

知识介绍

生物燃料丁醇的研究与前景

林有胜^{1,2}, 王旭明³, 王 竞², 孙晓红¹

(1. 北京农业生物技术研究中心, 北京 100097; 2. 大连理工大学环境与生命学院, 辽宁 大连 116012; 3. 吉林大学资源与环境学院, 吉林 长春 130062)

摘要: 丁醇是一种新型的生物能源, 在替代汽油作为燃料方面具有高热值、易混溶性、高辛烷值和低挥发性等优良特性。由于原料的价格和产物的抑制作用导致丁醇发酵成本偏高以及产物浓度过低。为降低发酵成本, 减少产物的抑制作用, 需要从原料选取、菌种的改良、发酵工艺和丁醇提取工艺等方面做深入的研究。

关键词: 丁醇发酵; 菌种改良; 发酵工艺; 丁醇提取工艺

中图分类号: TQ923

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2008)04-0084-04

Research of biofuel butanol and its future

LIN You-sheng^{1,2}, WANG Xu-ming³, WANG Jing², SUN Xiao-hong¹

(1. Beijing Agro-biotechnology Research Center, Beijing 100097, China;

2. School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China;

3. College of Environment and Resources, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: Butanol, a kind of new bioenergy resource, has some strong points as an alternative fuel: it has high energetic content, good miscibility, octane improving power, and low volatility. The key problems associated with the bioproduction of butanol are high cost of substrate, and the low concentration of butanol in the fermentation which result from the butanol toxicity/inhibition to the fermenting microorganisms. It's pointed out that, to reduce the cost of fermentation and the butanol inhibition, the research must be focused on the use of economical fermentation substrates, strain improvement, and developing an energy-efficient technology for the fermentation process and butanol recovery.

Key words: butanol fermentation; strain improvement; fermentation process; butanol recovery

丁醇是一种重要的化工原料, 还是一种极具潜力的新型生物燃料, 被称为第二代生物燃料, 在替代汽油作为燃料方面性能优于乙醇: 丁醇含有的热值比乙醇高 25%, 与汽油相当; 丁醇的燃点高于乙醇, 使用更安全; 与乙醇相比, 丁醇更易溶于汽油和柴油, 而不易溶于水; 丁醇腐蚀性小, 易于运输, 可直接应用于汽车而不必改造现有发动机^[1]。

丁醇生物发酵一般是利用丙酮丁醇梭菌 (*Clostridium acetobutylicum*) 在严格厌氧条件下进行的, 其主要产物是丁醇、丙酮和乙醇, 含量约为 6:3:1, 简称 AB 或 ABE 发酵^[2]。ABE 发酵是最古老的发酵工业之一, 曾经在生产规模上仅次于乙醇发酵。但从 20 世纪 60 年代以后, 由于化学合成丁醇的竞争, ABE 发酵工业逐渐萎缩^[3-4], 其原因是发酵法的生产成本较高。导致丁醇发酵成本高的因素有^[3]: 底物费用高(如淀粉)、产物浓度低(存在严重的产物

抑制作用)、产物回收费用高。随着全球能源危机的不断加剧, 以生物质为原料, 采用生物发酵法生产各种化工产品及液体燃料受到了广泛关注。本文将从原料的选用, 高效菌种的构建、新型发酵反应器及工艺的应用、先进产物回收系统建立等几个方面进行概述。

1 原料的选用

1912 年切姆·魏茨曼发现丙酮丁醇菌可以淀粉为基质发酵生产丙酮、丁醇和乙醇。第一次世界大战之后生物丁醇发酵转而利用价廉的糖蜜为原料。随着原料价格的上涨, 几乎占据生产总成本的 60%~70%, 成为影响丁醇价格的重要因素, 制约着 ABE 发酵的经济可行性^[5]。丙酮丁醇菌具有宽泛的底物谱, 不仅能以己糖(葡萄糖、果糖等)和戊糖(木糖、阿拉伯糖等)为底物, 还能利用淀粉、木聚糖等多

收稿日期: 2008-01-06

作者简介: 林有胜(1984-), 男, 硕士生; 孙晓红(1967-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事环境微生物方向研究, 通讯联系人, 010-51503937, sunxiaohong19675@yahoo.com.cn。

糖类发酵生产丁醇,故采用廉价的可再生物质作为丁醇发酵的原料可以很大程度上减少生产成本,提高市场竞争力。植物秸秆是自然界中储量最丰富的可再生资源,主要成分是纤维素、半纤维素和木质素。其中纤维素、半纤维素是可发酵糖的来源,含量占 66%~75%(纤维质原料的绝干质量)^[6]。但丙酮丁醇梭菌是无法直接利用木质纤维素为底物进行发酵,需将木质纤维素的水解产生葡萄糖、木糖等单糖再用于丁醇发酵。Woods 等^[7]以小麦秸秆水解液为原料发酵生产丁醇,采用分批式发酵工艺,获得总溶剂浓度、生产率和转化率分别达 25 g/L、0.6 g/(L·h)、0.42 g/g(葡萄糖)。这表明利用木质纤维素为原料进行丁醇发酵是可行的,具有广阔前景。

2 高效菌种的构建

2.1 丁醇发酵的菌种及代谢途径

长久以来人们对丙酮丁醇梭菌的分类比较模糊。DNA 杂交技术和 16S rRNA 测序结果表明^[7],生产丙酮、丁醇的梭菌分为 2 类:淀粉分解梭菌和糖化梭菌。其中 *C. acetobutylicum* ATCC824 和 *C. acetobutylicum* DSM1732 是淀粉分解梭菌的代表菌株,糖化梭菌则分为 3 个不同的种:*C. beijerinckii* NCIM8052、*C. acetobutylicum* N1-4 和 *C. acetobutylicum* NCP P262。

丙酮丁醇梭菌分泌多种酶如 α -淀粉酶、 α -葡萄糖酶、 β -淀粉酶、 β -葡萄糖酶、葡萄糖淀粉酶等,能将多糖如淀粉、木聚糖分解成单糖^[8]。六碳糖(葡萄糖、果糖)和五碳糖(木糖、阿拉伯糖)通过细胞膜表面运输系统进入细胞,随后进行糖酵解和戊糖磷酸化途径,继而在一系列酶的催化下,生成丁醇,其合成如图 1 所示。

2.2 基因工程菌的构建

丁醇的生物发酵有许多内在的限制因素,如低产物浓度、低生产率、低丁醇比率等。采用基因工程

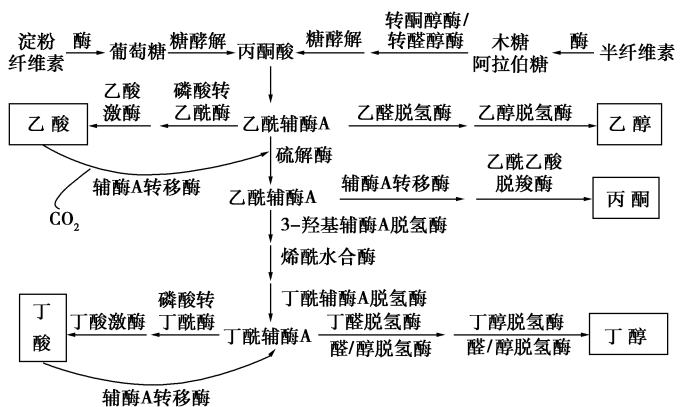


图 1 丁醇生物合成途径

靶向技术构建新的菌株可显著提高原始菌株的性能,从而达到以下几个目的:提高底物的利用率,甚至能直接以木质纤维素为降解底物;提高丁醇的产量及获得高丁醇比溶剂;增强菌株的丁醇耐受力,来提高丁醇的浓度等。

通过转基因技术可以提高丁醇的产量,Mermelstein 等^[9]将带有乙酰乙酸脱羧酶基因(*adc*),辅酶 A 转移酶(*ctfA/ctfB*)的质粒 pFNK6 移入 *C. acetobutylicum* ATCC824。结果菌株表现稳定,丙酮、丁醇、乙醇产量分别提高 95%、37%、90%。Christopher 等^[10]将过量表达热激蛋白(*groES* 和 *groEL*)的质粒转入 *C. acetobutylicum* ATCC824 中,构建了新的菌株。过量表达 *groES* 和 *groEL* 的菌株产生的总溶剂浓度与野生菌株、质粒对照菌株相比分别提高 40% 和 33%,并且新构建菌株的代谢活性周期比野生菌株延长了 2.5 倍。

基因工程技术还可改变终产物之间的比值,提高丁醇所占的比重,减少丙酮、乙醇等副产物的产生,为丁醇的进一步回收提供便利。Tummala 等^[11]通过过度表达乙醇/乙醛脱氢酶,并且通过反义 RNA 技术抑制乙酰辅酶 A 转移酶(*CoAT*)活性,下调乙酰辅酶 A 转移酶基因(*ctfB*)的表达,最终使得丁醇

(上接第 83 页)

[10] 尤莉莉,王善祥.企业制造外包的风险与防范分析[J].财经界,2006(11):192-193.
 [11] 颜洪平,王贤彬.业务外包对企业竞争优势的动态作用[J].商业时代,2007(16):45-46.
 [12] 杨供法.企业业务外包的动因及策略[J].企业经济,2001(5):4-5.
 [13] 周冬君.企业外包的成本与效益分析[J].物流科技,2005(10):75-77.
 [14] 朱英.国有石油石化公司经营发展战略新动向[J].当代石油石化,2007,15(6):19-24.

[15] 东风财经资讯工作室.我国煤化工产业发展趋势分析[J].中国石油和化工经济分析,2007(4):66-72.
 [16] 朱和.世界化工园区的百年之路[J].中国石油石化,2006(9):24-25.
 [17] 吴军.我国石油和化学工业发展的园区化战略研究及政策建议[J].当代石油石化,2005,13(9):29-33.
 [18] 顾宗勤.我国化工园区建设和发展[J].化工设计,2004,14(6):45-47.
 [19] 王诗庆.浅析我国化工园区的工业气体一体化发展[J].中国石油和化工,2005(4):91-92. ■

产量增加到 2.8 倍。另外,在利用反义 RNA 技术抑制丙酮合成途径中酶的活性时发现,乙酰辅酶 A 是丙酮生物合成的限速酶,抑制乙酰辅酶 A 的活性可以显著地降低丙酮的生成量^[12]。虽然 DNA 重组技术获得了很大的进步,但是到目前为止,还没能构建出适合工业化生产的高丁醇产量菌株,这是因为控制丁醇合成的酶是由一系列基因来调控的,其调节过程相当复杂。

诱变也是菌株改良的一种有效手段。过氧化氢、萘啶酸、灭滴灵、甲基磺酸乙酯、*N*-甲基-*N*-硝基亚硝基胍(MNNG)、紫外辐射等可作为诱导剂。1991 年 Annous 等^[13]利用 *N*-甲基-*N*-硝基亚硝基胍诱导出新突变菌株 *Clostridium beijerinckii* BA101,它具有稳定性好、淀粉高分解率及高丁醇比率的特性,总溶剂质量浓度最大时可达 33 g/L^[14]。在 20L 的中试实验中,以 5% 葡萄糖和玉米浸渍液为培养基,利用改良菌株 *C. beijerinckii* BA101 生产丁醇、丙酮,其质量浓度分别达到 16、7.5 g/L,比野生型菌株(*C. beijerinckii* 80524)分别提高了 88%、50%^[15]。

3 新型发酵工艺设计与应用

3.1 补料分批发酵工艺

高浓度的底物(如葡萄糖)对丙酮丁醇梭菌有较强的抑制作用^[16],在分批发酵工艺中,葡萄糖的质量浓度不超过 60 g/L。为防止底物对生物体的毒害作用,采用补料分批发酵工艺,即以一定的稀释比率流加高浓度的底物,保持发酵液中的底物浓度不超过生物体的承受能力,这样不仅减小底物的抑制作用,同时还减少发酵液的体积。Qureshi 等^[16]采用补料分批发酵法使反应器的生产率和总溶剂质量浓度分别达到 0.98 g/(L·h)、165.1 g/L,相比之下分批发酵只分别达到 0.39 g/(L·h)、25.3 g/L。

3.2 细胞固定化和细胞循环技术

常规的发醇过程中,受细胞浓度、产物抑制等因素的影响,反应器的生产率常低于 0.50 g/(L·h),而且细胞质量浓度一般小于 4 g/L^[17]。为促进细胞生长,提高反应器的生产率,可采用细胞固定化和细胞循环技术。细胞固定化可以增强细胞的稳定性,实现高密度的培养,从而提高反应器的生产能力。Huang 等^[18]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,使得反应器的生产能力达到 4.6 g/(L·h)。

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,可使反应器的生产能力提升至 6.5 g/(L·h),相比传统的间歇发酵有很大进步。

3.3 两段法发酵工艺

丁醇发酵经历产酸和产醇 2 个阶段。在产酸阶段,细胞处于指数生长期,产生大量的乙酸和丁酸,导致 pH 下降。当 pH < 5、丁酸质量浓度大于 2 g/L,激发梭菌从产酸过程转入产醇过程。此时细胞处于稳定期,将乙酸和丁酸转化为丁醇和乙醇^[8]。因而通过投加丁酸和葡萄糖为碳源,在适当的条件下,可发酵丁酸产生丁醇。这样不仅减少了其他副产物如乙醇、丙酮等的产生,又提高了底物的利用率,为丁醇回收的后续处理提供方便。Tashiro 等^[19]利用丁醇高产菌株 *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 发酵葡萄糖生产丁醇时发现,采用补料分批发酵的方法不断流加葡萄糖和丁酸能促进发酵,得到 16 g/L 的丁醇,高于分别使用葡萄糖和丁酸作为唯一碳源的发酵。Huang 等^[18]利用 *C. acetobutylicum* 以葡萄糖和丁酸为碳源,在纤维床生物反应器中连续反应,当稀释率为 0.9/h、pH = 4.3 时,反应器生产能力与转化率分别达到 4.6 g/(L·h)、0.42 g/g(葡萄糖)。

4 丁醇提取工艺的改进

丁醇对生物体具有严重的抑制作用。在传统发酵过程中,丁醇的质量浓度一般都低于 13 g/L,溶剂总质量浓度不超过 20 g/L^[20]。为进一步大幅度地提高反应器的生产率,减少产物抑制作用,需要开发新的“高速”过程,快速而连续地将所产生的丁醇在线移出。为此研究者开发了一些反应与分离过程相结合的新技术,如吸附法、气提法、液-液萃取、渗透蒸发等。

4.1 气提法

在丁醇发酵过程中,以发酵自身产生的氢气和二氧化碳为载气,载气通过鼓泡与溶液充分接触,携带丁醇、丙酮等挥发性有机物质,通过冷凝作用,从而将产物富集,载气又重新返回反应器进行新的循环,直到反应终止。气提法具有操作简单、不易堵塞等优点,在丁醇的在线回收中应用十分广泛^[21-22],表 1 对丁醇发酵过程中不同的提取工艺进行了比较。

4.2 液-液萃取

丁醇更易溶于有机相中,可有选择性地被富集。一般来说有机溶剂对细胞都是有毒性的,萃取剂的毒性是溶剂萃取发酵的一个大问题,选取合适的萃

取剂对丁醇的萃取是十分关键的。多年研究表明,油醇作为丁醇的萃取剂,对丁醇的萃取效果好,而且毒害作用较小^[16]。

4.3 渗透蒸发

渗透蒸发是利用膜对液体混合物中各组分的溶解与扩散性能的不同来实现其分离的膜过程。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,在进一步膜扩散中得到加强。最后,到达膜的真空侧的液体组分在减压下全部气化,并被冷凝收集。

4.4 吸附法

采用的吸附剂有硅藻土、活性炭、聚乙烯吡啶树脂、骨炭等。最近的研究表明,吸附法在丁醇提取的应用具有低能耗、操作简单等优点。利用吸附法回收丁醇所消耗的能源为 8.15 kJ/kg,而用普通蒸馏法、气提法和渗透蒸发技术回收丁醇所消耗的能源则分别为 24.2、21.8、13.6 kJ/kg^[26]。

以上各种工艺的比较见表 1。

表 1 丁醇发酵过程中不同提取工艺比较

发酵工艺	菌株	葡萄糖	总溶剂量	溶剂得率	生产率	参考文献
分批式						
蒸馏法	<i>C. beijerinckii</i> BA101	< 60	< 33	0.38 ~ 0.40	0.35	[17]
气提法	<i>C. beijerinckii</i> BA101	161	75.6	0.47	0.61	[22]
吸附法	<i>C. acetobutylicum</i>	73.3	23.2	0.32	0.92	[23]
补料分批						
气提法	<i>C. beijerinckii</i> BA101	500	23.3	0.47	1.16	[20]
渗透蒸发法	<i>C. acetobutylicum</i>	78.2	32.8	0.42	0.5	[24]
吸附法	<i>C. acetobutylicum</i>	190	59.8	0.32	1.33	[23]
连续式发酵						
气提法	<i>C. beijerinckii</i> BA101	1163	463	0.40	0.91	[25]

5 展望

采用廉价、储量丰富的木质纤维素为原料发酵生产丁醇的前景十分广阔,它降低原料成本,使丁醇的生物合成具备与化学合成相竞争的经济基础。但木质纤维素酸水解过程产生的糖醛、羟甲基糠醛、阿魏酸、酚类化合物等有害物质对丁醇发酵产生很大的影响,如何降低水解产物对丁醇发酵的抑制作用是面临的一个难题。虽然在菌株筛选、菌种基因改造方面取得很大的进步,获得 *C. beijerinckii* BA101、*C. acetobutylicum* P260 等高产菌株,如何进一步增强丙酮丁醇梭菌对发酵产物的耐受力,提高丁醇的产量和转化率是菌种改良所面临的巨大挑战。对发酵

反应器的研制及发酵工艺、丁醇提取工艺的优化等各个环节还需进行深入的研究,探索最佳的途径,取得更好的效果。

参考文献

- [1] Schwarz W H, Gapes R. Butanol-rediscovers a renewable fuel[J]. Bio World Europe, 2006, 1: 16 - 19.
- [2] Jones D T. Acetone-butanol fermentation revisited[J]. Microbiological Reviews, 1986, 50(4): 484 - 524.
- [3] Durre P. New insights and novel developments in clostridial acetone-butanol-isopropanol fermentation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1998, 49(6): 639 - 648.
- [4] Ezeji T C, Qureshi N, Blaschek H P. Butanol fermentation research: Upstream and downstream manipulations[J]. The Chemical Record, 2004, 4(5): 305 - 314.
- [5] Ennis B M, Gutierrez N A, Maddox I S. The acetone-butanol-ethanol fermentation: A current assessment[J]. Process Biochemistry, 1986, 21(5): 131 - 146.
- [6] Mosier N, Wyman C, Dale B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass[J]. Bioresour Technol, 2005, 96(6): 673 - 686.
- [7] Woods D R. The genetic engineering of microbial solvent production[J]. Trends Biotechnol, 1995, 13(7): 259 - 264.
- [8] Ezeji T C, Qureshi N, et al. Bioproduction of butanol from biomass: From genes to bioreactors[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2007, 18: 220 - 227.
- [9] Mermelstein L D, et al. Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 for increased solvent formation by enhancement of acetone formation enzyme activities using a synthetic acetone operon[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1993, 42(9): 1053 - 1060.
- [10] Christopher A, Tomas N E W, Papoutsakis E T. Overexpression of groESL in *Clostridium acetobutylicum* results in increased solvent production and tolerance, prolonged metabolism and changes in the cell's transcriptional program[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(8): 4951 - 4965.
- [11] Tummala S B, Junne S G, Papoutsakis E T. Antisense RNA downregulation of coenzyme A transferase combined with alcohol-aldehyde dehydrogenase overexpression leads to predominantly alcohologenic *Clostridium acetobutylicum* fermentations[J]. J Bacteriol, 2003, 185(12): 3644 - 3653.
- [12] Tummala S B, Welker N E, Papoutsakis E T. Design of antisense RNA constructs for downregulation of the acetone formation pathway of *Clostridium acetobutylicum*[J]. J Bacteriol, 2003, 185(6): 1923 - 1934.
- [13] Annou B A, Blaschek H P. Isolation and characterization of *Clostridium acetobutylicum* mutants with enhanced amyolytic activity[J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57(9): 2544 - 2548.
- [14] Chen C K, Blaschek H P. Acetate enhances solvent production and prevents degeneration in *Clostridium beijerinckii* BA101[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52(2): 170 - 173.

(下转第 95 页)

无论曲率是凸的(研究组合成的电纺丝聚合物微纤维)还是凹的(用光刻技术生产的 SiO₂ “微木偶岩”结构(micro-hoods)),得到的结果都是表面的非润湿性增加。

虽然这些材料可以用作吸收碳氢化合物表面的涂料,但研究人员制备的一些低 POSS 微纤维无纺电纺丝则是分离辛烷和水的理想材料。MIT 的 Anish Tuteja 说:“我们希望继续沿着这个方向开发更具挑战性的烷烃混合物分离方法。”如果这些方法可以开发成功,那么进一步的研究会预示在某些液-液分离方面低能膜会替代高耗能技术(如蒸馏)。

海藻生物柴油

美国 Valcent Products 公司和加拿大全球绿色解决方案公司共同开发的 Vertigo 专利技术目前处于工业化的最后阶段,该技术包括了海藻的生长及从海藻中提取用于生物柴油生产的油类。这项技术的关键是使用了一个由美国 Grayling Industries 公司建造的连续闭环式生物反应器。

生物反应器中,水里的海藻通过高

3 m 的 UV 稳定塑料管循环,并且让海藻暴露在阳光下。Valcent Products 公司的主席及 CEO Glen Kertz 称,这种生物反应器与敞开式容器相比,主要优点在于暴露在阳光下的表面积大,同时水又不会蒸发损失。生长 25 ~ 30 天后的海藻约含质量分数为 50% 的油类。Vertigral 技术得到的生物柴油产品体积可达传统方法的 20 倍,并且只需要 5% 的水。

Chemical Engineering, 2008, 116(2): 14

一种生产生物柴油的新型固体酸催化剂首次投入生产

2008 年 1 月,位于美国伊利诺斯州的 Benefuel 公司与印度 Sud-Chemie India Pvt 公司(SCIL)签署了一项协议,SCIL 将为 Benefuel 公司的全球生物柴油产品生产企业制造专属的固体酸催化剂。这类还未获得专利的催化剂是一种铁-锌双金属氰化物(DMC)复合物,是由 Benefuel 公司和印度国家化学实验室联合开发的,它可以将大部分植物油、动物脂肪或废弃食用油直接转化成脂肪酸甲酯(FAME)。Benefuel 公司首席科学家 William Summers 说,与其他固体酸催化剂不同的是,DMC 可以同时高效催化甘

油三酸酯酯交换反应和游离脂肪酸(FFAs)酯化反应,FFAs 存在于未提炼的废弃食用油和非食用油中。这种新型催化剂对水也不敏感(甚至是 20% 的水),但其他固体催化剂在含水质量分数超过 0.2% 或更少时就无法生效了。

催化剂是 Benefuel 公司技术的关键特性,FAME 和副产物丙三醇在固定床反应器中被连续生产出。与使用液体催化剂(一般为 NaOH 水溶液)的分批生产方式或半连续技术相比,该技术不需要很多的后处理纯化步骤即可从 FAME 中除去催化剂,并且可以直接生产出纯净的丙三醇(纯度 ≥ 98%)。Summers 说,这就表示该技术可以在无水条件下进行;而传统方法每生产 4.5 L 生物柴油产品则需要 14 ~ 23 L 水,这会给缺水地区造成很多问题。就原料而言,该新技术在成本方面也比传统方法有优势,传统方法的生物柴油成本为 8.8 ~ 20 ¢/L。

位于美国伊利诺斯州的一家生物柴油工厂将首次把这项技术运用到实际生产中,该工厂将在 2008 年秋季后期开始运行,每年能从未精炼的大豆油和鸡肉脂肪中生产出 4 546 万 L 生物柴油。

Chemical Engineering, 2008, 116(2): 12

(上接第 87 页)

- [15] Parekh M, Formanek J, et al. Pilot-scale production of butanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 using a low-cost fermentation medium based on corn steep water[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 51(2): 152 - 157.
- [16] 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, 84/85/86(1/2/3/4/5/6/7/8/9): 225 - 235.
- [17] Ezeji T C, Qureshi N, Karcher P, et al. Butanol production from corn [M]//Minteer S D. Alcoholic Fuels: Fuels for Today and Tomorrow. New York: Taylor & Francis, 2006: 99 - 122.
- [18] Huang W C, Ramey D E, Yang S T. Continuous production of butanol by *Clostridium acetobutylicum* immobilized in a fibrous bed reactor[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2004, 115(1/2/3): 887 - 898.
- [19] Tashiro Y, Takeda K, et al. High butanol production by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 in fed-batch culture with pH-stat continuous butyric acid and glucose feeding method[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2004, 98(4): 263 - 268.
- [20] Ezeji T C, Qureshi N, et al. Acetone-butanol-ethanol (ABE) production from concentrated substrate: Reduction in substrate inhibition by fed-batch technique and product inhibition by gas stripping[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 63(6): 653 - 658.
- [21] Ezeji T C, Qureshi N, et al. Production of acetone, butanol and ethanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 and in situ recovery by gas stripping [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2003, 19: 595 - 603.
- [22] Ezeji T C, Karcher P M, et al. Improving performance of a gas stripping-based recovery system to remove butanol from *Clostridium Beijerinckii* fermentation[J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2005, 27: 207 - 214.
- [23] Yang X, Tsao G T. Enhanced acetone-butanol fermentation using repeated fed-batch operation coupled with cell recycle by membrane and simultaneous removal of inhibitory products by adsorption[J]. Biotechnol Bioeng, 2004, 47: 444 - 450.
- [24] Qureshi N, Blaschek H P. Production of acetone-butanol-ethanol (ABE) by a hyper-producing mutant strain of *Clostridium beijerinckii* BA101 and recovery by pervaporation [J]. Biotechnol Prog, 1999, 15(4): 594 - 602.
- [25] Ezeji T C, Qureshi N, Blaschek H P. Process for continuous solvent production: US, 60/504280A1 [P]. 2005 - 04 - 28.
- [26] Qureshi N, Hughes S, et al. Energy-efficient recovery of butanol from model solutions and fermentation broth by adsorption [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2005, 27(40): 215 - 222. ■