

微藻生产生物燃料的研究进展

陈应美, 王正厅, 罗会兰, 秦燕*

兴义民族师范学院生物与化学学院, 贵州 兴义

Email: *qinyan1024@163.com

收稿日期: 2021年5月20日; 录用日期: 2021年6月24日; 发布日期: 2021年7月1日

摘要

温室气体排放导致全球变暖, 寻找“清洁”能源已成为当前的迫切要求。目前, 生物燃料因其具有环境效益而备受重视。微藻具有较高的光合效率、较大的生物量和快速的生长速度, 具有很大的优势。通过遗传改造产油微藻提高其生物量, 使微藻生物柴油具有更大的竞争力。本文总结了目前有关微藻生产生物燃料的过程, 并讨论了微藻生物燃料产业的前景和挑战。

关键词

微藻, 生物燃料, 可再生能源

Research Progress of Biofuel Production by Microalgae

Yingmei Chen, Zhengting Wang, Huilan Luo, Yan Qin*

College of Biology and Chemistry, Xingyi Normal University for Nationalities, Xingyi Guizhou

Email: *qinyan1024@163.com

Received: May 20th, 2021; accepted: Jun. 24th, 2021; published: Jul. 1st, 2021

Abstract

As the greenhouse gas emissions caused the global warming, it has been an urgent requirement to search for “clean” energy sources. At present, biofuels has been attracted much more attention for their benefits. Microalgae have great advantages in term of high photosynthesis efficiency, large biomass and rapid growth rate. Microalgae biodiesel has greater competitiveness by modifying the microalgae production genetically to improve its biomass. This paper summarizes the current process of biofuel production from microalgae, and discusses the prospects and challenges of microalgae

*通讯作者。

biofuel production.

Keywords

Microalgae, Biofuel, Renewable Energy

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

人口的快速增长和技术的进步导致能源需求不断增加,预计到2030年将增长50%或更多[1]。天然石油无法弥补目前的消耗速度,这是自然消耗速度的105倍[2]。此外,化石燃料的使用会排放温室气体,还有随之而来的全球变暖都会破坏我们生存的环境。Rittmann从三个角度描述了依赖化石燃料的危险:耗尽化石燃料储备;资源减少,导致地缘政治冲突;大气CO₂浓度增加导致的气候变化[3]。因此,寻找“清洁”能源已经成为最严峻的挑战之一。此后,科学家们正在研究几种替代能源,包括太阳能,水力发电,地热能,风能和生物燃料并实施。在这些潜在能源中,生物燃料被视为实现短期替代化石燃料目标的真正手段[4]。

生物燃料是包含来自地质学上最近的碳固定即活生物体的能量的燃料。生物燃料可以由无毒,可生物降解和可再生的淀粉,植物油,动物脂肪,废生物质或藻类生物质生产。微藻的高生产率、高增长率,远远优于陆地植物,而且对某些物种来说,储存大量脂类的能力使它们成为基于不与人类食物来源竞争的原料,这是生物燃料有希望的一个来源,它们的使用可带来环境效益,因为它们的使用可减少CO₂,碳氢化合物和颗粒物等有害物质的排放,并消除SO_x的排放,从而减少温室效应。

微藻因其产生的有价值的天然产物,它们的废水净化能力及其作为能源作物的潜力吸引了全球的广泛关注。藻类燃料是衍生自藻类的生物燃料。这是生产生物燃料的一个正确的选择,因为藻类在可再生能源应用中具有巨大的潜力,如低投入,高收益[5]。因此,这种潜力可以完全取代石油衍生的运输燃料。如今,由于对化石燃料、能源安全、温室气体排放的关注日益增加,以及其他生物富集物被认为是“燃料的食物”。微藻类生物燃料吸引了更多关注。

本文总结概括了微藻生物燃料的种类并从微藻的选择、获取、生物燃料的生产分离纯化等方面总结了目前有关微藻生产生物燃料的研究进展,以为生物燃料后续的研究提供理论指导和参考依据。

2. 微藻生产生物燃料的研究进展

2.1. 微藻的选择

藻类生理学的特征与评估是判断其是否被用来生产生物燃料的标准[4][5]。这些属性可以归纳为:①藻类的太阳能产量可能是陆地植物的6~12倍,比传统的太阳能转换器高3%~8%;②与陆地植物不同的是,它们没有难处理的生物聚合物,因此无需进行预处理就可以分解细胞产物;③它们的代谢和生态多样性允许选择适合当地水层中生长的类群,具有成本效益的收入;④通过营养物对化学成分的生物合成的控制来调控其最终产品。

2.1.1. 选择藻类的标准

目前已经确定了成千上万种适合用于生物燃料的藻类。选用藻类物种作为生物燃料,我们应当考虑

物种的特征、特性以及藻类生长所处的气候。根据水生物种计划和在藻类生产中研究人员的发现[6] [7], 藻类生物燃料生产所需的特性: 脂质(高、恒定); 增长效率(在不断变化的环境中持续稳定); 污染(最小); 获取(容易, 灵活和可提取)。

基于上述标准, 许多微藻物种已被确定为适合生物燃料生产的原料。每种微藻产生不同比例的脂质, 碳水化合物和蛋白质(见表 1)。由于微藻类产生的大部分天然油都是三酰基甘油, 这是生产生物柴油的正确油种, 因此微藻类在藻类甚至是生物燃料领域占有重要的地位。为了获得更好的经济价值, 需要提高微藻中的脂质含量。许多微藻具有响应其培养基化学组成的简单操作即可操纵其代谢的能力, 从而具有很高的脂质生产率。一些藻类在有利的生长条件下, 可以在不到 24 小时的时间内将其生物量增加一倍[4]。因此, 在选择微藻种进行种植时, 应考虑具有生长快, 含油量高和易于收获等特点的种。

Table 1. The chemical content of microalgae which can produce biofuels (% dry matter) [39] [41] [41]

表 1. 产生生物燃料微藻的化学组成(干物质的百分比) [39] [41] [41]

序号	菌株	脂质	蛋白质	碳水化合物
绿藻				
1	<i>Chlorella protothecoide</i>	55	10~52	10~15
2	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2	57	26
3	<i>Ettila oleobundans</i>	35~54		
4	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16~40	8~18	21~52
5	<i>Scenedesmus obliquus</i>	35~55	50~56	10~17
6	<i>Spirogyra sp.</i>	11~21	6~20	33~46
蓝藻				
7	<i>Anabaena cylindrical</i>	4~7	43~56	25~30
8	<i>Spirulina platensis</i>	4~9	46~63	8~14
9	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20~30		
10	<i>Chaetoceros muellerii</i>	33	44~65	11~19
红藻				
11	<i>Porphyridium cruentum</i>	9~14	28~39	40~57
甲藻				
12	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20		
裸藻				
13	<i>Euglena graciliss</i>	4~20	39~61	14~18
定鞭藻				
14	<i>Isochrysis galbana Parkc</i>	21~38	30~45	7~25
15	<i>Prymnesium parvum</i>	22~38	28~45	25~33

2.1.2. 选择微藻的实例

下面讨论了两个最重要的物种, 一个是铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*), 另一个是斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)。

1) 铜绿微囊藻

铜绿微囊藻是一种淡水蓝绿色藻类(蓝藻),它存在于地表水体中,并可能形成有害的藻华。细胞被组织成一群群的,即使用肉眼也能看到,通常是球形,但随着生长变得不规则。原生质体为浅蓝绿色,由于充气小泡的光学作用而呈现深褐色或棕色,用光学显微镜观察时,原生质体可以作为识别特征。

铜绿微囊藻的脂质和脂肪酸的组成简单,可以很容易地被酯交换为生物柴油。然而,关于该物种生物柴油生产的研究投入和产出是有限的。由于世界许多地方都有铜绿微囊藻的片段,因此有机会收集到该藻并将其转化为可用的产品——生物燃料。Ros 等人的报告中阐述到[8],从污水处理厂分离并在标准液体培养基中培养的铜绿微囊藻的生物量生产率为 $46.92\% \pm 3.84$ mg/L/天和脂质含量为 $28.10\% \pm 1.47\%$ 。从该实验获得的脂质由等比例的饱和(棕榈酸和月桂酸)和不饱和(油酸和亚油酸)的脂肪酸组成。根据这些发现,他们得出结论,铜绿微囊藻的蓝藻细菌脂质(NPCD-1 菌株)具有生产生物燃料这一吸引人的特性。除此之外,还有人在铜绿微囊藻中确定了丁基化羟基甲苯的合成,丁基化羟基甲苯通常是用于食品添加剂的,防止脂质氧化和食品腐烂的合成抗氧化剂之一[9]。他们还报道了改变培养条件(即改变光强度)提高了丁基化羟基甲苯产量,证实了该物种构成了生产大规模应用的天然丁基化羟基甲苯的潜在来源。显然,这将有助于以成本效益的方式生产用于生物燃料生产的藻类生物质。

2) 斜生栅藻

斜生栅藻是一种常见的世界性绿藻。这种菌体通常以两个的倍数出现在菌落中,最常见的是四个或八个细胞。通过改变细胞生长的培养基,可以明显改变菌落的形态。在低磷或低盐浓度的培养基中,斜生栅藻会被诱导成单细胞生长,形成约 $10\ \mu\text{m}$ 长的椭圆形细胞。它可以很容易地在 30°C 的光下自养,或在黑暗中异养。该物种是生物学家的早期研究对象,因为它易于培养。

斜生栅藻的脂质含量估计为干重的 $35\% \sim 55\%$ (见表 1)。特别是,棕榈酸和油酸作为主要成分存在于斜生栅藻中,使其成为生产生物柴油的合适原料[10]。像许多微藻物种一样,该物种具有响应其培养基化学组成的简单操作即可控制其代谢的能力,从而具有很高的脂质生产率。曾由人报道,在某些培养条件下,优化硝酸盐、磷酸盐和硫代硫酸盐,可以改善斜生栅藻中脂质的积累。因此,在缺氮培养下,脂质含量增加到其干重的 43% ,而对照中只有 12.7% [10]。可能是在氮限制下,现有氮被用于生产酶和重要的细胞结构。此外,尽管在营养限制下所有细胞成分的产生速率较低,但产油量仍然较高,从而导致细胞中油脂的积累[6]。因此,随后固定的任何 CO_2 都将转化为碳水化合物或脂质,而不是蛋白质。例如,Sheehan 等人报道,在磷缺乏和硫代硫酸盐的补充下,脂质含量增加至干重的 30% [6]。将藻类细胞暴露于微量的 2-甲氧基乙酰乙酸乙酯中,是一种提高绿藻三酰基甘油产量的可行方法[11]。到目前为止,在该菌种的遗传和代谢工程中已有许多成果,而且通过控制培养条件可以提高生物量的生产。2013 年,有人发现转基因菌株(R-16)可以在没有光照的情况下异养生长,累积的总质含量和生物量分别高达 43.4% 和 $3.46\ \text{g/L}$ 。最重要的是,在氮缺乏的条件下,该突变菌株的脂质积累增加至干重的 52.6% [12]。除此之外,有人使用紫外线诱变法产生了斜生栅藻的第一个无淀粉突变体,该突变体在光合自养,缺氮条件下显示了更高的三酰基甘油含量(占人体干重的 49.4%) [13]。这为朝着微藻类三酰基甘油的生产铺平了道路。2014 年发现了最有前途的斜生栅藻的突变体,其中在受控的光生物反应器中,三酰基甘油的含量增加到干重的 $57\% \pm 0.2\%$ [14]。这些研究大大的增加了微藻成为可再生能源的可能性。

2.2. 微藻生物量的生产

微藻生物质的生产通常比种植农作物的成本要高。如果微藻类生物质生产依赖于自由可用的阳光,尽管光照水平每天和季节性都有变化,但可以将成本降到最低。此外,与其他用途相结合,以高价值产品为目标并使用残留副产品可以提高生产经济性。从这个角度来看,阳光充足的热带国家可能是经济高效地生产微藻生物质的理想场所。实际上,有人报道了微拟球藻(*Nannochloropsis* sp.)在阳光充足的热带

地区, 每公顷每年有超过 30 吨脂质的生产潜力, 而在地中海气候下, 每公顷只能生产 20 吨脂质[15]。

微藻生物燃料是有前途且环保的替代可再生能源, 因为它们没有和油料作物有关的主要弊端。但是由于生物质浓度低, 商业化生产微藻生物燃料仍然不可行。通过设计先进的光生物反应器, 开发用于高生物量收获, 干燥和石油提取的低成本技术, 可以实现其生产的可行性。商业规模的生产也可以通过改善基因工程策略以适应环境条件和通过工程化代谢途径实现高脂质生产来实现。

因此, 对于商业规模的微藻生物燃料生产, 我们需要发挥自己的创造性, 并利用现有资源, 例如农业径流, 废水, 燃煤发电厂的排放物, 甚至是藻类生物柴油生产设施的剩余材料。2007 年报道了在生物反应器中扩大异养卡氏菌发酵在工业水平上生产生物燃料的可行性, 并建议在生物反应器中高细胞密度培养策略可能有助于进一步降低成本[16]。由此发现, 通过代谢工程在原球藻的异养生长过程中, 脂质含量急剧增加。无论从土地利用还是能源转换来看, 微藻类生物燃料的生产最终将成为最高效的生物燃料生产[4]。

2.2.1. 基因工程改造微藻

尽管由微藻类制成的生物燃料具有很大的潜力, 但使用现有技术生产生物质并不经济, 使用当前技术大量生产的藻类生物燃料的成本还是很高, 因此, 生产低成本的微藻生物柴油需要通过遗传和代谢工程来改善藻类生物学, 或者需要改变某些物种的培养条件, 或两者的结合[4]。伴随使用量身定制的而不是野生型藻类菌株可以帮助将生产成本降低到一定水平, 以使藻类柴油在经济可行性的范围之内。为了解决这些缺点, 数十年来已经进行了许多研究工作。最近几年微藻基因工程有了重大进展。藻类中的转基因是一项快速发展的技术, 因为选择标记基因, 启动子, 报告基因, 转化技术以及其他遗传工具和方法已经可用于各种物种。藻类转基因技术的商业应用已开始实现, 并且藻类生物技术公司正在建立中。

基因和代谢工程以及转基因技术提供了增加微藻类脂质生产率的潜力, 并有助于提高微藻类柴油生产的经济性。在这方面, 已经有了很大的改进, 包括增加脂质和碳水化合物产量, 提高 H_2 产量以及将中心代谢中间体转化为生物燃料。另一方面, 在 2009 年提出了光烷醇方法[17]: 通过将光合作用和达尔文循环的光反应与发酵途径相结合, 实现光驱动将 CO_2 和水转化为生物燃料。有报道通过丙酮酸脱羧化酶和酒精脱氢酶 II 基因的表达, 在两个独立的蓝细菌菌株中提高酒精产量[18]。这是通过将运动发酵单胞菌的丙酮酸脱羧酶和醇脱氢酶 II 的序列克隆到载体(称为 pCB4)中, 然后将其转化为蓝藻(PCC 7942), 被转化的蓝藻合成了乙醇, 乙醇从细胞扩散到培养基中。

提高藻类的光合生产力和光利用效率有重要的进展。在高光子通量密度下, 叶绿素天线吸收光子的速率远远超过光子可用于光合作用的速率。因此, 在完全阳光下生长的微藻群的叶绿素生产率低, 导致过量的光子(高达 80%)以荧光或热的形式消散。因此, 这将光转换效率和细胞生产率降低到相当低的水平。有人建议, 通过在其光系统的光收集天线中开发具有有限数量叶绿素分子的微藻菌株, 即具有截短的叶绿素天线尺寸的菌株, 可以缓解这种缺陷[19]。一般而言, 代谢和分子水平工程可能对促进微藻的几个理想特性有用[5]: 增加光合作用效率以增加生物量产量; 提高生物量的增长率; 增加生物质的含油量; 提高温度承受能力, 以减少冷却费用; 消除光饱和现象, 以使生长随着光水平的增加而继续增加; 减少在温带和热带地区发生的光强度下的光抑制作用; 减少对光氧化的敏感性会损害细胞。

2.2.2. 培养系统

微藻的培养似乎很容易, 因为只需要提供简单的营养即可。目前采用了两种主要的微藻培养系统: 开放池塘和光生物反应器[20]。光生物反应器可以制成不同的形状: 平板, 管状或金字塔光生物反应器。金字塔形光生物反应器具有优于其他设计的优势, 因为它使用了完全控制的自动化系统, 该系统可提高生产率, 并且能够在任何气候条件下生长任何微藻类[21]。

2.3. 微藻生物燃料的类型

微藻可以提供几种不同类型的可再生生物燃料,例如从微藻油中提取的生物柴油,光生物产生的生物氢,厌氧消化藻类生物质产生的生物甲烷,通过发酵和剩余藻类生物质的厌氧消化产生的生物乙醇。微藻类生物质产生的能量涉及生化,热化学,化学和直接燃烧过程。整个过程涉及几个步骤:第一步通过使用光,二氧化碳,水和无机养分来生产微藻生物质。接下来将细胞与水和残留营养物质分离。第三步,从回收的生物质中提取藻油。第四步,大部分生物质经过厌氧消化,产生沼气发电。沼气产生的大部分电能可在生物质生产过程中被消耗掉。在此过程中,发电阶段产生的二氧化碳排放被输入到生物质生产中。因此,整个过程仍保持碳中和,因为生产和加工藻类所需的所有动力来自生物柴油本身以及提取油后残留残渣厌氧呼吸产生的甲烷。此外,虽然微藻的脂质含量以干重计在 20%至 40%之间变化,但据报道某些微藻菌株的脂质含量高达 85% [4]。有人推测,与产油作物相比,微藻具有更大的潜力完全替代石油运输燃料,而不会影响粮食和其他农作物产品的供应,因为它们的生产领域位于非耕地区域。

2.3.1. 生物柴油

生产微藻生物燃料的最有效方法之一是通过藻油的酯交换反应生产生物柴油[6]。生物柴油的酯交换反应非常简单[20]:将初始产物放置在分离器中以除去甘油副产物,然后,通过蒸发从甲酯中回收过量的甲醇,然后用水冲洗最终的生物柴油,中和 pH,然后干燥。与石油燃料不同,生物柴油制造的相对简单性使其生产容易推广。

生物柴油生产过程中残留的生物质,即脂质提取后的微藻生物质残留物(LMBRs),富含碳水化合物和蛋白质。因此,LMBRs是深色发酵产生氢气的可能底物。有报道称很难将LMBRs直接转化为氢,这可能是因为复杂的油提取过程(脱水,干燥,破坏细胞壁和用溶剂提取)导致它们难以生物降解[22]。他们还认为,热碱预处理改善了LMBRs的增溶作用,从而增加了氢气的产生。将LMBRs转化为氢的这种形式在可再生能源生产和微藻类生物柴油行业的可持续发展中起着双重作用。同时,生物柴油生产过程中微藻类生物质残渣的厌氧消化生产甲烷,可以满足将初级生物质转化为燃料的需求。否则,残留的生物质将被视为废物,其处置成本增加了微藻生产生物柴油的经济性[4]。因此,从残留的生物质中提取能量可以作为一种最大化微藻类能源生产,减少总体过程成本和废物的方法。生物柴油可用作压燃式发动机的直接替代品或化石柴油的增量剂,并具有减少二氧化碳,碳氢化合物和一氧化碳排放的优点。

2.3.2. 生物氢

氢气被认为是未来潜在的能源载体,因为它是可再生的,在燃烧中不会释放出 CO_2 ,而是释放大量的能量,并易于通过燃料电池转化为电能。目前工业上氢气是通过化石燃料为基础的工艺生产的,该工艺会排放大量的二氧化碳和相对少量的其他空气污染物,例如二氧化硫和氮氧化物。众所周知,正常情况下光合作用涉及生物电解,将水分解为氢和氧,氢随后与二氧化碳结合形成碳水化合物。但是,在某些藻类中,在某些特殊条件下,光合作用过程中会释放氢而不是碳水化合物。几种单细胞绿藻具有将水和阳光作为能源来生产氢的能力。在 70 多年前,有人发现绿藻(例如斜生栅藻和莱茵衣藻)可能会吸收或光照产生分子氢(H_2),具体取决于实验条件。他们观察到藻类有时会从氧气的产生转换为氢气的产生[22],但是,他们没有解释这种变化的机制。在 1990 年代后期,有研究者发现耗尽藻类中可用的硫会中断其内部氧气流,从而使氢化酶产生氢[23]。2009 年有人描述了直接光解可持续生产的可能性[24]。当适应厌氧条件后照亮莱茵衣藻细胞时,来自 PSII 处水分解的原始电子被光合作用电子传输链驱动到铁氧还蛋白和可逆的铁氢酶,从而能够从水和太阳能中产生 H_2 ,由于氢化酶对 O_2 敏感,并且在 PSII 处产生 O_2 ,因此在照射几分钟后,氢的光产生停止。为缓解此问题并允许长期供氢,在生产中,提出了一种基于硫剥夺的实验方案[23]。厌氧菌能够降低氧的 PSII 活性,并通过保持细胞对外源乙酸盐或内源性碳水化合物

物的呼吸速率来去除产生的氧气。一旦光合作用的氧气产生速率低于通过呼吸吸收的速率，细胞培养物就会逐渐变得厌氧，从而诱导可逆性氢化酶的活性。该过程取决于两个阶段：第一阶段涉及驱动植物生物物质和碳水化合物存储的氧气光合作用，第二阶段涉及厌氧阶段，在该阶段厌氧菌被诱导并产生氢。在2007年，有人证明了在封闭的光生物反应器中通过太阳辐射在低成本系统中产生氢的可能性[25]。这些作者还指出，在有太阳辐射且没有温度控制的外部条件下，该技术具有大规模生产的潜力。

2.3.3. 生物乙醇

由可再生生物质(如糖和淀粉材料)生产的生物乙醇被认为是替代能源之一，目前正在广泛使用。尽管大多数微藻的碳水化合物含量相对较低，但它们的生物量组成可以通过施加各种胁迫培养条件(营养缺乏或高光照强度)来控制，并且某些微藻的碳水化合物积累量占它们生物量最高可达到65%。此后，许多微藻物种因其合适的自生组成(即高淀粉)或通过基因修饰而被认可用于生物乙醇。小球藻由于淀粉含量高(约占干重的37%)，是乙醇的良好来源，据报道，乙醇转化效率高达65% [26]。在2013年有人证明：在氮缺乏的条件下栽培比正常的培养时，碳水化合物的积累会增加[27]。因此这些作者认为，蓝藻因其简单的生长要求和高效率，是将太阳能和CO₂生物转化为有价值的资源(乙醇)的理想藻种。

2.3.4. 生物甲烷

很早以前就开始寻找合适的藻类用于生产生物甲烷。根据Golueke和Oswald假设的系统包括将太阳能转换为藻类的细胞能和将有机物转化为藻类的细胞能[28]。通过细菌对藻类进行厌氧发酵，藻类的细胞能量又将转化为甲烷的化学能。作为燃料，生物甲烷既可以与汽油混合，也可以用作其他环保燃料的原料。与其他碳氢化合物燃料相比，燃烧的甲烷每释放一单位热量产生的二氧化碳更少。据报道，甲烷的燃烧热大约为891 kJ/mol，低于任何其他碳氢化合物。但是，分子质量(16.0 g/mol)与燃烧热(891 kJ/mol)的比率表明，甲烷是最简单的烃，每单位质量的热量比其他复杂的烃多。甲烷发酵方法优于传统的需氧工艺方法，并且还减少污染。

2.4. 微藻的收获方法

一旦产生了所需的生物质，接下来的问题便是收获藻类生物质，在露天池塘中进行藻类生产的情况下，藻类生物质估计占总成本的30%以上[29]。微藻收获分为两个阶段，涉及批量收获(从批量悬浮液中分离出生物质)和增稠(浓缩浆液)。由于微藻尺寸小且密度低，此步骤是当前生物燃料技术的严重瓶颈，最终导致成本上升。因此，迫切需求一种方法以最小的成本收获藻类生物质。当前，微藻生物质的收获和回收技术有以下几种：絮凝，离心，过滤和浮选。

2.4.1. 絮凝

絮凝涉及形成聚集体的过程，该聚集体通常是通过自然，化学或物理手段增加细胞密度。无机化学絮凝剂通常加入壳聚糖或淀粉来诱导絮凝。微藻细胞的表面电荷通常带负电荷，是由于微藻细胞壁上的官能团离子化或从培养基中吸附离子产生，通过施加带正电的电极或阳离子聚合物有助于絮凝微藻生物量。用阳离子聚合物进行藻类絮凝在低pH值下最有效，但受藻类的生长期影响，在对数后期和生长期下降阶段具有最佳絮凝效果。由于絮凝剂的成本，这种收获方法成本很高。

微藻生物量的收获也可以通过其他絮凝法。有报道称提高培养基的pH值会使三种微藻物种(*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., *Chlorococcum* sp.)的絮凝效率提高90% [30]。机械氢氧化镁沉淀，通过加速絮凝和电荷中和可使微藻细胞凝结。为进一步降低收获微藻生物质的成本我们可以选择应用生物絮凝方法。2013年，有人提出了一种通过降低生长培养基的pH值(而不是增加)的新絮凝方法，该方法对新生球藻，椭圆形球藻和栅藻的絮凝效率高达90% [31]。他们认为在较低的pH值下，有机物的羧酸根离子粘附在

微藻细胞上,接受质子并中和负电荷,从而破坏了细胞的分散稳定性随后絮凝了细胞。此外,还有人报道,当我们将一些藻类共培养时,某种藻会提高另一种藻的沉降速率,如絮凝微藻(*Scenedesmus obliquus*)提高了伴生微藻(*Chlorella vulgaris*)的沉降速率,并增加了生物质的回收率[32]。在生物絮凝方法中,不添加化学絮凝剂,并且相似的培养条件可用于絮凝微藻。该方法与化学絮凝一样简单有效,但是相比之下,它是可持续且具有成本低的优势。

2.4.2. 离心分离

离心是基于颗粒大小和密度的分离过程。其分离效率取决于所需藻类的大小。根据用途,离心机可以分为:管式离心机,多室离心机,无孔篮式离心机,倾析器,固持盘式离心机,喷嘴式离心机和固体喷射式盘式离心机,已在各种类型和尺寸的离心机中采用离心技术。尽管离心方法非常有效且快速,但由于高昂的投资成本和运营成本以及耗能巨大等原因,离心分离在大规模藻类培养系统中是行不通的。

2.4.3. 过滤

微藻生物质也可以通过过滤收集。过滤的形式根据所使用的过滤技术而变化,例如压力过滤,真空过滤,切向流过滤等。根据过滤器的孔径,可以将过滤系统指定为大滤(孔径 $> 10 \mu\text{m}$),微滤(孔径 $0.1\sim 10 \mu\text{m}$),超滤(孔径 $0.02\sim 2 \mu\text{m}$)和反渗透(孔径 $< 0.001 \mu\text{m}$)。这种收集微藻生物质的方法非常耗时,并且还需要很高的运行成本。

2.4.4. 浮选

细胞表面上产生的微气泡可以使这些细胞漂浮在水表面被捕获。通过浮选法收集生物质的效率取决于所产生气泡的大小,这些气泡可能是纳米气泡,微气泡和细小气泡。尽管浮选已被提及为一种潜在的收获方法,不需要添加任何化学物质,但关于其技术或经济可行性的证据非常有限。

2.5. 微藻生物燃料的提取——以微藻油为例

微藻油的提取可通过化学、物理方法或两者的结合。据估计,尽管从微藻中提取油的成本可能会有所不同,但可能比提取棕榈油的成本高出三倍左右[4]。

2.5.1. 物理提取

通过机械破碎将微藻油与非油生物质分离。将藻类材料干燥,然后用油压机加压,分离出油含量。在许多商业上生产植物油的情况下,机械压榨和化学溶剂的组合用于提取油,微藻油的提取也采用这种方法。对于更大的商业规模的提取,可以使用专门设计的破碎容器。

2.5.2. 化学提取

通常在藻类细胞发生机械破坏之后,可以用溶剂对油进行化学提取。油提取过程中使用的常见溶剂是己烷,己烷已广泛用于食品工业,并且相对便宜。苯和乙醚也可用于分离油。在实验室规模上,通常不会发生机械破坏,这可以通过 Bligh 和 Dyer 的方法完成[32]。该过程使用极性和非极性溶剂从细胞中提取相应的脂质级分。商业规模使用的溶剂萃取的缺点在于,它需要额外的能量输入,并且有可能污染藻类固体,从而限制了其最终用途的选择。另外,由于油(植物油和微藻油)的高粘度,它们不能直接应用于发动机,因此还存在酯交换反应,此反应旨在降低粘度并增加流动性。酯交换反应以三种不同的方式进行:碱催化的酯交换反应,酸催化的酯交换反应和非催化的酯交换反应。

3. 微藻的其他应用

自 2000 年以来,中国首次在饥荒中使用微藻(例如 *Nostoc*)来生存[33],并且在五十年代首次将微藻

应用到沼气生产中[34], 不同类型燃料的来源应用于不同的领域。各种应用的结合, 例如将用于生物燃料的微藻类生物质生产与废水处理相结合既实现了多种用途, 又经济节约。

3.1. 微藻应用于废水处理

在废水处理设施中, 微藻可用于减少清洁和净化水所需的有毒化学物质的量。有报道称, 在废水处理池中养殖的藻类既产生了高生物量, 又有效地从系统中去除了大多数重金属。Monteiro 等人比较了从重金属污染的环境中分离的野生链球菌和相同微藻品种的市售菌株(ACOI 598)去除金属镉的效率[35]获得了相似的结果, 并得出结论。Ruiz Marin 等人指出, 用微生物和斜生栅藻固定污泥, 降低了处理成本的三分之一左右, 同时藻类的增长率也随之增加[36]。此外, Hondafa 等人报道, 在橄榄油厂废水中培养斜生栅藻, 可提高其最大生长速率[37]。最近也有文章显示, 在栅藻中, TP 和 TN 的去除效率超过 90%, 同时脂质含量为干重的 32%, 甘油三酯含量增加至 148 mg/L [38]。因此, 废水施肥的藻塘具有多种用途: 生物质作为生物燃料、营养吸收吸附重金属, 从而对池塘进行清洁作用。

3.2. 微藻固定 CO₂ 的应用

从工业和其他各种人类活动中释放出大量潜在可回收的 CO₂, 因此需要开发用于利用 CO₂ 的技术。作为从火力发电厂或炼钢厂排放的烟道气中的 CO₂ 浓度比大气中高约 500 倍, 目前正在评估筛选耐受高浓度的 CO₂ 的微藻, 这是生物去除烟气中的二氧化碳必不可少的步骤。微藻类是利用过量 CO₂ 的潜在候选者, 因为在培养时, 这些生物体能够固定 CO₂, 并暴露于阳光下产生能量和化学化合物。微藻能够有效地固定来自不同来源的二氧化碳, 包括大气, 工业废气和可溶性碳酸盐。此外, 通过微藻类固定 CO₂, 再加上生物燃料生产和废水处理, 可能会为当前的 CO₂ 缓解策略提供非常有希望的替代方法。因此, 藻类培养物的光合自养 CO₂ 固定有潜力减少向大气中释放 CO₂, 从而有助于缓解全球变暖的趋势。

4. 总结和展望

鉴于微藻将太阳能转化为化学能的内在效率, 微藻生物燃料有望替代化石燃料, 而且其潜在产量比陆地作物高得多。热带、温带地区充足的阳光和有利的高温条件, 可能有利于在封闭的光生物反应器的低成本系统中生产氢气。对于中国来说, 这将是一个巨大的机会。在过去的几年中, 已经对藻类菌株的遗传和代谢工程优化生产成本的许多成就进行了研究。利用转基因菌株, 伴随有效的收获和油提取机制, 结合生产高价值的产品和利用残留的副产品来提高生产的经济性, 微藻类的生产可以扩大到工业水平。另外, 在藻类生物质生产和生物质加工技术的过程中, 许多技术方面已得到升级, 以生产生物燃料。然而, 生产成本仍在挑战藻类转化为生物燃料产业的努力。然而, 从藻类中提取和纯化油仍然是生产微藻生物产品和生物燃料的重大挑战, 因为微生物油的提取相对耗能高且成本高。在这方面, 开发经济, 有力的石油提取和提纯工艺是微藻生物燃料产业未来努力的方向。

基金项目

贵州省 2019 年大学生创新创业项目(项目编号: 20195201883), 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 KY 字[2019] 221 号); 兴义民族师范学院博士科研基金项目(项目编号: 18XYBS02); 黔西南州 2019 年州级科技计划自筹资金项目(2019-2-50)。

参考文献

- [1] Maness, P.C., Yu, J., Eckert, C. and Ghirardi, M.L. (2009) Photobiological Hydrogen Production: Efforts to Scale up the Capacity of Green Algae and Cyanobacteria to Use Sunlight to Convert Water into Hydrogen Gas for Energy

- Use. *Microbe*, **4**, 275-280. <https://doi.org/10.1128/microbe.4.275.1>
- [2] Netravali, A.N. and Chabba, S. (2003) Composites Get Greener. *Materials Today*, **6**, 22-29. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(03\)00427-9](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(03)00427-9)
- [3] Rittmann, B.E. (2008) Opportunities for Renewable Bioenergy Using Microorganisms. *Biotechnology and Bioengineering*, **100**, 203-212. <https://doi.org/10.1002/bit.21875>
- [4] Chisti, Y. (2007) Biodiesel from Microalgae. *Biotechnology Advances*, **25**, 294-306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- [5] Dismukes, C.G., Carrieri, D., Bennette, N., Ananyev, G.M. and Posewitz, M.C. (2008) Aquatic Phototrophs: Efficient Alternatives to Land-Based Crops for Biofuels. *Current Opinion in Biotechnology*, **19**, 235-240. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.007>
- [6] Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J. and Roessler, P. (1998) Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae; Close-Out Report. National Renewable Energy Lab, Golden, 2. <https://doi.org/10.2172/15003040>
- [7] Edwards, M. (2010) Algal Species Selection. <https://algaeindustrymagazine.com/algae-101-part-seven-algal-species-selection/>
- [8] Da Rós, P.C.M., Silva, C.S.P., Silva-Stenico, M.E. and Fiore, M.F. and de Castro, H.F. (2012) *Microcystis aeruginosa* Lipids as Feedstock for Biodiesel Synthesis by Enzymatic Route. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **84**, 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.04.007>
- [9] Babu, B. and Wu, J.T. (2008) Production of Natural Butylated Hydroxytoluene as an Antioxidant by Freshwater Phytoplankton. *Journal of Phycology*, **44**, 1447-1454. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00596.x>
- [10] Mandal, S. and Mallick, N. (2009) Microalga *Scenedesmus obliquus* as a Potential Source for Biodiesel Production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **84**, 281-291. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1935-6>
- [11] Li, X., Hu, H.-Y., Yang, J. and Wu, Y.-H. (2010) Enhancement Effect of Ethyl-2-Methyl Acetoacetate on TAGs Production by a Freshwater Microalga, *Scenedesmus sp.* LX1. *Bioresource Technology*, **101**, 9819-9821. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.103>
- [12] Ren, H.Y., Liu, B.F., Ma, C., Zhao, L. and Ren, N.-Q. (2013) A New Lipid-Rich Microalga *Scenedesmus sp.* Strain R-16 Isolated Using Nile Red Staining: Effects of Carbon and Nitrogen Sources and Initial pH on the Biomass and Lipid Production. *Biotechnology for Biofuels*, **6**, Article No. 143. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-143>
- [13] Jaeger, L., Verbeek, R.E.M., Draaisma, R.B., Martens, D.E., Springer, J., Eggink, G., *et al.* (2014) Superior Triacylglycerol (TAG) Accumulation in Starchless Mutants of *Scenedesmus obliquus*: (I) Mutant Generation and Characterization. *Biotechnology for Biofuels*, **7**, Article No. 69. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-69>
- [14] Breuer, G., de Jaeger, L., Artus, V.P.G., Martens, D.E., Springer, J., Draaisma, R.B., *et al.* (2014) Superior Triacylglycerol (TAG) Accumulation in Starchless Mutants of *Scenedesmus obliquus*: (II) Evaluation of TAG Yield and Productivity in Controlled Photobioreactors. *Biotechnology for Biofuels*, **7**, Article No. 70. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-70>
- [15] Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G. and Tredici, M.R. (2009) Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, **102**, 100-112. <https://doi.org/10.1002/bit.22033>
- [16] Li, X., Han, X. and Wu, Q. (2007) Large-Scale Biodiesel Production from Microalga *Chlorella protothecoides* through Heterotrophic Cultivation in Bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, **98**, 764-771. <https://doi.org/10.1002/bit.21489>
- [17] Hellingwerf, K.J. and de Mattos, M.J.T. (2009) Alternative Routes to Biofuels: Light-Driven Biofuel Formation from CO₂ and Water Based on the 'Photanol' Approach. *Journal of Biotechnology*, **142**, 87-90. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.02.002>
- [18] Deng, M.D. and Coleman, J.R. (1999) Ethanol Synthesis by Genetic Engineering in Cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**, 523-528. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.2.523-528.1999>
- [19] Polle, J.E.W., Kanakagiri, S., Jin, E.S., Masuda, T. and Melis, A. (2002) Truncated Chlorophyll Antenna Size of the Photosystems—A Practical Method to Improve Microalgal Productivity and Hydrogen Production in Mass Culture. *International Journal of Hydrogen Energy*, **27**, 11-12. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00116-7](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00116-7)
- [20] Cazzola, P. (2010) Algae for Biofuels Production Process Description, Life Cycle Assessment and Some Information on Cost. Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD) and International Energy Agency (IEA), Paris.
- [21] Saranya, A., Prabavathi, P. and Sudha, M. (2015) Perspectives and Advances of Microalgae as Feedstock for Biodiesel Production. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **4**, 766-775. <https://www.ijcmas.com/vol-4-9/A.%20Saranya,%20et%20al.pdf>

- [22] Yang, Z., Guo, R., Xu, X., Fan, X. and Li, X. (2011) Thermo-Alkaline Pretreatment of Lipid-Extracted Microalgal Biomass Residues Enhances Hydrogen Production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **86**, 454-460. <https://doi.org/10.1002/jctb.2537>
- [23] Anastasios, M. (2002) Green Alga Hydrogen Production: Progress, Challenges and Prospects. *International Journal of Hydrogen Energy*, **27**, 1217-1228. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00110-6](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00110-6)
- [24] Chochois, V., Dauvillee, D. and Beyly, A. (2009) Hydrogen Production in *Chlamydomonas*: Photosystem II-Dependent and Independent Pathways Differ in Their Requirement for Starch Metabolism. *Plant Physiology*, **151**, 631-640. <https://doi.org/10.1104/pp.109.144576>
- [25] Panti, L., Chávez, P., Robledo, D. and Patiño, R. (2007) A Solar Photobioreactor for the Production of Biohydrogen from Microalgae. *SPIE Optics + Photonics for Sustainable Energy*, San Diego, Article ID: 66500Z. <https://doi.org/10.1117/12.732468>
- [26] Hirano, A., Ueda, R., Hirayama, S. and Ogushi, Y. (1997) CO₂ Fixation and Ethanol Production with Microalgal Photosynthesis and Intracellular Anaerobic Fermentation. *Energy*, **22**, 137-142. [https://doi.org/10.1016/S0360-5442\(96\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0360-5442(96)00123-5)
- [27] Ho, S.-H., Huang, S.-W. and Chen, C.-Y. (2013) Bioethanol Production Using Carbohydrate-Rich Microalgae Biomass as Feedstock. *Bioresource Technology*, **135**, 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.015>
- [28] Golueke, C.G. and Oswald, W.J. (1959) Biological Conversion of Light Energy to the Chemical Energy of Methane. *Journal of Applied Microbiology*, **7**, 219-227. <https://doi.org/10.1128/am.7.4.219-227.1959>
- [29] Salim, S., Bosma, R., Verrmue, M.H. and Wijffels, R.H. (2011) Harvesting of Microalgae by Bioflocculation. *Journal of Applied Phycology*, **23**, 849-855. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9591-x>
- [30] Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y., et al. (2012) Evaluation of Flocculation Induced by pH Increase for Harvesting Microalgae and Reuse of Flocculated Medium. *Bioresource Technology*, **110**, 496-502. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.101>
- [31] Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T., et al. (2013) Freshwater Microalgae Harvested via Flocculation Induced by pH Decrease. *Biotechnology for Biofuels*, **6**, Article No. 98. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-98>
- [32] Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959) A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**, 911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- [33] Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. (2006) Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **101**, 87-96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>
- [34] Benemanm, J.R. (2008) Overview: Algae Oil to Biofuel (Annotated Presentation). *Workshop: Algal Oil Jet Fuel Production*, Arlington, 19 February 2008, 1-63.
- [35] Monteiro, C.M., Castro, P.M.L. and Xavier Malcata, F. (2009) Use of the Microalga *Scenedesmus obliquus* to Remove Cadmium Cations from Aqueous Solutions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **25**, 1573-1578. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0046-y>
- [36] Ruiz-Marin, A., Canedo-Lopez, Y., Campos-Garcia, S., Sabido-Perez, M.Y. and Zavala-Loria, J. (2013) Biodegradation of Wastewater Pollutants by Activated Sludge Coimmobilized with *Scenedesmus obliquus*. *Agrociencia*, **47**, 429-441.
- [37] Hodaifa, G., Martnez, M.E. and Sanchez, S. (2009) Daily Doses of Light in Relation to the Growth of *Scenedesmus obliquus* in Diluted Three-Phase Live Mill Wastewater. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **84**, 1550-1558. <https://doi.org/10.1002/jctb.2219>
- [38] Zhang, T.Y., Wu, Y.H. and Hu, H.Y. (2014) Domestic Wastewater Treatment and Biofuel Production by Using Microalga *Scenedesmus sp.* ZTYI. *Water Science and Technology*, **69**, 2492-2496. <https://doi.org/10.2166/wst.2014.160>
- [39] Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S. (2009) Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**, 217-232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- [40] Luisa, G. and Cristina, O.A. (2009) Microalgae as a Raw Material for Biofuels Production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **36**, 269-274.
- [41] Sivakumar, G., Vail, D.R., Xu, J., Burner, D.M., Lay Jr., J.O., Ge, X. and Weathers, P.J. (2009) Bioethanol and Biodiesel: Alternative Liquid Fuels for Future Generations. *Engineering in Life Sciences*, **10**, 8-18. <https://doi.org/10.1002/elsc.200900061>