

## High-solid and multi-phases bio-reaction engineering

Lan WANG<sup>1</sup>, Yang LIU<sup>1,2</sup>, Hongzhang CHEN<sup>1\*</sup>

1. Beijing Key Laboratory of Biorefining Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

2. School of Chemical Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

**Abstract:** Low solid loading bio-reaction system lead to high energy and water consumption, as well as environment pollution in fermentation industries, prompting the development of high-solid bio-reaction system. High-solid bio-reaction system has the advantages of low energy consumption, less used water and environmentally-friendly. Additionally, high-solid loading leads to higher concentration of substrate and products which are benefit to reduce cost and realize the economical efficiency in production. However, many difficulties have existed in high-solid bio-reaction system apart from so many advantages. Therefore, it is of great mean to get knowledge about the characteristics and problem of high-solid bio-reaction system which will help to make the most use of its advantages. Taking enzymatic hydrolysis and fermentation of lignocellulose for an example, increasing solid loading leads to 'solid effects' and 'water constraint'. Those phenomenon result in the formation of complex multi-phase system consisted by solid, liquid, gas and the microorganism. Mass transfer performance in this high-solid and multi-phases system is deficient, thus affecting lignocellulose conversion performance. Additionally, the changes of rheology characteristics in high-solid and multi-phases bio-reaction system caused by increasing solid loading make it inappropriate to apply traditional mechanical agitation which is based on shear force (i.e. shear force can results in activity loss of the enzyme and microorganism) to high-solid and multi-phases bio-reaction system, putting new requirements on agitation methods, design and amplification of bioreactor and process of high-solid and bio-reaction system. Based on several-years studies, the conception of high-solid and multi-phases bio-reaction engineering was proposed. Key factors which affect the reaction performance were analyzed from the perspective of solid matrix characteristic. Intensification method based on periodical normal force is innovated and periodic peristalsis high-solid and multi-phases bio-reaction system was developed with the expectation of providing theory and technical support for studying high-solid and multi-phases bio-reaction engineering.

### Key learning points:

- (1) The key factors which affect high-solid and multi-phases bio-reaction from perspective of solid matrix characteristics was analyzed.
- (2) High-solid enzymatic hydrolysis can be improved by enhancing capillary transfer.
- (3) Invented periodic peristalsis strategy and improved high-solid enzymatic hydrolysis performance.
- (4) Proposed concept high-solid and multi-phases bio-reaction.

**Key words:** high-solid and multi-phases; bio-reaction engineering; solid effects; water constraint; rheology; periodic process intensification

收稿: 2018-06-28, 修回: 2018-07-25, 网络发表: 2018-08-28, Received: 2018-06-28, Revised: 2018-07-25, Published online: 2018-08-28

基金项目: 中国科学院洁净能源先导科技专项基金资助项目(编号: XDA21060300); 2017 年度北京创新基地培育与发展专项基金资助项目(编号: Z171100002217003)

作者简介: 王岚(1981-), 女, 河南省郑州市人, 博士, 研究员, 生物化工专业, Tel: 010-82544978, E-mail: wanglan@ipe.ac.cn; 陈洪章, 通讯联系人, E-mail: hzchen@ipe.ac.cn.

**引用格式:** 王岚, 刘阳, 陈洪章. 高固多相生物反应工程. 过程工程学报, 2018, 18(5): 918-923.

Wang L, Liu Y, Chen H Z. High-solid and multi-phases bio-reaction engineering (in Chinese). Chin. J. Process Eng., 2018, 18(5): 918-923, DOI: 10.12034/j.issn.1009-606X.218232.

# 高固多相生物反应工程

王 岚<sup>1</sup>, 刘 阳<sup>1,2</sup>, 陈洪章<sup>1\*</sup>

1. 中国科学院过程工程研究所生物质炼制工程北京市重点实验室, 北京 100190

2. 中国科学院大学化学工程学院, 北京 100190

**摘 要:**以木质纤维素高固酶解发酵为例,高固形物及其复杂的理化性质会导致体系出现“固体效应”和“水束缚效应”,形成传质速度较低的固液气和微生物复杂多相体系,影响木质纤维素生物转化速率;同时,固形物增加及由此产生的高固酶解发酵流变学特性使以剪切力为主导的机械搅拌在高固多相体系下具有不适应性(会导致酶或微生物活性降低),从而对搅拌方式、反应器及过程设计放大等提出新的要求.本工作基于课题组多年的研究,提出高固多相生物反应工程的理念,从固体基质特性入手剖析影响高固多相生物反应速率的关键因素,提出了以周期法向力为动力源的过程强化方法,开发出周期蠕动高固多相生物反应系统,以期高固多相生物反应工程研究提供理论和技术支持.

**要 点:**

(1) 从固体基质特性出发研究了影响高固多相生物反应的关键因素.

(2) 强化毛管水的传递能有效提高高固酶解转化效率.

(3) 提出周期蠕动策略强化高固酶解过程提高酶解转化效率.

(4) 提出高固多相生物反应工程理念.

**关键词:**高固多相;生物反应工程;固体效应;水束缚;流变学;周期过程强化

**中图分类号:**TQ424.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1009-606X(2018)05-0918-06

## 1 前 言

生物化工运用化学工程科学的原理和方法,研究解决有生物体或生物活性物质参与的生产过程中的基础理论及工程技术问题,包括生物反应工程和生物分离工程.生物反应工程以生物反应动力学研究为核心、过程强化为手段,设计合理的反应器.生物反应是生产发酵产品及实现废弃物资源化高效利用的核心,也是生产生物燃料和生物基化学品、缓解我国石油资源短缺及石油基产品(特别是汽油和柴油等)大量使用导致的环境恶化等问题的重要途径,对传统生物产业的升级改造和经济社会可持续发展具有十分重要的意义.

但低底物浓度(固形物含量低于5%)的生物反应体系存在产物浓度低、分离成本高、废水量大、污染环境、投入与产出失衡等问题,严重制约生物产业发展.以木质纤维素生产乙醇为例,为保证其经济性,反应体系内乙醇浓度需大于4 vol%,可发酵糖浓度需高于8%<sup>[1,2]</sup>,大多数木质纤维素生物质此时酶解初始体系固体载荷应不低于20%,远高于低固反应体系的固体载荷.因此,高固酶解发酵是木质纤维素乙醇生产投入产出平衡、增加其经济性的必然要求.当固体载荷高于15%时,反应体系以固态形式呈现,所有生物反应皆在此状态下进行,称为高固反应<sup>[3]</sup>.高固生物反应体系以固相为主,液相及气相共存于木质纤维素孔隙内,具有高度不均一性,最终表现出高固多相特征.高固多相生物反应体系具有高底物和产物浓度、节水清洁、废水处理费用低等

优势,是整个发酵工业可持续发展的必经之路.

## 2 高固多相生物反应体系存在的问题

高固多相生物反应体系的特殊性体现在固相基质的高载荷引起的诸多问题.木质纤维素具有多孔性、异质性,流动性差,当体系中固形物含量较高时,容易引起“固体效应”<sup>[1,2]</sup>.在纤维素高固酶解发酵体系中,高底物浓度使体系糖浓度增加,引起产物反馈抑制.高固形物含量束缚水的迁移,不利于溶解在其中的底物、产物和酶的传递.固形物含量增加改变体系流变学特性,使传统机械搅拌能耗急剧增加,生产成本提高.更重要的是,酶和微生物对高固体系中的宏观和微观环境的敏感性和依赖性较强,这种具生物活性的组分存在使高固多相生物反应体系更复杂.对于生物反应过程强化,传统以剪切为动力源的机械搅拌无法实现强化多孔固相基质孔道内的物质传递,且高强度机械剪切易对酶和微生物活性造成极大的损伤,不利于充分发挥两者在高固多相生物反应体系中的降解和转化效率.因此,科学认识并解析高固多相生物反应体系的特殊性及其存在的问题,对开发高效新型强化方式、研制新型反应器及提高高固多相生物反应效率具有重要意义.

### 2.1 固体基质原料多孔结构与反应可及性

认识固体基质原料的理化结构对了解酶、微生物与固相基质间的相互作用具有重要指导意义.以木质纤维素原料玉米秸秆为例,其孔隙可分为细胞壁水平孔隙

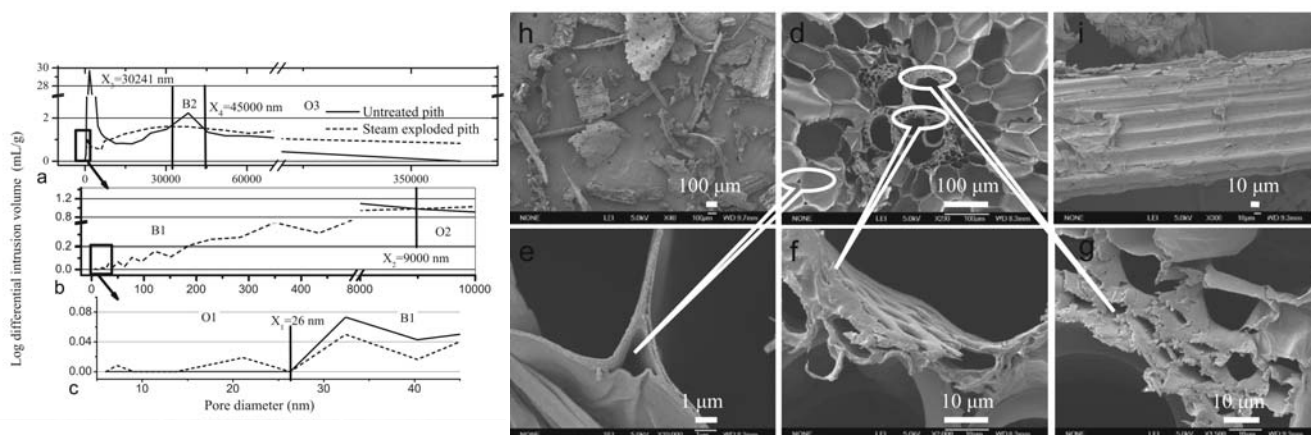
(30 nm~50  $\mu\text{m}$ )和组织水平孔隙(1~130  $\mu\text{m}$ )<sup>[4]</sup>. 木质纤维素颗粒的可及表面积包括颗粒内表面积和颗粒外表面积,前者取决于颗粒孔径和体积,后者主要取决于颗粒尺寸和形状<sup>[5-7]</sup>. 木质纤维素的孔道影响酶和微生物的迁移,可及表面积则影响其可及活性位点,两者在不同层面上影响木质纤维素的转化过程. 对于小孔占主导的固相质,只有纤维素酶的小分子组分可缓慢扩散到孔隙中,纤维素酶复合体组分间难以发生协同作用,酶解转化效率必然降低. 当固相基质的孔隙尺寸足以满足纤维素酶复合体扩散时,酶的活性及组分间的活性能充分发挥,进而提高固相基质的酶解转化效率<sup>[8]</sup>. 研究<sup>[9,10]</sup>表明,初始酶解速率与孔隙尺寸、固相基质表面积与可及活性位点都呈正相关,即大的孔隙和比表面积都有利于提高固相基质的酶解转化速率.

在认识固相基质结构与酶解转化关系的基础上,定向改变固相基质原料特性,即改变反应体系的颗粒特性进而改变其反应可及性,对提高高固多相生物反应体系中的固相基质酶解转化效率具有重要意义. 木质纤维素的生物反应可及性的提高主要在原料预处理阶段完成,方法包括物理法、化学法和物理化学复合方法等. 物理法主要通过改变原料的粒度从而改变其可及表面积,如球磨法. 化学法主要将原料中的大分子降解为小分子物质溶出,进而改变物料孔隙尺度、表面积等,如稀酸可降解木质纤维素中的半纤维素,使其变为木糖、阿拉伯糖等小分子溶出,从而改变了物料的理化结构. 物理化学法是结合化学降解和物理改性的复合预处理方法,其中气相爆破因环保节能的优点,广泛用于木质纤维素原料预处理. 低压无污染气相爆破是 Chen<sup>[11]</sup>基于原料特性提出的不加任何化学试剂的纤维原料预处理技术,以

高温高压水蒸汽为介质,在高压蒸煮阶段,蒸汽以水合氢离子形式存在,渗入木质纤维素表面与酰胺基团反应生成乙酸,半纤维素在乙酸作用下部分水解,同时使木质素软化,原料横向联结强度减弱. 在此阶段,木质纤维素原料孔隙内充满高压气体,变得柔软可塑. 在爆破阶段,随压力瞬间释放,孔隙内外压差驱动孔隙内气体急剧膨胀,原料爆裂成细小的纤维束. 在化学降解和物理机械撕裂作用下,木质纤维素原料理化结构发生巨大变化,主要体现为纤维素含量相对升高,比表面积、孔隙和孔体积变大(图 1<sup>[4]</sup>),为酶提供更多活性位点,因此,蒸汽爆破处理后的秸秆比未处理秸秆酶解转化效率有较大提升<sup>[12]</sup>. 图 2<sup>[13]</sup>为汽爆玉米秸秆的孔径及表面积分布情况,组织水平的孔隙大于 1  $\mu\text{m}$ ,而汽爆秸秆的表面积集中在小于组织水平孔隙尺度以下,所以细胞尺度的孔隙在汽爆秸秆酶解转化过程中与酶的相互作用占主导地位. 此外,毛管孔尺寸为 0.1  $\mu\text{m}$ ~1 mm<sup>[14]</sup>,因此,汽爆秸秆颗粒外孔隙及颗粒内组织及细胞尺度的孔统称为毛管孔( $\geq 0.1 \mu\text{m}$ ),99%的汽爆秸秆孔属于毛管孔.

## 2.2 水束缚效应

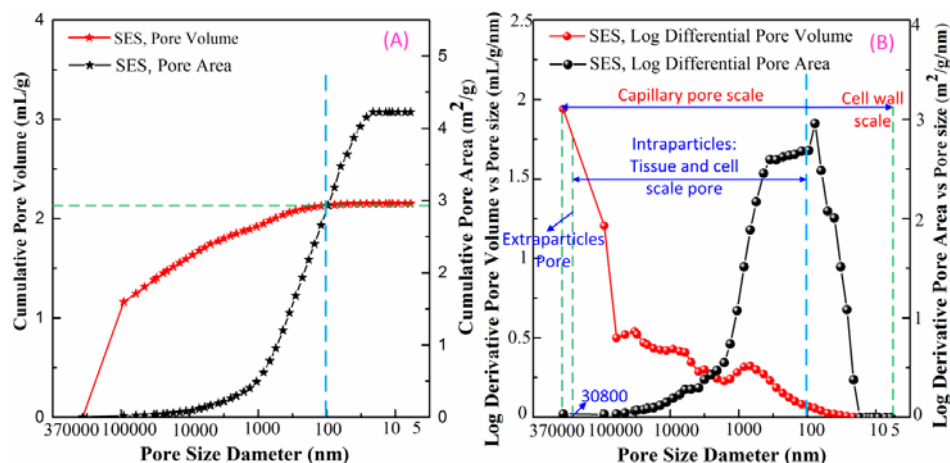
水分是反应体系内催化剂、底物、产物等的传质介质,并作为底物参与某些生物反应过程,因而在高固多相生物反应体系中起着重要作用. 木质纤维素中水分以 4 种不同状态存在<sup>[15]</sup>: 与纤维素或其它聚糖通过氢键结合的水分为初级结合水,吸附在细胞壁或聚糖表面的水分为次级结合水或薄膜水(film water),通过毛细力被微孔或细胞间空隙束缚的水分为毛细水,不受固体或其它溶质作用的水为自由水. 水与其它物质作用导致其流动性降低的现象称为水束缚效应,此时水统称为束缚水. 不同的固体载荷下表现出不同的水分束缚特征(图 3).



(b) and (c) are the higher magnification of a portion. Vertical line means a dividing value which separates opening size range (O) and the blocking size range (B).  
(d) and (e) are SEM images of pith, (h) and (i) are steam exploded pith

图 1 汽爆对玉米秸秆髓孔隙分布的影响<sup>[4]</sup>

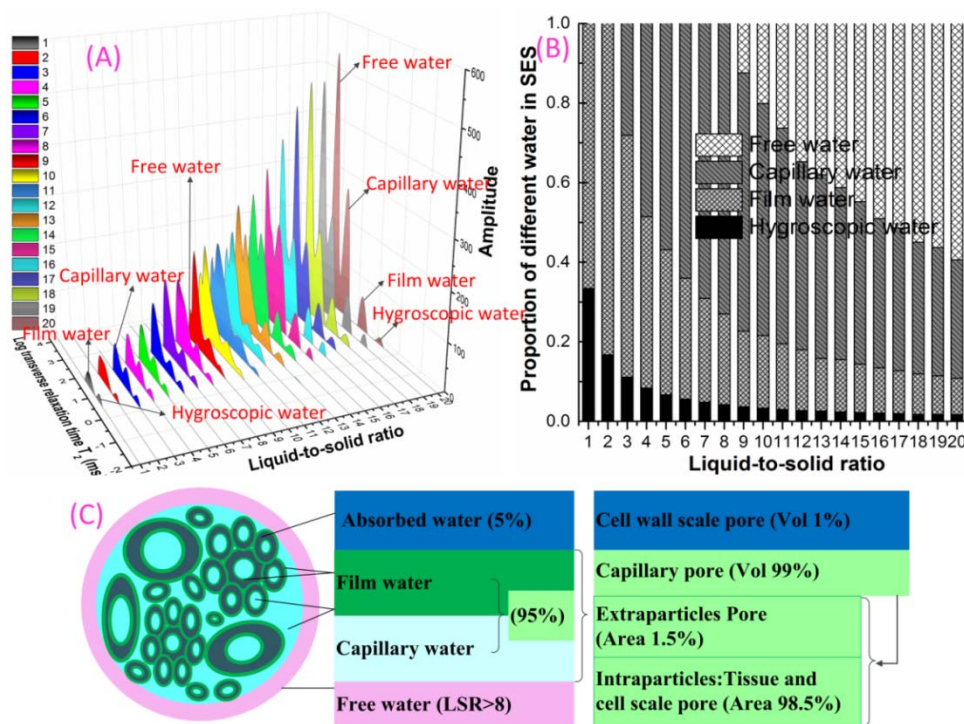
Fig.1 Effect of steam explosion on pore size distribution of pith<sup>[4]</sup>



(A) Cumulative curve of pore volume and pore area (B) First derivatives of cumulative pore volume and pore area vs pore size

图2 汽爆秸秆孔体积与孔面积分布<sup>[13]</sup>

Fig.2 Pore size distribution of steam-exploded straw (SES)<sup>[13]</sup>



(A) Water distribution by LF-NMR, (B) Water distribution of bar graph, (C) Schematic diagram of pore structure and water distribution

图3 不同液固比下汽爆秸秆水分状态<sup>[13]</sup>

Fig.3 Water states of steam-exploded straw (SES) under different liquid-to-solid ratios<sup>[13]</sup>

在高固多相生物反应体系中,高固形物严重束缚体系中水的运动,间接导致体系物质传递速率降低并显著影响生物反应速率.低场核磁是表征高固多相生物反应体系中束缚效应的有效手段,Felby 等<sup>[16]</sup>率先采用低场核磁研究了纤维素与水的相互作用,并证明水的状态及其分布能很好匹配于固相基质结构的变化,为研究高固多相生物反应体系中水的束缚与酶解转化关系提供了依据.Selig 等<sup>[17]</sup>采用低场核磁研究了添加聚合物(主要

为多糖)对体系中水束缚及酶解转化的影响,结果表明,添加聚合物明显缩短了 T2 弛豫时间,表明聚合物增加导致体系内水束缚效应增强,进而使固相基质酶解转化率降低.反应体系中固体载荷从 5%增加到 20%,模拟酶(牛血清蛋白)的有效扩散系数降低 61.5%,计算的本征扩散系数降低 51.2%<sup>[18]</sup>.由此表明,高固多相生物反应体系内水束缚主要通过影响酶、产物、底物的传递过程最终影响生物反应效率.

水在高固多相生物反应体系下呈多样性分布,剖析水分的特性对了解木生物质酶解发酵及过程强化具有重要意义.初级结合水不具有流动性,因而对木质纤维素酶解的传递过程几乎无贡献,薄膜水对传递的作用甚微而毛管水及自由水可被外力轻易驱动<sup>[14]</sup>.图2表明,汽爆秸秆毛管孔占99%,其作为高固多相生物反应体系的主要传质载体,对体系中的生物反应具有重要意义,即高固多相生物反应体系过程强化的主要对象为体系内的毛管水.

### 2.3 流变学特性

高固多相生物反应体系流变学主要研究固相基质在外力作用下的形变和流动基本规律.固体载荷、木质纤维素原料的物性(如颗粒尺度,纤维柔软度)及原料的预处理方式皆影响高固多相生物反应体系的流变学特性.对于木质纤维素,高固体载荷(大于15%)使体系中自由水含量降低或直接消失而以固态形式出现,体系流变学性质发生极大改变<sup>[19,20]</sup>,体系粘度急剧升高,给高固多相生物反应过程设计和操作带来新的挑战.不同的预处理方式影响固相基质原料纤维长度和尺寸分布,进而影响屈服应力.与含不同尺寸颗粒的泥浆状物料相比,木质纤维素颗粒尺寸减小和均一化导致屈服应力和体系粘度增加,表明粗纤维间的交联点和交联强度很大程度上影响物料的流变学特性<sup>[21]</sup>.因此,深入了解高固生物转化体系的流变学特性、选择适宜的原料预处理手段、开发适合该体系的过程强化手段尤为重要.

## 3 以周期法向力为动力源的高固多相生物反应过程强化策略

目前,高剪切作用力的机械搅拌是强化生物反应过程的主要手段,其用于高固多相生物反应系统时具有双面作用:一方面,高剪切力会很大程度造成固相基质破损,通过减小颗粒尺寸对其反应活性起到正面作用;另一方面,高固反应体系中酶和微生物的活性是保证生物反应正常进行的基础和前提,以高剪切力为驱动力的机械搅拌严重影响高固多相体系内酶和微生物的反应活性.因此,传统机械搅拌不适合高固多相生物体系.基于本课题组多年的工作基础,Liu等<sup>[22,23]</sup>提出以法向力为动力源的高固多相生物反应过程强化策略,并在此指导下发明了周期蠕动酶解反应系统,用于木质纤维素高固多相生物反应体系过程强化.周期蠕动酶解反应系统包括酶解罐、加热套、蠕动臂和球、电机、酶液存储罐、生物质存储罐、泵、真空纤维膜系统、产物存储罐、加热装置、控制系统、温度传感器、压力传感器等部件.设

备运行过程中,蠕动臂和蠕动球在电机带动下,对酶解罐中的生物质物料施加法向作用力并随即撤销,物料在力的施加与撤销循环过程中,达到周期混合,混合的频率可通过控制系统参数进行合理调整.酶解反应后,酶解液体真空纤维膜系统过滤进入产物存储罐,用于后续发酵.低场核磁分析结果表明,与摇床振荡培养相比,在前24 h内,周期蠕动酶解体系中主要水分的信号峰强度增加了32.1%,表明周期蠕动有效地促进了初始阶段束缚水的释放.此外,两种体系中的表观粘度有明显差异.如图4<sup>[22]</sup>所示,在酶解前期,周期蠕动使酶解体系中的表观粘度维持在相对较低的水平,表观粘度降低能显著增加高固酶解聚糖转化率.因此,周期蠕动可有效促进酶解初级水分释放,短时间内降低体系内的表观粘度,强化毛管水传递,因而促进玉米秸秆高固酶解效率.

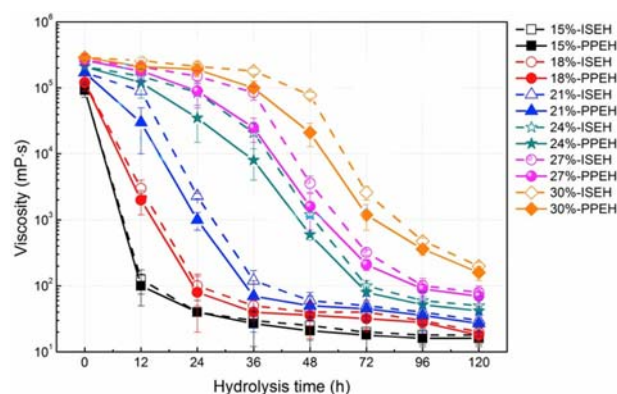


图4 不同固体载荷条件下汽爆玉米秸秆酶解体系表观粘度变化<sup>[22]</sup>

Fig.4 Viscosity transition in incubator shaker enzymatic hydrolysis (ISEH) and periodic peristalsis enzymatic hydrolysis (PPEH) of steam exploded corn stover biomass<sup>[22]</sup>  
(Enzymatic hydrolysis conditions: an enzyme loading of 10 FPU/g glucan, 50°C, and 120 h)

Chen等<sup>[24]</sup>提出了高固多相生物反应工程理念,Fu等<sup>[25]</sup>基于该理念发明了先固相强化酶解解聚、后同步糖化全糖发酵新工艺,成功用于万吨级汽爆秸秆炼制工业化示范工程<sup>[26]</sup>,提高了木质纤维素酶解发酵效率.

## 4 结语和展望

高固多相生物反应体系中由固体基质引起的“固体效应”、“水束缚效应”及其引起的体系流变学特征改变是高固多相生物反应工程面临的主要基础问题.基于本课题组多年的研究,从固相基质特性及其对高固多相生物反应体系理化特性的影响入手,剖析了高固多相生物反应速率的限制因素,发现驱动固相基质中毛管水传递是提高高固多相生物反应体系效率的关键措施之一,提

出了高固多相生物反应工程的理念,丰富和推动了生物反应工程学科发展.将高固多相生物反应工程理念用于以生物反应为核心的生物基产品生产有助于实现资源、经济、环境效益有机统一.以生物质为原料的生物基产品能充分发挥废弃物资源的价值,体系中高固形物含量使底物和产物浓度提高,提高了其分离过程的经济性.同时高固形物含量意味着较少的用水量,对解决当前发酵行业高能耗、高水耗,缓解日益恶化的环境污染具有重要意义.高固多相生物反应有别于低固形物体系的生物反应过程,因而不能简单地将低固反应体系的反应机制及相关措施用于高固多相生物反应过程,因而有必要系统研究高固多相生物反应过程机理,开发更多有效的过程强化手段及配套反应器,从而推动其大规模工业化应用进程.

### 参考文献

- [1] Chen H Z, Liu Z H. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass from low to high solids loading [J]. *Eng. Life Sci.*, 2017, 17(5): 489–499.
- [2] Kristensen J B, Felby C, Jorgensen H. Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose [J]. *Biotechnol. Biofuels*, 2009, 2(1): 11–21.
- [3] 刘志华, 陈洪章. 木质纤维素固态酶解过程强化研究进展 [J]. *生物产业技术*, 2015, (4): 59–67.  
Liu Z H, Chen H Z. Advance in process intensification of high solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose [J]. *Biotechnology & Business*, 2015, (4): 59–67.
- [4] Zhao J Y, Chen H Z. Correlation of porous structure, mass transfer and enzymatic hydrolysis of steam exploded corn stover [J]. *Chem. Eng. Sci.*, 2013, 104(12): 1036–1044.
- [5] Zhu J, Wang G, Pan X, et al. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification [J]. *Chem. Eng. Sci.*, 2009, 64(3): 474–485.
- [6] Yang D, Parlange J Y, Walker L P. Revisiting size-exclusion chromatography for measuring structural changes in raw and pretreated mixed hardwoods and switchgrass [J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 2015, 112(3): 549–559.
- [7] Arantes V, Saddler J N. Cellulose accessibility limits the effectiveness of minimum cellulase loading on the efficient hydrolysis of pretreated lignocellulosic substrates [J]. *Biotechnol. Biofuels*, 2011, 4(1): 1–17.
- [8] Tanaka M, Ikesaka M, Matsuno R, et al. Effect of pore size in substrate and diffusion of enzyme on hydrolysis of cellulosic materials with cellulases [J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 1988, 32(5): 698–706.
- [9] Grethlein H E. The effect of pore size distribution on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulosic substrates [J]. *Nat. Biotechnol.*, 1985, 3(2): 155–160.
- [10] Wang Q Q, He Z, Zhu Z, et al. Evaluations of cellulose accessibilities of lignocelluloses by solute exclusion and protein adsorption techniques [J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 2012, 109(2): 381–389.
- [11] Chen H Z. *Gas Explosion technology and biomass refinery* [M]. Beijing: Springer Netherlands, 2015: 1–6.
- [12] Liu Z H, Chen H Z. Biomass–water interaction and its correlations with enzymatic hydrolysis of steam-exploded corn stover [J]. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2016, 4(3): 1274–1285.
- [13] 张玉针. 生物质多孔颗粒特性及其高固酶解发酵过程的研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 中国科学院过程工程研究所, 2017: 38–40.  
Zhang Y Z. Porous solid particles characteristics of biomass and its high-solids enzymatic hydrolysis and fermentation process [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, 2017: 38–40.
- [14] Shao M A, Wang Q J, Huang M B. *Soil physics* [M]. Beijing: High Education Press, 2006: 50–53.
- [15] 刘志华. 汽爆秸秆高固酶解发酵过程强化的研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 中国科学院过程工程研究所, 2016: 15–16.  
Liu Z H. Process intensification of high solids enzymatic hydrolysis and fermentation of steam exploded straw [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, 2016: 15–16.
- [16] Felby C, Thygesen L G, Kristensen J B, et al. Cellulose–water interactions during enzymatic hydrolysis as studied by time domain NMR [J]. *Cellulose*, 2008, 15(5): 703–710.
- [17] Selig M J, Thygesen L G, Felby C. Correlating the ability of lignocellulosic polymers to constrain water with the potential to inhibit cellulose saccharification [J]. *Biotechnol. Biofuels*, 2014, 7(1): 1–10.
- [18] Roberts K M, Lavenson D M, Tozzi E J, et al. The effects of water interactions in cellulose suspensions on mass transfer and saccharification efficiency at high solids loadings [J]. *Cellulose*, 2011, 18(3): 759–773.
- [19] Um B H, Hanley T R. A comparison of simple rheological parameters and simulation data for *zymomonas mobilis* fermentation broths with high substrate loading in a 3-L bioreactor [J]. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2008, 145(1/3): 29–38.
- [20] Roche C M, Dibble C J, Stickel J J. Laboratory-scale method for enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass at high-solids loadings [J]. *Biotechnol. Biofuels*, 2009, 2(1): 28–28.
- [21] Koppram R, Tomas-Pejo E, Xiros C, et al. Lignocellulosic ethanol production at high-gravity: challenges and perspectives [J]. *Trends Biotechnol.*, 2014, 32(1): 46–53.
- [22] Liu Z H, Chen H Z. Periodic peristalsis enhancing the high solids enzymatic hydrolysis performance of steam exploded corn stover biomass [J]. *Biomass Bioenergy*, 2016, 93: 13–24.
- [23] Liu Z H, Chen H Z. Periodic peristalsis releasing constrained water in high solids enzymatic hydrolysis of steam exploded corn stover [J]. *Bioresour. Technol.*, 2016, 205: 142–152.
- [24] Chen H Z. *High-solid and Multi-phase Bioprocess Engineering: Theory and Practice* [M]. Singapore: Springer Singapore, 2018: 173–241.
- [25] Fu X G, Chen H Z. Industrial technologies and demonstration of ten thousand tons ethanol by bio-refining of steam-exploded cornstalk [J]. *Biotechnology & Business*, 2015, (4): 59–67.
- [26] Chen H Z, Fu X G. Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass [J]. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2016, 57: 468–478.