微藻生物固碳技术进展和发展趋势

周文广*, 阮榕生*

美国明尼苏达大学生物加工和生物系统工程系, 生物质精炼中心, 圣保罗 55108, 美国

*通讯作者, E-mail: zhouw@umn.edu; ruanx001@umn.edu

收稿日期: 2013-08-01; 接受日期: 2013-09-09; 网络版发表日期: 2013-12-02

doi: 10.1360/032013-256

摘要 大气中 CO_2 含量升高是导致温室效应的主要原因, 因此, 减少 CO_2 的排放和积累是解决全球气候变暖的重点. 传统的 CO_2 减排方法包括捕集(capture)和储存(storage), 涉及化学吸附、物理吸收、膜分离和低温蒸馏等一系列物理化学方法, 但其均存在成本高和不可再生等缺点. 通过种植或养殖生物质可以捕集 CO_2 . 微藻生长周期短、光合效率高, 其 CO_2 固定效率为一般陆生植物的 10~50 倍; 同时微藻生长速度快, 能利用不可耕地, 具有广阔的发展前景. 本文概述了适用的藻种及所能达到的 CO_2 固定效果, 分析了光生物反应器类型、光照强度、光周期、温度、pH、 CO_2 浓度、 CO_2 吸收效率、气体传质效率和营养需求(包括来自市政和工业农废水中的 N、P 等营养)等多种因素对微藻固碳效果的影响. 最后, 对微藻固碳的实际应用和经济可行性进行了评估, 展望了微藻固碳技术的发展和前景.

关键词

微藻
二氧化碳
全球气候变暖
生物固定
光生物反应器

1 引言

随着世界经济的快速发展, 世界对石油需求量大幅增加, 导致化石能源资源日渐枯竭. 另一方面, 石油基能源的大量使用产生了大量的温室气体, 导致全球气候变暖、生态环境恶化, 如海平面上升、洪水泛滥、生态系统改变等^[1-3]. 这些气候变化对中国影响严重, 例如, 最近中国多地出现雾霾天气, 空气污染严重. 因此, 开发清洁的可再生能源和减少碳排放技术已成为当前研究的热点. 目前, CO_2 对温室效应贡献最大, 占整个大气温室效应气体排放的 68% 以上. 因此, CO_2 的减排和控制已成为当前世界各国政府、企业界、学术界关注的焦点之一^[4-8]. 联合国于 1997 年在日本京都制定的《京都议定书》(Kyoto Protocol)明确规定了各国需承担的 CO_2 减排义务, 在 2008~2012 年间, 全球主要工业国家的工业 CO_2 排放量比 1990 年的排放量平均低 5.2%^[1]. 目前, 欧美等国家已经开始征收 CO_2 排放税, 严格管理与控制其

排放. 中国已正式签署了《京都议定书》, 并承诺承担减排义务. 因此, 开发出一整套经济、环保、高效的 CO_2 固定技术成为当务之急^[7].

目前, 用于 CO_2 减排的方法主要包括物理封存法、化学固定法和生物固定转化法. 物理法主要为地下封存, 即将高浓度的 CO_2 注入深海或地质底层如油气井、含盐水层和碱性矿物底层等暂时封埋起来. 其操作相对简单, 但需要选择合适的地质环境和空间, 需要高成本的分离设备和技术(如吸附、物理吸收、膜分离和低温蒸馏等)来收集和浓缩高纯度的 CO_2 ; 此外, 该方法容易泄露, 不具长期可持续发展要求^[9]. 化学固定法包括利用吸附材料(如氢氧化锂)直接吸附固定和通过添加碱性中和试剂以碳酸盐或碳酸氢盐的形式固定 CO_2 . 该方法相对安全且具有永久性, 但试剂需求量大, 成本高. 生物固定 CO_2 技术, 尤其是微藻固定 CO_2 技术, 是世界上最主要和最有效的固碳方式之一, 从长远角度考虑, 其是一

种经济可行、环境友好和可持续性发展的 CO_2 固定技术。微藻作为一种高效固定 CO_2 的微小细胞工厂, 具有以下独特的优点: (1) 能直接利用太阳能, 与物理化学法相比节省了大量的能源; (2) 光合作用效率高, 微藻利用太阳能固定 CO_2 的效率是其他陆生植物的 10~50 倍^[7]; (3) 生长速率快, 微藻繁殖快速(几个小时繁殖一次), 远远高于高等植物^[10]; (4) 能够循环利用 CO_2 , CO_2 可以通过微藻的光合作用转化为生物能源, 生物能源使用时产生的 CO_2 又可被微藻固定转化, 因此该方法环境友好并具可持续性发展^[7]; (5) 环境适应性强, 微藻能忍耐和适应多种极端环境, 能够在沿海滩涂、盐碱地和沙漠等地培养, 不占用可耕地^[11, 12]; (6) 能利用发电厂烟道废气和其他工业尾气为无机碳源, 并利用市政废水和工农业生产废水为营养源(N、P 等)低成本培养微藻^[3, 13~20]; (7) 能同时生产具有高附加值的微藻产品, 用于制备食品、动物及水产养殖饲料、化妆品、医药品、肥料、有特殊用途的生物活性物质及生物燃料(包括生物柴油、生物氢、航空用油、甲烷)等^[2]。基于以上优点, 微藻应用于各领域 CO_2 的减排研究已广泛展开, 如空气净化、发电厂等工业烟道废气及汽车尾气中的 CO_2 净化脱除等。微藻 CO_2 固定技术的另一潜在用途是军事和航天等领域。例如, 在核潜艇和载人航天器等密闭空间中研究如何利用微藻在环境控制和生命保护系统中去除 CO_2 和产生 O_2 ^[21]。微藻固定的 CO_2 主要来自以下 3 个途径: (1) 空气中的 CO_2 (约 0.03%~0.06%, v/v); (2) 工农业排出的废气, 如发电厂烟道废气; (3) 可溶性碳酸盐(NaHCO_3 和 Na_2CO_3)等化学形式固定的 CO_2 ^[2, 7, 21]。图 1 所示为微藻生物固碳及其综合利用系统框架图。为使整个微藻 CO_2 固定系统在经济上更具竞争力和环境友好性, 含 N、P 丰富的市政及工农业废水也被用来代替人工培养基培养微藻。此外, 在微藻下游精炼过程中产生的 CO_2 和制备的生物能源在使用过程中产生的 CO_2 再次被微藻循环利用, 从而使该系统对环境的影响达到最低, 具有非常广阔的应用前景。

利用微藻介导生物固碳技术进行 CO_2 的减排在实际应用方面面临许多困难和挑战。例如, 大多数微藻仅在 CO_2 浓度低于 5% (v/v) 的条件下发挥高效的 CO_2 固定作用, 当浓度高于 5% 时, 微藻细胞生长受到显著抑制^[18, 22, 23], 而通常需要减排的工厂废气中 CO_2 的含量达 10%~20%, 因此, 需要筛选耐受高浓度

图1 微藻生物固碳及其综合利用系统框架图

CO_2 的藻株; 此外, 还需设计新的光生物反应器, 以达到最大的光利用率, 同时找出在微藻大规模培养过程中影响 CO_2 生物固定的各种参数并优化, 并开发低成本的微藻下游处理技术, 进一步降低微藻生物固碳的成本。本文主要综述微藻的大规模培养现状及在 CO_2 减排方面的应用, 重点介绍高效固定 CO_2 微藻的选育、微藻培养反应器、影响微藻大规模培养及高效固碳的关键因素以及微藻收获技术和微藻生物质应用的最新研究进展。此外, 对微藻固碳技术的经济可行性和未来发展的方向进行了分析和探讨。

2 适用藻种来源

微藻是地球上分布最广、种类最多、结构简单的一类形态微小的单细胞或多细胞光合自养生物, 目前已知的微藻藻种有 4 万余种^[2]。碳是微藻细胞的主要组成成分, 微藻细胞内碳含量约占细胞干重的 50%, 每生产 100 t 微藻, 可以固定减排 183 t CO_2 ^[2, 11]。一般地, 提高微藻固定 CO_2 的能力可以从生物和工程两方面着手。生物方面主要包括高效固定 CO_2 优良藻种的筛选和驯化以及应用现代基因工程手段从分子水平上改造微藻细胞, 从而从根本上提高微藻固碳效率; 工程方面主要包括微藻培养基配方的改良、最佳培养条件的优化和高效微藻培养反应器的设计等。本节主要综述从生物方面高效固定 CO_2 微藻获得的研究进展。

2.1 从环境中筛选藻株

高效固碳微藻的筛选与其应用的环境密切相关。

用于空气包括密闭空间(如潜艇和航空器等)中微量 CO_2 (0.03%~0.06%, v/v) 的去除所选用的微藻通常要求对 CO_2 转化率高、生长速率快且耐 pH 范围宽^[7, 24]; 化石燃料燃烧所排放的尾气中 CO_2 含量达到 15%, 甚至高达 20% 以上, 对于 CO_2 浓度偏高的烟道尾气和其他工业废气减排, 获得能耐受高浓度 CO_2 并可高效固定 CO_2 的微藻藻株是微藻固定减排 CO_2 技术能否实现工业化应用的关键. 近几十年来, 国内外针对微藻藻种筛选研究结果表明, 无论是空气中微量 CO_2 的固定还是烟道废气中大量 CO_2 的脱除减排, 下列微藻藻种均具有极大的优势^[2, 25]: (1) 绿藻纲(*Chlorophyceae*), 绿藻在地球上分布广泛, 以单细胞或群落的形式大量存在于江河湖泊中, 主要以淡水绿藻为主, 绿藻是现代高等植物的进化始祖; (2) 蓝绿藻纲(*Cyanophyceae*), 该藻种在结构与组成上与细菌相近, 这些藻株对空气中 N_2 的固定发挥了重要作用, 目前已知有 2000 多种蓝绿藻分布于各种不同的生态环境中; (3) 硅藻纲(*Bacillariophyceae*), 大部分分布于海洋的浮游植物均属硅藻, 有些分布于淡水和半咸水中, 目前已知存在于地球上的硅藻有 10000 多种, 硅藻能以各种形式固定和储存碳; (4) 金藻纲(*Chrysophyceae*), 该种微藻在色素颜色和生化组成上与硅藻成分相似, 目前已知有约 1000 种金藻, 其主要以脂质和碳水化合物的形式储存碳.

在众多能够固定 CO_2 的绿藻中, 尤以小球藻为佳. Satoh 等^[26]报道, 一株小球藻 *Chlorella* sp. UK001 能在 CO_2 浓度高达 40% (v/v) 培养环境中生长, 且微藻细胞从通空气的环境转接到通入 CO_2 浓度为 40% 的环境中细胞生长无明显滞后期. Chang 和 Yang^[27]从中国台湾不同地方采集的 200 多种微藻中筛选到一株耐高 CO_2 浓度的绿藻 *Chlorella* sp. NTU-H15, 实验表明, 该藻株能在 CO_2 浓度为 60% 的培养环境中生长, 且固定 CO_2 速率达 0.11~0.13 g/(L d); 在最适 CO_2 培养浓度下(5%, v/v), 该藻达到最大生长速率, 且固定 CO_2 速率大幅提高, 达到 0.5~0.57 g/(L d). Watanabe 等^[28]从稻田中筛选出一种小球藻 HA-1, 发现该藻在 CO_2 浓度为 5%~50% 范围内, 均可保持正常生长, 且当 CO_2 浓度为 10% 时, 该藻固定 CO_2 的速率达到最大, 为 6.04 g/(m² d). De Moraes 等^[29]对 *Chlorella kessleri*、*Chlorella vulgaris*、*Scenedesmus oliquus* 及 *Spirulina* sp. 分别进行了 CO_2 固定研究. 在藻液中分别通入 6%、12% 和 18% 浓度的 CO_2 , 测试

微藻在不同 CO_2 浓度下的固碳效果, 结果显示, 藻株 *Chlorella kessleri* 更适于高浓度的 CO_2 固定. 此外, 海洋绿藻在高效 CO_2 固定的过程中也发挥了重要作用. Kurano 等^[30]从韩国釜山海边分离出一种海洋绿球藻 *Chlorococcum littorale*, 该藻在 CO_2 浓度为 10%~20% 条件下生长迅速, 比生长速率达 0.078 h⁻¹. 在 3 种不同容积的培养反应器(10 mL、4 L、20 L)中分别通入 20%、20%、10% 浓度的 CO_2 , 结果发现, 该种绿藻固定 CO_2 速率分别为 4、0.65 和 0.85 g/(L d).

对于应用微藻生物技术减排工业废气如烟道废气、锅炉尾气等, 由于这些气体除含高浓度 CO_2 外, 还含有一定量的硫化物和氮氧化物(如 NO 和 SO_x)等有毒气体, 且这些尾气刚出来时温度较高, 不适用直接通气养藻. 因此, 应用于此类废气中 CO_2 脱除的微藻, 除需满足耐高 CO_2 浓度外, 还需满足耐高温及耐 NO 和 SO_x 等对微藻细胞生长有抑制作用的气体, 这些均为筛选优良藻种时需重点考虑的因素. Sakai 等^[31]从日本的温泉中筛选到几株小球藻藻株, 进一步实验发现, 这些藻株能在温度高达 42 °C, CO_2 浓度大于 40% 的培养环境中生长, 其耐高温、高 CO_2 浓度的特性使得这些微藻藻株成为去除工业烟道废气的最佳载体. Yoshihara 等^[32]在日本 Kinki 地区海洋中通过筛选, 得到一株耐 NO 的海藻 *Nannochloris* sp. NOA-113, 并研究了不同浓度的 NO (100 和 300 ppm) 对该藻生长的影响, 结果显示, 在培养的第 4 天通入 NO, 两种浓度的 NO 对 *Nannochloris* sp. NOA-113 有较弱的抑制作用, 但生长速率与无 NO 藻样相差不大. Matsumoto 等^[33]研究了日本仙台 Tohoku 电厂废气(主要成分为: CO_2 14.1%; O_2 1.3%; SO_x 185 ppm; NO_x 125 ppm) 对 3 种微藻(*Nannochloropsis salina*、*Phaeodactylum tricormutum* 和 *Tetraselmis* sp. TM-S3) 生长及 CO_2 固定效果的影响, 结果表明, 3 种微藻均能在高浓度 CO_2 环境下快速生长, 其中 *Tetraselmis* sp. TM-S3 的固定 CO_2 速率最高, 为 40 g/(m² d), 显示该藻株在工业废气减排方面良好的应用前景. Kurano 等^[30]从高温温泉中筛选出多株微藻样品并进行了耐高温和耐酸研究, 结果显示, 只有 3 种红藻, 即 *Cyanidium caldarium*、*Galdieria partita* 和 *Cyanidil-schyzon melorae* 可在温度高达 40 °C, pH 2, 且通入 CO_2 浓度为 20% 的培养条件下继续生长; 当培养温度提高到 50 °C, 且 pH 调整为 1, 通入 CO_2 和 NO 的浓度分别为 10% 和 50 ppm 时, 以上 3 种红藻均可以继

续存活;然而,再通入 50 ppm 的 SO_2 时,只有 *Galdieria partita* 能继续生长,证明该藻株具有很强的耐高温和耐强酸特性,可以适用于富含 NO 、 SO_2 等有毒气体的 CO_2 减排。

从目前所研究的成果可以看出,环境因素对微藻的生长影响是显著的,不同微藻对各种环境因素的耐受性有明显不同,因此选择合适的筛选环境对获得具有高效固碳特征的微藻十分必要。

2.2 基因工程法增强固碳能力

通过基因工程方法重新构建高效固定 CO_2 的工程微藻是进一步提高筛选的野生微藻藻株固定 CO_2 能力的最有效途径之一。最近几十年对不同模式微藻,如莱茵衣藻分子水平的研究表明,通过改良微藻体内与 CO_2 固定转化代谢途径有关的关键代谢酶基因或引入相关新的代谢途径,可以显著提高微藻固定 CO_2 的效率^[34]。目前,微藻固定 CO_2 的基因工程研究主要集中于基因的结构、序列分析以及基因克隆与表达方面。Beuf 等^[35]从耐受 CO_2 浓度高达 60% 的单细胞海洋绿藻 *Chlorococcum littorale* 中分离出编码 Rubisco 活化酶(rca)相应的 DNA 区域,结果显示,高浓度的 CO_2 诱导了 rca,而非表面上的环境因素影响。Kang 等^[36]在鱼腥藻 *Anabaena* sp. 7120 细胞内成功表达了编码果糖 1,6-二磷酸酯醛缩酶(ALD)和丙糖磷酸酯异构酶(TPI)的基因。进一步研究发现,这两种酶的转基因细胞活性比野生型细胞的活性强,且这两个基因转入后,微藻细胞吸收和转化 CO_2 的能力明显提高。以上研究结果充分说明,调控微藻 CO_2 固定代谢途径中相关关键酶对提高 CO_2 固定能力的显著作用。此外,还存在其他传统的微藻基因改造方法,如选择性育种、诱变育种和细胞融合等,这里不再一一详述。

3 微藻培养

3.1 光生物反应器

微藻固定 CO_2 的培养装置称为光生物反应器。光生物反应器具有较高的光能利用效率,最高可达 18% 以上(而一般陆生植物和森林仅能利用入射光能的 0.2%),并且可以进行全天候的连续或半连续培养微藻,因此能实现光合生物的高密度培养,并获得较高单位面积或体积的生物质产量及较高的 CO_2 固定

效率^[3, 34]。用于 CO_2 固定的微藻培养反应器一般分为两大类,即开放式和封闭式光生物反应器。图 2 所示为目前普遍使用的光反应器构造。其中,开放式光生物反应器最典型的为跑道池式光反应器(图 2(a)),在该反应器中, CO_2 采用人工供给或依靠与空气的自然交换,并通过人工搅拌使空气中的 CO_2 溶解的方法来补充,为使 CO_2 能充分溶解在微藻培养基中,改进的跑道式反应器在搅拌桨附近挖一个约 1.5 m 深的深槽,人工供给的 CO_2 从槽的底部注入,从而最大限度地增加 CO_2 在水中的溶解度,提高 CO_2 固定效率(图 3(a))。开放式跑道池最突出的特点是构建简单、成本低廉及操作简便,但也存在很多缺点,如占地面积大、培养条件不稳定、控制困难、易受污染、培养基水分蒸发损失大且光强随培养液深度增加衰减迅速等^[11, 34, 37],这些均为下一步开放式反应器研发过程中重点关注的问题。最近,明尼苏达大学开发了一种新型的叠加式多层开放性光反应器,其可以在一定程度上弥补普通开放式反应器的缺点(图 2(e)和图 3(b))^[38, 39]。该光反应器的叠加式构造大大减少了反应器的占地面积,每层的中空托盘结构最大限度地减少了反应器内部污垢对光的穿透性影响,且与其他反应器相比,该培养系统维护所需人力、物力最小。此外,该培养系统可广泛应用于占地面积较小的废水处理,如市政污水处理厂、农场等^[14, 15, 17, 38-40]。Zhou 等^[17]报道了利用该反应器采用异养-自养两步法处理市政废水、减排废气和制备微藻生物原料。该方法与经典的市政废水处理过程有机整合(图 4),即利用污水处理厂废水处理过程中产生的活性污泥通过煅烧处理用于发热发电,煅烧产生的废热和电能用于提供微藻培养过程以及微藻下游处理制备生物能源所需耗能。同时,产生的烟道废气作为无机碳源通入反应器提高微藻生长,可以达到低成本制备生物能源、高效处理有机废水及 CO_2 减排三重目的,具有广阔的应用前景。

封闭式反应器可人为控制藻细胞的生长条件,培养条件稳定、可无菌操作、易进行高密度培养,可克服开放式装置的许多缺点,例如,可以精确控制培养条件,从而获得高产率的藻细胞生物质,且可避免杂藻污染,因而产量更高且能有效防止污染;设备采用最佳面积/体积比,因而占地更少、土地成本更低;气液传质效率显著增加,从而大大提高了微藻固定 CO_2 的效率;天然(或人工)光源可以利用收集器收

图 2 用于微藻碳减排的微藻培养光反应器. (a) 开放式跑道池反应器(引自美国 Sapphire 公司); (b) 浮式光反应器(引自美国 NASA 的 OMEGA 系统); (c) 管式光反应器(引自美国明尼苏达大学生物质精炼中心); (d) 线圈式光反应器(引自美国明尼苏达大学生物质精炼中心); (e) 叠加式光反应器(引自美国明尼苏达大学生物质精炼中心); (f) 平板式光反应器(引自美国 Nanovoltaics 公司)

集、光纤传导后优化分布于反应器内部, 获得更高的光合效率与光能转化效率; 可以防止和减少水的蒸发损失而降低补充水成本; 生成的藻细胞更易于收获^[11, 37, 41]. 一般封闭式光生物反应器包括管道式、平板式、叠加式、柱状气升式反应器和搅拌式发酵罐以及浮式薄膜袋等(图 2)^[18, 38, 39, 42], CO_2 一般从反应器底部通过气体分布器直接注入到培养基中进行补给和固定. 最近, NASA 开发了一种新的微藻培养系统, 即生长藻类海上膜罩(Offshore membrane enclosures for growing glgae, OMEGA)培养系统^[42], 在美国加州

一个受保护的海湾中建立一种漂浮式光反应器, 来自海湾附近城市的市政废水和富含 CO_2 的烟道废气分别提供营养和无机碳源供微藻培养(图 2(b)和图 5(a, b)). OMEGA 培养体系的优点是: (1) 由于反应器漂浮在海面, 可以为微藻培养系统提供均匀稳定的温度; (2) 利用海洋潮汐产生的波浪提供微藻混合的能量, 大大降低了微藻培养的能耗; (3) 利用废水和烟道废气提供营养源, 大幅降低微藻的培养成本. 该培养系统的开发为进一步实现微藻生物能源的产业化提供了一种全新的思路, 值得进一步探索研究.

图3 开放式微藻培养反应器固定 CO_2 示意图. (a) 跑道式反应器; (b) 叠加式反应器

由于高效密闭式光生物反应器的可操控性较强,因而在微藻 CO_2 固定减排方面应用较广.目前,密闭式光生物反应器在微藻固定烟气 CO_2 的应用包括:采用小型装置进行微藻藻种的生理学特性、藻细胞生产及产物形成的动力学研究;采用中型装置进行优质微藻(尤其是基因工程微藻)的藻种培养及高附加值微藻产品的生产.现阶段微藻的大规模培养生产采用的技术路线主要是敞开式和密闭式光生物反应器相结合,即以密闭光生物反应器筛选和培养优良的微藻品系,然后转接在敞开式系统中大规模培养生产.在不久的将来,利用大型密闭式光生物反应器进行大规模固定烟气 CO_2 生产微藻及高附加值微藻产品将实现.因此,封闭式微藻培养反应器已成为今后大规模固定工业废气中 CO_2 的主要研究方向.但

是,由于需要配备光的收集、传导和分配系统,以及建造光生物反应器和配制相应的制冷和加热系统,整个生产系统的建设、运行成本大大增加,同时,扩大反应器规模对技术的要求较高,这些均是下一步研究工作亟待解决的问题.

3.2 微藻养殖因素

微藻培养过程中影响 CO_2 固定的因素很多,主要包括光强、光周期、温度、pH、进气 CO_2 的浓度、 CO_2 吸收率、气体传送及混合效率、溶解氧浓度和营养需求等.只有深入了解这些因素对微藻生长和生物固碳的影响,才能获得高效固定 CO_2 的最优培养和操作条件.

3.2.1 光照及光周期

光照是微藻进行光合作用固碳的先决条件,光源包括太阳光、人工光源或二者同时存在.微藻的生长速率随光强的增强而增加,直到一定的阈值,即光饱和现象.当光成为微藻培养的唯一限制因素时,微藻产率与光转化效率成正比^[43].Molina Grima 等^[44]为了验证光强与微藻的生长关系,提出了几种光强与微藻生长速率相关的模型.此外,光周期对微藻的生长也起着重要作用.Eduardo 等^[45]研究了不同的光周期对培养在鼓泡式光生物反应器内的微藻 *Aphanothece microscopica* Nägeli 的生物量和固定 CO_2 能力的影响.结果显示,光周期是决定性因素.在连续光照的培养条件下,微藻的固碳能力达到 99.69%,但并非光周期越长越好,有些微藻在光周期太长时,其细胞密度和生长量反而下降.杨忠华等^[34]报道了不同光周期对海洋微藻四片藻(*Tetraselmis tetrahele*)的影响,光周期分别设为 1、2、4、6、8、10 h 短光周期等级和 23、22、20、18、16、14 h 长光周期等级,结果发现,只有在光周期为 6~18 h 期间,该藻株的细胞密度、叶绿素 a 和蛋白质含量等指标才会达到较高水平.光周期过短或过长均会导致细胞生长受到抑制,细胞密度、叶绿素 a 和蛋白质含量显著降低,显示最佳光周期对微藻代谢活动和生长速率的影响.Tor 等^[46]分别比较了纤细角毛藻(*Chaetoceros gracilis*)和等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)在光周期为 24:0 及 12:12 下的生长情况,但后者的光强是前者的 2 倍,结果得到相似的生长速率,表明微藻细胞的生长不仅受到光周期的影响,还受循环中光强的影响.

图 4 用于微藻碳减排的两步法微藻培养系统与市政废水处理系统耦合的框架图. CMW: 市政废水; HPM: 异养-自养两步法

此外, 光强对微藻油脂的积累及脂肪酸成分也有一定的影响. 适宜的光照强度有利于微藻生物量和油脂的积累. 低光照强度可促进极性脂质的合成, 而高光照强度在减少极性总脂含量的同时还可增加中性脂质含量, 但过高的光照强度引起的光抑制效应反而会阻碍脂质的积累. 因此, 适当提高光照强度并保持在一定的阈值有利于微藻中性脂的合成^[43]. Li 等^[47]的研究结果也显示, 随着光照强度的增加, 饱和脂肪酸 C16:0 和 C18:0 的含量均有明显增加, 而不饱和脂肪酸如 C18:2、C16:1、C16:2 和 C16:3 的含量有所减少, 该结果有利于制备高质量的微藻生物柴油.

3.2.2 温度

温度是影响微藻光合作用及 CO_2 固定效率的重要因素. 在微藻自养培养过程中, 大多数微藻的最适生长温度为 15~30 °C. 当温度低于 15 °C 时, 微藻生长缓慢; 而温度高于 35 °C 时也会导致微藻生长缓慢甚至死亡, 从而直接影响微藻的固碳效率. 但对一些耐高温的藻株, 温度对其固碳效率影响较小. 例如, Sung 等^[48]在进气 CO_2 浓度为 10% 条件下进行实验, 当温度为 25~35 °C 时, 小球藻 *Chlorella* sp. KR-1 的生长速率变化不大, 当温度为 40 °C 时生长速率有所

下降, 但仍表现出较高的生长速率和较高的细胞密度. Maeda 等^[49]筛选出一株耐高温的小球藻 *Chlorella* sp. T-1, 并用来处理发电厂的废气(含 15% 的 CO_2), 结果显示, 该株小球藻生长的最适宜温度为 35 °C, 虽然在 45 °C 时细胞密度略有下降, 但总体生长情况稳定. Yue 等^[50]从土壤中分离出耐高温的小球藻 *Chlorella* ZY-1, 其在温度 20~25 °C 时, 生长速率随温度的升高而上升; 在 25~30 °C 时生长速率变化不明显; 40 °C 时生长受到抑制, 但仍保持较高的细胞浓度. 温度对微藻生长的影响因藻种而异, 但总的趋势是随温度的降低, 脂肪酸的不饱和度增加, 生长速度变缓, 生物量降低, 固碳效率也显著降低.

3.2.3 pH 值

培养基的 pH 值也是影响自养微藻生长和 CO_2 固定的重要因素. pH 值一般通过影响细胞内代谢酶的活性和藻细胞对离子的吸收利用, 从而影响微藻的生理代谢^[51]. Sung 等^[48]在 25 °C、初始通气 CO_2 浓度为 10% 培养条件下系统研究了 pH 值对小球藻 *Chlorella* sp. KR-1 生长的影响. 结果表明, pH 3.5 时, 小球藻的生长受到明显抑制; pH 4.0~7.0 时, 生长速率无明显变化, 表明在此范围内对小球藻 *Chlorella* sp.

图 5 美国 NASA 开发的 OMEGA 系统(引自美国国家航空航天局的 OMEGA 系统). (a) OMEGA 系统大规模养殖示意图; (b) OMEGA 系统固定废气中 CO₂ 示意图

KR-1 的生长影响较小; Kajiwara 等^[52]在温度为 30 °C、进气中 CO₂ 浓度为 5%, 光强为 8000 lux 的条件下研究了不同 pH 范围(5.4~8.0)对聚球藻 *Synechococcus* PCC7942 固定 CO₂ 的影响, 在 pH 5.4 时, 聚球藻的生长较慢; 当 pH 6.8 时, 比生长速率达到最大, 此时,

该藻固定 CO₂ 的速率为 0.025 g/(L h). 相关研究表明, 在不同的 pH 条件下, 自由态 CO₂ 的含量会发生变化, 且不同藻类对 CO₂ 的亲系数不同, 所以, 不同的微藻在相同的 pH 条件下, 其光合作用率也会存在差别.

微藻固碳最广泛的应用之一是用于工业废气中 CO_2 的固定, 但通入这些工业废气培养微藻的过程中, 由于含有其他杂质如 NO 和 SO_2 等, 培养基的 pH 大大降低, 因此, 能耐酸的微藻菌株对该类废气的高效固碳有明显的优势. Cuaresma 等^[53]从河流中分离出一种嗜酸的衣藻 *Chlamydomonas acidophila*, 并研究了该藻在 pH 2.5、4.0 和 6.0 条件下的生长情况. 结果显示, 其在 pH 2.5 时的光合速率比 pH 6.0 时高 50%. 此外, pH 9.0 时, 尽管水中的碳源主要以 HCO_3^- 形式存在, 但该藻仍可生存, 其可将 HCO_3^- 转化为 CO_2 加以利用, 说明水中溶解的无机碳形态与 pH 有关, pH 对微藻高效固定 CO_2 有重要的影响. 向培养基中通入 CO_2 浓度为 15% 的空气, CO_2 的去除率随 pH 的增加而升高.

3.2.4 CO_2 浓度和吸收率

不同的微藻菌株对 CO_2 的耐受性不同, 有些微藻在低浓度 CO_2 条件下才能正常生长, 而有些微藻在高浓度 CO_2 条件下才会显示出高效的生长速率. Yue 等^[50]从土壤中分离出一种耐高浓度 CO_2 的小球藻 (*Chlorella* ZY-1), 进气 CO_2 浓度为 10% 或 20% 时, 出现最大生长速率; CO_2 浓度为 30% 和 50% 时, 仍保持较高的生长速率和细胞浓度; CO_2 浓度为 70% 时, 其生长速度较慢, 但经过 6 d 的培养, 仍达到了 0.776 g/L, 是普通培养速度的 7 倍. Yoon 等^[54]研究了蓝藻 *Anabaena variabilis* 在不同进气 CO_2 浓度下的生长情况, CO_2 浓度为 4%~13% 时, 未观察到停滞期, 而在 CO_2 浓度为 18% 时, 则出现了停滞期; 此外, 该微藻的比生长速率随进气 CO_2 浓度的增加而下降, 进气 CO_2 浓度为 4%、8%、11% 和 13% 时的比生长速率分别为 0.58、1.44、1.28 和 1.13 d^{-1} . 结果还表明, 当进气 CO_2 浓度大于 25% 时, 微藻细胞的生长受到抑制, 这可能是过高的 CO_2 分压导致培养基 pH 降低引起的. Yun 等^[55]实验发现, 逐步增加进气 CO_2 的浓度, 小球藻的生长情况较直接在高 CO_2 浓度下的培养状况好. 一般认为, 极高 CO_2 浓度对细胞有麻醉作用, 这种麻醉效应表现为抑制细胞生长和光合作用水平, 并出现生长的“滞后期(lag phase)”, 所以能在极高 CO_2 浓度下生长的藻类并不多, 主要是绿藻和蓝藻, 目前, 已报道的种类有海滩绿球藻 (*Chlorococcum littorale*)、小球藻 (*Chlorella* sp.) 和栅藻 (*Scenedesmus* sp.) 等.

此外, 微藻在培养过程中通入的初始 CO_2 浓度,

不但关系到微藻的生长速率, 而且直接影响最终收获微藻的油脂成分和产率. Costa 等^[56]和 Ge 等^[57]研究表明, 低浓度 CO_2 会抑制脂肪酸的合成, 而高浓度 CO_2 利于脂肪酸的合成但会抑制碳链的去饱和与延长, 有利于饱和脂肪酸的合成. Tang 等^[58]研究了斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus* SJTU-3) 和蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa* SJTU-2) 在不同 CO_2 浓度下生长状态和油脂的积累情况. 结果显示, 这两种藻在 10% CO_2 浓度下生长最快, 最大细胞浓度和吸收率分别为 1.84 g/L, 0.288 g/(L d) 和 1.55 g/L, 0.260 g/(L d), 高 CO_2 浓度 (30%~50%) 有利于总脂和多不饱和脂肪酸的积累.

3.2.5 气体传质

另外一个影响微藻培养的关键因素是气体传质, 特别是 CO_2 和 O_2 的传质. 由于 CO_2 的传质系数较低, 因此其气液传送是影响光合微藻生长的主要限制步骤^[59]. 此外, 微藻光合作用产生的 O_2 积累到一定浓度时也会抑制光合微藻的进一步生长. 解决这一问题的一般方法是增加供气的流速或提供一个湍流区域^[60], 从而提高气体的传质率和液体的混合效率. 此外, 较高的流速会缩短光/暗周期, 从而提高固碳效率和增加微藻生物量. 但是需注意, 过高的湍流和剪切效应会损伤微藻细胞而影响生长^[3]. 为了进一步提高 CO_2 和 O_2 的传质, Cheng 等^[61]采用一种中空纤维膜反应器来研究小球藻 *Chlorella vulgaris* 的固碳效率, 主要原理是该膜能够在微藻光合作用过程中去除产生的 O_2 . 结果表明, 应用该膜后, CO_2 的固定能力提高了 3 倍. 因此, 中空纤维膜反应器在微藻 CO_2 高效固定方面具有良好的应用前景, 但其造价成本太高, 制约了该反应器的广泛应用.

3.2.6 营养需求

微藻在自养培养的条件下, 培养基中的营养物质特别是一些必需元素如 N、P 和其他微量元素如 Mg 和 Fe 等对微藻的生长及固碳有较大影响. 适当浓度的 N 源和 P 源以及调节 C、N 及 P 源的最佳比例才会促进微藻的快速生长和 CO_2 的高效固定. Ota 等^[62]研究发现, 耐高浓度 CO_2 的绿藻 *Chlorococcum littorale* 通过调节 CO_2 和 N_2 的比例来调节鼓泡气体的 CO_2 浓度, 可以抑制光呼吸并在有氧条件下合成 β -氧

化脂肪酸. 在硝酸盐存在及 CO_2 体积分数为 5%~50% 的条件下, 微藻的脂肪酸含量保持不变. 但在硝酸盐缺乏的条件下, CO_2 浓度逐渐减少, 脂肪酸含量急剧增加. 研究还发现, 培养基中 $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ 的比例是限 N 条件下脂肪酸积累的控制因素. 此外, 由于市政废水以及工农业废水含有大量的 N、P 和其他微量金属元素, 因此, 可以完全替代微藻人工培养基用于低成本生物固碳^[14, 17-20, 63].

4 微藻固碳实例

随着微藻固碳技术的不断进步, 国内外已经有了一些初步的应用, 如下为 8 个代表性的实例. (1) 1978~1996 年, 美国能源部(DOE)启动了一项微藻能源计划, 称为“水生物种计划”(Aquatic Species Program), 这是至今为止利用微藻作为原料制备可再生液体生物燃料的最全面的研究项目, 该计划的另一个主要研究内容是以传统化石燃料产生的富含 CO_2 的废气作为无机碳源进行高油微藻生物燃料原料的生产, 用于制备低成本的微藻生物能源, 此计划因经费精减, 且微藻所能达到的光合效率与期望值相差太大导致藻类制油成本过高, 而于 1996 年中止^[10]; (2) 日本于 1990 年由国际贸易和工业部资助了“地球研究更新技术计划”项目, 该计划耗时 10 年, 共投资约 25 亿美元, 是目前为止利用微藻生物技术进行 CO_2 固定减排最全面、系统的研究, 该项计划包括来自 16 家私人公司约 150 名科研人员和政府研究机构的科研工作者参与研究, 主要研究内容包括两部分: ① 利用微藻来固定 CO_2 , 微藻通过吸收火力发电厂烟气中的 CO_2 来低成本制备生物能源和缓解大气温室效应, 并筛选出多株耐高 CO_2 浓度、生长速度快、能形成高细胞密度的藻种; ② 设计各种不同密闭式光生物反应器, 包括各种高密度、高容量的微藻培养系统的研发, 以及建立光合生物反应器的技术平台和微藻生物质能源开发的技术方案^[3-5, 64]. 此外, 日本一研究组从表层海水中获得一种海藻新品种 Tit-1, 它白天与普通植物一样在光照条件下将 CO_2 转化为淀粉储藏起来, 在弱光或厌氧条件下将淀粉转化为乙醇. 日本将产氢藻和光合细菌的高效产氢列为研究重点^[65]; (3) 美国 Hawaii 的蓝藻生物技术公司, 充分利用附近小型能源工厂排放的富含 CO_2 的烟道废气作为无机碳源, 规模化养殖两种微藻, 即螺

旋藻和血球藻. 该公司采用小型供能发电站两个功率为 180 kW 的小型发电装置提供 67 个培养池搅拌所需的能耗, 发电过程产生的富含 CO_2 废气循环回收至 CO_2 吸收塔作为微藻培养无机碳源, 其回收利用率达 75%, 有效降低了微藻培养的成本并净化了发电厂所排废气^[66]; (4) 2006 年, 美国 GreenFuel Technology Corp 和 Arizona Public Service 公司在亚利桑那州建立了可与 1040 MW 电厂烟气相连接的商业化系统, 采用 GreenFuel 3D Matrix 微藻培养系统, 成功地利用烟气中的 CO_2 大规模自养培养微藻, 并将微藻转化为生物燃料^[67]; (5) 自 2006 年起, 由于石油价格的火箭式大幅上涨及全球大气温室效应的日趋严重, 美国能源部宣布了由国家能源局支持的“微型曼哈顿计划”, 该计划在 2010 年实现微藻制备生物柴油的工业化, 在各项技术全面进展(包括烟道废气中 CO_2 的减排)的前提下, 降低了微藻产油的成本^[51]; (6) 中国台湾的台电综合研究所分别比较了养殖微藻与种植陆地植物捕集电厂排放 CO_2 的效率, 结果表明, 种植陆地植物一年可捕获 25 t CO_2 , 而养殖微藻捕获 CO_2 的量(58~90 t)是陆地植物的 2~3 倍, 进一步证明了微藻的较高光合效率及高固碳率. 该研究所进一步利用台电大林火力发电厂进行微藻养殖减碳试验, 结果表明, 1 kg 的 CO_2 经过微藻光合作用转换后, 可产生 0.57 kg 的蓝藻和 0.73 kg 的 O_2 , 这些蓝藻可制成多种高附加产品(如保健食品、动物营养强化剂及微藻美容制品等)^[66]; (7) 2008 年, 中国石油化工有限公司和中国科学院启动微藻生物柴油成套技术合作项目, 其中中石化石油科学研究院的科研人员近期已在中石化石家庄炼化分公司完成了 40000 L 微藻生物固碳减排废气的小型中试研究, 并计划于 2015 年左右实现户外中试装置的研发, 将来还将建设万吨级的工业示范装置, 中科院与中石化在微藻生物柴油这一前瞻性领域中自一开始就以产业为导向紧密合作, 为学术界与工业界的合作提供了很好的示范; (8) 最近, 美国德拉华大学(University of Delaware)的科研人员发现, 微藻 *Heterosigma akashiwo* 能同时利用烟道废气中的 CO_2 和 NO 作为其生长的碳源和氮源, 该发现不仅大大提高了微藻废气减排的效率和大大降低培养微藻所需的营养成本, 还使微藻培养所需能源节约 45% 左右, 因此, 该藻株在今后大气温室效应减排方面具有非常广阔的应用前景^[68].

目前, 利用微藻生物技术进行 CO_2 固碳的实际生产应用处于起步阶段, 还有许多问题需要解决. 但随着对微藻生物固碳机理研究的不断深入, 通过技术手段不断增强对高效微藻固碳反应器的开发及对环境的适应宽度, 可以预见, 今后微藻技术应用到工业生产, 有着广阔的发展空间和巨大的经济效益.

5 微藻生物质加工

5.1 生物质收获

缺乏经济可行且高效的微藻收获技术是阻碍微藻生物能源产业化的主要因素之一. 由于微藻体积小($1\sim 70\ \mu\text{m}$)且细胞表面带很强的负电荷, 因此, 微藻收获的成本居高不下, 一般地, 微藻收获的成本占整个微藻培养成本的 20%~30%. 目前为止, 开发了各种微藻脱水和收获技术, 包括离心、絮凝、气浮、过滤或以上几种方法的结合等^[69]. 其中, 离心是最高效的收获方法, 收获效率达 95%以上, 因此离心被广泛应用于微藻小规模 and 中等规模培养的收获^[70]. 但是, 较高的固定资产投资、高能耗和较高的操作成本使该技术不适用于大规模培养的微藻细胞的收获. 当前该方法只用于具有高附加值产品如高不饱和脂肪酸、制药及化妆品行业等的微藻收获^[71]. 气浮方法的主要缺点是不符合经济和环境的可行性. 絮凝方法在收获前需添加一定量的化合物/合成聚合物等, 由于这些添加的化学药品具有毒性、费用高、易腐蚀和对环境造成二次污染等弊端, 因此, 这些聚合物的使用会显著降低絮凝方法的利用价值^[69]; 过滤方法一般只用于收获一些具有独特特性的微藻, 如微藻细胞尺寸非常大, 或微藻细胞之间能形成较大的群落, 利于过滤收获(如 *Spirulina* sp. 和 *Micractinium* sp.)^[70]. Zhou 等^[17]报道了一种利用自然水体中存在的金属阳离子介导的微藻自絮凝沉降收获方法, 可成为未来低成本大规模收获微藻的可选择方法之一. 最近, 报道了一种新型的借助成球丝状真菌介导的微藻细胞收获方法, 通过在微藻培养液中添加能成球的丝状真菌孢子, 然后优化最佳培养条件, 最后得到直径为 3~5 mm 的真菌-微藻共生球体(图 6)^[19], 该共生球体可通过简单的过滤方法收获, 且收获效率高达 98%以上^[19, 72, 73]. 该收获方法被业内人士评为具有“改变

图 6 真菌介导的微藻细胞收获流程图^[19]. (a) 待收获的微藻; (b) 添加能成球的真菌孢子; (c) 部分微藻细胞以真菌-微藻球体的形式收集; (d) 所有微藻细胞以真菌-微藻球体的形式通过简单的过滤方式收获

游戏规则(Game changing)”意义的成果, 有望从根本上解决微藻大规模收获的世界难题.

5.2 生物燃料及生物基原料提取

收获的微藻生物质经过不同的下游处理工艺可以转化成不同的生物燃料(如脂肪酸甲酯、乙醇或氢气等)或其他高附加值产品(如营养品、化妆品和添加剂等). 例如, 收获的微藻湿藻泥不经干燥可以直接作为底物通过厌氧发酵制备沼气; 干燥的微藻生物质经有机质提取藻油再经转酯反应制备生物柴油, 也可直接发酵富含碳水化合物和淀粉的微藻制备燃料乙醇或生物制氢, 或者通过高温热解或水热转化制备生物基原油, 再经过进一步催化加氢等工艺制备绿色柴油、绿色汽油和绿色航空燃料等^[19, 74, 75]. 微藻生物质还能同时生产具有高附加值的产品, 如不饱和脂肪酸 DHA 和 EPA、具有特殊用途的生物活性物质、化妆品、医药品、肥料以及动物和水产养殖饲料等^[14, 20, 76~78]. 关于此方面的研究, 已有很多综述发表, 本文不再累述.

6 微藻固碳技术经济可行性评估

比较不同的 CO_2 捕获技术需要尽可能考虑到所

有重要的输入和输出, 来精确评估最经济的途径. 传统 CO_2 的捕获和储存技术需消耗大量的能量用于捕获(再生过程需高温高压)、运输和储存. 为尽可能降低运输和分离成本, CO_2 捕获时应是相对较纯的、 CO_2 含量较高的气体. 然而实际应用中, 工厂烟道排放的废气 CO_2 含量较低(10%~20%), 使得捕集较纯气体的成本高. 此外, 气体捕获成本还取决于烟道尾气 CO_2 的浓度和使用的化学处理工艺^[79]. 由于传统的 CO_2 捕获和储存技术不具备可再生性以及固碳过程中不产生任何有价值的副产物来降低成本, 且考虑到 2010 年《京都协议》规定的碳减排成本(270 美元/吨), 传统的 CO_2 捕获和储存技术到目前为止还不具备经济可行性, 只有将固碳成本降到 330 美元/吨以下才具竞争性^[3, 79]. 此外, 为了降低可能发生的 CO_2 泄漏及其对人类和环境的影响(如通过深海注射和地底填埋储存的方法只是延缓 CO_2 释放到大气的速度, 并不具备可持续发展性), 传统的固碳技术需在人口稀少的地区应用. 另一方面, 通过微藻固定转化的方式减排 CO_2 的成本较高, 是高耗能的过程, 如通过水泵循环培养基、压缩空气以及收获微藻等. 但与传统 CO_2 捕获技术相比, 该工艺也具有优势: (1) CO_2 转化为生物质的形式储存起来, 具备可再生的特性; (2) 可产生高附加值产品, 如生物能源、生物基化工原料、食品和动物饲料等, 从而进一步降低该工艺的成本. 基于此独特优势, 该技术近几年在世界范围内引起越来越多的重视, 但对该生物固碳技术的详细经济性评估知之甚少. 但是, 目前大多数科研人员认为,

若将微藻 CO_2 固定、工业废气减排、废水处理和微藻生物燃料制备 4 部分有效结合起来并优化相关的工艺, 则可提供一条非常具有前景且经济可行、环境友好的 CO_2 捕获途径^[3, 7, 8, 55].

7 结论与展望

利用微藻的光合效率高、生长速率快、抗逆性强等特点进行微藻生物捕获 CO_2 , 是解决由大气温室效应导致的一系列环境问题非常有前景的一项技术, 该研究不仅对探索微藻在大气生态系统中的调控作用具有重要的理论意义, 而且在工业废气回收及空气中 CO_2 浓度控制等方面具有非常广阔的应用前景.

利用微藻固定 CO_2 的研究具有下列潜在的发展方向: 高效固碳藻种选育和基因工程改造; 优良藻种快速培养条件的优化; 微藻固定 CO_2 分子机理的深入研究; 新型高效 CO_2 固定光生物反应器的研制; 开发 CO_2 吸收效率高、氧解析速率快及微藻采收效率高的一体化系统及配套的优化工艺和集成创新研究; 工业废气减排、废水处理及微藻生物燃料和其他高附加值产品制备的高度耦合, 微藻固定烟气中 CO_2 技术的经济可行性及生命周期评价(life cycle analysis, LCA)体系研究等. 随着对微藻生物固碳机理研究的不断深入, 通过技术手段不断增强微藻对环境的适应宽度以及利用工程方法进行高效微藻固碳反应器的开发设计和条件优化, 可以预见, 今后微藻固定 CO_2 技术应用于工业废气减排, 有着广阔的发展空间和巨大的经济效益.

参考文献

- Gutierrez R, Gutierrez-Sanchez R, Nafidi A. Trend analysis using nonhomogeneous stochastic diffusion processes. Emission of CO_2 ; Kyoto protocol in Spain. *Stoch Environ Res Risk Assess*, 2008, 22: 57–66
- Kumar A, Ergas S, Yuan X, Sahu A, Zhang Q, Dewulf J, Malcata X, Langenhove HV. Enhanced CO_2 fixation and biofuel production via microalgae: Recent developments and future directions. *Trends Biotechnol*, 2010, 28: 371–380
- Pires JCM, Alvim-Ferraz MCM, Martins FG, Simões M. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renew Sust Energy Rev*, 2012, 16: 3043–3053
- Usui N, Ikenouchi M. The biological CO_2 fixation and utilization project, RITE(1): Highly-effective photobioreactor system. *Energy Conv Manag*, 1997, 38: 487–492
- Murakami M, Ikenouchi M. The biological CO_2 fixation and utilization project, RITE(2): Screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO_2 . *Energy Conv Manag*, 1997, 38: 493–497
- Harrington L, Foster R, Wilkenfeld G, Treloar GJ, Lee T. Australian Residential Building Sector Greenhouse Gas Emissions 1990–2010. Final Report. Department of Industry, Australian Greenhouse, 1999

- 7 Wang B, Li YQ, Wu N, Lan CQ. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 79: 707–718
- 8 Jacob-Lopes E, Scoparo CHG, Queiroz MI, Franco TT. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. *Energy Convers Manag*, 2010, 51: 894–900
- 9 Lackner KS. A guide to CO₂ sequestration. *Science*, 2003, 300: 1677–1678
- 10 Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae. Close-out Report. Golden: National Renewable Energy Laboratory, 1998
- 11 Chisti Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv*, 2007, 25: 294–306
- 12 Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, Darzins A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *Plant J*, 2008, 54: 621–639
- 13 Wang L, Li Y, Chen P, Min M, Chen Y, Zhu J, Ruan R. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour Technol*, 2010, 101: 2623–2628
- 14 Zhou WG, Li Y, Min M, Hu B, Chen P, Ruan R. Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 6909–6919
- 15 Li Y, Chen YF, Chen P, Min M, Zhou WG, Martinez B, Zhu J, Ruan R. Characterization of a microalgae *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater in nutrient removal and biodiesel production. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 5138–5144
- 16 Li Y, Zhou WG, Min M, Hu B, Chen P, Ruan R. Integration of algae cultivation as biodiesel production feedstock with municipal wastewater treatment: Strains screening and significance evaluation of environmental factors. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 10861–10867
- 17 Zhou WG, Min M, Li YC, Hu B, Ma XC, Cheng YL, Liu YH, Chen P, Ruan R. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. *Bioresour Technol*, 2012, 110: 448–455
- 18 Zhou WG, Li Y, Min M, Hu B, Zhang H, Ma X, Cheng Y, Chen P, Ruan R. Growing wastewater-born microalga *Auxenochlorella protothecoides* UMN280 on concentrated municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and energy feedstock production. *Appl Energ*, 2012, 98: 433–440
- 19 Zhou WG, Cheng Y, Li Y, Wan Y, Liu Y, Lin X, Ruan R. Novel fungal pelletization assisted technology for algae harvesting and wastewater treatment. *Appl Biochem Biotechnol*, 2012, 167: 214–228
- 20 Zhou WG, Hu B, Li Y, Min M, Chen P, Ruan R. Mass cultivation of microalgae on animal wastewater: A sequential two-stage cultivation process for biofuel feedstock and omega-3 rich animal feed production. *Appl Biochem Biotechnol*, 2012, 168: 348–363
- 21 Bolsunovsky A, Zhavoronkov V. Prospects for using microalgae in life-support systems. SAE Technical Paper, 1995
- 22 Hu B, Min M, Zhou WG, Li YC, Cheng Y, Ma X, Li L, Liu Y, Lin X, Chen P, Ruan R. Influence of exogenous CO₂ on biomass and lipid accumulation of microalgae *Auxenochlorella protothecoides* cultivated in concentrated municipal wastewater. *Appl Biochem Biotechnol*, 2012, 166: 1661–1673
- 23 Min M, Hu B, Zhou W, Li Y, Chen P, Ruan R. Mutual influence of the light intensity and CO₂ on carbon sequestration via alga UMN280 grown in organic carbon-rich wastewater. *J Appl Phycol*, 2011, 24: 1099–1105
- 24 程丽华, 张林, 陈欢林, 高从培. 微藻固定 CO₂ 研究进展. *生物工程学报*, 2005, 21: 177–181
- 25 Znad H, Naderi G, Ang HM, Tade MO. CO₂ biomitigation and biofuel production using microalgae: Photobioreactors developments and future directions. In: Nawaz Z, Eds. *Advances in Chemical Engineering*. Rijeka: InTech, 2012. 299–244
- 26 Satoh A, Kurano N, Miyachi S. Inhibition of photosynthesis by intracellular carbonic anhydrase in microalgae under excess concentration of CO₂. *Photosynth Res*, 2001, 68: 215–224
- 27 Chang EH, Yang SS. Some characteristics of microalgae isolated in Taiwan for biofixation of carbon dioxide. *Bot Bull Acad Sin*, 2003, 44: 43–52
- 28 Watanabe Y, Ohmura N. Isolation and determination of cultural characteristics of microalgae which functions under CO₂ enriched atmosphere. *Energy Conv Conv Manag*, 1992, 33: 545–552
- 29 De Morais MG, Costa JAV. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnol Lett*, 2007, 29: 1349–1352
- 30 Kurano N, Ikemoto H. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. *Energy Conv Conv Manag*, 1995, 36: 689–692
- 31 Sakai N, Sakamoto Y, Kishimoto N, Chihara M, Karube I. *Chlorella* strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂. *Energy Conv Conv Manag*, 1995, 36: 693–696
- 32 Yoshihara KI, Nagase H, Eguchi K, Hirata K, Miyamoto K. Biological elimination of nitric oxide and carbon dioxide from flue gas by marine microalga NOA-13 cultivated in a long tubular photobioreactor. *J Ferment Bioeng*, 1996, 82: 351–354

- 33 Matsumoto H, Shioji N, Hamasaki A, Sato M, Endo N, Tsukamoto T. Carbon dioxide fixation by microalgae photosynthesis using actual flue gas discharged from a boiler. *Appl Biochem Biotech*, 1995, 51/52: 681–692
- 34 杨忠华, 杨改, 李方芳, 颜家保. 利用微藻固定实现减排的研究进展. *生物加工过程*, 2011, 9: 66–75
- 35 Beuf L, Kurano N, Miyachi S. Rubisco activase transcript (rca) abundance increases when the marine unicellular green alga *Chlorococcum littorale* is grown under high-CO₂ stress. *Plant Mol Biol*, 1999, 41: 627–635
- 36 Kang RJ, Shi DJ, Cong W, Ma WM, Cai ZL, Ouyang F. Effects of co-expression of two higher plants genes ALD and TPI in *Anabaena* sp. PCC7120 on photosynthetic CO₂ fixation. *Enzyme Microb Tech*, 2005, 36: 600–604
- 37 Wang B, Lan CQ, Horsman M. Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. *Biotechnol Adv*, 2012, 30: 904–912
- 38 Min M, Wang L, Li Y, Mohr M, Hu B, Zhou W, Chen P, Ruan R. Cultivating *Chlorella* sp. in pilot scale photobioreactor using centrate wastewater for microalgae biomass production and wastewater nutrients removal. *Appl Biochem Biotechnol*, 2011, 165: 123–137
- 39 Hu B, Zhou W, Min M, Du Z, Chen P, Ma X, Liu Y, Lei H, Shi J, Ruan R. Development of an effective acidogenically digested swine manure-based algal system for improved wastewater treatment and biofuel & feed production. *Appl Energy*, 2013, 107: 255–263
- 40 Hu B, Min M, Zhou W, Li Y, Mohr M, Cheng Y, Chen P, Ruan R. Enhanced mixotrophic growth of microalga *Chlorella* sp. on swine manure with acidogenic fermentation for simultaneous biofuel feedstock production and nutrient removal. *Bioresour Technol*, 2012, 126: 71–79
- 41 王丽艳. 微藻固定烟气中的发展及可行性探讨. *绿色科技*, 2012, 9: 182–183
- 42 Wiley P, Harris L, Reinsch S, Tozzi S, Embaye T, Clark K, Mckuin B, Kolber Z, Adams R, Kagawa H, Richardson TJ, Malinowski J, Beal C, Claxton MA, Geiger E, Rask J, Campbell JE, Trent J. Microalgae cultivation using offshore membrane enclosures for growing algae (OMEGA). *J Sust Bioenergy Syst*, 2013, 3: 18–32
- 43 Richmond A. *Handbook of Microalgal Culture*. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2004
- 44 Molina Grima E, Fernandez FGA, Camacho FG, Chisti Y. Photobioreactors: Light regime, mass transfer, and scaleup. *J Biotechnol*, 1999, 70: 231–47
- 45 Eduardo JL, Carlos HGS, Lucy MCFL, Franco TT. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactor. *Chem Eng Process*, 2009, 48: 306–310
- 46 Tor JE. The growth rate of two species of microalgae used in shellfish hatcheries cultured under two light regimes. *Aquac Res*, 1989, 20: 249–254
- 47 Li YC, Zhou WG, Hu B, Min M, Chen P, Ruan R. Effect of light intensity on algal biomass accumulation and biodiesel production for mixotrophic strains *Chlorella kessleri* and *Chlorella protothecoide* cultivated in highly concentrated municipal wastewater. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109: 2222–2229
- 48 Sung KD, Lee JS, Shin CS. CO₂ fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics. *Bioresour Technol*, 1999, 68: 269–273
- 49 Maeda K, Owadai M, Kimura N, Omata K, Karube I. CO₂ fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conv Manag*, 1995, 36: 717–720
- 50 Yue LH, Chen WG. Isolation and determination of cultural characteristics of a new highly CO₂ tolerant fresh water microalgae. *Energy Conv Manag*, 2005, 46: 1868–1876
- 51 杨忠华, 李方芳, 曹亚飞, 赵燕, 陈庚华, 周云川, 周卫, 侯亚利. 微藻减排 CO₂ 制备生物柴油的研究进展. *生物加工过程*, 2012, 10: 70–76
- 52 Kajiwarra S, Yamada H, Ohkuni N, Ohtaguchi K. Design of the bioreactor for carbon dioxide fixation by *Synechococcus* PCC7942. *Energy Conv Manag*, 1997, 38: 529–532
- 53 Cuaresma M, Garbayo I, Vega JM, Vilchez C. Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto River. *Enzyme Microb Tech*, 2006, 40: 158–162
- 54 Yoon JH, Sim SJ, Kim MS, Park TH. High cell density culture of *Anabaena variabilis* using repeated injections of carbon dioxide for the production of hydrogen. *Int J Hydrogen Energ*, 2002, 27: 1265–1270
- 55 Yun YS, Lee SB, Park JM, Lee CI, Yang JW. Carbon dioxide fixation by algal cultivation using wastewater nutrients. *J Chem Technol Biotechnol*, 1997, 69: 451–455
- 56 Costa JAV, de Morales MG. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 2–9
- 57 Ge YM, Liu JZ, Tian GM. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor. *Biore Technol*, 2011, 102: 130–134
- 58 Tang DH, Han W, Li PL, Miao XL, Zhong JJ. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella*

- pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 3071–3076
- 59 Hsueh HT, Li WJ, Chen HH, Chu H. Carbon bio-fixation by photosynthesis of *Thermosynechococcus* sp. CL-1 and *Nannochloropsis oculata*. *J Photochem Photobiol B*, 2009, 95: 33–39
- 60 Grobbelaar JU. Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations. *J Appl Phycol*, 1994, 6: 331–335
- 61 Cheng LH, Zhang L, Chen HL, Gao CJ. Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Sep Purif Technol*, 2006, 50: 324–329
- 62 Ota M, Kato Y, Watanabe H, Watanabe M, Sato Y. Fatty acid production from a highly CO₂ tolerant alga, *Chlorocuccum littorale*, in the presence of inorganic carbon and nitrate. *Bioresour Technol*, 2009, 100: 5237–5242
- 63 Chinnasamy S, Bhatnagar A, Claxton R, Das K. Biomass and bioenergy production potential of microalgae consortium in open and closed bioreactors using untreated carpet industry effluent as growth medium. *Bioresour Technol*, 2010, 101: 6751–60
- 64 李元广, 谭天伟, 黄英明. 微藻生物柴油产业化技术中的若干科学问题及其分析. *中国基础科学*, 2009, 11: 64–70
- 65 任德刚. 利用微藻固定 CO₂ 和生产生物燃料技术的研究进展. *电力科技与环保*, 2010, 26: 61–62
- 66 闵恩泽, 姚志龙. 近年生物柴油产业的发展: 特色、困境和对策. *化学进展*, 2007, 19: 1049–1059
- 67 杨启鹏, 岳丽宏, 康阿青. 微藻固定高浓度 CO₂ 技术的研究进展. *青岛理工大学学报*, 2009, 30: 69–74
- 68 Daily U. Pollution-fighting algae. <http://www.udel.edu/udaily/2013/jun/algae-pollution-biofuel-062713.html>. 2013-06-27
- 69 Uduman N, Qi Y, Danquah MK, Forde GM, Hoadley A. Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. *J Renew Sust Energy*, 2010, 2: 012701
- 70 Salim S, Bosma R, Vermue MH, Wijffels RH. Harvesting of microalgae by bio-flocculation. *J Appl Phycol*, 2010, 23: 849–855
- 71 Greenwell HC, Laurens LML, Shields RJ, Lovitt RW, Flynn KJ. Placing microalgae on the biofuels priority list: A review of the technological challenges. *J R Soc Interface*, 2010, 7: 703–726
- 72 Zhou WG. Novel fungal assisted bioflocculation technique for microalgae harvesting and its application. In: *The 2nd International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts*. San Diego, 2012
- 73 Zhou WG, Min M, Hu B, Chen P, Ruan R. Filamentous fungi assisted bio-flocculation: An efficient and low-cost technique for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells. *Sep Purif Technol*, 2013, 107: 158–165
- 74 Craggs RJ, Heuberck S, Lundquist TJ, Benemann JR. Algal biofuels from wastewater treatment high rate algal ponds. *Water Sci Technol*, 2011, 63: 660–665
- 75 Pienkos PT, Darzins A. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuel Bioprod Bior*, 2009, 3: 431–440
- 76 Vazhappilly R, Chen F. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid production potential of microalgae and their heterotrophic growth. *J Am Oil Chem Soc*, 1998, 75: 393–397
- 77 Grima EM, Belarbi, EH, Fernández FGA, Medina AR, Chisti Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. *Biotechnol Adv*, 2003, 20: 491–515
- 78 Wang Z, Ma X, Zhou W, Cheng Y, Chen P, Ruan R. Oil crop biomass residues-based medium for enhanced algal lipid and protein production. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, doi: 10.1007/s12010-013-0387-8
- 79 Stewart C, Hessami MA. A study of methods of carbon dioxide capture and sequestration: The sustainability of a photosynthetic bioreactor approach. *Energy Conv Manag*, 2005, 46: 403–420

Biological mitigation of carbon dioxide via microalgae: Recent development and future direction

ZHOU WenGuang^{*}, RUAN RongSheng^{*}

Center for Biorefining, Bioproducts and Biosystems Engineering Department, University of Minnesota, Saint Paul, MN 55108, USA

^{*}Corresponding authors (email: zhouw@umn.edu; ruanx001@umn.edu)

Abstract: The major gas leading to global warming and greenhouse gas emission is elevated carbon dioxide in the atmosphere, which called for effective carbon dioxide mitigation technologies. Traditional carbon dioxide mitigation methods included capture and storage, which involved a series of technologies such as absorption, adsorption, gas-separation membranes and cryogenic distillation. However, these methodologies are considered as cost expensive and non-sustainable. A promising technology is the biological capture of carbon dioxide by using microalgae, which have fast growth rate and high photosynthetic efficiency. The microalgae can fix CO₂ using solar energy with efficiency of ten to fifty times greater than terrestrial plant, and can be cultivated on non-fertile land. In this review, the promising microalgae for effective CO₂ fixation and the effect of CO₂ fixation by microalgae are introduced. The effect of reactor configurations, light intensity, the light/dark cycle, temperature, pH, CO₂ concentration, CO₂ fixation rates, mass transfer and nutrients requirement (including nutrients such as N and P derived from a variety of wastewater sources. e.g., agricultural run-off, concentrated animal feed operations, and industrial and municipal wastewater) on CO₂ fixation are analyzed. Finally, the application and economic viability as well as future trends and perspectives of microalgae biological CO₂ fixation are also discussed in depth.

Keywords: microalgae, CO₂, global warming, biological fixation, photobioreactor