

# 微生物电合成聚羟基脂肪酸酯的基本原理及研究进展

郑滢颖, 王晓娟, 张羽黏, 马晓军\*

(天津科技大学 轻工科学与工程学院, 天津 300457)

**摘要:** **目的** 综述微生物电合成 (Microbial Electrosynthesis, MES) 生产聚羟基脂肪酸酯 (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) 的基本原理、影响因素及其在包装工业领域应用面临的挑战, 以期优化其生产工艺、实现 PHAs 的高效和低成本合成、拓宽绿色包装材料合成技术。**方法** 基于近几年国内外的最新研究进展, 总结现有合成 PHAs 方法存在的不足, 介绍 MES 合成方式及原理, 阐述 MES 系统合成 PHAs 影响因素, 探讨 MES 系统在合成 PHAs 等绿色包装材料所面临的挑战。**结论** MES 系统在合成 PHAs 领域具有巨大的研究潜力, 未来的重点研究方向是开发高效电活性微生物、优化电合成条件以及 MES 系统结构来提高 PHAs 产量, 并拓宽 MES 系统在合成可降解包装材料领域的应用。

**关键词:** 聚羟基脂肪酸酯; 微生物电合成; 生物降解包装材料; 影响因素

中图分类号: TQ323.41 文献标志码: A 文章编号: 1001-3563(2024)13-0060-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2024.13.008

## Basic Principles and Research Progress of Microbial Electrosynthesis of Polyhydroxyalkanoates

ZHENG Yingying, WANG Xiaojuan, ZHANG Yutian, MA Xiaojun\*

(College of Light Industry Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**ABSTRACT:** The work aim to review the basic principles and influencing factors of microbial electrosynthesis (MES) for the production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and the challenges of their application in the packaging industry, with a view to optimizing the production process, achieving efficient and low-cost synthesis of PHAs, and broadening the synthesis technology of green packaging materials. Based on the latest research progress at home and abroad in recent years, shortcomings of the existing methods for synthesizing PHAs were summarized, MES synthesis methods and principles were introduced, influencing factors of PHAs synthesis by the MES system were described, and challenges faced by the MES system in the synthesis of green packaging materials such as PHAs were discussed. In conclusion, the MES system has great research potential in synthesizing PHAs. The key research directions in the future are the development of highly efficient electroactive microorganisms, the optimization of electro-synthesis conditions and the structure of the MES system to improve the yield of PHAs, and the broadening of the application of the MES system in synthesizing biodegradable packaging materials.

**KEY WORDS:** polyhydroxyalkanoates; microbial electrosynthesis; biodegradable packaging; influencing factors

收稿日期: 2024-03-12

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目 (23JCZDJC00620); 海南省自然科学基金 (324MS086); 青海理工大学“昆仑英才”人才引进科研项目资助 (2023-QLGKLYCZX-020)

\*通信作者

传统塑料包装常用石油基塑料作为基材, 石油基塑料分解需要几百年的时间, 这样就会使塑料被大量积累, 从而引起诸如土壤和水源等环境问题, 影响生物多样性和可持续发展, 同时与双碳目标的政策背景相悖。因此, 寻找生物降解包装材料已成为当前的一个研究热点。相较于传统的石油基类材料, 生物可降解材料具有环境友好、安全、可降解等特点, 并且具有良好的生物相容性, 将其作为传统塑料的替代品进行广泛应用可以帮助降低塑料产业的碳足迹, 同时减少对传统塑料产品的需求。

生物基聚羟基脂肪酸酯 (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) 是由多种微生物在营养缺乏 (如碳过剩和氮/磷短缺) 的情况下产生的生物塑料<sup>[1]</sup>, 其性质与石油基衍生物相似, 并且具有极强的生物相容性和可降解性, 因此被它认为是最有前景的绿色环保材料之一<sup>[2]</sup>。目前制备 PHAs 的典型方法包括化学合成法和微生物发酵法 (纯菌种法、混菌种法及工程菌种法)。化学合成法具有难以溶解和催化缓慢的缺点, 一般需在高温高压条件下进行, PHAs 合成难度较大; 微生物发酵法需要依赖价格昂贵的碳源底物如纯糖、挥发性脂肪酸和油等, 底物成本约占 PHAs 合成成本的 30%~50%<sup>[3]</sup>, 其中纯菌种法需要灭菌消毒处理, 提供无杂菌环境<sup>[4]</sup>, 合成条件要求高; 混合菌体系浓度低, 远小于纯菌合成 PHAs 的质量浓度<sup>[5]</sup>, 生产效率低下; 工程菌的基因改造技术操作复杂。这些合成技术存在的短板严重限制了生物塑料 PHAs 的工业化生产和应用。因此, 研发新的生物合成技术成为 PHAs 发展的关键。微生物电合成 (Microbial Electrosynthesis, MES) 是利用还原力 (电极传递的电子) 和 ATP 驱动碳固定途径将 CO<sub>2</sub>、葡萄糖或其他底物转化为各种化学品, 实现高值附加产物的合成方法。MES 系统的应用非常广泛, 可以用于生物燃料、生物化学品、食品和饲料等方面, 随着技术的不断发展, MES 系统的应用前景将变得更加广阔。其中在生物化学品方面, MES 系统可以生产丙酮、挥发性脂肪酸和 PHAs 等高附加值产物, 然而, 目前微生物电合成生产 PHAs 方面的研究还较少<sup>[6]</sup>。

本文基于细胞外电子传递机制和微生物代谢途径分析并阐述微生物电合成机理, 总结使用微生物电合成技术制备生物塑料 PHAs 的研究进展, 分析影响合成产率的因素, 如电极材料、电极电位、碳源、微生物以及溶解氧 (DO) 等, 并对后续生物塑料 PHAs 微生物电合成的发展前景进行展望, 旨在为实现生物塑料 PHAs 的高效、低成本合成提供参考依据。

## 1 微生物电合成原理

作为一种新兴的环境友好型生物合成技术, MES 逐渐被应用于生物可降解材料合成领域, 以实现能源的可持续发展。MES 是电极通过与微生物细胞之间

进行电子传递, 进而对细胞内氧化还原状态进行电化学修饰来刺激微生物代谢的过程<sup>[7]</sup>。图 1 为 MES 原理示意图。因此, 该 MES 系统的性能主要是通过微生物与电极表面的电子传递和微生物代谢机制进行调控, 实现高附加值产物的合成。

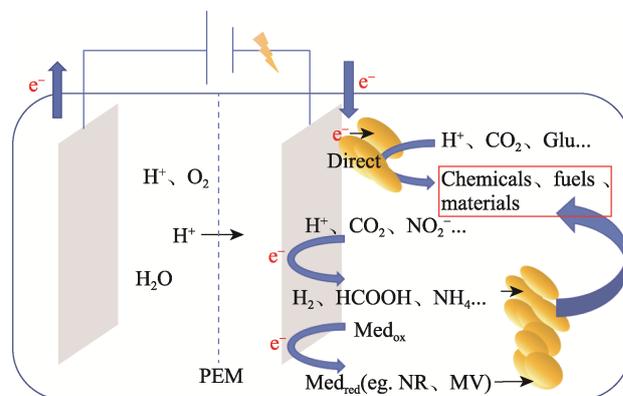


图 1 微生物电合成 (MES) 原理示意图

Fig.1 Schematic diagram of microbial electrosynthesis (MES)  
注: Med<sub>ox</sub> 为氧化态电子载体, Med<sub>red</sub> 为还原态电子载体。

### 1.1 细胞外电子传递机制

细胞外电子传递 (Extracellular Electron Transfer, EET) 是电子通过一种细胞以外的介质传递的现象。微生物电合成过程的关键是微生物与电极表面的电子传递, 微生物合成生物材料所需摄取的能量主要来源于电极间的电子传递<sup>[7]</sup>。因此, 微生物的 EET 效率对合成高附加值产品的速率有很大影响, 根据微生物电子传递不同机理寻找提高微生物 EET 效率的方法, 是优化和推进微生物电合成系统性能的有效途径<sup>[8]</sup>。微生物电合成过程的典型 EET 机制包括直接电子传递 (Direct Electron Transfer, DET) 和间接电子传递 (Indirect Electron Transfer, IET)。它们通过不同的途径将外部电子转移到微生物细胞内, 参与微生物的代谢活动。

#### 1.1.1 直接电子传递

DET 指亲电微生物通过直接与导电固体表面 (如阴极表面或铁矿物质) 接触, 将外部电子直接转移到细胞内的过程。在这种机制下, 微生物细胞表面的酶、电子传递蛋白或细胞外分子以及电极表面间形成直接的电子通道。通过这个电子通道, 外部电子能够直接传递到微生物的细胞内, 供给细胞的代谢过程<sup>[9]</sup>。亲电微生物利用这些外部电子来合成高附加值产品。因为电子可以直接从外部传送到微生物细胞内, DET 具有较高的传递效率, 能量损耗也较低<sup>[10]</sup>。

Cheng 等<sup>[11]</sup>首次报道了产甲烷菌 (*Methanobacterium palustre*) 能够通过 DET 将 CO<sub>2</sub> 还原为甲烷。在此之后研究者们陆续发现了产乙酸菌卵形链球菌 (*Sporomusa ovata*)、杨氏梭菌 (*Clostridium ljung-*

*dahlia*)、热醋穆尔氏菌 (*Moorella thermoacetica*)、类球鼠孢菌 (*Sporomusa sphaeroides*) 以及醋酸梭菌 (*Clostridium acetivum*)<sup>[12]</sup> 都能直接吸收电子驱动碳固定途径, 将  $\text{CO}_2$  转化为多碳化合物。为了通过促进电极与微生物的相互作用和生物膜的形成来增强 DET 效率, 研究人员对阴极材料进行改性使其具有高活性表面积、良好生物相容性以及化学稳定性等提高电合成系统性能。截至目前, 改性的阴极材料包括正电荷材料、金属纳米颗粒、碳纳米颗粒和碳纳米管<sup>[13]</sup>。Yu 等<sup>[14]</sup> 用碳纳米颗粒将 *M. thermoautotrophica* 固定到阴极碳布电极上, 改善了细胞与电极的物理接触, 并提升了电极和生物膜之间的电子转移速率。

### 1.1.2 间接电子传递

IET 指微生物通过产生或引入电子载体来将外部电子间接传递到细胞内的过程。根据来源不同, 常用电子载体主要分为 2 类。一类为内源性电子载体, 该类载体由微生物自身产生, 能够介导细胞内外电子传递, 通常为细胞自泄的小氧化还原分子, 如黄素, 醌和吩嗪等物质。Huang 等<sup>[15]</sup> 发现 *Guraniireducens* 排泄出的游离核黄素以氧化/还原态不断转换的形式充当电子穿梭, 来介导电子转移。另一类为外源电子载体, 该类载体为外部引入的电子载体, 通常是天然存在或人工合成的某些物质, 这些电子载体可以是  $\text{H}_2$ 、甲酸和其他化学物质<sup>[16]</sup>, 因此间接电子传递的 MES 系统也分为  $\text{H}_2$  介导型、甲酸介导型及其他化学物质介导型。 $\text{H}_2$  和甲酸的还原电位 ( $E_0$ ) 都较低 ( $E_0$  分别为  $-0.41\text{ V}$ 、 $-0.42\text{ V}$ ), 容易为微生物提供还原力, 并且电催化裂解水及甲酸的电化学合成反应也简单,

使两者广泛运用于 MES 系统中。有研究报道了一种 MES 系统<sup>[17]</sup>, 选用镍锰锌合金 (NiMoZn) 作为析氢催化剂, 工程改造的 *R. eutropha* 作为生物催化剂, 实现将  $\text{CO}_2$  转化为异丙醇, 产量达到  $216\text{ mg/L}$ 。图 2 为采用间接电子转移的 MES 系统实例, 该研究在利用工程改造菌株 *Ralstonia eutropha* 进行电合成的过程中, 构建了一种以甲酸脱氢酶 (FDH) 辅助的 MES 系统, 该系统中 FDH 催化二氧化碳在阴极室内还原成甲酸。甲酸作为电子载体, 将来自阴极的电子转移到 *Ralstonia eutropha* 中。外源电子载体的出现与发展使非亲电型微生物能够实现  $\text{CO}_2$  的微生物电合成, 扩大了微生物选择范围。

另外, 传统的天然电子载体、具有无机化合物的人工电子载体和具有有机聚合物的人工电子载体也被用于电极与微生物之间的电子传递, 它们具有还原电位低、氧化还原活性高的优势, 并且拓宽了电极材料的选择范围<sup>[9]</sup>。天然电子载体 (如铁和氨) 目前被用于特定的化能自养型微生物 (如氨氧化细菌 *Nitrosomonas europaea* 和酸性氧化硫杆菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans*)。Khunjar<sup>[19]</sup> 设计了一种电化学反应器, 使用亚硝基单胞菌, 该菌体利用氨作为其生长的唯一能源, 将氨作为氧化还原介质, 在最佳电解条件下, 整体微生物生产效率可接近  $(2.7 \pm 0.2)\%$ 。人工电子载体也在不断开发之中, 目前常用人工电子载体主要包括中性红 (NR)、甲基紫睛 (MV)、蒽醌-2,6-二磺酸盐 (AQDS) 及亚甲基蓝 (MR)。Steinbusch 等<sup>[20]</sup> 将不同电子载体 NR、MV 和 AQDS 对 MES 系统性能影响进行评估, 结果发现, 添加 NR 和 MV 对 MES 系统

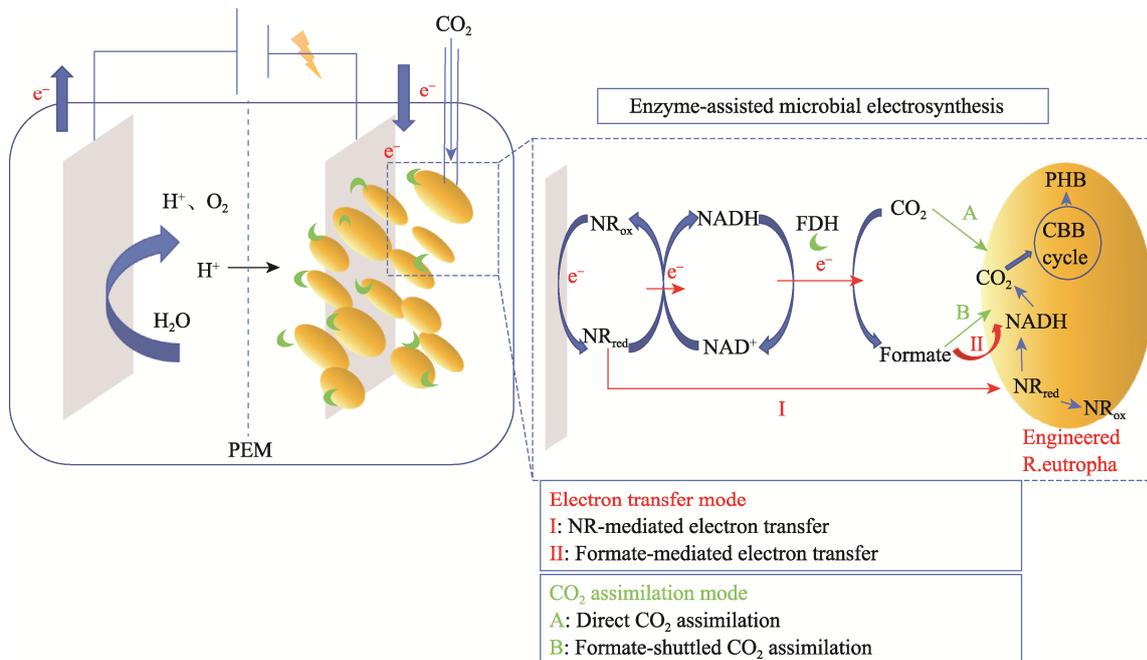


图 2 采用间接电子转移的 MES 系统实例<sup>[18]</sup>

Fig.2 Examples of MES systems using indirect electron transfer<sup>[18]</sup>

性能有不同程度的影响,其中使用 MV 的培养体系中乙醇的最终浓度最高,是无电子载体体系的 2 倍。有研究<sup>[18]</sup>以甲酸作为电子载体,并且加入 NR,将来自阴极的电子转移到 *Ralstonia eutropha* 菌株中, NR 作为电子穿梭剂,直接从阴极将电子传递给 *R. eutropha*,显著提高了 MES 系统的效率。为了克服无机化合物的细胞毒性,研究者<sup>[21]</sup>开发了聚 2-甲基丙烯酸氧乙基磷酸胆碱-共-乙烯基二茂铁 (PMF) 有机聚合物生物相容性载体,但有机聚合物需要克服的氧化还原电势更高。因此,目前运用于 MES 系统中的外源电子载体大多是无机化合物类型<sup>[13]</sup>。

## 1.2 微生物合成代谢

除了细胞外电子传递的机制外,微生物的合成代谢也对 MES 有着重要影响。在 MES 系统合成过程中,系统培养基并不处于氧化还原平衡状态,微生物需通过将内部的氧化还原反应与其他代谢过程相耦合,以获取能量维持细胞生长。此外,氧化还原比例  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  的改变还会改变一些可逆反应或副产物代谢的方向,从而显著影响终产物范围。喻扬等<sup>[22]</sup>通过研究发现,在不同的氧化还原比例下酿酒酵母的代谢流分配模式有所改变,氧化还原比例值越高,电合成过程中耗糖速率越高,则产生的副产物越少。

由于细胞内氧化还原电位控制着基因的表达和酶的合成,进而会对微生物细胞内的代谢途径产生影响<sup>[23]</sup>,因此利用微生物电化学合成技术可以定向促进微生物细胞催化底物合成还原性的目的产物,同时抑制氧化副产物生成,提高反应效率<sup>[7]</sup>。Mukherjee 等<sup>[24]</sup>利用外部电位调节菌株 *Bacillus subtilis* 内在的氧化还原平衡,随后发现外加电场会改变菌株的代谢途径,在施加外部电场后反应体系的 NADH 脱氢酶含量有所上升,NADH 脱氢酶会通过提高细胞中的氧化还原比例来增强微生物的代谢通量和电子通量,从而促进目标产物的合成。

## 2 微生物电合成 PHA 产率的影响因素

在 MES 系统合成 PHAs 的阶段,电极材料、电极电势、底物碳源、微生物以及溶解氧等都会对最终 PHAs 产量产生影响。

### 2.1 电极材料

在 MES 产生 PHAs 过程中,电极反应和胞内氧化还原反应有耦合作用<sup>[7]</sup>,微生物直接或间接地从电极获取电子,电极性能的优劣,决定了微生物获取电子的速度,因此电极材料的选用对最终产物的产率有很大影响<sup>[25]</sup>。性能优异的电极材料具有良好的生物相容性、高导电性和稳定性、低功函数、高比表面积、可制备性、低成本和绿色环保等优点<sup>[7]</sup>。碳基材料(如

石墨、碳布、碳毡和网状碳等)可以满足以上大部分要求,它是目前 MES 系统中运用最广泛的电极材料。马哲<sup>[13]</sup>将碳布作为阴极材料,利用化能自养细菌 *Ralstonia eutropha* H16 进行电合成,PHB 产量达到每克细胞干重(DCW)中含有(421.54±8.43)mg 的 PHB。Nishio 等<sup>[21]</sup>将玻璃碳作为阴极材料,在双室反应器接种 *Ralstonia eutropha* 菌株合成 PHB。但未经修饰的碳基阴极材料在直接或间接电子传递过程中的效率不够理想<sup>[10]</sup>,电极比表面积不够,能够为微生物提供的电活性位点不足,因此要对阴极材料进行改性,提高产量。

目前主要有氧化改性、氮掺杂改性(常用的氮源包括氨气、三乙胺、吡啶等)、磁性改性(如  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、Ni 等磁性物质)、石墨烯改性、负载金属(如铂)或金属氧化物进行改性、复合改性(如复合纳米材料)等方法可以对碳基材料进行改性。Aryal 等<sup>[25]</sup>制备了涂有 3D-石墨烯的碳毡阴极,发现其具有良好的比表面积,为微生物催化反应提供了更多的电活性位点,研究显示,用 3D-石墨烯改性后的电极与未改性的电极材料相比,产生乙酸的速率提升了 6.8 倍。Lee 等<sup>[26]</sup>将工程菌株 *Shewanella marisflavi* BBL25 接种于镀铂碳毡阳极材料上,在 pH=7、电阻为 1 000  $\Omega$  条件下,PHB 产量为 7.47 g/L(是摇瓶发酵的 7 倍)。李刚等<sup>[27]</sup>以负载 Pt/C 催化剂的碳纸作为阴极材料,以铂网作为阳极,在单室电解池中接种培养好的 *C. necator* 菌液进行电发酵,最终获得的 PHA 最大产量为(423±17)mg/L。

研究人员也对纳米管改性碳基电极材料进行了研究。刘丹等<sup>[9]</sup>利用单壁碳纳米管(SWCNTs)修饰的碳布电极,纳米材料可以构建三维多孔骨架结构,为细胞附着提供更多位点,研究发现,在反应 96 h 后,工程菌株 *C. necator* Re013 在单壁碳纳米管修饰后的 MES 系统中合成 PHB 的产量最高达到了每克 DCW 中含有(211.54±7.18)mg 的 PHB,是未修饰碳布电极产量(每克 DCW 中含有(135.54±13.84)mg 的 PHB)的 1.56 倍。在此基础上,Li 等<sup>[28]</sup>开发出嵌入镍纳米粒子的氮掺杂碳纳米管(Ni@N-C)。将 Ni@N-C 作为析氢反应的电催化剂,在 Ni@N-C 中,Ni 纳米粒子被封装在 N-C 纳米管中,既防止了细菌与  $\text{Ni}^{2+}$  的直接接触,又抑制了  $\text{Ni}^{2+}$  的浸出,Ni@N-C 表现出优异的生物相容性和稳定性,最大 PHB 产量为(384.30±6.53)mg/L。

上述研究表明,将传统的碳基材料作为 MES 的电极材料可能存在反应界面传质效率低等缺点,需要对碳基阴极材料进行修饰,提高其比表面积、生物相容性、导电性以及稳定性等,从而提高 MES 系统性能。

### 2.2 电极电势

MES 中,电极电势会对 ORP 环境和析氢速率等

产生影响<sup>[29]</sup>。电极电势能够影响电子传递速率,进而影响微生物代谢活性使电合成速率发生变化;同时不同的电极电势可能会使微生物改变代谢途径,从而影响产物的种类和比例。

早期 Cheng 等<sup>[11]</sup>发现产甲烷菌(*Methanobacterium palustre*) 在阴极电位低于 $-0.7$  V (相对于 Ag/AgCl 参比电极) 时, 能够将  $\text{CO}_2$  还原为甲烷。Chen 等<sup>[18]</sup> 在阴极施加 4 种不同电位, 检测 MES 中 PHB 的生物合成曲线, 研究发现以 $-0.6$  V 作为 MES 的最佳操作电位时, 既能提高 PHB 产量, 也能够降低电消耗。丛畅等<sup>[30]</sup> 在单室电解池上施加不同电压, 来检测阴极电位及细菌生长状况, 研究发现, 施加  $4.5$  V 电压时, 阴极电位最高(电位绝对值), 电位增大, 加快析氢速率使过量  $\text{O}_2$  在阴极发生还原反应生成过氧化氢, 抑制细菌生长, PHB 含量降低。Srikanth 等<sup>[31]</sup> 用循环伏安法在工作电极施加 $-1\sim 1$  V 的电势, 生成了不同浓度的羟基丁酸(HB)和羟基戊酸(HV)。

综上, 寻找合适的电极电势对微生物生长合成高附加值化学品是非常重要的。施加电压大小、电阻大小<sup>[32]</sup>、电流供应多少<sup>[33]</sup>都会影响电极电势, 并且库仑效率、高附加值化学品产率以及碳回收率都与电极电势有着密不可分的关系<sup>[34-35]</sup>。

## 2.3 底物碳源

微生物合成 PHAs 过程中, 不可缺少的营养元素就是底物碳源。底物碳源的选择会直接影响微生物合成代谢途径, 进而影响 PHAs 结构和含量, 例如乙酸(偶数酸)和丙酸(奇数酸)利用一系列不同辅酶分别合成 PHB 和 PHV<sup>[36-38]</sup>。截至目前发现, 微生物可利用糖类(果糖、葡萄糖等)、醇类(甲醇、乙醇等)、酸类(挥发性脂肪酸等)以及廉价碳源(木质生物质资源等)等作为碳源合成 PHAs<sup>[5,39]</sup>。

在当前 MES 系统合成 PHAs 的研究中, 主要利用的碳源底物为  $\text{CO}_2$ 。过量  $\text{CO}_2$  排放会导致温室效应, 许多研究通过电催化和光催化过程减少二氧化碳以合成增值化学品<sup>[40]</sup>, 这不仅达到了  $\text{CO}_2$  资源化利用, 也降低了 PHAs 合成成本<sup>[30]</sup>。有研究表明, 菌株 *R.eutropha* H16 以  $\text{CO}_2$  为碳源, 利用电子载体将来自阴极的电子转移到菌株中, 用于合成 PHB, 最终 PHB 的产量可达约  $(485\pm 13)$  mg/L<sup>[21]</sup>。在 MES 系统中, 菌株 *Ralstonia eutropha* 能够以  $\text{CO}_2$  为碳源合成 PHAs 这一结论也被之后研究者证明<sup>[13,30]</sup>。除了将  $\text{CO}_2$  作为单一碳源进行电合成之外, 还有研究将  $\text{CO}_2$  与其他物质复合以提高底物碳源的利用效率, 例如 Li 等<sup>[41]</sup> 利用  $\text{CO}_2$  与 Fe-C/生物炭复合底物提高电化学生成过程中的发电量, 进一步促进了阴极室中 PHAs 的合成。

也有部分科研人员研究了以葡萄糖、果糖、半乳糖及甘油作为 PHAs 合成菌在电合成过程中的底物碳源。Nishio 等<sup>[21]</sup> 通过研究发现, 菌株 *R.eutropha* 在介质分子 PMF 的作用下, 可以利用果糖合成 PHB。Lai

等<sup>[42]</sup> 以质量浓度  $0.05$  g/mL 甘油为碳源, 结合氢燃料电池(提供  $10$  mA 电流)和电子发酵系统, 提高了 *R.eutropha* 菌株合成 PHB 产量。也有研究发现<sup>[26]</sup> 以质量浓度  $0.01$  g/mL 的半乳糖为碳源, 以质量浓度  $0.005$  g/mL 酵母提取物为氮源, 在阳极接种体积分数为  $1\%$  的 *Shewanella marisflavi* BBL25 工程菌株可以合成  $7.47$  g/L 的 PHB, 产量是摇瓶发酵的  $7$  倍。除了单一碳源外, 还有研究进行了混合碳源研究。Wang 等<sup>[32]</sup> 给菌株 *Burkholderia cepacia* 提供了葡萄糖和木糖组成的混合碳源, 使菌株在阴极室中发酵  $168$  h, 实现了  $26.58$  g/L 的 3-HB 生产, 其正常摇瓶发酵产量为  $22.39$  g/L。

## 2.4 微生物

为了提升菌株合成 PHAs 的能力, 有研究利用多种菌株在电化学环境中共培养以合成 PHAs。Gurav 等<sup>[43]</sup> 利用菌株 *Arenibacter palladensis* YHY2 与菌株 *R.eutropha* H16 在阴极共培养, 加速了菌株 *Arenibacter palladensis* YHY2 的几丁质水解效率, 提高了 N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)产量, GlcNAc 进一步作为菌株 *R.eutropha* H16 合成 PHB 的碳源, 产生  $1.020$  g/L 的 PHB, 约为 *R.eutropha* H16 单独摇瓶培养 PHB 产量的  $2$  倍。

此外, 还有研究利用双极室生物催化 MES 系统来提高 PHAs 产量。目前, 对 MES 系统结构的研究大多数都是一个化学非生物阳极和一个生物阴极。非生物阳极水电解产生质子和电子, 然后转移到阴极侧<sup>[44]</sup>, 然而, 这种过程产生的分子氧可能会影响厌氧  $\text{CO}_2$  还原<sup>[45]</sup>。因此有研究者将生物阳极替代水电解阳极, 其原因是相较于化学阳极, 生物阳极较为节能, 它们可以在低电位产生电子; 使用传统的碳基电极生成生物膜成本较高, 化学阳极通常需要昂贵的电极用于水电解<sup>[46]</sup>, 生物阳极可以通过降解阳极室中的有机物或污染物来用作电子供应源, 这些电子随后可以用于阴极的微生物还原<sup>[47]</sup>。综上, 双极室生物催化 MES 系统可以应用于环境修复和生物合成等领域。

Tahir 等<sup>[48]</sup> 设计了  $2$  个独立的 MES 系统, 一个具有生物阴极和非生物阳极(MES-S), 另一个具有生物阳极/阴极电极(MES-D), 以评估  $2$  个 MES 系统合成挥发性脂肪酸(VFAs)的能力。MES-D 的平均阴极电流比 MES-S 的高出  $3.9$  倍, 同时, MES-D 的 VFAs 产量也更高。与单一生物催化系统相比, 双生物催化 MES 系统表现出更好的生物电化学性能和 VFA 产量。然而, 目前双极室生物催化 MES 系统合成 PHAs 研究还较少。

综上, 无论是混合微生物培养, 还是双极室生物催化, 都有可能提高 MES 系统性能, 进而提高 PHAs 的产率。但目前, 在 MES 系统中适用于合成 PHAs 的菌株较少, 在未来可以探索更多的微生物种类、基

因修饰手段以及工程菌株电活性改造方法, 以获得理想的 PHAs 产量。

## 2.5 溶解氧

在微生物发酵法合成 PHAs 的过程中, 合适的溶解氧 (DO) 浓度也是 PHAs 产量的重要影响因素<sup>[49]</sup>。Vjayan 等<sup>[50]</sup>通过改变曝气速率研究不同质量浓度 (0.5、3、5.5 mg/L) 的 DO 对好氧颗粒污泥中 PHAs 积累的影响。结果显示, 最适 DO 质量浓度为 3 mg/L, 此时, PHA 合成质量浓度为 3 307 mg/L, 过高或过低的溶解氧水平都会抑制 PHAs 的合成。

同样, DO 浓度对 MES 系统合成 PHAs 来说也是一个重要控制参数。由于氧可以作为许多兼性微生物竞争性电子受体, 因此发酵体系内若存在过多的氧气会使得电子被传递给氧气而不是产生其他高附加值化学品。有学者<sup>[31]</sup>在生物阴极室中利用微需氧微环境电合成 PHAs, 并对其效果进行了评估。实验过程中, 电解池内的阴极室接种富集的好氧微生物, 由于减少了电子损失, 阴极的微需氧微环境有助于将电合成持续时间延长。阴极较低的 DO 水平驱动 PHA 的生产成为微生物合成代谢过程中氧化 NADH 的替代途径, 因此微需氧操作被证明比相应的有氧操作能积累更高的 PHA 含量。Wang 等<sup>[32]</sup>在研究中为阴极室的菌株 *Burkholderia cepacia* 提供了适宜的微需氧环境, 相较于 100 mL/min 的曝气速率, 在曝气速率为 200 mL/min 时 3-HB 的产率和浓度都是最高的, 分别提高了 45.2% 和 26.9%。在有氧条件下, (R)3-HB 将迅速转化为乙酰乙酸, 用于流入 TCA 循环的乙酰辅酶 a 的再生。在限氧条件下, 降低乙酰辅酶 a 的代谢率, 有利于 PHB 降解产生的 3-HB 的积累。因此, 合适的微需氧环境可以同时促进 (R)3-HB 的积累和抑制厌氧代谢物的产生。氧限制也被认为是 PHB 合成的有利因素。氧限制下 NADH 与 NAD<sup>+</sup>比率增加, 抑制了 TCA 循环的代谢活性。它促进乙酰辅酶 a 流入 PHB 合成途径。

由此可见, 影响 MES 系统性能的因素众多。通过优化电解池结构、选择适合的碳源、电子载体及微生物和控制合适的溶氧水平等反应条件可以提高 MES 系统的性能, 进而获得理想浓度的 PHAs。

## 3 结语

MES 系统在应用于生物塑料的合成上有着广阔的应用前景, 但目前该技术还面临着以下几个方面的挑战与发展方向: 电极材料仍存在一系列限制, 需要开发具有高生物相容性、导电性及稳定性等良好性能的创新型电极材料; 虽然微生物发酵法的 PHAs 合成菌株的开发比较成熟, 但适用于 MES 系统中的 PHAs 合成菌株很少, 因此寻找更多适宜菌株、研究相关微生物的基因修饰技术、拓宽微生物可用底物碳源是推

动微生物电合成 PHAs 领域发展的重要方向; 微生物胞外电子传递速率低是限制微生物电合成领域发展的主要瓶颈, 研究如何提高胞外电子传递效率和生产效率影响重大; 微生物电合成法和微生物发酵法合成 PHAs 的操作方法及条件具有差异, 不能照搬运用, PHAs 的微生物电合成机理尚不清晰, 合成过程中设备改造及电力能源的消耗都是今后需要考虑的问题。

综上所述, MES 系统在合成 PHAs 领域具有巨大的研究潜力, 该项技术的发展与完善将为新型可持续合成技术和环境友好型新材料的开发提供支撑。在未来, 可通过开发高效电活性微生物、优化电合成条件以及 MES 系统结构来提高 PHAs 产量, 并且通过强化微生物学、化学与 MES 系统等多个学科的交叉研究, 改进现有技术体系, 拓展 MES 系统在合成可降解包装材料领域的应用, 为拓宽合成绿色生物材料技术奠定坚实的基础。

## 参考文献:

- [1] PALMEIRO-SÁNCHEZ T, O'FLAHERTY V, LENS P N L. Polyhydroxyalkanoate Bio-Production and Its Rise as Biomaterial of the Future[J]. *Journal of Biotechnology*, 2022, 348: 10-25.
- [2] GHOSH S, GNAIM R, GREISERMAN S, et al. Macroalgal Biomass Subcritical Hydrolysates for the Production of Polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Haloferax mediterranei*[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 271: 166-173.
- [3] GHOLAMI A, MOHKAM M, RASOUL A S, et al. Industrial Production of Polyhydroxyalkanoates by Bacteria: Opportunities and Challenges[J]. *Minerva Biotecnologica*, 2016, 28(1): 59-74.
- [4] AKARAONYE E, KESHAVARZ T, ROY I. Production of Polyhydroxyalkanoates: the Future Green Materials of Choice[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2010, 85(6): 732-743.
- [5] 李冬娜, 马晓军. 聚羟基烷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.
- [6] LI D N, MA X J. Biosynthesis and Progress of Polyhydroxyalkanoates Degradable Packaging Materials[J]. *Packaging Engineering*, 2020, 41(5): 128-136.
- [7] ALVAREZ CHAVEZ B, RAGHAVAN V, TARTAKOVSKY B. A Comparative Analysis of Biopolymer Production by Microbial and Bioelectrochemical Technologies[J]. *RSC Advances*, 2022, 12(25): 16105-16118.
- [7] 王爽. 微生物电合成适用底盘筛选及胞外电子受体蛋白的表达与应用[D]. 北京: 北京化工大学, 2022: 3-9.

- WANG S. Screening of Microbial Electrosynthesis and Expression and Application of Extracellular Electron Receptor Protein[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2022: 3-9.
- [8] 李锋. 微生物胞外电子传递速率的合成生物学强化[D]. 天津: 天津大学, 2018: 9-15.
- LI F. Synthetic Biological Enhancement of Extracellular Electron Transfer Rate of Microorganisms[D]. Tianjin: Tianjin University, 2018: 9-15.
- [9] 刘丹. 强化罗斯通氏菌的 CO<sub>2</sub> 转运和固定能力生产聚羟基丁酸酯[D]. 天津: 天津大学, 2021: 6-13.
- LIU D. Enhancing the CO<sub>2</sub> Transport and Fixation Capacity of *Ralstonia* to Produce Polyhydroxybutyrate[D]. Tianjin: Tianjin University, 2021: 6-13.
- [10] 李思琦, 段亮, 张海亚, 等. 微生物电合成系统固定 CO<sub>2</sub> 研究进展[J]. 市政技术, 2022, 40(5): 196-202.
- LI S Q, DUAN L, ZHANG H Y, et al. Review on CO<sub>2</sub> Fixation by the Microbial Electrosynthesis System[J]. Municipal Engineering Technology, 2022, 40(5): 196-202.
- [11] CHENG S A, XING D F, CALL D F, et al. Direct Biological Conversion of Electrical Current into Methane by Electromethanogenesis[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(10): 3953-3958.
- [12] NEVIN K P, HENSLEY S A, FRANKS A E, et al. Electrosynthesis of Organic Compounds from Carbon Dioxide Is Catalyzed by a Diversity of Acetogenic Microorganisms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(9): 2882-2886.
- [13] 马哲. 强化罗斯通氏菌还原力供给固定 CO<sub>2</sub> 合成聚羟基丁酸酯[D]. 天津: 天津大学, 2021: 8-15.
- MA Z. Enhancing the Reducing Power Supply of *Ralstonia Eutropha H16* to Synthesize Poly(3hydroxybutyrate) through CO<sub>2</sub> Fixation[D]. Tianjin: Tianjin University, 2021: 8-15.
- [14] YU L P, YUAN Y, TANG J H, et al. Thermophilic *Moorella Thermoautotrophica*-Immobilized Cathode Enhanced Microbial Electrosynthesis of Acetate and Formate from CO<sub>2</sub>[J]. Bioelectrochemistry, 2017, 117: 23-28.
- [15] HUANG L Y, TANG J H, CHEN M, et al. Two Modes of Riboflavin-Mediated Extracellular Electron Transfer in *Geobacter Uraniireducens*[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2886.
- [16] TREMBLAY P L, ANGENENT L T, ZHANG T. Extracellular Electron Uptake: Among Autotrophs and Mediated by Surfaces[J]. Trends in Biotechnology, 2017, 35(4): 360-371.
- [17] TORELLA J P, GAGLIARDI C J, CHEN J S, et al. Efficient Solar-to-Fuels Production from a Hybrid Microbial-Water-Splitting Catalyst System[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(8): 2337-2342.
- [18] CHEN X, CAO Y, LI F, et al. Enzyme-Assisted Microbial Electrosynthesis of Poly(3-hydroxybutyrate) via CO<sub>2</sub> Bioreduction by Engineered *Ralstonia Eutropha*[J]. ACS Catalysis, 2018, 8(5): 4429-4437.
- [19] KHUNJAR W O, SAHIN A, WEST A C, et al. Biomass Production from Electricity Using Ammonia as an Electron Carrier in a Reverse Microbial Fuel Cell[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44846.
- [20] STEINBUSCH K J J, HAMELERS H V M, SCHAAP J D, et al. Bioelectrochemical Ethanol Production through Mediated Acetate Reduction by Mixed Cultures[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(1): 513-517.
- [21] NISHIO K, KIMOTO Y, SONG J, et al. Extracellular Electron Transfer Enhances Polyhydroxybutyrate Productivity in *Ralstonia Eutropha*[J]. Environmental Science & Technology Letters, 2014, 1(1): 40-43.
- [22] 喻扬, 王永红, 储炬, 等. 控制发酵过程氧化还原电位优化酿酒酵母乙醇生产[J]. 生物工程学报, 2007, 23(5): 878-884.
- YU Y, WANG Y H, CHU J, et al. The Influence of Controlling Redox Potential on Ethanol Production by *Saccharomyces Cerevisiae*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2007, 23(5): 878-884.
- [23] JIANG Y, MAY H D, LU L, et al. Carbon Dioxide and Organic Waste Valorization by Microbial Electrosynthesis and Electro-Fermentation[J]. Water Research, 2019, 149: 42-55.
- [24] MUKHERJEE T, VENKATA MOHAN S. Metabolic Flux of *Bacillus Subtilis* under Poised Potential in Electrofermentation System: Gene Expression vs Product Formation[J]. Bioresource Technology, 2021, 342: 125854.
- [25] ARYAL N, AMMAM F, PATIL S A, et al. An Overview of Cathode Materials for Microbial Electrosynthesis of Chemicals from Carbon Dioxide[J]. Green Chemistry, 2017, 19(24): 5748-5760.
- [26] LEE S M, LEE H J, KIM S H, et al. Engineering of *Shewanella Marisflavi* BBL25 for Biomass-Based Polyhydroxybutyrate Production and Evaluation of Its Performance in Electricity Production[J]. International Journal of

- Biological Macromolecules, 2021, 183: 1669-1675.
- [27] 李刚. 电催化耦合生物合成体系用于 CO<sub>2</sub> 到高附加值化合物转化的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 6-12.  
LI G. Study on the Application of Electrocatalytic Coupling Biosynthetic System in the Conversion of CO<sub>2</sub> to High Value-Added Compounds[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018: 6-12.
- [28] LI Z J, LI G, CHEN X L, et al. Water Splitting-Biosynthetic Hybrid System for CO<sub>2</sub> Conversion Using Nickel Nanoparticles Embedded in N-Doped Carbon Nanotubes[J]. ChemSusChem, 2018, 11(14): 2382-2387.
- [29] 褚娜, 蒋永, 曾建雄. 微生物电合成生产中链脂肪酸的基本原理及研究进展[J]. 生物技术通报, 2021, 37(5): 237-247.  
CHU N, JIANG Y, ZENG J X. Principle and Research Progress in Microbial Electrosynthesis of Medium-Chain Fatty Acids[J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 37(5): 237-247.
- [30] 丛畅, 张康, 宋天顺, 等. 罗尔斯通氏菌电合成还原 CO<sub>2</sub> 产聚羟基丁酸[J]. 南京工业大学学报(自然科学版), 2022, 44(6): 699-706.  
CONG C, ZHANG K, SONG T S, et al. Electrosynthesis Reduction of CO<sub>2</sub> to Produce Polyhydroxybutyric Acid by *Ralstonia Eutropha*[J]. Journal of Nanjing Tech University (Natural Science Edition), 2022, 44(6): 699-706.
- [31] SRIKANTH S, VENKATESWAR R M, VENKATA M S. Microaerophilic Microenvironment at Biocathode Enhances Electrogenesis with Simultaneous Synthesis of Polyhydroxyalkanoates (PHA) in Bioelectrochemical System (BES)[J]. Bioresource Technology, 2012, 125: 291-299.
- [32] WANG J, HUANG J, XIAO X, et al. (R)-3-Hydroxybutyrate Production by *Burkholderia Cepacia* in the Cathode Chamber of Ethanol-Producing Microbial Fuel Cells[J]. Biochemical Engineering Journal, 2022, 816: 108581.
- [33] DEUTZMANN J S, KRACKE F, GU W Y, et al. Microbial Electrosynthesis of Acetate Powered by Intermittent Electricity[J]. Environmental Science & Technology, 2022, 56(22): 16073-16081.
- [34] DAS S, DAS I, GHANGREKAR M M. Role of Applied Potential on Microbial Electrosynthesis of Organic Compounds through Carbon Dioxide Sequestration[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2020, 8(4): 104028.
- [35] RAGAB A, SHAW D R, KATURI K P, et al. Effects of Set Cathode Potentials on Microbial Electrosynthesis System Performance and Biocathode Methanogen Function at a Metatranscriptional Level[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 19824.
- [36] 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 Y H, GUO L, LIU Y P, 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.
- [37] WANG X L, LU H, SONG T H, 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.
- [38] 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.
- [39] 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.
- [40] ZHENG Y, WANG J C, YU B, et al. A Review of High Temperature Co-Electrolysis of H<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> to Produce Sustainable Fuels Using Solid Oxide Electrolysis Cells (SOECs): Advanced Materials and Technology[J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(5): 1427-1463.
- [41] LI C, LIU Y, LUO M, et al. Enhancing Simultaneous Electrosynthesis of CO<sub>2</sub> and Nitrogen Removal in Microbial Fuel Cell (MFC) Cathode Compartment by Adding Fe-C/Biochar Compound Substrates[J]. Journal of Power Sources, 2023, 560: 232707.
- [42] LAI Y H, LAN J C W. Enhanced Polyhydroxybutyrate Production through Incorporation of a Hydrogen Fuel Cell and Electro-Fermentation System[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2021, 46(31): 16787-16800.
- [43] GURAV R, BHATIA S K, MOON Y M, et al. One-Pot Exploitation of Chitin Biomass for Simultaneous Production of Electricity, N-Acetylglucosamine and Polyhydroxyalkanoates in Microbial Fuel Cell Using Novel Marine Bacterium *Arenibacter Palladensis* YHY2[J]. Journal of Cleaner Production, 2019, 209: 324-332.
- [44] WOOD J C, GROVÉ J, MARCELLIN E, et al. Strategies to Improve Viability of a Circular Carbon Bioeconomy-a Techno-Economic Review of Microbial Electrosynthesis and Gas Fermentation[J]. Water Research, 2021, 201: 117306.

- [45] MOHANAKRISHNA G, SEELAM J S, VANBROEKHOVEN K, et al. An Enriched Electroactive Homoacetogenic Biocathode for the Microbial Electrosynthesis of Acetate through Carbon Dioxide Reduction[J]. *Faraday Discussions*, 2015, 183: 445-462.
- [46] SANTORO C, SEROV A, ARTYUSHKOVA K, et al. Platinum Group Metal-Free Oxygen Reduction Electrocatalysts Used in Neutral Electrolytes for Bioelectrochemical Reactor Applications[J]. *Current Opinion in Electrochemistry*, 2020, 23: 106-113.
- [47] GADKARI S, SHEMFEE M, MODESTRA J A, et al. Understanding the Interdependence of Operating Parameters in Microbial Electrosynthesis: A Numerical Investigation[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2019, 21(20): 10761-10772.
- [48] TAHIR K, ALI A S, GHANI A A, et al. Enhanced Bio-Electrochemical Performance of Microbially Catalysed Anode and Cathode in a Microbial Electrosynthesis System[J]. *Chemosphere*, 2023, 317: 137770.
- [49] 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 F, MA X J. Research Progress in Synthetic Technology and Influencing Factors of Degradable Packaging Materials Polyhydroxyalkanoates[J]. *Packaging Engineering*, 2019, 40(3): 72-80.
- [50] VJAYAN T, VADIVELU V M. Effect of Famine-Phase Reduced Aeration on Polyhydroxyalkanoate Accumulation in Aerobic Granules[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 970-976.