

利用海洋微藻制备生物柴油的研究进展

The research progress on preparation of biodiesel from marine microalgae

黄雄超, 牛荣丽

(华侨大学分子药理学研究所, 教育部分子药物工程中心, 福建 厦门, 361021)

中图分类号: TK6

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)01-0108-09

世界能源危机和环境问题的日益加剧,使越来越多的人开始关注到清洁的可再生能源。生物柴油是一种新兴的可再生生物质能,清洁环保,易生物降解,燃烧后排放的氮氧化物和 CO_2 少,且可直接用于现有的柴油发动机,因此成为了一种良好的化石燃料替代物^[1]。欧盟在 2010 年生产的生物柴油已经取代了 5.75% 的化石燃料市场,并计划到 2020 年时将生物柴油产业扩展至 10% 的市场份额。生物柴油是以动植物为原料通过与甲醇等醇类进行酯交换反应制得的脂肪酸甲酯的总称。世界范围内,生产生物柴油的传统原料主要有菜籽油,向日葵油,大豆油和棕榈油,此外还有其他一些含油脂多的物种,如麻风树、黄连木、文冠果等,以及动物脂肪和餐饮废弃油脂。但是这些原料生产生物柴油的方式是不可持续性的,例如:由于原材料可用于其他用途而致原材料的竞争,生产周期较长,成本较高,经济可行性差,并可能对粮食作物的生产构成威胁。微藻,是目前制取生物柴油最有希望和前途的原料,具有分布广泛、环境适应力强、生长迅速、油脂含量高等特点。因此微藻生物柴油的开发研究也成为一项重要的课题。

1 生产生物柴油的海洋微藻

微藻是一种单细胞的光合作用微生物,每个微藻细胞都可以有效地进行光合作用和吸收二氧化碳,并且不需要像维管束植物那样开放气孔,因此光合作用效率高^[2]。在适宜的培养条件下,微藻生物量和脂质含量大大超过维管束植物^[3],适合从中提取油脂生产生物柴油。

微藻不仅具有很高的 CO_2 固定率和 O_2 产生率,

还可以在各种气候和环境环境中生长,甚至包括沙漠和海滨等不宜农耕的地区。与农作物衍生的生物燃料相比,微藻生物燃料的需求不会减少食品、饲料供应,不会对现有环境、作物和水资源等造成威胁。

1.1 富油微藻的种类

富含脂质的微藻主要可以分为四个主要类别:硅藻类、绿藻类、蓝绿藻类和金藻类。不同种类微藻,细胞中的脂质含量是不同的(表 1)。一般大多数微藻的脂肪酸含量可以达到细胞干重的 10%~30%,葡萄藻(*Botryococcus braunii*)细胞内的脂质含量甚至可高达细胞干重的 75%^[4]。微藻脂质含量的高低对于生物燃料质量的影响是不同的,因此不同的藻种适合作为不同种类的燃料的原料^[5]。

1.2 微藻油脂的组成

微藻和高等植物一样,都是以脂肪酸三酰甘油的形式储存脂质。由海藻提取得到的海藻油主要由甘油三酯(占脂质质量 90%~98%)、少量的单甘油酯和双甘油酯及游离脂肪酸(1%~5%)组成。此外还可能含有极少量残留的磷脂、叶绿素、胡萝卜素、生育酚和痕量的水分^[6]。

不同培养条件下,微藻的脂质和脂肪酸含量是不同的, Demirbas A 等^[7]研究了海藻油中脂肪酸占藻体干重的比例,刚毛藻 *Cladophora fracta* 中饱和脂肪酸为 12.5%,单不饱和脂肪酸为 33.7%,多不饱和

收稿日期: 2010-12-28; 修回日期: 2011-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(40506031), 厦门市科技项目(xm090905)

作者简介: 黄雄超(1987-), 男, 湖北孝感人, 硕士研究生, 从事海洋生物资源的利用研究, 电话 0592-6162996, E-mail: huangxc505518@163.com; 牛荣丽, 通信作者, 副教授, E-mail: niurongli05@yahoo.com.cn

脂肪酸为 50.9%，游离脂肪酸为 3.6%；小球藻 *Chlorella Protothecoides* 中饱和脂肪酸为 10.8%，单

不饱和脂肪酸为 24.1%，多不饱和脂肪酸为 62.8%，游离脂肪酸为 2.6%。

表 1 一些海洋微藻的脂质含量

藻类	藻种	脂质含量(%)
硅藻	牟氏角毛藻 (<i>Chaetoceros muelleri</i>)	33.6
	中肋骨条藻 (<i>Skeletonema</i> sp.)	13.3 ~ 31.8
绿藻	葡萄藻 (<i>Botryococcus braunii</i>)	25.0 ~ 75.0
	小球藻 (<i>Chlorella</i> sp.)	10.0 ~ 48.0
	栅藻 (<i>Scenedesmus</i> sp.)	19.6 ~ 21.1
	盐藻 (<i>Dunaliella</i> sp.)	17.5 ~ 67.0
黄绿藻	微绿球藻 (<i>Nannochloropsis oculata</i>)	22.7 ~ 29.7
	微绿球藻 (<i>Nannochloropsis</i> sp.)	12.0 ~ 53.0
定鞭金藻	等鞭金藻 (<i>Isochrysis</i> sp.)	7.1 ~ 33
	巴夫藻 (<i>Pavlova salina</i>)	30.9
	紫球藻 (<i>Porphyridium cruentum</i>)	9.0 ~ 18.8

微藻中的脂肪酸主要是由 12-22 C 的饱和脂肪酸和不饱和的脂肪酸组成的(表 2)，主要以不饱和脂肪酸为主，此外还存在少量的饱和脂肪酸^[8]。从最终制得的微藻生物柴油的质量来看，选择含饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸高的微藻才是最佳的原料，因为不饱和脂肪酸氧化速率是与双键数目和位置密切相关的^[9]，如果微藻含有较多的不饱和脂肪酸会使最终制得的生物柴油的氧化稳定性降低。

表 2 微藻油脂的不饱和脂肪酸组成

脂肪酸	碳链长度(双键)	组成含量(质量/总脂, %)
棕榈酸	C16:0	12 ~ 21
棕榈油酸	C16:1	55 ~ 57
硬脂酸	C18:0	1 ~ 2
油酸	C18:1	58 ~ 60
亚油酸	C18:2	4 ~ 20
亚麻酸	C18:3	14 ~ 30

2 工程微藻

工程微藻是指利用基因工程和分子生物学的技术，改变脂肪酸的合成和代谢途径中相关的基因而得到的高脂肪酸的微藻。微藻中脂肪酸的生物合成途径不同于高等植物，微藻中脂肪酸生物合成在叶绿体中进行，通过产生 C16 或 C18 脂肪酸，然后合成细胞中的各种脂质，如细胞膜和储存形式的三酰甘油^[10]。脂肪酸生物合成途径中最关键的一步是乙酰辅酶 A 羧化酶的作用下乙酰辅酶 A 羧化，生成丙二酸单酰辅酶 A(图 1)。

因此控制乙酰辅酶 A 羧化酶的活性使其提高就可以促进乙酰辅酶 A 高效表达，从而增加微藻细胞中脂类的积累^[11]。在微藻细胞中 accI 基因是控制细胞编码合成乙酰辅酶 A 羧化酶的关键基因，其高效表达可促进脂类的积累，同时其活性可被硅元素含量与蛋白合成抑制剂所控制^[12]。Martin Wagner 等^[13]研究了一种光能自养的单细胞绿藻 *Ostreococcus tauri*，在该藻细胞中存在一种可以在合成三酰基甘油(TAG)过程编码乙酰辅酶 A: 二酰甘油酰基转移酶的基因 DGAT2，通过构建 DGAT2 基因缺失载体并在酵母中表达，发现 DGAT2 基因能编码蛋白促进饱和和单不饱和脂肪酸形成三酰甘油。

目前工程微藻的技术路线都是基于脂质合成和代谢过程中特定酶的克隆和控制表达。但由于脂质合成复杂性，面临的难题也不少，首先一个主要的问题就是如何分离参与 TAG 和脂肪酸合成的酶，克隆获得相应的 cDNA 序列和基因序列。其次是如何对不同脂肪酸合成酶进行相应修饰，对参与脂质合成的酶进行基因诱变和设计来调控油脂脂肪酸组成，得到理想的油脂产品。还有一个问题就是如何避免通过基因工程调节脂质合成的负面影响，包括对微藻生长发育和含油量及产量的影响。

工程微藻的技术水平上存在的一个瓶颈问题就是外源目的基因的获得及其在藻体中的表达。应用组学技术(如基因组学、蛋白质组学、代谢组学)对微藻基因进行快速测序，克隆和控制将成为工程微藻研究的一个重要方向。此外，应用蛋白质工程对脂质合成酶进行设计、修饰和表达也是工程微藻研究的另一个突破口。

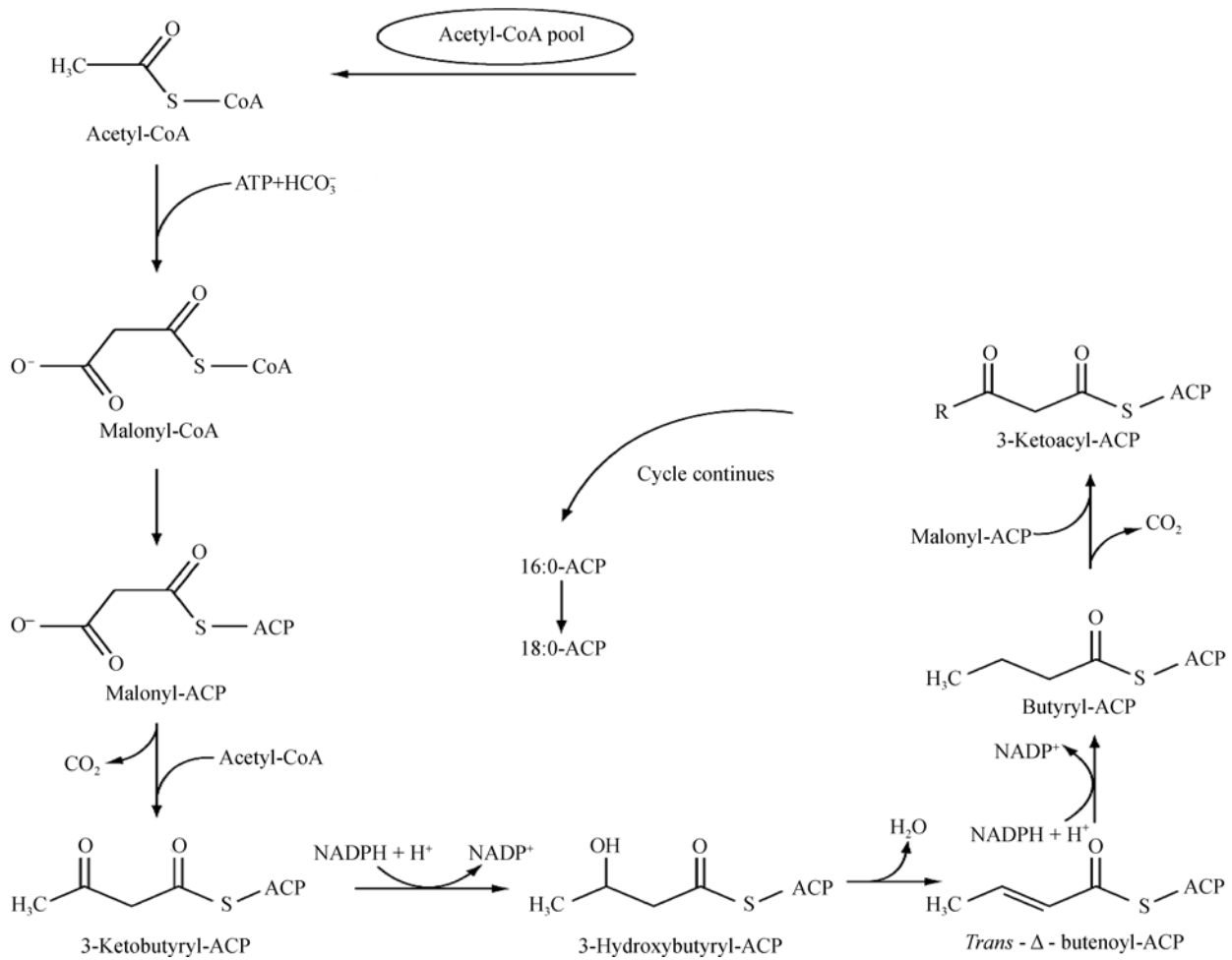


图 1 叶绿体中脂肪酸合成途径

由于工程微藻是按人类的需要改变了藻体细胞中的脂质积累量和不同脂肪酸的组成, 这样生产出来的生物柴油在产量上都相比于普通微藻有较大提高。Wang 等^[14]利用基因工程培育了一种的缺少 ADP-葡萄糖焦磷酸化酶的莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)变种, 该变种经过 48 h 缺氮培养后, 最终细胞中三酰甘油含量达到 17ng/cell, 而同等条件下的野生型仅为 10 ng/cell。而利用工程微藻生产的生物柴油是否符合生物柴油标准, 在燃烧性能上是否有较大提高等尚未见报道, 需要继续深入研究。

3 微藻的生长与培养系统

微藻的培养规模和生长速率的问题是制约微藻(包括工程微藻)工业化发展的另一个瓶颈, 即如何在微藻高密度大规模的培养的同时不能降低微藻的

生长速率。

自然界中, 微藻的生长分主要为自养和异养, 另外还有少量混养。光能自养微藻需要以光和 CO₂ 进行光合作用, 而异养微藻不需要光, 在黑暗条件下可以利用有机碳为碳源进行生长。光能自养微藻生长需要光照、CO₂、水和无机盐, 温度一般需要保持在 20 ~ 30 。异养微藻则需要含有机碳的培养基, 其中还要添加营养元素, 包括 N、P、Fe 和一些微量元素。不同的生长条件(如光照, 温度, pH, 盐分等)对藻体脂质的积累量有很大影响。对于大规模的工业生产, 微藻需要采用特定的培养系统, 以保证微藻油脂产生率和产油稳定性。

微藻培养系统主要可以分为开放式和密闭式两种。它们各自有不同的特点, 选择培养系统的时候, 需要综合考虑微藻生长特性, 气候状况, 土地用水等多种因素。

3.1 开放式微藻培养系统

开放式培养系统就是在户外利用阳光进行微藻培养，因此扩大规模比较容易，成本较低。但是开放式培养系统容易受外界环境的影响，如光照强度，光照时间，温度和天气。也容易受到其他藻种、细菌及致病微生物的污染。开放式培养系统可以分为大池型、开放式槽体、圆形培养池和跑道型培养池(图2)四种形态。美国在位于加利福尼亚州的卡利帕特里亚(Calipatria)的建立了世界最大的生产螺旋藻的跑道型培养池，占地约 440 000 m²。美国纽约新能源研究所在海湾地域专门建池养殖海藻，每平方米水面平均每天可获 500 多克的藻体，含类脂物量 67% 以上，每年可从藻体中提取燃料油 122L。

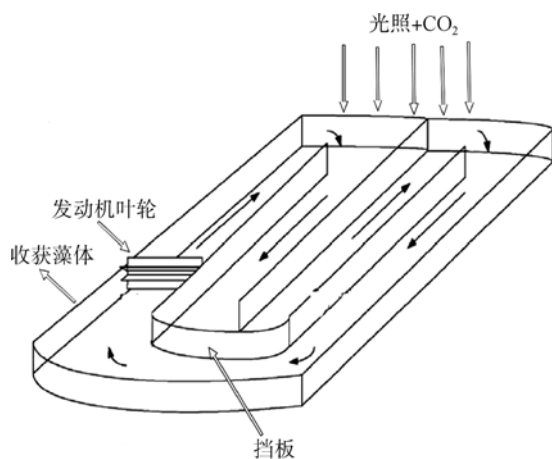


图2 跑道型微藻培养系统示意图

3.2 封闭式微藻培养系统

封闭式培养系统是指利用培养基在密闭的容器内进行微藻培养。封闭式培养系统可分为发酵槽型(图3)、培养袋型、平板型光生化反应器和管型光生化反应器。这种培养系统可以提高产量 60% ~ 300%，产率较高，适用各种藻种，微藻品质稳定，后续分离纯化成本也可以减少，且该系统不易被杂菌污染。但是该系统设备成本较高，不易扩大培养规模。美国 Solix 公司正在开发一种间隔排列板的膜封闭池(enclosed chambers)系统，该装置可完全避免冒泡供氧，而改用透气膜来进行气体交换，使微藻生长速率和产量大大提高。

4 微藻生物柴油的制备工艺

传统的生物柴油制备方法主要有直接混合法^[15]，

微乳液法^[16]，高温裂解法^[17]和酯交换法^[18]。直接混合法和微乳液法虽然制备工艺较简单，但制得的生物柴油质量不高，黏度较高。高温裂解法制得的生物柴油与普通柴油性质相近，但该法工艺复杂，反应温度高，不易控制，需要消耗大量热能，同时裂解设备比较昂贵，成本较高。

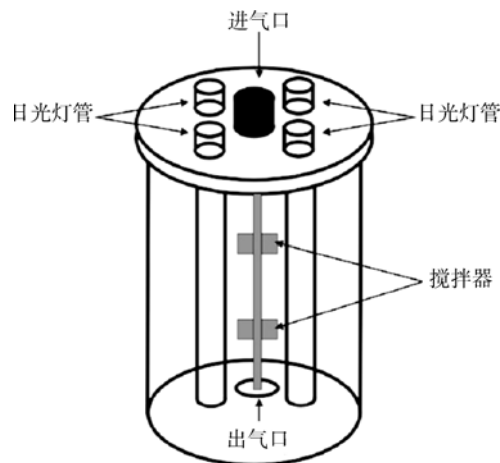


图3 发酵槽型微藻培养系统

酯交换法是指将油脂与甲醇或乙醇等醇类在催化剂的作用下，发生酯交换反应，得到脂肪酸甲酯或乙酯的方法。酯交换法由于生产工艺简单，成本较低，成为生物柴油工业生产上最广泛使用的方法。

4.1 反应原理

油脂中的主要成分是甘油三酯，酯交换反应就是通过醇类分子的甲氧基取代甘油三酯上的甘油基，将甘油三酯键断裂，形成三个脂肪酸甲酯或乙酯(图4)，从而缩短碳链，降低黏度，改善生物柴油的燃烧性能，使其达到各项质量指标。

从反应式可以看出，酯交换反应使一个可逆平衡反应。三酰甘油与醇的理论摩尔比是 1 : 3，但实际中一般要使用 1 : 6，确保醇过量，有利于提高反应产率。从原料投入与生物柴油产出的质量关系可以看出，理论上 1 kg 的油脂反应可以得到 1 kg 的生物柴油。

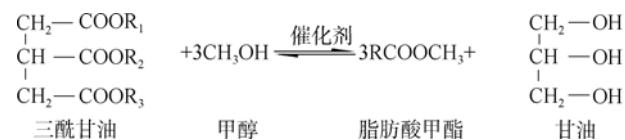


图4 三酰甘油的酯交换反应

4.2 催化剂类型

生产生物柴油的酯化反应的催化剂分为均相催

化剂和非均相催化剂。均相催化剂是生产上生产生物柴油最主要的催化剂,它包括酸催化剂和碱催化剂。均相酸催化剂一般有 H_2SO_4 、 HCl 、 H_3PO_4 和苯磺酸等。一般酸催化剂的用量为 1%~5%,催化的酯交换率高,适合游离脂肪酸和水分含量较高的油脂,但是酸催化反应速率较慢,对反应设备有腐蚀性。缪晓玲等^[19]用浓硫酸催化异养微藻细胞中提取的油脂得到了高质量的生物柴油。钟鸣等^[20]以磷酸为催化剂,地沟油与甲醇为原料,正交设计实验得出最佳反应条件为醇油摩尔比为 30:1,反应温度 70℃,催化剂为原料油的 8%时,生物柴油产率达 85%以上。

均相碱催化剂有 NaOH 、 KOH 、 NaOCH_3 、 KOCH_3 、 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 、有机碱等。一般碱催化剂的用量不超过 1%,反应迅速,但要求原料油脂里水分和游离脂肪酸含量极低,否则会产生皂化反应是催化剂失活而影响得率。西班牙马德里康普斯顿大学的研究人员^[21]比较了用 NaOH 、 KOH 、 NaOCH_3 和 KOCH_3 四种不同的均相催化体系对葵花籽油酯交换反应的催化效果,通过四种催化剂制得的生物柴油纯度在 99.5%~99.8%, NaOH 和 KOH 的生物柴油得率分别为 86.71%和 91.67%, NaOCH_3 和 KOCH_3 的生物柴油的得率分别为 99.33%和 98.46%。虽然甲醇盐催化剂的催化效率很高,但是甲醇盐易吸潮,难于操作,且价格较贵。制得的生物柴油除碘值较高外,其他质量指标均符合德国生物柴油标准(DIN 51606)。刘伟伟^[22]等研究了 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 催化酯交换反应的效果,生物柴油转化率可达 94.27%,且 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 可通过 BaSO_4 沉淀形式回收。

非均相催化剂包括负载型固体酸碱催化剂、金属氧化物、酶催化剂、分子筛、离子交换树脂等。鲁明波等^[23]优化了 Lipozyme TLIM 固定化脂肪酶催化酯交换反应合成脂肪酸甲酯的生产工艺,转化率最高可达到 94%。Ayato Kawashima 等^[24]研究了多种不同的非均相催化剂对于酯交换反应的催化效果,制备了包括钙、钡、镁、镧等金属元素在内的 13 种不同金属氧化物。结果发现在温度为 60℃,醇油摩尔比为 6:1,反应 10 h 的条件下,含钙催化剂如 CaTiO_3 、 CaMnO_3 、 $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$ 、 CaZrO_3 和 CaO-CeO_2 的碱性和催化活性最高,脂肪酸甲酯的得率为 79%~92%。再将这些含钙催化剂经过重复酯交换反应次数的催化耐久性试验,发现 CaZrO_3 和 CaO-CeO_2 的分别经过 5 次和 7 次酯交换反应后脂肪酸甲酯得率都高达 80%。非均相催化剂催化酯交换反应活性较高、

选择性好、易于与产物分离、可循环利用、对设备腐蚀性较小。但是用非均相催化剂进行酯交换反应式常需要苛刻的操作条件,如高温高压,而且非均相催化剂极易被空气中的二氧化碳和水污染而失活,使用寿命较短,同时非均相催化剂机械强度较差,制备成本也比较昂贵。

4.3 新型生产工艺

超临界酯交换法是一种将油脂或醇在超临界状态下进行酯交换反应制得脂肪酸酯的方法。原理是当流体的温度和压力处于临界温度和临界压力之上时,会形成一种施加任何压力都不会凝聚的超临界状态。这种超临界流体既可以作为反应介质,又可以参与反应,油和醇可以完全混合,形成单相体系,因此反应速率快,转化率高。日本京都大学的研究人员^[25]开发出一种菜籽油与超临界甲醇酯交换反应得到脂肪酸甲酯的新工艺,将菜籽油在温度 270℃,压力 17 MPa,油醇摩尔比 1:14(体积比 1:6)的条件下经超临界甲醇处理 15 min,最终生物柴油的得率高达 97%,并且可以回收 20%的甘油。超临界法制备脂肪酸酯产率很高,速度快,反应不需催化剂或只需要少量催化剂,无皂化副反应且后续处理简单,但是超临界制备生物柴油的方法需要在高温高压条件下进行,因此能耗高,用于工业生产还需要进行更深入的研究。

物理强化酯交换法是一种新型的酯交换强化辅助方法,主要包括超声辅助^[26]、微波辅助^[27]和水力空化^[28]等反应过程强化技术。在生物柴油生产过程中,由于原料油和醇会出现部分不互溶现象,使酯交换速率减慢,产率降低。采用合适的强化技术可以增加两相界面的面积,减少传质阻力,从而极大地提高酯交换反应速率和转化率。日本的研究人员 Le Tu Thanh 等^[29]使用超声频率为 20Hz 的连续超声反应器强化以 KOH 为催化剂的废弃餐饮油脂的酯交换反应,分两步进行酯交换,整个过程的醇油摩尔比为 4:1, KOH 加入量为 1%,反应物通过超声反应器进行超声强化的时间为 0.93min,最终生物柴油的产率高达 93.8%,制得的生物柴油符合日本工业标准(JIS K2390)和欧盟标准(EN 14214)。Nicholas EL 等^[30]用微波强化酯交换反应,加入 1%的 KOH 催化剂后,使用 600W 的微波功率加热反应混合物到 50℃,3.5min 后转化率就达到 98%以上。反应规模扩大 10 倍也未有任何负面影响。印度的研究人员^[31]研究了

利用水力空化技术强化碱催化酯交换反应合成生物柴油的过程,发现在油醇摩尔比为 1 : 4.5, NaOH 为油脂质量 1%, 温度保持 45 ~ 55 的条件下, 30 min 内生物柴油得率达到了 80%。

4.4 微藻生物柴油的生产

微藻生物柴油的生产包括藻种筛选——微藻培养——藻体收集与干燥——油脂提取——油脂酯交换——生物柴油精制——甘油的回收利用。

藻体的收集与干燥是生产生物柴油的前提,而且直接决定了原料部分的生产成本。藻体的收集方法主要有离心分离、絮凝、过滤、沉降、浮选和电泳^[32]。接着将湿的藻体经过高温快速干燥或真空干燥脱水,得到便于储存和运输的生产原料。

微藻脂质的提取主要有氯仿-甲醇法,超声辅助法,冻融法和索式提取法。这些方法都需要用到大量的有机溶剂,提取的油脂得率与溶剂配比,提取时间和温度等相关。除了使用有机溶剂溶解细胞中的油脂外,还可以使用高压灭菌、球磨法、微波辅助、声波降解和添加 10% NaCl 溶液等方法^[33]裂解细胞形成液体燃料直接用于酯交换。

生物柴油的精制通常需要经过水洗,脱色,除臭等去除生物柴油中残留的酸、甲醇、催化剂和其他杂质等,降低生物柴油酸值,得到色泽澄清的精制生物柴油。副产物粗甘油可以通过离子交换法、减压蒸馏法和膜过滤法等除去有色杂质,精制甘油不仅可作溶剂、软化剂和干燥剂等,还可以制备 1,3-丙二醇等化工原料。

5 生物柴油质量的指标和标准

生物柴油的生产需要一定的标准作为指导才能保证产品的质量稳定可靠,而标准化也是生产柴油进入市场的前提,因此随着生产柴油的发展,生物柴油质量标准的建立和实施也日益显得重要。

生物柴油的质量指标可以分为两大类。第一类指标与石油柴油相同,包括密度、黏度、闪点、残碳量、十六烷值和灰分等^[34]。另一类指标与石油柴油不同,包括甲醇含量、甘油三酯、游离脂肪酸和含磷量等。这些指标与原料工艺过程有关,是衡量生物柴油的杂质成分^[35]。

由于生物柴油制备原料受产地、气候等的影响和制备工艺的不一致,目前国际上尚无统一的生产和使用标准。但是不同国家都根据本国生物柴油发

展特点和制备工艺水平制定了各自的生物柴油质量标准,对生物柴油的主要质量指标进行规范。

德国是最早推广生物柴油的国家,也是生物柴油生产量最大的国家,早在 1997 年就颁布了生物柴油的产品标准 DIN V 51606。而统一的欧盟生物柴油标准 EN14214 是于 2000 年制定的,2003 年开始生效,可取代欧洲成员标准化委员会(CEN)各成员国单独制定的生物柴油标准。美国则是最早将生物柴油投入商业应用的国家,制定的生物柴油标准 ASTM D 6751 于 2002 年开始正式实施。此后美国对该标准不断进行了修订,目前有效版本是 2008 年修订的 ASTM D 6751-08。

我国也于 2007 年 1 月正式发布了第一个生物柴油国家标准 GB/T 20828—2007《柴油机燃料调合用生物柴油(BD100)》,该标准于 2007 年 5 月 1 日开始正式实施。

目前,世界其他国家如澳大利亚、巴西、泰国等评判生物柴油质量优劣的标准基本上是参照欧盟或美国生物柴油标准制定的。但是世界各国标准组织也正竞相努力,以期率先制定出一种真正获得各国普遍认同的生物柴油标准。

6 微藻制备生物柴油的现状与前景

生物柴油作为新兴的能源产业现在已经成为能源研究领域的热点话题,尤其是微藻生物柴油。科技部于 2009 年开始启动微藻能源方面的 863 重点项目,在“十二五”期间将在 973 计划及 863 计划中对微藻能源予以立项支持。中国科学院著名院士闵恩泽一直极力倡导开展微藻生物柴油的研究,由其倡议的中石化和中科院合作项目“微藻生物柴油成套技术的开发项目”目前正在进行小试研究,预计 2015 年进行户外中试装置研究,2020 年建设工业示范装置。而近年来,中国科学院海洋研究所、暨南大学、中国海洋大学等一些科研单位和大专院校也在积极开展微藻生物柴油的研究,并在微藻筛选和培养方面已取得一定的成果。国家海洋局第一研究所郑力课题组,暨南大学张成武课题组,中国海洋大学的潘克厚课题组等都从事从各种微藻中筛选高油脂含量的藻种和对某些藻种进行分子生物学改造方面的研究。华东理工大学李元广课题组自 1995 年以来,在科技部 863、科技攻关、科技支撑等项目支

持下,一直开展微藻高密度高产率培养技术和新型光生物反应器开发与产业化研究,现在正进行光生物反应器开发的计算流体力学(CFD)模拟研究^[36]。中科院大连化物所张卫课题组开拓了微藻生物能源的发展方向,主要从事微藻产氢和微藻培养技术方面的研究。上海交通大学的缪晓玲教授、清华大学的

吴庆余教授的研究团队主要从事微藻异养培养,油脂提取和生物柴油加工方面的研究,通过异养培养技术获得高脂质的小球藻,脂类化合物占细胞干重的55%(质量分数),而自养培养的小球藻脂类化合物仅为细胞干重的14.57%,酸催化制备的微藻生物柴油品质达到ASTM标准^[37]。

表3 一些国家的生物柴油质量标准与国际石油柴油标准

指标	德国 DIN V 51606	欧盟 EN14214:2003	美国 ASTM D 6751-07b	中国 GB/T 20828-2007	石油柴油 EN 90:1999
密度(15℃, g/cm ³)	0.875 ~ 0.90	0.86 ~ 0.90		(20) 0.82 ~ 0.90	0.82 ~ 0.845
运动黏度(40℃, mm ² /s)	3.5 ~ 5.0	3.5 ~ 5.0	1.9 ~ 6.0	1.9 ~ 6.0	2.0 ~ 4.5
馏程	—	—	90%, 360℃	—	85%, 350℃ ~ 95%, 360℃
闪点(FP, °C)	110 min	120 min	93 min	130 min	55 min
冷滤点(CFPP, °C)	夏季 0 春秋季 -10 冬季 -20	各国有差异	—	—	各国有差异
十六烷值	>49	> 51	>47	> 49	> 51
10% 蒸余物残碳(质量分数, %)	0.3	0.3	—	0.3	0.3
灰分含量(硫酸盐, %)	0.03	0.02	0.02	—	—
灰分含量(氧化物, %)	—	—	—	0.02	0.1
水分含量(mg/kg)	300	500	500	500	200
总杂质含量(mg/kg)	20	24	—	—	24
游离甘油(%)	0.02	0.02	0.02	0.02	—
总甘油(%)	0.25	0.25	0.24	0.24	—
碘值	115	120	—	—	—
磷含量(mg/kg)	10	10	10	—	—

目前微藻生物柴油的工艺开发还处于初步的中试研究阶段。清华大学的刘德华教授研究团队建立的生物酶法生产生物柴油的关键技术工艺,生物柴油纯度可达90%左右^[38],现已在河北等地进行中试生产。北京化工大学谭天伟教授利用微藻与微生物联合培养产生的脂肪酶,开发的反应和分离耦合的连续酶法转化油脂合成生物柴油新工艺,生物柴油转化率达96%以上,品质达到欧洲标准^[39]。

由此可见,我国未来微藻生物柴油深入研究就主要集中在以下三个领域:一是微藻的生物学研究,包括筛选和收集藻种,以获得高油脂的微藻种类;研究微藻的生理学和生物化学特性,通过分子生物学和基因工程技术提高微藻的产油率;二是微藻培养系统的发展研究,将实验室规模的培养系统扩展到工业生产还有很多问题需要解决;三是资源可利

用性的分析研究,包括下游副产物的回收利用,如藻体残渣的利用,甘油的回收精制等。

从生物柴油的工业化生产和商业应用方面来说,利用微藻油脂进行生物柴油也是十分可行的,也是实现完全替代石化柴油的最佳途径。而能否实现其工业化主要的难点就是如何降低生产成本,解决这个问题主要可以从以下三方面来进行。一是建立合理的微藻良种选育和评价体系,设计、优化并放大高效低成本的光生物反应器,开发微藻培养系统的优化工艺并放大;二是通过开发利用生物柴油生产过程中的各种废弃物,使其产生经济价值,并减少对环境的污染。在微藻培养过程中使用的培养基可以作为肥料,或用于微生物发酵和产生沼气。此外利用工业废水、废气培养微藻进行油脂生产不仅能够处理废水、废气等而起到环境保护的作用,还可以尽量

降低油脂的生产成本;三是微藻生物精炼,从提取油脂后的藻体中分离出蛋白质、多糖、色素、多不饱和脂肪酸(如DHA、EPA)等高附加值微藻生物活性物质,并将其深入开发新产品。纯化精制生物柴油生产过程中的甘油副产物用于化妆品、医药行业,或将甘油转化成丙二醇等化工原料,以增加产值,最终最大限度实现可持续的循环发展。

微藻生物柴油现在的发展十分迅速,且潜力巨大。欧美等国家的微藻生物柴油产业的起步早,已经开始进入从实验室走向中试和工业生产的阶段。而其他如巴西、印度、日本、韩国、泰国等国家的政府都制定了生物柴油研发计划,对生物柴油给予强有力的政策支持和资金投入。世界上的大部分能源科研机构和石油公司对微藻生物柴油研发的人力和资金投入也在不断加大。我国的微藻生物柴油研发还处于初级阶段,与其他新兴产业一样,国家政策还没有形成支持生物柴油产业发展的长效机制。我国海域广阔,大部分有待开发,若将这些海域充分利用起来大量培养海洋微藻,可以带来十分巨大的经济利益和生态效益,这对于缓解我国石油紧缺现状,保障我国能源安全、保护生态环境都有十分重要的意义。

参考文献:

- [1] Groom M J, Gray E M, Townsend P A. Biofuels and biodiversity: principles for creating better policies for biofuel production [J]. *Conserv Biol*, 2008, 22(3): 602-609.
- [2] Miao X, Wu Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgae oil [J]. *Bioresour Technol*, 2006, 97(6): 841-846.
- [3] Chisti Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol [J]. *Trends Biotechnol*, 2008, 26(3): 126-131.
- [4] Collyer D M, Fogg G E. Studies on fat accumulation by algae [J]. *J Exp Bot*, 1955, 6(2): 256-275.
- [5] Ozkurt I. Qualifying of safflower and algae for energy [J]. *Energy Educ Sci Technol A*, 2009, 23: 145-151.
- [6] Bozbas K. Biodiesel as an alternative motor fuel: production and policies in the European Union [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2008, 12(2): 542-552.
- [7] Demirbas A. Production of biodiesel from algae oils [J]. *Energy Sources Part A*, 2009, 31(2):163-168.
- [8] Meng X, Yang J, Xu X, Zhang L, et al. Biodiesel production from oleaginous microorganisms [J]. *Renew Energ*, 2009, 34(1): 1-5.
- [9] Knothe G, Van Gerpen J, Krahl J. *The Biodiesel handbook* [M]. Champaign: AOCS Press, 2005.
- [10] Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances [J]. *Plant J*, 2008, 54(4): 621-639.
- [11] 韩笑天, 郑立, 孙珊, 等. 海洋微藻生产生物柴油的应用前景[J]. *海洋科学*, 2008, 32 (8): 76-81.
- [12] Roessler P G. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom *Cyclotella cryptica* [J]. *J Phycol*, 1988, 24(3): 394-400.
- [13] Martin Wagner, Katharina Hoppe, Tibor Czabany, et al. Identification and characterization of an acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 2 (DGAT2) gene from the microalga *O. Tauri* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48 (6): 407-416.
- [14] Wang Z T, Ullrich N, Joo S, et al. Algal lipid bodies: stress induction, purification and biochemical characterization in wild-type and starchless *Chlamydomonas reinhardtii*. [J]. *Eukaryot Cell*, 2009, 8: 1856-1868.
- [15] Ma F, Hanna M A. Biodiesel production: a review [J]. *Bioresour Technol*, 1999, 70(1):1-15.
- [16] Neuma T, Silva A C, Neto A A D. New microemulsion systems using diesel and vegetable oils [J]. *Fuel*, 2001, 80(8): 75-81.
- [17] Xiaoling Miao, Qingyu Wu, Changyan Yang. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2004, 71(2): 855-863.
- [18] De Filippis P, Giavarini C, Scarseua M, et al. Transesterification processor for vegetable oils: a simple control method of methyl ester content [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1995, 72(11): 1399.
- [19] 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): 219-222
- [20] 钟鸣, 张秀兰, 李玉玲, 等. 磷酸催化地沟油制备生物柴油的研究[J]. *信阳师范学院学报: 自然科学版*,

- 2008, 21 (4): 570-572.
- [21] Vicente G, Martinez M, Aracil J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems[J]. *Bioresource Technology*, 2004, 92 (3) : 297-305.
- [22] 刘伟伟, 马欢, 张无敌, 等. Ba(OH)₂ 催化酯交换反应制备生物柴油 [J]. *农业工程学报*, 2008, 24 (8): 197-201.
- [23] 鲁明波, 余龙江, 薛勇, 等. 生物柴油的酶促合成研究[J]. *中国油脂*, 2005, 30 (11): 62-64.
- [24] Ayato Kawashima, Koh Matsubara, Katsuhisa Honda. Development of heterogeneous base catalysts for biodiesel production [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99 (9): 3439-3443.
- [25] Shiro Saka, Yohei Isayama, Zul Ilham, et al. New process for catalyst-free biodiesel production using subcritical acetic acid and supercritical methanol [J]. *Fuel*, 2010, 89(7): 1442-1446.
- [26] Alok K S, Sandun D F, Rafael H. Base-Catalyzed Fast Transesterification of Soybean Oil Using Ultrasonication [J]. *Energy Fuels*, 2007, 21(2): 1161-1164.
- [27] Azcan N, Danisman A. Microwave assisted transesterification of rapeseed oil [J]. *Fuel*, 2008, 87(10-11): 1781-1788.
- [28] Gogate P R, Kabadi A M. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2009, 44(1): 60-72.
- [29] Le Tu Thanh, Kenji Okitsu, Yasuhiro Sadanaga, et al. A two-step continuous ultrasound assisted production of biodiesel fuel from waste cooking oils: a practical and economical approach to produce high quality biodiesel fuel[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(14): 5394-5401.
- [30] Nicholas E L, Lauren M S. Fast, Easy Preparation of Biodiesel Using Microwave Heating [J]. *Energy & Fuels*, 2006, 20(5): 2281-2283.
- [31] Amil Pal, Ashish Verma, Kachhwaha SS, et al. Biodiesel production through hydrodynamic cavitation and performance testing [J]. *Renewable Energy*, 2010, 35 (3): 619-624.
- [32] Danquah MK, Ang L, Uduman N, et al. Dewatering of microalgal culture for biodiesel production: exploring polymer flocculation and tangential flow filtration [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2009, 84: 1078-1083.
- [33] Lee J-Y, Yoo C, Jun S-Y, Ahn C-Y, Oh H-M. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae [J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101: S75-77.
- [34] Xu H, Miao X, Wu Q. High quality biodiesel production from a microalgae *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters [J]. *J Biotechnol*, 2006, 126(4): 499-507.
- [35] 刘艳丽, 马丹, 刘寿长. 生物柴油的质量及其标准化 [J]. *生物质化学工程*, 2007, 41(3): 52-55.
- [36] 孔维利, 陈剑佩, 李元广. 能源微藻敞开式光生物反应器增设内构件 CFD 研究[J]. *化工进展*, 2010, 29: 107-112.
- [37] 缪晓玲, 吴庆余. 藻类异养转化制备生物油燃料技术 [J]. *可再生能源*, 2004, 4: 41-44.
- [38] 吕丹, 杜伟, 刘德华, 等. 游离脂肪酶 NS81006 催化含酸油脂制备生物柴油的应用研究[J]. *高校化学工程学报*, 2010, 24(1): 82-86.
- [39] 谭天伟, 孙海洋, 王芳, 等. 一种生物柴油的精制方法: 中国, 101220290A[P]. 2008-07-16

(本文编辑: 康亦兼)