

# 碱性纤维素酶浓缩工艺的设计与应用

严福红<sup>1</sup>, 许喜林<sup>2</sup>, 周开翔<sup>1</sup>

(1. 中国轻工业武汉设计工程有限责任公司, 湖北 武汉 430060;

2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

**摘要:**通过对碱性纤维素酶浸提液浓缩工艺 3 种不同浓缩方式的对比研究, 确定了采用超滤方式来浓缩碱性纤维素酶浸提液, 并对超滤浓缩过程的影响因素及其可行性进行了分析; 选用中空纤维超滤装置, 完成了工业化生产所需的工艺流程设计。该工艺应用于某生物工程公司纤维素酶生产线的生产, 产品质量达到了精制酶的生产要求。

**关键词:**碱性纤维素酶; 浓缩; 超滤; 工艺设计

中图分类号: TQ028.53; Q55

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2007)04-0052-03

## Design of concentrated technology of alkaline cellulose and its application

YAN Fu-hong<sup>1</sup>, XU Xi-lin<sup>2</sup>, ZHOU Kai-xiang<sup>1</sup>

(1. China National Light Industry Wuhan Design Engineering Co., Ltd., Wuhan 430060, China;

2. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** With the comparison of the three different processes of concentrated technology in the production of alkaline cellulose, the ultra-filtration method is adopted in the concentrated process design. The factors that affect the ultra-filtration process and the feasibility of this technology are analyzed. The design for commercial production is accomplished by using ultra-filtration equipment with hollow fiber membrane. The technology is used in the alkaline cellulase production in an enterprise, and the product quality fits for the standard of purified enzyme.

**Key words:** alkaline cellulase; concentration; ultra-filtration; process design

纤维素酶是由生物产生的一种多组分的混合蛋白质, 是在适当的条件下, 能使不溶性纤维素材料水解成可溶性糖的生物催化剂的总称, 主要包括 C<sub>1</sub> 酶、C<sub>x</sub> 酶和纤维二糖酶。碱性纤维素酶可用作纺织工业柔软剂, 以改善纤维素类产品如牛仔布、毛巾、内衣、床上用品等的质地<sup>[1]</sup>。碱性纤维素酶的工业化生产技术在我国尚属起步阶段, 市售产品均为粗制酶, 而精制酶基本上依靠进口。造成这一现象主要是因为纤维素酶发酵菌种活力不高, 发酵后处理技术不够成熟。文中通过介绍如何改进碱性纤维素酶的浓缩工艺, 应用于某生物工程有限公司纤维素酶的工程设计项目, 生产出可替代进口的精制酶。

## 1 生产工艺简介

### 1.1 工艺流程

碱性纤维素酶的生产工艺如图 1 所示。

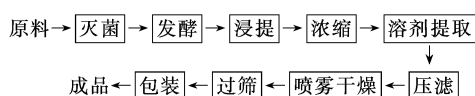


图 1 碱性纤维素酶生产工艺流程图

碱性纤维素酶生产过程中浓缩工艺前承浸提工艺, 后接溶剂提取工艺, 是重要的生产环节。如果生产产品为液体酶, 则生产工艺将直接至浓缩环节结束。因此, 浓缩技术已成为影响我国纤维素酶精制技术的“瓶颈”之一。

### 1.2 浓缩方式的选择

在浓缩工艺设计中, 以下 2 个基本问题值得我们重视:

(1) 由于酶浸提液中纤维素酶的摩尔分数仅为 8%~9%, 而要从如此低浓度的混合物中分离出纯纤维素酶, 则需要消耗较大的能量。在恒温、恒压条件下, 将理想溶液分离为纯物质所需的最小能量为<sup>[2]</sup>:  $W = -RT \sum x_i \ln x_i$ , 式中  $x_i$  为组分  $i$  的摩尔分数,  $R$  为气体常数,  $T$  为热力学温度,  $W$  为 1 mol 理想溶液分离出纯物质所需的最小能量。由式可见, 浸提液浓缩时所需的能量  $W$  与  $x_i$  的负对数 ( $-\ln x_i$ ) 大致成递增关系。因此, 必须寻找一种操作可行且能耗较低的浓缩方式来浓缩纤维素酶浸提液, 以减少浓缩过程的能耗。

(2) 由于酶是一种具有高度催化活性的特殊蛋

白质,在浓缩操作中,还必须严格防止酶的变性失活,以最大限度地提高产品收率。目前,酶液的浓缩方法主要有3种:试剂浓缩、减压浓缩法和超滤浓缩法。试剂浓缩工艺可用聚乙二醇(PEG)吸收酶液中的水分,该法简便、效率高,但试剂价格较贵,作为工业化生产因成本问题则不予考虑;减压蒸发浓缩法采用减压装置使待浓缩酶液在一定的真空度和温度下进行,对酶液等热敏性物质,减压装置多采用离心薄膜蒸发器和刮板式蒸发器;超滤浓缩法是在常温、无相变时的浓缩过程,在加压条件下,将浓缩液通过一层只允许水分子等小分子选择性透过的微孔超滤膜,而酶大分子被滞留,从而达到酶液浓缩的目的。减压蒸发浓缩和超滤浓缩皆可用于工业化生产,但各有利弊,2种方法的对比情况见表1。

表1 减压蒸发浓缩和超滤浓缩比较

	温度/℃	压力/MPa	相变化	热源
超滤浓缩	常温	约0.25	无	无
刮板蒸发浓缩	35~40	约0.10	有	有

分别采用超滤法和薄膜蒸发法来浓缩250 L某种蛋白酶抽提液,薄膜蒸发法能耗为 $5.60 \times 10^5$  kJ,而超滤法能耗仅为 $6.90 \times 10^4$  kJ。可见,薄膜蒸发法的能耗约为超滤法的8.1倍。无锡市酶制剂厂在食品级 $\alpha$ -淀粉酶的生产中,采用了超滤技术后每年节煤500多t,直接经济效益超过13万元。由此可见,与薄膜蒸发法相比,超滤浓缩工艺不仅能耗与生产成本都低,而且还可以最大限度地减少酶的失活。因此在该生产设计中采用超滤浓缩工艺。

## 2 超滤工艺

### 2.1 超滤浓缩原理及影响因素

超滤膜具有不对称结构(称为不对称膜)。表面

(上接第51页)

而原工艺中每蒸发2批料清洗设备1次,清洗时间为20h,这样原工艺每批料生产周期为34h。因此新工艺较原生产工艺产量提高约50%。若按年生产时间8000h计,原工艺可生产220批投料,新工艺则可生产332批投料,经济效益十分明显。

(3)三效热泵蒸发流程适用于物料处理量大、沸点升高小、蒸发温度低的物料。如用于葡萄糖蒸发时,蒸发量可达30t/h,每吨物料蒸汽耗量为0.135~0.170t。有效解决了浓缩比大、溶解度低及热敏性物料蒸发结晶的工艺问题。该流程尤其适用

为活性层,起过滤作用,孔隙直径约为100nm,厚度为0.2~0.5 $\mu$ m;底部为支撑层,起支持活性层的作用,孔隙直径为0.1~1.0 $\mu$ m,厚度为50~100 $\mu$ m。由于活性层很薄,流体阻力较小且不易使孔道阻塞,因而,颗粒就被截留在膜的表面。

膜分离实质是由于物质通过膜的传递速度的不同而得到分离。超滤过程是一种以压力为推动力的膜分离技术,溶质或悬浮物料按粒径大小不同进行分离,比膜孔小的物质和溶剂(水)一起透过膜,而较大的物质则被截留。能否采用超滤浓缩工艺,与膜的特性(空隙度、圆柱形孔道直径、厚度)、操作条件(膜两侧压力差、温度)、溶液性质(浓度、黏度、pH)等均有直接关系。此外,对于生物高分子酶,会因强力搅拌或高速冲刷而使酶活力损失<sup>[3-4]</sup>,故只能根据酶的特性适当控制流速。表2所示为不同类超滤器的最高剪切率及对过氧化氢酶失活的影响。

表2 各种超滤器的剪切力对过氧化氢酶失活的影响

超滤器类型	失活率/%	最高剪切率/ $s^{-1}$
TC-1型	7	10000
TF型	26	22000
Chemapec 震动器	46	81500

### 2.2 工业化生产纤维素酶使用超滤浓缩的可行性

超滤浓缩在常温或略偏低温且无相变的情况下进行,操作压力为低压(约0.25MPa),对热敏性物质的影响很小,可保证酶不易失活。影响超滤浓缩的压力、温度、pH、流体剪力等均可以通过适当的工艺流程设计和操作控制来满足生产要求,防止对酶活力的影响。

而就溶质分子大小来看,纤维素酶中的 $C_1$ 、 $C_x$ 酶的相对分子质量为45000~75000,相当于球形直径为350~760nm,而超滤适用阻截溶质的相对

于处理量很大的医药中间体、中药提取物、果汁、牛奶等热敏性物料的蒸发。

### 参考文献

- [1] Meadhr R O. Model for secondary nucleation in a suspension crystallizer [J]. *AIChE Journal*, 1996, 42(4): 1408-1410.
- [2] Zijlema T G, Geertman R M, Witkamp G J, *et al.* Antisolvent crystallization as an alternative to evaporative crystallization for the production of sodium chloride [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2000, 39(3): 1330-1332.
- [3] Byrne P, Bosander P, Parhammer O, *et al.* A primary secondary and pseudo-tertiary mathematical model of a chlor-alkali membrane cell [J]. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2000, 30(3): 1361-1362. ■

分子质量为 500 ~ 300 000, 溶质直径相当于 100 ~ 4 800 nm, 纤维素酶分子恰在超滤膜的切割范围之内。就工业化生产而言, 超滤具有能耗低、生产成本低等特点, 适合于生产酶制剂。因此, 只要选择合适的膜及其膜组件, 采用超滤法浓缩纤维素酶浸提液应当是完全可行的。

### 3 工艺流程

#### 3.1 超滤组件的选用

目前应用在酶制剂浓缩工艺上的超滤组件主要有外压管式、卷式和中空纤维式 3 种。通过对过滤膜表面积、操作难易程度和价格等方面的比较, 设计选用中空纤维式超滤组件。

中空纤维超滤装置的特点是运用成束(千根以上)坚实的中空纤维, 每根纤维内腔直径为 0.2 mm。这些纤维是由惰性的非离子聚合物制成, 具有独特的多向异性的结构, 故有非常高的流率和抗阻塞性能, 当介质以轴流形式通过管腔时, 将会在超滤膜面上形成剪切力。因此, 在截留溶质分子的同时, 可以将浓差极化降到最低限度。

目前用于超滤过程的膜材料主要有: 醋酸纤维(CA)、聚砜(PS)、聚氯乙烯(PVC)、聚丙烯腈(PAN)和聚砜酰胺(PSA)等。由于工艺设计针对的是碱性纤维素酶, 故对酸性条件下使用的 CA 膜(耐 pH 范围为 3 ~ 8)不予考虑。为了确保最终工艺方案能达到预期的效果, 笔者同该酶生产公司和膜生产厂家进行了一些相关试验, 其结果列于表 3。

表 3 不同膜材料性能

膜材料	耐温/ ℃	耐 pH 范围	纯水透过量/ $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$	酶液透过量/ $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$	使用 寿命/a	强度
PS	< 50	1 ~ 13	20	12	2	好
PAN	< 55	1 ~ 12	750	32	1	较好
PVC	< 50	1 ~ 13	50	22	2	好
PSA	< 60	1 ~ 13	300 ~ 700	30	5	好

从膜的耐温、纯水透过量、酶液透过量、使用寿命以及强度等多方面综合考虑, 宜选用聚砜酰胺膜。

#### 3.2 工艺流程设计

超滤膜及其组件确定后, 根据超滤膜浓缩的原理、影响因素以及酶的生物特性, 为保证酶活力的前提下最大限度地提高碱性纤维素酶的收率, 在工艺流程设计中从以下方面采取了一定措施:

(1) 采用低温超滤以减少酶失活, 选用具有冷却装置的循环罐;

(2) 将料液预过滤以除去较大的粒子, 减少膜的负荷及减轻污染, 同时设置清洗设施;

(3) 为避免经过泵的剪切力使酶失活, 选用剪切

力低的泵代替离心泵, 如采用工业软管泵等;

(4) 配置稀碱和醋酸罐, 以便调节酶液 pH, 避免 pH 对酶的阻流率和活性的影响;

(5) 在管道配置方面, 酶液循环管口需由上部向下插入循环罐液面, 避免产生泡沫而引起酶的界面失活。

该厂碱性纤维素生产具体工艺流程如图 2 所示。

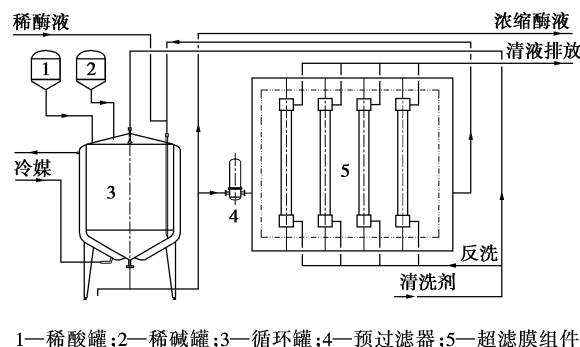


图 2 工艺流程图

### 4 实际应用与讨论

设计工艺流程在获得生产方认可后开始实施, 经过调试运行证实: 所得产品质量符合要求, 达到了预期目的。

碱性纤维素酶的发酵工艺目前所采用的是固体发酵法, 在发酵成熟后用水浸提得到稀酶液, 然后进行浓缩。由于其浸提液中淀粉和蛋白质类降解物含量少, 不易形成膜表面吸附, 因而用超滤浓缩法效果较好。但如果采用液态法发酵生产纤维素酶, 稀酶液中必定存在大量的淀粉和蛋白质的不同降解物, 这些降解物不但使浓差极化现象严重, 而且有可能阻塞超滤膜的微孔, 使浓缩倍数和滤出速率都不会很高。因此, 如果采用的发酵工艺不同, 则其超滤工艺也可能相应改变。

在超滤装置上, 该设计选用的是中空纤维过滤器, 主要是从经济方面来考虑。此类过滤器的主要缺点是单根纤维损坏时需调换整个膜件, 而卷式膜过滤器更换新膜较为容易, 过滤效果也很好。所以, 如果国产卷式膜超滤器的质量稳定, 而其售价与中空纤维过滤器的相差又不太大, 或者有能力引进美国卷式膜超滤器, 则可以考虑改选卷式超滤器。

#### 参考文献

- [1] 陈关龙. 性能优越的柔软剂: 纤维素酶[J]. 装饰织物, 1996(1): 41 - 45.
- [2] 俞俊棠, 唐孝宣. 生物工艺学[M]. 上海: 华东化工学院出版社, 2003.
- [3] 高孔荣. 发酵设备[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.
- [4] 张树政. 酶制剂工业: 上册[M]. 北京: 科学出版社, 2002. ■