

INDUSTRIAL ENZYMES AND THEIR
APPLICATIONS FOR BIOCHEMICAL PRODUCTIONS

酶制剂在大宗生化品 生产中的应用

段 钢◎主编



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

酶制剂在大宗生化品 生产中的应用

段 钢 主编



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

酶制剂在大宗生化品生产中的应用/段钢主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2014. 1

ISBN 978-7-5019-9466-3

I. ①酶… II. ①段… III. ①酶制剂—应用—生物制品—生产工艺 IV. ①TQ464.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 227181 号

责任编辑: 江 娟 王 朗 策划编辑: 江 娟 责任终审: 唐是雯
封面设计: 锋尚设计 版式设计: 宋振全 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 北京君升印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2014 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 19

字 数: 388 千字 插页: 1

书 号: ISBN 978-7-5019-9466-3 定价: 48.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

110076K1X101ZBW

前 言

我国是发酵法生产大宗生化品的大国，是名副其实的“世界工厂”。如氨基酸中的谷氨酸、赖氨酸等，有机酸中的柠檬酸和葡萄糖酸发酵生产量毫无疑问地高居世界第一；淀粉、结晶葡萄糖、麦芽糖、低聚糖的生产量也同样占世界首位，果糖的生产量虽然现在位居第二，但超过美国只是时间问题。这些大宗生化品的生产，如果技术不进步，会持续地对环境造成很大影响，并耗费大量的资源和能源。希望科学和技术的不断进步，可以尽快减少这些不良的影响而造福中国社会。工业生物技术是其中重要的寄托，而酶制剂又是其中最重要的一环。

虽然关于酶制剂的有关书籍和文章不少，但有时工业酶的概念还是不很清楚，本书所指的工业酶是指医药用酶之外的工业规模用酶，包括食品用酶等。工业酶制剂的应用很广泛，本书不试图涵盖工业酶的广泛应用，而着重于在几种重要的大宗化学品的生产上酶制剂的应用。在具体介绍不同应用之前，第一章先简单介绍工业酶近期的发展情况，特别是市场状况和未来的展望。在第二章中介绍由于分子生物学和生物信息学的快速发展和高通量筛选等工具的进步，使工业酶的发现、发展和生产都有相应很快的发展。虽然有关纤维素转化的研究非常多，但如今大宗生化品的生产原料仍来源于淀粉。第三章介绍了淀粉生产，叙述了如何应用酶制剂来提高提取效率并减少能量的使用和对环境的影响。葡萄糖是生产绝大多数生化品的底物，糖浆质量的好坏直接影响到下游发酵的转化，因此第四章单独讨论葡萄糖的生产，可为下面各章打下良好的基础。果糖的发展是中国近两年淀粉深加工中最快的一个，然而工厂设计、生产和用酶情况还有待大大提高。第五章结合我国现状提出改进的机会和具体措施。我国是麦芽糖和低聚糖等功能糖的生产大国，第六章新型酶制剂的出现带来了新的功能糖，或对现有的功能糖生产有所改进。在第七章中，主要介绍生料制糖对特殊糖醇生产过程的影响和麦芽糖醇的生产要点。第八章介绍了一代和二代酒精生产的现状和进步。第九章则介绍新型酶制剂在传统的白酒和黄酒上的新应用。第十章介绍了主要有机酸的发酵和酶法生产。第十一章介绍了氨基酸发酵生产和小品种氨基酸的酶法生产。最后一章较详细地介绍了现代分析对大宗生化品生产和研发过程中的指导作用。

参编作者的具体分工如下：前言由段钢编写；第一章由段钢、姜锡瑞编写；第二章由段钢、姜锡瑞编写；第三章由段钢、钱莹编写；第四章由钱莹、张晓萍、段钢编写；第五章由段钢、张晓萍编写；第六章由钱莹、张晓萍、段钢编写；第七章由段钢、钱莹编写；第八章由许宏贤、段钢编写；第九章由姜锡瑞编

写；第十章由姜锡瑞、许宏贤编写；第十一章由许宏贤、王欣、周鹏、段钢编写；第十二章由张晓萍、刘佳、钱莹编写。

在本书完成之际，首先感谢姜锡瑞先生的协调，这么多年的帮助和鼓励，没有他的不懈努力，本书不可能成文。同时也由衷感谢本书其他作者，我的同事钱莹、许宏贤研究员，张晓萍博士，王欣，周鹏，刘佳等在非常繁忙的工作外，利用业余时间和假期来完成本书的相应章节。除了提到的每章作者外，周红伟、刘飞、陆冬佳等同事也对本书的一些内容有特殊贡献，在此表示感谢。特别感谢作者家人的理解、支持、忍耐和鼓励！

本书主要集合了作者的最新研究成果，同时也包括行业理论和实践的进步。然而当今世界发展很快，书籍和文章的书写总是赶不上变化，但我们还是要在适当的时间停下来总结，以达到温故知新的目的。

由于时间仓促、知识和经验有限，疏忽和错误难免，希望专家和读者能多提宝贵意见（gang.duan@dupont.com），也可反馈给编辑部（jiangjuan1982@sina.com），如果将来有机会再版，则可更新和更正。非常希望本书的一些观点能为行业的进一步发展和提高有所贡献。

段钢

2013年9月

目 录

第一章 工业酶的应用与市场	1
第一节 酶和酶制剂	1
第二节 酶制剂的市场	1
第三节 工业酶的应用	7
第二章 工业酶的发现、发展和生产	18
第一节 酶性质的改造	18
第二节 酶制剂发酵生产技术	28
第三章 酶制剂在淀粉生产中的应用	44
第一节 淀粉的市场和生产情况介绍	44
第二节 酶在玉米淀粉生产中的应用	49
第四章 酶制剂在高质量葡萄糖生产中的应用	60
第一节 产量、应用和存在的问题	60
第二节 生产中如何减少杂糖的形成	63
第五章 酶制剂在果葡糖浆生产中的应用	73
第一节 概述	73
第二节 果葡糖浆生产中的注意要点	73
第三节 技术发展趋势	83
第六章 酶制剂在麦芽糖和低聚糖生产中的应用	85
第一节 麦芽糖和麦芽四糖的生产	85
第二节 其他低聚糖的生产	91
第七章 酶制剂在糖醇生产中的应用	104
第一节 概述	104
第二节 麦芽糖醇的生产	105
第三节 山梨醇的生产	112

第四节	木糖醇的生产	121
第八章	酶制剂在生物酒精生产中的应用	131
第一节	传统酒精生产过程改进与新型酶制剂的应用	131
第二节	生料酒精工艺进展	146
第三节	非粮燃料乙醇的生产	156
第四节	二代乙醇的生产	163
第九章	酶制剂在白酒和黄酒酿造中的应用	177
第一节	白酒的酿造	177
第二节	黄酒的酿造	189
第十章	酶制剂在有机酸生产中的应用	210
第一节	乳酸的生产	210
第二节	柠檬酸的生产	216
第三节	葡萄糖酸及其盐的生产	221
第四节	乙酸(食醋)的生产	227
第十一章	酶制剂在氨基酸生产中的应用	241
第一节	氨基酸的应用与生产	241
第二节	谷氨酸发酵	247
第三节	赖氨酸发酵	255
第四节	小品种氨基酸发酵	265
第十二章	现代分析仪器在谷物加工中的应用	276
第一节	原料检测	276
第二节	过程及产品的检测	279

第一章 工业酶的应用与市场

第一节 酶和酶制剂

酶是一种蛋白质,是各种氨基酸的线性聚合物。由于有 20 种氨基酸,因此有很多不同的组合。通常酶分子由 300 个或更多的氨基酸聚合而成。已发现的酶有几千种,但应用于工业化生产的只有不到 100 种。工业化生产的酶产品被称为酶制剂或工业酶。酶制剂是生物催化剂,可以在温和的条件下加速特别的反应。

随着人口的增加和人们生活习惯的改变,世界面临的巨大挑战有:能源危机、资源枯竭、环境恶化等。21 世纪被预测为生物科技的世纪,人们对生物科技寄予厚望,希望生物科技能给世界带来可持续发展的解决办法。世界处在从碳氢化合物的石油经济到碳水化合物的生物经济的转型过程中。

碳氢化合物(石油精炼)——> 碳水化合物(生物精炼)

酶制剂作为高效生物催化剂,无疑是生物技术中主要的组成部分之一,是生物技术的一类特殊产品。酶制剂与其他生物产品不同的是,很多时候,或者是本书讨论的酶制剂并不是最终面对消费者的产品,而是用于其他产品的加工过程。

第二节 酶制剂的市场

世界酶制剂的市场见图 1-1,全球酶制剂和工业酶制剂的市场见图 1-2。特别值得指出的是食品工业用酶也是工业酶制剂的范畴。工业酶通常指的是除用于

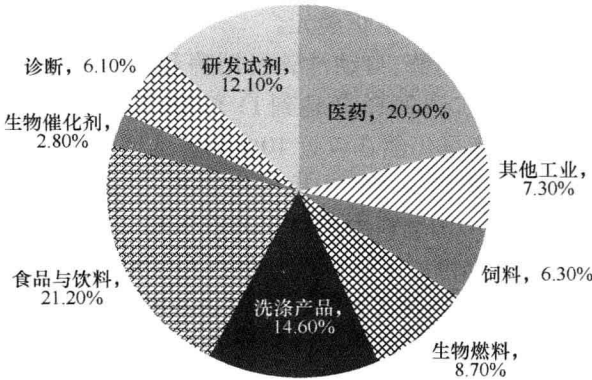


图 1-1 世界酶制剂的市场

医药、研发、诊断行业外的酶制剂。

工业酶依 Freedonia 的分类可分为:食品与饮料行业用酶,洗涤用酶,生物燃料生产用酶,饲料用酶,其他工业用酶(包括淀粉加工、纺织和皮革等),特殊用酶如医药、诊断用酶不在这个统计中。工业酶约占所有酶市场(58 亿美元,2010 年)份额的近 60%,如图 1-2 所示。在过去的 10 年里,工业酶的市场稳步增长,生物燃料、饲料和食品行业都是增长主要的驱动行业。

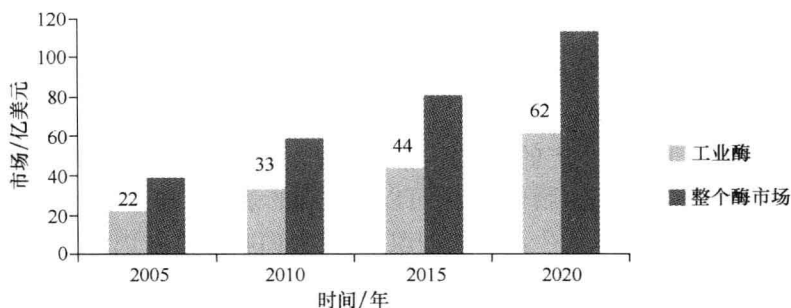


图 1-2 全球酶制剂和工业酶制剂的市场估计(依参考文献 1 数据作图)

一、按行业分的市场规模

虽然不是所有工业酶的应用都是本书的讨论内容,读者还是有必要了解工业酶制剂市场的大体情况。下面就几个主要市场做简单介绍。工业酶市场按使用行业,可分为以下几个大部分。

(1) 食品与饮料行业用酶 主要是焙烤酶,该类酶应用是为了增强焙烤时面包的体积和面团的强度,及增强货架期等。其次就是乳品用酶,用来生产奶酪和除去牛乳中的乳糖。在饮料的制造中,啤酒、白酒、果酒和果汁中也都涉及酶的应用。其他食品加工如点心、可乐、咖啡、鸡蛋、蔬菜、肉类和油脂加工等。2010 年的市场为 12 亿美元,预计 2020 年达到 27 亿美元。

(2) 洗涤用酶 洗衣粉用酶、自动洗碗机用酶和其他洗涤用酶。预测该市场将以每年 5.2% 的速度增长,到 2015 年达到 11 亿美元。

(3) 饲料用酶 全球市场仍然在以近 10% 的速度增长,到 2015 年达 5 亿美元以上。主要饲料用酶为禽类和猪饲料中用的植酸酶;非淀粉类多糖(NSP)水解酶的使用依然在增长。随着中国饲料中小麦比例的加大,这个市场增长加速。

(4) 淀粉加工用酶 淀粉加工制糖的市场在美国和欧洲基本没有增长,但却是中国过去十年里增长最快的领域之一。特别是中国淀粉糖的生产,包括结晶葡萄糖、口服糖、注射糖、麦芽糖和近两年发展飞快的果糖,大大促进了酶制剂的供应。据估计 2010 年全球市场约 1.4 亿美元。未来的增长主要来自亚洲,特别是中国,预计不久的将来中国的果糖生产(2011 年,300 万吨)会超过美国(1200 万吨),

就像发生在啤酒生产中的情况一样。另外中国的生化品发酵也需要大量高质量的葡萄糖供应。中国主要的生化品发酵皆居世界前列,味精(200 万吨)、柠檬酸(100 万吨)、赖氨酸(80 万吨),这些生产仍然在稳步增长,会同时带动酶制剂的使用量。另外酶制剂在玉米浸泡和湿磨过程中的应用,在木薯淀粉分离上的应用,也会在很大程度上扩大酶制剂的使用量。

(5)生物酒精用酶 在经历了 21 世纪初,特别是 2005—2010 年的飞速发展后,美国的燃料酒精生产和中国的生物酒精生产(包括燃料酒精、工业酒精和饮料基酒)使酒精生产用酶量增加了几倍,达到约 5 亿美元。

(6)纺织品和皮革行业用酶 此行业 2010 年全球约 1.3 亿美元,但随着纺织品行业的变化和变迁,在过去 10 年左右,纺织品用酶的市场从欧美转移到中国,但很快就从中国转移到印度、巴基斯坦和孟加拉。同时由于纺织品用酶的特性,使用的酶制剂主要是纤维素类酶,还有少量的淀粉酶和蛋白酶,但比较低端,因此竞争激烈,市场混乱,市场还在缩小。

以上几大行业的情况在图 1-3 中列出其所占比例。

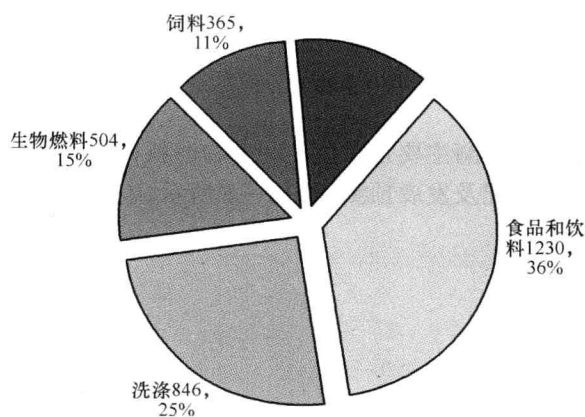


图 1-3 2010 年全球工业酶市场主要分项及比例(单位:百万美元)

二、按酶种类分的市场规模

如果按酶的种类来分类酶制剂的应用,最大的两类酶是:碳水化合物酶(38%)和蛋白酶(29%),具体见图 1-4。碳水化合物酶主要包括 α -淀粉酶和 β -淀粉酶,纤维素和半纤维素酶,木聚糖和戊聚糖酶,糖化酶、糖苷转移酶、普鲁兰酶和葡萄糖异构化酶等。这类酶主要用于淀粉加工和生物酒精的生产,2010 年的市场大约为 21 亿美元,且仍然在快速增长,预计到 2020 年达到 40 亿美元。

蛋白酶的市场在逐渐萎缩,主要是由于洗涤用品、乳制品和皮革用品市场在缩小或缓慢增长,而酶制剂厂商之间的竞争仍在继续。

1. 碳水化合物酶

碳水化合物酶中不同工业用酶所占的比例如图 1-5 所示。2010 年碳水化合物酶的市场销售额为 1.66 亿美元。

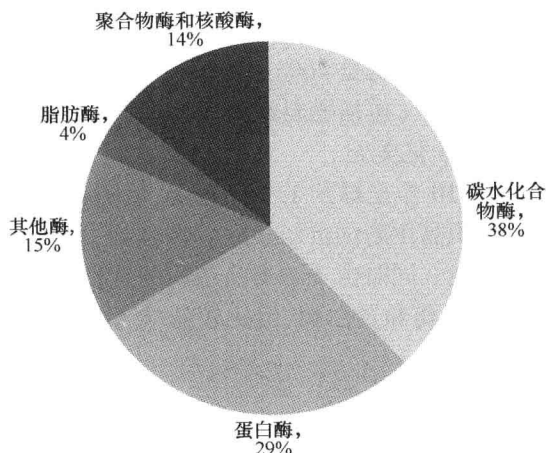


图 1-4 世界酶制剂市场按产品类别划分比例

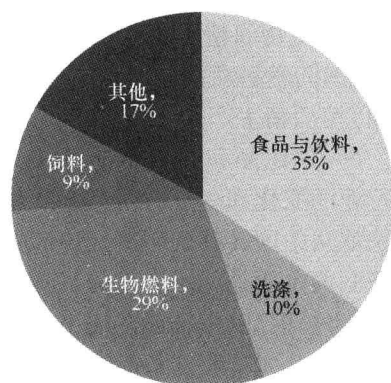


图 1-5 2010 年碳水化合物酶应用于各工业的比例

可以看出碳水化合物酶主要是在食品和生物燃料行业上使用。具体食品行业使用碳水化合物酶的情况及发展预测如图 1-6 所示,生物燃料上使用碳水化合物酶的情况见图 1-7。

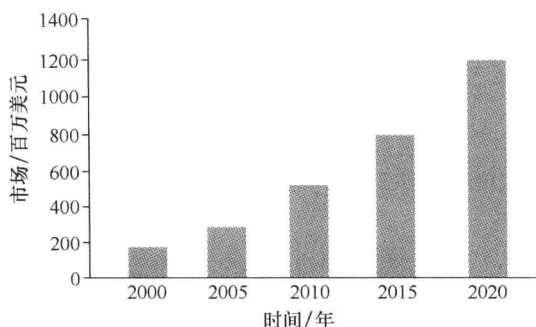


图 1-6 食品行业碳水化合物酶市场情况(2010 年 5.85 亿美元)

2. 蛋白酶

蛋白酶主要使用在洗涤剂生产上,其次是食品行业。洗涤剂市场使用的主要是碱性蛋白酶,其市场在 2010 年约是 6 亿美元。图 1-8 给出了从 2000 年至 2010 年的数字及对 2015 和 2020 年的预测,增长还是相当明显的。

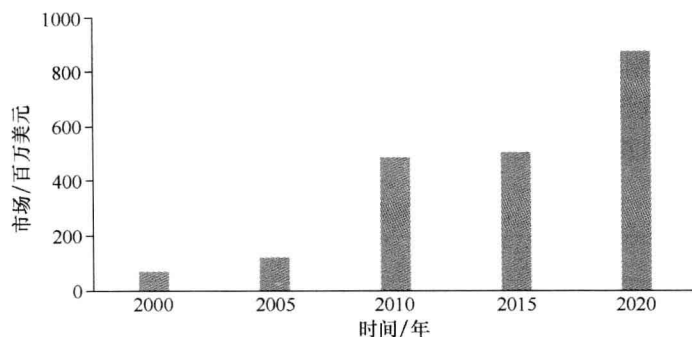


图 1-7 生物燃料上使用碳水化合物酶的情况(2010 年 4.85 亿美元)

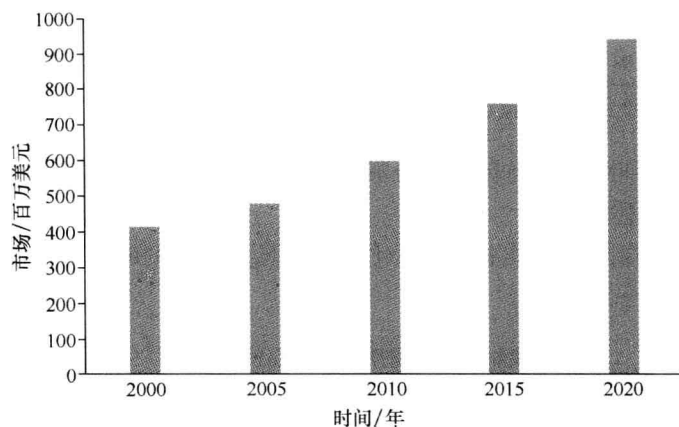


图 1-8 洗涤剂行业使用蛋白酶的情况及预测(2010 年 6 亿美元)

食品上使用的蛋白酶种类比较广泛,酸性、碱性和中性蛋白酶皆有。2010 年的市场也有约 4.15 亿美元。其近来历史和未来发展预测见图 1-9。

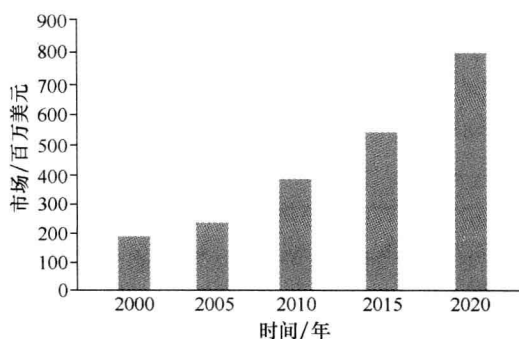


图 1-9 食品行业使用蛋白酶的情况及市场预测

3. 酶制剂服务的行业

虽然工业酶制剂的行业本身不大,但其涉及和服务的行业可能百倍于其价值。表 1-1 引用了世界经济合作与发展组织 OECD2009 年报告中关于未来化学品生产的预测和生物过程所占比例及增长的统计表。

表 1-1 世界范围内化学品的生产 单位:10 亿美元

项 目	2005 年		2010 年		2025 年	
	价值	生物有关份额	价值	生物有关份额	价值	生物有关份额
大宗产品	475	0.2%	550	0.9% ~ 2.0%	857	5.8% ~ 10.0%
特殊品	375	1.3%	435	20% ~ 25.3%	679	44.2% ~ 50.1%
精细化化工品	100	15.0%	125	20% ~ 25.6%	195	45.1% ~ 50.3%
聚合物	250	0.1%	290	5.2% ~ 10.3%	452	10.0% ~ 19.9%
所有化学品	1200	1.8%	1400	9.4% ~ 13.1%	2183	22.1% ~ 28.1%

注:医药品不包含在此统计中(由 OECD 统计改编,2009)。

虽然这里提到的与生物有关的份额不全是由酶制剂直接催化的,但很多过程都与酶制剂的应用有关。

笔者把现在我国大规模生产的生化品的信息及酶制剂成本与产品的价值进行了比较,列于表 1-2 中。

表 1-2 酶制剂成本与所生产产品价值对比

产品	全国产量/万吨	参考单价/(元/t)	酶种类	酶参考成本/(元/t 产品)	产品价/酶成本
麦芽糖	450	3000	液化、真菌淀粉、大麦	30 ~ 40	< 100
结晶葡萄糖	300	3500	液化、糖化	40 ~ 50	< 100
果糖	300	4500	液化、糖化、异构化	70 ~ 80	< 100
山梨醇	100	5000	液化、糖化	40 ~ 50	100
乳酸	20	9000	液化(糖化)	40 ~ 50	200
柠檬酸	100	5500	液化	40	> 100
味精	200	7000	液化、糖化	70 ~ 80	100
赖氨酸	100	7000	液化、糖化	70 ~ 80	100
酒精	600	6000	液化、糖化	60 ~ 70	100

淀粉糖相对容易生产,因此创造的价值相对低,而发酵产品的生产线比较长,因此大多产品的价值与酶制剂的消耗比大于 100。发酵产品中乳酸相对价值高,主要原因还是生产厂家相对少,竞争不像味精和赖氨酸那么激烈。如果按照表 1-1 中 2010 年的数据,所有化学品的产值 14000 亿美元,其中约 10% 与生物有关,假设全部生物

过程都使用酶制剂,那么再按 100:1 来估算酶制剂,则酶制剂的产值为 140 亿美元。虽然现在的酶制剂市场还没有这么大,造成估算差距的原因是有些高附加值的产品其价值与使用的酶相比远远大于 100,另外也说明酶制剂的发展空间还很大。

第三节 工业酶的应用

酶制剂的应用在实际中可分为两大方向,直接应用于产品中和作为加工助剂/催化剂。前者比较简单,主要是替代化学品和增加产品性能,如在洗涤中的加酶洗衣粉、焙烤中的真菌淀粉酶和葡萄糖氧化酶等。后者作为加工助剂/催化剂的情况就较为复杂。工业酶在这些过程中起到很关键的作用,通常带来的益处如:减少单元操作、代替机械能量、增强脱水效果而减少干燥用热能、提高副产物价值、减少化学品的使用和减少污染物的排放,当然最重要的是增加过程的转化效率。由于工业生物技术的不断进步,酶制剂的性价比越来越高,以前一些不可能/不经济的过程由于酶的效率和使用成本的降低而变得经济而有竞争力。下面简单介绍酶催化的发展。

1. 生物催化和酶催化

几个重要的(如果不是偶然的)因素加快了近二、三十年酶催化的快速发展,其中包括有机相酶催化的发现、手性药物[美国食品药品监督管理局(FDA)政策的改变]的需求和生物技术的进步。Klibanov 等在 1984 年的革命性工作大大拓展了酶的应用范围,使得很多研究者,包括化学工程师可以使用商业化的酶制剂,特别是脂肪酶和蛋白酶来进行研究开发;同时酶在有机相中的功能大大改变了科学家设计反应的思路。FDA 关于手性药物政策的改变,使得对手性药物的需求提高,一种相对容易的方法就是对现有的混旋药物进行动力学拆分,这也使得酶制剂可很好地发挥作用。期间,分子生物学的进步,特别是定向进化和理性改造等工具的使用,也造就了一些成功的例子,如脂肪酶和蛋白酶等在合成上的应用,在手性化合物的生产和拆分上也有很成功的例子。关于生物催化,不单单是酶催化的综述,国内外在 2000 年左右有不少很好的综述。2001 年, Schmid、Dordick 和 DSM、BASF 和 LONZA 的三位专家在 *Nature* 上写了一篇综述,介绍了工业催化的现状和未来展望,详细地给出了生物催化成功的具体例子,包括底物和反应类型、涉及的酶制剂类型或菌株、反应的规模和产量。DSM 和 BASF 的例子中产量大体在千吨规模,而 LONZA 的例子仍处于发展阶段。BASF 的实例主要是光学活性酰胺、醇(脂肪酶)和酸(腈水解酶),基本上是动力学拆分反应。DSM 则在氨基酸、(半)青霉素的生产上领先,同时 L-氨基丁二酸(天冬氨酸氨裂解酶)和阿斯巴甜(天冬酰苯丙氨酸甲酯)的酶法生产也颇具规模。Ogawa 和 Shimzu 在 2002 年详细介绍了日本使用酶制剂在大规模生产上的应用,其中包括:酶制剂在氨基酸生产上的应用,包括不同的 D-氨基酸、L-脯氨酸和 L-多巴(二羟基苯丙氨酸)等;酶在核苷酸生产中的应用;手性化合物的拆分和合成;腈水解酶在大

宗化学品生产上的应用;脂肪酸转化酶系统用于聚合不饱和和共轭脂肪酸的生产;环境方面的应用等。Straathof(2002)和 Yazbeck 等(2004)统计了大约 150 个商业生产过程使用单独的酶制剂作为催化剂。Woodley 则从反应工程的角度讨论了催化剂选择的建议。CODXIS 的科学家在合成阿托伐他汀(Lipitor)时通过分子生物学的方法改变了 3 个酶,使两个中间体的生产成本降低,并减少了硼试剂的使用,减少了 85% 的溶剂,减少废物 60%,并增加了产率和立体选择性。国内的学者在此领域也有不错的建树,并进行了很好的评论和总结。

综合这些文献,工业化过程生物催化的类型大体有以下几种:脂肪酶和蛋白酶对底物的手性拆分和水解,氧化还原酶对酮的不对称还原等;腈水解酶催化的腈水解反应和醇腈酶催化的氰醇合成反应;其他已取得较大进展而且有较高工业化应用价值的反应有转氨基反应、烯酸还原反应、羟基化、单加氧酶催化的拜耳-维立格反应、环氧化物水解、环氧化、卤化反应等。表 1-3 中列出了一些由酶制剂直接催化生产的产品和规模、使用的酶和酶制剂的供应商。

表 1-3 由酶制剂直接生产的化学品的重要例子

化学品	产量规模	酶制剂	酶制剂公司/国家
果糖	千万吨	淀粉酶、糖化酶、异构化酶	杰能科、诺维信
半合成青霉素(6APA,7ACA)	万吨	酰化酶	DSM, 中国
葡萄糖酸钙/镁/锌	万吨	葡萄糖氧化酶、脱氢酶	杰能科
丙烯酰胺	万吨	腈水解酶	BASF, DSM
阿斯巴甜(天冬酰苯丙氨酸甲酯)	万吨	嗜热菌蛋白酶	BASF, TOSOH, 中国
L-氨基丁二酸	千吨以上	天冬氨酸氨裂解酶	DSM
氨基酸拆分	千吨以上	脂肪酶	日本, 德国, 中国

在几篇关于生物催化综述中,都把杰能科(Genencor)和杜邦合作生产的 1,3-PDO(丙二醇)当成酶催化或生物催化的一个好例子,实际上,把这个过程当成代谢工程的重大进展更合适。

有趣的是,工业酶制剂的巨头杰能科(Genencor,现杜邦工业生物科技)和诺维信(Novozymes)在特殊化学品和药品有关的生物酶制剂发展上倒没刻意花很多精力,然而却有不少研究者使用有些商业化的脂肪酶和蛋白酶。近来,关于生物催化的研究仍不少,但关于生物催化的综述相对减少,特别是涉及新的大规模工业化用的酶制剂的例子更少。

近十几年来,由于生物催化技术的发展,相当多新酶的出现,便有一些相当乐观的观点,认为现在市场的酶越来越多,可以像常规的化学试剂一样供使用者挑选。然而,从工程实用的角度来看,还远远没有达到这种理想程度。化学工程师对于酶制剂的应用似乎更乐观和积极,国内外很多生物催化的领先研究者/研究团队都是在化工系统。他们不只是做过程的设计和优化,也很努力地用各种现代生物

技术的方法来改变酶的性质使其更利于在工业条件下使用。有机合成化学家的想法和化学工程师有些不同,许建和的文章中提到 AstraZeneca 的科学家曾说:“我们仍然把有机化学能作为核心,包括路线设计、优化和放大。我们把酶当作是工具箱中的一种重要催化剂。”他们并没有菌种保藏中心,也没有能力对酶进行修饰或是生产。也许有机化学家“可能”更愿意用传统的非对称合成的方法解决问题,因为那可能是他们更熟悉的领域,这样也更具有“挑战性”。

另一点要说明的是,生物催化(biocatalysis or Biotransformation)是指使用商业化酶制剂和全细胞帮助一步或几步反应的过程,生物催化过程中,酶制剂或全细胞不再生长,而生物转化(bioconversion)或生物发酵则不同。在此过程中涉及的酶有两类,一种是酶制剂(商业化的产品),另一种是发酵菌株本身的酶系。外加酶制剂的功能对过程(enzyme-mediated processes)的影响也很大。这些影响包括:产生/增加高质量的可发酵糖(淀粉酶、糖化酶和纤维素酶等)、改善体系的营养供应(蛋白酶)和改善体系的传质并产生更多的发酵糖(非淀粉类多聚糖水解酶水解非淀粉类多糖而降低黏度,且可能产生一定量的可发酵糖)。

2. 酶制剂如何解决大宗生化品生产中的问题

下面通过几个产品生产过程的变化来阐述酶制剂给生产和市场带来的变化。

(1)酒精生产,浓醪发酵及能源的降低 酒精生产在蒸煮、蒸馏和 DDGS 干燥等单元操作中需要消耗大量的能量。特别是蒸馏,因此加入体系的水越少,蒸馏消耗的能量就会相应减少。但实际中因为物料黏度的问题,以前的发酵浓度都比较低,得到约 10%(体积分数)的酒精。过去的十年里,由于生物燃料酒精的发展需求,新的高性能液化酶的出现,能处理 36% 的干物,快速降低料液的黏度而通过换热器进入发酵罐,最后得到 18%(体积分数)的酒精。当然,也需要有新型复合糖化酶来配合,不然在这么高的浓度下,残淀粉会升高。

(2)果糖生产,异构酶的效率对市场影响力的影响 中国的淀粉糖工作者曾经在 20 年前试着生产果糖,虽然引进了国外的一流设备,但失败了。除了蔗糖价格和其他各种各样的因素外,一个很重要的原因就是异构酶的性能。笔者做了个比较,异构酶的生产率与 20 年前相比提高了几倍,但价格却随生产水平的提高而下降,结果列于表 1-4 中。

表 1-4 异构酶生产率和价格的比较

项 目	生产率/(t 产品/kg 酶)	参考价格/(元/kg)	产品成本差异(旧/新)
异构酶(20 年前)	3	800	> 10
异构酶(现在)	12	300	

值得提出的是,当时的酶 800 元/kg,考虑到当时的消费能力,是相当昂贵的。从这个简单的分析,大家可以看出来果糖生产中酶制剂这个因素的变化。虽然淀粉

和糖的价格都在上涨,但由于酶制剂等水平的提高,使得现在果糖的发展非常迅速而广泛,国内生产能力已达 500 万吨,2012 年实际生产 250 万吨左右。

(3) 葡萄糖酸酶法生产,生产过程简化、产品纯度提高 工业酶法生物催化代替发酵法生产化学品的商业化实例。

葡萄糖酸/盐由于其特殊性质而在食品、医药和建筑等领域广泛应用,我国已成为世界上最大的生产国,年产超过 10 万吨。传统的葡萄糖酸钙的生产方法很多,但实际中主要采用发酵法。发酵法是以黑曲霉为生产菌种,经菌种逐级扩大培养,发酵代谢的酶将葡萄糖氧化成葡萄糖酸,再经碳酸钙中和精制而成。然而发酵法受到菌种质量、扩培、染菌、工艺变化以及气候条件等多种因素的影响,生产波动性大,步骤多,限制了其产量、收率、品质的提高。

由于反应过程相对简单,直接使用商品化的葡萄糖氧化酶来生产葡萄糖酸和盐一直是工业界的梦想。然而由于葡萄糖氧化酶的成本很高,并且由于反应过程产生过氧化氢,因此反应体系中需要脱氢酶来配合分解过氧化氢成为对体系无毒的水和氧气。这更增加了酶制剂应用的成本,因此,很长时间商业化生产成本不过关。酶法转化,从最初的专利申请到工业化生产,期间用了至少 20 年的时间。从有了商业化的酶制剂到最后实际真正工业化使用,酶制剂的提供者(杰能科)和葡萄糖酸/盐的生产商瑞邦制药共同合作,仍然又花了大约 3 年时间,才完成了这个技术的商业化。经过不懈的努力,杰能科(现杜邦工业生物科技部)成功地通过基因改造把葡萄糖氧化酶和脱氢酶的成本大大降低。即使工业应用上使用量非常大,近 1%(一般的工业酶制剂的添加量为千分之几或万分之几),商业上仍可操作。与发酵法相比,酶法不需要种子培养,免去了微生物和培养基等原辅材料对反应体系的干扰,提高了反应产物的纯度,给提取和精制带来方便。没有了种子培养,反应更加容易控制,生产也变得更加平稳。对生产者而言,酶法工艺简便,设备简单,操作方便,没有染菌的危险,而且产物单一,纯度高,易于分离和精制,产品质量和收率显著提高,产品等级完全达到食品级和注射级标准。这些下游过程的简化大大节省了时间、能源和操作成本,废水废渣也大量减少。此外,对于新建厂,可以省去种子罐和一部分提取设备,降低了设备投资。在过去的几年里,我国主要的葡萄糖酸钙的生产绝大部分已从发酵法转向酶法。除了葡萄糖酸钙,葡萄糖酸锌/酸镁的生产也转成酶法。

3. 淀粉质原料与木质纤维素的选择

由于全球经济危机及食品和燃料的争论,使得以谷物或淀粉物为原料的生物酒精生产发展势头受到遏制,预计下面几年的增长有可能在个位数。实际上,对于生化品的生产,未来相当长的时间,可能是 10~20 年内,淀粉质原料仍然会是主要的原料来源。一个原因是玉米的产量,无论是单产量还是总产量,不论是美国[图 1-10(1)],还是中国[图 1-10(2)],都在增加,即使不考虑转基因,其他的改良技术也会不断地提高单产;另一个原因是现在的纤维素原料预处理技术和糖化/发酵技术还需要进一步地提高,才能更加经济。