



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101528913 B

(45) 授权公告日 2013. 02. 13

(21) 申请号 200780038727. 7

(22) 申请日 2007. 09. 18

(30) 优先权数据

60/825, 946 2006. 09. 18 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 04. 17

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/078760 2007. 09. 18

(87) PCT申请的公布数据

W02008/036654 EN 2008. 03. 27

(73) 专利权人 亚利桑那董事会, 代表亚利桑那州
立大学行事的亚利桑那州法人团
体

地址 美国亚利桑那

(72) 发明人 胡强 M·索默费尔德

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 李瑛

(51) Int. Cl.

C12N 1/12 (2006. 01)

C10L 1/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 20040074760 A1, 2004. 04. 22, 摘要、第
25 段、权利要求 5.

US 20060168687 A1, 2006. 07. 27, 摘要、第
6、10、33 段.

US 20060168687 A1, 2006. 07. 27, 摘要、第
6、10、33 段.

Masanobu Kawachi et al. The
Pinguiphyceae classis nova, a new class of
photosynthetic stramenopiles whose members
produce large amounts of omega-3 fatty
acids. 《Phycological Research》. 2002, 第 50
卷 31 - 47.

审查员 孙婷婷

权利要求书 3 页 说明书 13 页 附图 2 页

(54) 发明名称

藻类中链长脂肪酸和烃

(57) 摘要

本发明提供了用于生产基于藻类的中链脂肪
酸和烃的方法和组合物。

1. 生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法,包括:

(a) 培养选自粉核油球藻 (*Pinguicoccus pyrenoidosus*) CCMP2078、隐球藻属 (*Aphanocapsa*) CCMP 2524、长耳齿状藻 (*Odontella aurita*) CCMP 145、隐甲藻属 (*Cryptothecodinium*) CCMP 316、赫氏圆石藻 (*Emiliana huxleyi*) CCMP 1742、*Nitzschia alba* CCMP 2426、小定鞭藻 (*Prymnesium parvum*) CCMP 1962、中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) CCMP 1281 和红海束毛藻 (*Trichodesmium erythraeum*) CCMP1985 的第一种藻株,其中所述第一种藻株产生第一种中链长脂肪酸子集,其中所述子集中至少 30-70% 的总脂肪酸是链长 C10 至 C14 的中链长脂肪酸,其中在适于促进第一种中链脂肪酸子集产生的条件下进行培养;

(b) 培养一种或多种产生第二种中链长脂肪酸子集的其他藻株,其中所述子集中的至少 30-70% 的总脂肪酸是链长 C10 至 C14 的中链长脂肪酸,其中在适于促进第二种中链脂肪酸子集产生的条件下进行培养;和

(c) 从第一种藻株和一种或多种其他藻株中提取油以产生中链长组合;其中中链长组合包括碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸或烃,并且其中来自第一种藻株单独的油或来自一种或多种其他藻株任一种中单独的油都不含可检测水平的碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸中的每一种;

所述方法进一步包括将从第一种藻株和一种或多种其他藻株提取出来的油转化成烃级分并将烃级分精炼以产生一种或多种富含中链长烃的级分,其中所述一种或多种级分包括一种或多种富含碳链长 C10、C12 和 C14 烃的级分,

其中至少所述第一种藻株或所述一种或多种其他藻株之一为粉核油球藻,并且所述一种或多种其他藻株之一或所述第一种藻株为隐甲藻属。

2. 权利要求 1 的方法,其中中链长组合进一步包括碳链长 C16 脂肪酸或烃。

3. 权利要求 1 的方法,其中作为分开的培养物或作为共培养物来培养第一种藻株和一种或多种其他藻株。

4. 权利要求 1 的方法,其中一种或多种其他藻株包括不同于所述第一种藻株的至少第二种藻株和第三种藻株并独立地选自粉核油球藻、隐球藻属、长耳盒形藻、隐甲藻属、赫氏圆石藻、*Nitzschia alba*、小定鞭藻、中肋骨条藻和红海束毛藻。

5. 生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法,包括:

(a) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养粉核油球藻 CCMP2078,其中所述条件为生长于 h/2 生长培养基中并暴露于 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光强和 25°C ;

(b) 培养一种或多种产生并累积大量 C10 和 / 或 C12 链长脂肪酸的其他藻株,其中在适于促进 C10 和 / 或 C12 链长脂肪酸产生的条件下进行培养,所述一种或多种其他藻株之一为隐甲藻属 CCMP 2524;和

(c) 从培养的粉核油球藻和一种或多种其他藻株中提取油以产生中链长组合;其中所述中链长组合包括碳链长 C14 和一种或多种 C10 和 C12 脂肪酸或烃;

所述方法进一步包括将中链长组合转化成烃级分并进一步包括精炼烃级分以产生一种或多种富含中链长烃的级分,其中所述一种或多种级分包括一种或多种富含碳链长 C10、C12 和 C14 烃的级分。

6. 权利要求 5 的方法,其中通过在油提取后将从粉核油球藻和一种或多种其他藻株中

提取出来的油合并或通过从含有粉核油球藻和一种或多种其他藻株的培养物中提取油来制得中链长组合。

7. 权利要求 5 的方法,其中一种或多种其他藻株包括第二种藻株和第三种藻株,其中第三种藻株选自隐球藻属 CCMP 2524、长耳齿状藻 (*Odontella aurita*) CCMP 145、隐甲藻属 CCMP 316、赫氏圆石藻 CCMP1742、*Nitzschia alba* CCMP 2426、小定鞭藻 CCMP 1962、中肋骨条藻 CCMP 1281 和红海束毛藻 CCMP 1985。

8. 生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法,包括:

(a) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养红海束毛藻 CCMP1985,其中中链长脂肪酸包括 C10 链长脂肪酸;

(b) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养隐甲藻属 CCMP316,其中所述中链长脂肪酸包括 C12 链长脂肪酸;和

(c) 从培养的红海束毛藻 CCMP 1985 和隐甲藻属 CCMP 316 中提取油以产生中链长组合;其中所述中链长组合包括碳链长 C10 和 C12 脂肪酸或烃,

并且其中所述中链长组合进一步包括碳链长 C14 脂肪酸或烃。

9. 权利要求 8 的方法,进一步包括:

(d) 在适于促进中链长脂肪酸生产的条件下培养一种或多种选自粉核油球藻 CCMP 2078、隐球藻属 CCMP 2524、长耳齿状藻 (*Odontella aurita*) CCMP 145、赫氏圆石藻 CCMP 1742、*Nitzschia alba* CCMP 2426、小定鞭藻 CCMP 1962 和中肋骨条藻 CCMP 1281 的藻株,其中所述中链长脂肪酸包括 C14 和 / 或 C16 链长脂肪酸;和

(e) 从培养的一种或多种藻株中提取油以包括在中链长组合中;并且其中所述中链长组合包括碳链长 C14 和 / 或 C16 脂肪酸或烃;

所述方法进一步包括将中链长组合转化成烃级分并将烃级分精炼以产生一种或多种富含中链长烃的级分,其中所述一种或多种级分包括一种或多种富含碳链长 C10、C12 和 C14 烃的级分。

10. 权利要求 8 的方法,其中通过在油提取后将从红海束毛藻和隐甲藻属培养物提取出来的油合并来制得中链长组合或其中通过从含有红海束毛藻和隐甲藻属的共培养物中提取油来制得中链长组合。

11. 权利要求 1、5 或 8 的方法,其中所述一种或多种级分进一步包括一种或多种富含碳链长 C16 烃的级分。

12. 权利要求 1、5 或 8 的方法,进一步包括从所述一种或多种富含中链长烃的级分生产煤油。

13. 权利要求 1、5、8、9 或 10 的方法,进一步包括分离:

a) 藻类生物质残余物和 / 或

b) 短链烃分子和 / 或甘油。

14. 一种组合物,含有两种或更多种选自粉核油球藻 CCMP 2078、隐球藻属 CCMP 2524、长耳齿状藻 (*Odontella aurita*) CCMP 145、隐甲藻属 CCMP 316、赫氏圆石藻 CCMP 1742、*Nitzschia alba* CCMP 2426、小定鞭藻 CCMP 1962、中肋骨条藻 CCMP 1281 和红海束毛藻 CCMP 1985 的分离藻株,其中所述两种或更多种藻株构成至少组合物中存在的 90% 藻类,其中 30-70% 由所述组合物产生的总脂肪酸是中链长脂肪酸。

15. 权利要求 14 的组合物,其中所述两种或更多种分离藻株包括隐甲藻属 CCMP 316 和红海束毛藻 CCMP 1985 中的一种或两种。

16. 权利要求 14 的组合物,其中所述两种或更多种分离藻株进一步包括选自粉核油球藻 CCMP 2078、隐球藻属 CCMP 2524、长耳齿状藻 (*Odontella aurita*) CCMP 145、赫氏圆石藻 CCMP 1742、*Nitzschia alba* CCMP 2426、小定鞭藻 CCMP 1962 和中肋骨条藻 CCMP 1281 的藻株。

17. 基本上纯的培养物,包括:

(a) 生长培养基;和

(b) 权利要求 14 的组合物。

藻类中链长脂肪酸和烃

[0001] 交叉参考

[0002] 本申请要求 2006 年 9 月 18 日提交的美国临时专利申请系列号 60/825946 的优先权,在此以其整体引入作为参考。

[0003] 发明背景

[0004] JP-8 是源自石油的煤油型军用喷气发动机燃料并且用作以地面为基础的空军和陆军(例如,飞行器、地面车辆和装备)的主要燃料。美国国防部(DOD)是美国唯一的最大的耗油行政管理机构,在 2006 财政中消耗超过 9 千万桶的 JP-8,占美国生产的基于煤油的喷气发动机燃料的约 15%。

[0005] 在化学组成上与 JP-8 相似的商业喷气发动机燃料在很大程度上由美国商用(团体/私人)航空业来消耗,在 2005 年,客车和运输工具燃烧接近 5 亿桶喷气发动机燃料。因为已经消耗超过 80%的勘探石油储备,美国现在进口超过 60%的石油。预期在 20 年内,美国将进口 80%至 90%的石油。大量进口的油来自世界上政治不稳定地区的国家,其中政治不稳定、滥用人权和恐怖行动是对美国稳定油供应的持续威胁。每年超过 \$2500 亿花费在外国石油上,代表了第三大增长中的美国贸易逆差和美国经济体日增的负担。尽管美国可以继续增加进口外国石油,但全球石油供应不是无限的。即使基于大约 2,2000-3,9000 亿桶世界石油储备的乐观估计,接近勘探储备的两倍,但世界的石油供应将在 40 年内耗尽。中国、印度和其他地方的新兴且快速增长的经济体对石油的需求对于有限的全球供应也是渐增的竞争和价格易变性。石油减少对美国军事行动、国家安全和增长中的经济体的潜在影响的严重性将取决于在该事件的前面,我们能够提供多少、能多快提供和提供到什么程度的 JP-8 和其他化石燃料的可再生、承担得起的替代品。

[0006] 对于生物柴油(biodiesel)的有成本效益的、可持续的生产,特别是对于运输,普遍被认为富含油的作物和藻类是最有前景的生物系统。然而,由于其较低的能量密度和不可接受的冷流特征,从目前可用的基于油料作物原料和商业方法生产的生物柴油不适于作为 JP-8 替代品用于军事和商用航空应用。生物柴油作为 JP-8 替代品的不合格源自前者主要含有 C16 和 C18 脂肪酸甲酯,而后者具有 C9 至 C14 烃的主要化学成分的事实。与 C9 至 C14 烃相比,氧化的 C16 和 C18 脂肪酸甲酯不仅使该燃料的能量密度下降,而且导致高燃料粘度,高闪点和高凝固点($> -50^{\circ}\text{C}$)。

[0007] 可以通过热采、催化和/或酶促方法将生物柴油加工成 JP-8 替代燃料。然而,随后的第二次加工既不是有成本效益的,也不是有能量效率的,并且消耗大量化石燃料,其具有 8%至 15%的能量转化效率。这使得替代喷气发动机燃料价格高得惊人并且具有无法接受的低能量效率。显然,将藻类/植物基油或生物柴油转化成承担得起的源自石油的 JP-8 的替代品具有很大潜能,但是这将需要对目前的原料生产系统和随后的下游工艺进行重大的创新和改进以提高油转化效率,同时使生产成本下降。

[0008] 提高源自作物油的 JP-8 替代品的能量转化效率而同时降低生产成本的一种方式引入某些可以天然地由大量中链脂肪酸(C10 至 C14)组成的原料油。中链脂肪酸可能需要一点裂化处理,这是另外需要的将长链分子分裂成较短分子的过程。通过含有高浓度

(总脂肪酸的 55 ~ 69%) 的中链 (C12 和 C14) 脂肪酸 / 酯, 椰子和棕榈仁油已经证明是普通油料作物的例外。在 1999 年椰子油的世界产量为约 5 千万公吨, 而在 2005 年棕榈仁油的产量为约 3.8 百万吨。印度尼西亚、马来西亚、菲律宾和印度是椰子油和棕榈仁油的主要产地。这些油主要作为食品和烹调 / 油炸油用于国内消费。在美国和其他西方国家, 椰子油和棕榈仁油很大一部分用于制造人造黄油和其他脂肪 / 油产品, 以及用于化妆品、肥皂、去污剂和香波中。尽管椰子油和棕榈仁油正在研发用于生产生物柴油并考虑作为基于煤油的喷气发动机燃料替代品, 但由于有限的供应, 它们不太可能被用于喷气发动机燃料生产的主要原料 (Shay 1993 ;Srivastava & Prasad 2000)。

[0009] 备选方案是通过油料作物的遗传操纵来制备更多的中链脂肪酸。然而, 迄今为止使用油料作物进行的尝试获得了很少的商业意义。这主要是由于缺乏对可能提供对复杂的生化途径“全面”控制的细胞 / 亚细胞调控网络的清楚了解, 这可能导致光合成固定的碳特异性地分配给脂质 / 油的形成和累积而不是蛋白质或碳水化合物的生物合成。缺乏有效的分子遗传工具和方法是不成功的菌株改良的另一个主要原因。

[0010] 微藻是有前景的生物柴油原料的来源, 因为 a) 高脂质 / 油含量 (40 至 60% 干重); b) 高特异性生长速率 (1 至 3 倍增时间 / 天); c) 在盐水 / 含盐水中旺盛生长以及利用来自废液 (例如, 来自化石燃料燃烧动力工厂的废水和烟道气体) 的营养素 (N, P 和 CO₂) 和使用边际地 (沙漠、干旱和半干旱地) 进行全年大规模生产的能力; 和 d) 增值产品 (例如, 生物聚合物、蛋白质、多糖、色素) 的共同生产。然而, 迄今为止用于生物柴油研究的藻类油在化学和物理特性上与普通的作物油非常相似, 其富含 C16 至 C18 脂肪酸 / 酯。

[0011] 发明概述

[0012] 在第一个方面中, 本发明提供了生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法, 其包括:

[0013] (a) 培养可以产生大量第一种中链长脂肪酸子集的第一种藻株, 其中在适于促进第一种中链脂肪酸子集产生的条件下进行培养;

[0014] (b) 培养可以产生大量第二种或更多种中链长脂肪酸子集的一种或多种其他藻株, 其中在适于促进第二种中链脂肪酸子集产生的条件下进行培养; 和

[0015] (c) 从第一种藻株和一种或多种其他藻株中提取油以产生中链长组合; 其中中链长组合包括碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸或烃, 并且其中来自第一种藻株单独的油或来自一种或多种其他藻株任一种中单独的油都不含可检测水平的碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸中的每一种。

[0016] 在第二个方面中, 本发明提供了生产中链长脂肪酸的方法, 其包括:

[0017] (a) 在适于促进中链长脂肪酸生长的条件下培养粉核油球藻 (*Pinguicoccus pyrenoidosus*); 和

[0018] (b) 从培养的粉核油球藻中提取油, 其中提取的油含有 C14 和 C16 链长脂肪酸。

[0019] 在第三个方面中, 本发明提供了生产中链长脂肪酸或烃的方法, 其包括:

[0020] (a) 在适于促进中链长脂肪酸生长的条件下培养粉核油球藻;

[0021] (b) 培养一种或多种可以产生并累积大量 C10 和 / 或 C12 链长脂肪酸的其他藻株, 其中在适于促进 C10 和 / C12 链长脂肪酸产生的条件下进行培养; 和

[0022] (c) 从培养的粉核油球藻和一种或多种其他藻株中提取油以产生中链长组合; 其中中链长组合包括碳链长 C14 和一种或多种碳链长 C10 和 C12 脂肪酸或烃。

[0023] 在第四个方面中,本发明提供了生产中链长脂肪酸或烃的方法,其包括:

[0024] (a) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养红海束毛藻 (*Trichodesmium erythraeum*),其中中链长脂肪酸包括 C10 链长脂肪酸;

[0025] (b) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养隐甲藻属 (*Crypthecodinium*),其中中链长脂肪酸包括 C12 链长脂肪酸;和

[0026] (c) 从培养的红海束毛藻和培养的隐甲藻属中提取油以产生中链长组合;其中中链长组合包括碳链长 C10 和 C12 脂肪酸或烃。

[0027] 在第五个方面中,本发明提供了含有两种或更多种分离的藻株的组合物,藻株选自粉核油球藻、隐球藻属 (*Aphanocapsa*)、长耳盒形藻 (*Biddulphia aurita*)、隐甲藻属、赫氏圆石藻 (*Emiliania huxleyi*)、*Nitzschia alba*、小定鞭藻 (*Prymnesium parvum*)、中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 和红海束毛藻,其中两种或更多种藻株构成至少 90% 组合物中存在的藻类。

[0028] 在第六个方面中,本发明提供了基本上纯的培养物,其包括:

[0029] (a) 生长培养基;和

[0030] (b) 发明第五个方面的任一组合物实施方案中的组合物。

[0031] 在第七个方面中,本发明提供了藻类产生的烃级分,通过本发明的第一种、第二个、第三个或第四个方面的任一实施方案中的方法来产生。

[0032] 在第八个方面中,本发明提供了藻类产生的分离的中链烃级分,通过本发明的第一种、第二个、第三个或第四个方面的任一实施方案中的方法来产生。

[0033] 在第九个方面中,本发明提供了通过本发明的第一种、第二个、第三个或第四个方面的任一实施方案中的方法产生的源自藻类的煤油。

[0034] 发明简述

[0035] 图 1 显示了涉及本发明中所用的代表性藻株的总脂肪酸含量的数据。

[0036] 图 2 是基于藻类的 JP-8 替代喷气发动机燃料生产的流程图。

[0037] 发明详述

[0038] 在第一个方面中,本发明提供了生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法,其包括:

[0039] (a) 培养可以产生大量第一种中链长脂肪酸子集的第一种藻株,其中在适于促进第一种中链脂肪酸子集产生的条件下进行培养;

[0040] (b) 培养可以产生大量第二种或更多种中链长脂肪酸子集的一种或多种其他藻株,其中在适于促进第二种中链脂肪酸子集产生的条件下进行培养;和

[0041] (c) 从第一种藻株和一种或多种其他藻株中提取油以产生中链长组合;其中中链长组合包括碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸或烃,并且其中来自第一种藻株单独的油或来自一种或多种其他藻株任一种中单独的油都不含可检测水平的碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸中的每一种。

[0042] 之前生产富含中链长脂肪酸的藻类油级分的尝试使用了裂化处理以将长链脂肪酸/酯裂化成较短的,接着进一步处理。本发明的方法不需要这样的裂化处理,特别是使用内源性地产生中链长脂肪酸而不是烃的藻类时。因此,本发明的方法使得可以使用例如脱氧步骤将藻类脂肪酸分离加工成烃级分。例如,本发明的方法可以比使用给定量藻类原料的富含长链脂肪酸 (C16 至 C22) 的“常规”藻类油产生更多基于煤油的喷气发动机燃料,并

减少与油裂化和分离处理相关的资本成本和操作成本。

[0043] 富含中链长脂肪酸的藻类油可以用于各种目的,包括但不限于生产基于藻类的煤油替代品、高质量的去污剂和研究试剂(例如,用作标准品的单链长的分离的烃级分,可以将该标准品任选地标记以用于研究用途)。

[0044] 如在此所用的,短语“中链长脂肪酸”指的是范围在碳链长 C8 至 C16 之内的脂肪酸及其酯。在另一个实施方案中,中链长脂肪酸在碳链长 C9 至 C14 的范围中;再一实施方案中,从 C10 至 C14。所用的两种或更多种藻株(即,2,3,4,5 或更多种藻株)可以产生并累积大量中链长脂肪酸。“大量”意思是通过藻株产生的总脂肪酸的 20%或更多是中链长脂肪酸。在进一步的实施方案中,两种或更多种藻株产生并累积至少 25%所产生的脂肪酸为中链长脂肪酸;更优选,至少 30%、40%、45%、50%、55%或更多。本领域技术人员将认识到尽管所用的藻株产生中链脂肪酸,它们也可以产生其他链长的脂肪酸。

[0045] 如在此所用的,术语“藻类”或“藻株”包括微藻和蓝细菌。在一个实施方案中,藻类是真核微藻。图 1 中提供了可以用于本发明方法中的非限制性藻株。

[0046] 用于培养藻类的“合适条件”是本领域技术人员公知的,并且包括合适的光照条件(以促进光合成生长)、生长培养基(营养素、pH 等)和 CO₂ 供给。生长培养基的体积可以是适于本发明方法中培养藻类的任何体积。可以使用任何合适的营养素供给。这样的营养素供给包括废水或废气,或由废水或废气来补充。在这些实施方案中,这些方法进一步提供废物补救(wasteremediation)益处。例如,营养素污染的水或废水(例如,工业废水、农业废水、生活废水、污染的地下水和地表水),或从燃烧天然气或生物气体的发电机发散出来的废气,以及从燃烧化石燃料的发电厂发散出来的烟道气可以用作生长培养基的一部分。在这些实施方案中,首先将藻类在初级生长培养基中培养,接着加入废水和/或废气。或者,将藻类单独在废液源中培养。将特定的营养素或成分加入培养基中时,藻类将其吸收并同化。通常,以所需的速率将废水加入培养基中。来自废水源的这种水含有其他的营养素,如磷酸盐,和/或微量元素(如铁、锌),其补充了藻类的生长。在一个实施方案中,如果待处理的废水含有足够的营养素来维持微藻生长,可以使用较少的生长培养基。由于藻类处理而废水变得更清洁时,可以增加培养基的量。影响废液进料速率的主要因素包括:1) 藻类生长速率,2) 光强,4) 培养温度,5) 废水中初始营养素浓度;5) 某些营养素的特定摄入率;6) 特定生物反应器的设计和性能和 7) 特定的维持方案。

[0047] 藻类的生长可以在任何类型的系统或光生物反应器中。如在此所用的,“光生物反应器”是由透明清澈的材料(例如,玻璃、丙烯酸树脂、聚碳酸酯、PVC 等)制成的工业规模的培养容器,藻类在其中生长和繁殖。对于用于本发明的这方面中,可以使用任何类型的系统或光生物反应器,包括但不限于开放式水沟(即,浅水池(水平面大约 15 至 30cm 高),每个覆盖 1000 至 5000m² 的面积,构成环,通过浆轮将培养物在其中循环(Richmond, 1986),闭合系统,即,由透明管或容器制成的光生物反应器,通过泵或鼓泡将其中的培养物混合(Lee 1986;Chaumont 1993;Richmond 1990;Tredici 2004),管状光生物反应器(例如,参见 Tamiya 等(1953),Pirt 等(1983),Gudin 和 Chaumont 1983,Chaumont 等,1988;Richmond 等,1993)和平板型光生物反应器,如 Samson 和 Leduy(1985),Ramos de Ortega 和 Roux(1986),Tredici 等(1991,1997)和 Hu 等(1996,1998a, b)中所述的那些。

[0048] 如在此所用的,“适于促进生产的条件”意思是所用的条件导致中链长脂肪酸的藻

类生产等于总干细胞重的 5%，并且优选 10%，15%，20%，25% 或更多。

[0049] 本发明的方法包括从藻类中提取油（即，总脂肪酸）。可以使用任何合适的从藻类出提取油的方法，包括但不限于溶剂提取和超临界流体提取。最初，使用合适的收集方法（如离心、液化空气浮选、膜滤、聚合物辅助絮凝等，单独或结合）从光生物反应器中的液体培养基中收集藻类。如果需要，然后将收集的藻类干燥，使用任何合适的技术（如晒干、圆筒烘干、冻干或喷雾干燥）。所得到的干燥藻类可以是任何有用的形式，包括但不限于藻粉的形式。

[0050] 如在此所用的，“中链长脂肪酸子集”是由给定的藻株产生的中链长脂肪酸。因此，在适于促进中链脂肪酸子集产生的条件下培养可以产生大量中链长脂肪酸子集的藻株，导致产生构成总干细胞重至少 5% 的中链长脂肪酸子集。该子集可以包括任一种链长或链长组合的中链长脂肪酸。这些方法包括使用产生第一种中链长脂肪酸子集的第一种藻株和产生第二种或更多种中链脂肪酸的一种或多种其他藻株，其中不管是来自第一种藻株单独的油还是来自一种或多种其他藻株中任一种单独的油都不含有可检测水平的碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸中的每一种。因此，在使用两种藻株的情况中，这些方法包括产生两个中链长脂肪酸子集（其中两种藻株都没有单独产生包括 C10、C12 和 C14 脂肪酸的中链长脂肪酸子集）；在使用三种藻株的情况中，这些方法包括产生三个中链长脂肪酸子集（其中三种藻株中没有一种单独产生包括 C10、C12 和 C14 脂肪酸的中链长脂肪酸子集），等等。

[0051] 如在此所用的“中链长组合”是来自第一种藻株和一种或多种其他藻株的组合的中链长产物（脂肪酸或烃），其中中链长组合包括碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸或烃。中链长组合包括中链长脂肪酸或中链长烃，这取决于产品所处的加工阶段。在一个实施方案中，第一种藻株和一种或多种藻株是共同培养的；在这种情况下，在油提取时就获得了含有中链长脂肪酸的中链长组合；如果然后将中链长组合进一步加工，以产生烃级分（参见下文），那么中链长组合将在烃分馏后含有中链长烃。在另一个实施方案中，将第一种藻株和一种或多种其他藻株分开培养；在该实施方案中，有时候在油提取后获得中链长组合。例如，可以在油提取后立即，或在其他步骤后，如在烃分馏后，或在产生一种或多种富含中链长烃生产后（参见下文），将第一个和第二个（或更多个）子集混合（形成含有中链长脂肪酸的中链长组合）；任一种情况将形成含有中链长烃的中链长组合。如本领域技术人员所知的，如果使用三种或更多种藻株，可以将它们共同培养，或将一个子集共同培养，而将其其他藻株分开培养，因此它们的中链长脂肪酸子集或中链长烃的组合可以包括多种组合情况。

[0052] 中链长组合含有碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸或烃，其中不管是来自第一种藻株单独的油还是来自一种或多种其他藻株中任一种单独的油都不含可检测水平的碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸中的每一种。

[0053] 该第一个方面的方法包括使用两种或更多种藻株，其中不管是来自第一种藻株单独的油还是来自一种或多种其他藻株单独的油都不含可检测水平的碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸中的每一种。如在此所用的，“可检测”水平意思是给定碳链长脂肪酸表示从藻株获得的油中总脂肪酸产品的至少 1%。

[0054] 如本领域技术人员所知的，从藻类提取油可能伴随着其他藻类生物质的提取，在提取过程中，将其他藻类生物质从油中分离出来。因此，在另一个实施方案中，本发明的方

法进一步包括分离藻类生物质。这样的生物质可以包括,但不限于,散装产品(例如,用于动物饲料和生物肥料);乙醇和甲醇(需要随后的发酵;例如,用于能量产生中);特殊产品,包括但不限于色素(叶绿素)、聚合物、类胡萝卜素(例如, β -胡萝卜素、玉米黄质、叶黄素和虾青素)和多不饱和脂肪酸。

[0055] 在另一实施方案中,这些方法进一步包括将从第一种藻株和一种或多种其他藻株中提取出来的油转化成烃级分(即:将脂肪酸转化成烃)。可以使用任何合适的将藻类脂肪酸转化成烃的方法,包括但不限于,脱氧/氢化处理,如通过化学催化或加氢。按照烃分馏制得的中链长组合含有中链长烃。可以在烃分馏后全部或部分地(通过混合产自少于全部所用藻株产生的烃级分)产生这样的中链长组合,或可以在从每种藻株提取油时分开进行烃分馏。烃级分中存在的烃的至少 30%是中链长烃;在进一步的实施方案中,烃级分中存在的烃的至少 35%、40%、45%、50%、55%或更多是中链长烃。

[0056] 如本领域技术人员所知的,在烃分馏过程中,还获得了烃转化的副产物,如较轻的烃级分(例如,C1-C6)和/或甘油(丙三醇)。因此,在进一步的实施方案中,这些方法进一步包括分离短链烃分子(C1-C6)和/或甘油。短链烃可以用于例如制造尾气或汽油。甘油具有许多用途,包括但不限于,用于药品中(用作/用于,例如,润滑剂、湿润剂、祛痰剂、咳嗽糖浆等)、个人护理产品(用作/用于,例如,润肤剂、润滑剂、保湿剂、溶剂、牙膏、漱口水、护肤品、肥皂等)和食品/饮料制品(甜味剂、填充剂等)。

[0057] 在进一步的实施方案中,这些方法包括将烃级分精炼以产生一种或多种富含中链长烃的级分,其中一种或多种级分含有一种或多种富含碳链长 C10、C12 和/或 C14 烃的级分。例如,分离/精炼技术分离并浓缩了来自脱氧处理的所需烃级分,形成一系列富含一种或多种特定碳链长烃的精炼级分。精炼后制得的中链长组合含有中链长烃。可以在精炼后全部或部分地(通过合并产自少于全部所用藻株产生的烃级分)产生这样的中链长组合,或可以在从每种藻株提取油时分开进行精炼。一种或多种级分可以包括含有 C10、C12 和 C14 链长烃的单个级分,三个分开的级分,一个含有 C10 链长烃,一个含有 C12 链长烃,一个含有 C14 链长烃,或其其他变化形式。每个富含中链长烃的级分中存在的烃的至少 90%是所需链长的烃;各种进一步的实施方案中,每个富含中链长烃的级分中存在的烃的至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多是所需链长的烃。

[0058] 可以使用任何合适的精炼方法,用来分离和浓缩富含中链长脂肪酸的级分。在各种实施方案中,精炼包括真空蒸馏或分子蒸馏,以从长链脂肪酸(C18 或更长)或 FAME 中分离和纯化中链(C8-C16)脂肪酸(FA)或脂肪酸甲酯(FAME)。真空蒸馏已经广泛用于石油精炼中,而分子蒸馏是较新的技术,已经证明了能有效地从复杂的液体组合中分离出一种液体。真空蒸馏在原理上与常规的分馏(通常称为常压蒸馏,以与真空方法相区分)相似,除了在真空蒸馏中使用较大直径的柱,来维持降低的操作压力下相当的蒸汽速率。通过真空泵或蒸汽喷射器产生 50 至 100 毫米汞绝对值的真空。真空蒸馏的主要优势在于可以在比常压下所需的那些低的温度下蒸馏较重的物质,因此避免了成分的热裂化。蒸馏方法的延伸,超精馏使用较小直径的柱,具有更大的塔板数(100 或更多)和超过 5:1 的回流比。使用这样的装置,可以分离非常窄范围的成分或甚至纯化合物。常见的应用包括高纯度溶剂如异链烷烃或用作石化产品的单独的芳香化合物的分离。

[0059] 分子蒸馏的特征在于蒸馏的液体暴露于升高温度的时间短,蒸馏空间的高真空以

及冷凝器和蒸发器之间的距离小。通过以均匀薄膜的形式分配液体来确保液体在蒸发柱上几秒钟至 1 分钟的短时停留。通过将蒸发器中的非冷凝气体的压力降至 0.1Pa,可以获得蒸馏温度的降低。分子蒸馏在通常由复杂的和热敏感性的分子组成的天然产物的分离、纯化和浓缩中显示出前景。此外,该方法具有优于使用溶剂作为分离剂的其他技术的优势,避免了毒性问题。离心和降膜是使用蒸馏液体短时暴露于蒸发柱的分子蒸馏装置的两种基础类型。这些类型的蒸馏装置已经用于证明和比较许多不同化合物的蒸馏,如脂肪酸,包括分子结构中具有相同碳原子数的异构体(例如:该技术可以用于将 C18:3 从 C18:2、C18:1 或 C18:0 中分离出来)。

[0060] 精炼过程形成一种或多种富含一种或多种中链长脂肪酸(例如, C10、C11、C12、C13 或 C14)的精炼油。在进一步的实施方案中,一种或多种级分进一步含有一种或多种富含碳链长 C16 脂肪酸的级分。

[0061] 在另一个实施方案中,这些方法进一步包括将一种或多种中链长烃级分混合。这样的混合可以包括对于给定目的需要的中链长脂肪酸级分的任意组合(即, C10 和 C12 ;C12 和 C14 ;C10 和 C14 ;C8, C10 和 C16 等)。例如,混合可以形成一系列富含两种或更多种特定碳链长的烃的精炼油。

[0062] 在一个实施方案中,混合可以用来产生煤油。如在此所用的,“煤油”是 C8-C16 范围中各种烃的分布;优选在 C10-C16, C8-C14 或 C10-C14 范围中,并可以用于例如喷气发动机燃料中(包括但不限于, Jet-A、Jet-A1、Jet-B、JP-4、JP-5、JP-7 和 JP-8);火箭燃料(包括但不限于 RP-1);加热燃料(如在煤油加热器、便携式炉子和其他加热源中);以及用于不适用电力的动力器具中。本领域技术人员可以理解还可以通过从烃级分合适地生产中链长烃级分来产生煤油。在一个实施方案中,生产煤油包括混合两种或更多种富含中链烃的级分,其中所得到的煤油含有至少 50%的 C10、C12 和 C14 链长烃;在各种进一步的实施方案中,至少 55%、60%、65%、70%、75%、89%、85%、90%、95%、98%的碳链长 C10、C12 和 C14 烃。因此混合的级分可以含有相同类型或不同的中链长烃。在另一个实施方案中,煤油可以进一步含有碳链长 C16、C8 和 / 或 C9 脂肪酸,如果存在,各自为煤油中存在的总烃的 15%或更少;在优选的实施方案中,如果存在,各自低于煤油中存在的总烃的 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或更少。

[0063] 因此根据石油产生的 JP-8 或其他航空燃料的产品规格和限定,通过将一种或多种富含中链长烃的级分与其他添加剂混合,可以获得合适的 JP-8 替代燃料。

[0064] 在本发明第一个方面中的所有实施方案的进一步实施方案中,第一种藻株和一种或多种其他藻株选自粉核油球藻、隐球藻属 (Kenyon, 1972)、长耳盒形藻 (Orcutt & Patterson 1975)、隐甲藻属、赫氏圆石藻 (Volkman 等, 1981)、Nitzschia alba (Tornabene 等, 1974)、小定鞭藻 (Lee & Loeblich, 1971)、中肋骨条藻 (Ackman 等, 1964) 和红海束毛藻 (Parker 等, 1967)。图 1 或表 1 中可以找到这些生物体产生的中链脂肪酸类型(以及因此潜在的中链脂肪酸子集);基于在此的教导,本领域技术人员将理解使用哪种藻株,取决于所需的中链长组合的类型。在特定的实施方案中,鉴定的藻株如下:

[0065] 粉核油球藻 (Pinguiphyceae) CCMP 2078

[0066] 隐甲藻属 CCMP 316

[0067] 隐球藻属 CCMP 2524

[0068]	长耳齿状藻 (<i>Odontella aurita</i>)	CCMP 145
[0069]	赫氏圆石藻	CCMP 1742
[0070]	<i>Nitzschia alba</i>	CCMP 2426
[0071]	小定鞭藻	CCMP 1962
[0072]	中肋骨条藻	CCMP 1281
[0073]	红海束毛藻	CCMP 1985

[0074] 所有藻株可以获自 CCMP 地址: Provasoli-Guillard National Center for the Culture of Marine Phytoplankton, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, P. O. Box 475, 180 McKown Point Road, West Boothloay Harbor, Maine 04575, U. S. A.

[0075] 在第二个方面中, 本发明提供了生产藻类中链长脂肪酸的方法, 其包括:

[0076] (a) 在适于促进中链长脂肪酸生长的条件下培养粉核油球藻; 和

[0077] (b) 从培养的粉核油球藻中提取油, 其中提取的油含有 C14 和 C16 链长脂肪酸。

[0078] 本发明人已经发现粉核油球藻, 如变种 CCMP 2078 (以下所述的), 能够产生大量中链长脂肪酸。因此, 本发明的该第二个方面中的方法可以用于各种目的, 包括但不限于, 生产基于藻类的煤油替代品、高质量的去污剂和研究试剂 (例如, 用作标准品的单链长的分离的烃级分, 可以将该标准品任选标记以用于研究用途)。

[0079] 本发明该第二个方面中所用的术语具有本发明第一个方面中所提供的相同意义, 并且第一个方面的实施方案也适用于该第二个方面。在进一步的实施方案中, 这些方法包括将从粉核油球藻中提取出来的油转化成烃级分, 其中烃级分如上所述。在另一个实施方案中, 这些方法进一步包括将烃级分精炼, 以产生一种或多种富含中链长烃的级分, 其中一种或多种级分含有至少一种富含碳链长 C14 烃的级分。在进一步的实施方案中, 一种或多种级分含有至少一种富含碳链长 C16 烃的级分。在进一步的实施方案中, 该方法进一步包括将一种或多种富含中链长烃的级分混合, 以产生例如煤油。这样的混合可以进一步包括与源自另一种藻株的中链长烃级分混合, 如 C10 和 / 或 C12 链长烃链 (例如, 源自隐甲藻属和 / 或红海束毛藻的那些)。该第二个方面的方法还可以包括分离藻类生物质, 和 / 或分离短链烃分子和 / 或甘油, 如以上本发明第一个方面中所公开的。

[0080] 在第三个方面中, 本发明提供了生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法, 包括:

[0081] (a) 在适于促进中链长脂肪酸生长的条件下培养粉核油球藻;

[0082] (b) 培养一种或多种可以产生并累积大量 C10 和 / 或 C12 链长脂肪酸的其他藻株, 其中在适于促进 C10 和 / 或 C12 链长脂肪酸产生的条件下进行培养; 和

[0083] (c) 从培养的粉核油球藻和一种或多种其他藻株中提取油以产生中链长组合; 其中中链长组合包括碳链长 C14 和一种或多种碳链长 C10 和 C12 脂肪酸或烃。

[0084] 本发明该第三个方面中的方法可以用于各种目的, 包括但不限于, 生产基于藻类的煤油替代品、高质量的去污剂和研究试剂 (例如, 用作标准品的分离的单链长烃级分, 可以将该标准品任选标记以用于研究用途)。本发明的该第三个方面中所用的术语具有本发明第一个方面中所提供的相同意义, 并且第一个方面的实施方案也适用于该第三个方面。在各种实施方案中, 一种或多种其他藻株是隐甲藻属和红海束毛藻中的一种或两种。在进一步的实施方案中, 中链长组合含有碳链长 C10、C12 和 C14 脂肪酸或烃。在进一步的实施方案中, 中链长组合含有碳链长 C16 脂肪酸或烃。在进一步的实施方案中, 通过在油提取

后,混合从粉核油球藻和一种或多种其他藻株中提取出来的油来制得中链长组合。在进一步的实施方案中,通过从含有粉核油球藻和一种或多种其他藻株的组合中提取油来制得中链长组合。在进一步的实施方案中,这些方法包括将从粉核油球藻和一种或多种其他藻株中提取出来的油转化成烃级分,其中烃级分如上所述。在另一个实施方案中,这些方法进一步包括将烃级分精炼,以产生一种或多种富含中链长烃的级分,其中一种或多种级分含有一种或多种富含碳链长 C10、C12 和 / 或 C14 烃的级分。在进一步的实施方案中,一种或多种级分含有至少一种富含碳链长 C16 烃的级分。在进一步的实施方案中,该方法进一步包括将一种或多种富含中链长烃的级分混合,例如以产生煤油。该第三个方面的方法还可以包括分离藻类物质,和 / 或分离短链烃分子和 / 或甘油,如上所述。在上述任一进一步的实施方案中,一种或多种其他藻株包括第二种藻株和第三种藻株,其中第三种藻株选自隐球藻属、长耳盒形藻、隐甲藻属、赫氏圆石藻、Nitzschia alba、小定鞭藻、中肋骨条藻和红海束毛藻。

[0085] 在第四个方面中,本发明提供了生产藻类中链长脂肪酸或烃的方法,其包括:

[0086] (a) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养红海束毛藻,其中中链长脂肪酸包括 C10 链长脂肪酸;

[0087] (b) 在适于促进中链长脂肪酸产生的条件下培养隐甲藻属,其中中链长脂肪酸包括 C12 链长脂肪酸;和

[0088] (c) 从培养的红海束毛藻和隐甲藻属中提取油以产生中链长组合;其中中链长组合包括碳链长 C10 和 C12 脂肪酸或烃。

[0089] 本发明该第四个方面的方法可以用于各种目的,包括但不限于,生产基于藻类的煤油替代品、高质量的去污剂和研究试剂(例如,用作标准品的分离的单链长烃级分,可以将该标准品任选标记以用于研究用途)。本发明的该第四个方面中所用的术语具有本发明第一个方面中所提供的相同意义,并且第一个方面的实施方案也适用于该第四个方面。在一个实施方案中,中链长组合进一步含有糖链长 C14 脂肪酸或烃。在进一步的实施方案中,这些方法进一步包括 (d) 在促进中链长脂肪酸产生的条件下培养一种或多种选自粉核油球藻、隐球藻属、长耳盒形藻、赫氏圆石藻、Nitzschia alba、小定鞭藻、中肋骨条藻和红海束毛藻的藻株,其中中链长脂肪酸包括 C14 和 / 或 C16 链长脂肪酸;和 (e) 从培养的一种或多种藻株中提取油以包括在中链长组合中;并且其中中链长组合包括碳链长 C14 和 / 或 C16 脂肪酸或烃。在进一步的实施方案中,通过在油提取后,混合来自红海束毛藻和隐甲藻属培养物中提取出来的油来制得中链长组合。在另一个实施方案中,通过从含有红海束毛藻和隐甲藻属的培养物中提取油来制得中链长组合。在另一个实施方案中,通过在油提取后,混合从红海束毛藻、隐甲藻属和一种或多种藻株中提取出来的油来制备中链长组合。在进一步的实施方案中,通过从含有红海束毛藻、隐甲藻属和一种或多种藻株的培养物中提取油来制得中链长组合。在进一步的实施方案中,这些方法进一步包括将从藻株中提取出来的油转化成烃级分,如上所述。这些方法可以进一步包括将烃级分精炼以产生一种或多种富含中链长烃的级分,其中一种或多种级分含有一种或多种富含碳链长 C10 和 C12 烃的级分,并任选地含有 C14 和 / 或 C16 烃。这些方法可以进一步包括将一种或多种富含中链长烃的级分混合,例如,以产生煤油。各种实施方案中,这些方法进一步包括分离藻类物质,和 / 或分离短链烃分子和 / 或甘油,如以上本发明的第一个方面中所述的。

[0090] 在第五个方面中,本发明提供了含有两种或更多种选自粉核油球藻、隐球藻属、长耳盒形藻、隐甲藻属、赫氏圆石藻、*Nitzschia alba*、小定鞭藻、中肋骨条藻和红海束毛藻的分离藻株。其中这两种或更多种藻株构成组合物中存在的藻类的至少 90%。在进一步的实施方案中,组合物中存在的藻类的至少 95%、98%或 99%是所述的藻类类型。可以将分离的藻类组合物培养或存储在溶液中、冷冻、干燥或在固体琼脂平板上。或者,组合物可以含有以例如藻粉形式的收集的藻类组合物(湿或干的)。在特定的实施方案中,鉴定的藻株如下:

[0091]	粉核油球藻 (<i>Pinguiphyceae</i>)	CCMP 2078
[0092]	隐甲藻属	CCMP 316
[0093]	隐球藻属	CCMP 2524
[0094]	长耳齿状藻	CCMP 145
[0095]	赫氏圆石藻	CCMP 1742
[0096]	<i>Nitzschia alba</i>	CCMP 2426
[0097]	小定鞭藻	CCMP 1962
[0098]	中肋骨条藻	CCMP 1281
[0099]	红海束毛藻	CCMP 1985

[0100] 所有藻株可以获自 CCMP 地址:Provasoli-Guillard National Center for the Culture of Marine Phytoplankton, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, P. O. Box 475, 180 McKown Point Road, West Boothloay Harbor, Maine 04575, U. S. A.

[0101] 本发明该方面中的组合物可以用于,例如,本发明的方法中。在一个实施方案中,组合物含有三种或多种选自该组的分离藻种。在进一步的实施方案中,两种或更多种分离的藻株包括粉核油球藻。在进一步的实施方案中,两种或更多种分离的藻株包括隐甲藻属和红海束毛藻中的一种或两种。

[0102] 在第六个方面中,本发明提供了基本上纯的培养物,其包括:

[0103] (a) 生长培养基;和

[0104] (b) 发明第五个方面的任一组合物的实施方案中的组合物。

[0105] 如在此所用的,术语“生长培养基”指任何适用于培养本发明的藻类的培养基。本发明的藻类可以依赖 CO_2 和阳光,加上最小量的微量营养素来光合成生长。生长培养基的体积可以是任何适于为任何目的的藻类培养的体积,不管是用于标准实验室培养,或是用于例如中链脂肪酸生产的大规模培养。合适的藻类生长培养基可以是任何这样的培养基,包括但不限于, BG-11 生长培养基(参见,例如, Rippka, 1979);使用 10 至 38℃ 的培养温度;在其他实施方案中,使用 15 至 30℃ 的温度范围。相似地,使用 $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 至 $1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的光强;在各种实施方案中,范围可以是 $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 至 $500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 或 $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 至 $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。此外,使用 0% 至 20% 的 CO_2 进行通气;在各种实施方案中,使用 0.5% 至 10% 的 CO_2 、0.5% 至 5% CO_2 或 0.5% 至 2% CO_2 来进行通气。

[0106] 为了维持和存储的目的,可以将本发明的组合物维持于标准人造生长培养基中。对于常规维持目的,可以在适当光强范围 (10 至 $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 的持续照明或光/暗周期以及温度 (18℃ 至 25℃) 下,将组合物保持在液体培养物或固体琼脂平板中。培养 pH 可以为 pH 6.5 至 pH 9.5。对于组合物的维持,不需要 CO_2 富集。在各种非限制的实例中,生长罐

中培养基的温度优选维持在约 10℃至约 38℃,在进一步的实施方案中,约 20℃至约 30℃。在各种实施方案中,用于培养本发明组合物的生长培养基包括废水或废气,如上所讨论的。

[0107] 在第七个方面中,本发明提供了藻类产生的烃级分。在一个实施方案中,通过本发明第一个、第二个、第三个或第四个方面的任一实施方案的方法来产生藻类产生的烃级分。第一个、第二个、第三个和第四个实施方案的术语和实施方案适用于该第七个实施方案。烃级分中存在的至少 30%烃是中链长烃;在进一步的实施方案中,烃级分中存在的至少 35%、40%、45%、50%、55%或更多的烃是中链长烃。

[0108] 在第八个方面中,本发明提供了藻类产生的、分离的中链烃级分。在一个实施方案中,通过本发明第一个、第二个、第三个或第四个方面的任一实施方案的方法来产生分离的中链烃级分。第一个、第二个、第三个和第四个实施方案的术语和实施方案适用于该第七个实施方案。每种富含中链长烃中存在的烃的至少 90%是所需链长的烃;在各种进一步的实施方案中,每种富含中链长烃中存在的烃的至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多是所需链长的烃。

[0109] 在第九个方面中,本发明提供了藻类产生的煤油。在一个实施方案中,通过本发明第一个、第二个、第三个或第四个方面的任一实施方案的方法来产生煤油。第一个、第二个、第三个和第四个实施方案的术语和实施方案适用于该第七个实施方案。在一个实施方案中,产生煤油包括将两种或更多种富含中链长烃的级分混合,其中所得到的煤油包括至少 50% C10、C12 和 C14 链长烃;在各种进一步的实施方案中,至少 55%、60%、65%、70%、75%、89%、85%、90%、95%、98%碳链长 C10、C12 和 C14 烃。因此混合的级分可以含有相同类型或不同类型的中链长烃。在另一个实施方案中,煤油可以进一步含有碳链长 C16、C8 和 / 或 C9 脂肪酸,如果存在,各自以总烃的 15%或更少存在于煤油中;在优选的实施方案中,如果存在,各自以低于总烃的 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或更少存在于煤油中。。

[0110] 实施例 1

[0111] 图 2 中显示了所提出的基于藻类的喷气发动机燃料生产的总流程图。

[0112] 在各种非限制性实例中,可以结合基于藻类的中链长脂肪酸生产来进行以下过程:

[0113] 使用各种生长于一个或多个相同或不同设计的光生物反应器中的藻种来生产藻类饲料。每种选定的藻种将产生大量富含一种或多种中链长脂肪酸 / 酯的油。

[0114] ●收集富含油的细胞并干燥成藻粉形式。

[0115] ●使用化学提取方法,将藻粉接受溶剂提取。超临界液体提取方法也可以用作可替换方案。

[0116] ●将所得到的藻油接受脱氧 / 氢化处理,以将藻油转化成烃。

[0117] ●分离 / 精炼技术从脱氧处理中分离和浓缩所需的烃级分。因此,将产生一系列富含一种或多种特定碳链长烃的精炼油。

[0118] ●根据石油产生的 JP-8 或其他航空燃料的产品规格和限定,通过将几种精炼藻油与其他添加剂混合获得可接受的 JP-8 替代燃料。

[0119] ●作为藻油提取的副产品,制得藻类生物质残余物并用于填充物质,例如,用于富含蛋白质的动物饲料或富含多糖的生物聚合物和肥料。也可以从选定的藻株提取和分离一

些特定的产品,如高价值的类胡萝卜素(例如, β -胡萝卜素、玉米黄质、叶黄素和虾青素)。

[0120] ●还可以获得来自油提取过程的含高碳水化合物的生物质,并用作发酵或厌氧消化的底物来产生乙醇和/或甲醇,其随后用于产生藻类物质培养和油加工/精炼处理需要的电力/能量。可以将剩余未消化的生物质残余物燃烧,用于另外的热量和电力。可以将从厌氧消化和燃烧过程产生的 CO_2 返回至光生物反应器中,由藻类来使用,达到零净 CO_2 排放。

[0121] ●本发明的方法使用藻类,用于中链脂肪酸提取并转化成烃,因此最小化或消除了使用裂化来产生烃的需要,因此很大程度上降低了成本和能量消耗。此外,所得到的短链烃分子可以作为方法的副产品分离出来,来制备尾气或汽油。

[0122] 实施例 2

[0123] 我们已经从各种在我们实验室中分离并维持的藻种/株筛选出中链油生产者。我们实验室中测试的藻株之一是海藻粉核油球藻 (Pinguiphyceae) CCMP 2078(Provasoli-Guillard National Center for the Culture of Marine Phytoplankton, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, P.O.Box 475, 180 McKown Point Road, West Boothloay Harbor, Maine 04575, U.S.A.), 其具有产生富含 C14 脂肪酸脂质的能力,其构成 30 至 50% 细胞产生的总脂肪酸。表 1 中公开了粉核油球藻的脂肪酸组成。

[0124] 表 1:粉核油球藻的脂肪酸组成。藻类生长于 h/2 生长培养基中并暴露于 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光强和 25°C 。

[0125]	脂肪酸	总脂肪酸的%
[0126]	14:0	49.42
[0127]	16:0	30.15
[0128]	16:1	1.02
[0129]	18:0	2.13
[0130]	18:1	3.8
[0131]	18:2	1.62

[0132] 图 1 列出了八种 (8) 作为实例的产中链油藻种,其含有中链脂肪酸作为主要的碳链长 (30 至 70% 总脂肪酸)。

[0133] 我们的研究已经揭示了隐甲藻属 CCMP 316(Provasoli-Guillard National Center for the Culture of Marine Phytoplankton, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, P.O.Box 475, 180 McKown Point Road, West Boothloay Harbor, Maine 04575, U.S.A.) 呈现出 5 至 10 小时平均倍增时间的生长速率。该生物体的 C12+C14 脂肪酸含量构成超过总细胞干重的 40%。还发现该藻株能够使用葡萄糖作为唯一碳源和能源经异养生长,使其特别适于户外物质培养,其中细胞在白天通过光合成产生有机化合物。此外,该藻株在生长条件下可以累积 C12 和 C14 脂肪酸,表现出涉及脂质生物合成途径的基因/酶连续表达,这是确保在最佳培养条件下细胞物质以及 C12 和 C14 脂肪酸伴随行的最大持续产生。这与许多之前报道的在不利生长条件下只累积长链 (C16 和 C18) 脂肪酸的藻种/株非常不同,那些导致降低的生物质产量。我们的 C10 至 C14 藻株还与殖民化的绿藻布朗葡萄藻 (*Botryococcus braunii*) 相反,在环境应力条件下,其生长非常缓慢(例如,单细胞

小球藻 (*Chlorella*) 的 1/10 速率) 并且能够只产生长链烃 (C23 至 C40), 其单独不可以容易地用作基于煤油的 JP-8, 而必须接受热 / 化学裂化, 这是一个耗能集中的过程。

[0134] 参考文献:

[0135] 1. Kenyon, C. N. 1972. Fatty acid composition of unicellular strains of blue-green algae. *J. Bacteriol.* 109 :827-834.

[0136] 2. Orcutt, D. M. and Patterson, G. W. 1975. Sterol, fatty acid and elemental composition of diatoms grown in chemically media. *Comp. Biochem. Physiol.* 50B : 579-583.

[0137] 3. Volkman, J. K. , Smith, D. J. , Eglinton, G. , Forsberg, T. E. V. and Corner, E. D. S. 1981. Sterol and fatty acid composition of four marine haptophycean algae. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 61 :509-527.

[0138] 4. Tornabene, T. G. , Kates, M. and Volcani, B. E. 1974. Sterol aliphatic hydrocarbons, and fatty acids of a nonphotosynthetic diatom, *Nitzschia alba*. *Lipids.* 9 :279-284.

[0139] 5. Lee, R. F. and Loeblich III, A. R. 1971. Distribution of 21 :6 hydrocarbon and its relationship to 22 :6 fatty acid in algae. *Phytochemistry.* 10 :593-602.

[0140] 6. Ackman, R. G. , Jangaard, P. M. , Hoyle, R. J. and Brockerhoff, H. 1964. Origin of marine fatty acids. I. Analyses of the fatty acids produced by the diatom *Skeletonema costatum*. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 21 :747-756.

[0141] 7. Parker, P. L. , van Baalen, C. and Maurer, L. 1967. Fatty acids in eleven species of bluegreen algae : geochemical significance. *Science.* 155 :707-708.

[0142] 8. Shay, E. G. 1993. Diesel fuel from vegetable oils : Status and opportunities. *Biomass and Bioenergy* 4(4) :227-242.

[0143] 9. Srivastava, A. and Prasad, R. 2000. Triglycerides-based diesel fuels. *Renewable & Sustainable Energy reviews.* 4 :111-133.

脂肪酸	隐球藻属 (1)	长耳金形藻 (2)	隐甲藻属 (3)	赫氏圆石藻 (4)	Nitzschia alba (5)	小定鞭藻 (6)	中肋骨条藻 (7)	红海束毛藻 (8)
C10:0								27-50
C11:0								2-5
C12:0			32					
C14:0	29-34	32		35	30	69	32	7-21
C14:1			45					
C14:2	9-13						4	
C15:0			0.1	2				1-2
C16:0		5	12	5	21	9	7	11-17
C16:1n-5	5-7							
C16:1n-7		27			8	1	17	4-7
C16:1n-9	36-39				24			
C16:2n-4							6	
C16:2n-7		2					1	
C16:3		8					6	
C17:0							6	
C18:0	1-2		1	1				2-6
C18:1n-7				1				
C18:1n-9	1-2		4	14		10	3.0	3-7
C18:1n-13								1-4
C18:2n-6	1-2		0.1	2	5	1		
C18:3n-3				7				6-19
C18:3n-6			0.1					
C18:4				8			3	
C18:5				10				
C20:0			0.1			2		
C20:1			0.2					
C20:2n-6			0.1			3		
C20:5		26			11		13	
C22:5n-3	1.0		2.3	1				
C22:6n-3			2.8	11		3.0		
C24:0							1	

图 1

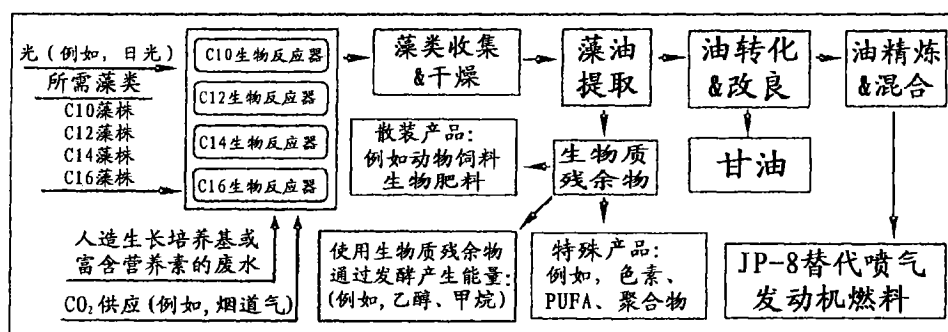


图 2