

文章编号: 1674-5566(2013)02-0282-07

微藻生物柴油的研究进展

郝宗娣, 杨 勋, 时 杰, 张 森, 刘平怀

(海南大学 材料与化工学院, 海南优势资源化工材料应用技术教育部重点实验室, 海南 海口 570228)

摘 要: 作为化石燃料的替代品, 生物柴油具备特殊的优势。微藻是一种 CO₂ 固定效率及油脂含量高、生长周期短、不影响食物安全保障的单细胞生物, 是生物柴油的理想来源。综述了产油微藻的培养、收获及生物柴油制备等相关技术的发展现状, 并提出了发展过程中出现的问题及对策, 最后对微藻生物柴油技术的发展前景进行了展望。

研究亮点: 微藻与其他非食物基原料相比具有明显优势, 是新兴生物质能源的主力军。简要概述了微藻生物柴油技术的发展现状及其面临的主要问题, 提出了加强富油微藻选育、提升规模化培养效率及完善生物柴油转化技术等发展微藻生物柴油的策略。

关键词: 产油微藻; 生物柴油; 培养优化; 工业化生产

中图分类号: Q 945.11; TQ 644.2

文献标志码: A

化石能源的发展促进了人类文明的极大进步, 统计数据表明, 人类所使用的能源有 88% 来自于化石燃料^[1]。然而, 化石能源的大量消耗使人类面临能源短缺和全球变暖两大危机, 因此开发可再生新能源和二氧化碳减排成为 21 世纪的重要任务。地球上的能量来源为太阳能, 每年约有 5.5×10^{24} J 太阳能穿越大气层到达地球表面, 是全球能量消耗总量的 1.2 万倍^[2]。植物的光合作用是固定太阳能的主要方式, 微藻相对于高等植物来讲, 具有光合作用效率高、生长周期短及盐碱耐受性好等优势, 因此不受耕地、灌溉、营养、周期及光合作用效率的限制, 可作为理想的“太阳能捕获器”^[2]。微藻固定太阳能的一类重要产物是微藻油脂, 它是由微藻细胞在一定的环境下利用碳水化合物等有机物经复杂的催化反应合成的, 主要由甘油三酯和游离脂肪酸组成, 并可与甲醇进行转脂反应制备成可再生、环保、安全的生物柴油 (biodiesel)。微藻生物柴油现今已成为国际上发展最快的环保可再生能源之一, 它的发展对于缓解能源压力、保障能源安全、促

进环境保护等具有重要的意义。

1 产油微藻及其培养

产油微藻 (oleaginous microalgae) 通常在一定条件下能够将二氧化碳、碳水化合物和普通油脂等碳源转化为藻体内大量储存的油脂 (含量超过生物量干重 20%)^[3]。事实上, 一般的藻类细胞中均含有油脂, 而不同藻类的油脂含量有较大的差别, 油脂含量较高的微藻主要集中于绿藻 (Chlorophyceae)、硅藻 (Bacillariophyceae)、金藻 (Chrysophyceae) 等真核微藻中 (表 1), 常见的产油微藻主要有葡萄藻^[4]、小球藻^[5]、杜氏藻^[6]、三角褐指藻、微绿球藻^[7]、舟形藻^[8]、栅藻^[9] 等 (表 1)。

1.1 微藻油脂的合成与积累

微藻油脂的生物合成同高等植物类似^[10], 属于初级代谢的一部分, 是一个多酶催化的复杂过程。以衣藻为例: 衣藻细胞中油脂的主要成分——甘油三酯 (Triacylglycerol, TAG) 的合成过程包括 3 个主要步骤 (图 1): 乙酰辅酶 A (acetyl-

收稿日期: 2012-03-20 修回日期: 2012-04-07

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 前期研究专项课题 (2010CB134409); 国家科技支撑计划 (2011BAD14B01); 海南大学植物学国家级重点学科 (071001)

作者简介: 郝宗娣 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为富油微藻的筛选及微藻生物柴油制备。E-mail: island_hao@hotmail.com

通信作者: 刘平怀, E-mail: twlph@163.com

CoA) 羧化为丙二酰辅酶 A (malonyl-CoA)、脂肪酸链的延长、TAG 的生物合成,其中碳链的延长过程即为游离脂肪酸的合成过程。第一步中,乙酰辅酶 A 是 TAG 合成的物质基础,在乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACCase) 的作用下,生成丙二酰辅酶 A (malonyl-CoA),该过程为油脂合成的初始步骤,也是一个限速步骤。第二步中,丙二酰辅酶 A 在脂肪酸合成酶 (fatty acid synthesis, FAS) 复合体的作用下,生成酰基辅酶 A (acyl-CoA)。酰基辅酶 A 同甘油-3-磷酸 (glycerol-3-phosphate) 在甘油-3-磷酸酰基转移酶 (glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAT)、溶血卵磷脂酰基转移酶 (lysophosphatidyl acyltransferase, LPAT) 等酶的作用下,生成二酰甘油 (diacylglycerol, DAG)。第三步, DAG 在二酰甘油酰基转移酶 (diacylglycerol acyltransferases, DAGATs) 的作用下生成 TAG, 另外,一些膜脂 (membrane lipids, ML) 在磷脂二酰甘油酰基转移酶 (phospholipid diacylglycerol acyltransferase, PDAT) 的作用下,也可生成 TAG。

表 1 部分微藻的含油量
Tab. 1 Oil content of some microalgae

微藻名称	含油量 (干重)	文献
<i>Chlorella protothecoides</i>	38% ~ 57.9%	[11]
<i>Scenedesmus</i> sp.	31% ~ 33%	[12]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	20% ~ 45%	[13]
<i>Nannochloropsis oculata</i>	7.9% ~ 50.4%	[14-15]
<i>Porphyridium cruentum</i>	10.9% ~ 19.3%	[16]
<i>Chlorella vulgaris</i>	25% ~ 56.6%	[5, 13, 17]
<i>Chlorococcum littorale</i>	34%	[18]
<i>Dunaliella bardawil</i>	30%	[19]
<i>Neochloris oleabundans</i>	35% ~ 54%	[20]
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	40% ~ 90%	[21]
<i>Chaetoceros curvisetus</i>	17.76%	[22]
<i>Seminavis gracilentia</i>	20.3%	[23]
<i>Haematococcus pluvialis</i>	15.61% ~ 34.85%	[24]
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16% ~ 40%	[25]

提升微藻细胞油脂积累量的手段主要有:限制某些营养成分、添加某些微量元素、改变微藻的营养方式(自养改为异养或兼养)。对于一些绿藻,油脂的积累可通过缺氮、缺磷培养来实现^[26];而对于硅藻,还可通过限制硅元素的方式来积累油脂^[27]。一般认为,营养成分缺失可阻碍细胞的分裂,进而造成油脂的积累。如小环藻在硅缺失条件下,细胞中的碳原子会从碳水化合物中流向脂肪酸,进而形成油脂,最终导致非脂类物质转变为 TAG^[28]。一些微量元素也会对微藻

油脂的积累产生影响,如刘志媛^[29]的研究表明 Fe^{3+} 对小球藻、球等鞭金藻、莱茵衣藻等微藻油脂的积累具有一定的促进作用。某些微藻在有机碳源如葡萄糖的作用下会进行异养或兼养生长,如小球藻等。在异养或兼养条件下,微藻的生长速度和油脂含量会大幅度上升^[11]。此外,培养条件如光照、温度、 CO_2 、pH、盐度等也会对微藻油脂的积累有不同程度的影响^[6, 30]。

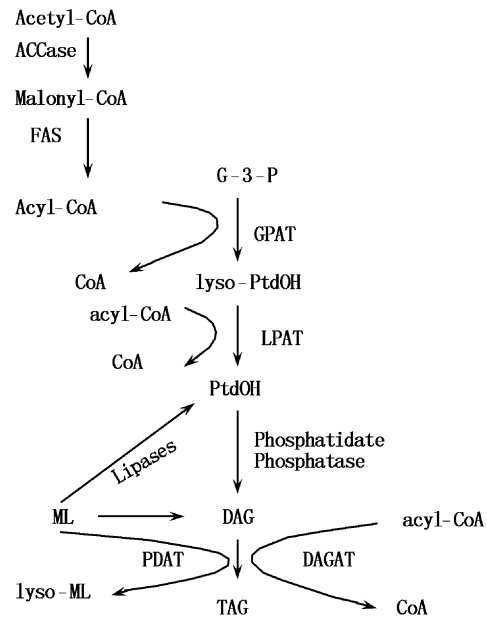


图 1 衣藻 TAG 的代谢途径
Fig. 1 TAG metabolism in *Chlamydomonas*

1.2 产油微藻的培养技术

微藻的自养培养须具备光照、 CO_2 、 H_2O 、无机盐等因子,并且有适宜的温度。异养微藻的培养条件则较为苛刻,主要是需要严格防止染菌,因此必须对生物反应器、培养基、接种器具等进行严格的灭菌。

规模化培养微藻主要是通过封闭式光生物反应器 (photo-bioreactor) 及开放池系统 (open pond culture system) 实现的。封闭式光生物反应器有管道式、平板式、柱状气升式、搅拌式发酵罐、浮式薄膜袋等,具有光能及 CO_2 利用率高、培养条件易于控制、不易污染、生长速率快、易于收获等优点。但利用生物反应器培养微藻也存在一些限制因素,如光照穿透比较困难、操作成本比较高。开放池系统主要以自然光作为光源和热源,依靠叶轮转动的方式防止藻体沉淀、提升藻体细胞的光能利用率。典型的开放池培养系

统是跑道池(race-way pond),其他还有浅水池、循环池及池塘等类型。开放式光生物反应器具有投资少、成本低、技术要求简单等优点,但易受污染且水分蒸发严重,许多微藻场采取的措施是在池子上方覆盖一层透光薄膜类材料使其封闭^[31]。另外,开放式光生物反应器还容易受光照、温度等气候条件的影响,很少能够全年生产。

尽管当前开放式光生物反应器因其造价低、运行成本低等优势而在微藻规模化培养中占据主要地位,但在实际生产过程中,它的 CO₂ 及光能利用率远远低于封闭式光生物反应器,这就导致微藻的生物量积累速度不高,生产效率低下。封闭式光生物反应器为藻类提供了一个容易控制的生长环境,能够根据特定需要进行调整从而获得更高的产量,实现持续高产,因此更有可能成为微藻规模化生产的主要方法。海南省地处热带,日照充足,环境湿热,优良的气候条件使其具备微藻全年生产的资本。另外,海南作为国内海洋面积最大的省份,海岸线长,沿岸的滩涂面积广阔,可供利用的空间大。我国于2010年初出台了“建设国际旅游岛”的政策,并提倡“节能减排”,在此机遇之下,立足于海南热带地域发展微藻生物柴油,既符合国家政策的要求,又能够响应“节能减排”的号召,必将能为国家新能源产业的发展起到较好的带头作用。

2 微藻生物柴油制备

2.1 微藻油脂的获取

微藻油脂的获取的第一步是收获藻体。由于微藻细胞微小、藻液含水量高,微藻的收获过程也就相对困难,其运行成本大约占据生物柴油生产的20%~30%。目前所用的收获方法包括沉降(sedimentation),絮凝(flotation),超滤(filtration)和离心(centrifugation)。絮凝法和沉淀法成本低廉,是开放大池培养收获微藻的首选方法。其中絮凝可以用 Fe³⁺、Al₂(SO₄)₃ 等作为絮凝剂,也可使用阳离子聚合物代替之。由于絮凝法仅适用于小球藻、栅藻等少数藻类,还需同其他方法有机结合才能充分发挥其作用。沉淀法适用于较易沉降的藻类,有研究表明,有些微藻受 pH 变化的影响也会发生沉淀^[32]。离心和超滤适用于光生物反应器中微藻的收获,通常这种培养方式可以获得较高的细胞密度。其中离心

是一种快速的收获方法,但同时也较为耗能,仅适用于提取高价值产物时的微藻的收获。超滤法因所需的膜的成本较高而不适于大规模收获,但开发价格低廉的膜材料也可作为降低微藻生物柴油成本的一个有效途径。

藻泥的干燥方法有日晒干燥(sun drying)、转鼓式干燥(drum drying)、喷雾干燥(spray drying)、流化床干燥(fluidized bed drying)、真空干燥(freeze drying)和偏流窗干燥(refractance window dehydration technology)。微藻油脂属于胞内产物,获取微藻油脂需将微藻细胞充分破碎。由于微藻细胞壁具有很高的抗压能力,而且部分微藻油脂与蛋白质或糖类结合为脂蛋白及脂多糖等,导致微藻油脂难以提取、分离,因此寻求安全有效的微藻细胞破碎的方式至关重要。常用的微藻细胞破碎方法有超声波破碎法、冻融破碎法、掺砂研磨法、酸处理法等^[33]。

干藻粉油脂的提取方法包括机器榨取法、有机溶剂萃取法^[34]、索氏提取法、超临界萃取法^[33]等,其中榨取法和有机溶剂萃取法适用于工业生产,而其他方式因成本和处理量等原因,仅适于实验室使用。

2.2 生物柴油的制备

生物柴油的制备方法有物理法和化学法,其中物理法包括直接混合法、微乳液法,化学法包括热裂解法和酯交换法。最为广泛使用的生物柴油制备方法是化学法中的酯交换法,即在催化剂(包括酶)的存在下,利用甲醇与天然油脂发生酯交换反应,以甲氧基取代长链脂肪酸上的甘油基,将甘油基断裂为3个长链脂肪酸甲酯(图2),从而减短碳链长度,降低油料粘度,改善油料的流动性能,达到作为机动燃料的使用要求。适合作为生物柴油的脂肪酸链长度为16~18碳,多数产油微藻甘油三酯脂肪酸的构成也以16~18碳为主。

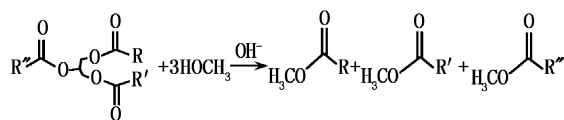


图2 生物柴油制备化学反应式
Fig. 2 Reaction formula of biodiesel preparation

酯交换反应过程中,催化剂的选择往往比较关键,目前较多利用的是酸碱催化法^[11],缪晓

玲^[35]等研究了以微藻油脂作为原料、利用浓硫酸催化的酯交换法制备生物柴油的工艺,结果在 30 ℃、醇油物质的量比为 56:1 条件下反应 4 h 可生成高质量的生物柴油,其密度为 0.864 kg/L、粘度为 5.2×10^{-4} (40 ℃)、热值高达 41 MJ/kg。酸碱的价格低廉,催化效率高,但酸碱催化法属于均相催化,反应最终的产物分离较为困难,且难以循环使用。以碱性固体氧化物类、固体强酸类、离子交换树脂类、水滑石类等作为催化剂的多相催化酯交换法具有反应条件温和、催化剂可循环使用、易于分离等优点。UMDU 等^[36]报道 CaO 和 Al₂O₃ 以一定比例混合后即有较高的催化活性,杨治中^[37]等利用纳米级 ZnO、TiO 等催化醇解和酯交换反应,并在反应过程中引入了超声化学技术以使原料得以充分混合,完成了低能耗、高效、高纯度的生物柴油制备过程。酶催化法也已有研究报道,但酶的成本高、寿命短、反应周期长且容易失活,该方法目前并不适于引入大规模工业化生产^[38]。此外,也有文献报道可直接使用藻泥进行皂化和酯化反应,该方法的优点就是可省略微藻细胞的干燥过程。

3 微藻生物柴油的优势及经济性分析

生物柴油相对于化石燃料的优势在于极少产生氮氧化物、一氧化碳、二氧化硫、三氧化硫、烃类及粉尘等污染物,是真正的环境友好型能源。生物柴油的制备成本中有高达 75% 来自原料成本,因此廉价原料及高转化率是生物柴油成本降低的关键^[39]。以现今能源的消耗速率来计算,生物柴油替代化石燃料是必然的。作物油脂、餐饮废弃油脂及动物油脂难以满足当下的需求量^[29],油料作物及木本植物的种植需要大量耕地、导致粮食危机加剧,因此也难以成为生物柴油的主要来源^[40]。产油微藻作为生物柴油来源的优势在于其生长周期短、油脂含量高。另外,产油微藻还可克服耕地占用及生产周期长等缺点,提升空间及太阳能的利用率,使自然资源得到充分利用。

近年来的一个研究热点是废水的处理同产油微藻培养两方面的有机结合,该方面的研究无疑为微藻生物柴油成本的降低提供了有效途径^[7]。由于生活废水及一些食品工业废水中富含有机质、氮、磷等利于微藻生长的营养因子,而

这些成分同时又是造成污染的主要因素,因此利用这些污水培养微藻可同时起到污水处理和促进微藻生长的作用,有些微藻甚至可利用其中某些有机质进行兼养生长。目前已证明有几种微藻可在污水中快速生长且能有效去除有机物及氮磷等成分^[41-42],而且有研究表明高光照、高 CO₂、长时间光照有利于油脂积累及废水中需氧物质及氮的移除,而低 CO₂ 有利于对磷的移除^[43]。

进入二十一世纪,资源的短缺导致化石燃料的价格飙升,使得微藻生物柴油的研究迅速兴起并繁荣发展。由于技术条件不够成熟,目前制约微藻生物柴油各环节发展的主要是成本问题,但在能源危机加深的情况下,许多国家和地区如美国、西欧、日本、印度、中国台湾及南非等,无论是政府还是企业都已投入大量资金来进行产油微藻及微藻生物柴油的开发与研究,这些工作必将有助于降低微藻生物柴油的生产成本,使微藻生物柴油的经济性得到进一步提高。此外,微藻的增值潜力还很高,如油脂提取同时所产出的色素可作为食品添加剂,油脂提取后的藻渣可作为动物饲料、饵料或生物化肥,生物柴油生产过程中可回收甘油,这些产品均为有效的增值途径^[44]。

4 微藻生物柴油的发展瓶颈及对策

尽管微藻生物柴油技术可行性高,其相关研究在近年来也取得了较大的进步,但发展过程中仍有培养方法不完善、采收过程繁琐、生物柴油制备技术欠佳等问题,可通过以下措施来解决。

4.1 高产油微藻的选育及产油率的提升

大部分高产油微藻对于生长环境的要求比较高,给规模化培养带来了一定的阻力,因此开发环境适应性强、生长速度快、具有发展潜力的经济微藻势在必行。据报道,自然界中约有 40 000 种微藻,种质资源极其丰富^[45],并且微藻每年固定的 CO₂ 约为全球净光合产量的 40%,是地球上能量转化和碳循环中重要的载体。即便如此,其中被研究和开发的微藻仅仅是很少的一部分^[46]。优良富油藻种的选育是微藻生物柴油效率提高与成本降低的首个关键环节,涉及光合效率、生长速率及微藻含油量等内容,因此从种质资源丰富的自然界中筛选生长速度快、产油量高、易培养的优良藻株,对于实现能源微藻的高

效规模化培养至关重要。一方面,较高含油量微藻的选育对于经济效益的提高是必要的;另一方面,保证微藻较快的生长速率也是降低生产周期及成本的必然要求。

目前,提高微藻产油率的方法主要是通过优化微藻的培养条件、改变微藻的培养方法和对藻株进行诱变,利用基因工程手段定向改造微藻代谢途径以提升微藻含油量方面的研究鲜见报道。根据有关报道,通过对藻细胞内的一些代谢关键酶的基因进行相应改造以提高酶活性从而提升油脂含量,在理论上是可行的^[47]。因此在已知油脂代谢分子机制的基础上,对某些微藻进行适当的基因改造,获得高产油、可稳定传代的藻种对于微藻生物柴油成本的降低及其规模化生产具有重要的意义。

4.2 提高规模化微藻培养的效率

目前最为广泛使用的开放跑道式培养池不但生物质产率低,而且采收过程中能量消耗也比较高,大大限制了微藻规模化培养的效率。因此光生物反应器的发展也是提高微藻规模化培养效率的一个重要环节,需要开发精密化、规模化的光生物反应器,实现对光能的最大化利用、循环装置的合理配置及采收的便利。在工业生产过程中可结合生产实际,在新型微藻生物反应器中引入新材料及新方法,对现有生物反应器进行改造,以实现微藻的大规模、高密度培养。微藻培养模式的改善还可从污水的处理及 CO₂ 的利用入手,污水中富含微藻生长所需的氮、磷等元素,而且利用污水规模化培养产油微藻与利用微藻对污水进行脱氮除磷分别是微藻生物柴油技术与污水处理的研究热点^[48],实现二者的有机结合可以同时解决污水处理及藻类培养的成本问题。此外,利用工业生产所产生的 CO₂ 进行微藻的培养无疑也是实现低碳生产的有效途径,具有较为现实的意义。

4.3 完善生物柴油转化技术

受技术条件限制,生物柴油的大规模转化依旧存在难以突破的瓶颈^[49],如催化效率低、分离困难、甘油回收率低等。最为普遍的酸碱催化法制备生物柴油易造成环境的污染及设备的损坏,而多相催化法制备生物柴油亦具有反应所需时间长、催化剂制备工艺复杂等缺点。酶催化虽然对环境基本无害,是今后生物柴油生产的一个趋

势,但高成本、催化时间长、不易保存等缺点严重限制了它的发展。利用产脂肪酶的细菌、真菌或基因工程菌进行生物柴油转化可克服以上缺点,如 FUKUDA^[50]等利用固定化的产脂肪酶的菌丝催化甲酯化过程,进行生物柴油的生产,这样既保持了酶催化的优点,又克服了酶易变性失活的缺点,为酶催化法生产生物柴油工业化提供了可能性。

5 展望

微藻生物柴油目前尚未形成系统的产业,同时也存在成本偏高、技术不成熟、难以工业化生产等缺点,但在能源危机、粮食危机及环境危机剧烈加深的今天,微藻生物质能源无可比拟的优势已日益凸显,这是化石燃料能源及其他生物质能源所不具备的,因此微藻生物柴油的发展前景广阔。近年来,国家重点基础研究发展计划(“973”计划)、“十二五”国家科技支撑计划对微藻能源都给予了关注,并提供资金支持。2011年11月在上海海洋大学召开的中国海洋湖沼学会藻类学分会第八次会员大会暨第十六次学术讨论会设立了微藻生物能源专场,重点讨论富油微藻的筛选及产油微藻的培养优化等议题。这都表明国家对微藻生物柴油发展越来越重视,而微藻生物柴油的发展也是环境友好型能源发展的必要条件。随着国家对于新能源开发支持力度的加大,微藻生物柴油必然能得到更深层次的挖掘,其相关技术也将不断地得到完善,这些都将大大促进微藻生物柴油的产业化。

参考文献:

- [1] 李涛,李爱芬,桑敏,等. 富油能源微藻的筛选及产油性评价[J]. 中国生物工程杂志,2011, 31(4): 98-105.
- [2] LARKUM A W D, ROSS I L, KRUSE O, et al. Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production[J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(4): 198-205.
- [3] 郑洪立,张齐,马小琛,等. 产生物柴油微藻培养研究进展[J]. 中国生物工程杂志. 2009, 29(3): 110-116.
- [4] RUANGSOMBOON S. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2[J]. Bioresource Technology, 2012, 109: 261-265.
- [5] WIDJAJA A, CHIEN C, JU Y. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2009,

- 40(1): 13–20.
- [6] CHEN M, TANG H, MA H, et al. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta* [J]. *Bioresource Technol*, 2011, 102: 1649–1655.
- [7] JIANG L L, LUO S J, FAN X F, et al. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂ [J]. *Appl Energ*, 2011, 88(10): 3336–3341.
- [8] MATSUMOTO M, SUGIYAMA H, MAEDA Y, et al. Marine Diatom, *Navicula* sp. strain JPCC DA0580 and marine green algae, *Chlorella* sp. strain NKG400014 as potential sources for biodiesel production [J]. *Appl Biochem Biotech*, 2009, 161(1/8): 483–490.
- [9] MATSUNAGA T, MATSUMOTO M, MAEDA Y, et al. Characterization of marine microalga, *Scenedesmus* sp. strain JPCC GA0024 toward biofuel production [J]. *Biotechnology Letter*, 2009, 31: 1367–1372.
- [10] HU Q, MILTON S, ERIC J, et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances [J]. *The Plant Journal*, 2008, 54: 621–639.
- [11] XU H, MIAO X L, WU Q Y. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters [J]. *J Biotechnol*, 2006, 126(4): 499–507.
- [12] LI X, HU H Y, YANG J. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent [J]. *New Biotechnology*, 2010, 27(1): 59–63.
- [13] PIORRECK M, BAASCH K, POHL P. Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(2): 207–216.
- [14] CHIU S, KAO C, TSAI M, et al. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(2): 833–838.
- [15] CONVERTI A, CASAZZA A A, ORTIZ E Y, et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production [J]. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2009, 48(6): 1146–1151.
- [16] OH SH, HAN JG, KIM Y, et al. Lipid production in *Porphyridium cruentum* grown under different culture conditions [J]. *J Biosci Bioeng*, 2009, 108(5): 429–434.
- [17] LIU Z, WANG G C, ZHOU B C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris* [J]. *Bioresource Technol*, 2008, 99(11): 4717–4722.
- [18] OTA M, KATO Y, WATANABE H, et al. Fatty acid production from a highly CO₂ tolerant alga, *Chlorococcum littorale*, in the presence of inorganic carbon and nitrate [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(21): 5237–5242.
- [19] FRIED A, TIEITZ A, BEN-AMOTZ A, et al. Lipid composition of the halotolerant alga, *Dunaliella bardawil* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1982, 713(2): 419–426.
- [20] TORNABENE T G, HOLZER G, LIEN S, et al. Lipid composition of the nitrogen starved green alga *Neochloris oleoabundans* [J]. *Enzyme Microb Tech*, 1983, 5(6): 435–440.
- [21] BAŽULIC D, NAJDEK M, PAVONI B, et al. PCB effects on production of carbohydrates, lipids and proteins in marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 1988, 91(2): 409–412.
- [22] 卢丽娜, 孙利芹, 田焕玲, 等. 32株海洋微藻总脂含量及其脂肪酸组成的研究 [J]. *中国油脂*, 2009, 34(11): 68–73.
- [23] CHEN Y. Immobilization of twelve benthic diatom species for long-term storage and as feed for post-larval abalone *Haliotis diversicolor* [J]. *Aquaculture*. 2007, 263(1/4): 97–106.
- [24] DAMIANI M C, POPOVICH C A, CONSTENLA D, et al. Lipid analysis in *Haematococcus pluvialis* to assess its potential use as a biodiesel feedstock [J]. *Bioresource Technol*, 2010, 101(11): 3801–3807.
- [25] 姜进举, 苗凤萍, 冯大伟, 等. 微藻生物柴油技术的研究现状及展望 [J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(2): 134–140.
- [26] HSIEH C, WU W. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(17): 3921–3926.
- [27] GILPIN L C, DAVIDSON K, ROBERTS E. The influence of changes in nitrogen: silicon ratios on diatom growth dynamics [J]. *J Sea Res*, 2004, 51(1): 21–35.
- [28] SABEEHA S MERCHANT, JANETTE KROPAT, LIU B, et al. TAG, You're it! *Chlamydomonas* as a reference organism for understanding algal triacylglycerol accumulation [J]. *Curr Opin Biotech*, 2012, 23(3): 352–363.
- [29] 刘志媛. 铁对几种不同代谢类型微藻的生长和油脂积累的影响 [D]. 青岛: 中国科学院研究生院, 2008.
- [30] BOUSSIBA S, VONSHAK A, COHEN Z, et al. Lipid and biomass production by the halotolerant microalga *Nannochloropsis salina* [J]. *Biomass*, 1987(12): 37–47.
- [31] 刘娟妮, 胡萍, 姚领, 等. 微藻培养中光生物反应器的研究进展 [J]. *食品科学*, 2006, 27(12): 772–777.
- [32] 刘倩, 何梅琳, 李凌, 等. 一种能源微藻 IOAC689S 的筛选和优化培养 [J]. *海洋科学*, 2011, 35(1): 29–34.
- [33] 孙珊. 富油微藻筛选及油脂组分与影响因素研究 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2009.
- [34] FAJARDO A R, CERDÁN L E, ROBLES MEDINA A, et al. Lipid extraction from the microalga *Phaeodactylum tricorutum* [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2007, 109: 120–126.
- [35] 缪晓玲, 吴庆余. 微藻油脂制备生物柴油的研究 [J]. *太阳能学报*, 2007, 28(2): 14–16.
- [36] UMDU E S, TUNCER M, SEKER E. Transesterification of

- Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(11): 2828–2831.
- [37] 杨治中, 严卓晟, 严锦璇. 海藻生物柴油制备新技术途径——超声化学技术与固定化半导型纳米氧化物催化酯交换反应[J]. *材料研究与应用*, 2008, 2(4): 387–389.
- [38] 徐桂转. 脂肪酶催化植物油制取生物柴油的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
- [39] 余杨. 基于生物柴油制备的海洋高脂微藻筛选[D]. 厦门: 厦门大学, 2009.
- [40] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae [J]. *Biotechnology Advances*. 2007, 25: 294–306.
- [41] YANG J, LI X, HU HY, et al. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga, *Chlorella ellipsoidea* YJ1, in domestic secondary effluents [J]. *Appl Energ*, 2011, 88: 3295–3299.
- [42] WANG B, LAN C Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent [J]. *Bioresource Technol*, 2011, 102(10): 5639–5644.
- [43] LI Y, ZHOU W, HU B, et al. Integration of Algae Cultivation as Biodiesel Production Feedstock with Municipal Wastewater Treatment: Strains Screening and Significance Evaluation of Environmental Factors [J]. *Bioresource Technol*, 2011, 102(23): 10861–10867.
- [44] BAI M D, CHENG C H, WAN H M, et al. Microalgal pigments potential as byproducts in lipid production [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2011, 42(5): 783–786.
- [45] 贺国强, 邓志平, 陶丽, 等. 高油脂产率微藻的筛选及发酵条件的优化 [J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(6): 1046–1053.
- [46] 许瑾, 张成武, 李爱芬, 等. 华南地区淡水产油微藻藻株的分离与筛选 [J]. *可再生能源*, 2011, 29(1): 66–71.
- [47] 冯国栋, 程丽华, 徐新华, 等. 微藻高油脂化基因工程研究策略 [J]. *化学进展*, 2012, 24(7): 1413–1426.
- [48] 胡洪营, 李鑫. 利用污水资源生产微藻生物柴油的关键技术及潜力分析 [J]. *生态环境学报*, 2010, 19(3): 739–744.
- [49] 嵇磊, 张利雄, 姚志龙, 等. 利用藻类生物质制备生物燃料研究进展 [J]. *石油学报(石油加工)*, 2007, 23(6): 1–5.
- [50] FUKUDA H, HAMA S, TAMALAMPUDI S, et al. Whole-cell biocatalysts for biodiesel fuel production [J]. *Trends Biotechnol*, 2008, 26(12): 668–673.

Research progress of microalgal biodiesel

HAO Zong-di, YANG Xun, SHI Jie, ZHANG Sen, LIU Ping-huai

(Ministry of Education Key Laboratory of Application Technology of Hainan Superior Resources Chemical Materials, College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China)

Abstract: Sustainability is a key principle in natural resource management. Due to negative environmental influence and limited availability, petroleum-derived fuels need to be replaced by renewable biofuels. Therefore, there are vigorous research initiatives aimed at developing alternative renewable and potentially carbon neutral solid, liquid and gaseous biofuels as alternative energy resources. Microalgal biodiesel is the most potential substitute of fossil fuel for numerous specific advantages. Microalgae possess high photosynthetic rate and CO₂ capture ability, short growth cycle and non-influence to food supply. In this paper, the progress of microalgal biodiesel techniques was reviewed, including cultivation, harvesting of microalgae and preparation of microalgal biodiesel. It was found that microalgal biodiesel could progressively substitute a significant proportion of the fossil fuels required to meet the growing energy demand. Prospect of microalgal biodiesel technique was put forward at last.

Key words: oleaginous microalgae; microalgal biodiesel; cultivation optimization; industrialization