พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพผลิตโดยสาหร่ายจุลภาค

ปาลญา วุฒิเทียน[๑] และ อรัญ อินเจริญศักดิ์[๑,๒]

[๑]ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[๒]ภาคีสมาชิก สาขาวิชาชีวเคมี ประเภทวิชาวิทยาศาสตร์ธรรมชาติ สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสภา, aran.i@chula.ac.th

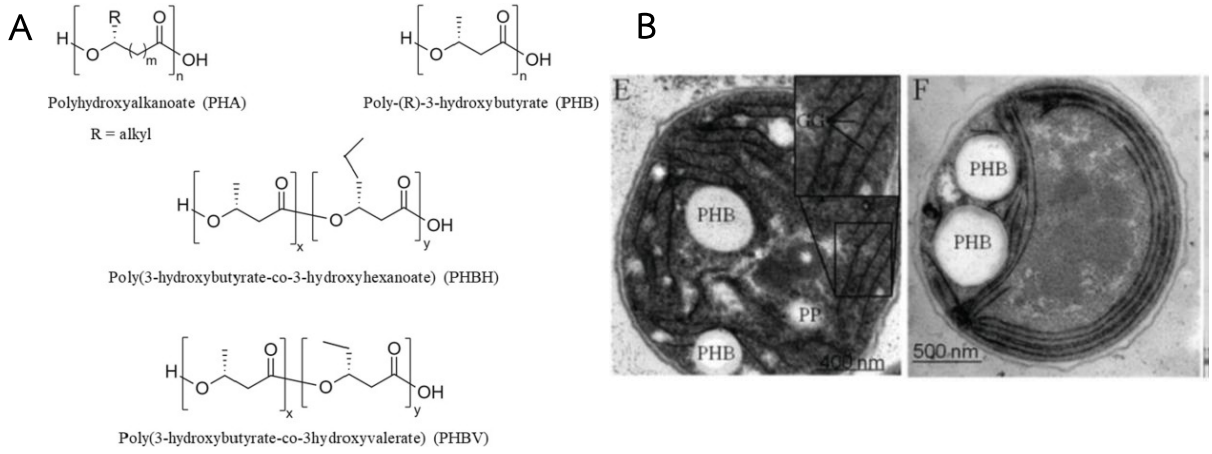
บทนำ

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในการใช้พลาสติกซึ่งจัดเป็นกลุ่มหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากกระบวนการปิโตรเคมี การใช้พลาสติกปริมาณมากนำไปสู่ปัญหาขยะพลาสติกล้นโลก เนื่องจากพลาสติกประเภทพอลิเอทิลีน (polyethylene) พอลิโพรพิลีน (polypropylene) และพอลิสไตรีน (polystyrene) แตกสลายเป็นชิ้นขนาดเล็กที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ทำให้มีส่วนตกค้างในสิ่งแวดล้อมและเกิดการปนเปื้อนเข้ามาในห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ ในปัจจุบันมีผู้พัฒนาเทคโนโลยีและคิดค้นนวัตกรรมในการผลิตพลาสติกชีวภาพที่มีคุณลักษณะย่อยสลายง่าย ไม่ก่อให้เกิดมลพิษและสารพิษตกค้าง แนวโน้มในอีก ๒–๓ ปีข้างหน้าคาดการณ์ว่าปริมาณการใช้วัตถุดิบหลักจากเชื้อเพลิงฟอสซิลในการผลิตพลาสติกอาจลดลงเป็นอย่างมาก เมื่อมีการนำพลาสติกชีวภาพมาใช้ทดแทนพลาสติกปิโตรเคมี

พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable plastics) จากแหล่งวัตถุดิบที่ทดแทนใหม่ได้กำลังเป็นที่สนใจเพราะจะเข้ามาช่วยแก้ปัญหาด้านการขาดแคลนวัตถุดิบ รวมทั้งสามารถบรรเทาผลกระทบเชิงลบด้านสิ่งแวดล้อม พลาสติกชีวภาพชนิดย่อยสลายได้ทางชีวภาพมีกลไกย่อยสลายโดยอาศัยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ เมื่อย่อยโดยสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์อันเป็นสารประกอบขนาดเล็ก เช่น แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สมีเทน และน้ำ ที่ผ่านมามีผู้แสวงหาชีวมวลหลายชนิดที่มีศักยภาพ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติกชีวภาพ ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนการผลิต และพบว่าพืชผลทางการเกษตร เช่น ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง สามารถใช้เป็นวัตถุดิบผลิตสารตั้งต้นจำพวก แป้ง น้ำตาล เซลลูโลส (cellulose) และลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) สารตั้งต้นชีวโมเลกุลดังกล่าวนี้สามารถผ่านกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อเปลี่ยนสภาพให้เป็นพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพชนิดต่าง ๆ เช่น พอลิแล็กติกแอซิด (polylactic acid; PLA) พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (polyhydroxyalkanoate; PHA) โดยที่พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต (poly-3-hydroxybutyrate; PHB) เป็นส่วนหนึ่งของ PHA พลาสติกชีวภาพดังกล่าวเป็นพอลิเมอร์ฐานชีวภาพชนิดหนึ่งที่ได้จากการสร้างขึ้นในเซลล์ของจุลินทรีย์ ในเซลล์ของสาหร่ายจุลภาคซึ่งรวมถึงเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย พลาสติกชีวภาพชนิดนี้มีสมบัติที่คล้ายคลึงกับพลาสติกสังเคราะห์บางชนิดเช่น polypropylene ดังนั้นจึงนับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาพัฒนาเพื่อทดแทนพลาสติกปิโตรเคมีได้ บทความนี้จะกล่าวถึงเฉพาะพลาสติกชีวภาพ ชนิด PHA เท่านั้น

สมบัติของ polyhydroxyalkanoate (PHA)

PHA เป็นกลุ่มของพอลิเอสเตอร์ทางชีวภาพที่มีโครงสร้างที่แตกต่างกันตามการจัดเรียงตัวของมอนอเมอร์ (monomer) ชนิดต่าง ๆ สารในกลุ่ม PHA มีมากกว่า ๑๕๐ ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะมีลักษณะแตกต่างกันออกไปซึ่งเป็นผลจากชนิดของ monomer ที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน ดังที่แสดงไว้ด้วยโครงสร้างทางเคมีในภาพที่ ๑ (A) สมบัติทางกายภาพของพอลิเมอร์กลุ่มนี้แตกต่างกัน โดยที่ชนิดและจำนวนของ monomer ส่งผลต่อสมบัติความยืดหยุ่น การทนต่อความร้อนหรือสารเคมีต่าง ๆ โดยมีจุดหลอมเหลว (melting point) ตั้งแต่ ๕๐ ถึง ๑๘๐ องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับสมบัติของพลาสติกในกลุ่มพอลิโพรพิลีน ความยาวของพอลิเมอร์ค่อนข้างหลากหลาย ซึ่งบ่งชี้ถึงความยืดหยุ่นที่แตกต่างกันของ PHA ในแต่ละชนิด PHA มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงตั้งแต่ ๒๐๐,๐๐๐ ถึง ๓๐๐,๐๐๐ ดอลตัน ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเซลล์ที่ใช้ในการผลิต ภาวะการเจริญ เช่น ภาวะกรด–เบส ปริมาณและชนิดแหล่งคาร์บอนที่ใช้ รวมทั้งรูปแบบการเลี้ยง สารในกลุ่ม PHA สามารถผลิตได้จากแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ในธรรมชาติแบคทีเรียจะสร้างและสะสมสาร PHA ไว้ภายในเซลล์ในรูปแบบพลังงานสำรอง ในระดับอุตสาหกรรมมีผู้ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Cupriavidus necator* และ *Escherichia coli* สายพันธุ์กลาย ในการผลิต PHA ผ่านกระบวนการหมัก (fermentation) โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (Chen, 2009) โดยทั่วไปมักพบ PHA ส่วนใหญ่เป็นชนิด poly-3-hydroxybutyrate (PHB) โดยที่โครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของ monomer ชนิดเดียวคือ 3-hydroxybutyrate (3-HB) เราสามารถใช้สาหร่ายจุลภาค (microalgae) รวมถึงไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) เป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการผลิต PHA ชนิด PHB โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนในรูปอนินทรีย์สารให้อยู่ในรูปอินทรีย์สารเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสร้างและสะสมสารพอลิเมอร์กลุ่ม PHB ภายในเซลล์ ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดแกรนูล (granule) สีขาว (ภาพที่ ๑, B)



ภาพที่ ๑ โครงสร้างทางเคมีของ PHA ชนิดต่าง ๆ (A) และเซลล์ *Synechocystis* sp. PCC 6803 ที่มีการสร้าง PHB อยู่ภายในเซลล์ (B) (ที่มา: Kumar et al., 2021; Damrow et al., 2016)

การสังเคราะห์ poly-3-hydroxybutyrate (PHB) ในไซยาโนแบคทีเรีย

Poly-3-hydroxybutyrate (PHB) จัดอยู่ในกลุ่ม PHA เป็น homopolymer ซึ่งประกอบด้วย monomer ชนิดเดียวคือ 3-hydroxybutyrate ในบางกรณีอาจประกอบด้วย monomer มากกว่า ๑ ชนิด (ภาพที่ ๑, A) PHB เป็นสารกลุ่ม PHA ที่สังเคราะห์โดยเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย หรือในชื่อเดิมคือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) ซึ่งจัดอยู่ในสิ่งมีชีวิตประเภทโพรคาริโอต (prokaryote) การสังเคราะห์ PHB เกิดขึ้นภายในเซลล์เมื่อภาวะอาหารไม่ได้ดุล (nutrient imbalance) เช่น การเจริญของเซลล์ในภาวะที่มีปริมาณคาร์บอนมากเกินไป หรือการเจริญในภาวะขาดธาตุอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส สภาพดังกล่าวนี้ส่งผลกระทบต่อการสร้างกรดอะมิโนเพื่อการเจริญเติบโต ทำให้เปลี่ยนวิถีเมแทบอลิซึมไปสร้างและสะสม PHB เพื่อเก็บไว้ใช้เมื่อเซลล์ต้องการพลังงาน

ไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Synechocystis* sp. PCC 6803 ใช้เป็นต้นแบบในการศึกษากลไกการสังเคราะห์ PHB (Taroncher-Oldenburg et al., 2000) โดยเริ่มจากสารตั้งต้น acetyl-CoA ผ่านตัวเร่งปฏิกิริยา ๓ ขั้นตอนหลัก ดังนี้ คือ ขั้นตอนแรก acetyl-CoA เปลี่ยนเป็น acetoacetyl-CoA โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ β-ketothiolase ขั้นตอนที่สอง acetoacetyl-CoA ถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น D-3-hydroxybutyryl-CoA โดยใช้เอนไซม์ acetoacetyl-CoA reductase ขั้นตอนที่สาม เอนไซม์ PHA synthase จะเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมต่อหัวท้ายของ monomer ให้กลายเป็นสารพอลิเมอร์ PHB

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต poly-3-hydroxybutyrate (PHB)

การทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสะสม PHB ในปริมาณมากภายในเซลล์นั้นสามารถทำได้หลายวิธี โดยที่วิธีหลัก ๆ มี ๒ วิธีคือ การเลี้ยงเซลล์ในภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะแก่การผลิต และการปรับปรุงสายพันธุ์โดยอาศัยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) ในกรณีแรก การปรับชนิดและความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสมนับเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการผลิต PHB จากเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย สารตั้งต้นที่นำมาใช้ในการผลิต PHB เช่น กลูโคส ฟรุกโทส และแอซิเทต เป็นแหล่งคาร์บอนที่นำไปใช้สังเคราะห์ PHB อย่างแพร่หลาย ในการใช้แอซีเทต เพื่อผลิต PHB โดยไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Aulosira fertilissima* พบว่าสามารถผลิต PHB ได้ในปริมาณที่สูงถึง ๔๙ % (เทียบต่อน้ำหนักแห้ง) (Samantaray & Mallick, 2015) ในภาวะที่ขาดธาตุอาหารร่วมด้วย ดังเช่น การขาดฟอสฟอรัสร่วมกับการขาดไนโตรเจนและเพิ่มปริมาณแหล่งคาร์บอนจำพวก acetate ไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Synechocystis* sp. PCC 6803 สามารถผลิต PHB ได้มากถึง ๓๐.๗ % เมื่อเทียบต่อน้ำหนักแห้ง (Monshupanee et al., 2016) ทั้งนี้ การก่อให้เกิดการขาดดุลธาตุอาหาร ทำให้ acetyl-CoA ถูกเปลี่ยนเป็น PHB ได้มากขึ้นภายในเซลล์ ล่าสุดมีรายงานว่าการเสริมยาปฏิชีวนะ erythromycin ๑๐ ไมโครโมลาร์ ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ช่วยทำให้ *Synechocystis* sp. PCC 6803 ผลิต PHB เพิ่มขึ้น ๖ เท่า (Sukkasam et al., 2023)

การเพิ่มผลผลิต PHB อีกวิธีหนึ่งคือการนำพันธุวิศวกรรมมาประยุกต์ใช้ในการดัดแปรระบบวิถีการสังเคราะห์เมแทบอไลต์ ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการผลิต PHB ภายในเซลล์ การปรับวิถีเมแทบอลิซึมโดยเพิ่มระดับ

การสร้าง acetyl-CoA สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์ *Synechocystis* sp. PCC 6803 ให้ผลิต PHB สูงขึ้นมากกว่าปกติถึง ๖ เท่า (Carpine et al., 2017) นอกจากนั้นเมื่อทำให้ *Synechocystis* sp. PCC 6803 มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีสังเคราะห์ PHB ก็จะทำให้เซลล์ผลิต PHB เพิ่มขึ้นถึงระดับ ๓๕ % เมื่อเลี้ยงเซลล์ในสภาวะเติมสารคาร์บอน acetate ร่วมกับการขาดไนโตรเจน (Khetkorn et al., 2016)

บทสรุป

เนื่องด้วยปัจจุบันปัญหาการสะสมขยะพลาสติกนั้นก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการขาดแคลนเชื้อเพลิงฟอสซิลซึ่งเป็นวัตถุดิบสำคัญในกระบวนการผลิตพลาสติก ดังนั้นจึงมีผู้วิจัยและพัฒนานวัตกรรมต่าง ๆ เพื่อหาสารหรือวัสดุที่จะนำมาทดแทนพลาสติกปิโตรเลียมที่ย่อยสลายและกำจัดยาก การใช้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (ภาพที่ ๒) เป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการแก้ปัญหาดังกล่าว เพื่อเป็นการตอบสนองความต้องการในปัจจุบัน การพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อเพิ่มศักยภาพของจุลินทรีย์รวมถึงสาหร่ายจุลภาคและไซยาโนแบคทีเรียจึงจำเป็นสำหรับการผลิตพลาสติกชีวภาพ PHA จัดเป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ มีแนวโน้มการตลาดที่ดีสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในหลากหลายด้าน เช่น ด้านบรรจุภัณฑ์อาหาร ด้านการแพทย์ ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม ยังต้องคำนึงถึงต้นทุนการผลิต ดังนั้นการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นตัวแปรสำคัญในการควบคุมต้นทุนการผลิตจึงมีความสำคัญ ในการผลิตโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพนั้น ไซยาโนแบคทีเรียเป็นตัวผลิต PHB ที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถดูดซับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จากชั้นบรรยากาศที่มีอยู่อย่างไม่จำกัด เข้าสู่เซลล์เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ถือได้ว่าเป็นการลดการใช้แหล่งคาร์บอนเสริมจากภายนอก ซึ่งช่วยลดต้นทุนการผลิตได้

ภาพที่ ๒ การย่อยสลายทางชีวภาพของขวดพลาสติกสังเคราะห์จากพอลิเมอร์ฐานชีวภาพชนิด PHA โดยวิธีการบ่มในดินโคลนเป็นระยะเวลา ๘๐ วัน (ที่มา: Sudesh et al., 2000)

เอกสารอ้างอิง

Carpine, R., Du, W., Olivieri, G., Pollio, A., Hellingwerf, K.J., Marzocchella, A. et al. (2017) Genetic Engineering of *Synechocystis* sp. PCC6803 for Poly-β-hydroxybutyrate Overproduction. Algal Res. 25, 117–127.

Chen, G.Q. (2009) A Microbial Polyhydroxyalkanoates (PHA) Based Bio- and Materials Industry. Chem. Soc. Rev. 38, 2434–2446.

Damrow, R., Maldener, I. and Zilliges, Y. (2016) The Multiple Functions of Common Microbial Carbon Polymers, Glycogen and PHB, during Stress Responses in the Non-diazotrophic Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Front. Microbiol. 7, 966.

Khetkorn, W., Incharoensakdi, A., Lindblad, P. and Jantaro, S. (2016) Enhancement of Poly-3-hydroxybutyrate Production in *Synechocystis* sp. PCC 6803 by Overexpression of Its Native Biosynthetic Genes. Bioresour. Technol. 214, 761–768.

Kumar, V., Sehgal, R. and Gupta, R. (2021) Blends and Composites of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) and Their Applications. Eur. Polym. J. 161, 110824.

Monshupanee, T., Nimdach, P. and Incharoensakdi, A. (2016) Two-stage (photoautotrophy and heterotrophy) Cultivation Enables Efficient Production of Bioplastic Poly-3-hydroxybutyrate in Auto-sedimenting Cyanobacterium. Sci. Rep. 6, 37121.

Samantaray, S. and Mallick, N. (2015) Impact of Various Stress Conditions on Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) Accumulation in *Aulosira fertilissima* CCC 444. Curr. Biotechnol. 4, 366–372.

Sudesh, K., Abe, H. and Doi, Y. (2000) Synthesis, Structure and Properties of Polyhydroxyalkanoates: Biological Polyesters. Prog. Polym. Sci. 25, 1503–1555.

Sukkasam, N., Leksingto, J., Keasornjun, N., In-na, P., Incharoensakdi, A., Hallam, S.J. and Monshupanee, T. (2023) Erythromycin Treatment under a Specific Nitrogen Supply Affects Carbon Metabolism and Increases Poly(3-hydroxybutyrate) and Glycogen Accumulation in Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Algal Res. 72, 103142.

Taroncher-Oldenburg, G., Nishina, K. and Stephanopoulos, G. (2000) Identification and Analysis of the Polyhydroxyalkanoate-specific β-Ketothiolase and Acetoacetyl Coenzyme A Reductase Genes in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803. Appl. Environ. Microbiol. 66, 4440–4448.