บทความวิชาการ

พลาสติกชีวภาพ: นวัตกรรมของผลิตภัณฑ์สีเขียว

พิชาภัค สมยูรทรัพย์*

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันพลาสติกได้เข้ามามีบทบาทสำคัญแทนการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและได้กลายมาเป็นส่วนหนึ่งของชีวิต พลาสติกสังเคราะห์ที่ได้จากการผลิตด้วยปิโตรเลียมจะไม่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติและยังก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้นในเรื่องการจัดการของเสียหรือขยะ ซึ่งสิ่งเหล่านี้นำไปสู่การเกิดภาวะโลกร้อนและมลพิษ พลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการแก้ปัญหาทางสิ่งแวดล้อม พลาสติกชีวภาพสามารถย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ เนื่องจากปลดปล่อยผลผลิตสุดท้ายที่เกิดจากการผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ทำให้ได้ น้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และมีเทน (ในกรณีเกิดการย่อยสลายแบบไร้อากาศ) ปัจจุบันชนิดของพลาสติกชีวภาพได้มีการพัฒนาขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยใช้ polycaprolactone (PCL), polylactic acid (PLA), polybutylene succinate (PBS) และ polybutylene succinate-*co*-adipate (PBSA) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่นำมาใช้ในการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางการค้า ดังนั้นบทความนี้ได้อธิบายถึงชนิดของพลาสติกชีวภาพและกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ตลอดจนวิธีคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้

คำสำคัญ: พลาสติกชีวภาพ พลาสติกย่อยสลายได้

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: peechapack@swu.ac.th

Bioplastics: Innovation of Green Products

Peechapack Somyoonsap*

ABSTRACT

In recent times, plastics have been used to substitute natural products in many areas and have become an indispensable part of our lives. Synthetic plastics derived from petroleum do not degrade naturally and this leads to increasing environmental problems with waste management. These materials increase the global warming and pollution. Biodegradable plastic is an alternative way to solve global environmental problems. Bioplastics are degraded by microorganisms in the natural environmental and produce microbial metabolic end-products such as water, carbon dioxide and methane (in the case of anaerobic degradation). To date, some bioplastic types have been developed. Polycaprolactone (PCL), polylactic acid (PLA), polybutylene succinate (PBS) and polybutylene succinate-*co*-adipate (PBSA) are the most important materials used in commercial biodegradable plastics. Thus, this article reviews the types of bioplastics and biodegradation processes along with microorganisms screening.

Keywords: bioplastics, biodegradable plastic

Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University
Corresponding author, e-mail: peechapack@swu.ac.th

บทนำ

การเพิ่มขึ้นของประชากรในโลกที่สูงขึ้นนำไปสู่การสะสมของเสียต่างๆ มากมายทั้งที่สามารถย่อยสลายได้เองและไม่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ เช่น พลาสติกที่เราใช้กันอยู่ในชีวิตประจำวัน เมื่อสะสมในสิ่งแวดล้อมจำนวนมาก จะทำให้ชั้นบรรยากาศของโลกเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วและเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดสภาวะโลกร้อน เนื่องจากพลาสติกย่อยสลายได้ยาก ต้องใช้เวลานานถึงหลายล้านปีในการย่อยสลาย เมื่อนำมาเผาก็จะทำให้เกิดมลพิษและเกิดสภาวะเรือนกระจกเพิ่มมากขึ้น เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งถ้ามีปริมาณสูง จะขึ้นสู่ชั้นบรรยากาศทำให้สะท้อนความร้อนจากพื้นโลกออกไปยังนอกโลกได้ไม่ทัน จึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะทางอากาศ พลาสติกที่ใช้กันอยู่ทั่วโลกผลิตจากสารปิโตรเคมีปีละประมาณ 140 ล้านตัน ซึ่งพลาสติกที่ใช้แล้วและที่เหลือใช้ส่วนใหญ่จะย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติได้ยาก เนื่องจากมีโครงสร้างที่ซับซ้อน และจุลินทรีย์ยังไม่สามารถปรับตัวในการผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพอลิเมอร์สังเคราะห์นี้ได้ เป็นผลให้มีการสะสมของพลาสติกเหล่านี้อยู่เป็นจำนวนมากในสิ่งแวดล้อม [1]

พลาสติก เป็นสารสังเคราะห์ประเภทพอลิเมอร์ที่สร้างขึ้นมาจากสารประกอบอนินทรีย์และอินทรีย์ของ คาร์บอน ซิลิคอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ออกซิเจน และคลอไรด์ โดยผ่านกระบวนการ polymerization (polyaddition หรือ poly-condensation) วัตถุดิบเริ่มต้นที่ใช้ทำพลาสติกจะสกัดมาจากน้ำมัน ถ่านหิน หรือก๊าซธรรมชาติ [2] โดยทั่วไปจะแบ่งพลาสติกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ thermoplastic และ thermoset plastic [3] โดย thermoplastic เป็นพลาสติกที่ละลายเป็นของเหลวได้เมื่อโดนความร้อนหรือความเย็นจัด มีความเปราะบาง แตกง่าย โมเลกุลขนาดใหญ่ สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกครั้ง มีลักษณะเป็นโซ่ตรง (linear chain) เกิดจากโมเลกุลเดี่ยวเชื่อมต่อกันแบบปลายต่อปลาย (end-to-end) ตรงตำแหน่งคาร์บอนด้วยแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลชนิดต่างๆ เช่น แรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals), แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole interactions) และ พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) [4] ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิและระยะห่างระหว่างโมเลกุล ตัวอย่าง thermoplastic เช่น polyethylene, nylon และ polystyrene (aromatic rings) เป็นต้น พลาสติกอีกประเภทคือ thermoset plastic เป็นพลาสติกที่มีความแข็งแรงทนทาน และมีรูปร่างถาวร เมื่อผ่านกระบวนการผลิตด้วยความร้อนและแรงอัดจะไม่สามารถหลอมละลายเพื่อนำกลับมาผลิตใหม่ได้ เนื่องจากความร้อนในกระบวนการ polymerization จะทำให้เกิดการรวมตัวกัน (condensation) ระหว่างโมเลกุลที่มาเชื่อมต่อกัน และปลดปล่อยผลิตภัณฑ์ข้างเคียง (by-products) ที่เป็นสารโมเลกุลเล็กๆ ออกมา เช่น น้ำ และ HCl [5] ทำให้ไม่สามารถคืนสภาพเดิมได้ [6] ตัวอย่างของ thermoset plastic เช่น polyester, polyurethane และ melamine เป็นต้น ดังนั้นการสะสมของพลาสติกที่ใช้แล้วและที่เหลือใช้จำนวนมากจึงเป็นปัญหาในการกำจัดพลาสติกรวมทั้งปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจ ด้วยเหตุผลนี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์ในหลายๆ ประเทศจึงเริ่มทำการศึกษาและวิจัยหาผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติและไม่เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อม [7] โดยในปัจจุบันทั้งภาครัฐและเอกชนได้มีการร่วมรณรงค์กันงดใช้ถุงพลาสติก และได้เริ่มมีการศึกษาวิจัยคิดค้นพลาสติกชีวภาพขึ้นมาซึ่งนอกจากจะเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมแล้วยังสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติโดยอาศัย

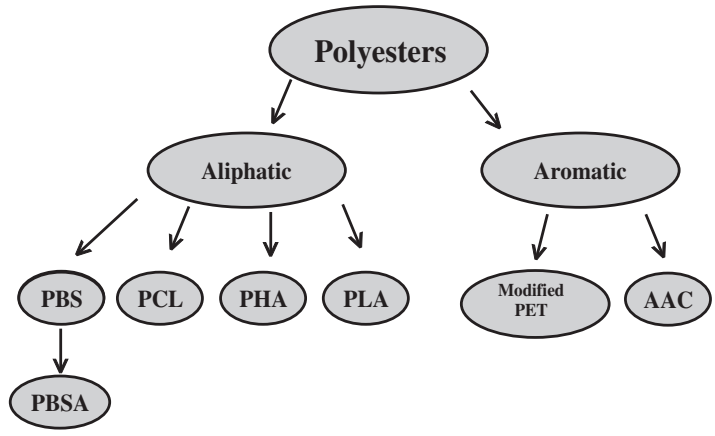
กลไกการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และจุลินทรีย์ในธรรมชาติ เมื่อย่อยสลายหมดจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น น้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มวลชีวภาพ (biomass) และ ก๊าซมีเทน [8] ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของพืชต่อไปโดยไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและถึงแม้จะปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกแต่ก็มีปริมาณที่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตพลาสติกจากปิโตรเคมี

พลาสติกชีวภาพ

พลาสติกชีวภาพ (bioplastics) หมายถึงพลาสติกที่ย่อยสลายได้ซึ่งผลิตขึ้นจากวัสดุทางธรรมชาติ เช่น อ้อย ข้าวโพด มันสำปะหลัง แป้ง โปรตีนจากถั่ว เป็นต้น แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

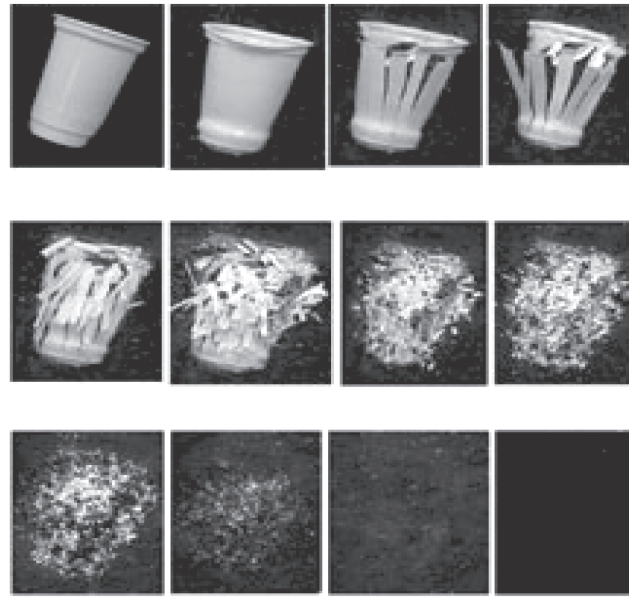
ประเภทแรกเป็นพลาสติกที่มีส่วนผสมของพอลิเมอร์บางชนิด เช่น polyvinyl alcohol และ polyesters กับแป้ง ซึ่งเป็นสายโซ่พอลิเมอร์ที่เกิดจากการเรียงต่อกันของน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) การผสมกันระหว่างพอลิเมอร์กับแป้งมากกว่า 60% จะทำให้พลาสติกสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ สำหรับการผลิตที่ใช้แป้ง 100% จะทำให้พลาสติกชนิดนี้ดูดซับความชื้นได้ดีเหมาะสำหรับนำมาทำเป็นแคปซูลยา นอกจากนี้เมื่อเติมสารเพิ่มความยืดหยุ่น เช่น sorbitol และ glycerine ผสมกับแป้งจะทำให้พลาสติกทนความร้อนได้สูงขึ้น และพบว่าตลาดการผลิตพลาสติกชีวภาพชนิดนี้มีถึง 50% ของพลาสติกชีวภาพทั้งหมด

ประเภทที่สอง พลาสติกที่เป็นพอลิเอสเทอร์ โดยพอลิเอสเทอร์สามารถถูกย่อยสลายได้เนื่องจากเชื่อมกันด้วยพันธะเอสเทอร์ (ester linkage) สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ อะลิฟาติก (aliphatic) และ อะโรมาติก (aromatic) ดังรูปที่ 1 [9] โดยปัจจุบันมีการผลิตพอลิเอสเทอร์ในกลุ่มอะลิฟาติกเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากสายโซ่พอลิเมอร์ถูกสลายพันธะได้ง่ายกว่า นอกจากนี้มีการปรับปรุงโครงสร้างโดยการผสมกันระหว่างอะลิฟาติก และอะโรมาติกให้เป็นโคพอลิเมอร์ (aliphatic-aromatic copolyester) ตัวอย่างพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ และอยู่ในกลุ่มอะลิฟาติก เช่น polyhydroxyalkanoates (PHA), polylactic acid (PLA), polycaprolactone (PCL), polybutylene succinate (PBS) และ polybutylene succinate-*co*-adipate (PBSA) โดยชนิดที่มีความสำคัญที่สุด คือ poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) และ poly (3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate) (PHBV) ซึ่งเป็นพลาสติกชีวภาพ ที่ได้มาจากจุลินทรีย์และพืชที่มีการตัดต่อทางพันธุกรรม [10] มีการนำพลาสติกชีวภาพนี้ไปใช้แทนพลาสติกสังเคราะห์ (เช่น polypropylene และ polyethylene) สำหรับการผลิตบรรจุภัณฑ์ อุตสาหกรรมยา และ อุตสาหกรรมทางการเกษตร เป็นต้น [11] จากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นพบว่า ญี่ปุ่นเป็นประเทศแรกที่ได้นำพลาสติกชีวภาพมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับอิเล็กทรอนิกส์ที่มีการต้านไฟฟ้าสูงรวมทั้งในการผลิตรถยนต์ โดยบริษัทโตโยต้าเป็นรายแรกของโลกที่ใช้ PLA ในการผลิตชิ้นส่วนรถยนต์และปลอกครอบยางอะไหล่รถยนต์ ในทวีปยุโรปมีการใช้พลาสติกชีวภาพมากกว่า 60% ของตลาดการผลิตวัสดุที่ย่อยสลายได้ สำหรับประเทศไทยพลาสติกชีวภาพถือว่าเป็นนวัตกรรมใหม่ในการเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น อ้อย และแป้งข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งพลาสติกที่ได้รับความนิยมในการผลิตอยู่ในขณะนี้มี 2 ชนิดคือ PLA และ PHAs



รูปที่ 1 พอลิเอสเทอร์ที่ประกอบด้วย aliphatic และ aromatic (ดัดแปลง [9])

1. Polylactic acid (PLA) มีลักษณะเป็นพอลิเอสเทอร์อะลิฟาติกสายตรง (linear aliphatic polyester) ผลิตจากพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ ข้าวโพด อ้อย และมันสำปะหลัง ด้วยกระบวนการ polymerization ของกรดแลคติก (lactic acid) โดยกระบวนการผลิตทำได้โดยนำพืชเหล่านี้ไปบดหรือโม่ให้ละเอียดเป็นแป้ง จากนั้นทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและนำไปหมัก (fermentation) ด้วยจุลินทรีย์ เช่น *Lactobacillus brevis* เป็นต้น เกิดเป็นกรดแลคติกซึ่งเป็นโมเลกุลเดี่ยวที่จะนำไปเป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลาสติกโดยผ่านกระบวนการทางเคมี เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีให้อยู่ในรูปวงแหวน เรียกว่า แลคไทด์ (lactide) จากนั้นนำมากลั่นในระบบสุญญากาศเพื่อเปลี่ยนโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ของแลคไทด์ให้มีสายยาวขึ้นเรียกว่า polylactic acid ซึ่งความยาวของสาย PLA เป็นตัวกำหนดให้ PLA มีคุณสมบัติเปลี่ยนไปตามลักษณะการใช้งาน นอกจากนี้ PLA ยังมีคุณสมบัติพิเศษคือ มีความใส อย่างไรก็ตาม PLA จะไม่ถูกย่อยสลายได้เองในธรรมชาติแต่จะย่อยสลายเมื่อนำไปฝังกลบในดินดังรูปที่ 2 [12] โดยทั่วไป PLA จะมีราคาแพงและสามารถนำไปใช้ในงานทางการแพทย์ได้ เช่น ไหมละลาย เนื่องจากมีคุณสมบัติเข้ากับเนื้อเยื่อของคนและสัตว์ [13] ในการย่อยสลายนี้จะผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ซึ่งเอนไซม์ที่ย่อยสลาย PLA ได้แก่ PLA depolymerase, esterase, proteinase K, pronase และ bromelain [14] PLA สามารถย่อยสลายได้เมื่ออยู่ในดินที่มีอุณหภูมิ 60 ˚C หรือสูงกว่าเป็นเวลามากกว่า 2 สัปดาห์ ภายหลังการย่อยจะทำให้เกิดสารประกอบที่ละลายน้ำได้ (water-soluble compounds) และกรดแลคติก ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และชีวมวลโดยจุลินทรีย์ ซึ่งได้มีการรายงานเกี่ยวกับการย่อยสลาย PLA oligomers (มวลโมเลกุลประมาณ 1,000) โดยเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *Penicillium roquefort* [15] และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม actinomycete เช่น *Amycolatopsis* sp. [16] รวมทั้งแบคทีเรียทนร้อน *Bacillus brevis* [17] นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *Rhizopus delemerlipase* [18] สามารถย่อยสลาย PLA ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 2,000 โดยใช้เอนไซม์ esterase



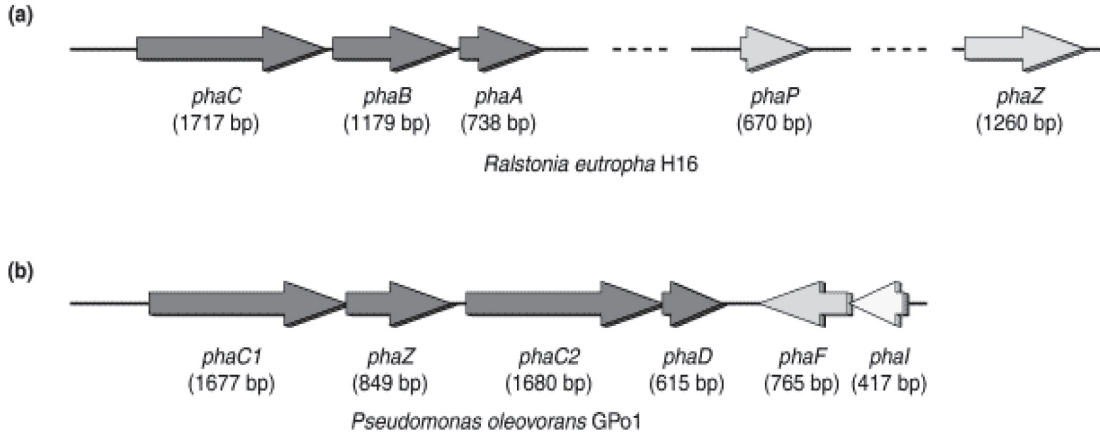
รูปที่ 2 ขั้นตอนการย่อยสลาย PLA เป็นเวลา 45 วัน [12]

2. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) เป็นพลาสติกชีวภาพที่ได้จากการสะสม PHA ในตัวจุลินทรีย์ที่มีการเจริญในสภาวะที่จำกัดด้วยสารอาหาร ซึ่งพอลิเมอร์นี้จะมีขนาดใหญ่และถูกส่งผ่านมาสะสมไว้ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้นแบคทีเรียจึงมีการหลั่งเอนไซม์ extracellular hydrolases เพื่อเปลี่ยนพอลิเมอร์นี้ให้เป็นโมโนเมอร์ (monomer) ของ hydroxyl acid ตัวอย่าง พลาสติกชีวภาพในกลุ่ม PHAs เช่น polyhydroxybutyrate (PHB) เมื่อถูกย่อยสลายจะได้ *(R)*-3-hydroxybutyric acid [19] ส่วน poly (3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate) (PHBV) เมื่อถูกย่อยสลายแล้วจะได้ 3-hydroxybutyrate และ 3-hydroxyvalerate [20] ซึ่งโมเลกุลเดี่ยวที่ได้จะมีขนาดเล็กและละลายน้ำได้เพื่อที่จะแพร่ผ่านผนังเซลล์ซึ่งเป็นบริเวณที่เกิดเมแทบอลิซึมของ β-oxidation และ tricarboxylic acid (TCA) เพื่อเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำภายใต้สภาวะที่มีอากาศ [21] ในกรณีภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศจะทำให้เกิดก๊าซมีเทนเป็นผลผลิต

PHA เป็นพอลิเอสเทอร์ที่ประกอบด้วยโมเลกุลคาร์บอนต่อกันตั้งแต่ 5 ถึง 14 อะตอม (medium-chain length, mclPHA, C5-C14) หรือมากกว่า 14 อะตอม (long-chain length, lclPHA, >C14) แม้ว่า PHA จะมีโครงสร้างใกล้เคียงกับ PHB แต่ส่วนใหญ่แล้วจุลินทรีย์จะสังเคราะห์ PHB ได้ดีกว่าแต่จะเปลี่ยนไปเป็น PHA ได้ยากกว่า ทำให้ต้องมีการนำเทคนิคทางรีคอมบิแนนท์ (recombinant technology) เข้ามาใช้ในจุลินทรีย์เพื่อผลิตพอลิเมอร์ให้มีสายที่ยาวขึ้น สำหรับจุลินทรีย์ที่ผลิต PHA ได้แก่ *Pseudomonas oleovorans* ซึ่งอาศัยเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิต โดยการควบคุมของ *phaC1ZC2D* operon [7] ดังรูปที่ 3(b) ใน operon จะประกอบด้วยยีน *phaC1* และ *phaC2* ที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ polymerases (ยีน *phaC1* และ *phaC2* encode โปรตีน PhaC1 และ PhaC2 ตามลำดับ), ยีน *phaZ* ที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ depolymerase (ยีน *phaZ* encode โปรตีน PhaZ) และ ยีน *phaD* encode โปรตีน PhaD ซึ่งยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด โดยเอนไซม์ polymerases ทั้ง 2 ชนิดนี้จัดอยู่ใน subfamily

ของ α/β hydrolase ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการรวมกันของอนุพันธ์ (*R*)-3-hydroxyacyl-CoA เพื่อให้เกิดการรวมตัวเป็น PHA สะสมในเซลล์และยังพบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีลำดับกรดอะมิโน (amino acid sequence) คล้ายกันประมาณ 50% สำหรับโปรตีน PhaZ พบอยู่บนผิวของ PHA แกรนูล (granule surface) ประกอบด้วย conventional lipase box คือ มีความเหมือน (homology) กับเอนไซม์ depolymerases ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายพันธะพอลิเอสเทอร์ของ PHA เพื่อทำให้เกิดการปลดปล่อยอนุพันธ์ของ hydroxyacyl-CoA จาก PHA ดังรูปที่ 4 นอกจากนี้ยังพบยีน *phaF* และ *phaI* ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ PHAs ที่อยู่บริเวณด้านหลัง (downstream) ของ *phaC1ZC2D* operon ดังรูปที่ 3(b) โปรตีน PhaF มีลักษณะคล้ายโปรตีนฮีสโตน H1 (histone-H1-like protein) โดยทำหน้าที่คือ สร้างความเสถียร (stabilization) ให้ PHA แกรนูลในเซลล์และยังทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม (regulator) ในการยับยั้งการทำงานของ *phaC1ZC2D* operon และยีน *phaI* ในการสังเคราะห์ PHA แกรนูล สำหรับโปรตีน PhaI ทำหน้าที่ให้ความเสถียรแก่โครงสร้าง PHA แกรนูลในเซลล์เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าการสร้าง PHA ในเซลล์ ในกรณีที่ไม่มีสารตั้งต้นของ PHA (PHA precursor) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะทำให้ไม่มีการแสดงออก (expression) ของ *phaC1ZC2D* operon และยีน *phaI* แต่ถ้าเมื่อมีการสังเคราะห์โมโนเมอร์ของ PHAs ในเซลล์จะทำให้ยีน *phaF* ไม่ทำงาน จึงเกิดการผลิต PHA สะสมในเซลล์

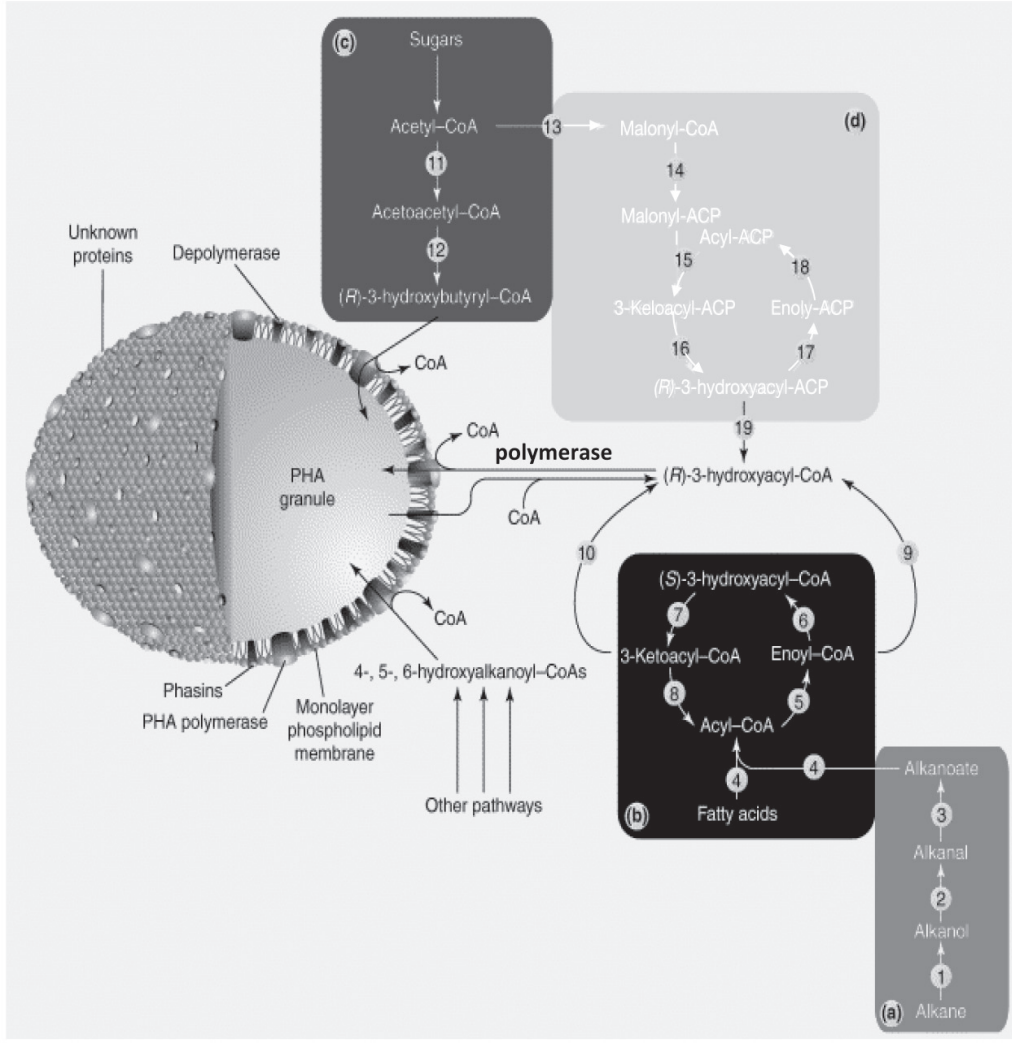
PHB ผลิตได้จากจุลินทรีย์ *Ralstonia eutropha* (เดิมคือ *Alcaligenes eutrophus*) [22] และ *Bacillus megaterium* โดยใช้แหล่งวัตถุดิบจากน้ำตาลหรือแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนเป็น acetyl CoA ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ใช้ผลิต PHB ในการสังเคราะห์ PHB จาก *Ralstonia eutropha* ถูกควบคุมโดย *phaCBA* operon [7] โดย encode การสร้างเอนไซม์ 3 ชนิด (รูปที่ 3(a)) คือ 1. ยีน *phaA* encode โปรตีน PhaA ซึ่งเป็นเอนไซม์ β-ketothiolase ทำหน้าที่ในการเร่งให้เกิดการรวมตัวของ acetyl CoA ได้เป็น acetoacetyl-CoA 2. ยีน *phaB* encode โปรตีน PhaB เป็นเอนไซม์ NADPH-oxidoreductase ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ acetoacetyl-CoA ไปเป็น (*R*)-3-hydroxybutyryl-CoA และ 3. ยีน *phaC* encode โปรตีน PhaC เป็นเอนไซม์ PHB polymerase ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา polymerization สาร (*R*)-3-hydroxybutyryl-CoA ได้เป็นพอลิเมอร์ของ PHB โดยพบว่าเอนไซม์จะทำงานได้ดีเมื่อสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่มีโมเลกุลคาร์บอนต่อกันน้อยกว่า 5 อะตอม นอกจากนี้ยังพบยีนอีก 2 ชนิดได้แก่ ยีน *phaZ* และ *phaP* ที่ encode โปรตีน PhaZ และ PhaP ตามลำดับ ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสลาย (catabolism) และสร้างความเสถียรในการสะสม PHB ในเซลล์ โดยโปรตีน PhaZ ซึ่งเป็นเอนไซม์ depolymerase ที่มีโครงสร้างคล้ายเอนไซม์ esterase ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย (catalyse) พอลิเมอร์เพื่อปลดปล่อย (*R*)-3-hydroxybutyrate สำหรับโปรตีน PhaP (phasin) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งจะมีอยู่เป็นจำนวนมากในระหว่างการสังเคราะห์ PHB โดยช่วยในการจับกันเป็นเม็ดเล็กๆ สะสมอยู่ในเซลล์ และยังช่วยในการควบคุมขนาดและจำนวนของเม็ด PHB ที่สังเคราะห์ นอกจากนี้การสะสมของ PHB ยังขึ้นกับการทำงานของโปรตีน PhaC ในเซลล์เช่นกัน ดังนั้นแบคทีเรียที่ได้ทำการตัดต่อยีนเพื่อให้สร้างเอนไซม์ polymerase จำนวนมากจะทำให้เกิดการสะสม PHB อยู่เป็นจำนวนมากเช่นกันซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุลต่ำ ในกรณีที่จุลินทรีย์มีการผลิต PhaC ต่ำจะทำให้มีการสะสมพอลิเมอร์ลดลงได้



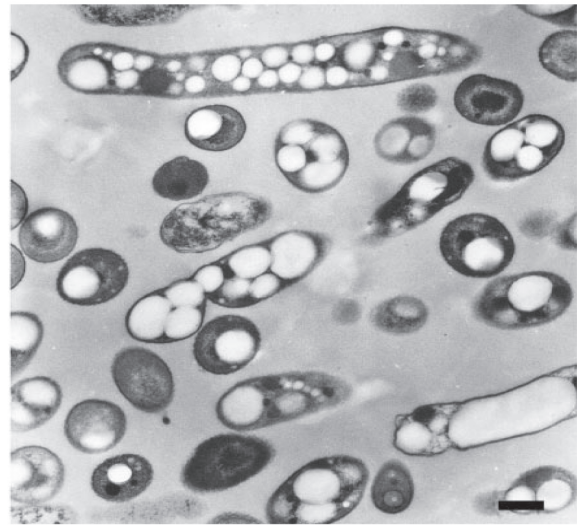
รูปที่ 3 หน่วยควบคุมการแสดงออกของยีนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์พลาสติกชีวภาพ (a) *phaCBA* operon และยีนที่เกี่ยวข้องสำหรับการสังเคราะห์ PHBs ใน *Ralstonia eutropha* H16 (b) *phaC1ZC2D* operon และยีนที่เกี่ยวข้องสำหรับการสังเคราะห์ PHAs ใน *Pseudomonas oleovorans* ([7])

ทั้งพอลิเมอร์ของ PHA และ PHB จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ต่างๆ เนื่องจากมียีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการย่อยสลาย ได้แก่ PHA depolymerases ที่สร้างจาก *Paucimonas lemoignei* [23] PHB depolymerases ที่สร้างจาก *Pseudomonas stutzeri* [24] และยังพบเอนไซม์ endo esterase เป็นต้น รูปที่ 5 แสดงการสะสม PHB ในเชื้อ *Ralstonia eutropha* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่สะสม PHB ไว้ในเซลล์เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ขาดแคลนสารอาหาร [25]

การผลิตเม็ดพลาสติกจากจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมมี 3 ปัจจัยหลักที่สำคัญคือ 1. สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อให้เกิดการสังเคราะห์เม็ดพลาสติก โดยทั่วไปจะจำกัดปริมาณสารอาหารเพื่อให้จุลินทรีย์มีการเจริญไปอย่างช้าๆ 2. การใช้สารตั้งต้นการผลิตที่ราคาไม่แพงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์และ 3. เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่าย จากการศึกษากระบวนการสังเคราะห์และกลไกควบคุมการสะสมพลาสติกชีวภาพในเซลล์จุลินทรีย์นี้ทำให้มีการสร้างจุลินทรีย์ที่ผ่านการตัดต่อยีนหรือการกลายพันธุ์เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถสังเคราะห์พลาสติกได้สูงและใช้วัตถุดิบซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูก เช่น กากน้ำตาล ซูโครส แลคโตส กลีเซอรอล น้ำมัน และมีเทน เป็นต้น ในปี ค.ศ. 1982 บริษัท ICI เป็นเจ้าแรกที่มีการผลิตพลาสติกชีวภาพ ภายใต้ชื่อ Biopol® โดยนำมาผลิตเป็นขวด เส้นใย ยาง เป็นต้น นอกจากนี้ยังนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ ได้แก่ การผลิตเอ็นเย็บแผล เครื่องมือและอุปกรณ์เฉพาะทางการแพทย์ เป็นต้น



รูปที่ 4 โครงสร้างแกรนูลของ PHA และกลไกการสังเคราะห์และการย่อยสลายของ PHBs และ PHAs **(a)** alkane oxidation pathway ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ (1) alkane 1-monooxygenase (2) alcohol dehydrogenase (3) aldehyde dehydrogenase **(b)** fatty-acid-β-oxidation ประกอบด้วยเอนไซม์ (4) acyl-CoA ligase (5) acyl-CoA dehydrogenase (6) enoyl-CoA hydratase (7) 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (8) 3-ketothiolase (9) *(R)*-enoyl-CoA hydratase (10) 3-ketoacyl-CoA reductase **(c)** biosynthesis from carbohydrates ประกอบด้วยเอนไซม์ (11) β-ketothiolase (12) NADPH-dependent acetoacetyl-CoA reductase และ **(d)** *de novo* fatty acid synthesis ประกอบด้วยเอนไซม์ (13) acetyl-CoA carboxylase (14) ACP-malonyltransferase (15) 3-ketoacyl-ACP synthase (16) 3-ketoacyl-ACP reductase (17) 3-hydroxyacyl-ACP reductase (18) enoyl-ACP reductase (19) 3-hydroxyacyl-ACP-CoA transacylase, ACP: acyl carrier protein ([7])



รูปที่ 5 การสะสม PHB ในเชื้อ *Ralstonia eutropha* [25]

3. Polycaprolactone (PCL) เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ง่ายต่อการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ โดยสามารถถูกย่อยด้วย PCL-degrading bacteria เช่น *Alcaligenes faecalis* ที่แยกได้จากธรรมชาติ [26] PCL สังเคราะห์ได้จากกระบวนการ polymerization ของ ε-caprolactone (6-hexanolide) มีจุดหลอมเหลวที่ 60˚C ราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับ PHB แต่ยังมีข้อจำกัดในการนำมาขึ้นรูปเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ PCL ถูกย่อยสลายโดยอาศัยเอนไซม์ PCL depolymerase, lipase และ esterase [27] แต่ไม่สามารถถูกย่อยด้วย PHB depolymerase [28]

4. Modified polyethylene terephthalate (Modified PET) เป็นพลาสติกชีวภาพที่เกิดจากการเปลี่ยนโครงสร้าง polyethylene terephthalate (PET) ให้ง่ายต่อการย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ ซึ่ง PET เป็นพลาสติกสังเคราะห์ในกลุ่ม thermoplastic ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ การสังเคราะห์ PET เกิดจากปฏิกิริยา polymerization ที่มี *bis*-β-hydroxyterephthalate เป็นโมโนเมอร์ กับเอทธิลีนไกลคอล ในการสังเคราะห์โมโนเมอร์จะเกิดได้ 2 ปฏิกิริยา คือ 1. ปฏิกิริยา esterification เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง terephthalic acid และเอทธิลีนไกลคอล โดยมีน้ำเป็นผลผลิตข้างเคียง 2. ปฏิกิริยา transesterification เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอทธิลีนไกลคอล และ dimethyl terephthalate โดยมีเมทานอลเป็นผลผลิตข้างเคียง

Modified PET เป็น PET ที่มีส่วนประกอบของโมโนเมอร์หลายๆ ชนิด เช่น อีเทอร์ (ether), เอไมด์ (amide) และ อะลิฟาติก เป็นต้น มีการเชื่อมกันด้วยพันธะเอสเทอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายโดยผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ยกตัวอย่าง modified PET เช่น PBAT (polybutylene adipate/terephthalate) และ PTMAT (polytetramethylene adipate/terephthalate) Biomax™ เป็นยี่ห้อทางการค้าของบริษัท DuPont ที่ผลิตผลิตภัณฑ์ที่ง่ายต่อการย่อยสลายที่มีส่วนประกอบของ modified PET polyester

5. Polybutylene succinate (PBS) เป็นพอลิเอสเทอร์ที่มีส่วนประกอบของอะลิฟาติกและถูกย่อยสลายได้ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้าย PET โดยทั่วไปจะผลิตขึ้นโดยการผสมกับสารประกอบต่างๆ เช่น

ถ้าผสมกับแป้งจะได้ thermoplastic starch (TPS) และถ้าผสมกับพวก adipate copolymers ก็จะได้ polybutylene succinate-*co*-adipate (PBSA) ซึ่งในปัจจุบันถูกนำมาใช้ทางการค้าโดยนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตฟิล์มที่ใช้คลุมพื้นดินรอบต้นไม้ (mulch film) ฟิล์มบรรจุอาหาร (packaging film) และ กระเป๋า เป็นต้น PBS สามารถถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ อาศัยกระบวนการไฮโดรไลซิสบริเวณพันธะเอสเทอร์ของพอลิเมอร์ ข้อมูลจาก SK Chemicals ประเทศเกาหลีพบว่า เมื่อนำแผ่นฟิล์มที่ผลิตจาก PBS ขนาด 40 μm ไปฝังดินเป็นเวลา 1 เดือนจะมีอัตราการย่อยสลายเกิดขึ้นได้มากกว่า 50% [29]

6. Polybutylene succinate-*co*-adipate (PBSA) เป็นพอลิเอสเทอร์ชนิดใหม่ที่ผลิตขึ้นในประเทศญี่ปุ่น สังเคราะห์จากกระบวนการ polymerization ของ butylene glycol, succinic acid และ adipic acid มีคุณสมบัติในการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น วัสดุทางการเกษตร บรรจุภัณฑ์ วัสดุอิเล็กทรอนิกส์ เป็นต้น

7. Aliphatic-aromatic copolyesters (AAC) เป็นพอลิเอสเทอร์ที่ผลิตจากการรวมกันของอะลิฟาติก และ อะโรมาติก (aromatic) ซึ่งมีลักษณะคล้ายพวกพอลิเอทธิลีน (polyethylene, PE) ในการลดต้นทุนการผลิตผลิตภัณฑ์จาก AAC จะนำไปผสมกับ TPS ปัจจุบันพลาสติกที่ผลิตจาก AAC ที่ใช้ในทางการค้ามีอยู่ 2 ยี่ห้อ คือ Ecoflex™ ผลิตโดยบริษัท BASF และ Eastar Bio™ ผลิตโดยบริษัท Eastman ซึ่งนำมาใช้ผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร ผลไม้และผัก โดยพบว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายพลาสติกชนิดนี้ได้ภายใน 12 สัปดาห์

พอลิเอสเทอร์ที่นำมาผลิตพลาสติกมีมากกว่า 160 ชนิดรวมทั้งที่ได้กล่าวมาและยังพบว่าในอนาคตจะเพิ่มจำนวนมากขึ้น ปัจจุบันการใช้พลาสติกชีวภาพยังไม่แพร่หลายมากนักเนื่องจากราคาที่สูงในกระบวนการผลิต แต่อย่างไรก็ตามในอนาคตมีแนวโน้มว่าสารปิโตรเคมีจะมีราคาสูงขึ้น และพลาสติกชีวภาพจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่เข้ามาแทนที่พลาสติกสังเคราะห์และยังช่วยลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง

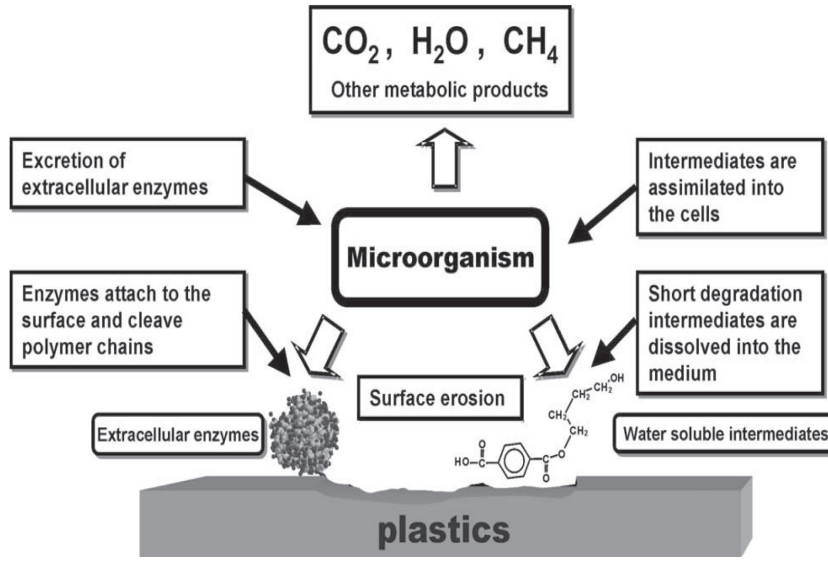
กระบวนการย่อยสลายพลาสติก

กระบวนการย่อยสลายพลาสติก (plastic degradation) อาจแบ่งเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ photodegradation, thermal degradation และ biodegradation [29]

1. photodegradation เป็นกระบวนการย่อยสลายพลาสติกที่มีการผสมสารเติมแต่งที่มีความไวต่อแสงลงไปในพลาสติกโดยมีแสงเป็นตัวกระตุ้น เช่น UV-B (295-315 nm) และ UV-A (315-400 nm) ทำให้พลาสติกเกิดการย่อยสลายได้ เนื่องจากแสง UV จะมีพลังงานเพียงพอในการตัดพันธะ C-C โดยอาศัยกระบวนการ photolysis และ photooxidation โดย UV ที่มีความยาวคลื่นต่างกันจะย่อยสลายพลาสติกได้แตกต่างกัน ขึ้นกับพันธะของพอลิเมอร์ เช่น UV ที่ความยาวคลื่น 300 nm จะมีประสิทธิภาพในการสลายพอลิเอทธิลีน และ UV ที่ความยาวคลื่น 370 nm จะมีประสิทธิภาพในการสลายพอลิโพรพิลีน (polypropylene, PP) เป็นต้น [30, 31] นอกจากนี้แสงในช่วงที่มองเห็นได้ (visible light) (400-760 nm) และ แสงอินฟราเรด (760-2500 nm) ก็สามารถทำให้เกิดการย่อยสลายพลาสติกได้เนื่องจากทำให้เกิดความร้อน (thermal oxidation) การย่อยสลายประเภทนี้จะไม่เกิดขึ้นภายในบ่อฝังกลบขยะ กองคอมโพสท์ สภาวะที่มืด เนื่องจากพลาสติกจะไม่สัมผัสกับแสงยูวีได้โดยตรง

2. thermal degradation เป็นกระบวนการย่อยสลายพลาสติกโดยใช้ความร้อนเป็นตัวกระตุ้น ทำให้เกิด oxidative degradation เมื่ออุณหภูมิสูงสารประกอบของสายโซ่ยาวของพอลิเมอร์จะถูกตัด (scission) ออกไป จากนั้นจะไปทำปฏิกิริยากับอีกโมเลกุลหนึ่งทำให้คุณสมบัติของพอลิเมอร์เปลี่ยนแปลงไป กระบวนการนี้จะทำให้พลาสติกมีขนาดมวลโมเลกุลลดลง ลักษณะทางกายภาพก็เปลี่ยนแปลงไป เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีพลาสติกทำให้สีซีดลง เกิดรอยแตกร้าว เป็นต้น นอกจากนี้อุณหภูมิต่างกัน ทำให้พลาสติกเกิดการย่อยสลายได้ต่างกัน เช่น PLA สามารถถูกย่อยสลายได้ที่อุณหภูมิ 159-178 ˚C และ PHB สามารถถูกย่อยสลายได้ที่อุณหภูมิ 175 ˚C [10] กระบวนการย่อยสลายด้วยวิธีนี้จะเกิดการตัดสายพอลิเมอร์ได้สองแบบคือ 1 การตัดสายพอลิเมอร์แบบสุ่ม (random scission) เกิดได้บริเวณทุกๆ ที่ของสายพอลิเมอร์ ซึ่งจะทำให้พลาสติกมีมวลโมเลกุลลดลง และ 2 การตัดที่ปลายสายพอลิเมอร์ (chain-end scission) ที่พันธะ C-C ทำให้ปล่อยโมเลกุลเดี่ยวออกมา หรือเกิดปฏิกิริยา depolymerization ที่ทำให้เกิดผลผลิต เช่น formaldehyde, acetaldehyde, formic acid, acetic acid, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ น้ำ เป็นต้น ดังนั้นการย่อยสลายพลาสติกโดยใช้ความร้อนจะทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม เนื่องจากทำให้เกิดสารพิษจากการรวมตัวของโมเลกุลเดี่ยว เช่น furans, formaldehyde, phenol และ dioxin [29, 32] สะสมและเสียค่าใช้จ่ายในการทำลายสูงจึงไม่เป็นที่ยอมรับ

3. biodegradation เป็นกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้มีขนาดเล็กลงโดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่สำคัญได้แก่ พวก heterotroph ซึ่งเจริญในดิน [33] โดยกระบวนการย่อยสลายมี 2 ขั้นตอน คือ ในขั้นแรกสายพอลิเมอร์ยังมีขนาดใหญ่และไม่ละลายน้ำ ในการเกิดการย่อยสลายนั้น พอลิเมอร์จะเปลี่ยนเป็นโมโนเมอร์ด้วยกระบวนการ depolymerization ภายนอกเซลล์ โดยการปลดปล่อยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ทั้งแบบ endo-enzyme หรือเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกตัวของพันธะภายในสายพอลิเมอร์อย่างไม่เป็นระเบียบ และ exo-enzyme หรือเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกหักของพันธะทีละหน่วยจากหน่วยที่อยู่ด้านปลายของสายพอลิเมอร์ ทำให้พอลิเมอร์แตกตัวมีขนาดเล็กลง ส่วนโมโนเมอร์ที่มีขนาดเล็กจะแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ได้และถูกย่อยสลาย (mineralization) ต่อในขั้นที่สอง ได้เป็นพลังงานและสารประกอบขนาดเล็กที่เสถียรในธรรมชาติ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน น้ำ เกลือ แร่ธาตุต่างๆ และมวลชีวภาพ ซึ่งจะไม่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม ดังแสดงในรูปที่ 6 แสดงถึงการย่อยสลายพอลิเมอร์โดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ไปตัดพันธะบริเวณผิวของพอลิเมอร์ทำให้เกิดสายสั้นๆ ของพอลิเมอร์ โมโนเมอร์และน้ำซึ่งสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ [8]



รูปที่ 6 ขั้นตอนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพโดยจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์จะปลดปล่อยเอนไซม์เพื่อมาตัดพันธะ ester ที่ผิวพอลิเมอร์ ผลผลิตที่ได้ เช่น monomer, dimers จะละลายและเกิดเมแทบอไลท์ผ่านเข้าไปยังภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ [8]

การย่อยสลายพลาสติกโดยใช้จุลินทรีย์มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำ และไม่ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจมากกว่าวิธีการอื่นๆ ในการใช้กำจัดขยะพลาสติกชีวภาพ

จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

จุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย และเชื้อรา มีความสามารถในการย่อยสลายได้ทั้งพลาสติกธรรมชาติและพลาสติกสังเคราะห์ [34] ในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกจึงมีความสำคัญในการแก้ไขปัญหาพลาสติกที่เพิ่มขึ้น การศึกษากลไกการสังเคราะห์และย่อยสลายพลาสติกที่สามารถย่อยสลายเองในธรรมชาติได้มีรายงานมากมาย แต่พบว่าชนิดของจุลินทรีย์ที่มีรายงานว่ามีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกนั้นยังมีอยู่เป็นจำนวนน้อย

ตั้งแต่ช่วงต้นปี ค.ศ. 1970 ได้มีการศึกษาการย่อยสลาย PCL ด้วยจุลินทรีย์ที่แยกได้จากคอมโพสต์ โดยการตัดสายพอลิเมอร์ของ PCL ซึ่งจะใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ในระหว่างการย่อยสลายนั้นจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น [35] PCL เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน ไม่ละลายน้ำ เป็นสารตั้งต้นที่เตรียมง่ายในการนำมาเป็นสับสเตรทสำหรับคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1993 Nishida และ Tokiwa [26] ได้ศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย PHB และ PCL ที่แยกได้จากดินที่เก็บมาจากบริเวณต่างๆ ในเมือง Tsukuba ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งประกอบด้วยบริเวณแหล่งน้ำทิ้ง กองปุ๋ยหมัก ตะกอนจากการบำบัดน้ำเสีย ดินจากป่า ฟาร์ม ดินจากนาข้าว และดินริมถนน เป็นต้น โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ มาละลายใน basal medium (pH 7.0) และทำการเจือจางที่ $10\text{-}10^4$ เท่า จากนั้นนำมาเกลี่ย (spread) ลงบนอาหารแข็ง (agar plate) และบ่มที่อุณหภูมิ 30 ˚C

สังเกตโคโลนีและวงใส (clear zone) บนจานเพาะเชื้อซึ่งช่วงเวลาที่ใช้ในการบ่มระหว่าง 10-30 วัน จากผลการทดลองพบว่า % total colony counts ของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย PHB และ PCL คือ 0.2-11.4% และ 0.8-11.0% ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้พบว่ามีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายได้จากดินบริเวณที่แตกต่างกัน ในการคัดแยกเชื้อจากตัวอย่างดิน จะใช้อาหารแข็งที่มีส่วนประกอบของ PHB และ PCL เชื้อชนิดใดที่สามารถย่อยสลายพลาสติกนี้ได้ก็จะเกิดเป็นวงใสบนจานเพาะเชื้อ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย PCL ได้นั้นจะปลดปล่อย extracellular enzyme ออกมาย่อยและแพร่เข้าไปในอาหารแข็งเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ละลายน้ำได้ [36] เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ง่ายและนิยมนำมาใช้ในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ในปี ค.ศ. 1996 Murphy และคณะ [37] พบว่าเชื้อราที่มีลักษณะเป็นพวก phytopathogens มีความสามารถในการย่อยสลาย PCL ซึ่งจะปล่อยเอนไซม์ cutinase (serine hydrolase) ที่ย่อย cutin ออกมา โดยได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบใน wild-type strain และ cutinase-negative gene replacement mutant strain ของ *Fusarium solani* f. sp. *pisi* พบว่า wild-type strain ของ *Fusarium moniliforme* มีเอนไซม์ *Fusarium cutinase* คือ PCL depolymerase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายพวก PCL ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถย่อยสลายพวกพอลิเอสเทอร์ที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble polyester) แล้วเปลี่ยนเป็นผลผลิตที่ละลายได้ในน้ำซึ่งนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่า PCL depolymerase ยังมีลักษณะเหมือนกับพวก esterase, lipase และ cutinase ส่วนในแบคทีเรียพบว่า เชื้อ *Alcaligenes faecalis* strain 273 สามารถย่อย PCL และผลิตเอนไซม์ PCL depolymerase ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ lipase [38] ต่อมาในปี ค.ศ. 1998 Kleeberg และคณะ [39] แยกเชื้อ *Thermobifida fusca* ได้จากคอมโพสต์ซึ่งสามารถย่อย BTA-copolyester (copolyesters จาก 1,4-butanediol, terephthalic acid และ adipic acid) จุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นชนิดทนร้อนที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักปุ๋ยเพราะนอกจากจะย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้แล้วยังทนต่ออุณหภูมิสูงได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 2000 Sanchez และคณะ (2000) [40] ศึกษาการย่อยสลายแผ่นฟิล์มของ PCL, PHB และ PBSA ด้วย *Aspergillus* sp. strain ST-01 ซึ่งทนความร้อนที่ 50 ˚C พบว่าเชื้อราสามารถย่อยตัวอย่างฟิล์มได้มากถึง 90% ในปี ค.ศ. 2001 Sakai และคณะ [41] แยกเชื้อ *Bacillus smithii* strain PL21 จากถังหมักขยะ (garbage fermentor) ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ esterase ย่อย poly-*L*-lactide ได้ที่อุณหภูมิ 65 ˚C pH 5.0 โดย poly-*L*-lactide ผลิตมาจากกระบวนการเปลี่ยนรูปโดยจุลินทรีย์ของอินทรียวัตถุที่เหลือใช้ (organic waste material) และโดยปฏิกิริยาเคมี [42] เช่น แป้งข้าวโพด (corn starch) ต่อมาในปี ค.ศ. 2005 Maeda และคณะ [43] ศึกษาการผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลาย PBS และ PBSA จากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* โดยดูจากความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกใน culture supernatant และแยกได้เอนไซม์ที่มีลำดับกรดอะมิโนเหมือนกับ cutinase มีมวลโมเลกุลประมาณ 21.6 kDa นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อราในจีนัส *Fusarium* สามารถปล่อยเอนไซม์ depolymerase มาย่อยสลายพอลิเอสเทอร์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ และนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นเอนไซม์ lipase, esterase และ cutinase มีความสามารถในการย่อยสลาย PCLนอกจากนี้ Kleeberg และคณะ (2005) [44] ได้ทำการแยกและศึกษาลักษณะของเอนไซม์ extracellular hydrolase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ต้องเลี้ยงเชื้อที่อยู่ในอาหารที่มีส่วนประกอบของเอสเทอร์จึงจะมีการแสดงออกของยีนเกิดขึ้น (inducible enzyme) และจัดเป็น thermophilic enzyme (อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 65˚C) มีมวลโมเลกุลโปรตีนประมาณ 28 kDa

และมีลำดับกรดอะมิโนที่เหมือนกับ lipase จาก *Streptomyces albus* (65%) บริเวณ active site จะมีลำดับกรดอะมิโน -G-X_1-S-X_2-G- อย่างไรก็ตามลักษณะการย่อยสลายของเอนไซม์ extracellular hydrolase ก็แตกต่างจาก lipase ทั่วไป โดย lipase จะตัดพันธะเอสเทอร์ที่บริเวณ hydrophobic surface ส่วนเอนไซม์ extracellular hydrolase สามารถย่อยสลายพันธะเอสเทอร์โดย esterase แสดงว่าเอนไซม์ extracellular hydrolase มีหน้าที่การทำงานคล้าย esterase

ประเทศไทยมีนักวิทยาศาสตร์ที่ได้ศึกษาวิจัยเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพเช่นกัน ในปี ค.ศ. 2009 Sukkhum และ คณะ [45] แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย L-PLA จากดินในป่าของประเทศไทย พบว่าแยกได้ทั้งสิ้น 13 strain ที่อยู่ใน family Thermomonosporaceae, Micromonosporaceae, Streptosporangiaceae, Bacillaceae และ Thermoactinomycetaceae โดยเชื้อแบคทีเรีย *Actinomadura* sp. strain T16-1 สามารถย่อยสลายได้สูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวและใช้แผ่นฟิล์ม L-PLA เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อศึกษาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายพบว่าเป็นเอนไซม์ serine protease ขนาดมวลโมเลกุล 30 kDa มีค่า pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 10.0 และ 70 ˚C ตามลำดับ เอนไซม์มีค่าความเสถียรที่ค่า pH 11.0-12.0 และมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 70 ˚C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นเชื้อที่ทนร้อนและผลิตเอนไซม์ที่ทนร้อนได้สูงจึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรม Sukkhum และคณะ (2009) [46] ได้ต่อยอดงานวิจัยโดยการศึกษากระบวนการผลิตเอนไซม์จากเชื้อ *Actinomadura* sp. strain T16-1 โดยอาศัยหลักการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) มาใช้ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลในการผลิตเอนไซม์ เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ที่เป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

นอกจากนี้ Somyoonsap และ Siripoke (2009) [47] ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ทนร้อนที่ย่อยสลาย PCL จากตัวอย่างดินที่เก็บจากกองขยะในประเทศไทยและคัดเลือกเชื้อที่ย่อยสลาย PCL ได้โดยวิธีการเกิดวงใสบนอาหารแข็งพบว่า แยกเชื้อได้ 11 ไอโซเลท เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 55 ˚C และจัดจำแนกสายพันธุ์โดยอาศัยลำดับเบสของ 16S rDNA พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ได้แก่ สายพันธุ์ S11, S12, S41, S42, S61, S81 และ S82 จะคล้ายคลึงกับเชื้อ *Brevibacillus thermoruber* (99%) ส่วนสายพันธุ์ S21 และ S23 จะคล้ายคลึงกับเชื้อ *Brevibacillus brevis* (99%) และในสายพันธุ์ S43 จะคล้ายคลึงกับเชื้อ *Ureibacillus suwonensis* (99%) ในส่วนของ actinomycete ที่แยกได้ ได้แก่สายพันธุ์ S14 มีความคล้ายคลึงกับ *Actinomadura keratinilytica* (99%) สำหรับการศึกษาการย่อยสลาย PCL พบว่าสายพันธุ์ S21 และ S23 สามารถเจริญและย่อยสลาย PCL ได้อย่างรวดเร็วเมื่อทำการเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ

จากรายงานที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินมีอยู่หลายชนิด ทั้งแบคทีเรียทนร้อน และเชื้อรา ซึ่งสามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้หลายชนิด แสดงว่าเชื้อเหล่านี้จะต้องมีกลไกที่น่าสนใจในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิดต่างๆ การศึกษายีนที่เกี่ยวข้องและการผลิตเอนไซม์เพื่อนำเอนไซม์นี้ไปประยุกต์ใช้ได้จริงในระดับอุตสาหกรรมมีความสำคัญเพื่อรองรับการใช้พลาสติกชีวภาพในอนาคตข้างหน้า ในประเทศไทยถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์นวัตกรรมใหม่ที่ผลิตขึ้นเพื่อช่วยลดภาวะโลกร้อนอันเนื่องมาจากการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกซึ่งเป็นประเด็นสำคัญอยู่ในขณะนี้

สรุป

พลาสติกมีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตเนื่องจากมีราคาถูก แข็งแรง อายุการใช้งานนาน และไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ซึ่งการใช้ในปริมาณสูงจะส่งผลให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงเกิดการศึกษาวิจัยการนำวัสดุจากธรรมชาติที่หาง่ายและราคาถูกมาใช้ในการผลิตพลาสติกชีวภาพซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติมาใช้ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาทดแทนพลาสติกจากปิโตรเลียมซึ่งเป็นนวัตกรรมหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพที่ได้รับการพัฒนาจะมีคุณสมบัติแข็งแรง ยืดหยุ่นและทนทานต่อการใช้งาน ได้แก่ PLA และ PHA เป็นต้น เนื่องจากพลาสติกชีวภาพสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ปลดปล่อยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการย่อยสลาย เช่น esterase, depolymerase และ hydrolase มาย่อยเพื่อให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ซึ่งจะทำให้เกิดการหมุนเวียนและความสมดุลในชั้นบรรยากาศ ทำให้ไม่เกิดสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมจึงถือว่าพลาสติกชีวภาพนี้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

1. Shimao, M. 2001. Biodegradation of Plastics. *Current Opinion in Biotechnology* 12: 242-247.
2. Seymour, R. B. 1989. Polymer Science Before & After 1899: Notable Developments during the Lifetime of Maurtis Dekker. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry* 26: 1023-1032.
3. Alauddin, M., Choudkury, I. A., Baradie, M. A., and Hashmi, M. S. J. 1995. Plastics and their Machining: A Review. *Journal of Materials Processing Technology* 54:40-46.
4. Wilson, J. E. 1974. Radiation Chemistry of Monomers, Polymers and Plastics. New York. Marcel Dekker.
5. Ghosh, P. 1990. Polymer Science and Technology of Plastics and Rubbers. New Delhi. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd. p. 175-181.
6. Zheng, Y., Yanful, E. K., and Bassi, A. S. 2005. A Review of Plastic Waste Biodegradation. *Critical Reviews in Biotechnology* 25: 243-250.
7. Luengo, J. M., Benlén, G., Angel, S., Germán, N., and Elías, R. O. 2003. Bioplastics from Microorganisms. *Current Opinion in Microbiology* 6: 251-260.
8. Mueller, R-J. 2006. Biological Degradation of Synthetic Polyesters-Enzymes as Potential Catalysts for Polyester Recycling. *Process Biochemistry* 41: 2124-2128.
9. Nolan-ITU Pty Ltd. 2000. Biodegradable Plastics: Development and Environmental Impacts. Available from URL: http://www.environment.gov.au/settlements/publications/waste/degradables/biodegradable/chapter3.html. 10 April 2010.
10. Lee, S. Y. 1996. Bacterial *Polyhydroxyalkanoates. Biotechnology and Bioengineering* 49: 1-14.
11. Ojumu, T. V., Yu, J., and Solomom, B. O. 2004. Production of Polyhydroxyalkanoates, a Bacterial Biodegradable Polymers. *African Journal of Biotechnology* 3: 18-24.

12. Katsnelson, A. 2005. Dow Pulls out of Bioplastics Due to Slow Sector Maturation. Available from URL: http://www.nature.com/nbt/journal/v23/n6/full/nbt0605-638.html. 15 June 2010.
13. Ikada, Y., and Tsuji, H. 2000. Biodegradable Polyesters for Medical and Ecological Applications. *Macromolecular Rapid Communications* 21: 117-132.
14. Williams, D. F. 1981. Enzymatic Hydrolysis of Polylactic Acid. *Engineering in Medicine* 10: 5-7.
15. Torres, A., Li, S. M., Roussos, S., and Vert, M. 1996. Screening of Microorganisms for Biodegradation of Polylactic Acid and Lactic Acid-Containing Polymers. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 2392-2397.
16. Pranamuda, H., Yutaka, T., and Hideo, T. 1997. Polylactide Degradation by *Amycolatopsis* sp. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1637-1640.
17. Tomita, K., Kuroki, Y., and Nagai, K. 1999. Isolation of Thermophiles Degrading Poly (L-lactic acid). *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87: 752-755.
18. Fukuzaki, H., Yoshida, M., Asano, M., and Kumakura, M. 1989. Synthesis of Co-poly (D,L-lactic acid) with Relatively Low Molecular Weight and *in vitro* Degradation. *European Polymer Journal* 25: 1019-1026.
19. Doi, Y., Kumagai, Y., Tanahashi, N., and Mukai, K. 1992. Structural Effects on Biodegradation of Microbial and Synthetic Poly(hydroxyalkanoate). In: Vert, M., Feijen, J., Albertsson, A., Scott, G., and Chiellini, E., editors. Biodegradable Polymers and Plastics. Cambridge. The Royal Society of Chemistry.
20. Luzier, W. D. 1992. Materials Derived from Biomass/Biodegradable Materials. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 839-842.
21. Scott, G. 1999. Polymers in Modern Life. Polymers and the Environment. Cambridge, UK. The Royal Society of Chemistry.
22. Oliver, P. P., and Anthony, J. S. 1989. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) Biosynthesis in *Alcaligenes eutrophus* H16. *Journal of Biological Chemistry* 15: 15298-15303.
23. Handrick, R., Reinhardt, S., Focarete, M. L., Scandola, M., Adamus, G., Kowalczuk, M., and Jendrossek, D. 2001. A New Type of Thermoalkalophilic Hydrolase of *Paucimonas lemoignei* with High Specificity for Amorphous Polyesters of Short Chain-Length Hydroxyalkanoic Acids. *Journal of Biological Chemistry* 276: 36215-36224.
24. Ohura, T., Kasuya, K., and Doi, Y. 1999. Cloning and Characterization of the Polyhydroxybutyrate Depolymerase Gene of *Pseudomonas stutzeri* and Analysis of the Function of Substrate-Binding Domains. *Applied Microbiology and Biotechnology* 65: 189-197.

25. Tian, J., Sinskey, A. J., and Stubbe, J. 2005. Kinetic Studies of Polyhydroxybutyrate Granule Formation in *Wautersia eutropha* H16 by Transmission Electron Microscopy. *Journal of Bacteriology* 187: 3814-3824.
26. Nishida, H., and Tokiwa, Y. 1993. Distribution of Poly(β-hydroxybutyrate) and Poly (ε-caprolactone) Aerobic Degrading Microorganisms in Different Environments. *Journal of Environmental Polymer Degradation* 1: 227-233.
27. Tokiwa, Y., and Suzuki, T. 1977. Hydrolysis of Polyesters by Lipase. *Nature* 270:76-78.
28. Jaeger, K., Steinbüchel, A., and Jendrossek, D. 1995. Substrate Specificities of Bacterial Polyhydroxyalkanoate Depolymerases and Lipases: Bacterial Lipases Hydrolyze Poly (ω-hydroxyalkanoates). *Applied Microbiology and Biotechnology* 61: 3113-3118.
29. Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., and Ahmed, S. 2008. Biological Degradation of Plastics: A Comprehensive Review. *Biotechnology Advances* 26: 246-265.
30. Ranby, B. 1989. Photodegradation and Photo-Oxidation of Synthetic Polymers. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 15: 237-247.
31. Nagai, Y., Nakamura, D., Miyake, T., Ueno, H., Matsumoto,N., Kaji, A., and Ohishi, F. 2005. Photodegradation Mechanisms in Poly(2,6-butylenenaphthalate-*co*-tetramethyleneglycol) (PBN-PTMG). I: Influence of the PTMG Content. *Polymer Degradation and Stability* 88: 251-255.
32. Singh, B., and Sharma, N. 2008. Mechanistic Implications of Plastic Degradation. *Polymer Degradation and Stability* 93: 561-584.
33. Glass, J. E, and Swift, G. 1989. Agricultural and Synthetic Polymers, Biodegradation and Utilization, ACS Symposium Series, 433. Washington DC. American Chemical Society. p. 9-14.
34. Gu, J. D., Ford, T. E., Mitton, D. B., and Mitchell, R. 2000. Microbial Degradation and Deterioration of Polymeric Materials. In: Revie, W., Editor. The Uhlig Corrosion Handbook. 2nd Edition. New York. Wiley. p. 439-460.
35. Goldberg, D. 1995. A Review of the Biodegradability and Utility of Poly(caprolactone). *Journal of Environmental Polymer Degradation* 3: 61-67.
36. Fields, R. D., Rodriquez, F., and Finn, R. K. 1974. Microbial Degradation of Polyesters: Polycaprolactone Degraded by *P. pullulans. Journal of Applied Polymer Science* 18: 3571-3579.
37. Murphy, C. A., Cameron, J. A., Huang, S. J., and Vinopal R. T. 1996. *Fusarium* Polycaprolactone Depolymerase is Cutinase. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 456-460.

38. Oda, Y., Naoya, O., Teizi, U., and Kenzo, T. 1997. Polycaprolactone Depolymerase Produced by the Bacterium *Alcaligenes faeaclis. FEMS Microbiology Letters* 152: 339-343.
39. Kleeberg, I., Hetz, C., Kroppenstedt, R. M., Müller, R-J., and Deckwer, W-D. 1998. Biodegradation of Aliphatic Aromatic Copolyesters by *Thermomonospora fusca* and Other Thermophilic Compost Isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 1731-1735.
40. Sanchez, J., Akio, T., and Yutaka, T. 2000. Degradation of Polycaprolactone at 50°C by a Thermotolerant *Aspergillus* sp. *Biotechnology Letters* 22: 849-853.
41. Sakai, K., Hiroyuki, K., Akihiko, I., Masakazu, N., and Mitsuaki, M. 2001. Isolation of Thermophilic Poly-L-lactide Degrading Bacterium from Compost and Its Enzymatic Characterization. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 92: 298-300.
42. Sakai, K., Muruta, K., Yamazumi, H., Tau, Y., Mori, M., Moriguchi, M., and Shirai, Y. 2000. Selective Proliferation of Lactic Acid Bacteria and Accumulation of Lactic Acid during Open Fermentation of Kitchen Refuse with Intermittent pH Adjustment. *Food Science and Technology Research* 6: 1-6.
43. Maeda, H., Youhei, Y., Keietsu, A., Fumihiko, H., Masayuki, M., Ryoji, I., Katsuya, G., and Tasuku, K. 2005. Purification and Characterization of a Biodegradable Plastic-Degrading Enzyme from *Aspergillus oryzae. Applied Microbiology and Biotechnology* 67: 778-788.
44. Kleeberg, I., Welzel, K., Vandenheuvel, J., Müller, R.-J., and Deckwer, W.-D. 2005. Characterization of a New Extracellular Hydrolase from *Thermobifida fusca* Degrading Aliphatic-Aromatic Copolyesters. *Biomacromolecules* 6: 262-270.
45. Sukkhum, S., Tokuyama, S., Tamura, T., and Kitpreechavanich, V. 2009. A Novel Poly (L-lactide) Degrading Actinomycetes Isolated from Thai Forest Soil, Phylogenic Relationship and the Enzyme Characterization. *The Journal of General and Applied Microbiology* 55: 459-467.
46. Sukkhum, S., Tokuyama, S., and Kitpreechavanich, V. 2009. Development of Fermentation Process for PLA-Degrading Enzyme Production by a New Thermophilic *Actinomadura* sp. T16-1. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 14: 302-306.
47. Somyoonsap, P., and Siripoke, S. 2009. Screening of Poly(ε-caprolactone)-Degrading Thermophilic Microorganisms in Soil Samples from Compost. The 35th Congress on Science and Technology of Thailand (STT35). 15-17 October 2009. The Tide Resort. Chonburi. p. 1-6.

ได้รับบทความวันที่ 26 เมษายน 2553
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 24 มิถุนายน 2553