

氨基酸离子液体原位催化小球藻制备 生物柴油的工艺研究

王志山¹, 孙瑞焱¹, 王昌梅^{1,2}, 张无敌^{1,2}, 尹芳^{1,2}, 杨斌^{1,2}, 柳静^{1,2}, 杨红^{1,2}

(1. 云南师范大学能源与环境科学学院, 昆明 650500; 2. 云南省沼气工程技术研究中心, 昆明 650500)

摘要:为探究环境友好型高效催化剂原位催化小球藻制备生物柴油, 采用5种氨基酸(甘氨酸、天冬氨酸、L-谷氨酸、L-赖氨酸、L-脯氨酸)分别与盐酸和氢氧化钾反应合成氨基酸离子液体, 以氨基酸离子液体为提取剂和催化剂, 对小球藻进行原位催化制备生物柴油, 并采用单因素实验对反应条件进行优化。结果表明:L-脯氨酸与盐酸反应合成的氨基酸离子液体([L-Pro][Cl])具有更好的生物柴油提取率和催化率; 小球藻生物柴油的最优制备条件是[L-Pro][Cl]用量100%(以小球藻藻粉质量计)、甲醇与藻粉质量比11:1、反应温度65℃、反应时间18 h, 在此条件下小球藻生物柴油的提取率为83.16%, 催化率为64.54%。综上, 氨基酸离子液体[L-Pro][Cl]适合用于原位催化小球藻制备生物柴油。

关键词:氨基酸离子液体; 小球藻; 原位法; 生物柴油; 酯交换

中图分类号: TE667; O643.36 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2025)02-0148-05

Preparation of biodiesel from *Chlorella* by in-situ catalysis with amino acid ionic liquids

WANG Zhishan¹, SUN Ruihan¹, WANG Changmei^{1,2}, ZHANG Wudi^{1,2},
YIN Fang^{1,2}, YANG Bin^{1,2}, LIU Jing^{1,2}, YANG Hong^{1,2}

(1. School of Energy and Environment Science, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China;
2. Yunnan Provincial Biogas Engineering Technology Research Center, Kunming 650500, China)

Abstract: To explore the in-situ catalytic preparation of biodiesel from *Chlorella* using environmentally friendly and efficient catalysts, amino acid ionic liquids were synthesized by reacting five amino acids (glycine, aspartic acid, L-glutamic acid, L-lysine and L-proline) with hydrochloric acid and potassium hydroxide, respectively. The amino acid ionic liquids were used as extraction agents and catalysts

收稿日期: 2023-09-13; 修回日期: 2024-10-02

基金项目: 云南省万人计划产业技术领军人才项目(20191096); 云南省基础研究计划(202001AT070094); 云南省国际科技合作专项(202003AF140001); 云南省基础研究专项青年项目(202201AU070058); 云南省教育厅科学研究基金项目(2022J0127); 昆明市国际(对外)科技合作基地(GHJD-2020026)以及云南省劳模创新工作室和云南省农村能源工程重点实验室基金联合资助

作者简介: 王志山(1998), 男, 硕士研究生, 研究方向为生物质能与环境工程(E-mail) 1874509106@qq.com; 孙瑞焱(1999), 女, 硕士研究生, 研究方向为农业工程与信息技术(E-mail) 571183548@qq.com。王志山与孙瑞焱为共同第一作者。

通信作者: 王昌梅, 高级实验师, 硕士生导师, 博士(E-mail) 823804919@qq.com; 张无敌, 研究员, 博士生导师(E-mail) wootichang@163.com。

for the in-situ catalytic preparation of biodiesel from *Chlorella*. The reaction conditions were optimized using single factor experiments. The results showed that the amino acid ionic liquid [L-Pro][Cl] synthesized by the reaction of L-proline with hydrochloric acid had better biodiesel extraction rate and catalysis rate. The optimal preparation conditions for *Chlorella* biodiesel were as follows: dosage of [L-Pro][Cl] 100% (based on the mass of *Chlorella* powder), mass ratio of methanol to *Chlorella* powder 11:1, reaction temperature 65℃, and reaction time 18 h. Under these conditions, the extraction rate of biodiesel was 83.16%, and the catalysis rate was

64.54%。In summary, the amino acid ionic liquid [L-Pro][Cl] is suitable for in-situ catalytic preparation of biodiesel from *Chlorella*.

Key words: amino acid ionic liquid; *Chlorella*; in-situ method; biodiesel; transesterification

藻类作为制备生物柴油的原料具有培养周期短、占地面积小、油脂含量与质量高等优势,已受到广泛关注^[1-2]。然而微藻粒径微小且细胞壁较厚,在传统的微藻生物柴油制备方法中,往往需要使用大量有机溶剂先将油脂提取出来,然后再进行酯交换反应以制备生物柴油,在整个过程中,油脂提取步骤的能耗占比高达90%以上^[3]。为了提高经济性,必须避免传统方法中烦琐的油脂提取过程,可采用原位法同时进行油脂的提取和酯交换,将存在于微藻细胞内的油脂直接转化为脂肪酸甲酯^[4-8]。如Wahlen等^[9]以硫酸催化藻类原位酯交换制备生物柴油,不仅实现了几种不同微藻和蓝藻中甘油三酯的定量转化,对于某些样品,甚至还可以转化其他分子(例如磷脂)中所含的脂肪酸,生产比现有甘油三酯预期更多的生物柴油。

离子液体是一种由阳离子和阴离子组成的低温熔融盐,作为制备生物柴油的新型催化剂,不仅具备优秀的催化能力,与传统催化剂硫酸、氢氧化钾等相比还更加绿色、环保^[10-12]。有研究表明离子液体对纤维素(细胞壁的主要成分)具有较高的溶解性,可以使藻类细胞内的油脂渗出^[13]。苗长林等^[14-15]使用离子液体[BMIM][DCA]作为提取剂,以脂肪酶为催化剂在一定条件下采用原位法制备小球藻生物柴油,转化率达到69.6%,之后在超声波辅助下以[BMIM][HCOO]为提取剂,[SO₃H-BMIM][HSO₄]为催化剂,使用两种离子液体组合物,生物柴油转化率达到93.3%。

为探究出一种更加环保并且能在原位法制备微藻生物柴油中兼具提取和催化能力的离子液体,采用与传统离子液体原料相比更加绿色的氨基酸为原料,合成相应的氨基酸离子液体,以此为提取剂与催化剂,在同一体系中对小球藻进行油脂的提取与催化直接制备生物柴油,并以生物柴油提取率和催化率为衡量指标,筛选出效果最好的氨基酸离子液体,优化反应条件(氨基酸离子液体用量、甲醇与藻粉质量比、反应温度和反应时间),以期氨基酸离子液体原位催化小球藻制备生物柴油提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

干燥的小球藻藻粉(未破壁),海口美兰菜云生

物科技经营部;甘氨酸(Gly)、天冬氨酸(Asp)、L-谷氨酸(L-Glu)、L-赖氨酸(L-Lys)、L-脯氨酸(L-Pro),福州飞净生物科技有限公司;石油醚、甲醇、氯仿、乙酸乙酯、蒸馏水、盐酸、氢氧化钾,天津市致远化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

DF-101S 恒温磁力搅拌器,杭州明远仪器有限公司;FA2014N 分析天平,上海民桥精密科学仪器有限公司;101 电热恒温鼓风干燥箱,北京市光明医疗仪器有限公司;GC97 气相色谱仪,浙江福立分析仪器有限公司;RE5298A 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;SHZ-D 循环水式真空泵;巩义市予华仪器有限责任公司;SK8200LHC 超声清洗器,上海科导超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸离子液体的制备

参照文献[16]采用一步合成法制备氨基酸离子液体。称取一定质量的 Gly、Asp、L-Glu、L-Lys 和 L-Pro,分别加入 50 mL 圆底烧瓶中,用适量去离子水溶解后缓慢加入与氨基酸物质的量比为 1:1 的 HCl(质量分数 37%)或 KOH,在 80℃ 恒温磁力搅拌器中连续搅拌反应 12 h 后,冷却至室温,以乙酸乙酯洗涤 4~6 次,旋转蒸发去除样品中残留的乙酸乙酯后,在干燥箱中烘干至恒重,得到相应的 5 种酸性氨基酸离子液体[Gly][Cl]、[Asp][Cl]、[L-Glu][Cl]、[L-Lys][Cl]、[L-Pro][Cl]以及相应的 5 种碱性氨基酸离子液体[K][Gly]、[K][Asp]、[K][L-Glu]、[K][L-Lys]和[K][L-Pro]。

1.2.2 小球藻含油率的测定

参照文献[17]的方法测定小球藻含油率。将充分干燥的小球藻藻粉进行除杂后,准确称取 0.1 g 置于 10 mL 离心管内,加入 7.6 mL 体积比 1:2:0.8 的氯仿-甲醇-H₂O 溶液充分振荡。在超声波频率 35 kHz、功率 450 W 的条件下超声提取 20 min,然后以 3 000 r/min 离心 10 min。将上层提取液倒入 125 mL 分液漏斗中,下层藻粉重复上述提取操作,合并 2 次提取液。向提取液中依次加入 4 mL 氯仿和 4 mL H₂O,振荡后静置分层,下层为水相,中层为氯仿相,上层为甲醇与油脂相。将上层样品旋转蒸发至恒重,得到小球藻油脂,以获得的油脂质量除以藻粉质量得到藻粉的含油率。

1.2.3 小球藻生物柴油的制备

将 10 g 小球藻粉置于圆底烧瓶中,依次加入一定质量的甲醇和氨基酸离子液体,安装好冷凝回流装置后放入恒温磁力搅拌器中,在一定温度下反应一定时间。反应结束后,将冷却至室温的反应物过滤并用甲醇反复冲洗残渣 3 次,冲洗液与滤液合并,旋转蒸发除去甲醇后加入石油醚和水,静置分层,取上层有机相,经减压蒸馏去除有机溶剂后,得到粗生物柴油。按照公式(1)计算生物柴油提取率(Y)。参照文献[15]使用 GC97 气相色谱仪检测粗生物柴油中脂肪酸甲酯的含量,以其表征生物柴油催化率。

$$Y = \frac{m_1}{m_2 \times w} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为粗生物柴油质量; m_2 为藻粉质量; w 为藻粉含油率。

2 结果与讨论

2.1 小球藻含油率

经实验测得小球藻含油率为 20.89%。

2.2 氨基酸离子液体的选择

在甲醇与藻粉质量比 8:1、氨基酸离子液体用量 100% (以藻粉质量计)、反应温度 50℃、反应时间 16 h 条件下,考察不同氨基酸离子液体对小球藻生物柴油提取率和催化率的影响,结果如图 1 所示。

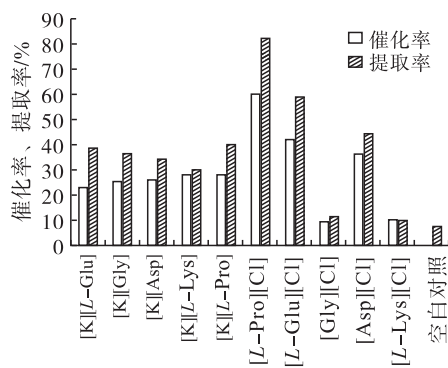


图 1 不同氨基酸离子液体对生物柴油提取率和催化率的影响

Fig. 1 Effects of different amino acid ionic liquids on extraction and catalysis rates of biodiesel

由图 1 可知,空白对照组生物柴油提取率为 7.51%,而催化率为 0,说明在不添加任何氨基酸离子液体的情况下仍然有少量小球藻油脂渗出,但并未被催化,这是因为甲醇对小球藻油脂存在一定的提取作用,但提取出来的油脂在无催化剂的作用下难以被转化为脂肪酸甲酯。其余组别的生物柴油提取率和催化率均高于空白对照组,说明这些氨基酸离子液体都具备一定的提取和催化转化小球藻油脂

的能力。其中[L-Pro][Cl]的生物柴油提取率和催化率均最高,分别达到 82.15% 和 60.19%,而[Gly][Cl]和[L-Lys][Cl]的生物柴油提取率和催化率明显低于其他组别,主要原因是盐酸与这 2 种氨基酸组合制备的离子液体形成了固体结晶,结晶体与其他液态的离子液体相比,虽然分离较为容易,但不能均匀地分散到整个体系中,导致提取效率和催化效率偏低。除去以上 2 种结晶体外,其他盐酸型氨基酸离子液体的生物柴油提取率和催化率普遍高于氢氧化钾型氨基酸离子液体的,提取率呈现差异的原因可能是 Cl^- 相比 K^+ 拥有极强的电负性,能够更大程度破坏小球藻细胞壁碳水化合物分子或分子内的氢键作用,更利于小球藻油脂的渗出^[18],而催化率呈现差异的原因可能是两者的化学性质不同,盐酸型氨基酸离子液体表现为酸性,氢氧化钾型氨基酸离子液体表现为碱性,碱性催化剂在催化小球藻油脂进行酯交换时,容易与游离脂肪酸发生皂化反应,降低了酯交换的催化效率,这与张艳^[6]的研究结果相符,进一步说明了酸性催化剂在催化藻类油脂酯交换时比碱性催化剂更高效。在所有酸性氨基酸离子液体中,[L-Pro][Cl]的生物柴油提取效果和催化效果均最高的原因在于其具有较低的黏度,这一特性使其在溶解小球藻细胞壁时其阴离子具有更强的氢键接受能力,更有利于与小球藻细胞壁碳水化合物分子中的活性羟基形成氢键,进而达到溶解细胞壁的目的,促进小球藻油脂的释放^[19]。同时低黏度的环境使油脂分子和甲醇分子运动时受到的阻力更小,在提取和催化时效率更高。因此,后续选择[L-Pro][Cl]作为提取剂和催化剂进行实验。

2.3 氨基酸离子液体原位催化反应条件对生物柴油提取率和催化率的影响

2.3.1 氨基酸离子液体用量的影响

在甲醇与藻粉质量比 8:1、反应温度 50℃、反应时间 16 h 条件下,考察氨基酸离子液体([L-Pro][Cl])用量对生物柴油提取率和催化率的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,在氨基酸离子液体用量为 70% ~ 100% 范围内,随着氨基酸离子液体用量的增加,生物柴油的提取率和催化率升高,这是因为增加氨基酸离子液体的用量可增加其与小球藻细胞壁和油脂分子的碰撞概率,有利于小球藻油脂快速渗出细胞的同时被催化转化为生物柴油,提高了生物柴油的提取率和催化率。在氨基酸离子液体用量 100% 时,生物柴油的提取率和催化率都达到峰值,分别为 77.13% 和 63.34%,但随着氨基酸离子液体用量继

续增多,生物柴油的提取率和催化率呈下降趋势,可能是因为过多的氨基酸离子液体使整个反应体系变得黏稠,油脂分子向外界扩散速率变慢,同时在黏稠的反应体系中,参与酯交换反应的各分子运动速率变慢,催化效率降低。过多的氨基酸离子液体还稀释了反应物甲醇的浓度,不利于催化反应向正反应方向移动。因此,选择氨基酸离子液体用量 100% 进行后续实验。

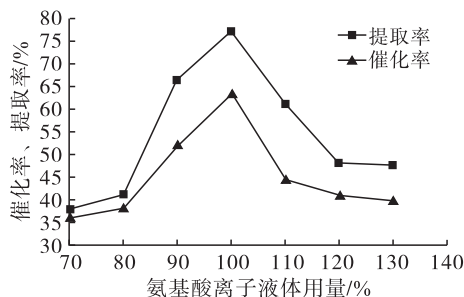


图 2 氨基酸离子液体用量对生物柴油提取率和催化率的影响

Fig. 2 Effects of amino acid ionic liquid dosage on extraction and catalysis rates of biodiesel

2.3.2 甲醇与藻粉质量比的影响

在氨基酸离子液体 ($[L - Pro][Cl]$) 用量 100%、反应温度 50 °C、反应时间 16 h 条件下,考察甲醇与藻粉质量比对生物柴油提取率和催化率的影响,结果如图 3 所示。

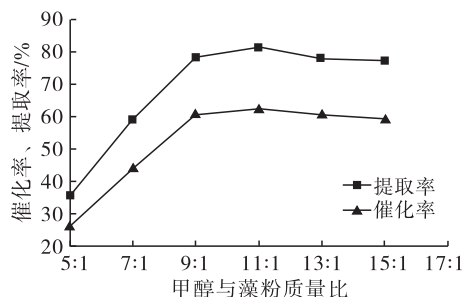


图 3 甲醇与藻粉质量比对生物柴油提取率和催化率的影响

Fig. 3 Effects of mass ratio of methanol to *Chlorella* powder on extraction and catalysis rates of biodiesel

由图 3 可知,随着甲醇用量的增加,生物柴油提取率和催化率均呈现先上升后逐渐平缓的趋势,且均在甲醇与藻粉质量比为 11:1 时达到峰值,此时生物柴油提取率为 81.34%,催化率为 62.33%。形成这种趋势的原因可能是甲醇作为油脂提取的溶剂,在前期增加甲醇用量提高了小球藻细胞内和外界溶剂中油脂的浓度差,更有利于油脂分子向外部扩散,此外,甲醇用量的增加一定程度上稀释了黏稠的氨基酸离子液体,使氨基酸离子液体作为提取剂更容易分散到小球藻细胞周围溶解细胞壁,促进油脂的释放,进而提高了生物柴油的提取率。而催化率的

提升是因为甲醇还作为催化反应的反应物,增加反应物的浓度可以使整个化学反应向正反应方向移动。在后期继续增加甲醇用量,提取率和催化率均无明显变化,可能是因为受限于离子液体的提取能力,同时酯交换反应已经达到化学平衡。因此,选择甲醇与藻粉质量比 11:1 进行后续实验。

2.3.3 反应温度的影响

在氨基酸离子液体 ($[L - Pro][Cl]$) 用量 100%、甲醇与藻粉质量比 11:1、反应时间 16 h 的条件下,考察反应温度对生物柴油提取率和催化率的影响,结果如图 4 所示。

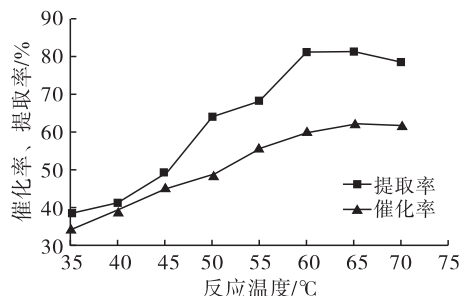


图 4 反应温度对生物柴油提取率和催化率的影响

Fig. 4 Effects of reaction temperature on extraction and catalysis rates of biodiesel

由图 4 可知,随着反应温度的升高,生物柴油的提取率和催化率也随之升高,可能是温度的升高为氨基酸离子液体破坏溶解小球藻细胞壁提供了充足的能量,同时加快了催化反应中的分子运动速率,提高了分子的有效碰撞概率。在反应温度为 65 °C 时,提取率达到 81.11%,催化率达到 62.13%,并且不再随反应温度升高而上升。综合考虑实验效率和节能环保因素,选择反应温度 65 °C 进行后续实验。

2.3.4 反应时间的影响

在氨基酸离子液体 ($[L - Pro][Cl]$) 用量 100%、甲醇与藻粉质量比 11:1、反应温度 65 °C 的条件下,考察反应时间对生物柴油提取率和催化率的影响,结果如图 5 所示。

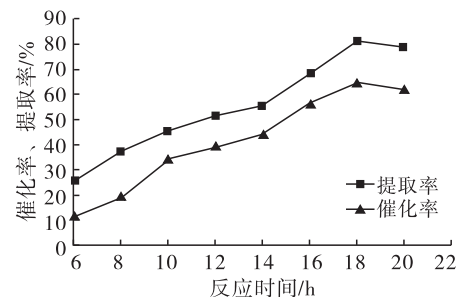


图 5 反应时间对生物柴油提取率和催化率的影响

Fig. 5 Effects of reaction time on extraction and catalysis rates of biodiesel

由图5可知,生物柴油提取率和催化率随着反应时间的延长而升高,说明反应时间越充足,油脂的提取和催化转化进行得越充分,当反应时间为18 h时,生物柴油提取率为83.16%,催化率为64.54%,并且之后不再随反应时间延长而继续上升,可能是反应18 h时目标油脂的提取已经完成,同时酯交换反应达到了化学平衡,继续延长反应时间既增加成本又无益于油脂的提取和催化,因此选择反应时间18 h作为最优条件。

综上,氨基酸离子液体原位催化小球藻制备生物柴油的最优条件为以氨基酸离子液体[L-Pro][Cl]为催化剂和提取剂、氨基酸离子液体用量100%、甲醇与藻粉质量比11:1、反应温度65℃、反应时间18 h。

3 结论

本文采用氨基酸离子液体原位催化小球藻制备生物柴油,通过单因素实验对反应条件进行优化。结果表明:制备小球藻生物柴油的最优工艺条件为以氨基酸离子液体[L-Pro][Cl]为催化剂和提取剂、氨基酸离子液体用量100%、甲醇与藻粉质量比11:1、反应温度65℃、反应时间18 h,在此条件下小球藻生物柴油的提取率达到83.16%,催化率达到64.54%。在不增加其他辅助手段的情况下,氨基酸离子液体[L-Pro][Cl]作为同时发挥提取和催化的单种试剂,具有较好的原位提取和催化转化效果,值得进一步探究。

参考文献:

[1] 郑洪立, 张齐, 马小琛, 等. 产生物柴油微藻培养研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2009, 29(3): 110-116.

[2] 徐春明, 焦志亮, 王晓丹, 等. 微藻作原料生产生物柴油的研究现状和前景[J]. 现代化工, 2015, 35(8): 1-5, 7.

[3] LARDON L, HÉLIAS A, SIALVE B, et al. Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae[J]. Environ Sci Technol, 2009, 43(17): 6475-6481.

[4] 王为国, 王成成, 汪铁林, 等. 微藻原位萃取-酯交换法生物柴油的制备[J]. 武汉工程大学学报, 2015, 37(4): 1-5, 11.

[5] WANG S, ZHU J, DAI L, et al. A novel process on lipid extraction from microalgae for biodiesel production[J]. Energy, 2016, 115: 963-968.

[6] 张艳. 利用微生物油脂原位制备生物柴油和多元醇酯类润滑油[D]. 北京: 北京化工大学, 2016.

[7] 丁丹. 离子液体强化湿藻原位酯交换反应的机制研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2023.

[8] 韩本勇. 吡咯烷酮与氨基酸离子液体的合成及其催化制备生物柴油的研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2018.

[9] WAHLEN B D, WILLIS R M, SEEFELDT L C. Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures[J]. Bioresour Technol, 2011, 102(3): 2724-2730.

[10] 汪文伟, 赵振兴, 郑礼, 等. L-天冬氨酸离子液体催化不同脂肪酸酯化的实验研究[J]. 现代化工, 2021, 41(5): 153-157.

[11] 郑礼, 汪文伟, 王昌梅, 等. L-天冬氨酸离子液体联合猪胰脂肪酶催化油酸酯化工艺[J]. 中国油脂, 2022, 47(12): 126-130.

[12] 赵振兴, 汪文伟, 韩本勇, 等. L-天冬氨酸离子液体催化油酸酯化反应合成油酸甲酯的研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(6): 50-53.

[13] KIM Y H, CHOI Y K, PARK J, et al. Ionic liquid-mediated extraction of lipids from algal biomass[J]. Bioresour Technol, 2012, 109: 312-315.

[14] 苗长林, 凡佩, 吕鹏梅, 等. 微藻直接离子液体脂肪酶制备生物柴油[J]. 太阳能学报, 2019, 40(9): 2695-2700.

[15] 苗长林, 吕鹏梅, 王忠铭, 等. 微波辅助组合离子液体直接制备微藻生物柴油[J]. 太阳能学报, 2021, 42(2): 233-238.

[16] 郑礼, 汪文伟, 王昌梅, 等. [L-Glu]HSO₄的合成及催化制备油酸甲酯的研究[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2021, 41(3): 5-10.

[17] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37(8): 911-917.

[18] PAN J, MUPPANENI T, SUN Y, et al. Microwave-assisted extraction of lipids from microalgae using an ionic liquid solvent [BMIM][HSO₄][J]. Fuel, 2016, 178: 49-55.

[19] YOUNG G, NIPPEN F, TITTERBRANDT S, et al. Direct transesterification of biomass using an ionic liquid co-solvent system[J]. Biofuels, 2011, 2(3): 261-266.