

# 燃料乙醇发酵技术研究进展

苏小军<sup>a</sup>, 熊兴耀<sup>a</sup>, 谭兴和<sup>b</sup>, 刘明月<sup>a</sup>

(湖南农业大学<sup>a</sup>.园艺园林学院; <sup>b</sup>.食品科学技术学院, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 世界能源安全正面临挑战。清洁的可再生能源生物质燃料乙醇的发展越来越被重视。从生产原料、酶与微生物、技术和工艺等方面, 概述了燃料乙醇发酵技术的研究进展, 并展望了今后的研究方向。

能源是经济和社会发展的基本动力。过去50年里, 尽管煤、石油和天然气的应用大大推动了世界经济的发展和人类社会的进步, 但这些化石能源都不可再生, 无法实现可持续发展。按照已探明的储备量和开采速度推算, 全球石油的平稳供应只能维持将近50年, 天然气不足100年, 煤炭不足200年<sup>[1]</sup>

。也就是说, 地球上的化石能源资源在不远的将来就会被耗尽, 全球能源安全正面临严峻挑战。同时, 化石能源的使用对环境污染和全球气候的影响日趋严重, 伴随着能源消耗的不断增长, 全球环境污染物的排放量逐年加大。

生物质能是以生物质为载体的能量, 即蕴藏在生物质中的能量, 是绿色植物通过叶绿素将太阳能转化为化学能而贮藏在生物质内部的能量形式。燃料乙醇是生物质能中最主要的能源之一, 也称燃料酒精。它是一种清洁的可再生能源, 在整个生产和使用循环中, 可以实现CO<sub>2</sub>的自身平衡, 不增加温室气体的排放。燃料乙醇不仅可直接用作燃料, 而且还可广泛应用于电力、医疗、化工等领域。作为新的替代能源, 燃料乙醇的研究和应用已被许多国家摆到了重要的战略地位。

燃料乙醇是以生物质为原料, 通过发酵、蒸馏、脱水得以制成。近年来, 由于燃料乙醇产业的形成和发展, 其生产技术与工艺的研究和改进受到了高度重视, 形成了一个比较成熟的体系, 在能源、环保和农业等领域发挥了重要作用。

## 1 生物质原料

燃料乙醇生产的生物质原料主要包括3大类。第1类是糖质原料, 包括甘蔗、甜高粱等; 第2类是淀粉质原料, 包括薯类、谷物等; 第3类是纤维类原料, 包括芦苇、苕麻杆、秸秆和稻壳等。糖可经微生物发酵直接转化为乙醇。淀粉和纤维素则需先水解为可发酵性糖, 然后经发酵转化为乙醇。

利用糖质和淀粉质原料生产燃料乙醇已有多年的历史。美国于2006年首次超越巴西成为全球最大的燃料乙醇生产国。年产量达1460万t。目前主要以玉米为原料。巴西为世界第二大燃料乙醇生产国, 20世纪70年代就开始研发燃料乙醇。主要以甘蔗为原料。法国和德国是欧盟中燃料乙醇产量最多的国家。谷物、薯类和甜菜均为其生产原料。中国从20世纪末期开始由政府组织研究和开发燃料乙醇。现阶段主要以玉米和小麦为原料。为了保证国家的粮食安全和满足燃料乙醇产业进一步发展的需求, 薯类、甜高粱、甘蔗等替代原料正得以迅速发展。

纤维类原料来源极为丰富, 全球每年仅陆生植物就可产纤维素约 $5 \times 10^{11}$ t<sup>[2]</sup>

, 因此, 利用纤维素生产燃料乙醇具有很大的潜力。由于纤维素类物质结构非常复杂, 水解难度大, 通常需经过一些预处理, 如酸处理、碱处理、微波处理、蒸汽爆破处理等, 才能被有效地降解为可发酵性糖。由于这些预处理成本高, 废水处理压力大, 再加上存在原料比较分散, 体积大, 运输、贮藏费用高等问题, 使得以纤维素为原料生产燃料乙醇的研究仍处于试验阶段, 离商业化生产还有一段距离<sup>[3]</sup>。

## 2 酶与微生物

燃料乙醇的生成是一个生物与化学反应的过程, 可分为两部分: 一部分为有机底物, 如纤维素、淀粉等, 被纤维素酶、淀粉酶、糖化酶等水解为可发酵性糖的过程, 另一部分为可发酵性糖被微生物转化为乙醇和二氧化碳的过程。与整个过程相关的酶与微生物也可相应地被分成两部分: 一部分为负责水解糖化的纤维素酶、淀粉酶和糖化酶等及微生物; 另一部分为负责将可发酵性糖转化为乙醇的微生物。

淀粉质原料的水解相对来说比较容易, 根霉、曲霉、枯草芽孢杆菌等所产生的酶系统均能有效地将淀粉水解为单糖。许多酵母菌, 如Candida tsukubaensis CBS 6389, Filobasidium

capsuligenum等也能产生淀粉酶和糖化酶<sup>[4]</sup>

。糖化酶一般由催化域、连接域和结合域组成。黑曲霉糖化酶又分为GA<sub>1</sub>和GA<sub>2</sub>两种类型,前者由催化域、连接域和结合域组成,后者为前者的水解产物,缺失淀粉结合域<sup>[5]</sup>

。GA<sub>1</sub>和GA<sub>2</sub>对可溶解淀粉具有相同的催化水解能力。由于缺乏淀粉结合域,GA<sub>1</sub>对不可溶解淀粉的水解能力比GA<sub>2</sub>要弱得多。由于具有与生淀粉亲和的功能部位,糖化酶能直接水解淀粉分子生成葡萄糖,其水解速率与能否被生淀粉分子吸附和吸附强度有

关。淀粉酶可分为4大类:内切酶、外切酶、脱枝酶和转移酶<sup>[6]</sup>

。通常情况下,淀粉酶也存在吸附淀粉和不吸附淀粉两种类型。前者具有水解淀粉的能力,后者则不具备,但也有研究发现,一些微生物所产生的淀粉酶不吸附淀粉,但对生淀粉却有很强水解能力<sup>[7]</sup>。

纤维素类原料为一类结构复杂的高分子聚合物,被酶水解很困难,效率较低。纤维素酶是由多种酶所构成的多组分酶系,包括外切酶、内切酶、纤维二糖酶及其他辅酶,它们协同作用,将纤维素水解为单糖。产纤维素酶的细菌有梭菌、纤维单胞菌、杆菌等,真菌有白绢菌、白腐真菌等。纤维素酶的水解机制存在两种假说:一种认为,首先由内切酶在非结晶区进行切割,产生新的末端,然后再由外切酶以纤维二糖为单位进行水解,最后由纤维二糖酶将纤维二糖水解为葡萄糖;另一种认为,首先由外切酶水解纤维素为不溶性纤维素、可溶性纤维糊精和纤维二糖,然后再由内切酶水解纤维糊精成纤维二糖,最后由纤维二糖酶将纤维二糖水解为葡萄糖<sup>[3]</sup>。

产乙醇的微生物有细菌(如Clostridium sporogenes)、真菌(如Monilia sp)和酵母菌(如27817-Saccharomyces cerevisiae),但应用最普遍的还是酵母菌,尤其是酿酒酵母<sup>[4]</sup>

。酿酒酵母是传统的乙醇生产菌株,具有良好的工业生产性状。酿酒酵母基因全序列已被测定,其遗传操作等技术已基本成熟,如利用其构建可利用木糖的工程菌株,构建能直接利用淀粉的工程菌株等。除酿酒酵母外,兼性厌氧细菌运动发酵单胞菌是另一个主要研究和开发的对象。与酵母菌相比,其具有吸收糖率高、产生物量少、耐乙醇能力强、发酵时无需控制加氧、耐高渗透压、易于基因操作等优点。但也有不足之处,如不能转化复杂的碳水化合物如纤维素等;产生山梨醇、甘油、乙醛、乙酸等副产物;产生胞外果聚糖。工程细菌在燃料乙醇生产的研究和应用方面取得了很大的进展,其中利用基因工程的方法来改造运动发酵单胞菌、大肠埃希氏菌、产酸克雷伯氏菌等是目前的研究热点,如构建运动发酵单胞菌代谢树胶醛缩酶和木糖,利用基因工程大肠埃希氏菌同时转化葡萄糖和木糖,构建产酸克雷伯氏工程菌发酵纤维二糖等。

### 3技术和工艺

#### 3.1同步糖化发酵

传统的乙醇生产工艺都是先糖化后发酵。同步糖化发酵法则采用边糖化边发酵原理,即原料不经预先糖化,直接进入发酵,糖化和发酵在一个反应器中同时进行。发酵液中可发酵性糖的含量始终保持在较低水平。发酵过程比较平稳。同步糖化发酵法既免去了糖化工序,又削减了水解产物对糖化酶的反馈抑制,也降低了高浓度糖底物对酵母菌的抑制作用,因而使得乙醇产率较高<sup>[8]</sup>。

同步糖化发酵法可分为两种类

型。一是酶糖化与微生物发酵同步进行,如,Zhu等<sup>[9]</sup>

以水稻秸秆为原料,采用纤维素酶与酵母菌共培养的方式进行同步糖化发酵,可使乙醇的最终质量浓度达25.8g/L,转化率达57.5%;张德强等<sup>[10]</sup>

以绿色木霉纤维素酶和酿酒酵母同步糖化发酵经汽爆处理后的毛白杨木粉,乙醇的转化率高达86%,比分步糖化发酵法提高了1.6倍。二是糖化与发酵均采用微生物且

同步进行。Verma等<sup>[11]</sup>

以具有水解淀粉功能的酵母菌和酿酒酵母及拟内胞霉菌和酿酒酵母同步糖化发酵淀粉,可使乙醇的转化率达93%,比同等条件下单菌种的培养和利用糖化酶、淀粉酶处理的传统两步法均要高。

除了能够提高乙醇的产率外,同

步糖化发酵法还可缩短发酵周期。Montesinos等<sup>[12]</sup>

以小麦为原料,比较了先糖化6h再进行同步糖化发酵、先糖化后发酵和直接同步糖化发酵3种生产乙醇的方法,结果表明,直接同步糖化发酵法生产周期最短。

同步糖化发酵法存在的一个主要问题就是糖化和发酵的最适温度不一致。一般来说,糖化的最适温度高于50℃,而发酵的理想温度低于40℃。为了解决这一矛盾,研究者们提出了非等温同步糖化发酵法。但也有研究表明,非等温同

步糖化发酵法并不能提高乙醇产率。另外，选育耐热酵母菌也是解决此矛盾的一条途径。

### 3.2 生料发酵

生料发酵是指原料不经蒸煮而直接进行糖化、发酵。与传统的方法相比，生料发酵省去了高温蒸煮工艺，具有降低能耗、提高乙醇产率、简化操作工序、便于工业化生产等优点<sup>[13]</sup>。

生料发酵的关键是生淀粉的水解糖化。这与淀粉的类型及淀粉酶、糖化酶的来源密切相关。根据被酶水解为葡萄糖的难易程度，淀粉质原料可分成3大类：第1类是容易被水解的，如蜡质玉米；第2类是较容易被水解的，如普通的玉米、大麦和木薯；第3类是不容易被水解的，如马铃薯<sup>[14]</sup>。

生淀粉的水解难易程度与酶的来源有关。因此，不同类型原料生淀粉糖化的关键是筛选出适合其本身的酶或产酶的微生物。Mamo等<sup>[15]</sup>

从嗜热芽胞杆菌中纯化出了两种淀粉酶，淀粉酶和淀粉酶，在1U/mg的酶量条件下，两者对马铃薯生料的水解率分别为77%和82%，而对玉米生料的水解率分

别为44%和37%。Omemu等<sup>[16]</sup>

从土壤中筛选出了一株黑曲霉，其产生的淀粉酶能够水解多数淀粉质块茎，如马铃薯、木薯、红薯等，其中以对木薯生淀粉的水解能力最强。此外，培养条件也影响酶的产生和作用效果，如甘蔗渣培养基对黑曲霉生淀粉水解酶的诱导作用就大大强于普通的可溶性淀粉培养基<sup>[17]</sup>。

另外，通过一些物理、化学、基因工程的方法，也可获得较理想的生产菌株。

生料发酵是一个复杂的生物与化学过程，常采用同步糖化发酵工艺，受多种因素的影响。研究表明，对发酵液最终乙醇浓度的影响因素由大到小依次为原料种类、淀粉浓度、介质的pH值、发酵菌剂加量；对原料乙醇产生率的影响因素由大到小依次为原料种类、介质的pH值、发酵菌剂的加量、淀粉浓度<sup>[18]</sup>。

### 3.3 固定化发酵

传统的乙醇生产工艺采用游离细胞发酵。细胞随发酵液不断流走，造成发酵罐中细胞的浓度不够大，乙醇产生速度慢，发酵时间长，且所用发酵罐多，设备利用率不高。采用固定化细胞发酵，细胞可连续使用，发酵罐中的细胞浓度始终保持很大，乙醇产生速度快，产量也高。田沈等<sup>[19]</sup>

以海藻酸钙为包埋介质，固定化运动发酵单胞菌，在10%葡萄糖培养基中多批次半连续发酵，可在8h内使乙醇产率系数达0.50，乙醇产率达理论值的98%，而同等条件下游离细胞的乙醇产率仅为理论值的88.2% (产率系数0.45)。Kobayashi等<sup>[20]</sup>

以海藻酸钙凝胶为载体，固定化可分泌淀粉酶的基因重组酵母菌，通过对淀粉直接发酵过程中的细胞生长、淀粉降解、葡萄糖积累、乙醇产生和糖化酶合成进行测定，并利用数学模型进行分析。结果表明，细胞固定法培养远远优于细胞游离法培养，前者乙醇的产率为后者的10倍。

为进一步提高乙醇产率，研究者们又提出了同步糖化发酵与固定化相结合的混合发酵法，包括糖化酶与产乙醇微生物的共固定

化、纤维素酶与产乙醇

微生物的共固定化、糖化菌与产乙醇微生物的

共固定化等。如，Fujii等<sup>[21]</sup>

以纤维素为载体，共固定泡盛曲霉和巴斯德酵母菌进行同步糖化发酵，获得的乙醇最大质量浓度可达25.5g/L，并且这个共固定化体系可重复使用3次，最终产生的乙醇质量浓度达66g/L。

### 3.4 高浓度发酵

高浓度乙醇发酵目前尚未有统一的定义。现阶段，乙醇生产企业淀粉质原料糖化液中可溶性固型物的质量分数多为20%~25%，

因此有人将高浓度乙醇发

酵定义为，每1L发酵液中含有30%或更高可溶性固

型物的乙醇发酵<sup>[22]</sup>

。一般情况下，企业通过发酵法所获得的乙醇体积分数为8%~12%，而高浓度发酵可使乙醇的体积分数达到18%以上。高浓度乙醇发酵具有节约用水、提高单位设备的生产率、降低能耗、减少环境污染等优点，是一种有很大应用价值的乙醇发酵技术。国内外对高浓度乙醇发酵的研究主要集中在两个方面：一是高产和高耐受力菌种的选育；二是发酵工艺条件的研究。

乙醇是微生物的代谢产物,当累积到一定浓度时,它会对微生物产生毒害作用,表现为抑制其生长、存活、发酵等。以酵母菌为例,一般情况下,当发酵液中的乙醇体积分数达到23%时,酵母细胞不再生长,也不产生乙醇;只有当乙醇体积分数低于3.8%时,它对酵母菌的抑制作用才可忽略不计。不同微生物对一定浓度的乙醇有不同的耐受能力,因此,要实现高浓度乙醇发酵

,首先需获得高产和高乙醇耐受力的生产菌株。刘建军等<sup>[23]</sup>

从土壤、黄酒酒醅等样品中分离筛选出产乙醇酵母,再经热冲击、紫外线和射线照射处理,最后获得一株高产乙醇酵母菌,以玉米淀粉为原料,32℃发酵60~68h,可产乙醇17.5%以上,菌种对乙醇的耐受度超过20%。

除了与酵母菌耐受乙醇的能力有关外,高浓度乙醇的生产还与发酵过程中细胞所处的外部环境和工艺密切相关。由于高浓度乙醇发酵存在的主要问题是产物抑制、高渗透压和营养不足,因此培养基的成分、糖的浓度、发酵温度、乙醇浓度等都是影响其发酵时间和效率的重要因素。Reddy等<sup>[24]</sup>

往高浓度乙醇发酵(含糖30%~40%)基质中添加4%~6%的扁豆粉,结果乙醇的产量增加了50%,同时副产物甘油的产量也大大降低。他们认为扁豆粉不仅供给了酵母菌营养,而且其内含的物理和化学因子对于降低高渗透压可能也发挥了重要作用。

#### 4展望

能源、环境和“三农”问题是长期困扰中国经济发展的3大重要问题。发展燃料乙醇产业不仅有助于保证中国能源供应安全,改善生态环境,而且还能拓宽农业服务领域,为农民增收开辟新途径,因此,“十一五”期间,进一步发展燃料乙醇产业,对于构建中国能源安全新体系和促进社会和谐发展,具有重要的现实意义和战略意义。按照《变性燃料乙醇及车用乙醇汽油“十一五”发展专项规划》,“十一五”期间,中国将生产燃料乙醇500万t,到2020年,生产燃料乙醇1500万t。目前,我国燃料乙醇的产能还不到200万t。因此,未来燃料乙醇产业在中国有巨大的发展空间。

原料问题是中国燃料乙醇产业发展所需要解决的首要问题。由于受多种因素限制,纤维素燃料乙醇目前还难以产业化,糖质和淀粉质仍是生产的主要原料来源。“十五”期间,中国主要以玉米、小麦等为原料生产燃料乙醇。为了保障粮食安全,中国燃料乙醇的进一步发展需要建立新的原料体系。薯类、甜高粱、甘蔗等经济作物将是构成这一体系的主体部分。因此,下一阶段的研究重点应是如何实现这些经济作物的高效大规模生产,并将其所蕴藏的能量高效地转化为燃料乙醇。

目前,燃料乙醇的生产还存在成本偏高、能耗较大的问题,因此,有关燃料乙醇生产的研究也主要集中在这两方面。原料成本是影响总成本的主要因素,所以对燃料乙醇生产的原料进行比选很重要。有研究表明,与玉米和小麦相比,无论是原料成本,还是单位面积燃料乙醇产量,薯类均处于优势地位<sup>[25-26]</sup>。因此,发酵技术的研究也应更多地针对这类原料开展。

在生产工艺方

面,同步糖化发酵法工艺简单、

建设投资少,可使燃料乙醇的生产成本降低20%以上<sup>[27-28]</sup>

。该工艺的一个关键问题就是如何协调好糖化与发酵的最适温度。由于免去了高温蒸煮工艺,生料发酵法具有显著的节能效应。该项技术目前已引起了整个燃料乙醇业的极大关注。生料发酵的关键是生淀粉的水解糖化,因此生淀粉糖化酶、淀粉酶的分离纯化、生淀粉糖化菌的选育、生淀粉基因工程菌的构建一直是人们研究的重点。高浓度发酵即可节约发酵过程中的能耗,又能减少下游工程蒸馏的能耗,在一定程度上有效地实现了节能。因此,只要解决好产物抑制、高渗透压、营养不足等相关问题,该项技术也将会展示出诱人的应用前景。此外,多种发酵技术的结合使用可同时减少投资、缩短发酵周期和提高乙醇产率,起到降低生产成本、减少能耗的作用,也是一个重要的发展方向。

参考文献:

[1]唐炼.世界能源供需现状与发展趋势[J].国际石油经济,2005,13(1):30-33.

[2]李盛贤,贾树彪,顾立文.利用纤维素原料生产燃料酒精的研究进展[J].酿酒,2005,32(2):13-16.

[3]朱圣东,吴元欣,喻子牛,等.植物纤维素原料生产燃料酒精研究进展[J].化学与生物工程,2003(5):5-11.

[4]Yan Lin, Shuzo Tanaka. Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects[J].Appl Microbiol

Biotechnol , 2006 , 69 : 627-642.

[5]Catherine A G Cornett , Tsuei-Yun Fang , Peter J , et al.Starch-binding domain shuffling in *Aspergillus niger* glucoamylase[J].Protein Engineering , 2003 , 16(7) : 521- 529.

[6]van der Maarel M J E C , van der Veen B. Uitdehaag J C M , et al.Properties and applications of starch-converting enzymes of a-amylase family[J].Journal of Biotechnology , 2002 , 94 : 137-155.

[7]Lynn M Hamilton , Catherine T Kelly , Willian M Fogarty.Raw starch degradation by non-raw starch- adsorbing bacterial alpha amylase of *Bacillus* sp.IDM 434[J].Carbohydrate Research , 1998 , 314 : 251-257.

[8]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):353-356.

[9]Zhu Shengdong , Wu Yuanxin , Yu Ziniu , et al.Simultaneous saccharification and fermentation of microwave/alkali pre-treated rice straw to ethanol[J].Biosystems Engineering , 2005 , 92(2) : 229-235.

[10]张德强,张志毅,黄镇亚.木质纤维素一步法(SSF)转化成乙醇的研究.毛白杨爆破原料一步法转化成乙醇的研究[J].北京林业大学学报,2000,22(6):50-54.

[11]Verma G , Poonam Nigam , Dalel Singh , et al.Bioconversion of starch to ethanol in a single-step process by coculture of amyolytic yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* 21[J].Bioresource Technology , 2000 , 72 : 261-266.

[12]Thierry Montesinos , Jean-Marie Navarro. Production of alcohol from raw wheat flour by *Amyloglucosidase* and *Saccharomyces cerevisiae*[J].Enzyme and Microbial Technology , 2000 , 27 : 362-370.

[13]邹东恢,梁敏,马翠翠.生料酿酒技术的应用与开发[J].酿酒科技,2005(6):61-64.

[14]Atsuo Kimura , John F Robyt. Reaction of enzymes with starch granules : Kinetics and products of the reaction with glucoamylase[J].Carbohydrate Research , 1995 , 277 : 87-107.

[15]Gashaw Mamo , Amare Gessesse.Purification and characterization of two raw-starch-digesting thermostable a-amylases from a thermophilic *Bacillus*[J].Enzyme and Microbial Technology , 1999 , 25 : 433-438.

[16]Omenu A M , Akpan I , Bankole M O , et al.Hydrolysis of law tuber starches by amylase of *Aspergillus niger* AM07 isolated from the soil[J].African Journal of Biotechnology , 2005 , 4(1) : 19-25.

[17]ABU E A , ADO S A , James D B.Raw starch degrading amylase production by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* grown on sorghum pomace[J].African Journal of Biotechnology , 2005 , 4(8) : 785-790.

[18]李祥,吕嘉栎,李小奎.生料酿酒工艺技术研究[J].酿酒科技,2002(6):42-44.

[19]田沈,王菊,陈新芳,等.固定化运动发酵单胞菌乙醇发酵研究[J].太阳能学报,2005,26(2):219-223.

[20]Fumihisa Kobayashi , Yoshitoshi Nakamura.Mathematical model of direct ethanol production from starch in immobilized recombinant yeast culture[J].Biochemical Engineering Journal , 2004 , 21 : 93-101.

[21]Fujii N , Oki T , Sakurai A , et al. Ethanol production from starch by immobilized *Aspergillus awamori* and *Saccharomyces pastorianus* using cellulose carriers[J].Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology , 2001 , 27 : 52-57.

[22]侯保朝,杜风光,郭永豪,等.高浓度酒精发酵[J].酿酒科技,2005(4):93-96.

[23]刘建军,姜鲁燕,赵祥颖,等.高产酒精酵母菌种的选育[J].酿酒,2003,30(1):57-59.

[24]Reddy L V A , Reddy O V S. Improvement of ethanol production in very high gravity fermentation by horse gram(*Dolichos biflorus*) flour supplementation[J].Letters in Applied Microbiology , 2005 , 41(5) : 440-444.

[25]苏小军,熊兴耀,谭兴和,等.马铃薯等农作物生产燃料乙醇的性能比较[C]//马铃薯产业与冬作农业.哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,2006.

[26]曾麟,王革华.中国甘蔗燃料乙醇生产的技术、经济和环境可行性分析[J].可再生能源,2006(4):46-49.

[27]Hinman N D, Schell D J, Riley C J, et al.Preliminary estimate of the cost of ethanol production for simultaneous saccharification and fermentation technology[J].Appl Biochem Biotechnol, 1992, 34/35: 639-649.

[28]Van Sivers M, Zacchi G.A techno-economical comparison of three processes for the production of ethanol from pine[J].Bioresource Technol, 1995, 51: 43-52.

原文地址：<http://www.china-nengyuan.com/tech/94628.html>