

# 液体深层发酵桦褐孔菌对不同来源木质纤维素的降解

朱玲慧, 胡 焱, 徐向群

(浙江理工大学理学院, 杭州 310018)

**摘 要:** 桦褐孔菌作为白腐真菌的一种,能够降解木质纤维素,通过往桦褐孔菌液体深层发酵培养基中分别添加甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳这4种不同来源的木质纤维素,研究在液体深层发酵条件下,桦褐孔菌对4种木质纤维素中的木质素、纤维素、半纤维素成分的降解规律。结果表明,桦褐孔菌对稻秆、麦秆、甘蔗渣、花生壳中木质素的降解率分别是74.8%,73.2%,58.5%,70.2%;对半纤维素的降解率分别是48.3%,71.6%,49.1%,67.6%;对纤维素的降解率分别是61.7%,48.9%,49.0%,66.2%。本次实验极好地印证了桦褐孔菌能够有效降解木质纤维素的特点,为今后大规模利用桦褐孔菌降解一些废弃木质纤维素奠定了基础,减少了秸秆类物质直接焚烧对环境造成的破坏,为充分利用木质纤维素资源提供了新的思路。

**关键词:** 桦褐孔菌; 木质纤维素; 降解; 液体深层发酵

**中图分类号:** Q538

**文献标志码:** A

## 0 引 言

木质纤维素大量存在于各种农作物废弃物、果壳、废纸和木屑中,是目前发现的最为丰富的天然高分子化合物,主要由纤维素、半纤维素和木质素组成<sup>[1]</sup>。然而木质素、纤维素、半纤维素之间相互缠绕,降解时相互影响,一些瘤胃微生物很难利用其中的纤维素,导致秸秆被禽畜利用时不能及时吸取营养。虽然有学者把木质素、纤维素、半纤维素分别进行处理,然后对降解的成分加以利用,但是分离成本过高<sup>[2]</sup>。而生物法降解法是目前处理成本最低,处理效果最好的一种方法。因此,若能对这些秸秆合理利用,则可变废为宝。

白腐真菌是目前处理木质纤维素最常用的一种真菌,同时也是处理效果最佳的一种真菌<sup>[3]</sup>。研究表明,白腐真菌对秸秆中的木质素降解率可以达到40%~60%,对纤维素和半纤维素的降解率达到20%~40%,干物质损失10%~40%<sup>[4]</sup>。同时,白腐真菌能够将木质纤维素降解成单糖供菌丝体利用,但是不同的木质纤维素其热值、木质素含量、密

度、适口性和营养等都不同<sup>[5-6]</sup>,导致桦褐孔菌对木质纤维素的降解程度不同,选择适合的木质纤维素底物,增强木质纤维素的降解和利用,这个意义是非常重大的。因此,本文通过分别选取甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳添加到桦褐孔菌液体发酵培养基中,研究桦褐孔菌对木质素、纤维素、半纤维素的降解情况,以期找到桦褐孔菌降解木质纤维素的生化规律,同时加深对桦褐孔菌营养特性的了解。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

洗净的甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳烘干粉碎,过60目筛子,备用。桦褐孔菌胞菌丝体通过液体深层培养获得。菌种来源:Centraal Bureau voor Schimmecultuur, Utrecht, Netherlands。

### 1.2 培养基

木质纤维素发酵培养基(% w/v):葡萄糖 3.5,木质纤维素 3,蛋白胨 0.3,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.02,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.001,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.05,

收稿日期: 2012-11-16

基金项目: 浙江省科技厅科技计划项目(2012C33G2060004)

作者简介: 朱玲慧(1988-),女,浙江金华人,硕士研究生,研究方向为生物技术与生物化工。

通信作者: 徐向群,电子邮箱: xuxiangqun@zstu.edu.cn

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.005,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.002,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.002,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.009, 用蒸馏水定容至 100 mL, pH 值调至 6.0。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 纤维素含量的测定

根据陈辉<sup>[7]</sup>的方法利用蒽酮硫酸法对纤维素进行定量分析,以葡萄糖为标准品制作标准曲线。

分别吸取 0、100、200、300、400、500、600、700  $\mu\text{L}$  的 0.1 mg/mL 葡萄糖标准溶液至 10 mL 干净试管中,用蒸馏水补齐至 1 mL。再加入 4 mL 的蒽酮硫酸试剂(0.2 g 蒽酮溶于 100 mL 体积分数 80% 的硫酸中)。100℃ 水中反应 10 min,冷却后在 620 nm 处测定吸光值,绘制标准曲线。

不同来源的木质纤维素样品中的纤维素含量的测定在同样条件下按上述方法进行。

#### 1.3.2 半纤维素含量的测定

根据陈辉<sup>[7]</sup>的方法采用地衣酚法对半纤维素先进行定量分析,以木糖为标准品制定标准曲线。

分别吸取 0、4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4、2.8 mL 的 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  木糖标准溶液至 10 mL 干净试管中,用蒸馏水补齐至 3 mL。然后加入 2.7 mL 0.1% 的  $\text{FeCl}_3$ -盐酸溶液,最后加入 0.3 mL 地衣酚乙醇溶液(100 mg/mL)。在 100℃ 水中反应 40 min,冷却后在 670 nm 处测定吸光值,绘制标准曲线。

不同来源的木质纤维素样品中的半纤维素含量按上述方法进行。

#### 1.3.3 木质纤维素含量的测定<sup>[7]</sup>

将 1 g 发酵后的甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳等样品分别置于索氏抽提器中,用乙醇-苯混合液沸水回流 3 h,之后移入 100 mL 烧杯中风干,风干后加入 15 mL 72% 的硫酸,充分搅拌,室温放置 2.5 h,然后用 300 mL 蒸馏水分 6 次洗涤,将洗涤液装入 500 mL 锥形瓶中,在沸水浴中冷凝回流 2 h,将滤饼用热水洗至滤液用 10%  $\text{CaCl}_2$  不浑浊,70℃ 干燥至恒重。称量即得木质素的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 4 种木质纤维素中各组分的含量

从表 1 中可以看出:甘蔗渣和稻秆中以纤维素含量为主,含量分别是 48.8%、39.6%,而麦秆和花生壳中则主要以半纤维素含量为主,稻秆中的木质素含量最低,为 12.3%,花生壳中的木质素含量最高,达到了 25.1%,甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳中木质素、纤维素、半纤维素的含量具有显著差异。

表 1 4 种木质纤维素的生物质组成情况 %

木质纤维素	木质素	半纤维素	纤维素	其它
甘蔗渣	15.8±0.8 <sup>b</sup>	27.7±2.1 <sup>b</sup>	48.8±2.0 <sup>a</sup>	7.7±0.3 <sup>c</sup>
稻秆	12.3±0.5 <sup>d</sup>	25.6±1.2 <sup>c</sup>	39.6±1.4 <sup>b</sup>	22.5±1.4 <sup>a</sup>
麦秆	14.4±0.5 <sup>c</sup>	38.0±2.4 <sup>a</sup>	28.0±1.6 <sup>c</sup>	19.6±1.2 <sup>b</sup>
花生壳	25.1±1.1 <sup>a</sup>	35.5±1.9 <sup>a</sup>	25.8±1.0 <sup>d</sup>	13.6±0.8 <sup>c</sup>

注:同一列中相同字母表示之间无显著差异( $p < 0.05$ )

### 2.2 桦褐孔菌对木质素的降解

从图 2 中可以看出,桦褐孔菌对麦秆中木质素的利用优于其它 3 种木质纤维素。从发酵开始到 144 h,4 种原料中的木质素含量急剧下降,发酵 144 h 后,木质素含量降低量变少。发酵结束时,甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳中木质素的含量分别为原含量的 41.48%、26.81%、25.23%、29.82%。

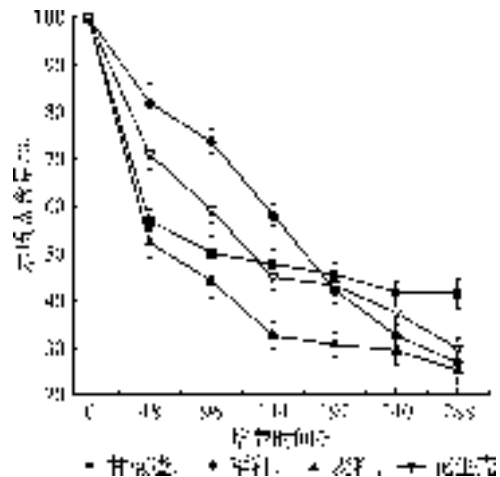


图 2 木质素含量随发酵时间的变化

### 2.3 桦褐孔菌对纤维素的降解

纤维素含量测定的标准曲线方程为  $Y = 0.06354 + 0.04114X$ ,  $R^2 = 0.9990$ , 图 3 是 4 种木质纤维素中纤维素含量随桦褐孔菌发酵时间的变化曲线,从

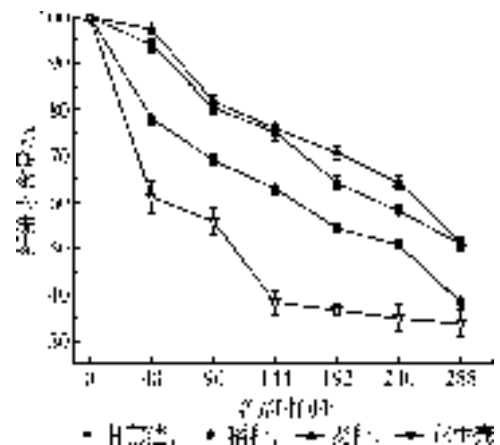


图 3 纤维素含量随发酵时间的变化

图3中可以看出,花生壳中纤维素含量的减少最大,当发酵结束时,花生壳中纤维素含量降至33.77%。

#### 2.4 桦褐孔菌对半纤维素的降解

半纤维素含量测定的标准曲线方程为  $Y = 0.17472 + 0.07563X$ ,  $R^2 = 0.9991$ , 线性良好。从图4中可以看出,麦秆中的半纤维素含量减少最大,当发酵结束时,甘蔗渣、稻秆、麦秆、花生壳中半纤维素的含量分别为原含量的50.94%, 51.65%, 28.37%, 32.41%。

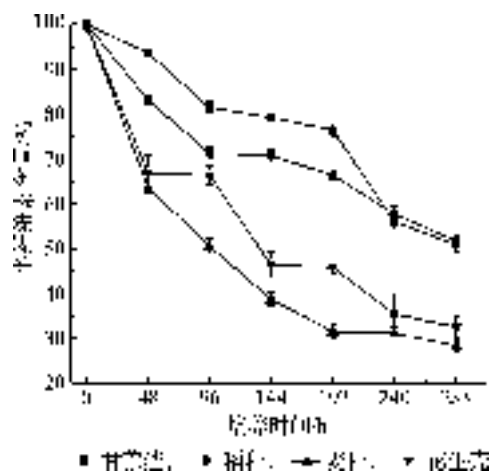


图4 半纤维素含量随发酵时间的变化

### 3 讨论

桦褐孔菌对4种木质纤维素的利用程度不一。在桦褐孔菌液体深层发酵培养基中,4种木质纤维素中各组分的含量减少均在50%左右或以上,起到了较好的降解效果。而在自然界中,木质纤维素的降解需要细菌、真菌和放线菌的共同作用<sup>[8]</sup>,也有一些学者通过培养混合菌来降解木质纤维素<sup>[9]</sup>,利用不同菌种中所含的木质纤维素降解酶的协同作用达到降解的目的。实验通过单一菌种就能较好地降解木质纤维素。

本研究结果显示,在液体深层发酵过程中,桦褐孔菌能对一些秸秆、果壳类物质进行较好地降解。桦褐孔菌能够突破木质素和半纤维素组成的天然屏障,对纤维素有较好的利用。这为今后利用单一菌种高效降解木质纤维素奠定了一定的基础,同时也为真菌的培养提供了新思路。

#### 参考文献:

- [1] 张 力, 韩大勇, 邵喜霞. 白腐真菌木质素降解酶系研究进展[J]. 中国牧业通讯, 2008(23): 6-9.
- [2] 闰鑫鹏, 李 杰. 白腐真菌在农作物秸秆中的研究与应用[J]. 饲料工业, 2008, 29(14): 54-57.
- [3] 金显春, 郭文杰, 杨 勇, 等. 直接降解稻草秸秆的菌株筛选及其发酵过程研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(20): 5144-5145.
- [4] 王洪春, 王凤娥. 白腐真菌研究与秸秆利用[J]. 江西饲料, 2008(1): 29-30, 39.
- [5] Ravindranath N H, Somashekar H I, Nagaraja M S, et al. Assessment of sustainable non-plantation biomass resources potential for energy in India [J]. Biomass and Bioenergy, 2005, 29(3): 178-190.
- [6] Akin D E, Rigsby L L. Corn fiber: structure, composition, and response to enzymes for fermentable sugars and coproducts [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2008, 144(1): 59-68.
- [7] 陈 辉. 桦褐孔菌胞外多糖液体深层发酵及木质纤维素促进产糖效果的研究 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2009: 1-91.
- [8] 王士强, 顾春梅, 赵海红. 木质纤维素生物降解机理及其降解菌筛选方法研究进展[J]. 华北农学报, 2010, 25(8): 313-317.
- [9] 梁朝宁, 薛燕芬, 马延和. 微生物降解利用木质纤维素的协同作用[J]. 生物工程学报, 2010, 26(10): 1327-1332.

## Degradation of Lignocellulose of Different Sources by *Inonotus Obliquus* in Liquid Submerged Fermentation

ZHU Ling-hui, HU Yan, XU Xiang-qun

(School of Sciences, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** *Inonotus obliquus* is one of white-rot fungi, which can degrade lignocellulose. This paper studies the degradation rule of lignin, cellulose and hemicellulose constituents in four lignocelluloses by *inonotus obliquus* under the condition of submerged fermentation by respectively adding four lignocelluloses of different sources-bagasse, rice straw, wheat straw and peanut shell in submerged fermentation culture medium of *inonotus obliquus*. The result shows that the degradation rate of lignin in rice straw, wheat straw, bagasse and peanut shell by *inonotus obliquus* is respectively 74.8%, 73.2%, 58.5% and 70.2%;

the degradation rate of hemicellulose is respectively 48.3%, 71.6%, 49.1% and 67.6%; the degradation rate of cellulose is respectively 61.7%, 48.9%, 49.0% and 66.2%. This experiment greatly verifies the feature that *Inonotus obliquus* can effectively degrade lignocellulose and lays a foundation for using *Inonotus obliquus* to degrade some waste lignocelluloses on a large scale in the future, reduces the damage on the environment by direct burning of straw substances and provides a new train of thought for full utilization of lignocellulose resources.

**Key words:** *Inonotus obliquus*; lignocellulose; degradation; submerged fermentation

(责任编辑: 许惠儿)

---

(上接第 508 页)

## Application of Chinese Traditional Paper-cut Art in Theatrical Costume and Its Aesthetics

*LIU Dan, CHEN Dong*

(College of Textile and Garments, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** This paper discusses relevant problems of elements of Chinese traditional paper-cut art and its application in Chinese and foreign theatrical costume through the historical overview on Chinese traditional paper-cut art and analysis on aesthetic features of paper-cut elements; analyzes its artistic expressive force with paper-cut elements as the object and explores the way and means of art in space expressive force; and realizes the comprehensive application of multimedia stage art formed based on space structure and its aesthetics through the research on space structure of paper-cut art and the expressive force of its aesthetics in Chinese and foreign theatrical costume performance in combination with art problems such as stage art performance.

**Key words:** Chinese traditional culture; paper-cut art; element; space structure; Chinese and foreign clothing; expressive force

(责任编辑: 张祖尧)