

УДК 662.63, 665.35, 665.357, 664.22, 664.3

С.Д. ВАРФОЛОМЕЕВ, Л.А. ВАССЕРМАН*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики РАН им. Н.М. Эммануэля, Москва, 119334

e-mail: sdvarf@chph.ras.ru

lwasserma@mail.ru

Микроводоросли — источник биотоплива, пищевых, кормовых и лекарственных продуктов

В обзоре обсуждаются современное состояние и перспективы производства микроводорослей и их применения для получения биотоплива (биодизель, биоводород, биометан, биоэтанол) и других продуктов. Многообещающим является использование микроводорослей в питании человека и в кормах для животных, в косметике, для получения красителей, полисахаридов, антиоксидантов, лекарств и других продуктов. В силу экономических причин в настоящее время использование микроводорослей для производства биотоплива неконкурентоспособно по сравнению с применением растительного сырья. В связи с этим совершенствование способов производства микроводорослей и поиск новых путей их переработки является весьма актуальным направлением современной биотехнологии.

Ключевые слова: антиоксиданты, биоводород, биодизель, биометан, биотопливо, красители, крахмал, лекарства, микроводоросли, пищевые добавки, полисахариды.

Микроскопические водоросли (микроводоросли) обитают в различных экосистемах; их можно встретить не только в воде, но и во всех земных условиях обитания. Известно, что существует более 50000 видов микроводорослей, при этом к настоящему времени изучено около 30000 видов [1]. Микроводоросли являются эффективными преобразователями солнечной энергии с хорошо организованными стадиями восстановления диоксида углерода до энергоемких биомолекул, включая углеводы, белки, липиды и триглицериды [2].

В настоящее время большое внимание уделяется биотехнологическим исследованиям, связанным с культивированием и использованием микроводорослей и продуктов их переработки. Процессы получения и применение микро- и макроводорослей аналогичны. В мире на данный момент

ежегодно продается макроводорослей на сумму $6 \cdot 10^9$ долл. США, а урожайность макроводорослей составляет $7,5 \cdot 10^6$ т в год. Рынок микроводорослей составляет 5000 т в год и измеряется $1,25 \cdot 10^9$ долл. США [3]. Микроводоросли уже давно используются, например, как пищевые компоненты, но активно культивировать их начали сравнительно недавно, в течение последних трех десятилетий [4]; коммерческое применение микроводорослей началось в Японии с начала 1960-х годов; первым объектом послужила *Chlorella* [4].

Из микроводорослей можно получать различные продукты (биотопливо, пищевые добавки, добавки в корма для животных, ненасыщенные жирные кислоты, полисахариды, антиоксиданты, красители), которые находят широкое применение во многих отраслях промышленности [5–7].

Варфоломеев Сергей Дмитриевич, Вассерман Любовь Александровна.

Список сокращений: КЖ — культуральная жидкость; СМ — сухая масса.

* Автор для переписки.

Катализатором для развития биотехнологических процессов получения биотоплива из микроводорослей послужил энергетический кризис 1970-х годов [8]. Существенный вклад в развитие энергетики вносят энергоносители, получаемые в результате фотосинтеза с последующим химическим или биотехнологическим превращением в жидкое или газообразное топливо. Производство биотоплива из растительного сырья растет экспоненциально, удваиваясь каждые 2—4 года [2, 9]. Из микроводорослей можно получить биометан (в результате анаэробного расщепления биомассы) [6], биодизель (из липидов микроводорослей) [10—12] и биоводород [13—15]. Производство биотоплива из микроводорослей позволяет замещать нефтяное топливо, открывает новые возможности для модификации топлива, повышает занятость населения в сельских областях, увеличивает безопасность энергоснабжения [11].

Генетическая модификация микроводорослей позволяет развивать новые биотехнологические подходы к их культивированию и применению. Например, генетическую модификацию использовали для выращивания эукариотических микроводорослей. Недавно была определена последовательность геномов в морских разновидностях микроводорослей [16].

Цель данной работы состоит в оценке современного состояния и перспектив использования микроводорослей как источника биотоплива и других продуктов.

ЧТО ТАКОЕ МИКРОВОДОРОСЛИ И КАКОВЫ ВОЗМОЖНОСТИ ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Микроводоросли представляют собой микроорганизмы (прокариотические или эукариотические), которые способны накапливать биомассу под воздействием солнечного света в присутствии воды и углекислого газа в результате фотосинтеза. При этом полный цикл развития микроводорослей составляет всего от 24 ч до нескольких дней [10, 11]. Такие микроорганизмы могут развиваться достаточно быстро в жестких условиях, что обусловлено их одноклеточной или простой многоклеточной структурой. Примером прокариотических микроводорослей являются *Cyanobacteria* (*Cyanophyceae*), а эукариотических — зеленые водоросли *Chlorophyta* и диатомовые водоросли *Bacillariophyta* [11]. Микроводоросли могут развиваться практически везде, где присутствуют солнечный свет и некоторые простые питательные вещества.

Развитие микроводорослей зависит от различных факторов. К абиотическим факторам относятся мощность и качество светового облучения, температура, концентрация питательных веществ, присутствие кислорода и углекислого газа, pH и минеральный состав среды, а также наличие токсичных соединений. К биотическим факторам относятся наличие вирусов, грибов и бактерий, а также конкуренция с другими микроводорослями. Рост данных микроорганизмов определяется и операционными факторами, такими как интенсивность перемешивания, скорость растворения питательных веществ в воде, частота сбора урожая и др. [11, 17]. Так, например, обнаружено, что у микроводоросли *Dunaliella salina* происходит ингибирование роста биомассы при концентрации углекислого газа 10%, а при 25 % — полное подавление роста; при этом активизируется синтез липидов жирных кислот и углеводов. *Chlorella vulgaris* и *Galdiera partita* сохраняют способность роста при концентрации углекислого газа до 50% и выше. При этом у всех исследуемых микроводорослей увеличение концентрации углекислого газа вызывает значительное уменьшение содержания белка и хлорофилла [18].

Преимущества получения биомассы из микроводорослей по сравнению с сельскохозяйственными культурами заключаются в следующем: они являются более эффективными биологическими системами для преобразования солнечной энергии в органические соединения; у микроводорослей как мохообразных отсутствуют сложные системы репродукции; у многих видов микроводорослей можно индуцировать процессы получения ценных белков, углеводов, липидов и пигментов в необычно высоких концентрациях; они представляют собой организмы, которые подвергаются простому циклу клеточного деления; их можно выращивать в различных акваториях [19].

Приблизительно половина сухой биомассы микроводорослей приходится на углеродсодержащие соединения [20], которые синтезируются из углекислого газа. Накопление биомассы микроводорослей может происходить за счет утилизации технически доступного углекислого газа, который выделяется при сжигании топлива, т.е. без дополнительных затрат [21].

СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В МИКРОВОДОРОСЛЯХ

Биомасса микроводорослей содержит большое количество липидов, из которых с применением современных технологий может быть получено биотопливо [2, 10].

Состав липидов, углеводов и других соединений в биомассе определяется видом микроводорослей [19]. Не все липиды из микроводорослей пригодны для получения биодизеля; однако они могут успешно использоваться в других целях (например, для получения продуктов, используемых в косметической, пищевой и фармацевтической отраслях промышленности).

В табл. 1 приведены данные по содержанию в биомассе и продуктивности биосинтеза липидов, а также по количеству биомассы, получаемой из различных видов микроводорослей [1, 10, 11, 17, 22, 23].

Как видно из данных табл. 1, высокое содержание липидов в некоторых видах микроводорослей сопровождается низким выходом биомассы (например, в случае *Botryococcus braunii*). Другие виды микроводорослей (*Chlorella*, *Chlorococcum*, *Dunaliella*, *Nannochloris*, *Phaeodactylum*, *Scenedesmus*) характеризуются достаточно высоким содержанием липидов (от 20 до 50 %) и объемом получаемой биомассы.

Из данных, приведенных в [11], также видно, что содержание липидов в агротехнических культурах и микроводорослях отличается незначительно. Тем не менее, наблюдаются заметные различия в общей продуктивности биомассы в пользу микроводорослей даже по сравнению с маслосодержащими сельскохозяйственными культурами.

На характеристики получаемого биодизеля существенное влияние оказывает состав жирных кислот в различных видах микроводорослей [11].

В табл. 2 приведены данные о составе некоторых жирных кислот в липидах микроводорослей [24]. В основном это ненасыщенные жирные кислоты: пальмитолеиновая, олеиновая, линолевая и линоленовая. Однако в небольших количествах присутствуют и насыщенные жирные кислоты — пальмитиновая и стеариновая [24].

ТИПЫ СИСТЕМ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОМАССЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

В настоящее время существуют три основных типа систем для производства микроводорослей: открытые культиваторы (проточные реакторы, raceway ponds); трубчатые фотобиореакторы или ферментеры (photobioreactors); вертикальные реакторы (vertical growth reactors).

Открытые культиваторы

Данные реакторы состоят из кругообразных параллельных туннелей, расположенных на зем-

ле, в которых микроводоросли перемещаются с помощью колесной мешалки (рис. 1) [25]. В таких культиваторах трудно контролировать условия развития микроводорослей, так как возможна их контаминация другими микроорганизмами. В этих системах концентрация получаемой биомассы $\sim 0,14 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$. В открытых культиваторах выращивают только три вида водорослей (*Chlorella*, *Dunaliella*, *Spirulina*). Это определяется селективными условиями их роста (например, *Spirulina* растет при pH среды более 10, а *Dunaliella* — на средах с очень высокой минерализацией) [26].

Фотобиореакторы

В данном реакторе микроводоросли могут развиваться при контролируемых условиях. Схематично биореактор представлен на рис. 2 [10]. Фотобиореактор (или ферментер) снабжен источником света, позволяет добавлять питательные вещества, контролировать интенсивность света, pH, температуру среды, обмен углекислого газа и кислорода, флотацию биомассы и световые циклы. Фотобиореакторы состоят из ряда пластиковых или стеклянных параллельных горизонтальных (или вертикальных) труб, в которых перемещается среда обитания микроводорослей. Диаметр труб не должен превышать 0,1 м, чтобы не вызывать резкое помутнение среды роста биомассы в результате проникновения света. В системе используются достаточно длинные (до 80 м) трубы. Длину труб определяет ряд факторов, таких как концентрация биомассы, турбулентность потока, интенсивность света и концентрация кислорода на выходе из труб. Концентрация углекислого газа в биомассе в процессе биосинтеза уменьшается, что приводит к увеличению pH среды. Биореакторы оснащены дегазационной колонной, в которой воздух поднимается пузырьками через массу микроводорослей, вытесняя кислород и увеличивая концентрацию углекислого газа. Для предотвращения ингибирования процесса фотосинтеза концентрация кислорода в среде не должна превышать определенного уровня. Концентрация получаемой биомассы в биореакторах такого типа достигает $4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ [10, 25].

Продуктивность микроводорослей в фотобиореакторах зависит от условий освещения [27]. Теоретически рассчитано, что в безоблачные летние дни падающей световой энергии солнца вполне достаточно для производства биомассы в количестве $110\text{—}160 \text{ г}/\text{м}^2/\text{сут}$ при к.п.д. фотосинтеза 25%, а при круглосуточном искусственном освещении продуктивность по биомассе в 2 раза выше. Реаль-

Содержание липидов и количество получаемой биомассы из различных видов микроводорослей [1, 10, 11, 17, 22, 23]

Виды микроводорослей	Содержание липидов, % от СМ	Продуктивность по липидам, мг/л/день	Продуктивность по биомассе, г/л/день
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	24,0—31,0	—*	—
<i>Botryococcus braunii</i>	25,0—75,0	—	0,07
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6	21,8	0,07
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	14,6—39,8	17,6	0,04
<i>Chlorella emersonii</i>	25,0—63,0	10,3—50,0	0,036—0,041
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6—57,8	12,14	2,00—7,70
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19,0—22,0	44,7	0,23—1,47
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0—58,0	11,2—40,0	0,02—0,20
<i>Chlorella</i> sp.	10,0—48,0	42,1	0,02—2,5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2,0	—	—
<i>Chlorella</i>	18,0—57,0	18,7	—
<i>Chlorococcum</i> sp.	19,3	53,7	0,28
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20,0—51,1	—	10,0
<i>Dunaliella salina</i>	6,0—25,0	116,0	0,22—0,34
<i>Dunaliella primolecta</i>	23,1	—	0,09
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	16,7—71,0	—	0,12
<i>Dunaliella</i> sp.	17,5—67,0	33,5	—
<i>Elipsoidion</i> sp.	27,4	—	7,70
<i>Euglena gracilis</i>	14,0—22,0	—	0,05—0,06
<i>Isochrysis galbana</i>	7,0—40,0	—	0,32—1,60
<i>Monallanthus salina</i>	20,0—22,0	—	0,08
<i>Nannochloris</i> sp.	20,0—56,0	60,9—76,5	0,17—0,51
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22,7—29,7	84,0—142,0	0,37—0,48
<i>Nannochloropsis</i> sp.	12,0—53,0	37,6—90,0	0,17—0,43
<i>Nitzschia</i> sp.	16,0—47,0	—	—
<i>Pavlova lutheri</i>	35,5	40,2	0,14
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	18,0—57,0	44,8	0,003—1,9
<i>Porphyridium cruentum</i>	9,0—60,7	34,8	0,36—1,50
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11,0—55,0	—	0,004—0,74
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1,9—18,4	35,1	0,19
<i>Skeletonema</i> sp.	13,3—31,8	27,3	0,09
<i>Skeletonema costatum</i>	13,5—51,3	17,4	0,08
<i>Spirulina platensis</i>	4,0—16,0	—	0,06—4,3
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20,6	17,4	0,08
<i>Tetraselmis</i> sp.	12,6—14,7	43,4	0,30

* (—) — не определяли.

Таблица 2

Содержание жирных кислот в липидах микроводорослей [24]

Жирная кислота	Длина цепи: число двойных связей	Содержание в липидах, % от общего количества
Пальмитиновая	C16:0	12—21
Пальмитолеиновая	C16:1	55—57
Стеариновая	C18:0	1—2
Олеиновая	C18:1	58—60
Линолевая	C18:2	4—20
Линоленовая	C18:3	14—30

но достижимая эффективность утилизации энергии света в промышленных фотобиореакторах оценивается в 12—14 %; производительность при использовании солнечной энергии — в 60—80 г/м²/сут, а при искусственном освещении — в 120—150 г/м²/сут [27]. В работе [28] описываются конструктивные особенности двух типов фотобиореакторов для лабораторных исследований. Продуктивность одного фотобиореактора при круглосуточном искусственном освещении составляла 4,5 г/л/сут при к.п.д. использования света 11,8 %, а другого — 4,2 г/л/сут при к.п.д. 12,5 %. При выращивании *Chlorella* в одном из фотобиореакторов при солнечном освещении и хороших погодных условиях продуктивность составляла 64 г/м²/сут, что превышает результаты, полученные с помощью других аналогичных фотобиореакторов. Данные аппараты могут использоваться в лабораторных условиях и, по-видимому, масштабироваться для промышленных целей [28].

В табл. 3 приведены характеристики двух различных типов реакторов для производства микроводорослей — фотобиореактора и открытого культиватора [10]. Из приведенных характеристик видно, что при производстве микроводорослей в фотобиореакторе получается больше масла, чем при их производстве в открытых культиваторах за счет существенно более высокой (~ в 30 раз) концентрации получаемой биомассы. Для выделения масел биомассу микроводорослей отделяют от жидкой среды при помощи фильтрации или центрифугирования [29]. Поэтому для получения одинакового количества биомассы при производстве микроводорослей в закрытом фотобиореакторе необходим меньший объем жидкой среды, чем при их производстве в открытых культиваторах.

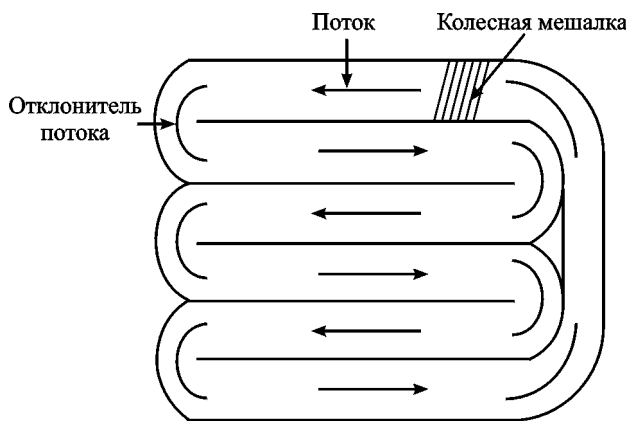


Рис. 1. Схема потоков при выращивании микроводорослей в открытых культиваторах [25]

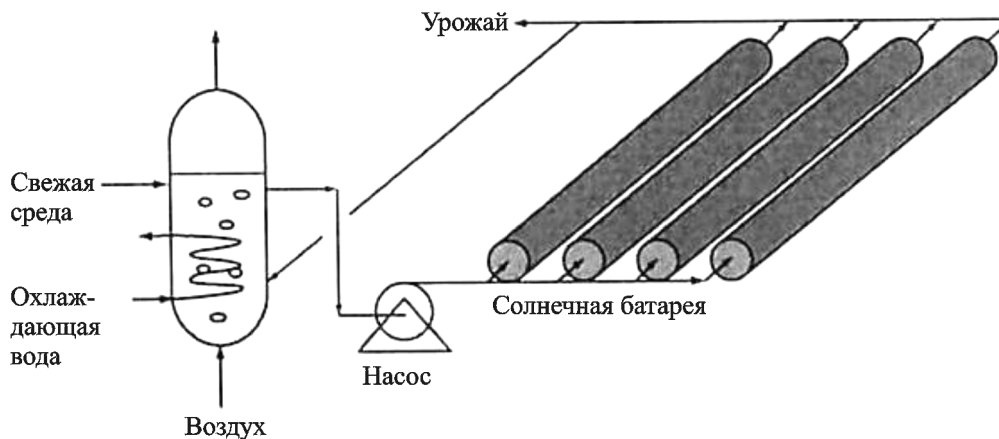


Рис. 2. Схема трубчатого фотобиореактора с параллельно расположенными горизонтальными трубами [10]

Технологические характеристики процесса получения микроводорослей в фотобиореакторе и в открытом культиваторе [10]

Технологические характеристики	Закрытый фотобиореактор	Открытый культиватор
Годовая продуктивность по биомассе, кг	100000	100000
Объемная продуктивность, кг м ⁻³ с ⁻¹	1,535	0,117
Концентрация биомассы в жидкой среде, кг м ⁻³	4,00	0,14
Выход масла, м ³ га ⁻¹	58,7—136,9	42,6—99,4
Годовое потребление углекислого газа, кг	183,333	183,333
Геометрия системы	132 параллельные трубы, каждая длиной 80 м и диаметром 0,06 м	Водоем 978 м ² , ширина 12 м, длина 81,5 м, глубина 0,03 м
Количество модулей в системе, шт	6	8

Вертикальный реактор

На рис. 3 схематично представлен вертикальный реактор для производства микроводорослей, выпускаемый компанией Valcent LTD (Ванкувер, Канада) [25]. КЖ в данном реакторе течет между вертикальными пластиковыми двойными пластинами при регулировании кругового потока. КЖ впрыскивается и поток организуется с помощью насоса. В этих реакторах так же, как в фотобиореакторах, осуществляется дегазация для регулирования баланса между углекислым газом и кислородом. Для уменьшения температурных колебаний реакторы помещают в теплицы.

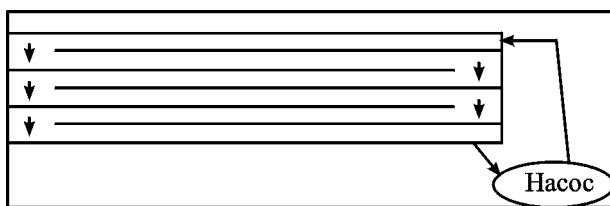


Рис. 3. Схема вертикального реактора [25]

Существует метод выращивания микроводорослей, в котором системы культивирования состоят как из фотобиореакторов, так и из открытых культиваторов [23]. На первом этапе накопление биомассы микроводорослей осуществляют в фотобиореакторах, в которых созданы условия для минимизации загрязнения другими микроорганизмами и непрерывного клеточного деления. На вто-

ром этапе выращивание происходит в открытых культиваторах, в которых увеличено содержание питательных веществ с целью стимулирования синтеза липидов в микроводорослях. Показано, что использование комбинированных культиваторов способствует увеличению скорости роста, фотосинтетической активности микроводорослей и содержания в них липидов [23, 30].

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Биотопливо — это в конечном счете продукты фотосинтетического восстановления углекислого газа, производство и использование которых может обеспечить стабилизацию существующего уровня накопления углекислого газа в атмосфере. Преимуществом биотоплива является то, что его применение не оказывает неблагоприятного воздействия на окружающую среду. Так, биодизель из микроводорослей не содержит серу и может использоваться для тех же целей, что и дизельное топливо из нефтепродуктов. Первый характеризуется меньшим количеством продуктов сгорания (угарный газ, углеводороды, оксиды серы) по сравнению с дизельным топливом из ископаемой нефти. Однако выделение оксидов азота может быть выше, чем при использовании некоторых типов моторного топлива [11].

Ниже рассмотрены основные биотехнологические процессы получения топлива из биомассы микроводорослей.

Пиролиз

Впервые пиролиз микроводорослей был применен в Германии в 1986 г. [12, 31—33]. В настоящее время этот процесс считается одним из наиболее перспективных для производства биотоплива. При использовании каталитического пиролиза можно получать бензин с высокими содержанием ароматических углеводородов и октановым числом [6, 34]. В процессе пиролиза разрушение биомассы происходит при недостатке кислорода за счет высокой температуры.

При пиролизе лигноцеллюлозы также можно получать биотопливо и его предшественники — пиролизные масла* и синтез-газ. Однако пиролиз микроводорослей для этой цели является предпочтительным, так как, во-первых, он происходит при более низких температурах и, во-вторых, образующиеся пиролизные масла имеют более высокое качество [35]. Например, в пиролизных маслах из микроводоросли *Chlorella protothecoides* содержится меньше кислорода, чем в продукте из лигноцеллюлозы [36]. Более того, стоимость пиролиза лигноцеллюлозы сравнительно выше, чем микроводорослей, так как в последних содержится большее количество липидов, водорастворимых полисахаридов и белков, которые легче превращаются в пиролизные масла и синтез-газ в результате термической обработки [31].

Различные условия определяют различную скорость пиролиза; при этом существуют быстрый (более эффективный) и медленный процессы. Наибольший практический интерес представляет первый процесс, который протекает в отсутствие кислорода воздуха при относительно низких температурах (450—550⁰) и сравнительно высокой скорости [32]. В результате быстрого пиролиза выделяется большее количество масел высокого качества и с меньшими энергозатратами [12]: так, в случае быстрого пиролиза выход масел и синтез-газа составляет около 70%, а медленного — всего 15—20% [37]. Быстрый пиролиз был использован для получения биотоплива из *Chlorella photothecoides* и *Microcystis aeruginosa*. [33, 38].

Термомеханическое ожигение

Данный процесс, в отличие от пиролиза, позволяет получать биотопливо из биомассы мик-

роводорослей без ее предварительной сушки [39, 40]. В [39] сообщается, что биомасса *Dunaliella tereiolata* с содержанием воды 78,4 % при термомеханическом ожигении при температуре 300° и давлении 10 МПа преобразуется в масла, причем выход последних составляет 37% от общего количества органических соединений. Теплопроводность полученного масла сопоставима с соответствующей характеристикой ископаемой нефти [39]. Водоросли *Botryococcus braunii* продуцируют до 57—64% масел от сухой биомассы, при этом процесс термомеханического сжижения проводят при 300°, давлении 10 МПа и в присутствии карбоната натрия в качестве катализатора [40]. Энергетический баланс и ингибирование углекислым газом производства, основанного на термомеханическом ожигении биомассы *Botryococcus braunii*, исследовали в [41]. Было показано, что при этом образуется высококалорийное топливо.

Газификация

Процесс газификации заключается в окислении биомассы в присутствии кислорода и воды до легковоспламеняющейся газовой смеси при высоких температурах (800—1000°), в результате которого получается синтетический газ (синтез-газ), состоящий из смеси водорода, азота, метана, угарного и углекислого газов. Такой газ является сравнительно низкокалорийным (4—6 МДж/м³) и может использоваться как топливо для газовых машин и турбин [38]. Показано, что в результате газификации биомассы микроводоросли *Spirulina* при 1000° наблюдался высокий выход биометанола [42]. Газификация биомассы микроводоросли *Chlorella vulgaris* приводила к образованию обогащенного метаном топлива, а все азотные компоненты микроводорослей превращались в высококачественные азотные удобрения [43].

Прямое сгорание

В результате прямого сгорания при температуре выше 800° биомасса микроводорослей превращается в газ, который может использоваться в газовых турбинах. В данном процессе возможно использование биомассы, влажность которой менее 50 %. Получаемый газ не может храниться, а должен использоваться немедленно [38].

* Пиролизные масла (эквивалент — пиролизная нефть) — смесь органических соединений, близких по составу к ископаемой нефти.

Таким образом, выбор процесса получения биотоплива из микроводорослей зависит от необходимости получения того или иного продукта, а также от экономических показателей процесса.

ПОЛУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ БИОТОПЛИВА ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Биодизель

Из биомассы микроводорослей могут быть получены различные виды биотоплива, среди которых большой интерес представляет получение биодизельного топлива [2, 10—12, 25].

Биодизель представляет собой смесь алкильных эфиров жирных кислот, полученных в результате переэтерификации липидов, которые содержат большое количество (90—98%) триглицеридов, небольшое — моно- и диглицеридов, свободные жирные кислоты (1—5%), а также следовые количества фосфолипидов, фосфатидов, каротинов, токоферолов, сернистых соединений и остатки воды [44].

Получение биодизельного топлива из микроводорослей является перспективным по следующим причинам:

- 1) многие виды микроводорослей содержат большое количество липидов и триглицеридов жирных кислот (до 70 % по массе);
- 2) микроводоросли быстро размножаются в оптимальных условиях, что позволяет получать рекордный урожай биомассы;

3) введение диоксида углерода позволяет интенсифицировать рост микроводорослей; при этом возможно использование диоксида углерода, выделяемого при работе электростанций (на 1 кг биомассы водоросли поглощают 1,8 кг углекислого газа);

4) с помощью методов геной инженерии микроводоросли можно модифицировать с целью увеличения фотосинтетической и триглицеридпродуцирующей активности;

5) микроводоросли могут культивироваться на землях, непригодных для выращивания сельскохозяйственных культур (в пустынях, полупустынях, на открытых водных пространствах, с использованием морской воды или сточных вод промышленности и коммунального хозяйства) [2].

На рис. 4 приведена принципиальная схема производства биодизеля и биогаза из микроводорослей [21]. Вода и неорганические питательные вещества (в основном, фосфаты, нитриты и углекислый газ) обеспечивают рост микроорганизмов. В процессе образования биомассы выделяются вода и остатки питательных веществ, которые возвращаются в цикл производства. Регенерированная биомасса используется для экстракции липидов и, в конечном счете, для получения биодизеля. Некоторые отходы производства могут использоваться как корма для животных. Большая часть биомассы подвергается анаэробному расщеплению с выделением биогаза. Стоки, получающиеся в результате анаэробной деградации биомассы, применяют для удобрения и орошения почвы.

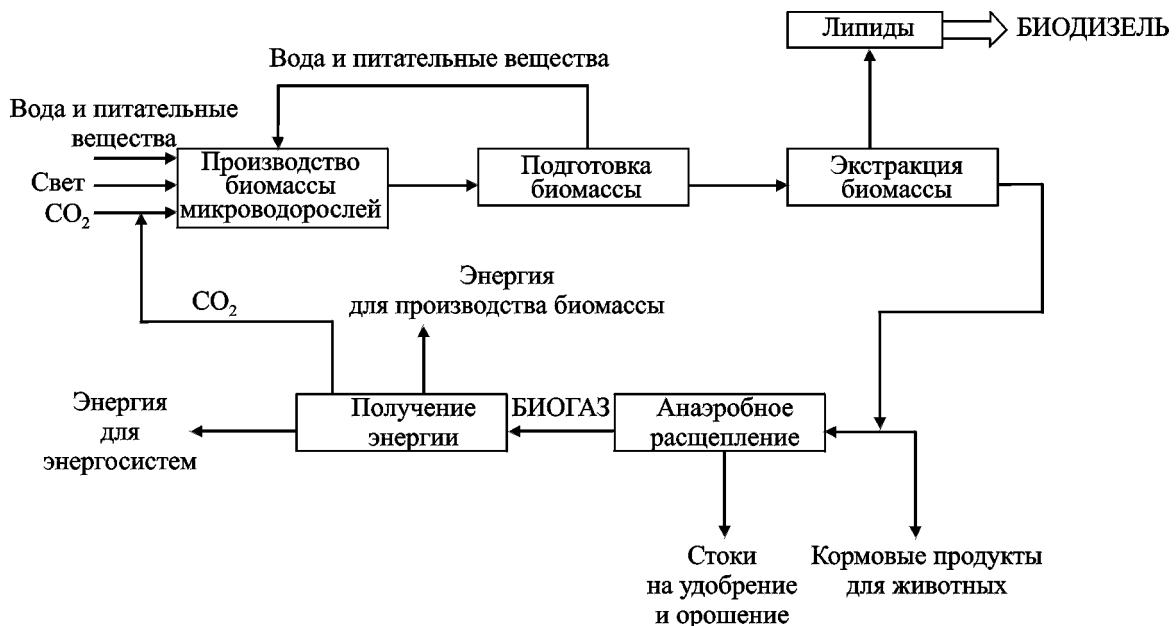


Рис. 4. Принципиальная схема получения биодизеля и биогаза из микроводорослей [21]

Таким образом, процессы получения биодизеля и биогаза являются безотходными. Рассмотрим их более подробно.

Реакция переэтерификации — это многостадийный процесс, в котором сначала триглицериды превращаются в диглицериды, последние — в моноглицериды, а моноглицериды трансформируются в глицерин и этиловые эфиры жирных кислот (биодизель). Как правило, реакцию проводят при молярном соотношении триглицерид : спирт, равном 1:6; считается, что из 1 кг масла получается 1 кг биодизеля [11]. Схема реакции переэтерификации триглицеридов представлена на рис. 5.

Для увеличения скорости реакции переэтерификации применяют гомогенный или гетерогенный, кислотный или основной катализ. Обычно в промышленных процессах получения биодизеля используют гомогенные щелочные катализаторы (гидроксиды натрия или калия) [45]. Скорость реакции и степень превращения субстрата при щелочной каталитической реакции в 4000 раз выше, чем при кислотной [46]. В результате реакции могут образовываться побочные продукты, такие как натриевые соли жирных кислот (мыла) и вода, которые взаимодействуют с катализатором, частично выводя его из реакции. В связи с этим необходимо восполнять катализатор по ходу процесса. Вода может вызывать гидролиз биодизеля с образованием жирных кислот и метанола. При со-

держании свободных жирных кислот более 5% мыла ингибируют разделение эфиров и глицерина и вызывают образование эмульсии. Поэтому для уменьшения содержания свободных жирных кислот необходимо на первом этапе превращать их в метиловые эфиры [12]. Показано, что выход биодизеля увеличивается при щелочном катализе, если в реакционной системе содержится менее 0,5% жирных кислот [47].

В настоящее время для ускорения протекания реакции переэтерификации используют реакторы с улучшенными смесителями, снабженные микроволновыми системами, а также кавитационные и ультразвуковые реакторы [48—50]. Глицерин, который является побочным продуктом реакции переэтерификации, после очистки можно использовать в фармацевтическом и косметическом производствах, а без очистки — в качестве сырья для микробиологического производства, например, 1,3-пропандиола [51]. В результате кислотно-катализируемой конденсации глицерина с карбонильными соединениями можно также получать циклические кетали. Последние являются новым классом биодобавок к спиртосодержащим моторным топливам, которые достаточно хорошо совместимы с углеводородным топливом, существенно увеличивают октановое число и стабилизируют фазовую однородность композиционного топлива в широком интервале температур.

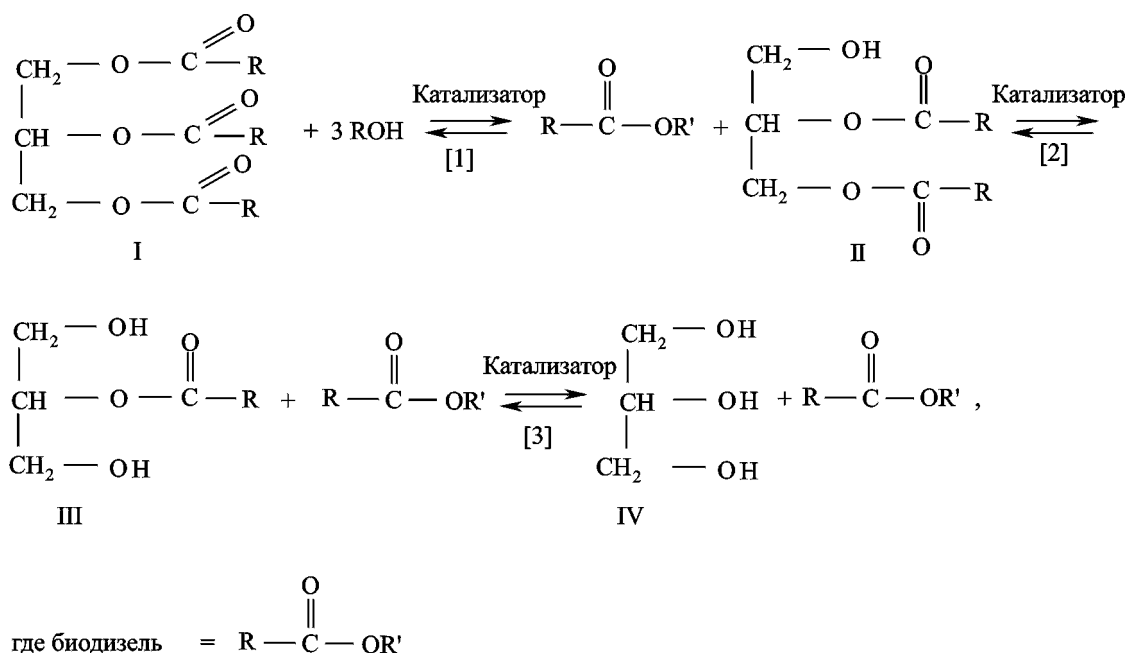


Рис. 5. Схема реакции переэтерификации триглицеридов; [1]—[3] — стадии процесса

Высокий (до 90 %) выход кетала достигается в каталитических системах, способных служить донорами протона и связывать выделяющуюся при конденсации воду [52, 53].

Ди- и моноглицериды разделяют и возвращают обратно в реактор. Свободные жирные кислоты, вода и непрореагировавший катализатор также присутствуют в продуктах реакции. Поэтому для получения биодизеля, отвечающего стандартам топлива (см. далее), необходима его очистка. В настоящее время имеются данные об использовании иммобилизованных липаз как катализаторов в процессе получения биодизеля [54—56]. Эти ферменты способны катализировать реакции, селективно действуя на смесь реагентов, в результате чего получают легко разделяемые продукты (биодизель и глицерид). Липазы работают при низких температурах и атмосферном давлении; они не агрессивны по отношению к оборудованию. Главная проблема при использовании липаз как катализаторов состоит в их дороговизне в сравнении со щелочами.

Биодизель из микроводорослей должен соответствовать существующим стандартам транспортного топлива. Например, европейские стандарты для биотоплива и топлива из нефтяных продуктов различны [57]. Масла из микроводорослей, в отличие от масел из овощных культур, обогащены полиненасыщенными жирными кислотами с четырьмя и более двойными связями. Например, эйкозапентаеновая ($C_{20}H_{30}O_2$, пять двойных связей) и докозагексаеновая ($C_{22}H_{32}O_2$, шесть двойных связей) кислоты встречаются главным образом в маслах микроводорослей. Жирные кислоты и метиловые эфиры жирных кислот, содержащие четыре и более двойные связи, легко окисляются в процессе хранения, что уменьшает возможность их использования

для производства биодизеля. В маслах овощных культур также присутствуют жирные кислоты, которые легко подвергаются окислению. Например, масло канолы содержит в большом количестве линолевую ($C_{18}H_{32}O_2$, две двойные связи) и линоленовую ($C_{18}H_{30}O_2$, три двойных связи) кислоты, которые более устойчивы к окислению по сравнению с эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислотами. В Европе существует ограничение по содержанию в биодизеле эфира линоленовой кислоты (не более 12 %), который активно окисляется при хранении [10]. Ненасыщенность масел, определяющая низкую окислительную стабильность, характеризуется иодным числом. Существуют два стандарта для топлива, в которых значения иодного числа составляют 120 и 130 г на 100 г биодизеля, соответственно [10]. Кроме того, в Европейских стандартах содержание метиловых эфиров жирных кислот в топливе не должно превышать 1%. В зависимости от количества и положения двойных связей окисление ненасыщенных соединений происходит с различной скоростью [25]. Степень ненасыщенности масел из микроводорослей можно снизить при использовании частичного каталитического гидрирования, но это приводит к удорожанию биодизеля [58]. В то же время, высокое содержание насыщенных жирных кислот в маслах обуславливает негативные свойства топлива при низких температурах (высокие значения температуры помутнения и температуры потери текучести), что является проблемой при использовании такого биотоплива в регионах с низкой температурой окружающей среды.

В табл. 4 приведены сравнительные характеристики биодизеля из микроводорослей и дизельного топлива из нефти, из которых видно, что в основном свойства обоих довольно близки [59].

Таблица 4

Сравнение свойств биодизеля из микроводорослей и нефти [59]

Свойства	Биодизель из микроводорослей	Дизельное топливо из нефти
Плотность, $кг\ л^{-1}$	0,864	0,838
Вязкость, $мм^2\ с^{-1}$ при 40°	5,2	1,9—4,1
Температура воспламенения, °С	115	75
Температура затвердевания, °С	-12	от -50 до 10
Температура холодной закупорки фильтра, °С	-11	-3,0 (максимум -6,7)
Кислотное число, мг КОН $г^{-1}$	0,374	Максимум 0,5
Теплота сгорания, МДж $кг^{-1}$	41	40—45

Если сравнить перспективы получения биодизеля из микроводорослей с производством биоэтанола из сахарного тростника, то их экономические характеристики разнятся незначительно. Однако биоэтанол содержит лишь около 64% энергии, которую можно получить из биодизеля [60]. Поэтому, в частности, биодизель из микроводорослей является лучшей альтернативой топливу, чем используемый в настоящее время биоэтанол из тростникового сахара [61]. Известно, что при одинаковых энергетических затратах выращивание биомассы сахарного тростника менее эффективно, чем производство биомассы микроводорослей, с точки зрения запаса солнечной энергии на 1 га [21].

Кроме того, как уже говорилось, микроводоросли могут культивироваться на землях, непригодных для выращивания сельскохозяйственных культур (в пустынях, полупустынях, на открытых водных пространствах, с использованием морской воды или сточных вод промышленности и коммунального хозяйства) [2].

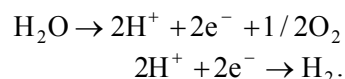
Продуктивность микроводорослей может быть увеличена при использовании генной и метаболитической инженерии с помощью которых можно добиться усиления фотосинтетической эффективности и увеличения выхода биомассы на единицу использованной солнечной энергии, повышения скорости роста биомассы и содержания масел в биомассе, а также создания таких микроорганизмов, которые резистентны к высокой температуре и, следовательно, при производстве которых в фотобиореакторах не требуется большое количество воды для охлаждения [21].

В будущем биодизель из микроводорослей может стать более перспективным видом топлива в сравнении с биоэтанолом из сахарного тростника, если удастся снизить его себестоимость в 3—4 раза.

Биоводород

Впервые биоводород получили из биомассы микроводорослей *Scenedesmus obliquus* в 1942 г. [62]. После адаптации в темноте в анаэробных условиях в течение нескольких часов клетки микроводорослей при освещении начинают активно выделять водород. В то же время известно, что микроводоросли способны продуцировать на свету молекулярный кислород; таким образом, представляется возможность использования механизма фотосинтеза для осуществления реакции биофотоллиза воды с преобразованием световой энергии в тепловую [14].

В настоящее время биоводород получают с помощью зеленых микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii*, используя аэробно-анаэробный цикл; данные микроводоросли часто применяют в качестве модельных систем для исследования механизма фотосинтеза [63]. Процесс получения биоводорода включает две стадии; в результате под действием солнечного света, как сказано выше, происходит превращение воды в водород и кислород.



Первая реакция происходит во всех фотосинтетических организмах. При естественном освещении и в аэробных условиях ионы водорода и свободные электроны, образующиеся при фотосинтетическом расщеплении воды, используются для синтеза АТФ и NADPH-оксидазы.

Для протекания второй реакции необходимо присутствие в среде железа, содержащегося в ферменте хлоропласт-гидрогеназе. Это условие ограничивает группы микроводорослей, которые могут быть использованы в данном процессе (синезеленые водоросли тоже могут производить биоводород из воды, но в результате других биохимических реакций) [64]. Вторая реакция происходит в анаэробных условиях. При данных условиях некоторые микроводоросли, в частности, уже упоминавшаяся *Chlamydomonas reinhardtii*, перераспределяют энергию от запасных углеводов (таких, как крахмал) к хлоропласт-гидрогеназе, облегчая образование АТФ [65]. Основным преимуществом получения биоводорода из микроводорослей по сравнению с растительной биомассой является то, что водород не аккумулируется в биомассе, а быстро высвобождается в газовую фазу в связи с особенностями физико-химических свойств культуры [66].

В настоящее время изучается возможность повышения эффективности получения биоводорода из микроводорослей. Обнаружены новые мутантные виды микроводорослей, у которых увеличено содержание запасного крахмала [65]. Синезеленые микроводоросли, обладающие как гидрогеназной, так и нитрогеназной активностью, представляют особый интерес с точки зрения получения водорода [66]. Ограничения в подаче азота способствуют увеличению образования водорода в 2,5—3,5 раза по сравнению с обычными условиями. Экспериментально показано, что наилучшими водородгенирующими кандидатами среди фотосинтезирующих бактерий являются цианобактерии, способные обеспечить продуктивность выделения водорода до 40 мл/г сухих клеток в час [66].

Дальнейшее совершенствование процесса получения биоводорода возможно при развитии биоинженерных подходов и оптимизации процессов, связанных с культивированием биомассы в трубчатых биореакторах [55].

Биометан

В биотопливе обычно биометан смешан с углекислым газом (50—75% биометана) [67]. Биометан (биогаз) производят в анаэробных условиях. Исследования показали, что в недалеком будущем биометан может в значительной степени удовлетворить потребности ЕС в газовом топливе [68]. Существуют способы производства биометана из агротехнических культур. Главным ограничивающим фактором таких процессов является их низкая продуктивность. Так, например, из зеленой массы зерновых и подсолнечника с 1 га получается 2000—4500 м³ биометана [69]; в случае микроводорослей продуктивность по метану в 5—30 раз выше [68]. Этот феномен связан со сравнительно высоким содержанием в микроводорослях липидов, крахмала, белков и отсутствием лигнина, который с трудом поддается ферментации. При производстве биометана содержание липидов также имеет существенное значение, как и при производстве биодизеля (способность липидов превращаться в биогаз существенно выше, чем белков и полисахаридов) [68]. Биометан производят в закрытых анаэробных биореакторах. Однако производство биометана из микроводорослей имеет ряд недостатков: в частности, выращивание микроводорослей в настоящее время является более дорогим процессом, чем получение биомассы сельскохозяйственных культур.

Биоэтанол

Биоэтанол из микроводорослей, как правило, получают в процессе ферментации [59]. На первом этапе из клеток высвобождают крахмал с помощью ферментов деградации; затем в биомассу добавляют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и начинается процесс ферментации, в результате которого образуется биоэтанол. При ферментации в темноте *Chlorococcum littorale* максимальная продуктивность зеленых микроводорослей по биоэтанолю составляет 450 мкмоль·г⁻¹ при температуре 30° [70]. При изучении возможности получения биоэтанола из микроводорослей *Chlorococcum spirulina* [71] обнаружено, что выход биоэтанола существенно выше при использовании водного субстрата микроводорослей, из которых экстраги-

рованы липиды, по сравнению с аналогичным процессом на базе сухих микроводорослей. Максимальную конечную концентрацию биоэтанола (3,83 г/л) наблюдали при 30°. Такая продуктивность получения биоэтанола из микроводорослей *Chlorococcum spirulina* (~ 38 об. %) позволяет надеяться, что данный процесс окажется экономически оправданным. Биоэтанол может использоваться в качестве топлива как таковой или в смеси, состоящей из 90% бензина и 10% этанола (E10). В США используют топливо с содержанием этанола до 85 % (бензина — 15%). Биоэтанол может использоваться также как топливо на электростанциях [72]. По данным Российской биотопливной ассоциации, стоимость такого топлива в 2010 г. в США была приблизительно на 0,5 долл. за 1 галлон (~ 4 л) ниже стоимости топлива, полученного из нефти. Следует отметить, что в Бразилии в качестве топлива используют как чистый этанол, так и смесь бензина с этанолом в любых соотношениях. Энергетическая ценность этанола составляет 31,1 МДж·кг⁻¹, октановое число равно 129; в то же время, энергетическая ценность топлива из нефтепродуктов составляет 44,4 МДж·кг⁻¹, минимальное октановое число равно 91; в случае E10 эти величины равны 33,7 МДж·кг⁻¹ и 93—94, соответственно [59].

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Биодизель из микроводорослей не должен уступать по своим характеристикам биодизелю из растительного сырья и быть экономически конкурентоспособным по отношению к топливу из нефтепродуктов. Стоимость биотоплива из микроводорослей пропорциональна стоимости биомассы. Поэтому целесообразно сравнение максимальной цены единицы биомассы микроводорослей и соответствующих цен на нефтепродукты при одинаковом энергетическом потенциале.

На рис. 6 сопоставлена цена за 1 т биомассы микроводорослей при условии конкурентоспособности производимого из нее топлива с ценой 1 барреля нефти [21]. При стоимости 1 барреля нефти около 100 долл. США цена биомассы микроводорослей не должна превышать 340 долл. США за 1 т. В литературе есть данные о том, что стоимость 1 т биомассы из микроводорослей, полученной в фотобиореакторе и открытых культиваторах, составляет 2955 долл. и 3800 долл. США, соответственно [10]. При ежегодном росте производства биомассы микроводорослей до 10000 т, цена 1 т биомассы, полученной в фотобиореакторе и откры-

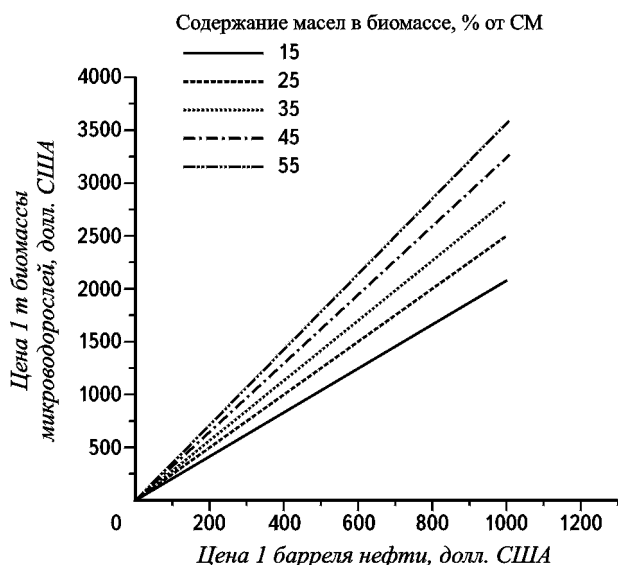


Рис. 6. Стоимость производства 1 т микроводорослей и 1 барреля нефти при условии конкурентоспособности получаемого из них топлива [21]

тых культиваторах, составит 470 долл. и 600 долл. США, соответственно. Например, если биомасса содержит 30% масла, то стоимость 1 т масел будет около 1400 долл. США (фотобиореактор) и 1800 долл. США (культиватор), соответственно. Цена дизеля из такой биомассы оценивается в 2,8 долл. США за 1 л. Для того, чтобы биодизель был конкурентоспособен с продуктом из нефте-

продуктов, цена масла, полученного из биомассы микроводорослей, должна быть порядка 0,48 долл. США за 1 л. Следовательно, стоимость производства биомассы микроводорослей должна быть снижена в несколько раз; это может быть реализовано, например, за счет применения генной и метаболической инженерии.

Производительность по биомассе у микроводорослей в десятки раз выше в сравнении с сельскохозяйственными культурами [73]. Биотопливо из микроводорослей обладает огромным потенциалом, но необходима дальнейшая разработка технологии его получения с целью его удешевления.

ПРИМЕРЫ ИНОГО КОММЕРЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Микроводоросли, кроме использования в качестве источника для получения биотоплива, имеют широкий спектр применения в различных областях (рис. 7) [74]. Рассмотрим примеры их использования более детально.

Применение микроводорослей в пищевых целях и в медицине

Благодаря уникальному составу микроводоросли обладают большим потенциалом как продукты питания и пищевые красители, однако при их использовании необходим предварительный

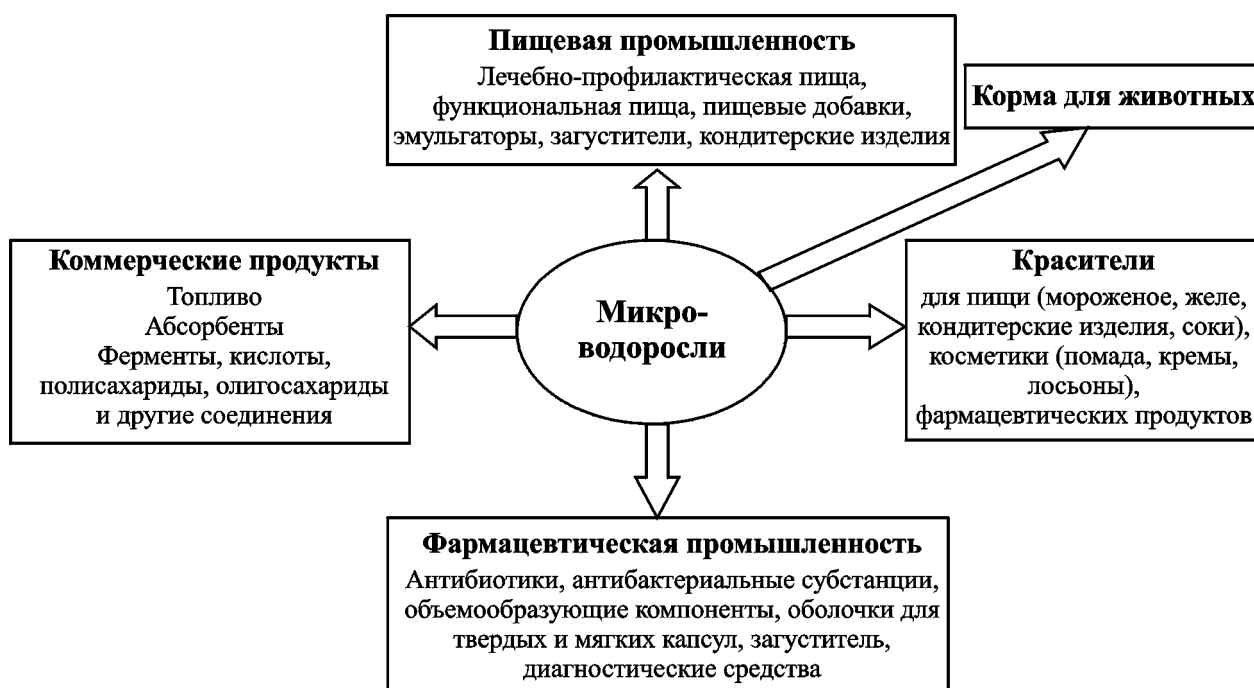


Рис. 7. Применение микроводорослей в различных областях [74]

анализ на присутствие в них токсичных соединений [4, 75, 76]. Четыре вида микроводорослей (*Arthrospira*, *Chlorella*, *Dunaliella salina*, *Aphanizomenon flos-aquae*) нашли применение в пищевой промышленности. Микроводоросли используются в пище в таблетированной, капсулированной и жидкой формах индивидуально, а также добавляются в соусы, сладости и напитки [77, 78].

Arthrospira характеризуется высокими содержанием белка и питательной ценностью; ее использование способствует смягчению выраженности гиперлипидемии, уменьшению артериального давления, стимулирует развитие *Lactobacillus* в кишечнике [1, 76—78].

β -1,3-Глюкан является основным компонентом биомассы *Chlorella*. Это соединение играет роль иммуностимулятора, ловушки для свободных радикалов и снижает содержание липидов в крови [1]. Биомасса *Chlorella* эффективно способствует заживлению желудочных язв и ран; оказывает профилактическое действие при атеросклерозе и гиперхолестеринемии, а также обладает противораковым действием. *Chlorella* может использоваться как добавка, улучшающая вкусовые характеристики пищевых красителей [79]. В настоящее время ее широко применяют для приготовления напитков.

Dunaliella salina представляет интерес из-за высокого содержания β -каротина (до 14% от сухого вещества биомассы). В человеческом организме β -каротин превращается в витамин А, который необходим для деятельности иммунной системы [74]. β -Каротин обладает также антиоксидантными свойствами. Кроме того, натуральный β -каротин содержит примеси каротиноидов и питательных веществ, которые отсутствуют в синтетическом β -каротине. В состав биомассы входят цис- и транс-изомеры каротиноидов, что определяет значительную биологическую активность микроводоросли [80]. Кроме того, *D. salina* содержит окисленные каротиноиды (ксантофиллы), которые характеризуются противораковыми свойствами [81]. Белки *D. salina* могут использоваться в хлебопекарной промышленности [82], а биомасса — для приготовления кормов для животных и рыб [74].

D. salina легко поддается культивированию в сравнении с высшими растениями. Из биомассы *D. salina* можно выделять помимо β -каротина глицерин и белок [74]; из нее получают препараты, действующие как противогипертоническое, бронхолитическое и болеутоляющее средства [83]. *D. salina* в виде пудры применяется в лечебно-профилактическом питании [84].

Aphanizomenon flos-aquae используется в пище самостоятельно или в смеси с другими питательными веществами и натуральными продуктами, оказывая положительное влияние на самочувствие человека [85].

Корма для животных

Здоровье и процесс развития животных определяются, в частности, качеством кормов, которые они потребляют. В настоящее время до 30% производимой биомассы микроводорослей применяют в качестве кормовой добавки [1]. Особый интерес в данном случае представляет микроводоросль *Arthrospira*, около 50% от общего объема производства которой используется как добавка в корма [77]. Показано, что введение в рацион небольших количеств биомассы микроводорослей *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina* положительно влияет на физиологию животных, обеспечивая их натуральными витаминами, минералами, жирными кислотами, улучшая их иммунную реакцию и репродукцию, а также способствует регулированию массы животных. Обнаружено, что 5—10% микроводорослей в кормах для домашних птиц могут частично заменить белки [6].

Микроводоросли используют также для улучшения свойств продуктов аквакультур. Они являются источником питания для личинок многих моллюсков, ракообразных и рыб [3]. Для этой цели применяют более 40 видов микроводорослей. При кормлении лососевых микроводорослями возможно регулирование цвета рыбы; например, *Haematococcus* увеличивает интенсивность цвета моллюсков и тканей лососевых. Эту микроводоросль можно культивировать как в закрытых (Япония, Израиль), так и в открытых (Китай) реакторах. Корм для рыб, содержащий от 5 до 20% микроводоросли *Arthrospira* (обогащенной каротиноидами), увеличивает красные и желтые вкрапления в мышечную массу карпа [6]. Для создания голубовато-зеленого оттенка на жабрах и губных щупальцах устриц во Франции используют *Haslea ostearia*, что увеличивает продажу устриц до 40% [86]. *Spirulina* and *Dunaliella* также применяют при кормлении рыб, причем дополнительно достигается эффект изменения цвета (благодаря наличию фикоцианина в биомассе *Spirulina* или каротиноидов в биомассе *Dunaliella*) [3].

Красители из микроводорослей

Из микроводорослей можно выделять натуральные красители, которые используются в пи-

щевой, фармацевтической, косметической и текстильной отраслях промышленности. Учитывая, что, во-первых, некоторые синтетические красители обладают токсичными свойствами и, во-вторых, микроводоросли не оказывают неблагоприятного воздействия на окружающую среду и относятся к возобновляемым источникам сырья, интерес к применению натуральных красителей из микроводорослей растет. Следует однако отметить, что натуральные красители нестабильны, поэтому существуют определенные трудности при их использовании [74]. Структуры пигментов, выделяемых из микроводорослей, приведены на рис. 8. В табл. 5 [6, 74] указаны источники их выделения.

Каротиноиды используют как пищевые красители (например, в производстве апельсинового сока), как добавки в корма животных, а также для изготовления косметических средств [87]. Некоторые каротиноиды являются предшественниками витамина А [6]; ряд каротиноидов обладает противовоспалительным и антиканцерогенным действием [1].

Фикоцианин (см. рис. 8) применяют как краситель в пищевой промышленности (мороженое, кондитерские изделия, безалкогольные напитки, диетические продукты), а также в косметической промышленности и в фармацевтике. Фикоцианин широко используют в клинических и исследовательских иммунологических лабораториях, так как благодаря эффективной молекулярной абсорбции, высокой флуоресцентной способности и фотостабильности он является мощным и чувствительным флуоресцентным реагентом.

Микроводоросли в косметике

В косметических продуктах используют главным образом микроводоросли *Arthrospira* и *Chlorella*. Экстракты биомассы этих микроводорослей добавляют в регенерирующие кремы для лица и лосьоны. Их также применяют в защитных кремах от солнца, в шампунях и масках для волос. Показано, что экстракт из *Chlorella vulgaris* стимулирует синтез коллагена кожи, поддерживая регенерацию волокон и разглаживание морщин (компания Codif, Франция). Белковообогащенный экстракт из *Arthrospira* способствует замедлению старения кожи (компания Exsymol, Монако). Недавно в компании Pentapharm (Швейцария) нашли применение в косметических целях еще двум видам микроводорослей: экстракты из *Nonnochloropsis oculata* поддерживают эластичность кожи, а из *Dunaliella salina* — влияют на ее энергетический метаболизм [6].

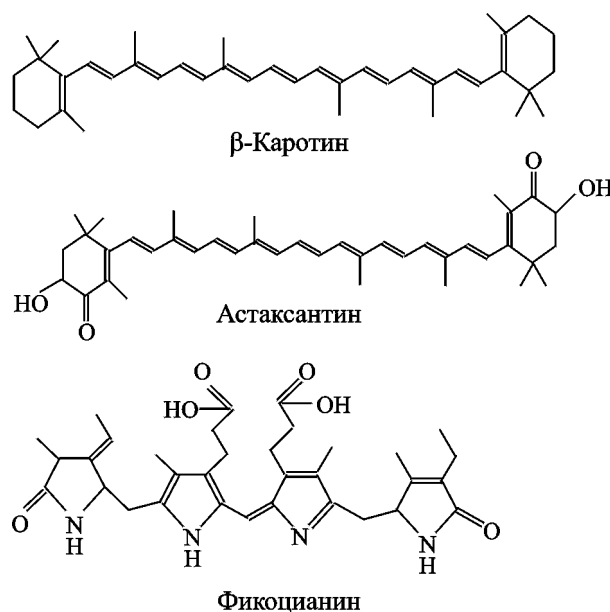


Рис. 8. Химическая структура пигментов из микроводорослей

Таблица 5

Микроводоросли как источники пигментов [6, 74]

Пигменты	Источники
Каротиноиды: β-каротин астаксантин лютеин	<i>Dunaliella</i> , <i>Aphanizomenon flos-aque</i> <i>Haematococcus pluvialis</i> Некоторые хлорофиты и мутантные линии <i>Dunaliella</i>
Фикоцианин	<i>Spirulina</i>
Фикоэритрин	<i>Porphyra</i> , <i>Porphyridium</i>

Получение соединений, меченных стабильными изотопами, с использованием микроводорослей

Микроводоросли являются источником соединений, меченных стабильными изотопами. Способность микроводорослей к фотосинтезу позволяет внедрять стабильные изотопы (^{13}C , ^{15}N , ^2H) в виде сравнительно недорогих неорганических молекул ($^{13}\text{CO}_2$, $^{15}\text{NO}_3$, $^2\text{H}_2\text{O}$) в более ценные органические молекулы (например, аминокислоты, углеводороды, липиды и нуклеиновые кислоты) [6]. Стабильные изотопы используют в научных це-

лях для физиологических исследований и изучения структурных особенностей и превращений биологических соединений (белков, углеводов и нуклеиновых кислот) [88]. В клинических целях стабильные изотопы из микроводорослей используют для диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта и органов дыхания [89].

Ненасыщенные жирные кислоты из микроводорослей

Известно, что у высших растений и животных отсутствует фермент, ответственный за синтез ненасыщенных жирных кислот с количеством атомов углерода более 18 [90]. Поэтому данные соединения должны поступать в процессе питания. Рыба и рыбий жир являются общепринятыми источниками ненасыщенных жирных кислот, но в последнее время потребление их уменьшается ввиду возможного накопления в них токсинов. Более того, использование рыбьего жира в качестве пищевой добавки ограничено из-за его неприятного запаха и вкуса и слабой окислительной способности. Иногда использование рыбьего жира невозможно из-за того, что в нем содержатся нестандартные по составу смеси ненасыщенных жирных кислот [3]. Микроводоросли логично рассматривать как источник ненасыщенных жирных кислот в продуктах питания для человека и животных.

Данные о структуре, коммерческом применении и источниках основных ненасыщенных жирных кислот приведены в табл. 6 [6].





Перспективным является получение эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот из микроводорослей *Cryptocodinium*. Наибольшее коммерческое применение находит докозагексаеновая кислота. В компаниях Martek (США) и Nutrinova (Германия) разработаны биотехнологические процессы выделения докозагексаеновой кислоты из *Cryptocodinium*, которая используется как пищевая добавка и в кормах для рыб [6]. Компания OmegaTech (США) показала, что из *Schizochytrium* можно выделять недорогое масло (коммерческое название DHA Gold), используемое как диетическая добавка в пищу (сыры, йогурты, готовые завтраки), безалкогольные напитки, лечебно-профилактическое питание и корма для животных. Данный продукт включают также в лечебно-профилактическое питание для беременных и для больных с проблемами сердечно-сосудистой системы [91].

Полисахариды и олигосахариды из микроводорослей

Известно, что зеленые водоросли содержат крахмал, который структурно близок к крахмалу растений. Красные водоросли содержат уникальные полисахариды, α -полиглюканы, так называемые

Таблица 6

Структура, коммерческое применение и источники основных ненасыщенных жирных кислот из микроводорослей [6]

Кислота	Структура кислоты	Потенциальное применение	Источник кислоты
γ -Линолевая	C18:3 ω 6,9,12 	Детские смеси, пищевые добавки	<i>Arthrospira</i>
Арахидоновая	C20:4 ω 6,9,12,15 	Детские смеси, в том числе для недоношенных детей, пищевые добавки	<i>Porphyridium</i>
Эйкозапентаеновая	C20:5 ω 3, 6,9,12,15 	Пищевые добавки, добавки в корма для рыб и моллюсков	<i>Nannochloropsis</i> , <i>Phaedactylum</i> , <i>Nitzschia</i>
Докозагексаеновая	C22:6 ω 3, 6,9,12,15, 18 	Детские смеси, в том числе для недоношенных детей, пищевые добавки, добавки в корма для рыб и моллюсков	<i>Cryptocodinium</i> , <i>Schizochytrium</i>

мые «флоридиановые крахмалы» (floridean starches); молекулярная структура этих соединений сильно отличается от структуры крахмала растений и зеленых водорослей. Многие исследователи полагают, что флоридиановый крахмал структурно более похож на амилопектин, чем на гликоген, и не содержит амилозу [92, 93]. В большинстве видов сине-зеленых микроводорослей содержатся полисахариды типа гликана. В то же время, в некоторых видах сине-зеленых микроводорослей (*Cyanobacterium spirulina* MBIC10216, *Myxosarcina burmensis*, *Synechococcus spirulina* BG043511) присутствуют α -полигликаны, которые по структурным и молекулярным параметрам представляют собой что-то среднее между амилопектином рисового крахмала и гликаном из других видов сине-зеленых микроводорослей [94]. В водорослях вида *Chromophyte* содержатся β -полигликаны [93]. Полигликаны типа крахмала имеют огромные технологические перспективы, поэтому изучение их свойств перспективно для биотехнологии.

В последнее время большое внимание уделяют использованию микроводорослей и трансгенных микроводорослей для получения полисахаридов. Наиболее важными полисахаридами микроводорослей, как и других водорослей, наряду с уже упомянутыми, являются агар, альгинаты и каррагинаны. Эти полисахариды используют во многих отраслях промышленности; они обладают гелеобразующими, эмульгирующими и загущающими свойствами [95].

Красные микроводоросли продуцируют сульфатные полисахариды, которые стимулируют иммунную систему человека [96]. Для самих красных микроводорослей данные полисахариды выполняют следующие функции: участвуют в сохранении гелеобразующей структуры при высушивании, способствуют устойчивости к изменениям температуры, pH и минерализации; благодаря антиоксидантной активности способствуют поглощению свободных радикалов (функция ловушки) [97—99].

Из красных микроводорослей *Porphyridium spirulina* и *Rhodella reticulate* выделен анионный внеклеточный полисахарид, состоящий из нейтральных моносахаридов (главным образом, ксилозы, глюкозы и галактозы), глюкотеинов и сульфатных групп [98, 99]. Полисахарид характеризуется молекулярной массой от 5 до $7 \cdot 10^3$ кДа, высокой вязкостью в водных растворах (около 970 сП) при сравнительно низких концентрациях, стабильностью в широком интервале pH (от 2 до 9) и температур (от 30° до 120°), что открывает огромные возможности для его промышленного использования. Сульфатированный полисахарид ингибирует

развитие клеток млекопитающих [98]. В присутствии нативного полидисахарида ингибирование не наблюдается. Это объясняется тем, что в результате сульфатирования полисахарид деградирует с образованием олигосахаридов. Полисахарид из микроводоросли *P. spirulina* обладает противовоспалительными, антивирусными и антиоксидантными свойствами [97, 99].

Porphyridium purpureum R-1 и *Cyandarium caldarium* относятся к семейству Bangiophyceae. Обнаружено, что красные микроводоросли *P. purpureum* R-1 образуют α -полигликаны, сходные по строению с амилопектином и амилозой. Микроводоросль *C. caldarium* синтезирует полигликаны гликогенового, а не амилозного типа. Анализ распределения α -1,4-глюкозидных цепей с помощью капиллярного электрофореза показал, что разветвленный полигликан *P. purpureum* R-1 является полимером, по структуре напоминающим амилопектиновый рисовый крахмал, но в отличие от последнего не обладает тандем-кластерным строением. Количество цепей со степенью полимеризации меньше 10 в микроводоросли больше, а со степенью полимеризации 45 (цепи, соединяющие молекулы амилопектина в кластер) — меньше, чем в рисовом крахмале. Полигликан *P. purpureum* R-1 характеризуется менее четкой кластерной структурой по сравнению с высокоорганизованным тандемно-кластерным строением амилопектина растений и зеленых микроводорослей. Полигликан микроводоросли можно называть полу(семи)-амилопектином. По структуре он представляет собой промежуточное звено между амилопектином растений и гликаном сине-зеленых микроводорослей [94]. Полисахариды *P. purpureum* характеризуется А-типом полиморфной структуры, типичной для рисового крахмала и зеленых водорослей. Степень кристалличности данного полигликана меньше, чем соответствующий показатель рисового крахмала и гликана зеленых водорослей [100]. Полисахарид *C. caldarium* характеризуется большим количеством коротких цепей, чем в рисовом крахмале, и практически отсутствием длинных цепей. В данной микроводоросли содержится полигликан, подобный гликогену. Полигликан *P. purpureum* R-1 состоит из двух фракций с молекулярной массой $2 \cdot 10^3$ кДа и $1,5 \cdot 10^2$ кДа, соответствующей молекулярной массе амилопектина и амилозы. Флоридиановый крахмал, характерный для красных микроводорослей, состоит только из гликогена или амилопектина, либо из их смеси. Обнаружено, что молекулярная масса гранул-связывающей синтазы у *P. purpureum* равна 60 кДа; синтаза зеленых растений имеет близкую молекулярную

массу. Однако механизм синтеза крахмала в микроводорослях отличается от такового в зеленых растениях. В последних гранулы локализуются в пластидах (хлоропластах и аминопластах), а в микроводорослях — в цитозолях, аналогично гранулам гликогена в грибах. Донор глюкозы в растениях — ADP-глюкоза, а в микроводорослях — UDP-глюкоза. В связи с указанными различиями в биосинтезе структура и свойства образуемых крахмалов различны [100].

В красной термоацидофильной микроводоросли *Galdieria maxima* в результате гетеротрофного роста в 4 раза увеличивается содержание углеводов, составляя до 60% сухой массы клетки, из-за накопления резервного α -глюкана. Этот полисахарид можно отнести к так называемому багрянковому крахмалу, т.е. к продукту ассимиляции красных водорослей, который отличается от крахмала цветковых растений и близок к амилопектиновому крахмалу. Средняя длина неразветвленных участков полисахаридной цепи α -глюкана составляет 6—7 остатков глюкозы; степень разветвленности молекулы данного полисахарида превосходит таковую запасных полисахаридов других красных водорослей, гликогенов дрожжей и фитогликогенов цианобактерий [101].

Показано, что культура *Chroomonas* sp. содержит экзополисахарид, концентрация которого возрастает при увеличении концентрации питательных веществ [102].

Из водных экстрактов микроводоросли *Chlorella pyrenoidosa* наряду с арабиногалактанами и галактофуранами можно выделить циклические и линейные β -1-2-D-глюканы, а также крахмалоподобные α -1-4-D-глюканы, соединенные в положениях α -1-6 [103]. Соотношение циклические : линейные глюканы составляет 64:36. Циклические и линейные 1-2-D-глюканы имеют низкую иммуностимулирующую активность. В то же время, крахмалоподобная фракция характеризуется выраженной иммуностимулирующей способностью, подобно энзим-резистентным крахмалам растительного происхождения (кукуруза, пшеница, горох). Энзим-резистентные крахмалы не атакуются ферментами желудочно-кишечного тракта и способствуют образованию короткоцепочечных жирных кислот. Последние помимо усиления двигательной способности человеческой прямой кишки и стимулирования кровотока в ней, по-видимому, снижают риск патогенного избыточного роста клеток. Они также способствуют адсорбции жидкости и электролитов — эффект, препятствующий возникновению диареи при холере [104—106].

В результате ферментации сахаридов в желудочно-кишечном тракте животных образуются короткоцепочечные кислоты. Наиболее важной из них является бутират, который образуется при ферментации сахаридов, осуществляемой микрофлорой толстого кишечника. Это соединение служит предпочтительным источником энергии для эпителиальных клеток толстой кишки [107]. На примере клеток карциномы показано, что он увеличивает время деления и стимулирует дифференциацию клеток [108], содействует росту нормальных колоноцитов, а в раковых линиях способствует апоптозу клеток *in vitro*.

Chlorella pyrenoidosa может иметь важное значение для здоровья человека, так как ее биомасса содержит белки (50—65%), липиды (5—10%), углеводороды (10—20%), антиоксиданты, витамины С (200—500 мг·кг⁻¹) и А (120—300 мг·кг⁻¹) [109]. Полисахариды из *Ch. pyrenoidosa* были фракционированы с использованием ультрафильтрационных мембран. В результате получили две фракции с молекулярной массой 69658 и 109409 Да. В обеих были обнаружены карбоксильные группы. Оба полисахарида состоят из рамнозы, маннозы, глюкозы, галактозы и неопределенного моносахарида. Галактоза (46,5%) превалировала во фракции с меньшей, а рамноза (37,8%) — во фракции с большей молекулярной массой. Обе фракции характеризуются высокой противораковой активностью против клеток *A549 in vitro*, что дает возможность их использования в производстве лекарств.

Ch. pyrenoidosa Chick-S39 характеризуется высоким содержанием внеклеточных полисахаридов, включающих галактозу, маннозу, арабинозу, ксилозу, рибозу, фукозу, рамнозу и, возможно, в небольших количествах сахарозу, глюкозу и фруктозу. Некоторое количество уроновой кислоты также содержится в этой микроводоросли. Полисахарид из *Ch. pyrenoidosa* Chick-S39 содержит водорастворимые три- и тетрасахариды, а также гетероглюкозиды [110].

Исследовали структурные особенности внеклеточного полисахарида, получаемого в процессе культивирования микроводоросли *Nostoc insulare* [111]. Полисахарид выделяли после 60 дней выращивания; его средняя молекулярная масса составляла $2,8 \cdot 10^3$ кДа. В нем отсутствовали сульфатированные группы, но отмечены следовые количества ацетиловых и пируватных групп. Молекула полисахарида из микроводоросли *N. insulare* представляет собой сложный гетерополисахарид, состоящий из нейтральных сахаров (глюкозы, арабинозы, и о-метил-арабинозы) и глюко-

роновой кислоты. Содержание белка составляло 0,7%, что говорит о высокой степени очистки данного полисахарида. В других видах микроводорослей р. *Nostoc* обнаружены полисахариды, состоящие из 5—9 моносахаридов; в них присутствовали остатки глюкуроновой и галактурановой кислот, сульфатированные и пируватные группы. Метилированные сахара 2-о-метил-сахарозы наблюдали только у некоторых видов цианобактериальных микроводорослей (*Nostoc commune*, *Microcoleus vaginatus* и *Scynema javanicum*). Для *N. insulare* характерно присутствие о-метил-арабинозы. Полисахарид из *N. insulare* характеризуется более высокой вязкостью в сравнении с ксантовой камедью, что открывает широкий спектр индустриального использования данного углевода.

Были исследованы химические и реологические свойства внеклеточного полисахарида в процессе фотоавтотрофного роста 25 видов микроводоросли *Nostoc* [112]. Все полисахариды представляли собой комплекс анионных гетерополимеров, состоящих из ряда моносахаров (6—9), в том числе глюкозы, фукозы и большого количества галактозы, а также несахаридных компонентов. Подобный состав характерен также для полисахаридов, выделяемых из цианобактериальных микроводорослей. Исследованные полисахариды характеризуются большим числом мономеров по сравнению с углеводами, выделяемыми из других видов микроводоросли *Nostoc* (3—7) [112]; в семи из 25 биополимеров обнаружена рибоза, что тоже является особенностью данных видов микроводорослей. Указанные отличительные черты полисахаридов предполагают широкие возможности их использования в технологических целях. Все исследованные биополимеры характеризовались анионным зарядом, обусловленным наличием в большинстве микроводорослей уроновых кислот, сульфатированных и кетал-связанных пируватных групп. Более того, во многих выделенных полисахаридах из разных видов микроводоросли *Nostoc* отмечается наличие ацетильных групп, пептидных остатков и дезоксисахаров (фукозы и рамнозы), которые вносят вклад в гидрофобность макромолекул. В пяти видах микроводорослей *Nostoc* обнаружены фосфатные группы.

Вязкость полимеров и наличие в них заряженных групп являются важными характеристиками при их использовании в различных областях промышленности. Для применения в пищевой промышленности требуется стабильность биополимеров в широком диапазоне температуры, pH и ионной силы. Полисахарид, выделенный из *Nostoc* PCC 7423, характеризуется постоянной вяз-

костью водных растворов в широкой области значений pH, температуры и ионной силы, что определяет перспективу его использования. Важной характеристикой данных полисахаридов является отрицательный заряд их молекул, что дает возможность их применения, например, для удаления ионов тяжелых металлов из воды. Наличие ацетильных групп, дезоксисахаридов и пептидных остатков в полисахаридах из *Nostoc* PCC 7107, 7416, 7422 и 7423 позволяет предположить, что они обладают хорошими эмульгирующими свойствами и поэтому могут использоваться как стабилизаторы эмульсий. Высокое содержание сульфатированных групп данных полисахаридов коррелирует с их высокой антивирусной активностью [112].

Полезной особенностью микроводорослей является способность накапливать крахмал, который может гидролизироваться с образованием органических кислот. Анализ 25 видов микроводорослей Тайланда (14 зеленых и 11 сине-зеленых) показал, что наиболее эффективным аккумулятором крахмала среди сине-зеленых микроводорослей является *Nostoc* sp. TISTR 8872, а среди зеленых — *Nostoc muscurum* TISTR 8871. Эти два вида микроводорослей рекомендованы для дальнейшего изучения с целью возможного повышения количества и использования накопленного в них крахмала [113].

Влияние азота в среде на образование крахмала при развитии микроводорослей исследовали на примере *Chlorella vulgaris*. Обнаружено, что в отсутствие азота в микроводоросли *Ch. vulgaris* повышается содержание крахмала [114].

Биосинтез крахмала из *Chlamydomonas reinhardtii* изучен достаточно детально. При недостатке фосфора, азота, серы, калия и магния в *Ch. reinhardtii* увеличивается содержание крахмала. Аммиак вызывает деградацию крахмала и в клетках *Chlorella* [115].

Зеленые микроводоросли содержат в хлоропластах два вида крахмала — строму и периноид. Проведено физико-химическое изучение свойств этих типов крахмала, выделяемых из *Chlorella kessleri*, в зависимости от концентрации углекислого газа в среде [115]. С помощью рентгеновского рассеяния обнаружено, что крахмал типа стромы и периноид характеризуется А-типом полимерной структуры, подобно рисовым крахмалам, независимо от концентрации диоксида углерода. С помощью сканирующей электронной микроскопии показано, что независимо от концентрации диоксида углерода гранулы крахмала имеют схожую морфологию и близкие размеры. Доля периноид-разновидности в общем содержании крахма-

ла выше при низкой концентрации CO_2 . Крахмал типа периноид формировался в течение 12 ч после помещения микроводорослей в условия уменьшенной концентрации углекислого газа, причем концентрация крахмала в них была в 2,5 раза выше, чем при высокой концентрации CO_2 . Более того, при недостатке диоксида углерода размер гранул этого вида крахмала увеличивался и их форма изменялась от дисковидных до чашеобразных. Молекулярная масса амилозы в крахмале обоих типов составляла $1 \cdot 10^4$ кДа, амилопектина — $1 \cdot 10^2$ кДа. Концентрация амилозы не подвергалась существенному увеличению в течение 12 ч после уменьшения концентрации диоксида углерода, хотя общее содержание крахмала повышалось. Следовательно, увеличение количества периноид-крахмала, который по структуре наиболее близок к рисовому крахмалу, не связано со специфическим накоплением амилозы в данных условиях. Содержание гранул-связанной синтазы, которая ответственна за синтез амилозы, увеличивается при уменьшении концентрации углекислого газа. Увеличение содержания амилозы в периноид-крахмале происходит медленнее, чем в строма-крахмале. Таким образом, в последнем, который при недостатке CO_2 предположительно накапливается позже периноид-крахмала, относительное содержание амилозы должно расти. Температура плавления периноид-крахмала ($67,4^\circ$) меньше, чем строма-крахмала ($75,0^\circ$); причем последний, вероятно, содержит некие дополнительные компоненты, так как на термограмме, полученной методом дифференциальной сканирующей калориметрии, наблюдается уширенный пик. Предполагается, что периноид-крахмал синтезируется медленно при уменьшении концентрации диоксида углерода и состоит из небольших по длине цепей (степень полимеризации меньше 15), тогда как строма-крахмал накапливается быстро при высоких концентрациях диоксида углерода и содержит фрагменты с разной степенью полимеризации (10—12 и 45) [115].

Различие температур плавления строма- и периноид-крахмала определяется прежде всего различием в степени полимеризации: последний содержит большее количество коротких цепей, от наличия которых зависит температура плавления. При высокой концентрации CO_2 температура плавления уменьшается, причем сдвиг температуры коррелирует с увеличением содержания коротких цепей [115].

В настоящее время развиваются новые пути получения биополимеров из микроводорослей. Эти соединения могут иметь технологическое применение, например, в пищевой промышлен-

ности как новые полезные пищевые ингредиенты [см. например, 116]; получены микроводоросли с высоким содержанием пектинов и β -глюканов [116].

Антиоксиданты из микроводорослей

Одним из уникальных свойств микроводорослей является то, что они устойчивы к окислению и воздействию радикал-содержащих стресс-факторов. Имеющиеся у микроводорослей защитные механизмы способны предотвратить накопление свободных радикалов и противодействовать повреждению клетки [3]. Показано, что экстракты 100 микроводорослей из горячих источников и прудов Японии обладают высокой антиоксидантной активностью [117]. Эти вещества могут найти применение в пищевой, косметической, фармацевтической и других отраслях промышленности. Некоторые виды микроводорослей рассматриваются как потенциальные источники лекарств [118].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микроводоросли представляют собой огромный биологический ресурс; они находят применение в разных областях науки и технологии. Биотехнологическое изучение микроводорослей в последнее время активно развивается. Однако в настоящее время микроводоросли все еще изучены недостаточно. Среди 50000 известных видов микроводорослей только некоторые имеются в различных коллекциях и только несколько сот видов исследованы с точки зрения химического состава, свойств и условий выращивания в промышленных масштабах [119]. Вероятно, дальнейшее развитие использования микроводорослей связано в значительной степени с развитием технических условий их культивирования в фотобиореакторах. В настоящее время существует коммерческое производство в фотобиореакторах микроводоросли *Haematococcus* (Япония и Израиль) и *Chlorella* (Германия). Процессы воспроизводства микроводорослей необходимо модернизировать, превращая их в конкурентноспособные и более экономически выгодные. Генная и метаболическая инженерия открывают для этого новые возможности. Использование трансгенных микроводорослей имеет большие промышленные перспективы, которые в настоящее время не реализуются полностью. Модифицированные виды микроводорослей могут воспроизводиться довольно быстро; в их биомассе содержатся новые полезные соединения.

Использование микроводорослей в питании человека и в кормах для животных, а также для по-

лучения биотоплива весьма перспективно. Хотя в настоящий момент соответствующее производство экономически неконкурентоспособно, во всем мире ведутся активные разработки по снижению стоимости биомассы микроводорослей за счет использования более современной техники и технологий и достижений генной инженерии, что позволяет надеяться на решение данной проблемы в среднесрочной перспективе (10—15 лет). Многообещающим является применение микроводорослей для получения красителей, полисахаридов, антиоксидантов и других продуктов, которые могут использоваться в пищевой промышленности, косметике и фармацевтике. Исследование микроводорослей, совершенствование способов их получения, поиск новых путей их переработки, выяснение новых возможностей использования продуктов, получаемых из них, являются одним из наиболее активно развивающихся направлений современной биотехнологии.

Получено 17.12.10

ЛИТЕРАТУРА

1. *Richmond, A.* Handbook of microalgae culture: biotechnology and phycology. — Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., 2004.
2. *Варфоломеев С.Д.* Биотоплива / С.Д. Варфоломеев, Е.Н. Ефременко, Л.П. Крылова // *Успехи химии.* — 2010. — Т. 79. — № 6. — С. 544—564.
3. *Pulz, O.* Valuable products from biotechnology of microalgae / O. Pulz, W. Gross // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2004. — V. 65. — P. 635—648.
4. *Borowitzka, M.A.* Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters // *J. Biotechnol.* — 1999. — V. 70. — P. 313—321.
5. *Metting, B.* Biodiversity and application of microalgae / B. Metting, J.W. Pyne // *J. Ind. Microbiol.* — 1996. — V. 17. — P. 477—489.
6. *Spolaore, P.* Commercial applications of microalgae // P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert // *J. Biosci. Bioeng.* — 2006. — V. 101. — N. 2. — P. 87—96.
7. *Banerjee, A.* *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals / A. Banerjee, R. Sharma, Y. Chisti, U.C. Banerjee // *Crit. Rev. Biotechnol.* — 2002. — V. 22. — P. 245—279.
8. *Pulz, O.* Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input / O. Pulz, K. Scheibenboden // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* — 1998. — V. 59. — P. 123—151.
9. *Моисеев И.И.* Энергоносители из возобновляемого сырья. Химические аспекты / И.И. Моисеев, С.Д. Варфоломеев, Б.Ф. Мясоедов // *Вестн. РАН.* — 2009. — Т. 79. — № 7. — С. 595—603.
10. *Chisti, Y.* Biodiesel from microalgae // *Biotechnol. Adv.* — 2007. — V. 25. — P. 294—306.
11. *Mata, T.M.* Microalgae for biodiesel production and other applications: A review / T.M. Mata, A.A. Martins, N.S. Caetano // *Renew. Sustain. Energy Rev.* — 2010. — V. 14. — P. 217—232.
12. *Huang, G.H.* Biodiesel production by microalgal biotechnology / G.H. Huang, F. Chan, D. Wei, X.W. Zhang, G. Chen // *Appl. Energy.* — 2010. — V. 87. — P. 38—46.
13. *Kapdan, I.K.* Bio-hydrogen production from waste materials / I.K. Kapdan, F. Kargi // *Enzyme Microb. Technol.* — 2006. — V. 78. — P. 151—177.
14. *Варфоломеев С.Д.* Конверсия энергии биокаталитическими системами. — М.: Изд-во МГУ, 1981. — 361 с.
15. *Кондратьева Е.Н., Гогов И.Н.* Молекулярный водород в метаболизме микроорганизмов. — М.: Наука, 1981. — 342 с.
16. *Matsunaga, T.* Marine Microalgae / T. Matsunaga, H. Takeyama, H. Miyashita, H. Yokouchi / *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology.* — Berlin: Springer, 2005. — P. 165—188.
17. *Renaud, S.M.* The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture / S.M. Renaud, L.V. Thinh, D.L. Parry // *Aquaculture.* — 1999. — V. 170. — P. 147—159.
18. *Сергеенко Т.В.* Влияние экстремально высокой концентрации CO₂ на рост и биохимический состав микроводорослей / Т.В. Сергеенко, Е.А. Мурадян, Н.А. Пронина, Г.Л. Клячко-Гурвич, И.М. Мишина, Л.Н. Цоглин // *Физиология растений.* — 2000. — Т. 47. — В. 5. — С. 722—729.
19. *Vonshak, A.* Recent advances in microalgal biotechnology // *Biotech. Adv.* — 1990. — V. 8. — P. 709—727.
20. *Miro'n, A.S.* Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornerutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors / A.S. Miro'n, M.C.C. Garcia, A.C. Go'mez, F.G. Camacho, E.M. Grima, Y. Chisti // *Biochem. Eng. J.* — 2003. — V. 16. — P. 287—297.
21. *Chisti, Y.* Biodiesel from microalgae beats bioethanol // *Trend Biotechnol.* — 2008. — V. 26. — P. 126—131.
22. *Metzger, P.* *Botryococcus braunii*: a rich resource for hydrocarbons and related ether lipids / P. Metzger, C. Largeau // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2005. — V. 66. — P. 486—496.
23. *Rodolfi, L.* Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor / L. Rodolfi, G.C. Zittelli, N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini // *Biotechnol. Bioeng.* — 2009. — V. 102. — N. 1. — P. 100—112.
24. *Meng, X.* Biodiesel production from oleaginous microorganisms / X. Meng, J. Yang, X. Xu, L. Zhang, Q. Nie, M. Xian // *Renew. Energy.* — 2009. — V. 34. — P. 1—9.
25. *Salis, A.* Biodiesel from Microalgae / A. Salis, M. Nicolo, S. Guglielmino, V. Solinas // *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* [ed. K.N. Timmis]. — Berlin: Springer-Verlag, 2010. — P. 2827—2839.
26. *Чернова Н.И.* Микроводоросли в качестве сырья для получения биотоплива / Н.И. Чернова, С.И. Киселева, Т.П. Коробкова, С.И. Зайцева // *Альтернативная энергетика и экология.* — 2008. — Т. 9. — В. 65. — С. 68—74.

27. Цоглин Л.Н. Потенциальная продуктивность микроводорослей в промышленных фотобиореакторах / Л.Н. Цоглин, Б.В. Габель // Физиология растений. — 2000. — Т. 47. — В. 5. — С. 761—767.
28. Цоглин, Л.Н. Фотобиореакторы закрытого типа для культивирования микроводорослей / Л.Н. Цоглин, Б.В. Габель, Т.Н. Фалькович, В.Е. Семенов // Физиология растений. — 1996. — Т. 43. — В. 1. — С. 149—155.
29. Molina Grima, E. Recovery of microalgae biomass and metabolites: process options and economics / E. Molina Grima, E.-H. Belarbi, F.G. Acien Fernandez, A. Robles Medina, Y. Chisti // Biotechnol. Adv. — 2003. — V. 20. — P. 491—515.
30. Huntley, T. CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal / T. Huntley, D. Redalje // Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change. — 2007. — V. 12. — N. 4. — P. 573—608.
31. Peng, W.M. Effects of temperatures and holding time on production of renewable fuels from pyrolysis of *Chlorella protothecoides* / W.M. Peng, X.Y. Wu // J. Appl. Phycol. — 2000. — V. 12. — P. 147—152.
32. Miao, X.L. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolizing controlling of *Chlorella protothecoides* / X.L. Miao, X.Y. Wu // J. Biotechnol. — 2004. — V. 110. — P. 85—93.
33. Miao, X.L. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels / X.L. Miao, X.Y. Wu // J. Anal. Appl. Pyrol. — 2004. — V. 71. — P. 855—863.
34. Milne, T.A. Catalytic conversion of microalgae and vegetable oils to premium gasoline, with shape-selective zeolites / T.A. Milne, R.J. Evans, N. Nagle // Biomass. — 1990. — V. 21. — P. 219—232.
35. Brigwater, A.V. An overview of fast pyrolysis of biomass / A.V. Brigwater, D. Meier, D. Radlein // Org. Geochem. — 1999. — V. 30. — P. 1479—1493.
36. Antonakou, E. Evaluation of various types of Al-MCM-41 materials as catalyst in biomass pyrolysis for the production of bio-fuels and chemicals / E. Antonakou, A. Lappas, M.H. Nilsen, A. Bouzga, M. Stoecker // Fuel. — 2006. — V. 85. — P. 2202—2212.
37. Maggi, R. Comparison between 'slow' and 'flash' pyrolysis oils from biomass / R. Maggi, B. Delmon // Fuel. — 1994. — V. 73. — P. 671—676.
38. Tran, N.H. Catalytic upgrading of biorefinery oil from micro-algae / N.H. Tran, J.R. Barlett, G.S.K. Kannangara, A.S. Milev, H. Volk, M.A. Wilson // Fuel. — 2010. — V. 89. — P. 265—274.
39. Minowa, T. Oil production from algae cells of *Dunaliella te-reiolata* by direct thermochemical liquefaction / T. Minowa, S.Y. Yokoya, M. Kishimoto, T. Okakura // Fuel. — 1995. — V. 74. — N. 12. — P. 1735—1738.
40. Dote, Y. Recovery of liquid fuel from hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction / Y. Dote, S. Sawayama, S. Inoue, T. Minowa, Shin-ya Yokoyama // Fuel. — 1994. — V. 73. — N. 12. — P. 1855—1857.
41. Sawayama, S. Possibility of renewable energy production and CO₂ mitigating by thermomechanical liquefaction of microalgae / S. Sawayama, T. Minowa, S.Y. Yokoyama // Biomass Bioeng. — 1999. — V. 17. — P. 33—39.
42. Hirano, A. Temperature effect on continuous gasification of microalga; biomass: theoretical yield of methanol production and its energy balance / A. Hirano, K. Hon-Nami, S. Kunito, M. Hada, Y. Ogushi // Catalyst Today. — 1998. — V. 45. — P. 399—404.
43. Minowa, T.A. Novel microalgal system for energy production with nitrogen cycling / T. Minowa, S. Sawayama // Fuels. — 1999. — V. 78. — N. 10. — P. 55—63.
44. Bozbas, K. Biodiesel as an alternative motor fuel: production and policies in European Union // Renew. Sust. Energy Rev. — 2008. — V. 12. — P. 542—552.
45. Warabi, Y. Reactivity of triglycerides and fatty acids of rapeseed oil in supercritical alcohols / Y. Warabi, D. Kusdiana, S. Saka // Biores. Technol. — 2004. — V. 91. — P. 283—287.
46. Fukuda, H. Biodiesel fuel production by transesterification oils / H. Fukuda, A. Kondo, H. Noda // J. Biosci. Bioeng. — 2001. — V. 92. — P. 405—416.
47. Naik, M. Production of biodiesel from high free fatty acid *Karanja (Pongamia pinnata)* oil / M. Naik, L.C. Meher, S.N. Naik, L.M. Das // Biomass. Bioenerg. — 2008. — V. 32. — P. 354—357.
48. Cravotto, G. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves / G. Cravotto, L. Boffa, S. Mantegna, P. Peredo, M. Avogadro, P. Cintas // Ultrasonic Sonochem. — 2008. — V. 15. — P. 898—902.
49. Gogate, P.R. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology / P.R. Gogate, A.M. Kadabi // Biochem. Eng. J. — 2009. — V. 44. — P. 60—72.
50. Klava, A. Physical mechanism of ultrasound-assisted synthesis of biodiesel / A. Klava, T. Savasankar, V.S. Moholkar // Indust. Eng. Chem. Res. — 2008. — V. 48. — P. 534—544.
51. Плетнев М.Ю. Отход производства биодизеля как источник продуктов с высокой добавленной стоимостью // Биотехнология. — 2009. — № 1. — С. 3—10.
52. Варфоломеев С.Д. Каталитическая система синтеза циклических кеталей на основе глицерина и низших карбонильных соединений — высокооктановых добавок к моторному топливу / С.Д. Варфоломеев, В.Б. Вольева, С.В. Усачев, И.С. Белостоцкая, Н.Л. Комиссарова, А.В. Малкова, А.И. Нежаев, А.Л. Максимова, Г.Г. Макаров // Катализ в промышленности. — 2010. — Т. 5. — С. 39—44.
53. Варфоломеев С.Д., Октаноповышающая добавка к бензину / С.Д. Варфоломеев, Г.А. Никифоров, В.Б. Вольева, Г.Г. Макаров, Л.И. Трусов // Патент РФ № 2365617, C10L 1/02, C10L 1/18, C10L 10/10, 2008.
54. Salis, A. Use of lipase for the production of biodiesel / A. Salis, M. Monduzzi, V. Solinas // Industrial Enzymes [eds. J. Polana, A.P. MacCabe]. — Dordrecht: Springer, 2007. — P. 317—339.
55. Salis, A. Role of the support surface on the loading, the activity of *Pseudomonas fluorescens* lipase used for biodiesel synthesis / A. Salis, M.S. Bhattacharyya, M. Monduzzi, V. Solinas // J. Mol. Cat B: Enzyme. — 2009. — V. 57. — P. 262—269.

56. *Shah, S.* Lipase catalyzed preparation of biodiesel from Jatropha oil in solvent free system / S. Shah, M.N. Gupta // Proc. Biochem. — 2007. — V. 42. — P. 409—414.
57. *Knotke, G.* Analyzing biodiesel: standards and other methods // J. Am. Oil Chem. Soc. — 2006. — V. 83. — P. 823—833.
58. *Dijkstra, A.J.* Revisiting the formation of trans isomers during partial hydrogenation of triacylglycerol oils // Eur. J. Lipid Sci. Technol. — 2006. — V. 108. — P. 249—264.
59. *Amin, S.* Review on biofuel oil and gas production process from microalgae // Energy Conver. Management. — 2009. — V. 50. — P. 1834—1840.
60. *Bourne, J.K.* Biofuels: green dreams // Natl. Geogr. Mag. — 2007. — October. — P. 41—59.
61. *Gray, K.A.* Bioethanol // Curr. Opin. Chem. Biol. — 2006. — V. 10. — P. 141—146.
62. *Gaffron, H.* Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae / H. Gaffron, J. Rubin // J. Gen. Physiol. — 1942. — V. 26. — P. 219—240.
63. *Melis, A.* Sustained Photobiological Hydrogen Gas Production upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii* / A. Melis, L. Zhang, M. Forestier, M.L. Ghirardi, M. Seibert // Plant Physiol. — 2000. — V. 122. — P. 127—136.
64. *Forestier, M.* Expression of two [Fe]-hydrogenases in *Chlamydomonas reinhardtii* under anaerobic conditions / M. Forestier, P. King, L.P. Zhang // Europ. J. Biochem. — 2003. — V. 270. — P. 2750—2758.
65. *Kruse, O.* Improved photobiological H₂ production in engineered green algal cells / O. Kruse, J. Rupprecht, K.-P. Bader, S. Thomas-Hall, P.M. Schenk, G. Finazzi, B. Hankamer // J. Biol. Chem. — 2005. — V. 280. — P. 34170—34177.
66. *Варфоломеев С.Д.* Химические основы биотехнологии получения топлив / С.Д. Варфоломеев, С.В. Калужный, Д.Я. Медман // Успехи химии. — 1988. — Т. 5. — С. 1201—1241.
67. *Калужный С.В.* Энергетический потенциал анаэробного сбраживания отходов с получением биогаза и использованием микробных топливных элементов в условиях России // Биотехнология. — 2008. — № 3. — С. 3—12.
68. *Schenk, P.M.* Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production / P.M. Schenk, S.R. Thomas-Hall, E. Stephens, U.C. Marx, J.H. Mussgnug, C. Poster, O. Kruse, B. Hankamer // Bioenerg. Res. — 2008. — V. 1. — N. 1. — P. 20—43.
69. *Weiland, P.* Production and energetic use of biogas from energy crops and wastes in Germany // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2003. — V. 109. — P. 263—274.
70. *Ueno, Y.* Ethanol production by dark fermentation in the marine green alga, *Chlorococcum littorale* / Y. Ueno, N. Kurano, S.J. Miyachi // Ferment Bioeng. — 1998. — V. 86. — P. 38—43.
71. *Harun, R.* Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production / R. Harun, M.D. Danquah, G.M. Forde // J. Chem. Technol. Biotechnol. — 2010. — V. 85. — P. 199—203.
72. Wikipedia. Ethanol / <http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol>
73. *Wijffels, R.H.* Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology // Trend. Biotechnol. — 2008. — V. 1. — N. 26. — P. 26—30.
74. *Dufosse, L.* Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? / L. Dufosse, P. Calaup, A. Yaron, P. Blanck, K.N.C. Murthy, G.A. Ravishankar // Trends Food Sci. Technol. — 2005. — V. 16. — P. 389—406.
75. *Reboloso Fuentes, M.M.* Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis* / M.M. Reboloso Fuentes, A. Navaro Perez, F. Garcia Camacho, J.J. Ramos Miras, J.L. Guil Guerrero // J. Agric. Food. Chem. — 2001. — V. 49. — P. 2966—2972.
76. *Soletto, D.* Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources / D. Soletto, L. Binaghi, A. Lodi, J.C.M. Carvalho, A. Converti // Aquaculture. — 2005. — V. 242. — P. 217—224.
77. *Yamaguchi, K.* Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review // J. Appl. Phycol. — 1997. — V. 8. — P. 487—502.
78. *Liang, S.* Current microalgal health food R&D activities in China / S. Liang, L. Xueming, F. Chen, Z. Chen // Hydrobiologia. — 2004. — V. 512. — P. 45—48.
79. *Jong-Yuh, C.* Potential hypoglycemic effects of *Chlorella* in streptozotocin-induced diabetic mice / C. Jong-Yuh, S. Mei-Fen // Life Sci. — 2005. — V. 77. — P. 980—990.
80. *Yeum, K.J.* Carotenoids bioavailability and bioconversion / K.J. Yeum, R.M. Russel // Ann. Rev. Nutrition. — 2002. — V. 22. — P. 483—504.
81. *Roodenburg, A.J.* Amount of fat in the diet affects bioavailability of lutein esters but not of α -carotene, β -carotene, and vitamin E in humans / A.J. Roodenburg, R. Leenen, K.H. Van het Hof, J.A. Weststrate, L.B. Tijburg // Amer. J. Clin. Nutrition. — 2000. — V. 71. — P. 1187—1193.
82. *Finney, K.F.* Use of alga *Dunaliella* as protein supplement in bread / K.F. Finney, Y. Pomeranz, B. Bruinsma // Cereal Chem. — 1994. — V. 61. — P. 401—406.
83. *Villar, R.* Effects of *Phaeodactylum tricoratum* and *Dunaliella tertiolecta* extract on the central nervous system / R. Villar, M.R. Laguna, J.M. Calleja, I. Cadavid // Planta Medica. — 1992. — V. 58. — P. 405—409.
84. *Tornwall, M.E.* Effect of α -tocopherol and β -carotene supplementation on coronary heart disease during the 6-year post-trial follow-up in the ATBC study / M.E. Tornwall, J. Virtamo, P.A. Korhonen, M.J. Virtranen, P.R. Taylor, D. Albanes, J.K. Huttunen // Eur. Heart J. — 2004. — V. 1. — P. 209—227.
85. *Benedetti, S.* Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae* / S. Benedetti, F. Benvenuti, S. Pagliarini, S. Francogli, S. Sconglio, F. Canestrari // Life Sci. — 2004. — V. 75. — P. 2353—2362.
86. *Muller-Feuga, A.* The role of microalgae in aquaculture: situation and trends // J. Appl. Phycol. — 2000. — V. 12. — P. 527—534.

87. *Del Campo, J.A.* Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Mirialopsis* sp. (Chlorophyta) / J.A. Del Campo, J. Moreno, H. Rodriguez, M.A. Vargas, J. Rivas, M.G. Guerrero // *J. Biotechnol.* — 2000. — V. 76. — P. 51—59.
88. *Apt, K.E.* Commercial developments in microalga biotechnology / K.E. Apt, P.W. Behrens // *J. Phycol.* — 1999. — V. 35. — P. 215—226.
89. *Radmer, R.J.* Algal diversity and commercial algal products // *Bioscience.* — 1996. — V. 46. — P. 263—270.
90. *Certik, M.* Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production / M. Certik, S. Shimizu // *J. Biosci. Bioeng.* — 1999. — V. 87. — P. 1—14.
91. *Ward, O.P.* Omega -3/6 fatty acids: alternative sources of production / O.P. Ward, A. Singh // *Proc. Biochem.* — 2005. — V. 40. — P. 3627—3652.
92. *Manners, D.J.* The interaction of concanavalin-A with glycogen / D.J. Manners, A. Wright // *J. Chem. Soc.* — 1962. — P. 4592—4595.
93. *Manners, D.J.* Reserve carbohydrates of algae, fungi, and lichens / D.J. Manners, R.J. Sturgeon // *Encyclopedia of Plant Physiology* [eds. F.A. Loewus, W. Tanner]. — Berlin: Springer-Verlag, 1982. — P. 472—514.
94. *Nakamura, Y.* Some cyanobacterial synthesize semi-amylopectin type α -polyglucans instead of glycogen / Y. Nakamura, J. Takahashi, A. Sakurai, Y. Inaba, E. Suzuki, S. Nihei, S. Fujiwara, M. Tsuzuki, H. Miyashita, H. Ikemoto, M. Kawachi, H. Sekiguchi, N. Kurano // *Plant Cell Physiol.* — 2005. — V. 46. — P. 539—545.
95. *Ioannou, E.* Natural products from seaweeds / E. Ioannou, V. Roussis // *Plant-derived Natural Products* [eds. A.E. Osbourn, V. Lazottij]. — Berlin: Springer, 2009. — P. 51—81.
96. *Namikoshi, M.* Bioactive compounds produced by cyanobacteria // *J. Int. Microbiol. Biotechnol.* — 1996. — V. 17. — P. 373—384.
97. *Arad, S.M.* Red microalgal cell-wall polysaccharides: biotechnological aspects / S.M. Arad, O. Levy-Ontman // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 2010. — V. 21. — P. 358—364.
98. *Geresh, S.* Sulfation of extracellular polysaccharides of red microalgae: preparation, characterization and properties / S. Geresh, A. Mamontov, J. Weinstein // *J. Biochem. Biophys. Meth.* — 2002. — V. 50. — N. 2—3. — P. 179—187.
99. *Matsui, M.S.* Sulfate polysaccharides from red microalgae have anti-inflammatory properties *in vitro* and *in vivo* / M.S. Matsui, N. Muizzuddin, S. Arad, K. Marenus // *Appl. Biochem. Biotechnol.* — 2003. — V. 104. — P. 13—22.
100. *Shimonada, T.* Variation in storage α -polyglucans of red algae: amylase and semi-amylopectin types in *Porphyridium* and glycogen type in *Cyanidium* / T. Shimonada, S. Fujiwara, M. Kaneko, A. Izumo, S. Nihei, Jr.P.B. Francisco, A. Satoh, N. Fujita, Y. Nakamura, M. Tsuzuki // *Marine Biotechnol.* — 2007. — V. 9. — P. 192—202.
101. *Стадничук И.Н.* Высокоразветвленный запасной полиглюкан в клетках термоацифильной красной микроводоросли *Galdieria maxima* / И.Н. Стадничук, Л.П. Семёнова, Г.П. Смирнова, А.И. Усов // *Прикл. биохим. микробиол.* — 2007. — Т. 1. — С. 88—93.
102. *Bermidez, J.* Exopolysaccharide, pigment and protein production by marine microalga *Chroomonas* sp. in semicontinuous cultures / J. Bermidez, N. Rosales, C. Loreto, B. Briceno, E. Morales // *World J. Microbiol. Biotechnol.* — 2004. — V. 20. — P. 179—183.
103. *Suarez, E.R.* First isolation and structural determination of cyclic-(1-2)-glucans from an alga *Chlorella pyrenoidosa* / E.R. Suarez, S.M. Bugdeb, F.B. Kai, J.A. Kralovec, M.D. Nosedá, C.J. Barrow, T.B. Grindley // *Carbohydrate Res.* — 2008. — V. 343. — P. 2623—2633.
104. *Biedrzycka, E.* Microecosystem of large intestine as target-place for probiotics and prebiotics used as functional components of diet — A review // *Pol. J. Food Nutr. Sci.* — 2004. — V. 13/54. — P. 143—150.
105. *Delzenne, N.M.* Physiological effects of non-digestible oligosaccharides / N.M. Delzenne, M.R. Roberfroid // *Lebensm.-Wiss. Technol.* — 1994. — V. 27. — P. 1—7.
106. *Jenkins, D.J.A.* Starchy food and febers reduce the rate of digestion and improve carbohydrate metabolism / D.J.A. Jenkins, A.L. Jenkins, T.M.S. Wolever, G.R. Collier, A.V. Rao, L.U. Thompson // *Scand. J. Gastroenterol.* — 1987. — V. 22. — S. 129. — P. 132—141.
107. *Roediger, W.E.W.* Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rats colon // *Gastroenterology.* — 1982. — V. 83. — P. 424—429.
108. *Martin, L.I.M.* Production of short-chain fatty acids from resistant starch in a pig model / L.I.M. Martin, H.J.W. Duman, M.M.J. Champ // *J. Sci. Food Agric.* — 1998. — V. 77. — P. 71—88.
109. *Sheng, J.* Preparation, identification and their antitumor activities *in vitro* of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* / J. Sheng, F. Yu, Zh. Xin, Zh. Zhao, X. Zhu, Q. Hu // *Food Chem.* — 2007. — V. 105. — P. 533—539.
110. *Максимова И.В.* Экстрацеллюлярные углеводороды и полисахариды водоросли *Chlorella pyrenoidosa* Chick-S39 / И.В. Максимова, Л.Б. Братковская, С.Е. Плеханов // *Биологический бюллетень.* — 2004. — Т. 31. — С. 175—181.
111. *Volk, R.-B.* Structural investigation of a polysaccharide released by the cyanobacterium *Nostoc insulare* / R.-B. Volk, K. Venzke, W. Blaschek // *J. Appl. Phycol.* — 2007. — V. 19. — P. 255—262.
112. *De Phillips, R.* Assessment of the potential of *Nostoc* strains from the Pasteur culture collection for the production of polysaccharides of applied interest / R. De Phillips, A. Ena, R. Paperi, C. Sili, M. Vincenzini // *J. Appl. Phycol.* — 2000. — V. 12. — P. 401—407.
113. *Rodjaroen, S.* High Biomass production and starch accumulation in native green algal strains and cyanobacterial strains from Thailand / S. Rodjaroen, N. Juntawong, A. Mahakhant, K. Miyamoto // *Kasetsart J. (Nat Sci).* — 2007. — V. 41. — P. 570—575.
114. *Dragon, G.M.* Effect of nitrogen limitation on starch accumulation in *Chlorella vulgaris* / G.M. Dragon, B.D. Fer-

- mandes, A.P. Abreu, A.A.Vicente, J.A. Teixeira // Book of abstracts of MicroBiol09. 28—30 November 2009. — Vila-moura: Algavre, 2009. — P. 157.
115. *Izumo, A.* Physicochemical properties of starch in *Chlorella* change depending on the CO₂ concentration during growth: Comparison of structure and properties of pyrenoid and stroma starch / A. Izumo, S. Fujiwara, Y. Oyama, A. Satoh, N. Fujita, Y. Nakamura, M. Tsuzuki // *Plant Sci.* — 2007. — V. 172. — P. 1138—1147.
116. *Willats, W.G.T.* Bio-prospecting for novel polysaccharides in microalgae using novel glycan micro arrays / W.G.T. Willats, I. Sorensen // *J. Biotechnol.* — 2008. — V. 136. — P. S199.
117. *Matsukawa, R.* Enzymatic screening of microalgae as a potential source of natural antioxidants / R. Matsukawa, Z. Dubisky, K. Masaki, T. Takeuchi, I. Karube // *Appl. Biochem. Biotechnol.* — 1997. — V. 66. — P. 239—247.
118. *Tramper, J.* What to do in marine biotechnology? / J. Tramper, C. Battershill, W. Brandenburg, G. Burgess, R. Hill, E. Luiten, W. Müller, R. Osinga, G. Rorrer, M. Tredici, M. Uriz, P. Wright, R. Wijffels // *Biomol. Eng.* — 2003. — V. 20. — P. 467—471.
119. *Olaizola, M.* Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace // *Biomol. Eng.* — 2003. — V. 20. — P. 459—466.

S.D. VARFOLOMEEV, and L.A. WASSERMAN*

The Emmanuel Institute for Biochemical Physics, Russ. Acad. Sci., 119334, Moscow Russia

e-mail: sdvarf@chph.ras.ru
lwasserma@mail.ru

Microalgae as a Source for Biofuel, Foodstuffs, Fodder and Medicines Production

The current status and prospects for the production and application of microalgae with special references to their use in generation of biofuel (biodiesel, biohydrogen, biomethane, bioethanol) and other relevant products are discussed in this review. The use of microalgae in the manufacturing of food stuffs and fodder, in production of cosmetics, dyes, polysaccharides, antioxidants, drugs and many other products is really promising. However, microalgae are currently incapable of competing with plant materials as a source for biofuel due to economic reasons. In view of this, the improvement of the methods for microalgae production and search for new ways of their processing are the avenues of current importance in the field of up-to-date biotechnology.

Key words: antioxidants, biodiesel, biofuels, biohydrogen, biomethane, drugs, dyes, food additives, microalga, polysaccharides, starch.

* Author for correspondence.