

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

尹芬, 马晓军

(天津科技大学 包装与印刷工程学院, 天津 300222)

摘要: **目的** 综述可降解包装材料聚羟基烷酸酯 (Polyhydroxyalkanoates, 简称 PHAs 或 PHA) 的主要合成工艺、影响 PHA 产率的因素及其在包装工业领域上的应用研究进展。**方法** 通过对国内外的研究现状和研究成果进行分析总结, 介绍 PHA 的主要合成工艺, 微生物法合成 PHA 产量的影响因素及 PHA 在包装方面的应用。**结果** PHA 合成工艺、碳源种类和浓度、氮磷源浓度、pH 值、溶解氧浓度和温度对合成 PHA 的产量有很大影响, 其中碳源种类不同还会使形成 PHA 的单体及单体在 PHA 中的比例不同, 形成具有不同性质的 PHA。PHA 因其性能的多样性而广泛应用于包装领域。**结论** 优化 PHA 的合成工艺及影响因素, 能有效提高 PHA 产量或降低 PHA 生产成本。目前, 以真实废弃物为底物的活性污泥系统生产 PHA 的研究还不够深入, 由于 PHA 作为可降解的包装材料在包装领域具有显著的发展前景, 因此, 优化 PHA 合成工艺和影响因素是今后值得关注的重点方向。

关键词: 可降解包装材料; PHA; 合成工艺; 影响因素; 应用

中图分类号: TQ323.41 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2019)03-0072-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.03.010

Research Progress in Synthetic Technology and Influencing Factors of Degradable Packaging Materials Polyhydroxyalkanes

YIN Fen, MA Xiao-jun

(School of Packaging & Printing Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300222, China)

ABSTRACT: The work aims to summarize the research progress of the main synthetic technology of degradable packaging material Polyhydroxyalkanoates (PHAs or PHA), the factors affecting the yield of PHA and the application in packaging industry of PHA. Based on the analysis and summary of the research status and achievements at home and abroad, the main synthetic process of PHA, the influencing factors on the yield of PHA by microbial synthesis and the application of PHA in packaging were introduced. PHA synthesis process, types and concentration of carbon sources, concentration of nitrogen and phosphorus sources, pH value, concentration of dissolved oxygen and temperature had a great impact on the yield of PHA. Different types of carbon sources also made the monomers of PHA different, and the proportion of monomers in PHA was different which formed PHA with different properties. Due to the diversity of PHA performance, it could be widely applied to packaging. Optimizing the synthesis process and influencing factors of PHA can effectively increase the yield of PHA or reduce the production cost of PHA. However, the research on the production of PHA by activated

收稿日期: 2018-09-10

基金项目: 国家自然科学基金 (31870564)

作者简介: 尹芬 (1990—), 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技术。

sludge system with real waste as substrate is not deep enough. As a degradable packaging material, PHA has significant development prospects in the field of packaging. Therefore, optimizing the synthesis process and influencing factors of PHA is the focus of attention in the future.

KEY WORDS: degradable packaging materials; PHA; synthesis technology; influencing factors; application

随着经济的发展,大量的石油基塑料产品被应用到人们的生活中。石油基塑料材料在为人们带来各种便利的同时,由于其不可降解的特性,也造成了严重的环境问题。为了减少石油基塑料污染,各个国家都采取了许多措施,如制定更严格的立法、建设回收设施以及用可生物降解塑料代替石油基塑料。聚羟基烷酸酯(PHA)是目前最有前途的生物可降解塑料之一。PHA 是一种结构多样化、生物可降解的高分子聚合物,可以由多种微生物合成,一般作为其体内碳源和能源的储存物质。PHA 是一种热塑性微生物聚酯,具有与传统化学合成高分子如聚乙烯、聚丙烯等相似的材料性质如结晶度、抗张强度、熔点、玻璃化转变温度等^[1],同时还具备良好的压电性、光学活性、阻氧阻湿性、生物可再生性、生物相容性和生物可降解性等特性,是一种能良好替代石油基塑料的材料。聚合形成 PHA 的单体非常多样化,如 3-羟基丁酸(3-hydroxybutyrate, 3HB)、4-羟基丁酸(4-hydroxybutyrate, 4HB)、3-羟基戊酸(3-hydroxyvalerate, 3HV)、3-羟基己酸(3-hydroxyhexanoate, 3HH)及 3-羟基辛酸(3-hydroxyoctanoate, 3HO)等^[2]。不同的 PHA 单体组合能形成多种 PHA,包括由单一单体聚合而成的均聚物和由 2 种或 2 种以上单体形成的共聚物,其中共聚物可分为无规共聚物和嵌段共聚物等,常见的有聚 3-羟基丁酸-4-羟基丁酸酯 P(3HB-co-4HB)、聚 3-羟基丁酸-3-羟基戊酸酯 P(3HB-co-3HV)、聚 3-羟基己酸-3-羟基辛酸酯 poly(3-P(3HHx-co-3HO))、聚 3-羟基丙酸-4-羟基丁酸酯 P(3HP-co-4HB)等。PHA 种类的多样性决定了其性能的多样化^[3],在包装、医药、农业及工业中具有广泛的应用前景。文中拟综述混合菌群合成 PHA 的工艺厌氧-好氧交替运行工艺、微氧-好氧工艺和好氧瞬时进料工艺等;影响混合菌群合成 PHA 产率的因素,如底物、氮磷、pH 值、溶解氧和温度等;PHA 在包装方面的应用。利用混合菌群最佳的合成工艺合成 PHA,能增加 PHA 的产量且降低 PHA 的生产成本,同时,合成的 PHA 是一种环境友好型塑料,这对于实现包装材料的可持续发展具有重大现实意义。

1 PHA 的主要合成工艺

聚羟基脂肪酸酯是由很多细菌合成的一种胞内聚酯,在生物体内主要是作为碳源和能源的贮藏性物质。与纯菌种合成 PHA 相比,利用混合菌群合成 PHA

有很多优点,例如在驯化过程中混合菌群的选择基于生态原理,菌种稳定,这就为 PHA 的工业化生产创造了前提;混合菌种对工艺的适应性强,工艺控制简单,无需灭菌消毒提供纯种环境,从而降低了工艺运行成本;混合菌种可以适应多种不同底物,从而扩大了底物的选择范围,为混合底物应用于生产打下良好的基础。混合菌群合成 PHA 的工艺主要有厌氧-好氧交替运行工艺、微氧-好氧工艺和好氧瞬时进料工艺。

1.1 厌氧-好氧交替运行工艺

该工艺实际上为活性污泥工艺中的除磷工艺,PHA 的积累与分解主要取决于厌氧-好氧系统中聚磷菌(PAOs)和聚糖菌(GAOs)的代谢活动^[4]。在厌氧单元,活性污泥中的 PAOs 和 GAOs 分别水解细胞内贮存的聚磷酸盐和肝糖元,从而产生 ATP 形式的能量,同时摄取外界碳源合成 PHA,进而细胞内的 PHA 含量增加;在好氧单元,外界碳源浓度变低,ATP、NADPH 以及细胞的前体物质供应不足,PAOs 和 GAOs 便分解体内的 PHA,从而产生能量,并用于细胞、聚磷和糖元的合成,进而细胞内的 PHA 含量降低。

Iwamoto 等^[5]研究了厌氧-好氧交替运行工艺下,活性污泥中的肝糖原对乙酸盐(细菌培养底物)吸收的影响。研究表明,在厌氧条件下糖原的消耗、乙酸盐的吸收与 PHA 的积累成比例,在后续的有氧条件下,积累的 PHA 耗尽,消耗的肝糖原恢复到与厌氧阶段开始时的水平。

Jiang 等^[6]研究了在厌氧-好氧交替运行工艺下,不同质量比的丙酸和乙酸对 PHA 的厌氧和好氧转化、组成和合成速率的影响。研究表明,随着丙酸与乙酸比值的增加,总 PHA 的厌氧产率由 1 g 挥发性悬浮物(VSS)可得到 4.226 mmol 下降到 1 g VSS 可得到 2.469 mmol;PHA 中 3-羟基丁酸酯(3H)的质量分数由 70%左右下降到 10%,3-羟基戊酸酯(3HV)和 3-羟基-2-甲基戊酸酯(3H2MV)的含量增加。综上所述,当将富集的 GAOs 应用于 PHA 的合成时,可以通过改变进料组成来控制 PHA 的组成、产率和合成速率。

Zeng 等^[7]研究了厌氧和好氧模式下 GAOs 和 PAOs 的代谢途径。研究表明,在 pH 值为 7 时,厌氧阶段的 GAOs 最大乙酸吸收速率比 PAOs 慢,好氧阶段的 GAOs 每添加 1 mol 乙酸乙酯生成的 PHA 质量比 PAOs 高约 9%。这表明 PAOs 和 GAOs 分别在厌

氧/好氧过程的厌氧阶段和好氧阶段具有竞争优势。

从上述研究可以看出, 厌氧-好氧工艺合成 PHA 的研究主要集中在有机酸的代谢机制上。在厌氧和好氧阶段, GAOs 和 PAOs 对底物(乙酸、丙酸等)的吸收速率不同, 因此在不同阶段形成 PHA 的质量发生改变。

1.2 微氧-好氧工艺

微氧-好氧工艺是在厌氧-好氧工艺的基础上进行改进而获得的。在厌氧单元通入一定量的氧气使之形成微氧环境, 微生物通过氧化分解部分有机物来获得能量来合成 PHA。给好氧单元供应过量的氧气, 微生物会消耗体内的 PHA 促进细胞生长。PHA 的积累-分解过程循环往复, 进而筛选出能积累 PHA 的微生物, 提高 PHA 的合成率^[8]。

Blunt 等^[9]研究了微氧工艺模式对恶臭假单胞菌 LS46 以脂肪酸为底物合成中链多羟基烷酸酯产率的影响。结果表明, 微氧环境会强烈地诱导脂肪酸合成 mcl-PHA(根据 PHA 单体中碳原子数目的不同将 PHA 分为 3 类: 短链 PHA (scl-PHA), 含 3~5 个碳原子; 中链 PHA (mcl-PHA), 含 6~14 个碳原子; 长链 PHA (lcl-PHA), 多于 14 个碳原子), 并且可以控制氧转移速率以在 PHA 积累阶段获得比氮限制(PHA 合成菌在生长不平衡的条件下更易积累 PHA, 氮为生长必需元素, 当氮限制时, 会使 PHA 的产率提高)更高的生产率。

Amulya 等^[10]研究了以废水为底物生物时, 微氧工艺和好氧工艺对合成聚羟基烷酸酯产率的影响。结果表明, 与好氧工艺下合成 PHA 的产量(质量分数为 34%)相比, 微氧工艺能获得更大的 PHA 产量, 质量分数达到了 56%(以 PHA 与干细胞质量的比值计)。

上述研究表明与厌氧-好氧交替工艺和需氧工艺合成的 PHA 产量相比, 微需氧工艺能获得更大的 PHA 产量。

1.3 好氧瞬时进料工艺

好氧瞬时进料工艺是通过创造瞬变条件(如某种生长必需因子的匮乏, 或者过剩的碳源)来完成的。当底物供应呈现时而丰富时而匮乏的非平衡状态时, 污泥中的某些微生物能够逐步适应很高的碳源浓度, 并且快速地将基质吸收进细胞内, 以一种平衡的状态合成 PHA。当底物丰富(Feast)时, PHA 在微生物体内贮存; 当底物匮乏(Famine)时, PHA 则被分解以获取能量和碳源维持细胞代谢^[5]。

Chen 等^[11]研究了用新型三段连续进料方式培养混合微生物(MMC)、高效积累 PHA 的方法。结果表明, 在低生物量负荷率(BLR)的连续进料模式下, 且以混合挥发性脂肪酸盐为底物、pH 值为 5 时, 获

得最大胞内 PHA 质量(质量分数为 70.4%)和 PHA 收率(1 cmol 的 VFA 的底物能合成 0.81 cmol 的 PHA)。

Chen 等^[12]比较了有氧动态放电(ADD)模式和传统的好氧动态进料(ADF)模式筛选强 PHA 积累混合微生物的能力。结果表明, 在 ADD 模式下选择的 PHA 积累菌具有更好的 PHA 生产潜力, ADD 模式下混合微生物积累的 PHA 最大质量分数能达到(74.16±0.03)%, PHA 收率能达到 1 cmol 的乙酸盐生成(0.72±0.07)cmol 的 PHA。

Amulya 等^[13]研究了通过好氧动态进料方法提高生物塑料生产率的可持续多阶段工艺, 多阶段工艺的阶段 I 为食物废弃物发酵产酸, 阶段 II 为 PHA 合成菌富集, 阶段 III 为 PHA 生产。结果表明, II 阶段(16.3%的细胞干质量(DCW); 84%的 VFA 去除率)和 III 阶段(23.7%的 DCW; 88%的 VFA 去除率)均获得了较高的 VFA 去除率和 PHA 回收率, 得到的 PHA 为 PHB 和 PHV 的共聚物 P(3HB-co-3HV)。

上述研究可以看出, 好氧瞬时进料工艺一般是可持续多阶段工艺, 主要的底物为挥发性脂肪酸盐和食物废弃物发酵产生的酸。PHA 的合成产率因底物的不同而不同, 积累的 PHA 最大质量分数能达到 74.16%左右。

2 影响 PHA 合成的因素

为了研究污泥合成 PHA 的工艺及其影响因素, 国内外的学者们做了大量的研究, 目前报道的影响因素主要有底物种类、氮磷浓度、pH 值、溶解氧浓度、温度等。

2.1 底物的影响

2.1.1 乙酸盐、丁酸盐、葡萄糖等作为碳源

PHA 为微生物体内的碳源贮藏物, 碳源的性质可直接影响到 PHA 的含量, 且影响 PHA 单体的组成, 进而影响到 PHA 产品的性质。

Guerra-Blanco 等^[14]研究了不同培养条件对光异养微生物联合体以乙酸盐和丁酸盐或其混合物为底物时生产 PHA 的影响。结果表明 3 个异养菌群都能够消耗乙酸盐和丁酸盐, 当底物为单一盐时, 丁酸盐的消耗量低于乙酸盐的消耗量; 当底物为混合底物时, 底物的消耗率与异养菌群的生长速率与单一乙酸盐作为底物时相似, 这让混合底物在 PHA 生产的合成工艺和发酵过程中获得潜在的应用优势。

Gao 等^[15]研究了恶臭假单胞菌 KT2440 以癸酸为底物, 分批补料发酵生产中链聚 3-羟基烷酸酯(mcl-PHA)的工艺。研究结果表明, 当癸酸、乙酸、葡萄糖的质量比为 5:1:4 时, 可产生最多的干生物质, 为 39 g/L, 这些生物质中含有质量分数为 67%的

mcl-PHA。不同的底物能产生不同的 PHA 单体,底物的质量比不同,单体在聚合物中的质量分数则不同,经分析得出实验最终的 PHA 由质量分数分别为 78%, 11%, 11% 的 3-羟基癸酸酯、3-羟基辛酸酯和 3-羟基己酸酯组成。

Shi 等^[16]研究了细菌 KuravavdasBasiLB-8 直接将无预处理的木质素转化为 PHA 的过程。结果表明,当木质素初始浓度为 5 g/L 时,细菌生物量能累积到 735.6 mg/L,相应的聚羟基烷酸(PHA)的产量为 128 mg/L,合成的 PHA 聚合物由 3 种基本单体组成,其中(S)-3-羟基丁酸(S3HB)质量分数为 98.3%, (R)-3-羟基丁酸(R3HB)质量分数为 1.3%, 3-羟基丁酸(3HB)质量分数为 0.4%。

综上所述,当以多种组分为底物时,微生物对不同组分的吸收速率会不同,此外,合成的 PHA 包含不同的单体。当以一种组分为底物时,合成的 PHA 也可能包含不同的单体,这可能与微生物的代谢机制有关。

2.1.2 廉价的底物作为碳源

PHA 的生产成本主要由底物价格、PHA 得率和从细胞提取聚合物的效率决定^[17]。其中,碳源占了 PHA 生产成本的 40%~50%。如果采用廉价的底物,PHA 的生产成本将大大降低。

Burniol-Figols 等^[18]以粗甘油转化成的 1, 3-丙二醇(1, 3-PDO)和挥发性脂肪酸为主要原料,在混合菌种中生产 PHA。实验结果表明,合成 PHA 的产量不高。Ray 等^[19]优化了以甘油废料作为唯一碳源的 Pnniabuter-Pralmitetus ERC8(菌种)合成 PHA 的工艺。研究结果表明,最佳的实验条件为体积分数为 0.8% 的甘油废料、质量浓度为 2.6 g/L 的微量元素和低生物量负荷率的接种物。在此条件下,用 3 L 的反应器培养 96 h,能得到最大 PHA 值,为 1.36 g/L;用 5 L 的反应器培养 96 h,能得到最大 PHA 值为 1.87 g/L。

Kynadi 等^[20]优化了用于 PHA 生产的新型橡胶种子油物质的配方。研究结果表明,在 130 r/min 的搅拌速度下,往蒸馏水中加入质量分数为 1.567% 的橡胶种子油物质,积累 69.2 h 后,可获得高达 641.14 mg/g 细胞干质量的 PHA 和 2.56 g/L 的总收率。

Huschner 等^[21]研究了以棕榈油废水发酵物为底物喂养高细胞密度的真氧产碱杆菌 H16 积累 PHA 的方法,在发酵 44 h 后,获得的细胞干质量为(112.4±2.3) g/L,其中 P(HB-CO-HV)占细胞干质量比为(83.3±1.1)%,其中 3-羟基戊酸酯(3HV)的质量分数为(5.6±0.4)%。

Sawant 等^[22]研究了噬糖菌体降解菌 SDE2-40 以纤维素为唯一碳源合成 PHA 的能力。结果表明,噬糖菌体降解菌 SDE2-40 以不同的市售纤维素(α -纤维素、西格梅尔 101、微晶粉末纤维素 PH101、羟甲基

化纤维素)为碳源时,均能产生 PHA。生产的 PHA 均为均聚物 3-羟基丁酸酯,PHA 含量分别是干细胞质量的 13.7%, 12.8%, 11.8% 和 14.6%。

Bera 等^[23]研究了以从海藻中提取的粗乙酰丙酸(SDCLA)作为底物通过微生物法合成 PHA 的方法,从海藻中提取的粗乙酰丙酸中(SDCLA)除了含有甲酸、残糖和溶解矿物质外,还含有生物柴油残渣。结果表明,只使用生物柴油残渣时,PHA 收率仅为(0.40±0.01) g;当 SDCLA 质量浓度为 3.5 g/L 时,PHA 收率提高到(1.07±0.02) g,相应的碳利用率分别为 29.3% 和 57.5%;当用纯乙酰丙酸取代 SDCLA 时,微生物合成 PHA 的效果较差,因此,SDCLA 中存在的其他成分在细菌细胞分裂和积累 PHA 中起着重要作用。

Ahn 等^[24]研究了酸解稻草水解液进料方式对 PHA 合成的影响,特别是对 P(3HB-co-3HV)中 3HV 组分的影响。研究表明,为减轻糠醛和 5-HMF 等呋喃类化合物对细菌 PHA 合成的抑制作用,将水解液稀释后加入培养基中能缓解 PHAs 合成的抑制作用,最合适的水解产物与微量元素的质量比为 2:8。此外,生产的 P(3HB-CO-3HV)细菌数量和 P(3HB-CO-3HV)的性能可通过调整饲养方式及脉冲大小进行改良。

Oh 等^[25]研究了米糠处理工艺的发展及以米糠水解液为底物合成聚羟基烷酸酯的应用。结果表明,5 kg 米糠通过米糠处理工艺能获得 43.7 kg 的米糠水解液,其中含 24.41 g/L 的葡萄糖和少量果糖。以水解液为底物,利用重组大肠杆菌和真养产碱杆菌生物合成 PHA,最终成功地从水解液中积累了高比例的 P(3HB)或 P(3HB-co-LA)。

上述研究表明,很多廉价的底物,如甘油废料、胶种子油、棕榈油废水、纤维素、稻草、米糠等都能通过发酵作为微生物培养的底物。PHA 生产成本主要包括发酵底物成本以及后续的提取工序成本,其中占 PHA 生产成本比重最大的是发酵底物成本。综上所述,以废弃物或廉价碳源为底物,能大大地降低 PHA 的生产成本。

2.2 氮磷的影响

PHA 是在生长环境条件不平衡时,微生物在胞内合成的储能物质。在碳源充足时,通过限制氮磷的供给能抑制细胞生长,从而促进 PHA 的积累^[26]。

Korkakaki 等^[27]研究了在饥饿和盛宴模式下,限制磷源浓度对合成 PHA 的影响。实验结果表明,当碳源磷源的进水碳磷质量比值在 150 范围内时,生物质中的 P 含量和底物的吸收速率降低,但 PHA 的储存能力仍然很高(最大质量分数为 84%);当碳磷质量比为 300 时,微生物群落中的竞争是基于对磷酸盐的吸收,此时,PHA 储存能力丧失。

Valentino 等^[28]研究了氮磷水平对混合微生物储存 PHA 的影响。结果表明,有限的营养供给会使 PHA 长期积累,其中微生物的质量保持相对恒定,产生的 PHA 质量随时间逐渐增加。在改变 P 与 COD 质量比的情况下,当 N 与 COD, P 与 COD 的质量比值分别为 0.01, 0.0005 时,生物质的 PHA 生产率最高。在该条件下,生物质的活性显著增强,生物质中产生的 PHA 含量较高(1 g VSS 可生成 0.66 g PHA)。综上所述,原料中积累 PHA 最佳的营养物质范围为 N, P 联合限制, N 与 COD 质量比值在 0.002 ~ 0.015 之间, P 与 COD 的质量比值在 0.0005 ~ 0.003 之间。

Kourmentza 等^[29]研究了假单胞菌在限制条件下利用橄榄磨废水(OMW)合成聚羟基烷酸酯的方法。结果表明,在氮素限制下使用富集微生物与合成废水, PHA 积累量最高,即 PHA 的质量占细胞干质量(CDM)的 64.4%;当使用橄榄磨废水时, PHA 的积累显著降低,即 1 g CDM 可生成 0.088 g PHA。

上述研究表明,在氮磷限制条件下,能获得更高的 PHA 产量,但不利于细胞的生长。当反应器中的氮磷浓度低至一定程度时,微生物丧失了储存 PHA 的能力。

2.3 pH 值影响

每种微生物都有适合其生长的最佳 pH 值,而不合适的 pH 值会影响微生物对营养物质的吸收,有时甚至会破坏微生物细胞^[30],因此, pH 是合成 PHA 的重要影响因素之一。

Inoue 等^[31]研究了不同 pH 值控制条件对 PHA 合成量的影响。没有 pH 控制(投加碳源后不调节 pH, 让其随底物的消耗自然波动)的反应器中的 pH 值在初始循环期间增加到 8.5 左右,并在 8.5 和 9.1 之间波动。此后,随着循环开始、基质流入, pH 值略微下降,随后随着基质的消耗逐渐增加。没有 pH 控制的富集微生物具有比控制 pH 为 7.2(以 5 min 为时间间隔测定 pH 值,并用缓冲液将 pH 值控制在 7.2)的富集微生物具有更高的 PHA 积累能力,获得的最大 PHB 含量分别为 57.2%和 47.6%。

Lee 等^[32]研究了 pH 值(未控制的 pH 值(pH 值为 4.5)和控制的 pH 值(pH 值为 8 和 9))对培养污泥生产 PHA 的影响。结果表明,中性环境最有利于 PHA 的生成,8 h 内生成的 PHA 质量分数为 64%,生成的 PHA 由质量分数为 77%的 3-羟基丁酸酯和质量分数为 23%的 3-羟基戊酸酯组成。

Amulya 等^[10]在微氧工艺下研究了不同 pH 值(6, 7, 8)环境对微生物合成聚羟基烷酸酯产率的影响。结果表明,中性微氧环境比碱性(44%)和酸性(28%)微氧环境表现出更好的聚羟基烷酸酯合成产率(56%),这可能是因为微氧环境中,中性环境的脱氢酶活性、还原电流、底物降解率高于酸性和碱性

环境。

上述研究表明,中性微生物环境比碱性和酸性微生物环境表现出更好的 PHA 合成产率。未控制 pH 值的微碱性富集微生物比控制 pH 为微碱性的富集微生物具有更高的 PHA 积累能力,这可能与微生物的代谢机制有关。

2.4 溶解氧(DO)浓度影响

氧气作为反应中重要的电子受体,对 PHA 产量有很大的影响。合适的 DO 可以促进活性污泥中的细菌吸收底物,产生更多的 ATP,从而促进 PHA 的合成;但过高的 DO 浓度会促进微生物的生长而抑制 PHA 的合成^[33]。

Wang 等^[34]研究了 DO 浓度对培养基中微生物的选择、底物竞争和 PHA 性能的影响。研究表明,在存在 4 个挥发性脂肪酸(VFA)(乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐和戊酸盐)的情况下,需要高 DO 水平才能达到最大的 PHA 积累速率,因为低 DO 条件下微生物对乙酸盐和丙酸盐具有较低的吸收率,丁酸盐和戊酸盐的吸收率受 DO 浓度影响较小。

Vjayan 等^[35]研究了在饥饿期改变曝气速率对好氧颗粒污泥中聚羟基烷酸酯积累的影响。研究结果显示,饥饿期曝气速率的降低除了增加颗粒大小与沉降能力外,还加速了 PHA 的积累过程。此外, PHA 中 HV 的组成随着饥饿期间曝气速率的降低而增加。上述结果表明,好氧颗粒污泥在饥饿期积累 PHA 的曝气需求远低于盛宴期。

Kinyua 等^[36]定量地研究了不同质量浓度 DO(0.5, 1, 1.5 mg/L)对高浓度活性污泥处理生活污水、合成 PHA 的影响。研究结果表明,当 DO 的质量浓度为 1 mg/L, t_{SRT} (污泥停留时间)=6.72 h, t_{HRT} (水力停留时间)=30 min 时,消耗 1 g COD 合成的 PHA 产量最高,为(51.4±20.7) mg。

上述研究表明,微生物在饥饿期和盛宴期对氧气的需求是不同的,饥荒期微生物积累 PHA 的氧气需求量远低于盛宴期。同时,不同底物的吸收速率受氧气的影响不同。

2.5 温度影响

温度不但会影响微生物酶的活性,而且还会影响微生物的代谢模式,在低温情况下,聚磷菌积累的内存物质 PHA 较多。

Inoue 等^[31]研究了不同温度(20, 28, 36 °C)对 PHA 合成量的影响。研究表明,培养温度在 20, 28 °C 时,获得了最大 PHB 含量,高于培养温度在 36 °C 时;培养温度在 20 °C 时,微生物消耗相同的乙酸盐得到 PHB 的产率高于培养温度在 28 °C 时。此外,在所研究的温度范围内,低温富集有利于建立具有较强 PHA 积累能力的微生物。

陈玮^[1]研究了不同温度(16, 19, 23, 26 °C)下的厌氧-好氧交替工艺对PHA合成的影响。研究表明,培养温度在16 °C时,获得了最大PHA积累量(27%),在19, 23, 26 °C时PHA的积累量均不足20%,这可能是因为促进PHA合成的酶和促进细胞自身同化作用增殖的酶分别属于胞内物质合成酶和细胞繁殖酶。当温度较高时,可能更利于细胞同化作用的酶促反应,此时利用的底物往往更利于细胞的生长和增殖;温度较低时,微生物酶活性降低,影响了细胞的正常分裂,因此微生物利用底物积累PHA的效应大于微生物的增殖效应。

上述研究表明,当培养温度高于20 °C时,微生物积累PHA的速率低于培养温度低于20 °C的微生物,主要的原因可能是温度高时更加利于微生物的同化作用的酶促反应。

3 PHA在包装领域的研究与应用

塑料是生活中广泛应用的一种聚合物,其中最主要的应用为包装方面的应用。有数据显示,应用于包装方面的生物塑料占整个生物塑料市场的40%(160万t)^[37]。由于聚合形成生物塑料PHA的单体种类的多样化,形成的PHA具有不同的结构,从而展现出不同的性能,进而可以满足不同的包装需求。目前商业化的PHA主要是可降解热塑性材料,其性能可以和传统的石油基材料相媲美,多数用于包装和涂层等领域。PHA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。PHA的生物降解性和抗氧渗透性良好,因此可通过注塑、吹塑和压制等方法加工成瓶子、袋子和薄膜,用于食品包装^[38]。目前,已经有PHBHHx产品被开发成可降解的包装薄膜、高档包装材料、复合材料和高级化妆品容器等,PHBHHx的气体阻隔性使其也适用于食品包装,或代替PET作饮料瓶^[39]。PHA也可用于发泡产品,目前PHA和PLA共混挤出发泡的技术和生产工艺已经成熟,这种以生物质高分子聚合材料为原料的发泡制品无毒、无害,且使用后可完全降解,是食品水果包装、一次性发泡餐盒的很好替代材料。

目前一次性使用的包装多为食品包装,而PHA作为食品包装时,在其功能方面有一定的限制。对气体和水的低阻隔性、热不稳定性、脆性(由于高玻璃化转变和熔化温度)、刚性和较差的抗冲击性是PHA作为食品包装应用的主要限制因素^[40]。有学者研究了提高生物塑料性能的不同方法。Fabra等^[41]将电纺乳清蛋白分离物(WPI)、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,研究其对多层膜性能的影响。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,对多层膜的水蒸气透过率和氧气透过率有很大的影响,水蒸气透过率和氧气透过率的值分别增加了28%~35%和38%~48%。这种加工方法对于开发可生物降解的食品包装具有重大的意义。Cherpinski等^[42]研究了静电纺丝聚羟基烷酸酯双面涂层对纳米纤维素薄膜的形貌、水接触角、力学性能和阻隔性能等的影响。结果表明,多层结构复合膜具有更高的力学性能和阻湿阻氧性能,是一种非常具有前途的生物基食品包装材料。Zhao等^[43]采用浸涂法制备纤维素纤维与聚羟基烷酸酯复合材料,并研究了其疏水性。结果表明,马来酸酐接枝度为0.05%、生物聚合物与纤维的质量比为15:100时,复合膜达到了最大接触角130°,且耐老化。由于引入了PHA,复合膜的拉伸强度有了很大的提高。这种疏水性复合材料有可能被用作合成聚合物/纤维素复合材料的替代物。Bucci等^[44]将PHB作为食品包装材料,对PHB和PP的物理、尺寸、机械和感官进行了测试。结果表明,PHB可以代替包装中的PP储存富含脂肪的产品(包装蛋黄酱、人造奶油和奶油干酪),同时以PHB为包装材料的产品还可以直接放在冰箱和微波炉中。

4 结语

微生物法合成PHA是生物可降解材料领域的研究热点,利用活性污泥生产PHA可替代石油基塑料从而减轻环境压力,同时实现污泥减量和废物资源化,具有广阔的应用前景和经济前景。从目前国内外研究者的研究中可以看出,以真实废弃物为底物的活性污泥系统生产的PHA的产量还很低,目前这方面的研究还处于起步阶段,只有极少数的研究实现了工业化生产。目前全世界范围内面临资源短缺和环境污染问题,因此,利用废弃纤维素基原料合成PHA的研究将是今后研究的重点。作为最有前途的环境友好型聚合材料,PHA的发展将会使人们的日常生活以及工业领域受益。

参考文献:

- [1] 陈玮. 利用活性污泥混合菌群合成聚羟基烷酸酯的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2010.
CHEN Wei. Research on Polyhydroxyalkanoate Synthesis with Activated Sludge Mixed[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2010.
- [2] AVEROUS L, POLLET E. Biodegradable Polymers[M]. Principles of Tissue Engineering, 2012.
- [3] 王颖, 陈国强. 合成生物学技术在聚羟基脂肪酸酯PHA生产中的应用[J]. 中国科学, 2015, 45(10): 1003—1014.

- WANG Ying, CHEN Guo-qiang. Application of Synthetic Biology for the Production of Polyhydroxyalkanoates[J]. *Science China*, 2015, 45(10): 1003—1014.
- [4] 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 Polyhydroxyalkanes Synthesis by Activated Sludge[J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2016, 48(2): 1—8.
- [5] IWAMOTO Y, SATOH H, MINO T, et al. Production of Biodegradable Plastic PHA by Excess Sludge from Anaerobic-aerobic Activated Sludge Process[J]. *Doboku Gakkai Ronbunshuu G*, 2010, 31(5): 535—540.
- [6] JIANG Y M, CHEN Y G. The Effects of the Ratio of Propionate to Acetate on the Transformation and Composition of Polyhydroxyalkanoates with Enriched Cultures of Glycogen-accumulating Organisms[J]. *Environmental Technology*, 2009, 30(3): 241—249.
- [7] ZENG R J, LOOSDRECHT M C M V, YUAN Z, et al. Metabolic Model for Glycogen-Accumulating Organisms in Anaerobic/Aerobic Activated Sludge Systems[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2010, 81(1): 92—105.
- [8] 贾倩倩. 复合菌群利用模拟污泥水解液合成聚羟基脂肪酸酯的研究[D]. 北京: 清华大学, 2013.
- JIA Qian-qian. Study on Synthesis of Polyhydroxyalkanoates (PHA) by Bacterial Consortium from Simulated Excess Sludge Fermentation Liquid[D]. Beijing: Tsinghua University, 2013.
- [9] BLUNT W, DARTAILH C, SPARLING R, et al. Microaerophilic Environments Improve the Productivity of Medium Chain Length Polyhydroxyalkanoate Biosynthesis from Fatty Acids in *Pseudomonas putida*, LS46[J]. *Process Biochemistry*, 2017, 59: 18—25.
- [10] AMULYA K, REDDY M V, ROHIT M V, et al. Wastewater as Renewable Feedstock for Bioplastics Production: Understanding the Role of Reactor Microenvironment and System pH[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2015, 112(5): 4618—4627.
- [11] CHEN Z, HUANG L, WEN Q, et al. Efficient Polyhydroxyalkanoate (PHA) Accumulation by a New Continuous Feeding Mode in Three-stage Mixed Microbial Culture (MMC) PHA Production Process[J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 209(1): 68—75.
- [12] CHEN Z, GUO Z, WEN Q, et al. A New Method for Polyhydroxyalkanoate (PHA) Accumulating Bacteria Selection under Physical Selective Pressure[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 1329—1334.
- [13] AMULYA K, JUKURI S, MOHAN S V. Sustainable Multistage Process for Enhanced Productivity of Bioplastics from Waste Remediation through Aerobic Dynamic Feeding Strategy: Process Integration for Up-scaling[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 188: 231—239.
- [14] GUERRA-BLANCO P, CORTES O, POZNYAK T, et al. Polyhydroxyalkanoates (PHA) Production by Photoheterotrophic Microbial Consortia: Effect of Culture Conditions over Microbial Population and Biopolymer Yield and Composition[J]. *European Polymer Journal*, 2017, 98: 94—104.
- [15] GAO J, RAMSAY J A, RAMSAY B A. Fed-batch Production of Poly-3-hydroxydecanoate from Decanoic Acid[J]. *Journal of Biotechnology*, 2016, 218: 102—107.
- [16] SHI Y, YAN X, LI Q, et al. Directed Bioconversion of Kraft Lignin to Polyhydroxyalkanoate by *Cupriavidus Basiliensis*, B-8 without Any Pretreatment[J]. *Process Biochemistry*, 2016, 52: 238—242.
- [17] 陈国强. 生物高分子材料聚羟基脂肪酸酯(PHA)开发现状及产业化前景分析[J]. *化工新型材料*, 2010, 38(10): 1—7.
- CHEN Guo-qiang. Current Status and Industrialization of Biopolyesters Polyhydroxyalkanoate (PHA)[J]. *New Chemical Materials*, 2010, 38(10): 1—7.
- [18] BURNIOL-FIGOLS A, VARRONE C, DAUGAARD A E, et al. Polyhydroxyalkanoates (PHA) Production from Fermented Crude Glycerol: Study on the Conversion of 1, 3-propanediol to PHA in Mixed Microbial Consortia[J]. *Water Research*, 2017, 128: 255—266.
- [19] RAY S, PRAJAPATI V, PATEL K, et al. Optimization and Characterization of PHA from Isolate *Pannonibacter Phragmitetus*, ERC8 Using Glycerol Waste[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 86: 741—749.
- [20] KYNADI A S, TV S. Formulation and Optimization of a Novel Media Comprising Rubber Seed Oil for PHA Production[J]. *Industrial Crops & Products*, 2017, 105: 156—163.
- [21] HUSCHNER F, GROUSSEAU E, BRIGHAM C 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.
- [22] SAWANT S S, TRAN T K, SALUNKE B K, et al. Po-

- tential of *Saccharophagus Degradans* for Production of Polyhydroxyalkanoates Using Cellulose[J]. *Process Biochemistry*, 2017, 57: 50—56.
- [23] BERA A, DUBEY S, BHAYANI K, et al. Microbial Synthesis of Polyhydroxyalkanoate Using Seaweed-derived Crude Levulinic Acid as Co-nutrient[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 487—494.
- [24] AHN J, JHO E H, NAM K. Effect of Acid-digested Rice Straw Waste Feeding Methods on the 3HV Fraction of Bacterial Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Production[J]. *Process Biochemistry*, 2016, 51(12): 2119—2126.
- [25] OH Y H, LEE S H, JANG Y A, 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.
- [26] 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 Yin-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.
- [27] KORKAKAKI E, VAN M L, KLEEREBEZEM R. Impact of Phosphate Limitation on PHA Production in a Feast-famine Process[J]. *Water Research*, 2017, 126: 472—480.
- [28] VALENTINO F, KARABEGOVIĆ L, MAJONE M, et al. Polyhydroxyalkanoate (PHA) Storage within a Mixed-culture Biomass with Simultaneous Growth as a Function of Accumulation Substrate Nitrogen and Phosphorus Levels[J]. *Water Research*, 2015, 77: 49—63.
- [29] KOURMENTZA C, NTAIKOU I, LYBERATOS G, et al. Polyhydroxyalkanoates from *Pseudomonas* Sp. using Synthetic and Olive Mill Wastewater under Limiting Conditions[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 74: 202—210.
- [30] 任中佳, 王亚宜, 耿军军. 活性污泥胞内物质合成影响因素的研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2011, 33(4): 74—80.
- REN Zhong-jia, WANG Ya-yi, GENG Jun-jun. Key Factors Impacting Polyhydroxyalkanoates Accumulation by Activated Sludge[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2011, 33(4): 74—80.
- [31] 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 & Bioengineering*, 2017, 125(3): 339—345.
- [32] LEE W S, CHUA A S M, YEOH H K, et al. Strategy for the Biotransformation of Fermented Palm Oil Mill Effluent into Biodegradable Polyhydroxyalkanoates by Activated Sludge[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 269: 288—297.
- [33] 李小虎, 薛鹏程, 孙佳佳. 活性污泥胞内聚合物的合成影响因素初探[J]. *环境与发展*, 2017, 29(10): 127—128.
- LI Xiao-hu, XUE Peng-cheng, SUN Jia-jia. Preliminary Study on Synthesis Factors of Intracellular Polymeric Substance in Activated Sludge[J]. *Environment and Development*, 2017, 29(10): 127—128.
- [34] 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.
- [35] VJAYAN T, VADIVELU V M. Effect of Famine-phase Reduced Aeration on Polyhydroxyalkanoate Accumulation in Aerobic Granules[J]. *Bioresour Technol*, 2017, 245: 970—976.
- [36] KINYUA M N, MILLER M W, WETT B, et al. Polyhydroxyalkanoates, Triacylglycerides and Glycogen in a High Rate Activated Sludge A-stage System[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 316: 350—360.
- [37] SILVA L F, TACIRO M K, RAICHER G, et al. Perspectives on the Production of Polyhydroxyalkanoates in Biorefineries Associated with the Production of Sugar and Ethanol[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 71: 2—7.
- [38] GÜLSAH K, GÜLNUR K, MIKHAEL B, et al. Potential of Polyhydroxyalkanoate (PHA) Polymers Family as Substitutes of Petroleum Based Polymers for Packaging Applications and Solutions Brought by Their Composites to form Barrier Materials[J]. *Pure and Applied Chemistry*, 2017, 89(12): 1841—1848.
- [39] AVÉROUS L, POLLET E. Biodegradable Polymers[M]. *Principles of Tissue Engineering*, 2012.
- [40] PBS A, MALAFAIA C B. Perspectives on the Production, Structural Characteristics and Potential Applications of Bioplastics Derived from Polyhydroxyalkanoates[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 107: 615—625.

- [41] 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.
- [42] 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): 1—17.
- [43] ZHAO C, LI J, HE B, et al. Fabrication of Hydrophobic Biocomposite by Combining Cellulosic Fibers with Polyhydroxyalkanoate[J]. Cellulose, 2017, 24(5): 2265—2274.
- [44] BUCCI D Z, TAVARES L B B, SELL I. PHB Packaging for the Storage of Food Products[J]. Polymer Testing, 2005, 24(5): 564—571.