

对新一代生物燃料丁醇的概述

韩伟^{1,2}, 张全^{2*}, 佟明友², 关浩², 姚秀清¹

(1. 辽宁石油化工大学环境与生物工程学院, 辽宁抚顺 113001; 2. 抚顺石油化工研究院生物化工部, 辽宁抚顺 113001)

摘要 首先介绍了生物丁醇的发展历程, 然后介绍了生物丁醇发酵菌种及丁醇的生物合成途径, 最后总结了对目前生产生物丁醇存在的问题和解决方案, 以期作为燃料丁醇的工业化生产提供参考。

关键词 燃料丁醇; 生物能源; 丙酮丁醇发酵; 木质纤维素

中图分类号 S216; Q815 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)11-04964-03

Overview of Butanol, a New Generation of Bio-fuel

HAN Wei et al (School of Environmental and Biological Engineering, Liaoning Shihua University, Fushun, Liaoning 113001)

Abstract The development course, fermentation bacteria, and butanol biosynthetic pathway were introduced. The problems existing in this field and the solutions were also summarized in order to provide some references for the industrial production of fuel butanol.

Key words Fuel butanol; Bio-energy; Acetone-butanol fermentation; Lignocellulose

当今社会, 由于煤炭、石油等不可再生资源价格的日渐增长及面临资源枯竭的窘境, 并且这些化石燃料在使用过程中生成硫化物和碳化物排到大气中, 对环境造成了不小的负面影响, 因而能源问题已成为世界各国关注的焦点^[1-2]。为了解决这一难题, 开发一种绿色、可再生能源迫在眉睫。而生物燃料具有可贮藏性、可运输性、可再生、对环境友好等特点, 并且储量丰富, 已经被人们公认为重要的代替石油等化石燃料的新一代能源。据预测, 生物燃料在未来运输燃料结构中会占有较大比重, 在市场中可以达 20% ~ 30% 左右^[3]。生物燃料泛指由生物质组成或转化的固体、液体或气体燃料, 包括燃料乙醇、燃料丁醇、生物柴油、生物合成气等^[4-6]。虽然目前市场上以燃料乙醇和生物柴油最常见, 但燃料丁醇正以崭新的姿态走入大家的视野。与燃料乙醇相比, 燃料乙醇有诸多优势和用途^[7-8], 一是更易于与汽油和柴油混合, 便于运输, 并且不需要改造车辆发动机; 二是蒸汽压较低, 安全系数高, 更适合作为燃料添加剂; 三是热值比乙醇高, 抗爆性好; 四是在塑胶工业和食品行业中应用极广。

1 丁醇发展简史

丁醇最早是由法国人 C. -A. 孚兹于 1852 年从发酵过程制酒精所得的杂醇油中发现的。1913 年, 英国斯特兰奇-格拉哈姆公司首先以玉米为原料经发酵生产丙酮, 正丁醇则作为主要副产物。以后, 由于正丁醇需求量增加, 发酵工厂改为以生产正丁醇为主, 丙酮、乙醇则为副产物。20 世纪 50 年代, 丙酮-丁醇发酵在重要性和规模性方面仅次于乙醇工业, 并在美国开始大规模工业化实施。但是在 60 年代早期, 由于在与石油化工行业的竞争中处于劣势地位, 不得不被中止。但是 1973 年的石油危机, 使得丙酮丁醇发酵被人们重新广泛的研究, 而再度兴盛起来^[9-10]。到 20 世纪 90 年代, 随着我国陆续从国外引进了几套丁醇和辛醇生产装置后, 丁

醇、辛醇生产才向着大规模方向发展。目前, 国内丁醇生产企业主要有北京东方石油化工有限公司、大庆石化总厂、齐鲁石化公司、吉林石化公司^[11], 全部采用羰基合成法, 但是生产成本居高不下, 市场竞争力逐渐下滑, 因而发酵法生产生物丁醇逐渐受到人们的青睐。

2 丁醇生产方法简介

工业上有 3 种生产丁醇的方法: ①发酵法: 以谷物淀粉或糖类等为原料, 经过丙酮丁醇梭菌发酵后, 经发酵液的分离、提纯等一系列下游技术手段而获得目标产品——正丁醇; ②乙醛缩合法: 两个乙醛分子经缩合并脱水后, 可制得丁烯醛, 丁烯醛再经催化加氢后制得正丁醇; ③羰基合成法: 丙烯、一氧化碳和氢气在加压加温及催化剂存在条件下羰基合成脂肪醛, 再经加氢、分馏分离制得正丁醇, 这是工业上生产丁醇的主要方法。生产丙酮、丁醇的梭菌分为淀粉分解梭菌 (*Clostridium acetobutylicum*) 和糖化梭菌 (*Clostridium beijerinckii*, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* 和 *Clostridium saccharobutylicum*)^[12-13]。其中, 由于第一种菌种细胞中含有淀粉酶, 因而不需要糖化就可以直接发酵淀粉; 第二类菌种为严格厌氧菌, 多用于糖质原料的发酵。图 1 为丙酮和丁醇的生物合成途径^[14]。

丙酮丁醇梭菌发酵包含两个时期, 即产酸期和产溶剂期。发酵前期, 细菌度过缓慢适应期后, 开始处于对数生长期, 生产大量有机酸, 包括乙酸、丁酸等, 导致 pH 急剧下降, 并伴随大量气体 (H_2 和 CO_2) 产生; 当酸积累到一定量时 (pH 约为 4.3), 细菌发酵开始进入了产溶剂时期, 这时细胞处于稳定时期, 将产生的有机酸还原为乙醇、丙酮、丁醇等溶剂, 同时有少量的 H_2 和 CO_2 产生。随着发酵时间的推移, 丙酮丁醇梭菌开始进入衰亡期, 营养物质消耗过度, 加上丙酮丁醇对细胞的毒害作用, 使菌体活力骤降, 并且有的菌体已自溶和生成孢子, 最终发酵停止^[15-16]。

3 生产生物丁醇存在的问题及解决方案

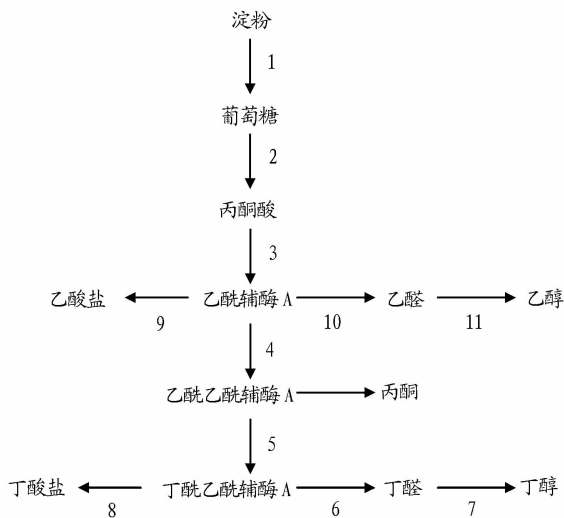
3.1 存在问题

3.1.1 溶剂的毒性导致丁醇的产量、产率低。相比于丙酮、

作者简介 韩伟 (1987 -), 男, 河北唐山人, 硕士研究生, 研究方向: 生物质能源, E-mail: 384479217@qq.com。* 通讯作者, E-mail: zhangquan.fshy@sinopec.com。

收稿日期 2013-02-08

乙醇、乙酸、丁酸等产物,丁醇对梭菌细胞的毒性最大^[17]。主要表现为:增加细胞膜的流动性,破坏膜的代谢功能,如抑制葡萄糖在膜间的运输;降低细胞膜上 ATP 酶的活性和细胞内 ATP 浓度;破坏跨膜 pH 梯度。当丁醇浓度为 12 g/L 左右时,基本上就抑制了丙酮丁醇梭菌的正常代谢;当浓度为 20 g/L 以上时,细胞将不再生长,这也直接导致丁醇产量不会太高。有文献报道,如果将丁醇的浓度从 12 g/L 提高至 19 g/L,回收成本将减少一半^[18]。可见,提高梭菌对溶剂的耐受性或控制发酵罐中所产溶剂的浓度无疑将会增加溶剂的产量及减低生产成本。再加上丙酮丁醇菌是厌氧发酵,产能能力有限,不能有效地提供合成其他有助于丁醇产生的代谢中间产物所需要的能量,所以在一定程度上制约了高产率的丙酮丁醇梭菌的发展。



注:1. 淀粉水解酶;2. 糖酵解途径;3. 丙酮酸氧化还原酶;4. 硫解酶;5. 巴豆酸酶,3-羟基丁酰辅酶 A 和丁酰辅酶 A 脱氢酶;6. 丁醛脱氢酶;7. 丁醇脱氢酶;8. 磷酸丁酰转移酶和丁酸激酶;9. 磷酸乙酰转移酶和乙酸激酶;10. 乙醛脱氢酶;11. 乙醇脱氢酶。

图1 丙酮和丁醇的生物合成途径

3.1.2 溶剂终浓度低。传统法生产丙酮丁醇,溶剂总浓度不大于 2%,即水分质量分数可达 98% 以上,而用常规的蒸馏方法提取溶剂的话,无疑增加了下游技术成本,费时又费力^[3]。

3.1.3 丁醇占总溶剂比例低。丁醇占总溶剂的比例偏低,一般为 60% 左右,乙醇占 10%,丙酮为 30%。总溶剂产量已经不高,再加上丁醇所占比例低,导致经济竞争力不足。

3.1.4 原料选择方面。传统生物丁醇发酵采用糖蜜、玉米等粮食为原料,造成与民争粮的现状,随着粮食价格上涨及资源匮乏,必将导致生物丁醇的发展处于不利局面。

3.2 解决方案

3.2.1 筛选丁醇高产菌种。筛选出丁醇产量高及对溶剂耐受性强的菌种,或者产量不是最高,但是其他副产物,如丙酮、乙醇的比例较少的菌种,这样可以降低发酵下游方面的成本。中国科学院上海植物生理生态研究所已经成功选育出了丙酮、丁醇和乙醇比例为 2:7:1 的丙酮丁醇发酵菌种^[3]。以减少工作量为目的,在紫外、化学诱变时,可以采用合适

的、间接的筛选平板。如以 α -淀粉酶活的高低来筛选丙酮丁醇高产菌株,也是高效可行的^[19]。

3.2.2 运用代谢工程及基因工程的方法对菌种进行改造。近年来,重组 DNA 技术的不断进步和代谢工程的发展,极大地推动了生物丁醇的发展。随着丙酮丁醇梭菌基因组测序的完成,人们利用基因工程和代谢工程手段对菌种改造的方向也更具有针对性。现阶段人们对丙酮丁醇梭菌进行改造可以从以下几方面着手。

3.2.2.1 对孢子的调控。在丙酮丁醇梭菌的发酵过程中,部分菌体会形成孢子,菌液下降,对溶剂生产不利。SpoOA 基因有控制孢子形成和调控溶剂基因表达的作用^[20]。Harris 等^[21]发现敲除 SpoOA 基因的菌株,丁醇和丙酮的产量大幅下降,而过表达 SpoOA 基因的菌株,丁醇产量会有所提高,但也会加快孢子形成。因而,可能存在一个平衡点,使丁醇产量尽可能提高。

3.2.2.2 提高菌种耐受性。丙酮丁醇梭菌是严格厌氧菌,其氧气耐受性主要受 perR 基因调控^[20]。可以通过敲除 perR 基因,或将其他好氧型微生物的基因(能耐受氧气的)提取出来,利用载体导入到丙酮丁醇梭菌内进行调控表达,来调节或缓解氧气对丙丁菌株的影响。

3.2.2.3 提高丁醇产率。可以通过提高丁醇产量或者减少丙酮和乙醇产量来提高丁醇产率,即增强合成途径和敲除无益副产物生成途径。在整个过程中,某些关键酶(如乙酰乙酸脱羧酶、丁醇脱氢酶等)的活性对丁醇的产率有极大的影响,因此也可对这些酶的活性进行调控。另外,尝试在高耐丁醇菌株中构建异源丁醇途径也是有可能的^[22]。

3.2.3 进一步改进提取工艺。由于所产溶剂对细胞的毒性、较低的细胞浓度、发酵周期长等因素,造成生物丁醇的生产率低于 0.5 g/(L·h)^[23]。因此,要获得更高的溶剂产量及生产率,需要快速并连续地将丁醇在线移出,为此人们开发了一些与发酵工艺相耦合的新技术,如气提法、渗透蒸发法、膜分离、液-液萃取、反渗透、吸附法等(表 1)。

3.2.3.1 气提法。利用发酵自身产生的气体(H_2 、 CO_2)或者从外界通入气体(N_2 、CO),将发酵液内的发酵产物在线移出,并移送到冷凝装置收集,降低了溶剂的浓度,而气体可以重新回流到发酵液内,循环使用^[31]。该方法使发酵产物在发酵体系外积累,从而有效地降低溶剂浓度过高对细胞造成的毒性,提高丁醇产量。但是通入不同类型的气体会对气提效果有影响,而几种气体的浓度不同也会影响发酵过程(表 2)。

3.2.3.2 膜分离。在整个分离过程中,发酵液和萃取剂被一层选择性透过膜分在两侧。由于没有直接的接触,就大大降低了萃取剂对细胞的毒性,并形成乳状液和产生分层现象。在膜区域,丁醇就可以优先的从水相扩散到有机相,而象乙酸、丁酸等溶剂便会继续留在发酵液内。但是扩散的速度取决于分离膜的性能,因此选择高性能的分离膜会提高分离效率^[23]。

表 1 不同提取工艺的比较

发酵方式	发酵工艺	菌株	葡萄糖	总溶剂量	溶剂得率	生产率
			g/L	g/L		g/(L·h)
分批发酵	气提法 ^[24]	<i>C. beijinckii</i> BA101	60	23.6	0.40	0.61
	渗透汽化法 ^[25]	<i>C. beijinckii</i> BA101	78	32.8	0.42	0.50
	液液萃取 ^[26]	<i>C. beijinckii</i> BA101	110	33.6	0.31	-
补料分批发酵	气提法 ^[27]	<i>C. beijinckii</i> BA101	500	233.0	0.47	1.16
	渗透汽化法 ^[28]	<i>C. acetobutylicum</i>	470	155.0	0.31~0.35	0.13~0.26
	吸附法 ^[29]	<i>C. acetobutylicum</i>	190	59.8	0.32	1.33
连续发酵	气提法 ^[30]	<i>C. beijinckii</i> BA101	1 163	463.0	0.40	0.91

表 2 不同气体组成的比较^[32]

气体组成	丁醇产量 mmol/L	ABE 总产量 mmol/L	丁醇在总溶剂中 比例	葡萄糖消耗量 mmol/L
100% N ₂ 和 0% CO	65.4	100.3	0.65	177.5
94% N ₂ 和 6% CO	41.7	69.6	0.60	130.4
85% N ₂ 和 15% CO	105.6	156.0	0.68	180.8

3.2.3.3 吸附法。目前,研究最多的吸附剂有硅藻土、活性炭、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等。硅藻土吸附丁醇浓度的范围较广,PVP可以显著提高发酵过程的溶剂产量、产率、葡萄糖利用率等。总之,吸附法具有效率高、能耗低、溶剂产率高等特点,但由于吸附剂和溶剂之间有相互作用,并且吸附平衡关系多是线性的,导致试验设计较复杂,工作量也大^[33]。

3.2.3.4 渗透蒸发法。渗透蒸发法是指利用膜将易挥发的物质选择性地从发酵液中分离出来,通过冷凝器收集的过程。因而目标产物有一个从液相到气相,再变为液相的过程。要使物质被很好的扩散和收集,膜是关键,可分为亲水膜和疏水膜。前者用于丁醇和水混合物的脱水,比传统的共沸精馏效率高,又节能、环保,包括聚乙烯醇(PVA)、聚酰胺(PI)、SiO₂等;后者与发酵工艺相耦合,在线移出发酵产物,既降低了溶剂的抑制作用,又提高了发酵产率,包括聚二甲硅氧烷(PDMS)、聚丙烯膜(PP)、聚四氟乙烯膜(PTFE)等。高的渗透通量和选择性是膜的关键,其次还要对膜组件和耦合工艺的参数进行设定、优化,提高膜效率,尽量减少膜污染现象,降低成本^[23,25]。

3.2.4 利用廉价原材料发酵生产丁醇。降低原料的成本可以增加生物丁醇的经济竞争力。木质纤维素是世界上来源最广、最廉价的可再生能源之一,主要由纤维素、半纤维素、木质素3部分组成。纤维束之间充满了半纤维素和木质素,其间存在着不同的结合力。纤维素和半纤维素、木质素间的结合主要依赖氢键,而半纤维素和木质素间除了氢键还存在着其他的化学键。半纤维素和木质素填充包裹着纤维素,大大降低了纤维素酶的及性。但是有效的预处理可以去除木质素和半纤维、破坏纤维素的结晶结构,使酶容易结合在纤维素上^[34-35]。然后通过酶解可把木质纤维素水解为葡萄糖、木糖等,可供微生物发酵利用。玉米、小麦秸秆等木质纤维素都是很好的原材料,且来源广,价格便宜,有很好的研发前景。

4 展望

随着环境恶化及石油资源的日益枯竭,具有诸多优点的

燃料丁醇成为了人们关注的焦点。目前,美国、英国、韩国等国外发达国家正在加大投资研究燃料丁醇生产的力度,但过程中的诸多问题并没有解决,导致了丁醇的生产成本居高不下,经济竞争力差,难以工业化。可是随着基因工程和代谢工程等分子生物学技术的发展,基因组学、功能基因组学知识库等的逐渐完善,对微生物的代谢途径和基因表达进行系统调控已成为可能。通过不断的研究与发展,人类一定会突破生物丁醇技术研究的瓶颈,相信在不远的将来可以开发出有经济竞争力、可持续发展的生物丁醇生产工艺。

参考文献

- [1] 宋锦玉. 新一代的生物燃料——丁醇的开发动向[J]. 当代化工, 2011, 40(6): 631-633.
- [2] NASIB QURESHI. Butanol production by *Clostridium beijerinckii* Part I: Use of acid and enzyme hydrolyzed corn fiber[J]. Bioresource Technology, 2008, 99: 5915-5922.
- [3] 刘娅, 刘宏娟, 张建安, 等. 新型生物燃料——丁醇的研究进展[J]. 现代化工, 2008, 28(6): 30-32.
- [4] 梁佐佐. 什么是乙醇的替代品[J]. 轻型汽车技术, 2006(7): 37.
- [5] 马晓建. 燃料乙醇生产与应用技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 189-272.
- [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] 刘力强, 李丽萍, 李立强, 等. 生物丁醇燃料产业化制造中的问题及发展趋势[J]. 生物产业技术, 2008(5): 36-38.
- [8] JOSEPH FORMANEK. Enhanced butanol production by *Clostridium beijerinckii* BA101 grown in semidefined P2 medium containing 6 percent maltodextrin or glucose[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(6): 2306-2310.
- [9] EZEJI T C, QURESHI N, BLASCHEK H P. 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.
- [10] EZEJI T C, QURESHI N, BLASCHEK H P. Butanol production from agricultural residues: Impact of degradation products on *Clostridium beijerinckii* growth and butanol fermentation[J]. Biotechnol Bioeng, 2007, 97(6): 1460-1469.
- [11] 张志新. 我国丁醇及辛醇发展趋势[J]. 塑料助剂, 2006(1): 15-17.
- [12] WOODS D R. The genetic engineering of microbial solvent production[J]. Trends Biotechnol, 1995, 13(7): 259-264.
- [13] RNAD SHAHEEN, MATT SHIRLEY, DAVID T. Jones. Comparative fermentation studies of industrial strains belonging to four species of solvent-producing clostridia[J]. Microbiol Biotechnol, 2000, 2(1): 115-124.
- [14] 何景昌, 张正波, 裘娟萍. 生物丁醇合成途径中关键酶及其基因的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(2): 116-120.
- [15] JONES D T, WOODS D R. Acetone-butanol fermentation revisited[J]. Microbiol Rev, 1986, 50(4): 484-524.
- [16] 陈陶声, 陆祖祺. 发酵法丙酮丁醇生产技术的[M]. 北京: 化学工业出版社, 1991.
- [17] EZEJI T C, QURESHI N, BLASCHEK H P. Butanol production from agricultural residues: Impact of degradation products on clostridium beijerinckii growth and butanol fermentation[J]. Biotechnol Bioeng, 2007, 97(6): 1460-1469.

条件,暖干的气候条件导致湿地萎缩、草地退化和沙化。但是在长时间尺度上,自然因素对区域生态环境的影响缓慢,而人类干扰加剧了这一过程。玛曲县超载严重,草场不堪重负,草地退化和沙化;为了扩大草场面积对沼泽湿地进行开沟排水,导致沼泽湿地萎缩。因此,呼吁人类在利用大自然的同时要保护自然环境,制定合理的资源管理制度。

参考文献

- [1] 韩海涛,祝小妮. 气候变化与人类活动对玛曲地区生态环境的影响[J]. 中国沙漠, 2007(4): 608-613.
- [2] 马媛,黄翀,郑巍. 玛曲县土地利用变化分析与预测[J]. 干旱区研究, 2012(4): 735-741.
- [3] 王根绪,沈永平,程国栋. 黄河源区生态环境变化与成因分析[J]. 冰川冻土, 2000, 22(3): 200-205.
- [4] 王根绪,李琪,程国栋,等. 40a 来江河源区的气候变化特征及其生态环境效应[J]. 冰川冻土, 2001(4): 346-352.
- [5] 张龙生,马立鹏. 黄河上游玛曲县土地沙漠化研究[J]. 中国沙漠, 2001(1): 87-90.
- [6] 王素萍,宋迎春,韩永翔,等. 玛曲气候变化对生态环境的影响[J]. 冰川冻土, 2006, 28(4): 556-561.
- [7] 陈文业,戚登臣,李广宇,等. 甘南高寒退化草地生态位特征及生产力研究[J]. 自然资源学报, 2010(1): 80-90.
- [8] 戚登臣,陈文业,郑华平,等. 甘南黄河上游水源补给区“黑土滩”型退化草地现状,成因及综合治理对策[J]. 中国沙漠, 2008, 28(6): 1058-1063.
- [9] LEE S H, CHANG K S, SU M S, et al. Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi[J]. Food Control, 2007, 18(12): 1547-1554.
- [10] 李文龙,薛中正,郭述茂,等. 基于 3S 技术的玛曲县草地植被覆盖度变化及其驱动力[J]. 兰州大学学报:自然科学版, 2010(1): 85-90.

(上接第 4966 页)

- [18] NOLUNG J, BRETON G, OMELCHENKO M V. Genome sequence and comparative analysis of the solvent-producing bacterium *Clostridium acetobutylicum*[J]. Bacteriol, 2001, 183(16): 4823-4838.
- [19] 徐芳. 丙酮丁醇梭菌生产丁醇及代谢调控的初步研究[D]. 无锡:江南大学, 2009.
- [20] 闰永亮,刘宏娟,张建安. 代谢工程在生物丁醇生产中的应用及研究进展[J]. 现代化工, 2012, 32(4): 25-30.
- [21] HARRIS L M, WELLKER N E, PAPOUTSAKIS E T. Northern. morphological and fermentation analysis of spoOA inactivation and overexpression in *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 [J]. J Bacteriol, 2002, 184(2): 3586-3597.
- [22] 顾阳,蒋宇,吴辉,等. 生物丁醇制造技术现状和展望[J]. 生物工程学报, 2010, 26(7): 914-923.
- [23] THADDEUS CHUKWUEMEKA EZEJI. Bioproduction of butanol from biomass: From genes to bioreactors[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2007, 18: 220-227.
- [24] 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 and Biotechnology, 2003, 19: 595-603.
- [25] 金万勤,刘公平,徐南平. 渗透汽化在丙酮-丁醇发酵制备燃料丁醇中的研究进展[J]. 膜科学与技术, 2011, 31(3): 25-31.
- [26] 杨立荣,岑沛霖,朱自强. 丙酮/丁醇间歇萃取发酵[J]. 浙江大学学报, 1992, 26(4): 388-398.
- [27] EZEJI T C, QURESHI N, BLASCHEK H P. Acetone butanol ethanol (ABE) production from concentrated substrate: Reduction in substrate inhibition by fed-batch technique and product inhibition by gas stripping

- [11] 董高生. 玛曲县鼠害草地综合治理途径的研究[J]. 青海草业, 2004(2): 11-13.
- [12] 李苗苗. 植被覆盖度的遥感估算方法研究[D]. 北京:中国科学院, 2003.
- [13] 常学礼,高玉葆. 区域沙漠化研究中的沙漠化数量表征[J]. 中国沙漠, 2003(2): 8-12.
- [14] 陈雅琳,常学礼,崔步礼,等. 库布齐沙漠典型地区沙漠化动态分析[J]. 中国沙漠, 2008(1): 27-34.
- [15] 朱震达. 中国荒漠化问题研究的现状与展望[J]. 地理学报, 1994, 49(S1): 650-659.
- [16] 朱震达. 土地荒漠化问题研究现状与展望[J]. 地理研究, 1994, 13(1): 104-113.
- [17] 王涛,赵哈林. 中国沙漠科学五十年[J]. 中国沙漠, 2005, 25(2): 145-165.
- [18] NIU T, CHEN L, ZHOU Z. The characteristics of climate change over the Tibetan Plateau in the last 40 years and the detection of climatic jumps[J]. Advances in Atmospheric Sciences, 2004, 21(2): 193-203.
- [19] 杨元合,扑世龙. 青藏高原草地植被覆盖度变化及其与气候因子的关系[J]. 植物生态学报, 2006, 30(1): 1-8.
- [20] 逯军峰,董治宝,胡光印,等. 甘肃省玛曲县土地沙漠化发展及其成因分析[J]. 中国沙漠, 2012, 32(3): 604-609.
- [21] 赵雪雁. 黄河首曲地区草地退化的人文因素分析——以甘肃省玛曲县为例[J]. 资源科学, 2007(5): 50-56.
- [22] 尚焱,秦建宏,尚小生,等. 玛曲县草地畜牧业存在的问题及可持续发展对策[J]. 青海草业, 2006, 15(2): 28-30.
- [23] 玛曲县统计局. “十一五”玛曲县农业与农村发展情况分析[EB/OL]. (2011-07-19) <http://www.gstj.gov.cn/doc/ShowArticle.asp?ArticleID=11891>.
- [24] 郭铤,韩天虎,王静,等. 玛曲退牧还草工程生态效果的遥感监测[J]. 中国沙漠, 2010, 30(1): 154-160.

- [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 63(6): 653-658.
- [28] 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 and Francis, 2006: 99-122.
- [29] 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.
- [30] EZEJI T C, QURESHI N, BLASCHEK H P. Process for continuous solvent production; U. S. NO. 60/ 504, 280[P]. 2005.
- [31] 顾阳,蒋宇,吴辉,等. 生物丁醇制造技术现状和展望[J]. 生物工程学报, 2010, 26(7): 914-923.
- [32] BYUNG HONG KIM. Control of carbon and electron flow in *Clostridium acetobutylicum* fermentations: Utilization of carbon monoxide to inhibit hydrogen production and enhance butanol yields[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1984: 764-770.
- [33] 童灿灿,杨立荣,吴坚平,等. 丙酮-丁醇发酵分离耦合技术的研究进展[J]. 化工进展, 2008, 27(11): 1782-1788.
- [34] 李科,靳艳玲,甘明哲,等. 木质纤维素生产燃料乙醇的关键技术研究现状[J]. 应用与环境微生物学报, 2008, 14(6): 877-884.
- [35] 高凯,李云,杨秀山. 影响丙酮丁醇发酵的主要因素及解决方案的研究进展[J]. 生物质化学工程, 2011, 45(2): 45-50.
- [36] 孙超,谢达平. 丙酮丁醇梭菌中丁醇脱氢酶的分离纯化及酶学性质研究[J]. 湖南农业科学, 2011(7): 18-20, 25.
- [37] 胡翠英,李良智,朱文静,等. 同化玉米芯酸解液为丁醇[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(33): 20459-20461.