http://pmse.scu.edu.cn

# 聚丁二酸丁二醇酯和聚辛二酸丁二醇酯及聚(丁二酸-*co*-辛二酸丁二醇)共聚酯的酶促降解

刘姝宁，宋 力，苏婷婷
（辽宁石油化工大学 石油化工学院，辽宁 抚顺 113001）

**摘要：**以1,4-丁二醇与不同链长二元酸单体为原料，合成了聚丁二酸丁二醇酯（PBS）和聚辛二酸丁二醇酯（PBSub）2种均聚酯和4种不同比例聚(丁二酸-*co*-辛二酸丁二醇)共聚酯。以上述6种聚酯为降解底物，利用角质酶对其进行降解研究。通过衰减全反射傅里叶变换红外光谱、核磁共振波谱仪、差示扫描量热仪、X射线衍射仪和热重分析仪等对聚酯及其降解产物进行表征分析。6种聚酯的晶体结构、熔点、结晶度和热稳定性变化不大。研究表明，聚酯的结晶度和熔点温度是影响其酶降解的重要因素。角质酶降解共聚酯的结晶区和非结晶区，但优先降解非结晶区。丁二酸/辛二酸投料摩尔比为4/6和6/4的降解效果最好，但摩尔比为6/4的样品熔点较高，为最佳比例。

**关键词：**聚(丁二酸-*co*-辛二酸丁二醇)；角质酶；降解
**中图分类号：**TQ323.4 **文献标识码：**A **文章编号：**1000-7555（2024）01-0066-08

随着科学的进步和经济的发展，塑料的使用范围和应用种类愈加广泛，但对环境的污染也愈发严重。近年来，生物可降解塑料是高分子材料行业未来的发展趋势[1,2]。现阶段可降解塑料根据分解的条件或机理可以分为4个大类，分别是生物降解塑料、光降解塑料、氧化降解塑料及水解降解塑料。其中，生物降解塑料中聚丁二酸丁二醇酯（PBS）是目前产能较多的可降解塑料。关于PBS降解的研究近年来国内外已有开展。Kim等从海洋环境中分离出了具有降解PBS能力的土地芽孢杆菌SP.JY49（Terribacillus sp. JY49）[3]，白桢慧使用角质酶分别降解PBS、聚乙二酸丁二醇酯（PBA）和PBSub聚酯，发现上述聚酯的$CH_2$/CO比、形貌和力学性能对其降解效果有一定影响[4]。本文直接采用本实验微生物发酵纯化获得的角质酶对合成的6种具有不同生物降解性能的PBS基聚酯进行降解[5]，分析角质酶对6种聚酯降解的酶促降解行为，考察聚酯的结晶度（$X_c$）和熔点温度（$T_m$）对该酶降解过程的影响，确定降解前后聚酯的差异。对PBS基脂肪族聚酯的酶降解情况进行了补充，为其在未来的生产应用提供更多理论支撑。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

1,4-丁二醇（BDO）、丁二酸（SA）、辛二酸（SbA）、十氢化萘、钛酸异丙酯（TTIP）、氯化亚锡：分析纯，购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司；甲醇（$CH_3OH$）：分析纯，购于国药集团化学试剂有限公司；三氯甲烷（$CHCl_3$）：分析纯，购于天津富宇精细化工有限公司；十二水磷酸氢二钠($Na_2HPO_4\cdot 12(H_2O)$)、二水磷酸二氢钠（$NaH_2PO_4\cdot 2H_2O$）：分析纯，购于上海沪试化学试剂有限公司；角质酶：本实验室自制[5]。将对丁二酸/辛二酸投料摩尔比分别为10:0，8:2，6:4，4:6，2:8和0:10的6种样品分别表示为PBS，

doi:10.16865/j.cnki.1000-7555.2024.0016
收稿日期：2023-04-06
基金项目：辽宁省兴辽英才计划(XLYC180734)
通讯联系人：苏婷婷，主要从事塑料的生物降解研究，E-mail: sutingting1978@126.com

P(BS-*co*-20% BSub),P(BS-*co*-40% BSub),P(BS-*co*-60% BSub),P(BS-*co*-80% BSub)和PBSub。

衰减全反射傅里叶变换红外光谱仪(ATR-FTIR):Agilent Cary 660型,美国Agilent Technologies有限公司;差示扫描量热仪(DSC):Q20型,美国TA公司;X射线衍射仪(XRD):D8 Advance,德国Bruker公司;热重分析仪(TG):Q600型,美国TA公司;扫描电子显微镜(SEM):SU8010,日本日立公司。

### 1.2　实验过程

按照文献[6]中报道的方法,通过酯化和缩聚两步反应,合成PBS、聚辛二酸丁二醇酯(PBSub)和P(BS-*co*-BSub)共聚酯。将6种聚酯薄膜(30 mm×10 mm×0.3 mm)烘干后称量,质量数记为$m_0$。将薄膜放于角质酶浓度为3.6 U/mL、pH值为7.4的磷酸缓冲液中,环境温度为37 ℃的条件下保存,定时将聚酯薄膜取出,清洗、真空干燥24 h后称量,质量数记为$m_1$,根据式(1)计算失重率($R$)

$$R=(m_0-m_1)/m_0 \quad (1)$$

### 1.3　测试与表征

**1.3.1**　红外分析:采用ATR-FTIR对所制备的材料样品进行红外分析。扫描范围为500~4000 $cm^{-1}$,扫描次数为32次,分辨率为4 $cm^{-1}$。

**1.3.2**　DSC分析:测试样品质量7 mg,在$N_2$氛围下,流速50 mL/min,以10 ℃/min速率从30 ℃升温至150 ℃,达到150 ℃后保持5 min,后以相同速率降至0 ℃,达到0 ℃后保持5 min,再以相同速率升至150 ℃。

**1.3.3**　XRD分析:在电压40 kV、电流200 mA的条件下,射线源为铜CuKα($\lambda$=0.1541 nm),测试温度为25 ℃,扫描速度为5 (°)/min,范围为5°~50°进行物相分析。

**1.3.4**　TG分析:测试样品质量10 mg,测试气氛为$N_2$,流速30 mL/min,以10 ℃/min的速率从30 ℃升温至500 ℃。

**1.3.5**　SEM分析:经过角质酶降解2 h至20 h后对其进行喷金处理,观察不同比例的丁二酸/辛二酸薄膜,加速电压为10 kV。

## 2　结果与讨论

### 2.1　聚酯的酶促降解

Fig.1是角质酶降解过程中6种聚酯薄膜的失重曲线。由Fig.1可知,上述聚酯降解的初始阶段速率较快,继而逐渐变慢,最终趋于平缓。这种现象出现的原因是,在聚酯降解初始阶段,缓冲溶液中有酶反应的最适温度和酸碱度,因此降解速率较快;随着降解时间延长,磷酸缓冲液中弥漫的低聚物和小分子物质增多,薄膜存在的环境发生改变,破坏了酶降解所需的适宜条件,使聚酯的降解速率下降。从Fig.1可以看出,经过8 h的降解,P(BS-*co*-40% BSub)和P(BS-*co*-60% BSub)的降解速率最高。研究表明,当聚酯中引入SbA单元的亚甲基数量更多时,会导致分子间的作用力降低,从而影响聚酯的熔点温度,提高降解性能[7]。比较上述6种聚酯的降解情况可以看出,当聚酯二酸中SA单元被少量SbA单元代替时,其对PBS基聚酯分子链结构的影响甚微,其结构依然十分紧密,不益于角质酶对其"侵蚀",对酶的降解效果影响不大;当引入SbA的含量增多时,SbA单元对PBS基聚酯分子链结构的影响扩大,使聚酯分子结构变得松散、杂乱,便于酶在聚酯的酯键上"附着",进而加速降解。上述6种P(BS-*co*-BSub)聚酯降解速率由快到慢的顺序为P(BS-*co*-60% BSub)≈P(BS-*co*-40% BSub)>P(BS-*co*-20% BSub)≈P(BS-*co*-80% BSub)>PBSub>PBS。另外,研究表明角质酶降解聚酯速率的大小,还与酯基密度、酶的附着与识别位点有关[8]。

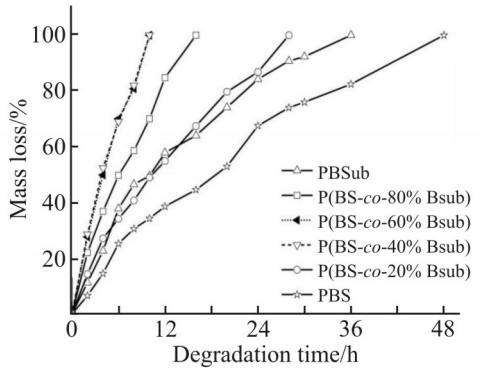



**Fig. 1 Degradation curves of P(BS-*co*-BSub)**

### 2.2　聚酯降解的形态学观察

聚酯酶解SEM图如Fig.2所示。原本平滑的聚酯经过酶促降解2 h后,表面逐渐开始变化,变得粗糙且凹凸,并且可以观察到薄膜表面出现了较小的

裂缝和孔洞。随着反应的深入，聚酯表面的裂缝变深、孔洞变大，侵蚀作用更加明显。通过SEM图可以看出，在降解的最后，聚酯表面已经被严重侵蚀，这与Fig.1中失重率的变化相对应。研究表明，聚酯材料的球晶纤维堆积得越密集，其酶促降解速率越慢[9]。在酶降解2~8 h时，由于2种均聚酯由球晶堆积密集的纤维填充，酶及小分子不易进入到薄膜内部，表现出降解速率较低，所以Fig.1中$R$的变化不明显；由于P(BS-*co*-BSub)共聚酯中SbA含量较高，其纤维结构的堆积粗糙且松散，酶等小分子物质更易于侵入膜内，以较短时间降解到薄膜深层，这对应于上述聚酯在Fig.1中失重率变化较快的情况。

### 2.3 聚酯降解的热性能

聚酯降解前后结晶度、熔点温度的变化情况见Tab.1。聚酯薄膜的结晶度和熔点温度对聚酯的酶促降解效果具有重要影响[10,11]。研究表明，当酶的降解温度接近聚酯的熔点温度时，聚酯材料酶促降解的速率会加快[12]。由于P(BS-*co*-60% BSub)的熔点温度为33.9 ℃，与本实验角质酶的反应最适温度37 ℃最为接近，因此该聚酯的降解速率较快；而均聚酯PBS由于其熔点温度较高，与本实验所用角质酶的反应最适温度相差最大，这解释了该聚酯降解速率较慢的原因。研究表明，聚酯的结晶度与酶解效果有关，结晶度越低，酶降解效果越明显[13]。共聚酯P(BS-*co*-60% BSub)具有最适宜酶促降解作用进行的$X_c$和$T_m$，因此从Fig.1可以看出，其表现出的降解速率最大。P(BS-*co*-60% BSub)与P(BS-*co*-40% BSub)2种共聚酯的酶降解速率相似，而二者的$T_m$分别34.2 ℃和69.6 ℃，$X_c$分别为23.2%和28.7%，这说明2种聚酯的$T_m$和$X_c$对酶降解的影响十分重要。从Tab.1来看，上述聚酯的$T_m$和$X_c$表现出先略微降低后升高的趋势，主要是因为本文所用的角质酶是经过重组的，该酶对聚酯的降解效果更佳。但不能确定角质酶降解聚酯结晶区、非晶区的顺序，需要在接下

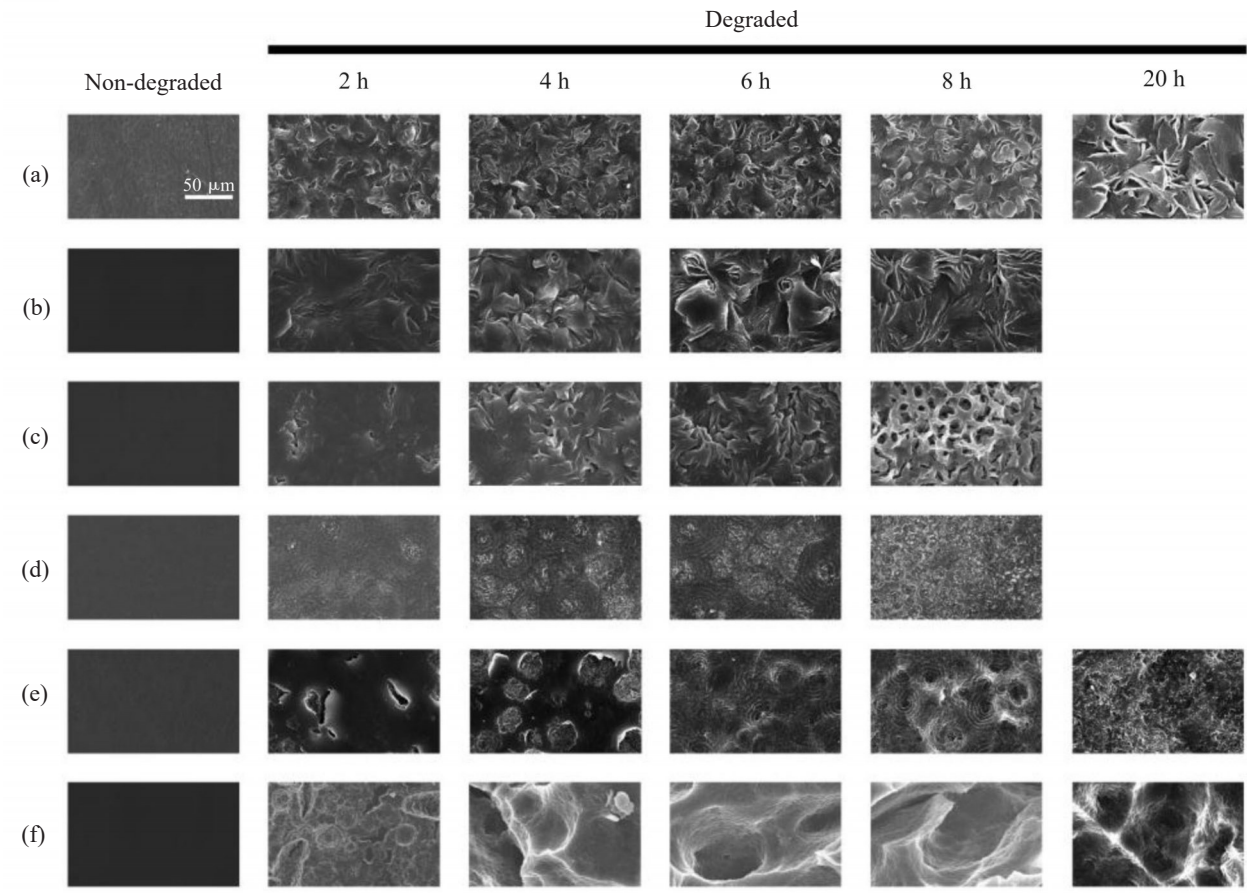



**Fig. 2 SEM images of PBSub(a), P(BS-*co*-80% BSub)(b), P(BS-*co*-60% BSub)(c), P(BS-*co*-40% BSub)(d), P(BS-*co*-20% BSub(e) and PBS(f) degraded for different time**

来的*X*射线衍射谱仪分析和红外分析部分进一步阐述。

### 2.4　聚酯降解的结晶结构

Fig.3是6种聚酯在降解不同时间的XRD图，Tab.1列出了聚酯在降解不同时间下的$X_c$的变化。在降解后，6种聚酯衍射峰的形状和位置与降解之前

**Tab. 1　Thermodynamic parameters of P(BS-*co*-BSub)s polyester degradation at different time**

| Polyester | Degradation time/h | $T_m$/°C | $\Delta H_m$/(J·g$^{-1}$) | $X_c$/% |
|---|---|---|---|---|
| PBSub | 0 | 57.5 | 46.5 | 55.3 |
| | 2 | 57.3 | 32.7 | 49.8 |
| | 4 | 58.1 | 47.8 | 48.5 |
| | 6 | 56.8 | 47.1 | 49.7 |
| | 8 | 56.8 | 47.0 | 48.9 |
| | 20 | 56.9 | 40.0 | 50.7 |
| P(BS-*co*-80% BSub) | 0 | 45.6 | 37.8 | 49.5 |
| | 2 | 45.4 | 36.7 | 49.5 |
| | 4 | 45.0 | 35.7 | 46.3 |
| | 6 | 45.5 | 34.5 | 48.3 |
| | 8 | 45.3 | 37.6 | 47.7 |
| | 20 | 45.6 | 38.8 | 47.0 |
| P(BS-*co*-60% BSub) | 0 | 33.9 | 29.5 | 43.2 |
| | 2 | 32.7 | 27.2 | 41.5 |
| | 4 | 31.6 | 28.4 | 41.6 |
| | 6 | 33.2 | 29.8 | 39.5 |
| | 8 | 32.6 | 26.3 | 39.4 |
| P(BS-*co*-40% BSub) | 0 | 68.0 | 28.4 | 44.2 |
| | 2 | 68.0 | 13.2 | 45.3 |
| | 4 | 67.9 | 19.3 | 45.2 |
| | 6 | 69.9 | 26.5 | 47.6 |
| | 8 | 68.0 | 21.6 | 46.2 |
| P(BS-*co*-20% BSub) | 0 | 80.9 | 38.9 | 45.5 |
| | 2 | 92.1 | 38.4 | 44.6 |
| | 4 | 89.5 | 27.8 | 45.4 |
| | 6 | 89.2 | 36.6 | 44.7 |
| | 8 | 90.6 | 41.6 | 46.1 |
| | 20 | 91.4 | 24.5 | 46.2 |
| PBS | 0 | 114.8 | 54.1 | 52.6 |
| | 2 | 114.9 | 45.1 | 52.1 |
| | 4 | 114.2 | 46.3 | 51.1 |
| | 6 | 114.3 | 45.0 | 50.1 |
| | 8 | 114.3 | 38.7 | 49.7 |
| | 20 | 114.2 | 42.2 | 46.3 |

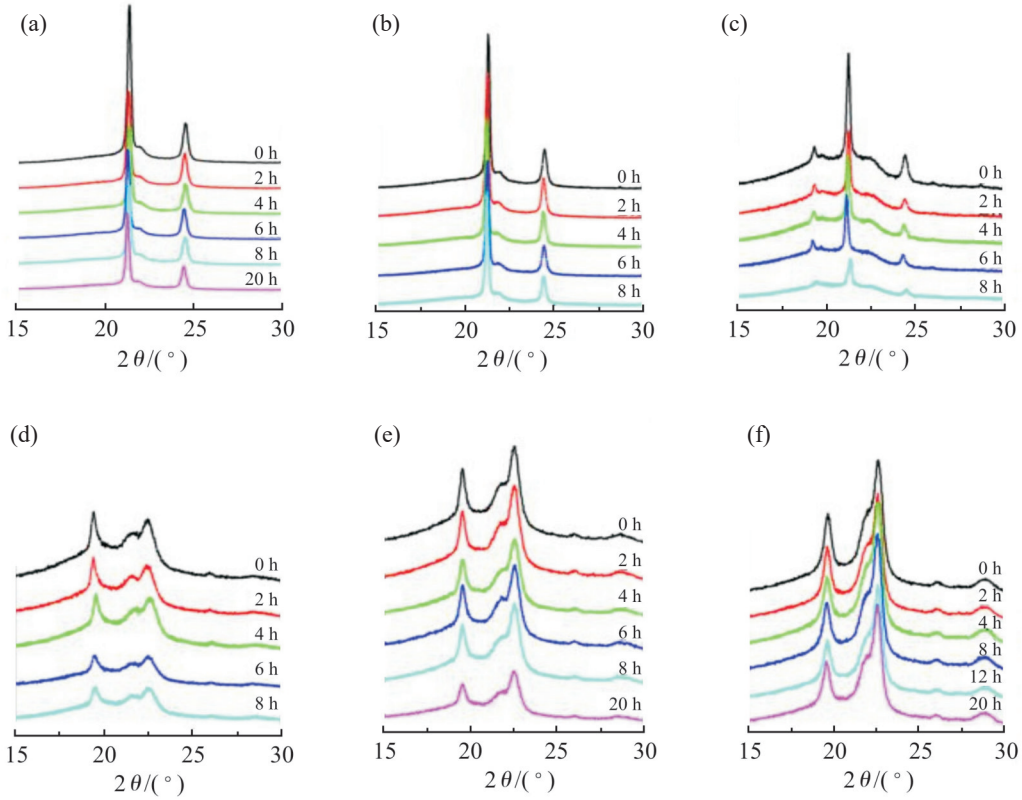



**Fig. 3 XRD patterns of PBSub(a), P(BS-*co*-80% BSub)(b), P(BS-*co*-60% BSub)(c), P(BS-*co*-40% BSub)(d), P(BS-*co*-20% BSub) (e) and PBS(f) degraded for different time**

相比基本没有变化，依旧是共聚酯的非晶区较多。这表示上述共聚酯在酶的作用下，其晶体结构没有发生明显变化，而共聚酯的失重率明显高于均聚酯，因此可以证明角质酶降解非晶区效果更好，也解释了共聚酯峰强尽管也会变弱但变化幅度不明显。这与之前研究所得到的结论相似[14]。观察不同降解时间各聚酯的XRD特征峰可以看出，均聚酯的XRD衍射峰强度随着反应的进行而变弱，共聚酯P(BS-*co*-BSub)的XRD衍射峰强度变弱的幅度更为明显。这一现象解释了在角质酶对各聚酯酶水解后，聚酯的$X_c$逐渐降低的现象[15]。

## 2.5 聚酯降解的化学结构

Fig.4为6种聚酯在降解不同时间的ATR-FTIR光谱图。PBS基聚酯酶促降解主要发生在位于1710~1730 $cm^{-1}$的$\upsilon_{C=O}$吸收峰和位于1046~1255 $cm^{-1}$的$\upsilon_{C-O}$吸收峰。以P(BS-*co*-80 %BSub)的红外谱图为例，在波数为1726 $cm^{-1}$和1159 $cm^{-1}$处的1个$\upsilon_{C=O}$伸缩振动峰和$\upsilon_{C-O}$的伸缩振动峰，随着降解时间的延长，虽然聚酯分子中的C=O和C—O基团的伸缩振动频率基本没有变化，但它们伸缩振动的强度却逐渐下降。这表明在聚酯的降解过程中，C=O和C—O含量减少，酶水解作用破坏了聚酯分子相应的分子结构。与P(BS-*co*-BSub)共聚酯相比，PBS和PBSub均聚酯在上述频率下峰强的变化幅度更大，上述区域的特征峰强会变弱但变化不大；而均聚酯的非晶区较少，故酶降解作用于非晶区时，也会降解结晶区。这也进一步解释了DSC部分的结论。

## 2.6 聚酯降解的热稳定性能

6种聚酯在不同降解时间的热分解曲线如Fig.5所示。可以看出，酶降解20 h后，均聚酯PBS的热分解温度($T_d$)降低了7.2 ℃，而PBSub的$T_d$基本没有变化；酶降解8 h后，共聚酯P(BS-*co*-60% BSub)和P(BS-*co*-40% BSub)的$T_d$分别降低了43.1 ℃和41.4 ℃。研究表明，随着酶降解时间的延长，上述酯键的断裂将聚酯分子降解成许多寡聚物和小分子片段，聚酯在热分解过程中所要吸收的键能减少，使聚酯的$T_d$降低[16]。P(BS-*co*-80% BSub)和P(BS-*co*-20% BSub)的$T_d$分别升高了14.5 ℃和8.9 ℃，这说明聚酯

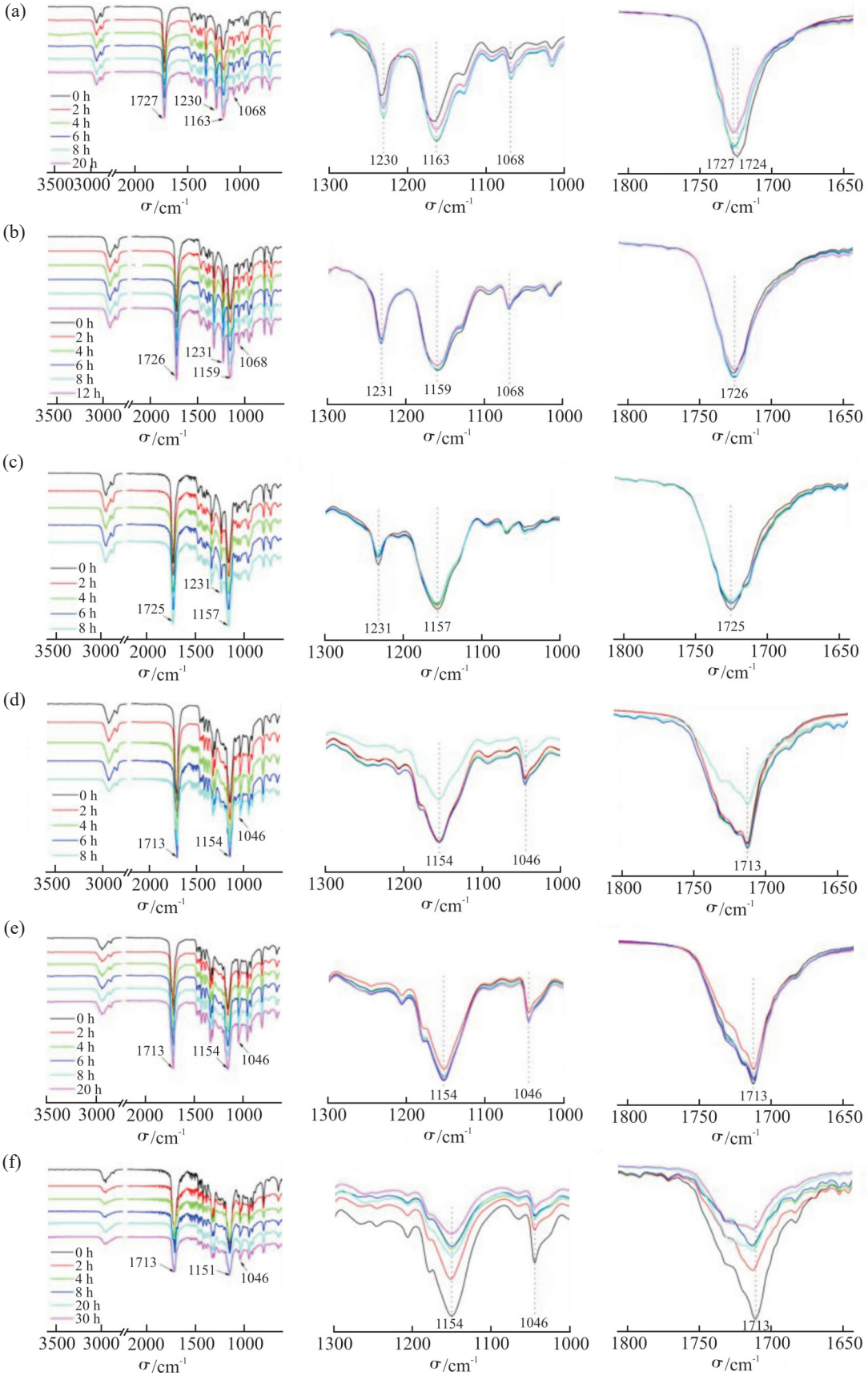



**Fig. 4 ATR-FTIR of PBSub(a), P(BS-*co*-80% BSub)(b), P(BS-*co*-60% BSub)(c), P(BS-*co*-40% BSub)(d), P(BS-*co*-20% BSub)(e) and PBS(f) degraded for different time**

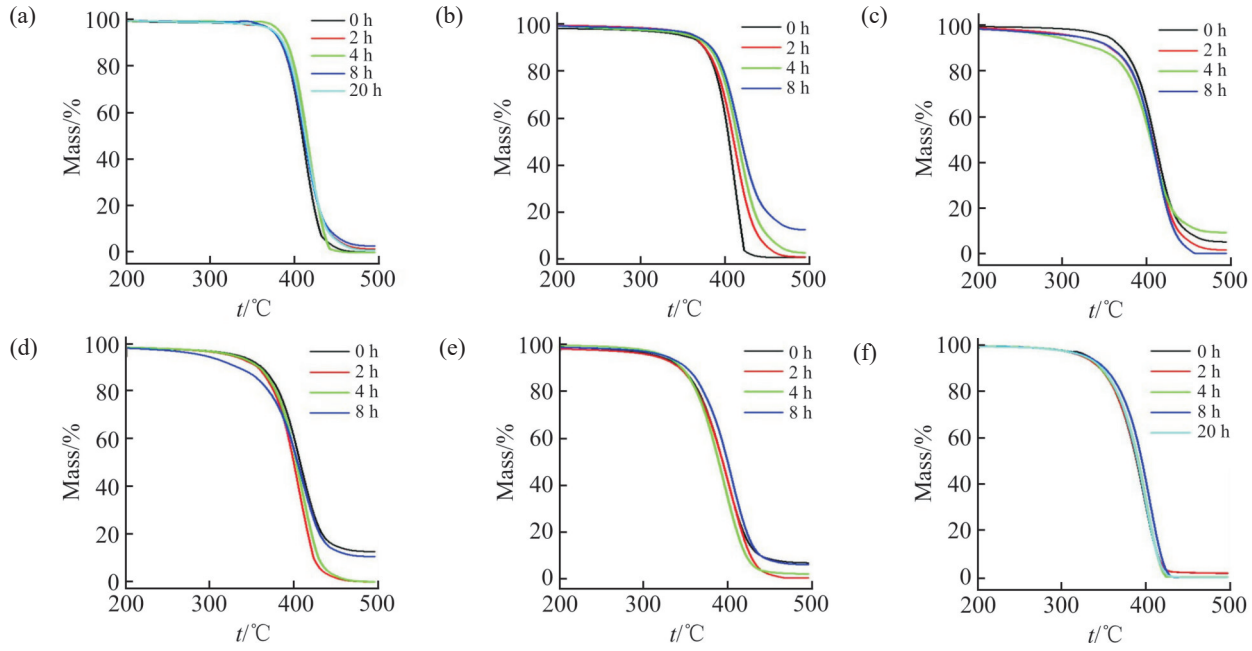



**Fig. 5 TG curves of PBSub(a), P(BS-*co*-80% BSub)(b), P(BS-*co*-60% BSub)(c), P(BS-*co*-40% BSub)(d), P(BS-*co*-20% BSub)(e) and PBS (f) degraded for different time**

分子降解可能发生在非晶区，使结晶区暴露，结晶度略微提高，热稳定性提升，但对其分子的结构影响不大。这与DSC分析结果一致。

## 3 结论

本文对6种不同丁二酸/辛二酸比例的均聚酯和共聚酯的角质酶酶水解行为进行了研究。证明了当在聚酯分子链中引入更多柔性分子链时，角质酶在共聚酯表面的附着能力增强，聚酯的生物降解性能更加优良。其中，P(BS-*co*-60% BSub)的熔点为33.9 ℃，与本文所用的角质酶的反应最适温度37 ℃最接近，该聚酯降解速率较快。通过对降解前、后聚酯薄膜的DSC，XRD，ATR-FTIR等测试表明，在降解不同时间后其晶体结构、熔点、结晶度和热稳定性变化不大，无论共聚酯还是均聚酯，尽管其结晶度不同，其结晶区及非晶区还是会被角质酶所降解，但优先降解非晶区。综上，丁二酸/辛二酸不同比例的共聚酯均具有良好的降解性能，在纺织、包装、农业材料等方面具有广阔的应用前景。

**参考文献：**

[1] 史可,张晶,苏婷婷,等.生物可降解塑料的改性研究进展[J].化工新型材料,2019,47(4):29-33.
Shi K, Zhang J, Su T T, *et al.* Modification progress of biodegradable plastics[J]. New Chemical Materials,2019,47(4): 29-33.

[2] 柳伟.一种新型水溶性聚酯的合成及性能研究[J].辽宁石油化工大学学报, 2019, 39(1): 19-24.
Liu W. Synthesis and characterization of water-based polyester [J]. Journal of Liaoning Petrochemical University,2019,39(1):19-24.

[3] Kim S H. Acceleration of polybutylene succinate biodegradation by *Terribacillus* sp. JY49 isolated from a marine environment[J]. Polymers, 2022, 14: 3978-3978.

[4] 白桢慧. 脂肪族聚酯单体组成与生物降解性能关系的研究[D]. 抚顺: 辽宁石油化工大学,2019.
Bai Z H. Correlation between monomers and enzymatic hydrolysis of aliphatic polyesters[D]. Fushun: Liaoning Petrochemical University, 2019.

[5] Hu X Y, Gao Z Y, Wang Z Y, *et al*. Enzymatic degradation of poly (butylene succinate) by cutinase Cloned from Fusarium solani[J]. Polymer Degradation and Stability, 2016, 134: 211-219.

[6] 杨锦, 宋力, 苏婷婷. 聚丁二酸-辛二酸丁二醇酯的合成与酶促降解性能[J]. 高分子材料科学与工程, 2022, 38(12): 131-136.
Yang J, Song L, Su T T. Synthesis and enzymatic degradation of polybutylene succinate-suberate[J]. Polymer Materials Science & Engineering,2022,38(12):131-136.

[7] Giorgio M, Paola R. Synthesis and enzymatic degradation of aliphatic copolyesters[J]. Polymer Degradation and Stability,

2000, 70: 305-314.

[8] 张敏, 马晓宁, 李成涛, 等. PBS基共聚酯P(BS-*co*-Pe D)、P(BS-*co*-GA)的降解差异性研究[J]. 陕西科技大学学报, 2018, 36(2): 63-67.
Zhang M, Ma X N, Li C T. Study on the degradation differences of PBS-based copolymers P(BS-*co*-PeD) and P(BS-*co*-GA)[J]. Journal of Shaanxi University of Science & Technology,2018,36(2):63-67.

[9] Tansengco M L, Tokiwa Y. Thermophilic microbial degradation of poly (ethylene succinate)[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1997, 14: 133-138.

[10] 慕昕昱. 聚(4-羟基丁酸酯)的结晶行为与降解性能调控[D]. 北京: 北京化工大学, 2022.
Mu X Y. Regulation of crystallization and degradation behaviors of poly(4-hydroxybutypate)[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2022.

[11] Wang S G, Qiu B. Polycaprolactone-poly (ethylene glycol) block copolymer, I: synthesis and degradability in vitro[J]. Polymers for Advanced Technologies, 1993, 4: 363-366.

[12] Abou-Zeid D M, Müller R J, Deckwer W D. Biodegradation of aliphatic homopolyesters and aliphatic aromatic copolyesters by anaerobic microorganisms[J]. Biomacromolecules, 2004, 5: 1687-1697.

[13] Cho K, Lee J, Kwon K. Hydrolytic degradation behavior of poly (butylene succinate)s with different crystalline morphologies[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2015, 79: 1025-1033.

[14] 黄辰昊,宋力,苏婷婷,等. 聚丁二酸-己二酸丁二醇酯的合成与表征[J]. 中国塑料,2023,37(5):34-39.
Huang C H, Song L, Su T T. Synthesis and characterizations of poly(butylene succinate-*co*-butylene adipate)[J]. China Plastics, 2023,37(5):34-39.

[15] 白桢慧, 苏婷婷, 王战勇. 羧基单体对脂肪族聚酯性能的影响[J]. 高分子材料科学与工程, 2019, 35(6): 10-15.
Bai Z H, Su T T, Wang Z Y. Effect of carboxyl monomer on properties of aliphatic polyester[J]. Polymer Materials Science & Engineering, 2019, 35(6):10-15.

[16] Bikiaris D N, Karayannidis G P. Effect of carboxylic end groups on thermooxidative stability of PET and PBT[J]. Polymer Degradation and Stability, 1999, 63: 213-218.

# Enzymatic Hydrolysis of Polybutylene Succinate, Polybutylene Suberic Acid and Poly(butylene succinate-co-butylene suberate)

Shuning Liu, Li Song, Tingting Su

(*School of Petrochemical Engineering, Liaoning University of Petrochemical Technology, Fushun 113001, China*)

**ABSTRACT:** Two kinds of homopolyesters, polybutylene succinate (PBS) and polybutylene octoate (PBSub), and four kinds of poly(butylene succinate-co-butylene suberate) copolyesters with different ratios, were synthesized from 1,4-butanediol and different chain length dicarboxylic acid monomers. Using the above six types of polyester as degradation substrate, the degradation of them was studied using keratinase. The polymers and their degradation products were characterized and analyzed by attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy, differential scanning calorimetry, X- ray diffraction, and thermogravimetric analysis. The crystal structure, melting point, crystallinity, and thermal stability of the six polyesters have little change. Research show that crystallinity and melting point temperature of polyester are important factors impacting enzymatic degradation of polyester. The degradation of the copolyesters by keratinase arises in the crystalline and amorphous regions, but the amorphous regions are degradating priority. The degradation effect is best when the mole ratio of succinic acid to octanedioic acid is 4/6 and 6/4, but the sample with a mole ratio of 6/4 has a higher melting point, which is the best ratio.

**Keywords:** poly(butylene succinate-co-butylene suberate); keratinase; degradation