

## 海洋微藻生产生物柴油的应用前景

## An application prospect of biodiesel from marine microalgae

韩笑天<sup>1</sup>, 郑立<sup>2</sup>, 孙珊<sup>1,3</sup>, 邹景忠<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛, 266071; 2. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东青岛 266061; 3. 青岛科技大学, 山东青岛 266042)

中图分类号: TK6

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)08-0076-06

石油作为一种天然矿物资源的出现,极大地推动了现代文明和社会发展,为丰富人类的生活做出了极大贡献。然而,近几年,随着储量日益减少,资源逐渐枯竭和因石化油燃烧带来的环境污染问题,全世界正面临着能源短缺和生态环境受害的危机,因此,寻求一种绿色的可持续发展的新能源成为世界各国科学家普遍关注的科学问题和发展趋势。生物柴油是清洁的可再生能源,它以大豆和油菜籽等油料作物、油棕和黄连木等油料林木果实、工程微藻等油料水生植物以及动物油脂、废餐饮油等为原料制成的液体燃料,是优质的石油柴油代用品。与石油柴油相比,生物柴油具有可再生、易生物降解、无毒、不污染环境等特点,可作为一重要新能源取代或者部分替代石油柴油<sup>[1-10]</sup>。

油脂原料的选择主要决定于原料成本以及其来源的广泛性。据统计,生物柴油制备成本的75%是原料成本,因此采用廉价原料及提高转化率从而降低成本是生物柴油能否实用化的关键。油料植物由于占用耕地面积、生长周期长、受气候影响等缺点,而不能成为生物柴油原料油脂供应的长久之策。海洋微藻是海洋生态体系中有有机物和能量的主要提供者,与其他原料相比,具有光合作用效率高、环境适应能力强、生长周期短、生物产量高的特点<sup>[11-13]</sup>,本身可以生化合成油脂,且油脂含量高,所以海洋微藻作为制备生物柴油燃料的新来源展现出广阔的应用前景,受到了世界各国的广泛重视,作者就目前国内外对海洋微藻制油的研究进展做一介绍。

## 1 海洋微藻——生物柴油巨大的资源库

微藻由于具有种类多样、光合作用效率高、生物产量高、生长繁殖快、生长周期短和自身合成油脂能力强的有利特点而被许多学者认为是制备生物柴油最佳的生物质能原料之一。根据 Sournia<sup>[14]</sup>的统计,在世界各地报道的海洋微藻有4 000种之多。微藻与油料作物相比,微藻细胞生长是以指数式的生长

繁殖方式,并且某些微藻的含油量非常高,表1列出了部分微藻含油量的干质量比,大部分微藻含油量都在20%~50%(表1、表2),某些微藻(干质量)的含油量甚至可以达到77%<sup>[15,16]</sup>。

表1 部分微藻的油脂含量

微藻名称	质量分数(%,干质量)
<i>Botryococcus braunii</i>	25~75
<i>Chlorella</i> sp.	28~32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16~37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25~33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20~35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31~68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35~54
<i>Nitzschia</i> sp.	45~47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20~30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50~77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15~23

注:引自 Chisti Y, 2007

微藻中的脂质和脂肪酸主要作为生物膜组分、储藏物、代谢物和能量来源。微藻产生油脂过程本质上与动植物产生油脂过程相似,都是从利用乙酰COA 羧化酶的羧化催化反应开始,经过多次链的延长,或经去饱和酶的一系列去饱和作用等,完成整个生化过程。微藻中不但油脂含量可观,而且直接从微藻中提取得到的油脂成分与植物油相似,因此具有广泛的应用价值,不仅可以作为生物柴油替代石油直接应用于工业上,还可以作为植物油的替代品<sup>[17]</sup>。另外,植物油脂因为其具有占用耕地面积、生

收稿日期:2007-12-24;修回日期:2008-02-10

作者简介:韩笑天(1975-),女,山西阳泉人,助理研究员,研究方向:海洋微藻, E-mail: xthan @ms. qdio. ac. cn; 邹景忠, 通讯作者, E-mail: jzhou @ms. qdio. ac. cn

长周期长、受气候影响严重等不足而不能成为生物柴油原料油脂供应的长久之策。而微藻具有生长周期短、不受气候限制,易于实现大规模生产等优点,因此开发微藻油脂是利用可持续性海洋资源,解决能源危机及环境污染的最佳选择之一。

表 2 藻类干物质的化学组成

种株	质量分数 (%)			
	蛋白质	碳水化合物	脂类	核酸
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50~56	10~17	12~14	3~6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8~18	21~52	16~40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51~58	12~17	14~22	4~5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra</i> sp.	6~20	33~64	11~21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39~61	14~18	14~20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28~45	25~33	22~38	1~2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28~39	40~57	9~14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46~63	8~14	4~9	2~5
<i>Spirulina maxima</i>	60~71	13~16	6~7	3~4.5
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43~56	25~30	4~7	-

注:引自 Baddiley J, et al. 1994

## 2 微藻细胞内的油脂

微藻可以产生很多种脂类、烃类和复合

油<sup>[20~22]</sup>,能够以非极性有机溶剂如乙醚、氯仿、石油醚、正己烷、二氯甲烷或氯仿-甲醇等混合溶剂进行萃取。其中加 NaOH 可皂化的组分有游离脂肪酸和复合脂类(水解后能产生脂肪酸的脂类),加 NaOH 不皂化的组分是简单脂类,包括饱和及不饱和烃类、萜类、甾醇类、类胡萝卜素、叶绿素等,即不结合有脂肪酸的脂类。其中适合生产生物柴油的油脂主要是利用复合脂类和游离脂肪酸,而这两类油脂在微藻细胞内比较常见<sup>[18]</sup>。

柴油分子是由 15 个左右的碳链组成,研究发现微藻脂肪酸一般由 14~20 个碳链组成,与柴油分子中碳数相近<sup>[23]</sup>(表 3)。金德祥<sup>[24]</sup>经过油脂含量测定的微藻中的硅藻代表种类,发现在其细胞内都富含机体所必须的脂肪酸等营养成分。Ackman 等<sup>[25]</sup>报道了对海洋浮游植物的主要代表类群的代表种类中的主要脂肪酸含量的测定结果,发现在硅藻中的主要脂肪酸为 16:0,16:1 和 20:5,它们在多数硅藻中占总脂肪酸的 50%以上。Lee 等<sup>[26]</sup>分析了中肋骨条藻、旋链角毛藻和北方劳德藻中的三酰甘油和磷脂类中的脂肪酸含量,发现以不饱和脂肪酸的含量较多。蔡春<sup>[27]</sup>和俞建江等<sup>[28]</sup>分别报道了 24 种和 10 株海藻脂肪酸的分析结果。梁英等<sup>[29]</sup>对 33 株细柱硅藻总脂含量及其脂肪酸组成进行的比较研究,结果表明其主要脂肪酸为 14:0,16:0,16:1(*r*7)和 20:5(*r*3)。但过去对这些微藻细胞内脂肪酸、多不饱和脂肪酸(FUFA)和 DHA 的测定分析绝大多数是从饵料营养和医药保健的需求出发的,未见有应用于生物燃油基础研究的文献报道。

表 3 10 种海洋微藻脂肪酸组成

名称	脂肪酸质量分数 (%)							
	C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:4</sub>	C <sub>20:5</sub>
<i>Dunaliella</i> sp.	0.42	18.67	-	4.50	6.08	39.73	-	-
<i>Platymonas elgolam dica</i>	0.64	21.06	-	7.14	4.30	22.53	0.90	4.82
<i>P. subcordiformis</i>	1.28	32.90	-	9.81	8.17	16.49	1.79	5.89
<i>Chlorella</i> sp-1	3.11	14.28	-	3.41	2.17	1.04	6.31	43.89
<i>Chlorella</i> sp-2	2.69	10.67	-	2.53	2.19	0.61	7.42	48.13
<i>Chlorella hirataii</i>	4.55	13.02	-	3.95	2.72	-	7.28	37.24
<i>Nannochloris</i> sp.	4.86	17.35	-	7.86	3.60	2.72	4.78	28.59
<i>Nannochloris</i> sp.	0.22	18.76	-	4.67	11.35	29.47	0.97	4.14
<i>Tetraselmis</i> sp.	0.52	27.98	-	9.08	9.21	17.32	0.93	5.32
<i>Chattonella subsalsa</i>	5.98	35.98	-	1.08	2.33	4.15	0.87	23.01

注:引自刘永定,等,2001

制造生物柴油所利用的油脂包括甘油三酸酯,它是由 3 个脂肪酸分子被一个丙三醇分子酯化而成。在制造生物柴油的过程中,甘油三酸酯和甲醇反应,这个反应被叫做酯交换反应或醇解反应。酯交换反应需要 3 摩尔乙醇和 1 摩尔的甘油三酸酯反应生成 1 摩尔丙三醇和 3 摩尔脂肪酸甲酯(图 1)。

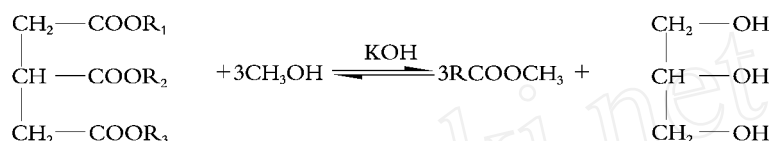
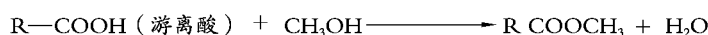


图 1 油脂转化为生物柴油的方程式(R 和 R<sub>1-3</sub> 为碳链)

### 3 富油微藻

影响微藻合成油脂的因素很多。首先是藻种,不同种微藻,其产生油脂的含量及油脂脂肪酸组成均不同。然后是培养条件的变化,如温度、培养时间、培养基(不同营养盐条件)等。微藻产油脂大体分两个阶段,即细胞增殖期和油脂积累期<sup>[30]</sup>,细胞增殖期是微藻消耗培养基中的氮源,吸收利用蛋白质,以保证藻体代谢旺盛。接着藻体细胞增殖率剧增,以消耗碳、氮源为主,并合成积累大量油脂,这个时期为油脂积累期。微藻高产油脂的一个关键因素是培养基的碳源充足而其他营养成分缺乏,在这种情况下,微藻不再进行细胞增殖,而是将过量的碳水化和物转为脂类<sup>[31]</sup>。通过选择育种、诱发育种、基因工程和细胞工程等手段可改变微藻的脂肪代谢,促进脂肪合成,从而提高微藻含油量。

#### 3.1 营养盐限制条件下培育富油微藻

近年,有些学者通过改变生长、积累条件,研究了不同的外界条件下微藻所积累的脂肪酸含量,试图找到最佳培养条件,达到人工控制微藻生长并调节提高微藻的油脂含量的目的。有研究证明,氮盐、硅盐缺乏可诱导某些微藻,如蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)油脂的积累和含量的增加,但也发现有少数藻株如卡耳盒形藻(*Biddulphia aurita*)和尺骨脆杆藻(*Fragilaria ulna*)在氮盐缺乏时并不积累油脂,出现截然不同的代谢机理和模式。到目前为止,氮硅缺乏诱导油脂积累的有关机理尚不清楚。另外也有如研究生长周期对纤细角毛藻(*Chaetoceros gracilis*)脂肪酸的影响实验发现,在其达到静止期后,脂肪酸含量迅速增加,在静止期末期,总脂含量是指数生长期的 9 倍<sup>[29-32]</sup>。

在工业过程中,通常加入过量的甲醇,从而驱使反应向生成甲酯的方向进行,所以在工业中用 6 摩尔甲醇和 1 摩尔甘油三酸酯反应。反应逐步发生,甘油三酸酯先转换成甘油二酸酯,然后甘油一酸酯,最后成为甘油和脂肪酸甲酯,即生物柴油。再通过水反复清洗去除丙三醇和甲醇并最终获得生物柴油。

#### 3.2 异养微藻

在国内清华大学吴庆余教授等以淡水藻小球藻(*Chlorella protothecoides*)为实验藻种,通过在培养基中加入有机碳源,降低无机氮源的条件下进行小球藻异养生长,获得叶绿素消失、细胞变色的异养性小球藻,与未经转化的自养性小球藻相比,异养藻细胞的粗脂肪含量提高了 4 倍以上(图 2)。利用正己烷从这些异养藻细胞中提取获得了大量微藻油脂。这些微藻油脂在 30% 醇油物质的量比为 56:1 以及浓硫酸催化条件下经酯交换反应 4 h 可形成高质量的生物柴油,热值高达 41 MJ/kg。研究成果已于 2006 年在 *Bioresourcetechnology* 期刊上发表,其中应用技术成果已经申请和获得国家 3 项发明专利<sup>[33-36]</sup>,为我国进一步开展微藻生物质能的研究奠定了基础,但也存在因使用有机碳源葡萄糖量大而出现成本的问题。

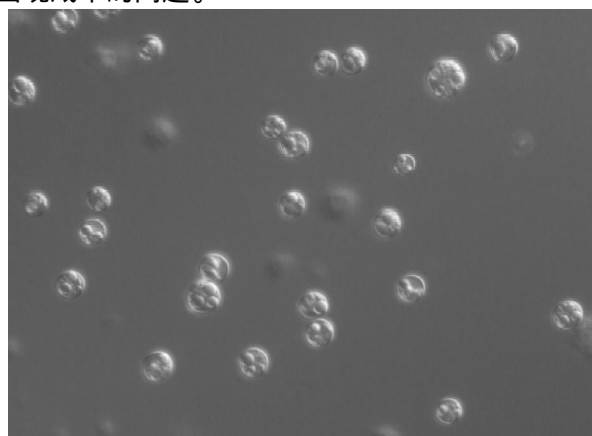


图 2 微分干涉显微镜下的异养小球藻细胞(示细胞内充满脂肪泡<sup>[37]</sup>)

### 3.3 工程微藻

用基因工程改变微藻的脂肪代谢,使其积聚增加或合成新的脂类化合物,从而提高人类所需要的有用的脂肪酸含量。基因工程改造微藻是当代基因工程一个重要的、有发展潜力的领域和研究热点。美国国家可更新实验室(NREL)通过现代生物技术建成“工程微藻”,即硅藻类的一种“工程小环藻”。在实验室条件下可使“工程微藻”中油脂质量分数增加到60%以上,户外生产也可增加到40%以上。而一般自然状态下微藻的脂质质量分数为5%~20%<sup>[38-40]</sup>。“工程微藻”中脂质含量的提高主要由于乙酰辅酶A羧化酶ACCase的accI基因在微藻细胞中的高效表达,accI基因编码控制脂类合成的乙酰辅酶A羧化酶,其高效表达可促进脂类的积累<sup>[38]</sup>,同时其活性可被硅元素含量与蛋白合成抑制剂所控制<sup>[39]</sup>。从克氏小环藻(*Cyclotella cryptica*)中克隆的accI已经进入应用阶段,依靠accI自身的调控区(启动子和终止子)构建载体,引入多拷贝的accI基因使其在*C. cryptica*中高效表达,以利用硅藻生产生物燃料<sup>[40]</sup>。利用“工程微藻”生产柴油具有重要经济意义和生态意义,其优越性在于:微藻生产能力高、用海水作为天然培养基可节约农业资源;比陆生植物单产油脂高出几十倍;生产的生物柴油不含硫,燃烧时不排放有毒有害气体,排入环境中也可被微生物降解,不污染环境,发展富含油质的微藻或者“工程微藻”是生产生物柴油的一大趋势。

## 4 规模化培养微藻

目前比较适用的大规模培养微藻主要采用开放式培养设备<sup>[41,42]</sup>和光合生物反应器<sup>[43-50]</sup>。

### 4.1 采流水式设备开放式培养

美国能源部应用的开放式采流水式设备(跑道式设备)大规模培养微藻已经得到了广泛好评。开放式培养采流水式是由封闭的跑道式渠道组成,用混凝土制成,白塑料镶边,一般是0.3 m深。其中搅拌轮进行混合和搅拌。液体围绕由流动渠中的阻碍物形成的弯曲流动,白天,培养液在搅拌轮搅拌时持续添加。完成循环流动后,培养液在搅拌轮后混合均匀,同时可以防止藻细胞沉淀。运用采流水式进行微藻的大规模培养的方法源于19世纪50年代,人们通过对跑道的操作和工程学取得了广泛的经验<sup>[41]</sup>,最大的跑道式的生物生产设备占地面积为44万m<sup>2</sup>,此设备归Earthrise Nutritionals所有(www.earthrise.com),用来生产蓝细菌以获取食物。

### 4.2 管式光合生物反应器

管式光合生物反应器由大批透明的直管组成,通常由玻璃和塑料制成,这些管状的设备是用来捕捉阳光,也称为日光收集器。收集日光的管道直径大约小于等于0.1 m,从而可以穿透有一定密度的培养液,从而保证光合生物反应器有较高的生物生产率。微藻培养液在循环式管道中流动,从蓄水池到日光收集器,最后流回到蓄水池,从而达到微藻持续培养的目的。

日光收集器倾向于最大化地收集日光<sup>[43-47]</sup>。按照典型的排列方式,日光管平行排列并且在地面上排成一个平面。或者用柔软的塑料组成并盘绕在支持框架上形成螺旋管状的日光收集器。由于可人工照明的光合生物反应器比自然光照价格要高,适合用于生产高价值的产品。

采流水式设备与管道式光合生物反应器相比较,二者都已在微藻大规模培养上取得了实际的成功<sup>[41-43,51-53]</sup>。采流水式设备简单,建设费用低,且易于大规模培养微藻。管道式光合生物反应器优点是可以持续性培养单一微藻,且生物生产率是前者的13倍,但是建设费用相对较高,且培养体积相对较小。

## 5 海洋微藻油脂制备生物柴油工艺

海洋微藻油脂的生产工艺流程如下:藻种筛选 规模化培养 藻体采收 微藻毛油 精炼 生物柴油。

微藻藻体采收主要采取的技术方法包括:利用离心、化学絮凝、过滤等方法进行微藻细胞的富集,进一步利用高温干燥方法进行预脱水处理,利用快速热解或高压液化的方法促使细胞有机物质裂解为液体燃料。

微藻油脂的精炼工艺与食用植物油基本相同,主要包括水化脱胶、碱炼、脱色、脱臭等工序。水化:利用磷脂等胶溶性杂质的亲水性,将一定量的热水、食盐、磷酸等电解质水溶液,经搅拌加入热的微藻毛油中,使其中的胶溶性杂质吸水、凝聚、沉降、分解的一种脱胶方法。碱炼:用碱中和游离脂肪酸,并除去部分其他杂质。在低温条件下,向油脂中加入质量分数的碱液。脱色:利用活性白土在一定条件下吸附油脂中的色素、异味及其他物质。脱臭:采用蒸汽蒸馏脱臭的原理,蒸汽通过含有臭味组分的油脂时,液液表面相接触,蒸汽和臭气按其饱和分压的比率逸出,从而达到脱除臭味的目的。制备得到生物柴油。

## 6 展望

海洋微藻生产生物柴油是资源永续的可再生能源,污染少,已经成为世界各国政府优先考虑发展的方向。利用我国广阔的海域资源培养高含油量的海洋微藻,大力发展海洋微藻生产生物柴油的研究,对于调整油品产业结构、缓解国内缺油状况、保障我国能源安全、环境生态保护等都具有重要的科学意义和现实意义。

### 参考文献:

- [1] Ma F, Hanna M A. Biodiesel production: a review[J]. **Bioresourc Technology**, 1999, 70(1): 1-15.
- [2] Ginzburg B Z. Liquid fuel (oil) from halophilic algae: a renewable source of non-polluting energy [J]. **Renew Energy**, 1993, 3: 249-252.
- [3] 黄忠水, 纪威, 李淑艳, 等. 国外生物柴油的应用[J]. 节能与环保, 2003, 1: 38-41.
- [4] 盛梅, 李为民, 邬国英. 生物柴油研究进展[J]. 中国油脂, 2003, 28(4): 66-70.
- [5] 黄小明, 谢文磊, 彭红. 生物柴油的现状和发展[J]. 精细石油化工, 2005, 1: 59-61.
- [6] 卢碧林, 周玲革, 毛治超. 生物柴油的应用研究进展[J]. 生物技术, 2005, 15(3): 95-97.
- [7] 汪勇, 欧仕益, 温勇, 等. 酶法催化合成生物柴油的研究进展[J]. 中国油脂, 2006, 31(1): 65-68.
- [8] 张呈平, 杨建明, 吕剑. 生物柴油的合成和使用研究进展[J]. 工业催化, 2005, 13(5): 9-13.
- [9] 龚树华. 生物柴油的研究进展[J]. 山西化工, 2006, 26(4): 37-40.
- [10] 杨建国, 林炜铁, 吴军林. 酶法合成生物柴油的研究进展[J]. 化工环保, 2004, 24(2): 116-120.
- [11] Milne T A, Evans R J, Nagle N. Catalytic conversion of microalgae and vegetable oils to premium gasoline, with shape-selective zeolites[J]. **Biomass**, 1990, 21: 219-232.
- [12] Minowa T, Yokoyana S Y, Kishimoto M, et al. Oil production from algal cells of *Dunaliella tertiolecta* by direct thermochemical liquefaction [J]. **Fuel**, 1995, 74: 1 735-1 738.
- [13] Miao X L, Wu Q Y. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil [J]. **Bioresourc Technology**, 2006, 97: 841-846.
- [14] Sournia A. Red tide and marine phytoplankton of the world ocean: an inquiry into biodiversity[A]. Lassus P, Arzul G, Denn E et al. Harmful Marine Algal Blooms [C]. England UK: Intercept Ltd, 1995. 103-112.
- [15] Metting F B. Biodiversity and application of microalgae[J]. **J IndMicrobiol**, 1996, 17: 477-89.
- [16] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae[J]. **J Biosci Bioeng**, 2006, 101: 87-96.
- [17] Behrens P W, Kyle D J. Microalgae as a source of fatty acid[J]. **Food Lipid**, 1996, 3: 259-272.
- [18] Chisti Y. Biodiesel from microalgae[J]. **Biotechnology Advances**, 2007, 25: 294-306.
- [19] Baddiley J, Carey N H, Higgins I J, et al. Studies in biotechnology, series 10[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 66-75.
- [20] Banerjee A, Sharma R, Chisti Y, et al. *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals[J]. **Crit Rev Biotechnol**, 2002, 22: 245-279.
- [21] Metzger P, Largeau C. *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids[J]. **Appl Microbiol Biotechnol** 2005, 66: 486-496.
- [22] Guschina I A, Harwood J L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae[J]. **Prog Lipid Res**, 2006, 45: 160-186.
- [23] 刘永定, 范晓, 胡征宇. 中国藻类研究[M]. 武汉: 武汉出版社, 2001, 254-261.
- [24] 金德祥. 海洋硅藻学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1991. 1-156.
- [25] Ackman R G, Tocher C S. Marine phytoplankton fatty acid[J]. **Jour Fish Res BdCanada**, 1968, 25: 1 603-1 620.
- [26] Lee R F, Nevenzel J C, Paffenhöfer G A. Importance of Wax esters and other lipids in the marine food Chain: Phytoplankton and Copepod[J]. **Mar Biol**, 1971, 9: 99-108.
- [27] 蔡春. 24种海洋藻类脂肪酸的测定[J]. 中国海洋药物, 1996, 15(1): 22-23.
- [28] 俞建江, 李荷芳, 周汉秋. 10种海洋微藻总脂、中性脂和极性脂的脂肪酸组成[J]. 水生生物学报, 1999, 23(5): 481-487.
- [29] 梁英, 麦康森. 对33株筒柱藻总脂含量及脂肪酸组成的比较研究[J]. 青岛海洋大学, 1999, 29(3): 457-462.
- [30] 薛飞燕, 张翎, 谭天伟. 微生物油脂的研究进展及展望[J]. 生物加工过程, 2005, 3(1): 23-28.
- [31] 繆晓玲. 藻类可再生能源的利用及藻细胞抗环境胁迫的研究[R]. 北京: 清华大学, 2004.
- [32] 纪明侯. 海藻化学[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 508-546.
- [33] 清华大学科学技术开发部. 利用微藻细胞工程技术生产生物柴油[EB/OL]. <http://www.kfb.tsinghua.edu.cn>, 2006.
- [34] Miao X L, Wu Q Y. High Yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*[J]. **Jour Biotech**, 2004, 1 104: 85-93.
- [35] Miao X L, Wu Q Y. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil [J]. **Bioresourc Technology**,

- 2006,97:841-846.
- [36] Xu H, Miao X L, Wu Q Y. High quality biodiesel production from a macroalga *Chorell protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters[J]. **Jour Biotech**, 2006,126:499-507.
- [37] Wu Q Y, Miao X L. Bio-oil fuels production from microalgae after heterotrophic growth. Latin America Thematic Network on Bioenergy[EB/OL]. [http://ec.europa.eu/research/energy/pdf/36\\_qingyu\\_wu\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/research/energy/pdf/36_qingyu_wu_en.pdf). 2004.
- [38] 秦松,曾呈奎.藻类基因工程[A].范晓,张士瑾,秦松等,海洋生物技术新进展[C].北京:海洋出版社,1999.58-81.
- [39] Roessler P G. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom *Cyclotella cryptica*[J]. **J Phycol**,1988,24:394-400.
- [40] Dunahay T G, Jarvis E E, Dais S S. Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering[J]. **Appl Biochem Biotech**,1996,57/58:223-231.
- [41] Terry K L, Raymond L P. System design for the autotrophic production of microalgae[J]. **Enzyme Microb Technol**,1985.7:474-487.
- [42] Molina G E. Microalgae, mass culture methods[A]. Flickinger M C, Drew S W. Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation, volume1-5 [C], New York, John Wiley & Sons, Inc., 1999. 1753-1769.
- [43] Molina G E, Acuña Fernández F G, Garcá C F, et al. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup [J]. **J Biotechnol**, 1999,70:231-247.
- [44] Molina G E, Acuña F F G, Garcá C F, et al. Scale-up of tubular photobioreactors [J]. **J Appl Phycol**, 2000, 12:355-368.
- [45] Molina G E, Fernández J, Acuña F F G, et al. Tubular photobioreactor design for algal cultures [J]. **J Biotechnol**, 2001,92:113-131.
- [46] Molina G E, Belarbi E H, Acuña F F G, et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics [J]. **Biotechnol Adv**, 2003,20:491-515.
- [47] Sánchez M A, Contreras G A, Garcá C F, et al. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae [J]. **J Biotechnol**,1999,70:249-270.
- [48] Sánchez M A, Garcá C F, Contreras G A, et al. Bubble column and airlift photobioreactors for algal culture [J]. **AIChE J**,2000,46:1872-1887.
- [49] Sánchez M A, Cerón G M C, Contreras G A, et al. Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors [J]. **Biochem Eng J**,2003,16:287-297.
- [50] Tredici M R. Bioreactors [A]. Flickinger M C, Drew S W. Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation volume1-5 [C]. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1999. 395-419.
- [51] Pulz O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms [J]. **Appl Microbiol Biotechnol**,2001,57:287-293.
- [52] Lorenz R T, Cysewski G R. Commercial potential for Haematococcus microalga as a natural source of astaxanthin [J]. **Trends Biotechnol**, 2003,18:160-167.
- [53] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae [J]. **J Biosci Bioeng**, 2006,101:87-96.

(本文编辑:张培新)