

叔丁醇体系中动物油脂制备生物柴油

黄瑛 郑海 闫云君

(华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430074)

摘要: 探讨了叔丁醇体系中脂肪酶 Novozyme 435 催化动物油脂制备生物柴油的新工艺。用猪油做原料, 醇油摩尔比为 5:1, Novozyme 435 用量 3% (质量分数), 叔丁醇用量 40% (体积分数), 50 °C 下 240 r/min 反应 24 h, 生物柴油得率为 95.2%。酶重复使用 10 批次后生物柴油得率仍保持在 90% 以上, 结果表明新工艺条件下猪油可以有效转化为生物柴油, 且脂肪酶能保持良好的稳定性。

关键词: 生物柴油; 叔丁醇; 猪油; 转酯反应

中图分类号: TQ645.3

引言

生物柴油是一种可再生的生物能源, 主要是以动植物油脂为原料, 通过转酯反应而制备的长链脂肪酸酯类物质, 具有可生物降解、无毒、低污染等特点, 是一种应用前景非常广阔的环境友好型石油替代品^[1-2]。按照当前的技术, 利用动植物油脂原料生产生物柴油, 原料成本占生产总成本的 70% ~ 90%, 所以油脂原料是决定生物柴油价格的最主要因素。目前, 制备生物柴油的原料主要有大豆油、油菜籽油、棕榈油等植物油^[3-6]以及废油^[7]等, 但植物油多为食用油, 容易出现生物柴油挤占食品油的局面, 影响粮食安全, 而废油数量有限且收集困难。因此, 如何扩大生物柴油的油脂原料来源是当前急迫的研究课题。

猪油是动物油脂中产量最大的一种油脂。过去我国将猪油作为主要的食用油之一, 但随着人们生活水平的提高和健康意识的增强, 猪油在饮食行业中的使用量日益降低。实际上, 猪肥肉中的油脂是一种重要的再生资源, 重新开发和利用日渐过剩的猪油成为一个重要问题。利用猪油制备生物柴油是一个非常有益的尝试, 目前这方面的研究还处于起步阶段, 相关报道极少^[8-9]。

本文探讨了在叔丁醇反应体系中利用脂肪酶

Novozyme 435 催化猪油制备生物柴油的工艺流程, 研究了酶用量、醇油比、反应温度、含水量、反应时间、叔丁醇用量等因素对生物柴油得率的影响, 为动物油脂制备成生物柴油的工业化应用提供了理论和技术基础。

1 材料和方法

1.1 材料

脂肪酶 (商品名 Novozyme 435), 丹麦 Novo Nordisk 公司; 猪油市购; 肉豆蔻酸甲酯、棕榈酸甲酯、棕榈油酸甲酯、十七烷酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯和十三烷酸甲酯为色谱纯试剂, Sigma 公司。其他试剂均为分析纯, 国产市售。

1.2 实验方法

1.2.1 转酯化反应 将猪油、甲醇、有机溶剂以一定比例混合, 装入 50 mL 具塞锥形瓶中, 混合均匀后加入适量的脂肪酶, 置于恒温摇床中一定温度和转速 (240 r/min) 下密闭振荡反应。定时取出反应液, 离心后用于色谱分析。

1.2.2 酶的稳定性 每批反应结束后, 过滤分离脂肪酶和反应液, 脂肪酶经叔丁醇冲洗加入到新鲜反应底物中进行下一批次的催化反应, 反应条件与上一批相同。

1.2.3 分析与测定 油脂完全甲酯化方法依据 GB/T 17376—1998。

猪油平均分子量 (M) 的测定由皂化值 (SV) 和酸值 (AV) 计算得到, 猪油的酸价测定依据 GB 5530—1985。

收稿日期: 2007-05-16

基金项目: 国家“863”计划 (2006AA020203)

第一作者: 女, 1976 生, 讲师, 博士生

E-mail: huangying@mail.hust.edu.cn

反应混合物中的脂肪酸甲酯含量采用气相色谱测定。将取出的 100 μL 反应液离心分层,取上层液样 5 μL ,用 295 μL 正己烷溶解,加入 300 μL 内标物(十三烷酸甲酯正己烷溶液),混匀,取 1 μL 样品进样。色谱条件为:GC 9790 气相色谱仪(福立分析仪器有限公司),Innowax 毛细管柱,FID 检测器,载气为高纯氮气。采用程序升温,柱温 180 $^{\circ}\text{C}$,维持 2 min 后以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 230 $^{\circ}\text{C}$,维持 1 min。进样口温度和检测器温度分别为 230 $^{\circ}\text{C}$ 和 280 $^{\circ}\text{C}$ 。甲酯得率 $y(\%)$ 采用下式计算:

$$y = \frac{m_1}{m} \times 100\%$$

式中, m_1 为脂肪酶处理获得的样品中脂肪酸甲酯的质量; m 为油脂完全甲酯化后脂肪酸甲酯的质量。

2 结果与讨论

2.1 猪油完全甲酯化得率

所用的猪油酸价为 0.459 [mg(KOH)/g(油)],皂化值为 198.12 [mg(KOH)/g(油)]。猪油的酸价和皂化值都不高,由于市购的猪油经过脱胶、脱酸、脱色、脱臭等精炼过程处理,所含磷脂及游离脂肪酸均很低。采用 GB/T 17376—1998 测得猪油完全甲酯化得率为 99.2%,说明原料中甘油三酯的含量非常高,可见猪油是一种制备生物柴油的优良原料。

2.2 酶量对转酯反应的影响

在酶催化酯交换的反应过程中,随着催化剂用量的增加,酯交换反应速度相应加快(图 1)。从图 1 中还可知,当 Novozyme 435 用量为 3% (质量分数) 时,催化猪油的转酯得率最高。但进一步增加酶用量,油脂的转酯得率反而有一定程度的下降,这是因为过大的酶量可能造成酶的团聚,从而增大反应过

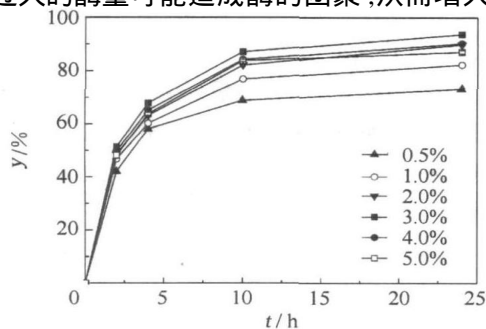


图 1 酶量对转酯反应的影响

Fig. 1 Effect of lipase on transesterification

程中的传质阻力。

2.3 醇油摩尔比对生物柴油转化率的影响

理论上,酯交换反应需要添加的醇油摩尔比为 3:1,但过多的醇会导致酶失活^[10]。在反应体系 4.27 g 猪油,40% 叔丁醇(体积分数),3% Novozyme 435(质量分数),240 r/min,50 $^{\circ}\text{C}$ 反应 24 h 条件下,考察了醇油比对酯交换反应的影响,结果见图 2。醇油摩尔比为 5:1 时催化油脂的转酯得率最高;当醇油比高于 5:1 时,转酯得率并没有进一步提高,反而有一定程度的下降。这是因为有机溶剂叔丁醇的加入不仅缓解了甲醇对脂肪酶的毒害,同时也稀释了底物浓度,导致单位时间内转酯效率降低。

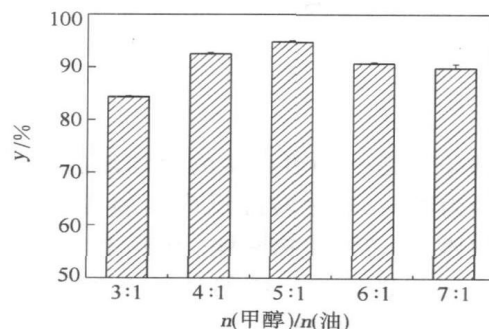


图 2 醇油摩尔比对转酯反应的影响

Fig. 2 Effect of methanol/oil molar ratio on transesterification

2.4 反应温度对转酯反应的影响

温度对酯交换反应的转化率影响较复杂,温度低转化率低,酯交换速率低,反应时间延长,但温度过高会导致酶失活和甲醇挥发。在反应体系 4.27 g 猪油,40% 叔丁醇(体积分数),3% Novozyme 435(质量分数),醇油摩尔比 5:1,240 r/min,反应 24 h 条件下,考察了不同温度对酯交换反应的影响(图 3)。从图 3 可见,50 $^{\circ}\text{C}$ 为酯交换反应的最合适

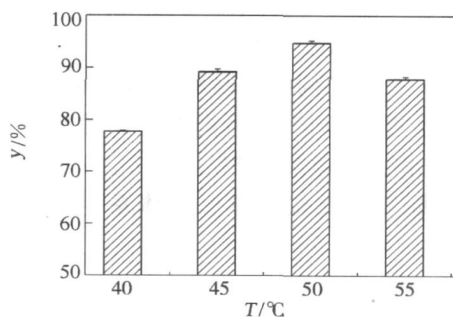


图 3 温度对转酯反应的影响

Fig. 3 Effect of temperature on transesterification

温度。

2.5 叔丁醇用量的影响

叔丁醇作为一种相对亲水的有机溶剂 ($\log P = 0.8$), 本身对脂肪酶没有毒性, 又能促进甲醇和副产物甘油在反应体系中的溶解, 使整个反应体系均相化。作为反应介质, 叔丁醇用量对酯交换反应也非常重要。叔丁醇用量太少, 甲醇和猪油在叔丁醇中不能完全混溶, 没有溶解的甲醇仍会使脂肪酶失活; 用量过多则稀释了反应体系中油和甲醇的浓度, 使酯交换反应的速率减慢。本文在预实验的基础上, 选择了叔丁醇用量范围 10% ~ 60% (相对油的体积分数) 作为实验区域。反应体系为: 4.27 g 猪油, 3% (质量分数) Novozyme 435, 醇油摩尔比 5 : 1, 240 r/min, 50 °C 反应 24 h 条件下, 考察了叔丁醇的加入量对酯交换反应的影响 (图 4)。在叔丁醇用量为 40% 的时候甲酯得率达到最大, 超过 92%。

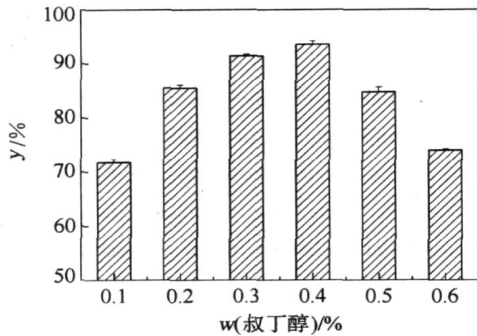
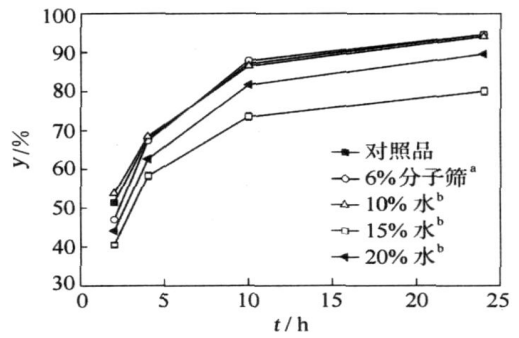


图 4 叔丁醇添加量对转酯反应的影响
Fig. 4 Effect of amount of tert-butanol on transesterification

2.6 水含量的影响

脂肪酶只有在油-水界面才具有催化活性, 因此水在反应体系中是必不可少的, 但过多的水又会促进脂肪酶催化底物水解。实验发现, 在反应体系中加入少量的水, 如 10% (摩尔分数), 会提高反应初速度, 加入分子筛除水或者加入大于 15% (摩尔分数) 水时都会降低反应的初速度; 并且水量的增加并没有提高最终的生物柴油得率, 如图 5 所示。

无水环境中不能充分的形成油-水界面, 脂肪酶活性很低; 在低水环境中脂肪酶的转酯活力随着含水量的增加而增大, 在 10% (摩尔分数) 水时甲酯转化反应的初速度达到最大值; 而过多的水分则会导致脂肪酶催化底物的水解。因此, 反应初始水含量是一个重要的影响因素。



a—质量分数; b—摩尔分数

图 5 水含量对转酯反应的影响

Fig. 5 Effect of amount of water on transesterification

2.7 反应时间对生物柴油的转化率及反应速度的影响

为了研究酶催化的反应进程, 确定最佳反应时间, 在 4.27 g 猪油, 40% (体积分数) 叔丁醇, 3% (质量分数) Novozyme 435, 醇油摩尔比 5 : 1, 240 r/min, 50 °C 的条件下, 考察了反应时间对酯交换反应进程的影响 (图 6)。从图 6 可见, 在反应持续 24 h 以后甲酯得率上升不明显, 因此确定一个批次的最佳反应时间为 24 h, 以获得最佳反应效率。

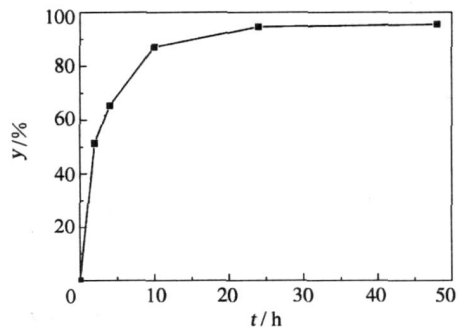


图 6 不同时间下的甲酯得率

Fig. 6 Time course of the transesterification

2.8 酶的稳定性

脂肪酶催化合成生物柴油的主要问题是脂肪酶的制备成本比较高, 且酶易失活。实验考察了叔丁醇体系中, 酶催化猪油合成生物柴油工艺条件下酶的操作稳定性 (图 7)。从图 7 中可见, 脂肪酶经叔丁醇适当冲洗后, 在重复利用 10 批次后酶活仍然保持较好, 没有明显下降。可见, 由于适当比例的叔丁醇的加入使整个反应体系呈现均相, 完全消除了甲醇及甘油对酶催化活性和稳定性的负面影响, 使脂肪酶的使用寿命显著延长。该催化工艺具有潜在的工业化应用前景。

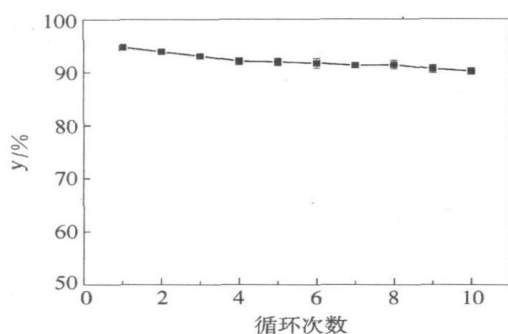


图7 酶的稳定性

Fig. 7 Operational stability of lipase in tert-butanol medium

参考文献:

- [1] NELSON L A, FOGLIA T A, MARMER W N. Lipase-catalyzed production of biodiesel[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1996, 73: 1191 - 1195.
- [2] FU KUDA H, KONDO A, NODA H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2001, 92: 405 - 416.
- [3] NOUREDDINI H, GAO X, PHIL KANA R S. Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fuel production from soybean oil[J]. Bioresource Technology, 2005, 96: 769 - 777.
- [4] YOMI W, PRAPHAN P, TOSHIHIRO N, et al. Conversion of acid oil by-produced in vegetable oil refining to biodiesel fuel by immobilized *Candida antarctica* lipase [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2007, 44: 99 - 105.
- [5] LI Lingli, DU Wei, LIU Dehua, et al. Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium[J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2006, 43: 58 - 62.
- [6] AL-WIDYAN M I, AL-SHYOU KH A O. Experimental evaluation of the transesterification of waste palm oil into biodiesel[J]. Bioresource Technology, 2002, 85: 253 - 256.
- [7] TSAI Wentien, LIN Chihchung, YEH Chingwei. An analysis of biodiesel fuel from waste edible oil in Taiwan [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2007, 11: 838 - 857.
- [8] HSU A F, JONES K, MARMER W N, et al. Production of alkyl esters from tallow and grease using lipase immobilized in a phyllosilicate sol-gel [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2001, 78: 585 - 588.
- [9] NELSON R G, SCHROCK M D. Energetic and economic feasibility associated with the production, processing, and conversion of beef tallow to a substitute diesel fuel[J]. Biomass and Bioenergy, 2006, 30: 584 - 591.
- [10] DU Wei, XÜ Yuanyuan, ZENG Jing, et al. Novozyme 435-catalysed transesterification of crude soya bean oils for biodiesel production in a solvent-free medium [J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2004, 40: 187 - 190.

Lipase-catalyzed biodiesel production from lard in a tert-butanol reaction medium

HUANG Ying ZHENG Hai YAN YunJun

(College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei 430074, China)

Abstract: A new method for biodiesel production from lard involving catalysis by immobilized lipase Novozyme 435 has been developed. The optimal parameters were found to be 5:1 molar ratio of methanol/oil, 3% (mass fraction) Novozyme 435, 40% (volume fraction) tert-butanol, and a reaction temperature of 50 °C. The results showed that after 24 hours, the highest yield of methyl ester obtained was 95.2%. When the lipase was repeatedly used for 10 cycles under the optimal conditions, yields of methyl esters of over 90% were obtained. This indicates that lard can be effectively converted into biodiesel and that lipase exhibits good stability under the conditions employed.

Key words: biodiesel; tert-butanol; lard; transesterification