Vol. 35 No. 4 Aug. 2020

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20190056

数字出版日期: 2020-05-20; 数字出版网址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20200520.0944.004.html

# 一株降解 PHB 菌株的分离、鉴定及特性

王振乾,李骏鸣,邓元告,隋丽英 (天津科技大学亚洲区域卤虫参考中心,天津科技大学海洋与环境学院,天津 300457)

摘 要:本研究从活性污泥中分离筛选出一株高效降解聚-3-羟基丁酸酯 (PHB) 的菌株 PHBd-1,通过形态学和 ITS 序列分析比对,确定为草酸青霉 (Penicillium oxalicum). 在以 PHB 为唯一碳源的培养基上接种培养 4 d 后,菌落周围出现透明圈. 在以 PHB 为唯一碳源的液体培养基中接入 PHBd-1 孢子悬浮液,4 d 后 PHB 颗粒降解率达到 90%以上,培养液 pH 由 7.20 降至 2.67,3-羟基丁酸含量在第 4 天达到最高值. 在 pH 4.5 和温度 30 ℃条件下,培养液中 PHB 降解酶活力最高.

关键词:聚-3-羟基丁酸酯(PHB);草酸青霉;生物降解;3-羟基丁酸;降解酶活力

中图分类号: Q939.97 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2020)04-0008-06

# Separation, Identification and Characterization of A PHB Degrading Stain

WANG Zhenqian, LI Junming, DENG Yuangao, SUI Liying (Asia Regional Artemia Reference Center, College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** An efficient PHB-degrading fungus named PHBd-1 was isolated from activated sludge in this study. Through the phylogenetic analysis and BLAST comparison with the fragment of ITS, the PHBd-1 was identified as *Penicillium oxalicum*. The PHBd-1 was inoculated in medium with unique carbon source of PHB and cultured for 4 days. Then a transparent circle appears around the colony on the medium. The spore suspension of PHBd-1 was inoculated in the liquid medium with unique carbon source of PHB. After 4 days, the degradation rates of PHB particle were more than 90% and the pH of the medium decreased from 7.20 to 2.67. The content of 3-hydroxybutyrate reaches the highest value on 4th day, and the activity of PHB degrading enzyme in the culture medium reached the highest when the pH was 4.5 and temperature was 30 °C.

**Key words**: poly-3-hydroxybutyrate (PHB); *Penicillium oxalicum*; biodegradation; 3-hydroxybutyrate; degrading enzymatic activity

塑料制品在方便了人类生活的同时,也给地球带来了"白色污染",日益严重的污染引发了社会各界持续的关注.

聚 -3- 羟 基 丁 酸 酯 (poly-3-hydroxyobutyrate, PHB) 是细菌在营养限制条件下积累的胞内产物,以颗粒状态存在于细胞中,具有贮藏能量和降低细胞内渗透压等作用<sup>[1]</sup>. PHB 除了具有热塑性、生物相容性、光学活性和压电性<sup>[2]</sup>,还具有生物可降解性,是可替代石化合成塑料的原料物质<sup>[3]</sup>. 作为 PHB 单体的3-羟基丁酸,是抗生素、维生素、芳香素和信息素等

化学合成必不可少的手性单体<sup>[4]</sup>. 3-羟基丁酸也是生物体内一种常见的物质,在动物的新陈代谢中起重要作用<sup>[5]</sup>,越来越受到人们的关注.

PHB 的相对分子质量为  $3.0 \times 10^7 \sim 8.0 \times 10^7$ . 某些 微生物在碳源限制的条件下,利用胞外降解酶将 PHB 降解为 3—羟基丁酸单体. 该有机酸可渗透进入细胞膜,在胞内进一步通过脂肪酸 β—氧化过程和三羧酸循环 (TCA),在有氧条件下产生  $CO_2$  和水,在 厌氧条件下产生甲烷<sup>[6]</sup>. 从环境中分离得到的 PHB 降解菌大多为细菌和真菌. 细菌主要有产碱菌

收稿日期: 2019-02-16; 修回日期: 2019-06-10

基金项目:天津市科技支撑计划资助项目(16YFZCNC00810);天津市企业科技特派员资助项目(18JCTPJC57200)

作者简介:王振乾 (1988—),男(满),河北承德人,工程师;通信作者:隋丽英,教授, suily@tust.edu.cn

(Alcaligenes)、丛毛单胞菌(Comamonas)、假单胞菌(Pseudomonas)和土壤杆菌(Agrobacterium);真菌包括曲霉(Aspergillus)、拟青霉菌(Paecilomyces)和青霉(Penicillium)等<sup>[5,7]</sup>.

PHB 生物降解也有其自身的独特性,作为微生物合成的碳源和能量储存材料,在细胞内很容易被降解;但是,当外界环境与细胞内差异较大,导致 PHB 很难被降解. PHB 在细胞内是以非晶态存在的<sup>[8]</sup>,但是商品化的 PHB 大多是具有很高结晶度的半晶态粉末,性质的改变同样导致生物降解难度加大. 这就使得研究 PHB 高效生物降解与合成同等重要. 国际上从 20 世纪 60 年代开始陆续开展了这方面的工作,并已分离出了数十种可降解 PHB 的菌种. 在我国,PHB 相关研究起步相对较晚,研究热点是利用微生物高效合成 PHB,只有东北师范大学陈珊教授团队做了部分这方面的研究,分离到几株具有降解 PHB性能的真菌<sup>[9-10]</sup>.

草酸青霉广泛存在于土壤和活性污泥等环境中. 草酸青霉细胞分泌多种酶类,可用于生物降解石油烃、果胶、木质纤维素和含磷农药等[11-14],而关于草酸青霉降解 PHB 报道较少<sup>[7]</sup>. 本文从活性污泥中分离得到一株高效降解 PHB 的草酸青霉菌 PHBd-1,并对其 PHB 降解特性进行了初步研究,旨在为该菌株在 PHB 降解中的应用提供数据支撑.

## 1 材料与方法

#### 1.1 富集与筛选

活性污泥于 2014 年 10 月采自天津市东郊污水处理厂. 取  $1.0\,\mathrm{g}$  活性污泥,置于 200 mL LB 富集培养基中培养 72 h. 取 2 mL 培养液接种于 200 mL PHB-broth 中继续培养 72 h  $(28\,\mathrm{C}\,,150\,\mathrm{r/min})$ . 将培养液在 LB 平板上划线,挑取单菌落接种于  $100\,\mathrm{mL}$  LB 富集培养基中培养 72 h. 在 PHB 平板上挑取产生明显透明圈的菌落. 反复纯化 3 次,菌株命名为 PHBd-1.

LB 富集培养基(g/L): 胰蛋白胨 10.0, 酵母提取 物 5.0, NaCl 5.0.

PHB-broth (g/L):人工海盐 10.0, NH<sub>4</sub>Cl 0.2 和 PHB 1.5 (纯度 98.0%, Goodfellow 公司)<sup>[15]</sup>.

察氏培养基 (g/L): NaNO<sub>3</sub> 3.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, KCl 0.5, FeSO<sub>4</sub> 0.01 和蔗糖 30.0.

以上培养基 pH = 7.2. 固体培养基在上述配方中 添加 1.5% 琼脂. 一定盐度的培养基以浓缩卤水稀释 为相应盐度配制.

#### 1.2 菌株形态及分子生物学鉴定

采用点植法在普通察氏培养基与盐度 3.0%的察 氏培养基上接种 PHBd-1,在 28℃下分别培养 6 d 和 9 d,观察菌落形态. 从平板上轻轻地刮下成熟孢子,制成水封片,置于显微镜下观察孢子形态<sup>[16]</sup>.

取普通察氏培养基培养 3d 的新鲜菌落,加液氮 研磨成粉末. 提取菌株基因组 DNA(天根生化科技 (北京)有限公司),采用真菌通用引物 ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', ITS4: 5'-TCCTC CGCTTATTGATATGC-3′进行 rDNA 内转录间隔区 (ITS) 序列扩增. PCR 反应体系(50.0 µL): Mix 25.0 μL, ddH<sub>2</sub>O 17.5 μL, 引物各 2.5 μL, DNA 模板 2.5 μL. PCR 反应条件: 95 ℃预变性 10.0 min; 95 ℃ 变性 30 s, 56 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 2 min, 30 个循 环;72 ℃延伸10 min. PCR产物送北京六合华大基因 科技有限公司测序. 将测得的 ITS 序列在 CBS 数据 库中进行比对,采用 Neighbor Joining 法构建系统发 育树. 采用 Mega v5.0 软件 Clustal W 算法进行看 家基因序列比对,使用最大似然估计(maximum likelihood estimation, MLE)算法构建了系统发育树, 自展重复抽样次数为1000次.

#### 1.3 菌株降解 PHB 颗粒的特性分析

## 1.3.1 孢子悬浮液制备

菌株于斜面察氏培养基 28℃下培养 72 h,加人 无菌生理盐水,将孢子洗下并转移至 50 mL 离心管中,重复 3 次.在离心管中加入小玻璃球,充分振荡,用灭菌脱脂棉过滤除去菌丝,并用无菌生理盐水冲洗滤渣 3 次,将滤液定容至 500 mL,得孢子悬浮液.用血球计数板在显微镜下测定孢子数目为 2.0 × 10<sup>4</sup> mL<sup>-1</sup>.

#### 1.3.2 菌株培养及 pH 测定

孢子悬浮液以体积比 1:20 比例分别接种到 24 个盛有 100.0 mL PHB-broth 的三角瓶中,28  $^{\circ}$  、 150 r/min 振荡培养. 分别在 0.5、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 d 各取出 3 个三角瓶,于 4  $^{\circ}$  、12 000 g 离心 50 min 除去菌丝,上清液用定性滤纸抽滤,进一步除去菌丝. 用 Mettler FE20 型 pH 计测定 pH. 将滤液置于 4  $^{\circ}$  次箱保存,用于解聚酶活力的测定.

#### 1.3.3 PHB 颗粒降解率测定

PHB 降解率采用差减法测定<sup>[17]</sup>. 培养方法及条件同 1.3.2 节. 根据菌丝生长情况,对培养液进行不同处理,以减少 PHB 颗粒在菌丝上的附着. 当存在少量菌丝时,离心后将沉淀置于 80% 丙酮水溶液中

浸泡 2 h 后,于 - 20 ℃冷冻;解冻后去除浮在培养液表面的菌丝,重复 3 次;用定性滤纸过滤剩余 PHB,蒸馏水洗涤 3 次,80 ℃下干燥 24 h 后称量.当几乎不存在菌丝时,用定性滤纸过滤沉淀,蒸馏水洗涤 3 次,80 ℃下干燥 24 h 后称量.当 PHB 几乎全部被降解时,用定性滤纸过滤沉淀,蒸馏水洗涤 3 次,80 ℃下干燥 24 h 后称量.

#### 1.3.4 3-羟基丁酸含量测定

3-羟基丁酸标准品 (百灵威科技有限公司, 纯度 95%)用 5.0 mmol/L 稀硫酸溶液制作标准曲线, 3-羟基丁酸质量浓度分别为 0、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL. 滤液用 2 mol/L  $H_2SO_4$  溶液调至 pH = 2.0. 色谱条件参考乳酸的检测方法: Welch Xtimate Sugar-H 色谱柱, 5.0 mmol/L 稀硫酸溶液为流动相,柱温 40 ℃,流量 0.6 mL/min, 采用示差折光检测器进行检测 [18].

## 1.3.5 解聚酶活力测定

采用福林酚法测定滤液中可溶性蛋白含量<sup>[19]</sup>,以牛血清蛋白作标准曲线. 用比浊法测定 PHB 解聚酶活力<sup>[10]</sup>. 酶活力单位定义:每分钟引起 650 nm 波长的吸光度(A<sub>650</sub>)降低 0.1 单位所需酶量为 1 个酶活力单位. PHB 悬浮液的制备:精确称取 0.3 g PHB 粉末,溶解于 15.0 mL 氯仿中,加入 0.05 g SDS 及缓冲液 100 mL,超声振荡 30 min. 去除氯仿后,用蒸馏水定容至 100 mL,制备 PHB 乳浊液,现配现用. 不同pH 的 PHB 乳化液分别用磷酸盐缓冲液(pH 6.0,50 mmol/L; pH 7.2 ~ 7.4,10 mmol/L; pH 8.0,50 mmol/L)和醋酸盐缓冲液(pH 4.5,50 mmol/L)制备.

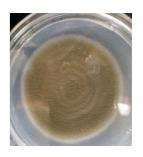
测定 pH 6.0 条件下,温度分别为 30、40、50 ℃时 酶活力.取 3.0 mL PHB 乳化液置于恒温水浴中预热 10 min,加入 3.0 mL PHBd-1 菌培养液滤液,40 min 后,于 650 nm 波长下测定反应前后吸光度的变化.在 30 ℃下,分别测定 pH 为 4.5、6.0、7.2、8.0 条件下的酶活力,方法同上.

# 2 结果与分析

#### 2.1 菌株形态

在普通察氏培养基上培养到第6天,菌落直径为50~60 mm,初期为淡粉色,成熟后菌落中心为深绿色(图 1). 在盐度 3.0% 察氏培养基上菌落生长相对较慢,为深棕色,培养第9天菌落直径为70~75 mm.





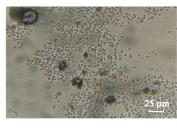
(a) 普通察氏培养基

(b) 3% 盐度察氏培养基

图 1 不同培养基培养的 PHBd-1 菌落形态

Fig. 1 Morphology of PHBd-1 colonies in different medium

显微镜下观察,分生孢子梗发生于基质菌丝,孢梗茎帚状枝双轮生,偶尔三轮生或单轮生,较紧密,分生孢子椭圆形(图 2).





(a) 孢子

(b) 菌丝

图 2 菌株 PHBd-1 孢子和菌丝形态

Fig. 2 Morphology of spore and mycelium PHBd-1

采用点植法在 PHB 琼脂板上培养 PHBd-1 单菌落. 培养 4d, 菌落中心呈浅绿色, 边缘呈微粉色, 菌落周围出现明显透明圈(图 3). 由于菌落的生长, 只在边缘才能显示出清晰的透明圈, 透明圈可达2.1 cm.



图 3 PHBd-1 菌株在 PHB 琼脂上生长呈现的透明圈 Fig. 3 Transparent circle around PHBd-1 colony on PHB agar

## 2.2 菌株 ITS 序列分析

用真菌通用引物 ITS1/ITS4 对 PHBd-1 菌株进行 PCR 扩增,获得目的片段长度为 600~800 bp. 从 CBS 上进行数据进比对,构建系统进化树(图 4),实验菌株和草酸青霉菌(Penicillium oxalicum)聚类在一

起,结合形态特征分析,将该菌株命名 Penicillium oxalicum strain PHBd-1.



图 4 基于菌株 PHBd-1 的 ITS 序列建立的系统发育树 Fig. 4 Phylogenetic tree based on ITS sequence of PHBd-1

#### 2.3 PHB 颗粒降解率、培养液 pH和 3-羟基丁酸含量

在 10 d 的培养过程中, PHB 颗粒降解率迅速增加, 4 d 后接近 100% (图 5). 与此同时, 培养液 pH则显著下降, 从初始的 pH 7.2 逐渐降至第 4 天的 pH 3.1, 并稳定于 pH 2.8 左右.

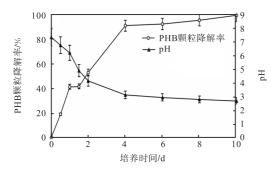


图 5 PHB 颗粒降解率和培养液 pH 变化
Fig. 5 Degrading rate of PHB particles and pH variations
of the medium

培养前 2 d 时,培养液中的 3-羟基丁酸含量较低( $<0.2\,\text{mg/mL}$ ),4~6 d 时达到最高( $1.2\,\text{mg/mL}$ ),8~10 d 时 3-羟基丁酸含量下降并趋于稳定( $0.7\,\text{mg/mL}$ )(图 6).

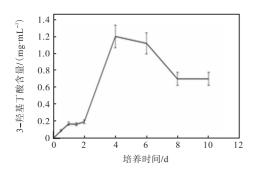


图 6 培养液中 3-羟基丁酸含量

Fig. 6 Content of 3-hydroxybutyrate in the medium

## 2.4 pH和温度对 PHB解聚酶活力的影响

培养过程中,培养液中胞外可溶性蛋白含量逐渐增加,第8天出现峰值(363.0 µg/mL),之后有所降低

(图 7).

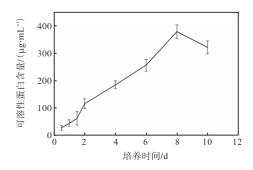


图 7 培养液中胞外可溶性蛋白含量

Fig. 7 Extracellular soluble protein content in the medium

培养过程中,在  $30 \times 40 \times 50$  ℃下培养 1.5 d 时酶活力达到最高峰(图 8). 温度较低时酶活力较高,SPSS 软件统计分析,  $1.5 \times 2$  d 时,在  $30 \times 40 \times 50$  ℃下酶活力有显著差异(P < 0.05), 2 d 后无显著差异(P > 0.05).

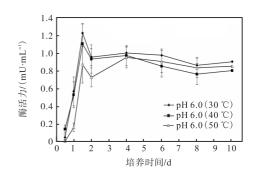


图 8 温度对 PHB 解聚酶活力的影响

Fig. 8 Effect of temperature on the degrading enzymatic activity of PHB

在 30 ℃时,不同 pH 下酶活力均在初期有较大提高,pH 4.5 时酶活力显著高于 pH 6.0、pH 7.2 和 pH 8.0 (图 9). pH 4.5 条件下,酶活力于培养 4 d 时达到峰值,其余 pH 条件下均在培养 1.5 d(36 h)时达到峰值,之后逐渐下降并趋于平稳.

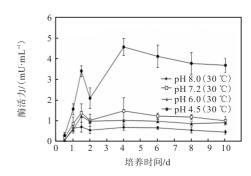


图 9 pH对 PHB解聚酶活力的影响

Fig. 9 Effect of pH on the degrading enzymatic activity of PHB

# 3 讨论

王战勇等<sup>[20]</sup>通过紫外诱变的方法诱变出一株高效降解 PHB 的青霉菌(Penicillium sp.),日均降解率由野生株的 12.5%提高到 20.0%.张敏等<sup>[21]</sup>将不同比例的聚丁二酸丁二醇酯/聚羟基丁酸酯(PBS/PHB)共混物分别放入土壤培养液和熟化过的堆肥培养液中,通过微生物兹化反应研究降解性;结果表明,共混物在堆肥培养液中降解 60 d 后的质量损失率达到62%.陈珊等<sup>[9]</sup>在活性污泥中分离出的可降解 PHB的菌株,并对其最适降级条件进行优化,PHB 最大失重率达到60%.而本研究中,从污水处理厂活性污泥中分离得到一株草酸青霉 PHBd-1.在4d 培养时间内,PHBd-1 对 PHB 颗粒降解率达到90.0%,是一株高效降解 PHB 的菌株.

微生物通过分泌到细胞外的 PHB 解聚酶降解 PHB, 不同微生物所产生的解聚酶类型和作用机理不 尽相同. PHB 颗粒在解聚酶作用下降解,形成单体和 二聚体混合物,二聚体随之在二聚体水解酶作用下形 成单体,进入细胞参与代谢<sup>[22]</sup>. 本研究中 PHB 降解 率的提升伴随着培养液 pH 的显著下降,推测是由于 PHB 被菌株所产生的解聚酶降解成可溶性小分子有 机酸,主要是 3-羟基丁酸及其二聚体或三聚体等. 培 养前 2d 的 PHB 降解较快, 但此时 3-羟基丁酸含量 较低,推测此时菌株大量利用 3-羟基丁酸进行生 长. 2d 后菌株开始大量合成与积累 PHB 解聚酶, PHB 降解速率加快, 3-羟基丁酸含量升高. 这也能解 释第 2 天酶活力突然下降后回升的现象. 后期培养 液中 3-羟基丁酸的含量出现下降,可能是因为聚-3-羟基丁酸酯基本被降解完,没有新的单体产生,而培 养液中 3-羟基丁酸单体的参与到菌体细胞代谢被消 耗导致. 培养液 pH 前期下降主要是大量的 3-羟基 丁酸单体产生导致,培养后期由于 pH 迅速下降,菌 种利用 3-羟基丁酸作为碳源参与代谢,不再产生解 聚酶或产生的酶减少,导致剩余聚-3-羟基丁酸酯不 能再被降解[23].

不同微生物所产生的 PHB 解聚酶的最适 pH 不同. 大多数解聚酶的最适 pH 为碱性范围 (pH 7.5~9.8),但皮氏假单胞菌 (Pseudomonas pickettii) 和绳状青霉 (Penicillium funiculosum) 胞外解聚酶的最适 pH 分别为 5.5 和  $6.0^{[24]}$ . 本研究中培养基中粗酶液在 pH 4.5 时酶活力最高,为酸性酶. pH 4.5 条件下,酶活力

在培养 4 d 时达到峰值,其余 pH 条件下在培养 1.5 d 时达到峰值,之后逐渐下降并趋于平稳. 推测该酶的合成类型为滞后合成型,待菌株利用部分降解产物生长后再大量分解 PHB 胞外解聚酶. 温度对酶活力的影响并不显著,因此推测温度可能是通过控制菌株的生长速率来提高 PHB 的降解率.

**致谢:**感谢天津科技大学食品科学与工程学院王玉荣老师对本研究提出的建议、化工与材料学院张爱群老师提供的活性污泥样品.

## 参考文献:

- [1] Quillaguamán J, Guzmán H, Van-Thuoc D, et al. Synthesis and production of polyhydroxyalkanoates by halophiles; Current potential and future prospects [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2010, 85(6): 1687–1696.
- [2] Dawes E A. Polyhydroxybutyrate: An intriguing biopolymer[J]. Bioscience Reports, 1988, 8(6): 537–547.
- [3] Tokiwa Y, Calabia BP, Ugwu CU, et al. Biodegradability of plastics[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2009, 10(9): 3722–3742.
- [4] Sudesh K, Abe H, Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters [J]. Progress in Polymer Science, 2000, 25 (10): 1503–1555.
- [5] Lee S Y. Bacterial polyhydroalkanoates [J]. Biotechnology & Bioengineering, 1996, 49: 1–14.
- [6] Shah A A, Hasan F, Hameed A, et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review [J]. Biotechnology Advances, 2008, 26(3): 246–265.
- [7] Lee K M, Gimore D F, Huss M J. Fungal degradation of the bioplastic PHB (poly-3-hydroxy-butyric acid) [J]. Journal of Polymers and the Environment, 2005, 13 (3): 213–219.
- [8] Jendrossek D, Schirmer A, Schlegel H G. Biodegradation of polyhydroxylkanoic acids[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1996, 46: 445–463.
- [9] 陈珊,刘东波,夏红梅,等. 一株可降解聚  $\beta$ -羟基丁酸酯的真菌[J]. 菌物学报,2001,20(3):423-425.
- [10] 陈珊, 刘东波, 夏红梅, 等. 降解聚 β-羟基丁酸酯的真菌的研究 [J]. 东北师大学报:自然科学版, 2001, 34(3):98-102.
- [11] Opasols AO, Adewoye SO. Assessment of degradability potential of *Penicillium oxalicum* on crude oil[J]. Advances in Applied Science Research, 2010, 1(1):182–188.

- [12] 蓝丽精,周琴,蔡敏琪,等.一株高产果胶酶青霉菌株的筛选鉴定[J]. 浙江师范大学学报:自然科学版, 2011,34(4):452-456.
- [13] 耿丽平, 陆秀君, 赵全利, 等. 草酸青霉菌产酶条件优化及其秸秆腐解能力[J]. 农业工程学报, 2014, 30(3):170-179.
- [14] 赵仁邦, 靳存华, 刘卫华. 草酸青霉 ZHJ6 固定化后对 甲胺磷农药降解的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(26): 247-251.
- [ 15 ] Liu Y, Schryver P D, Delsen B V, et al. PHB-degrading bacteria isolated from the gastrointestinal tract of aquatic animals as protective actors against luminescent vibriosis[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 74(1):196–204
- [16] 周德庆. 微生物学实验手册[M]. 上海:上海科技出版 社,1983.
- [17] 马洪超,吴媛媛,马增辉. 差减法测定土壤中生物炭含量[J]. 现代农业科技,2017(15):173-175.
- [18] 张贤忠,刘铁兵,郭小青,等. 茶叶中蛋白质含量的测定[J]. 安徽农业科学,2013,41(21):9058-9059.

- [19] 马瑞,欧阳嘉,李鑫,等. 高效液相色谱法同时测定生物质乳酸发酵液中有机酸及糖类化合物[J]. 色谱,2012,30(1):62-66.
- [20] 王战勇,张洪林,陈珊. 降解聚  $\beta$ -羟基丁酸菌株的诱变 育种[J]. 抚顺石油学院学报,2001,21(4):36-39.
- [21] 张敏, 黄继涛, 崔春娜, 等. PBS/PHB 聚酯材料的生物 降解性[J]. 高分子材料科学与工程, 2010, 26(7): 43-46
- [22] 高海军,陈坚,堵国成,等. 聚-羟基丁酸(PHB)降解的 研究和展望[J]. 无锡轻工大学学报,1996,15(2): 174-178.
- [23] Oda Y, Asari H, Urakami T, et al. Microbial degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and polycaprolactone by filamentous fungi [J]. Journal of Fermentation & Bioengineering, 1995, 80 (3): 265–269.
- [24] Jendrossek D. Microbial degradation of polyesters: A review on extracellular poly(hydroxyalkanoic acid) depolymerases[J]. Polymer Degradation & Stability, 1998, 59:317–325.

责任编辑:郎婧

#### (上接第7页)

- organic frameworks: Design of a charged interface aligned on 1D channel walls and its unusual electrostatic functions [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2017, 56 (18): 4982–4986.
- [ 42 ] Li Z, Li H, Guan X, et al. Three-dimensional ionic covalent organic frameworks for rapid, reversible, and selective ion exchange [J]. Journal of the American Chemical Society, 2017, 139 (49): 17771–17774.
- [43] Leus K, Folens K, Nicomel N R, et al. Removal of arsenic and mercury species from water by covalent triazine framework encapsulated \( \mu Fe\_2O\_3 \) nanoparticles[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 353: 312–319.
- [44] Li Y, Yang C, Yan X. Controllable preparation of coreshell magnetic covalent-organic framework nanospheres for efficient adsorption and removal of bisphenols in aqueous solution[J]. Chemical Communications, 2017, 53 (16):2511-2514.
- [45] Zhang W, Liang F, Li C, et al. Microwave-enhanced synthesis of magnetic porous covalent triazine-based framework composites for fast separation of organic dye

- from aqueous solution [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(2): 984–990.
- [46] Wen R, Li Y, Zhang M, et al. Graphene-synergized 2D covalent organic framework for adsorption: A mutual promotion strategy to achieve stabilization and functionalization simultaneously [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 358: 273–285.
- [47] Sun Q, Aguila B, Perman J A, et al. Integrating superwettability within covalent organic frameworks for functional coating [J]. Chem, 2018, 4(7): 1726–1739.
- [ 48 ] Liu Z, Wang H, Ou J, et al. Construction of hierarchically porous monoliths from covalent organic frameworks (COFs) and their application for bisphenol A removal [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 355: 145-153.
- [49] Zhang W, Zhang L, Zhao H, et al. A two-dimensional cationic covalent organic framework membrane for selective molecular sieving [J]. Journal of Materials Chemistry A, 2018, 6 (27):13331–13339.

责任编辑:郎婧