

**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR**

**Biodízel előállítása lipázok alkalmazásával**

**Készítette:**

**Kiss Szonja Bianka**

**Nemeskéri Zsolt**

**Terebesi Csilla**

Budapest,

 2019.10.29.

Bioüzemanyag: a biomasszából előállított folyékony vagy gáz halmazállapotú üzemanyag.

# Miért biodízel?

A biodízel zsírsav-alkilészterek keverékei. Természetes helyettesítője petróleumból származó dízel üzemanyagnak, hasonló vagy jobb tulajdonságokkal rendelkezik, növényi olajok vagy állati zsírok rövidláncú alkoholokkal való transzészterezésével állítják elő. Karbonsemleges, biodegradálható és megőrzi a fosszilis üzemanyagokat. Tradícionális dízel üzemanyagokhoz képest kevésbé környezetszennyező, és biztonságosabb is magasabb lobbanáspontja miatt.

# A jelenlegi biodízel előállítási módszerek hátrányai

A következő ábrán a biodízel ipari előállítására alkalmazott homogén lúgos katalízis látható.

A bázikus katalizátor – pl NaOH – reagál a metanollal nátrium-metoxidod képezve, ami utána reagál a trigliceriddel zsírsav-metilésztert alkotva. Lúgos katalízis esetén magas hőmérsékletet kell dolgozni (60-70°C-on), számos melléktermék keletkezik, amelyek megnehezítik a tisztítást. Erősen savas alapanyag esetén a szappanképződés elkerülése miatt savkatalizálta reakciót kell alkalmazni, amihez erős savak, magas hőmérséklet és nagyobb reakcióidő szükséges. Mind savas, mind lúgos reakcióknak ellenálló reaktorokat szükséges alkalmazni.

# Biodízel előállítása lipázokkal

Lipázokkal történő biodízel előállítást először Mittlebach írt le, aki bemutatta, hogy Pseudomonas fluorescens lipáz hatásos volt napraforgóolaj-alkoholízisre. Az alkoholízist oldószeres és oldószermentes környezetben is végrehajtották 5 homológ alkohollal víz nélkül és víz hozzáadásával is.

Ma már ismert tény, hogy enzimek nagy aktivitással képesek működni vízhiányos közegben is, mint pl szerves oldószerek, szuperkritikus állapotú folyadékok stb. Ilyen nem konvencionális közegekben a lipázok triglicerid hidrolízis helyett transzészterifikációs reakciókat katalizálhatnak. Ilyen reakció a biodízel előállításakor alkalmazott alkoholízis is.

# Lipázok

A biotechnológiában alkalmazott lipázok általában mikrobiológiai eredetűek, és fermentatív módszerrel állítják elő őket. Általában immobilizált formában, aminek két fontos előnye van, a katalizátor újrafelhasználhatósága, és hogy lehetővé teszi folyamatos technológiák alkalmazását. A legjobb immobilizálási módszerek egyike az enzim hidrofób szól-gél mátrixba való bezárása, valamint a hidrofób hordozón történő adszorbeálása. Biodízel előállítására leggyakrabban alkalmazott lipázok: a Candida antarctica-ból származó B lipáz (Novozym 435), a filloszilikát szól-gél mátrixban immobilizált Pseudomonas cepacia lipáz (PS-30), és a Thermomyces lanuginosa granulált szilikáton immobilizált lipáza. A lipáz szól-gél mátrixba történő bezárása esetén a burok így megvédi az enzimet a metanol miatti inaktiválódástól. Granulált lipáz készítmények nem védik meg az enzimet poláris szubsztrátoktól, mivel a hordozó felületén adszorbeáltak. Az enzim aktivitása függ a hordózótól, Pseudomonas fluorescens lipáz jelentősen nagyobb aktivitást mutatott amikor hordozóként polipropilén EP100-at használtak, mint ha celitet.

# A biodízel előállításához használt szubsztrátok

## Különböző olajok és zsírok

A trigliceridek felhasználása: nyersanyag elérhetősége, feldolgozás gazdaságossága. Európa-repceolaj, Amerika-szójabab, a trópusi vidékek-pálmaolaj a fő nyersanyag. Az olajok zsírsavösszetétele befolyásolja a végső biodízel keverék fizikai és kémiai tulajdonságát. A legelterjedtebb zsírsavak a palmitinsav, sztearinsav, olajsav és linolsavak. Fontos szempont a biodízelnél az anyag oxidációval szembeni stabilitása. A magas linolsavtartalom alacsony stabilitást okoz, mivel a két kettőskötésnél könnyen oxidálódhat. A pálmaolaj és az állati zsírok magas százalékban tartalmaznak telített zsírsavakat, amelyek felelősek a biodízel alacsony hőmérsékleti tulajdonságaiért. Ez télen a hideg régiókban problémát jelent.

A repceolaj az egyik legmegfelelőbb forrás a biodízel előállításához. A biokatalizációhoz felhasznált legnépszerűbb nyersanyagok: szójabab, napraforgó és repce.

## Alacsony értékű triglicerid alapanyagok

A biodízel forgalomba hozatalának fő akadálya a nyersanyag költsége. Az alapkatalízissel előállított biodízel >0,50 USD/dm3, a kőolaj alapú dízelolaj 0,35 USD/dm3. Az ár 60–75%-a az alapanyag költségéből származik, ezért olcsó nyersanyagokat kell keresni (alacsony értékű trigliceridek). Fő probléma az előkezelés, hogy az olaj/zsír megfelelő legyen az átészterezési folyamathoz. Ezek némelyike **​​lipázok**kal hajtható végre. Alacsony értékű trigliceridek, például éttermi, étkezési hulladék olajból és állati zsírokból, azaz faggyúból nyerhetőek ki.

A nyers növényi olaj finomítása során keletkező hulladékfehérítők kb 40 m/m% olajat tartalmaznak. A *Rhizopus oryzae* lipáz (és a Candida cylindracea lipáz) képes szerves oldószeres extrakcióval visszanyert olajok (szójababból, pálmából és repcéből) hatékony metanolízisére, magas víztartalom és egyszeri metanol injekciója esetén.

A nyers napraforgóolaj finomításnál a legfőbb melléktermékek: 55,6% szabad zsírsavak és 24,7% triacil-glicerinek. Ezeket a melléktermékeket át lehet alakítani FAME-é (65%-os hozammal) immobilizált *Candida antarctica* lipáz B segítségével (15% a savas olaj tömegére vonatkoztatva) 40 ° C-on 1,5 óra elteltével és oldószerként n-hexánt használva.

Az állati zsírok rossz alacsony hőmérsékleti tulajdonsággal rendelkeznek, ezt többféleképpen lehet javítani. Például csökkenteni lehet az éttermi zsírokban található telített zsírsavtartalmat egy acetonos frakcionálási lépéssel, majd metanolízissel, amelyet *Chirazyme L-2* (*Candida antarctica* lipáz) katalizált.

## Az alkoholok

Gazdasági okokból a triglicerid-átészterezés során leggyakrabban metanolt használnak. Brazíliában a biodízel előállítása trigliceridek etanolízisével történik (etanol olcsón cukornádból). Különböző alkoholok használata eltérő eredményeket hoz.

Egy kísérletben egyenes és elágazó alkoholokat használtak a faggyú biokatalitikus átészterezésére hexán oldószer alkalmazásával. Megállapították, hogy a *Candida antarctica* lipáz a leghatékonyabb a szekunder alkoholokkal végzett átészterezésnél, és a *Mucor miehei*-ből származó lipáz pedig a primer alkoholoknál.

 C3-C5 egyenes vagy elágazó láncú alkoholok felhasználása a kozmaolajból (az etanol desztillációjának alacsony értékű maradéka) olcsó alternatívát jelenthet. Elvégezték a triolein biokatalitikus alkoholízisét kozmaolajszerű keverékkel. Ezek az alkoholok nem denaturálják az enzimeket, és észtereik, elsősorban az elágazó láncúak, javítják a biodízelkeverékek alacsony hőmérsékleti tulajdonságait. A metanol hiánya az egész folyamatot környezetbarátabbá teszi.

# Reakciókörülmények

## Közeg

A metanol és a trigliceridek rosszul elegyednek, oldószer alkalmazása elősegítheti az egyfázisú rendszer kialakulását. Az oldószer használatának azonban vannak hátrányai: tárolás, eltávolítás, ártalmaltlanítás.

DMSO, n-hexán, petroléter alkalmazása növeli, míg a dietil-éter alkalmazása csökkenti a metil-észter kihozatalt. 1,4-dioxán alkalmazása is kedvező lehet, ugyanakkor benzolban, kloroformban, tetrahidrofuránban nagyon alacsony aktivitást mértek. Bizonyos növényi olajok esetén n-hexán szükséges a metanolízishez (legmagasabb: Thermomyces lanuginosa, 97%-os konverzió). Ciklohexán, n-heptán, izooktán alkalmazásával 60-80%-os konverzió érhető el (Mucor miehei, Thermomyces lanuginosa, Pseudomonas fluorescens lipázaival). Általánosságban a szerves oldószerek használata nem ajánlott gazdasági és környezetvédelmi okokból.

Érdekes megoldás a dízelolaj használata oldószerként, amivel magas konverziót lehet elérni, valamint nem szükséges elkülöníteni a folyamat végén a biodízeltől.

## Vízaktivitás

Megfelelő enzimaktivitás biztosításához elengedhetetlen a víz jelenléte. A vízaktivitás növelésének hatása függ az alkalmazott enzimtől, a hordozótól, illetve a médium összetételétől. Általánosságban véve a magas víztartalom csökkenti az észter-kihozatalt, mert a trigliceridek hidrolíziséhez vezethet. Ugyanakkor valamennyi vízre mindenképp szükség van az enzim aktív formájának fenntartásához.

## Folyamatos műveletek optimalizálása

Az enzim költsége kulcskérdés, így az enzimeket minél többször célszerű felhasználni, azonban az enzim újbóli felhasználásával az enzimaktivitás csökken. A csökkenés mértéke lipázonként eltérő. Oka általában a fehérje inaktiválódása az olajfázisban, az érzékenység a hosszú távú metanol-kitettség miatt, de befolyásolhatja az immobilizáláshoz használt hordozó is. Ezek mellett fontos befolyásoló tényező a hőmérséklet, az olaj/alkohol mólarány, illetve a glicerin (melléktermék) jelenléte.

A Lipozyme TL IM lipáz szakaszos műveletek esetén relatív magas hőmérsékletet igényelnek (~40-50°C), de hosszabb lefutású műveleteknél az alacsonyabb hőmérséklet az optimális (~30°C). Szakaszos technológiáknál az optimális olaj/alkohol mólarány akár 1:4 is lehet, míg folyamatos technológiáknál hosszú távon csupán 1:1. A lipázok többszöri felhasználása esetén fontos a glicerin eltávolítása. Gyorsabb lefutású, szakaszos technológiáknál a lipázok magasabb aktivitással működnek, folyamatos technológiáknál gyorsan elveszthetik az aktivitásukat.

## Lipáz inhibíció és regeneráció

A metanol nehezen elegyedik az olajokkal, zsírokkal és hajlamos inaktiválni az enzimeket, emiatt több lépésben adagolják. 10%-os szilikagél hozzáadása megakadályozza a lipáz és a metanol közvetlen érintkezését ezzel növelve a konverziót. Három vagy több szénatomos alkoholok, főként 2-butanol (Novozym 435 esetén 56%-a az eredeti aktivitásnak) és terc-butanol (75%) hozzáadásával regenerálni lehet a lipázokat. Másik megoldás metil-acetát használata acil-akceptorként (nincs kedvezőtlen hatása, nagyobb mólarány esetén sem inaktiválódik az enzim, a keletkezett melléktermék, a triacetil-glicerol értékesebb a glicerinnél. Vannak metanol-rezisztens lipázok is (Pseudomonas cepacia, Rhizopus oryzae).

Thermomyces lanuginosa lipáza esetén a glicerin negatívan befolyásolja a metil-észter termelést. Ebben az esetben az izopropanolos mosás hatásosan eltávolítja a glicerint.

A foszfolipidek is gátolhatják a lipázokat, valószínűleg összekapcsolódnak az immobilizált lipázokkal, így gátolják a lipáz-szubsztrát kötés kialakulását. Minél magasabb az olaj foszfolipid tartalma, annál alacsonyabb a hozam. A nyálkátlanítás, az olajfinomítás növeli a konverziót (93,8%) a nyersolajhoz képest, és a lipáz több cikluson (25) keresztül használható aktivitáscsökkenés nélkül.

### Inhibíció folyamatos technológiák esetén

Folyamatos üzemű töltött ágyas reaktorban, szója-, illetve repceolajból kiinduló metanolízis esetén az immobilizált Candida arctica lipáz használatánál szubsztrát (metanol), illetve termékinhibíció (glicerin) is megfigyelhető. A glicerin A szubsztrátinhibíció kivédéséhez 3 lépcsős metanoladagolást, a termékgátlás megszüntetéséhez pedig folyamatos üzemű membrán bioreaktort alkalmaznak, így a glicerin áthalad a membránon és felhalmozódik a vizes fázisban.