

魏继华,刘 越,李佳益,等. 中短链聚羟基脂肪酸酯的低成本生产与应用[J]. 江苏农业科学,2019,47(16):39-45.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.009

中短链聚羟基脂肪酸酯的低成本生产与应用

魏继华,刘 越,李佳益,杨景辰,刘长莉

(东北林业大学生命科学学院,黑龙江哈尔滨 150040)

摘要:聚羟基脂肪酸酯(PHA)是在不平衡生长条件下由微生物产生的聚酯。由于其单体组成及排列方式的多样性,PHA 不仅具有生产生活中常见塑料材料的优良物理性能,同时具有良好的生物相容性、生物可降解性、可加工性等优良生物性能,在众多领域都有良好的应用潜能。但与传统石化塑料相比,PHA 的生产成本较高,使其生产和应用受到限制。如何降低 PHA 的生产成本成为当今研究的热点话题。本文主要综述了聚羟基脂肪酸酯的多样性、低成本生产及其应用,以期今后的相关研究提供一定参考。

关键词:聚羟基脂肪酸酯;生产成本;PHA 产量;PHA 的应用

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)16-0039-06

近 20 多年来迅速发展起来的聚羟基脂肪酸酯(PHA)是一种由微生物合成的胞内聚酯,属于天然的高分子生物材料。由于 PHA 具有良好的生物相容性、生物可降解性和塑料的热加工性能,同时可作为可生物降解的包装材料、组织工程材料、缓释材料、电学材料以及医疗材料,因此其低成本生产已经成为近年来生物材料领域最为活跃的研究热点。本文主要介绍 PHA 的产量与成本问题以及新型 PHA 材料开发与利用的研究进展,并对 PHA 的现存问题进行总结与展望。

1 聚羟基脂肪酸酯概述

1.1 PHA 的结构与种类

PHA 的结构通式如图 1 所示,它在生物体内主要作为碳源和能源的贮藏性物质,在这些碳源和能源物质过剩,氮、氧、磷、硫等大量元素被耗尽的情况下,PHA 可由不同种微生物合成^[1-3]。作为一种从微生物中提取的生物聚酯材料,PHA 由 300 余种单体组合而成,是一种全新的生物塑料^[4]。根据单体结构的规律性,PHA 可以分为 PHA 均聚物(homopolymers)、PHA 嵌段共聚物(block copolymers)或 PHA 随机共聚物(random copolymers)等。

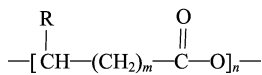


图1 PHA 的结构通式

由于 PHA 的单体是手性 R 型羟基脂肪酸,拥有多种侧链、碳链长度,因此 PHA 种类繁多。由图 2 可见,不同单体之间的聚合方式、排布方式、分子量等因素也可造成 PHA 的多

样性^[5]。Tripathi 等发现,通过预定比例的脂肪酸可以预先控制 PHA 的单体比例(表 1),实现无规共聚物聚羟基丁酸己酸酯(PHBHHx)或由 3-羟基丁酸(3HB)和 3-羟基己酸(3HHx)组成的嵌段共聚物的制备^[6-7]。因此,如果单体比例稳定,材料将会显示出稳定的性质。而 PHA 的分子量同时受 PHA 合成酶浓度(或活性)、链转移反应的进行、PHA 合酶的催化活性以及生物合成期间 PHA 的降解所影响^[8]。因此,可以通过控制 PHA 分子量来调控聚合物的物理性质。例如在生产过程中向培养基中加入链转移剂如聚乙二醇(PEG)、甲醇、乙醇以及异丙醇,可以降低 PHA 的分子量^[9-10]。

1.2 PHA 的功能特性

PHA 由于具有气体阻隔性、压电性、生物相容性、光学活性等特性^[11],使其在电子科技、航空航天、医学药品、高附加值材料等领域有重要的应用价值。与传统塑料相比,PHA 的主要优势在于其生物降解性,传统塑料的降解需要 100 年,而用聚-β-羟丁酸(PHB)生产的产品只需要 12 个月即可分解完全,且释放出的产物为无污染的水和二氧化碳,而 CO₂ 可被植物光合作用吸收、固定为生物质能源。由表 1 可见,部分 PHA 与聚乙烯等传统塑料的物化性能有很大不同^[12-13]。

2 聚羟基脂肪酸酯的主要研究问题及解决思路

虽然 PHA 有诸多优良特性,但其广泛应用受到高昂生产成本的限制。高成本是由昂贵的碳源、复杂的灭菌步骤、强烈的曝气操作、碳底物向 PHA 产物的较低转化率、微生物的缓慢生长、不连续的发酵生产过程和昂贵的下游加工成本等高能量需求所导致的^[14-15]。因此,如何降低生产成本、开发廉价的生产工艺是世界各国生物制品领域研究的热点。以下是针对当前问题所提供的解决思路。

2.1 廉价碳源的选择

为了降低原料成本,有研究者尝试采用纸浆、稻秆、山毛榉壳、活性污泥、食品废水和工业废水来代替精致碳源,且均已成功的案例。表 2 展示了利用不同廉价碳源生产 PHA 的积累率。Povolo 等报道,3HB-co-3HV-co-4HB 三元共聚物可以直接以乳糖或废物原料如乳酪、乳清作为碳源来获

收稿日期:2018-05-02

基金项目:东北林业大学大学生科研训练资助项目(编号:201710225107)。

作者简介:魏继华(1997—),男,山东潍坊人,主要研究方向为环境微生物。E-mail:2338795196@qq.com。

通信作者:刘长莉,博士,副教授,主要研究方向为环境微生物。E-mail:liuchangli08@126.com。

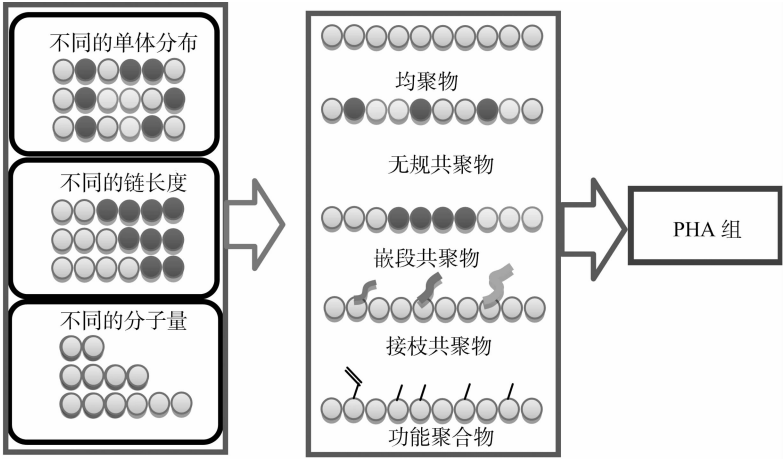


图2 PHA 的多样性示意

表 1 几种 PHA 与传统塑料的物化性能

材料	熔点 (℃)	玻璃化温度 (℃)	拉伸强度 (MPa)	断裂伸长率 (%)
PHB	177	4	43	5
PHBHV (10 mol%)	151	0	21	400
PHBHV (20 mol%)	145	-1	32	—
PHBHHx (10 mol%)	151	0	21	400
PHBHHx (17 mol%)	120	-2	20	850
PHBHHx (25 mol%)	52	-4	—	—
MCL- PHA	61	-35	10	300
P(3HB-co-3 mol% 3HV)	170	—	38	—
P(3HB-co-9 mol% 3HV)	162	—	37	—
P(3HB-co-14 mol% 3HV)	150	—	35	—
P(3HB-co-20 mol% 3HV)	145	-1	32	—
P(3HB-co-25 mol% 3HV)	137	—	30	—
P(3HB-co-3 mol% 4HB)	166	—	28	45
P(3HB-co-10 mol% 4HB)	159	—	24	242
P(3HB-co-16 mol% 4HB)	—	—	26	444
P(3HB-co-64 mol% 4HB)	50	—	17	591
P(3HB-co-90 mol% 4HB)	50	—	65	1 080
P(4HB) 或 P4HB	53	-51	104	1 000
P(3HB-co-10 mol% 3HHx)	127	0	21	400
P(3HB-co-17 mol% 3HHx)	120	-2	20	850
P(3HHx-co-3HO)	61	—	10	300
P(3HB-co-3HV-co-3HHx)	113	1.3	5.1	263
Polyatyrene	240	100	—	—
LDPE	130	-36	10	620
PP	176	-10	38	400
PLA	175	60	49.6~61.6	2.4~5.2
PBS	112~116	-33.0~36.6	24.8	175.2
PPC	125~140	35~36	33.2	3~5
PTT	227.5	42.6	49.24	159.48
PE	125~135	-133~113	17.9~33.1	12~700
PET	265	69~115	50	180

注:PHBHV 是聚羟基丁酸羟基戊酸酯;PHBHHx 是羟基丁酸己酸酯;P(3HB-co-3HV) 是 3-羟基丁酸和 3-羟基戊酸共聚物;P(4HB) 或 P4HB 是聚-4-羟基丁酸酯;P(3HB-co-4HB) 是 3-羟基丁酸和 4-羟基丁酸共聚物;P(3HB-co-10 mol% 3HHx) 是 3-羟基丁酸和 3-羟基己酸共聚物,其中 3-羟基己酸的摩尔比例为 10%;P(3HHx-co-3HO) 是 3-羟基己酸、3-羟基辛酸共聚物;P(3HB-co-3HV-co-3HHx) 是 3-羟基丁酸和 3-羟基戊酸和 3-羟基己酸共聚物;Polyatyrene 是聚苯乙烯;LDPE 是低密度聚乙烯;PP 是聚丙烯;PLA 是聚乳酸;PBS 是聚丁二酸丁二醇酯;PPC 是聚甲基乙撑碳酸酯;PTT 是聚对苯二甲酸丙二醇酯;PE 是聚乙烯;PET 是聚对苯二甲酸类塑料。“—”表示暂无详细文献记载。

表 2 不同廉价碳源生产 PHA 的积累率

碳源	类型	细菌菌株	细胞干质量的 PHA 积累率 (%)
玉米油	PHA	<i>Pseudomonas</i> type strain DR2	37.3
大豆油	PHA	a gamma ray mutant strain of <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50.3
马铃薯淀粉	PHA	<i>Ralstonia eutro</i> PHA NCIM 5149	55.0
淀粉	PHA	<i>Halomonas mediterranei</i>	43.0
脂肪酸	PHA	<i>Pseudomonas putida</i> Bet001	49.7 ~ 68.9
米糠	PHA	<i>Haloferax mediterranei</i>	55.6
廉价甘蔗酒	PHA	<i>Pseudomonas fluorescens</i> A2a5	70.0
废煎炸油	PHA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KF270353)	53.2
菜籽油	PHA		34.4
蔗糖	PHA	<i>Bacillus</i> sp.	51.5

注:*Pseudomonas* type strain DR2 是假单胞菌菌株 DR2;a gamma ray mutant strain of *Pseudomonas aeruginosa* 是 1 株经 γ 射线突变的铜绿假单胞菌菌株;*Ralstonia eutro* PHA NCIM 5149 是绿僵菌 PHA NCIM 5149;*Halomonas mediterranei* 是地中海卤单胞菌;*Pseudomonas putida* Bet001 是恶臭假单胞菌 Bet001;*Pseudomonas fluorescens* A2a5 是荧光假单胞菌 A2a5;*Pseudomonas aeruginosa* (KF270353) 是铜绿假单胞菌 (KF270353); *Bacillus* sp. 为高温芽孢杆菌 LEY11。

得^[16],可见乳品业的剩余乳清可以作为碳源合成 PHA; Cerrone 等发现,富含甘露醇的青贮草榨汁可作为生产 PHA 的可再生碳基质^[17]; Ciesielski 等认为,可以利用生物燃料的副产品——液相甘油作为原料生产 PHA 和乳酸,但液相甘油中含有残余甲醇,可能会对菌株的生长造成影响^[18]; 罗氏真养菌能吸收未过滤的植物油脂废物以及废弃的动物油脂,并将其转换成 PHA,且产量较高,与以葡萄糖作为碳源得到的产率相近^[19]; 利用活性污泥法生产的 PHA 在细胞干质量

(CDW)中的比例达到 50% 以上^[20],在厌氧-好氧活性污泥工艺中,微生物中储存的 PHA 最高可达细胞干质量的 67%^[21],且该工艺流程不需要进行灭菌操作,从而实现了剩余活性污泥的资源化利用,表 3 展示了利用不同菌株生产 PHB 的积累率;另外,微生物还可以以苯系污染物如甲苯为碳源,通过开发新型的补料系统,实现纯菌株的大量稳定培养,从而使合成 PHA 的产能可以达到与使用其他碳源相当的水平^[22]。

表 3 不同菌株产 PHB 能力比较

碳源	类型	细菌菌株	细胞干质量的 PHA 积累率 (%)	参考文献
葡萄糖	PHB	<i>Escherichia coli</i> JM109 DminCD	80.00 ~ 90.00	[46]
麦麸废料	PHB	<i>Halomonas boliviensis</i> LC1	50.00 ~ 60.00	[47]
葡萄糖	PHB	<i>Bacillus licheniformis</i>	53.01	[52]
葡萄糖	PHB	<i>Bacillus subtilis</i>	69.01	[55]
葡萄糖	PHB	<i>Lysinibacillus</i> sp.	80.94	[56]
鱼类固体	PHB	<i>Bacillus subtilis</i>	70.00	[57]
废料	PHB	<i>Halomonas campaniensis</i> LS21	74.00	[58]

注:*Escherichia coli* JM109 DminCD 是大肠杆菌 JM109 DminCD;*Halomonas boliviensis* LC1 是玻利维亚盐单胞菌 LC1;*Bacillus licheniformis* 是地衣芽孢杆菌;*Bacillus subtilis* 是枯草芽孢杆菌;*Lysinibacillus* sp. 是赖氨酸杆菌 3HHX;*Halomonas campaniensis* LS21 是盐单胞菌 LS21。

2.2 高产菌株的筛选

2.2.1 低成本野生菌 传统的 PHA 生产主要通过脂肪酸 β -氧化和脂肪酸从头合成途径实现,但这 2 种途径各有不足之处,脂肪酸 β -氧化途径以脂肪酸为碳源来合成 PHA,但脂肪酸是一种较昂贵的碳源且对微生物细胞有毒害作用,因此利用该途径大量合成 PHA 具有很大的限制性;脂肪酸从头合成途径虽然是利用碳水化合物为碳源生产 PHA,但细胞内积累的 PHA 含量较低。基于上述原因,需要构建一个廉价、高效生产 PHA 的平台,而大肠杆菌作为目前合成 PHA 最常用的底盘菌之一,可以用来构建新的合成途径。Zhuang 等在重组大肠杆菌中构建了逆向脂肪酸 β -氧化循环中所需酶的过表达质粒,试图直接利用葡萄糖为碳源,通过构建逆向脂肪酸 β -氧化循环,合成含有不同单体的中长链聚羟基脂肪酸酯 (mcl-PHA) 共聚物^[23]。向单敲除硫酯酶基因菌株的发酵培养基中添加 30 g/L 葡萄糖,发现敲除硫酯酶基因的菌株合成

的 mcl-PHA 含量最高,约占细胞干质量的 4.01%^[24]。Wu 等基于减少发酵过程中鼓气能耗的思路,在大肠杆菌中用 8 个串联重复的微氧启动子来表达 PHB 合成基因,大大提高了重组大肠杆菌在微氧条件下合成 PHB 的能力,使 PHB 积累量达到 90%,且有可能在发酵后期低氧条件下同样实现高效 PHA 生产^[24]。

Yin 等研究发现,在极端条件下培养的极端微生物对微生物污染更有抵抗力^[25]。嗜盐细菌能够在高 pH 值、高盐浓度的培养基中迅速生长,表明嗜盐细菌具有高抗污染性,特别是在海水中至少可以生长 2 个月^[26]。因此,采用廉价的农业废弃物为发酵材料,结合极端生存环境抑制杂菌生长的特性,以及培养基不灭菌、开放式培养的发酵工艺,可以显著降低 PHA 生产过程中的能源动力消耗以及底物、设备投资,最大程度降低 PHA 的合成成本^[27]。

因此可以将嗜盐细菌作为底盘菌,通过合成生物学以及

代谢工程改造手段,将其应用在 PHA 的合成方面。在用 5-氟乳清酸和尿嘧啶作为选择压力的前提下,曾有学者将地中海富盐菌(*Haloferax mediterranei*)中乳酸脱氢酶-5-磷酸脱羧酶(pyrF)基因敲除,结果显示,该方法可以大大提高基因重组的效率,这种高效的基因敲除技术可广泛应用于嗜盐微生物的基因组改造中^[28]。

2.2.2 工程菌株的筛选 在产量高、耐高密度发酵的菌种选育方面,Kahar 等筛选的罗氏真养菌(*Ralstonia eutro* PHAH16)细胞干质量可达 $1.28 \times 10^5 \sim 1.38 \times 10^5$ mg/L,PHB 的积累量最高占菌体干质量的 72% ~ 76%^[29]。Lee 等研究发现,*Pseudomonas putida* 在适宜生长条件下,细胞浓度可达 1.73×10^5 mg/L,降低培养基中的磷浓度后,PHA 的积累量可达 1.91×10^3 mg/L^[30]。Arora 等通过敲除 *Pseudomonas putida* KT2442 中的 *fadA* *fadB* 基因,削弱了 β -氧化循环途径,增强了该菌株积累 3-羟基十二酸单体的能力,在增加产物附加值的同时提高了 PHA 产量,该工程菌株的 PHA 产量可达细胞干质量的 84%,比野生菌株提高 5 倍左右^[31]。

Lv 等使用 CRISPRi 工程细菌合成 PHA,通过编辑真核生物基因组来控制 PHA 生物合成途径通量和调整 PHA 组成^[32]。首先,通过葡萄糖生产聚羟基丁酸酯(P3HB4HB)的途径构建大肠杆菌工程菌株。为了着重向碳通量,先把编码大肠杆菌琥珀酸半醛脱氢酶的天然基因 *sad* 用 5 个特别设计的单引导 RNA 置于 CRISPRi 的控制之下,该体系可形成由 1 mol% ~ 9 mol% 4HB 组成的 P3HB4HB。另外,使用选择的单引导 RNA 如 *sucC2*、*sucD2*、*sdhB2* 和 *sdhA1*,通过 CRISPRi 将由琥珀酰-辅酶 A (CoA) 合成酶和琥珀酸脱氢酶(分别由 *sucC*、*sucD*、*sdhA* 和 *sdhB* 基因编码)产生的琥珀酸优先引导至 4HB 前体。P3HB4HB 中产生的 4HB 含量可以从 1.4 mol% 调整至 18.4 mol%,这取决于下调基因的表达水平。结果显示,CRISPRi 法是同时操作多种基因并控制大肠杆菌中代谢流量的可行方法^[32]。

综上所述,与纯培养微生物相比,菌群发酵虽可以降低能耗,但菌群中菌种组成不能保持稳定,无法保障 PHA 单体的种类与含量稳定,因此菌群不能用于合成均一、稳定的高附加值 PHA 产品。

2.3 发酵生产工艺的改进

利用现代科学手段,例如合成生物学、基因工程技术、代谢路径的修饰、蓝水生物技术等方法,开发 PHA 高产菌株已成为研究领域中的主体思路^[4]。在合成聚羟基脂肪酸酯的过程中,对发酵流程进行改造与优化,从而控制培养过程中的相关条件如温度、pH 值、通气量(碳氮比)、流加速率、培养周期等,可以使细菌的生长繁殖速率与 PHA 的生成量达到最大值^[33-35]。Li 等研究发现,菌体中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)水平对 PHA 的产量影响较大,因此可以通过相应的辅酶工程手段提高 PHA 产量^[36]。

Shimizu 等通过使用批次和半批次培养方式,在营养物质富集和化学成分确定的培养基中研究以乙酸、丙酸和丁酸为碳源,利用嗜碱杆菌产碱菌(*Alcaligenes eutrophus*)生产 PHA 的过程,结果发现,PHA 的形成与细胞生长有关,高浓度(≥ 50 mg/L)乙酸会同时抑制细胞的生长和 PHA 的形成,但毒性效应随细胞质量的增加而降低,在无毒浓度范围内,细胞

生长和 PHA 形成均与乙酸浓度成线性比例;通过半间歇培养,丁酸浓度被控制在低水平(20 ~ 40 mg/L),且 PHA 形成速率与丁酸浓度成线性比例,表明丁酸在化学成分确定的培养基中没有毒性作用,在浓度为 80 ~ 100 mg/L 的铵盐中,丁酸主要用于 PHA 的形成;在以丙酸为碳源的培养条件下,富营养化生产共聚物聚(羟基丁酸酯-共-羟基戊酸酯),结果显示,含量约为 40%^[37]。刘一等对好氧瞬时补料工艺合成聚羟基脂肪酸酯的研究中发现,生产 PHA 的最适条件为化学需氧量(COD)6 000 mg/L,pH 值 8.5,运行周期 24 h,此时 PHA 的细胞干质量积累率达到最大值,为 31.1%^[38]。

2.4 与其他化学品的联合生产

众所周知,能够同时积累多种产品的工程微生物在生产实际中具有强大的经济吸引力。Li 等通过采用联合生产的方法,在合成 PHA 的同时生产出了氨基酸、蛋白质、醇、氢、生物表面活性剂、胞外多糖等有价值的化学品,通过这个方法可以降低 PHA 生产成本^[39]。除降低成本外,联合生产还可以解决部分废弃物问题,使得细胞和上清液乃至沼气都有用。以麻风树生物柴油废弃物为例,利用“废物”可生产 3-羟基丁酸-co-3-羟基戊酸共聚物(PHBV)和 ϵ -聚赖氨酸^[40]。Kang 等证实了 PHA 和琥珀酸盐可进行联合生产^[41]。Li 等发现,用 *Halomonas* sp. TD01 进行 5-氨基乙酰丙酸(ALA,一种增值光动力抗癌药物)与 PHA 的联合生产,可以显著降低 2 种产品的相关生产成本^[42]。Licciardello 等通过研究地中海假单胞菌中藻酸盐与 mcl-PHA 的联合生产发现,培养 48 h 后,细胞干质量(CDM)达到 2.89 g/L,粗制 mcl-PHA 积累量为 0.52 g/L,更为有利的是在发酵过程中发现大量的 *alg* 基因被激活,导致藻酸盐大量合成^[43],藻酸盐常被作为化妆品原料,且可在食品和医疗领域中用作稳定剂和胶凝剂。综上所述,在联合生产模式下,设计合理的伴生产品在降低制造成本和提高原材料利用率等方面具有巨大潜力。

3 聚羟基脂肪酸酯的应用

3.1 PHA 的生物医药化应用

PHA 具有良好的生物可降解性、生物相容性和可加工性能,可以作为高端生物医用材料^[44]。其中中等长度 PHA (mcl-PHA)因其良好的压电性、相容性等特性而被成功应用,且已被证明在血管组织工程^[45]、软骨组织工程^[46]和人造神经导管^[47]等领域有良好的应用前景。Sodian 等在小鼠肺部位置中接种使用 3-羟基己酸酯和 3-羟基辛酸酯的共聚酯[P(3HHx-co-3HO)]为主要材料制成的心脏瓣膜后发现,其功能持续性较好,可达 120 d,无血栓形成和轻度狭窄^[48],且该共聚酯与其他聚合物混合可以改善 PHA 心脏瓣膜的性能。在 PHA 血管组织工程研究的早期,使用了灵活的 mcl-PHA,包括聚 3-羟基辛酸酯(PHO)和聚-4-羟基丁酸酯(P4HB)。在科技不断发展的过程中,常利用 P4HB 构建 P4HB/低聚半乳糖醛酸(PGA)组织工程血管贴片。Chen 等发现,寡聚-羟基脂肪酸酯(HA)可以被身体转化成可以加入生物系统的具有代谢功能或调节功能的单体^[49]。

除此之外,鉴于 PHA 微球表面易被修饰改造的特性,越来越多的功能蛋白通过与 PHA 微球表面蛋白(PHAC 或 PHAP)的融合表达,呈递在了 PHA 微球表面,使 PHA 微球成

为一种廉价、高效的蛋白固定技术^[50]。

3.2 PHA 的工业化应用

目前工业化的应用主要是可降解塑料,用来解决传统塑料的白色污染问题,而未被修饰过的原始 PHA 无法满足工业化要求,因此,常常通过改变其物理性能来提高其机械性能。美国 Metabolix 公司将 PHA 作为一种新型环保的增塑剂对聚氯乙烯(PVC)进行了改性,拓展了 PHA 在塑料添加剂方面的应用^[51]。Sudesh 等研究发现,PHA 具有明显的吸油效果,可能在化妆品和护肤品类领域具有应用市场^[52],同时可被用于处理污水,吸附污水中的有机物^[53]。

3.3 研发新型 PHA,提高附加值

近年来,新型 PHA 材料的生产受到相关研究领域的关注,部分原因是目前市场上只有 PHB 和 PHBV 实现了半商业化规模生产,而通常研究的是 PHA、聚羟基丁酸酯和聚羟基丁酸酯-共-羟基戊酸酯(PHB-V),其中 PHB-V 比 PHA 具有更坚韧、更不脆弱的优点,因此可以通过遗传修饰和培养条件优化等方式,使其发挥更大的作用。

4 总结与展望

利用农业原料、工业副产品、废水等生产 PHA 既可以降低 PHA 生产成本又有利于环境保护;利用野生和突变菌株的低成本底物研究可以提高 PHA 生产过程的经济性。

PHA 通常由简单的碳源如糖(葡萄糖或蔗糖等)生产得到。然而,这些原料的高价格成本占 PHA 总生产成本的 50%。因此,在过去几年中,植物油作为廉价碳源代表已被作为 PHA 生产的最佳候选者。由于它们在中链和长链脂肪酸单元中的组成不同,含油底物可以作为不同类型 PHA 的前体,具有特定的性质,导致最终产品有了新的应用。植物油因此具有广阔的发展空间。而作为植物油中的一种,橄榄油馏出物是橄榄油精炼工业的低市场价值(0.24~0.39 美元/kg)副产品,占总加工油的 0.05%~0.10%,主要由游离脂肪酸组成,该副产品对 PHA 生产的潜力尚未被调查。因此以橄榄油馏出物为唯一碳源,分别接种已经筛选好的食树脂假单胞菌(*Pseudomonas resinovorans*)和钩虫贪铜菌(*Cupriavidus necator*)用于 mcl-PHA 和 scl-PHA 生产,可获得较高产量。因此,橄榄油馏出物是 PHA 生产的最佳候选底物,由于它能够提高高聚合物产量并允许通过选择适当的菌株合成不同的聚合物(scl-或 mcl-PHA),因此是 PHA 生产的最佳候选底物。

众所周知,我国是一个人口大国,每年对肉类的消费非常庞大,产生的屠宰场废弃物或食用副产品、不再可食用的动物产品或食堂垃圾数量同样非常可观。这些废弃动物脂肪的处理难度较大,极易影响环境卫生,造成健康隐患。选择以牛脂为基础的生物柴油作为一种重要的碳源,接种绿针假单胞菌(*Pseudomonas chlororaphis*),采用连续补料分批模式合成 mcl-PHA 的体积生产率为 138 mg/(L·h)。除此之外,从生物技术的角度来看,未来生物反应器的规模试验必须关注细胞内 mcl-PHA 含量的增加。这可以通过调节除氮源之外的其他生长限制因素来完成,如限制性磷酸盐供应等。另外,从敲除基因工程角度来看,可以通过敲除 PHA 解聚酶基因来防止已经积聚的 mcl-PHA 降解;同时还可以通过增加合酶的

基因拷贝数或引入可提高聚合酶水平的诱导型启动子来获得更高的 mcl-PHA 产量。

作为具有良好生物性能和物化特性的新型材料,PHA 具有深远的开发潜力,但是高额的生产成本限制了其大规模应用,如何更加有效地降低生产费用是当下亟需完善的问题,经过多年的研究,PHA 产量已经逐步得到提升。随着研究的不断深入,PHA 将在更多的领域有更好的应用前景。

参考文献:

- [1] Rai R, Keshavarz T, Roether J A, et al. Medium chain length polyhydroxyalkanoates, promising new biomedical materials for the future[J]. Materials Science and Engineering Reports, 2011, 72(3): 29-47.
- [2] Li R, Chen Q, Wang P G, et al. A novel - designed *Escherichia coli* for the production of various polyhydroxyalkanoates from inexpensive substrate mixture [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 75(5): 1103-1109.
- [3] Satoh Y, Murakami F, Tajima K, et al. Enzymatic synthesis of poly (3 - hydroxybutyrate - co - 4 - hydroxybutyrate) with CoA recycling using polyhydroxyalkanoate synthase and acyl - CoA synthetase [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 99(5): 508-511.
- [4] Chen G Q. A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio - and materials industry[J]. Chemical Society Reviews, 2009, 38(8): 2434-2446.
- [5] Yin J, Che X, Chen G. Progress on polyhydroxyalkanoates (PHA) [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2016, 32(6): 726-737.
- [6] Tripathi L, Wu L P, Meng D C, et al. *Pseudomonas putida* KT2442 as a platform for the biosynthesis of polyhydroxyalkanoates with adjustable monomer contents and compositions [J]. Bioresource Technology, 2013, 142: 225-231.
- [7] Tripathi L, Wu L P, Chen J, et al. Synthesis of Diblock copolymer poly - 3 - hydroxybutyrate - block - poly - 3 - hydroxyhexanoate [PHB - b - PHHx] by a β - oxidation weakened *Pseudomonas putida* KT2442 [J]. Microbial Cell Factories, 2012, 11(1): 44.
- [8] Tsuge T. Fundamental factors determining the molecular weight of polyhydroxyalkanoate during biosynthesis [J]. Polymer Journal, 2016, 48(11): 1051-1057.
- [9] Shi F Y, Ashby R, Gross R A. Use of poly (ethylene glycol) s to regulate poly (3 - hydroxybutyrate) molecular weight during *Alcaligenes eutrophus* cultivations [J]. Macromolecules, 1996, 29(24): 7753-7758.
- [10] Thomson N M, Hiroe A, Tsuge T, et al. Efficient molecular weight control of bacterially synthesized polyesters by alcohol supplementation [J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2014, 89(7): 1110-1114.
- [11] Steinbüchel A, Lütke - Eversloh T. Metabolic engineering and pathway construction for biotechnological production of relevant polyhydroxyalkanoates in microorganisms [J]. Biochemical Engineering Journal, 2003, 16(2): 81-96.
- [12] 魏晓星, 李正军, 陈国强. 我国聚羟基脂肪酸酯产业链的发展概况[J]. 高分子通报, 2011(4): 7-15.
- [13] Brandl H, Gross R A, Lenz R W, et al. Plastics from bacteria and for bacteria: poly (beta - hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polyesters [J]. Advances in Biochemical

- Engineering/Biotechnology,1990,41:77-93.
- [14] Sudesh K, Abe H, Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates;biological polyesters[J]. Progress in Polymer Science,2000,25(10):1503-1555.
 - [15] Serafim L S, Lemos P C, Albuquerque M G E, et al. Strategies for PHA production by mixed cultures and renewable waste materials[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2008,81(4):615-628.
 - [16] Povoio S, Romanelli M G, Basaglia M, et al. Polyhydroxyalkanoate biosynthesis by *Hydrogenophaga pseudoflava* DSM1034 from structurally unrelated carbon sources[J]. New Biotechnology,2013,30(6):629-634.
 - [17] Cerrone F, Davis R, Kenny S T, et al, Use of a mannitol rich ensiled grass press juice (EGPJ) as a sole carbon source for polyhydroxyalkanoates (PHAs) production through high cell density cultivation[J]. Bioresource Technology,2015,191:45-52.
 - [18] Ciesielski S, Pokoj T, Klimiuk E. Cultivation - dependent and - independent characterization of microbial community producing polyhydroxyalkanoates from raw - glycerol [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology,2010,20(5):853-861.
 - [19] Verlinden R A J, Hill D J, Kenward M A, et al. Production of polyhydroxyalkanoates from waste frying oil by *Cupriavidus necator* [J]. AMB Express,2011(1):11.
 - [20] Chen Z Q, Li Y B, Wen Q X, et al. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate by *Gamma proteobacterium* WD - 3 from volatile fatty acids[J]. Chemosphere,2011,82(8):1209-1213.
 - [21] Rebah F B, Prévost D, Tyagi R D, et al. Poly - β - hydroxybutyrate production by fast - growing rhizobia cultivated in sludge and in industrial wastewater[J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2009,158(1):155-163.
 - [22] 倪宇洋,黄顺生,张勇,等. 苯系污染物微生物降解及其合成聚羟基脂肪酸酯的研究进展[J]. 上饶师范学院学报,2017,37(3):96-102.
 - [23] Zhuang Q, Wang Q, Liang Q, et al. Synthesis of polyhydroxyalkanoates from glucose that contain medium - chain - length monomers via the reversed fatty acid β - oxidation cycle in *Escherichia coli*[J]. Metabolic Engineering,2014,24:78-86.
 - [24] Wu H, Wang H, Chen J C, et al. Effects of cascaded vgb promoters on poly (hydroxybutyrate) (PHB) synthesis by recombinant *Escherichia coli* grown micro - aerobically[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2014,98(24):10013-10021.
 - [25] Yin J, Chen J C, Wu Q, et al. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology[J]. Biotechnology Advances,2015,33(7):1433-1442.
 - [26] 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,2014,7:108.
 - [27] Tan D, Xue Y S, Aibaidula G, et al. Unsterile and continuous production of polyhydroxybutyrate by *Halomonas* TD01 [J]. Bioresource Technology,2011,102(17):8130-8136.
 - [28] Liu H L, Han J, Liu X Q, et al. Development of *pyrF* - based gene knockout systems for genome - wide manipulation of the archaea *Haloferax mediterranei* and *Haloarcula hispanica* [J]. Journal of Genetics and Genomics,2011,38(6):261-269.
 - [29] Kahar P, Tsuge T, Taguchi K, et al. High yield production of polyhydroxyalkanoates from soybean oil by *Ralstonia eutropha* and its recombinant strain[J]. Polymer Degradation and Stability,2004,83(1):79-86.
 - [30] Lee S Y, Wong H H, Choi J I, et al. Production of medium - chain - length polyhydroxyalkanoates by high - cell - density cultivation of *Pseudomonas putida* under phosphorus limitation[J]. Biotechnology and Bioengineering,2000,68(4):466-470.
 - [31] Arora N K, Singhal V, Maheshwari D K. Salinity - induced accumulation of poly - β - hydroxybutyrate in rhizobia indicating its role in cell protection [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology,2006,22(6):603-606.
 - [32] Lv L, Ren Y L, Chen J C, et al. Application of CRISPRi for prokaryotic metabolic engineering involving multiple genes, a case study:controllable P(3HB - co - 4HB) biosynthesis[J]. Metabolic Engineering,2015,29:160-168.
 - [33] Dias J M L, Oehmen A, Serafim L S, et al. Metabolic modelling of polyhydroxyalkanoate copolymers production by mixed microbial cultures[J]. BMC Systems Biology,2008,2:59.
 - [34] Chua A S M, Takabatake H, Satoh H, et al. Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater; effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent [J]. Water Research, 2003, 37(15):3602-3611.
 - [35] Shang L A, Do J H, Fan D T, et al. Optimization of propionic acid feeding for production of poly (3 - hydroxybutyrate - co - 3 - hydroxyvalerate) in fed - batch culture of *Ralstonia eutropha*[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering,2003,11(2):220-223.
 - [36] Li Z J, Cai L, Wu Q, et al. Overexpression of NAD kinase in recombinant *Escherichia coli* harboring the *phbCAB* operon improves poly (3 - hydroxybutyrate) production[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2009,83(5):939-947.
 - [37] Shimizu H, Sonoo S, Shioya S, et al. Production of poly - 3 - hydroxybutyric acid (phb) by *alcaligenes eutrophus* h16 in a fed - batch culture[M]// Biochemical Engineering for 2001. Springer Japan,1992.
 - [38] 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.
 - [39] Li T, Elhadi D, Chen G Q. Co - production of microbial polyhydroxyalkanoates with other chemicals [J]. Metabolic Engineering,2017,43:29-36.
 - [40] Bhattacharya S, Dubey S, Singh P, et al. Biodegradable polymeric substances produced by a marine bacterium from a surplus stream of the biodiesel industry[J]. Bioengineering,2016,3(4):34.
 - [41] Kang Z, Du L L, Kang J H, et al. Production of succinate and polyhydroxyalkanoate from substrate mixture by metabolically engineered *Escherichia coli*[J]. Bioresource Technology,2011,102(11):6600-6604.
 - [42] Li T, Guo Y Y, Qiao G Q, et al. Microbial synthesis of 5 - aminolevulinic acid and its coproduction with polyhydroxybutyrate [J]. ACS Synthetic Biology,2016,5(11):1264-1274.
 - [43] Licciardello G, Ferraro R, Russo M A, et al. Transcriptome analysis of *Pseudomonas mediterranea* and *P. corrugata* plant pathogens during accumulation of medium - chain - length PHAs by glycerol bioconversion[J]. New Biotechnology,2017,37(A):39-47.

赵子娟,刘 东,杭中桥. 作物遥感识别方法研究现状及展望[J]. 江苏农业科学,2019,47(16):45-51.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.010

作物遥感识别方法研究现状及展望

赵子娟¹, 刘 东², 杭中桥³

[1. 中国地质大学(北京)土地科学技术学院,北京 100083; 2. 中国科学院大学资源与环境学院,北京 100049;

3. 山东省邹城市农业局,山东邹城 273500]

摘要:作物遥感识别是作物面积提取、长势监测、估产和时空分布研究的前提和基础。遥感识别作物方法多样,优势各异,应用性不同。本文系统梳理了基于光谱特征识别作物、基于纹理特征识别作物、基于物候特征识别作物及其他作物遥感识别的方法,归纳总结了每类方法的原理、优缺点和适用范围,指出了需进一步研究和解决的问题,并对今后的发展方向进行了展望,以期作物遥感识别方法的应用及作物遥感研究提供参考与支撑。

关键词:遥感;作物;识别;方法;分类;现状;展望

中图分类号: S127 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)16-0045-07

大宗作物的面积、产量等数据是粮食生产的重要指标,是国家制定粮食政策和国民经济发展计划的重要依据。起初获取作物种植面积、产量等信息主要依靠农学方法进行抽样,采用农学模式和气象模式,但这些模式计算繁杂,并且野外工作量大、成本高,人为因素影响较大,准确率难以提高^[1]。遥感技术是新型对地观测技术,具有覆盖面积大、重访周期短、多时空分辨率等优势,成为获取作物空间信息的重要手段,并广泛应用于农业研究^[2]。作物识别和分类是作物面积提取、长

势监测、灾害风险预判、估产以及及时空分布研究的前提^[3],是现代智慧农业进行精细化动态管理的基础。20 世纪 60 年代,美国 Purdue 大学率先进行玉米种植面积遥感监测,开创了作物遥感监测的先河。随后,欧盟国家相继建立作物估产系统,为制定欧盟统一农业政策奠定了基础^[4]。我国农业遥感研究及应用起步相对较晚,1979 年由遥感应用学家陈述彭先生最早倡导。20 世纪 80 年代中期至 90 年代,先后建立小麦、玉米、水稻动态监测及估产业务系统^[5-6]。纵观作物遥感监测发展进程(图 1),作物遥感监测范围从单一国家扩大到全球,从小麦单一作物发展到小麦、水稻和玉米等多种作物遥感估产研究。

我国是人口大国,粮食安全问题历来是国内外关注的焦点^[7]。家庭联产承包责任制决定了我国农村作物种植结构分布的分散性、地域复杂性和管理的多样性。发挥遥感技术在农业生产中的优势,对我国加强作物生产管理,制定科学的粮食政策、保障粮食安全更具现实性和紧迫性。随着遥感技术的飞速发展,基于遥感数据的作物识别方法与手段不

收稿日期:2018-05-08

基金项目:国家自然科学基金(编号:41671525,41101553);北京市自然科学基金(编号:8152030);国家重点研发计划(编号:2016YFC0503500)。

作者简介:赵子娟(1993—),女,河北霸州人,硕士研究生,主要从事农业遥感作物分类及空间格局演变研究。E-mail:zzj734180@163.com。

通信作者:刘 东,博士,讲师,主要从事资源开发与区域发展研究。E-mail:lldking2008@aliyun.com。

[44] Chen G Q, Wu Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials [J]. *Biomaterials*, 2005, 26 (33): 6565-6578.

[45] Qu X H, Wu Q, Liang J, et al. Enhanced vascular-related cellular affinity on surface modified copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyhexanoate (PHBHHx) [J]. *Biomaterials*, 2005, 26 (34): 6991-7001.

[46] Wang Y, Bian Y Z, Wu Q, et al. Evaluation of three-dimensional scaffolds prepared from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) for growth of allogeneic chondrocytes for cartilage repair in rabbits [J]. *Biomaterials*, 2008, 29 (19): 2858-2868.

[47] Bian Y Z, Wang Y, Aibaidoula G, et al. Evaluation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) conduits for peripheral nerve regeneration [J]. *Biomaterials*, 2009, 30 (2): 217-225.

[48] Sodian R, Hoerstrup S P, Sperling J S, et al. Early *in vivo* experience with tissue-engineered trileaflet heart valves [J]. *Circulation*, 2000, 102 (S3): III 22-III 29.

[49] Chen G Q, Wu Q. Microbial production and applications of chiral hydroxyalkanoates [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, 67 (5): 592-599.

[50] 冉彦侨,谭 丹,卢晓云. 聚羧基脂肪酸酯纳米微球:结构特征、生物合成及其在生物技术和生物医药领域的应用 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32 (7): 745-754.

[51] Kann Y, Padwa A. PVC modification with biobased poly(hydroxyalkanoates) [J]. *Journal of Vinyl and Additive Technology*, 2014, 21 (4): 259-271.

[52] Sudesh K, Loo C Y, Goh L K, et al. The oil-absorbing property of polyhydroxyalkanoate films and its practical application: a refreshing new outlook for an old degrading material [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2007, 7 (11): 1199-1205.

[53] Zhang X X, Wei C H, He Q C, et al. Enrichment of chlorobenzene and o-nitrochlorobenzene on biomimetic adsorbent prepared by poly-3-hydroxybutyrate (PHB) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 177 (1/2/3): 508-515.