

# 29 个木霉菌株纤维素酶活比较

单寄甬 宋汉英

(浙江省粮食科学研究所)

为开展纤维素酶应用于饲料、酿酒、医药方面的研究,我们对有关单位提供的纤维素酶菌株,用粮食系统副产品纤维原料制曲后对其酶活进行了测定。现将初步试验结果总结如下。

## 材 料 与 方 法

### (一) 菌种

所测定的菌种是由复旦大学、中国科学院微生物研究所、上海市工业微生物研究所等 12 个单位提供的木霉 3.2192、3.3129、3.3032、3.3049、TV、4-49、9-161、250、1096、R8、EA<sub>3</sub>867、10-169、木 3、T41、糖研 37、糖研 49、糖研 50、E142、D92、G109、B11、G1、1146-1、2183-3、1029-6、复 2、复 12 等 27 株,自行分离耳 2、竹 1 两株,共 29 株。

### (二) 制曲

#### 1. 原料配比

一级培养: 金刚刺酒渣 40%, 苕糠粉 40%, 米糠 10%, 麸皮 10%, 外加硫酸铵 2%, 加水 1:1。

二级培养: 金刚刺酒渣, 苕糠粉, 蚕豆粉渣, 稻草粉, 麦麸, 橡仁粉, 啤酒糖渣, 加水适量。

注: 1) 金刚刺酒渣, 苕糠粉, 蚕豆粉渣, 稻草粉制曲时各加 5% 麦麸、5% 清糠。

2) 制曲时每种原料均外加 1% 硫酸铵。

2. 培养 将上述配好的原料, 分别装入 25 × 195 的大试管中, 每管湿料 5 克。经高压灭菌, 接种后(接种量均为 2%) 放在 29℃ 的恒温恒湿培养箱中分别培养。其中箱内在第 2—3 天湿度保持 86—93% 外, 均不保湿。培养时间以绿色孢子开始形成而定。但作不同时间酶活对比者, 按照时间计算。试验结果以 3.2192、3.3032、250、1096、木 3、T41、D92、B11、1146-1、2183-3、1029-6 孢子生长量最多, 成曲时间因不同培养基而异, 从 48 到 118 小时不等。

### (三) 测定方法

#### 1. 羧甲基纤维素(C.M.C)酶活力的测定

(1) 曲 5 克加水 50 毫升 30℃ 保温 1 小时提酶。

(2) 取 0.05—0.1 毫升离心清酶液, 加 0.4—0.45 毫升水加 2 毫升羧甲基纤维素缓冲液于 40℃ 保温半小时后, 加 2.5 毫升 D.N.S 试剂煮沸 5 分钟, 稍冷后加水 5 毫升比色(550 毫微米)。

(3) 酶活单位计算: 在上述条件下, 1 克原料经发酵后提取的酶液与羧甲基纤维素作用所产生的葡萄糖毫克数表示。

2. 滤纸溃烂法 取离心酶液 4 毫升加醋酸缓冲液(pH4.5) 1 毫升, 加滤纸一片(1 × 3 厘米), 加甲苯数滴, 于 40℃ 保温 24 小时, 检查滤纸崩溃情况, 并以 D.N.S 法定糖。

滤纸破碎情况, 以○表示滤纸未变形; + 表示滤纸成形, 稍为张开; ++ 表示滤纸张成蓬松状, 已变形; +++ 表示滤纸不成形, 悬浮或沉在试管底部。

滤纸糖以每毫升浸提酶液所产生的葡萄糖毫克数表示。

## 结 果

试验结果表明: 此 29 种菌株经过上述不同原料及配比制曲发酵试验, 纤维素酶活以绿色木霉类为高, 其中复 2、复 12 两株菌株在绝大多数原料中培养, 酶活均较高, 其次是 EA<sub>3</sub>867、R8。

从不同原料制曲测定酶活的试验看出, 稻草粉、蚕豆粉渣等酶活较高, 其次是苕糠粉。而含木质素较多的金刚刺和含单宁较多的橡仁酶活较低。在粗料及副产品中加少量精料(如米糠、麸皮)并不能提高酶活。

不同菌种, 用相同原料制曲发酵, 分不同时间测定酶活, 其酶活最高的时间并无一定的规律性。故在制曲发酵时应根据不同菌种的特点, 合理掌握培养时间。试验还表明, 生长快的菌株酶活较低, 而酶活高的复 2、复 12、EA<sub>3</sub>867 生长较慢。

从测定结果表明: 羧甲基纤维素酶活较高的菌株, 一般对滤纸的分解力亦较高, 但不是绝对的。

## 结 论

通过 29 个木霉菌株, 在实验室条件下用不同原料制曲后, 从羧甲基及滤纸酶活测定结果表明: 复 2、复 12、EA<sub>3</sub>867 等菌株应用于蚕豆粉渣和稻草发酵提酶以及饲料方面的试验有一定前途。但 EA<sub>3</sub>867、复 2、复 12 等菌株对羧甲基纤维素和滤纸的酶活, 能否代表对各种纤维素分解的实效, 尚需进一步在实践中观察。

### 参 考 资 料

- [1] Advances in enzymic hydrolysis of cellulose and related.
- [2] 微生物学和酶学基本知识。北京大学制药厂编。