

DNA

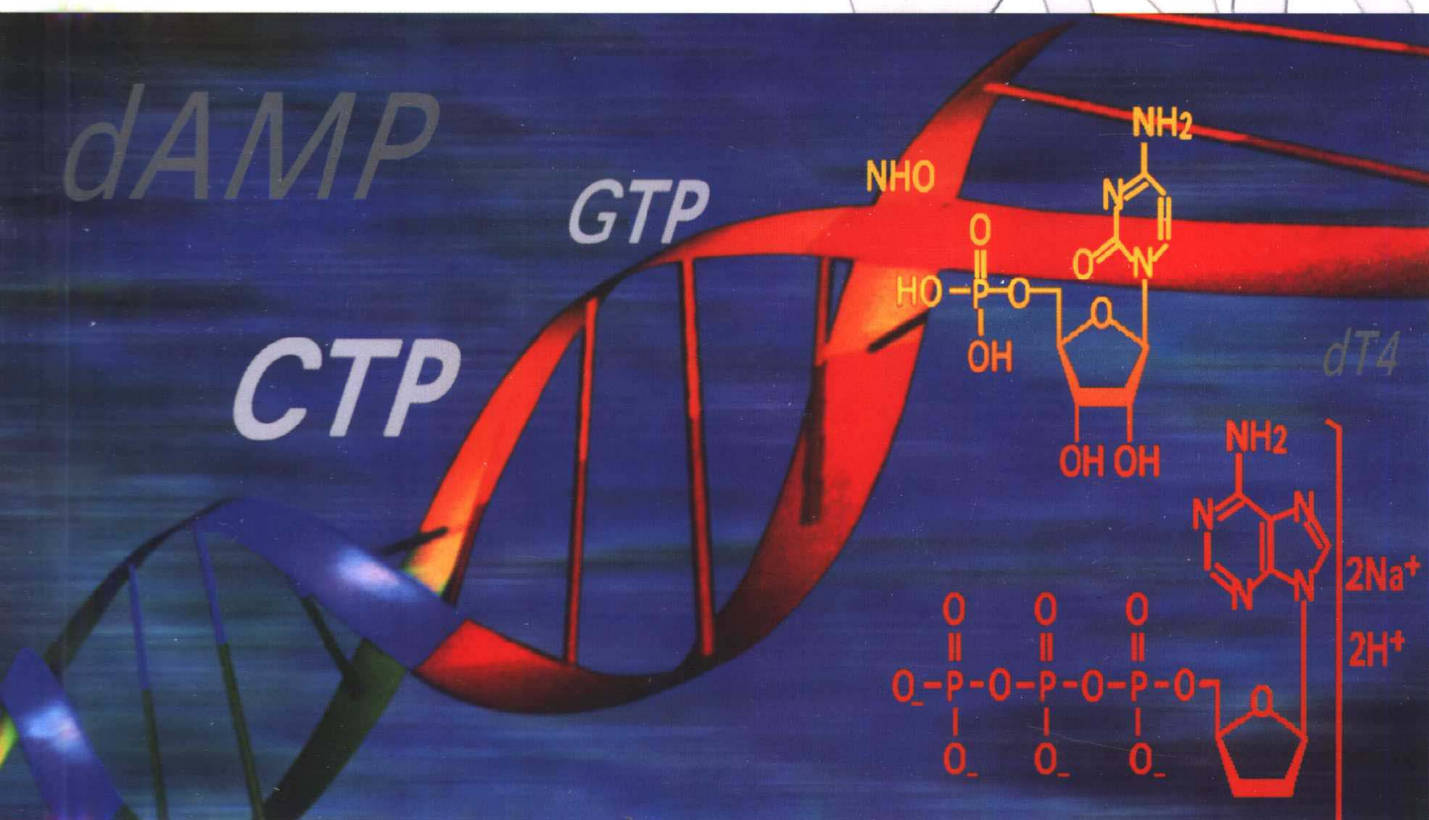
● 主编：邱蔚然

核酸产品研究开发

论文集

RNA

DNA



华东理工大学出版社

EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

HESUAN CHANPIN YANJIU KAIFA LUNWENJI

核酸产品研究开发论文集

邱蔚然 主编

华东理工大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

核酸产品研究开发论文集/邱蔚然主编. —上海:华东理工大学出版社, 2003. 11

ISBN 7-5628-1452-X

I. 核... II. 邱... III. 核酸—产品—技术开发—文集 IV. Q52-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 084196 号

核酸产品研究开发论文集

邱蔚然 主编

出版	华东理工大学出版社	开本	787×1092 1/16
社址	上海市梅陇路 130 号	印张	16.75
邮编	200237 电话(021)64250306	字数	405 千字
网址	www.hdlgpress.com.cn	版次	2003 年 11 月第 1 版
发行	新华书店上海发行所	印次	2003 年 11 月第 1 次
印刷	江苏句容市排印厂	印数	1-1350 册
ISBN 7-5628-1452-X/Q·4		定价:50.00 元	

前 言

1961年日本首先在由核糖核酸(RNA)分解法生产5'-肌苷酸、5'-鸟苷酸上实现了工业化,此后相继开发了利用微生物直接生产这些物质的方法,进而开展了各种核苷酸衍生物的研究。近二十年来,随着生物技术的进步以及核酸营养、保健和医疗方面的研究进展,核酸系列产品得到了广泛的应用。例如:肌苷酸和鸟苷酸可作为鲜味剂,应用于制造特鲜味精以及其他各种调味品;核苷酸可作为保健品提高人体免疫力,以及作为婴儿奶粉添加剂使其获得与人乳喂养相近的效果;特别值得一提的是在抗病毒、抗肿瘤方面展示了其不可取代的独特作用。抗代谢的抗肿瘤药物、抗病毒药物,以及美国FDA批准的抗艾滋病药物中大都是核苷类衍生物。有人预言,核酸药物将继续磺胺药、抗生素而成为新一代药物。

我和同事们从事这一领域研究已有二十余年,并连续承担了国家科委“七五”、“八五”、“九五”核酸药物攻关项目以及省市级相关项目。现将应用酶或发酵技术制造核酸系列产品及相关论述收集起来,合计综述18篇,论文36篇,汇编成集,谨供对该领域有兴趣的读者参考。在研究和开发过程中,俞俊棠、唐孝宣、黄颖等著名教授曾给予我真诚的帮助和指导;王维育、王永法、徐茜等同事和周长林博士,沈荣坤、丁庆豹、闫蓬勃硕士等曾长期与我一同工作,为研究开发工作做出了重要贡献,在此一并表示感谢,并按当时论文发表的排名次序将以上各位以及所有作者列于论文标题之后。

在酶或发酵技术制造核酸系列产品这一领域,我国有较好基础,故而我认为有望成为我国产品开发的一个新增长点。希望这一论文集的出版能有助于此方面工作的进一步开展。文章之中有不当和错误之处,恳请批评指正。

本书在出版过程中,蒙上海秋之友生物科技有限公司和华东理工大学出版社钱四海先生大力协助,特此致谢。

邱蔚然

2003年4月

目 录

第一部分 综 述

- 1 固定化酶和固定化微生物的生物反应器 邱蔚然 叶林发(3)
- 2 固定化生物催化剂在食品工业中的应用 邱蔚然 赵伯龙(11)
- 3 ATP 在再生技术及其在合成生化药物中的应用 邱蔚然 王维育(16)
- 4 抗病毒、真菌、原虫的核酸系列药物 邱蔚然(26)
- 5 核酸系列药物的开发与前景 邱蔚然(31)
- 6 核酸系列产品在化妆品中的应用 邱蔚然(36)
- 7 核酸在化妆品中的应用和评价 邱蔚然(37)
- 8 κ -卡拉胶的应用和进展 邱蔚然(41)
- 9 应用固定化酵母细胞生产 ATP 邱蔚然(44)
- 10 酶法生产三氮唑核苷的进展 邱蔚然 唐孝宣 沈荣坤(48)
- 11 酶法合成胸苷 邱蔚然 沈荣坤(53)
- 12 核酸的营养价值及其生理意义 邱蔚然(58)
- 13 抗病毒核苷药物的崛起与酶法合成 邱蔚然(61)
- 14 酶法合成核苷类抗病毒药物 邱蔚然 丁庆豹(63)
- 15 发酵法生产 D-核糖 邱蔚然 高淑红(69)
- 16 核糖在保护心脏功能中的作用 邱蔚然 高淑红 庄庆祺(78)
- 17 利用固定化酵母生产 CTP 邱蔚然(83)
- 18 与 ATP 偶联的生物合成反应研究进展 邱蔚然(86)

第二部分 论 文

- 1 胶原蛋白固定啤酒酵母生物合成二磷酸胞苷胆碱的研究
..... 邱蔚然 王维育 张晓峰 季玉鸣(93)
- 2 胞苷二磷酸胆碱的简易快速测定法 邱蔚然 王维育(97)
- 3 发酵液中提取胞苷二磷酸胆碱的工艺改进 黄颖 邱蔚然 孙翠萍 王维育(100)
- 4 胞苷二磷酸胆碱酶促合成的研究 王维育 邱蔚然 郑平华 朱永明(103)
- 5 应用 D293 离子交换树脂从 DNA 酶解液分离纯化 5'-脱氧核苷酸
..... 邱蔚然 王维育 李美芳 邵祝洪 孙翠萍 黄颖(108)
- 6 肌苷提取工艺的改进 邱蔚然 王永法 杨曜中 欧伶 徐文耀 黄颖(114)
- 7 肌苷的简易快速微量测定 邱蔚然(116)
- 8 固定化啤酒酵母细胞合成 5'-三磷酸腺苷 邱蔚然 李玉豆 蒋晓明 徐茜(120)
- 9 核酸类药物提取工艺的改进 邱蔚然 王永法 徐茜(124)
- 10 固定化碱性磷酸酯酶的研究 邱蔚然 张小来 张涛铸(126)
- 11 应用 D903 大孔离子交换树脂提取鸡蛋清溶菌酶 邱蔚然 张卫群 王永法(130)

- 12 利用固定化酵母细胞生产 ATP 邱蔚然 徐茜 张玉岭 许娜飞(133)
- 13 应用固定化细胞连续生产胞二磷胆碱的研究
..... 邱蔚然 徐茜 王永法 蒋惟忠(139)
- 14 应用固定化酵母细胞由腺苷生产腺苷三磷酸
..... 邱蔚然 徐茜 王秋雁 王记法(142)
- 15 啤酒酵母培养及影响其酶促合成 ATP 的因素 史肖云 邱蔚然 徐茜(147)
- 16 酶法合成 2'-脱氧-5-氟尿苷 周长林 邱蔚然 俞俊棠(151)
- 17 生产 ATP 液流循环式固定化细胞流化床反应器的参数研究
..... 徐茜 邱蔚然 俞俊棠(157)
- 18 应用大肠杆菌的核苷磷酸化酶合成胸苷..... 沈荣坤 邱蔚然 孙南翔(161)
- 19 由鸟苷经酶法生产利巴韦林..... 邱蔚然 唐浩宇 高媛 唐孝宣(167)
- 20 产核苷磷酸化酶大肠杆菌的培养及 2'-脱氧-5-氟尿苷的酶法合成
..... 周长林 邱蔚然 王欣荣 俞俊棠(172)
- 21 用大肠杆菌游离细胞酶法合成核苷药物..... 周长林 邱蔚然 周利 俞俊棠(178)
- 22 酶法合成三氮唑核苷新工艺的研究..... 邱蔚然 唐浩宇 董志雄 唐孝宣(184)
- 23 2'-脱氧-5-氟尿苷分离纯化工艺的研究 周长林 邱蔚然 费海明 俞俊棠(192)
- 24 电泳法测定 PNPase 的活力 董志雄 邱蔚然 李丽(196)
- 25 应用乳生分歧杆菌的核苷磷酸化酶合成胸苷的研究
..... 沈荣坤 邱蔚然 冯科宇(199)
- 26 固定化酵母催化的 ATP 生产与 CO₂ 释放率的关系研究
..... 朱文洲 徐茜 邱蔚然 俞俊棠(202)
- 27 乙酰短杆菌酶法合成 5-甲基尿苷 丁庆豹 邱蔚然(207)
- 28 利用 κ-卡拉胶-魔芋多糖复配胶固定化酵母生产三磷酸腺苷
..... 唐学友 丁庆豹 邱蔚然(212)
- 29 D-核糖发酵过程参数的研究与控制 高淑红 邱蔚然(219)
- 30 酶法合成抗肿瘤新药——氟铁龙..... 邱蔚然 丁庆豹 闫蓬勃(224)
- 31 酶法合成抗癌新药氟铁龙前体——5-FUR
..... 闫蓬勃 丁庆豹 邱蔚然 严滢 石佳璞(228)
- 32 D-核糖产生菌的选育及发酵 高淑红 邱蔚然 丁庆豹 蔡华 孙强(233)
- 33 核苷磷酸化酶的产酶条件优化的研究..... 闫蓬勃 邱蔚然 丁庆豹(238)
- 34 用固定化啤酒酵母细胞合成胞嘧啶核苷二磷酸胆碱
..... 牛红星 邱蔚然 丁庆豹(243)
- 35 麦芽根中 5'-磷酸二酯酶的制备及性质 李德莹 邱蔚然 丁庆豹(249)
- 36 产核酸的乳糖酶的热带假丝酵母 QZN0209 培养条件研究
..... 周震 邱蔚然 闫蓬勃(254)

第一部分

综 述

1 固定化酶和固定化微生物的生物反应器

华东化工学院 邱蔚然 叶林发

近年来应用酶或微生物的生化反应取代一般有机合成反应而应用于工业生产的趋势正在发展,生化反应的实质无非是利用酶作催化剂。它的特征是在温和反应条件下具有严格选择性,所以越来越广泛地应用于食品、医药、纺织等工业。但是由于酶是一种蛋白质,有稳定性差、容易失活、不能反复使用等缺点,故还不能作为一种理想的催化剂。为了弥补这一缺陷,从 20 世纪 60 年代起人们开始研究固定化酶和固定化微生物。

固定化酶和固定化微生物具有如下优点:(1) 酶的稳定性增强;(2) 可以制成具有适合应用目的的形状和特性的酶;(3) 可以反复使用;(4) 反应装置所占空间小;(5) 生产可以连续化;(6) 可增加和提高反应产物的得率和纯度;(7) 有利于节约能源;(8) 减轻环境污染等。因此在 20 世纪 70 年代已有许多固定化酶和固定化微生物应用于工业生产^[1]。例如,用固定化氨基酸酰化酶生产 L-氨基酸;固定化青霉素酰化酶生产 6-氨基青霉烷酸;固定化葡萄糖异构酶生产高果糖浆;用固定化大肠杆菌生产 L-天冬氨酸;固定化产氨短杆菌生产 L-苹果酸;固定化大肠杆菌生产 γ -氨基丁酸^[2]等等。

本文就目前世界上有关固定化酶和固定化微生物的生物反应器研究和应用的状况作一概要的介绍。

一、生物反应器的类型

将酶溶液封闭在生物反应器中不断地反复使用,广义地也可叫作固定化酶。关于此种广义的固定化酶的生物反应器有固体膜生物反应器(图 1a)^[3]和液膜生物反应器(图 1b)^[4]。前者适合于由高分子底物生产低分子产物的酶反应体系,反应后,酶和底物由于不能通过超滤膜(固体膜)而被循环使用,只有产物通过超滤膜而被分离出来。如用淀粉酶使淀粉糖化时便可应用此种反应器。也有将固体膜做成管状,将酶封闭在管内或管外,制成多管式生物反应器。村田等利用干酵母抽提液,应用于葡萄糖和腺苷连续生产 ATP,并设计了一种特殊的多段式半透膜反应槽(图 1c)^[5]。液膜生物反应器是将酶固定在一有机物质的液膜中,底物能进入液膜与酶反应,产物由反方向渗出膜外。

一般地说,上述那种广义的固定化酶,其性质还是接近于水溶性酶,其稳定性比后面介绍的狭义的固定化酶为差。狭义的固定化酶和微生物大致可按表 1 分类。目前工业上主要是用包埋或包埋交联的固定化方法,由这些方法制成的固定化酶和微生物多数是凝胶状的。

这一类生物反应器,按照参加反应的物质和反应产物的状态可分成液固生物反应器和气液固生物反应器,按照反应器形状可分成塔式和槽式生物反应器,按照反应时进料和出料的方式可分为连续式和间歇式生物反应器,按照催化剂在反应器中的运动状态可分为固定床和流化床。如此等等,根据不同角度可将生物反应器命名为各种不同的名称。

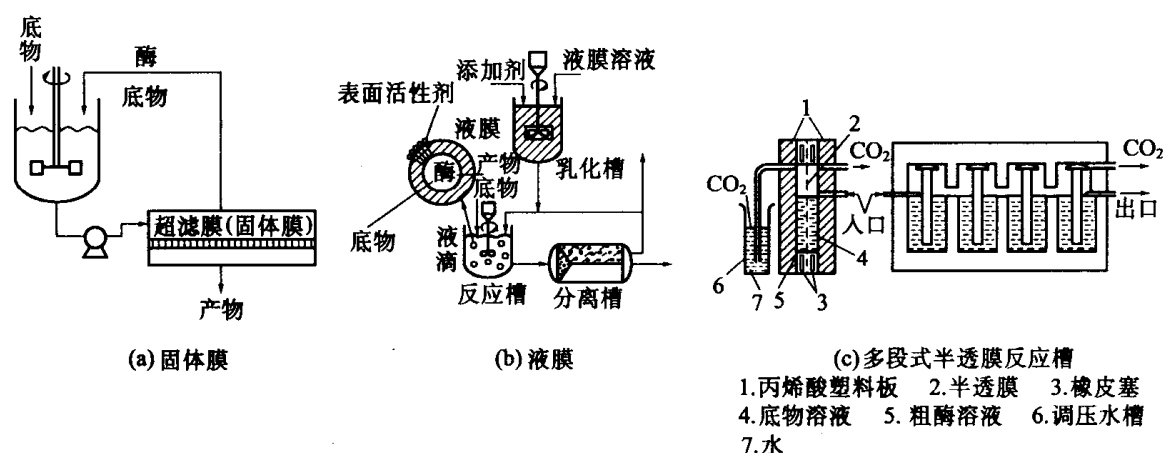


图 1 水溶性酶的生物反应器

表 1 固定化酶和固定化微生物的分类

		固 定 化 方 法	形 状
化学方法	固定化酶	包埋法(聚丙烯酰胺、海藻酸钙、海藻酸铝、三醋酸纤维素、角叉菜胶、胶原等)	粒子、板、膜、纤维、圆柱
	固定化微生物*	交联法 载体结合法(离子键、共价键)	
物理方法	固定化酶	吸附法	粒子
	固定化微生物	照射法、加热法	

* 固定化微生物可分为固定化处理细胞、固定化静止细胞、固定化增殖细胞等三种。

(一) 液固生物反应器

1. 粒状固定化酶和固定化微生物

(1) 塔式生物反应器

a. 固定床反应器

它是活塞流反应器。即,在填充床反应器内,底物按一定方向以恒定速度通过固定化酶床,若塔的横截面上液体流动速度完全相同,则可以认为反应器内液体是在理想条件下作活塞流的运动。但是由于流动方向上存在速度梯度和温度梯度,在轴方向上存在底物的扩散,所以实际上总是不可能完全符合理想条件的。

固定床反应器是目前工业上最常用的一种生物反应器,操作有上行和下行两种(图 2),工艺流程如图 3^[6]、图 4^[7]所示。其中用固定化葡萄糖异构酶生产高果糖浆的工艺是目前世界上应用规模最大的固定化酶工艺,世界上应用此法制造的高果糖浆产量已达 300 多万吨。反应塔直径 1.5 米,高 2~4 米,填充量可达 1.4~2.4 吨^[8]。

为使液固之间物质传递和热量传递加快,可以增大液体流速,但是流速过大(即压力过大),固定化酶或微生物粒子相互间从点接触变成面接触^[9],固定床空隙率和界面积变小,压降变大,反而使液固间物质传递和热量传递减慢。因此通常以降低床层高度,制成多段式的固定床。一般说下行操作较容易,并且由于流体压力可使粒子之间空隙减小。

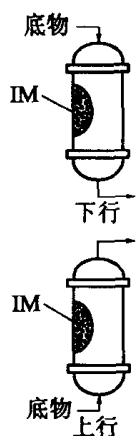


图2 固定床

* IM:代表固定化酶和固定化微生物

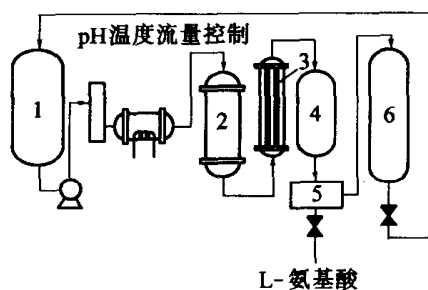


图3 固定化氨基酸酰化酶

生产L-氨基酸工艺流程

1. 乙酰D、L-氨基酸 2. 固定化酶填充床
3. 浓缩器 4. 结晶槽 5. 分离器 6. 消旋化槽

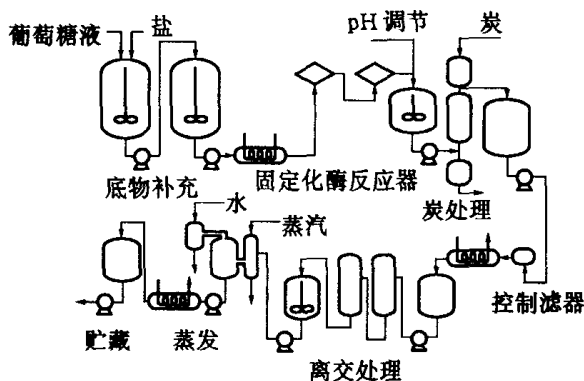


图4 利用固定化葡萄糖异构酶使葡萄糖转化成果糖的生产过程

b. 流化床反应器

它是使固定化酶或微生物粒子流动的反应器,如图5所示。在流化床反应器中底物向上流过固定化酶床,流动速度要足以顶起颗粒,而又不致使颗粒溢出。此种流动状态,具有良好的热量传递和物质传递特性,而且不会堵塞,适用于带有粘性、颗粒性的底物。如果固定化酶或微生物的凝胶粒子比重太轻,易从床中“飞”出时,可用氧化铁等粉末与酶一起固定化,使粒子比重增大,这是提高流动性的一个办法,但要注意添加的金属粉是否会使酶活性下降。为提高流动性还可采用锥形流化床^[10]。图6是一种小型锥形流化床的示意图。在提高流动性时,往往会使固定化酶或微生物粒子容易机械破损,故设计反应器时必须综合考虑。

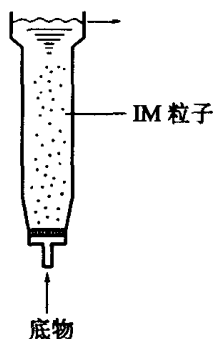


图5 流化床

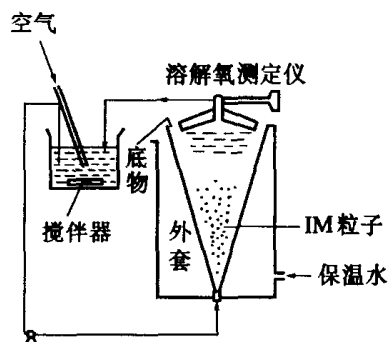


图6 小型圆锥流化床

(2) 槽式生物反应器

图 7 所示的间歇式固定化酶和固定化微生物粒子的反应槽,与塔式生物反应器比较,造价低,装置比较简单。但是为使固定化酶或微生物粒子均匀地悬浮在反应器中,必需保持一定的搅拌速度,因此不可避免地会使粒子产生机械破损。为避免粒子破损,在搅拌轴中间安装盛有固定化酶或微生物粒子的筐笼,再在上部和下部装上桨翼(图 8)^[12]。此种生物反应器因为能迅速地达到一定的搅拌速度,所以没有液固间物质传递因素的影响,很容易测定固定化酶粒子的表观反应速度。

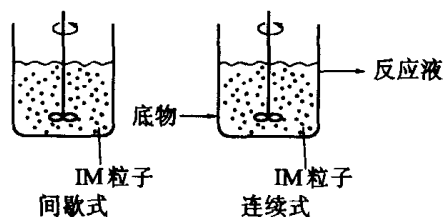


图 7 固定化酶粒子搅拌槽

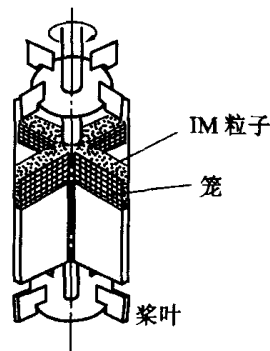


图 8 筐式搅拌槽

2. 板、膜、纤维状的固定化酶和固定化微生物

(1) 塔式生物反应器

Coulet 等^[13]设计了在 0.4mm 厚的胶原膜固定化酶之间插入隔板的活塞流层叠式的生物反应器(图 9),并探讨了应用于麦芽糖生成葡萄糖的反应等问题。菅^[14]等使用多层的聚丙烯酰胺固定化链霉菌(*Streptomyces SP.*)板制成的生物反应器(图 10),进行了由葡萄糖生成果糖的试验。Vieth^[15]等设计了用于胶原膜固定化脲酶的生物反应器(图 11),Coulet^[16]等也试验了与它类似的生物反应器(图 12)。Pastove 等^[17]使用三醋酸纤维素固定化 β -半乳糖苷酶制成纤维状固定化酶后装柱(图 13),用它水解牛乳中的乳糖,得到良好的结果。图 14 表示塔的结构,使用此法,固定化酶的使用寿命长,已在意大利实现工业化。

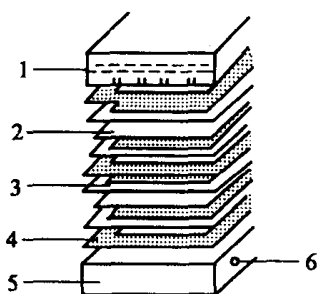


图 9 膜状胶原固定化酶的层叠式生物反应器

1. 底物溶液输入管 2. 固定化酶膜 3. 隔板
4. 树脂膜 5. 底座 6. 反应液输出管

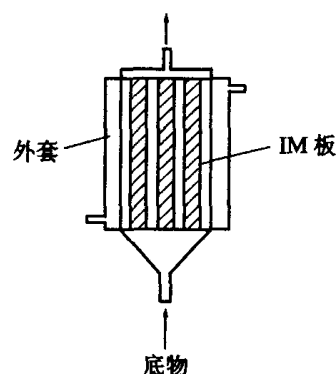


图 10 板状固定化微生物的生物反应器

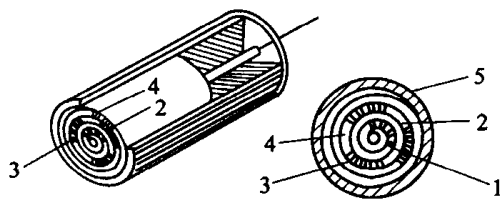


图 11 膜状胶原固定化酶的生物反应器

1. 聚四氟乙烯棒 2. 固定化酶膜
3. 玻璃管 4. 空隙 5. 外壳

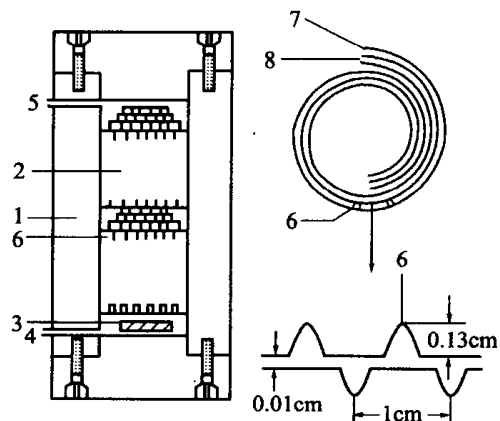


图 12 膜状胶原固定化酶的生物反应器

1. 反应器外壳 2. 螺旋盘管 3. 磁力搅拌棒
4. 底物溶液输入口 5. 反应液输出口
6. 峰 7. 树脂带 8. 固定化酶膜

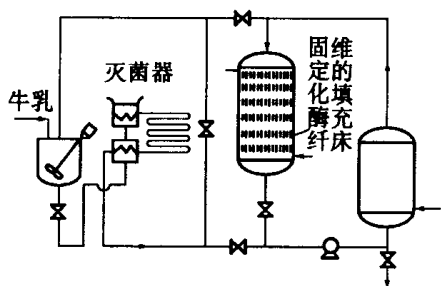


图 13 纤维状固定化半乳糖苷酶水解乳糖的工艺流程

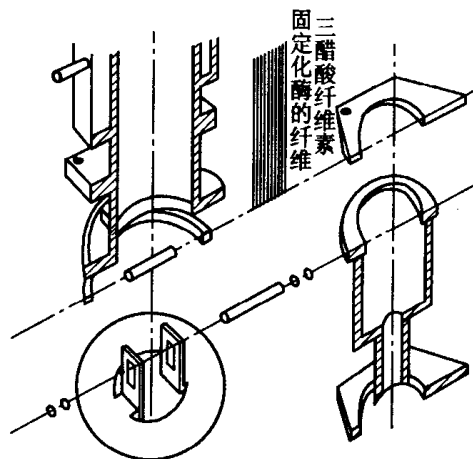


图 14 纤维状固定化酶的固定床构造

(2) 槽式生物反应器

用聚丙烯酰胺固定化菌体圆板或胶原固定化酶膜圆板作为搅拌桨翼,可制成一种特殊的槽式生物反应器(图 15)^[18,19]。从有效系数来看,板膜的厚度越薄越好,但工艺放大时,必须考虑固定化酶的强度等问题。

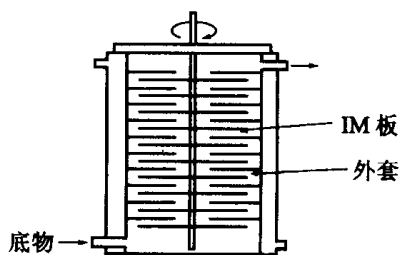


图 15 固定化微生物圆盘搅拌槽

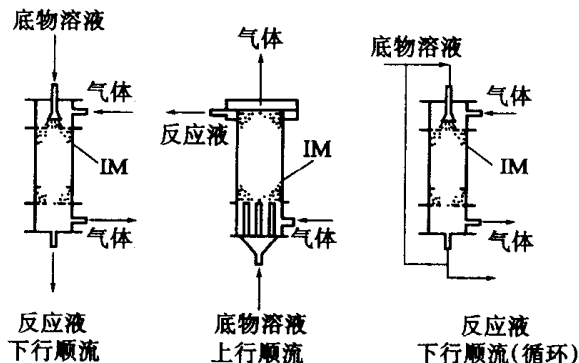


图 16 气液顺流填充塔

(二) 气液固生物反应器

1. 粒状固定化酶和微生物

(1) 塔式生物反应器

作为代表性的反应器是填充塔。有逆流和顺流操作,后者还可分为上行和下行(图 16)。近年来以顺流填充塔作为反应装置的研究较多。顺流操作中根据气液雷诺数之比(Re_g/Re_l),粒子和塔径之比和 Re_l 分成若干流动区域^[20]。在生物反应器中,以在缓和流动条件的气泡流动区域中操作最理想。在这种操作条件下, Re_l 和 Re_g/Re_l 的值小,在连续相的液体中气体形成气泡,且气泡彼此之间独立存在,与液体同方向移动,因此形成典型的活塞流。它还可以防止固定化酶或微生物的粒子损伤。但是因为它液固之间物质传递系数小,所以为提高得率采取循环方式较好。使用直径 0.2cm 的聚丙烯酰胺包埋的卵状假单孢菌(*Pseudomonas ovalis*)的粒子,以循环方式试验了由葡萄糖溶液和氧气生成葡萄糖酸的连续生产,上行和下行都得到了良好的结果^[21]。但是上行时,在塔上部容易形成泡沫层。与前述固定床一样,必须设法降低塔高,减小压降。此类反应器也常用于固定化细胞的多酶反应中,如利用固定化酵母连续生产谷胱甘肽^[22,23],利用固定化酵母和固定化 *Brevibacterium ammoniagenes* 混合填充在塔式反应器中,连续生产 NADP^[24]等。

使液体接近全混和液固物质传递快的生物反应器是三相流化床(图 17)。图 18 是使固定化酶或微生物粒子也能理想均匀分布的上下圆锥型三相流化床的生物反应器^[19]。气体通过分散板形成气泡,并使液体和固定化酶或微生物粒子一起向上运动,大气泡从反应器上部溢出,小气泡具有与粒子类似的运动状态,与粒子、液体一起沿壁向下流动,它们到达反应器下部后再返回向上运动。此反应器的特点是固定化酶或微生物凝胶粒子分布均匀,没有机械性破损,效果良好。图 19 是华东化工学院设计制造的间歇三相流化床生物反应器,它已经成功地应用于固定化大肠杆菌生产 γ -氨基丁酸的工艺^[2]。

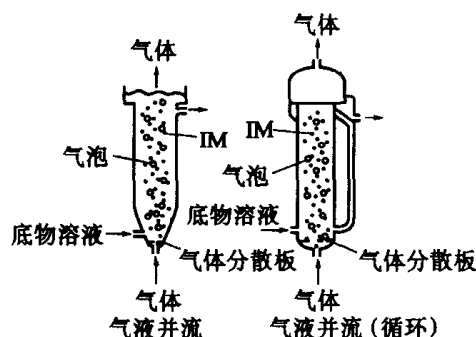


图 17 三相流化床生物反应器

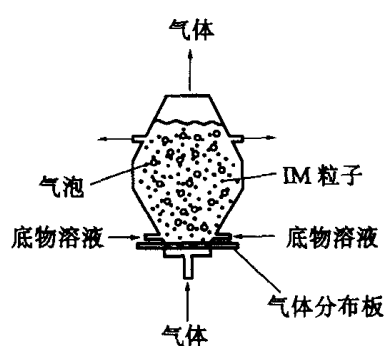


图 18 上下圆锥型三相流化床生物反应器

(2) 槽式生物反应器

由于固定化酶或微生物粒子的机械性破损大,除实验室试验外,几乎不大应用。

2. 板状固定化微生物

图 20 表示将聚丙烯酰胺固定化假单孢杆菌附在不锈钢圆盘上(厚 0.3~0.5cm,直径 25cm),并将这圆盘安装在水平轴上制成旋转圆盘式生物反应器^[16]。反应器的 2/3 空间暴露在氧气相,1/3 浸在底物液相中,圆盘旋转速度为 72~100r/min。由葡萄糖和氧气生成葡萄糖酸内酯和葡萄糖酸的反应主要是旋转圆盘暴露在氧气相时发生的。还有使用聚丙烯酰胺凝

胶固定化弱氧化葡萄糖杆菌(*Gluconobacter suboxydans*)做成旋转圆盘,进行山梨醇连续制造山梨糖的试验,也得到了良好的结果^[20]。

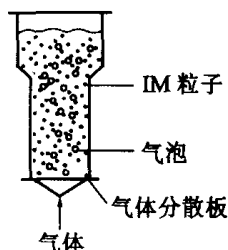


图 19 流化床生物反应器

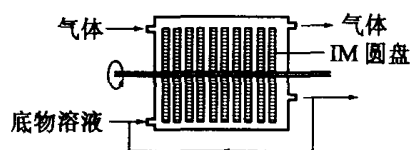


图 20 旋转固定化微生物圆盘生物反应器(循环型)

以固定化微生物粒子作为生物催化剂,使用上下圆锥型三相流化床和旋转圆盘的生物反应器进行的连续生产工艺是代替以前使用微生物发酵的好方法。

二、生物反应器的选择

上面对各性状的固定化酶和固定化微生物应用何种反应器及其工业应用实例作了介绍,当然这也是选择生物反应器的依据,下面从反应动力学角度对几种主要的液固生物反应器作一比较。

如果固定化酶反应遵循 Michaelis-Menten 方程,对于间歇搅拌槽式生物反应器、连续活塞流生物反应器(PFR)和连续搅拌槽式生物反应器(又称全混型反应器 CSTR),可用下述方程式描述这些反应器的性能^[21]。

$$\text{间歇生物反应器: } xS_0 - K_m \ln(1-x) = \frac{kEt}{V}$$

$$\text{PFR: } xS_0 - K_m \ln(1-x) = kE \cdot \frac{1}{q}$$

$$\text{CSTR: } xS_0 + K_m \frac{x}{1-x} = kE \cdot \frac{1}{q}$$

其中 x 表示转化率, S_0 表示起始底物浓度, K_m 表示米氏常数, k 表示物质传递常数, E 表示反应使用的酶量, t 表示反应时间, V 表示反应液的体积, q 表示流量。从上述方程式可以看出,间歇生物反应器与 PFR 的动力学在形式上相同,它们之间生产力的唯一差别是 PFR 没有间歇时间,从上方程式还可以看出, PFR 与 CSTR 的反应过程与反应器大小无关,所以它们的生产力与每一反应器所需酶量有关。PFR 与 CSTR 两者的关系是,当进料底物浓度 $S_0 \gg K_m$ 时,两方程变成相同,也就是说在此种场合两种反应器生产力相同;但当 $S_0 \ll K_m$ 时,则有很大差别,例如当 $x=0.99$, $S_0=0.1K_m$ 时,那末以同样流速通过底物时, CSTR 需要的酶量为 PFR 的 21 倍。

一种固定化酶工艺的生产力的转化率是互相关联的,实际上生产中转化率 x 通常是 0.8~0.99。为了增加 x 而增加的酶量与 S_0/K_m 有极大关系,当 S_0/K_m 很大时,在任何反应器中所需酶量与 x 成正比。但当 S_0/K_m 较小时,例如 $S_0/K_m=0.1$,若要将 x 从 0.95 增加到 0.98,间歇生物反应器或 PFR 只需追加 30% 酶活力,而 CSTR 则需追加 50% 酶活力。这样稍微提高产率,就造成生产力大为减弱。所以设计反应器时,必须合理选择转化率。在固定化酶稳定而底物昂贵、产物分离困难的场合,应着重注意提高转化率,而不是注意生产力。

如酶受过量底物抑制时,在间歇或 PFR 反应器中都会使固定化酶受害严重,所以此时

使用 CSTR 较好。在为了获得高转化率而又有产物抑制的场合,则采用 PFR 较好。

流化床生物反应器动力学性质上是处于 PFR 和 CSTR 之间,如前所述它有许多独特的优点,目前的问题是对流化床设计尚基于经验摸索,难以简单地模拟放大。

目前关于工业应用的固定化酶和固定化微生物的生物反应器的研究,还仅仅是一个开端,现在还没有一种能广泛适应各种场合的独特的生物反应器。但是随着微生物变异菌株的培育和筛选,酶的分离和精制工艺的进步,必将期待着各种生物反应器的进一步开发,高效能、低消耗,既安全又无公害的自动、连续的生物反应器一定会在发酵工业、医药工业和化学工业上越来越多地得到广泛应用。

参 考 文 献

- 1 宫内等. 化学工学,1980,44(2):91~94
- 2 李永丰等. 医药工业,1982,(2):1~4
- 3 Porter M C. Biotechnol Bioeng Symp Series,1972,3:115
- 4 Shrier A L. ibid 323
- 5 村田等. 蛋白质核酸酵素,1981,26:924
- 6 Chibata I et al. Proc IV IFS Fermentation Technology Today,1974,383
- 7 Davis J C. Chem Eng August,1974,19:52
- 8 小卷. 化学工业,1982,33:59
- 9 福岛等. 化学工学第 9 回秋季大会要旨集,1975,190
- 10 Scott C D et al. Biotechnol Bioeng,1976,18:1893
- 11 Poulsen L L et al. Method in Enzymology,1976,448:849
- 12 Fukushima S. Immobilized Enzyme Technology 225, Plenum Press, 1975
- 13 Brillouet J M et al. Biotechnol Bioeng,1976,18:1871
- 14 Suga K et al. J Ferment Technol,1978,56:152
- 15 Vieth W R et al. Biotechnol Bioeng Symp Series,1972,3:285
- 16 Brillouet J M et al. Biotechnol Bioeng,1977,19:125
- 17 Pastore M et al. Methods in Enzymology,1974,44:822
- 18 a) 福岛等. 化学工学第 10 回秋季大会要旨集,1976,81
b) 福岛等. 发酵工学大会要旨集,1978,165
- 19 椎藤等. 化学工学第 12 回秋季大会要旨集,1978,43
- 20 Fukushima S et al. J Chem Eng Japan,1979,12:296
- 21 a) 福岛等. 化学工学第 41 年会要旨集,1976,596
b) 福岛等. 化学工学第 11 回秋季大会要旨集,1977,73
- 22 Murata K et al. Eur J Appl Microbiol Biotechnol,1978,6:23
- 23 Ibid,1981,11:72
- 24 Murata K et al. Edzyme & Microbiol Technol,1981
- 25 福岛等. 化学工学第 44 年会要旨集,1979,167
- 26 Wang S S. Biochemical Engineering,1981,5-3~5-5

(原发表于《医药工业》1982 年第 12 期)

2 固定化生物催化剂在食品工业中的应用

邱蔚然 赵伯龙

本文通过实际例子,详细介绍固定化生物催化剂在食品工业中应用的情况。

一、异构糖的制造

在固定化生物催化剂的工业应用中,最大规模实施的是由固定化葡萄糖异构酶进行的异构糖的制造。1964 年日本发现了适合工业生产的放线菌的酶,接着又发展了热处理菌体的应用。1975 年以后达到了利用固定化酶大量生产的水平。最近又发现了新的引人注目的耐热性高的酶。

利用固定化酶制造异构糖的方法如图 1 所示。此工艺在 40℃ 添加溶菌酶反应 4~5 小时,就能高得率地从菌体中抽提得到酶。载体选用特殊网状多孔阴离子交换树脂。酶被特异地吸附在树脂上,几乎以 100% 的得率得到高比活(3 000V/mL 载体)的固定化酶。当 50% 葡萄糖溶液以 2~4/小时的空间速度流过这固定化酶柱时,就可连续得到异构化程度为 45% 的糖液。这异构糖液的副产物和色素都极微量,经过简单的精制、浓缩便得到产品。酶活性的半衰期达 50 天以上(60℃),活性降低后载体可再生反复使用。在 1976~1980 年,日本 60% 异构糖都采用此法生产。

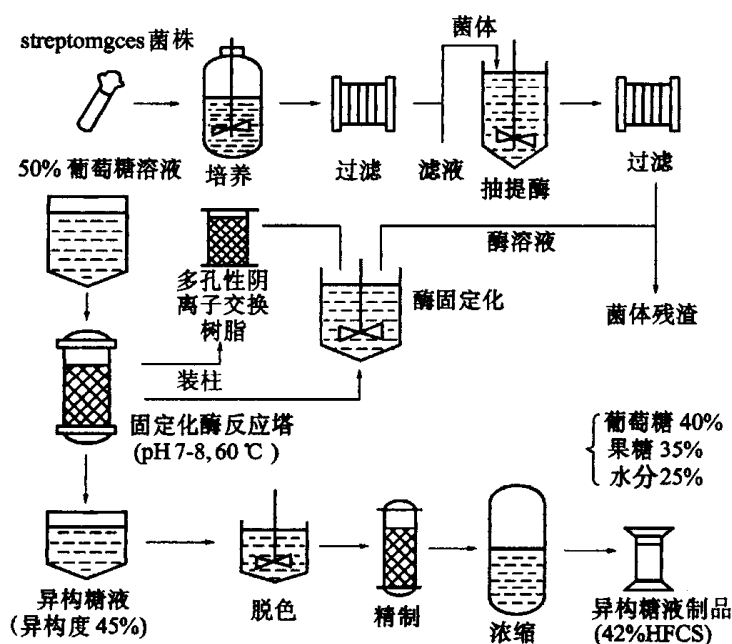


图 1 固定化葡萄糖异构酶制造异构糖的工艺

此外还发明了表 1 所示的各种固定化方法,经过经济上激烈竞争、淘汰,现在主要采用交联固定微生物的方法。