

氯仿在小球藻酯化液中萃取条件的优化

金洪波, 鲁龙, 毕生雷, 尹永磊, 乔建援, 刘钺, 杜风光 (河南天冠企业集团有限公司, 河南南阳 473000)

摘要 [目的]优化氯仿在小球藻酯化液中的萃取条件。[方法]使用氯仿作为萃取剂,从小球藻酯化液中提取生物柴油,选取萃取温度、萃取剂添加量、萃取时间3因素,进行正交试验。[结果]最佳萃取条件为温度80℃,萃取剂添加量2 ml/g,萃取时间30 min。各因素影响萃取结果的顺序为:萃取温度>萃取时间>萃取剂添加量。[结论]该研究为藻类制备生活柴油中萃取剂的选择提供了理论依据。

关键词 氯仿;萃取;小球藻

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)11-246-01

Condition Optimization of Biodiesel Extraction from *Chlorella vulgaris* by Using Chloroform

JIN Hong-bo, LU Long, BI Sheng-lei et al (Henan Tianguan Enterprise Group Co., Ltd., Nanyang, Henan 473000)

Abstract [Objective] The study aims to optimize the conditions of biodiesel extraction from *Chlorella vulgaris* by using chloroform. [Method] Biodiesel was extracted from *C. vulgaris* using chloroform as extractant, and extraction conditions such as extraction temperature, extractant dosage and extraction time were optimized through an orthogonal experiment. [Result] The optimal extraction conditions are shown as follows: extraction temperature is 80 °C; extractant dosage is 2 ml/g; extraction time is 30 min. Influence of the extraction conditions on the extraction effect is sequenced as follows: extraction temperature > extraction time > extractant dosage. [Conclusion] The research can provide theoretical references for the choice of extractant used for the extraction of biodiesel from *C. vulgaris*.

Key words Chloroform; Extraction; *Chlorella vulgaris*

小球藻的培养方法包括异养、自养、混养3种。小球藻在异养时使用常规发酵罐进行培养^[1],与自养相比具有能够与其他生化生产设备通用、空间利用效率高、生产效率高等的特点,受到业内人士的广泛关注。在异养条件下,小球藻利用葡萄糖、木薯粉等碳源以及酵母粉、蛋白胨等氮源^[2]进行培养,由于营养物质丰富,容易受到环境中杆菌、霉菌、酵母菌的污染^[3]。河南天冠企业集团有限公司通过添加500 mg/L的安菌素等抑菌剂,成功克服了染菌的问题,使受到污染的小球藻发酵能够继续下去,且最终发酵结果相差不大^[4];并利用半连续发酵工艺将发酵速率升至10.37 g/(L·d),最终干重高达140.5 g/L^[5]。据报道,固定化技术的使用也使小球藻的培养水平有一定的提高^[6]。

使用藻类制备生物柴油,由于其环保、可再生等特点,成为目前研究的热点。藻类制备生物柴油主要是使用乙醇等短链醇,在加热、催化的条件下,与藻细胞内油脂发生酯化反应合成生物柴油^[7]。目前,使用发酵液、藻泥、藻粉制备生物柴油^[8]。研究表明,使用正己烷等有机物质均可以将生物柴油从酯化液中提取出来^[9]。但是,使用正己烷并不能将油脂完全萃取出来。因此,笔者使用氯仿作为萃取剂,研究其对生物柴油的萃取效果。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器 536.3 g/L小球藻酯化液由天冠集团车用生物燃料技术国家重点实验室发酵法提供;氯仿为分析级,购于天津科密欧公司;JOYN-SXT-04脂肪测定仪购于上海乔跃公司;G12高速离心机购于长沙英泰仪器公司;旋转蒸发器购于瑞士BUCHI公司;电子天平购于梅特勒公司;玻璃量筒购于四川蜀牛;分液漏斗购于四川蜀牛。

1.2 试验方法

1.2.1 萃取。每次取100 ml酯化液,先离心弃上清液,固体部分按比例加入氯仿混匀。萃取后离心,反复3次,取上清液部分进行蒸馏。

1.2.2 蒸馏。将萃取的油相装入旋转蒸发器中,在压强 -30×10^5 Pa、温度60℃条件下进行蒸馏;蒸馏结束后称量生物柴油重量。

1.2.3 数据处理。采用SPASS13.0进行试验设计及数据处理。

2 结果与分析

选取萃取温度(40、60、80℃)、萃取时间(30、60、90 min)、萃取剂添加量(2、3、4 ml/g)进行3因素3水平正交试验(表1)。

表1 正交试验因素水平

水平	因素		
	温度//℃	萃取剂添加量//ml/g	时间//min
1	40	2	30
2	60	3	60
3	80	4	90

由表2和3可知,萃取温度试验极差和 F 值最大,可以认为萃取温度是影响氯仿萃取效果的主要因素;其次是萃取时间的极差和 F 值,可以认为萃取时间对于萃取效果影响也比较大;萃取剂添加量极差和 F 值最小,所以萃取剂用量不是影响萃取效果的主要因素。由表2可知,温度80℃、萃取剂添加量2 ml/g、萃取时间30 min时萃取效果最好。

由表2中 K 值可以看出,温度升至80℃时,萃取效果更好一些,可以根据萃取剂挥发程度来适当提高萃取温度;萃取剂添加量为3 ml/g时效果最好;随着萃取时间的延长,而萃取效果反而下降。

4.3 完善法制,健全体系 湿地作为一类专门的生态用地,国家应加快湿地保护和利用的立法步伐,制定专门的法律法规,完善各项规章制度,使湿地保护真正做到有章可循、有法可依^[12]。各级人民政府应建立健全湿地保护管理体系,建立专门的组织管理机构,配备专业的管理人员,对湿地保护进行科学管理。

4.4 科学规划,严格执法 县人民政府要制定好湿地保护管理规划,坚持保护与合理利用相结合,依法开发和合理利用湿地资源^[13]。在现有制度下,林业部门切实履行综合组织协调职责,与其他湿地保护职能部门加强协调,依法共同做好湿地保护管理工作,加大联合执法检查力度,对非法采砂、非法猎采野生动植物等破坏湿地资源的违法犯罪行为进行严厉打击。

参考文献

- [1] 白洁,马静,徐基良,等. 我国湿地保护管理现状与优化对策[J]. 世界林业研究,2012,25(4):58-62.
- [2] 冯粉定,罗春梅,张晓利. 江都市湿地资源现状调查及评价[J]. 江苏林业科技,2011,38(2):19-23.
- [3] 高玉龙,李卫国,陈传海,等. 仪征市湿地资源调查与分析[EB/OL].

wenku.baidu.com/view/e26b70174431b90d6c85c77d.html.

- [4] 周树怀. 湖南湿地[M]. 长沙市:李小山,2011:200,180,178.
- [5] 道县地方志编纂委员会. 道县志[M]. 北京:道县地方志编纂委员会,2011:67.
- [6] 吴豪,虞孝感,姜加虎. 长江流域湿地生态系统研究的意义和重点[J]. 生态经济,2001(11):21-24.
- [7] 王蓉,ONGLEY E D,蔡守秋,等. 中国湿地生物多样性保护法律法规总体评估及立法建议[C]//印红. 湿地生物多样性保护主流化的理论与实践. 北京:科学出版社,2009:85-108.
- [8] 王蓉,ONGLEY E D,蔡守秋,等. 中国湿地生物多样性保护的行政管理体制分析和建议[C]//印红. 湿地生物多样性保护主流化的理论与实践. 北京:科学出版社,2009:65-78.
- [9] 姜宏瑶,温亚利. 我国湿地保护管理体制的主要问题及对策[J]. 林业资源管理[J]. 林业资源管理,2010(3):1-6.
- [10] 张万钦,王团荣,刘占朝. 河南省湿地与湿地自然保护区建设初探[C]//印红. 湿地生物多样性保护主流化的理论与实践. 北京:科学出版社,2009:213-219.
- [11] 吴铃华. 浅谈宁德市湿地保护管理存在的问题与对策[JB/OL]. www.doc88.com/P-542678268158.html.
- [12] 孙玉成. 大兴安岭东部林区湿地资源现状及保护建议[C]//印红. 湿地生物多样性保护主流化的理论与实践. 北京:科学出版社,2009:334-339.
- [13] 曹明. 浅议我国湿地保护存在的问题及法律对策[EB/OL]. (2014-11-16) www.doc88.com/9-846805247101.html.

(上接第246页)

表2 正交试验结果

试验号	温度 ℃	萃取剂添 加量/ml/g	时间 min	油脂量 g/L
1	40	2	60	68.4
2	60	3	30	79.4
3	80	4	90	85.6
4	40	3	90	81.0
5	60	4	60	71.8
6	80	2	30	99.0
7	40	4	30	70.0
8	60	2	90	71.4
9	80	3	60	82.2
K1	7.313	7.960	8.280	
K2	7.420	8.087	7.413	
K3	8.893	7.580	7.933	
极差	1.580	0.507	0.867	

表3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	均方	F	显著性
萃取温度	4.678	2	2.339	3.424	0.026
萃取剂添加量	0.417	2	0.209	0.305	0.066
萃取时间	1.142	2	0.571	0.835	0.045
误差	1.366	2	0.683		

3 结论

用氯仿萃取小球藻生物柴油试验的3因素中,萃取温度是影响萃取效果的主要因素,温度为80℃时效果最好,是否进一步提高温度可根据萃取剂挥发情况和萃取得油的情况来进一步确定;随萃取时间的延长,萃取效果反而下降,这可以提高工作效率;萃取剂添加量以3ml/g为宜,氯仿的使用量并不是越高萃取效果越好,这可以降低损耗和成本。

参考文献

- [1] 毕生雷,乔建援,刘钺,等. 异养小球藻用发酵罐的使用与维护[J]. 化学工程与装备,2014(7):25.
- [2] 郑世文,赵玉峰,毕生雷. 不同型号酵母浸粉及补糖对异养微藻生长的影响[J]. 现代农业科技,2014(8):178-179.
- [3] 金洪波,毕生雷,乔建援,等. 异养小球藻发酵染菌问题的探析(英文)[J]. Agricultural Science & Technology,2014(12):12.
- [4] 毕生雷,张成明,金洪波,等. 抑菌剂在异养小球藻发酵过程中的应用[J/OL]. 食品与发酵工业,http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1802.TS.20150122.1431014.html.
- [5] 毕生雷,张成明,李十中,等. 异养小球藻半连续发酵生产油脂工艺探讨[J]. 食品与发酵科技,2014,50(5):36-40.
- [6] 毕生雷,张成明,李十中,等. 固定化技术在生物能源及环境工程领域的研究和应用进展[J]. 酿酒科技,2015(1):102-105.
- [7] 毕生雷,张成明,李十中,等. 乙醇在微藻产业中的应用[J]. 酿酒科技,2015(1):73-76.
- [8] 河南天冠企业集团有限公司. 一种一步法制生物柴油的方法:中国,CN201410093691.4[P]. 2014-07-09.
- [9] 金洪波,毕生雷,尹永磊,等. 用正己烷萃取小球藻油条件的优化[J]. 安徽农业科学,2015(5):206-207.