

# 可再生原料发酵生产生物丁醇的研究进展

吴又多<sup>1</sup>, 齐高相<sup>1</sup>, 陈丽杰<sup>1\*</sup>, 白凤武<sup>1,2</sup>

(1. 大连理工大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116024;

2. 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240)

**摘要:**介绍了生物丁醇制造技术发展现状及产丁醇微生物及其代谢机制, 简述了基于可再生原料生物丁醇制造工艺中存在的问题及其应对策略, 介绍了国内外针对可再生原料发酵生产生物丁醇的最新研究进展, 最后展望了生物丁醇的未来发展前景。

**关键词:**生物丁醇; 可再生原料; 产溶剂梭菌; 丙酮丁醇发酵

中图分类号: TQ920

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2014)02-0044-05

## Research progress of biobutanol production from renewable feedstocks

WU You-duo<sup>1</sup>, QI Gao-xiang<sup>1</sup>, CHEN Li-jie<sup>1\*</sup>, BAI Feng-wu<sup>1,2</sup>

(1. School of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

2. School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract:** Current status of biobutanol manufacturing technology and metabolic mechanism of solventogenic clostridia are reviewed. Challenges and solutions involved in acetone-butanol-ethanol fermentations are also briefly introduced with respect to various feedstocks-derived substrates. More details are focused on current research progress of biobutanol production from novel and renewable feedstocks applied in acetone-butanol-ethanol fermentations. Finally, the prospects of biobutanol are discussed.

**Key words:** biobutanol; renewable feedstocks; solventogenic clostridia; acetone-butanol-ethanol fermentation

丁醇是一种用途广泛的大宗化工原料, 同时也是极具发展潜力的新一代绿色燃料。随着近年来全球石油资源的日渐枯竭、相应价格的迅猛攀升以及生态环境的日益恶化, 全球生物质能源(生物柴油及生物乙醇等)产业的快速崛起, 利用微生物发酵法生产丁醇迅速得到全球科研与工业领域的广泛关注, 成为当今世界生物质能源发展战略的重要组成部分。

## 1 生物丁醇制造技术发展现状

生物丁醇相对于传统生物燃料和低级醇, 具有良好的理化性质及燃烧性能(如表1所示), 表现在高热值、低挥发性、强混合性和弱腐蚀性等方面。事实上, 生物丁醇发酵技术历史悠久, Pasteur早在1861年首次报道了以微生物发酵生产丁醇的方法, Chaim Weizmann则在1912年发现了丙酮丁醇发酵菌株, 随后丙酮丁醇发酵产业(acetone-butanol-ethanol, ABE)开始迈向全球。然而传统生物丁醇工艺丁醇产量、产率及原料转化率较低, 加重了后期分离成本, 而传统糖质及淀粉质原料成本过高, 占总成本60%~70%, 削弱了生物丁醇发酵的经济性能与

市场竞争力。与此同时, 协调人口、生态环境与自然资源平衡关系已经成为全球可持续发展道路上的关键问题, 因此, 开发经济型可再生原料替代现有粮食原料及其高效生物转化平台已经成为解决当前生物丁醇发酵问题, 维持经济可持续发展的关键。

表1 常见燃料和低级醇的燃烧性能比较

燃料	密度 (20℃)/ (g·mL <sup>-1</sup> )	十六 烷值	辛烷值	能量 密度/ (MJ·L <sup>-1</sup> )	饱和和压力 空燃比 (38℃)/ kPa	
汽油	0.72~0.78	0~10	80~99	32	14.6	31.01
柴油	0.82~0.86	40~55	20~30	31~33	12.5	1.86
甲醇	0.796	3	111	16	6.5	31.69
乙醇	0.790	8	108	19.6	9.0	13.80
丁醇	0.808	25	96	29.2	11.2	2.27

总体来说, 全球可再生原料来源极为广泛, 基于新型糖质与淀粉质、木质纤维素类原料、生产废弃物以及生物质微藻等原料的经济型生物丁醇发酵工艺已经成为当前生物丁醇研究热点, 但是这些可再生原料在利用过程中仍然存在不同程度的限制因素(如图1所示)。因此, 开发新型可再生原料预处理

收稿日期: 2013-09-17; 修回日期: 2013-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(21376044); 国家“863”计划项目(2012AA021205); 国家“863”计划项目(2011AA02A208); 大连市科技计划项目(2011D12ZC141)

作者简介: 吴又多(1987-), 男, 博士生; 陈丽杰(1965-), 女, 硕士, 副教授, 主要从事生物能源方面研究, 通讯联系人, 0411-84706308, ljchen@dlut.edu.cn。

技术以提高发酵糖转化能力,拓展并提高产丁醇梭菌底物利用范围与代谢能力,在此基础上偶联先进丁醇分离技术以进一步获得溶剂高效转化能力,最终构建可再生原料高效生物转化平台以提高原料利用率,是开发更为经济的生物丁醇发酵工艺,解决当前生物丁醇产业发展道路中的瓶颈问题,有效提高生物丁醇发酵效率的关键技术手段<sup>[1]</sup>。

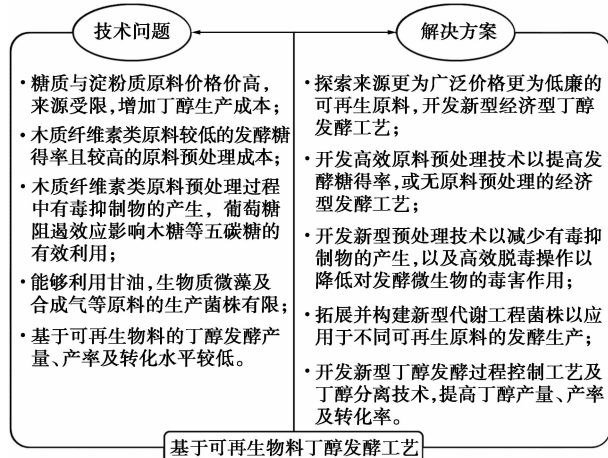


图1 基于可再生原料生物丁醇发酵工艺中的技术问题及解决方案

## 2 产丁醇微生物及其代谢机制

厌氧梭状芽孢杆菌(*Clostridium* spp)是目前生物丁醇发酵微生物的唯一来源,其中丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)与拜氏梭菌(*Clostridium beijerinckii*)是当今生物丁醇科研及工业领域普遍使用的发酵菌株,前者适合淀粉质原料发酵,可同时利用己糖和戊糖;后者同样适用于糖质原料和淀粉质原料发酵,且丁醇耐受能力较强。可再生原料经过处理后获得的生料或者水解液中的发酵糖主要由戊糖(如木糖及阿拉伯糖)、己糖(如葡萄糖及果糖)及二糖(如蔗糖及乳糖)等的单糖或混合糖体系组成,如表2所示,产丁醇梭菌能够代谢利用大多数原料底物。此外,生物柴油工业副产物粗甘油、合成气及生物质微藻等原料也可作为丁醇代谢合成的发酵底物<sup>[1]</sup>。

可再生原料经过处理后的可发酵糖涉及产丁醇微生物多种生理代谢利用途径,如图2所示,磷酸烯醇式丙酮酸-糖磷酸转移酶系统(phosphotransferase system, PTS)是产丁醇梭菌代谢利用蔗糖以及己糖(葡萄糖与果糖等)的主要机制,而磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)是针对木糖等戊糖代谢的主要机制,甘油利用(二羟丙酮通路, DHA

表2 产丁醇微生物及其发酵底物

使用原料	发酵底物	产丁醇微生物	
糖及淀粉质	木薯 <sup>[2]</sup>	<i>C. acetobutylicum</i> ATCC 824	
	西米淀粉 <sup>[3]</sup>	<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i> N1-4	
	芭蕉 <sup>[4]</sup>	<i>C. acetobutylicum</i> CICC 8012	
	菊芋 <sup>[5]</sup>	<i>C. acetobutylicum</i> L7	
	木质纤维素类	玉米纤维 <sup>[6]</sup>	<i>C. beijerinckii</i> BA101
木质纤维素类	木薯渣 <sup>[7]</sup>	<i>C. acetobutylicum</i> JB200	
	稻秆 <sup>[8]</sup>	<i>C. sporogenes</i> BE01	
	米糠 <sup>[9]</sup>	<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i> N1-4	
	生产废弃物	粗甘油 <sup>[10]</sup>	<i>C. pasteurianum</i> DSMZ 525
	合成气 <sup>[11]</sup>	<i>C. carboxidivorans</i> P7 <sup>T</sup>	
生产废弃物	干酪乳清 <sup>[12]</sup>	<i>C. acetobutylicum</i> DSM 792	
	生物质微藻	石莼莴苣 <sup>[13]</sup>	<i>C. beijerinckii</i> NCIMB 8052
	预处理微藻 <sup>[14]</sup>	<i>C. acetobutylicum</i> B-1787	
	废水藻类 <sup>[15]</sup>	<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i> N1-4	

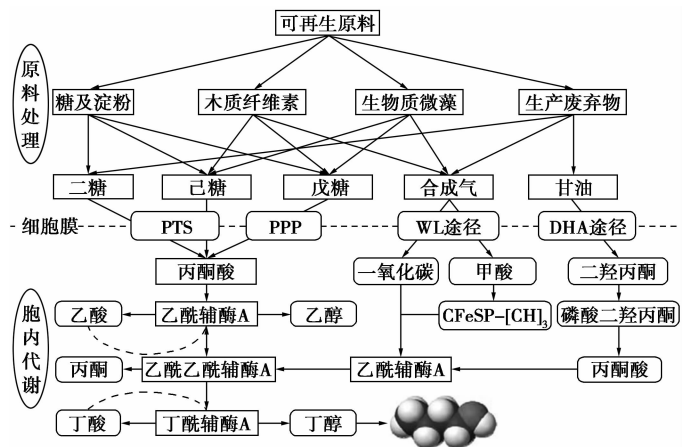


图2 基于可再生原料底物糖利用的产丁醇微生物代谢途径

pathway)及合成气利用(Wood-Ljungdahl 通路, WL pathway)同样可以通过某些产丁醇梭菌生理代谢合成丁醇<sup>[1]</sup>。以产丁醇梭菌 *C. acetobutylicum* 与 *C. beijerinckii* 为例,丁醇发酵包括2个时期,即产酸期和产溶剂期。在产酸期,菌体细胞呈对数生长,伴随乙酸与丁酸的快速合成,发酵液 pH 显著下降;在随后的溶剂期,乙酸和丁酸被重吸收转化为丙酮、乙醇及丁醇。

## 3 基于可再生原料发酵生产丁醇的研究进展

### 3.1 淀粉质及糖质原料发酵生产丁醇

木薯作为淀粉质原料,市场价格较玉米、小麦等粮食类原料相对低廉,且对各种恶劣环境抵抗力强,

能够在贫瘠的土壤上顽强生长,亩产量高,鲜木薯的淀粉质量分数可达到 30% 左右。Li 等<sup>[16]</sup>利用 *C. acetobutylicum* ATCC 824 发酵木薯生产丁醇,研究发现酵母粉的添加可以有效促进细胞代谢由产酸期向产溶剂期转化,缩短发酵迟滞期,批次发酵丁醇产量由 11.85 g/L 提高至 13.60 g/L,丁醇产率及转化率也分别提高至 0.31 g/(L·h) 及 0.27 g/g。Li 等<sup>[17]</sup>采用固定化连续发酵模式,利用 *C. tyrobutyricum* ATCC 25755 与 *C. beijerinckii* ATCC 55025 以木薯淀粉为底物协同发酵生产丁醇,在稀释率 0.144 h<sup>-1</sup> 发酵条件下,获得丁醇及总溶剂产量分别为 6.66 g/L 与 13.39 g/L,丁醇产率及转化率分别达到了 0.96 g/(L·h) 与 0.18 g/g。除此以外,西米淀粉及芭蕉芋等种植成本同样低廉,产量高,也可作为生物丁醇发酵的经济原料。Al-Shorgani 等<sup>[3]</sup>以西米淀粉为底物进行丁醇发酵研究,在 P2 培养基中直接添加 70 g/L 西米淀粉后,*C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 发酵获得丁醇及总溶剂产量分别达到了 9.83 g/L 及 16.65 g/L,但产率较低,研究再以 50 g/L 酶解液为发酵底物,丁醇产量达到了 9.81 g/L。Long 等<sup>[4]</sup>首次以鲜芭蕉芋为原料,利用 *C. acetobutylicum* CICC 8012 发酵生产丁醇,采用中心组合实验设计 (CCD) 优化发酵条件,最终在优化条件下,丁醇产量可达到 12.73 g/L。另外,果聚糖是自然界中含量丰富的碳水化合物资源之一,是继蔗糖和淀粉之后的第三大储藏性碳水化合物,因此菊芋、菊苣及大丽花等果糖基非粮作物极具开发潜力,Chen 等<sup>[5]</sup>对 *C. acetobutylicum* L7 发酵菊芋汁水解液生产丁醇进行了初步研究,发酵培养基无需添加氮源和生长因子,在发酵优化条件下,丁醇产量可达到 11.21 g/L。

### 3.2 木质纤维素类原料发酵生产丁醇

木质纤维素原料来源主要包括玉米秸秆、玉米芯、稻草秸秆、小麦秸秆及多种农作物残渣,这些原料水解液中的发酵糖成分主要是由戊糖和己糖(葡萄糖、木糖及阿拉伯糖等)组成的混合糖体系,同时也存在有机酸及糠醛等毒性化合物,其对丁醇发酵效率具有重要影响。事实上,随着近年来大量对生物质能源的不断深入研究,木质纤维素类原料彰显出其重要的市场经济价值及能源战略地位,得到国内外生物丁醇研究领域的极大关注。Moradi 等<sup>[18]</sup>分别使用浓 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 和 NaOH 预处理稻秆,丁醇发酵效率得到极大提高,相对于未处理原料发酵,每公斤稻秆总溶剂产量由 10 g 提高至 62 g。Ranjan 等<sup>[19]</sup>采用稀 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 酸解预处理稻秆,发酵糖得率提高,

以 *C. acetobutylicum* NCIM 2337 为发酵菌株,获得丁醇及总溶剂产量分别达到了 13.5 g/L 及 20.6 g/L。Gottumukkala 等<sup>[8]</sup>使用一株不产丙酮的丁醇发酵菌株 *C. sporogenes* BE01,以稻秆水解液为发酵底物,经过脱毒处理,只添加 CaCO<sub>3</sub> 及酵母粉成分,丁醇产量达到了 5.52 g/L,是该菌株目前报道的最高水平。Boonsombuti 等<sup>[20]</sup>利用 *C. beijerinckii* TISTR 1461 以玉米芯水解液为底物对丁醇发酵进行了优化,研究发现乙酸铵及木糖成分对发酵过程有着重要的调控作用,在最终发酵优化条件下,总溶剂产量可达到 20.58 g/L,总溶剂产率及转化率也分别达到了 0.44 g/(L·h) 与 0.45 g/g。Noomtim 等<sup>[21]</sup>利用棕榈空果串纤维为发酵原料,分别使用纤维素酶及酸进行原料处理,以 *C. acetobutylicum* DSM 1731 为发酵菌株,分别发酵生产丁醇 1.26 g/L 与 1.06 g/L。Al-Shorgani 等<sup>[22]</sup>利用 *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 以米糠及脱脂米糠为底物进行丁醇发酵,丁醇产量达到了 7.7 g/L,产率及转化率也分别达到了 0.06 g/(L·h) 与 0.27 g/g。

另一方面,国内在利用木质纤维素类原料发酵生产丁醇领域同样取得了较多的研究进展。Lin 等<sup>[23]</sup>以玉米秸秆水解液为底物,利用 *C. acetobutylicum* CICC 8008 优化发酵培养基,发酵获得最大丁醇产量为 6.57 g/L。Zhang 等<sup>[24]</sup>利用 Ca(OH)<sub>2</sub> 脱毒处理玉米芯水解液,*C. beijerinckii* NCIMB 8052 糖利用率提高 27.3%,随后添加 10 g/L 葡萄糖共底物发酵,总溶剂产量提高至 16.0 g/L,产率及转化率分别达到了 0.33 g/(L·h) 及 0.32 g/g。Du 等<sup>[25]</sup>采用响应面法优化培养基成分,有效地提高了 *C. beijerinckii* IB4 利用玉米纤维素水解液发酵生产丁醇的能力,丁醇产量由 4.7 g/L 提高至 9.5 g/L。Guo 等<sup>[6]</sup>利用一株发酵抑制物抗性菌株 *C. beijerinckii* RT66 以玉米半纤维素水解液为底物,无需脱毒处理,丁醇及总溶剂产量分别达到了 9.3 g/L 与 12.9 g/L,总溶剂产率及转化率也分别达到了 0.18 g/(L·h) 与 0.35 g/g。Lu 等<sup>[7]</sup>利用高浓度木薯渣水解液发酵生产丁醇,采用纤维床生物反应器偶联气提技术进行分批补料发酵,丁醇及总溶剂产量分别达到了 76.4 g/L 与 108.5 g/L。

### 3.3 生产废弃物发酵生产丁醇

近年来,通过厌氧发酵方法将甘油及合成气转化成生物丁醇已成为全球重要的研究热点<sup>[1]</sup>。其中,甘油是生物柴油工业的副产物,合理开发利用生物柴油副产物粗甘油具有重要的市场经济价值,

Jensen 等<sup>[10]</sup>研究发现, *C. pasteurianum* DSMZ 525 在批次发酵过程中能利用 111 g/L 工业粗甘油, 发酵过程中最大甘油消耗速率达到了 4.08 g/(L·h), 此时的丁醇产率达 1.3 g/(L·h)。Kao 等<sup>[26]</sup>利用 *C. pasteurianum* CH<sub>4</sub> 以甘油与葡萄糖为底物协同发酵, 在优化发酵条件下, 丁醇产量及产率分别达到 13.3 g/L 及 0.28 g/(L·h), 研究进一步利用甘油与甘蔗渣协同发酵也分别获得了 11.8 g/L 的丁醇产量及 0.14 g/(L·h) 的丁醇产率。Malaviya 等<sup>[27]</sup>利用连续发酵及细胞回收技术, 以甘油为单一底物利用 *C. pasteurianum* ATCC 6103 进行丁醇发酵, 在稀释率 0.9 h<sup>-1</sup> 条件下, 丁醇及总溶剂产率分别达到了 7.8 g/(L·h) 与 8.3 g/(L·h)。而合成气来源于煤、石油、生物质和有机废物的气化, 主要成分为 CO、H<sub>2</sub> 和 CO<sub>2</sub>, 作为重要原料已用于生物乙醇的发酵生产。目前已知的可利用合成气发酵生产丁醇的微生物菌株仅有 *C. carboxidivorans* P7<sup>T</sup> 和 *B. methylophilicum* DSM 3468。研究发现, 利用合成气发酵生产丁醇的关键限制因素在于气液传质问题, Bruant 等<sup>[11]</sup>利用 *C. carboxidivorans* P7<sup>T</sup> 发酵 4 d 仅生产 2.2 mg/L 丁醇。随着系统生物学的快速发展, Köpke 等<sup>[28]</sup>将 *C. acetobutylicum* 中丁醇代谢途径关键基因在 *C. ljungdahlii* 中同源表达, 成功构建了基于合成气原料的生物丁醇转化平台。

事实上, 其他生产废弃物如干酪乳清、酒糟及造纸工业纸浆等都可以作为经济原料用于丁醇制造工艺。Raganati 等<sup>[12]</sup>采用填充床反应器以干酪乳清为底物进行连续发酵, 利用 *C. acetobutylicum* DSM 792 在优化发酵条件下获得丁醇产量为 4.93 g/L, 丁醇产率及转化率也分别达到了 2.66 g/(L·h) 与 0.26 g/g。Ahn 等<sup>[29]</sup>利用工业酒糟废水中的甘油为底物进行丁醇发酵研究, *C. pasteurianum* DSM 525 最大丁醇产量可达到 7.2 g/L, 同时酒糟废水中乳酸含量对丁醇产量同样具有重要影响, 当乳酸质量浓度达到 16 g/L 时, 可被协同代谢利用, 丁醇发酵产量可进一步提高至 8.7 g/L。Lu 等<sup>[30]</sup>采用树脂吸附技术对纸浆水解液进行脱毒处理, 以 *C. beijerinckii* CC101 作为发酵菌株, 总溶剂产量可达到 11.35 g/L, 研究进一步偶联气提技术, 总溶剂产量可提高至 17.73 g/L。

### 3.4 生物质微藻发酵生产丁醇

生物质微藻相对于众多的陆地生物质原料来说, 具有明显的原料优势, 主要表现在占地面积小、生长快速且生物量大、生长周期短且易于培养、培养

需水量少、可耐受高浓度 CO<sub>2</sub> 环境等优点, 因此, 利用生物质微藻类原料发酵生产丁醇极具发展潜力。近年来, 有关生物质微藻类原料发酵生产丁醇的研究取得了巨大进展。石莼是一种主要富含戊聚糖的绿色藻类, 其水解液无需任何营养成分添加即可用于丁醇发酵, Van 等<sup>[13]</sup>研究结果表明, *C. beijerinckii* NCIMB 8052 可代谢利用所有底物糖成分, 发酵终点总溶剂转化率可达 0.35 g/g, 而在模拟石莼原料发酵实验中, 研究发现 1,2-丙二醇成为主要发酵产物, 质量浓度高达 9.7 g/L, 但相关代谢机制尚不明确。Ellis 等<sup>[15]</sup>利用废水微藻优化发酵条件, 研究结果表明, 以预处理微藻以及质量分数 1% 葡萄糖为共同底物进行丁醇发酵, 总溶剂产量提高了 160%, 达到 7.27 g/L; 当添加木聚糖酶及纤维素酶进行酶解后, 总溶剂产量提高近 250%, 达到了 9.74 g/L, 总溶剂产率及转化率分别为 0.102 g/(L·h) 与 0.311 g/g。Efremenko 等<sup>[14]</sup>利用 *C. acetobutylicum* B-1787 固定化发酵技术, 分别以球藻及螺旋藻为原料进行生物丁醇的发酵生产, 取得了较高的溶剂产率及醇转化率。Huesemann 等<sup>[31]</sup>结合海洋藻类生物质组成, 以 *C. acetobutylicum* ATCC 824 为发酵菌株分别以甘露醇单一底物、甘露醇/葡萄糖混合糖体系、海藻提取物等进行了丁醇发酵研究, 丁醇及总溶剂转化率仍然处于较低水平, 有待于进一步提高, 这些结果有助于拓宽生物质原料选择范围。

## 4 展望

生物丁醇作为新一代绿色生物燃料, 其未来产业发展的关键在于经济型非粮原料的高效生物转化, 开发基于新型可再生原料的经济型生物丁醇发酵工艺是降低生物丁醇制造成本, 提高生物丁醇市场竞争优势的必然发展趋势。随着基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学及生物信息学等近代分子生物学技术的飞速发展, 功能基因与蛋白及代谢网络为全面认识和揭示产丁醇生产微生物代谢利用不同底物的调控机制提供了丰富的生物学信息, 同时也为构建基于新型可再生原料的细胞代谢合成工厂, 进而优化设计胞内生物合成路线, 重构代谢通路和调控原件, 最终实质性增强生物丁醇发酵效率提供了重要的理论参考和技术支持。

## 参考文献

- [1] Jang Y S, Malaviya A, Cho C, et al. Butanol production from renewable biomass by clostridia [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 123:

653 - 663.

- [2] Li X, Li Z, Zheng J, *et al.* Yeast extract promotes phase shift of biobutanol fermentation by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 using cassava as substrate [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 125: 43 - 51.
- [3] Al-Shorgani N K N, Kalil M S, Yusoff W M W. Fermentation of sago starch to biobutanol in a batch culture using *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564) [J]. *Ann Microbiol*, 2012, 62: 1059 - 1070.
- [4] Long F, Jin Y, Zhao Y, *et al.* Optimization of butanol production from *canna edulis* ker by *Clostridium acetobutylicum* using response surface methodology [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2013, 19(1): 54 - 60.
- [5] Chen L, Xin C, Deng P, *et al.* Butanol production from hydrolysate of Jerusalem artichoke juice by *Clostridium acetobutylicum* L7 [J]. *Chin J Biotech*, 2010, 26(7): 991 - 996.
- [6] Guo T, He A Y, Du T F, *et al.* Butanol production from hemicellulosic hydrolysate of corn fiber by a *Clostridium beijerinckii* mutant with high inhibitor-tolerance [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 135: 379 - 385.
- [7] Lu C, Zhao J, Yang S T, *et al.* Fed-batch fermentation for *n*-butanol production from cassava bagasse hydrolysate in a fibrous bed bioreactor with continuous gas stripping [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 104: 380 - 387.
- [8] Gottumukkala L D, Parameswaran B, Valappil S K, *et al.* Biobutanol production from rice straw by a non acetone producing *Clostridium sporogenes* BE01 [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 145: 182 - 187.
- [9] Al-Shorgani N K N, Kalil M S, Yusoff W M W. Biobutanol production from rice bran and de-oiled rice bran by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2012, 35: 817 - 826.
- [10] Jensen T O, Kvist T, Mikkelsen M J, *et al.* Fermentation of crude glycerol from biodiesel production by *Clostridium pasteurianum* [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2012, 39: 709 - 717.
- [11] Bruant G, Levesque M J, Peter C, *et al.* Genomic analysis of carbon monoxide utilization and butanol production by *Clostridium carboxidivorans* strain P7<sup>T</sup> [J]. *Plos One*, 2010, 5(9): e13033.
- [12] Raganati F, Olivieri G, Procentese A, *et al.* Butanol production by bioconversion of cheese whey in a continuous packed bed reactor [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 138: 259 - 265.
- [13] Van Der Wal H, Sperber B L, Houweling-Tan B, *et al.* Production of acetone, butanol, and ethanol from biomass of the green seaweed *Ulva lactuca* [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 128: 431 - 437.
- [14] Efremenko E, Nikolskaya A, Lyagin L, *et al.* Production of biofuels from pretreated microalgae biomass by anaerobic fermentation with immobilized *Clostridium acetobutylicum* cells [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 114: 342 - 348.
- [15] Ellis J T, Hengge N N, Sims R C, *et al.* Acetone, butanol, and ethanol production from wastewater algae [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 111: 491 - 495.
- [16] Li X, Li Z, Zheng J, *et al.* Yeast extract promotes phase shift of biobutanol fermentation by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 using cassava as substrate [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 125: 43 - 51.
- [17] Li L, Ai H X, Zhang S X, *et al.* Enhanced butanol production by coculture of *Clostridium beijerinckii* and *Clostridium tyrobutyricum* [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 143: 397 - 404.
- [18] Moradi F, Amiri H, Soleimanzad S, *et al.* Improvement of acetone, butanol and ethanol production from rice straw by acid and alkaline pretreatments [J]. *Fuel*, 2013, 112: 8 - 13.
- [19] Ranjan A, Khanna S, Moholkar V. Feasibility of rice straw as alternate substrate for biobutanol production [J]. *Appl Energy*, 2013, 103: 32 - 38.
- [20] Boonsombuti A, Komolpis K, Luengnarumitchai A, *et al.* Enhancement of ABE fermentation through regulation of ammonium acetate and D-xylose uptake from acid-pretreated corncobs [J]. *Ann Microbiol*, 2013, 1 - 9.
- [21] Noomtim P, Cheirsilp B. Production of butanol from palm empty fruit bunches hydrolysate by *Clostridium acetobutylicum* [J]. *Energy Procedia*, 2011, 9: 140 - 146.
- [22] Al-Shorgani N K N, Kalil M S, Yusoff W M W. Biobutanol production from rice bran and de-oiled rice bran by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2012, 35: 817 - 826.
- [23] Lin Y, Wang J, Wang X, *et al.* Optimization of butanol production from corn straw hydrolysate by *Clostridium acetobutylicum* using response surface method [J]. *Chinese Sci Bull*, 2011, 56: 1422 - 1428.
- [24] Zhang W L, Liu Z Y, Liu Z, *et al.* Butanol production from corncob residue using *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052 [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2012, 55: 240 - 246.
- [25] Du T F, He A Y, Wu H, *et al.* Butanol production from acid hydrolyzed corn fiber with *Clostridium beijerinckii* mutant [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 135: 254 - 261.
- [26] Kao W C, Lin D S, Cheng C L, *et al.* Enhancing butanol production with *Clostridium pasteurianum* CH<sub>4</sub> using sequential glucose-glycerol addition and simultaneous dual-substrate cultivation strategies [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 135: 324 - 330.
- [27] Malaviya A, Jang Y S, Lee S Y. Continuous butanol production with reduced byproducts formation from glycerol by a hyper producing mutant of *Clostridium pasteurianum* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 93: 1485 - 1494.
- [28] Köpke M, Held C, Hujer S, *et al.* *Clostridium ljungdahlii* represents a microbial production platform based on syngas [J]. *P Natl Acad Sci*, 2010, 107: 13087 - 13092.
- [29] Ahn J H, Sang B I, Um Y. Butanol production from thin stillage using *Clostridium pasteurianum* [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 4934 - 4937.
- [30] Lu C, Dong J, Yang S T. Butanol production from wood pulping hydrolysate in an integrated fermentation-gas stripping process [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 143: 467 - 475.
- [31] Huesemann M H, Kuo L J, Urquhart L, *et al.* Acetone-butanol fermentation of marine macroalgae [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 108: 305 - 309. ■