

纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附、 脱附以及循环利用*

王钱钱^{1,2,3} 詹怀宇² 孙建中¹ 王志刚⁴

(1. 江苏大学环境与安全工程学院, 生物质能源研究所, 江苏 镇江 212013; 2. 华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室, 广东 广州 510640; 3. 农业部农村可再生能源开发利用重点实验室, 四川 成都 610041; 4. 华泰集团有限公司, 山东 东营 257335)

摘要: 纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附是一个复杂的物理化学过程, 与纤维素酶和木质纤维素底物本身的性质密切相关, 而且还受水解体系的各种参数, 如缓冲溶液的浓度、pH、离子强度、温度、是否添加表面活性剂等影响。酶解结束时, 大量的纤维素酶吸附在残余底物上。回收吸附在残余底物上的纤维素酶, 是降低生物乙醇生产中纤维素酶成本的重要策略。缓冲溶液的 pH、温度、是否添加表面活性剂等也对纤维素酶的脱附有着重要的影响。本文综述了影响纤维素酶吸附、脱附的各种参数; 总结了纤维素酶脱附领域的研究进展以及纤维素酶循环利用的基本流程。

关键词: 纤维素酶; 吸附/脱附竞争因子; 循环利用

中图分类号: TQ353.1; TQ352

文献标识码: A

文章编号: 1671-4571(2014)03-0009-06

化石能源的短缺以及燃烧化石燃料造成的环境污染, 使得世界各国越来越重视生物质能源。生物乙醇被认为是可替代石油等化石能源的最有前途的生物燃料^[1,2]。生物乙醇的生产过程主要包括三个步骤: 木质纤维素原料的预处理, 预处理后木质纤维素底物的酶解糖化, 水解后糖类的发酵^[3], 其中酶解糖化是生物乙醇生产过程中的关键步骤, 占据生物乙醇生产成本的 60% 以上^[4,5]。随着技术的进步, 纤维素酶的成本大幅的降低, 纤维素酶活得到了进一步的提升, 在一定程度上降低了木质纤维素酶解糖化的成本, 然而纤维素酶的价格依然相对昂贵, 不能大规模的应用于工业生产中。纤维素酶的循环利用是降低生物乙醇生产成本的重要途径之一。深入理解纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附、脱附机制是实现纤维素酶循环利用的理论基础。

1 底物对纤维素酶的吸附

底物对纤维素酶的吸附是影响纤维素酶解糖化的决定性步骤。酶解过程中, 溶液中的纤维素酶通过

纤维素酶结合区域 (Cellulose Binding Domain, CBD) 吸附到木质纤维素底物上^[6,7], 同时纤维素酶催化区域 (Catalytic Domain, CD) 作用于糖苷键, 促使糖苷键断裂, 低聚糖从纤维素链上断裂下来, 分散到溶液中, 溶液中的各种纤维素酶最终促使低聚糖转变为可溶性单糖^[8]。

基于纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附是可逆的单分子层吸附; 纤维素酶分子之间无相互作用; 木质纤维素上纤维素酶可以作用的活性位置都是相同的假设下, Langmuir 等温吸附方程被广泛应用于木质纤维素底物对纤维素酶吸附过程的描述^[8-13]。Langmuir 等温吸附公式具体如下:

$$\Gamma = \frac{\Gamma_{\max} KC}{1 + KC}$$

其中 C 是溶液中未被木质纤维素底物吸附的游离纤维素酶的量 (mg/mL), Γ 是底物吸附的纤维素酶的量 (mg/g 底物), Γ_{\max} 是底物吸附纤维素酶的最大值 (mg/g 底物), K 是 Langmuir 吸附常数 (mL/mg 蛋白质)。为了防止木质纤维素底物被酶解, Lang-

作者简介: 王钱钱, 男, 助理研究员, 博士, 主要从事生物质能源与材料的研究工作。

* 基金项目: 国家自然科学基金 (31300493); 农业部农村可再生能源开发利用重点实验室开放课题 (2013007); 制浆造纸科学与技术教育部重点实验室开放基金 (08031344); 江苏省生物质能与酶技术重点实验室开放基金 (JSBEET1305); 江苏大学高级专业人才科研启动基金 (13JDG018)。

muir 等温吸附实验通常在低温下进行^[14,19]。Langmuir 等温吸附公式能够很好的拟合纤维素酶在木质纤维素底物上吸附^[8,9,13-15]。

纤维素酶的吸附是一个复杂的物理化学过程,不仅与纤维素酶和木质纤维素底物本身的性质以及添加量密切相关,而且与吸附过程条件,如缓冲溶液的浓度、温度、pH 值、离子强度、是否添加表面活性剂或金属离子等密切相关。

1.1 底物化学成分及微观结构对纤维素酶吸附的影响

化学预处理有效的移除了生物质原料中的半纤维素、木素等成分^[16],改变了纤维结构^[17],增加了纤维素酶对木质纤维素底物的可及性。然而不同预处理方法的效果是不一样的,移除木素或半纤维素的相近的情况下,木质纤维素底物对纤维素酶的吸附差别仍然可能很大。化学成分完全相同的一组木质纤维素底物,经过不同条件的干燥,木质纤维素底物上的孔洞发生不同程度的塌陷,导致底物对纤维素酶的吸附差别很大^[18]。

纤维素和木素结构不同,对纤维素酶的吸附快慢也不同^[10,13]。研究表明,纤维素对纤维素酶的吸附较快,一般在一小时内可以达到吸附平衡;而木素对纤维素酶的吸附较慢,一般需要多个小时才能达到吸附平衡^[10]。通过提高木质纤维素预处理方法的效率,增加纤维素酶对木质纤维素底物的可及性^[19],可以提高酶解效率,降低酶解成本。

1.2 酶解液 pH 值、离子强度对纤维素酶吸附的影响

pH 发生改变后,纤维素酶或预处理后的木质纤维素底物所处的化学环境不同,导致纤维素酶的分子构象或者木质纤维素底物活性基团的结构发生改变,影响纤维素酶在底物上吸附。纤维素酶本身就是一类对 pH 敏感的氨基酸序列。当 pH 发生改变,由于电离平衡,纤维素酶上的 C 端上的羧基或 N 段上的氨基就会得到或失去质子,而 C 端或 N 端,往往是纤维素酶活性部位所处的位置^[20,21]。生物质原料经过高温、高压以及化学药品的预处理后,大量的木素和半纤维素被脱除,残余木素引入了各种活性基团,如羧基、磺酸基、酚羟基等^[22,23]。当 pH 发生改变,木质纤维素底物上的各种活性基团会失去质子或得到质子,使得纤维素酶可以作用的木质纤维素底物上的活性部位的结构发生改变。缓冲溶液的 pH 为 4~5 时,纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附较多^[15,24];高的 pH(如 pH=10)不利于纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附。

溶液的离子强度也对纤维素酶的吸附有重要的影响。各种离子会和纤维素酶竞争底物上可以作用的位置,抑或是通过影响纤维素酶化学构象影响吸附。研究表明,高的离子强度不利于纤维素酶在底物上吸附。

1.3 温度对纤维素酶吸附的影响

纤维素酶在木质纤维素底物上吸附是一个复杂的热力学过程,受热力学参数控制。吸附过程中,吉布斯自由能的变化可以用下面的公式表示^[10,25]:

$$\Delta G = -RT \ln K = \Delta H - T\Delta S$$

其中 ΔG 为吸附自由能变; K 为吸附平衡常数,可以通过 Langmuir 或 Freundlich 等温吸附方程得到; R 为理想气体常数 $8.314 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$; T 为热力学温度; ΔH 为吸附焓变; ΔS 为吸附熵变。

纤维素酶吸附过程中吉布斯自由能的变化一般在 $0 \sim -20 \text{ kJ/mol}$ 之间,表明纤维素酶在木质纤维素底物上吸附是自发的物理吸附^[10]。纤维素酶在不同的底物上吸附过程中吉布斯自由能的变化不同,表明生物质的预处理对纤维素酶的吸附有着重要的影响。纤维素酶和木质纤维素底物结合是一个放热过程 ($\Delta H < 0$),增加了纤维素酶和木质纤维素底物混合液的混乱度 ($\Delta H > 0$)。

1.4 表面活性剂、牛血清蛋白(BSA)以及金属离子对纤维素酶吸附的影响

预处理后的木质纤维素底物中含有大量的木质素,和纤维素相比,木质素对纤维素酶有更高的亲和力,造成大量纤维素酶的无效吸附,使得纤维素酶的效率降低。利用碱抽提等方法虽然可以进一步去除木质素,但是产生大量的废水需要处理。酶解过程中,添加表面活性剂^[26,27]、牛血清蛋白(BSA)^[28]或金属离子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等^[29,30],可以有效的减少木质纤维素酶在木质素上的无效吸附,增加酶解效率。和纤维素酶相比,表面活性剂、牛血清蛋白(BSA)或金属离子和底物中的木质素有更高的亲和力,通过各种共价键或离子作用,形成了复杂的木质素配合物,从而有效的阻止了纤维素酶与木质素的无效吸附,提高了纤维素酶的利用率。

2 纤维素酶的脱附

酶解结束时,底物中绝大部分纤维素已经降解成可溶性糖,底物的残余成分主要为木质素,吸附了大量的纤维素酶^[9,12,31]。木质素和纤维素酶有很高的亲和力,能否将纤维素酶与木质素分离成为纤维素酶循环利用的关键步骤。

纤维素酶从残余木素底物上脱附下来的过程中,不可避免的会有游离的纤维素酶重新吸附到底物上去。为了表征纤维素酶吸附和脱附的竞争关系,Wang 等人^[32]定义了纤维素酶在木质纤维素底物上的吸附/脱附竞争因子 γ :

$$\gamma = \frac{k_{on} \cdot s}{k_{off}}$$

其中 k_{on} 是纤维素酶吸附常数; k_{off} 是纤维素酶脱附常数; s 是木质纤维素底物上纤维素酶可作用的有效位置。

高的吸附/脱附竞争因子 γ , 有利于纤维素酶吸附到木质纤维素底物上, 造成纤维素酶脱附困难; 反之亦然, 低的吸附/脱附竞争因子 γ 会减少木质纤维素底物上纤维素酶的吸附量, 脱附相对容易。早期的研究发现一种源自 *Trichoderma reesei* 的纤维素外切酶在结晶纤维素上的吸附是完全可逆的^[33]。但是, 最近的一些研究表明源自的 *Thermobifida fusca* 纤维素酶在细菌纤维素上的吸附只是部分可逆^[34, 35]。

2.1 pH 对纤维素酶脱附的影响

缓冲溶液 pH 不仅影响纤维素酶的吸附, 而且对纤维素酶的脱附有着重要的影响^[15, 36]。pH 会改变木质纤维素的活性位置以及纤维素酶本身的空间构象。研究发现较低的 pH 适于纤维素酶的吸附; 而高的 pH 则有利于纤维素酶的脱附。缓冲溶液 pH 调整为 10 是使纤维素酶从酶解后残余的木质素上脱离下来最简单有效的方式^[37]。

Zhu^[27] 将脱附过程缓冲溶液的 pH 由 4.8 调整至 10, 有 56% 的吸附在稀酸预处理的玉米秆上的纤维素酶脱附下来; 61% 的纤维素酶从 Avicel 纤维素上的脱附下来。Wang 利用漂白桉木浆得出类似的结果^[32]。在脱附过程中, 缓冲溶液的 pH 从 3.2 调高至 7.2, 纤维素酶的脱附率从 16% 增加至 34%, 脱附率增加了一倍。值得注意的是洗脱液的 pH 必须保持在合理的范围内, 防止 pH 过高而使纤维素酶失活。

2.2 温度对纤维素酶脱附的影响

纤维素酶的脱附是一个受温度控制的热力学过程。温度升高会改变木质纤维素底物上纤维素酶作用的活性基团的空间位阻, 同时还可能改变纤维素酶的空间构象, 纤维素酶和残余木素之间的作用力减弱, 使得纤维素酶从木质纤维素底物表面游离出来。

在一定范围内, 温度的升高有利于纤维素酶的脱附。纤维素酶脱附的最佳温度大约为 45 ~ 50°C, 与纤维素酶最适宜的酶解温度接近^[24]。改变温度的过程中, 同样必须注意保持在合理范围内, 防止温度过

高, 纤维素酶变性失活。

Tu 通过响应面分析的方法优化了纤维素酶的脱附条件^[24]。升高温度, 促进了纤维素酶在残余木素上的脱附率。其他条件确定的情况下, 脱附温度由 25°C 增加至 50°C, 脱附下来的酶活从 0.29IU 增加至 0.649IU, 酶活增加了一倍; Wang 等得到类似的结果^[32], pH 值为 7.2 的醋酸缓冲溶液中, 脱附温度有 23°C 升至 50°C 纤维素酶的回收率从 33.8% 上升至 64.3%, 纤维素酶的回收率增加了将近一倍。

2.3 有机溶剂、表面活性剂、溶液离子强度等对纤维素酶脱附的影响

利用有机溶剂洗脱可以高效的回收吸附在木质纤维素底物上的纤维素酶。Rad 等人^[38]用 1:1(v/v) 甘油/乙醚混合液洗脱, 96% 的纤维素酶从 Avicel 纤维素上脱附下来; Zhu^[27] 利用 45% 的甘油或 72% 乙二醇, 分别约有 77% ~ 81% 的纤维素酶从 Avicel 纤维素底物上脱附下来, 有 74% ~ 76% 的纤维素酶从稀酸预处理的玉米秸秆上脱附下来。然而, 大量使用有机溶剂势必增加纤维素酶回收的成本。

无论是纤维素酶的吸附还是脱附过程, 都同时存在着纤维素酶吸附到底物上和纤维素酶从底物上脱附下来的动态过程。当纤维酶的吸附速度大于纤维素酶的脱附速度时, 在宏观上表现为吸附过程; 当纤维素酶脱附的速度大于吸附的速度的时候, 纤维素酶在宏观上为脱附过程。添加的表面活性剂通过与纤维素酶的竞争, 吸附到木质纤维素底物上, 不仅可以降低纤维素酶的无效吸附^[39], 同时还可以在很大程度上促进纤维素酶的脱附。Rad^[38], Otter^[26], Tu^[24] 和 Zhu^[27] 等人的研究均表明添加吐温 80 有助于纤维素酶从底物中脱附下来。

改变缓冲溶液的离子强度对纤维素酶脱附效果影响都不大。木质纤维素酶解过程中使用的缓冲溶液离子强度很低, 即便进一步降低离子强度, 也不能提高纤维素酶的回收率^[24]。

3 纤维素酶的重吸附

木质纤维素底物在酶解糖化结束时, 大约有 50% 左右的纤维素酶游离在水解液中^[10]。通过离心或过滤等方式可以很容易的将这部分纤维素酶与残余的底物分离。利用半透膜或者超滤等^[14]手段可以将滤液中的大分子纤维素酶和小分子可溶性糖分离。另外, 也可以往滤液中添加新鲜的木质纤维素底物吸附纤维素酶, 然后通过过滤的方式将吸附了纤维素酶的新鲜的木质纤维素底物与可溶性糖分离。这种通

过添加新鲜木质纤维素底物吸附游离纤维素酶的方法有两个缺点: 1, 木质纤维素底物不能完全吸附水解液中的纤维素酶。添加新鲜底物回收纤维素酶效率较低; 根据 Langmuir 等温吸附, 无论是往分离得到的水解液中添加新鲜底物还是酶解后残余底物中添加新鲜底物, 均不能完全回收酶解液里或残余底物上的纤维素酶, 造成和残余木质素结合在一起的纤维素酶的永久损失, 同时也会造成酶解体系中木素富集, 对纤维素的酶解糖化起到消极作用; 2, 添加新鲜木质纤维素底物的方法无法回收纤维素二糖酶, 这是因为纤维素二糖酶不能吸附到木质纤维素底物上。纤维素酶循环利用过程中, 必须不断的添加新鲜纤维素二糖酶。与利用半透膜或者超滤等方法相比, 添加新鲜木质纤维素底物的方式循环利用纤维素酶, 简单方便, 易于操作。

4 纤维素酶的循环利用

纤维素酶的循环利用流程 如图所示。木质纤维素底物酶解结束后, 通过过滤或者离心将酶解液体和固体残渣分离。酶解液体中含有大量的葡萄糖以及游离的纤维素酶, 包括一部分内切酶、外切酶以及全

部的葡萄糖二糖酶; 残余底物主要成分是木质素以及吸附在木质素上的纤维素酶。利用超滤, 可以将滤液中纤维素酶和糖分离。分离后的纤维素酶用于下一轮的酶解, 得到的可溶性糖直接用来发酵; 滤液中的纤维素酶也可以通过添加新鲜的木质纤维素吸附, 然后用过滤或离心的方式将新鲜的底物和可溶性糖分离。由于纤维素二糖酶不能吸附在木质纤维素底物上, 底物也不能完全吸附其他纤维素酶, 过滤的方式会使得部分纤维素酶特别是纤维素二糖酶不能有效的回收, 随可溶性糖进入滤液; 而超滤则可以回收所有的纤维素酶。分离得到的纤维素酶进入下一轮的酶解实验。对于第一步过滤或离心分离得到的吸附了纤维素酶的底物可以通过将其重新加到新鲜底物中进行下一轮酶解; 也可以通过脱附的方法, 使得吸附在残余底物上的纤维素酶游离下来, 然后通过过滤或者离心的方式将残余底物和滤液分离; 分离后的含有纤维素酶的滤液可以直接加入到下一轮的酶解实验中, 而酶解残渣被丢弃或者用于其他用途。根据纤维素二糖酶能否回用, 决定在下一轮酶解实验中是否添加新鲜的纤维素二糖酶, 完成纤维素酶循环利用的整个流程。

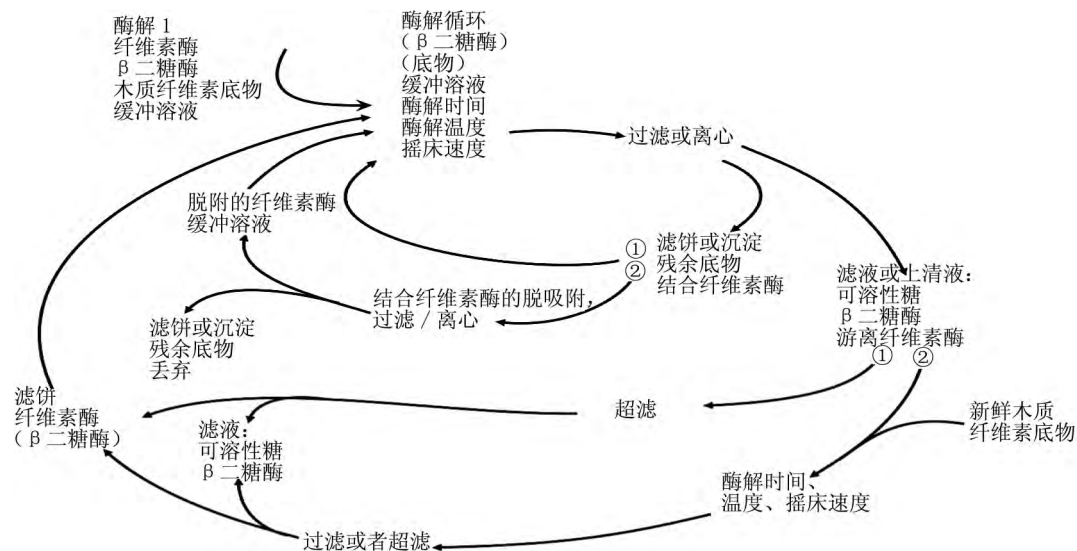


图 纤维素酶循环利用的示意图^[14, 24]

5 结论和展望

木质纤维素底物对纤维素酶的吸附是一个复杂的物理化学过程, 不仅与纤维素酶和底物本身的性质有关, 而且与其所处的化学环境密切相关。通过添加表面活性剂、牛血清蛋白或者金属离子可以有效的降低纤维素酶的无效吸附, 提高纤维素酶的利用效率。

酶解结束后, 仍有大量的纤维素酶吸附在残余木质素上。通过改变缓冲溶液的 pH 是回收纤维素酶的有效策略之一。脱附后游离下来的纤维素酶以及酶解结束后滤液中的纤维素酶可以通过添加新鲜木质纤维素底物的方法回收, 也可以采用超滤等方式分离。无论采用何种方式, 需要注意的是纤维素酶对温度、pH 等化学环境很敏感, 尽量避免纤维素酶的失活。

纤维素酶吸附、脱附以及回收过程中仍然存在很多问题。纤维素酶和纤维素、木素等的具体作用机制还不清楚。不同种类的纤维素酶对木质纤维素的亲和力的不同造成脱附下来的纤维素酶的成分与原始酶液的成分差别较大。和最佳配比的纤维素酶相比，回收的纤维素酶的酶活性相对较低。

随着科学的发展和技术的进步，纤维素酶的循环利用一定可以促使木质纤维素酶解糖化成本的降低，生物质能源的成本也势必大大下降。

参考文献

- [1] Wyman C. E. Twenty years of trials, tribulations, and research progress in bioethanol technology [J]. *Appl Biochem Biotech*, 2001, 91(1): 5-21.
- [2] Kim S., Dale B. E. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2004, 26(4): 361-375.
- [3] Saha B. C., Iten L. B., Cotta M. A., et al. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol [J]. *Process Biochem*, 2005, 40(12): 3693-3700.
- [4] Walker L. P., Wilson D. B. Enzymatic hydrolysis of cellulose: an overview [J]. *Bioresource Technol*, 1991, 36(1): 3-14.
- [5] Sun Y., Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review [J]. *Bioresource Technol*, 2002, 83(1): 1-11.
- [6] Irwin D. C., Spezio M., Walker L. P., et al. Activity studies of eight purified cellulases: specificity, synergism, and binding domain effects [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1993, 42(8): 1002-1013.
- [7] Din N., Gilkes N. R., Tekant B., et al. Non-hydrolytic disruption of cellulose fibres by the binding domain of a bacterial cellulase [J]. *Nat Biotechnol*, 1991, 9(11): 1096-1099.
- [8] Zhang Y. H., Lynd L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2004, 88(7): 797-824.
- [9] Lu Y., Yang B., Gregg D., et al. Cellulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues [J]. *Appl Biochem Biotech*, 2002, 98(1): 641-654.
- [10] Tu M., Pan X., Saddler J. N. Adsorption of cellulase on cellulosic enzyme lignin from lodgepole pine [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(17): 7771-7778.
- [11] Tu M., Chandra R. P., Saddler J. N. Recycling cellulases during the hydrolysis of steam exploded and ethanol pretreated Lodgepole pine [J]. *Biotechnol Prog*, 2007, 23(5): 1130-1137.
- [12] Tu M., Chandra R. P., Saddler J. N. Evaluating the distribution of cellulases and the recycling of free cellulases during the hydrolysis of lignocellulosic substrates [J]. *Biotechnol Prog*, 2007, 23(2): 398-406.
- [13] Ooshima H., Burns D. S., Converse A. O. Adsorption of cellulase from *Trichoderma reesei* on cellulose and lignocellulosic residue in wood pretreated by dilute sulfuric acid with explosive decompression [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1990, 36(5): 446-452.
- [14] Qi B., Chen X., Su Y., et al. Enzyme adsorption and recycling during hydrolysis of wheat straw lignocellulose [J]. *Bioresource Technol*, 2011, 102(3): 2881-2889.
- [15] Du R., Su R., Li X., et al. Controlled adsorption of cellulase onto pretreated corncob by pH adjustment [J]. *Cellulose*, 2012, 19(2): 371-380.
- [16] Ohgren K., Bura R., Saddler J., et al. Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover [J]. *Bioresource Technol*, 2007, 98(13): 2503-2510.
- [17] Kristensen J. B., Thygesen L. G., Felby C., et al. Cell-wall structural changes in wheat straw pretreated for bioethanol production [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2008, 1(5): 1-9.
- [18] Wang Q. Q., He Z., Zhu Z., et al. Evaluations of cellulose accessibilities of lignocelluloses by solute exclusion and protein adsorption techniques [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109(2): 381-389.
- [19] Rollin J. A., Zhu Z., Sathitsuksanoh N., et al. Increasing cellulose accessibility is more important than removing lignin: A comparison of cellulose solvent-based lignocellulose fractionation and soaking in aqueous ammonia [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2011, 108(1): 22-30.
- [20] Yan B. X., Sun Y. Q. Circular Dichroism Studies on Conformation of Cellobiohydrolase and Endoglucanase from *Trichoderma pseudokoningii* S-38: Effects of pH and Ligand Binding [J]. *J Protein Chem*, 1997, 16(2): 107-111.
- [21] Pingali S. V., O'Neill H. M., McGaughey J., et al. Small angle neutron scattering reveals pH-dependent conformational changes in *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase I: implications for enzymatic activity [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(37): 32801-32809.
- [22] Zhu J. Y., Pan X. J., Wang G. S., et al. Sulfite Pretreatment (SPORL) for Robust Enzymatic Saccharification of Spruce and Red Pine [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(8): 2411-2418.
- [23] Tarkow H., Feist W. C. A mechanism for improving the digestibility of lignocellulosic materials with dilute alkali and liquid ammonia [J]. *Adv Chem Ser*, 1969, 95(1): 197-218.
- [24] Tu M., Zhang X., Paice M., et al. The potential of enzyme recycling during the hydrolysis of a mixed softwood feedstock [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(24): 6407-6415.
- [25] Kim D., Hong Y. Ionic strength effect on adsorption of cellobiohydrolases I and II on microcrystalline cellulose [J]. *Biotechnol Lett*, 2000, 22(16): 1337-1342.
- [26] Otter D. E., Munro P. A., Scott G. K., et al. Desorption of *Trichoderma reesei* cellulase from cellulose by a range of desorbents [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1989, 34(3): 291-298.
- [27] Zhu Z., Sathitsuksanoh N., Zhang Y. H. Direct quantitative determination of adsorbed cellulase on lignocellulosic biomass with its application to study cellulase desorption for potential recycling [J]. *Analyst*, 2009, 134(11): 2267-2272.
- [28] Yang B., Wyman C. E. BSA treatment to enhance enzymatic hy-

- drolysis of cellulose in lignin containing substrates [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2006, 94(4): 611–617.
- [29] Liu H., Zhu J. Y., Fu S. Effects of lignin – metal complexation on enzymatic hydrolysis of cellulose [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(12): 7233–7238.
- [30] Liu H., Zhu J. Y. Eliminating inhibition of enzymatic hydrolysis by lignosulfonate in unwashed sulfite – pretreated aspen using metal salts [J]. *Bioresource Technol*, 2010, 101(23): 9120–9127.
- [31] Girard D. J., Converse A. O. Recovery of cellulase from lignocellulosic hydrolysis residue [J]. *Appl Biochem Biotech*, 1993, 39(1): 521–533.
- [32] Wang Q. Q., Zhu J. Y., Hunt C. G., et al. Kinetics of adsorption, desorption, and re – adsorption of a commercial endoglucanase in lignocellulosic suspensions [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109(8): 1965–1975.
- [33] Linder M., Teeri T. T. The cellulose – binding domain of the major cellobiohydrolase of *Trichoderma reesei* exhibits true reversibility and a high exchange rate on crystalline cellulose [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(22): 12251–12255.
- [34] Jung H., Wilson D. B., Walker L. P. Binding and reversibility of *Thermobifida fusca* Cel5A, Cel6B, and Cel48A and their respective catalytic domains to bacterial microcrystalline cellulose [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 84(2): 151–159.
- [35] Moran – Mirabal J. M., Bolewski J. C., Walker L. P. Reversibility and binding kinetics of *Thermobifida fusca* cellulases studied through fluorescence recovery after photobleaching microscopy [J]. *Biophys Chem*, 2011, 155(1): 20–28.
- [36] Otter D., Munro P., Scott G., et al. Elution of *Trichoderma reesei* cellulase from cellulose by pH adjustment with sodium hydroxide [J]. *Biotechnol Lett*, 1984, 6(6): 369–374.
- [37] Rodrigues A. C., Leitão A. F., Moreira S., et al. Recycling of cellulases in lignocellulosic hydrolysates using alkaline elution [J]. *Bioresource Technol*, 2012, 110(8): 526–533.
- [38] Rad B. L., Yazdanparast R. Desorption of the cellulase systems of *Trichoderma reesei* and a *Botrytis* sp. from Avicel [J]. *Biotechnol Tech*, 1998, 12(9): 693–696.
- [39] Seo D. J., Fujita H., Sakoda A. Effects of a non – ionic surfactant, Tween20, on adsorption/desorption of saccharification enzymes onto/from lignocelluloses and saccharification rate [J]. *Adsorption*, 2011, 17(5): 813–822.

Cellulase Adsorption-desorption Behavior onto/from Lignocellulosic Substrates and Potential Recycling

Wang Qian-qian^{1 2 3} Zhan Huai-yu² Sun Jian-zhong¹ Wang Zhi-gang⁴

(1 Biofuels Institute, School of the Environment, Jiangsu University, Zhenjiang 212013 Jiangsu, China; 2. State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China; 3. Key Laboratory of Development and Application of Rural Renewable Energy, Ministry of Agriculture, Chengdu 610041 Sichuan, China; 4. Huatai Paper Group Co. Ltd, Dongying 257335 Shandong, China)

Abstract: Adsorption of cellulase onto lignocellulosic substrates is a complex physical and chemical process. It was not only closely related to cellulase and substrate self, but also related to the parameters during enzymatic hydrolysis, such as buffer concentration, pH, ionic strength, temperature and surfactants. A large part of cellulase was still attached to residual substrate at the end of saccharification. Recycling of adsorbed cellulase on residual substrate could be one of the most promising strategies for cost reduction. Factors which may affect cellulase adsorption could also play important roles on cellulase desorption. This article reviews different parameters that affect cellulase adsorption and desorption and also summarizes state of the art technology for enzyme recycling. This review also gives a schematic diagram for cellulase recycling.

Key words: cellulase; adsorption and desorption competition parameter; cellulase recycling

信息

2014 国际造纸技术报告会将于 9 月 4 日举办

由中国造纸学会和中国造纸研究院共同主办的“2014 国际造纸技术报告会”将于 2014 年 9 月 4 日举办。芬兰造纸工程师协会已确定合作举办报告会。届时，芬兰造纸工程师协会将批邀请国际知名专家就造纸行业热点问题或前沿技术进行演讲和交流。

(摘自《造纸信息》2014 第 5 期)