

外加肌醇和氯化钠对嗜鞣管囊酵母生长和产酒精能力及耐酒精能力的影响

季 冉, 袁兴中, 曾光明, 刘 佳

(湖南大学环境科学与工程学院, 湖南 长沙 410082)

摘 要:嗜鞣管囊酵母(*Pachysolen tannophilus*)是可以同时发酵葡萄糖和木糖为酒精的菌种,在其培养基中分别添加不同浓度的(0~0.2 g·L⁻¹)肌醇和(0~1.5 g·L⁻¹)NaCl,以考察它们对嗜鞣管囊酵母生长、产酒精能力和耐酒精能力的影响。结果表明,外加肌醇和NaCl对嗜鞣管囊酵母生长有轻微的刺激作用,而对酵母生长的耐酒精能力却有明显的影响,并且,菌种在YEPD培养基中的耐酒精能力高于在YEPX培养基中的耐酒精能力。经实验测定,肌醇和NaCl对嗜鞣管囊酵母产酒精能力及发酵的耐酒精能力均有显著的影响。当发酵培养基中未添加酒精,肌醇和NaCl浓度各为0.1 g·L⁻¹和1.5 g·L⁻¹时,可以分别达到的最高酒精产量为45.20 g·L⁻¹和40.12 g·L⁻¹。在发酵过程中,当酒精起始浓度分别为10%和12%时,随肌醇浓度的增加,酒精的净生成量呈上升趋势,最高分别为17.18 g·L⁻¹和16.68 g·L⁻¹;添加NaCl后,酒精的净生成量亦呈现相同的规律,最高可达10.16 g·L⁻¹和9.87 g·L⁻¹。

关键词:嗜鞣管囊酵母;发酵;肌醇;氯化钠;耐酒精

中图分类号:X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)05-2080-06

Effects of Inositol Addition and Sodium Chloride on Cell Viability, Ethanol Production and Ethanol Tolerance of *Pachysolen tannophilus*

Ji Ran, Yuan Xing-zhong, Zeng Guang-ming, Liu Jia

(Department of Environment Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract: Glucose and xylose could be fermented by *Pachysolen tannophilus* simultaneously. In order to investigate the effects of added inositol and NaCl on cell viability, ethanol production and ethanol tolerance of *Pachysolen tannophilus*, different concentrations of inositol (0~0.2 g·L⁻¹) or NaCl (0~1.5 g·L⁻¹) were added respectively in the media. Both of inositol and NaCl could protect yeast cell from harmful effect of high concentration ethanol. The results indicated that inositol and NaCl had remarkable effects on ethanol production and ethanol tolerance, but little on the growth of *Pachysolen tannophilus*. Furthermore, ethanol tolerance was more powerful when the yeast was cultured in YEPD medium than in YEPX medium. It was found that, there were more yeast biomass and more ethanol production in the presence of inositol and NaCl than without them. With the addition of initial ethanol, the most appropriate concentrations of inositol and NaCl for yeast fermentation were 0.1 g·L⁻¹ and 1.5 g·L⁻¹, while the ethanol production yield were 45.20 g·L⁻¹ and 40.12 g·L⁻¹, respectively. The more added inositol and NaCl, the more ethanol was produced when the fermentation medium contained 10% or 12% initial ethanol. The maximum ethanol concentrations were 17.18 g·L⁻¹ and 16.68 g·L⁻¹ fermented by inositol addition, and 10.16 g·L⁻¹ and 9.87 g·L⁻¹ by NaCl addition with the same formula. It is revealed that inositol plays a more important role in ethanol production and ethanol tolerance than NaCl.

Keywords: *Pachysolen tannophilus*; fermentation; inositol; sodium chloride; ethanol tolerance

始于 20 世纪 70 年代中期的石油危机给酒精行业带来了前所未有的良机,随着人们环保意识的不断

加强,利用可再生资源(如粮食或植物纤维)发酵生产酒精,作为生物能源来代替或部分代替汽油被提上了议事日程^[1]。酒精是酵母菌发酵糖的重要产物之一,但是当酒精在培养基中累积达到一定浓度时,就会对酵母菌细胞产生有毒效应,因为过高的酒精浓度会抑制细胞生长、存活和发酵。为了提高酵母菌耐酒精的浓度,研究人员进行了许多尝试,如从自然界筛选耐酒

收稿日期:2007-10-27

基金项目:国家自然科学基金资助(50678062)

作者简介:季 冉(1981—),女,山东聊城人,硕士研究生,从事木质纤维素发酵酒精研究工作。E-mail:jiran_1018@yahoo.com.cn

通讯作者:袁兴中 E-mail:yxz@hnu.cn

精突变株^[2],诱导耐酒精菌体^[3,4]和改变菌体的营养条件^[5]等等。

由于高浓度酒精发酵具有设备利用率高、节约能耗、成本低等优点^[6-10],所以成为各国研究者研究的重点领域。根据池振明等^[11]的报道,磷脂酰肌醇(PI)在酵母菌耐高浓度酒精、产酒精速度和高产酒精过程中起着重要作用;在酒精发酵过程中,当细胞 PI 含量较高时,酵母菌产酒精的速率和培养基中累积的最终乙醇的产量都较高。在酵母菌细胞中,CDP-二酰基甘油(CDP-DAG)在 PI 合成酶催化下可以与肌醇起反应生成 PI^[11]。而且,Hanson 等^[12]报道,如果酵母菌细胞中缺乏肌醇的话,PI、细胞壁、蛋白质、RNA 的合成以及细胞分裂都会受到不利的影响,由此将导致细胞失去生存能力。另外,无机盐类是微生物生命活动不可缺少的物质,其主要功能是参与构成菌体成分、作为酶的组成部分,或维持酶的活性、调节渗透压等^[13]。而且,酵母细胞的化学组成成分决定了酵母生长繁殖还需要一定量的磷、钾、钠、镁等营养物质^[14]。Sukesh^[15]等研究发现增加 NaCl 的浓度也有助于提高酵母耐酒精的能力。因此,为了维持酵母菌的最适生长和发酵条件,可以在培养基中人工加入肌醇和 NaCl,以提高酵母菌耐酒精的能力。

目前用生物质生产燃料酒精是一项热门的新技术。木质纤维素含有丰富的纤维素、半纤维素和木质素;而半纤维素的水解产物包括 2 种五碳糖(木糖和阿拉伯糖)和 3 种六碳糖(葡萄糖、半乳糖和甘露糖)。迄今为止,国内外有关酵母菌耐酒精方面的研究,几乎都是以只能发酵六碳糖,不能发酵五碳糖的酵母菌作为研究对象,以嗜鞣管囊酵母作为研究对象的尚未见诸报道。因此,本实验选择可同时发酵葡萄糖和木糖为酒精的嗜鞣管囊酵母(*Pachysolen tannophilus*)作为研究材料,比较系统地研究了外加不同浓度的肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长、产酒精能力和耐酒精能力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

嗜鞣管囊酵母(*Pachysolen tannophilus*)CGMCC 2.1585 购于中国科学院微生物研究所,于 4℃保藏,并且每两个月转移至新鲜的斜面培养基上。

1.1.2 培养基

斜面培养基^[16]:葡萄糖 10 g·L⁻¹,酵母膏 3 g·L⁻¹,

麦芽汁 g·L⁻¹,蛋白胨 5 g·L⁻¹,琼脂 20 g·L⁻¹;

YEPD 培养基:葡萄糖 20 g·L⁻¹,酵母膏 10 g·L⁻¹,蛋白胨 20 g·L⁻¹;

YEPX 培养基:木糖 20 g·L⁻¹,酵母膏 10 g·L⁻¹,蛋白胨 20 g·L⁻¹;

发酵培养基^[16]:MgSO₄ 1 g·L⁻¹,KH₂PO₄ 2 g·L⁻¹,(NH₄)₂SO₄ 3 g·L⁻¹,蛋白胨 3.6 g·L⁻¹,酵母膏 4 g·L⁻¹,木糖 25 g·L⁻¹,葡萄糖 80 g·L⁻¹。

1.1.3 种子液的制备

取斜面菌体接入 50 mL YEPX 培养基中,在 30℃、150 r·min⁻¹ 的条件下培养 24 h,之后以 10%的接种量接入 100 mL YEPX 培养基中,在相同的条件下培养 18 h,所形成的菌体悬液即可作为种子液。

1.1.4 主要试剂和仪器

肌醇购自上海源聚生物科技有限公司,气相色谱仪(6890N)购自美国安捷伦科技有限公司,配氢火焰离子化检测器。

1.2 研究方法

1.2.1 实验方法

比较肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长能力的影响和生长的耐酒精能力的影响时,分别以 YEPD 和 YEPX 培养基作为两种生长培养基,每种培养基中分别添加一系列浓度为 0、0.01、0.05、0.10、0.15、0.20 g·L⁻¹ 的肌醇^[11]以及 0、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 g·L⁻¹ 的 NaCl^[15]作为 12 组不同的培养基。然后,在 YEPD 的 12 组培养基中均添加起始浓度为 0、10%、12%、14%、16%(体积分数)的无水乙醇;在 YEPX 的 12 组培养基中均添加浓度为 0、6%、8%、10%、12%、14%(体积分数)的无水乙醇。按 6%(体积分数)的接种量接入种子液后,150 r·min⁻¹、30℃、培养 48 h。测定菌体的生物量。

比较肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母产酒精能力和发酵的耐酒精能力的影响时,以发酵培养基作为基本培养基,培养基中分别添加浓度为 0、0.01、0.05、0.10、0.15、0.20 g·L⁻¹ 的肌醇以及 0、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 g·L⁻¹ 的 NaCl 作为 12 组不同的培养基,并在这 12 个实验组中均添加一系列起始浓度为 0、10%和 12%(体积分数)的无水乙醇,调 pH 值为 4.8。然后,接入 10%(体积分数)的种子液,100 r·min⁻¹、30℃、培养 48 h^[17]。测定发酵生成的酒精浓度。

1.2.2 生物量的测定^[18]

用 721 分光光度计在波长为 600 nm 条件下比色测定菌液吸光度,测定时添加了起始浓度酒精的菌液

稀释 5 倍,未添加起始浓度酒精的菌液稀释 20 倍。

1.2.3 乙醇浓度测定^[19]

采用气相色谱法测定。色谱柱为 DB-FFAP 30 m×0.25 mm×0.25 μm, 进样口和检测器温度均为 180 ℃,柱温恒温控制为 130 ℃,采用氮气为载气,正丙醇为内标物。

1.2.4 数据分析

利用 Microsoft Excel 2003 软件进行数据分析与统计检验。

2 结果与讨论

2.1 肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长能力的影响

如图 1 所示,在 YEPD 培养基和 YEPX 培养基中,随着肌醇浓度的增加,嗜鞣管囊酵母的生物量呈轻微的上升趋势,当肌醇浓度为 0.15 g·L⁻¹ 时,酵母的生物量最高,但当肌醇浓度增加到 0.20 g·L⁻¹ 时,酵母的生物量反而下降。这说明添加适量的肌醇有利于酵母的生长,但用量加大时,促进作用减弱。在培养过程中,随 NaCl 浓度的升高,酵母的生长量也有轻微的递增趋势,其测定值在 NaCl 浓度为 1.50 g·L⁻¹ 时,达到

最大。以上分析表明,肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母的生长都有微弱的刺激作用,但肌醇比 NaCl 具有稍强的促进酵母生长的能力。

从图中还可以看出,经过 48 h 的培养后,酵母菌的生物量变化在 YEPD 培养基和 YEPX 培养基中均呈现出相同的规律,但酵母菌在前者中的生物量明显比后者高。这是因为酵母代谢木糖的途径比代谢葡萄糖的复杂得多,在代谢过程中部分木糖没有转化成酒精而进行辅酶 NADPH 的合成或转化成其他副产物,因此,酵母利用木糖的能力低于利用葡萄糖的能力^[17]。

2.2 肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长的耐酒精能力的影响

如图 2 和图 3 所示,在添加了起始浓度酒精的 YEPD 和 YEPX 培养基中,随着肌醇和 NaCl 浓度的增加,酵母菌生长量的变化规律同未添加起始浓度酒精时的变化规律相似,并且酵母菌生物量的增加幅度有明显地提高。可见,适当浓度的肌醇和 NaCl 均能有

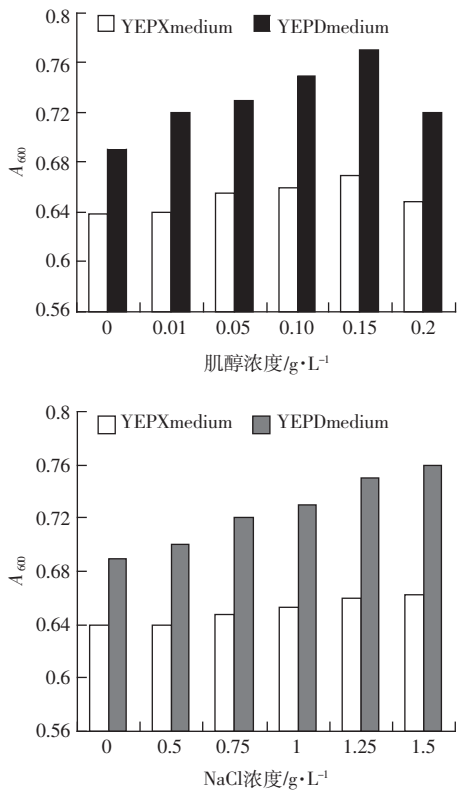


图 1 肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长能力的影响
Figure 1 Effects of added inositol and NaCl on cell viability of *Pachysolen tannophilus*

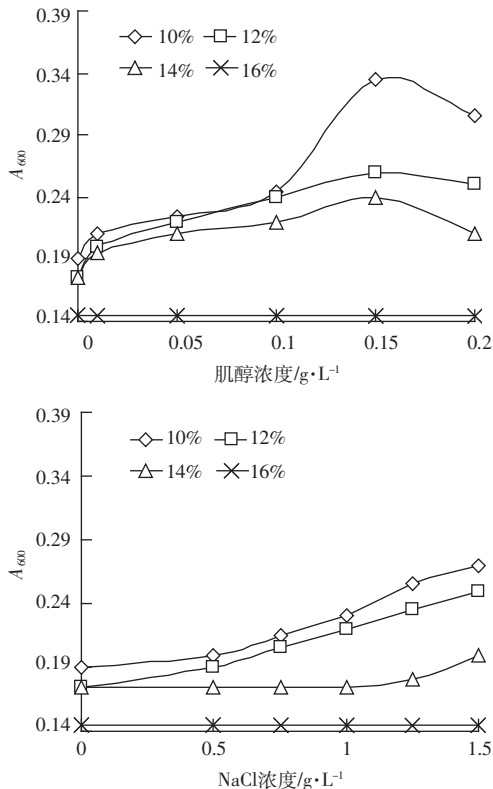


图 2 在 YEPD 培养基中肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长的耐酒精能力的影响

Figure 2 Effects of added inositol and NaCl on cell viability of *Pachysolen tannophilus* in YEPD medium supplemented with initial ethanol

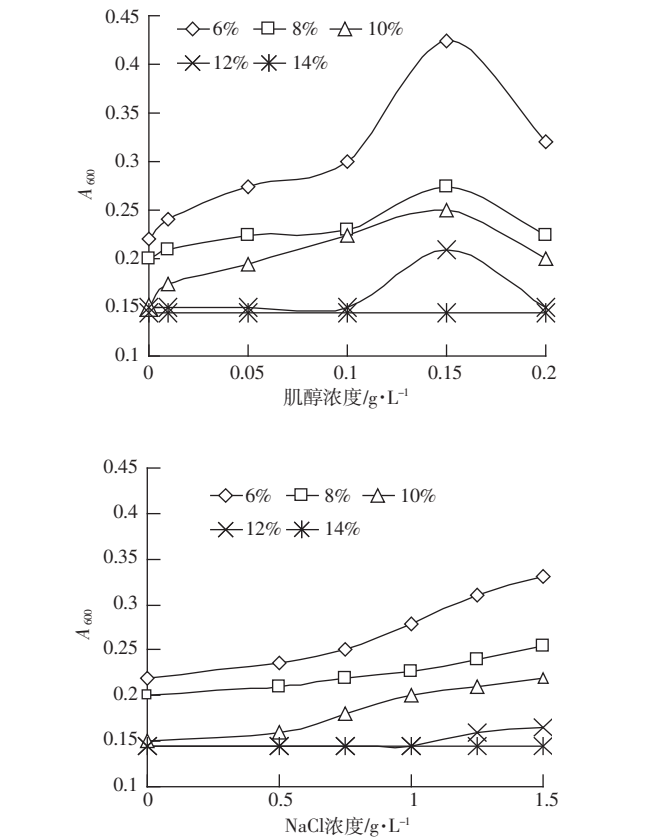


图 3 在 YEPX 培养基中肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长的耐酒精能力的影响

Figure 3 Effects of added inositol and NaCl on cell viability of *Pachysolen tannophilus* in YEPX medium supplemented with initial ethanol

效提高菌体生长的耐酒精能力。而且肌醇的促进作用仍强于 NaCl。同样地,当肌醇浓度为 $0.15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,酵母的生物量最高,浓度为 $0.20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,酵母的生物量反而下降。分析表明,嗜鞣管囊酵母对肌醇比较敏感,其加量需严格控制才能达到较好的提高耐酒精能力的效果。

从图 2、3 还可以看出,在 YEPD 培养基中,当酒精起始浓度为 10% 时,肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母生长的耐酒精能力均有明显的提高作用;当酒精起始浓度为 12% 和 14% 时,它们对酵母生长的耐酒精能力的刺激作用有所下降。当酒精浓度为 16% 时,菌液 OD 值在培养前后没有变化,说明菌种在 YEPD 培养基中不耐 16% 的酒精。同样地,在 YEPX 培养基中,起始酒精浓度为 6% 时,肌醇和 NaCl 能有效提高酵母生长的耐酒精能力;当酒精起始浓度为 14% 时,菌液 OD 值在培养前后均没有变化,表明菌种在 YEPX 培养基中不耐 14% 的酒精。

2.3 肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母的产酒精能力和发酵的耐酒精能力的影响

如表 1 和表 2 所示,酵母菌利用未添加肌醇和 NaCl 的发酵培养基进行代谢时,可生成 $30.03\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙醇;随培养基中肌醇浓度的增加,酵母发酵生成的酒精产量呈上升趋势,当肌醇浓度为 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,酒精浓度最高,达到 $45.20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;但当肌醇浓度继续增加时,酒精浓度反而下降。可见,适当浓度的肌醇才能有效提高菌体发酵活性对酒精的抗性。当培养基中的 NaCl 浓度升高时,酒精产量也随之增加,当 NaCl 浓度为 $1.50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,酒精产量最高,为 $40.12\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分析表明,肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母产酒精能力都有促进作用,而且肌醇对酵母的刺激作用强于 NaCl。

由于前期工作测定了嗜鞣管囊酵母在 YEPD 和 YEPX 培养基中最高分别耐 14% 和 12% 的酒精,所以在考察酵母菌发酵的耐酒精能力的实验中选择添加酒精起始浓度为 10% 和 12%。从表 1 和表 2 还可以看出,当酒精起始浓度分别为 10% 和 12% 时,随肌醇浓

表 1 肌醇对嗜鞣管囊酵母的产酒精能力和发酵的耐酒精能力的影响(酒精产量, $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

肌醇浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	培养基中起始酒精含量/%		
	0	10	12
0	30.03	3.40	2.97
0.01	36.61	5.07	2.98
0.05	40.10	5.51	5.34
0.10	45.20	6.39	5.59
0.15	34.86	13.77	13.20
0.20	33.90	17.18	16.68

表 2 NaCl 对嗜鞣管囊酵母的产酒精能力和发酵的耐酒精能力的影响(酒精产量, $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

NaCl 浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	培养基中起始酒精含量/%		
	0	10	12
0	30.03	3.40	2.97
0.50	33.26	4.47	2.99
0.75	35.78	5.13	4.46
1.00	37.18	6.03	5.01
1.25	38.93	8.26	7.67
1.50	40.12	10.16	9.87

度的增加,酒精的净生成量(测得的发酵后培养基中的酒精浓度除去起始添加的酒精浓度)呈上升趋势,最高分别为 $17.18\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $16.68\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;在发酵培养基中添加 NaCl 后,酒精的净生成量呈现相同的规律,最高分别达 $10.16\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $9.87\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。从测定结果可以看出,肌醇和 NaCl 都可以有效地提高酵母菌发酵的耐酒精能力,但肌醇对酵母的促进作用仍然强于 NaCl。

3 结论

酒精对酵母细胞的抑制作用是影响高浓度酒精发酵的重要因素之一。池振明等报道在培养基中加入肌醇时,酵母细胞会利用肌醇合成 PI,从而能够更快地发酵生成酒精。但是,PI 如何发挥高产酒精和耐高浓度酒精的作用以及 PI 在高浓度酒精下保护细胞免受损伤的机制还不清楚。有人发现高浓度的 PI 可能对质膜蛋白质,特别是质膜 ATP 酶和质膜完整性起保护作用,以免受高浓度酒精的有害影响,但这种假设需要实验来证实^[20]。而 NaCl 在培养过程中起调节渗透压的作用,以保护酵母细胞免受机械损伤和渗透压危害。

本研究结果证实了外加肌醇和 NaCl 对嗜鞣管囊酵母产酒精能力、生长的耐酒精能力及发酵的耐酒精能力均有显著的影响,对改善酵母细胞的生长环境有一定的促进作用,而且肌醇的刺激作用要强于 NaCl。本实验还确定了嗜鞣管囊酵母生长的最适肌醇浓度为 $0.15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,最适 NaCl 浓度为 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;当发酵培养基中未添加起始浓度酒精,肌醇浓度和 NaCl 浓度分别为 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对应生成的酒精产量达最高为 $45.20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $40.12\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在发酵过程中,当酒精起始浓度分别为 10%和 12%时,随肌醇浓度的增加,酒精的净生成量呈上升趋势,最高分别为 $17.18\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $16.68\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;添加 NaCl 后,酒精的净生成量亦呈现相同的规律,最高可达 $10.16\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $9.87\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。这一研究结果表明,外加肌醇和 NaCl 有助于提高嗜鞣管囊酵母产酒精和耐酒精的能力,并且它们的成本低,加量少、易溶解,这对实现木质纤维素的高浓度酒精发酵具有重要意义,从而促进了高产率、低成本、节约能量的适合工业化生产燃料酒精的工艺和技术的出现。

有研究表明,在培养基中加入一定量的不饱和脂肪酸^[21],它们被酵母细胞吸收后,也可以使酵母细胞的耐酒精能力得到很大提高。因此,在进一步的研究过程中,可以系统考察培养基中不饱和脂肪酸对嗜鞣管

囊酵母生长和发酵以及耐酒精能力的影响,进而可以通过调配外加肌醇与不饱和脂肪酸或无机盐的比例含量以提高嗜鞣管囊酵母发酵终点的酒精浓度。

参考文献:

- [1] 章克昌. 发展燃料酒精的建议[J]. 中国工程科学, 2000, 2(6):89-93.
ZHANG Ke-chang. The suggestion of develop fuel alcohol[J]. *Engineering Science*, 2000, 2(6):89-93.
- [2] Yang J Y, Park K H, Pek U H, et al. Screening and characterization of the high alcohol producing *Saccharomyces cerevisiae* D 1[J]. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol*, 1990, 18:511-516.
- [3] Hayashida S, Feng D D, Hongo M. Physiological properties of yeast cells grown in the proteolipid supplemented media[J]. *Agric Biol Chem*, 1975, 39:1025-1031.
- [4] Thomas D S, Hossack J A, Rose A H. Plasma membrane lipid composition and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Arch Microbiol*, 1978, 117:239-245.
- [5] Amore T D, Stewart G G. Ethanol tolerance of yeast[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1987, 9:322-330.
- [6] Mccaig R M, Pfister E A, Ingledew W M, et al. Very high gravity brewing-laboratory and pilot plant trials[J]. *J of Am Soc Brew Chem*, 1992, 50:18-26.
- [7] Thomas K C, Ingledew W M. Fuel alcohol production: effects of free amino nitrogen on fermentation of very-high-gravity wheat mashes[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56:2046-2050.
- [8] Jones A M, Ingledew W M. Fuel alcohol production: appraisal of nitrogenous yeast foods for very high gravity wheat mash fermentation[J]. *Process Biochem*, 1994, 29:483-488.
- [9] Groat M, Ough C S. Effects of insoluble solids added to clarified musts on fermentation rate; wine composition and wine quality[J]. *Am J Enol Vitic*, 1978, 29:112-119.
- [10] Thomas K C. Effects of particulate materials and osmoprotectants on very high gravity ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60:1519-1524.
- [11] Chi Z, Kohlweinv S D, Paltauf F. Role of phosphatidylinositol (PI) in ethanol production and ethanol tolerance by a high ethanol producing yeast[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 1999, 22:58-63.
- [12] Hanson B A, Lester R L. Effects of inositol starvation on phospholipid and glycan synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Bacteriol*, 1980, 142:79-89.
- [13] 吕 欣,段作营,毛忠贵. 氮源与无机盐对高浓度酒精发酵的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2003, 31(4):159-162.
LV Xin, DUAN Zuo-ying, MAO Zhong-gui. Study on the effect s of nitrogen sources and inorganic salts on ethanol fermentation[J]. *Journal of Northwest University of Agriculture and Forestry*, 2003, 31(4):159-162.
- [14] 章克昌. 酒精与蒸馏酒工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1995. 162-164.
ZHANG Ke-chang. Ethanol and distilled ethanol technology[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1995. 162-164.

- [15] Suresh, Chander, Sharma. A possible role of trehalose in osmotolerance and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *FEMS Microbiology*, 1997, 152:11–15.
- [16] Kruse B, Schügerl K. Investigation of ethanol formation by *Pachysolen tannophilus* from xylose and glucose/xylose co-substrates [J]. *Process Biochem*, 1996, 31(4):389–407.
- [17] 刘天霞, 宋彦彦, 张 鹏. 嗜单宁管囊酵母木糖酒精发酵的研究[J]. 纤维素科学与技术, 2005, 13(1):11–16.
- LIU Tian-xia, SONG Yan-yan, ZHANG Peng. Study on ethanol fermentation from xylose by *Pachysolen tannophilus*[J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2005, 13(1):11–16.
- [18] 赵宝华, 张 莉. 外加肌醇和钙离子对酿酒酵母乙醇发酵的影响[J]. 微生物学报, 1999, 39(2):174–177.
- ZHAO Bao-hua, ZHANG Li. The effects on ethanol fermentation *Saccharomyces cerevisiae* by adding Ca^{2+} and inositol[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1999, 39(2):174–177.
- [19] 牟建楼, 王 颀, 陈志周, 等. 木糖发酵液中乙醇的气相色谱法确定[J]. 酿酒, 2005, 32(1):77–78.
- MOU Jian-lou, WANG Xie, CHEN Zhi-zhou, et al. Quantitative analysis of ethanol in the xylose fermentation broth using GC[J]. *Liquor Making*, 2005, 32(1):77–78.
- [20] 池振明, 张厚程, 赵双枝. 酵母菌磷脂酰肌醇(PI)的生物合成及其重要的生理学功能[J]. 中国生物工程杂志, 2002, 22(2):40–43.
- CHI Zhen-ming, ZHANG Hou-cheng, ZHAO Shuang-zhi. Biosynthesis of phosphatidylinositol and its physiological functions in yeasts[J]. *China Biotechnology*, 2002, 22(2):40–43.
- [21] 路玲玲, 檀建新, 张 伟, 等. 酵母细胞膜系统对高温和高酒精浓度的适应性[J]. 河北农业大学学报, 2003, 26:163–166.
- LU Ling-ling, TAN Jian-xin, ZHANG Wei, et al. The adaptation of yeast's cell membrane system to high temperature and high ethanol concentration[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2003, 26 (supplement):163–166.