

文章编号: 1000-5013(2009)05-0481-06

微生物转化法生产 1,3-丙二醇的研究进展

朱春杰, 方柏山

(华侨大学 工业生物技术福建省高校重点实验室, 福建 泉州 362021)

摘要: 综述微生物转化法生产 1,3-丙二醇(1,3-PD)的研究进展,包括发酵菌种和发酵工艺等。生物转化法生产 1,3-PD 与化学法相比,具有选择性好、转化率高、分离纯化简单、无污染、利用可再生资源等优点。要使生物转化法生产 1,3-PD 能与化学法竞争,在提高 1,3-PD 发酵生产水平的同时,必须有效降低生产成本。以生物柴油副产物废甘油为发酵底物生产 1,3-PD,可大大降低 1,3-PD 生产成本,同时解决废甘油高附加值利用的问题,延长产业链。但存在的问题是废甘油成分复杂,抑制了微生物的生长和代谢。

关键词: 1,3-丙二醇; 微生物转化法; 发酵; 废甘油

中图分类号: TQ 923

文献标识码: A

1,3-丙二醇(1,3-PD)是一种重要的化工原料。与聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)和聚对苯二甲酸丁二醇酯(PBT)相比,以 1,3-PD 为单体合成的聚对苯二甲酸丙二醇酯(PTT),除具有聚酯的耐化学性外,还具有其他优良特性,如优异的回弹性和染色性,较好的抗紫外和臭氧特性,低水吸附、低静电及良好的生物降解、可循环利用性等^[1]。这些特性使 1,3-PD 得到迅速发展,成为化工领域的一个竞争焦点。生产 1,3-PD 主要是化学合成法,如德国 Degussa 公司的丙烯醛合成法和 Shell 公司的环氧乙烷合成法^[2]。但化学合成法的设备投资大、工艺要求严格、副产物多、产品分离难度大,使得 1,3-PD 生产成本较高,同时产生大量污染物;而且,化学合成法所使用的最初原料是不可再生的石油。目前,微生物转化法生产 1,3-PD 基本还处于研究阶段,但它是以“绿色”为特征的,具有以可再生资源为原料、操作简便、反应条件温和,以及副产物少等优点,是一种技术上可行,经济上有竞争力的生产方法。

1 转化方法

1.1 甘油发酵转化法

1881 年, Fzeund 提出了甘油发酵转化生产 1,3-PD^[3]。20 世纪 80 年代,随着 1,3-丙二醇应用开发的深入,尤其是开发出具有较高工业价值的 PTT 之后,甘油发酵生产 1,3-PD 受到普遍的重视。以德国国家生物技术中心(CBF)为代表的欧盟国家,积极开展以甘油为底物发酵生产 1,3-PD 的研究工作,一般甘油转化率已超过 60%, 1,3-PD 的最终质量浓度为 50 g · L⁻¹ 以上^[3-4]。

1.1.1 菌种 现已发现几种能以甘油为底物发酵生产 1,3-PD 的菌种,主要有肺炎克雷伯氏杆菌(*Klebsiella pneumoniae*)、弗氏柠檬杆菌(*Citrobacter freundii*)、成团肠杆菌(*Enterobacter agglomerans*)、丁酸梭状芽孢杆菌(*Clostridium butyricum*)和巴氏梭状芽孢杆菌(*Clostridium pasteurianum*)^[5-9]。肺炎克雷伯氏杆菌和丁酸梭状芽孢杆菌具有较高的 1,3-PD 转化率及生产强度,因而受到更多关注。肺炎克雷伯氏杆菌是条件致病菌,在实际应用中受到一定的限制;丁酸梭状芽孢杆菌是严格厌氧菌,它的发酵时间短,副产物少^[10],特别是其代谢关键酶甘油脱水酶不依赖辅酶 VB₁₂^[11-13],且厌氧过程产热少^[14],可有效降低过程能耗,故越来越受到重视。以上 1,3-PD 生产菌均为细菌,苑广志等^[15]报道曲霉

收稿日期: 2008-10-21

通信作者: 方柏山(1957-),男,教授,主要从事合成生物学的研究。E-mail:fangbs@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家高技术研究发展(863)计划项目(2006AA020103);国家自然科学基金资助项目(20446004, 20676048)

也可以利用甘油发酵生产 1,3-PD,丰富了生物转化法生产 1,3-PD 的可用菌株.

1.1.2 代谢途径及关键酶 甘油发酵生产 1,3-PD 主要通过以下两个途径^[16].

(1) 氧化途径. 通过甘油脱氢酶把甘油氧化成二羟基丙酮(DHA),然后,DHA 在 DHA 激酶作用下通过磷酸化生成二羟基丙酮磷酸酯(DHAP). DHAP 进一步被氧化,生成乙酸和丁酸等代谢产物,同时生成能量 ATP 和还原当量 NADH.

(2) 还原途径. 甘油在甘油脱水酶的作用下转化成三羟基丙醛(3-HPA),而 3-HPA 在氧化还原酶的作用下被还原成 1,3-PD,消耗氧化途径生成的 NADH.

由此可看出,甘油转化过程所涉及的酶,主要有甘油脱水酶、1,3-丙二醇氧化还原酶、甘油脱氢酶和二羟基丙酮激酶. 其中,甘油脱水酶、1,3-丙二醇氧化还原酶和甘油脱氢酶对 1,3-PD 的形成至关重要,而甘油脱水酶是还原途径的限速酶,它需要在辅酶 VB_{12} 的辅助下才能有效的进行催化^[17-18]. 但有研究^[11-13]发现,丁酸梭状芽孢杆菌的甘油脱水酶不依赖辅酶 VB_{12} ,与已知所有依赖辅酶 VB_{12} 的甘油脱水酶没有任何同源性,可大幅度降低生产 1,3-PD 的成本. 这是丁酸梭菌越来越受到重视的原因之一.

1.1.3 共底物发酵 理论上,甘油转化为 1,3-PD 的最大转化率为每摩尔甘油得到 0.72 mol 的 1,3-PD^[16],以甘油为唯一底物发酵的转化率不会超过这个值. 为提高甘油的转化率,可利用其他可发酵的有机物作为第二底物,在发酵过程中作为还原当量 NADH 和能量 ATP 的供体,而甘油主要用于转化生成 1,3-PD.

常用的共底物是葡萄糖. Biebl 等^[19]在使用葡萄糖和甘油共底物培养 *Clostridium butyricum* DSM 5431 时发现,生物量及 1,3-PD 得率都增加,90%的甘油被转化为 1,3-PD,而共底物培养 *Citrobacter freundii* T3 时却发现 1,3-PD 得率无明显变化,具体原因尚不清楚. Abbad-Andaloussi 等^[20]研究发现,利用葡萄糖作辅助碳源培养 *Clostridium butyricum* DSM 5431 时,随着混合碳源中葡萄糖比例的升高,产物中乙酸和 1,3-PD 的比例会逐渐升高,1,3-PD 对甘油的摩尔得率高达 92%~93%. Malaoui 等^[21]也得到类似的结果. 张健等^[22]在 *Klebsiella pneumoniae* 批式发酵甘油生产 1,3-PD 过程中保持葡萄糖的流加,使 1,3-PD 对甘油的摩尔转化率由 40%提高至 65%,同时缩短了发酵时间. 程可可等^[23]作了类似研究,在发酵过程中流加葡萄糖和甘油的混合物,使 1,3-PD 得率较单一的甘油流加有很大的提高.

1.2 葡萄糖发酵转化法

在经济上,甘油转化法与化学法竞争的优势不是很明显,故有研究者把目光转向价格低廉的碳水化合物,如葡萄糖等. 但是,自然界还没有发现能以葡萄糖为底物直接发酵生产 1,3-PD 的菌株.

1.2.1 混合菌发酵 混合菌发酵^[24]是通过混合培养酵母等甘油产生菌和肠道细菌等 1,3-PD 产生菌,从而实现由葡萄糖转化为 1,3-PD. 但由于两种菌培养条件的差异,导致终产物浓度很低,故混合菌发酵不是最佳方案.

1.2.2 两步发酵法 两步发酵法是先用酵母菌等甘油产生菌将葡萄糖发酵转化成甘油,再用肠道细菌等 1,3-PD 产生菌把甘油发酵转化生产 1,3-PD. Hartlep 等^[25]用重组大肠杆菌 *E. coli* MG 1655 和 *K. pneumoniae* DSM 2026,通过两步法将葡萄糖发酵转化成 1,3-PD,其最终 1,3-PD 质量浓度为 $14.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,对葡萄糖的得率为 17%. 修志龙等^[26]和刘德华等^[27]以葡萄糖或淀粉等碳水化合物为出发原料,经两步发酵生产 1,3-PD,并都申请了相关专利. 同时,清华大学已经和黑龙江辰能生物工程公司合作,采用两步耦联发酵技术生产 1,3-PD.

1.2.3 一步发酵法 由于没有能以葡萄糖为底物直接发酵生产 1,3-PD 的自然菌,所以要实现一步发酵,就需要构建工程菌. 基因工程菌的构建主要有如下 3 条途径^[28].

(1) 将能把甘油转化为 1,3-PD 的基因转入到生产甘油的菌体内.

(2) 将能生产甘油的基因转入到能利用甘油生产 1,3-PD 的菌体内.

(3) 将途径(1),(2)所有的相关基因转入到既不能生产甘油又不能生产 1,3-PD 的菌体内.

美国 DuPont 公司和 Genencor 公司合作开发了基因工程菌,实现利用廉价的玉米或谷物作为底物,通过与单一微生物接触,一步法制备 1,3-PD,其质量浓度最高可达 $134.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,并在全球范围申请了专利^[29]. 但是,从 *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* 和 *Clostridium pasteurianu* 中分离出来的甘油脱水酶都是依赖辅酶 VB_{12} 的,虽然在发酵过程中用量很少,但它价格昂贵,这就增加了生产

成本;而且,作为最大的辅酶,VB₁₂很难穿透细胞壁,成为了工业化生产的绊脚石.美国 DuPont 公司通过增加3个与VB₁₂转运相关的蛋白来提高VB₁₂穿透数量,但实际效果还是不理想^[30].马正等^[31]构建直接以葡萄糖为底物发酵生产1,3-PD的酿酒酵母工程菌,但1,3-PD的质量浓度只有1.5 g·L⁻¹.

2 发酵方式

目前,研究1,3-PD的生产有分批发酵、连续发酵和补料分批发酵3种方式.分批发酵可以得到较高的产物浓度,但生产强度较低,而且高浓度底物甘油对菌体生长有抑制作用^[32],限制进一步提高产物浓度.连续发酵有利于提高生产强度,但产物浓度相对较低,增加了后续分离提取的强度.为了兼顾1,3-PD质量浓度和生产强度,避免底物抑制,选择补料分批发酵较为合适.

对于补料分批发酵,其重点在于如何控制补料.简单的做法是进行间隙补料^[33-34],即当甘油快消耗完时补加一定量的甘油,如此反复几次.甘油发酵产1,3-PD的显著特点是,在底物过剩的条件下,代谢向产1,3-丙二醇的途径倾斜.因此,在补料分批发酵中往往保持甘油微量过剩,在发酵末期停止甘油供应,将剩余甘油完全消耗.这样一方面可使甘油得到充分利用,另一方面可以减轻下游分离的负担.因此,间隙补料不是补料的最佳方式.

Saint-Amans等^[35]将甘油的流加与发酵过程产生的尾气中CO₂的含量偶联起来,1,3-PD的质量浓度达65.0 g·L⁻¹,但这需要在发酵过程有恒定的H₂/CO₂比.Reimann等^[36]将甘油的流加与调节发酵液pH的碱液的流加偶联在一起,其1,3-PD的质量浓度达70.0 g·L⁻¹.刘德华等^[37]通过检测发酵液中3-羟基丙醛的浓度来控制补料的流加速率,最终1,3-PD质量浓度可达60.0~80.0 g·L⁻¹.

另外,为了提高细胞重复利用率并提高生产能力,Pfugacher等^[38]对细胞进行固定化发酵,Reimann等^[39]对细胞进行循环连续发酵.虽然两者都达到高生产强度,是分批发酵的3~4倍,但1,3-PD最终质量浓度仍然较低,只有19.0~26.5 g·L⁻¹.

3 发酵条件

3.1 培养基优化

培养基中成分的不同及含量的不同,对甘油代谢途径上的关键酶有不同的作用,应该以此作为培养基成分选择和优化的指导原则.Reimann等^[40]研究发现,限制培养基中的磷和铁的含量可有效降低氢产量,从而提高1,3-PD的转化率.王剑锋等^[41]采用无铵培养基氨水调节pH值,其发酵优于其他发酵.陶春平等^[42]通过控制培养基中的氮源浓度来提高1,3-PD发酵水平,过多的氮源会使细菌消耗过多的甘油用于菌体生长,而使甘油转化率降低的同时,副产物增多.

甘油代谢产1,3-PD是为了消耗氧化途径中生成的还原当量NADH,平衡菌体内的氧化还原力.李春等^[43]在培养基或在厌氧发酵过程中外源添加适量还原剂,如VC,增强菌体中还原当量NADH的积累,促进底物甘油沿还原途径代谢,提高1,3-PD的质量浓度和转化率.

3.2 过程优化

一般情况下,在发酵过程中的发酵条件是保持不变的,但这不代表是最佳发酵条件.Papanikolaou等^[44]在用丁酸梭菌连续发酵过程中,采用前期高稀释率后期低稀释率的方式,使生产率达3.4 g·(L·h)⁻¹,1,3-PD质量浓度为41.0~46.0 g·L⁻¹.Boenigk等^[5]对弗氏柠檬杆菌连续发酵采用类似的发酵方式,在前后两阶段控制不同的温度和pH值,1,3-PD质量浓度达到41.0 g·L⁻¹.杨树斌等^[45]在补料分批发酵过程中,使发酵不同阶段的底物甘油浓度控制在不同的水平上,与恒定底物浓度相比,1,3-PD质量浓度提高22.5%,同时生产强度提高了34.8%.

甘油发酵生产1,3-PD大都是在厌氧条件下进行的,这是因为氧会导致甘油脱水酶的失活.但是,文[46-47]的研究发现,肺炎克雷伯氏杆菌在有氧条件下,1,3-PD合成途径并未完全阻断;在微氧条件下,1,3-PD浓度和转化率接近厌氧发酵,而生产强度高于厌氧发酵,并将微氧发酵放大到1 m³^[48],产物1,3-PD质量浓度达72.0 g·L⁻¹.刘德华等^[49-50]提出前期厌氧后期好氧的两段发酵法,5 L罐中发酵生产1,3-PD的质量浓度为69.6 g·L⁻¹.

4 废甘油发酵生产 1,3-PD

目前,国外已有不少研究者以生物柴油副产物废甘油为原料,发酵生产 1,3-PD^[44,51-55]。其中,Hasane-Himmi 等^[55]通过分批发酵,将 $121.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的废甘油转化为 $65.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 1,3-PD,是已有报道以废甘油为原料发酵生产 1,3-PD 的最高水平。刘德华等^[56]以生物柴油副产物废甘油为原料发酵生产 1,3-PD,其质量浓度可达 $64.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。修志龙等^[57]用膜过滤,将脂肪酶催化甲醇或乙醇与油脂反应生成生物柴油和微生物转化为 1,3-PD 两个过程偶联起来。刘飞等^[58]也作了相应的研究。

以废甘油为原料发酵生产 1,3-PD,可大大降低生物法生产 1,3-PD 的成本,提高过程的经济性。同时,它解决生物柴油副产物废甘油的出路问题,延长生物柴油产业链,间接地降低生物柴油的成本,增强了生物柴油的市场竞争力。由于大多数菌是无法在含有废甘油的培养基上生长的,因此,筛选能代谢利用废甘油生产 1,3-PD 的优良菌种是今后的一个研究方向。

参考文献:

- [1] WITT U, MUELLER R J, AUGUSTA J, et al. Synthesis, properties and biodegradability of polyesters based on 1,3-propanediol[J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1994, 195(2): 793-802.
- [2] 周邦荣. 1,3-丙二醇生产工艺[J]. *石油化工动态*, 1998, 6(5): 55-61.
- [3] BIEBL H, MENZEL K, ZENG A P, et al. Microbial production of 1,3-propanediol[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, 52(3): 289-297.
- [4] DECKWER W D. Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1995, 16(2/3): 143-149.
- [5] BOENIGK R, BOWIEN S, GOTTSCHAL K G. Fermentation of glycerol to 1,3-propanediol in continuous culture of *Citrobacter freundii*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1993, 38(4): 453-457.
- [6] BARBIRATO F, BORIES A, CAMARASA-CLARET C, et al. Glycerol fermentation by a new 1,3-propanediol producing microorganism: *Enterobacter agglomerans*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1995, 43(5): 786-793.
- [7] ZHANG Gen-lin, MA Bin-bin, XU Xiao-lin, et al. Fast conversion of glycerol to 1,3-propanediol by a new strain of *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, 37(3): 256-260.
- [8] MARÍA G P, ISABELLE M S, FILIPA M, et al. Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol: Physiological comparison of a natural producer, *Clostridium butyricum* VPI 3266, and an engineered strain, *Clostridium acetobutylicum* DGI (pSPD5)[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(1): 96-101.
- [9] BIEBL H. Fermentation of glycerol by *Clostridium pasteurianum*: Batch and continue culture studies[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2001, 27(1): 18-26.
- [10] BARBIRATO F, HIMMI E H, CONET T, et al. 1,3-propanediol production by fermentation: An interesting way to valorize glycerin from the ester and ethanol industries[J]. *Industrial Crops and Products*, 1998, 7(2/3): 281-289.
- [11] SAINT-AMANS S, GIRBAL L, ANDRADE J, et al. Regulation of carbon and electron flow in *Clostridium butyricum* VPI 3266 grown on glucose-glycerol mixtures[J]. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(5): 1748-1754.
- [12] RAYNAUD C, SARCABAL P, MEYNIAL-SALLES I, et al. Molecular characterization of the 1,3-propanediol (1,3-PD) operon of *Clostridium butyricum*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 10(9): 5010-5015.
- [13] O'BRIEN J R, RAYNAUD C, CROUX C, et al. Insight into the mechanism of the B₁₂-independent glycerol dehydratase from *Clostridium butyricum*: Preliminary biochemical and structural characterization[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(16): 4635-4644.
- [14] 闵航, 陈美慈, 赵宇华, 等. 厌氧微生物学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1993.
- [15] 苑广志, 田晶, 徐龙权, 等. 曲霉发酵甘油生产 1,3-丙二醇的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32(1): 49-52.
- [16] ZENG A P. Pathway and kinetic analysis of 1,3-propanediol production from glycerol fermentation by *Clostridium butyricum*[J]. *Bioprocess Engineering*, 1996, 14(4): 169-175.
- [17] SEIFERT C, BOWIEN S, GOTTSCHAL K G, et al. Identification and expression of the genes and purification and characterization of the gene products involved in reactivation of coenzyme B₁₂-dependent glycerol dehydratase of *Citrobacter freundii*[J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(8): 2369-2378.

- [18] SKRAL Y F A,LYTLE B L,CAMERON D C. Construction and characterization of a 1,3-propanediol operon[J]. Applied and Environmental Microbiology,1998,64(1):98-105.
- [19] BIEBL H,MARTEN S. Fermentation of glycerol to 1,3-propanediol:use of cosubstrates[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1995,44(1/2):15-19.
- [20] ABBAD-ANDALOUSSI S,AMINE J,GERARD P,et al. Effect of glucose on glycerol metabolism by *Clostridium butyricum* DSM 5431[J]. Journal of Applied Microbiology,1998,84(4):515-522.
- [21] MALAPIO H,MARCZA K R. Influence of glucose on glycerol metabolism by wild-type and mutant strains of *Clostridium butyricum* E5 grown in chemostat culture[J]. Appl Microbiol Biotechnol,2001,55(2):226-233.
- [22] 张健,赵红英,刘宏娟,等. 以葡萄糖为辅助底物发酵生产1,3-丙二醇的研究[J]. 现代化工,2002,22(6):32-35.
- [23] 程可可,凌宏志,张丽莉,等. 葡萄糖作辅助碳源对 *Klebsiella pneumoniae* 发酵甘油生产1,3-丙二醇的影响[J]. 过程工程学报,2004,4(6):561-566.
- [24] HAYNIE S L,WAGNER L W. Process for making 1,3-propanediol from carbohydrates using mixed microbial cultures: US,5599689[P]. 1997-02-04.
- [25] HARTLEP M,HUSSMANN W,PRA YITNO N,et al. Study of two-stage processes for the microbial production of 1,3-propanediol from glucose[J]. Appl Microbiol Biotechnol,2002,60(1/2):60-66.
- [26] 修志龙,刘海军,张代佳,等. 两步微生物发酵生产1,3-丙二醇的方法:中国,01138769.6[P]. 2004-09-08.
- [27] 刘德华,程可可,刘宏娟,等. 一种由粗淀粉原料1,3-丙二醇和2,3-丁二醇的方法:中国,200510011959.6[P]. 2005-12-21.
- [28] NAKAMURA C E,WHITED G M. Metabolic engineering for the microbial production of 1,3-propanediol[J]. Current Opinion in Biotechnology,2003,14(5):454-459.
- [29] LAFFEND L A,NA GARAJAN V,NA KAMURA C E. Bioconversion of a fermentable carbon source to 1,3-propanediol by a single microorganism: US,5686276[P]. 1997-11-11.
- [30] BULTHUIS B A,WHITED G M,TRIMBUR D E,et al. Method for the production of 1,3-propanediol by recombinant organisms comprising genes for vitamin B₁₂ transport:US,6,432,686 B1[P]. 2002-08-03.
- [31] 马正,饶志明,沈微,等. 一步法产1,3-丙二醇酿酒酵母基因工程菌的构建[J]. 微生物学报,2007,47(4):598-603.
- [32] BIEBL H. Glycerol fermentation of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum*: Measurement of production inhibition by use of pH-auxostat[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1991,35(6):701-705.
- [33] ABBAD-ANDALOUSSI S,MANGINTO-DURR C,AMINE J,et al. Isolation and characterization of *Clostridium butyricum* DSM 5431 mutants with increased resistance to 1,3-propanediol and altered production of acid[J]. Applied and Environmental Microbiology,1995,61(12):4413-4417.
- [34] GÜNZEL B,YONSEL S,DECKWER W D. Fermentative production of 1,3-propanediol from glycerol by *Clostridium butyricum* up to a scale of 2 m³[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1991,36(3):289-294.
- [35] SAINT-AMANS S,PERLOT P,GOMA G,et al. High production of 1,3-propanediol from glycerol by *Clostridium butyricum* VPI 3266 in simple controlled fed-batch system[J]. Biotechnology Letters,1994,16(8):831-836.
- [36] REIMANN A,BIEBL H. Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* DSM 5431 and product tolerant mutants in fed-batch culture: Feeding strategy for glycerol and ammonium[J]. Biotechnology Letters,1996,18(7):827-823.
- [37] 刘德华,孙燕,刘宏娟,等. 一种发酵生产1,3-丙二醇的高产工艺:中国,200710063347.0[P]. 2007-07-18.
- [38] PRULMACHER U,GOTTSCHAL K G. Development of an immobilized cell reactor for the production of 1,3-propanediol by *Citrobacter freundii*[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1994,41(3):313-316.
- [39] REIMANN A,BIEBL H,DECKWER W D. Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* in continuous culture with cell recycling[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1998,49(4):359-363.
- [40] REIMANN A,BIEBL H,DECKWER W D. Influence of iron,phosphate and methyl viologen on glycerol fermentation of *Clostridium butyricum*[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1996,45(1/2):47-50.
- [41] 王剑锋,刘海军,修志龙,等. 1,3-丙二醇间歇发酵培养基的优化[J]. 食品与发酵工业,2001,27(8):5-8.
- [42] 陶春平,刘朋波,夏敏,等. 控制氮源浓度提高1,3-丙二醇的发酵水平[J]. 化学与生物工程,2007,24(5):38-41.
- [43] 李春,张延平,曹竹安. 外源添加还原剂促进菌体合成1,3-丙二醇的方法:中国,03121946.2[P]. 2004-12-29.
- [44] PAPANIKOLAOU S,RIUZ-SANCHEZ P,PARISER B,et al. High production of 1,3-propanediol from industrial

- glycerol by a newly isolated *Clostridium butyricum* strain[J]. Journal of Biotechnology, 2000, 77(2/3):191-208.
- [45] 杨树斌, 宫衡, 付水林. 两阶段控制甘油浓度提高 1,3-丙二醇发酵水平[J]. 华东理工大学学报:自然科学版, 2006, 32(9):1042-1045.
- [46] 王剑锋, 修志龙, 刘海军, 等. 克雷伯氏菌微氧发酵生产 1,3-丙二醇的研究[J]. 现代化工, 2001, 21(5):28-31.
- [47] CHEN X, ZHANG D J, QI W T, et al. Microbial fed-batch production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae* under micro-aerobic conditions[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 63(2):143-146.
- [48] LIU H J, ZHANG D J, XU Y H, et al. Microbial production of 1,3-propanediol from glycerol by *Klebsiella pneumoniae* under micro-aerobic conditions up to a pilot scale[J]. Biotechnol Lett, 2007, 29(8):1281-1285.
- [49] CHENG K K, LIU D H, SUN Y, et al. 1,3-propanediol production by *Klebsiella pneumoniae* under different aeration strategies[J]. Biotechnol Lett, 2004, 26(11):911-915.
- [50] 刘德华, 孙燕, 程可可, 等. 微生物两段发酵法由甘油生产 1,3-丙二醇和 2,3-丁二醇:中国, 200410037692.3[P]. 2006-03-22.
- [51] PETITDEMANGE E, DURR C, ABBAD-ANDALOUSSI S, et al. Fermentation of raw glycerol to 1,3-propanediol by new strains of *Clostridium butyricum*[J]. Journal of Industrial Microbiology, 1995, 15(6):498-502.
- [52] SERAPHIM P, GEORGE A. Modelling aspects of the biotechnological valorization of raw glycerol: Production of citric acid by *Yarrowia lipolytica* and 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum*[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2003, 78(5):542-547.
- [53] SERAPHIM P, MICHEL F, GEORGE A. The effect of raw glycerol concentration on the production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum*[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2004, 79(11):1189-1196.
- [54] GONZALEZ-PAJUELO M, ANDRADE J C, VASCONCELOS I. Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* VPI 3266 using a synthetic medium and raw glycerol[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2004, 31(9):442-446.
- [55] HASSANE-HIMMI E I, BORIES A, BARBIRATO F. Nutrient requirements for glycerol conversion to 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum*[J]. Bioresource Technology, 1999, 67(2):123-128.
- [56] 刘德华, 刘宏娟, 林日辉, 等. 利用生物柴油副产物甘油生产 1,3-丙二醇的方法:中国, 200510011867.8[P]. 2005-11-16.
- [57] 修志龙, 牟英, 张代佳, 等. 一种偶联生产生物柴油和 1,3-丙二醇的方法:中国, 200410100479.2[P]. 2005-08-03.
- [58] 刘飞, 方柏山. 克雷伯杆菌利用生物柴油副产物甘油生产氢气和 1,3-丙二醇的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(10):1-4.

Progress on the Production of 1,3-Propanediol by Microbial Conversion

ZHU Chun-jie, FANG Bai-shan

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Fujian Province, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: Advances of the studies on production of 1,3-propanediol by fermentation are reviewed, including fermentative strains and the fermentative styles, etc. Compared with chemical synthesis, bioconversion has some merits, such as good selectivity, high rate of conversion, easy to separation, no pollution and using renewable resource. In order to compete with chemical synthesis, it needs to low the production cost of 1,3-propanediol while increasing the concentration of 1,3-propanediol during fermentation. The production cost of bioconversion can be lowed by using raw glycerol, the by-product of biodiesel, as the substrate, providing a way to convert raw glycerol into higher valued products and extending the industry chain of biodiesel. However, the problem is that the composition of raw glycerol is complex, inhibiting the growth and metabolism of microbe.

Keywords: 1,3-propanediol; microbial conversion; fermentation; raw glycerol

(责任编辑: 黄仲一 英文审校: 陈国华)