

化工技术

金属离子及表面活性剂对纤维素酶水解预处理玉米秸秆的影响

王娜娜¹ 姚秀清¹ 张 全² 关 浩²

(辽宁石油化工大学环境与生物工程学院¹,抚顺 113001;抚顺石油化工研究院²,抚顺 113001)

摘要 研究了不同的金属离子及表面活性剂对纤维素酶水解的影响,试验表明添加某些金属离子及表面活性剂能够促进纤维素酶的水解,其中 Cu^{2+} 和 Tween80 促进效果最佳。50g 反应体系在 pH 5.0、温度 50℃、预处理玉米秸秆(PCS)10 wt%、1300 纤维素酶(泽生科技)加入量 1g 条件水解 3 h,添加 20 mg/L Tween80 的水解液中还原糖浓度比不加 Tween80 时提高 21.3%;添加 0.13 mmol/L Cu^{2+} 的水解液中还原糖浓度比不加金属离子时提高 38.2%。

关键词 金属离子 Tween80 纤维素酶 玉米秸秆

中图法分类号 TQ031.5; **文献标志码** A

纤维乙醇作为一种清洁的可再生能源,研究越来越受到重视^[1],纤维素酶是一类能够将纤维素降解为葡萄糖的多组分酶系的总称^[2],它们协同作用分解纤维素产生葡萄糖^[3]。在纤维素酶水解玉米秸秆的过程中,纤维素酶不可逆地吸附在木质素表面,使纤维素酶的活性降低,水解速度下降^[4,5]。在纤维素酶解过程中添加表面活性剂能阻止木质素对纤维素酶的无效吸附,提高纤维素酶解的反应速度^[6]。某些金属离子是酶的重要组成部分,金属离子是纤维素酶的激活剂^[7]。论文研究了不同金属离子与表面活性剂对纤维素酶水解玉米秸秆的影响。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试材料

玉米秸秆为中性蒸爆玉米秸秆;纤维素酶为泽

2011年4月11日收到

第一作者简介:王娜娜(1985—),女,山东菏泽人,研究生,研究方向:微生物资源开发。E-mail:momey@126.com。

生生物 1300 型酶,酶活为 100 IU/mL。

1.1.2 1M 柠檬酸缓冲液

称取 210.00 g 柠檬酸于 750 mL 煮沸冷却的蒸馏水中,加入 NaOH 74.8 g,充分溶解后转移到 1 000 mL 容量瓶中,用煮沸冷却的蒸馏水定容到 1 000 mL。

1.2 实验方法

1.2.1 反应体系

50 g 反应体系,玉米秸秆 10%,1 300 型酶加量 1 g(0.2 g/g 干基),2.5 mL 1M 柠檬酸缓冲液,调 pH 值 5,温度 50℃,酶解 3 h。

1.2.2 标准葡萄糖曲线的绘制

配制每 1.5 mL 含葡萄糖 1.2、1.4、1.6、1.8、2 mg 的标准糖液一组,在 25 mL 试管中加入 1.5 mL 标准糖液、3 mL DNS 试剂,沸水中煮 5 min,冷却至室温后,加水至 25 mL,在可见分光光度计 550 nm 处,以水为空白对照,测吸光度,以吸光度为横坐标,葡萄糖毫克数为纵坐标,作出标准曲线。

1.2.3 DNS 法测滤纸酶活

滤纸酶活采用 DNS 法^[8]。

1.2.4 金属离子对纤维素酶水解的影响

考察了 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mg^{2+} 共 5 种

金属离子对纤维素酶水解的影响,在50g反应体系中,加入不同浓度的金属离子盐溶液,50℃酶解3 h后,离心取上清液测吸光度,据葡萄糖标准曲线计算反应液中的葡萄糖含量。

1.2.5 表面活性剂对纤维素酶水解的影响

考察了Tween80,TritonX—100,洗衣粉3种表面活性剂对纤维素酶水解的影响,在50 g反应体系中,加入不同浓度的表面活性剂,50 ℃酶解3 h后,离心取上清液测吸光度,据葡萄糖标准曲线计算反应液中的葡萄糖含量。

2 实验结果与讨论

2.1 葡萄糖标准曲线

以吸光度为横坐标,葡萄糖毫克数为纵坐标,作出标准曲线,其回归方程为:

$$y = 0.5465x - 0.033 \quad (R^2 = 0.9992)$$

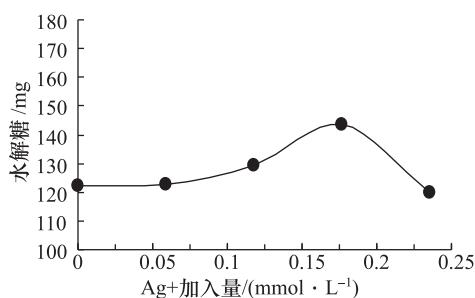


图1 Ag⁺对纤维素酶水解的影响

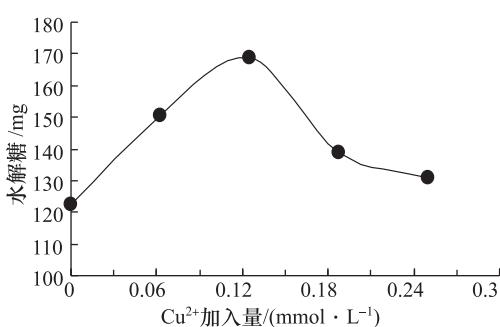


图2 Cu²⁺对纤维素酶水解的影响

2.2 金属离子对纤维素酶水解的影响

2.2.1 Ag⁺对纤维素酶水解的影响

由图1可知:在Ag⁺0~0.18 mmol/L时对纤维

素酶水解促进作用逐渐增强,再增加Ag⁺浓度则激活作用减弱,并出现抑制作用,因此,Ag⁺浓度在0.18 mmol/L时,激活作用达到最强,反应体系中还原糖浓度比不加无机盐的体系提高17.4%。

2.2.2 Cu²⁺对纤维素酶水解的影响

由图2可知:Cu²⁺在0.13 mmol/L时,纤维素的水解达到最大值,此时反应体系中还原糖含量为168.89,比不加无机盐离子的提高38.2%。

2.2.4 Mn²⁺对纤维素酶水解的影响

由图3可知:Mn²⁺在0.07 mmol/L时,对纤维素酶的激活作用达到最大,反应体系中还原糖含量比不加无机盐离子的提高21%,再增加体系中Mn²⁺的含量抑制作用明显增加。

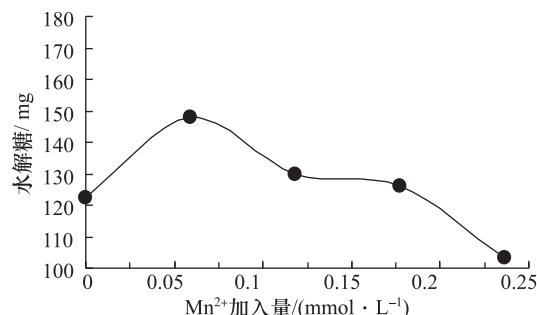


图3 Mn²⁺对纤维素酶水解的影响

2.2.5 Zn²⁺对纤维素酶水解的影响

由图4可知:Zn²⁺浓度在0.07 mmol/L时对纤维素酶的激活作用达到最大,反应体系中还原糖含量比不加无机盐离子提高15.0%。

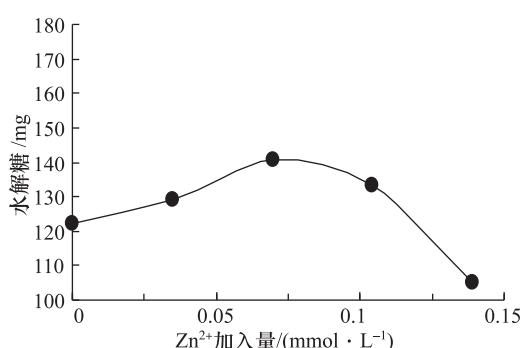


图4 Zn²⁺对纤维素酶水解的影响

2.2.6 Mg²⁺对纤维素酶水解的影响

由图5可知:随着Mg²⁺浓度逐渐增加,对纤维

素酶的激活作用逐渐增强,在0.12 mmol/L时激活作用达到最大,此时反应体系中还原糖含量比不加无机盐离子的提高20.5%。

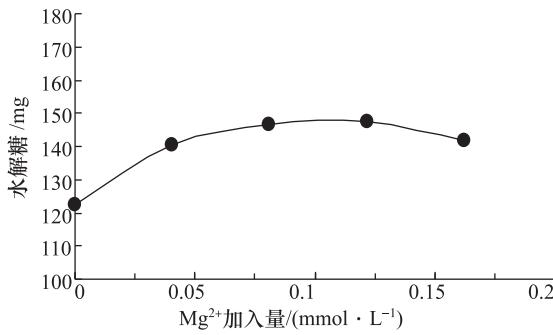


图5 Mg²⁺对纤维素酶水解的影响

2.3 表面活性剂对纤维素酶水解的影响

2.3.1 Tween80对纤维素酶水解的影响

由图6可知:加入Tween80能够提高纤维素酶的水解效率,加入Tween80 20 mg/L时,水解效率达到最大,体系中的还原糖含量为148.22 mg,比不加Tween80时提高21.3%。

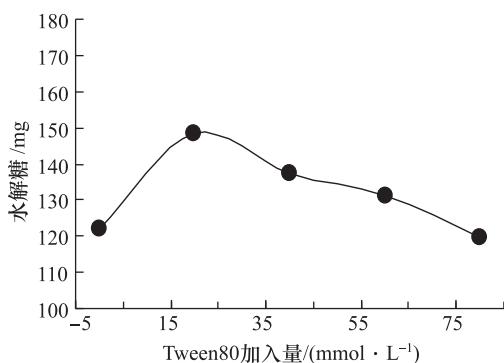


图6 Tween80对纤维素酶水解的影响

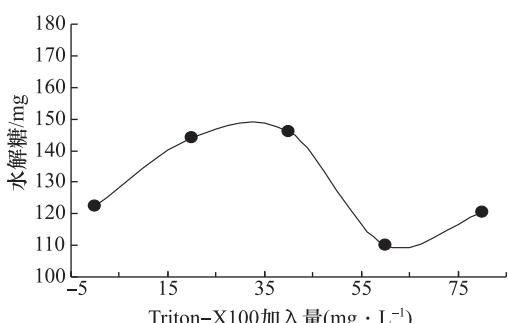


图7 TritonX-100对纤维素酶水解的影响

2.3.2 TritonX-100对纤维素酶水解的影响

由图7可知:加入TritonX-100 40 mg/L时,水解效率达到最大,体系中的还原糖含量比不加TritonX-100时提高19.46%。

2.3.3 洗衣粉对纤维素酶水解的影响

由图8可知:添加洗衣粉对纤维素酶的水解效率影响不大,加入60 mg/L洗衣粉时,水解效率达到最大,还原糖含量比不加洗衣粉时提高9.28%。

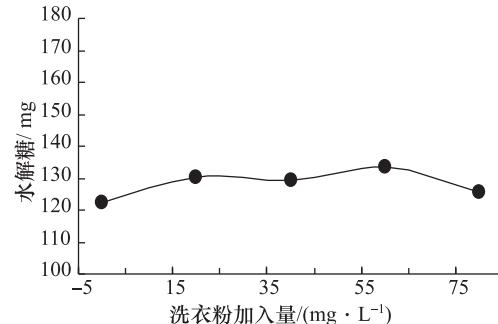


图8 洗衣粉对纤维素酶水解的影响

3 结论

本实验考察了Ag⁺、Ca²⁺、Cu²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺和Mg²⁺共6种金属离子对纤维素酶水解的影响,在一定的浓度下每种金属离子都对纤维素的酶解有不同程度促进作用,但超过一定的浓度金属离子对纤维素的酶解促进作用降低或出现抑制作用,其中Cu²⁺的促进作用最明显,在pH 5.0、温度50℃、玉米秸秆10%,1300型酶加量1 g的50 g反应体系中,添加Cu²⁺ 0.13 mmol/L,在水解3 h后,纤维素酶解效率达到最大值,此时体系中葡萄糖的含量为168.89 mg,比不加无机盐离子的提高38.2%。

考察了Tween80、TritonX-100和洗衣粉3种表面活性剂对纤维素酶水解玉米秸秆的影响,加入一定量的表面活性剂能促进纤维素的酶解,但加入过多也会抑制纤维素的酶解,在pH 5.0、温度50℃、玉米秸秆10%,1300型酶加量1 g的50 g反应体系中,添加Tween80 1 mg,在水解3 h后,体系中的还原糖含量148.22 mg,比不加Tween80时提高21.3%。

参 考 文 献

- 1 顾方媛,陈朝银,石家庄.纤维素酶的研究进展与发展趋势.微生物学杂志,2008;(01): 83—87
- 2 罗 鹏,刘 忠,杨传民.蒸汽爆破麦草同步糖化发酵转化乙醇的研究.化学工程,2007;35(12):42—45
- 4 LeeR L, Paul J. Microbial cellulase utilization: fundamentals and biotechnonlgy . Microbiol Mol Biol Rev,2002;66(3) : 506—577
- 3 Alkasrawi M,Eriksson T,Borjesson J,et al. The Effect of Tween - 20 on Simultan eous Sacchari fication and Fermentation of Softwood to Ethanol Enzyme Microb Technol,2003;33 (2):71—78
- 4 罗 鹏.表面活性剂对麦草同步糖化发酵转化乙醇影响.过程工程学报,2009;9(2):355—359
- 5 陈秀卿.黑龙江省甜高粱研究现状与展望.黑龙江农业科学,1999;(1):43—45
- 6 王镜岩,朱圣庚,徐长法.生物化学.北京:高等教育出版社,2003
- 7 张瑞萍.纤维素酶的滤纸酶活和 CMC 酶活的测定.印染助剂,2002;19(5):51—53

Influence of Metal Ions and Surfactants on the Hydrolysis of Pretreated Corn Stover by Cellulase

WANG Na-na¹, YAO Xiu-qing¹, ZHANG Quan², GUAN Hao²

(School of environment and bioengineering,Liaoning Shihua University¹, Fushun 113001,P. R. China;

Fushun Research Institute of Petroleum and Petrochemicals², Fushun 113001,P. R. Chian)

[Abstract] Influences of metal ions and surfactants on the hydrolysis of pretreated corn stover by cellulase were researched. It was showed that some metal ions and surfactants loading in hydrolysis system, such as Cu²⁺ and Tween80, could enhance the activity of cellulase. In a 50 g hydrolysis system at pH 5.0, temperature 50 degrees centigrade , pretreated corn stover (PCS) 10 wt% , enzyme loading 1 g (1300 from Zensun Sci & Tech Co. , Ltd) , hydrolysis time 3 hours , the reducing sugar concentration with Tween80 (20 mg/L) loading is 21.3 percent of no Tween80 loading, and reducing sugar concentration with Cu²⁺ (0.13 mmol/L) loading is 138.2 percent of no Cu²⁺ loading.

[Key words] metal ions Tween80 cellulase corn stover