

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C10G 3/00 (2006.01)

C12P 7/64 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710059727.7

[43] 公开日 2008年2月13日

[11] 公开号 CN 101121896A

[22] 申请日 2007.9.19

[21] 申请号 200710059727.7

[71] 申请人 河北工业大学

地址 300130 天津市红桥区丁字沽光荣道8号

[72] 发明人 高静 马丽

权利要求书1页 说明书5页

[54] 发明名称

利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法

[57] 摘要

本发明利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法涉及从脂肪酸制备生物柴油领域。该方法以麻疯树油和乙酸甲酯为原料，先进行麻疯树油的预处理；然后利用脂肪酶催化麻疯树油和乙酸甲酯反应生产生物柴油，乙酸甲酯：麻疯树油(质量比) = 1 : 1 ~ 2，脂肪酶用量为麻疯树油质量的 10% ~ 20%，所述的脂肪酶为柱状假丝酵母脂肪酶、茸毛腐质霉菌脂肪酶、南极假丝酵母脂肪酶 B、嗜热真菌脂肪酶中的一种或其中两种脂肪酶混合所形成的复合酶。本发明方法使用乙酸甲酯参与转酯化反应，提供酯基，反应中不会使酶失活，后续操作方便，所用麻疯树油易得，而且价格便宜，制备工艺简单，反应条件温和，无环境污染，生物柴油的有效成分即脂肪酸甲酯的得率达到 66.27% ~ 87.57%。

1. 利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法，其特征在于：以麻疯树油和乙酸甲酯为原料，具体步骤是：

第一步，麻疯树油的预处理

麻疯树油用乙醇为溶剂进行萃取，温度 30~40°C，萃取 3~5 次，每次萃取时间 5~15 分钟，使麻疯树油的酸值由 11.02mgKOH/g 降低到 2.4~3.2mgKOH/g；

第二步，利用脂肪酶催化麻疯树油和乙酸甲酯反应生产生物柴油

将乙酸甲酯与麻疯树油放入反应器中，其质量配比为乙酸甲酯：麻疯树油=1:1~2，然后再将脂肪酶、有机溶剂和有机碱依次加入该反应器中，脂肪酶用量为麻疯树油质量的 10%~20%，有机溶剂用量为麻疯树油质量的 1~3 倍，有机碱用量为麻疯树油质量的 10%，反应器密封后放置到恒温水浴摇床中，摇床转数 150 转每分钟，反应温度 40~60°C，反应时间 6~12 小时，反应完成后将生成物过滤出催化剂脂肪酶，将滤液蒸馏即得到产物生物柴油，收集滤出的脂肪酶重复利用，所用有机溶剂为叔丁醇、正己烷或石油醚，所用有机碱为三羟甲基氨基甲烷。

2. 根据权利要求 1 所述利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法，其特征在于：所述的脂肪酶为柱状假丝酵母脂肪酶、茸毛腐质霉菌脂肪酶、南极假丝酵母脂肪酶 B、嗜热真菌脂肪酶之中的一种或其中两种脂肪酶混合所形成的复合酶。

3. 根据权利要求 2 所述利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法，其特征在于：所述复合酶是南极假丝酵母脂肪酶 B 与任意另一种脂肪酶所形成的复合酶。

4. 根据权利要求 3 所述利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法，其特征在于：所述复合酶是南极假丝酵母脂肪酶 B 与任意另一种脂肪酶以质量比为 1:10~20 所形成的复合酶。

利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法

技术领域

本发明的技术方案涉及从脂肪酸制备生物柴油领域，特别是利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法。

背景技术

生物柴油是利用植物油脂或动物油脂之类可再生资源制造出来的可以替代石化柴油的清洁安全的新型燃料。

目前生物柴油的制备主要是用化学法，即用动植物油脂与甲醇或乙醇等低碳醇在酸性或碱性催化剂及 230~250 °C 的高温的条件下进行转酯化反应。CN1580190、CN1696247、CN1556174 都公开了用化学法制备生物柴油的方法。化学法存在以下缺点：工艺复杂，原料醇必须过量，后续工艺必须有相应的醇回收装置，能耗高，成本高，酯化产物难于回收，生产过程有废碱液排放，污染环境严重。

为了克服化学法的诸多缺点，生物法制备生物柴油的研究得以开展。生物法反应条件温和，选择性高，副产物少，具有化学法不可比拟的优势。

CN1583959 提出了一种利用油菜籽发酵法制取生物柴油的生产工艺，发明生产工艺分为五个阶段，原材料预处理、菌种培养、中和，然后洗涤干燥分馏。但是该发酵法生产生物柴油对工艺条件要求严格，对设备及技术要求高，具体操作复杂。CN1640991 公开了一种利用脂肪酶生产生物柴油的方法，以经过过滤和乳化处理的动植物油脂为原料，加入甲醇或乙醇，在 30°C ± 15°C 的温度条件下，在密闭容器中利用固定化脂肪酶在有机溶剂油-水界面上进行催化酯交换反应，混合反应 4~18h，将产物与酶分离后，离心分层，静置后分离出下层的粗甘油，上层液蒸馏，回收有机溶剂，同时得到成品生物柴油。这种方法需要在反应的过程中分三次向体系中加入甲醇才能保证较高的催化效率，这样就大大增加了操作的复杂程度。CN101020836 提出的一种 1, 3-位置专一性脂肪酶转化含酸油脂生产生物柴油的工艺及 CN1687313 提出的一种不同脂肪酶相结合生产生物柴油的工艺，该两种方法采用的原料均为人类生活必需的植物油脂和短链醇。

在上述现有制备生物柴油的技术中，无论是化学法还是生物法都存在两大缺陷：一是，大多使用短链醇参与转酯化反应，提供酯基。然而短链醇尤其是甲醇易使酶失活，

且甲醇参与反应后生成的产物甘油难于分离,给反应的后续操作带来很大的麻烦;二是,所用主体原料为占用竞争耕地而获取的植物油脂。随着我国水资源的缺乏和耕地的陆续减少,将使以竞争耕地而获取的植物油或可食用油为原料的生物柴油制备技术受到极大的限制。所以研究一种新的体系下生产生物柴油的技术有重要的意义。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是:提供利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法,它是从麻疯树油和乙酸甲酯为原料,利用脂肪酶催化来生产生物柴油,克服了短链醇尤其是甲醇易使酶失活,且甲醇参与反应后生成的产物甘油难于分离,以及所用主体原料植物油脂占用竞争耕地的缺点。

本发明解决该技术问题所采用的技术方案是:利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法,该方法以麻疯树油和乙酸甲酯为原料,具体步骤是:

第一步,麻疯树油的预处理

麻疯树油用乙醇为溶剂进行萃取,温度 $30\sim 40^{\circ}\text{C}$,萃取 $3\sim 5$ 次,每次萃取时间 $5\sim 15$ 分钟,使麻疯树油的酸值由 11.02mgKOH/g 降低到 $2.4\sim 3.2\text{mgKOH/g}$;

第二步,利用脂肪酶催化麻疯树油和乙酸甲酯反应生产生物柴油

将乙酸甲酯与麻疯树油放入反应器中,其质量配比为乙酸甲酯:麻疯树油 $=1:1\sim 2$,然后再将脂肪酶、有机溶剂和有机碱依次加入该反应器中,脂肪酶用量为麻疯树油质量的 $10\%\sim 20\%$,有机溶剂用量为麻疯树油质量的 $1\sim 3$ 倍,有机碱用量为麻疯树油质量的 10% ,反应器密封后放置到恒温水浴摇床中,摇床转数 150 转每分钟,反应温度 $40\sim 60^{\circ}\text{C}$,反应时间 $6\sim 12$ 小时,反应完成后将生成物过滤出催化剂脂肪酶,将滤液蒸馏即得到产物生物柴油,收集滤出的脂肪酶重复利用,所用有机溶剂为叔丁醇、正己烷或石油醚,所用有机碱为三羟甲基氨基甲烷。

反应生成物体系中包含产物生物柴油和副产物三乙酸甘油酯,还有脂肪酶和有机溶剂,处理后剩余的副产物三乙酸甘油酯和有机溶剂很容易分离并加以利用。

上面所述的脂肪酶为柱状假丝酵母脂肪酶(以下称CCL)、茸毛腐质霉菌脂肪酶(以下称Lipex)、南极假丝酵母脂肪酶B(以下称N435)、嗜热真菌脂肪酶(以下称TLIM)中的一种或其中两种脂肪酶混合所形成的复合酶。以上酶均为市售商品酶。

上面所述复合酶是南极假丝酵母脂肪酶B与任意另一种脂肪酶所形成的复合酶。

上面所述复合酶是南极假丝酵母脂肪酶B与任意另一种脂肪酶以质量比为 $1:10\sim 20$ 所形成的复合酶。

经气相色谱检测,生物柴油的有效成分即脂肪酸甲酯的得率达到 $66.27\%\sim 87.57\%$ 。

本发明的有益效果是：

1. 本发明利用脂肪酶催化生产生物柴油的方法是以麻疯树油为原料。麻疯树又名小桐子，属大戟科灌木，其中含有油酸，亚油酸，棕榈油油酸等不饱和脂肪酸，是世界公认的生物能源树。目前麻疯树主要生长在我国云南、贵州、四川、广东、广西、福建、海南等省海拔 300--1600 米的荒山、干热河谷地区。种植麻疯树不占耕地，耕作栽培成本低，可以生长在荒山、荒地等贫瘠的土地上，有利于绿化荒山野岭，改善生态环境，利用本发明方法将麻疯树油作为生产生物柴油的原料，更使其得以综合开发利用。麻疯树油易得，而且价格便宜，所以利用麻疯树油生产生物柴油具有十分广阔的发展空间。

2. 本发明方法使用乙酸甲酯参与转酯化反应，提供酯基，反应中不会使酶失活，且反应的后续操作方便。

3. 本发明方法的制备工艺简单，反应条件温和，无环境污染，生物柴油的有效成分即脂肪酸甲酯的得率达到 66.27%~87.57%。

具体实施方式

实施例 1

第一步，麻疯树油的预处理

麻疯树油以乙醇为溶剂，温度 30℃，萃取 3 次，每次萃取时间 10 分钟，根据国家中国国家标准：GB / T 5530—1998 检测，麻疯树油的酸值降低酸值由 11.02mgKOH/g 降低到 3.2mgKOH/g。

第二步，利用脂肪酶催化麻疯树油和乙酸甲酯反应生产生物柴油

将乙酸甲酯 1.62 克与麻疯树油 2.00 克放入 50 毫升的磨口具塞三角瓶中，然后再将脂肪酶 CCL 0.40 克、正己烷 2.01 克和三羟甲基氨基甲烷 0.20 克依次加入到该磨口具塞三角瓶中，用四氟乙烯密封带将该瓶口密封后放置到恒温水浴摇床中，摇床转数 150 转每分钟，反应温度 55℃，反应时间 6 小时，反应完成后将生成物过滤出脂肪酶 CCL，将滤液蒸馏即得到产物生物柴油，收集滤出的脂肪酶 CCL 重复利用。

取磨口具塞三角瓶中产物 1 克，内标物水杨酸甲酯 1 克，放入 5 毫升容量瓶中，最后用正己烷定容至 5 毫升，使用微型漩涡混合仪将容量瓶中的溶液混合均匀后用气相色谱内标法检测，测得生物柴油的有效成分即脂肪酸甲酯得率为 69.27%。

实施例 2

第一步，麻疯树油的预处理

麻疯树油以乙醇为溶剂，温度 35℃，萃取 4 次，每次萃取时间 10 分钟，酸值由

11.02mgKOH/g 降低到 2.8mgKOH/g。

第二步，利用脂肪酶催化麻疯树油和乙酸甲酯反应生产生物柴油

将乙酸甲酯 3.00 克与麻疯树油 3.00 克放入 50 毫升的磨口具塞三角瓶中，然后再将脂肪酶 N435 0.35 克、叔丁醇 4.69 克和三羟甲基氨基甲烷 0.30 克依次加入到该磨口具塞三角瓶中，用四氟乙烯密封带将该瓶口密封后放置到恒温水浴摇床中，摇床转数 150 转每分钟，反应温度 40°C，反应时间 12 小时，反应完成后将生成物过滤出脂肪酶 N435，将滤液蒸馏即得到产物生物柴油，收集滤出的脂肪酶 N435 重复利用。

采用同实施例 1 所述的检测方法，检测脂肪酸甲酯得率为 77.08%。

实施例 3

第一步，麻疯树油的预处理

麻疯树油以乙醇为溶剂，温度 40°C，萃取 5 次，每次萃取时间 15 分钟，酸值由 11.02mgKOH/g 降低到 2.4mgKOH/g。

第二步，利用脂肪酶催化麻疯树油和乙酸甲酯反应生产生物柴油

将乙酸甲酯 3.35 克与麻疯树油 4.00 克放入 50 毫升的磨口具塞三角瓶中，然后再将脂肪酶为 N435+Lipex 所形成的复合酶 0.45 克、石油醚 4.46 克和三羟甲基氨基甲烷 0.40 克依次加入到该磨口具塞三角瓶中，用四氟乙烯密封带将该瓶口密封后放置到恒温水浴摇床中，摇床转数 150 转每分钟，反应温度 60°C，反应时间 9 小时，反应完成后将生成物过滤出脂肪酶 N435+Lipex 复合酶，将滤液蒸馏即得到产物生物柴油，收集滤出的脂肪酶 N435+Lipex 复合酶重复利用，复合酶中二者的质量比为 N435:Lipex=1:15。

采用同实施例 1 所述的检测方法，检测脂肪酸甲酯得率为 82.99%。

实施例 4

除第二步中麻疯树油用量为 2.00 克和乙酸甲酯用量为 1.00 克之外，其他反应条件和测定方法均同实施例 1，脂肪酸甲酯的得率为 66.27%。

实施例 5

除第二步中所用脂肪酶改为 N435+TLIM 所形成的复合酶 0.40 克，复合酶中二者的质量比为 N435: TLIM=1: 20 之外，其他反应条件和测定方法均同实施例 1，脂肪酸甲酯的得率为 87.57%。

实施例 6

除第二步中所用脂肪酶改为 N435+CCL 所形成的复合酶 0.35 克，复合酶中二者的质量比为 N435: CCL= 1:10，有机溶剂改为叔丁醇 6.00 克之外，其他反应步骤和测定方法均同实施例 1，脂肪酸甲酯的得率为 77.57%。

实施例 7

除第一步中每次萃取时间改为 5 分钟,第二步中所用脂肪酶改为 Lipex 0.40 克之外,其他反应步骤和测定方法均同实施例 1, 脂肪酸甲酯的得率为 67.11%。

实施例 8

除第二步中所用脂肪酶改为 TLIM 0.40 克之外,其他反应步骤和测定方法均同实施例 1, 脂肪酸甲酯的得率为 68.23%。