

超低温微体化处理白桦木质纤维素糖化工艺研究*

王振宇^{1,2} 焦 岩¹

1(东北林业大学 林学院, 哈尔滨, 150040) 2(哈尔滨工业大学 食品科学研究院, 哈尔滨, 150001)

摘 要 采用超低温冷冻结合超微粉碎的方法对白桦木质纤维素进行预处理,并用纤维素酶对由预处理获得的超微粉体进行酶解,以提高其糖转化率,得到白桦木质纤维素最佳糖化条件:温度 45℃, pH 值 4.8,酶用量 20 IU/g,糖化率为 31.78%,还原糖产量为 243.67 mg/g(底物)。较未经过预处理的白桦木质纤维素糖转化率提高了 28.68%。

关键词 白桦木质纤维素,超低温处理,超微粉体,糖化

地球上每年合成和降解的纤维素达 10^{15} kg^[1],这其中包括占很大一部分的林业加工废弃物,例如木屑,木渣,树皮等,将林业废弃物转化为燃料乙醇是一种解决能源问题的有效途径^[2]。

木质纤维素中的有机成分以纤维素、半纤维素为主^[3],可通过酸或酶的水解催化作用转化成葡萄糖酶法水解由于具有设备简单、反应条件温和、原料糖化得率高、副产物少以及不污染环境等优点,得到了更为普遍的认可,是纤维素糖化工艺今后发展的必然方向^[4]。未处理的木质纤维素由于其纤维素中 β -(1,4)糖苷键连接的致密晶体结构和木质素、半纤维素结合作用,使得木质纤维素有较少可被酶利用的活性位点,因此利用纤维素酶直接作用木质纤维素不能直接获得可溶性糖,直接影响乙醇发酵过程^[5]。因此,研究中大都采用了大量的预处理方法来破坏纤维素自身的晶体结构,以有利于酶解糖化反应。国内外对木材纤维素的酶解糖化研究较多,但是还没有找到一种较理想的预处理工艺,预处理后糖化率还较低,特别是对于木材纤维素,还没有取得突破性的进展^[6]。

超低温微粉技术是当今国内外高新技术之一,就是把难以粉碎的物质冷冻到脆化点以下,再通过超微粉碎技术粉碎成比常规粉粒体流动性更好、颗粒度更微细、保持原有物理特性的物料。实验中采用超低温冷冻结合超微粉碎的方法对白桦木质纤维素预处理,并用纤维素酶对由预处理获得的超微粉体进行酶解糖化。超低温粉碎技术用于木材纤维素糖化工艺至今还未见报道。此工艺为木材纤维素糖化提供了一

种新的有效途径,较当前的木质纤维素糖化工艺方法简单易行,降低了生产成本,清洁无污染,酶解糖化率有所提高。文中主要对白桦木质纤维素进行超低温冷冻、超微粉碎以及酶解处理的工艺条件与糖转化率的关系进行了研究,为以后更深入地研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与化学品

白桦木质纤维素粉体由东北林业大学木材加工厂提供,应用 Van Soest 法^[7]对其化学组成进行分析,结果如表 1 所示。

表 1 白桦木质化学组成 %

水分	半纤维素	纤维素	木质素	灰分	可溶物
4.16	25.1	44.7	16.6	5.65	3.83

纤维素酶购于上海国药集团,酶活力 $\geq 10\ 000\text{U/g}$ 。

1.2 实验设备

球磨机(ND6-2)型,南大天尊设备有限公司生产。电热恒温水浴锅(W201B 型),上海申胜生物技术有限公司生产。分光光度计(722 型),上海第三分析仪器厂生产。

1.3 实验方法

1.3.1 纤维素酶液的配制

准确称取纤维素酶制剂 500 mg 于 100 mL 小烧杯中,用少量蒸馏水溶解后,移入 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容至 100 mL,此酶液的浓度为 5 mg/mL,4℃ 冰箱中保存备用。

1.3.2 酶解液中还原糖含量测定

采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[8]。

1.3.3 白桦木质纤维素粉体酶解率计算

$$\text{糖化率}/\% = \frac{\text{还原糖量} \times 0.9}{\text{样品中总纤维总量}} \times 100$$

第一作者:博士,教授。

* 黑龙江省“科技攻关计划”项目(No. GB05B601-03)

收稿日期:2006-07-06, 改回日期:2006-09-05

1.4 微体化预处理

取 10 g 烘干的白桦木质纤维素粉体,装入球磨机磨罐中,加入玛瑙球后调节球磨机转速为 200 r/min,处理 1~10h,用振动筛筛分至 60~300 目,用作白桦木质纤维素粉体酶解糖化底物。

1.5 超低温微体化预处理

取 10 g 烘干的白桦木质纤维素粉体,用涤纶布打包放入液氮罐中快速冷冻 10 min 后迅速取出放入球磨机磨罐中,加入玛瑙球后调节球磨机转速为 200 r/min 研磨 1 h,如此冻磨处理,冻磨次数为 1~10 次,时间为 10 h。

1.6 白桦木质纤维素粉体糖化

准确称取预处理后的桦木 1.0 g 于三角瓶中,向三角瓶中加入 pH 为 4.8 的酶液 30 mL,然后加入 pH 为 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 20 mL。将三角瓶放入恒温水浴锅中,在 45℃ 下酶解 72 h,每隔一定时间取样测定还原糖量。文中分别研究了以不同预处理方法的物料为底物的酶解糖化率。

2 结果与讨论

2.1 不同预处理方式对白桦木质纤维素粉体糖化率的影响

考察了不同预处理方式对白桦木质纤维素粉体酶解糖化率的影响,并与未处理的白桦木质纤维素粉体酶解糖化过程进行比较。结果如图 1 所示。结果表明,在本实验条件下,超低温微体化预处理最有利于白桦木质纤维素粉体糖化过程。在后来的实验中,对采用超低温微体化预处理的白桦木质纤维素粉体糖化工艺条件进行研究。

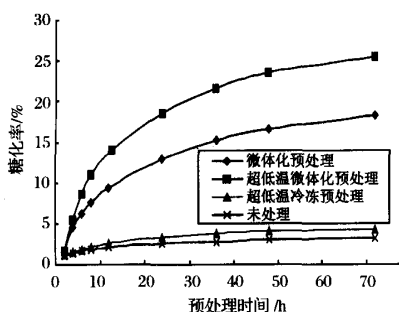


图 1 不同预处理方式对白桦木质纤维素糖化率的影响

2.2 超低温微体化预处理对白桦木质纤维素酶降解率影响的比较

2.2.1 不同处理时间对白桦木质纤维素糖转化率的

影响

取一定量的经过不同时间内微体化处理和超低温微体化预处理的原料于三角瓶中,向三角瓶中加入 pH 为 4.8 的酶液量 20IU/mg,然后加入 pH 为 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。将三角瓶放入恒温水浴锅中,在 45℃ 下酶解 72 h,研究了 2 种不同预处理方法在不同时间内对糖化率的影响,结果如图 2 所示,超低温微体化预处理在不同时间内酶解糖化率明显高于未经过超低温处理的白桦木质纤维素的糖化率。

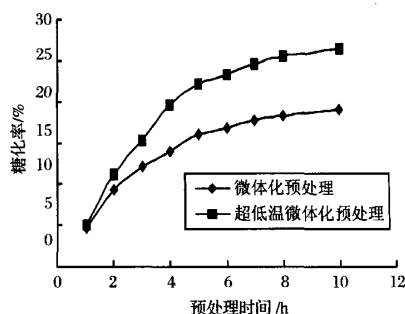


图 2 不同预处理时间对白桦木质纤维素糖化率的影响

2.2.2 颗粒度对白桦木质纤维素粉体糖化率的影响

经过微体化处理和超低温微体化预处理 8h 后的白桦木质纤维素,经振动筛(60~300 目)筛分处理,分别得到颗粒度为 54~250 μm 的粉体物料,各取一定量的物料在温度为 45℃,pH 为 4.8 条件下酶降解糖化 72 h,研究了 2 种不同预处理方法在不同时间内对糖化率的影响,结果如图 3 所示。超低温微体化预处理在不同颗粒度酶降解效率明显高于未经过超低温处理的白桦木质纤维素糖化率。

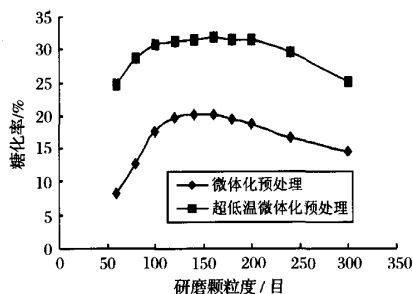


图 3 不同颗粒度对桦木纤维素糖化率的影响

2.3 白桦木质纤维素粉体糖化工艺优化

通过对超低温微体化处理的白桦木质纤维素粉体酶解糖化单因素实验,在确定底物浓度 2%,酶反

应时间为 72h 的情况下。以糖化率为评价指标,对白桦木质纤维素粉体糖化影响较大的 3 种因素即 pH 值、温度和酶用量,采用正交试验优选。结果见表 2、表 3 和表 4。

表 2 因素水平表

水平	因素		
	pH 值(A)	温度(B)/℃	酶用量(C) /IU·mg ⁻¹
1	4.5	45	15
2	4.8	50	20
3	5.2	55	25

表 3 优化白桦木质纤维素粉体糖化

工艺条件正交实验结果

序号	pH 值	温度/℃	酶用量 /IU·mg ⁻¹	得率/%
1	4.5	45	15	13.91
2	4.5	50	20	18.25
3	4.5	55	25	13.06
4	4.8	45	20	31.78
5	4.8	50	25	29.19
6	4.8	55	15	17.81
7	5.2	45	25	26.96
8	5.2	50	15	21.36
9	5.2	55	20	21.88
K ₁	45.22	72.65	53.08	
K ₂	78.78	68.80	71.91	
K ₃	70.20	52.75	69.21	
R ₁	15.07	24.22	17.69	
R ₂	26.26	22.93	23.97	
R ₃	23.40	17.58	23.07	
S	11.19	6.64	6.28	

根据极差 R 的值可以看出,可以看出表 1 中条件 4 酶解糖化率最高,糖化率为 31.78%。最佳糖化的工艺条为: pH 值 4.8, 温度 45℃, 酶用量 20IU/mg。按照极差 R 大小排列因子的主次顺序为 pH 值 > 温度 > 酶用量。

表 4 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度 F	均方 S	F	显著程度
A	202.663	2	101.332	119.214	<0.01
B	74.281	2	37.141	43.695	<0.05
C	69.125	2	34.563	40.662	<0.05
误差效应	1.700	2	0.850		

通过方差分析的结果,可知各因素的均方大小与极差大小顺序一致,故影响因素的主次顺序为 pH 值 > 温度 > 酶用量。用 F 值检验,表明, A、B、C 因素影响均具有显著性。因此白桦木质纤维素最佳糖化条件是: pH 值 4.8, 温度 45℃, 酶用量 20IU/mg。在此条件下试验,还原糖量高达 243.67 mg/g(底物)。

3 结 论

在本试验条件下,未经预处理的白桦木质纤维素粉体酶降解还原糖产量仅为 23.8 mg/g(底物),糖化率为 3.29%;超低温冷冻预处理后,酶解还原糖产量为 32.67mg/g(底物),糖化率为 4.26%;微体化预处理白桦木质纤维素粉体酶降解还原糖产量为 155.44 mg/g(底物),糖化率为 20.28%;超低温微体化预处理酶降解还原糖产量为 243.67 mg/g(底物),较未经过预处理的白桦木质纤维素糖转化率提高了 28.68%。

超低温微体化预处理底物酶解效率随处理时间的增加其糖化率提高,但处理时间超过 10 h,则糖化率增加缓慢;预处理底物颗粒度大小对糖化率有较大影响,随着颗粒度的减小而糖化率提高,但颗粒度超过 160 目时糖化率反而降低,这可能是随着粉碎处理次数的增加,木质纤维素中的多糖部分被糊化,不能被纤维素酶有效利用;另一个原因是由于颗粒度减小到一定程度增加了酶反应的空间位阻,使酶解效率降低。

在相同的预处理时间和颗粒度条件下,超低温微体化预处理底物酶解效率明显高于普通微体化预处理,还原糖产量为 243.67mg/g,糖化率可达 31.78%。这可能是由于液氮冷冻后,增加了底物的机械强度,使桦木纤维的晶体结构及纤维素、半纤维素和木质素之间联结的化学键在预处理过程中比较容易遭到破坏,增加了与酶反应的结合位点,酶解得糖率提高。超低温微体化预处理是一种比较有效的预处理方法,在本实验条件下,最佳酶降解条件为 pH 值 4.8, 温度 45℃, 酶用量 20 IU/mg, 产生还原糖量为 243.67 mg/g(底物),酶降解糖化率可达 31.78%。

参 考 文 献

- 1 Anne Belinda Bjerre, Anne Bjerring Olesen, Tomas Fernqvist, et al. Pretreatment of Wheat Straw Using Combined Wet Oxidation and Alkaline Hydrolysis Resulting in Convertible Cellulose and Hemicellulose[J]. Biotechnology And Bioengineering, 1996, 49(5): 569~577
- 2 Harumi Take, Yoshifumi Andou, Yoshitoshi Nakamura, et al. Production of methane gas from Japanese cedar chips pretreated by various delignification methods[J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 28: 30~35
- 3 Nick Nagie. A process Economic Approach to Develop a Dilute - Acid Cellulose Hydrolysis process to produce ethanol from Biomass[J]. Appl Biochem Biotechnol, 1999, 77~79: 599~607
- 4 李盛贤,贾树彪,顾立文. 利用纤维素原料生产燃料酒精

- 的研究进展[J].酿酒,2005,32(2):13~16
- 5 罗 鹏,刘 志.用木质纤维原料生产乙醇的预处理工艺[J].酿酒科技,2005(8):42~47
- 6 张 鑫,刘 岩.木质纤维素原料预处理技术的研究进展[J].纤维素科学与技术,2005,13(2):54~58
- 7 冯继华,曾静芬,陈茂椿.应用 Van Soest 法和常规法测定纤维素及木质素的比较[J].西南民族学学报(自然科学版),1994,20(1):55~56
- 8 龙 翔,张庭芳,李令媛.生化实验方法和技术[M].高等教育出版社,1981.9

Study on Ultra - low Temperature and Superfine Grinding Pretreatment of Birch powder in Saccharification Process

Wang Zhenyu^{1,2} Jiao Yan¹

1(Forestry College, Northeast Forestry University, HarBin 150040 China)

2(Food Science Academy, HarBin Institute of Technology, HarBin 150001, China)

ABSTRACT This paper studied birch powder pretreated by combining ultra - low temperature freezing with superfine grinding treatment together. The pretreated lignocellulose powder was hydrolyzed by cellulase to yield the highest level of cellulose hydrolysis sugar. The optimal saccharification conditions were: temperature 45℃, pH value 4.8 and enzyme dosage 20IU/g substrate. The saccharification yield was 31.78 percent which increased by 28.68% over the raw birch powder. Reducing sugar yield is 243.67mg/g substrate.

Key words birch lignocellulose, ultra - low temperature pretreatment, superfine powder, saccharification

信
息
窗

杜邦包装用塑料部推出全新添加剂产品

杜邦包装用塑料部推出了全新产品杜邦™Biomax·Strong 添加剂,这种材料可以改善生物基质与可生物降解聚乳酸(PLA)包装的性能,从而使包装用塑料达到环保要求。

聚乳酸被视为取代石化衍生产品的可持续代品,它是通过发酵程序从农产品中提取并合成出来的。既是生物基质又可以生物降解的聚乳酸,在包装业的特定应用中广受欢迎,其中的原因是因为聚乳酸具有显著的优势,能够满足客户对于环保包装材料的需求。作为一种可持续替代品,聚乳酸的另外一个优势是它可以在工业设备中进行材料降解。不过,尽管聚乳酸拥有很强的优势和吸引力,与石化衍生塑料相比,用聚乳酸制成的包装和工业产品,仍存在性能上的缺陷,这包括材质的易碎性和耐用性。

利用公司在聚合物改性领域的专长,杜邦开发出 Biomax·Strong 石化添加剂,这种产品可以增加聚乳酸的韧度,又能改善其易碎性。Biomax·Strong 提升了聚乳酸的抗冲击性、柔软性和熔体稳定性,大大改善该聚合物的性能,尤其是用于要求严格的应用上,比如使用于热成型的铸塑板及注塑成型。

相对其他增韧剂来说,清澈的透明度使杜邦在这方面占有强大的竞争力。在建议用量的范围内(1%~5%),Biomax·Strong 有着良好的接触透明度,而且比其他替代品提供更透彻的容器。除了增强聚乳酸的性能外,在建议的使用量上,Biomax·Strong 还可以满足降解的需要,这是环保包装材料的一个重要特性。

越来越多的消费者希望获得更安全、新鲜以及更方便食用的食物。而食品与饮料业的领导者,则需要更富创意的包装技术,以便履行保鲜的承诺。通过研究与技术创新,杜邦不断寻求新的方法,确保包装食品既新鲜、纯净又美味可口。

杜邦开发的强度高、透明度好和具有防漏功能的杜邦™Surlyn(r),杜邦开发的在宽广温度范围的条件下表现出卓良好着性的杜邦™Bynel,杜邦开发的易剥离和密封包装的杜邦™Appeel 等多种全面的高性能聚合物与添加剂,来满足全球各类包装的需求。

政
策
法
规
标
准

北京《豆芽安全卫生要求》强制标准出台

北京市质量技术监督局已正式出台了北京市地方性强制标准《豆芽安全卫生要求》,这一标准的出台将为“超标”豆芽退出北京市场提供强有力的保证。

据统计,北京市场对豆芽的需求量每天高达200t以上。然而,一些不法加工企业和商贩在“发”豆芽时,违规使用某些农药、植物生长激素和“保险粉”。《豆芽安全卫生要求》规定了重金属、农药、植物激素等15种有害物质的限量指标,还规定了相关的标识、包装、运输、贮存等方面的要求。