

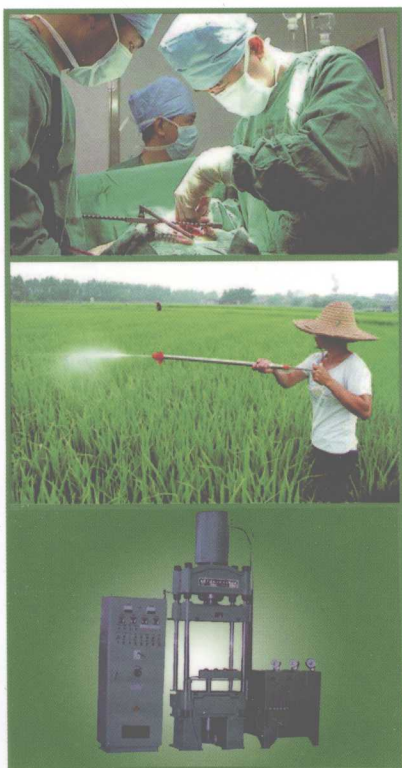


華夏英才基金學術文庫

Microbial PHA based
Eco-Material Industry

聚羟基脂肪酸酯 生态产业链

—— 生产与应用技术指南



陈国强 罗容聪 编著
徐 军 吴 琼

PHA



化学工业出版社

聚羟基脂肪酸酯生态产业链

——生产与应用技术指南

陈国强 罗容聪 徐军 吴琼 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

聚羟基脂肪酸酯生态产业链——生产与应用技术指南/
陈国强等编著. —北京: 化学工业出版社, 2008. 10
ISBN 978-7-122-02768-9

I. 聚… II. 陈… III. 脂肪酸-生产工艺 IV. TQ225.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 062559 号

责任编辑: 傅四周

文字编辑: 张春娥

责任校对: 李 林

装帧设计: 韩 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

720mm×1000mm 1/16 印张 23 $\frac{3}{4}$ 字数 421 千字 2008 年 10 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 88.00 元

版权所有 违者必究

京化广临字 2008—31 号

前 言

聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 从 1926 年被发现到 2008 年已经有 82 年了。对于 PHA 的研究变得越来越综合: 包括从最初的普通微生物学、化学, 发展到 20 世纪 80 年代起的分子生物学、生物化工、材料科学与工程以及环保, 到现在的各种组学、代谢工程、生物医学材料、制药、物理和合成生物学等研究。PHA 成为了一个很好地进行多学科合作研究的课题。

我从 1986 年开始接触 PHA 的研究, 最初在奥地利的格拉茨工业大学研究最简单的 PHA, 即聚 3-羟基丁酸酯 (PHB), 接着研究了 3-羟基丁酸和 3-羟基戊酸的共聚物 PHBV 以及 3-羟基丁酸和 4-羟基丁酸的共聚物 P3HB4HB 的微生物合成和表征。接着又在英国的诺丁汉大学和加拿大的阿尔伯达大学研究 PHA 的应用和微生物发酵合成。回国后, 在清华大学良好的研究氛围下, 研究了 3-羟基丁酸和 3-羟基己酸的共聚物 PHBHHx 的微生物合成以及应用。最近主要研究短链和中长链羟基脂肪酸的共聚物 P(HB-mcl HA) 以及长链 PHA 的合成和应用。随着对 PHA 研究得越来越深入, 我发现自己迷上了这个领域。

感谢国家自然科学基金委微生物处和高分子科学处对我的研究的不断支持, 还有科技部生物中心的九五攻关、863 和 973 项目的许多支持, 这些支持使我的研究能长期地进行下去, 并能深入到材料科学与工程、生物医学材料以及生物塑料领域和环保等各个领域。在许多产业化实验中, 我的实验室得到了许多企业的帮助, 包括江门生物技术开发中心、鲁抗集团、广东星湖集团、北京天助公司、广东联亿公司、广东华逸公司和天津国韵公司以及美国宝洁公司 (P&G) 的支持, 在此表示深深的感谢!

在进行 PHA 的研究过程中, 得到李嘉诚基金会和他本人许多精神上 and 资金上的支持, 特别是李嘉诚先生在汕头大学投资的多学科研究中心, 使我能把生物、化学、材料和医学的各种人才集中到一起, 共同研究 PHA 的合成和应用。感谢李嘉诚先生、韦钰院士 (前教育部副部长)、周凯旋小姐、罗慧芳博士对我一直的信任和支持。特别是韦钰院士的许多无私的支持和信任以及专业的指导, 使汕头大学多学科研究中心能不断地克服困难, 取得一个又一个学术上的成功。

家人给我的理解和支持, 也是我在 PHA 研究中不断找到乐趣的原因。在

此，对我太太和女儿以及父母亲为了我的工作付出的无数个等待的日日夜夜表示万分的感谢。

在我于清华大学和汕头大学工作期间，有近三百多名本科生、硕士生、博士生、博士后、访问学者、教授和副教授与我一起共同工作和奋斗过。他们都对 PHA 的研究做出了各种各样的贡献。由于篇幅所限，我只能列举下面的几位同事和同学：欧阳少平博士首次发现了 C_{12} 以上长链 PHA 单体在高含量时所带来的中长链 PHA 材料的性能的根本变化，这个发现对后面我们许多 PHA 材料的应用开发提供了新的机会；杨霰霜同学首次发现了 3-羟基丁酸和 3-羟基己酸共聚物 PHBHHx 良好的生物相容性，开拓了 PHBHHx 作为组织工程材料的新用途；洪葵博士在清华大学化学系孙素琴教授的合作指导下，开发了无损傅里叶红外 PHA 快速检验技术，使 PHA 生产菌的筛选变得简单快速；上官莹莹同学发明了把高分子量和低分子量 PHA 进行混合的方法，简单地解决了 PHA 材料在体内的可控和快速降解的难题；赵艳同学、邹冰同学、程杉博士、邹湘辉同学、肖小强同学等发现了 PHA 单体和寡聚物对各种细胞生产的促进作用，有可能在治疗骨质疏松和提高记忆力方面发挥作用；陈晶瑜博士发现了到目前为止特异性最低的 PHA 合成酶 PhaCps，使我们第一次能够在本实验室获得短链和中长链的 PHA 共聚物并对其进行应用研究；吴琼博士和田格同学合作，开发了二维红外的应用软件，使我们能够与美国宝洁公司的 Isao Noda 博士一起，对 PHA 的结晶行为进行精细地研究，从而对 PHA 的结晶行为获得了更好地了解；徐军博士第一次对 PHA 材料进行了二次谐波研究，通过与原子力显微镜结合，他发现了 PHBHHx 材料结晶的方向性和有序性；席建忠教授、高海军博士、郑重博士、苑美青同学等分别发现和开发了 PHA 单体的不同的生产技术；罗容聪同学第一次把 PHA 通过单体的甲酯化过程引入能源领域；王亚武博士和曲向华博士把 PHBHHx 在组织工程中的应用在体内和体外进行了详细和系统地研究和阐明，完全证明了 PHBHHx 在体内外作为植入材料的可行性和生物降解性；张广博士、卢晓云博士和丘远征博士对 PHBHHx 生产菌气生单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 进行了深入地研究，使我们对其合成 PHBHHx 的机理有了较为全面的认识，他们还对 *Aeromonas hydrophila* 进行了各种代谢工程的尝试，使该菌能够可控地生产出各种性能的 PHBHHx 材料；赵艳红同学证明了 PHA 的合成使野生菌耐受性得到提高，原因是 PHA 的合成加强了胞内包括 *rpoS* 在内的基因的表达。刘倩博士和张晋宇同学第一次把 PHA 的合成作为代谢的调控工具加以应用，分别使谷氨酸棒状杆菌合成谷氨酸和谷氨酰胺的能力和兽疫链球菌合成透明质酸的能力得到了大幅度地提高；王芝辉同学第一次成功地开发了以 PHA 相蛋

白 Phasin 为介质的蛋白质体外纯化系统，其方法由张婧同学扩展到 PHA 降解酶的 PHA 颗粒结合区域，陈炯同学扩展到 PHA 合成调控蛋白 PhaR 等；姚永超和詹晓勇同学第一次开发了用 PHA 相蛋白 Phasin 与细胞受体相结合的药物特异性输送体系；邹湘辉博士发现了 PHB 的降解产物 3-羟基丁酸甲酯对小鼠的记忆功能有极大地促进作用，很有可能由此开发出增强记忆的新药。魏炽炬教授、杨晓迪医生一起发现了 PHBHHx 对胰岛细胞生长有促进作用，使 PHBHHx 作为一个生物材料进入胰岛再生领域的研究成为可能。还有许多的第一次被这些同学和老师发现和实现了，可以看出他们的洞察力和创造力。

在 PHA 的研发过程中，得到了国内外许多同行们的帮助，特别是在菌种和基因质粒的赠送方面，得到了中国科学院上海生命科学院杨胜利院士，清华大学化工系沈忠耀教授、曹竹安教授，德国明斯特大学 Alexander Steinbüchel 教授，日本 RIKEN 的 Yoshiharu Doi 教授，苏黎世高工的 Bernard Witholt 教授，新西兰 Massey 大学的 Bernd Rehm 教授和美国宝洁公司 (P&G) Phil Green 博士等的惠赠，在此一并表示感谢！

在本书写作过程中，得到了清华大学微生物实验室的许多老师、同事和学生们的帮助，在此表示谢意。他们是：陈金春老师、汪立娟女士、陈晶愉博士、刘倩博士、欧阳少平博士、赵艳同学、简嘉同学、苑美青同学、李正军同学、魏晓星同学等。

随着石油价格的不断上涨，能源材料的危机将不断加深，国内外的各种危机进一步加深。未来的 PHA 领域的发展应该不断朝着使用便宜的原料，甚至用废料来发酵生产的方向开发，如用活性污泥来生产 PHA，并把 PHA 转化为甲酯单体，作为能源燃料来使用。

未来的 PHA 研发，将集中在高附加值的医疗植入材料、手性药物的开发以及低附加值的环保材料和能源的使用等领域。同时，在基础研究方面，PHA 可以作为一个微生物甚至真核生物代谢的调节工具，也可以用来提高微生物的抗逆性等。

PHA 的研究与开发，正在变得越来越学科化，变得离应用越来越近。PHA 正在逐渐形成一个产业链，横跨微生物、生物化工、高分子材料与工程、医用植入材料、塑料和能源等产业。在各方面的大力投入下，国内的 PHA 产业已经初步形成，未来数年将会有大力地发展，让我们拭目以待吧。

陈国强

2008 年 3 月

目 录

第 1 章 聚羟基脂肪酸酯概述	1
1.1 聚羟基脂肪酸酯的结构及研究历史	2
1.2 PHA 的生理功能	6
1.3 PHA 的单体组成和分类	7
1.4 PHA 的材料学性质	8
1.5 PHA 的应用	10
1.5.1 环境友好的包装材料以及用于制造热敏胶、水溶胶和纤维	11
1.5.2 生物可降解和生物相容性医用植入材料	11
1.5.3 可控药物缓释载体	12
1.5.4 寡聚物作为酮体供体的营养添加剂	12
1.5.5 手性单体作为药物或手性合成的中间体	13
1.5.6 PHA 膜蛋白用于某些微量蛋白的分离	13
1.5.7 PHA 合成基因用于调节微生物的新陈代谢和用于提高微生物在逆境下的生存能力	14
1.5.8 把各种营养物质转化为脂肪酸聚酯作为生物能源（生物柴油） ..	14
1.6 我国研究和开发 PHA 的基础	15
1.7 如何建立一个以 PHA 为基础的产业链	18
参考文献	19
第 2 章 PHA 的生物合成系统	22
2.1 PHA 的生物合成途径	22
2.1.1 PHA 生物合成的三条主要途径	22
2.1.2 其他 PHA 生物合成途径	25
2.1.3 重组菌的 PHA 生物合成途径	26
2.2 PHA 生物合成相关基因的组织形式	27
2.3 PHA 聚合酶——PHA 生物合成的关键酶	28
2.3.1 PHA 聚合酶基因的克隆方案	29
2.3.2 PHA 聚合酶的分类	31
2.3.3 PHA 聚合酶编码基因在基因组中的排列方式	35
2.3.4 PHA 聚合酶的结构特征	37

2.3.5 PHA 聚合酶的丝状模型和拓扑结构	37
2.3.6 对 PHA 聚合酶催化机制的推测	42
2.4 PHA 颗粒和 PHA 颗粒结合蛋白	43
2.4.1 概述	43
2.4.2 PHA 颗粒的结构	44
2.4.3 Phasins——PHA 颗粒结合蛋白	45
2.4.4 PhaR——阻遏蛋白	46
2.4.5 PhaR 和 PhaP 在大肠杆菌中的异源表达	48
2.4.6 PHA 颗粒形成的计算机模拟	48
2.4.7 中长链 PHA 积累菌中的 PHA 颗粒结合蛋白	51
2.4.8 PHA 颗粒与纳米材料	56
2.4.9 PHA 颗粒的研究进展	57
2.5 PHA 颗粒和 PHA 颗粒结合蛋白在蛋白纯化中的应用	57
参考文献	59

第 3 章 常见 PHA 的微生物发酵生产和提取

3.1 短链 PHA 的发酵生产	65
3.1.1 利用罗氏真养菌生产聚 R-3-羟基丁酸酯	67
3.1.2 利用罗氏真养菌生产 R-3-羟基丁酸和 R-3-羟基戊酸共聚酯	69
3.1.3 利用广泛产碱菌生产聚 R-3-羟基丁酸酯	70
3.1.4 利用重组大肠杆菌生产聚 R-3-羟基丁酸酯	72
3.1.5 新型短链 PHA 的合成	73
3.2 中长链 PHA 的发酵生产	76
3.2.1 利用嗜油假单胞菌生产中长链 PHA	76
3.2.2 利用恶臭假单胞菌生产中长链 PHA	77
3.3 短链和中长链 PHA 共聚酯的发酵生产	77
3.3.1 利用野生菌生产短链和中长链 PHA 共聚酯	77
3.3.2 利用基因工程菌生产短链和中长链 PHA 共聚酯	80
3.4 PHA 的提取纯化工艺	92
3.4.1 有机溶剂提取法	93
3.4.2 氯仿法	93
3.4.3 次氯酸盐法	94
3.4.4 氯仿和次氯酸盐法	94
3.4.5 次氯酸盐-表面活性剂法	95
3.4.6 碱法	96

3.4.7 机械破碎法	96
3.4.8 酶法	96
3.4.9 乙酸乙酯法	97
3.4.10 异戊醇法	97
3.4.11 与 PHA 单体结构相似的酯类有机溶剂法	97
3.5 研究现状和前景展望	98
3.6 相关专利	101
参考文献	101
第 4 章 非常见 PHA 的合成	108
4.1 非常见 PHA 的概述	108
4.2 带非常见侧链结构 PHA 的生产和应用	109
4.2.1 具有高含量长烷基侧链单体的 MCL PHA 的研究	109
4.2.2 具有功能性侧链基团的 MCL PHA 的研究	111
4.3 带新型主链结构 PHA 的生产和应用	123
4.3.1 主链带硫酯键的 PHA	123
4.3.2 主链带支化烷基的 PHA	125
4.3.3 主链 PEG 化的 PHA	126
参考文献	127
第 5 章 代谢工程在 PHA 生产上的应用	133
5.1 代谢工程应用于 PHA 生产的概述	133
5.2 PHA 生产中常用的代谢工程手段	134
5.2.1 外源底物操纵	134
5.2.2 添加抑制剂	134
5.2.3 重组基因表达	135
5.2.4 调节基因剂量	139
5.2.5 引入异源前体供应途径	139
5.2.6 选择不同来源的基因	142
5.2.7 创建新的代谢途径	143
5.2.8 操控宿主基因组	143
5.2.9 PHA 生物合成酶的蛋白质工程	145
5.3 大肠杆菌合成 PHA 的代谢工程	147
5.3.1 大肠杆菌合成短链 PHA 的代谢工程	147
5.3.2 大肠杆菌合成中长链 PHA 的代谢工程	148

5.4 罗氏真养菌和假单胞菌合成 PHA 的代谢工程	150
参考文献	151
第 6 章 PHA 的其他生产方式	156
6.1 利用活性污泥生产 PHA	156
6.1.1 利用活性污泥生产 PHA 的概述	156
6.1.2 由 EBPR 活性污泥处理过程生产 PHA	156
6.1.3 活性污泥中积累 PHA 的微生物研究	157
6.1.4 活性污泥积累 PHA 的基因研究	158
6.1.5 活性污泥生产 PHA 的研究展望	158
6.2 利用转基因植物生产 PHA	159
6.2.1 利用转基因植物生产 PHA 的概述	159
6.2.2 在拟南芥中合成 PHB	160
6.2.3 在植物中合成 PHBV	161
6.2.4 在植物中合成中长链 PHA	163
6.2.5 转基因植物生产 PHA 的研究展望	164
参考文献	165
第 7 章 PHA 的产业化	168
7.1 PHA 的产业化概述	168
7.2 从石油塑料到生物可降解塑料	173
7.2.1 石油塑料的由来	173
7.2.2 常见石油塑料的性质	174
7.2.3 环境隐患促发对生物可降解塑料的开发	174
7.3 常见生物可降解塑料的性质及生产历史	175
7.3.1 聚乳酸的性质	175
7.3.2 第一代商业化 PHA 材料 PHB 的推出	176
7.3.3 第二代商业化 PHA 材料 PHBV 的开发与生产	179
7.3.4 第三代商业化 PHA 材料 PHBHHx 的开发与生产	180
7.3.5 第四代商业化 PHA 材料的研究进展及瓶颈	181
7.3.6 我国 PHA 生产的历史和现状	183
7.4 世界主要 PHA 生产企业	184
7.4.1 Metabolix 公司	184
7.4.2 Tepha 公司	186
7.4.3 宝洁公司 (P&G) 和 Kaneka 公司	188

7.4.4	BASF 公司	188
7.4.5	ADM 公司	188
7.4.6	ICI 公司	189
7.4.7	Zeneca 公司	189
7.4.8	Monsanto 公司	189
7.4.9	Biocycle 公司	190
7.5	我国 PHA 研究生产情况	190
7.5.1	汕头市联亿生物工程有限公司	191
7.5.2	宁波天安生物材料有限公司	191
7.5.3	江苏南天集团	193
7.5.4	深圳市奥贝尔科技有限公司	195
7.5.5	其他国内 PHA 公司	198
7.6	PHA 的科学研究前景	199
7.6.1	短链 PHA 发酵生产的前景和展望	199
7.6.2	中长链 PHA 发酵生产的前景和展望	199
7.6.3	短链-中长链共聚的 PHA 发酵和生物合成的前景和展望	200
	参考文献	201

第 8 章	PHA 的理化性质	203
8.1	概述	203
8.2	PHA 的分子结构	204
8.2.1	PHA 的分类与特性	204
8.2.2	PHA 分子结构的测定方法	205
8.2.3	PHA 结构单元组成的测定	205
8.2.4	PHA 结构单元序列分布的测定	207
8.3	PHA 分子量及分子量分布的测定	208
8.4	PHA 的结晶性质	209
8.4.1	PHA 的晶体结构	209
8.4.2	PHA 均聚物的单晶结构	210
8.4.3	PHA 共聚物的单晶结构	212
8.4.4	PHA 的球晶结构	214
8.4.5	PHA 环带球晶中的片晶形态	216
8.4.6	PHA 环带球晶中片晶生长的动态过程	221
8.5	PHA 的结晶动力学	228
8.6	PHA 结晶过程中链段的构象变化	232

8.7 PHB 脆性的原因	239
8.8 第二组分对 PHA 结晶行为的影响	241
8.8.1 成核剂	241
8.8.2 增塑剂	243
8.8.3 溶剂	247
8.8.4 第二组分聚合物对 PHA 结晶行为的影响	252
8.9 PHA 的物理性能	259
8.9.1 PHA 的热性能	259
8.9.2 PHA 的加工性能	262
8.9.3 PHA 热塑性加工的特点	263
8.9.4 PHA 的黏度和加工稳定性	264
8.9.5 PHA 的热塑性加工方法和应用	265
8.9.6 PHA 的机械性能	267
8.9.7 PHA 的光电性能	270
8.10 PHA 的化学性质	271
8.10.1 PHA 的降解行为	271
8.10.2 PHA 的化学改性	279
8.11 总结和展望	281
参考文献	281

第 9 章 手性羟基脂肪酸的生产和应用	296
9.1 手性羟基脂肪酸的概述	296
9.2 手性羟基脂肪酸的主要生产方法	297
9.2.1 化学方法直接合成手性羟基脂肪酸	297
9.2.2 化学方法降解聚羟基脂肪酸酯	297
9.2.3 生物酶法降解聚羟基脂肪酸酯	298
9.2.4 生物转化法生产手性羟基脂肪酸	302
9.2.5 利用基因工程菌直接生物合成手性羟基脂肪酸	302
9.3 手性羟基脂肪酸单体及寡聚体的主要应用	305
9.3.1 手性羟基脂肪酸作为昂贵化合物合成的手性起始原料	305
9.3.2 利用手性羟基脂肪酸合成内酯、环状低聚物、树状及手性线状聚 合物	305
9.3.3 手性羟基脂肪酸的生理作用	306
9.3.4 手性羟基脂肪酸的潜在药用价值	307
9.4 前景和展望	308

参考文献	308
------------	-----

第 10 章 PHA 合成基因作为生物代谢调控以及提高生物抗逆性的工具

.....	313
10.1 PHA 的合成对微生物生理状况的影响	313
10.2 PHA 的合成调节了生物的代谢流	314
10.3 PHA 的合成提高了微生物的抗逆性	316
10.4 PHA 合成基因在工业微生物中的应用	318
10.4.1 PHA 的合成提高了兽疫链球菌生产透明质酸的能力	319
10.4.2 PHA 的合成对谷氨酸棒状杆菌生产谷氨酸和谷氨酰胺的影响 ...	320
10.4.3 PHA 的合成对移动单胞菌生产酒精的影响	322
10.4.4 PHA 的合成对毕氏酵母合成外源蛋白的影响	322
参考文献	323

第 11 章 PHA 的市场应用情况和用途

11.1 PHA 在塑料工业中的应用	326
11.2 PHA 作为生物可降解塑料	327
11.2.1 生物可降解塑料的定义	327
11.2.2 生物可降解塑料的分类	327
11.2.3 PHA 的性质及应用	328
11.2.4 PHA 用于塑料包装业的可能性	330
11.2.5 PHA 类产品用于食品包装业的可能性	332
11.2.6 PHA 类产品用于塑料业的经济性评价	333
11.2.7 国内外生物可降解塑料的发展情况	333
11.3 PHA 在生物医疗方面的初步应用	335
11.3.1 PHB 在生物医疗方面的初步应用	336
11.3.2 PHBV 在生物医疗方面的应用	337
11.3.3 PHBHHx 在生物医疗方面的应用	338
11.3.4 PHO 和 P4HB 在生物医疗方面的应用	345
11.4 PHA 的改性	346
11.4.1 对 PHA 降解性能的改性	347
11.4.2 对 PHA 表面性能的改性	351
11.4.3 对 PHA 机械性能的改性	354
11.5 PHA 在其他领域的应用	356
参考文献	358

第 1 章

聚羟基脂肪酸酯概述

在过去的 50 年内，石油化工类塑料已经成为我们应用最多的材料，这主要是由于这类材料具有多种结构，带来多种应用性能。但是一个更为重要的优点就是由于石油价格不高，带来石油塑料价格的低廉。目前这类塑料应用非常广泛，如在家电器械、电脑配件、建筑、体育设施、包装、医疗器械和各种纤维等中，其很明显已成为当今生产、生活不可或缺的材料。塑料生产以每年 9.9% 的速度增长（图 1.1）。

过去 55 年（1950~2005 年）世界塑料产量的平均年增长率：9.9%

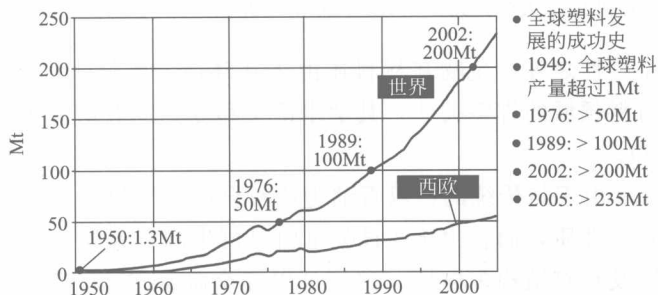


图 1.1 1950~2005 年世界塑料生产变化（W-Europe：西欧塑料生产）

（数据来源：Emo Chiellini 教授，意大利 Pisa 大学，

ICS-UNIDO 2007 年北京“绿色奥运”研讨会）

图中数据主要是根据欧洲市场研究和数据分析工作组的调查结果得到的；

图中所示数据包括热塑性塑料、热固性塑料、胶粘剂、

涂料和分散剂，其中纤维没有包括在内

在 20 世纪 70 年代，对石油储量枯竭的预测以及石油输出国人为地减少石油产量，直接导致了原油价格的迅速提升。因此，人们开始寻找一个能替代石油化工类塑料的可持续发展的材料。很多生物高分子被提出并测试了它们的可能工业效用以及生物可降解性，这些生物高分子包括纤维素、淀粉、

纤维素-淀粉的共聚物、聚乳酸 (PLA)、聚氨基酯、聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 等 (图 1.2)。

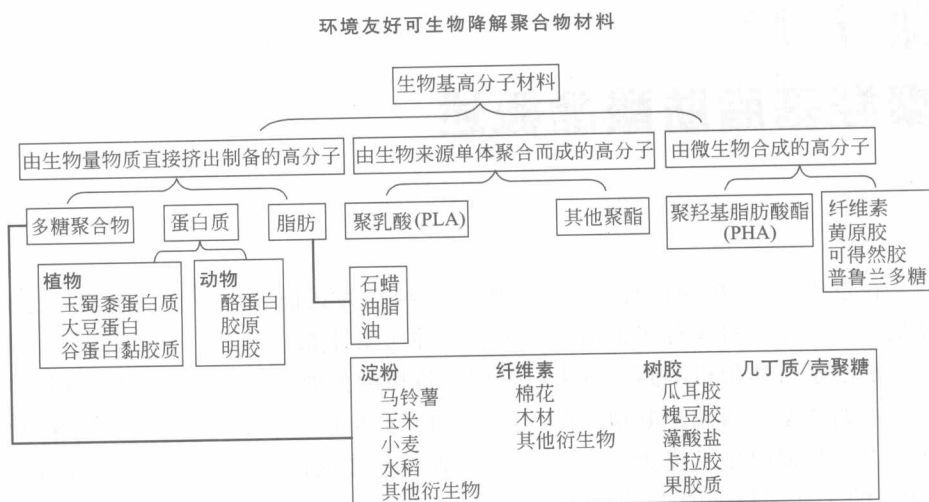


图 1.2 生物基高分子材料 (生物高分子) (数据来源: Emo Chiellini 教授, 意大利 Pisa 大学, ICS-UNIDO 2007 年北京“绿色奥运”研讨会)

除了可持续性之外, 生物基材料还由于其环境友好性, 即生物可降解性, 受到生物和材料领域的许多关注, 其学术论文和专利的数量每年都有大幅度地增加 (图 1.3)。

其中 PHA 由于与传统的、以石油为原料合成的塑料如聚乙烯、聚丙烯等有相似的材料学性质, 而且由于 PHA 可由可再生的资源如碳水化合物、脂肪酸等合成, 以及具有结构多样性、并且可以完全降解进入自然界的生态循环, 而得到越来越多地重视。此外, PHA 是在细菌体内合成的, 这保证了它的立体特异性 (在主链上所有的手性碳原子都是 *R*-构型), 而这对于 PHA 的生物可降解性以及生物相容性非常重要。目前, PHA 已经被认为是一种“绿色塑料”、“环境友好塑料”, 可以替代传统不可降解塑料, 因此引起世界各国科学界和产业界越来越多地重视。

1.1 聚羟基脂肪酸酯的结构及研究历史

聚羟基脂肪酸酯 (polyhydroxyalkanoates, 简称 PHA) 是微生物体内的一类 3-羟基脂肪酸组成的线性聚酯, 其结构通式如图 1.4 所示。其分子质量多

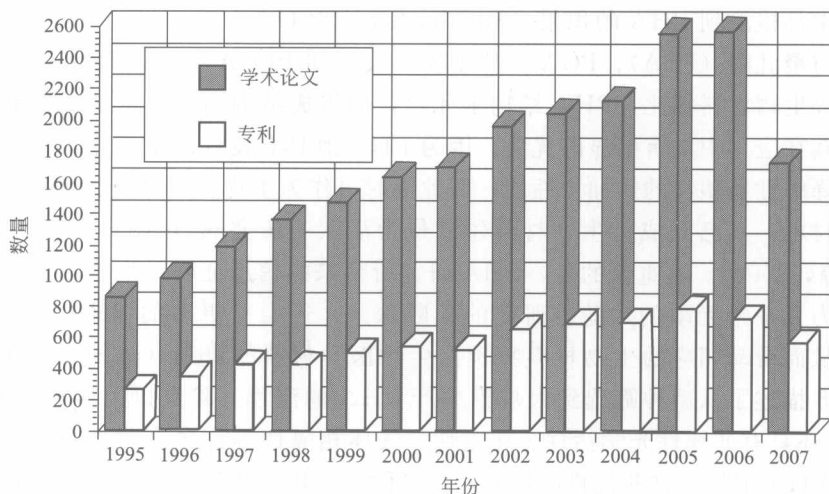


图 1.3 生物可降解塑料 (environmentally degradable plastics, EDP), 受到生物和材料领域的许多关注, 其学术论文 (References) 和专利 (Patents) 的数量每年都有大幅度地增加 (其中 2007 年仅半年的数据)

为 $50000 \sim 200000000 \text{ Da}$ ^①, 单体的羧基与相邻单体的羟基形成酯键。单体皆为 *R*-构型。不同的 PHA 主要区别于 C3 位上不同的侧链基团, 以侧链为甲基的聚 3-羟基丁酸酯 (PHB) 最为常见。

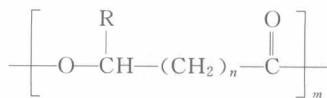


图 1.4 PHA 的结构通式。其中 $n=1, 2, 3$ 或 4 ; 通常 $n=1$, 即为聚 3-羟基脂肪酸酯。 m 表示聚合度, 决定分子量的大小。

R 是可变基团, 可为饱和或不饱和、直链或含侧链及取代基的烷基

PHA 的研究是以 1926 年法国人 Lemoigne 在巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) 中发现 PHB 为开端的, Lemoigne 同时确定了 PHB 是 3-羟基丁酸 (3HB) 的均聚物 (Lemoigne, 1926)。一度曾经推测 PHA 只是在少数相关的菌种中积累, 所以其在代谢中的功能曾经被广泛地探讨。但是, 随着观察结果的深入, 这种观点正逐渐发生改变。首先, PHA 在许多不同菌种例如球菌和杆菌中均有积累, 而且也没有微生物生理学的局限性 (Steinbüchel,

① $1 \text{ Da} = 1 \text{ u} = 1.67 \times 10^{-24} \text{ g}$ 。

1991)。在光能合成菌、需氧菌、化能营养菌、有机营养菌甚至在蓝细菌和古细菌中都检测到 PHA 的积累 (Steinbüchel, 1991)。

与聚乳酸 (PLA)、PGA (聚羟基乙酸) 和 PLGA (乳酸-羟基乙酸共聚物) 等生物材料相比, PHA 结构多元化, 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。因为 PHA 兼具有良好的生物相容性能、生物可降解性和塑料的热加工性能, 因此同时可作为生物医用材料和生物可降解包装材料, 其已经成为生物材料领域最为活跃的研究热点 (Chen 等, 2000; Doi 等, 2002)。更重要的是, PHA 研究所带来的信息证明, 生物合成新材料的能力几乎是无限的, 随着研究的不断深入, 还会有更多的 PHA 被合成出来, 从而带动相应的生物材料特别是生物医学材料的研究 (陈国强, 2002)。图 1.5 描述了从菌种筛选到大规模生产 PHA 的流程。除具以上所述性质外, PHA 还具有非线性光学活性、压电性、气体相隔性等许多高附加值性能。正因为 PHA 汇集了这些优良的性能, 使其除了在医用生物材料领域之外, 还可

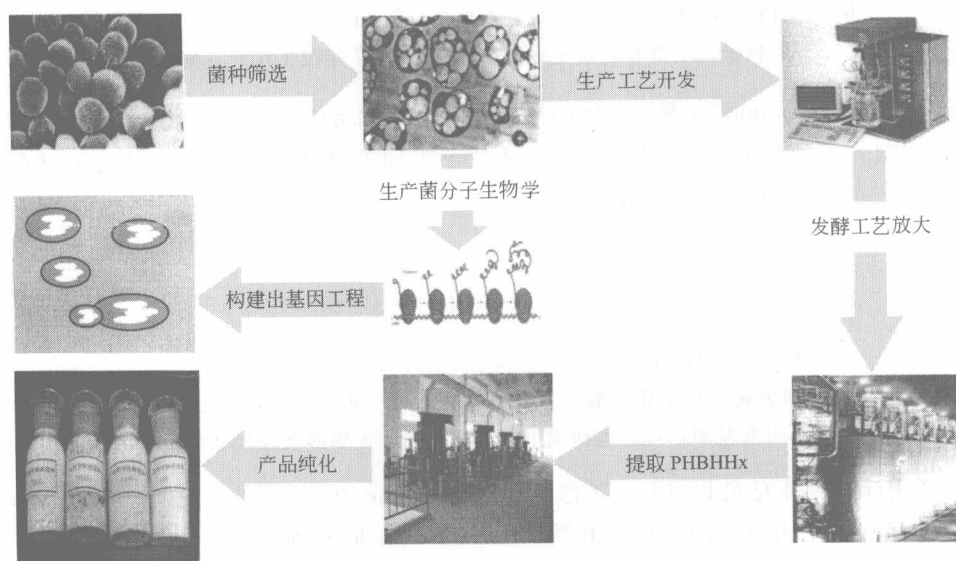


图 1.5 研究生物新材料 PHA 的研发过程说明。首先, 在自然界中进行菌种筛选, 得到能合成所需 PHA 的菌株 (见细胞内白色的颗粒)。如果该微生物合成 PHA 的能力强而且合成的 PHA 具有所需的性能, 则对菌株进行工艺开发和放大的工作。如果菌株合成 PHA

不能满足要求, 则可以通过对其进行分子生物学研究, 确定其合成基因和代谢路径, 进而通过基因工程得到合成能力强、所合成 PHA 结构合理的重组微生物。

进一步筛选后得到生产菌, 再进行工艺开发和放大, 为大规模生产做准备