

发酵产赤藓糖醇代谢调控研究进展

曹翠翠,胡永红,杨文革,李佼佼

(南京工业大学 生物与制药工程学院,江苏 南京 210009)

摘要:对赤藓糖醇的合成途径、关键酶及代谢调控方式等方面的研究进行综述。分析了利用代谢调控手段改变代谢途径的方法,并对未来赤藓糖醇合成途径调控机制在分子水平上的发展趋势进行展望。

关键词:赤藓糖醇;合成途径;关键酶;代谢调控

中图分类号:TQ 920.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)04-0098-05

Research progress in metabolic regulation of erythritol produced through fermentation

CAO Cui - cui, HU Yong - hong, YANG Wen - ge, LI Jiao - jiao

(Department of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering,
Nanjing Tech University, Nanjing Jiangsu 210009)

Abstract: The research progress in synthetic pathway, key enzymes and metabolic regulation of erythritol was reviewed. The method of changing metabolic pathway using metabolic control was analyzed. The future development of research trend in regulation mechanism of synthetic pathway for erythritol at the molecular level was prospected.

Key words: erythritol; synthetic pathway; key enzyme; metabolic regulation

赤藓糖醇(Erythritol)又名赤藓醇、原藻醇、赤兔草醇,是一种广泛存在于自然界中的天然糖醇类甜味剂。赤藓糖醇口感清凉、热值低、安全性高,在食品领域,如糖果、巧克力、饮料、乳制品生产中的应用最为广泛^[1-2]。赤藓糖醇在医药领域也极具潜力,口腔中的细菌不能利用赤藓糖醇,不会发酵产生乳酸及不溶性葡聚糖,所以可用于牙膏等洁齿用品,保护口腔健康^[3];此外,赤藓糖醇分子量小,速溶性强,溶解吸热带来清凉舒适感,可矫正某些药品的苦味、涩味等,是药品、保健品中的良好矫味剂与赋性剂^[4-5]。在化工行业,赤藓糖醇可以作为有机合成中间体,合成多种功能化合物,如树脂、材料、表面活性剂等^[6-7]。

目前,赤藓糖醇的生产方法包括微生物发酵法、化学合成法和生物提取法等,其中化学合成法是将淀粉经高碘酸法生成双醛淀粉,然后在高温高压条件下以镍为催化剂对双醛淀粉进行加氢反应得到,该方法存在流程长、成本高、污染严重、条件要求高、产品安全性差等不足,尚未实现工业化生产^[8]。生物提取法是将玉米等进行液化、糖化,经嗜高渗酵母

在高浓度下(> 450 g/L)进行酶解发酵后,发酵醪液经加热杀菌、过滤并经离子交换树脂、活性炭和超滤纯化得到,该方法工艺复杂,对设备要求较高,增加能耗,不利于工业化生产。微生物发酵法由于其成本低廉,反应条件温和,比化学合成法更具有生产优势,越来越受人们的重视。研究发现,通过发酵可产生赤藓糖醇的菌株有酵母和细菌。其中主要为高渗酵母(高糖或高盐环境下生存),包括接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)、毕赤氏酵母属(*Pichia*)、假丝酵母属(*Candida*)、球拟酵母属(*Torulopsis*)、丛梗孢酵母属(*Moniliella*)和丝孢酵母(*Trichosporoides*)等^[9-13]。

本文主要综述赤藓糖醇的生物合成过程,从分子生物学角度阐述了赤藓糖醇合成过程中的代谢调控机制,并讨论利用代谢调控手段改变代谢途径的研究进展,以期为赤藓糖醇在分子水平上的研究提供参考。

1 赤藓糖醇的特性

1.1 赤藓糖醇的理化性质

赤藓糖醇为1,2,3,4-丁四醇,分子式 $C_4H_{10}O_4$,相对分子质量122.12,熔点118~122℃,沸点329~331℃,外观为白色晶体。其具有对称的分子结构,只有一种构型,属于内消旋型。与蔗糖具有相似

收稿日期:2014-12-26

基金项目:国家自然科学基金(31171644)

作者简介:曹翠翠,1990年出生,女,山东泰安人,硕士研究生。

通讯作者:胡永红,1968年出生,女,江苏如皋人,博导。

的口感和流变特性,其甜度为蔗糖的60%~80%^[14]。极易溶于水,可溶于吡啶,微溶于醇,极难溶于醚。

赤藓糖醇的化学性质和其它多元醇类似,由于没有还原性末端,所以具有良好的热、酸稳定性。但其相对分子量较小,这样导致其渗透压高、在水溶液中与水结合度高^[15]。

1.2 赤藓糖醇的生理功能

动物毒理学实验以及临床研究发现,即使每天进食大量的赤藓糖醇对人体也是安全的^[16]。此外,赤藓糖醇除具有防龋齿以及适于糖尿病患者食用等特点外,还有两个重要特性:1) 低热量 ($\leq 1.66 \text{ kJ/g}$),80%的赤藓糖醇在小肠吸收,进入血液循环,这部分赤藓糖醇不能被机体代谢,只能透过肾脏滤去,最终随尿排出,被肠道内的细菌发酵代谢并重新吸收的赤藓糖醇仅为10%左右(最大估计量),吸收的热量更低,因此几乎不提供能量;2) 高耐受量(无副作用),由于赤藓糖醇相对分子量小,在小肠内可以迅速被吸收,但不会被分解代谢,几乎不经大肠发酵,不引起腹泻及肠胃胀气,在人体内具有很高耐受性^[17]。

2 赤藓糖醇的合成途径

在细菌和酵母中,赤藓糖醇的合成途径是不同的(图1)。在酵母中赤藓糖醇主要通过需氧的磷酸戊糖途径(HMP)合成^[18],而在细菌中则是由磷酸解酮酶途径(PK途径)合成。

酵母产赤藓糖醇的代谢途径包括以下步骤:1) 葡萄糖在ATP及己糖激酶的催化下生成葡萄糖-6-磷酸;2) 葡萄糖-6-磷酸在一系列转酮酶的作用下生成4-磷酸赤藓糖;3) 4-磷酸赤藓糖在4-磷酸赤藓糖激酶的去磷酸化作用下生成赤藓糖;4) 赤藓糖通过赤藓糖还原酶催化加氢作用得到赤藓糖醇。赤藓糖还原酶是该途径的限速酶。

细菌产赤藓糖醇代谢途径包括以下步骤:1) 在厌氧条件下,葡萄糖经己糖激酶的催化下生成葡萄糖-6-磷酸;2) 葡萄糖-6-磷酸经磷酸葡萄糖异构酶异构得到6-磷酸果糖;3) 6-磷酸果糖进一步磷酸化并经转酮酶分解得到4-磷酸赤藓糖(4-P-erythrose);4) 4-磷酸赤藓糖经4-磷酸赤藓糖醇脱氢酶水解生成赤藓糖醇。4-磷酸赤藓糖醇脱氢酶是该途径的关键酶。

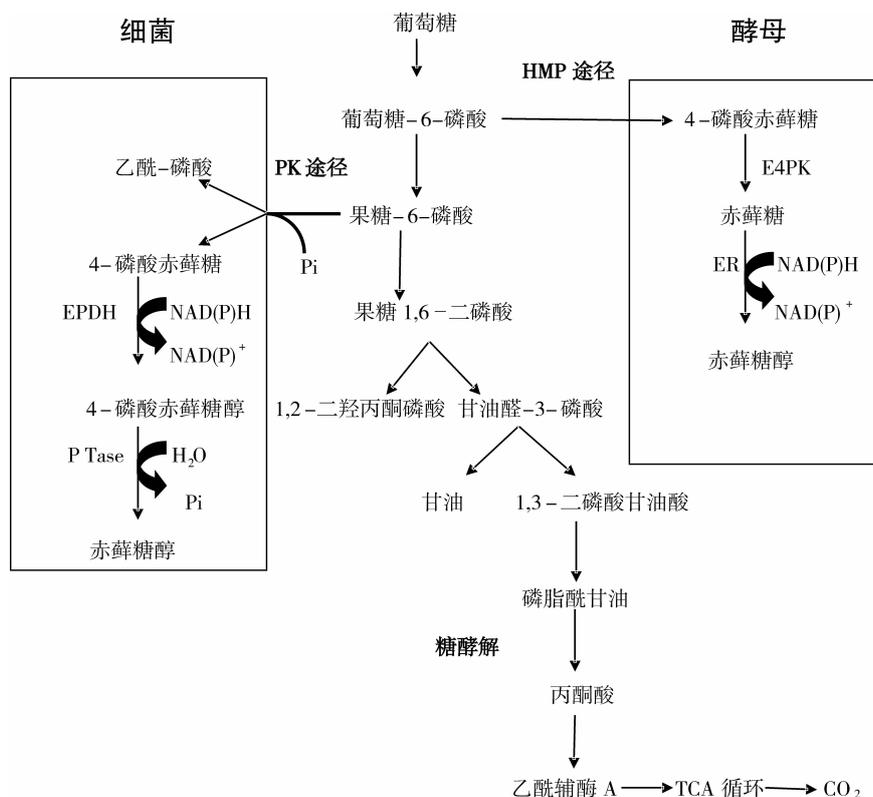


图1 赤藓糖醇在细菌和酵母中的合成途径

注:EPDH:4-磷酸赤藓糖醇脱氢酶;P Tase:脱磷酸酶;E4PK:4-磷酸赤藓糖激酶;ER:赤藓糖还原酶;TCA:三羧酸循环。

3 赤藓糖醇产生菌的代谢调控机制

3.1 酵母产赤藓糖醇的代谢机制

酵母通过HMP途径代谢产赤藓糖醇,为了确定

HMP途径中赤藓糖醇合成的限速步骤,Katsuhiko等^[19]测量了赤藓糖醇工业生产菌株 *Trichosporonoides megachiliensis* SN-G42 在不同培养条件

下的酶活,发现 HMP 途径中的酶活明显高于 TCA 循环酶,而 HMP 途径中又以转酮酶活性最高,因此推断转酮酶通过催化生成中间产物,以提高赤藓糖醇产量。

赤藓糖还原酶催化赤藓糖生成赤藓糖醇,是赤藓糖醇合成途径的最后一步,也被认为是限速步骤^[20]。1969年, Braun 等研究赤藓糖醇在 *Schizophyllum commune* 中的代谢,在细胞提取物中观察到了高活性的赤藓糖还原酶^[21],它有三个同工酶,即 ER-1 38,000、ER-2 和 ER-3 37,000^[22]。Ookura^[23] 分析这三个酶的生化特征,并从 *Trichosporonoides megachiliensis* 菌中克隆了编码三个酶的基因 er1、er2、er3,在大肠杆菌中进行了表达。Kobayashi^[24] 对高渗环境下三个基因的表达和功能进行了研究,发现在 er1 和 er2 起始密码子的上游 2kb 处有一个渗透压响应元件(STRE),而 er3 分别在起始密码子上游的 148 和 40 bp 处各有一个 STRE。分析发现 er3 表达的酶对渗透压的响应更敏感。将细胞放在高渗环境中,在 1.5 h 内细胞内甘油及 3-磷酸甘油脱氢酶的表达量很高,到 24 h 左右,er3 及赤藓糖醇才开始产生,表明 *T. megachiliensis* 优先以甘油作为渗透剂。因此,在大部分赤藓糖醇菌株中,甘油是主要的副产物。Deng^[25] 等分离纯化到一株产赤藓糖醇 *Moniliella* sp. BH010,将其 ER 基因进行克隆后发现与 *T. megachiliensis* 具有很高的同源性,与醛酮还原酶超家族属于同一酶系。现已发现的大部分赤藓糖还原酶均属于醛酮还原酶家族(AKR),AKR 成员都是单体胞质蛋白,以还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)为辅酶^[26]。Dae Hee^[27] 对 *Candida magnolia* JH110 中 ER 酶的一级结构及基因序列进行了分析,由 849 个核苷编码了分子质量为 31.4 kDa 的多肽,它是典型的 AKR 家族 NADPH 依赖型醛酮还原酶,其氨基酸序列中的 252Lys、255Thr、258Arg 被认为是 NADPH 依赖型所必需的结构条件。Lee JK^[28] 发现了一种新型的 ER 酶,该 ER 酶具有即能利用 NADPH 也能利用 NADH 的双辅酶特异性, NADH ($K_{cat}/K_m = 450 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$) 的特异性比 NADPH ($K_{cat}/K_m = 5.5 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$) 高上百倍。而 *Leuconostoc oenos* 菌株中的 ER 酶辅因子是 NADH,与常见的 AKR 家族酶不一样^[29]。

酶通常具有催化同类底物的功能,ER 酶也能催化众多的酮糖成醇, Jungkul^[30] 研究了从 *Torula corallina* 中分离出的 ER 酶的底物特异性,对赤藓糖、木糖、果糖、核糖、阿戊糖的活力分别为 15.32、0.28、0.23、0.18 和 0.09 U/mg 蛋白,而对葡萄糖、半乳糖、甘露糖、蔗糖则没有活力,正是因为 ER 酶较高的特异性,不会催化产生其它多元醇,所以得到

高产量的赤藓糖醇。Hiroaki^[31] 在研究 *Aureobasidium* sp. 的突变株中发现,ER 酶能同时催化生成赤藓糖醇和甘油, Ag^+ 和 Zn^{2+} 离子会强烈抑制该酶的活力(抑制率 70%~80%), Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 也有一定抑制作用(30%~40%)。氧气对赤藓糖醇的高产也是必需因素, Maria 发现赤藓糖醇与甘油的产量受到含氧量的强烈影响,厌氧条件下 *Leuconostoc oenos* 虽然也能产生赤藓糖醇,但却比有氧时下降 30%,而副产物甘油增加了 70%^[29]。

3.2 细菌产赤藓糖醇的代谢机理

异型乳酸菌(*Oenococcus oeni*)在有氧条件下发酵产乳酸,在无氧条件下通过 PK 途径产生赤藓糖醇。Hanno Richter 等^[32] 研究发现:当缺乏泛酸时, *O. oeni* 发酵产生大量的赤藓糖醇,并伴随着副产物乙醇和甘油,在此情况下,限制葡萄糖异型发酵的主要因素是胞内 HSCoA,其也是代谢流向产生赤藓糖醇、乙酸和甘油方向的原因。Maria Veiga-da-cunha 等人研究了在 *L. Oenos* 利用葡萄糖发酵产赤藓糖醇的酶途径,并解释了氧气对葡萄糖产生多元醇的影响^[33]。在 *O. oeni* 和 *L. mesenteroides* 菌株的基因组中并没有与 *Brucella abortus* 菌株中 eryB 和 eryA 基因相似的基因来编码赤藓糖-1-磷酸脱氢酶和赤藓糖激酶^[34]。*L. oenos* 发酵过程中酶的活性见表 1。

表 1 *L. oenos* 发酵过程中酶的活性

酶	底物	辅因子	底物 Km /mM	Vmax/[$\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mL})$]	辅因子 Km/ μM
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶	葡萄糖-6-磷酸	NAD	1.60	1.27	500
		NADP	0.09	0.53	6.5
6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶	6-磷酸葡萄糖酸	NAD		无反应	
		NADP	0.16	0.13	13
磷酸葡萄糖异构酶	果糖-6-磷酸		0.10	0.46	
			0.56	0.33	
磷酸甘油醛异构酶	甘油醛-3-磷酸		0.56	0.33	
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	磷酸二羟丙酮	NADPH	4.0	0.42	34
		NADH		无反应	
赤藓糖-4-磷酸脱氢酶	赤藓糖-4-磷酸	NADPH	0.56	0.025	
		NADH		无反应	
乳酸脱氢酶	丙酮酸脂	NADPH		无反应	
		NADH	1.25	10.9	
甘露糖脱氢酶	果糖	NADPH	20	0.10	
		NADH	21	0.012	40
乙醇脱氢酶	乙醛	NADPH	<0.01	0.82	
		NADH	0.077	0.23	
乙醛脱氢酶	乙酰辅酶 A	NADPH	0.25	0.007	
		NADH		无反应	

注:表中对应底物 Km 的空项表示无反应。

4 应用代谢调控方法改变代谢途径

代谢调控技术是有选择的改变微生物的代谢流向,解除微生物自身的代谢调节机制,来大量地合成人们所需要的目的产物。赤藓糖醇的工业化生产方

法是酵母耗氧法,因此依据赤藓糖醇产生菌的代谢机理,探索出代谢合成途径中制约赤藓糖醇产量提高的关键因子,应用代谢调控手段使之得以改善。目前,常用的代谢调控主要有4种手段:(1)优化限速代谢途径,提高关键酶的表达量;(2)从遗传上阻断代谢旁路;(3)提高主要代谢途径的物质流量;(4)修改次级代谢途径,以加强能量代谢和增加必需的酶活辅助因子^[35]。

4.1 对关键酶的调节

对赤藓糖醇合成途径的代谢流量分析,找准关键酶 ER 酶,作为限速酶的 ER 酶活性决定着赤藓糖醇的产量。本课题组研究发现由于赤藓糖还原酶转录元件的转录起始上游存在渗透调节序列,NaCl 的添加对 ER 酶活上升影响较大。Lee 研究发现,延胡索酸盐和 1,8-二羟基萘黑色素会抑制 ER 酶的活性,而在培养基中添加 Cu^{2+} 可以抑制延胡索酸盐的产生,从而提高赤藓糖醇的产率^[36]。此外适当添加肌醇和植酸(肌醇六磷酸)也能促进 ER 酶活提高,1,8-二羟基萘黑色素可抑制 ER 酶活性^[37]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(磷酸)即 NAD(P)H 是 ER 酶的辅因子,对赤藓糖醇的产量也具有较大影响。胞内 NAD(P)H 主要由戊糖磷酸途径产生,适当提高 NAD(P)H 浓度及 NAD(P)H/NAD(P)的比例,有望提高赤藓糖醇的产量。此外,利用基因工程手段对关键酶进行改造从而构建高产菌株来提高赤藓糖醇的产量也是最近几年研究的重点。王星云等^[38]通过对 4-磷酸赤藓糖激酶和赤藓糖还原酶的基因结构分析,采用 PCR 扩增技术来增加这两种酶的数量,对 *Yarrowialipolytica* 菌株进行改造,大大提高了赤藓糖醇的产量。

4.2 从遗传上对代谢旁路进行阻断

由于甘油等副产物的产生并积累引起反馈抑制,需要对竞争性途径进行阻断。Waldemar 等^[39]人对 *Y. lipolytica* 菌株进行紫外诱变从而改变菌株的 DNA 结构以得到高产菌株,该菌株发酵产赤藓糖醇浓度高,且发酵过程中产生的副产物只有少量的甘露醇。Lin 等^[40]人将从花粉中提取出来的野生菌株 *Moniliella* sp. 440 用亚硝基胍(NTG) 迭代诱变,随着菌株终端突变体经过迭代诱变,赤藓糖醇的产量显著提高。其中第六代突变菌株 N61188-12 经培养后赤藓糖醇产量达 237.8 g/L,远远高出亲代野生菌株 *Moniliella* sp. 440(仅为 116.4 g/L)。除了上述两种诱变方法外,复合诱变可显著提高菌株突变率。Lee 等^[41]将野生型菌株 *Penicilium* sp. KJ81 用紫外线—亚硝基胍复合诱变后得到突变菌株,该菌株的赤藓糖醇产量比野生型提高一倍,并且发酵过程中副产物甘油产量降低 40%。

4.3 对主要代谢途径的调控

对主要代谢途径的调控主要是针对一些会通过反馈抑制效应而阻碍代谢产物合成的发酵过程。膜通透性增大后代谢物能分泌到胞外解除终产物的抑制。赤藓糖醇本质上是一种渗透调节剂,在细胞内外渗透压差较大时生成以缓解内外压差。Kim 发现 Mn^{2+} 可改变 *Torula* sp. 细胞膜的通透性,促进赤藓糖醇的释放^[42]。在多元醇的生产中,渗透压的调节对产量有明显影响。在 *Trigonopsis Variabilis* 的发酵中,分别在生长和生产阶段添加 100 g/L 1.4 KPa,200 g/L 3.7 KPa 的葡萄糖,其产量比一次加入 300 g/L 葡萄糖提高 2 倍^[43]。盐浓度的增加在一定范围内也能促进赤藓糖醇的生成,同时还能抑制副产物甘油的积累^[44]。葡萄糖和盐都能提高细胞外的渗透压,这就使得细胞内需要产生更多渗透相溶性物质,Kim 认为葡萄糖比盐更有利于赤藓糖醇的生成^[42],这与 Onishi 所提出的高渗酵母更能耐受糖的压力相符^[45]。

5 结论和展望

由于赤藓糖醇在食品、化工、医药等领域的广泛应用,工业上对赤藓糖醇的需求量越来越大,因此工业化生产的进一步推广还需要不断降低生产成本。近年来,基于微生物发酵法生产赤藓糖醇的理论和实践研究,人们逐渐加深对赤藓糖醇生产过程中的代谢途径、动力学特征的了解,涵盖了发酵技术、基因工程及分离纯化等技术。

目前,发酵法生产赤藓糖醇的工艺日渐成熟,筛选出高产菌株是其关键所在。根据赤藓糖醇合成机制,利用代谢调控手段来调节高产菌株的代谢途径,对影响其代谢的关键因子进行调控,阻遏支路代谢,将代谢通路流向大量合成赤藓糖醇的方向,抑制副产物甘油等的产生,是赤藓糖醇未来工业化的发展方向。

参考文献:

- [1]杨海军. 赤藓糖醇在食品工业不同领域应用情况概论[J]. 发酵科技通讯,2007,36(4):30-35.
- [2]杨远志,李发财,帅斌,等. 天然健康糖醇—赤藓糖醇在低能量食品中的应用[J]. 中国食品添加剂,2013(1):181-185.
- [3]Mkinen K K, Saag M, Isotupa K P, et al. Similarity of the effects of erythritol and xylitol on some risk factors of dental caries[J]. Caries Res, 2005, 39(3):207-215.
- [4]裴疆森,李璐娟. 功能食品配料新元素—赤藓糖醇之医药、保健品篇[N]. 中国食品报,2008.
- [5]陈建操. 以糖醇为功效成分的泡腾剂[P]. CN1651088A, 2005-08-10.
- [6]沈斌. 相变蓄热换热强化及蓄势器性能试验[D]. 重庆:重庆大学动力工程学院,2009.
- [7]骆峰生. 石蜡与赤藓糖醇填充石墨化泡沫炭复合储能材料的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2011.
- [8]刘媛媛. 硫酸二乙酯结合紫外线诱变选育赤藓糖醇高产丛梗孢

- 酵母[D].天津:天津大学化工学院,2011.
- [9] Yu J H, Lee D H, Oh Y J, et al. Selective utilization of fructose to glucose by *Candida magnoliae*, an erythritol producer[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2006, 131(1): 870 - 879.
- [10] Waldemar R, Anita R, Marta M. High - yield production of erythritol from raw glycerol in fed - batch cultures of *Yarrowialipolytica*[J]. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(3): 377 - 380.
- [11] Lee J K, Koo B S, Kim S Y. Fumarate - mediated inhibition of erythrose reductase, a key enzyme for erythritol production by *Torula corallina*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(9): 4534 - 4538.
- [12] Yu J H, Lee D H, Park Y C, et al. Proteomic analysis of fructophilic properties of osmotolerant *Candida magnoliae*[J]. *Microbial Biotechnol*, 2008, 18(2): 248 - 254.
- [13] Moon H J, Jeya M, Kim I W, et al. Biotechnological production of erythritol and its applications[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010(86): 1017 - 1025.
- [14] Sugita K, Yamazaki M. Sweetness of erythritol and its use for food cooking[J]. *Gakkuen*, 1992, 25(1): 8 - 14.
- [15] 李雨, 秦海青, 邱学良, 等. 国外对赤藓糖醇生物合成途径及优化策略的研究[J]. *山东轻工业学院学报*, 2013(27): 41 - 45.
- [16] Tokuoka K, Ishizuka H, Wako K, et al. Comparison of three forms of erythrose reductase from an *Aureobasidium* sp. Mutant[J]. *Gen Appl Microbiol*, 1992, 38(2): 148 - 155.
- [17] 刘媛媛, 周志江, 贾伟. 赤藓糖醇高产菌株研究进展[J]. *食品工业科技*, 2012, 4(33): 454 - 457.
- [18] Hee - Jung Moon, Marimuthu Jeya, In - Won Kim. Biotechnological production of erythritol and its applications[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010(86): 1017 - 1025.
- [19] Katsuhiko S, Arihiro T, Takashi Y, et al. Key role for transketolase activity in erythritol production by *Trichosporonoides megachiliensis* SN - G42[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2009, 108(5): 385 - 390.
- [20] Lee J K, Koo B S, Kim S Y. Fumarate - mediated inhibition of erythrose reductase, a key enzyme for erythritol production by *Torula corallina*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(9): 4534 - 4538.
- [21] Braun M, Niederpruem D. Erythritol metabolism in wild - type and mutant strains of *Schizophyllum commune*[J]. *Bacteriol*, 1969, 100(2): 620 - 625.
- [22] Tokuoka K, Ishizuka H, Wakou K, et al. Comparison of three forms of erythrose reductase from an *Aureobasidium* sp. Mutant[J]. *J Gen Appl Microbiol*, 1992, 38(2): 145 - 155.
- [23] Ookura T, Azuma K, Issiki K, et al. Primary structure analysis and functional expression of erythrose reductase from erythritol - producing fungi (*Trichosporonoides megachiliensis* SNG - 42)[J]. *Basic Biotechnol Biochem*, 2005, 69(50): 944 - 951.
- [24] Yosuke K, Junjiro Y, Hisashi I, et al. Gene expression and function involved in polyol biosynthesis of *Trichosporonoides megachiliensis* under hyper - osmotic stress[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2013, 115(6): 645 - 650.
- [25] Deng H H, Han Y, Liu Y Y, et al. Identification of a newly isolated erythritol - producing yeast and cloning of its erythritol reductase genes[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2012, 39(11): 1663 - 1672.
- [26] Penning T M. Aldo - Keto Reductases and Toxicant Metabolism[M]. Boston: American Chemical Society, 2003.
- [27] Lee D H, Lee Y J, Ryu Y W, et al. Molecular cloning and biochemical characterization of a novel erythrose reductase from *Candida magnoliae* JH110[J]. *Microbial Cell Factories*, 2010, 9(43): 1 - 12.
- [28] Lee J K, Kim S Y, Ryu Y W, et al. Purification and characterization of a novel erythrose reductase from *Candida magnoliae*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(7): 3710 - 3718.
- [29] Veiga - Da - Cunha M, Firme P, San Romao M, et al. Application of ^{13}C nuclear magnetic resonance to elucidate the unexpected biosynthesis of erythritol by *Leuconostoc oenos*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(7): 2271 - 2279.
- [30] Lee J K, Hong K W, Kim S Y. Purification and Properties of a NADPH - Dependent erythrose reductase from the newly isolated *Torula corallina*. *Biotechnol. Prog.* 2003, 19(2): 495 - 500.
- [31] Ishizuka H, Tokuoka K, Sasaki T, et al. Purification and some properties of an erythrose reductase from an *Aureobasidium* sp. Mutant[J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1992, 56(6): 941 - 945.
- [32] Richter H, Vlad D, Unden G. Significance of pantothenate for glucose fermentation by *Oenococcus oeni* and for suppression of the erythritol and acetate production[J]. *Arch Microbiol*, 2001, 175(1): 26 - 31.
- [33] Veiga - da - cunha M, Santos H, Schaftingen E V. Pathway and Regulation of Erythritol Formation in *Leuconostoc oenos*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(13): 3941 - 3948.
- [34] Sangari F J, Aguero J, Garcia - Lobo J M. The genes for erythritol catabolism are organized as an inducible operon in *Brucella abortus*[J]. *Microbiology*, 2000, 146(2): 487 - 495.
- [35] Chotani G, Dodge T, Hsu A, et al. The commercial production of chemicals using pathway engineering[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1543(2): 434 - 455.
- [36] Lee J K, Koo B S, Kim S Y. Fumarate - mediated inhibition of erythrose reductase, a key enzyme for erythritol production by *Torula corallina*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(9): 4534 - 4538.
- [37] Lee J K, Ha S J, Kim S Y, et al. Increased erythritol production in *Torula* sp it hinositol and phytic acid[J]. *Biotech Lett*, 2001, 23(7): 497 - 500.
- [38] 王星云. 赤藓糖醇生产菌的选育方法[P]. CN 102911889 A. 2013 - 02 - 06.
- [39] Waldemar R, Anita R, Marta M. High - yield production of erythritol from raw glycerol in fed - batch cultures of *Yarrowia lipolytica*[J]. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(3): 377 - 380.
- [40] Lin S J, Wen C Y, Wang P M, et al. High - level production of erythritol by mutants of osmophilic *Moniliella* sp. [J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(10): 973 - 979.
- [41] Lee K J, Lim J Y. Optimized conditions for high erythritol production by *Penicillium* sp. KJ - UV29, mutant of *Penicillium* sp. KJ81[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2003, 8(3): 173 - 178.
- [42] Kim K A, Noh B S, Lee J K, et al. Optimization of culture conditions for erythritol production by *Torula* sp [J]. *Microbiol Biotechnol*, 2000, 22(12): 69 - 74.
- [43] Kim S Y, Lee K H, Kim J H, et al. Erythritol production by controlling osmotic pressure in *Trigonopsis variabilis*[J]. *Biotech Lett*, 1997, 19(8): 727 - 729.
- [44] Kim K A, Noh B S, Kim S Y, et al. Effect of osmotic pressure of salts on growth of *Torula* sp and erythritol production[J]. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, 27(2): 91 - 95.
- [45] Onishi H. Studies on osmophilic yeast Part XV. The effect of high concentration of sodium chloride on polyol production[J]. *Agr Biol Chem*, 1963, 27(7): 543 - 547. ㊦