

产生物柴油微藻培养研究进展*

郑洪立¹ 张 齐¹ 马小琛¹ 纪晓俊¹ 金 平² 黄 和^{1**}

(1 南京工业大学制药与生命科学学院 南京 210009 2 抚顺石油化工研究院 抚顺 113001)

摘要 石油的大量使用会导致能源枯竭和温室气体(CO₂)排放的增加。为了实现经济 and 环境的和谐发展,必须使用可再生能源代替石油。可再生能源使用后不会造成温室气体排放的增加。生物柴油是一种理想的可再生能源,能满足以上要求,所以近年来得到迅速发展。微藻是一种主要利用太阳能固定 CO₂,生成制备生物柴油所需油脂的藻类。因此以微藻油脂为原料转化成的生物柴油是石油理想的替代品。简要介绍了产油微藻的种类和微藻油脂的合成,较详细地阐述了微藻自养培养、异养培养、生物反应器、工程微藻的最新研究进展,并初步展望了微藻产油研究的未来发展方向。

关键词 微藻油脂 微藻培养 生物反应器 工程微藻 生物柴油

中图分类号 Q949.2

目前各国大力发展的生物柴油,已成为国际上发展最快、应用最广的环保型可再生能源。生物柴油是以生物体油脂为原料,通过分解、酯化而得到的长链脂肪酸甲酯,是一种可以替代现有普通柴油使用的环保、可再生能源。生物柴油的原料来自植物油脂(大豆油、玉米油、菜籽油、棕榈油等)、动物油脂(各种动物脂肪)、微藻油脂以及废弃食用油(地沟油)等。生物柴油作为化石燃料的替代品,与化石柴油及燃料乙醇等其他液体燃料相比,有着突出的特性:不含石蜡,闪点高,燃烧性能和效率要高于普通柴油,使用时更安全;同时可以通过种植、养殖或培养源源不断地得到其原料,因而可再生;生物柴油产品中含硫和氮较少,可以减少 SO₂ 和 NO 的排放。目前以植物油脂和动物油脂为原料生产的生物柴油大约占所需柴油的 3%,而增加生物柴油所需的植物油脂和动物油脂的产量将导致世界粮食供应问题^[1]。与其他油料作物相比,利用微藻培养生产生物柴油所需占地面积最少(表 1),同时微藻培养可以利用滩涂地、荒废地等非耕地,因此微藻培养生产生物柴油不会导致世界粮食供应问题。从所需用地面积占全球总面积角度看,利用微藻油脂作为原料生产的生物柴油是目前最有可能满足世界运输所需燃料的

可再生能源。随着人类社会资源短缺的压力和环境问题日益突出,通过微藻转化生产生物柴油及其它相关代谢产品,部分替代化石能源,将是可持续发展的必然要求。因此,进一步探索有关微藻积累油脂的机制等具有重要的现实意义。本文拟简要介绍产油微藻的种类和特征、油脂合成、微藻培养及工程微藻等方面的最新研究进展,并对微藻油脂研究的未来发展方向进行展望。

1 产油微藻及其油脂的生物合成

1.1 微藻生产生物柴油的研究历史

微藻作为生物柴油原料的研究始于 20 世纪 60 年代^[2]。20 世纪 70 年代中东战争等因素导致国际原油供应紧张^[3]。美国、日本、澳大利亚等西方国家为了减少对进口原油的依赖,大力资助微藻培养产油项目^[4~6]。虽然利用微藻产油工艺在当时是可行的,但生产出油的成本比当时石油价格高出好几十个百分比^[6]。有关微藻油脂的探索此后一度集中在获取功能性油脂,如 DHA^[7]。近年来,随着现代工业生物技术的发展,已获得更多具有高产油能力或其抗菌能力强的产油微藻资源,提高了微藻产油的效率^[8,9]。同时 20 世纪 90 年代以来世界经济的快速发展,对石油需求大大增加,大量使用石油导致能源短缺、环境恶化等问题,世界各国又开始大力发展微藻产油^[10,11]。

收稿日期:2008-10-15 修回日期:2008-11-06

* 国家“973”计划资助项目(2007CB707805)

**通讯作者,电子信箱:biotech@njut.edu.cn

表 1 不同植物油脂生产生物柴油效率的比较^[1]

Table 1 Comparison of crop-dependent biodiesel production efficiencies from plant oils^[1]

植物油 Plant source	生物柴油产量 (升/公顷/年) Biodiesel (L/ha/year)	生产全球生物柴油用地面积 (公顷 × 10 ⁶) Area to produce global oil demand (hectares × 10 ⁶)	用地面积占 全球总面积百分比 Area required as percent global land mass	用地面积占全球 可耕地面积百分比 Area as percent global arable land
棉籽油	325	15,002	100.7	756.9
大豆油	446	10,932	73.4	551.6
芥子油	572	8,524	57.2	430.1
葵花油	952	5,121	34.4	258.4
油菜油	1,190	4,097	27.5	206.7
麻疯树油	1,892	2,577	17.3	130
棕榈油	5,950	819	5.5	41.3
油藻 (三酰甘油含量 30%)	12,000	406	2.7	20.5
油藻 (三酰甘油含量 50%)	98,500	49	0.3	2.5

1.2 产油微藻种类

藻类是最原始的生物之一，通常呈单细胞、丝状体或片状体，结构简单，整个生物体都能进行光合作用，所以光合作用效率高，生长周期短、速度快。藻类按大小可分为大藻（如海带、紫菜、裙带菜等）和微藻（为单细胞或丝状体，直径小于 1mm）。产油微藻（*Oleaginous microalgae*）为在一定条件下能将二氧化碳、碳水化合物、碳氢化合物和普通油脂等碳源转化为藻体内大量贮存的油脂，且油脂含量超过生物总量 20% 的微型藻类^[12]。相应地，从产油微藻中提取的油脂称为微藻油脂。早在 20 世纪 50 年代，国外就对利用微藻生产不饱和脂肪酸进行研究。迄今为止，已测定脂肪酸含量的微藻达上百种。它们隶属于硅藻、红藻、金藻、褐藻、绿藻、甲藻、隐藻、蓝藻和黄藻。一般藻类细胞中均含有油脂，不同藻其油脂含量有明显差异，甚至同一种的不同品系也存在着很大差别（表 2）。有的微藻含油量超过其生物总量的 80%^[13]。目前作为生物柴油原料的微藻有绿藻、硅藻和部分蓝藻。含油量高的藻种有角毛藻 CS 178（*Chaetoceros calcitrans* CS 178）和陆兹尔巴夫藻 CS 182（*Pavlova lutheri* CS 182）^[14]、原始小球藻（*Chlorella protothecoides*）^[15]、紫球藻（*Porphyridium cruentum*）^[16]、舟形藻（*Navicula jeffreyi* Hallegraeff et Burford）^[17]等。

产油微藻资源丰富，能在多种培养条件下生长，进行工业规模生产和开发有着巨大的潜力。目前，微藻已实现规模化培养获取高附加值脂肪酸^[18~20]，如二十碳五烯酸（EPA）^[18]、花生四烯酸（ARA）^[19]、二十二碳六烯酸（DHA）^[20]等的重要原料。最近我国研究人员

表 2 部分微藻含油量^[10]

Table 2 Oil content of some microalgae^[10]

微藻 Microalgae	含油量（% 干重） Oil content （% dry weight）
布朗葡萄藻（ <i>Botryococcus braunii</i> ）	25 ~ 75
小球藻（ <i>Chlorella</i> sp.）	28 ~ 32
隐甲藻（ <i>Cryptocodinium cohnii</i> ）	20
细柱藻（ <i>Cylindrotheca</i> sp.）	16 ~ 37
杜氏盐藻（ <i>Dunaliella primolecia</i> ）	23
等鞭金藻（ <i>Isochrysis</i> sp.）	25 ~ 33
单胞藻（ <i>Monallanthus salina</i> ）	> 20
小球形绿色藻（ <i>Nannochloris</i> sp.）	20 ~ 35
微拟球藻（ <i>Nannochloropsis</i> sp.）	31 ~ 68
南极冰藻（ <i>Neochloris oleoabundans</i> ）	35 ~ 54
菱形藻（ <i>Nitzschia</i> sp.）	45 ~ 47
三角褐指藻（ <i>Phaeodactylum tricornutum</i> ）	20 ~ 30
裂壶藻（ <i>Schizochytrium</i> sp.）	50 ~ 77
融合微藻（ <i>Tetraselmis sueica</i> ）	15 ~ 23

任路静等人报道了利用隐甲藻（*Cryptocodinium cohnii*）进行发酵产 DHA，产量可达 4.08 g/L，显示出很好的应用前景^[21]。同时，由于微藻油脂在脂肪酸组成上同其他植物油如菜籽油、棕榈油、大豆油等相似，富含饱和和不饱和的长链脂肪酸，是生产生物柴油良好的原料。

利用藻类培养生产生物柴油，可克服石油资源不可再生的缺点，减少 CO₂ 的排放，净化废气和污水。由于许多微藻可进行大规模人工培养，产量高、周期短，因此微藻油脂转化成的生物柴油作为石油替代能源具有深远意义。

1.3 微藻油脂的生物合成

微藻含有大量的叶绿素，具有很强的光合作用能力。微藻油脂的合成始于光合作用，光能经过微藻光

合系统中的 PS I 和 PS II 等转变成化学能,后经过一系列能量传递,进入卡尔文循环。在卡尔文循环中核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶催化核酮糖-1,5-二磷酸固定二氧化碳生成 3-磷酸甘油酸,3-磷酸甘油酸可进一步生成其它油脂(图 1)。这个酶促反应是油脂合成和氧化过程中限制速率的关键调节步骤,因此核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶是油脂生物合成途径的关键限速酶。在自然条件下,合成的油脂主要构成细胞膜。Liliana 等^[14]人研究表明,培养基中氮的水平是影响微藻油脂积累的最主要因素;当氮含量较低时,微藻细胞内蛋白质减少,而脂肪和碳水化合物增加,随着氮营养水平的降低,出现三酰甘油的积累;氮短缺或受限时,会加快微藻细胞内油脂的积累;氮浓度的改变也会影响微藻的脂肪酸组成。其他条件也会影响微藻油脂的积累。这些因素影响微藻油脂积累的机制并不清楚。有些微藻在正常条件下油脂含量是其干重的 10% ~ 30%。当氮缺乏时,裂壶藻(*Schizochytrium* sp.) 含油量可高达 50% ~ 77%, 南极冰藻(*Neochloris oleabundans*) 可达 35% ~ 54%, 菱形藻(*Nitzschia* sp.) 可达 45% ~ 47%^[8,9]。

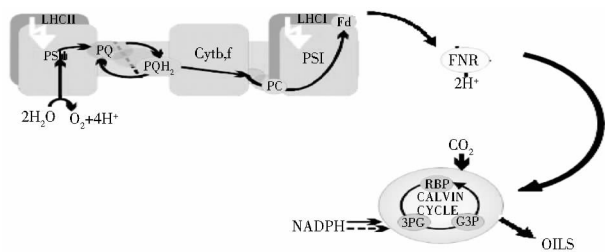


图 1 微藻利用太阳能和 CO₂ 合成油脂示意图^[1]

Fig. 1 The process of photosynthesis converts solar energy and carbon dioxide into oils by microalgae^[1]

2 产生物柴油微藻培养

2.1 微藻自养培养

在自然界微藻被归类为自养型微生物,因其细胞内存在光合作用系统 PSII 也被称为微藻植物。人工培养过程中依据是否需要外界提供有机物来维持生活将微藻分为自养微藻和异养微藻、混养微藻。自养微藻作为生物柴油的原料有如下优势:(1) 微藻较其他产油植物具有更高的光合效率;(2) 微藻一年四季都可生长,可以不间断地为生物柴油提供原料;(3) 微藻可以生长在海水和废水中,减少水资源的浪费;(4) 微藻利用 CO₂ 产油,使用微藻产的柴油可以实现 CO₂ 零排

放;(5) 生产的生物柴油无毒,而且可以高度生物降解;(6) 可利用废弃的土地、不能耕种的土地以及海边滩涂地来培养微藻,从而不占用有限的可耕地资源;(7) 可利用工业排放的 CO₂ 来培养微藻,减少 CO₂ 的排放;(8) 培养微藻所需的肥料(如磷、氮等)可以从废水中获得;(9) 微藻培养不需要杀虫剂或除草剂;(10) 微藻提油后的残留物可以用作肥料或饲料,也可以用来发酵产乙醇或沼气。

微藻的高密度大规模自养培养是提高微藻生长速率,降低生产成本,实现微藻生物柴油产业化发展的必经之路。微藻规模化自养培养的方式有两种:跑道式大池培养和管状光生物反应器培养。跑道式大池培养是螺旋藻和小球藻等少数微藻进行商业化生产常用的方法,由于很多微藻不抗杂菌或抵抗杂菌的能力较弱,跑道式大池培养发展受到很大限制。管状光生物反应器培养可以很好的控制培养条件,使其更适合于微藻生长,一年四季都可以培养。但管状光生物反应器目前还存在微藻粘壁的现象,影响其产量,同时存在光不能照射到管道中部的问题。两种培养方式各自的优劣见表 3。目前利用微藻培养生产生物柴油主要是采用管状光生物反应器培养。国外已经开发出微藻工厂化大规模培养生产生物柴油的系统(图 2)。

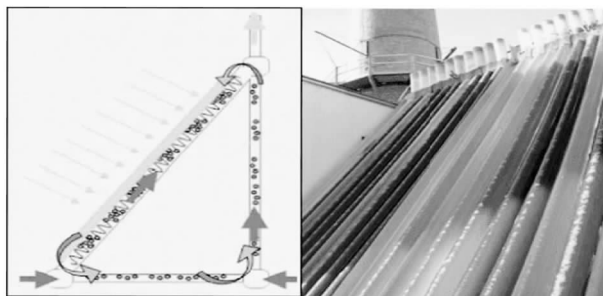


图 2 微藻封闭式培养系统^[1]

Fig. 2 The cultivation system for microalgae^[1]

大量研究表明,微藻中油脂组成及含量与环境条件和培养基组成密切相关,所以利用微藻培养生产油脂,必须分析培养条件的影响。微藻自养培养的研究主要集中于影响产油藻类生长之因子如光照强度^[22]、光质^[23]、pH 值^[24]、培养基(无机碳源、氮源等)^[25]、温度^[26]等。微藻自养需要碳源,通 CO₂ 或空气也是目前微藻自养研究的热点之一^[27]。可利用煤炭火力发电厂排出的 CO₂ 或直接通 CO₂(空气)来解决大规模培养所需的碳源问题。

表 3 微藻跑道式大池和管状光生物反应器
两种培养方式的比较^[28]

Table 3 Comparison between raceway ponds and tubular photobioreactors of microalgal cultivation^[28]

培养系统 System	跑道式大池培养 Raceway ponds	管状光生物反应器培养 Tubular photobioreactors
光能利用率	很好	很好
控温	不能	能
通气	不好	好(可控)
产氧	少	多
富集程度	低	从低到高
微藻所受水压	很难	很容易
污染物控制	没有	可控
无菌程度	低	高
成本	低	高
产量	低	高

微藻自养具有耗能少,容易生长。但目前还存在生长速率较低、采收成本偏高、细胞密度较低、产率也较低、占地面积较大、生长周期偏长等问题。

2.2 微藻异养培养

微藻异养培养不受光照的影响,生长较自养快,因此可以取得更高的产量,同时可缩短培养周期。微藻的异养一般是发酵。异养培养基一般都是在自养培养基的基础上适量添加有机物后改进而成的。不同的微藻所需求的有机物有差异,葡萄糖的应用最多,并能达到很高的产量,但葡萄糖并非所有微藻的最好碳源和能源。Tsavalos 和 Day 用乙醇作为碳源使咸胞藻 (*Brachiomonas submarina*) 的产量比原先增加了 20 倍^[29]。其他有机物如:果糖、蔗糖等也用作碳源,但效果并不理想。不同的碳源对淡水藻和海水藻的影响也不一样。Wood 等^[30]人研究表明醋酸盐促进淡水藻的生长,但对海水藻没有作用,甚至有毒害作用。由于异养微藻能耗高,培养成本高,目前普遍用来生产高附加值脂肪酸^[18-20],若用来生产生物柴油会造成成本过高且会增加 CO₂ 的排放。

2.3 微藻生物反应器

利用管状光生物反应器来培养微藻,能够最大限度调控微藻,提高产量。Wei 等^[31]报道,利用该技术,使原始小球藻 (*Chlorella protothecoides*) 从培养 184h 产量为 16.8g/L 提高到培养 167h 产量达 51.2g/L,提高了 2 倍多。微藻在生物反应器中培养的相关动力学模型建立也是目前研究热点之一^[32]。微藻生物反应器用来去除工厂排放尾气中的 CO₂,除去率可达 75% 以上^[33]。同时,生物反应器的使用可以防止污染^[34]。但利用生物反应器培养微藻也存在一些限制因素如:光

的穿透、温度控制比较困难等问题^[35]。此外,目前该培养技术成本较高^[36]。

对于大多数不适合开放培养或经济价值较高的基因工程微藻可采用管状光生物反应器培养。管状光生物反应器操作简单,培养条件、参数易控制,条件稳定,成品质量高,可实现全年无菌纯种培养,能较大幅度地提高微藻细胞密度,其生长速率和生物量已接近大肠杆菌。管状光生物反应器近些年已应用于微藻的商业性、高密度大规模培养生产高附加值脂肪酸^[18-20]。但管状光生物反应器在规模培养过程中的能耗大、生产成本相对较高,因此用来生产生物柴油还需要较好解决微藻最佳的培养条件和最低的成本消耗:即选择合适的光照方式,提高光能利用率;选用合适的培养系统,达到最大培养数量。除了日光和外置光源照射外,采取最小化光的传输路径、最大化照明表面积与培养液体积比率等的设计,如加装内部照明装置的纤维玻璃光生物反应器等也可以较好解决光照等问题,提高产率。以上问题的很好解决将有助于微藻油脂生产生物柴油的产业化。

3 工程微藻的最新研究进展

美国可再生能源实验室在工程微藻方面做了大量的工作,20 世纪 90 年代发现了影响微藻光合作用的乙酰辅酶 A 羧化酶基因和硝酸还原酶基因,并首次建立了外源基因导入小球藻的转化系统,并建成“工程微藻”,即硅藻类的一种“工程小环藻”^[37]。在实验室条件下可使“工程微藻”中油脂含量增加到 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含量为 5% ~ 20%。“工程微藻”中脂质含量的提高主要由于乙酰辅酶 A 羧化酶(*ACC*)基因在微藻细胞中的高效表达,在控制脂质积累水平方面起到了重要作用。目前,他们正在研究选择合适的分子载体,使 *ACC* 基因在细菌、酵母和植物中充分表达,进一步将修饰的 *ACC* 基因引入微藻中以获得更高效表达。Pereira 等^[38]人发现 EPA 转化成 DHA 的两个关键基因 *pavELO* 和 *IgD4*。

国内关于微藻基因工程的研究在最近十年中发展较快。我国从 1998 年国家启动海洋“863”计划后,参与的人员和获得的成果增长速度明显超过国外,成为国际上在藻类基因中表达外源基因最多的国家。据统计,国内外所得的外源基因表达效率多为宿主细胞可溶性蛋白的 0.1% ~ 0.9%。施定基等人研究提高了外

源基因转化蓝藻的效率 5~6 倍,并提高了基因表达效率 4~5 倍^[39]。

为提高微藻产油能力,对微藻的改造至少可从以下三方面进行:一是加快微藻的生长速度;二是提高微藻的光合效率;三是增加微藻含油量。目前微藻基因工程在技术水平上至少有三个问题需要解决:一是发现相关基因;二是寻找合适的载体;三是提高外源基因在藻类中的表达效率。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:微藻生产能力强、用海水等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 展 望

在研究、开发和利用微藻油脂的过程中,还存在一些具体问题,主要包括:第一,微藻细胞小,生长缓慢。通过传统的光合自养培养体系在单位时间内难以获取高生物量;第二,开放式培养过程中微藻易被污染;第三,微藻在光生物反应器中培养有粘壁现象;第四,光线如何照射到光生物反应器中部的微藻;第五,缺氮等虽有利于油脂的合成和积累,但不利于微藻的光合作用和快速生长;第六,进一步降低微藻培养的能耗问题;第七,如何提高微藻固定 CO₂ 效率;第八,微藻的收获问题。以上这些给工艺设计和生产带来了较大困难,阻碍了利用微藻生产油脂的进程。

利用微藻大规模培养生产生物柴油在国内是一个崭新的领域。随着对藻种选育研究和微藻的工程改造继续深入,培养条件、培养方式、生物反应器等的不断改进,提取、分离和转化的工艺不断完善,这无疑将有助于克服微藻生产上所面临的困难。因此微藻生产生物柴油不仅具有重要的科学意义,更具有潜在的应用前景。

致 谢

感谢中国石油化工集团公司科技开发部资助。

参考文献

- [1] Peer M S, Skye R T, Evan S, et al. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Research*, 2008, 1: 20~43
- [2] Oswald W J, Golueke C G. Biological transformations of solar energy. *Adv Appl Microbiol*, 1960, 2: 223~262
- [3] 杨夏鸣. 高价原油: 原因、影响及中国的对策选择. *世界经济与政治论坛*, 2005(2): 25~30
Yang X M. *Forum of World Economy and Politics*, 2005(2): 25~30
- [4] Yusuf C. Response to reijnders: Do biofuels from microalgae beat biofuels from terrestrial plants? *Trends Biotechnol*, 2008, 26: 351~352
- [5] Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, et al. A look back at the U S department of energy's aquatic species program: biodiesel from algae. U. S. Report NREL/TP-580-24190. Golden CO: National Renewable Energy Laboratory. 323p, 1998
- [6] Yusuf C. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol*, 2008, 26: 126~131
- [7] Gaelle P, Laurent P, Samia S, et al. Use of lipases for the production of a DHA-rich lipid fraction from the microalgae *Isochrysis galbana*. *Abstracts /Journal of Biotechnology*, 2007, 131S: S74~S97
- [8] Metting F B. Biodiversity and application of microalgae. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 1996, 17: 477~489
- [9] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng*, 2006, 101: 87~96
- [10] Yusuf C. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 2007, 25: 294~306
- [11] 吴义真, 邹有土, 林琳. 脂肪酶催化合成生物柴油的瓶颈问题及其对策. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(2): 117~123
Wu Y Z, Zou Y T, Lin L. *China Biotechnology*, 2008, 28(2): 117~123
- [12] Chiara B, Inna K, Sammy B, et al. Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid. *Phytochemistry*, 2002, 60: 497~503
- [13] Dong H S, Jing J F, Ding J S. Exploitation of oil-bearing microalgae for biodiesel. *Chin J Biotech*, 2008, 24(3): 341~348
- [14] Liliana R, Graziella C Z, Niccolò B, et al. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, doi: 10. 1002/bit. 22033
- [15] Gao C F, Xiong W, Zhang Y L, et al. Rapid quantitation of lipid in microalgae by time-domain nuclear magnetic resonance. *Journal of Microbiological Methods*, 2008, doi: 10. 1016/j. mimet. 2008. 07. 019
- [16] Milan C, Sakayu S. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. *J Biosci Bioeng*, 1999, 87(1): 1~14
- [17] Maged P M, Dion M F, Peter D N, et al. Lipid and fatty acid

- yield of nine stationary-phasemicroalgae: applications and unusual C24 ~ C28 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Applied Phycology*,2005,17: 287 ~ 300
- [18] 曹小红,赵玉华,鲁梅芳,等. 硅藻变温发酵生产二十碳五烯酸的研究. *中国生物工程杂志*, 2007, 27 (12): 57 ~ 60
Cao X O, Zhao Y H, Lu M F, et al. *China Biotechnology*, 2007, 27 (12): 57 ~ 60
- [19] Ming J J, He H, Ai H X, et al. Enhancing arachidonic acid production by *Mortierella alpina* ME-1 using improved mycelium aging technology. *Bioprocess Biosyst Eng*; DOI10. 1007/s00449-008-0229-1
- [20] Thierry T, David H, Tony R L, et al. Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacylglycerols in four microalgae. *Phytochemistry*,2002,61:15 ~ 24
- [21] 任路静,金明杰,纪晓俊,等. 利用 *Cryptocodinium cohnii* 高密度发酵生产 DHA 的流加策略研究. *食品与发酵工业*, 2007,33(1):25 ~ 28
Ren L J, Jin M J, Ji X J, et al. *Food and fermentation industries*, 2007,33(1):25 ~ 28
- [22] Masakazu I, Nobuyasu K, Jun M. Distinct physiological responses to a high light and low CO₂ environment revealed by fluorescence quenching in photoautotrophically grown *Chlamydomonas reinhardtii*. *Photosynth Res*, 2007, 94: 307 ~ 314
- [23] Wong C Y, Chu W L, Marchant H, et al. Comparing the response of Antarctic, tropical and temperate microalgae to ultraviolet radiation (UVR) stress. *J Appl Phycol*,2007,19: 689 ~ 699
- [24] Joseph W R, Albania G. The Effects of pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and its interactions with cadmium toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol*,1991,20:505 ~ 508
- [25] Sindy G M, Christophe M, Jean L G, et al. Diatom artificial medium (DAM): a new artificial medium for the diatom *Haslea ostrearia* and other marine microalgae. *J Appl Phycol*,2007,19: 549 ~ 556
- [26] Ming L T, Wan L C, Harvey M, et al. Influence of culture temperature on the growth, biochemical composition and fatty acid profiles of six Antarctic microalgae. *Journal of Applied Phycology*,2004,16:421 ~ 430
- [27] Julian N R, George A O, Loy W, et al. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Biotechnology*,2008,19:430 ~ 436
- [28] Rosello S R, Csogor Z, Perner N, et al. Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors—a conceptual approach. *J Biotechnol*,2007,132:127 ~ 133
- [29] Alexander J T, John G D. Development of media for the mixotrophic/heterotrophic culture of *Brachiomonas submarina*. *Journal of Applied Phycology*,1994,6:431 ~ 433
- [30] Wood B J B, Grimson PH K, German J B, et al. Photoheterotrophy in the production of phytoplankton Organisms. *Journal of Biotechnology*,1999,70:175 ~ 183
- [31] Wei X, Xiu F L, Jin Y X, et al. High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. *Appl Microbiol Biotechnol*,2008,78:29 ~ 36
- [32] Perez E B, Pina I C, Rodriguez L P. Kinetic model for growth of *Phaeodactylum tricornutum* in intensive culture photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*,2008,40:520 ~ 525
- [33] Keffer J E, Kleinheinz G T. Use of *Chlorella vulgaris* for CO₂ mitigation in a photobioreactor. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*,2002,29:275 ~ 280
- [34] Kamonpan K, Artiwan S, Sorawit P, et al. Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor. *Bioresource Technology*,2007,98: 288 ~ 295
- [35] Sierra E, Acien F G, Fernandez J M, et al. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*,2008,138:136 ~ 147
- [36] Ono E, Cuello J L. Feasibility assessment of microalgal carbon dioxide sequestration technology with photobioreactor and solar collector. *Biosystems Engineering*,2006, 95 (4):597 ~ 606
- [37] Terri G D, Eric E J, Kathryn G Z, et al. Genetic engineering of microalgae for fuel production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*,1992,34:331 ~ 339
- [38] Pereira S, Leonard A E, Huang Y S, et al. Identification of two novel microalgal enzymes involved in the conversion of the x3-fatty acid, eicosapentaenoic acid, into docosahexaenoic acid. *Biochem J* 2004,384(3): 57 ~ 66
- [39] 施定基,冉亮,李艳,等. 丝状体蓝藻高效表达盒和含有该表达盒的载体. *中国*, ZL00132268,0. 2004-10-13
Shi D J, Ran L, Li Y, et al. *China*, ZL00132268,0. 2004-10-13

Research Progress on Bio-diesel-producing Microalgae Cultivation

ZHENG Hong-li¹ ZHANG Qi¹ MA Xiao-chen¹ JI Xiao-jun¹ JIN Ping² HUANG He¹

(1 College of Life Science and Pharmacy, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

(2 Fushun Research Institute of Petroleum and Petrochemicals, Fushun 113001, China)

Abstract The excessive use of fossil fuels will lead to the depletion of natural energy resources and greenhouse gas (CO₂) emission increase thus is considered unsustainable. To achieve the harmonious development of economy and environment, fossil fuels need to be replaced by renewable energy resources. Use of renewable energy will not emit greenhouse gas. Bio-diesel is one of the ideal renewable energy resources and can satisfy the demands for energy requirement and environment protection. So bio-diesel has been fast developed in recent years worldwide. Microalgae absorbs carbon dioxide in the air mainly by using solar energy to generate the microalgae lipids needed for bio-diesel production. And this bio-diesel could be the ideal substitute for fossil fuels. This review provides a brief overview of some features of oleaginous microalgae species and their lipid synthesis, microalgae autotrophy and heterotrophy, bioreactor and engineering microalgae latest research progress. Perspectives of microalgae cultivation for bio-diesel production are also discussed.

Key words Microalgae lipids Microalgae cultivation Bioreactor Engineering microalgae Bio-diesel