

海藻酸转化生物乙醇研究进展*

钱 龙¹ 唐丽薇¹ 黄庶识² 伊日布斯^{1**}

(1 昆明理工大学生命科学与技术学院 生物转化研究室 昆明 650500 2 广西科学院 南宁 530007)

摘要 作为第三代生物燃料,大型褐藻类生物质转化燃料乙醇的研究受到广泛的关注。但是,现有的乙醇工业菌株并不能利用褐藻中的主要成分海藻酸,这个问题是海藻生物乙醇实现工业化生产的主要技术难关。近几年随着对海藻酸裂解酶和海藻酸降解菌代谢途径的深入研究,科研人员构建了不同的海藻酸发酵菌株,为高效转化大型海藻生产生物乙醇提供了可行的技术基础。这篇文章对海藻酸资源概况和海藻酸转化生物乙醇存在的科学问题及其研究进展进行了综述。

关键词 海藻酸 海藻酸裂解酶 海藻酸代谢途径 第三代生物乙醇

中图分类号 Q815

生物乙醇作为可再生的绿色能源已经家喻户晓。近年来,燃料乙醇的研发重点已经由以粮食作物为原料的第一代燃料乙醇技术移向以纤维素为原料的第二代燃料乙醇技术。与此同时,以海洋藻类为原料的第三代生物乙醇技术的研发也正在成为能源领域关注的热点。

海藻能源的原料包括微藻和大型海藻。有些微藻可在其细胞中积累大量油脂,因此多被研究作为提炼生物柴油的原料。大型海藻则指生长在潮间带或亚潮带的肉眼可见的海藻,其木质素含量很少,可转化的碳水化合物含量丰富,容易预处理,在生物转化上具有优势。大型海藻生存范围广,生长迅速,生产技术成熟,并且不与陆生植物竞争耕地、水源、肥料等生产资源,还可以固定大气和海水中的二氧化碳,能有效缓解温室效应和海水酸化的问题,具有良好的环境效益。

地球上海洋面积约为 3.61 亿平方千米,占全球总面积的 71%,海洋生物质资源丰富。我国海洋面积辽阔,分布着大量暖温带、亚热带、热带大型海藻,种质资源丰富。我国已经报道的大型海藻有 1277 种,产量约达 1000 多万吨,居世界首位,具备发展海洋生物质能源的有利条件。

目前,由于大型海藻中主要多糖成分海藻酸的分

解效率低,且其降解产物不能被产乙醇微生物所利用,使得大型海藻转化生物乙醇面临技术瓶颈。本文将对海藻酸资源概况、海藻酸转化生物乙醇的关键问题及海藻酸转化生物乙醇的研究进展进行综述。

1 海藻酸及其资源概况

海藻酸是最主要的海洋生物质之一,也被称为褐藻胶,是由 β -D 甘露糖醛酸(β -D-mannuronic)和 α -L 古洛糖醛酸(α -L-guluronic)单体通过 1-4 糖苷键连接而成的高分子聚合物,主要存在于褐藻细胞壁中^[1]。褐藻是目前关注较多的生物燃料生产原料,它的组成成分有甘露醇、海藻酸、纤维素、脂肪酸和无机盐等。甘露醇和海藻酸是褐藻的主要的成分,也是主要的可转化碳水化合物,其中海藻酸含量可达褐藻干重的 30%^[2]。我国海岸线绵长,拥有经济藻类 510 种,大多属于褐藻门,它们体型较大,包括海带、裙带菜、巨藻、马尾藻、昆布、鹿角菜等^[3]。据统计,2006 年,全球养殖海藻产量达到 1507.5 万吨,中国养殖海藻产量为 1086.7 万吨,占世界养殖海藻产量的 72.05%,其中,海带(Laminaria)、裙带菜(Undaria)、紫菜(Porphyra)和江蓠(Gracilaria)四个属的海藻产量高达 760 万吨^[4]。海带和裙带菜属于褐藻门,海藻酸含量丰富,以海带为例,其总糖含量为 32.32%,海藻酸含量为 24.61%^[5]。马尾藻也是我国主要的经济藻类之一,其海藻酸含量可达 30% 以上,被广泛应用于海藻酸工业中。

收稿日期:2012-11-02 修回日期:2012-11-26

* 广西自然科学基金重点资助项目(2010GXNSFD013029)

**通讯作者,电子信箱:irbisc@gmail.com

丰富的海藻资源为我国发展第三代生物燃料提供了一定的优势,但利用大型海藻中的主要碳水化合物海藻酸仍然是目前大型海藻转化生物乙醇的关键和难题。

2 海藻酸转化生产燃料乙醇的关键问题及研究现状

利用褐藻生产乙醇的工艺包括预处理、糖化和发酵步骤^[6]。但是褐藻的乙醇转化效率较低,褐藻中的主要成分海藻酸难以降解,并且降解产生的单糖不能被工业产乙醇菌株利用,因此对海藻酸裂解酶的降解机理及降解产物的微生物代谢研究就显得尤为重要。

2.1 海藻酸降解的研究现状

现阶段,海藻酸降解为单体主要有酸水解法和酶解法^[7-8]。酸水解法需要消耗大量硫酸等高浓度酸,水解废渣对环境污染严重,酸水解得到的海藻酸单体与酶水解产物单体化学特性不同,并且还未有微生物能够利用酸水解单体产物的报道。酶水解是利用海藻酸裂解酶将海藻酸降解为不饱和单糖,简单高效,无环境污染,海藻酸降解菌可利用酶水解产物作为唯一的碳源,进行生长代谢。所以,应用酶解法降解海藻酸有着不可替代的优势。

海藻酸裂解酶来源广泛,可以从海洋藻类、海洋软体动物、海洋微生物、土壤微生物等中分离得到^[9-12]。目前海藻酸裂解酶的主要来源是海洋细菌,例如假单胞菌属、弧菌属等^[13-14]。根据海藻酸裂解酶的催化特点可将其分为内切酶和外切酶两种^[15-16]。根据内切酶的底物特异性还可分为古洛糖醛酸裂解酶(EC 4.2.2.11)和甘露糖醛酸裂解酶(EC 4.2.2.3),同时也发现了对聚古洛糖醛酸和聚甘露糖醛酸两种底物均有活性的双功能酶^[17]。根据酶的氨基酸序列进化及同源性关系,大多数海藻酸裂解酶属于多糖裂解酶中的 PL-5、PL-7、PL-14、PL-15、PL-17、PL-18 六个家族^[18]。

海藻酸裂解酶的催化机制是通过 β -消去反应切断1,4-糖苷键来催化海藻酸降解,并在4-O糖苷键所在糖环的C4和C5之间产生双键,形成4-deoxy-L-erythrohex-4-Enepyransyluronate的非还原末端^[19]。

海藻酸裂解酶的分子量一般在20kDa~110kDa之间,在pH5~11之间比较稳定,最适温度一般为25℃~50℃,最适pH一般在5~10之间^[20]。金属离子对海藻酸裂解酶的酶活及稳定性影响较大,大多数海洋微生物的海藻酸裂解酶需要NaCl, K⁺也通常能够促进酶

活^[21-22]。

海藻酸裂解酶是糖化大型海藻的关键酶,但现有产酶菌株的酶产量和活性均较低,较难达到实际应用要求,利用外源表达生产高活性的海藻酸裂解酶作为提高产酶量的有效手段得到了广泛研究。1993年,Boyd等首次克隆了铜绿假单胞菌(*Pseudomonas alginovora*)海藻酸裂解酶的编码基因algL,并在大肠杆菌中进行了表达,使其粗蛋白比酶活力达到146U/mg,是原始野生菌的2.5倍^[23]。2009年, Gaofei Duan等人在假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.)CY24中克隆得到了海藻酸裂解酶基因alyPI,在大肠杆菌中表达得到一个58kDa的蛋白,催化活性达到了121.6U/mg^[24]。

在酶的生产及研究中,对酶表达调控系统的解析以及酶与天然底物作用机理的研究至关重要,围绕海藻酸降解菌的底物诱导、海藻酸裂解酶的表达调控方式和海藻酸裂解酶进攻并结合海藻酸的过程等问题的探讨,将加深人们对海藻酸降解菌生理特性及海藻酸裂解酶酶解机理的了解,并为提高海藻酸裂解酶生产水平和催化效率提供理论基础。

2.2 海藻酸代谢的研究

由于海藻酸酶解糖化后的单糖并不能被工业产乙醇菌利用,所以在海藻酸生物乙醇转化领域研究微生物代谢海藻酸非常重要,具有极为现实的意义。

现阶段对于海藻酸降解菌的海藻酸代谢途径的研究主要集中在*Sphingomonas*属。早先人们在研究*Sphingomonas*属的细菌时发现,细菌表面覆盖着宽大的褶皱,当把细菌在含海藻酸的培养基中培养一段时间后,细菌表面会形成直径为0.02~0.2um的凹陷结构,并且发现膜凹陷进细胞质,之后他们对凹陷结构和周围区域染色,并基于这些结果确定了细菌表面存在可以将海藻酸直接吞食的机制^[25]。海藻酸进入细胞通过的超级通道是由细胞表面受体、细胞表面海藻酸受体、外部膜结合运输蛋白、周质海藻酸结合蛋白、内部膜结合ABC转运子组成。细胞表面受体由p5(40kDa)和p6(31kDa)组成。细胞表面海藻酸受体为细胞表面蛋白P7(28KDa)。外部膜结合蛋白由p1(78kDa), p2(71kDa), p3(74kDa)和p4(72kDa)组成,功能是将铁离子/海藻酸复合物运输进细胞周质。周质海藻酸结合蛋白为AlgQ1(59kDa)和AlgQ2(59kDa),它们对海藻酸有特殊的结合能力。内部膜结合ABC转运子由AlgS(40kDa)、AlgM1(37kDa)和AlgM2(33kDa)组成, AlgS是作为ATP酶, AlgM1和AlgM2的二聚体

形成透性酶。除 ABC 转运子外,其他蛋白的表达都受到海藻酸的诱导^[26-28]。海藻酸通过 *Sphingomonas* 属的细菌细胞表面特有的超级通道进入细胞质后,胞内的海藻酸裂解酶 A1-I、A1-II、A1-III 和 A1-IV 将其降解为单不饱和糖醛酸^[29-30]。不饱和糖醛酸单糖通过非酶的转化作用变为 4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid (DEH), DEH 再被 DEH 还原酶还原成 2-keto-3-deoxy-D-gluconic acid (KDG)。KDG 由 2-酮基-3-脱氧葡萄糖激酶催化形成 2-keto-3-deoxy-6-phospho-gluconic acid (KDGP),再由 2-酮基-3-脱氧-6-磷酸-葡萄糖醛缩酶裂解为甘油醛-3-磷酸和丙酮酸,之后它们分别进入糖酵解和三羧酸循环^[31](图 1)。

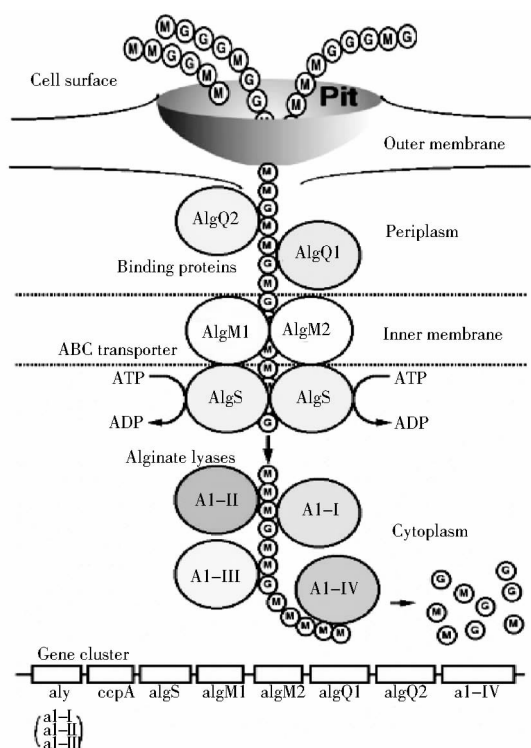


图 1 海藻酸代谢途径^[26]

Fig. 1 Alginate metabolic pathways

在最近的研究中,弧菌属的海藻酸代谢途径也得到了突破性的进展。美国生物结构实验室从灿烂弧菌属 (*Vibrio splendidus*) 12B01 的基因组中筛选得到一段长约 40kb 的基因片段,并逐个分析了与海藻酸代谢有关的关键基因。研究结果表明,钠/溶质共运输体、膜转运蛋白、海藻酸裂解酶以及 NADH 依赖型 DEH 还原酶的基因与细菌利用海藻酸有紧密联系。并且确定了细菌利用海藻酸寡糖的最小遗传信息是钠/溶质共运输体和 DEH 还原酶的基因^[32]。这些基因的发现及其

功能鉴定表明, *Vibrio splendidus* 12B01 拥有与 *Sphingomonas* sp. A1 相似的代谢途径,即利用膜转运蛋白运输海藻酸进入细胞,然后利用多种海藻酸裂解酶将海藻酸逐步降解为单糖,再由 DEH 还原酶将 DEH 转化为 KDG。

通过对这些细菌的海藻酸代谢途径的研究,确立了细菌代谢海藻酸的一个通用模型,并找到了海藻酸代谢途径中的关键基因。同时,海藻酸代谢中间产物都可以进入到糖酵解途径,而大多数乙醇工业菌株都具备糖酵解途径,这就为利用基因工程改造乙醇工业菌株发酵海藻酸生产乙醇提供了理论依据。

3 海藻酸的乙醇转化研究进展

目前,利用海洋生物质中的碳水化合物发酵乙醇已经有所报道。2000 年, SJ Horn 等利用酵母发酵昆布多糖和甘露醇,乙醇产量为 0.43g/g 底物^[33]。2009 年, Adams 等比较了褐藻的预处理方法,并用酵母发酵,乙醇产量为 0.45% (V/V)^[34]。但是由于传统的高乙醇产量酵母本身并不具备海藻酸代谢途径,所以上述研究中酵母并没利用海藻酸进行发酵。与此同时,一些细菌能够产生海藻酸裂解酶降解海藻酸,并可以利用海藻酸降解产物作为唯一碳源,但并不能生产乙醇。所以人们开始运用基因工程的手段构建能利用海藻酸的产乙醇工程菌。目前,构建能利用海藻酸的乙醇工程菌主要有两个策略:

(1) 在海藻酸降解菌中构建高产量的乙醇代谢途径。2011 年,日本京都大学的 Murata 教授的团队将运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) 的丙酮酸脱羧酶基因 *pdc* 和乙醇脱氢酶基因 *adhB* 在 *Sphingomonas* sp. A1 中过量表达,同时敲除了 *Sphingomonas* sp. A1 的乳酸脱氢酶基因 *ldh*,并利用海藻酸发酵乙醇,乙醇产量达到 13g/L。海藻酸转化乙醇工程菌的构建开辟了一条高效率低成本海洋生物质转化途径,但由于 *Sphingomonas* sp. A1 是好氧菌,在发酵乙醇过程中,三羧酸循环会和丙酮酸脱羧酶竞争丙酮酸,这就需要严格控制生物反应器中的氧气含量来达到细菌生长与生产乙醇的平衡,这就大大限制了其在工业生产中的应用^[35]。

(2) 将海藻酸裂解酶基因和海藻酸代谢的关键基因导入到乙醇工程菌中,使其能够直接利用海藻酸发酵生产乙醇。2012 年, Adam 等人构建了能将海藻酸裂解酶高效分泌到细胞外的海藻酸裂解酶分泌系统,然

后利用基因文库从灿烂弧菌 (*Vibrio splendidus*) 12B01 中筛选了海藻酸代谢过程中所必需的长约 40kb 的基因序列, 包含转运和代谢方面的基因, 并将它们同时导入到经由基因工程改造能够高效产乙醇的大肠杆菌中, 利用天然大型海藻发酵, 乙醇产量为 0.281g 乙醇/g 干海藻, 达到了理论转化率的 80%^[32]。构建的工程菌能够利用大型海藻中的甘露醇、海藻酸和葡萄糖进行发酵, 扩大了细菌的底物利用范围, 提高了大型海藻的利用率。但大量的基因工程改造, 势必会对细菌本身造成影响, 基因工程菌的遗传稳定性也需要进一步探讨。

这些研究结果为利用基因工程菌转化大型海藻生产生物能源开辟了新的途径, 将为大型海藻生物质更加高效和全面的利用, 并降低成本、提高乙醇转化率提供可能。

4 海藻酸转化生物乙醇的展望

我国拥有 299.7 万平方公里的海洋面积, 海洋生物物质丰富, 并经过多年的研究, 积累了大量海藻种质资源, 但由于对海洋生物物质能源转化生物燃料的研究较晚, 急需获得拥有自主知识产权的海洋生物物质转化技术。

而目前, 对于海洋生物物质转化的研究集中在利用酵母发酵海洋生物物质和对现有好氧海藻酸分解菌及乙醇工程菌的基因工程改造上。酵母作为历史悠久的乙醇发酵菌株, 在利用海洋生物物质方面具有乙醇产量高, 遗传背景清晰, 可利用现有的发酵设施等优点。但是, 至今为止仍然没有关于酵母直接利用海藻酸寡糖或者海藻酸单糖发酵生产乙醇的报道。为了进一步降低成本, 提高发酵效率, 还需要在酵母中表达海藻酸裂解酶, 使其能够自行降解利用海藻酸, 实现统合生物加工 (consolidated bioprocessing, CBP)。利用基因工程改造的好氧海藻酸分解菌发酵生产乙醇, 需要严格控制发酵条件, 操作上十分复杂, 使其并不适合在工业上应用。在深入了解了海藻酸代谢途径的前提下, 将整个海藻酸代谢途径导入到乙醇工程菌中, 是一种可行的方案, 但外源基因的遗传稳定性和发酵性能的稳定性都有待验证。厌氧微生物通过底物水平磷酸化获得生命活动所需的能源 ATP, 产生的 NADH 再通过生成乙醇或有机酸等发酵途径氧化为 NAD⁺, 因此厌氧微生物可以直接发酵底物生成乙醇, 并且在生产有用物质方面, 厌氧菌具有利用单位底物生成的 ATP 较好氧菌少,

底物的转化效率高等优点。因此, 筛选厌氧的海藻酸降解菌, 并对其进行有限的基因工程改造, 导入或强化乙醇生成途径, 使其能够直接利用大型海藻生产乙醇的策略, 充分利用了厌氧菌自身的代谢优势, 减少外来基因对宿主的影响, 并且可以利用工业上现有的厌氧发酵设施, 是一种颇有前景的方案。

参考文献

- [1] Rajeendernath P, Donald J B. Composition and block structure of alginates from New Zealand brown seaweeds. *Carbohydrate Research*, 1996, 293(1):119-132.
- [2] 纪明侯, 张燕霞. 我国经济褐藻的化学成分研究. *海洋与湖沼*, 1962, 4(3-4):161-167.
Ji M H, Zhang Y X, Study on the chemical composition of the chinese economi biown seaweeds, *Oceanologia Etlimnologica Sinica*, 1962, 4(3-4):161-167.
- [3] 张菊清. 大型海藻的经济价值. *舟山师专学报*, 1998, 1:76-79.
Zhang J Q. The economic value of seaweed. *Joarnal of Zhoushan Nornal School*, 1998, 1:76-79.
- [4] Roesijadi G, Jones S B, Snowden-Swan L J, et al. Macroalgae as a biomass feedstock: a preliminary analysis (R). Washington: Pacific Northwest National Laboratory, 2010.
- [5] 范晓, 韩丽君, 周天成, 等. 中国沿海经济海藻化学成份的测定. *海洋与湖沼*, 1995, 26(2):199-207.
Fan X, Han L J, Zhou T C, et al. Chemical composition of economic seaweeds from the coast of china. *Oceandogia Etlimologia Sinica*, 1995, 26(2):199-207.
- [6] Ge L L, Wang P, Mou H J. Study on saccharification techniques of seaweed wastes for the transformation of ethanol. *Renewable Energy*, 2011, 36(1):84-89.
- [7] Haug A, Larsen B, Smidsrød O. Studies on the sequence of uronic acid residues in alginic acid. *Acta Chemica Scandinavica*, 1967, 21:691-704.
- [8] Park H H, Kam N, Lee E Y, et al. Saccharification of alginate by using exolytic oligoalginate lyase from marine bacterium *Sphingomonas* sp. MJ-3. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2011, 17(5-6):853-858.
- [9] Lin T Y, Hass W Z. Pathway of alginic acid synthesis in the marine brown alga, *Fucus gardneri* Silva. *J Biol Chem*, 1966, 241(22):5284-5297.
- [10] Rahman M M, Inoue A, Tanaka H. Isolation and characterization of two alginate lyase isozymes, AkAly28 and AkAly33, from the common sea hare *Aplysia kurodai*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 2010, 157(4):317-325.
- [11] Lundqvist L C, Jam M, Barbeyron T, et al. Substrate specificity

- of the recombinant alginate lyase from the marine bacteria *Pseudomonas alginovora*. 2012, 352:44-50.
- [12] Díaz-Barrera A, Soto E, Altamirano C. Alginate production and *alg8* gene expression by *Azotobacter vinelandii* in continuous cultures. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2012, 39(4):613-621.
- [13] Li J W, Dong S, Song J. Purification and characterization of a bifunctional alginate lyase from *Pseudoalteromonas* sp. SM0524. *Marine Drugs*, 2011, 9(1):109-123.
- [14] Hamza A, Piao Y L, Kim M S, et al. Insight into the binding of the wild type and mutated alginate lyase (AlyVI) with its substrate: A computational and experimental study. *Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2011, 1814(12):1739-1747.
- [15] In Lee S, Choi S H, Lee E Y, et al. Molecular cloning, purification, and characterization of a novel polyMG-specific alginate lyase responsible for alginate MG block degradation in *Stenotrophomas maltophilia* KJ-2. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 95(6):1643-1653.
- [16] Rahman M M, Inoue A, Tanaka H, et al. cDNA cloning of an alginate lyase from a marine gastropod *Aplysia kurodai* and assessment of catalytically important residues of this enzyme. *Biochimie*. 2011, 93(10):1720-1730.
- [17] Rahman M M, Wang L, Inoue A, et al. cDNA cloning and bacterial expression of a PL-14 alginate lyase from a herbivorous marine snail *Littorina brevicula*. *Carbohydr Res*. 2012, 360:69-77.
- [18] Kim H T, Chung J H, Wang D, et al. Depolymerization of alginate into a monomeric sugar acid using Alg17C, an exo-oligoalginate lyase cloned from *Saccharophagus degradans* 2-40. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012 Mar, 93(5):2233-2239.
- [19] Schaumann K, Weide G. Enzymatic degradation of alginate by marine fungi. *Hydrobiologia*, 1990, 204-205(1): 589-596.
- [20] Wong T Y, Preston L A, Schiller N L. Alginate lyase: review of major sources and enzyme characteristics, structure-function analysis, biological roles, and applications. *The Annual Review of Microbiology*. 2000, 54:289-340.
- [21] Uchimura K, Miyazaki M, Nogi Y, et al. Cloning and Sequencing of Alginate Lyase Genes from Deep-Sea Strains of *Vibrio* and *Agarivorans* and Characterization of a New *Vibrio* Enzyme. *Mar Biotechnol (NY)*. 2010, 12(5):526-533.
- [22] Li J W, Dong S, Song J, et al. Purification and Characterization of a Bifunctional Alginate Lyase from *Pseudoalteromonas* sp. SM0524. *Marine Drugs*. 2011, 9(1):109-123.
- [23] Schiller N L, Monday S R, Boyd C M, et al. Characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* Alginate Lyase Gene (*algL*): Cloning, Sequencing, and Expression in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1993, 175(15):4780-4789.
- [24] Duan G, Han F, Yu W. Cloning, sequence analysis, and expression of gene *alyPI* encoding an alginate lyase from marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. CY24 2009. *Can J Microbiol*. 2009, 55(9):1113-1118.
- [25] Hisano T, Yonemoto Y, Yamashita T. Direct uptake of alginate molecules through a pit on the bacterial cell surface: a novel mechanism for the uptake of macromolecules. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1995, 79(6):538-544.
- [26] Hashimoto W, He J, Wada Y, et al. Proteomics-based identification of outer-membrane proteins responsible for import of macromolecules in *Sphingomonas* sp. A1: alginate-binding flagellin on the cell surface. *Biochemistry*, 2005, 44(42):13783-13794.
- [27] Momma K, Okamoto M, Mishima Y, et al. Direct evidence for *Sphingomonas* sp. A1 periplasmic proteins as macromolecule-binding proteins associated with ABC transporter: molecular insights into alginate transport in the periplasm. *Biochemistry*, 2005, 44(13):5053-5064.
- [28] Momma K, Okamoto M, Mishima Y, et al. A novel bacterial ATP-binding cassette transporter system that allows uptake of macromolecules. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(4):3998-4004.
- [29] Yoon H J, Hashimoto W, Miyake O, et al. Overexpression in *Escherichia coli*, purification, and characterization of *Sphingomonas* sp. A1 alginate lyases. *Protein Expr Purif*, 2000, 19(1):84-90.
- [30] Hashimoto W, Miyake O, Momma K, et al. Molecular identification of oligoalginate lyase of *Sphingomonas* sp. strain A1 as one of the enzymes required for complete depolymerization of alginate. *J Bacteriol*, 2000, 182(16):4572-4577.
- [31] Takase R, Ochiai A, Mikami B, et al. Molecular identification of unsaturated uronate reductase prerequisite for alginate metabolism in *Sphingomonas* sp. A1. *Biochimica Biophysica Acta*, 2010, 1804(9):1925-1936.
- [32] Wargacki A J, Leonard E, Win M N, et al. An engineered microbial platform for direct biofuel production from brown macroalgae. *Science*, 2012, 335(6066):308-313.
- [33] Horn S J, Aasen I M. Ethanol production from seaweed extract. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2000, 25(5):249-254.
- [34] Adams J M, Gallagher J A, Donnison I S. Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pre-treatments. *Journal of Applied Phycology*, 2009, 21(5):569-574.
- [35] Takeda H, Yoneyama F, Kawai S, et al. Bioethanol production from marine biomass alginate by metabolically engineered bacteria. *Energy & Environmental Science*, 2011, 7:2575-2581.

Research Progress of Bioethanol from Alginate Fermentation

QIAN Long¹ TANG Li-wei¹ HUANG Shu-shi² Chagan Irbis

(1Laboratory of Bioconversion, Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

(2Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract As the third-generation biofuel, the bioethanol from macroalgae biomass fermentation have received widespread attention. However, the present ethanol industry strains were not able to utilize alginate that is the main ingredient in seaweed. This is one of the major technical difficulties to impede to achieve the industrial production of alginate bio-ethanol. In recent years, the cleavage enzyme and alginate degrading bacteria metabolic pathways have been studied in depth. The researchers constructed different alginate fermentation strains, and provided a viable technological support for the efficient conversion from alginate to bio-ethanol. This article reviewed resource profile of alginate and the scientific issues of bioethanol production by fermentation with alginate.

Key words Alginate Alginate lyase Alginate metabolic pathways The third-generation biofuel