

## *Zymobacter palmae* 菌株发酵甘露醇生产乙醇的条件优化\*

### Condition Optimization of Ethanol Fermentation of Mannitol by *Zymobacter palmae* Strain

潘诗翰<sup>1,2</sup>, 陈姗姗<sup>2,3</sup>, 黄庶冰<sup>1</sup>, 董蓉<sup>2,3</sup>, 石贵玉<sup>3</sup>, 龙明华<sup>1</sup>, 黄庶识<sup>2,3\*</sup>

PAN Shi-han<sup>1,2</sup>, CHEN Shan-shan<sup>2,3</sup>, HUANG Shu-bing<sup>1</sup>, DONG Rong<sup>2,3</sup>, SHI Gui-yu<sup>3</sup>, LONG Ming-hua<sup>1</sup>, HUANG Shu-shi<sup>2</sup>

(1. 广西大学, 广西南宁 530004; 2. 广西科学院, 广西南宁 530007; 3. 广西师范大学生命科学院, 广西桂林 541004)

(1. Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China; 2. Guangxi Academy of Science, Nanning, Guangxi, 530007, China; 3. The College of Life and Science, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, 541004, China)

**摘要:** 在 250ml 三角烧瓶中进行 *Zymobacter palmae* 菌株发酵不同浓度的甘露醇生产乙醇的实验。实验先以浓度为 20.0g/L、40.0g/L、60.0g/L、80.0g/L 的甘露醇进行发酵实验确定出最适培养基组分, 然后通过正交试验确定出最佳发酵条件。结果表明, 最适发酵培养基为: 甘露醇 20.0g/L, 酵母膏 0.5g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1g/L,  $KH_2PO_4$  2.0g/L,  $K_2HPO_4$  7.0g/L,  $(NH_4)_2SO_4$  1.0g/L, pH 值 6.0; 最佳发酵条件为: 摇床转速 150r/min, 温度 28℃, 发酵液体积 150ml。在最佳发酵条件下, 乙醇的最大产量为 0.429g 乙醇/g 甘露醇。

**关键词:** *Zymobacter palmae* 甘露醇 发酵 乙醇

中图分类号: TQ920.6 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2012)02-0165-04

**Abstract:** Mannitol was considered to be the main component in brown algae and used as research objects to investigate the condition optimization of ethanol fermentation with *Zymobacter palmae* strain. The results showed that the optimal medium, in which mannitol was inverted to ethanol at high efficiency by *Z. palmae* in 250ml flask, was 20.0g/L mannitol, 0.5g/L yeast extract, 0.1g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 2.0g/L  $KH_2PO_4$ , 7.0g/L  $K_2HPO_4$ , 1.0g/L  $(NH_4)_2SO_4$ , pH value at 6.0. The best fermentation condition to produce ethanol was the rotation speed of 150r/min, temperature at 28℃ and fermentation liquor of 150ml, in which the highest yield reached to 0.429g ethanol/g mannitol.

**Key words:** *Zymobacter palmae*, mannitol fermentation, ethanol

在生物质能源中,乙醇作为替代性再生能源之一,具有燃烧完全、效率高、无污染等特点,具有巨大

的发展潜力。从国家战略层面上,非粮食原料将是我国未来解决生物乙醇的原料来源和降低成本的根本途径。然而,不管是利用粮食作物发酵乙醇还是利用木薯、甘蔗、芭蕉芋、甘薯、甜高粱等非粮作物发酵制取燃料乙醇,都会占用大量耕地。随着人口的增加与可利用的耕地不断减少,粮食和耕地供给将是燃料乙醇发展的瓶颈。伴随着粮食和耕地的紧缺,利用海藻生产燃料乙醇已经渐渐进入各国的视野。海藻种类繁多,光合作用效率高,生长周期短,每年通过光合作用产生的生物质总量达 550 亿吨,是一种数量巨大的

收稿日期: 2012-03-22

作者简介: 潘诗翰(1985-),男,硕士研究生,主要从事生物质能源研究。

\* 广西自然科学基金重点项目(2010GXNSFD013029),广西科学院基本科研业务费项目(10YJ25WL01,12YJ25WL12),人力资源和社会保障部留学人员科技活动择优资助经费项目(人社厅函[2010]412号),2011广西研究生教育创新计划项目(2011106020710M52)资助。

\*\* 通讯作者: hshushi@gxas.cn; hshushi@yahoo.com.cn。

潘诗翰和陈姗姗对本文做同等贡献。

可再生资源,也是生产生物质能源的潜在资源。而分布广泛的大型海藻,繁殖速度快,可以大规模栽培,不与粮食争土地,其干物质的积累量高于陆生植物,难以降解的纤维素和木质素含量极低,最主要的成分是碳水化合物(占其干重的40%~80%以上),可以发酵生产乙醇<sup>[1]</sup>、甲烷<sup>[2]</sup>、氢气<sup>[3]</sup>、丁醇<sup>[4]</sup>等生物质能源。所以大型海藻可以满足燃料乙醇的生产研究及产业化发展需要<sup>[5]</sup>,作为一种高生物量的生质能来源,具有广阔的发展空间。我国海带、马尾藻、江蓠等大型海藻的年产量占全球的90%以上,繁殖、育种技术有一定优势。随着相关技术的成熟以及对原料需求的增加,这种产量优势和技术优势将为我国海藻燃料乙醇产业提供原料保证。

作为大型海藻一大门类的褐藻,含有丰富的甘露醇、褐藻胶等化学组分,其中甘露醇含量依褐藻种类不同而有所不同,一般占干重10%~20%。甘露醇是一种己六糖醇,一般的酿酒酵母或运动发酵单胞菌不能利用该糖发酵生产乙醇<sup>[6,7]</sup>。1993年,日本的Okamoto在琉球海域的藻类中分离出一种革兰氏阴性海洋细菌 *Zymobacter palmae* gen. nov. sp. nov.<sup>[8]</sup>,它能够利用的底物范围广,包括三糖、己糖以及糖醇(果糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、麦芽糖、蜜二糖、蔗糖、棉子糖、甘露醇、山梨醇)等,在适当的低氧浓度下,也能够利用海带、马尾藻等褐藻中的甘露醇发酵产生乙醇。*Z. palmae* 菌株在含甘露醇的培养基上,利用甘露醇生产乙醇的最大产量达到0.38g(g substrate)<sup>-1</sup><sup>[9]</sup>;在含北方海带提取物的培养基上发酵,乙醇的最大产量达到0.61g(g substrate)<sup>-1</sup>,超过0.51g(g substrate)<sup>-1</sup>的理论产量。重组 *Z. palmae* 能够利用含葡萄糖和木糖的混合培养基发酵生产乙醇,使 *Z. palmae* 可以发酵的糖包括戊糖和木糖<sup>[10]</sup>。

本文设计 *Z. palmae* 菌株利用不同浓度甘露醇发酵生产乙醇的实验及其正交实验。通过正交分析得到 *Z. palmae* 菌株利用甘露醇发酵生产乙醇的最优条件,为进一步研究、优化该菌株利用褐藻原料生产燃料乙醇提供技术依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌种

*Z. palmae* 菌株(ATCC51623,购自美国模式培养物集存库)在1956MY培养基中进行复苏活化,置于-80℃下15%甘油中保存。

1956MY培养基:酵母膏10.0g/L,麦芽糖20.0g/L,NaCl 5.0g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g/L,pH值6.0,121℃灭菌15min。

## 1.2 发酵条件及方法

### 1.2.1 不同浓度的甘露醇发酵实验

发酵培养基:甘露醇20.0g/L、40.0g/L、60.0g/L、80.0g/L,分别配加酵母膏0.5g/L,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g/L,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7.0g/L,(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0g/L,配制含不同甘露醇浓度的培养基,调节pH值至6.0,121℃灭菌15min。培养条件:将 *Z. palmae* 接入装有20ml 1956MY培养基的50ml三角烧瓶中,摇床参数设置为28℃,150r/min,活化培养24h后,将2ml活化培养液接入装有150ml发酵培养基的250ml三角摇瓶中,摇床参数设置为28℃,150r/min,发酵培养72h。

### 1.2.2 正交试验

根据不同浓度的甘露醇发酵实验确定合适的发酵培养基组分,设计L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交实验。

发酵培养基:甘露醇20.0g/L,酵母膏0.5g/L,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g/L,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7.0g/L,(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0g/L,pH值6.0,121℃灭菌15min。培养条件:以2%接种量的活化培养液接入装有发酵培养基的250ml三角烧瓶中,按L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交实验条件(表1)发酵72h。

表1 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交设计因子水平

Table 1 Factors and levels of L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) orthogonal design

水平 Levels	因子 Factors		
	温度 Temperature (°C)	摇床转速 Rotation speed (r/min)	发酵液体积 Fermentation liquor volume( ml)
1	24	120	50
2	28	150	100
3	32	180	150

### 1.3 甘露醇和乙醇含量测定方法

发酵培养后,每隔12h进行一次无菌取样,一部分样品稀释后测定600nm下的OD值,剩余的样品12000r/min离心10min,取上清液并保存于4℃冰箱以备测定。

甘露醇的含量测定参照文献[11]的方法。标准曲线绘制:将甘露醇对照品用蒸馏水稀释成0μg/ml、5μg/ml、10μg/ml、15μg/ml、20μg/ml、25μg/ml和30μg/ml 7个浓度,各取1ml甘露醇溶液,分别加入7个试管中,然后向每个试管加入0.015mol/L高碘酸钠1ml,混合均匀,室温放置10min,每个试管再加0.1%L-鼠李糖2ml,充分混匀后,加入Nash试剂4ml,53℃水浴保温15min,即刻冷却,在紫外分光光度计413nm处测吸光值,以吸光值为纵坐标,甘露醇浓度为横坐标绘制标准曲线。样品甘露醇含量测定:按照

上述实验方法测定 1ml 待测样品的吸光值,并带入标准曲线中,求得样品中甘露醇的含量,每个样品做 3 个平行测定。

乙醇的测定采用气相色谱法<sup>[12]</sup>。将待测样品溶液与 10% (V/V) 乙腈溶液等体积充分混合后进行气相色谱检测。气相色谱仪型号为安捷伦 6890N,色谱柱型号为 52#ZB-WAX PLUS<sup>TM</sup>。检测条件为:柱温 100℃,检测器温度 300℃,进样器温度 280℃;载气:高纯氮气 25.00ml/min,氢气 30ml/min,空气 450ml/min,尾吹气 34.0ml/min;进样量:0.2μl。每个样品重复检测 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 最适培养基

结果发现,在发酵的 24~72h 内,不同浓度甘露醇发酵生产乙醇的产量皆随发酵时间的增加而呈上升趋势。在甘露醇浓度为 20.0g/L、40.0g/L、60.0g/L、80.0g/L 的发酵培养基中,乙醇的最大产量分别为 1.220% (V/V)、1.840% (V/V)、2.785% (V/V)、2.835% (V/V),分别相当于每克甘露醇转化为乙醇的量为 0.429g、0.318g、0.233g、0.105g(表 2)。因此,在氮源及其它营养成分固定的条件下,随着甘露醇浓度的增大,乙醇的产量有逐渐增高的趋势,但是单位甘露醇转化为乙醇的产量逐渐降低。当甘露醇的初始浓度为 20g/L 时,单位甘露醇转化为乙醇的效率最高,达到 0.429g 乙醇/g 底物。可能的原因是甘露醇浓度高,培养基中的碳氮比大,随着细菌

表 2 不同浓度甘露醇发酵生产乙醇产量

Table 2 Yields of ethanol of fermentation tests in different mannitol concentrations

甘露醇浓度 Mannitol concentration (g/L)	乙醇产量 Yields of ethanol(%, V/V)				
	24h	36h	48h	60h	72h
20	0.695±0.003	1.135±0.015	1.190±0.025	1.200±0.010	1.220±0.060
40	0.700±0.070	1.180±0.110	1.665±0.025	1.840±0.160	1.815±0.215
60	0.745±0.035	1.220±0.100	2.340±0.130	2.340±0.130	2.785±0.145
80	0.775±0.005	1.270±0.004	1.095±0.005	2.545±0.075	2.835±0.055

表 3 *Z. palmae* 发酵生产乙醇的正交试验

Table 3 Yields of ethanol by *Z. palmae* in the orthogonal test

试验号 Test No.	乙醇产量 Yields of ethanol(%, V/V)				
	24h	36h	48h	60h	72h
1	0.140±0.050	0.150±0.008	0	0	0
2	0.180±0.015	0.200±0.050	0	0	0
3	0.110±0.005	0.130±0.010	0.240±0.043	0.330±0.075	0.480±0.025
4	0.120±0.050	0.490±0.030	0.950±0.005	1.060±0.030	0.920±0.080
5	0.695±0.003	1.135±0.015	1.190±0.025	1.200±0.010	1.220±0.060
6	0.070±0.010	0.090±0.050	0.140±0.033	0.170±0.015	0
7	0.465±0.013	0.470±0.005	0.485±0.034	0.511±0.075	0.620±0.055
8	0.315±0.075	0.410±0.015	0.660±0.013	0.810±0.065	1.000±0.015
9	0.100±0.050	0.120±0.015	0.150±0.050	0.060±0.050	0.050±0.005

的生长,营养物比例失调,影响细胞的生理活性,从而抑制细胞的乙醇代谢,使单位甘露醇转化为乙醇的产量呈下降的趋势。由于含甘露醇 20g/L,酵母膏 0.5g/L, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7.0g/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0g/L, pH 值 6.0 的培养基得到的乙醇产量较高,因此以此培养基为基础,设计正交发酵试验。

### 2.2 最佳发酵条件

由表 3 可知,乙醇产量随着发酵时间的变化呈现不同的变化趋势。实验组 1,实验组 2 以及实验组 6 在达到乙醇的最大产量之后,乙醇的产量降低为 0;实验组 4 在 60h 乙醇的产量达到最大值,在随后的 12h,乙醇的产量逐渐降低;实验组 9 在 48h 乙醇产量最高,12h 后乙醇的含量逐渐降低;实验组 5 在 24~48h 内,乙醇产量增加速度较快,在 48~72h 内,乙醇的增加速度逐渐减缓;实验组 7 在 24~48h 内,乙醇的产量趋于稳定增长的趋势,在 60h 后,乙醇含量增加速度加快;实验组 3 和实验组 8 在 24~72h 内,乙醇的产量呈现稳定增加趋势。在以上 9 组实验中,24~72h 内实验组 5 的乙醇产量最高,达到 1.220% (V/V, 72h);而实验组 1 和实验组 9 的乙醇产量在乙醇产量达到最大时分别为 0.150% (V/V, 36h) 和 0.150% (V/V, 48h)。

通过正交分析(表 4),可以得知在温度、摇床转速、发酵液体积等因素中,影响乙醇产量的最关键因素是摇床转速 ( $R = 0.550$ ),其次是温度 ( $R = 0.540$ ),影响最小的是发酵液体积 ( $R = 0.333$ )。

当摇床转速为 150r/min 时,实验组 5 和实验组 8 的乙醇产量较高,实验组 5 的产量能够达到 1.220% (V/V,72h),也是各个实验组中乙醇产量最高的。当摇床转速为 180r/min 时,实验组 6 和实验组 9 的乙醇产量较低,实验组 9 的产量仅为 0.150% (V/V,48h),为各实验组中的最低产量。*Z. palmae* 是兼性厌氧细菌<sup>[8]</sup>,因此当摇床转速达到 180r/min 时,三角烧瓶中的通气量高,促进该细菌的有氧代谢,从而消耗大量的甘露醇用于合成细胞干物质和有氧呼吸,故阻碍了乙醇的代谢过程,导致乙醇产量下降。由此可知,在适当通氧的条件下,乙醇产量才能够提高。

当温度为 24℃ 时,实验组 1 和实验组 2 的乙醇产量较低,其中实验组 1 的产量仅有 0.150% (V/V,36h),是各实验组中的最低产量。当温度为 28℃ 时,实验组 5 的乙醇产量最高。这是由于 *Z. palmae* 生长的适宜温度为 28~32℃,温度过低导致该细菌生长代谢缓慢,从而影响乙醇的代谢过程,使乙醇的产量较低。因此,只有在适宜的温度下,*Z. palmae* 才能够利用甘露醇生产更多的乙醇。

综合以上正交分析结果可以得出,当摇床转速为 150r/min,温度为 28℃,发酵液体积为 150ml 时,*Z. palmae* 利用甘露醇生产乙醇的产量最高,从而确定了该发酵实验的最佳条件。

表 4 正交实验各处理组乙醇最大产量的极差分析

Table 4 Range analysis of the best yields of ethanol in different groups of the orthogonal test

试验号 Test No.	因子 Factors			乙醇最大产量 The best yields of ethanol (% ,V/V)
	温度 Temperature (°C)	摇床转速 Rotation speed (r/min)	发酵液体积 Fermentation liquor volume (ml)	
1	(1) 24	(1) 120	(1) 50	0.150±0.008
2	(1) 24	(2) 150	(2) 100	0.200±0.050
3	(1) 24	(3) 180	(3) 150	0.480±0.025
4	(2) 28	(1) 120	(2) 100	1.060±0.030
5	(2) 28	(2) 150	(3) 150	1.220±0.060
6	(2) 28	(3) 180	(1) 50	0.170±0.015
7	(3) 32	(1) 120	(3) 150	0.620±0.055
8	(3) 32	(2) 150	(1) 50	1.000±0.015
9	(3) 32	(3) 180	(2) 100	0.150±0.050
$T_1$	0.831	1.830	1.320	
$T_2$	2.451	2.421	1.380	
$T_3$	1.740	0.771	2.319	
$\bar{K}_1$	0.277	0.610	0.440	
$\bar{K}_2$	0.817	0.807	0.460	
$\bar{K}_3$	0.580	0.257	0.773	
R	0.540	0.550	0.333	

### 2.3 乙醇产量变化

绘制出甘露醇含量标准曲线  $Y = 0.0028 +$

$0.1023X$   $R = 0.99889$ ,甘露醇测定的线性范围为 5~30μg/ml。

将乙醇产量最高的实验组 5 进行 *Z. palmae* 发酵甘露醇产乙醇产量及细胞 OD 值变化分析,结果如图 1 显示。在 0~24h 内甘露醇主要用于细胞的生长代谢,故乙醇的产量很少;随着时间的推移,在 24~48h 内,甘露醇逐渐用于乙醇的生产,乙醇的产量迅速增加,由 3.660g/L 增加至 6.267g/L,细菌的数量也在稳定地增加;在发酵的最后 24h 中,由于细胞数量的增多,发酵液中的含氧量逐渐减少,乙醇产量的增长也趋于缓慢,同时发酵液中的甘露醇也基本被耗尽,乙醇的产量接近理论值的最高。

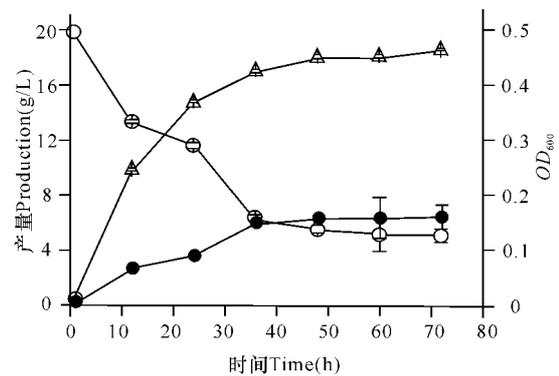


图 1 发酵甘露醇生产乙醇产量及细胞 OD 值变化

Fig. 1 Mannitol to produce ethanol production and cell OD value change analysis

—○—: 甘露醇, —△—:  $OD_{600}$ , —●—: 乙醇。

—○—: Mannitol, —△—:  $OD_{600}$ , —●—: Ethanol.

### 3 结论

*Z. palmae* 在 250ml 三角烧瓶中发酵甘露醇生产乙醇的最适培养基为:甘露醇 20.0g/L,酵母膏 0.5g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1g/L,  $KH_2PO_4$  2.0g/L,  $K_2HPO_4$  7.0g/L,  $(NH_4)_2SO_4$  1.0g/L, pH 值 6.0。

*Z. palmae* 在 250ml 三角烧瓶中发酵甘露醇生产乙醇的过程中,摇床转速对于乙醇产量的影响最大。*Z. palmae* 利用甘露醇发酵生产乙醇的最佳条件为:摇床转速 150r/min,温度 28℃,发酵液体积 150ml。在最佳发酵条件下,乙醇的最大产量为 0.429g 乙醇/g 底物,乙醇转化率达到理论值的 84%。

参考文献:

[1] Horn S J, Aasen I M, Østgaard K. Ethanol production from seaweed extract [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 2000 25(5):249-254.

(下转第 179 页 Continue on page 179)

广西北部湾沿海地区处于东北亚与中南半岛、南洋群岛及澳大利亚之间的候鸟迁徙通道上,该地区是迁徙鸟类、特别是沿海岸带迁徙的水鸟在迁徙途中的一处重要停歇地。有调查表明,处于候鸟迁徙通道上的地区的鸟类情况,会因为候鸟的迁徙而产生很大的季节性变化<sup>[14,15]</sup>。北部湾北部沿海地区水鸟迁徙的种类多,数量大,同时部分迁徙鸟类的迁徙和停留的时间总计持续长达8个月<sup>[1]</sup>,同时,从本研究也可看出,该地区夏季的繁殖水鸟并不多,较多的空格生态位在冬季可以容纳种类众多的越冬水鸟,使得鸟类种类的季节差异很大。一些在本地区的鸟类研究也有类似的结果<sup>[16,17]</sup>。因此,鸟类的迁徙和越冬活动是导致该地区水鸟多样性产生剧烈季节性变动的最主要原因。

参考文献:

[1] 周放,曹指南,潘国平,等. 北部湾北部沿海水鸟初步研究[M]//中国鸟类学会水鸟组主编. 中国水鸟研究. 上海: 华东师范大学出版社, 1994: 147-152.  
 [2] 姚建初,郑永烈. 陕西省的水鸟资源[J]. 四川动物, 1986(4): 13-16.  
 [3] 吴诗宝,柯亚永,吴桂生,等. 雷州半岛湿地水鸟区系组成及生态分布的初步研究[J]. 动物学杂志, 2002(2): 1-5.  
 [4] 王强,吕宪国. 鸟类在湿地生态系统监测与评价中的应用[J]. 湿地科学, 2007(3): 274-281.  
 [5] 李春干. 广西红树林的数量分布[J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(1): 47-52.  
 [6] 钱国祯,虞快. 天目山习见鸟类的若干生态学问题的初

步研究 II: 密度和数量波动问题[J]. 华东师范大学学报, 1965(2): 49-56.  
 [7] 周放. 中国红树林区鸟类[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 42-47.  
 [8] 王庆锁,王襄平,罗菊春,等. 生态交错带与生物多样性[J]. 生物多样性, 1997, 5(2): 126-131.  
 [9] Lay D W. How valuable are woodland clearings to wildlife[J]. Wilson Bull, 1938, 50: 254-256.  
 [10] 梁士楚. 广西的红树林资源及其可持续利用[J]. 海洋通报, 1999, 18(6): 77-83.  
 [11] Bennett E L, Reynolds C J. The value of a mangrove area in Sarawak [J]. Biodiversity and Conservation, 1993, 2(4): 359-375.  
 [12] 何如,黄梅丽,李艳兰,等. 近50年来广西近岸及海岛的气候特征与气候变化规律[J]. 气象研究与应用, 2010, 31(2): 12-15.  
 [13] 苏志,余纬东,黄理,等. 北部湾海岸带的地理环境及其对气候的影响[J]. 气象研究与应用, 2009, 30(3): 40-47.  
 [14] 张苇,邹发生,戴名扬. 湛江红树林湿地鸟类资源现状及其保护对策[J]. 林业调查规划, 2008, 33(5): 54-57.  
 [15] Terborgh J W, Feabory T R. Factors affection the distribution and abundance of North American migrants in the eastern Caribbean Rigion. Migrant birds in the Neotropics [M]. Washington, D C Smithsonian Instiution Press, 1980: 145-156.  
 [16] 周放,韩小静,陆舟,等. 南流江河口湿地的鸟类研究[J]. 广西科学, 2005, 12(3): 221-226.  
 [17] 马艳菊,苏搏,蒙珍金. 广西北仑河口国家级自然保护区秋冬季水鸟调查[J]. 广西科学, 2011, 18(1): 73-78.

(责任编辑: 邓大玉)

(上接第168页 Continue from page 168)

[2] Bruhn A, Dahl J, Nielsen H B, et al. Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: biomass yield, methane production and combustion[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 2595-2604.  
 [3] Jung K W, Kim D H, Shin H S. Fermentative hydrogen production from *Laminaria japonica* and optimization of thermal pretreatment conditions [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 2745-2750.  
 [4] Huesemann M H, Kuo L J, Urquhart L, et al. Acetone-butanol fermentation of marine macroalgae [J]. Michael Bioresource Technology, 2012, 108: 305-309.  
 [5] John R P, Anisha G S, Nampoothiri K M, et al. Micro and macroalgal biomass: a renewable source for bioethanol [J]. Bioresource Technology, 2011, 102: 186-193.  
 [6] van Dijken J P, Scheffers W A. Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts [J]. FEMS Microbiology Reviews, 1986, 32: 199-224.  
 [7] Miller M W, Barker E R. *Pichia angophorae* sp. n. from the exudate of an Australian red gum tree [J]. Antonie Van

Leeuwenhoek, 1968, 34(2): 183-187.  
 [8] Okamoto T, Taguchi H, Nakamura K, et al. *Zymobacter palmae* gen. nov. sp. nov. a new ethanol-fermenting peritrichous bacterium isolated from palm sap [J]. Arch Microbiol, 1993, 160(5): 333-337.  
 [9] Horn S J, Aasen I M, Østgaard K. Production of ethanol from mannitol by *Zymobacter palmae* [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2000, 24(1): 51-57.  
 [10] Yanase H, Sato D, Yamamoto K, et al. Genetic engineering of *Zymobacter palmae* for production of ethanol from xylose [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(8): 2592-2599.  
 [11] 武文洁,樊文乐. 从海带乙醇处理液中提取纯化甘露醇的研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 4: 16-18.  
 [12] 潘诗翰,陈姗姗,黄庶冰,等. 毕赤酵母发酵甘露醇产乙醇的条件研究[J]. 广西科学, 2011, 18(2): 164-168.

(责任编辑: 陈小玲)