

# 生物法发酵生产木糖醇研究进展

倪子富, 王乐\*

(河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001)

**摘要:** 木糖醇作为食品、医药、化工等领域的重要合成原料, 具有极高的应用价值。利用微生物法发酵生产木糖醇具有原料来源广泛, 发酵条件温和, 产物分离纯化简单等优势, 一直被认为是绿色经济的木糖醇生产工艺路线。本文通过对生物法生产木糖醇的热点问题: 发酵菌种的分类和发酵性能、基因工程菌的改造策略、以半纤维素水解液为发酵底物的制取、脱毒处理和发酵条件优化以及在固定化技术中所应用到的载体和固定化方法等几个方面进行梳理和归纳, 系统阐述了生物法发酵生产木糖醇的最新研究进展, 并对其前景进行了展望。

**关键词:** 木糖醇; 菌株; 发酵调控; 固定化

## Research advances in xylitol production by biological fermentation

NI Zi-Fu, WANG Le\*

(College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

**ABSTRACT:** Xylitol, as the important synthetic materials in food, medicine, chemical industry and other fields, has a high application value. The microbial methods of xylitol production have some obvious advantages, such as the wide raw material sources, moderate fermentation condition, simple and convenient way to separation. Therefore, it has been regarded as a green economy route of xylitol production. This paper aimed to summarize some aspects of biological fermentation in xylitol production. It included the classification and performance of fermentation strains, the transformation strategy of genetic engineering bacteria, the preparation and detoxification of hemicellulose hydrolysate, the optimization of fermentation from hydrolysate, and the carrier and methods of immobilization technology. The advanced researches of biological methods for xylitol production were elaborated. Afterwards, its prospect was outlooked.

**KEY WORDS:** xylitol; strain; fermentation control; immobilization

## 1 引言

木糖醇在食品、医药等领域具有广阔的市场空间, 存

在着巨大的发展潜力<sup>[1-3]</sup>。目前, 生物法发酵生产木糖醇是一条绿色经济的新型木糖醇生产途径。通过生物法发酵生产木糖醇可避免剧烈的化学反应、不需要耐高温高压设备

基金项目: 国家自然科学基金项目(21306040)、河南省科技厅自然科学基金项目(142102210412)、(化工资源有效利用)国家重点实验室项目(CRE-2014-C-301)、省属高校基本科研业务费专项资金(2014YWQQ17)、河南工业大学校基金项目(2014CX 12C06)。

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (21306040), Natural Science Foundation of Science and Technology Agency of Henan Province (142102210412), (Effective Utilization of Chemical Resources) State Key Laboratory Project (CRE-2014-C-301), Basic Scientific Research Special Funds of Provincial Colleges and Universities (2014YWQQ17), and Henan University of Technology Fund Projects (2014CX 12C06).

\*通讯作者: 王乐, 博士, 讲师, 主要研究方向为发酵工程、生物质资源高值转化及食品加工与安全。E-mail: 2012051@haut.edu.cn

\*Corresponding author: WANG Le, College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Henan, 450001, China. E-mail: 2012051@haut.edu.cn

和催化剂的参与, 并且由于菌种的特异性、酶的专一性和转化的单一性等方面的特性, 使得生物法生产木糖醇具有环保、节能、高效等众多优势, 极具工业化发展潜力, 受到国内外的广泛研究和关注<sup>[4,5]</sup>。

生物法生产木糖醇虽具有广阔的发展和前景, 但在实际研究和工业化推广过程中依旧存在诸多问题亟需解决: 如何获取高性能的发酵菌种、如何通过多方面的综合发酵调控来稳定和提升产量、以及怎样进一步推进工业化进程等<sup>[6]</sup>。所以当前对微生物发酵法生产木糖醇的主要研究内容包括: 对不同木糖醇生产菌种的发酵性能的研究、将植物半纤维素水解液作为发酵底物的制备、脱毒和发酵条件的研究以及利用固定化技术实现多批次发酵的研究等<sup>[7]</sup>。本文将主要论述当前生物法生产木糖醇中的主要研究进展。

## 2 发酵生产木糖醇的微生物

### 2.1 天然微生物发酵生产木糖醇

在工业化发酵生产中, 菌种的发酵性能直接关系到微生物代谢生产能力、发酵生产的成本以及工业化规模化生产的难易程度等方面的问题。目前, 木糖/木糖醇转化率和木糖醇产率依旧是限制微生物转化生产木糖醇规模化的瓶颈之一, 因此获取一株性能优良的高产木糖醇菌株显得尤为重要<sup>[8]</sup>。

自然界中能够利用木糖通过不同的代谢途径生产木糖醇的微生物种类很多, 其中包括很少一部分细菌, 部分霉菌, 大部分酵母等<sup>[2]</sup>。但通过目前的报道来看大部分细菌发酵生产木糖醇的转化率不高。真菌虽然可以通过木糖→木酮糖→木糖醇的途径来转化生产木糖醇, 但真菌的生产效率普遍偏低<sup>[9]</sup>。通过综合分析发现酵母类, 尤其是假

丝酵母属在木糖醇发酵中具有优越的性能, 其最高产量平均可达到理论值的 84.5%, 所以目前国内外的研究大都集中于利用酵母菌转化木糖生产木糖醇<sup>[10,11]</sup>。

### 2.2 构建基因工程菌株发酵生产木糖醇

随着基因工程技术在近几年的迅猛发展, 不断有研究者通过从自然界中筛选、克隆、转基因等手段获得高产菌株。大肠杆菌由于具有易调控、易培养、代谢背景清楚等优点而被视为产木糖醇基因工程菌的首选<sup>[12]</sup>。实验证明通过将木糖还原酶基因导入大肠杆菌细胞, 在经过发酵之后可以检测到木糖醇。但仅将木糖还原酶导入到大肠杆菌仍存在一定的缺陷, 如木糖还原酶(XR)专一性比较差, 既能催化木糖又能转化阿拉伯糖。而由阿拉伯糖生成的阿拉伯糖醇与木糖醇互为差向异构体, 两者具有极其相似的物理化学性质, 为后续的分纯化增加了许多困难<sup>[13]</sup>。因此, 有研究人员通过将木糖异构酶基因和木糖醇还原酶基因导入到大肠杆菌中, 利用木酮糖作为木糖转化的中间产物来生产木糖醇。由图 1 木糖的代谢途径可知, 木糖在木糖异构酶(XI)的作用下异构化为木酮糖, 之后在木糖醇还原酶的作用下生成木糖醇。这一途径的构建可以有效避免 XR 催化不专一问题, 是一种新型的木糖醇生产途径<sup>[14]</sup>。另外, 将 *L*-阿拉伯糖异构酶基因、阿洛酮糖异构酶基因、木酮糖还原酶基因导入大肠杆菌中不但构建了由 *L*-阿拉伯糖到木糖醇的新代谢通路, 而且对消除阿拉伯糖醇的干扰也十分有利<sup>[15]</sup>。王晓霞等<sup>[16]</sup>通过将木聚糖酶基因(*xynA*)和木糖还原酶基因(*xylI*)导入到大肠杆菌中并诱导其共同表达发现, 虽然两种酶的酶活力低于单独表达时的酶活力, 但已经证实可以直接由木质纤维素原料发酵制备木糖醇, 不必直接源于半纤维素水解液, 这也为木糖醇的生物法生产开辟了一条新的途径。

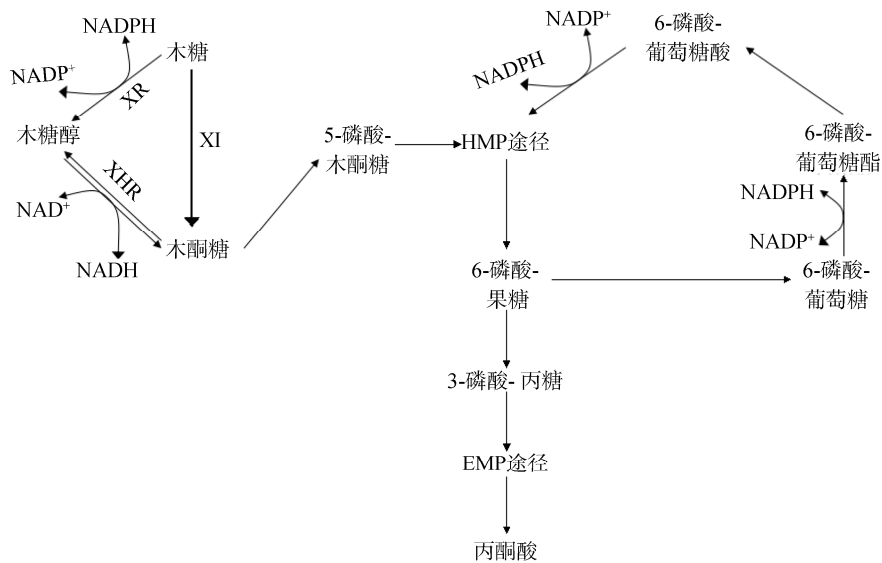


图 1 酵母细胞中木糖的代谢流程<sup>[14]</sup>

Fig. 1 Xylose metabolic process in yeast cells<sup>[14]</sup>

目前不仅将大肠杆菌作为基因工程菌的载体,酵母菌也经常作为重要的工业微生物。而酿酒酵母因具有对一些生长抑制因子的耐受性强、生长迅速、副产物少等优点被作为基因工程载体的重点研究对象之一<sup>[17,18]</sup>。由图1可知,木糖在酵母细胞中的代谢需要依靠木糖还原酶的催化。然而,酿酒酵母由于缺乏代谢木糖的相关酶系,在自然条件下不能利用木糖而只能利用葡萄糖来作为生长和代谢的碳源和能源<sup>[19]</sup>。所以将木糖还原酶基因(*xy1I*)导入酿酒酵母并高效表达是构建木糖醇生产菌株的首要前提。李敏等<sup>[20]</sup>将毕赤氏酵母木糖还原酶基因导入到酿酒酵母中并通过筛选得到含高拷贝木糖还原酶基因的酿酒酵母重组菌株XGH2,使木糖还原酶活性较初始菌株提高了80倍。并且由于重组菌中缺少分解木糖醇的木糖醇脱氢酶,使得该重组菌株的木糖转化率大于1.0 g/g,具有非常大的工业化潜力。

### 3 半纤维素水解液发酵生产木糖醇

使用纯木糖作为生物法生产木糖醇的原料生产成本低,限制了木糖醇的应用领域和市场空间。而在自然界中像玉米芯、甘蔗渣、棉籽壳等植物纤维中包含大量的木糖,可以在水解之后作为发酵底物用于木糖醇的生产<sup>[21,22]</sup>。以大量存在并且可持续再生的植物纤维代替纯木糖为原料,可以有效降低生产成本,实现自然资源的充分利用。

#### 3.1 半纤维素水解液的制取

要推进生物法生产木糖醇走向工业化,寻求高质高效的水解方法非常必要。半纤维素水解液的制备主要有化学法和酶法两种。在化学法中常用稀硫酸、稀盐酸作为催化剂<sup>[23]</sup>。相较于强酸条件下水解使用稀酸虽然可以降低有毒物质含量,但大量不可发酵的低聚糖残留在发酵液中造成很大的浪费。同时稀酸水解后的发酵液仍对酵母细胞的生长和木糖的转化有抑制作用,导致木糖醇的得率比较低、残糖浓度比较高<sup>[24]</sup>。为降低酸水解带来的副作用,可以通过使用机械手段辅助的方法来缓解,如郑生宏等<sup>[21]</sup>利用超声波和酸结合的方法在常压下水解茶籽壳制备木糖,使用少量的酸便获得较高的木糖浓度。另外,实验发现利用酶解液发酵生产木糖醇的发酵性能虽不如纯木糖,但明显优于酸水解发酵液<sup>[25]</sup>。以玉米芯为例,一般常使用木聚糖酶对其进行水解。此过程存在用酶直接对玉米芯进行酶解和对玉米芯自水解液进行酶解两种水解方式<sup>[26]</sup>。由于玉米芯中富含纤维素和木质素,木聚糖酶直接酶解玉米芯时与半纤维素的接触面积小,导致酶解率偏低。尽管可以通过预处理提前除去玉米芯中的木质素,但残留的纤维素仍然对木聚糖的酶解起阻碍作用<sup>[27]</sup>。所以Damaso等人<sup>[28]</sup>利用木聚糖酶酶解玉米芯获得木糖的最大得率为0.52 g/g。研究人员将纤维素酶和木聚糖酶混合来水解预处理后的玉米芯,虽然可以使木聚糖的酶解率获得较大的提高,但是

纤维素水解产生的大量葡萄糖能抑制木糖还原酶的活性并使酵母通过无氧呼吸产生乙醇,最终导致木糖醇的产量下降<sup>[29]</sup>。相反在玉米芯的自水解液中主要含木聚寡糖,无论使用单一的木聚糖酶还是与纤维素酶混合都不会产生大量的葡萄糖,并且玉米芯自水解液中的木聚糖更容易受到木聚糖酶的催化,既提高水解率,又缩短水解时间,而且用酶量较少<sup>[30]</sup>。可见,使用不同的水解方法会产生不同品质的半纤维素水解液,进而对木糖醇发酵产生不同的影响。

#### 3.2 对半纤维素水解液的处理

玉米芯半纤维素水解液中木糖的浓度会对发酵的效率及产量产生重要影响,所以如何获取含高浓度木糖的半纤维素水解液是保证木糖醇产量的重要前提。与此同时,半纤维素水解液中成分复杂,种类繁多。尤其是乙酸、糠醛、单宁等有毒物质对发酵的影响不可低估<sup>[31,32]</sup>。所以在进行半纤维素水解液发酵之前,首先要对水解液进行脱毒处理等工艺,这些都直接影响着半纤维素的发酵性能。半纤维素水解液的脱毒方法主要有真空蒸发、石灰中和、石灰过中和、活性炭吸附、离子交换树脂吸附、低温蒸发浓缩等<sup>[33,34]</sup>。其中石灰中和和石灰过中和是最具工业化潜力的脱毒方法,但在脱毒工程中往往产生大量的糖,使木糖醇发酵产率下降,同时中和过程中产生的石膏需要一系列的后续设备和处理手段,增加了生产的成本<sup>[32]</sup>;活性炭吸附的脱毒效果较好但同时也吸附了大量的木糖,所以不利于木糖醇产率的提高;利用真空浓缩不但可以提升水解液中木糖的浓度,而且可以除去大部分糠醛、醋酸及某些挥发性有毒成分<sup>[35]</sup>。但真空浓缩对选择合适的浓缩倍数至关重要,过高和过低都达不到理性的脱毒效果<sup>[33]</sup>。虽然每种脱毒方法各有其特点,而综合利用多种脱毒方法分步处理水解液却能达到很好的效果。研究人员通过将活性炭吸附与离子交换树脂结合使用发现脱毒效果优于使用过量石灰法<sup>[36]</sup>。Martinez等<sup>[37]</sup>在使用石灰中和后用少量活性炭处理使木糖醇的得率达到79%。所以利用多脱毒法相结合是制取高质量半纤维素水解液的重要途径。

#### 3.3 以半纤维素水解液为底物的发酵条件优化

在以半纤维素水解液为底物的木糖醇发酵生产中,不同的发酵条件影响着由木糖到木糖醇的转化程度,这些条件包括:底物、温度、pH、无机离子、通气量以及发酵方式等<sup>[38,39]</sup>。对这些发酵条件的调控可以进一步改善菌体的发酵性能。而在这些条件中,底物和通气量显得尤为重要。

半纤维素水解液中底物木糖浓度对木糖醇的产量影响十分显著。经实验证明发酵过程中木糖的消耗速率和木糖醇的生成速率呈线性正相关,故水解液中适当高浓度的木糖可以有效提高木糖醇产率<sup>[40]</sup>。但超过一定范围也会对菌体生长代谢产生抑制作用,造成木糖醇产率下降,所以对水解液中木糖浓度的优化是提高木糖醇产率的一个重要

调控因素<sup>[38]</sup>。一般大多数酵母的初始木糖浓度都处于较低水平,也有一些耐高糖的酵母菌,其适合的初始木糖浓度能达到 100 g/L<sup>[41]</sup>。另外,半纤维素水解液中还含有一部分葡萄糖、甘露糖、半乳糖和阿拉伯糖等其他糖类<sup>[39]</sup>。由于甘露糖、半乳糖和阿拉伯糖在水解液中的含量少,菌体对其敏感度不高,所以对于木糖醇发酵影响不大<sup>[42]</sup>。葡萄糖的存在虽然可以被菌体优先用于自身生长代谢,避免木糖的无用消耗,但水解液中葡萄糖比例的不同不但会导致氧化还原电势的改变进而影响与木糖代谢相关的酶的活性和比例,而且会产生代谢阻遏效应来严重抑制木糖醇的发酵途径<sup>[32]</sup>。此外,葡萄糖浓度超过一定范围会使菌体产生一定体积的对木糖醇发酵有抑制作用的乙醇<sup>[37]</sup>。因此,优化并获得菌体生长代谢和木糖醇发酵适宜的糖浓度非常必要。

在发酵初期,提高培养基中足够的溶氧量一方面可使菌体大量快速增长,减少对木糖醇发酵不利的副产物,如乙醇的生成;另一方面可促使菌体对乙酸、糠醛等抑制物的消耗从而缩短延滞期<sup>[43]</sup>。然而在充分溶氧条件下,木糖醇脱氢酶生产的 NADH 又重新被呼吸链氧化为 NAD<sup>+</sup>,使木糖醇进一步氧化脱氢形成木酮糖。所以木糖醇只能在严格限制供氧的条件下才能大量积累,而选择不同的通气发酵策略对木糖醇的生产影响很大<sup>[44]</sup>。为解决上述问题,有研究人员在考察了不同通气量下木糖醇的发酵情况后选择适中的通气量进行恒定通氧发酵,此方法虽然简便,但对于木糖醇发酵的调控性差,不利于产物的积累<sup>[41]</sup>。还有研究人员采取先高后低的分段通氧发酵策略:在发酵初期采用高通气量使菌体大量生长,然后通过相应降低通气量来保证木糖醇的积累。这一方法可以有效提高木糖的转化率,促进木糖醇的生成。Preziosi Billoy 等<sup>[45]</sup>采用先高后低的分段通氧策略使 *Candida uilliermondii* 在半纤维素水解液中的木糖转化率达到 80%。另外 Wang 等<sup>[46]</sup>在以半纤维素水解液为底物的木糖醇发酵中采用三步法通氧策略,即先高通气量,使菌体大量繁殖;在菌体达到一定浓度后在短时间内维持一个中等通气量使菌体逐渐适应,然后继续降低通气量来保证木糖醇的积累。这一策略的应用使木糖醇的产量又有了进一步的提高。

#### 4 固定化在发酵生产木糖醇中的应用

目前,利用固定化技术发酵生产木糖醇也是一个潜力巨大的发展方向。细胞固定化发酵与游离发酵相比,具有可重复使用,缩短发酵生产周期;利于产品的分离、提纯及后处理;细胞密度大,稳定性强对酸、碱和温度变化有较强的抵抗力等优点<sup>[47,48]</sup>。因此,具有重要的研究价值和经济价值。通过固定化细胞可以提高菌体发酵的稳定性并显著增加发酵效率,实现连续化多批次发酵,如:Prakash 等<sup>[49]</sup>利用海藻酸钙固定化 *D. hansenii* 在初始木糖浓度为 100 g/L 时进行发酵,木糖醇的转化率达到 0.82 g/g,

并在连续五批的发酵中,木糖醇的转化率都保持在理论值的 98%。

细胞固定化技术的关键在于采用固定化载体的性能,高质量的载体具有无毒害、传质性好、价格低廉寿命长等优点<sup>[50]</sup>。在固定化发酵中,根据细胞种类和特性的不同,需要选用不同的固定方法<sup>[51]</sup>。由无机材料和有机材料结合形成的复合载体因兼具两种材料优点而成为近几年研究的一大热点。邓立红等<sup>[52]</sup>在利用聚乙烯醇(PVA)与海藻酸钠两种载体复合包埋热带假丝酵母细胞时发现,PVA 的质量浓度极大地影响着细胞颗粒的耐磷酸盐能力和机械强度,对于调节复合载体的性能十分关键。常用的固定化方法有吸附法、共价法、交联法和包埋法四种<sup>[53]</sup>。而在木糖醇生物法生产过程中,常用到包埋法和吸附法两大类,例如,李静等<sup>[18]</sup>采用海藻酸钙凝胶包埋法固定利用克隆获得的双辅酶依赖性的巴斯德毕赤酵母 X-33,在进行木糖发酵后得到木糖醇的转化率为 37.5%。Wang 等<sup>[53]</sup>利用聚氨酯固定热带假丝酵母,在未经脱色和离子交换的玉米芯水解液中直接转化木糖,在连续进行 12 批次 21 天的发酵测试中,木糖醇的产量和生成速率分别达到 71.2% 和 2.10 g/(L·h),是非常具有工业化发展潜力的固定化方法。

#### 5 总 结

生物法发酵生产木糖醇存在不可替代的优势,具有巨大的发展潜力。本文通过对木糖醇的生产菌株、以半纤维素水解液为底物的木糖醇发酵以及固定化技术在木糖醇中的应用等三方面进行总结和归纳。并主要突出了目前生物法生产木糖醇的主要研究方向,即利用基因工程技术,通过基因改造手段,构建能够高效并高产的基因工程菌、利用半纤维素水解液作为木糖醇发酵底物的制备和脱毒处理以及利用固定化技术使用不同的固定介质和不同的固定方法来改善发酵效率和产率等。相信随着这些研究方向的逐渐深入,木糖醇的生物法生产工艺将更加趋于成熟,为未来生物法生产木糖醇的工业化进程奠定一定的基础。

#### 参考文献

- [1] 方祥年. 玉米芯半纤维素水解液发酵生产木糖醇的关键技术研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011: 1-197.  
Fang XN, Study on the key technique of xylitol fermentation from corn cob *Hemicellulosic Hydrolysate*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011: 1-197.
- [2] 樊洁, 韩焯, 周志江, 等. 微生物发酵法生产糖醇的研究进展[J]. 食品发酵科技, 2013, 49(5): 94-98.  
Fan J, Han Y, Zhou ZJ, et al. Research progress on production of sugar alcohols by microbial fermentation [J]. Food Ferment Technol, 2013, 49(5): 94-98.
- [3] Silva SS, Roberto IC, Felipe MGA, et al. Batch fermentation of xylose for xylitol production in stirred tank bioreactor [J]. Process Biochem, 1996, 31(6): 549-553.

- [4] Pérez-Bibbinsa B, Salgadoa JM, Torradoc A, *et al.* Culture parameters affecting xylitol production by *debaryomyces hansenii* immobilized in alginate beads [J]. *Process Biochem*, 2013, 48(3): 387–397.
- [5] Huang CF, Jiang YF, Guo GL, *et al.* Development of a yeast strain for xylitol production without hydrolysate detoxification as part of the integration of co-product generation within the lignocellulosic ethanol process [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3): 3322–3329.
- [6] Wang L, Wu DP, Tang PWH, *et al.* Effect of organic acids found in cottonseed hull hydrolysate on the xylitol fermentation by *Candida tropicalis* [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2013, 36(8): 1053–1061.
- [7] Wang L, fan X G, Tang PWH, *et al.* Xylitol fermentation using hemicellulose hydrolysate prepared by acid pre-impregnated steam explosion of corncob [J]. *J Chemtechnol Biotechnol*, 2013, 88(11): 2067–2074.
- [8] Winkelhausen E, Jovanovic-Malinovska R, Kuzmanova S, *et al.* Hydrogels based on u.v.-crosslinked poly(ethylene oxide)matrices for immobilization of *Candida boidinii* cells for xylitol production [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2008, 24(10): 2035–2043.
- [9] 赵寿经, 侯琨, 梁彦龙, 等. 产木糖醇菌株的筛选及发酵条件优化[J]. 吉林大学工学版, 2010, 40(3): 868–872.
- Zhao SJ, Hou K, Liang YL, *et al.* Screening of xylitol-producing strain and optimization of its fermentation conditions [J]. *J Jilin Univ (Eng Technol Edit)*, 2010, 40(3): 868–872.
- [10] 翟玉盼, 孙君社, 李敏, 等. 产木糖醇基因工程菌的研究进展[J]. 食品科学, 2011, 32(增刊): 15–19.
- Zhai YP, Sun JS, Li M, *et al.* Xylitol production of genetically engineered bacteria progress [J]. *Food Science*, 2011, 32(suppl): 15–19.
- [11] Zhang JM, Geng AL, Yao CY, *et al.* Xylitol production from D-xylose and horticultural waste hemicellulosic hydrolysate by a new isolate of *Candida athensensis SB18* [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 105(1): 134–141.
- [12] 焦静雨, 吴绵斌, 赵炯烽, 等. 基因工程技术改造木糖醇生产菌株的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2012, 32(11): 124–131.
- Jiao JY, Wu MB, Zhao JF, *et al.* Study on genetic engineering to transform the strains of xylitol production [J]. *Chin J Biotechnol*, 2012, 32(11): 124–131.
- [13] Carvalho W, Santos J C, CanilhaL, *et al.* Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate metabolic behaviour of *Candida guilliermondii* cells entrapped in caalginate [J]. *Biochem Eng J*, 2005, 25(1): 25–31.
- [14] 王巧玲. 季也蒙毕赤酵母木糖还原酶基因克隆及在毕赤酵母 GS115 表达[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012: 1–45.
- Wang QL. Cloning of *Pichia guilliermondii* xylose reductase gene and expression in the *pichiapastoris* GS115[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012: 1–45.
- [15] 严小琼. 热带假丝酵母高产木糖醇代谢工程菌的构建[D]. 桂林: 广西师范大学, 2013, 1–64.
- Yang X Q. Construction of the high-yield xylitol engineering strain of *Candida tropicalis*[D]. Guilin: Guangxi Normal Univesity, 2013, 1–64.
- [16] 王晓霞, 郑晨娜, 王飞飞, 等. 共表达木聚糖酶和木糖还原酶生产木糖醇的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4): 26–29.
- Wang XX, Zheng CN, Wang FF, *et al.* Common expression of xynA and XR in the production of xylitol research [J]. *J Food Ferment Ind*, 2007, 33(4): 26–29.
- [17] 叶凯, 陆亮, 刘敏, 等. 共表达 *xy11*, *xy12* 和 *tal1* 重组酿酒酵母的构建及木糖发酵研究[J]. 酿酒科技, 2012, 222(12): 41–47.
- Ye K, Lu L, Liu M. Study on the co-expression of *xy11*, *xy12*, and *tal1* in the construction of recombinant *Saccharomyces cerevisiae* and xylose fermentation [J]. *Liquor-making Technol*, 2012, 222(12): 41–47.
- [18] 李静, 何璇, 张飞伟, 等. 热带假丝酵母 XYL1 在 *Pichia pastoris* 中的表达及固定化细胞发酵生产木糖醇[J]. 中国生物工程杂志, 2009, 29(6): 58–62.
- Li J, He X, Zhang F W, *et al.* *Tropical candida XYL1* in *Pichia pastoris* expression and immobilized cell fermentation production of xylitol [J]. *Chin J Biotechnol*, 2009, 29(6): 58–62.
- [19] Kim SR, Ha SJ, Kong II. High expression of XYL2 coding for xylitol dehydrogenase is necessary for efficient xylose fermentation by engineered *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Metabolic Eng*, 2012, 14(4): 336–343.
- [20] 李敏. 稳定高效表达木糖还原酶基因工业酿酒酵母的构建及木糖醇发酵的初步研究[D]. 济南: 山东大学, 2006: 1–52.
- Li M. Construction of the industrial *saccharomyces cerevisiae* strain expressing xylose reductase gene efficiently and primary study on its xylitol fermentation[D]. Jinan: Shandong University, 2006: 1–52.
- [21] 郑生宏. 茶籽壳酸解液微生物发酵生产木糖醇研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2011, 1–50.
- Zheng SH. Studies on Xylitol Production by Microbial Fermentation of Hemicellulosic Hydrolysate from Tea Seed Shells[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2011, 1–50.
- [22] Ping Y, Zhi H, Song LG, *et al.* Xylitol production from non-detoxified corncob hemicellulose acid hydrolysate by *Candida tropicalis* [J]. *Biochem Eng J*, 2013, 75: 86–91.
- [23] Soleimani M, Tabil L. Evaluation of biocomposite-based supports for immobilized-cell xylitol production compared with a free-cell system [J]. *Biochem Eng J*, 2014, 82: 166–173.
- [24] Cunha MAA, Converti A, Santos JC. PVA-Hydrogel entrapped *Candida Guilliermondii* for xylitol production from sugarcane hemicellulose hydrolysate [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2009, 157(3): 527–537.
- [25] 王显路. 玉米芯半纤维素水解液发酵法生产木糖醇的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2013: 1–83.
- Wang XL. Research on the xylitol fermentation from corncob hemicellulosic hydrolysate[D]. Beijing: Beijing University of Chemical, 2013: 1–83.
- [26] Wang L, Yang M, Fan XG, *et al.* An environmentally friendly and efficient method for xylitol bioconversion with high-temperature -stea- ming corncob hydrolysate by adapted *Candida tropicalis*[J]. *Process Biochem*, 2011, 46(8): 1619–1626.
- [27] Zhang JM, Geng AL, Yao CY, *et al.* Xylitol production from D-xylose and horticultural waste hemicellulosic hydrolysate by a new isolate of *Candida athensensis SB18* [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 105: 134–141.
- [28] Damaso MCT, Castro AM, Castro RM, *et al.* Application of xylanase from *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145 for enzymatic hydrolysis of corncob and sugarcane nagasse [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2004, 113-116: 1003–1012.
- [29] ElSalhy M, Zahid IS, Honkala E. Effects of xylitol mouthrinse on *Streptococcus mutans* [J]. *J Dent*, 2012, 40(12): 1151–1154.
- [30] Su BL, Wu MB, Lin JP. Metabolic engineering strategies for improving

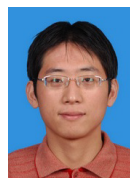
- xylitol production from hemicellulosic sugars [J]. *Biotechnol Lett*, 2013, 35(11): 1781–1789.
- [31] Walther PT, Agblevor HFA. The influence of aeration and hemicellulosic sugars on xylitol production by *Candida tropicalis* [J]. *Bioresour Technol*, 2001, 76(3): 213–220.
- [32] Ernesto A, Silva J B, Silva A, *et al*. The influence of pH and dilution rate on continuous production of xylitol from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *C.Guilliermondii* [J]. *Process Biochem*, 2003, 38(12): 1677–1683.
- [33] 贾淑丽, 侯红萍. 固定化连续发酵研究及应用进展[J]. *酿酒科技*, 2012, 212(2): 87–90.  
Jia SL, Hou HP. Advance in the research on and the application of the continuous fermentation with immobilized technology [J]. *Brewing technol*, 2012, 212(2): 87–90.
- [34] peñuela vásquez M, Souza MB, Pereira N, *et al*. RSM analysis of the effects of the oxygen transfer coefficient and inoculum size on the xylitol production by *Candida guilliermondii* [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2006, 129/132(0): 256–264.
- [35] Sene L, Itolo MV, Felipe MGA, *et al*. Effects of environmental conditions on xylose reductase and xylitol dehydrogenase production by *Candida guilliermondii* [J]. *Process Biochem*, 2000, 84/86(0): 371–380.
- [36] Miura M, Watanabe I, Shimotori Y, *et al*. Microbial conversion of bamboo hemicellulose hydrolysate to xylitol[J]. *Wood Sci Technol*, 2013, 47(3): 515–522.
- [37] Martinez M L, Sanchez S, Bravo V. Production of xylitol and ethanol by *Hansenula polymorpha* from hydrolysates of sunflower stalks with phosphoric acid [J]. *Ind Crops Prod*, 2012, 40: 160–166.
- [38] Zou KY, Chen XQ, *et al*. Favorable effect of very low initial *k<sub>la</sub>* value on xylitol production from xylose by a self-isolated strain of *Pichia guilliermondii* [J]. *J Biosci Bioeng*, 2010, 109(2): 149–152.
- [39] Signori L, Passolunghi S, Ruohonen L. Effect of oxygenation and temperature on glucose-xylose fermentation in *Kluyveromyces marxianus* CBS712 strain microbial cell factories [J]. *Microb Cell Fact*, 2014, 13(51): 1–13.
- [40] Ramesh S, Muthuvelayudham R, Rajesh Kannan R, *et al*. Enhanced production of xylitol from corncob by *Pachysolen tannophilus* using response surface methodology [J]. *Int J Food Sci*, 2013: 1–9.
- [41] Oh EJ, Ha SJ, Kim S R, *et al*. Enhanced xylitol production through simultaneous co-utilization of cellobiose and xylose by engineered *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Metab Eng*, 2013, 15: 226–234.
- [42] Pérez-Bibbins B, Oliveira RPS, Torrado A. Study of the potential of the air lift bioreactor for xylitol production in fed-batch cultures by *Debaryomyces hansenii* immobilized in alginate beads [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98(1): 151–161.
- [43] Cheng KK, Zhang JA, Ling HZ. Optimization of pH and acetic acid concentration for bioconversion of hemicellulose from corncobs to xylitol by *Candida tropicalis* [J]. *Biochem Eng J*, 2009, 43(2): 203–207.
- [44] Santos DT, Sarrouh BF, Rivaldi JD. Use of sugarcane bagasse as biomaterial for cell immobilization for xylitol production [J]. *J Food Eng*, 2008, 86(4): 542–548.
- [45] Preziosi Belloy L, Nollet V, Navarro JM. Xylitol production from aspenwood hemicellulose hydrolysate by *Candida guilliermondii* [J]. *Biotechnol Lett*, 2000, 22: 239–243.
- [46] Wang L, Tang PWH, Fan XG, *et al*. Effect of selected aldehydes found in the corncob hemicellulose hydrolysate on the growth and xylitol fermentation of *Candida tropicalis* [J]. *Biotechnol Prog*, 2013, 29(5): 1181–1189.
- [47] 奚悦, 焦焜, 刘小宇. 固定化细胞技术及其研究进展[J]. *生命的化学*, 2013, 33(5): 576–580.  
Xi Y, Jiao H, Liu XY. Cell immobilization technique and its application development [J]. *Chem Life*, 2013, 33(5): 576–580.
- [48] 王乐, 袁其朋, 常铮. 聚氨酯固定化热带假丝酵母发酵木糖醇[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(7): 943–948.  
Wang L, Yuan QP, Chang Z. Polyurethane foam immobilization of *Candida tropicalis* for xylitol production [J]. *J Microbiol*, 2009, 36(7): 943–948.
- [49] Prakash G, Varma AJ, Prabhune A, *et al*. Microbial production of xylitol from D-xylose and sugarcane bagasse hemicellulose using newly isolated thermotolerant yeast *Debaryomyces hansenii* [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3): 3304–3308.
- [50] West TP. Xylitol production by *Candida species* grown on a grass hydrolysate [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2009, 25(5): 913–916.
- [51] Sarrouh B, Silva SS. Repeated batch cell-immobilized system for the biotechnological production of xylitol as a renewable green sweetener [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 169(7): 2101–2110.
- [52] 邓立红, 蒋建新, 姚思宇. 聚乙烯醇质量浓度对复合载体固定化热带假丝酵母颗粒强度、形貌与木糖醇发酵的影响[J]. *食品科学*, 2011, 32(23): 210–214.  
Deng LH, Jiang JX, Yao SY. Effect of PVA concentration on mechanical strength, morphology and xylitol production of immobilized *Candida tropicalis* [J]. *Food Sci*, 2011, 32(23): 210–214.
- [53] Wang L, Wu DP, Tang PWH, *et al*. Xylitol production from corncob hydrolysate using polyurethane foam with immobilized *Candida tropicalis* [J]. *Carbohydr polym*, 2012, 90(2): 1106–1113.

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



倪子富, 本科生, 主要研究方向为发酵工程。  
E-mail: nzfhaut@163.com



王乐, 博士, 讲师, 主要研究方向为发酵工程、生物质资源高值转化及食品加工与安全。  
E-mail: 2012051@haut.edu.cn