

文章编号:0254-0096(2019)09-2695-06

# 微藻直接离子液体脂肪酶制备生物柴油

苗长林<sup>1</sup>, 凡佩<sup>1,2</sup>, 吕鹏梅<sup>1</sup>, 王忠铭<sup>1</sup>, 庄新姝<sup>1</sup>, 袁振宏<sup>1</sup>

(1. 中国科学院广州能源研究所, 中科院可再生能源重点实验室, 广州 510640; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 采用小球藻、甲醇为原料, 脂肪酶为催化剂, 离子液体为提取剂和反应介质, 直接提取酯交换制备生物柴油。考察不同工艺条件对产率的影响, 结果表明: 甲醇用量和藻粉质量比为 8:1, 离子液体[BMIM][DCA]和藻粉质量比为 1:1, 脂肪酶用量为藻粉质量的 12%, 反应温度为 50 °C, 酯交换反应时间为 16 h 条件下, 生物柴油的转化率可达 69.6%。采用微藻直接离子液体脂肪酶制备生物柴油无需从微藻粉中提取油脂, 因此降低过程成本、缩短工艺, 能够实现含油微藻到生物柴油的一步转化。

**关键词:** 离子液体; 生物柴油; 脂肪酶; 酯交换; 微藻

**中图分类号:** TE667

**文献标识码:** A

## 0 引言

传统微藻生物柴油首先提取微藻油脂, 然后微藻油脂在催化剂作用下酯化或转酯, 生成脂肪酸酯<sup>[1,2]</sup>。然而由于大部分含油微藻细胞壁较厚, 用常规有机溶剂提取时, 细胞内的油脂难以渗出细胞壁, 耗时长, 且需耗用大量有机提取剂, 加大了分离难度<sup>[3-5]</sup>; 其次, 传统工艺采用酸碱催化剂制备生物柴油存在产物难回收、环境污染严重等缺点。利用酶法制备生物柴油具有反应条件温和、特异性强、产品易分离、对环境无污染等优势<sup>[6]</sup>, 但利用酶法制备生物柴油, 往往要在有机溶剂反应介质中进行, 强极性的有机溶剂会夺取酶表面微环境中必需水, 严重影响酶反应活性, 降低酶使用寿命<sup>[7]</sup>。

离子液体是近年来新出现的一种可取代常规挥发性有机溶剂进行酶催化的新型绿色非水溶剂, 正受到广泛关注<sup>[8]</sup>。此外, 离子液体对纤维素(细胞壁的主要成分)具有较高的溶解性, 进而可使胞内油脂渗出, 提高油脂提取率<sup>[9]</sup>。因此, 若采用离子液体提取微藻油脂并在离子液体介质体系下脂肪酶转化制备生物柴油, 将油脂提取与酯交换反应 2 部分耦合成 1 个单元, 可避免油脂的提取过程, 对微

藻生物柴油制备具有一定意义<sup>[10]</sup>。

本研究将产油微藻油脂提取和微藻生物柴油制备 2 个步骤合二为一, 对微藻直接离子液体脂肪酶制备生物柴油可行性进行研究, 并考察离子液体、脂肪酶、甲醇与小球藻粉质量比、反应时间、温度等对生物柴油转化率的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

小球藻藻粉, 由中国科学院广州能源研究所佛山三水能源微藻培养示范基地提供。离子液体[BMIM][Cl]、[BMIM][BF<sub>4</sub>]、[BMIM][PF<sub>6</sub>]、[BMIM][OAc]、[BMIM][HCOO]、[BMIM][DCA], 均为化学纯, 上海成捷化学有限公司; 脂肪酶 Novozyme435, 丹麦诺维公司; 其他试剂均为市售分析纯。

NewClassic 电子天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; THZ-D 台式恒温振荡摇床, 河南巩义市予华仪器有限公司; RE-52 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; GC-2010 气相色谱仪, 日本岛津公司, 配备岛津 GC solution 色谱工作站, FID 检测器和 RTX WAX 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm, 最高使用温度为 330 °C)。

收稿日期: 2017-03-20

基金项目: 国家自然科学基金(21506217; 21576260); 中国科学院可再生能源重点实验室基金(Y707j91001)

通信作者: 吕鹏梅(1973—), 女, 博士、研究员, 主要从事生物质能源利用方面的研究。lvpm@ms.giec.ac.cn

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 微藻油脂的提取

将干燥的微藻除杂,取 1 g 干藻粉,加入 1 g 离子液体,8 g 甲醇,在 50 °C 恒温水浴摇床上进行油脂提取 16 h,反应完全后的物料冷却至室温,添加石油醚和水,静止分层,使有机相和水相分离;取上层石油醚相进行减压蒸馏得粗油脂<sup>[11]</sup>。

$$\text{提取率} = \frac{\text{实验所得总油脂含量}}{\text{藻粉质量} \times \text{微藻含油率}} \times 100\% \quad (1)$$

微藻含油率的测定采用 Bligh-Dyer 的快速油脂提取方法<sup>[12]</sup>,经测定本实验所用微藻的含油率为 11.07%。

### 1.2.2 生物柴油的制备

将干燥的微藻除杂,加入离子液体,然后依次加入甲醇、脂肪酶催化剂,在恒温水浴摇床上进行油脂提取及酯化反应;反应完全后的物料冷却至室温,过滤,滤液静置分层,上层溶液进行减压蒸馏得粗生物柴油,用气相色谱测定其中脂肪酸甲酯的含量,并计算生物柴油的转化率,下层为离子液体、甘油和过量甲醇的混合物,减压蒸馏,除去未反应的甲醇;再加入乙酸乙酯,磁力搅拌 10 min 后,取出静置冷却至室温,倾倒入上层溶有甘油的乙酸乙酯,再反复提取 3 次,得到黏稠离子液体,减压蒸馏除去离子液体中残留的乙酸乙酯溶剂,再经真空干燥后,直接套用到下次实验。

以小球藻总含油量为基准计算微藻粗生物柴油的产率为:

$$\text{产率} = \frac{\text{粗生物柴油含量}}{\text{藻粉质量} \times \text{微藻含油率}} \times 100\% \quad (2)$$

### 1.3 产物的分析

收集上清液装入试管中静置分层,用移液枪小心吸取上层酯类产物,利用旋转蒸发器干燥去除残余甲醇,产物用气相色谱进行定性定量分析,检测条件为:FFAP 毛细柱 30 m, He 载气,流速 1.0 mL/min; H<sub>2</sub> 流速 40 mL/min; 空气流速 30 mL/min; 进样口温度 280 °C; 检测器温度 300 °C; 程序升温, 起始温度 170 °C, 保持 1 min, 以 12 °C/min 升温至 250 °C, 停留 2 min; 分流进样, 分流比 1:20, 进样量 1 μL<sup>[13]</sup>。

以微藻总含油量为基准,计算制得的生物柴油的转化率为:

$$\text{转化率} = \frac{\text{气相测得甲酯含量}}{\text{粗生物柴油产率}} \times 100\% \quad (3)$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 离子液体选择

首先考察由 1-丁基-3-甲基咪唑阳离子和 Cl<sup>-</sup>、PF<sub>6</sub><sup>-</sup>、BF<sub>4</sub><sup>-</sup>、OAc<sup>-</sup>、HCOO<sup>-</sup>、DCA<sup>-</sup> 阴离子构成的离子液体 [BMIM][Cl]、[BMIM][BF<sub>4</sub>]、[BMIM][PF<sub>6</sub>]、[BMIM][OAc]、[BMIM][HCOO]、[BMIM][DCA] 对微藻直接转化制备生物柴油的影响。反应条件为: 1 g 微藻粉, 离子液体与藻粉质量比为 1:1, 甲醇与藻粉质量比为 8:1, 脂肪酶用量为藻粉质量的 12%, 反应温度为 50 °C, 反应时间为 16 h。结果如图 1 所示。

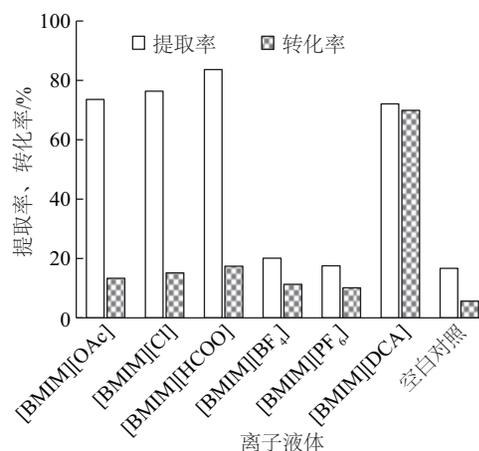


图 1 不同离子液体催化反应效果

Fig. 1 Catalytic reaction effects of different ionic liquid

从图 1 中可看出,无任何离子液体添加,微藻油脂的提取率和生物柴油的转化率分别为 16.66% 和 5.63%,加入离子液体后,在阳离子相同情况下,不同阴离子的离子液体催化效果相差较大。分析微藻油脂提取率可知:[BMIM][HCOO] 提取率最高,为 89.66%; [BMIM][PF<sub>6</sub>] 提取率最低,为 17.52%。阴离子对油脂提取率影响大小为 HCOO<sup>-</sup> > Cl<sup>-</sup> > OAc<sup>-</sup> > DCA<sup>-</sup> > BF<sub>4</sub><sup>-</sup> > PF<sub>6</sub><sup>-</sup>, 阴离子为 Cl<sup>-</sup>、OAc<sup>-</sup>、HCOO<sup>-</sup> 的离子液体的油脂提取率明显高于 BF<sub>4</sub><sup>-</sup>、PF<sub>6</sub><sup>-</sup>, 原因可能是较难溶解在传统有机溶剂中的微藻细胞,能溶解到阴离子为 Cl<sup>-</sup>、OAc<sup>-</sup>、HCOO<sup>-</sup> 的离子液体中,这与离子液体的溶解能力与阴离子的吸电子能力有较大关系,Cl<sup>-</sup>、OAc<sup>-</sup>、HCOO<sup>-</sup> 阴离子的电负性强,能与微藻细胞壁碳水化合物分子上的

羟基形成氢键,从而破坏微藻细胞壁碳水化合物分子间或分子内的氢键作用,并最终使其溶解,促进油脂的提取释放<sup>[14]</sup>。另外,油脂的提取率和离子液体的黏度有关,较低黏度的离子液体在溶解过程中使阴离子呈现出更强的氢键接受能力,更有利于其与微藻细胞壁碳水化合物分子中的活性羟基形成氢键进而达到溶解细胞壁的目的。而离子液体中含有阴离子  $\text{BF}_4^-$  或  $\text{PF}_6^-$  时,则不能溶解微藻细胞壁碳水化合物分子,可能是这 2 种阴离子与微藻细胞壁碳水化合物分子羟基质子形成氢键的能力低,或者这 2 种阴离子打开微藻细胞壁碳水化合物分子内部氢键,促进纤维素溶解的能力低<sup>[15]</sup>。

分析微藻生物柴油的转化情况可知:[BMIM][DCA]转化率最高,为 66.89%;[BMIM][PF<sub>6</sub>]转化率最低,为 10.11%。[BMIM][HCOO]、[BMIM][Cl]、[BMIM][OAc]虽然微藻油脂提取率较高,但微藻生物柴油的转化率较低,由文献<sup>[16,17]</sup>可知,离子液体在脂肪酶催化酯交换反应中作为溶剂,生物柴油收率随离子液体疏水性的增加而增大,随离子液体水溶性的增强而降低。这可能由于疏水性离子液体不能使脂肪酶催化活性位点失去水分而失活,并可维持其催化结构,保证催化单元的有效性。亲水性离子液体不具有这样的能力,限制其在酶促制备生物柴油反应中的应用,导致生物柴油收率较低。而[BMIM][DCA]对微藻具有较好的溶解性,且对酶活影响较小,故可被用于优化酶促合成反应。

## 2.2 离子液体用量影响

在甲醇与藻粉质量比为 8:1,脂肪酶用量为藻粉质量的 12%,反应温度 50 °C,反应时间 16 h,冷凝回流,考察离子液体[BMIM][DCA]用量(相对藻粉质量)对催化效果的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可看出,随着离子液体用量的增多,离子液体的提取作用及溶剂介质效应使微藻提取率和生物柴油转化率增加呈现先剧烈增加后平缓的趋势。当离子液体的用量由 50%增加到 90%时,细胞壁中的纤维素类化合物与离子液体间的相互作用增强,微藻油脂提取率和油脂转化率的增幅较大;离子液体的用量为 100%时,微藻油脂提取率和油脂转化率分别达到 83%和 69%,再增加离子液体的用量,微藻油脂提取率和油脂转化率趋于平缓。

继续加大离子液体的量则不利于生物柴油的生成,当离子液体的量为 200%时,微藻油脂提取率和油脂转化率分别下降到 68%和 40%。其原因可能与溶液粘度有关;离子液体浓度进一步增加,溶液粘度也会继续增大,扩散能力减弱,离子液体渗透到细胞壁组织的能力和油脂溶出的能力都降低;另外,过多的离子液体稀释反应物的浓度,降低反应速率,也不利于反应平衡向正反应进行。考虑生产成本等因素,离子液体质量分数为 100%~120%时为最佳。

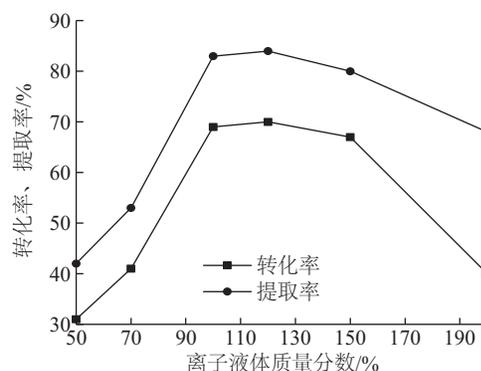


图2 离子液体质量比对催化反应的影响

Fig. 2 Catalytic reaction effects of ionic liquid amount

## 2.3 反应温度的影响

在甲醇与藻粉质量比为 8:1,离子液体与藻粉质量比为 1:1,脂肪酶用量为藻粉质量的 12%,反应时间为 16 h,冷凝回流,考察反应温度对催化效果的影响,结果如图 3 所示。

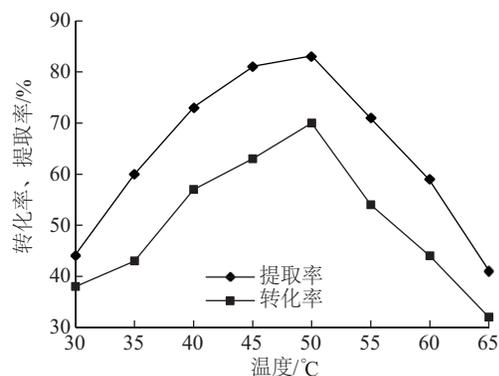


图3 反应温度对催化反应的影响

Fig. 3 Catalytic reaction effects of temperature

由图 3 可看出,温度对离子液体提取微藻油脂、脂肪酶催化剂的催化活性具有较大影响,随着温度的升高,微藻油脂提取率、生物柴油转化率逐

渐增大;30 ℃时,微藻油脂提取率和油脂转化率分别为 44%和 38%,反应温度达到 50 ℃时,微藻油脂提取率和油脂转化率分别达到 83.0%和 69.2%。超过 50 ℃后,反应温度继续升高,生物柴油得率会减小,这是由于较高的反应温度可提高溶剂的运动频率和速度,加速溶剂渗透到细胞壁组织细胞中,有利于油脂的溶出;同时,底物与脂肪酶在较高温度下的运动速度也会加快,从而增加它们之间的接触机会,使脂肪酶转化效率得到提高。但当温度高于 50 ℃时,这些效应及其协同作用的贡献不大,对油脂提取率和微藻粗生物柴油转化率贡献不明显,主要是因为温度升高改变酶的活性构象,酶活性下降,酶反应速度反而减小,综合考虑反应速度、酶操作稳定性及能耗,结合本实验结果,在 50 ℃可取得较好的酯化效果。

#### 2.4 反应时间的影响

在甲醇与藻粉质量比为 8:1,离子液体与藻粉质量比为 1:1,脂肪酶用量为藻粉质量的 12%,反应温度 50 ℃冷凝回流,考察反应时间对催化效果的影响,实验结果如图 4 所示。

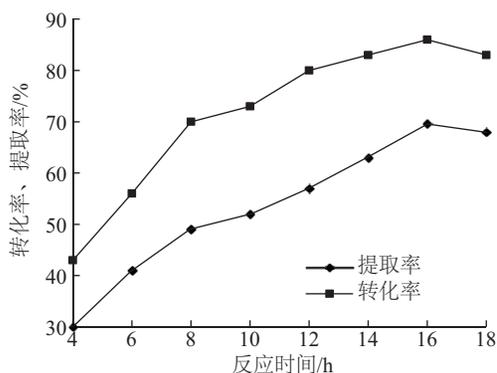


图4 反应时间对催化反应的影响

Fig. 4 Catalytic reaction effects of time

由图 4 可看出,在反应开始时,由于反应底物浓度较大,反应快速进行,酯转化率增长速率较快,反应时间达到 16 h,酯化率可达 69.5%,继续增加反应时间,转化率增长速度较为缓慢,酯转化率变化不大,到反应 18 h,微藻油脂提取率和转化率呈下降趋势。这可能是因为提取时间过长,导致植物基质中的其他成分也溶出增加,引起溶液黏度增加,降低目标物的溶出;进而引起转化率降低。考虑到实际工艺需要,反应时间定为 16 h。

#### 2.5 藻粉与甲醇质量比的影响

考察藻粉与甲醇质量比对收率的影响,实验条件为:1 g 微藻粉,离子液体用量与藻粉质量比为 1:1,脂肪酶用量为藻粉质量的 12%,反应温度为 50 ℃,反应时间为 16 h。实验结果如图 5 所示。

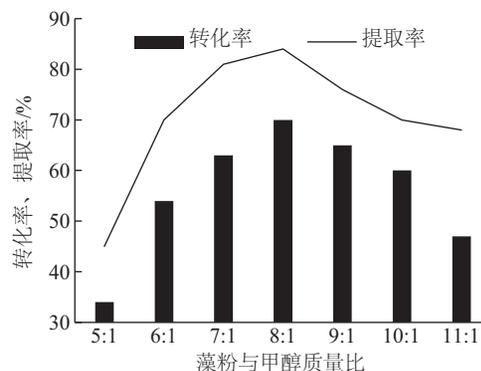


图5 藻粉与甲醇质量比对催化反应的影响

Fig. 5 Catalytic reaction effects of methanol amount

对油脂的酯化反应,醇油物质的量比理论计量为 3:1,但在实际反应中,为了更有效促进油脂的转化,通常会提高醇油物质的量比,增加甲醇用量,有利于反应向正反应方向进行,而且离子液体在甲醇中的溶解性较好,适量增大甲醇含量,促进离子液体在反应体系中的分散。另外,过量甲醇能使微藻细胞蛋白缓慢脱水、变性、沉淀,能在细胞表面蛋白未完全变性前,逐渐不断地向细胞内部渗入,因而增强微藻细胞渗透性,有利于油脂的渗出。从图 5 可见,甲醇和微藻粉质量比在(5:1)~(8:1)时,随着质量比的增加,微藻油脂提取率和转化率呈增大趋势。质量比增加到 11:1 时,由于甲醇的稀释作用,离子液体的浓度下降,进而离子液体的提取作用和介质效应减小,导致微藻油脂提取率降低,而且过量的甲醇对脂肪酶的抑制作用较明显,造成脂肪酶的不可逆失活,导致酯转化率的降低。在本实验中,考虑甲醇后续的回收负荷、能耗及经济成本的因素,选择以醇油的质量比 8:1 为宜。

#### 2.6 酶添加量对甲酯得率的影响

在甲醇与藻粉质量比 8:1,离子液体与藻粉质量比 1:1,反应时间 16 h,反应温度 50 ℃冷凝回流,考察脂肪酶用量对催化效果的影响,实验结果如图 6 所示。

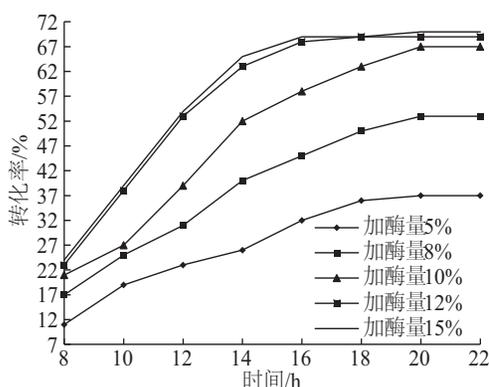


图6 酶添加量对催化反应的影响

Fig. 6 Catalytic reaction effects of lipase amount

脂肪酶的量直接影响酯交换反应的速率及最终的转化率,从图6中可看出,酶用量从5%增加到10%时,最终的酯转化率有明显增大,而且反应达到平衡的时间也由原来的20 h缩短至约16 h,脂肪酶用量从12%提高到15%,转化率增大不明显,但增加脂肪酶的用量无疑会大大增加生产成本。综合考虑,脂肪酶用量选为12%适宜。

### 3 结论

1)直接以微藻粉为原料,脂肪酶作为催化剂,利用离子液体的破壁提取油脂效应和脂肪酶催化反应介质保护作用,能同时实现微藻油脂的提取与微藻油脂的酯化或转酯化工艺制备生物柴油。

2)利用离子液体对微藻细胞壁较好的溶解性,提高油脂的释放,同时避免传统方法中有机溶剂对脂肪酶催化剂的毒害作用,提高脂肪酶的热稳定性及其对底物的立体选择性、延长脂肪酶催化剂的稳定性。

3)以离子液体[BMIM][DCA]为提取剂及介质,脂肪酶为催化剂催化微藻粉直接合成生物柴油,实验结果表明,甲醇与藻粉质量比为8:1,离子液体[BMIM][DCA]与藻粉质量比为1:1,脂肪酶用量为藻粉质量的12%,反应温度为50℃,酯交换反应时间为16 h条件下,生物柴油的转化率可达69.6%。

本工艺制备生物柴油无需从含油原料中提取油脂,可降低过程成本,缩短工艺,实现含油原料到生物柴油的一步转化。经实验验证,该方法实用可靠。

### [参考文献]

- [1] Bhaskar Singh, Abhishek Guldhe, Ismail Rawat, et al. Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2014, 29 (7) : 216—245.
- [2] Wang Jinghan, Yang Haizhen, Wang Feng, et al. Mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production: Status and prospects[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 172 (7) : 3307—3329.
- [3] Wang Songmei, Zhu Johnny, Dai Lingmei, et al. A novel process on lipid extraction from microalgae for biodiesel production [J]. *Energy*, 2016, 115: 963—968.
- [4] Wu Jingcheng, MdAsrafal Alam, Pan Ying, et al. Enhanced extraction of lipids from microalgae with eco-friendly mixture of methanol and ethyl acetate for biodiesel production[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2016, 71: 323—329.
- [5] Veillette M, Giroirfendler A, Fauchaux N, et al. Biodiesel production and unsaponified lipids extraction from microalgae: An experimental study [J]. *Current Biotechnology*, 2015, 4(4): 514—522.
- [6] Cheeloong T, Jamaluddin H, Nur Azimah M Z, et al. Biodiesel production via lipase catalyzed transesterification of microalgae lipids from *Tetraselmis* sp.[J]. *Renewable Energy*, 2014, 68(3): 1—5.
- [7] Lai Jingqi, Hu Zhangli, Wang Pengwei, et al. Enzymatic production of microalgal biodiesel in ionic liquid [BMIM][PF<sub>6</sub>][J]. *Fuel*, 2012, 95 (1) : 329—333.
- [8] Zhao Hua, Song Zhiyan, Olarongbe Olubajo, et al. New ether-functionalized ionic liquids for lipase-catalyzed synthesis of biodiesel[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology, Part A. Enzyme Engineering and Biotechnology*, 2010, 162(1): 13—23.
- [9] Kim Y-H, Choi Y-K, Park J, et al. Ionic liquid-mediated extraction of lipids from algal biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 109(1): 312—315.
- [10] Zhao Hua, Baker G A. Ionic liquids and deep eutectic solvents for biodiesel synthesis: A review[J]. *Journal of Chemical Technology& Biotechnology*, 2013, 88 (1): 3—12.
- [11] Choi Sun-A, Oh You-Kwan, Jeong Min-Ji, et al. Effects

- of ionic liquid mixtures on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*[J]. *Renewable Energy*, 2014, 65: 169—174.
- [12] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method for total lipid extraction and purification[J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37: 911—917.
- [13] 梅 帅, 赵凤敏, 曹有福, 等. 三种小球藻生物柴油品质指标评价[J]. *农业工程学报*, 2013, (15): 229—235.
- [13] Mei Shuai, Zhao Fengmin, Cao Youfu, et al. Evaluation of quality items for biodiesel made from three kinds of *Chlorella vulgaris*[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, (15): 229—235.
- [14] Pan J, Muppaneni T, Sun Y, et al. Microwave-assisted extraction of lipids from microalgae using an ionic liquid solvent [BMIM][HSO<sub>4</sub>][J]. *Fuel*, 2016, 178: 49—55.
- [15] Gregory Young, Franz Nippen, Sebastian Titterbrandt, et al. Direct transesterification of biomass using an ionic liquid co-solvent system[J]. *Biofuels*, 2011, 2(3): 261—266.
- [16] 秦 杰, 邹孝强, 金青哲, 等. 离子液体体系对脂肪酶性质和结构的影响研究进展[J]. *中国油脂*, 2017, (1): 26—30.
- [16] Qin Jie, Zou Xiaoqiang, Jin Qingzhe, et al. Advance in influence of ionic liquids system on properties and structure of lipase[J]. *China Oils and Fats*, 2017, (1): 26—30.
- [17] 吕松泰, 邹孝强, 钱海峰, 等. 离子液体中脂肪酶催化酯类合成研究进展[J]. *中国油脂*, 2016, (10): 39—43.
- [17] Lyu Songtai, Zou Xiaoqiang, Qian Haifeng, et al. Advance in lipase-catalyzed synthesis of ester in ionic liquids[J]. *China Oils and Fats*, 2016, (10): 39—43.

## PREPARATION OF BIODIESEL FROM MICROALGAE BY DIRECT TRANSESTERIFICATION UNDER IONIC LIQUID LIPASE CONDITIONS

Miao Changlin<sup>1</sup>, Fan Pei<sup>1,2</sup>, Lyu Pengmei<sup>1</sup>, Wang Zhongming<sup>1</sup>, Zhuang Xinshu<sup>1</sup>, Yuan Zhenhong<sup>1</sup>

(1. *Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Renewable Energy, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China*; 2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

**Abstract:** Biodiesel from *Chlorella* was prepared via in-situ transesterification method using Ionic liquids as extraction agent and reaction medium, lipase as catalyst. The effects of mass ratio of methanol to microalgae powder, reaction temperature, reaction time and lipase ionic liquid dosage on the transesterification were investigated. Under the conditions of mass ratio of methanol to microalgae powder at 8:1, mass ratio of ionic liquid to microalgae powder at 1:1, mass fraction of lipase 12%, reaction temperature 50 °C and reaction time 16 h, the yield of fatty acid methyl ester reached 69.6%. Preparation of biodiesel from microalgae by direct transesterification under ionic liquid lipase conditions do not need to extract oil from microalgae powder, thus reducing the process cost, shorten the process, which can realize oil micro algae directly esterification into biodiesel.

**Keywords:** ionic liquids; biodiesel; lipase; transesterification; microalgae