

发酵法生产丁二酸研究进展及其应用前景

武敏敏^{1,2}, 刘宏娟², 张建安², 薛建伟¹, 李晋平¹

(1. 太原理工大学化学工程系, 山西 太原 030024;

2. 清华大学核能与新能源技术研究院, 北京 100084)

摘要: 发酵法生产丁二酸由于其高效率、环保性以及原料的可持续利用性而越来越受到广大科研工作者的重视。详细介绍了丁二酸发酵法生产技术及研究进展, 并对其应用前景进行了展望。

关键词: 丁二酸; 发酵; 进展

中图分类号: TQ225.144

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2008)11-0033-05

Research advances in microbial fermentation of succinic acid and its prospect

WU Min-min^{1,2}, LIU Hong-juan², ZHANG Jian-an², XUE Jian-wei¹, LI Jin-ping¹

(1. Department of Chemical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China;

2. Institute of Nuclear and New Energy Technology, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The succinic acid production by fermentation has drawn more people's attention due to its high efficiency, friendly to its environment and continuable utilization of raw material. In this paper, the fermentative technologies and research advances in succinic acid are reviewed, and the application of succinic acid is also discussed.

Key words: succinic acid; fermentation; advance

作为一种重要的有机化工原料及中间体, 丁二酸主要用于医药工业、食品工业、化学工业, 以及分析试剂、食品铁质强化剂、配制电镀药水和 PCB 线路板药水、清酒添加剂等。传统的丁二酸生产方法主要是应用石化法从丁烷通过顺式丁烯二酐生产。只有食品行业用的丁二酸是发酵法生产的, 发酵法生产丁二酸是利用可再生糖源(如葡萄糖)和二氧化碳作为主要原料, 它开辟了温室气体二氧化碳利用的新途径, 且成本低廉, 环境友好^[1]。近年来, 由于石油危机及环境污染的双重压力, 微生物发酵法生产丁二酸以其具有节约大量的石油资源并且可以降低由石化方法产生的污染等优点而受到广泛关注。

1 丁二酸的生物制备工艺

所谓的发酵法产丁二酸就是利用细菌或其他微生物发酵的方法以淀粉、糖或其他微生物能够利用的废料为原料生产琥珀酸及其衍生物的方法^[2]。微生物发酵制备丁二酸的工艺流程见图 1。

1.1 菌种

优良菌种的选择是发酵法制备丁二酸的一个关键步骤, 它将会直接影响到产品的收率以及分离纯化的过程。丁二酸是一些厌氧和兼性厌氧微生物代谢途径中的共同中介物^[3]。一般, 丙酸盐生产菌、典型

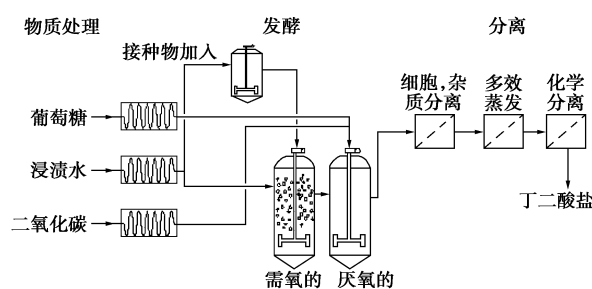


图 1 发酵法生产丁二酸流程

的胃肠细菌以及瘤胃细菌能够分泌琥珀酸。据报道一些乳酸菌(*Lactobacillus*)也能在特定的培养基上不同程度地产生琥珀酸^[4]。国外在 20 世纪 90 年代就开始发酵法生产丁二酸的研究, 其中研究 *Anaerobiospirillum succiniciproducens*、*Actino-bacillus succinigenes*、*Mannheimia . Succiniciproducens* 和基因工程菌 *E. coli* 发酵法生产丁二酸的报道较多, 丁二酸产量为 10~110 g/L^[5-8]。国内在这方面的研究还处于起步阶段, 姜岷等^[9]构建了表达质粒 pTrc99a2sfcA, 有氧和厌氧的条件下在菌种 *E. coli* FMJ39 中均获得了大量表达。厌氧发酵结果表明, 过量表达苹果酸酶会影响厌氧混合酸发酵中的甲酸、乙酸、丁二酸途径。白冬梅等^[10]对丁二酸放线杆菌的发酵液用高效液相色谱进行分析检测, 48 h 发酵液中丁二酸

产量 9.58 g/L。蔡婷等^[11]对丁二酸放线杆菌 NJ113 的发酵液用高效液相色谱进行分析检测,丁二酸产量 12 g/L。朱蕾蕾等^[1]从牛的瘤胃中筛选获得一株产琥珀酸的兼性厌氧菌 SW0580,初步发酵表明该菌能发酵 60 g/L 葡萄糖产生 25.8 g/L 的丁二酸。苏溧等^[12]对 *Actinobacillus succinogenes*130Z 厌氧发酵产丁二酸的培养条件进行了初步研究,在最佳条件下,在血清瓶中在 37℃ 下培养 24 h,丁二酸产量达 8.3 g/L,在 5 L 发酵罐中培养、葡萄糖质量浓度分别为 10 g/L 和 100 g/L 时,丁二酸产量分别达到 8.2 g/L 和 45.6 g/L,收率分别为 80% 和 65%。

1.2 发酵方式

随着生物工程技术的迅速发展和成熟,利用微生物发酵法大规模生产丁二酸已经引起各个国家的关注。但是得到一种经济上可行的丁二酸发酵生产方式是迫在眉睫的。而发酵制备丁二酸至关重要的是利用廉价的原料和营养成分来获得高产量以及高产物浓度。如利用微生物菌种,以农业产物玉米、木薯等为基本原料,不仅可以得到安全的食品医药级产品,同时还能农产品的深加工及转化为高附加值产品提供一条可行的途径。同时琥珀酸发酵是典型的厌氧发酵,由于二氧化碳在琥珀酸产生菌代谢过程中起着至关重要的作用,因此目前对发酵工艺的研究主要集中于如何让琥珀酸产生菌在代谢过程中最大限度地利用二氧化碳,当前研究者大多采用了持续不断地通入二氧化碳的发酵工艺,保证了琥珀酸产生菌对二氧化碳的固定,这是琥珀酸发酵工艺之中与其他有机酸发酵不同的地方。姜岷等^[13]研究了稀酸水解玉米皮制备丁二酸发酵糖液的工艺条件,其糖液经活性炭脱色,在厌氧发酵条件下,玉米皮水解液可替代葡萄糖作为丁二酸发酵的碳源。江南大学孙志浩等^[14]从瘤胃中筛选得到的微生物琥珀酸放线杆菌,在厌氧条件下和维持 pH 5.5~7.5 的环境下,利用制糖废糖蜜进行分批或补料分批厌氧发酵 30~60 h,达到产琥珀酸质量浓度 30~60 g/L,琥珀酸对消耗糖产率 70%~84%,生产强度 0.9~1.2 g/(L·h),糖利用率 90%~95%。董晋军等^[15]利用廉价糖蜜原料发酵法生产琥珀酸,分批发

酵和分批补料发酵在 48 h 内生产强度分别为 0.97 g/(L·h) 和 1.15 g/(L·h)。为增加生产强度,进一步降低生产成本,首次尝试进行两级双流半连续发酵生产琥珀酸。

另外琥珀酸的最佳发酵过程大约在中性 pH 下进行,但酸的产生会降低 pH,不利于微生物生长,因此,必须通过加碱来调节 pH。Datta 等^[16]在发酵过程中采用添加氢氧化钙调节 pH,使得在发酵过程同时结晶出琥珀酸钙。美国 Applied Carbochemicals 公司等^[17]在生产过程中,用氨将 pH 控制在 6.0 以上,副产物硫酸铵可实现循环利用;用 NaOH、MgOH 中和发酵液,均形成可溶的琥珀酸钠等盐。考虑到对丁二酸产率的影响,若在培养液中加入少量的营养物质以及金属盐对生产速率和产率均有提高^[18],如维生素, Ca、Mg 盐等。

1.3 代谢调控

代谢工程的兴起使得生产丁二酸变为可能,也取得了一定的成效,但是其发酵强度还不够高,且过程中伴随着其他有机酸的积累,因此还不适于工业化生产。代谢工程以系统生物学为基础,为菌种改造、代谢调控提供了更合理的依据。图 2 是厌氧条件下丁二酸产生菌的代谢途径。

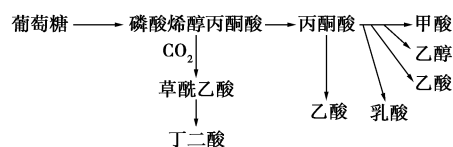


图 2 产丁二酸细菌的葡萄糖代谢途径

由图 2 代谢途径可以看出,磷酸烯醇式丙酮酸是琥珀酸发酵的一个非常重要的中间体,在厌氧条件下,它可被 2 种不同的酶即磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶和丙酮酸激酶催化。磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶是一种固定二氧化碳的酶,在有二氧化碳存在的情况下,它可以将磷酸烯醇式丙酮酸转化为草酰乙酸,进而被后续的苹果酸脱氢酶、延胡索酸酶和延胡索酸脱氢酶转化而生成琥珀酸;而丙酮酸激酶不能固定二氧化碳,它可将磷酸烯醇式丙酮酸转化为丙酮酸,进而生成乙酰辅酶 A,由此进入了典型的

(上接第 32 页)

- [21] 喻颖,徐冰,黄世强. 多维聚硅烷的研究进展[J]. 有机硅材料, 2005, 19(1): 26-31.
- [22] 马洪,苏志珊,曾红梅,等. 聚硅烷用作紫外亚微米光刻胶[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2001, 38(6): 863-866.

- [23] 彭志坚,司文捷,傅鹤鉴,等. 高分子质量的枝状聚硅烷的合成与表征[J]. 高分子学报, 2002(3): 301-308.
- [24] 喻颖,马年方,黄世强. 枝状聚(苯基-二甲基)硅烷的合成及其性质研究[J]. 弹性体, 2006, 16(1): 13-15.
- [25] 于江,张正华,倪宇,等. 一种超支化聚硅烷的合成和性能[J]. 高分子学报, 2007(1): 81-84. ■

混合酸发酵而产生乳酸、乙酸、甲酸和乙醇等产物。由此可见,磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶是琥珀酸分支代谢中的关键酶之一,也是主要生化反应的限速酶,它受多种因素的影响和调控,最突出的因素是二氧化碳^[19]和生物素的影响。二氧化碳对磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶的调控表现在二氧化碳水平的高低可以调节磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的活性,在琥珀酸产生菌中,磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶可以固定二氧化碳而合成草酰乙酸,在低的二氧化碳水平下(二氧化碳和葡萄糖的摩尔比为1:10),*Actinobacillus succinogenes* 发酵葡萄糖以产乙醇为主要产物,而 *Anaerobiospirillum succiniciproducens* 则发酵葡萄糖以产乳酸为主要产物;在高的二氧化碳水平下(二氧化碳和葡萄糖的摩尔比为1:1),二者发酵葡萄糖均以琥珀酸为主要产物。另外生物素是许多羧化酶的辅基,对提高磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶的活性也有重要作用,在培养基中添加 400 $\mu\text{g/L}$ 的生物素时,对提高琥珀酸的产率有利,同时可以最大限度地降低副产物乳酸的生成,生物素的加入提高了磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶的活性,而部分地抑制了丙酮酸激酶的活性。张洪勋^[20]将 *Anaerobiospirillum succiniciproducens* 的磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶纯化后发现,该酶对氧稳定,最适 pH 为 6.5~7.1,在 pH 5.0~9.0 都比较稳定,该酶在有 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 和 Mg^{2+} 情况下表现出最大的活性。近年来,虽然大肠杆菌琥珀酸产量比较低,但因为其基础研究比较深入,能够采用各种分子生物学的技术对菌种进行改造,所以采用大肠杆菌发酵琥珀酸已经成为一个热点。大肠杆菌的琥珀酸合成途径比较复杂,可以多达 6 种^[21]。

1.4 基因改造

由于天然菌株的产琥珀酸能力非常低,发酵产物多种多样,对糖或琥珀酸的耐受性比较差而使其使用价值不高,因此必须运用生物工程技术对现有的菌种进行改造。Millard 等^[22]构建的基因工程菌 *E. coli*,琥珀酸产量达到 45 g/L。Goldberg 等^[23]在琥珀酸形成支路的第一步中,过量表达 PEP 羧化酶可以使发酵后琥珀酸对葡萄糖的摩尔得率从 0.12 提高到 0.34。Gokarn 等^[24]在野生 *E. coli* 中导入 pTrc99A-*pyc* 质粒,在其中表达 *Rhizobium etli* 丙酮酸羧化酶,使琥珀酸对葡萄糖的得率达到 0.17,生产强度为 0.17 g/(L·h)。姜岷等为了考察苹果酸酶对厌氧混合酸发酵的影响,从 *E. coli* DH5 α 中 PCR 扩增苹果酸酶基因 *sfcA*,插入质粒 pTrc99a 构建了表达质粒 pTrc99a2sfcA,有氧和厌氧的条件下 IPTG 诱导

在 *E. coli* FMJ39(*ldh*, *pf1*) 中均获得大量表达。发酵结果表明,过量表达苹果酸酶会影响混合酸发酵中甲酸、乙酸、丁二酸途径。重组菌甲酸和乙酸的量分别比受体菌提高了 17.58% 和 15.27%,丁二酸的量降低了 26.87%,柠檬酸的量变化不大^[9]。采用诱变方法选育丁二酸生产菌也取得了很大进展。国外的美国 Michigan Biotech Inst 公司^[25]从出发菌株 *Anaerobiospirillum succiniciproducens* 中选育出抗氟代乙酸的变异株,相对于出发菌株而言,变异株产琥珀酸的能力有了很大提高,同时副产物乙酸有较大减低。美国 Michigan Biotech Inst 公司^[26]还筛选出 *Actinobacillus succinogenes* 的抗 8 g/L 氟代乙酸的变异株,琥珀酸产量达到 110 g/L,这是目前琥珀酸发酵中所报道的最高产量。国内的林剑等^[27]成功地从其生产用曲中分离出能够在好氧条件下合成并积累琥珀酸的霉菌菌株 S-1,并对琥珀酸产生菌 S-1 菌株采用紫外亚硝基胍复合诱变并结合激光诱变,筛选出菌株 SH-24,相同发酵条件下琥珀酸产量达到 21.25 g/L,相对于未诱变菌株产量提高了 343 倍。

1.5 提取工艺

要想得到一种经济上可行的丁二酸发酵,分离工艺路线短、成本低的提取工艺是极为关键的。由于在丁二酸的发酵过程中通常需要用碱调节 pH,发酵产物是有机酸盐;另外,发酵罐中的不溶性物质(例如死细胞、蛋白等)需要从最终产品中除去。因此,典型的下游过程包括除去细胞和蛋白一类的杂质,浓缩,将丁二酸盐转化为游离的丁二酸,将游离的丁二酸提高到所需的浓度等过程。过去产品提取、浓缩、酸化、纯化过程中效率不高,使得以发酵为基础的生产工艺不能实现。但是通过对工艺的不断改进,并结合一些最近的新技术,发酵法从碳水化合物生产以丁二酸为基础的化学制品,并将其从它的稀发酵液中提取和纯化成为现实,并且该方法在经济上极具吸引力^[3]。

从发酵液中提取有机酸的经典方法是液-液萃取,这在化学工业中是一种效果良好、应用广泛的方法^[28]。姚虎卿等^[29]以磷酸三丁酯(TBP)、三烷基胺(7301)为络合剂,分别采用甲苯、异丙基甲酮、正辛醇、煤油作为稀释剂对丁二酸稀溶液进行络合萃取,结果表明,混合型络合剂对丁二酸稀溶液进行萃取,可取得满意的分离效果。王大为等^[30]提出了一个有效的萃取体系,用以提取废液和稀溶液中的琥珀酸,并对其萃取体系及其萃取机理进行了较为全面的研究,进而提出了一个从水溶液中提取琥珀酸的

建议流程。Datta 等^[16]提出在发酵过程中加入碱类物质的边发酵边结晶的方法,包括从碳水化合物发酵生成琥珀酸钙和将盐转变成酸并纯化 2 个过程。这种工艺在发酵过程中采用添加氢氧化钙调节 pH,使得在发酵过程同时结晶出琥珀酸钙;发酵液经过简单的过滤得到菌体、蛋白等不溶物质与琥珀酸钙的混合沉淀,然后通过不断洗涤,除去沉淀中的菌体和蛋白等物质。洗涤后的晶体通过加入浓硫酸转变为可溶的琥珀酸和不可溶的硫酸钙,游离的琥珀酸通过过滤、活性炭或离子交换树脂纯化,然后再结晶成纯琥珀酸晶体。近几年又有了新的回收方法的报道。Kris 等^[17]提出了一种不消耗大量的试剂,也不产生大量副产物的生产和纯化琥珀酸的工艺,在生产过程中硫酸铵副产物可实现循环利用。整个工艺流程中,结晶的琥珀酸是唯一的产物。姚忠等提出了一种从厌氧发酵液中分离提取丁二酸的方法,该方法是将经厌氧发酵生产的丁二酸发酵液采用微滤膜过滤,然后用超滤膜过滤,再用活性炭脱色除杂,得到澄清的丁二酸溶液,浓缩,结晶得到丁二酸产品。该方法具有条件温和,操作简便,分离工艺路线短,成本低,选择性好,产品质量好的特点,能有效克服收率低、污水排量及生产劳动强度高的不足^[31]。

2 发酵法生产丁二酸的应用前景

2.1 丁二酸的市场需求^[2]

目前国际市场上丁二酸的年需求量超过 15 000 t,售价 14 000~16 000 元/t,大体上是通过石化法生产的,而发酵法生产的丁二酸成本低廉。微生物发酵法成本低,具有较大优势,它还具有节约大量石油资源的优点。

琥珀酸存在 4 种主要的应用市场:最大的市场是作为表面活性剂、清洁剂添加剂和起泡剂;第 2 个市场是作为离子螯合剂,用于在电镀行业防止金属的溶蚀和点蚀;第 3 个市场是在食品行业中作为酸化剂、pH 改良剂、风味物质和抗菌剂;第 4 个市场是和健康有关的产品,包括医药、抗生素、氨基酸和维生素的生产。而对于琥珀酸衍生物的大宗化工原料市场,和石化法相比,生物转化法成本处于劣势^[3]。至于丁二酸及其衍生物市场潜在容量,一份资料显示,在 25 万 t 左右,市场估价大约在 2.76 美元/kg。

2.2 发酵法生产丁二酸的产业化进展

美国能源部(DOE)在 20 世纪 90 年代初提出了替代性原料计划(W-31-109-Eng-38)投资 700 万美元,并联合了 Argonne National Laboratory、Oak Ridge

National Laboratory、Pacific Northwest National Laboratory、National Renewable Energy Laboratory(NREL)等 4 个国家实验室来联合进行琥珀酸的生物转化和提取的攻关计划。目前已经由应用碳化学公司(Applied Carbo Chemicals Inc)进入了试生产阶段,生产规模采用 150 t 发酵罐,菌种为基因工程制备的大肠杆菌 AFP148^[2]。

发酵法生产的琥珀酸有潜力为大量生产化学制品提供可能,它可以作为很多重要的中间产物和专业化学制品。作为一种商品化的化学制品,它可以取代很多基于苯和石化中间产物的商品,这可减少在超过 250 种苯基化学制品的生产和消费过程中所产生的污染。丁二酸主要应用于酯化溶剂、除冰装置、发动机冷却剂、食品香精、水处理化学品、生物聚合材料等,同时还可以与乙醇和甲醇反应生产丁二酸甲酯和丁二酸二乙酯,再用于食品香精、生物聚合材料、环保安全溶剂、柴油机燃料添加剂等。

除了以上应用之外,丁二酸还可以衍生出很多下游产品,如可以衍生出 1,4-丁二醇(BDO)、THF、GBL、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、 α -吡啶酮(NKP)等。虽然丁二酸和其大多数衍生物的生产还处在进一步研究和发展阶段,但其代替苯和石油等大宗化工原料的前景非常广阔。因此开发生物合成丁二酸的方法具有非常重要的意义,如果生产成本有望降至 4 000 元/t 以下,打开大宗化学品的市场,市场总量将由目前的 118 万 t 扩展至 400 万 t^[32]。

3 结语

丁二酸作为一种优秀的化学平台产品,用途广泛。通过生物发酵法筛选一株优良的菌种,选择利用廉价的原料,经过合理的过程优化,可以生产出更具优势的丁二酸产品,并且具有巨大的发展潜力。同时发酵法生产丁二酸也为农业碳水化合物产品打开一个重要的市场。由此可见,发酵法制备丁二酸的研究将成为 21 世纪化学工业的一个发展方向,它将使得丁二酸及其衍生物行业的范围更加广阔,在促进食品、医药、化学方面也将起到越来越重要的作用。

参考文献

- [1] 朱蕾蕾,刘宇鹏,郑璞,等.一株琥珀酸产生菌的筛选及鉴定[J].微生物学通报,2007,34(1):80-84.
- [2] 王庆昭,吴巍,赵学明.生物转化法制取琥珀酸及其衍生物的前景分析[J].化工进展,2004,23(7):794-798.
- [3] 詹晓北,朱一晖,Wang Donghai.琥珀酸发酵生产工艺及其产品

- 市场[J]. 食品科技, 2003(2): 44 - 49.
- [4] Bryant M P, Small N. Characteristics of two new genera of anaerobic-curved rods isolated from the rumen of cattle[J]. J Bacteriol, 1956, 72: 22 - 26.
- [5] Guettler M V, Rumler D, Jain M K. *Actinobacillus succinogenes* sp. nov, a novel succinic acid producing strain from the bovine rumen[J]. Int J Syst Bacteriol, 1999, 49(1): 207 - 216.
- [6] Lee P C, Lee M G, Kwon S, et al. Effects of medium components on the cellgrowth of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* and succinic acid production[J]. Process Biochem, 1999, 35(1): 49 - 55.
- [7] Lee P C, Lee W G, Lee S Y, et al. Fermentative production of succinic acid from glucose and corn steep liquor by *Anaerobiospirillum succiniciproducens*[J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2000, 5(5): 379 - 381.
- [8] Van der Werf M J, Guettler M V, Jain M K, et al. Environmental and physiological factors affecting the succinate product ratio during carbohydrate fermentation by *Actinobacillus* sp. 130Z[J]. Arch Microbiol, 1997, 167(6): 332 - 342.
- [9] 姜岷, 谢鑫, 许琳, 等. 过量表达苹果酸酶对 *E. coli* FMJ39 厌氧混合酸发酵的影响[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 27(1): 69 - 74.
- [10] 白冬梅, 杜国民, 沈非, 等. 反相 HPLC 同时测定产琥珀酸放线杆菌发酵液中的有机酸与葡萄糖[J]. 分析实验室, 2004, 23(3): 15 - 18.
- [11] 蔡婷, 苏深, 陈可泉, 等. 高效液相色谱法在测定丁二酸厌氧发酵体系中有机的应用[J]. 生物加工过程, 2007, 5(1): 66 - 70.
- [12] 苏深, 陈可泉, 蔡婷, 等. *Actinobacillus succinogenes* 130Z 厌氧发酵产丁二酸条件初步研究[J]. 生物加工过程, 2007, 5(2): 67 - 72.
- [13] 姜岷, 姚嘉曼, 吴昊, 等. 稀酸水解玉米皮制备丁二酸发酵糖液的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 33(10): 6 - 9.
- [14] 江南大学. 一种利用糖蜜原料发酵生产琥珀酸的方法: 中国, 200710019686[P]. 2007 - 01 - 31.
- [15] 董晋军, 郑璞, 孙志浩, 等. 利用甘蔗糖蜜半连续发酵生产琥珀酸[J]. 化工学报, 2008, 59(6): 1490 - 1494.
- [16] Datta R, Glassner D A. Fermentation and purification process for succinic acid: US, 5168055[P]. 1992 - 12 - 01.
- [17] Applied Carbochemicals, Univ Michigan. Succinic acid production and purification: US, 5958744[P]. 1999 - 09 - 28.
- [18] 朱广一, 张步宁. 衣康酸生产的发展和现状[J]. 化学工程师, 1999(70): 26 - 27.
- [19] Vander Werf M J, Guetter M V, Jain M K, et al. Environmental and physiological factors affecting the succinate product ratio during carbohydrate fermentation by *Actinobacillus* sp. 130Z[J]. Arch Microbiol, 1997, 167: 332 - 342.
- [20] 张洪勋, 罗海峰, 庄绪亮. 琥珀酸发酵研究进展[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 102 - 106.
- [21] 王庆昭, 赵学明. 琥珀酸发酵菌种研究进展[J]. 生物工程学报, 2007, 23(7): 570 - 575.
- [22] Millard C S, Chao Y P, Liao J C. Enhanced production of succinic acid by overexpression of phosphoenolpyruvate carboxylase *Escherichia coli* [J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62: 1808 - 1810.
- [23] Goldberg I, Lonberg H K, Bagley E A, et al. Improved conversion of fumarate to succinate by *Escherichia coli* strains amplified for fumarate reductase[J]. Appl Environ Microbiol, 1983, 45: 1838 - 1847.
- [24] Gokarn R R, Altman E, Eiteman M A. Metabolic analysis of *Escherichia coli* glucose fermentation in presence of pyruvate carboxylase [J]. Biotechnol Lett, 1998, 20: 795 - 798.
- [25] Michigan Biotech Inst. Method for making succinic acid, *Anaerobiospirillum succiniciproducens* variants for use in process and methods for obtaining variants: US, 5521075[P]. 1996 - 05 - 28.
- [26] Michigan Biotech Inst. Method for making succinic acid, bacterial variants for use in the process, and methods for obtaining variants: US, 5573931[P]. 1996 - 11 - 12.
- [27] 林剑, 孙莹, 刘晓艳, 等. 琥珀酸产生菌的诱变与选育[J]. 生物工程学报, 2007, 23(4): 570 - 576.
- [28] 费维杨. 面向 21 世纪的溶剂萃取技术[J]. 化工进展, 2000, 19(1): 11 - 13.
- [29] 姚虎卿, 陆嘉昂, 马晓龙, 等. 丁二酸稀溶液的络合萃取[J]. 南京化工大学学报, 2001(4): 33 - 37.
- [30] 王大为, 史迺, 苏元复. 从水溶液中提取琥珀酸[J]. 高校化学工程学报, 1994, 8(2): 143 - 148.
- [31] 南京工业大学. 一种从厌氧发酵液中分离提取丁二酸的方法: 中国, 200610086003[P]. 2006 - 07 - 18.
- [32] Michigan Biotech Inst. Process for making succinic acid, microorganisms for use in the process and methods for obtaining variants: US, 5723322[P]. 1998 - 03 - 03. ■

中国粉体工业通鉴(第四卷/2008版)隆重推出

集聚粉体行业 100 余位专家学者组成中国粉体工业通鉴院士指导委员会和中国粉体工业通鉴编委会, 每年一卷、精心编制的粉体技术开发与应用大型工具书——《中国粉体工业通鉴》(第四卷/2008 版), 日前由中国建材工业出版社出版, 面向国内外发行。

本卷在原有强大的编撰阵容基础上, 又新吸纳了中国科技大学钱逸泰院士、中科院过程工程研究所陈法运研究员、北京橡胶工业研究设计院吕百龄教授级高工、国家中药现代化工程技术中心中药超微粉碎技术研究基地主任杜军高工、合肥水泥研究设计院超细微粉部方苍舟高工、上海理

工大学蔡小舒教授、中国矿业大学高顶教授、内蒙古科技大学张建旗教授、济南微纳颗粒技术有限公司任中京教授等业界精英加盟, 并撰写力作, 使本卷内容更加丰富。

该书重点关注国内外粉体前沿新技术; 超微粉体(含纳米粉体)的产业化生产及拓展性应用; 透析热点粉体产品的市场前景; 在第一时间以敏捷的速度, 全方位、多角度记录了行业发展的新面貌; 全新收录了粉体设备/材料生产企业、科研院所、高等院校、学会协会等研发的新成果、新专利、新设备、新技术和新产品, 使本书更具权威性、指导性、实用性、前瞻性和资料性。(吴宏富)