

“十二五”国家重点图书
工业生物技术过程科学丛书
国家科学技术学术著作出版基金资助出版



多级生物加工系统优化 原理与技术

Optimization Principles and Technologies for the

Multi-level Bio-processing Systems

陈 坚 刘 龙 等编著



化学工业出版社

“十二五”国家重点图书
工业生物技术过程科学丛书
国家科学技术学术著作出版基金资助出版



多级生物加工系统优化 原理与技术

Optimization Principles and Technologies for the

Multi-level Bio-processing Systems

陈坚 刘龙 等编著



化学工业出版社

·北京·

图书在版编目 (CIP) 数据

多级生物加工系统优化原理与技术/陈坚, 刘龙等编著. —北京: 化学工业出版社, 2013. 9

(“十二五”国家重点图书)

(工业生物技术过程科学丛书)

ISBN 978-7-122-18213-5

I. ①多… II. ①陈…②刘… III. ①生物工程-系统优化-研究 IV. ①Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 192991 号

责任编辑: 傅四周 孟 嘉
责任校对: 吴 静

文字编辑: 张春娥
装帧设计: 张 辉

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 19 彩插 2 字数 453 千字 2013 年 12 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 99.00 元

版权所有 违者必究

序

随着化石资源的日益枯竭，基于我国在发酵工业上雄厚的产业基础，以生物质为原料生产化学品、能源等的工业生物技术将在我国国民经济中占有更重要的地位。

工业生物技术 (Industrial Biotechnology)，又称为白色生物技术 (White Biotechnology)，是以可再生生物质资源为原料生产化学品、材料与能源的新型工业模式。我国在工业生物技术的上游领域 (细胞工程、基因工程等) 和世界先进水平差距较小，在某些方面甚至有一定优势，但在工业生物技术的过程科学基础研究方面与国外有较大的差距，比如过程放大原理和方法等。

要解决上述差距问题，必须加强工业生物技术的过程科学研究。过程科学是生物技术产业化取得成功的关键，是生物学、化学、工程科学等学科的高度交叉与集成。它探索如何从原料出发、经过最优的发酵和分离纯化工艺，用最少的原料、最低的能耗、清洁的生产工艺，高效稳定地获得高质量的产品。

基于上述背景，国家科技部启动国家 973 重大项目 (2007CB7300) ——工业生物技术过程的科学基础研究，至今已取得丰硕的成果，2013 年又得到了滚动支持。从已出版的相关图书来看，现有图书基本上侧重于工业生物技术过程中的某类产品制造技术或工艺过程，而关于工业生物技术过程原理和方法方面的系统论著则较少。

《工业生物技术过程科学丛书》入选“十二五”国家重点图书，汇集了上述 973 项目的研究成果，围绕我国工业生物过程面临的重大科学问题，系统阐述工业生物技术过程的原理和方法，填补了国内该方面图书的空白。内容涉及工业生物过程生理活性特征的细胞群体效应规律、多相复杂体系内物质和能量传递以及生物转化与放大过程的基本原理与方法、工业生物过程的整体设计与系统优化等，构成了一个有机关联的整体。具有以下特色：

(1) 原创性强，技术前沿。丛书中涉及的细胞群体效应、生物过程放大等技术水平均达到了国际先进水平。丛书中汇集的大量技术内容均为国内外第一次出现在出

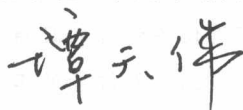
出版物上。

(2) 作者权威。参与编写的作者来自北京化工大学、清华大学、天津大学、华东理工大学、中国科学院过程工程研究所等一流工业生物技术研究单位，具有院士、长江学者、国家青年基金获得者、中国科学院百人计划等荣誉称号的达10人以上。

(3) 注重实用性。丛书中涉及的过程技术均以当前我国生物技术产业化过程中的重大项目为基础展开，比如抗生素、维生素、生物柴油、燃料乙醇等大宗产品的制造，因而对我国当前工业生物技术领域的发展具有很强的指导价值。

该丛书的出版不仅有助于解决我国现有工业生物过程中的优化放大等突出问题，而且还可为加快我国生物技术产业化的步伐、提高我国生物技术产业的国际竞争力做出贡献。

中国工程院院士
北京化工大学，校长



2013年12月

前言

生物加工过程是降低对化石资源依赖、增加品种和提高品质的有效途径，是实现生物技术产业化的关键，也是我国未来发展绿色经济和循环经济的重要推动力之一。但是目前我国生物加工技术与国际先进水平相比，能耗大、加工副产物综合利用程度低、环境污染严重，亟需进一步的技术升级改造实现绿色生物制造，而这其中的关键问题就是如何实现工业生物加工过程的系统优化与控制。然而，到目前为止，国内还没有一本专著对生物加工过程的系统优化原理与控制技术进行系统介绍。

本书以 973 项目“工业生物过程的系统优化与控制”中取得的科研成果为主体内容，从原料—转化—分离—废物资源化等生物过程复杂系统的整体性角度出发，研究原料利用、转化反应、产物分离和废物资源化的相互作用和影响，探讨了将上游生物转化与下游产物分离有机结合的优化策略；研究废物流分流处理和综合利用，体现了工业生物过程特征的系统综合优化方法。通过优先优化与整体优化相统一、局部优化与全局优化相结合、目标产物和副产物相互调控等研究策略，研究代谢副产物的高效综合利用以及两个或多个生物过程相匹配的优化技术。本书通过应用生物过程优化方法，考虑优先优化、局部优化与全局优化相结合，研究目标产物的调控和过程的废物资源化处理，以及两个或多个生物过程匹配的优化策略，实现了典型生物加工过程全局最优的目标，对实现生物加工过程的全局优化与系统控制，并进一步提升我国的生物加工技术水平具有重要的指导意义和较高的学术价值。

本书结合具体的多级生物加工系统研究实例，对如何实现生物加工过程的绿色制造和无废制造进行了系统的介绍，不仅具有较强的理论指导意义，同时也具有很强的实践意义和推广价值。以本书的核心创新理论和技术为指导，实现了多个生物产品（透明质酸、碱性果胶酶、过氧化氢酶、角质酶、1,3-丙二醇、二羟基丙酮、丙酸、 α -酮戊二酸、丙酮酸）的产业化或者中试生产，产生了良好的经济效益和社会效益。

本书分为 9 章，第 1 章介绍了“多级生物加工系统的原理和技术进展”，第 2、3、4 章主要是关于一级生物加工系统优化原理与技术的论述与实例，第 5、6 章主要是关于二级生物加工系统优化原理与技术的论述与实例，第 7、8、9 章主要是关于三级生物加工系统优化原理与技术的论述与实例。第 1 章由江南大学刘龙副教授、陈坚教授负责编写，第

2章由江南大学刘龙副教授、堵国成教授负责编写,第3章由江南大学林军博士、堵国成教授负责编写,第4章由江南大学张静博士、陈坚教授负责编写,第5章由大连理工大学孙亚琴博士、修志龙教授负责撰写,第6章由浙江工业大学郑裕国教授等负责编写,第7章由江南大学聂艳秋博士、陈坚教授负责编写,第8章由江南大学许科伟博士、刘晓玲博士、陈坚教授负责编写,第9章由江南大学刘晓玲博士、何刚强硕士、堵国成教授、陈坚教授负责编写。

同时,作者也特别感谢中国工程院院士、江南大学生物工程学院伦世仪教授的鼓励和指导,感谢所在研究室的博士、硕士研究生给予的帮助。

作者力图在本书中注重结合理论性和实践性、突出系统性和科学性、体现前沿性和创新性,但限于作者的学术功底、研究经验和写作能力,书中可能存有疏漏和不足,若蒙赐教,不胜感激。

编著者

2013年11月

目录

第 1 章 多级生物加工系统的原理和技术进展

1.1 概述	1
1.2 一级生物加工过程优化的原理与技术	3
1.2.1 一级生物加工过程优化的基本特征	4
1.2.2 一级生物加工过程优化与控制的主要内容及步骤	4
1.3 二级生物加工过程优化的原理与技术	7
1.3.1 生物转化的基本特征	7
1.3.2 生物转化过程的主要内容及步骤	8
1.4 三级生物加工过程优化的原理与技术	11
1.4.1 三级生物加工的基本特征	12
1.4.2 三级生物加工优化与控制实例	12
参考文献	20

第 2 章 兽疫链球菌发酵生产透明质酸过程优化与控制

2.1 概述	22
2.2 HA 发酵过程的混合与传质特性	24
2.2.1 HA 分批发酵过程代谢动力学	25
2.2.2 HA 分批发酵混合与传质动力学	25
2.2.3 添加氧载体正十二烷对 <i>S. zooepidemicus</i> 发酵生产 HA 的影响	27
2.2.4 HA 发酵系统传质特性的模型化研究	31
2.3 降解透明质酸提高发酵系统的混合与传质效率	33
2.3.1 添加透明质酸酶对 HA 发酵系统混合与传质特性的研究	34
2.3.2 添加透明质酸酶对 HA 发酵代谢动力学的影响	34
2.3.3 氧化还原反应(过氧化氢/抗坏血酸)降解 HA 的条件研究	36
2.3.4 添加过氧化氢/抗坏血酸对 HA 发酵系统混合与传质特性的影响	36
2.3.5 添加过氧化氢/抗坏血酸对 HA 发酵代谢动力学的影响	37

2.4	转变产能途径、提高产能效率优化透明质酸发酵	38
2.4.1	恒化培养体系中 H ₂ O ₂ 流加浓度对 HA 发酵的影响	39
2.4.2	分批培养中 H ₂ O ₂ 流加浓度对 HA 发酵的影响	41
2.4.3	间歇性 pH 胁迫策略对 HA 发酵的影响	42
2.5	基于细胞生理代谢特性的透明质酸发酵优化与控制	43
2.5.1	HA 发酵过程中氨基酸代谢动力学	44
2.5.2	添加核苷酸碱基对 HA 发酵过程的影响	45
2.5.3	添加关键营养因子对 HA 发酵过程的影响	46
2.6	透明质酸发酵过程培养模式优化研究	47
2.6.1	分批培养代谢动力学	47
2.6.2	补料分批培养对 HA 发酵的影响	49
2.6.3	两阶段培养模式对 HA 发酵的影响	50
	参考文献	51

第 3 章 重组大肠杆菌-酿酒酵母耦合系统高效合成谷胱甘肽的机制及其优化调控

3.1	概述	53
3.2	大肠杆菌腺苷脱氨酶缺失对耦合系统 ATP 再生的影响	55
3.2.1	腺苷脱氨酶缺失对大肠杆菌利用腺苷的影响	56
3.2.2	腺苷脱氨酶缺失对大肠杆菌菌体生长和谷胱甘肽合成能力的影响	57
3.2.3	外加 ATP 下重组大肠杆菌合成谷胱甘肽反应体系中腺嘌呤核苷(酸)分析	57
3.2.4	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i> WSH2 以腺苷和腺嘌呤为底物合成 ATP 分析	57
3.2.5	大肠杆菌腺苷脱氨酶缺失对耦合系统中谷胱甘肽合成和 ATP 再生的影响	58
3.3	大肠杆菌腺苷脱氨酶和腺嘌呤脱氨酶缺失对其 ATP 代谢的影响	59
3.3.1	构建腺苷脱氨酶和腺嘌呤脱氨酶双基因缺失菌株	60
3.3.2	腺苷脱氨酶和腺嘌呤脱氨酶缺失对大肠杆菌利用腺苷的影响	61
3.3.3	腺苷脱氨酶和腺嘌呤脱氨酶缺失对大肠杆菌利用 ATP 的影响	61
3.3.4	腺苷脱氨酶和腺嘌呤脱氨酶缺失对大肠杆菌菌体生长及 GSH 合成的影响	62
3.3.5	外加 ATP 条件下重组大肠杆菌 <i>E. coli</i> Δ <i>add/ade</i> 合成谷胱甘肽过程中腺嘌呤核苷(酸)分析	62
3.3.6	<i>E. coli</i> Δ <i>add/ade</i> (pBV03) 和 <i>S. cerevisiae</i> WSH2 组成的耦合系统合成 GSH	62
3.4	大肠杆菌生物合成谷胱甘肽过程中的关键降解酶	63
3.4.1	大肠杆菌合成谷胱甘肽过程中的降解分析	63
3.4.2	大肠杆菌中降解谷胱甘肽的关键酶	64
3.4.3	培养条件对大肠杆菌 γ -谷氨酰转肽酶活性的影响	64
3.4.4	大肠杆菌三肽酶缺失突变株合成 GSH 的研究	65
3.4.5	重组大肠杆菌 Δ <i>add/ade/pep T</i> 的构建过程	66
3.4.6	重组大肠杆菌 Δ <i>add/ade/pep T</i> 对腺苷的代谢	66
3.4.7	腺苷脱氨酶、腺嘌呤脱氨酶及三肽酶缺失对菌体生长及 GSH 合成的影响	66
3.4.8	耦合系统合成 GSH	67
3.5	用于生物合成谷胱甘肽的大肠杆菌细胞通透性处理方式	68
3.5.1	重组大肠杆菌 JW1667 (pBV03) 的构建过程	68
3.5.2	大肠杆菌 <i>lpp</i> 基因敲除对细胞生长代谢的影响	69

3.5.3	大肠杆菌 <i>lpp</i> 基因敲除对其合成 GSH 能力的影响	69
3.5.4	<i>lpp</i> 基因敲除和甲苯直接处理对重复利用大肠杆菌细胞生物合成 GSH 的影响	70
3.6	用于生物合成谷胱甘肽的 ATP 再生系统运行机制	71
3.6.1	用于生物合成 GSH 的耦合系统中腺苷类物质代谢分析	71
3.6.2	酿酒酵母 WSH2 中腺苷和腺嘌呤代谢分析	72
3.6.3	酿酒酵母中腺嘌呤脱氨酶活性对耦合系统 ATP 代谢和 GSH 合成能力的影响	73
3.6.4	推迟重组大肠杆菌耦合对耦合系统合成 GSH 的影响	74
3.6.5	重组大肠杆菌和酿酒酵母构建的生物合成 GSH 的耦合系统运转机制	75
	参考文献	76

第 4 章 基于生化策略与组学技术的维生素 C 生产菌株间生理关系解析

4.1	概述	78
4.2	维生素 C 生产菌株间生理依赖关系的调控	80
4.2.1	<i>B. megaterium</i> 对 <i>K. vulgare</i> 生长和产酸的影响	81
4.2.2	溶菌酶对 <i>K. vulgare</i> 和 <i>B. megaterium</i> 静息细胞的影响	81
4.2.3	溶菌酶对 2-KLG 生产的影响	82
4.2.4	适量添加溶菌酶的分批发酵实验	83
4.3	<i>K. vulgare</i> 全基因组测序与功能基因分析	84
4.3.1	基因组的基本特性	85
4.3.2	复制与修复	86
4.3.3	转录与翻译	87
4.3.4	碳水化合物的代谢与转运	87
4.3.5	氨基酸和辅酶的代谢	88
4.3.6	与 2-KLG 合成相关酶的编码基因	88
4.3.7	<i>K. vulgare</i> 进化关系	89
4.4	<i>B. megaterium</i> 全基因组测序与功能基因组分析	90
4.4.1	基因组的基本特性	91
4.4.2	复制与修复	92
4.4.3	转录与翻译	93
4.4.4	碳水化合物代谢与转运	93
4.4.5	氨基酸和辅酶的代谢	93
4.4.6	芽孢形成	94
4.4.7	蛋白质分泌	94
4.4.8	<i>B. megaterium</i> WSH-002 进化关系	94
4.4.9	<i>B. megaterium</i> WSH-002 与 <i>K. vulgare</i> WSH-001 基因组比较	94
4.5	基于蛋白质组学的两菌关系解析	96
4.5.1	<i>B. megaterium</i> 伴生与否时 <i>K. vulgare</i> 胞内蛋白质 2-DE 图谱分析	96
4.5.2	<i>K. vulgare</i> 在 <i>B. megaterium</i> 伴生与否时产酸稳定期的胞内蛋白质组 2-DE 差异表达谱分析	97
4.5.3	<i>B. megaterium</i> 对 <i>K. vulgare</i> 代谢途径的影响	98
4.6	维生素 C 发酵菌株全合成培养基的研究	100
4.6.1	玉米浆批次对维生素 C 发酵的影响	101

4.6.2	生产批次对玉米浆成分的影响	101
4.6.3	玉米浆主要成分与 2-KLG 生产的线性相关性分析	103
4.6.4	关键因素对 2-KLG 生产的影响	104
4.6.5	关键组分亚适量供给下的分批发酵过程	105
参考文献		105

第 5 章 1,3-丙二醇生物合成过程及其优化与控制

5.1	引言	107
5.2	1,3-丙二醇的生产方法	108
5.2.1	化学法	108
5.2.2	生物转化法	109
5.3	甘油生物歧化为 1,3-丙二醇的代谢工程	110
5.3.1	甘油生物歧化为 1,3-丙二醇的菌种	110
5.3.2	甘油生物歧化为 1,3-丙二醇的代谢途径	112
5.3.3	甘油生物歧化为 1,3-丙二醇代谢通量分析	113
5.4	甘油生物歧化为 1,3-丙二醇过程的动力学与优化	116
5.4.1	非线性动力学和动态行为的研究	116
5.4.2	过量代谢动力学	117
5.4.3	酶催化动力学	118
5.4.4	单反应器、双反应器优化	128
5.5	1,3-丙二醇的提取分离	131
5.5.1	发酵液中 1,3-丙二醇分离概述	131
5.5.2	1,3-丙二醇发酵液中固态物质和菌体的去除	132
5.5.3	1,3-丙二醇的粗分离	132
5.5.4	1,3-丙二醇的纯化	136
5.5.5	超滤-醇沉工艺分离发酵液中的 1,3-丙二醇	136
5.5.6	盐析萃取工艺分离发酵液中的 1,3-丙二醇	137
参考文献		139

第 6 章 二羟基丙酮生物合成过程的优化与控制

6.1	概述	140
6.2	产二羟基丙酮微生物及其快速筛选方法	142
6.3	二羟基丙酮生物合成调控机制	144
6.4	产二羟基丙酮微生物代谢特性分析	146
6.4.1	氧化葡萄糖杆菌代谢甘油的途径分析	147
6.4.2	通风量对氧化葡萄糖杆菌代谢的影响	147
6.4.3	pH 值对氧化葡萄糖杆菌代谢的影响	149
6.5	二羟基丙酮生产工艺条件优化	152
6.5.1	微生物发酵法生产二羟基丙酮	152
6.5.2	整体细胞生物转化法生产二羟基丙酮	155
6.6	应用代谢工程方法调控二羟基丙酮生物合成	156
参考文献		157

第7章 废水产氢产酸/同型产乙酸耦合系统厌氧发酵产酸优化与控制

7.1 概述	161
7.2 产氢产酸/同型产乙酸耦合作用提高乙酸产率	162
7.2.1 加热种泥与未加热种泥产酸比较	163
7.2.2 产氢产酸/同型产乙酸耦合作用促进乙酸产生	163
7.2.3 产氢产酸/同型产乙酸耦合作用强化有机底物的降解	166
7.2.4 耦合系统和对照系统发酵过程中 pH 值的变化	166
7.2.5 耦合系统同型乙酸化作用及产氢产酸相连续排气效应	167
7.2.6 氢抑制的解除促进中间产物向乙酸的转化	168
7.3 产氢产酸/同型产乙酸耦合系统产酸条件优化	169
7.3.1 底物浓度对耦合系统生产乙酸的影响	169
7.3.2 初始 pH 值对产酸过程的影响	170
7.3.3 种泥浓度对产氢速度与耗氢速度以及乙酸生产的影响	173
7.3.4 耦合系统乙酸生产优化条件的确定	175
7.4 气体循环和分批补料提高产氢产酸/同型产乙酸耦合系统产乙酸强度和产率	176
7.4.1 气体循环和分批补料提高耦合系统产乙酸强度和乙酸产率	177
7.4.2 耦合系统的传质模型及动力学分析	179
7.4.3 基于耦合系统乙酸直接来源的分析	182
7.5 产氢产酸/同型产乙酸耦合系统产酸过程微生物种群动态及代谢机理分析	183
7.5.1 基于分批补料的耦合系统运行稳定性分析	184
7.5.2 基于 T-RFLP 分析的产酸微生物群落结构	185
7.5.3 同型产乙酸菌群的定量 PCR 分析	187
7.5.4 耦合系统生产乙酸关键酶活性及代谢机理分析	188
参考文献	189

第8章 有机废物厌氧消化过程中的乙酸累积机理

8.1 概述	191
8.2 厌氧生境中同型乙酸菌的定量方法	193
8.2.1 FTHFS 基因定量可行性	193
8.2.2 FTHFS 引物特异性	193
8.2.3 新引物设计及验证	194
8.2.4 Real-time PCR 条件优化	196
8.2.5 Real-time PCR 的灵敏度和检测限	197
8.2.6 环境样品的 FTHFS 基因的定量	198
8.2.7 富集培养与温度对同型乙酸菌生长的影响	199
8.3 产甲烷抑制剂对有机废物厌氧发酵各阶段的毒性研究	200
8.3.1 抑制剂浓度对产甲烷过程的影响	201
8.3.2 产甲烷抑制剂对发酵产酸过程的影响	202
8.3.3 产甲烷抑制剂对产氢产乙酸过程的影响	202
8.4 产甲烷抑制剂对古细菌群落及同型产乙酸的影响	205
8.4.1 不同抑制模型下酸气累积状况	205

8.4.2	热力学分析	206
8.4.3	厌氧污泥古细菌群落结构	207
8.4.4	产甲烷抑制剂作用下的产甲烷种群动力学	209
8.4.5	产甲烷抑制状态下的同型乙酸菌群动力学	210
8.5	产甲烷抑制状态下发酵产酸菌群生态学	212
8.5.1	不同抑制模型下丙酸和丁酸累积状况	212
8.5.2	T-RFLP 网络比对	212
8.5.3	厌氧污泥细菌群落结构	214
8.5.4	非产甲烷菌群动力学	215
8.5.5	产氢产乙酸过程	220
8.6	产甲烷抑制状态下有机物的碳流分析	221
8.6.1	稳定性同位素 ¹³ C 比例判断产甲烷途径	222
8.6.2	有机碳平衡分析	223
8.6.3	产甲烷抑制状态下 [U- ¹⁴ C] 葡萄糖和 [2- ¹⁴ C] 乙酸的转化	224
8.6.4	产甲烷抑制状态下乙酸累积的微生物机理模型	224
参考文献		226

第 9 章 城市有机废物厌氧发酵产酸及利用有机酸发酵生产角质酶过程优化

9.1	概述	228
9.2	厌氧发酵产酸的有机废物预处理技术	230
9.2.1	污泥浓度对挥发性短链脂肪酸产率的影响	231
9.2.2	预处理技术对污泥有机质融出率的影响	235
9.2.3	预处理后固相和液相成分的变化	235
9.2.4	预处理技术对污泥颗粒粒径的影响	236
9.2.5	预处理技术对污泥颗粒表观结构的影响	237
9.2.6	预处理技术对总挥发性脂肪酸产率的影响	238
9.2.7	预处理技术对挥发性短链脂肪酸分布特征的影响	238
9.2.8	预处理技术对酸化过程固相和液相成分的影响	239
9.2.9	热-碱预处理污泥产酸动力学分析	241
9.3	碱性条件强化有机废物蛋白质厌氧发酵产酸	243
9.3.1	pH 对总挥发性短链脂肪酸产率的影响	243
9.3.2	pH 对发酵初始可溶性蛋白质和碳水化合物浓度的影响	244
9.3.3	不同 pH 值条件下可溶性蛋白质和沉淀蛋白质的热分析	244
9.3.4	pH 对发酵过程蛋白质浓度的影响	248
9.4	酸碱调控有机废物厌氧发酵产酸的微生物学机理	249
9.4.1	pH 对发酵过程挥发性短链脂肪酸分布特征和产率的影响	249
9.4.2	pH 对发酵气相产物的影响	251
9.4.3	pH 对微生物种群结构的影响	252
9.4.4	不同 pH 值条件下乙酸累积的微生物学机理分析	254
9.4.5	强碱性条件下挥发性短链脂肪酸累积的主要代谢途径分析	255
9.5	C/N 调控有机废物厌氧发酵产酸类型及其代谢机理	257
9.5.1	C/N 对发酵产酸类型的影响	258

9.5.2 C/N对产酸过程气相组分变化的影响	259
9.5.3 不同C/N条件下产酸微生物群落分析	260
9.5.4 不同发酵产酸类型代谢机理分析	263
9.6 嗜热子囊菌利用短链有机酸发酵生产角质酶	264
9.6.1 嗜热放线菌利用单种有机酸发酵生产角质酶	265
9.6.2 嗜热放线菌利用丁酸生产角质酶的环境条件优化	271
9.6.3 嗜热放线菌利用混合有机酸发酵生产角质酶	277
参考文献	281

索 引

第 1 章

多级生物加工系统的原理和技术进展

刘 龙 陈 坚

1.1 概 述

生物加工技术是在现代生物科学技术的基础上,利用活细胞和其产生的酶生产能源与化学品或其他工业产品的先进技术,具有高效、清洁、低成本、低能耗等特点,其主要使命是建立以生物可再生资源为原料和能源、环境友好、过程高效的物质生物加工模式^[1]。生物加工技术的核心内容是“两个替代、一个提升”,即以生物催化剂来取代化学催化剂的工艺路线替代,以生物可再生资源取代化石资源的原料路线替代,以及传统生物技术产业的技术提升。生物加工技术将会给基础物质加工业(包括化学工业、发酵工业、材料工业、能源工业、制药工业、食品工业、纺织工业、采矿业等)带来根本性的变革,在节能减排、低碳经济、食品安全、产业进步与国际竞争力提升等方面将发挥重大作用。在能源资源短缺制约我国经济持续发展的形势下,生物加工过程是降低对化石资源依赖、增加品种和提高品质的有效途径;生物加工过程是实现生物技术产业化的关键;生物加工过程优化对于维护可持续发展的和谐生态环境具有重要意义^[2]。目前中国已经成为一个工业生物技术大国,发酵体积 1000 万立方米,位居世界第一。主要发酵产品包括医药发酵产品如抗生素、维生素等,大宗化学品如乳酸、丙烯酰胺、燃料乙醇、丁醇和精细化学品等,主要产品年产值已达到 3500 亿元以上。

但与发达国家相比,我国生物加工技术水平较低,导致生物加工原料利用率低(10%~20%)、产品回收率低(5%~15%),而能量消耗高(20%~30%);最终产品纯度低,只能以低价的“原料”形式出口。此外,因操作方式粗放,排污严重,发酵工业已成为我国仅次于造纸工业的第二大工业污染源,如利用玉米为原料生产乙醇,每生产 1t 酒精就产生 15t 酒糟。味精发酵过程除了目标产物谷氨酸外,还产生大量的污水,排放量达到 15~20t 污水/t 产品,其中 BOD 达 40000~50000mg/L。生物加工过程的一个重要特点是多产物,即在细胞

代谢的过程中同时产生许多代谢物。如在琥珀酸的发酵过程中，不可避免地生产大量的乳酸、乙酸等，这些副产物往往作为杂质在分离纯化中被除去，不但造成原料利用率的下降，而且也造成了巨大的环境污染。因此，因食品发酵工业的废水排放，以及同时产生的废菌丝体量，对环境造成了巨大的压力，同时也是资源的巨大浪费。

要解决上述问题，使我国生物技术进入国际竞争的行列，必须加强生物加工系统的科学研究，探索如何从原料出发，经过最佳的发酵、分离和成型等加工工艺，用最少的原料、最低的能耗、最洁净的工艺、最短的时间和最稳定的操作获得最高质量的产品。另一方面，只有加强生物加工系统科学问题的研究，建立从实验室到工业化的快速技术平台，才能使生物技术实验室的发明、发现迅速转化为生产力，不断开发出高值化产品，形成可持续发展的创新能力，同时使我国前期在生物技术上游（细胞工程、基因工程等微观领域）的大量投入得以回报。

对于相同的生物加工过程，当控制不同的操作条件时，基本相同的投料量会得到完全不同的产量，有时会相差几十个百分点甚至数十倍，即工业生物加工过程存在系统优化问题。随着对细胞大规模培养技术的深入研究和对以分批培养为主要对象的发酵过程参数的时变性、多样性和不确定性的认识，建立了以过程动力学为基础的数学模型，对操作单元如发酵反应器进行优化与控制，基于各种发酵参数（如 pH 值、温度、溶解氧、二氧化碳生成速率、产物浓度、菌体浓度等）进行在线检测和间接测量，目标是使得微生物发酵处于最优的环境和操作条件下；进一步引进了一系列现代控制理论，如采用计算机技术的数据采集和专家系统对发酵过程进行控制；应用神经网络对生物过程局部进行优化和模拟，采用混沌研究方法对以往的工作进行修正或延伸扩展等。

然而，以往的研究工作仍然是以基于经验性的控制优化为主导，并没有深入探讨适合于独特生物加工过程特征的优化原理和控制技术。生物加工过程除了发酵单元操作外，还涉及到不同原料的利用效率、过程工艺优化改进、物料流和能量流在生物过程中的合理分配、副产物和目标产物的优化调控以及废渣废水的过程利用等，因而要充分考虑“原料—反应—分离—废物排放一体化”。国际上著名的生物化学品公司 DSM 对原料的生物转化和分离及废物排放进行了系统优化，发现采用清液发酵生产大宗化学品最为合适。另外，因为清液原料糖转化率高，而且后处理工业简单，能耗降低 30% 以上，废物生产量降低 50% 以上。发酵工业的许多副产物如代谢副产物、废渣和废水往往可以得到综合利用，有些副产物又可作为另一个生物过程的原料，如生物柴油的副产物甘油又可被用作原料生产 1,3-丙二醇，从而提高了过程的经济性，减少了废物排放。但这些系统如何进行优化匹配还没有进行，特别是从原料—转化—分离—废物排放的一体化的整体优化方法还没有得到研究。

本书从原料—转化—分离—废物资源化等生物过程复杂系统的整体性角度出发，研究原料利用、转化反应、产物分离和废物资源化的相互作用和影响，考虑碳源和氮源的转化、废渣废水的综合利用、物质流和能量流在工业生物过程中的合理分配等，研究将上游生物转化与下游产物分离有机结合的优化策略；研究废物流分流处理和综合利用；研究体现工业生物过程特征的系统综合优化方法。通过优先优化与整体优化相统一、局部优化与全局优化相结合、目标产物和副产物相互调控等研究策略，研究代谢副产物的高效综合利用以及两个或多个生物过程相匹配的优化技术。如图 1-1 所示为多级生物加工系统优化原理与控制技术图。

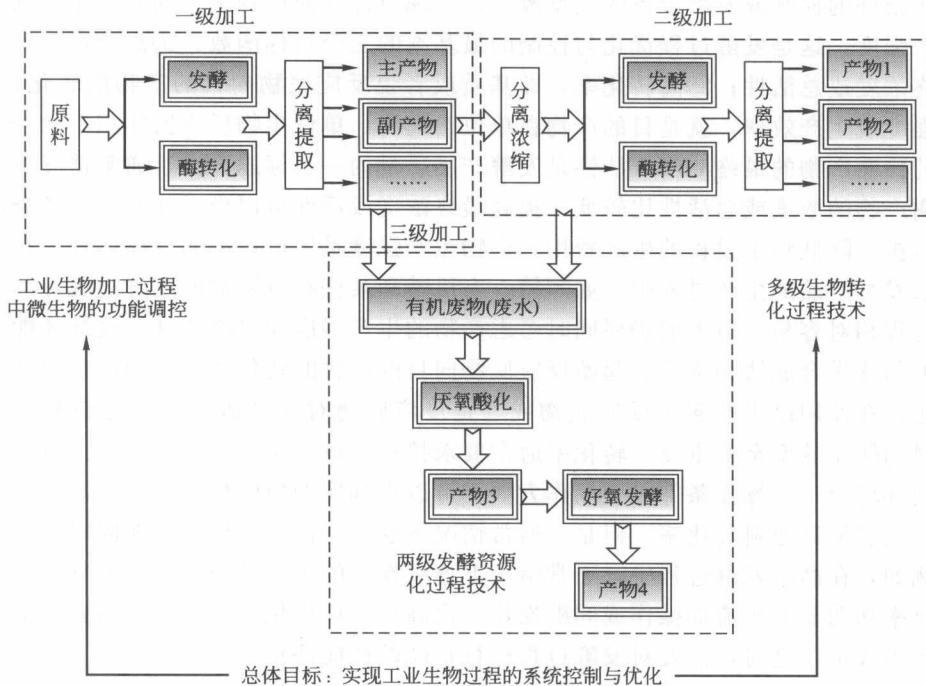


图 1-1 多级生物加工系统优化原理与控制技术图

在一级生物加工系统中，从生物加工原料出发经过发酵或酶转化技术生产主产物。然后以一级生物加工的副产物为二级生物加工的原料，进一步经过发酵或酶转化技术生产获得产物 1 和产物 2 等。在一级和二级生物加工的基础上，以一级或二级生物加工的副产物作为三级生物加工的原料，进行有机废物的厌氧酸化获得产物 3，然后以产物 3 为原料进行好氧发酵得到产物 4，最终实现“原料—转化—分离—废物资源化利用”的多级生物加工系统的全局优化和工业生物过程的系统控制与优化。

在多级生物加工系统优化与控制过程中，要分析生物过程各要素相互之间的影响、生物系统与环境之间的相互影响，应用机理分析、人工智能等各种有效方法建立起生物过程的定性及定量描述，以实现高产量、高底物转化率和高生产强度相统一的优化目标。综合考虑物流、能耗、废物资源化利用、提高目标产物收率与降低物耗能耗等因素之间的平衡，在生物过程定性及定量描述的基础上，利用系统优化、大系统协调、多约束求解等技术统筹各个操作单元，使生物过程整体的结构、性能和状态达到最优。研究将上游生物转化与下游分离有机结合的优化策略，研究废物综合利用的新思路和总体策略，最终获得普适性的生物过程系统优化方法和策略，以提高生物过程规模化生产效率。研究典型的多生物过程匹配，将一个生物过程的代谢副产物作为另一个生物过程的原料。通过应用生物过程优化方法，考虑优先优化、局部优化与全局优化相结合，研究目标产物的调控和过程的废物资源化处理，以及两个或多个生物过程匹配的优化策略，以实现多过程全局最优的目标。

1.2 一级生物加工过程优化的原理与技术

一级生物加工过程优化是指在已经获得高产菌种或基因工程菌的基础上，在发酵罐中