

文章编号 :0253-9721(2006)08-0004-03

超临界 CO₂ 介质的苧麻酶法脱胶研究初探

彭源德¹, 刘正初¹, 唐守伟¹, 杨喜爱¹, 严理¹, 刘昭铁², 熊和平¹

(1. 中国农业科学院 麻类研究所, 湖南 长沙 410006; 2. 陕西师范大学, 陕西 西安 710062)

摘要 在 35 ~ 55 °C, 7 ~ 15 MPa 条件下, 利用果胶粗酶液和木聚糖酶液, 对苧麻韧皮进行超临界 CO₂ 处理及其脱胶试验, 考察了超临界 CO₂ 处理苧麻韧皮前后酶液中的活菌数、酶活和脱胶效果。实验结果表明, 经超临界 CO₂ 处理 1 h 左右, 苧麻脱胶菌的致死率在 99% 以上; 不同类型非纤维素降解酶, 在超临界条件下的稳定性不同, 木聚糖酶比较稳定, 酶活仅降低 1.6%, 而果胶粗酶液的稳定性较差, 酶活降低 23.79%; 超临界 CO₂ 介质有利于加速苧麻酶的脱胶催化反应进程, 使苧麻脱胶效果提高 60% ~ 100%。

关键词 苧麻; CO₂; 超临界; 果胶酶; 木聚糖酶

中图分类号: TS192.55 文献标识码: A

Preliminary study on ramie retting in supercritical CO₂ with enzymes

PENG Yuan-de¹, LIU Zheng-chu¹, TANG Shou-wei¹, YANG Xi-ai¹, YAN Li¹, LIU Zhao-tie², XIONG He-ping¹

(1. Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410006, China;

2. Shaanxi Normal University, Xi'an, Shanxi 710062, China)

Abstract This paper describes an experiment of ramie bast retting treatment with pectinase and xylanase preparations under the conditions of supercritical CO₂ at 35 ~ 55 °C, 7 ~ 15 MPa, and investigates the survival number of organisms, variations of enzyme activity and the retted effect before and after the treatment. The results demonstrate that the inactivity rate of retting organisms is over 99% under the condition of supercritical CO₂ after one hour. Under supercritical conditions, the stability of non-cellulase varies with its species, xylanase is comparatively stable and its activity decreases by only 1.6%, and pectinase stability is, however, not so good and its activity decreases by 23.79%. The enzymatic retting of ramie in the medium of supercritical CO₂ is beneficial to accelerate the catalytic process and the retting efficiency is increased by 60% ~ 100%.

Key words ramie; CO₂; supercritical; pectinase; xylanase

苧麻纤维是我国重要的纺织原料。但脱胶技术是制约麻类产业发展的“瓶颈”。现在普遍采用的化学脱胶工艺存在成本高, 能耗大, 纤维制成率低, 纤维品质受到损伤和环境污染重等突出问题, 严重制约着麻类产业的发展。为此, 近年来, 国内外学者广泛开展了苧麻加菌脱胶和酶法脱胶等方面的研究, 虽然在改善麻类纤维及其制品的品质、提高产品附加值、降低生产成本、减轻环境污染等方面具有一定的效果^[1-4], 但脱胶菌的产酶活性不高, 脱胶效果不

尽人意, 而且反应是在水介质中进行, 对环境造成一定的污染。随着酶催化反应的发展, 非水溶剂的使用逐渐增多, 超临界 CO₂ 流体(在超临界温度和压力时, CO₂ 以流体形式存在)是一种可供选择的非水合溶剂, 引起广泛关注^[5-7]。实践证明, 在非水合溶剂中, 许多酶的活性加强, 底物更易溶解, 酶促使反应速率加快, 此外, 还能简化分离过程, 加强酶的专一性。本文将现代生物技术和超临界流体技术有机结合, 通过初步测定和观察超临界 CO₂ 介质中苧麻

收稿日期: 2005-11-22 修回日期: 2006-02-25

基金项目: 国家 973 前期研究专项(2004CCA00700)

作者简介: 彭源德(1965-), 男, 副研究员, 学士。主要从事农产品生物加工研究。熊和平, 通讯作者, E-mail: Ramiechp@public.cs.hn.cn。

脱胶酶(果胶酶和木聚糖酶)的活性与脱胶性能,明确脱胶酶在超临界 CO₂ 介质中的稳定性,以便进一步开展超临界酶法处理苕麻的研究,实现酶催化反应与产物分离一体化,为彻底解决苕麻化学脱胶工艺的环境污染问题奠定基础。

1 实验部分

1.1 材料

菌种是由中国农业科学院麻类研究所选育的苕麻脱胶高效菌株;木聚糖酶由苕麻酶处理课题组提供。

生苕麻产自湖南省沅江市,苕麻韧皮剪成 1 ~ 2 cm 片段。

主要仪器与设备有 500 mL 高压反应釜、752 型紫外分光光度计、SPX-250B 型生化培养箱、SHA-B 型恒温振荡器等。

培养基为活菌计数平板用葡萄糖营养琼脂。菌种的活化和扩培用肉汤培养液。

主要试剂有 3,5-二硝基水杨酸、柠檬酸、十二水磷酸氢二钠、四水酒石酸钾钠、苯酚、木糖和果胶,均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 果胶粗酶液的制备

取真空保存菌种,活化,在一定温度下,振荡培养 30 h 左右。

1.2.2 脱胶酶超临界处理

取果胶粗酶液和木聚糖酶液各 100 mL,于 500 mL 反应釜中,充入 CO₂,在 35 ~ 37 °C、10 MPa 条件下处理 1 h,分别测定处理前、后的脱胶菌活菌数和酶活。

1.2.3 超临界酶法苕麻脱胶

取生苕麻 10 g,用一定量的脱胶酶液在室温常压下浸泡 1 h 左右,然后置于 500 mL 反应釜中,充入 CO₂,在 50 ~ 55 °C、10 MPa 条件下处理 0.5 ~ 1 h,测试苕麻的脱胶效果。同时,以常压酶法苕麻脱胶和未加脱胶酶超临界 CO₂ 处理的试样为双重对照。

1.2.4 脱胶效果判断

将酶法脱胶过的苕麻韧皮倒入试管中,加入等量、能淹没麻茎的清水,加盖橡皮或玻璃软塞后,先轻摇 10 s,再激烈地上下摇动 5 次,用纤维分散好的标准管做对照,目测评定纤维分离的记分分为 11 等,其中,0 为不脱胶,5 为半脱胶,10 为完全脱胶。

1.2.5 脱胶微生物数量和酶活的测定

脱胶微生物活菌量测定采用营养琼脂平板稀释涂皿计数;果胶酶和木聚糖酶的酶活测定采用 DNS 比色法。

2 结果与讨论

2.1 超临界条件对脱胶微生物的影响

表 1 为超临界 CO₂ 处理前、后的脱胶菌活菌量。如表 1 所示,超临界 CO₂ 条件对苕麻脱胶菌的活性有不利影响,其致死率均在 99% 以上,这说明超临界 CO₂ 条件不仅抑制了微生物正常的生长繁殖,而且造成微生物大量死亡。这可能是由于,一方面,高压条件对细胞壁和细胞膜有损伤和蛋白质结构发生变化;另一方面,CO₂ 进入细胞内部,与细胞液作用生成 H₂CO₃ 改变了微环境的 pH 值。但不同菌株抵抗高压的能力有差异,在 10 MPa 的 CO₂ 介质中处理 1 h,2[#] 菌种的存活率为 0.107%,而 1[#] 菌种的存活率仅为 0.0086%。

表 1 超临界 CO₂ 处理前后的脱胶菌活菌量

菌种代号	处理前活菌量/ (cfu·mL ⁻¹)	处理后活菌量/ (cfu·mL ⁻¹)	致死率/ %
1 [#]	8 × 10 ⁷	6.9 × 10 ³	99.991 4
2 [#]	4.5 × 10 ⁷	4.8 × 10 ⁴	99.893 3

2.2 超临界条件对脱胶酶酶活的影响

超临界 CO₂ 对苕麻脱胶酶酶活的影响结果列于表 2。从表 2 可以看出,不同类型非纤维素降解酶在超临界 CO₂ 条件下的稳定性有明显差异。CO₂ 介质和 50 °C、10 MPa 条件下处理 1 h,木聚糖酶的酶活仅降低 1.6%;而果胶粗酶液的酶活降低 23.79%。超临界条件下,在 35 ~ 50 °C 温度范围内,温度对果胶粗酶液的酶活影响似乎不大。

表 2 超临界 CO₂ 对苕麻脱胶酶酶活的影响

脱胶酶种类	处理前酶活/ (IU·mL ⁻¹)	处理后酶活/ (IU·mL ⁻¹)	酶活降低/ %	处理温度/ °C
果胶粗酶液 I	22.07	16.35	25.92	35
果胶粗酶液 II	22.07	16.82	23.79	50
木聚糖酶	2 755	2 711	1.6	50

注:反应介质 CO₂, 压力 10 MPa。

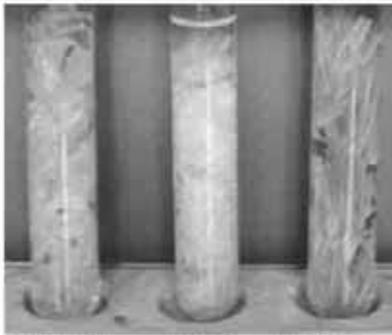
2.3 超临界酶法处理苕麻韧皮效果

不同处理条件时苕麻酶法的脱胶效果见表 3。

不同脱胶酶在超临界条件下的苕麻脱胶效果如图1所示。从表3和图1看出,超临界条件有利于加速苕麻酶的脱胶催化反应进程,使苕麻脱胶效果大幅度提高。其中,果胶粗酶液和木聚糖酶在 CO_2 介质和 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 、 10 MPa 条件下处理苕麻韧皮 $0.5\sim 1\text{ h}$,纤维基本分散,颜色洁白,脱胶效果分别比常压处理的提高 60% 和 100% 。这可能是因为在超临界 CO_2 介质中,粘度和表面张力低,使苕麻果胶、半纤维素等非纤维素物质向脱胶酶的传质速度加快,从而非纤维素物质降解的反应速度提高。

表3 不同处理条件时苕麻酶法的脱胶结果 等

脱胶酶种类	常压处理	超临界 CO_2 处理
果胶粗酶液	5	8
木聚糖酶	5	10
未加脱胶酶(CK)	1	1



果胶粗酶液 木聚糖酶 未加脱胶酶(CK)

图1 不同脱胶酶在超临界 CO_2 条件下的脱胶效果

3 结 论

1) 苕麻脱胶菌在超临界 CO_2 条件下处理 1 h 左右,其致死率在 99% 以上。

2) 不同类型非纤维素降解酶在超临界介质中的稳定性有显著的差异,木聚糖酶的酶活仅降低 1.6% ;而果胶粗酶液的酶活降低 23.79% 。

3) 超临界 CO_2 条件有利于加速酶催化苕麻脱胶反应进程,使苕麻脱胶效果提高 $60\%\sim 100\%$ 。

FZXB

参考文献:

- [1] 彭源德,冯湘沅,刘正初,等.苕麻脱胶菌种特性研究[J].中国麻作,1995,17(2):32-35.
- [2] 何绍江,刘勇,魏新元.苕麻厌氧脱胶菌研究[J].中国麻作,1995,17(3):34-38.
- [3] 刘正初,彭源德,冯湘沅,等.苕麻生物脱胶工艺技术与设备生产应用研究[J].中国农业科学,2000,(3):38-43.
- [4] 金玉娟,陶菊红,刘自榕,等.融合子菌株苕麻脱胶研究[J].纺织学报,2004,25(2):30-31.
- [5] 阮新,曾健青,张镜澄.超临界二氧化碳流体在酶催化反应中的应用[J].广州化学,1998,(2):51-55.
- [6] 尹卓容,冯德琴,王晓霞.超临界二氧化碳抑制脂肪氧化酶及灭活作用的研究[J].山东轻工业学院学报,1999,13(4):33-35.
- [7] 刘森林,宗敏华.超临界流体中酶催化反应的研究进展[J].微生物学通报,2001,28(1):81-85.