

同步糖化发酵在纤维乙醇生产中的研究进展

赖智乐,常春,马晓建

(郑州大学化工学院,河南 郑州 450001)

摘要: 介绍了发展燃料乙醇的必然性和我国发展燃料乙醇所处的阶段和重要意义。纤维乙醇的预处理、糖化和发酵的几种方法,并做了简要的比较。纤维素酶的研究进展,分析和比较了几种分离方法,以及推进燃料乙醇工业化的几个亟待解决的问题和其发展前景。

关键词: 纤维素; 乙醇; 预处理; 糖化; 发酵; 分离; 酶

中图分类号: TS262.2; TS261.4; TS261.2

文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2009)07-0086-05

Research Progress in Synchronous Saccharification & Fermentation in Cellulose Ethanol Production

LAI Zhi-le, CHANG Chun and MA Xiao-jian

(Chemical Engineering College of Zhengzhou University, Zhengzhou, He'nan 450001, China)

Abstract: The necessity of developing fuel ethanol was discussed. The status & the significance of fuel ethanol development in China were illustrated. In addition, the pretreatment, several saccharification methods, and several fermentation methods of cellulose ethanol were introduced and compared. The separation methods of cellulose ethanol were analyzed and compared. And the research progress in cellulase was elaborated. Furthermore, the unsettled problems in and the development foreground of industrialized production of fuel ethanol were described in this paper.

Key words: cellulose; ethanol; pretreatment; saccharification; fermentation; separation; enzyme

1 纤维乙醇的发展

随着世界经济的发展,特别是汽车工业的发展,石油供不应求,各国政府开始考虑燃料的自给问题。燃料乙醇工业的出现,有效地缓解了石油资源短缺的问题,减轻对石油的依赖程度,缓解环境的压力,为保持经济社会的可持续发展开辟了新的途径。

燃料乙醇作为一种环保的可再生能源主要有以下4个特性^[1]:第一,乙醇是燃油氧化处理的增氧剂,使汽油增加内氧燃烧充分,达到节能和环保的目的;第二,乙醇具有极好的抗爆性能,调合辛烷值一般都在120左右,作为汽油的高辛烷值组分,它可有效提高汽油的抗爆性(辛烷值);第三,在新标准汽油中,乙醇还可以经济有效地降低烯烃、芳烃含量,降低炼油厂的改造费用;第四,乙醇是太阳能的一种表现形式,在整个自然界系统中,乙醇的整个生产和消费可形成洁净的闭路循环过程,永恒再生永不枯竭。

纤维乙醇以纤维质为原料。纤维素是地球上最丰富的可再生资源,每年陆生植物就可以产生纤维素大约

500亿t;纤维素资源还是最主要的生物质资源,它占地球生物总量60%~80%。我国的纤维素原料非常丰富,仅农作物秸秆、皮壳一项,每年产量就达7亿多t,其中玉米秸(35%)、小麦秸(21%)和稻草(19%)是我国的三大秸秆资源^[2]。纤维素类资源具有来源丰富、种类多、生产周期短等优点。据悉,纤维乙醇燃料燃烧时排放的温室气体不仅比汽油减少90%,而且远低于谷物类乙醇燃料^[2]。由此可见,利用纤维素降解发酵生产乙醇潜力巨大^[2]。

美国和巴西在纤维乙醇的研究与应用方面一直走在世界的前列,而欧盟和日本也在纤维乙醇的研究方面取得了不俗的成绩。我国也在“十五”规划中制定了发展燃料乙醇的规划。规划方案分三步走:第一步在吉林、河南等省以过剩玉米为原料生产燃料乙醇,并作为含氧添加剂在汽油中掺入10%;第二步在有条件的省区利用当地优势资源(如早粳稻、甘薯和甘蔗等)生产燃料乙醇;第三步就是利用植物秸秆、稻壳等纤维素生产燃料乙醇,并全面推广。现阶段我国已经走完了第一步、第二步,并在第三步的研究上取得了不少新的研究成果。

基金项目: 国家科技支撑计划(2007BAD66B04)。

收稿日期: 2009-03-19

作者简介: 赖智乐(1984-),男,硕士研究生,主要从事生化设备与发酵工程方面的研究。

通讯作者: 马晓建(1953-),男,硕士,教授,博士生导师,主要从事生化工程设备的研究开发。

发展燃料乙醇对我国经济和社会的可持续发展有着重要的作用。第一是可缓解石油紧缺的矛盾。目前,我国为石油净进口国,今年进口石油接近2亿t,如果我国用燃料乙醇替代10%的石油,可节省大量外汇;二是可有效解决玉米等粮食和农林废弃物的转化,促进农业生产的良性循环和“三农”问题的解决;三是有利于环境的改善。使用车用乙醇汽油,可使汽车尾气污染水平平均降低30%以上;清洁汽车引擎,减少机油替换;还可以避免对地下水造成污染^[1]。因而燃料乙醇是一种“绿色能源”;四是可以确保国家的能源安全。

2 木质纤维素的预处理

2.1 纤维原料的结构

植物纤维原料由纤维素、半纤维素和木质素3部分组成。木质素具有网络结构,作为支撑骨架包围并加固着纤维素和半纤维素;而半纤维素作为黏合剂在纤维素和木质素之间。纤维素是一种以很多的葡萄糖单体以 β -1,4糖苷键连接的直链多糖,多个分子平行紧密排列成丝状不溶性微小纤维,其基本组成单位是纤维二糖^[3],是多组分物料。纤维素与半纤维素和木质素等物质常以嵌入的形式存在。在常温下不会发生水解作用,温度的提高对其水解程度的影响很小。同时具有较强的结晶性,需经适当预处理后才能使用。

2.2 纤维素预处理的目的是方法

预处理的目的是打破纤维素分子的结晶结构和保护层,使材料变蓬松,使酶制剂和纤维素充分接触,易于被纤维素酶作用。未经预处理的原料,其水解率低于理论值的20%,而经预处理后的水解率可达理论值的90%以上。理想的预处理应能满足下列要求:①产生活性较高的纤维,其中戊糖较少降解;②反应产物对发酵无明显抑制作用;③设备尺寸不宜过大,成本较低;④固体残余物较少,容易纯化;⑤分离出的木质素和半纤维素纯度较高,可以制备相应的其他化学品,实现生物质的全利用。

预处理方法的选择主要从提高效率、降低成本、缩短处理时间和简化工序等方面考虑。纤维素的预处理方法有很多种,大致可以分为物理法、化学法和生物法,或者它们的综合。现将它们主要的方法及特点介绍如下。

2.2.1 物理法

机械粉碎:优点为可提高反应性能和提高水解糖化率,有利于酶解过程中纤维素酶或木质素酶发挥作用^[4];缺点为提高糖化率的程度有限,且能耗较高,占工艺过程总耗能的50%~60%,对有些材料,粉碎处理不合适。

高能辐射:优点为可以显著地反应性能和提高水解糖化率,利于酶解的进行;缺点为比研磨成本还高,目前还很难用于大规模生产。

微波处理:优点为对纤维物料处理能明显改善纤维素的酶水解;缺点为目前还停留在实验室阶段。

2.2.2 化学法

2.2.2.1 酸预处理

浓酸法:优点为浓酸可作为有效预处理木质纤维素原料的试剂;缺点为浓酸对反应器的抗腐蚀能力有较高要求;同时,为使生产过程具有经济可行性,处理后的浓酸必须进行回收。

稀酸法:优点为稀酸法是研究最广泛、最有效的木质纤维素预处理方法之一。稀酸法不仅可以破坏原料中纤维素的晶体结构,使原料变得疏松;而且可以有效地水解半纤维素,节省了半纤维素酶的使用,从而使生物质原料得到充分利用;缺点为稀酸法的木素脱除效果差,能耗大、酸用量大,腐蚀设备和对环境污染严重,非长远之计。

2.2.2.2 碱预处理

优点为处理过的木质纤维素更具多孔性,适合于后续的糖化和发酵;缺点为处理后的原料在产酶或酶解前需用酸中和,产酶时间较长,影响生产效率^[4]。

2.2.2.3 蒸汽爆破法

优点为可使纤维发生一定的机械断裂,同时高温、高压加剧纤维素内部氢键的破坏,游离出新的羟基,纤维素内的有序结构发生变化,增加了纤维素的吸附能力。该法对环境无污染,能耗较低,是一种有效的、低成本的木质纤维高效分离技术^[5];缺点为对设备的要求较高,能耗较大,在高温条件下部分木糖会进一步降解生成糠醛等有害物。

2.2.3 生物法

优点为反应条件温和,能耗低,环境污染小;缺点为处理周期长,效率不高。

2.3 纤维素酶的研究进展

纤维素酶是影响糖化和发酵效率的重要因素。纤维素酶的生产可采用液体深层发酵或固态发酵两种工艺^[6]。液体深层发酵在通气搅拌式发酵罐中进行,主要优点为工艺参数易于控制,不易污染杂菌,自动化程度高,但是其缺点为设备投资大,生产费用高。现已在工业上广泛使用。而固态发酵是不溶性底物在无游离水状态下为微生物所发酵的过程。与液体深层发酵相比,固态发酵具有以下明显的优点^[6]:①设备投资少,操作简单,易于推广;②培养基组成简单,发酵过程中无需采用缓冲控制,也无需采用消泡剂,成本低廉;③低能耗、少废水,固体纤维素酶可直接用于纤维素糖化。

纤维素酶的生产成本居高不下也是影响纤维乙醇生产成本较高的主要原因。因此,寻找高效的、低成本的酶成为研究纤维素酶的关键。根据纤维素酶工业的需要,人们对纤维素酶基因的研究主要集中在生产纤维素酶的高

产真菌及耐热细菌上,它们的外分泌性及耐热性在酶工业生产中具有实用意义^[7]。

纤维素酶是一种多组分的复合酶,酶解是在这3种组分的协同作用下完成的。里氏木酶能合成大量的外切型- β -葡聚糖酶(CBH)和内切型- β -葡聚糖酶(EG),但是 β -葡萄糖苷酶(BG)活力很低,但是黑曲霉BG的活力很高,将黑曲霉的BG基因在里氏木酶的BG基因进一步转化为里氏木酶而提高了其纤维素酶活力。这方面的研究是目前纤维素酶分子生物学研究的一个热点^[7]。纤维素基因在酵母中的表达是纤维素酶基因工程向应用发展的一个重要途径^[7],若将3类主要纤维素酶基因导入酿酒酵母,效果值得期盼。存在的问题是,酵母表达外源纤维素酶基因的水平仍然有限,故提高酵母表达纤维素的产量将是一个重要的研究课题^[8]。总之,高效、低价的纤维素酶必然可以促进纤维乙醇工业的快速发展。

3 纤维素的糖化和发酵

纤维素的糖化主要是将预处理后的醪液水解为容易发酵的单糖。纤维素酶是一种多组分的复合酶,有内切型- β -葡聚糖酶(EG)、外切型- β -葡聚糖酶(CBH)和 β -葡萄糖苷酶(BG)组成。有关纤维素酶催化的具体机制至今仍未完全研究清楚,但普遍认为是在这3种组分的协同作用下,天然纤维素才能水解。纤维素大分子是由分子链排列整齐、紧密的结晶区和结构疏松但取向大致与纤维主轴平行的无定形区交错结合的体系。在纤维素水解过程中,首先由内切型- β -葡聚糖酶优先在纤维素聚合物的内部起作用,在纤维素的无定形区进行切割,产生新的末端,生成较小的葡聚糖;然后由外切型- β -葡聚糖酶作用于末端,释放出纤维二糖和其他更小分子的低聚糖;最后由 β -葡萄糖苷酶将纤维二糖分解为葡萄糖分子^[9]。然后在适宜的发醇条件(温度、pH、酶的用量等)下发醇成乙醇。

纤维糖化和发酵的方法主要有分步水解糖化发酵法(SHF法:Separate Enzymatic Hydrolysis and Fermentation);同步糖化发酵法(SSF法:Simultaneous Saccharification and Fermentation);非等温同时糖化发酵法(NSSF法:Non-isothermal Simultaneous Saccharification and Fermentation);同步糖化共发酵法(SSCF法:Simultaneous Saccharification and Co-fermentation)和固定化细胞发酵法(CBP法:Consolidated Bioprocessing方法)。

SHF法是一种比较传统的制取乙醇的方法。该法先用纤维素酶水解纤维素;再把酶解后的糖液作为发酵碳源,移入发酵罐中发酵生产乙醇。但是该方法工艺较复杂,需要的设备较多,投资较大。

SSF法最早由 Gauss 等^[10]提出,它是将水解和乙醇

发酵结合起来,在同一发酵罐中进行直接产生乙醇的过程。该工艺将纤维素酶解和乙醇发酵在同一个反应器中进行,由于纤维素酶解产生的葡萄糖立即为酵母所利用,所以纤维二糖和葡萄糖的浓度很低,解除了纤维二糖和葡萄糖对纤维素酶的抑制作用,提高了酶解效率,简化了反应设备,可节约设备投资的20%左右^[11],减少了外部微生物污染的危险性,节约了总生产时间,提高了生产效率^[12]。但是,该方法也存在一些缺点。首先,最佳的水解和最佳的发酵所需温度之间的矛盾。最佳水解温度为45~50℃,而最佳的发酵温度为28~35℃。SSF常在35~38℃下操作,这一折中处理使酶的活性和发酵的效率都不能达到最大^[14]。第二,木质纤维素的预处理过程中出现的有毒物质对微生物的发酵和纤维素酶的活性有抑制作用^[14]。第三,细胞分裂过程中释放的一些化合物会导致纤维素酶的活性降低,而酶的制备过程中的化合物会降低微生物的生存能力,从而导致细胞分裂,所以达到微生物与酶的兼容性成为了SSF法的一大难题^[13]。第四,由于乙醇对于同步糖发酵法效率的阻碍,很难同时达到纤维素高的转化率和合理的乙醇浓度^[14]。乙醇浓度和纤维素的转化率是同步糖化发酵法经济评价的两个重要因素。在同步糖化发酵法中,曾报道的最高的乙醇浓度为57g/L,但只有70%的纤维素被转化成乙醇和糖。在大部分同步糖化发酵法中,只有在低的乙醇浓度20~40g/L时,纤维素的转化率才会很高^[15]。Kim Olofsson 等^[16]通过增加底物浓度、较小酵母浓度和把己糖和戊糖共发酵的工艺优化,以小麦秸秆为原料,在己糖和戊糖的含量大于70%的情况下,乙醇的浓度可以达到40g/L。Ghose 等^[17]研究了真空法与SSF法的耦合技术,经过1h的真空循环产生约121.5g/L的酒精。然而最大的酒精浓度在真空操作的前15min出现,1h后酒精的浓度逐渐减小。Pradip K.Roychoudhury 等^[18]研究表明,SSF法经过15min的真空循环操作比60min的真空循环操作节约70%的真空能。

NSSF法是为了克服SSF法在最佳的水解和最佳的发酵所需温度之间的矛盾而提出一种方法。该法在1998年由Zhangwen Wu和Y.Y.Lee^[19]提出,此工艺流程包含一个水解塔和一个发酵罐,不含酵母细胞的流体在两者之间循环^[20]。该设计使水解和发酵可在各自最佳的温度下进行,可消除水解产物对酶的抑制作用,可节约纤维素酶30%~40%^[21],同时乙醇的产量和产率都显著提高,但增加了流程的复杂化。Kyeone-Keun Oh 等^[22]通过基于Runge-Kutta方法^[23]的优化程序得到了NSSF法生产乙醇的温度曲线,并且获知在NSSF法中可以得到的最大酒精浓度为14.87g/L,该方法比用SSF法的乙醇转化率提高了14%~21%。Kadar^[24]等进行了纤维素先

在 50 °C 条件下预处理 24 h, 然后再加入酵母在 30 °C 的条件下进行发酵实验。其结果显示, 此工艺的 NSSF 法的酒精产率比在 40 °C 进行糖化发酵的 SSF 法所得的酒精产率没有增加, 而且经济效益略低。但是他们没有就工艺的第二步在较高温度下进行, 尽管 30 °C 适宜于糖的发酵, 但是纤维素酶的活力比较低, 使纤维素不能完全水解。

SSCF 法是利用一种微生物将己糖和戊糖在同一生物反应器中同时进行发酵的方法^[25]。由于预处理后不用分离出戊糖, 这种工艺简化了生产设备和工艺流程, 进而节约了投资; 同时由于大量减少了酶的用量, 降低了生产成本。因而该法是一种经济可行的方法。该方法的推广关键是寻找一种高效、经济的酶。Lawford 和 Rousseau^[26]利用 *Zymomonas mobilis* 的变异菌种实现了己糖与戊糖的共同转化。McMillan^[27]等利用稀酸预处理黄杨为原料和木糖酵母 *Z.mobilis* 的变种为酵母进行 SSCF 的研究, 产生了大于 30 g/L 的酒精, 可利用糖的转化率为 54 %。Kim^[28]等以氨气爆破的玉米秸秆为原料, 利用重组细胞 *E.coli* 进行 SSCF 法实验。固体的木聚糖和葡聚糖都得到了充分利用, 酒精产率为葡聚糖理论得率的 109 %, 这表明部分木聚糖转化为酒精。

CBP 法能使发酵器内细胞浓度提高, 细胞可连续使用, 使最终提高发酵液乙醇浓度。较高的乙醇浓度可以显著降低后续分离的能量消耗。该方法常用的载体为明胶、海藻酸钠、卡拉胶、多孔玻璃等^[2]。Hamelinck^[29]等认为 CBP 法是一种新型的具有巨大潜力的酒精生产方法, 是生产酒精理论的终点。固定化细胞发酵的新动向是混合固定细胞发酵, 如酵母与纤维二糖酶一起固定化, 将纤维二糖转化成乙醇, 此法引人注目, 有希望成为纤维素生产乙醇的重要手段^[2]。邓旭^[2]等提出了利用固定化啤酒酵母和固定化毕赤酵母串联发酵混合糖制取乙醇这一种具有工业前景的新工艺, 它实现了发酵过程的连续化操作, 又消除了葡萄糖效应对木糖发酵的影响, 保证了木糖发酵与葡萄糖发酵在串联流程中的同步性, 从而大大缩短了混合糖发酵的周期, 保证了整体发酵速率。South^[30]等通过实验比较了利用 SSF 法和 CBP 法把预处理的硬木转化为酒精的效率。SSF 法中利用的微生物为 *T.reesei* 和 *S.cerevisiae*, 而 CBP 法利用的微生物为热纤梭菌。在相同的培养基的条件下, SSF 法中纤维素的酶解率为 31 % (9 h) 到 86 % (48 h), 而在 CBP 法中, 纤维素的酶解率为 77 % (12~14 h), 可见 CBP 法的效率高于 SSF 法。Szczo drak 和 Fiedurek^[31]认为利用 CBP 法高效的生产酒精就必须潜心研究新的嗜热菌株, 并且这种菌株可以忍受高浓度的酒精和不产生有机酸等副产物。Lee^[32]等已经分离出了几种可以水解纤维素的厌氧微生物, 它们可以用于利用 CBP 法生产酒精。但是这种微生物发酵

非常缓慢 (3~12 d), 因而生产酒精的效率很低, 而且有副产物的生成, 如乳酸、乙酸等。Den Haan^[33]等将重组菌株 *S.cerevisiae* 运用于 CBP 法中。这种菌株可以在纤维素的表面生长, 同时分泌大量的内葡聚糖和 β -葡糖苷酶。这表明可以找到能够实现自我繁殖和直接将纤维素转化为酒精的菌株。这种菌株对纤维乙醇工业的发展是非常重要的。

4 乙醇发酵与产物分离耦合

发酵法生产乙醇时, 存在着产物抑制现象, 即乙醇发酵过程中乙醇质量浓度累积超过 50~80 g/L 就会抑制酵母细胞生长, 随着乙醇浓度的升高, 抑制作用加强, 当乙醇体积分数增加到 12 % 时, 酵母就基本失去了活性。这限制了发酵原料液中含糖量的提高和发酵液中乙醇浓度的提高, 从而增加了原料糖化和无水乙醇制取过程的能耗, 为此, 采用乙醇发酵与产物分离耦合是解决这两大问题的主要工程途径^[34]。利用纤维素固相酶解-液体发酵相耦合的技术可以有效地提高纤维素酶解效率和乙醇发酵效率, 降低纤维素酶解发酵乙醇的成本。郑州大学生物工程中心和南阳天冠集团生物工程技术中心共同研制的年产 20 万 t 变性燃料乙醇项目已经顺利投产, 该工艺就采用了发酵与分离的真空耦合技术, 这样可以有效缩短发酵时间, 节约蒸馏分离耗能的 1/3 左右, 降低生产成本。

5 同步糖化技术的展望与方向

纤维乙醇生产的原理虽然已经清楚, 但是利用酵母或细菌发酵生产乙醇仍然存在着几个制约因素。

5.1 进一步研究纤维素原料的预处理^[35], 找到一种经济、节能、环保的预处理技术, 以有效降低生产成本。现阶段还是主要采用化学法进行预处理, 该方法还是存在生产效率低、能耗高、不环保等缺点。

5.2 纤维素酶和木聚糖酶的生产成本过高^[35]。有效降低纤维素酶和木聚糖酶的成本或是寻找新的高效的纤维酶是纤维乙醇生产链中的一项关键的技术, 对纤维乙醇的产业化有重要的作用。

5.3 进行固体发酵技术的研究, 解决目前存在的污染率高和成本高的问题。

事实上除了上述三大问题外, 纤维素原料的贮藏和运输也是制约产业化的关键问题, 因此, 研究纤维素原料的贮藏和运输也是当务之急。

随着石油储量的日渐减少、环保要求的不断提升和纤维乙醇技术瓶颈的不断突破, 纤维乙醇的前景将会非常广阔。

参考文献:

[1] 黄治玲. 燃料乙醇的生产与利用[J]. 化工科技, 2003, 11(4):

- 44-47.
- [2] 武冬梅,李冀新,孙新纪.纤维素类物质发酵生产燃料乙醇的研究进展[J].酿酒科技,2007,(4):116-120.
- [3] 马晓建,赵银峰,祝春进,等.以纤维素类物质为原料发酵生产燃料乙醇的研究[J].食品与发酵工业,2004,(11):77-81
- [4] 王振宇,曹军.木质纤维素转化乙醇预处理工艺研究现状与发展趋势[J].中国林副特产,2008,(3):95-96.
- [5] 刘娜,石淑兰.木质纤维素转化为燃料乙醇的研究进展[J].现代化工,2005,25(3):19-24.
- [6] 王超,章超桦.酶解纤维素类物质生产燃料酒精的研究进展[J].节能,2003,(12):6-9.
- [7] 穆小民,吴显荣.纤维素酶分子生物学研究进展及趋势[J].化学与生物工程,2007(18):15-19.
- [8] Phillpdis P.G.et al,[J].Biotechnology and Bioengineering 1993,41:846-853.
- [9] 杨小寒,周美华,黄爱玲.废弃纤维材料的酶水解[J].东华大学学报,2005,31(1):120-123.
- [10] Gauss WF, Suzuki S, Takagi M. Manufacture of alcohol from cellulosic materials using plural ferments[J]. Bio Research Center Company, 1976.
- [11] Wingren A, Galbe M, Zacchi G. Techno-economic evaluation of producing ethanol from softwood: Comparison of SSF an SHF and identification of bottlenecks[J]. Biotechnol Prog 2003,19(4):1109-1117.
- [12] Kim Olofsson, Magnus Bertilsson, Gunnar Lidé n. A short review on SSF-an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks[J]. Biotechnology for Biofuels,2008.
- [13] Yin Lin. Shuzo Tanaka. Ethanol fermentation from biomass resource :current State and prospects, Apply Microbiol Biotechnol[M]. NewYork: Springer-Verlag,2005.
- [14] P.A.M.Claassen.J.B.van Lier.Utilization of biomass for the supply of energy carriers[J].Appl Microbiol Biotechnol,1999,52:741-755.
- [15] 阴春梅,刘忠,齐宏升.生物质发酵生产乙醇的研究进展[J].酿酒科技,2007,(1):87-90.
- [16] Kim Olofsson,Magnus Bertilsson, Gunnar Liden. A short review on SSF-an interesting progress option for ethanol production from lignocellulosic Feedstocks[J]. Biotechnology for Biofuels,2008.
- [17] Ghose,T.K.,Roychoudhury,p.k.and Ghosh.P.[J]. Biotechnol. Bioeng.1984,26:377.
- [18] Pradip K.Roychoudhury,Tarun K.Ghose and Purnendu Ghosh. Operational strategies in vacuum-coupled SSF for conversion of lignocellulose to ethanol[J],Enzyme Microb.Microb.technol. 1992,14:581-585.
- [19] Zhangwen Wu and Y.Y.Lee.Nonisothermal simultaneous saccharification and fermentation for direct conversion of lignocellulosic biomass to ethanol[J].Applied Biochemistry and Biotechnology. 1998,70:479-492.
- [20] 王倩,张伟,王领,李长文.生物质生产酒精的研究进展[J].酿酒科技,2003,(3):56-58.
- [21] Mohammad J.Taherzadeh.Keikhosro Karimi.Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review[J].BioResources.2007,(2):707-738.
- [22] Kyeone-Keun Oh,Seung-Wook Kim,Yong-Seob Jeone,Suk-In Hong.Bioconversion of cellulose into ethanol by nonisothermal simultaneous saccharification and fermentation [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology,2000,89:15-30.
- [23] Bruce,A.M.and Michale,A.S.MINOS 5.1use's guide[M]. Stanford University,CA.1987.
- [24] Kadar,Z.,szengyel,Z.,Reczey,K. Simultaneous saccharification and fermentation of industrial wastes for the production of ethanol[J].Ind.Crop.Prod. 2004,(2):103-110.
- [25] Hamelinck,C.N.,Hooijdonk,G.V.,and Faaij,A.P.Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-,middle- and long-term.Biomass Bioenerg[J].Applied Biochemistry and Biotechnology, 2005,28:384-410.
- [26] Lawford,H.G.,Rousseau,J.D.Improving fermentation performance of recombinant Zymomonas in acetic acid-containing media[J].Appl.Biochem.Biotech.,1998,70-72:161-172.
- [27] McMillan,J.D.,Newman,M.M.,Templeton,D.W.,Mohagheghi,A. Simultaneous saccharification and cofermentation of dilute-acid pretreated yellow poplar hardwood to ethanol using xylose-fermenting Zyomonas mobilis[J]. Appl.Biochem. Biotech. 1999,77-79,649-665.
- [28] Kim,T.h.,Lee,Y.Y.,Sunwoo,C.,and Kim,J.S.Pretreatment of corn stover by low-liquid ammonia recycle percolation process [J]. Appl. Biochem.Biotech.2006,133(1):41-57.
- [29] Hamelinck,C.N.,Hooijdonk,G.V.,and Faaij,A.P.Ethanol from lignocellulosic biomass:Techno-economic performance in short-,middle- and long-term.Biomass Bioenerg[J].2005,28(4):384-410.
- [30] South,C.R.,Hogsett,D.A.and Lynd,L.R.Continuous fermentation of cellulosic to biomass ethanol. Appl.Biochem[J]. Biotech.1993,39-40:587-600.
- [31] Szczodrak,J.,Fiedurek,J.Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol[J].Biomass Bioenerg.1996,(10):367-375.
- [32] Lee,J.Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol [J]. Biotechnol.1997,56(1):1-24.
- [33] Den Haan,R.,Rose,S.H.,Lynd,L.R. and van Zyl,W.H.Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. Metab[J].Eng.2007,9(1):87-94.
- [34] 张丽君,程可可,张建安,刘建.乙醇发酵在线分离产物耦合的研究现状[J].现代化工,2006,(26):48-52.
- [35] 陈伟红,闰德冉,杜风光,宋安东.纤维质原料生产燃料乙醇的研究进展[J].农业与技术,2006,26(4):29-32.