

УДК 663.18

Технико-технологические основы производства разрушаемых полигидроксиалканоатов

Е.Г. Киселев^{а,б*},

О.Н. Шишацкий^в, Э.Дж. Сински^{б,г}

^а Институт биофизики СО РАН,
Россия 660036, Красноярск, Академгородок

^б Сибирский федеральный университет,
Россия 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

^в Красноярский отдел прогнозирования
и экономического развития региона

Института экономики и организации
промышленного производства СО РАН,

Россия 660036, Красноярск, Академгородок

^г Массачусетский технологический институт,
США 02139, Массачусетс, Кембридж¹

Received 10.09.2012, received in revised form 17.07.2012, accepted 24.09.2012

В статье приведён обзор рынка полигидроксиалканоатов (ПГА) и анализ мирового опыта производства ПГА. Дана оценка перспективам создания производств высокотехнологичных продуктов на основе ПГА. Охарактеризованы основные стадии производства, которые оказывают наибольшее влияние на стоимость готового продукта, рассмотрены способы снижения себестоимости ПГА.

Ключевые слова: биополимеры, полигидроксиалканоаты, разрушаемые биопластики, стоимость, субстраты, синтез-газ.

В начале XXI века в связи с ростом цен на нефть, повсеместно за рубежом произошло активное масштабирование лабораторных процессов синтеза полигидроксиалканоатов (ПГА) до уровня пилотных и малых промышленных производств. Несмотря на драматическое снижение стоимости нефти,

которое произошло в 2008 году, и закрытие ряда компаний, разрабатывающих производства этих полимеров, ПГА считается одним из наиболее перспективных биопластиков не только в силу высоких потребительских свойств, но и в экологическом плане как фактор снижения накопления CO₂ в биосфере.

* Corresponding author E-mail address: evgeniygek@gmail.com

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

Решающим для расширения масштабов производства и сфер применения является необходимость снижения стоимости ПГА, а также разработка новых специализированных полимерных продуктов, имеющих высокую добавочную стоимость, например, медико-биологического применения.

Продвижением и коммерциализацией технологий синтеза ПГА занимаются многие фирмы и компании в промышленно развитых странах многие годы. Начиная с 80-х годов до настоящего времени различные компании продолжают создавать линии для выпуска ПГА в опытном или производственном масштабах (табл. 1). Основой для развития этого направления работ являются колебания цен на нефть с прогнозируемой исчерпаемостью её запасов, что в конечном счете должно заставить человечество перейти на экологически чистые полимерные материалы, получаемые за счет возобновляемых ресурсов.

Среди активных разработчиков процессов производства ПГА – различные фирмы, компании и корпорации, включая Монсанто К°, Metabolix Inc., Tephа, Procter & Gamble, Berlin Packaging Corp., Bioscience Ltd., BioVentures Alberta Inc., Merck, выпускающие полимеры под марками Biopol®, Biopol™, TephаFLEX™, DegraPol/btc®, Nodax™.

Первой промышленной корпорацией, начавшей освоение промышленного производства, была ICI в Великобритании; фирмы Zeneka Seeds и Zeneka Bio Product с 1992 года приступили к выпуску поли-3-гидроксибутирата и сополимеров 3-гидроксибутирата с 3-гидроксивалератом (товарное название продукта Биопол®). При масштабах производства в 10-15 тыс. тонн в год цена «Биопола» достигала \$16 000 за тонну. Это на порядок выше стоимости на мировом рынке полипропилена.

Лидер в области коммерциализации ПГА – фирма «Метаболикс» (Metabolix, Inc.), которая основана в 1992 году в г. Кембридже, (Массачусетс, США). Компания имеет свыше 500 патентов и лицензий на этот процесс по всему миру. В настоящее время производит полимеры с использованием рекомбинантных штаммов *E.coli* K12 на основе сахаров. Торговые марки полимеров – Biopol®, Biopol™.

Метаболикс выпускает ПГА для своего филиала – компании Tephа Inc. (www.tepha.com) (Лексингтон, США). Компания Tephа Inc. ориентирована на медицинское применение полигидроксиалканоатов и обладает эксклюзивными правами на использование ПГА в качестве рассасываемого шовного материала, сосудистых элементов и систем доставки лекарств. Для синтеза полимеров применяется запатентованная ферментация трансгенных микроорганизмов с торговой маркой продукта TephаFLEX™. Фирма имеет государственное финансирование.

Семейство ПГА, образованных среднецепочечными мономерами различной длины, было синтезировано и выпущено под торговой маркой Nodax™ сотрудниками Meredian, (Бейнбридж, США) (Poliakoff, Noda, 2004; Noda et al., 2005 a,b). В 2007 году с целью коммерциализации этого класса ПГА данная компания приобрела технологию, разработанную Procter & Gamble, и занялась планированием крупномасштабных производств. В 2009 году на пилотном производстве был отработан эффективный процесс биосинтеза ПГА и получены исходные данные для масштабирования технологии. В 2010 году запущено промышленное производство. Компания имеет амбициозные планы, ориентированные на организацию производства ПГА при масштабе порядка 300 млн тонн (Chen, 2009a). Эти типы ПГА с недавних пор активно разрабатывают в Китае и Корее. Компании Китая и

Таблица 1. Компании мира, производящие ПГА

Компания	Типы ПГА	Масштаб производства (т/год)	Период времени	Применение
ICI, Великобритания	ПЗГБ/ЗГВ	300	1980 -1990	Упаковка
Chemie Linz, Австрия	ПЗГБ	20-100	1980-е гг.	Упаковка, доставка лекарств
BTF, Австрия	ПЗГБ	20-100	1990-е гг.	Упаковка, доставка лекарств
Biomers, Германия	ПЗГБ	Неизвестно	1990-е – н.вр.	Упаковка, доставка лекарств
BASF, Германия	ПЗГБ, ПЗГБ/ЗГВ	Пилотный масштаб	1980-е – 2005	Смешивание с Ecoflex
Metabolix, США	Различные	Неизвестно	1980-е – н.вр.	Упаковка
Terpa, США	Различные	Медицинские имплантаты	1990-е – н.вр.	Медицинские биоимпланты
ADM, США (с Metabolix)	Различные	50 000	2005 – н.вр.	Сырье
Procter & Gamble, США	Различные	По контрактам	1980-е – н.вр.	Упаковка
Monsanto, США	ПЗГБ, ПЗГБ/ЗГВ	Заводское производство	1990-е	Сырье
Meredian, США	Различные	10 000	2007 – н.вр.	Сырье
Kaneka, Япония (с P&G)	Различные	Неизвестно	1990-е – н.вр.	Упаковка
Mitsubishi, Япония	ПЗГБ	10	1990-е	Упаковка
Biocycles, Бразилия	ПЗГБ	100	1990-е – н.вр.	Сырье
Bio-On, Италия	ПГА	10 000	2008-е – н.вр.	Сырье
Zhejiang Tian An, Китай	ПЗГБ/ЗГВ	2000	1990-е – н.вр.	Сырье
Jiangmen Biotech Ctr, Китай	ПЗГБ/ЗГГ	Неизвестно	1990-е	Сырье
Yikeman, Shandon, Китай	ПЗГБ	3000	2008 – н.вр.	Сырье
Tiangin Northen Food, Китай	ПЗГБ	Пилотный масштаб	1990-е	Сырье
Shantou Lianyl Biotech, Китай	Различные ПЗГБ	Пилотный масштаб	1990-е – 2005	Упаковка и медицина
Jian Su Nan Tian, Китай	ПЗГБ	Пилотный масштаб	1990-е – н.вр.	Сырье
Shenzhen O'Bioer, Китай	Различные	Неизвестно	2004- н.вр.	Неизвестно
Tianjing Green Bio-Science, Китай	ПЗГБ/4ГБ	10 000	2004 – н.вр.	Сырье и упаковка
Shandolong Lukannng, Китай	Неизвестно	Пилотный масштаб	2005 – н.вр.	Сырье и медицина

Кореи для коммерциализации технологий получения этого сополимера в настоящее время работают в кооперации с фирмой Procter & Gamble. С использованием штамма *Aeromonas hydrophila* процесс отработан в ферментере объемом 20 м³ при следующих показателях: на среде с глюкозой и лауриновой кислотой за 60 ч достигается выход биомассы 60 г/л с содержанием сополимера 50 % от сухой биомассы (Chen et al., 2001). Следует отметить имеющиеся трудности процесса экстракции этого типа ПГА, что негативно сказывается на стоимости продукта. В настоящее время этот тип сополимера потенциально находит все более широкие области применения, однако его стоимость пока еще достаточно высока для крупного масштабирования и широкого применения.

Процесс производства другого сополимера (ПЗГБ/ЗГГ) активно оптимизируют по двум основным параметрам: клеточная плотность и процедура выделения полимера из биомассы. Построена прогнозная модель процесса на отходах производства соевого масла с получением сополимера, содержащего 5 мол.% ЗГГ рекомбинантным штаммом, сконструированным на основе *Wautersia* с геном синтазы ЗГГ из *Aeromonas* (Akiyama et al., 2003).

Для производства ПГА используются различные штаммы-продуценты и типы сырья – это природные штаммы *Ralstonia eutropha* (имеющие различные систематические названия в разные периоды времени – *Alcaligenes eutrophus*, *Wautersia eutropha*, *Cupriavidus necator*); *Alcaligenes latus*, *Aeromonas hydrophila*; *Pseudomonas oleovorans*.

Проводится интенсивная работа по уменьшению стоимости ПГА за счет внедрения более продуктивных бактериальных штаммов, в том числе трансгенных, расши-

рения спектра и удешевления углеродного сырья, оптимизации процессов ферментации и экстракции полимера из биомассы. Известна серия работ по технико-экономической оценке перспектив удешевления ПГА, где проведен анализ параметров оптимизации производства короткоцепочечных биополимеров (поли-3-гидроксibuтирата и сополимеров 3-гидроксibuтирата с 3-гидроксивалератом) (Lee, 1996 a, b; Chen, 1999; Choi, Lee, 1999).

На технико-экономические показатели процесса производства ПГА влияют многие факторы, в том числе скорость роста и продуктивность микробных штаммов, конечная концентрация полимера в биомассе, затраты и стоимость сырья, а также стоимость реагентов для процедуры экстракции и очистки полимера.

Как показали расчеты, выполненные при прогнозном анализе производства «Биопола» на основе различных штаммов-продуцентов (*A. eutrophus*, *A. latus*, *Methylobacterium organophilum* и *E. coli*), типов углеродного сырья и двух методов экстракции (с использованием гипохлорита натрия и его смеси с хлороформом) при моделировании небольшого объема выпуска продукции, до 2850 т/год (Choi, Lee, 1997), стоимость полимера (без учета объема продаж) может составить от 5,58 до 9,45 \$ США за 1 кг. Далее были выполнены аналогичные расчеты при моделировании объема производства полимера до 100 000 т/год (Choi, Lee, 1999).

Согласно оценкам ряда работ, стоимость углеродного субстрата может составлять от 35-40 до 50-60 % от стоимости всех затрат на производство ПГА (Yamane, 1992; 1993; Нернер, 1996). При расчетном объеме производства 100 000 т/год на основе рекомбинантного штамма *E. coli*, урожай биомассы 157 г/л, внутриклеточной концентрации полимера

77 % и продуктивности 3,2 г/л ч⁻¹ стоимость источника углерода может составить до 38 % от общих эксплуатационных расходов (Choi et al., 1998). Привлечение более дешевых источников углерода позволит существенно уменьшить затраты на производство. Например, при использовании гидролизата кукурузного крахмала вместо моносахаров расчетная стоимость продукта может быть снижена до 3,84 \$ США за 1 кг (моделирован объем производства в 100 000 т) (Choi et al., 1997). Продукты переработки отходов (сырная сыворотка, патока из свеклы и тростника, отходы производства жиров и пр.) являются потенциальными источниками углерода для производства биополимеров. Показано, что при их использовании стоимость продукта может снизиться до 3,84 – 4,61 \$ США за 1 кг (Choi et al., 1997).

Экономические показатели процесса производства ПГА зависят и от типа используемого микроорганизма-продуцента и его продуктивности, которая определяется скоростью роста бактерий и синтеза полимера, а также концентрацией биомассы в культуре. Согласно расчетам (Choi, Lee, 1997) конечная стоимость полимера в зависимости от используемого продуцента может колебаться в достаточно широких пределах (2,6–83 \$ США за 1 кг).

Для эффективного промышленного производства ПГА необходим баланс двух стадий – наращивания общей биомассы и аккумуляции полимера. Важно получить большой выход полимера на фоне большого урожая клеток (Lee, 1996b; Wang et al., 1998).

Оптимизация и поиск новых способов культивирования микроорганизмов с целью достижения производительного процесса в целом при сокращении времени ферментации (которое может составлять от 39 до 80 ч в зависимости от типа бактерий и условий культивирования) также являются актуальными.

Техничко-экономический анализ процесса синтеза ПГА на октане показал, что достаточно низкая стоимость октана при его 100 %-й конверсии в полимер может сделать производство рентабельным (Hazenberg, Witholt, 1998). При выходе полимера до 95 % от сухой биомассы возможна производственная цена 5 \$ США за 1 кг. При содержании ПГА в биомассе около 63 % и объемной продуктивности 1,06 мг·г⁻¹·ч⁻¹ при объеме производства 1 т/год она составит 400 \$ США за 1 кг, а при увеличении масштаба до 100 т/год цена снижается до 9 \$ США за 1 кг. При оптимизации состава питательной среды, подборе лимитирующего фактора и улучшении массообменных характеристик биореактора продуктивность процесса биосинтеза ПГА может возрасти с 0,58 до 0,74 мг·г⁻¹·ч⁻¹. В условиях одностадийного хемостата при концентрации октана в среде 10 % об. содержание биомассы в культуре составляет 17 г/л, а продуктивность по биомассе – до 3,8 мг·г⁻¹·ч⁻¹. Производственная цена ПГА, получаемых на октане с высокой степенью конверсии его в продукт, главным образом зависит от внутриклеточной концентрации полимера; она выше в условиях одностадийного хемостата (до 15 \$ США за 1 кг) и существенно ниже при двухстадийном проточном режиме (около 9 \$ США за 1 кг).

Потребление большого количества кислорода для сохранения аэробных условий потенциально дорого (Wegen et al., 1998). При высокой концентрации полимера в клетке растворенный кислород часто действует как фактор ограничения роста бактерий (Lee, 1996). Для предотвращения необходимы большие затраты на транспорт газового потока в жидкую фазу и обогащения питательной среды кислородом, что увеличивает стоимость производства, особенно в крупномасштабных промышленных системах.

Водородокисляющие микроорганизмы рассматриваются сегодня в качестве перспективного продуцента ПГА, так как они способны синтезировать полимеры различного химического строения на различных субстратах и с высокими выходами. В качестве ростового субстрата могут быть использованы газовые смеси $H_2+CO_2+O_2$ (источником водорода может быть электролиз воды, при этом одновременно процесс обеспечивается кислородом, а источником углерода служит экспанзерная углекислота биохимических производств; альтернативный субстрат: источник водорода и углерода – синтез-газ, получаемый газификацией углей, при этом источником кислорода служит O_2 , получаемый с блоков разделения воздуха) (Sugimoto et al., 1999). Водород рассматривается как альтернативный субстрат по отношению к сахарам, но трудности ферментации на газовом субстрате из-за его взрывоопасности и плохой растворимости накладывают определенные ограничения на этот субстрат при его рассмотрении применительно к крупнотоннажным процессам (Ishizaki, Tanaka, 2001).

Эффективность биосинтеза ПЗГБ на водороде в качестве энергетического субстрата высокая; затраты субстрата на образования продукта минимальны. Экономический коэффициент получения полимера на водороде составляет 1. Поэтому освоение этого субстрата может стать перспективным при развитии уровня техники ферментации (Волова, 2001, 2002, 2003; Войнов, 2003, 2004).

Институтом биофизики СО РАН совместно с Институтом химии и химической технологии СО РАН впервые в мировой биотехнологической практике разработан и реализован процесс получения ПГА на синтез-газе, образуемом при газификации бурых углей КАТЭЖа и гидролизного лигнина. Проведенная технико-экономическая оценка по-

казала, что газовый субстрат является весьма перспективным с точки зрения его доступности (патент РФ № 2051962).

Существенную роль в общей стоимости производства играет способ выделения ПГА из клеточной биомассы. При его выборе необходимо учитывать затраты на реагенты и эффективность извлечения. Экономические оценки показали, что затраты на выделение ПГА значительно уменьшаются с увеличением содержания полимера в клетке (Lee et al., 1998). Согласно этим расчетам, при 88 %-ном содержании полимера стоимость выделения составит 0,92, а при 50 %-ном – 4,8 \$ США за 1 кг. Это удорожание обусловлено в основном использованием большего количества вещества для выделения полимера и увеличением затрат на вывозы отходов.

Разработка более экономичных способов экстракции является важной задачей на пути создания эффективного производства ПГА. Наибольшие трудности при выделении ПГА связаны с его ограниченной растворимостью в органических растворителях, в настоящее время для растворения ПГА используют хлороформ, дихлорметан, дихлорэтан и другие галогенпроизводные (патенты РФ № 2333962, US4358583, US4391766), а также имеются данные по использованию высококипящих растворителей этиллактата (патент ФРГ № 19712702), уксусного ангидрида (патент ГДР № 229428). Недостатком применения высококипящих растворителей прежде всего являются высокие температуры, а следовательно, повышенные затраты на экстракцию и их регенерацию, а также весьма вероятен гидролиз части ПГА под действием высоких температур, что снижает эффективность производства.

В настоящее время известно несколько основных методов извлечения ПГА. Один из них – экстракция с использованием таких рас-

творителей, как хлороформ, дихлорметан, карбонат пропилен и дихлорэтан. Однако при их содержании более 5 % биополимер становится очень вязким, что затрудняет его очистку от остаточных клеток. Данный метод требует большого количества летучего растворителя, а это увеличивает общую стоимость производства и к тому же ведет к загрязнению окружающей среды (Choi et al., 1997).

Выделение ПГА с использованием гипохлорита (Ramsay et al., 1994) вызывает деградацию эфирных связей в полимере и снижает величину молекулярной массы. Однако обработка бактериальной суспензии гипохлоритом в сочетании с поверхностно-активными веществами показала высокую эффективность очистки с меньшим повреждением полимера (Berger et al., 1989). Простой способ выделения ПГА недорогими химикатами может быть наиболее эффективным и экономичным при извлечении из клеток с высоким содержанием полимера (Page et al., 1993). Такой метод опробован на рекомбинантном штамме *E. coli* (Choi, Lee, 1998). Контакт клеток, содержащих 77 % ПГА, с 0,2 М NaOH, в течение одного часа позволяет получить полимер с чистотой 98,5 %.

При распылении хлороформа и раствора гипохлорита натрия (Hahn et al., 1994) достигается высокая эффективность очистки с незначительным повреждением полимера. Кроме того, на стадии экстракции большие сложности связаны с проникновением растворителя через клеточные мембраны, особенно это заметно при экстракции влажной биомассы. Растворители, не смешивающиеся с водой, весьма ограниченно проникают в клетку из-за находящейся там влаги. Для облегчения проникновения растворителя на стадии экстракции появляется дополнительная стадия обработки биомассы: подсушивание биомассы в дисковом сепараторе

(патент ФРГ № 4036067), сушка биомассы потоком газа при температуре 100 °С, лиофильная сушка биомассы или её замораживание вместе с метанолом (патент US4391766, US4310684), предварительная обработка сырой биомассы спиртом.

Кроме обезвоживания биомассы важной стадией является разрушение клеточных стенок. Исследования, выполненные в ИБФ СО РАН, показывают, что при экстракции ПГА из сухой биомассы выход продукта не превышает 60 %, значительная часть полимера остаётся в клетках. Можно предположить, что в процессе сушки происходит уплотнение клеточных мембран и закрытие пор, что ограничивает доступ растворителя в клетку. В настоящее время для разрушения клеточной стенки используют различные методы: обработка биомассы ферментами (Karpitchkoff et al., 2006), ультразвуком, применение дисковых дезинтеграторов.

Другим направлением выделения ПГА является экстракция побочных компонентов биомассы. Имеется ряд работ, в которых для этих целей используют различные детергенты – SDS, ES-702, AOS-40b и др. (Yang et al., 2011). ПГА, выделенный таким способом, имеет чистоту около 95 %. Для использования данного продукта для изготовления медицинских изделий требуется очистка путём растворения его в органическом растворителе и его последующее осаждение.

В результате предварительной очистки от побочных компонентов биомассы раствором детергентов и последующем его растворении в органическом растворителе полученный экстракт имеет минимальное содержание примесей и высокое содержание целевого компонента – ПГА. Это значительно упрощает последующую промывку продукта и приводит к снижению расхода растворителя на стадии экстракции. При таком разнообразии

методов и способов выделения ПГА ни один из них пока не является оптимальным.

Разработка эффективных методов выделения полимера из биомассы позволит при большой производительности снизить стоимость ПГА до 3–4 \$ США за 1 кг, что соизмеримо со стоимостью известных биополимеров, таких как полилактиды и алифатические полиэферы. При затратах 50 г биополимера на изготовление одного флакона шампуня он будет дороже аналогичных полипропиленовых емкостей не более чем на 15 центов. Потребители готовы платить эту сумму, учитывая вклад в решение проблем защиты окружающей среды.

Таким образом, технико-экономические оценки свидетельствуют о том, что, в принципе, возможно создание экономически приемлемых крупнотоннажных производств ПГА на различном сырье с использованием как природных, так и рекомбинантных организмов: при этом могут быть реализованы различные типы ферментации (одно-, двустадийные периодические и проточные) с привлечением сырья разной степени восстановленности (от сахаров до октана) и разной способностью растворяться в среде при различных показателях процесса (по величине биомассы в культуре, выходу ПГА, его физико-химическим свойствам, эффективности конверсии сырья

в продукт, полноте экстракции, чистоте полимеров, величине их молекулярной массы и т.д.). В разряд потенциально перспективных для крупнотоннажных производств попадают самые разные процессы, в том числе от синтеза на сахарах и метаноле с выходом полимеров свыше 100–120 г/л при урожае биомассы 150–180 г/л и затратах субстрата 3,5–5,0 т/т до процесса на труднорастворимом и токсичном октане с показателями продуктивности на порядок ниже, но с более эффективным использованием субстрата (до 1 т/т) (Choi, Lee, 1997; 1999; Hazenberg, Witholt, 1997; Braunegg et al., 1998).

Таким образом, использование природных источников энергии и углерода для получения ПГА, производство и применение изделий из данного экологически чистого и разрушаемого в природной среде материала позволят в будущем сократить масштабы накопления тупиковых антропогенных продуктов, коими являются полиолефины и другие синтетические пластмассы. Дальнейшая работа над решением ключевых технологических задач при производстве ПГА позволит значительно сократить расходы на производство килограмма продукта (на всех стадиях процесса), приведёт к его значительному удешевлению, что, в свою очередь, будет способствовать росту спроса на ПГА

Работа выполнена по мегагранту (договор № 11.G34.31.0013) по постановлению Правительства РФ № 220 от 09.04.2010 для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования.

Список литературы

- Волова Т.Г. (2004) Биосинтез на водороде. Новосибирск: Издательство СО РАН, 397 с.
- Волова Т.Г., Шишацкая Е.И. (2011) Биоразрушаемые полимеры: синтез, свойства, применение (ред. Э.Дж. Сински). Красноярск: Красноярский писатель, 300 с.
- Волова Т.Г., Калачева Г.С., Алтухова О.В. (2001) Автотрофный синтез полиоксиканоатов бактериями *Alcaligenes eutrophus* в присутствии моноокси углерода. Микробиология 70: 745-752.

Войнов Н.А., Волова Т.Г. (2003) Технологические параметры культуры водородных бактерий *Ralstonia eutropha*, синтезирующей полиоксикалкоанаты. Прикладная биохимия и микробиология 39: 166-170.

Войнов Н.А., Волова Т.Г. (2004) Кинетические и продукционные характеристики культуры *Ralstonia eutropha*, аккумулирующей полигидроксиалкалкоанаты на продуктах переработки углей. Прикладная биохимия и микробиология. 40(3): 249-252.

Патент РФ № 2051962. Способ культивирования водородокисляющих бактерий. Волова Т.Г., Янголов О.В., Каханов Ю.Г., Коновалов Н.М.

Патент РФ № 2333962. Способ выделения полигидроксибутирата из сухой биомассы микроорганизма. Бонарцева Г.А., Иорданский А.Л. Прудскова Т.Н.

Braunegg G., Lefebvre G., Genser K.F. (1998) Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable sources: physiological and engineering aspects. J. Biotech. 65: 127–161.

Chen G.Q., Zang G., Park S.J., et al. (2001) Industrial scale production of poly(3–hydroxybutyrate–co–3–hydroxyhexanoate). App. Microbiol. Biotechnol. 57: 55–57.

Chen G.Q. (2009) A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio- and materials industry. Chem. Soc. Rev. 38: 2434–2446.

Chen G.Q. (2009a) A polyhydroxyalkanoates based bio- and materials industry. Chem. Soc. Rev. 38: 2434–2446.

Chen G.Q. (2010) Plastics completely synthesized by bacteria: Polyhydroxyalkanoates. In: Plastics from Bacteria: Natural Functions and Applications (Chen G.Q., ed). Microbiology Monographs, Vol. 14. Berlin: Springer, 17–37.

Choi J., Lee S.Y. (1997) Process analysis and economic evaluation for poly(3-hydroxybutyrate) production by fermentation. Bioprocess Eng. 17: 335–342.

Choi J., Lee S.Y. (1999) Efficient and economical recovery of poly-(3-hydroxybutyrate) from recombinant *Escherichia coli* by simple digestion with chemicals. Biotechnol. Bioeng. 62: 546–553.

Choi J., Lee S.Y. (1999) Efficient and economical recovery of poly-(3-hydroxybutyrate) from recombinant *Escherichia coli* by simple digestion with chemicals. Biotechnol. Bioeng. 62: 546–553.

Choi M.H., Yoon S.C., Lenz R.W. (1999) Production of poly(3-hydroxybutyric acid-co-4-hydroxybutyric acid) and poly(4-hydroxybutyric acid) with subsequent degradation by *Hydrogenophaga pseudoflava*. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1570–1577.

Hepner L. (1996) Cost analysis of fermentation processes. Chimia. 50: 442–443.

Hazenberg W., Witholt B. (1997) Efficient production of medium–chain–length poly(3-hydroxyalkanoates) from octane by *Pseudomonas oleovorans*: economic considerations. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48: 588–596.

Hazenberg W., Witholt B. (1997) Efficient production of medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoates) from octane by *Pseudomonas oleovorans*: economic considerations. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48: 588–596.

Hahn S.K., Chang Y.K., Kim B.S., Chang H.N. (1994) Optimization of microbial poly(3-hydroxybutyrate) recovery using dispersion of sodium hypochlorite solution and chloroform. Biotechnol. Bioeng. 44: 256–261.

Ishizaki A., Tanaka K. (2001) Microbial production of poly-D-3-hydroxybutyrate from CO₂. Appl. Microbiol. Biotechnol. 57: 6-12.

Yamane T. (1992) Cultivation engineering of microbial bioplastics production. FEMS Microbiol. Rev. 103: 257–264.

Yamane T. (1993) Yield of poly-D(-)-3-hydroxybutyrate from various carbon sources: a theoretical study. Biotechnol. Bioeng. 41: 165–170.

Yamane T., Fukunage M., Lee Y.W. (1996) Increased PHB productivity by high-cell-density fed-batch culture of *Alcaligenes latus*, a growth-associated PHB producer. Biotechnol. Bioeng. 50: 197–202.

Yang Y.H., Brigham C., Willis L., Rha C., Sinskey A. (2011) Improved detergent-based recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs). Biotechnol Lett. 33: 937-942.

Kapritchkoff F.M., Viotti P.A., Alli R.C.P., Zuccolo M., Pradella J.G.C., Maiorano A.E., Miranda E. A., Bonomi A. (2006) Enzymatic recovery and purification of polyhydroxybutyrate produced by *Ralstonia eutropha*. Journal of Biotechnology 122: 453-456.

Lee S.Y. (1996a) Bacterial polyhydroxyalkanoates. Biotechnol. Bioeng. 49: 1–14.

Lee S.Y. (1996b) Plastic bacteria. Progress and prospects for polyhydroxyalkanoate production in bacteria (Reviews). Tibtech. 14: 431–438.

Lee S.Y. (1996c) High cell density cultivation of *Escherichia coli*. Trends Biotechnol. 14: 90–105.

Lee S.Y. (1998) Poly(3-hydroxyalkanoate) production from xylose by recombinant *E. coli*. Bioprocess Engineering 18: 397–399.

Noda I., Green Ph., Satkowski M. Schechtman, L. A. (2005) Preparation and properties of novel class of polyhydroxyalkanoate copolymers. Biomacromol. 6: 580–586.

Poliakoff M., Noda I. (2004) Plastic bags, sugar cane and advanced vibrational spectroscopy: taking green chemistry to the third world. Green Chem 6: 37–38.

Patent US4358583. Extraction of poly (β-hydroxybutyric acid). J. Wolker, J.R. Whiton

Patent US4391766. Extraction of poly (β-hydroxybutyric acid). P.J. Barham, A. Selwood

Patent DE19712702. Recovery of polyhydroxyalkanoates produced by microbial. T.Sembritski, M. Sela

Patent US4310684. A process for separating poly-beta-hydroxybutyrates from a biomass by extraction using at least one liquid halogenated solvent selected from the group consisting of chloroethanes and chloropropanes. N. Vanlauten, J. Gelain.

Page W.J., Cornish A. (1993) Growth of *Azotobacter vinelandii* UWD in fish peptone medium and simplified extraction of poly-3-hydroxybutyrate. Appl. Environ. Microbiol. 59: 4236–4244.

Sugimoto T., Tanaka K., Ishizaki A. (1999) Control of acetic acid concentration by pH-stat continuous substrate feeding in heterotrophic culture phase of two-stage cultivation of *Alcaligenes eutrophus* for production of P(3HB) from CO₂, H₂ and O₂ under non-explosive conditions. Biotechnol Bioeng. 62: 625-631.

Ramsay J.A., Berger E., Voyer R., Chavarie C., Ramsay B.A., (1994) Extraction of poly-3-hydroxybutyrate using chlorinated solvents. Biotechnol. Tech. 8: 589–594.

Volova T.G., Kalacheva G.S., Altuhova O.V. (2002) Autotrophic synthesis of PHAs by *Ralstonia eutropha* in the presence of carbon monoxide. Appl. Microbiol. Biotechnol. 58: 675-678

Tanaka K., Ishizaki A., Kanamaru T., Kawano T., (1994) Production of poly(D-3-hydroxybutyrate) from CO₂, H₂ and O₂ by high cell density autotrophic cultivation of *Alcaligenes eutrophus*. *Biotechnol Bioeng.* 45: 268-275.

Wang F., Lee S.Y. (1998) High cell density culture of metabolically engineered *Escherichia coli* for the production of poly(3-hydroxybutyrate) in a defined medium. *Biotechnol. Bioeng.* 58: 325–328.

Technical and Technological Foundation of the Production of Degradable Polyhydroxyalkanoates

**Eugeny G. Kiselev^{a,b},
Oleg N. Shishatsky^c and Anthony J. Sinskey^{b,d}**

^a *Institute of Biophysics of SB RAS,
Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russia*

^b *Siberian Federal University,
79 Svobodny, Krasnoyarsk 660041, Russia*

^c *Krasnoyarsk Department for Forecasting
and Economic Development
of the Region at Institute of Economics
and Industrial Engineering SB RAS*

Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036 Russia

^d *Massachusetts Institute of Technology,
Cambridge, MA 02139, USA*

The study analyzes polyhydroxyalkanoate (PHA) market and the history of global production of PHAs. It assesses potential of the establishment of the production of PHA-based high technology products. The main production phases that exert the most significant influence on the product cost have been characterized, and ways to decrease PHA cost have been discussed.

Keywords: biopolymers, polyhydroxyalkanoates, cost, substrates, synthesis gas.
