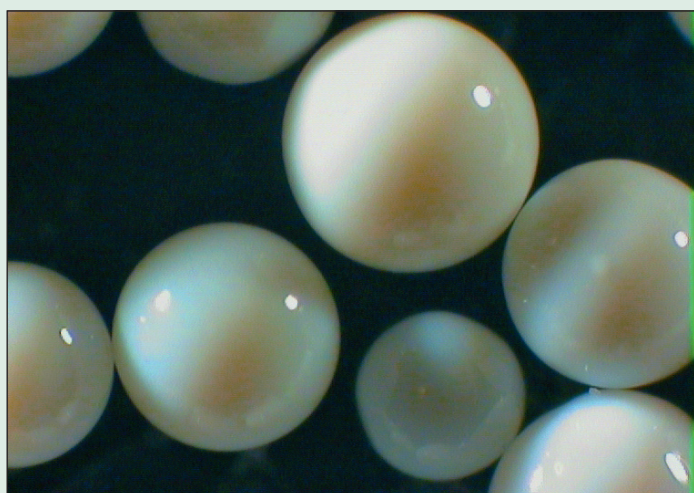


Enzymatisk omestring til produktion af biodiesel

Enzymer velegnede til biodieselproduktion er lipaser. Der findes allerede en lang række kommercielle lipaser fra forskellige organismer som bl.a. *Candida antarctica*, *Rhizomucor miehei*, *Pseudomonas cepacia* og *Thermomyces lanuginosa*, som kan benyttes til processen. Enzymerne er tilgængelige både som frie enzymer og immobiliserede på inerte partikler

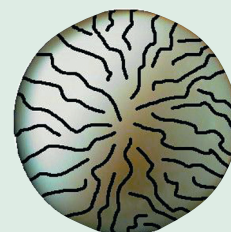
Af Lene Fjerbæk, Institut for kemi-, bio- og miljøteknologi, Teknisk Fakultet, Syddansk Universitet



Figur 1: Novozym 435 – immobiliseret lipase fra *Candida antarctica*.
[Foto : Louise Thorsager, KBM, SDU]

Biodiesel er i dag sammen med bioethanol et bud på, hvordan transportsektoren kan nedbringe sin netto CO₂-emission til atmosfæren og lagrene af fossilt brændstof kan strækkes. Ved den industrielle fremstilling af biodiesel benyttes i dag kemiske katalysatorer såsom H₂SO₄, NaOH, MeONa eller KOH, der efterfølgende fjernes fra den producerede biodiesel med store mængder vand og derved produceres store mængder spildevand. På verdensplan forventes der en produktion af biodiesel på 7,9 mio. tons i 2007 [1]. Spildevand fra biodieselproduktionen bør derfor nedbringes. Enzymer er et interessant alternativ til de industrielt benyttede katalysatorer.

Figur 2: En partikels porer (vist med sort) med immobiliserede enzymer.



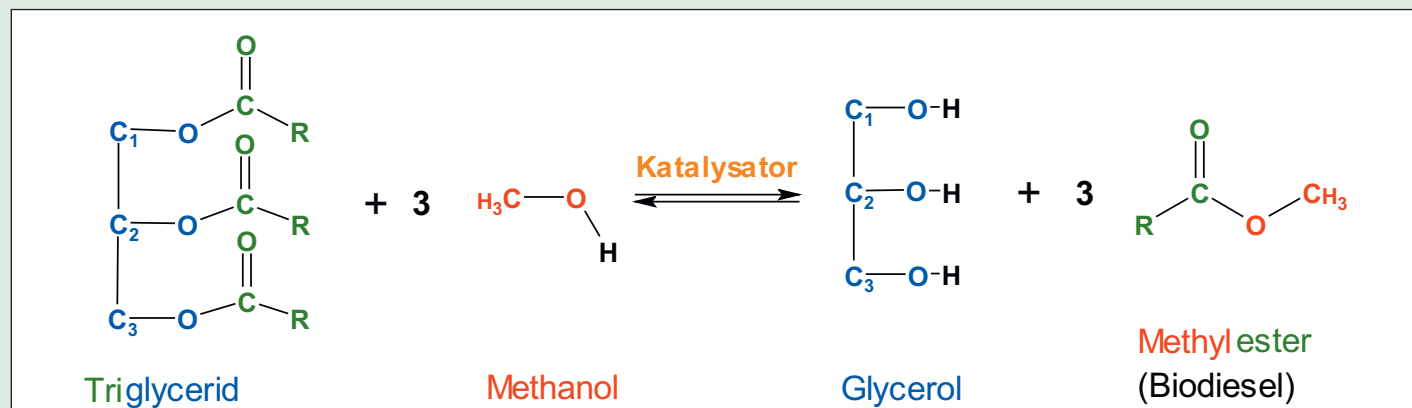
Ved at benytte enzymer i processen kan man reducere mængden af spildevand, der skal renses. Enzymer benyttes ikke i de eksisterende processer, men det forventes, at udviklingen af processerne vil øge deres anvendelse i biodieselproduktion. Her præsenteres fordele og ulemper ved anvendelse af enzymer til biodiesel produktion og diskuteres nødvendige forbedringer til enzymernes ydeevne med henblik på industriel enzymatisk biodieselproduktion.

Figur 1 viser et immobiliseret enzym fra Novozymes, Novozym 435, hvor lipase fra *Candida antarctica* er immobiliseret på en partikel af et acrylresin. En partikels porer er skitseret på Figur 2.

Kemien bag dannelsen af biodiesel

Biodiesel er alkylestre dannet under en omestningsreaktion mellem to substrater; triglycerider såsom fedt og olier samt en alkohol [2], typisk methanol eller ethanol. I reaktionen omdannes triglycerider og alkohol til alkylestre og glycerol, som vist på reaktionsskemaet i Figur 3, hvor methanol er den benyttede alkohol.

R stammer fra en fedtsyre, hvor f.eks. R = (CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇CH₃ er kulstofkæden i oleinsyre, se Figur 4.



Figur 3: Reaktionsskema for omestning af triglycerid med methanol.

Hvert mol triglycerid reagerer med 3 mol methanol, hvorved der dannes 3 mol biodiesel og 1 mol glycerol. Alkohol tilsættes i overskud for at drive reaktionen mod produktsiden, dvs. mere end 3 mol alkohol pr mol triglycerid. Reaktionen med omestringen er i sig selv langsom, men accelereres (katalyseres) ved tilsætning af en katalysator såsom base, syre eller et enzym.

Basen som NaOH, MeONa og KOH giver en hurtig og næsten fuldstændig omdannelse af triglycerid (> 99 %) ved 60-70 °C i løbet af 30 min. [3]. Base er endvidere mindre korrosivt end syre, hvilket er en fordel, da biodieselanlægget kan bygges af en billigere ståltype end ved anvendelse af syre. Ulemperne ved basisk katalyse er flere. Det er problematisk med frie fedtsyrer og vand i råmaterialet, produktstrømmene skal vaskes med vand for at fjerne salte fra de tilsatte katalysatorer, og spildevandets pH skal sænkes før udledning [4]. Ulempen ved frie fedtsyrer er, at de vil reagere med basen og forsæbe og sammen med vand vanskeliggøre den efterfølgende produktseparation. Sur katalyse af ovenstående reaktion har en lavere reaktionshastighed end basisk, kræver højere temperaturer (> 100 °C) og et stort overskud af alkohol (1:30) [5]. Dette giver et væsentligt større anlægsvolumen som sammen med et mere korrosivt miljø fordyrer procesanlægget. Et surt forestringstrin inden basisk katalyse er dog velegnet til råmateriale med et højt indhold af frie fedtsyrer for at omsætte disse inden den basiske katalyse.

Alkalisk omestring er den mest benyttede metode til produktion af biodiesel, evt. indledt af en sur forestring af tilstedeværende frie fedtsyrer i råmaterialet. Et procesdiagram over konventionel biodieselproduktion ses som Figur 5.

Olie med et indhold af frie fedtsyrer føres til første forestringsreaktor (A), hvor der tilføres methanol iblandet H_2SO_4 . I næste reaktor (B) tilføres føden methanol iblandet $NaOH$, hvorved den fulde omdannelse til biodiesel og glycerol sker under basiske forhold. Produktstrømmen føres til en dekanter eller centrifuge (C), hvor strømmen skilles i to faser; glycerol og biodiesel. Biodieselen skal renses for indhold af salte og rester af glycerol, hvilket sker i to trin. Først et vasketrin i en ekstraktionskolonne (D) med pH-justerings, hvor urenhederne i biodieselen overføres til vand, som sendes i modstrøm. Derefter skal biodiesel afvandes i en stripperkolonne (E). Vandet fra D indeholder endvidere salte og glycerol og oprenses ved destillation (F).

For at genanvende overskydende methanol oprenses det ved

```

graph LR
    Olie[Olie med frie fedtsyrer] --> A
    Methanol1[Methanol] --> A
    H2SO4_1[H2SO4] --> A
    A --> B
    Methanol2[Methanol] --> B
    NaOH[NaOH] --> B
    B --> C
    C --> D
    H2SO4_2[H2SO4] --> D
    Vand[Vand] --> D
    D --> E
    E --> Biodiesel[Biodiesel]
    E --> F
    F --> Glycerol[Glycerol, salte]
    Glycerol --> Purification[til yderligere oprensning]
  
```

Råmaterialelet er et fedtstof eller en olie. En lang række råmaterialer kan anvendes, bl.a. rapsolie, solsikkeolie, sojaolie, palmeolie, olie fra *Jatropha curcas* nødder, fiskeolie, animalsk fedt, brugte olier fra f.eks. friture og olie fra alger. Alger har et stort biodieselpotentiale pga. et meget højt arealudbytte i forhold til traditionelle dyrkede afgrøder. Raps-, palme- og sojaolie kan dyrkes med udbytter på hhv. 1.200, 6.000 og 500 L/ha, mens alger under varme himmelstrøg kan producere olie med et udbytte på 59.000-140.000 L/ha [6]. Råmaterialernes indhold af frie fedtsyrer varierer en hel del som vist i Tabel 1 og udgør op til 77,9 vægt% af olien eller fedtet. Når det er tilfældet, er der behov for et ekstra forestringstrin med syre.

Enzymer velegnede til biodieselproduktion er lipaser. Der findes allerede en lang række kommercielle lipaser fra forskellige organismer som bl.a. *Candida antarctica*, *Rhizomucor miehei*, *Pseudomonas cepacia* og *Thermomyces lanuginosa*, som kan benyttes til processen. Enzymerne er tilgængelige både som frie enzymer og immobiliserede på inerte partikler. Enzymer er til forskel fra basisk katalyse ikke følsomme overfor et højt indhold af frie fedtsyrer eller vand. En ulempe er, at lipaser inhiberes af alkoholer. De er meget føl-

	Rapsolie [5]	Sojaolie uraffineret raffinert [7]	Jatropha olie [8]	Brugte fritureolie [9]	Animalsk fedt [10]	Biprodukt fra oliefremstilling [11]
Frie fedtsyrer [Vægt%]	0,3 - 2	0,3 - 0,7 < 0,05	14	0,7 - 41,8	5 - 30	78

```
graph LR; A[A] --> B[B]; B --> C[C]; A --> B; A --> Glycerol; B --> Glycerol; C --> Biodiesel; A --> Enzym; B --> Enzym; C --> Enzym; A --> Oil; B --> Oil; C --> Oil; A --> Methanol; B --> Methanol; C --> Methanol;
```

ling er udført med godt resultat for lipasen Novozym 435 ved opbevaring først i methyloleate (methylester af oleinsyre) og dernæst i sojaolie i hhv. 0,5 time og 12 timer [13]. Et udbytte på > 97 % på kun 3,5 time kunne opretholdes i 20 batchforsøg i træk, hvor reaktionstiden for ubehandlet lipase var 24 timer. Novozym 435 er dog et dyrt enzym relativt til andre lipaser. For at reducere omkostningerne kan man blande lipaser, hvilket kan give en synergistisk effekt ved f.eks. at bruge Novozym 435 sammen med et billigere enzym såsom Lipozym TL IM. Med den blanding er der opnået et 95 % udbytte efter 12 timers reaktion. Udbytter for enzymerne benyttet enkeltvis var 85 % med Lipozym TL IM (20 vægt%) og 90 % med Novozym 435 (2 vægt%). Andre synergistiske effekter er endvidere dokumenteret af Wu [14] og Lee [15].

Der ses lovende tendenser indenfor brug af lipaser til biodieselproduktion, men forskning er krævet for at optimere på lipasernes ydeevne. Det er især enzymstabiliteten, som skal forbedres, og methanolinhibering, som skal reduceres. En lang række parametre er vigtige, når enzymer skal benyttes i stedet for basisk og sur biodieselproduktion i industriel skala (se Tabel 3). Enzymernes reaktionshastighed, pris og stabilitet skal forbedres, og der er behov for udvikling af forbehandling af biomassen og af den rette blanding af lipaser, før enzymerne kommer tættere på industriel anvendelse til biodieselproduktion. Enzymer har et stort potentiale for at mindske miljøpåvirkningerne, og teknologien vil reducere antallet af enhedsoperationer i et givent procesanlæg og derved forbedre procesøkonomien.

- [1] REUTERS NEWS SERVICE, 2007.
- [2] M.A.Dube, A.Y.Tremblay, J.Liu, *Bioresource Technology* 98 (2007) 639.
- [3] K.-T.Lee, T.A.Foglia, K.-S.Chang, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79 (2002) 191.
- [4] H.Fukuda, A.Kondo, H.Noda, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 92 (2001) 405.
- [5] M.Mittelbach, C.Remschmidt, *Biodiesel - the comprehensive handbook*. 2006.
- [6] Y.Chisti, *Biotechnology Advances* 25 (2007) 294.
- [7] F.T.Orthoefer, G.R.List, *Oil Mill Gazetteer* 113 (2007) 3.
- [8] A.Kumar Tiwari, A.Kumar, H.Raheman, *Biomass and Bioenergy* 31 (2007) 569.
- [9] M.Canakci, *Bioresource Technology* 98 (2007) 183.
- [10] J.V.Gerpen, *Fuel Processing Technology* 86 (2005) 1097.
- [11] Y.Watanabe, P.Pinsirodom, T.Nagao, A.Yamauchi, T.Kobayashi, Y.Nishida, Y.Takagi, Y.Shimada, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 44 (2006) 99.

-

