บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรม

2.1 พลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

พลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ หมายถึง พลาสติกที่ย่อยสลายได้โดยการย่อยที่มีผลมาจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติโดยจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ สาหร่าย เป็นต้น โดยพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพนี้ สามารถจัดเป็นกลุ่มได้ 3 ชนิด คือ

1. พลาสติกที่ถูกสลายตัวโดยแสงอัลตราไวโอเลต (UV degradable plastic) เนื่องจากพลาสติกชนิดนี้มีหมู่คาร์บอนิล (C=O) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีความไวสูงต่อแสง UV ทำให้เกิดการแตกตัวในสายโซ่ของพอลิเมอร์ พลาสติกจะกรอบและแตกได้ หรือมีการเติมสารที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (photoactivate) เช่น เหล็ก และทองแดง เป็นต้น เพื่อเร่งการทำลายสายพอลิเมอร์เมื่อได้รับแสง UV (Reddy และคณะ, 2003)

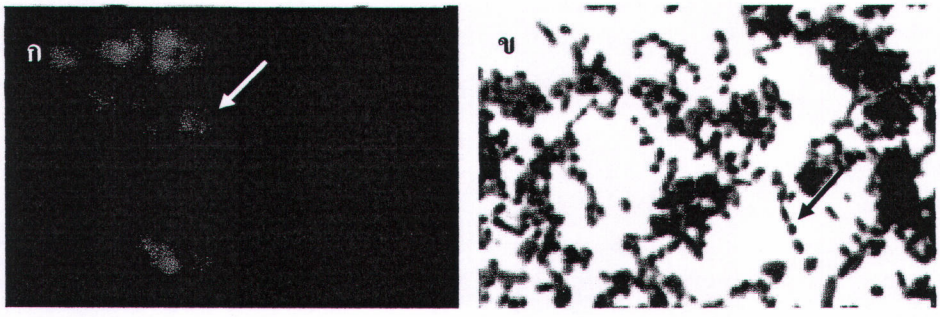
2. พลาสติกที่ย่อยสลายได้บางส่วน เช่น พอลิเอทิลีน (polyethylene) พอลิพรอพิลีน (polypropylene) และพอลิสไตรีน (polystyrene) โดยพลาสติกประเภทนี้เป็นพลาสติกสังเคราะห์ที่ใส่สารเติมแต่งทางธรรมชาติบางชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด แป้ง และเซลลูโลส เป็นต้น เมื่ออนุภาคของแป้งถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ พลาสติกจะอ่อนตัวลง มีความพรุนและมีพื้นที่ผิวมากขึ้นช่วยในการทำลายร่างแหของพลาสติก (Reddy และคณะ, 2003)

3. พลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ ได้แก่ พลาสติกชนิดเทอร์โมพอลิเอสเทอร์ (biodegradable thermoplastic) ผลิตจากกระบวนการทางชีวภาพ เทอร์โมพอลิเอสเทอร์นี้ถูกสร้างและสะสมได้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิด และจัดอยู่ในกลุ่มสารที่เรียกว่า พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (polyhydroxyalkanoates) หรือ PHA ซึ่ง PHA นี้มีคุณสมบัติของเทอร์โมพลาสติก คือ สามารถนำมาขึ้นรูปและทำให้เป็นฟิล์ม แผ่น ไฟเบอร์ได้ และพลาสติกกลุ่มนี้สามารถถูกย่อยสลายโดยสมบูรณ์ในธรรมชาติ (Evans และ Sikdar, 1990 ; Brandl และคณะ, 1990 ; Reddy และคณะ, 2003)

2.2 พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (polyhydroxyalkanoate)

PHA เป็นพอลิเอสเทอร์ที่สร้างและสะสมโดยจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้น เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนให้แก่เซลล์ โดย PHA ถูกสังเคราะห์และสะสมในแกรนูล (granule) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ เพื่อทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหารในภาวะที่แหล่งคาร์บอนมากเกินพอขณะที่สารอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน ออกซิเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ หรือ trace element อื่นๆ เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก เป็นต้น อยู่ในภาวะที่จำกัดหรือขาดแคลน (Anderson และ Dawes, 1990; Shrivastav และคณะ, 2010) โดยจำนวนและขนาดของแกรนูลในแต่ละเซลล์ จะแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ พลาสติกกลุ่มนี้สามารถถูกย่อยสลายได้ในธรรมชาติโดยจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ดีพอลิเมอเรส (depolymerase) และเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) และจากการย่อยสลายจะให้สารที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และกรดคาร์บอกซิลิก (Evans และSikdar, 1990)

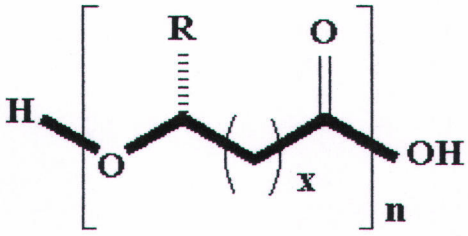
PHA ชนิดแรกที่ถูกค้นพบ คือ พอลีไฮดรอกซีบิวทิเรต(polyhydroxybutyrate) หรือ P(3HB) พบในเซลล์ของจุลินทรีย์ *Bacillus megaterium* โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ Lemoigne (Braunegg, 1998; Zinn, 2001) ซึ่ง P(3HB) ที่ถูกสร้างและสะสมขึ้นนี้ พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการสร้างสปอร์ (sporulation) เพราะมีการสะสมของก้อนไขมัน (lipid inclusion) ในช่วงที่มีการเจริญแบบคงที่ (stationary phase) ของแบคทีเรีย สำหรับการตรวจหา PHA ในเซลล์ของ จุลินทรีย์เบื้องต้นใช้เทคนิค fat stain ซึ่งเป็นการย้อมสีสารประเภทไขมันที่สะสมอยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียโดยใช้เทคนิคการย้อมด้วยสีไนล์บลู เอ (Nile Blue A) หรือสีซูดานแบลค บี (Sudan black B) (รูปที่ 2.1) (López-Cortés และคณะ,2008)



รูปที่ 2.1 เซลล์ที่ย้อมด้วยสีไนล์บลู เอ (ก) และสีซูดานแบลค บี (ข) (López-Cortés และคณะ,2008)

2.3 โครงสร้างของ PHA

PHA มีโครงสร้างเป็นพอลิเอสเทอร์สายตรง (liner polyester) ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ในกลุ่มไฮดรอกซีที่เชื่อมต่อกันโดยพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของโมโนเมอร์ตัวที่หนึ่งกับหมู่ไฮดรอกซีของโมโนเมอร์ตัวที่สองตรงตำแหน่งบีต้า-คาร์บอน ซึ่งเป็นไครัลคาร์บอน (chiral carbon) ที่แสดงโครงสร้างเป็น R-configuration และการเชื่อมต่อกันของโมโนเมอร์เป็นแบบหัวต่อหาง (isotactic) เช่นเดียวกับพอลิพรอพิลีน (Brandl และคณะ, 1990)



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ PHA (Brandl และคณะ, 1990)

เมื่อ n = 1	เมื่อ R = ไฮโดรเจน(H)	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีโพรพิโอเนต)	; P(3HP)
	เมื่อ R = เมทธิล(CH_3)	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต)	; P(3HB)
	เมื่อ R = เอทธิล(C_2H_5)	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต)	; P(3HV)
	เมื่อ R = โพรพิล(C_3H_7)	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีเฮกซะโนเอต)	; P(3HHX)
	เมื่อ R = บิวทิล(C_4H_9)	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีเฮปตะโนเอต)	; P(3HHp)
	เมื่อ R = เพนทิล(C_5H_{11})	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีออกตะโนเอต)	; P(3HO)
	เมื่อ R = เฮกซิล(C_6H_{13})	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีโนนาโนเอต)	; P(3HN)
	เมื่อ R = เฮปทิล(C_7H_{15})	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีเดกคาโนเอต)	; P(3HD)
	เมื่อ R = ออกซิล(C_8H_{17})	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีอันเดกคาโนเอต)	; P(3HUD)
	เมื่อ R = โนนิล(C_9H_{19})	สารนี้คือ	พอลิ(3-ไฮดรอกซีโดเดกคาโนเอต)	; P(3HDD)
เมื่อ n = 2	เมื่อ R = ไฮโดรเจน(H)	สารนี้คือ	พอลิ(4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต)	; P(4HB)
เมื่อ n = 3	เมื่อ R = ไฮโดรเจน(H)	สารนี้คือ	พอลิ(5-ไฮดรอกซีวาเลอเรต)	; P(5HP)

2.4 การจัดจำแนกชนิดของ PHA

1. การจัดจำแนกชนิดตามจำนวนคาร์บอนอะตอมในหน่วยโมโนเมอร์ (Keshavarz และ Roy, 2010) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1.1 short-chain-length (SCL) PHAs คือ พอลีเมอร์ที่แต่ละหน่วยโมโนเมอร์ ประกอบด้วยคาร์บอนอะตอม 3-5 อะตอม เช่น พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) พอลิ(3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) เป็นต้น

1.2. medium-chain-length (MCL) PHAs คือ พอลิเมอร์ที่แต่ละหน่วยโมโนเมอร์ประกอบด้วยคาร์บอนอะตอม 6-14 อะตอม เช่น พอลิ(3-ไฮดรอกซีเฮกซะโนเอต) พอลิ(3-ไฮดรอกซีออกตะโนเอต) เป็นต้น

1.3 long- chain-length (LCL) PHAs คือ พอลิเมอร์ที่แต่ละหน่วยโมโนเมอร์ ประกอบด้วยคาร์บอนอะตอมมากกว่า 14 อะตอม

2. การจัดจำแนกชนิดโดยแบ่งตามชนิดของโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในสายพอลิเมอร์ PHA แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.1 โฮโมพอลิเมอร์ (homopolymer) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์เพียงชนิดเดียวมาต่อกัน ตัวอย่างเช่น พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) หรือ P(3HB)

2.2 เฮทเทอโรพอลิเมอร์ (heteropolymer) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์มากกว่า 1 ชนิดมาต่อกัน โดยเรียกชื่อตามจำนวนโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบ ดังนี้

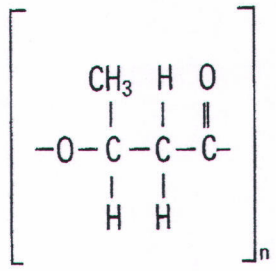
- โคพอลิเมอร์ (copolymer) ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 2 ชนิดมาต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์ เช่น พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) หรือ P(3HB - co - 3HV) พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) หรือ P(3HB - co - 4HB) เป็นต้น

- เทอร์พอลิเมอร์ (terpolymer) ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 3 ชนิดมาต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์ เช่น พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) หรือ P(3HB-co-3HV-co-4HB) เป็นต้น

2.5 พอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทิเรต (poly-β-hydroxybutyrate)

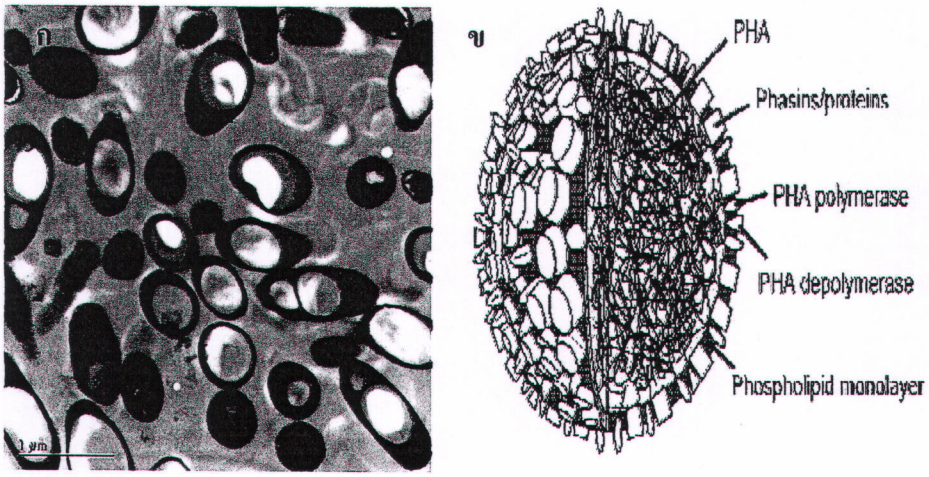
พอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือที่มีชื่อย่อเรียกว่า P(3HB) จัดเป็นพอลิเมอร์ประเภทอะลิฟาทิกพอลิเอสเทอร์ (aliphatic polyester) ซึ่งอยู่ในกลุ่ม PHA (polyhydroxyalkanoate)

P(3HB) จัดเป็น homopolymer ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของ 3-hydroxybutyric acid (หมู่คาร์บอนิล ออกซิเจน และหมู่เมทิล) ต่อกันเป็นสายด้วยพันธะเอสเทอร์ โดยจำนวนโมโนเมอร์ที่ประกอบกันเป็นสาย P(3HB) มีประมาณ 23,000-25,000 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 3 (Byrom, 1987)



รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ P(3HB) (Byrom, 1987)

P(3HB) มีคุณสมบัติทางกายภาพเช่นเดียวกันกับเทอร์โมพลาสติก จึงสามารถนำมาทำเป็นฟิล์มห่อของ ไฟเบอร์หรือนำมาหลอมเป็นภาชนะต่าง ๆ ได้ และจากการศึกษาพบว่ามีจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์และสะสม P(3HB) ไว้ได้ภายในเซลล์มีหลายชนิด (ตารางที่ 2.1) โดย P(3HB) จะถูกสร้างและสะสมอยู่ภายในแกรนูล (granule) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.2-0.5 ไมโครเมตร และมีเมมเบรนที่ประกอบด้วยไลปิดและโปรตีนหุ้มอยู่โดยรอบ หนาประมาณ 2 นาโนเมตร ดังรูปที่ 2.4 (Quillaguamán และคณะ, 2006; Zinn และคณะ, 2001)



รูปที่ 2.4 ภาพตัดของเซลล์ *Halomonas boliviensis* จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง P(3HB) แกรนูลภายในเซลล์ (ก) (Quillaguamán และคณะ, 2006) และส่วนประกอบของ P(3HB) แกรนูล (ข) (Zinn และคณะ, 2001)

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างและสะสม PHA (Brandl และคณะ, 1990)

การจำแนกสายพันธุ์โดย Bergey's Manual	จีนัส	ปริมาณ PHA สูงสุด (% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	แหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิต PHA
Group 1	*Chloroflexus*	<1	yeast extract /glycylglycine
Phototrophic bacteria	*Chromatium*	20	acetate
	Ectothiorhodospira	ND	NS
	Lamprocystis	ND	NS
	Rhodobacter	80	acetate
	Rhodospirium	47	acetate
	Thiocapsa	ND	NS
	Thiocystis	ND	NS
	Thiodictyon	ND	NS
	Thiopedia	ND	NS
	Thiosphaera	ND	acetone/CO_2
Group 2 Gliding bacteria	*Beggiatia*	57	acetate
	Leptothrix	67	pyruvate
	Sphacrotilus	45	glucose/peptone
Group 3 Sheathed bacteria	*Caulbacter*	36	glucose/glutamate
	Azospirillum	75	malate
Group 4 Budding and/or curved bacteria	*Oceanospirillum*	ND	NS
	Spirillum	40	lactate
	Alcaligenes	96	fructose
	Azotobacter	73	glucose
	Beijerinckia	38	glucose
	Derxia	26	glucose
	Methylobacterium	47	methanol
	Methylosinus	25	methanol
	Pseudomonas	67	methanol
	Rhizobium	57	methanol
	Xanthobacter	ND	NS
	Zoogloea	ND	yeast extract/casamino

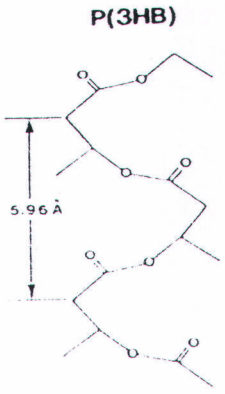
การจำแนกสายพันธุ์โดย Bergey's Manual	จีนัส	ปริมาณ PHA สูงสุด (% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	แหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิต PHA
Group 8 Gram-negative facultative anaerobic rods	*Chromobacterium*	37	glucose/peptone
	Escherichia	ND	tryptone/yeast extract
	Haemophilus	ND	yeastextract/glucose
	Photobacterium	ND	brain heart infusion
	Vibrio	ND	NS
Group 9 Gram-negative anaerobic bacteria	*Syntrophomonas*	30	gluconate
Group 10 Gram- negative cocci and cocibacilli	*Acinetobacter*	<1	glucose
	Lampropedia	ND	NS
	Moraxella	ND	NS
	Paracoccus	ND	NS
Group 12 Gram- negative chemolithotrophic	*Nitrobacter*	ND	NS
	Nitrococcus	ND	NS
	Thiobacillus	ND	Glucose
Group 13 Archaebacteria	*Halobacterium*	38	glucose
Group 14 Gram-possitive cocci	*Micrococcus*	28	peptone/tryptone
Group 15 Endospore-forming rods and cocci	*Bacillus*	25	glucose
	Clostridium	13	trptone/peptone/glucose
Group 17 Actinomycetes	*Mycoplana*	ND	methanol
	Nocardia	14	butane
	Streptomyces	4	glucose
Cyanobacteria	*Aphanothece*	<1	NS
	Chlorogloea	10	acetate, CO_2
	Gamphosphaeria	ND	ND
	Microcoleus	<1	ND
	Microcystis	ND	ND
	Spirulina	6	CO_2

หมายเหตุ ND = ปริมาณ PHA สูงสุดไม่ได้ทำการวิเคราะห์ NS = แหล่งคาร์บอนไม่จำเพาะ

2.6 โครงสร้างและคุณสมบัติของ P(3HB)

1. โครงสร้างผลึก(crystal structure)

Cornibert และ Marchessault (1972) (อ้างถึงใน Doi, 1990) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างผลึกของ P(3HB) โดยใช้เทคนิค X-ray diffraction พบว่าโครงรูป (conformation) ของโมเลกุล P(3HB) เป็นแบบอัดตัวแน่นและแบบเกลียวเวียนขวา (right-handed helix) และมีหน่วยซ้ำ (fiber repeat) เท่ากับ 0.596 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างผลึกของ P(3HB) (Doi, 1990)

2. สมบัติทางกายภาพและความร้อน (physical และ thermal property)

P(3HB) เป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ จึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ คลอโรฟอร์มไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรแอซีเทต เป็นต้น แต่ P(3HB) ไม่สามารถละลายได้ในสารละลายมีขั้ว ตัวอย่างเช่น น้ำ เมทานอล เอทานอล (ตารางที่ 2.2) สำหรับความหนาแน่นของ P(3HB) จะอยู่ในช่วงระหว่าง 1.171-1.260 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร โดย P(3HB) ที่มีความหนาแน่นต่ำจะมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน แต่ถ้าหากมีความหนาแน่นสูงจะสามารถตกผลึกได้ ส่วนจุดหลอมเหลวจะแปรผันระหว่าง 157-188 องศาเซลเซียส โดยเมื่อผลึกเย็นลงอย่างช้าๆ หลังจากการหลอมเหลวจะได้เป็นสเฟียรูไลต์ (spherulites) ขนาดใหญ่ ทำให้ P(3HB) มีสถานะเป็นของแข็งคล้ายแก้ว(glass state) ที่อุณหภูมิกลาสทรานสิชัน(glass transition) ประมาณ 4 องศาเซลเซียส และหากตกตะกอน P(3HB) ด้วยสารละลายเจือจางจะได้ผลึกเป็นชั้นบางๆซึ่งความหนาแน่นของชั้นผลึกจะขึ้นกับอุณหภูมิในการเกิดผลึก (crystallization temperature) และน้ำหนักโมเลกุลของ P(3HB) นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าค่า Young' s modulus และค่าความทนแรงดึง(tensile strength) ของ P(3HB) จะมีความใกล้เคียงกับพอลิโพรพิลีน ซึ่งเป็นพลาสติกสังเคราะห์ที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.2 สมบัติการละลายของ P(3HB) (Lafferty และคณะ, 1988)

ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดี	ละลายไม่ได้
คลอโรฟอร์ม	ไดโอเซน	น้ำ
ไดคลอโรฟอร์ม	ออกทานอล	เมทานอล
ไดคลอโรอะซิเตต	โทลูอีน	เอทานอล
ทรีโอลีน	พิริดีน	1-โพรพานอล
เอทิลีนคาร์บอเนต		2-โพรพานอล
โพรพิลีนคาร์บอเนต		กรดเกลือแร่เจือจาง
ทรีฟลูโอโรเอทานอล		อัลคาไลน์ไฮเปอร์คลอไรด์
แอซิติกแอนไฮไดรด์		ไดเอทิลอีเทอร์
โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล		เอทิลีนอะซิเตต
ไดเมธิลฟอร์มามีน		เอทิลเมธิลคีโตน
เอทิลอะซิโตอะซิเตต		เททราไฮโดรฟูราน
ได –, ไตร-, เททรา- ,คลอโรอีเทน		เอทิลโฟร์มีเอต
กรดอะซิติก		บิวทิลอะซิเตต
แอลกอฮอล์(คาร์บอนมากกว่า 3 อะตอม)		เฮกเซน

ตารางที่ 2.3 สมบัติทางกายภาพและความร้อนของ P(3HB) เทียบกับพอลิพรอพิลีน (Doi, 1990)

คุณสมบัติ	PP	P(3HB)
จุดหลอมเหลว (° C)	171 – 186	171 – 182
ความสามารถเป็นผลึก (%) (crystallinity)	65 – 70	65 – 80
ความหนาแน่น (g/cm^3)	0.94 – 0.95	1.23 – 1.25
น้ำหนักโมเลกุล ($x\ 10^5$)	2.2 – 7	1 – 8
การกระจายของน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution)	5 – 12	2.2 – 3
ความแข็ง (GPa) (flexural modulus)	1.7	3.5 – 4
ความสามารถในการต้านแรงดึง (MPa) (tensile strength)	39	40
ความสามารถในการขยายตัว (%) (extension to break)	400	6-8
ความทนทานต่อแสงอุลตราไวโอเลต (UV resistance)	ไม่ดี	ดี
ความทนทานต่อตัวทำละลาย (solvent resistance)	ดี	ไม่ดี
ความสามารถให้ออกซิเจนผ่าน ($cm^3\ m^{-2}\ atm^{-1}\ d^{-1}$) (oxygen permeablility)	1700	45

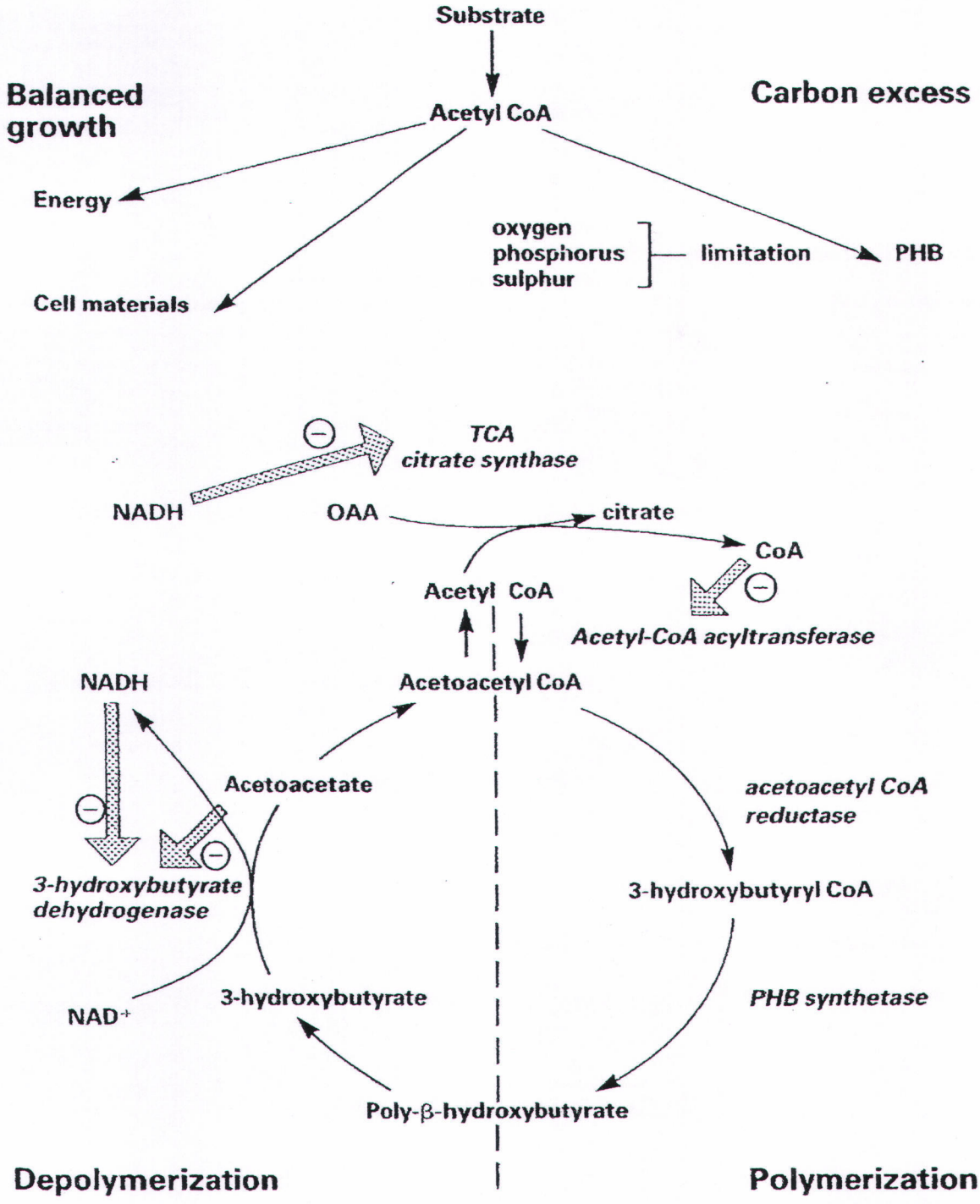
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 17 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน 247797
เลขเรียกหนังสือ

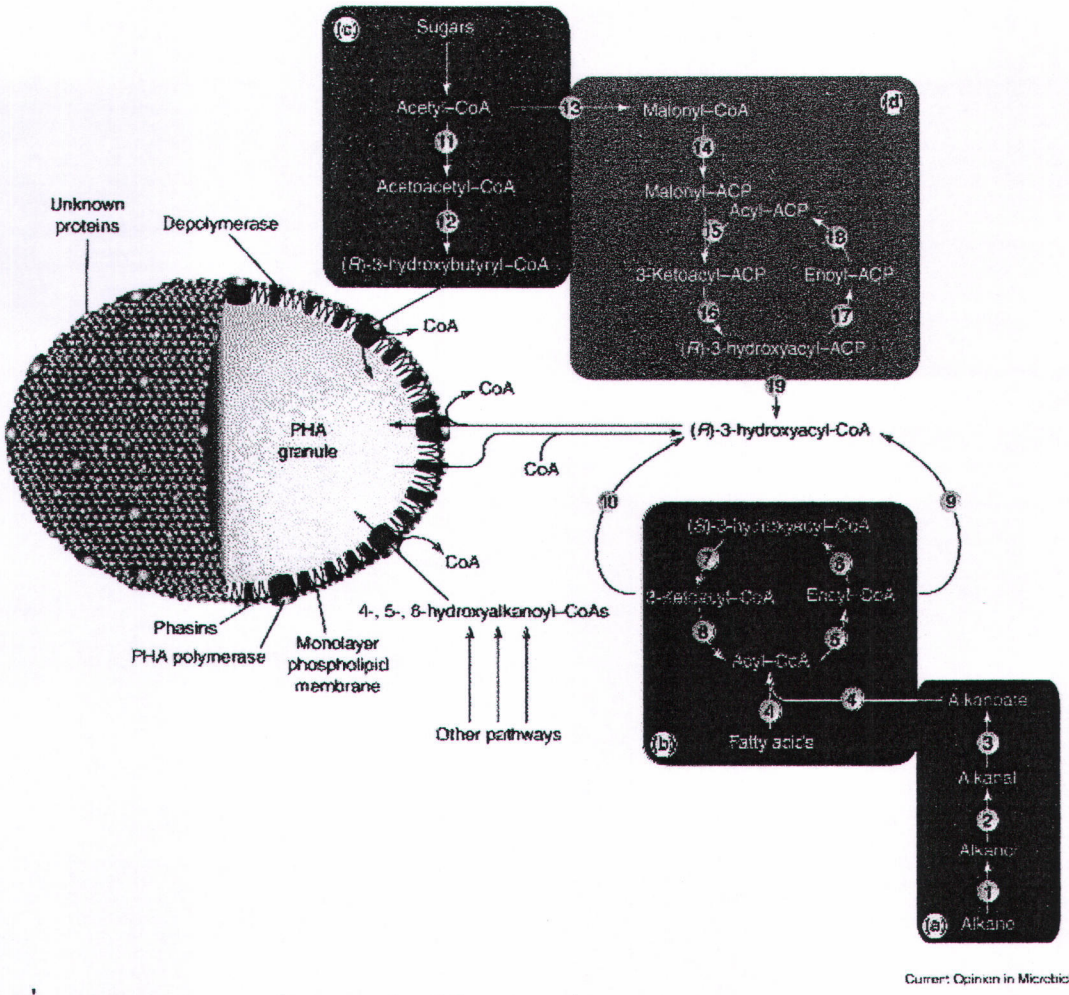
2.7 วิถีการสังเคราะห์ P(3HB)

ในการผลิต P(3HB) ของจุลินทรีย์นั้น มีวิถีการสังเคราะห์ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.6 และรูปที่ 2.7 (Byrom, 1987; Luengo และคณะ, 2003) โดยจะมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์แอซีทิลโคเอแอซีทิลทรานเฟอเรส (acetyl-CoA acetyltransferase) หรือเอนไซม์ 3-คีโตไทโอเลส (3-ketothiolase) เอนไซม์แอซีโตแอซีทิลโคเอรีดักเทส (acetoacetyl-CoA reductase) และเอนไซม์ PHB ซินเทส (PHB synthase)

โดยทั่วไปแล้วพบว่าการสังเคราะห์และการสะสม P(3HB) ของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นสูงหลังจากการเติบโตของจุลินทรีย์เข้าสู่ระยะคงตัว (stationary phase) และจุลินทรีย์จะต้องอยู่ภายใต้ภาวะการเติบโตที่มีสารอาหารไม่สมดุล โดยจากรูป Acetyl-CoA ที่เกิดจากกระบวนการ metabolism ของแหล่งคาร์บอนจะถูก metabolite เป็นสารอื่นในวัฏจักรกรดคาร์บอกซิลิก (TCA cycle) และสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ P(3HB) เซลล์จะเข้าสู่วัฏจักร TCA โดยเปลี่ยน acetyl-CoA ให้ได้เป็นพลังงานออกมาเพื่อใช้การเจริญรวมทั้งได้ CoA อิสระ เมื่อเซลล์อยู่ในภาวะที่มีอาหารสมดุล แต่ถ้าปริมาณ CoA อิสระมีมากจะมีผลไปยับยั้งการทำงานของacetyl-CoA acetyltransferase หรือ 3-ketothiolase ซึ่งเป็นเอนไซม์เริ่มต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ P(3HB) แต่เมื่อเซลล์อยู่ในภาวะที่มีสารอาหารไม่สมดุล คือ มีปริมาณสารอาหารบางชนิดจำกัดหรือขาดสารอาหารชนิดนั้น เช่น ออกซิเจน ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน ซัลเฟอร์หรือ trace elements (เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก) แต่มีแหล่งอาหารคาร์บอนมากเกินพอ จะมีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์ P(3HB) ขึ้น และสืบเนื่องจากภาวะนี้จะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์NADH oxidase ลดลง ทำให้ปริมาณ NADH เพิ่มขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ NADH ไปเป็น NAD+ ที่ต้องอาศัยเอนไซม์ NADH oxidase ลดลง ปริมาณ NADH ที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ citrate synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน acetyl-CoA ไปเป็น citrate ในวัฏจักร TCA โดยเมื่อเอนไซม์นี้ถูกยับยั้ง ทำให้ปริมาณของ acetyl-CoAเพิ่มขึ้นถึงระดับที่ทำให้ผลการยับยั้งของ CoA อิสระต่อเอนไซม์ acetyl-CoA acetyltransferase หรือ 3-ketothiolase หมดไป การสังเคราะห์ P(3HB) จึงเกิดขึ้นได้ (Senior และคณะ, 1972 อ้างถึงในส่งศรี กุลปรีชา, 2536)



รูปที่ 2.6 วิถีการสังเคราะห์ P(3HB) (Byrom, 1987)



Current Opinion in Microbiology

รูปที่ 2.7 วิถีการสังเคราะห์ P(3HB) โดยใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ (Luengo และคณะ, 2003)

2.8 หน้าที่ของ P(3HB)

1. เป็นแหล่งพลังงานหรือแหล่งคาร์บอน (Dawes และ Senior, 1973; Doi, 1990; Braunegg และคณะ, 1998)

จุลินทรีย์จะใช้ P(3HB) เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในภาวะขาดแคลนสารอาหารเพื่อความอยู่รอด Macrae และWikenson (1958) กล่าวว่า *Bacillus megaterium* ที่มีปริมาณ P(3HB) สูงจะช่วยชะลอการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) และการตายเนื่องจากขาดไนโตรเจน ต่อมา Sierra และ Gibbons (1962) ศึกษาบทบาทของ P(3HB) ต่อการหายใจและการอยู่รอดของ *Micrococcus halodenitrificans* ซึ่งผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการอยู่รอดมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณ P(3HB) นอกจากนี้ Stokes และParson(1968) ยังได้พบว่า *Sphaerotilus discophorus* ที่มีปริมาณ P(3HB) สะสมอยู่มากจะอยู่รอดได้ดีกว่าเซลล์ที่ไม่มี P(3HB) หรือมีปริมาณน้อย เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Tal และ Oken (1985) ที่พบว่าเซลล์ *Azospirillum brasilense* ที่มีปริมาณ P(3HB) สูง จะ มีความสามารถในการอยู่รอดได้ดีกว่าเซลล์ที่มี P(3HB) ต่ำ

2. การสร้างสปอร์ (sporulation) และการสร้างซีสต์ (encystment)(Dawes และSenior,1973)

P(3HB) เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสปอร์และการสร้างซีสต์ Juniและ Heym (1956) พบว่า *Bacillus cereus* สายพันธุ์ T นำ P(3HB) ไปใช้ในการสร้างสปอร์เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีค่าพีเอชสูง ต่อมา Kominok และ Halvorson (1965) รายงานว่า *B. cereus* สร้างและสะสม P(3HB) โดยใช้กรดอะซีติกเป็นแหล่งคาร์บอน โดยปริมาณ P(3HB) สูงสุดจะอยู่ในช่วงที่เชื้อมีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (exponential phase) หลังจากนั้นปริมาณ P(3HB) จะลดลงเนื่องจากการสร้างสปอร์ และยังได้ศึกษาเมแทบอลิซึมของ P(3HB) และอะซิโตอิน(acetonin) ในเชื้อชนิดเดียวกันนี้พบว่าการสังเคราะห์ P(3HB) จะเริ่มต้นขึ้นหลังจากเชื้อหยุดเจริญเติบโตและสามารถสะสม P(3HB) ได้สูงสุดก่อนเกิดการสร้างสปอร์ เพราะในระหว่างกระบวนการสร้างสปอร์ P(3HB) จะถูกย่อยสลาย นอกจากนี้ Stevenson และ Socolofsky (1996) ได้พบว่าการสะสม P(3HB) โดย *Azotobacter vinelandii* จะเกิดขึ้นในระยะการเจริญเติบโตที่ไม่สมดุล โดยเซลล์จะใช้แหล่งคาร์บอนภายนอกเพื่อใช้ในการสร้างซีสต์ได้เร็วกว่าการตรึงไนโตรเจน

3. เป็นแหล่งอิเล็กตรอน (electron sink)

Jackson และDawes (1976) รายงานว่า *Azotobacter beijerinckii* จะมี activity ของ NADH oxidase ต่ำลงเมื่อมีการจำกัดปริมาณออกซิเจน แต่อัตราส่วน NADH/NAD ภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นทันทีเมื่อออกซิเจนหมดไป แสดงให้เห็นว่าในภาวะที่การจำกัดปริมาณออกซิเจนและมีอิเล็กตรอนมากเกินพอ เซลล์จะเกิดการทำลายอิเล็กตรอนที่มากเกินพอโดยนำไปใช้ในปฏิกิริยารีดักชันแทนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน ดังนั้นกรณีที่ออกซิเจนจำกัดจึงทำให้เกิดการสร้าง P(3HB) ขึ้น

2.9 แนวทางการนำ PHA ไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ (Lee, 1996; Steinbuchel, 1998; Anderson และ Dawes, 1990)

1. การประยุกต์ใช้ในทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม (Chen และ Wu, 2005)

- วัสดุสิ้นเปลืองในงานด้านศัลยกรรม เช่น ใช้ทำหลอดเลือดเทียม เข็มเย็บแผล ไหมเย็บแผล ผ้าซับเลือด และผ้าสมานแผล เป็นต้น

- วัสดุเพื่อการบำบัดและรักษาโรค ได้แก่ แคปซูลบรรจุยาหรือวัคซีนที่ต้องการให้ตัวยาค่อยๆถูกปล่อยออกมาในปริมาณน้อยๆ เป็นเวลานาน หรือใช้ทำเป็นกระดูกเทียมโดยอาศัยสมบัติการเป็น piezoelectric ของ PHA ซึ่งคล้ายกับสมบัติที่มีในกระดูกธรรมชาติ จึงใช้เป็นแผ่นยึดกระดูกซึ่งจะมีผลต่อการสร้างกระดูกขึ้นมาทดแทน

- ด้านทันตกรรม จะนำ PHA มาใช้เป็นวัสดุตัวนำที่ทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นใหม่ในโรคด้านปริทันต์(periodontitis)

-ใช้ PHA เป็นสารตั้งต้นในการผลิต R-(-)-3-hydroxybutyric acids ซึ่งสารนี้เป็นส่วนประกอบสำคัญที่พบในเลือดโดยปกติ มีความเข้มข้นระหว่าง 0.3- และ 1.3 มิลลิโมลาร์ (Zinn และคณะ.2001) โดยสาร R-(-)-3-hydroxybutyric acids สามารถใช้เป็น chiral building blocks สำหรับสังเคราะห์สารเคมีบริสุทธิ์ เช่น ยาปฏิชีวนะ วิตามิน และฟีโรโมน (pheromone) (Mandison และ Huisman, 1999; Luengo และคณะ, 2003)

2. การประยุกต์ใช้ในทางด้านเกษตรกรรมและปศุสัตว์

- ใช้เป็นแคปซูลสำหรับบรรจุยารักษาโรคและวัคซีนต่างๆในสัตว์เลี้ยง เช่น วัคซีนป้องกันโรคระบาด ยาถ่ายพยาธิ และบรรจุยาประเภทที่มีกลไกลการออกฤทธิ์นาน และสามารถกำจัดเมื่อเลิกใช้โดยทิ้งลงใต้ทะเลได้เนื่องจากสามารถย่อยสลายอย่างรวดเร็ว

- ใช้เป็นแคปซูลสำหรับบรรจุปุ๋ย ฮอร์โมน growth factors ยาฆ่าแมลง ยาฆ่าวัชพืช แคปซูลจะค่อยๆสลายทีละน้อยโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินพร้อมกับสารที่บรรจุข้างในถูกปล่อยออกมาให้สารดังกล่าวคงอยู่ในดินหรือตำแหน่งที่ต้องการใช้งานได้เป็นเวลานาน จึงเป็นการช่วยประหยัดเวลา แรงงาน และลดต้นทุนการผลิต นอกจากนี้ยังใช้เป็นพลาสติกคลุมดินรักษาความชื้น ซึ่งเมื่อหมดเวลาการใช้งานจะค่อย ๆ ถูกสลายไปโดยธรรมชาติ (Lee, 1996)

-ใช้ทำแหจับปลา สำหรับใช้ในน้ำทะเลได้เป็นเวลานาน และสามารถกำจัดเมื่อเลิกใช้ได้โดยทิ้งลงใต้ทะเล (ค่าความถ่วงจำเพาะ 1.25) เนื่องจากสามารถย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว (Brandl และคณะ,1990)

3. การประยุกต์ใช้เป็นวัสดุประเภทบรรจุภัณฑ์ หรือส่วนประกอบของอุปกรณ์บางประเภท

- ใช้ผลิตขวดแชมพูที่ประกอบด้วยส่วนฝาที่ต้องการความแข็งแรงและปิดได้ดี

- ใช้ทำบรรจุภัณฑ์บรรจุอาหารประเภทถุง ภาชนะบรรจุอาหารสำเร็จรูป แผ่นฟิล์มถนอมอาหาร

- ใช้ทำหมวกนิรภัยสำหรับจักรยาน รวมทั้งใช้ทำวัสดุที่ใช้ครั้งเดียวทิ้ง เช่น ผ้าอ้อม ผ้าอนามัย ด้ามมีดโกน เป็นต้น

- ใช้ทำวัสดุอื่นๆ เช่น ที่วางลูกกอล์ฟ กาวที่ละลายด้วยความร้อน สารเคลือบผิว แผ่นฟิล์ม บัตรเครดิต วัสดุเส้นใย (โดยถ้าผสม P(3HB) ลงในเส้นใยฝ้าย จะช่วยให้สมบัติในการรับความร้อนและคายความร้อนของเส้นใยช้าลงและเพิ่มความแข็งแรงให้กับเส้นใย เป็นต้น (Lee, 1996; Madison และ Huisman, 1999; Luengo และคณะ, 2003)

ในปี 2010 มีการใช้ PHA ในการทำบรรจุภัณฑ์ใส่เครื่องสำอางซึ่งมีชื่อการค้าว่า Mirel™ bioplastics เป็นการใช้ทดแทน (replace) พอลิพรอพิลีน ซึ่งเป็นการเสนอแนวทางทำให้ขยะที่จะนำไปกำจัดโดยการฝังกลบ (landfills) ลดลง โดยอายุการใช้งานของ Mirel™ bioplastics ขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของบรรจุภัณฑ์ที่ผลิตขึ้น

2.10 การผลิต P(3HB) จากจุลินทรีย์โดยการใช้แหล่งคาร์บอนมากเกินพอและจำกัดสารอาหารบางชนิด

มีการวิจัยการสังเคราะห์และสะสม P(3HB) โดยจุลินทรีย์หลายชนิด โดยในปี 1982 Wakisaka และคณะ พบว่า *Bacillus thuringiensis* สร้าง P(3HB) เมื่อมีความเข้มข้นของโปแตสเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำ และแอมโมเนียมซัลเฟตกระตุ้นให้เกิดการสร้างแกรนูล P(3HB) เพิ่มมากขึ้นในสายพันธุ์ 290-1 ต่อมา Chen และคณะ (1991) รายงานผล การศึกษาการผลิต PHA ใน *Bacillus* สายพันธุ์ต่าง ๆ ดังนี้ *B. megatarium* DSM90 *B. laterosporus* DSM335 *B. subtilis* DSM10 *B. sphaericus* DSM20 *B. cereus* DSM31 *B. amyloliquifaciens* DSM7 *B. licheniformis* DSM394 *B. macerans* DSM2892 *B. circulans* DSM1529 *B. thuringiensis* DSM 2046 *B. mycoides* DSM2048 ใช้วิธีการเพาะเลี้ยง 2 ขั้นตอน โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ขั้นตอนแรกให้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆเติบโตในในอาหารที่มีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วของเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที บ่มเชื้อเป็นเวลา 30 ชั่วโมง ทำการเก็บเซลล์แห้งมาล้างด้วยน้ำ จากนั้นนำเซลล์ที่ล้างแล้วถ่ายลงในอาหารที่ขาดไนโตรเจน เพื่อกระตุ้นการสังเคราะห์พอลิเอสเทอร์ เมื่อจุลินทรีย์เติบโตในอาหารที่มีสารอาหารสมบูรณ์ สายพันธุ์ต่าง ๆ สามารถสังเคราะห์ P(3HB) ได้ในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งปริมาณ P(3HB) ภายในเซลล์ภายใต้สภาวะการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวนี้อยู่ในช่วง 5-20 % ของน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่เมื่อควบคุมการหมักให้อยู่ในภาวะที่มีปริมาณคาร์บอนมากเกินพอและจำกัดปริมาณไนโตรเจน แบคทีเรียสามารถผลิตพอลิเมอร์ได้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งปริมาณ P(3HB) ที่ผลิตได้แตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมอะซีเตตและ 3-ไฮดรอกซีบิวทิเรตลงไปมีผลให้การสังเคราะห์ P(3HB) เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารอาหารที่เติมเพิ่มลงไปทำให้ปริมาณของอะเซติลโค-เอ และ 3-ไฮดรอกซีบิทิริลโค-เอภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น

รัตนศิริ มุทิตากุล (2538) ได้คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิต P(3HB) ได้จากดินจำนวน 30 สายพันธุ์ คัดเลือกได้สายพันธุ์ BA-019 ซึ่งสามารถผลิต P(3HB) ได้ปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์อื่น และสามารถจำแนกชนิดเป็น *Bacillus* sp. เมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และกากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า *Bacillus* sp. ที่แยกได้ใหม่นี้สามารถใช้น้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต P(3HB) ได้ดีกว่าการใช้น้ำตาลชนิดอื่น และเมื่อเลี้ยงในอาหาร MSM โดยใช้กากน้ำตาลปริมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถผลิต P(3HB) ได้ 31.84 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในเวลา 24 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต (1 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งไนโตรเจน

Gouda และคณะ (2001) รายงานผล การศึกษาการผลิต P(3HB) จาก *Bacillus megaterium* ในระดับขวดเขย่า โดยเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ฟรุกโตส กูลโคส ไซโลส แล็คโทส ซูโครส มอลโตส โซเดียมกลูโคเนต และกากน้ำตาล เพื่อที่จะคัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่มีประสิทธิภาพและราคาถูก พบว่ามอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเซลล์ ดีที่สุดสำหรับการผลิต P(3HB) (45.6 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) รองมาคือ กากน้ำตาล (44.6 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) กากน้ำตาลสามารถผลิต P(3HB) ได้ในปริมาณสูงใกล้เคียงกับการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกทำให้ลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการหมักระดับอุตสาหกรรม รวม ทั้งกากน้ำตาลประกอบด้วย trace element และวิตามิน เช่น thiamine, riboflavin, pyridoxine และ niacinamide สำหรับใช้เป็นแหล่งของ growth factor และเมื่อศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของกากน้ำตาล 1-5 เปอร์เซนต์ที่เติมลงในอาหารสำหรับการผลิต พบว่ากากน้ำตาลความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์ได้ดีที่สุดและกากน้ำตาล 2 เปอร์เซนต์เชื้อสามารถผลิต P(3HB) ได้มากที่สุด คือ 46.3 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ แต่พบว่าเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของกากน้ำตาลมากขึ้น ทำให้มีการผลิต P(3HB) ลดลง เช่นเดียวกันกับผลการทดลองเปรียบเทียบการจำกัดปริมาณไนโตรเจน โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารสำหรับการผลิตที่มีความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพด 0.5-7 เปอร์เซนต์ พบว่าน้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์เชื้อสามารถผลิต P(3HB) ได้มากที่สุดเท่ากับ 49.12 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพดมีผลทำให้ความสามารถในการผลิต P(3HB) ลดลง

Quillaguamán และคณะ(2006) ได้คัดแยกเชื้อ *Halomonas boliviensis* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มชอบความเค็มปานกลาง (moderate halophile) จากดินเค็มในประเทศ Bolivia พบว่าเชื้อสามารถสะสม P(3HB) ได้เมื่อเจริญในภาวะที่มีสารอาหารจำกัดและมีปริมาณคาร์บอนมากเกินจำเป็น ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญ ขนาดของเซลล์ และปริมาณของ P(3HB) จากผลการศึกษาพบว่าสามารถผลิต P(3HB) ได้เท่ากับ 54 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ 4.5 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยมีกรดบิวทิริคและโซเดียมอะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอน และเมื่อเลี้ยงเชื้อภายใต้การควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8.0 โดยให้อัตราการกวนที่ 700 รอบต่อนาทีในถังหมักขนาด 2 ลิตร พบว่าได้ปริมาณ P(3HB) เท่ากับ 88 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

Jiang และคณะ (2008) รายงานว่า *Pseudomonas fluorescens* A2a5 สามารถใช้น้ำอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจนในการสังเคราะห์และสะสม P(3HB) ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ความหนาแน่นของเซลล์และความเข้มข้นของ P(3HB) เพิ่มขึ้น ขณะที่น้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำอ้อยและปริมาณโมโนโซเดียมกลูตาเมตลดลง เนื่องจากถูกนำไปใช้ในการสร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์และใช้ในการสะสม P(3HB)

โดยจากการทดลองเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซสเซียส พบว่าได้ความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ 32 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของ P(3HB) เท่ากับ 22 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณเท่ากับ 70 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 96 ชั่วโมง และค่าอัตราการผลิตเท่ากับ 0.23 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงซึ่งจัดว่า *P. fluorescens* A2a5 สามารถสะสม P(3HB) ได้ในปริมาณมากเมื่อเทียบกับ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์อื่นๆที่สามารถสะสม P(3HB) ได้เพียง 1-2 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง จากการศึกษานี้ Jiang และคณะจึงสรุปว่า *P. fluorescens* A2a5 สามารถผลิต P(3HB) ได้ในปริมาณสูงในสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ โดยนำน้ำอ้อยมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนหลักเนื่องจากมีข้อดีคือมีราคาถูกและหาได้ง่าย จึงช่วยลดต้นทุนในการผลิต P(3HB) ได้

Kulpreecha และคณะ(2009) ศึกษาการผลิต P(3HB) เพื่อเพิ่มการผลิต P(3HB) และเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์โดย *Bacillus megaterium* BA-019 ใช้กากน้ำตาลและยูเรียซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูกในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 25 โมลต่อโมล ได้ศึกษาการเลี้ยงเชื้อโดยวิธี fed-batch เพื่อให้ได้ทั้งความหนาแน่นของเซลล์และอัตราการผลิต P(3HB) สูงขึ้น จากการศึกษาการเลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* BA-019 แบบ fed-batch ที่มีการควบคุมการป้อนสารอาหารด้วยวิธี pH-stat พบว่าเมื่อใช้สารอาหารป้อนเข้าที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุให้ผลการเติบโตของเซลล์อย่างรวดเร็วและมีการผลิต P(3HB) เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยผลการศึกษาพบว่าดีกว่าการใช้สารอาหารป้อนเข้าที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน หรือใช้แหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว พบว่าการใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรวมเท่ากับ 400 กรัมต่อลิตร และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 10 โมลต่อโมลในสารป้อนเข้า มีผลให้เพิ่มการผลิต P(3HB) และความหนาแน่นของเซลล์ โดยให้ความเข้มข้นของเซลล์ปริมาณสูงขึ้นมาก โดยได้เท่ากับ 72.57 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณของ P(3HB) เท่ากับ 30.52 กรัมต่อลิตรคิดเป็นปริมาณเท่ากับ 42 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 24 ชั่วโมง และมีอัตราการผลิต P(3HB) สูงขึ้นเป็น 1.27 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

2.11 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสร้างพลังงานและเซลล์ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 10 ในการสร้างเซลล์ ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 50-55 ในการสร้างเซลล์ สำหรับแหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการหมัก ได้แก่

-น้ำมันพืช เช่น น้ำมันมะกอก น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันถั่วเหลือง เป็นต้น ซึ่งการใส่น้ำมันพืชในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจมีจุดประสงค์เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเฉพาะเป็นแหล่งของกรดโอลิอิก กรดลิโนลิอิกและกรดลิโนลินิก หรืออาจใช้เพื่อให้ทำหน้าที่เป็นสารกำจัดฟองก็ได้

-กากถั่วเหลือง (soy bean meal) นิยมใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนและสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ด้วย เนื่องจากมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง

-กากน้ำตาล (Molasses) โดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 2 ชนิดตามแหล่งที่มา คือ กากน้ำตาลอ้อย (sugar cane molasses) และกากน้ำตาลบีท (beat molasses) ซึ่งการจะเลือกใช้กากน้ำตาลชนิดใดเป็นวัตถุดิบนั้น ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศของแต่ละประเทศ

กากน้ำตาล (Solaiman และคณะ, 2006) เป็นแหล่งคาร์บอนที่นิยมนำมาใช้ในการผลิต P(3HB) เนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณมาก หาได้ง่ายและมีราคาถูก นอกจากนั้นยังมีการนำหางนม (Koller และคณะ, 2008) ข้าวสาลี (Van-Thuoc และคณะ, 2008) รำข้าว (Huang และคณะ, 2006) แป้ง (Quillaguáman และคณะ, 2005 ; Halami, 2008) กากตะกอนของน้ำเสีย (Yan และคณะ, 2006) และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำมันมะกอก (Pozo และคณะ, 2002 ; Ribera และคณะ, 2001) มาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อลดต้นทุนในการผลิต P(3HB)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกใช้แหล่งคาร์บอน

- ผลผลิตที่ต้องการ การเลือกใช้ชนิดของแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมัก อาจพิจารณาจากผลผลิตหลักที่ต้องการ โดยเฉพาะในกรณีที่ผลผลิตนั้นเกิดจากการสลายตัวของแหล่งคาร์บอนโดยตรง

-ราคา กระบวนการหมักโดยส่วนใหญ่ต้นทุนการผลิตหลักคือค่าวัตถุดิบที่ใช้เป็นสับสเตรต ดังนั้นราคาของผลผลิตที่ได้จึงขึ้นกับราคาของแหล่งคาร์บอน จึงควรเลือกใช้แหล่งคาร์บอนราคาถูก

-ความบริสุทธิ์ กระบวนการผลิตสารบางประเภท วัตถุดิบที่ใช้ผลิตต้องไม่มีการเจือปนไอออนของโลหะหนัก จึงควรเลือกใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความบริสุทธิ์สูง เช่น น้ำตาลบริสุทธิ์

-กฎหมาย เช่น ประเทศในกลุ่มตลาดร่วมยุโรป จะมีการส่งเสริมการใช้น้ำตาลหรือกากน้ำตาลจากหัวบีท โดยมีการควบคุมราคาต่ำสุดของน้ำตาลบีทและควบคุมปริมาณการนำเข้าน้ำตาลหรือกากน้ำตาลอ้อยอย่างเข้มงวด รวมทั้งมีการควบคุมราคาไม่ให้แข่งขันกับน้ำตาลบีทได้

-วิธีการสเตอริไลส์อาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากการสเตอริไลส์อาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความร้อนภายใต้ความดันสูงจะมีผลต่อแหล่งคาร์บอน เช่น ถ้าใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ควรสเตอริไลส์น้ำตาลแยกจากส่วนประกอบอื่นๆ เพราะที่พีเอชเป็นกลางและอุณหภูมิสูงน้ำตาลจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบไนโตรเจน ทำให้อาหารมีสีน้ำตาลเข้มและอาจมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้บางส่วนหรือหากใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนมักจะมีปัญหาเมื่อใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อเนื่องจากแป้งจะเกิดเป็นเจลทำให้มีความหนืดสูง

สำหรับงานวิจัยนี้มีความสนใจที่จะใช้น้ำอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต P(3HB) เพื่อทำให้ต้นทุนในการผลิตลดลง เนื่องจากอ้อยเป็นพืชที่มีการเพาะปลูกมากในประเทศไทยและเป็นพืชที่สามารถตัดและเก็บเกี่ยวได้หลายครั้ง โดยในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายจะใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบหลักและมีน้ำอ้อยเกิดขึ้นหลายขั้นตอน ซึ่งในน้ำอ้อยจะประกอบไปด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตของจุลินทรีย์อยู่หลายชนิด เช่น น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตส รวมทั้งวิตามินและธาตุอาหารเป็นจำนวนมาก (ตารางที่ 2.4) จึงสามารถนำมาใช้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ได้ การใช้น้ำอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตสารผลิตภัณฑ์ มีข้อดีคือ น้ำอ้อยมีความบริสุทธิ์สูง การเตรียมก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก (pretreatment) มีเพียงเล็กน้อย ที่สำคัญคือเป็นส่วนที่ได้จากต้นกระบวนการของการผลิตน้ำตาลทราย ซึ่งจัดว่าเป็นการประหยัดพลังงาน (energy saving) ถ้าเปรียบเทียบกับน้ำตาลทราย (รูปที่ 2.8) และเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อ การแยกและทำบริสุทธิ์ของสารผลิตภัณฑ์ทำได้ง่าย ใช้ขั้นตอนน้อย เนื่องจากไม่มีสี รวมทั้งการบำบัดของเหลือทิ้งจากน้ำหมัก (effluent treatment) ก็ทำได้ง่ายและสะดวก

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบของน้ำอ้อย (มิตรผลวิจัย, 2551)

องค์ประกอบของน้ำอ้อย	ของแข็งที่ละลายได้ (เปอร์เซ็นต์)
น้ำตาล	75.0 – 94.0
ซูโครส	70.0 – 90.0
กลูโคส	2.0 – 4.0
ฟรุกโตส	2.0 – 4.0
โอลิโกแซคคาไรด์	0.001 – 0.05
เกลือในรูปของ	3.0 – 4.5
กรดอนินทรีย์	1.5-4.5
กรดอินทรีย์	1.0-3.0
กรดอินทรีย์	1.5 –5.5
กรดคาร์บอกซิลิก	1.1 – 3.0
กรดอะมิโน	0.5 – 2.5
อินทรีย์สารอื่นๆ ที่ไม่ใช่น้ำตาล	
โปรตีน	0.5 – 0.6
แป้ง	0.001 – 0.18
พอลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำ	0.03 – 0.50
แวกซ์ ไขมัน ฟอสฟาไทด์	0.04 – 0.15

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

2.12 กระบวนการผลิตน้ำตาลทราย

น้ำตาลทรายดิบเป็นน้ำตาลที่มีผลึกเป็นสีน้ำตาลเข้ม มีความชื้นสูงเนื่องจากผลึกถูกห่อหุ้มไปด้วยกากน้ำตาลที่มีความบริสุทธิ์ต่ำเป็นจำนวนมาก ไม่ผ่านกรรมวิธีการฟอกสี

น้ำตาลทรายขาวมีลักษณะเป็นผลึกขาว มีโพลาไรเซชัน ประมาณ 99 องศาเซลเซียส ปกติผลิตจากอ้อยโดยตรงสำหรับโรงงานที่มีลูกหีบ กระบวนการผลิตในระยะเริ่มต้นจะเหมือนน้ำตาลทรายดิบ จะเริ่มแตกต่างกันตั้งแต่กระบวนการทำน้ำอ้อยให้ใส

1. การขนถ่าย (cane transportation and unloading) หลังจากผ่านกระบวนการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำอ้อย หรือค่า C.C.S. แล้ว อ้อยจะถูกลำเลียงมายังลานพักอ้อย (cane yard) เพื่อทำการชั่งบันทึกน้ำหนักอ้อย ในการปล่อยให้อ้อยหล่นลงบนสะพานอ้อย (cane carrier) โดยอาศัยเครื่องมือช่วยลาก เพื่อเตรียมพร้อมเข้าสู่เครื่องมือชนิดต่างๆ

2. การเตรียมอ้อยก่อนเข้าลูกหีบ (cane preparation) คือ การทำให้ลำอ้อยกลายเป็นชิ้นละเอียดก่อนป้อนเข้าลูกหีบ โดยอาศัยเครื่องฉีก (shredder) ฉีกย่อยอ้อยให้เป็นฝอยละเอียด โดยอาศัยการตีของแท่งค้อนที่เหวี่ยงตัวหมุนลงมา

3. การบดอ้อย (cane milling) อ้อยจะถูกลำเลียงไปโดยสะพานป้อนอ้อย เข้าสู่ลูกหีบชุดที่1 น้ำอ้อยที่สกัดได้ เรียกว่า น้ำอ้อยที่สกัดได้ขั้นแรกซึ่งเป็นน้ำอ้อยแท้ จากนั้นอ้อยจะถูกพ่นด้วยน้ำแล้วนำเข้าลูกหีบชุดต่อไป ทำให้ได้น้ำอ้อยสกัดขั้นที่ 2 ส่วนผสมของน้ำอ้อยทั้งสองส่วนนี้เรียกว่าน้ำอ้อยรวม (mixed juice) ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้น้ำอ้อยรวมในการผลิต P(3HB)

4. ขั้นตอนการทำน้ำอ้อยใส (clarification) ขั้นตอนนี้จะแยกสิ่งสกปรกออกจากน้ำอ้อยโดยการตกตะกอน เช่น

กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายดิบ จะใช้วิธีที่เรียกว่า defecation method โดยนำน้ำอ้อยรวมเข้าหม้ออุ่นน้ำอ้อยเมื่ออุณหภูมิถึง 55 องศาเซลเซียส จึงเติมปูนขาวลงไปจนกระทั่งมีค่าความเป็นกรดด่าง ประมาณ 7.0-7.2 ระยะเวลาผสมไม่ควรเกิน 3 นาที จากนั้นนำเข้าหม้ออุ่นให้น้ำอ้อยมีอุณหภูมิ 102-105 องศาเซลเซียส และผสมกับสารรวมตะกอน (flocculant) สิ่งสกปรกที่ตกตะกอนลงมาเรียกว่า ตะกอนตม (mud) ซึ่งมีประมาณร้อยละ 25 ของน้ำอ้อยใส

กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายขาว จะทำน้ำอ้อยบริสุทธิ์โดยเพิ่มกรรมวิธีฟอกสีน้ำอ้อย เช่น การใช้ระบบซัลฟิเทชัน (sulphitation) ฟอกสีน้ำอ้อยด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์และระบบคาร์บอเนชัน (carbonation) ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งทั้งสองระบบนี้ยังคงต้องใช้น้ำปูนขาวและความร้อนในการทำน้ำอ้อยบริสุทธิ์ ส่วนการแยกตะกอนออกทำให้น้ำอ้อยใสนั้น ระบบซัลฟิเทชันยังคงต้องใช้ถังพักใส เช่นเดียวกับการผลิตน้ำตาลทรายดิบ แต่ระบบคาร์บอเนชันจะใช้เครื่องกรองแบบมีผ้ากรอง

5. ขั้นตอนการทำน้ำอ้อยให้เป็นน้ำเชื่อม (evaporation) น้ำอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ตามระบบดังกล่าวข้างต้น จะถูกส่งเข้าชุดหม้อต้ม หม้อต้มที่ใช้อาจเป็นระบบ 4-6 ชุด หม้อต้มระเหย

เหล่านี้ตั้งเรียงเป็นแถวติดต่อกันโดยใช้ความร้อนจากไอน้ำ สำหรับใบแรกใช้ความร้อนถึง 128 องศาเซลเซียส ไอน้ำที่เกิดขึ้นในหม้อต้มใบแรกจะถูกนำไปใช้ต้มระเหยน้ำอ้อยในหม้อต้มใบที่สอง และไอน้ำจากหม้อต้มใบที่สองจะถูกนำไปใช้ในหม้อต้มใบที่สามเช่นกัน การทำงานของหม้อต้มระเหยจะต่อเนื่องกันจนน้ำเชื่อมมีความเข้มข้น 65 บริกซ์ ภายใต้ภาวะสูญญากาศ

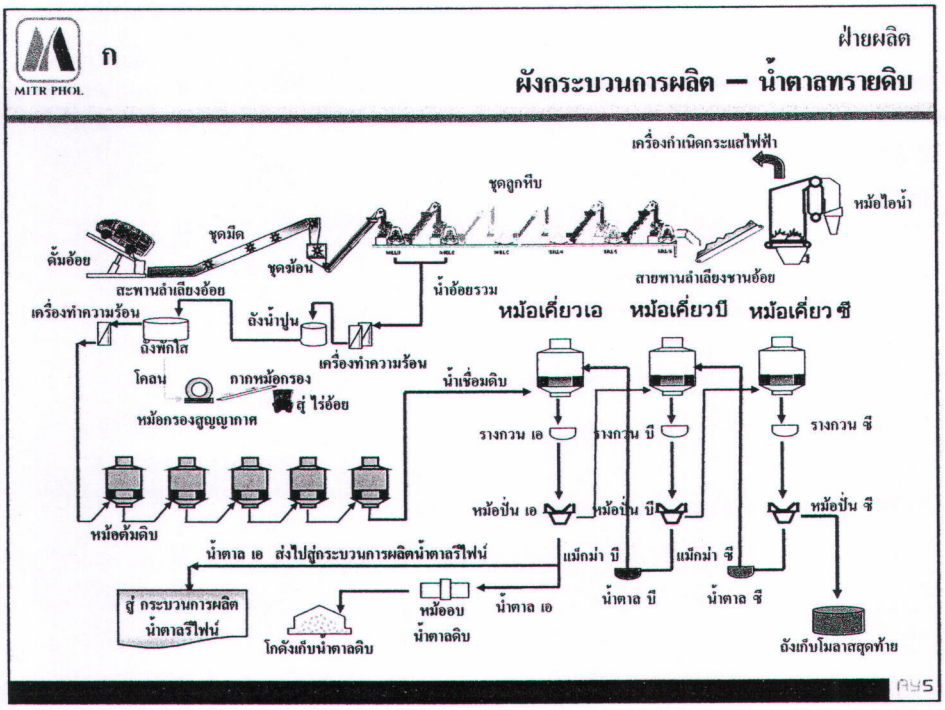
6. ขั้นตอนการต้มเคี่ยวน้ำเชื่อม (boiling) น้ำเชื่อมจากถังพักน้ำเชื่อมจะถูกนำไปต้มเคี่ยวซึ่งใช้ความร้อนต่ำภายใต้สูญญากาศ (vacuum pan) ความร้อนที่ใช้ประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส สูญญากาศประมาณ 26-28 นิ้วของปรอท น้ำเชื่อมจะถูกเคี่ยวจนมีความเข้มข้นมากขึ้น จนกระทั่งเกิดผลึก (crystalline mass) เมื่อน้ำเชื่อมอยู่ในลักษณะที่เต็มไปด้วยผลึกน้ำตาล เรียกว่า แมสซิควิท

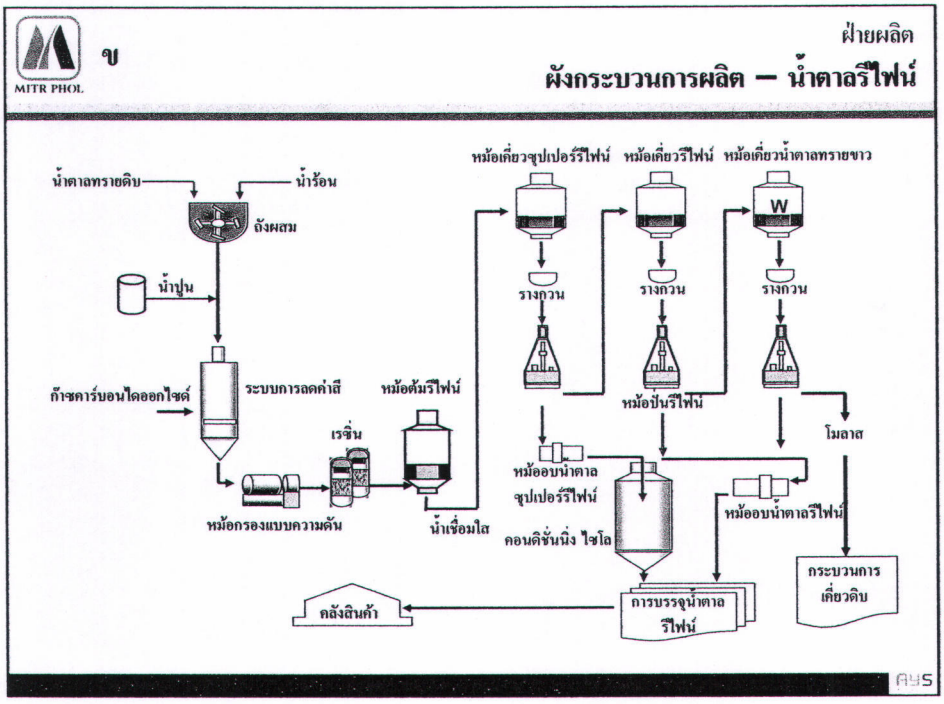
7. ขั้นตอนการเลี้ยงผลึกน้ำตาลทรายในถังพักผลึก (crystallization in crystallizer) เนื่องจากแมสซิควิทที่ปล่อยออกมาจากหม้อเคี่ยว ประกอบด้วยผลึกน้ำตาลทรายและน้ำเลี้ยงผลึก (mother liquor) การเลี้ยงผลึกน้ำตาลทำได้ 2 วิธีคือ

การเคี่ยวให้เกิดผลึกน้ำตาลขึ้นเองจะต้องเคี่ยวจนกระทั่งความเข้มข้นของน้ำเชื่อมเพิ่มถึงภาวะเหนือจุดอิ่มตัวและลดความเข้มข้นลงโดยเติมน้ำหรือน้ำเชื่อม เลี้ยงผลึกน้ำตาลที่เกิดขึ้นให้โตถึงขนาดที่ต้องการ อย่างไรก็ตามการลี้ยงผลึกโดยวิธีนี้ ในปัจจุบันไม่นิยมเนื่องจากการควบคุมปริมาณขนาดและความสม่ำเสมอของผลึกน้ำตาลทำได้ยาก

วิธีกระตุ้นให้เกิดแกนผลึกเฉียบพลัน (shock seeding) โดยเคี่ยวน้ำเชื่อมให้มีความเข้มข้นระดับหนึ่งตามกำหนด แล้วเติมผงเชื้อน้ำตาลซึ่งได้จากการบดน้ำตาลทรายขาวที่อบแห้งละเอียดขนาด 0.03 มิลลิเมตร ลงไปในหม้อเคี่ยว หลังจากนั้น 2-3 นาที ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงถึงระดับหนึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาการกระตุ้นอย่างเฉียบพลัน (shock) น้ำตาลที่ละลายในน้ำเชื่อมจะแยกตัวออกมาเป็นแกนผลึกอย่างต่อเนื่องมากมาย เมื่อแกนผลึกมีมากพอแล้ว หยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำเชื่อมเข้าหม้อเคี่ยวระดับหนึ่งจนความเข้มข้นลดลงถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะในการเลี้ยงแกนผลึกเพื่อให้มีขนาดโตตามต้องการ

วิธีเติมผงเชื้อน้ำตาลตามจำนวนจริง (true seeding) โดยบดน้ำตาลทรายขาวที่อบแห้งแล้วผสมกับแอลกอฮอล์แล้วเติมลงในน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นถึงระดับที่กำหนด ปิดไอน้ำที่เข้าหม้อเคี่ยวจนกระทั่งผงเชื้อน้ำตาลกระจายตัวทั่วน้ำเชื่อม แล้วจึงเปิดไอน้ำเคี่ยวต่อประมาณ 15-30 นาที เติมน้ำเชื่อมเข้าไปอย่างต่อเนื่อง เลี้ยงผลึกที่เกิดขึ้นให้มีขนาดตามต้องการ





รูปที่ 2.8 กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายดิบ (ก) และน้ำตาลรีไฟน์ (ข) (มิตรผลวิจัย, 2551)

2.13 ประโยชน์จากอ้อย

1. การใช้ประโยชน์โดยตรง

1.1 ใช้เป็นอาหารมนุษย์ ส่วนของลำต้นที่เก็บน้ำตาลสามารถนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ได้หรือบีบเอาน้ำอ้อยเพื่อบริโภคโดยตรง นอกจากนี้ยังใช้ลำต้นประกอบอาหารหรือนำมาใช้เป็นยารักษาโรค

1.2 ใช้เป็นอาหารสัตว์ ใบ ยอด และส่วนของลำต้นที่ยังอ่อนใช้เป็นอาหารสัตว์ แต่ถ้าต้องการให้ ได้ผลดีควรใช้วิธีหมักก่อนให้สัตว์กิน

1.3 ใช้เป็นเชื้อเพลิง ในอนาคตเมื่อเชื้อเพลิงที่ให้จากไม้หายาก อาจนำใบอ้อยแห้ง (trash) มาใช้เป็นแหล่งของพลังงานและเชื้อเพลิงที่สำคัญได้ เพราะใบอ้อยแห้งให้พลังงานค่อนข้างสูงมาก

1.4 ใช้เป็นวัตถุคลุมดินหรือบำรุงดิน ใบอ้อยแห้งเมื่อใช้คลุมดินจะช่วยรักษาความชื้น ป้องกันวัชพืช และเป็นอาหารของจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งจุลินทรีย์บางพวกสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ทำให้ไนโตรเจนในดินเพิ่มขึ้น สำหรับรากและเหง้าของอ้อยที่อยู่ในดินเมื่อเน่าเปื่อยผุพังก็จะเป็นปุ๋ยแก่ดิน

2. การใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม

ประโยชน์ที่สำคัญของอ้อยก็คือ เป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมน้ำตาล ในทางเคมี น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้จากอ้อยเป็นน้ำตาลซูโครส นอกจากนั้นก็มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโทสอยู่ด้วย ซึ่งทั้งสองชนิดนี้รวมเรียกว่าน้ำตาลอินเวิร์ต (invert sugar) โดยในทางการค้าน้ำตาลจากอ้อยมีชื่อเรียกต่างๆ กัน ตามความบริสุทธิ์และกรรมวิธีในการผลิต เช่น น้ำตาลแดงหรือน้ำตาลทรายแดง (brown sugar, gur, jaggery, muscovado) น้ำตาลดิบหรือน้ำตาลทรายดิบ (raw sugar) น้ำตาลทรายขาว (white sugar หรือ plantation white sugar) น้ำตาลทรายบริสุทธิ์ หรือน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (refined sugar)

ในการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยโดยตรงนั้นมีผลพลอยได้ (by-products) เกิดขึ้นหลายอย่าง ที่สำคัญได้แก่ ชานอ้อย กากตะกอน (filter mud, filter cake) และกากน้ำตาล (molasses) ทั้งน้ำตาลและผลพลอยได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง