

压力脉动用于固态发酵过程的研究进展

陈俊英 韩秀丽 李洪亮 方书起 常春 马晓建

(郑州大学化工学院,河南 郑州 450002)

摘要: 压力脉动用于固态发酵主要是对一个密闭低压容器内的气相压力施以周期脉动,固体培养基为静态,通过气相的压力波动,使发酵料层内的气相传质由分子扩散变为强制对流扩散。气体产生的力为法向力,利用法向力动量传递手段强化传质。压力脉动发酵系统由空气调节系统和发酵系统两部分组成。压力脉动具有强化功能,可解决固态发酵传热、传质差和难于大规模纯种培养等问题。现已实现纯种培养与大规模产业化生产,在抗生素、酶制剂、有机酸、食品添加剂、生物农药和生物肥料方面得到广泛应用,但也存在操作条件的确定、优化及失水等问题。

关键词: 压力脉动; 固态发酵; 强化

中图分类号:TQ920;TQ053

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2009)11-0017-04

Research Progress in the Use of Air Pressure Pulsation in Solid Fermentation

CHEN Jun-ying, HAN Xiu-li, LI Hong-liang, FANG Shu-qi, CHANG Chun and MA Xiao-jian

(Chemical Engineering Department of Zhengzhou University, Zhengzhou, He'nan 450002, China)

Abstract: In solid fermentation, solid substrate is in static state and air pressure is in periodical pulsation. Air pressure pulsation in the fermenter could change gas mass transfer in fermented materials layer from molecular diffusion to compulsory convection-diffusion through pressure oscillation of gas phase. The normal force produced by air pressure pulsation could enhance mass transfer. Air pressure pulsation system is composed of air adjustment system and fermentation system. The use of air pressure pulsation system could settle the problems in practice including heat transfer in solid fermentation, large-scale pure species culture, and bad mass transfer etc. because the system has strengthening functions. The use of the system has realized pure species culture and large-scale industrialized production and was widely used in the fields of antibiotics, enzymes, organic acids, food additives, biofertilizers etc. However, there are some difficulties in the system as follows: operation conditions, technical optimization and water lose etc.

Key words: air pressure pulsating; solid fermentation; enhancement

中国白酒有长达 3000 多年的发展历史,商代就已采用固态发酵技术酿酒。固态发酵是指在几乎无自由水存在或有一定湿度的水不溶性固态基质中用一种或多种微生物发酵的生物反应过程^[1]。与液体深层发酵相比,固态发酵技术具有节水、节能的独特优势,且没有废液产生,属于清洁生产^[2-3]。但固态发酵也存在一定的问题:热量、氧气和其他营养物质的传递困难,造成基质内部温度、湿度、酸碱度和菌体生长状态的严重不均。若增加搅拌装置,则造成能耗过大,破坏菌丝体,影响菌体的生长与代谢。另外,所用反应器放大困难,发酵过程容易受到污染^[4]。

首次将压力脉动概念引入到发酵过程的是中科院过程工程研究所的李佐虎、陈洪章等研究员,此前,他们一直致力于固态发酵反应器的研究,经历过多次失败后,发现只有改变思维方式才能有所创新^[5]。认识到传统化工

生产中以剪切力为动力源的“三传一反”理论不能完全适应生物反应的特殊要求,1991 年,李佐虎等提出以法向力为动力源的“外界周期刺激强化生物反应及细胞内外传递过程”的生物反应器设计原理,并提出“四传一反”(动量、质量、热量、信息传递和生物反应动力学)新概念,突破传统的化工“三传一反”反应器设计原理,形成新的理论设计体系,诞生了“压力脉动固态发酵新技术”^[5-6]。

历经了 10 多年的发展,压力脉动在发酵工程上,主要在固态发酵方面取得了长足的进展,现将其发展情况进行总结。

1 压力脉动固态发酵工作原理

压力脉动固态发酵工作原理是指气体为动态、固体培养基为静态,通过气相的压力波动,气体产生的力为法向力,利用法向力动量传递手段强化传质。气体分子“无

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2007BAD66B04)“秸秆乙醇关键技术研究及产业化示范”。

收稿日期:2009-09-08

作者简介: 陈俊英(1972-)女,副教授,博士,主要从事化工及生化方面的科研、设计和教学工作,获省部级科技进步二等奖 2 项,发表论文 10 余篇。

孔不入”,气相动态很容易使在单颗粒间隙水平上把分子扩散变为对流扩散,以达到菌体周围小尺度上的温度、湿度的控制与均匀性,加强供氧与二氧化碳的排出速度^[7]。

在泄压操作中,因突然快速排气,颗粒间的气相因减压膨胀,对固体颗粒起松动作用。这对菌丝体生长特别有利,不但供氧充足,更重要的是为菌丝体的大量繁殖扩充了空间,所以发酵料层内外菌丝体都十分丰满;微生物细胞通过细胞膜与周边液层之间发生物质、能量、信息交换;液层再与固体基质及空气交换物质与能量。气相压力脉动会很快在液膜层中引起多种周期法向作用力。液膜层很薄,这种法向作用力的传递速率很快,很敏感。

从较微观的角度分析说明这个问题:为了使颗粒缝隙中的空气得到及时的更换,先升高环境空气压力;由于空气是可压缩性流体,环境中的空气就会进入毛细管内,使颗粒内毛细管中的空气压力也会相应升高,外界空气压力越高,进入毛细管内的空气量越大,在一定范围内如果单纯地升高压力,空气就单向流入毛细管内,原来的气体却不能流出;当环境压力降低时,毛细管中的流体就会释放到环境中,压力也随之下降;因此,通过周期性的空气压力波动,颗粒内部毛细管中的空气就会得到有效的更换。

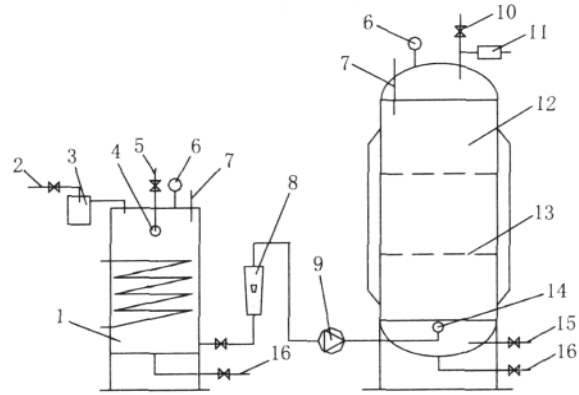
物料颗粒内部的菌丝体,尤其是菌丝顶端部分的代谢活动最为旺盛,不但对氧气的的需求最大,同时大量的代谢热和二氧化碳等可挥发性的代谢产物也需要及时排出。周期性的压力改变既能给颗粒内部的菌丝提供充足的氧气,也可将主要存在于颗粒内部的代谢热和二氧化碳等挥发性产物及时排放出来。另外,周期性的压力变化可使固态基质保持疏松,一方面强化颗粒间的传质,避免了对菌丝体的剪切损伤作用;另一方面疏松的基质又有利于酶和可溶性基质的渗透、扩散。

由此可知,对于压力脉动固态发酵反应器设计,思路主要是以流体静力学理论为基础(固相培养基静态),以法向作用为动力源(气相动态周期作用力),强调生物反应器是一个非线性活细胞代谢与周围环境进行质量、能量、信息交换的生态系统,是生命系统和环境系统组成的特定空间,而不是单一的装置^[8]。

2 压力脉动固态发酵设备

实现压力脉动在发酵过程中的应用,必须有相应的发酵设备。压力脉动发酵系统由两部分组成(图1)^[9],一部分为空气调节系统,主要通过换热器及水雾化处理装置对压缩空气的温度和湿度进行调节,再通过流量计和膜过滤器对压缩空气进行计量和除菌,使进入压力脉动发酵罐的空气达到相对无菌;另一部分为发酵罐系统,由

夹套、隔板、压力表及压力延时释放控制系统、温度控制等组成,同时设有蒸汽通道,便于实罐灭菌,减少原料杂菌污染。



注:1-空气调节装置;2-压缩空气进口;3-油分离器;4-雾化器;5-高压水进口;6-压力表;7-温度热电偶;8-空气流量计;9-膜过滤器;10-安全阀;11-压力脉动控制装置;12-发酵罐;13-隔板;14-压缩空气分布器;15-蒸汽进口;16-排污口。

图1 压力脉动发酵系统

压力脉动固态发酵反应器是对密闭低压容器内的气相压力施以周期脉动力,使发酵料层内的气相传质由分子扩散变为强制对流扩散,解决了固态发酵传热、传质差和难于大规模纯种培养等问题。具体的主要操作是无菌空气对密闭低压容器内的充压与泄压实现周期性脉动。一个周期时间由充压时间、峰压的稳定时间、泄压时间与谷压稳定时间4段组成。峰压值一般为0.15~0.35 MPa时,谷压值一般为0.01~0.05 MPa。峰压时间与谷压时间由人为设定控制,并随发酵时间而变化,一般在对数增长期变化频率高,延迟期与稳定期频率小,周期一般随需要而定^[8]。

3 压力脉动的强化功能

“压力脉动”操作相对固体培养基而言是静态,但相对气相而言则是动态,并且是双效动态,即压力脉动和内循环风气流运动^[7-12]。其主要功效有:

①压力脉动很容易在单颗粒间隙中变分子扩散为对流扩散,达到菌体周围小尺度上的温度、湿度的控制与均匀性,加强供氧与排出CO₂的速度。

②脉动的泄压操作使颗粒间的气体因减压而膨胀,对固体颗粒起松动作用。这不但使供氧充足,更重要的是为菌丝体的大量繁殖扩充了空间,所以发酵层内外菌丝体都十分丰满。而且块状干燥物呈蜂窝状,极易碎成分散颗粒。

③设备机械结构简单,循环风机动力小,易密封;正压操作,不易染菌。

④无菌空气用量小,总能耗低。通风量远小于液体深

层发酵。

⑤浅层发酵,料层厚一般控制在2~5 cm。发酵基质温度由循环风温度调节,温度一般由脉动频率控制,即由排气带走水量控制。只有在个别情况下,才用进入空气增湿等方法控制。

⑥可采用循环风带入雾状酸、碱、其他营养物,调节其他发酵参数。

⑦促进微生物代谢、强化细胞内外的传质,减少代谢产物的反馈抑制,从而有缩短发酵周期、提高转化率的功能。

压力脉动固态发酵与传统固态发酵技术的本质差别有:实现了严格意义上的纯种培养;实现了规模性工业化生产;周期刺激可使发酵效价提高3~5倍,发酵过程中温度、湿度、pH可控;真空冷凝干燥与超音速气流粉碎不但使毒力效价降低,反而有所提高;无三废排放;设备投资虽然比传统固态发酵法高得多,但又比液体深层发酵低得多。

4 压力脉动固态发酵的应用

目前,压力脉动固态发酵反应器从0.5 L的试验到800 L中试,到25000 L、50000 L工业规模,应用范围涉及到抗生素、酶制剂、有机酸、食品添加剂、生物农药和生物肥料生产等。以微生物农药B.t可湿性粉剂、白僵菌和纤维素酶为示范性产品,1998年建成了固态发酵大规模纯种培养的示范性工厂,显示出诸多优于液体深层发酵的技术经济指标。

压力脉动是固态发酵加强传质、传热比较有效的手段,固态发酵反应器工艺与工程方面的研究都取得一定的进展,主要有以下几个方面:

4.1 苏云金芽孢杆菌^[9]

苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*,简称B.t)是一种生物农药,可防治农、林、果、蔬等农作物上的鳞翅目、双翅目等32科150多种以上昆虫,其生产工艺有固态发酵和深层液体发酵。对固态发酵的研究出现了实验室研究多、工程化研究少、产业化推广更少的局面,而压力脉动固态发酵生物反应器的出现,实现了固态发酵反应器的放大和纯种培养,已用于B.t的产业化生产。

以啤酒糟为发酵基质,通过压力脉动周期刺激苏云金芽孢杆菌,能有效提高生物农药毒力效价。单因素试验结果表明,生产B.t压力脉动条件为低压0.05 MPa维持10 min,高压0.2 MPa维持30 min,最佳发酵条件为原料含水量58%(w/w),pH值8.5、发酵温度28℃,生物农药的毒力效价可达7300 U/mg。

4.2 酸性蛋白酶^[13]

利用压力脉动周期刺激黑曲霉生产酸性蛋白酶,采用的压力范围为0.05~0.25 MPa,低压维持5 min,高压维持10~60 min。结果表明,压力脉动周期性刺激黑曲霉,可有效提高饲料酸性蛋白酶的活力,单因素最佳条件是低压0.05 MPa维持5 min,高压0.2 MPa维持15 min;最佳发酵条件为原料含水量60%(w/w),pH值5.5,发酵温度28℃,饲料中酸性蛋白酶的酶活力达7600 U/mg。

4.3 纤维素酶^[14-18]

纤维素是一种非常重要的可再生资源。秸秆发酵乙醇是当前的热点研究方向,但存在一个关键问题没有解决,即纤维素酶生产成本高、产酶水平低、价格昂贵。李宏强等采用容积为28 L的周期性刺激压力脉动反应器进行生产,菌种为斜卧青霉,发酵培养基为汽爆秸秆/麸皮(8:2),固液比为1:2.5,液体为营养盐溶液。

徐福建等提出纤维素酶气相双动态(气体内循环及气体压力脉动)固态发酵,采用容积为50 L的压力脉动反应器进行生产,与传统固态发酵相比,酶活可提高1倍,周期缩短1/3。利用环境扫描电镜观察可发现,压力脉动固态培养基的9.0 cm料层的上、中、下层微生物生长状况比较均匀,基质疏松,微生物在较短时间就进入迅速生长期,其菌落致密,微生物菌丝体比较丰满;而传统固态发酵料层中部几乎无菌体生长。气相双动态培养在第3天开始产生孢子,其产酶达到最高峰(20.36 U/g);而静态发酵在第4天才出现少量孢子,产酶达10.82 U/g。

4.4 白僵菌工业化生产^[19]

采用的压力脉动固态发酵罐容积为20 m³,白僵菌发酵周期可缩短28%,产孢量增加65%,达200亿个/g。结果表明:利用压力脉动固态发酵反应器进行白僵菌工业化生产是可行的,周期性变压操作对促进白僵菌代谢有一定作用。所用发酵罐最好具补水装置。

4.5 豌豆根瘤菌^[20]

赵华等以豌豆根瘤菌为菌种,麦秸等为基质来生产生物肥料,所用实验装置为2 L压力脉动固态发酵反应器。固态培养基以浅盘方式摆在盘架上,料层厚3 cm,空气压力的周期性变化通过控制系统控制电磁阀的开关实现,罐体气相压力通过无菌空气的充压与泄压,在高压与低压之间周期波动。压力脉动的频率设定为每30 min变压1次,高低压维持时间分别为0和30 min,低压为常压(0 MPa),高压在0~0.4 MPa范围内波动。

在静止浅盘固态发酵中,随着发酵过程的进行,微生物代谢活动加强,导致在固态基质中存在着较大的氧气浓度,传质阻力成为限制生物反应的主要因素,而在压力脉动固态发酵中,升压时,气体进入固态基质内部;突然泄压会导致固态基质内部的气体迅速排出,一方面造成

固态基质更加疏松,孔隙度增加;另一方面,气体的传递由分子扩散变成对流扩散,强化了氧的传递,强化了生物反应,促进了微生物的生长。但是当压力脉动的振幅达到一定程度后(0.35 MPa),再增加脉动幅度,对基质的孔隙率影响不大,导致 OTR 不再增加。与静止浅盘固态发酵相比,压力脉动固态发酵能显著提高发酵产品中的活菌数,缩短发酵周期。

4.6 微生物蛋白质^[21]

菌种为绿色木霉 号,培养基为汽爆麦草、麸皮等。在发酵过程中主要测定了胞内、胞外蛋白质及纤维素酶活,纤维素酶活主要测定了滤纸酶活(FPA 酶活)和羧甲基纤维素酶活(CMCase 酶活)。在两种不同的发酵方式下,微生物的蛋白质从产量、酶活和组成都产生了变化。

从压力脉动外界周期刺激固态发酵干酶曲中提取的蛋白质与未加周期刺激的微生物中提取的相比,胞内蛋白质的质量提高了 34.63%,FPA 酶活降低了 22.22%,CMCase 酶活降低了 38.65%,而胞外蛋白质的质量、FPA 酶活及 CMCase 酶活分别提高了 17.75%、60.08%和 21.17%。压力脉动固态发酵 5 d 的微生物胞外蛋白质的酶活与静态固态发酵 6 d 的相当,发酵周期缩短。可见压力脉动固态发酵与常规的静态固态发酵相比,压力脉动成为一个差异性的外界周期刺激源。微生物为了适应这种差异性的外界周期刺激作用,蛋白质的组成发生改变,表现为胞内蛋白酶活的降低,而一些特异性的蛋白被诱导合成,表现为胞外蛋白酶活的提高。从发酵产量的提高,可看出这种刺激作用产生的诱导蛋白有利于微生物的生长,提高了发酵的产率。SDS-PAGE 的电泳结果也初步证实了两种发酵方式下,蛋白质组分具有一定的差异性。

也有将压力脉动应用于 PHB 生产的^[22]。

4.7 固态发酵乙醇

随着国家对粮食燃料乙醇的限制,利用甜高粱生产燃料乙醇成为发展清洁生物能源的重要途径。由于甜高粱茎秆液态发酵乙醇工艺已进行了一定的研究,出现了受收获季节影响大,压榨汁液贮存困难,生产难以连续,废液难治理,环境污染严重等问题^[23-24]。而进行固态发酵可以实现大规模生产,受季节影响小。随着研究的深入,压力脉动固态发酵乙醇将是以后研究的一个重要方向。

5 压力脉动固态发酵过程中需要解决的问题

5.1 压力脉动条件的确定

压力脉动过程是对微生物生长和代谢的刺激过程。如何控制和优化操作条件是一个重要的问题,主要包括:
压力脉动范围:从传质、传热的角度出发,压力范围

越大越有利于传质、传热,但是在气相泄压过程中基质内部的气体膨胀,会破坏菌体;低压维持过长时间有可能导致发酵罐内局部缺氧造成厌氧发酵。一般确定发酵压力脉动范围为 0.05~0.2 MPa^[14]。

压力脉动周期:压力脉动目的一方面避免机械搅拌的缺陷,主要目的是为了提高传质、传热速率,降低温度、O₂ 及 CO₂ 浓度梯度,在微生物代谢活跃阶段,较高频率的压力脉冲才能满足微生物所需大量 O₂ 及传热的要求,但脉动频率过高,换气过于频繁,发酵培养基失水严重;同时对罐体性能及能耗要求较高。

压力脉动频率:脉动频率,提高发酵效率,尚处于探索阶段,脉动频率过高,换气过于频繁,发酵培养基失水严重,影响产酶;脉动频率过低,体系的传递性能差,降低了生物反应与传递速率,最终也影响发酵效率。

5.2 其他问题

对于固态发酵,控制培养基的水分是重要环节之一。通常物料的水分含量低于 12%(w/w)时,微生物的生长就会受到抑制,而含量高于 80%(w/w)就会出现游离水,大多数固态发酵的含水量控制在 60%(w/w)左右。适宜的初始含水量,使培养基有合适的疏松度,颗粒间存在一定空隙,有助于菌体从培养基获得营养物质和氧的传递,从而促进生长繁殖。含水量过高会导致培养基粘结成团,多孔性降低,影响氧的传递;含水量过低,则使培养基膨胀程度降低,水的活力低,抑制菌体生长。

固体培养基难以调节 pH 值,固态发酵传热性差,如果不能迅速将发酵热移出,将会使发酵温度急剧上升,导致温度失控。另外,固体培养基灭菌效果不大好,容易染菌。

参考文献:

- [1] 姚跃飞,曾柏全.现代固态发酵技术在食品加工业中的应用[J].食品与机械,2005,21(6):89-92.
- [2] 孙森,宋俊梅,张长山.固态发酵技术的研究应用现状[J].中国食品添加剂,2007,(4):54-58.
- [3] 何涛,张海军,武书庚,等.现代固态发酵技术生产蛋白饲料研究进展[J].饲料工业,2008,29(10):62-64.
- [4] 徐自明.现代固态发酵设备研究进展[J].内江科技,2007,(1):108.
- [5] 陈洪章,李佐虎.微生物固态发酵反应器[J].化工科技市场,2001,(2):25-27.
- [6] 陈洪章,徐建.现代固态发酵原理及应用[M].北京:化学工业出版社,2004.1-20.
- [7] 黄鑫泉.压力脉动生物反应器与固态发酵[J].化工科技市场,2000,(3):5-6.
- [8] 陈洪章,李佐虎.固态发酵新技术及其反应器的研制[J].化工

(下转第 23 页)

表3 酵母菌在不同 pH 中的产气情况

菌株编号	酸度 (pH 值)				
	3.96	2.99	2.03	1.50	1.01
B1C2	+++	+++	+++	+++	-
A1B11	+++	+++	+++	+++	-
A4C13	+++	+++	+++	+++	-
A2B22	+++	+++	+++	-	-
A2B2	+++	+++	+++	+	-

2.2.4 酵母菌产香能力的比较

酿酒酵母应具有较强的产酯能力,所以选择果酒酵母的标准之一是在同等条件下有较强的产酯能力,产酯能力的强弱主要依靠嗅觉判断。本试验对上述3株酵母菌进行了产酯筛选^[11],选出了1株产酯能力较强的酵母菌 A4C13,菌株来自菠萝果肉。

将上述各项测试结果(产气性能、产酒精能力、耐酒精能力、耐 SO₂ 能力、耐酸性及产酯能力)综合分析,确定 A4C13 为最优菌株。

3 讨论

适合菠萝果酒酿造的优良酵母菌株不仅应具有较强的起酵能力、发酵能力和良好的耐乙醇、耐 SO₂、耐酸能力,更重要的是能酿制出品质好的菠萝果酒。因而,必须进行酿制菠萝果酒发酵试验,并对其酿造的菠萝果酒进行理化指标分析和感官评价。只有酿造出残糖低、酒精含量高、酒质好的优质菠萝果酒的菌株才有可能适合菠萝果酒酿造的优良酵母菌株。这与 Mangas^[12]认为优良的果酒酿造酵母所应具有的特性是吻合的^[12]。但本研究的所有试验都是在实验室条件下进行的,故此菌株在实际

(上接第20页)

- 进展, 2002, 21(1):37-39.
- [9] 陶玉贵, 汤斌, 黄伟, 等. 环境条件对压力脉动发酵生产苏云金芽孢杆菌的影响[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(5):466-468.
- [10] 李宏强, 陈洪章. 固态发酵的参数周期变化对微生物发酵的影响[J]. 生物工程学报, 2005, (5):440-445.
- [11] 付小果. 压力脉动周期刺激对固态发酵微生物信息传递的影响[D]. 北京: 北京化工大学, 2006.
- [12] 徐福建. 新型纤维素酶固态发酵[D]. 北京: 中国科学院过程工程研究所, 2002.
- [13] 陶玉贵, 项骝文, 周大潮. 压力脉动发酵生产酸性蛋白酶饲料的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2003, (3):23-24.
- [14] 徐福建, 陈洪章, 邵曼君, 等. 纤维素酶固态发酵环境扫描电镜观察[J]. 电子显微学报, 2002, 21(1):25-29.
- [15] Xu Fujian, Chen Hongzhang, Li Zuohu. Effect of periodically dynamic changes of air on cellulose production in solid-state fermentation[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30: 45-48.
- [16] 徐福建, 陈洪章, 李佐虎. 纤维素酶气相双动态固态发酵[J].

生产中的作用效果, 还需进行进一步的中试实验验证。

参考文献:

- [1] 悉惠萍. 中国果酒[M]. 北京: 轻工业出版社, 1991.
- [2] 潘咏梅. 菠萝汁及加工、发酵过程中风味变化的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2007.
- [3] 徐飞, 钮福祥, 张爱军, 等. 速溶紫薯粉的加工工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2005, (1):102-104.
- [4] 张翠英. 优良果酒酵母的分离及发酵性能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2006.
- [5] 熊子书. 中国酿造酵母菌的研究—不同酒类酵母筛选与应用(上)[J]. 酿酒科技, 2002, (5):28-32.
- [6] 吴思方, 孙灿. 产酯酵母产酯条件的研究[J]. 武汉工业学院学报, 1996, (1):62-21.
- [7] 李剑芳, 张焱. 发酵猕猴桃汁中产香酵母的分离、鉴定及生长特性的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(9):19-22.
- [8] Cletus P. Kurtzman, Jack W. Fell. The yeasts, A taxonomic study [M]. 4th ed. Florida: ELSEVIER, 2001. Third revised and enlarged edition The Netherlands; Elsevier Science Publisher B.V., 1984.
- [9] 沈昌. 优良果酒酵母菌筛选与紫甘薯酒发酵工艺研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [10] 熊子书. 中国酿造酵母菌的研究——不同酒类酵母筛选与应用(下)[J]. 酿酒科技, 2002, (5):19-21.
- [11] Rainier S, Pretorius I. S. Selection and improvement of wine yeasts[J]. An. Microbiol, 2000, 50(1):15-31.
- [12] J. J. Mangas, C. Cabranes, J. Moreno et al. Influence of cider-making technology on cider taste[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 1994, 27(6):583-586.
- [17] 陈洪章, 李佐虎. 秸秆生态工业建设的关键技术[J]. 农业工程学报, 2001, 17(3):1-4.
- [18] 陈洪章, 邱卫华. 秸秆发酵燃料乙醇关键问题及其进展[J]. 化学进展, 2007, 19(7/8):1116-1121.
- [19] 徐先炉. 白僵菌工业化生产工艺研究[J]. 浙江工业大学学报, 2003, 31(5):520-523.
- [20] 赵华, 张小勇, 李佐虎. 以麦秸为基质豌豆根瘤菌的压力脉动固态发酵[J]. 生物工程学报, 2001, 17(5):598-600.
- [21] 付小果, 陈洪章, 李宏强, 等. 压力脉动固态发酵微生物蛋白质及机理的研究[J]. 北京化工大学学报, 2006, 33(3):42-46.
- [22] M. Tohyama, T. Patarinska, Ziwen Qiang etc. Modeling of the mixed culture and periodic control for PHB production[J]. Biochemical Engineering Journal, 2002, (10):157-173.
- [23] 宋俊萍, 陈洪章, 马润宇. 甜高粱秆固态发酵制取酒精的研究[J]. 酿酒, 2007, 34(1):81-83.
- [24] 康利平, 刘莉, 刘萍, 等. 甜高粱茎秆固态发酵生产燃料乙醇的研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(7):181-184.