

УДК: 620.95.504.7

**Н.И. Чернова, Т.П. Коробкова**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
Ленинские горы, 1, Москва, 119991, ГСП-1, Россия,  
тел.: +7 (495) 939 42 57, e-mail: rsemsu@mail.ru

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

*В статье представлен обзор литературных данных, касающихся нетрадиционного вида сырья для целей биоэнергетики – микроводорослей как источника биотоплива (метана, биоводорода, биодизеля и жидких углеводородов). Рассмотрены преимущества использования микроводорослей как биотоплива второго поколения, высокая продуктивность и энергосодержание которых ставят их в фокус широких научных исследований. Проведен сравнительный анализ урожайности масличных растений и микроводорослей. В силу высокой продуктивности микроводорослей по маслу, замена масличных культур на микроводорослевые позволит сократить необходимые площади от 50 до 100 раз, причем, с использованием земель, непригодных для растениеводства. Рассмотрены спектр микроводорослей – продуцентов масла и жидких углеводородов, технологии их выращивания и способы переработки биомассы.*

*К л ю ч е в ы е с л о в а : биоэнергетика, биотехнологии, биотопливо, липиды, биомасса микроводорослей.*

В последние годы ускоренное развитие биоэнергетики стало глобальной общемировой тенденцией. Более 100 ведущих фирм из 17 стран мира занимаются исследованиями, разработкой технологий, проектированием и инжинирингом объектов для биотопливной промышленности и производством возобновляемого топлива. Использование биотоплива позволяет решать как экономические, так и экологические проблемы: замещение ископаемых ресурсов, диверсификация источников энергии для обеспечения энергетической безопасности стран-импортеров, дополнительное производство в аграрном секторе экономики конкурентоспособной экспортной продукции, сокращение эмиссии парниковых газов в атмосферу. В большинстве развитых стран наблюдается тенденция увеличения потребления биотоплива. Темпы роста производства различных видов жидких биотоплив составляют в мире, по разным оценкам, 20–40% в год. В странах ЕС к 2010 г. их доля в общем потреблении нефтяного топлива должна достигнуть 5,75% [2]. Мировая биотопливная промышленность переходит в стадию состоявшейся быстрорастущей отрасли, которая привлекает все больше внимания и денег со стороны «традиционных» топливных игроков, инвесторов и государств. Объем инвестиций в эту

© Н.И. Чернова, Т.П. Коробкова, 2010



отрасль, например, в США достиг за последние 10 лет 150 млрд. дол. [6]. До недавнего времени сырьем для производства биотоплива служили зерновые и масличные культуры (биотопливо 1-го поколения), что в результате привело к противоречивому отношению к биоэнергетике как масштабному потребителю пищевых ресурсов. Это дало стимул к разработке биотоплива из непищевого сырья: лигноцеллюлозы древесных и сельскохозяйственных отходов и др. Так, Европейский Союз принял поправки в программы по биотопливу, увеличив обязательную долю биотоплива из непищевого сырья. Идут активные поисковые работы в области получения такого биотоплива, которое названо «биотопливом второго поколения».

В качестве альтернативы традиционным энергетическим культурам могут выступать фотосинтезирующие микроводоросли — перспективные источники различных видов возобновляемого биотоплива: метана при анаэробном сбраживании, водородорода, биоэтанола, биодизеля из водородоролевого масла, углеводов из микроводоросли *Botryococcus braunii*, из которых были получены 65% бензина, 15% авиационного топлива, 18% дизеля, 2% мазута [14].

Биомасса микроводорослей отвечает большинству предъявляемых к растительному энергетическому сырью требованиям.

Водоросли — фотоавтотрофы. Им для роста и развития нужен солнечный свет, CO<sub>2</sub>, вода с небольшим количеством минеральных солей.

Продуктивность микроводорослей по биомассе и маслу на порядки превышает продуктивность наземных растений. Так, например, в некоторых видах водорослей при оптимальных условиях культивирования содержание липидов превышает таковое в масличных растениях: у *Scenedesmus dimorphus* содержание липидов составляет 16–40%, у *Prymnesium parvum* — 22–38%, *Euglena gracilis* — 14–20%, *Chlorella vulgaris* — 14–22%, *Dunaliella salina* — 16–44%, *Haematococcus pluvialis* — 25–45%, *Tetraselmis suecica* — 20–30%, *Isochrysis galbana* — 22–38%, *Nannochloropsis sp.* — 33–38%, *Stichococcus sp.* — 40–59%, а у *Botryococcus braunii* — до 80%, при этом площади их выращивания значительно сокращаются по сравнению, например, с рапсом в 50–100 раз (табл. 1) [11].

Таблица

Сравнительная оценка источников сырья для производства биодизеля\*

Table

The comparative value of the crude sources for biodiesel production

Культура	Урожай масла, л/га	Площадь, необходимая для производства масла (· 10 <sup>6</sup> га)**
Кукуруза	172	1540
Соя	446	594
Канола	1190	223
Ятрофа	1892	140
Кокосовый орех	2689	99
Пальмовое масло	5950	45
Микроводоросли (30%)***	58 700	4,5
Микроводоросли (70%)****	136 900	2

\* Данные получены в экспериментах по выращиванию микроводорослей на площади 5681 м<sup>2</sup> в Новой Зеландии

\*\* Для замены 50% всего транспортного топлива в США

\*\*\* 30% масла (от биомассы по сухому весу)

\*\*\*\* 70% масла (от биомассы по сухому весу)



Для выращивания водорослей не требуются пахотные земли, плантации можно размещать на поверхности водоемов или на непригодных для земледелия почвах (засоленных, пустынных и др.).

- Плантации микроводорослей могут служить эффективным стоком  $\text{CO}_2$ , при этом водоросли конвертируют его в жидкую форму энергии высокой плотности.
- Водоросли требуют намного меньше воды, чем традиционные зерновые культуры. Их можно выращивать и в соленой воде, и на сточных водах, ослабляя давление на ресурсы чистой воды.
- Микроводоросли не являются традиционным пищевым сырьем.
- Одним из возможных путей сокращения стоимости биотоплива из микроводорослей является получение ценных сопутствующих продуктов из них для химической, фармацевтической, медицинской, пищевой, кормовой промышленности (бета-каротин, астаксантин, фикоцианин, хлорофилл, глицерин и т.д.) и использование в технологиях выращивания отходов других производств.
- При существующих в мире технологиях становится возможным крупномасштабное выращивание биомассы микроводорослей круглогодично не только в условиях тропического и субтропического климата, но и в климатических условиях, например, штата Монтана, где температура зимой опускается до  $-18\text{ }^\circ\text{C}$  [12].
- Использование микроводорослей в качестве сырья для энергетики способствует диверсификации энергетических источников.

Широкий фронт научно-исследовательских и инженерных разработок направлен на решение главных задач производства микроводорослевого биотоплива. В основе его лежит промышленная культура микроводоросли, которая должна обладать способностью быстро расти, синтезировать и аккумулировать значительные количества липидов в виде триацилглицеридов и жидких углеводов. В связи с этим ведется поиск в природных популяциях микроводорослей, отвечающих этим требованиям. Установлено, что наиболее перспективными являются представители зеленых и диатомовых микроводорослей, причем наивысший уровень триацилглицеридов (ТАГ) (40–60%) обнаружен у последних. Следует отметить, что помимо ТАГ водоросли могут продуцировать углеводороды, аналогичные ископаемым. В настоящее время известны только две культуры микроводорослей, образующие жидкие углеводороды: *Botryococcus braunii* и недавно выделенный японскими учеными штамм *Pseudochorocystis ellipsoidea* [16]. Решением SERI\NREI (Solar Energy Research Institute\ National Renewable Energy Laboratory, US) создана коллекция микроводорослей в рамках программы **Aquatic Species Program**, являющаяся ценным генетическим ресурсом. Эта первая коллекция микроводорослей из пресных и соленых водоемов находится в Университете на Гавайях и доступна для исследователей [20].

Помимо активного поиска микроводорослей-продуцентов липидов в природе проводится создание новых штаммов микроводорослей путем мутагенеза и методами геной инженерии, отвечающих основным требованиям промышленного производства — повышению продуктивности по биомассе и липидам.

Увеличение эффективности фотосинтеза и оптимизация процесса биосинтеза липидов являются задачами многих исследовательских программ. Известно, что во-



доросли могут эффективно использовать до 10% от полного солнечного света. Сверх этого уровня солнечная энергия не используется и, более того, может повредить фотосинтетический аппарат, вызывая фотоингибирование. Одна из возможностей повышения — мутации или геновая инженерия. Это позволит фотосинтетическому аппарату усваивать только такое количество света, которое он может использовать, а результатом будет снижение потерь, уменьшение опасности фотоокисления в фотосинтетическом реакционном центре и увеличение сверхпродукции водорослевой культуры. В работе Melis A. с соавт. [18] продемонстрирована возможность получения высокой эффективности и высокого уровня светового насыщения для водорослевых культур.

Чтобы избежать проблем культивирования микроводорослей, связанных с освещенностью, в промышленном масштабе исследователи пошли по пути создания гетеротрофных штаммов водорослей из облигатных фотоавтотрофов. Введение в микроводоросль *Phaeodactylum tricornutum* гена, отвечающего за транспорт глюкозы, позволило ей утилизировать экзогенный органический углерод и расти вне зависимости от света. Это первая успешная трофическая конверсия облигатного фотоавтотрофа путем метаболической инженерии, показавшая, что способ клеточного питания может быть фундаментально изменен интродукцией одного гена [10]. Китайскими исследователями запатентован способ получения биодизеля с использованием гетеротрофной хлореллы *Chlorella kessleri*, обеспечивающий высокую продуктивность по биомассе и по содержанию масла — 108 г/л и 52%, соответственно [19]. Для сокращения расходов по производству водорослевого биодизеля за счет уменьшения размеров инфраструктуры для выращивания, облегчения сбора биомассы водоросли и выделения масла компания SOLAZYME, US также работает над получением генетически модифицированных штаммов водорослей с гетеротрофным типом питания. Использование гетеротрофных штаммов микроводорослей снимает вопросы освещенности культуры при выращивании, но ставит проблему применения углеводов для их питания [5].

Значительный прогресс достигнут исследователями в понимании того, как происходит накопление липидов в микроводорослях [15]. Было установлено, что при выращивании диатомовых водорослей нехватка кремния в питательной среде, который является главным компонентом клеточной стенки диатомей, может индуцировать синтез липидов. В зеленых водорослях синтез и аккумуляция липидов идет в условиях азотного голодания. Механизм, запускающий аккумуляцию липидов, до конца не ясен. Полагают, что недостаток питания может затрагивать такие специфические биохимические пути, как липидная аккумуляция, сопровождаемая увеличением запасных липидов (триацилглицеридов) по отношению к мембранным полярным липидам. Что касается диатомовых водорослей, то недостаток кремния в питательной среде увеличивает экспрессию, по крайней мере, одного гена, включенного в липидный синтез — ацетил-КоА-карбоксилазы. Ген, кодирующий продукцию этого фермента, был выделен и клонирован. Изоляция этих генов способствовала развитию систем переноса генов в диатомовых водорослях. Была показана возможность его сверхэкспрессии, что позволяет надеяться, что увеличение уровня активности ацетил-КоА-карбоксидазы в клетке приведет к росту продуктивности масла в водорослях [20].

Для реализации биосинтетических возможностей природных и реконструированных штаммов микроводорослей-автотрофов используются два способа



культивирования: в фотобиореакторах (ФБР) — закрытый способ — и в открытых культиваторах. ФБР обеспечивают контролируемые условия и высокий выход продукции, но дороги. Открытые пруды значительно дешевле, но легко подвергаются контаминации и только три вида водорослей оказались способными к широкомасштабному культивированию. Гибридная система для выращивания объединяет все преимущества ФБР и открытых культиваторов, избегая их недостатков. Так, в 1997—2001 гг. на Гавайях осуществлено успешное крупномасштабное культивирование зеленой микроводоросли *Haematococcus pluvialis* с применением гибридной системы [15]. ФБР обеспечивают устойчивое культивирование водорослей, которые не могут расти в открытых культиваторах, обеспечивая непрерывную поставку высококачественного инокулюма в открытые пруды. Высокая скорость роста в открытых прудах позволяет за короткое время (1—2 дня) получить большую биомассу и помогает избежать заражения посторонней микрофлорой, а возникающий при этом лимит питательных веществ стимулирует биосинтез масла и пигмента астаксантина. Предложенная система непрерывного культивирования микроводоросли гематококкус состояла из закрытых трубчатых фотокультиваторов и открытых прудов общей площадью 2 га. Средняя энергопродуктивность биомассы *H. pluvialis* составила в этом проекте 763 ГДж/га/год при энергопродуктивности по маслу 422 ГДж/га/год. Максимальные же выходы составили 1836 ГДж/га/год (1014 ГДж/га/год), соответственно. Эти величины существенно больше, чем для наземной растительности, большая часть которой обеспечивает от 50 до 400 гДж/га/год. Проведенный нами сравнительный анализ продуктивности масличных культур (рапса) и микроводоросли *H. pluvialis* как сырья для биодизеля показал принципиальную возможность замены наземных растений микроводорослями для получения биотоплива. Установлено, что производство биотоплива из высших растений, эквивалентное  $300 \cdot 10^{18}$  Дж/год, требует на порядки большую площадь пахотных земель, чем биомасса микроводорослей, причем для выращивания водорослей не нужна плодородная почва [9]. Оценки, проведенные по результатам данного проекта, показали, что стоимость биодизеля, произведенного из микроводоросли была близка к текущим ценам на минеральный дизель.

При использовании водорослей-продуцентов липидов с гетеротрофным типом питания будет полезен огромный опыт, накопленный микробиологической промышленностью при многотоннажном выращивании продуцентов различных биологически активных соединений.

Большое внимание уделяется удешевлению способов выделения и трансформации водорослевых масел. Избежать фильтрации биомассы и химической экстракции масла из нее помогает метод, предложенный компанией OriginOil, US и основанный на обработке водорослевой суспензии в переменном электромагнитном поле при изменении pH с помощью добавок  $\text{CO}_2$ , что приводило к разрушению клеточной стенки водоросли и всплытию масла [4]. Метод, основанный на кислотном катализе [17], позволяет свести в одну стадию процесс выделения липидов из микроводорослей и получения биодизеля. Избежать гибели культуры при извлечении липидов возможно при использовании мезопористых наночастиц, которые экстрагируют масла из живых клеток водорослей; дальнейшее выделение масла происходит с использованием специально разработанного и запатентованного катализатора Catilin [13].



В последние годы инвестиции в водорослевые проекты активно растут: только в 2008 г. в США в них вложено свыше 300 млн. дол. Ведущие компании США планируют достичь коммерческих объемов производства водорослевого биотоплива в ближайшие 2–3 года (Solazyme – 100 млн. галлонов/год к 2012–2013 гг., PetroAlgae – 100 млн. галлонов/год к 2011г). Пессимистически относятся к этим заявлениям в European Algae Biomass Association, заявляя, что на коммерческий уровень производство водорослевого биотоплива выйдет не ранее, чем через 10–15 лет.

В лаборатории возобновляемых источников энергии географического факультета МГУ в течение последних 20 лет проводятся научно-исследовательские работы по крупномасштабному выращиванию биомассы микроводорослей в открытых плоскостных фотокультураторах как для целей энергетики, так и для комплексного использования в качестве кормовых и пищевых добавок. Изучаются вопросы систематики микроводорослей. Создается коллекция культур микроводорослей-продуцентов липидов. По нашему мнению первостепенной задачей является поиск в природных условиях штаммов, адаптированных к предполагаемым районам выращивания, в связи с чем, в частности, проводится поиск культур – представителей рода *Botryococcus* в водоемах Московской и Тверской областей. Выделены изоляты ботрикокка с целью уточнения их систематического положения, определения содержания в них углеводов и перспективности их использования в качестве сырья для получения биотоплива.

Анализ литературных данных и собственные работы по выделению культур из природных источников были положены в основу создания базы данных и формирования коллекции микроводорослей-продуцентов липидов лаборатории ВИЭ географического факультета МГУ [1, 3, 7, 8, 9].

Таким образом, моторные топлива можно создавать на основе нового поколения нетрадиционного сырья – биомассы микроводорослей. Следует отметить, что плантации микроводорослей одновременно будут служить эффективным стоком антропогенного CO<sub>2</sub>, конвертируя его в энергию высокой плотности.

Использование микроводорослей для производства жидкого биотоплива становится бурно развивающейся отраслью, требующей инноваций для ускоренной коммерциализации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев В.В., Лямин М.Я., Чернова Н.И. и др. Энергетические плантации // География, общество, окружающая среда. Т. III: Природные ресурсы и устойчивое развитие. М.: «Изд. дом «Городец». 2004. – С. 578–607.
2. Директива 2003/30/ЕС Европейского парламента и Союза от 8 мая 2003 г. «О содействии использованию биогорючего и других видов горючего на транспорте».
3. Коробкова Т.П., Чернова Н.И., Киселева С.В., Зайцев С.И. Штамм *Arthrospira platensis* (Nordst.) Geitl. 1/02-T/03-5 - продуцент белковой биомассы: Патент на изобретение РФ №2322489 // Б.И. 2008. № 11.
4. Официальный сайт фирмы OriginOil: <http://www.originoil.com/technology/low-cost-oil-extraction.html>.
5. Официальный сайт фирмы Solazyme: <http://www.solazyme.com>
6. Синицин А.П. Биотехнология производства биотоплив: «Точка невозврата пройдена»// Материалы международного конгресса «Биоэтанол-2009». Москва (15–16 апреля 2009 г.). <http://www.bioethanol.ru>



7. Чернова Н.И., Коробкова Т.П., Киселева С.В. Инновационные технологии биоэнергетики // Вестник Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности, С.-Пб., 2008а. — Т. 13, № 3. — С. 171–178.
8. Чернова Н.И., Киселева С.В. Использование микроводорослевых биотехнологий в решении проблем рационального природопользования // Инновационные технологии XXI века для рационального природопользования, экологии и устойчивого развития. М.: Ноосфера. 2004. — С. 205–217.
9. Чернова Н.И., Киселева С.В., Коробкова Т.П., Зайцев С.И. Микроводоросли в качестве сырья для получения биотоплива // Альтернативная энергетика и экология. 2008. — № 9. — С. 68–74.
10. Apt Kirk E. et al. Trophic conversion of obligate phototrophic algae through metabolic engineering: Patent EP1780283(A1). — 2007.
11. Chisti Y. Biodiesel from Microalgae // Biotechnology Advances. 2007. — Vol. 25. — P. 294–306.
12. Green star products complete. Algae demonstration report. <http://www.greenstarusa.com>
13. <http://www.nanowerk.com/news/newsid=9991/php>
14. Hillen L.W., Pollard G., Wake L.V., and White N. Hydrocracking of the oils of *Botryococcus braunii* to transport fuels // Biotechnol. Bioeng. 1982. — Vol. 24. — P. 193–205.
15. Huntley M., Redalje D. CO<sub>2</sub> mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal // Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change. 2007. — Vol. 12, — P. 573–608.
16. Kurano N. et al. Novel microalgae and process for producing hydrocarbon: Patent KR20070121051(A). 2007.
17. Machacek M.T., Smith T.G. Continuous algal biodiesel production facility: Patent WO 20090118230(A1). 2009.
18. Melis A., Neihardt J. and Benemann J. Dunaliella salina (Chlorophyta) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells // Journal of Applied Phycology. 1999. — Vol. 10. — P. 515–525.
19. Qingyu Wu, Wei Xiong. Method for producing biodiesel by autotrophic culture and heterotrophic culture of chlorella: Patent CN101280328 (A). 2008.
20. 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, National Renewable Energy Institute. 1998. NREL/TP-580-24190, 328 pp.



**Н.І. Чернова, Т.П. Коробкова**

Московський державний університет імені М.В. Ломоносова,  
Ленінські гори, 1, Москва, 119991, МСП-1, Росія  
тел.: +7 (495) 939 42 57, e-mail: rsemsu@mail.ru

## **СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОВОДОРОСТЕЙ ДЛЯ ЕНЕРГЕТИЧНИХ ЦІЛЕЙ**

### **Реферат**

Стаття присвячена нетрадиційному виду сировини для цілей біоенергетики — мікроводоростям як джерелу біопалива (метану, біоводню, біодизелю та рідких вуглеводнів). Розглянуто переваги використання мікроводоростей як біопалива другого покоління, висока продуктивність та енерговміст яких ставлять їх у фокус широких наукових досліджень. Проведено порівняльний аналіз врожайності олійних рослин та мікроводоростей. У зв'язку з високою продуктивністю мікроводоростей по олії, заміна олійних культур на мікроводорості дозволить скоротити площі вирощування від 50 до 100 разів, з використанням земель, непридатних для рослинництва. Розглянуто спектр мікроводоростей-продуцентів олії та рідких вуглеводнів, технології їх вирощування та переробки біомаси.

Ключові слова: біоенергетика, біотехнології, біопаливо, ліпіди, біомаса мікроводоростей.

**N.I. Chernova, T.P. Korobkova**

Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie gory,  
Moscow, 119991, GSP-1, Russia,  
tel.: +7 (495) 939 42 57, e-mail: rsemsu@mail.ru

## **MICROALGAE AS SOURCE OF ENERGY: CURRENT SITUATION AND PERSPECTIVES OF USE**

### **Summary**

The article is devoted to alternative crude for bioenergy — microalgae as a source of biofuels (methane, biohydrogen, biodiesel and liquid hydrocarbons). There were considered the advantages of microalgae as biofuels-2 generation, its high productivity and energy content bring up these organisms to extensive research activities focus.

The comparative analysis of oil plants productivity and microalgae was carried out. As demonstrated here, oil productivity of many microalgae greatly exceeds the oil productivity of the best producing oil crops, so replacement of the plants by microalgae will allow to reduce cropland aimed for energy plantations by a factor of 50–100, at that there will be possible to use land resources unsuitable for plant cultivation. There are considered microalgae — oil and liquid hydrocarbons-producers, production methods and means of biomass converting.

Key words: bioenergy, biotechnology, biofuels, lipide, microalgae biomass.

