

# 三株苧麻脱胶菌的筛选

陈其国

(武汉职业技术学院 生物工程学院,湖北武汉 430074)

**摘 要:**采用桑树土、菜地土、构树土、池塘污泥沤苧麻 30d,通过菌株富集、分离与纯化、初筛和复筛,以苧麻脱胶率为指标,筛选出 3 株具有较好脱胶效果的苧麻脱胶菌株,为下一步工艺优化提供了坚实的基础。

**关键词:**苧麻;菌株实验;菌株筛选;脱胶工艺优化

中图分类号: TS123.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-931X (2016) 01-0085-03

苧麻是荨麻科多年生宿根性草本植物,有“中国草”之称,是重要的纺织纤维作物。在我国,苧麻栽培面积和产量均居世界首位,占世界总产量的 90%以上,同时也是世界上苧麻最大生产国和原料及加工织物的输出国<sup>[1]</sup>。

麻纤维作必须进行脱胶处理才能作为纺织材料使用,苧麻纤维脱胶是影响苧麻纤维纺织加工的重要环节。目前广泛使用的化学脱胶方法存在着工艺流程长、工序多、劳动强度高、能耗大、成本高、废水中有害的化学成分不易回收、废水色度深、碱性强、有机成分复杂等缺点<sup>[2]</sup>;另外强酸、强碱对麻纤维具有较强的破坏作用,纤维上不同程度地附着一部分化学物质,这些化学物质会破坏苧麻纤维本身具有的多种对人体有益的保健功能,同时残留的化学物质也影响人的身体健康<sup>[3]</sup>。

然而,微生物脱胶具有作用条件温和,对纤维损伤小,耗水少,污染轻,有利于环境保护等优点<sup>[4]</sup>。

## 一、实验材料与方法

### (一)麻样

苧麻原麻,购自湖北省黄石市阳新县。

### (二)培养基

富集培养基 I:牛肉膏 0.3g,蛋白胨 1.0g,氯化钠 0.5g,水 1000mL,pH 自然,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

苧麻分离培养基:剪碎的苧麻 10.0g,硫酸铵 5.0g,磷酸氢二钾 0.5g,硫酸镁 0.5g,氯化钾 0.5g,硫酸亚铁 0.01g,琼脂 7.5g,水 1000mL,pH 自然,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

果胶培养基:果胶 2.0g,硝酸钠 3.0g,磷酸氢二钾 0.5g,硫酸镁 1.0g,琼脂 15.0g,水 1000mL,pH 自然,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

富集培养基 II:牛肉膏 0.3g,蛋白胨 1.0g,氯化钠 0.5g,琼脂 15.0g,水 1000mL,pH 自然,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

LB 培养基(培养细菌用):胰蛋白胨 10.0g,氯化钠 10.0g,酵母提取物 5.0g,琼脂 15.0g,水 1000mL,pH7.0,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

马丁氏培养基(培养霉菌用):葡萄糖 10.0g,蛋白胨 5.0g,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 1.0g,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g,孟加拉红 0.03g,琼脂 15.0g,水 1000mL,pH 自然,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

高氏一号培养基(培养放线菌用):可溶性淀粉 20g,硝酸钾 1.0g,氯化钠 0.5g,磷酸氢二钾 0.5g,硫

收稿日期:2015-10-22

作者简介:陈其国(1973-),男,河南信阳人,武汉职业技术学院生物工程学院副院长,副教授,研究方向:应用生物技术、高职教育。

酸镁 0.5g,硫酸亚铁 0.01g,琼脂 15.0g,水 1000mL, pH7.2-7.4,0.1MPa 高压蒸汽灭菌 20 分钟。

(三)实验仪器

HQ45Z 型恒温摇床;101-2AB 型电热鼓风干燥箱;DH5000AB 型电热恒温培养箱;立式压力蒸汽灭菌器。

(四)实验方法

1.富集菌株

将苕麻原麻埋于采集的土样中 30d, 补充适量水分,室温。取 1.5-2cm 小段的腐烂苕麻 2.8g 置于盛有 200mL 富集培养基 I 的 250mL 锥形瓶中,室温静置富集 3d。

2.菌株分离与纯化

将富集液浓度稀释为 10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>, 分别取 1mL 富集培养液,混浇于苕麻分离培养基上,35℃培养,待菌落长出后,牙签点种法挑取菌落,分别接种到果胶培养基和富集培养基 II 上,用滤纸画上相应细格,将对应浓度的富集培养基和果胶培养基相同位置对应。选取果胶培养基上生长旺盛、水解透明圈大的菌株对应位置的富集培养基 II 上的菌种,按稀释平板分离法在细菌、放线菌、霉菌平板培养基上进行分离与纯化。

3.菌株初筛

分离纯化的菌株分别用细菌、放线菌、霉菌液体培养基培养 24h, 分别取菌液 20mL, 各加入 1g 苕麻,35℃恒温培养,150r/min 振荡培养 3d, 选择纤维最分散的用于复筛。

4.菌株复筛

量取 20mL 菌液放在 500mL 锥形瓶中, 加灭菌双蒸水稀释 10 倍,再加 3.0g 灭菌苕麻,充分浸润,封口,35℃振荡培养 3d,取出苕麻,充分洗涤,85℃烘至恒重,称量。选择苕麻脱胶率最大,即脱胶效果好的

作为目标菌株。

(五)脱胶率的测定

脱胶率根据下式计算:

$$G=\frac{G_0-G_r}{G_0}\times 100\%$$

式中:G 为脱胶率,%;G<sub>0</sub> 为脱胶前苕麻的质量(即自然晾晒干的苕麻质量减去含水量),g;G<sub>r</sub> 为脱胶后苕麻的质量(即苕麻烘干至恒重后的质量),g<sup>[5]</sup>。

二、结果与分析

(一)菌株分离与纯化结果

选取果胶培养基上生长旺盛、水解透明圈大的菌株对应位置的富集培养基 II 上的菌种,按稀释平板分离,在细菌、放线菌、霉菌平板培养基上涂板分离,35℃培养 2d, 选择生长较好的菌株进一步纯化,直至确保为单一菌种,并对菌株进行标号,菌株形态与编号如表 1 所示。

对表 1 所示的 9 种菌株进行液体培养过夜,取已灭菌的 30%的甘油 900uL+100uL 菌液,装入已灭菌的 1.5mL 冷冻管中,放在-20℃的冰箱中冷藏保种。

(二)菌株初筛结果

逐步对表 1 所示的 9 种冷藏的菌种进行活化,用液体培养基培养 24h,分别取菌液 20mL,各加入 1g 苕麻,在 35℃恒温培养箱中,50r/min 振荡培养 3d,观察苕麻分散结果如表 2 所示。

由表 2 结果可以看出,能够使原麻较好分散的菌株有 B2、B3、B4、M4、A1 共 5 个,能够使原麻分散效果好的菌株有 B5、M1 共 2 个,不能够使原麻分散的菌株有 B1、M2、M3、A2、A3、A4 共 6 个。总体上看,细菌的脱胶效果优于霉菌,放线菌的脱胶效果较差。

(三)菌株复筛结果

表 1 菌株分离与纯化结果一览表

废苕麻土样	培养基	菌株形态	菌株编号
桑树土	LB	黄色菌落,表面光滑、湿润;油镜下显示个体形态为球状。	B1
	马丁氏	菌落呈毛状、白色、底部略黑,易挑取;镜检结果为毛霉。	M1
	高氏一号	菌落表面皱折、较坚硬、呈辐射状、不易挑起;镜检结果为放线菌。	A1
枸树土	LB	乳白色菌落,表面光滑、湿润、边缘不整齐;油镜下显示个体形态为短杆状。	B2
	马丁氏	菌落呈毛状、白色、底部淡黄色,易挑取;镜检结果为毛霉。	M2
	高氏一号	菌落表面呈紧密的绒状、较坚硬,呈辐射状;镜检结果为放线菌	A2
菜地土	LB	白色菌落,表面光滑、湿润、边缘不整齐;油镜下显示个体形态为短杆状。	B3
		黄色菌落,中央隆起,表面干燥有皱褶;油镜下显示个体形态为杆状,有芽孢。	B4
	马丁氏	菌落呈毛状、正面灰色、底部淡绿色,易挑取;镜检结果为青霉。	M3
	高氏一号	菌落表面干燥,菌落较坚硬,呈辐射状;镜检结果为放线菌	A3
	LB	乳白色菌落,表面光滑、湿润;油镜下显示个体形态为杆状。	B5
池塘污泥	马丁氏	菌落呈毛状、直径大、底部褐色,易挑取;镜检结果为毛霉。	M4
	高氏一号	菌落表面有皱褶,与培养基结合紧密;镜检结果为放线菌。	A4

表2 菌株初筛结果一览表

菌株编号	原麻分散状况	菌株编号	原麻分散状况
B1	基本没有分散	M3	基本没有分散
B2	分散程度较好	M4	分散程度较好
B3	分散程度较好	A1	分散程度较好
B4	分散程度好	A2	基本没有分散
B5	分散程度好	A3	基本没有分散
M1	分散程度好	A4	基本没有分散
M2	基本没有分散		

表3 苧麻脱胶一览表

菌株编号	脱胶率(%)	菌株编号	脱胶率(%)
B2	10.3	M1	18.7
B3	15.6	M4	11.5
B4	13.2	A1	9.2
B5	17.3		

量取 20mL 能够使原麻分散较好以上的 B2、B3、M4、A1、B4、B5、M1 菌液, 分别放在已灭菌的 500mL 锥形瓶中, 加灭菌水稀释 10 倍, 再加 3.0g 灭菌后的原苧麻, 充分浸润, 封口, 35℃振荡培养 3d, 取出苧麻, 充分洗涤, 85℃烘至恒重, 称量计算苧麻脱胶率, 脱胶结果见表 3。

由表 3 的结果可知, 脱胶率由高到低的菌株顺序是 M1>B5>B3>B4>M4>B2>A1。以脱胶率 15.0% 为

分界点, 苧麻脱胶效果较好的菌株是 M1、B5、B3。

### 三、结论

从桑树土、构树土、菜地土、池塘污泥中分离筛选的 9 种脱胶菌株类型来看, 细菌对苧麻的总体脱胶效果优于霉菌, 大多数放线菌的脱胶效果较差; 以脱胶率 15.0% 为分界点, 获得了三种苧麻脱胶效果较好的菌株 M1、B5、B3, 为下一步进行苧麻脱胶工艺优化提供了很好的菌种来源。

### 参考文献:

- [1] 姜繁昌, 邵宽, 周岩. 苧麻纺纱学[M]. 北京: 纺织工业出版社, 1986: 1-2.
- [2] 金钢. 大麻脱胶方法的研究进展[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2009, 33(4): 140-144.
- [3] 曾莹, 向新柱. 制霉菌素抗性筛选高活性苧麻脱胶菌诱变菌株[J]. 生物技术通报, 2009(12): 177-179, 183.
- [4] 王军, 夏东升, 陈悟, 等. 苧麻生物脱胶研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(15): 6517-6518.
- [5] Lianshuang Zheng, Yumin Du, Jiayao Zhang. Degumming of ramie fibers by alkalophilic bacteria and their polysaccharide-degrading enzymes [J]. Bioresource Technology. 2001, (8): 89-94.

[责任编辑: 郭 群]

## Screening of Three Strains Bacterium for Ramie Degumming

CHEN Qi-guo

(School of Bioengineering, Wuhan Polytechnic, Wuhan430074, China)

**Abstract:** In the research, mulberry soil, vegetable soil, Papyrifera soil, and pond sludge steep ramie 30d are used. After enrichment, separation and purification, primary and secondary screening, three good ramie degumming strains are screened out with ramie weight loss rate as index, which provides a solid foundation for the next process of optimization.

**Key words:** ramie; degumming; screening; optimization of degumming