文章编号：2095-560X（2019）04-0318-07

高活力木聚糖酶菌株的筛选、酶学性质及酶解应用*

何敏超[1]，闫志英[2†]，张金峰[3]，刘云云[1]，陈小燕[1]，许敬亮[1†]
（1. 中国科学院广州能源研究所，中国科学院可再生能源重点实验室，广东省新能源和可再生能源研究开发与应用重点实验，广州 510640；2. 中国科学院成都生物研究所，中国科学院环境与应用微生物重点实验室，环境微生物四川省重点实验室，成都 610041；3. 淮阴工学院，江苏省生物质转化与过程集成工程实验室，江苏 淮安，223003）

摘 要：实验分离鉴定了高产木聚糖酶曲霉菌株，研究其固态发酵产酶条件及酶学性质。经菌落形态观察、ITS 基因序列分析菌株在系统分类中的地位。通过单因素固态发酵实验确定其最佳产酶条件。结果表明，高产木聚糖酶曲霉菌株鉴定为黑曲霉（*Aspergillus niger*）。其最佳产酶条件为：玉米芯与麸皮比例为 1∶3、氮源为尿素、初始 pH 为 3.5、料水比为 1∶3.5 和接种量为 10.0%。在此条件下发酵 120 h，木聚糖酶酶活最高可达 10 446.92 IU/g。酶学性质研究表明，在 pH 为 5.0、温度为 45℃条件下木聚糖酶处于最优条件。糠醛（23.0 g /L）和 5-羟甲基糠醛（25.7 g/L）对木聚糖酶的激活率分别达到 15.9%和 18.4%。*Aspergillus niger* SM751 可以作为木聚糖酶潜在的生产菌株用于木质纤维素的酶解领域。

关键词：木聚糖酶；黑曲霉；筛选；固态发酵
中图分类号：TK6 **文献标志码：**A doi：10.3969/j.issn.2095-560X.2019.04.004

Screening of Strain with High-Level of Xylanase, Enzymatic Characters and Hydrolysis Application

HE Min-chao[1], YAN Zhi-ying[2], ZHANG Jin-feng[3], LIU Yun-yun[1], CHEN Xiao-yan[1], XU Jing-liang[1]
(1. CAS Key Laboratory of Renewable Energy, Guangdong Provincial Key Laboratory of New and Renewable Energy Research and Development, Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. CAS Key Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, Environmental Microbiology Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; 3. Jiangsu Provincial Engineering Laboratory for Biomass Conversion and Process Integration, Huaiyin Institute of Technology, Huaian 223003, Jiangsu, China)

Abstract: Xylanase producing fungi was isolated and identified, and its optimum condition for solid state fermentation and enzymatic properties were studied. The genealogical classification was analyzed by observation of colony morphology and ITS gene sequence. The optimal xylanase-producing conditions were assayed by single factor experiments. The results indicated that the isolated strain with high yielding xylanase was identified as *Aspergillus niger*. Its optimum xylanase activity was 10 446.92 IU/g under conditions as follows: 1:3 as the ratio between corncob and wheat bran, urea as nitrogen source, 5.0 as initial pH, 1:3.5 as ratio between solid and liquid, 10.0% as inoculum size. Study of xylanase charateristics showed that enzymatic activity were the optimum at pH of 5.0 and temperature of 45°C. Addition of furfural (23.0 g/L) or hydroxymethylfurfural (25.7 g/L) plays an activating effect with an increase of 15.9% and 18.4%, respectively. Therefore, *Aspergillus niger* SM751 could to be a promising microorganism for the production of xylanase, which could be used in the field of enzymatic hydrolysis of lignocellulose.

Key words: xylanase; *Aspergillus niger*; screening; solid state fermentation

0 引 言

木聚糖酶在食品、制浆造纸、饲料、生物能源等领域中具有广阔的应用前景。在食品行业中，木聚糖酶可有效改善面团的持水性和稳定性，延长食品货架寿命[1]；在制浆造纸领域，可提高纸浆白度

* **收稿日期：**2019-03-08 **修订日期：**2019-04-24
基金项目：广东省科技计划公益研究与能力建设项目（2017A030303064）；中国科学院环境与应用微生物重点实验室暨环境微生物四川省重点实验室开放基金项目（KLCAS-2017-6）；江苏省生物质转化与过程集成工程实验室开放课题（JPELBCPI2016002）
† **通信作者：**闫志英，E-mail：yanzy@cib.ac.cn；许敬亮，E-mail：xjl@ms.giec.ac.cn

并降低化学漂白剂的用量[2]；在饲料行业，可降低水溶性木聚糖导致的食糜黏性增高，破碎植物细胞壁，释放营养物质；在生物能源领域中，木聚糖酶可以增大木糖的得率，增加总还原糖的量[3]。木聚糖酶通过改善纤维素酶的酶解率而降低纤维素酶的应用成本[4]。木聚糖酶通过降解木聚糖及木寡糖来降低此二者对于纤维素酶酶解的空间位阻作用[5-6]。因此，通过木聚糖酶的应用可以促进木质纤维素乙醇以及高附加值化学品生物精炼的发展。

木聚糖酶的研究侧重于产木聚糖酶菌株的筛选及选育[7]、基因工程菌的构建[8]、培养条件的优化等方面[9]。木聚糖酶酶解预处理后木质纤维素的研究报道相对较少。预处理后液体中常含乙酸、阿魏酸、糠醛、5-羟甲基糠醛和香草醛。酵母利用酶解后的可发酵糖产生乙醇。已有研究报道表明，这些水解产物和发酵产物可能会对纤维素酶的酶解起到抑制作用[10]。然而，仅有极少数的研究报道了水解产物对木聚糖酶酶解的影响作用[11]。黑曲霉是木聚糖酶和纤维素酶重要的生产菌，尚未见水解产物对黑曲霉木聚糖酶酶活影响的研究报道。

本研究对实验室筛选出的产木聚糖酶野生菌株进行分子鉴定及固态发酵单因素优化，并对该木聚糖酶的酶学性质进行初步研究，以期为今后该菌株大规模酶解预处理后农业废弃物原料提供前期的实验基础。

1　实验部分

1.1　材料、试剂及仪器

土壤样品采自广西壮族自治区河池市环江县木论自然保护区。

木聚糖（含量≥90%）购自 Sigma 公司；D-木糖（含量≥99%）购自上海源聚生物有限公司；3,5-二硝基水杨酸（含量≥98%）购自上海国药集团化学试剂公司。其他试剂均为市售分析纯。

LRH-250 生化培养箱（上海一恒科技有限公司）；HCQ-X 30℃恒温震荡器（上海一恒科技有限公司）；JG16-WS 台式高速离心机（湖南湘仪实验室仪器开发有限公司）；BIOTECK-EON 酶标仪（基因有限公司）；HH-S8 数显恒温水浴锅（江苏金怡仪器科技有限公司）。

1.2　培养基

斜面培养基。土豆 200 g/L，葡萄糖 20 g/L，琼脂 20 g/L。土豆去皮，切成片，称取 200 g 并加水 1 000 mL，煮沸 30 min，8 层纱布过滤，取滤液并补足 1 000 mL，然后加入琼脂和葡萄糖，熔化、分装并灭菌。

初筛培养基。木聚糖 10.0 g/L，KNO_3 1.0 g/L，$MgSO_4$ 0.5 g/L，NaCl 0.5 g/L，K_2HPO_4 0.5 g/L，琼脂 20 g/L，pH 6.0。

复筛培养基。玉米芯 3.0 g/L，$(NH_4)_2SO_4$ 2.0 g/L，KH_2PO_4 2.0 g/L，$CaCl_2$ 0.3 g/L，$MgSO_4$ 0.3 g/L，$FeSO_4·7H_2O$ 5 mg/L，$CoCl_2$ 20 mg/L，$MnSO_4$ 1.6 mg/L，$ZnSO_4$ 1.4 mg/L，pH 5.6。

固态发酵培养基。玉米芯与麸皮 3.6 g，固液比 1∶2.5，液体为 pH 5.6 的 Mandels 营养液[12]。Mandels 营养液为不加玉米芯的复筛培养基。

1.3　筛选方法

1.3.1　平板初筛

将 1.0 g 土样加入装有 50 mL 无菌生理盐水的 150 mL 摇瓶中，摇床震荡 60 min。取 1 mL 摇匀的液体加入 15 × 150 试管中，注入 9 mL 无菌生理盐水，摇匀后梯度稀释至 10^{-6}。分别吸取 10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6} 四个稀释度的菌悬液 0.25 mL 涂布于初筛培养基上，30℃倒置培养，48 ~ 96 h 观察水解圈大小，选择水解圈与菌落圈直径比值较大的菌落进行纯化及后续研究。

1.3.2　摇瓶复筛

将初筛得到的菌株接入种子培养液中，150 r/min、30℃培养 72 h 后以 2.5% 接种量接种至复筛培养液中，于相同条件下摇瓶培养 4 d、5 d、6 d，吸取 1 mL 发酵液稀释到适当倍数测定木聚糖酶活力。

1.4　分子生物学鉴定方法

采用改良十六烷基三甲基溴化铵（cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB）法提取菌株总脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid, DNA），选择扩增真菌内转录间隔区（Internal Transcribed Spacer, ITS）序列的通用引物 ITS1: 5’-TCC GTA GGT GAA CCT GCG CG-3’和 ITS4: 5’-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3’对曲霉 SM751 总 DNA 进行序列的扩增。聚合酶链式反应（polymerase chain reaction, PCR）扩增条件为：95℃预变性 3 min；94℃变性 1 min，52℃退火 50 s，72℃延伸 50 s，35 个循环；72℃延伸 10 min。PCR 扩增产物采用 DNA 凝胶回收试剂盒进行割胶回收，并测序。将该序列与美国

国家生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information, NCBI）数据库中的已知序列进行局部序列排比检索（basic local alignment search tool, BLAST）比较分析，获得相关种属的 18S 核糖体 DNA（ribosome deoxyribonucleic acid, rDNA）序列，构建系统发育树。

1.5 单因素优化方法

在初始固态发酵培养基（玉米芯与麸皮总质量为 3.6 g、固液比为 1∶2.5、液体为 pH 5.6 的 Mandels 营养液）的基础上，考察不同玉米芯与麸皮比例（9∶1、7∶1、5∶1、3∶1、1∶1、1∶3、1∶5、1∶7、1∶9、全玉米芯、全麸皮）对 *Aspergillus niger* SM751 产木聚糖酶酶活的影响。考察不同氮源（硝酸铵、酵母粉、尿素、磷酸氢二铵、碳酸铵、硫酸铵、氯化铵和蛋白胨）对产木聚糖酶的影响。考察不同初始 pH 值（3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 和 6.5）对产木聚糖酶的影响。考察不同料水比（1∶1.5、1∶2.5 和 1∶3.5）对产木聚糖酶的影响。考察不同接种量（2.5%、5.0%、7.5%和 10.0%）对产酶的影响。

1.6 木聚糖酶酶活测定方法

于 15 mL 的具塞刻度试管中加入 1 mL 的 1%木聚糖溶液（0.2 M，pH 4.8 的醋酸缓冲液配置）、0.5 mL 醋酸缓冲液和 0.1 mL 适当稀释酶液于 50℃条件静止反应 30 min 后加入 2 mL 的 3,5-二硝基水杨酸溶液摇匀煮沸 10 min，定容到 15 mL 于 540 nm 下测定吸光度值。空白中的酶液用灭活的酶液代替[13]。酶活力单位定义：在上述测定条件下，每 1 mL 粗酶液 1 min 水解产生 1 μmol 底物所需的酶量为一个酶活单位（international unit, IU）。

2 结果与讨论

2.1 产木聚糖酶微生物的筛选与鉴定

在以木聚糖为唯一碳源的筛选培养基上，经观察水解圈（22 mm）与菌落圈（18 mm）比值的初筛和液体发酵复筛，从广西壮族自治区环江县木论自然保护区土样中分离到一株木聚糖酶活性较高的菌株（1001.33 IU/mL），将其编号为 SM751。根据 ITS 序列的变化进行菌株 SM751 的种属鉴定。菌株 SM751 的 ITS 序列被扩增和测序，并保存于 NCBI 基因库（登记号为 KJ194466）。利用 BLAST 方法对该序列进行比对，并使用 MEGA 6.0 软件构建系统发育树。在图 1 系统发育树上，该菌株与 *Aspergillus niger* 表现出 98%的相似性。该菌株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心（China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC），其编号为 CGMCC No. 8670。

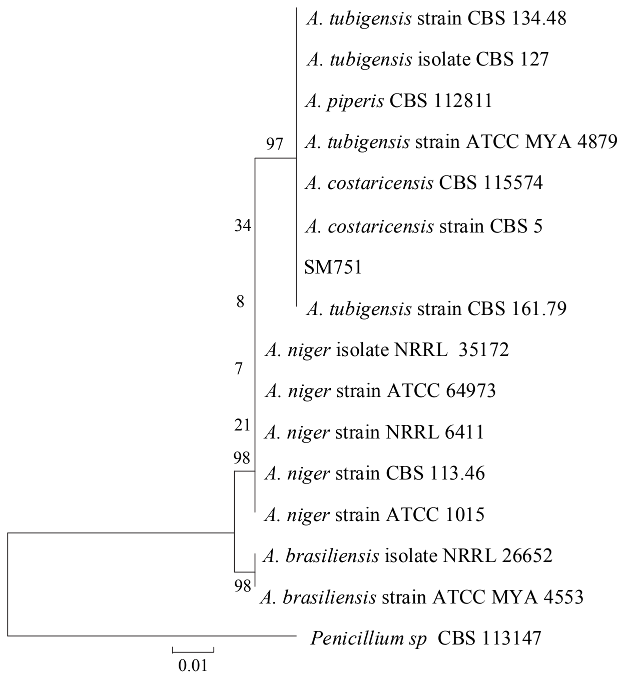

图 1 菌株 *Aspergillus niger* SM751 系统发育树

Fig. 1 The phylogenetic tree of ITS rRNA sequences of *Aspergillus niger* SM751

2.2 玉米芯与麸皮不同比例对产酶的影响

玉米芯与麸皮是重要的农业副产品和农业废弃物。在图 2 中，以玉米芯为碳源时，木聚糖酶酶活为 1 172.82 IU/g。以麸皮为碳源时，木聚糖酶酶活为 7 367.83 IU/g，是玉米芯为碳源时酶活的 6.28 倍。随着玉米芯比例的下降（9∶1、7∶1、5∶1、3∶1、1∶1），木聚糖酶酶活呈上升趋势（2 077.16 IU/g、2 688.10 IU/g、3 201.28 IU/g、3 531.18 IU/g、7 331.17 IU/g）。1∶1 时的木聚糖酶酶活是其他比例酶活的两倍到三倍。随着麸皮比例的上升（1∶1、1∶3、1∶5、1∶7、1∶9），木聚糖酶酶活分别为 7 331.17 IU/g、8 125.38 IU/g、7 551.11 IU/g、7 868.79 IU/g 和 7 050.14 IU/g。这表明 *Aspergillus niger* SM751 吸收和利用玉米芯和麸皮混合物的机制比较复杂，且优先利用麸皮作为碳源[14]。在玉米芯与麸皮比例为 1∶3 时，其木聚糖酶酶活力为 8 125.38 IU/g，远高于其他混合比例的木聚糖酶酶活，因此选择玉米芯与麸皮比例为 1∶3 作为后续发酵碳源。

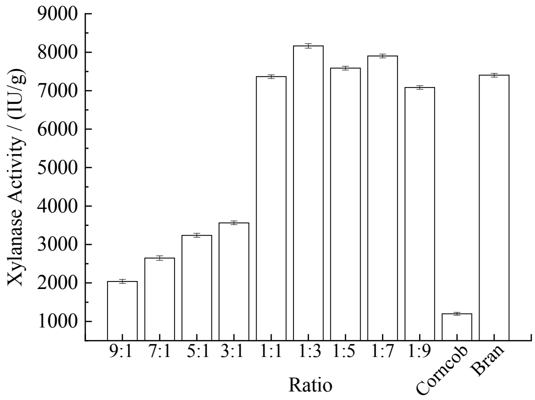

图 2　玉米芯与麸皮不同比例对菌株产酶的影响

Fig. 2　Effect of ratio between corncob and wheat bran on the xylanase activity of strain SM751

2.3　氮源对菌株产酶的影响

分别用 1.4 g 的硝酸铵、酵母粉、尿素、磷酸氢二铵、碳酸铵、硫酸铵、氯化铵和蛋白胨代替 2.0 g 的硫酸铵。在图 3 中，以尿素作为氮源，其木聚糖酶酶活力最高（8 113.16 IU/g）。酵母粉木聚糖酶酶活力最低（5 962.69 IU/g）。因此，选择尿素为最佳氮源。

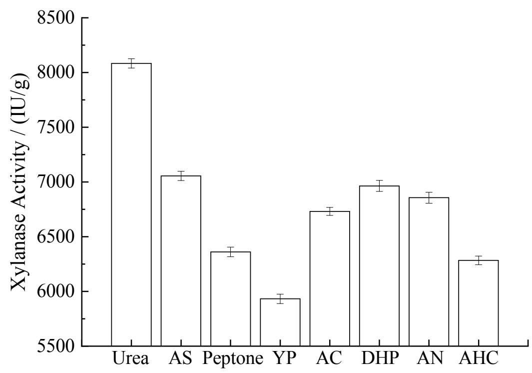

图 3　不同氮源对菌株 SM751 产酶的影响

Fig. 3　Effect of various nitrogen sources on the xylanase activity of strain SM751

2.4　初始 pH 对菌株产酶的影响

初始 pH 能够影响微生物的生理和最终的木聚糖酶酶活。在图 4 中，96 h、120 h 和 144 h 的木聚糖酶酶活分别是 8 772.97 IU/g、8 601.91 IU/g 和 6 720.40 IU/g，相应的最佳初始 pH 值是 3.5、3.5 和 5.0。最佳的初始 pH 值随着时间的变化而变化。在 96 h、120 h 和 144 h，木聚糖酶酶活最低的初始 pH 都是 4.5。这可能是由于初始 pH 4.5 相较于其他初始 pH 不适合于 *Aspergillus niger* SM751 发酵产酶。在 120 h，pH 6.0 的木聚糖酶酶活仅次于 pH 3.5 的酶活，这说明菌株 *Aspergillus niger* 在偏酸性条件下也可以较好地产酶。选择 pH 3.5 作为最佳的初始 pH。

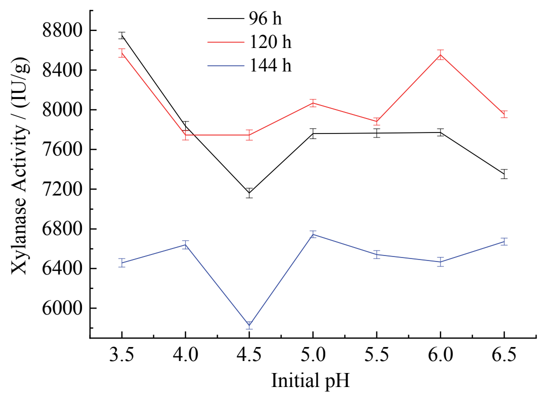

图 4　不同初始 pH 对菌株 SM751 产酶的影响

Fig. 4　Effect of various initial pH on the xylanase activity of strain SM751

2.5　不同接种量对菌株产酶的影响

在发酵工艺中，接种量是一个重要的影响因素。图 5 中，96 h、120 h 和 144 h 最高的木聚糖酶酶活分别是 8 504.16 IU/g、9 567.18 IU/g 和 7 123.46 IU/g，其相应的最佳接种量分别是 10%、10%和 7.5%。在 96 h 和 120 h，2.5%接种量的木聚糖酶酶活高于 5.0%和 7.5%接种量的酶活。总体而言，随着时间的延长，相同接种量的木聚糖酶酶活呈下降趋势。在接种量为 10%时，120 h 的木聚糖酶酶活大于 144 h 的木聚糖酶酶活。这说明，较大的接种量不仅能促进木聚糖酶的酶活，而且能够缩短发酵时间。选择 10%作为最佳的接种量。

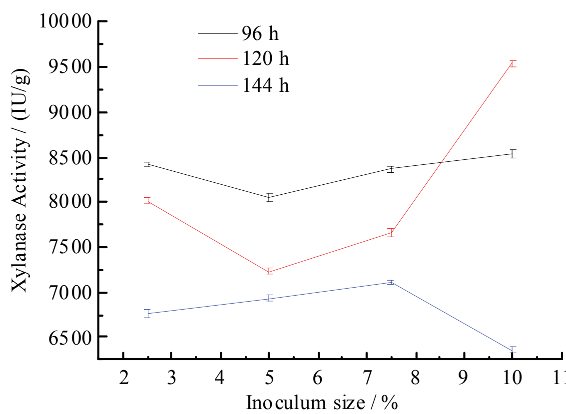

图 5　不同接种量对菌株 SM751 产酶的影响

Fig. 5　Effect of inoculum on the xylanase activity of strain SM751

2.6 不同料水比对菌株产酶的影响

在固态发酵过程中，料水比是一个关键的影响参数。图 6 显示，96 h、120 h 和 144 h 的最大木聚糖酶酶活分别是 9 090.66 IU/g、8 663.00 IU/g 和 8 235.35 IU/g，相应的料水比是 1∶3.5。在相同的发酵时间下，木聚糖酶酶活随着料水比的增大而增大，并且料水比在 1∶2.5、1∶3.5 的条件下，木聚糖酶酶活是料水比 1∶1.5 的 2 倍。这说明利用 *Aspergillus niger* SM751 固态发酵时，水分对于产酶有极大的影响作用。总体而言，随着时间的延长，木聚糖酶的酶活呈下降趋势。选择料水比 1∶3.5 作为最佳的料水比。

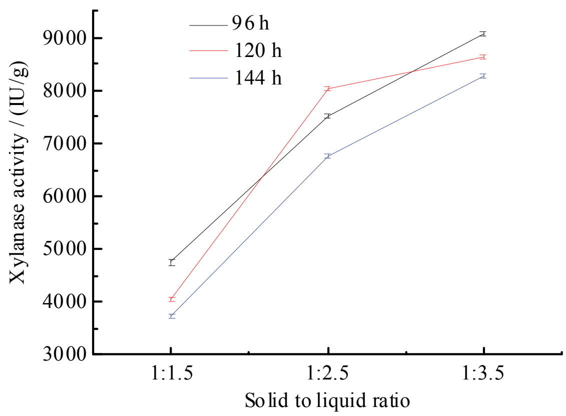

图 6 不同料水比对菌株 SM751 产酶的影响

Fig. 6 Effect of various ratio between solid and liquid on the xylanase activity of strain SM751

在玉米芯与麸皮比例为 1∶3，1.4 g 尿素为氮源，初始 pH 值为 3.5，料水比为 1∶3.5，接种量为 10.0 %的条件下进行固态发酵，120 h 后木聚糖酶酶活力为 10 446.92 IU/g。

2.7 木聚糖酶的酶学特性

最适 pH 和最适温度是重要的酶学特性，决定了酶的应用条件。在 50℃条件下，于 pH 值为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 条件下分别测定木聚糖酶酶活力。以最大的酶活为 100%，其他 pH 条件下酶活与最大酶活的百分数为 *Y* 轴，做酶活残留率曲线。在图 7 中，该木聚糖酶有两个最佳 pH 范围，一个为 3.0 ~ 4.5，另一个为 5.0 ~ 6.0。在 pH 范围为 3.0 ~ 4.5，酶活残留率为 95% ~ 97%。这个范围内较高的酶活残留率有助于预处理后木质纤维素中木聚糖的酶解[15]。在 pH 范围为 5.0 ~ 6.0 内，酶活残留率高达 98% ~ 100%。这表明该酶在酸性和偏酸性条件下具有良好的酶解潜力。

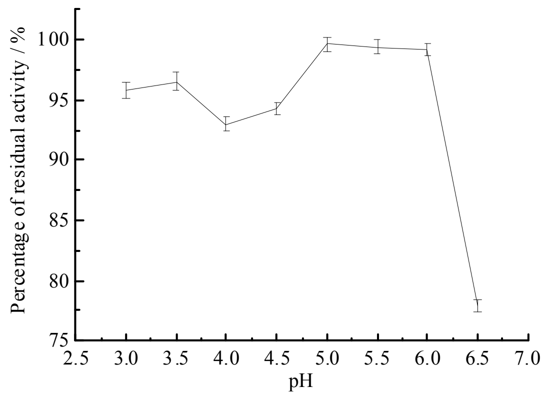

图 7 不同 pH 对菌株 SM751 木聚糖酶酶活的影响

Fig. 7 Effect of pH on the xylanase activity of strain SM751

在最适 pH 5.0 下，分别于 37℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃条件下测定木聚糖酶酶活。以最高酶活力为 100%计算各温度下的相对酶活力，结果见图 8。由图可知，最适温度为 45℃，50℃时酶活残留率为 97%。可见，45 ~ 50℃适合木质素酶解产木聚糖。当温度高于 50℃，木聚糖酶的酶活残留率急剧下降。相较于最佳温度，55℃和 60℃的酶活残留率分别为 42.78%和 3.87%。

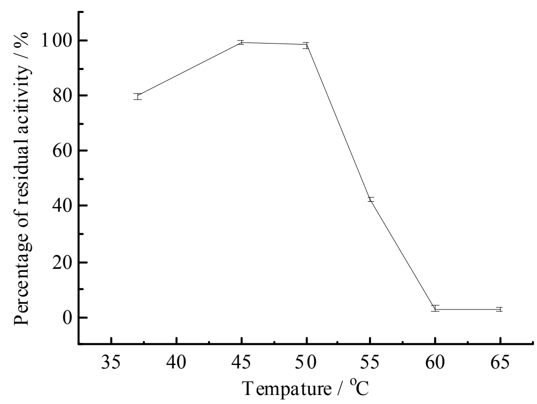

图 8 不同温度对菌株 SM751 木聚糖酶酶活的影响

Fig. 8 Effect of temperature on the xylanase activity of strain SM751

2.8 木聚糖酶对抑制物的耐受性能

木质纤维素经过酸处理、碱处理或者高温液态水处理后，会产生一些有毒害作用的抑制物[10,16]。这些有毒的抑制物包括呋喃类化合物（糠醛、5-羟甲基糠醛）、乙酸、酚类化合物（香草醛、阿魏酸）。在酿酒酵母发酵酶解的葡萄糖会产生乙醇。因此，有必要对上述化合物影响木聚糖酶活性进行研究。

在图 9 中，中浓度和高浓度的糠醛可以激活木聚糖酶，其激活率分别可达 7.63%和 15.88%；而低浓度的糠醛微弱地抑制木聚糖酶，其抑制率为

0.82%。中浓度和低浓度的 5-羟甲基糠醛抑制木聚糖酶，其抑制率分别为 7.01%和 27.83%；而高浓度的 5-羟甲基糠醛显著激活木聚糖酶，其激活率可达 18.35%。考虑到糠醛可以与 3,5-二硝基水杨酸反应，因此设置了相应的对照以消除这种反应的影响[17]。此外，也有类似的研究表明，糠醛及 5-羟甲基糠醛可以激活木聚糖酶的酶活[18]。*Aspergillus niger* SM751 所产的木聚糖酶对于糠醛和 5-羟甲基糠醛具有良好的耐受性能。乙酸在低浓度、中浓度和高浓度对木聚糖酶具有轻微的激活作用，其激活率分别为 0.2%、0.21%和 3.92%。

酚类化合物（香草醛、阿魏酸）随着浓度的变化，对于木聚糖酶酶活的影响也不同[11,19]。香草醛在低浓度时，其对木聚糖酶的抑制率为 4.54%，而在中浓度和高浓度时，其对木聚糖酶的激活率分别是 1.65%和 7.84%。阿魏酸在低浓度时对于木聚糖酶没有影响，而在中浓度和高浓度时，其对木聚糖酶的激活率分别为 3.09%和 5.16%。LI 等[20]的研究结果则表明香草醛和阿魏酸抑制木聚糖酶的酶活。然而，另有研究结果显示，阿魏酸可以激活木聚糖酶酶活[21]。

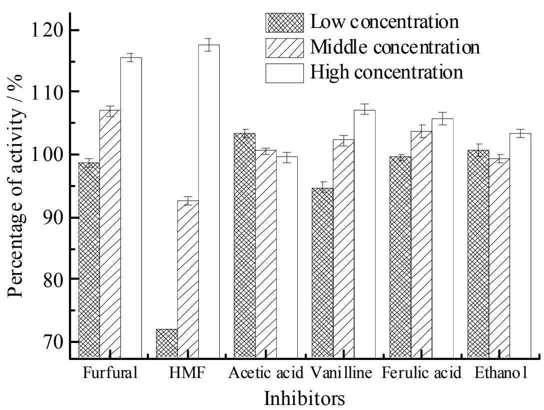

图 9　不同抑制物对菌株 SM751 木聚糖酶酶活的影响

Fig. 9　Effect of inhibitory compound on the xylanase activity of strain SM751

乙醇在中浓度时对木聚糖酶酶活没有影响，然而在低浓度和高浓度下可以轻微地激活木聚糖酶酶活，其激活率分别为 1.44%和 3.92%。VAN DYK 等[22]的研究结果显示乙醇抑制木聚糖酶的酶活。

利用 *Aspergillus niger* SM751 所产的木聚糖酶酶解高温液态水预处理之后的甘蔗渣。高温液态水的预处理条件为：料水比 1：20、180℃和 4 Mpa 下处理 20 min。预处理之后，在 50℃、150 r/min 和 pH 4.0 下添加 500 IU/g 的木聚糖酶酶解 24 h，木糖得率为 75.63%。

3　结　论

研究了新筛选菌株 *Aspergillus niger* SM751 固态发酵产木聚糖酶的潜力。该菌株能够产生高水平的木聚糖酶，并且所产的粗酶具有良好的 pH 稳定性。木聚糖酶酶活最高可达 10 446.92 IU/g。此外，该酶对糠醛、5-羟甲基糠醛、香草醛、阿魏酸和乙醇具有优良的耐受性。23.0 g/L 的糠醛和 25.7 g/L 的 5-羟甲基糠醛对木聚糖酶的激活率分别达 15.9%和 18.4%。该酶的最适温度、最适 pH 和对抑制物的优良耐受性使得该酶在酶解预处理后木质纤维素方面具有良好的应用潜力。

参考文献：

[1] 温博婷, 孙丽超, 王凤忠, 等. 微生物木聚糖酶的研究进展及其在食品领域的应用[J]. 生物产业技术, 2017(5): 81-86. DOI:10.3969/j.issn.1674-0319.2017.05.014.

[2] 陈阳雷, 吉兴香, 许凤. 纸浆木聚糖酶生物助漂技术进展[J]. 中国造纸, 2017, 36(12): 74-78. DOI: 10.11980/j.issn.0254-508X.2017.12.013.

[3] KUMAR V, CHHABRA D, SHUKLA P. Xylanase production from *Thermomyces lanuginosus* VAPS-24 using low cost agro-industrial residues via hybrid optimization tools and its potential use for saccharification[J]. Bioresource technology, 2017, 243: 1009-1019. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.07.094.

[4] HU J G, ARANTES V, SADDLER J N. The enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates by the addition of accessory enzymes such as xylanase: is it an additive or synergistic effect?[J]. Biotechnology for biofuels, 2011, 4: 36. DOI: 10.1186/1754-6834-4-36.

[5] QING Q, YANG B, WYMAN C E. Xylooligomers are strong inhibitors of cellulose hydrolysis by enzymes[J]. Bioresource technology, 2010, 101(24): 9624-9630. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.137.

[6] ZHANG J H, TANG M, VIIKARI L. Xylans inhibit enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials by cellulases[J]. Bioresource technology, 2012, 121: 8-12. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.07.010.

[7] 何敏超, 张宇, 许敬亮, 等. 木聚糖酶高产菌筛选研究进展[J]. 化工进展, 2013, 32(1): 145-150. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6613.2013.01.024.

[8] 王停停, 郑宏臣, 徐健勇, 等. 木聚糖酶 XynG1-1 在毕赤酵母中的表达及发酵条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(1): 37-43. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.201701007.

[9] 侯洁, 李琴, 李秀婷, 等. 产木聚糖酶霉菌发酵条件优化及酶学性质研究[J]. 食品工业, 2016, 37(10): 130-134.

[10] KIM Y, XIMENES E, MOSIER N S, et al. Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lingo-cellulosic biomass[J]. Enzyme and microbial technology, 2011, 48(4/5): 408-415. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2011.01.007.

[11] BOUKARI I, O'DONOHUE M, RÉMOND C, et al. Probing a family GH11 endo-β-1, 4-xylanase inhibition mechanism by phenolic compounds: Role of functional phenolic groups[J]. Journal of molecular catalysis B: enzymatic, 2011, 72(3/4): 130-138. DOI: 10.1016/j.molcatb.2011.05.010.

[12] MANDELS M, WEBER J, PARIZEK R. Enhanced cellulase production by a mutant of Trichoderma viride[J]. Applied microbiology, 1971, 21(1): 152-154. DOI: org/10.1016/0141-0229(94)00131.

[13] BAILEY M J, BIELY P, POUTANEN K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity[J]. Journal of biotechnology, 1992, 23(3): 257-270. DOI: 10.1016/0168-1656(92)90074-J.

[14] BETINI J H A, MICHELIN M, PEIXOTO-NOGUEIRA S C, et al. Xylanases from *Aspergillus niger*, *Aspergillus niveus* and *Aspergillus ochraceus* produced under solid-state fermentation and their application in cellulose pulp bleaching[J]. Bioprocess and biosystems engineering, 2009, 32(6): 819-824. DOI: 10.1007/s00449-009-0308-y.

[15] MCINTOSH S, VANCOV T. Optimisation of dilute alkaline pretreatment for enzymatic saccharification of wheat straw[J]. Biomass and bioenergy, 2011, 35(7): 3094-3103. DOI: 10.1016/j.biombioe.2011.04.018.

[16] YU Q, ZHUANG X S, LV S L, et al. Liquid hot water pretreatment of sugarcane bagasse and its comparison with chemical pretreatment methods for the sugar recovery and structural changes[J]. Bioresource technology, 2013, 129: 592-608. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.11.099.

[17] DE SOUZA MOREIRA L R, DE CARVALHO CAMPOS M, DE SIQUEIRA P H V M, et al. Two β-xylanases from *Aspergillus terreus*: Characterization and influence of phenolic compounds on xylanase activity[J]. Fungal genetics and biology, 2013, 60: 46-52. DOI: 10.1016/j.fgb.2013.07.006.

[18] BERLIN A, BALAKSHIN M, GILKES N, et al. Inhibition of cellulase, xylanase and β-glucosidase activities by softwood lignin preparations[J]. Journal of biotechnology, 2006, 125(2): 198-209. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2006.02.021.

[19] TIAN Y, JIANG Y, OU S Y. Interaction of cellulase with three phenolic acids[J]. Food chemistry, 2013, 138(2/3): 1022-1027. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.10.129.

[20] LI J B, ZHOU P F, LIU H M, et al. Synergism of cellulase, xylanase, and pectinase on hydrolyzing sugarcane bagasse resulting from different pretreatment technologies[J]. Bioresource technology, 2014, 155: 258-265. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.12.113.

[21] KAYA F, HEITMANN J A, JOYCE T W. Influence of lignin and its degradation products on enzymatic hydrolysis of xylan[J]. Journal of biotechnology, 2000, 80(3): 241-247. DOI: 10.1016/S0168-1656(00)00265-0.

[22] VAN DYK J S, SAKKA M, SAKKA K, et al. Characterisation of the multi-enzyme complex xylanase activity from *Bacillus licheniformis* SVD1[J]. Enzyme and microbial technology, 2010, 47(4): 174-177. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2010.06.004.

作者简介：

何敏超（1977-），男，硕士，助理研究员，主要从事产酶菌株的筛选研究。

闫志英（1980-），男，博士，研究员，主要从事生物质能源研究。

许敬亮（1977-），男，博士，研究员，主要从事生物质能源研究。