

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 20620071150916

UDC_____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

高产木糖醇酵母菌的筛选测评以及微生物
转化木质纤维素材料产木糖醇和酒精

Isolation and investigation of xylitol-producing yeasts and
bioconversion of lignocellulose into xylitol and ethanol

张金明

TOTE Model Project Singapore (T0801)
新加坡义安理工学院资助

指导教师姓名: 姚传义 副教授

耿安利 博士

专业名称: 生物化工

论文提交日期: 2010 年 09 月

论文答辩日期: 2010 年 10 月

学位授予日期: 2010 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010 年 10 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- () 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。
() 2. 不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人(签名)：

年 月 日

摘要

木糖醇是一种五碳糖醇，可作为甜味剂用于食品和糖果工业，由于木糖醇具有防龋齿功效，又可用于医学中的牙科治疗。木糖醇可以由酵母或真菌生产，尤其是假丝酵母属。而木糖是存在于木质纤维素的主要成分之一，也是仅次于葡萄糖的最广泛存在的天然糖。木质纤维素作为地球上资源最丰富的生物质原料，可以被转化为生物燃料、化学物质、酶制剂以及廉价能源等具有经济价值的产品。木质纤维素原料可以通过化学处理和酶水解，产生的单糖可以经过微生物发酵生产木糖醇和酒精。在木质纤维素水解液的发酵过程中，微生物的发酵性能将会受到多种抑制剂的影响，这些抑制剂来自于木质纤维素水解产生的酚类物质、呋喃衍生物以及弱酸类物质。抑制剂的存在将会影响到微生物的生长和代谢，因此木质纤维素水解在进行发酵之前需进行预处理以脱除抑制剂从而提高微生物的发酵效率。

本论文中，首先分离筛选出了一株可以高效利用木糖生产木糖醇的酵母菌株，并经 18S rDAN 测序鉴定为热带假丝酵母 *C.tropicalis*, 被命名为 *C.tropicalis* SB18。酶活分析表明该酵母体内的木糖还原酶为 NADPH 依赖性。采用两步发酵法对 *C.tropicalis* SB18 的发酵条件进行探索和优化，确定该菌株生长的最佳补充氮源为酵母提取物和尿素，最佳接种量为 $0.5\sim0.6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，最佳转速切换时间为 36 h，第一阶段发酵转速为 200 rpm，第二阶段转速为 100 rpm，最佳初始木糖浓度为 $250 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在优化条件下，发酵温度为 30 °C，由 $250 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 木糖摇瓶发酵可产生 $207.65 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 木糖醇，木糖醇收率为 $0.831 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在 2.0 L 发酵罐中利用 *C.tropicalis* SB18 在 $250 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $300 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 木糖条件下分别进行了分批发酵和补料分批发酵，分批发酵可产生 $207.8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 木糖醇，木糖醇收率为 $0.831 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，补料分批发酵可产生 $256.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 木糖醇，木糖醇收率为 $0.870 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

对 4 种酚类抑制剂香草醛、丁香醛、4-羟基苯甲醛和苯酚对 *C.tropicalis* SB18 木糖发酵的影响进行了考察，结果表明这些酚类物质可降低酵母菌株体内木糖还原酶的活性，抑制了细胞生长，从而降低了木糖醇产量和木糖利用速率，这些酚类抑制剂对木糖醇脱氢酶没有影响。其中苯酚对 *C.tropicalis* SB18 的毒性最大，丁香醛次之。在一定浓度范围内香草醛和羟基苯甲醛对 *C.tropicalis* SB18 几乎没有影响。在较低抑制剂浓度下，无论是单一抑制剂还是混合抑制剂都对

C.tropicalis SB18 的最终木糖醇产量没有明显影响，较高浓度抑制剂将会严重抑制细胞生长，导致木糖醇产量和木糖利用率的大幅下降。*C.tropicalis* SB18 可完全快速降解羟基苯甲醛和香草醛，只能缓慢降解丁香醛，不能降解苯酚。

通过对木质纤维素原料园艺废弃物进行有机溶剂处理，剩余的纤维素部分再经过纤维素酶水解，所用纤维素酶来自于新分离菌株的突变株 *Trichoderma viride* 以及商业酶 Celic CTec。利用 *C.tropicalis* SB18 对半纤维素水解液进行发酵可得 $100.11 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 木糖醇，对应木糖醇收率为 $0.81 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，木糖醇生产速率为 $0.98 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。对酶水解得到的纤维水解液分别利用 *Pichia stipilis*、*S.cerevisiae* 以及二者的混合培养进行了酒精发酵。在较低接种量下，纤维素水解液由 *Pichia stipilis*、*S.cerevisiae* 以及混合培养发酵可产生酒精分别为 $26.67 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ， $21.04 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $29.28 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，对应的酒精收率为 $0.355 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ ， $0.471 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.48 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在较高接种量下由 *Pichia stipilis*、*S.cerevisiae* 以及混合培养发酵可产生酒精分别为 $28.71 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ， $22.63 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $30.17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，对应的酒精收率分别为 $0.47 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ ， $0.495 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.49 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

关键词： 菌种筛选；热带假丝酵母 SB18；木糖醇和乙醇；酚类抑制剂；木质纤维素的生物转化

Abstract

As a five-carbon sugar alcohol, xylitol is used as a natural sweetener in the food and confectionary industries. Xylitol is also used in dental care owing to its anticariogenic effect. Xylitol can be produced by natural xylose-assimilating yeasts and fungi, especially *Candida* species. Xylose is a major pentose sugar found in lignocelluloses and is the second most abundant natural sugar. As the most abundant biomass resources on the planet, lignocelluloses can be converted into various different value-added products including biofuels, chemicals, enzymes and cheap energy sources. Lignocellulose materials can be hydrolyzed either by chemical pretreatment or by enzymatic hydrolysis. The sugars produced from lignocellulosic materials can be fermented by yeasts to produce xylitol and ethanol. The fermentation performance of yeast strains would mainly be affected by the inhibitors existing in the hydrolysates including phenolic compounds, furan derivatives and weak acids. The detoxification must be done to improve the fermentation efficiency.

In this work, a yeast strain with high conversion efficiency of xylose into xylitol was isolated and identified as *C.tropicalis* SB18 by 18S rDNA sequencing. Enzyme assay was conducted to prove that the xylose reductase in *C.tropicalis* SB18 was mainly NADPH dependent. A two-stage fermentation strategy was employed to investigate the fermentation condition of *C.tropicalis* SB18. Results showed that the optimal nitrogen sources were urea plus yeast extract, the optimal inoculum level was 0.5~0.6 g·L⁻¹, the best switch time of agitation speed was 36 hours, the agitation speed in the first stage was 200 rpm and 100 rpm in the second stage, and the optimal initial xylose concentration was 250 g·L⁻¹. Under the optimal conditions, 207.65 g·L⁻¹ xylitol was produced from 250 g·L⁻¹ xylose in 250 mL flasks, corresponding to a xylitol yield of 0.831 g·g⁻¹. A batch fermentation was performed under 250 g·L⁻¹ xylose in a 2 L bioreactor, and then followed by a fed-batch fermentation under 300 g·L⁻¹ xylose, the final xylitol concentration were 207.8 g·L⁻¹ and 256.5 g·L⁻¹, respectively, corresponding to the yield of 0.831 g·g⁻¹ and 0.870 g·g⁻¹.

The inhibition of phenolic compounds to the fermentation behavior of *C.*

tropicalis SB18 was investigated. The individual phenolic inhibitor, such as 4-hydroxybenzaldehyde, syringaldehyde, vanillin and phenol and their mixture were investigated. Data showed that phenolic compounds could decrease the activities of xylose reductase, and consequently the cell growth, xylose assimilation and xylitol accumulation. However no influences were discovered on xylitol dehydrogenase. Phenol was the most toxic to *C.tropicalis* SB18, followed by syringaldehyde. Vanillin and 4-hydroxybenzaldehyde showed little inhibition under certain concentration level. Under the low concentration of inhibitors, neither the individual inhibitor nor their mixture could affect the final production of xylitol. Higher concentration of phenolic inhibitors could greatly increase the lag phase of cell growth, resulting in the decrease of xylitol production and xylose utilization. The new isolate *C.tropicalis* SB18 could degrade 4-hydroxybenzaldehyde and vanillin rapidly, partly degrade syringaldehyde, and could not degrade phenol.

The lignocellulosic material of horticulture waste was pretreated by organosolv method. The cellulose portion from organosolv pretreatment was then hydrolyzed by cellulase produced by a mutated new isolate *Trichoderma viride* combined with commercial enzymes Celic CTec. A final xylitol concentration of $100.11\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ was produced from the concentrated hemicelluloses hydrosates by *C.tropicalis* SB18, with the xylitol yield of $0.81\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ and xylitol volumetric production $0.98\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. The enzymatic hydrosates portion was fermented for ethanol production by *Pichia stipitis*, *S.cerevisiae* and their mixed culture. Under lower inoculum, ethanol production from fermentation of *Pichia stipitis*, *S.cerevisiae* and the mixed culture were $26.67\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $21.04\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $29.28\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, corresponding to ethanol yield of $0.355\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$, $0.471\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $0.48\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$. At a higher inoculum level, ethanol production of $28.71\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $22.63\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $30.17\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ were obtained from the fermentation of *Pichia stipitis*, *S. cerevisiae* and the mixed culture, and the corresponding yield were $0.47\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$, $0.495\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $0.49\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively.

Key words: Isolation; *C. tropicalis* SB18; xylitol and ethanol; phenolic inhibitor; bioconversion of lignocellulose

目 录

| | |
|--|----|
| 第一章 文献综述 | 1 |
| 1.1 木糖醇生产现状 | 1 |
| 1.2 木糖醇的应用 | 1 |
| 1.2.1 木糖醇理化性质 | 1 |
| 1.2.2 木糖醇的保健功能 | 3 |
| 1.2.3 木糖醇在食品工业中应用 | 4 |
| 1.2.4 木糖醇的其他应用 | 4 |
| 1.3 木糖醇的生产 | 5 |
| 1.3.1 固液萃取 | 6 |
| 1.3.2 化学方法生产木糖醇 | 6 |
| 1.3.3 微生物转化法生产木糖醇 | 6 |
| 1.3.4 微生物生产木糖醇的影响因素 | 9 |
| 1.3.5 提高木糖醇生物转化率的策略 | 13 |
| 1.4 木质纤维素生物转化产木糖醇 | 16 |
| 1.4.1 木质纤维素的组成 | 16 |
| 1.4.2 木质纤维素的降解 | 18 |
| 1.4.3 木质纤维素的水解产物及微生物发酵抑制剂 | 19 |
| 1.4.4 木质纤维素产品及应用 | 22 |
| 1.4 本论文研究目的及内容 | 25 |
| 第二章 高效产木糖醇酵母的筛选、鉴定及发酵条件的研究 | 26 |
| 2.1 前言 | 26 |
| 2.2 材料与方法 | 26 |
| 2.2.1 酵母菌株 | 26 |
| 2.2.2 分析试剂 | 27 |
| 2.2.3 分析试剂的配制 | 28 |
| 2.2.4 实验仪器 | 28 |
| 2.2.5 微生物培养基 | 29 |
| 2.2.6 木糖醇高产酵母菌株的筛选 | 30 |
| 2.2.7 聚合酶链式反应 (PCR) 测序鉴定 | 30 |
| 2.2.8 细胞内粗酶液的提取 | 30 |
| 2.2.9 酶活测定 | 31 |
| 2.2.10 种子细胞制备 | 31 |
| 2.2.11 木糖的发酵 | 31 |
| 2.2.12 细胞干重的测定 | 32 |
| 2.2.13 发酵液成分分析 | 32 |
| 2.3 结果与讨论 | 32 |
| 2.3.1 高浓度木糖浓度下产木糖醇菌株的筛选鉴定 | 32 |
| 2.3.2 <i>C. tropicalis</i> SB18 木糖醇代谢的关键酶 XR 和 XDH | 33 |
| 2.3.3 不同氮源对木糖醇产量的影响 | 35 |
| 2.3.4 接种量对木糖醇产量的影响 | 38 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.5 不同转速对木糖醇产量的影响..... | 38 |
| 2.3.6 转速转换时间对木糖醇生产的影响..... | 40 |
| 2.3.7 木糖浓度对木糖醇生产的影响..... | 41 |
| 2.3.8 <i>C. tropicalis</i> SB18 在 250 g·L ⁻¹ 木糖浓度下在 500 mL 摆瓶中的发酵特性..... | 42 |
| 2.3.9 <i>C. tropicalis</i> SB18 发酵罐中高浓度木糖下的发酵特性..... | 42 |
| 2.4 本章小结 | 44 |
| 第三章 酚类物质对 <i>C. tropicalis</i> SB18 木糖发酵过程的影响 | 45 |
| 3.1 前言 | 45 |
| 3.2 材料与方法 | 46 |
| 3.2.1 实验菌株..... | 46 |
| 3.2.2 分析试剂..... | 46 |
| 3.2.3 试剂配置..... | 46 |
| 3.2.4 实验仪器..... | 47 |
| 3.2.5 微生物培养基..... | 47 |
| 3.2.6 粗酶液提取..... | 47 |
| 3.2.7 酶活测定..... | 47 |
| 3.2.8 种子细胞制备..... | 47 |
| 3.2.9 发酵液分析..... | 47 |
| 3.3 结果与讨论 | 48 |
| 3.3.1 酚类抑制剂对 <i>C. tropicalis</i> SB18 细胞生长的影响..... | 48 |
| 3.3.2 酚类抑制剂对 <i>C. tropicalis</i> SB18 木糖利用和木糖醇产量的影响 | 50 |
| 3.3.3 不同接种量下酚类物质对 <i>C. tropicalis</i> SB18 木糖发酵的抑制作用 | 53 |
| 3.3.4 酚类抑制剂对 <i>C. tropicalis</i> SB18 木糖代谢的关键酶活力的影响 | 54 |
| 3.3.5 <i>C. tropicalis</i> SB18 对酚类抑制剂的降解情况..... | 56 |
| 3.4 本章小结 | 57 |
| 第四章 园艺废弃物水解产物的微生物转化产木糖醇和酒精 | 58 |
| 4.1 前言 | 58 |
| 4.2 材料与方法 | 59 |
| 4.2.1 微生物菌株..... | 59 |
| 4.2.2 微生物培养基..... | 59 |
| 4.2.3 分析试剂..... | 60 |
| 4.2.4 分析试剂配置..... | 60 |
| 4.2.5 实验仪器..... | 61 |
| 4.2.6 园艺废弃物的有机溶剂处理..... | 62 |
| 4.2.7 园艺废弃物的酶水解..... | 62 |
| 4.2.8 酶活测定..... | 63 |
| 4.2.9 种子细胞制备..... | 63 |
| 4.2.10 纤维素酶的发酵生产..... | 64 |
| 4.2.11 木糖醇和酒精发酵..... | 64 |
| 4.2.12 水解液发酵产物分析..... | 64 |
| 4.3 结果与讨论 | 65 |

| | |
|---|-----------|
| 4.3.1 绿色木霉发酵产纤维素酶..... | 65 |
| 4.3.2 有机溶剂处理和酶水解的产物成分..... | 65 |
| 4.3.3 半纤维素水解液经 <i>C. tropicalis</i> SB18 发酵生产木糖醇..... | 66 |
| 4.3.4 纤维素酶水解液的酒精发酵..... | 67 |
| 4.4 本章小结 | 71 |
| 第五章 结论与建议 | 72 |
| 5.1 结论 | 72 |
| 5.2 建议 | 73 |
| 参考文献 | 74 |
| 在学期间所发表的论文 | 86 |
| 致谢 | 87 |

Table of contents

| | |
|---|-----------|
| Chapter 1 Literature reviews..... | 1 |
| 1.1 Current circumstance for xylitol production..... | 1 |
| 1.2 The application of xylitol..... | 1 |
| 1.2.1 Chemical and physical properties of xylitol | 1 |
| 1.2.2 The health function of xylitol..... | 3 |
| 1.2.3 The application of xylitol in food industrial | 4 |
| 1.2.4 The application of xylitol in other fields..... | 4 |
| 1.3 The production methods of xylitol..... | 5 |
| 1.3.1 Solid-liquid extraction | 6 |
| 1.3.2 Chemical production of xylitol | 6 |
| 1.3.3 Microbial conversion for xylitol production..... | 6 |
| 1.3.4 Factores that influence xylitol bioconversion | 9 |
| 1.3.5 Strategies for the improvement of xylitol production..... | 13 |
| 1.4 Bioconversion of lignocellulosic materials into xylitol..... | 16 |
| 1.4.1 Composition of lignocellulose | 16 |
| 1.4.2 The degradation of lignocellulose..... | 17 |
| 1.4.3 Lignocellulosic hydrolysates and microbial fermentation inhibitors..... | 19 |
| 1.4.4 Lignocellulosic products and its applications | 21 |
| 1.4 The objective and trials about this work | 25 |
| Chapter 2 Isolation and identification of a high-yield xylitol producing yeast strain and its fermentation performances..... | 26 |
| 2.1 Preface..... | 26 |
| 2.2 Materials and methods | 26 |
| 2.2.1 Microorganisms | 26 |
| 2.2.2 Alalytical reagents..... | 27 |
| 2.2.3 Preperation of reagents | 28 |
| 2.2.4 Experimental instruments | 28 |
| 2.2.5 Microorganism culturing medium | 29 |
| 2.2.6 Screening of yeats for high production of xylitol | 30 |
| 2.2.7 PCR sequencing and identification..... | 30 |
| 2.2.8 Extraction of crude enzymes..... | 30 |
| 2.2.9 Enzyme assay..... | 31 |
| 2.2.10 Innoculum prepearation | 31 |
| 2.2.11 Fermentation for xyitol production..... | 31 |
| 2.2.12 Measurment of dry cell mass | 32 |
| 2.2.13Analysis of products | 32 |
| 2.3 Results and disscussion..... | 32 |
| 2.3.1Isolation and identification of xylitol producing yeasts under high concentration of xylose | 32 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.2 The activities of key enzyme XR and XDH in <i>C. tropicalis</i> SB18..... | 33 |
| 2.3.3 Influences of nitrogen sources on xylitol production | 35 |
| 2.3.4 Influences of innoculum level on xylitol production..... | 37 |
| 2.3.5 Influences of agitation speed on xylitol production..... | 38 |
| 2.3.6 Influences of switch time of agitation speed on xylitol production..... | 40 |
| 2.3.7 Influences of substrate concentration on xylitol production..... | 41 |
| 2.3.8 The fermentation performances of <i>C. tropicalis</i> SB18 under 250 g·L ⁻¹ xylose in 500 mLflasks | 42 |
| 2.3.9 The fermentenation behaviors of <i>C.tropicalis</i> SB18 under high concentration of xylose in bioreactor | 42 |
| 2.4 Summary..... | 44 |
| Chapter 3 Influence of phenolic compounds on xylose fermentation by <i>C. tropicalis</i> SB18..... | 45 |
| 3.1 Preface..... | 45 |
| 3.2 materials and methods..... | 46 |
| 3.2.1 Microorganisms | 46 |
| 3.2.2 Analytical reagents..... | 46 |
| 3.2.3 Preperation of reagents | 46 |
| 3.2.4 Experimental instruments | 47 |
| 3.2.5 Microorganism culturing medium | 47 |
| 3.2.6 Extraction of crude enzymes..... | 47 |
| 3.2.7 Enzume assay | 47 |
| 3.2.8 Prepearation of innoculum..... | 47 |
| 3.2.9 Products analysis..... | 47 |
| 3.3 Results and disscussion..... | 48 |
| 3.3.1 Inhibition of phenolic compounds on cell growth | 48 |
| 3.3.2 Inhibition of phenols on xylose utilization and xylitol production..... | 50 |
| 3.3.3 Inhibition of phenols on xylose fermentation under different innoculum level..... | 53 |
| 3.3.4 Inhibition of phenols on key enzyme activities for xylose metabolism | 54 |
| 3.3.5 Degradation of phenolic compounds by <i>C.tropicalis</i> SB18 | 56 |
| 3.4 Summary..... | 57 |
| Chapter 4 Biocoverversion of hoticulture wastes into xylitol and ethanol | 58 |
| 4.1 Preface..... | 58 |
| 4.2 Materials and methods | 59 |
| 4.2.1 Microorganisms | 59 |
| 4.2.2 Microorganism culturing medium | 59 |
| 4.2.3 Analytical reagents..... | 60 |
| 4.2.4 Prepearation of reagents..... | 60 |
| 4.2.5 Experimental instruments | 61 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.6 Organosolv pretreatment of horticulture wastes | 62 |
| 4.2.7 Enzumatic hydrolysis of horiculture wastes | 62 |
| 4.2.8 Enzyme assay | 63 |
| 4.2.9 Prepearation of innoculum..... | 63 |
| 4.2.10 Cellulase production | 64 |
| 4.2.11 Fermentation for xylitol and ethanol production | 64 |
| 4.2.12 Analysis of lignocellulosic hydrolysates..... | 64 |
| 4.3 Results and disscussion..... | 65 |
| 4.3.1 Cellulase production by <i>Trichoderma viride</i> EU2-77..... | 65 |
| 4.3.2 Compositions of hydrolysates by organosolv pretreatment and enzymatic hydrolysis | 65 |
| 4.3.3 Fermentation of hemicellulosic hydrolysates for xylitol production | 66 |
| 4.3.4 Fermentation of enzymatic hydrolysates for ethanol production | 67 |
| 4.4 Summary..... | 71 |
| Chapter 5 Conclusion and recommendation..... | 72 |
| 5.1 Conclusion | 72 |
| 5.2 Recommendation..... | 73 |
| References..... | 74 |
| Publication..... | 86 |
| Acknowledgement..... | 87 |

第一章 文献综述

1.1 木糖醇生产现状

木糖醇作为一种功能性甜味剂，由于其产热低，外观、甜度和吸湿性似蔗糖，入口后被人体吸收无副作用。其类似于蔗糖的理化性质、预防龋齿以及代谢与胰岛素无关的特点，使之成为蔗糖、葡萄糖等糖类的优良替代品，其逐渐成为糖果、食品等领域内的主要甜味剂。由于木糖醇的优良性能，它被广泛应用于食品、酒类、饮料等，1973年被国际食品添加剂会议正式列为A级食品添加剂。

木糖醇是综合利用农产品的废弃物，如玉米芯，采用高新技术生产的实用价值很高的化工产品用途广泛。我国是一个农业大国，生产木糖醇的原料极为丰富，仅玉米的年产量就达7000万t，可获玉米芯1000万t左右，这些玉米芯若全部用于生产醇，就可生产100万t。近几年来，市场对木糖醇的需求日趋旺盛，预计年总需求量在10万t以上，每吨售价高达2.5万元以上。2003年，国内木糖醇年产量2.6万t，90%以上出口到了欧洲、美国、西班牙、日本等50多个国家和地区。

我国木糖醇的研究工作1960年代才开始，到1990年代，由于乡镇企业的崛起，富产玉米芯的广大乡镇兴起了大搞木糖醇的热潮。木糖醇也使人们由不认识，逐步走进人们生活中，在立足国内市场的前提下，敲开了国际市场的大门，倍受欧美、东南亚国家的青睐。通过改进工艺技术，加强管理，降低消耗，提高产品质量，经济效益也不断提高、激发了木糖醇工业的发展，现有厂家60余家，遍及全国十几个省市，但只有少数厂家具有加氢设备，生产能力每年可达40 kt，约占世界产量的50%^[1]，是木糖醇主要出口国，出口量居世界首位。

1.2 木糖醇的应用

1.2.1 木糖醇理化性质

木糖醇是一种白色粉末或白色晶体五碳糖醇，Emil Fisher 和 Stahel于1891年首次化学合成木糖醇^[2]，其化学结构见图1-1。木糖醇的理化性质类似于蔗糖，

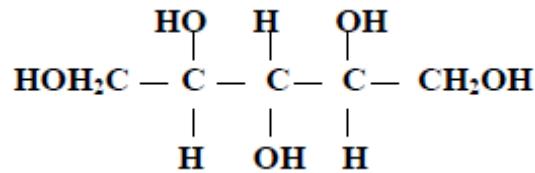


图 1-1 木糖醇结构式
Fig. 1-1 Xylitol chemical structure

表1-1 木糖醇物理性质^[3]

Table 1-1 Physical properties of xylitol

| 性质 | 木糖醇 | 蔗糖 |
|------|--|---|
| 分子式 | C ₅ H ₁₂ O ₅ | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ |
| 分子量 | 152.15 | 342 |
| 熔点 | 93~94.5°C | 179~186°C |
| 比重 | 1.5 | 1.59 |
| 溶液比重 | 10% 1.03 20% 1.07 40% 1.15 60% 1.23 | 1.04 1.08 1.18 1.29 |
| 溶液粘度 | 10% 1.23(厘泊) 20% 1.67 40% 4.18 60% 20.63 | 1.31 2.03 6.17 58.8 |
| 熔解热 | 34.8 (卡路里 / 克) | 4.06(卡路里 / 克) |
| 比旋光度 | (a)20/D 无 | +66.50 |
| 热量 | 4.06 (卡路里 / 克) | 4.06 (卡路里 / 克) |
| 可发酵性 | - | + |
| 结晶形状 | 白色斜方体 | 单斜晶体 |
| 甜度 | 100 | 100 |
| 折射系数 | 10% 1.3471 20% 1.3620 30% 1.3779 40% 1.3951 50% 1.4132 | 1.3478 1.3638 1.3811 1.3997 1.4200 |

它在温度低时显示出蔗糖一样的甜味，它是糖醇中最甜的一种，入口后清凉似薄荷，没有杂味。热值低于蔗糖，作为一种低能量甜味剂，被大力推广。它的溶解度、溶液密度和折光系数等理化指标与蔗糖相似，是蔗糖的理想替代品。表 1-1 列出了木糖醇和蔗糖的基本理化性质。木糖醇广泛存在于各种水果和蔬菜中，只是含量很少^[4]，以 100 g 干物质计算，香蕉和菠萝中含木糖醇 21 mg，胡萝卜中含 86.5 mg，洋葱含 89 mg，莴苣含 131 mg，南瓜含 96.5 mg，菠菜含 107 mg，

卷心菜含 94 mg, 草莓含 360 mg。1962 年科学家证明人体中也存在木糖醇, 它是糖类代谢过程的中间产物, 通常每 100 ml 血液中含有 0.03 mg~0.06 mg 的木糖醇, 经研究发现成人体内每天可产生大约 5 g~15 g 木糖醇^[5]。

1.2.2 木糖醇的保健功能

木糖醇的理化性质及其自身特点, 决定了其应用领域非常广泛, 高甜度和功能性也是保健食品首选的甜味剂。

(1) 木糖醇的防龋齿特性

木糖醇可以抑制变形链球菌(*streptococcus mutans*)的粘附, 预防龋齿。Levine^[6]大规模的临床试验和小规模的体内试验证明了木糖醇能有效地抵制龋齿的发生。Soderling^[7]利用双盲试验证明了多羟基醇能有效的降低龋齿斑点的形成。Hrimech^[8]在实验中还发现, 木糖醇可以干扰变形链球菌的蛋白合成及热休克蛋白 60、热休克蛋白 70 的表达, 进而影响变形链球菌的生长。但是, 木糖醇对已经患有龋齿的成年人, 不能抑制细菌代谢物在牙齿上的沉积^[9]。

(2) 降低血糖浓度

木糖醇作为一种功能性甜味剂, 能参与人体代谢; 进入血液后, 不需胰岛素就能透入细胞, 而且代谢速度快, 不会引起血糖值升高, 适合于糖尿病人营养性食糖替代品^[10]。

(3) 促进机体对钙的吸收

木糖醇能促进机体对钙的吸收, 增强了骨的致密性和韧性。体外实验证明, 添加 0.1-200 mM 的木糖醇、山梨糖醇、麦芽糖醇等, 能促进鼠的小肠和大肠对钙的吸收^[11]。

(4) 改善肝功能

木糖醇能促进肝糖元合成血糖不会上升对肝病患者有改善肝功能和抗脂肪肝的作用治疗乙型迁延性肝炎乙型慢性肝炎及肝硬化有明显疗效是肝炎并发症病人的理想辅助药物^[12]。

(5) 木糖醇的双歧菌增殖作用

木糖醇可以促进肠道内有益菌群的增殖, 达到调节肠胃功能的作用, 在动物体内肠道中滞留, 具有缓慢吸收作用, 可促进肠道内有益菌群的增殖, 即双歧杆菌

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库