

盐析萃取生物基化学品的研究进展

戴建英, 刘春娇, 孙亚琴, 修志龙

大连理工大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116024

戴建英, 刘春娇, 孙亚琴, 等. 盐析萃取生物基化学品的研究进展. 生物工程学报, 2013, 29(10): 1441-1449.
Dai JY, Liu CJ, Sun YQ, et al. Research progress in salting-out extraction of bio-based chemicals, 2013, 29(10): 1441-1449.

摘要: 廉价生物质的生物炼制研究主要集中在菌种和发酵方面, 对下游分离研究较少。廉价生物质资源的利用导致发酵液中引入更多杂质, 成分较单糖发酵更复杂, 致使生物基化学品的下游分离过程成为其工业化生产亟需解决的关键问题。文中介绍了一种基于两相分配差异分离亲水性生物基化学品的盐析萃取技术及其在生物基化学品分离方面的应用, 重点阐述了短链醇和盐对双水相形成的影响, 并对 1,3-丙二醇、2,3-丁二醇、乙偶姻、乳酸等的盐析萃取研究进展进行了总结和展望。盐析萃取技术可有效地回收发酵液中的小分子亲水性产品, 同时除去大多数的杂质 (细胞和蛋白质等), 在生物基化学品的分离过程中将是一种有前景的分离技术。

关键词: 盐析萃取, 双水相萃取, 生物基化学品, 二元醇, 有机酸

Research progress in salting-out extraction of bio-based chemicals

Jiaying Dai, Chunjiao Liu, Yaqin Sun, and Zhilong Xiu

School of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning, China

Abstract: Bio-refinery using cheap biomass focuses mainly on strain improvement and fermentation strategies whereas less effort is made on down-stream processing. Using cheap biomass more impurities are introduced into the fermentation broths than mono-sugar substrate, thus down-stream processing for bio-based chemicals becomes the key problem in industrial production. The technique called salting-out extraction (SOE) was introduced in this review, which is used to separate target products from fermentation broth on the basis of partition difference of chemicals in two phases formed by mixing salts and organic solvents (or amphipathic chemicals) with broth at suitable ratios. The effect of solvents and salts

Received: June 27, 2013; **Accepted:** August 12, 2013

Supported by: National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2012AA021202-3).

Corresponding author: Zhilong Xiu. Tel/Fax: +86-411-84706369; E-mail: zhixiu@dlut.edu.cn

国家高技术研究发展计划 (863 计划) (No. 2012AA021202-3) 资助。

网络出版时间: 2013-09-12

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20130912.0213.003.html>

on the formation of two aqueous phases, especially short chain alcohols and inorganic salts, and the application of SOE in recovery of bio-based chemicals, such as lactic acid, 1,3-propanediol, 2,3-butanediol and acetoin were summarized. The bio-chemicals were efficiently recovered from fermentation broth, and most of the impurities (cells and proteins) were removed in the same step. This technique is promising in the separation of bio-based chemicals, especially the recovery of hydrophilic molecules with low molecular weights.

Keywords: salting-out extraction, aqueous two-phase extraction, bio-based chemicals, diols, organic acids

随着工业生物技术的日益深入,以可再生生物质资源为原料生产生物基化学品的研究受到广泛关注。这些生物基化学品,如1,3-丙二醇、2,3-丁二醇、乳酸、琥珀酸等均是重要的化工产品和原料,在材料、交通运输、化妆品、食品、药品等领域有广泛用途^[1-6]。经过多年的研究,生物基化学品生产在菌种改良、底物应用、发酵策略、产品分离等方面取得了不少研究成果^[1-10],发酵液中产品浓度大幅度提高,但是大多数的生物基化学品还不能大规模生产,其原因是生产成本偏高,其中发酵培养基中的碳源占发酵成本的绝大部分,而分离成本大约占了生产成本的50%。廉价生物质(如木质纤维素)的应用能降低发酵成本,但是同时也向发酵液中引入更多的组分,包括蛋白质、果胶、木质素等,而且产物浓度通常比单糖发酵低得多。到了发酵末期,除了目标产物,发酵液中还存在一些其他的化合物,如代谢副产物、细胞、残留的原料等。最终,应用廉价生物质生产生物基化学品将导致其下游分离过程比单糖发酵或化学合成更加困难。因此,廉价生物质的利用增加了分离的成本与难度,分离成为生物基化学品工业化的瓶颈。

为了经济高效地从发酵液中分离目标产物,开发了各种分离方法应用于产品分离,如蒸发、蒸馏、膜过滤、离子交换层析、溶剂萃取、反应萃取等^[7]。其中,溶剂萃取因易放大、能耗低,被认为是一种很有工业化前景的技术。然而,生物基化学品高度亲水,难以找到合适的溶剂应用于

生物基化学品的萃取。例如,乙酸乙酯在30℃条件下萃取1,3-丙二醇,其分配系数仅为0.22,即使采用乙酸乙酯和乙醇(9:1)混合溶剂,分配系数仅提高到0.31^[11],所以单纯的溶剂萃取不适用于生物基化学品的分离。反应萃取能降低产品的亲水性而提高分配系数,但是反应剂也能和副产物及杂质反应。因此,发展一种简单有效的方法从发酵液中分离目标产物是十分必要的。

盐析萃取(Salting-out extraction, SOE)是以有机溶剂作萃取剂、盐作盐析剂,在两者的综合作用下从水相中萃取亲水性目标产物的一种分离方法。盐析萃取最早的应用是以己烷作为萃取剂从水的共沸混合物中分离异丙醇,加入碳酸钾能提高异丙醇在己烷相的分配系数^[12]。没有萃取剂时,盐可以单独从浓缩的发酵液中回收2,3-丁二醇^[13],此技术称为盐析或排斥萃取,但是盐用量偏高。与此类似,盐也可以作为脱水剂从丙酮-丁醇-乙醇溶液中盐析丁醇^[14-15]。对于发酵产品来说,因发酵液中目标产物浓度偏低,盐析萃取比盐析更适用于产品分离。在已报道的研究中,由于萃取剂为亲水性溶剂,形成的两相均含大量水,所以也称之为双水相萃取,目前已被应用于发酵液中生物基化学品的分离,包括2,3-丁二醇^[16-18]、乙偶姻^[19]、1,3-丙二醇^[20-23]和乳酸^[24-25]等。

根据盐析萃取体系的组成,可将其分为4种类型:多聚物型、亲水性溶剂型、疏水性溶剂型以及两亲性化合物型。传统的双水相体系即为多聚物型的盐析萃取体系,被广泛用于生物产品的

分离, 如蛋白质、核酸、细胞和细胞器和药物等。关于此类盐析萃取体系的分相、体系特性、体系参数、工艺参数及其应用已有大量综述发表^[26-33], 本文就不再介绍。文中将介绍盐析萃取生物基化学品的研究进展, 尤其是亲水性溶剂型盐析萃取体系及其应用, 并就当前研究中存在的一些问题进行展望。

1 双水相的形成

非多聚物型的盐析萃取体系通过混合适当比例的水、盐和溶剂或两性化学物质形成, 如甲醇、乙醇、丙醇、丙酮、丁醇、乙酸乙酯和离子液体等。根据盐和溶剂的组成可绘制成相应的相图, 相图分为 3 个区域: 液-液-固三相区 (1)、液-液二相区 (2) 以及单液相区 (3) (图 1)。盐析萃取在区域 2 进行。

双水相的形成受盐和溶剂性质的影响。在双水相形成的过程中, 盐和水分子的相互作用起着非常重要的作用, 因此离子所带的电荷越多、离子半径越小更易形成双水相。例如, 阳离子的盐析效应为 $\text{Al}^{3+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{K}^+$ 。对于盐来说, 采用同种溶剂, 则盐的盐析能力为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{K}_2\text{HPO}_4 > \text{NaNO}_3$ ^[20,35]。

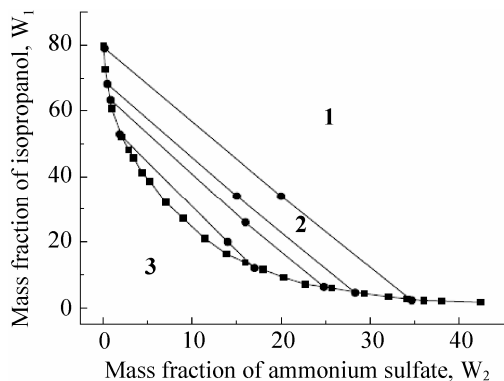


图1 硫酸铵-异丙醇盐析萃取体系相图^[34]

Fig. 1 Phase diagram of SOE system formed by ammonium sulfate and iso-propanol^[34].

在双水相的形成中, 溶剂的水合能力是另一个重要因素, 由溶剂本身结构决定。例如, 乙醇比正丙醇和异丙醇的亲水性强, 所以在相同的盐浓度下形成双水相需要更多的乙醇^[36], 而能与乙醇形成双水相的盐必须含有二价或多价阴离子^[35]。

酸度也是影响双水相形成的重要因素, 其原因是化合物的离子化程度受 pH 影响。pH 增大, 阴离子的离子化增强, 形成双水相所需盐的浓度也增加^[35,37]。

双水相中上、下两相的体积受盐和溶剂浓度的影响。通常情况下, 溶剂相的体积随溶剂浓度的增加而增加, 随盐浓度的增加而降低。

此外, 一些目标产物也参与双水相的形成, 如 1,3-丙二醇和 2,3-丁二醇, 从而导致相同盐浓度下醇用量的减少^[16,38]。

2 乳酸的盐析萃取

近年来, 以乳酸和琥珀酸为代表的有机酸发酵很受重视, 而其分离方法研究则相对较少^[4-6]。水溶性有机酸回收的传统方法是钙沉淀。然而, 结晶时的产品损失和钙化合物引起的环境问题提高了其相应的生产成本。因此, 开发一种高效简单的方法用于分离有机酸十分必要。

在研究盐析萃取分离 2,3-丁二醇和 1,3-丙二醇时发现, 适当条件下发酵液中的有机酸可以被萃取到某一相中^[21,39]。不过此研究中有有机酸作为副产物存在且种类较多, 与有机酸发酵时的发酵液组成差异较大。目前真正以有机酸发酵液为对象进行研究的只有乳酸。Aydogan 等采用模拟液优化盐析萃取乳酸的条件, 当乳酸浓度为 80 g/L、乙醇和磷酸氢二钾的含量分别为 30.23% 和 18.40% (W/W) 时, 得到乳酸的最大分配系数 (2.26) 和回收率 (87%)^[24]。魏搏超等采用磷酸氢二钾/有机溶剂体系考察了有机溶剂对乳酸回收率

的影响,发现乙醇和甲醇体系效果最好 (>90%),其次为正丙醇和异丙醇体系 (~12%)、丙酮体系 (~7%) 以及正丁醇、异丁醇、叔丁醇和乙酸乙酯体系 (<5%)^[25]。在乙醇/无机盐体系中乳酸的回收率依次为 $K_2HPO_4 > K_3PO_4 > (NH_4)_2SO_4 > Na_2CO_3 > K_2CO_3$, 影响盐析萃取乳酸效果的因素主次顺序为: 磷酸氢二钾浓度>乳酸浓度>乙醇浓度>体系 pH。在甲醇/磷酸氢二钾体系中,乳酸回收率随着甲醇浓度增大呈现先增大后减小的趋势;而在乙醇/磷酸氢二钾体系中,乳酸回收率随乙醇用量增加而增加,随磷酸氢二钾增加而降低。采用 30%乙醇/14%磷酸氢二钾 (W/W) 体系直接从发酵液中回收乳酸,乳酸回收率为 90.6%,所有的细胞和 86%的蛋白质被除去^[25]。

3 1,3-丙二醇的盐析萃取

1,3-丙二醇是第一个采用盐析萃取直接从发酵液中分离的生物基化学品^[40]。优化分离条件,在分配达到平衡时发酵液中的大部分 1,3-丙二醇分配在上相,大多数残留甘油和有机酸分配在下相,细胞和蛋白质聚集在中间相。表 1 总结了采

用不同盐析萃取体系从发酵液中回收 1,3-丙二醇及细胞和蛋白质的去除情况。只要条件合适,1,3-丙二醇的回收率可达 90%以上,几乎所有的细胞和大部分的蛋白质都可从上相中除去。在 35%甲醇/饱和磷酸盐体系 (pH 10.7) 中,90%甲酸、77%乳酸、87%乙酸、89%琥珀酸和 81%富马酸可从上相中除去^[21],而在 35.4%乙醇/28.4%磷酸氢二钾体系 (W/W) 中乳酸和乙酸的去除率则分别为 60%和 42%^[22]。可见,盐析萃取在回收产物的同时可以有效地去除菌体和蛋白,而有机酸的去除则因体系而异。

在短链醇和无机盐组成的盐析萃取体系中,1,3-丙二醇的分配行为均相似。当盐或醇的浓度增加时,1,3-丙二醇的分配系数增大。上下相体积比(相比)随醇浓度的增加而增大,随盐浓度的增加而减小。1,3-丙二醇的回收率随醇浓度的增加而提高,但是其变化幅度并不相同^[20-21]。这是因为 1,3-丙二醇的回收率由分配系数和相比共同决定,而盐、醇的性质不同,导致其相比、分配系数均有差异。虽然发酵液中含有菌体,但并不影响 1,3-丙二醇的分配行为,从膜过滤前/后的发酵液中回

表 1 亲水性有机溶剂型盐析萃取体系分离发酵液中的 1,3-丙二醇

Table 1 Separation of 1,3-propanediol from fermentation broth by hydrophilic solvent-based SOE systems

SOES composition	Treatment of fermentation broths	Recovery (Y, %)	Partition coefficient (K)	Removal (%)		References
				Cells	Proteins	
24% Methanol/14% K_2HPO_4 (W/W)	Filtered	98.2	7.5	—	—	[21]
35% Methanol (V/V)/saturated phosphate (pH 10.7)	None	98.1	38.3	99.85	92.40	[21]
35.39% Ethanol/28.40% K_2HPO_4 (W/W)	None	97.2	20.3	96.47	95.35	[22]
46% Ethanol/17% $(NH_4)_2SO_4$ (W/W)	None	—	—	99.00	83.00	[20]
46% Ethanol (V/V)/saturated $(NH_4)_2SO_4$	None	93.7	4.8	—	—	[20]
Pentanol/0.4 g/mL Na_3PO_4 +0.2 g/mL Na_2SO_4 (Pentanol/fermentation broth=1/1, V/V)	Centrifuged	92.5	4.7	—	—	[23]

收产物,回收率几乎不受影响^[20]。利用同一盐析萃取体系回收产物,发酵液中1,3-丙二醇的浓度越高,1,3-丙二醇的分配系数越高^[20]。

盐析萃取1,3-丙二醇时其回收率因体系而异。通常,采用亲水性溶剂型体系时1,3-丙二醇的分配系数和回收率比疏水性溶剂型的高得多,而且阴离子效应比阳离子效应更强。例如,在碳酸钠/有机溶剂体系中,1,3-丙二醇的回收率依次为乙醇体系>异丙醇体系>异丁醇体系>乙酸乙酯体系;在异丙醇/无机盐体系中1,3-丙二醇的回收率为 K_2HPO_4 体系> $(NH_4)_2SO_4$ 体系> Na_2CO_3 体系> $CaCl_2$ 体系> $NaCl$ 体系^[20]。虽然1,3-丙二醇在疏水性溶剂型体系中回收率不高,但加入盐后其分配系数与溶剂萃取相比明显增加。例如,1,3-丙二醇在乙酸乙酯中的最大溶解度是40 g/L,在30 °C时分配系数仅为0.22^[11,41];加入磷酸钾后,分配系数增加到了1.28^[20],其原因是磷酸盐能促使1,3-丙二醇从水溶液分配到乙酸乙酯相。极性强的溶剂更易与水分子和1,3-丙二醇分子结合,所以甲醇、乙醇体系比其他体系更易萃取1,3-丙二醇。

目前的盐析萃取研究中,大部分采用的是同一种盐,而Wu等采用疏水性溶剂型盐析萃取体系考察了复合盐对1,3-丙二醇盐析萃取的影响^[23]。当两种盐以相同的浓度混合时,1,3-丙二醇的分配系数介于单盐体系分配系数之间。但是也有例外,例如,采用碳酸钾和硫酸铵或碳酸钾和磷酸氢二铵的混合盐得到的分配系数明显比单盐体系的分配系数低很多,其原因可能与盐的酸碱性相关,从而导致离子化程度的改变。

此外,离子液体作为萃取剂组成的盐析萃取体系也可分离1,3-丙二醇。1,3-丙二醇的分配系数由阴阳离子的极性或形成氢键的能力决定^[42]。由于离子

液体价格较贵,应用前首先要考虑萃取液中1,3-丙二醇的回收以及离子液体和盐的回收问题。

4 2,3-丁二醇和乙偶姻的盐析萃取

盐析萃取分离2,3-丁二醇的研究如表2所示。2,3-丁二醇的性质与1,3-丙二醇类似,均为高度亲水,所以两者在两相中的分配行为也类似。2,3-丁二醇发酵会生成一定量的有机酸副产物,研究发现乙醇/碳酸钾体系能够将丙酮酸、柠檬酸、苹果酸、延胡索酸和琥珀酸从上相中去除,但是乳酸和乙酸的去除率只有67%和26%,主要是由于有机酸在乙醇相的溶解度不同^[39]。

在直接利用天然生物质发酵时发酵液成分非常复杂。例如,以菊芋及其茎为原材料同步糖化发酵获得的发酵液中含有大量的杂质,如残余原料、木质素、细胞、代谢产物等,粘度高达72.5 mPs·s,是葡萄糖发酵液的20倍,是水的80倍。若发酵液直接用膜过滤,膜很快就会阻塞。若将盐析萃取与低速离心($2\ 269 \times g$, 20 min)结合,固体杂质和大部分蛋白沉淀在底部或聚集在界面,上相粘度降低至4.4 mPs·s,效果比高速离心($6\ 800 \times g$, 30 min)还好^[18]。可见,盐析萃取在固液分离上是有优势的,尤其是针对廉价生物质的发酵液。

乙偶姻是天然香料,广泛存在于酒、蜂蜜、黄油、草莓和奶制品中。乙偶姻可由枯草芽孢杆菌、粘质沙雷氏菌、肺炎克雷伯氏菌等生产。在2,3-丁二醇发酵时,乙偶姻以低浓度的副产物存在于发酵液中^[16,18,34,38]。不同浓度的乙偶姻通过盐析萃取均能得到高回收率(表3)。盐和溶剂的浓度增加时,乙偶姻的分配行为与2,3-丁二醇的相似。通常,乙偶姻和2,3-丁二醇都被萃取到了上相;由于沸点不同,可通过精馏将二者分离。

表 2 亲水性有机溶剂型盐析萃取体系分离发酵液中的 2,3-丁二醇

Table 2 Separation of 2,3-butanediol from fermentation broth by hydrophilic solvent-based SOE systems

SOE composition	Fermentation broths		Recovery (Y, %)	Partition coefficient (K)	Removal (%)			References
	Substrate	Treatment			Residual sugars	Cells	Proteins	
20% Methanol/32% K ₂ HPO ₄ (W/W)	Glucose	None	96.3	30.7	–	98.1	97.2	[43]
27% Ethanol/20% (NH ₄) ₂ SO ₄ (W/W)	Glucose	Flocculated	90.2	7.4	83.0	–	–	[44]
32% Ethanol/16% (NH ₄) ₂ SO ₄ (W/W)	Glucose	None	91.6	7.1	–	99.9	91.2	[38]
15% Ethanol/19% Na ₂ CO ₃ (W/W)	Glucose	None	94.9	23.8	–	99.7	83.8	[42]
22% Ethanol/26% K ₂ CO ₃ (W/W)	<i>Dioscorea zingiberensis</i> + glucose	None	97.0	57.0	87.0	99.0	94.0	[39]
24% Ethanol/25% K ₂ HPO ₄ (W/W)	Glucose	None	98.1	28.3	86.6	99.6	85.9	[16]
21% Ethanol/17% K ₂ HPO ₄ (W/W)	Tuber and stalk of <i>Jerusalem artichoke</i>	None	99.0	13.4	–	98.0	89.0	[18]
19% Ethanol/20% K ₂ HPO ₄ (W/W)	Tuber and stalk of <i>Jerusalem artichoke</i>	None	97.7	13.9	–	–	–	[18]
19% Ethanol/20% K ₂ HPO ₄ (W/W)	Corn hydrolysate	None	96.0	16.0	–	97.5	78.3	[45]
34% 2-Propanol/20% (NH ₄) ₂ SO ₄ (W/W)	Glucose	None	93.7	9.9	95.4	99.7	85.8	[34]
30% Acetone/35% K ₂ HPO ₄ (W/W)	Sucrose	None	93.2	18.1	95.2	97.9	86.3	[19]

表 3 亲水性有机溶剂型盐析萃取体系分离发酵液中的乙偶姻

Table 3 Separation of acetoin from fermentation broths by hydrophilic solvent-based SOE systems

SOE composition	Acetoin concentration (g/L)	Fermentation broths	Recovery (Y, %)	Partition coefficient (K)	References
18% Ethanol/30% K ₂ HPO ₄ (W/W)	4.0	Filtered	95.0	17.6	[16]
19% Ethanol/20% K ₂ HPO ₄ (W/W)	4.0	None	97.4	13.3	[18]
21% Ethanol/17% K ₂ HPO ₄ (W/W)	4.0	None	98.7	12.7	[18]
27% Ethanol/20%(NH ₄) ₂ SO ₄ (W/W)	5.0	Flocculated	89.5	7.5	[44]
25% Ethanol/20% (NH ₄) ₂ SO ₄ (W/W)	7.3	Filtered	85.0	6.0	[38]
22% Ethanol/26% K ₂ CO ₃ (W/W)	–	None	97.0	37.8	[39]
34% 2-Propanol/20% (NH ₄) ₂ SO ₄ (W/W)	3.6	None	93.7	10.2	[34]
30% Acetone/35% K ₂ HPO ₄ (W/W)	45.0–55.0 ^a	None	94.1	22.7	[19,46]

^aDeduced from the data of reference 46.

5 结论与展望

由于盐析萃取效率高、易放大,该技术被广泛应用于生物基化学品的分离。盐析萃取将固液分离、部分杂质去除和目标产物浓缩整合成一步,所以对于亲水性发酵产品,如二元醇和有机酸的分离,盐析萃取是一种简单而有效的技术。然而,由于大量的盐、溶剂或多聚物的使用造成的高成本限制了盐析萃取在工业上的应用。在工业化应用之前,尚存在一些问题亟需进一步深入研究:首先,溶剂和盐的循环利用问题。最近的报告开始关注溶剂和盐的循环利用^[21],但就实际应用而言,这是远远不够的。目前来说,溶剂的回收不成问题,只不过因上相含水量和溶剂沸点的差异导致能耗有差异,而盐则需要探索相应的回收以及循环利用的方法。其次,色素问题。发酵液中通常含有一定量的色素,而采用一些工业副产物如糖蜜之类的原料,则颜色更深。当前研究的盐析萃取体系多为亲水性溶剂型,色素在上下相几乎平均分配,随着后期处理的进行,色素逐渐累积,将会增加脱色难度。另外,作为新开发的技术,目前没有相应的工业设备。总之,从操作和效率看,盐析萃取在生物基化学品下游分离过程中将是一种有广阔前景的分离技术。

REFERENCES

- [1] Zeng AP, Sabra W. Microbial production of diols as platform chemicals: Recent progresses. *Curr Opin Biotech*, 2011, 22(6): 749–757.
- [2] Ji XJ, Huang H, Ouyang PK. Microbial 2,3-butanediol production: a state-of-the-art review. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(3): 351–364.
- [3] Sabra W, Quitmann H, Zeng AP, et al. Biofuels and bioenergy: microbial production of 2,3-butanediol//Murray MY, Ed. *Comprehensive Biotechnology*. 2nd ed. Elsevier, 2011, 3: 87–97.
- [4] Delhomme C, Weuster-Botz D, Kuhn FE. Succinic acid from renewable resources as a C4 building-block chemical — a review of the catalytic possibilities in aqueous media. *Green Chem*, 2009, 11(1): 13–26.
- [5] Abdel-Rahman MA, Tashiro Y, Sonomoto K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits. *J Biotechnol*, 2011, 156(4): 286–301.
- [6] Reddy G, Altaf M, Naveena BJ, et al. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation — a review. *Biotechnol Adv*, 2008, 26(1): 22–34.
- [7] Xiu ZL, Zeng AP. Present state and perspective of downstream processing of biologically produced 1,3-propanediol and 2,3-butanediol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 78(6): 917–926.
- [8] Beauprez JJ, De-Mey M, Soetaert WK. Microbial succinic acid production: natural versus metabolic engineered producers. *Process Biochem*, 2010, 45(7): 1103–1114.
- [9] Kurzrock T, Weuster-Botz D. Recovery of succinic acid from fermentation broth. *Biotechnol Lett*, 2010, 32(3): 331–339.
- [10] Saxena RK, Anand P, Saran S, et al. Microbial production of 1,3-propanediol: recent developments and emerging opportunities. *Biotechnol Adv*, 2009, 27(6): 895–913.
- [11] Boonsongsawat T, Shotipruk A, Tantayakom V, et al. Solvent extraction of biologically derived 1,3-propanediol with ethyl acetate and ethanol cosolvent. *Sep Sci Technol*, 2010, 45(4): 541–547.
- [12] Tang ZG, Zhou RQ, Duan ZT. Separation of isopropanol from aqueous solution by salting-out extraction. *J Chem Technol Biotechnol*, 2001, 76(7): 757–763.
- [13] Afschar AS, Vaz Rossell CE, Jonas R, et al. Microbial production and downstream processing of 2,3-butanediol. *J Biotechnol*, 1993, 27(3): 317–329.
- [14] Hu BL, Qiu XQ, Yang DJ. Separation of butanol-acetone-water system using repulsive extraction. *J South China Univ Technol: Natl Sci Ed*,

- 2003, 31(12): 58–62 (in Chinese).
胡柏玲, 邱学青, 杨东杰. 用排斥萃取分离正丁醇-丙酮-水体系. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2003, 31(12): 58–62.
- [15] Xu WY. Separation of ethanol-acetone-butanol-water system using potassium carbonate. *Chin J Process Eng*, 2001, 1(3): 318–320 (in Chinese).
许文友. 碳酸钾分离乙醇-丙酮-丁醇-水体系. 过程工程学报, 2001, 1(3): 318–320.
- [16] Jiang B, Li ZG, Dai JY, et al. Aqueous two-phase extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths using an ethanol/phosphate system. *Process Biochem*, 2009, 44(1): 112–117.
- [17] Li Z, Teng H, Xiu Z. Aqueous two-phase extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths using an ethanol/ammonium sulfate system. *Process Biochem*, 2010, 45(5): 731–737.
- [18] Dai JY, Zhang YL, Xiu ZL. Salting-out extraction of 2,3-butanediol from Jerusalem artichoke-based fermentation broth. *Chin J Chem Eng*, 2011, 19(4): 682–686.
- [19] Sun J, Rao B, Zhang L, et al. Extraction of acetoin from fermentation broths using an acetone/phosphate aqueous two-phase system. *Chem Eng Comm*, 2012, 199(11): 1492–1503.
- [20] Li Z, Jiang B, Zhang DJ, et al. Aqueous two-phase extraction of 1,3-propanediol from glycerol-based fermentation broths. *Sep Purif Technol*, 2009, 66: 472–478.
- [21] Li ZG, Teng H, Xiu ZL. Extraction of 1,3-propanediol from glycerol-based fermentation broths with methanol/phosphate aqueous two-phase system. *Process Biochem*, 2011, 46(2): 586–591.
- [22] Aydogan O, Bayraktar E, Mehmetoglu U, et al. Selection and optimization of an aqueous two-phase system for the recovery of 1,3-propanediol from fermentation broth. *Eng Life Sci*, 2010, 10(2): 121–129.
- [23] Wu SH, Wang YJ. Salting-out effect on recovery of 1,3-propanediol from fermentation broth. *Ind Eng Chem Res*, 2012, 51(33): 10930–10935.
- [24] Aydogan O, Bayraktar E, Mehmetoglu U. Aqueous two-phase extraction of lactic acid: optimization by response surface methodology. *Sep Sci Technol*, 2011, 46(7): 1164–1171.
- [25] Wei BC, Song ZY, Sun YQ, et al. Salting-out extraction of lactic acid from fermentation broths. *Chin J Process Eng*, 2012, 12(1): 44–48 (in Chinese).
魏搏超, 宋志远, 孙亚琴, 等. 发酵液中乳酸的盐析萃取. 过程工程学报, 2012, 12(1): 44–48.
- [26] Benavides J, Rito-Palomares M. Practical experiences from the development of aqueous two-phase processes for the recovery of high value biological products. *J Chem Technol Biotechnol*, 2008, 83(2): 133–142.
- [27] Cabral JMS. Cell partitioning in aqueous two-phase polymer systems. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2007, 106: 151–171.
- [28] Rito-Palomares M. Practical application of aqueous two-phase partition to process development for recovery of biological products. *J Chromatogr B*, 2004, 807(1): 3–11.
- [29] Raghavarao KSMS, Ranganathan TV, Srinivas ND, et al. Aqueous two-phase extraction-an environmentally benign technique. *Clean Technol Environ Policy*, 2003, 5(2): 136–141.
- [30] Rosa PAJ, Ferreira IF, Azevedo AM, et al. Aqueous two-phase systems: a viable platform in the manufacturing of biopharmaceuticals. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(16): 2296–2305.
- [31] Azevedo AM, Rosa PAJ, Ferreira IF, et al. Chromatography-free recovery of biopharmaceuticals through aqueous two-phase processing. *Trends Biotechnol*, 2009, 27(4): 240–247.
- [32] Asenjo JA, Andrews BA. Aqueous two-phase systems for protein separation: a perspective. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(49): 8826–8835.
- [33] Asenjo JA, Andrews BA. Aqueous two-phase systems for protein separation: phase separation and applications. *J Chromatogr A*, 2012, 1238: 1–10.
- [34] Sun LH, Jiang B, Xiu ZL. Aqueous two-phase

- extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths by isopropanol/ammonium sulfate system. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(3): 371–376.
- [35] Wang ZH, Ma HM, Ma QL, et al. Study on two-phase aqueous extraction system. *Chin J Appl Chem*, 2001, 18(3): 173–175 (in Chinese).
王志华, 马会民, 马泉莉, 等. 双水相萃取体系的研究. *应用化学*, 2001, 18(3): 173–175.
- [36] Ooi CW, Tey BT, Hii SL, et al. Purification of lipase derived from *Burkholderia pseudomallei* with alcohol/salt-based aqueous two-phase systems. *Process Biochem*, 2009, 44(10): 1083–1087.
- [37] Li S, He C, Gao F, et al. Extraction and determination of morphine in compound liquorice using an aqueous two-phase system of poly(ethylene glycol)/K₂HPO₄ coupled with HPLC. *Talanta*, 2007, 71(2): 784–789.
- [38] Li Z, Teng H, Xiu Z. Aqueous two-phase extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths using an ethanol/ammonium sulfate system. *Process Biochem*, 2011, 45(5): 731–737.
- [39] Liu GX, Jiang B, Wang YH, et al. Aqueous two-phase extraction of 2,3-butanediol by ethanol/potassium carbonate system from *Dioscorea zingiberensis* fermentative broths. *CIESC J*, 2009, 60(11): 2798–2804 (in Chinese).
刘国兴, 江波, 王元好, 等. 乙醇/碳酸钾双水相萃取盾叶薯蓣发酵液中的2,3-丁二醇. *化工学报*, 2009, 60(11): 2798–2804.
- [40] Xiu Z, Li Z, Jiang B, et al. Aqueous two-phase extraction method for separation 1,3-propanediol from fermentation solution: CN, 10010201. 2007-08-08 (in Chinese).
修志龙, 李志刚, 江波, 等. 一种从发酵液中分离1,3-丙二醇的双水相萃取方法: 中国专利, 10010201. 2007-08-08.
- [41] Cho MH, Joen SI, Pyo SH, et al. A novel separation and purification process for 1,3-propanediol. *Process Biochem*, 2006, 41(3): 739–744.
- [42] Muller A, Gorak A. Extraction of 1,3-propanediol from aqueous solutions using different ionic liquid-based aqueous two-phase systems. *Sep Purif Technol*, 2012, 97: 130–136.
- [43] Li ZG. Aqueous two-phase extraction of 1,3-propanediol and 2,3-butanediol from fermentation broths[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2011 (in Chinese).
李志刚. 发酵液中1,3-丙二醇和2,3-丁二醇的双水相萃取研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2011.
- [44] Zhang JH, Jiang B, Li ZG, et al. Aqueous two-phase extraction of 2,3-butanediol from fermentation broth. *Chin J Process Eng*, 2008, 8(5): 897–900 (in Chinese).
张江红, 江波, 李志刚, 等. 2,3-丁二醇发酵液的双水相萃取. *过程工程学报*, 2008, 8(5): 897–900.
- [45] Zhang YL. Salting-out extraction of 2,3-butanediol from Jerusalem artichoke-based fermentation broths[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2011 (in Chinese).
张媛丽. 盐析萃取菊芋发酵液中的2,3-丁二醇[D]. 大连: 大连理工大学, 2011.
- [46] Sun JA, Zhang LY, Rao B, et al. Enhanced acetoin production by *Serratia marcescens* H32 with expression of a water-forming NADH oxidase. *Bioresour Technol*, 2012, 119: 94–98.

(本文责编 郝丽芳)