอร์ด้วยการทำให้สารละลายเย็นตัวลงอย่างช้าๆ หรือเติมเมทานอล เอทานอล ไดเอทิลอีเธอร์ หรือ เฮกเซน หากต้องการทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น สามารถทำได้โดยละลายตะกอนพอลิเมอร์ที่ได้ในคลอโรฟอร์ม และตกตะกอนด้วยเฮกเซน หรือไดเอทิลอีเทอร์ ซ้ำใหม่อีกครั้ง นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถเพิ่มความบริสุทธิ์ของพอลิเมอร์ได้ โดยทำการล้างเซลล์แบคทีเรีย ด้วยเมทานอล หรืออะซิโตน ก่อนที่จะสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อล้างไขมันและย่อยสลายโปรตีนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆออกก่อน พอลิเมอร์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีนี้จะมีสีขาว และมีขนาดน้ำหนักโมเลกุลสูง วิธีนี้ต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัดและตกตะกอน PHAs จำนวนมาก ดังนั้นจึงไม่เหมาะสมในระดับการค้า แต่จะใช้เมื่อต้องการความบริสุทธิ์สูงเท่านั้น

Ramsey และคณะ (1994) ศึกษาการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจาก *Alcaligenes eutrophus* โดยใช้ตัวทำลาย 3 ชนิดที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ การใช้และไม่ใช้อะซิโตนก่อนทำปฏิกิริยากับตัวทำลาย และการสลายตัวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้ในคลอโรฟอร์มร้อน พบว่าจะได้ผลดีที่สุดเมื่อมีการใช้อะซิโตนก่อนทำปฏิกิริยา และสกัดโดยใช้ตัวทำละลายย้อนกลับเป็นเวลา 15 นาที ในเมทธิลีนคลอไรด์ หรือคลอโรฟอร์ม จะได้ความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซี บิวทิเรต 95% และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก 1,050,000 และ 930,000 กรัมต่อโมลตามลำดับ และผลของความร้อนต่อการสลายตัวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในคลอโรฟอร์มร้อนจะเกิดขึ้นที่ 110 องศาเซลเซียส

2.3.2 การย่อยด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (sodium hypochlorite digestion)

การย่อยด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เป็นวิธีที่ใช้สารเคมีย่อยสลายเซลล์ โดย Williamson และ Wilkinson เป็นผู้ใช้วิธีนี้เป็นคณะแรก (Griffin, 1994) แบคทีเรียจะถูกทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็นเวลา 30-60 นาที มีผลทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียถูกย่อยสลาย รวมทั้งส่วนอื่นที่ไม่ใช่พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต หลังจากนั้นนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการล้างไขมันออกด้วยไดเอทิลอีเธอร์ หรือเมทานอล อย่างไรก็ตามระบบจะมีความเป็นเบสสูงทำให้มีผลกระทบต่อสมบัติพื้นผิว และน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์

Berger และคณะ (1989) ศึกษาการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจาก *Alcaligenes eutrophus* DSM 545 โดยใช้สารละลายไฮโปคลอไรต์ย่อยสลายเซลล์ และพบว่าวิธีนี้ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเกิดการย่อยสลายของสายพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต จึงได้ทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการย่อยสลายของสายพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตน้อยที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าต้องใช้ความเข้มข้นสารละลายไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น เวลาที่ใช้ในการย่อย และค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายไฮโปคลอไรต์ เป็น 5.25% ,10 g/l ,120 นาที และ 10 ตามลำดับ ความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ได้มีค่าเท่ากับ 95% น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักเท่ากับ 600,000 และดัชนีพอลิดิสเพร์ส (polydisperse index, PI) เท่ากับ 4.5 จากน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก และดัชนีพอลิดิสเพร์สเริ่มต้น 1,200,000 และ 3 ตามลำดับ

Ramsey และคณะ (1990) ศึกษาการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจาก *Alcaligenes eutrophus* DSM 545 โดยใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับใช้ไฮโปคลอไรต์ พบว่าสามารถสกัดได้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่มีความบริสุทธิ์ 97 ถึง 98% และน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 730,000 ถึง 790,000 ขึ้นอยู่กับสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับสารลดแรงตึงผิวเพียง

อย่างเดียวจะได้น้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าเล็กน้อย แต่ความบริสุทธิ์จะลดลง 10% ส่วนการใช้ไฮโปคลอไรท์เพียงอย่างเดียวจะได้ความบริสุทธิ์สูงแต่น้ำหนักโมเลกุลลดลง

2.3.3 การย่อยด้วยเอนไซม์เฉพาะ (selective enzymatic digestion)

วิธีการนี้เซลล์แบคทีเรียจะถูกทำให้แตกด้วยความร้อนหรือคลื่นเหนือเสียง แล้วถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปส และโปรทีเอส หลังจากนั้นเมื่อได้สารแขวนลอยของแกรนูลของ PHAs แล้วพอลิเมอร์จะถูกทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) ซึ่งวิธีนี้จะใช้ต้นทุนสูง

2.3.4 การย่อยด้วยวิธีทางเคมีร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย

เนื่องจากการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตด้วยตัวทำละลายเพียงอย่างเดียวจะต้องทำที่อุณหภูมิสูง และใช้เวลานาน ซึ่งอาจเกิดการย่อยสลายของสายพอลิเมอร์ได้ แต่จะให้ความบริสุทธิ์ของตัวพอลิเมอร์สูง ส่วนการย่อยด้วยสารเคมีจะทำให้สายของพอลิเมอร์สั้นลง แต่จะได้ปริมาณผลิตภัณฑ์มาก และใช้เวลาน้อย ดังนั้นจากข้อดีของทั้งสองวิธี จึงได้มีการศึกษาวิธีการกระจายตัวของการสกัดด้วยตัวทำละลายและการย่อยด้วยสารเคมี ที่อุณหภูมิห้องโดย

Hahn และคณะ (1993) ศึกษาความได้เปรียบของการย่อยโดยไฮโปคลอไรต์ และการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยการใช้การกระจายตัวของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และคลอโรฟอร์มในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต จาก *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 การทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรต์เพียงอย่างเดียวจะเป็นเหตุให้เกิดการย่อยสลายของสายพอลิเมอร์อย่างรุนแรง และน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงอย่างมากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฮโปคลอไรต์ อย่างไรก็ตามการใช้การกระจายตัวของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และคลอโรฟอร์ม ทำให้ลดการย่อยสลายของสายพอลิเมอร์ลงได้เนื่องจาก shielding effect ของคลอโรฟอร์ม ในการศึกษานี้พบว่าสามารถสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่มีความบริสุทธิ์มากกว่า 97 % และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนเป็น 1,000,000 จากน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนตั้งต้น 1,200,000

Hahn และคณะ (1994) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต จากเชื้อ *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 โดยการใช้การกระจายตัวของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และคลอโรฟอร์ม ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมที่ความเข้มข้นของสารละลายไฮโปคลอไรต์ 30% เวลาในการทำปฏิกิริยา 90 นาที และอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เป็น 1:1 ปริมาตรต่อปริมาตร จะได้ปริมาณการสกัด 91% และความบริสุทธิ์สูงกว่า 97% โดยน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนประมาณ 300,000 และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักประมาณ 1,020,000 เปรียบเทียบกับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนและน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักตั้งต้นเป็น 530,000 และ 1,272,000 ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของทั้งน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนและน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก เป็นผลมาจาก shielding effect ของคลอโรฟอร์ม การลดลงของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักอาจจะเป็นผลมาจากการ สูญเสียพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสายสั้นๆไปกับการละลายในน้ำ ส่วนเปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึกของพอลิเมอร์จะอยู่ในช่วง 60-65 เปอร์เซ็นต์

2.4 สมบัติของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Property of Poly-β-hydroxybutyrate) (Griffin, 1994)

พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นโฮโมพอลิเมอร์ชนิดเทอร์โมพลาสติก ซึ่งมีสมบัติเทียบได้กับพอลิโพรพีลีน ดังแสดงในตารางที่ 2.3 โดยพอลิเมอร์ทั้งสองมีอุณหภูมิหลอมตัวผลึก (crystalline melting temperature, T_m), ความเป็นผลึกของพอลิเมอร์ (crystallinity), อุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะแข็งและเปราะกว่าพอลิโพรพีลีน และยังมีความแตกต่างกันในด้านสมบัติทางเคมี โดยพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตมีความต้านทานต่อตัวทำละลายต่ำกว่าพอลิโพรพีลีน แต่จะทนทานต่อรังสีอัลตราไวโอเลตได้ดีกว่า และเมื่อทำเป็นฟิล์มสำหรับบรรจุภัณฑ์พบว่าสามารถป้องกันก๊าซได้เป็นอย่าง

ดี โดยจะยอมให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แพร่ผ่านได้น้อยกว่าพอลิ-เอทธิลีนเทเรฟธอลเลต (PET) ถึง 5 เท่า และแข็งแรงพอๆกับฟิล์มของพอลิโพรพีลีน แต่ไม่เหนียวเท่าพอลิเอทธิลีนเทเรฟธอลเลต สำหรับการปรับปรุงสมบัติของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทำได้โดยทำให้อยู่ในรูปของไฮดรอกซีบิวทิริกแอซิดโคพอลิเมอร์กับไฮดรอกซีวาเรอริกแอซิด หรือ P(HB-co-HV) ซึ่งการเพิ่มไฮดรอกซีวาเรอริกแอซิดจาก 0-25 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อุณหภูมิหลอมตัวผลึกลดลงเป็นผลให้ใช้พลังงานน้อยลงในการหลอมตัว ลดอุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วทำให้สามารถใช้วัสดุนี้ที่อุณหภูมิต่ำโดยไม่เปราะ ลดค่าโมดูลัสของยัง (young's modulus) ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการยืดหยุ่นของพอลิเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 แสดงสมบัติของ PHB เปรียบเทียบกับ PP (Griffin, 1994)

Properties	PHB	PP
Crystalline melting point(^{o}C)	175	176
Crystallinity (%)	80	70
Molecular weight (Daltons)	$5x10^{5}$	$2x10^{5}$
Glass transition temperature (^{o}C)	-4	-10
Density (g cm^{-3})	1.25	0.905
Flexural modulus (GPa)	4.0	1.7
Tensile strength (MPa)	40	38
Extension to break (%)	6	400
Ultraviolet resistance	Good	Poor
Solvent resistance	Poor	Good

ตารางที่ 2.4 แสดงสมบัติของ P(HB-co-HV) (Griffin, 1994)

P(HB-co-HV) (mole % HV)	Melting point (°C)	Glass transition (°C)	Young's modulus (GPa)	Tensile strength (MPa)	Notched Izod impact strength ($J\ m^{-1}$)*
0	179	10	3.5	40	50
3	170	8	2.9	38	60
9	162	6	1.9	37	95
14	150	4	1.5	35	120
20	145	-1	1.2	32	200
25	137	-6	0.7	30	400

*With 1 mm radius notch

2.5 การประยุกต์ใช้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Lee, 1996)

ปัจจุบันสารในกลุ่มพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Poiyhydroxyalkanoate, PHAs) กำลังเป็นที่สนใจในเชิงการค้ามากยิ่งขึ้น เนื่องจากสามารถใช้ทดแทนพลาสติกและย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ในงานต่างๆได้ดังนี้

2.5.1 วัสดุที่ใช้ในงานหีบห่อ เช่น แผ่นฟิล์มพลาสติก ถุงใส่ของ กล่องต่างๆ

2.5.2 สารห่อหุ้มที่ย่อยสลายได้เพื่อปล่อยสารที่อยู่ภายในออกมาช้าๆ เช่น ยาบางชนิด ปุ๋ย สารกำจัดศัตรูพืช และยาฆ่าแมลง

2.5.3 วัสดุที่ใช้ครั้งเดียวทิ้ง เช่น ด้ามจับมีดโกน ผ้าอ้อมเด็ก

2.5.4 วัสดุทางการแพทย์ เช่น วัสดุปิดแผล ตกแต่งแผล และวัสดุสำหรับฝังในร่างกาย

2.5.5 สารโครงสร้างสำหรับใช้ทดแทนกระดูก

2.5.6 หลอดเลือดเทียม