



基于酵母油脂技术的生物质炼制

张琚璐, 吕力婷, 梁世玉, 赵宗保*

大连理工大学生物工程学院智能生物制造教育部重点实验室, 大连 116024

*通讯作者, E-mail: zhaozb@dlut.edu.cn

收稿日期: 2024-10-29; 接受日期: 2024-12-09; 网络版发表日期: 2024-12-24

国家重点基础研究发展计划(编号: 2021YFA0910600)和国家自然科学基金(编号: 22238010, 22308350)资助项目

摘要 油脂是食品、生物能源、功能材料及医药化工的基础原料, 但我国油脂资源长期短缺. 由于耕地必需保障粮食作物种植, 我国难以通过扩种油料植物解决油脂短缺问题. 木质纤维素类生物质资源丰富, 可为通过现代生物技术合成油脂提供物质基础. 我们提出了基于酵母油脂技术的生物炼制思路, 但其技术经济性尚受制于过程复杂、原料利用度偏低和油脂得率低等关键问题. 因此, 致力于生物质转化为油脂的全链条创新研究, 涉及预处理与生物质糖制备、油脂发酵过程工程、资源综合利用、圆红酵母(*Rhodotorula toruloides*)产油机制解析和先进脂质细胞工厂构建等. 本综述简要回顾了酵母油脂技术的背景, 重点介绍了作者近年来在本领域的研究成果, 并展望了未来如何推动其产业化应用进程.

关键词 生物质, 生物转化, 产油酵母, 生物燃料, 油脂化学品, 生物炼制, 生物制造

1 引言

生物质是指通过光合作用而形成的各种有机体, 具有可再生的特点. 本文讨论可被规模化利用的生物质资源, 特别是以秸秆为代表的木质纤维素原料. 据统计, 2017年我国农作物秸秆产生量干重就达8亿多吨^[1]. 随着我国农业生产持续发展, 秸秆年产生量仍呈现增加趋势. 以生物质等可再生资源为原料, 采用绿色加工过程, 生产大宗产品, 对社会经济发展、能源转型和最终实现环境保护与可持续发展目标具有重要意义^[2]. 例如, 发展纤维素乙醇、生物柴油和生物航煤技术, 可降低对化石原料进口依存度, 提高能源自给率 and 安全性. 此外, 生物质利用可减少温室气体排放, 保护生态环境.

油脂是食品、生物能源、功能材料及医药化工的基础原料, 其主要化学成分为长链脂肪酸甘油三酯. 当前全球油脂年产量约2.5亿吨. 作为重要资源, 油脂不仅支撑传统轻化工领域如洗涤剂、表面活性剂的生产等, 而且是发展可持续航空燃料(sustainable aviation fuel, SAF)的最理想原料^[3]. 然而, 我国油脂资源短缺, 长期依赖国外进口. 根据农业农村部信息中心统计, 2022年我国进口各类油籽9610万吨, 同期还进口植物油脂830万吨, 整体上对外依存度超过70%. 由于生物燃料行业需求强劲, 近年来传统油脂生产大国美国已从油脂出口国转变为净进口国, 这将对国际油脂资源供应链产生深远影响.

我国油脂来源主要以油料作物为主, 这些作物的种植在一定程度上占用了宝贵的耕地资源. 如果显著

引用格式: Zhang J, Lyu L, Liang S, Zhao ZK. Yeast lipid technology for biomass refinery. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 28–36, doi: 10.1360/SSC-2024-0253

增加油料作物的种植面积, 可能会对国家粮食安全产生一定的影响. 鉴于我国油脂对外依存度高及耕地资源紧缺的国情, 油脂供应安全是我国面临的重大挑战^[4]. 某些微生物具有“吃糖储油”的特殊表型, 称为产油微生物^[5]. 其中产油酵母胞内油脂的脂肪酸组成与植物油接近, 主要为碳链长度为16和18的脂肪酸, 可用于生产液体生物燃料和油脂化工产品. 常用的产油酵母有圆红酵母(*Rhodotorula toruloides*)又名圆红冬孢酵母(*Rhodospiridium toruloides*)、弯曲隐球酵母(*Cryptococcus curvatus*)、斯达氏油脂酵母(*Lipomyces starkeyi*)和解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)等. 早在2005年, 我们提出了发展微生物油脂技术, 为生物柴油产业提供廉价原料的思路^[6]. 具体地, 以秸秆等木质纤维素为原料制取糖, 再经产油酵母转化为油脂, 为制造液体生物燃料、油脂化学品和功能油脂提供新资源(图1). 巴西科研人员于2017年报道了以甘蔗汁为原料, 采用分批补料模式培养圆红酵母的中试实验数据^[7], 结果表明酵母油脂技术的单位面积土地油脂产能比种大豆高5倍, 且成本为0.72美元/升, 略低于大豆油价格(0.80美元/升). 因此, 酵母油脂技术有望成为传统植物油生产方式的重要补充, 具有重要意义和应用潜力^[8].

基于酵母油脂技术的生物炼制, 逐步受到学术界和产业界关注, 已成为生物质利用研究的重要方向, 近年来有不少综述文献阐述其重要意义^[9,10]. 本文主要介绍作者近年来以圆红酵母*R. toruloides*为主要宿主所取得的研究进展, 并展望未来如何推动该技术的产业化应用进程.

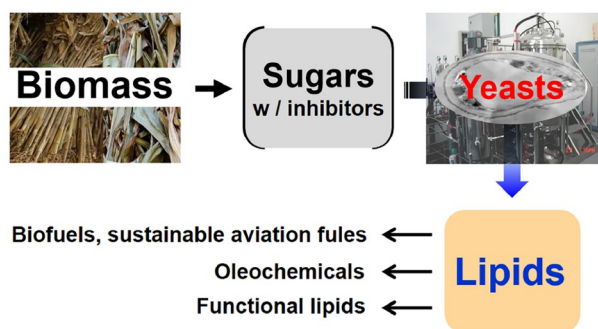


图1 (网络版彩图)基于酵母油脂技术的生物质炼制示意图
Figure 1 (Color online) Biomass refinery based on yeast lipid technology.

2 研究进展

生物质转化为油脂等脂质产品, 与转化为醇类产品如乙醇或有机酸类产品如琥珀酸相比, 在很多方面存在显著差异. 这是因为酵母油脂技术具有以下特点: (1) 大部分产油酵母可利用六碳糖和五碳糖混合物; (2) 产油培养过程一般对生物质降解副产物有较好耐受性; (3) 油脂为胞内产物. 因此, 从原料预处理、生物质制糖、发酵过程控制、下游产物分离、废弃资源利用到菌株改造技术, 需进行全链条创新研究. 以下分别介绍近期取得的进展.

2.1 生物质预处理及糖制备

木质纤维素是植物细胞壁的主要成分, 主要由纤维素、半纤维素和木质素组成, 此外还有少量果胶、含氮化合物和无机成分^[11]. 木质纤维素类生物质首先需转化为单糖, 才能更有效地被产油酵母转化利用. 该过程涉及预处理、酶解和木质素去除等步骤. 预处理旨在破坏木质纤维素的复杂结构, 提高纤维素和半纤维素可及性, 使其更易于酶解. 常用的预处理方法包括物理方法(如粉碎)、化学方法(如酸、碱或离子液体处理)、物理化学方法(如蒸汽爆破)以及生物方法(如用白腐真菌处理)等^[12]. 此外, 为了增强预处理效果, 也可联合使用多种预处理方法^[13]. 我们采用基于CO₂的可逆离子液体以及类似离子液体的有机电解质体系处理玉米秸秆^[14,15], 用于制备水解液培养圆红酵母, 菌体油脂含量可达51%, 表明这些预处理及秸秆糖制备过程可很好匹配油脂发酵技术^[15]. 此外, 通过球磨与热蒸汽联合处理玉米秸秆, 处理后10%固载量条件下酶水解, 葡萄糖和总还原糖回收率均达100%, 为原料充分利用奠定了基础^[16].

高固载量下生物质水解糖化对酵母油脂技术非常重要. 一方面, 高固载量是制备高糖浓度水解液的基础. 另一方面, 高固载量水解有利于降低成本和规模化生产. 文献报道, 在较低酶用量下, 采用分批补料的方法, 秸秆固载量最终达40 wt%, 水解液总糖浓度达255 g/L^[17]. 我们对碱-热预处理秸秆的浆液进行压榨, 脱除碱性黑液, 调整为固载量40 wt%下进行酶水解, 所得水解液直接用于培养圆红酵母, 最终菌体油脂含量达54%^[18].

除了以作物秸秆为代表的木质纤维素外, 微藻生

物质^[19]、酵母菌渣^[20]等, 经过合适预处理和水解, 得到水解液, 也可被产油酵母利用转化为油脂。此外, 含氮量较高的废弃资源, 如甲壳素降解的氨基糖混合物和废弃氨基酸混合物, 也可作为培养产油酵母的碳源, 用于制备油脂^[21~23]。

2.2 产油酵母培养过程

产油酵母的代谢调控及脂质代谢具有一些特点(图2)。首先, 产油酵母细胞线粒体中催化异柠檬酸脱氢反应合成 α -酮戊二酸的异柠檬酸脱氢酶受激活因子腺苷酸(AMP)调节。当胞内氮缺乏时, AMP脱氨生产肌苷酸(IMP, 图2b), 导致异柠檬酸脱氢酶活性下调, 三羧酸循环中柠檬酸积累, 从线粒体转入胞质中, 进而裂解为草酰乙酸和乙酰-CoA; 其中乙酰-CoA为脂肪酸合成提供前体, 而草酰乙酸再转化为丙酮酸的过程可产生1当量还原力NADPH, 用于补充脂肪酸合成对还原力的消耗^[5]。其次, 产油酵母合成的油脂主要贮存在脂滴(lipid droplets)中, 随着油脂不断合成, 胞内脂滴总量持续增加。

为了使产油酵母更多地将有机底物转化为油脂, 需要在特定条件下培养。营养限制是诱导产油微生物过量积累油脂的重要方式。常见的营养限制元素包括

氮、磷、硫、铁和氧等, 其中氮限制是最常用的方式。我们研究发现, 在磷限制条件下, AMP发生脱磷酸作用转化为腺苷(图2b), 同样导致异柠檬酸脱氢酶活性下降, 进而诱导油脂积累^[24,25]。从上述代谢调控机制可知, 细胞生长和油脂积累存在着相互竞争关系。一方面, 三羧酸循环下调将抑制细胞增殖, 不利于获得大量细胞以贮存更多油脂; 另一方面, 三羧酸循环下调可节省碳资源用于脂肪酸合成。因此, 需要合理调控产油酵母培养过程。

产油酵母培养方式有分批培养和连续培养。由于油脂是胞内产物, 最终需要从菌体中提取油脂, 通常采取分批培养方式。当碳源组成明确时, 可通过优化培养基中其他成分用量, 以获得较高油脂得率。值得注意的是, 当碳源浓度超过100 g/L时, 会明显抑制产油酵母生长。因此, 简单分批模式下培养产油酵母, 难以获得高细胞密度及高生产强度。由于酵母油脂生产工艺中游设备成本的70%以上为发酵罐成本, 提高细胞密度, 减小反应器体积, 对降低成本非常关键^[9]。为提高细胞密度和油脂得率, 可采用补料分批培养方式。例如, 在15-L发酵罐中采用补料分批模式培养*R. toruloides* Y4, 最终生物量和油脂生产强度分别高达

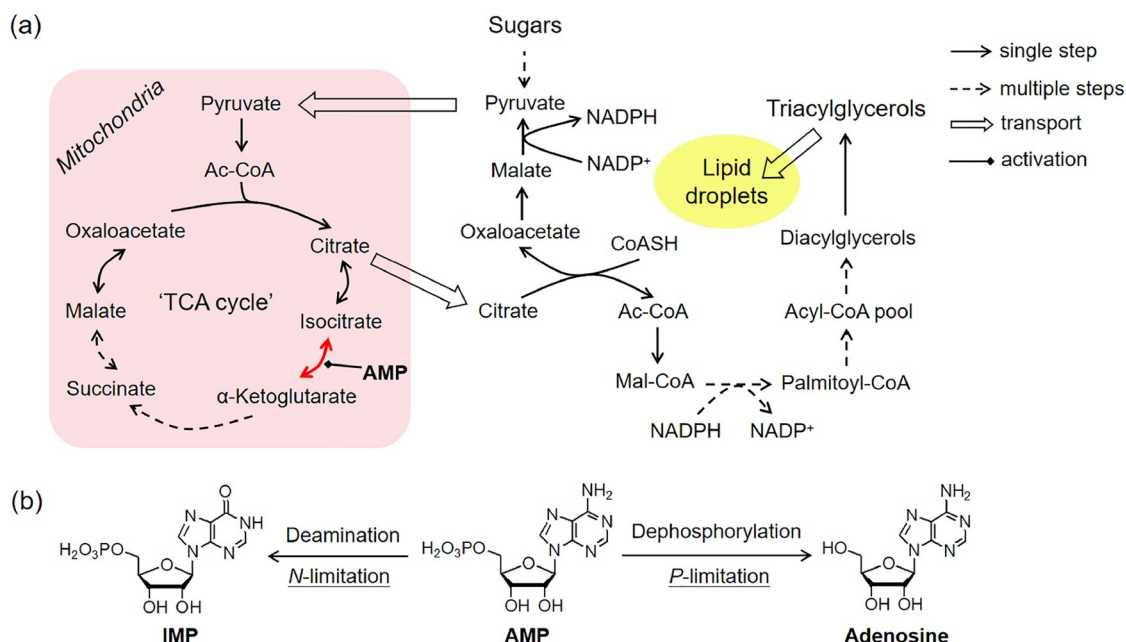


图2 (网络版彩图)产油酵母油脂积累相关的重要步骤。(a) 糖转化为油脂的一些主要步骤。(b) 氮-或磷-限制条件下腺苷酸降解转化反应

Figure 2 (Color online) Key steps related to lipid accumulation by oleaginous yeasts. (a) Key steps for conversion of sugars into triacylglycerols. (b) Conversion of AMP into different products under *N*- or *P*-limited conditions.

106 g/L和0.54 g/(L/h), 远高于简单分批模式的结果^[26]. 此外, 还可采用两阶段培养模式, 即在第一阶段使用营养丰富培养基快速增殖获得细胞量, 而在第二阶段仅补充碳源使细胞高效合成油脂. 以葡萄糖为碳源, 在7-L发酵罐中采用两阶段模式培养*L. starkeyi*, 油脂生产强度可达1.6 g/(L/h)^[27].

对于秸秆等生物质原料, 通常采用先制备水解液, 再进行产油酵母培养的分步糖化-产油培养策略. 以玉米秸秆为原料, 采用该策略, 完成了1000-L发酵罐规模酵母油脂技术全流程放大试验, 取得了重要进展^[28], 油脂量、生产强度和油脂得率分别达5.6 g/L、2.8 g/(L/d)和0.17 g/g总还原糖. 但是, 该策略工艺流程长, 水解液中五碳糖利用率偏低. 我们在研究中发展了同步糖化-产油培养策略, 实现了秸秆“一锅法”转化制油脂^[29]. 该策略不仅集成了酶水解和细胞培养过程, 而且半纤维素水解释放的五碳糖不在反应体系中积累, 从而实现了纤维素和半纤维素共利用高效合成油脂的技术效果. 更进一步, 建立了预水解耦合同步糖化-产油培养的新工艺, 显著提升了油脂得率^[30].

2.3 油脂分离及转化

由于油脂是胞内产物, 必需进行分离提取. 通常, 在油脂发酵后期, 要经细胞收集、脱水干燥、细胞破碎、溶剂萃取等一系列下游处理过程才能得到油脂^[31,32]. 油脂分离提取面临的主要问题有: (1) 菌体浓度一般不高, 需处理大量发酵醪液; (2) 产油酵母细胞尺寸小, 胞内积累油脂后细胞密度降低, 菌体收集困难; (3) 不同微生物的细胞壁或细胞外膜结构及组分差异较大, 难以建立普适的油脂分离工艺流程.

为有效提取酵母油脂, 研究人员开发了多种细胞破碎方法, 根据其技术原理特点可分为机械破碎法、物理辅助法和化学/生物裂解法三类. 机械破碎法包括基于固体和液体剪切的方法, 分别以珠磨法和高压均质化法为典型代表. 通过改变玻璃珠大小、均质机阀等配置, 调整剪切力大小, 可破碎产油酵母细胞^[33]. 常用的物理辅助法包括超声辅助法和微波辅助法. 超声波处理引发的空化作用形成冲击波和微湍流, 导致细胞破碎和促进有机溶剂萃取; 微波处理会引发细胞内极性分子发生剧烈运动而产生热量, 细胞内温度和压力迅速上升导致细胞膨胀破裂^[34]. 机械破碎和物理辅助法本质上都是通过形成剪切力或冲击力使细胞破

裂, 而化学、生物裂解法是基于化学试剂或酶水解细胞壁, 主要包括酸水解、碱水解、酶水解等方法. 强酸或强碱通过水解细胞壁聚合物, 导致细胞裂解, 其中酸水解预处理效果最佳, 是实验室最常用方法^[31]. Kruger等^[35]比较了高压均质化、微波、常规热处理、玻璃珠、酸水解、碱水解、酶水解等7种方法处理典型产油酵母*L. starkeyi*细胞, 发现酸水解法最有利于油脂提取, 并且酸水解法也适用于其他产油酵母. 利用甘蔗汁在1000-L发酵罐下培养*R. toruloides* DEBB 5533, 发酵液首先通过沉降将细胞密度提升至约120 g/L, 再采用浓盐酸调整pH至1.0, 在50℃、60 r/min处理, 然后通过分相、离心、溶剂萃取等流程, 最终油脂提取率达99%, 表明酸水解裂解细胞具有规模化应用潜力^[7]. 然而, 酸水解面临试剂消耗量大、废水处理困难、对发酵设备具有腐蚀性等问题.

酶辅助水解法通过酶特异性水解细胞壁以破坏细胞结构, 具有操作简单、处理条件温和等优点. 我们采用来源于淡紫拟青霉*Paecilomyces lilacinus* ATCC 36010的 β -1,3-葡甘露聚糖酶Man5C处理*R. toruloides*细胞, 再用乙酸乙酯萃取, 获得高达96%的油脂提取率^[36]. 类似地, 对于产油酵母*Schwanniomyces occidentalis*细胞, 可在碱预处理后再利用*Trichoderma harzianum* CBS 146429产生的混合酶液处理, 使胞内油脂全部释放^[37]. 酶辅助水解法需要依据产油宿主细胞壁组成特点, 寻找适配的高效裂解酶.

除了上述方法外, 脉冲电场法、水热液化法、离子液体法、超临界流体法等也被应用于微生物油脂分离提取^[31]. 其中, CO₂超临界流体法因提取过程不含有机溶剂而备受关注, 已成功用于从多种产油微生物细胞中提取油脂^[38,39]. 尽管已经开发了多种微生物油脂分离和转化的方法, 但是目前均未成功实现工业化应用. 为了促进微生物油脂的工业化生产进程, 还需借助合成生物学技术改造产油微生物的油脂生产性状, 进一步开发优化细胞收集、破碎和油脂分离方法, 促进胞内产物提取以降低下游工艺成本.

2.4 酵母油脂转化利用

酵母油脂可通过化学转化或生物方法转化为生物燃料及油脂化学品. 在早期研究中, 酵母油脂和其他植物油脂一样, 通过酶催化酯交换转化为脂肪酸短链烷基酯, 用于制备生物柴油^[40]. 基于金属催化剂催化加

氢热裂解, 可将油脂转化为类柴油范围的烷烃, 更好地与现有燃油体系适配. 研究表明, 酵母油脂通过催化加氢热裂解转化, 可得到柴油混合物类高值生物燃料^[41]. 我们采用杂多酸修饰二氧化硅负载的钨催化剂, 催化酵母油脂氢化脱氧, 得到约75 wt%的饱和烷烃产物^[42]. 采用光催化氧化脱羧策略, 在室温、低氢压及紫外光照射下, 实现了脂肪酸到长链烷烃的高效转化, 收率大于90%, 且转化速率与传统热催化过程相当^[43]. 而且, 富油酵母菌体还可直接进行热化学转化, 制取烃类化合物^[44]. 可见, 酵母油脂技术通过耦合化学催化转化, 可为生物质转化为烃类液体燃料提供新路线. 尽管化学催化转化油脂合成烃类燃料在技术上具有可行性, 但目前仍存在反应条件严苛、对设备要求较高以及油脂原料中的杂质易导致催化剂失活等问题^[45].

油脂及脂肪酸的生物催化因反应条件温和、可在胞内与油脂合成过程原位集成等特点, 近年来备受青睐. 已有文献报道P450脱羧酶OleT、非血红素-铁(II)-氧化酶UndA、类脂肪酸去饱和酶UndB、脂肪酸光脱羧酶FAP等可以催化脂肪酸脱羧形成端位烯烃^[46]. 在生产脂肪酸的酿酒酵母中过表达OleT、UndA、UndB、长链脂肪酸转运蛋白FATP1, 并将电子转移系统与UndB共表达, 工程菌株1-烯炔产量达35 mg/L, 并且80%分泌至胞外^[47], 还可通过脂肪醛的脱羰基化形成烷烃和烯炔, 脂酰辅酶A和脂酰ACP均可以作为脂肪醛的合成前体^[48].

2.5 产油酵母性状改造

为提高生物质糖转化为油脂的效率, 可通过诱变筛选、适应性进化及基因工程等方法对产油酵母相关性状进行改造. 我们采用紫外线照射及硫酸二甲酯处理的组合诱变方式, 获得了产油性能改善的*R. toruloides*菌株^[49]. 而采用适应性进化技术改造*R. toruloides*, 所获得工程菌株对生物质水解液中主要副产物甲酸、乙酸、5-羟甲基糠醛和糠醛的耐受性显著改善^[50]. 类似地, 适应性进化改造产油酵母 *T. cutaneumin*, 也得到了利用秸秆糖产油性能显著改善的工程菌株^[51].

由于产油酵母不同于常规酵母如酿酒酵母, 其基因工程改造的前提是解析其基因组并建立相关遗传操作方法. 圆红酵母*R. toruloides* NP11是首个得到高质量基因组注释的产油酵母, 其基因组大小为20.2 Mb, 至少包含8171个蛋白编码基因^[52]. 以此为基础, 挖掘表

征了系列生物学元件包括启动子、终止子和筛选标记基因^[53]; 建立了农杆菌介导转化、醋酸锂/聚乙二醇介导的化学转化法及电转化方法^[54-56]. 更进一步, 建立了适用于红酵母中利用RNA干扰技术^[57]和CRISPR/Cas9基因编辑技术^[58], 成功实现了靶基因的敲降及敲除. 此外, 建立了基于病毒2A序列的多基因共表达技术, 便于引入更多外源基因, 提升菌株改造的效率^[59]. 上述系统生物学研究成果及遗传操作方法, 为改造产油酵母奠定了基础.

采用现代生物技术改造圆红酵母, 可提高菌株抗逆性、拓展底物利用范围、丰富产物谱(表1). 例如, 通过异源表达代谢酚类化合物的酶, 提高了对木质素降解酚类化合物或半纤维素水解副产物乙酸盐的耐受性及利用能力^[60], 而过表达一种内源转录因子Pnt1可使工程菌在木糖培养基中比生长速率提高2倍, 并且木糖转化为脂肪醇得率也提高了20%^[61]. 在菌株生产性能改造方面, 通过表达来源于透明颤菌血红蛋白VHb, 强化了摄氧性能, 在相同供氧负荷情况下, 高密度培养工程菌油脂得率和油脂量分别提升31%和72%^[62]. 此外, 构建了分泌表达 β -1,3-葡甘露聚糖酶Man5C的*R. toruloides*工程菌, 在产油培养阶段合成Man5C; 培养结束后于50℃孵育, 醪液中的Man5C水解细胞壁, 促进油脂提取, 提供了一种原位产酶-酶辅助油脂提取的新技术^[63].

基于合成生物学策略, 还可提升产油酵母的油脂生产能力或合成其他高值脂质化学品. 在圆红酵母AS 2.1389中表达内源苹果酸酶, 提高胞内NADPH供给, 在磷限制条件下工程菌的油脂含量和产量分别提高1.8倍和1.9倍, 其机制可参见图2^[25]; 在圆红酵母中表达油脂合成途径中关键酶II型二脂酰甘油-酰基CoA转移酶(DGAT1)和硬脂酰CoA去饱和酶(SCD1), 油脂合成能力得到提高, 摇瓶培养条件下工程菌比出发菌的生物量和油脂量分别增加28%和38%^[64]; 通过表达外源磷酸转乙酰基酶, 强化圆红酵母NP11中脂肪酸合成前体乙酰辅酶A供应, 相同培养条件下工程菌的油脂积累量提高约10%^[65]; 通过表达外源 Δ 12-脂肪酸去饱和酶, 工程菌亚油酸相对含量提高到20%以上^[66]; 通过表达植物源酮酰基CoA合成酶及脂肪酸延长模块, 实现了超长链脂肪酸-神经酸的大量合成, 工程菌在5-L发酵罐中培养神经酸产量达44 g/L^[67]. 此外, 通过下调甘油三酯合成代谢关键基因, 过表达甘油三酯脂

表 1 圆红酵母性状改造代表性研究进展

Table 1 Representative progress in engineering phenotype of the oleaginous yeast *R. toruloides*

出发菌株	基因操作	遗传性状变化	文献
<i>R. toruloides</i> AS 2.1389	过表达内源苹果酸酶	增加NADPH供应, 提高油脂产量	[25]
<i>R. toruloides</i> NP11	表达锰过氧化物酶Mnp、双功能过氧化物酶Vp	工程菌株对香草醛和5-羟甲基糠醛耐受性显著提高	[60]
<i>R. toruloides</i> IFO0880	过表达内源转录因子Pnt1	利用木糖产油的性能显著改善	[61]
<i>R. toruloides</i> AS 2.1389	表达透明颤菌血红蛋白VHb	摄氧性能得到改善, 低氧条件下油脂产量提升72%	[62]
<i>R. toruloides</i> NP11	表达β-1,3-葡甘露聚糖酶Man5C	实现原位油脂提取, 提取率达90%以上	[63]
<i>R. toruloides</i> CECT 13085	表达油脂合成途径中关键酶DGAT1和 SCD1	增强油脂合成能力, 提高菌体油脂含量和油脂得率	[64]
<i>R. toruloides</i> NP11	表达磷酸转乙酰酶	增加乙酰辅酶A供应, 提高油脂产量	[65]
<i>R. toruloides</i> NP11	表达酮酰基辅酶A合成酶KCS、ω-9-去饱和酶	胞内过量积累的油脂中富含超长链脂肪酸神经酸	[67]
<i>R. toruloides</i> IFO0880	表达蜡脂合酶/酰基辅酶A-二酰基甘油酰基转移酶	工程菌合成并分泌脂肪酰乙酯	[69]
<i>R. toruloides</i> IFO0880	过表达胞质乙酰CoA合酶和丙二酰CoA合酶, 敲除酰基转移酶基因	工程菌所产油脂中富含长链脂肪醇	[70]
<i>R. toruloides</i> IFO0880	过表达乙酰CoA羧化酶和二酰基甘油酰基转移酶	利用葡萄糖和木糖产油的性能显著改善	[71]

肪酶, 工程菌株所产油脂中甘油二酯和自由脂肪酸的相对含量分别增加2倍和3倍^[68], 通过组合表达其他脂代谢相关的酶, 所获得的工程菌可过量积累脂肪酸乙酰酯(9.9 g/L)或脂肪醇(3.7 g/L)等高值脂质化学品^[69~71]. 上述研究表明产油酵母在生物质转化及脂质化合物生产中具有巨大应用潜力.

3 总结与展望

过去20年我们聚焦酵母油脂技术的全链条研究, 在生物质预处理、生物质糖制备、油脂发酵过程工程、资源综合利用、圆红酵母产油机制解析和先进脂质细胞工厂构建等方面取得了一些成绩. 其中关于发酵工程调控及产油机制方面的研究成果, 为开展微生物油脂技术及相关研究提供了重要参考.

基于酵母油脂技术的生物炼制不仅对解决我国油脂资源短缺的问题意义重大, 而且符合环境保护与可持续发展目标, 有利于社会经济可持续发展. 据估计到2030年, 通过发酵技术制备的微生物油脂相关产品的市值将超过4000亿美元^[72]. 油脂及脂代谢产物的微生物合成技术已成为当前国内外生物质利用及合成生物学研究的热点之一. 虽然当前微生物合成某些功能油脂及相关产品方面已具备成本优势^[73], 但在合成类似棕榈油替代品等大宗产品上仍存在很大挑战. 根据近期关于酵母油脂技术比较全面的经济性分析研究, 对于8000吨油脂/年的工厂, 油脂成本应不低于1.80美

元/千克, 而规模扩大到48000吨油脂/年时, 油脂成本可降低到1.20美元/千克; 综合考虑低成本原料和电力、湿法油脂提取、酵母菌粉收益等因素, 对于年产8000和48000吨油脂/年的工厂, 油脂成本可分别降低到1.42和0.81美元/千克^[74]. 在该项研究中, 作者还建议同构联产其他高值产品来改善整体经济性. 鉴于产油酵母的生理代谢特性, 通过现代基因工程策略, 创建可联产萜类化合物的工程菌, 实现油脂与高值萜类化合物联产, 是值得特别关注的方向之一^[75~77].

在技术层面, 生物质生物转化利用仍面临一些共性问题, 如全链条研究偏少、转化效率/选择性低、原料利用率低、工艺复杂难以放大、废水/固废排放量太等^[1,78]. 以秸秆等生物质为原料, 通过生物转化技术生产脂质产品, 必须实现全链条低成本的生物炼制过程, 在不考虑补贴和环境补偿情况下, 仍达到与植物油脂成本基本持平, 这对技术经济性提出了很高要求^[79]. 因此, 需要探索: (1) 简化工艺流程, 在制糖、发酵及分离提取等环节实现由“多步法”向“一锅法”转型升级; (2) 提高转化速率, 提升转化底盘的综合性能; (3) 提高原料利用率, 探索在获取油脂的同时, 联产木质素、有机肥等产品, 实现原料全成分利用. 此外, 针对生物质资源的特点, 采用一体化生物转化策略联产不同生物燃料产品, 也非常具有潜力. 例如, 油甘蔗不仅可直接生产油脂, 其茎部通过榨汁, 用于发酵产燃料乙醇; 而剩余的纤维质部分经水解得到富含葡萄糖和木糖的水解液, 被用于培养产油酵母, 得到油脂^[80].

参考文献

- 1 Tian Y, Shang M, Kong G, Ma L, Shao S. *Chin J Eng Sci*, 2021, 23: 133–140 (in Chinese) [田宜水, 单明, 孔庚, 麻林巍, 邵思. 中国工程科学, 2021, 23: 133–140]
- 2 Yadav A, Sharma V, Tsai ML, Chen CW, Sun PP, Nargotra P, Wang JX, Dong CD. *Bioresource Tech*, 2023, 381: 129145
- 3 Bergero C, Gosnell G, Gielen D, Kang S, Bazilian M, Davis SJ. *Nat Sustain*, 2023, 6: 404–414
- 4 Meng GY, Tu ZY, Zhan XG, Zhou J. *China Oils Fats*, 2020, 45: 1–4 (in Chinese) [孟桂元, 涂洲溢, 詹兴国, 周静. 中国油脂, 2020, 45: 1–4]
- 5 Ratledge C, Wynn J. *Adv Appl Microbiol*, 2002, 51: 1–51
- 6 Zhao ZB. *China Biotechnol*, 2005, 25: 8–11 (in Chinese) [赵宗保. 中国生物工程杂志, 2005, 25: 8–11]
- 7 Soccol CR, Dalmas Neto CJ, Soccol VT, Sydney EB, da Costa ESF, Medeiros ABP, Vandenberghe LPS. *Bioresource Tech*, 2017, 223: 259–268
- 8 Parsons S, Raikova S, Chuck CJ. *Nat Sustain*, 2020, 3: 412–418
- 9 Robles-Iglesias R, Naveira-Pazos C, Fernández-Blanco C, Veiga MC, Kennes C. *Renew Sustain Energy Rev*, 2023, 171: 113043
- 10 Banerjee S, Singh V. *GCB Bioenergy*, 2024, 16: e13173
- 11 Rajesh Banu J, Preethi J, Kavitha S, Tyagi VK, Gunasekaran M, Karthikeyan OP, Kumar G. *Fuel*, 2021, 302: 121086
- 12 Alawad I, Ibrahim H. *Biomass Conv Bioref*, 2024, 14: 6155–6183
- 13 Zhang H, Zhang R, Song Y, Miu X, Zhang Q, Qu J, Sun Y. *Bioresource Tech*, 2023, 376: 128856
- 14 Li X, Xu Q, Shen H, Guo Y, Wu M, Peng Y, Zhang L, Zhao ZK, Liu Y, Xie H. *Carbohydrate Polym*, 2019, 204: 50–58
- 15 Wang X, Xu Q, Cheng J, Hu G, Xie X, Peng C, Yu X, Shen H, Zhao ZK, Xie H. *Industrial Crops Products*, 2020, 145: 112137
- 16 Huang QT, Kamal R, Lu HB, Zhang JL, Gong ZW, Zhao ZB. *J Nat Sci Hunan Norm Univ*, 2024, 47: 10–15 (in Chinese) [黄其田, Rasool Kamal, 陆洪斌, 张珺璐, 龚志伟, 赵宗保. 湖南师范大学自然科学学报, 2024, 47: 10–15]
- 17 Li H, Zhai R, Chen X, Jiang X, Li C, Deng Q, Xu Z, Jin M. *Chem Eng J*, 2024, 486: 150268
- 18 Kamal R, Huang Q, Lu H, Shah AM, Zhang J, Zhao ZK. *Industrial Crops Products*, 2024, 209: 117997
- 19 Kamal R, Huang Q, Li Q, Chu Y, Yu X, Limtong S, Xue S, Zhao ZK. *ACS Sustain Chem Eng*, 2021, 9: 11011–11021
- 20 Yang X, Jin G, Gong Z, Shen H, Bai F, Zhao ZK. *Bioresource Tech*, 2015, 175: 91–96
- 21 Wu S, Hu C, Zhao X, Zhao ZK. *Euro J Lipid Sci Tech*, 2010, 112: 727–733
- 22 Kamal R, Shen H, Li Q, Wang Q, Yu X, Zhao ZK. *Appl Biochem Biotechnol*, 2020, 191: 1594–1604
- 23 Li Q, Kamal R, Wang Q, Yu X, Zhao ZK. *Energies*, 2020, 13: 1576
- 24 Wu S, Hu C, Jin G, Zhao X, Zhao ZK. *Bioresource Tech*, 2010, 101: 6124–6129
- 25 Wang Y, Zhang S, Zhu Z, Shen H, Lin X, Jin X, Jiao X, Zhao ZK. *Biotechnol Biofuels*, 2018, 11: 148
- 26 Li Y, Zhao ZK, Bai F. *Enzyme Microb Tech*, 2007, 41: 312–317
- 27 Lin J, Shen H, Tan H, Zhao X, Wu S, Hu C, Zhao ZK. *J Biotechnol*, 2011, 152: 184–188
- 28 Huang Q, Kamal R, Shen H, Lu H, Song J, Chu Y, Xue C, Zhao ZK. *J Environ Chem Eng*, 2022, 10: 108858
- 29 Gong Z, Shen H, Wang Q, Yang X, Xie H, Zhao ZK. *Biotechnol Biofuels*, 2013, 6: 36
- 30 Dai X, Shen H, Li Q, Rasool K, Wang Q, Yu X, Wang L, Bao J, Yu D, Zhao ZK. *Energies*, 2019, 12: 1053
- 31 Khot M, Raut G, Ghosh D, Alarcón-Vivero M, Contreras D, Ravikumar A. *Fuel*, 2020, 259: 116292
- 32 Rollin S, Gupta A, Franco CMM, Singh S, Puri M. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1227889
- 33 Patel A, Mikes F, Matsakas L. *Molecules*, 2018, 23: 1562
- 34 Ochsenreither K, Glück C, Stressler T, Fischer L, Syltatk C. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1539
- 35 Kruger JS, Cleveland NS, Yeap RY, Dong T, Ramirez KJ, Nagle NJ, Lowell AC, Beckham GT, McMillan JD, Biddy MJ. *ACS Sustain Chem Eng*, 2018, 6: 2921–2931
- 36 Jin G, Yang F, Hu C, Shen H, Zhao ZK. *Bioresource Tech*, 2012, 111: 378–382
- 37 Heshof R, Visscher B, van de Zilver E, van de Vondervoort R, van Keulen F, Delahaije RJB, Wind RD. *AMB Expr*, 2020, 10: 41
- 38 Duarte SH, Santos P, Michelon M, Oliveira SMP, Martínez J, Maugeri F. *Biochem Eng J*, 2017, 125: 230–237
- 39 Howlader MS, French WT, Shields-Menard SA, Amirsadeghi M, Green M, Rai N. *Biotechnol Prog*, 2017, 33: 737–748

- 40 Li W, Du W, Li YH, Liu DH, Zhao ZB. *Chin J Process Eng*, 2007, 7: 137–140 (in Chinese) [里伟, 杜伟, 李永红, 刘德华, 赵宗保. 过程工程学报 2007, 7: 137–140]
- 41 Sànchez i Nogué V, Black BA, Kruger JS, Singer CA, Ramirez KJ, Reed ML, Cleveland NS, Singer ER, Yi X, Yeap RY, Linger JG, Beckham GT. *Green Chem*, 2018, 20: 4349–4365
- 42 Liu H, Han J, Huang Q, Shen H, Lei L, Huang Z, Zhang Z, Zhao ZK, Wang F. *Ind Eng Chem Res*, 2020, 59: 17440–17450
- 43 Huang Z, Zhao Z, Zhang C, Lu J, Liu H, Luo N, Zhang J, Wang F. *Nat Catal*, 2020, 3: 170–178
- 44 Chen Y, Huang Q, Ye J, Xu J, Chen J, Wang Y, Nie X. *Sustain Energy Fuels*, 2021, 5: 6029–6039
- 45 Kruger JS, Knoshaug EP, Dong T, Hull TC, Pienkos PT. *Johnson Matthey Tech Rev*, 2021, 65: 227–246
- 46 Liu K, Li S. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 62: 7–14
- 47 Zhou YJ, Hu Y, Zhu Z, Siewers V, Nielsen J. *ACS Synth Biol*, 2018, 7: 584–590
- 48 Geng J, Liao P, Tan GYA, Zhu FY, Pradhan N. *Biofuel Res J*, 2023, 10: 1974–1988
- 49 Zhang C, Shen H, Zhang X, Yu X, Wang H, Xiao S, Wang J, Zhao ZK. *Biotechnol Lett*, 2016, 38: 1733–1738
- 50 Fernandes MA, Mota MN, Faria NT, Sá-Correia I. *JoF*, 2023, 9: 1073
- 51 Liu Q, Lu M, Jin C, Hou W, Zhao L, Bao J. *Biotech Bioeng*, 2022, 119: 1509–1521
- 52 Zhu Z, Zhang S, Liu H, Shen H, Lin X, Yang F, Zhou YJ, Jin G, Ye M, Zou H, Zhao ZK. *Nat Commun*, 2012, 3: 1112
- 53 Wen Z, Zhang S, Odoh CK, Jin M, Zhao ZK. *FEMS Yeast Res*, 2020, 20: foaa038
- 54 Lin X, Wang Y, Zhang S, Zhu Z, Zhou YJ, Yang F, Sun W, Wang X, Zhao ZK. *FEMS Yeast Res*, 2014, 14: 547–555
- 55 Liu H, Jiao X, Wang Y, Yang X, Sun W, Wang J, Zhang S, Zhao ZK. *FEMS Yeast Res*, 2017, 17
- 56 Tsai YY, Ohashi T, Kanazawa T, Polburee P, Misaki R, Limtong S, Fujiyama K. *Curr Genet*, 2017, 63: 359–371
- 57 Liu X, Zhang Y, Liu H, Jiao X, Zhang Q, Zhang S, Zhao ZK. *FEMS Yeast Res*, 2019, 19: foz031
- 58 Jiao X, Zhang Y, Liu X, Zhang Q, Zhang S, Zhao ZK. *Biotechnol J*, 2019, 14: e1900036
- 59 Jiao X, Zhang Q, Zhang S, Yang X, Wang Q, Zhao ZK. *FEMS Yeast Res*, 2018, 18: foy086
- 60 Lyu L, Chu Y, Zhang S, Zhang Y, Huang Q, Wang S, Zhao ZK. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 768934
- 61 Coradetti ST, Adamczyk PA, Liu D, Gao Y, Otoupal PB, Geiselman GM, Webb-Robertson BJM, Burnet MC, Kim YM, Burnum-Johnson KE, Magnuson J, Gladden JM. *Microb Cell Fact*, 2023, 22: 144
- 62 Wang S, Kamal R, Zhang Y, Zhou R, Lv L, Huang Q, Qian S, Zhang S, Zhao ZK. *Energies*, 2020, 13: 4446
- 63 Liang S, Zhang Y, Lyu L, Wang S, Zhao ZK. *Bioresour Bioprocess*, 2023, 10: 16
- 64 Díaz T, Fillet S, Campoy S, Vázquez R, Viña J, Murillo J, Adrio JL. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102: 3287–3300
- 65 Yang X, Sun W, Shen H, Zhang S, Jiao X, Zhao ZK. *RSC Adv*, 2018, 8: 24673–24678
- 66 Wang Y, Zhang S, Pötter M, Sun W, Li L, Yang X, Jiao X, Zhao ZK. *Appl Biochem Biotechnol*, 2016, 180: 1497–1507
- 67 Liu F, Lu Z, Lu T, Shi M, Wang H, Wu R, Cao J, Su E, Ma X. *Metab Eng*, 2023, 80: 193–206
- 68 Zhang Y, Zhang S, Chu Y, Zhang Q, Zhou R, Yu D, Wang S, Lyu L, Xu G, Zhao ZK. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 1034972
- 69 Zhang Y, Peng J, Zhao H, Shi S. *Biotechnol Biofuels*, 2021, 14: 115
- 70 Schultz JC, Mishra S, Gaithe E, Mejia A, Dinh H, Maranas C, Zhao H. *Microb Cell Fact*, 2022, 21: 26
- 71 Zhang S, Skerker JM, Rutter CD, Maurer MJ, Arkin AP, Rao CV. *Biotech Bioeng*, 2016, 113: 1056–1066
- 72 Dar RA, Tsui TH, Zhang L, Tong YW, Sharon S, Shoseyov O, Liu R. *Renew Sustain Energy Rev*, 2024, 195: 114328
- 73 Lin L, Ledesma-Amaro R, Ji XJ, Huang H. *Trends Biotechnol*, 2024, 42: 1335–1338
- 74 Karamerou EE, Parsons S, McManus MC, Chuck CJ. *Biotechnol Biofuels*, 2021, 14: 57
- 75 Lyu L, Chen Q, Xue H, Mustafa S, Manzoor Shah A, Huang Q, Zhang Y, Wang S, Zhao ZK. *Front Bioeng Biotechnol*, 2024, 11: 1310069
- 76 Gao Q, Dong Y, Huang Y, Liu S, Zheng X, Ma Y, Qi Q, Wang X, Zhao ZK, Yang X. *ACS Synth Biol*, 2024, 13: 2545–2554
- 77 Kirby J, Geiselman GM, Yaegashi J, Kim J, Zhuang X, Tran-Gyamfi MB, Prah JP, Sundstrom ER, Gao Y, Munoz N, Burnum-Johnson KE, Benites VT, Baidoo EEK, Fuhrmann A, Seibel K, Webb-Robertson BJM, Zucker J, Nicora CD, Tanjore D, Magnuson JK, Skerker JM, Gladden JM. *Biotechnol Biofuels*, 2021, 14: 101
- 78 Lynd LR, Beckham GT, Guss AM, Jayakody LN, Karp EM, Maranas C, McCormick RL, Amador-Noguez D, Bomble YJ, Davison BH, Foster C, Himmel ME, Holwerda EK, Laser MS, Ng CY, Olson DG, Román-Leshkov Y, Trinh CT, Tuskan GA, Upadhyay V, Vardon DR, Wang L, Wyman CE. *Energy Environ Sci*, 2022, 15: 938–990

79 Bonatsos N, Marazioti C, Moutousidi E, Anagnostou A, Koutinas A, Kookos IK. *Fuel*, 2020, 264: 116839

80 Deshavath NN, Woodruff W, Eller F, Susanto V, Yang C, Rao CV, Singh V. *Bioresource Tech*, 2024, 399: 130594

Yeast lipid technology for biomass refinery

Junlu Zhang, Liting Lyu, Shiyu Liang, Zongbao K. Zhao^{*}

MOE Key Laboratory of Bio-Intelligent Manufacturing, School of Bioengineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China

^{*}Corresponding author (email: zhaozb@dlut.edu.cn)

Abstract: Lipids including vegetable oils are bulk commodities of strategic significance, but China has remained short of vegetable oils for years. It is unlikely to secure lipids resources via substantially increasing oil crops, as arable land in China is limited and must be used for growing grain crops. On the other hand, lignocellulosic biomass is a rich resource, which can be explored for lipid production via modern biotechnology. We developed a biorefinery concept that focuses on yeast lipid technology to convert biomass-derived sugars into lipids. To improve the techno-economics of this technology, it is important to address key issues including low substrate utilization rates, complicated processes and low lipid yields. Thus, our research covered all aspects related to yeast lipid technology, including biomass pretreatment, recovering biomass-derived sugars, engineering cell culture process, exploiting wastes therewith, deciphering the molecular bases of lipid accumulation in the oleaginous yeast *Rhodotorula toruloides*, and constructing advanced lipid producer. Here we will briefly review the history of yeast lipid technology, and recent progress in this area with a special focus on our own efforts, and then provide potential options to promote yeast lipid production at commercial scale.

Keywords: biomass, bioconversion, oleaginous yeast, biofuels, oleochemicals, biorefinery, biomanufacturing

doi: [10.1360/SSC-2024-0253](https://doi.org/10.1360/SSC-2024-0253)