

文章编号:1674-2869(2015)04-0001-05

微藻原位萃取-酯交换法生物柴油的制备

王为国¹,王成成¹,汪铁林²,王存文^{2*}

1.武汉工程大学化工与制药学院,湖北 武汉 430074;

2.绿色化工过程教育部重点实验室(武汉工程大学),湖北 武汉 430074

摘 要: 油脂萃取是许多生物柴油制备过程中的重要步骤. 原位萃取-酯交换法可以将蛋白核小球藻藻粉直接的转化为生物柴油避免了单独从藻粉中萃取油脂. 研究了以蛋白核小球藻藻粉和甲醇为原料,在浓硫酸作催化剂的条件下原位萃取-酯交换法制备生物柴油的工艺. 考察了不同工艺条件对产率的影响. 其适宜的反应条件为:用水量和藻粉质量比为 1:1,反应温度为 65 ℃,催化剂用量为藻粉质量的 3%,甲醇用量和藻粉质量比为 8:1,酯交换反应在 8 h 内完成. 结果表明:以干藻粉质量为基准微藻粗生物柴油收率可达 16.0%,由高效液相色谱分析得知微藻粗生物柴油中生物柴油量为 43.5%,以干藻粉质量为基准微藻生物柴油总收率为 6.96%.

关键词: 生物柴油;微藻;酯交换法;原位萃取

中图分类号: TB35

文献标识码: A

doi: 10. 3969/j. issn. 1674-2869. 2015. 04. 001

0 引言

生物柴油是生物质能源的一种,它是指以油料作物为原料通过酯交换反应制成的一种可生物降解、无毒的可再生油燃料^[1]. 国内外已经开始将生物柴油作为石化柴油的替代品进行利用. 传统制备生物柴油的原料大多是价格较高的油料作物(如大豆、葵花子、棕榈以及菜籽等). 选取适宜的、价格低廉的油料植物来发展和生产生物柴油是开发新能源的发展趋势^[2-3]. 高效的光合作用、较强的环境适应能力、较短的生长周期、较高生物产量是微藻的主要特点. 关于微藻制备生物柴油的报道比较少,蛋白核小球藻是一种以光合自养生长繁殖的高效光合作用植物,其油脂含量相对较高. 微藻油脂中不饱和油脂较常规的大豆油、葵花子油、菜籽油等作物中高,质量分数占微藻油脂的 65%左右^[4]. 微藻是制备生物柴油的良好原料. 石化原料相比微藻生物柴油燃烧所产生的有害气体少、灰质低,对环境较友好,符合世界对新型能源的要求^[4-6].

生产生物柴油的常见方法是酯交换法,是采用油脂与甲醇,在酸或碱催化条件下加热反应生成脂肪酸甲酯后分离的过程^[7-8]. 微藻所含有的微藻油中含游离脂肪酸^[9],使用碱催化时容易发生皂化反应、催化剂中毒、带来废液污染、后续分离困

难的问题^[9-11]. 本研究中采用酸催化法将微藻生物直接酯交换生成生物柴油.

微藻制备生物柴油传统方法是将提取出来的微藻油脂通过酸催化反应来制备生物柴油. 而原位萃取-酯交换反应是:含油原料与酸化的醇类接触直接反应,醇既是提取溶剂,又是反应物,且产物得到的脂肪酸甲酯含量高. 研究表明,与传统的生物柴油制备路线相比,在生物质中油脂直接醇解制备生物柴油的产率提高 20%^[12]. 将这种酯交换反应技术与微藻油脂提取相结合,提出了一种利用微藻制备粗生物柴油的方法^[11,13-14]. 其操作工艺简单,无需进行原料预处理、生产成本低、易于实现工业化生产. 利用微藻干藻粉浓硫酸催化条件下的酯交换反应(油脂提取与酯交换反应同时进行的反应)可获得微藻粗生物柴油. 并考察了反应温度、催化剂量和原料比对生物柴油收率的影响.

1 实验部分

1.1 主要原料

蛋白核小球藻藻粉购自山东滨州天健生物科技有限公司,其组成成份为(质量分数):蛋白质 55%、脂肪 20%、碳水化合物 20%、纤维素 5%. 液相色谱试剂:水、乙腈均为色谱纯;其他主要的试剂甲醇、石油醚等均为分析纯.

收稿日期:2015-03-01

基金项目:国家自然科学基金(20576105)

作者简介:王为国(1964-),男,江苏建湖人,副教授,硕士.研究方向:新能源开发及资源化利用.* 通信联系人

1.2 实验方法

向三口烧瓶中加入称取的 8 g 藻粉和一定量的甲醇搅拌均匀;然后加入一定量的浓硫酸. 加热至一定温度保温反应 8 h, 然后将反应物进行过滤,并用甲醇对滤渣冲洗 3 次以上. 旋蒸蒸出大部分的甲醇,加入 30 mL 的水后,再将液体转移至分液漏斗中加入 30 mL 的石油醚摇匀后静置、分层. 将分层得到的下层液体中加入 30 mL 的石油醚摇匀后静置,分离出上层的有机相. 合并两次萃取的有机相用 30 mL 的 50 ℃蒸馏水洗涤,加入 30 mL 石油醚摇匀静置 8 h 后分离. 将油相旋转蒸发,除去石油醚后干燥,得产品粗生物柴油.

1.3 生物柴油产率的计算

标准品生物柴油与微藻生物柴油通过 Agilent (1260 Infinity) 高效液相色谱分析仪,在分离柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相体积比(乙腈/水=9:1),流动相流速 1 mL/min,柱温 35 ℃,紫外检测波长 210 nm,进样量均为 5 μm 时进行分析.

本研究以蛋白核小球藻藻粉干重为基准计算微藻粗生物柴油的产率.

$$X = \frac{m_{\text{粗}}}{m_{\text{干}}} \times 100\% \quad (1)$$

式中: X 为粗生物柴油产率,%; $m_{\text{粗}}$ 为反应得到的粗生物柴油质量; $m_{\text{干}}$ 为蛋白核小球藻藻粉的重量.

通过分析标准品生物柴油图谱中对应的各种脂肪酸甲酯的停留时间,对比标准品生物柴油确定微藻粗生物柴油中有脂肪酸甲酯的存在,利用峰面积归一化法对产物各主要组分进行定量并计算出微藻粗生物柴油中脂肪酸甲酯相对含量,计算公式为:

$$C = \frac{A}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C 为生物柴油中甲酯含量,%; A 为微藻粗生物柴油图 2 中 1.4~6 min 对应的脂肪酸甲酯峰面积的总和; A_0 为标准品图 1 中 1.4~6 min 对应的脂肪酸甲酯峰面积的总和.

以微藻为原料制得的生物柴油的产率的计算公式为:

$$Y = \frac{C}{X} = \frac{C \times m_{\text{干}}}{m_{\text{粗}}} \times 100\% \quad (3)$$

式中: Y 为生物柴油的产率,%; X 为粗生物柴油产率,%.

2 结果和讨论

2.1 微藻生物柴油的分析

生物柴油的主要成分是脂肪酸及脂肪酸甲酯,可通过高效液相色谱逐一分离出来,分别是豆蔻酸、亚油酸、棕榈酸、油酸、亚麻酸甲酯、硬脂酸、亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、油酸甲酯、芥酸和硬脂酸甲酯^[15]. 而微藻生物柴油中主要含有亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、亚麻酸甲酯、硬脂酸甲酯等^[16],因此对比其中主要脂肪酸甲酯的质量分数得出微藻生物柴油的质量分数^[17-18],见图 1,2.

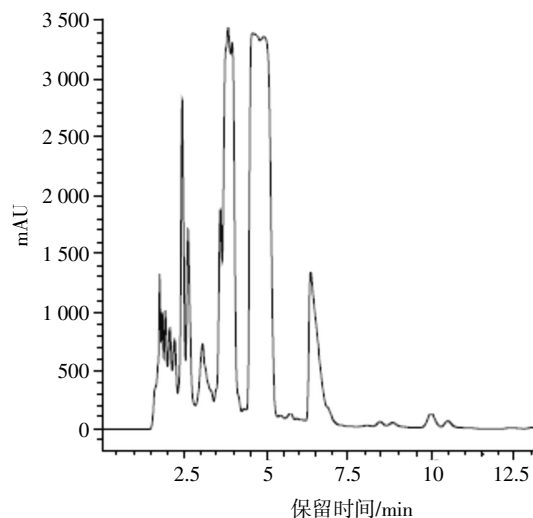


图 1 生物柴油标准品液相色谱图

Fig.1 HPLC of the standard biodiesel

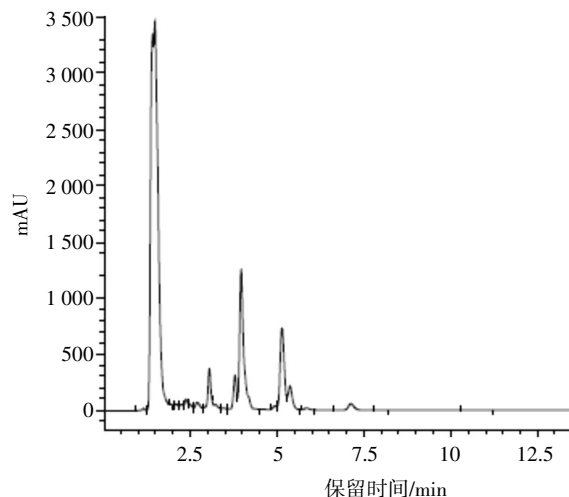


图 2 蛋白核小球藻生物柴油液相色谱图

Fig.2 HPLC of the chlorella pyrenoidosa biodiesel

通过高效液相色谱图 1、图 2 进行分析,可知标准品中甲酯对应的停留时间段是 1.4~6 min 之间. 实验制得的微藻粗生物柴油在与标准品相同实验条件下其停留时间段也在 1.4~6 min 内. 证实实验成品中有生物柴油的存在,由高效液相色谱

分析由式(1),(2),(3)计算得知微藻粗生物柴油中生物柴油的产率为43.5%。

2.2 微藻原位萃取-酯交换反应

本实验是在浓硫酸催化条件下进行原位萃取-酯交换反应生产生物柴油,同时研究了加水量、相同加水量下不同温度、催化剂用量和不同藻粉与醇质量比对生物柴油产量的影响。

2.2.1 加水量的影响 当甲醇与藻粉质量配比为8,反应时间为8 h,反应温度为65℃时,催化剂用量(质量分数)为3%时,由图3可知粗生物柴油的产率随水量的增多先增加后减小。这是因为:当反应体系含量中含有一定水时,酸催化的效果较好,浓硫酸作为催化剂需要一定的水提供使浓硫酸中的氢离子分离出来起到酸催化的效果,水的失去将不利于反应体系酸度的提高(水分子使浓硫酸中氢离子电离出来,从而使浓硫酸中氢离子发挥催化功能)^[19]。同时反应中的水和甲醇混合物可作为调和互溶剂,这不仅加快油脂到脂肪酸甲酯的转化速率,而且也提高体系的溶解度^[20-21]。初始时在反应体系中是没有油脂和水存在的,为了能获得更好的收率,加入少量的水有利于体系中甲醇的溶解,更利于微藻中油脂的转化。刚开始反应时水含量较小,随着游离脂肪酸与甲醇进行酯化反应产生的水增加。当水的含量达到一定值后甲醇浓度降低致使体系中油脂的溶解度降低,对酯交换和酯化反应不利,即过多的水也会对实验造成不利的影响^[22]。

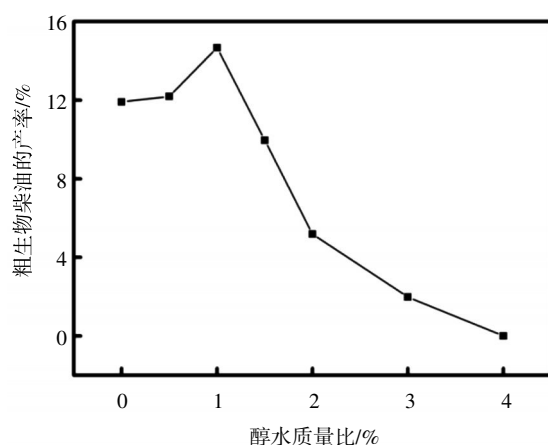


图3 微藻与水质量比对粗生物柴油产率的影响

Fig.3 Effect of ratio of algae to water mass on crude biodiesel yields

2.2.2 反应温度的影响 当甲醇与藻粉质量配比为8,催化剂质量分数为3%,反应时间为8 h,加水量为1时,反应温度从55℃升高到68℃,微藻粗生物柴油产量的变化如图4可知,粗生物柴油产率随温度的升高而增高,但到达65℃以后粗生

物柴油的产率变化并不明显,在65℃条件下可获得较高的生物柴油产率。反应温度是影响催化反应的重要条件之一。合适的反应温度可以提高催化剂的催化效果,底物与催化剂在较高温度的运动速度也会加快从而增加它们之间的接触机会,转化效率得到提高,且较高的反应温度可以使平衡向正反应方向进行。随温度升高,甲醇的活性增加,产量也随之增加。这是因为在较低温度下,从微藻中萃取油脂的速率较慢,萃取能力较低,不能将所用的油脂萃取出来,导致产率较低。随着温度的升高,其萃取能力和速率都大大提高,能够将微藻中的油脂比较完全的萃取出来,从而使微藻粗生物柴油的产率增高^[23]。但是当温度高于65℃时对微藻粗生物柴油没有比较明显的影响。甲醇的沸点为64.7℃,继续增加温度,体系温度也会有一定的上升。但是当温度升高时,气相中甲醇浓度增大,液相中甲醇浓度降低不利于反应的进行。温度的升高也就对粗生物柴油的产率没有太明显的影响。

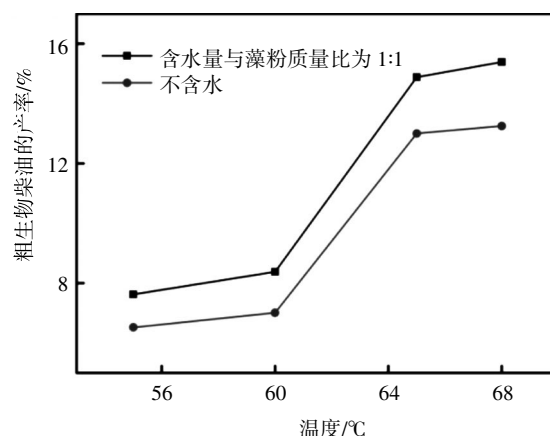


图4 温度对粗生物柴油产率的影响

Fig.4 Effect of reaction temperature on crude biodiesel yields

2.2.3 催化剂量的影响 当甲醇与藻粉质量配比为8,反应时间为8 h,反应温度为65℃,加水量为1时,不同的浓硫酸用量条件下微藻粗生物柴油产量的变化如图5所示。粗生物柴油的产量随催化剂的用量增大而增高,质量分数为3%时可获得较高产量的生物柴油,随后变化不明显。催化反应中催化剂用量的也是影响产率的重要因素之一,催化剂用量过少时,反应物不能得到充分的利用,严重影响反应的进行;浓硫酸加入量过多又会对环境产生不利影响,使生产成本提高。当催化剂量质量分数为3%后继续加大催化剂量,微藻粗生物柴油产率增加缓慢。随着浓硫酸量的增加生物柴油产率的影响已不明显,而且不利于后续催化剂的回收。

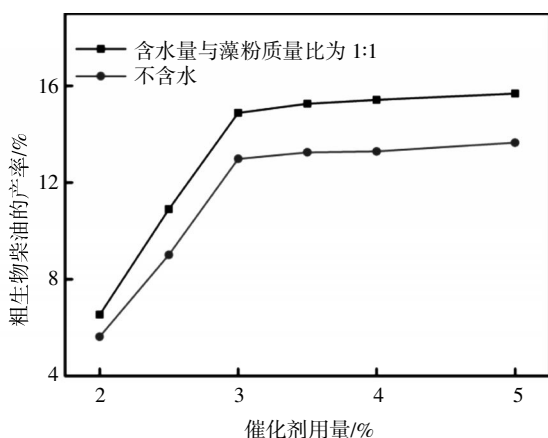


图 5 催化剂的量对粗生物柴油产率的影响

Fig.5 Effect of the amount of catalyst on crude biodiesel yields

2.2.4 藻粉与甲醇质量比的影响 当甲醇与藻粉质量配比为 8, 反应时间为 8 h, 反应温度为 65 ℃, 催化剂用量为质量分数 3% 时. 在不同的醇与藻粉质量比条件下微藻生物柴油产量的变化如图 6 所示. 甲醇与藻粉配比从 5 增至 8 时, 即随着反应体系中甲醇用量的增多, 微藻粗生物柴油的收率先增大后趋于平缓. 当甲醇与藻粉配比为 5 时, 产率较低, 基本没有粗生物柴油的生成. 这是因为加入体系中的甲醇不仅是反应物, 同时还是溶剂. 原位萃取-酯交换反应是一个可逆反应, 甲醇过少阻碍反应平衡右移. 甲醇过量, 即可以萃取出微藻中的油脂, 还可作为反应物进行酯交换反应来提高微藻粗生物柴油产率. 反应物浓度较高时会加快整个反应的进行, 当产物浓度达到一定量时, 反应就不会有较明显的变化. 同时, 甲醇用量过多, 也会增加后续分离的困难, 增加成本.

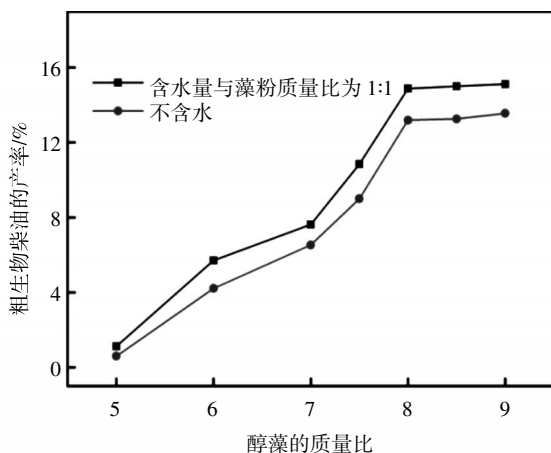


图 6 微藻与甲醇质量比对粗生物柴油产率的影响

Fig.6 Effect of ratio of algae to methanol mass on crude biodiesel yields

3 结 语

以含油的蛋白核小球藻为原料, 浓硫酸作为催化剂, 采用原位萃取-酯交换法成功制备生物柴油. 对其工艺进行优化, 结论如下:

研究了不同加水量、温度、催化剂用量及不同藻粉与醇质量比对产量的影响. 微藻可在浓硫酸作为催化剂条件下与甲醇发生原位萃取-酯交换反应制备生物柴油, 在反应体系中加入适量的水有利于生物柴油的生成. 适宜反应条件为加水量为水和藻粉比为 1:1, 反应温度为 65 ℃ 和催化剂量质量分数为 3%, 甲醇与藻粉质量比为 8:1, 在此条件下粗生物柴油收率可达到 16.0% (相对于干燥粉质量), 由高效液相色谱分析得知微藻粗生物柴油中生物柴油收率为 43.5%. 生物柴油总收率为 6.96%.

致 谢:

感谢武汉工程大学化工与制药学院提供的研究平台!

参考文献:

- [1] FANG Rui-ma, Hanna M A. Biodiesel: a review [J]. Bioresource Technology, 1999, 70: 1-15.
- [2] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(3): 294-306.
- [3] DEMIRBAS A, DEMIRBAS M F. Importance of algae oil as a source of biodiesel [J]. Energy Conversion and Management, 2011, 52(1): 163-170.
- [4] CAMPBELL P K, BEER T, BATTEN D. Life cycle assessment of biodiesel production from microalgae in ponds [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(1): 50-56.
- [5] AHMAD A, YASIN N M, DEREK C, et al. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2011, 15(1): 584-593.
- [6] YANG J, XU M, ZHANG X, et al. Life cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrients balance [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(1): 159-165.
- [7] THAO N T P, TIN N T, THANH B X. Biodiesel production from microalgae by extraction-transesterification Method [J]. Waste Technology, 2013, 1(1): 6-9.
- [8] PATIL P D, GUDE V G, MANNARSWAMY A, et al. Comparison of direct transesterification of algal biomass under supercritical methanol and microwave irradiation conditions [J]. Fuel, 2012, 97: 822-831.

- [9] SOARES A T, COSTA D C, SILVA B F, et al. Comparative analysis of the fatty acid composition of microalgae obtained by different oil extraction methods and direct biomass transesterification [J]. *BioEnergy Research*, 2014, 7(3): 1035–1044.
- [10] PFLASTER E L, SCHWABE M J, BECKER J, et al. A high throughput fatty acid profiling screen reveals novel variations in fatty acid biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* and Related algae [J]. *Eukaryotic Cell*, 2014, 13(11): 1431–1438.
- [11] JIN B, DUAN P, XU Y, et al. Lewis acid-catalyzed in-situ transesterification esterification of micro-algae in supercritical ethanol [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 162: 341–349.
- [12] 靳福全, 牛宇岚, 李晓红. 固体酸催化蓖麻油制备生物柴油 [J]. *中国油脂*, 2011, 36(1): 49–52.
- JIN Fu-quan, NIU Yu-lan, LI Xiao-hong. Preparation of biodiesel from castor seed oil using solid acid-catal [J]. *China Oils and Fats*, 2011, 36 (1): 49–52. (in Chinese)
- [13] SANI Y M, DAUD W M A W, AZIZ A A. Solid acid-catalyzed biodiesel production from microalgal oil the dual advantage [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2013, 1(3): 113–121.
- [14] LAURENS L M, QUINN M, WYCHEN S, et al. Accurate and reliable quantification of total microalgal fuel potential as fatty acid methyl esters by in situ transesterification [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 403(1): 167–178.
- [15] 梁杰珍, 陈小鹏, 王琳琳, 等. 超临界甲醇与松脂反应制备生物柴油实验 [J]. *实验室研究与探索*, 2012(2): 4–7.
- LIANG Jie-zhen, CHEN Xiao-pong, WANG Lin-lin, et al. Reaction of supercritical methanol and oleoresin biodiesel preparation experiment [J]. *Laboratory research and Exploration*, 2012(2): 4–7. (in Chinese)
- [16] 李逸, 王潮岚, 胡章立. 利用基因工程技术提高微藻油脂含量的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2015, 31(3): 70–81.
- LI Yi, WANG Chao-lan, HU Zhang-li. Study on improving the microalgal lipid content by gene engineering technology [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(3): 70–81. (in Chinese)
- [17] CHEN C Y, YEH K L, AISYAH R, et al. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(1): 71–81.
- [18] CHEN P, RUAN R R, 吴卓晶, 等. 光照强度对高度浓缩的城市污水中混养海藻菌株 *Chlorella kessleri* 和 *Chlorella protothecoide* 生物质生长累积和制备生物柴油的影响 [J]. *农业工程技术: 新能源产业*, 2012(4): 33.
- CHEN P, RUAN R R, WU Zhuo-jing, et al. Effect of light intensity on algal biomass accumulation and biodiesel production for mixotrophic strains *Chlorella kessleri* and *Chlorella protothecoide* cultivated in highly concentrated municipal wastewater [J]. *Agricultural Engineering Technology: New Energy Industry*, 2012(4): 33. (in Chinese)
- [19] 杨菁, 周国英, 谭益民, 等. 杉木炭疽病拮抗菌 AM53 的发酵条件优化 [J]. *生物技术通报*, 2014(8): 164–168.
- YANG Jing, ZHOU Guo-yin, TANG Yi-min, et al. Optimization of fermentation conditions of antagonistic bacteria for anthracnose AM53 [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014(8): 164–168. (in Chinese)
- [20] KUSDIANA D, SAKA S. Kinetics of transesterification in rapeseed oil to biodiesel fuel as treated in supercritical methanol [J]. *Fuel*, 2001, 80(5): 693–698.
- [21] FUKUDA H, KONDO A, NODA H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2001, 92(5): 405–416.
- [22] PATIL P D, GUDE V G, MANNARSWAMY A, et al. Optimization of direct conversion of wet algae to biodiesel under supercritical methanol conditions [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(1): 118–122.
- [23] 陈文, 王存文, 王为国, 等. 油菜粉与超临界甲醇原位萃取酯交换反应制备生物柴油 [J]. *应用化学*, 2007, 23(12): 1332–1335.
- CHEN Wen, WANG Cun-wen, WANG Wei-guo, et al. Biodiesel from rapeseed via extraction and in-situ transesterification in supercritical methanol [J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2007, 23(12): 1332–1335. (in Chinese)

(下转第 11 页)