

生物降解包装材料聚羟基脂肪酸酯的工艺研究进展

田强运¹, 裴树昆², 马晓军^{1,3}, 李冬娜¹

(1.天津科技大学 轻工科学与工程学院, 天津 300457; 2.汇源印刷包装科技(天津)股份有限公司, 天津 300450; 3.福建技术师范学院 材料与环境工程学院, 福建 福清 350300)

摘要: **目的** 高昂的生产成本制约着绿色包装材料聚羟基脂肪酸酯(Polyhydroxyalkanoates, PHAs)的发展, 通过对其生物合成过程中的碳源底物、影响因素的研究, 实现其低成本、高效率合成以及规模化应用。**方法** 归纳分析现阶段国内外 PHAs 的研究现状和成果, 介绍合成 PHAs 的碳源底物、微生物培养方式以及在合成阶段溶解氧(DO)、pH 值、碳氮比等因素对 PHAs 合成效率的影响。**结论** 廉价的生物质资源、合理的碳氮比、多批次好氧/厌氧培养、较低的溶解氧浓度、中性或碱性培养环境已经成为提高 PHAs 产量、降低 PHAs 生产成本的重要手段。随着生产工艺的不断优化, 绿色生物塑料 PHAs 的规模化生产及其广泛应用必将推动包装材料向绿色化、安全化方向发展。

关键词: 聚羟基脂肪酸酯; 生物降解包装材料; 碳源; 生产工艺

中图分类号: TQ484.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2023)07-0063-13

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2023.07.008

Research Progress on Production Process of Polyhydroxyalkanoates as Biodegradable Packaging Material

TIAN Qiang-yun¹, PEI Shu-kun², MA Xiao-jun^{1,3}, LI Dong-na¹

(1. College of Light Industry Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. Huiyuan Printing and Packaging Technology (Tianjin) Co., Ltd., Tianjin 300450, China; 3. School of Materials and Environmental Engineering, Fujian Polytechnic Normal University, Fujian Fuqing 350300, China)

ABSTRACT: The work aims to realize low-cost and high-efficiency synthesis and large-scale application of polyhydroxyalkanoates (PHAs) as green packaging material by studying the carbon source substrate and affecting factors in its biosynthesis process in view of that its development is constrained by high production cost. The current research status and achievements of PHAs in China and abroad were summarized and analyzed. Besides, the carbon source substrate, microbial culture mode, as well as the effects of dissolved oxygen (DO), pH value, carbon nitrogen ratio on the synthesis efficiency of PHAs were introduced. Cheap biomass resources, reasonable carbon nitrogen ratio, multi batch aerobic-anaerobic culture, low dissolved oxygen concentration, neutral or alkaline culture environment have become important approaches to promote the accumulation of PHAs and reduce the production cost of PHAs. With the continuous optimization of the production process, the large-scale production and wide application of green bioplastics PHAs will drive the development of packaging materials in the direction of greening and safety.

KEY WORDS: polyhydroxyalkanoates (PHAs); biodegradable packaging materials; carbon source; production process; research progress

收稿日期: 2022-09-22

基金项目: 天津市大学生创新训练项目(202210057002); 福建省自然科学基金(2022J01981)

作者简介: 田强运(2001—), 男, 本科生, 主攻绿色包装材料。

通信作者: 李冬娜(1989—), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为绿色包装材料。

传统的石油基塑料由于其不可降解性、不可持续性、安全性差等问题,对生态环境和人体健康造成了极大的影响,加之近年来限塑令与双碳计划的颁布实施,加速推进了新型可降解塑料对传统石油基塑料的替代。聚羟基脂肪酸酯(Polyhydroxyalkanoates, PHAs)是一类生物聚合物^[1],被认为是传统塑料的理想替代品,具有良好的生物降解性、生物相容性和可持续性,是最具发展潜力的“绿色塑料”^[2]。PHAs 单体种类繁多,目前已有 160 多种不同的单体被报道,且结构性能多样,可实现软、硬、塑、弹的变化^[3]。研究证实,外加碳源过剩且其他营养元素匮乏的条件下,PHAs 可在微生物细胞内积累并储存,通过使用不同微生物菌种和外加碳源等可改变其代谢合成路径,从而合成具有不同单体成分的 PHAs^[4-5]。目前,PHAs 的单体成分主要有 3-羟基丁酸(3-hydroxybutyrate, 3HB)、3-羟基戊酸(3-hydroxyvalerate, 3HV)、3-羟基己酸(3-hydroxyhexanoate, 3HHx)等三元聚合物和 4-羟基丁酸(4-hydroxybutyrate, 4HB)等四元聚合物^[3,6]。

近年来,采用生物法合成 PHAs 受到越来越多的关注。与传统的化学合成法相比,微生物合成高分子 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,通过改变菌种、给料、发酵过程可以很方便地改变 PHAs 的比例,而组成结构多样性带来的性能多样化使其在应用中具有明显的优势^[7]。生物法合成 PHAs 包括纯菌种法和混合菌种法。纯菌种法的产量和产率都较高,但所需要的有机碳源成本更高、合成工艺要求更严格。混合菌种的优势在于无须提供纯种环境,降低 PHAs 的生产成本,同时生产工艺简单,可适应多种碳源。污泥、污水等废弃物中含有大量混合微生物菌种,对工艺环境的适应性极强,具有显著的经济和环境效益^[8-9]。此外,通过改变污泥混合微生物菌种合成 PHAs 的底物碳源、培养驯化方式,以及在合成阶段的溶解氧、pH 值等,可使 PHAs 的产量达到较高水平。预计在未来几年,PHAs 及其复合

材料的研究制备将取得重大突破,在组织工程、生物修复、食品、包装行业等将有广泛应用^[10]。

1 底物碳源

研究表明,碳源约占 PHAs 生产成本的 30%~50%^[11],廉价的碳源加以高效利用对 PHAs 的推广使用极其重要。微生物体内合成 PHAs 所涉及的一些主要变化如图 1 所示。外加碳源中的偶数碳源(如乙酸)被微生物吸收转化为乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 分子在聚(3-羟基丁酸酯)(Poly(3-hydroxybutyrate), PHB)合成酶 phaA 作用下生成乙酰辅酶 A;随后在 phaB 合成酶和重要的核苷酸类辅酶(NADPH)作用下生成 3-羟基丁酰辅酶 A;最后在 PHB 合成酶 phaC 的作用下聚合成 PHB(图 1a),即 PHB 是乙酰辅酶 A 在 phaA(β -酮基硫解酶)、phaB(乙酰乙酰辅酶 A 还原酶)和 phaC(PHAs 合成酶)3 种酶的共同作用下合成的。奇数碳源(如丙酸)则在一定条件下合成丙酰辅酶 A;1 分子的丙酰辅酶 A 与 1 分子的乙酰辅酶 A 在合成酶基因 phaA 作用下生成 3-酮戊酰辅酶 A,随后在 PHV 合成酶 phaB 和 NADPH 作用下生成 3-羟基戊酰辅酶 A;最后在 PHV 合成酶 phaC 的作用下合成 PHV(图 1b)^[12-14]。目前,用于合成 PHAs 的碳源主要包括糖类(葡萄糖、木糖)、有机酸(乙酸、丙酸、丁酸、戊酸等)和醇类(甲醇、乙醇、戊醇等)^[15-16]。除此之外,利用活性污泥中的混合菌种发酵产酸和木质生物质资源水解产生的糖类作为碳源底物具有成本低廉、可持续的优势,逐步成为研究热点。

1.1 糖类

糖类物质是生命体的直接能量来源,以糖类物质作为碳源底物可以有效合成 PHAs。贾振华等^[17]以葡萄糖为唯一碳源,在工程菌和 PHAs 合成酶的共同作用下,培养 48 h,PHAs 的积累量达到总生物量的

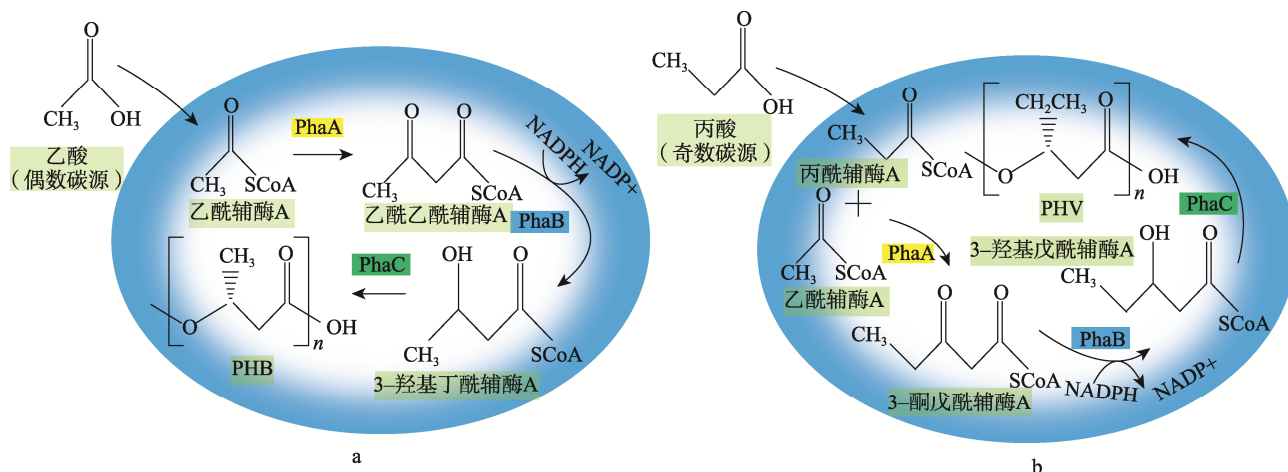


图 1 微生物合成 PHAs 的主要途径
Fig.1 Main approaches for microbial synthesis of PHAs

44.4%,合成的 PHAs 含有 3HB 和 4HB 的聚合物,韧性和强度得到了显著增强。Kingsly 等^[18]从甘蔗糖中分离出甘蔗糖蜜和混合细菌,经过培养筛选出具有潜在 PHAs 生产和储存能力的阴沟肠杆菌;在 pH=7、糖蜜质量分数为 4%的培养条件下,通过分批发酵获得了 PHAs 的最大产量(4.13~4.98 g/L)。

虽然直接利用糖类物质可以有效合成 PHAs,但有研究显示,直接以糖类物质作为碳源,使用混合菌种合成 PHAs 时,微生物优先利用糖类碳源合成糖原而非 PHAs^[16]。因此,近年来关于糖类直接转化合成 PHAs 的研究相对较少,目前更加倾向于将糖类物质进一步与活性污泥发酵产酸作为合成 PHAs 的碳源底物进行研究。

1.2 有机酸

有机酸是微生物合成 PHAs 的优质碳源,能加快 PHAs 的合成速率,提高其产量。冉依禾等^[19]采用人工配制的碳源(包括乙酸和丙酸),在 25℃和好氧瞬时供料的条件下,发现当废水中含有高比例的挥发性脂肪酸(VFAs)时,对微生物合成 PHAs 有促进作用,其中,当乙酸作为主导碳源时,合成的 PHAs 含量占细胞干质量的 12.3%,微生物合成 PHAs 的效果优于丙酸,且微生物的生长也较为稳定。Marang 等^[20]利用乙酸钠和甲醇的混合物作为主要碳源,在温度为(30±1)℃、pH 值保持在(7.0±0.1)的条件下,发现当乙酸钠和甲醇物质的量之比为 1:1 时,乙酸钠的消耗量约占总碳消耗量的 83%。其中碳消耗量的 49%转化为 PHAs,其余部分用于微生物的生长和转化为二氧化碳,PHAs 的含量约占细胞干质量的 30%。同时 Marang 等^[20]又分别利用乙酸钠和甲醇作为单一碳源,进行了 2 个短周期试验,结果表明当乙酸钠为单一碳源时,PHAs 质量分数可达 29%,而甲醇为单一碳源时,PHAs 质量分数仅不足 1%。

除工业有机酸外,利用污泥厌氧发酵产酸也成为当下研究热点,其中污泥厌氧发酵过程中的重要代谢产物——挥发性脂肪酸(Volatile Fatty Acids, VFAs)可作为合成 PHAs 的理想底物^[21]。王秀锦等^[22]研究发现,污泥中蛋白质和糖类的含量会影响微生物发酵产生 VFAs 的含量与组分,导致废液中乙酸的含量不同,从而影响产物 PHAs 的单体结构种类。Loan 等^[23]以废食用油(WCO)或废鱼油(WFO)作为廉价的碳底物,采用生物反应器分批补料培养方式,通过钩虫贪铜菌(*Cupriavidus necator*)生产聚(3-羟基丁酸酯)(Poly(3-hydroxybutyrate), PHB)。发现当培养基中添加质量浓度为 20~25 g/L 的废油时,可以获得质量分数高达 82.9%的 PHB,最高产量和质量浓度分别为 0.8 g/g 和 13.3 g/L。Lopez-Cuellar 等^[24]以菜籽油为碳源,使用微生物沃特斯氏菌属微生物(*Wautersia eutropha*)合成 PHAs,占细胞干质量的 92%。

综上所述,由于废污泥中碳含量丰富且成本低廉,通过发酵从废污泥中获得的 VFAs 是合成 PHAs 的理想底物^[25],前景非常广阔。利用合适的预处理技术对污泥进行预处理,可以改变污泥中 VFAs 的组分和比例。乙酸或者乙酸盐对微生物的生长和 PHAs 合成的促进作用更加明显。当有机酸和醇类共存时,有机酸的消耗往往比醇类更快,微生物的利用效率也更高。

1.3 木质生物质资源

木质生物质资源被认为是第四大能源^[26],现阶段对木质生物资源的利用方式主要有木质纤维素的直接利用,以及从木质纤维素到糖再到生物大分子的转化利用。木质纤维素是一种丰富、可再生且可持续供应的碳源,其成分纤维素和半纤维素的质量分数约占到 75%~80%,它们主要由单糖(包括葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖等)聚合而成,经水解预处理后的单糖可以发酵制成生物材料、燃料和化学用品等^[27]。利用木质纤维素生产 PHAs 具有广阔的应用前景。

大量研究表明,利用木质生物质资源合成 PHAs 前,要对其中的纤维素进行水解预处理。Adeleye 等^[1]对木质纤维素的预处理以及 PHAs 的合成进行了综合分析,在木质纤维素的预处理中,要尽量保留纤维素和半纤维素并将其水解为葡萄糖、木糖等单糖,最大程度去除木质素,而这些水解产物可以作为合成 PHAs 的前体。Tripathi 等^[11]对木质纤维素废料通过水热处理合成 PHAs 进行了研究,指出水热处理的温度-时间对木质纤维素的物理化学性质以及分解有着重要影响。利用木质纤维素合成的 PHAs 其生物降解性和材料性能优良,可应用在抗菌包装、食品和医药等领域。

目前,合成 PHAs 所利用的木质生物质资源主要包括橡胶木和农林秸秆等。Li 等^[28]利用橡胶木水解液和木糖为共底物,通过不断调整橡胶木水解液和木糖的比例、pH 值以及碳氮比,获得了 PHAs 和单体 3HV 的质量浓度最大值分别为 1 849 和 251 mg/L(以 COD 计,即化学需氧量),并发现添加木糖可以提高 PHAs 和单体 3HV 产量。Saratale 等^[29]使用酸预处理的甘蔗渣为碳源进行 PHAs 的合成,当甘蔗渣质量浓度为 30 g/L 时,观察到 PHAs 的最大产量为 0.406 g/L,占细胞干质量的 72.1%。Li 等^[30]将挥发性脂肪酸(VFAs)以共底物的形式加入经过预处理后的木材水解液中,获得了 3 088 mg/L(以 COD 计)的高 PHAs 产量,且 3HV 单体比例达到最高,占 PHAs 总质量的 51%,并发现添加预处理后的木材水解液可进入 PHAs 的合成循环中。Yan 等^[31]对橡胶木、甘蔗渣、高粱秆和木薯秆分别进行加压水热预处理得到木材水解液,使用驯化的活性污泥混合微生物进行 PHAs 的积累。发现橡胶木经预处理后获得了还原糖和葡萄糖最高的质量浓度,分别为 3.92、3.31 g/L,酶解率

高达 62.1%。以橡胶木水解液为碳源,采用厌氧-好氧模式积累 PHAs,反应器运行 24 h,得到了最高的 PHAs 含量 773.2 mg/L (以 COD 计)。

综上所述,利用生物质资源合成 PHAs 之前,需要对木质纤维素进行合理的预处理。尹芬等^[32]总结发现,不同的预处理技术会使木质纤维素水解组分不同,导致合成不同单体含量的 PHAs,并得出热水预处理技术具有环保性、低成本和工艺简单的结论。据调查统计,每年农林废弃物等植物残渣约有 15.5 亿 t^[27],木质纤维素生物质可以从农林生产废弃物中获得,极大地节约了碳源成本。通过已有实验报道,橡胶木中纤维素含量较高,含有大量导管结构,预处理后纤维素、半纤维素的转化率和所得到的还原糖和葡萄糖含量更高^[31],预计将成为木质纤维素生物质资源转化合成生物材料的主要研究对象,对木质生物质资源高效和高值的利用具有重要意义。

2 培养方式

目前,在 PHAs 合成阶段对微生物的培养方式主要包括厌氧-好氧法 (Anaerobic-Aerobic Method, AN/AE)、好氧瞬时供料法 (Aerobic Dynamic Feeding,

ADF) 等。对活性污泥中的微生物采用不同的驯化工艺所得到的微生物菌落组成不同,PHAs 的产量和稳定性也有所不同。表 1 列举了不同微生物利用不同底物和培养方式合成 PHAs 的例子。

2.1 厌氧-好氧法

根据已有文献记录,厌氧-好氧培养模式下微生物种类更加丰富^[36],而这可能会影响 PHAs 的产量。

Li 等^[38]使用经过酶水解预处理的橡胶木和污水中的活性污泥合成 PHAs,对厌氧-好氧工艺进行优化,考察厌氧时间从 0.5~5 h 的变化过程中,PHAs 积累量的变化。发现与较短的厌氧时间相比,较长的厌氧时间对 PHAs 产菌的筛选能力更强,且 PHAs 的积累出现 2 个峰值。第 1 个峰值出现在厌氧和好氧交界处,厌氧菌吸收外加碳源积累 PHAs 之前就进入好氧阶段;第 2 个峰值出现在厌氧阶段 3.5 h,厌氧菌消耗外加碳源充分积累 PHAs,且积累量较大,最大 PHAs 产量达到 929.8 mg/L (以 COD 计),得出最佳厌氧时间为 3.5 h 的结论。Yan 等^[31]用丰盛 (碳源充足)-饥饿 (碳源缺乏) 比 (Feast-to-Famine Ratio, F/F) 来衡量厌氧-好氧模式的最佳工艺,发现当 F/F 值介于 0.13~0.25 时,微生物具有优异的 PHAs 积累

表 1 不同微生物利用不同底物和培养方式生产 PHAs 对比

Tab.1 Comparison of PHAs production by different microorganisms based on different substrates and cultivation modes

碳源底物	微生物	培养方式	PHA 质量 分数/%	成分组成	文献来源
乙酸	活性污泥	ADF	12.3	P(3HB)	冉依禾等 ^[19]
乙酸钠和甲醇	活性污泥	ADF	30.0	P(3HB)	Marang 等 ^[20]
废食用油/废鱼油	氢氧化细菌	ADF	82.9	P(3HB)	Loan 等 ^[23]
菜籽油	氢氧化细菌	ADF	92.0	P(3HB/3HV/ 3HO/3HDD)	Lopez-Cuellar 等 ^[24]
橡胶木水解液和木糖	活性污泥	ADF	43.6	P(3HB/3HV), 质量比为 86.5 : 13.5	Li 等 ^[28]
酸预处理的甘蔗渣	赖氨酸杆菌/真 氧产碱杆菌	ADF	72.1		Saratale 等 ^[29]
杨木水解液和 VFAs	活性污泥	ADF	63.6	P(3HB/3HV), 质量比为 72 : 28	Li 等 ^[30]
橡胶木水解液	活性污泥	AN/AE	31.0	P(3HB/3HV), 质量比为 93.5 : 6.5	Yan 等 ^[31]
草本作物发酵的 VFAs	假单胞菌	AN/AE	33.0	P(3HD/3HO/3HDD), 质量比 为 66 : 18 : 16	Cerrone 等 ^[33]
乙酸钠	活性污泥	AN/AE	64.3	P(3HB)	Liu 等 ^[34]
酸化乳制品废水和有 机食物废物	活性污泥	AN/AE	67.3		Karaca 等 ^[35]
乙酸	活性污泥	AN/AE	31.0	P(3HB/3HV), 质量比为 70 : 30	Dai 等 ^[36]
造纸厂废水	活性污泥	AN/AE	42.0	P(3HB/3HV/3H2MV), 质量比 为 33 : 51 : 16	Bengtsson 等 ^[37]

注: 3HB 为 3-羟基丁酸; 4HB 为 4-羟基丁酸; 3HV 为 3-羟基戊酸; 3HHx 为 3-羟基己酸; 3HO 为 3-羟基辛酸; 3HD 为 3-羟基癸酸; 3HDD 为 3-羟基十二烷酸; 3H2MV 为 3-羟基-2-甲基戊酸。

能力。相反,当 F/F 值过高,即好氧时间过长,微生物主要利用外加碳源进行生长和代谢而不是 PHAs 的积累,导致 PHAs 含量下降。崔有为等^[39]采用微好氧-好氧工艺驯化微生物,以乙酸为主要碳源,证明了微好氧-好氧驯化具有反硝化功能,并且 PHAs 的积累量达到 52%。丁淑杰等^[40]以废水为研究对象,建立厌氧-好氧序批式反应器,研究了三聚氰酸(Cyanuric Acid, CA)对微生物除磷的影响。研究发现,当 CA 的质量浓度从 0.1 mg/L 增加至 0.5 mg/L 时,PHAs 含量显著降低,由于 CA 的存在使得微生物在好氧期用于好氧吸磷的能量更高,因此,厌氧期 PHAs 含量要高于好氧期的含量。

综上所述,采用厌氧-好氧培养方式明显增加了活性污泥驯化后微生物种群的多样性,且在厌氧阶段对 PHAs 的积累有明显的促进作用,可能是由于在缺氧条件下,微生物需要将碳源转化为 PHAs 储存在体内以维持生命,使得 PHAs 的消耗转化较少;同时,在好氧阶段,微生物代谢较为旺盛,一部分能量用于吸收其他元素(氮、磷等)转化为必要物质,导致厌氧-好氧培养方式可积累更多的 PHAs。

2.2 好氧瞬时法

随着对合成 PHAs 菌种培养方式的研究进展,发现好氧瞬时法工艺运行简单、成本低、PHAs 合成效率较高。当瞬时投加碳源时,微生物生长和 PHAs 积累同时进行,而当外加碳源匮乏时,微生物则开始消耗自身胞内储存的 PHAs,从而生存下来,实现 PHAs 合成菌的富集^[40-41]。

刘一平等^[42]以乙酸为碳源,采用好氧瞬时工艺,发现在 pH=8.5 时,PHAs 的质量分数达到了 31.1%。Dionisi 等^[43]采用好氧瞬时工艺,分别以乙酸、丙酸、乳酸为单一碳源合成 PHAs,发现生成的聚合物均为单一单体构成。李小玲等^[44]以 VFAs 为碳源底物,首次研究了磁场对微生物驯化的影响,发现初始负荷和丰盛-饥饿期时间比对 PHAs 合成量有很大影响。当初始碳源质量浓度为 0.36 g/L (以 COD 计)、丰盛-饥饿比为 1:3 时,PHAs 的积累量从 8.74% 增加到了 50.24%。同时发现磁场对 PHAs 合成酶具有很大影响,当磁场强度为 42 mT 时,会抑制 PHB 的合成。Mohamad 等^[45]以粗甘油作为廉价碳源,利用活性污泥微生物和好氧瞬时工艺进行 PHAs 的富集,保持通气比为 1/3 的供氧水平,当丰盛-饥饿比保持在 0.20 和 0.26 时,微生物体内积累的 PHAs 质量分数达到了 77%~78%,并且产率保持在 193~236 mg/(L·h) 的较高水平;而当 F/F 为 2.0 时,微生物体内的 PHAs 质量分数仅有 27%,产率仅有 65 mg/(L·h),这与 Yan 等^[31]得出了一致的结论。

综上所述,好氧阶段可促进微生物的生长,加入厌氧阶段对微生物种群多样性有积极促进作用。不同

来源的活性污泥中原始微生物种群的差异性,导致最佳的培养驯化条件也有所不同。综合来看,长周期、较长厌氧时间可筛选出更多具有富集储存 PHAs 的微生物,从而积累更多含量的 PHAs。

3 合成阶段的影响因素

在 PHAs 的合成阶段,溶解氧(Dissolved Oxygen, DO)、pH 值、碳氮比、氮磷比都会对最终 PHAs 的产量和单体组成产生影响。

3.1 溶解氧

DO 值对混合菌种培养液中的聚磷菌和硝化细菌有一定的影响。Wang 等^[46]对污水活性污泥首先进行了预处理,在不同 DO 值的条件下,添加挥发性脂肪酸(VFAs)测定 PHAs 的产率。在非限制 DO 值的条件下(DO 值为 4.7 mg/L±0.3 mg/L),观察到的 VFAs 消耗率为(0.12±0.01) mg/h (以 COD 计),相应的 PHAs 产率为(0.07±0.01) mg/h (以 COD 计),生物质中含有质量分数为 12.9% 的 PHAs;在低水平 DO 值下,VFAs 的消耗率和 PHAs 的产率并没有受到明显影响。方芳等^[47]采用厌氧-缺氧-好氧交替运行工艺,分别以乙酸和葡萄糖为碳源,研究 DO 对微生物合成 PHAs 含量、糖原和除磷性的影响。以乙酸为碳源时,PHAs 的合成含量较高,但变化幅度较大,当 DO 质量浓度分别为 1、4、6 mg/L 时,反应器出水磷酸盐质量浓度分别为 16.9、0.54、3.1 mg/L;以葡萄糖为碳源时,PHAs 的合成量较低,磷酸盐质量浓度呈现出相同的高-低-高的变化趋势,但是聚磷菌的吸磷速率却变化不大。Fall 等^[48]研究长期稳定存在的好氧活性污泥颗粒时发现,在微生物驯化过程中,需要促进聚磷酸盐和糖原积累生物(PAO 和 GAO)等生长缓慢的异养生物生长,也需要抑制手指状结构或丝状的微生物生长。较高的 DO 值虽然会抑制细丝状微生物的生长,但反硝化的作用不显著,导致 PHAs 富集较少。

综上所述,当培养液中存在硝酸盐和磷酸盐时会对微生物合成 PHAs 有抑制作用,DO 值过高会使硝化菌活性增强,使培养液硝含量升高;当 DO 值过低时,聚磷菌的吸磷速率降低,同时也会抑制微生物生长以及 PHAs 的合成。因此,DO 值保持在中偏下的浓度范围比较合理。

3.2 pH 值

pH 值可影响微生物胞内环境以及酶的活性,对微生物合成 PHAs 有很大的影响。Yang 等^[49]对污泥使用快速碱处理(pH=12, 24 h),以复杂有机物(蛋白质和碳酸盐)为底物,获得的 PHAs 最大产量为 400 mg/g,该方法具有工艺简单、水解成本低的优势。Liu 等^[50]对污泥采用适宜的酸碱预处理技术生产挥发

性脂肪酸 (VFAs)。证明控制初始发酵 pH 在碱性条件下可以提高发酵过程中 VFAs 的浓度。初始酸性条件有利于乙酸的产生,碱性条件有利于丁酸的产生,而接近中性的初始条件有利于丙酸和戊酸的产生。崔有为等^[51]利用河底淤泥,经过清洗后得到嗜盐活性污泥,观察不同 pH 值对活性污泥发酵产酸以及 PHAs 合成量的影响。发现 pH 在 6.5~8.2 内,PHAs 的合成量没有明显变化。在强酸性环境下,微生物活性受到抑制,而在强碱性环境下,对底物的利用率明显下降。

综上所述, pH 值不仅对微生物活性有一定的影响,对污泥发酵产酸 VFAs 的组分也有影响。Liu 等^[34]研究 pH 值对污泥发酵产酸的影响得出,在中性、碱性环境下都有利于发酵产生 VFAs,但由于活性污泥组分不同,最佳 pH 值也会有所不同。对微生物积累 PHAs 而言,中性或者碱性环境下可提高系统脱磷除氮的效率,更有利于 PHAs 的积累,这与李冬娜等^[21]得出了一致的结论。

3.3 碳氮比

Vallencia 等^[52]在序批式反应器 (Sequencing Batch Reactor, SBR) 中采用好氧动态进料策略,评估碳氮比 (C/N) 对 PHAs 积累能力的影响。C/N 比为 13.3、23.2 和 25.2 时, PHB 的最大积累量分别达到 14%、16.8% 和 15.1%, 在与其他研究得出的结论相比, PHB 含量相对较低的原因可能是 VFAs 的组分及比例不同,但仍可证明 C/N 比是 PHB 生产的关键因素。Zhao 等^[53]研究发现当 C/N 质量比为 80 和 95 时, PHAs 的最高碳储量分别为 924~1 109 mg/L 和 1 065~1 278 mg/L。在高 C/N 环境,即营养成分受限制的条件下,发现 EPS (细胞外类芳香蛋白、类可溶性副产物、类腐植酸和类富里酸等物质) 作为重要的碳源,营养物质也可以被代谢用于 PHAs 的积累。巩有奎等^[54]研究碳氮比为 3.0~7.0 时 PHAs 的积累量发现,高碳氮比能促进培养过程中脱磷除氮的效率,同时促进 PHAs 的合成积累,低碳氮比下,胞外聚合物 EPS 明显增多。

此外, Lorini 等^[55]在完全好氧的 SBR 中观察 PHAs 积累量的变化,调节 pH 值为 6.0~7.0,采取非耦合进料方式,设置周期为 12 h,按照碳 (C) 源进料初始阶段 (10 min, 0.42 L) —消耗 C 源第 1 反应阶段 (150 min) —培养物排出的退出阶段培养基 (3 min, 0.50 L) —氮 (N) 源进料阶段 (5 min, 0.08 L) —第 2 反应阶段 (552 min) 的循环结构操作,发现在盛宴期结束后 PHAs 达到了相对较高的含量 (PHAs 与培养皿中生物质总量的质量比为 0.40~0.53)。Simona 等^[56]在非耦合碳氮进料的条件下可以选择得到 PHAs 储量和产量更大的微生物菌群。这表明盛宴期 (供给碳源,不供给氮源) 和饥饿期 (供给氮源,不供给碳源) 交替进行也有利于 PHAs 的积累。

以上研究均得出了相似的结论,适当提高碳氮比能提高 PHAs 的产量。C、N、P 质量浓度比保持在 100:8:1 附近是微生物生长的最佳条件^[57],而大多数文献报道的最佳碳氮比为 20 左右,过高的碳氮比会减缓细胞的生长速度,因此,碳氮比在 20~30 内可能比较合理。

4 PHAs 性能改性及应用

由于 PHAs 具有结构多样性、可生物降解性、生物相容性等优势。目前,已有四代生物合成的 PHAs 产品,如聚 3-羟基丁酸酯 (PHB)、聚 3-羟基丁酸-3-羟基戊酸共聚酯 (PHBV)、聚 3-羟基丁酸-己酸酯 (PHBH) 和聚 3-羟基丁酸-4-羟基丁酸酯 (P34HB) 陆续投入工业化生产^[58]。此外,研究者们对 PHAs 的性能 (力学性能、阻隔性能、生物降解性等) 方面进行了改性研究,使其成为大部分传统石油基塑料的理想替代品,实现绿色环保包装。

4.1 力学性能改性及应用

PHAs 的疏水性、熔点、玻璃化转变温度和结晶度完全取决于其单体的组成,从而影响 PHAs 的各项物理性能。表 2 列出了几种不同单体结构的 PHAs 和传统塑料的物理性能比较^[58-59]。从表 2 中可以看出,不同单体结构的 PHAs 聚合物会表现出不同的热性能 (熔融温度和玻璃化温度) 和力学性能 (弹性模量、拉伸强度和断裂伸长率)。例如,向 PHB 聚合物中添加共聚单体 (3HV 或 3HHx) 使 PHB 的熔融温度和玻璃化转变温度降低,熔融温度降低主要因为添加共聚单体后的 PHB 晶体的成核速率大于晶体的生长速率,形成的晶体较不完善,因此导致共聚单体后的 PHB 熔融温度较 PHB 均聚物的低,说明共聚后的 PHB 能在相对较低的条件下进行加工。玻璃化转变温度降低是因为添加共聚单体后,增加了 PHB 分子链的流动性,以上二者降低均使热力学性能得到改善; P(3HB-4HB) 共聚物表现为弹性材料的性能^[2]。Levine 等^[60]通过使用硫醇烯对不饱和和无规共聚物 PHAs 进行化学改性,生产出了仅有 2 个重复单元 (4 个碳的短链 PHAs 和 11 个碳的中长链 PHAs) 的 PHAs 共聚物,经过改性后,PHAs 具有高强度和良好的柔韧性。这种定性的改变减少了天然合成无规共聚 PHAs 物理机械性质的不确定性带来的影响,可扩展到塑料以外更广泛的商业应用。由于 PHAs 具有的诸多优越性能,如可调控的力学性能、生物相容性和生物降解性,已成为药物递送的重要材料。药物从聚合物材料中通过渗透、扩散或生物降解机制释放,一般将 PHAs 天然聚合物制成纳米颗粒、微球和纳米纤维状结构^[61]。此外,目前已有研究将 PHAs 的不同单体运用在包装膜材料、食品包装、服装、器具以及纤维材料等领域。

表 2 不同单体结构的 PHAs 与传统石油基塑料物理性能的比较
Tab.2 Comparison of physical properties between PHAs with different monomer structures and traditional petroleum-based plastics

聚合物	组成成分	熔融 温度/℃	玻璃态转化 温度/℃	弹性模量/ GPa	拉伸强度/ MPa	断裂伸 长率/%
P(3HB)		175	9	3.8	45	4
P(4HB)		53	-50	149	104	1 000
P(3HB-co-3HV)	3HV (3%)	170		2.9	40	
	3HV (11%)	157	2	3.7	38	5
	3HV (20%)	114	-5	1.9	26	27
	3HV (28%)	102	-8	1.5	21	700
	3HV (34%)	97	-9	1.2	18	970
P(3HB-co-4HB)	4HB (64%)	50	-35	30	17	591
	4HB (90%)	50	-42	100	65	1 080
	3HB (10%)、 3HV(40%)、4HB(50%)	87.6	-13.7	0.5	9	4
P(3HB-co-3HV-co-4HB)	3HB (11%)、3HV (34%)、4HB (55%)	99.9	-15.9	0.6	10	3
	3HB (12%)、3HV (12%)、4HB (76%)	87.3	-21.1	0.1	4	9
	3HB(10%)、3HV(6%)、 4HB (84%)	54.3	-47.1	0.1	9	300
	3HB(4%)、3HV(3%)、 4HB (93%)	54.8	-51.6	0.1	14	430
P(3HB-co-3HHx)		52	-4		20	850
P(3HO)		61			6~10	300~450
传统塑料						
聚丙烯 (PP)		170~176	-10	1.0~1.7	29.3~38.6	500~900
高密度聚乙烯 (HDPE)		122~132	-80	0.4~1.0	17.9~33.1	12~700
低密度聚乙烯 (LDPE)		88~130	-36	0.05~0.1	15.2~78.6	150~600
聚苯乙烯 (PS)		80~110	21	3.0~3.1	50	3~4
聚对苯二甲酸乙二酯 (PET)		262		2.2	56	7 300

注: 3HB 为 3-羟基丁酸; 4HB 为 4-羟基丁酸; 3HV 为 3-羟基戊酸; 3HHx 为 3-羟基己酸; 3HO 为 3-羟基辛酸; 括号内均为质量分数。

4.2 阻隔性能改性及应用

与聚合物的热学和力学性能类似, 氧气和水蒸气阻隔性能使 PHAs 作为塑料片、薄膜以及黏合剂在包装领域得到了广泛应用。图 2 展示了 PHAs 与传统石油基塑料用于食品包装时的氧气和水蒸气阻隔性能^[62-63]。从图 2 中可以看出, PHAs 具有优良的氧气阻隔性。研究显示, 与传统塑料高密度聚乙烯 (High Density Polyethylene, HDPE)相比, 使用 PHAs 作为包装材料时的食品质量与其作为包装材料时的相当^[64]。就水蒸气阻隔性能看, PHAs 不如其他疏水材料 (聚乙烯和聚丙烯)好, 但具有适当的抗水蒸气

传输能力, 因此, PHAs 在水果、蔬菜和沙拉等方面的包装具有一定的潜力。Tripathi 等^[14]通过研究 PHAs 复合材料, 发现其可用于牛奶、零食以及冷藏食品的包装。Fabra 等^[65]将 PHB 和 PHB/BCNW (细菌纤维素纳米晶须)混合纤维溶液通过静电纺丝技术直接电纺到热塑性玉米淀粉基薄膜 (TPCS)上, 制备多层复合结构薄膜, 水蒸气和氧气的阻隔性能都得到了显著提高, 在食品包装领域具有重要意义。目前, 基于 PHAs 材料的化妆品容器、洗发水瓶、牛奶盒和梳子已经生产, 同时具有弹性的 PHAs 共聚物可用于制备各种生物降解物产品, 包括尿布、顶片和背板、垃圾袋、食品包装和一次性衣物等^[1]。

4.3 生物降解性改性及应用

PHAs 具有良好的生物降解性和相容性, 因此, 可以通过引入填料、增塑剂、交联剂和增容剂等与其他聚合物结合进行改性, 以提高最终性能。Cho 等^[66]比较了 PHB 与 PHBV 的降解性, 研究发现, 相较于压实颗粒状的聚合物, 薄膜更容易被降解, 同时当聚合物以薄膜态浸入海水 160 d 后, PHB 和 PHBV 薄膜的残余质量分别为 58% 和 54%, 以压实颗粒状态浸入海水 160 d 后, PHB 和 PHBV 颗粒的质量损失仅为 38% 和 13%, 这些差异的根本原因与聚合物/水的界面面积比有关。Othman 等^[67]将 PHAs 与聚己内酯(PCL)以不同比例混合制备可生物降解双层地膜, 缓解不可降解农膜的污染问题。结果显示, 单层 PHAs 地膜土壤填埋 5 周后质量损失可高达 48.4%, 双层地膜的透明度远高于单层地膜, 而降解性却几乎是单层地膜的一半, 且 PCL 的混合比例越高, 降解周期越长, 这与聚合物分子结构更加致密有关。由此可以看出, PHAs 的生物降解速率不仅受微生物群落、环境条件的影响, 更主要受 PHAs 分子结构的影响, 通过调整 PHAs 的单体分子结构, 可延长或进一步缩短其降解周期, 满足不同领域的使用需求。

研究发现, 生物相容性和对生物降解性的改性使得 PHAs 与有机或无机添加剂组成的共聚物应用领域得到拓宽, 如伤口愈合、防止结块、药物输送、组织工程和神经损伤修复等领域^[68]。PHAs 中封装的双氯芬酸和地塞米松等抗炎药可加快伤口愈合过程和治疗其他皮肤缺陷。3HB/4HB 单体已被证明有助于皮肤修复, 用来制备聚合物膜和电纺膜来治疗炎症, 同时还能增强皮肤的血管生成特性并加速伤口愈合过程^[69]。

4.4 复合材料改性及应用

由于短链 PHAs 坚硬易碎, 在使用时常常与其他聚合物进行物理共混或化学改性, 以增强材料的适应性, 满足多种商品的包装需求。Burzic 等^[70]在不影响聚乳酸(PLA)的生物基碳含量的前提下, 加入质量分数为 10%~20% 的 PHAs 后形成 PLA/PHA 共混物。相较于纯的 PLA, 共混物的冲击性能、缺口冲击强度和无缺口冲击强度明显增强, 其中添加质量分数为 20% 的 PHAs 后共混物的强度提升最大, 缺口冲击强度从 4.5 kJ/m² 提高到了 13 kJ/m², 无缺口冲击强度从 79 kJ/m² 提高到了 113 kJ/m²。Tomietto 等^[5]研究了 PHAs 膜的结

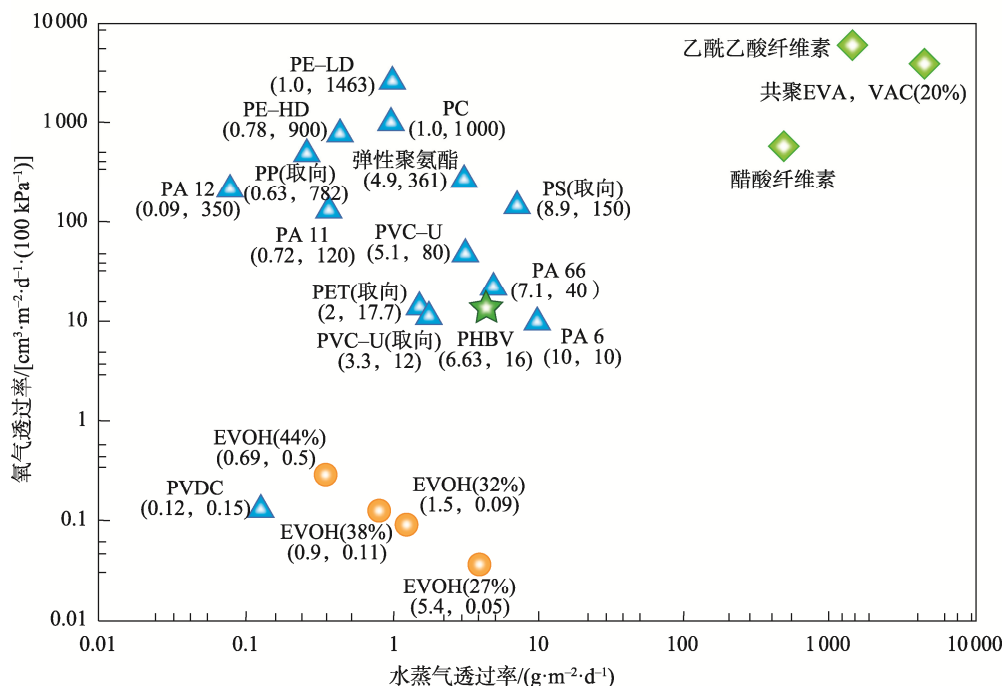


图2 PHAs 与传统石油基塑料用于食品包装时的氧气和水蒸气阻隔性能

Fig.2 Oxygen and water vapor barrier properties of PHAs and traditional petroleum-based plastics when used in food packaging

注: PE-LD 为低密度聚乙烯; PE-HD 为高密度聚乙烯; PP 为聚丙烯; PS 为聚苯乙烯; PA6/PA11/PA12 和 PA66 分别为尼龙 6/尼龙 11/尼龙 12 和尼龙 6.6; PET 为聚对苯二甲酸乙二酯; PVC 为聚氯乙烯; PVDC 为聚偏二氯乙烯; PC 为聚碳酸酯; EVOH 为乙烯-乙醇共聚合物; EVA 为乙烯-醋酸乙烯酯共聚合物; PUR elastomer 为聚氨酯弹性体; Celluloseacetate 为醋酸纤维素; Cellulose-acetobutyrate 为乙酸丁酸纤维素; PHBV 为聚 3-羟基丁酸-3-羟基戊酸共聚酯; STP 为在标准温度和压力下; 氧气透过率在温度为 23℃、相对湿度为 50% 条件下进行; 水蒸气透过率在温度为 23℃、相对湿度从 85% 变化到 0% 的条件下进行。

构和性能关系,将不同浓度的聚3-羟基丁酸-3-羟基戊酸共聚酯(Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV)颗粒与不同质量分数聚乙二醇(PEG)混合制备成膜,对照其性质的变化。在不添加PEG的前提下,质量分数为10%的PHBV膜表现出较高的孔隙率和纯水透过性,对大肠杆菌的抗菌率高达 $(95.00 \pm 2.80)\%$ 。添加低分子量的PEG会阻碍孔隙的形成,添加高分子量的PEG有利于孔隙的形成,制成高孔隙率、低渗透性的膜,并且对大肠杆菌的抗菌率提高到大约99%,提高了包装材料的抗菌性能。Kanekar等^[71]证明了由卤代嗜碱菌(*Halomonas campisalis*)生产的PHBV共聚物可应用在如牛奶、植物油、小麦粗粉等食品的包装中。Muiznice-Brasava等^[72]报道了增塑PHB(增塑剂为癸二酸二辛酯、双氧水)材料,与传统的乳制品包装材料(如瘦肉袋、带轻质保护石墨层的PE和PS杯)相比,其更适用于酸奶油(乳制品)的包装,且利用增塑PHB制成的包装材料与原来的相比,质量变化不大。

此外,随着对生物聚合物的研究,PHAs在医学领域逐渐占有重要的地位。Zhang等^[73]通过研究PHAs在医药领域的应用,发现PHAs可以作为药物传递基质靶向某种特定细胞,并且由于其生物相容性,也可应用于组织工程。经过研究制备基于PHAs聚合物的3D纳米纤维基质在实验小鼠细胞上附和,没有产生任何对小鼠的不利影响。Kelwick等^[74]基于PHAs的生物相容性,研发了模块化、功能化的生物珠子,将其命名为高级蛋白水解检测器PHA(AL-PHA)珠,并使用工程化的大肠杆菌进行生产,构建AL-PHA蛋白酶生物传感器用于检测特定的蛋白酶,在曼氏血吸虫尾蚴弹性蛋白酶检测和金属蛋白酶MMP14的检测实验中取得成功。据报道,Avossa等^[75]将PHB/PCL共混物用杂化黑色素-TiO₂纳米结构修饰,增强了基质的抗菌活性,增加了医院使用该基质作为伤口敷料的机会。Lizarraga-Valderrama等^[76]将聚(3-羟基辛酸酯)(PHO)与PHB以不同比例混合,所得的PHAs混纺薄膜比纯薄膜具有更高的粗糙度,并且薄膜挺度随着PHB含量的增加而增加。当PHO/PHB混合物的质量比为25:75时,可为神经元细胞增殖和发育提供卓越的支持。

5 结语

PHAs是一种非常有前途的聚合物,具有广泛的应用前景。PHAs比目前应用广泛的生物降解材料PLA具有更优良的阻隔性(阻湿性和阻氧性)和机械强度。尽管PHAs本身具有脆性,但可通过调节其单体结构或加入适当的添加剂共混来改善,这将提升PHAs在食品包装等市场应用的潜力。然而由于PHAs的生产成本较高、产量相对较低,大多数研究依然停

留在实验室阶段,如何实现PHAs工业化生产的转化依然是当今面临的主要难题。目前,大多研究集中在通过适当调节生产工艺(如培养方式、DO值、pH值、C/N比等)、细菌的基因改造或利用廉价、可再生的农林废弃物作为传统原料的替代品来提高PHAs的产量,极大节约了原料成本。同时PHAs具有良好的复合性能,可与纸、金属以及其他塑料进行复合,以改变原始材料的物理化学性质,适应更多产品的包装要求。目前,研究者们也在努力改善含有不同添加剂的PHAs的性能,从而降低生产成本。尤其使用纳米填料生产的PHAs纳米复合材料的性能已达到与传统石油基塑料的性能相竞争的水平,使其可用于包装行业。

随着对PHAs生产工艺的不断优化,在不久的将来,可降解生物塑料PHAs必将在包装、医疗等领域得到广泛应用,它们有望成为传统石油基塑料的良好替代品,从而缓解原料匮乏的局面,减少对环境的污染,实现绿色可持续发展。

参考文献:

- [1] ADELEYE A T, ODOH C K, ENUDI O C, et al. Sustainable Synthesis and Applications of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) from Biomass[J]. Process Biochemistry, 2020, 96: 174-193.
- [2] 姚建, 苟敏, 汤岳琴. “绿色塑料”聚羟基脂肪酸酯生物合成研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(6): 1662-1671.
YAO Jian, GOU Min, TANG Yue-qin. Research Progress on Biosynthesis of “Green Plastics”: Polyhydroxyalkanoates[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2021, 27(6): 1662-1671.
- [3] 李冬娜, 马晓军. 聚羟基脂肪酸酯降解包装材料的生物合成及进展[J]. 包装工程, 2020, 41(5): 128-136.
LI Dong-na, MA Xiao-jun. Biosynthesis and Progress of Polyhydroxyalkanoates Degradable Packaging Materials[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(5): 128-136.
- [4] VOLOVA T, KISELEV E, NEMTSEV I, et al. Properties of Degradable Polyhydroxyalkanoates with Different Monomer Compositions[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 182: 98-114.
- [5] TOMIETTO P, LOULERGUE P, PAUGAM L, et al. Biobased Polyhydroxyalkanoate (PHA) Membranes: Structure/Performances Relationship[J]. Separation and Purification Technology, 2020, 252: 117419.
- [6] SURIYAMONGKOL P, WESELAKE R, NARINE S, et al. Biotechnological Approaches for the Production of Polyhydroxyalkanoates in Microorganisms and Plants—A Review[J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(2): 148-175.
- [7] 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.
- [8] AMANAT N, MATTURRO B, VILLANO M, et al. Enhancing the Biological Reductive Dechlorination of Trichloroethylene with PHA from Mixed Microbial Cultures (MMC)[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(2): 107047.
- [9] COLOMBO B, PEREIRA J, MARTINS M, et al. Recovering PHA from Mixed Microbial Biomass: Using Non-Ionic Surfactants as a Pretreatment Step[J]. *Separation and Purification Technology*, 2020, 253: 117521.
- [10] VASANT K, RUTIKA S, REENA G. Blends and Composites of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) and Their Applications[J]. *European Polymer Journal*, 2021, 161: 110824.
- [11] TRIPATHI A D, MISHRA P K, DARANI K K, et al. Hydrothermal Treatment of Lignocellulose Waste for the Production of Polyhydroxyalkanoates Copolymer with Potential Application in Food Packaging[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 123: 233-250.
- [12] 仇少静, 张艳萍, 杨海静. 剩余污泥合成 PHAs 的影响因素研究[J]. *绿色科技*, 2015(3): 183-186.
QIU Shao-jing, ZHANG Yan-ping, YANG Hai-jing. The Study on Factors Influencing the Synthesis of PHAs by Using Surplus Sludge[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2015(3): 183-186.
- [13] 李娟娟, 陈洪波, 李小明, 等. 不同乙酸钠/甘油比对好氧/延长闲置 SBR 除磷性能的影响[J]. *环境科学学报*, 2015, 35(7): 2070-2076.
LI Juan-juan, CHEN Hong-bo, LI Xiao-ming, et al. Effect of Different Ratios of Acetate to Glycerol on Biological Phosphorus Removal in Sequencing Batch Reactor Operated as Oxidic/Extended-Idle Regime[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(7): 2070-2076.
- [14] WANG Xiao-ling, LU Hai, SONG Tie-hong, et al. The Effects of Main Anoxic Section Oxidation-Reduction Potential on the Metabolism of PHA and TP in Continuous-Flow Single-Sludge Treatment System[J]. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2019, 36(3): 411-422.
- [15] CHANPRATEEP S. Current Trends in Biodegradable Polyhydroxyalkanoates[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2010, 110(6): 621-632.
- [16] DU C Y, SABIROVA J, SOETAERT W, et al. Polyhydroxyalkanoates Production from Low-Cost Sustainable Raw Materials[J]. *Current Chemical Biology*, 2012, 6(1): 14-25.
- [17] 贾振华, 马宏, 张霞, 等. 利用两种工程菌共培养生产聚羟基烷酸的研究[J]. *生物技术*, 2006, 16(2): 61-63.
- JIA Zhen-hua, MA Hong, ZHANG Xia, et al. Production of Polyhydroxyalkanoates by Two Types of Recombinant Strains Co-Cultivated in a Kind of Medium[J]. *Biotechnology*, 2006, 16(2): 61-63.
- [18] KINGSLEY J S, CHATHALINGATH N, PARTHIBAN S A, et al. Utilization of Sugarcane Molasses as the Main Carbon Source for the Production of Polyhydroxyalkanoates from *Enterobacter Cloacae*[J]. *Energy Nexus*, 2022, 6: 100071.
- [19] 冉依禾, 郭亮, 刘一平, 等. 不同比例乙酸和丙酸对活性污泥微生物合成聚羟基脂肪酸酯的影响[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(2): 1276-1280.
RAN Yi-he, GUO Liang, LIU Yi-ping, et al. Effect of Different Ratios of Acetic Acid and Propionic Acid on Microbial Polyhydroxyalkanoate Synthesis with Activated Sludge[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(2): 1276-1280.
- [20] MARANG L, JIANG Yang, VAN LOOSDRECHT M C M, et al. Impact of Non-Storing Biomass on PHA Production: An Enrichment Culture on Acetate and Methanol[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 71: 74-80.
- [21] 李冬娜, 马晓军. 污泥厌氧发酵产酸机理及应用研究进展[J]. *生物质化学工程*, 2020, 54(2): 51-60.
LI Dong-na, MA Xiao-jun. Mechanism and Research Progress of Acid Synthesis during Sludge Anaerobic Fermentation[J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2020, 54(2): 51-60.
- [22] 王秀锦. 混合菌群利用污泥水解液合成聚羟基脂肪酸酯的研究[D]. 北京: 清华大学, 2014: 13-15.
WANG Xiu-jin. Synthesis of Polyhydroxyalkanoates (PHA) by Bacterial Consortium from Excess Sludge Fermentation Liquid[D]. Beijing: Tsinghua University, 2014: 13-15.
- [23] LOAN T T, TRANG D T Q, HUYP P Q, et al. A Fermentation Process for the Production of Poly(3-Hydroxybutyrate) Using Waste Cooking Oil or Waste Fish Oil as Inexpensive Carbon Substrate[J]. *Biotechnology Reports*, 2022, 33: e00700.
- [24] LÓPEZ-CUELLAR M R, ALBA-FLORES J, GRACIDA RODRÍGUEZ J N, et al. Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) with Canola Oil as Carbon Source[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 48(1): 74-80.
- [25] WIJEYEKOON S, CARERE C R, WEST M, et al. Mixed Culture Polyhydroxyalkanoate (PHA) Synthesis from Nutrient Rich Wet Oxidation Liquors[J]. *Water Research*, 2018, 140: 1-11.
- [26] 张子晨, 宋元达. 木质纤维素材料综合利用生物技术研究进展[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(1): 150-159.

- ZHANG Zi-chen, SONG Yuan-da. Research Progress in Biotechnology for Comprehensive Utilization of Lignocellulosic Materials[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2021, 48(1): 150-159.
- [27] DIETRICH K, DUMONT M J, DEL RIO L F, et al. Sustainable PHA Production in Integrated Lignocellulose Biorefineries[J]. New Biotechnology, 2019, 49: 161-168.
- [28] LI Jia-ning, LI Dong-na, SU Yu-hang, et al. Efficient and Economical Production of Polyhydroxyalkanoate from Sustainable Rubber Wood Hydrolysate and Xylose as Co-Substrate by Mixed Microbial Cultures[J]. Bioresource Technology, 2022, 355: 127238.
- [29] SARATALE R G, CHO S K, KADAM A A, et al. Developing Microbial Co-Culture System for Enhanced Polyhydroxyalkanoates (PHA) Production Using Acid Pretreated Lignocellulosic Biomass[J]. Polymers, 2022, 14(4): 726.
- [30] LI Dong-na, MA Xiao-jun, LI Jia-ning, et al. Insights into Enhanced Polyhydroxyalkanoate Production by the Synergistic Use of Waste Wood Hydrolysate and Volatile Fatty Acids by Mixed Microbial Cultures[J]. Bioresource Technology, 2021, 337: 125488.
- [31] YAN Xu, LI Dong-na, MA Xiao-jun, et al. Bioconversion of Renewable Lignocellulosic Biomass into Multi-component Substrate via Pressurized Hot Water Pretreatment for Bioplastic Polyhydroxyalkanoate Accumulation[J]. Bioresource Technology, 2021, 339: 125667.
- [32] 尹芬, 马晓军. 木质纤维素材料合成PHA预处理技术的研究进展[J]. 包装工程, 2020, 41(9): 100-108.
- YIN Fen, MA Xiao-jun. Research Progress of Pretreatment Technology for Synthesis of PHA from Lignocellulosic Materials[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(9): 100-108.
- [33] CERRONE F, CHOUDHARI S K, DAVIS R, et al. Medium Chain Length Polyhydroxyalkanoate (Mcl-PHA) Production from Volatile Fatty Acids Derived from the Anaerobic Digestion of Grass[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(2): 611-620.
- [34] LIU Chang-li, LIU Di, QI Ying-jie, et al. The Effect of Anaerobic-Aerobic and Feast-Famine Cultivation Pattern on Bacterial Diversity during Poly- β -Hydroxybutyrate Production from Domestic Sewage Sludge[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(13): 12966-12975.
- [35] KARACA S, YAGCI N, RANDALL C W. Polyhydroxyalkanoate Production Using Enriched Biomass and Acidogenic Fermentation Products of Dairy Wastewater and Organic Food Waste[J]. Desalination and Water Treatment, 2021, 215: 388-397.
- [36] DAI Yu, YUAN Zhi-guo, JACK K, et al. Production of Targeted Poly(3-Hydroxyalkanoates) Copolymers by Glycogen Accumulating Organisms Using Acetate as Sole Carbon Source[J]. Journal of Biotechnology, 2007, 129(3): 489-497.
- [37] BENGTTSSON S, WERKER A, WELANDER T. Production of Polyhydroxyalkanoates by Glycogen Accumulating Organisms Treating a Paper Mill Wastewater[J]. Water Science and Technology: a Journal of the International Association on Water Pollution Research, 2008, 58(2): 323-330.
- [38] LI Dong-na, YAN Xu, LI Ya-chao, et al. Achieving Polyhydroxyalkanoate Production from Rubber Wood Waste Using Mixed Microbial Cultures and Anaerobic-Aerobic Feeding Regime[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 199: 162-171.
- [39] 崔有为, 王好韩, 金常林. 好氧丰盛/缺氧饥饿模式驯化微生物积累内源聚合物并实现内源反硝化[J]. 北京工业大学学报, 2020, 46(11): 1283-1290.
- CUI You-wei, WANG Hao-han, JIN Chang-lin. Selection of Endogenous Polymers Accumulating Bacteria by Aerobic Feast/Anoxic Famine Mode and Realizing Denitrification by Endogenous Polymers[J]. Journal of Beijing University of Technology, 2020, 46(11): 1283-1290.
- [40] 丁淑杰, 徐平, 郭有才. 三聚氰酸对厌氧-好氧反应器生物除磷影响探究[J]. 水处理技术, 2019, 45(10): 82-85.
- DING Shu-jie, XU Ping, GUO You-cai. Effect of Cyanuric Acid on Biological Phosphorus Removal by Anaerobic/Aerobic Reactor[J]. Technology of Water Treatment, 2019, 45(10): 82-85.
- [41] GARCÍA-DEPRAECT O, LEBRERO R, RODRIGUEZ-VEGA S, et al. Biodegradation of Bioplastics under Aerobic and Anaerobic Aqueous Conditions: Kinetics, Carbon Fate and Particle Size Effect[J]. Bioresource Technology, 2022, 344: 126265.
- [42] 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. Effects 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.
- [43] DIONISI D, MAJONE M, PAPA V, et al. Biodegradable Polymers from Organic Acids by Using Activated Sludge Enriched by Aerobic Periodic Feeding[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2004, 85(6): 569-579.
- [44] 李小玲, 吕耀平, 周潮晖. 好氧瞬时供料法合成生物

- 可降解塑料的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2008, 31(4): 41-44.
- LI Xiao-ling, LYU Yao-ping, ZHOU Chao-hui. Research on Production of Biodegradable Plastics by Aerobic Dynamic Feeding Approach[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 31(4): 41-44.
- [45] MOHAMAD FAUZI A H, 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.
- [46] WANG Xiao-fei, BENGTSOON S, OEHMEN A, et al. Application of Dissolved Oxygen (DO) Level Control for Polyhydroxyalkanoate (PHA) Accumulation with Concurrent Nitrification in Surplus Municipal Activated Sludge[J]. New Biotechnology, 2019, 50: 37-43.
- [47] 方芳, 鲍晓静, 操家顺. 溶解氧对活性污泥胞内贮存物和除磷性能的影响[J]. 环境工程, 2012, 30(6): 8-11.
- FANG Fang, BAO Xiao-jing, CAO Jia-shun. Influence of Dissolved Oxygen on Storage Formation and Phosphorus Removal in Activated Sludge[J]. Environmental Engineering, 2012, 30(6): 8-11.
- [48] FALL C, BARRÓN-HERNÁNDEZ L M, GONZAGA-GALEANA V E, et al. Ordinary Heterotrophic Organisms with Aerobic Storage Capacity Provide Stable Aerobic Granular Sludge for C and N Removal[J]. Journal of Environmental Management, 2022, 308: 114662.
- [49] YANG Xue, DU Mao-an, LEE D J, et al. Enriching Polyhydroxyalkanoates (PHA) Producing Microorganisms by Complex Organics from Quickly Alkaline Fermentation Liquor[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2012, 43(6): 953-957.
- [50] LIU Yuan-jun, GUO Liang, LIAO Qian-ru, et al. Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production with Acid or Alkali Pretreated Sludge Acidogenic Liquid as Carbon Source: Substrate Metabolism and Monomer Composition[J]. Process Safety and Environmental Protection, 2020, 142: 156-164.
- [51] 崔有为, 张宏宇. pH 对嗜盐混合菌发酵挥发性有机酸混合物合成 PHA 的影响[J]. 化工学报, 2016, 67(10): 4431-4438.
- CUI You-wei, ZHANG Hong-yu. Influence of pH on PHA Production by Halophilic Sludge Fermenting Mixed VFAs Substrate[J]. CIESC Journal, 2016, 67(10): 4431-4438.
- [52] VALENCIA A I S, ZAMORA U R, RODRÍGUEZ M M, et al. Effect of C/N Ratio on the PHA Accumulation Capability of Microbial Mixed Culture Fed with Leachates from the Organic Fraction of Municipal Solid Waste (OFMSW)[J]. Journal of Water Process Engineering, 2021, 40: 101975.
- [53] ZHAO Lan-mei, BAO Mu-tai, ZHAO Dong, et al. Correlation between Polyhydroxyalkanoates and Extracellular Polymeric Substances in the Activated Sludge Biosystems with Different Carbon to Nitrogen Ratio[J]. Biochemical Engineering Journal, 2021, 176: 108204.
- [54] 巩有奎, 罗佩云, 孙洪伟. 厌氧-限氧 SBR 处理低 C/N 生活污水 SNDPR 启动及 N₂O 释放[J]. 化工学报, 2021, 72(8): 4381-4390.
- GONG You-kui, LUO Pei-yun, SUN Hong-wei. The Characteristics of SNDPR and N₂O Emission in Anaerobic-Oxygen Limited SBR Treating Low C/N Domestic Sewage[J]. CIESC Journal, 2021, 72(8): 4381-4390.
- [55] LORINI L, DI RE F, MAJONE M, et al. High Rate Selection of PHA Accumulating Mixed Cultures in Sequencing Batch Reactors with Uncoupled Carbon and Nitrogen Feeding[J]. New Biotechnology, 2020, 56: 140-148.
- [56] SIMONA C, LAURA L, FRANCESCO V, et al. Effect of the Organic Loading Rate on the PHA-Storing Microbiome in Sequencing Batch Reactors Operated with Uncoupled Carbon and Nitrogen Feeding[J]. Science of the Total Environment, 2022, 825: 153995.
- [57] AMULYA K, JUKURI S, VENKATA MOHAN S. 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.
- [58] 邱石正, 李佳益, 杨景辰, 等. 低成本合成聚羟基脂肪酸酯(PHAs)的研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(9): 45-52.
- QIU Shi-zheng, LI Jia-yi, YANG Jing-chen, et al. Research Progress of Low-Cost Method of Synthesizing Polyhydroxyalkanoates(PHAs)[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(9): 45-52.
- [59] ANJUM A, ZUBER M, ZIA K M, et al. Microbial Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) and Its Copolymers: A Review of Recent Advancements[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 89: 161-174.
- [60] LEVINE A C, HEBERLIG G W, NOMURA C T. Use of Thiol-Ene Click Chemistry to Modify Mechanical and Thermal Properties of Polyhydroxyalkanoates (PHAs)[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 83: 358-365.
- [61] BRIGHAM, SINSKEY. Applications of Polyhydroxyalkanoates in the Medical Industry[J]. International Journal of Biotechnology for Wellness Industries, 2012, 1: 52-60.

- [62] BUGNICOURT E, SCHMID M, NERNEY O M, et al. Processing and Validation of Whey-Protein-Coated Films and Laminates at Semi-Industrial Scale as Novel Recyclable Food Packaging Materials with Excellent Barrier Properties[J]. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2013, 2013: 1-10.
- [63] MUTHURAJ R, VALERIO O, MEKONNEN T H. Recent Developments in Short- and Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates: Production, Properties, and Applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 187: 422-440.
- [64] KESKIN G, KIZIL G, BECHELANY M, 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.
- [65] FABRA M J, LÓPEZ-RUBIO A, AMBROSIO-MARTÍN J, et al. Improving the Barrier Properties of Thermoplastic Corn Starch-Based Films Containing Bacterial Cellulose Nanowhiskers by Means of PHA Electrospun Coatings of Interest in Food Packaging[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 261-268.
- [66] CHO J Y, PARK S L, LEE Hong-ju, et al. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Degradation by the Newly Isolated Marine *Bacillus* Sp. JY14[J]. *Chemosphere*, 2021, 283: 131172.
- [67] OTHMAN N A F, SELAMBAKKANNU S, SEKO N. Biodegradable Dual-Layer Polyhydroxyalkanoate (Pha)/ Polycaprolactone (Pcl) Mulch Film for Agriculture: Preparation and Characterization[J]. *Energy Nexus*, 2022, 8: 100137.
- [68] LUEF K P, STELZER F, WIESBROCK F. Poly(hydroxyalkanoate)s in Medical Applications[J]. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 2015, 29(2): 287-297.
- [69] SHISHATSKAYA E I, NIKOLAEVA E D, VINOGRADOVA O N, et al. Experimental Wound Dressings of Degradable PHA for Skin Defect Repair[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2016, 27(11): 165.
- [70] BURZIC I, PRETSCHUH C, KAINEDER D, et al. Impact Modification of PLA Using Biobased Biodegradable PHA Biopolymers[J]. *European Polymer Journal*, 2019, 114: 32-38.
- [71] KANEKAR PP, KULKARNI SO, NILEGAONKAR SS, et al. Microbial biodegradable polymer having potential application in packaging[C]// *Proceedings of Indo-US International Conference on Polymers for Packaging Applications (ICPPA)*, 2012.
- [72] MUIZNIECE-BRASAVA S, DUKALSKA L. Impact of Biodegradable PHB Packaging Compositematerials on Dairy Product Quality[J]. In: *Proceedings of the Latvia University of Agriculture LLU Raksti*, 2006, 16: 79-87.
- [73] ZHANG Jun-yu, SHISHATSKAYA E I, VOLOVA T G, et al. Polyhydroxyalkanoates (PHA) for Therapeutic Applications[J]. *Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications*, 2018, 86: 144-150.
- [74] KELWICK R J R, WEBB A J, WANG Yi-zhou, et al. AL-PHA Beads: Bioplastic-Based Protease Biosensors for Global Health Applications[J]. *Materials Today*, 2021, 47: 25-37.
- [75] AVOSSA J, POTA G, VITIELLO G, et al. Multifunctional Mats by Antimicrobial Nanoparticles Decoration for Bioinspired Smart Wound Dressing Solutions[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2021, 123: 111954.
- [76] LIZARRAGA-VALDERRAMA L R, NIGMATULLIN R, LADINO B, et al. Modulation of Neuronal Cell Affinity of Composite Scaffolds Based on Polyhydroxyalkanoates and Bioactive Glasses[J]. *Biomedical Materials (Bristol, England)*, 2020, 15(4): 045024.

责任编辑: 曾钰婵