

樟绒枝霉(*Malbranchea cinnamomea*)固体发酵 产木聚糖酶的发酵条件优化

严焱¹ 杨绍青¹ 范光森¹ 闫巧娟² 江正强^{1*}

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院 北京 100083)

(2. 中国农业大学 工学院 北京 100083)

摘 要: 【目的】研究樟绒枝霉(*Malbranchea cinnamomea*) CAU521 利用农业废弃物固体发酵产木聚糖酶的发酵条件。【方法】采用单因素试验法优化影响菌株产酶的各个条件, 包括碳源种类、氮源种类、初始 pH、初始水分含量、培养温度及发酵时间共 6 个因素。【结果】获得的最佳产酶条件为: 稻草为发酵碳源、2% (W/W) 的酵母提取物为氮源、初始 pH 7.0、初始水分含量 80% 和发酵温度 45 °C。在此条件下发酵 6 d 后木聚糖酶的酶活力达到 13 120 U/g 干基碳源。【结论】樟绒枝霉固体发酵产木聚糖酶的产酶水平高, 生产成本低, 具有潜在的工业化应用前景。

关键词: 樟绒枝霉, 木聚糖酶, 固体发酵, 稻草

Optimization of xylanase production from *Malbranchea cinnamomea* by solid state fermentation

YAN Ye¹ YANG Shao-Qing¹ FAN Guang-Sen¹ YAN Qiao-Juan²
JIANG Zheng-Qiang^{1*}

(1. College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University,
Beijing 100083, China)

(2. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] We optimized xylanase production from *Malbranchea cinnamomea*

*通讯作者: Tel: 86-10-62737689; ✉: zhqjiang@cau.edu.cn

收稿日期: 2012-09-21; 接受日期: 2012-12-12

CAU521 by solid state fermentation (SSF) with agricultural wastes as carbon source. **[Methods]** Single-factor experiment was used to optimize various factors affecting the enzyme production. There are six factors which include carbon source, nitrogen source, initial pH, initial moisture content, temperature and fermentation time were investigated. **[Results]** The optimum conditions for xylanase production were as follows: rice straw as carbon source, 2% (W/W) yeast extract as nitrogen source, the ratio of solid substrate to mineral solution of 1:4 (W/W), the initial pH of 7.0, and incubation temperature of 45 °C. Under the optimized conditions, the highest xylanase production of 13 120 U/g dry carbon source was achieved after 6 days of cultivation. **[Conclusion]** The high-level xylanase production and low production cost may facilitate industrial scale enzyme application.

Keywords: *Malbranchea cinnamomea*, Xylanase, Solid state fermentation, Rice straw

木聚糖是植物半纤维素的主要组分之一,是自然界中除纤维素外含量最丰富的非淀粉类多糖,其主链由 β -吡喃木糖通过 β -D-1,4 木糖苷键连接形成杂合多聚分子^[1]。木聚糖酶(Xylanase, EC3.2.1.8)是一类可将木聚糖分解为木寡糖和木糖的水解酶,在半纤维素的生物转化过程中发挥着重要的作用。由于其在食品、饲料、纺织与造纸等行业中表现出了重要的应用价值和广泛的应用潜力,近年来已成为水解酶研究的热点之一^[2]。

木聚糖酶主要由微生物发酵产生,培养方式包括液体发酵和固体发酵两种。固体发酵可利用价格低廉、来源广泛、半纤维素含量高的玉米芯、稻草、麦秆等农业废弃物作为发酵碳源,生产成本低,且提取工艺简单,因此具有较大的发展潜力^[3]。迄今,已有许多关于固体发酵生产木聚糖酶的研究报道,且生产菌株多为丝状真菌。国内已报道的菌株主要有黑曲霉(*Aspergillus niger*)^[4]、嗜热棉毛菌(*Thermomyces lanuginosus*)^[5]、嗜热拟青霉(*Paecilomyces thermophila*)^[6]、毛壳霉(*Chaetomium* sp.)^[7]、木霉(*Trichoderma*)^[8]、嗜热侧孢霉(*Thermophilic sporotrichum*)^[9]和嗜热子囊菌(*Thermoascus aurantiacus*)^[10]等。其中以嗜热子

囊菌固体发酵产木聚糖酶的活力最高,达到 27 952 U/g 干基碳源^[11]。国际上也有许多真菌固体发酵产木聚糖的相关研究报道。例如,Sharma 等^[11]利用 *Malbranchea flava* 固体发酵产酶,酶活力达到 15 000 U/g 干基碳源。Sonia 等^[12]以高粱秆作为碳源,采用固体发酵的方式培养嗜热棉毛菌 D₂W₃ 产木聚糖酶,酶活力最高达到 48 000 U/g 干基碳源,为目前国际上已报道的固体发酵产木聚糖酶的最高水平。

国内外关于畸枝霉属菌株发酵产木聚糖酶的研究较少,目前尚未见到畸枝霉属樟绒枝霉菌株固体发酵产木聚糖酶的研究报道。本研究室前期从土壤中筛选获得一株高产木聚糖酶的樟绒枝霉(*Malbranchea cinnamomea*) CAU521 菌株。在此基础上,本文进一步优化该菌株利用农业废料固体发酵产木聚糖酶的发酵条件,为其工业化生产和应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

Power Pac Basic TM 电泳仪, Bio-Rad 公司; LRH 恒温恒湿培养箱, 广东省医疗器械厂; TU-1800PC 紫外-可见分光光度计, 北京普析通

用仪器设备有限责任公司; GL-20B 高速冷冻离心机, 上海安亭科技仪器厂; 桦木木聚糖为美国 Sigma 公司产品。胰蛋白胨、酵母提取物购于英国 Oxoid 公司; 玉米苞皮、大麦、蔗皮、麦麸、稻壳、玉米芯、白酒酒糟、花生壳、小麦杆等农业废弃物采集自北京周边地区; 其他试剂如无特殊说明均为国产分析纯。

1.2 菌种及孢子悬液制备

樟 绒 枝 霉 (*Malbranchea cinnamomea*) CAU521 由中国农业大学食品科学与营养工程学院酶工程实验室筛选并保存。菌株接种于 PYE (Phytone yeast extract agar, PYE)斜面培养基上, 50 °C 培养 4 d 后保存于 4 °C 待用。PYE 的组成(g/L): 大豆蛋白胨 10.0, 酵母提取物 5.0, 葡萄糖 40.0, 琼脂 17.0, pH 6.6。

樟绒枝霉 CAU521 在 PYE 平板上培养 4 d 待孢子完全萌发后, 加入 10 mL 无菌水, 用灭菌接种环轻刮培养基表面, 制成孢子悬液, 混匀后用血球板计数器计算孢子浓度, 然后以无菌水调整孢子浓度至 10^6 个/mL。

1.3 固体发酵产酶及酶液提取

取 5 g 烘干的碳源装于 250 mL 三角瓶中, 加入 20 mL 营养盐溶液(初始水分含量为 80%), 用玻璃棒搅拌均匀后于 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。待培养基冷却至室温后接种 1.0 mL 孢子悬液(10^6 个/mL), 混匀后置于 50 °C 培养箱中静置培养 4 d。营养盐溶液的组成为(g/L): KH_2PO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, CaCl_2 0.5, NaCl 2.5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.0 (有效氮素量为 0.2%), 调节 pH 为 6.0 (确定最适初始 pH 时需根据需要调节)。

粗酶液的提取: 发酵结束后按 10 mL/g 干基往发酵基质中加入 50 mmol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液, 30 °C、180 r/min 振荡提取 2 h, 然后在 10 000 r/min 条件下冷冻离心 10 min, 收集上清液即为木聚糖酶粗酶液。

1.4 固体发酵产酶条件的优化

采用单因素试验法优化樟绒枝霉 CAU521 最佳固体发酵产酶条件。在 1.3 中的发酵条件下, 首先选取不同碳源以考察碳源对菌株发酵产酶的影响。接着在最优碳源的基础上通过改变氮源种类、水分含量、培养基初始 pH、培养温度以及表面活性剂等, 分别考察相应因素对菌株产酶的影响。最后, 在最佳培养基组成和培养条件下发酵产酶, 每天取样测定木聚糖酶活力和蛋白含量, 分析产酶历程。

1.5 木聚糖酶酶活力及蛋白含量的测定

木聚糖酶酶活力的测定采用 DNS 法^[13]: 0.1 mL 适当稀释的酶液, 加入到 0.9 mL 1%桦木木聚糖底物溶液(50 mmol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液配制)中, 60 °C 反应 10 min 后用 DNS 法测定所得的还原糖量, 同时以木糖作为标准。木聚糖酶的活力单位(U)定义为在上述反应条件下, 每分钟反应生成 1 μmol 木糖所需的酶量。蛋白质含量测定参照 Lowry 等^[14]的方法, 以牛血清蛋白作为标准蛋白绘制标准曲线。

1.6 聚丙烯凝胶电泳(SDS-PAGE)及酶谱

SDS-PAGE 参照 Laemmli 的方法^[15]。分离胶浓度为 12.5%, 浓缩胶浓度为 4.5%。考马斯亮蓝 R-250 染色显示蛋白条带。木聚糖酶谱参照杨绍青等^[6]的方法。

2 结果与分析

2.1 碳源对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶的影响

樟绒枝霉 CAU521 利用单一碳源固体发酵产木聚糖酶结果如图 1 所示。稻草作为碳源时产木聚糖酶水平最高, 酶活力达到 2 610 U/g 干基碳源, 其次为麦麸(1 951 U/g 干基碳源)、小麦杆(1 889 U/g 干基碳源)和大麦(1 480 U/g 干基碳源), 其它几种纤维质材料作为单一碳源时, 木聚糖酶

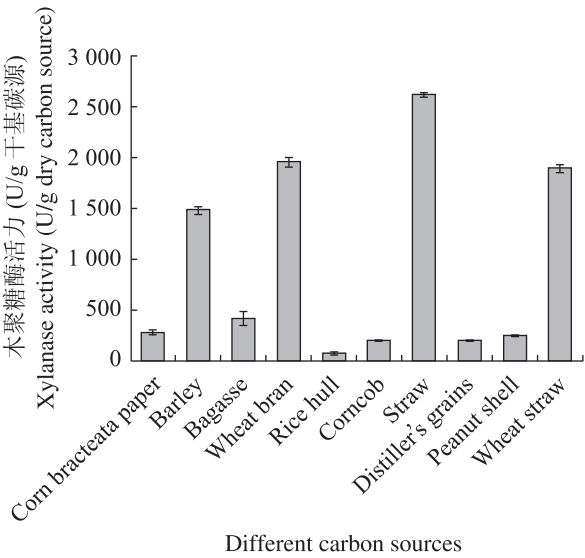


图 1 不同碳源对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶活力的影响

Fig. 1 Effect of carbon sources on xylanase production from *M. cinnamomea* CAU521 by SSF

活力均低于 500 U/g 干基碳源。因此选择稻草作为固体发酵产酶的最佳碳源。稻草的粒径大小对菌株产酶也有较大的影响。当将稻草颗粒筛分为不同粒径组分(>0.9, 0.45–0.9, 0.3–0.45, <0.18)时, 菌株发酵所产木聚糖酶的活力随着稻草粒径的减小而增加, 酶活力处于 2 112–3 413 U/g 干基碳源之间。但当直接采用未细分的粒径小于 0.9 mm 的混合稻草作为发酵碳源时, 木聚糖酶活力最高达到 3 853 U/g。所以选择粒径小于 0.9 mm 的稻草作为发酵碳源。

碳源是微生物生长所需碳素的主要来源, 而微生物对碳物质的利用具有选择性, 因此, 碳源的种类对微生物发酵产木聚糖酶的产量和类型具有重要的影响。天然生物质材料中含有丰富的半纤维素成分, 可作为微生物生长的良好基质, 为微生物生长提供所需的碳素。此外, 纤维质材料中还含有其它丰富的营养成分, 能为微生物生长供给所需的部分生长因子。本研究中, 樟绒枝霉 CAU521 可利用稻草作为单一碳源固体发酵高产木聚糖酶, 同时对其它农业废弃物也有一

定的利用能力。采用粒径小于 0.9 mm 的混合稻草作为碳源时木聚糖酶活力得到显著提高, 主要原因可能是其中大颗粒稻草可提高物料的通气性和散热性, 使菌丝体更容易直接深入固体碳源基质中, 使物料被充分利用, 从而提高酶的分泌量^[16]。

2.2 氮源对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶的影响

以稻草作为碳源, 添加不同种类氮源(氮素含量均为 0.2%)以考察其对樟绒枝霉 CAU521 产酶的影响。结果表明, 当以酵母提取物作为单一氮源时, 木聚糖酶活力明显高于其它氮源(表 1)。接着优化了最佳氮源酵母提取物的用量, 结果表明, 酵母提取物的添加量为 2% (有效氮素量为 0.2%)时, 樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶活力最高, 达到 4 668 U/g 干基碳源。因此, 确定 2% 的酵母提取物为最佳氮源及用量。

木聚糖酶的合成同时受诱导物和酶蛋白前体的调控, 酶诱导物主要是可被利用的碳源, 而酶蛋白前体主要来自于氮源, 因此氮源的种类也会影响酶的合成与分泌^[17]。研究发现, 有机氮源更有利于樟绒枝霉 CAU521 固体发酵分泌木聚糖酶, 这与其它一些真菌固体发酵产木聚糖酶的研究报道结果相似^[7], 但与范光森等^[5]报道嗜热棉

表 1 不同氮源对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶活力的影响	
Table 1 Effect of nitrogen source on xylanase production from <i>M. cinnamomea</i> CAU521 by SSF	
氮源种类	木聚糖酶活力
Nitrogen source	Xylanase activity (U/g)
Ammonium sulfate	3 853±226
Urea	802±25
Ammonium nitrate	3 800±151
Tryptone	3 398±195
Yeast extract	4 668±176
Peptone	3 463±176
Corn steep liquor	1 919±125

毛菌固体发酵产酶结果相反,嗜热棉毛霉发酵产酶的最佳氮源为硫酸铵。

2.3 初始水分含量及 pH 对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产酶的影响

固体发酵培养基中初始水分含量对樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶的结果也有较明显的影响。当培养基中初始水分含量为 80% 时,该菌株产木聚糖酶活力最高(4 668 U/g);而当初始水分含量增加至 83.3% 或降低至 75% 时,樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶活力分别急剧下降至 2 859 U/g 干基碳源和 2 896 U/g 干基碳源。因此,选择 80% 的初始含量作为最佳的培养基含水量。固体发酵产酶的过程中,培养基中初始水分含量是影响微生物产酶的关键因素之一。本研究中培养基初始水分含量为 80% 时更有利于樟绒枝霉 CAU521 胞外木聚糖酶的分泌,过高或过低的水分含量均不利于发酵产酶,这可能是由于过低的含水量不能满足菌丝体的生长需求,而过高的含水量又会降低培养体系中氧气的容量,从而抑制菌丝体的生长和代谢产物的分泌。这一结果与其它相关的研究报道一致^[5,7,10]。

培养基初始 pH 对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶的影响见图 2。当初始 pH 为 7.0 时,樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶的酶活力最高(6 256 U/g 干基碳源),当初始 pH 降低或升高至 6.0 和 8.0 时,菌株所产木聚糖酶活力均有所下降(4 989 U/g 干基碳源和 4 606 U/g 干基碳源),说明该菌株在初始 pH 中性条件下培养时更有利于木聚糖酶的合成代谢。培养基的 pH 不仅影响细胞膜所带的电荷及细胞对营养物质的利用,而且可以改变培养基中有机化合物的离子化作用程度,从而可能促进或抑制微生物的生长和代谢^[17]。

2.4 发酵温度及表面活性剂对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶的影响

培养温度对樟绒枝霉固体发酵产木聚糖酶的

影响如图 3 所示。当发酵温度为 45 °C 时,樟绒枝霉产木聚糖酶活力最高(8 276 U/g 干基碳源),而在 40 °C 和 50 °C 培养时,菌株产木聚糖酶活力明显下降,均小于最高值的 80%。另外,在以上优化条件下,考察了表面活性剂对菌株产酶的影响。试验结果表明,不同表面活性剂(Tween 20、40、60、80, Triton X100)的添加对菌株固体发酵产木聚糖酶均具有一定程度的抑制作用(数据未列出)。

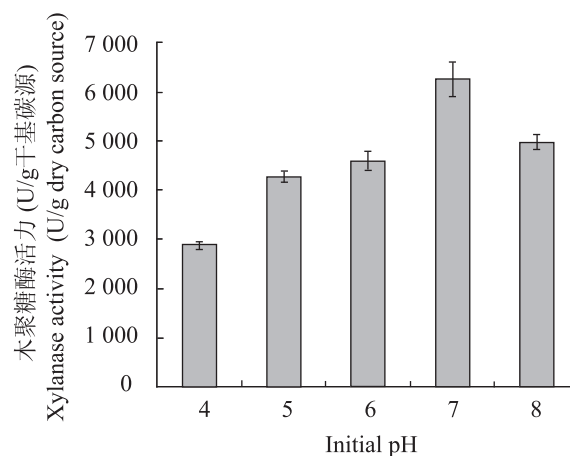


图 2 初始 pH 对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶活力的影响

Fig. 2 Effect of initial pH on xylanase production from *M. cinnamomea* CAU521 by SSF

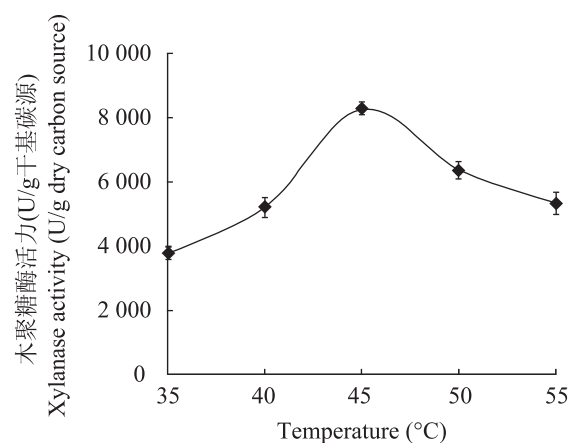


图 3 培养温度对樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶活力的影响

Fig. 3 Effect of temperature on xylanase production from *M. cinnamomea* CAU521 by SSF

2.5 樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产酶曲线及电泳酶谱分析

固体发酵时间对樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶活力及蛋白量的影响见图 4。发酵第 1-2 天, 菌株分泌的木聚糖酶量较少, 从第 3 天开始木聚糖酶的分泌量开始急剧增加, 到第 6 天时木聚糖酶的分泌量达到最高, 此时酶活力为 13 120 U/g 干基碳源, 第 7 天时酶活力开始缓慢下降。从樟绒枝霉 CAU521 的产酶历程(图 4)可以看出, 发酵各阶段木聚糖酶活力的变化趋势与蛋白分泌量变化趋势相近, 在第 6 天时蛋白量达到最大值 48.7 mg/g 干基碳源。第 6 天后木聚糖酶活力和蛋白量均开始下降, 可能是由于此时发酵底物或者其它一些樟绒枝霉生长所需的生长素已经耗尽, 不再适合菌株生长和代谢产酶。

樟绒枝霉 CAU521 利用稻草作为单一碳源进行固体发酵产胞外蛋白的 SDS-PAGE 和木聚糖酶谱如图 5 所示。该樟绒枝霉所产胞外蛋白主要有 3 条主带(25、30 和 60 kD)。酶谱显示其中分子量约为 25 kD 和 30 kD 的两条蛋白带对应的蛋白具有木聚糖酶活力。此外, 在 30-40 kD 分子量范围

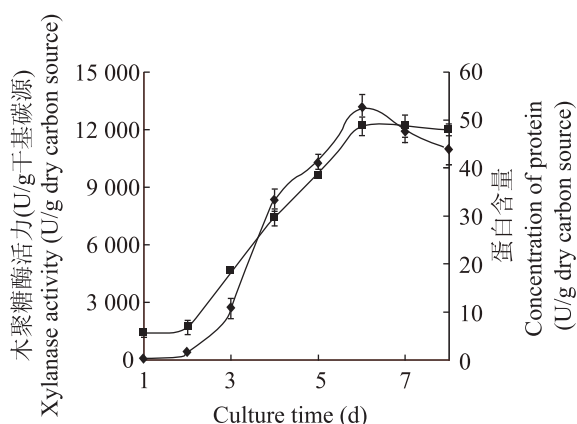


图 4 培养时间对樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶活力及蛋白含量的影响

Fig. 4 Effect of culture time on xylanase and protein production from *M. cinnamomea* CAU521 by SSF

注: ◆: 木聚糖酶活力; ■: 蛋白含量。

Note: ◆: Enzyme activity; ■: Protein content.

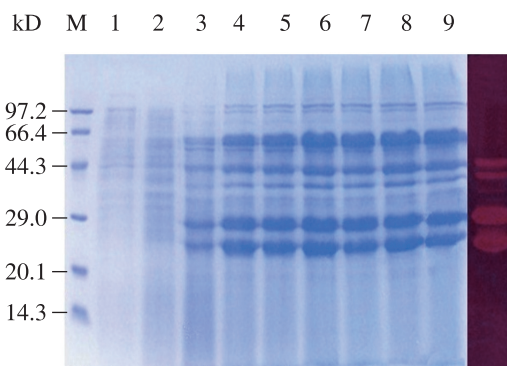


图 5 樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶 SDS-PAGE 及木聚糖酶酶谱

Fig. 5 SDS-PAGE and zymogram of xylanases from *M. cinnamomea* CAU521 by SSF

注: M: 低分子量标准蛋白; 1-9: 发酵时间(d).

Note: M: Low molecular weight standard proteins; 1-9: Fermentation time (d).

内还存在另外 3 条蛋白带具有木聚糖酶活力。酶谱结果显示本研究中的樟绒枝霉 CAU521 固体发酵过程中分泌了 6 种不同分子量的木聚糖酶, 分子量分布在 25-60 kD 之间, 与同属菌株 *Malbranchea flava* 木聚糖酶的分泌情况差异较大, *M. flava* 主要产两种木聚糖酶, 分子量分别为 25 kD 和 30 kD^[11]。

国内外已有关于畸枝霉属菌株产木聚糖酶的研究报道, 但主要以液体发酵方式为主, 且集中于木聚糖酶的分离纯化和酶学性质研究^[11,18-19], 关于其采用固体发酵方式产酶的研究报道相对较少, 仅见 Sharma 等^[11]研究了 *M. flava* 固体发酵产木聚糖酶的情况。目前尚无樟绒枝霉产木聚糖酶的研究报道。本研究首次报道了樟绒枝霉 CAU521 固体发酵产木聚糖酶的情况, 该菌株最高产酶量达到 13 116 U/g 干基碳源, 与同属菌株 *M. flava* 的产酶量较为接近(15 000 U/g 干基碳源^[11])。该菌株产酶水平与以已报道的其它真菌固体发酵产酶比较处于中等偏上的水平(表 2), 低于嗜热子囊菌^[10]、嗜热棉毛菌^[5,12]和嗜热拟青霉^[6]的产酶量, 但明显高于其它菌株的产酶量, 如黑曲霉 A3^[4]、毛壳霉 CQ31^[7]和木霉 RS30^[8]等。

表 2 部分真菌固体发酵产木聚糖酶情况
Table 2 Xylanase production of a few major fungi using solid state fermentation

氮源种类 Nitrogen source	木聚糖酶活力 Xylanase activity (U/g)	参考文献 References
<i>Aspergillus niger</i> A3	5 147.0	[4]
<i>Chaetomium</i> sp. CQ31	4 897.0	[7]
<i>Malbranchea cinnamomea</i>	13 116.0	本研究
<i>Malbranchea flava</i>	15 000.0	[11]
<i>Paecilomyces thermophila</i> J18	18 580.0	[6]
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	27 952.0	[10]
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	15 023.0, 20 343.0, 48 000.0	[5,12]
<i>Thermophilic sporotrichum</i>	5 632.2	[9]
<i>Trichoderma</i> RS30	3 247.0	[8]

影响木聚糖酶大规模工业化生产和应用的关键因素是酶的产量和生产成本。本研究采用固体发酵方式发酵樟绒枝霉 CAU521 产木聚糖酶, 酶产量达到目前国内较高的水平, 成为为数不多的酶活力达到 10 000 U/g 干基碳源以上的菌株之一, 且所产胞外蛋白主要为木聚糖酶, 含有 6 种不同分子量的木聚糖酶, 所含其它杂蛋白很少; 另外, 由于本研究中固体发酵采用的碳源主要原料是纤维质材料, 生产成本低。因此, 综合考虑酶的产量和生产成本, 采用樟绒枝霉 CAU521 作为发酵菌株, 利用固体发酵方式生产木聚糖酶非常适合用于木聚糖酶的工业化生产。

3 结论

研究发现樟绒枝霉 CAU521 可固体发酵高产木聚糖酶。在最佳发酵条件下静置培养 6 d, 木聚糖酶产量最高, 酶活力达到 13 116 U/g 干基碳源, 且所产木聚糖酶含有至少 6 种不同分子量的木聚糖酶组分。较高的产酶量和较低的生产成本使其具有重要的工业生产和实际应用价值。

参 考 文 献

[1] Shallom D, Shoham Y. Microbial hemicellulases[J].

Current Opinion in Microbiology, 2003, 6(3): 219-228.
[2] Butt MS, Tahir NM, Ahmad Z, et al. Xylanases and their applications in baking industry[J]. Food Technology and Biotechnology, 2008, 46: 22-31.
[3] Pandey A, Carlos RS, Mitchell D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products[J]. Process Biochemistry, 2000, 35(10): 1153-1169.
[4] 蔡敬民, 吴克, 张洁, 等. 黑曲霉 A3 木聚糖酶固体发酵研究[J]. 工业微生物, 1997(2): 1-4.
[5] 范光森, 杨绍青, 闫巧娟, 等. 嗜热棉毛菌固体发酵产木聚糖酶条件的优化[J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 219-224.
[6] 杨绍青, 闫巧娟, 江正强, 等. 嗜热拟青霉固体发酵产木聚糖酶条件的优化[J]. 微生物学通报, 2006, 33(3): 1-6.
[7] 丛倩千, 江正强, 吕顺意. 毛壳霉 CQ31 的鉴定及固体发酵产木聚糖酶条件的优化[J]. 微生物学通报, 2009, 36(8): 1269-1274.
[8] 李文孝, 马齐, 张强, 等. 木霉 RS30 固体发酵产木聚糖酶条件研究[J]. 中国酿造, 2011(4): 46-48.
[9] 张辉, 孙占斌, 桑青. 嗜热侧孢霉固体发酵产木聚糖酶条件研究[J]. 中国酿造, 2010(2): 59-61.
[10] 庞宗文, 郭法谋, 徐勇, 等. 高产木聚糖酶嗜热

- 子囊菌固体发酵条件与酶学性质[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 170–173, 236.
- [11] Sharma M, Chadha BS, Saini HS. Purification and characterization of two thermostable xylanases from *Malbranchea flava* active under alkaline conditions[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22): 8834–8842.
- [12] Sonia KG, Chadha BS, Saini HS. Sorghum straw for xylanase hyper-production by *Thermomyces lanuginosus* (D2W3) under solid-state fermentation[J]. Bioresource Technology, 2005, 96(14): 1561–1569.
- [13] Michael JB, Biely P, Poutanen K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity[J]. Journal of Biotechnology, 1992, 23(3): 257–270.
- [14] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265–275.
- [15] Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227(5259): 680–685.
- [16] Weiland P. Principle of solid state fermentation[A]// Zadrazil F, Reiniger P. Treatment of Lignocelluloses with White Rot Fungi[M]. London: Elsevier, 1988: 64–76.
- [17] 毛连山, 勇强, 姚春才, 等. 培养基成分对里氏木霉合成木聚糖酶的影响[J]. 现代化工, 2005(S1): 151–153.
- [18] Banerjee S, Archana A, Satyanarayana T. Xylose metabolism in a thermophilic mould *Malbranchea pulchella* var. *sulfurea* TMD-8[J]. Current Microbiology, 1994, 29: 349–352.
- [19] Ghatora SK, Bhupinder SC, Badhan AK, et al. Identification and characterization of diverse xylanase from thermophilic and thermotolerant fungi[J]. BioResources, 2006, 1: 18–33.

稿件书写规范

专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: (1) 我刊要求作者投稿时在正文前写上主要作者的简介, 并指出自己的工作(已发表的文章)在综述中的体现。(2) 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。