

# 生物质能源树种生产丁醇研究进展

李晓军<sup>1,3</sup>, 金超楠<sup>1,3</sup>, 刘莉<sup>2,3\*</sup>, 薛永常<sup>1\*</sup>

(1. 大连工业大学生物工程学院, 辽宁大连 116034; 2. 车用生物燃料技术国家重点实验室, 河南南阳 473000; 3. 中国科学院上海高等研究院, 上海 201210)

**摘要:**介绍了生物质能源树种的概念及其作为原料生产丁醇技术的国内外研究现状, 并对目前生产技术中存在的问题及改善策略进行了探讨, 最后对生物质能源树种生产丁醇的发展前景进行了展望。

**关键词:**能源树种; 生物丁醇; 预处理; 酶解; 丁醇发酵

中图分类号: TQ923

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2014)10-0053-05

## Progress of butanol production from biomass energy wood

LI Xiao-jun<sup>1,3</sup>, JIN Chao-nan<sup>1,3</sup>, LIU Li<sup>2,3\*</sup>, XUE Yong-chang<sup>1\*</sup>

(1. School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2. State Key Laboratory of Motor Vehicle Biofuel Technology, Nanyang 473000, China;

3. Shanghai Advanced Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China)

**Abstract:** The biomass energy wood is briefly introduced. The research status of production of butanol production from biomass energy wood at home and abroad is reviewed. The technical problems present in butanol production are discussed. The prospects of biobutanol production from biomass energy wood are also proposed.

**Key words:** biomass energy wood; biobutanol; pretreatment; enzymatic hydrolysis; butanol fermentation

21世纪全球都面临着能源、资源、环境等问题的严峻挑战。随着世界最大的单一能源——石油产量的下降、能源需求的增长、石油价格的波动以及温室气体的排放等, 开发利用可再生能源是非常重要的应对措施, 其中生物质能源作为非常有潜力的可再生清洁能源, 以其经济、环保、可再生等优势成为替代传统能源的新能源, 成为各国学者关注的热点<sup>[1-2]</sup>。以木质纤维素类生物质为原料生产液体燃料的研究取得很大进展, 其中生物丁醇不仅是一种重要的化工原料, 而且是一种极具潜力的新型生物燃料。与乙醇相比具有更高的疏水性和较低的挥发性, 可以与汽油以任意比例混合; 热值比乙醇高25%, 与汽油相当<sup>[3]</sup>; 能量密度高; 具有较低的饱和蒸气压; 腐蚀性小, 便于运输, 可以直接用于汽车, 无需对发动机进行改造; 与其他生物燃料相比, 丁醇安全性更高, 具有较好的燃料经济性。丁醇的使用体现了燃料的多元性, 将会降低国内燃油进口的依赖性。以可再生生物质能源树种替代不可再生的石油基原料来生产生物丁醇具有广阔的发展前景。本文中对生物质能源树种生产丁醇技术进行了综述, 希望对相关生物能源的研究有所帮助。

## 1 生物质能源树种及其组成特征

生物质能源树种是指可作为生产生物质能源的林木树种, 一般为多年生, 只需一次种植, 便可实现多年受益。生物质能源树种多生长在光照充足的山林、荒野等地, 适应性强, 栽培成本低、效益高、市场竞争力强。美国已筛选出了200多种能源植物, 已建立了桤木、黑槐、桉树等能源植物研究基地。欧盟组织瑞典、丹麦、英国、法国和德国共同建立了国际柳树灌木林培育组织, 开展柳树生物质能源林培育协作。我国对利用能源树种生产生物燃料也非常重视, 目前主要发展的能源树种有杨树、刺槐、文冠果、黄连木、桉树等。加快能源林基地建设是我国当前林业生物质能源的发展重点, 将建成18个能源林示范点以及18个能源林良种繁育推广示范基地, 为生物质能源开发提供丰富的原料。

生物质能源树种主要是由3种基本的聚合物组成, 即纤维素( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>H<sub>2</sub>O、木聚糖组成的半纤维素和木质素 $[C_9H_{10}O_3(OCH_3)_{0.9-1.7}]_n$ 。它们占生物质干重的90%<sup>[4]</sup>, 其中纤维素和半纤维素是可发酵糖的来源, 丁醇的产率直接依赖于二者的水解。纤维素是地球上最丰富的聚合物, 由葡萄糖通过 $\beta$ -

收稿日期: 2014-04-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(21306219); 车用生物燃料技术国家重点实验室开放基金资助项目(2013017)

作者简介: 李晓军(1986-), 男, 硕士生; 薛永常(1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向为分子生物学, 通讯联系人, 0411-86323646, xueych@dlpu.edu.cn; 刘莉(1982-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为生物质能源, 通讯联系人, 021-20325166, liul@sari.ac.cn。

1,4-糖苷键连接而成,其基本组成单位是纤维二糖;半纤维素是一类高度分支的杂多糖,糖残基有己糖(如 *D*-半乳糖、*L*-半乳糖等)、戊糖(如 *D*-木糖、*L*-阿拉伯糖)和糖醛酸,半纤维素的组成依原料的不同也有所差别。半纤维素和纤维素交杂在一起,只有纤维素被水解时半纤维素才能完全释放出来。木质素是由苯丙烷及其衍生物为基本组成单位形成的高分子芳香族化合物,对纤维素的水解起到屏障作用,阻碍了酶与纤维素接触,从而降低酶解反应速率<sup>[5]</sup>。木质纤维素的抗降解屏障结构是目前制约生物能源产业大规模发展的最大限制因子,也决定了降解木质纤维素生物能源树种所采用的方法与步骤。

## 2 生物质能源树种生产生物丁醇技术

由于传统的丁醇发酵原料玉米和糖蜜成本较高,缺乏市场竞争力。因此,开发利用廉价的可再生生物质能源树种来生产丁醇更具有经济意义,是一条实现能源可持续发展的重要途径。生物质能源树种生产丁醇首先需要对原料进行预处理,然后通过酶解将纤维素和半纤维素降解为可发酵糖,在预处理过程中会产生一些发酵抑制物,因此发酵前需要对水解液进行脱毒处理,再利用丁醇发酵菌种将六碳糖和五碳糖转化为丁醇,最终分离提取得到终产品丁醇、丙酮、乙醇。图 1 是利用生物质能源树种生产丁醇的技术工艺。



图 1 生物质能源树种生产生物丁醇技术工艺

### 2.1 预处理

由于纤维素被木质素和半纤维素包裹以及纤维素本身的晶体结构,对木质纤维素类生物质直接进行酶水解,酶解率很低,一般只有 10% ~ 20%。另外不同生物质能源树种其纤维素、半纤维素、木质素的含量也有所不同,因此针对不同的生物质原料发酵丁醇的工艺条件也会相应地有所改变。预处理的

目的是脱除阻碍纤维素水解的木质素和半纤维素,降低纤维素的聚合度和结晶度,增大原料的比表面积,使纤维素能够更好地与酶接触并水解。评价预处理效果的标准:①促进糖的生成并利于后续酶解;②可发酵糖的损失和降解最小化;③尽量减少或避免发酵抑制物的生成;④避免使用污染环境或者对设备腐蚀性强的试剂;⑤减少固体残余物,尽量实现物质的全利用;⑥高效低成本。

目前预处理方法大致分为物理法、化学法、物理-化学法以及生物法 4 大类。物理法主要是机械粉碎、微波降解等,主要目的是破坏纤维素的晶体结构,增加原料的比表面积,以便于酶的水解。王振宇等<sup>[6]</sup>提出采用低温冷冻结合超微粉碎对白桦木质纤维素进行预处理,然后用纤维素酶对超微粉体进行酶解,发现经过超微处理后的白桦木质纤维素的糖转化率提高了 28.68%。但是物理法能耗高、费用高、设备要求高,难以工业化。化学法主要是酸或碱水解、氧化处理、有机溶剂处理等来打破木质素与纤维素之间的连接,同时溶解半纤维素。其中稀酸预处理是较为成熟的方法,尤其是处理针叶木和阔叶木。稀酸预处理通常是在 140 ~ 190℃ 下采用质量分数为 0.1% ~ 1.0% 的酸处理,可溶解大部分半纤维素,改变纤维素的聚合度和结晶结构,但对木质素的去除能力有限。化学法也有很明显的局限性,如氧化处理虽然条件温和、操作简单,但是生产成本昂贵。物理-化学法包括蒸汽爆破法、氨纤维爆破法、二氧化碳爆破法等,其中研究最多的是蒸汽爆破后再进行稀酸处理,已应用于纤维质生产燃料乙醇的研究中。Schell 等<sup>[7]</sup>先用硫酸预浸原料,再用蒸汽爆破处理,最后用氢氧化钠去除木质素,结果表明酶解率升高。蒸汽爆破预处理技术已经应用于商业化水解半纤维素。生物法目前研究最多的是白腐菌,具有较强的分解木质素的能力,能有效地和有选择性地降解植物纤维原料中的木质素。此方法能耗低、无污染、条件温和,然而由于目前存在的微生物种类较少,而且其酶活低,水解速度慢。因此目前有

(上接第 52 页)

[29] Redko M Y, Manes K M, Taurozzi J S, *et al.* Synthesis and characterization of Aza222-based polymers for the removal of mercury from aqueous solutions[J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2014, 74: 90 - 100.

[30] Henneberry Y K, Kraus T E C, Fleck J A, *et al.* Removal of inorganic mercury and methylmercury from surface waters following coagulation of dissolved organic matter with metal-based salts[J].

*Science of the Total Environment*, 2011, 409(3): 631 - 637.

[31] Zhang X, Xie H, Chen H, *et al.* Mercury removal in water by chemical sedimentation[J]. *Water Technology*, 2011, 2: 10.

[32] Fang C, Zhou J, Liu X, *et al.* Mercury(II)-mediated formation of imide-Hg-imide complexes[J]. *Dalton Transactions*, 2011, 40(4): 899 - 903.

[33] 杨超松, 李永霞, 陈建平. 采用蒸发结晶技术处理含汞废水[J]. *聚氯乙烯*, 2012, 40(6): 32 - 34. ■

效的预处理技术主要以化学方法和物理-化学方法为主。

## 2.2 纤维素酶及酶解

尽管预处理能够得到一部分半纤维素降解的单糖,但绝大部分纤维素还是以多糖形式存在于固体中,不能直接供菌体发酵利用,因此通过酶解将纤维素降解为可发酵糖是发酵前必不可少的一步。酶解主要是将纤维素、半纤维素多糖转变为可溶性单糖。酶解纤维素的酶属于多酶体系,主要有 $\beta$ -1,4-内切葡聚糖酶(EG, EC 3.1.2.4)、 $\beta$ -1,4-外切葡聚糖酶(CBH, EC 3.2.1.91)和 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶(BG, EC 3.2.1.21)3种酶协同来完成。首先 $\beta$ -1,4-内切葡聚糖酶随机内切纤维素链非结晶区,使纤维素产生还原和非还原端;其次 $\beta$ -1,4-外切葡聚糖酶作用于还原和非还原多糖链末端,释放出纤维二糖;最后 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶水解纤维二糖为2个葡萄糖用于丁醇发酵<sup>[8]</sup>。

目前酶解过程面临的主要问题是酶损耗大,纤维素酶生产成本偏高,不利于工业化生产,因此许多研究人员都致力于优化酶解条件以提高纤维素的酶解效率,从而降低酶解成本。主要集中在预处理工艺选择、酶解过程优化、纤维素酶活性提高等方面的研究。根据不同生物质来源选择或改进预处理技术和酶解工艺,具体可采用:①预处理工艺选择,如Celluclast和Novozm混合纤维素酶水解经蒸汽爆破预处理的桉木树枝几乎能获得完全的糖化作用<sup>[9]</sup>;②酶的循环使用,许多底物,如桉树、柳树和桦树,把吸附有纤维素酶的未消耗的纤维素添加到新底物时,可获得大量的糖;③间歇补料和添加酶,刘超纲等<sup>[10]</sup>在底物和酶用量相同时,分批添料比一次添料对纤维素酶解得率提高10%;④开发高活性纤维素酶,通过构建基因工程菌,将克隆到的纤维二糖基因转化到里氏木霉中,提高纤维素酶的活性。

## 2.3 脱毒处理

生物质在水解阶段除了生成可发酵糖,还会生成一定量的发酵抑制物,主要包括有机酸(乙酸、甲酸)、呋喃类化合物(糠醛、HMF)、酚类化合物(香草醛、香豆酸等)。当浓度超过一定量时对丁醇发酵菌株的生长以及发酵都有显著的抑制作用<sup>[11]</sup>。抑制物的种类及含量取决于原料及预处理方式。目前解决丁醇发酵抑制的途径主要有以下几种:①优化预处理过程,尽量在源头就减少抑制物的产生;②发酵前脱除水解液中的抑制物,针对不同预处理方法和抑制物种类及作用机理选择合适的脱毒工艺;

③培育对抑制物具有抵抗能力的微生物菌种;④将抑制物转化为不干扰微生物代谢作用的物质<sup>[12]</sup>。最有效的方法为发酵前脱毒。

目前抑制物的脱除方法有物理、化学和生物法。例如旋转蒸发、离子交换树脂、吸附法等。旋转蒸发只适用于乙酸、糠醛等易挥发性物质的去除,可除去水解液中90%的糠醛,但对羟甲基糠醛的去除率仅为4%<sup>[13]</sup>。Martinez等<sup>[14]</sup>利用 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 处理甘蔗渣半纤维素的水解液,可去除51%的呋喃化合物和41%酚类化合物,只损失了8.7%的糖类。但是 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 过量加碱法不能除去水解液中的乙酸,一些糖降解为非发酵糖和乳酸<sup>[15]</sup>。吸附法主要是利用选择性吸附剂吸收抑制物,其中活性炭以效果好、成本低而应用比较广泛。利用活性炭颗粒丰富的孔隙结构和极大的比表面积对水解液中的抑制物吸附并进行脱除。但是活性炭对抑制物的吸附除受抑制物性质的影响外,还与水解液的pH、处理温度、时间和活性炭的浓度有关。离子交换树脂被认为是一种非常有效和简便的抑制物脱除方法,可以去除水解液中大部分糠醛、乙酸、木素降解物。以过氧化物酶为主的生物脱除法,能够脱除99%的酸类化合物。Jonsson等<sup>[16]</sup>利用白腐菌产生的漆酶和过氧化物酶脱除水解液中的酸类和酚类化合物。但是生物酶对底物具有专一性,因而应用较少。

## 2.4 丁醇发酵工艺

丁醇发酵经历产酸期和产溶剂期2个阶段。在产酸阶段,细胞处在指数生长期,产生大量的乙酸和丁酸,导致pH下降。当 $\text{pH} < 5$ 、丁酸质量浓度 $> 2 \text{ g/L}$ ,激发梭菌由产酸阶段转入产溶剂阶段。最后菌体开始出现自溶,产物逐渐减少<sup>[17]</sup>。传统的丙酮丁醇发酵主要是以间歇发酵为主,但目前产量低,总溶剂只有15~18 g/L,同时还存在着溶剂耐受性低、生长延滞期长的缺点。以该种生产工艺总溶剂产量只有达到22~28 g/L才能具有经济竞争力<sup>[18]</sup>。所以寻求合适的发酵工艺是丁醇高产的重要途径。

### 2.4.1 补料分批发酵

在发酵过程中,过量的底物(如葡萄糖)对丙酮丁醇梭菌有较强的抑制作用。在分批发酵中,葡萄糖的质量浓度不超过60 g/L。相反底物不足也无法提供菌体生长所需的充足营养。这2种情况都会影响发酵的顺利进行,导致溶剂产率降低。为防止底物对生物体的毒害作用,采用补料分批发酵工艺,加入以一定的比率稀释的高浓度底物,保持底物浓度

在发酵液中不超过生物体的承受能力,以此减小底物的抑制作用,同时还减小了发酵液的体积,提高了底物利用率。Qureshi 等<sup>[19]</sup>采用补料分批发酵法使发酵强度和总溶剂产量分别达到 0.98 g/(L·h)、165.1 g/L,相比之下分批发酵分别达到 0.39 g/(L·h)、25.3 g/L。将补料分批和产物分离工艺相结合,可以进一步提高溶剂产量和生产率。

#### 2.4.2 细胞固定化与细胞循环技术

分批发酵过程中,细胞质量浓度一般低于 3 g/L,这也是溶剂生产强度低的原因之一,为促进细胞生长,提高溶剂的生产强度,可采用细胞固定化和细胞循环技术,和分批发酵相比,溶剂可以提高 40~50 倍<sup>[20]</sup>。Huang 等<sup>[21]</sup>采用固定化技术将 *C. acetobutylicum* 固定在纤维床生物反应器中进行连续的 ABE 发酵,使得反应器的生产率达到 4.6 g/(L·h)。Qureshi 等<sup>[22]</sup>以黏砖为载体,构建了固定化连续生产系统,在稀释率 2 h<sup>-1</sup> 的条件下,发酵可产 7.90 g/L 溶剂,底物转化率 0.38 g/g,生产强度高达 15.80 g/(L·h),远高于分批发酵。近年来,丙酮丁醇梭菌固定化大多采用玉米芯、吸附法、黏砖和沸石等作为吸附载体。固定化细胞发酵可以减少菌体流失,提高生产率、增加生物量,更适用于连续发酵。细胞循环即经过由反应器和膜分离单元组成的一个半封闭回路系统,膜组件的作用是连续分离微生物细胞和发酵液,然后将细胞送回反应器中。这种带有细胞循环的反应系统增加细胞的浓度,提高反应器的生产率,可使反应器的生产强度提升至 6.59 g/(L·h),相比传统的间歇发酵有了很大的进步。Tashiro 等<sup>[23]</sup>的研究表明,在无细胞循环的丙酮丁醇发酵时细胞质量浓度一般低于 5.2 g/L,在补料分批发酵中,其最大溶剂的生产率只达到 1.85 g/(L·h),通过膜的截留作用和连续培养,细胞的质量浓度达到 100 g/L,从而使溶剂的最大生产率达到 11.0 g/(L·h)。

#### 2.4.3 发酵分离耦合技术

在丙酮丁醇发酵中产物丁醇对菌株毒性最大,其超过一定浓度就会严重抑制菌体生长,破坏细胞内外正常的 pH 以及降低细胞内的 ATP 水平,同时还会影响底物利用率<sup>[21,23]</sup>。为进一步大幅度提高反应器的生产率,减少产物抑制作用,国内外研究学者开发了一些发酵与分离过程相结合的新技术,如气提法、液-液萃取、渗透法、吸附法等。Qureshi 等<sup>[24]</sup>在间歇发酵中,气提发酵可以利用 199 g/L 的葡萄糖,产生 69.7 g/L 的总溶剂,远远高于非气提

发酵。Ezeji 等<sup>[25]</sup>采用气提和分批发酵相结合工艺,最终 *Clostridium beijerinckii* BA101 可以利用 161.70 g/L 葡萄糖产生 75.90 g/L 总溶剂,生产强度高达 0.61 g/(L·h),而传统分批模式下葡萄糖质量浓度仅为 45 g/L,总溶剂产量为 17.70 g/L。相比之下,丁醇更易溶于有机相中,可有选择性地被富集。Qureshi 等<sup>[26]</sup>利用油醇为萃取剂,与填充床反应器相耦合使 ABE 产量和发酵得率分别达到 4.0 g/(L·h)、0.33 g/g。胡翠英等<sup>[27]</sup>以 4 种生物柴油作为萃取剂对丙酮丁醇萃取发酵,结果表明,丁醇的生产强度最高可以达到 0.213 g/(L·h),比对照提高了 10.9%。由于膜对丁醇、丙酮等有机组分有较好的溶解性,这些组分在膜中优先溶解富集,在进一步扩散中得到加强,最后到达真空侧的液体组分在减压下全部气化并被冷凝收集。Qureshi 等<sup>[28]</sup>合成了一种硅树脂-硅质岩膜,大大提高了对丁醇的流动性和选择性。此方法对 ABE 具有较高的选择性,但其通量与分离性能绝大多数取决于膜本身性质,在一定程度上限制了其应用范围。美国 Ener Genetics International Inc. (EGI) 利用改良的菌株,通过代谢工程调控和连续固定化反应器,采用膜技术回收产物,发酵仅需 6 h,菌种能耐受 4%~5% 的丁醇,发酵液中丁醇占总溶剂的 90%<sup>[29]</sup>。

### 3 存在的问题及展望

目前,我国利用生物质能源树种为原料生产生物丁醇已经取得了很大进展,但仍存在一些不足及有待解决的问题。如可供生产上利用的生物质能源树种不多,栽培面积小且分布零散;生物质能源树种处于发展初期,尚未形成产业化发展规模;我国生物质能源的生产和开发起步晚,其工艺流程较落后,对一些生物质能源的提取、加工仍处于初试阶段。今后还要加强以下技术研究:①利用植物基因工程改造生物质能源树种,增加木质纤维素中纤维素的含量,降低木质素的含量;②进一步研究更加稳定高效、适用于生物质能源树种降解的生物酶;③进一步改进预处理、酶解以及发酵等技术,使各环节有效结合,达到最佳效率;④改良现有菌种,运用分子生物学等技术构建基因工程菌,高效表达生产丁醇,实现丁醇的高强度生物合成,提高菌种对丁醇耐受性,强化丁醇生产中的关键酶,提高丁醇在溶剂中的比例;⑤进一步研究发酵分离耦合技术以提高发酵强度和生产效率,特别是膜分离工艺与发酵过程的耦合,可以极大地提高丙酮丁醇发酵的经

济竞争力。

总之,扩大并完善生物质能源树种产业链,降低丁醇生产成本、提高丁醇转化率是今后研究的重点。随着生物质能源树种规模的不断发展和逐渐被开发利用,以及上述丁醇生产技术的深入研究,以生物质能源树种为原料转化丁醇的前景将十分广阔。生物丁醇的规模化生产,必将为我国生物质能源的可持续发展做出较大贡献。

### 参考文献

- [1] Limayem A, Rieke S C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects [J]. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2012, 38 (4): 449 - 467.
- [2] 杨娟, 滕虎, 刘海军, 等. 纤维素乙醇的原料预处理方法及工艺流程研究进展[J]. *化工进展*, 2013, 32(1): 97 - 103.
- [3] Liu S, Qureshi N. How microbes tolerate ethanol and butanol [J]. *New Biotechnology*, 2009, 26(3/4): 117 - 121.
- [4] Talebnia F, Karakashev D, Angelidaki I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101 (13): 4744 - 4753.
- [5] 崔永强, 林燕, 华鑫怡, 等. 木质纤维素为原料的燃料乙醇发酵技术研究进展[J]. *化工进展*, 2010, 29(10): 1868 - 1876.
- [6] 王振宇, 焦岩. 超低温微体化处理白桦木质纤维素糖化工艺研究[J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32(10): 74 - 77.
- [7] Schell D, Nguyen Q, Tucker M, et al. Pretreatment of softwood by acid-catalyzed steam explosion followed by alkali extraction [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1998, 70(2): 17 - 24.
- [8] Xue Y, Jameel H, Phillips R, et al. Split addition of enzymes in enzymatic hydrolysis at high solids concentration to increase sugar concentration for bioethanol production [J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2012, 18(2): 707 - 714.
- [9] Shahbazi A, Li Y B, Mims M R. Application of sequential aqueous steam treatments to the fractionation of softwood [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2005, 121: 973 - 987.
- [10] 刘超纲, 刘力, 余世袁. 分批添料纤维素酶水解研究 [J]. *林产化学与工业*, 1996, 16(1): 58 - 62.
- [11] Qureshi N, Saha B C, Hector R E, et al. Removal of fermentation inhibitors from alkaline peroxide pretreated and enzymatically hydrolyzed wheat straw: Production of butanol from hydrolysate using *Clostridium beijerinckii* in batch reactors [J]. *Biomass & Bioenergy*, 2008, 32(12): 1353 - 1358.
- [12] Huang H J, Ramaswamy S, Tschirner U W, et al. A review of separation technologies in current and future biorefineries [J]. *Separation and Purification Technology*, 2008, 62(1): 1 - 21.
- [13] Hendriks A T W M, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(1): 10 - 18.
- [14] Martinez A, Rodriguez M E, York S W, et al. Effects of Ca(OH)<sub>2</sub> treatments ("overliming") on the composition and toxicity of bagasse hemicellulose hydrolysates [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2000, 69(5): 526 - 536.
- [15] Mohagheghi A, Ruth M, Schell D J. Conditioning hemicellulose hydrolysates for fermentation: Effects of overliming pH on sugar and ethanol yields [J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41 (8): 1806 - 1811.
- [16] Jonsson L J, Palmqvist E, Nilvebrant N O, et al. Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from the white-rot fungus *Trametes versicolor* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, 49(6): 691 - 697.
- [17] Gheshlaghi R, Schärer J M, Moo-Young M, et al. Metabolic pathways of clostridia for producing butanol [J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(6): 764 - 781.
- [18] Woods D R. The genetic-engineering of microbial solvent production [J]. *Trends in Biotechnology*, 1995, 13(7): 259 - 264.
- [19] Qureshi N, Blaschek H P. Butanol production using *Clostridium beijerinckii* BA101 hyper-butanol producing mutant strain and recovery by pervaporation [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2000, 84(6): 225 - 235.
- [20] Ezeji T C, Qureshi N, Blaschek H P. Butanol fermentation research: Upstream and downstream manipulations [J]. *The Chemical Record*, 2004, 4(5): 305 - 314.
- [21] Huang W C, Ramey D E, Yang S T. Continuous production of butanol by *Clostridium acetobutylicum* immobilized in a fibrous bed bioreactor [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2004, 113: 887 - 898.
- [22] Qureshi N, Schripsema J, Lienhardt J, et al. Continuous solvent production by *Clostridium beijerinckii* BA101 immobilized by adsorption onto brick [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2000, 16(4): 377 - 382.
- [23] Tashiro Y, Takeda K, Kobayashi G, et al. High production of acetone-butanol-ethanol with high cell density culture by cell-recycling and bleeding [J]. *Journal of Biotechnology*, 2005, 120(2): 197 - 206.
- [24] Qureshi N, Blaschek H P. Recovery of butanol from fermentation broth by gas stripping [J]. *Renewable Energy*, 2001, 22(4): 557 - 564.
- [25] Ezeji T C, Qureshi N, Blaschek H P. Production of acetone, butanol and ethanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 and in situ recovery by gas stripping [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2003, 19(6): 595 - 603.
- [26] Qureshi N, Maddox I S. Continuous production of acetone-butanol-ethanol using immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum* and integration with product removal by liquid-liquid-extraction [J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1995, 80(2): 185 - 189.
- [27] 胡翠英, 堵益平, 杨影, 等. 生物柴油耦联丙酮丁醇发酵的初步研究 [J]. *生物加工过程*, 2007, 5(1): 27 - 32.
- [28] Qureshi N, Meagher M M, Hutkins R W. Recovery of butanol from model solutions and fermentation broth using a silicalite silicone membrane [J]. *Journal of Membrane Science*, 1999, 158 (1/2): 115 - 125.
- [29] 郑海洲, 王志明, 韩柱, 等. 丁醇生物发酵的研究进展 [J]. *河北化工*, 2008, 31(12): 36 - 37. ■