

纤维素分解菌 ZJW-4 产酶条件研究

唐蕊, 张雪辉

(邢台学院 生物化学系 河北 邢台 054001)

摘要: 采用单因素试验法进行不同条件下的液体发酵培养, 确定纤维素分解菌 ZJW-4 的最适产酶条件。结果表明: ZJW-4 产纤维素酶的最优发酵条件为以蛋白胨 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源的培养基, 28°C , pH 6, 静置培养 48 h。

关键词: 发酵条件; 酶活力; 纤维素酶; 纤维素分解菌

中图分类号: Q 946.91⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)20-0148-02

纤维素是地球上数量最大的可再生资源, 是地球上分布最广、含量最丰富的碳水化合物, 主要采用纤维素酶对其进行降解利用, 使其转化成燃料、食物和化学制品。但是纤维素酶的生产仍然存在着酶活力低、生产周期长等问题, 大大限制了其工业化生产^[1]。现对纤维素分解菌 ZJW-4 采用单因素试验法进行不同条件下的液体发酵培养, 使用 DNS 法对发酵后的菌悬液进行酶活力测定从而获得其最适产酶条件, 为其工业发酵生产奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

菌种为邢台学院生物化学系微生物实验室筛选并保存的产纤维素酶菌株。液体培养基(1 000 mL): 羧甲基纤维素钠 10 g, 蛋白胨 10 g, 磷酸二氢钾 1 g, 硫酸镁 0.2 g, 氯化钠 10 g, 水 1 000 mL, pH 7²。

1.2 试验方法

1.2.1 待测酶液的制备 各种不同培养条件下的单因素—限制性的液体发酵菌悬液倒入离心管中, 3 000 r/min 条件下离心 15 min 取上清液作为待测粗酶液。

1.2.2 纤维素酶活力的测定方法^[3-4] 参照文献[3], 采用 DNS 法测定酶活力。在 40°C 、pH 4.6 条件下, 1 min 分解羧甲基纤维素钠产生相当于 $1 \mu\text{g}$ 同葡萄糖的还原糖量所需的酶量, 规定为 1 个酶活力单位, 以 U 表示。

1.2.3 发酵条件优化研究^[5-6] 不同培养时间对纤维素酶产量的影响: 分别取 ZJW-4 的菌悬液 1 mL 加入到 18 支含有等量培养基的试管中, 将其分成 6 组, 每组 3 支, 进行 24、48、72、96、120、144 h 不同时间培养, 测其酶活力。不同培养方式对纤维素酶产量的影响: 分别取

ZJW-4 菌悬液 1 mL 加入到 6 支含有等量液体培养基的试管中, 将 6 支试管分成 2 组, 每组 3 支, 分别放置在 28°C 下振荡和 28°C 静置的条件下培养 4~5 d 后, 测其酶活力。培养温度对纤维素酶产量的影响: 分别取 ZJW-4 菌悬液 1 mL 加入 12 支含有同等条件的液体培养基的试管中, 将这 12 支试管分成 4 组, 每组 3 支, 分别在 26、28、30、 32°C 的条件下进行培养 4~5 d 后, 测其酶活力。培养基初始 pH 对纤维素酶产量的影响: 分别取 ZJW-4 菌悬液 1 mL 加入到初始 pH 为 5、6、7、8、9 的不同培养基中, 每种 pH 条件 3 支试管, 其它条件相同的情况下进行发酵培养 4~5 d 后, 测其酶活力。氮源对纤维素酶产量的影响: 分别取 ZJW-4 菌悬液 1 mL 加入到以硝酸钾、硫酸铵、尿素作为补充氮源的液体培养基中。共 9 支试管, 每种氮源用 3 支, 在其它相同的条件下进行发酵培养 4~5 d 后, 测其酶活力。

2 结果与分析

2.1 不同培养时间对纤维素酶产量的影响

菌株 ZJW-4 不同培养时间产纤维素酶活力见图 1。由图 1 可看出, 菌株 ZJW-4 在培养 48 h 的酶活力明显高于培养 24 h 的酶活力, 而培养 48 h 到 120 h 之间产酶活性基本持平, 120 h 后反出现酶活下降的趋势, 综合考虑生产成本与效益, 得出 ZJW-4 培养 48 h 最合适。

2.2 不同培养方式对纤维素酶产量的影响

菌株 ZJW-4 选用静置和振荡 2 种不同培养方式进行产纤维素酶活力测定。结果表明, ZJW-4 静置培养 4 d 其酶活力为 178 U/mL, 振荡培养 4 d 其酶活力为 125 U/mL, 明显低于静置培养。由此可见, 以静置条件下培养对产纤维素酶更有利。

2.3 培养温度对纤维素酶产量的影响

ZJW-4 在不同培养温度下产酶活力测定结果见图 2。由图 2 可看出, ZJW-4 在 28°C 以前培养酶活力随温度增加逐渐增强, 28°C 以后酶活力又明显下降。因此, ZJW-4 产酶最适温度为 28°C 。

第一作者简介: 唐蕊(1976-), 女, 河北秦皇岛人, 硕士, 副教授, 现从事微生物学教学与科研工作。E-mail: xtxytr@126.com。

收稿日期: 2010-07-29

2.4 培养基初始 pH 对纤维素酶产量的影响

ZJW-4 在不同初始 pH 值条件下产酶活性测定结果见图 3。由图 3 可看出, ZJW-4 在 pH 由 5 到 6 时酶活力上升明显, 当 pH 由 6 到 7 则表现为酶活降低, 而 pH

由 7 到 8 时酶活又有所增强, 但在 pH 为 9 时酶活力又明显下降, 酶活力最高点出现在 pH 为 6 时。ZJW-4 的产酶最利 pH 值为 6。

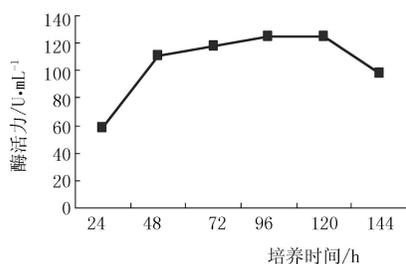


图 1 不同培养时间菌株 ZJW-4 产纤维素酶活力测定结果

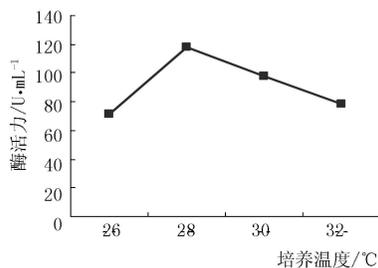


图 2 不同培养温度菌株 ZJW-4 产纤维素酶活力测定结果

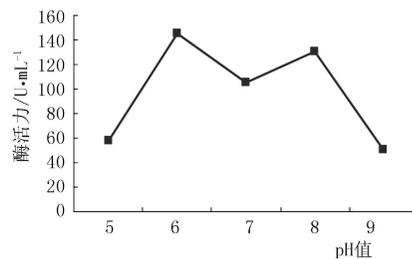


图 3 初始 pH 值对菌株 ZJW-4 产纤维素酶活力的影响

2.5 氮源对纤维素酶产量的影响

ZJW-4 在不同氮源条件下产纤维素酶的活力测定结果见表 2。由表 2 可看出, ZJW-4 以蛋白胨 + (NH₄)₂SO₄ 作为氮源产酶活力为 158 U/mL, 强于以蛋白胨 + KNO₃ 和以蛋白胨 + 尿素作为氮源产酶活力(111 U/mL)。

表 2 不同氮源对 ZJW-4 产纤维素酶活力影响

氮源	蛋白胨 + KNO ₃	蛋白胨 + 尿素	蛋白胨 + (NH ₄) ₂ SO ₄
酶活力 U · mL ⁻¹	111	111	158

3 讨论

该试验结果表明, 纤维素分解菌 ZJW-4 产酶的最优条件为以蛋白胨 + (NH₄)₂SO₄ 为氮源的培养基, 在 28°C, pH 6 静置培养 48 h。

该试验充分表明, 纤维素分解菌在不同的培养基中和不同的培养条件下产酶的能力不同, 对其最适产酶条件进行优化研究很有必要。目前, 科研工作者对纤维素酶高产菌株的选育工作比较重视, 但对发酵条件优化研究还有欠缺。迟乃玉, 张庆芳等人对纤维素酶高产菌株 97-B 最适发酵条件进行了研究, 并对低温纤维素酶菌株 CNY086 进行了选育及发酵培养基的优化研究^[7-8]。李琼芳, 刘明学等人对纤维素分解菌 T2 的产酶条件进行了研究^[9]。徐长安, 罗秀针等人筛选得到一株海洋芽孢杆菌 B09 并对其进行了发酵条件优化研究^[4]。因为产

纤维素酶菌株的产酶活性受很多种因素的影响, 因此不同的菌株、不同培养条件、不同的培养基配方都还有很大的研究空间, 需要进一步的进行探索研究。该试验仅为实验室小型发酵, 且试验条件设置较为局限, 尤其是培养基中氮源种类较少, 碳源有没有涉及, 所以对于其大规模工业发酵最优条件的确定还需进一步研究。

参考文献

- [1] 武秀琴. 纤维素酶及其应用[J]. 微生物学杂志, 2009, 29(2): 89-92.
- [2] 崔琰 陈红谏, 尚宏丽, 等. 中性纤维素酶产生菌的筛选及其培养基的优化和酶学性质研究[J]. 浙江农业科学, 2006(2): 214-217.
- [3] 杨洁 阿力木, 李福成. 饲用纤维素酶活力测定方法的改进[J]. 新疆大学学报(自然科学版), 2005, 22(3): 322-324.
- [4] 徐长安, 罗秀针, 张怡评, 等. 一株海洋芽孢杆菌 B09 的筛选及其发酵条件优化研究[J]. 海洋通报, 2009, 28(5): 74-78.
- [5] 黎海彬, 李琳, 黄日波, 等. 纤维素酶产生菌的筛选及产酶条件[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2003, 31(3): 45-48.
- [6] 张洪斌, 陈贤东, 胡雪琴, 等. 一株里氏木霉产纤维素酶发酵条件的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 375-378.
- [7] 迟乃玉, 张庆芳, 刘长江, 等. 纤维素酶高产菌株最适发酵条件的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(4): 380-382.
- [8] 陈亮, 迟乃玉, 张庆芳, 等. 低温纤维素酶菌株 CNY086 选育及发酵培养基的优化[J]. 微生物学通报, 2009, 36(10): 1547-1556.
- [9] 李琼芳, 刘明学, 徐志鹏, 等. 纤维素分解菌的分离及产酶条件研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(18): 7518-7520.

Study on the Optimum Cellulase-producing Conditions of Cellulase-decomposing Microorganism ZJW-4

TANG Rui, ZHANG Xue-hui

(Department of Biology and Chemistry, Xingtai University, Xingtai, Hebei 054001)

Abstract: The experiment took a single factor test to culture ZJW-4 under different conditions of liquid fermentation, after fermentation used the DNS method to determinate enzymes activity of bacteria suspension to obtain the optimum Cellulase-producing conditions. The results showed that the optimum Cellulase-producing conditions that ZJW-4 was using peptone + (NH₄)₂SO₄ as nitrogen source culture medium in 28°C, pH 6, stand still at 48 h.

Key words: fermentation conditions; enzyme activity; cellulose; cellulase-decomposing microorganisms