

## 产纤维素酶放线菌的研究进展

吴斌, 胡肄珍

(河南省信阳农业高等专科学校生物工程系, 河南 信阳 464000)

**摘要:**介绍了由微生物产生的纤维素酶的组成及作用机制, 概述了产纤维素酶放线菌的特点和其所产纤维素酶系的组成, 以及放线菌产生的纤维素酶在工业上的应用, 并简述了国内外的研究水平和发展趋势。

**关键词:**放线菌; 纤维素酶; 组成; 应用

**中图分类号:** TS201.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-5071(2008)01-0005-04

## Research progress of actinomycete cellulases

WU Bin, HU Yizhen

(Department of Bioengineering, Xinyang, Institute of Agriculture, Xinyang 464000, China)

**Abstract:** The composition and function of cellulase produced from microorganism were reviewed in this paper, as well as the characteristics of cellulase-producing actinomycetes, composition of cellulase system and application of cellulase in industry. The world research level and prospect were also summarized.

**Key words:** actinomycete; cellulase; composition; application

资源和环境问题是人类在 21 世纪面临的最主要的挑战。生物资源是可再生性资源, 地球上每年光合作用的产物高达  $1.5 \times 10^{11} \text{t} \sim 2.0 \times 10^{11} \text{t}$ , 是人类社会赖以生存的基本物质来源。其中超过 90% 为木质纤维素类物质<sup>[1]</sup>。随着世界人口迅速增长、粮食、矿产资源日渐枯竭, 开发高效转化木

质纤维素类可再生资源的微生物技术, 利用工农业废弃物等发酵生产人类急需的燃料、饲料及化工产品, 即化工原料的“绿色化”, 具有重要的现实意义和发展前景。

纤维素酶可将纤维素水解成葡萄糖, 用于生产乙醇、有机酸等化合物。迄今对真菌纤维素酶研究较多, 但主要

收稿日期: 2007-01-05

作者简介: 吴斌(1966-), 男, 河南信阳人, 讲师, 主要从事农产品加工的研究工作。

- [16] 夏秀梅, 宋芝强, 等. 苹果酒皂土添加量试验[J]. 山东食品发酵, 2001(4): 39-39.
- [17] 赵建根, 刘月勇. 提高苹果酒非生物稳定性的研究[J]. 酿酒科技, 2000(4): 70-71.
- [18] 杨辉, 石振海. 苹果酒澄清工艺的研究[J]. 陕西科技大学学报: 自然科学版, 2003, 21(6): 44-47.
- [19] 何正军. 雪山红景天酒中 SX-865 的应用[J]. 酿酒科技, 1998(1): 84-84.
- [20] 刘延林, 董红刚. 不同澄清剂对葡萄汁的澄清效果分析[J]. 酿酒科技, 1998(5): 57-58.
- [21] 邱雁临, 王金华. 果胶酶对山楂酒澄清的研究[J]. 湖北农业科学, 1996(6): 67-70.
- [22] 李斌, 赵光鳌, 帅桂兰, 等. 果胶酶在猕猴桃果汁处理中的应用[J]. 酿酒, 2002, 29(6): 71-73.
- [23] 杨军, 梅艳. 黑曲霉 A1 果胶酶在苹果汁澄清中的应用研究[J]. 湖北农业科学, 1999(2): 48-51.
- [24] 蔡菁华, 蔡同一, 倪元颖. 酶解对苹果汁混浊的影响[J]. 食品科学, 2003, 24(9): 69-72.
- [25] 王鸿飞, 李和生, 庄荣玉. 果胶酶对桑椹果汁澄清效果的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(3): 86-88.
- [26] 朱彦忠, 王颀, 何红岩. 果胶酶对草莓汁澄清效果的研究[J]. 河北水果研究, 2000, 15(5): 262-264.
- [27] 吴清龙, 樊明涛, 马兆瑞等. 桑椹酒澄清工艺的研究[J]. 酿酒, 2006, 33(1): 78-81.
- [28] 崔英德, 黎新明. PVPP 吸附啤酒中多酚类物质的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(5): 90-91.
- [29] 黎新明, 崔英德. PVPP 对啤酒中多酚类物质和蛋白质的吸附作用比较[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 74-76.
- [30] MUZZARELLI R A A. Natural chelating polymers [M]. New York: Pergamon Press, 1973: 55.
- [31] MUZZARELLI R A A. Chitin [M]. Oxford: Pergamon Press, 1977: 51-58.
- [32] 常艳红, 王晓峰. 壳聚糖在食醋澄清中的应用研究[J]. 中国酿造, 2007(2): 40-42.
- [33] 钟秋平, 周文化, 李斌, 等. 壳聚糖对咖啡酒的澄清作用研究[J]. 食品与发酵工业, 2004(9): 140-141.
- [34] 张丙云, 王玉丽, 相炎红, 等. 一种天然复合澄清剂在锁阳酒中的应用[J]. 酿酒科技, 2004(6): 83-84.
- [35] 丁筑红, 王准生, 谭书明, 等. 壳聚糖、皂土澄清剂对发酵酒澄清作用的研究[J]. 中国酿造, 2005(11): 11-15.
- [36] 徐春, 黄亚冬. 壳聚糖在红葡萄酒澄清中的应用[J]. 酿酒科技, 2005(9): 76-77, 79.
- [37] 徐春. 壳聚糖在白葡萄酒澄清中的应用研究[J]. 中国酿造, 2006(1): 21-23.
- [38] Possmann. Neuere Ergebnisse zur Kieselsol-Gelatine - Schonung. IFU - Berichte Nr. 13. 331-346, 1973.
- [39] 杨春哲, 冉艳红, 黄雪松. 澄清剂及其在果汁果酒中的应用[J]. 酿酒, 2006(1): 75-77.
- [40] DAWES H. Kiwi fruit juice clarification using a fungal proteolytic enzyme [J]. J Food Sic, 1999, 59(4): 83-85.
- [41] 林春作, 毕庶斌. 葡萄压榨原酒的澄清[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2005(5): 54.
- [42] 吴红艳, 郭成宇. 干红沙棘果酒澄清的研究[J]. 食品科技, 2004(1): 72-73.

集中在霉菌属。由于霉菌的致病菌较多,其孢子易传播、感染,限制了其使用和开发。细菌产生纤维素酶的量较少,主要是内切酶,其大多数对结晶纤维素没有活性,多数不能分泌到细菌细胞外,因此工业上很少采用细菌作为菌的生产菌种。而研究发现,放线菌产生的纤维素酶活力较高,是抗菌素的主要生产菌,同时,放线菌结构简单,为单细胞,便于遗传分析。目前国内外的许多研究者正致力于放线菌产纤维素酶的研究。

### 1 由微生物产生的纤维素酶的组成及作用机制

微生物因种类的不同所产生的纤维素酶组分也不同,由此构成了各有特色的纤维素降解酶系。一个完整的纤维素酶系由作用方式不同的3类酶组成<sup>[2]</sup>: (1)内切葡聚糖酶(EG)主要作用于纤维素分子内部的非结晶区,随机水解 $\beta$ -1,4-糖苷键,将长链纤维素分子截短,产生大量带非还原性末端的小分子纤维素,为内切葡聚糖酶及 $\beta$ -葡萄糖苷酶创造酶切位点。(2)外切葡聚糖酶(CBH)主要作用于纤维素线状分子末端,水解 $\beta$ -1,4-糖苷键,每次切下一个纤维二糖分子。(3) $\beta$ -葡萄糖苷酶(BG),将纤维二糖水解成葡萄糖分子。

纤维素酶分子由球状的催化结构域通过一个富含脯氨酸(Pro)或/和羟基氨基酸(Thr, Ser)的连接桥(Linker)和纤维素结合结构域(CBD)3部分组成。纤维素降解过程<sup>[3]</sup>首先被外切纤维素酶吸附到不溶性纤维素的CBD表面,使结晶结构的纤维素长分子链开裂,聚集结构解聚,长链分子末端部分发生游离从而为纤维素水解酶类的作用提高了可及性和反应性,从而使纤维素易于水化,之后内切酶作用于经外切活化的纤维素,分解其 $\beta$ -1-4键,产生纤维二糖、三糖等短链低聚糖。在内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 $\beta$ -葡萄糖苷酶的协同作用下,纤维素的 $\beta$ -1,4糖苷键逐步水解,形成纤维寡糖和葡萄糖。其催化机理与溶菌酶相似,糖苷配基的脱去涉及2个保守羧基氨基酸分别作为质子供体和亲核试剂执行酸碱催化的双置换反应。协同作用其作用顺序不是绝对按各酶的功能也不是简单固定的。CBH和EG都能引起纤维素的分散和脱纤化,因此纤维素的结晶结构被打乱导致变形,使纤维素酶能深入纤维素分子界面之间,从而使纤维素孔壁、腔壁和微裂隙壁的压力增大,水分子的介入又使纤维素分子之间的氢键被破坏,产生部分可溶性的纤维的微结晶,利于进一步降解。

### 2 由放线菌产生的纤维素酶系组成

对于纤维素酶酶系的研究主要集中在真菌或细菌上,20世纪90年代末才有放线菌纤维素酶酶系研究的相关文献报道。WILSON<sup>[4]</sup>1992年研究了*Microbispora bispora*产生的纤维素酶,认为该酶的酶系由6种不同的酶组成,并且5种结构基因已经被克隆并测序。同时研究了*Thermomonospora fusca*的纤维素酶系,认为该酶由5

种酶组成,其内切纤维素酶与真菌(如*Trichoderma reesei*)内切纤维素酶在催化结构域和纤维素结合结构域上明显不同。LIN<sup>[5]</sup>在1995年从*Thermomonospora curvata*中对内切纤维素酶进行了分离纯化工作。该酶分子量为10<sup>5</sup>Da等电点为pH4.0,其最适温度为70℃~73℃、最适pH值为6.0~6.5,其酶活受Fe<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Ag<sup>+</sup>和Pb<sup>2+</sup>的抑制,而1,4-二硫代苏糖醇(dithiothreitol, DTT)和Zn<sup>2+</sup>则能提高EG酶活。庞宗文<sup>[6]</sup>对高温放线菌GPL1的纤维素酶分析,该纤维素酶具有完整酶系,Cx酶、C1酶和 $\beta$ -葡萄糖苷酶的活性比为136:1:9。李宪等<sup>[7]</sup>从放线菌(*Streptomyces sp.LX*)中分离到了外切酶,测定其分子量为9800Da,远小于其他来源的酶。宋波<sup>[8]</sup>则是研究了1种耐碱性内切纤维素酶,在50℃、pH值为8.0条件下反应时酶活性保持最好,能达到6.55U/mg的酶活力。佟勇<sup>[9]</sup>研究了1株链霉菌,其内切纤维素酶最适反应pH值为8.5左右,最适反应温度为60℃; $\beta$ -葡聚糖苷酶最适反应条件为pH值为9.0左右,反应温度为60℃。CMCase酶热稳定性较好,在60℃时保温2h酶活可维持在60%左右。

### 3 产纤维素酶放线菌的特点

#### 3.1 产碱性纤维素酶放线菌

长期以来人们对嗜碱细菌研究较多、较透彻,而对嗜碱放线菌研究较少。VAN SP<sup>[10]</sup>(2001年)从湖底淤泥中筛选到了生产碱性纤维素酶的放线菌菌株,经16S rDNA测序,初步鉴定为链霉菌属新种,并成功克隆到了纤维素酶基因cel12A,并将其利用大肠杆菌表达。该菌所产的羧甲基纤维素酶(CMCase)在pH8.0、50℃条件下酶活最高,在pH5~10酶活较稳定。

宋波等<sup>[8]</sup>从食草动物的粪便中筛选到1株产耐碱性纤维素酶放线菌,在50℃、pH值为8.0条件下反应时酶活性保持最好,能达到6.55U/mg。该纤维素酶在70℃时,仍保持较高的酶活性,具有较高的热稳定性。同时发现Ca<sup>2+</sup>和Fe<sup>2+</sup>能促进酶活性。佟勇<sup>[9]</sup>研究了1株链霉菌,此菌在pH值为8.0、50℃左右生长较好,其所产纤维素酶为胞外酶,其中CMCase酶最适反应pH值为8.5左右,反应温度60℃;EG酶最适反应pH值为9.0左右。CMCase酶热稳定性较好,在60℃时保温2h酶活可维持在60%左右。该放线菌所产纤维素酶在高温、强碱性条件下仍能保持较高活性。侯晓娟从土壤中分离获得1株产碱性纤维素酶的放线菌菌株,经鉴定为假诺卡氏菌属,该酶在pH值为6~11、温度维持在10℃~60℃时,酶活可保持在60%以上。

#### 3.2 产纤维素酶嗜热放线菌

现在市售的纤维素酶大多数是由中温菌生产的,然而这些酶在工业生产的高温环境中并不适用,所以嗜热微生物生产的热稳定纤维素酶具有重要的应用前景。

GEORGE<sup>[11]</sup>从堆肥中分离到产纤维素酶嗜热放线菌,

鉴定为热单孢菌属(*Thermomonospora*)。CMCase 经硫酸氨沉淀、亲和层析、凝胶过滤得到纯化, 分子量为 38KDa, 等电点为 pH4.1。该酶在 pH5.0、50℃条件下, 酶活力达到高峰, 且具有较好的热稳定性。LIN<sup>[9]</sup>从 *Thermomonospora curvata* 中对内切纤维素酶(endoglucanase, EG)进行了分离纯化工作。该酶分子量为 10<sup>5</sup>Da, 等电点 pH4.0, 最适温度为 70℃~73℃、最适 pH 值为 6.0~6.5, 其酶活受 Fe<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Ag<sup>+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的抑制, 而 1,4-二硫代苏糖醇(dithiothreitol, DTT)和 Zn<sup>2+</sup> 则能提高 EG 酶活。

宋波等<sup>[10]</sup>从食草动物的粪便中经筛选分离到能降解纤维素的放线菌, 经初步鉴定为 *Streptomyces* sp., 对其在以秸秆为唯一碳源的培养基上的产酶条件和酶性质进行分析研究, 发现该纤维素酶在 70℃时仍保持较高的酶活性, 具有较高的热稳定性。齐云<sup>[11]</sup>于堆肥中分离出分解纤维素的放线菌, 并根据其形态学和生理生化特征鉴定为高温单孢菌属(*Thermomonospora*), 并对该菌的产酶条件进行了相关研究。庞宗文等<sup>[12]</sup>于牛粪堆肥中分离到 1 株高温放线菌 GPL1, 对其纤维素酶的酶学性质进行了研究, 发现高温放线菌 GPL1 具有纤维素酶的完整酶系, 纤维素酶的 3 个酶组分都有很好的热稳定性和广泛的 pH 值稳定性。3 个酶组分的最适作用温度分别为 65℃、60℃和 70℃, 最适 pH 值分别为 7.0、7.5 和 5.5, 而且具有较广泛的底物范围, 对甘蔗渣、滤纸、微晶纤维素等有较好的分解作用, 可以分解甘蔗渣等天然纤维质以用于酒精等发酵工业中。

#### 4 放线菌生产的纤维素酶在工业上的应用

##### 4.1 在生物漂白及洗涤方面的应用

生物漂白是利用微生物酶处理纸浆, 达到降低或避免使用元素氯和改进纸浆可漂性等目的的新型纸浆漂白技术。传统参与纸浆漂白的真菌所产胞外酶对热稳定性不高, 最适 pH 值一般在酸性范围内, 并且含有较多纤维素酶, 需经提纯才能用于纸浆漂白。但很多放线菌能产生碱性纤维素酶, 在生物漂白和洗涤方面具有更加广泛的应用前景。如张勇等<sup>[13]</sup>利用放线菌绿色糖单胞菌产胞外酶协同漂白杨木 CK 浆, 由于绿色糖单胞菌能同时产生木聚糖酶和木素过氧化物酶 2 种胞外酶, 所以无需复配即可对纸浆中半纤维素和木素同时进行降解。另外, 产酶条件容易控制, 在较高温度和 pH 值范围内能表现出稳定活性, 一定培养条件下会产生少量纤维素酶, 与所产木聚糖酶配合对纸浆漂白有一定促进作用。

##### 4.2 在农业方面的应用

自然界有大量的含纤维素废物生成, 如木屑、丢弃的废纸、大量的秸秆、稻梗等, 经过适当的前处理就可以用纤维素酶将其水解, 进一步糖化。目前, 除了应用纤维素酶来处理酶解纤维素外, 在饲料工业中的应用也很广泛, 由于畜禽饲料中含有大量的纤维素, 除某些反刍动物有分解

纤维素的能力外, 大部分畜禽没有此能力。纤维素酶能够分解复杂的纤维素, 生成易消化物质葡萄糖, 便于动物吸收。在饲料中添加了纤维素酶后, 其提高家畜家禽生长性能、生产性能等效果显著。

##### 4.3 在食品工业方面的应用

由于可食用的农副产品通常是植物细胞的内含物, 细胞壁的主要成分是纤维素。利用纤维素酶处理, 可使细胞壁软化、崩溃, 从而可以改变细胞壁的通透性, 提高细胞质内含物如蛋白质、糖等的释放与提取, 便于食品加工等。另外, 在过去果实和蔬菜的加工过程中, 软化植物组织的办法主要采用过度加热或者酸碱处理, 使得果蔬的香味和维生素损失过多, 而使产品营养下降。现在利用纤维素酶进行前处理就可以避免了这些缺点。放线菌生长过程中可以产生抗菌素, 抑制杂菌生长, 且放线菌中致病菌极少。

##### 4.4 在发酵工业方面的应用

纤维素酶在工业发酵、酿酒行业的应用也越来越受到重视。由于具有其他相关酶没有的一些特性, 故市场对纤维素酶的需求日益提高。有关资料表明, 利用里氏木霉(*Trichoderma reesei*)产生的纤维素酶和酿酒酵母可使纤维素的糖化和发酵同时进行, 此工艺的糖化速度比单独进行糖化快。此外更重要的是在酿酒时加入了纤维素酶后出酒率明显提高。经市场调研得知全国, 在饲料行业每年需求纤维素酶 50000t, 而酿酒行业每年则需 3000t~5000t, 这说明纤维素酶的市场前景是巨大的。

##### 4.5 在能源方面的应用

乙醇是一种可以通过糖发酵获得的可再生能源。在美国, 乙醇已经被广泛地作为特殊的石油替代品。从 20 世纪 80 年代开始, 用玉米生产的燃料乙醇就被作为酒精-汽油混合燃料或者氧化燃料来使用。这些气体燃料中包含乙醇的体积量高达 10%<sup>[14]</sup>。使用乙醇混合燃料不但可以减少汽油的用量, 还可以减少温室气体的排放。然而使用玉米生产的乙醇燃料比石化燃料成本高, 因为玉米既要提供食品和饲料, 又要用于大量地生产乙醇, 这是不可行的, 毕竟土地资源是有限的。废弃木质纤维原料比如农林废弃物、草、锯末和木片等是潜在的生产乙醇的可再生性资源。因此, 利用纤维素酶有效地将这些纤维素物质转化成葡萄糖等简单糖, 然后通过微生物发酵的方法将葡萄糖转化成乙醇。

#### 5 研究趋势及发展方向

##### 5.1 碱性纤维素酶

真菌所产胞外酶要在酸性条件下才能表现出较高的活性, 但放线菌产生的胞外酶大都具有一定的耐碱性<sup>[15]</sup>, 无需在酸性条件下都能保持较高活性, 这对于需要在高温、强碱条件下才能取得较好效果的工业应用十分有利。碱性纤维素酶是一种非全组分的内切葡萄糖苷酶, 主要与

棉纤维中仅占10%左右的非结晶区的纤维素分子起作用。棉纤维吸水性好,但污垢入侵后与水分子结合形成胶状物而被封闭在纤维素分子结构中,一般洗涤剂不易洗出,但碱性纤维素酶可选择性地吸附在棉纤维的非结晶区,使棉纤维蓬松,水合纤维素分解,胶状污垢脱落。所以开发产碱性纤维素酶的放线菌受到了广泛的关注,但是目前报道的碱性纤维素酶活力还比较低,在国内还不能达到工业化生产水平的要求,所以筛选高产菌种是当前热点。

### 5.2 基因克隆构建高效纤维素酶分解菌

采用现代分子生物学技术对产酶菌进行遗传改造,将纤维素酶基因同高效表达基因的启动子或染色体起始位点融合构建高效纤维素酶分泌菌,是提高纤维素酶生产效率的有效途径之一。目前国外正在致力于这方面的研究。1998年THOMAS<sup>[6]</sup>克隆到 *Streptomyces viridosporus* 的内切纤维素酶基因并成功表达于 *Pichia pastoris* 中。2000年SPIRIDONOV<sup>[7]</sup> 尝试用放线菌 *Thermobifida fusca* 进行体外合成纤维素酶发现这一过程受 *celR* 基因调控。通过对比 *celR* 基因突变型与野生型的差别,发现 *celR* 为组成型表达基因,其DNA结合活性受翻译后修饰调控。2001年VAN Solingen<sup>[8]</sup> 从湖底淤泥中筛选到了生产碱性纤维素酶的放线菌菌株,经16S rDNA测序,初步鉴定为链霉菌属新种,并成功克隆到了纤维素酶基因 *cel12A*,并将其利用大肠杆菌表达。

### 5.3 混菌发酵生产纤维素酶

纤维素有效降解需要多种纤维素酶的协同作用。一般地说,协同作用与酶解底物的结晶度成正比,当酶组分的混合比例与发酵滤液中各组分比相近时,协同作用最大。不同菌源的内切与外切酶之间也具有协同作用。纤维素酶是具有不同底物特异性的多酶系复合物酶,不同菌种产生的纤维素酶系不同,进行混菌发酵时就可以弥补菌种之间的差异,产生多种不同功能的酶,作用于纤维素的不同位点,充分发挥各酶之间的协同作用,大幅度提高纤维素酶的活性。相比较而言,细菌产生纤维素酶的量较少,主要是内切酶,其大多数对结晶纤维素没有活性,而目前研究较多的是霉菌,霉菌产生的纤维素酶一般以内切酶为主,例如枯草杆菌、假单胞杆菌、纤维单孢菌可产生胞内外切纤维素酶,而无外切纤维素酶的形成<sup>[18-19]</sup>。放线菌一般具有较高的内切酶活和外切酶活,若能结合不同菌种酶系的优势进行混合发酵,产酶能力将会大大高于单一菌株。张晓伦等<sup>[20]</sup>利用纤维单孢菌属、木霉属和青霉属混合发酵,CMC酶活比其单一菌株的酶活提高了1.5倍。

### 参考文献:

- [1] 高培基. 纤维素酶降解机制及纤维素酶分子结构与功能研究进展 [J]. 自然科学进展, 2003 (13): 21-29.
- [2] 阎伯旭, 齐飞, 张颖舒, 等. 纤维素酶分子结果和功能研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26 (3): 233-237.
- [3] 阎伯旭, 孙迎庆, 高培基. 有限酶切拟康氏木霉纤维素酶分子研究其结构域的结构与功能 [J]. 纤维素科学与技术, 1998, 6 (30): 1-9.
- [4] WILSON D B. Biochemistry and genetics of actinomycete cellulases [J]. Crit Rev Biotechnol, 1992 (12): 45-63.
- [5] LIN S B, STUTZENBERGER F J. Purification and characterization of the major beta-1,4- endoglucanase from *Thermomonospora curvata* [J]. J Appl Bacteriol, 1995 (79): 447-453.
- [6] 庞宗文, 董志刚, 梁静娟, 等. 高温放线菌 GPL1 纤维素酶的酶学性质研究 [J]. 现代食品科技, 2006, 22 (2): 20-23
- [7] LI X, GAO P. CMC-liquefying enzyme, a low responsible for fragmentation from *Streptomyces* sp.LX [J]. J Appl Microb, 1997 (83): 9-66.
- [8] 宋波, 羊健. 一株降解纤维素的放线菌的筛选及其产酶条件的研究 [J]. 微生物学杂志, 2005, 5 (25): 36-39.
- [9] VAN S P, MEIJER D, VAN D K W A, et al. Cloning and expression of an endocellulase gene from a novel *Streptomyces* isolated from an East African soda lake [J]. Extremophiles, 2001 (5): 33-341.
- [10] 佟勇. 产纤维素酶放线菌及其酶学性质和淡水湖底微生物区系研究 [D]. 中国科学院研究生院 (上海生命科学研究院), 2004.
- [11] GEORGE S P, AHMAD A, RAO M B. Studies on carboxymethyl cellulose produced by an alkalothermophilic *Actinomycete* [J]. Bioresour Technol, 2001 (77): 71-175.
- [12] 齐云, 袁月祥, 陈飞, 等. 一组纤维素分解菌的分离、筛选及其产酶条件的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2003 (15): 510-512.
- [13] 张勇, 吴玉英, 谢响明. 新型耐碱耐放线菌胞外酶协同漂白杨木CK浆 [J]. 黑龙江造纸, 2006, 2 (3): 1-3.
- [14] CAMPBELL C J, LAHERRERE J H. The end of cheap oil [J]. Sci Am, 1998 (3): 78-83.
- [15] 孙晓霞, 谢响明, 吴玉英. 绿色糖单胞菌产木聚糖酶规律及其耐碱耐热性的初步研究 [J]. 生命科学研究, 2005, 9 (1): 55-59.
- [16] THOMAS L, CRAWFORD D L. Cloning of clustered *Streptomyces viridosporus* T7A lignocellulose catabolism genes encoding peroxidase and endoglucanase and their extracellular expression in *Pichia pastoris*. Can [J]. Microbiol, 1998 (44): 64-372.
- [17] SPIRIDONOV N A, WILSON D B. A *cel R* mutation affecting transcription of cellulase genes in *Thermobifida fusca* [J]. Bacteriol, 2000 (182): 252-255.
- [18] 高凤菊, 李春香. 真菌与细菌纤维素酶研究进展 [J]. 唐山师范学院学报 2005, 2 (27): 7-10.
- [19] 郭德亮, 曹健, 鲍宇茹. 利用生物技术降解纤维素的研究进展 [J]. 郑州工程学院学报, 2001, 22 (3): 82-86.
- [20] 张晓伦, 刘旭, 饶泽昌. 高效纤维素分解菌混合培养及其降解能力 [J]. 南昌大学学报: 理科版, 2005 29 (5): 500-502.

欢迎订阅 2008 年《中国酿造》杂志