การย่อยสลายของพลาสติกชนิด Polybutylene succinate (PBS) ในอาหารเหลวด้วยแบคทีเรียที่คัดแยกจากหลุมฝังกลบขยะ

Degradation of Polybutylene succinate (PBS) in liquid Basal Medium Using Bacteria Isolated from a Landfill Site.

วราภรณ์ จันทาสี[1] ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์[2*] และ ธนาวดี ลี้จากภัย[3]

Waraporn Jantasee[1] Charnwit Kositanont[2*] and Tanawadee Leejarkpai[3]

บทคัดย่อ

การทดลองย่อยสลายพลาสติกชนิดพอลิบิวทิลีนซัคซิเนต (PBS) ในอาหารเหลว โดยใช้แบคทีเรีย 7 ชนิด ที่แยกจากหลุมฝังกลบขยะ บ่มนาน 28 วัน ที่อุณหภูมิ 67 °C ติดตามการเจริญของแบคทีเรียโดยการวัดความขุ่นของสารละลายและประเมินการย่อยสลายโดยนำแผ่นพลาสติกไปตรวจสอบผิวหน้าและผิวรอยตัดด้านข้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด(SEM) ผลการทดสอบการย่อยพอลิบิวทิลีนซัคซิเนตพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดคือ B1 และ D2 เมื่อเทียบกับแบคทีเรียชนิดอื่น แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายพลาสติกได้ดีกว่าชุดควบคุม แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PBS ได้ดีได้แก่ E/1 และ D2 ซึ่งทำให้ผิวชิ้นพลาสติกเกิดรอยแตกและรอยตัดมีการสึกกร่อน แสดงว่าความสามารถในการย่อยพลาสติกของแบคทีเรียบางชนิด ไม่สอดคล้องกับการเจริญ แบคทีเรียที่ทดสอบบางชนิดมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ย่อยสลายขยะบรรจุภัณฑ์ที่เป็นพลาสติกชนิด PBS ได้

ABSTRACT

Biodegradation test of a biodegradable plastic, polybutylene succinate (PBS), using 7 bacteria isolated from a landfill site was carried out in a liquid basal medium for 28 days at 67°C. Bacterial growth was monitored by measuring the solution turbidity (O.D.660). The degree of degradation was estimated from surface and side cut changing using scanning electron microscope (SEM). It is shown that top turbidity increased bacteria were B1 and D2 isolates. Most of the test bacteria degraded plastic better than control. The isolate E/1 and D2 caused the highest degree of cracks on the surface and clearly eroded the side cut. Therefore, the plastic degradation ability of some bacteria is not related to growth. Some tested bacteria showed the potential in application for PBS packaging waste degradation.

Key Words: polybutylene succinate (PBS), bacteria, degradation

* Corresponding author; e–mail address: charnwit_k@yahoo.com

[1]หลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[1] Inter-department of Environmental Science, Faculty of Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]Department of microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

[3]ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC)

[3]National Metal and Materials Technology Center

คำนำ

ที่ผ่านมาพลาสติกผลิตจากน้ำมันปิโตรเลียม พลาสติกเหล่านี้ใช้เวลาหลายสิบปีในการสลายตัว ทำให้มีพลาสติกสะสมในขยะและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอย่างมาก (Cadar *et al*., 2012) เพื่อลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมจึงมีแนวความคิดในการใช้พลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ย่อยสลายได้เร็ว แต่คุณสมบัติเหมือนหรือใกล้เคียงกับพลาสติกจากน้ำมันปิโตรเลียม (kim et al., 2006) พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพแบ่งตามวัตถุดิบที่ใช้ผลิตได้เป็น 2 ประเภทคือ พลาสติกที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม (petroleum-based biodegradable plastics) และพลาสติกที่ผลิตจากมวลชีวภาพ (bio-based biodegradable plastics)

พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพชนิด พอลิบิวทิลีนซัคซิเนต (polybutylene succinate หรือ PBS) เป็นที่นิยมนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า (Wu, 2012) PBS เป็นพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์ที่มีโครงสร้างเป็นลักษณะสายโซ่ตรง ซึ่งเตรียมได้จากปฏิกิริยาการควบแน่นของกรดซัคซินิคและ 1,4-บิวเทนไดออล มีคุณสมบัติเชิงกลสูงและทนความร้อนได้ถึง 200 องศาเซลเซียส โดยไม่เสียสภาพ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553)

การย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้นได้ทั้งจากจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน และที่ไม่ใช้ออกซิเจน การย่อยสลายโดยไม่ใช้ออกซิเจนนั้นจะทำให้เกิด CO_2, CH_4, H_2O, Residue Salts และส่วนประกอบของเซลล์ (Brydson, 1995) การทดสอบการย่อยสลายพบว่าอุณหภูมิสูง (55°C) จะทำให้การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนเกิดขึ้นดีกว่าเมื่อเทียบกับอุณหภูมิปานกลาง(37°C) (Wang *et al*.,2012) ในการย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพต้องอาศัยปัจจัยต่างๆทำงานร่วมกันเช่น โครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์ชนิดของแบคทีเรีย และสภาพแวดล้อม แบคทีเรียที่มีรายงานว่าแยกได้จากดินฝังกลบพลาสติกมีหลายชนิด เช่น *Azospirillum-brasilense*(BCRC12270), *Thermotogaceae bacterium*, *Geobacillus sp*. และ*Clostridium sp*.

งานวิจัยนี้ต้องการใช้แบคทีเรียที่แยกจากหลุมฝังกลบขยะ ในการย่อยสลายพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพชนิด พอลิบิวทิลีนซัคซิเนต (polybutylene succinate หรือ PBS) โดยทำการทดลองในอาหารเหลว

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิจัย

พลาสติกชนิด PBS

แผ่นพลาสติกชีวภาพ PBS เตรียมโดยการนำเม็ดพลาสติก PBS มาอัดเป็นแผ่นขนาด 180 x 150 x 0.1 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 180° C และความดัน 1500 psi เป็นเวลา 29 นาที ตามมาตรฐาน ISO14855-1 หลังจากนั้นนำแผ่นพลาสติกมาตัดเป็นแถบขนาด 20 x 3 มิลลิเมตร (**ภาพที่ 1**) พลาสติกดังกล่าวได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC)

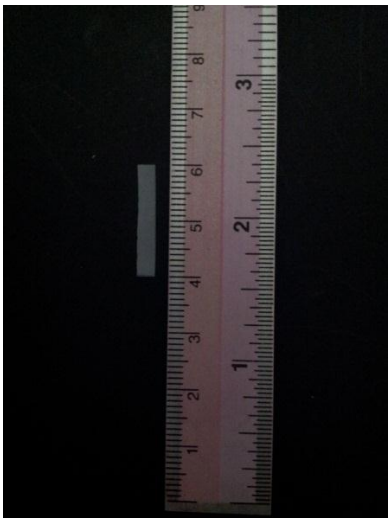


Figure 1 PBS strip

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

แบคทีเรียแยกได้จากดินบ่อฝังกลบขยะ โครงการกำจัดขยะมูลฝอย เทศบาลเมืองสุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรีผสมกับกากตะกอนจากบ่อบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศของโรงงานน้ำผลไม้มาลีสามพราน จำกัด (มหาชน) จังหวัดนครปฐม ที่ใช้ในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกในภาวะออกซิเจนจำกัด (จุฑากานต์ บุญมี, วราภรณ์ จันทาสี และชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ข้อมูลที่ยังไม่ได้ตีพิมพ์)

การทดสอบการย่อยสลาย

นำชิ้นพลาสติกใส่ลงในหลอดทดลอง ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร สูง 10.00 เซนติเมตรเติมอาหารเหลวชนิด basal medium (Hiraishi and Khan, 2001, Yan *et al.*, 2005) ลงไปในหลอดทดลองหลอดละ1.5 มิลลิลิตร (**ภาพที่** 2)

นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดใส่ลงไปในอาหาร basal medium 1 มิลลิลิตร ปรับความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ 0.3 แล้วนำไปใส่หลอดที่มีพลาสติกอยู่ 1 แผ่นหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีนำไปบ่ม ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน (Doi *et al.*, 1999) การที่แผ่น PBS จุ่มอยู่ในอาหารเหลว และมีส่วนยื่นเหนือของเหลวอยู่นั้นวัตถุประสงค์คือเพื่อทำให้มีโอกาสเห็นการย่อย PBS ได้ไม่ว่าแบคทีเรียจะย่อยได้ดีที่ภาวะมีอากาศ (บริเวณผิวหน้าอาหารเหลว) หรือมีอากาศจำกัด (ก้นหลอด) ติดตามการเจริญของแบคทีเรียโดยวัดความขุ่นของสารละลาย ($O.D._{660}$) และการย่อยพลาสติกโดยนำแผ่นพลาสติกไปตรวจผิวหน้าและผิวด้านรอยตัดของแผ่นพลาสติกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ตามเวลาที่ระบุในการทดลอง

Figure 2 The tube for PBS degradation testing.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเจริญของแบคทีเรีย

แบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด สามารถเจริญได้ในอาหาร basal medium ที่ใช้ทดสอบ ที่มีพลาสติก PBS เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก จาก**ภาพที่** 3 แบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด เจริญได้ในรูปแบบเดียวกัน ต่างกันที่ความขุ่นและความชันของเส้นกราฟความขุ่น แบคทีเรียทั้งหมดเจริญได้ชัดเจนใน 2 สัปดาห์แรก ความขุ่นของแบคทีเรีย ณ วันที่ 28 พบว่า B1>D2>E/1> B3/1>D1>A2> C1 ตามลำดับ ความขุ่นจากการเจริญของแบคทีเรียแบ่งได้เป็น2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ขุ่นมากกว่า 0.3 ณ วันที่ 28 ได้แก่ B1, D2 และ E1 ที่เหลือ ความขุ่นอยู่ในช่วง 0.1 - 0.2 แสดงว่ากลุ่มที่ขุ่นกว่าปรับตัวเข้ากับอาหารและสภาวะที่ใช้เลี้ยงได้ดีและน่าจะสามารถย่อยพลาสติกได้ดี

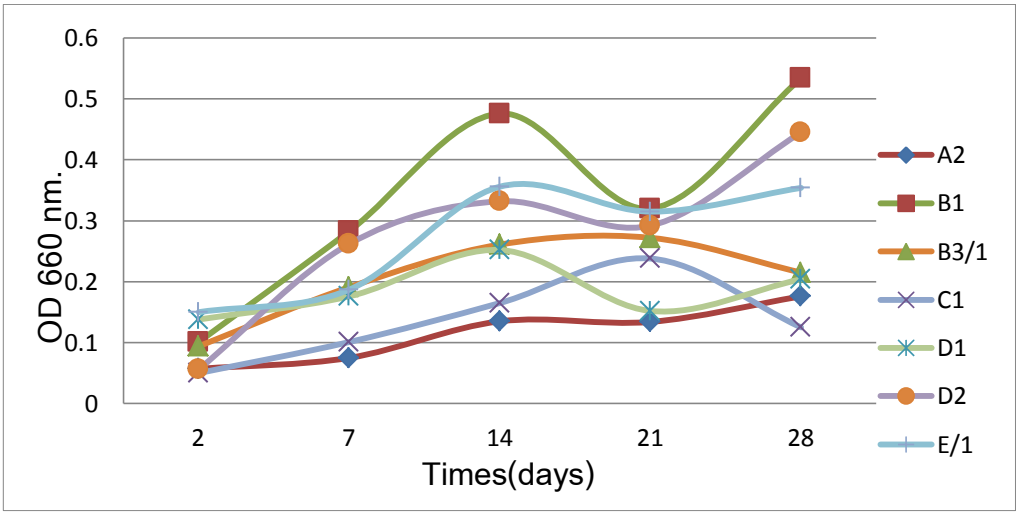
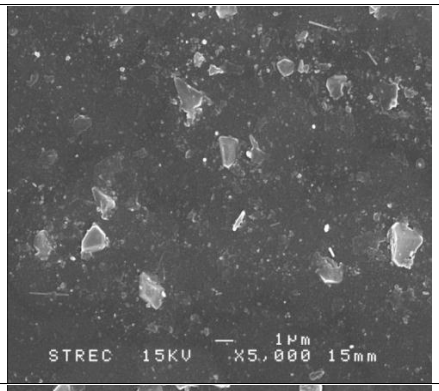
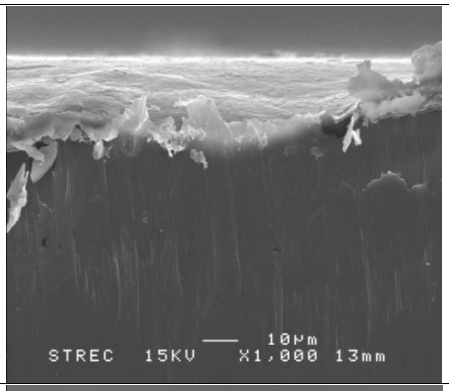
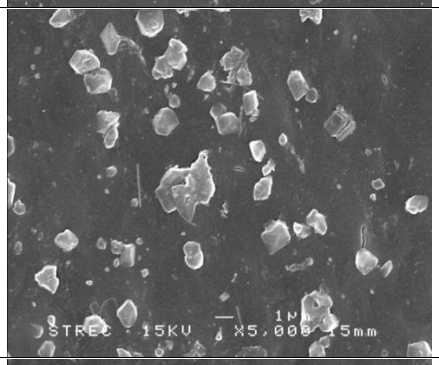
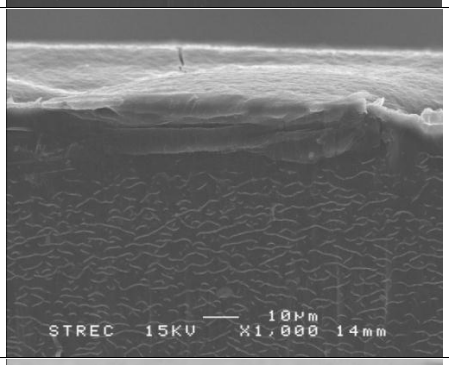
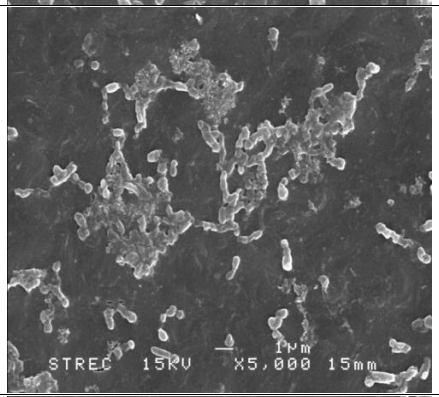
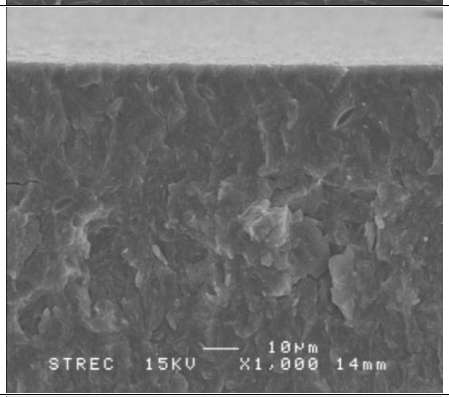
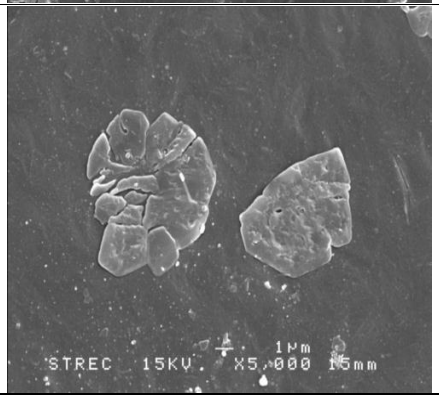
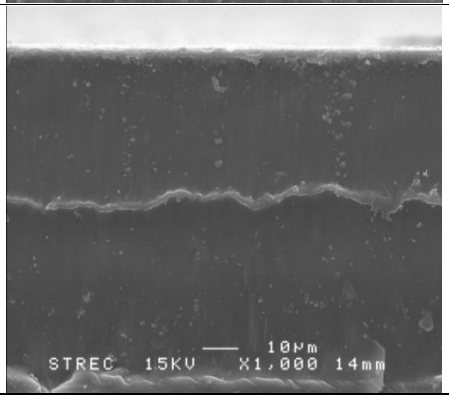


Figure 3 Turbidity of basal medium (O.D. 660).

ผลการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

นำแผ่น PBS ที่แช่ใน basal medium เป็นเวลา 28 วันมาตรวจผิวแผ่นพลาสติกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) กำลังขยาย 5000 เท่า และตรวจผิวด้านข้างที่เป็นรอยตัดด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า ผลแสดงใน **ภาพที่ 4**

Bacteria	Surface (5000 X)	Side cut surface (1000 X)
Blank		
A2		
B1		
B3/1		

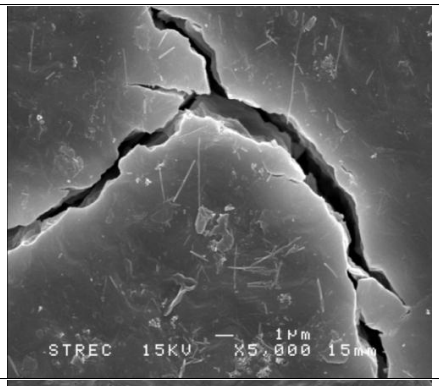
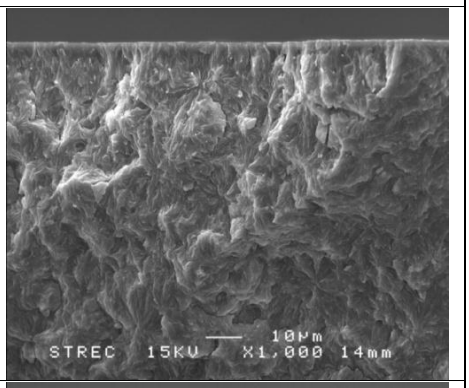
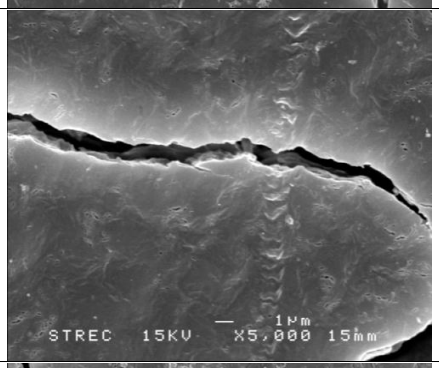
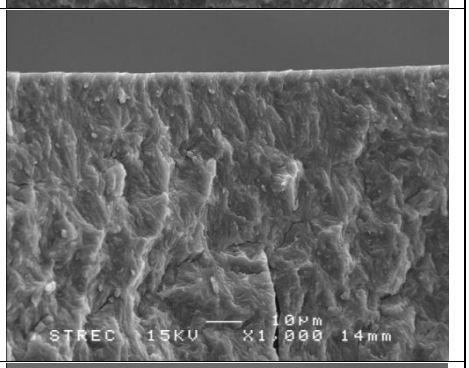
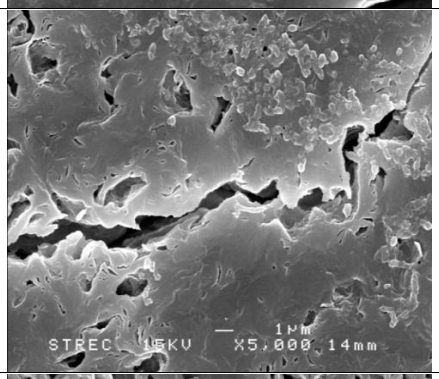
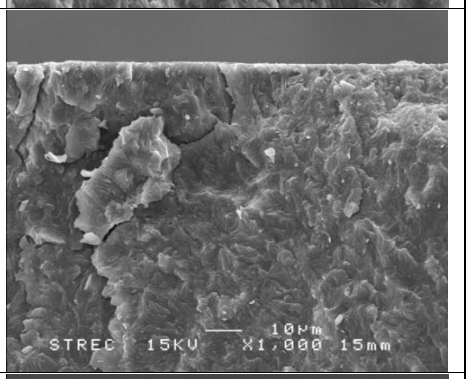
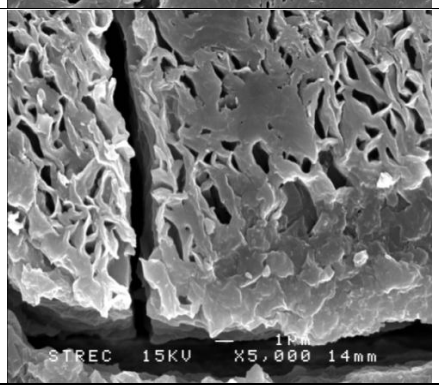
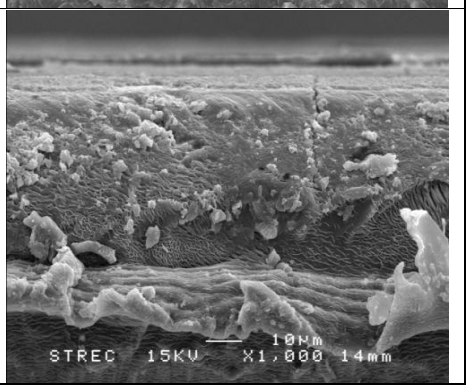
Bacteria	Surface (5000 X)	Side cut surface (1000 X)
C1		
D1		
D2		
E/1		

Figure 4 Surface and side cut surface of plastic strips after 28 days incubation with bacteria in the basal medium

ในกลุ่มที่มีแบคทีเรียขึ้นขุ่นมากกว่า 0.3 นั้น มีเซลล์แบคทีเรียกองอยู่บนผิว PBS ผิวหน้าและรอยตัดมีการกร่อน ทำให้สภาพต่างจากแผ่นควบคุมที่มีผิวเรียบ มีเกล็ดพลาสติกกระจายอยู่บนผิวหน้าและเนื้อพลาสติกตรงรอยตัดเรียบ ลำดับความรุนแรงของการกร่อนคือ E1>D2>B1 ตามลำดับ ในกลุ่มที่มีความขุ่นของแบคทีเรียต่ำ

กว่า 0.3 แบคทีเรีย D1 และ B3/1 ที่มีรูปแบบการเพิ่มความขุ่นคล้ายกันกลับมีความกร่อนของ PBS ต่างกันอย่างชัดเจน C1 ที่มีความขุ่นสุดท้ายน้อยที่สุดก็พบว่า PBS กร่อนไปมากกว่า D1 และมากกว่า B1 ที่ขุ่นมากกว่า แสดงว่าการย่อยแผ่น PBS ไม่สัมพันธ์กับความขุ่นหรือปริมาณแบคทีเรีย

เมื่อคิดเฉพาะการย่อยพลาสติกสรุปได้ว่าลำดับความสามารถในการย่อย PBS ของแบคทีเรียเป็นดังนี้ E/1> D2> C1> D1 และ>B1 ส่วน A2 และ B3/1 มีการย่อยน้อยมาก สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลาย PBS ของแบคทีเรียแต่ละชนิด และการจำแนกชนิดของแบคทีเรียกำลังอยู่ระหว่างการศึกษาต่อไป โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Nakajima-Kambe *et al* (2000) ซึ่งคัดเลือกแบคทีเรียที่แยกได้จากดินโดยนำมาทดสอบการย่อยสลายพลาสติกชนิด PBSA โดยทดสอบการย่อยสลายพลาสติก PBSA ด้วยการนำแบคทีเรียใส่ลงในอาหาร basal medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30° C พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด BS-3 สามารถย่อยสลายพลาสติกชนิด PBSA ได้ ซึ่งมีความใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้คือ แบคทีเรียได้ทำการคัดแยกมาจากดินฝังกลบขยะ และนำมาทดสอบการย่อยสลายพลาสติกชนิด PBS ในอาหาร Basal medium จะพบว่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบสามารถย่อยสลายพลาสติกจนเกิดรูพรุนหรือแตก ตามเวลาที่ได้ระบุในการทดลอง โดยปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลาย PBS คือ 1. อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดการย่อยสลาย เนื่องจากสภาพอากาศที่อบอุ่นทำให้แบคทีเรียมีแนวโน้มทำงานได้รวดเร็วมากขึ้น เพราะแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria) ทดสอบที่ 67° C 2. ความต้องการออกซิเจน แบคทีเรียที่ทดสอบสามารถเจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic-bacteria) 3. สารอาหาร แบคทีเรียได้แหล่งคาร์บอน (carbon source) จากชิ้นพลาสติก PBS ที่นำมาใช้ทดสอบ 4. ปริมาณน้ำ (moisture content) ที่เหมาะสมได้จากอาหาร basal medium ที่ชิ้นพลาสติกถูกใส่ลงไป

สรุป

หลังจากบ่มที่ 67°C นาน28 วัน แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายพลาสติกได้โดยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (control) ลำดับการย่อยสลายได้แก่ E1> D2> C1> D1>B1> A2และB3/1 ตามลำดับ การย่อยทำให้ผิวชิ้นพลาสติกเกิดรูพรุนหรือแตก พื้นผิวรอยตัดกร่อนไปไม่เรียบเหมือนแผ่นควบคุม จากค่าความขุ่น (O.D. 660) แบคทีเรีย D2 และ E1มีอัตราการเจริญเติบโตสูงและย่อยพลาสติกได้ดี จึงนับว่ามีศักยภาพที่จะนำไปใช้ในการย่อยสลายขยะบรรจุภัณฑ์พลาสติก PBS ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณหลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้สนับสนุนเงินทุนในการวิจัย และขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC) ที่ให้ความอนุเคราะห์พลาสติก PBS

เอกสารอ้างอิง

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2553. **พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ**. แหล่งที่มา: http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR12.pdf, 1 ตุลาคม 2557.

Bryson J. A. 1995. **Plastic Materials**, 6th Ed. Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, London.

Cadar, O., M. Paul, C. Roman, M. Mcclean and C. Majdi, 2012. Biodegradation behavior of poly (lactic acid) and (lactic acid, ethylene glycol, malonic or succinic acid) copolymers under controlled composting conditions in a laboratory test system. **Journal of Polymer Degradation and Stability** 97: 354-357.

Doi Y., T. Ohura, Y. Aoyagi, K. Takagi, Y. Yoshida and K. Kasuya. 1999. Biodegradation of poly(3-hydroxyalkanoic acids) fibers and isolation of poly(3-hydroxybutyric acid) degrading microorganisms under aquatic environments. **Polymer Degradation and Stability** 63:23-29.

Hiraishi, A. and S. T. Khan. 2001. Isolation and characterization of a new poly (3-hydroxybutyrate)-degrading, denitrifying bacterium from activated sludge. **FEMS Microbiology Letters** 205: 253-257.

Kim, H. S., H. J. Kim, J. W. Lee and I. G. Choi. 2006. Biodegradability of bio-flour filled biodegradable poly (butylene succinate) bio-composites in natural and compost soil. **Polymer Degradation and Stability** 91: 1117-1127.

Nakajima-Kambe, T., H. Uchida, Y. Shigeno-Akutsu, N. Nomura, Y. Tokiwa and T. Nakahara. 2000. Properties of a bacterium which degrades solid poly(tetramethylene succinate)-co-adipate, abiodegradable plastic. **FEMS Microbiology Letter** 189: 25-29.

Wang, F., T. Hidaka, H. Tsuno and J. Tsubota. 2012. Co-digestion of polylactide and kitchen garbage in hyperthermophilic and thermophilic continuous anaerobic process. **Journal of Bioresource Technology** 112: 67-74.

Wu C. 2012. Characterization and biodegradability of polyester bioplastic-based green renewable composites from agricultural residues. **Journal of Polymer Degradation and Stability** 97: 64-71.

Yan Q., J. H. Zhao, X. Q. Wang, J. Zeng and F. H. Shi. 2005. Biodegradation of poly (butylene succinate co-butylene adipate) by *Aspergillus versicolor*. **Journal of Polymer Degradation and Stability** 90: 173-179.