

聚羟基烷酸酯降解包装材料的生物合成及进展

李冬娜, 马晓军

(天津科技大学 轻工科学与工程学院, 天津 300222)

摘要: **目的** 综述聚羟基烷酸酯 (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) 的生物合成工艺、影响因素及其在包装工业领域的应用研究进展, 以期优化其生产工艺、降低生产成本、提高 PHAs 的产量。**方法** 通过对近年来国内外研究现状和研究成果的分析和总结, 介绍 PHAs 的生物合成工艺、影响 PHAs 产量的主要因素及在包装方面的应用。**结论** 好氧瞬时供料法合成的 PHAs 产量高于微好氧-好氧工艺; 底物种类、C/N 值、pH 值、溶解氧浓度和合成温度对生物合成 PHAs 的产量和成分比例都有很大影响; PHAs 作为可降解材料在包装领域具有广阔的应用前景, 未来的重点研究方向是优化 PHAs 的合成工艺和影响因素, 降低其生产成本, 提高产量和产品性能。

关键词: 聚羟基烷酸酯; 生物降解包装材料; 合成工艺; 影响因素; 研究进展

中图分类号: TQ323.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2020)05-0128-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2020.05.018

Biosynthesis and Progress of Polyhydroxyalkanoates Degradable Packaging Materials

LI Dong-na, MA Xiao-jun

(College of Light Industry Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300222, China)

ABSTRACT: The paper aims to overview the biosynthesis progress and influencing factors of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its application in packaging industry to optimize its production process, reduce its production cost and increase its production. By means of analysis and summary of the research status and achievements in recent years at home and abroad, the biosynthetic process, the main factors affecting PHAs production and its application in packaging were introduced. The yield of PHAs synthesized by aerobic instantaneous feeding method is higher than that by micro-aerobic-aerobic process. At the same time, the substrate type, C/N ratio, pH value, dissolved oxygen concentration and temperature have a great influence on the yield and composition of PHAs. In addition, as a degradable material, PHAs has a broad development space in the packaging field. Therefore, optimizing the synthesis process and influencing factors of PHAs, reducing its production cost, and enhancing the production and product performance are the key directions for concern in the future.

KEY WORDS: polyhydroxyalkanoates; degradable packaging materials; synthesis process; influencing factors; research progress

聚羟基烷酸酯 (PHAs) 是羟基脂肪酸 (HA) 的聚合物, 是具有通用结构式的一类生物高分子材

料^[1]。PHAs 的合成方法有生物合成法和化学合成法^[2-3]。生物合成 PHAs 是近年来高分子材料合成领

收稿日期: 2019-07-22

基金项目: 天津市自然科学基金项目 (18JCYBJC90100)

作者简介: 李冬娜 (1989—), 女, 天津科技大学博士生, 主攻包装材料。

通信作者: 马晓军 (1975—), 男, 天津科技大学教授, 主要研究方向为包装材料与包装技术。

域的研究热点,主要是利用原核微生物在碳、氮营养失衡的情况下,作为碳源和能源储存物质合成的一类热塑性聚酯^[4]。PHAs 作为在微生物生长受限时的碳源储存性物质,其代谢合成过程和最终产物因底物种类的不同而有所差异。例如当使用乙酸合成 PHAs 时,最终生成产物为聚 3-羟基丁酸酯 (PHB);丙酸合成 PHAs 的最终产物为聚 3-羟基 2-甲基戊酸 (P3H2MV) 或聚 3-羟基戊酸酯 (PHV)。

与传统化学合成高分子材料相比,生物合成 PHAs 具有微生物酶体系的高度选择性和专一性、反应条件温和、生产过程和产品对环境友好等特点。同时,由于 PHAs 结构多元化,通过改变菌种、给料、发酵过程可以很方便地改变 PHAs 的结构单元组成,结构单元主要有 3HB (3-羟基丁酸)、3HV (3-羟基戊酸)、4HB (4-羟基丁酸)、3HHx (3-羟基己酸)、3HO (3-羟基辛酸)、3HN (3-羟基壬酸)、3HD (3-羟基癸酸) 等^[5]。此外,PHAs 因其单体和结构的不同,也呈现出不同的物理性能,其熔融温度、玻璃态转化温度、弹性模量、拉伸强度和断裂伸长率均不同,甚至差异较大;同时发现 PHAs 具有与传统石油基塑料类似的物理性质,再加上本身具有的生物可降解性、压电性、光学活性、气体阻隔性等优良性质,使其在绿色包装材料、容器、电器元件外壳、生物医学组织工程领域有着广泛的应用前景^[3,6]。

1 生物合成 PHAs 的工艺

PHAs 作为一种细胞能量储存聚合物,其生物合成途径主要通过微生物自身的代谢活动来实现,主要包括纯菌种法和混合菌种(如活性污泥)法。据统计,自然界中大量微生物具备合成 PHAs 的能力,其中最主要的合成菌有产碱杆菌属 (*Alcaligenes*)、放线菌属 (*Actinomyces*)、甲基营养菌属 (*Methylophs*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*) 等。工业生产中,一般仅使用其中几种纯菌发酵来生产 PHAs^[7]。由于使用纯菌法合成 PHAs 时要求灭菌消毒,保证系统中无杂菌存在,因此复杂高难度的生产过程使其合成成本比传统塑料高 4~9 倍^[8]。

混合菌种法是利用活性污泥中含有的丰富微生

物资源,将其直接作为菌种或者利用经富集、驯化后的混合菌群来合成 PHAs。相比纯菌种法,混合菌种法的菌种稳定、生产工艺简单,且无需灭菌消毒,可大幅降低 PHAs 的生产成本。此外,使用混合菌种也扩大了合成 PHAs 的底物选择范围,为推进 PHAs 产品的市场化起到了重要作用。混合菌种合成 PHAs 的工艺主要有微好氧-好氧活性污泥法、好氧瞬时供料法等。

1.1 微好氧-好氧活性污泥法

该工艺是在厌氧-好氧工艺^[9]的基础上进行改进而来的,其合成和提取工艺流程见图 1^[10]。由于厌氧-好氧工艺筛选富集的微生物在利用底物合成 PHAs 的同时,会合成聚磷和糖原^[11],因此最终合成 PHAs 的产率 (PHAs 产量占细胞干质量的百分数) 仅为 20% 左右。与厌氧-好氧工艺不同的是,微好氧-好氧工艺是在厌氧期间通入微量氧气,微生物可以氧化分解底物中的部分有机物获得能量。如果通入的氧气过量,微生物就会有足够的能量将有机质转化为蛋白质和糖原及其他细胞内物质,进行同化作用。若限制通入的氧气量,则会抑制内部的同化作用,这样微生物就可以将获得的能量用来合成 PHAs。综上可知,该工艺既避免了能量浪费,又提高了 PHAs 的产量。

崔有为等^[12]探究了不同碳源(乙酸和葡萄糖)对微好氧-好氧模式下 PHAs 积累和反硝化的影响。结果表明,以乙酸为主要碳源的序批式反应系统有利于 PHAs 的积累并驱动其反硝化过程,PHAs 的产率为 52%;以葡萄糖为主要碳源的反应系统则实现了 PHAs 和糖原的同时积累,且糖原产率高于 PHAs 产率,分别为 36% 和 17%。说明乙酸促进了 PHAs 的积累,葡萄糖有利于糖原的积累。

Blunt 等^[13]研究了微好氧-好氧工艺模式对恶臭假单胞菌 LS46 以中链长脂肪酸(辛酸)和长链脂肪酸 LCFA (由水解菜籽油衍生而来)为底物合成中链聚羟基烷酸酯 (mcl-PHA) 产量的影响。结果表明,在限制氧气的条件下,以辛酸为唯一底物合成的 mcl-PHA 产率可达 61.9%;以 LCFA 为唯一底物时, mcl-PHA 产率为 31%;当以二者为共同底物时,合成的 mcl-PHA 产率为 54.1%。这说明在微氧条件下,

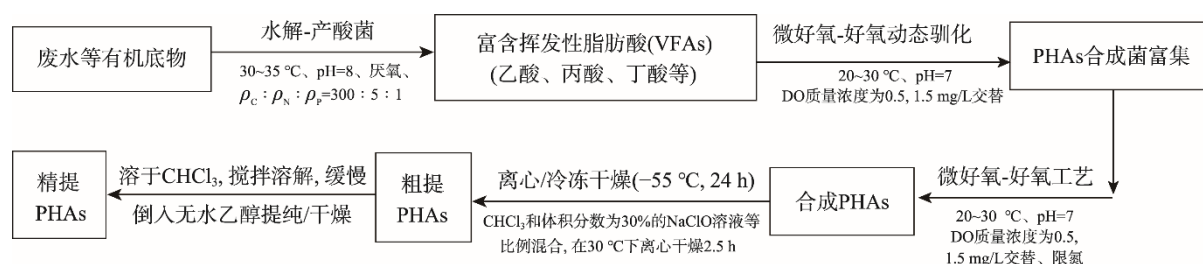


图 1 微好氧-好氧工艺合成及提取 PHAs 的流程

Fig.1 Flow chart of PHAs synthesis and extraction by micro-aerobic-aerobic process

LCFAs 主要促进了恶臭假单胞菌 LS46 的细胞生长,且生长的大量细胞以辛酸为底物合成 mcl-PHA,提高了其产量。

综上,虽然微好氧-好氧工艺的产量较厌氧-好氧工艺有所提高,但与纯菌种发酵法相比,还存在一定差距。据报道,纯菌种法合成的 PHAs 产率可达 80% 以上。此外,在该工艺过程中,微好氧状态(即空气流量)的控制是关键,可直接影响 PHAs 的产量。

1.2 好氧瞬时供料法

近年来,随着生物合成 PHAs 研究的深入,好氧瞬时供料法(Aerobic Dynamic Feeding, ADF)工艺逐渐被重视。由于 ADF 工艺运行简单、成本低、PHAs 合成率高,被认为是最具有发展前景的 PHAs 合成工艺^[14],其合成及提取工艺流程见图 2^[10]。ADF 工艺是通过控制底物浓度,使微生物处于底物丰富与匮乏的交替变换状态下合成 PHAs。当底物丰富时,微生物的细胞生长和 PHAs 储存同时进行;当底物被吸收完全,处于匮乏状态时,微生物则消耗 PHAs 转化为能量和碳源供其生存。在这种丰富与匮乏的交替状态下,那些具有快速吸收碳源合成 PHAs 的微生物成为优势菌群,从而实现 PHAs 合成菌的富集。

Fra-Vazquez 等^[15]采用序批式反应器,在完全好氧条件下用混合菌种合成 PHAs,获得了高达 60% 的 PHAs 产率,单体结构 HB 和 HV 的质量比为 63:37。刘一平等^[16]以乙酸钠为碳源采用好氧瞬时补料工艺合成 PHAs,结果发现,当碳源质量浓度为 6 g/L, pH 为 8.5,运行周期为 24 h 时,PHAs 产率达到最大值,为 31.1% (占细胞干质量的百分比)。

Fauzi 等^[17]以粗甘油和活性污泥为原料,采用好氧瞬时供料法,通过评估培养反应器的稳定性及有机负荷的影响,优化了 PHAs 的合成工艺。结果表明,当有机负荷从 360 mg/(L·d)增加到 1000 mg/(L·d)时,积累的 PHAs 最大产率为 80% (占细胞干质量的百分比),合成的共聚物中结构单元 PHB 和 PHV 的质量比为 60:40。

由上述研究可以看出,使用 ADF 工艺可实现具有合成 PHAs 能力混合菌种的富集,可以适应不同种类的底物,如乙酸钠、丙酸钠、挥发性脂肪酸等^[16—17],

各种废弃有机碳源或其水解酸化产物可作为底物合成 PHAs,不仅降低了生产成本,还对废弃资源进行了有效利用,具有较好的经济效益和环境效益^[18]。

2 生物合成 PHAs 的影响因素

目前,国内外进行生物合成 PHAs 的研究机构有很多,有清华大学、日本东京工业大学、韩国先进科技研究院(KAIST)、德国明斯特大学、中国科学院、俄罗斯科学院、日本理化研究所(RIKEN)、加拿大麦吉尔大学等,发现生物合成 PHAs 的影响因素主要有底物种类、pH 值、C/N 比、合成温度、溶解氧(DO)浓度等。

2.1 底物种类

底物的选择对生物合成 PHAs 至关重要,直接影响到最终合成 PHAs 的含量和结构单元,进而影响聚合物的力学性能、热学性能等。Salehizadeh 等^[14]研究表明,PHAs 的生产成本中有 30% 来源于底物中的碳源。若使用回收资源作为底物合成 PHAs,其生产成本可以降低 50%。目前作为生物合成 PHAs 的底物包括有机酸(乙酸、丙酸、丁酸、戊酸等)、糖类(葡萄糖、蔗糖、木糖)、醇类(甲醇、乙醇、戊醇等)及二氧化碳和氢气的混合气体^[19—20]。

Fergala 等^[21]以活性污泥厌氧消化产物和戊酸混合为底物合成 PHAs,获得了产率为 33% 的共聚物(PHB 与 PHV 的质量分数分别为 48%, 52%)。Chen 等^[22]从辛酸和壬酸的混合物中获得了短链和长链的 PHAs 混合物,不是共聚物。Hao 等^[23]以戊酸占优势的污泥水解液为基质,通过富集培养,提高了 PHAs 产量和 3-羟基戊酸酯(3HV)与 3-羟基-2-甲基戊酸酯(3H2MV)单体的比例。Zhang 等^[24]使用食品废弃物和剩余污泥进行发酵,制备出了挥发性脂肪酸(VFAs),随后通过调节 VFAs 中偶数酸和奇数酸的质量比,使合成的 PHV 产率在 22%~30% 之间,且可控,最终制成的塑料制品实现了从脆性到韧性的过渡。

为降低合成 PHAs 的原料成本,研究人员对一些低廉的可用于生物合成 PHAs 的底物作为碳源进行了

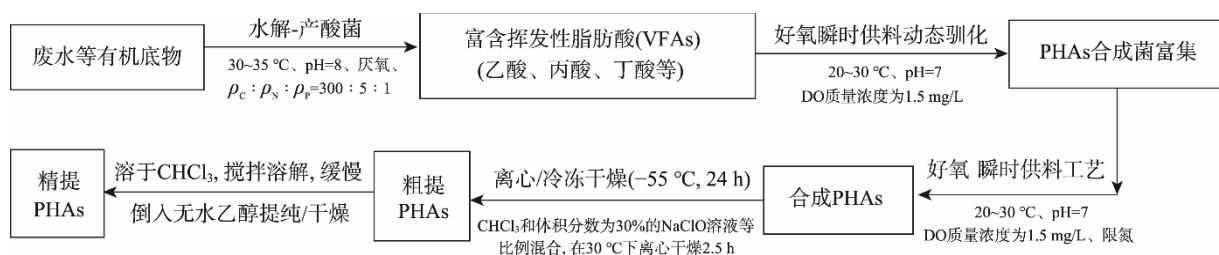


图2 好氧瞬时供料工艺合成及提取 PHAs 的流程

Fig.2 Flow chart of PHAs synthesis and extraction by aerobic instantaneous feeding process

广泛研究。Beccari 等^[25]利用橄榄油工厂废料作为碳源,用 *Lamproedia Hyalina* 和 *Candidatus Meganema Perideroedes* 菌株合成了 PHAs, 并发现约一半的 PHAs 可直接从橄榄油废料中生物合成。Campanari 等^[26]对橄榄油工厂废水进行发酵产酸,将所得固体通过厌氧消化转化成甲烷,将液体部分作为合成 PHAs 的底物,在底物丰盛阶段,获得的 PHAs 产率为 53.2%, 聚合物产量显著增加。

Abhishek 等^[27]通过研究 pH 值、温度和搅拌速度等对制糖废料合成 PHAs 的影响,利用 *Pseudomonas Aeruginosa* 菌株获得的细胞质量浓度为 7.32 g/L, PHAs 产率为 76.5%。Mior 等^[28]利用 *Cupriavidus Necator* CCUG 52238^T 菌株对包含可再生糖类如葡萄糖、蔗糖和果糖的油棕榈 (OPF) 果汁进行摇瓶实验,生物合成的 PHB 产率为 32%,研究了 OPF 汁浓度对 P(3HB)产量的影响,提出 OPF 汁可作为生产 P(3HB)的可再生碳源。

Venkateswar 等^[29]以发酵和不发酵 2 种食品废料为碳源,发现发酵的食品废料比不发酵的食品废料具有更大的 PHAs 产率,且在发酵 24 h 后获得的 PHAs 占细胞干质量的 39.6%,随后产量降低,产物中主要以 PHB 为主。

Srividya 等^[30]研究对比了大豆粉、CMC、蔗渣、糖蜜、麦麸、小麦胚芽及米糠等农业废渣生物合成 PHAs 的情况,发现大豆粉在 pH 为 7.5, 温度为 30 °C 下发酵 24 h 后,可获得质量浓度为 0.89 g/L 的 PHB。Young 等^[31]以米糠为原料制备了葡萄糖和果糖复合水解液,以 *Escherichia Coli* 和 *Ralstonia Eutropha Strains* 为菌株生产了 PHAs,二者合成 PHB 产率分别为 90.1%和 97.2% (占细胞干质量)。研究表明米糠是利用重组微生物产生聚合物的良好可再生资源。Wen 等^[32]以垃圾发酵渗滤液为碳源,研究了 NaCl 和有机负荷 (1350 mg/L 和 8433 mg/L) 对 PHAs 微生物富集的影响。结果表明,在低有机负荷条件下,随着 NaCl 浓度的增加,系统运行稳定,PHA 产量随之增加;高有机负荷会对 PHAs 的合成起到抑制作用。在质量浓度为 2.5 g/L 的 NaCl 和 1350 mg/L 的低有机负荷条件下,PHAs 产率最高可达 33.4%。

生物质柴油副产物也可被用于生物合成 PHAs。如 Koller 等^[33]以生物柴油副产物为碳源,利用未鉴定的耐高渗微生物在未添加任何前体的情况下合成了 P(3HB-co-3HV)。Mothes 等^[34]以 *Paracoccus Denitrificans* 和 *Cupriavidus Necator* JM P134 为混合菌株,利用纯甘油合成了 70% (产率) 的 PHB。Mazur 等^[35]以 *Cupriavidus Necator* 为出发菌株,在矿物盐培养基中添加米糠油制备的生物柴油副产物,将其放于 500 mL 的摇瓶,在搅拌速度为 150 r/min 和温度为 30 °C 下培养 24 h,合成 PHB。Cavalheiro 等^[36]以

Cupriavidus Necator DSM 545 为出发菌株,以废甘油为底物时,细胞质量浓度为 68.8 g/L, PHB 质量浓度为 0.84 g/L。Salakkam 等^[37]利用生物柴油生产中的副产物粗甘油为碳源、菜籽粕为氮源合成了质量浓度为 24.75 g/L 的 PHB。

上述研究表明,生物合成 PHAs 的碳源有很多,虽然使用低廉的底物作为碳源合成 PHAs 可以降低原料成本,受到了广泛重视,但由于这些碳源 (工业废料或副产物) 的可持续性难以保证,且有些原料中含有的碳源含量较少,导致最终合成的 PHAs 产量较低^[38];此外,以二氧化碳和氢气的混合气体为碳源合成 PHAs 的工艺更加复杂^[39]、成本更高,因此这些低廉碳源的研究还仅局限在实验室中。

2.2 pH 值

Wei 等^[40]发现, pH 值是影响生物合成 PHAs 的主要因素之一。pH 值过高或过低都可能抑制微生物细胞的生长,从而导致最终产物产量低^[41]。有关 pH 对 PHAs 生产过程影响研究的结果是不一致的,如 Wei 等^[40]建议 PHAs 生产和细胞生长的 pH 最佳范围为 6.0~7.5; Mohan 等^[42]认为 pH 值为中性时对生物合成 PHAs 更有利,因为参与 PHAs 生产的酶在 pH 值为 7 时是最活跃的;还有其他研究报道 PHAs 产量在 pH 值为 8.0~9.0 时更高^[43—44]。Inoue 等^[45]发现在不控制 pH 值时,活性污泥合成的 PHAs 产率为 59.2%;控制 pH 值为 7.2 时,合成的 PHAs 产率仅为 30.8%。这说明在不控制 pH 值时,微生物表现出了更高的 PHAs 积累能力,同时 pH 值的控制在很大程度上影响了 PHAs 累积的运行成本。

Leong 等^[46]研究了不同 pH 值 (5~9) 对生物量生长和 PHAs 积累量的影响,发现当 pH 值为 6 时,可获得最大细胞干质量浓度 (DCW) 和 PHB 积累量,分别为 2.02 g/L 和 21.8%。在 pH 为 5 的酸性条件下,微生物的细胞膜被破坏,较低的 pH 值培养基中,中性条件下的波动会减慢发酵过程,从而降低酶的细胞活性,影响细胞生物量。

综上所述,在生物合成 PHAs 过程中,微生物在中性、碱性或不控制 pH 值条件下都比在酸性环境下表现出更好的 PHAs 合成率,这可能与微生物在不同环境下具有的不同代谢途径有关。虽然 pH 值是生物合成 PHAs 过程中必不可少的影响因素,但若想要获得更高的 PHAs 产量,还需要考虑底物、C/N 值 (质量比值)、温度等其他决定性因素。

2.3 C/N 值 (质量比值)

在生物合成 PHAs 的过程中, C, N, P 是不可或缺的营养元素,大量研究表明,通过控制 C 与 N 的质量比,即限制 N 元素的供给可以抑制微生物的细

胞生长,从而促进 PHAs 的积累^[47]。Pokoj 等^[48]研究了在饥饿和盛宴模式下,较高的 C/N 值,即限制 N 含量的条件下,可获得较高的 PHAs 产量。当 C/N 值为 17.4 时,获得的 PHAs 产率为 57.2%,相比 C/N 值为 8.4 时的 PHAs 产率(8.4%)有较大提高,与 Oliveira 等^[49]和 Silva 等^[50]得出的结果一致。

Chang 等^[51]采用序批式反应器(SBR)运行方式,研究了不同 C/N 值(0, 20, 30, 40, 50 和 60)对污泥利用丙酸盐积累 PHAs 的影响。结果表明,PHAs 产率在 C/N 值为 50 时最大,为 51.3%,证明了限氮条件下能够促进 PHAs 的合成。

Urtuvia 等^[52]以伯克霍尔德菌 LB400 为模型,对其在限氮条件下合成 PHAs 进行了研究。结果表明,在以葡萄糖为唯一碳源,同时限氮条件下,以 LB400 合成的 PHAs 占细胞干质量的 40%,而在对照培养基中未观察到 PHAs。

综上可知,在生物合成 PHAs 的过程中,适当的限氮(控制 C/N 值在 20~50 间)可以获得较高产量的 PHAs,目前大多数生物合成 PHAs 的研究都是在限氮条件下进行的。

2.4 合成温度

在生物合成 PHAs 的过程中,温度对微生物酶活性有一定的影响,且还会影响微生物的代谢途径。一般在相对低温环境下,聚磷菌可积累更多的 PHAs。

郝大可^[53]从废弃活性污泥中分离筛选的 1 株菌株 *Bacillus* sp. PB-3,研究了不同温度(20, 25, 30, 35, 40 °C)对 PHAs 合成的影响。研究表明,培养温度在 35 °C 时,获得了最大的 PHAs 产量,是菌体生长和 PHAs 合成的最佳温度。在 20, 25, 30, 40 °C 时,PHAs 的产量均低于 35 °C 时的产量,这可能因为较低的合成温度使微生物酶活性降低,影响了细胞的正常生长;此外,过高的温度(40 °C)会使微生物酶活性丧失,从而抑制细胞的生长和繁殖。

Jiang 等^[54]讨论了温度为 20, 30 °C 时,微生物处于盛宴和饥饿状态下积累 PHB 的情况。发现富集成 PHB 的微生物群落结构与温度密切相关,与合成周期长短无关。*Zoogloea* 和 *Plasticicumulans Acidivorans* 在这 2 个温度条件下分别占据主导地位,合成的 PHB 产率超过了 75%。

Johnson 等^[55]研究了在 15~35 °C 温度下 PHAs 的合成情况。结果表明,温度为 30 °C 时,微生物对乙酸的消耗较快,盛宴期较短,合成的 PHAs 产率为 84%;在 15 °C 时,微生物酶活性较低,需要较长的时间消耗底物,PHAs 的产率仅为 35%;在 20 °C 时,PHAs 产率达到 70%。

可见,合成温度对微生物酶活性有较大影响,进而影响 PHAs 的产量。大多研究都表明,当合成温度

为 20~35 °C 时,更有利于微生物同化作用的酶促反应进行,进而积累更高产量的 PHAs。

2.5 溶解氧(DO)浓度

研究表明,合适的 DO 浓度可以提高生物合成 PHAs 的产量,过高的 DO 浓度会使微生物的生长受到抑制,进而影响 PHAs 的合成。

黄惠珺等^[56]研究了 DO 浓度对活性污泥底物贮存 PHAs 的影响,发现在好氧阶段,低 DO 质量浓度(0.5 mg/L)条件比高 DO 质量浓度(2.0 mg/L)条件更有利于 PHAs 的积累。合成时间为 90 min 时,高、低 DO 质量浓度下 PHAs 的浓度分别为 3.1, 5.0 mmol/L,说明低 DO 质量浓度较高 DO 质量浓度更有利于 PHAs 的合成。

Wang 等^[57]研究了不同 DO 质量浓度对底物利用选择和 PHAs 合成的影响。发现微生物在高 DO(3.47 mg/L)和低 DO(0.86 mg/L)质量浓度下都能获得较好的富集,且具有大部分相同的微生物种群。在乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐和戊酸盐共存的前提下,不论 DO 质量浓度如何,微生物都优先利用丁酸盐和戊酸盐合成 PHAs。若要同时利用乙酸盐和丙酸盐,达到较高的 PHAs 积累量,则需要较高的 DO 质量浓度,因为低 DO 条件下,微生物对乙酸盐和丙酸盐的摄取率较低,对丁酸盐和戊酸盐的摄取率几乎不受 DO 质量浓度水平的影响。

Vargas 等^[58]研究了不同 DO(0.5, 3, 5.5 mg/L)质量浓度对模拟废水合成 PHAs 的影响。结果显示,当 DO 质量浓度为 3 mg/L 时,可获得较高质量浓度的 PHAs,为 3307 mg/L,高 DO(5.5 mg/L)和低 DO(0.5 mg/L)质量浓度都会抑制 PHAs 的合成。

综上,DO 质量浓度的适当选择对优化 PHAs 产量起着重要作用。根据以上研究结果可知,DO 质量浓度并不是越高越有利于 PHAs 的合成,反而将 DO 质量浓度控制在较低水平(0.5~3 mg/L)时,不仅可以减少曝气费用、降低生产成本,同时也可提高 PHAs 的产量。

3 PHAs 在包装领域的研究与应用

作为一种新型功能材料,PHAs 有着广阔的应用前景,如可用作各种绿色包装材料,容器、纸张涂膜与生物可降解薄膜等。生物塑料 PHAs 在包装领域的应用已有 4 代产品,分别为 PHB、聚 3-羟基丁酸-3-羟基戊酸共聚酯(PHBV)、聚 3-羟基丁酸-3-羟基己酸共聚酯(PHBHHx)和聚 3-羟基丁酸-4-羟基丁酸共聚酯(P3HB4HB),实现了制品从刚性和易碎向柔软弹性的过渡,从而制备出满足不同需求的包装材料。PHAs 先后被 Wella AG, P&G, Biomers, Metabolix

及其他的一些公司开发为包装膜，主要用于购物袋、集装箱、纸张涂层和一次性用品等领域^[59]。目前，PHBHHx 产品可用作制备可降解的包装膜、高档包装材料、复合材料和高级化妆品容器等。同时其优良的气体阻隔性使其可应用于食品包装和香水包装，或可代替 PET 饮料瓶。目前 PHAs 实现大规模工业化生产的主要障碍是生产成本过高。

此外，一些纳米材料如纤维素纳米晶体、纳米蒙脱土等可用来增强 PHAs 材料的性能。纳米材料的引入可明显提高 PHAs 的结晶性、力学性能、热稳定性和阻隔性能等。Zhou 等^[60]利用溶液浇铸法制备了 PHBHHx 和纤维素纳米晶体 (CNCs) 复合材料，结果发现 CNCs 可以显著提高 PHBHHx 的热稳定性、力学性能和阻隔性能，当 CNCs 的添加量为 2.3% (质量分数) 时，复合材料的拉伸强度和氧气阻隔性能分别改善了 26.6% 和 18.5%。孙圣麟等^[61]以马来酸酐为增容剂，采用挤压吹塑法制备了淀粉/PHAs 复合膜。结果发现当 PHAs 质量分数为 12% 时，添加 1% (质量分数) 的马来酸酐制成的复合膜具有较优的拉伸强度、阻隔性能和相容性。当 PHAs 质量分数为 24% 时，添加 3% (质量分数) 的马来酸酐制成的复合膜具有较优的性能。Garrido-Miranda 等^[62]采用熔融共混法制备了聚 3-羟基丁酸酯 (PHB) - 热塑性淀粉 (TPS) / 有机改性蒙脱土 (OMMT) / 丁香酚生物纳米复合材料，结果表明，生物纳米复合材料的弹性模量比纯 PHB 提高了 12%，且对番茄灰霉菌有很高的抗真菌活性和抗氧化活性，说明含丁香酚的生物纳米复合材料具有作为食品包装材料使用的可能性。Cherpinski 等^[63]研究了电纺 PHB 和 PHBV 双面涂层对纳米纤维素薄膜形貌、水接触角、力学性能和阻隔性能等的影响。结果表明，合成多层复合材料的水接触阻力、力学性能、水蒸气和氧气阻隔性能都有所提高，是食品包装中非常有前途的生物复合材料。

Fabra 等^[64]将电纺乳清蛋白分离物、普鲁兰多糖、玉米醇溶蛋白作为高阻隔纳米结构中间层添加到 PHBV 中，结果表明，当普鲁兰多糖和玉米醇溶蛋白以纤维形态加入 PHBV 中时，多层膜的水蒸气透过率和氧气透过率分别增加了 28%~35% 和 38%~48%。此方法对开发可生物降解的食品包装具有重大意义。

4 结语

目前，PHAs 未实现大规模工业化生产主要归因于其生产成本高和产量低。文中分析得可通过控制 PHAs 的合成工艺 (微好氧、好氧或好氧瞬时供料法) 和合成因素 (底物种类、pH 值、C/N 值、温度和 DO 质量浓度) 来解决存在的问题，其生产成本控制和产量提升是今后可降解材料领域的研究热点。相比于纯

菌发酵法，混合菌种合成法具有诸多优势，且在这方面的研究已经取得了很大进展，尤其利用废弃物发酵产物 VFAs 为底物合成 PHAs。从目前的研究来看，由于混合菌体系浓度低，报道的最大菌体质量浓度仅为 7 g/L，而纯菌合成 PHAs 的质量浓度一般可达到 80 g/L 以上。可见，混合菌种合成 PHAs 的产量和纯菌发酵工艺相比还有一定差距，为了早日实现环境友好型聚合材料的大规模工业化生产，提高混合菌体系浓度从而合成高产量的 PHAs 是今后研究的重点方向。

参考文献：

- [1] PAKALAPATI H, CHANG C K, SHOW P L, et al. Development of Polyhydroxyalkanoates Production from Waste Feedstocks and Applications[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2018, 126(3): 282—292.
- [2] 徐国荣, 陈静, 夏春谷. 生物可降解性聚羟基脂肪酸酯的化学合成研究进展[J]. *化学通报*, 2012, 75(3): 224—231.
XU Guo-rong, CHEN Jing, XIA Chun-gu. Progress on Synthesis of Biodegradable Polyhydroxyalkanoates[J]. *Chemistry*, 2012, 75(3): 224—231.
- [3] 朱博超. 聚羟基脂肪酸酯的合成和应用研究进展[J]. *现代塑料加工应用*, 2003, 15(5): 61—64.
ZHU Bo-chao. Research Advance in Synthesis and Application of Polyhydroxyalkanoates[J]. *Modern Plastics Processing and Applications*, 2003, 15(5): 61—64.
- [4] FRANZ H, ESTELLE G, CHRISTOPHER J, et al. Development of a Feeding Strategy for High Cell and PHA Density Fed-batch Fermentation of *Ralstonia Eutropha* H16 from Organic Acids and Their Salts[J]. *Process Biochemistry*, 2015, 50(2): 165—172.
- [5] PORNPA S, RANDALL W, SURESH N, et al. Biotechnological Approaches for the Production of Polyhydroxyalkanoates in Microorganisms and Plants—a Review[J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(2): 148—175.
- [6] FONTAINE P, MOSRATI R, CORROLER D. Medium Chain Length Polyhydroxyalkanoates Biosynthesis in *Pseudomonas Putida* Mt-2 Enhanced by Co-metabolism of Glycerol/Octanoate or Fatty Acids Mixtures[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 98: 430—435.
- [7] BUGNICOURT E, CINELLI P, ALVAREZ V, et al. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of Synthesis, Characteristics, Processing and Potential Applications in Packaging[J]. *Express Polymer Letters*, 2014, 8(11): 791—808.
- [8] AKARAONYE E, KESHAVERZ T, ROY I. Production of Polyhydroxyalkanoates: the Future Green Materials

- of Choice[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2010, 85(6): 732—743.
- [9] 郭子瑞, 黄龙, 陈志强, 等. 活性污泥合成聚羟基脂肪酸酯工艺过程研究进展[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2016, 48(2): 1—8.
- GUO Zi-rui, HUANG Long, CHEN Zhi-qiang, et al. Advances in Polyhydroxyalkanoates Synthesis by Activated Sludge[J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2016, 48(2): 1—8.
- [10] 李金娟. 活性污泥利用挥发性脂肪酸储存聚羟基脂肪酸酯的研究[D]. 天津: 天津大学, 2010: 13—15.
- LI Jin-juan. Storage of Polyhydroxyalkanoate from Volatile Fatty Acid by Activated Sludge[D]. Tianjin: Tianjin University, 2010: 13—15.
- [11] 张明明, 王少坡, 于静洁, 等. 聚磷菌的代谢途径及其特性研究现状[J]. *工业水处理*, 2013, 33(5): 4—8.
- ZHANG Ming-ming, WANG Shao-po, YU Jing-jie, et al. Review on Metabolic Pathway and Characters of PAO[J]. *Industrial Water Treatment*, 2013, 33(5): 4—8.
- [12] 崔有为, 金常林, 王好韩, 等. 碳源对 O/A-F/F 模式积累内源聚合物及反硝化的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(1): 336—342.
- CUI You-wei, JIN Chang-lin, WANG Hao-han, et al. Effect of Carbon Sources on the Accumulation of Endogenous Polymers and Denitritation in the O/A-F/F Mode[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(1): 336—342.
- [13] BLUNT W, DARTIAILH C, SPARLING R, et al. Carbon Flux to Growth or Polyhydroxyalkanoate Synthesis under Microaerophilic Conditions Is Affected by Fatty Acid Chain-length in *Pseudomonas Putida* LS46[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(15): 6437—6449.
- [14] SALEHIZADEH H, VANLOOSDRECHT M C M. Production of Polyhydroxyalkanoates by Mixed Culture: Recent Trends and Biotechnological Importance[J]. *Biotechnology Advances*, 2004, 22(3): 261—279.
- [15] FRA-VAZQUEZ A, SANTORIO S, PALMEIRO-SANCHEZ T, et al. PHA Accumulation of a Mixed Microbial Culture Co-exists with Ammonia Partial Nitrification[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 360: 1255—1261.
- [16] 刘一平, 郭亮, 冉依禾, 等. COD、pH 值和运行周期对好氧瞬时补料工艺合成聚羟基脂肪酸酯的影响[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(2): 695—701.
- LIU Yi-ping, GUO Liang, RAN Yi-he, et al. Effect of COD Concentration, pH and Operation Cycle in Production of Polyhydroxyalkanoates (PHA) by Aerobic Dynamic Feeding (ADF)[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(2): 695—701.
- [17] FAUZI A H M, CHUA A S M, YOON L W, et al. Enrichment of PHA-accumulators for Sustainable PHA Production from Crude Glycerol[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2019, 122: 200—208.
- [18] VALENTINO F, MORGANSAGASTUME F, FRARACCIO S, et al. Sludge Minimization in Municipal Wastewater Treatment by Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2015, 22(10): 7281—7294.
- [19] SUCHADA C. Current Trends in Biodegradable Polyhydroxyalkanoates[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2010, 110(6): 621—632.
- [20] DU C Y, SABIROVA J, SOETAERT W, et al. Polyhydroxyalkanoates Production from Low-cost Sustainable Raw Materials[J]. *Current Chemical Biology*, 2012, 6:14—25.
- [21] FERGALA A, ALSAYED A, KHATTAB S, et al. Development of Methane-utilizing Mixed Cultures for the Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) from Anaerobic Digester Sludge[J]. *Environmental Science and Technology*, 2018, 52(21): 12376—12387.
- [22] CHEN Z, ZHANG C P, SHEN L, et al. Synthesis of Short-chain-length and Medium-chain-length Polyhydroxyalkanoate Blends from Activated Sludge by Manipulating Octanoic Acid and Nonanoic Acid as Carbon Sources[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(42): 11043—11054.
- [23] HAO J X, WANG H, WANG X J. Selecting Optimal Feast-to-famine Ratio for a New Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production System Fed by Valerate-dominant Sludge Hydrolysate[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(7): 3133—3143.
- [24] ZHANG M M, WU H Y, CHEN H. Coupling of Polyhydroxyalkanoate Production with Volatile Fatty Acid from Food Wastes and Excess Sludge[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2014, 92(2): 171—178.
- [25] BECCARI M, BERTIN L, DIONISI D, et al. Exploiting Olive Oil Mill Effluents as a Renewable Resource for Production of Biodegradable Polymers Through a Combined Anaerobic-aerobic Process[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2009, 84(6): 901—908.
- [26] CAMPANARI S, AUGELLETTI F, ROSSETTI S, et al. Enhancing a Multi-stage Process for Olive Oil Mill Wastewater Valorization towards Polyhydroxyalkanoates and Biogas Production[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 317: 280—289.
- [27] ABHISHEK D, AJAY Y, ALOK J, et al. Utilizing of Sugar Refinery Waste (Cane Molasses) for Production of Bio-plastic under Submerged Fermentation Process[J]. *Journal of Polymers and Environment*, 2012, 20(2): 446—453.
- [28] MIOR A, MOHD R, HIDAYAH A, et al. Renewable Sugars from Oil Palm Frond Juice as an Alternative Novel Fermentation Feedstock for Value-added Products[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 110: 566—571.
- [29] VENKATESWAR M, VENKATA S. Influence of Aer-

- obic and Anoxic Microenvironments on Polyhydroxyalkanoates (PHA) Production from Food Waste and Acidogenic Effluents Using Aerobic Consortia[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 103(1): 313—321.
- [30] SRIVIDYA S. Polyhydroxybutyrate (PHB) Production Using Agro-industrial Residue as Substrate by *Bacillus Thuringiensis* IAM 12077[J]. *International Journal of Chemtech Research*, 2012, 4: 1158—1162.
- [31] YOUNG H, SEUNG H, YOUNG-AH J, et al. Development of Rice Bran Treatment Process and Its Use for the Synthesis of Polyhydroxyalkanoates from Rice Bran Hydrolysate Solution[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 181: 283—290.
- [32] WEN Q X, JI Y, HAO Y R G, et al. Effect of Sodium Chloride on Polyhydroxyalkanoate Production from Food Waste Fermentation Leachate under Different Organic Loading Rate[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 267: 133—140.
- [33] KOLLER M, BONA R, BRAUUNEGG G, et al. Production of Polyhydroxyalkanoates from Agricultural Waste and Surplus Materials[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(2): 561—565.
- [34] MOTHES C, SCHNORPFEIL C, ACHERMANN J. Production of PHB from Crude Glycerol[J]. *Engineering in Life Sciences*, 2007, 7(5): 475—479.
- [35] MAZUR L, DASILYA D, GRIGULL V, et al. Strategies of Biodiesel Obtained from Rice Bran Oil[J]. *Materials Science and Engineering C*, 2009, 29(2): 583—587.
- [36] CAVALHEIRO J, DEALMEIDA M, GRANDFILS C, et al. Poly (3-hydroxybutyrate) Production by *Cupriavidus Necator* Using Waste Glycerol[J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(5): 509—545.
- [37] SALAKKAM A, WEBB C. Production of Poly (3-hydroxybutyrate) from a Complete Feedstock Derived from Biodiesel By-products (Crude Glycerol and Rapeseed Meal)[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2018, 137: 358—364.
- [38] 胡国庆, 回晶. 可再生生物柴油副产物合成生物材料 PHA 研究现状[J]. *中国生物工程杂志*, 2009, 29(11): 112—116.
- HU Guo-qing, HUI Jing. Biomaterial Polyhydroxyalkanoate Synthesized from Renewable Biodiesel Coproduct[J]. *China Biotechnology*, 2009, 29(11): 112—116.
- [39] 羊依金, 张雪乔, 邹长武. 微生物塑料的研究现状及应用前景[J]. *塑料工业*, 2006, 34: 73—77.
- YANG Yi-jin, ZHANG Xue-qiao, ZOU Chang-wu. Present Situation of Research and Prospect of Application of Microbic Plastics[J]. *China Plastics Industry*, 2006, 34: 73—77.
- [40] WEI Y H, CHEN W C, HUANG C K, et al. Screening and Evaluation of Polyhydroxybutyrate-producing Strains from Indigenous Isolate *Cupriavidus Taiwanensis* Strains[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2011, 12(1): 252—265.
- [41] BURGE G, MOUSSA M, SAULOU-BERRION C, et al. Towards an Extractive Bioconversion of 3-hydroxypropionic Acid: Study of Inhibition Phenomena[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2017, 92(9): 2425—2432.
- [42] MOHAN S V, REDDY M V. Optimization of Critical Factors to Enhance Polyhydroxyalkanoates (PHA) Synthesis by Mixed Culture Using Taguchi Design of Experimental Methodology[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 128: 409—416.
- [43] LIU Z, WANG Y, HE N, et al. Optimization of Polyhydroxybutyrate (PHB) Production by Excess Activated Sludge and Microbial Community Analysis[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 185(1): 8—16.
- [44] VILLANO M, BECCARI M, DIONISI D, et al. Effect of pH on the Production of Bacterial Polyhydroxyalkanoates by Mixed Cultures Enriched under Periodic Feeding[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(5): 714—723.
- [45] INOUE D, SUZUKI Y, SAWADA K, et al. Polyhydroxyalkanoate Accumulation Ability and Associated Microbial Community in Activated Sludge-derived Acetate-fed Microbial Cultures Enriched under Different Temperature and pH Conditions[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2018, 125(3): 339—345.
- [46] LEONG Y K, SHOW P L, LAN J C W, et al. Application of Thermo-separating Aqueous Two-phase System in Extractive Bioconversion of Polyhydroxyalkanoates by *Cupriavidus Necator* H16[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 287: 121474.
- [47] 刘英杰, 贾晓强, 闻建平, 等. 混合菌群合成聚羟基脂肪酸酯研究进展[J]. *化工进展*, 2014, 33(10): 2729—2734.
- LIU Ying-jie, JIA Xiao-qiang, WEN Jian-ping, et al. Recent Advances in Polyhydroxyalkanoates Production by Mixed Cultures[J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2014, 33(10): 2729—2734.
- [48] POKOJ T, KLIMIUK E, CIESIELSKI S. Interactive Effect of Crude Glycerin Concentration and C : N Ratio on Polyhydroxyalkanoates Accumulation by Mixed Microbial Cultures Modelled with Response Surface Methodology[J]. *Water Research*, 2019, 156: 434—444.
- [49] OLIVEIRA C S S, SILVA C E, CARVALHO G, et al. Strategies for Efficiently Selecting PHA Producing Mixed Microbial Cultures Using Complex Feedstocks: Feast and Famine Regime and Uncoupled Carbon and Nitrogen Availabilities[J]. *New Biotechnology*, 2017, 37: 69—79.
- [50] SILVA F, CAMPANARI S, MATTEO S, et al. Impact of Nitrogen Feeding Regulation on Polyhydroxyalkanoates Production by Mixed Microbial Cultures[J]. *New Biotechnology*, 2017, 37: 90—98.

- [51] CHANG H F, CHANG W C, TSAI C Y. Long-term Effect of Weak Nitrogen Limitation on Polyhydroxyalkanoates Production of Propionate-fed Activated Sludge Operated at Long Sludge Retention Time[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(11): 3113—3122.
- [52] URTUVIA V, VILLEGAS P, FUENTES S, et al. Burkholderia Xenovorans LB400 Possesses a Functional Polyhydroxyalkanoate Anabolic Pathway Encoded by the PHA Genes and Synthesizes Poly (3-hydroxybutyrate) under Nitrogen-limiting Conditions[J]. *International Microbiology*, 2018, 21(1/2): 47—57.
- [53] 郝大可, 李强, 韩省, 等. 废弃活性污泥中产聚羟基脂肪酸酯菌株 *Bacillus* sp PB-3 的发酵条件优化[J]. *生物加工过程*, 2012, 10(5): 28—33.
HAO Da-ke, LI Qiang, Han Sheng, et al. Optimization of PHAs Production by *Bacillus* sp PB-3 from Waste Activated Sludge[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2012, 10(5): 28—33.
- [54] JIANG Y, MARANG L, KLEEREBEZEM R, et al. Effect of Temperature and Cycle Length on Microbial Competition in PHB-producing Sequencing Batch Reactor[J]. *ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2011, 5(5): 896—907.
- [55] JOHNSON K, VAN GEEST J, KLEEREBEZEM R, et al. Short and Long-term Temperature Effects on Aerobic Polyhydroxybutyrate Producing Mixed Cultures[J]. *Water Research*, 2010, 44(6): 1689—1700.
- [56] 黄惠珺, 郭建华, 王中玮, 等. 缺氧条件下进水时间与溶解氧对底物贮存的影响[J]. *中国环境科学*, 2010, 30(8): 1056—1061.
HUANG Hui-jun, GUO Jian-hua, WANG Zhong-wei, et al. Effect of Feeding Length and Dissolved Oxygen on Biochemical Storage under Anoxic Conditions[J]. *China Environmental Science*, 2010, 30(8): 1056—1061.
- [57] WANG X, OEHMEN A, FREITAS E B, et al. The Link of Feast-phase Dissolved Oxygen (DO) with Substrate Competition and Microbial Selection in PHA Production[J]. *Water Research*, 2017, 112: 269—278.
- [58] VARGAS A, MONTANO L, AMATA R. Enhanced Polyhydroxyalkanoate Production from Organic Wastes via Process Control[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 156: 248—255.
- [59] 尹芬, 马晓军. 可降解包装材料聚羟基烷酸酯合成工艺及影响因素的研究进展[J]. *包装工程*, 2019, 40(3): 72—80.
YIN Fen, MA Xiao-jun. Research Progress in Synthetic Technology and Influencing Factors of Degradable Packaging Materials Polyhydroxyalkanoates[J]. *Packaging Engineering*, 2019, 40(3): 72—80.
- [60] ZHOU J, MA X J, ZHU L Z. Preparation and Characterization of a Bionanocomposite from Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) and Cellulose Nanocrystals[J]. *Cellulose*, 2019, 26: 979—990.
- [61] 孙圣麟, 刘鹏飞, 秦洋, 等. 改性方式及马来酸酐添加量对淀粉/聚羟基脂肪酸酯复合膜性能的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(7): 221—229.
SUN Sheng-lin, LIU Peng-fei, QIN Yang, et al. Effect of Modification Methods and Maleic Anhydride Content on the Properties of Starch/Polyhydroxyalkanoate Composites Films[J]. *Food Science*, 2018, 39(7): 221—229.
- [62] GARRIDO-MIRANDA K A, RIVAS B L, PEREZ-RIVERA M A, et al. Antioxidant and Antifungal Effects of Eugenol Incorporated in Bionanocomposites of Poly (3-hydroxybutyrate)-thermoplastic Starch[J]. *Lwt-food Science and Technology*, 2018, 98: 260—267.
- [63] CHERPINSKI A, TORRES-GINER S, VARTIAINEN J, et al. Improving the Water Resistance of Nanocellulose-based Films with Polyhydroxyalkanoates Processed by the Electrospinning Coating Technique[J]. *Cellulose*, 2018, 25(2): 1291—1307.
- [64] FABRA M J, LOPEZ-RUBIO A, LAGARON J M. On the Use of Different Hydrocolloids as Electrospun Adhesive Interlayers to Enhance the Barrier Properties of Polyhydroxyalkanoates of Interest in Fully Renewable Food Packaging Concepts[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 39(8): 77—84.