Abstract

Project Code: TRG5680026

Project Title: Optimization of Poly(L-Lactic acid) degradation condition and application for biological recycling

Investigator: Dr. Sukhumaporn Krajangsung

E-mail Address: sukhumaporn@g.swu.ac.th

Project Period: 1 June 2013 – 31 May 2015

Poly(L-lactide) (PLA) is a biodegradable polymer and synthesized from lactic acid which produced microbialy from agricultural products. It has much attention since it plays an important role to resolve the global warming problem. In general, PLA is polymerized commercially by chemical process such as polycondensation from lactic acid and/or ring opening polymerization from lactide. However, these processes need severe conditions, i.e. high temperature, high solvent and catalystsloading. Recently, biological polymerization methods showed an alternative process in mild conditions, and applied the lipase enzymes for bio-catalytic reaction. This work was aimed to apply the biological recycle of PLA using microbial enzyme. The protease produced by *Actinomadura keratinilytica* strain T16-1 was reported previously as PLA depolymerase potential, which hydrolyzes PLA ester bond, and is applicable to PLA biodegradation used in this work. The aims of this work were to optimize PLA degradation condition and application of its degradation products for biological re-polymerization. The degradation conditions were 4,000 mg/L of PLA powder, incubated at 60 °C for 26.4 h with using an initial enzyme concentration of 200 mg/L. As a result, the degradable lactic acid of 3,250 mg/l was obtained and used as substrate for re-polymerization of PLA. These degradable products attained, including lactic acid were subjected to synthesize repeatedly by using commercial lipase as catalyst, which performed under 0.1 vvm of nitrogen atmosphere, at controlled temperature of 60 °C for 6 h. The oligomers derived from degradable products and lactic acid was achieved with molecular weight of 450 (n=4). In addition lipase-producing bacteria can be re-polymerization of PLA. Lipase-producing bacteria with 662 strains were isolated from 100 soil samples according to opaque zone formation on Tween 80 agar. Strain KKCH and PSR exhibited the highest lipase activities in both agar plate and production medium as 7.83 and 7.18 U/ml respectively. They were identified as *Bacillus subtilis* and *Bacillus safensis* strain PSR based on 16S rRNA gene sequencing. Re-polymerization by using lipase-producing from KKCH as catalyst and 85 %w/w commercial lactic acid under 0.1 vvm of nitrogen atmosphere, at controlled temperature of 60 °C for 6 h was achieved. Unfortunately, the enzyme produced by KKCH could not catalyze the reaction for PLA re-polymerization. It might be need further study to use this enzyme for biological recycling. This is the first report to demonstrate the recycle of PLA wastes biologically, and it's promising for treatment and utilization of biodegradable plastic wastes in the future.

Keywords : Optimization, degrading poly (L-lactide), biological recycling

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5680026

ชื่อโครงการ: การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายพอลิแลกไทด์และการนำไปประยุกต์ใช้ในการนำพลาสติกชนิดนี้กลับมาใช้ใหม่ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

ชื่อนักวิจัย: ดร. สุขุมาภรณ์ กระจ่างสังข์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

E-mail Address: sukhumaporn@g.swu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 มิถุนายน 2556 – 31 พฤษภาคม 2558

พอลิ(แอล-แลกไทด์) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และเป็นพอลิเมอร์เชิงการค้าที่เกิดจากกระบวนการทางเคมี เช่น กระบวนการควบแน่นโดยตรงจากกรดแลคติก หรือกระบวนการเปิดวงแหวน อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้ต้องอาศัยสภาวะที่รุนแรง เช่น อุณหภูมิสูง ตัวทำละลายความเข้มข้นสูง และคะตะลิสต์ ดังนั้นกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชันทางชีวภาพจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งสามารถเกิดได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรง และใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นคะตะลิสต์ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลาย PLA โดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตจาก *Actinomodura keratinilytica* สายพันธุ์ T16-1 ซึ่งพบว่าสามารถย่อยสลาย PLA ได้ มาใช้ในการย่อยสลายทางชีวภาพ จากนั้นทำการศึกษาการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายมาสังเคราะห์เป็น PLA ด้วยวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งทำได้โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโดยใช้การออกแบบการทดลองทางสถิติ และได้สภาวะที่เหมาะสมคือ ใช้ผง PLA 4,000 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 26.4 ชั่วโมง เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าเกิดกรดแลคติก 3,250 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำกรดแลคติกที่ได้นั้นเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการรีไซเคิล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้าเป็นคะตะลิสต์ ภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน 0.01 vvm ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NMR พบว่าเกิดเป็นโอลิโกเมอร์ของกรดแลคติก ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 450 ดาลตัน (n=4) นอกจากนี้ในงานวิจัยในครั้งนี้ยังได้ศึกษาการรีพอลิเมอร์ไรเซชัน โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกได้ 662 ไอโซเลท โดยการสังเกตโซนขุ่นของอาหาร Tween 80 agar พบว่า KKCH และ PSR มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้สูงทั้งบนอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยมีกิจกรรมเท่ากับ 7.83 และ 7.18 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำไปศึกษาลำดับเบสของ 16S rRNA พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Bacillus safensis* ตามลำดับ หลังจากนั้นนำเอนไซม์ไลเปสที่สร้างจาก KKCH เป็นคะตะลิสต์ในกระบวนการรีไซเคิล โดยใช้กรดแลคติกทางการค้าเป็นสารตั้งต้นพบว่าเอนไซม์ไลเปสที่ได้ยังไม่สามารถสังเคราะห์ PLA ได้ ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป จากงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลาย PLA และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยไปใช้ในการสังเคราะห์ใหม่ด้วยวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรีไซเคิลพลาสติกชนิด PLA ได้ในอนาคต

คำหลัก : การย่อยสลายพอลิแลกไทด์, การสังเคราะห์พอลิแลกไทด์, รีไซเคิล