

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03800561.1

[51] Int. Cl.

C10L 1/00 (2006.01)

C10L 1/02 (2006.01)

C11B 13/04 (2006.01)

C11C 3/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 7 月 25 日

[11] 授权公告号 CN 1328357C

[22] 申请日 2003.2.28 [21] 申请号 03800561.1

[30] 优先权

[32] 2002. 3. 11 [33] JP [31] 65309/2002

[32] 2002. 9. 24 [33] JP [31] 278086/2002

[86] 国际申请 PCT/JP2003/002384 2003. 2. 28

[87] 国际公布 WO2003/076553 日 2003. 9. 18

[85] 进入国家阶段日期 2003. 12. 30

[73] 专利权人 水泽化学工业株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 阿部洁 新田裕 朴龙洙

L · P · 阿纳文斯萨

[56] 参考文献

US 5713965A 1998. 2. 3

JP 11263780A 1999. 9. 28

JP 2000270886A 2000. 10. 3

审查员 王素燕

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 钟守期 孟凡宏

权利要求书 1 页 说明书 18 页 附图 4 页

[54] 发明名称

生产生物燃料的方法

[57] 摘要

一种生产生物燃料的方法，特征在于，它包括：让酶作用于废粘土中存在的油和脂，致使它们分解为脂肪酸，该生成的脂肪酸随后与低级醇起反应生成可用作生物燃料的酯。于是，该方法可用来通过较少步骤的处理，不需要复杂的操作，生产出一种环境友好的生物燃料。

1. 一种生产生物燃料的方法，包括让酶作用于废粘土中的油和脂，以使它们分解为脂肪酸，以及该生成的脂肪酸与具有不超过 7 个碳原子的低级醇起反应生成用作生物燃料的酯，其中分解和脂肪酸与低级醇的反应在有机溶剂中进行。
2. 权利要求 1 的生产方法，其中油和脂是来自植物油的。
3. 权利要求 1 的生产方法，其中酶是脂酶。
4. 权利要求 1 的生产方法，其中相对于 100 重量份油和脂，脂肪酸与低级醇的反应在 25 ~ 250 重量份有机溶剂的存在下进行。
5. 权利要求 1 的生产方法，其中己烷和石油醚被用作有机溶剂。
6. 权利要求 1 的生产方法，其中脂肪酸与低级醇的反应在 20 ~ 50 ℃ 的温度进行。

生产生物燃料的方法

技术领域

本发明涉及生产生物燃料的方法。更具体地说，本发明涉及利用废粘土中的油和脂生产生物燃料的方法。

背景技术

利用油和脂的环境友好 (environment friendly) 燃料已经以生物燃料和生物柴油的名义提出过。

生物柴油的一种代表性例子可通过令烧碱和甲醇作用于用过的煎炸油以使之甲酯化来制取。

日本待审查专利公开 (Kokai) 号 138796/1983 提出，一种可用于柴油机的燃料油可通过将碱水溶液加入到原料植物油中，加热该混合物，经过搅拌后用水洗涤该混合物，随后进行除酸处理，从而低成本、高收率地制取。

但是，按照油和脂以碱皂化，随后用酸中和以释放脂肪酸的方法，作为上面所述现有技术的代表，要求大量步骤，此外，所使用的碱和酸仍留在反应体系中从而导致除掉它们所需要的麻烦操作。

另一方面，在油和脂的精制领域，吸藏着大量油和脂的废粘土作为副产物产生，尚无对它进行有效处理的措施，只是简单地将它们掺混在一起焙烧以生产水泥。

另外，还做过用有机溶剂如己烷来萃取和取出废粘土中包含的油成分的尝试。然而，要取出存在于白粘土 (漂白土) 孔隙中的油成分很困难，迄今仍未找到有效的处理方法。

发明公开

本发明的目的是提供一种用废粘土作为原料通过较少步骤，不需要任何麻烦的操作生产出环境友好的生物燃料的方法。

本发明提供一种生产生物燃料的方法，包括：用酶作用于废粘土中的油和脂，使它们分解为脂肪酸，并使生成的脂肪酸与具有不超过 7 个碳原子的低级醇起反应生成用作生物燃料的酯，其中分解和脂肪酸与低级醇的反应在有机溶剂中进行。

在本发明生产方法中，希望：

- 1、 该油和脂属于植物油性质的；
- 2、 脂肪酸的分解和与醇的反应在水或在有机溶剂中进行；
- 3、 酶是脂酶；
- 4、 脂肪酸与低级醇的反应在 25 ~ 250 重量份水或有机溶剂每 100 重量份油和脂存在下进行；
- 5、 有机溶剂是己烷或石油醚；
- 6、 脂肪酸与低级醇的反应在 20 ~ 50℃ 的温度进行；
- 7、 分离出脂肪酸以后残余废粘土中包含的甘油酯被提取出来并循环到分解为脂肪酸的步骤或者到酯化步骤中；以及
- 8、 采用不大于 8 个碳原子的低级醇。

如上面所指出的，该酸性粘土(酸性白粘土)或化学处理酸性粘土获得的活性粘土，被广泛用于油和脂的脱色和精制。然而，在进行该处理的过程中，产生带来处置问题的废粘土。即，废粘土含有约 20 ~ 约 60 wt% 难以分离的油和脂。此外，废粘土呈粘着的膏状，操作起来非常困难。另外，产生的废粘土数量多达 50,000 吨每年。但是按照本发明，废粘土可用来生产生物燃料以作为资源有效地利用废粘土中的植物油，同时又可重复使用除掉了植物油的废粘土。因此，本发明在有效地防止自然环境的污染的同时能有效地再次利用资源。

按照本发明，一种酶作用于废粘土中的油和脂，使它们分解为脂肪酸，随后如此生成的脂肪酸与低级醇起反应生成其酯。就是说，酶作用于废粘土中的油和脂，借此，油和脂有效地分解为脂肪酸。此外，酶反应即便在较低温度下也能进行并且反应容易控制。进而，由分解所生成的脂肪酸与低级醇起反应而酯化，并可轻易地分离和回收，不需要任何麻烦的操作。

附图简述

图 1 是标绘实例 1(图中的黑圈)和对比例 1(图中的白圈)中反应时间与酯生成量之间关系的图；

图 2 是标绘实例 2(图中的黑圈)和对比例 2(图中的白圈)中反应时间与酯生成量之间关系的图；

图 3 是标绘实例 3(图中的黑圈)和对比例 2(图中的白圈)中反应时

间与酯生成量之间关系的图;

图 4 是标绘实例 4(白圈:反应了 72 h;黑圈:反应了 48 h)中反应时间与酯生成量之间关系的图;

图 5 是标绘实例 5(白圈)、实例 6(黑圈)、实例 7(黑三角)、实例 8(黑方块)、实例 9(方框)、实例 10(白三角)和实例 11(菱形框)中反应时间与酯生成量之间关系的图;

图 6 是标绘实例 16~18 中反应时间与酯生成量之间关系的图,其中所用溶剂是己烷(黑三角)、二乙基醚(黑圈)和石油醚(方框);

图 7 是标绘实例 19 中反应时间与酯生成量之间关系的图;

图 8 是标绘实例 20 中反应时间与酯生成量之间关系的图。

本发明最佳实施模式

[废粘土]

本发明方法使用的废粘土是作为副产物从油和脂利用脱色或精制用白粘土(漂白土)进行脱色或精制的步骤中分离出来的。本发明中使用的废粘土含有油成分,而从防止污染环境的角度不允许丢弃。因此,迫切要求有效地利用该废粘土。

就是说,向待脱色或精制的油和脂中以脱色或精制用粉末试剂形式加入蒙脱石类粘土矿物,如酸性粘土或通过用酸和/或碱处理上述粘土矿物所获得的活性粘土,以及二者在一起均匀地搅拌,使得油和脂中包含的有色成分和杂质成分被废粘土颗粒吸附。脱色或精制后分离出来的废粘土含有数量等于所用白粘土的吸油量的油和脂。

油和脂的脱色是在已知条件下进行的,例如,加入 0.1~5%白粘土作为脱色或精制剂,以油和脂的重量为基准,并在 90~150℃的温度搅拌该两种组合物达 5~30 分钟,从而完成脱色或精制的加工。

脱色或精制后的混合物被喂入到任意过滤器如压滤机、带式过滤机、Oliver 过滤器、美式(American)过滤器或减压或加压过滤器如离心过滤机中,结果获得精制油和脂以及所谓废粘土,即,用过的脱色或精制剂。废粘土通常含有约 20~约 60 wt%被颗粒吸藏的油成分,不过其数量随着被精制的原料油的种类可能有所不同。

作为脱色或精制白粘土,本发明中使用的废粘土采用绿土矿物如酸性粘土(蒙脱石)、膨润土、滑石粉、锂蒙脱石和 stevensite 以及

chained(链状)粘土矿物,例如,石绒,或其酸处理的产物。

在这些粘土矿物当中,蒙脱石粘土矿物及其酸处理的产物被广泛用于油和脂的脱色和精制。

蒙脱石粘土矿物,如酸性粘土,是一种铝硅酸盐,作为基本单元,它具有一种三层结构,其中一个 AlO_4 八面体层被夹在两个 SiO_4 四面体层之间,该基本单元的三层结构沿 C-轴方向进一步层合许多次,形成一种层状结晶结构。此种层状结晶结构普遍存在于蒙脱石的粘土矿物中。

在诸蒙脱石当中,日本广泛生产的酸性粘土是风化的,并且作为蒙脱石基本单元的三层结构中 AlO_4 八面体层中的 Al 原子被碱土金属如镁或钙部分地取代,同时氢离子键合于其上以补偿一个原子价。因此,如果把酸性粘土悬浮在食盐的水溶液中以测定其 pH 值,则由于氢离子被钠离子取代而表现出酸性。另一方面,膨润土表现出中性到非常弱碱性的 pH 值,原因是其可交换阳离子大多是钠离子,另外还表现出大的水溶胀性质。另一方面,从吸附角度考虑,酸性粘土非常有利,因为钠离子已被碱土金属取代,碱金属成分的数量很少,故水溶胀性小,并且含有大量硅酸。因此,作为蒙脱石,日本生产的任何酸性粘土都被广泛使用。还有使用所谓一种子类膨润土(sub-bentonite)(钙型膨润土)粘土矿物的。

下表 1 列出酸性粘土(在 $100^\circ C$ 干燥的)一般化学组成。

表1

SiO_2	61.0 至 74.0 (重量%)
Al_2O_3	12.0 至 23.0
Fe_2O_3	2.0 至 3.5
MgO	3.0 至 7.0
CaO	1.0 至 4.0
K_2O	0.3 至 2.0
Na_2O	0.3 至 2.0
Ig. 损失	5.0 至 10.0

在酸性粘土的使用中,包含在其中的石头,例如,方石英、石英和长石,可采用依靠比重差分离原理的方法(此类分级措施如水选、风

选等)轻易地分开。这些方法当中,结晶硅酸的方石英容易与碱起反应并转化为碱金属硅酸盐,因此可用此种方法除掉。层状结晶结构的纯度可通过上述方法改进。

另一方面,酸性粘土的酸处理产物被称之为活性粘土,可作为油和脂精制的试剂使用。该酸处理产物可通过以无机酸溶液如硫酸或盐酸,处理酸性粘土,部分地洗脱其中包含的碱性成分然后洗涤它,而轻易地制成。由于用酸进行了此种处理,酸性粘土所具有的层状结晶结构被部分地破坏,但是硅酸的含量(SiO_2)则提高了,从而促使比表面积增加以及诸如吸附性能之类的性能的改善。通常在市场上见到的酸性粘土的酸处理产物和活性粘土及其中间产物,作为精制试剂表现出优异性能。

该酸处理产物一般具有如下表 2 所示组成,尽管它随着原料酸性粘土的种类或以酸进行处理的条件可有所不同。

表2

SiO_2	65.0 至 83.0 (重量%)
Al_2O_3	5.0 至 12.0
Fe_2O_3	1.0 至 3.5
MgO	1.0 至 7.0
CaO	0.5 至 4.0
K_2O	0.2 至 2.0
Na_2O	0.2 至 2.0
Ig. 损失	5.0 至 10.0

链状粘土矿物如方石英,具有三维链状结构,像交替堆砌的滑石砖。链状间隙中形成的孔具有大表面面积。因此,此种链状粘土矿物也具有吸藏油和脂的吸附作用和吸收作用,并因而能用于本发明中。

上面提到的粘土矿物及其酸处理产物在本发明中以吸藏植物油的所谓废粘土的形式使用。

本发明废粘土中包含的植物油是广泛存在于植物界中并主要含有脂肪酸与甘油的酯的那些。例子包括向日葵油、豆油、菜籽油、棕榈油、棕榈仁油、棉籽油、椰子油、米糠油、芝麻油、蓖麻油、亚麻子油、橄榄油、桐油、山茶油、花生油、木棉油、可可油、野漆树蜡(Japan

wax)、向日葵油和玉米油。希望的是,本发明中使用的植物油至少部分地含有主要是不饱和脂肪酸与甘油构成的酯。

[酶]

在本发明中,任何酶都可使用,只要能水解油和脂并生成脂肪酸。一般而言,可使用脂酶。对于来源没有限制,可使用源于微生物的脂酶、源于植物的脂酶和源于动物胰腺的脂酶。使用的脂酶可固定到适当载体上。

脂酶的具体例子包括:

源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司);

源于 *Candida rugosa* 的脂酶 VII 型 (Sigma 公司);

源于 *Rhizopus arrhizus* 的脂酶 11 型 (Sigma 公司);

源于 *Rhizopus oryzae* 的脂酶 F-AP15 (Amano 酶公司);

源于 *Rhizopus japonicus* NR400 的脂酶 A-10FG (Nagase 公司);

源于 *Aspergillus niger* 的 Sumizyme NLS (Shin-nihon Kagaku 公司);

源于 *Phycomyces nitens* NRRL 2444 的脂酶 PN (Wako 公司);

源于 *Porcine pancreas* 的脂酶 II 型 (Sigma 公司);

源于 *Pseudomonas cepacia* 的脂酶 (Sigma 公司);

源于 *Mucor javanicus* 的脂酶 (Sigma 公司); 和

碱脂酶 (NOVO 公司);

然而,这些仅仅是举例说明,脂酶绝不仅限于这些。

[酶反应和酯化]

按照本发明,酶作用于废粘土中的油和脂,使它们分解为脂肪酸,后者随后与低级醇起反应而被酯化。

油和脂的酶反应可在已知条件下进行。反应可在水或有机溶剂存在下进行。特别希望的是,该反应在有机溶剂如己烷、石油醚、丙酮或庚烷以及,特别是己烷或石油醚存在下进行。希望的是,水以酶的水溶液或水分散体形式喂入。当然,也允许水与酶分开加入。

酶的用量,也就是用酶达到分解的用量,取决于废粘土中含有的油和脂的数量,具体地说介于 30~85 IU,尤其是 50~65 IU 每克在废粘土中的油和脂。

水和有机溶剂在反应体系中的存在量介于 25~250 重量份每 100

重量份在废粘土中的油和脂。特别是，水优选以 25 ~ 75 重量份的用量使用。有机溶剂优选以 80 ~ 210 重量份的数量使用。

在油和脂分解为脂肪酸的过程中，当水或有机溶剂的数量大于或小于上述范围时，脂肪酸的收率趋于下降。当在用过的粘土与油和脂的共存在下酶作用于废粘土以实施酶反应时，要求水以上述范围内较大的数量使用。另一方面，有机溶剂可以大到足以使废粘土流态化的数量存在。过量使用有机溶剂将导致收率的下降。因此，最可心的是，有机溶剂以满足下列条件的用量使用：即，有机溶剂/废粘土的数量比(重量比)介于 0.45 ~ 0.82，尤其是 0.55 ~ 0.70。

分解为脂肪酸的反应可在酶能维持活性的温度范围内进行，一般介于 20 ~ 50℃，尤其是 30 ~ 40℃。在酶反应进行过程中，优选的 pH 值可随酶的种类和废粘土的种类而不同。然而，一般而言，要求 pH 介于 5.0 ~ 8.0。为此目的，要求使用缓冲溶液。

酶反应的时间不受任何限制。该时间可以是达到所要求的分解比的时间，例如，介于约 40 ~ 约 72 小时。

作为脂肪酸酯化使用的低级醇可举出具有不超过 8 个碳原子的那些醇作为例子，例如，甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、异丁醇、仲丁醇、叔丁醇、正戊醇、异戊醇、己醇、庚醇和辛醇。特别是，希望使用具有不超过 7 个碳原子的那些醇。那些当中，从反应活性和成本的角度希望使用甲醇。

可心的是，低级醇的用量不小于与脂肪酸等当量的数量，尤其是满足脂肪酸:醇(摩尔比)介于 1:3 ~ 1:6，优选 1:3 ~ 1:4(参见图 6)。

可心的是，从提高酯的收率角度，脂肪酸在水或有机溶剂存在下进行酯化，像油和脂借助酶的作用分解为脂肪酸时那样。

在进行酯化的过程中，水或有机溶剂以 25 ~ 250 重量份每 100 重量份油和脂的数量使用，像在油和脂分解为脂肪酸的步骤中那样。特别是，希望水以 25 ~ 75 重量份的数量使用。另外，可心的是有机溶剂以 80 ~ 210 重量份的数量使用。

在脂肪酸酯化过程中，当水或有机溶剂的数量大于或小于上述范围时，酯的收率趋于下降。

脂肪酸的酯化反应在适合酯化反应的温度范围内进行，例如，在 20 ~ 50℃ 的范围，尤其是 30 ~ 40℃。对于酯化反应时间不存在任何特

定限制。酯化反应时间可以是达到要求的酯收率的时间，例如约 48 ~ 约 72 小时。

按照本发明，酶反应和酯化反应可作为单罐 (one-pot) 反应连续地在同一反应体系中，或者作为两段反应实施。

就是说，单罐反应的实施过程包括，将废粘土、酶的水溶液或分散体以及低级醇喂入到反应体系中，或者包括，将废粘土、有机溶剂、酶和低级醇喂入到反应体系中，并从反应体系中回收生成的酯。

两段反应的实施过程是，将废粘土、酶和有机溶剂喂入到反应体系中，或者是，将废粘土和酶的水溶液或分散体喂入到反应体系中进行酶反应，以及随后向反应体系中喂入低级醇以进行酯化反应，以及从反应体系中回收生成的酯。

在水体系中的酶反应可通过废粘土和酶的水溶液或分散体以糊状或浆状进行捏合来实施。或者，在水体系中的酶反应利用稀释溶剂以其分散体状态实施。

所生成的脂肪酸的酯可采用已知方式分离和回收，例如，蒸馏、萃取、油/水分离等方法。

未反应的甘油酯可留在从中分离出脂肪酸的残余废粘土中，或者酶可留在残余废粘土中。该残余物中包含的甘油酯可提取出来并循环到分解为脂肪酸的步骤，或者到酯化步骤中。另外，根据要求，残余废粘土中包含的酶可再次使用。

另外，还允许将脂和油或者废食用油加入到含脂和油的废粘土中，让酶作用于其上使之分解为脂肪酸，并让生成的脂肪酸与低级醇起反应随后酯化。或者，另外还允许植入微生物到废粘土中的油和脂上以生成能导致油和脂分解为脂肪酸的酶，借此，使生成的脂肪酸与低级醇起反应随后酯化。

实施例

现在，将通过下面的实施例来说明本发明。

(测定方法)

(1) 废粘土中油含量的测定。

采用 5 L 烧瓶，将废粘土和正己烷按照 1:1 的重量比在一起混合，并在 30℃ 萃取 10 min。获得的己烷相分离出来，其中的油采用真空旋

转蒸发器提取出来。该操作进行两次以回收获得的油成分，后者随后在 60℃加热的干燥器中进行干燥直至重量变得恒定。测定其重量并将其作为油的数量。

(2) 皂化值

1.5 g 从废粘土值提取的油投入到 25 mL 烧瓶中，向其中加入并混合 25 mL 浓度 0.5 N 的氢氧化钾。混合物以规定的搅拌速度进行搅拌，并静置于 37℃ 30 分钟。随后冷却至常温并向混合物中滴加 1%酚酞。混合物以浓度 0.5 N 盐酸溶液滴定，从而得出皂化值。

(3) 脂肪酸浓度测定

200 mg 从废粘土中提取的油溶解在 6 mL 含 2%盐酸的甲醇溶液中，让混合物在保持 60~80℃的水罐中静置 10 分钟。接着，向其中加入通过盐酸与甲醇按 3:2 的比例混合制备的 10 mL 36%甲醇溶液，混合物煮沸 10 分钟，冷却后获得其甲酯。该甲酯溶解在 1 mL 乙腈中，4 μ L 该溶液注入到气相色谱仪中以便对其进行分析。另外，十五烷酸用作内标。

该气相色谱仪是 GC-14B(Shimazu 公司)，由充填了在 80/100 目 Chromosorb W 载体上的 5%Advans DS 的 3 mm x 2 mm 玻璃柱，和氢电离检测器组成。柱、注入部分和炉的温度控制在 190、240 和 250℃。脂肪酸利用市售供应的标准脂肪酸(由 Sigma 公司购得)来识别。

(酶溶液的制备)

5 g 源于 *Rhizopus oryzae* 的脂酶粉末(F-AP15, Amano Seiyaku 公司)在搅拌下、30 分钟内溶解在 10 mL 蒸馏水中，以 3500 rpm 离心分离 10 分钟，上层清液用作酶溶液(样品 R-1)。酶活性(IU/L)利用 Dainippon Seiyaku 公司制造的脂酶分析包 S 进行分析。

(实例 1)

向 100 mL 烧瓶中引入 11.0 g 废粘土(使菜籽油脱色后，含油量 33 wt%，油的皂化值 181 的活性粘土)、1 mL 样品 R-1 的溶液(酶活性 201 IU/ml)、1.25 mL 缓冲溶液(pH=7.0)和浓度 4.75 mmol (millimols)的甲醇，混合物在 35℃以 175 rpm 搅拌下反应 72 小时。反应后，取出 200 μ L 反应产物，向其中加入 1.0 mL 己烷。混合物进行剧烈搅拌，并在 10,000 rpm 下进行 5 min (分钟)离心分离以分离出己烷层。接着，反应产物溶解在 1.0 mL 乙腈中，用气相色谱术分析

其甲酯。结果载于表 3 和图 1(黑圈)。

(对比例 1)

3 g 菜籽油(Nakaraitesk 公司制造的试剂, 皂化值 188)、3 mL 甲醇-盐酸和 1.0 mL 甲醇被引入到带盖子的试管中, 并在 35℃加热 72 h(小时)。加热后, 温度冷却至常温。然后, 取出 200 μ l 混合物, 向其中加入 1.0 mL 己烷。混合物进行剧烈搅拌, 并离心分离。蒸发掉己烷层, 用气相色谱术分析甲酯。结果载于表 3 和图 1(白圈)。

表 3

	油种类	废粘土中 含油(g)	甲酯的生 成量(g)	转化率 (%)	气味
实例 1	菜籽油	3.63	1.05	28.9	○
对比例 1	菜籽油	3.00	0.56	18.5	x

气味○: 无

x: 有

(实例 2)

向 100 mL 烧瓶中引入 11.0 g 废粘土(使豆油脱色后的活性粘土, 含油量 33 wt%, 油的皂化值 188)、1 mL 样品 R-1 的溶液(酶活性 201 IU/ml)、1.25 mL 缓冲溶液(pH=7.0)和浓度 4.75 mmol 的甲醇, 混合物在 35℃、以 175 rpm 搅拌下反应 72 h。反应后, 取出 200 μ l 反应产物, 向其中加入 1.0 mL 己烷。混合物进行剧烈搅拌, 并在 10,000 rpm 下进行 5 min 离心分离以分离出己烷层。接着, 反应产物溶解在 1.0 mL 乙腈中, 用气相色谱术分析其甲酯。结果载于表 4 和图 2(黑圈)。

(对比例 2)

3 g 豆油(Wako Junyaku 公司制造的试剂, 皂化值 193)、3 mL 甲醇-盐酸和 1.0 mL 甲醇被引入到带盖子的试管中, 并在 35℃加热 72 h。加热后, 温度冷却至常温。然后, 取出 200 μ l 混合物, 向其中加入 1.0 mL 己烷。混合物进行剧烈搅拌, 并离心分离。蒸发掉己烷层, 用气相色谱术分析甲酯。结果载于表 4 和图 2(白圈)。

表 4

	油种类	废粘土中 含油 (g)	甲酯的生 成量 (g)	转化率 (%)	气味
实例 2	豆油	3.63	0.96	26.4	○
对比例 2	豆油	3.00	0.52	17.45	x
气味○: 无		x: 有			

(实例 3)

向 100 mL 烧瓶中引入 11.0 g 废粘土(使棕榈油脱色后的活性粘土, 含油量 33 wt%, 油的皂化值 176)、1 mL 样品 R-1 的溶液(酶活性 201 IU/ml)、1.25 mL 缓冲溶液(pH=7.0)和浓度 4.75 mmol 的甲醇, 混合物在 35℃、以 175 rpm 搅拌下反应 72 h。反应后, 取出 200 μ l 反应产物, 向其中加入 1.0 mL 己烷。混合物进行剧烈搅拌, 并在 10,000 rpm 下进行 5 min 离心分离以分离出己烷层。接着, 反应产物溶解在 1.0 mL 乙腈中, 用气相色谱术分析其甲酯。结果载于表 5 和图 3(黑圈)。

(对比例 3)

3 g 棕榈油(Spectrum Chemical Mfg. 公司制造的试剂, 皂化值 180)、3 mL 甲醇-盐酸和 1.0 mL 甲醇被引入到带盖子的试管中, 并在 35℃加热 72 h。加热后, 温度冷却至常温。然后, 取出 200 μ l 混合物, 向其中加入 1.0 mL 己烷。混合物进行剧烈搅拌, 并离心分离。蒸发掉己烷层, 用气相色谱术分析甲酯。结果载于表 5 和图 3(白圈)。

表 5

	油种类	废粘土中 含油 (g)	甲酯的生 成量 (g)	转化率 (%)	气味
实例 3	棕榈油	3.63	0.69	19.1	○
对比例 3	棕榈油	3.00	0.53	17.6	x
气味○: 无		x: 有			

(实例 4)

5 g 实例 1 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶

OF(Meito Sangyo 公司制造的粉末)(数量调节到 1,000 U 每克废粘土)、5 mL 磷酸缓冲溶液(pH=7.0)和 274 μ l 甲醇引入到 200 mL 烧瓶中,随后在烧瓶口盖上橡皮塞(甲醇用量是从油的皂化值根据使油:甲醇为 1 mol:1 mol 的要求算出的)。然后,混合物在以 170 rpm 旋转的旋转摇动机上在 37℃ 摇动 48 h 或 72 h(24 h 和 48 h 后分别加入 274 μ l 数量的甲醇)。反应后,10 mL 蒸馏水加入到烧瓶中以洗涤烧瓶内部,然后转移到 Falcon 试管中。然后,该 Falcon 试管于 10,000 rpm 离心分离达 15 min,取出上层清液。然后,在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的甲酯。接着,完全吹出己烷,以使用气相色谱术分析甲酯。结果如表 6 和图 4 所示(白圈:反应了 72 h,黑圈:反应了 48 h)。

表 6

	油种类	废粘土中 含油(g)	甲酯的生 成量(g)	转化率 (%)	气味
实例 4	菜籽油	1.65	0.43 (0.57)	26.1 (34.8)	○
气味○: 无		x: 有			

不带括弧的数值代表当反应 48 h 时,甲酯生成量(g)和转化率(%),而括弧内的数值代表反应 72 h 时,甲酯生成量(g)和转化率(%)。
(实例 5)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF(Meito Sangyo 公司制造的粉末)(数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和 274 μ l 甲醇引入到 500 mL 烧瓶中,随后在烧瓶口盖上橡皮塞(甲醇用量是从油的皂化值根据使油:甲醇为 1 mol:4 mol 的要求算出的)。然后,混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后,反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后,该 Falcon 试管于 10,000 rpm 离心分离达 15 min,取出上层清液。然后,在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的甲酯。接着,完全吹出己烷,在获得的甲酯中加入氯仿,以便将它溶解,然后对其中甲酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

(实例 6)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF(Meito Sangyo 公司制造的粉末)(数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的乙醇引入到 500 mL 烧瓶中,随后在烧瓶口盖上橡皮塞(乙醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后,混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后,反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后,该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min,取出上层清液。然后,在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的乙酯。接着,完全吹出己烷,在获得的乙酯中加入氯仿,以便将它溶解,然后对其乙酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

(实例 7)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF(Meito Sangyo 公司制造的粉末)(数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的丁醇引入到 500 mL 烧瓶中,随后在烧瓶口盖上橡皮塞(丁醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后,混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后,反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后,该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min,取出上层清液。然后,在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的丁酯。接着,完全吹出己烷,在获得的丁酯中加入氯仿,以便将它溶解,然后对其丁酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

(实例 8)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF(Meito Sangyo 公司制造的粉末)(数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的正丙醇引入到 500 mL 烧瓶中,随后在烧瓶口盖上橡皮塞(正丙醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后,混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后,反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后,该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min,取出上层清液。然后,在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的正丙酯。接着,完全吹出己烷,在获得的正丙酯中加入氯仿,以便将它溶解,然后对

其中正丙酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

(实例 9)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 1000 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的异丙醇引入到 500 mL 烧瓶中, 随后在烧瓶口盖上橡皮塞(异丙醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后, 混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后, 反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后, 该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min, 取出上层清液。然后, 在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的异丙酯。接着, 完全吹出己烷, 在获得的异丙酯中加入氯仿, 以便将它溶解, 然后对其中异丙酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

(实例 10)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的异戊醇引入到 500 mL 烧瓶中, 随后在烧瓶口盖上橡皮塞(异戊醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后, 混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后, 反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后, 该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min, 取出上层清液。然后, 在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的异戊酯。接着, 完全吹出己烷, 在获得的异戊酯中加入氯仿, 以便将它溶解, 然后对其中异戊酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

(实例 11)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的正辛醇引入到 500 mL 烧瓶中, 随后在烧瓶口盖上橡皮塞(正辛醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后, 混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 0.5

h、2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后，反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后，该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min，取出上层清液。然后，在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的正辛酯。接着，完全吹出己烷，在获得的正辛酯中加入氯仿，以便将它溶解，然后对其中正辛酯进行气相色谱术分析。结果如表 7 和图 5 所示。

表 7

	油种类	废粘土中 含油 (g)	烷基酯的 生成量 (g)	转化率 (%)
实例 5	棕榈油	3.3	2.7	83.0
实例 6	棕榈油	3.3	3.0	90.1
实例 7	棕榈油	3.3	3.1	94.6
实例 8	棕榈油	3.3	3.0	92.2
实例 9	棕榈油	3.3	2.9	88.0
实例 10	棕榈油	3.3	3.0	91.0
实例 11	棕榈油	3.3	0.93	28.3

实例 5、7、10 和 11 就各自的可燃性、燃烧时冒黑烟的程度和气味做了评估。结果载于表 8。

表 8

	<u>可燃性</u>	<u>冒黑烟程度</u>	<u>气味</u>
实例 5	○	○	○
实例 7	○	○	○
实例 10	○	○	○
实例 11	×	×	×
可燃性	○: 好		X: 差
冒黑烟程度	○: 无		X: 有
气味	○: 无		X: 有

(实例 12 ~ 15)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和甲醇引入到 200 mL 烧瓶中；随后在烧瓶口盖上橡皮塞(甲醇用量是从油的皂化值根据油: 甲醇的比值是 1 mol:3 mol, 1 mol:4 mol, 1 mol:5 mol 和 1 mol:6 mol 算出的)。

然后, 混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 24 h。反应后, 反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后, 该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min, 取出上层清液。然后, 在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的甲酯。接着, 完全吹出己烷, 在获得的甲酯中加入氯仿, 以便将它溶解, 然后对其中甲酯进行气相色谱术分析。结果如表 9 所示, 其中转化率(%)是最大转化率数值。

表 9

	油: 醇 (摩尔比)	废粘土中 含油 (g)	烷基酯的 生成量 (g)	转化率 (%)
实例 12	1: 3	3.3	2.6	80.3
实例 13	1: 4	3.3	2.7	83.0
实例 14	1: 5	3.3	1.8	54.2
实例 15	1: 6	3.3	1.0	30.0

(实例 16 ~ 18)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 238 U 每克废粘土) 以及作为溶剂, 石油醚、己烷和二乙基醚各 9 mL, 还有 274 μ l 甲醇引入到 200 mL 烧瓶中, 随后在烧瓶口盖上橡皮塞。

然后, 混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 2 h、4 h、6 h 和 8 h。反应后, 反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后, 该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min, 取出上层清液。然后, 在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的甲酯。接着, 完全吹出己烷, 在获得的甲酯中加入氯仿, 以便将它溶解, 然后对其中甲酯进行气相色谱术分析。结果如表 10 和图 6 所示。

表 10

	溶剂	废粘土中 含油 (g)	烷基酯的 生成量 (g)	转化率 (%)
实例 16	己烷	3.3	2.7	80.5
实例 17	石油醚	3.3	2.7	80.4
实例 18	二乙基醚	3.3	1.4	41.2

(实例 19)

1.0 kg 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 238 U 每克废粘土)、600 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的丁醇引入到 5 L 烧瓶中, 随后在烧瓶口盖上橡皮塞(丁醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后, 混合物在以 170 rpm 旋转的旋转摇动机上在 37℃ 摇动 4 h、8 h 和 24 h。反应后, 反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后, 该 Falcon 试管接受 10,000 rpm 离心分离达 15 min, 取出上层清液。然后, 在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的丁酯。接着, 完全吹出己烷, 在获得的丁酯中加入氯仿, 以便将它溶解, 然后对其中丁酯进行气相色谱术分析。结果如表 11 和图 7 所示。

表 11

	溶剂	废粘土中 含油 (g)	烷基酯的 生成量 (g)	转化率 (%)
实例 19	己烷	330	314.2	95.2

(实例 20)

10 g 实例 3 中使用的废粘土、源于 *Candida cylindracea* 的脂酶 OF (Meito Sangyo 公司制造的粉末) (数量调节到 238 U 每克废粘土)、10 mL 己烷和数量为油含量 4 倍(按摩尔计)的丁醇引入到 200 mL 烧瓶中, 随后在烧瓶口盖上橡皮塞(丁醇用量是从油的皂化值算出的)。

然后, 混合物在以 120 rpm 旋转的往复摇动机上在 37℃ 摇动 8 h。反应后, 反应溶液转移到 Falcon 试管中。然后, 该 Falcon 试管接受

10,000 rpm 离心分离达 15 min, 取出上层清液。然后, 在上层清液中加入己烷以便溶解已生成的丁酯。接着, 完全吹出己烷, 在获得的丁酯中加入氯仿, 以便将它溶解, 然后对其中丁酯进行气相色谱术分析。结果如表 12 和图 8 所示。

表 12

	溶剂	废粘土中 含油 (g)	烷基酯的 生成量 (g)	转化率 (%)
实例 20	己烷	3.3	1.5	44.0

按照本发明, 让酶作用于废粘土中的油和脂, 致使它们分解为脂肪酸, 后者随后与低级醇起反应生成其单酯。于是, 从原料废粘土出发通过较少步骤, 不需要麻烦的操作就获得一种环境友好的生物燃料。

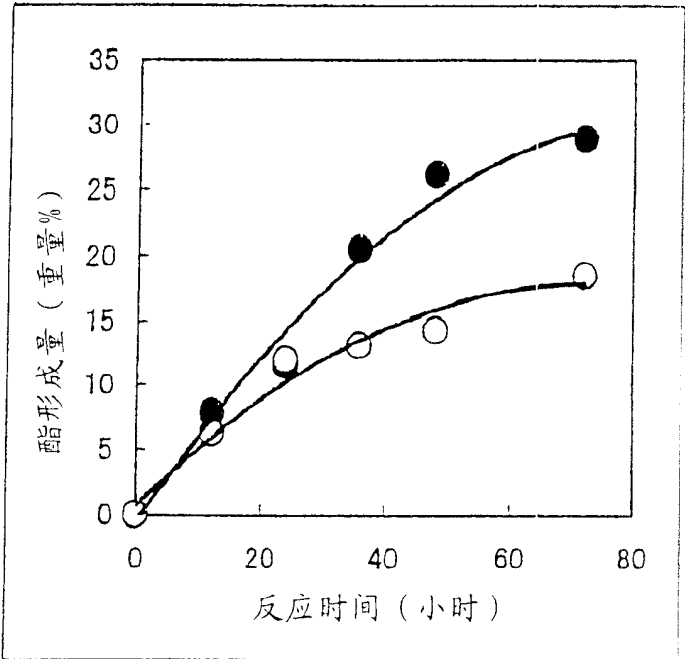


图 1

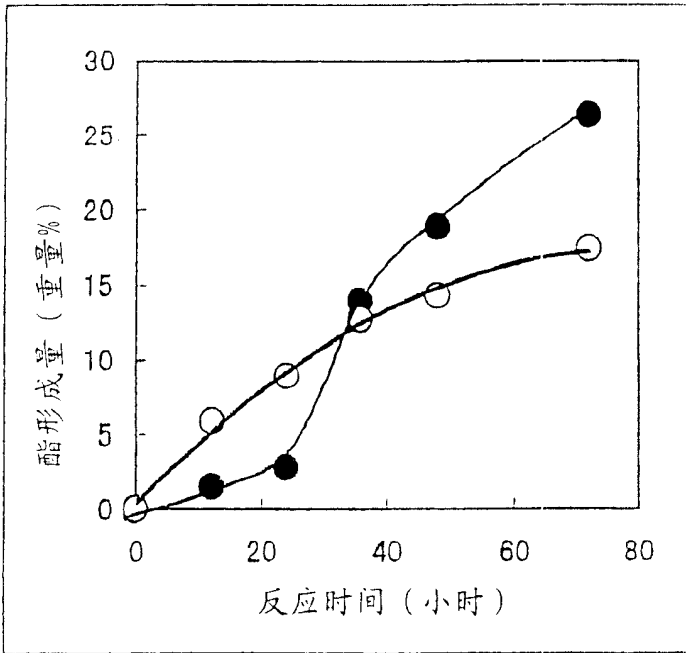


图 2

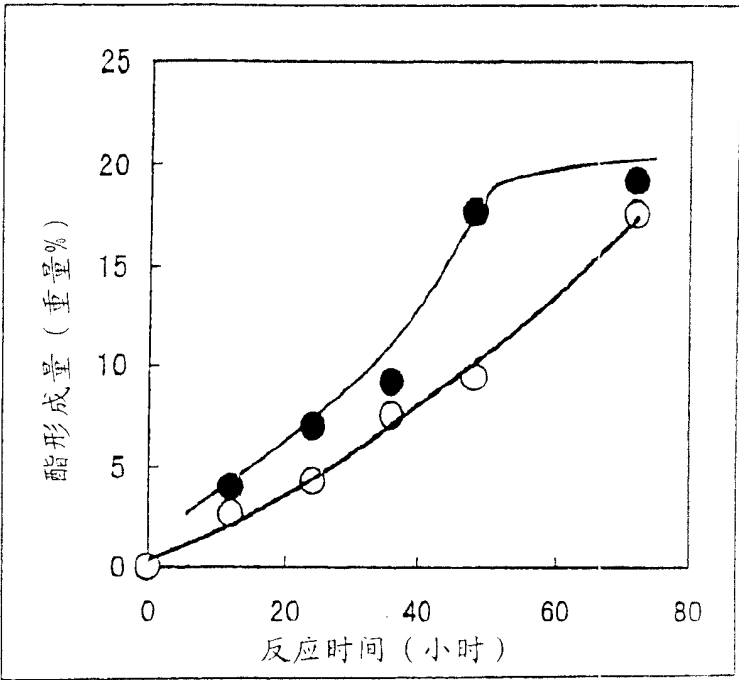


图 3

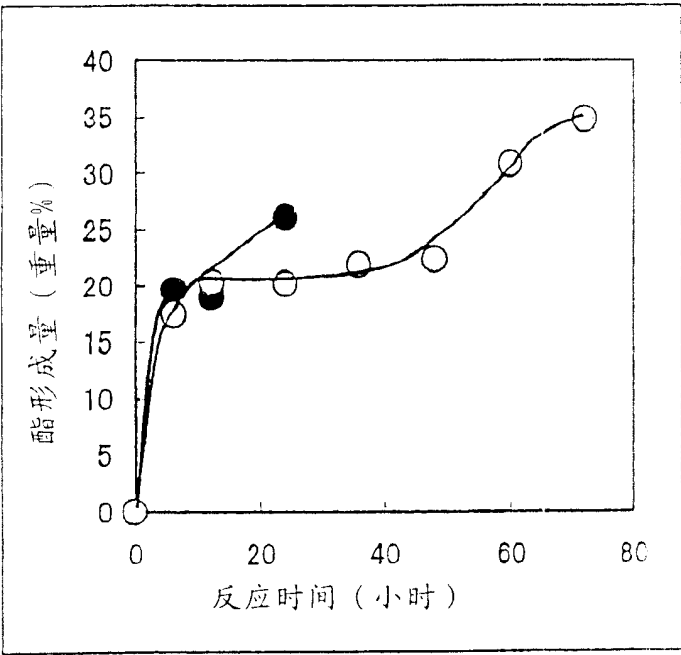


图 4

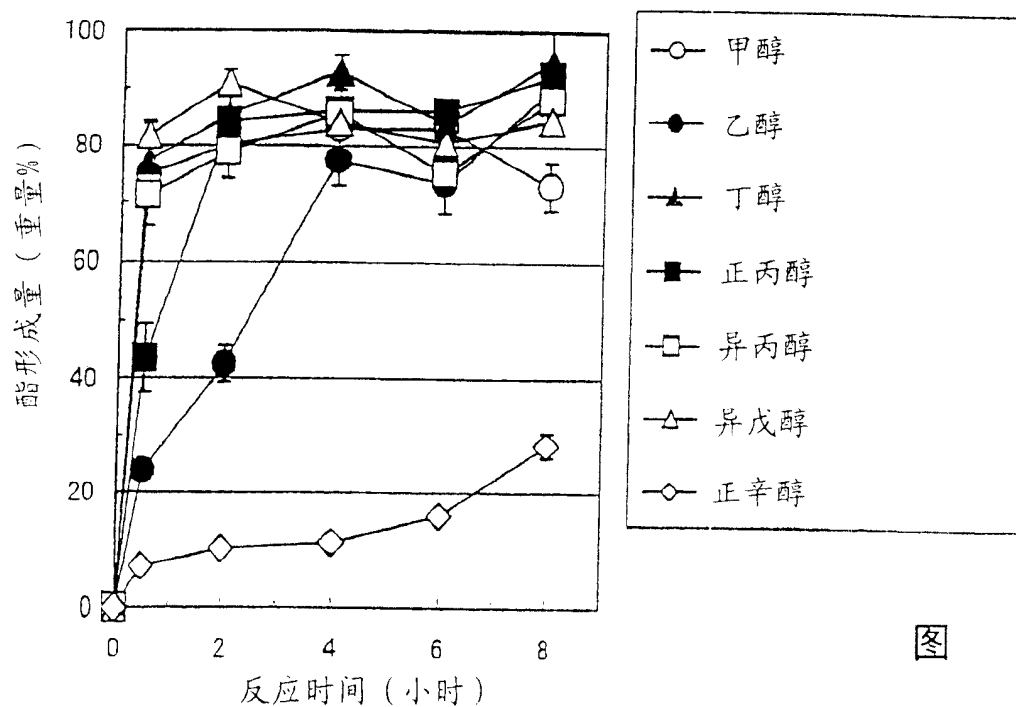


图 5

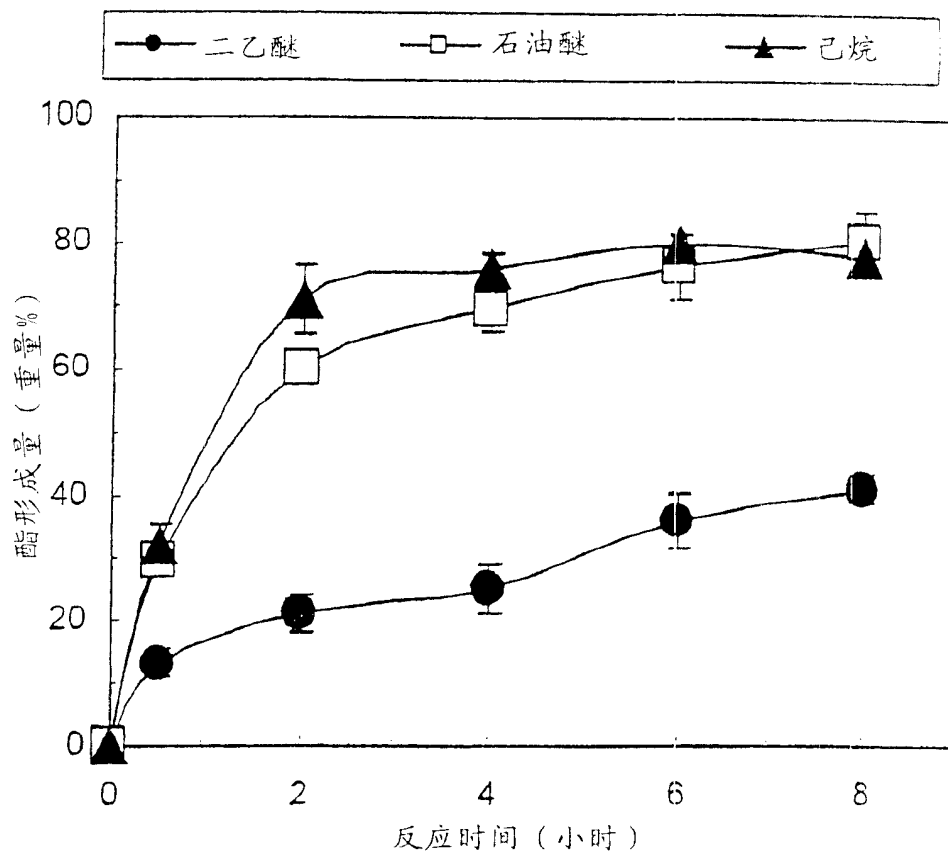


图 6

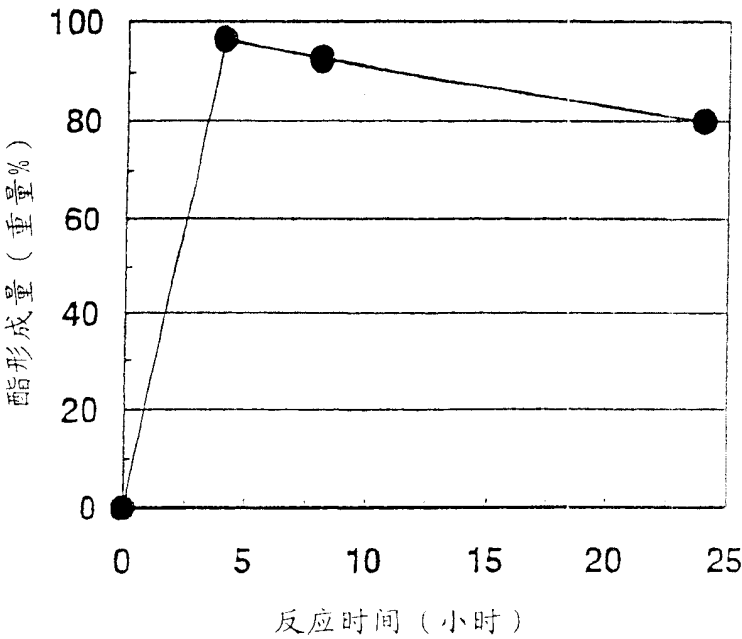


图 7

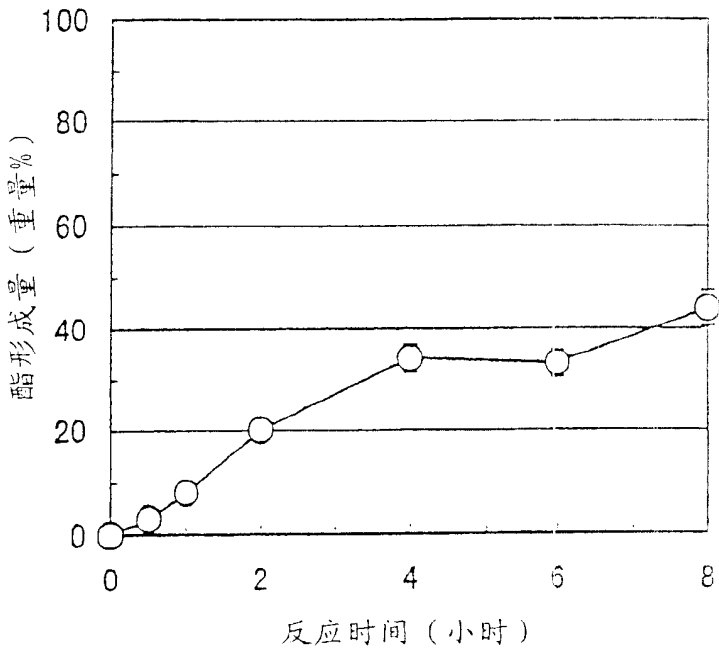


图 8