

粟酒裂殖酵母发酵菊芋生产燃料乙醇试验*

汪伦记^{1,2} 董英¹

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013; 2. 河南科技大学食品与生物工程学院, 洛阳 471003)

【摘要】以菊粉为原料,研究了粟酒裂殖酵母的乙醇发酵性能,并考察了温度、初始 pH 值和菊粉质量浓度对乙醇发酵的影响,进而研究了粟酒裂殖酵母发酵菊芋汁和菊芋粉生产乙醇的情况。结果表明:粟酒裂殖酵母能发酵菊粉高产乙醇;该菌株最适发酵温度为 30℃,最适初始 pH 值为 4.0,在此条件下,菊粉质量浓度 200 g/L 时,乙醇质量浓度达到 74.58 g/L,理论转化率为 81.24%;直接发酵菊芋汁和菊芋粉获得更高的乙醇产率,理论转化率分别达到 84.02% 和 86.09%。

关键词: 菊芋 粟酒裂殖酵母 同步糖化发酵 乙醇发酵

中图分类号: S216.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2010)01-0106-05

Ethanol Production from Jerusalem Artichoke
Using *Schizosaccharomyces pombe*

Wang Lunji^{1, 2} Dong Ying¹

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. School of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract

The ethanol fermentation capability of *Schizosaccharomyces pombe* from inulin was investigated. The effects of temperature, inulin concentration, and initial pH value on the ethanol fermentation were studied. The ethanol production from Jerusalem artichoke juice and flour were further studied. Experimental results showed that *S. pombe* demonstrated good ethanol fermentation performance. The optimum initial pH value was 4.0, and the optimum temperature was 30℃. Under the optimal conditions, the maximum ethanol concentration of 74.58 g/L, equivalent to 81.24% of the theoretical yield, was reached from 200 g/L inulin concentration after 72 h of incubation. Higher theoretical conversion rates of 84.02% and 86.09% were obtained when Jerusalem artichoke juice and flour were directly used in fermentation, respectively.

Key words Jerusalem artichoke, *Schizosaccharomyces pombe*, Simultaneous saccharification and fermentation, Ethanol production

引言

菊芋 (Jerusalem artichoke), 俗名洋姜, 原产北美, 目前在中国广泛种植。菊芋块茎富含菊粉, 占其干质量的 68% ~ 83%^[1]。菊粉是果糖经 β-2,1-糖苷键聚合而成的一种果聚糖, 呈直链结构, 末端常含

有一个葡萄糖基^[2], 常用来生产高果糖浆^[3], 也可以用来生产乙醇^[4-5]。菊芋适应性强, 耐贫瘠、耐寒、耐旱, 特别适合在沙漠、滩涂、盐碱荒地等非农业耕地种植, 且产量高, 价格低廉。作为一种果糖基能源植物, 菊芋与小麦、玉米等粮食类淀粉质原料相比, 具有不占耕地、无需液化等优势, 是我国非粮燃

收稿日期: 2009-04-28 修回日期: 2009-09-27

* 镇江市农业攻关项目 (NY2006043)

作者简介: 汪伦记, 博士生, 河南科技大学讲师, 主要从事微生物与发酵工程研究, E-mail: w_lunji@sohu.com

通讯作者: 董英, 教授, 博士生导师, 主要从事食品功能因子和食品生物技术研究, E-mail: ydong@ujs.edu.cn

料乙醇生产及其产业规模化发展可选择的原料之一^[6]。

以菊芋为原料生产乙醇很早就受到国内外的关注。20 世纪 50 年代以来,国内外学者先后报道了各种以菊粉为原料生产乙醇的工艺技术^[7-10],包括首先酸解或酶解菊粉生成单糖,再利用酿酒酵母发酵生成乙醇的分步糖化发酵工艺(SHF)和利用产菊粉酶的微生物与酿酒酵母进行混合培养的同步糖化发酵工艺(SSF)。

本文使用粟酒裂殖酵母(*S. pombe*)进行单菌同步糖化发酵菊芋生产燃料乙醇的试验。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

粟酒裂殖酵母购自中国工业微生物菌种保藏管理中心;酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*,耐高温和耐高糖)购自湖北安琪酵母公司;酿酒酵母(*S. cerevisiae*)和马克斯克鲁维酵母(*K. marxianus*)为实验室保存。

1.1.2 菊芋粉和菊粉

菊芋购自安徽省滁州市,鲜菊芋经洗净、切片、晾晒、干燥、粉碎后置于干燥环境中保存备用;菊粉,购自北京威德生物科技有限公司。

1.1.3 培养基

(1) 斜面培养基。豆芽汁蔗糖琼脂培养基,接种一环菌种于豆芽汁蔗糖琼脂斜面培养基,30℃,培养 72 h,储于 4℃ 冰箱备用。

(2) 种子培养基 *S. pombe* 和 *K. marxianus*:菊粉 20 g/L,酵母膏 15 g/L,蛋白胨 20 g/L,pH 值 4.6;*S. cerevisiae*:豆芽汁蔗糖培养基。121℃ 灭菌 20 min 备用。

(3) 发酵培养基

三角瓶发酵:菊粉(按试验要求配制所需质量浓度,g/L),酵母膏 15 g/L,蛋白胨 20 g/L,除特别指出外,初始 pH 值均用稀盐酸调节至 4.0,115℃ 灭菌 35 min。

5 L 发酵罐:菊芋汁、菊芋粉配成的培养基,用稀盐酸调节初始 pH 值至 4.0,115℃ 灭菌 35 min。

1.2 试验方法

1.2.1 种子液的制备

酵母接入种子培养基中,30℃ 振荡培养 48 h,使细胞浓度达到 1×10^8 个/mL 以上。

1.2.2 *S. pombe* 的乙醇发酵性能

每个三角瓶装入 100 mL、200 g/L 菊粉发酵液,分别接入乙醇发酵菌种,接种量 5%,30℃ 静止培

养,定时称量,记录 CO₂ 失重,估计发酵状况。发酵结束后,全部倒入全玻璃蒸馏器进行乙醇蒸馏,测定乙醇含量,对比 *S. pombe* 和 *S. cerevisiae* 的乙醇发酵性能。

1.2.3 温度对乙醇发酵的影响

配制 200 g/L 菊粉发酵液,接入 *S. pombe*,接种量 5%,分别在 25、28、30、33 和 37℃ 培养 72 h,进行乙醇发酵,考察温度对乙醇发酵的影响,确定最佳发酵温度。

1.2.4 初始 pH 值对乙醇发酵的影响

配制 200 g/L 菊粉溶液,初始 pH 值分别为 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5,接种量 5%,30℃ 培养 72 h,考察 pH 值对乙醇发酵的影响,确定最佳 pH 值。

1.2.5 菊粉质量浓度对乙醇发酵的影响

选择 150、200、250 和 300 g/L 4 种菊粉质量浓度进行试验,接种量 5%,30℃ 培养 72 h,研究乙醇得率,确定最佳原料质量浓度。

1.2.6 菊芋汁发酵

鲜菊芋加适量水,粉碎打浆,纱布过滤去除残渣,菊芋汁 80℃ 加热 15 min 灭酶,以防褐变,蒸发浓缩至总糖质量浓度为 200 g/L,接种发酵,接种量 5%,温度 30℃,转速 200 r/min。

1.2.7 菊芋粉发酵

以 100 目筛分菊芋粉为底物进行乙醇发酵,菊芋粉质量浓度 200 g/L,温度 30℃,转速 200 r/min,接种量 5%。

1.3 分析方法

(1) 乙醇质量浓度的测定^[11]:HP4890D 气相色谱工作站,填料 Porapak-Q 粒度 80~100 目,长 2 m,外径 3 mm,内径 2 mm。气化室、色谱柱及热导检测器的温度分别为 150、120、150℃。

理论转化率^[12]为

$$T_i = \frac{C_E}{0.51C_f} \times 100\%$$

式中 C_E ——乙醇的质量浓度,g/L

C ——菊粉或菊芋粉质量浓度,g/L

f ——威德菊粉或菊芋粉中初始总糖质量分数(总糖质量分数定义为原料中菊粉和还原糖质量分数总和,试验测定菊芋粉中总糖质量分数为 75%,威德菊粉为 90%)

其中糖转换为乙醇的换算系数为 0.51。

(2) 还原糖和总糖的检测:还原糖测定采用 DNS 比色定糖法^[13];总糖测定以还原糖计,定量待测样品于 0.05 mol/L HCl 中,沸水浴中回流水解 1 h,用 0.05 mol/L NaOH 调成中性^[9]。

(3) 酶活测定^[14]:0.5 mL 酶液(若必要,适当稀释)加入到 4.5 mL 质量分数 2% 的蔗糖溶液(pH 值 4.8 的 0.2 mol/L 醋酸缓冲液配制),55℃ 反应 10 min,沸水灭活。DNS 法测还原糖含量。外切菊粉酶活力定义为:以蔗糖为底物,每分钟水解 1 μmol 蔗糖所需的酶量为一个酶活力单位。

(4) 酵母浓度的测定^[15-16]:采用血球板计数,活细胞浓度测定采用美兰染色。

2 结果与讨论

2.1 *S. pombe* 的乙醇发酵性能

S. pombe 和 *S. cerevisiae* 发酵菊粉产乙醇对比试验结果,如表 1 所示。由表 1 可知,*S. pombe* 乙醇发酵能力高于 *S. cerevisiae*,其乙醇质量浓度达到 73.64 g/L,理论转化率为 80.21%;而 *S. cerevisiae* 的乙醇质量浓度和理论转化率只达到 40 g/L 和 40% 左右,且其发酵时间比 *S. pombe* 长。出现这种现象的原因是由于 *S. cerevisiae* 不能直接发酵菊粉产乙醇,只有 *K. marxianus* 分泌胞外的菊粉外切酶先把菊粉分解成果糖,然后 *S. cerevisiae* 再发酵果糖生成乙醇,在这个过程中,*K. marxianus* 分泌菊粉外切酶与 *S. cerevisiae* 发酵果糖无法达到协调一致,而 *S. pombe* 发酵菊粉生产乙醇过程中糖化和发酵同步完成。Ohta^[17],Nakamura^[9]和 Szambelan^[10]等人利用高产菊粉外切酶的微生物,如 *Aspergillus niger* 和 *Kluyveromyces fragilis* 和乙醇发酵性能优良的 *S. cerevisiae* 进行混合发酵菊粉产乙醇,并达到较高乙醇产量,理论转化率也达到 80% 以上。但由于糖化和乙醇发酵分别由两种微生物完成,造成发酵周期较长,需要 5 d 以上,而 *S. pombe* 仅需 72 h。以菊粉为原料进行燃料乙醇的工业化生产中,*S. pombe* 的同步糖化发酵比混菌发酵的同步糖化发酵相比,减少了发酵环节,缩短发酵周期。

表 1 *S. pombe* 或 *S. cerevisiae* 的菊粉乙醇发酵

Tab.1 Ethanol production from inulin by SSF using *S. pombe* or *S. cerevisiae*

菌株	乙醇质量 浓度/g·L ⁻¹	理论转 化率/%	发酵 时间/h
<i>K. marxianus</i> + <i>S. cerevisiae</i> (thermal-tolerance)	39.02	42.51	168
<i>K. marxianus</i> + <i>S. cerevisiae</i> (sugar-tolerance)	37.85	41.23	144
<i>K. marxianus</i> + <i>S. cerevisiae</i>	41.89	45.63	120
<i>S. pombe</i>	73.64	80.21	72

2.2 乙醇发酵进程中菊粉酶活和 *S. pombe* 增长

在以菊粉为原料发酵生成乙醇的过程中,菊粉酶控制菊粉生成果糖,因此发酵过程中菊粉酶的活性会影响对菊粉的水解,进而可能影响乙醇产量和发酵进程。为此,对 *S. pombe* 利用菊粉(200 g/L)生产乙醇过程中菊粉酶活性进行了研究,结果如图 1 所示。从图中可以看出,在乙醇发酵过程中,胞外菊粉外切酶活性很低,只有 2 U/mL 左右,整个发酵过程酶活变化幅度很小,但低菊粉酶活性对乙醇发酵没有影响,*S. pombe* 经过短暂的延滞期后,快速分解菊粉生成乙醇,至 72 h 乙醇发酵结束,此时乙醇质量浓度达到 72.97 g/L(图 2)。而葛向阳等^[18]利用 *A. niger* SL-09 和 *S. cerevisiae* Z-06 发酵菊芋生产燃料乙醇的试验中发现,菊粉外切酶是整个过程中最关键一环,高活性菊粉外切酶能缩短发酵周期、降低残糖、提高乙醇产量和转化率。对此有待进行进一步的深入研究。

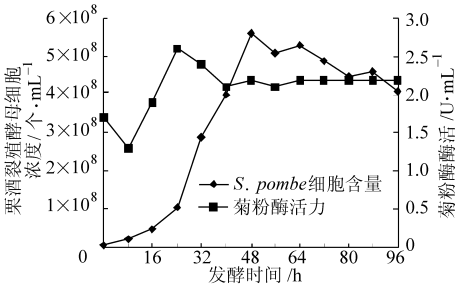


图 1 乙醇发酵过程中菊粉酶活性和 *S. pombe* 细胞含量

Fig.1 Activity of inulinase and *S. pombe* concentration in the broth

由图 1 和图 2 还可看出,在乙醇质量浓度快速增长时,同时伴随着 *S. pombe* 的快速增长,细胞浓度初始细胞含量为 0.53×10^7 个/mL,48 h 细胞含量为 5.67×10^8 个/mL,达到最高,96 h 发酵结束后下降到 4.12×10^8 个/mL。发酵后期细胞含量的下降可能由于发酵液中可发酵糖的耗尽和乙醇对酵母细胞的抑制作用。

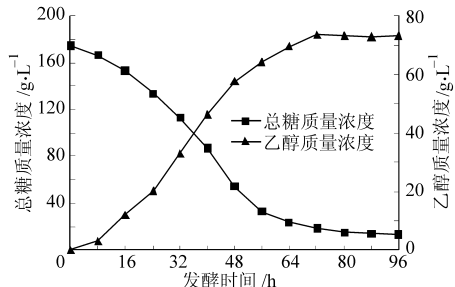


图 2 菊粉乙醇发酵

Fig.2 Ethanol production from inulin using *S. pombe*

2.3 温度对乙醇发酵的影响

温度是微生物生长的重要环境条件之一,不但影响 *S. pombe* 生长和繁殖,同时也影响乙醇发酵酶

系的分泌和活性,所以研究温度对 *S. pombe* 在乙醇发酵中的影响,对提高发酵生产的效率具有十分重要的意义。由图 3 可知,*S. pombe* 最适发酵温度为 30℃,乙醇质量浓度达 74.12 g/L,28℃ 和 33℃ 也具有较高的乙醇质量浓度,分别为 64.12 g/L 和 67.49 g/L,而在 25℃ 和 37℃ 进行发酵时,乙醇质量浓度只有 42.98 g/L 和 46.41 g/L。

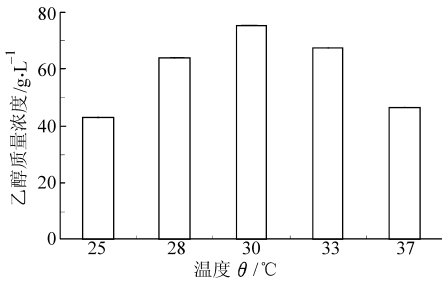


图 3 培养温度对乙醇发酵的影响

Fig. 3 Effect of temperatures on ethanol production

2.4 不同初始 pH 值对乙醇发酵的影响

pH 值是影响微生物生长的另一重要因素,通过影响酶的活性而影响发酵。由图 4 可知,粟酒裂殖酵母最适发酵初始 pH 值为 4.0 左右,乙醇质量浓度达到 74.19 g/L。发酵结束后,发酵液的 pH 值比初始时有不同幅度的下降。高的初始 pH 值导致发酵液褐变,同时溶液变粘稠,流动性变差,乙醇产量也随初始 pH 值的升高而下降,这可能是由于分解菊粉的酶和发酵糖产乙醇的酶系受 pH 值升高而导致酶活下降的缘故。

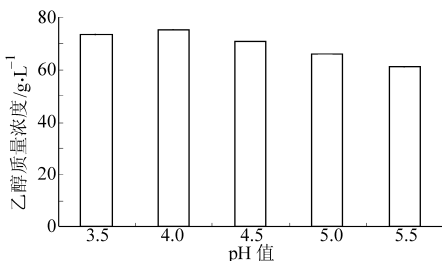


图 4 不同初始 pH 值对乙醇发酵的影响

Fig. 4 Effect of initial pH on ethanol production

2.5 原料质量浓度对乙醇发酵的影响

原料质量浓度对乙醇发酵有重要的影响,乙醇发酵是典型的产物抑制,在乙醇体积分数达到 4% 左右时,就开始产生抑制,发酵速度逐渐降低直至停止^[19],因此原料质量浓度过高会导致原料利用不完全。为尽量提高原料的利用率,常常采用较低质量浓度的原料进行乙醇发酵,但质量浓度的降低会造成发酵结束后发酵液乙醇含量低,增大了蒸馏的能耗。因此,对不同质量浓度菊粉溶液进行了发酵产乙醇的试验,对比不同质量浓度菊粉溶液的乙醇产量和理论转化率,以确定合适的发酵质量浓度。从表 2 可知,乙醇质量浓度随菊粉质量浓度的增加而

增加,但理论转化率却降低,300 g/L 和 250 g/L 菊粉溶液乙醇质量浓度达到 91.97 g/L 和 84.79 g/L,而其理论转化率只有 66.79% 和 73.89%,200 g/L 菊芋粉溶液发酵产乙醇其理论转化率达 81.24%,乙醇质量浓度达到 74.58 g/L,达到较高转化率;150 g/L 菊芋粉溶液发酵产乙醇虽然理论转化率达到 88.91%,但乙醇质量浓度偏低,只有 61.22 g/L。

表 2 菊粉质量浓度对乙醇发酵的影响

Tab.2 Effect of inulin concentration on ethanol production		
菊粉质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	乙醇质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	理论转化率/%
150	61.22	88.91
200	74.58	81.24
250	84.79	73.89
300	91.97	66.79

2.6 菊芋汁乙醇发酵研究

S. pombe 能发酵菊粉产乙醇,但菊粉的生产成本较高,无法应用于工业化生产。因此,对 *S. pombe* 发酵菊芋汁的效果进行了研究,结果如图 5 所示。由图 5 可知,*S. pombe* 能快速发酵菊芋汁产乙醇,56 h 乙醇发酵结束,乙醇质量浓度达到 85.69 g/L,理论转化率为 84.02%。与发酵菊粉产乙醇相比,可获得更高的理论转化率,且达到最大乙醇质量浓度的发酵时间缩短了 16 h。

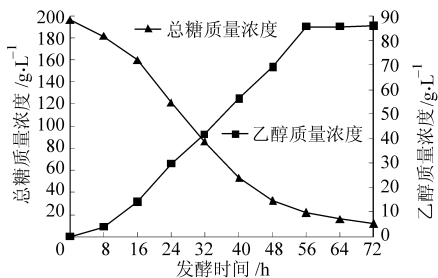


图 5 菊芋汁乙醇发酵

Fig. 5 Ethanol production from Jerusalem artichoke juice using *S. pombe*

2.7 菊芋粉乙醇发酵研究

不需补充添加任何营养成分,*S. pombe* 能直接发酵菊芋汁产乙醇。在此研究的基础上,对以菊芋粉(200 g/L)为原料的乙醇发酵进行了试验,结果如图 6 所示。由图 6 可知,*S. pombe* 也能快速发酵菊芋粉产乙醇,56 h 乙醇发酵结束,此时乙醇质量浓度和理论转化率分别为 65.86 g/L 和 86.09%。发酵结束后,发酵液中总糖质量浓度仅有 7.02 g/L,95.31% 糖被消耗。

与分步糖化发酵工艺相比,*S. pombe* 同步糖化发酵菊粉产乙醇不仅省去了菊粉酶解步骤,而且可以防止因菊粉降解物糖的积累抑制乙醇发酵的现

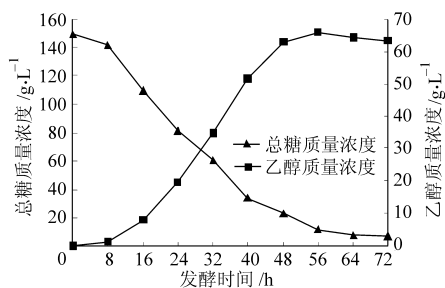


图6 菊芋粉乙醇发酵

Fig.6 Ethanol production from Jerusalem artichoke flour using *S. pombe*

象^[20],有利于维持较高的乙醇生产强度;与混菌培养的同时糖化发酵工艺相比,糖化和发酵都由粟酒裂殖酵母完成,更易于进行产菊粉酶条件和乙醇发酵条件的同步优化,而与淀粉质原料相比,菊芋粉不需蒸煮和预先糖化,可直接进行发酵,从而减少了液化和糖化大量的能耗。在工业化生产时,减少了液

化和糖化设备的投资和能耗,乙醇的生产成本也得到降低。

3 结论

(1) *S. pombe* 能同步糖化发酵菊粉产乙醇且乙醇发酵性能优良,在 pH 值 4.0、温度 30℃ 的优化发酵条件下,200 g/L 菊粉溶液发酵产乙醇其理论转化率达到 81.24%,乙醇质量浓度达到 74.58 g/L。发酵过程中低菊粉酶活性对乙醇发酵没有影响。*S. pombe* 发酵菊芋汁和菊芋粉获得更高的乙醇产率,理论转化率分别达到 84.02% 和 86.09%。

(2) *S. pombe* 发酵菊粉产乙醇的糖化与发酵同步完成的特性使其比利用 *S. cerevisiae* 或 *Zymomonas mobile* 作为乙醇发酵菌株更有优势,能避免糖化与发酵分步进行;这可以降低乙醇发酵的成本和缩短乙醇发酵时间。

参 考 文 献

- Fleming S E, Groot Wassink J W. Preparation of high-fructose syrup from the tubers of the Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) [J]. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 1979, 12(1): 1~28.
- Gill P K, Manhas R K, Singh P. Hydrolysis of inulin by immobilized thermostable extracellular exoinulinase from *Aspergillus fumigatus* [J]. J. Food Eng., 2006, 76(3): 369~375.
- 王建华, 刘艳艳, 姚斌, 等. 高产菊粉酶酵母筛选、发酵和酶学性质研究 [J]. 生物工程学报, 2000, 16(1): 60~64. Wang Jianhua, Liu Yanyan, Yao Bin, et al. A study on screening and high density cell cultivation of a yeast strain *Kluyveromyces* with high inulinase yielding and its enzymology properties [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2000, 16(1): 60~64. (in Chinese)
- Bourgi J, Guiraud J P, Galzy P. Isolation of a *Kluyveromyces fragilis* derepressed mutant hyperproducer of inulinase for ethanol production from Jerusalem artichoke [J]. J. Ferment Technol., 1986, 64(3): 239~243.
- Allais J J, Favella Torres E, Baratti J. Continuous production of ethanol with *Zymomonas mobilis* growing on Jerusalem artichoke juice [J]. Biotechnol. Bioeng., 1987, 29(6): 778~782.
- 姜岷, 韦萍, 卢定强, 等. 后化石经济时代工业生物技术发展的若干思考 [J]. 化工进展, 2006, 25(10): 1119~1123. Jiang Min, Wei Ping, Lu Dingqiang, et al. Considerations on the development of industrial biotechnology of post-petroleum epoch [J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2006, 25(10): 1119~1123. (in Chinese)
- Rosa M F, Vieira A M, Bartolomeu M L, et al. Production of high concentration of ethanol from mash, juice and pulp of Jerusalem artichoke tubers by *Kluyveromyces fragilis* [J]. Enzyme Microb. Technol., 1986, 8(11): 673~676.
- Kim C H, Rhee S K. Ethanol production from Jerusalem artichoke by inulinase and *Zymomonas mobile* [J]. Appl. Biochem. Biotechnol., 1990, 23(2): 171~180.
- Nakamura T, Ogata Y, Hamada S, et al. Ethanol production from Jerusalem artichoke tubers by *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J. Ferment Bioeng., 1996, 81(6): 564~566.
- Szambelan K, Nowak J, Czarnecki Z. Use of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed with *Kluyveromyces fragilis* for improved ethanol production from Jerusalem artichoke tubers [J]. Biotech. Lett., 2004, 26(10): 845~848.
- 罗鹏, 刘忠, 杨传民, 等. 蒸汽爆破麦草同步糖化发酵转化乙醇的研究 [J]. 化学工程, 2007, 35(12): 42~45. Luo Peng, Liu Zhong, Yang Chuanmin, et al. Study of simultaneous saccharification and fermentation for steam exploded wheat straw to ethanol [J]. Chemical Engineering, 2007, 35(12): 42~45. (in Chinese)
- Kim T H, Taylor F, Hicks K B. Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) pretreatment [J]. Bioresource Technol., 2008, 99(13): 5694~5702.

5 周涛,许时婴,王璋,等. 热处理对微加工茭白的质构与色泽的影响[J]. 无锡轻工大学学报, 2002, 21(3): 281 ~ 284.
Zhou Tao, Xu Shiyong, Wang Zhang, et al. Effect of heat treatment on texture and color changes in minimally processed water bamboo[J]. Journal of Wuxi University of Light Industry, 2002, 21(3): 281 ~ 284. (in Chinese)

6 Lurie S. Postharvest heat treatments[J]. Postharvest Biol. Technol. , 1998,14(3): 257 ~ 269.

7 刘尊英,吕艳春,姜微波. 1-甲基环丙烯及乙烯对绿芦笋采后品质的影响[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(6): 26 ~ 28.
Liu Zunying, Lü Yanchun, Jiang Weibo. Effects of 1-MCP and ethylene on postharvest quality of green asparagus[J]. Journal of China Agricultural University, 2003, 8(6): 26 ~ 28. (in Chinese)

8 Luo Z S, Xu X L, Cai Z Z, et al. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on lignification of postharvest bamboo shoot[J]. Food Chem. , 2007,105: 521 ~ 527.

9 郜海燕,杨剑婷,陈杭君,等. 气调小包装对去壳茭白品质的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1 990 ~ 1 994.
Gao Haiyan, Yang Jianting, Chen Hangjun, et al. Studies on the effect of peeled fewflower wildrice storage with atmosphere-controlled small package[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(12): 1 990 ~ 1 994. (in Chinese)

10 罗自生,徐晓玲,严碧芳. 热处理对轻度加工竹笋品质和生理的影响[J]. 农业机械学报, 2008, 39(1): 64 ~ 67.
Luo Zisheng, Xu Xiaoling, Yan Bifang. Influence of heat treatment on quality and physiology of lightly processed bamboo shoot[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(1): 64 ~ 67. (in Chinese)

11 郑炳松. 现代植物生理生化研究技术[M]. 北京:气象出版社, 2006: 65 ~ 66.

12 许安邦,林维宣. 食品分析[M]. 北京:中国轻工出版社, 1994: 211 ~ 213.

13 Cai C, Chen K S, Xu W P, et al. Effect of 1-MCP on postharvest quality of loquat fruit[J]. Postharvest Biol. Technol. , 2006,40(2): 155 ~ 162.

(上接第 110 页)

13 彭源德,郑科,杨喜爱,等. 苧麻纤维质酶降解生产生物燃料乙醇的工艺[J]. 农业工程学报, 2007, 23(4):6 ~ 10.
Peng Yuande, Zheng Ke, Yang Xiai, et al. Technology for producing bio-ethanol from ramie lignocellulosic degradation with enzymes[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(4):6 ~ 10. (in Chinese)

14 Mazutti M, Bender J P, Treichel H, et al. Optimization of inulinase production by solid-state fermentation using sugarcane bagasse as substrate[J]. Enzyme Microb. Technol. , 2006, 39(1):56 ~ 59.

15 Borzani W, Vario M L R. Quantitative adsorption of methylene blue by dead yeast cells[J]. J. Bacteriol, 1958, 76(3): 251 ~ 255.

16 Alfenore S, Molina-Jouve C, Guillouet S E, et al. Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process[J]. Appl. Microbiol Biotechnol. , 2002, 60(1 ~ 2):67 ~ 72.

17 Ohta K, Hamada S, Nakamura T. Production of high concentrations of ethanol from inulin by simultaneous saccharification and fermentation using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Appl. Environ. Microbial. , 1993, 59(3):729 ~ 733.

18 Ge X Y, Zhang W G. A shortcut to the production of high ethanol concentration from Jerusalem artichoke tubers[J]. Food Technol. Biotechnol. , 2005, 43(3):241 ~ 246.

19 刘振,王金鹏,张立峰,等. 木薯干原料同步糖化发酵生产乙醇[J]. 过程工程学报, 2005, 5(3):354 ~ 356.
Liu Zhen, Wang Jinpeng, Zhang Lifeng, et al. Production of ethanol by simultaneous saccharification and fermentation from cassava[J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2005, 5(3):354 ~ 356. (in Chinese)

20 Stenberg K, Galbe M, Zacchi G. The influence of lactic acid formation on the simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of softwood to ethanol[J]. Enzyme Microb. Technol. , 2000, 26(1):71 ~ 79.