



生物燃料的转化利用

程 军

浙江大学能源工程学院

2015-9-19

一、背景意义

国家重大需求：开发油气替代燃料



油气日益短缺和环境污染严重。

2014年我国石油消费量约5亿吨，
接近60%依赖进口，对国家能源、
军事和经济安全造成严重威胁。



2014-11-12《中美气候变化联合声明》：2030年中国碳排放有望达到峰值，
将非化石能源在一次能源中的比重提升到20%。



目前我国生物质能利用
潜力每年约4.6亿吨标煤

《可再生能源中长期发展规划》

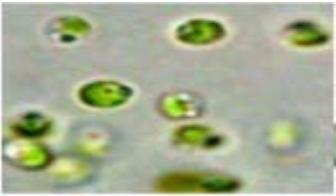
发展目标	生物柴油	生物燃气
2020年	200万吨	400亿m ³

微藻固碳制油气燃料具有巨大潜力

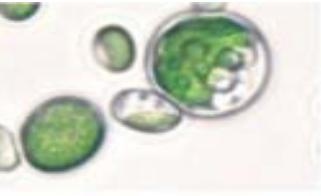


微藻转化太阳能的量子效率高达2-10%（而陆生植物<1%），微藻生长速率极快（每天生物质增长量达1-3倍）。

微藻种类	干生物质产量 (吨/年*km ²)	对比
大豆	600	1倍
<i>A. maxima</i> 极大螺旋藻	2700	4.5倍
<i>A. platensis</i> 顿顶螺旋藻	6000-7000	10-12倍
<i>Chlorella</i> sp. (绿藻)	8400	14倍
<i>Tetraselmis suecica</i> (绿藻)	14600	24倍
<i>Skeletonema costatum</i> (硅藻)	22300	37倍



绿藻：微拟球藻



绿藻：小球藻



蓝藻：螺旋藻



硅藻：菱板藻



二、主要研究进展

2.1 核诱变和CO₂梯度驯化 选育高效固碳的藻种突变体

浙江大学核辐照中心



核诱变微藻实验台

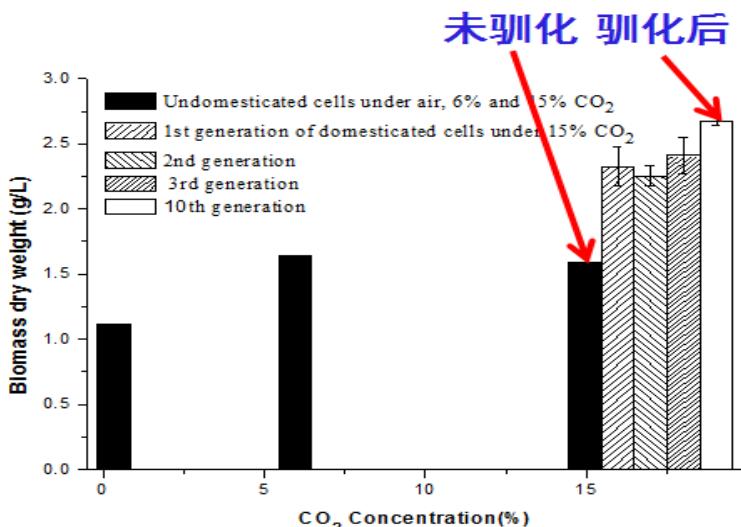
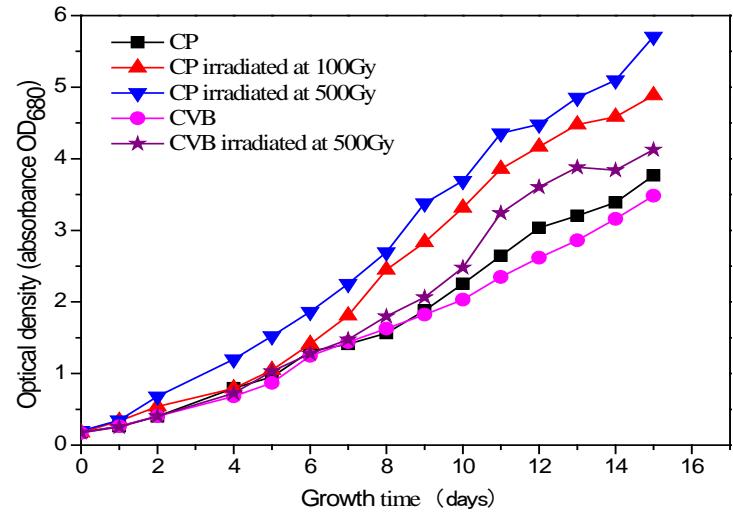


γ 射线波长短（<0.001nm），能量高，在核辐射诱变中穿透力最强。其生物学效应就是基于与细胞中原子或分子，尤其是水分子相互作用，产生自由基进而造成对细胞不同成分的影响与改变。



核诱变和高浓度CO₂驯化提高微藻生物量

核辐射诱变使小球藻生长速率提高了55%，利用烟气15%高浓度CO₂驯化使生长速率继续提高了51%，得到高效固碳产油的突变体



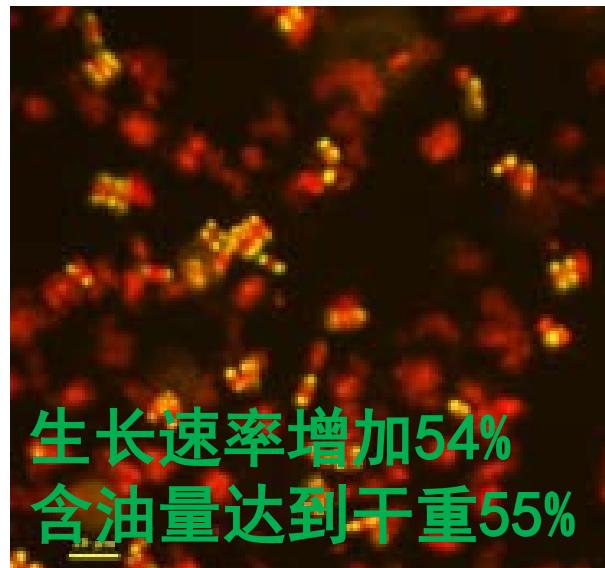
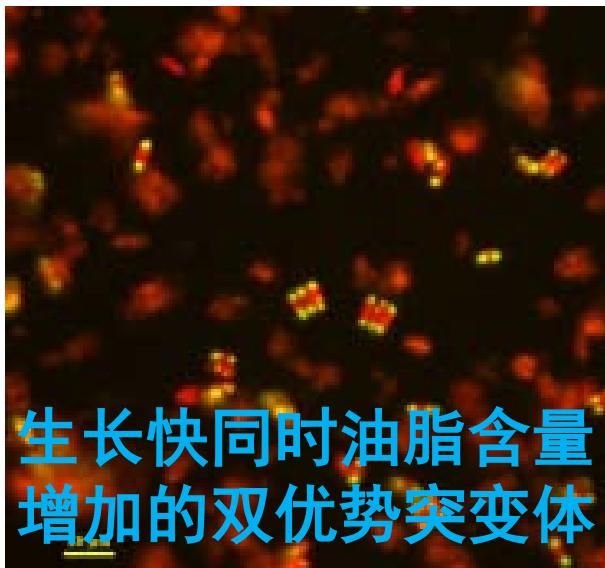
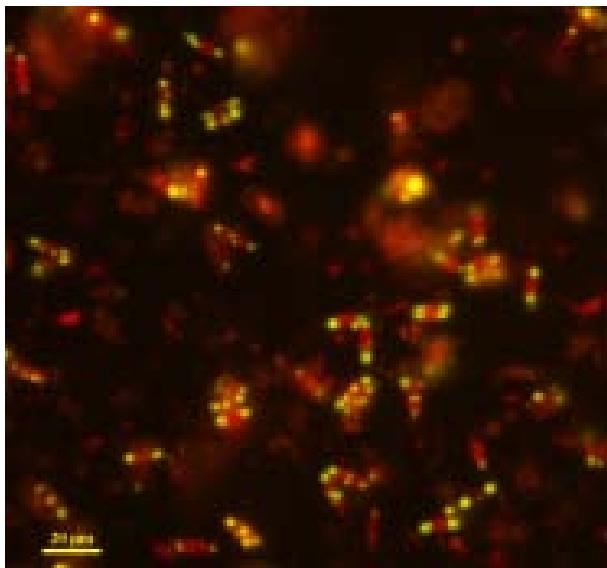
建立固碳产油藻种库

序号	藻种名称	培养温度℃	培养pH值	固定CO ₂ 能力(g/L/d)	生物量(g/L/d)
1	野生蛋白核小球藻	27	6.5	0.34	0.19
2	核诱变的蛋白核小球藻	27	6.5	0.75	0.41
3	CO ₂ 驯化的蛋白核小球藻	27	6.5	1.14	0.62
4	营养盐胁迫的蛋白核小球藻	27	6.5	1.74	0.95
5	野生微拟球藻	27	8	0.53	0.29
6	核诱变的微拟球藻	27	8	0.63	0.34
7	营养盐胁迫的微拟球藻	27	6.5	1.16	0.63
8	野生贝氏普通小球藻	27	6.5	0.31	0.17
9	核诱变的贝氏普通小球藻	27	6.5	0.50	0.27
10	野生螺旋藻	27	9.8	1.55	0.85
11	一次核诱变的菱形藻	25	8.5	0.07	0.04
12	高盐度驯化的菱形藻	25	8.5	0.14	0.08
13	二次核诱变的菱形藻	27	8.5	0.19	0.11
14	营养盐胁迫的菱形藻	27	8.5	0.55	0.30

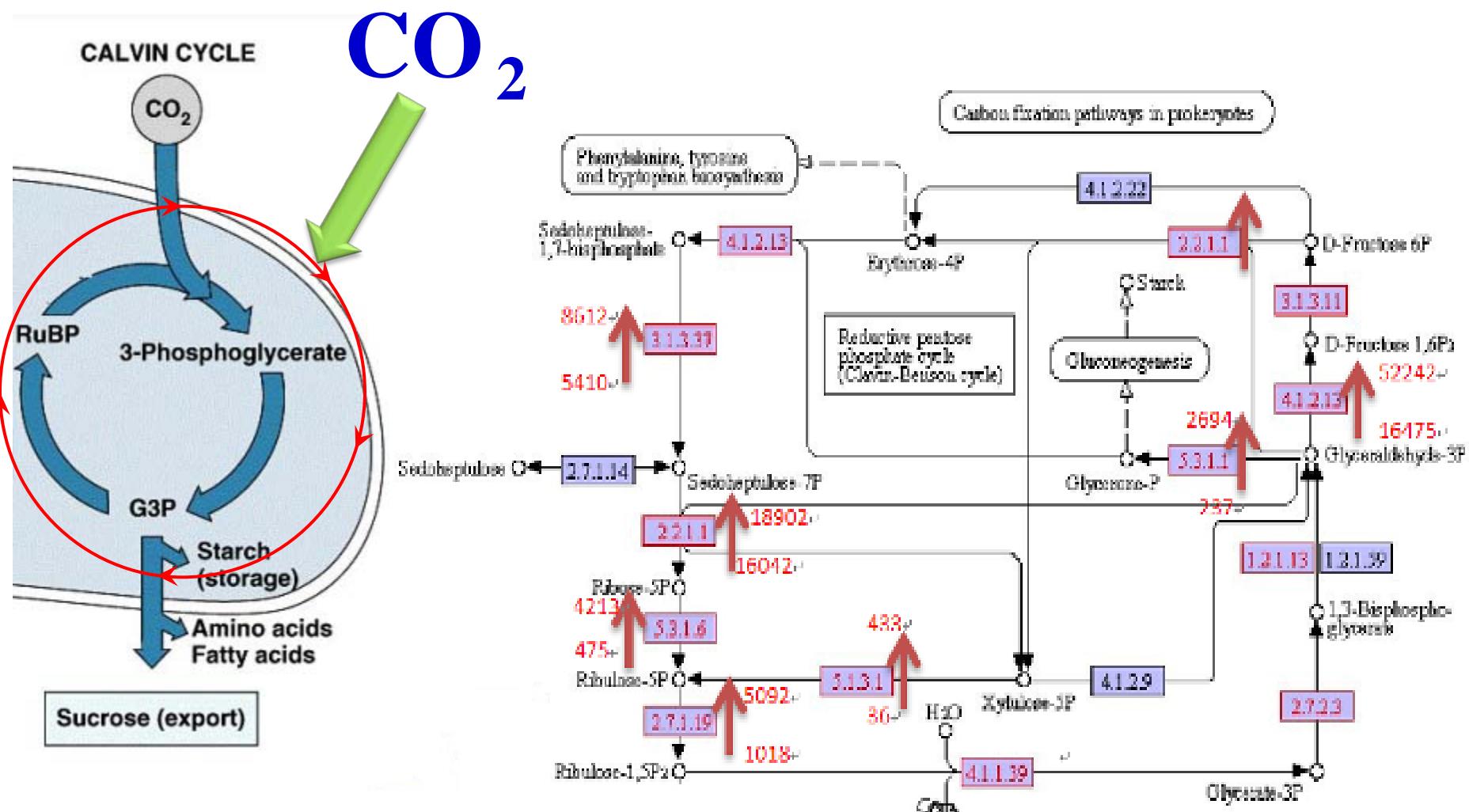
核诱变藻种提高生物质产量和油脂含量

利用 ^{137}Cs - γ 射线对经 ^{60}Co - γ 射线诱变选育后的微藻突变体进行二次核辐射，获得油脂含量高和生长速率快的单细胞目标突变藻株*Nitzschia ZJU2*。基因分析发现核辐照导致了突变藻细胞与生长相关9条代谢通路发生明显变化，与油脂合成相关的关键基因如乙酰辅酶A羧化酶、二酰甘油酰基转移酶等均有明显上调。

油脂合成反应： $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow (\text{RCOO})_2\text{C}_3\text{H}_6\text{O} \uparrow \rightarrow (\text{RCOO})_3\text{C}_3\text{H}_5 \uparrow$

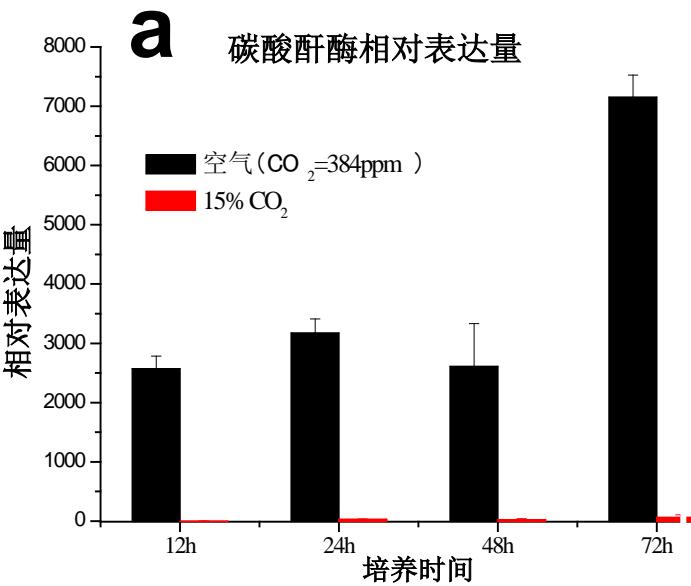
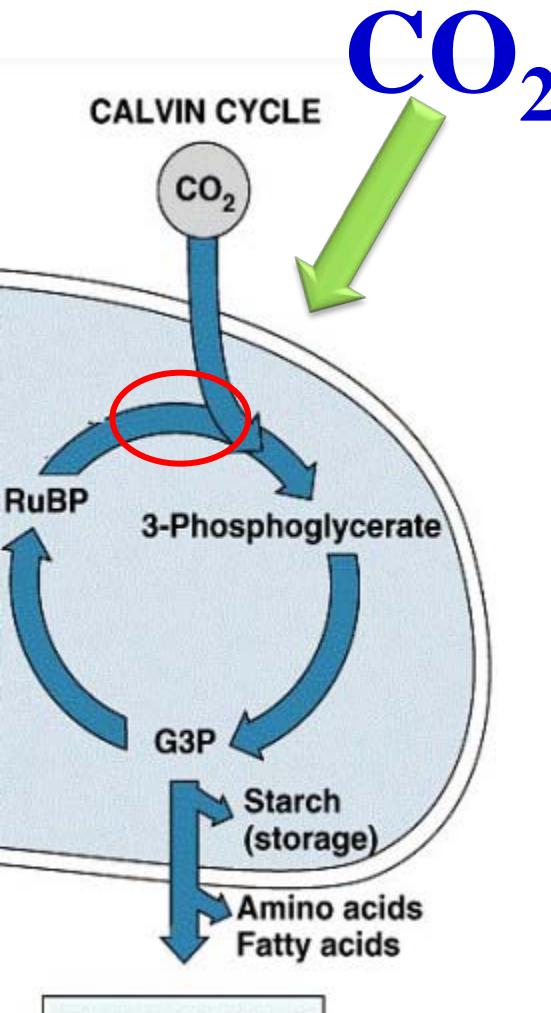


CO₂胁迫对微藻细胞基因和代谢途径作用—碳代谢

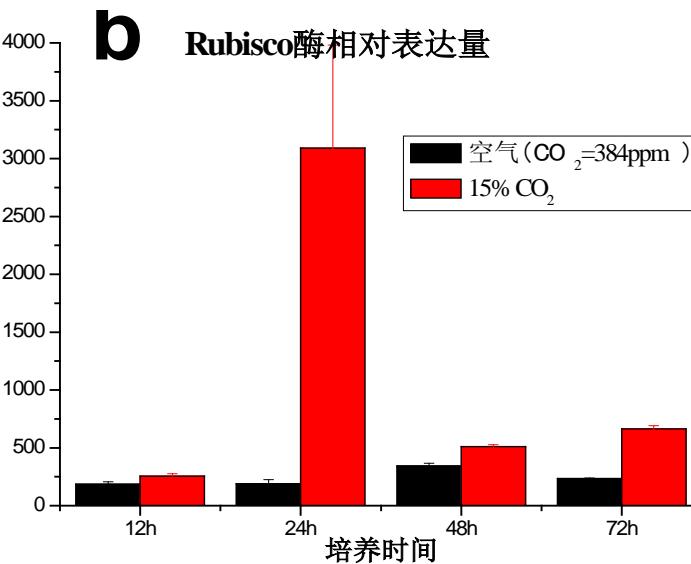
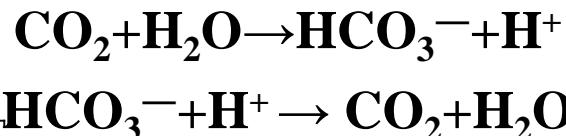


碳固定代谢途径10多组基因转录本发生上调，整体推动固碳反应，促进固碳反应的效率。

碳胁迫调控微藻细胞固定CO₂的关键酶催化剂



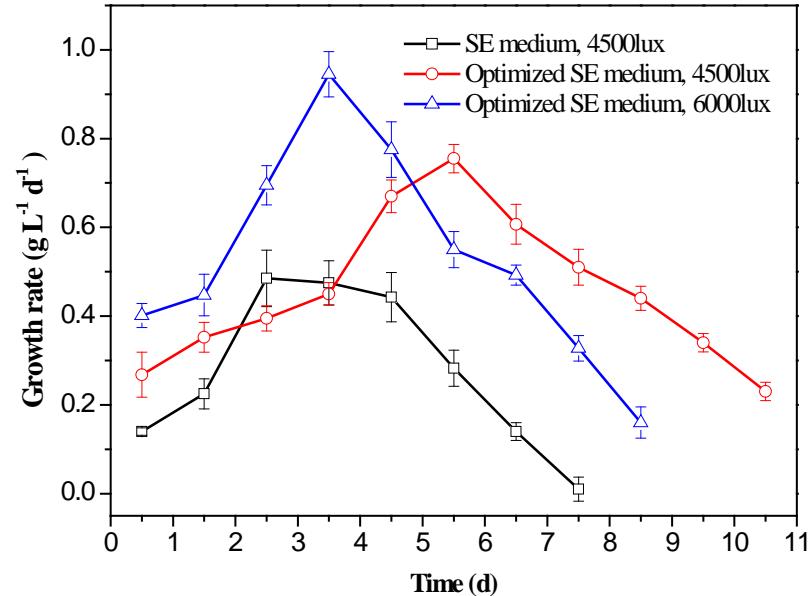
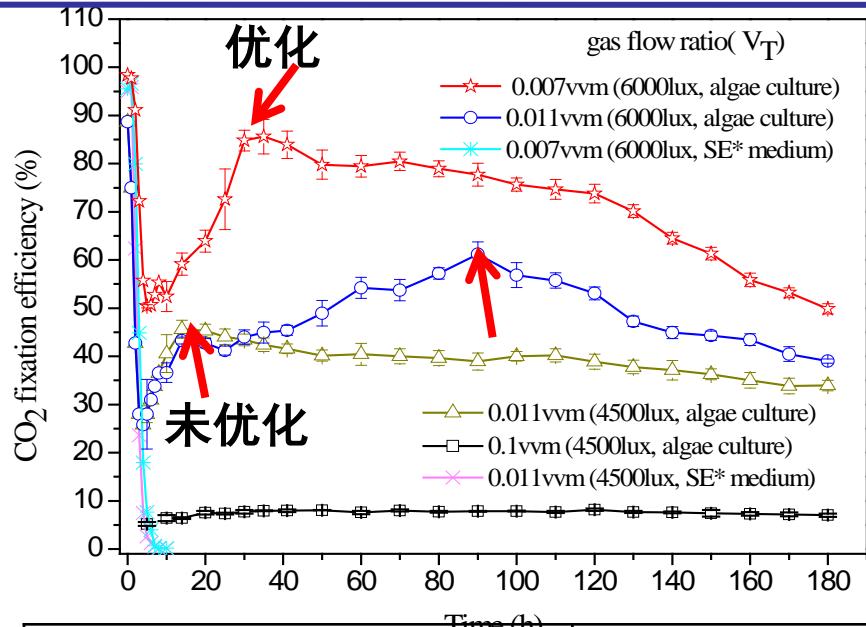
1. 高浓度15%CO₂下**碳酸酐酶几乎为0**，溶液中CO₂通过渗透压直接进入藻细胞内部参与光合反应，加快光合作用



2. **Rubisco酶活性提高**，催化核酮糖-1, 5-二磷酸和CO₂反应产生3-磷酸甘油酸的效率提高，推动整个CO₂固定反应。



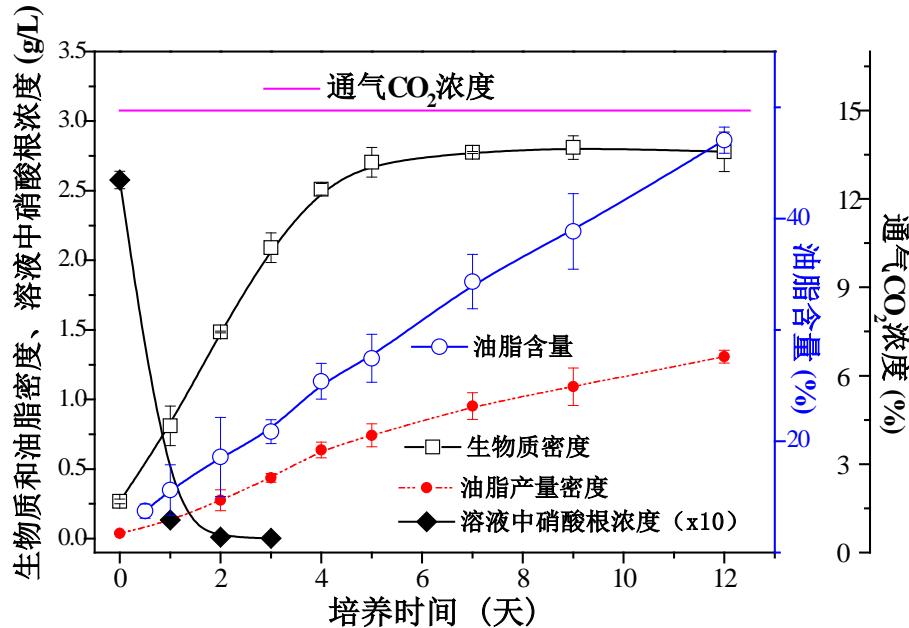
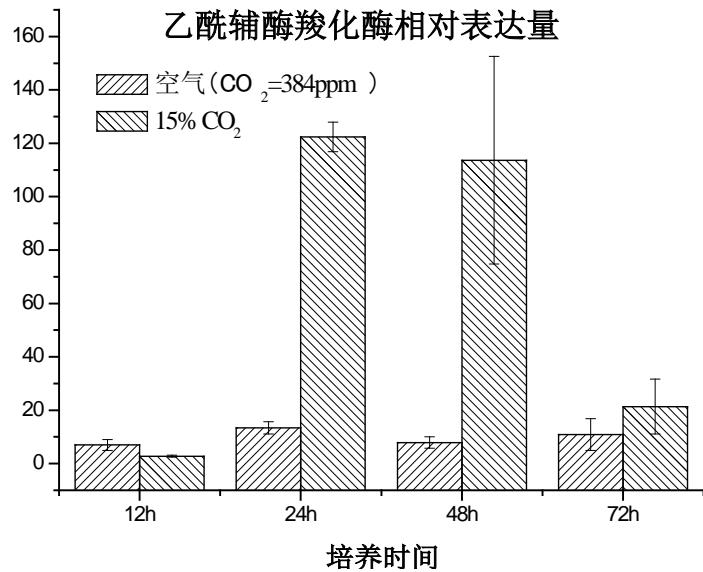
优化生长条件提高微藻固定CO₂效率



Time (h)	SE标准培养基	优化培养基SE*	SE*+光
Max 生长速率 (g/(L.d))	0.48	0.76	0.95
生长周期 (d)	7	12	8
平均生长速率 (g/(L.d))	0.34	0.45	0.61
Max CO ₂ 固定速率 g/(L.d)	0.86	1.31	1.66

微藻生物质产量提高了125%达到5.42g/L，峰值生长速率提高了99%。
优化调控反应条件使CO₂脱除效率提高至85.6%。

连续流高浓度CO₂同时提高微藻生长和油脂含量

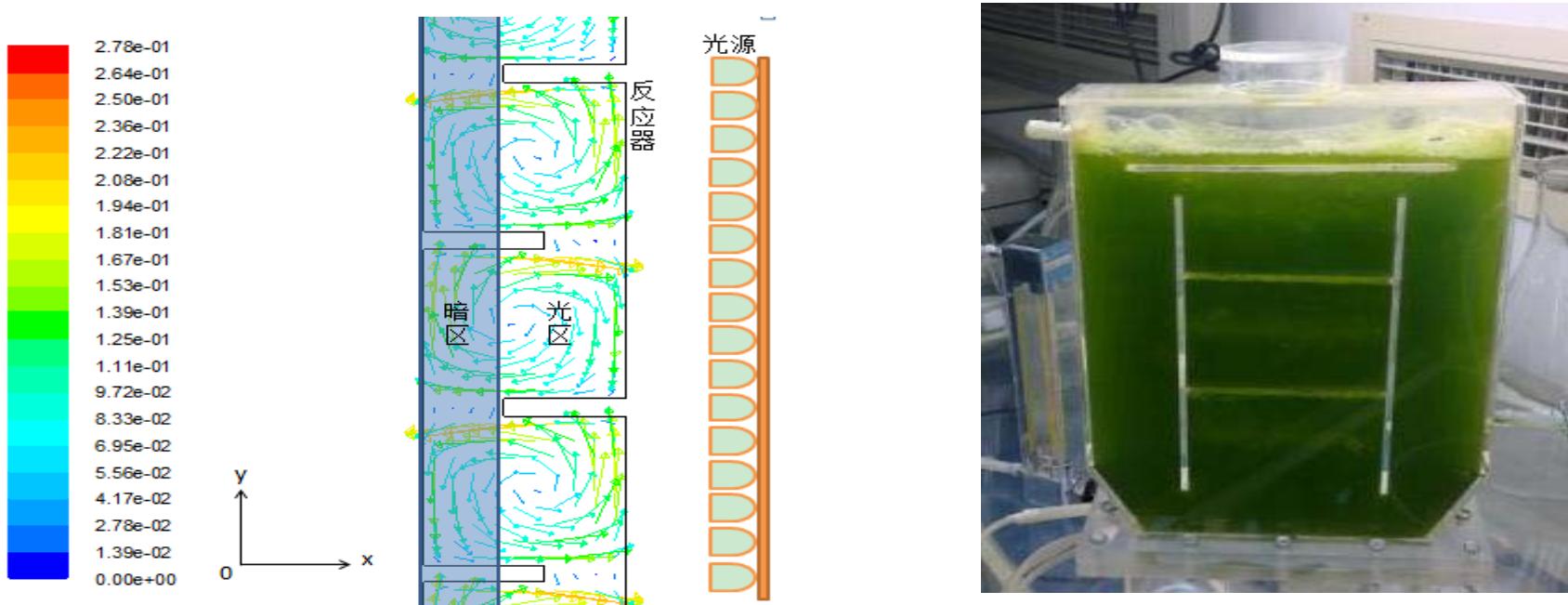


高浓度连续流CO₂下微藻的乙酰辅酶羧化酶的定量qRT-PCR

连续流高浓度CO₂下微藻培养过程中生长和油脂合成曲线

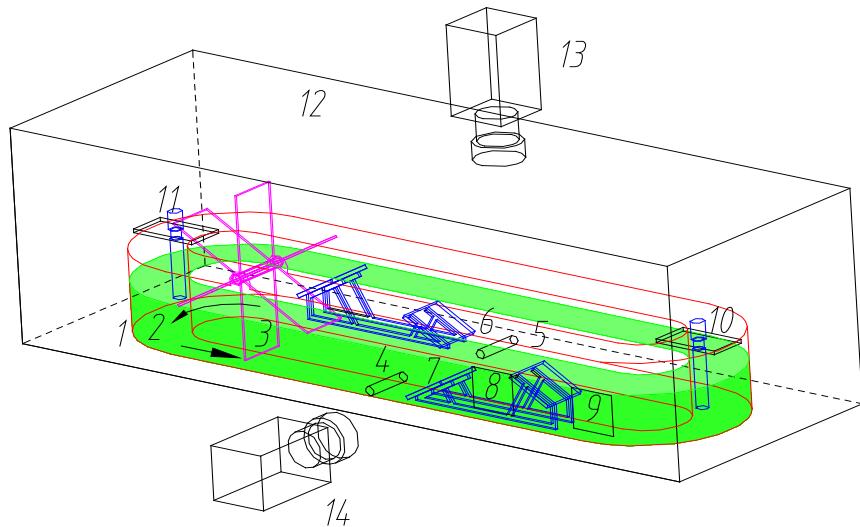
在高浓度CO₂胁迫作用下（15%），蛋白核小球藻固碳和固氮途径相关基因发生上调，促进了ATP向葡萄糖中的转化，提高了光能转化效率。乙酰辅酶A羧化酶表达量与低浓度CO₂下相比有了显著上升，从而能够促进微藻的油脂合成。

2. 2 气升反应器增强闪光效应促进微藻生长固碳



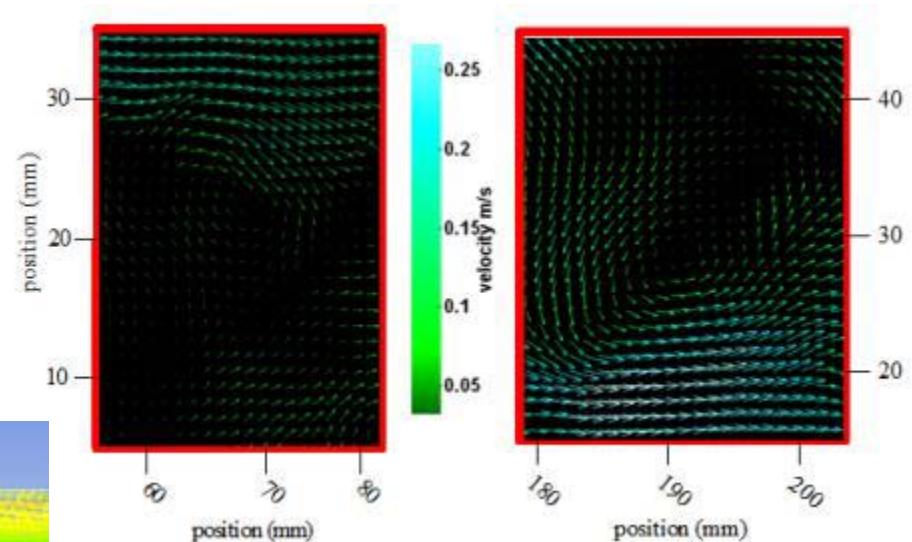
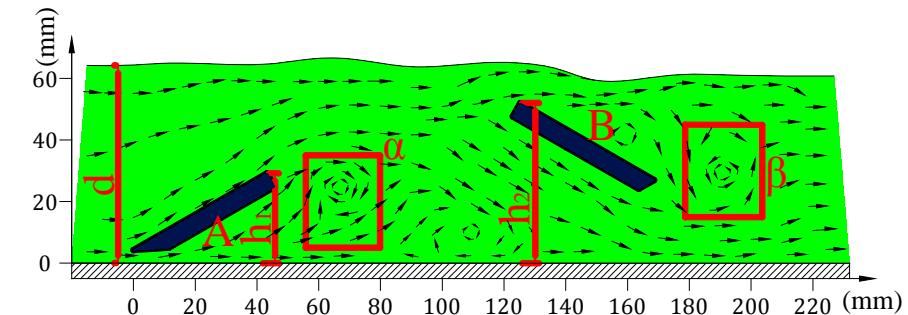
养藻反应器结构	增加横向隔板时的藻液速度		无横向隔板时的藻液速度	
	光区 (厚度3. 318cm)	暗区 (厚度1. 682cm)	光区 (厚度3. 318cm)	暗区 (厚度1. 682cm)
水平方向上藻液速度 绝对值的平均值 ($m \cdot s^{-1}$)	0. 059	0. 044	0. 003	0. 003
藻液平均停留时间 (s)	0. 561	0. 385	12. 110	5. 702
藻液光暗循环周期 (s)	0. 946		17. 812	

扰流件强化跑道池闪光效应促进微藻生长



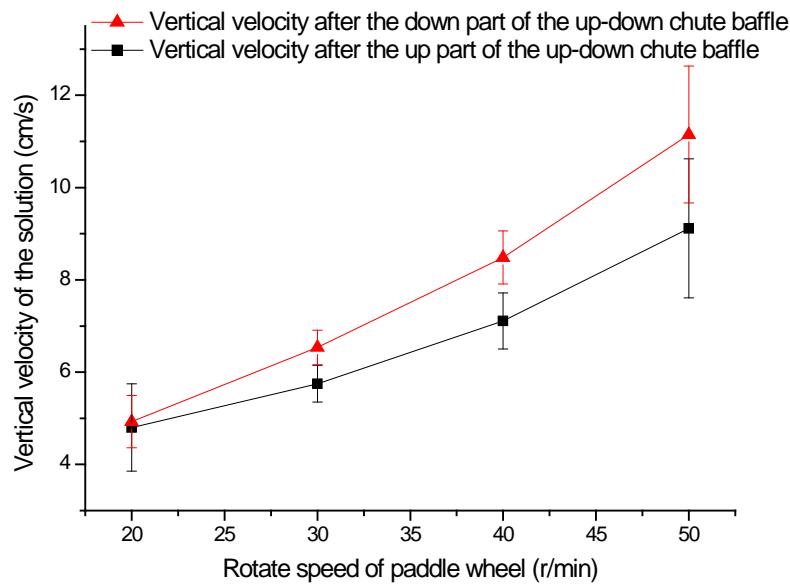
升降式滑板扰流件强化跑道池流场实验台

升降滑板式扰流件依次产生顺时针和逆时针的两个漩涡流动区域，强化了微藻在池底暗区和池顶光区之间上下流动的闪光效应。

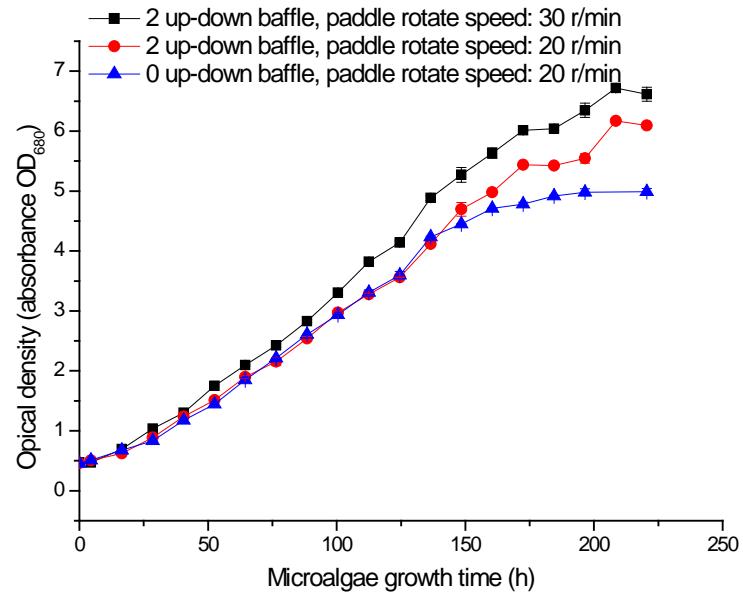


升降式滑板扰流件区域流场示意图及PIV拍摄局部流场速度矢量图

升降滑板式扰流件增强跑道池闪光促进微藻生长



浆轮转速对升降式滑板扰流件后两个漩涡区垂直流动速度的影响



升降式滑板扰流件以及浆轮转速对微藻生长速度的影响。

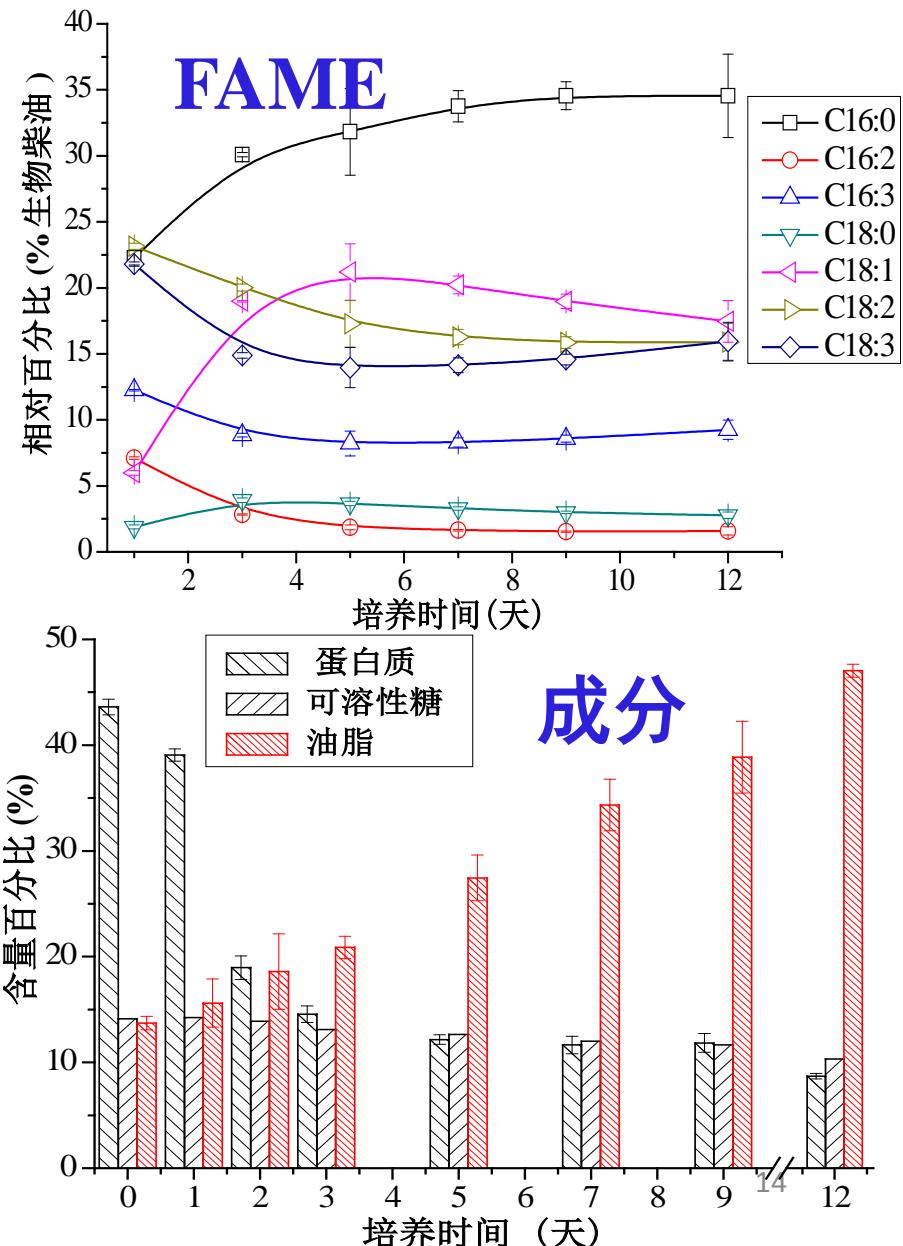
增设扰流件后培养液混合时间减少了41%，传质系数提高了25%。液体上下流动速度由0.5cm/s左右提高到6.1cm/s左右，使藻液上下流动的光暗循环周期降低到没有扰流件时的1/12。微藻生物量产量提高了32.6%。

闪光反应器通入15%CO₂培养微藻的生物质成分

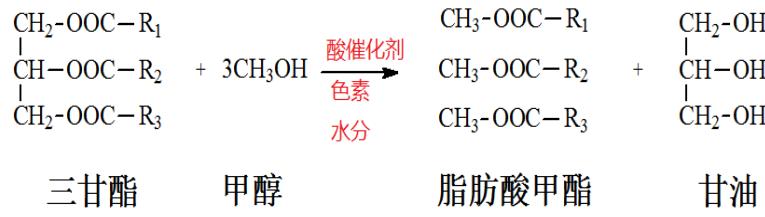
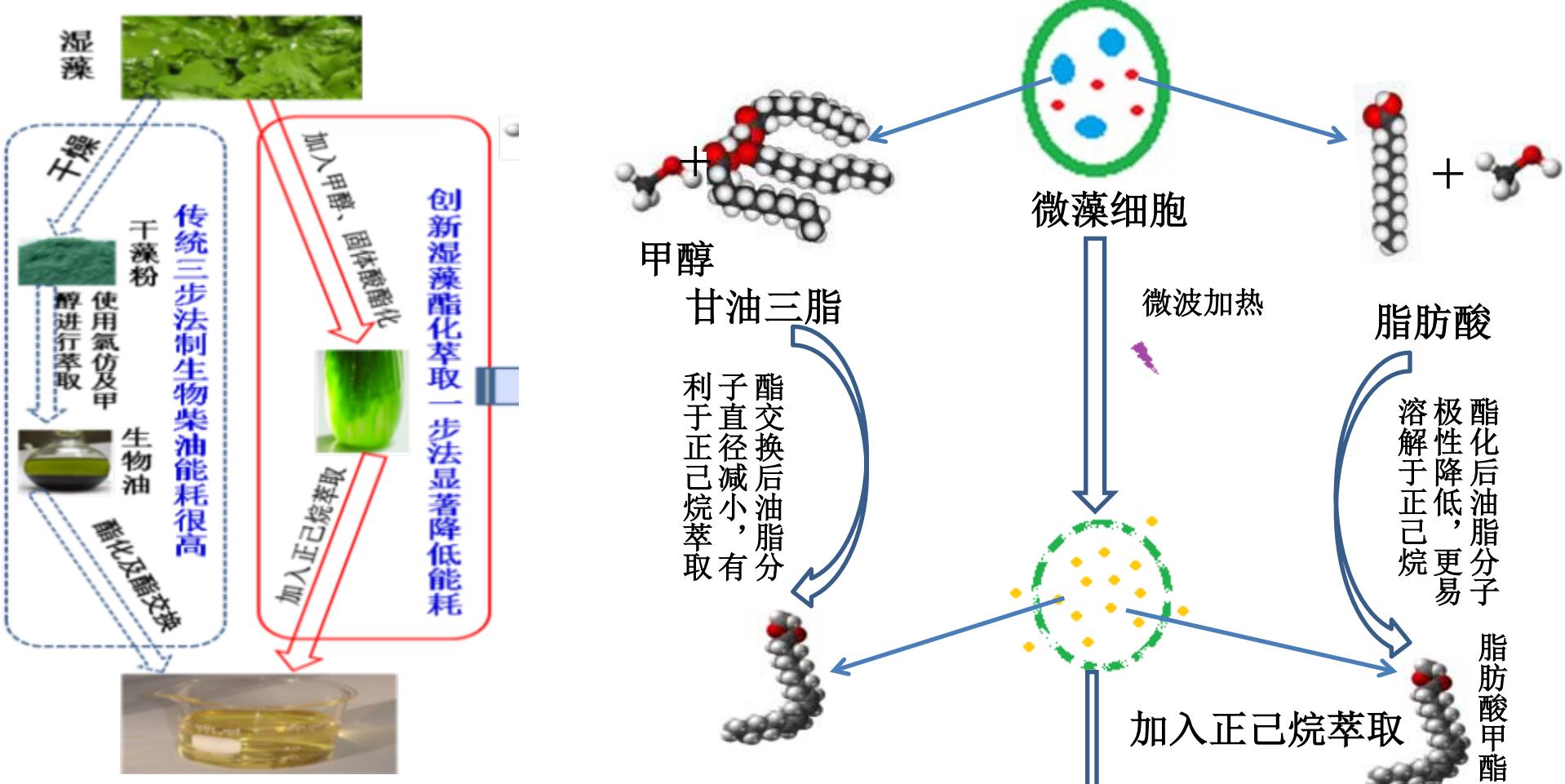
元素分析

培养时间 (d)	元素含量百分比 (%)				C/N (M/M)	高位发热量 (MJ/Kg) ^b	生物质分子式
	N	C	H	O ^a			
0.25	7.32	45.48	6.82	40.38	7.25	17.90	$\text{CH}_{1.799}\text{O}_{0.866}\text{N}_{0.138}$
1	6.36	47.95	6.88	38.81	8.80	19.10	$\text{CH}_{1.721}\text{O}_{0.807}\text{N}_{0.114}$
2	3.16	47.00	7.07	42.77	17.35	18.35	$\text{CH}_{1.805}\text{O}_{0.683}\text{N}_{0.0576}$
3	2.28	47.80	7.23	42.69	24.46	18.86	$\text{CH}_{1.815}\text{O}_{0.669}\text{N}_{0.0409}$
4	2.14	48.52	7.37	41.97	26.45	19.43	$\text{CH}_{1.823}\text{O}_{0.648}\text{N}_{0.0378}$
5	1.95	50.16	7.65	40.24	30.01	20.70	$\text{CH}_{1.830}\text{O}_{0.602}\text{N}_{0.0333}$
7	2.00	51.78	7.84	38.38	30.21	21.85	$\text{CH}_{1.817}\text{O}_{0.556}\text{N}_{0.0331}$
9	2.05	53.09	8.08	36.78	30.21	22.92	$\text{CH}_{1.826}\text{O}_{0.520}\text{N}_{0.0330}$
12	1.99	56.02	8.56	33.44	32.91	25.19	$\text{CH}_{1.834}\text{O}_{0.447}\text{N}_{0.0304}$

在微藻生长中碳含量从47.00%增加到56.02%，氮从6.36%逐渐降低到1.99%，热值从19.10提高到25.19 MJ/kg。



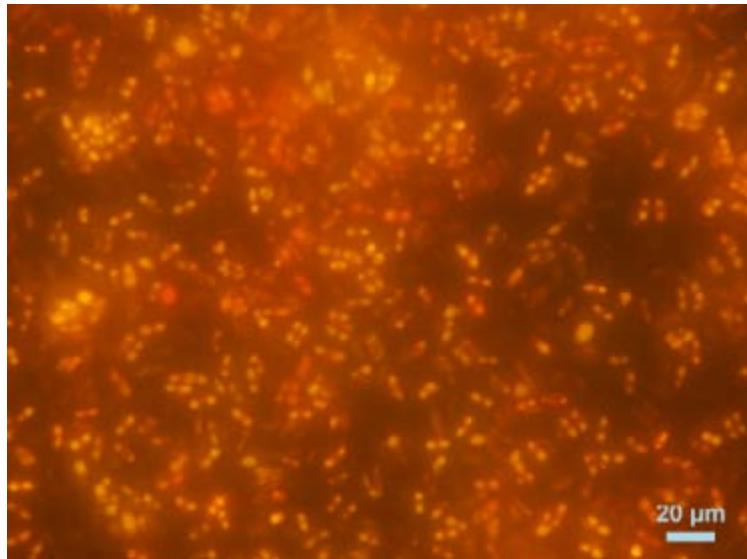
2. 3 湿藻胞内酯化再萃取炼制生物柴油



生物柴油

正己烷

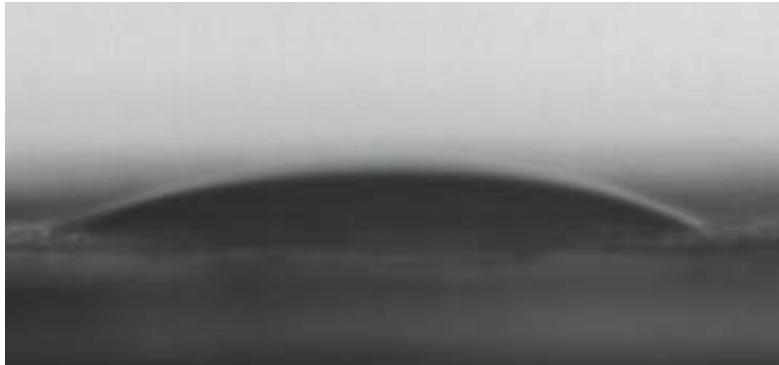
酯交换前后微藻细胞内油滴的结构变化



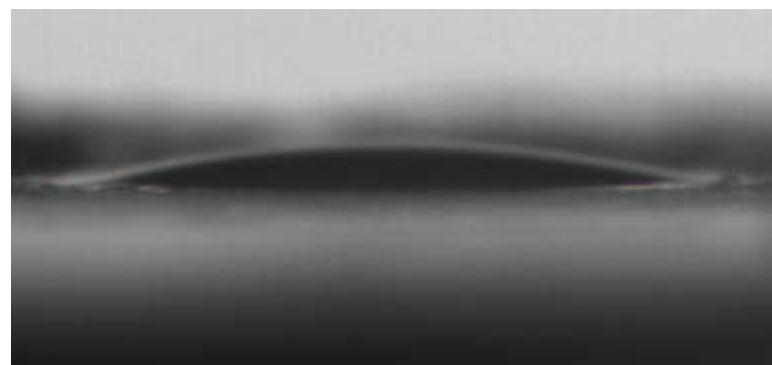
酯交换前细胞内油脂荧光染色照片



酯化后油脂荧光染色照片



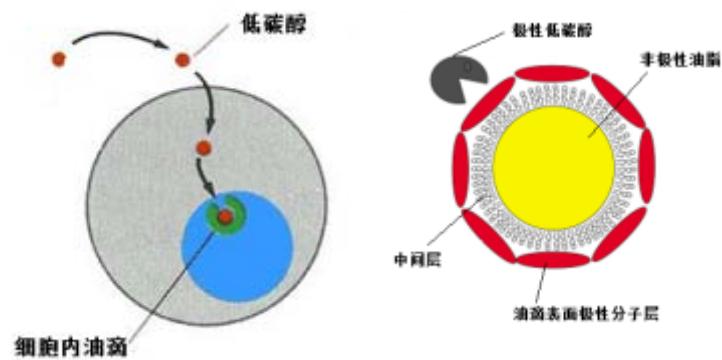
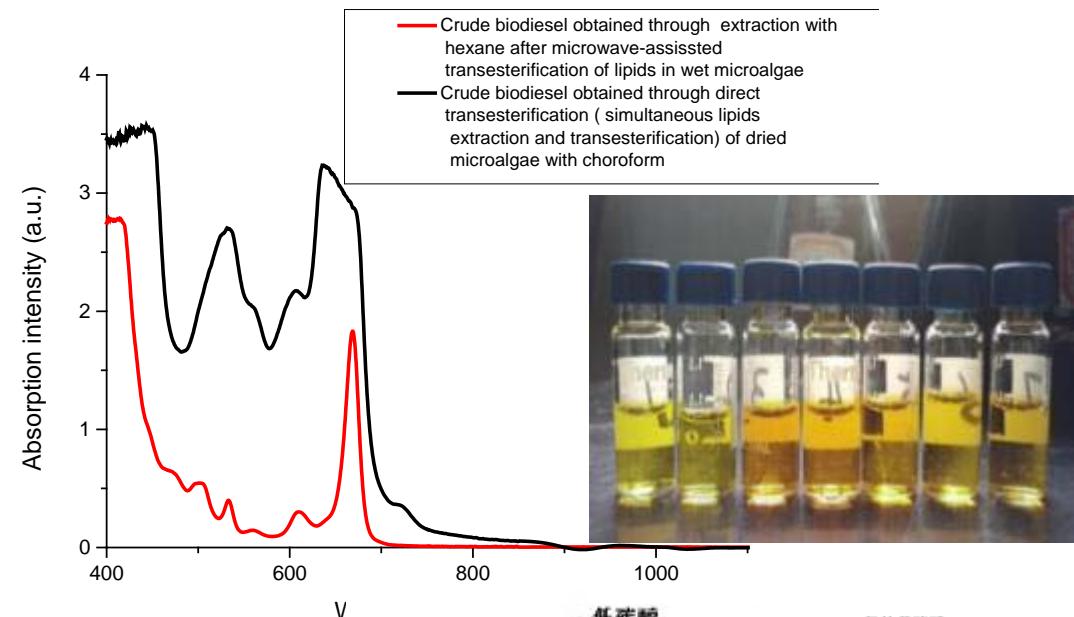
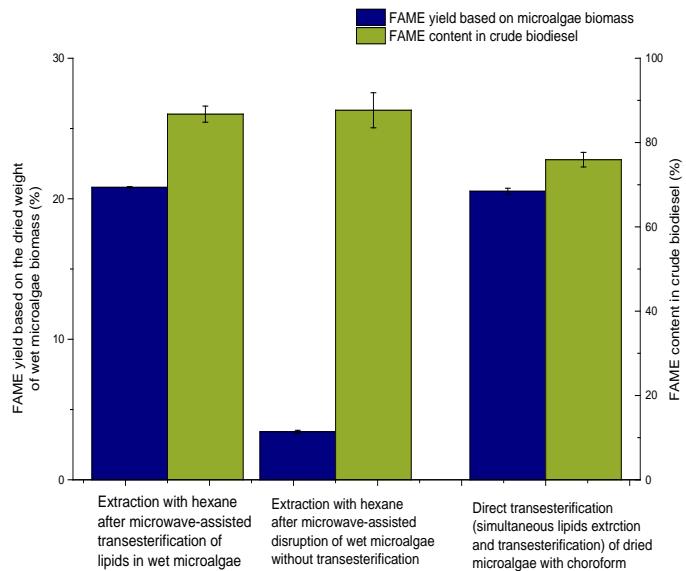
酯化前与正己烷接触角为18. 3



酯化后与正己烷接触角为12. 76

酯交换后微藻细胞内油滴尺寸明显减小，极性降低，显著提高了正己烷萃取效率

仿氯一步法降低能耗和省掉剧毒氯仿

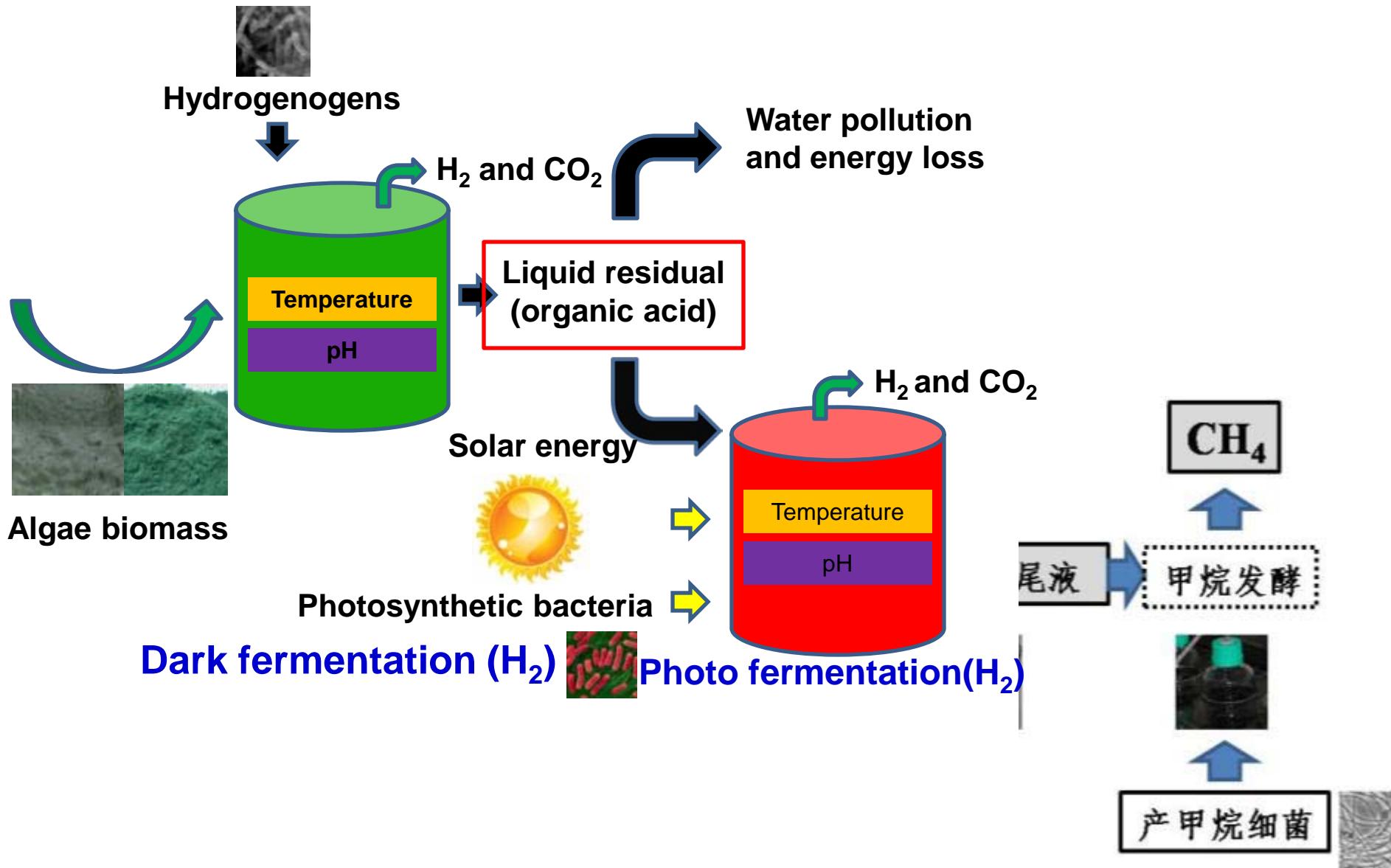


技术工艺

	Carbo n (%)	Hydroge n (%)	Nitroge n (%)	Oxyge n ^a (%)	Higher heating value ^b (MJ/Kg)	FAME content in crude biodiesel
酯化萃取法	77.16	11.9	0.32	10.62	41.18	86.74%
传统氯仿一步法	74.24	11.1	0.67	13.99	38.45	75.93%

使用正己烷萃取剂时获得与氯仿一步法相等的生物柴油产量，同时提高了粗油中脂肪酸甲酯含量

2. 4微藻生物质暗光发酵耦合产氢以及联产甲烷



沸石除铵解决暗发酵尾液难以光发酵产氢的难题

湿藻生物质中**蛋白质**浓度高，暗发酵尾液中 NH_4^+ 浓度高于30 mM

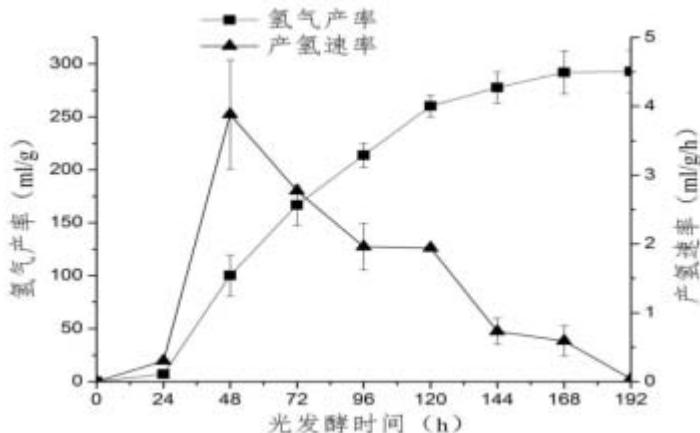


光合细菌固氮酶活性受到严重抑制，光发酵不能产氢。

利用沸石
高效去除
 NH_4^+



预处理后尾液高效光发酵产氢

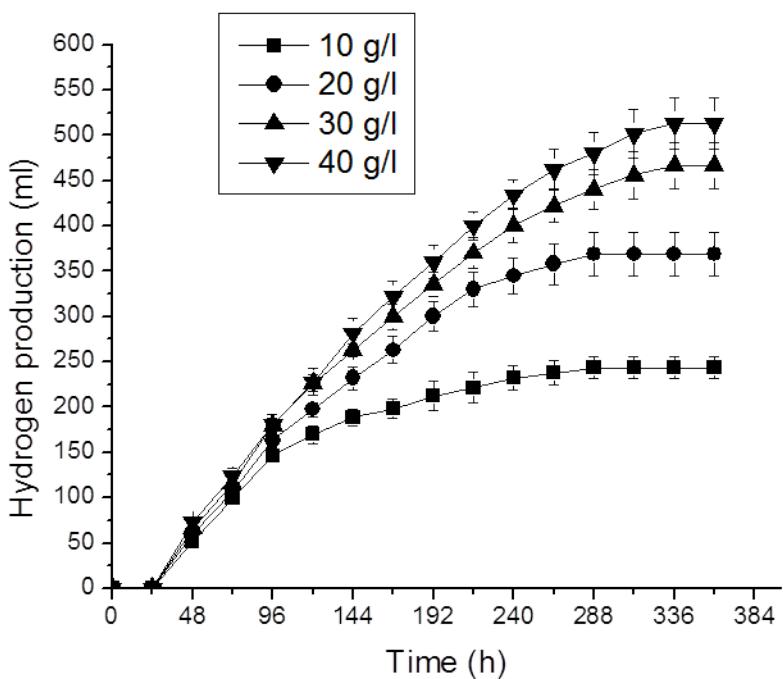


高效阳离子交换特性：

$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Ba}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Li}^+$



暗光耦合发酵使微藻生物质产氢率由单纯暗发酵的 97提高到337 ml H₂/g-DW



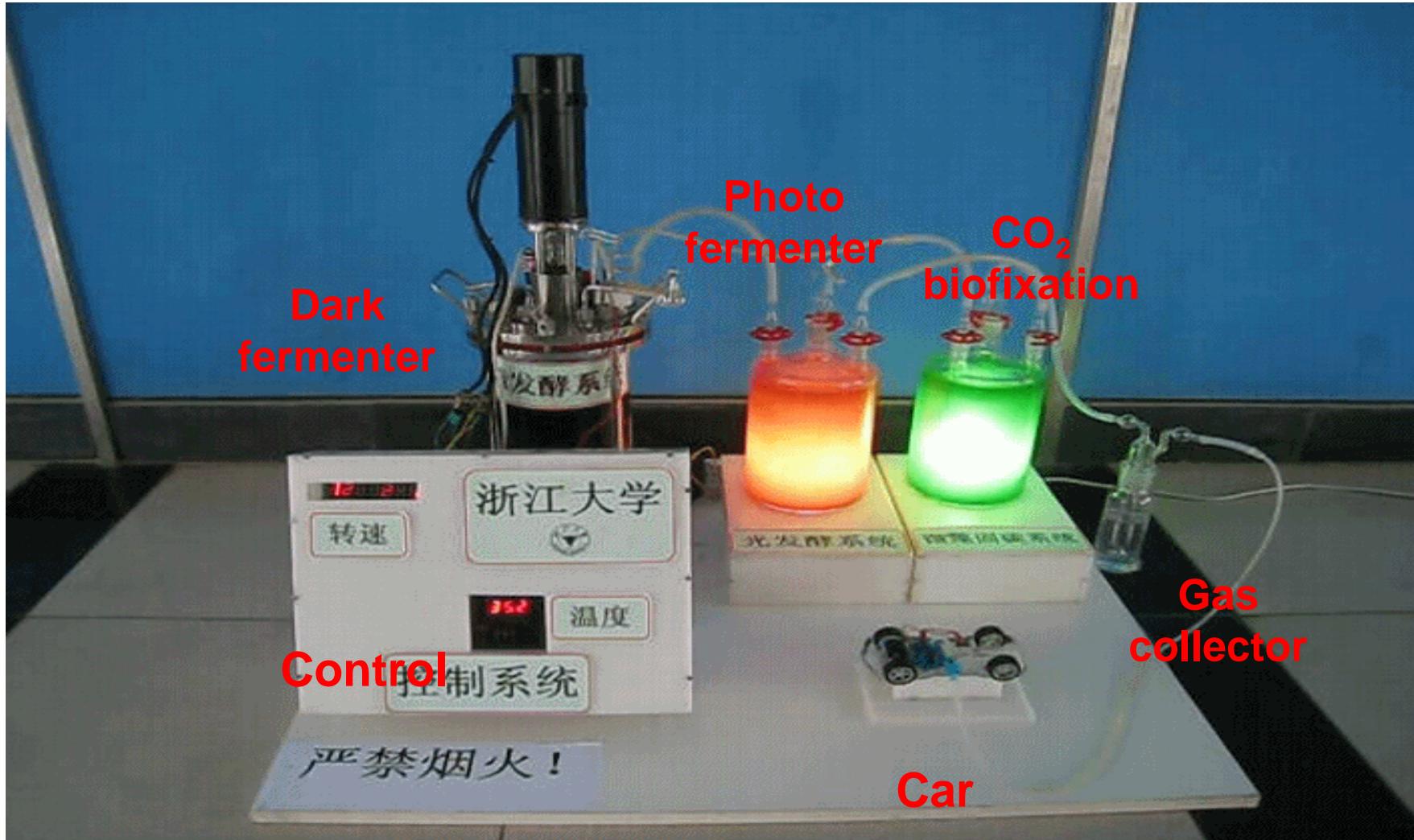
光发酵产氢率和液相底物残余

Arthrospira platensis (g/l)	SMP (mM)	Hydrogen yield (ml H ₂ /g-dw)	Soluble metabolite products		
			Acetate (mM)	Butyrate (mM)	SMP (mM)
10	67.8	243.4	0.28	0.02	0.5
20	104.0	184.4	0.29	0.06	0.72
30	141.0	155.5	0.46	0.28	1.06
40	162.9	128.3	0.56	0.34	1.14

利用暗发酵尾液进行光发酵产氢

光发酵最大产氢率为 243.4 ml H₂/g-dw

暗光发酵耦合产氢以及联产甲烷使整体能量转化效率
为暗发酵产氢联产甲烷的1.7倍、直接单产甲烷的1.3倍



三、前沿问题难点和未来研究合作

3.1 揭示细胞间纳米导线的电子传递机理

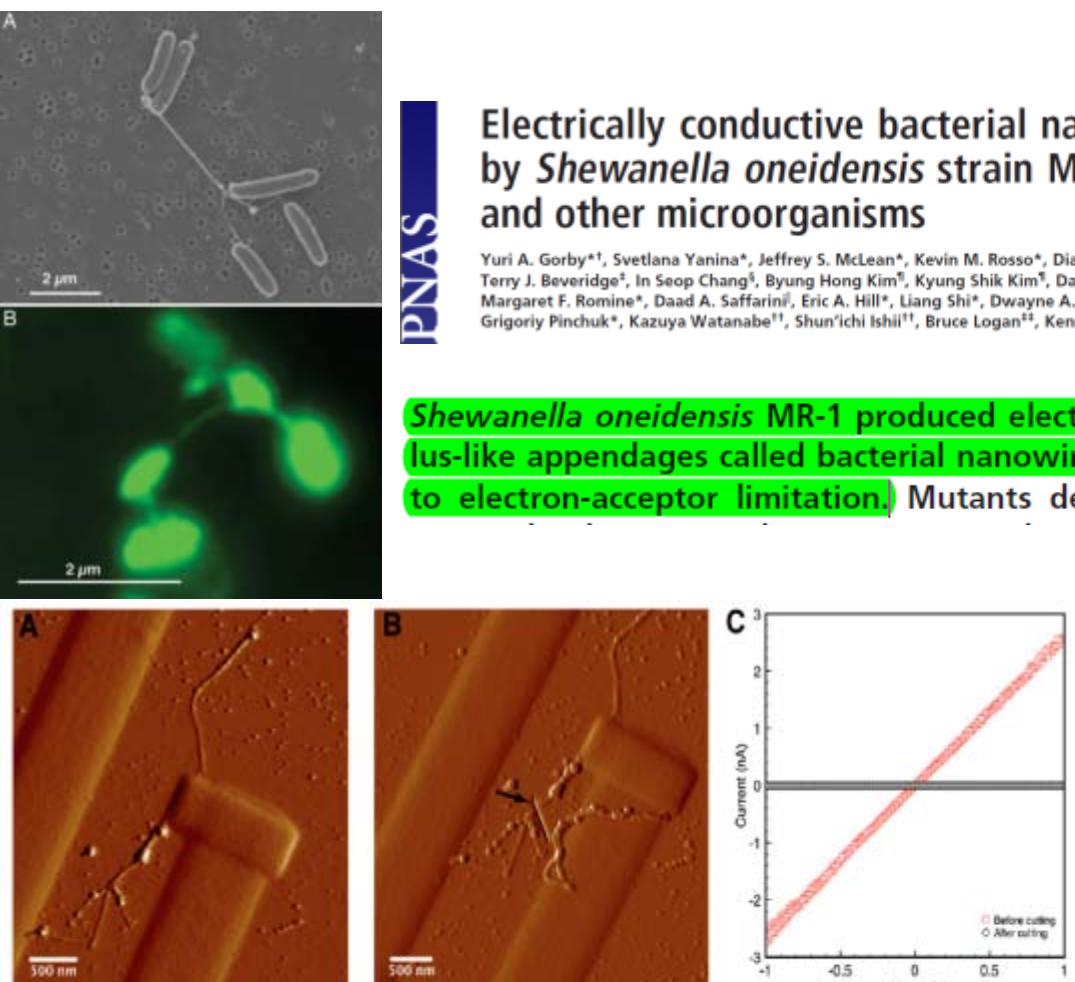


Fig. 2. Measuring electrical transport along a bacterial nanowire. (A) Tapping-mode atomic force microscopy (AFM) amplitude image detailing the contact area with the bacterial nanowire from Fig. 1. (B) Contact-mode AFM deflection image of the junction after cutting the nanowire with FIB milling. The arrow marks the cut location. (C) Current-voltage curve of the bacterial nanowire (ramp-up and ramp-down) both before (red) and after (black) cutting the nanowire.

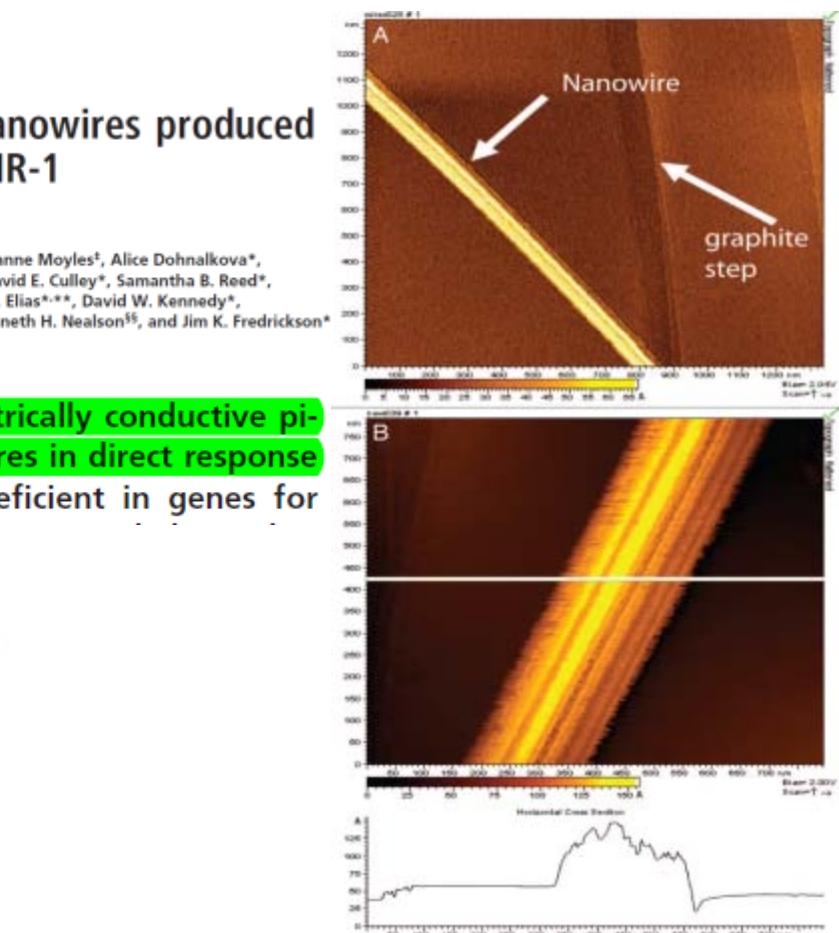


Fig. 2. STM images of isolated nanowires from wild-type MR-1, with lateral diameter of 100 nm and a topographic height of between 5 and 10 nm. (A) Arrows indicate the location of a nanowire and a step on the graphite substrate. (B) Higher magnification showing ridges and troughs running along the long axis of the structures.

纳米颗粒强化细胞间电子传递促进油气燃料转化

One this: Energy Environ. Sci. 2014, 7,
408

A new model for electron flow during anaerobic
digestion: direct interspecies electron transfer to
Methanosaeta for the reduction of carbon dioxide
to methane[†]

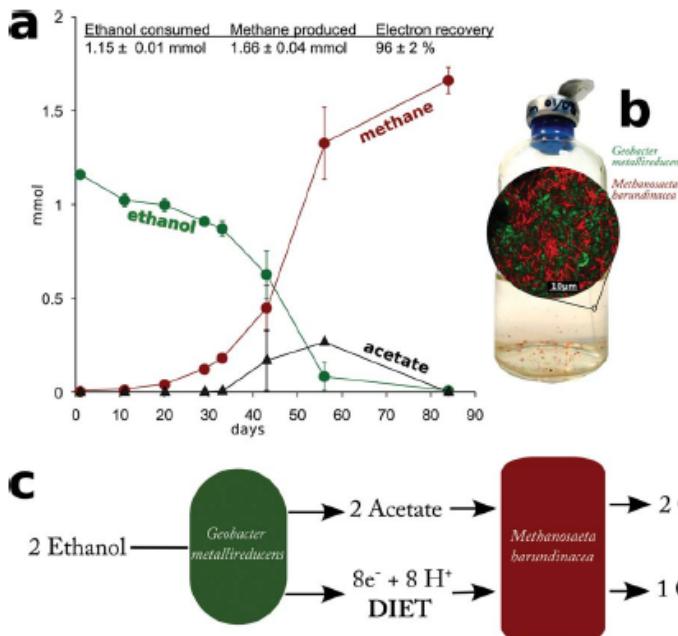
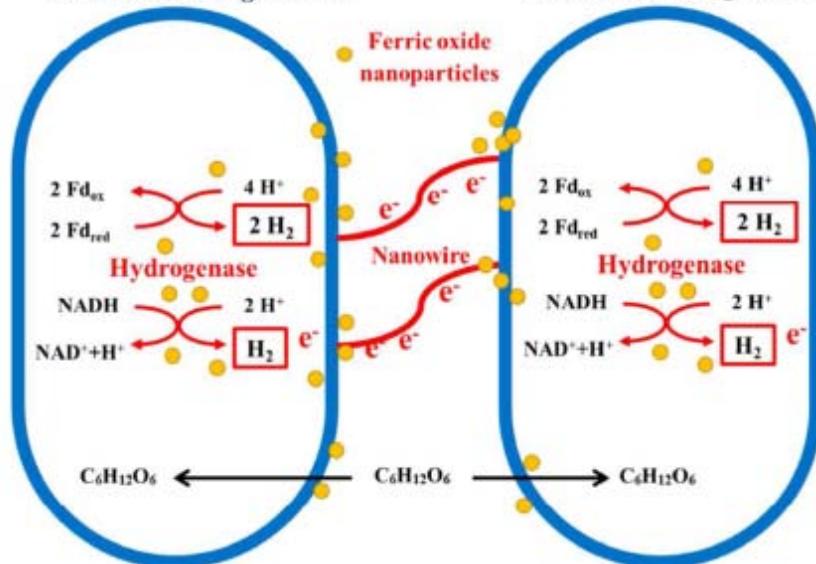


Fig. 4 Defined co-cultures of *Geobacter metallireducens* and *Methanosaeta harundinacea* converting ethanol to methane. (a) Time course and stoichiometry of ethanol conversion to methane. The data are representative of six replicate co-cultures. (b) Appearance of aggregates in co-culture and distribution of *Methanosaeta* (red) and, *Geobacter* (green) as revealed by FISH (round inset). (c) Model of electron transfer in the co-culture.

Enhanced hydrogen fermentation by ferric oxide nanoparticles

Enterobacter aerogenes cell

Enterobacter aerogenes cell



- The hydrogenase activity and electron transfer of *E. aerogenes* are enhanced.
- Acetate passway is enhanced, but ethanol passway is weakened.

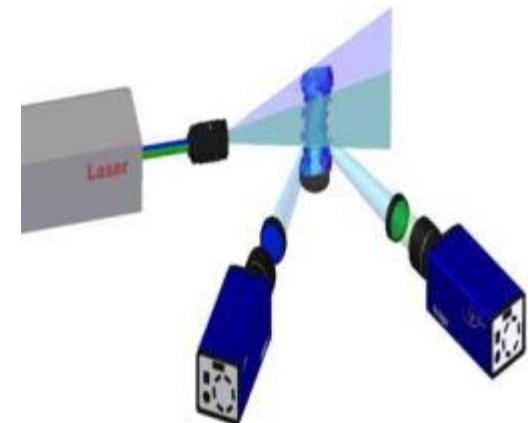


3.2 同步辐射和激光诊断等测量藻基航油、生物柴油以及生物氢烷气的多步燃烧反应微观机理

Microalgal biodiesel + jetfuel

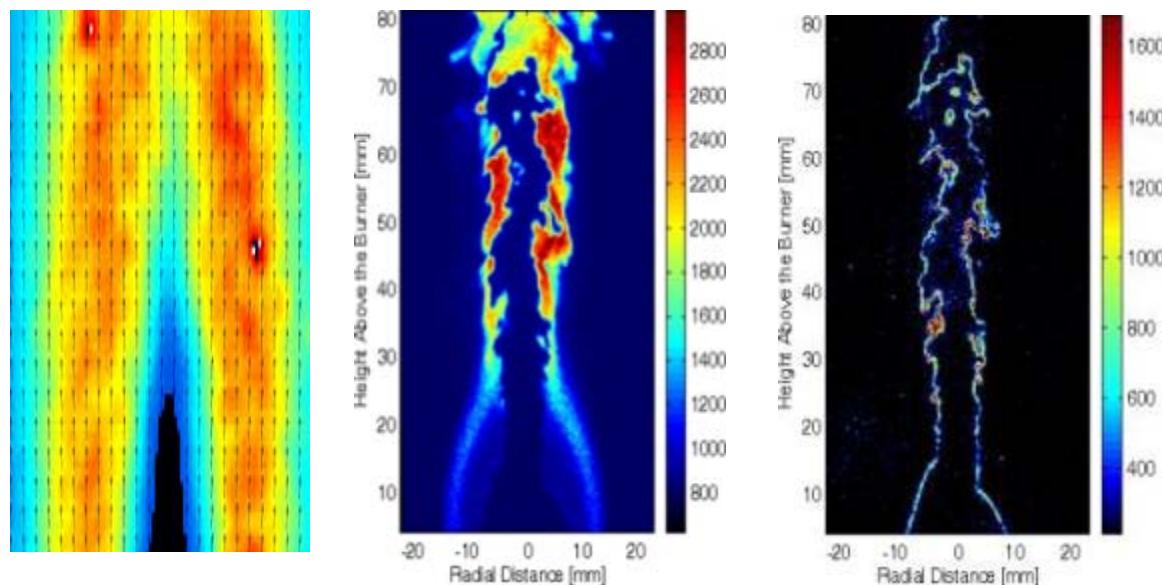
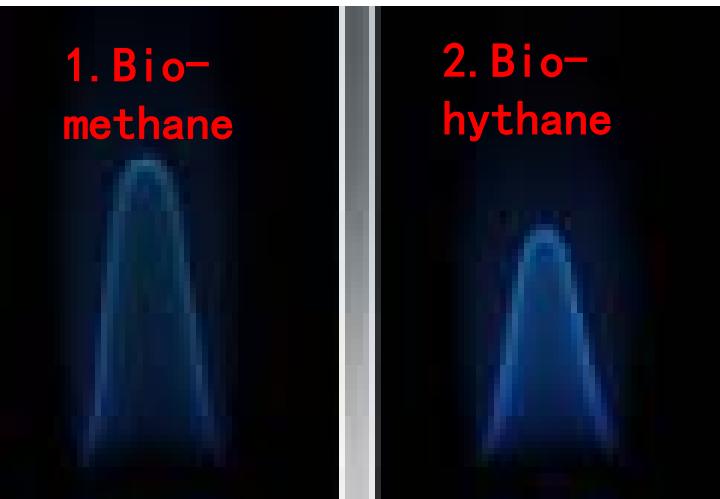


Synchrotron radiation



Laser PLIF

Flames of purified biogas

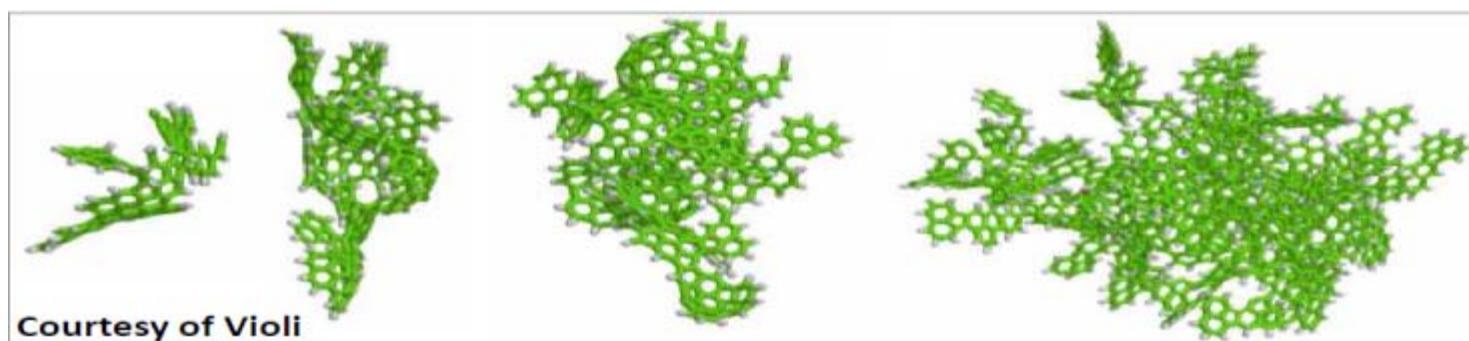
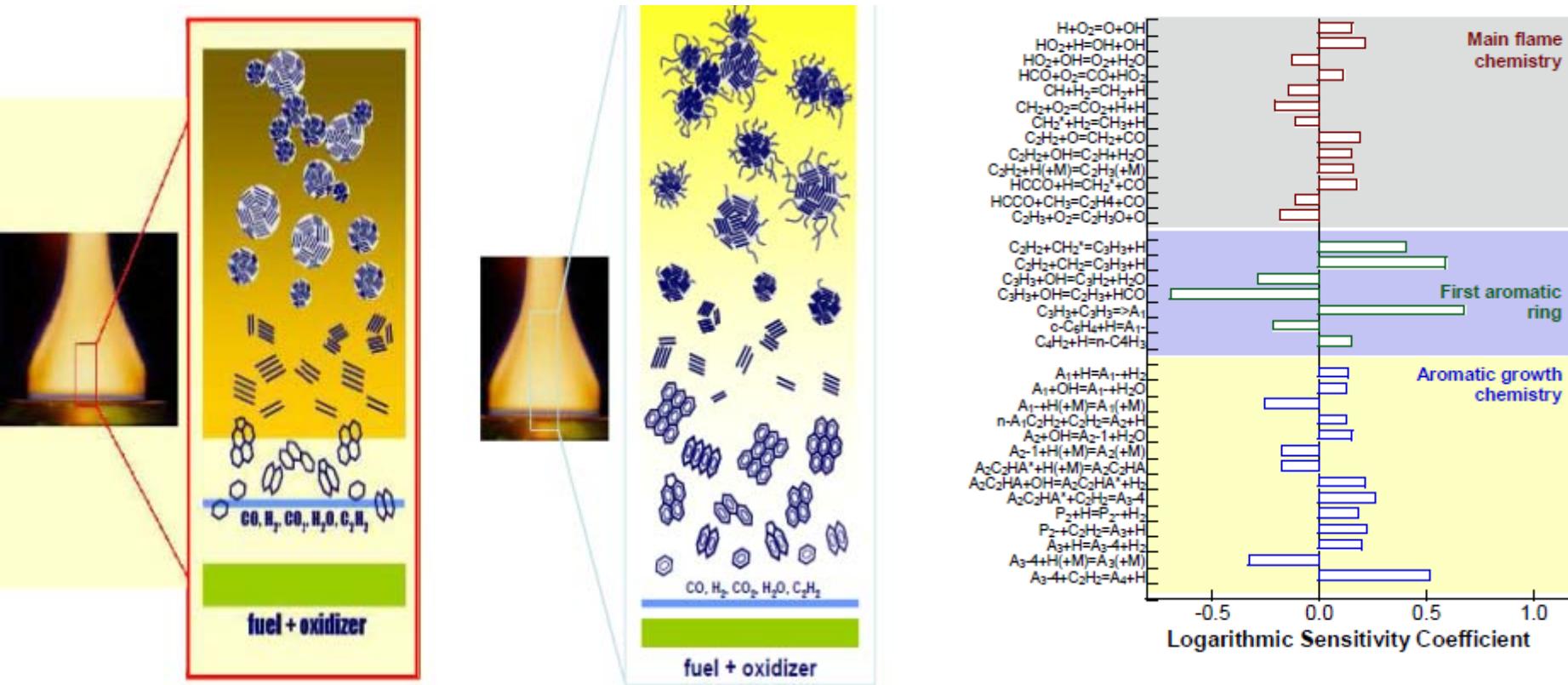


Flame temperature

OH radical

CH radical

揭示藻基油气燃料的燃烧污染物烟尘等 生成微观机理及反应动力学



谢 谢 !

