

台灣中油股份有限公司人員從事兩岸交流活動報告書

+

## 上海及華東地區「2016年綠色永續生物 技術科技成果交流會議」及演講

研提人單位：台灣中油公司綠能科技研究所  
職務：生物科技組組長  
姓名：蔡承佳

參訪期間：105年8月3日-105年8月7日  
報告日期：105年8月19日

## 摘 要

永續性的生質能源為台灣中油股份有限公司綠能科技研究所發重點項目，為瞭解中國大陸生質能源的發展技術及趨勢，因此參加本次行程前往上海及華東地區「2016年綠色永續生物技術科技成果交流研討會」及演講）交流，瞭解生質能源技術之發展與參訪中國大陸華東理工大學、上海交通大學、江蘇無錫江南大學及浙江工業大學的重點實驗室及國家級醱酵工程中心，有助於提升研發能量與新創事業開發之可行性評估，此行認識中國大陸及國內許多教授，見識多位志同道合研究科學家，在相關領域努力探索，未來除透過技術引進，自行研究提出專利外，將加強中油綠能所生物科技組國際期刊發表篇數，增加國際曝光度，並加入國際間生技團隊討論會議，增加資訊交流，加速研究進度推展，將是接下來幾年的重點目標。

## 目 錄

一、目的.....	4
二、過程.....	5
三、心得與建議.....	72

## 一、目的：

永續性的再生能源為本公司綠能所研發重點項目，為瞭解生質能源的最新發展技術及趨勢，因此規劃本次行程主要瞭解上海及華東地區重點大學生質能源技術之發展與參訪中國大陸生物反應器工程國家重點實驗室、國家生化技術工程研究中心微生物代謝國家重點實驗室、國家級重點實驗室及國家級醱酵工程中心，有助於提升研發能量與新創事業開發之可行性評估。

## 二、過程：

台灣中油股份有限公司（蔡承佳）出國行程表

預定起迄日期	天數	到達地點	地區等級	詳細工作內容
105.08.03	1	台灣桃園-上海浦東機場-上海華東理工大學	267	1.由台灣桃園飛往浦東機場 2.前往上海華東理工大學生物工程學院能源研討會議，參訪生物反應器工程國家重點實驗室及國家生化技術工程研究中心(許建和教授招待)。
105.08.04	1	上海	267	上海交通大學能源研討會議，參訪生命科學技術學院微生物代謝國家重點實驗室(趙心清教授招待)
105.08.05	1	無錫	140	無錫江南大學生物工程學院參訪江南大學食品科學與工程國家重點實驗室；參訪江南大學國家醱酵工程中心(堵國城院長招待)
105.08.06	1	杭州	180	浙江工業大學能源研討會議
105.08.07	1	杭州-上海浦東機場-台灣高雄	180	1.參訪綠色製藥協同創新中心 2.浦東機場返程至台灣高雄
合計	5			

# 上海及華東地區「2016年綠色永續生物技術科技成果交流會議」演講及參訪過程

## 8/3 華東理工大學生物工程學院能源研討會議



華東理工大學，簡稱華理，創建於 1952 年，原名華東化工學院，其辦學歷史可以追溯到 100 多年前的南洋公學和震旦學院。經過半個多世紀的改革與建設，現已發展成為特色鮮明、多學科協調發展的研究型重點大學。

會議於下午開始三點開始，由研討會主席許建和教授(長江學者)簡介生物工程學院研發方向及會後參訪行程，許建和教授表示「生物反應器工程國家重點實驗室」，該單位以生物發酵技術應用於化學品，醫藥原料及抗生素應用在中國大陸研發品質與效益是屬於第一順位才有資格成為「國家重點實驗室」。介紹華東理工的生物工程專業隸屬於生物工程學院，其前身是 1955 年國內最早的抗生素製造工學專業，是最早將生物和化學相結合的專業單位。生物工程學院建有生物

反應器工程國家重點實驗室、國家生化技術工程研究中心（上海），擁有全國第一個生物化工博士點。該專業是國家特色專業，也是教育部卓越工程師教育培養計劃第一批試點專業，在學科的建立與發展中獲得了多個全國第一或上海第一，在國內同類學科中處重要地位。該專業學生不僅要學有機化學、物理化學、大學物理等基礎課程，還要學微生物學、發酵工程、生物分離工程等專業課程。其中專業核心課程包括化工原理、微生物學、發酵工程等。

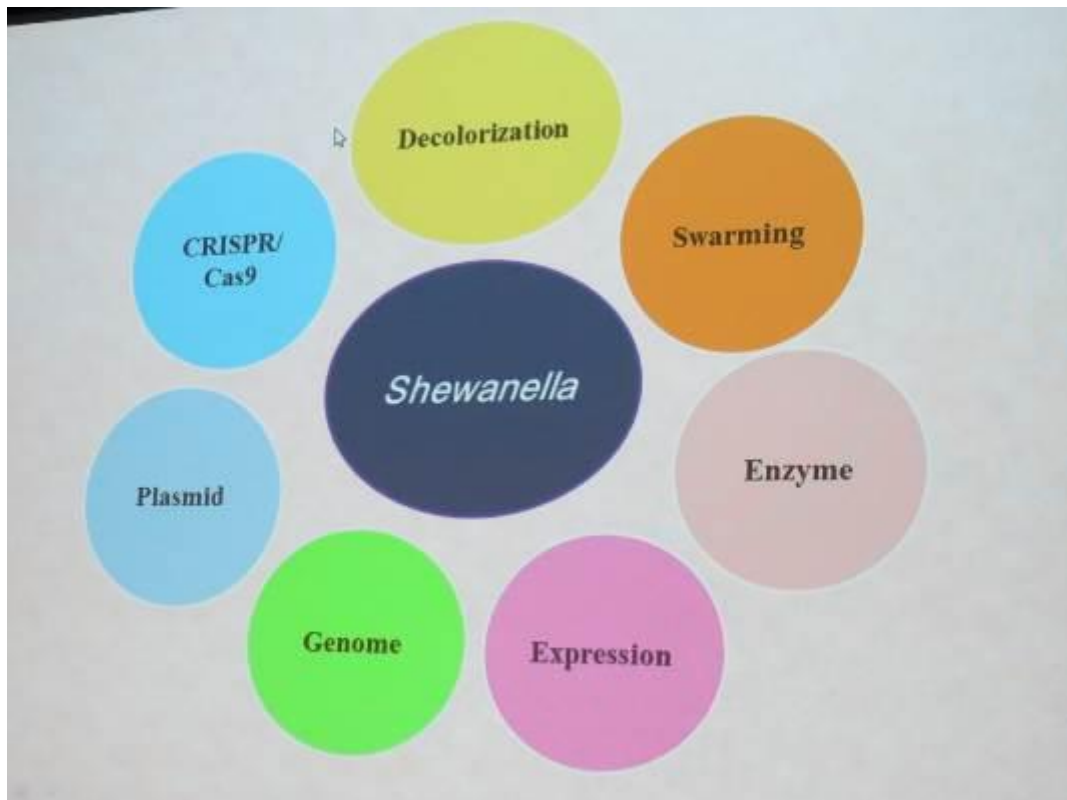
華東理工馬譽激教授不僅參與研發新中國第一支青黴素，而且培養出中國首批博士研究生，而且長期以來，這一專業被譽為“中國抗生素制造人才培養的搖籃”，為中國抗生素工業的建立和壯大作出了歷史性貢獻，奠定了中國醫藥發酵工業的基礎。在生物能源研究方向，用玉米稈、稻草和微藻等可再生原料，生產液體燃料和化工產品，極具潛力，將有望替代石油等不可再生原料，造福人類。



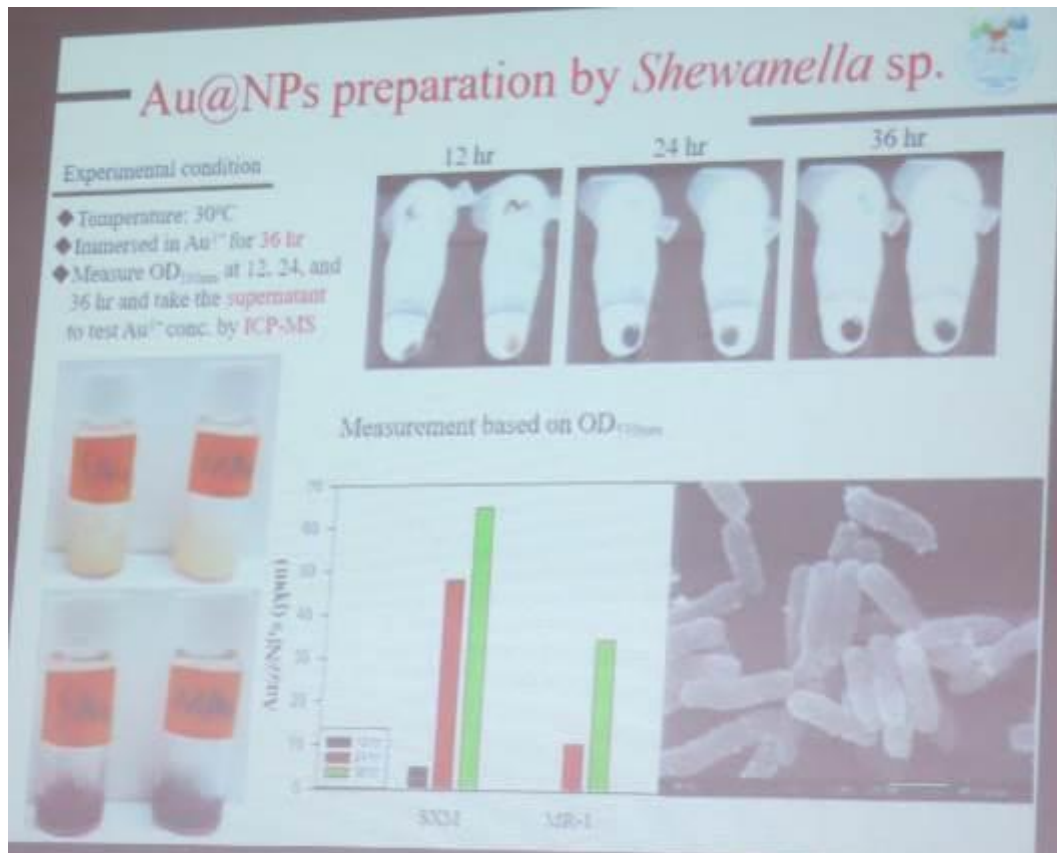
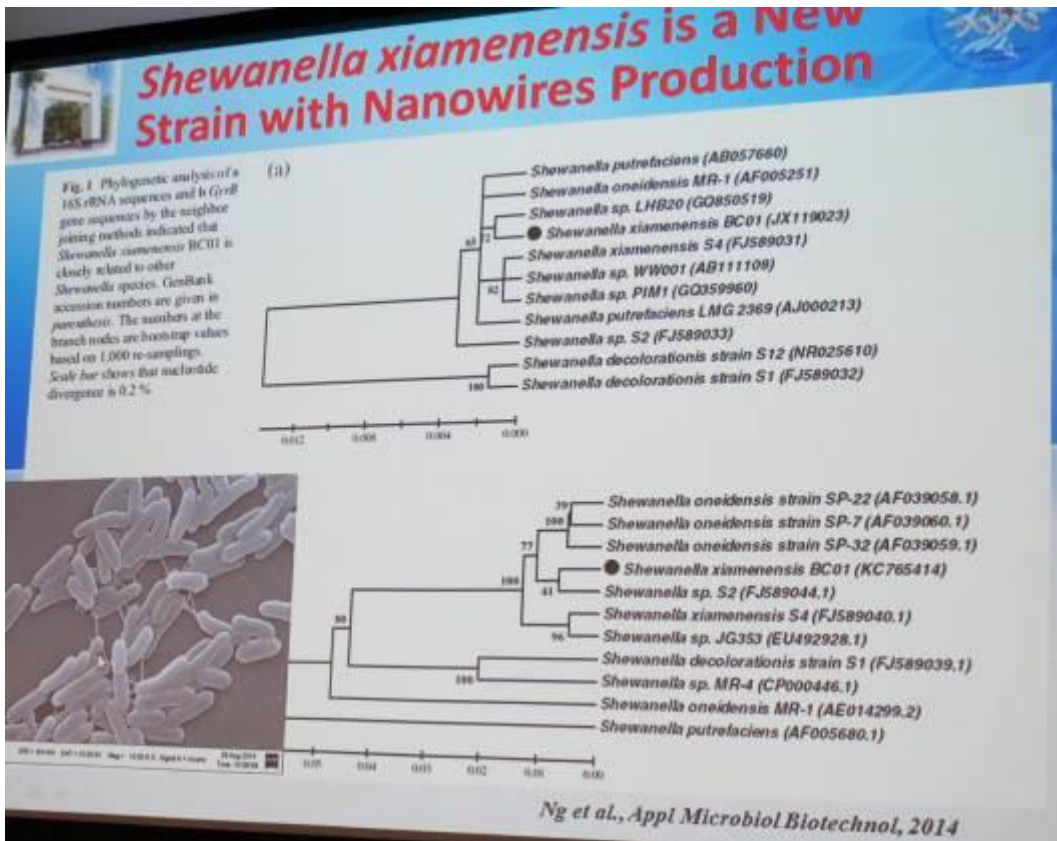


研討會主席許建和教授簡介生物工程學院研發方向及會後參訪行程說明

成功大學吳意詢教授介紹「Recent progress of extracellular electron transport (EET) microbe: *Shewanella spp*」，可應用於微生物發電、脫色及廢水處理。







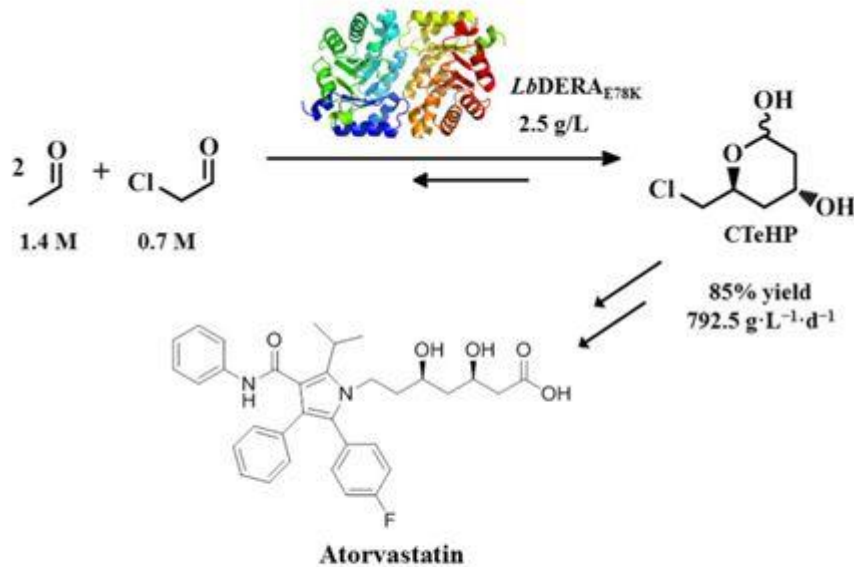
吳教授最後提出該菌可應用於廢水金回收。

我以「台灣中油公司生質能源發展與應用」為題目，介紹中油公司及綠能所現況，繼而說明已公開發表之成果。



華東理工大學許建和教授通過土壤廣泛篩選菌種，分離獲得一株催化連續羧醛縮合製備 CTeHP 的短乳桿菌(*Lactobacillus brevis*)，進而通過基因選殖，獲得其中編碼醛縮酶 LbDERA 的基因序列，並在大腸桿菌中高效可溶性表達。與其它醛縮酶相比，LbDERA 具有較高的活性和熱穩定性，並且對底物醛具有很高的耐受性。採用 X-ray 衍射的

方法解析了該酶的晶體結構，在此基礎上通過半理性分子改造的方法，得到了穩定性進一步提高的突變體LbDERA E78K。利用LbDERA E78K 作為催化劑高效合成他汀前體 CTeHP，產物濃度達到 0.6 mol/L，時空產量高達 792.5 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>。研究成果為醛縮合成他汀側鏈的製程路線提供了重要的新型酵素資源。



*Catal. Sci. Technol.*, 2015, 5, 4048-4054

參訪許建和教授實驗室其帶領生物催化與合成生物技術團隊。

**生物反应器工程国家重点实验室**  
STATE KEY LABORATORY OF BIOREACTOR ENGINEERING

**实验室简介**  
生物反应器工程国家重点实验室于1989年4月经国家计委立项建设，1995年通过验收，1996年2月正式开放。历经2001年、2006年和2011年三次评估中成绩良好。20多年中，实验室坚持以生物反应器工程学科为重点，国家重大战略需求和经济社会发展目标，开展了生物工程学基础和技术源头创新，在生物催化剂研制应用、细胞固定化和调控、组织工程修复材料、工业发酵过程智能升级、抗体制造过程优化放大、水产疫苗研制应用、生物能源技术开发与示范等方面开展了具有特色的应用基础研究。

**生物反应器工程国家重点实验室**

学术委员会  
实验室内主任

实验室主任：许建和  
实验室副主任：赖杰、叶翔宇  
实验室常务副主任：赖七、花强  
实验室常务副主任：谢静群

细胞培养与代谢工程中心  
生物催化与酶工程中心  
合成与系统生物工程中心  
医药与食品生物工程中心  
资源与海洋生物工程中心  
生物能源与材料工程中心  
实验室公共服务平台

**实验室发展历程**

- 1985年中国第一个生物反应器工程专业
- 1989年经国家计委批准立项建设
- 1996年通过国家验收正式对外开放
- 2001、2006、2011年连续通过评估
- 第一个国产规模化生物反应器
- 第一个生物化工博士点
- 第一个生物化工博士后
- 第一个生物反应器工程一级学科











發酵槽除常規溫度、轉速、通氣流量、罐壓、消泡、pH 及 DO 外，還控制尾氣質譜儀、細胞傳感儀、發酵成分分析儀、紅外線分析、HPLC 等均為線上模式偵測。再現地未見實際運作模式，因現地因應九月視察，部分裝潢整修中，不過，莊英萍院長相當有自信，除在學校教職外，自己又開設兩家公司，介紹過程是相當有說服力的方式，或許可透過委託來測試。

# 生物制造流程型智能生产服务新模式

实验室有教师16人，其中专职教授6人（正高），博士生导师6人，副教授5人，硕士生导师11人，全国优秀教师1人，“863”领域专家1名，教育部“新世纪优秀人才”1人，上海市曙光计划专家1人，上海市浦江人才1人。

大规模细胞培养过程中，BioData是智能生物反应器的核心软件，与整个生产流程中形成的执行系统MES以及资源计划ERP系统进行对接，进而实施智能化生产管理。

生物过程多维度相关分析新尺度，观察是大数据处理和指导理论，智能化生物反应器是实现生物制造的核心技术。

# SKLBE State Key Laboratory of Bioreactor Engineering

## 工业发酵过程定向调控与放大策略

Rational Regulation and Scale-up of Industrial Fermentation Process

### 代表性成果 (5)

#### 生物过程在线监测系统

开发和研制一系列国产化先进在线传感器应用于现代工业发酵过程，实现跨尺度多参数在线监测和相关分析。

- 在线过程质谱仪**  
用于实时在线监测发酵过程中底物和产物的浓度变化，实现过程实时监控。
- 在线活细胞传感器**  
非侵入式实时监测活细胞浓度和生理状态，实现过程实时监控。
- 在线活细胞传感器**  
用于实时监测活细胞浓度和生理状态，实现过程实时监控。

#### 互联网·遥控传感技术

建立云端数据平台，实现现代生物工厂与终端控制设备之间的数据共享，实现发酵过程实时监控、远程操控。

#### 细胞宏观与微观代谢相结合的发酵过程优化与放大(维生素B12)

通过宏基因组学、转录组学、代谢组学等手段，结合宏基因组学、转录组学、代谢组学等手段，实现发酵过程的优化与放大。

莊英萍院長接受委託及成功改善案例：

发酵产品	(实施时间)	产量提高幅度(%)	放大规模	合作企业
红霉素	(2011-至今)	50	50 L→120 ~370 m <sup>3</sup>	宜都东阳光
葡萄糖酸钠	(2011-至今)	200	50 L→100m <sup>3</sup>	山东福洋
阿维菌素	(2011-至今)	30	50 L→120m <sup>3</sup>	齐鲁内蒙
头孢菌素	(2006-2012)	60	50 L→180m <sup>3</sup>	山西威奇达
维生素B12	(2012-至今)	50	50 L→120m <sup>3</sup>	华药维尔康
柠檬酸	(2011-至今)	15	50 L→350m <sup>3</sup>	中粮丰源
庆大霉素	(2015)	70	50 L→50m <sup>3</sup>	河南仁华
维生素B2	(2011-至今)	20	50 L→50m <sup>3</sup>	内蒙赤峰
洁霉素	(2012-至今)	30	50 L→50m <sup>3</sup>	华北制药



莊英萍院長（中間橘色衣服）解說情形，由於九月檢核，裝修期間部分海報自牆面卸下。





上海交通大學

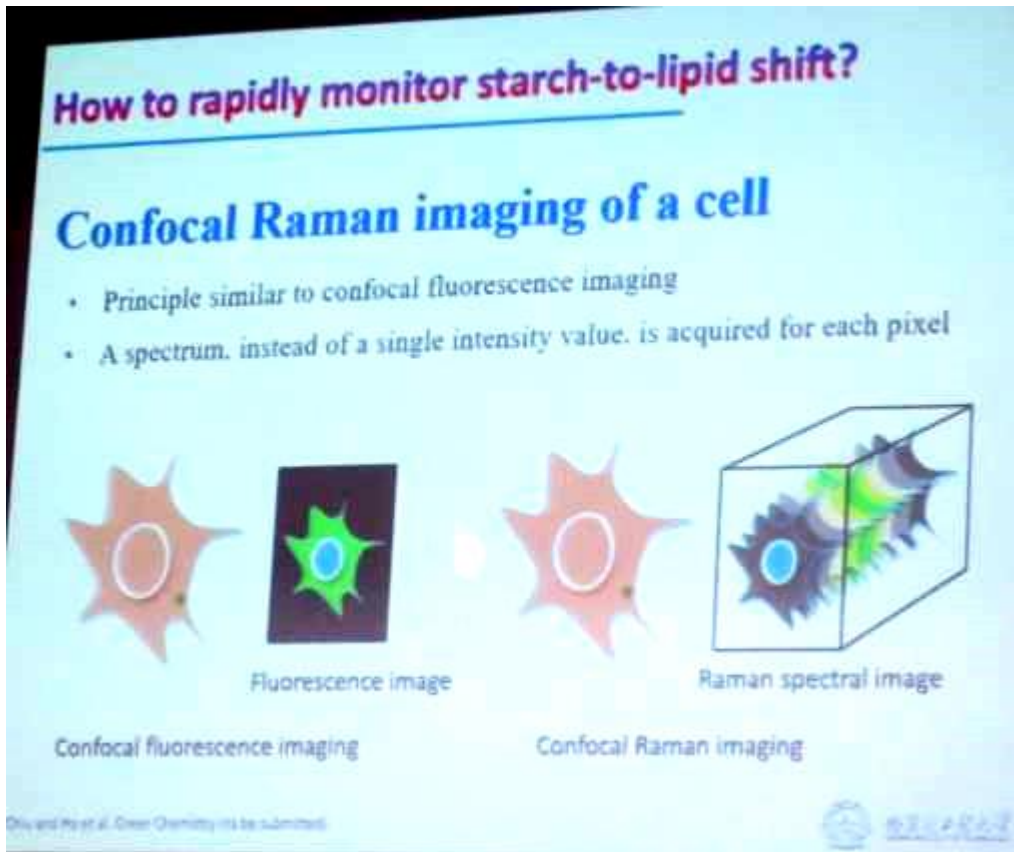
SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY

#### 8/4 上海交通大學研討會

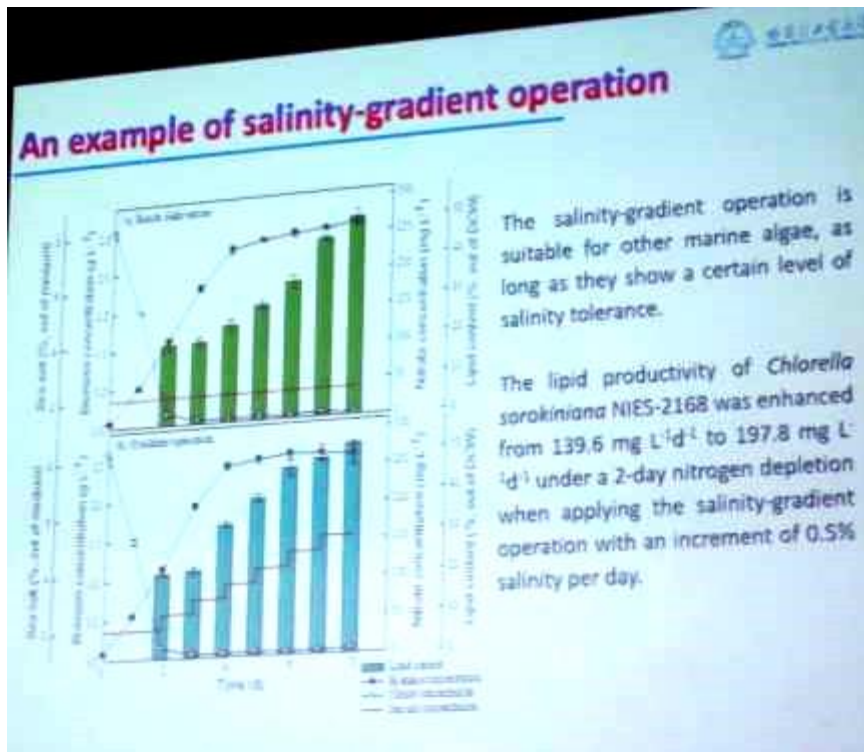
上海交通大學（英語：Shanghai Jiao Tong University, 縮寫為 SJTU；簡稱：交大、上交、上交大 或 上海交大），是位於中國上海市的一所具有理工特色，涵蓋理、工、醫、經、管、文、法、農等 9 個學科門類的教育部直屬綜合性全國重點大學。是華東五校之一，中國首批七所 211 工程和全國首批九所 985 工程院校之一。其前身是近代中國歷史最為悠久的大學之一。清末洋務派政治家、實業家和福利事業家盛宣懷於 1896 年創建的南洋公學，後曾易名南洋大學、上海工業專門學校，中華民國大陸時期後期稱為國立交通大學。1959 年交通大學分立，交通大學上海部分定名為上海交通大學，1999 年合併原上海農學院，2005 年合併原上海第二醫科大學。

研討會中哈爾濱大學賀詩欣特聘教授(青年千人)針對微藻進行介紹，由微藻之碳流來分析，賀特聘教授曾經於日本神戶大學 Kondo 教授實驗團隊進行三年博士後研究，先產油及澱粉之途徑，進而闡明切換的機制，由 confocal 拉曼光譜來探討活體細胞，衣藻加入鹽加入澱粉消失產油脂，經 GC-MS 進澱粉及油脂定量發現 confocal 拉曼光譜，確實可以利用於定量分析及活體分析。

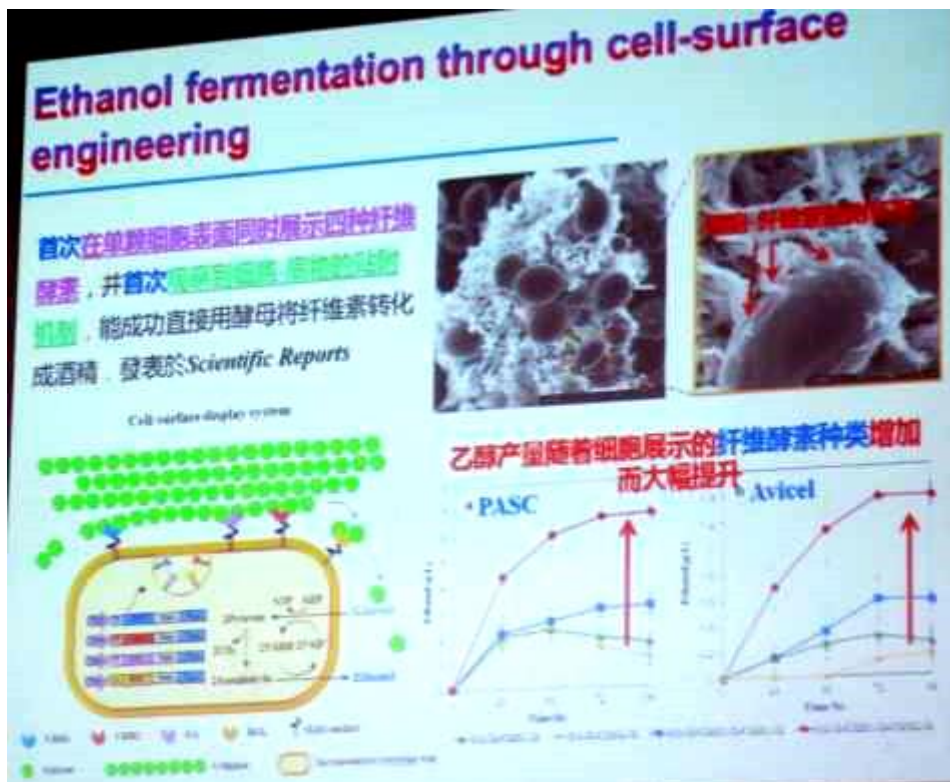




利用工程策略來提升藻類油脂，用兩階段方式並不理想，改用階梯式(step-wise)下，油脂可以快速累積，除了衣藻應用外，也應用於小球藻也獲得相同由累計結果，該觀念已提出專利申請，也授權廠商。

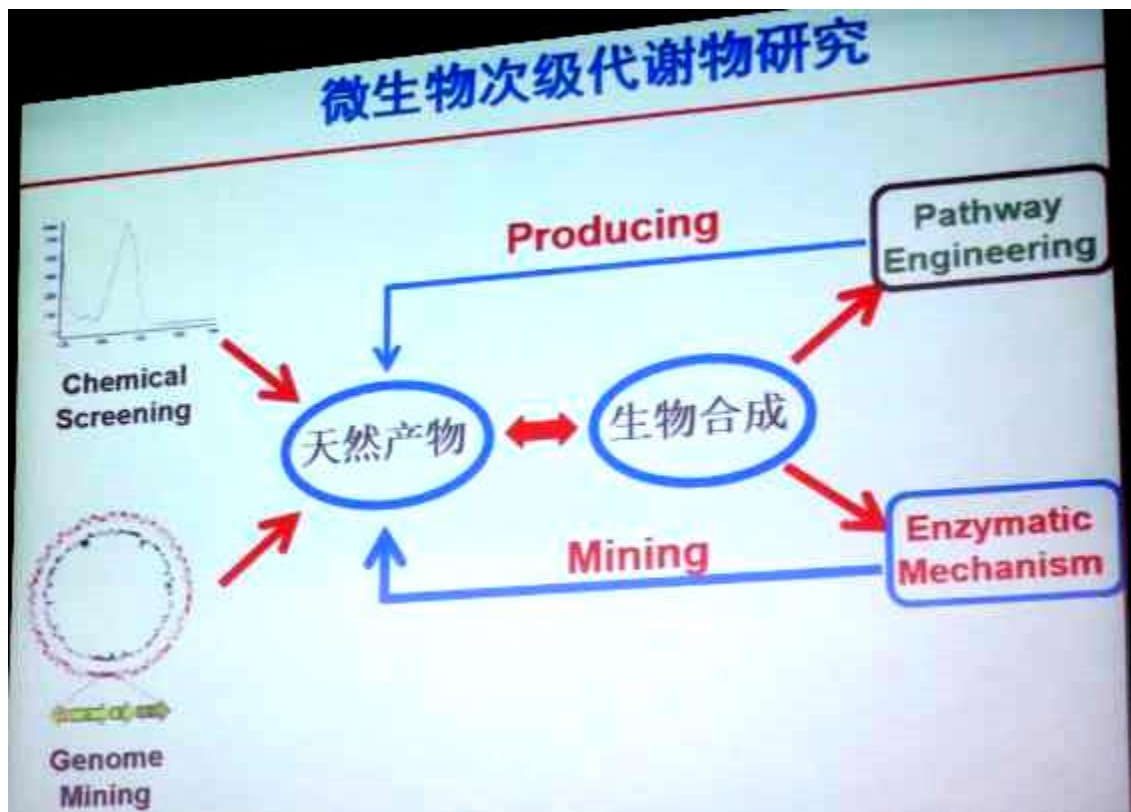


最後提出 surface display 4 種纖維分解酵素於菌體表面，並應用於纖維素酒精生產。不過所用基質是 PASC 或 Avicel 下，酒精產出濃度低。



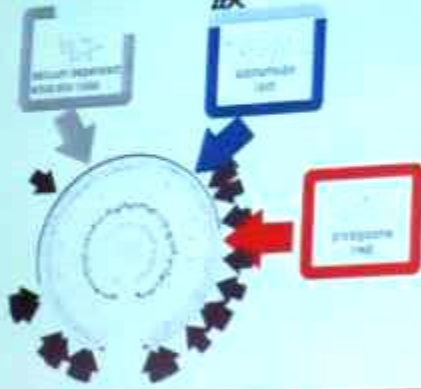


上海交通大學系生物化學與分子生物學系學主任林双君特聘教授(國家傑出青年科學獎金)微生物代謝國家重點實驗室系生物化學與分子生物學系學主任，林双君系主任專長為化學，以放線菌為開發主軸，篩得25種新化合物，提出微生物次級代謝物分為四個區塊，由天然產物、生物合成、酵素反應機制及代謝途徑改造，經由上述四區反覆循環改良微生物。

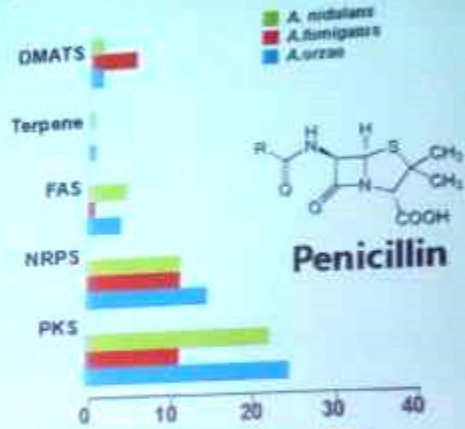


# 基因组“暗物质”尚待挖掘

放线菌基因组中约有  
20-30个生物合成基因簇



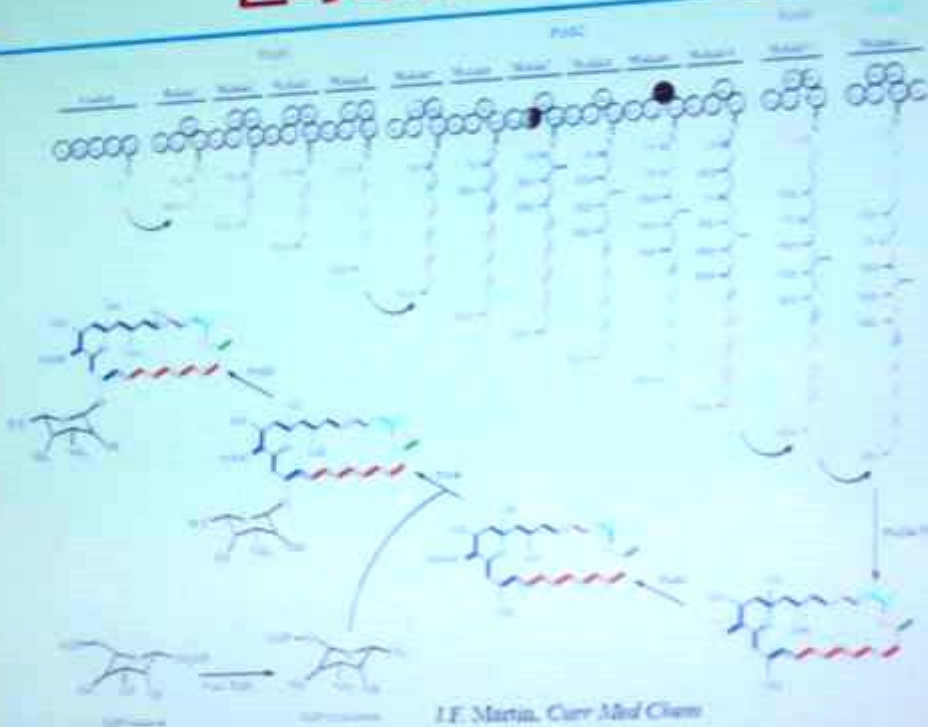
真菌基因组中约有  
30-50个生物合成基因簇



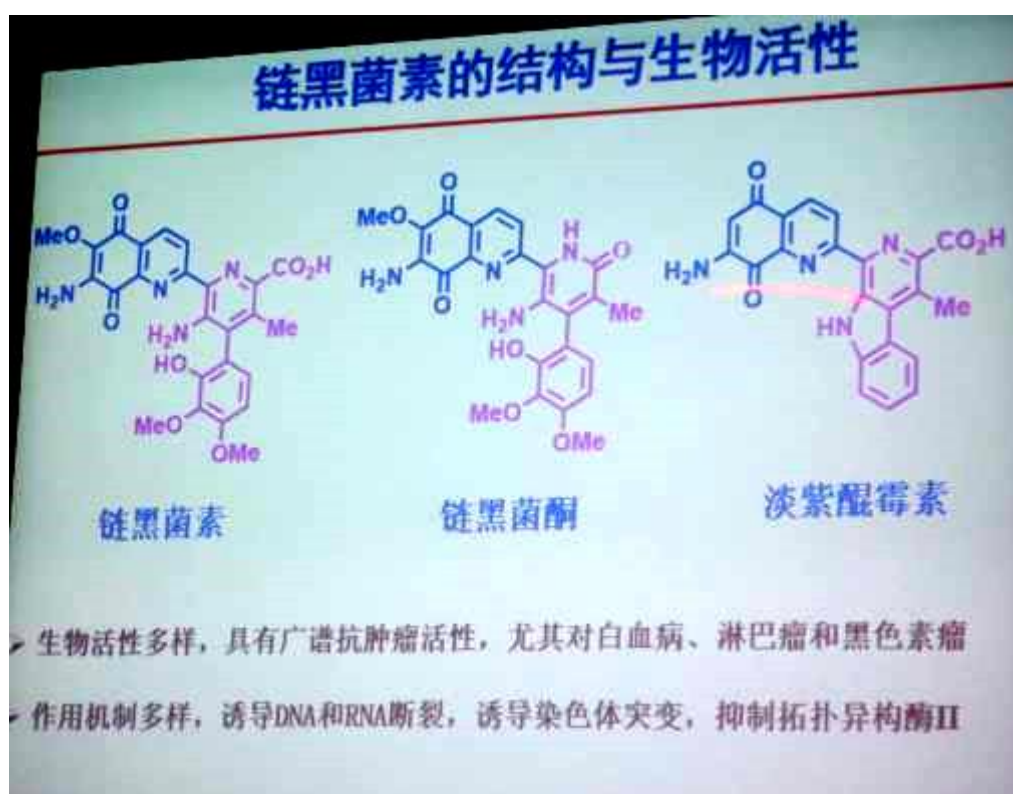
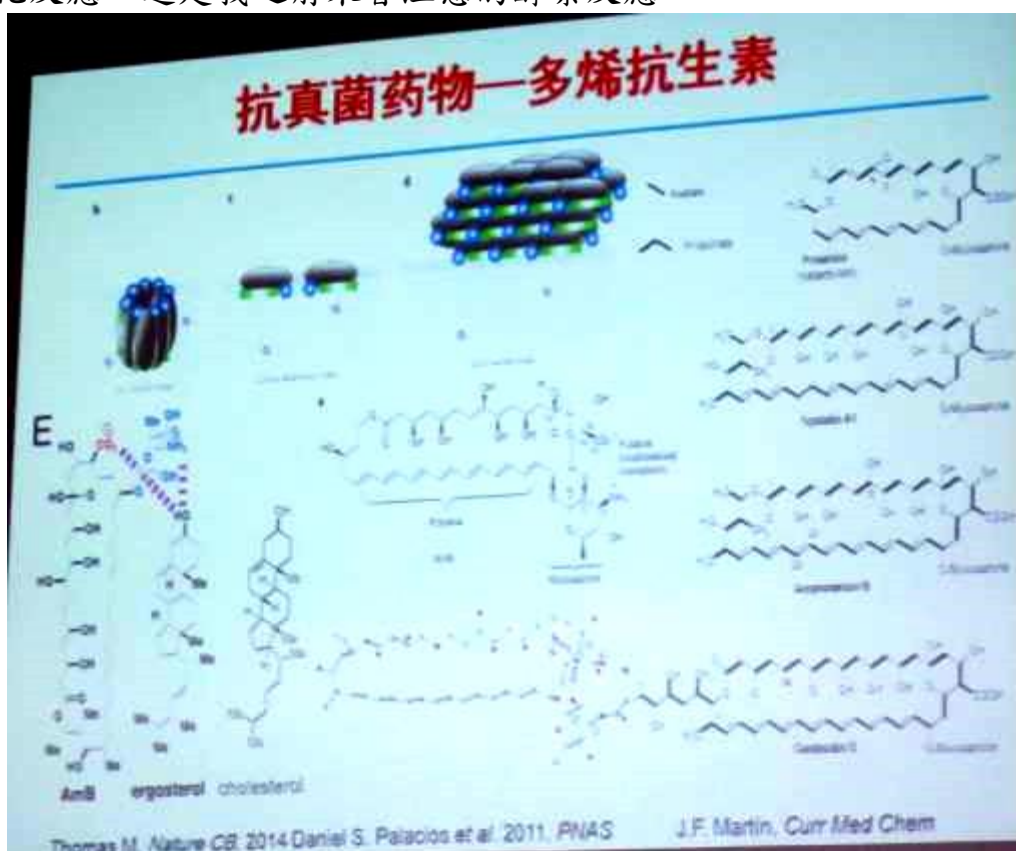
能够产生天然产物的基因簇寥寥

如何将未知基因 / 基因簇变成“可视化”的生物体系?

# 匹马霉素的生物合成途径

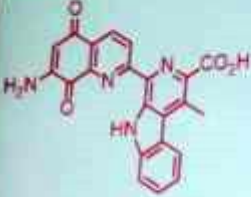


化合物甲基化酶選殖及表現，活性高可協助化合物甲基化，但水相不易反應，加入溶劑發現在 DMSO 下酶穩定，仍可順利進行甲基化反應，這是我之前未曾注意的酶反應。





## 淡紫醜霉素Lavendamycin(Ldm)



Lavendamycin 7

- Produced by *Streptomyces* sp. G324
- Production: 1 mg/L
- Biological activities

**Antimicrobial activity: MIC,  $\mu\text{g/mL}$**

<i>S. aureus</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
ATCC 13709	ATCC 9184	ATCC 607	ATCC 27853	ATCC 10231
< 0.1 (0.16)	1.56 (N/A)	1.56 (N/A)	6.25 (16)	12.5 (16)

**Cytotoxic: IC<sub>50</sub>,  $\mu\text{g/mL}$**

L-1210	CCRF-CEM	B16	9PS (P388)	9KB
0.61 (0.9)	0.00017 (N/A)	0.48 (1.1)	0.045 (0.06)	0.0025 (N/A)

J. Antibiot. 1993, 46, 1672; J. Med. Chem. 1987, 30, 1923

錢志綱副研究員報告以大自然為師研究蜘蛛絲，並以大腸桿菌表現四種型態的蜘蛛絲蛋白，發現不同型態蛋白質有不同功能。



### “生物鋼” 蜘蛛絲的高效生物制造

钱志刚

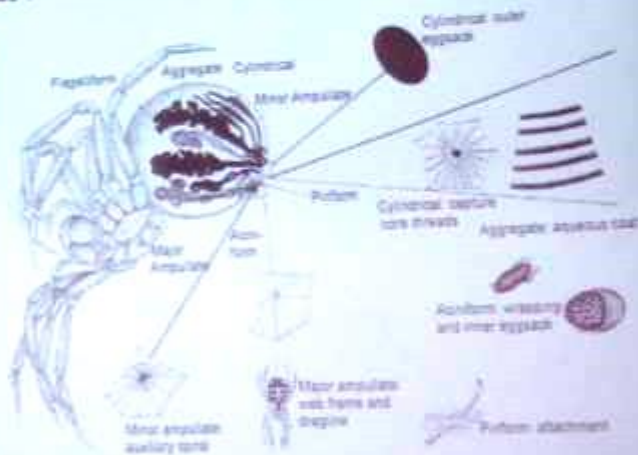
上海交通大学  
生命科学技术学院  
微生物代谢国家重点实验室  
Email: zgqian@sjtu.edu.cn

# 蜘蛛最多能制造七种不同的丝

- 蜘蛛丝：一类天然高分子蛋白质纤维
- 生物功能：捕食、织巢、保护后代等
- 蜘蛛牵引丝：大壶腹腺产生，强度最高，作为生命线



Anna Rising, Ph.D thesis 2007



# 蜘蛛牵引丝：带有生命的完美材料？

## 生物钢

- 质量轻 (Light)
- 坚硬 (Strong)
- 可伸缩 (Elastic)
- 耐压 (Tough)



材料	强度 (GPa)	延伸率 (%)	韧性 (MJ/m <sup>3</sup> )
天然蜘蛛丝	0.8-1.3	15-39	96-230
蚕丝	0.6	18	70
凯芙拉Kevlar	3.6	2.7	50
尼龙Nylon 6.6	0.95	18	80

Angew. Chem. Int. Ed. 2009, 48:3584-3596.



# 广阔的应用前景

防弹背心



降落伞绳



组织工程支架

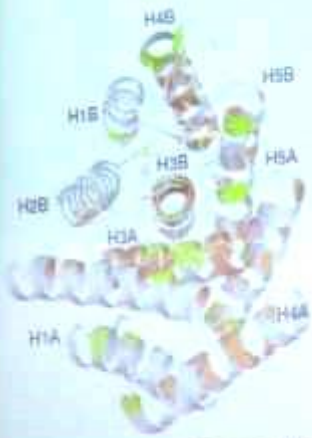


手术针线

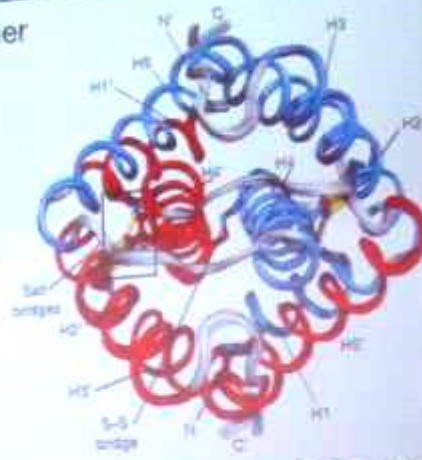


- High strength
- Biodegradable
- Biocompatible

# 蜘蛛丝蛋白的分子结构



Nature 2010, 465:236-238.



Nature 2010, 465:239-242.

## 蜘蛛丝生产的现状

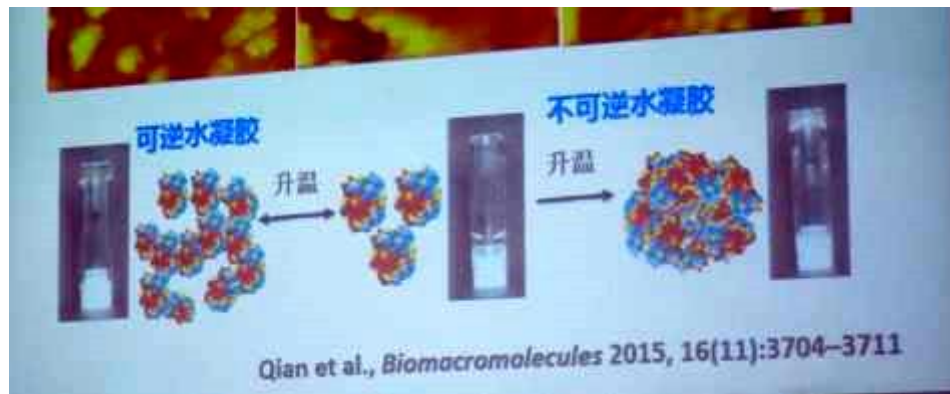
表达宿主	分子量 (kDa)	蛋白产量	制丝
大肠杆菌	70	360 mg/L	Too weak
酵母	< 3,000 codons	Unknown	Unknown
植物	100	2% of total soluble protein	Unknown
动物细胞	60	20-50 mg/L	Much weaker than native silk

- 天然蛛丝蛋白分子量超大 (~250-320 kDa)
- 氨基酸组成偏好, 甘氨酸含量 > 40%
- 重复度高

## 人工丝力学性能接近天然丝

Material	Strength (GPa)	Strain (%)	Stiffness (GPa)	Toughness (MJ/m <sup>3</sup> )
32mer fiber	0.23	2.7	9.0	10
64mer fiber	0.28	5.0	10.7	20
<b>96mer fiber</b>	<b>0.62</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>116</b>
Native silk	0.7-1.5	15-39	10.2-17.4	96-230

- 高分子量蜘蛛丝蛋白所制丝纤维的性能可与天然蜘蛛丝媲美
- 丝纤维性能随着重组蜘蛛丝蛋白分子量增加而显著提高

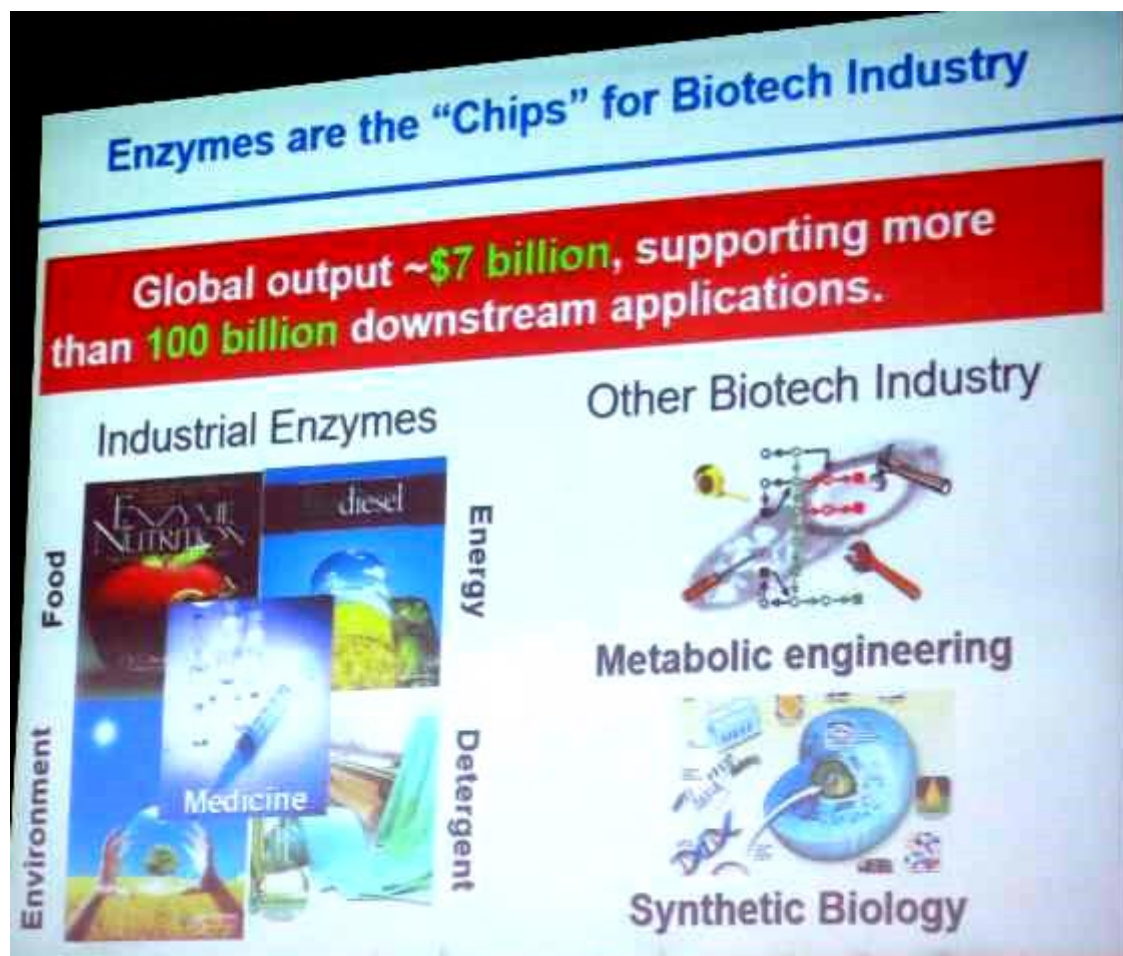
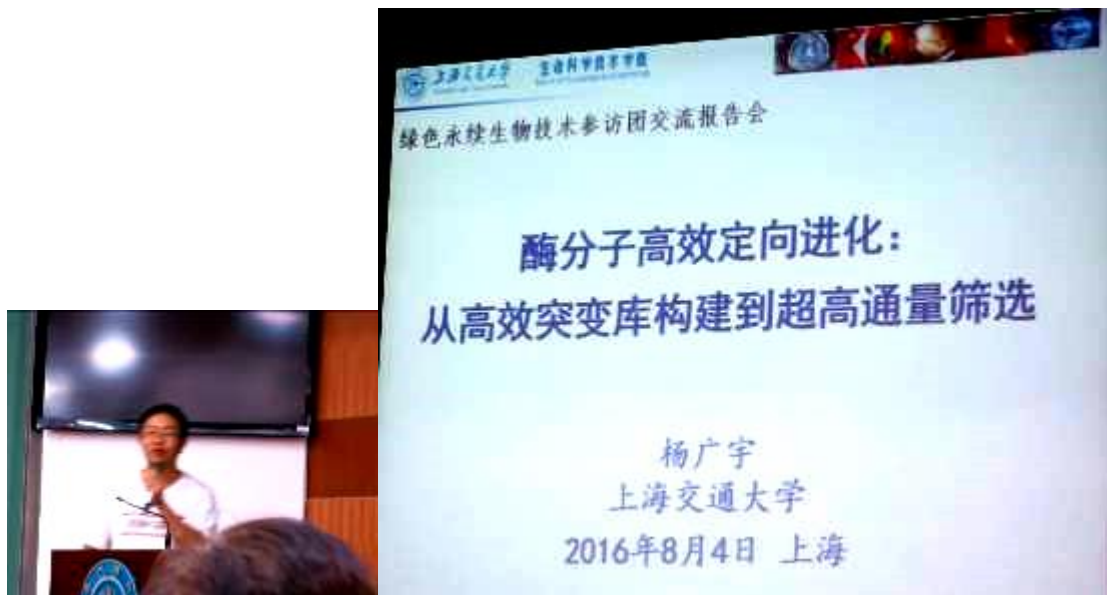


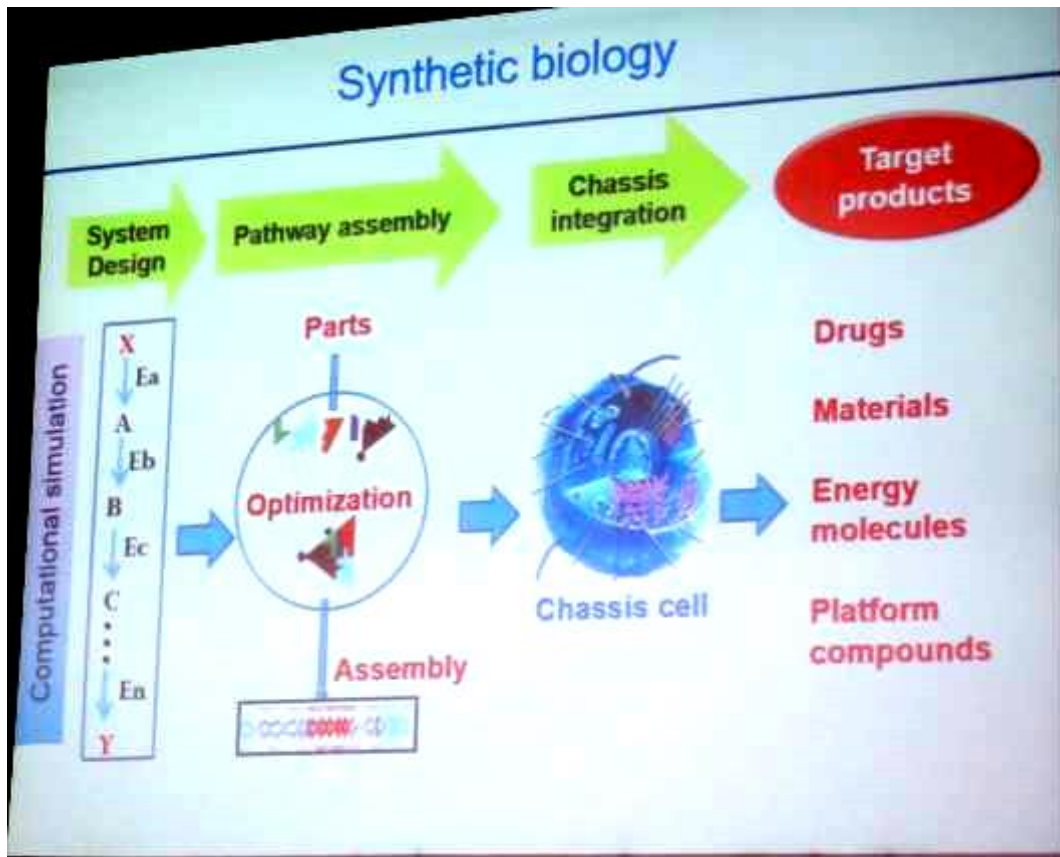
## 总结及展望

- 合成大分子量蛛丝蛋白是数亿年进化的结果，也是生物制造与天然媲美人工丝的必然选择。
- 代谢与发酵工程组合策略可显著提升生产水平（3.6 g/L），进一步研究工程菌发酵过程的系统代谢调控机制是实现高效生物制造（10g/L或更高）的必由之路。
- 解析蜘蛛丝蛋白功能结构域，可为合成生物学构建新型生物材料提供功能元件。



楊廣宇教授以酵素定向演化及合成生物學來說明主題，舉例說明定向演化實例人蔘皂甘 Rh2 合成。





## Enzyme Engineering

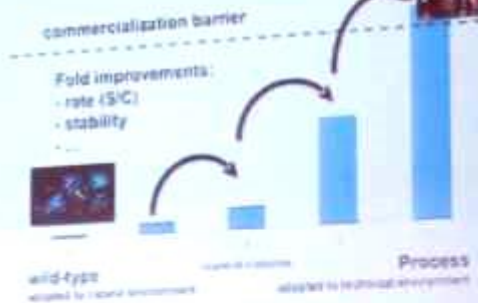
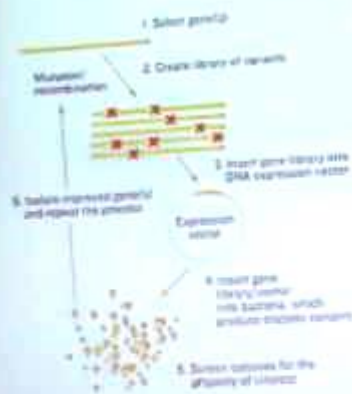
Enzyme	Method	Results
Esterase (apAPH)	Directed evolution Semi-rational Rational	Activity increase <b>30-fold</b> Specificity change <b>48-fold</b> Enhanced organic solvent tolerance
Protease	Computer aid design	Activity increase <b>10-fold</b>
Phosphotriesterase	Rational Semi-rational	Activity increase <b>70-fold</b>
Glycosyltransferases	Directed evolution	Activity increase <b>300-fold</b>
Lipase (Lip1)	Semi-rational	Optimal temperature increase <b>32°C</b>
Lipase (CALB)	Semi-rational	Thermostability at 50°C increase <b>13-fold</b>
Lipase (FnLip1)	Rational	Thermostability at 75°C increase <b>5-fold</b> Activity increase <b>2.3-fold</b>
Cellulase	Rational	Create new <b>reactivity</b>
Esterase (AFEST)	Semi-rational	Sensitivity to inhibitor increase <b>4.6-fold</b>

*J Biol Chem.* 2014, 289(11):7994-8006.  
*Appl Environ Microbiol.* 2012, 78, 6647;  
*J. Am. Chem. Soc.,* 2010, 132, 10570;

*PLoS One.* 2014, 9(2):e89785.  
*Process Biochem,* 2012, 47, 2219  
*J. Biol. Chem.* 2012, 87(35):29568

## Directed evolution as a powerful tool for redesigning the catalytic units

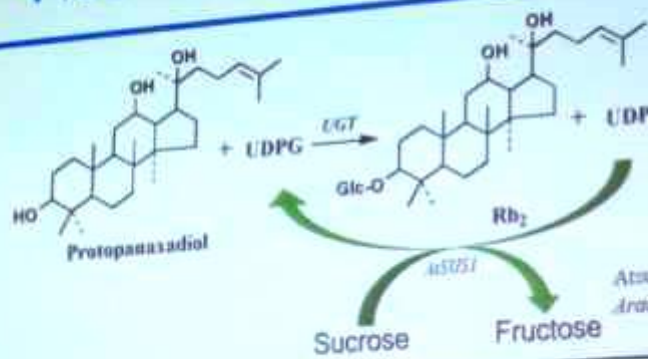
Directed evolution mimics the process of natural evolution, has been proved highly successful in improving a range of properties of enzymes.



Activity  
Specificity  
Solubility  
Stability  
Stereoselectivity  
.....

Fig. 1.1. The principles of directed evolution

## Production of ginsenoside Rh2 *in vitro*



Atsus1: sucrose synthase 1 from *Arabidopsis thaliana*

Synthesis of Rh2 *in vitro*

PPD:UDPG*	Yield (%)
1:1	71.9
1:2	86.3
1:10	94.1

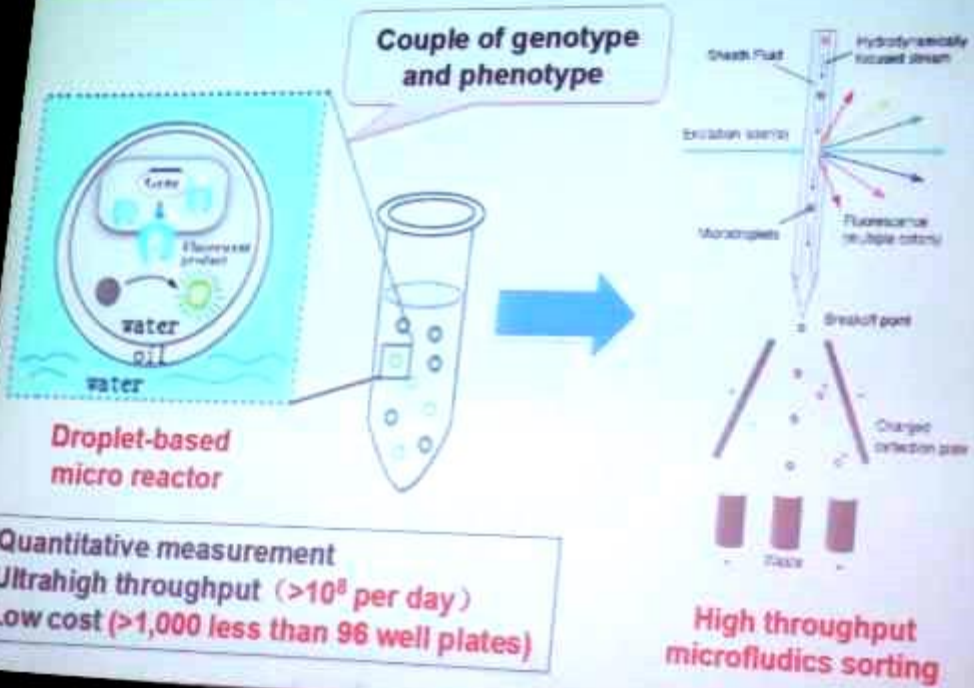
\* The molar ratio of PPD and UDPG  
The yield was determined in four hours

Synthesis of Rh2 by UDP-glucose regeneration *in situ* using AtSUS1

PPD:UDPG	Yield (%)
1:1	95.0
1:2	96.3
1:10	98.1



## Fluorescence-Activated Droplet Sorting (FADS)



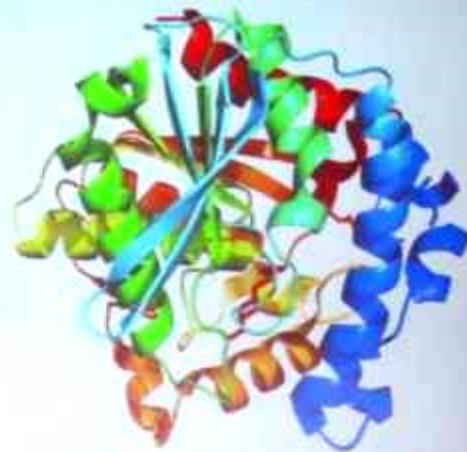
## hyperthermophilic esterase AFEST

From thermophilic archaea  
*Archeoglobus fulgidus*

Highly thermostable,  
( $T_{opt}=85\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{1/2}=9\text{ h}$  at  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

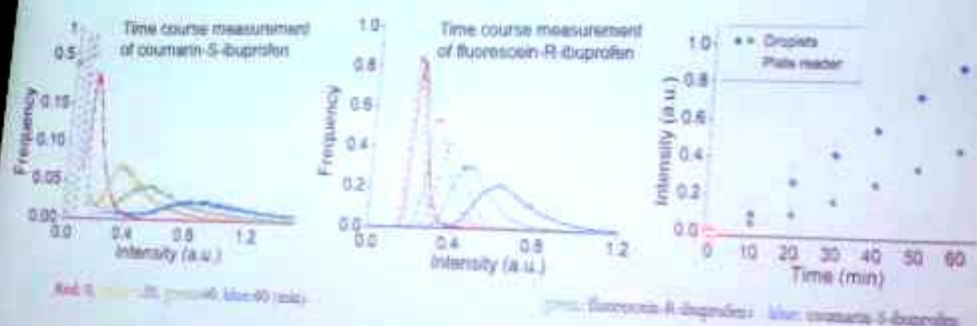
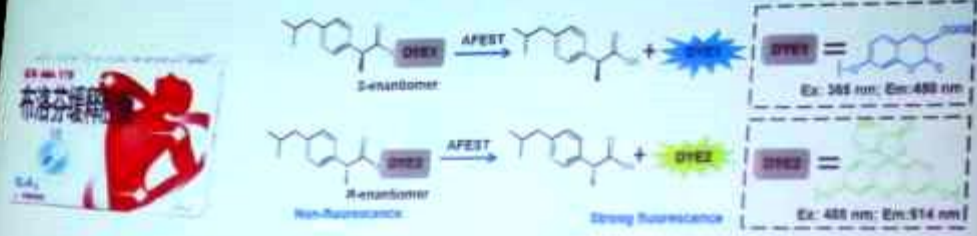
High expression  
(3.2g/24h in *E.coli*)

Much higher activity than CALB  
( $>130$  fold for ibuprofen)



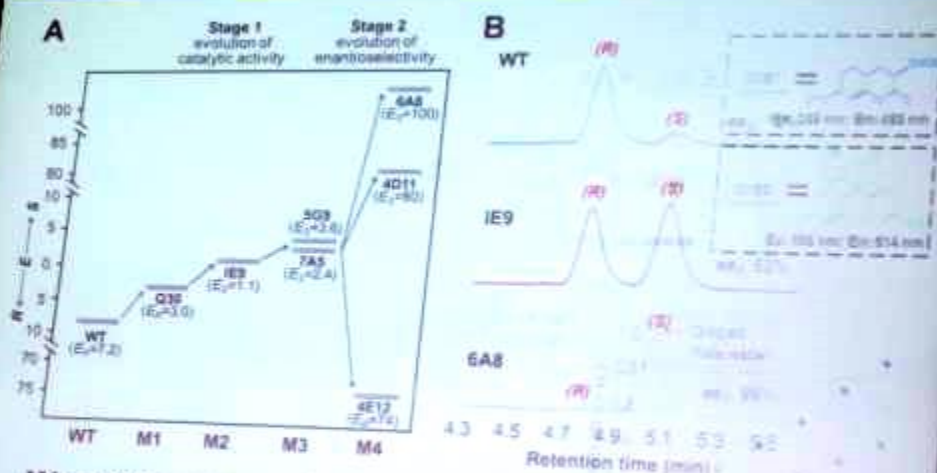
AFEST

# Directed evolution of an esterase for chiral resolution of profens



Ma & Yang, et. al. unpublished

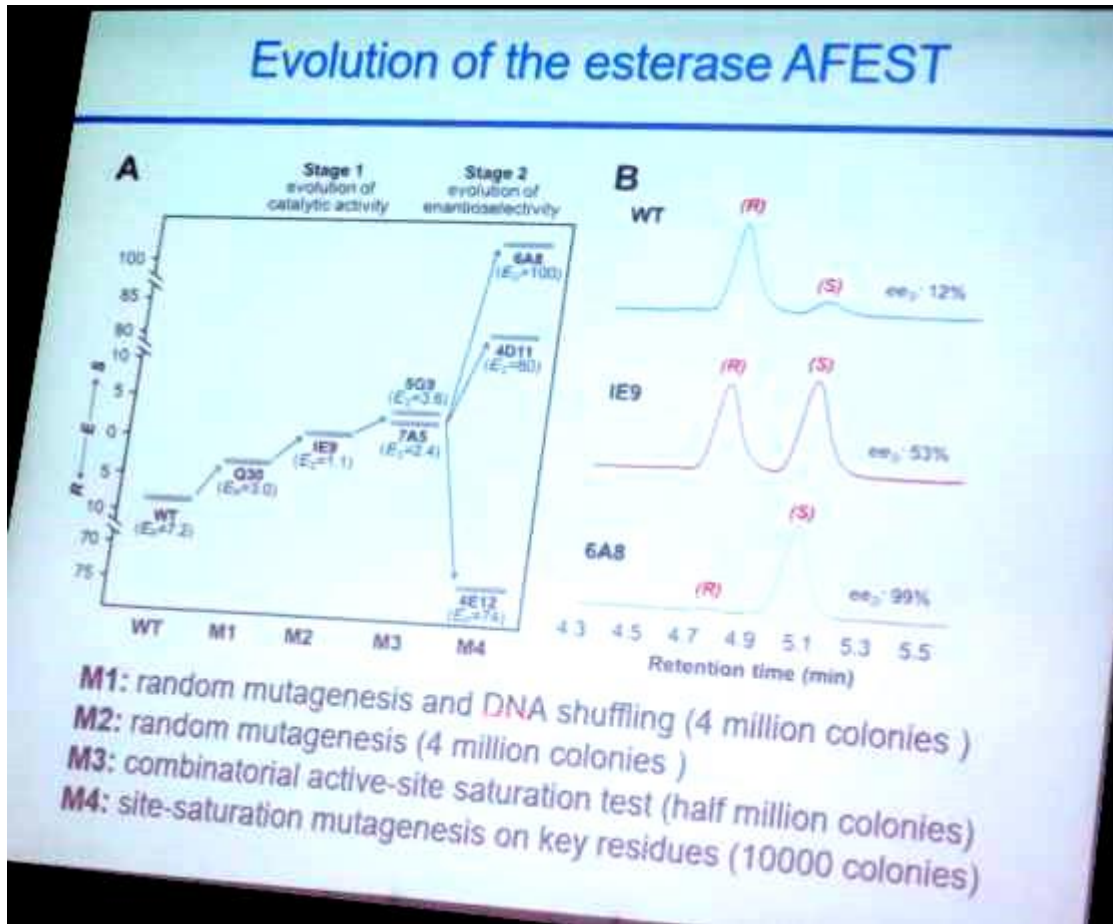
# Evolution of the esterase AFEST



- M1: random mutagenesis and DNA shuffling (4 million colonies)
- M2: random mutagenesis (4 million colonies)
- M3: combinatorial active-site saturation test (half million colonies)
- M4: site-saturation mutagenesis on key residues (10000 colonies)

Ma & Yang, et. al. unpublished





提出微流體晶片篩選機制針對酵素反應產物 R、L 型態快速分析 (配合不同產物結合不同螢光 可快速篩選)，並應用於 esterase 酵素定向演化改造，篩選點突變後酵素分析酵素轉化產物之專一性是否產生，目標為產生專一性產物。改造後需要大量反應物 UDPG 其透過阿拉伯芥 sucrose synthase 酵素，將 UDP 與 Sucrose 反應產生 UDPG，節省成本。

白鳳武教授演講

Welcoming Workshop for  
Professors from Taiwan  
4<sup>th</sup> August, 2016, Shanghai



### Biorefinery: Challenges and strategies for solutions

When flocculated, microbial cells can be immobilized within bioreactors without consumption of any supporting materials for high cell densities to improve productivities, and their tolerance to various stresses for producing aimed products at high titers.



Distinguished Professor, Fengwu Bai  
Shanghai Jiao Tong University  
School of Life Science and Biotechnology  
Email: [fwbai@sjtu.edu.cn](mailto:fwbai@sjtu.edu.cn)



## 上海交通大學

SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY

- 1896: Nanyang Public school
- 1949: National Chiao Tung University
- 1957: Jiao Tung University in Shanghai
- 1959: Shanghai Jiao Tong University

In 2015 (2 campus in Minhang and Xuhui)

- 28 Schools
- Full time undergraduates: 16188
- Full time graduates: 13841
- PhD graduates: 6501
- Faculties: 2793
- Full Professors: 890
- Member of CAS: 22; Member of CAE: 24

2

# 1. Background

China's oil consumption and supply (Mt)

Calendar year	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Total oil consumption	291	299	322	346	369	408	423	460	478	487
Domestic production	174	180	184	187	180	189	184	209	207	205
Imported	117	119	138	159	189	219	239	251	271	282
Dependence on foreign oil (%)	40.2	39.8	42.8	46.0	51.3	53.6	56.6	54.5	56.6	57.9



Everyday, 2-3 tankers, each with a shipping volume of 300, 000 tons, are transporting crude oil to feed the thirsty refineries !

3



10-12% ethanol in fermentation by yeast from conventional feedstocks



5-6% ethanol produced from lignocellulosic biomass

Advanced biofuel butanol: ABE in total ~2% in which 60-70% is butanol



Why cells immobilized by supporting materials are not suitable for production of biofuels and other bulk commodities?

**Scientifically:**

- The growth of cells can be seriously compromised
- Growing cells are difficult to be removed from the systems
- Mass transfer limitation on substrate and product as well

**Economically:**

- Consumption of supporting materials
- Preparation of immobilized cells in mass quantity
- Contamination to the quality of byproducts like biomass

11

**High gravity fermentations**

- **Product recovery**
- **Pretreatment, fermentation, ....**
- **Waste treatment with reduced discharge**

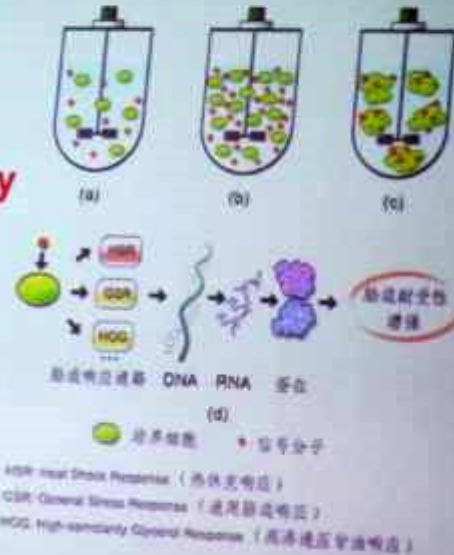
**Microbial physiological limitations**

- **Inhibition from elevated concentrations of products and byproducts**

## Engineering microbes with flocculating phenotype for cell immobilization without any supporting materials

- High cell density
- Enhanced stress tolerance
- Cost-effective biomass recovery

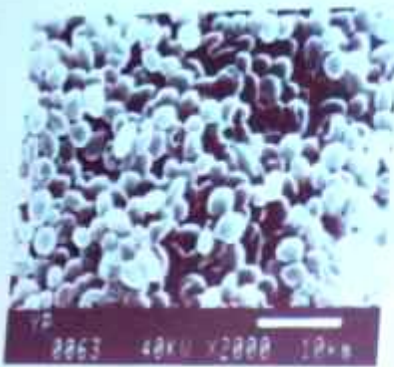
Hypothesis for stress tolerance improvement associated with cell flocculation



## 4. Case studies

### Case 1: Ethanol fermentation by self-immobilized yeast

#### 1.1. Strain development



(a) Morphology observed under SEM



(b) Shaker flask culture

Fig. 1.1. The flocculating yeast developed by the protoplast fusion technology

## 1.2. Bioreactor configurations

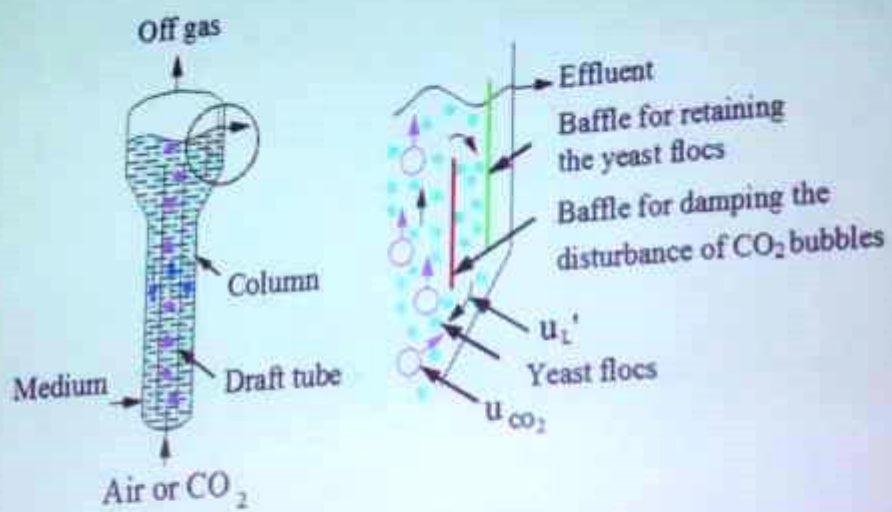


Fig. 1.2. Bioreactor developed for continuous ethanol fermentation by the flocculating yeast.

15



Fig. 1.3. Continuous ethanol fermentation by the flocculating yeast. Enzymatic hydrolysate of corn meal containing 220 g/L total sugars was fed into the system at 0.05 h<sup>-1</sup>.

Lab scale



#### 1.4. Pilot plant



- Medium, corn sugar:  $210 \pm 10$  g/L
- Dilution rate:  $0.05 \text{ h}^{-1}$
- Working volume of bioreactor:  $100 \text{ m}^3$
- Ethanol concentration:  $12.5 \pm 0.5\%$  (v/v)
- Residual reducing sugar:  $\leq 0.1\%$  (w/v)
- Residual total sugar:  $\leq 0.2\%$  (w/v)
- Ethanol productivity:  $4\text{--}5 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$
- Production capacity:  $\sim 40 \text{ t(EtOH) d}^{-1}$
- Yeast recovered by self-sedimentation
- Duration of running:  $\sim 12$  months

Fig. 1.4. Pilot plant of continuous ethanol fermentation by the flocculating yeast.



Commercial ethanol production by the flocculating yeast (200, 000 t/y).

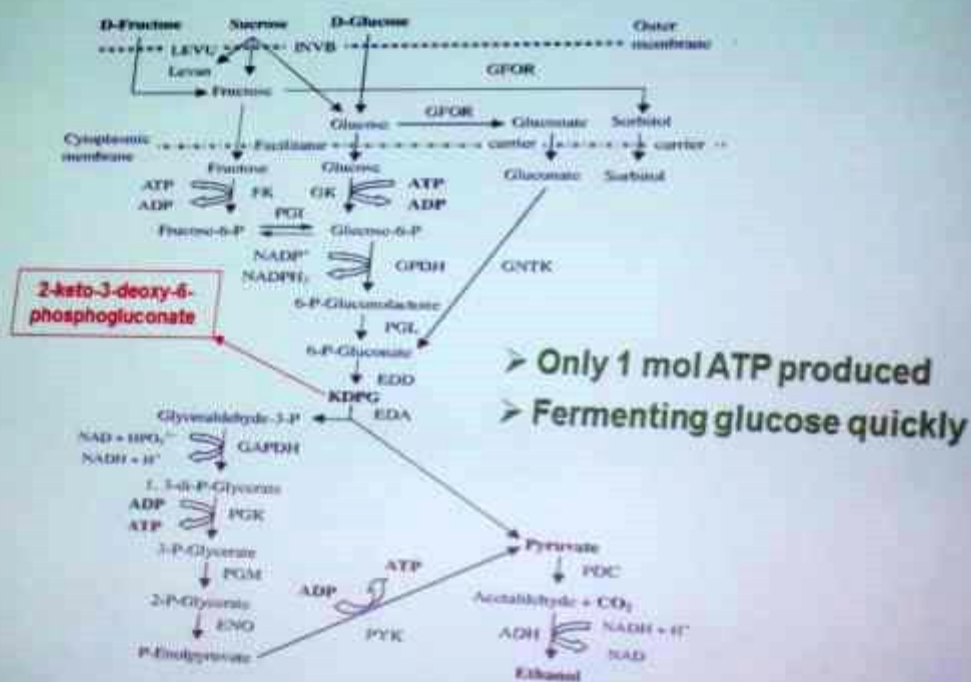
## 1.6. Stress tolerance (III): Glycerol production

Table 1.2 Impact of yeast floc size on glycerol production

Yeast floc size ( $\mu\text{m}$ )	Ethanol (g/L)	Biomass (g/L)	Ethanol yield	Glycerol (g/L)
100	88.0 $\pm$ 2.0	23.7 $\pm$ 1.2	0.408 $\pm$ 0.019	4.8 $\pm$ 0.2
200	104.0 $\pm$ 2.5	26.8 $\pm$ 1.1	0.437 $\pm$ 0.011	4.8 $\pm$ 0.2
300	110.0 $\pm$ 3.0	28.0 $\pm$ 1.4	0.448 $\pm$ 0.012	4.0 $\pm$ 0.1

Source: Xue, et al. 2010. Biotechnol Bioeng 105: 935-944.

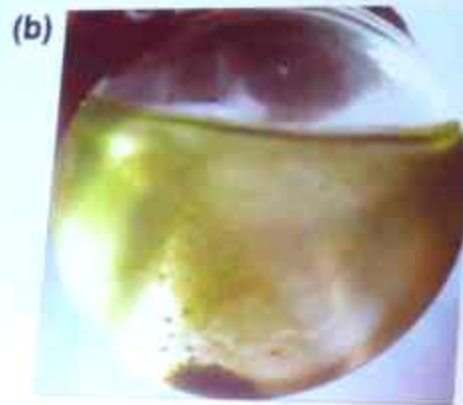
## Case 2: The self-flocculation of *Zymomonas mobilis*





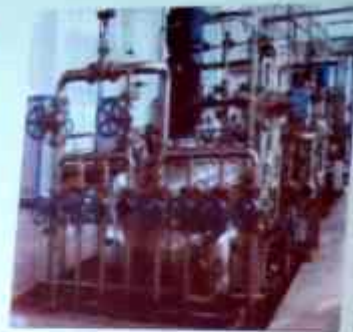
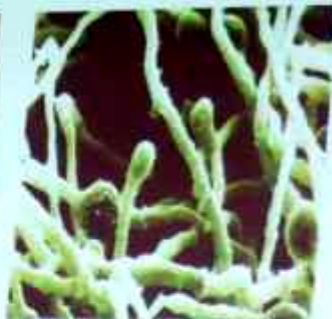
### Case 3:

Engineering microalgae with the yeast *FLO* gene for the flocculating phenotype for biomass recovery



3.1. The wild-type microalga *Scenedesmus obliquus* (a) and engineered with the yeast *FLO* gene (b) (unpublished).

### *T. reesei* Rut C30: Hyper-cellulase producer



Growing slowly → very long culture time

Non-Newtonian fluid → mixing difficulties

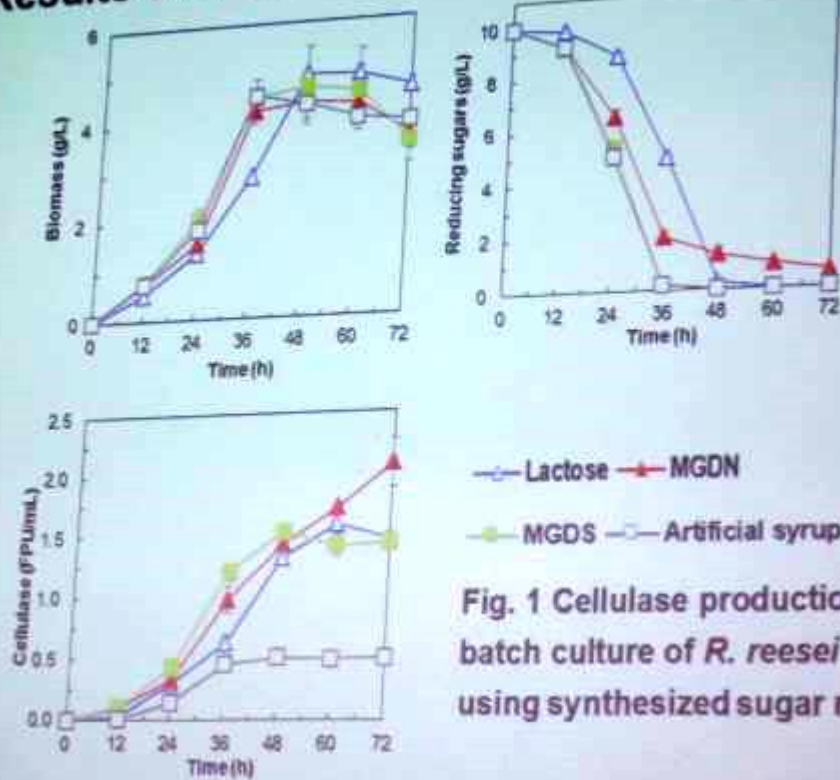
Aerobic → high aeration rate

- Intensive capital investment and energy consumption
- Cellulase production: Inducible

**Table 1 Cellulase production by *T. reesei* with different inducers and culture systems**

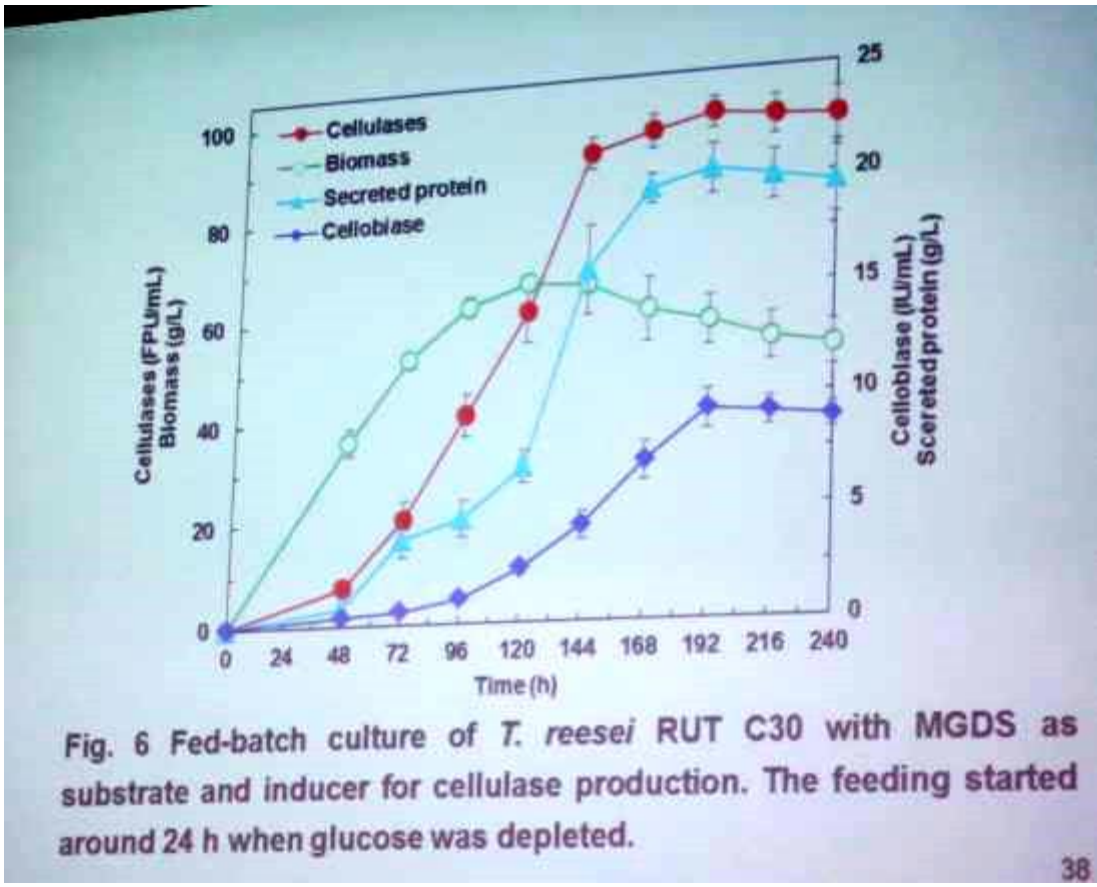
Strain/culture system	Inducer/carbon source	Culture time (h)	Cellulase titer (FPU/mL)	Productivity (FPU/L/h)	Reference
<i>T. reesei</i> RCT C30 fed-batch culture	252 g/L cellulose from hardwood pulp	284	57.0	201.0	Hendy et al. (1984)
Mutant from <i>T. reesei</i> RCT C30 fed-batch culture	70 g/L microcrystalline cellulose	160	22.7	142.0	Ma et al. (2013)
<i>T. reesei</i> RCT C30 batch culture	75 g/L Sojia Floe BW200	192	8.4	44.0	Hendy et al. (1984)
<i>T. reesei</i> RCT C30 fed-batch culture	Totally 150 g/L Sojia Floe BW200	288	30.4	106.0	Hendy et al. (1984)
<i>T. reesei</i> RCT C30 fed-batch culture	33.3 g/L cellulose, 150 g/L lactose and 1 g/L lactobionic acid	120	17.0	141.6	Ahamed and Vermette (2010)
<i>T. reesei</i> C-5 batch culture	40 g/L lactose	80	2.8	31.5	Chaudhuri and Sahai (1993)
<i>T. reesei</i> RCT C30 batch culture	15 g/L lactose and 40 g/L glucose	150	4.5	38.0	Domingues et al. (2001)
<i>T. reesei</i> MCG 80 continuous culture	Feeding 80 g/L lactose at $0.028 \text{ h}^{-1}$	35.7	6.0	168.0	Allen and Andreotti (1982)
<i>T. reesei</i> RCT C30 fed-batch culture	489.1 mL/L MGDS synthesized from 287.5 g/L glucose	144	90.3	627.1	Our study

## Results and Discussion

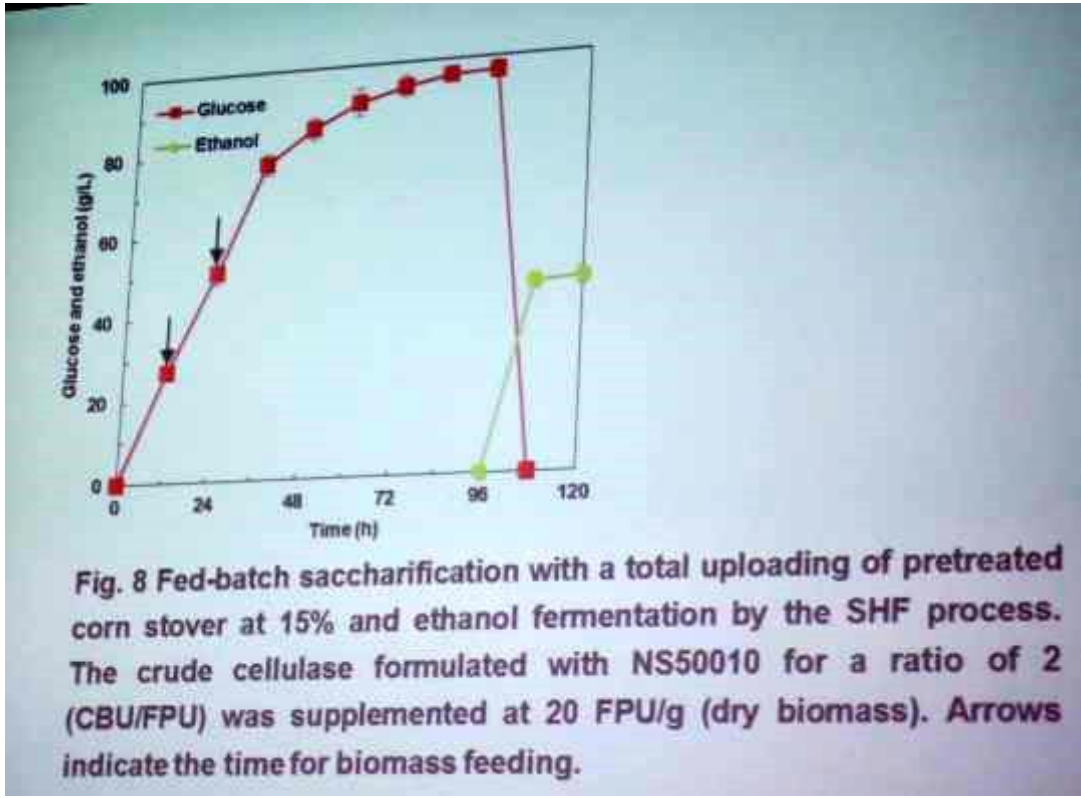


**Fig. 1 Cellulase production by the batch culture of *R. reesei* Rut C30 using synthesized sugar mixture.**

33



38





白鳳武教授演講針對能耗及廢水處理說明質疑點，水比例高，解決方法為固定化酵素概念，雖經常被提及，但是未有落實商業化案例，固定化未有成功者；固定化細胞也有長不好，質傳不佳問題。酵母菌飼料作為副產品使用時，固定化介質不易分離處理，由科學面及經濟面分析固定化不可行。

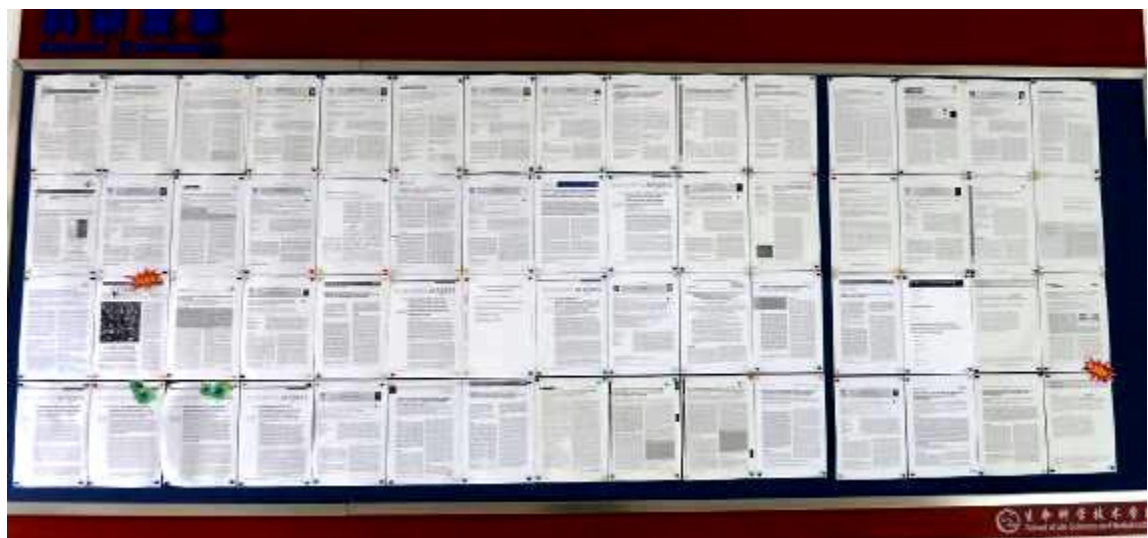
白鳳武教授利用凝絮(flocculation)性特性來克服上述難題，當細胞密度高時會產生凝絮現象。現已經掌握凝絮現象機制，利用原生質融合法帶入凝絮特性。

設計類似 AIR LIFTING 方式來發酵生產酒精，通氣量控制菌體不生沉降為原則，發酵過程二氧化碳與環流相配合(fig. 1.2)，此設計放大至 1,000 噸(安徽省；fig. 1.4) 仍具有競爭力，再於安徽建立 200,000 t/y 工廠(見圖片)。

凝絮性顆粒大小也是關鍵，也提高及影響酒精耐受性，其改良 *Z. mobilis* (case 2)及微藻具有凝絮性(fig. 3.1)

*T. reesei* RUT C-30 發酵液生產 cellulases 90.3FPU/mL(fig. 6)，該技術論文已被接受，其利用 beta-glucosidase 將 glucose 聚合，作為 *T. reesei* RUT C-30 發酵誘導基質，培養就可以達成，相當獨特的想法。

## 參訪校園及實驗室





# 工业微生物与生物过程工程研究室

## Industrial Microbiology and Bioprocess Engineering (IMBE)

### 一、概述 (Overview)

我们研究工作的重点是改造或构建生产性能优良的微生物菌株，研究开发生物过程工程创新技术，基于环境友好且资源丰富的生物质资源，通过生物炼制技术路线生产生物燃料和生物基化学品，服务于经济和社会的可持续发展，体现了基础研究和新技术开发的结合及上游生物科学进展与下游化学工程技术的高度交叉。

Our focus is to develop robust microbial strains and bioprocess engineering strategies to produce biofuels and bio-based chemicals from biomass through biorefinery for sustainable socio-economic development, which comprises scientific fundamentals and technological innovations highlighted by the interdisciplinary research of upstream biological sciences and downstream chemical engineering principles.

### 二、研究背景及意义 (Research Background and Significance)

生物转化过程生产强度低和产物浓度低的问题突出，不仅导致装置投资大，而且下游产品分离能耗高并产生大量废水。自絮凝细胞可以在反应器中固定化获得高密度并提高生产强度，同时强化细菌群体效应和环境胁迫耐受性，特别是高浓度产物抑制的耐受性。研究工作分别以自絮凝酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 和运动单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) 为真核和原核微生物模式体系，揭示细胞自絮凝及导致环境胁迫耐受性增强分子机制，为构建高效菌株及强化生物转化过程奠定科学基础。

Low productivities and product titers are drawbacks of bioconversions with microbial cells, which not only require more capital investment on production facilities, but also make product recovery very energy-intensive with large amount of wastewater discharged. When self-flocculated cells can be immobilized within bioreactors for high densities to improve productivities, and most importantly their tolerance to environmental stresses could be enhanced, particularly to inhibition from high titer products. Taking the self-flocculating *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* as model systems for eukaryotic and prokaryotic microbial cells, molecular mechanisms underlying these phenomena are being explored for developing platforms to engineer other microbial cells for more efficient production of biofuels and bio-based chem.



Fig. 1. Flocculation of *S. cerevisiae*.

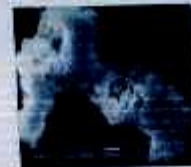


Fig. 2. Flocculation of *Z. mobilis*.

### 三、科学假说及基础研究 (Scientific Hypothesis for Basic Research)

针对细胞自絮凝导致环境胁迫感知环境胁迫后分泌信号分子总量增加，生物生产条件下一般无法达到；(c) 絮凝不仅是细胞间生物大分子前体中的浓度达到细菌细胞条件下的效应得以强化，细胞环境胁迫响应效。这一假说奠定了开展微生物细胞转化体系前体性基础研究的科学基础。

To elucidate the mechanism underlying stress tolerance improvement associated with the self-flocculation of microbial cells, we hypothesize: (a) signal molecules released by microbial cells under stressful conditions are not enough for thresholds within bioreactors to trigger quorum sensing when cell density is low; (b) more signal molecules are produced under high cell density conditions for thresholds to trigger quorum sensing; (c) flocculation is the limit for high cell density, which would not only make signal molecules accumulated within flocs for high concentrations to thresholds, but also their transport among cells more efficient to trigger quorum sensing and stress response. This hypothesis leads to fundamental research for various bioconversion systems.

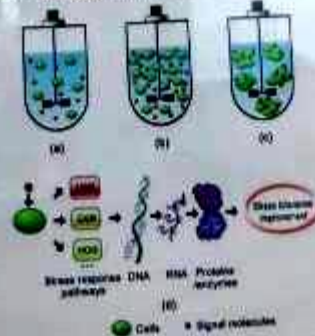


Fig. 3. Hypothesis for enhanced quorum sensing associated with the self-flocculation of cells.

微生物代谢国家重点实验室





#### 四、技术创新 (Technological Innovations)

针对木质纤维素类生物质生物炼制过程的瓶颈环节，技术创新主要包括：低能耗高效预处理，纤维素酶及其低成本生产，混合糖发酵菌株构建，同步糖化/分步水解共发酵工艺等。在此基础上，进行单元集成和系统优化，分析技术经济指标和生命周期过程。研究工作总体技术路线如图4所示。

Technical innovations are to debottleneck the process of biomass biorefinery, including energy-efficient pretreatment, tailored cellulases and low-cost production, development of robust strains for co-fermentation of mixed sugars, simultaneous saccharification/separate hydrolysis and co-fermentation (SSCF/SHCF). Furthermore, unit operations will be integrated for system optimization, and techno-economic analysis and life cycle evaluation will be performed for the process and products. The roadmap is highlighted in Fig. 4.

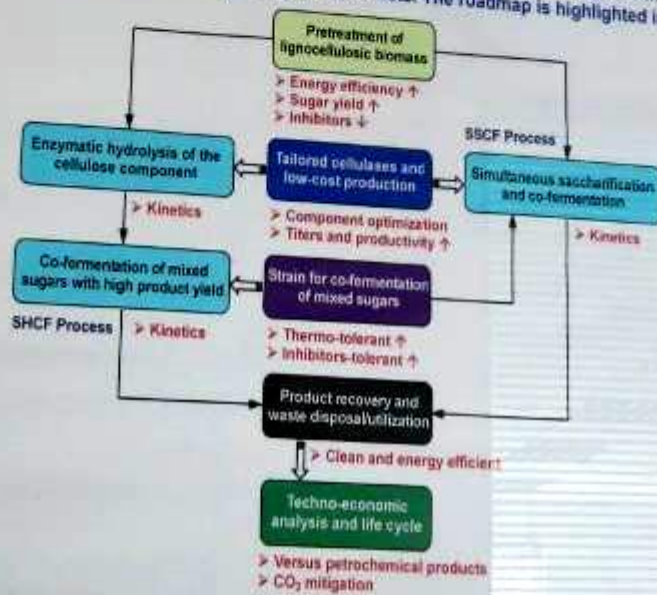


Fig. 4. Roadmap for the biorefinery of lignocellulosic biomass and bottlenecks to be addressed.

#### 五、创新技术成果及产业化 (Novel Technologies and Commercialization)

选育了乙醇发酵性能优良的自絮凝酵母菌株，研究开发了自固定化酵母细胞乙醇发酵新技术，在万吨基础上建设了年产乙醇40万吨的连续发酵装置，乙醇浓度平均达到13.5%条件下，发酵时间由传统乙醇发酵工缩短到20-30 h。此外，乙醇发酵过程增殖的酵母从发酵液中自沉降分离，节省了离心机的设备投资和运行

Continuous ethanol fermentation with the self-flocculating *S. cerevisiae* was developed, and the pilot plant with an ethanol production capacity of 10,000 t/y was established to validate the process, which was further scaled up for commercial ethanol production (400,000 t/y) at COFCO-BBCA, through which 13.5% ethanol is being produced with an average fermentation time of 20-30 h compared to that of 60-70 h with ethanol fermentation by regular *S. cerevisiae* and fermentation process. Moreover, yeast biomass was recovered by sedimentation instead of centrifugation.

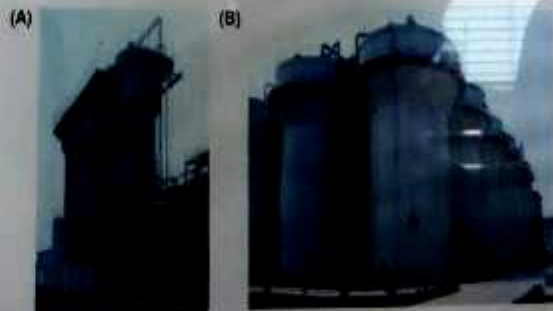


Fig. 5. Pilot plant (A) and commercial production (B) of ethanol by the flocculating *S. cerevisiae* at COFCO-BBCA.





## 六、主要科研项目 (Major Research Grants)

### 1、国家自然科学基金重点项目

#### Key Project of the Natural Science Foundation of China (NSFC)

项目名称: 优化细胞自絮凝强化生物炼制生产强度和产物浓度及生物量低成本采收

实施期限: 2016年01月-2020年12月

主要内容: 以乙醇发酵性能优良自絮凝酿酒酵母和运动发酵单胞菌为真核和原核微生物模式体系, 解析细胞自絮凝及导致环境胁迫耐受性增强分子机制, 建立改造非絮凝菌株, 赋予可控自絮凝表型的平台技术, 在分子、细胞、群体和过程工程多尺度调控优化细胞自絮凝, 为解决生物炼制过程生产强度低和产物浓度低及微藻大规模培养后采收成本突出问题创新技术开发奠定科学基础。

Title: Optimization of the self-flocculation of microbial cells to improve productivities and product titers as well as for cost-effective biomass recovery with biorefinery; Duration: January 2016–December 2020.

Summary: In this project, the self-flocculating *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* for ethanol fermentation are selected as model systems for eukaryotic and prokaryotic microbes, and molecular mechanisms underlying their self-flocculation and enhanced tolerance to environmental stresses associated with the morphological change will be investigated. Genes responsible for the self-flocculation of microbial cells will be mined from the genomes with functional *FLO* genes identified, and their expression and regulation controlled at genetic and epigenetic levels will be further elucidated for genetic manipulations. It is hypothesized that the improved tolerance of microbial cells to product inhibition and other environmental stresses is due to enhanced quorum sensing (QS), since the self-flocculation of microbial cells provides extremely high local cell density, and in the meantime creates a unique microenvironment for more efficient transport of signal molecules and signal transduction as well, which will be examined experimentally by identifying signal molecules that mediate the QS process and stress response. At the end, platforms for engineering microbial/microalgal cells with the self-flocculating phenotype will be established, which would lay a foundation for developing novel technologies to improve productivities and product titers as well as harvesting microalgae cost-effectively as the potential feedstock for biorefinery.

### 2、国家自然科学基金国际(组织间)合作重点项目

#### Major International/Regional Joint Research Project of NSFC

项目名称: 基于中泰农业及加工废弃物生产燃料乙醇基础研究和关键技术

实施期限: 2015年10月-2018年09月

主要内容: 以中泰资源丰富的玉米秸秆和棕榈加工废弃物为原料, 针对其物理和化学性质, 合作研究原料预处理、纤维素酶生产、纤维素组分酶水解及混合糖发酵等过程关键科学问题及技术, 并进行单元集成和系统优化。进而, 基于物质和能量平衡对生产过程进行技术经济分析, 从二氧化碳减排角度对包括原料生产与采收、加工转化及产品使用的第二代燃料乙醇生产全过程进行生命周期评价, 预期取得的进展, 可以为中泰发展具有资源特色的第二代燃料乙醇生产新技术并制定相关政策奠定基础。

Title: Fundamentals and novel technologies for bioethanol production from agricultural and agro-industrial residues in China and Thailand; Duration: October 2015–September 2018.

Summary: In this project, corn stover and palm waste that are abundantly available in China and Thailand will be selected as feedstocks for producing the 2G fuel ethanol. Under the collaboration of scientists and researchers with different background from China and Thailand, fundamentals with the process will be addressed, and novel technologies for biomass pretreatment, cellulases production, enzymatic hydrolysis of the cellulose component and co-fermentation of the C5 and C6 sugars will be developed based on the physical and chemical properties of the feedstocks. These unit operations will be further integrated into complete production systems, and optimized at systematic levels to improve ethanol production yield as well as to save energy consumption. Moreover, techno-economic analysis will be performed with the processes from the viewpoint of mass and energy balance, and the life cycle of the 2G fuel ethanol from feedstock production and logistics, processing and conversion to product delivery and usage will be assessed to evaluate its environmental benefit in the reduction of greenhouse gas emissions. The progress will not only provide scientific and technical support for producing the 2G fuel ethanol from corn stover and palm waste in China and Thailand, but also lay a solid foundation for the governments to develop policies for the industry.



# 工业微生物与生物过程工程研究室

## Industrial Microbiology and Bioprocess Engineering (IMBE)

### 七. 教授 (Prof. Dr. Xing-Qin Zhao)



2006年在韩国明知大学获得理学博士学位, 2007-2009年获得洪堡基金会资助, 在德国蒂宾根大学进行博士后研究。长期从事工业微生物应用基础研究, 主持国家自然科学基金面上项目、国际合作交流和研究项目及国家863项目等研究工作并取得良好进展, 发表论文100多篇, 2011年入选教育部新世纪优秀人才, 2015年获得日本生物工程学会颁发的亚洲青年生物工程学者奖。

Prof. Xinqing Zhao received her PhD Degree at Myongji University, South Korea in 2006, and worked at the University of Tuebingen, Germany as a postdoctoral fellow supported by Alexander von Humboldt Foundation from 2007 to 2009. Her research mainly focuses on development of industrial microorganisms by metabolic engineering, and she has been the principle investigator for projects sponsored by Natural Science Foundation of China and the National High-Tech R&D Program of China. She was awarded the New Century Excellent Talents in 2011 by the Ministry of Education, China, and the Young Asian Biotechnologist Prize in 2015 by the Society for Biotechnology, Japan.

### 主要研究方向 (Research Interests)

1. 酵母絮凝分子机理及遗传调控  
Molecular mechanisms of yeast flocculation and genetic regulation
2. 酿酒酵母环境胁迫耐性的分子机理及耐性菌株选育  
Molecular mechanisms of yeast stress tolerance and development of stress-tolerant strains
3. 丝状真菌及微藻的代谢工程改造  
Metabolic engineering of filamentous fungi and microalgae

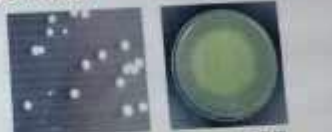
### 代表性研究成果 (Scientific Contributions)

1. 酿酒酵母细胞絮凝的遗传调控及絮凝提高微生物胁迫耐受性的机理  
Genetic control of yeast cell flocculation and mechanisms of improved microbial stress tolerance by cell flocculation  
利用胁迫响应基因启动子控制酿酒酵母絮凝, 实现絮凝的动态调控, 提高酵母细胞生长速率, 并研究细胞絮凝提高酵母菌环境胁迫耐受性的机理。
2. 解析酵母细胞锌状态影响环境胁迫耐受性的分子机理  
Elucidation of the impact of zinc status on yeast stress tolerance and metabolic engineering of yeast using zinc-responsive genes  
解析细胞胁迫影响酿酒酵母环境胁迫耐受性的分子机理, 并利用转录组学和代谢组学分析发现关键锌响应基因, 进而进行代谢工程改造。

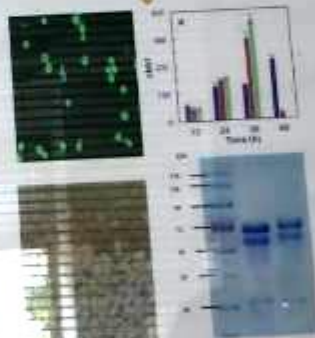
### 英文 Selected Publication

1. Zhao XQ\*, Xiong L, Zhang MM, Bai FW, Liwardo et al. Efficient ethanol production from agricultural and forestry residues: exploration of natural microorganisms in combination with advanced strain engineering. *Bioresource Technology* 2016, 215: 84-91.
2. Zhang MM, Zhao XQ\*, Cheng C, Bai FW. Improved growth and ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of acetic acid by overexpression of *SET5* and *PPR1*. *Biotechnology Journal* 2015, 10(12): 1903-1911.
3. Ma C, Wei XW, Sun CH, Zhang F, Xu JR, Zhao XQ\*, Bai FW. Improvement of acetic acid tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* using a zinc-finger-based artificial transcription factor and identification of novel genes involved in acetic acid tolerance. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2015, 99(5): 2441-2449.
4. He LY, Zhao XQ\*, Bai FW\*. Identification and functional study of a new *FLO10*-derivative gene from the industrial flocculating yeast SPSC01. *Applied Energy* 2012, 100: 33-40.
5. Li Q, Zhao XQ\*, Zhang QM, Bai FW\*. Ethanol-induced yeast flocculation directed by the promoter of *TPS1* encoding trehalose-6-phosphate synthase 1 for efficient ethanol production. *Metabolic Engineering* 2012, 14: 1-8.

### 技术路线 (Research Roadmap)



工业微生物如酵母菌, 丝状真菌及微藻等  
Industrial microorganisms such as yeast, filamentous fungi and microalgae, etc.



关键基因鉴别、改造及微生物菌株选育  
Identification of key genes and their manipulations for strain development



生物质生物转化及生物燃料生产  
Efficient bioconversion of biomass for biofuels production

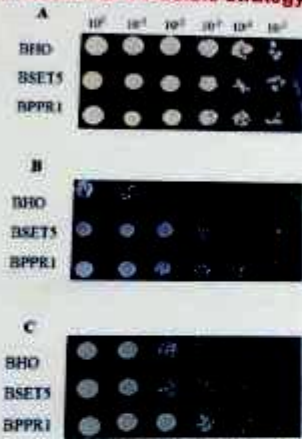
微生物代谢国家重点实验室



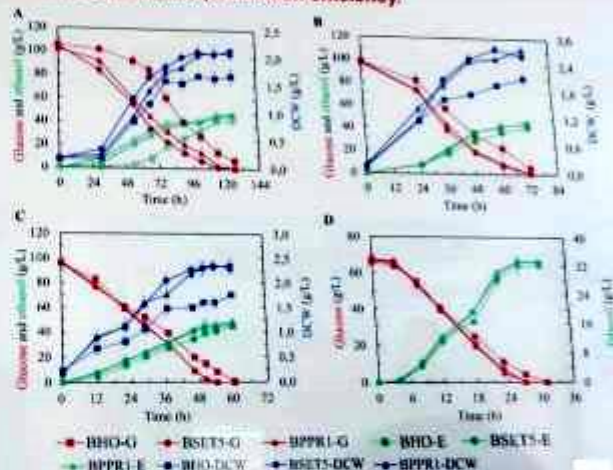


**2. Improved growth and ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of acetic acid by overexpression of *SET5* and *PPR1*** (Biotechnology Journal 2015, 210: 1-9)

*SET5* and *PPR1* which response to zinc status were overexpressed in *Saccharomyces cerevisiae* BY4741. With 5 g/L acetic acid addition, engineered strains BY4741/*SET5* and BY4741/*PPR1* showed improved growth and enhanced ethanol fermentation performance compared to that with the control strain. Similar results were also observed in ethanol production using corn stover hydrolysate. Further studies indicated that *SET5* and *PPR1* overexpression in *S. cerevisiae* significantly improved activities of antioxidant enzymes and ATP generation in the presence of acetic acid, and consequently decreased intracellular accumulation of reactive oxygen species (50.9% and 45.7%, respectively). These results indicate the novel functions of *SET5* and *PPR1* for the improvement of yeast acetic acid tolerance, and also implicate the involvement of these proteins in oxidative stress defense and energy metabolism in *S. cerevisiae*. This work highlights that overexpression of *SET5* and *PPR1* would be a feasible strategy to increase cellulosic ethanol production efficiency.



**Fig. 1.** Evaluation of stress tolerance BSET5, BPPR1 and BHO. The yeasts were cultured without external stress (A), supplemented with 5 g/L acetic acid (B) and 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (C). BHO, BSET5 and BPPR1 represent *S. cerevisiae* BY4741 engineered with the empty vector, and genes *SET5* and *PPR1*, respectively.



**Fig. 2.** Impact of *SET5* and *PPR1* overexpression on ethanol fermentation. Ethanol fermentation in flasks from YPD medium supplemented with 5 g/L acetic acid at initial pH 3.5 (A) and initial pH 4.8 (B). Ethanol fermentation in fermentor from medium supplemented with 5 g/L acetic acid and pH controlled at 4.8 (C). Ethanol fermentation performed in flasks from corn stover hydrolysate at initial pH 4.8 (D).

**Table 1.** Ethanol production performance of BSET5, BPPR1 and BHO under various conditions. Results are the mean of triplicate experiments.

Parameter	Fermentation medium						Corn stover hydrolysate		
	Flasks		Bioreactor				Flasks		
	BSET5	BPPR1	BHO	BSET5	BPPR1	BHO	BSET5	BPPR1	BHO
t (h)		72			54				27
S <sub>0</sub> (g/L)	96.5	97.9	98.0	95.7	97.4	95.6	67.4	67.2	66.0
S <sub>r</sub> (g/L)	0.47	0.59	5.23	0	0	8.20	0.01	0.38	4.34
E <sub>0</sub> (g/L)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E <sub>p</sub> (g/L)	44.4	45.0	41.3	44.9	45.8	40.9	33.30	33.28	30.09
X (g(DCW)/L)	2.61	2.76	2.12	2.33	2.37	1.59	-	-	-
q (g/L/h)	0.616	0.625	0.573	0.831	0.848	0.757	1.233	1.232	-
Y <sub>E/S</sub> (g/g)	0.460	0.459	0.421	0.469	0.470	0.427	0.494	0.495	-
Y (%)	90.0	89.8	82.3	91.8	92.0	83.6	96.7	96.7	-

t, fermentation time; S<sub>0</sub>, initial glucose; S<sub>r</sub>, residual glucose; E<sub>0</sub>, ethanol detected at the beginning; E<sub>p</sub>, ethanol produced; X, cell density; q, ethanol yield, g(ethanol)/g(glucose/sugars); Y, ethanol yield based on the theoretical value of 0.511 g(ethanol)/g(glucose).





### 八、主要研究进展 (Significant Research Progress)

#### 1. High titer and efficient cellulase production by *Trichoderma reesei* RUT C30 through batch-feeding of synthesized low-cost sugar mixture (Bioresource Technology 2016, 216: 503-510)

Cellulase is a prerequisite for the bioconversion of lignocellulosic biomass, but its high cost presents one of the biggest challenges for the biorefinery process. In this research, low-cost mixture was produced from glucose through the transglycosylation reaction catalyzed by  $\beta$ -glucosidase for cellulase overproduction by *Trichoderma reesei* RUT C30. As a result, a cellulase titer of 90.3 FPU/mL, which was more than 10 folds of that achieved with lactose as inducer, was achieved at 144 h. Meanwhile, cellulase productivity was drastically increased to 627.1 FPU/L/h, at least 3-5 folds higher than previously reported by the fungal species. The crude enzyme was further tested by hydrolyzing NaOH-pretreated corn stover with 15% solids loading, and 96.6 g/L glucose was released at 96 h, with a sugar yield of 92.6%, which was completely fermented to produce 44.8 g/L ethanol within 24 h. The progress will be commented in the Editor's Choice in Science.

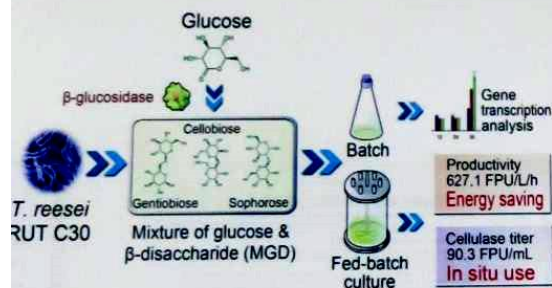


Fig. 1. Process diagram for synthesizing the low-cost mixture with glucose and  $\beta$ -disaccharides (MGD) and overproduction of cellulase by *T. reesei* RUT C30.

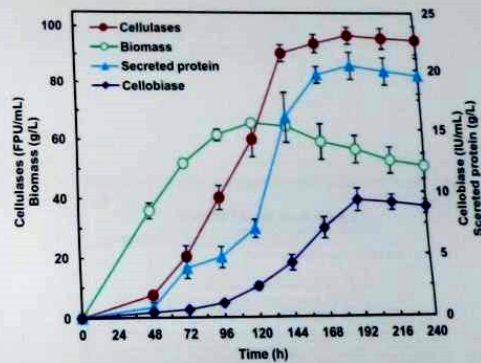


Fig. 2. Fed-batch culture of *T. reesei* RUT C30 with MGDS as substrate and inducer for cellulase over-production. Feeding started around 24 h when glucose depleted.

Table 1 Comparison of cellulase production by *T. reesei* with different inducers and culture systems

Strain and culture system	Inducer/carbon source	Fermentation time (h)	Cellulase titer (FPU/mL)	Soluble protein (mg/mL)	Productivity (FPU/L/h)	Specific cellulase activity (FPU/mg soluble protein)	References
<i>T. reesei</i> RUT C30 and fed-batch culture	489.1 mL/L MGDS synthesized from 287.5 g/L glucose	144	90.3	15.4	627.1	5.86	This study
<i>T. reesei</i> RUT C30 and batch culture	252 g/L cellulose from hardwood pulp	284 <sup>a</sup>	57.0		201.0		Hendy et al. (1984)
Strain from <i>T. reesei</i> RUT C30 and fed-batch culture	70 g/L microcrystalline cellulose	160	22.7		142.0		Ma et al. (2013)
<i>T. reesei</i> RUT C30 and batch culture	75 g/L Solka Floc BW200	192	8.4		44.0		Hendy et al. (1984)
<i>T. reesei</i> RUT C30 and batch culture	Totally 150 g/L Solka Floc BW200	288	30.4		106.0		Hendy et al. (1984)
<i>T. reesei</i> RUT C30 and batch culture with an agitator bioreactor	33.3 g/L cellulose, 150 g/L lactose and 1 g/L lactic acid	120	17.0	3.20	141.6 <sup>b</sup>	5.31	Ahamed and Vermette (2010)
<i>T. reesei</i> C-5 and batch culture	40 g/L lactose	88 <sup>a</sup>	2.8	4.31	31.5	0.65	Chaudhuri and Sahai (1993)
<i>T. reesei</i> RUT C30 and batch culture	15 g/L lactose and 40 g/L glucose	150	4.5	0.88	38.0	5.10	Domingues et al. (2001)
<i>T. reesei</i> MCG80 and continuous culture	Feeding 50 g/L lactose at 0.028 h <sup>-1</sup>	35.7	6.0		168.0		Allen and Andreotti (1982)

<sup>a</sup> culture time was calculated based on cellulase titers and productivities reported in the references. <sup>b</sup> The cellulase productivity was reported to be 200 FPU/L/h in the original paper, since the time with the lag phase was excluded from the calculation of cellulase productivity.

工业微生物与生物过程工程研究室  
Industrial Microbiology and Bioprocess Engineering (IMBE)

Dr. Muhammad Aamer Mehmood



Dr. Mehmood completed his PhD in Biotechnology from Quaid-i-Azam University Islamabad, Pakistan. During his PhD study, he had also been working in Microbial Metabolism Group of Prof. Dr. Fengping Wang at Third Institute of Oceanography, Xiamen, China, from June 2007 to July 2008. On completion of his PhD project in 2010, he joined the Department of Bioinformatics & Biotechnology, Government College University Faisalabad, Pakistan as an Assistant Professor. His research work mainly focuses on the construction of biofuel producing microbial cell factories via synthetic biology and metabolic pathway engineering. Since 2010, he has published 20 research articles in ISI-indexed peer reviewed journals and 4 book chapters.

In the year 2014-15, he was successful to win two international research grants funded by International Foundation for Science, Sweden and The World Academy of Sciences, Italy, and one National Grant funded by Higher Education Commission of Pakistan. For his contribution in the field, he has been awarded Research Productivity Award for the years of 2011, 2012 and 2014 by Pakistan Council for Science & Technology. Currently, He is working as Post-Doctoral Fellow in the research group of Prof. Dr. Fengwu Bai.

### Research Interests

Metabolic pathway engineering and use of synthetic biology to produce advanced biofuels and high value industrial products with a special emphasis on the ABC-transporter mediated recovery of the biofuel molecules from the growth media. Isolation, identification and characterization of microalgae for biotechnological applications for industry and environment

### Selected Publications

1. Rashid, Umer, M Ibrahim, IA Nehdi, SA AL-Resayes, S Ullah, MA Mehmood, S Shahzadi. Synthesis and characterization of poppy seed oil methyl esters. *Journal of Applied Engineering*. Accepted (in press).
2. Mehmood, MA\*, M Latif, K Hussain, M Gull, F Wang. Molecular characterization and expression of the antifungal  $\beta$ -Chitin binding protein CBP24 from *Bacillus thuringiensis* synergistic action with bacterial chitinases. *Protein & Peptide Letters* 2015, 22(11): 1-5.
3. Mehmood, MA, I Shahid, K Hussain, F Latif, MI Raheem. Thermodynamic properties of the  $\beta$ -glucosidase from *Thermotoga maritima* extend the upper limit of thermophilicity. *Protein & Peptide Letters* 2014, 21(12):1282-1288.
4. Mehmood, MA\*, K Hussain, F Latif, MR Tabassum, M Gull, SS Gill, A Saqib, Z Iqbal. Synergistic action of the antifungal  $\beta$ -chitin binding protein CBP50 from *Bacillus thuringiensis* with bacterial chitinases. *Current Proteomics* 2014, 11:23-26
5. Chen, Y, F Wang, J Xu, Mehmood, MA and X Xiao. Physiological and evolutionary studies of NAP systems in *Shewanella piezotolerans* WP3. *The ISME Journal* 2011, 5: 84.
6. Ke, X, X Tang, Y Gai, Mehmood, MA, X Xiao and F Wang. Molecular characterization of cold-inducible  $\beta$ -galactosidase from *Arthrobacter* sp. ON14 isolated from Antarctica. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2011, 21(3): 236-242.
7. Mehmood, MA, X Xiao, FY Hafeez, Y Gai and F Wang. Molecular characterization of the modular chitin binding protein Cbp50 from *Bacillus thuringiensis* serovar *konkukian*. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* 2011, 100: 453-458.
8. Mehmood, MA, Y Gai, Q Zhuang, F Wang, X Xiao and F Wang. Chitinolytic system of *Aeromonas caviae* CB101 contains four chitinases encoded by a single chitinase gene *chi1*. *Molecular Biotechnology* 2010, 44: 213-220.
9. Mehmood, MA, X Xiao, FY Hafeez, Y Gai and F Wang. Molecular characterization of an endochitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2010, 26:2171-2178.
10. Mehmood, MA, X Xiao, FY Hafeez, Y Gai and F Wang. Purification and characterization of a chitinase from *Serratia proteamaculans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2009, 25:1955-1961.

微生物代谢国家重点实验室





# 工业微生物与生物过程工程研究室 Industrial Microbiology and Bioprocess Engineering (IMBE)

刘晨光, 博士, 副教授 (Dr. Chen-Guang Liu, Associate Professor)



2005年和2011年获得大连理工大学生物工程学士和生物化工博士学位, 2009-2010年期间受国家留学基金委资助前往加拿大萨斯卡彻旺大学化工系学习, 2011-2015年在大连理工大学分别以博士后和讲师身份工作, 2015年12月入职上海交通大学生命科学技术学院副教授, 主持国家自然科学基金青年基金、中国博士后基金特别资助等科研项目8项, 发表论文30余篇, 共同编著Springer出版的丛书1卷。

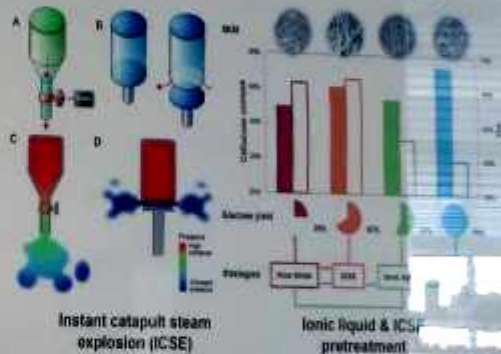
Dr. Chen-Guang Liu received his BS degree in bioengineering and PhD degree in biochemical engineering, all from the Dalian University of Technology (DUT). From 2009 to 2010, sponsored by China Scholarship Council, he worked at the Department of Chemical Engineering, the University of Saskatchewan, Canada. From 2011 to 2015, he worked at the DUT School of Life Science and Biotechnology as a postdoctoral fellow, and an Assistant Professor thereafter. He moved to Shanghai Jiao Tong University as an Associate Professor at the School of Life Science and Biotechnology in Dec. 2015. As the PI, he is now leading research for the 8 projects sponsored by the National Natural Science Foundation of China, and China Postdoctoral Science Foundation. To date, he has co-authored more than 30 research and review articles, and 1 volume for the Springer book series.

## 研究方向 (Research Interests)

ORP控制细胞代谢及胁迫耐性机理及应用  
Mechanism and application of redox potential regulation on cell metabolism and stress response



木质纤维素原料生产燃料乙醇过程优化  
Process optimization for the production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass



## 代表性论文 (Selected Publications)

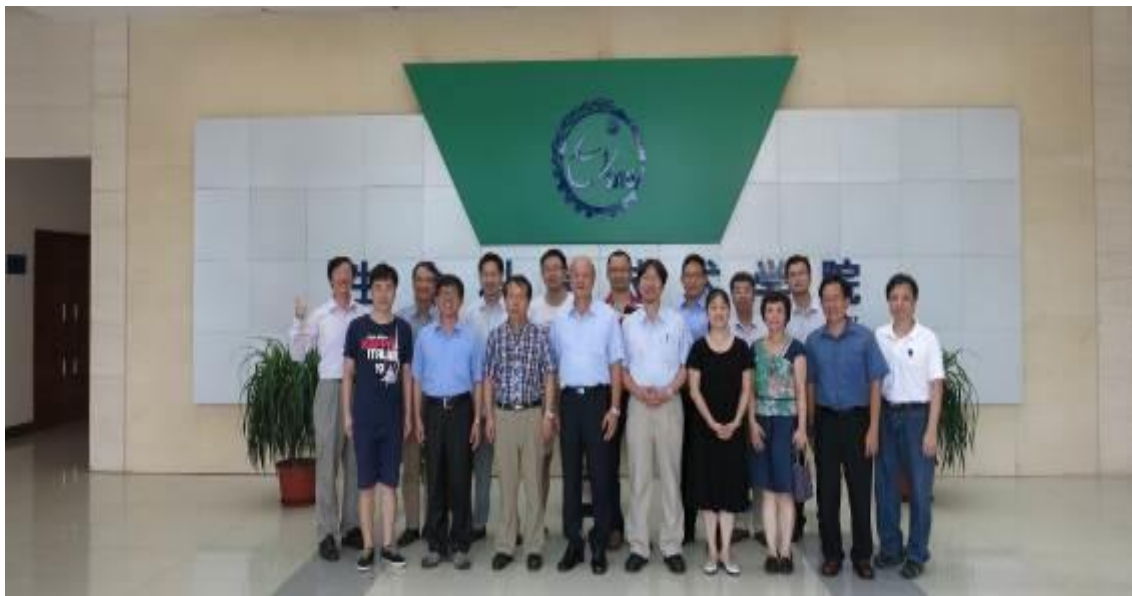
- Liu CG, Hao XM, Lin YH\*, Bai FW\*. Redox potential driven aeration during very-high-gravity ethanol fermentation by using flocculating yeast. *Scientific Reports* 2016, 6: 25763
- Liu CG\*, Qin JC, Liu LY, Jin BW, Bai FW\*. Combination of ionic liquid and instant catapult steam explosion pretreatments for enhanced enzymatic digestibility of rice straw. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 2016, 4(2): 577-582
- Liu CG, Liu LY, Lin YH, Bai FW. Kinetic modeling for redox potential-controlled repeated batch ethanol fermentation using flocculating yeast. *Process Biochemistry* 2015, 50: 1-7
- Khatun MM, Li YH, Liu CG\*, Zhao XQ, Bai FW. Fed-batch saccharification and ethanol fermentation of Jerusalem artichoke stalks by an inulinase producing *Saccharomyces cerevisiae* MK01. *RSC Advances* 2015, 5: 107112-107118.
- Liu CG, Liu LY, Zi LH, Zhao XQ, Xu YH, Bai FW. Assessment and regression analysis on instant catapult steam explosion pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology* 2014, 166: 368-372.
- Liu CG, Xue C, Lin YH, Bai FW. Redox potential control and applications in microaerobic and anaerobic fermentations. *Biotechnology Advances* 2013, 31: 257-265.
- Liu CG, Lin YH, Bai FW. Global gene expression analysis of *Saccharomyces cerevisiae* grown under redox potential-controlled very-high-gravity conditions. *Biotechnology Journal* 2013, 8: 1332-1340.
- Liu CG, Wang N, Lin YH, Bai FW. Very high gravity ethanol fermentation by flocculating yeast under redox potential-controlled conditions. *Biotechnology for Biofuels* 2012, 5: 61.
- Liu CG, Lin YH, Bai FW. Development of redox potential-controlled schemes for very-high-gravity ethanol fermentation. *Journal of Biotechnology* 2011, 153: 42-47.
- Liu CG, Lin YH, Bai FW. A kinetic growth model for *Saccharomyces cerevisiae* grown under redox potential-controlled very-high-gravity environment. *Biochemical Engineering Journal* 2011, 58: 63-68.

微生物代谢国家重点实验室









2016.08.04 上海交通大學能源研討會議人員研討會中場休息合照，白鳳武教授(前排左三)、會議主席趙心清(前排右三)。





## 8/5 無錫江南大學參訪

江南大學（英文簡稱：JNU，中文簡稱：江大），坐落於太湖之濱的江南名城—江蘇省無錫市，是教育部直屬、國家「211 工程」和「985 工程優勢學科創新平台」項目重點建設高校。享有「輕工高等教育明珠」的美譽，在生物工程、食品科學和工業設計等學科領域享譽業界。

目前江南大學已建設成為一所規模結構合理，教學質量優秀，辦學效益顯著，教學、科研、服務均得到社會高度評價，在國內外具有較高知名度的綜合性大學。在 2014 年武書連中國大學排行榜中，江南大學綜合實力位於第 47 位。

由堵院長國成博士、劉龍博士、陸軍等人，舉行座談會，由堵院長介紹江南大學歷史及科學經費及研究成果，接而參觀實驗室。







**江南大学生物工程学院**  
生物系统与生物加工工程研究室

**研究成果举例：乳酸菌在胁迫条件下的生理应答机制**

**研究结果：发现了 GSH 提高乳酸菌冷冻胁迫抗性的机制**

提高细胞冷冻胁迫抗性6-8倍

冷冻胁迫前谷胱甘肽蛋白组学分析

细胞冷冻胁迫前代谢途径图谱

细胞冷冻胁迫前形态分析

GSH的抗氧化作用能够提高细胞膜脂质的不饱和度，增强细胞膜的稳定性

GSH通过调控部分代谢关键酶及分子伴侣的表达，可显著提高细胞冷冻胁迫抗性





## 8/6-7 浙江工業大學研討會及參訪



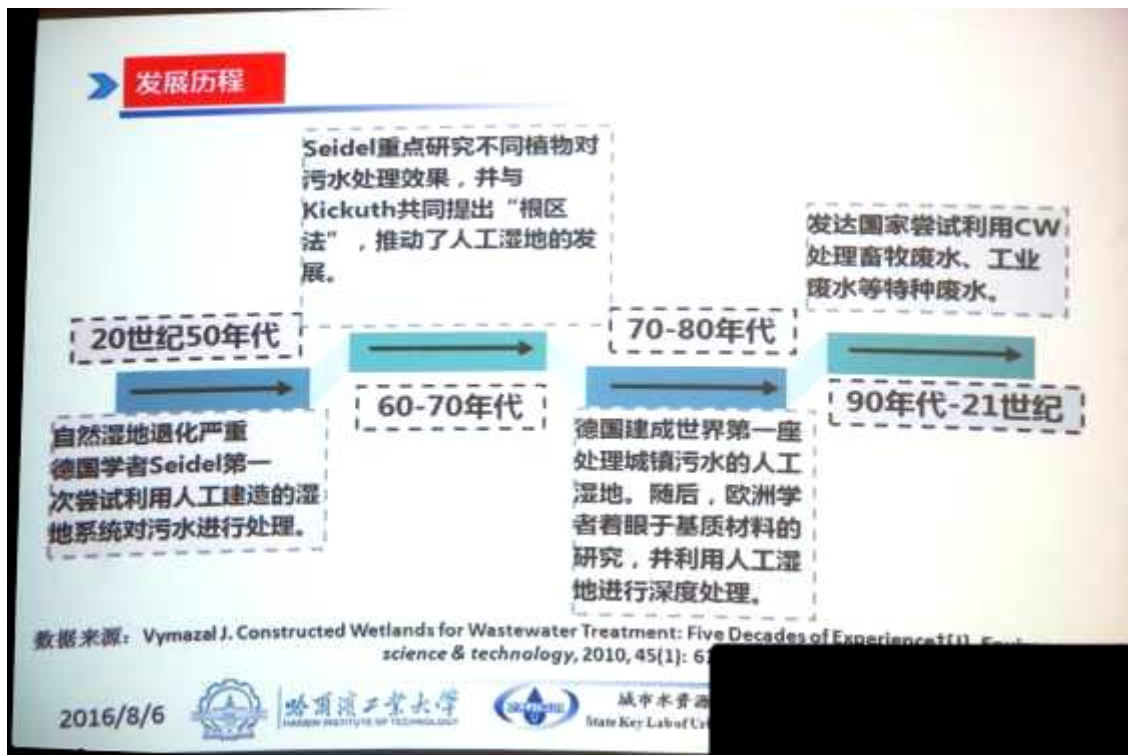
浙江工業大學是一所綜合性的浙江省屬重點大學，創建於1953年，其前身可以追溯到1910年創立的浙江中等工業學堂，先後經歷了杭州化工學校(1953年6月~1958年6月)，浙江化工專科學校(1958年6月~1960年8月)、浙江化工學院(1960年2月~1980年10月)、浙江工學院(1978年2月~1993年2月)和浙江工業大學(1993年12月至今)等發展階段，幾易校址，數歷分合。浙江省經濟管理幹部學院、杭州船舶工業學校、浙江建材工業學校分別於1994年、1997年和2001年併入浙江工業大學。學校目前已發展成為國內有一定影響力的綜合性的教學研究型大學，綜合實力穩居全國高校百強行列。2009年6月8日，浙江省人民政府和教育部簽訂共建協議，浙江工業大學進入省部共建高校行列。

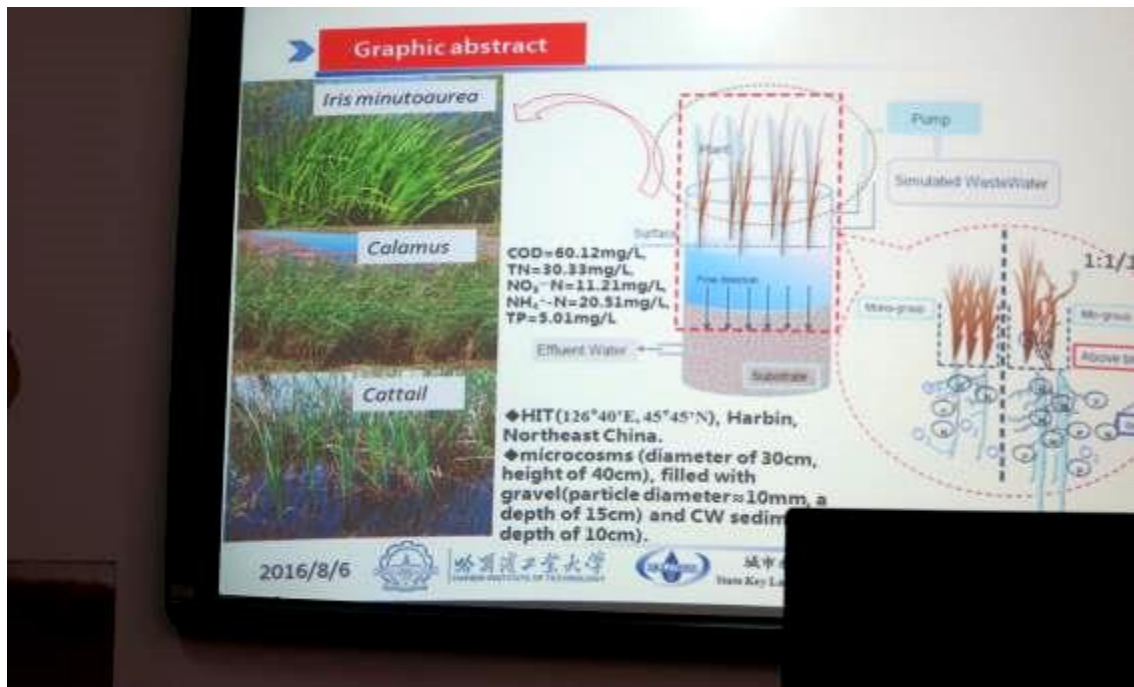
浙江工業大學，簡稱「浙工大」，是浙江省內一所綜合性公立大學。學校強項是工程技術學科，尤其在化學工程、機械工程、生物工程、製藥工程等領域，影響較大。浙工大與工業界企業界聯繫緊密，是長江三角洲地區和浙江省內重要大學之一。



由中國大陸中科院萬人學者潘響亮教授接待，環境學院李軍院長主持研討會交流，環境學院林春錦副院長、潘志彥所長、王家德教授、李非里教授、孫建強副教授、張安平博士、孫立偉博士等人與會。

哈爾濱大學朱世殊博士報告植物濕地復育。






浙江工業大學環境工程系蘇所長志彥簡報超臨界應用。

Visual and Raman spectroscopic observations using fused silica capillary reactor technique


Zhiyan Pan 潘志彥  
 panzhiyan@zjut.edu.cn  
 Department of Environmental Engineering  
 Zhejiang University of Technology  
 浙江工業大學  
 2016.







**Outline**


- ★ Fused Silica Capillary Reactor (FSCR)
- ★ Measurement of solubilities in FSCR
- ★ Supercritical water oxidation in FSCR
- ★ Depolymerization of polyester
- ★ Determining the volume expansion
- ★ Summary



### 1.1 Raw materials

### 1.3 Heating-cooling stage



The FSCR prepared was inserted into the sample chamber of the USGS-type heating-cooling stage, where the temperature could be controlled and maintained by continuous flow of heated air, and read by a K-type thermocouple with an accuracy

Heating-cooling stage of USGS  
Raman Spectroscopy

### 2.3 Solubility of ethanol in SC-CO<sub>2</sub> with FSCR

00:00:19.9 20.0°C  
00:57:37.8 29.6°C  
00:58:04.0 29.8°C  
00:58:15.8 29.9°C

01:07:00.4 80.0°C  
02:12:22.8 140.0°C  
02:58:29.9 178.6°C  
03:18:15.8 181.8°C

Dissolution of ethanol in supercritical CO<sub>2</sub>. The ethanol is shown at the right end of the FSCR microscope.

### Depolymerization of polycarbonate(PC)

$$\left[ \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(\text{O}) - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{O} \right]_n + n\text{H}_2\text{O} \rightarrow n\text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(\text{OH}) - \text{OH} + n\text{CO}_2$$

Photomicrographs of PC in water in FSCR1 and FSCR2. (a) heating process, (b) at different reaction times at 260°C, and (c) cooling process. Mn(Ac)<sub>2</sub> catalyst was present in FSCR1 and not in FSCR2. The heating/cooling/isothermal schedules were identical for the two FSCRs. *RSC Advance*, 2014, 4: 19992-19998.

$$\left[ \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(\text{O}) - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{O} \right]_n + n\text{H}_2\text{O} \rightarrow n\text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(\text{OH}) - \text{OH} + n\text{CO}_2$$

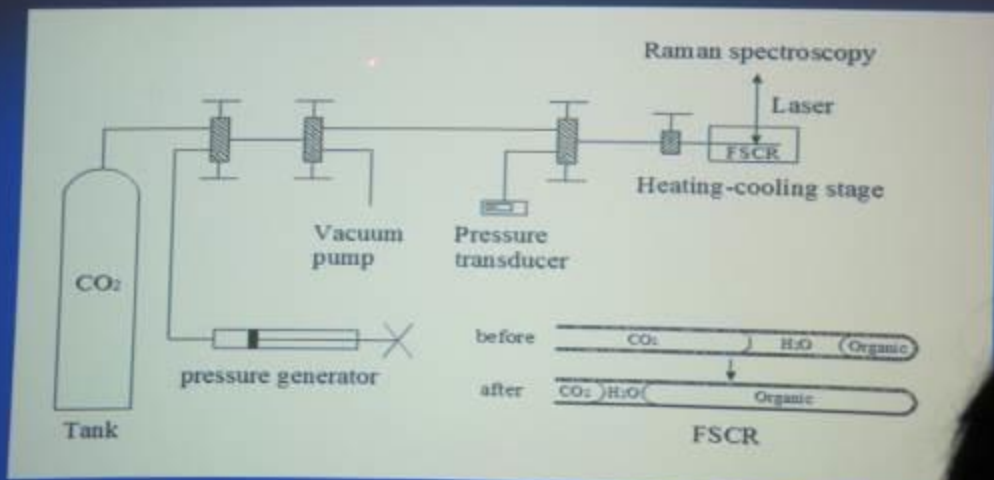
## A new method for determining the volume expansion factor of CO<sub>2</sub> + petroleum model compounds

5

- The traditional methods for expansion
- A new method for determining volume expansion of CO<sub>2</sub> + petroleum model compounds

## Enhanced oil recovery (EOR)

- CO<sub>2</sub> injection has been widely accepted as an effective technique for enhanced oil recovery (EOR) used by the oil industry since 1970s. Injection of CO<sub>2</sub> helps lower the viscosity of crude oil, reduce its interfacial tension, increase its mobility and cause oil swelling in reservoirs which improves oil recovery. Meanwhile, this technique can effectively reduce greenhouse gas emission by permanently storing CO<sub>2</sub> in geological formation. As the basic data of CO<sub>2</sub> + organic(s) systems have been measured in the past decades with fixed or variable pressure - volume - temperature (PVT) methods.

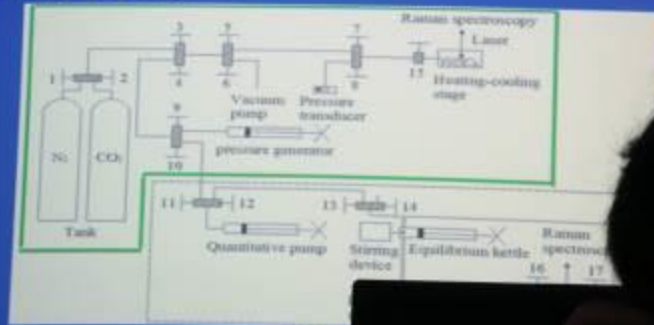


The schematic diagram of CO<sub>2</sub> + petroleum model compounds volume expansion measuring



# Future work

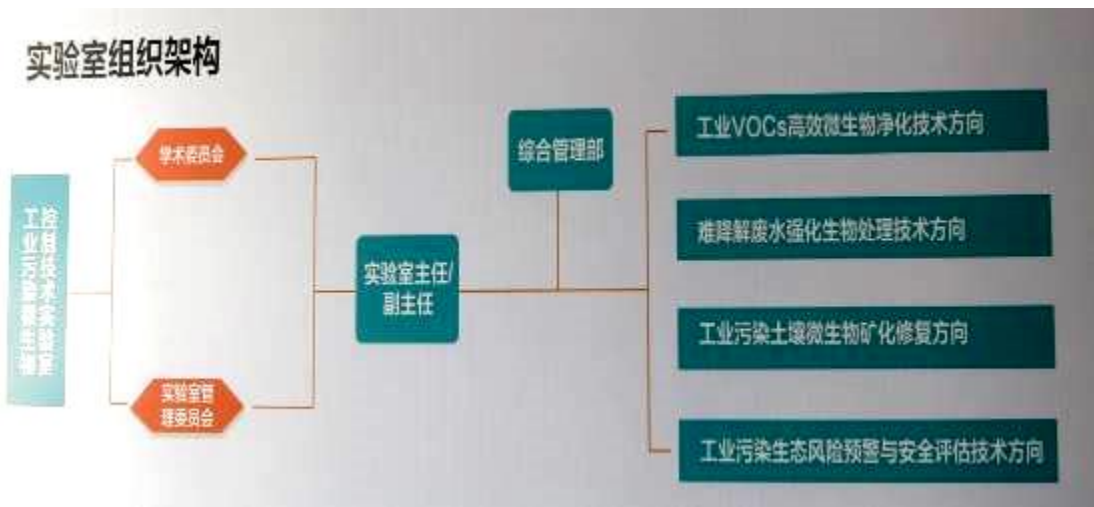
A new method using a fused silica capillary reactor (FSCR), combined with heating-cooling stage, pressure generator, equilibrium kettle and Raman spectroscopy has been applied to in-situ measuring CO<sub>2</sub> solubility in brines.



The schematic diagram of CO<sub>2</sub> solubility measurement setup.



李軍院長介紹校園及實驗室



# 工业污染微生物控制技术实验室概况

工业污染微生物控制技术实验室立足浙江，辐射长三角，紧密围绕工业污染微生物控制技术，结合国家及地方经济社会发展需求，针对区域突出的工业污染问题，瞄准国际学术前沿，高产研用相结合，开展工业污染微生物控制机理和生态风险的基础研究，具有重污染行业的微生物控制技术研究、集成和示范。

实验室现有科研人员44人，拥有教育部创新团队带头人、“新世纪百千万人才工程”国家级人选、国家“万人计划”、国家“青年千人计划”、教育部“新世纪优秀人才支持计划”、中国科学院“百人计划”、浙江省“151人才工程”重点资助人员等高层次人才近10人，其中正高职称20人，副高职称15人，博士学位人员比例达95.4%。实验室现有科研用房3160m<sup>2</sup>，仪器设备总值3793万，拥有气相色谱-质谱联用仪、高效液相-串联质谱联用仪、全自动微生物鉴定仪、毒性测试仪等大型仪器设备。

## 实验室组织架构



**学术委员会主任：李吉明** 中国工程院院士，现任清华大学教授，博士生导师，环境科学与工程学院院长，兼任中国工程院环境与轻纺学部主任、教育部环境科学与工程教学指导委员会主任、世界工程组织联合会工程与环境委员会委员，国家自然科学基金委员会学科评审组成员，国家“十五”863计划“环境污染防治”主题专家组主任组长，环境主题管理专家，教育部首批特聘教授。



**实验室主任：陈建俊** 教授、博士、博士生导师，教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队带头人，获授权发明专利50项，其中美国、南非专利各1项；发表SCI论文百余篇，其中IF>3的论文50篇，个人h-index=27；由科学出版社出版专著1本，由Springer出版社著作1部，以第一完成人获省部级科学技术一等奖4项、二等奖2项。

### 1) 实验室依托浙江工业大学环境科学与工程学科，学科优势明显：

- 浙江省唯一的一级学科博士学位授予权
- 浙江省唯一环境科学与工程一级学科博士流动站
- 浙江省唯一环境科学与生态学ESI全球排名前1%
- ESI全球前2%的学科：第一类学科(A)

### 2) 实验室依托单位拥有众多特色科研平台：

- 2011计划“长三角绿色制药协同创新中心”
- 国家工程研究中心之“环保中心”
- 生物转化与生物净化教育部工程研究中心
- 浙江省环保公共科技资源服务平台

## 工程应用案例



**中石化镇海炼化分公司  
尾气生物净化工程**

处理风量24000m<sup>3</sup>/h，H<sub>2</sub>S、甲硫醇、甲硫醚、二甲二硫醚和CS<sub>2</sub>的去除率分别可达99%、98%、97%、99%和98%。



**浙江康恩桥生物制药有限公司  
高含硫废气生物净化工程**

风量11500m<sup>3</sup>/h，H<sub>2</sub>S平均浓度745mg/m<sup>3</sup>，臭气平均浓度11.8mg/m<sup>3</sup>，生物处理去除率达99.2%，DPH≥90.2%的尾气。



**声电联合氧化降解难降解有机废水  
的工业化处理**

某石化企业废水，声电联合+生物处理，工程规模1000m<sup>3</sup>/d，水质指标：工艺废水COD<sub>Cr</sub>27500~49600mg/L，pH3.74~4.98，氯化物1070~3200mg/L。



**某医药废水处理及回用  
示范工程**

某医药行业废水经回用技术，某医药行业废水经回用的生化处理和生化处理后经砂滤、生物滤池和离子交换等深度处理达到回用于染色过程，可节约水资源和废水水量达80%以上。



**浙江康恩桥生物制药有限公司医药  
废气净化工程**

巨UV光解工艺处理后的臭气与污水站合成氨尾气汇集，采用生物滴流工艺处理，处理风量7000m<sup>3</sup>/h，处理后的臭气符合《大气污染物综合排放标准》(GB16297-1996)和《恶臭污染物排放标准》(GB14664-1995)。



**水处理药剂在企业的应用  
——絮凝水处理**

生化废水处理量达11180系列产品，水足迹友好型，能有效去除絮凝后生化废水中的COD<sub>Cr</sub>、氨氮、总磷、色度、SS等，处理后的生化废水可达到国家一级排放标准。



**生化药剂在绍兴污水处理厂的  
印染废水处理的应用**

印染废水处理专用絮凝剂Y260产品，生化药剂的Y260适用于印染-生活混合型城市污水处理，达到国内领先水平。



**杭州湾化工园区集中污水处理  
系统臭气净化工程**

处理风量24,000m<sup>3</sup>/h，H<sub>2</sub>S平均浓度100mg/m<sup>3</sup>，甲硫醇平均浓度60mg/m<sup>3</sup>。



**反渗透纳滤膜技术资源化  
处理重金属废水**

工业示范与应用，浙江象山科达化工有限公司，江铃集团等企业。



**免染型生态厕所产业化  
应用示范**

适用于免水冲高温降解的免冲厕所关键技术，在贵州西畴、淳安千岛湖等多个国家级风景旅游保护区进行示范应用，已在全国各地推广建设56座科技示范工程。





## 工业污染物原位监测及在线传输

**针对气/水/土壤中有毒有害物质的快速筛查和监测，研究基于X射线探测和成像技术的微区、痕量、原位探测原理、技术和仪器。**

X射线光子能量高，波长短，与常用的可见光相比，探测分辨率极高；并且X射线在材料中穿透深度大，可以无损地观测各种样品的内部结构，因此X射线探测技术能够满足高分辨率、原位、无损、微量痕量、快速等检测需求。历经17年研发，涵盖了发明系列新型X射线器件、提出成像制作工艺方法，以及实际构建基于其的X射线探测系统和仪器的系统研究和应用。部分探测性工作达到了国际领先水平，拥有自主知识产权34项，其中包括1项授权美国专利和17项授权中国发明专利。该技术2015年获教育部部级优秀科研成果二等奖。

该技术涉及的X射线微纳检测系统具有微量、便携、可现场分析、微区分辨率高等特点，不仅可以促进环境监测、粮食、食品安全等相关产业技术进步，还可以提升我国科学仪器行业的竞争力。该技术在南岸博聚光电仪器有限公司获得应用，2012-2014年共实现收入1721万元。也在北京正负电子对撞机、上海同步辐射光源等国家大科学装置实验试用，产生了良好的社会效益。



图1 便携式X射线探测仪器原理图



图2 国际同类手持式X射线探测仪



图3 X射线微纳检测系统应用，实际检测照片

该技术有望形成针对特定行业需求的系列高端科学仪器，目前已经研发成功手持式X射线探测仪，适用于环境安置的现场分析和快速筛查，比如大面积土壤污染、水体污染等，存机如图4所示。



图4 手持式X射线探测仪

**环境监测数据的采集、联网传输、数据交换和处理技术。**

依托在信息采集、传输、交换、处理方面的长期积累，研发了互联网远程（即光后）的新型器件和网络技术，并突破了示范网络，支撑了互联网应用的各种业务应用，包括环境监测的数据采集、传输、交换和处理。该技术于2012年和2015年分别获得浙江省技术发明奖，共授权中国发明专利27项，出版2部专著，发表学术论文50余篇。技术从2009年应用以来，累计为相关企业产生了近3亿元经济效益。以下是研发的核心网络器件的照片。



图5 便携式X射线探测仪器



图6 光纤三向耦合器及光电转换器照片









## 工业污染物对植物生长的安全性评价

### 引言

对于工业污染物经化学品、生态风险评估对其生产、销售进行有效管理是重要课题之一。系列于每年数以万计的新的化学品。新药的毒理学数据是其进行有效开发和生产的前提。在制药、农药等的毒性检测国家强制规定必不可少的前提。也因此我国建立了植物毒性毒性风险评估体系，该体系以生态毒理学为核心理论基础，由植物毒性及人类。本团队在生态毒理学研究的基础上，应用现代分子生物学方法进行植物毒性研究。在基础、第四、植物毒性生态毒理学研究植物毒性风险评估以及植物毒性。主要研究方向包括：环境污染物对植物生长的毒性风险评估作用机理。主要研究方向包括：环境污染物对植物生长的毒性风险评估作用机理。主要研究方向包括：环境污染物对植物生长的毒性风险评估作用机理。

### 2. 研究了植物对有毒物质的清除机制

通过植物毒理学与分子生物学手段，深入研究了植物、非典型、植物清除有毒物质对植物毒性的清除作用。通过植物毒理学与分子生物学手段，深入研究了植物、非典型、植物清除有毒物质对植物毒性的清除作用。通过植物毒理学与分子生物学手段，深入研究了植物、非典型、植物清除有毒物质对植物毒性的清除作用。

### 研究方向

#### 1. 环境污染物毒性评估和测试平台

建立多物种的毒性评估和测试平台。对多种新型环境污染物进行毒性和健康生态风险评估。通过基因组学和蛋白质组学的手段，在分子水平上研究不同物种的毒性行为。开展植物及其植物毒性毒理学研究。并以分子生物学与植物毒性的“生态-环境-遗传”为主线，开展植物毒性、植物毒性与非植物毒性、植物安全等方面的毒性及作用机理、实验研究、化学、生物等多学科交叉的研究。相关研究成果发表在Environ. Sci. Technol., Sci Rep., J. Agric. Food Chem. 等杂志。



## 潘響亮教授研究方向

### 工业污染土壤微生物矿化修复技术研究方向



**长期稳定钝化重金属！**

基于微生物矿化的重金属污染修复技术思路

#### 科研成果

在Environmental Science & Technology, Water Research, Bioresource Technology等领域主流刊物发表SCI论文150余篇，申请/授权发明专利16项，普通主编SCI期刊生物修复技术专刊多辑，参编英文著作2部。

#### 研究队伍

现有固定研究人员11人，其中教授6人，包括国家“万人计划”领军人才1人，国家青年“千人计划”1人，中国科学院“百人计划”学者1人，“钱江学者”特聘教授1人，副教授1人，讲师4人，研究生20余人。

#### 研究内容

本方向主要针对浙江省及长三角地区电子垃圾拆解地、蓄电池、电镀厂、皮革等工业污染场所土壤，开展土壤微生物修复的基础研究和技术开发。重点研究：

- (1) 污染物在土壤中的环境行为及风险
- (2) 工业污染土壤微生物矿化修复技术
- (3) 多工艺组合强化微生物矿化修复技术

#### 承担项目

承担国家863课题、973课题、国家自然科学基金重点、面上项目、环保部公益性项目等40多项。

方向带头人：潘响亮 教授    联系方式：panxl@zjut.edu.cn

### 基于微生物矿化重金属污染原位修复技术体系

针对重金属污染微生物修复技术现有的技术缺陷，利用微生物矿化原理，研发一套从污染源控制——路径阻断——末端修复的原位修复技术体系，在Ecological Engineering, Chemosphere, Journal of Hazardous Material, Geomicrobiology Journal等刊物上发表SCI论文60余篇，申请/授权发明专利13项。英国皇家学会会士、重金属污染微生物修复著名专家Gadd教授认为我们“为有毒金属污染场所提供经济有效的治理技术”(Environ Sci Technol, 2014, 48: 14409-14416)。相关技术还获国家人大常委会副委员长路甬祥院士批示，部分成果在企业转化。

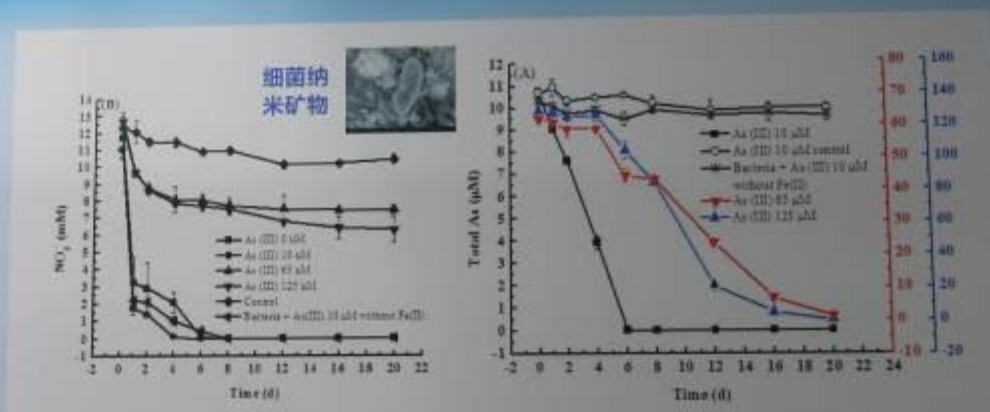


尾矿库  
土壤  
地下水  
地表水

1. 无混凝土尾矿固化技术
2. 土壤重金属和神微生物矿化稳定技术
3. 地表水光生物修复技术
4. 地下水原位微生物修复技术



## 复合污染单一菌种同步修复技术



应用多种微生物纳米成矿原理, 实现了单一菌种原位修复重金属、硝酸盐、有机污染物复合污染地下水、沉积物的技术方法, 降低了复合污染地下水修复的成本, 提高了复合污染生物修复的可操作性。

Wang et al. Chemosphere, 2015; Wang et al., Applied Geochemistry, 2015; Li et al., Ecological Engineering 2015;

Li et al., Geomicrobiology Journal 2014; 2015; 潘晓亮等, 授权专利201310070136.5

### 三、心得及建議：

永續性的生質能源為台灣中油股份有限公司綠能科技研究所發重點項目，為瞭解中國大陸生質能源的發展技術及趨勢，因此參加本次行程前往上海及華東地區「2016 年綠色永續生物技術科技成果交流研討會」及演講）交流，此次行程感謝成功大學組團前往，由張嘉修講座教授擔任團長，吳意洵教授聯繫安排研討會行程、旅館安排及車輛接送事宜。

此行瞭解中國大陸華東理工大學為“中國抗生素制造人才培養的搖籃”為中國抗生素工業的建立和壯大作出了歷史性貢獻，奠定了中國醫藥發酵工業的基礎。在生物能源研究方向，用玉米稈、稻草和微藻等可再生原料，生產液體燃料和化工產品，極具潛力，將有望替代石油等不可再生原料，造福國計民生。

上海交通大學研究多元扎實，白鳳武教授利用凝絮特性來克服回收技術難題，現已經掌握凝絮現象機制；專利設計發酵生產酒精設備，由實驗室級、試驗工廠級、於安徽建立 200,000 t/y 商業化工廠(見圖片)；凝絮性也提高及影響酒精耐受性，其成功改良 *Z. mobilis* (case 2) 及微藻具有凝絮性 (fig. 3.1)；*T. reesei* RUT C-30 發酵液生產 cellulases 生產增加，提出相當獨特的構想，有效降低酵素生產成本。楊廣宇教授以酵素定向演化，建立上萬個酵素活性篩選方式及專一性產物篩選平台。錢志綱博士以大自然為師研究蜘蛛絲，發現及生產不同型態蛋白質有不同功能並加以應用。

江蘇無錫江南大學參訪得知堵院長技轉永信公司玻尿酸鈉生產技術；代糖阿斯巴甜生產也是其技術。

浙江工業大學環境工程學院參訪，因中油煉製研究所環境及生化科技組時期，常聽前輩報告生物復育、廢水處理、VOC 偵測及污染整治，則顯得親切及熟悉。

上海及華東地區「2016 年綠色永續生物技術科技成果交流會議」路程轉換常需花 3 小時時間，原規劃搭乘快速鐵路，但是買票要看台胞證，很不方便，包車前往雖費用開銷大，但較方便些；到浙江工業大學時，因浙江杭州市將於 9 月舉辦 G20 國際經濟合作論壇會議，人員查核管制嚴格，每間飯店張貼 G20 峰會通知書且公安進駐飯店，維

安工作滴水不漏，出入電梯需向公安須出示房卡才放行。杭州市街道，張貼歡迎標語及市容布置均進行準備中，可見中國大陸對 G20 國際經濟合作論壇會議的重視程度。

生質能源技術之發展與參訪了中國大陸華東理工大學、上海交通大學、江蘇無錫江南大學及浙江工業大學等，四所大學的重點實驗室及國家級醱酵工程中心，發現中國大陸人才濟濟，會議及參訪期間，接受不同研究研發策略與執行成果展示，自己也規劃一些實驗可以進行，有些新想法產生，發現酵素領域值得加以深入應用，也構思及規劃一些實驗準備進行，有新想法及創意產生，確實有助於提升研發能量與透過技轉至新創事業開發之可能性。

此行認識許多中國大陸及國內教授，發現志同道合研究人才相當多，研究不應如「井底之蛙，坐井觀天」，應多與相關領域人員接觸，多聽演講。中國大陸教授可以開公司落實研究成果，與台灣差異極大，覺得我國在此部份反而法規限制重重，不利於台灣生技產業發展。

展望未來，將加強中油綠能所生物科技組發表國際期刊篇數，增加國際曝光度，並加入國際間及兩岸生技團隊，維繫人脈，方便資訊交流，加速研究進度推展，將是接下來幾年的重點目標。

此行台灣團隊多位團員產生嚴重腹瀉及腸胃炎，造成全身無力，建議中國大陸以 2 人為單位或團體方式一同前往較佳，記得要備腸胃藥。