

木糖发酵产乙醇酵母菌的选育进展

张明婷^{1,2}, 朱顺妮², 庄新妹², 袁振宏², 杨秀山¹

(1.首都师范大学生命科学学院, 北京 100048; 2.中国科学院广州能源所, 广东 广州 510640)

摘要: 能源危机和环境问题使纤维素乙醇成为新能源研究开发的热点之一。木糖是木质纤维素水解产物中含量仅次于葡萄糖的单糖, 将木糖和葡萄糖同时转化为乙醇, 可以大大降低纤维素乙醇的成本。选育可同时将葡萄糖和木糖转化为乙醇的优良菌株, 是纤维素乙醇产业化的关键问题之一。为解决这一问题, 人们试图通过自然筛选与驯化、人工诱变、细胞融合、基因工程和基因组改组等多种技术选育木糖代谢菌株, 文中介绍了这方面的研究进展。

关键词: 微生物; 木糖; 乙醇; 酵母菌; 选育

中图分类号: TS261.1; Q93-3; TQ925.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2010)10-0082-05

Breeding of Quality Yeast Strains Capable of Fermenting Xylose to Produce Ethanol

ZHANG Ming-ting^{1,2}, ZHU Shun-ni², ZHUANG Xin-mei², YUAN Zhen-hong² and YANG Xiu-shan¹

(1.College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048; 2. Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Science, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: Research on and the development of cellulosic ethanol has become one of the hot spots in the field of new energy owing to energy crisis and environmental pollution. Xylose is one of the major fermentable monosaccharides in lignocellulosic hydrolysate, second only to glucose. Simultaneous conversion of both glucose and xylose to ethanol can greatly reduce the costs of cellulosic ethanol production. Therefore, the breeding of quality yeast strains capable of co-fermenting glucose and xylose is one of the key issues to make cellulosic ethanol industrialized production economically viable. In order to settle such problem, many approaches have been tried to breed xylose-fermenting yeast strains including natural selection and acclimatization, mutagenesis, protoplast fusion, genetic engineering and genome shuffling. The research progress in those approaches was introduced in this paper.

Key words: microbe; xylose; ethanol; yeast; breeding

随着工业的飞速发展,传统化石燃料消耗殆尽,人们将面临全球范围的能源危机和温室效应,各国政府高度重视,纷纷表示要倡导节能减排,大力发展非化石燃料。以木质纤维素为原料生产的燃料乙醇清洁便捷,被视为最有潜力的替代能源之一,成为人们研究和开发的热点。木质纤维素是地球上最丰富的可再生资源之一,广泛存在于工农业废弃物中。木质纤维素主要由纤维素、半纤维素和木质素组成,其中半纤维素占到 11%~37%^[1],而半纤维素水解产物主要为木糖,所以通过微生物充分利用木质纤维素水解液中的木糖发酵生产乙醇是木质纤维素乙醇产业技术成熟的关键^[2]。

传统乙醇工艺中采用的酿酒酵母可以快速发酵葡萄糖,耐乙醇和抑制剂能力较强,却不能发酵木糖,阻碍了木质纤维素乙醇的低成本生产。因此,寻找天然木糖发

酵微生物和构建高效的木糖发酵工程菌成为实现木质纤维素水解液乙醇低成本生产的关键。目前已发现能代谢木糖的微生物百余种,包括细菌、真菌和酵母菌,但是细菌发酵木糖产乙醇的浓度和产率较低,产物复杂,耐乙醇能力较差,真菌产乙醇速度较慢^[3],所以,大量的研究集中在发酵性能相对较好的酵母菌上。

1 天然木糖代谢酵母

从 1959 年,Karczewska^[4]首次报道直接将木糖转化为乙醇的酵母之后,迄今已发现的木糖代谢野生酵母至少有 22 种,其中 *Brettanomyces naardenensis*, *Candida shehatae*, *Candida tenuis*, *Pachysolen tannophilus*, *Pichia segobiensis* 和 *Pichia stipitis* 产乙醇量较高^[5]。研究较多的为嗜鞣管囊酵母(*Pachysolen tannophilus*)、休哈塔假丝酵母(*Candida shehatae*)和树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*),其

基金项目 国家“863 计划”课题资助项目(No.2009AA05z436) 中科院广州能源研究所所长创新基金人才引进项目(No.0807rd)。

收稿日期:2010-08-17

作者简介 张明婷(1986-),女,山西人,在读硕士,主要从事乙醇发酵的研究工作。

木糖发酵生产乙醇得率可达理论值的 62.7 % 88.2 %^[6]。*P. stipitis* CBS 6054 在 60 g/L 的木糖培养基中乙醇浓度达 24.3 g/L,乙醇得率为 0.44 g/g^[7]。Abbi 等^[8]发现 *Candida shehatae* NCL-3501 在木糖初始浓度为 10~80 g/L 的培养基中,乙醇得率始终保持在 0.40~0.43 g/g,细胞固定化之后转换效率进一步提高;对其进行稻草半纤维素水解液发酵,48 h 酸水解液中的乙醇得率下降为 0.37 g/g。*Pichia stipitis* NRRL Y-7124 发酵已脱毒的葵花籽壳水解液时,氧通量为实验条件最低(2.28 vv⁻¹min⁻¹)时的乙醇得率为 0.41 g/g;当氧通量增加时,乙醇含量急剧下降^[9]。天然木糖代谢酵母菌乙醇产率较高,但是乙醇和抑制剂耐受度低,发酵液中乙醇浓度低,通常要求“半好氧”的发酵条件,限制了其在工业生产中的应用^[10]。

2 驯化与诱变选育木糖代谢酵母

研究表明,对天然木糖代谢酵母进行定向驯化可以提高菌株的发酵性能。宋昕磊^[11]等对从自然界筛选出的菌种进行定向驯化,使得突变株木糖利用率由原来的 62.52 % 上升到 92.91 %。Huang^[12]等人用经中和的水稻秸秆硫酸水解液对 *P. stipitis* BCRC21777 进行驯化,所得菌株在 pH5.0 的水解液中发酵,乙醇得率为 0.45 g/g,相当于理论产量的 87 %,并且该菌株表现出较强的耐硫酸和耐糠醛能力。Nigam^[13]对 *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 进行驯化,得到的突变株在加有 5 g/L 乙酸的模式水解液中发酵,乙醇浓度和得率分别达到了 16.3 g/L 和 0.44 g/g,而在同样条件下,亲本株所得乙醇浓度和得率分别只有 0.8 g/L 和 0.02 g/g。在含有不同浓度硬木半纤维素酸水解液的模式水解液中,亲本受到不同程度的抑制,而突变株的延滞期和发酵时间都有所缩短,并且表现出较高的乙醇产量。其实驯化不仅仅运用在天然菌种上,Martin^[14]等发现,经驯化的基因工程重组酵母比起重组菌株,对水解液中抑制剂有更好的耐受效果,对抑制剂的降解速度也明显加快。虽然驯化过程往往比较漫长,但就构建木糖代谢菌株来说,尤其是在提高菌株对抑制剂耐受能力方面,驯化是一个直接有效的方法。

诱变育种是利用物理或化学诱变剂对菌株进行处理,大幅提高其突变率,再从变异群体中选育出理想菌株。任佳^[15]等对管囊酵母 *Pachysolen tannophilus* 进行 Co⁶⁰ 诱变,所得突变株的木糖消耗率比原始菌株高 52.2 %,得到乙醇质量浓度比原始菌株高 120 %。韩丽丽等^[16]运用 EMS、LiCl 和紫外照射对休哈塔假丝酵母进行不同组合的复合诱变,筛选出的性状最好的突变株乙醇产量比原菌株提高了 84.9 %。Bajwa 等^[17]对 *P. Stipitis* NRRL Y-7124 进行连续紫外诱变,得到的诱变菌株与野

生型相比对硬木亚硫酸盐制浆废液有更强的耐受。可见,适当的诱变方法加上合适的诱变剂量可以在很大程度上提高菌株性状。此外,在构建木糖代谢重组菌株方面,诱变技术还与原生质体融合技术、基因工程技术结合使用。Gururajan 等^[18]用 EMS 对重组酿酒酵母进行诱变,得到的菌株在木糖培养基中的生长速度比亲本快 20 多倍,木糖消耗量增加为亲本的 2.5 倍多。诱变技术在提高菌株性能上发挥了很重要的作用,当然,此技术也有其自身的弱点:如诱变产生的有益突变体频率低,难以有效地控制变异的方向和性质,盲目性较大。不过,如果诱变技术与其他技术有机结合,可能成为未来微生物育种的有效方法之一。

3 原生质体融合技术构建木糖代谢酵母

原生质体融合是指在外力作用下,2 个或 2 个以上的异源细胞或原生质体相互接触融合形成杂种细胞的现象。此技术可以在种内、种间、属间进行,甚至可以将毫无关系的生物体细胞融合在一起,是改造细胞遗传物质的有力手段。在选育木糖代谢菌种方面,研究人员利用此技术将酿酒酵母的优良基因引入木糖发酵酵母中,提高其发酵木糖的性能、耐乙醇能力及耐抑制剂能力。李洁等^[19]以酿酒酵母(ATCC4126)和经改良的休哈塔假丝酵母(CICC1766)为亲本进行原生质体融合,融合子发酵 50 g/L 木糖,最高乙醇浓度达到了 18.75 g/L,乙醇得率为 0.375 g/g,达到理论转化值的 73.4 %,与原始出发菌株 CICC1766 相比,乙醇产量提高了 28 %。Pasha^[20]将 *Saccharomyces cerevisiae* VS₃ 与 *Candida shehatae* 进行融合,融合子 CP5 在木糖培养基中发酵的乙醇浓度远远高于亲本 *Candida shehatae*,达到了 13.20 g/L。Kordowska 等^[21]得到的树干毕赤酵母和酿酒酵母的融合子耐乙醇性能高于亲本毕赤酵母,但其发酵木糖产乙醇的速率和产量都小于亲本。Yan 等^[22]得到了酿酒酵母(2.0251)与嗜鞣管囊酵母(ATCC 2.1662)的属间融合子 Fusant 1。该融合子发酵木糖的乙醇浓度为 3.44 g/L,达到亲本 ATCC 2.1662 的 2 倍多,木糖利用率达到 72 %。其耐乙醇能力和耐水解抑制物能力也优于亲本 ATCC 2.1662。不过该融合子发酵产物中检测到了较高浓度的木糖醇,导致最终乙醇产量提高幅度不大。

此外,部分研究者还进行了木糖发酵菌种间的种内融合。韩丽丽等^[16]对休哈塔假丝酵母进行种内融合,筛选出的休哈塔假丝酵母种内融合株比原菌株的乙醇产量提高了 37.7 %。Limtong 等^[23]在木糖发酵研究中发现,树干毕赤酵母(CBS 5773)种内融合子以木糖为底物,36 h 的乙醇浓度达到了 1.41 %(w/v),为理论产量的 69.1 %。而

亲本在相同条件下发酵,36 h 的乙醇浓度则为 1.51 %。由此可见,种内融合一定程度上也可改善菌种性状,但由于亲本同属一种,其性状上的改善会受到一定限制。此外,原生质体融合技术还存在工作量大、定向性较差、融合子不稳定等缺点,但由于其不受亲缘关系影响,遗传信息可以发生多次多种重组等优点,依然是微生物育种的重要手段之一。本实验室运用原生质体融合方法构建高乙醇产量、耐乙醇能力强的酵母菌株,经筛选已得到 1 株融合子,其木糖发酵效率比亲本提高了 30.27 %,正在进一步考察其他发酵性质。

4 基因工程构建木糖代谢酵母

利用基因工程技术有目的地将木糖代谢途径引入非木糖代谢菌株,或是改造天然木糖发酵菌种,是构建木糖代谢菌株的有效手段。

4.1 酿酒酵母工程菌

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)因缺乏木糖代谢的关键酶而不能利用木糖,但可以利用木糖异构体——木酮糖,所以将木糖转化为木酮糖的代谢途径引入酿酒酵母成为构建木糖发酵菌株最直接的手段。通过此方法构建酿酒酵母一般有两条途径:一是在酿酒酵母中克隆并表达天然代谢木糖酵母菌的 2 个基因,即木糖还原酶(XR)基因 *XYL1* 和木糖醇脱氢酶(XDH)基因 *XYL2*;二是在酿酒酵母中克隆并表达细菌或某些丝状真菌的木糖异构酶(XI)基因 *XYLA*。但研究发现,仅仅引入这两条代谢途径的重组酵母在木糖培养基中生长非常缓慢,乙醇产率相当低^[24-25],进一步将转化子的木酮糖激酶过量表达,会使木糖消耗速率加快,乙醇产率也明显提高^[25-26],所以利用基因工程构建木糖代谢酿酒酵母时,必须同时提高转化子的木酮糖激酶(XK)活性。沈煜^[27]利用整合载体首次在酿酒酵母工业菌株中建立了 XI 路径的木糖代谢途径,将来自嗜热细菌(*Thermus thermophilus*)的木糖异构酶(XI)基因 *XYLA* 和酿酒酵母自身的木酮糖激酶(XK)基因 *XKS1* 插入酿酒酵母工业菌株 NAN-27 的染色体中,所得工程菌株 NAN-114 中 XI 和 XK 的酶活测定结果均高于出发菌株 NAN-27。在木糖、葡萄糖共发酵中,工程菌 NAN-114 的木糖消耗量和乙醇产量较出发菌株分别提高了 43.8 %和 9.5 %。通过比较 XR-XDH 途径和 XI 途径发现,XR-XDH 途径中木糖代谢速率较快,但需要氧化还原辅助因子 NADPH 和 NAD⁺,同时副产物木糖醇的产生导致乙醇产量下降;XI 途径不需要氧化还原辅助因子,且副产物木糖醇产生较少,乙醇产量较高^[28]。

4.2 树干毕赤酵母工程菌

树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*)是最具潜力的天然木

糖发酵微生物之一。它能发酵葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖和纤维二糖等^[29],且含有多种纤维素酶及半纤维素酶^[30],具有同时糖化和发酵的能力。此外,*P. stipitis* 还能代谢乙酸,降解糠醛和 5-羟甲基糠醛(HMF)上的呋喃环,降低木质纤维素水解液的毒性^[31]。但是,树干毕赤酵母中的木糖还原酶和木糖醇脱氢酶存在氧化还原不平衡的问题,导致发酵过程中副产物木糖醇的产生,降低了乙醇产量;而且该菌株只能在限氧条件下发酵葡萄糖和木糖,不利于工业化应用。为了改进菌株性状,研究人员运用多种基因工程手段对其进行改造。研究中发现,对树干毕赤酵母的木糖还原酶基因进行定点诱变,诱变株的木糖还原酶对 NADH 的亲和力明显高于 NADPH,有力缓解了木糖代谢过程中氧化还原不平衡的问题,乙醇产量较亲本有明显增加^[32-33]。Shi 等^[34]将 *S. cerevisiae* 中的 *URA1* 基因(二氢脱氢酶 dihydroorotate dehydrogenase)转入 *P. stipitis* 中,发现重组 *P. stipitis* 可以在厌氧条件下发酵葡萄糖生产乙醇,但不能在木糖培养基中生长。之后,Shi 等^[35]将 *P. stipitis* 中的 *CYC1* 基因(cytochrome c gene)敲除,降低了突变菌的呼吸能力和生长速度,使得代谢途径向产乙醇的方向进行,乙醇产量提高了 21 %。尽管目前树干毕赤酵母工程菌的研究还处于探索阶段,但它为木质纤维素原料发酵生产乙醇开辟了新的研究方向。

5 基因组改组技术构建木糖代谢酵母

基因组改组技术是指通过诱变获得初始突变体库,然后将包含若干正性突变株的突变体库作为第一轮原生质体融合的出发菌株,此后经过递推式的多轮融合,最终使引起正性突变的不同基因重组到同一个细胞中。该技术结合了传统的育种手段和细胞融合技术,为微生物育种提供了一种新的方法。Bajwa 等^[36]以经 6 次紫外诱变的树干毕赤酵母为出发菌株,进行 4 轮基因组改组,得到的菌株 GS401 和 GS402 可以耐受 80 %硬木亚硫酸盐制浆废液,GS301 和 GS302 可以耐受 85 %硬木亚硫酸盐制浆废液,而野生菌只能在 65 %的此溶液里生长。GS301 和 GS302 在 4 % (w/v)木糖或葡萄糖培养基中的发酵效果也优于亲本。虽然此技术在构建木糖代谢酵母上的应用报道还很少,但是作为进化工程的重要组成部分,基因组改组技术将分子定向进化的对象从某些基因扩展到整个基因组,可以在更广的范围内对目的菌种的性状进行优化组合,更为快速高效地筛选出优良菌株,势必成为构建木糖代谢酵母的重要途径之一。

6 总结和展望

随着能源危机日益严重,人类生存环境日趋恶化,木质纤维素乙醇研究已经成为目前生物质液体燃料研究工

作的重中之重。木质纤维素经预处理和水解之后成分复杂,不仅包括葡萄糖、甘露糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖等多种单糖成分,还包括呋喃、糠醛、五羟甲基糠醛、乙酸和酚类化合物等发酵抑制剂。要想使木质纤维素乙醇实现产业化,还有很多问题有待解决:一是对其预处理和水解方法进行改进,提高糖回收的同时,减少抑制剂的产生,并尽量降低处理成本;二是构建能同时高效利用多种底物并且耐多种抑制剂的菌种,缩短发酵时间,提高发酵液中乙醇含量。因此,如何降低木质纤维素乙醇生产成本,提高其生产效率,使其早日推向市场,还需要大量深入研究。

参考文献:

- [1] Martin GJO, Knepper A, Zhou B, et al. Performance and stability of ethanologenic *Escherichia coli* strain FBR5 during continuous culture on xylose and glucose[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2006,33(10):834–844.
- [2] Hahn-Hagerdal B, Galbe M, Gorwa-Grauslund MF, et al. Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today[J]. *Trends in Biotechnology*, 2006, 24(12):549–556.
- [3] Lee TY, Kim MD, Kim KY, et al. A parametric study on ethanol production from xylose by *Pichia stipitis*[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2000, (5):27–31.
- [4] Karczewska H. Some observations on pentose utilization by *Candida tropicalis*[J]. *Comptes rendus des travaux du laboratoire Carlsberg*, 1959, 31(17):251–258.
- [5] Jeffries TW, Jin YS. Ethanol and thermotolerance in the bioconversion of xylose by yeasts[J]. *Advance in Applied Microbiology*, 2000, (47):221–268.
- [6] Slininger PJ, Bothast RJ, Okos MR, et al. Comparative evaluation of ethanol production by xylose-fermenting yeasts presented high xylose concentrations[J]. *Biotechnology Letters*, 1985, 7(5):431–436.
- [7] Agbogbo FK, Coward-Kelly G, Torry-Smith M, et al. Fermentation of glucose/xylose mixtures using *Pichia stipitis*[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(11):2333–2336.
- [8] Abbi M, Kuhad RC, Singh A. Fermentation of xylose and rice straw hydrolysate to ethanol by *Candida shehatae* NCL-3501[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, (17):20–23.
- [9] Müjgan TO, Nurdan ES. Ethanol production from sunflower seed hull hydrolysate by *Pichia stipitis* under uncontrolled pH conditions in a bioreactor[J]. *Turkish Journal of Engineering & Environmental Sciences*, 2006, (30):317–322.
- [10] Moniruzzaman M, Dien BS, Skory CD, et al. Fermentation of corn fibre sugars by an engineered xylose utilizing *Saccharomyces yeast* strain[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1997, 13(3):341–346.
- [11] 宋昕磊, 张鹏. 不同条件对木糖酒精发酵菌种发酵性能的影响[J]. *酿酒*, 2007, 34(1):40–43.
- [12] Huang CF, Lin TH, Guo GL, et al. Enhanced ethanol production by fermentation of rice straw hydrolysate without detoxification using a newly adapted strain of *Pichia stipitis*[J]. *Biore-source Technology*, 2009, 100(17):3914–3920.
- [13] Nigam JN. Development of xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis* for ethanol production through adaptation on hardwood hemicellulose acid prehydrolysate [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 90(2):208–215.
- [14] Martí n C, Marcet M, Almazá n O, et al. Adaptation of a recombinant xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae* strain to a sugarcane bagasse hydrolysate with high content of fermentation inhibitors[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(9):1767–1773.
- [15] 任佳, 鲍杰, 张素平, 等. Co⁶⁰ 诱变管囊酵母发酵木糖产乙醇的研究[J]. *生物质化学工程*, 2009, 43(5):11–14.
- [16] 韩丽丽, 涂振, 叶凯, 等. 高效代谢木糖产乙醇的酵母菌株的选育[J]. *酿酒*, 2008, 35(2):38–41.
- [17] Bajwa PK, Shireen T, D'Aoust F, et al. Mutants of the pentose-fermenting yeast *Pichia stipitis* with improved tolerance to inhibitors in hardwood spent sul?te liquor[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 104(5):892–900.
- [18] Gururajan VT, Rensburg PV, hahn-Hägerdal B, et al. Development and characterization of a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* mutant strain with enhanced xylose fermentation properties[J]. *Annals of microbiology*, 2007, 57(4):599–607.
- [19] 李洁, 李凡, 刘晨光, 等. 高效发酵木糖生产乙醇酵母菌株的构建[J]. *中国生物工程杂志*, 2009, 29(6):74–76.
- [20] Pasha C, Kuhad RC, Rao LV. Strain improvement of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* VS₃ strain for better utilization of lignocellulosic substrates[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(5):1480–1489.
- [21] Kordowska-wiater M, Targonski Z. Application of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* karyoductants to the production of ethanol from xylose[J]. *Acta Microbiologica Polonica*, 2001, 50(3–4):291–299.
- [22] Yan F, Bai FL, Tian S, et al. Strain construction for ethanol production from dilute-acid lignocellulosic hydrolysate[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2009, 157(3):473–482.
- [23] Limtong S, Sumpradit T, Kitpreechavanich V, et al. Effect of acetic acid on growth and ethanol fermentation of xylose fermenting yeast and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Kasetsart Journal (Natural Sciences)*, 2000, (34):64–73.
- [24] K?tter P, Amore R, Hollenberg CP, et al. Isolation and characterization of the *Pichia stipitis* xylitol dehydrogenase gene, *XYL2*, and construction of a xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae* transformant[J]. *Current Genetics*, 1990, 18(6):493–500.
- [25] Madhavan A, Tamalampudi S, Ushida K, et al. Xylose iso

- merase from polycentric fungus *Orpinomyces*: gene sequencing, cloning, and expression in *Saccharomyces cerevisiae* for bioconversion of xylose to ethanol[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 82(6):1067-1078.
- [26] Ho NW, Chen Z, Brainard AP, et al. Successful design and development of genetically engineered *Saccharomyces* yeasts for effective cofermentation of glucose and xylose from cellulosic biomass to fuel ethanol[J]. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 1999, (65):163-192.
- [27] 沈煜, 王颖, 史文龙. 酿酒酵母工业菌株中 XI 木糖代谢途径的建立[J]. *中国生物工程杂志*, 2005, 25(9):69-73.
- [28] Karhumaa K, Sanchez RG, Hahn-Hägerdal B, et al. Comparison of the xylose reductase-xylitol dehydrogenase and the xylose isomerase pathways for xylose fermentation by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2007, 6:5.
- [29] Parekh S, Wayman M. Fermentation of cellobiose and wood sugars to ethanol by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis*[J]. *Biotechnology Letters*, 1986, 8(8):597-600.
- [30] Jeffries TW, Grigoriev IV, Grimwood J, et al. Genome sequence of the lignocellulose-bioconverting and xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis*[J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(3):319-326.
- [31] Agbogbo FK, Coward-Kelly G. Cellulosic ethanol production using the naturally occurring xylose-fermenting yeast, *Pichia stipitis*[J]. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(9):1515-1524.
- [32] Bengtsson O, B?rbel HH, Marie GG. Xylose reductase from *Pichia stipitis* with altered coenzyme preference improves ethanolic xylose fermentation by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2009, 2:9.
- [33] 董莉莉, 邓小昭, 钟辉, 等. 毕赤酵母木糖还原酶定点突变改善其对双辅酶的亲和力[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2009, 25(3):250-256.
- [34] Shi NQ, Jeffries TW. Anaerobic growth and improved fermentation of *Pichia stipitis* bearing a URA1 gene from *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 1998, 50(3):339-345.
- [35] Shi NQ, Davis B, Sherman F, et al. Disruption of the cytochrome c gene in xylose-utilizing yeast *Pichia stipitis* leads to higher ethanol production[J]. *Yeast*, 1999, (15):1021-1030.
- [36] Bajwa PK, Pinel D, Martin VJ, et al. Strain improvement of the pentose-fermenting yeast *Pichia stipitis* by genome shuffling[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2010, 81(2):179-186.

河套酒业集团召开全国经销商大会

本刊讯 9月13~15日,内蒙古河套酒业集团隆重召开2010年全国经销商大会。中国轻工业联合会食品管理中心副主任、中国酿酒工业协会理事长王延才,全国著名白酒专家沈怡方等领导和专家出席了会议。河套酒业全国400多位经销商参加会议。

会上,王延才作了重要讲话,白酒专家沈怡方、高月明讲述中国白酒发展现状和科研成果。河套酒业集团领导向全体经销商介绍了企业发展情况和市场销售拓展情况,并重点讲解了企业“十二五战略发展规划”,会议对评选出的30名优秀经销商进行了奖励。

会议期间,全体经销商参加了“中国北方浓香型白酒生产基地”授牌仪式和河套酒业万吨名优酒项目投产剪彩仪式,并参观了河套酒业集团公司总部及部分下属企业,重点参观考察了河套酒业在国内处于领先地位的五原机械酿酒项目。

据了解,2009年是河套酒业发展速度最快、经营效益最好的一年,这一年,在金融危机冲击、原辅材料涨价和市场竞争激烈的不利形势下,河套酒业化危为机,难中求进,使企业的各项工作都取得了骄人的成绩。2009年,河套酒业集团销售同比增长37%,上缴税金超过3亿元,同比增长34%。

截至2010年8月,河套酒业集团销售额同比增长32.8%,上交税金同比增长27.44%。本次经销商大会,通过河套酒业近几年技改情况的介绍和企业形象的展示,极大地提高了经销商合作的信心。

2009年,河套酒业投入上千万元扩建了污水处理环保项目,在环保达标和节能减排上持续稳定符合国家标准,做到了酿酒污水的零排放,对酿酒业实现绿色环保的循环经济是一次新的突破。同时,河套酒业通过不断实施技术改造,提高白酒生产的机械化水平,建设现代化白酒基地。五原白酒生产基地建成后将全面实现机械化生产。

20多年以来,河套酒业不断扩大产能,增加优质原酒储存能力。2006年,河套王原酒生产基地被中国酿酒工业协会命名为“中国北方第一窖”。2010年上半年,由河套酒业投资兴建的呼市河套酒业项目开工建设,山东泰安河套酒业项目及五原河套酒业项目已按期完成。

随着河套酒业产能规模的扩大,“河套”不仅被国家酿酒工业协会授予“中国北方第一窖”荣誉称号,而且在产品品质方面有了很大的提升,品质的提升促进了产品结构的升级,近几年河套酒业高端产品河套王销量稳步提升。

(小雨)