

一种长链组合物、长链组合物套组、其制造方法及其应用

技术领域

5 本发明属于生物化工技术领域，具体涉及一种长链组合物或长链组合物套组。本发明还涉及一种长链组合物或长链组合物套组的制造方法，及其在长链二元酸制造中的应用。

背景技术

10 十二碳二元酸（简称DDDA）是指碳链中含有12个碳原子的脂肪族二羧酸，是一类有着重要和广泛工业用途的精细化工产品，同时也是化学工业中合成高级香料、高性能尼龙工程塑料、高档尼龙热熔胶、高温电介质、高级油漆和涂料、高级润滑油、耐寒性增塑剂、树脂、医药和农药等重要原料。

15 发酵法生产长链二元酸是利用微生物特有的氧化能力和微生物胞内酶的作用，在常温常压下分别通过 α 、 ω -氧化，将长链正烷烃两端的甲基氧化成为羧基，生成相应链长的各种长链二元酸。能通过发酵生产长链二元酸的细菌、霉菌和放线菌的种类很多，其中假丝酵母属（candida）的酵母菌是正烷烃发酵生产二元酸的高产微生物。

20 现有技术一般将酵母菌作为发酵菌株，以正构烷烃作为底物，进行相应碳数的长链二元酸的生产，如CN102115767A、CN102115768A等，分别形成了十一碳二元酸和十六碳二元酸的制造方案。另外，CN103805643A公开了一种生产长链二元酸的方法，是将二元酸菌种扩大培养获得种子液，种子液进行扩大发酵，发酵过程中加入乳化烷烃，反应结束后除去菌体蛋白，结晶获得长链二元酸产品。

25 发明内容

本发明的发明人发现，现有技术在使用正构烷烃作为底物来制造长链二元酸时，仍然存在发酵水平较低或底物利用率较低等问题。本发明基于该发现而完成。

具体而言，本发明涉及以下方面的内容。

30 1. 一种长链组合物（优选发酵用），包含选自C9-18直链或支链（优选直

链) 烷烃中的至少一种长链烷烃(优选选自正十二烷、正十四烷和正十六烷中的至少一种长链烷烃,特别是正十二烷)和选自C9-18直链或支链(优选直链)、饱和或不饱和(优选饱和)的脂肪族一元羧酸中的至少一种长链羧酸(优选选自月桂酸、肉豆蔻酸和棕榈酸中的至少一种长链羧酸,特别是月桂酸),
5 其中所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为1:1至40:1(优选2:1至20:1或5:1至10:1)。

2. 根据前述或后述任一方面所述的长链组合物,还包含水,其中所述水的质量是所述长链烷烃和所述长链羧酸的质量之和的0.5-10倍(优选1-5倍或1-3倍)。

10 3. 根据前述或后述任一方面所述的长链组合物,其pH值为5-12(优选7-10、7.5-9或7.5-8.0),和/或,在32℃下呈现为液体或固液混合物的形态(优选液体形态,特别是含水液体形态),和/或,所述长链烷烃与所述长链羧酸具有相同的碳原子数。

4. 一种长链组合物套组,包括彼此独立存在(比如彼此独立包装或彼此
15 独立分隔)的n个根据前述或后述任一方面所述的长链组合物,其中n为2-40(优选4-20或5-10)的正整数,其中设在第i个(i为从2至n的任意正整数)长链组合物中,所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为 R_i ,在第1个长链组合物中,所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为 R_1 ,在第n个长链组合物中,所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为 R_n ,则 $R_{i-1}/R_i \geq 1$ (优选 $R_{i-1}/R_i = 1-20$ 、
20 $R_{i-1}/R_i = 1.0001-10$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.001-10$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.01-10$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.1-5$ 或 $R_{i-1}/R_i = 1.5-2$)并且 $R_1/R_n > 1$ (优选 $R_1/R_n = 1.0001-30$ 、 $R_1/R_n = 1.001-20$ 、 $R_1/R_n = 1.01-10$ 、 $R_1/R_n = 1.1-5$ 或 $R_1/R_n = 1.5-2$)。

5. 根据前述或后述任一方面所述的长链组合物套组,其中所述n个长链组合物是分别单独制造的,和/或,任意两个所述n个长链组合物彼此之间的
25 重量比(以所述长链组合物的量计算)相同或不同(优选相同或基本上相同),和/或,任意两个所述n个长链组合物彼此之间的重量比(以所述长链烷烃的量计算)相同或基本上相同。

6. 一种长链组合物的制造方法,其中所述长链组合物(优选发酵用)包含选自C9-18直链或支链(优选直链)烷烃中的至少一种长链烷烃(优选选自
30 正十二烷、正十四烷和正十六烷中的至少一种长链烷烃,特别是正十二烷)

和选自C9-18直链或支链（优选直链）、饱和或不饱和（优选饱和）的脂肪族一元羧酸中的至少一种长链羧酸（优选选自月桂酸、肉豆蔻酸和棕榈酸中的至少一种长链羧酸，特别是月桂酸），其中所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为1:1至40:1（优选2:1至20:1或5:1至10:1），所述制造方法至少包括混合步骤：将所述长链烷烃与所述长链羧酸任选在加热（优选加热温度为45至70℃或50至60℃）和搅拌（优选搅拌转速为50至250rpm或150至250rpm）的情况下按照所述质量比进行混合（优选直至混合均匀），获得所述长链组合物。

7. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中在所述混合步骤中还加入水和pH值调节剂（比如碱，特别是选自氢氧化钠和氢氧化钾中的至少一种），和/或，所述制造方法还包括任选在加热（优选加热温度为45至70℃或50至60℃）和搅拌（优选搅拌转速为50至250rpm或150至250rpm）的情况下，向所述长链组合物中加入水和pH值调节剂（比如碱，特别是选自氢氧化钠和氢氧化钾中的至少一种）的步骤，其中所述水的质量是所述长链烷烃和所述长链羧酸的质量之和的0.5-10倍（优选1-5倍或1-3倍），并且所述pH值调节剂的用量使得所述长链组合物的pH值达到5-12（优选7-10、7.5-9或7.5-8.0）。

8. 一种长链二元酸的制造方法，其中所述长链二元酸是选自C9-18直链或支链（优选直链）、饱和或不饱和（优选饱和）的脂肪族二元羧酸中的至少一种长链二元酸（优选选自十二碳二元酸、十四碳二元酸和十六碳二元酸中的至少一种长链二元酸，特别是十二碳二元酸），

所述制造方法包括以下步骤：

（1）按照根据前述或后述任一方面所述的制造方法来制造长链组合物、提供根据前述或后述任一方面所述的长链组合物、或者提供根据前述或后述任一方面所述的长链组合物套组，统称为长链组合物；

（2）使所述长链组合物在发酵菌和发酵培养基的存在下进行发酵反应而转化为所述长链二元酸。

9. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中所述发酵菌是具有完整 α ， ω -氧化途径的酵母菌（优选选自假丝酵母属、隐球酵母属、内孢霉属、汉逊氏酵母属、毕赤氏酵母属、红酵母属、球拟酵母属和丝孢酵母属中的至少一种酵母菌，更优选选自假丝酵母属中的至少一种酵母菌，特别是热带假丝酵母菌，更特别是热带假丝酵母菌突变株PF-UV-56（中国微生物菌种保藏

管理委员会普通微生物中心保藏，保藏编号为CGMCC No. 0356))，和/或，所述发酵培养基包括：蔗糖20至28g/L、玉米浆0.8至1.5g/L、酵母膏2.0至4.0g/L、氯化钠0.8至1.2g/L、磷酸二氢钾3.0至3.5g/L、硫酸镁1.2至1.8g/L、尿素1.2至4.8g/L，硫酸铵1.5至2g/L、醋酸钠1.5至1.8g/L。

- 5 10. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中所述发酵反应包括以下步骤：

 预备步骤：混合所述发酵菌和所述发酵培养基，进行所述发酵反应5-60小时（优选10-40小时，更优选20-30小时或24小时），获得发酵基础液，

- 转化步骤：向所述发酵基础液中加入所述长链组合物，进行所述发酵反
10 应60-400小时（优选100-300小时，更优选100至160小时或100至140小时），以将所述长链组合物转化为所述长链二元酸。

11. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中发酵菌种子液的添加量（以体积计）为总装液控制体积的2-30%（优选5至20%或10至15%），和/或，所述发酵反应的反应温度为25至37℃，优选28至32℃，和/或，所述发酵
15 反应的搅拌转速为100至1000rpm（优选120至500rpm或150至300rpm），和/或，所述发酵反应的通气量为0.2至10.0VVM（优选0.2至2.0VVM或0.5至1.0VVM），和/或，所述发酵反应的反应时间为65小时以上（优选大于120小时，更优选130至400小时、130至300小时、130至200小时或138至160小时），和/或，所述长链组合物的添加量为100至1000g/L总装液控制体积（优选100至
20 500g/L总装液控制体积或150至250g/L总装液控制体积），和/或，所述发酵培养基的添加量为12至80g/L总装液控制体积（优选32至50g/L总装液控制体积、35至45g/L总装液控制体积、或者37至42g/L总装液控制体积）。

12. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中在所述预备步骤中（优选在所述预备步骤从开始至24小时之内），不添加所述长链组合物，并且
25 所述发酵反应的pH值为自生状态（即，不进行pH值控制），和/或，在所述转化步骤开始时（优选在所述预备步骤开始24小时之后），将所述发酵反应的pH值调节至6.0至7.5之间（优选6.8至7.0之间），随后每隔5-60小时（优选每隔10-40小时或每隔20-30小时或每隔24小时），使所述发酵反应的pH值提高0.05至0.4（优选0.1至0.3），直至所述发酵反应结束。

- 30 13. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中在所述转化步骤中，

分n个批次加入所述长链组合物，相邻两个批次之间的时间间隔可以相同或不同（优选时间间隔为5-60小时、10-40小时、20-30小时或24小时），其中n为2-40（优选4-20或5-10）的正整数，或者根据反应时间连续加入所述长链组合物。

- 5 14. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，其中使用根据前述或后述任一方面所述的长链组合物套组，分所述n个批次分别加入所述n个长链组合物（优选按照从第1个长链组合物至第n个长组合物的次序），或者按照函数 $R=f(t)$ 连续加入所述长链组合物，其中R是所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比，t是所述转化步骤的反应时间，f()代表任意的非递增函数（优选任意的递减函数、任意的单调递减函数或任意的线性递减函数）。

10 15. 根据前述或后述任一方面所述的制造方法，还包括将所述长链二元酸从所述发酵反应的反应产物中分离的步骤。

另外，本发明还涉及以下方面的内容。

1. 一种制备十二碳二元酸的方法，其特征在于包括以下步骤：

- 15 (1) 将十二碳烷烃与月桂酸按比例混合，升温搅拌使月桂酸充分溶解，随后在混合物中加入水，混匀后加碱调节pH值为7-9，得到混合底物；
- (2) 将发酵菌和发酵培养基加入发酵罐进行发酵，发酵过程中补加步骤(1)制备的混合底物，直至发酵结束；
- (3) 发酵结束后，经破乳、膜过滤、酸析、过滤、烘干处理后，获得长链二元酸产品。

20 2. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤(1)所述的十二碳烷烃与月桂酸的质量比为2:1-10:1，优选5:1-10:1。

3. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤(1)升温至45-70℃，优选50-60℃；搅拌转速为50-250rpm，优选150-250rpm。

- 25 4. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤(1)加入混合物质量1-3倍的水。

5. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤(1)混匀后加碱将pH值调至7-9，优选7.5-8.0；所述的碱为氢氧化钠、氢氧化钾中的至少一种。

- 30 6. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤(2)所述

的十二碳发酵菌为具有完整 α 、 ω -氧化途径的酵母菌，优选假丝酵母属、隐球酵母属、内孢霉属、汉逊氏酵母属、毕赤氏酵母属、红酵母属、球拟酵母属或丝孢酵母属中的至少一种。

7. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（2）所述的发酵培养基配方为：蔗糖20-28g/L、玉米浆0.8-1.5g/L、酵母膏2.0-4.0g/L、氯化钠0.8-1.2g/L、磷酸二氢钾3.0-3.5g/L、硫酸镁1.2-1.8g/L、尿素1.2-4.8g/L，硫酸铵1.5-2g/L、醋酸钠1.5-1.8g/L。

8. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（2）所述的发酵菌种子液的添加量为发酵液体积的5%-20%，优选10%-15%。

9. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（2）的发酵温度为25-37℃，优选28-32℃；搅拌转速为120-500rpm，优选150-300rpm；通气量为0.2-1.0VVM，优选0.5-1.0VVM；发酵时间为138-144小时。

10. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（2）pH的控制方式具体为：在发酵0-24h内，不进行pH控制；24h后将pH调整至6.8-7.0的中性范围；随后每间隔24h将pH控制值提高0.1-0.3，直至反应结束。

11. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（2）发酵过程采用批次补料或流加补料方式补加步骤（1）的混合底物。

12. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（2）采用批次补料，分5-10个批次补加完；采用流加补料，根据发酵时间计算流加速度。

13. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（3）所述破乳是将发酵液pH调至8.5-10，优选9-9.5，并升温至75-90℃，维持20-40min。

14. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（3）所述膜过滤是将破乳液经膜过滤，进行固液分离，获得过滤清液；过滤温度30-50℃，优选40-50℃，膜孔直径为10-50nm，优选20-25nm。

15. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（3）所述酸析是将过滤清液进行酸性pH调节，控制pH为3-5，优选3-4，使长链二元酸析出。

16. 根据前述或后述任一方面所述的方法，其特征在于：步骤（3）所述过滤操作采用板框过滤，过滤压力为0.5-1.0MPa，过滤温度为20-30℃；所述

的烘干温度为80-105℃，烘干时间为5-20h。

技术效果

同现有技术相比，本发明能够实现如下技术效果中的至少一个，优选全部实现。

(1) 根据本发明的长链组合物，长链烷烃与长链羧酸的质量比满足本发明的规定，在用于发酵过程时，既可以提高发酵水平，又可以解决长链羧酸的水溶性差、在发酵体系中难以利用的问题。

(2) 根据本发明的长链组合物，在优选的情况下，采用物理溶解和化学解离两步工序，既增加了长链羧酸的溶解效果，又促使长链烷烃和长链羧酸形成极性可溶性胶团，进一步提高发酵水平。

(3) 根据本发明的长链组合物的制造方法，在优选的情况下，采用碱性调节方案，减少了由于补料造成发酵过程 pH 波动问题，进一步采用流加方式补料，既提高了底物利用率，又提高了发酵水平。

(4) 根据本发明的发酵方法，长链羧酸可以兼做碳源，能够使部分长链羧酸直接通过脂肪酸代谢，获得重要的中间代谢产物乙酰辅酶 A，以利于生物量的快速累积，缩短发酵时间，并且提高长链二元羧酸的生产强度。

(5) 根据本发明的发酵方法，在优选的情况下，通过在发酵过程中增加长链脂肪酸的后续添加量，可以进一步提高发酵水平和长链二元羧酸的生产强度。

具体实施方式

下面对本发明的具体实施方式进行详细说明，但是需要指出的是，本发明的保护范围并不受这些具体实施方式的限制，而是由附录的权利要求书来确定。

本说明书提到的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献全都引于此供参考。除非另有定义，本说明书所用的所有技术和科学术语都具有本领域技术人员常规理解的含义。在有冲突的情况下，以本说明书的定义为准。

当本说明书以词头“本领域技术人员公知”、“现有技术”或其类似

用语来导出材料、物质、方法、步骤、装置或部件等时，该词头导出的对象涵盖本申请提出时本领域常规使用的那些，但也包括目前还不常用，却将变成本领域公认为适用于类似目的的那些。

在本说明书的上下文中，所谓“基本上”指的是允许存在对于本领域技术人员而言可以接受或认为合理的偏差，比如偏差在 $\pm 10\%$ 以内、 $\pm 5\%$ 以内、 $\pm 1\%$ 以内、 $\pm 0.5\%$ 以内或者 $\pm 0.1\%$ 以内。

在本说明书的上下文中，术语“总装液控制体积”的含义是发酵罐液相总体积，通常为发酵罐体积的70%–80%。

在没有明确指明的情况下，本说明书内所提到的所有百分数、份数、比率等都是重量为基准的，而且压力是表压。

在本说明书的上下文中，本发明的任何两个或多个实施方式都可以任意组合，由此而形成的技术方案属于本说明书原始公开内容的一部分，同时也落入本发明的保护范围。

根据本发明的一个实施方式，涉及一种长链组合物。所述长链组合物优选是发酵用长链组合物，特别适合于作为原料通过发酵法来制造长链二元酸。

根据本发明的一个实施方式，所述长链组合物包含选自C9–18直链或支链烷烃中的至少一种长链烷烃和选自C9–18直链或支链、饱和或不饱和的脂肪族一元羧酸中的至少一种长链羧酸。在此，作为所述长链烷烃，优选选自C9–18直链烷烃中的至少一种长链烷烃，更优选选自正十二烷、正十四烷和正十六烷中的至少一种长链烷烃，特别是正十二烷。另外，作为所述长链羧酸，优选选自C9–18直链且饱和的脂肪族一元羧酸中的至少一种长链羧酸，特别优选选自月桂酸、肉豆蔻酸和棕榈酸中的至少一种长链羧酸，特别是月桂酸。

根据本发明的一个实施方式，所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比一般为1:1至40:1，优选2:1至20:1或5:1至10:1。

根据本发明的一个实施方式，所述长链组合物还包含水。在此，所述水的质量一般是所述长链烷烃和所述长链羧酸的质量之和的0.5–10倍，优选1–5倍或1–3倍。

根据本发明的一个实施方式，所述长组合物的pH值一般为5–12，优选7–10、7.5–9或7.5–8.0。在本说明书的上下文中，所述长组合物的pH

值测量方法可采用 pH 试纸法或玻璃电极法。

根据本发明的一个实施方式，所述长链组合物在 32℃ 下呈现为液体或固液混合物的形态，优选液体形态，特别是含水液体形态。在本说明书的上下文中，液体包含均相液体和非均相液体，后者比如两种或多种液体所形成的多相液体状混合物。

根据本发明的一个实施方式，在所述长链组合物中，所述长链烷烃与所述长链羧酸具有相同的碳原子数，比如正十二烷与月桂酸的组合。

根据本发明的一个实施方式，还涉及一种长链组合物套组，其包括多个本说明书任意一个实施方式所述的长链组合物。特别是，所述长链组合物套组包括彼此独立存在的 n 个本说明书任意一个实施方式所述的长链组合物。在此， n 一般为 2-40 的正整数，优选 4-20 或 5-10 的正整数。另外，所谓彼此独立存在，特别可以举出彼此独立包装，或者彼此独立分隔，也即同一个包装内的多个隔间。

根据本发明的该实施方式，设在第 i 个长链组合物中，所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为 R_i ，在第 1 个长链组合物中，所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为 R_1 ，在第 n 个长链组合物中，所述长链烷烃与所述长链羧酸的质量比为 R_n ，则一般 $R_{i-1}/R_i \geq 1$ ，优选 $R_{i-1}/R_i = 1-20$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.0001-10$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.001-10$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.01-10$ 、 $R_{i-1}/R_i = 1.1-5$ 或 $R_{i-1}/R_i = 1.5-2$ 。在此， i 为从 2 至 n 的任意正整数。

根据本发明的该实施方式，优选的是， $R_1/R_n > 1$ ，优选 $R_1/R_n = 1.0001-30$ 、 $R_1/R_n = 1.001-20$ 、 $R_1/R_n = 1.01-10$ 、 $R_1/R_n = 1.1-5$ 或 $R_1/R_n = 1.5-2$ 。

根据本发明的一个实施方式，在所述长链组合物套组中，所述 n 个长链组合物是分别单独制造的。这些长链组合物的制造方法可以参考本说明书下文所述。

根据本发明的一个实施方式，在所述长链组合物套组中，任意两个所述 n 个长链组合物彼此之间的重量比（以所述长链组合物的量计算）相同或不同，优选相同或基本上相同。

根据本发明的另一个实施方式，在所述长链组合物套组中，任意两个所述 n 个长链组合物彼此之间的重量比（以所述长链烷烃的量计算）相同或基本上相同。

根据本发明的一个实施方式，所述长链组合物可以通过一种制造方法进行制造。具体举例而言，所述制造方法至少包括如下的混合步骤。

混合步骤：将所述长链烷烃与所述长链羧酸按照所述质量比进行混合，获得所述长链组合物。在此，所述混合任选在加热和搅拌的情况下进行。作为所述加热，特别可以举出加热温度为45至70℃或50至60℃。另外，作为所述搅拌，特别可以举出搅拌转速为50至250rpm或150至250rpm。再者，作为所述混合，优选直至混合均匀，直至获得均匀的液体混合物。

根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述混合步骤中还加入水和pH值调节剂。在此，作为所述pH值调节剂，比如可以举出碱，特别是选自氢氧化钠和氢氧化钾中的至少一种。

根据本发明的一个实施方式，所述制造方法还包括向所述长链组合物中加入水和pH值调节剂的步骤。在此，所述步骤任选在加热和搅拌的情况下进行。作为所述加热，特别可以举出加热温度为45至70℃或50至60℃。另外，作为所述搅拌，特别可以举出搅拌转速为50至250rpm或150至250rpm。再者，作为所述pH值调节剂，比如可以举出碱，特别是选自氢氧化钠和氢氧化钾中的至少一种。

根据本发明的一个实施方式，在加入时，所述水的质量一般是所述长链烷烃和所述长链羧酸的质量之和的0.5-10倍，优选1-5倍或1-3倍。

根据本发明的一个实施方式，在加入时，所述pH值调节剂的用量一般使得所述长链组合物的pH值达到5-12，优选7-10、7.5-9或7.5-8.0。

根据本发明的一个实施方式，还涉及一种长链二元酸的制造方法。在此，所述长链二元酸是选自C9-18直链或支链、饱和或不饱和的脂肪族二元羧酸中的至少一种长链二元酸，优选选自C9-18直链、饱和的脂肪族二元羧酸中的至少一种长链二元酸，优选选自十二碳二元酸、十四碳二元酸和十六碳二元酸中的至少一种长链二元酸，特别是十二碳二元酸。

根据本发明的一个实施方式，所述制造方法包括以下步骤：

(1) 提供本说明书任意一个实施方式所述的长链组合物或长链组合物套组（统称为长链组合物）；

(2) 使所述长链组合物在发酵菌和发酵培养基的存在下进行发酵反应而转化为所述长链二元酸。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵菌是具有完整 α ， ω -氧化途径的酵母菌，优选选自假丝酵母属、隐球酵母属、内孢霉属、汉逊氏酵母属、毕赤氏酵母属、红酵母属、球拟酵母属和丝孢酵母属中的至少一种酵母菌，更优选选自假丝酵母属中的至少一种酵母菌，特别是热带假丝酵母菌，更特别是热带假丝酵母菌突变株PF-UV-56（中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏，保藏编号为CGMCC No. 0356，保藏日期为1998年8月31日）。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵培养基可以是本领域在通过发酵法制造长链二元酸时常规使用的发酵培养基，一般包括碳源10-60g/L、氮源1-10g/L、磷源1-10g/L和微量金属元素源0.1-50ppm等。在此，作为所述碳源，比如可以举出选自葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、果糖、糖蜜、甘油、山梨醇、阿拉伯糖、鼠李糖、甲醇和乙醇中的一种或多种。作为所述氮源，比如可以举出选自酵母膏、蛋白胨、玉米浆、尿素、铵盐和硝酸盐中的一种或多种。作为所述磷源，比如可以举出选自磷酸正盐、磷酸一氢盐和磷酸二氢盐中的一种或多种，优选选自磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸二氢铵、磷酸氢二铵、磷酸二氢钠和磷酸氢二钠中的一种或多种。作为所述微量金属元素源，比如可以举出选自钠、钾、钙、镁、铁、铜、锌和锰的硫酸盐、盐酸盐、醋酸盐和硝酸盐中的一种或多种，优选选自氯化钠、醋酸钠、氯化钾、硫酸镁、氯化钙、氯化铁和硫酸铜中的一种或多种。特别地，作为所述发酵培养基的组成，优选包括：蔗糖20至28g/L、玉米浆0.8至1.5g/L、酵母膏2.0至4.0g/L、氯化钠0.8至1.2g/L、磷酸二氢钾3.0至3.5g/L、硫酸镁1.2至1.8g/L、尿素1.2至4.8g/L，硫酸铵1.5至2g/L、醋酸钠1.5至1.8g/L。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵反应至少包括以下两个步骤。

25 预备步骤：混合所述发酵菌和所述发酵培养基，进行所述发酵反应5-60小时，获得发酵基础液。在此，作为所述预备步骤的反应时间，优选10-40小时，更优选20-30小时或24小时

转化步骤：向所述发酵基础液中加入所述长链组合物，进行所述发酵反应60-400小时，以将所述长链组合物转化为所述长链二元酸。在此，作为所述转化步骤的反应时间，优选100-300小时，更优选100至160小时或100至140

小时。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，发酵菌种子液的添加量（以体积计）一般为总装液控制体积的2-30%，优选5至20%或10至15%。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵反应的反应温度一般为25至37℃，优选28至32℃。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵反应的搅拌转速一般为100至1000rpm，优选120至500rpm或150至300rpm。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵反应的通气量一般为0.2至10.0VVM，优选0.2至2.0VVM或0.5至1.0VVM。

10 根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵反应的反应时间一般为65小时以上，优选大于120小时，更优选130至400小时、130至300小时、130至200小时或138至160小时。在此，所述反应时间包括所述预备步骤的反应时间和所述转化步骤的反应时间。

15 根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述长链组合物的添加量一般为100至1000g/L总装液控制体积，优选100至500g/L总装液控制体积或150至250g/L总装液控制体积。

根据本发明的一个实施方式，在所述制造方法中，所述发酵培养基的添加量一般为12至80g/L总装液控制体积，优选32至50g/L总装液控制体积、35至45g/L总装液控制体积、或者37至42g/L总装液控制体积。

20 根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述预备步骤中，优选在所述预备步骤从开始至24小时之内，不添加所述长链组合物，并且所述发酵反应的pH值为自生状态，也即在该步骤中或者在该时间段内不进行pH值控制。

25 根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述转化步骤开始时，优选在所述预备步骤开始24小时之后，将所述发酵反应的pH值调节至6.0至7.5之间，优选6.8至7.0之间。更优选的是，随后每隔5-60小时，优选每隔10-40小时或每隔20-30小时或每隔24小时，使所述发酵反应的pH值提高0.05至0.4，优选提高0.1至0.3，直至所述发酵反应结束。

30 根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述转化步骤中，分n个批次加入所述长链组合物（也称为批次补料）。在此，相邻两个批次之

间的时间间隔可以相同或不同，优选相同。作为所述时间间隔，比如可以举出5-60小时、10-40小时、20-30小时或24小时。另外，n为2-40的正整数，优选4-20或5-10的正整数。

根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述转化步骤中，
5 使用本说明书任意一个实施方式所述的长链组合物套组，分所述n个批次分别加入所述n个长链组合物，优选按照从第1个长链组合物至第n个长组合物的次序分别加入所述n个长链组合物。

根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述转化步骤中，
根据反应时间连续加入所述长链组合物（也称为流加补料）。在此，所述连续
10 加入可以是恒定流量，也可以是不恒定流量，优选恒定流量。

根据本发明的一个实施方式，根据所述制造方法，在所述转化步骤中，
按照函数 $R=f(t)$ 连续加入所述长链组合物。在此，R是所述长链烷烃与所述长
链羧酸的质量比，t是所述转化步骤的反应时间，f()代表任意的非递增函数，
优选任意的递减函数、任意的单调递减函数或任意的线性递减函数。

15 根据本发明的一个实施方式，所述制造方法还包括将所述长链二元酸从所述发酵反应的反应产物（称为发酵液）中分离的步骤。具体举例而言，在发酵反应结束后，经破乳、膜过滤、酸析、过滤、烘干处理后，获得长链二元酸产品。

根据本发明的一个实施方式，所述破乳可以按照本领域常规已知的任何
20 方式进行，并没有特别的限定。作为举例，作为所述破乳，具体可以举出将发酵液 pH 调至 8.5 至 10，优选 9 至 9.5，并升温至 75 至 90℃，维持 20 至 40min。

根据本发明的一个实施方式，所述膜过滤可以按照本领域常规已知的任何
方式进行，并没有特别的限定。作为举例，作为所述膜过滤，具体可以举
25 出将破乳之后的发酵液经膜过滤，进行固液分离，获得过滤清液。在此，过滤温度一般为 30 至 50℃，优选 40 至 50℃。膜孔直径一般为 10 至 50nm，优选 20 至 25nm。

根据本发明的一个实施方式，所述酸析可以按照本领域常规已知的任何
方式进行，并没有特别的限定。作为举例，作为所述酸析，具体可以举出将
30 所述过滤清液进行酸性 pH 调节，控制 pH 为 3 至 5，优选 3 至 4，使长链二元

酸析出。在此，所述酸性 pH 调节剂一般为强酸，如可以是硫酸、盐酸、硝酸等中的至少一种。

根据本发明的一个实施方式，所述过滤可以按照本领域常规已知的任何方式进行，并没有特别的限定。作为举例，作为所述过滤，具体可以举出板框过滤。在此，过滤压力一般为 0.5 至 1.0MPa，过滤温度一般为室温，比如 20 至 30℃。

根据本发明的一个实施方式，所述烘干可以按照本领域常规已知的任何方式进行，并没有特别的限定。作为举例，作为所述烘干，具体可以举出烘干温度为 80 至 105℃，烘干时间为 5 至 20h。

10

实施例

以下采用实施例进一步详细地说明本发明，但本发明并不限于这些实施例。

以下实施例和对比例中的实验方法，如无特殊说明，均为本领域常规方法。下述实施例和对比例中所用的实验材料，如无特殊说明，均可从生化试剂商店购买得到。

长链二元酸的提取总收率 T 的计算公式为：

$$T = \frac{M}{C \times V} \times 100\%$$

其中，V 为长链二元酸发酵液经膜过滤，除去未反应烷烃后获得的清液体积，L；M 为提取的长链二元酸干重，g；C 为长链二元酸的下罐浓度，g/L。

混合底物摩尔转化率 K 计算公式为：

$$K = \frac{\frac{M}{m}}{\frac{M_1}{m_1} + \frac{M_2}{m_2}} \times 100\%$$

其中，M 为提取的长链二元酸干重，g；M₁ 为烷烃质量，g；M₂ 为月桂酸质量，g；m 为长链二元酸分子量；m₁ 为烷烃分子量；m₂ 为月桂酸分子量。

长链二元羧酸的生产强度 Q 的计算公式为：

$$Q = \frac{C}{H}$$

其中，C 为长链二元酸的下罐浓度，g/L；H 为发酵周期，h。

本发明实施例中选用热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*) 突变株

PF-UV-56 作为发酵菌株进行长链烷烃发酵生产长链二元酸，该突变株保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心，保藏编号为 CGMCC No. 0356。

5 发酵种子液制造：将斜面保藏菌种接种于 4 个 5L 摇瓶（摇瓶装液量 300mL）进行菌种活化培养，培养温度为 32℃，培养摇床转数为 200rpm。培养 48 小时后，取活化种子液 1.2L，作为发酵种子液。

发酵培养基配方为：蔗糖 20g/L、玉米浆 0.8g/L、酵母膏 2.0g/L、氯化钠 0.8g/L、磷酸二氢钾 3.0g/L、硫酸镁 1.2g/L、尿素 1.2g/L，硫酸铵 1.5g/L、醋酸钠 1.5g/L。

10

实施例 1

（1）取十二碳烷烃 1650g，加入月桂酸 330g，升温至 60℃，搅拌转速 150rpm 进行混合溶解，随后加入 1980g 水，充分混合后，加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 8，得到混合底物。

15 （2）于 15L 发酵罐中进行长链二元酸发酵，总装液控制体积 12L，其中发酵菌种子液 1.2L，发酵温度 32℃、通气量 1.0VVM、搅拌转速为 250rpm，在发酵 0 至 24h 内，不进行 pH 控制，24h 后将 pH 调整至 7.0，随后每间隔 24h 将 pH 控制值提高 0.15，并且于发酵 24h、48h、72h、96h、120h，将步骤（1）制造的烷烃/月桂酸混合底物分 5 批次加入发酵体系中。

20 （3）发酵周期共计 145h。发酵结束后，将发酵液 pH 调至 9.5，并升温至 90℃，维持 20min；经破乳的发酵液通过膜过滤进行固液分离，获得水相清液，过滤条件为膜孔直径为 20nm，过滤温度 40℃；将过滤水相清液流加浓硫酸，pH 调至 3，水相清液中长链二元酸结晶析出。析出的长链二元酸经板框过滤及烘干后获得长链二元酸粗酸产品。过滤条件：过滤压力 0.5MPa，过
25 滤温度 30℃。烘干条件是温度 80℃，烘干时间 20h。

发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 152.0g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.4L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1914.5g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 62.4%。

30 实施例 2

(1) 取十二碳烷烃 1900g, 加入月桂酸 190g, 升温至 60℃, 搅拌转速 250rpm 进行混合溶解, 随后加入 2090g 水, 充分混合后, 加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 7.5, 得到混合底物;

(2) 于 15L 发酵罐进行长链二元酸发酵, 总装液控制体积 12L, 其中发
5 酵菌种子液 1.2L, 发酵温度 32℃、通气量 1.0VVM、搅拌转速为 250rpm, 在发酵 0 至 24h 内, 不进行 pH 控制, 24h 后将 pH 调整至 7.0, 随后每间隔 24h 将 pH 控制值提高 0.2, 并且于发酵 24h、48h、72h、96h、120h, 将步骤 (1) 制造的烷烃/月桂酸混合液分 5 批次分别加入发酵体系中。

(3) 发酵周期共计 150h。发酵结束后, 将发酵液 pH 调至 9, 并升温至
10 75℃, 维持 40min; 经破乳的发酵液通过膜过滤进行固液分离, 获得水相清液, 过滤条件为膜孔直径为 25nm, 过滤温度 50℃; 将过滤水相清液流加浓硫酸, pH 调至 4, 水相清液中长链二元酸结晶析出。析出的长链二元酸经板框过滤及烘干后获得二元酸粗酸产品。过滤条件: 过滤压力 1.0MPa, 过滤温度 20℃。烘干条件是温度 105℃, 烘干时间 5h。

15 发酵结果为: 步骤 (2) 中长链二元酸发酵浓度 156.0 g/L, 步骤 (3) 中经膜过滤获得发酵清液 13.6L, 酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1973.0g, 粗酸提取收率 93%, 烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 60.2%。

实施例 3

20 (1) 取十二碳烷烃 1650g, 加入月桂酸 330g, 升温至 60℃, 搅拌转速 150rpm 进行混合溶解, 随后加入 5940g 水, 充分混合后, 加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 8, 得到混合底物;

(2) 于 15L 发酵罐进行长链二元酸发酵, 总装液控制体积 12L, 其中发
25 酵菌种子液 1.2L, 发酵温度 32℃、通气量 1.0VVM、搅拌转速为 250rpm, 在发酵 0 至 24h 内, 不进行 pH 控制, 24h 后将 pH 调整至 7.0, 随后每间隔 24h 将 pH 控制值提高 0.15, 并且于发酵 24h 开始, 将步骤 (1) 制造的烷烃/月桂酸混合液采用流加方式加入发酵体系中, 流速控制为 66g/h。

(3) 发酵周期共计 144h。发酵结束后, 将发酵液 pH 调至 9.5, 并升温
30 至 90℃, 维持 20min; 经破乳的发酵液通过膜过滤进行固液分离, 获得水相清液, 过滤条件为膜孔直径为 20nm, 过滤温度 40℃; 将过滤水相清液流加浓

硫酸，pH 调至 3，水相清液中长链二元酸结晶析出。析出的长链二元酸经板框过滤及烘干后获得长链二元酸粗酸产品。过滤条件：过滤压力 0.5MPa，过滤温度 30℃。烘干条件是温度 80℃，烘干时间 20h。

5 发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 153.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.5L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1941.6g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 63.3%。

比较例 1

同实施例 1，不同在于步骤（1）不采用烷烃与月桂酸混合底物，仅在步骤（2）发酵过程中批次添加总质量为 1980g 的烷烃。发酵周期共计 158h，
10 发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 150.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.0L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1833g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 58.2%。

15 比较例 2

同实施例 1，不同在于步骤（1）不采用烷烃与月桂酸混合底物，仅在步骤（2）发酵过程中批次添加总质量为 1980g 的月桂酸。发酵周期共计 155h，
发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 15.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 12.0L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 169.2g，粗酸
20 提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 6.3%。

比较例 3

同实施例 1，不同在于步骤（1）不采用烷烃与月桂酸混合底物，仅在步骤（2）发酵过程中批次添加总质量为 1848g 的烷烃。发酵周期共计 150h，
25 发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 141.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 12.9L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1709.8g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 58.2%。

实施例 4

30 同实施例 1，不同在于步骤（1）烷烃与月桂酸常温搅拌混合，加入 1980g

水，充分混合后，加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 8，得到混合底物。发酵周期共计 144h，发酵结果为：经检测和计算，步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 142.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.2L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1762g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 57.4%。

实施例 5

同实施例 1，不同在于步骤（1）烷烃与月桂酸与 60℃搅拌溶解后，不通过加水配制水溶液，不经过 pH 碱性调节，直接用于步骤（2）发酵过程。发酵周期共计 144h，发酵结果为，步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 135.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.0L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1650g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 53.8%。

实施例 6

同实施例 1，不同在于步骤（1）烷烃与月桂酸与 60℃搅拌溶解后，加水配制水溶液，不经过 pH 碱性调节，直接用于步骤（2）发酵过程。发酵周期共计 145h，发酵结果为，步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 142.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.5L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1802g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 58.7%。

实施例 7

（1）取十二碳烷烃 1800g，加入月桂酸 300g，升温至 60℃，搅拌转速 150rpm 进行混合溶解，随后加入 4200g 水，充分混合后，加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 7.5，得到混合底物。

（2）于 15L 发酵罐中进行长链二元酸发酵，总装液控制体积 12L，其中发酵菌种子液 1.2L，发酵温度 32℃、通气量 1.0VVM、搅拌转速为 250rpm，在发酵 0 至 24h 内，不进行 pH 控制，24h 后将 pH 调整至 7.0，随后每间隔 24h 将 pH 控制值提高 0.2，并且于发酵 24h、48h、72h、96h、120h，将步骤（1）制造的烷烃/月桂酸混合底物分 5 批次加入发酵体系中。

（3）发酵周期共计 153h。发酵结束后，按照实施例 1 步骤（1）的方法

进行长链二元酸提取。

发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 160.0g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.6L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 2030.4g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 62.2%。

5

实施例 8

（1）取十二碳烷烃 1650g，加入月桂酸 198g，升温至 60℃，搅拌转速 150rpm 进行混合溶解，随后加入 1848g 水，充分混合后，加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 8，得到混合底物。

10 （2）于 15L 发酵罐中进行长链二元酸发酵，总装液控制体积 12L，其中发酵菌种子液 1.2L，发酵温度 32℃、通气量 1.0VVM、搅拌转速为 250rpm，在发酵 0 至 24h 内，不进行 pH 控制，24h 后将 pH 调整至 7.0，随后每间隔 24h 将 pH 控制值提高 0.2，并且于发酵 24h、48h、72h、96h、120h，将步骤（1）制造的烷烃/月桂酸混合底物分 5 批次加入发酵体系中。

15 （3）发酵周期共计 142h。发酵结束后，按照实施例 1 步骤（1）的方法进行长链二元酸提取。

发酵结果为：步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 148.0g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 12.9L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 2048.9g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 62.1%。

20

实施例 9

同实施例 1，不同在于步骤（1）用十四碳烷烃与肉豆蔻酸组合替代原实施例中烷烃与月桂酸的组合。发酵周期共计 144h，发酵结果为，步骤（2）中长链二元酸发酵浓度 115.0 g/L，步骤（3）中经膜过滤获得发酵清液 13.0L，
25 酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1405.3g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 53.2%。

实施例 10

同实施例 1，不同在于步骤（1）用十六碳烷烃与棕榈酸组合替代原实施
30 例中烷烃与月桂酸的组合。发酵周期共计 144h，发酵结果为，步骤（2）中

长链二元酸发酵浓度 98.0 g/L, 步骤 (3) 中经膜过滤获得发酵清液 13.0L, 酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1197.6g, 粗酸提取收率 94%, 烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 51.6%。

5 实施例 11

(1) 取十二碳烷烃 1650g, 分成 5 份, 每份 330g, 然后分别加入月桂酸 33.0g、36.3g、39.6g、42.9g、46.2g, 组成含有不同比例的烷烃与月桂酸混合物, 编号 1-5。并按照实施例 1 步骤 (1) 的处理方式进行烷烃与月桂酸混合物的预处理。

10 (2) 按照实施例 1 步骤 (2) 的方式进行长链二元酸发酵过程, 不同之处在于发酵 24h、48h、72h、96h、120h 时, 将步骤 (1) 制造的烷烃/月桂酸混合底物按照编号 1-5 的顺序依次加入发酵体系中。

(3) 发酵周期共计 140h。发酵结束后, 按照实施例 1 步骤 (3) 进行长链二元酸粗酸提取。

15 发酵结果为: 步骤 (2) 中长链二元酸发酵浓度 149.0g/L, 步骤 (3) 中经膜过滤获得发酵清液 13.0 L, 酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1820.8g, 粗酸提取收率 94%, 烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 63.0%。

实施例 12

20 (1) 取十二碳烷烃 1650g, 分成 5 份, 每份 330g, 然后分别加入月桂酸 52.8g、56.1g、59.4g、62.7g、66.0g, 组成含有不同比例的烷烃与月桂酸混合物, 编号 1-5。并按照实施例 1 步骤 (1) 的处理方式进行烷烃与月桂酸混合物的预处理。

25 (2) 按照实施例 1 步骤 (2) 的方式进行长链二元酸发酵过程, 不同之处在于发酵 24h、48h、72h、96h、120h 时, 将步骤 (1) 制造的烷烃/月桂酸混合底物按照编号 1-5 的顺序依次加入发酵体系中。

(3) 发酵周期共计 140h。发酵结束后, 按照实施例 1 步骤 (3) 进行长链二元酸粗酸提取。

30 发酵结果为: 步骤 (2) 中长链二元酸发酵浓度 154.0g/L, 步骤 (3) 中经膜过滤获得发酵清液 13.4 L, 酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1939.8g,

粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 64.2%。

实施例 13

5 (1) 取十二碳烷烃 1650g，分成 5 份，每份 330g，然后分别加入月桂酸 33.0g、36.3g、39.6g、42.9g、46.2g，按照实施例 1 步骤 (1) 的处理方式加热溶解后，分别加水控制总质量为至 768g。进一步加入固体氢氧化钠将体系 pH 调至 7.5，得到含有不同比例的烷烃与月桂酸混合物，编号 1-5。

10 (2) 按照实施例 1 步骤 (2) 的方式进行长链二元酸发酵过程，不同之处在于发酵 24h-48h、48h-72h、72h-96 h、96h-120h、120h-144h 时间范围内，分别将步骤 (1) 制造的烷烃/月桂酸混合底物按照编号 1-5 的顺序依次以定速流加的方式加入发酵体系中，流速控制为 32g/h。

(3) 发酵周期共计 144h。发酵结束后，按照实施例 1 步骤 (3) 进行长链二元酸粗酸提取。

15 发酵结果为：步骤 (2) 中长链二元酸发酵浓度 152.0g/L，步骤 (3) 中经膜过滤获得发酵清液 13.2 L，酸析获得长链二元酸粗酸产品质量 1886.0g，粗酸提取收率 94%，烷烃和月桂酸的混合底物摩尔转化率 65.3%。