บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

PHAs เป็นพอลิเอสเทอร์ชีวภาพที่จุลินทรีย์บางชนิดสร้างและสะสมภายในแกรนูลในเซลล์เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของเซลล์ ภายใต้ภาวะที่จำกัดสารอาหารบางชนิดและมีแหล่งคาร์บอนที่มากเกินพอ (Reddy และคณะ, 2003) แต่ปัญหาสำคัญในการผลิต PHAs คือต้นทุนในการผลิตมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นทุนการผลิตพลาสติกสังเคราะห์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี โดยส่วนหนึ่งมีสาเหตุจากแหล่งคาร์บอน ผู้วิจัยมีความสนใจนำของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต PHAs โดยจุลินทรีย์ เพื่อลดต้นทุนการผลิต เนื่องจากประเทศไทยมีการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลมากขึ้นเพราะเป็นพลังงานทางเลือกที่เหมาะกับประเทศไทยในอนาคตเพื่อลดการพึ่งพาน้ำมันเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ น้ำมันไบโอดีเซลเกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันของน้ำมันหรือไขมันจากสิ่งมีชีวิต ซึ่งรวมไปถึงน้ำมันที่ผ่านการใช้งานหรือน้ำมันเหลือทิ้งในครัวเรือน งานวิจัยนี้ได้รับความร่วมมือจากบริษัท วิทย์คอร์ป จำกัด มหาชน ซึ่งผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชที่ใช้แล้ว ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลนั้นมีผลิตภัณฑ์ร่วมเกิดขึ้นคือ กลีเซอรอลซึ่งเป็นของเสียอินทรีย์โดยมีสารเคมีที่เป็นพิษเจือปนอยู่จำนวนมาก ทางโรงงานจึงมีแนวคิดในการนำของเสียอินทรีย์นี้มาพัฒนาให้เกิดมูลค่าให้กับของเสียอินทรีย์นี้แทนการส่งเข้าสู่กระบวนการบำบัด หรือกระบวนการกลั่นเพื่อนำกลีเซอรอลกลับมาใช้ในด้านอื่นๆ ผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์ของเสียอินทรีย์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับจุลินทรีย์ในการผลิต PHAs โดยได้รับตัวอย่างในช่วงเดือนสิงหาคม ปี 2551 เมื่อนำของเสียอินทรีย์นี้ไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนด้วยเครื่อง TOC analyzer พบว่ามีปริมาณคาร์บอนทั้งหมดเท่ากับ 300.88 กรัมต่อลิตร

การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต PHAs จากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันโดยใช้อาหารเพื่อการผลิต PHA ที่มีของเสียอินทรีย์จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้นทำการทดสอบเบื้องต้นโดยการย้อมแกรม Sudan Black B และ Nile Blue A ตามวิธีของ Song และคณะ (2008) ซึ่งแบคทีเรียที่มีการสะสม PHAs เมื่อย้อมด้วย Nile Blue A จะเห็นเป็นจุดสีส้มสะท้อนแสงภายใต้กล้องฟลูออเรสเซ็นต์ ส่วนการย้อมด้วย Sudan Black B จะเห็นเป็นจุดสีดำภายในเซลล์แบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีแบคทีเรียทั้งหมด 20 สายพันธุ์ และคัด

แยกแบคทีเรียที่ผลิต PHA ได้ 4 สายพันธุ์ จึงตั้งชื่อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ว่า ASC1 ASC2 ASC3 และ ASC4 ตามลำดับ

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ ASC1 ASC2 ASC3 และ ASC4 ทางอนุกรมวิธานโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การทดสอบทางชีวเคมี รวมถึงการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ ASC1 ASC2 ASC3 และ ASC4 จัดเป็นแบคทีเรียในสกุล *Acinetobacter* *Pseudomonas* *Enterobacter* และ *Bacillus* ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTn พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ ASC1 มีความคล้ายกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ16S rRNA ของ *Acinetobacter baumannii* สายพันธุ์ RM4 94.89 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียสายพันธุ์ ASC2 คล้ายกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ16S rRNA ของ *Pseudomonas mendocina* สายพันธุ์ DS0601-FX 99.18 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียสายพันธุ์ ASC3 คล้ายกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ16S rRNA ของ *Enterobacter* sp. สายพันธุ์ BSRA2 99.24 เปอร์เซ้นต์ และแบคทีเรียสายพันธุ์ ASC4 คล้ายกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ16S rRNA ของ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ IAM 12118T 98.40 เปอร์เซ็นต์ และนำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ16S rRNA ไปเสนอใน Genbank เพื่อให้ได้ accession numbers จึงให้แบคเรียสายพันธุ์ ASC1 ASC2 ASC3 และ ASC4 ชื่อว่า *Acinetobacter* sp. ASC1 (GU227612) *Pseudomonas* sp. ASC2 (GU227613) *Enterobacter* sp. ASC3 (GU227614) และ *Bacillus* sp. ASC4 (GU227615) ตามลำดับ

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิต PHAs โดยแปรผันปริมาณคาร์บอนในของเสียอินทรีย์จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่เติมลงในอาหารเพื่อการผลิตเท่ากับ 5 10 และ 20 กรัมต่อลิตร มีแหล่งไนโตรเจนคือแอมโมเนียมซัลเฟต โดยแปรผันอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4 20 80 และ 200 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิต PHAs ของ *Acinetobacter* sp. ASC1 *Pseudomonas* sp. ASC2 *Enterobacter* sp. ASC3 และ *Bacillus* sp. ASC4 ในระดับขวดเขย่าคือภาวะที่มีปริมาณคาร์บอนในของเสียอินทรีย์เท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 200 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Lee และคณะ (1999) ที่รายงานว่า PHAs มีการสะสมในแกรนูลของแบคทีเรียภายใต้ภาวะที่มีการจำกัดสารอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน ออกซิเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ แมกนีเซียม เป็นต้น และต้องมีแหล่งคาร์บอนที่มากเกินพอ ในภาวะนี้ *Pseudomonas* sp. ASC2 มีการผลิต PHAs ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 61.80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง มีน้ำหนักชีวมวลสุทธิสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

8.51 กรัมต่อลิตร จึงกล่าวได้ว่าปริมาณของเสียอินทรีย์และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอาจจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณ PHAs ที่แบคทีเรียผลิตได้ จากผลงานวิจัยเมื่อเพิ่มปริมาณของเสียอินทรีย์ในอาหารเพื่อการผลิต พบว่าการผลิต PHAs ของแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ลดลง เนื่องจากในของเสียอินทรีย์มีปริมาณสารเคมีที่เป็นพิษกับจุลินทรีย์ในปริมาณมากจึงทำให้การผลิต PHAs ลดลง และถ้ามีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนน้อย (มีปริมาณไนโตรเจนมาก) การเจริญเติบโตของแบคทีเรียก็มากขึ้นเพราะแบคทีเรียนำไนโตรเจนไปใช้ในการเจริญเติบโต 1. เนื่องจากอะเซทิลโคเอถูกนำไปใช้ใน tricarboxylic acid cycle (TCA cycle) 2. งานวิจัยนี้ยังพบอีกว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในงานวิจัยนี้ทั้ง 4 สายพันธุ์มีวิถีชีวสังเคราะห์ PHA ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญ (non-growth associate product) 3. เมื่อแบคทีเรียเจริญเติบโตดีจึงไม่มีการสร้างและสะสม PHAs ทำให้อัตราการผลิต PHAs ลดลง และพบว่าแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ต้องถูกจำกัดปริมาณไนโตรเจน จากการวิเคราะห์ปริมาณ PHAs ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตรกราฟีพบว่าเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของ PHAs มีสองช่วงเวลา แสดงว่า PHAs ประกอบด้วย 2 โมโนเมอร์ที่แตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีพบว่าแต่ละโมโนเมอร์คือ 3HO และ 3HD เมื่อคำนวณสัดส่วนโมลระหว่าง 3HO และ 3HD พบว่ามีอัตราส่วนของ 3HO เท่ากับ 14.69 โมลเปอร์เซ็นต์ และ 3HD เท่ากับ 85.31 โมลเปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการรายงานของ Haywood และคณะ (1990) ที่พบว่า *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ NCIMB 40135 สามารถผลิต PHAs โดยมีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน มีแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน ผลิต PHAs ได้เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง พอลิเมอร์ที่ได้ประกอบด้วย 2 โมโนเมอร์ ได้แก่ 3HO 10 โมลเปอร์เซ็นต์ และ 3HD 90 โมลเปอร์เซ็นต์ และจากรายงานของ Song และคณะ (2008) ที่รายงานว่า *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ DR2 สามารถผลิต PHAs โดยนำน้ำมันพืชที่ใช้แล้วมาเป็นแหล่งคาร์บอน และมีแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน ผลิต PHAs ได้เท่ากับ 23.52 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง พอลิเมอร์ที่ได้ประกอบด้วย 5 โมโนเมอร์ ได้แก่ 3HHx 5.86 โมลเปอร์เซ็นต์ 3HO 45.67 โมลเปอร์เซ็นต์ 3HD 36.74 โมลเปอร์เซ็นต์ 3HTD 7.5 โมลเปอร์เซ็นต์ และ 3HHxD 5.24 โมลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อวิเคราะห์การลดลงของปริมาณ TOC โดยศึกษาจากการทดลองของการผลิต PHA โดยเฉพาะใน *Pseudomonas* sp. ASC2 และ *Bacillus* sp. ASC4 ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวสามารถผลิต PHAs ได้ในปริมาณมาก โดยเมื่อเลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตในภาวะที่มีปริมาณคาร์บอนในของเสียอินทรีย์เท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 200 เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าปริมาณคาร์บอนในของเสียอินทรีย์มีปริมาณลดลงเหลือ 0.09 และ

1.73 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Ibrahim และ Steinbüchel (2009) ซึ่งได้ศึกษาการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต PHB โดย *Zobellella denitrificans* สายพันธุ์ MW1 โดยแปรผันปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้นเป็น 5 10 15 20 30 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้นเท่ากับ 5 10 15 และ 20 กรัมต่อลิตรนั้น *Z. denitrificans* สายพันธุ์ MW1 สามารถผลิต PHB เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แต่เมื่อมีปริมาณ กลีเซอรอลเริ่มต้นเท่ากับ 30 และ 50 กรัมต่อลิตร จะผลิต PHB ลดลง นอกจากนี้ Ibrahim และ Steinbüchel ได้วิเคราะห์ปริมาณกลีเซอรอลที่ลดลงเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าที่กลีเซอรอลเริ่มต้นเป็น 5 และ 10 กรัมต่อลิตร ปริมาณกลีเซอรอลลดลงเป็น 0 กรัมต่อลิตร ส่วนกลีเซอรอลเริ่มต้นเป็น 15 20 30 และ 50 กรัมต่อลิตร เหลือปริมาณกลีเซอรอลเท่ากับ 2.8 9.5 21.1 และ 45.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตไม่สามารถวิเคราะห์ได้เพราะน้ำหมักที่เก็บตัวอย่างได้ในแต่ละชั่วโมงเมื่อนำเซลล์ของแบคทีเรียออกจากน้ำหมักด้วยการปั่นแยกเซลล์แล้วน้ำหมักยังคงมีลักษณะขุ่นซึ่งเกิดจากน้ำมันเกิดแขวนลอยเป็นอิมัลชันขณะอยู่ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ

เมื่อได้ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต PHAs โดยมีของเสียอินทรีย์จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอนแล้ว ผู้วิจัยได้นำภาวะนั้นมาศึกษาการผลิต PHAs โดยเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนจากของเสียอินทรีย์เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย *Pseudomonas* sp. ASC2 และ *Bacillus* sp. ASC4 โดยใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 200 เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า *Pseudomonas* sp. ASC2 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.42 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 12 น้ำหนักชีวมวลสุทธิสูงสุดเท่ากับ 2.12 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 12 ปริมาณ PHAs ที่ผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 21.73 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 36 และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 5.73 กรัมต่อลิตร ส่วน *Bacillus* sp. ASC4 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.08 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 12 ปริมาณน้ำหนักชีวมวลสุทธิสูงสุดเท่ากับ 3.34 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 12 ปริมาณ PHAs ที่ผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 18.90 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 24 และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 2.07 กรัมต่อลิตร แสดงในรูปที่ 4.15 จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตรกราฟีพบว่าโครมาโตรแกรมที่ได้มีพีคขึ้นที่เวลาเดียวกันกับพีคของโมโนเมอร์ 3HD ที่ได้จากการใช้ของเสียอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน จึงสรุปได้ว่าพอลิเมอร์ที่ได้จากการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเป็น 3HD เพียงโมโนเมอร์เดียว ในการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า *Pseudomonas* sp. ASC2 และ *Bacillus* sp. ASC4 สามารถนำน้ำตาลไปใช้ในการเจริญเติบโตและการผลิต PHAs ได้ แต่น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำหนักชีวมวลสุทธิ และปริมาณ PHAs ที่แบคทีเรีย

ทั้ง 2 สายพันธุ์นั้นผลิตได้น้อยกว่าการใช้ของเสียอินทรีย์จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอน เนื่องมาจากแบคทีเรียนี้ได้ทำการคัดเลือกมาเพื่อการผลิต PHAs โดยใช้ของเสียอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนโดยเฉพาะเมื่อเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนเป็นชนิดอื่นแบคทีเรียจึงมีการเจริญเติบโตและผลิต PHAs ได้ในปริมาณที่น้อยลง

เพื่อให้ได้ PHAs ในปริมาณที่มากเพียงพอต่อการศึกษาสมบัติพื้นฐานของพอลิเมอร์ จึงนำภาวะที่เหมาะสมคือ ปริมาณคาร์บอนในของเสียอินทรีย์เท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 200 มาขยายส่วนการผลิตในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีภาวะการเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าความเป็นกรด ด่างเท่ากับ 7 อัตราการกวนเท่ากับ 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 vvm จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงแล้วนำไปอบให้แห้ง จากนั้นนำมาสกัด PHAs โดยใช้คลอโรฟอร์มเนื่องจากมีรายงานว่าการสกัดพอลิเมอร์จากเซลล์แห้งของแบคทีเรียด้วยคลอโรฟอร์มเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ (สุชาดา จันทร์ประทีป, 2539) นำ PHAs ที่สกัดได้ไปตกตะกอนด้วยเฮกเซนเพื่อให้พอลิเมอร์ที่ได้มีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น นำพอลิเมอร์ที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างของพอลิเมอร์ด้วย ^{1}H-NMR ^{13}C-NMR และ 2D-^{1}H-NMR-COSY พบว่าพอลิเมอร์ที่ได้จากแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ประกอบด้วย 2 โมโนเมอร์ ได้แก่ 3HO และ 3HD เหมือนกันแต่มีสัดส่วนโมโนเมอร์ที่ต่างกัน เมื่อนำพอลิเมอร์ที่ได้ไปวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลด้วยเครื่อง GPC พบว่าพอลิเมอร์ของ *Acinetobacter* sp. ASC1 *Pseudomonas* sp. ASC2 *Enterobacter* sp. ASC3 และ *Bacillus* sp. ASC4 ที่ผลิตได้มีค่า M_w เท่ากับ 1,222 525 752 1,433 Da ตามลำดับ สอดคล้องกับการรายงานของ He และคณะ (1998) ซึ่งรายงานการผลิต PHAs ด้วย *P. stutzeri* 1317 โดยมีน้ำมันถั่วเหลือง 10 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งจัดเป็นกรดไขมันเช่นเดียวกับของเสียอินทรีย์จากการผลิตไบโอดีเซล มีแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน เลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า M_w มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ได้แสดงค่า Polydispersity index (M_w/M_n) ของ PHAs ที่ *Acinetobacter* sp. ASC1 *Pseudomonas* sp. ASC2 *Enterobacter* sp. ASC3 และ *Bacillus* sp. ASC4 ผลิตได้เท่ากับ 1.72 1.32 1.35 และ 2.11 ซึ่งตรงกับการรายงานของ Zinn และคณะ (2001) และ Hazer และ Steinbüchel (2007) ได้รายงานตรงกันว่าค่า Polydispersity index ของ mcl-PHAs มีค่าอยู่ในช่วง 1.3 -2.6

พอลิเมอร์ที่ได้จากงานวิจัยนี้คือ 3HO และ 3HD จัดเป็น mcl-PHAs เนื่องมาจาก 3HO ประกอบด้วยคาร์บอน 8 อะตอม และ 3HD ประกอบด้วยคาร์บอน 10 อะตอม สอดคล้องการรายงานของ Kim และคณะ (2007) ที่รายงานว่า mcl-PHAs คือพอลิเมอร์ที่แต่ละหน่วยโมโนเมอร์

ประกอบด้วยคาร์บอนอะตอม 6-14 อะตอม เช่นเดียวกับการรายงานของ Chan และคณะ (2006) มีการผลิต PHAs ด้วย *P. aeroginosa* โดยใช้กรดไขมันชนิดต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า PHAs ที่ผลิตได้เป็น mcl-PHAs ประกอบด้วย 3HO 3HD และ 3HDD Kessler และ Witholt (2001) กล่าวว่า เบต้าออกซิเดชันหรือวิถีชีวสังเคราะห์ Fad (Fad Pathway) เป็นวิถีหลักในการชีวสังเคราะห์ mcl-PHA เมื่อแบคทีเรียเจริญในอาหารที่มีกรดไขมันเป็นแหล่งคาร์บอน วิถีชีวสังเคราะห์นี้สามารถพบได้ในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *P. oleoverans* *P. fragii* *P. aeroginosa* โดยสังเคราะห์ mcl-PHAs จากกรดแอลคาโนอิก (alkanoic acid) หรือกรดไขมัน ในกรณีนี้สารตั้งต้นในการผลิตจะเกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ที่ได้ ซึ่งหมายความว่า โมโนเมอร์ที่เป็นส่วนประกอบใน mcl-PHA จะมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับสารตั้งต้นแต่อาจจะสั้นลงและแตกเป็นสองหน่วย (Huijberts และคณะ, 1995) สารตัวกลางในวิถีเบต้าออกซิเดชัน รวมทั้งอีโนอิลโคเอ (enoyl-CoA) 3-คีโตเอซิลโคเอ (3-ketoacyl-CoA) และ (S)-3-ไฮดรอกซีเอซิลโคเอ [(S)-3-hydroxyacyl-CoA] จัดเป็นสารตั้งต้นของ mcl-(R)-3-ไฮดรอกซีเอซิลโคเอ [mcl-(R)-3-hydroxyacyl-CoA] แสดงในรูป 2.6 ซึ่งเป็นการสังเคราะห์ mcl-PHAs โดยตรง (Suriyamongkol และคณะ, 2007) Zinn และคณะ (2001) ได้กล่าวว่า mcl-PHAs มีลักษณะยืดหยุ่น (elastic) หรือมีลักษณะคล้ายของกึ่งเหลวกึ่งแห้ง ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับพอลิเมอร์ที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ ตกผลึกได้ที่อุณหภูมิต่ำ และมีจุดหลอมเหลวต่ำ mcl-PHAs จึงเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์ นอกจากนี้ Hazer และ Steinbüchel (2007) ได้กล่าวว่า mcl-PHAs และหมู่ฟังก์ชัน (functional group) นั้นมีความน่าสนใจเป็นอย่างมาก เพราะการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันนั้นสามารถปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของพอลิเมอร์ได้ นอกจากนี้บางหมู่ฟังก์ชันสามารถปรับเปลี่ยนได้โดยปฏิกิริยาเคมีเพื่อให้ได้พอลิเมอร์ที่นำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ที่หลากหลายมากขึ้น มีการนำ mcl-PHAs ไปประยุกต์ใช้ในการผลิตพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติและนำไปเป็นวัตถุดิบทางชีวภาพทางการแพทย์มากขึ้น