

植物秸秆天然纤维素的酶水解研究

任守让 赵贵彬 王瑞霞

(吉林省农业科学院,公主岭)

利用木霉 323.6 菌株的纤维素酶水解五种农副产品的天然纤维素得糖效果的顺序是: 稻草 > 玉米秸 > 玉米芯 > 高粱穗轴 > 小麦秸, 得糖率分别为 20、18、11.8、10.8 及 5.6%。玉米

秸酶解产物中的还原糖,用纸层析测定,其组分为葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和纤维二糖。玉米秸酶解液添加一定量的氮源和磷酸盐可培养白地霉,培养 24 小时可得干菌体 1.023g/100ml,可为农村饲养动物提供单细胞蛋白饲料。

本研究利用木霉 323.6 菌株分解纤维素的活性较强的特性^[1,2], 检定 323.6 菌株对不同农副产品的天然纤维素酶水解得糖效果; 检定玉米秸酶水解产物中还原糖的组分; 探讨玉米秸酶水解产物生产单细胞蛋白的可能性。

材料与 方法

- 1. 菌株: 木霉 323.6(作者由林地土壤分离筛选的高酶活野生型菌株)保存于马铃薯葡萄糖琼脂斜面。
- 2. 底物: 玉米秸、玉米芯、高粱穗轴、稻草、小麦秆。
- 3. 纤维素酶曲制备: 用玉米秸粉和麦麸(1:1 重量比)为制曲原料, 28℃ 培养 4 天即成纤维素酶曲, 然后于 50℃ 下迅速烘干备用。
- 4. 纤维素酶水解: 取底物 2g 和纤维素酶曲 1g 加入醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH4.8) 和蒸馏水各 20ml, 加防腐剂(十二烷基硫酸钠和 4mg 无水盐酸土霉素), 40℃ 保温酶水解 48 小时, 得酶水解液, 供还原糖测定或培养微生物之用。
- 5. 测糖: 采用 DNS 法, 以灭活酶为对照。
- 6. 还原糖组分测定: 采用纸层析法^[3,4,5]。滤纸用东洋滤纸 No.50, 2 × 25cm。滤纸的水蒸汽饱和(16 小时)和糖的展开(上行, 10 小时)

在层析器(日本产 C 号器 No.251) 内进行。Rf 值用伸缩尺测量得到。

结果与 讨论

(一) 几种农副产物天然纤维素酶水解得糖率

选用玉米秸、玉米芯、高粱穗轴、稻草及小麦秆等五种农副产物的粉体为底物, 用木霉 323.6 菌株制备的纤维素酶曲水解, 其得糖率见表 1。

从表 1 结果看, 木霉 323.6 纤维素酶曲酶水解几种农副产物皆可获得一定的还原糖, 但不同材料的得糖率不同。在本试验条件下, 得糖率最高的是稻草 (20%), 而小麦秆最低 (5.6%)。五种底物的酶水解得糖效果顺序为稻草>玉米秸>玉米芯>高粱穗轴>小麦秆。不同底物的得糖率出现差别的原因还有待进一步研究。

(二) 玉米秸天然纤维素酶水解产物中的还原糖组分

木霉 323.6 菌株产生的纤维素酶水解玉米秸粉可获得一定水平的还原糖, 但酶水解液中还原糖组分尚不清楚。经纸层析分离测定, 其酶水解液中含有葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和纤维二糖(见图 1), 与 Surinder 等研究结果一致^[6]。其中阿拉伯糖和木糖可能是由于酶曲中的半纤维素酶降解玉米秸中的半纤维素得到。

(三) 玉米秸纤维素酶水解液对某些微生物的生长效应

表1 几种农副产物酶水解得糖率

底 物	酶 水 解			得 糖*	
	pH	温度(℃)	时间(h)	mg/ml	%
玉 米 秸	4.8	40	48	9.2	18.4
玉 米 芯	4.8	40	48	5.9	11.8
稻 草	4.8	40	48	10.0	20.0
小 麦 秆	4.8	40	48	2.8	5.6
高 粱 穗 轴	4.8	40	48	5.4	10.8

* 三次重复平均值

得糖% = $\frac{\text{酶水解糖浓度(mg/ml)} \times \text{酶水解样水量(ml)}}{\text{底物干重(g)} \times 1000} \times 100$

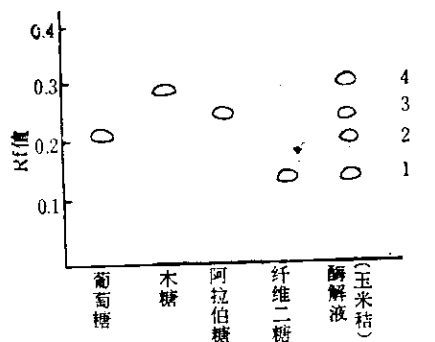


图1 玉米粘粉酶水解液中还原糖组分层析图
R_f 值: 纤维二糖 0.14[点 1], 葡萄糖 0.21
[点 2], 阿拉伯糖 0.25[点 3], 木糖 0.29[点 4]

异养微生物的生长, 需要有一定量的碳源作为营养。通常微生物的碳源多为单糖或双糖。由于纤维素被酶水解可还原为几种单糖和双糖, 则玉米粘酶水解液中的还原糖便为某些微生物提供了碳源, 从而为培养富集蛋白的微生物, 以生产单细胞蛋白开辟了新途径。Surinder^[6] 等用纤维素酶水解蔗渣液培养啤酒酵母、白地霉、根瘤菌等 7 种微生物, 其中根瘤菌和醋酸菌在酶水解液中的生长优于合成培养基; 中国科学院微生物研究所报道了利用糠渣纤维素酶水解液培养酵母的研究^[3], 本试验利用木霉 323.6 纤维素酶曲水解玉米粘液培养 6 种微生物, 其中白地霉生长良好, 其它均未见生长 (表 2)。

表 2 玉米粘纤维素酶水解液对某些微生物的生长效应

供试微生物	培养时间(天)	生长
圆褐固氮菌(8604)	7	—
大豆根瘤菌(B15)	7	—
解磷杆菌(Ba5)	7	—
还原链霉菌(5:06)	7	—
球孢白僵菌(吉林)	7	—
白地霉(2488)	7	+

同时以拟康氏木霉菌株 EA₃-867 制成的纤维素酶曲酶解玉米粘粉液培养该 6 种微生物, 结果该 6 种微生物均未见生长。考虑到 EA₃-867 是高酶活菌株, 可能由于糖浓度较高抑制了白地霉的生长, 但经 1 倍的水稀释后培养仅见痕迹生长, 含糖量浓度仅为 0.88%, 看来不

是由于糖浓度过高的缘故。据国内外研究报告^[7,8], 绿色木霉 (*Trichoderma, viride*) 产生毒素对某些微生物有抗菌作用, EA₃-867 菌株的产酶活力高是否抗菌作用亦强, 致使某些微生物如白地霉在其酶水解液中不能生长, 尚待证实。

在此基础上, 进一步观察了培养 70 小时的白地霉不同菌株及啤酒酵母的菌体得率 (表 3)。

表 3 白地霉不同菌株及酵母的菌体得率

菌 株	白 地 霉					啤酒酵母 3.637
	2.035	2.361	2.488	奇 1	田村	
菌体干重* (g/100ml)	0.67	0.67	0.70	0.80	0.73	0.48

* 三次重复平均值。

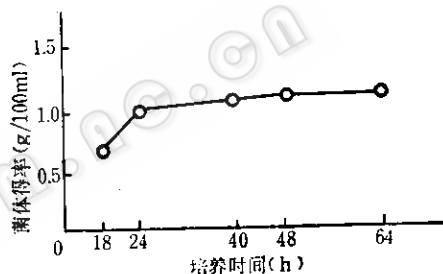


图 2 不同培养时间白地霉(奇 1) 菌体得率动态

从表 3 结果可以看到, 用玉米粘酶水解液培养白地霉菌体得率较啤酒酵母高, 白地霉不同菌株间的得率亦有差异, 其中以奇 1 的菌体得率最高 0.8g/100ml/70h。

为弄清培养时间与菌体得率的关系, 以白地霉奇 1 为试验菌株, 分别培养 18、24、40、48、64 小时, 测菌体得率。白地霉菌株奇 1 在玉米粘粉酶水解液中, 28℃ 培养 24 小时菌体得率达最高水平 1.023g/100ml, 继续培养菌体得率虽有增加, 但不明显, 收益不大。我们初步认为 24 小时为经济采收时间。

参 考 文 献

- [1] 任守让等: 吉林农业科学, 1: 65—71, 1979。
- [2] 任守让等: 吉林农业科学, 2: 61—76, 1979。
- [3] 中国科学院微生物研究所纤维素酶研究组: 微生物学报, 17(3): 231—238, 1977。
- [4] Smith, Ivar et al.: Chromatographic and Electrop-

- hortic techniques Vol.1, pp. 465, Wieliann Heime-
mann Med. Books Ltd. 1976.
- [5] 桑田智: クロマトグラフィー, 230 页, 広川书店, 東京, 1957.
- [6] Surinder, Dhowan et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* **23**(4):155—161, 1977.
- [7] 中国科学院微生物研究所: 常见与常用真菌, 317 页, 科学出版社, 北京, 1973。
- [8] Smelley, F. B. et al.: In I. F. H. Purchase (ed), *Mycotoxins*, pp. 199—228, Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam, 1974.