

# 秸秆沼气发酵预处理微生物菌剂的筛选与特征研究

张瑞, 张熠依, 田鲲鹏, 曹婉露, 乔维川\* (南京林业大学化学工程学院环境工程系, 江苏南京 210037)

**摘要** [目的] 研究添加微生物菌剂对秸秆沼气发酵产气效果的影响。[方法] 从沼气发酵液、树木土壤和堆肥中分离出多种微生物。通过初筛、复筛、拮抗试验等方法保留其中 10 种进行菌株配伍, 选择产酶最高的 4 种微生物组合研制微生物菌剂。[结果] 4 种产酶最高的微生物组合中 12 号纤维素酶活最高, 为 11.398 U/ml; 8 号漆酶酶活最高, 为 0.083 U/ml。6 号微生物菌剂与秸秆的投料质量比为 1:50 时, 产气量最高。[结论] 该研究制备的复合微生物菌剂, 作为秸秆沼气发酵预处理菌剂具有良好的应用前景。

**关键词** 秸秆; 微生物菌剂; 沼气发酵

**中图分类号** S181.3; X172 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)11-0334-04

## Research on the Microbial Agents for Pretreatment of Biogas Fermentation

ZHANG Rui, QIAO Wei-chuan et al (Department of Environmental Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the effect of agents for pretreatment of biogas fermentation by adding microbial agents. [Method] A variety of microorganisms were isolated from methane fermentation broth, trees and compost in the soil. Ten kinds of them were retained through screening, rescreening and antagonistic experiments. Four kinds of microorganisms with highest enzyme activity were retained for the development of microbial agents. [Result] The results showed that No. 12 and No. 8 groups of microorganisms owned the highest cellulase activity and laccase activity of 11.398 U/ml and 0.083 U/ml, respectively. Among all combinations, the gas production of No. 6 was highest with No. 6 agents and straw feed ratio of 1:50. [Conclusion] The compound microbial agents prepared in this study had excellent application prospects as biogas fermentation agents with straws.

**Key words** Straw; Microbial agents; Biogas fermentation

我国每年可产生农作物秸秆约 7 亿 t<sup>[1]</sup>, 其最主要的利用方式为直接燃烧, 这样既造成了资源的浪费, 又对生态环境造成了严重的破坏。研究表明, 以秸秆为原料发酵产气潜力非常巨大<sup>[2-3]</sup>, 能源回收率可达 52.18%<sup>[4]</sup>。2010 年, 我国沼气产量超过了 130 亿 m<sup>3</sup>, 生物气使用者达到了 1.5 亿人<sup>[5]</sup>。秸秆类物质因含有大量的纤维素、木质素、半纤维素等而不易降解<sup>[6]</sup>, 若将秸秆直接入池发酵, 秸秆表面的蜡质层未被破坏而易漂浮结壳, 导致产气不佳。故在秸秆入池之前需对其进行预处理<sup>[7-9]</sup>。经过发酵剂的腐解, 原料中大分子有机物质充分分解为小分子糖类和酸类物质, 从而促进发酵, 使产气量增加<sup>[10]</sup>。

与物理法、化学法相比, 微生物预处理具有条件温和、成本低和不存在环境污染等特点。近年来科研工作者采用紫外、DES、硫酸二乙酯、<sup>60</sup>Co<sup>-</sup>射线诱变等单一或复合诱变方法, 不断筛选出高效降解纤维素的菌株<sup>[11-14]</sup>。同时, 降解木质素的研究也有了一定的进展。如刘庆玉等分离筛选出 1 株木质素降解菌 X3, 其 35 d 对木质素的降解率达 43.31%<sup>[15]</sup>; 陈敏等利用紫外诱变选育及高效筛选技术, 从活性污泥中选育出高效降解黑液中木质素的优势混合菌和单一菌等<sup>[16]</sup>。然而, 木质纤维素的完全降解是真菌、细菌及相应微生物群落共同作用的结果<sup>[17]</sup>。有不少研究尝试使用复合菌来处理木质纤维素<sup>[18-19]</sup>, 以期达到快速降解的目的。鉴于此, 笔者从沼气发酵液、树木土壤和堆肥中分离出多种好氧及厌氧微生物, 并筛选出其中对木质素降解效果较好的菌种进行配伍, 制备成专性的微生物预处理菌剂, 以期对秸

秆沼气发酵的效果起到更好的促进作用。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 微生物来源: 实验室储备的猪粪加秸秆厌氧沼气发酵罐的沼液、堆肥、树木土壤。秸秆: 连云港某农田。猪粪: 南京浦口区某养猪场。

**1.2 培养基**<sup>[20]</sup> 培养基 I: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.225 g; MgSO<sub>4</sub>, 0.090 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.225 g; CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.030 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.225 g; 酵母膏, 0.100 g; NaCl, 0.450 g; 秸秆粉, 20 g; L-半胱氨酸, 0.5 g, 蒸馏水, 1 000 ml。用于从沼液中分离各种微生物。培养基 II: 牛肉膏蛋白胨培养基, 用于分离细菌。培养基 III: 高氏 1 号培养基, 用于分离放线菌。培养基 IV: 查氏培养基, 用于分离霉菌。培养基 V: 马铃薯培养基, 用于分离真菌。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 菌种的分离。** 利用培养基 I, 通过稀释平板法, 从沼气发酵液中分离出好氧及兼型厌氧两种条件下的多种微生物, 为第一部分微生物。

好氧方法为: 用保鲜膜将平板包裹, 倒置, 放入 30 ℃ 恒温培养箱中进行培养; 兼型厌氧方法为: 用保鲜膜将平板包裹, 倒置, 放在真空干燥器中。然后将真空干燥器抽真空, 再充满 N<sub>2</sub>, 最后放入 30 ℃ 恒温培养箱中进行培养。

利用培养基 II-V, 通过稀释平板法分别从树木土壤和堆肥中分离出多种微生物, 为第二部分微生物。

**1.3.2 菌种的初筛。** 对于第一部分微生物, 利用液态培养基 I, 分别进行富集培养, 置于 30 ℃ 恒温培养箱内培养 5~7 d。再向其中分别加入相同质量的秸秆, 充分混合, 微生物在秸秆表面生长, 对其进行降解。8~10 d 以后, 对秸秆中的木质素、纤维素、半纤维素的前后含量变化进行测定。从而筛选出降解效果好的优势菌种。

**基金项目** 江苏高校优势学科建设工程资助(PADPD)。

**作者简介** 张瑞(1989-), 男, 江苏连云港人, 硕士研究生, 研究方向: 固体废弃物资源化。\* 通讯作者, 副教授, 博士, 从事环境污染治理与资源化研究。

**收稿日期** 2014-03-04

对于第二部分微生物,用各自的液态培养基进行富集培养,在 30 ℃ 恒温培养箱中培养 5~7 d。取 100 ml 菌液于烘干至恒重的滤纸上过滤,烘干。二者差值即为单位体积菌液中含微生物的质量。筛选出其中质量较大的微生物。

**1.3.3 菌种的复筛。**对“1.3.1”中筛选出来的微生物进行液态培养基 I 发酵培养,5~6 d 后,取适量的菌液。将菌液置于离心机中进行离心,2 500 r/min 10 min 后,取上清液。

用两种方法测定菌液的酶活,即纤维素酶活<sup>[21]</sup>和漆酶酶活<sup>[22]</sup>。根据酶活大小,选择优势菌种。

**1.3.4 菌种拮抗试验。**将“1.3.3”中选出的优势菌种进行两两拮抗试验。根据拮抗试验中微生物的生长情况,舍弃最不易与其他微生物共生的菌株。

**1.3.5 复合微生物菌剂的制备。**

**1.3.5.1 菌种配伍试验。**对“1.3.4”中筛选出的微生物进行配伍。

将每一组组合的微生物混合,在液态富集培养基 I 上培养,培养 3~5 d,测定每一组的纤维素酶活和漆酶酶活。

比较两种酶活的大小,选择较高的 4 组配伍,进行下一步试验。

**1.3.5.2 菌剂的制备。**将筛选出来的 4 种微生物配伍分别接种到加富培养基中进行发酵培养,获得高浓度微生物菌液,将菌液过滤,用蒸馏水反复洗涤 3 次,60 ℃ 低温真空干燥,获得微生物菌剂。

**1.3.5.3 菌剂预处理秸秆沼气发酵。**取 4 组干粉菌剂 0.15 g,分别加入 10 ml 含 100 mg 葡萄糖的溶液中进行糖化 1 d,过滤,与 15 g 秸秆混合,37 ℃ 条件下预处理 5~7 d。然后,将秸秆捞出,与猪粪按干质量 1:5,即 15 g:75 g 混合,进行沼气发酵,中温 37 ℃ 发酵 30 d,并记录每日产气量,与不进行预处理的秸秆进行对比,选出产气量最高的一组菌种。试验装置如图 1 所示。

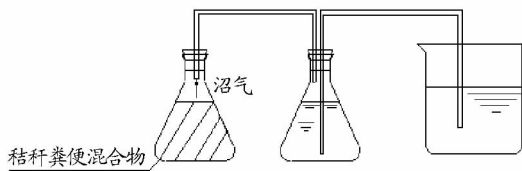


图 1 试验装置示意

**1.3.5.4 菌剂用量最优化试验。**对筛选出的优势菌剂,按不同比例与秸秆混合,进行预处理,放入 37 ℃ 恒温培养箱中,厌氧发酵产沼气。通过沼气流量的大小,最终确定菌剂与秸秆的最佳投料比。

干粉菌剂与秸秆的质量比分别取 1 号 1:1 000、2 号 1:500、3 号 1:100、4 号 1:50 和 5 号 1:20,其中秸秆统一添加 15 g。

## 2 结果与分析

**2.1 菌种的分离** 第一部分微生物:沼液中分离得到 12 种好氧微生物及 12 种厌氧微生物,编号分别为好氧 h1、h2、h3、h4、h5、h6、h7、h8、h9、h10、h11、h12,厌氧 y1、y2、y3、y4、y5、y6、y7、y8、y9、y10、y11、y12。

第二部分微生物:从查氏培养基中分离出了 15 种微生物,编号分别为堆肥来源 zd1、zd2、zd3、zd4、zd5、zd6、zd7、zd8、zd9、zd10、zd11,土壤来源 zt1、zt2、zt3 和 zt4;从高氏 1 号培养基中分离出了 12 种微生物,编号分别为 g1、g2、g3、g4、g5、g6、g7、g8、g9、g10、g11 和 g12;从牛肉膏蛋白胨培养基中分离出了 9 种微生物,编号分别为 n1、n2、n3、n4、n5、n6、n7、n8 和 n9;从马铃薯培养基中分离出了 10 种微生物,分别编号为 m1、m2、m3、m4、m5、m6、m7、m8、m9 和 m10。

**2.2 菌种的初筛** 如图 2 所示,12 种好氧微生物对秸秆的降解率普遍较低,且差异较大。h4 微生物对纤维素的降解率最高,达到 28.05%;h12 微生物对木质素降解率最高,达到 35.84%,其次是 h13。另外,h4、h7、h10 和 h11 对秸秆的降解整体比较平衡。综合考虑所有好氧微生物对秸秆的降解情况,h4、h10 和 h13 这 3 种较优。

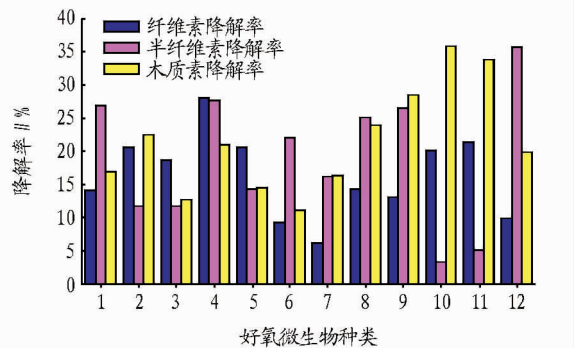


图 2 好氧微生物对秸秆的降解率

对于厌氧微生物而言,y2 微生物对纤维素的降解率最高,达到 33.59%;y10 微生物对木质素的降解率最高,达到 38.17%,其次是 y7 和 y11。y3、y5 和 y8 对纤维素和木质素虽然也具有一定的降解率,但是其对半纤维素的降解率却很低,只有 6.24%、2.14% 和 3.6% (图 3)。由此可知,y2、y7 和 y11 这 3 种微生物的降解率较高。

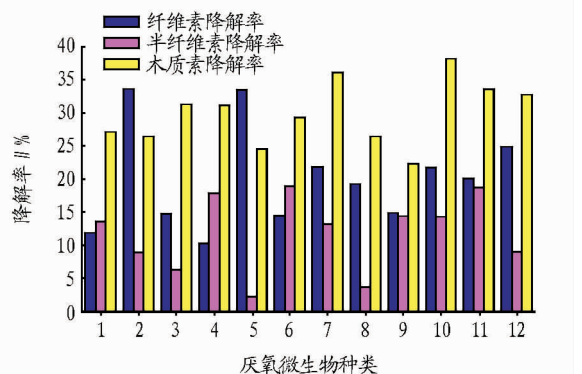


图 3 厌氧微生物对秸秆的降解率

如图 4 所示,查氏培养基分离出的霉菌中,生长量最大的是 zd5、zd10 和 zt4。较其他菌株而言,这 3 株菌种在相同的培养基上生长量最大,微生物浓度更高,因此被选取用来进入下一步试验。另外,结合图 5、6、7,综合考虑生长量大小与微生物的生长速度等因素,从高氏 1 号培养基微生物中选取 g1 和 g8;从牛肉膏蛋白胨培养基微生物中选取 n4 和 n6;从马铃薯培养基微生物中选取 m2、m9 和 m10 进行下一步试验。

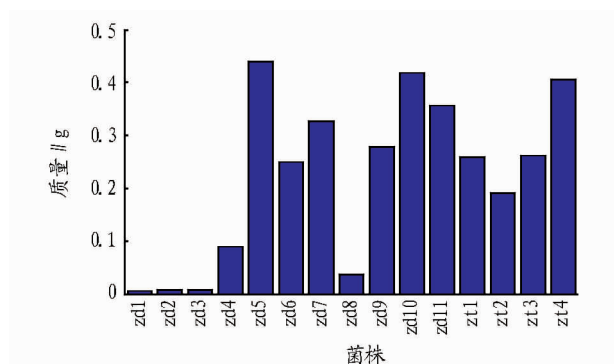


图4 分离出的不同霉菌的生长量

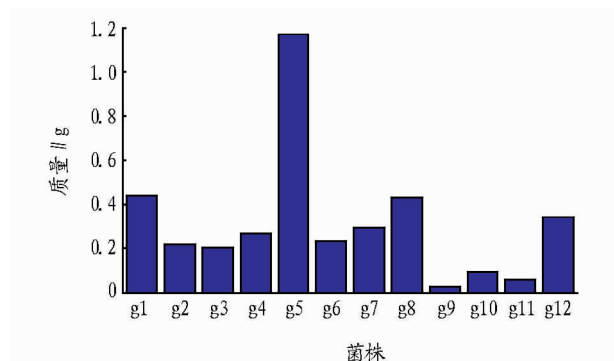


图5 分离出的不同放线菌的生长量

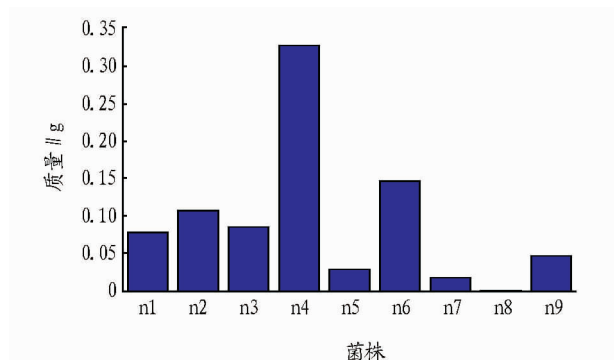


图6 分离出的不同细菌的生长量

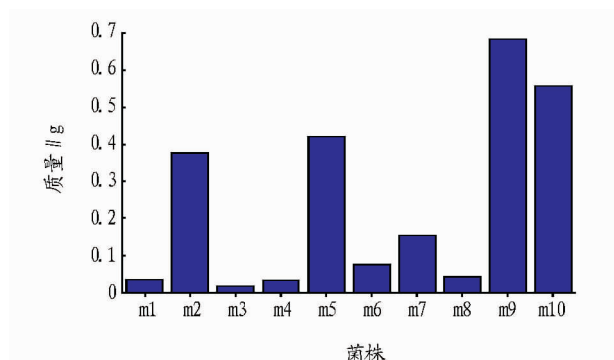


图7 分离出的不同真菌的生长量

**2.3 菌种的复筛** 由图8、9可见,牛肉膏蛋白胨培养基微生物n4和n6,两种酶活的大小均较低,舍弃这两种微生物;对于纤维素酶活而言,较高的是zd10和zt4,分别达到了4.573 U/ml和4.753 U/ml;对于漆酶酶活而言,各种微生物的酶活大小相差不大,基本都在0.01~0.07 U/ml之间。

综合两种酶活的大小,保留h4、h10、h13、y2、y11、m9、

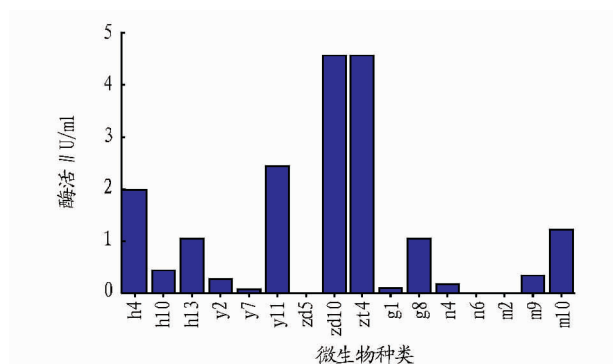


图8 16种微生物纤维素酶活大小

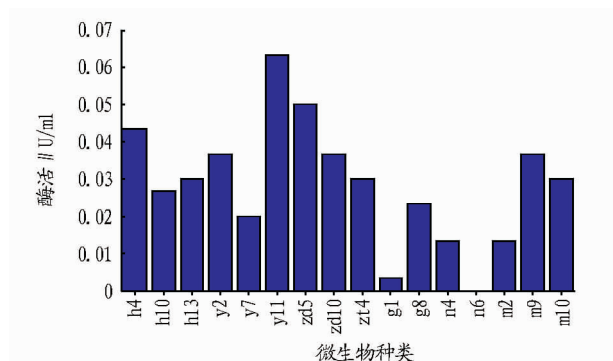


图9 16种微生物漆酶酶活大小

m10、zd5、zd10、zt4、g1和g8,共12种微生物。

**2.4 菌株拮抗试验** 经过培养观察出现zd5和zt4与其他微生物有明显的拮抗现象,不能与其他微生物共存。其他10种微生物可以两两共存,所以保留下来进行下一步试验。这10种微生物分别是h4、h10、h13、y2、y11、m9、m10、zd10、g1和g8。

## 2.5 复合微生物菌剂的制备

**2.5.1 菌种配伍试验。**将筛选出的10种微生物进行配伍,共有12组,依次编号为配伍p1、p2、p3、p4、p5、p6、p7、p8、p9、p10、p11、p12。

将这12组菌株接入液态培养基上培养,培养3~5d,测定每一组菌液的纤维素酶活和漆酶酶活,结果如表1所示。

微生物混合培养可以表现出共生、互生、竞争、拮抗、捕食等多种关系。由表1可见,混合菌群的纤维素酶活较漆酶酶活较大,可达11~12 U/ml,而漆酶酶活只有0.01~0.08 U/ml,且各个菌群的酶活大小不平衡。在所有配伍中,p2、p6、p8和p12表现出了较高的酶活性,所以选出这4种配伍制备菌剂。

**2.5.2 菌剂制备。**将筛选出来的p2、p6、p8和p12微生物配伍分别接种到加富培养基(液态培养基I)中进行发酵培养,获得高浓度微生物菌液,将菌液过滤,用蒸馏水反复洗涤3次,60℃低温真空干燥,获得微生物菌剂。

**2.5.3 菌剂预处理秸秆进行沼气发酵。**将筛选出来的2号、6号、8号和12号微生物配伍分别接种到加富培养基(液态培养基I)中进行发酵培养,获得高浓度微生物菌液,将菌液过滤,用蒸馏水反复洗涤3次,60℃低温真空干燥,获得微生物菌剂。

如图10所示,6号菌剂的每日产量较高,且高产气量的

天数也较多。就累计产气量而言,6号菌剂为5707 ml,比未预处理的2034 ml增加了181%,其他3种菌剂分别为

80.4%、134%和98.7%。因此,选取6号菌剂作为最优菌剂,进行用量最优化试验。

表1 菌株配伍与相应酶活大小

配伍编号	m10	m9	y11	h4	g8	h13	zd10	h10	g1	y2	纤维素酶活//U/ml	漆酶酶活//U/ml
p1	●		●	●			●			●	7.427	0.003 3
p2	●				●	●				●	11.254	0.05
p3		●		●	●		●		●		9.018	0.003 3
p4		●	●		●			●		●	6.982	0
p5	●	●	●								9.133	0.026 7
p6			●				●	●	●		10.953	0.04
p7			●	●	●	●					8.100	0.01
p8	●				●		●	●			10.624	0.083 3
p9		●				●	●			●	9.649	0.006 7
p10	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	7.054	0.03
p11				●				●	●	●	7.385	0
p12	●	●		●		●		●			11.398	0.056 7

注:●表示存在,空白表示不存在。

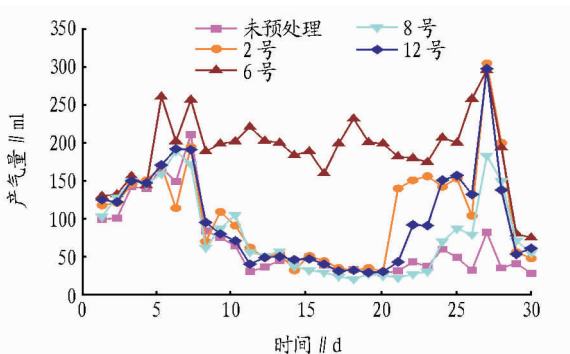


图10 不同菌剂的每日产气量

2.5.4 菌剂用量最优化试验。干粉菌剂与秸秆的质量比分别取1号1:1 000、2号1:500、3号1:100、4号1:50和5号1:20,其中秸秆统一添加15 g。

如图11所示,干粉菌剂与秸秆的质量比为1:50时,产气量最高,为7369 ml。分别比其他比例的总产气量高出58.7%、32.7%、8.6%、3.9%。由于1:50与1:20的总产气量接近,且前者投加的菌剂量较少,因此,选择1:50为最佳投料比。

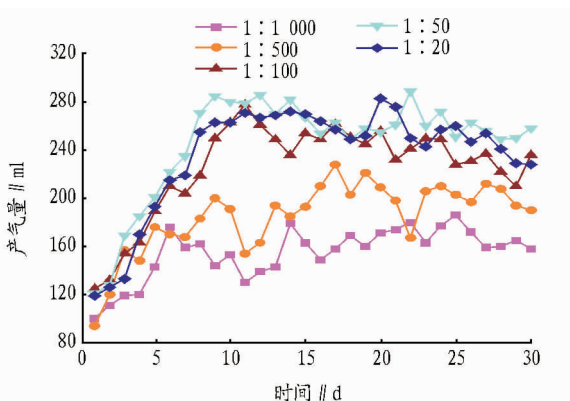


图11 不同配比干粉菌剂与秸秆的每日产气量

### 3 结论

该研究系统地从小沼气发酵液、树木土壤和堆肥中分离出多种微生物。通过初筛从中选出了16种优势菌种,再通过

测定纤维素酶活与漆酶酶活的大小,从这16种微生物中选取了12种优势菌株,进行拮抗试验和菌株配伍,确定了4组产酶较高的微生物组合,并制成了对应的菌剂。最后,利用这4种菌剂对秸秆进行预处理,并投入沼气罐中,在37℃条件下进行厌氧发酵,根据30 d产气量,确定了6号菌剂为最优菌剂。最后,改变6号菌剂与秸秆的投料比,结果表明二者质量比为1:50时,产气量最高。试验制备的复合微生物菌剂,作为秸秆沼气发酵预处理菌剂具有良好的应用前景。

### 参考文献

- [1] 卞有生. 生态农业中废弃物的处理与再生利用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [2] 王效华, 高树铭. 中国农村能源可持续发展现状、挑战与对策[J]. 中国沼气, 2003, 21(4): 41-42.
- [3] 邓可组. 中国农村能源综合建设理论与实践[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2000.
- [4] 胡晓明, 张建萍, 张无敌, 等. 香根草中温发酵产沼气的实验研究[J]. 科技信息, 2008(27): 8-9.
- [5] 高星爱, 李楠, 黄泉, 等. 利用微生物处理技术发酵产沼气的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(31): 19320, 19426.
- [6] 胡晓明, 张无敌, 尹芳, 等. 微生物预处理稻草秸秆产沼气试验研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(23): 12797-12799.
- [7] WOOD T. Metal Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation[M]. FEMssymp Academic, 1988: 31.
- [8] 黄如一, 何万宁, 唐和建, 等. 秸秆预处理产沼气对比试验[J]. 中国沼气, 2008, 26(4): 24-26.
- [9] 石卫国. 生物复合菌剂处理秸秆产沼气研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(1): 93-95.
- [10] 来航线, 杨兴华, 焦延雄, 等. 菌剂预处理原料对沼气发酵效果的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(6): 199-202.
- [11] 王春丽, 武改红, 陈畅, 等. 黑曲霉原生质体诱变选育β-葡萄糖苷酶高产菌株[J]. 生物工程学报, 2009, 25(12): 1921-1926.
- [12] 陈亮, 迟乃玉, 张庆芳. 低温纤维素酶菌株CNY086选育及发酵培养基优化(I)[J]. 微生物学通报, 2009, 36(10): 1547-1552.
- [13] 许志, 曾柏全, 宋睿. 高产纤维素酶菌株筛选及诱变选育[J]. 中国农学通报, 2011, 27(24): 108-111.
- [14] 周新萍, 徐尔尼, 汪金萍. 高产纤维素酶生二素链霉菌的鉴定与选育研究[J]. 中国酿造, 2007(16): 20-24.
- [15] 刘庆玉, 陈志力, 张敏. 木质素降解菌的筛选[J]. 太阳能学报, 2010, 31(2): 269-272.
- [16] 陈敏, 郭鹏, 宋晓岗, 等. 选育高效降解木质素优势混合菌的研究[J]. 中国造纸, 1998(3): 40-45.
- [17] KARMAKAR S, GREENE H L. Oxidative destruction of chlorofluorocarbons by zeolite catalysts[J]. J Catal, 1992, 138: 364.

水将导致盐度骤降, pH 突降, 底层缺氧, 使海参明显不适产生应激反应, 严重危及生命。昌邑年平均暴雨日为 1.5 d, 暴雨(降水量 > 50 mm)一般出现在 7、8 月, 6、9 月也可能出现, 但概率较低。由表 2 可知, 最长连续降水日数出现在 7 月, 为 11 d, 对应降水量为 207.9 mm, 而最大连续降水量出现在 8 月, 为 244.1 mm, 持续了 6 d。

表 1 昌邑市不同温度各月的平均时长 d

月份	最低气温 >25 °C 天数	最高气温 >30 °C 天数	最高气温 >30 °C 持续日数
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	1	0
5	0	5.9	0.3
6	0	15	1.1
7	3	21	7.6
8	1.5	18	3.7
9	0	4.5	0
10	0	0.2	0
11	0	0	0
12	0	0	0

表 2 昌邑市各月最长连续降水日数以及最大连续降水量

月份	最长连续 降水日数//d	对应降水 量//mm	最大连续 降水量//mm	对应持续 天数//d
1	4	28.8	22.2	2
2	6	38.1	38.1	6
3	3	10.2	48.3	2
4	4	32.0	52.8	1
5	4	50.6	50.6	4
6	6	45.8	96.5	1
7	11	207.9	207.9	11
8	8	63.8	244.1	6
9	10	37.0	167.9	3
10	8	28.1	77.7	2
11	5	59.1	59.1	5
12	4	8.3	25.2	2

6~8 月份, 出现了雨热同季的情况, 持续高温加上连续的降水, 对于海参的保苗十分不利, 是海参养殖的高危期。因此要提高警惕, 及时关注当地的天气预报情况, 提前做好防范措施。

(2) 由于持续高温和连续降水直接危害海参的养殖, 因此制定 2 个气象警戒指标: ① 高温预警。连续 3 d 气温高于 30 °C, 且高温天气仍将持续; ② 降雨预警。连续 3 d 有降水, 且总降水量 > 50 mm。预警时段为 6~9 月, 尤其关注 7、8 月。对于持续高温和连续降水同时出现的情况要特别关注。

### 参考文献

- [1] 卢峰本, 黄滢, 周启强, 等. 海水养殖的气象风险分析及预报[J]. 气象, 2007, 32(11): 113-117.
- [2] 于东祥, 孙慧玲, 陈四清, 等. 海参健康养殖技术[M]. 2 版. 北京: 海洋出版社, 2010.
- [3] 于仁成, 吴树功. 扇贝养殖的气象水文条件及气象服务指标研究[J]. 气象科技, 1998(3): 54-58.
- [4] 陈勇, 高峰, 刘国山, 等. 温度、盐度和光照周期对刺参生长及行为的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(5): 687-691.
- [5] 于东祥, 宋本祥. 池塘养殖刺参幼参的成活率变化和生长特点[J]. 中国水产科学, 1999, 6(3): 109-110.
- [6] 孙毅, 唐日峰. 海参养殖技术之一: 虾池养殖刺参实用技术[J]. 中国水产, 2002(6): 52-53.

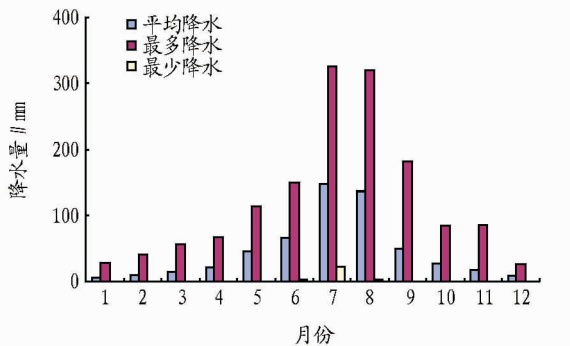


图 2 1981~2010 年昌邑市各月平均、最多、最少降水量变化

### 3 结论与讨论

(1) 昌邑全年大部分时间适宜海参的养殖, 尤其是海参的 2 个生长旺季, 3~5 和 9~11 月, 气温低, 降水少。但在

(上接第 3337 页)

- [18] GUTIERREZ-CORREA M, PORTAL L, MORENO P, et al. Mixed culture solid substrate fermentation of *Trichoderma reesei* with *Aspergillus niger* on sugar cane bagasse[J]. Bioresour Technol, 1999, 68(2): 173-178.
- [19] AWAFO V A, CHAHAL D S, SIMPSON B K. Evaluation of combination treatments of sodium hydroxide and steam explosion for the production of cellulose - systems by two *T. reesei* mutants under solid - state fermentation conditions[J]. Bioresour Technol, 2000, 73(2): 235-245.

- [20] 乔维川, 李忠正. 嗜黑液菌厌氧降解过程中木质素结构的变化[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2007, 31(5): 34-38.
- [21] 赵玉萍, 杨娟. 四种纤维素酶酶活测定方法的比较[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(3): 116-118.
- [22] BOURBONNAIS R, PAICE M G. Demethylation and delignification of kraft pulp by *Trametes versicolor* in the presence of 2-2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1992, 36(6): 823-827.