" POLYHYDROXYALKANOATES – PHAs" – NHỮNG POLYESTERS TỔNG HỢP TỪ VI SINH VẬT

Nguyễn Khánh Linh
Khoa Khoa học Ứng dụng, Trường Đại Học Tôn Đức Thắng

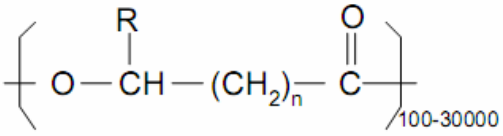
MỞ ĐẦU

Hiện nay trên thế giới hằng năm sản lượng chất dẻo đạt hàng trăm triệu tấn. Các chất dẻo này sau khi sử dụng sẽ được loại bỏ, thời gian phân hủy chúng rất lâu, kéo dài từ vài năm đến hàng chục năm mới hoàn tất. Điều này sẽ góp phần gây ảnh hưởng xấu đến cảnh quan và môi trường. Vì thế giải pháp hiện tại là thiêu đốt hoặc tái tạo lượng chất dẻo phế thải đó. Tuy nhiên việc thiêu đốt cũng sẽ phóng thích một lượng CO_2 đáng kể làm ô nhiễm môi trường.

Góp phần vào việc sản xuất và giải quyết lượng phế phẩm chất dẻo, các nhà khoa học đã khám phá được một loại polymer sinh học PHAs – Polyhydroxyalkanoates được tổng hợp chủ yếu từ vi sinh vật. Loại này có ưu điểm là được phân hủy sinh học với tốc độ rất nhanh nhờ nấm và vi khuẩn để tạo thành những sản phẩm không độc hại. Đồng thời sự phân giải này cũng cung cấp những tiền chất cho sự tổng hợp các thành phần khác và năng lượng của tế bào. Vì vậy sự khám phá này chính là bước ngoặc quan trọng trong công nghệ chất dẻo, hoàn toàn không làm ô nhiễm môi trường xung quanh.

1. GIỚI THIỆU POLYHYDROXYALKANOTES – PHAS

PHAs là polymer được tổng hợp nội bào nhờ một số prokaryote. Chúng được sản xuất với lượng lớn từ việc nuôi cấy vi sinh vật trong điều kiện thích hợp. Sau đó, PHAs sẽ được tách chiết ra khỏi sinh khối bằng một số phương pháp vật lý hay hóa học. PHAs có đặc điểm tương tự như polyolefin, vì thế chúng được phân hủy sinh học rất nhanh chóng ở điều kiện thích hợp, trở thành nguồn thay thế cho các polymer từ nhiên liệu. Công thức chung của PHAs thay đổi tùy thuộc số nhóm CH_2 và thành phần R.



n =1	R =	hydrogen	poly (-3-hydroxypropionate)
		methyl	poly (-3-hydroxybutyrate)
		ethyl	poly(3-horoxyvalerate)
		propyl	poly (-3-hydroxyhexanoate)
		pentyl	poly (-3-hydroxyoctanoate)
		nonyl	poly (-3-hydroxydodecanoate)
n = 2	R =	hydrogen	poly (-4-hydroxybutyrate)
n = 3	R =	hydrogen	poly (-5-hydroxyvalerate)

Hình 1. Công thức chung của PHAs

PHAs được tích lũy trong các thể hạt nội bào của vi khuẩn. Các hạt này quan sát được là do chúng khúc xạ trong tế bào vi khuẩn dưới kính hiển vi. Nhiều năm sau đó, nhiều phát hiện về nguồn vi sinh vật tổng hợp PHAs đã được công bố như ở *Azotobacter* (Stockdate et al, 1968), *Cyanobacter* (Jensen và Sicko 1971) . . .

2. CÁC THỂ PHAS NỘI BÀO – GEN TỔNG HỢP PHAS

PHAs là dạng dự trữ carbon và năng lượng của vi khuẩn tổng hợp nên chúng. Khi có quá nhiều carbon và một chất dinh dưỡng nào đó thiếu vắng (có thể là nitrogen, oxy đối với vi khuẩn hiếu khí bắt buộc. . .) thì PHAs sẽ được tổng hợp. Khi có mặt trở lại dinh dưỡng đó thì PHA sẽ bị phân giải, carbon sẽ được dùng làm nguồn năng lượng hoặc hỗ trợ cho các quá trình sinh tổng hợp tiếp theo. Như vậy, các dạng PHAs tự nhiên cũng sẽ được phân giải bởi chính vi khuẩn tạo nên nó khi gặp điều kiện nào đó.

PHAs tồn tại trong tế bào vi sinh vật ở dạng hạt (granules). Hàm lượng PHAs nội bào thay đổi tùy theo vi sinh vật tổng hợp nên nó. Theo Ballard 1987, số lượng các hạt P(3HB) trong tế bào chất của *R.eutropha* luôn ở mức nhất định, từ 8-12 trong suốt quá trình nuôi cấy có giới hạn nguồn nitrogen. Sự tích lũy polymer làm tăng đường kính các hạt, dần dần làm thay đổi hình dạng của tế bào từ dạng như xylanh sang dạng hình cầu. Tế bào sẽ dừng gia tăng lượng P(3HB) khi đạt 80% lượng sinh khối khô của tế bào. Lúc này, hoạt động của enzyme PHA synthase và nồng độ monomer nội bào rất cao. Các nhà nghiên cứu cũng đã khẳng định rằng chính hạn chế vật lý ở mức độ hình học tế bào là yếu tố giới hạn sự tích lũy polymer.

H2. Sự tích lũy các hạt PHA ở vi Rhodobacter shaeroides

Những nghiên cứu ở VSV cho thấy các thể hạt P(3HB) in vivo có đường kính d=0.2-0.7µm, được bao quanh bởi một màng lipid-protein có độ dày 2nm. Chuỗi polymer thường tạo hình xoắn ốc , mỗi thể hạt có thể chứa tối thiểu 1000 phân tử.

Đối với *E.coli* có gen tái tổ hợp PHA của *R.eutropha* thì Hann cho rằng P(3HB) được tích lũy hầu như ở dạng tinh thể, có thể vì chúng liên kết với các phân tử hay cation khác trong tế bào.

Cấu trúc và nhiệm vụ của gen sinh tổng hợp PHA ở các vi sinh vật ngày càng được hiểu rõ. Ba gen sinh tổng hợp PHA ở *R.eutropha* đã được nghiên cứu kỹ và tạo dòng ở *E.coli*. Đó là các gen mã hóa cho enzyme 3-ketothiolase, Acetoacetyl-CoA

reductase và PHA synthase. Chúng tạo thành một operon đơn gồm có promotor, operator và gen cấu trúc.

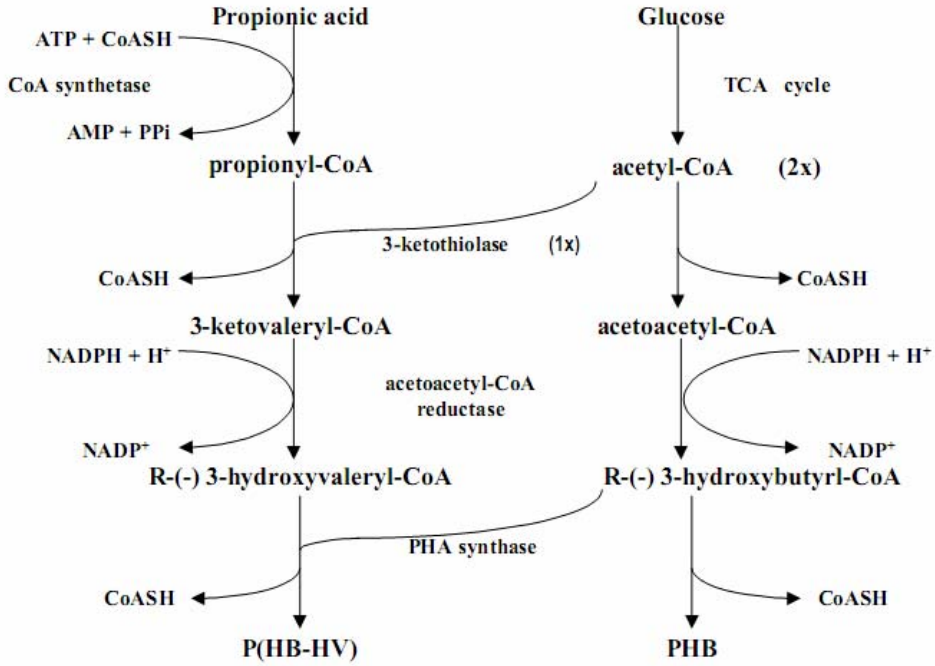
3. NGUỒN SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG TỔNG HỢP PHAS VÀ PHÂN GIẢI SINH HỌC

3.1 Nguồn sinh vật tổng hợp PHAs

Ralstonia eutropha* và *Alcaligenes latus

R.eutropha có khả năng tạo nhiều loại PHAs như P(3HB), P(3HB-Co-3HV), P(3HB-Co-4HB), P(3HB-Co-3HV-Co-5HV) . . . Còn *A.latus* chỉ tạo được P(3HB) và P(3HB-Co-3HV)

Theo Valentin và cộng sự năm 1992 thì ta có thể thu được P(3HB-co-3HV-co-4HV) chứa 8.8 mol HV% từ 4-hydroxyvaleric acid hoặc 4-valerolactone làm nguồn carbon duy nhất trong môi trường nuôi cấy *R.eutropha*. Một copolyester P(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxypropionate) cũng được *R.eutropha* sinh ra trong môi trường không có nitrogen. Polymer này chứa đến 7 mol% 3HP và tế bào thì chứa polymer có 3 mol%HP, chiếm khoảng 42% toàn bộ sinh khối khô của tế bào.



H3. Con đường sinh tổng hợp PHB và P(HB-HV) ở *A.eutropha*

Pseudomonas

Pseudomonas là nguồn vi khuẩn tích lũy PHAs rất linh hoạt. Chẳng hạn, *P.oleovorans* có thể tạo PHAs có monomer dao động từ 4-12 carbon, từ n-alkan, n-alkanoate, n-alcohole hoặc monomer không bão hòa từ n-alken.

Một số vi khuẩn khác

Khả năng tổng hợp P(3HB) của vi khuẩn tía *Rhodospirillum rubrum* đã được Doudoroff và Stanier phát hiện năm 1959.

Ba chủng phân lập từ đất thuộc *Burkholderria cepacia* cũng có khả năng tổng hợp P(3HB-co-3H4PE).

Homopolymer P(3HV) cũng được tổng hợp từ 3 chủng *Chromobacterium violaceum* khi nuôi trên môi trường có sodium valerate.

Từ cây chuyển gen

Để thu nhận các hợp chất PHAs từ các cây chuyển đổi gen là một hướng thay đổi mạnh mẽ trong phương pháp sản xuất. Thử nghiệm đầu tiên được thực hiện ở cây *Arabidopsic thaliana* mang gen tổng hợp PHA của *R.eutropha*.

Poirier và cộng sự năm 1992 đã báo cáo sự biểu hiện thành công của gen *R.eutropha* mã hóa cho Acetoacetyl-coA reductase và PHA synthase trong tế bào chất của cây *A.thaliana*. Các thí nghiệm cho thấy sự tổng hợp P(3HB) xảy ra trong tế bào chất, nhân và không bào của các mô cây nhưng với lượng thấp.

3.2 Sự phân giải PHAs do VSV môi trường

Các PHAs như P(3HB), P(3HB-co-3HV) hầu như được phân giải nhanh chóng trong cả môi trường hiếu khí lẫn kỵ khí nhờ các enzyme ngoại bào của quần thể vi sinh vật. Tốc độ như thể nào cũng do nhiệt độ và pH môi trường chi phối. Chẳng hạn P(3HB-co-3HV) khi bị phân giải ở nơi hiếu khí thì ở pH=7-8.5, tốc độ phân giải sẽ đạt nhanh nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Ojumu, engineeing materials development institute – Nigeria, Hawaii natural energy institute – USA, *Production of PHAs, a bacterial biodegradable polymer*.
[2] http://www.academicjournal.org
[3] http://www.clt.astate.edu
[4] http://www2.unil.ch/ibpv/research
[5] http://en.wikipedia.org