

中华人民共和国国家标准

GB/T ××××—××××

生物制造聚羟基烷酸酯

Polyhydroxyalkanoates (PHA) by biomanufacturing

(报批稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由国家标准化管理委员会提出。

本标准由全国生物基材料及降解制品标准化技术委员会（SAC/TC380）归口。

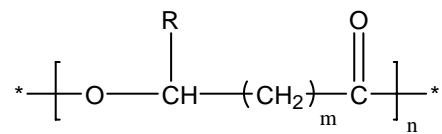
本标准由宁波天安生物材料有限公司、北京工商大学、天津国韵生物材料有限公司、国家塑料制品质量监督检验中心（北京）等单位负责起草。

本标准主要起草人：张敏、沈华、陈学军、张谦、侯哲、李字义。

引 言

以天然植物原料为主要原料，利用生物发酵工程技术生产的聚羟基烷酸酯（Polyhydroxyalkanoates简称PHA），通过改变菌种、碳源和培养过程中的条件控制，可制备不同结构的PHA，满足各种功能需要。

PHA是一类材料的总称，其结构通式可表达为：



其中：m=1, 2或3，大多数情况下，m=1，即3-羟基烷酸酯（3-HA）；当R=甲基时，PHA为聚-3-羟基丁酸酯（PHB）；当R=乙基时，为聚-3-羟基戊酸酯（PHV）；当R=丙基时，为聚-3-羟基己酸酯（PHH）……。已发现的最大的R基为壬基，即单体为3-羟基十二酸。m=2，无支链，PHA为聚-4-羟基丁酸酯（P-4HB），同时，控制培养条件和碳源，细菌还能产生两种或两种以上单体形成的共聚物如聚-3-羟基-丁酸-戊酸酯（PHBV）、聚-3-羟基丁酸-己酸酯（PHBH）、聚-3-羟基丁酸-4-羟基丁酸酯（P（3, 4HB））、PHBVH（聚-3-羟基丁酸-3-羟基戊酸-3-羟基己酸酯）等等。

生物制造聚羟基烷酸酯（PHA）

1 范围

本标准规定了聚羟基烷酸酯（Polyhydroxyalkanoates, 以下缩写PHA）产品的要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存。

本标准适用于采用微生物发酵法生产的PHA家族中的聚-3-羟基丁酸酯（PHB）、聚-3-羟基-丁酸-戊酸酯（PHBV）（HV≤12%）、聚-3-羟基丁酸-己酸酯（PHBH）（HH≤15%）、聚-3-羟基丁酸-4-羟基丁酸酯（P（3, 4HB））（4HB≤15%）。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 1033.3-2010 塑料 非泡沫塑料密度的测定 第3部分：气体比重瓶法

GB/T 1632.1-2008 塑料 使用毛细管粘度计测定聚合物稀溶液粘度 第1部分：通则

GB/T 3682-2000 热塑性塑料熔体质量流动速率和熔体体积流动速率的测定（ISO 1133:1997 IDT）

GB/T 8885-2008 食用玉米淀粉

GB/T 9345.1-2008 塑料 灰分的测定 第1部分：通用方法

GB/T 19276.1-2003 水性培养液中材料最终需氧生物分解能力的测定——采用测定密闭呼吸计中需氧量的方法（ISO 14851:1999 IDT）

GB/T 19276.2-2003 水性培养液中材料最终需氧生物分解能力的测定——采用测定释放的二氧化碳的方法（ISO 14852:1999 IDT）

GB/T 19277-2003 受控堆肥条件下材料最终需氧生物分解和崩解能力的测定——采用测定释放的二氧化碳的方法（ISO 14855:1999 IDT）

GB/T 14190-2008 纤维级聚酯切片（PET）试验方法

GB/T 19466.3-2004 塑料 差示扫描量热法（DSC）第3部分：熔融和结晶温度及热焓的测定

SN/T 3003-2011 塑料 聚合物的热重分析法(TG) 一般原则（ISO 11358:1997 IDT）

要求

3.1 感官

PHA为白色粉末，无明显异味。

3.2 理化指标

PHA质量标准应符合表1中规定。

表 1 PHA 理化指标

项目	要求			
	PHB	PHBV (HV≤12%)	P (3, 4HB) (4HB≤15%)	PHBH (HH≤15%)
水分及挥发物, %	≤	0.50		
氯仿不溶物, %	≤	2.50		

含氮量, %	≤	0.25		
灰分, %	≤	0.30		
密度, g/cm ³		1.22~1.25	1.18~1.28	1.10~1.20
相对生物分解率, %	≥	90		
熔体质量流动速率, g/10min		1~5	1~5	1~10
特性粘度, dL/g	氯仿溶剂 ≥	2.8	2.8	1.6
	混合溶剂 ≥	3.5	3.5	2.8
熔融温度, °C		165~180	165~180	110~160
热分解温度 ^a , °C	≥	240	240	240
有机溶剂含量 ^b , mg/kg		不得检出		
注: ^a 热失重质量损失为5%的温度。				
^b 以含卤素的有机化合物、醛类和二甲基甲酰胺含量计, 主要种类参见附录A。				

4 试验方法

4.1 水分及挥发物

4.1.1 试验仪器

试验仪器包括有:

- 称量皿: 直径90mm, 高度大于15mm的带盖称量皿;
- 电热鼓风干燥箱: (90±1°C);
- 分析天平: 0.0001g。

4.1.2 测定方法

称取3g左右PHA粉料样品, 放入烘干至恒重的称量皿内, 在90°C电热鼓风干燥箱内烘4h, 放入干燥器中冷却至室温后称重, 再放入电热鼓风干燥箱内烘0.5h, 冷却后称重, 直至前后两次称量之差≤0.0003g, 即为恒重, 记下最终的称量结果。

4.1.3 结果计算

按公式(1)计算:

$$X_1 = [M - (M_1 - M_2)] / M \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中:

- X_1 —水分及挥发物, %;
- M —称取PHA的质量, 单位为克(g);
- M_1 —烘干后已恒重PHA和称量皿的共同质量, 单位为克(g);
- M_2 —已恒重称量皿的质量, 单位为克(g)。

4.2 氯仿不溶物

4.2.1 试剂及仪器

试剂及仪器包括有:

- 氯仿(三氯甲烷)(AR);
- 具塞磨口三角瓶: 100 mL;
- 3号砂芯漏斗: 60 mL;
- 球形玻璃冷凝管;
- 抽滤瓶: 1000 mL;
- 恒温水浴锅: (64±0.5°C);
- 真空泵: (最大真空度 0.98MPa);
- 电热鼓风干燥箱: (90±1°C);
- 分析天平: 0.0001g;
- 容量瓶: 50mL。

4.2.2 测定方法

a) 把3号砂芯漏斗放入90℃电热鼓风干燥箱内烘干至恒重，记下为 M_3 。

b) 称取4.1.2中的烘干样PHA约0.3g（精确至0.0001g），记为 M_0 ，放入磨口三角瓶中，再加入50 ml三氯甲烷，连接好球形玻璃冷凝管，在64℃水浴锅中回流2h，撤下球形玻璃冷凝管。（必要时，可采用100ml耐压瓶，代替磨口三角瓶，在90℃水浴锅加热2h）。

c) 将上述溶解好的溶液倒入a)中的3号砂芯漏斗中，用真空泵抽滤，用少量三氯甲烷将磨口三角瓶冲洗2次，并倒入砂芯漏斗中抽滤至干。

d) 把抽滤过的砂芯漏斗放入90℃干燥箱内烘2 h，放入干燥器中，冷却后称重，记下质量为 M_4 。

4.2.3 结果计算

结果按公式（2）计算：

$$X_2 = [(M_4 - M_3) / M_0 \times (1 - X_1)] \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

式中：

X_2 ——不溶物含量，%；

X_1 ——水分及挥发物，%

M_4 ——抽滤过的砂芯漏斗烘干的质量，单位为克（g）；

M_3 ——砂心漏斗的质量，单位为克（g）；

M_0 ——称取干燥的PHA质量，单位为克（g）。

4.3 含氮量

按GB/T 8885-2008 食用玉米淀粉中4.5方法测定。选用0.025mol/L硫酸标准溶液（按GB 601配制与标定）。

4.4 灰分

按GB/T 9345.1-2008方法测定。所取的试样量为10~15g，灼烧温度为750±25℃，在灼烧前需进行预灰化，即把坩埚放在电热板上小心加热（注意不能产生明火），直至样品完全碳化。

4.5 特性粘度

4.5.1 氯仿溶剂

按GB/T 1632.1-2008方法测定。使用PHA氯仿不溶物测定方法中的抽滤液10mL，使用毛细管内径为0.4~0.5mm的乌氏粘度计，测试温度为30℃±0.1℃。

4.5.2 混合溶剂

按GB/T 14190-2008方法测定。使用苯酚/1.1.2.2-四氯乙烷（质量比50:50）混合溶剂，在95°水浴中溶解20~40分钟，使用毛细管内径为0.8~0.9mm乌氏粘度计，测试温度为25℃±0.1℃。

4.6 有机溶剂含量（主要有机溶剂种类参见附录A）

4.6.1 仪器

4.6.1.1 毛细管气相色谱仪（程序升温），配有氢火焰离子化检测器(FID)

4.6.1.2 顶空瓶、顶空进样器

4.6.2 试验条件

采用毛细管气相色谱（程序升温）、氢火焰离子化检测器(FID)测定。取2~3gPHA粉料在110℃加热30min，可挥发组分经气相色谱检测，样品中应不含有附录A中的有机溶剂。

顶空进样器条件：顶空瓶加热温度：100℃；进样温度：120℃；传输线温度：120℃；样品预热平衡时间：30min；顶空加压时间：0.2min；进样时间：1min。

色谱条件：色谱柱，建议选择极性柱。

建议采用以下的条件：

- a) 载气：高纯氮气，流速 1.0 mL/min ~ 2.0 mL/min；
- b) 进样口温度：220 °C；
- c) 检测器温度：250 °C；
- d) 进样量：1 mL ；
- e) 分流进样，分流比 10:1、5:1、1:1
- f) 升温程序：初始温度 45 °C 保持 6min ，以 20 °C/min 速度升温至 60 °C，保持 4min ，再以 20 °C/min 速度升温至 200 °C，保持 2min 。

4.6.3 标准曲线的绘制

4.6.3.1 标准溶剂样品的配制

按生产实际使用溶剂的种类配制标准溶剂样品，为提高溶剂标准曲线的精密度，选用二甲基甲酰胺（DMF）作为稀释剂，制成混合标样。用微升注射器分别取0.5 μL、1 μL、2 μL、3 μL和4 μL样品，换算成各标准溶剂的质量。

4.6.3.2 标准曲线的测定

将混合标样分别注入顶空瓶中，恒温加热30min后，用5mL注射器取1mL瓶中气体，迅速注入色谱柱中测定。以其出峰面积分别与对应的样品质量作出标准曲线。

带有顶空装置的仪器，参照以上条件对样品进行处理及进样。可根据顶空瓶的容量混合标样的浓度适当选择混合标样的进样量。

4.6.3.3 待测样品的制备

取2-3g待测样品，放入顶空瓶中，顶空瓶在110°C加热30min。

4.6.3.4 样品残留溶剂的测试

用5mL注射器取1mL瓶中气体，迅速注入色谱中测定。根据样品的出峰面积在标准曲线上查出对应量。

4.7 密度

按GB/T 1033.3-2010方法测定。

4.8 熔体质量流动速率

按GB/T 3682-2000方法测定。具体测试条件见表2。

表2 熔体质量流动速率测试条件

	测试温度 (°C)	负荷 (kg)	口模直径 (mm)
PHB	190	2.16	2.095±0.005
PHBV (HV≤12%)	190	2.16	2.095±0.005
P(3,4HB) (4HB≤15%)	170	2.16	2.095±0.005
PHBH (HH≤15%)	170	2.16	2.095±0.005

4.9 相对生物分解率

按GB/T19277-2003（仲裁采用该标准）或GB/T 19276.1-2003或GB/T 19276.2-2003执行。

4.10 熔融温度

按GB/T 19466.3-2004方法测定。升温速率为10°C/min。

4.11 热分解温度

按SN/T 3003-2011方法测定。称取大约1mg试样，选择氮气为保护气体，气流速度为50mL/min，按20°C/min升温速率程序升温，以质量损失为5%的温度为指标。

5 检验规则

5.1 组批

一次投料生产的产品为一批次。

5.2 样本量

取样按表3抽取样品

表 3 取样表

批量范围（袋）	样本大小（袋）
1	1
2	2
3~25	3
26~150	5
151~500	8
>500	13

将取样针插入样本3/4处，抽取不少于100g 样品，每批抽取总样本量不少于1kg，将抽取的样品迅速混匀，用四分法缩分后，分别装入两个干燥、洁净的广口瓶中，贴上标签，一份进行分析，另一份保存备查。

5.3 出厂检验

出厂检验项目为感官、水分、熔体质量流动速率（MFR）、不溶物、含氮量、灰分、特性粘度。

5.4 型式检验

型式检验为全部项目，下列情况下进行型式检验：

- 初次投产时；
- 正常情况下，型式检验须一年进行一次；
- 原料及生产工艺改变时；
- 停产半年以上恢复生产时；
- 出厂检验和上次型式检验有较大差异时；

5.5 判定规则

当检验结果中，有一项或一项以上检验项目不合格时，应重新自同批产品中抽取两倍量的样本复验不合格项，以复验结果为准，有一项不合格，则判整批产品为不合格产品。

6 标志、包装、运输和贮存

用内衬聚乙烯塑料薄膜袋的纸袋、铝箔袋或塑料编织袋包装。标志应符合GB/T20197的规定。

包装袋上应注明：生产厂名、厂址、产品名称、批号和生产日期、净重、本标准号，并附有质量检验合格证。

在装卸过程中严禁使用铁勾等锐利工具，切忌抛掷以免损坏包装袋，运输时，不得在阳光下曝晒或雨淋，不得与沙土，碎金属，煤炭等混合装运，不可与有毒物品，腐蚀性物品以及易燃物混装。

产品应存放在通风、干燥、阴凉的仓库内，应远离火源，防止阳光直接照射，不得露天堆放。满足上述贮存条件的产品保质期为自生产之日起十八个月。

附录A
(资料性附录)
有机溶剂含量测试中检测的主要种类

有机溶剂	有机溶剂
二氯甲烷	甲醛
三氯甲烷(氯仿)	甲醇
四氯化碳	甲苯
二氯乙烷	乙二醇
二氯乙烯	甲酰胺
三氯乙烷	二甲基甲酰胺
三氯乙烯	二甲基乙酰胺
四氯乙烯	甲基丁基酮
三氟三氯乙烷	甲氧基甲酰胺
氯苯	甲氧基乙酰胺