

# 洗涤用碱性纤维素酶及其产生菌的分离方法\*

赵 新 刚

(沈阳师范学院生物系 沈阳 110034)

关键词 加酶洗涤剂, 羧甲基纤维素酶

分类号 Q939.9 文献标识码 C 文章编号 ISSN-0253-2654(1999)-01-63-65

近年来一种新型的加酶洗涤剂出现于国际市场<sup>[1]</sup>, 这种洗涤剂中加入了一种新的洗涤成分——羧甲基纤维素酶(CMCase)。人们喜欢穿棉制内衣, 但穿过的棉织物经反复洗涤后, 在磨损较严重部位会出现发黄、褪色、板结现象, 用普通洗涤剂或加有碱性蛋白酶的洗涤剂无法解决这些问题。通过用电子显微镜, X-射线显微分析仪等进行微观探测发现, 在这些部位, 结晶型的纤维网络中出现了许多由纤维绒毛所组成的非结晶区, 污物颗粒就附着在这些非结晶型的纤维绒毛上, 一般洗涤剂只能洗去表面上的污物, 而对于这些封闭在纤维内部的污物很难去掉, 加有羧甲基纤维素酶的洗涤剂利用羧甲基纤维素酶将非结晶区的水合纤维素分子分解、破坏, 软化由纤维素分子与水组成的胶状结构, 从而使被封闭在其中的污物易于溶出<sup>[2,3]</sup>; 同时这些由纤维绒毛所组成的非结晶区也是造成棉织物褪色、板结的原因, 因此加有羧甲基纤维素酶的洗涤剂不仅能去污, 还能起到使棉织物颜色鲜明和柔软效果<sup>[4]</sup>。

纤维素酶一般分为外切型葡聚糖酶(EC 3.2.1.91)、内切型葡聚糖酶(即 CMCase, EC3.2.1.4)和纤维二糖酶(EC3.2.1.21)。加入洗涤剂中的是内切型葡聚糖酶即 CMCase。

目前, 在碱性纤维素酶研究与开发领域日本的花王公司(Kao Corporation)和丹麦的 Novo 公司居国际领先地位。我国在此领域的研究起步比较晚, 1990 年起先后有山东大学, 大连轻工业学院, 无锡轻工业学院等单位开展此项工作, 目前处于诱变育种阶段。

## 1 洗涤用碱性纤维素酶的特点

作为洗涤剂添加成分的纤维素酶一般应具备下述性质<sup>[1]</sup>: ①羧甲基纤维素酶即 CMCase; ②最适反应 pH 一般为 8~10 左右; ③耐碱性强, 在碱性环境里酶活稳

定, 在 pH12 时能够保持 50% 左右的酶活性; ④在洗涤剂中的成分如螯合剂、表面活性剂等存在下亦稳定; ⑤自来水中的各种金属离子不抑制或稍抑制酶的活力; ⑥能抗碱性蛋白酶的降解。

上述性质中, 最主要的是在碱性条件下酶亦稳定和具有高活力。碱性纤维素酶可分为两类<sup>[5]</sup>, 一类是嗜碱性纤维素酶, 其最适酶反应 pH 范围在碱性区(pH>8); 另一类是抗碱性纤维素酶, 最适酶反应 pH 范围在酸性或中性区(pH<8), 但在碱性条件下仍具有相当高的酶活力和稳定性。碱性纤维素酶一般由嗜碱性微生物或耐碱性微生物产生。

## 2 已发现的主要碱性纤维素酶产生菌

日本学者在 1975 年发现了产碱性纤维素酶的菌株<sup>[6]</sup>, 这是一株产嗜碱性纤维素酶-A 的芽孢杆菌属的菌株; 进入 80 年代先后有丹麦 Novo 公司的 *Humicola insolens* 及日本花王公司的 *Bacillus* sp. KSM 系列<sup>[1]</sup>。

表 1 是根据不完全统计, 按微生物的分类及文章发表的年限顺序, 列出了部分已发现的碱性纤维素酶产生菌。

## 3 碱性纤维素酶产生菌的分离方法

样品采集地点最主要特点是具备碱性条件, 另外纤维素含量较丰富地点也可选择。

碱性纤维素酶产生菌株的分离方法有很多种, 但其中平板降解圈直接分离法有着快速、简捷、准确、可靠的特点。我们所要分离的菌株分泌 CMCase, 它所作用的底物是 CMC(一般用羧甲基纤维素的钠盐 sodium

\* 辽宁省教委科研基金资助项目

1997-12-31 收稿, 1998-04-14 修回



**3.6 刚果红法<sup>[15]</sup>(congo red)** 将培养适当时间的平板,用 0.1% 的刚果红水溶液浸染一定时间后,再用 1mol/L NaCl 水溶液脱色,刚果红将未被降解的 CMC 染成红色,而对已被降解的小分子低聚糖类无作用,因此在产 CMCase 的菌落周围留下了清晰的透明圈。

在上述几种平板降解圈直接分离法分离产 CMCase 的菌株的方法中,以刚果红法为最好。其它的方法有的受底物来源的限制,有的灵敏度低需培养较长时间,有的则因杀死菌体而需影印移植,这就造成了很多不便。而采用刚果红法则无上述缺点,刚果红对菌体无任何不良的影响,产生的透明圈清晰非常容易辨认,特别是它的高灵敏度,只要菌落长到用肉眼可见,就可产生清晰的透明圈。

### 参 考 文 献

- [1] 伊藤进,川合修次,冈本晖公彦. 日本农芸化学会志, 1990, 64(9):1445~1454.
- [2] Murata M, Hoshino E, Yokosuka M *et al.* JAOCS,

1991, 68(7):553~558.

- [3] 宋桂经. 微生物学通报, 1997, 24(6):364~367.
- [4] Sagakuchi. *Fragrance Journal*, 1988, 91:90~95.
- [5] Kawai. U S Patent, 1990, 4943532.
- [6] 公开特许公报, 昭 50, 28515.
- [7] 公开特许公报, 昭 58, 224686.
- [8] 宋桂经, 王冬, 孙彩云等. 微生物学报, 1995, 35(1): 38~44.
- [9] 公开特许公报, 昭 61, 19483.
- [10] 中井良三, 铃木哲. 油化学, 1988, 37: 1165~1168.
- [11] Borriss R, Zemek J, Augustin J *et al.* *Zbl Bakt II Abt*, 1980, 135:435~442.
- [12] Martin D F, Priest F G, Todd C *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 1980, 40:1136~1138.
- [13] Hanken L, Anagnostakis S L. *J Gen Microbiol*, 1977, 98:109~115.
- [14] Cantwell B A, McConnell D J. *Gene*, 1983, 23: 211~219.
- [15] Teather R M, Wood P J. *Appl Environ Microbiol*, 1982, 43:777~780.