УДК 57

Родин Роман Васильевич

Магистр Тамбовского государственного технического университета

Россия, г. Тамбов

АНАЛИЗ ПРОЦЕССА ЭКСТРАЦИИ ЛИПИДОВ ИЗ КЛЕТОК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ CHLORELLA VULGARIS

Аннотация: *В статье рассматривается процесс экстракции липидов из клетки микроводоросли Chlorella Vulgaris. Также приведен краткий анализ конверсии микроводорослей в биодизель. Рассмотрены основные методы экстракции.*

Ключевые слова: *микроводоросль Chlorella Vulgaris, экстракция, липиды, биодизель.*

ANALYSIS OF THE PROCESS OF LIPID EXTRACTION FROM MICROALGAE CELLS OF CHLORELLA VULGARIS

Abstract: *The article discusses the process of extracting lipids from the cell of the microalgae Chlorella Vulgaris. A brief analysis of the conversion of microalgae to biodiesel is also provided. The main extraction methods are considered.*

Keywords: *microalgae Chlorella Vulgaris, extraction, lipids, biodiesel.*

Липиды - это биомолекулы, растворимые в органических растворителях, но нерастворимые в воде. Липиды классифицируют на полярные и неполярные.

Полярные липиды используются микроводорослями для формирования клеточных мембран и включают фосфолипиды, гликолипиды, в то время как

неполярные липиды (или нейтральные липиды) используются в качестве источника энергии и включает ацилглицерины (моно, ди и три) и свободные жирные кислоты. Основные составляющие как нейтральных, так и полярных липидов являются жирные кислоты (содержащие от 12 до 22 атомов углерода), которые могут быть насыщенными (без двойных связей) или ненасыщенными (имеют хотя бы одну двойную связь) [1, 2].

Экстракция липидов является одним из основных этапов различных операций, используемых в производстве биодизеля. После концентрирования биомассы микроводорослей путем сбора и обезвоживания экстракцию липидов проводят либо из высушенного порошка биомассы, либо непосредственно из влажного концентрата. Первый называется сухим маршрутом, а второй - мокрым маршрутом. В обоих этих направлениях растворители играют ключевую роль, а экстракция липидов из микроводорослей по существу основывается на растворителе, по крайней мере, до этого момента технического прогресса (рисунок 1) [3, 4].

Рисунок 1 - Конверсия микроводорослей в биодизель

Растворители используются напрямую, либо при помощи разрушения клеток (через механические, химические или биологические методы) для повышения эффективности экстракции липидов [5].

Экстракция липидов с помощью органических растворителей основано на понятии «как растворяет подобное», то есть полярный растворитель растворяет полярные липиды и неполярный растворитель растворяет неполярные липиды. Количество растворителей, таких как ацетон, бензол, хлороформ, н-гексан, метанол, этанол, бутанол и циклогексан могут растворять липиды, но метанол, хлороформ и гексан считаются наиболее подходящими растворителями для экстракции липидов. Предпосылкой является то, что растворители должны обладать высоким уровнем специфичности для внутриклеточных липидов, имеют низкую температуру кипения, проникают через клеточную мембрану, недорогие, летучие и нетоксичные по природе [6].

Основным механизмом экстракции липидов органическими растворителями является диффузия (рисунке 2). Смесь полярных и неполярных растворителей в определенном соотношении, как правило, используется для извлечения внутриклеточных липидов полностью [6].

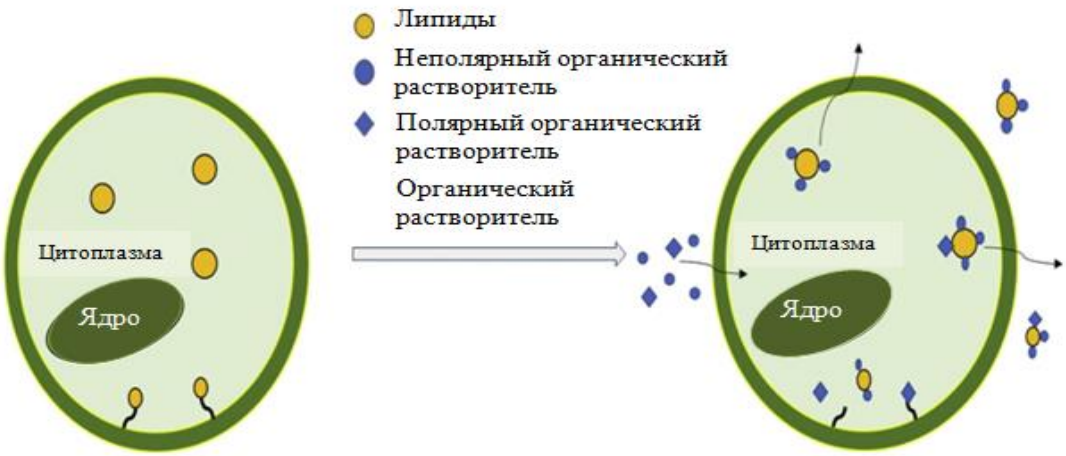

Рисунок 2 - Прямая экстракция органическим растворителем

Когда неполярный растворитель добавляют к биомассе микроводоросли *Chlorella vulgaris*, он проникает в цитоплазму через клеточную стенку и образует комплекс с нейтральными липидами (присутствуют в форме глобул в цитоплазме). Комплекс липид-растворитель, управляемый градиентом

концентрации, диффундирует сквозь клеточную мембрану в объем растворителя [7].

Тем не менее, некоторые фракции нейтральных липидов все еще остаются внутри клетки как комплекс с полярными липидами (прикрепляется к белкам в клеточной мембране водородной связью). Чтобы отделить эти фракции необходимо использование полярного растворителя. Полярные растворители освобождают эти нейтральные липиды из комплекса путем образования водородных связей с полярными липидами [7].

Хотя добавление полярного растворителя помогает извлечь мембранно связанные нейтральные липиды, в процессе растворитель неизбежно захватывает полярные липиды. После того, как липиды попадают в объем растворителя, они извлекаются путем дистилляции или выпаривания растворителей.

Эффективность этого метода зависит от выбора растворителей и отношения, в которых они используются. Ряд сравнительных исследований с использованием индивидуальных растворителей и их комбинаций сообщил о смеси хлороформ / метанол как быстрой, эффективной и количественной комбинации для экстракции липидов. Хлороформ / метанол в соотношении 1: 2 (об / об) и 2 : 1 (об / об) является наиболее широко используемой смесью. Первый способ обычно называется методом Блая и Дайера, а второй - методом Фолча. Этот способ экстракции липидов был эффективен и для влажной биомассы микроводорослей. Используя метод Фолча, получили выход липидов, равный 94,9 % от влажной биомассы микроводоросли. Аналогично, метод Блая и Дайера дает $\geq$ 95 % от общего количества липидов и считается эффективным как для мокрых, так и для сухих путей экстракции [8].

В лабораторных масштабах экстракции липидов обычно используют периодический процесс и ограничивают экстракцию, как только растворитель насыщается липидом. Метод непрерывного органического растворителя, то есть экстракция Сокслета, широко используется для преодоления этой

проблемы. Этот метод экстракции липидов использует циклы испарения и конденсации растворителя, непрерывно пополняя биомассу свежими растворителями [8].

Среди различных растворителей, гексан или смесь гексан / спирт были предложены в качестве потенциального малотоксичного заменителя смеси хлороформ / метанол и широко используются в процедуре Сокслета. Onay et al. получили почти аналогичные выходы липидов (9 %) из Scenedesmus sp. с использованием н-гексана методами Блайя, Дайера и Фолча. Аналогично, Escorsim et al. не получили заметных различий в выходах липидов , используя гексан / этанол (1: 1, 1: 2 и 2: 1 об / об) и хлороформ / метанол (1: 2 об / об) в качестве экстрагентов, т.е. 6 % и 7,4 % соответственно. Основные преимущества использования гексана в качестве экстрагента заключаются в том, что он относительно дешев, менее токсичен, легко испаряется и обладает высокой селективностью в отношении нейтральных липидов, что делает его пригодным для крупномасштабной экстракции липидов. Помимо растворителей, энергия, используемая для испарения растворителей при экстракции Сокслета, является важным фактором общей эффективности процесса экстракции [9].

Хотя эти методы легко выполняются, они имеют большее время выполнения. Модифицированный метод экстракции на основе растворителя, а именно: ускоренная экстракция растворителем (ASE), в которой используются органические растворители при высокой температуре (50 - 200 °C) и давлении (500 - 300 psi (фунтов на квадратный дюйм) в течении коротких периодов времени (5 - 10 минут) были изучены, чтобы минимизировать время экстракции. Высокая температура и давление увеличивают способность растворителя к поглощению липидов и поддерживают его в жидком состоянии. Хотя сообщалось, что этот метод сокращает время экстракции, основным ограничением всего процесса является использование органических растворителей (рисунок 3) [9].

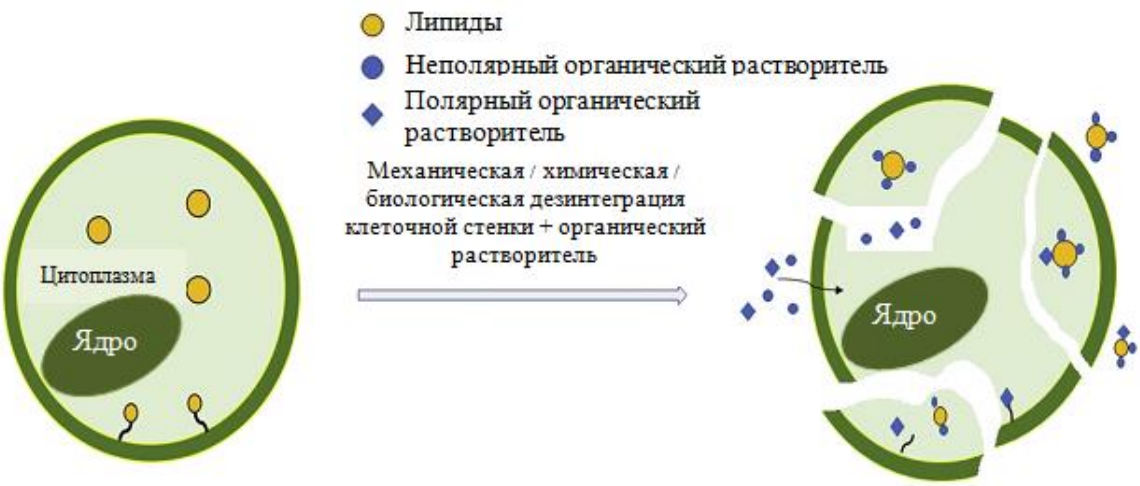

Рисунок 3 - Экстракция органическим растворителем при разрушении клетки (механическим, химическим или биологическим способом).

Использованные источники:

1. G. Venkata Subhash, M. Rajvanshi, B. Navish Kumar, S. Govindachary, V. Prasad, S. Dasgupta, Carbon streaming in microalgae: extraction and analysis methods for high value compounds, Bioresour. Technol. 244 (2017) 1304–1316, https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.024.

2. Y. Gong, M. Jiang, Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel, Biotechnol. Lett. 33 (2011) 1269-1284, https://doi.org/10.1007/s10529-011-0574-z.

3. E.B. D'Alessandro, N.R. Antoniosi Filho, Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: a review, Renew. Sust. Energ. Rev. 58 (2016) 832–841, https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.162.

4. A. Barry, A. Wolfe, C. English, C. Ruddick, D. Lambert, 2016 National Algal Biofuels Technology Review, (2016), https://doi.org/10.2172/1259407.

5. C.L. Teo, A. Idris, Enhancing the various solvent extraction method via microwave irradiation for extraction of lipids from marine microalgae in biodiesel production, Bioresour. Technol. 171 (2014) 477-481, https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.024.

6. Z.M.A. Bundhoo, Microwave-assisted conversion of biomass and waste materials to biofuels, Renew. Sust. Energ. Rev. 82 (2018) 1149 - 1177, https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.09.066.

7. R.R. Dos Santos, D.M. Moreira, C.N. Kunigami, D.A.G. Aranda, C.M.L.L. Teixeira, Comparison between several methods of total lipid extraction from Chlorella vulgaris biomass, Ultrason. Sonochem. 22 (2015) 95-99, https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.05.015.

8. R. Maurya, T. Ghosh, H. Saravaia, C. Paliwal, A. Ghosh, S. Mishra, Non-isothermal pyrolysis of de-oiled microalgal biomass: kinetics and evolved gas analysis, Bioresour. Technol. 221 (2016) 251 - 261, https://doi.org/10.1016/j.biortech. 2016.09.022.

9. A.M. Escorsim, G. da Rocha, J.V.C. Vargas, A.B. Mariano, L.P. Ramos, M.L. Corazza, C.S. Cordeiro, Extraction of Acutodesmus obliquus lipids using a mixture of ethanol and hexane as solvent, Biomass Bioenergy 108 (2018) 470 - 478, https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.10.035.