

- lication N.6, Arlington VA, pp. 277—284, ed. by Bietz & Thayer, D. W., 1980.
10. Kanetsuna F et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 70: 209—212, 1972.
 11. Minnikin D E. *J. App. Microbiol.*, 47: 81—95, 1979.
 12. Minnikin D E. *J. Chromatography*, 188: 221—233, 1980.
 13. Leechevalier M et al.: *Advances in Applied Microbiol.*, 14: 47—72, 1971.
 14. Batt R D et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, 239: 368—373, 1971.
 15. David L Stilling et al.: *Biochem. Biophys. Research Communication*, 31(4): 616—622, 1968.
 16. Yano I et al.: *FEBS Letters*, 21(2): 215—219, 1972.
 17. 刘志恒,阮继生: *微生物学报*, 28(3): 206—210, 1988.
 18. 刘志恒等: *微生物学报*, 23(4): 298—304, 1983.
 19. 刘志恒等: *微生物学报*, 24(4): 299—303, 1984.

市售洗衣粉提高木霉菌株产生纤维素酶量的研究*

张杰富 文成敬 徐光华

(四川农业大学农学系,雅安市)

摘要 加入不同浓度的双猫牌洗衣粉(主要成份为烷基苯磺酸钠)对木霉菌产纤维素酶的能力发生不同的作用。在浓度为 0.1% 到 0.7% 时,酶产量逐步提高。然而,当加入量为 0.8% 时,提高作用下降; 0.9% 与 1% 时,反而起抑制作用。这可能与适量表面活性剂提高了木霉菌的细胞膜透性,克服其胞内产酶的反馈现象有关;而过高浓度,却使细胞膜破坏。

关键词 表面活性剂;纤维素酶;膜透性;木霉

一些真菌所产生的水解酶,在酶的积累和排出过程中,由于反馈现象而抑制酶的继续产生。因而这些酶的产量较低,价格较贵,影响其推广使用。如能设法提高细胞质膜的透性,使产生的酶不断排出,克服反馈现象,则可使酶的产量大幅度提高。栾升与倪晋山^[1]认为表面活性剂与细胞膜结合并插入或透过膜,较多的单分子在膜内形成胶束(micella),浓度进一步提高,造成膜蛋白与拟脂分子分离,在膜上开孔,从而透性加大。故用表面活性剂可提高酶产量。

我们用双猫牌洗衣粉作为表面活性剂进行试验发现也能使木霉纤维素酶活性显著增加。现将试验结果报告如下。

材料和方法

(一) 材料

供试菌株为从土壤中分离的具有较高纤维素酶活性的木霉菌株 234 (*Trichoderma* sp., 234)。

表面活性剂为市售双猫牌洗衣粉(主要成

份为烷基苯磺酸钠),由成都合成洗涤剂厂出品。

(二) 方法

1. 将木霉菌株 234 接种于 PDA 平板培养基上,培养 4 天后,用打孔器取带有菌丝的琼脂块,分别接种在含 0.1—1% 不同浓度的双猫牌洗衣粉的麦麸-玉米芯粉综合培养基上。于 28℃ 恒温条件下培养 14 天。然后用 28℃ 温水浸提二小时,过滤。滤液离心(3000r/min)30 分钟。上清液即酶液。

2. 滤纸崩溃试验:取上述各酶液 4ml,加 1ml 磷酸缓冲液(pH4.8),再放入 1×3cm 滤纸条。置 50℃ 恒温水浴 1 小时,观察滤纸崩溃情况。

3. 3,5-二硝基水杨酸法测还原糖:取 2ml CMC 缓冲液,加 0.5ml 酶液,于 50℃ 下保温 30 分钟。再加入 2.5ml 的 3,5-二硝基水杨酸试剂以终止反应,放入沸水浴中 5 分钟后,立即放入冷水中冷却。在 721 型分光光度计上用

* 本研究是自然科学基金资助项目。

540nm 波长比色,得不同光密度, 计算含糖量以示不同酶活。

0.8% 时,酶液使滤纸崩溃程度增加, 但浓度过高,又反而下降。结果见表 1。

结果和讨论

1. 滤纸崩溃试验: 用上述各酶液作滤纸崩溃试验的结果表明,洗衣粉加入浓度从 0.1% 到

2. 还原糖测定: 用上述各酶液以 3,5-二硝基水杨酸法测还原糖,结果见表 2。

通过测定还原糖可以看出,当表面活性剂是 0.1% 浓度时可使酶活增加近 3 倍; 逐渐增

表 1 滤纸崩溃试验结果

加双猫牌洗衣粉浓度 (%)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	对照
滤纸崩溃情况	+++	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	0	+

* 0: 无作用,+: 略膨胀,++: 膨胀、成层,断裂和微溶,+++: 完全溶解

表 2 3,5-二硝基水杨酸法测还原糖结果

加双猫牌洗衣粉浓度 (%)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	对照
光密度	0.44	0.45	0.495	0.5	0.8	0.82	0.83	0.62	0.11	0	0.15
含糖量(ppm/ml)	53	58	64	65	101	104	106	79	14	0	19

加浓度,酶活逐渐提高; 0.5—0.7% 为最适浓度,可使酶活提高 5 倍左右。定糖结果与滤纸崩溃试验一致。这可能是表面活性剂一定浓度时可以改变真菌质膜透性,克服产酶的反馈现象以提高酶的产量。然而浓度提高到 0.8% 时,提高酶产量的作用下降, 0.9% 时开始抑制, 1% 时则完全抑制。这与 Helenius 和 Simons (1975) 的研究相符: 即表面活性剂的浓度过大时,膜可以解体^[2],透性大增,使细胞内电解质大量外渗,加之细胞内各细胞器被膜破坏,各种

代谢失调,产酶活动受到抑制所致。

用表面活性剂提高真菌胞外酶产量的方法投资少,效益大。尤其用双猫牌洗衣粉(烷基苯磺酸钠)价格便宜(每 500 克仅 1.6 元),而使产酶量成倍提高,值得推广。

参 考 文 献

(上接第 314 页)

15. Adachi, S. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, **26**: 121—127, 1984.
16. Hash, J. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, **232**: 381—393, 1958.
17. Willis, C. A. et al.: *J. Food Sci.*, **53**: 111—116, 1988.
18. Asada, S. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**: 274—281, 1980.
19. Kumosinski, Thomas. F. et al.: *J. Ind. Microbiol.*, **3**: 147—155, 1988.
20. Cuero, R. G. et al.: *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **89**:

1. 栾升,倪晋山: *植物生理学报*, **2**: 168—172, 1987.
2. Helenius A K et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, **415**: 29—79, 1975.
3. Sutton D I, Foy C I: *Bot. Gaz.*, **132**: 299—324 1971.
- 221—226, 1987.
21. Measures, J. C.: *Nature*, **257**: 398—400, 1975.
22. Killham, K. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**: 301—306, 1984.
23. Grojek, W. et al.: *Enzyme Microbiol. Tech.*, **9**: 658—662, 1987.
24. Gervais, Patrick: *Biotechnol. Tech.*, **1**: 15—18, 1987.
25. 陈家任等: *生物工程学报*, **2**: 146—151, 1987.
26. Holcberg, I B. et al.: *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **13**: 133—140, 1981.
27. Karbe, I. et al.: *J. Molecular Catalysis*, **9**: 445—451, 1980.