

# pH 对黄背木耳胞外酶的影响效应

马桂珍, 杨生兵, 林曼曼, 周 婷

(淮海工学院 食品工程学院, 江苏 连云港 222005)

**摘 要:**以黄木耳为试材,研究了黄木耳在自然和环境胁迫下相关酶活性的变化规律。结果表明:邻苯二酚氧化酶、淀粉酶和羧甲基纤维素酶都与黄背木耳菌丝生长情况相一致,酶活力强时,菌丝生物量高。当黄背木耳在受到 pH 胁迫时,酸性条件会抑制邻苯二酚氧化酶、淀粉酶的产生,羧甲基纤维素酶的产生有很宽的酸碱适应范围,碱性条件能在一定程度上促进该酶的产生,温度对羧甲基纤维素酶的影响很小。

**关键词:**黄背木耳;胞外酶;活性

中图分类号:S 646.6 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)17-0190-02

黄背木耳(*Auricularia pannosa*)隶属于木耳目木耳属,属毛木耳(*Auricularia polytricha* (Mont.) Saco.) 中质量最好的 1 个品种,与黑木耳(*Auricularia auricula* (L. ex Hook) Vnderw)同属不同种。由于其食用价值高,抗逆性好,便于扩大栽培,已成为我国重要栽培耳类<sup>[1]</sup>。关于黄背木耳栽培的研究较多,但关于环境条件对其胁迫的研究报导甚少。该试验研究了黄背木耳在自然和环境胁迫条件下相关酶活的变化规律,以期对黄背木耳遗传育种和保证黄背木耳的稳产高产提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

黄背木耳斜面母种,自华中农业大学引进,由淮海工学院食品工程学院海洋微生物研究室保存。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 不同 pH 条件下,黄背木耳所产相关酶的活性的测定** 配制不同 pH(3.8、自然、8.0)的液体培养基,分装到不同的 500 mL 三角瓶中,每瓶装 150 mL,用 8 层纱布封口,121℃灭菌,贴好标签,用打孔法接入直径 8 mm 相同大小菌种 4 块,放在 28℃的全温振荡培养箱以 180 r/min 的转速摇床发酵,从第 4 天开始,每天取不同 pH 发酵液各 1 瓶,离心后取上清液采用比色法测定酶活<sup>[2]</sup>。

**1.2.2 淀粉酶活力的测定** 参照朱启忠的方法<sup>[3]</sup>。

**1.2.3 羧甲基纤维素酶(CMC 酶)活力测定** 往试管中加入 0.5%的羧甲基纤维素钠溶液(用 pH 4.6, 0.1M 柠檬酸盐缓冲液配制)1.5 mL,加稀释 10 倍的粗酶液 0.5 mL,50℃水浴准确保温 0.5 h。取出后立即

加入 DNS 试剂 1.5 mL,煮沸 5 min,取出冷却后加入蒸馏水使总体积为 25 mL,混匀,用 756 MC 型紫外可见分光光度计于 550 nm 测 OD 值(以煮沸 15 min 灭活的酶液作对照)。以 1 h 催化底物生成 1 mg 葡萄糖所需的酶量为 1 个酶活力单位。

**1.2.4 邻苯二酚氧化酶活力测定** 在试管中加入 2.0 mL 0.05 M pH 6.0 磷酸盐缓冲液,2.0 mL 0.1 mol/L 邻苯二酚,然后加入 0.5 mL 粗酶液,28℃水浴准确保温 0.5 h 后迅速摇匀,倒入比色杯内,于 400 nm 波长处在 1~2 min 内测定吸光度变化(A)值。定义每分钟引起 0.001 个吸光度的增加所需的酶液量为 1 个酶活力单位。

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 胁迫对邻苯二酚氧化酶酶活性的影响

在不同的 pH(3.8、自然、8.0)条件下,对黄背木耳进行液体培养,每天取发酵液,用比色法测邻苯二酚氧化酶酶活,得到不同 pH 胁迫条件下的邻苯二酚氧化酶酶活性状况如表 1 所示。由表 1 可知,不同的 pH 胁迫对黄背木耳胞外邻苯二酚氧化酶的产生影响明显,酸性条件能抑制该酶的产生,碱性环境有利于该酶的产生,但是当该酶达到一定限度时,便会下降,可能原因有待进一步研究。

表 1 黄背木耳菌不同 pH 条件下邻苯二酚氧化酶酶活性状况

培养时间/d	pH 3.8	pH 自然	pH 8.0
4	1.066	4.400	1.400
5	3.334	3.866	11.40
6	2.466	6.934	16.466
7	4.833	12.80	3.400
8	7.466	8.400	2.466
9	4.400	4.866	2.167
10	1.666	4.666	9.534
11	0.734	4.534	9.334
12	0.466	4.800	8.000
13	0.134	2.266	4.666

第一作者简介:马桂珍(1963-),女,教授,现主要从事食用菌栽培生理研究工作。E-mail:guizhenma@sohu.com。

收稿日期:2011-05-27

2.2 pH 胁迫对淀粉酶活性的影响

不同 pH(3.8、自然、8.0)条件下进行液体培养,用 DNS 法测定淀粉酶酶活,得到的不同 pH 条件下的酶活性状况如表 2 所示。由表 2 可知,黄背木耳淀粉酶的产生有很大的 pH 适应范围,碱性条件有利于淀粉酶的产生,但是不太稳定,呈波动趋势。

表 2 黄背木耳菌不同 pH 下淀粉酶活性

培养时间/d	pH 3.8	pH 自然	pH 8.0
4	4.692	4.955	6.487
5	10.821	4.780	5.524
6	8.982	4.123	5.918
7	5.130	7.406	16.686
8	11.609	13.360	7.669
9	5.305	5.218	8.019
10	4.605	4.868	22.902
11	4.342	7.757	9.420
12	4.045	3.905	5.130
13	3.948	3.887	4.430

2.3 pH 胁迫对羧甲基纤维素酶活性的影响

不同 pH 条件下进行液体培养,用 DNS 法测羧甲基纤维素酶酶活,得到不同 pH 条件下的酶活性状况如表 3。由表 3 可知,黄背木耳所产羧甲基纤维素酶在酸性条件下变化不大,但是对碱性条件较敏感。

表 3 黄背木耳菌不同 pH 下羧甲基纤维素酶活性

培养时间/d	pH 3.8	pH 自然	pH 8.0
4	2.925	8.164	3.006
5	2.845	4.094	3.651
6	1.475	1.354	1.394
7	3.868	2.361	1.958
8	7.519	6.995	1.620
9	2.281	3.538	1.394
10	1.717	2.788	1.193
11	2.925	1.233	5.746
12	19.124	1.958	3.731
13	1.555	1.797	1.555

3 结论与讨论

测定结果认为,邻苯二酚氧化酶、淀粉酶、羧甲基

纤维素酶都与黄背木耳菌丝生长情况相一致,酶活大时,菌丝生物量高。当黄背木耳在受到 pH 胁迫时,酸性条件会抑制邻苯二酚氧化酶、淀粉酶的产生。羧甲基纤维素酶的产生有很宽的酸碱适应范围,碱性条件能在一定程度上促进该酶的产生,温度对羧甲基纤维素酶的影响很小。

食用菌在自然生长状态和栽培条件下所分解利用的主要原料是树木、秸秆、棉籽壳和木屑等。而这些原料的主要成分是纤维素、木质素、果胶等高分子物质,食用菌必须先分泌胞外酶,将它们分解为可以利用的小分子物质。故食用菌生长的快慢与好坏很大程度上取决于食用菌分泌相关胞外酶的能力。在自然条件下,邻苯二酚氧化酶、淀粉酶、羧甲基纤维素酶都与菌丝生长情况相一致,酶活大时,菌丝生物量高,这与周长青等<sup>[4]</sup>、陈国梁等<sup>[5]</sup>的研究有相近之处,都说明了胞外酶活性与菌丝生长的相关性。当黄背木耳在受到 pH 胁迫时,酸性条件会抑制邻苯二酚氧化酶、淀粉酶的产生,可能由于酸性条件对酶活中心的羧基和碱基的电离作用发生改变所致,碱性条件能促进这 2 种酶的产生,但波动较大,原因有待进一步研究,羧甲基纤维素酶的产生有很宽的酸碱适应范围,碱性条件能在一定层面上促进该酶的产生,温度对羧甲基纤维素酶的影响很小,这与邓功成等<sup>[6]</sup>研究的鸡腿蘑的羧甲基纤维素酶在 pH 胁迫条件下的变化不一致。

参考文献

[1] 吕作舟. 食用菌栽培学[M]. 北京:高等教育出版社,2006:177-179.  
[2] 管道平. 环境胁迫下部分食用菌菌丝酶活性变化的研究[D]. 福州:福建农林大学,2004.  
[3] 朱启忠. 侧耳 792 几种胞外酶活性的测定比较[J]. 食用菌,2006(5):7-8.  
[4] 周长青,王秀峰,李玉. 白灵菇生长发育过程中胞外酶活性的变化规律[J]. 食用菌学报,2008,15(2):64-68.  
[5] 陈国梁,张向前,周茂林,等. 羊肚菌液体培养过程中几种胞外酶活性变化研究[J]. 食用菌,2009(1):8-9.  
[6] 邓功成,陈江涛,高礼安. 不同发酵条件对鸡腿蘑胞外酶活性影响[J]. 食用菌,2007(4):9-10.

Effects of pH Value on the Extracellular Enzymes of *Auricularia pannosa*

MA Gui-zhen, YANG Sheng-bing, LIN Man-man, ZHOU Ting

(College of Food Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005)

**Abstract:** Using *Auricularia pannosa* as test material, the pH value on the extracellular enzymes of *Auricularia pannosa* under nature and stress of pH were studied. The results showed that catechol oxidase, amylase and CMC enzyme were tightly related with the growth of *Auricularia pannosa*. When enzyme had high activity, the biomass of mycelium was high. And when *Auricularia pannosa* was under the stress of pH, the acid condition will suppress the production of catechol oxidase and amylase. The production of CMC enzyme had a wider range of pH tolerance, the alkaline condition will promote the production of the enzyme to some extent and the temperature had little influence on the CMC enzyme.

**Key words:** *Auricularia pannosa*; extracellular enzymes; activity