

膜生物反应器在汽爆稻草秸秆酶解中应用研究

杨森, 丁文勇, 陈洪章*

(中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080)

摘要: 以汽爆稻草秸秆为原料, 通过将几个酶解罐串联来提高最终还原糖浓度. 考察了酶浓度、酶解单元组成以及稀释率对汽爆稻草秸秆酶解的影响. 结果表明, 最佳条件为: 20 FPU/g, 酶解单元由 4 个酶解罐组成, 稀释率为 0.075/h. 在此条件下, 酶解时间为 24h 时, 与传统批次酶解相比, 汽爆稻草秸秆总转化率从 18% ~ 21% 提高到 39.5%. 与只有 1 个酶解罐的膜反应器相比, 每 g 底物还原糖产量从 0.25g 提高到 0.4g, 最终所得还原糖的平均浓度从 4.56g/L 提高到 27.23g/L.

关键词: 膜生物反应器; 酶解; 纤维素酶; 稻草秸秆; 汽爆

中图分类号: X705, Q814 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)05-0161-03

Enzymatic Hydrolysis of Steam Exploded Rice Straw in Membrane Bioreactor

YANG Sen, DING Wen-yong, CHEN Hong-zhang

(State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: An ultrafiltration membrane bioreactor consisted of 1 ~ 6 enzymatic vessel was used to increase the reducing sugar concentration. The effects of enzyme loading, the number of enzymatic vessel and the dilution rate on enzymatic hydrolysis of steam-exploded rice straw were studied. The results show that the best condition is: 20 FPU/g, four enzymatic vessels and 0.075/h (D). Compared with traditional batch reaction, the conversion of substrate increased significantly from 18% ~ 21% to 39.5%. Compared with the ultrafiltration membrane bioreactor consisted of one enzymatic vessel, the production of reducing sugar increased from 0.25g/g to 0.4g/g, and the final reducing sugar concentration in the product stream increased from 4.56g/L to 27.23g/L.

Key words: membrane bioreactor; enzymatic hydrolysis; cellulase; rice straw; steam explosion

目前我国秸秆资源产量高达 7.9×10^8 t, 并每年以 1.3×10^7 t 的速度增长^[1]. 这些植物纤维资源中的纤维素、半纤维素的含量约 40% ~ 60%. 通过适当的水解技术可以将其中纤维素和半纤维素转化为单糖, 并可进一步发酵成酒精或其它高附加值产品. 近几十年中, 由于酶解反应条件温和、设备简单、能耗低、污染小等原因受到了广泛的关注. 但纤维素酶解的进一步发展受到了水解速度慢、产率低以及成本高等因素的限制. 其中纤维素酶的成本大约相当于糖化总成本的 60% ~ 80%, 为了降低纤维素的酶解成本, 众多研究者对纤维素酶的回收和再利用进行了研究. 如采用丹宁吸附法, 新鲜底物吸附, 膜回收等方法^[2,3].

用膜生物反应器系统来水解纤维素类物质并回收和再利用纤维素酶是一个较完善的途径^[4~7], 利用适当分子量超滤膜来截留纤维素酶和未水解的纤维素物质, 而水解产物则可以透过膜, 从而可以达到消除产物抑制, 提高水解产率和再利用纤维素酶以降低生产成本的目的. Ohlson 等^[8]利用膜生物反应器进行纤维素的酶解实验, 发现与传统的批次反应相比, 酶解速率提高了 4 倍. 但纤维素酶解的最终目

的是利用酶解所产生的还原糖, 因此最终还原糖浓度的高低直接决定了后续工艺的难易程度. 用传统的膜生物反应器进行纤维素酶解的一个缺点就是得到的还原糖浓度比较低, 不利于后续工艺的进行. 本文以汽爆稻草秸秆为原材料, 就如何通过最大限度的提高膜生物反应器底物浓度来提高最终还原糖浓度进行了研究.

1 材料和方法

1.1 底物和酶

底物为汽爆稻草秸秆, 预处理为在容积 1 L 的蒸汽爆破装置中加入切成 3 ~ 4 cm 长的稻草秸秆, 迅速升温至一定温度和压力, 保温一段时间后瞬间喷放. 预处理条件: 压力 1.5 MPa; 保温时间: 10 min. 纤维素酶由宁夏夏胜有限公司提供; 滤纸酶活 (FPA) 为 110 FPU/mL, 1 FPU 为 1 IU 的滤纸酶活.

1.2 膜生物反应器

收稿日期: 2004-11-10; 修订日期: 2005-01-13

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2004CB719700); 中国科学院知识创新工程方向性项目 (KJ CX2-SW-206); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2003 AA514023)

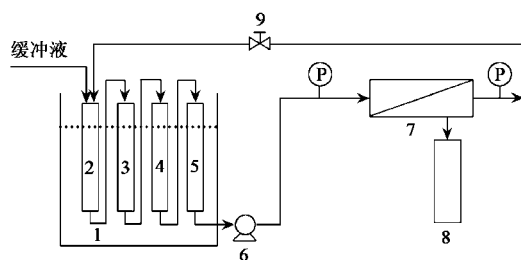
作者简介: 杨森 (1974 ~), 女, 博士后, 研究方向为生物化工.

* 通讯联系人

膜生物反应器由 2 个单元组成,分别为酶解区和中空纤维超滤膜分离区.酶解区是由 1~6 个酶解罐组成,每个酶解罐长 15 cm,直径 5 cm,底部有 1 个出水口,酶解罐间通过乳胶管连接起来(图 1).中空纤维超滤膜组件是本研究室自制的,膜材料为聚砜膜,截留分子量为 10 000,膜面积为 0.003 4 m².新鲜的缓冲液通过加料泵加入到酶解区.在酶解过程中可将系统分为流动相和固定相 2 部分,固定相是放在酶解罐里的酶解底物和吸附在底物上的纤维素酶;流动相就是在整个膜生物反应器里不停流动的缓冲液.缓冲液从一个酶解罐的上部喷洒下来,穿过底物从酶解罐的底部流出然后进入另一个酶解罐,直至进入膜组件,最后和新加入的缓冲液同时回到酶解区,再次进行循环,新鲜缓冲液的加入量与分离出的酶解液的体积相当.通过对底物不停的淋洗,将酶解产生的还原糖溶解下来并利用膜组件进行产物的在线分离,达到去除产物抑制的目的.

1.3 酶解

在每个酶解罐里投入 10 g 底物,加入适当的酶液和 50 mL 的 HAc-NaAc (pH = 4.8) 缓冲液,这是底物对缓冲液吸附的最大值.整个系统置于 50 ℃ 恒温下,静止,不加搅拌或振荡,并由 HAc-NaAc 缓冲液控制 pH = 4.8.水解 0.5 h 后,开启蠕动泵.酶解液的通量可以通过调节膜组件两侧的压力来实现,一般为 0~0.3 MPa.还原糖浓度的测定采用 DNS 法^[9].



1. 恒温水浴锅, 2, 3, 4, 5. 酶解罐, 6. 蠕动泵, 7. 膜组件, 8. 糖液储罐, 9. 压力控制阀
图 1 4 个酶解罐组成的膜生物反应器

Fig. 1 Membrane bioreactor consisted of four enzymatic tubes

2 结果和讨论

2.1 酶浓度对酶解的影响

酶浓度对纤维素的酶解起着决定性的作用,浓度过稀,酶解效率和产率都会降低,浓度过高,则成本增加,同时对酶解效率和产率的增加作用降低.本实验采用 3 种酶浓度:10 FPU/g, 20 FPU/g 和 30

FPU/g (酶活/底物),结果表明,20 FPU/g 是最佳值.

2.2 酶解单元组成对酶解的影响

图 2 是酶解单元组成对纤维素酶解的影响,图中的 1, 2, 4 和 6 是酶解单元里串联的酶解罐数,还原糖产量指单位体积的酶解液(L)所产生的还原糖的量(g).酶解的条件是酶解时间为 24 h,酶浓度为 20 FPU/g,稀释率为 0.075/h.从图 2 可看出,还原糖产量随着酶解罐的增加而逐渐提高,并在酶解罐数为 4 时达到最大值.与只有 1 个酶解罐的膜生物反应器相比,当酶解时间为 24 h 时,每 g 底物产还原糖的量可从 0.25 g 提高到 0.4 g,提高了 60%;最终所得还原糖的平均浓度从 4.56 g/L 提高到 27.23 g/L,提高了 5 倍,所需添加的缓冲液的量也降低了 3.7 倍.因此在相同的酶解条件下,增加酶解罐的串联数可以在一定程度上提高酶解的产率和速率,但不能无限增加,如 6 个酶解罐的酶解效果反倒没有 4 个酶解罐的效果好.这或许是由于当酶解罐较少时,产物的抑制作用去除的比较彻底,同时酶解液在体系的流动促进了纤维素酶在整个体系的流动,降低了酶的无效吸附量,但是随着酶解罐串联数的进一步增加,不仅增加了缓冲液在体系的流动路程,而且增加了流动阻力,从而使缓冲液的循环周期变慢,产物抑制的去除以及传质传热的效果都有所降低,最终导致了酶解效率和速率的降低.

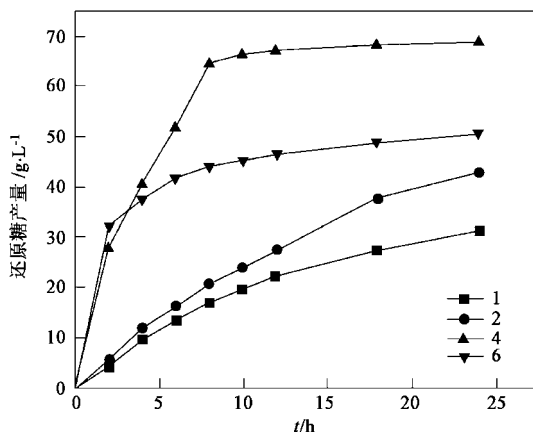


图 2 酶解单元组成对还原糖产量的影响

Fig. 2 Effect of hydrolysis unit on reducing sugar production

2.3 稀释率对酶解的影响

稀释率 $D(1/h)$ 定义为酶解液通量 (mL/h) / 酶解液体积 (mL).不同稀释率下透过液中还原糖浓度与酶解时间的关系见图 3,图 3 中的 0.057, 0.070, 0.075 和 0.25 为稀释率.酶解条件为:酶解时间

24h, 酶浓度 20 FPU/g, 酶解单元组成为 4 个酶解罐. 从图 3 可知在同一酶解时间, 随着稀释率的增加 (0.057/h ~ 0.075/h) 透过液里的还原糖浓度也随之增加, 这是酶解效率和产率提高的结果, 但当稀释率进一步增加为 0.25/h 时, 还原糖浓度降低.

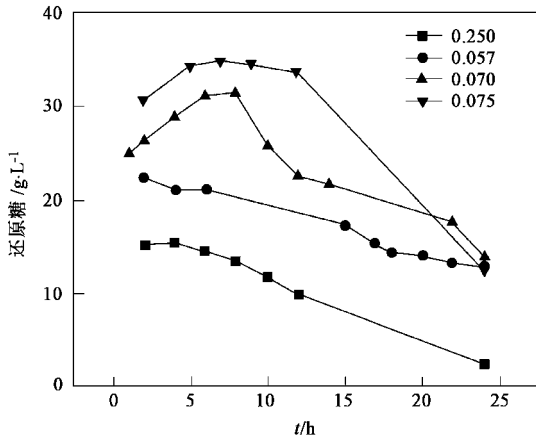


图 3 膜反应器透过液还原糖浓度与稀释率的关系

Fig.3 Effect of dilution on the concentration of reducing sugar in permeate at different hydrolysis time

图 4 是稀释率对底物总转化率的影响, 底物总转化率通过酶解液里的还原糖的量计算得出. 结果表明, 随着稀释率的增加, 总转化率开始增加, 然后达到最大值, 最后逐渐降低. 当稀释率为: 0.057/h, 0.070/h, 0.075/h 和 0.25/h 时, 底物的总转化率分别达到了 23.9%, 29.9%, 39.5% 和 25.8%, 而传统的批次水解(由于底物浓度过大, 无法按时取样, 故未在图上标出)在 24h 时的总转化率仅有 18% ~ 21%, 也就是说膜生物反应器通过在线分离酶解产物起到了去除产物抑制, 提高酶解速率的目的. 但同

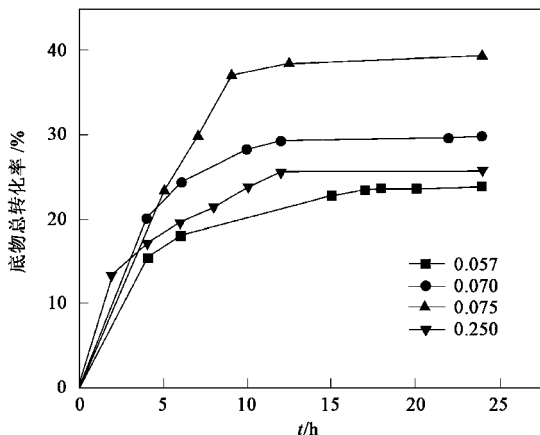


图 4 底物总转化率与稀释率的关系

Fig.4 Effect of dilution on the substrate conversion

时也可看到在膜生物反应器里的酶解速率表现出与批次酶解相同的特征^[7], 即酶解首先具有很大的起始速率, 然后迅速降低直至为 0. 这种降低是由于产物抑制并不是决定酶解速度的唯一条件, 通常酶的吸附——脱附情况, 底物在酶解过程中的结构变化以及酶的失活等因素都会对酶解速度产生很大的影响^[10].

3 结论

以汽爆稻草秸秆为原材料, 通过将几个酶解罐的串联来提高膜生物反应器里底物的浓度, 从而提高最终还原糖的浓度. 研究结果表明最佳操作条件为: 20 FPU/g, 酶解单元组成为 4 个酶解罐, 稀释率为 0.075/h. 当酶解时间为 24h 时, 在该条件下汽爆稻草秸秆的总转化率可以达到 39.5%, 与传统的批次酶解所得到的 18% ~ 21% 的总转化率相比, 提高了将近 1 倍. 与只有 1 个酶解罐的膜反应器相比, 还原糖的产量从 0.25g/g 提高到 0.4g/g, 提高了 60%, 最终所得还原糖的平均浓度从 4.56g/L 提高到 27.23g/L, 提高了 5 倍. 但产物抑制并不是决定酶解速度的唯一条件, 因此还需与其它酶解改进方法合作, 来进一步提高酶解效率.

参考文献:

- [1] 钟华平, 岳燕珍, 樊江文. 中国作物秸秆资源及其利用[J]. 资源科学, 2003, 25(4): 62 ~ 67.
- [2] 吴慧清, 黄小荣, 李剑英, 吴清平. 丹宁-聚乙二醇法提取纤维素酶的研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(8): 41 ~ 44.
- [3] 杨斌, 吕燕萍. PS-Ti 超滤膜反应器进行酶水解预处理的蔗渣和酶回收的研究[J]. 膜科学与技术, 1998, 18(3): 15 ~ 22.
- [4] Lee S G, Kim H S. Optimal operating policy of the ultrafiltration membrane bioreactor for enzymatic hydrolysis of cellulose[J]. Biotechnol. Bioeng., 1993, 42(6): 737 ~ 746.
- [5] Ghose T K, Kostic J A. A model for continuous enzymatic saccharification of cellulose with simultaneous removal of glucose syrup[J]. Biotechnol. Bioeng., 1970, 12(6): 921 ~ 946.
- [6] Ohlson I, Trägårdh G, Hågerdal B H. Evaluation of UF and RO in a cellulose saccharification process[J]. Desalination, 1984, 51(1): 93 ~ 101.
- [7] Gan Q, Allen S J, Taylor G. Design and operation of an integrated membrane reactor for enzymatic cellulose hydrolysis[J]. Biochem. Eng. J., 2002, 12(3): 223 ~ 229.
- [8] Ohlson I, Trägårdh G, Hågerdal B H. Enzymatic hydrolysis of sodium hydroxide-pretreated sawdust in an ultrafiltration membrane reactor[J]. Biotechnol. Bioeng., 1984, 26(7): 647 ~ 653.
- [9] Ghose T K. Measurement of cellulase activities[J]. Pure Appl. Chem., 1987, 59(2): 257 ~ 268.
- [10] Lee Y, Fan L T. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: (II). Analysis of extended hydrolysis times[J]. Biotechnol. Bioeng., 1983, 25(4): 939 ~ 966.