

原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名：鲍明东 日期：2003.4.17

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解山东大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权山东大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

(保密论文在解密后应遵守此规定)

论文作者签名：鲍明东，导师签名：hlc 日期：2003.4.20

摘 要

本文对罗布麻生物脱胶进行了较为系统的研究。通过比较分析，选定了个别菌株进行了进一步脱胶效果分析及脱胶条件优化，并对本实验室的芽孢杆菌、欧文氏菌和融合子进行形态、脱胶性能及生理生化研究分析。

通过对罗布麻脱胶菌株初步筛选发现，本实验所存有的 29 株菌中，有 65.5% 具有较好的脱胶作用，经过多次脱胶试验发现有 8 株菌，脱胶效果更好。芽孢杆菌 2A、芽孢杆菌 13A、芽孢杆菌 16A、欧文氏菌 E₂₆₋₂₋₃、芽孢杆菌 B₁₂₋₁₃₋₂ 脱胶效果最好，其中尤以 16A 菌株脱胶能力突出，脱胶能力经传代移接比较稳定。另外，融合子 150、226、173 菌株对罗布麻脱胶效果也较好。对脱胶后纤维进行胶质残留物分析，芽孢杆菌脱胶后纤维普遍胶质残留物少。

原生质体融合得到的融合子 173、226、150，经过初筛，发现其脱胶效果较好。进一步比较试验发现，融合子具有欧文氏菌的培养时间短和芽孢杆菌的脱胶时间短的双重优点，同时融合子也具有较好的脱胶效果，与融合原株欧文氏菌相比，融合子的脱胶效果有所提高。

进一步对芽孢杆菌 16A 脱胶条件研究，我们得出，在脱胶条件：预处理为在清水或稀碱中煮 20~30 分钟，脱胶温度在 40℃~50℃之间，pH 8.0 左右，脱胶时间 4~6 小时，菌液用量控制在菌液体积 (ml)：麻重 (g) 为 6：1 左右，浴比控制在 30：1 时，罗布麻脱胶效果最佳。通过在扫描电镜下观察比较用强碱直接脱胶后的纤维和用芽孢杆菌 16A 最优条件下的脱胶纤维，我们可以看出，用芽孢杆菌 16A 脱胶后纤维比用碱直接处理的纤维细，用碱直接处理的纤维直径约为 18.9um，而 16A 生物脱胶后纤维直径约为 18.2um，同时生物脱胶不损伤纤维，单纤维结构清晰，纤维分散度也较好，果胶残留物也较少，透明度较强。从脱胶纤维的分散程度、脱胶后的失重率和残胶率分析，罗布麻生物脱胶存在着较大的优势，相信通过进一步改善脱胶条件，生物脱胶作为罗布麻脱胶工艺的一种较好方式是有广泛应用前景的。

本文最后对芽孢杆菌、欧文氏菌及融合子的菌落形态、色泽、革兰氏染色反应，对低温的忍受程度，对葡萄糖、乳糖、蔗糖、甘露糖、麦芽糖、CMC、果胶的利用等生理生化特征进行了比较和研究。发现融合子在上述特性的表现呈现

了多样性。最后对芽孢杆菌、欧文氏菌的生长曲线进行了测定，对芽孢杆菌的产酶曲线进行了测定。

关键词：罗布麻 芽孢杆菌 欧文氏菌 融合子 果胶酶 生物脱胶

ABSTRACT

In this paper, we make a systematic research on biological degumming for *Apocynum venetum*. After comparison and analysis, we choose some strains to further analyze the effect of degumming and optimize the condition of degumming. We also make morphologic, physiological and biochemical researches on some strains of fusants, *Bacillus sp.* and *Erwinia.sp.*

Elementary screening of 29 *Apocynum venetum* strains capable of degumming shows that 65.5% of them have a high efficiency of degumming. Through further degumming experiments, eight strains have been acquired and have a higher efficiency of degumming than before. Finally we find that *Bacillus sp* 2A, *Bacillus sp* 13A, *Bacillus sp* 16A, *Erwinia sp* 26-2-3, *Bacillus sp* 12-13-2 are most efficient, especially 16A. It not only has a remarkable capability on degumming, but also the stable capability on degumming when incubated for several generations. In addition, the fusants 150, 226, 173 also have good effect on degumming for *Apocynum*. After analyzing the fiber degummed about their residual gum. We find that there is general little residual gum on the fiber degummed .

We have also screened out the fusants 173, 226, 150 obtained by protoplasts fusion that have a better effect on degumming. Through further comparative experiments, the fusants not only have the short culture time which *Erwinia.sp* has, but also the short degumming time which *Bacillus sp* has, and have better effect on degumming than the original strain *Erwinia sp* as well.

The optimized degumming conditions for strain 16A are: 1) to preheat the *Apocynum venetum* in the boiling fresh water or thin alkaline solution for 20 to 30 minutes; 2) to keep the temperature of degumming between 40°C to 50°C , pH 8.0 and the time of degumming between 4 to 6 hours; 3) to determine the amount of the fermentation liquor in the ratio of 6 to 1(the volume of the fermentation liquor to the weight of *Apocynum venetum*); 4) to control the volume of the water to the weight of *Apocynum* in the ratio of 30 to 1. Using scan microscope to visualize fiber, we find that

the fiber degummed by *Bacillus sp* 16A is more thinner than the fiber handled by alkali directly. The diameter of the fiber processed directly by alkali is 18.9um. The other is 18.2um and its single fiber has a distinct structure. Besides, biological degumming doesn't harm fiber and has a nice dispersal degree of the fiber, less residual gum, strong transparency. In a word, through the analysis on the dispersal degree of the degumming fiber, the loss ratio of the weight and the residual gum rate, we believe that biological degumming for *Apocynum venetum* is commercially promising, given that the degumming conditions are improved.

At the end of this article, we compares the morphologic, physiological and biochemical properties of *Bacillus sp*, *Erwinia sp* with the fusants. For example the configuration of cell and colony, color, the reaction of gram dye, the endurance at cold condition, the usage of glucose, lactose, sucrose, mannose, maltose, CMC, pectin and so on. We find that the fusants exhibit diversity in above experments. Finally, we determined the growing curves of *Bacillus sp* and *Erwinia sp* and the enzyme production curve for *Bacillus sp* too.

Key words: *Apocynum venetum* , *Bacillus sp*, *Erwinia sp*, Fusants, Pectinase
biological degumming,

□2.3	菌龄试验
□2.4	温度对脱胶效果的影响
□2.5	pH 值对脱胶效果的影响
□2.6	脱胶时间对脱胶效果的影响
□2.7	菌液用量对脱胶效果的影响
□2.8	脱胶过程中 pH 及酶活的变化试验
□2.9	脱胶前后纤维电镜下的形态比较
□2.10	讨论
□第五章	芽孢杆菌(Bacillus)、欧文氏菌(Erwinia)、融合子基本生物学特性
□1.	材料与方法
□1.1	材料
□1.2	方法
□2.	实验结果与讨论
□2.1	菌体形态
□2.2	革兰氏染色
□2.3	温度敏感性试验
□2.4	葡萄糖、乳糖、蔗糖、甘露糖、麦芽糖的利用
□2.5	CMC、葵花盘果胶的利用
□2.6	菌株生长曲线与芽孢杆菌产酶曲线分析
□第六章	讨论
□	参考文献
□	致谢
□	攻读学位期间发表的学术论文目录

第一章 前言

1. 我国主要的麻类资源及其分布情况

我国是全球麻类生产的主要国家, 约占全球的 80% 以上。在我国主要生产的麻类有苧麻、亚麻、大麻、红麻、罗布麻、剑麻、黄麻、白麻等。

苧麻 (*Boehmeria nivea* L.) 为荨麻科 (Urticaceae) 苧麻属 (Boehmeria)。多年生宿根性草本植物, 苧麻纤维长, 洁白优美而光泽好、热传导率高, 吸水分多而散发快。其中苧麻栽培和织布在我国已有几千年的历史, 其产量主要集中在我国 (约占 95% 以上), 有“中国草”之美誉⁽¹⁾。

中国是世界上第二大亚麻 (*Linum usitatissimum* L.)⁽²⁾ 生产国, 亚麻属于亚麻科 (Linaceae) 亚麻属 (Linum) 草本韧皮作物, 是天然纤维和工业拥有重要资料。⁽³⁾ 我国亚麻原来主要生产地是在黑龙江, 目前已发展至东北、华北、西北等的大部分省市, 约占了全国的大部分地区。⁽⁴⁾

大麻 (*Cannabis sativa* L.) 为大麻科 (cannabinaceae) 大麻属 (cannabis), 是雌雄异株一年生的草本植物, 品种多达 150 多个。大麻自热带至温带北部都可以种植, 种植区域甚广。大麻原产于我国, 在宁夏、山西、内蒙、河南、河北、辽宁、山东、安徽等均有过大量种植。⁽⁵⁾

我国是世界上第三个黄麻生产国, 黄麻 (*Corchoras capsularis* L.) 属于椴树科 (Tiliaceae) 黄麻属 (Corchorus)。⁽⁶⁾ 红麻 (*Hibiscus cannabinus* L.) 又称为洋麻、太阳麻, 锦葵科 (Malvaceae) 木槿属 (Hibiscus), 一年生草本植物, 适于在热带和亚热带气候生长, 具有实用性强、生产周期短、单位面积产量高等特点, 是一种重要的天然优质资源。⁽⁷⁻⁸⁾ 剑麻又名西沙尔麻, 是一种多年生的经济作物。我国广东、海南和福建等地均有种植, 尤其广东湛江地区种植面积很大, 产量很高。对剑麻的研究比较少。⁽⁹⁾

2. 罗布麻的概况

罗布麻 (*Apocynum venetum* L.) 又名野麻、茶叶花、泽漆麻、奶子草、夹竹桃麻、茶棵子、大花罗布麻等, 属于夹竹桃科 (apocynaceae) 罗布麻属 (apocynum)。⁽¹⁰⁾ 为多年生宿根性草本植物, 分红麻和白麻两种。红麻学名 *Apocynum lancifolium* Rus., 主要特征是花小, 短喇叭型, 紫红色或粉红色, 株高, 分

枝少，茎向阳部分紫红色，耐旱与耐盐性较弱。白麻学名 *Apocynum hendersonii* Hook.，其主要特征是花大，粉红色，株型矮而分枝多，耐旱耐盐能力极强。红麻与白麻可以杂交，杂种花形较大，耐旱及耐盐能力比双亲更强。红麻和白麻都有多种不同类型。⁽¹¹⁾

2.1 罗布麻的分布：

罗布麻生态适应力强，广泛分布在北半球温带和寒温带。伊朗、阿富汗、印度、俄罗斯、加拿大和中国均有分布。我国罗布麻分布的地区，由东到西，大致在长江、淮河、秦岭和昆仑以北的广大区域，新疆塔里木盆地、河西走廊，内蒙古额济纳旗、青海柴达木盆地和江苏、山东的黄河故道沿、内蒙西部荒漠地带均有大面积分布，尤以新疆塔里木盆地东部的罗布平原生长最盛，产量最高。⁽¹²⁾

2.2 罗布麻多种显著的生态特征：

耐旱性。罗布麻能在雨量稀少，蒸发量很大的干旱荒漠地带生长，通常为荒漠植被中的优势植物群落。罗布麻叶有抗旱植物的形态结构，根强大粗壮，入土深，可直达地下水层，在地下水位 3 米的旱土上，罗布麻亦能很好地生长。

耐盐性。罗布麻不仅本身耐盐性强，而且还有发达的深根系，能穿过含盐高的表土层，故能在很高的盐土上生长。在土壤总盐含量 0.3% 以上，一般作物就难正常生长，而罗布麻在总盐量 5% 左右的土壤里可良好地生长。在新疆一些罗布麻田里，总盐量达 14.5%，其中氯盐达 6.3%。青海柴达木盆地有些地方含盐量高达 70%，其中含氯盐达 23.2%~38.05%、PH 值达 9.0，地下水氯盐达 2.24~3.22 克 / 升，仍有罗布麻生长。而耐盐性较强的棉花，氯盐若超过 0.1% 也要死亡，由此可见罗布麻的耐盐性极强。

耐严寒、酷暑与大风。罗布麻耐严寒能力极强，在新疆北部的阿勒泰（北纬 47.5°），年平均气温 3~5℃，绝对最低温度 -47℃，全年无霜期仅 120 天左右，地面积雪期达 130 天左右，在这种气候条件下，罗布麻无人管理，可以安全越冬，自然生长。在吐鲁番盆地，夏季绝对最高气温达 47℃，全年无霜期达 210 天以上，为我国最热的地方，罗布麻也能良好地生长，可见其耐高温性也很强。罗布麻抗风性很好，在经常出现 10 级以上大风的地区，如西北的荒滩草原，山东滨海荒地，罗布麻生长普遍良好。⁽¹³⁾

2.3 罗布麻的多种用途:

纺织用: 罗布麻茎皮纤维比苧麻纤维细, 单纤维绝对强力比棉花大 5~6 倍。罗布麻纤维与棉、毛、丝混纺, 可织成数十种优良衣料, 不仅可节约棉、毛、麻 30%~50%, 而且色彩绚丽, 坚韧柔软, 透气性好。罗布麻织品质感高档、穿着舒适、特别适宜作夏季的服装。其最大特点是对人体有很好的医疗保健作用, 纤维含量 35 % 以上的保健服饰产品具有降压、平喘、降血脂等特性。所以近几年来, 由于消费者日益重视服饰的卫生保健功能, 罗布麻纺织品倍受欢迎。

药用: 罗布麻一身都是宝, 素有“沙漠珍宝”之称。其根、茎、叶、花均可入药。根含有多种强心苷、酚类、甾体和三萜化合物, 茎叶中含有罗布麻苷、强心苷、黄酮和月桂酸、叶含有皮苷、酚类、氨基酸、多糖、鞣质、甾醇、三萜等成分。这些药用成份, 可以制成治疗心脏病、高血压、哮喘、感冒等病的多种药物, 对高血压、心脏病、哮喘、感冒等都有良好效果。

保健饮料: 用叶的提取物可以配制具有降血压, 强身功效的中老年保健饮料, 如再加入其它可口的配料, 可用于防治心脏病。在我国北方一些地区, 早就有用罗布麻叶制茶饮用的实例, 它是一种良好的防治疾病的保健产品。

水土保持用: 罗布麻具有耐旱、耐寒、耐暑、耐盐碱、耐大风等特性, 其叶有抗旱植物的形态结构, 根系发达, 入土深, 能穿过表土层直达地下水层, 在一般作物不能生长的盐碱荒漠上种植, 既可增加经济效益, 又可绿化环境、防风固沙、控制水土流失和沙漠扩展。^[14]

2.4 罗布麻纤维特性及其目前脱胶的方法分析:

罗布麻被誉为“野生纤维之王”, 是一种韧皮纤维, 它位于罗布麻植物茎秆上的韧皮组织内, 纤维细长而有光泽, 洁白且质地优良, 柔软、强力高、具丝状、吸湿性好、散水、散热快、耐腐蚀。罗布麻单纤维是一种两端封闭, 中间有胞腔, 中部粗, 两端细的细胞状物体, 截面呈明显的不规则的腰子形, 中腔较小, 纤维纵向无扭转, 表面有许多竖纹, 并有横节存在。纤维较细, 约为 17~22 微米。长度与棉纤维相近平均长度为 20~25 毫米, 但长度差异较大(幅度为 10~40 毫米), 单纤维强力大于棉纤维和毛纤维。罗布麻纤维是品质仅次于苧麻纤维的优良纤维, 利用罗布麻加工的纺织品具有麻的风格、棉的舒适性和丝的光泽。

当然，罗布麻纤维除具有以上的优点外，也存在着一些缺点，由于罗布麻表面光滑无卷曲，抱合力小，呈非常松散的纤维束状，个别纤维单独存在，在纺织加工中纤维容易散落，制成率低，且影响成纱质量。由于罗布麻纤维的长度差异率较大，所以单独纺纱（纯纺）性能不如棉纤维、毛纤维和丝纤维。⁽¹⁵⁾

罗布麻目前脱胶工艺：

罗布麻的目前脱胶工序主要包括剥麻和脱胶。罗布麻经过剥麻、晾晒等初步加工后成为原麻，原麻中含有较多的胶质，必须进行脱胶处理。通常采用化学脱胶工艺进行全脱胶，这样可除去纤维中的绝大部分胶质，以提高纤维的纺纱性能。如果采用微生物和化学脱胶相结合的加工新工艺，则所获得的罗布麻纤维具有良好的工艺性能和理化性能，纤维的强度高于苧麻纤维，细度也比苧麻纤维细，能与多种纤维进行混纺，可制成呢绒、罗绢、针织物等一系列保健服饰产品，如经过烧毛上光后的呢绒型罗布麻服装，则手感较苧麻柔软，吸湿透气性极佳。

罗布麻纤维的化学脱胶工艺流程如下：（原麻）分拣～浸酸～水洗～一煮～二煮～水洗～打纤～漂白～酸洗～水洗～给油～脱水～烘干（精干麻）。经过化学脱胶后的精干麻，仍含有少量的残胶，其中还包括一定量的果胶、半纤维素和木质素等，因此，在纺纱之前还要对精干麻进行给油、加湿等预处理，以提高其可纺性能。⁽¹⁶⁾

“脱胶”是加工麻纤维的一道必经工序，传统的脱胶是化学脱胶，需要加酸、生碱，用蒸汽蒸煮。不但成本高，对周围环境的污染也很严重。生物脱胶工艺替代化学脱胶工艺的路子，不再需要加大量的酸碱，也不需要蒸煮，这样既能控制污染，也能降低煤耗。在当前人们环境保护意识日益增加的时代，新型的生物脱胶必将取代传统的化学脱胶。

2.5 罗布麻资源开发利用及其展望：

罗布麻不仅是一种治沙造林和改造盐碱地的优良植物，而且还是一种很有经济利用价值的资源植物。我国天然罗布麻资源较为丰富，其开发利用前途广阔。当前，我们要把资源开发与保护资源再生能力结合起来，同时，扩大天然资源与人工种植结合起来，把发展资源与利用沙荒地、盐碱地结合起来，把生态效益与经济效益结合起来，制定资源开发与资源建设规划，协调开发利用与资源建设之

间地关系。⁽¹⁷⁾

罗布麻是一种极具开发价值的多年生草本野生植物，大多生于我国西北的盐碱沙荒地、沙漠上。因此，研究罗布麻防沙固沙及综合利用已显得日益重要。由于罗布麻抗盐碱、抗干旱特殊的生态学特性，用罗布麻恢复污染地区盐碱土地植被，只要方法得当，可在短期内形成大面积罗布麻防护林，完全可以用罗布麻恢复这一带植被，形成新的自然景观。⁽¹⁸⁾另外，目前世界上有 10 亿人正在受荒漠化问题的困扰，全球 1/4 的土地有干透的危险，非洲地区更为严重，有 2/3 的地区为沙漠或干涸地区，我国是世界荒漠化土地面积较大的国家之一，荒漠化土地面积 262.2 万 km²，占国土总面积的 27.3%，每年因荒漠化造成直接经济损失巨大。面对现实，应积极采取有力措施，控制沙漠化或荒漠化产生的条件，依靠科学技术与沙漠化、荒漠化作斗争，耐旱耐盐碱、耐寒、耐高温和抗风沙植物的有效利用大有可为。

进入 90 年代后，国内外纺织市场的供求关系发生了极大变化。国内棉、麻等天然植物纤维由于种植面积下降而日趋紧缺，投放市场试销的罗布麻保健织物倍受消费者青睐。麻类纤维中品质最优的罗布麻再次受到了市场的关注，人们呼吁加大研究开发力度，促进这一宝贵资源的开发利用。二十一世纪是“绿色”和健康的世纪，体现在纺织服装方面，崇尚“绿色”天然和内在保健功能的珠联璧合将成为服饰消费的新趋势。⁽¹⁹⁾由于罗布麻具有的用途，眼光敏锐的企业都纷纷看好这一潜在的市场。江苏某集团把已有千年入药历史的罗布麻纤维与无需染色处理的彩色棉混纺制成内衣，这种罗布麻纤维彩色麻新品从原料到产品没有经过化学污染，是纯天然的绿色环保产品，集棉的柔软、麻的清爽，丝的光泽于一身。具有透气性、吸湿性和抑菌性，穿着时不粘身，无汗臭，有“热时凉爽，冷时温暖”的特性，具有 24 小时穿着的特点，适合高血压患者平稳、长期降压的需求。山东烟台新潮实业有限公司与新疆共同开发尉犁县一带的罗布麻资源项目启动。新潮公司已投入 2000 多万元人民币，累计收购麻皮 70 吨，加工罗布麻精干麻 20 余吨，创产值 100 多万元。⁽²⁰⁾罗布麻的系列产品走入千家万户，将指日可待。

3. 韧皮纤维的结构

麻类纤维除了少数（如龙舌兰麻、蕉麻）来自叶片外，大多数均取自茎的韧皮部，关于它们的形态学、解剖学、形成和性质应用等已有很详细的研究。⁽²¹⁻²⁴⁾

韧皮部主要是由纤维素、半纤维素、木质素、果胶等物质组成，对于不同麻来说，其组成成分的百分比是有所不同的，例如：苧麻韧皮中，纤维素的含量约为 70~75%，半纤维素含量约为 12~15%，木质素的含量约占 1%，苧麻韧皮中果胶物质的含量约占 4~5.4%，它随着植物的生长而逐步降低的，在植物生长的末期又稍有回升。同时，在苧麻韧皮的表面分布着 1%左右的脂肪蜡质成份，2.0~2.5%的灰份⁽¹⁾；在大麻韧皮中，纤维素含量约为 48~65%，半纤维素含量约为 13~22%，木质素的含量约占 4.5~11%，果胶约占 9.8~17%，脂肪蜡质约占 0.6~1.6%，水溶物约占 0.7%，灰份约占 0.8~1.6%；⁽²⁵⁾在亚麻的韧皮部，纤维素约占 63~76%，半纤维素含量约为 14.7~16.7%，木质素的含量约占 0.65~1.52%，果胶约占 2.46~6.25%，脂蜡质约占 0.5~2.6%，灰份约占 0.8~1.3%。⁽²⁶⁾在红麻韧皮部中，纤维素约占 52.36%，果胶约占 10.04%，半纤维素约占 14.6%，木质素约占 11.11%。⁽⁷⁾在罗布麻韧皮部中，纤维素约占 40.82%、半纤维素约占 15.46%、果胶约占 13.28%、木质素约占 12.14%、脂蜡质约占 1.08%、水溶物约占 17.22%、灰份约占 3.82%。由此可知罗布麻的果胶含量、水溶性物质含量居麻类各纤维之首，木质素含量是所有麻类纤维中最高的。但也有资料报道纤维素含量约为 62%~72% 与苧麻麻纤维的含量相当。⁽¹⁶⁾因此只有先去除韧皮部的果胶物质，麻类纤维才能应用于纺织工业。果胶在植物细胞壁中的位置见图 1

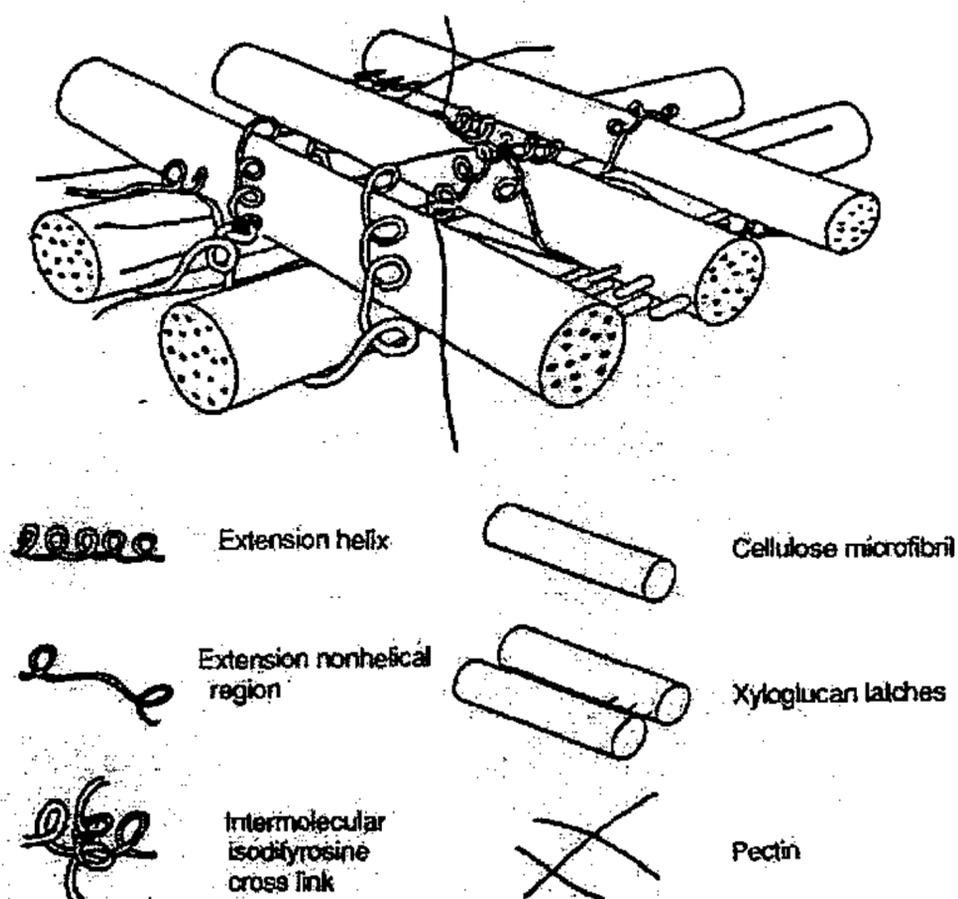


图 1 在植物细胞壁中的聚合物分布的三维结构图

(录自 Wilson and Fry 1986)

果胶是一种含有酸性、高聚合度、胶状碳水化合物的复合体，化学成分复杂，是由 α -1, 4-D 半乳糖醛酸残基和一些鼠李糖分子组成的杂多糖类，天然的果胶在半乳糖醛酸上的羧基可为甲醇高度的酯化形成甲酯（从 40%到 65%）。其分子结构见图 2。它的分子量随不同的来源有很大的差别，从 10000—400000 不等。在植物组织中以水不溶的原果胶状态存在，和纤维素、半纤维素、木质素等相互网络在一起。在麻纺工业上，必须将纤维素以外的其它物质（又统称为胶质物质）去除，制备成工艺纤维方能用于纺织。在工业生产上，去除胶质物质的工艺又叫脱胶工艺。半个多世纪以来，均采用化学方法脱胶，而生物脱胶方法仍然处在研究和中试阶段。

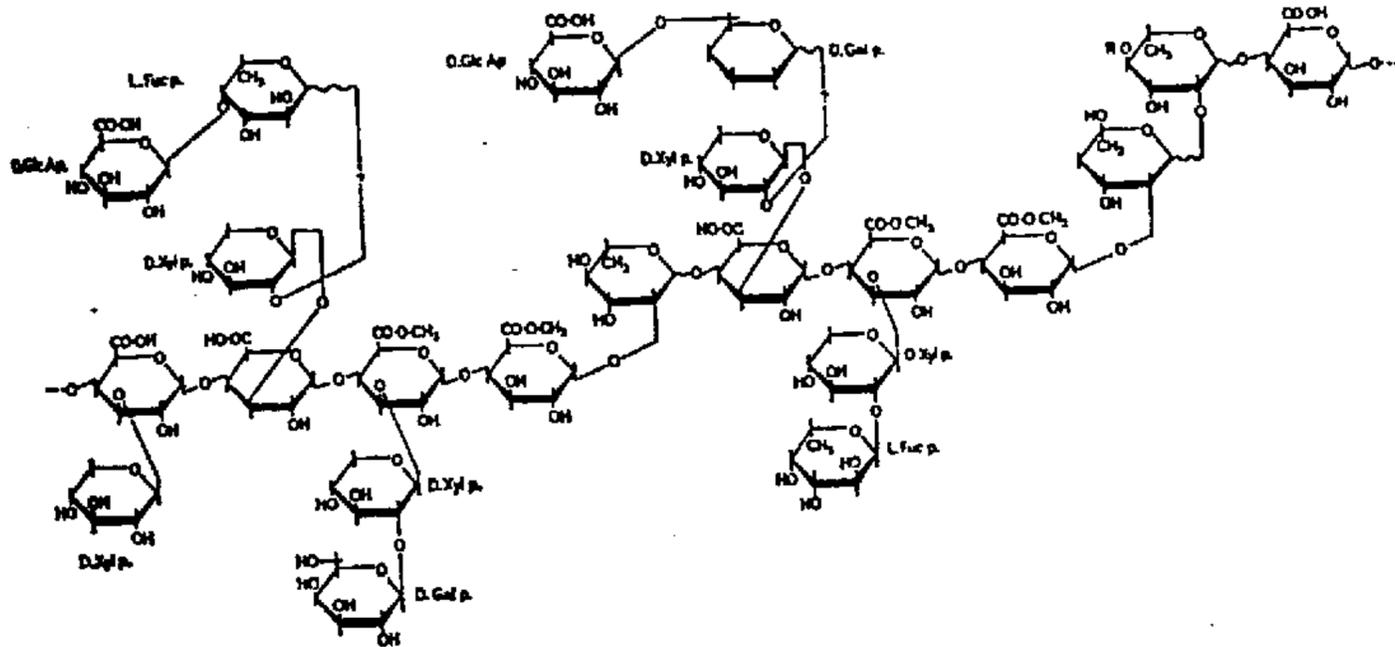


图 2 果胶的分子结构

4. 果胶酶(pectinase)的基本概况

4. 1 果胶酶的用途

由于果胶酶作用于果胶质中的 D-半乳糖醛酸残基之间的糖苷键，使高分子的聚半乳糖醛酸降解为小分子物质。因此，它在食品工业（特别是水果加工业）、麻类脱胶、木材防腐等方面有重要的应用价值。例如，在橄榄汁中加入了果胶酶处理，可使果汁得率提高 25%—30%，出汁率达 65%—70%，而制成的橄榄汁仍保持优良的滋、气味，而且，经过果胶酶处理，橄榄汁处理过滤速度明显提高，有利于提高生产效率。⁽²⁸⁾ 在草莓汁加入果胶酶 0.4%，调整其 pH 值为酶的适宜作用值，在 50℃ 条件下保温 2 小时，可得到澄清、透明、保持原色的澄清草莓汁。⁽²⁹⁾ 这是由于果胶酶降解了果胶物质破坏了胶体的粘附稳定悬浮颗粒的特性，使果胶粘度降低，悬浮颗粒沉降，澄清度提高。⁽³⁰⁾ 果胶酶对葡萄汁的非酶褐变也有一定的影响，它可以有效地提高水果的出汁率，改变果汁的过滤效率，减速和增强果汁的澄清作用。⁽³¹⁾ 在对猕猴桃汁的澄清中，由于果胶酶分解了果胶质，使形成混浊的果胶质、蛋白质等胶体物质分解被破坏而形成絮状物。最终达到果汁澄清的目的。⁽³²⁾ 通过果胶酶对茶叶汁酶解作用的研究，发现绿茶、乌龙茶、红茶的浸出液经过果胶酶酶解后，其超滤通量的变化不同程度的提高，因此果胶酶在茶

浸出液膜的分离中非常有前景。⁽³³⁾ 在苹果汁的加工过程, 加入果胶酶也能起澄清的作用, 而且酶澄清剂的效果更优于化学澄清剂。因为酶澄清剂的作用条件温和, 用量少, 实用性强, 安全可靠, 澄清彻底, 而化学澄清剂是无法与之相比的。⁽³⁴⁾ 同时, 用果胶酶处理果蔬原料可提高其液化率, 从而增加了出汁率, 提高了原料的利用率, 可降低生产成本。⁽³⁵⁾ 在高浓度的酒精发酵过程中, 加入果胶酶可以降低醪液的粘度, 增强糖化酶的能力。⁽³⁶⁾ 另外, 果胶酶在澄清余甘果汁⁽³⁷⁾、山楂饮料的加工⁽³⁸⁾、油桃果汁饮料的加工中也可以加入一定量的果胶酶⁽³⁹⁾。随着果胶酶应用范围的扩大, 它也能够作为一种新型的饲料添加剂, 与纤维素酶、半纤维素酶一起破解植物饲料细胞壁, 使细胞中营养物质释放出来, 提高饲料中能量和蛋白质的利用率。⁽⁴⁰⁾ 作为古老的麻类脱胶工艺, 微生物果胶酶还在广泛使用, 而且, 随着人们的环境意识的不断提高, 微生物果胶酶对麻类的脱胶将越来越广泛被使用。⁽⁴¹⁾

4. 2 果胶酶的来源

果胶酶研究起始于 20 世纪 30 年代, 业已查明它广泛存在于植物果实和微生物中。目前在微生物中主要研究的有浙江农业科学院微生物研究所研究的黑曲霉、⁽⁴²⁾ 本实验室和东北农业大学研究的芽孢杆菌、⁽⁴³⁻⁴⁴⁾ 信阳农学院用的多粘芽孢杆菌 A4、⁽⁴⁵⁾ 本实验室所研究的放线菌⁽⁴⁶⁾ 以及 *Arthrobacter* sp, *Aerobacter* sp, *Pseudomonas* sp, *Bacillus vulgatus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus macerans* *Bacillus polymyxa*, *Penicillium frequentans*, *Mucor* sp, *Sclerotium rawalensis*, *Mycelia sterilia*, *Macrophom inaphaseceoli* 等。⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾

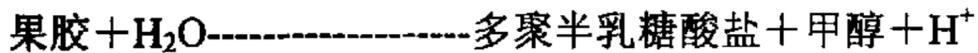
4. 3 果胶酶的分类

果胶酶主要作用 $\alpha-1, 4$ 糖苷键, 水解得到半乳糖醛酸。果胶酶是指分解果胶质的多种酶的总称, 可以根据它们优先作用的底物是果胶还是多聚半乳糖醛酸 (PGA) 来划分; 也可以根据它们不同的反应机制 (β -消除或水解作用) 来进行分类。⁽⁵⁰⁾

果胶酶包含有果胶甲酯酶 (*Pectin Methylsterases*)、内切多聚半乳糖醛酸酶 (*Endopolygalacturonases*)、外切多聚半乳糖醛酸酶 (*Exopolygalacturonases*)、果胶裂解酶 (*Pectin lyase*)、原果胶酶 (*Protopectin*) 等多种组分。⁽⁵¹⁾ 果胶甲酯酶 (EC3.1.1.11)

能移去果胶上的甲基而产生 PGA 和甲醇，该酶是一种羧酸酯酶，是属于水解酶中的一种，它能加快果胶裂解酶的活性。它催化的反应是：

果胶甲酯酶



果胶裂解酶 (EC4.2.2.10) 是 Albersheim 等人在 1960 年首先在商品酶制剂 PectinIR-10 中发现的，1962 年他又和 Killias 分离纯化该商品酶制剂的到了果胶裂解酶纯酶，发现该酶最适 PH5.1-5.3,PI 为 PH3-4，可对酯化度为 65%的柑桔果胶作用，能够通过 β -消除分解天然的果胶和高度 (98%) 甲酯化的多聚半乳糖醛酸，但对多聚半乳糖酸没有活性，为磷酸根和柠檬酸根离子所激活，为 Ca^{2+} 及过量底物所抑制。⁽⁵²⁻⁵⁴⁾ 内切多聚半乳糖醛酸酶 (EC3.2.1.15) 能水解多聚半乳糖醛酸内部的糖苷键。在无果胶甲酯酶的作用下，该酶对高度的甲基化的果胶是没有活性的。外切果胶酸甲酯酶 (EC3.2.1.67) 主要作用于果胶酸，作用的专一性决定于底物是果胶酸或者是完全甲酯化的果胶。

5. 其它酶在纤维深加工上的应用

在对麻类纤维生物脱胶的过程中，由于麻的韧皮纤维组织中除了含有纤维素外，还同时有半纤维素、果胶、木质素等。所以脱胶的过程不单一是果胶酶作用，除了果胶酶，还有碱性纤维素酶、半纤维素酶和木质素酶也起一定的作用。

碱性纤维素酶：

纤维素酶是降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称，它往往不是单种酶，而是起协同作用的多组分酶系。它一般包括 C_1 酶即外切 β -1,4 葡聚糖纤维二糖水解酶、 C_X 酶即内切 β -1,4 葡聚糖酶、和 β -葡萄糖苷酶这三类酶。不同来源的纤维素酶其酶系在组成上是有较大差别的，即其协同组合酶之种类、比例往往不同。⁽⁵⁵⁾

大多数真菌、细菌产生的纤维素酶一般只能在中性偏酸性范围内发挥作用。近年来，碱性纤维素酶正在被应用到洗涤剂工业中，它能使棉纤维的非结晶型纤维区结构膨松，使封闭在纤维间隙中的污物得以释放出来，同时又不破坏织物的牢固性，其作用机理虽然完全不同于传统表面活性剂型洗涤剂，但在洗涤剂中添

加碱性纤维素酶，既可大提高洗衣效果，且不损坏纤维即晶形纤维。然而，在对麻类的生物脱胶的过程中，如果菌株产碱性纤维素酶过高，则有可能损伤纤维。所以在麻类生物脱胶的过程中，应筛选不产碱性纤维素酶的菌株进行脱胶，以提高脱胶后纤维的质量。

半纤维素酶：

半纤维素是植物细胞壁中一种重要的基质多糖 (main polysaccharides)，主要包括甘露聚糖、木聚糖及多聚半乳糖等。它们与伸展蛋白、其他结构蛋白、壁酶、纤维素和果胶等构成具有一定硬度和弹性的细胞壁，半纤维素与木质素、纤维素分子结合后，不但增加对酶降解细胞壁的抗性，而且增加细胞壁成分的不溶性。果胶酶与半纤维素酶协同作用，会加速韧皮联结组织分离。

半纤维素酶类相应包括甘露聚糖酶、木聚糖酶、多聚半乳糖酶等。 β -1, 4-D-甘露聚糖酶是一种能水解含 β -1, 4-D-甘露糖苷键的甘露寡糖、甘露多糖（包括甘露聚糖、半乳甘露聚糖、葡甘聚糖）的水解内切酶，大部分甘露聚糖酶以胞外诱导酶的形式存在于生物体中，只有很少一部分以结构酶的形式存在。木聚糖酶主要有 β -1, 4-内切木聚糖酶、 β -木糖苷酶、 α -葡萄糖醛酸苷酶、乙酰木聚糖酯酶、酚酸酯酶组成。随着木聚糖酶对木聚糖的降解，纤维细胞壁上产生许多洞隙，有助于木质素的溶出。⁽⁵⁶⁾

木质素酶：

木质素是构成植物细胞壁的主要组成部分之一，是一类主要由芥子醇、松柏醇和香豆酮三种基本结构单元构成的、具有三维结构的芳香族高聚物，由各种C-C键联结在一起的无定型高分子化合物。由于木质素的这种特殊结构，微生物几乎不能通过水解方式水解。自然界中能够降解木质素并产生相应酶类的微生物只占少数，木质素的完全降解是细菌、真菌及相应微生物共同作用的结果。其中起主要作用的是真菌。目前，关于木质素降解酶的研究工作主要集中在白腐菌所产生的酶系。木质素降解酶系是非常复杂的一个体系，很多问题至今还不是很十分清楚。目前，木质素酶的应用，主要集中在造纸工业中的生物制浆上。⁽⁵⁷⁾

通常麻类木质素含量较低，不是脱胶的主攻对象，然而，罗布麻木质素的含量却是各类麻中最高的，这就对木质素酶在罗布麻脱胶的过程中提出了新的要

求。麻纤维中木质素含量的多少直接影响纤维的品质，木质素含量少的纤维光泽好、柔软并富有弹性，可纺性能及着色性均好。反之，则纤维的光泽、柔软性、弹性、可纺性及着色性均差。提高脱胶过程中菌株产木质素酶的含量，将大大有利于脱胶过程的进行，同时脱胶后得到的纤维性能将会有大幅度的提高。

第二章 罗布麻生物脱胶菌株的筛选

通过对本实验室所存有的 29 株菌，筛选获得 8 株对罗布麻脱胶效果比较好的菌株，从脱胶纤维的分散程度、脱胶后的失重率和残胶率分析，进一步改善条件，罗布麻生物脱胶工艺的实际应用是可能的。

1. 材料与方法

1. 1 材料

1. 1. 1 菌种

Bacillus sp 2A、*Bacillus* sp 13A、*Bacillus* sp 16A、*Bacillus* sp B₁₂₋₁₃₋₂
Erwinia sp 26-2-3、150、226、173 等本实验室保存的 29 株研究用菌株（见下表 1），其中 150、226、173 等为原生质体融合菌株。

1. 1. 2 罗布麻(新疆产)：成熟的干品

1. 1. 3 试剂、药品与仪器

1. 1. 3. 1 培养基：

斜面培养基成份含量：

牛肉膏 0.5g，蛋白胨 0.5g，葡萄糖 0.5g，NaCl 0.5g，琼脂 2.0g，
水 100ml，pH 7.2-7.4

菌体细胞培养基成份含量：

牛肉膏 0.5g，蛋白胨 0.5g，葡萄糖 0.5g，NaCl 0.5g，水
100ml，PH7.2-7.4

液体发酵培养基成份含量：

麸皮 5% 玉米面 2% (NH₄)₂SO₄ 1% K₂HPO₄ 0.1% MgSO₄ 0.05% pH8.5

1. 1. 3. 2 Somogyi 试剂⁽⁵⁸⁾

A 液（铜试剂）的制备：称取酒石酸甲钠 12 克，无水碳酸钠 24 克，碳酸氢钠 16 克，分别溶于 200 毫升蒸馏水中后三种溶液充分混匀，另称取硫酸铜 4 克，溶于 200 毫升蒸馏水中，完全溶解后，将硫酸铜溶液缓慢加入先前配好的混合液中并同时不停搅拌。制备的溶液加入 180 克无水硫酸钠，混合后在沸水浴中加热 20 分钟。冷却后过滤除去沉淀，稀释定容至 1000 毫升，于 20℃ 以上保存。

B 液（砷钼酸试剂）的配制：称取 25 克钼酸铵，溶于 450 毫升蒸馏水中，再

加入 22 毫升浓盐酸，充分混匀，另取 3 克砷酸氢二钠溶于 25 毫升蒸馏水中。将此溶液与上述酸性钼酸铵溶液混合均匀。将两种溶液混合均匀后于 37℃ 处放置 24~48 小时即可用于测定。此试剂应在棕色瓶中保存。

1. 1. 3. 3 主要仪器

PHS-3C 数显精密酸度计（上海雷磁仪器厂） JA-1003 电子精密天平（上海天平厂） HY-X34 恒温摇瓶机（山东大学制造） HHB11 恒温培养箱（天津实验仪器厂生产） OLYMPUS 光学显微镜 H-I 微型混合器（上海沪西生化仪器厂） 四孔水浴锅等

1. 2 方法

1. 2. 1 菌种培养方法

1. 2. 1. 1 芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)

将芽孢杆菌菌株转接至新鲜斜面培养基上，34℃ 培养 12hr。再将斜面培养基上生长良好的菌株转接到液体发酵培养基中，34℃ 摇床培养 48hr 左右，即得到脱胶试验所用的菌体细胞。

1. 2. 1. 2 其它菌种

将菌株转接至斜面培养基上，34℃ 培养 8hr。再将斜面培养基上生长良好的菌株移接到菌体细胞培养基中，34℃ 摇床培养 16hr，即得到脱胶试验所用的菌体细胞。

1. 2. 2 酶活测定方法：

果胶酶 (Pectinase) 酶活测定：取 0.2ml 发酵液定容至 100ml (稀释 500 倍)，取 0.2ml 稀释液，加入 0.5ml 0.25% 的天然果胶溶液。50℃ 水浴保温 30 分钟后加 1 毫升铜试剂，沸水浴中放置 10 分钟，待冷却后，加入砷钼酸试剂 1 毫升，剧烈震荡至反应结束，用蒸馏水定容至 10 毫升，620nm 测 OD 值。以煮沸灭活酶液为空白对照。酶活单位为在上述条件下，每分钟由底物释放 1 μ mol 的半乳糖醛酸所需酶量，以 IU/ml 表示。

木聚糖酶 (Xylanase) 酶活测定：取 0.2ml 发酵液定容至 10ml (稀释 50 倍)，取 0.2ml 稀释液加 0.3ml 木聚糖溶液，50℃ 水浴保温 15 分钟后加 1 毫升铜试剂，沸水浴中放置 10 分钟，待冷却后，加入砷钼酸试剂 1 毫升，剧烈震荡至反应结

束，用蒸馏水定容至 10 毫升，620nm 测 OD 值。以煮沸灭活酶液为空白对照。

甘露聚糖酶(Mannase)酶活测定：取 0.2ml 发酵液定容至 10ml（稀释 50 倍），取 0.2ml 稀释液加入 0.5ml 甘露聚糖溶液，50℃水浴保温 20 分钟后加 1 毫升铜试剂，沸水浴中放置 10 分钟，待冷却后，加入砷钼酸试剂 1 毫升，剧烈震荡至反应结束，用蒸馏水定容至 10 毫升，540nm 测 OD 值。

1. 2. 3 脱胶条件：

菌株脱胶效果初筛时，菌液与罗布麻的比例为 5ml—10ml 菌液：1g 罗布麻。脱胶条件为：浴比 1：25，50℃，7hr 静置状态或浴比 1：25，34℃，24hr 静置状态。

1. 2. 4 观察与测定：

1. 2. 4. 1 定性观察：

脱胶后的麻，先用手指轻捻，比较柔软程度。经过敲打，然后在清水中摆动漂洗，比较纤维分散的程度。深度脱胶的麻，经漂洗胶质脱落，纤维分散显露。

纤维含果胶酶物质的定性测定：

将罗布麻纤维与 10%硫酸铜溶液作用后，用水洗净，再用 10% 的黄血盐溶液（即亚铁氰化钾， $K_4Fe(CN)_6$ ）处理，若呈玫瑰色，即证明纤维上有果胶物质存在，色的深浅以纤维内所含果胶物质质量的多少而定。

1. 2. 4. 2 定量测定：

失重率的测定

脱胶前准确称量原麻重量，脱胶后仔细收集其分散纤维，烘干，称 2 次，取平均值。计算式如下：失重率 (%) = $[(原麻重 - 脱胶后麻重) / 原麻重] \times 100$

残胶率测定

将脱胶麻放入 2%NaOH 中，浴比为 1：10，在手提高压锅中保持 1 kg 压力，30min 后取出，用清水冲洗（注意勿损失纤维），烘干，称量，取 2 次重复平均值，计算式：残胶率 (%) = $[(处理前脱胶麻重 - 2\%NaOH 处理后麻重) / 处理前脱胶麻重] \times 100$

2. 试验结果与讨论

2. 1 试验结果

2. 1. 1 菌株的初步筛选

以本实验室 29 株菌进行的筛选试验, 表明这些菌株对罗布麻都有不同程度的脱胶能力, 结果如下(表 1):

表 1: 脱胶菌株初筛结果

菌株	142	220	229	52	150	256	227	2-9	173	2-3
脱胶效果	++	+	++	++	++	+	++	++	++	+
菌株	195	147	162	168	224	141	226	230	153	255
脱胶效果	+	++	-	+	++	+	+++	+++	++	+
菌株	257	1-4	180	1-1	E ₂₆₋₂₋₃	B ₁₂₋₁₃₋₂	2A	13A	16A	
脱胶效果	-	++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	

注: 1、脱胶温度和时间是根据以往试验设定;

2、除菌株 E₂₆₋₂₋₃ 脱胶温度 34℃, 时间 24hr, 其它菌株均为 50℃, 8hr;

3、+++ 示脱胶作用好, 脱胶麻经过敲打, 在水中漂洗纤维即分散, 柔软; ++ 示脱胶作用比较好, 手感软, 纤维基本分散; + 示脱胶作用尚可, 手感略硬, 经敲打纤维可分散; - 示脱胶作用差。

2. 1. 2 菌株 2A、13A、16A 和 E₂₆₋₂₋₃ 脱胶效果比较试验

对 4 株脱胶效果好的菌株进行了罗布麻脱胶的比较试验, 测定了其脱胶失重率和残胶率, 结果如下 (图 3):

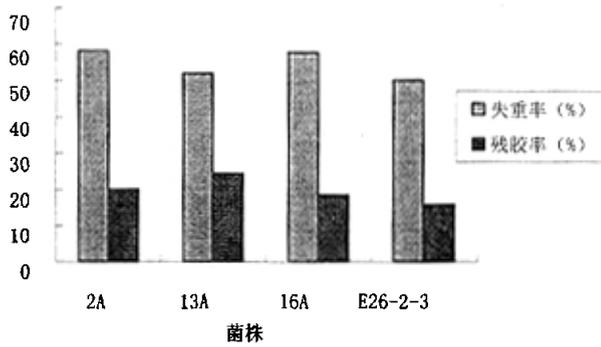


图3: 四菌株脱胶试验比较

2. 1. 3 脱胶纤维果胶含量定性测定, 结果如下 (表 2):

表 2: 果胶含量测定结果

菌株	142	147	229	52	150	226	227	2-9	173	230
纤维效果	++++	++++	+++	+++	+++	+++	++	++++	+++	+++
菌株	E ₂₆₋₂₋₃	B ₁₂₋₁₃₋₂	2A	13A	16A	对照				
脱胶效果	++	++	++	++	++	+				

注: 1.对照为直接用强碱处理的; 2.++++ 示颜色极深; +++ 示颜色较深; ++示颜色较浅; + 示颜色很浅。

2. 1. 4 菌株 2A、13A、16A 酶活测定比较, 结果如下 (图 4):

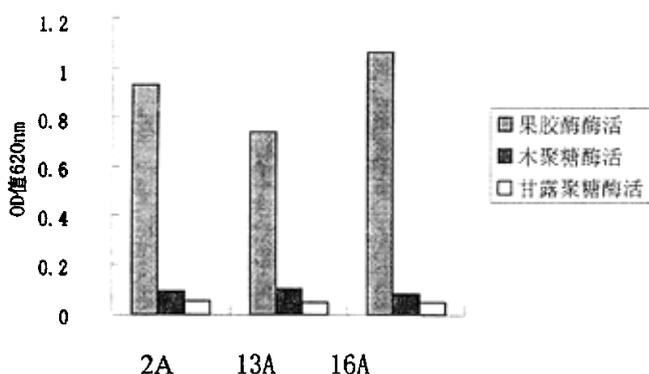


图4: 酶活比较

2. 2 讨论

通过对罗布麻脱胶初筛,发现本实验所用的菌株中有 65.5%具有较好的脱胶作用,经过多次脱胶试验发现有 5 株菌(2A、13A、16A、E₂₆₋₂₋₃ B₁₂₋₁₃₋₂)脱胶效果最好,其中尤以 16A 菌株脱胶能力最为突出,脱胶能力经传代移接后比较稳定。融合子 230 初筛时,脱胶效果很好,但重复试验时,脱胶效果大幅下降,性能不稳定。融合子 173, 226, 150 脱胶效果也较好,传代移接后稳定。

对初筛时脱胶效果较好的菌株的脱胶纤维进行果胶残留物质测定,用强碱直接处理得到的纤维作为对照,进行颜色比较。我们可以看出,直接用强碱处理的纤维,果胶残留物质较少,颜色很浅。菌株 12A、16A、13A、E₂₆₋₂₋₃、B₁₂₋₁₃₋₂ 处理后的纤维,颜色比对照深,果胶残留物相对较高,但相信通过改良菌株脱胶条件,得到的纤维果胶残留应该有大幅减少。融合子菌株脱胶初筛时,脱胶后的纤维处理后颜色普遍都很深,果胶残留率高,目前不适用于生产应用。

通过对 2A、13A、16A、E₂₆₋₂₋₃ 4 株菌进行罗布麻的进一步脱胶比较试验,从失重率判断:2A 和 16A 菌株脱胶作用更好一些。从残胶率分析来看,16A 和 E₂₆₋₂₋₃ 的效果更好一些。

通过对 2A、13A、16A 菌株的果胶酶酶活,木聚糖酶酶活,甘露聚糖酶酶活的测定,我们发现这三个菌株的果胶酶酶活远远高于其它两个酶的酶活,同时 16A 菌株的果胶酶酶活又稍高于 2A 和 13A 菌株。

综上, 经过初筛, 我们发现芽孢杆菌 16A 菌株在对罗布麻脱胶上更优于其他菌株, 无论从其产酶还是其脱胶效果上, 我们都可以得出 16A 的脱胶效果最佳。

第三章 融合子罗布麻生物脱胶比较试验

经过对本实验室所存的 29 株菌的筛选,除了芽孢杆菌以外,发现菌株 *Erwinia* sp₂₆₋₂₋₃ 及其融合子同样具有较好的脱胶效果,本实验室的融合子是由芽孢杆菌 B₁₂₋₁₃₋₂ 及 *Erwinia* sp₂₆₋₂₋₃ 经过原生质体融合,筛选所得⁽⁵⁹⁾。经过一系列条件试验,能否从菌株 *Erwinia* sp₂₆₋₂₋₃ 与其融合子中找到更好的脱胶菌株,使其更适应工业化生产,我们开展了下面的工作。

1. 材料与方方法

1. 1 材料

1. 1. 1 菌株

Erwinia sp₂₆₋₂₋₃、融合子 150、226、173 等

1. 1. 2 培养基

液体完全培养基

牛肉膏 0.5% 蛋白胨 0.5% 葡萄糖 0.5% NaCl 0.5% pH7.2

固体培养基

在上述培养基中加入 2%琼脂。

1. 1. 3 主要仪器

同上一章

1. 2 方法

将菌株接种至新鲜斜面培养基上,34℃培养 5hr 至 6hr,再将斜面培养基上生长良好的菌株移接到液体完全培养基中,34℃摇床培养 12hr 左右,即得到脱胶试验所用的菌体细胞。

2. 实验结果与讨论

2. 1 E₂₆₋₂₋₃ 菌株脱胶试验

2. 1. 1 E₂₆₋₂₋₃ 菌株脱胶菌液不同 pH 对脱胶的影响

将脱胶菌液分别调 pH 至 7.0、8.0、9.0、10.0 和不调 pH 的菌液(约 pH6.0)进行脱胶试验,按脱胶后麻的失重率作曲线图如下(图 5):

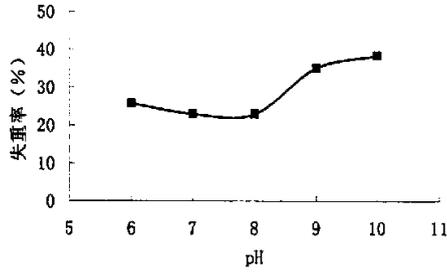


图5: pH对脱胶的影响

由上图可见, 将脱胶液 PH 调至 9.0 以上, 则脱胶效果有较大幅度的提高。
将脱胶前后 PH 变化绘制成图, 如下 (图 6):

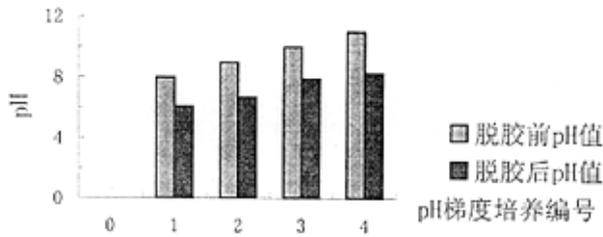


图6: 脱胶前后pH的变化

2. 1. 2 E₂₆₋₂₋₃ 脱胶时间试验

对欧文氏菌的不同脱胶时间进行脱胶, 结果如下 (图 7):

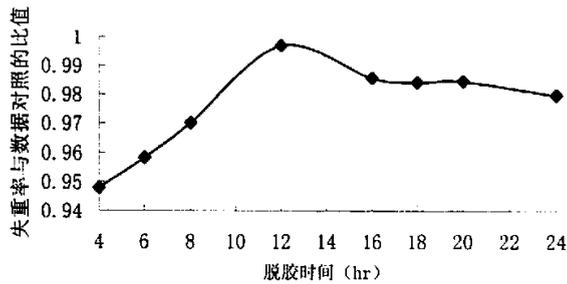


图7: E₂₆₋₂₋₃不同时间脱胶

2. 1. 3 E₂₆₋₂₋₃ 菌株菌液用量对罗布麻脱胶作用的影响

分别用 2ml、4ml、6ml 菌液对 2g 罗布麻进行脱胶，试验结果按罗布麻脱胶后的失重率作图如下（图 8），说明脱胶菌液用量与罗布麻的比例为体积(ml): 重量(g)=1: 1 时效果较差，达到 3: 1 时脱胶效果就比较好。

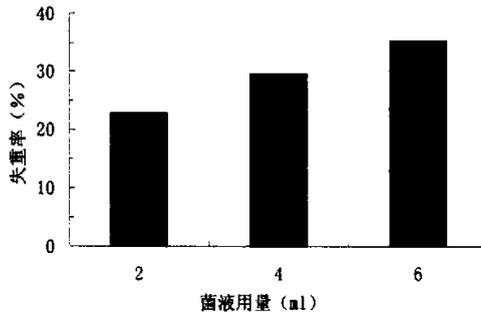


图8: 菌液用量对脱胶的影响

2. 2 融合子不同 pH 脱胶效果比较:

融合子不同 pH 时脱胶，结果如下（图 9）:

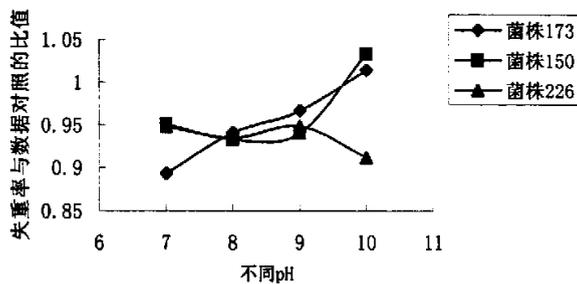


图9: 融合子不同pH的脱胶效果

2. 3 相同菌液量、脱胶时间，不同温度下脱胶效果的比较:

对融合子、欧文氏菌、芽孢杆菌在相同菌液量（10ml 菌液: 1.5g 麻）、相同的脱胶时间（8hr）的脱胶条件下，进行试验，结果如下（图 10）:

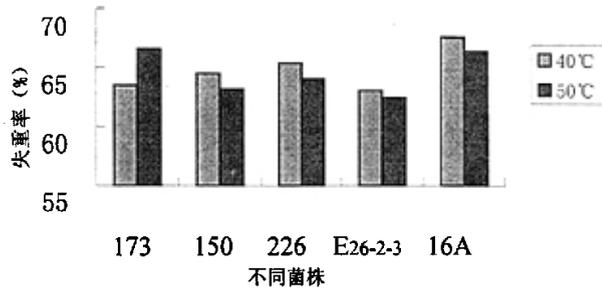
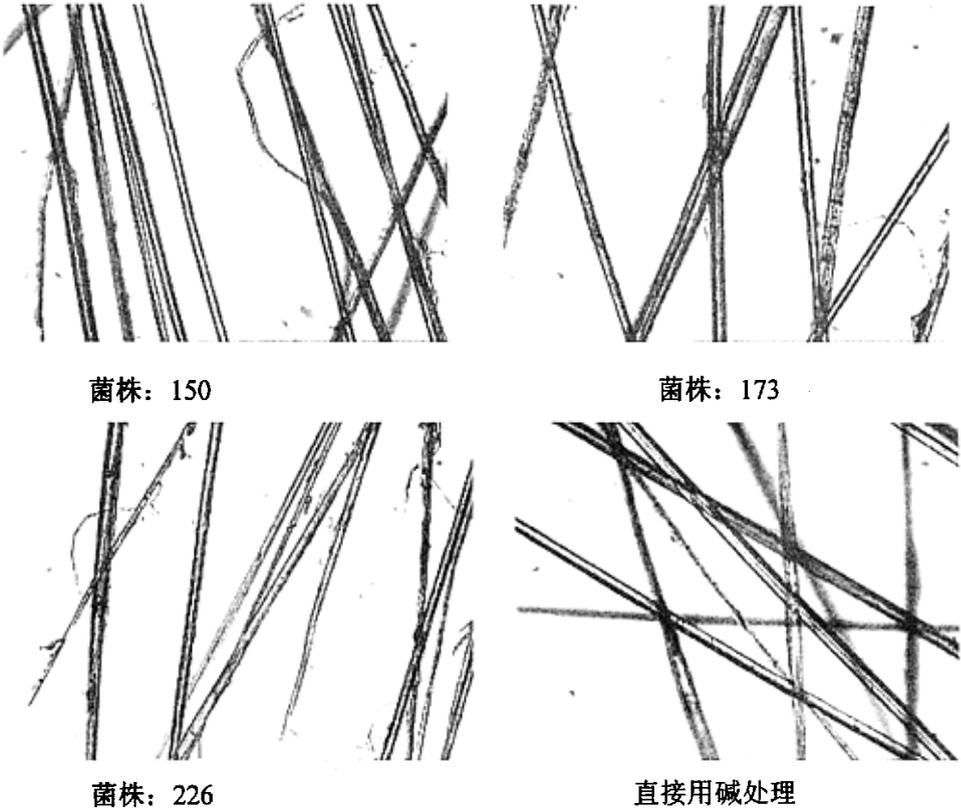
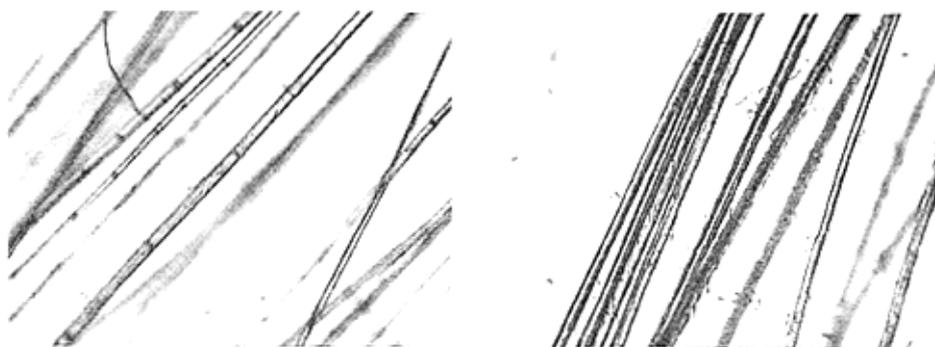


图10: 不同脱胶温度的影响

2. 4 脱胶后纤维比较: (放大倍数均为 100 倍)





芽孢杆菌: 16A

欧文氏菌

各菌株在各自最优的脱胶条件下, 脱胶后, 我们通过测定了大量纤维的直径以及脱胶后粗细纤维的数量比值, 得出如下表 3 结果:

表 3: 脱胶后纤维直径及纤维粗细比值

	173	226	150	E ₂₆₋₂₋₃	16A	化学脱胶
脱胶纤维直径 (μm)	19.8	19.0	18.7	19.2	18.2	18.9
粗/细比值	100/222	100/282	100/348	100/308	100/380	100/318

注: 测定时直径(含)22 μm 以上的为粗; 直径 22 μm 以下的为细。

2. 5 讨论

本实验的融合子是经过原生质体融合而得到的, 通过试验, 我们可以看出, 融合原株欧文氏菌及其融合子的不同 pH 值条件下, 脱胶效果是不同的, 欧文氏菌在 pH9 以上, 脱胶效果较好, 而融合子的表现不一, 融合子 173、150 在 pH10 的时候脱胶效果较好, 而融合子 226 则在 pH8~9 之间效果最优。从脱胶温度来看, 除了菌株 173 以外, 其它菌株均是 40 $^{\circ}\text{C}$ 时优于 50 $^{\circ}\text{C}$ 。从脱胶时间上来看, 欧文氏菌的脱胶时间在 12hr 后, 融合子在 8hr 左右就可以达到效果较好。

在相同菌液量, 相同脱胶时间的情况下脱胶, 我们可以看出芽孢杆菌 16A 的脱胶效果远好于欧文氏菌及融合子, 而融合子的脱胶效果又稍优于其融和原株欧文氏菌。融合子具有欧文氏菌的培养时间短和芽孢杆菌的脱胶时间短的双重优点。虽然从目前的脱胶效果来看, 融合子与芽孢杆菌的脱胶效果还有一定的差距, 相信通过进一步改善脱胶条件, 融合子在罗布麻生物脱胶应用上也是有可能的。从脱胶后纤维来看, 芽孢杆菌 16A 脱胶后单纤维结构清晰, 透明度高, 纤维较细。

第四章 芽孢杆菌 16A(*Bacillus sp.* No.16A)菌株脱胶条件试验

在通过对实验室 29 株菌的筛选后,发现芽孢杆菌 16A 对于罗布麻的脱胶能力最强,为了进一步了解其对于罗布麻脱胶的最佳条件,我们从预处理、脱胶温度、脱胶时间、脱胶 pH 以及菌液用量上开展了大量工作。

1. 材料与方法

1. 1 材料

1. 1. 1 菌株

Bacillus sp. 16A (本实验室所有)

1. 1. 2 罗布麻(新疆产):成熟的干品

1. 1. 3 培养基

1. 1. 3. 1 固体培养培养基

牛肉膏 0.5% 蛋白胨 0.5% 葡萄糖 0.5% NaCl 0.5% 琼脂 2% pH7.2

1. 1. 3. 2 液体发酵培养基

麸皮 5% 玉米面 2% (NH₄)₂SO₄ 1% K₂HPO₄ 0.1% MgSO₄ 0.05% pH8.5

1. 1. 4 主要仪器

HHB11 恒温培养箱(天津实验仪器厂生产);HY-X3 恒温摇瓶机(山东大学制造);JA-1003 电子精密天平(上海天平厂);PHS-3C 数显精密酸度计(上海雷磁仪器厂)

1. 2 方法

将菌株转接至新鲜斜面培养基上,34℃培养 12hr,再将斜面培养基上活化,生长良好的菌株转接到液体发酵培养基中,34℃摇床培养,即得到脱胶试验所用的菌体细胞。

2. 实验结果与讨论

2. 1 数据对照:

将未经任何处理的罗布麻放入 2%NaOH 中,浴比为 1:10,在手提高压锅中保持 1kg 压力,30min 后取出,用清水冲洗(注意勿损失纤维),烘干,称量。通过对多个不同质量的罗布麻处理,我们得出罗布麻经过强碱处理后,完全失重的平均值为:65.6%。即最终罗布麻纤维得率为:34.4%。

2. 2 原麻预处理对脱胶效果的影响:

由于罗布麻成熟的干品比较干硬，所以罗布麻在脱胶之前，经过一定的预处理，使罗布麻变软，以原麻未经任何处理，进行脱胶为对照，把其测得失重率值，残胶率值定义为 100，其余经过预处理脱胶的麻的失重率及残胶率与其比较得出相对值。对于失重率而言，这个相对值越高，说明脱胶程度越好，失重率越高，麻壳去除越干净。对于残胶率而言，这个相对值越小，说明脱胶效果越好。预处理的方式分为：用清水、稀酸、稀碱泡和煮，试验结果如下(图 11，图 12):

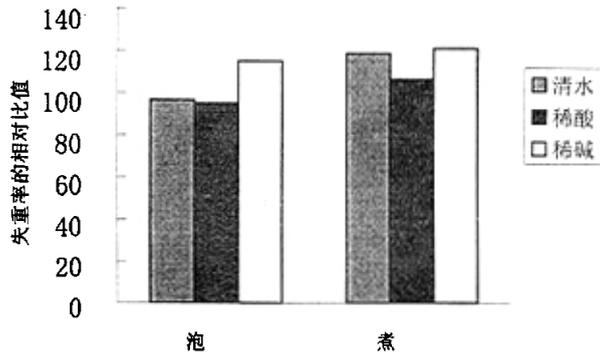


图11: 预处理对于失重率的分析

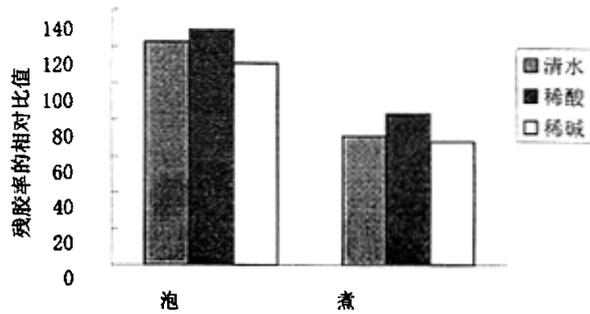


图12: 预处理对残胶率的分析

2.3 菌龄试验:

将斜面培养基上活化, 生长良好的菌株移接到液体发酵培养基中, 34℃摇床分别培养 24hr, 48hr, 72hr。得到的发酵液分别进行脱胶试验, 结果如下(图 13):

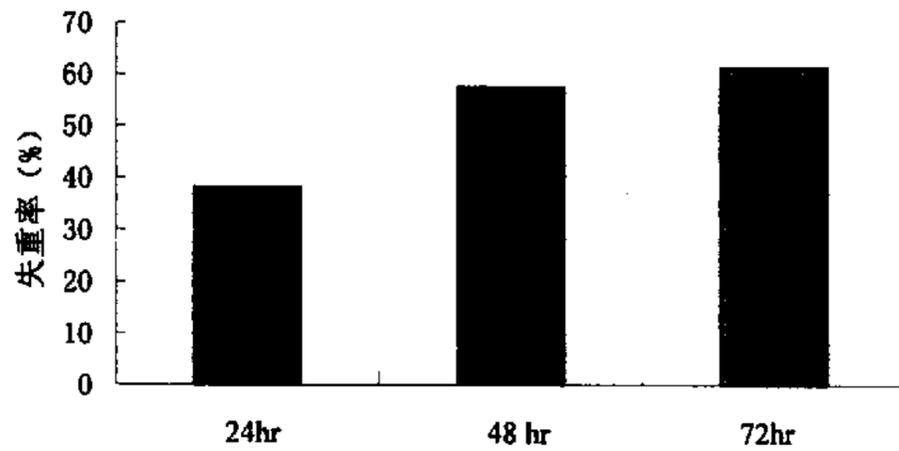


图13: 不同菌龄脱胶比较

2.4 温度对脱胶效果的影响:

通过不同温度脱胶失重率与数据对照的比值作图, 脱胶温度从 30℃到 70℃, 试验结果如下图 14:

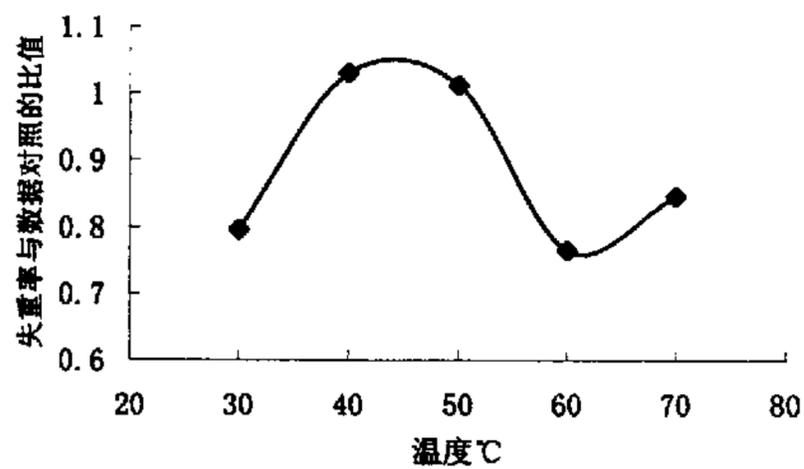


图14: 温度对脱胶的比较

2. 5 pH 对脱胶效果的影响:

不同的脱胶 pH 会对脱胶产生不同的影响, 我们从酸性到碱性不同的情况下进行脱胶, 试验结果如下 (图 15):

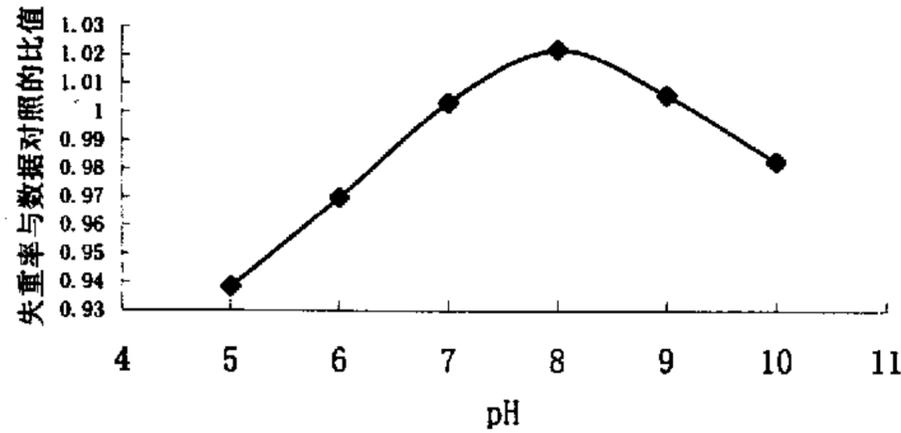


图15: 不同pH对脱胶的影响

2. 6 脱胶时间对脱胶效果的影响:

脱胶时间的不同, 将影响罗布麻脱胶效果, 同时, 考虑到在生产上要实现应用, 脱胶时间越短, 对于工业化大生产的周期就越短。试验结果如下 (图 16):

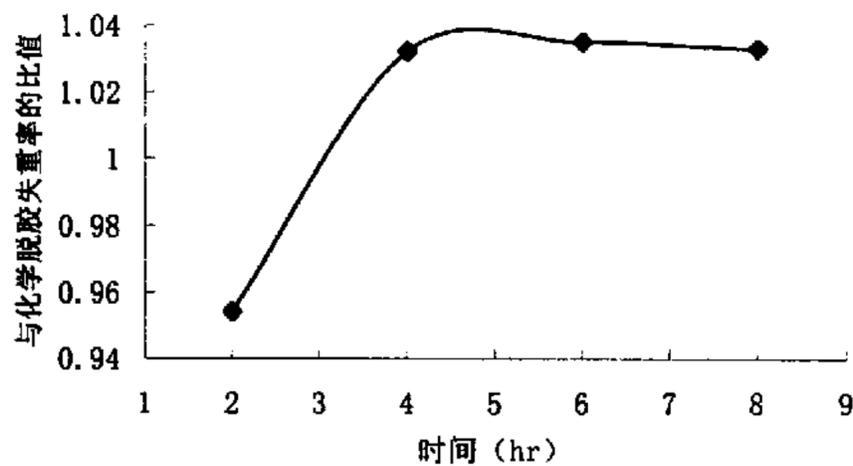


图16: 不同脱胶时间的影响

2. 7 菌液用量对脱胶效果的影响:

在生产应用中, 如何节省成本, 产生效益, 是企业最关心的问题, 罗布麻脱胶, 如何用最少的菌液量, 处理最多的麻, 而且还要处理效果好, 从这个目的出发, 我们对菌液用量进行了一系列试验, 结果如下 (图 17):

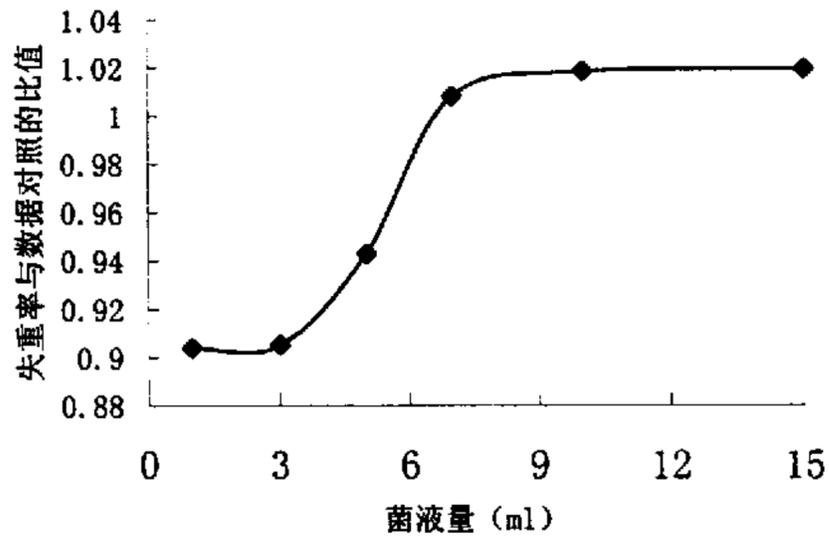


图17: 菌液量对脱胶的影响

2. 8 脱胶过程中 pH 及酶活的变化试验:

由于在脱胶过程中, 果胶酶不断作用, 胶质物质不断分解, 产生半乳糖醛酸, 所以脱胶过程中, pH 值应该不断下降, 试验结果如下 (图 18):

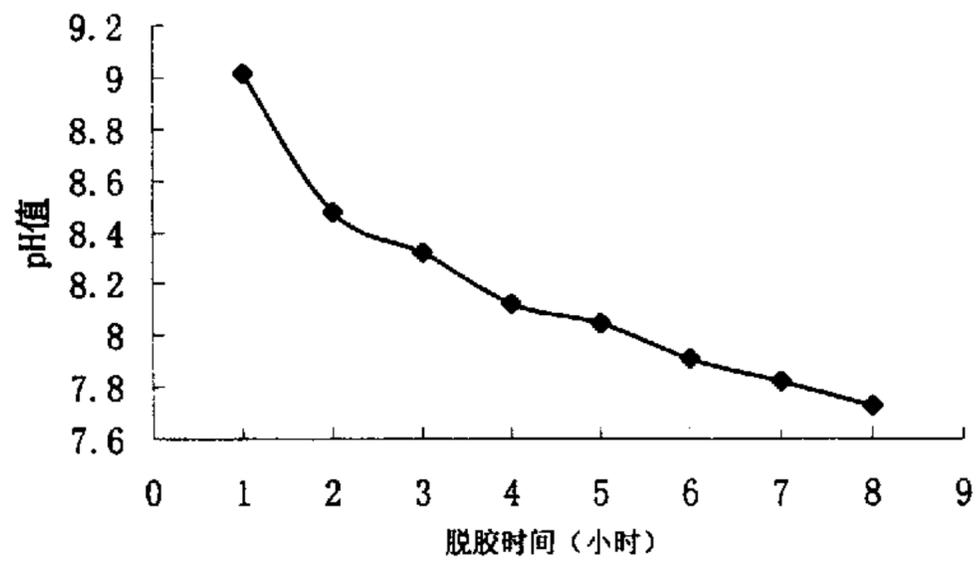


图18:脱胶过程中pH的变化

脱胶过程，随着时间的延长，酶活必定有损失，下面测定了脱胶过程中酶活的变化情况，结果如下（图 19）：

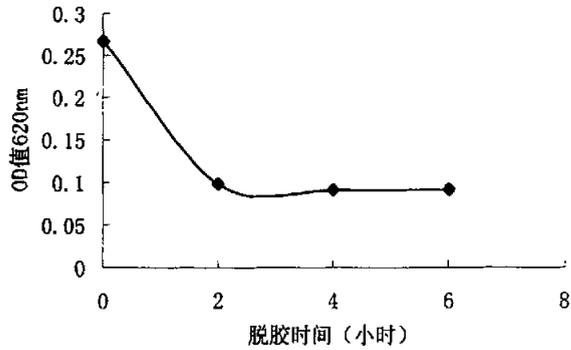


图19: 脱胶过程中酶活的变化

2. 9 脱胶前后纤维电镜下的形态比较:

2. 9. 1 直接用强碱化学脱胶:



2. 9. 2 16A 菌株最优条件下生物脱胶:



2. 9. 3 16A 生物脱胶后用碱处理



2. 10 讨论:

通过对芽孢杆菌 16A 菌株进行罗布麻脱胶条件的一系列试验, 我们发现: 经过预处理的罗布麻, 比较软, 与未经处理的原麻相比较, 其所需的浴比较小。同时从失重率、残胶率的脱胶效果来看, 不同的预处理方式, 煮的效果优于泡, 稀碱的效果优于清水和稀酸。另外, 在煮的过程中, 罗布麻纤维中色素含量大量减少, 对于提高罗布麻纤维质量, 对生产工艺上的染色环节应该有一定帮助。

通过对不同发酵时间的发酵液脱胶情况进行比较, 72hr 的发酵液脱胶效果最好, 48hr 的脱胶效果次之, 24hr 的最差。从脱胶时间的试验结果我们可以看出, 从 4hr 以后脱胶效果就趋于稳定, 考虑到在工业化生产中, 时间就是金钱, 我们建议的脱胶条件是: 发酵液培养时间 48hr, 脱胶时间为 5hr。

对不同温度和 pH 的试验表明, 温度在 40℃ 和 50℃, 脱胶 pH 在 8 时, 脱胶效果最好。同时, 在试验的过程中发现, 如果脱胶温度过高, 溶液蒸发比较快, 脱胶液比较容易干, 以至影响脱胶效果。同时考虑到工厂生产中, 温度越高, 难度越大, 消耗成本越大, 所以脱胶温度控制在 40℃ 为好。

在对菌液量对于脱胶效果影响的试验中, 我们发现, 当菌液量 (ml) 与罗布麻重 (g) 的比值达到 6: 1 时, 再增加菌液, 脱胶效果趋于稳定。

同时, 我们可以看出, 在脱胶的过程中, pH 是不断下降的, 酶活从开始脱胶的 2hr 内下降最快, 损失有一半以上, 然后趋于稳定。保持脱胶 pH 不变, 酶活损失尽量减少, 是否会进一步提高脱胶效果, 还有待于进一步试验。同时, 酶活在 2hr 后一直趋于稳定, 这对于脱胶酶液的重复利用应该是有利的。

通过比较在扫描电镜下观察用强碱直接脱胶后的纤维和用芽孢杆菌 16A 最优条件下的脱胶纤维以及生物脱胶后再用碱处理的纤维, 我们可以看出, 用芽孢杆菌 16A 脱胶后纤维比用碱直接处理的纤维细, 同时生物脱胶不损伤纤维, 单纤维结构清晰, 纤维分散度较好, 果胶残留物也较少, 透明度较强。

综上, 我们通过对芽孢杆菌 16A 罗布麻生物脱胶的研究表明, 其最佳脱胶条件为: 用培养 48 小时的发酵液进行脱胶, 原麻预处理用稀碱煮 20~30 分钟, 菌液用量 (ml): 罗布麻重 (g) 为 6: 1, 脱胶温度 40℃, 脱胶 pH8.0 左右, 脱胶时间 5 小时左右罗布麻脱胶效果最佳。

第五章 芽孢杆菌(*Bacillus*)、欧文氏菌(*Erwinia*)、融合子基本生物学特性

本章对芽孢杆菌、欧文氏菌、融合子的形态及其生理生化特性进行了分析。

1. 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

Bacillus sp 2A、*Bacillus* sp 13A、*Bacillus* sp 16A、*Bacillus* sp B₁₂₋₁₃₋₂、*Erwinia* sp 26-2-3、融合子 150、226、173

1.1.2 主要试剂与药品

0.5% 刚果红、1mol/l 的 NaCl、2.5% 石蕊溶液等

1.1.3 培养基

1.1.3.1 液体完全培养基： 同第二章

1.1.3.2 固体完全培养基： 同第二章

1.1.3.3 糖发酵培养基

蛋白胨 0.2%、NaCl 0.5%、磷酸氢二钠 0.03% 所试糖 1%、溴百里香酚蓝 0.003% PH7.0~7.4

1.1.3.4 CMC 利用培养基

CMC 10 克、K₂HPO₄ 0.3g、MgCO₃ 1.0g、NaCl 0.5g、KNO₃ 1.0g、琼脂 1.2g、蒸馏水 1000ml

1.1.3.5 果胶利用培养基

酵母浸粉 5g、10%氯化钙 (CaCl₂ · 2H₂O) 水溶液 5ml、0.1%溴百里酚蓝 12.5ml、果胶 30g、琼脂 约 10g、水 1000ml pH7.1~7.5

1.2 方法

1.2.1 形态和产色素的情况

分别将融合子、芽孢杆菌和欧文氏菌接种在土豆和肉汤培养基上，观察其菌落形态、产色素情况及细菌的形态。

1.2.2 革兰氏染色⁽⁶⁰⁾

1. 2. 3 对温度的敏感性

将菌种放入 4℃ 的温度下三个月后观察其生长情况。

1. 2. 4 葡萄糖、乳糖、蔗糖、甘露糖、麦芽糖的利用

将各个细菌分别接入含有杜氏小管的糖发酵培养基中，34℃ 培养 3 天。如果颜色变黄，说明产酸，如果变蓝，说明产碱，如果杜氏小管中有气泡，测产气。

1. 2. 5 多糖的利用

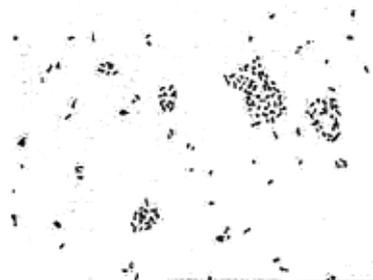
观察 8 株菌对以下五种多糖的利用：CMC、国产葵花盘胶。将活化好的菌种接入对应的培养基后，观看各自的生长情况。观察它们的生长情况，同时用 0.5% 的刚果红染色 4~5 分钟后，再用 1mol/l 的 NaCl 洗去刚果红，观察有无透明圈。

2. 实验结果与讨论

2. 1 菌体形态



菌株 173



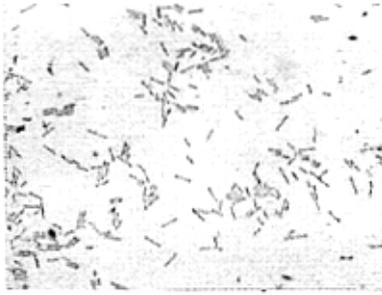
菌株 150



菌株欧文氏菌 26-2-3



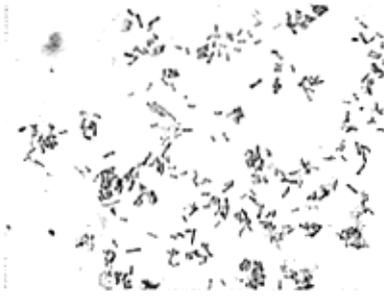
菌株 226



芽孢杆菌 2A



芽孢杆菌 13A



芽孢杆菌 16A



芽孢杆菌 12-13-2

菌落形态特征见下表 4:

表 4: 菌落特征的比较

16A	短粗杆菌、白色、边缘不整齐、多褶
13A	短杆菌、白色、边缘不整齐、多褶
2A	细长杆菌、白色、边缘不整齐、多褶
B ₁₂₋₁₃₋₂	粗糙、白色、边缘不整齐、多褶
E ₂₆₋₂₋₃	乳白色、边缘不整齐、较湿润
173	黄色、培养基上有棕色色素、边缘不整齐
150	乳白色、光滑、边缘不整齐、较湿润
226	淡黄色，光滑，较湿润，粘稠

通过对融合子的细胞和菌落形态观察，可以发现，在细胞形态上融合子是多种多样的，有类似于原始菌株的，也有两亲本基因重组后产生的新性状，成为单个或成对排列的球形。

2. 2 革兰氏染色: 如下表 5

表 5: 原始菌株与融合子革兰氏染色反应的比较

16A	13A	12A	E ₂₆₋₂₋₃	173	226	150	B ₁₂₋₁₃₋₂
G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁻	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺

由上表可以看出: 8 株菌中, 除了 E₂₆₋₂₋₃ 为 G⁻, 其余均为 G⁺

2. 3 温度敏感性试验: 如下表 6

表 6: 原始菌株与融合子温度敏感试验结果

16A	E ₂₆₋₂₋₃	13A	2A	150	226	173	B ₁₂₋₁₃₋₂
—	+	—	—	—	—	—	—

— 表示对低温不敏感, +表示对低温敏感

由上表可以看出: 只有 E₂₆₋₂₋₃ 对低温敏感, 其余的均可在 4℃ 的温度下保存。

2. 4 葡萄糖、乳糖、蔗糖、甘露糖、麦芽糖的利用: 如下表 7

由下表可以看出, 融合子在这五种糖的利用上都保留了两亲本的产酸的特点, 除了菌株 173。

表 7: 葡萄糖、乳糖、蔗糖、甘露糖、麦芽糖的利用

	蔗糖	乳糖	麦芽糖	葡萄糖	甘露糖
16A	产酸、不产气	不产酸、碱和气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气
13A	产酸、不产气	不产酸、碱和气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气
2A	产酸、不产气	不产酸、碱和气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气
E ₂₆₋₂₋₃	产酸、产气	产酸、产气	产酸、产气	产酸、产气	产酸、产气
B ₁₂₋₁₃₋₂	产酸、不产气	不产酸、碱和气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气
173	微产酸、不产气	不产酸、碱和气	产酸、不产气	微产酸、不产气	产酸、不产气
226	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气
150	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气	产酸、不产气

2. 5 CMC、葵花盘果胶的利用：见表 8

表 8：原始菌株和融合子 CMC、葵花盘果胶利用的比较

		CMC	国产葵花盘果胶
16A	细菌生长	不生长	菌落大，呈放射状
	有无透明圈	—	有透明圈
13A	细菌生长	不生长	菌落大，呈放射状
	有无透明圈	—	有透明圈
2A	细菌生长	不生长	菌落大，呈放射状
	有无透明圈	—	有透明圈
B ₁₂₋₁₃₋₂	细菌生长	不生长	菌落大，呈放射状
	有无透明圈	—	有透明圈
E ₂₆₋₂₋₃	细菌生长	菌落小	菌落大，较湿润
	有无透明圈	有透明圈	无
150	细菌生长	不生长	菌落湿润，边沿光滑
	有无透明圈	—	无
173	细菌生长	不生长	菌落湿润，边沿光滑
	有无透明圈	—	无
226	细菌生长	不生长	菌落湿润，边沿光滑
	有无透明圈	—	无

由上表可以看出，只有欧文氏菌产纤维素酶，芽孢杆菌及融合子均不产纤维素酶。

2. 6 菌株生长曲线与芽孢杆菌产酶曲线分析：

2. 6. 1 芽孢杆菌 16A, 13A, 2A 生长曲线：如下（图 20）

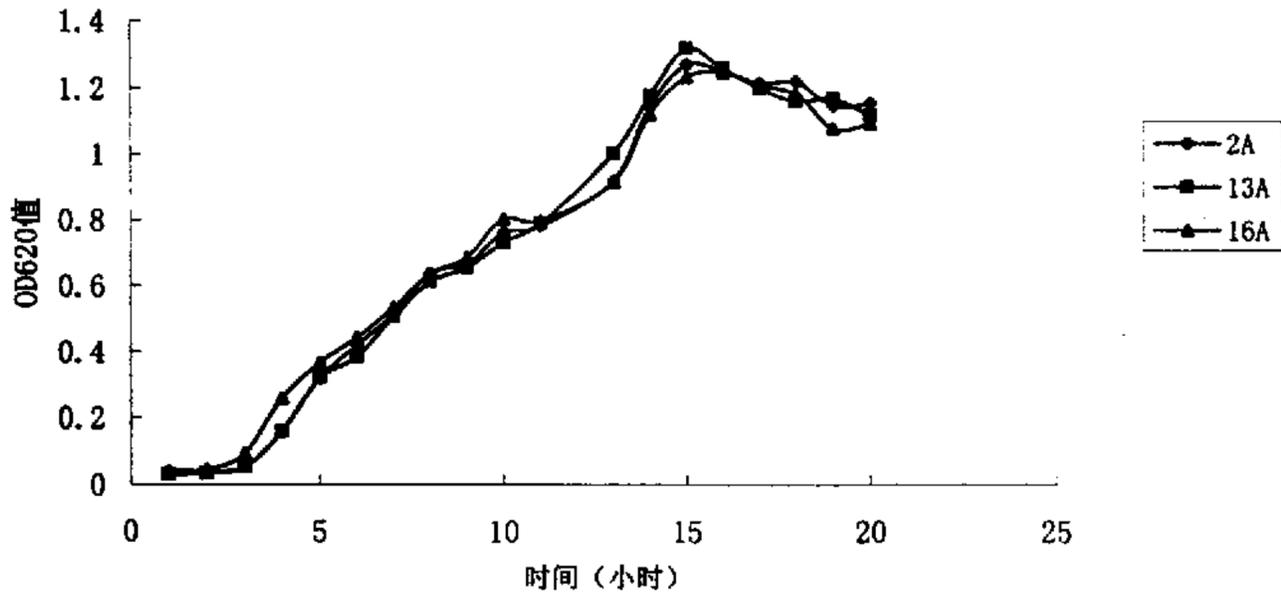


图20: 芽孢杆菌生长曲线

从上表 可以看出，三个芽孢杆菌基本都在 15hr 达到生长平衡期。

2. 6. 2 欧文氏菌生长曲线：如下（图 21）

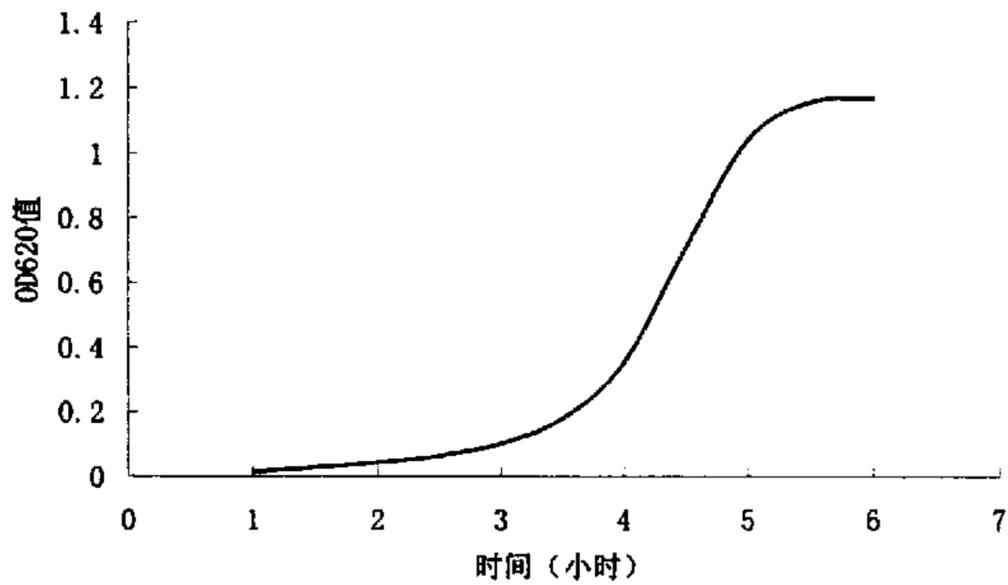


图21: 欧文氏菌生长曲线

从上图可以看出，欧文氏菌在 5hr 达到生长平衡期。

2. 6. 3 融合子生长曲线：如下（图 22）

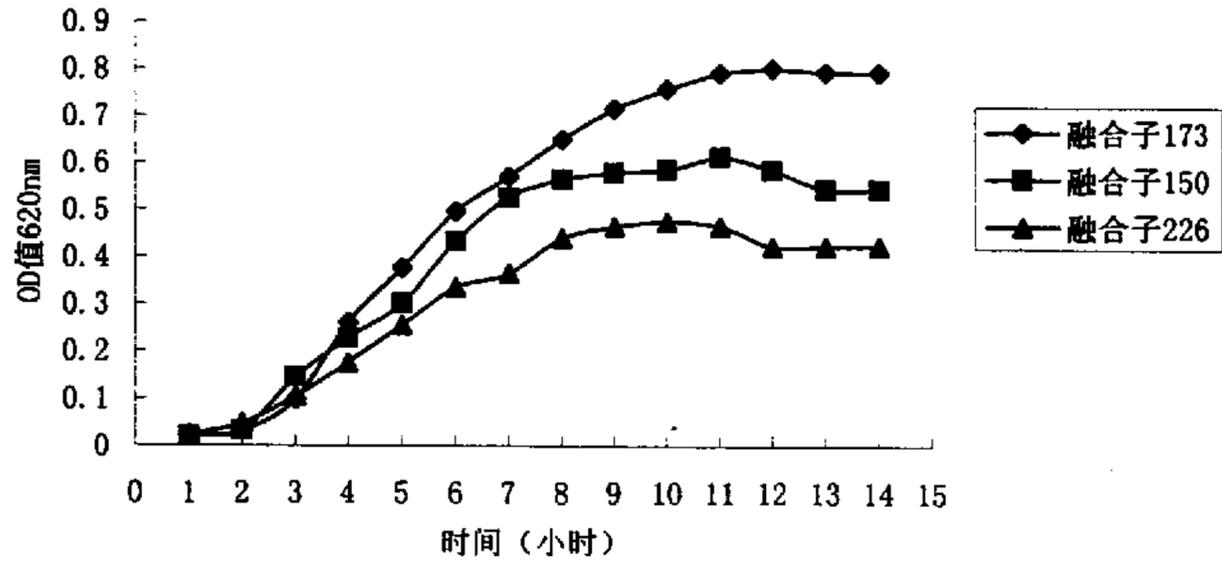


图22: 融合子生长曲线

从上图可以看出，三个融合子生长情况不一，融合子 173 在 12hr 达到生长平衡期，而融合子 150 在 7hr，226 则在 8hr 分别达到各自的平衡期。

2. 6. 4 芽孢杆菌产酶曲线：如下（图 23）

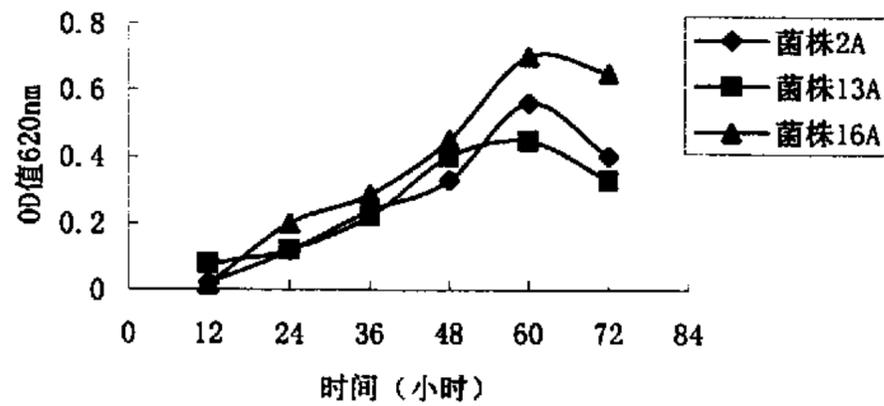


图23: 芽孢杆菌产酶曲线

依据上图，我们可以看出，芽孢杆菌在 60hr 左右出现产酶高峰期，芽孢杆菌 16A 的产酶能力大大强于其余 2 株芽孢杆菌。

第六章 讨论

本实验室从 80 年代中期就开始从事麻类生物脱胶的研究，已经在大麻、苧麻的生物脱胶方面取得了优异的成绩。随着时代的发展，人们环境保护意识在逐渐增强，传统的化学脱胶已经不能满足人们的需要，新型的生物脱胶方式必将登上历史的舞台。

由于本实验室在麻类生物脱胶方面开展了大量的工作、积累了丰富的经验，承前启后，在前人的基础上，我们又开展了对罗布麻生物脱胶的研究。罗布麻脱胶的难点，一个在于其麻壳较难去除，目前必须经过外力加工，即敲麻，深度脱胶的罗布麻，麻壳经外力加工，水洗后较易去除。另外，罗布麻的果胶含量居麻类各纤维之首，木质素含量是所有麻类纤维中最高的，所以在筛选脱胶菌株时，必须考虑到针对罗布麻纤维脱胶的难点，以便达到更好的效果。

经过试验，从本实验室原有的 29 株菌中，筛选出了对罗布麻生物脱胶效果较好的芽孢杆菌 16A，通过一系列条件试验以及与其它菌株脱胶效果的比较，无论从其本身的脱胶效果，还是从其在生产应用上的前景，都优于其它菌株。

通过对融合子脱胶试验，我们发现融合子兼有欧文氏菌及芽孢杆菌脱胶的双重优点，即培养时间短，脱胶时间短的特点。虽然从目前的脱胶效果来看，融合子和芽孢杆菌相比，还是有一定的差距，但是相信通过进一步改善脱胶条件，融合子在罗布麻生物脱胶上还是很有潜力的。

在对 16A 菌株的条件试验的过程中，我们可以看出。经过预处理的罗布麻较未经处理的相比，其一经过预处理的罗布麻湿润、柔软，这就可以大大降低脱胶的浴比；其二是罗布麻中所含色素经过处理后大量溶出，使罗布麻脱胶后纤维色泽更加自然，亮泽。从脱胶温度来看，温度过高，脱胶效果反而不好，一个原因是温度过高，容易导致酶失活，另外，温度过高，脱胶液蒸发过快，容易干涸，不利于脱胶的进行，以致影响到脱胶效果。从脱胶菌液量来看，当菌液量(ml)比麻重(g)达到 6: 1 后，脱胶效果就趋于稳定，再增加菌液量，脱胶效果也难有提高。当然，从工业化生产上来讲，我们希望这个比值越小越好，这样可以减少成本。从脱胶时间来看，从 4hr 开始，脱胶效果就达到最好并趋于稳定。在脱胶的过程中，开始 2hr 酶活迅速下降，从测定的酶活来看，损失一半，然后趋于稳定。

这个损失,从目前推测来看,是由于脱胶开始后,纤维逐渐分散,从而纤维上吸附了大量的酶,然而,我们测定酶活的方法,只能测到溶液中的酶活,所以表现出酶活损失较大。另外,2小时后,酶活趋于稳定,这对于脱胶酶液的重复利用是有利的。同时在开始的2小时内,脱胶液pH值下降较快,这说明脱胶酶液起作用较快。从脱胶后纤维来看,经过16A生物脱胶后的纤维比用碱直接处理的纤维细,用碱直接处理的纤维直径约为18.9um,而16A生物脱胶后纤维直径约为18.2um,单纤维结构清晰,生物脱胶后不损伤纤维,纤维分散度也较好,果胶残留物也较少,纤维透明度较强。

同时,在试验的过程中,我们也发现了一些现象,并非果胶酶酶活越高,脱胶效果越好,在脱胶的过程中,果胶酶起主要作用,另外还有一些酶,也起协同作用。在脱胶过程中,是整个酶系在起作用,而不单纯是果胶酶的活性高,脱胶效果就好。另外,欧文氏菌及融合子可能存在着另外一种脱胶机制,它们的酶活都比较低,但脱胶效果也很好,也有人认为这类菌的胞内酶在脱胶的过程中起主要作用,这还有待于进一步试验。

最后,对芽孢杆菌、欧文氏菌、融合子基本生物学特性进行了分析,我们可以看出16A菌株不产碱性纤维素酶,而欧文氏菌产纤维素酶,这也是16A优于欧文氏菌的一个特点。同时,融合子均不产纤维素酶,保持了芽孢杆菌的特性,这也优于其融合原菌株欧文氏菌。另外,融合子的菌落形态均与原菌株没有多大区别,融合子在五种糖的利用上,除了融合子173,都保留了两亲本的产酸的特点。

通过对罗布麻生物脱胶的试验,相信进一步改善脱胶条件,罗布麻生物脱胶工艺的实际应用是可能的。同时,我们也看到,融合子具有很大的发展潜力。

参考文献

1. 苧麻纺纱学 纺织工业出版社 1989. 6:1-5
2. 中国种子科属辞典 科学出版社 1958. 11:74
3. 毛国杰 刘建华 任勇 亚麻抗锈病的分子基础 植物病理学报 2000, 8 Vol.30 NO.3 : 200-206
4. 李淑华、黄晶等 浅谈我国亚麻纺织工业的基本现状与发展趋势 纺织科学研究 1997, 4:1-5
5. 周景辉 杨汝男 张高华 纤维用大麻的开发利用 中国造纸 2001, 5:63-65
6. 潘其辉等 江西黄、红麻种质资源研究与评价 江西农业学报 1997, 9 (4) : 82-86
7. 杨礼富、刘正初等 红麻微生物发酵过程中脱胶酶的特性研究 热带作物学报 2001, 6 Vol. 22 NO. 2:76-81
8. 高东范 试论优质造纸原料红麻 河南科学 1998, 3 Vol 16 NO. 1: 119-122
9. 杨之礼等 剑麻纤维形态结构的特征 纤维素科学与技术 1993, Vol. 1 NO. 1:38-43
10. 王晓春 沙漠珍宝—罗布麻 内蒙古林业 1994, 10:23
11. 肖冀华 浑身是宝的野生资源珍品—罗布麻 新疆农业科技 1996, 01
12. 张绍武 胡瑞林 钱学射 我国罗布麻分布区的地理区划 中国野生植物资源 2000,04:20-22
13. 喻春明 罗布麻的概况及开发利用前景 中国麻作 1996,18(3):40-41
14. 孙进昌 如何综合开发罗布麻 应用科技 1998,10:29
15. 程博闻 郭秉臣 孟庆菊 焦晓宁 宋会芬 严丰琴 杨海燕 罗布麻纤维接枝共聚改性的研究 天津纺织工学院学报 2000,04
16. 邢声远 天然医疗保健纤维——罗布麻 北京纺织 2001.03:56-57
17. 常兆丰 罗布麻资源的开发利用 林业科技开发 1994,1:44-45
18. 高铁生等 用罗布麻恢复污染地区盐碱土地植被的研究 内蒙古环境保护 1999, 9 :9-15
19. 周笃珺等 柴达尔盆地的罗布麻植物资源与开发利用 青海科技 1998,

- 6 Vol 5 NO. 2:47-48
20. 揭雨成 冷娟 许英 罗布麻生态特征与产业化研究进展 中国麻作 2001, 23
 21. 刘自镕 程海 任建平 大麻酶法脱胶机理初探 纺织学报 2001 Vol 22 NO.3 52-53
 22. 刘自镕 冯瑞良 任建平 芽孢杆菌 (*Bacillus sp* NO.74) 大麻脱胶酶系的研究 微生物学杂志 2000 Vol.20 NO.2 5-6
 23. 吕忠 刘自镕 任建平 红麻堆仓处理微生物区系分析 山东农业科学 2000 年增刊 P 107-108
 24. 吴琼 刘自镕 放线菌果胶酶产酶条件及酶促反应条件的研究 工业微生物 1996 Vol 26 NO.4 28-32
 25. 《大麻脱胶工业用酶制剂》专题研究汇报材料 山东省纤维检验局 山东大学 2000, 11:31
 26. 龙德树 杨传强 曾宪庆等 亚麻和胡麻纤维的性能研究 纺织学报 1999,6:136-139
 27. 祝彦忠 王颀 何红岩等 果胶酶对草莓汁澄清效果的研究 河北林果研究 2000, 9 Vol. 15 NO. 3: 262-264
 28. 黄占育, 肖贵平等 橄榄汁饮料的研制 食品工业科技 1998 NO.6 : 46
 29. 祝彦忠 王颀 何红岩等 果胶酶对草莓汁澄清效果的研究 河北林果研究 2000, 9 Vol. 15 NO. 3: 262-264
 30. 靳焯 果胶水解酶在果品加工中的应用 食品科技, 1994, (11): 25-29
 31. 蔡志宁, 林炳芳 果胶酶对葡萄汁的非酶褐变也有一定的影响 佛山科学技术学院学报 (自然科学版) 2000, 9 Vol. 18 NO. 3: 66-69
 32. 王鸿飞、师俊玲等 果胶酶和壳聚糖对猕猴桃果汁澄清作用的研究 饮料科技 梁灵 : 33-36
 33. 尹军峰、钱晓军、罗龙新等 果胶酶提高茶汁膜分离性能的研究 饮料工业 2000, 6 Vol. 3 NO. 6 : 30-33
 34. 杨军、赵学慧等 果胶酶在苹果汁加工过程中的应用 中国酿造 1998, 2:

- 15—17
35. 林奇、杨振生等 果蔬型果肉饮料的生产及稳定性试验 云南农业大学学报 1999 3 Vol.14 NO.1: 76—79
 36. 王晓霞、章克昌等 酒精高浓度发酵过程中果胶酶应用的研究 食品与发酵工业 Vol.27 NO.3: 44—47
 37. 王森林 酶法澄清余甘果汁的研究 食品工业科技 1998 NO.1: 8—9
 38. 陈炼红 田淑琴等 山楂饮料的加工工艺研究 西南民族学院学报 自然科学版 1999, 8 25 (3): 298—300
 39. 郑海燕, 尹云龙等 油桃果汁饮料的加工技术 饮料工业 2001.4 Vol.4 NO.4: 33—34
 40. 陈静 王淑军 杨从发 果胶酶产生菌的选育 淮海工学院学报 1999, 9 Vol.8 NO.3: 63-65
 41. 江洁 刘晓兰 李彩芹等 果胶酶活性分光光度测定方法的研究 齐齐哈尔大学学报 1998.3 Vol.14 NO.1: 63—66
 42. 钱玉英、李孝辉、沙恩泳等 果胶酶高产菌株 *Aspergillus niger*6034 的生理生化特征 浙江农业大学 1997 9 (4): 181—184
 43. 刘自镨 任建平 冯瑞良等 大麻酶法脱胶研究 纺织学报、1999, 10 : 286—288
 44. 王立群 亚麻微生物脱胶技术的研究 III 脱胶菌株适宜生长繁殖条件的测试 东北农业大学学报 1998, 6 29 (2): 183—188
 45. 范西玉等 红麻细菌脱胶研究初报(一)(二) 河南农业科学, 1991 (2): 11—12, 1991 (3): 8—10
 46. 吴琼 放线菌果胶裂解酶的研究 山东大学研究生学位论文 1991,5
 47. AliMM et al Effort of Vrea on the bacterial flora, acidity and total nitrogen on retting water. Nuclear Sci Appli 1972(6):85-87
 48. AliMM et al Influence of leaf, Vrea and quality of water on the retting of juce. B.J. Jute Fib Res.1978(3):69-72
 49. 杨礼富 红麻微生物脱胶研究进展 中国麻作 2000, 22(3):34-37

50. Nicole Hugouvieux-Cotte-Pattat, Guy Condemine et al. Regulation of Pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi* Annu. Rev. Microbial. 1996, 50:213-57
51. 管映亭 苎麻酶法脱胶的研究 上海纺织技术—纤维生产 1999, 8 27(4): 4-6
52. Microbio Pectolytic Enzymes John R. Whitaker 133-176
53. P. Albersheim, et al: Helv. Chim. Acta. 43:1422(1960)
54. P. Albersheim, et al: Arch. Biochem. Biophys. 97:107, (1962)
55. 田亚平 全文海 嗜碱性芽孢杆菌碱性纤维素酶酶系的研究 食品与发酵工业 1998, 24(3):1-6
56. 袁平 余惠生 付时雨 秦文娟 纤维素酶和半纤维素酶对纤维改性的研究进展 中国造纸 2001, 5:53-56
57. 张运雄 王朝云 麻类生物脱胶与生物制浆酶系 中国麻作 2002, 24(2):14-17
58. Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* 195: 19~23.
59. 金玉娟 刘自镛 任建平 芽孢杆菌和欧文氏菌原生质体融合的研究 微生物学杂志 2002, 5:10-11
60. 郭秀君 微生物学 山东大学出版社 1993.6:293

致 谢

首先感谢我的导师任建平副教授，对我的培育之恩。感谢刘自镕教授对我的悉心指导。在三年的研究生生活中，刘老师和任老师以严谨的治学态度、开放的思维方式和科学的教学方式，宽厚谦逊的处世风格使我受益终身。从他们身上，我不仅获得了宝贵的知识，更懂得了对学术执着追求的精神和做人的道理。

本论文正是在二位老师的关怀和教诲下完成的，从课题的选定、试验的设计和具体工作的完成、论文的写作及修改，直至最后的定稿，老师们都倾注了巨大的心血。老师们的栽培和关怀，学生心中无比感激，惟有倍加努力学习工作才不辜负老师的栽培之情。

同时衷心感谢张桂珍老师，鲍晓明教授，他们在我的学习、工作和生活中，都给了我极大的关照和帮助，使我受益匪浅，借此机会表达我对他们深深的感激！

在我成长的过程中，我的父母给了我永远无法回报的关爱，我的每一点进步都凝聚着他们的期盼和付出，他们对生活不屈不挠的进取精神和对我学业的鼎力支持是我不断前进的动力；在文章写作过程中，我的女友沈煜给了我学习、生活、工作和精神上的倾力支持；我的师姐金玉娟、师妹邢新苗，同学杨国梁在学习工作上给了我热心的帮助，以各种方式给了我莫大的鼓励和支持；陈卓、韩磊同学在实验的过程中，付出的大量工作，在此，向他们表示衷心的感谢！

还有许多帮助过我的老师、同学、朋友，由于文章篇幅所限，未能一一列出，在此谨向他们表示由衷的感谢！

攻读学位期间发表的学术论文目录:

鲍明东 陈卓 刘自镛 任建平 罗布麻生物脱胶研究初报 山东农业科学
2002,6:11—13