

文章编号: 1000-0615(2019)01-0206-05

DOI: 10.11964/jfc.20181011510

· 综述 ·

发酵工程与轻工生物技术的创新任务和发展趋势

陈 坚^{1,2*}

(1. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122;
2. 江南大学粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 工业生物技术的任务是把生命科学发现转化为工业产品、系统和服务, 能够为经济发展创造新的机遇, 受到世界各国的重视。发酵工程是工业生物技术的最重要组成部分, 并且正在重塑发酵工业和轻工业。本文系统总结了发酵工程在大宗发酵产品转型升级、传统产业节能减排、食品加工过程安全问题解决和功能营养品生物制造四个方面的创新任务。最后, 本文展望了发酵工程的发展趋势, 发酵智能化技术与装备体系和发酵智能化工业新模式将引领发酵工程领域的未来。

关键词: 发酵工程; 发酵流程重构; 工业酶; 发酵食品安全; 功能营养品生物制造

中图分类号: TS 205.5

文献标志码: A

工业生物技术的任务是把生命科学发现转化为工业产品、系统和服务, 可为化工、能源、材料、轻工、环保、医药、食品等产业链创造新的经济机遇。世界经济合作与发展组织(OECD)报告中指出, 工业生物技术是实现工业可持续发展的关键技术之一, 预计到2030年35%的化学品和其他工业品将出自生物制造, 基于可再生资源的生物经济形态将会形成。由于工业生物技术可以实现类似石油炼制的完整产品链, 因此, 超过20个国家制定了工业生物技术的发展战略, 我国《国家科学与技术中长期发展规划纲要》将工业生物技术列为前沿技术, 生物技术产业被确定为七大战略性新兴产业之一。发酵工程通过现代工程技术, 利用天然生物体或人工改造的生物体的特定性状, 生产人类所需要的物质产品或直接把生物体应用于工业生产过程, 是工业生物技术最重要的组成部分^[1]。

我国是发酵工业大国, 多种大宗发酵产品产量均为世界第一, 其中包括柠檬酸、谷氨酸和维生素C等。我国发酵工程技术水平正在不断进步, 已经开始从跟跑、伴跑向领跑迈进。

以柠檬酸和维生素C例, 我国发酵生产水平和技术工艺不断进步, 目前我国柠檬酸和维生素C发酵生产水平和技术工艺均已达到国际领先水平。发酵工程关键技术的迅速发展推动了发酵工业的发展, 并且正在重塑发酵工业和轻工业, 这些关键技术包括解读生物分子元件的结构与功能、编辑以微生物为代表的细胞工厂的遗传信息、创建全新高效的代谢途径、对微生物性状与功能的人工控制以及获得传统化学合成无法或难以获得的新型高价值产品^[2-5]。在重塑发酵工业和轻工业方面, 发酵工程与轻工生物技术主要承担四个方面的创新任务, 包括大宗发酵产品转型升级、传统产业节能减排、食品加工过程安全控制以及功能营养品生物制造。本文对发酵工程与轻工生物技术四个方面的创新任务进行了综述, 并且对未来发展趋势进行了展望。

1 大宗发酵产品转型升级

大宗发酵产品的传统生产模式普遍存在生产强度低、水耗和电耗高等共性问题。发酵模

收稿日期: 2018-10-27 修回日期: 2018-11-29

资助项目: 国家重点研发计划(2017YFC1600403)

通信作者: 陈坚, E-mail: jchen@jiangnan.edu.cn

式改革与流程重构是解决以上问题的重要途径。以大宗发酵产品的典型代表柠檬酸为例，该产品是市场需求最大的有机酸，我国产量占全球产量80%以上^[6]。通过改革发酵模式，采用菌球分割多级流加的发酵模式实现了柠檬酸发酵转型升级，柠檬酸发酵产量、转化率、生产强度、低粮耗、低水耗、低电耗均实现国际领先。

维生素C是基于多菌种发酵生产的典型大宗发酵产品。20世纪60年代，中国科学院微生物所研制出“三菌二步”发酵工艺，使我国成为世界最大的维生素C生产国和出口国。该发明的国际使用权于1985年以500万美元转让给瑞士罗氏公司，是当时中国最大对外技术转让项目。维生素C“三菌二步”发酵工艺需要氧化葡萄糖酸杆菌(*Gluconobacter oxydans*)、普通生酮基古龙酸菌(*Ketogulonicigenium vulgare*)和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)分两步发酵完成。但是“三菌二步”发酵工艺存在能耗和水耗高、工艺复杂、稳定性差及菌种选育困难等问题，因此亟需进行流程重构实现发酵转型升级^[7]。

通过基因组分析发现普通生酮基古龙酸菌代谢网络具有以下特征：缺少6-磷酸葡萄糖激酶，糖酵解途径(EMP途径)不完整；缺少多种辅酶A水化酶和辅酶A脱氢酶，无法利用脂类；仅延胡索酸和草酰乙酸可以进入三羧酸循环；缺乏几乎所有氨基酸的合成代谢途径；缺乏烟酸、叶酸、生物素和维生素合成代谢途径^[7]。通过在氧化葡萄糖酸杆菌中整合与优化不同表达系统中维生素C合成途径、分析及重构吡咯喹啉醌从头合成与再生途径、系统强化山梨醇、山梨糖、2-KLG跨膜转运和优化氧化葡萄糖酸杆菌发酵过程，有望实现“一菌一步”维生素C发酵。预计“一菌一步”维生素C发酵生产的能耗可减少20%、水耗可减少25%。进一步优化与重构发酵流程将实现维生素C生产核心技术的突破，保障了我国维生素C世界生产强国的地位。

2 传统产业节能减排

在传统产业中，造纸与纺织产业历来都是高能耗与高排放的行业。造纸与纺织等行业亟需进行技术升级以实现节能减排。以造纸行业中纸和纸板的制造过程为例，酶技术的应用能够促进绿色造纸，应用领域包括生物制浆、纸浆生物漂白、粘胶和树脂去除与控制、混合废纸的脱墨、造纸纤维的生物改性(打浆)和木素的

生物降解等方面。

染整加工是纺织工业重要领域，传统工艺存在水耗大、能耗高、废水处理难等问题。生物酶法染整可以实现节能减排，染整酶是生物酶法染整的必要条件，其中主要包括4种关键酶制剂，即聚乙烯醇酶、角质酶、果胶酶和过氧化氢酶^[8]。目前，乙烯醇酶和角质酶的克隆与表达、热稳定性改造与提升、生产过程优化与强化，以及2种酶的复配与应用等四个方面均取得显著进展，这为酶法染整奠定了基础。

染整加工过程涉及化学物添加、热处理、机械搅拌等操作，这些物理化学条件的极端变化会造成染整酶失去活性。针对这一问题，酶的固定化、添加保护剂、无自由水催化和酶分子改造常被用来增强酶稳定性。但这些方法存在操作复杂、稳定酶活效率较低的问题。创新性地酶分子末端融合双亲短肽(SAP)，针对性地提高酶催化过程的稳定性能够有效解决酶失活的问题^[9]。比较酶法和传统工艺进行万米布处理表明，酶法比传统工艺能耗减少42.9%、水耗减少32%、成本减少40.5%。我国每年纯棉布产量为 1.8×10^{11} m，如果全面推广酶技术染整前处理，可节约324万吨煤和1.73亿t水。

3 解决食品加工过程中的安全问题

食品在烘烤、煎炸等高温加工过程中还原糖与氨基酸发生美拉德反应会产生丙烯酰胺。而丙烯酰胺被国际癌症研究中心列为2A类致癌物，对人类具有潜在致癌性。2017年欧盟已制定控制食品中丙烯酰胺含量的法规。发酵制备的天冬酰胺酶(ASN)可降解美拉德反应中的氨基酸前体天冬酰胺。因此，发酵生产天冬酰胺酶用于食品原料处理，可有效减少90%的丙烯酰胺含量。因此，天冬酰胺酶现在已是北美市场需求第二的食品酶制剂^[10]。

氨基甲酸乙酯(EC)广泛存在于多种传统发酵食品中，如各种酒精饮料、酱油、泡菜等。高剂量EC可导致多种急性炎症和胃肠道疾病，长期少量摄入可导致多种癌症发生。世界卫生组织(WHO)将EC划为2A类致癌物质^[11]。欧美酒精饮料中EC标准为150 $\mu\text{g/L}$ ，我国黄酒EC标准为400 $\mu\text{g/L}$ 。我国发酵食品中的EC含量普遍超过欧美国家的限量标准，这成为我国发酵食品出口的主要障碍。因此，解决EC高含量问题迫在眉睫。通过黄酒中EC前体的系统筛查确定了EC为

尿素或瓜氨酸与乙醇反应的产物。通过黄酒中氨基甲酸乙酯生成动力学和计算模拟确定了20年后控制EC低于400 $\mu\text{g/L}$ 需要将尿素和瓜氨酸含量分别控制在10 mg/L和20 mg/L以下。采用定向进化获得了低产尿素/瓜氨酸黄酒酵母,在100 t发酵罐、30次工业化生产体系实验中验证了所获得的黄酒酵母可控制EC产生的有效性。通过以上一系列措施,可以确保正常贮存条件下,黄酒储存20年后EC含量不高于200 $\mu\text{g/L}$,储存40年后EC含量不高于300 $\mu\text{g/L}$ 。

4 功能营养品生物制造

功能营养品是具有调节人体生理功能而且不以治疗疾病为目的的一类食品。功能营养品的传统生产方法主要是植物或动物组织提取。但是植物或动物组织提取往往面临诸多问题,例如动植物组织含量低而导致高成本、植物收获的季节性不可控、动植物组织中农药、重金

属、激素或兽药残留问题等。

建立微生物合成营养化学品的技术路线能够有效解决从动植物中提取存在的一系列问题。黄酮类化合物是一类重要的营养化学品,其具有高度的结构多样性,目前已知的约有4 000种^[12]。大部分黄酮类化合物具有高度复杂的结构,兼具活性基团和手性结构,化学合成方法几乎无法完成。FDA美国药典委员会对美国植物提取物零售市场的调查表明,总市场份额95%的前20位中,有12种植物提取物以黄酮类化合物作为主要功能成分。微生物合成黄酮类化合物技术路线包括关键合成基因鉴定、合成基因克隆、合成途径调控、前体供给增强、发酵过程优化和产物分离提取,最终得到产品(图1)。数千种黄酮类化合物具有类似的合成途径,合成关键平台化合物(生松素、柚皮素)后,可根据需要采用微生物合成生产各种高价值黄酮类化合物。

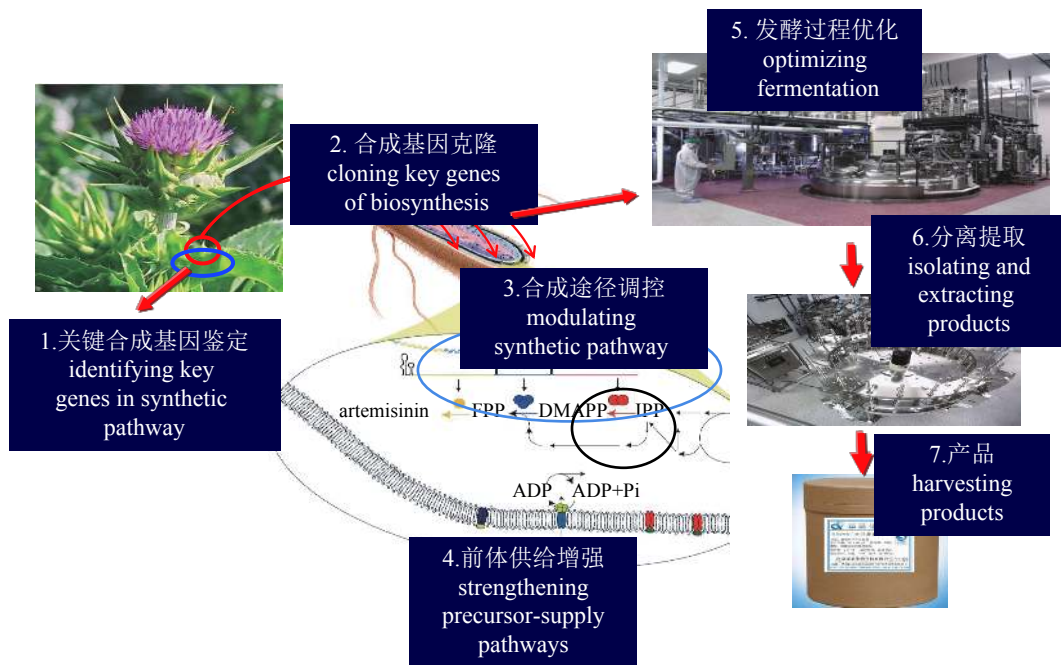


图1 微生物合成功能营养品的技术路线

Fig. 1 Technology roadmap for microbial production of nutraceuticals

5 结论

发酵工程的首要任务是实现大宗产品发酵的转型升级和传统工业的节能减排。在此同时,发酵工程还应参与解决国家现阶段的重大社会问题,如食品安全、国民健康等,这样才

能提高技术的时效性,彰显学科的社会担当。通过与其他学科的交叉,发酵工程应该从产品生产制造拓展到参与新理论的建立、新方法的发明和新学科的发展。

发酵智能化技术与装备体系和发酵智能化工业新模式是发酵工程领域的重要发展趋势。

发酵智能化技术与装备体系主要包括高通量筛选技术及装备、基于过程实时监测的发酵过程及装备、基于数据深度学习的智能化控制系统和高效产物分离及三废无害化与资源化处理技术及装备。利用智能化高通量筛选与智能化发酵(反应)过程及装备将实现发酵过程智能化菌种构建、反应过程智能化实时在线控制以及目标产物的高效分离。发酵智能化工业新模式主要包括在信息层面建立核心数据库、在过程层面建立多尺度生物过程自动监测与控制的智能生物反应器,在装备层面建立自动化车间并进行自动化工业规模生产。智能制造装备与技术、信息集成与协同以及智能决策系统的综合运用,将极大地促进发酵智能化工业新模式的发展。例如,利用人工智能知识库、构建生物过程知识图谱、结合机器识别、深度学习等智能化技术,促进基于人工智能的发酵工业智能化新模式。因此,发酵智能化技术与装备体系和发酵智能化工业新模式将引领发酵工程领域的未来。

参考文献:

- [1] Zhou J W, Du G C, Chen J. Novel fermentation processes for manufacturing plant natural products[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, 25: 17-23.
- [2] Brophy J A N, Voigt C A. Principles of genetic circuit design[J]. *Nature Methods*, 2014, 11(5): 508-520.
- [3] Lian J Z, Hamedirad M, Hu S M, et al. Combinatorial metabolic engineering using an orthogonal tri-functional CRISPR system[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1688.
- [4] Bogorad I W, Lin T S, Liao J C. Synthetic non-oxidative glycolysis enables complete carbon conservation[J]. *Nature*, 2013, 502(7473): 693-697.
- [5] Lee J W, Na D, Park J M, et al. Systems metabolic engineering of microorganisms for natural and non-natural chemicals[J]. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8(6): 536-546.
- [6] Yin X, Li J H, Shin H D, et al. Metabolic engineering in the biotechnological production of organic acids in the tricarboxylic acid cycle of microorganisms: advances and prospects[J]. *Biotechnology Advances*, 2015, 33(6): 830-841.
- [7] Wang P P, Zeng W Z, Xu S, et al. Current challenges facing one-step production of L-ascorbic acid[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(7): 1882-1899.
- [8] Chen S, Su L Q, Chen J, et al. Cutinase: characteristics, preparation, and application[J]. *Biotechnology Advances*, 2013, 31(8): 1754-1767.
- [9] Yang H Q, Lu X Y, Liu L, et al. Fusion of an oligopeptide to the N terminus of an alkaline α -amylase from *Alkalimonas amylolytica* simultaneously improves the enzyme's catalytic efficiency, thermal stability, and resistance to oxidation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(9): 3049-3058.
- [10] Feng Y, Liu S, Jiao Y, et al. Enhanced extracellular production of L-asparaginase from *Bacillus subtilis* 168 by *B. subtilis* WB600 through a combined strategy[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(4): 1509-1520.
- [11] Zhao X R, Du G C, Zou H J, et al. Progress in preventing the accumulation of ethyl carbamate in alcoholic beverages[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2013, 32(2): 97-107.
- [12] Siedler S, Stahlhut S G, Malla S, et al. Novel biosensors based on flavonoid-responsive transcriptional regulators introduced into *Escherichia coli*[J]. *Metabolic Engineering*, 2014, 21: 2-8.

Innovation tasks and development trends of fermentation engineering and light industrial biotechnology

CHEN Jian^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;
2. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Industrial biotechnology aims at transforming discoveries of life science into products, processes, systems, and services, which creates new opportunities for economic developments and is regarded as an important research field worldwide. Fermentation engineering is a key field of industrial biotechnology, which is rebuilding fermentation and light industry. In this paper, we systematically summarized four innovation tasks of fermentation engineering, including transformation and upgrading of bulk fermented products, energy conservation and emission reduction of traditional industries, solving safety issues of food processing, and biomanufacturing of functional nutraceuticals. Finally, development trends in fermentation engineering were discussed. The future development of fermentation engineering will be facilitated by technology and equipment systems for fermentation intelligentization and new industrial mode based on fermentation intelligentization.

Key words: fermentation engineering; fermentation workflow refactoring; industrial enzyme; fermentation food safety; nutraceutical biomanufacturing

Corresponding author: CHEN Jian. E-mail: jchen@jiangnan.edu.cn

Funding projects: National Key Research and Development Program of China (2017YFC1600403)