

氨基酸水热产乙酸及其反应路径探究

缪佳¹, 叶青¹, 沈峥^{2,3*}, 周婧斐²

(1. 浙江工业大学建筑工程学院, 浙江 杭州 310014;

2. 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092;

3. 同济大学国家设施农业工程技术研究中心, 上海 200092)

摘要:为探究微藻类生物质资源化的可能性,以天冬氨酸和丙氨酸为模型化的藻类,考察了氨基酸水热产乙酸的最优化条件及其反应路径。结果表明:丙氨酸水热反应的最优反应温度为300℃,供氧比为70%,反应时间为80 s,最大乙酸产率为38.0%;天冬氨酸水热反应的最优反应温度为300℃,供氧比为180%,反应时间为100 s,最大乙酸产率为23.0%。基于GC-MS以及HPLC分析结果发现,丙氨酸和天冬氨酸水热氧化产物中主要有乙酸、乙酰胺及丙酸等物质。此外,根据丙氨酸和天冬氨酸的水热反应路径推断,2种氨基酸产乙酸性能的差别与反应中间产物丙酸有关。

关键词:丙氨酸;天冬氨酸;水热反应;资源化;乙酸

中图分类号:TK6(X705)

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)01-0096-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2017.01.022

Hydrolysis of amino acids to acetic acid and its reaction pathway

MIAO Jia¹, YE Qing¹, SHEN Zheng^{2,3*}, ZHOU Jing-fei²

(1. College of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2. State Key Laboratory of Pollution Control & Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China;

3. National Engineering Research Center of Protected Agriculture, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: To explore the feasibility of biomass reutilization from the microalgae, the effects of physicochemical factors on the reutilization of alanine and aspartic acid for production of acetic acid and the corresponding interaction pathways are investigated in this study. The experimental results show that the maximum yield of acetic acid from alanine reaches 38.0% when the reaction temperature is 300℃, oxygen supply content is 70% and reaction time is 80 s. At the same time, the maximum yield of acetic acid from aspartic acid is 23.0% under the following conditions: 100 s of the reaction time, 180% of the oxygen supply content and 300℃ of the reaction temperature. Based on GC-MS and HPLC analysis, the main hydrothermal oxidation products of alanine and aspartic acid are acetic acid, acetamide and propionic acid. In addition, the difference in the properties of acetic acid produced by two kinds of amino acids could be highly associated with the reaction intermediate product (propanoic acid), according to the hydrothermal reaction pathways of the alanine and aspartic acid.

Key words: alanine; aspartic acid; hydrothermal reaction; reutilization; acetic acid

生物质能源作为一种来源广泛的可再生能源,不仅有助于缓解化石燃料日益枯竭给全球经济发展带来的危机,而且还具有减少温室气体排放,维护生态平衡以及改善人类生存环境的优点^[1-2]。

微藻类是最大的自养类微生物植物^[3-4],作为一种来源广泛、成本低廉、光合效率高以及生长周期短的生物质原料,其资源化的利用与开发对减少进口石油的依赖和保障国家能源安全具有重大意义^[5-7]。在微藻众多转化方法中,以亚/超临界水作

为反应介质的水热液化法可以有效转化微藻中的主要生化组分^[8-9]。水热反应(Hydrothermal reaction)主要是指在高温高压水(一般温度为150~600℃,压力为2~50 MPa)中进行的反应^[10-11],主要可分为湿式氧化法和超临界氧化法^[1,12-13]。微藻细胞中含有蛋白质(含量最高)、脂类和维生素等物质。藻类水热产乙酸过程中起主要作用的成分是蛋白质^[1,15],因为蛋白质水解能够产生氨基酸(如天冬氨酸和丙氨酸),而氨基酸水热可产乙酸^[16-17],起到

收稿日期:2016-07-03

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21376180);上海市国际合作项目(14230710800);中央高校基本科研业务费专项资金项目(2870219026,2870219028)

作者简介:缪佳(1979-),女,博士,副教授,研究方向为生物质转化,miaojia0716@126.com;沈峥(1978-),男,博士,副研究员,研究方向为生物质资源化,通讯联系人,shenzheng@tongji.edu.cn。

资源化效果。

因此,笔者以天冬氨酸和丙氨酸为代表性的氨基酸,探究了氨基酸水热产乙酸最佳条件及其反应路径,以期藻类生物质能源化的实际应用提供一定的理论与技术指导。

1 实验部分

1.1 实验材料、装置与方法

1.1.1 实验材料

实验所用材料主要为丙氨酸和天冬氨酸,实验中所有溶液均用 Milli-Q 去离子水进行配制。

1.1.2 实验装置

目前,生物质水热技术主要有间歇式、连续式和流化床3种工艺装置^[18]。其中,间歇式以其操作简单,处理快速,停留时间短和反应器较小等优点,被广泛应用于水热生物质的处理技术中。基于此,实验选择在间歇式反应器中进行。

1.1.3 实验方法

分别称取丙氨酸和天冬氨酸各 0.067 g,与一定量双氧水一起加入到间歇式反应器中,间歇式反应器填充率为 30%,并迅速将反应器密封;然后,将密封好的不锈钢反应器进行多次晃动,以使内部反应物质混匀;将反应器水平浸入已预热并达到设定温度(分别为 250、275、300、325、350℃)的熔融盐槽中,同时通过均匀搅拌以保持良好的传热和传质。经过设定的反应时间(分别为 40、80、120、160、200 s),将不锈钢反应器从熔融盐槽中取出,并投入到冷水槽中迅速冷却,以中止反应。待反应器完全冷却后,收集反应器中反应后的溶液,经 0.45 μm 过滤头过滤后,装入样品瓶中进行后续分析。为保证数据的可靠性,实验均采用平行实验(重复 2 次或以上),图表中的误差棒代表原始数据的标准偏差。

乙酸产率(%) = (产物乙酸的含碳量)/(反应物藻的含碳量),其中含碳量以 TOC 计。

100% 供氧:反应物完全被氧化为二氧化碳、水以及二氧化氮的理论需氧量。

1.2 分析方法

1.2.1 高效液相色谱(HPLC)分析

HPLC 分析条件如表 1 所示。为了实现良好的分离,HPLC 装置采用 2 根串连的 RSpark KC-811 反向分离柱(Shodex)。通过标准样的内标定与标准样保留时间的比较,确定反应生成物;并通过峰面积外标法定量分析主要产物的浓度。

表 1 HPLC 分析条件概况

指标	参数
紫外线吸收检测器	Agilent 1200(210 nm)
分析柱	Shodex RSpark KC-G + RSpark KC-811 × 2
流动相	2 mmol HClO ₄
流动相速度/(mL·min ⁻¹)	1
恒温箱	Lab Alliance column cooler/heater
温度/℃	50
HPLC 泵	L-7110T

1.2.2 气相-质谱(GC/MS)分析

实验选用 INNOWAX 毛细柱(内径为 0.25 mm,膜厚为 0.25 μm,Agilent)。GC-MS 按设定的升温程序运行:首先,在 40℃ 稳定 5 min;然后,以 7.5℃/min 的速度升高到 150℃,再以 3.0℃/min 的速度升高到 230℃,并保持 10 min。分析完成后,数据处理采用 Wiley138 数据库进行检索。

2 结果分析和讨论

2.1 理化因素对丙氨酸和天冬氨酸水热氧化产乙酸率的影响

2.1.1 反应温度对乙酸产率的影响

在供氧比为 100%,反应时间为 60 s 的条件下,考察反应温度对丙氨酸和天冬氨酸产乙酸效果的影响,结果如图 1 所示。由图 1 可以看出,反应温度对 2 种氨基酸(丙氨酸和天冬氨酸)的产乙酸性能影响明显。当反应温度为 250℃ 时,丙氨酸和天冬氨酸的乙酸产率分别为 26.5% 和 6.8%;随着反应温度从 250℃ 逐渐升高至 350℃,2 种氨基酸的乙酸产率均呈先上升后下降的趋势,最优反应温度均为 300℃,此时,丙氨酸和天冬氨酸的最大乙酸产率分别为 37.3% 和 13.4%。

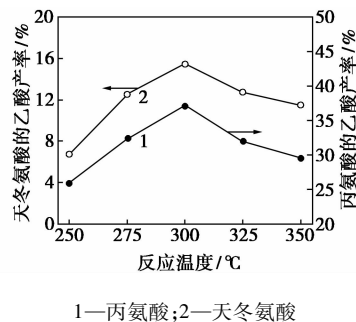


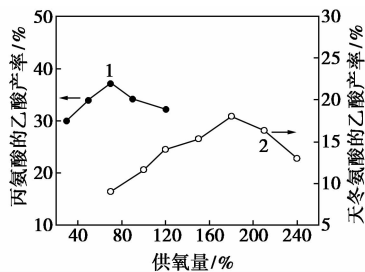
图 1 反应温度对丙氨酸和天冬氨酸产乙酸率的影响

尽管丙氨酸和天冬氨酸产乙酸性能与反应温度存在类似相关性,但是丙氨酸产乙酸率显著高于天冬氨酸产乙酸率,且相对于天冬氨酸的产乙酸性能,

反应温度对于丙氨酸的影响更为明显,这主要与 2 种氨基酸结构中不同数量的 C 原子相关,因其能够影响 2 种氨基酸氧化分解的难易度。

2.1.2 供氧比对乙酸产率的影响

在反应温度为 300℃,反应时间为 60 s 的条件下,考察供氧比分别对丙氨酸和天冬氨酸产乙酸效果的影响,如图 2 所示。由图 2 可以看出,供氧比对于丙氨酸和天冬氨酸产乙酸性能的影响存在显著差异。当供氧比分别为 30% 和 70% 时,丙氨酸和天冬氨酸产乙酸率分别能够达到 30.0% 和 9.0%;随着供氧比的增加,2 种氨基酸的产乙酸率都呈现先上升后下降的趋势,其中,丙氨酸在供氧比为 70% 时能够达到最大乙酸产率(即 37.3%),而天冬氨酸供氧比达到了 180% 时取得的最大乙酸产率仅为 18.0%;随着供氧比的进一步增加,丙氨酸和天冬氨酸的乙酸产率均呈现下降趋势,其中,丙氨酸在供氧比为 120% 时,乙酸产率已下降至 32.2%,而天冬氨酸在供氧比为 240% 时,其产生的乙酸率为 13.0%。很明显,相比于丙氨酸,天冬氨酸水热氧化所需要的供氧比更高。Faisal 等^[19]的研究结果表明,天冬氨酸在水热条件下反应的产物有丙氨酸、苹果酸、乳酸等,而本实验中,丙氨酸的乙酸产率明显高于天冬氨酸的乙酸产率。此外,乳酸水热氧化也可产乙酸^[20],而苹果酸继续水热氧化的产物一般为甲酸,故推测天冬氨酸的乙酸产率不高的主要原因是反应中大部分天冬氨酸被水热氧化生成了甲酸等其他有机酸。



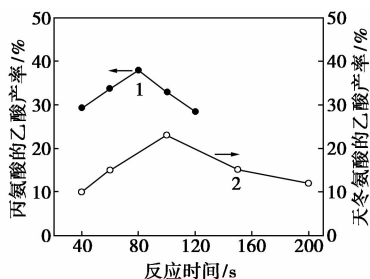
1—丙氨酸;2—天冬氨酸

图 2 供氧比对丙氨酸和天冬氨酸产乙酸率的影响

2.1.3 反应时间对乙酸产率的影响

在反应温度为 300℃,供氧比为 70% 的条件下,考察了反应时间对丙氨酸和天冬氨酸产乙酸的反应动力学,结果如图 3 所示。由图 3 可以看出,随着反应时间的增加,丙氨酸和天冬氨酸产乙酸的反应动力学均呈现先上升后下降的趋势。其中,丙氨酸在反应 80 s 时能够达到最大乙酸产率,为 38.0%,而

天冬氨酸在反应 100 s 时取得最大乙酸产率,为 23.0%;随着反应时间的继续增加,二者的乙酸产率开始下降。相比其他理化因素如反应温度或供氧比的影响,丙氨酸和天冬氨酸水热氧化得到的乙酸产率随时间变化的波动更大,这有助于指导生物质工程资源化的实际运行。

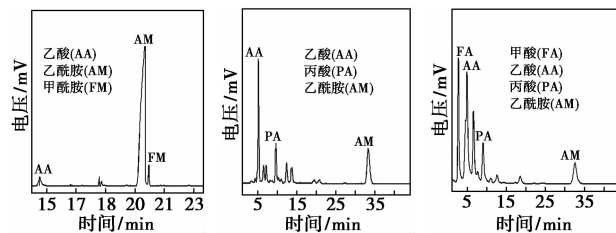


1—丙氨酸;2—天冬氨酸

图 3 反应时间对丙氨酸和天冬氨酸产乙酸率的影响

2.2 产物分析与反应路径探究

相对于天冬氨酸,丙氨酸水热氧化得到的乙酸产率较大,故通过 GC-MS 分析方法对其产物进行了分析,结果如图 4(a)所示。由图 4(a)可以看出,丙氨酸的水热氧化产物中含有乙酸、乙酰胺以及少量的甲酰胺,甲酰胺是由于反应生成的甲酸与初期脱氨产生的氨气发生反应而生成,而乙酰胺是由于水热反应中脱氨生成的氨气与产物中的乙酸反应生成。天冬氨酸水热氧化产物中除了生成乙酸外,还有甲酸和丙酸等小分子酸生成,而丙氨酸也是如此。



(a) 丙氨酸 GC-MS (b) 丙氨酸 HPLC (c) 天冬氨酸 HPLC

图 4 水热条件下丙氨酸 GC-MS 分析及丙氨酸和天冬氨酸的 HPLC 分析

丙氨酸及天冬氨酸水热氧化条件下的 HPLC 对比分析结果如图 4(b) 和图 4(c) 所示。由图 4(b) 和图 4(c) 中可以看出,天冬氨酸反应产物中检测到甲酸,而丙氨酸反应产物中并没有甲酸的出现。根据有关文献报道^[20-21],天冬氨酸在水热条件下脱掉 1 个 CO₂ 分子即可生成丙氨酸,而丙氨酸水热条件下极易生成乳酸,考虑到天冬氨酸较丙氨酸有更多的反应路径,且其他路径都以生成甲酸为主,故天冬

氨酸的乙酸产率要小于丙氨酸。

通过上述实验分析,推测出丙氨酸和天冬氨酸2种氨基酸水热氧化反应路径,如图5所示。由图5可以看出,相比天冬氨酸水热氧化产物,除了乙酸之外,丙氨酸水热氧化产物中还有丙酸和乙酰胺等物质^[7]。

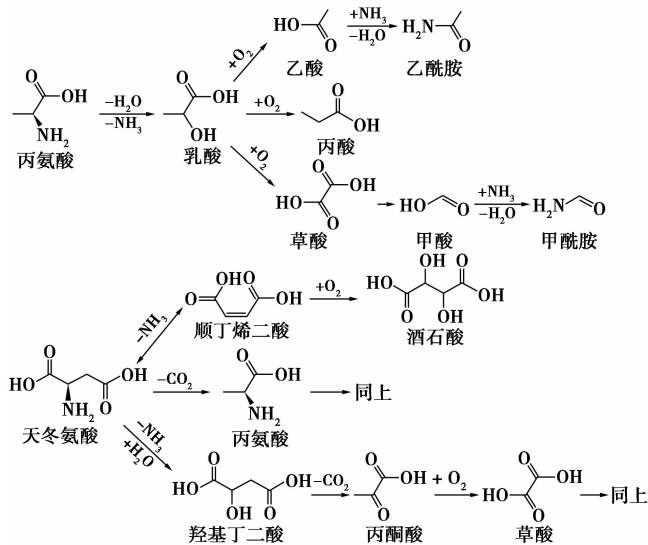


图5 丙氨酸和天冬氨酸在水热条件下的反应路径

3 结论

(1) 丙氨酸水热反应的最优化条件为:反应温度为 300°C ,供氧比为70%,反应时间为80 s,最大乙酸产率为38.0%;相比之下,天冬氨酸水热反应的最优化条件为:反应温度为 300°C ,供氧比为180%,反应时间为100 s,最大乙酸产率为23.0%。天冬氨酸的最大产乙酸率显著低于丙氨酸最大产乙酸率,且2种氨基酸产乙酸的最佳理化条件存在明显差别。

(2) 通过GC-MS以及HPLC分析发现,相比于丙氨酸,天冬氨酸在水热条件下产生的中间产物更为复杂(如丙氨酸、丁二酸、乳酸等)。此外,根据天冬氨酸和丙氨酸的水热反应路径,推断出2种氨基酸产乙酸性能的不同与反应中间产物丙酸有关。

(3) 基于藻类水热氧化后期以乙酸的分解为主,且乳酸更容易生成乙酸,故如何提高乳酸的含量将成为今后的研究方向。

参考文献

[1] 霍志久,张志华,朱永涛,等. 微藻资源化利用技术的研究进展[J]. 化工中间体,2015,11(5):88-91.

[2] 邹树平,吴玉龙,杨明德,等. 微藻能源化利用技术研究进展[J]. 现代化工,2006,26(2):35-38.

[3] Rawat I, Kumar R R, Mutanda T, *et al.* Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production[J]. Applied Energy, 2013, 103:444-467.

[4] 王介妮,曹磊昌,刘扩金,等. 微藻制备生物柴油的研究进展[J]. 现代化工,2013,(5):36-39.

[5] 李华,王伟波,刘永定,等. 微藻生物柴油发展与产油微藻资源利用[J]. 可再生能源,2011,29(4):84-89.

[6] 李元广,谭天伟,黄英明. 微藻生物柴油产业化技术中的若干科学问题及其分析[J]. 中国基础科学,2009,11(5):64-70.

[7] Hong M E I, Cheng-Wu Z Z, Da-Congl Y I N, *et al.* 利用微藻生产可再生能源研究概况[J]. 武汉植物学研究,2008,26(6):650-660.

[8] Zhang D, Wei D, Li Q, *et al.* High performance catalytic distillation using CNTs-based holistic catalyst for production of high quality biodiesel[J]. Scientific Reports, 2014, 4(2955):65.

[9] 朱莺莺. 金属氧化物水热条件下氧化微藻产乙酸的研究[D]. 上海:上海交通大学,2014:86.

[10] 金放鸣. 模拟自然加快碳循环:水热转化生物质为高附加值产品[J]. 化工进展,2010,29(1):1-10.

[11] 陈裕鹏,黄艳琴,阴秀丽,等. 藻类生物质水热液化制备生物油的研究进展[J]. 石油学报(石油加工),2014,30(4):756-763.

[12] Sasaki M, Oshikawa T, Watanabe H, *et al.* Reaction kinetics and mechanism for hydrothermal degradation and electrolysis of glucose for producing carboxylic acids[J]. Research on Chemical Intermediates, 2011, 37(2/3/4/5):457-466.

[13] Schmieider H, Abeln J. Supercritical water oxidation: State of the art[J]. Chemical Engineering & Technology, 1999, 22(11):903-908.

[14] Valdez P J, Nelson M C, Wang H Y, *et al.* Hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp.: Systematic study of process variables and analysis of the product fractions[J]. Biomass and Bioenergy, 2012, 46:317-331.

[15] Rehm H J, Reed G. Biomass, microorganisms for special applications, microbial products I, energy from renewable resources[J]. Trends in Biotechnology, 1983, 1(3):94-95.

[16] 魏伟,张绪坤,祝树森,等. 生物质能开发利用的概况及展望[J]. 农机化研究,2013,35(3):7-11.

[17] 张宗兰,刘辉利,朱义年. 我国生物质能利用现状与展望[J]. 中外能源,2009,14(4):27-32.

[18] Matsumura Y, Minowa T. Fundamental design of a continuous biomass gasification process using a supercritical water fluidized bed[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2004, 29(7):701-707.

[19] Faisal M, Sato N, Quitain A T, *et al.* Reaction kinetics and pathway of hydrothermal decomposition of aspartic acid[J]. International Journal of Chemical Kinetics, 2007, 39(3):175-180.

[20] Jin F, Zhou Z, Moriya T, *et al.* Controlling hydrothermal reaction pathways to improve acetic acid production from carbohydrate biomass[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(6):1893-1902.

[21] Jin F, Yun J, Li G, *et al.* Hydrothermal conversion of carbohydrate biomass into formic acid at mild temperatures[J]. Green Chemistry, 2008, 10(6):612-615. ■