

## 生物合成聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 的研究进展\*

卞士祥<sup>1,2,3,4</sup>, 王 闻<sup>1,2,3</sup>, 周桂雄<sup>1,2,3</sup>, 王 琼<sup>1,2,3</sup>, 余 强<sup>1,2,3</sup>,  
亓 伟<sup>1,2,3</sup>, 庄新姝<sup>1,2,3†</sup>, 袁振宏<sup>1,2,3,5</sup>

(1. 中国科学院广州能源研究所, 广州 510640; 2. 中国科学院可再生能源重点实验室, 广州 510640;  
3. 广东省新能源和可再生能源研究开发与应用重点实验室, 广州 510640; 4. 中国科学技术大学纳米科学技术学院, 江苏 苏州 215123;  
5. 生物质能源河南省协同创新中心, 郑州 450002)

**摘 要:** 聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 是微生物细胞在碳氮失衡的情况下合成的一种聚酯, 具有优异的生物降解性和相容性以及多种材料学性能, 是一类可替代传统塑料的新型生物塑料。目前生物合成 PHA 主要以微生物发酵为主, 其次还有转基因植物法和活性污泥法等。本文对 PHA 的生产现状及其生物合成路径和方法的研究进展进行了综述。

**关键词:** 聚羟基脂肪酸酯 (PHA); 聚羟基丁酸酯 (PHB); 生物合成; 发酵

中图分类号: TK6

文献标志码: A

doi: 10.3969/j.issn.2095-560X.2016.06.003

## Research and Development on the Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoate (PHA)

BIAN Shi-xiang<sup>1,2,3,4</sup>, WANG Wen<sup>1,2,3</sup>, ZHOU Gui-xiong<sup>1,2,3</sup>, WANG Qiong<sup>1,2,3</sup>, YU Qiang<sup>1,2,3</sup>,  
QI Wei<sup>1,2,3</sup>, ZHUANG Xin-shu<sup>1,2,3</sup>, YUAN Zhen-hong<sup>1,2,3,5</sup>

(1. Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;  
2. Key Laboratory of Renewable Energy, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;  
3. Guangdong Provincial Key Laboratory of New and Renewable Energy Research and Development, Guangzhou 510640, China;  
4. Nano Science and Technology Institute, University of Science and Technology of China, Jiangsu Suzhou 215123, China;  
5. Collaborative Innovation Centre of Biomass Energy, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Polyhydroxyalkanoate (PHA) is a type of polymer synthesized in many microbial cells under the imbalance of carbon and nitrogen, which has excellent biodegradability, biocompatibility and many material properties. It is a kind of new biological plastic that can replace the traditional plastic. At present, the biosynthesis of PHA mainly comes from the microbial fermentation. Other ways such as the transgenic plants and activated sludge are under development. This review summarizes the research progress of PHA biosynthesis pathways and approaches.

**Key words:** polyhydroxyalkanoate (PHA); polyhydroxybutyrate (PHB); biosynthesis; fermentation

## 0 引 言

随着石油资源的日益枯竭及以之为原料的塑料制品对环境造成“白色污染”的加剧, 寻找生物可降解塑料显得尤为重要。目前已开发并生产出的生物塑料包括聚乳酸 (PLA)、淀粉基塑料、聚丁二酸丁二醇酯 (PBS)、聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 等<sup>[1]</sup>。其中, PHA 是一类结构多样的高分子生物聚酯, 普遍存在于微生物细胞中, 一般作为营养和能量储存

性物质<sup>[2-3]</sup>。作为一种生物塑料, PHA 的材料学性质与传统塑料聚丙烯类似, 可由碳水化合物等可再生资源合成, 能被微生物完全降解为二氧化碳和水进入生态循环。此外, PHA 还具有优良的生物相容性、压电性、气体阻隔性等, 在生物医疗材料、电学材料、包装材料等方面应用前景广阔。PHA 主要通过化学和生物两大类方法合成。由于化学合成反应毒性较大, 污染环境, 原料昂贵, 反应条件剧烈, 同时副产物无法避免, 目前应用较少。当前主要利用

\* 收稿日期: 2016-07-11 修订日期: 2016-10-09

基金项目: 中泰合作与交流项目 (51561145015)

† 通信作者: 庄新姝, E-mail: zhuangxs@ms.giec.ac.cn

微生物菌种进行生物发酵合成,较化学法条件温和,收率高,无污染,PHA含量最高可达细胞干重的90%<sup>[4]</sup>。但微生物发酵需要灭菌和提纯等工艺以及相对优质的发酵底物,导致其生产成本要高于传统石化塑料的4~9倍<sup>[5]</sup>。因此,通过寻求更廉价的发酵底物,筛选PHA产率高的重组菌和野生菌种,优化发酵生产工艺和提取工艺等,降低生产成本,是当前的主要任务。本文对PHA的研究现状、生物合成路径和方法进行了较详细的综述,以期为进一步的研究提供参考。

## 1 PHA 简介

### 1.1 PHA 的结构及分类

PHA的大多数单体为链长3~14个碳原子的3-羟基脂肪酸,侧链为高度可变的芳香族或脂肪族基团<sup>[6-7]</sup>,其结构通式如图1所示,其中:R是侧链可变基团; $n$ 是聚合度,可为数百到数千不等; $m=1, 2, 3$ ,其中 $m=1$ 最为常见。当 $m=1$ 、R为 $\text{CH}_3$ 时,即为常见的聚羟基丁酸酯(PHB)。根据单体链长不同,PHA可分为两类:一类是3~5个碳原子单体链长的短链PHA(short-chain-length, SCL);另一类是6~14个碳原子单体链长的中长链PHA(medium-chain-length, MCL)。根据单体单元的连接样式不同,PHA可分为均聚PHA(homopolymer)、无规共聚PHA(random copolymer)、嵌段共聚PHA(block copolymer)三种。其中均聚PHA中只含有一种单体,无规共聚PHA由多种单体随机聚合而成,嵌段共聚PHA由多个链段构成,且每个链段只含有一种单体<sup>[8]</sup>。PHA在单体组成、连接方式以及分子量上具有多样性,随之而来的各种均聚物、共聚物、接枝高分子和功能高分子等扩展了PHA的种类和应用方向,因此产生了类似于基因组的PHA组(PHAome)概念<sup>[9-10]</sup>。

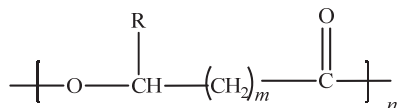


图1 PHA的结构通式

Fig. 1 General molecular structure of PHA

### 1.2 PHA 的性质及应用

PHA的性质主要是由其单体组成决定的。短链PHA结晶度较高,塑料性质强而硬;而中长链PHA

结晶度较低,塑料性质韧而软<sup>[8]</sup>。PHB的结晶度为55%~80%,相对分子质量大约在 $1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ 之间,分散度为2左右<sup>[11]</sup>。由于PHB性脆,易断裂,且当加工温度超过熔点(179℃)10℃左右时会发生降解,从而限制了其应用范围,但可通过掺入其他单体获得共聚PHA进行改性。PHA具有优良的生物降解性,在自然环境中可被微生物完全降解为水和 $\text{CO}_2$ 或者甲烷<sup>[5]</sup>。另外,PHA具有光学活性,可以做精细化学品,也可作为有机合成的原料,制备手性衍生物;具有生物相容性,可以做医用植入材料、药物缓释载体等;具有压电性,可制成压电制品,制造压力传感器、点火器、声学仪器等;还具有气体阻隔性,适合做包装材料等。

## 2 PHA 的生产研发现状

1926年,法国学者LEMOIGNE在巨大芽孢杆菌的细胞中发现了PHB积累物<sup>[12]</sup>,之后人们认识到PHB是微生物在氮源或磷源受限而碳源过剩的情况下积累在体内的营养储存物,从而开启了研究和生产PHA的大门。20世纪80年代初,在细菌合成的PHA中发现了3-羟基戊酸(3HV)、3-羟基己酸(3HHx)和3-羟基辛酸(3HO)单体。PHA现已有150多种单体结构,并且人们还在继续发掘新的单体结构<sup>[13]</sup>。目前可以工业化生产出的PHA产品包括PHB、聚羟基戊酸酯(PHV)、聚羟基丁酸戊酸酯(PHBV)等<sup>[14]</sup>。

20世纪80年代,奥地利的Chemie Linz AG公司最早实现PHB的商品化;而英国的ICI公司也最早进行了PHBV的商品化,其生产出的PHBV商品命名为“BioPol”,当时年产量已达1000吨<sup>[15]</sup>。此外,美国的Metabolix公司和ADM公司、德国的Biomer公司以及意大利Bio-On公司都进行过PHA的研究和生产。

我国对PHA的研究虽然起步较晚,但目前是世界上生产PHA品种最多、产量最大的国家,比较大的研发企业有天津国韵生物技术公司、浙江天安生物材料公司以及广东江门生物技术开发中心等。其中,天津国韵能够每年生产10000吨PHA<sup>[16]</sup>;广东江门生物技术开发中心与清华大学合作,首次在国内成功实现了第三代生物塑料聚3-羟基丁酸-co-3-羟基己酸酯(PHBHHx)的工业化生产<sup>[17]</sup>。

尽管目前世界各国的生产研发水平都有了很大提高,合成的 PHA 种类及数量有明显增加,但其价格比 1 美元/kg 的传统塑料要高数倍,产品主要用在农业、医疗、包装材料、精细化工等特殊方面,未能得到广泛应用。

### 3 PHA 的生物合成路径

PHA 的生物合成是由多种蛋白和酶参与的复杂代谢过程,主要有三条生物合成路径。参与 PHA 代谢相关的酶、蛋白及其基因的命名见表 1<sup>[18]</sup>。

表 1 PHA 代谢相关的酶、蛋白及其编码基因  
Table 1 Enzymes and proteins involved in PHA biosynthesis and their coding genes

基因	编码的酶或蛋白	作用
<i>phaA</i>	$\beta$ -酮基硫解酶	生物合成
<i>phaB</i>	乙酰乙酰辅酶 A 还原酶	生物合成
<i>phaC</i>	PHA 合成酶	生物合成
<i>phaG</i>	3-酮脂酰辅酶 A 还原酶	生物合成
<i>phaJ</i>	烯酰辅酶 A 水合酶	生物合成
<i>phaZ</i>	PHA 解聚酶	生物降解
<i>phaP</i>	PHA 颗粒结合蛋白	功能调控
<i>phaR</i>	<i>phaP</i> 的负性调控蛋白	功能调控

#### 3.1 三步合成路径

多数微生物通过这一路径合成短链 PHA,如罗氏真养菌 (*Ralstonia eutropha*)、拜氏固氮菌 (*Azotobacter beijerinckii*) 等通过此路径合成 PHB。第一步,  $\beta$ -酮基硫解酶催化两个由糖酵解得到的乙酰辅酶 A 缩合生成乙酰乙酰辅酶 A; 第二步, 乙酰乙酰辅酶 A 被 NADPH 依赖的乙酰乙酰辅酶 A 还原酶催化生成(R)-3-羟基丁酰辅酶 A; 第三步, 在 PHA 合成酶的作用下, (R)-3-羟基丁酰辅酶 A 单体聚合生成 PHB, 同时释放辅酶 A<sup>[19-20]</sup>。这一路径是研究最为透彻、应用最广的合成路径, 工业化生产短链 PHA 主要利用该合成路径。

#### 3.2 脂肪酸 $\beta$ -氧化路径

利用该路径可以合成中长链 PHA, 如铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 经过  $\beta$ -氧化途径产生酮脂酰辅酶 A 等中间产物, 也就是合成 PHA 的前体物质, 然后在烯酰辅酶 A 水合酶的作用下生成 (R)-3-羟基脂酰辅酶 A, 最后通过 PHA 合成酶聚合生成 PHA<sup>[21]</sup>。

#### 3.3 五步合成路径

该合成路径主要存在深红螺菌 (*Rhodospirillum rubrum*) 中。第一步, 与三步合成路径的相同; 第二步, 乙酰乙酰辅酶 A 还原酶催化生成(S)-3-羟基丁酰辅酶 A; 第三步与第四步, 两个立体特异性的烯酰辅酶 A 水合酶先后作用于(S)-3-羟基丁酰辅酶 A, 将其转变成(R)-3-羟基丁酰辅酶 A; 第五步, 在 PHA 合成酶的催化下聚合生成 PHB<sup>[22]</sup>。

### 4 PHA 的生物合成方法

生物合成法主要利用微生物的自身代谢来合成产物, 主要有微生物发酵法, 包括野生菌法和重组工程菌法, 其次还有转基因植物法和活性污泥法等。目前微生物发酵法研究最为广泛, 并且随着合成生物学和形态学工程等基因操作手段与蓝水生物技术的整合应用, 有利于推进 PHA 的产业化进程; 而转基因植物法和活性污泥法虽然有利于降低发酵成本, 但是产率低以及提纯困难严重制约 PHA 的大规模生产应用。

#### 4.1 野生菌发酵法

目前已发现约 65 属 300 多种微生物能合成 PHA<sup>[13]</sup>, 例如固氮菌属 (*Azotobacter*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、产碱杆菌属 (*Alcaligenes*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 以及嗜盐杆菌属 (*Halobacterium*) 等都可自身代谢积累 PHA。所有可代谢的碳源都可以用来生产 PHA, 包括葡萄糖、果糖、醋酸、植物油及其脂肪酸等。目前研究较广泛的 PHA 生产菌种主要是真养产碱杆菌 (*Alcaligenes eutrophus*)、固氮菌和假单胞菌。

真养产碱杆菌生长速度快, PHB 积累量大, 在营养均衡充足的情况下, 其胞内 PHB 含量小于细胞干重的 3%; 而在给予充分碳源、氮和磷等养分受到人工限制的情况下, 其 PHB 含量可以达到细胞干重的 80%<sup>[23]</sup>。堵国城等<sup>[24]</sup>用葡萄糖作为碳源, 通过限氮发酵培养真养产碱杆菌, 结果胞内积累的 PHB 含量达细胞干重的 80.5%, PHB 浓度为 49.0 g/L。戴君等<sup>[25]</sup>通过优化培养得到假单胞菌 SCH17, 得到最佳碳源为果糖, 积累的 PHB 含量达到细胞干重的 76%。

为了降低原料成本, 科研人员研究了多种廉价原料来生产 PHA, 例如甲醇、淀粉、乳清、糖蜜以及工业废弃物等<sup>[26]</sup>。JIANG 等<sup>[27]</sup>用糖蜜为发酵碳源培养荧光假单胞菌, 在低于 30℃ 条件下培养 96 h 后,

胞内 PHB 积累量可达 70%。MOKHTARI-HOSSEINI 等<sup>[28]</sup>用甲醇为碳源培养 *Methylobacterium extorquens* DSMZ134 菌产 PHB, 对培养基进行优化设计后得到的最终细胞干重为 15.4 g/L, PHB 积累量达到了细胞干重的 62.3%。CHAUDHRY 等<sup>[29]</sup>以玉米油为原料培养筛选得到一株假单胞菌, 最后得到细胞干

重为 12.53 g/L, 积累的 PHA 含量达到了细胞干重的 35.63%。任连海等<sup>[30]</sup>选用 *Cupriavidus necator* DSM428 作为实验菌株, 利用地沟油作为发酵碳源, 优化培养条件下获得了 PHA 最大产量范围为 7~9 g/L。表 2 列出了可利用廉价碳源并积累 PHA 的菌种。

表 2 利用廉价碳源并积累 PHA 的菌种

Table 2 Strains using cheap carbon source and accumulating PHA

菌种	碳源	PHAs 含量/%	参考文献
<i>Ralstonia eutropha</i>	甘蔗渣水解产物	56.50	[31]
<i>Comamonas</i> sp. EB172	棕油厂排出物	73	[32]
<i>Haloferax mediterranei</i>	淀粉水解液	50.80	[33]
<i>Cupriavidus necator</i> H16	麻油树油	87	[34]
mutant <i>Cupriavidus necator</i>	棕榈核酸油	6~80	[35]

当前, 蓝水生物技术<sup>[36-37]</sup>作为一种新兴的基于海水的发酵生产技术, 在生产 PHA 方面具有良好的应用前景。该技术采用嗜盐微生物作为发酵菌种, 这种极端微生物需要在高浓度盐甚至是碱性条件下生长, 因此可以进行 PHA 的无灭菌连续发酵, 从而大大降低了灭菌能耗及人力物力成本; 同时还利用海水和廉价的发酵底物, 使得发酵成本再次降低。据报道, 利用该技术进行盐单胞菌 LS21 的发酵, 连续 65 天未发生杂菌污染, 最终得到 70 g/L 的细胞干重和 74% 的 PHB 含量, 生产成本降低约一半<sup>[38-39]</sup>。

## 4.2 重组工程菌法

利用基因工程手段得到的重组大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 是生产 PHA 的主要重组菌<sup>[16]</sup>, 其具有生长快、易基因操作、胞内不含有 PHA 降解酶等优势。1987 年, DENNIS 等<sup>[40]</sup>第一次成功克隆出真养产碱杆菌的 PHB 合成基因, 并将其转入大肠杆菌中, 转化后的重组菌比正常细菌细胞大 10 倍, 并且 PHB 产量也很高。魏国清等<sup>[41]</sup>将大肠杆菌工程菌于 5 L 发酵罐中发酵 32 h, 得到的 PHB 产量可达 8.24 g/L, PHB 含量可占细胞干重的 84.6%。于慧敏等<sup>[42]</sup>在构建的一株基因工程菌 VGI (pTUI4) 中导入血红蛋白基因和  $\lambda$  噬菌体的裂解基因, 将工程菌在 5 L 的发酵罐中培养, 分批补料发酵 60 h, 获得的 PHB 浓度高达 193.7 g/L, 达到细胞干重的 89.7%。在重组大肠杆菌中导入固氮菌属的 *phaABC* 基因和 *phaP* 基因后, 可以利用甘油作为碳源合成 PHB<sup>[43]</sup>。

利用重组 DNA 技术可以增强菌种对碳源的利用能力, 提高 PHA 的合成效率。刘凯等<sup>[44]</sup>为了利用纤维质水解液中的木糖产 PHB (纤维质水解液中的糖类组分主要为: 约 60% 的葡萄糖和 30% 的戊糖, 其中戊糖的主要成分是 D-木糖<sup>[45]</sup>), 将来源于 *E. coli* K-12 W3110 菌株的 *xylAB* 基因重组到 *R. eutropha* W50, 使其获得了一定的 D-木糖代谢能力; 再通过 D-木糖转运蛋白基因 *xylE* 的重组表达提高菌株的 D-木糖代谢能力, 获得的重组菌株可利用 D-木糖, 也能积累一定量的 PHB。陈泉<sup>[46]</sup>将大肠杆菌 PTS 系统中的关键酶基因-*ptsG* 基因敲除掉, 构建的大肠杆菌 DH5a $\Delta$ *ptsG*/pBHR68 可以同时利用多种碳源进行 PHB 生物合成。

此外, 通过形态学工程及合成生物学等手段, 改造微生物形态也能提高 PHA 产量<sup>[47]</sup>。WANG 等<sup>[48]</sup>在重组大肠杆菌中过表达参与细胞分裂的 *SulA* 蛋白基因, 使得细胞形态变得更为狭长, 这样胞内空间增大, PHA 积累量提高了 27%。TAN 等<sup>[49]</sup>通过过表达细胞分裂抑制蛋白 MinCD, 使得盐单胞菌 TD01 细胞纤长化, 菌体之间相互缠绕下沉, 利于下游分离提纯, 同时胞内 PHA 含量提高到 82%。可见, 基因工程菌株生产 PHA 已经显示出了巨大的开发应用潜力。

## 4.3 转基因植物法

转基因植物合成 PHA 潜力巨大。植物自身不具有合成 PHA 的能力, 但将微生物生物合成 PHA 的

相关基因转入植物体内, 植物就可利用 CO<sub>2</sub> 和光能合成 PHA。相比微生物积累 PHA, 转基因植物具有发酵底物便宜易得、生产成本低等优势<sup>[50]</sup>; 同时可利用真核蛋白翻译系统形成有活性的产物, 不需要复杂的发酵加工过程<sup>[51]</sup>。

POIRITER 等<sup>[52]</sup>于 1992 年首先在植物中成功合成 PHB。他们利用模式植物拟南芥构建了基因表达载体, 合成的 PHB 颗粒分布在细胞的液泡、细胞核和细胞质中, 质体和线粒体中却未发现, PHB 含量仅占干重的 0.14%, 由于 PHB 基因的表达导致植物自身生长迟缓。BOHMERT-TATAREV 等<sup>[53]</sup>在烟草中导入含有不动杆菌属和巨大芽孢杆菌基因的质粒, 合成的 PHB 含量可达叶片干重的 17%~19%, 占总生物量的 9%。目前, 转基因植物合成 PHA 已在谷物、甘蔗、烟草、棉花等植物中实现, 证明了植物生物反应器的可行性。但是 PHA 积累量却远远低于微生物发酵系统, 同时转基因植物合成 PHA 缺陷较多, 如基因表达不完整、合成产率低、影响植物正常生长发育, 这些都制约着转基因植物生产 PHA 的商业化进程<sup>[51]</sup>。

#### 4.4 活性污泥法

活性污泥中含有多种微生物, 同时含有可供发酵用的大量碳源。与纯菌发酵相比, 活性污泥法合成 PHA 不需要灭菌, 降低了发酵成本, 减少了繁琐的运作过程, 方便易行, 所以逐渐受到了人们的关注。BENGTSSON 等<sup>[54]</sup>用活性污泥处理造纸厂废水, 生成的 PHBV 可达污泥干重的 48.2%。CAVILLE 等<sup>[55]</sup>用乙酸为碳源, 对活性污泥进行驯化, 发现通过调节活性污泥中磷元素浓度可以诱导 PHB 的生成。曲波等<sup>[56]</sup>采用动态底物投加的方式对活性污泥进行驯化, 得到的 PHA 含量达到 64%。JIANG 等<sup>[57]</sup>构建了一种活性污泥合成 PHA 的模型, 该模型主要用来预测底物对产物 PHA 组分的影响。目前, 活性污泥法合成 PHA 虽然对降低成本有帮助, 但是污泥成分较为复杂, 产物 PHA 纯度低, 增加了后续分离提纯的难度。

## 5 结 语

PHA 是一类可替代石化塑料的新型生物可降解材料, 应用前景广阔。但是目前生物合成 PHA 的成本高昂, 使其一直未能真正产业化。通过筛选能够利用廉价碳源高产 PHA 的菌种、优化发酵控制和产

物提纯工艺及应用蓝水生物技术、利用合成生物学和形态学工程等基因手段优化调控表达系统这三方面策略, 逐步降低 PHA 的生产成本。相信在不远的将来, PHA 必将进入市场, 得到广泛的应用。

#### 参考文献:

- [1] 陈国强. 蓬勃发展的中国生物材料产业[J]. 生物产业技术, 2009(5): 43-53. DOI: 10.3969/j.issn.1674-0319.2009.05.003.
- [2] GUMEL A M, ANNUAR M S M, CHISTI Y. Recent advances in the production, recovery and applications of polyhydroxyalkanoates[J]. Journal of polymers and the environment, 2013, 21(2): 580-605. DOI: 10.1007/s10924-012-0527-1.
- [3] CHANPRATEEP S. Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates[J]. Journal of bioscience and bioengineering, 2010, 110(6): 621-632. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2010.07.014.
- [4] SUDESH K, BHUBALAN K, CHUAH J A, et al. Synthesis of polyhydroxyalkanoate from palm oil and some new applications[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2011, 89(5): 1373-1386. DOI: 10.1007/s00253-011-3098-5.
- [5] REDDY C S K, GHAI R, RASHMI, et al. Polyhydroxyalkanoates: an overview[J]. Bioresource technology, 2003, 87(2): 137-146. DOI: 10.1016/S0960-8524(02)00212-2.
- [6] CHEN G Q, PATEL M K. Plastics derived from biological sources: present and future: a technical and environmental review[J]. Chemical reviews, 2012, 112(4): 2082-2099. DOI: 10.1021/cr200162d.
- [7] LUCKACHAN G E, PILLAI C K S. Biodegradable polymers—a review on recent trends and emerging perspectives[J]. Journal of polymers and the environment, 2011, 19(3): 637-676. DOI: 10.1007/s10924-011-0317-1.
- [8] 陈国强. 微生物聚羟基脂肪酸酯的应用新进展[J]. 中国材料进展, 2012, 31(2): 7-15.
- [9] CHEN G Q, HAJNAL I. The 'PHAome'[J]. Trends in biotechnology, 2015, 33(10): 559-564. DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.07.006.
- [10] 尹进, 车雪梅, 陈国强. 聚羟基脂肪酸酯的研究进展[J]. 生物工程学报, 2016, 32(6): 726-737. DOI: 10.13345/j.cjb.160061.
- [11] LAYCOCK B, HALLEY P, PRATT S, et al. The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates[J]. Progress in polymer science, 2013, 38(3/4): 536-583. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2012.06.003.
- [12] JIANG Y, MARANG L, KLEEREBEZEM R, et al. Effect of temperature and cycle length on microbial competition in PHB-producing sequencing batch reactor[J]. The ISME journal, 2011, 5(5): 896-907. DOI: 10.1038/ismej.2010.174.
- [13] DIAS J M L, LEMOS P C, SERAFIM L S, et al. Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: from the substrate to the final product[J]. Macromolecular bioscience, 2006, 6(11): 885-906. DOI: 10.1002/mabi.200600112.
- [14] HU D, CHUNG A L, WU L P, et al. Biosynthesis and characterization of polyhydroxyalkanoate block copolymer P3HB-*b*-P4HB[J]. Biomacromolecules, 2011, 12(9):

- 3166-3173. DOI: 10.1021/bm200660k.
- [15] 于志方, 丁勇超, 杨亚亚, 等. 非石油基高分子材料聚羟基脂肪酸酯 PHA 的改性研究进展[J]. 高分子通报, 2010(11): 1-9.
- [16] CHEN G Q. Cheminform abstract: a microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio-and materials industry[J]. Chemical society reviews, 2009, 38(8): 2434-2446. DOI: 10.1039/B812677C.
- [17] 郑冰心. PHA 生产菌株的选育及其混合发酵条件的优化[D]. 石河子: 石河子大学, 2014.
- [18] MENG D C, SHEN R, YAO H, et al. Engineering the diversity of polyesters[J]. Current opinion in biotechnology, 2014, 29: 24-33. DOI: 10.1016/j.copbio.2014.02.013.
- [19] TSUDA H, SHIRAKI M, INOUE E, et al. Generation of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate from acetate in higher plants: Detection of acetoacetyl CoA reductase-and PHB synthase-activities in rice[J]. Journal of plant physiology, 2016, 201: 9-16. DOI: 10.1016/j.jplph.2016.06.007.
- [20] BRIGHAM C J, BUDDE C F, HOLDER J W, et al. Elucidation of  $\beta$ -oxidation pathways in *Ralstonia eutropha* H16 by examination of global gene expression[J]. Journal of bacteriology, 2010, 192(20): 5454-5464. DOI: 10.1128/JB.00493-10. Epub 2010 Aug 13.
- [21] AGNEW D E, STEVERMER A K, YOUNGQUIST J T, et al. Engineering *Escherichia coli* for production of C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub>, polyhydroxyalkanoate from glucose[J]. Metabolic engineering, 2012, 14(6): 705-713. DOI: 10.1016/j.ymben.2012.08.003.
- [22] KLASK C. Heterologous expression of various PHA synthase genes in *Rhodospirillum rubrum*[J]. Chemical and biochemical engineering quarterly, 2015, 29(2): 75-85. DOI: 10.15255/CABEQ.2014.2249.
- [23] MONCADA J, EL-HALWAGI M M, CARDONA C A. Techno-economic analysis for a sugarcane biorefinery: Colombian case[J]. Bioresource technology, 2013, 135: 533-543. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.08.137.
- [24] 堵国成, 陈坚, 高海军, 等. 真养产碱杆菌积累聚- $\beta$ -羟基丁酸发酵条件的研究[J]. 生物工程学报, 2000, 16(1): 103-107. DOI: 10.3321/j.issn:1000-3061.2000.01.025.
- [25] 戴君, 高毅, 刘洋, 等. 一株新型高产 PHB 假单胞菌 SCH17 的分离和特征分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(5): 635-640.
- [26] TIAN P Y, SHANG L G, REN H, et al. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates: current research and development[J]. African journal of biotechnology, 2009, 8(5): 709-714.
- [27] JIANG Y J, SONG X, GONG L, et al. High poly( $\beta$ -hydroxybutyrate) production by *Pseudomonas fluorescens* A2a5 from inexpensive substrates[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2008, 42(2): 167-172.
- [28] MOKHTARI-HOSSEINI Z B, VASHEGHANI-FARAHANI E, HEIDARZADEH-VAZIFEKHORAN A, et al. Statistical media optimization for growth and PHB production from methanol by a methylotrophic bacterium[J]. Bioresource technology, 2009, 100(8): 2436-2443. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.11.024.
- [29] CHAUDHRY W N, JAMIL N, ALI I, et al. Screening for polyhydroxyalkanoate (PHA)-producing bacterial strains and comparison of PHA production from various inexpensive carbon sources[J]. Annals of microbiology, 2011, 61(3): 623-629. DOI: 10.1007/s13213-010-0181-6.
- [30] 任连海, 刘慧, 张明露. Cupriavidus necator(DSM428) 利用地沟油合成 PHA 的条件优化[J]. 环境工程学报, 2016, 10(6): 3166-3172. DOI: 10.12030/j.cjee.20150105.
- [31] YU J, STAHL H. Microbial utilization and biopolyester synthesis of bagasse hydrolysates[J]. Bioresource technology, 2008, 99(17): 8042-8048. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.03.071.
- [32] ZAKARIA M R, ARIFFIN H, JOHAR N A M, et al. Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer from wild-type *Comamonas*, sp. EB172[J]. Polymer degradation and stability, 2010, 95(8): 1382-1386. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2010.01.020.
- [33] CHEN C W, DON T M, YEN H F. Enzymatic extruded starch as a carbon source for the production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Haloferax mediterranei*[J]. Process biochemistry, 2006, 41(11): 2289-2296. DOI: 10.1016/j.procbio.2006.05.026.
- [34] NG K S, OOI W Y, GOH L K, et al. Evaluation of jatropha oil to produce poly(3-hydroxybutyrate) by *Cupriavidus necator* H16[J]. Polymer degradation and stability, 2010, 95(8): 1365-1369. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2010.01.021.
- [35] BHUBALAN K, RATHI D N, ABE H, et al. Improved synthesis of P(3HB-co-3HV-co-3HHx) terpolymers by mutant *Cupriavidus necator* using the PHA synthase gene of *Chromobacterium* sp. USM2 with high affinity towards 3HV[J]. Polymer Degradation and Stability, 2010, 95(8): 1436-1442. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2009.12.018.
- [36] YIN J, CHEN J C, WU Q, et al. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology[J]. Biotechnology advances, 2015, 33(7): 1433-1442. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.10.008.
- [37] 尹进, 陈国强. 蓝水生物技术——聚羟基脂肪酸酯的产业发展[J]. 新材料产业, 2016, (2): 16-20. DOI: 10.3969/j.issn.1008-892X.2016.02.005.
- [38] YUE H T, LING C, YANG T, et al. A seawater-based open and continuous process for polyhydroxyalkanoates production by recombinant *Halomonas campaniensis* LS21 grown in mixed substrates[J]. Biotechnology for biofuels, 2014, 7: 708. DOI: 10.1186/1754-6834-7-108.
- [39] LI T, CHEN X B, CHEN J C, et al. Open and continuous fermentation: Products, conditions and bioprocess economy[J]. Biotechnology journal, 2014, 9(12): 1503-1511. DOI: 10.1002/biot.201400084.
- [40] SLATER S C, VOIGE W H, DENNIS D E. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the *Alcaligenes eutrophus* H16 poly-beta-hydroxybutyrate biosynthetic pathway[J]. Journal of bacteriology, 1988, 170(10): 4431-4436. DOI: 10.1128/jb.170.10.4431-4436.1988.
- [41] 魏国清, 陈泉, 康振, 等. 利用大肠杆菌工程菌廉价高效生产聚羟基丁酸酯[J]. 生物工程学报, 2010, 26(9): 1257-1262.
- [42] 于慧敏, 张延平, 史悦, 等. 重组大肠杆菌 VG1(pTU14)产 PHB 的补料分批培养[J]. 化工学报, 2002, 53(7): 742-746. DOI: 10.3321/j.issn:0438-1157.2002.07.017.
- [43] DE ALMEIDA A, GIORDANO A, NIKEL P, et al. Effects of aeration on the synthesis of poly(3-hydroxybutyrate) from glycerol and glucose in

- recombinant *Escherichia coli*[J]. Applied and environmental microbiology, 2010, 76(6): 2036-2040. DOI: 10.1128/AEM.02706-09.
- [44] 刘凯, 刘桂明, 张英姿, 等. 罗氏真养菌 W50 的 D-木糖代谢途径工程改造[J]. 微生物学报, 2014, 54(1): 42-52. DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.01.006.
- [45] LEE J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol[J]. Journal of biotechnology, 1997, 56(1): 1-24. DOI: 10.1016/S0168-1656(97)00073-4.
- [46] 陈泉. 重组大肠杆菌生产短链聚羟基脂肪酸酯 PHB 及 PHBV 的途径构建与代谢改造[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- [47] JIANG X R, CHEN G Q. Morphology engineering of bacteria for bio-production[J]. Biotechnology advances, 2016, 34(4): 435-440. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.007.
- [48] WANG Y, WU H, JIANG X R, et al. Engineering *Escherichia coli* for enhanced production of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) in larger cellular space[J]. Metabolic engineering, 2014, 25: 183-193. DOI: 10.1016/j.ymben.2014.07.010.
- [49] TAN D, WU Q, CHEN J C, et al. Engineering *Halomonas* TD01 for the low-cost production of polyhydroxyalkanoates[J]. Metabolic engineering, 2014, 26: 34-47. DOI: 10.1016/j.ymben.2014.09.001.
- [50] REEMMER J. Advances in the synthesis and extraction of biodegradable polyhydroxyalkanoates in plant systems-a review[J]. Basic biotechnology ejournal, 2009, 5(1): 44-49.
- [51] 魏茂繁, 邵云海, 钟卫鸿. 生物合成聚- $\beta$ -羟基丁酸 (PHB)的研究现状与应用前景[J]. 黑龙江科学, 2014, 5(6): 24-25. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8646.2014.06.009.
- [52] POIRIER Y, DENNIS D E, KLOMPARENS K, et al. Polyhydroxybutyrate, a biodegradable thermoplastic, produced in transgenic plants[J]. Science, 1992, 256(5056): 520-523. DOI: 10.1126/science.256.5056.520.
- [53] BOHMERT-TATAREV K, MCAVOY S, DAUGHTRY S, et al. High levels of bioplastic are produced in fertile transplastomic tobacco plants engineered with a synthetic operon for the production of polyhydroxybutyrate[J]. Plant physiology, 2011, 155(4): 1690-1708. DOI: 10.1104/pp.110.169581.
- [54] BENGTTSSON S, WERKER A, CHRISTENSSON M, et al. Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater[J]. Bioresource technology, 2008, 99(3): 509-516. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.01.020.
- [55] CAVAILLÉ L, GROUSSEAU E, POCQUET M, et al. Polyhydroxybutyrate production by direct use of waste activated sludge in phosphorus-limited fed-batch culture[J]. Bioresource technology, 2013, 149: 301-309. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.09.044.
- [56] 曲波, 刘俊新. 活性污泥合成可生物降解塑料 PHB 的工艺优化研究[J]. 科学通报, 2008, 53(13): 1598-1604.
- [57] JIANG Y, HEBLY M, KLEEREBEZEM R, et al. Metabolic modeling of mixed substrate uptake for polyhydroxy-alkanoate (PHA) production[J]. Water research, 2011, 45(3): 1309-1321. DOI: 10.1016/j.watres.2010.10.009.

#### 作者简介:

卞士祥 (1990-), 男, 硕士研究生, 主要从事木质纤维素生物质预处理研究。

庄新妹 (1970-), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事生物质制取液体燃料和化工品研究。