

生物基乳酸生物转化研究进展

高超¹, 马翠卿¹, 许平²

1 山东大学生命科学学院 微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100

2 上海交通大学生命科学与技术学院 微生物代谢国家重点实验室, 上海 200240

高超, 马翠卿, 许平. 生物基乳酸生物转化研究进展. 生物工程学报, 2013, 29(10): 1411-1420.

Gao C, Ma CQ, Xu P. Progress in biotransformation of bio-based lactic acid. Chin J Biotech, 2013, 29(10): 1411-1420.

摘要: 乳酸的发酵生产技术已取得了长足的进步, 作为一种重要生物基化学品, 乳酸除了可用于食品工业及生产聚乳酸外, 亦可作为一种重要的平台化合物, 用于生产丙烯酸、丙酮酸、1,2-丙二醇、乳酸酯等。文中重点综述了以生物基乳酸为原料经脱水、脱氢、还原及酯化反应生产乳酸衍生物的生物转化工艺, 对该领域的发展趋势进行了展望。

关键词: 乳酸, 丙烯酸, 丙酮酸, 乳酸酯, 1,2-丙二醇, 生物转化

Progress in biotransformation of bio-based lactic acid

Chao Gao¹, Cuiqing Ma¹, and Ping Xu²

1 State Key Laboratory of Microbial Technology, School of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, Shandong, China

2 State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: Fermentative production of lactic acid, an important bio-based chemicals, has made considerable progress. In addition to the food industry and production of polylactic acid, lactic acid also can be used as an important platform chemical for the production of acrylic acid, pyruvic acid, 1,2-propanediol, and lactic acid esters. This article summarizes the recent progress in biocatalytic production of lactic acid derivatives by dehydration, dehydrogenation, reduction, and esterification. Trends in the biotransformation of lactic acid are also discussed.

Keywords: lactic acid, acrylic acid, pyruvic acid, 1,2-propanediol, lactic acid esters, biotransformation

Received: June 20, 2013; **Accepted:** August 19, 2013

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 31270090), National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2011AA02A207).

Corresponding author: Cuiqing Ma. Tel: +86-531-88364003; Fax: +86-531-88369463; E-mail: macq@sdu.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 31270090), 国家高技术研究发展计划 (863 计划) (No. 2011AA02A207) 资助。

乳酸是世界上公认的三大有机酸之一，学名 2-羟基丙酸，由 Scheele 于 1850 年第一次在酸牛奶中发现。乳酸分子中有一个不对称碳原子，因而具有光学活性，常见的乳酸产品主要有 L-乳酸、D-乳酸和外消旋 DL-乳酸。乳酸为重要的化工原料，在化学和食品工业中的应用相当广泛，目前乳酸最受关注的应用是生产生物可降解材料——聚乳酸^[1-2]。

乳酸的生产方法主要包括化学法与微生物发酵法。微生物发酵法生产乳酸由于具有原料来源广泛、生产成本低、产品光学纯度高、安全性高等优点而成为乳酸的主要生产方法^[3-5]。2011 年，我国乳酸产量达到 13 万 t。作为一种重要的生物基化学品，乳酸经生物/化学转化过程可以得到一系列具有重要用途的乳酸衍生物，如聚乳酸、乳酸酯、丙酮酸、丙烯酸、1,2-丙二醇、2,3-戊二酮等 (图 1)^[6-8]。

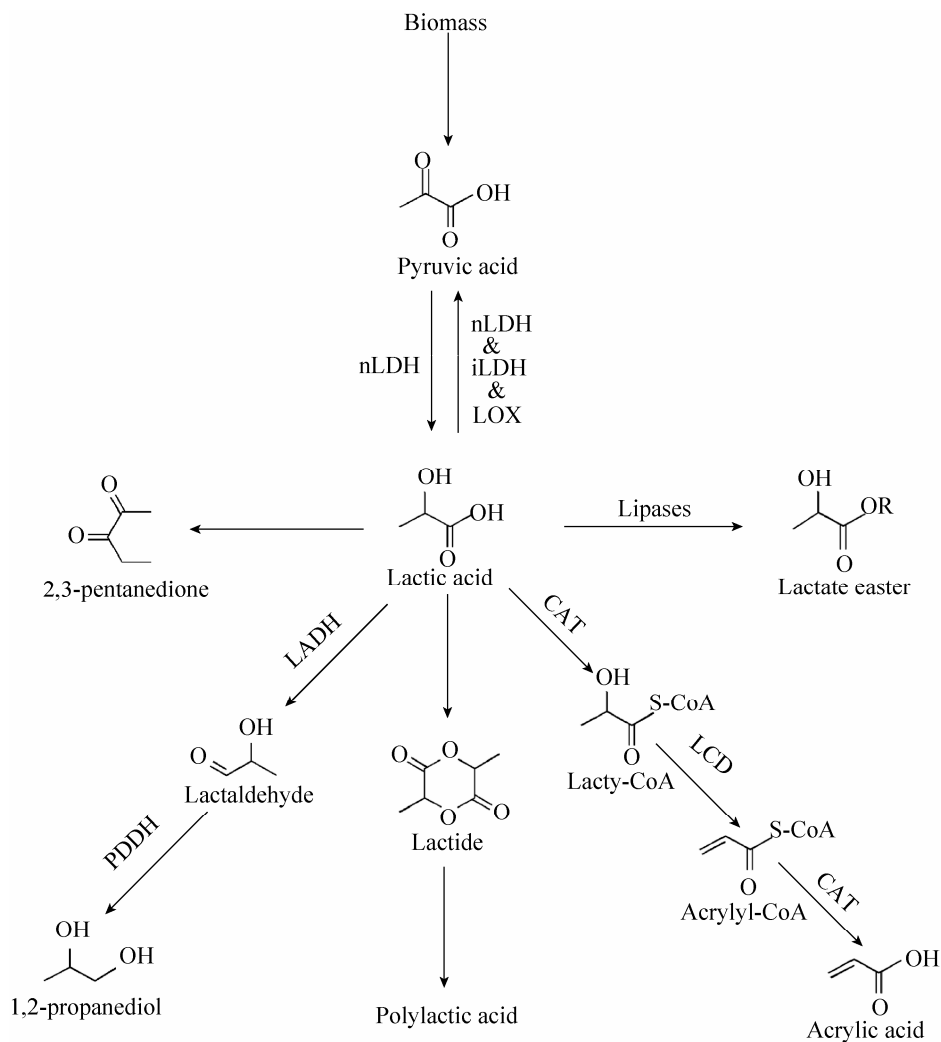


图 1 乳酸衍生转化技术路线

Fig. 1 Roadmap for the production of lactic acid derivative. nLDH: NAD-dependent lactate dehydrogenase; iLDH: NAD-independent lactate dehydrogenase; LOX: lactate oxidase; LADH: lactaldehyde dehydrogenase; PDDH: 1,2-propanediol dehydrogenase; CAT: CoA-transferase; LCD: lactyl-CoA dehydratase.

目前高光学纯乳酸主要用作聚合生产聚乳酸,国内浙江海正药业、武汉三江固德生物科技有限公司等企业均建立了聚乳酸合成的相关生产线。本文重点综述了以生物基乳酸为原料生产乳酸酯、丙酮酸、丙烯酸、1,2-丙二醇等乳酸衍生物的生物转化工艺,提出了仍需要解决的关键问题,为后续研究提供参考。

1 乳酸生物脱水生产丙烯酸

丙烯酸是现代有机化工中极其重要的基础原料和中间体,对其加工可以制备多种性能优良的聚合物,在涂料、建材、纺织、皮革和卫生用品等领域展现出优异的应用前景^[9-10]。传统丙烯酸工业生产技术路线均是以石油资源作为原料,直接造成了丙烯酸的供应受到石油资源的供应和价格的影响。随着石油资源的日益匮乏和价格的不断上涨,丙烯酸生产原料来源受到限制,因此开发基于生物质可再生资源的丙烯酸合成工艺路线具有重要的意义^[6]。

乳酸脱水生产丙烯酸,可充分利用可再生资源,缓解单纯化学法生产丙烯酸对石油资源造成的压力^[6,11-12]。当前乳酸脱水制备丙烯酸的国内外研究工作主要集中在化学脱水催化剂的筛选和反应条件优化等方面^[6,9]。催化剂主要包括金属盐、负载金属盐固体催化剂和分子筛等^[6,8,13]。例如南京工业大学筛选 NaY 分子筛作为乳酸脱水催化剂,开发了一种乳酸脱水制丙烯酸新工艺^[13-15]。相对于乳酸的化学脱水催化剂,乳酸生物脱水催化剂研究相对较少^[6,8]。

已报道的乳酸生物脱水途径存在于丙酸梭菌 *Clostridium propionicum* 中:乳酸在辅酶 A 转移酶的作用下生成乳酰辅酶 A,乳酰辅酶 A 在乳酰辅酶 A 脱水酶的作用下生成丙烯酰辅酶 A,后者在辅酶 A 转移酶的作用下生成丙烯酸^[16-18]。然而当

C. propionicum 以乳酸为唯一碳源生长时,3 mol 乳酸将转化为 2 mol 的丙酸与 1 mol 的乙酸,极少观察到丙烯酸的积累,造成这一现象的原因在于,丙烯酰辅酶 A 易在丙酰辅酶 A 还原酶的作用下生成丙酰辅酶 A,后者在辅酶 A 转移酶的作用下生成丙酸^[19]。

研究者尝试通过抑制丙酰辅酶 A 还原酶活力及调控氧化还原平衡的方法实现丙烯酸的积累。例如 Sanseverino 等通过在培养基中添加 3-丁炔酸(丙烯酸的结构类似物,可抑制丙酰辅酶 A 还原酶活力),在埃氏巨球形菌 *Megasphaera elsdenii* 培养体系中检测到了丙烯酸的积累^[20]。Danner 等利用亚甲基蓝作为电子受体,调控氧化还原平衡以实现丙烯酸的生产^[19],但是丙烯酸浓度仍未超过起始底物浓度的 1%^[20-21]。

与化学脱水催化剂相比,目前乳酸生物脱水催化剂的效率及产物得率均较低,但是从工业生产的角度来看,乳酸的生物脱水催化剂开发仍是具有一定应用价值的,限制乳酸生物脱水生产丙烯酸得率的关键因素在于丙酸生产菌中丙烯酰辅酶 A 的还原,而限制丙烯酸生产效率的关键步骤在于乳酰辅酶 A 的脱水反应。考虑到乳酰辅酶 A 脱水酶已获得部分分离纯化^[18],随着合成生物学技术的不断发展,构建新型生物催化剂,将丙酸生产菌中的乳酸生物脱水途径引入宿主菌将有可能实现乳酸生物脱水生产丙烯酸工艺的真正应用。

2 乳酸生物脱氢生产丙酮酸

丙酮酸作为一种重要的有机酸,不仅是人体三羧酸循环和氨基酸合成过程中重要的中间体,其在化工、制药和农用化学品工业及科学研究中亦有着广泛的用途^[8,22-23]。目前丙酮酸的工业生产以化学法与生物法为主。化学法主要采用酒石酸合成法生产丙酮酸,污染重、成本高^[22]。生物法

包括发酵法和生物催化法^[22-24]。发酵法主要使用两种微生物进行,一种是多种维生素缺陷的酵母菌,另一种是带有(F1F0)H⁺-ATP合成酶F1ATP酶组分突变的大肠杆菌*Escherichia coli*^[22,25]。虽然发酵法以葡萄糖为碳源,成本较低,底物转化率较高,但在发酵过程中需要精确的控制培养基的各种营养成分,产品提取困难。

生物催化法包括酶法和全细胞法,底物来源包括D-丙氨酸、1,2-丙二醇、延胡索酸以及乳酸等^[22]。随着乳酸发酵工艺的不断开发,以乳酸为底物的生物催化工艺由于原料价格低廉、来源广泛而受到了研究者的关注。如Burdick等利用固定化乳酸氧化酶生产丙酮酸,为了解决反应过程中副产物H₂O₂继续分解丙酮酸的问题,需与过氧化氢酶同时固定^[26]。乙醇酸氧化酶亦可催化L-乳酸生成丙酮酸,研究者将乙醇酸氧化酶和过氧化氢酶共表达,催化L-乳酸生成丙酮酸,该法转化效率高,产物提取方法简单,但需要进行细胞破碎,制备成粗酶液,工艺繁琐,因而有研究者利用渗透性酵母菌催化L-乳酸制备丙酮酸的方法,丙酮酸的浓度可达500 mmol/L,转化率达96%以上,但该菌只能转化L-乳酸,对消旋体中的D-乳酸无作用^[27-29]。Cooper描述了利用醋酸杆菌*Acetobacter* sp.将D-乳酸氧化制备丙酮酸,虽然转化率很高,但D-乳酸价格相对较贵,实现工业化有一定困难^[22]。Schinschel等利用普通变形杆菌*Proteus vulgaris*的(2R)-羟基羧酸氧化还原酶(HVOR)进行转化乳酸制备丙酮酸的研究工作,该体系单位时间产率较高,但需加入电子转移体,并且需要电化学装置再生电子转移体,所需设备复杂,投资大^[30-31]。

与光学纯的D-乳酸与L-乳酸相比,外消旋乳酸价格便宜,来源广泛,以其为底物生产丙酮酸相对于以光学纯乳酸为底物,成本优势明显。限

制外消旋乳酸为底物生产丙酮酸实际应用的关键因素在于:已报道的乳酸氧化酶均只能催化L-乳酸氧化生成丙酮酸,且催化过程中产生的过氧化氢会造成丙酮酸的分解,降低产率。目前已报道的可以同时催化D-乳酸与L-乳酸氧化的微生物包括不动杆菌*Acinetobacter*^[32]、施氏假单胞菌*Pseudomonas stutzeri*^[33-34]、铜绿假单胞菌*P. aeruginosa*^[35]及粘性沙雷氏菌*Serratia marcescens*^[36]等。通过对部分假单胞菌中乳酸代谢机理研究发现,假单胞菌中催化D-乳酸与L-乳酸生成丙酮酸的关键酶为NAD非依赖型D-乳酸脱氢酶与NAD非依赖型L-乳酸脱氢酶,二者均位于细胞质膜上,易于与底物乳酸和O₂接触,电子传递过程通过经典的电子传递链,因而催化过程不产生过氧化氢,具有较大的工业化应用潜力^[37-38]。

假单胞菌中NAD非依赖型D-乳酸脱氢酶与NAD非依赖型L-乳酸脱氢酶为诱导型蛋白,生物催化剂的制备需要以乳酸盐作为唯一碳源^[39-40],这一方面提高了催化剂的制备成本,另一方面高浓度乳酸盐的加入造成了培养体系的高渗环境,限制了菌株的高密度培养和后续生物转化的规模化应用。NAD非依赖型D-乳酸脱氢酶与NAD非依赖型L-乳酸脱氢酶均为乳酸代谢操纵子中,受调控蛋白LldR的调控,因而可针对假单胞菌属微生物开展系统代谢工程改造工作,敲除LldR,令NAD非依赖型D-乳酸脱氢酶与NAD非依赖型L-乳酸脱氢酶组成型表达,即有可能实现生物催化乳酸脱氢酶催化剂的高效制备与实际利用。

3 乳酸生物酯化生产乳酸酯

乳酸的结构中含有羟基和羧基,因此能进行这两种功能团的典型反应,例如乳酸的羧基与醇分子中的羟基反应酯化生成乳酸酯。乳酸酯是一种重要的精细化工原料,在食品工业中广泛用作

香料、香料增效剂及酒类添加剂。另外乳酸酯也是一种具有光学活性的重要工业溶剂。例如乳酸乙酯由于具有无毒、溶解性好、不易挥发、具可生物降解性等特点,是极具开发价值和前景的“绿色溶剂”。随着人们生活水平的不断提高,对环境的要求越来越高,乳酸乙酯作为“绿色溶剂”具有广阔的应用前景^[6-8]。

传统的乳酸酯生产是以乳酸和醇为原料,以浓磷酸、浓硫酸等无机酸作为催化剂,酯化合成乳酸酯。由于乳酸是典型的羧酸,在与无机酸共热时会分解为乙醛和甲酸,与脱水剂共热时生成丙交酯,这些羧酸所特有的副反应将大大降低乳酸酯的产率;针对以上问题,国内外学者进行了大量的研究,开发了一系列新型生物催化剂和新工艺实现乳酸酯的高效生物催化生产^[6-8]。

无水条件下,脂肪酶可以催化有机酸与醇类合成酯类化合物,因而被认为是催化乳酸酯化的有效催化剂^[41]。目前关于脂肪酶催化乳酸与丁醇、乙醇、糖苷类、直链醇的反应已有报道^[42-47]。国内赵天涛、高静等以脂肪酶 N435 (固定化于大孔丙烯酸树脂的南极假丝酵母脂肪酶 B) 为催化剂,用生物催化的方法合成乳酸乙酯,取得了令人鼓舞的结果,乳酸乙酯产率达到 77%,酶重复使用 6 次后产率仍然可达到 60%^[48-49]。

脂肪酶催化的乳酸酯化反应均发生于非水介质中,由于乳酸的高极性,其与常用的疏水性反应介质极难互溶,另乳酸的强酸性非常容易导致催化剂脂肪酶的失活^[8, 43]。因而实现乳酸生物酯化的关键:一是筛选获得新的反应介质;二是对现有的生物催化剂进行修饰和固定化以提高催化剂的稳定性。

在反应介质方面, Hasegawa 等利用部分极性的有机溶剂例如 1,4-二氧六环、疏水性酯或者酮(可与乳酸互溶、对酶毒性低)等进行催化反应^[43];

在酶固定化方面, Hasegawa 等固定化南极假丝酵母 *Candida antarctica* 中脂肪酶为催化剂,酯化反应可以连续进行 4 周时间而不会有酶活力的明显损失^[43]。

4 乳酸生物还原生产 1,2-丙二醇

1,2-丙二醇,是一种二醇类有机化合物,广泛应用于合成生物降解塑料或者聚酯类材料,同时还可在食品、医药和化妆品工业中广泛用作吸湿剂、抗冻剂、润滑剂和溶剂^[6]。丙二醇传统的化学生产法是以石油化工产品环氧丙烷与水发生反应生成,目前也有利用甘油化学加氢制得丙二醇的报道^[6]。利用可来源于再生生物质资源的乳酸来实现 1,2-丙二醇的生产,符合绿色化工的要求,又能够逐渐减少对石油资源的依赖,符合人类社会可持续发展的需要。

乳酸的化学加氢转化需要首先将乳酸酯化生成乳酸酯,然后在乳酸酯在高温高压下在重金属催化剂的作用下生成 1,2-丙二醇。该过程能耗高,污染严重,因而迫切需要寻找新的生物催化剂以实现乳酸的生物加氢转化^[6]。

目前已报道可以催化乳酸生产 1,2-丙二醇的微生物包括希尔加德氏乳杆菌 *Lactobacillus hilgardii* 与布氏乳杆菌 *Lactobacillus buchneri*, 在厌氧条件下,以上菌株可以转化 1 mol 乳酸生成 0.5 mol 乙酸、0.5 mol 1,2-丙二醇及微量的乙醇^[50-51]。

生化分析表明, *L. hilgardii* 与 *L. buchneri* 中 1,2-丙二醇生产涉及两个关键步骤:乳酸还原生成乳醛以及乳醛还原生成 1,2-丙二醇,分别由 NAD 依赖性乳醛脱氢酶与 NAD 依赖性 1,2-丙二醇脱氢酶催化^[50]。NAD 依赖性乳醛脱氢酶在不同微生物中广泛存在,目前其晶体结构已获得解析^[52-53],而 NAD 依赖性 1,2-丙二醇脱氢酶在多种 1,2-丙二醇利用菌株中亦有报道,部分醇脱氢酶也具有催

化乳醛还原生成 1,2-丙二醇的能力^[54-57]。

必须指出的是, NAD 依赖性乳醛脱氢酶与 NAD 依赖性 1,2-丙二醇脱氢酶被普遍认为是微生物代谢 1,2-丙二醇生成乳酸的关键酶, 在 *L. hilgardii* 与 *L. buchneri* 中乳酸还原生成 1,2-丙二醇仅在低 pH, 酸性条件下才会发生^[50]。另外每分子乳酸还原生成 1,2-丙二醇需要消耗两分子的 NADH, 乳酸脱氢生成乙酸会产生 2 分子的 NADH, 1,2-丙二醇的产生过程必须伴随着乙酸的产生 (以提供乳酸还原所需的还原力), 1,2-丙二醇的得率只有 50%。

利用代谢工程改造微生物发酵法生产 1,2-丙二醇目前已经实现^[54], 使用菌株包括谷氨酸棒杆菌 *Corynebacterium glutamicum*^[58]、细长集球藻 *Synechococcus elongatus*^[59]、*E. coli*^[60-61]、酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*^[56,62-63]等, 但是目前报道的产量很低, 离产业化的目标还有很远的距离。随着合成生物学技术的发展, 将乳酸生物还原途径引入宿主菌构建新型生物催化剂, 将有可能实现乳酸生物还原生产 1,2-丙二醇。基于乳酸还原生产 1,2-丙二醇的生化途径, 要实现生物转化乳酸高效生产 1,2-丙二醇, 需要一方面提高 NAD 依赖性乳醛脱氢酶与 NAD 依赖性 1,2-丙二醇脱氢酶的活动力, 另一方面建立高效的 NADH 再生体系。

5 展望

我国发酵法生产乳酸的工业化路线成熟, 部分技术处于国际先进水平, 使得乳酸成为成本低廉的发酵工业产品。乳酸可经脱水、脱氢、还原、及酯化反应生成丙烯酸、丙酮酸、1,2-丙二醇、乳酸酯等重要化合物。相比目前工业上生产丙烯酸、丙酮酸、1,2-丙二醇、乳酸酯的工艺, 该路线碳原子利用率高, 可减轻对石油化学品原料的依赖。因此以乳酸为原料经衍生转化生成丙烯酸、丙酮

酸、1,2-丙二醇、乳酸酯, 有望成为最具应用前景的生物基制备化学品的途径。

与乳酸的化学衍生转化相比, 乳酸的生物转化工艺的实际应用仍存在诸多限制, 但是考虑到乳酸的生物转化相对于化学转化具有条件温和、污染小等优点, 乳酸的生物转化技术将受到研究者越来越广泛的关注。而随着乳酸的生物转化工艺的不断开发进步, 乳酸的生物转化在未来将有可能取代化学转化工艺, 成为生物基化学品乳酸衍生物生产的主要方法。丙烯酸应用广泛, 需求量大, 而丙酮酸作为重要医药中间体, 价格昂贵, 因而衍生转化乳酸生产丙烯酸与丙酮酸将具有显著的经济效益, 建议作为产业化技术开发的主攻领域。

REFERENCES

- [1] Datta R, Henry M. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies—a review. *J Chem Technol Biotechnol*, 2006, 81(7): 1119–1129.
- [2] Zhang Q, Zhang L, Ding ZY, et al. Metabolic engineering of wild acid-resistant yeast for L-lactic acid production. *Chin J Biotech*, 2011, 27(7): 1024–1031 (in Chinese).
张勤, 张梁, 丁重阳, 等. 代谢工程改造野生耐酸酵母生产 L-乳酸. *生物工程学报*, 2011, 27(7): 1024–1031.
- [3] Yu B, Zeng Y, Jiang X, et al. Trends in polymer-grade L-lactic acid fermentation by non-food biomass. *Chin J Biotech*, 2013, 29(4): 411–421 (in Chinese).
于波, 曾艳, 姜旭, 等. 聚合级 L-乳酸的非粮生物质发酵研究进展. *生物工程学报*, 2013, 29(4): 411–421.
- [4] John RP, Nampoothiri KM, Pandey A. Fermentative production of lactic acid from

- biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 74(3): 524–534.
- [5] Tian KM, Zhou L, Chen XZ, et al. Temperature-switched high-efficiency D-lactate production from glycerol. *Chin J Biotech*, 2013, 29(1): 111–114 (in Chinese).
田康明, 周丽, 陈献忠, 等. 利用温度调节实现新型重组菌高效转化甘油为 D-乳酸. *生物工程学报*, 2013, 29(1): 111–114.
- [6] Corma A, Iborra S, Velty A. Chemical routes for the transformation of biomass into chemicals. *Chem Rev*, 2007, 107(6): 2411–2502.
- [7] Fan Y, Zhou C, Zhu X. Selective catalysis of lactic acid to produce commodity chemicals. *Catal Rev*, 2009, 51(3): 293–324.
- [8] Gao C, Ma C, Xu P. Biotechnological routes based on lactic acid production from biomass. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(6): 930–939.
- [9] Lunelli BH, Duarte ER, de Toledo EC Vasco, et al. A new process for acrylic acid synthesis by fermentative process. *Appl Biochem Biotechnol*, 2007, 137–140(1/12): 487–499.
- [10] Zhang JF, Lin JP, Xu XB, et al. Evaluation of catalysts and optimization of reaction conditions for the dehydration of methyl lactate to acrylates. *Chin J Chem Eng*, 2008, 16(2): 263–269.
- [11] Sun P, Yu D, Fu K, et al. NaY modified by potassium: a selective and stable catalyst for dehydration of lactic acid to acrylic acid. *Catal Commun*, 2009, 10(9): 1345–1349.
- [12] Sun P, Yu D, Tang Z, et al. NaY zeolites catalyze dehydration of lactic acid to acrylic acid: studies on the effects of anions in potassium salts. *Ind Eng Chem Res*, 2010, 49(19): 9082–9087.
- [13] Wang H, Yu D, Sun P, et al. Rare earth metal modified NaY: structure and catalytic performance for lactic acid dehydration to acrylic acid. *Catal Commun*, 2008, 9(9): 1799–1803.
- [14] Yan J, Yu D, Li H, et al. NaY zeolites modified by La^{3+} and Ba^{2+} : the effect of synthesis details on surface structure and catalytic performance for lactic acid to acrylic acid. *J Rare Earths*, 2010, 28(5): 803–806.
- [15] Yu D, Sun P, Tang Z, et al. Modification of NaY by La^{3+} for the dehydration of lactic acid: the effect of preparation protocol on catalyst microstructure and catalytic performance. *Can J Chem Eng*, 2011, 89(3): 484–490.
- [16] Akedo M, Cooney CL, Sinskey AJ. Direct demonstration of lactate-acrylate interconversion in *Clostridium propionicum*. *Nat Biotechnol*, 1983, 1: 791–794.
- [17] O'Brien DJ, Panzer CC, Eisele WP. Biological production of acrylic acid from cheese whey by resting cells of *Clostridium propionicum*. *Biotechnol Prog*, 1990, 6(4): 237–242.
- [18] Schweiger G, Buckel W. Identification of acrylate, the product of the dehydration of (R)-lactate catalyzed by cell-free extracts from *Clostridium propionicum*. *FEBS Lett*, 1985, 185(2): 253–256.
- [19] Danner H, Urmos M, Gartner M, et al. Biotechnological production of acrylic acid from biomass. *Appl Biochem Biotechnol*, 1998, 70–72: 887–894.
- [20] Sanseverino J, Montenecourt BS, Sands JA. Detection of acrylic acid formation in *Megasphaera elsdenii* in the presence of 3-butynoic acid. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1989, 30(3): 239–242.
- [21] Xu XB, Lin JP, Cen PL. Advances in the research and development of acrylic acid production from biomass. *Chinese J Chem Eng*, 2006, 14(4): 419–27.
- [22] Li Y, Chen J, Lun SY. Biotechnological production of pyruvic acid. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 57(4): 451–459.
- [23] Xu P, Qiu JH, Gao C, et al. Biotechnological routes to pyruvate production. *J Biosci Bioeng*, 2008,

- 105(3): 169–175.
- [24] van Maris AJ, Geertman JM, Vermeulen A, et al. Directed evolution of pyruvate decarboxylase-negative *Saccharomyces cerevisiae*, yielding a C2-independent, glucose-tolerant, and pyruvate-hyperproducing yeast. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(1): 159–166.
- [25] Causey TB, Shanmugam KT, Yomano LP, et al. Engineering *Escherichia coli* for efficient conversion of glucose to pyruvate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 101(8): 2235–2240.
- [26] Burdick BA, Schaeffer JR. Co-immobilized coupled enzyme systems on nylon mesh capable of gluconic and pyruvic acid production. *Biotechnol Lett*, 1987, 9(4): 253–258.
- [27] Gellissen G, Piontek M, Dahlems U, et al. Recombinant *Hansenula polymorpha* as a biocatalyst: coexpression of the spinach glycolate oxidase (GO) and the *S. cerevisiae* catalase T (CTT1) gene. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1996, 46(1): 46–54.
- [28] Payne MS, Petrillo KL, Gavagan JE, et al. High-level production of spinach glycolate oxidase in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*: engineering a biocatalyst. *Gene*, 1995, 167(1-2): 215–219.
- [29] Anton DL, DiCosimo R, Witterholt VG. Production of pyruvic acid using permeabilized transformants of *Hansenula polymorpha* and *Pichia pastoris* which express glycolate oxidase and catalase: US 5538875. 1996-07-23.
- [30] Schinschel C, Simon H. Preparation of pyruvate from (R)-lactate with *Proteus* species. *J Biotechnol*, 1993, 31(2): 191–203.
- [31] Hekmat D, Danninger J, Simon H, et al. Production of pyruvate from (R)-lactate in an enzyme-membrane reactor with coupled electrochemical regeneration of the artificial mediator anthraquinone-2,6-disulfonate. *Enzyme Microb Technol*, 1999, 24(8/9): 471–479.
- [32] Ma CQ, Xu P, Qiu JH, et al. An enzymatic route to produce pyruvate from lactate. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, 66(1): 34–39.
- [33] Hao JR, Ma CQ, Gao C, et al. *Pseudomonas stutzeri* as a novel biocatalyst for pyruvate production from DL-lactate. *Biotechnol Lett*, 2007, 29(1): 105–110.
- [34] Gao C, Qiu J, Ma C, et al. Efficient production of pyruvate from DL-lactate by the lactate-utilizing strain *Pseudomonas stutzeri* SDM. *PLoS ONE* 2012, 7(7): e40755.
- [35] Gao C, Xu XX, Hu CH, et al. Pyruvate producing biocatalyst with constitutive NAD-independent lactate dehydrogenases. *Process Biochem*, 2010, 45(12): 1912–1915.
- [36] Liu ZQ, Jia LZ, Zheng YG. Biotransformation of DL-lactate to pyruvate by a newly isolated *Serratia marcescens* ZJB-07166. *Process Biochem*, 2010, 45(10): 1632–1637.
- [37] Ma CQ, Gao C, Qiu JH, et al. Membrane-bound L- and D-lactate dehydrogenase activities of a newly isolated *Pseudomonas stutzeri* strain. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 77(1): 91–98.
- [38] Gao C, Jiang TY, Dou PP, et al. NAD-Independent L-lactate dehydrogenase is required for L-lactate utilization in *Pseudomonas stutzeri* SDM. *PLoS ONE*, 2012, 7(5): e36519.
- [39] Gao C, Hu CH, Zheng ZJ, et al. Lactate utilization is regulated by the FadR-type regulator LldR in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 2012, 194(10): 2687–2692.
- [40] Jiang TY, Gao C, Su F, et al. Genome sequence of *Pseudomonas stutzeri* SDM-LAC, a typical strain for studying the molecular mechanism of lactate utilization. *J Bacteriol*, 2012, 194(4): 894–895.
- [41] Tan TW, Lu J, Nie KL, et al. Biodiesel production with immobilized lipase: a review. *Biotechnol Adv*, 2010, 28(5): 628–634.

- [42] Hasegawa S, Azuma M, Takahashi K. Enzymatic esterification of lactic acid, utilizing the basicity of particular polar organic solvents to suppress the acidity of lactic acid. *J Chem Technol Biotechnol*, 2008, 83(11): 1503–1510.
- [43] Hasegawa S, Azuma M, Takahashi K. Stabilization of enzyme activity during the esterification of lactic acid in hydrophobic ethers and ketones as reaction media that are miscible with lactic acid despite their high hydrophobicity. *Enzyme Microb Technol*, 2008, 43(3): 309–316.
- [44] Pirozzi D, Greco G. Lipase-catalyzed transformations for the synthesis of butyl lactate: a comparison between esterification and transesterification. *Biotechnol Prog*, 2006, 22(2): 444–448.
- [45] Roenne TH, Xu XB, Tan TW. Lipase-catalyzed esterification of lactic acid with straightchain alcohols. *J Am Oil Chem Soc*, 2005, 82(12): 881–885.
- [46] Torres C, Otero C, Part I. Enzymatic synthesis of lactate and glycolate esters of fatty alcohols. *Enzyme Microb Technol*, 1999, 25(8/9): 745–752.
- [47] Wei DZ, Gu CN, Song QX, et al. Enzymatic esterification for glycoside lactate synthesis in organic solvent. *Enzyme Microb Technol*, 2003, 33(4): 508–512.
- [48] Zhao TT, Gao J, Zhang LJ, et al. Ethyl lactate synthesis by lipase in organic media. *Chin J Catal*, 2006, 27(6): 537–540 (in Chinese).
赵天涛, 高静, 张丽杰, 等. 有机相中脂肪酶催化合成乳酸乙酯. *催化学报*, 2006, 27(6): 537–540.
- [49] Zhao TT, Zhang LJ, Gao J, et al. Reaction kinetics of ethyl lactate synthesis from lactic Acid and ethanol catalyzed by lipase. *Chin J Catal*, 2008, 29(2): 141–144 (in Chinese).
赵天涛, 张丽杰, 高静, 等. 脂肪酶催化乳酸与乙醇合成乳酸乙酯的反应动力学. *催化学报*, 2008, 29(2): 141–144.
- [50] Oude Elferink SJ, Krooneman J, Gottschal JC, et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(1): 125–132.
- [51] Nishino N, Yoshida M, Shiota H, et al. Accumulation of 1,2-propanediol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *J Appl Microbiol*, 2003, 94(5): 800–807.
- [52] Grochowski LL, Xu H, White RH. Identification of lactaldehyde dehydrogenase in *Methanocaldococcus jannaschii* and its involvement in production of lactate for F420 biosynthesis. *J Bacteriol*, 2006, 188(8): 2836–2844.
- [53] Di Costanzo L, Gomez GA, Christianson DW. Crystal structure of lactaldehyde dehydrogenase from *Escherichia coli* and inferences regarding substrate and cofactor specificity. *J Mol Biol*, 2007, 366(2): 481–493.
- [54] Bennett GN, San KY. Microbial formation, biotechnological production and application of 1,2-propanediol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 55(1): 1–9.
- [55] Chen YM, Lin EC. Dual control of a common L-1,2-propanediol oxidoreductase by L-fucose and L-rhamnose in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1984, 157(3): 828–32.
- [56] Hoffman ML. Metabolic engineering for the production of 1,2-propanediol in *Saccharomyces cerevisiae* [D]. Madison: University of Wisconsin-Madison, 1999.
- [57] Montella C, Bellolell L, Pérez-Luque R, et al. Crystal structure of an iron-dependent group III dehydrogenase that interconverts L-lactaldehyde and L-1,2-propanediol in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2005, 187(14): 4957–4966.
- [58] Niimi S, Suzuki N, Inui M, et al. Metabolic engineering of 1,2-propanediol pathways in *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Microbiol*

- Biotechnol, 2011, 90(5): 1721–1729.
- [59] Li H, Liao JC. Engineering a cyanobacterium as the catalyst for the photosynthetic conversion of CO₂ to 1,2-propanediol. *Microb Cell Fact*, 2013, 12: 4.
- [60] Clomburg JM, Gonzalez R. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of 1,2-propanediol from glycerol. *Biotechnol Bioeng*, 2011, 108(4): 867–879.
- [61] Berríos-Rivera SJ, San KY, Bennett GN. The effect of carbon sources and lactate dehydrogenase deletion on 1,2-propanediol production in *Escherichia coli*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2003, 30(1): 34–40.
- [62] Jung JY, Yun HS, Lee J, et al. Production of 1,2-propanediol from glycerol in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Microbiol Biotechnol*, 2011, 21(8): 846–853.
- [63] Jung JY, Choi ES, Oh MK. Enhanced production of 1,2-propanediol by *tpi1* deletion in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Microbiol Biotechnol*, 2008, 18(11): 1797–1802.

(本文责编 陈宏宇)



全球生物基化学品商业化加速

秉持可持续发展理念，可口可乐、达能和宝洁等消费品公司对生物基聚乙烯产品的需求不断增长。Rennovia 公司近日预测，到 2020 年全球生物基化学品市场将从目前的 36 亿美元增至超过 120 亿美元，市场潜力巨大。生物基化学品行业正吸引多家化工巨头与生物技术公司合作，开发可再生原料化学品。

据 IHS 化学公司的数据，目前最成功的生物基化学品包括 1,3-丙二醇和乳酸，已基本上实现全部生物基原料化。另外目前全球约 12% 的环氧氯丙烷和约 8% 的丙二醇为生物基工艺生产，这两种物质主要以生物柴油生产的一种副产物——甘油为原料制得。目前生物基化学品最受市场关注的是生物基琥珀酸。除此之外，许多公司正加快多种生物化学品的工业生产。

(来源：中国化工报；日期：2013-08-21)