生物制药领域

[1. 微生物转化法生产11*α*–羟基坎利酮 1](#_Toc391645383)

[2. “功能性肽-Fe”生产技术 2](#_Toc391645384)

[3. 系列功能生物医药中间体综合制备技术 3](#_Toc391645385)

[4. 微生物转化法生产美雄酮 4](#_Toc391645386)

[5. 新型饲用微生物高效生产技术示范 5](#_Toc391645387)

[6. 噬菌体制剂——新型生物杀菌剂 6](#_Toc391645388)

[7. 生物助凝剂产业化 7](#_Toc391645389)

[8. 年产1000吨衣康酸技术 8](#_Toc391645390)

[9. 微生物高压发酵技术 9](#_Toc391645391)

[10. 大肠杆菌表达新型抗菌肽菌丝霉素 10](#_Toc391645392)

[11. 大肠杆菌表达溶栓药物瑞替普酶 11](#_Toc391645393)

[12. 益生菌功能性保健产品生产技术 12](#_Toc391645394)

[13. 益生菌高效降压制品生产技术 13](#_Toc391645395)

[14. 高效降压肽生产技术 14](#_Toc391645396)

[15. 枯草芽孢杆菌高产中性蛋白酶发酵技术 15](#_Toc391645397)

[16. 生物防腐剂纳他霉素研究开发 16](#_Toc391645398)

[17. 乳酸芽孢杆菌等益生菌制剂的生产及在动物防病中应用 17](#_Toc391645399)

[18. 微生物转化法生产15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮 18](#_Toc391645400)

[19. 中温*α*-淀粉酶的高效表达及发酵生产 19](#_Toc391645401)

[20. 生物素亚适量法生产*L*-谷氨酸新工艺 20](#_Toc391645402)

[21. 发酵法生产*L*-色氨酸 21](#_Toc391645403)

[22. 茶叶中茶多酚提取及EGCG分离技术 22](#_Toc391645404)

[23. 发菜细胞培养及其应用 23](#_Toc391645405)

[24. 细菌纤维素 24](#_Toc391645406)

[25. 聚谷氨酸发酵生产 25](#_Toc391645407)

[26. ε-聚赖氨酸的发酵生产 26](#_Toc391645408)

[27. 普鲁兰多糖生产 27](#_Toc391645409)

[28. 微生物法合成甘露醇 28](#_Toc391645410)

[29. 磷脂酶的开发以及PS和2-DHA-PS的合成研究 29](#_Toc391645411)

[30. 甾体化合物C1，2位高效生物脱氢技术及应用 30](#_Toc391645412)

[31. 芦丁的环境友好提取新工艺 31](#_Toc391645413)

[32. 可溶性载体在微生物转化中的应用 32](#_Toc391645414)

[33. 吲哚酮类衍生物抗肿瘤作用的临床前研究 33](#_Toc391645415)

[34. 复杂样品中光吸收物质的检测 34](#_Toc391645416)

[35. γ-氨基丁酸发酵与提取工艺 35](#_Toc391645417)

[36. 分支链氨基酸代谢调控技术及产业化 36](#_Toc391645418)

[37. 发酵法生产L-谷氨酸工艺 37](#_Toc391645419)

[38. 全细胞催化生产肌苷酸和鸟苷酸工艺 38](#_Toc391645420)

[39. 极高光学纯D/L-乳酸制造技术 39](#_Toc391645421)

[40. 碱性蛋白酶发酵及酶制剂的生产 40](#_Toc391645422)

[41. 可视化快速检测技术及产品的研发 41](#_Toc391645423)

[42. 山楂叶黄酮的提取精制工艺 42](#_Toc391645424)

# 

# 微生物转化法生产11*α*–羟基坎利酮

利用微生物转化坎利酮生成11*α*–羟基坎利酮，比化学法操作简单、污染少、成本低等优点，而且本研究通过对发酵过程优化，使底物投料浓度提高到国内目前报道的最高水平10g/L，转化率达到90%

发酵过程通过控制菌丝体形态，利用合适的菌丝球来使坎利酮羟基化能力得到提高。利用菌丝球发酵，发酵液黏度降低，便于后续的分离提取，产品回收率提高。

经过30L、500L和5m3发酵罐水平上菌体培养时间、投料时间、投料方式、pH、通气量和溶解氧等甾体转化参数的逐级优化和放大，对11*α*–羟基坎利酮分离提取工艺进行了优化和确定，对11*α*–羟基坎利酮精制工艺进行了优化和确定，并对产品结构进行分析和鉴定。

成果已经在中化药业（天津）有限公司实现产业化，在5m3发酵规模条件下，年产量暂定6500千克，年产值可达约4600万元，实现利税1518万元。另外，项目延长了产业链，为高效高血压药物依普利酮的生产提供前体物质。

# “功能性肽-Fe”生产技术

本项目以动物血液为原料，采用直空降解、絮凝回收等高新技术生产功能性肽铁，改变了国际上传统的蛋白酶水解法生产“肽–Fe”的生产技术和工艺。利用自主研发的电解电离及真空降解技术生产具有生理活性的“功能性肽–Fe”，解决当前畜禽副产物利用不足、浪费严重现象，提高畜副产物的附加值，促进农畜业的稳定、健康、快速发展。

本项目主要研究内容：

（1）以血红蛋白为原料的“SOD样抗氧化功能性肽–Fe”的定向酶解技术研究，制备“α29肽–卟啉铁”多肽链和“β13肽–卟啉铁”多肽链；

（2）真空辅助降解技术：作为“SOD样抗氧化功能性肽–Fe”定向酶解技术的辅助技术，真空状态可加大酶与底物的接触，提高酶解速率；真空可阻断氧气保护Fe2+不被氧化；

（3）“SOD样抗氧化功能性肽–Fe”的絮凝回收技术：从降解产物中利用特异性絮凝回收技术回收“功能性肽–Fe”成分，以简化分子筛、层析柱以及脱离子等精制步骤，既可降低成本、缩短处理时间，又能提高纯度；

（4）确定了不同动物血液由来的“α29肽–卟啉铁“的免疫原性，筛选无抗原性肽–Fe组分，为生物医药原料开辟使用途径；

（5）确定了“SOD样抗氧化功能性肽–Fe”的抗氧化机理。

# 系列功能生物医药中间体综合制备技术

运用真空离子化技术对骨中矿物质成分进行提取及再生，以维持骨骼中无机成分的稳定性及平衡性；利用分子化与絮凝回收技术对骨中糖蛋白及胶原蛋白等有机物质进行分离提取，实现有机生物大分子的非破坏性提取，以维持分子活性；运用膜分离技术和工业色谱高效分离技术建立发酵法生产*L*–缬氨酸的高纯度清洁大生产工艺；运用真空辅助－定向媒介技术开发水溶性“*α*29肽–卟啉铁”和“*β*13肽–卟啉铁”；利用微生物转化坎利酮生成11α–羟基坎利酮。

利用动物骨生产高纯度骨胶原蛋白产品，包括医药级、化妆品级和食用级3个级别，并以“活性速溶全骨素”为原料制备补钙、壮骨产品，包括速溶颗粒、片剂和骨饮料产品3种形式；开发高纯度低聚骨多糖和低聚硒酸软骨素原料；

针对现有*L*–缬氨酸提取工艺的缺陷，采用膜分离、工业色谱分离等技术提高产物的分离效率，实现产品的清洁生产；

以血红蛋白为原料的“SOD样抗氧化功能性肽–Fe”的定向酶解技术研究，制备“*α*29肽–卟啉铁”多肽链和“*β*13肽–卟啉铁”多肽链；

# 微生物转化法生产美雄酮

项目意义：采用生物转化法替代化学脱氢法生产美雄酮，大大降低了生产成本，提高了终产物美雄酮质量，避免了环境污染。目前国外市场需求15吨，预期效益1.12亿元，生产该产品作为医药原料出口，可创汇约2000万美元，经济效益和社会效益巨大。

主要创新点：（1）在国内将生物脱氢技术引入美雄酮的生产中，并实现5m3发酵罐规模试生产。（2）确定了专一性较强的美雄酮分离提取工艺，其工艺简单，收率高。并且避免未转化的底物17*α*–甲基睾丸素在提取过程中结构的改变，回收后可再利用。主要创新点均有专家评价和科技查新报告支撑。

项目背景：2003年，天津科技大学开始进行利用多种微生物进行17*α*–甲基睾丸素生物脱氢制备美雄酮的研究。于2004年3月通过了小试成果鉴定。2005年4月申报并承担天津市科技攻关试点项目“微生物转化法生产美雄酮”（合同编号05YFG2GX04100）课题，试将该小试成果转化为生产，2007年4月该项目结题。确定5m3发酵罐的美雄酮生产工艺，连续三批次，单批投料浓度10g/L，转化时间48h，转化率达80%；确定美雄酮的分离提取工艺，滤饼收率100%～105%，粗品率95%，分离率90%，精制率为95%，总收率为75%；产品质量符合BP80版标准。并在中化（天津）药业有限公司进行小规模产业化。由于该公司经营转向，目前不再生产。国外市场需求较大。

# 新型饲用微生物高效生产技术示范

乳酸菌是一类重要的饲用微生物，对畜禽具有营养和保健作用。但是一般乳酸菌的营养要求较高，对不良环境、干燥和胃酸的抵抗力差，能以活菌进入肠道的乳酸菌种类和数量少，产品保存性差，随保存时间延长活菌数量降低，生产设备昂贵、成本高，因此使产品的应用受到限制。

芽孢乳酸菌（Lactobacillus sporogenes）是一种能够产生芽孢的乳酸菌，除具有一般乳酸菌的各种有益作用外，还具有以下优良特性：兼性厌氧菌，易于培养；能生成芽孢，抗逆性强，保存性好；耐高温，可采用喷雾干燥法制备菌粉；能耐胃酸到达肠道；肠内繁殖，定植性强；同型乳酸发酵，产物为*L*–乳酸。将其作为饲料添加剂能克服饲用抗生素的种种弊端和乳酸菌所存在的不足。目前，在美国和日本等发达国家，芽孢乳酸菌已作为一种重要的饲用微生物添加剂被广泛使用。

# 噬菌体制剂——新型生物杀菌剂

噬菌体制剂的主要成分是噬菌体，能够替代各种抗菌素，特异性地杀死各种病原菌，对人类、动物、鱼类等无任何毒副作用，是新型的生物杀菌剂，可以用于各种养殖以及食品加工行业，对食品安全具有重要意义。

目前在奶牛养殖、水产品养殖、食品加工和治疗疾病过程中，抗菌素被超大剂量使用，导致许多细菌出现耐药性，例如最近出现的“南亚超级细菌”，现有抗菌素无法杀死该细菌。在养殖业与食品行业抗菌素的大量使用，残留抗菌素以及相应的耐药性细菌的存在，对人类健康造成了巨大威胁。

本成果已经分离鉴定针对部分主要病原菌的噬菌体20余株，可以用于相应致病菌的治疗与防治，具有特异性高、效率高以及无任何毒副作用等特点，具有广泛的市场前景。2006年美国FDA已经批准一项噬菌体制剂用于食品，在前苏联地区，噬菌体应用更为广泛，而国内噬菌体应用及相关产品还是空白。因此，本项目成果具有很好的应用前景。

本实验室发表噬菌体文章多篇，其中1篇为英文SCI，另外1篇英文SCI已接收。

# 生物助凝剂产业化

以可再生生物原料为主料研制出环境友好型生物助凝剂来替代人工合成的高分子水处理剂，用绿色化学的思路从根本上消除污染源，从源头上彻底控制水处理剂给环境带来的污染。在研制生物助凝剂的生产工艺中，采用可以减少或消除对人体健康或环境有害的原料、产物、副产物、溶剂、试剂等的使用或产生的化学工艺和方法，在生产过程中严格控制污染物的产生，实现生产过程的绿色化。

生物助凝剂按成本1万元/吨，售价2万元/吨计，生物助凝剂利润空间为1万元/吨

项目应用后，首先满足天津市自来水行业需求，生物助凝剂使用量为0.3～0.5吨/100万吨自来水，天津市日产自来水约360万吨，日需生物助凝剂1.08～1.8吨.以日需生物助凝剂1吨计，一年可实现产值720万元，销售收入可达360万元，利税约130万元。

项目推广后，若能满足天津市、北京市、河北省日产自来水2000万吨的需要，年利润可达2160万元。

自来水行业遍布全国各地，存在着同样的问题，有着同样的需求，市场很大，经济效益非常可观.

除此之外，生物助凝剂还可应用到其他领域，如污水处理、海水淡化预处理等，有更为广阔的市场空间。

# 年产1000吨衣康酸技术

衣康酸（itaconic acid）又称甲叉丁二酸，是一种不饱和二元酸。其分子式为C5H6O4，分子量为130.1，白色结晶，熔点162～164℃，易溶于水、乙醇、丙酮；微溶于氯仿、苯和乙醚，具有特殊的气味。

世界上从1837年开始衣康酸的研制，目前衣康酸的制备方法有化学合成法与微生物发酵法两类。当今世界上的衣康酸生产均采用微生物发酵法生产。可发酵生产衣康酸的微生物有曲霉和酵母，实际生产中使用的微生物是土曲霉。

工业发酵是制取衣康酸的主要方法，其工艺简单、成本较低。主要是采用廉价的淀粉、蔗糖、糖蜜、木屑、稻草等农副产品为原料，选用适当的菌种经生物发酵制得衣康酸。

发酵水平：7.8～8.3%；

发酵周期：52～56小时；

糖酸转化率：60～64%；

提取收率：80～85%。

# 微生物高压发酵技术

在传统的微生物发酵过程中压力一般作为常数，只是维持发酵罐内压力处于正压状态（对于工程菌为负压状态）。我们在国家自然科学基金委员会和天津市科学技术委员会的支持下，通过大量的基础性工作，研发出一种具有独立自主知识产权的微生物加压发酵技术（申请了多项国家发明专利）。针对不同微生物菌株，采用相应的加压发酵工艺可明显提高发酵产物得率。

（1）当发酵产物为微生物菌株的“应激”产物时，加压发酵有利于刺激相应产物的过量生成。例如：采用该技术可使酵母菌海藻糖产量提高10％。

（2）当发酵产物为微生物细胞的胞内产物时，加压发酵不仅有利于产物的合成，而且有利于产物的提取与精制。

（3）当发酵产物为初级代谢产物时，加压发酵有利于加快产物的合成。例如：谷氨酸加压发酵可以提高产酸5％。

（4）在生物转化过程中，加压操作可以提高转化酶的活力，提高生物转化率。例如：采用加压转化可提高氢化可的松转化率10％。发酵水平：7.8%～8.3%。

该技术不仅适应于新建厂，而且，对于现有发酵工厂，经过简单的技术改造就能满足要求。以新建厂为例，发酵罐系统的投资仅提高30％左右。因此，采用高压发酵技术将会极大地促进我国生物工业的技术进步。

# 大肠杆菌表达新型抗菌肽菌丝霉素

本项目采用生物技术手段，对新型抗菌肽菌丝霉素的编码基因进行改造，利用大肠杆菌表达系统进行发酵表达、分离纯化、生产重组菌丝霉素。

技术创新点：

（1）利用菌丝霉素对*G*–菌杀灭作用弱的特点，选择目前最为成熟的大肠杆菌表达系统进行菌丝霉素的基因工程表达，具有非常好的产业化前景；

（2）根据大肠杆菌密码子偏爱性，对菌丝霉素基因进行了优化改造，使其能够在大肠杆菌中获得大量表达；

（3）目的蛋白直接以可溶性蛋白形式表达，无须进行包涵体复性，从而简化了分离纯化步骤，并且确保了生物学活性。

本项目不仅适用于生物制药领域，还可应用于食品及饲料添加剂等领域，具有巨大的经济效益潜力和良好的市场应用前景。目前，细菌耐药现象越来越严重，致使抗生素在对抗疾病方面效力下降，这己成为当今临床治疗中面临的日益严重的问题。特别是其中如MRSA、MRSE等顽固耐药菌，当前几乎只有万古霉素一种药物可供选择，然而近些年来临床上已陆续发现了多起万古霉素耐药现象，开发新型抗菌药物迫在眉睫。

菌丝霉素对包括MRSA、MRSE等许多耐药菌在内的革兰阳性菌均有强大抗菌活性，其作用效能与青霉素和万古霉素相当，而作用机制却截然不同。此外，菌丝霉素对哺乳动物细胞无毒副作用，且体内药动学特性好，是一种十分理想的新型抗菌药物。本项目不仅有望将菌丝霉素开发成为一种新型抗菌药物，而且也可应用于食品、饲料添加剂等领域，因此具有巨大的经济效益潜力和良好的市场应用前景。

# 大肠杆菌表达溶栓药物瑞替普酶

本项目利用生物技术手段，建立了大肠杆菌表达生产溶栓药物瑞替普酶的相关工艺。

技术创新点：

（1）选择目前最为成熟的大肠杆菌表达系统进行瑞替普酶的基因工程表达，具有非常好的产业化前景；

（2）共表达二硫键合成酶DsbC，可使瑞替普酶形成正确的二硫键，目的蛋白直接以可溶性蛋白形式表达，无须进行包涵体复性，从而简化了分离纯化步骤，并且确保了生物学活性。

本项目选择大肠杆菌表达系统进行瑞替普酶的基因工程表达，这一系统是目前发展最为成熟的基因工程表达系统，能够在较短时间内获得重组表达产物，所需成本相对比较低廉，已在生物药物的生产中获得了十分广泛的应用。此外，在研究中，我们采用共表达二硫键合成酶DsbC的技术，很好地确保了重组产物能够形成正确的二硫键及空间构象，具备较高的溶栓生物活性，从而克服了瑞替普酶传统大肠杆菌表达工艺需要进行包涵体复性的困难，使工艺路线大大简化，也使得本项目的实施难度大大降低，利用常规的发酵表达及纯化生产线即可投入生产，且建厂投资成本较低。

目前，心血管疾病，尤其是血栓栓塞性疾病是危害人类健康的一大杀手。溶栓药物可以通过溶解血栓、增加心肌血流、改善供氧等使梗死范围缩小；通过防止血管再阻塞或减少心肌氧耗预防再梗死；通过降低心脏负荷、改善缺血损伤区的供血预防梗死范围扩展及心室重构，从而使血栓栓塞性疾病的临床治疗得到很大幅度的提高。仅就我国而言，据统计每年便有300万人需要溶栓药物治疗。

# 益生菌功能性保健产品生产技术

本技术项目采用经基因工程改良的干酪乳杆菌（*Lactobacillus casei*）和嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*），经高密度发酵、真空冷冻干燥、微胶囊包被及复配等工艺操作，获得具有抗氧化、调节血脂、降血压、调节免疫和调节血糖功能的高活力功能调节制剂。发酵液活菌数大于1.2×1011CFU/mL（中试）、7.0×1010CFU/mL（产业化）。菌粉活菌数大于1.0×1012CFU/g（产业化）。常温可保存2年，低温保质期达5年，保质期内活菌数下跌不到2个数量级。

基因工程菌发酵产物经反复毒理学和药理学检测，并进行了动物及人体供试检验，证明其食用安全性。本项目具备成熟的工业化规模生产技术，扩大生产后，可实现年产量1000吨的生产能力。

产品主要适用于中老年和一般人群的体质调节。

项目实施预算经费1800万元。

按照乳酸菌功能调节制品市场占有率5%计算，年生产量为1000吨，产值30亿元，利税8000万元，推广应用于3种以上食用益生菌功能性调节产品中。项目投产后推出的食品、医药、农牧益生菌产品将有力推动我国益生菌行业的发展。

# 益生菌高效降压制品生产技术

本技术项目采用经基因工程改良的干酪乳杆菌（*Lactobacillus casei*），经高密度发酵、真空冷冻干燥及复配等工艺操作，获得具有降血压、抗氧化、调节免疫功能的高活力降血压制剂。本技术发酵液活菌数达1.2×1011 CFU/mL（中试）、7.0×1010 CFU/mL（产业化），菌粉活菌数大于1.0×1012CFU/g（产业化）。试验证明，该菌发酵产物对血管紧张素转换酶有强抑制作用。可常温保存2年，低温保质期达5年，保质期内活菌数下降在2个数量级以内。

基因工程菌发酵产物经反复毒理学和药理学检测，并进行了动物及人体供试检验，证明其食用安全性。本项目具备成熟的工业化规模生产技术，扩大生产后，可实现年产量600吨的生产能力。

本产品主要适用于先天性和后天性高血压病的保健及治疗。

项目实施预算经费1500万元。

按照市场降压功能保健制品市场占有率8% 计算，年生产量为600吨，产值1亿元，利税3000万元，推广应用于3种以上降压保健产品中。项目投产后，将有力推动益生菌在医疗保健领域的发展应用。

# 高效降压肽生产技术

本技术项目采用经基因工程改良的干酪乳杆菌（*Lactobacillus casei*）、乳酸链球菌（*Lactococcus lactis*）及枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）发酵产生的高活力蛋白酶，作用于酪蛋白，经低温离心、色谱分析及冷冻干燥等技术，获得高效降压功能肽。发酵液有效酶活可达20000U/mL，能肽分离纯度达85%以上。试验证明，该功能肽对血管紧张素转换酶有强抑制作用。本制品可常温保存3年，保质期内降压能力保持良好（有效率90%以上）。

基因工程菌的发酵产物及酪蛋白水解产物经反复毒理学和药理学检测，并进行了动物及人体供试检验，证明其食用安全性。本项目具备成熟的工业化规模生产技术，扩大生产后，可实现年产量10吨的生产能力。

本产品主要适用于先天性和后天性高血压病的保健及治疗。

项目实施预算经费3000万元。按照市场降压功能保健制品市场占有率8%计算，年生产量为10吨，产值8000万元，利税1500万元，推广应用于2种以上降压保健产品中。项目投产后，将有力推动益生菌在高血压病保健领域的应用。

# 枯草芽孢杆菌高产中性蛋白酶发酵技术

本项目采用枯草芽孢杆菌（*B. subtilis*）基因工程菌，实现中性蛋白酶的稳定高产，30L发酵罐条件下，发酵最大酶活力达12000U/mL。该酶的最适作用pH值为7.3，最适作用温度为45℃，酶在42℃以下、pH 6.0～8.5条件下较稳定。以酪蛋白为底物，测得的重组酶Km为4.5×10－3mmol/L，Vmax为2.9×104μg/min。工程菌传代稳定性良好。本项目技术具备成熟的中试规模生产能力，扩大生产后，可实现年产量2万吨的生产能力，适用于食用和饲用中性蛋白酶的规模化生产。项目实施预算经费1200万元。

项目完成后推出的食用和饲用中性蛋白酶产品将有力推动我国中性蛋白酶的发展，按照中性蛋白酶市场占有率10%计算，年生产量为2万吨，产值8000万元，利税2500万元。

# 生物防腐剂纳他霉素研究开发

天津科技大学微生物制药研究室长期从事纳他霉素产品的开发和品质的提升。目前，通过诱变和基因组重排技术获得生产性能优良的菌株，通过发酵过程的集成和优化以及独特的提取工艺，样品的产量、纯度和回收率均令人满意。此外，针对纳他霉素在水中溶解度较低的问题，课题组将纳他霉素与乳糖、环糊精有机酸等助溶剂和抗氧化剂混合制备成一系列稳定、速溶的制剂，将其应用于苹果、葡萄等果蔬的保鲜和防腐，取得了良好的效果。根据各类食品的特点和微生物污染情况，研究室还开发出以纳他霉素、乳酸链球菌素、聚赖氨酸等生物食品防腐剂为主要配料的一系列复配型防腐剂，提高了使用的便利性和专业性。该技术已通过实验室小试、中试，技术成熟度较高。

纳他霉素（Natamycin）是目前国际上仅有的两种生物食品防腐剂之一，具有天然高效、安全无毒、性能稳定等优点。用其对食品表面进行处理可增加食品的保质期，却不影响风味和口感。目前，包括中国在内，全世界有三十多个国家批准将纳他霉素用于乳制品、肉制品、果汁饮料、葡萄酒等的生产和保藏。近年来，纳他霉素在治疗真菌引起的疾病方面的报道也不断涌现。

目前，在国内投资建厂的主要企业有北京东方瑞德生物技术有限公司、上海奇泓生物科技有限公司、浙江银象生物工程有限公司等。虽然已有生产厂家，但鉴于食品、粮储、医疗等市场巨大，其产品远不能满足市场需求，市场份额缺口仍然很大。2005年纳他霉素的全球市场销售额达到10亿美元，表现出旺盛的需求和良好的前景。

建设年产10吨纳他霉素的生产线，以现在纳他霉素的市场价格[每1千克（含量50%）纳他霉素5000万元]计算，年产值可达1亿元。

# 乳酸芽孢杆菌等益生菌制剂的生产及在动物防病中应用

本项目具有低成本的乳酸芽孢杆菌粉剂和酪酸梭状芽孢杆菌粉剂工业化生产技术，以及开发乳酸芽孢杆菌和酪酸梭状芽孢杆菌组合粉剂益生菌饲料添加剂工业化生产技术。

首次开发乳酸芽孢杆菌和酪酸梭状芽孢杆菌组合粉剂益生菌饲料添加剂。

本项目开发新型的、具显著营养和治疗功效的饲用微生物添加剂，克服了饲用抗生素带来的耐药性和畜产品中抗生素残留而威胁人类健康和安全等严重问题，符合“发展无公害食品，首先要从饲料源头抓起”的方针和目前国际上大力提倡发展无公害食品的大趋势。

项目实施需要发酵设备和喷雾干燥设备。

按设计要求全部达产计算，年生产300吨乳酸芽孢杆菌和酪酸梭状芽孢杆菌组合粉剂。根据使用的培养基、设备折旧和水电等费用，初步估算生产每吨乳酸芽孢杆菌和酪酸梭状芽孢杆菌组合粉剂成本约为20万元。乳酸芽孢杆菌和酪酸梭状芽孢杆菌组合粉剂按每吨4万元计算，利税为300×（4－2）=600万元。每千克饲料添加乳酸芽孢杆菌和酪酸梭状芽孢杆菌组合粉剂为100毫克，则每吨饲料增加4元成本。

# 微生物转化法生产15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮

本项目具有较低成本的高转化率15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮工业化生产技术以及运用15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮继续合成孕激素孕二烯酮的工业化生产技术。

首次将低毒性的促溶剂应用于左旋乙基甾烯双酮的生物转化过程，实现较高投料量下的高转化率。

知识产权为天津科技大学所有。2007年，本课题组在我国率先开展了雷斯青霉转化左旋乙基甾烯双酮的研究，由美国典型菌种保藏中心购回雷斯青霉ATCC 10490一株。于2008年实现15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮的成功转化，已达国际先进水平。2009年在雷斯青霉转化过程中促溶剂使用的研究方面取得了突破性进展，采用现代发酵技术在7L发酵罐实现了较高投料量下的高效转化。

本项目已经确定雷斯青霉转化左旋乙基甾烯双酮工业化生产的技术路线，同时确定了15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮继续合成孕激素孕二烯酮工业化生产技术路线。

本项目所开发的15*α*–羟基左旋乙基甾烯双酮生物制备方法的实验条件较温和、反应装置简单，制备过程中无需加入昂贵的金属催化剂，简化了目标产物制备与纯化过程，避免大量有机溶剂使用，既符合环保要求，又降低了生产成本。而且，此生物制备方法具有非常好的反应专一性，大大提高了底物转化率，其转化率最高可达90%以上。

项目实施需要发酵设备和悬蒸提取设备。

# 中温*α*-淀粉酶的高效表达及发酵生产

本项目具有能够高效表达中温*α*–淀粉酶的基因工程菌株，以及该菌株的发酵优化工艺。

已申请了专利“高产中温*α*–淀粉酶菌株及其构建方法”。 本项目已经通过PCR技术获得了枯草芽孢杆菌BF7658的中温*α*–淀粉酶基因，并成功将该基因克隆到六蛋白酶缺陷菌株WB600中，实现了中温*α*–淀粉酶的异源高效表达，发酵24小时活力达到1000U/mL，是原始菌BF7658产中温*α*–淀粉酶活力的5倍，同时确定了发酵工艺路线。

本项目获得的BF7658中温*α*–淀粉酶制剂，采用低压喷射器加热式中温连续蒸煮工艺设备对淀粉进行水解，符合国际先进酶法液化工艺，可以从容地做到低能耗、低水耗的“节能减排”要求，同时可使生产企业获得可观的经济效益。

项目实施需要发酵设备和喷雾干燥设备。

# 生物素亚适量法生产*L*-谷氨酸新工艺

本项目根据代谢控制发酵原理，定向选育出具有目的遗传标记的*L*–谷氨酸高产菌。运用神经网络、模式识别、遗传算法等各种优化方法，优化了发酵条件。依据代谢网络定量分析原理，构建*L*–谷氨酸生物合成的代谢网络，在此基础上对*L*–谷氨酸生物合成网络进行途径分析及代谢流量分析。以*L*–谷氨酸生物合成代谢网络定量分析结果为指导，在10L、500L发酵罐上进行发酵试验，得到最佳发酵工艺条件。采用膜过滤系统等新工艺，获得除菌体和蛋白的发酵液，然后采用等电离交或连续等电工艺分离提取*L*–谷氨酸。利用该工艺生产谷氨酸，可使发酵产酸率达到15%以上，转化率大于62％，提取收率大于97%，发酵周期32小时。本项目可直接利用味精厂现有生产设备，不需要大规模的设备改造和设备投资，工艺适用性强，具有很强的实用价值和推广价值。采用本工艺生产谷氨酸，可使谷氨酸发酵的综合技术水平达到领先水平，具有很高的社会效益及经济效益。

# 发酵法生产*L*-色氨酸

本项目根据代谢控制发酵原理，定向选育出具有目的遗传标记的*L*–色氨酸高产菌。运用神经网络、模式识别、遗传算法等各种优化方法，优化了色氨酸的发酵条件。依据代谢网络定量分析原理，构建色氨酸生物合成的代谢网络，在此基础上对色氨酸生物合成网络进行途径分析及代谢流量分析。以色氨酸生物合成代谢网络定量分析结果为指导，在10L、300L、50000L等发酵罐上进行发酵试验，得到最佳发酵工艺条件。采用具有自主知识产权的清洁生产工艺进行发酵生产*L*–色氨酸。

本项目技术指标如下：

*L*–色氨酸产酸率≥35g/L，糖酸转化率≥15%，提取收率≥70%，发酵周期≤50小时。本项目具有重要的推广价值和实用性。本项目一旦在氨基酸发酵行业中推广，必将会促进我国氨基酸发酵行业的进一步发展。采用本项目提供的分支链氨基酸高产菌种，再加上经多种优化法摸索出的最适发酵条件和高效的提取方法，分支链氨基酸的生产成本将会大大降低，盈利前景乐观。

# 茶叶中茶多酚提取及EGCG分离技术

茶多酚又名茶单宁、茶鞣质，包括儿茶素、黄酮类化合物、花青素、酚酸等4大类物质。茶多酚是茶叶中的抗氧化活性成分，具有抗肿瘤、抗衰老、去脂减肥、降血糖、降血脂和胆固醇及抑制艾滋病（HIV病毒）的作用，还能清除体内过剩的自由基、阻止脂质过氧化，提高机体免疫力，延缓衰老。同时，茶多酚还有抑制细菌生长、防止食物腐败变质、消除异臭、水溶性强等特征。茶多酚在食品、油脂、保健、药、日化、精细化工等领域都有广泛的应用。

每一种茶都含有茶多酚。绿茶的茶多酚称为儿茶素，红茶的则称为茶黄素，普洱茶的称为茶红素。绿茶是未经发酵的茶，含有的儿茶素最多。

本项目以绿茶为原料，应用简单的萃取、层析法从中提取茶多酚，并分离出纯度较高的EGCG。生产茶多酚产品的工艺简单，成本低廉，无毒、无污染，产品纯度高，具有广泛的市场应用前景。本项目工艺简单、设备投入小、产品具有广泛的市场需求，能够创造极好的经济效益。茶多酚是茶叶中具有生物活性的重要成分，它不仅是良好的天然抗氧化剂，近年发现还具有抗癌、抗衰老、抗辐射、消除人体自由基、降血糖血脂、防治心血管病、抑菌抑酶、沉淀金属等一系列特殊的药理作用。此外，随着研究的深入，茶多酚在化妆品、日用化工、轻化工等领域也开始得以应用。

# 发菜细胞培养及其应用

发状念珠藻为蓝细菌，故可以用液体悬浮培养对其进行大规模培养。关键就在于在培养初期，通过控制反应条件如提高pH，使用无机盐而不用有机物而让发转念珠藻占优势。在不消耗野生发菜资源，不破坏发菜生长地生态环境，从发菜藻体中分离得到具有旺盛生长能力的发菜细胞，并成功地进行了发菜细胞的液体悬浮培养。参照目前野生发菜根据质量不同市场价格为600～1200元/kg，以每公斤悬浮培养发菜细胞售价500元计。发菜多糖参考市场多糖价格，售价约450元/ kg。按此计算则每吨发菜细胞利润约20万元，每吨发菜多糖利润约27万元。如建成年产60吨发菜细胞，40吨发菜多糖工厂年产值可达4800万元，利润约2280万元。

# 细菌纤维素

本项目通过对木葡萄糖醋杆菌基因组及代谢组学研究，采用代谢工程的原理初步构建了木葡糖酸醋杆菌CGMCC 9255的主要代谢网络。进行了醋酸菌选育及发酵动力学研究，筛选了产细菌纤维素的高产菌株，对基因组和部分关键基因进行了较深入研究，细菌纤维素由微生物发酵产生，具有极好的生物相容性，在细菌纤维素材料应用方面，进行了抗菌肠衣、人造角膜、医用敷料、复合磁性材料等多种生物材料的研制。本项目先后承担了天津市自然基金项目《BC清洁生产过程开发与应用》（基金编号：983606811）、国家自然科学基金项目《“微生物注塑 技术”生成纳米复合材料的基础研究》（基金编号：20976133）等。申请国家发明专利5项。

# 聚谷氨酸发酵生产

γ-聚谷氨酸（γ-PGA）是由微生物合成的一种细胞外高分子氨基酸聚合物，是由L-谷氨酸和/或D-谷氨酸单体通过γ-谷氨酰胺聚合而成的一类均聚氨基酸。取得取得主要成果：

1．对已得到的精细发酵培养基进一步优化，得到一种更加有利于聚谷氨酸积累的合成培养基。

2．在5 L发酵罐上对发酵条件进一步优化实验(发酵时间72h)，聚谷氨酸产量达到30g/L。

3．通过向培养基中添加过氧化氢，成功控制聚谷氨酸产物组成中L型谷氨酸与D型谷氨酸的构成比例。

4．对地衣芽孢杆菌（Bacillus licheniformis），菌种保藏号CGMCC3336发酵生产聚谷氨酸的代谢途径中关键酶（6-P-葡萄糖脱氢酶、葡萄糖激酶、谷氨酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶）进行检测，并对聚谷氨酸合成酶基因进行了提取比对。

5．基于优化得到的合成培养基发酵液特性，建立一条全水化γ-聚谷氨酸提取工艺路线，得到产品纯度95%。

6．聚谷氨酸水凝胶应用实验，主要考察其在蔬菜保鲜方面的应用，涂有聚谷氨酸水凝胶的蔬菜较空白其保鲜期长4到5天。该技术目前已与天津北洋百川生物技术有限公司、四川金开生物工程有限公司两家公司展开全面合作。

# ε-聚赖氨酸的发酵生产

ε-聚赖氨酸（ε-Poly-L-Lysine）仅由L-赖氨酸组成，是继乳酸链球菌素后的一种新型食品抑菌剂，具有安全性无毒、抑菌谱广、水溶性好、热稳定等特点。为了提高ε-聚赖氨酸发酵水平，利用5L自控式发酵罐研究种子液中添加Gly对淀粉酶产色链霉菌（Streptomyces diastatochromogenes）发酵ε-PL的影响实验中，采用两阶段法生产发酵ε-PL。目前日本市场上ε-聚赖氨酸的售价为2万日元/kg（折合人民币约1500元／kg），NISIN的国内售价约1500元／kg，出口价格略低于国内价格。因此推测ε-聚赖氨酸的销售价格也应该在1500元／kg左右。原料、动力、包装成本：400000元／吨；工资及其它费用（包括设备折旧）：100000元／吨生产总成本：500000元／吨；产品售价：1500元／kg；以年产100吨聚赖氨酸计，年产值可达1.5亿元，经济效益将非常可观。

# 普鲁兰多糖生产

普鲁兰多糖是一种中性大分子，从结构上来说，应称为聚麦芽三糖。已经证实，它的重复结构单位是一个麦芽三糖。普鲁兰多糖结构上的a-1,4糖苷键与a-1,6糖苷键的比例为2:1。它的聚合度大约在100-5000，分子量在4-200万之间，平均分子量约为20万。取得主要成果：

1. 利用代谢工程的原理对出芽短梗霉，进行了紫外线和氦氖激光复合诱变，最终获得一株普鲁兰多糖高产菌，经鉴定分类命名为出芽短梗霉（Aureobasidium Pullulans），菌种保藏号CGMCCNO.7055。

2.对该菌株的发酵条件进行了较为系统的研究，在优化后的培养条件下进行了30L发酵罐20批次分批发酵实验(发酵时间88h)和10批次的流加补料发酵实验(发酵时间112h)，在两种发酵方式下，普鲁兰多糖产量分别达到80g/L和120g/L；

3. 通过对碳源、氮源、无机盐等成分的种类及浓度的优化，获得了普鲁兰多糖精细发酵培养基，从而替代了原有培养基中的蛋白胨、酵母粉等有机氮源，实现了培养基组成的可控性，并为后续的提取工段降低了压力。

4. 建立了简单易行的普鲁兰多糖提取工艺路线，成功规避了了传统工艺中大量使用乙醇的弊端。

5. 对本项目提取获得的普鲁兰多糖进行了材料学表征，结果表明，本项目组所获得菌株所合成的普鲁兰多糖其分子量分布主要在50 KDal -200 KDal之间。

# 微生物法合成甘露醇

目前用于甘露醇发酵的菌株主要是乳酸菌，根据其代谢途径，果糖在甘露醇脱氢酶的作用下生成甘露醇，如果以果糖为唯一碳源，它既提供能量，又作为底物进行转化，转化效率低，而且果糖价格较贵，不利于工业化生产。寻找廉价的底物进行生物转化生产甘露醇，是当今面临的主要问题，果葡糖浆是质优价廉的原料，含有可利用的果糖，实现了以果葡糖浆为原料高效制备甘露醇，为国内甘露醇市场提升了空间；同时，通过补料发酵技术和细胞高密度培养技术，大大地缩短了生产周期，且可以实现果葡糖浆的循环利用。甘露醇是国家基本药物，可为医药添加剂、饲料添加剂、保健品开发奠定了坚实基础。

投资点、投资情况：以果葡糖浆为原料规模生产甘露醇，甘露醇的转化率可达80%以上。目前已筛选得到一株高产甘露醇的菌株，建立了利用果葡糖浆为原料发酵生产甘露醇的制备工艺。目前，国内市场销售的甘露醇大多是由提取法和化学合成法得到的，制备工艺复杂，需要高温高压，且产物中含有山梨醇，后提取过程困难；因此，利用廉价的底物为原料规模化生产甘露醇改善了国内甘露醇市场的状况，有着巨大的利润空间。同时，近几年，糖尿病人群的增多，人们对糖醇的关注越来越大，甘露醇具有良好的医药保健功能，实现其规模制备具有显著的经济效益。

# 磷脂酶的开发以及PS和2-DHA-PS的合成研究

通过分子生物学技术高效制备磷脂酶D（PLD）和磷脂酶A（PLA），以磷脂酰胆碱（PC）和丝氨酸（Ser）为底物在具有转酯活性的PLD作用下可生成PS和胆碱，PS和DHA在具有磷脂二位转酯活性的PLA作用下可生成2-DHA-PS。关键技术路线：对酶分子的定向改造和分子设计，获得具有高转酯活性的新型PLD、PLA酶分子；构建高效表达载体及规模化生产工艺，实现PLD、PLA的规模化制备；建立PS和2-DHA-PS的高效催化工艺。实现了制备稀有磷脂所需磷脂酶的高效制备，填补了国内PLD、PLA酶制剂市场的空白；同时，通过PLD、PLA的体外催化合成“脑专一性营养物质”PS（2-DHA-PS）及其它稀有磷脂类产品，解决药物、保健品开发对高品质磷脂及其衍生物的迫切要求。

投资点、投资情况：1.规模生产PLD和PLA；2.PS和2-DHA-PS的高效制备。

项目成效：目前已实现PLD在毕赤酵母的表面展示，制备获得PLD全细胞催化剂，并建立了利用PLD催化PC和Ser合成PS的制备工艺。

效益分析：目前，国内市场销售的PLD大多为进口，由于是从花生中提取，制备工艺复杂，价格昂贵，1000U售价大约为500元；具有磷脂二位转酯活性的PLA是从牛胰脏中提取，很难实现大规模生产，价格更为昂贵。因此，规模化生产PLD、PLA可填补国内PLD、PLA酶制剂市场的空白，有着巨大的利润空间。同时，“脑专一性营养物质”PS（2-DHA-PS）及其它稀有磷脂类产品具有良好的医药保健功能，实现其规模制备具有显著的经济效益。

# 甾体化合物C1，2位高效生物脱氢技术及应用

本项目针对目前甾体生物脱氢转化过程中菌株活力低、生产成本高的问题，利用构建成功的甾体化合物A环C1，2位脱氢的基因工程菌，通过初始底物浓度、补料方式、溶解氧、搅拌转数等发酵工艺的优化，在6吨规模的发酵罐上连续3批次实现补料发酵，在不增加设备投资的前提下，使单罐投料浓度由目前的4%~7%提高到10%~15%，转化率维持在95%以上，则平均每吨可降低生产成本23万元，推广到该行业中，每年可降低生产成本1.25亿元。从根本上解决甾体化合物难溶于水造成投料浓度过低的生物脱氢关键技术难题，实现甾体转化的低成本稳定高产，为我国甾体药物扩大国际市场奠定坚实的基础。

项目完成产业化后，设计年产醋酸泼尼松30吨，形成产值年1.5亿元，利税3750万元，出口1500万美元。项目成果可以推广的全行业，形成100亿元产值，利税10亿元。出口10亿美元。

# 芦丁的环境友好提取新工艺

芦丁属维生素类药，有降低毛细血管通透性和脆性的作用，保持及恢复毛细血管的正常弹性。用于防治高血压脑溢血；糖尿病视网膜出血和出血性紫癜等，也用作食品抗氧剂和色素。本项目用槐米为原料通过脱胶和有机溶剂连续萃取的方法提取芦丁。通过调整溶剂的种类、比例和用量，提取温度和时间来提高提取率和粗产品的纯度。在保证提取率和产品纯度的基础上缩短提取时间。

本项目首次使用索氏提取器这一传统的提取装置，通过有机溶剂连续萃取的方法从槐米中提取芦丁。与传统的碱水溶液提取法、有机溶剂萃取法和生物发酵提取法相比，本方法使用的溶剂单一而且用量少。与传统的碱水溶液提取法、有机溶剂萃取法和生物发酵提取法相比，本方法使用的溶剂单一而且用量少。1千克槐米只需用甲醇2.5L。不需要强酸强碱等工艺条件，不会产生大量的废水和废酸。同时由于使用单一溶剂，也使得溶剂很容易回收再利用，大大的降低了三废的排放，从而减少了对环境的污染。

目前芦丁的市场需求比较大，而传统的工艺有工艺复杂，成本相对过高，污染环境等问题。因此本项目的工业化生产能产生良好的经济效益和环境效益，符合国家可持续发展的要求。

# 可溶性载体在微生物转化中的应用

本课题是将组合化学的液相合成原理应用到生物催化技术中，将待转化的有机底物通过连接桥或直接与可溶性载体聚乙二醇连接，使原本疏水的有机化合物完全溶于水相发酵液中，进行均相生物催化，避免添加有机助溶剂等对细胞和酶活力的影响，反应结束，通过聚乙二醇衍生物的大分子聚合物溶剂沉淀特性，加入冰乙醇、乙醚等有机溶剂，将连有聚合物载体的产物从反应体系中通过沉淀方式选择性分离出来。因此，该方法是在保持微生物转化中生物催化剂的活性前提下，大大提高疏水性有机底物的水溶性，并简化转化产物分离纯化过程。该方法的建立将为生物催化领域提供一种全新的研究思路和操作工艺。改成果还未接受任何投资，希望与企业合作进行中试放大，及工业化研究。一旦应用将有超过千万的经济效益。

# 吲哚酮类衍生物抗肿瘤作用的临床前研究

本项目通过对一系列吲哚二酮（isatin）衍生物的体外抗肿瘤作用进行构效关系分析，筛选得到化合物HK L2-3-15，其抑制K562白血病细胞增殖的IC50为3 nM，其抗肿瘤的作用机制是诱导细胞凋亡和引起细胞周期的停滞。本项成果属于国际首创，具有高度创新性和自主知识产权。

投资点、投资情况：在过去的几十年中，越来越多的研究人员已着手开发新的靛红抗癌药物，如舒尼替尼等。但我国在创新药物的研究方面依然薄弱。本项成果填补了我国该领域的研究空白，有望成为一类新药的候选药物，具有良好的投资前景。目前该化合物的临床前研究基本完成，基本具备了转让和进入临床试验研究的条件。目前我国癌症发病率及死自主知识产权的一类新药，本项目的研究成果将为开发具有自主知识产权的新型抗肿瘤药物奠定基础，创造巨大的社会效益和经济效益，并推动我国制药行业的进一步发展。

# 复杂样品中光吸收物质的检测

复杂样品中由于含有许多性质和组成相近的物质，对其进行具体的分析存在着一定的困难。本方法采用最新的全二维液相色谱技术，对全物质进行二维分离，能最大限度的分离复杂样品中的所有物质，检测器采用二极管阵列检测器，能对所有对光有吸收的物质进行全光谱分析。该方法具有分离效率高，几乎能分离所有物质，检测范围宽，只要有光吸收的物质就能检测到。该方法适用的范围包括，发酵液全组分分析，培养基全组分分析，药物代谢物全组分分析，中药指纹图谱分析等。

# γ-氨基丁酸发酵与提取工艺

γ-氨基丁酸（GABA）具有改善脑机能、延缓衰老、增强记忆力、改善视觉、镇静神经、增进睡眠、抗焦虑、降血压、抗癫痫、改善肝功能、活化肾功能、以及解酒减肥等重要的生理功能，也可用于制备保健营养品、化妆品以及食品与饲料添加剂。我国已于2009年批准乳酸菌发酵法制备的GABA作为一种新资源食品（新食品原料）。本技术采用具有自主知识产权的乳杆菌CGMCC NO.3414菌株，通过两阶段调节pH、好氧与厌氧发酵相结合，以及分批补加谷氨酸钠底物的方法发酵生产GABA，72h发酵的GABA最高产量可达120-140g/L以上，底物转化率91-95%，发酵液再经过新型“离子吸附交换工艺”分离、三效真空浓缩与乙醇重结晶处理，获得的GABA结晶的最高纯度可达到99%以上。2011年8月，经天津市科委鉴定，该研究成果达到了国际先进水平（津科成鉴字2011（293号））。

# 分支链氨基酸代谢调控技术及产业化

分支链氨基酸包括缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸，在食品、医药、化工等行业应用广泛。本项目根据代谢工程原理定向选育的高产菌产酸水平大幅提高，基于代谢流分析的发酵过程优化也显著提升了菌株的生产性能。缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸平均产酸分别达55、45和35g/L；糖酸转化率分别提高了27.2%、18.2%和31.6%；发酵周期缩分别为≤50、50和60h。提取分离技术采用膜分离偶联工业色谱技术代替传统离子交换工艺。产品纯度达到医药级，提取收率分别为≥80、80和76%，比传统工艺提高了23.1%、23.1%和26.7%。确立并实施新型闭路循环工艺。酸碱使用量减少89.9%；含铵废液循环至发酵配料，含铵废水排放量减少90%，单位产品总污水量降低了50%以上。水、电和水蒸汽消耗量分别降低40.0%、11.7%和11.6%，物耗降低10.4%，COD和废水排放量减少80.0%和45.4%。2013年国内分支链氨基酸市场的需求量约为2.2万吨，而目前国内生产厂家的生产能力不足万吨，供需缺口大。而且近几年分支链氨基酸的需求量都在以15%的年率增长。目前国内市场比较缺乏的药用氨基酸价格都比较高，如L-缬氨酸18万元/吨，L-亮氨酸14万元/吨，L-异亮氨酸20万元/吨。通过本成果的实施使得要用分支链氨基酸的生产成本由15万元/吨降至8万元/吨，具有显著的经济效益。

# 发酵法生产L-谷氨酸工艺

L-谷氨酸（L-glutamic acid）是蛋白质的主要构成成分，在医药、食品、人造制革、化妆品工业及农业上具有广泛的用途。目前国际上发酵法生产L-谷氨酸产酸率达18-20%，糖酸转化率约65%，而我国L-谷氨酸为12-16%，平均糖酸转化率约60%。本成果分别以课题组选育的L-谷氨酸高产工业生产菌株谷氨酸棒杆菌生物素缺陷突变株和温度敏感型突变株为研究对象进行分子遗传学研究并以此为依据构建了高产L-谷氨酸的基因工程菌，采用谷氨酸强制发酵偶联新型浓缩连续等点提取工艺替代了氨基酸行业内传统的等电-离交工艺，解决传统工艺产污强度高、用水量大、能耗高、酸碱用量高等问题，从而实现其清洁化生产，最终使得L-谷氨酸产量、转化率及周期分别为160 g/L、60-62%及26-28h（生物素亚适量工艺）和180 g/L、68-70%及28-30h（温敏工艺）；谷氨酸吨产品减少了60%硫酸和30%液氨消耗，且无高氨氮废水排放，吨产品耗水量降低92%以上；能耗降低10%以上；吨产品COD产生量降低约90%左右。以10万吨谷氨酸生产能力计算，依国内平均水平每年可节约硫酸约5.1万吨；节约液氨约1万吨；减少氨氮排放0.56万吨；节约能源消耗折约2万吨标煤；节约用水约92%；减少COD产生约90%以上。全行业推广（按80%计算）依国内平均水平每年可节约硫酸约81.6万吨；减少氨氮排放5.6万吨；节约能源消耗折约32万吨标煤；节约液氨约16万吨；节约用水约92%；减少COD产生约90%以上。

# 全细胞催化生产肌苷酸和鸟苷酸工艺

5’-肌苷酸二钠（IMPNa2）和5’-鸟苷酸二钠（GMPNa2）按1:1混合而成（I+G）是调味品行业常用的食品增鲜剂。I+G的生产方法是首先利用微生物发酵淀粉或葡萄糖产生肌苷和鸟苷，再经磷酸化生成相应的核苷酸，最后核苷酸在NaOH碱溶液中转化成核苷酸二钠。核苷的磷酸化反应，可以通过化学法转化或生物酶法转化来实现，两种方法成本高，环境污染严重。本工艺通过全细胞催化法可将80%的底物磷酸化。相比化学磷酸化方法而言，利用核苷磷酸转移酶催化无机焦磷酸（PPi）的磷酸根特异地转移到核苷分子的特定位置上，该反应不需要ATP，具有反应条件温和、反应速度快、位置特异性强、转化率高、环境友好等特点，具有独特的优势和潜力并且催化结束的酶源细胞分离后可以重复使用。

# 极高光学纯D/L-乳酸制造技术

传统L-乳酸发酵的特点：光学纯度97-99%，很难做到聚合级要求（99.9%）。而且发酵过程主要是富营养培养基，高温灭菌，产品后提取难度大，发酵废水形成量大。

本成果技术特点：L-乳酸光学纯度99.9%以上，非高温灭菌清液发酵（无机盐培养基）。发酵过程和后提取过程的用水可以直接循环使用，最终的发酵废水形成量每吨产品仅100L。D-乳酸制造技术目前国内没有产业化技术，国际上也仅有两三家企业具备极高光学纯D-乳酸制造技术，该成果中D-乳酸光学纯度99.9%以上，单批产酸量也处于国际领先水平。而且同样采用非高温灭菌清液发酵（无机盐培养基）。发酵过程和后提取过程的用水同样可以直接循环使用。

创新点：

1）L-乳酸制造技术采用工程菌株，产品光学纯度高，生产周期短，且可以最大程度上实现发酵用水和提取用水的循环利用，同时使合成高质量的聚乳酸成为可能，为可降解材料的发展奠定了坚实基础。

2）D-乳酸制造技术填补国内空白，使以其为原料合成农药和生物医药产品、摆脱国外垄断局面成为现实。

3）上述菌种和发酵生产技术拥有完整的独立自主知识产权。

# 碱性蛋白酶发酵及酶制剂的生产

本项目具有能够产生高活力高碱碱性蛋白酶的菌株，以及该菌株的发酵优化工艺。

本项目的技术创新点在于，利用低能N+注入诱变筛选获得高碱碱性蛋白酶高产菌株，并对该菌株发酵工艺进行优化。

知识产权为天津科技大学所有。已申请了专利并获得授权，“发酵生产高碱碱性性蛋白酶的方法”ZL 03144206.4。本项目已经通过利用低能N+注入诱变筛选获得高碱碱性蛋白酶高产菌株，并对该菌株发酵工艺进行优化。获得高产菌株2吨发酵罐发酵35小时活力达到35000U/mL以上，同时确定了发酵工艺路线。

本项目生产的碱性蛋白酶在技术上采用低能N+注入诱变处理方法，从国内碱性蛋白菌生产菌枯草杆菌中选育出若干稳定的高性能菌株。在后处理上，吸收国内外先进技术，采用去渣盐析沉淀法，大大减少了蛋白酶的杂质含量和产品特有的气味，提高了溶解速度，与洗涤剂有更好的配伍性，延长了保质期。

获得的高碱碱性蛋白酶主要应用于加酶洗涤剂，能大幅度提高洗涤去污能力，特别对血渍、汗渍、奶渍、油渍等蛋白类污垢，具有独特的洗涤效果。此外，在制革、丝绸、饲料、医药以及食品加工等工业领域也有广泛的应用，具有可观的经济效益。

项目实施需要发酵设备和喷雾干燥设备。

# 可视化快速检测技术及产品的研发

本项目试纸条基于抗原抗体的反应原理制成。目标物的半抗原-蛋白的连接物包被在膜上，先将样品与金标记抗体结合反应一段时间后，再将混合物滴加到包被区域，使未被结合的金标记抗体与膜上的半抗原-蛋白连接物结合。待液体完全流过后，目视检测线，颜色的深浅与药物的浓度呈反比。试剂盒基于免疫学中抗原抗体的反应原理制成。目标物抗体包被于酶标板孔中，样品中存在的目标物能与目标物半抗原酶标记物竞争性地结合板中定量的抗体，采用直接或间接竞争酶联免疫吸附法检测。

创新点：食品基质一体化前处理技术，小分子物质的胶体金标记免疫层析技术。

投资点、投资情况：试剂盒在天津九鼎医学生物工程有限公司等企业成功量产；在全国多家单位广泛应用，部分产品出口到澳大利亚和越南等国家。

项目成效：产品技术指标达到了国际先进水平，单样检测平均缩短为0.5小时，检测效率平均提高200% ，而检测成本仅为常规仪器方法的20%。产品单位利润50-100%。

# 山楂叶黄酮的提取精制工艺

山楂叶提取物中主要含有槲皮素、金丝桃甙、芦丁、牡荆素、异牡荆素、牡荆素鼠李糖甙、牡荆素乙酰鼠李糖甙等黄酮类化合物，药理学研究表明，山楂叶总黄酮可以降低血压、保护心肌缺血、抑制血小板凝聚等，对心血管系统疾病有明显药理作用。

本项目采用新型大孔吸附树脂纯化工艺，可生产中、高总黄酮含量山楂叶黄酮品种（不同品种山楂叶总黄酮含量20%～92%）。项目技术成熟。

实施条件和效益分析：当地有充分的山楂资源，项目建设期1年，设备投资约30万元；年加工200吨山楂叶，年生产黄酮10吨，产值20万元。