

湿藻油脂制备生物柴油的研究进展

何禹, 黄睿, 虞育杰, 姚贤锐, 李剑烽, 唐瑜慕, 宋其晖, 李环

(贵州大学电气工程学院, 贵阳 550025)

摘要: 利用含油量高、生长速度快及能净化环境的微藻转化制取生物燃料具备较大发展潜力, 是实现“碳中和”和解决环境问题的有效途径之一。为了降低微藻制取生物柴油的能耗, 利用湿法提取技术直接从湿藻生物质中提取油脂制备生物柴油成为研究热点, 综述了传统细胞破壁提油酯交换法、原位酯交换法及新型水热破壁提油酯交换法 3 种湿藻油脂制备生物柴油的研究情况并分析了各自存在的问题。传统细胞破壁提油酯交换法需要有机溶剂提取油脂和酯交换两步实现生物柴油的制备, 生产工艺复杂, 生产投入较高。原位酯交换法可实现微藻生物质一步转化为生物柴油, 但存在醇消耗量过大(酸催化原位酯交换)或高温高压能耗高(超临界醇原位酯交换)等问题。新型水热破壁提油酯交换法能够在不使用有机溶剂的情况下实现湿藻油脂的高效分离, 但水热温度较高时油脂会与微藻其他组分反应导致油脂品质劣化, 水热温度较低时难以有效破坏细胞壁导致油脂提取效率降低。绿色溶剂辅助水热法可有效降低水热温度并抑制副产物的生成, 可提高湿藻油脂提取率。为实现湿藻油脂的高效、环保、低耗制备生物柴油, 可进一步依托深共熔溶剂等创新绿色溶剂低耗高效绿色提取微藻油脂。

关键词: 湿藻; 湿藻油脂; 破壁法; 原位酯交换法; 水热法

中图分类号: TE667; TS221 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2024)01-0100-07

Progress on production of biodiesel from wet algal oil

HE Yu, HUANG Rui, YU Yujie, YAO Xianrui, LI Jianfeng,

TANG Yumu, SONG Qihui, LI Huan

(School of Electrical Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: The conversion of microalgae with high oil content, fast growth rate and environmental purification to produce biofuels has great development potential, which is one of the effective ways to achieve "carbon neutrality" and solve environmental problems. In order to reduce the energy consumption of microalgae preparation biodiesel, using wet extraction technology to directly extract oil from wet algae biomass for preparing biodiesel has been the research hotspot, three kinds of wet algae oil biodiesel preparation methods including traditional wall breaking for oil extraction and transesterification method, in situ transesterification method and new hydrothermal wall breaking for oil extraction and transesterification method were summarized and their existing problems were analyzed. The traditional wall breaking for oil extraction and transesterification method requires two steps of oil extraction with organic

solvent and transesterification to realize the preparation of biodiesel, the production process is complex and the production input is high. In situ transesterification method can convert microalgal biomass into biodiesel in one step, but there are some problems such as excessive consumption of alcohol (acid catalytic in situ transesterification) or high energy consumption at high temperature and high pressure (supercritical alcohol in situ

收稿日期: 2022-10-29; 修回日期: 2023-11-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52266006); 贵州省省级科技计划项目资助(ZK[2022]一般061, ZK[2022]一般139); 贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教技[2022]043号); 贵州大学自然科学专项(特岗)科研基金项目(贵大特岗合字[2021]10号); 贵州大学培育项目(贵大培育[2020]20号)

作者简介: 何禹(1997), 男, 在读硕士, 研究方向为微藻减排二氧化碳制取清洁生物液体燃料(E-mail)516720560@qq.com。

通信作者: 黄睿, 副教授(E-mail)rhuang3@gzu.edu.cn。

transesterification). The new hydrothermal wall breaking for oil extraction and transesterification method can realize the efficient separation of oil without using organic solvent. However, when the hydrothermal temperature is high, the reaction of oil and other components of microalgae can deteriorate the oil quality. When the hydrothermal temperature is low, it is difficult to effectively destroy the cell wall, resulting in low oil extraction efficiency. Green solvent – assisted hydrothermal method can effectively reduce the hydrothermal temperature and inhibit the generation of by – products, which can improve the extraction rate of wet algae oil. In order to realize the preparation of biodiesel with high efficiency, environmental protection and low energy consumption by wet algae oil, it can further rely on innovative green solvents such as deep eutectic solvent to achieve high efficiency, low consumption and green extraction of microalgae oil.

Key words: wet algal; wet algal oil; wall breaking method; in situ extraction transesterification method; hydrothermal method

化石燃料的过度消费导致的能源短缺和温室气体排放增加等问题给我国实现可持续发展的目标带来了巨大挑战,开发替代能源以减少化石燃料的使用刻不容缓^[1-2]。利用含油量高、生长速度快、不占用耕地的微藻生物质制取的生物柴油^[3],被认为是化石燃料有效替代品之一。因此,对于微藻生物柴油生产技术的研究受到广泛的关注。

微藻生物质主要成分有碳水化合物、蛋白质、油脂等^[4-5]。微藻生物柴油的生产过程包括微藻的培养与收获、干燥、油脂的提取和转化,而实现微藻生物柴油最大生产率的关键步骤在于微藻细胞内油脂的提取^[6]。目前,从微藻细胞内提取油脂有干法提取和湿法提取两种方法^[7]。常见的干法提取微藻油脂的方法有 Folch、Bligh & Dyer 和 Soxhlet 法^[8-10],干法提取微藻油脂时,要先对微藻进行干燥,再进行预处理破壁提取油脂,然而,利用干法提取微藻油脂过程中干燥生物质的能量占总能量输入的 89%,占总处理成本的 70% ~ 75%^[7]。为了降低微藻制取生物柴油的能耗,利用湿法提取技术直接从湿藻生物质中提取

油脂制备生物柴油已经成为研究的热点^[11]。

本文按照湿藻油脂制备生物柴油的研究发展历程,综述了传统细胞破壁提油酯交换法、原位酯交换法及新型水热破壁提油酯交换法制备生物柴油的研究情况以及存在的问题,并对进一步提高湿藻油脂制取生物柴油过程的经济性和环保性作出展望。

1 传统细胞破壁提油酯交换法制备生物柴油

湿藻细胞破壁提油制备生物柴油工艺中,先将微藻细胞壁破碎,然后使用溶剂进行油脂萃取,再通过酯交换反应完成生物柴油的转换^[12]。湿藻油脂制备生物柴油工艺中,有效的细胞壁破碎方法是实现生物柴油最大生产率的主要挑战。对此研究者提出了各种湿藻破壁方法,传统的湿藻破壁方法主要分为机械法与非机械法。

1.1 机械法

机械法破壁主要包括球磨机法、高压均质法、微波法、超声波法、电脉冲法、蒸汽爆破法等^[13-17]。表 1 总结了这几种机械破壁方法的优缺点^[15-19]。

表 1 常见机械破壁方法的优缺点

机械破壁方法	优点	缺点
球磨机法	设备简单,处理时间短而且高效	能量消耗高,过程中高温容易使有机组分分解
高压均质法	室温下破壁,对中性油脂提取有效	后续处理成本高,设备成本投入高,能量输入高
微波法	预处理高效,处理时间短,能量转移快速	成本高,能量消耗高,设备维护成本高
超声波法	效率高,溶剂消耗少,处理时间短	不易扩大规模工业应用
电脉冲法	溶剂需求少,藻类选择性高,处理温和	能量消耗高,方法仍处于起步阶段
蒸汽爆破法	预处理高效,处理时间短	高压、高温条件苛刻,能量消耗高,大规模生产应用受限

与其他细胞壁破碎技术相比,机械法破壁对油脂提取更有利,一方面它可以保护微藻细胞免受污染,另一方面在细胞壁破裂过程中较少使用化学试

剂,从而达到保护设备材料的作用^[15]。然而,机械法破壁的显著缺点是细胞预处理过程中的高成本和高能量消耗。

1.2 非机械法

非机械法主要包括化学法和酶解法。化学法是通过添加硫酸、硝酸及双氧水等试剂破坏微藻细胞壁^[20],从而使油脂溶出。相比于机械法,化学法不需要大量的热量或电力来破坏细胞壁结构,能耗较低,但需使用大量化学试剂,细胞破壁后需要对化学试剂进行处理,工序增加^[21],同时加入大量的化学试剂会造成油脂的污染,使得油脂品质劣化,油脂提取效率变低^[12]。酶解法是利用生物酶使微藻细胞壁发生水解,从而实现破壁^[22-23]。酶解法虽可提高油脂提取效率^[24],但是不同的微藻需选用不同的酶,造成成本较高,限制了该方法的工业规模应用。

综上,湿藻细胞破壁提取油脂生产生物柴油工艺在采用机械法和非机械法进行破壁后,仍需要使用溶剂萃取完成油脂的提取,再经酯交换制备生物

柴油,生产工艺复杂,且生产投入较高。

2 湿藻原位酯交换法制备生物柴油

目前,常见的湿藻原位酯交换制备生物柴油的方法有酸催化原位酯交换法和超临界醇原位酯交换法。

2.1 酸催化原位酯交换法

各种催化剂已被用于原位酯交换法制备生物柴油中,包括均相酸碱催化剂和多相催化剂,其中,酸催化剂因为对游离脂肪酸(FFA)浓度的高耐受性而常被用于湿藻生物柴油转化过程^[25]。利用 H_2SO_4 、 HCl 等作催化剂,氯仿、己烷等作溶剂,并与湿藻和醇类混合,在一定条件下实现微藻一步法制备生物柴油。表2是部分酸催化原位酯交换法在湿藻生物柴油制备中的应用情况。

表2 酸催化原位酯交换法在湿藻生物柴油制备中的应用情况

微藻	溶剂	醇	催化剂	结果	参考文献
微拟球藻	氯仿	甲醇	H_2SO_4	生物柴油产率 91%	[26]
小球藻	正己烷	甲醇	H_2SO_4	生物柴油产率 81%	[27]
微拟球藻	-	甲醇	H_2SO_4	脂质转化率 100%	[28]
微拟球藻	正己烷	甲醇	CH_3COCl	脂质转化率 100%	[29]
微拟球藻	氯仿	乙醇	H_2SO_4	脂质转化率 92%	[30]

研究发现,与正己烷相比,以氯仿作溶剂采用酸催化原位酯交换法制备的生物柴油产率较高。Im等^[26]在以氯仿作溶剂, H_2SO_4 作催化剂的条件下,湿藻生物质和甲醇同时进行萃取和酯交换,生物柴油产率达到91%,而将溶剂氯仿换为正己烷时,产率仅为33%。为了提高生物柴油转化效率并缩短反应时间,Cheng等^[31]在微波辅助加热条件下,使用氯仿作溶剂, H_2SO_4 作催化剂,湿藻生物质和甲醇进行原位酯交换制备生物柴油,生物柴油产率相比于传统加热两步法(先提取油脂后酯交换)提高了30%,反应时间缩短为传统加热两步法下的1/6,但是过程中仍需要使用有毒溶剂氯仿作溶剂,使得该方法很难在大规模的工业生产中应用。另外,湿藻

中较多的水分会对原位酯交换反应产生不利影响,一般通过增加原位酯交换过程中醇的用量改善此问题,造成醇用量过大^[32],且反应时间长。

2.2 超临界醇原位酯交换法

在湿藻制备生物柴油过程中 FFA 和催化剂性能以及湿藻中的水分都会影响酸催化原位酯交换的效率,为了解决这些问题,研究人员引入了超临界醇原位酯交换法,该方法同时进行油脂提取和非催化酯交换,且水和 FFA 不会影响反应效率^[33]。在该方法中,醇类处于超临界状态,藻类细胞的破裂和溶剂扩散使得油脂提取和酯交换同时发生^[34-35]。表3是部分超临界醇原位酯交换法在湿藻生物柴油制备中的应用情况。

表3 超临界醇原位酯交换法在湿藻生物柴油制备中的应用情况

微藻	醇	反应温度/°C	反应时间/min	结果	参考文献
微拟球藻	乙醇	265	20	产率 67%	[36]
螺旋藻	甲醇	300	30	转化率 99.32%	[33]
小球藻	乙醇	325	180	产率 66.4%	[37]
小球藻	乙醇	250	60	产率 81%	[38]
小球藻	甲醇	265	50	产率 45.62%	[39]
微拟球藻	甲醇	250	30	产率 84.15%	[40]

超临界醇原位酯交换法具有简单、环保、油脂转化率高、无需使用酸或碱催化剂和产品无需后处理等优点,有利于工业规模生产应用。然而,超临界反应需要在高温高压条件下进行,且在1 h左右才能获得较高的生物柴油转化率,需要更多的研究来进一步优化超临界醇原位酯交换技术的关键操作参数,这将使这种“绿色”工艺在商业应用中更有前景。

3 新型水热破壁提油酯交换法制备生物柴油

基于传统破壁提油酯交换法制备生物柴油及原位酯交换法制备生物柴油的不足,近年来出现了水热破壁提油酯交换制备生物柴油的方法。同样,破壁是该方法制备生物柴油的关键,相关研究较多,主要包括高温水热法、低温水热法和绿色溶剂辅助水热法3种破壁方法。

3.1 高温水热法

水热处理能够直接利用湿藻,从而被广泛应用于微藻能源转化过程中^[41-42]。目前,微藻水热处理主要集中于低脂高蛋白微藻的转化利用,较少应用于富油微藻的油脂提取。对于高含油量的微藻,直接进行高温水热处理时,高温水导致细胞壁的水解,从而释放油脂^[43]。Jazrawi等^[44]在350℃下高温水热处理湿藻3 min最大可达到41.7%的油脂产率。然而,在高温高压条件下微藻油脂与蛋白质、多糖等组分反应生成多种含氮杂环化合物(如吡咯、呋喃等)及大量的酚醛类、酮类、呋喃类等杂质,导致油脂品质劣化^[45]。另外,微藻在高温水热处理后使用二氯甲烷、氯仿等有机溶剂萃取油脂将导致含氮、含氧杂环组分进入油相^[46]。据报道,经过高温水热处理提取的油脂的氮含量通常在5%~8%之间,而油脂转化为生物燃料的燃烧会导致有毒NO_x的排放^[47]。因此,需要进一步对高温水热处理进行研究,降低对于产物的污染,提高对于目标产物的获取率。

3.2 低温水热法

为了解决高温水热条件下提取湿藻油脂造成的油脂污染问题,降低水热温度、无溶剂提取油脂成为了研究热点^[48-49]。Qiu等^[48]提出了采用低温水热处理湿藻并在无溶剂的条件下提取油脂,在间歇反应器中对微藻进行245℃低温水热处理,这将使得部分低热值成分(碳水化合物、灰分等)溶解到水中,然后过滤将高热值成分(油脂)从微藻物质中分离出来,油脂提取率达到89.2%,所获得的产物含氮量为3.56%。Huang等^[49]在连续流动反应器

中260℃低温水热处理湿藻,将可酯化的油脂从原始微藻的2.19%增加到水解在生物溶剂中的44%,在不使用有毒溶剂的情况下,油脂提取率达到72.3%,氮含量下降到3.4%。

3.3 绿色溶剂辅助水热法

为了进一步降低水热温度对油脂品质的影响,利用绿色溶剂辅助水热法提取湿藻油脂成为研究热点^[50]。

离子液体(ILs, Ionic liquids)是具有低熔点(低于100℃)的盐,因其在环境条件下具有非挥发性、化学和热稳定性、可回收性、高导电性和高溶解能力等特性而成为挥发性有机溶剂的有力替代品^[51]。Chen等^[52]研究了利用离子液体辅助水热法提取湿藻油脂,通过在水热过程中加入[HNEt₃][HSO₄]离子液体,油脂提取率达到了73.63%,将水热温度降低至110℃,有效抑制了高温下油脂与水解产物的反应。然而,离子液体高毒性、高成本的缺点限制了它在微藻生物能源转化利用过程中的扩大化生产应用。由氢键供体(HBD)和氢键受体(HBA)合成的深共熔溶剂(DES)由于制备简单、成本低、毒性低和生物降解性高等特点成为了生物质预处理和转化过程中离子液体的有效替代品^[52]。Huang等^[9]研究了DES辅助水热法提取湿藻油脂,在160℃的低温水热条件下油脂提取率达到95.75%,并有效抑制了有毒副产物的生成。

然而,绿色溶剂辅助水热法处理湿藻提取油脂制备生物柴油尚未在工业规模上使用,规模化生产的潜力无法判断,需要进一步研究探索。有报道称在水热处理微藻过程中绿色溶剂的循环利用是开发具有成本效益的提取工艺的关键挑战^[53]。因此,水热预处理微藻过程中使用的绿色溶剂以高纯度、高回收率进行回收再利用也是需要进一步研究解决的问题。

4 总结与展望

利用湿藻直接提取油脂制备生物柴油工艺主要包括传统细胞破壁提油酯交换法、原位酯交换法、新型水热破壁提油酯交换法,传统细胞破壁提油酯交换法需要先破壁再使用有机溶剂提油再经酯交换制备生物柴油,生产工艺复杂,且生产投入较高。原位酯交换法可实现油脂一步转化为生物柴油,但是酸催化原位酯交换法为了减少水分对油脂萃取转化的不利影响,有机溶剂醇的用量会成倍增加,超临界醇原位酯交换法需要高温高压。新型水热破壁提油酯交换法制备生物柴油工艺可在不使用有机溶剂的情况下实现油脂的高效提取,但水热温度较高时油脂

与微藻其他组分反应导致油脂品质劣化,水热温度较低时难以有效破坏细胞壁,导致油脂提取效率低下。绿色溶剂辅助水热法有效降低了水热温度并抑制毒副产物的生成,提高了油脂提取率,但作为创新方法,需进一步研究其规模化生产潜力。

为了使湿藻油脂制备生物柴油更高效、更环保和更具成本效益,需要对以下几个方面进一步研究,主要包括:①对现有的湿藻油脂提取工艺的操作参数如温度、时间、压力等进行优化以提高生产效率,实现微藻能源的高效利用;②对于绿色溶剂在湿藻油脂提取过程中的使用和工业化规模应用前景进行试验分析,实现“碳中和”目标下化学工业绿色低碳发展的要求;③对于湿藻油脂制备生物柴油工艺过程中使用的绿色溶剂以高纯度、高回收率进行回收再利用。

参考文献:

- [1] FENG H, SUN C, ZHANG C, et al. Bioconversion of mature landfill leachate into biohydrogen and volatile fatty acids via microalgal photosynthesis together with dark fermentation[J/OL]. *Energy Convers Manage*, 2022, 252: 115035 [2022 - 10 - 29]. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2021.115035>.
- [2] LI S, LI F, ZHU X, et al. Biohydrogen production from microalgae for environmental sustainability [J/OL]. *Chemosphere*, 2022, 291(Pt 1): 132717 [2022 - 10 - 29]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132717>.
- [3] GOH B H H, ONG H C, CHEAH M Y, et al. Sustainability of direct biodiesel synthesis from microalgae biomass: A critical review[J]. *Renew Sust Energy Rev*, 2019, 107: 59 - 74.
- [4] MENEGAZZO M L, FONSECA G G. Biomass recovery and lipid extraction processes for microalgae biofuels production: A review[J]. *Renew Sust Energy Rev*, 2019, 107: 87 - 107.
- [5] KHOO K S, CHEW K W, OOI C W, et al. Extraction of natural astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using liquid biphasic flotation system [J/OL]. *Bioresour Technol*, 2019, 290: 121794 [2022 - 10 - 29]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121794>.
- [6] MA Y A, CHENG Y M, HUANG J W, et al. Effects of ultrasonic and microwave pretreatments on lipid extraction of microalgae[J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2014, 37(8): 1543 - 1549.
- [7] PÔJO V, TAVARES T, MALCATA F X. Processing methodologies of wet microalga biomass toward oil separation: An overview [J/OL]. *Molecules*, 2021, 26(3): 641 [2022 - 10 - 29]. <https://doi.org/10.3390/molecules26030641>.
- [8] BLANCO - LLAMERO C, GARCÍA - GARCÍA P, SEÑORÁNS F J. Combination of synergic enzymes and ultrasounds as an effective pretreatment process to break microalgal cell wall and enhance algal oil extraction [J/OL]. *Foods*, 2021, 10(8): 1928 [2022 - 10 - 29]. <https://doi.org/10.3390/foods10081928>.
- [9] HUANG R, HE Y, YAO X, et al. Disintegration of wet microalgae biomass with deep - eutectic - solvent - assisted hydrothermal treatment for sustainable lipid extraction[J]. *Green Chem*, 2022, 24(4): 1615 - 1626.
- [10] HAJINAJAF N, RABBANI Y, MEHRABADI A, et al. Experimental and modeling assessment of large - scale cultivation of microalgae *Nannochloropsis* sp. PTCC 6016 to reach high efficiency lipid extraction[J]. *Int J Environ Sci Technol*, 2022, 19(6): 5511 - 5528.
- [11] CHENG J, HUANG R, LI T, et al. Biodiesel from wet microalgae: Extraction with hexane after the microwave - assisted transesterification of lipids [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 170: 69 - 75.
- [12] 黄睿. 微藻细胞先酯交换再萃取制备生物柴油的机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [13] LEE S Y, KHOIROH I, VO D V N, et al. Techniques of lipid extraction from microalgae for biofuel production: A review[J]. *Environ Chem Lett*, 2021, 19(1): 231 - 251.
- [14] PRAGYA N, PANDEY K K, SAHOO P K. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae[J]. *Renew Sust Energy Rev*, 2013, 24: 159 - 171.
- [15] ONUMAEGBU C, MOONEY J, ALASWAD A, et al. Pre - treatment methods for production of biofuel from microalgae biomass [J]. *Renew Sust Energy Rev*, 2018, 93: 16 - 26.
- [16] LEE S Y, CHO J M, CHANG Y K, et al. Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review [J]. *Bioresour Technol*, 2017, 244(Pt 2): 1317 - 1328.
- [17] ANGLES E, JAOUEN P, PRUVOST J, et al. Wet lipid extraction from the microalga *Nannochloropsis* sp.: Disruption, physiological effects and solvent screening [J]. *Algal Res*, 2017, 21: 27 - 34.
- [18] HALIM R, HARUN R, DANQUAH M K, et al. Microalgal cell disruption for biofuel development[J]. *Appl Energy*, 2012, 91(1): 116 - 121.
- [19] CHENG J, HUANG R, LI T, et al. Physicochemical characterization of wet microalgal cells disrupted with instant catapult steam explosion for lipid extraction[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 191: 66 - 72.
- [20] STERITI A, ROSSI R, CONCAS A, et al. A novel cell disruption technique to enhance lipid extraction from

- microalgae[J]. *Bioresour Technol*, 2014, 164: 70–77.
- [21] HU Y, GONG M, FENG S, et al. A review of recent developments of pre-treatment technologies and hydrothermal liquefaction of microalgae for bio-crude oil production[J]. *Renew Sust Energ Rev*, 2019, 101: 476–492.
- [22] PATEL S, KANNAN D C. A method of wet algal lipid recovery for biofuel production[J/OL]. *Algal Res*, 2021, 55: 102237 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102237>.
- [23] KAPOORE R V, BUTLER T O, PANDHAL J, et al. Microwave-assisted extraction for microalgae: From biofuels to biorefinery[J/OL]. *Biology*, 2018, 7(1): 18 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.3390/biology7010018>.
- [24] ZHENG Y, XIAO R, ROBERTS M. Polymer-enhanced enzymatic microalgal cell disruption for lipid and sugar recovery[J]. *Algal Res*, 2016, 14: 100–108.
- [25] SALAM K A, VELASQUEZ-ORTA S B, HARVEY A P. A sustainable integrated in situ transesterification of microalgae for biodiesel production and associated co-product: A review[J]. *Renew Sust Energ Rev*, 2016, 65: 1179–1198.
- [26] IM H, LEE H, PARK M S, et al. Concurrent extraction and reaction for the production of biodiesel from wet microalgae[J]. *Bioresour Technol*, 2014, 152: 534–537.
- [27] SATHISH A, SMITH B R, SIMS R C. Effect of moisture on in situ transesterification of microalgae for biodiesel production[J]. *J Chem Tech Biotech*, 2014, 89(1): 137–142.
- [28] KIM T H, SUH W I, YOO G, et al. Development of direct conversion method for microalgal biodiesel production using wet biomass of *Nannochloropsis salina* [J]. *Bioresour Technol*, 2015, 191: 438–444.
- [29] MACÍAS-SÁNCHEZ M D, ROBLES-MEDINA A, HITA-PEÑA E, et al. Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification[J]. *Fuel*, 2015, 150: 14–20.
- [30] KIM B, CHANG Y K, LEE J W. Efficient solvothermal wet in situ transesterification of *Nannochloropsis gaditana* for biodiesel production[J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2017, 40(5): 723–730.
- [31] CHENG J, YU T, LI T, et al. Using wet microalgae for direct biodiesel production via microwave irradiation[J]. *Bioresour Technol*, 2013, 131: 531–535.
- [32] HUANG R, LI J, TANG Y, et al. Comparative life-cycle assessment of microalgal biodiesel production via various emerging wet scenarios: Energy conversion characteristics and environmental impacts[J/OL]. *Energy Convers Manag*, 2022, 257: 115427 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115427>.
- [33] MOHAMADZADEH SHIRAZI H, KARIMI-SABET J, GHOTBI C. Biodiesel production from *Spirulina* microalgae feedstock using direct transesterification near supercritical methanol condition[J]. *Bioresour Technol*, 2017, 239: 378–386.
- [34] ABEDINI NAJAFABADI H, VOSSOUGH M, PAZUKI G. The role of co-solvents in improving the direct transesterification of wet microalgal biomass under supercritical condition[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 193: 90–96.
- [35] JAZZAR S, OLIVARES-CARRILLO P, PÉREZ DE LOS RÍOS A, et al. Direct supercritical methanolysis of wet and dry unwashed marine microalgae (*Nannochloropsis gaditana*) to biodiesel[J]. *Appl Energy*, 2015, 148: 210–219.
- [36] REDDY H K, MUPPANENI T, PATIL P D, et al. Direct conversion of wet algae to crude biodiesel under supercritical ethanol conditions[J]. *Fuel*, 2014, 115: 720–726.
- [37] KIM B, HEO H Y, SON J, et al. Simplifying biodiesel production from microalgae via wet in situ transesterification: A review in current research and future prospects[J/OL]. *Algal Res*, 2019, 41: 101557 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101557>.
- [38] JIN B, DUAN P, XU Y, et al. Lewis acid-catalyzed in situ transesterification/esterification of microalgae in supercritical ethanol[J]. *Bioresour Technol*, 2014, 162: 341–349.
- [39] JAZZAR S, QUESADA-MEDINA J, OLIVARES-CARRILLO P, et al. A whole biodiesel conversion process combining isolation, cultivation and in situ supercritical methanol transesterification of native microalgae[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 190: 281–288.
- [40] PATIL P D, GUDE V G, MANNARSWAMY A, et al. Optimization of direct conversion of wet algae to biodiesel under supercritical methanol conditions[J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(1): 118–122.
- [41] CHEN X, MA X, CHEN L, et al. Hydrothermal liquefaction of *Chlorella pyrenoidosa* and effect of emulsification on upgrading the bio-oil[J/OL]. *Bioresour Technol*, 2020, 316: 123914 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123914>.
- [42] LIU H, CHEN Y, YANG H, et al. Conversion of high-ash microalgae through hydrothermal liquefaction[J]. *Sust Energy Fuels*, 2020, 4(6): 2782–2791.

- in *Saccharomyces cerevisiae* provides a novel assay for nonsteroidal anti-inflammatory drugs [J]. *FEMS Yeast Res*, 2009, 9(3): 420–427.
- [13] KANAMOTO H, TAKEMURA M, OHYAMA K. Identification of a cyclooxygenase gene from the red alga *Gracilaria vermiculophylla* and bioconversion of arachidonic acid to PGF_{2α} in engineered *Escherichia coli* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 91(4): 1121–1129.
- [14] GUDER J C, BUCHHAUPT M, HUTH I, et al. Biotechnological approach towards a highly efficient production of natural prostaglandins [J]. *Biotechnol Lett*, 2014, 36(11): 2193–2198.
- [15] O'NEILL G P, MANCINI J A, KARGMAN S, et al. Overexpression of human prostaglandin G/H synthase - 1 and - 2 by recombinant vaccinia virus; Inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and biosynthesis of 15-hydroxyeicosatetraenoic acid [J]. *Mol Pharmacol*, 1994, 45(2): 245–254.
- [16] TAI H H, ENSOR C M, TONG M, et al. Prostaglandin catabolizing enzymes [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2002, 68/69: 483–493.
- [17] 闫子祥, 杨然, 李秀婷. 微生物表达系统研究进展 [J]. *中国食品学报*, 2013, 13(10): 126–135.
- [18] 何东洋, 马超, 高振月, 等. 人源 CD137L 基因在不同表达系统中表达效率的比较 [J]. *生物技术通报*, 2014(9): 178–183.
- [19] 苏鹏, 龚国利. 优化大肠杆菌表达外源蛋白的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2017, 33(2): 16–23.
- [20] 许思远, 张永贵, 赵沛, 等. 产油核桃内生细菌乙酰辅酶 A 羧化酶 *acb* 基因克隆及优化表达 [J]. *中国油脂*, 2023, 48(4): 99–104.
- [21] 黄旭, 王振, 刘娟, 等. 玉米黄烷酮-3-羟化酶原核表达条件对香橙素生成量的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(3): 38–43.
- [22] 林丹敏, 宋彩燕, 余林金, 等. 应用正交实验法优化大肠杆菌表达 CTB-PSMA624-632 蛋白的条件 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(2): 636–643.
- [23] 张煜彬, 叶路芬, 吴忠秀, 等. PD0721 单链抗体的体外原核表达条件优化及蛋白质鉴定 [J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(7): 42–49.
- [24] VARVAS K, KASVANDIK S, HANSEN K, et al. Structural and catalytic insights into the algal prostaglandin H synthase reveal atypical features of the first non-animal cyclooxygenase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1831(4): 863–871.
-
- (上接第 105 页)
- [43] NGAMSIRISOMSAKUL M, REUNGSANG A, LIAO Q, et al. Enhanced bio-ethanol production from *Chlorella* sp. biomass by hydrothermal pretreatment and enzymatic hydrolysis [J]. *Renew Energy*, 2019, 141: 482–492.
- [44] JAZRAWI C, BILLER P, ROSS A B, et al. Pilot plant testing of continuous hydrothermal liquefaction of microalgae [J]. *Algal Res*, 2013, 2(3): 268–277.
- [45] CHENG J, HUANG R, YU T, et al. Biodiesel production from lipids in wet microalgae with microwave irradiation and bio-crude production from algal residue through hydrothermal liquefaction [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 151: 415–418.
- [46] TANG X, ZHANG C, YANG X. Optimizing process of hydrothermal liquefaction of microalgae via flash heating and isolating aqueous extract from bio-crude [J/OL]. *J Clean Prod*, 2020, 258: 120660 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120660>.
- [47] KUMAR K, GHOSH S, ANGELIDAKI I, et al. Recent developments on biofuels production from microalgae and macroalgae [J]. *Renew Sust Energ Rev*, 2016, 65: 235–249.
- [48] QIU Y, CHENG J, GUO H, et al. Mild hydrothermal treatment on microalgal biomass in batch reactors for lipids hydrolysis and solvent-free extraction to produce biodiesel [J/OL]. *Energy*, 2019, 189: 116308 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116308>.
- [49] HUANG R, CHENG J, QIU Y, et al. Solvent-free lipid extraction from microalgal biomass with subcritical water in a continuous flow reactor for acid-catalyzed biodiesel production [J]. *Fuel*, 2019, 253: 90–94.
- [50] CHEN X, HU L, XING R, et al. Ionic liquid-assisted subcritical water promotes the extraction of lipids from wet microalgae *Scenedesmus* sp. [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2015, 117(8): 1192–1198.
- [51] MALEKGHASEMI S, KARIMINIA H R, PLECHKOVA N K, et al. Direct transesterification of wet microalgae to biodiesel using phosphonium carboxylate ionic liquid catalysts [J/OL]. *Biomass Bioenerg*, 2021, 150: 106126 [2022-10-29]. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106126>.
- [52] CHEN Y, MU T. Application of deep eutectic solvents in biomass pretreatment and conversion [J]. *Green Energy Environ*, 2019, 4(2): 95–115.
- [53] KIM K H, DUTTA T, SUN J, et al. Biomass pretreatment using deep eutectic solvents from lignin derived phenols [J]. *Green Chem*, 2018, 20(4): 809–815.