

杨耀刚,田瑞华. 金属离子及表面活性剂对土著菌产纤维素酶的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(24):366-369.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.24.094

# 金属离子及表面活性剂对土著菌产纤维素酶的影响

杨耀刚,田瑞华

(内蒙古农业大学生命科学学院,内蒙古呼和浩特 010018)

**摘要:**为提高土壤肥力及缩短秸秆还田的分解时间,在不打破微生物群落结构基础上,以天然玉米秸秆为底物,研究  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等 8 种金属离子及 Tween 20、Tween 80、PEG 2000 等 6 种表面活性剂对土著菌产纤维素酶的影响,试验以控制单因素变量为基础,对混菌产酶的最适 pH 值、温度、氮源作测定,研究不同金属离子、表面活性剂对产酶的影响。结果表明,混菌的产酶最适 pH 值偏酸性,温度为 30 ℃,最适产酶的氮源为蛋白胨,含量为 0.2%。产酶试验结果表明,不同浓度的金属离子与表面活性剂对还原糖的产率有促进作用,其中  $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  效果最好,与对照组相比,添加 0.6 mmol/L  $\text{Co}^{2+}$ 、1.5 mmol/L  $\text{Cu}^{2+}$  的样品还原糖产率分别提高 2.2、1.2 倍,添加 8.5 mmol/L 十二烷基硫酸钠(SDS)使得样品的还原糖产率提高 70.2%。

**关键词:**金属离子;表面活性剂;土著菌;玉米秸秆;纤维素酶

**中图分类号:**X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)24-0366-04

纤维素是地球上极为丰富的生物聚合物,是生物质资源之一,它是由葡萄糖通过  $\beta$ -1,4 糖苷键连接而成的线性不分枝的同聚多糖,纤维素是植物除水分以外的主要成分,约占其干质量的 30%~50%,是目前分布最广且最多的天然碳水化合物<sup>[1]</sup>。

目前对纤维素有效的利用很少,其中一小部分用于纺织、造纸、建筑和饲料等,一部分用作生产燃料乙醇,大部分没有被利用,而是被农民取粒后直接焚烧,严重影响环境。秸秆自然还田,即生物降解是处理和利用秸秆等木质纤维素最具前景的方法,主要利用微生物可分泌产生纤维素酶这一特点,经微生物自然分解,参加自然界碳素循环,是增加作物产量、提高土壤肥力的有效途径<sup>[2]</sup>,但微生物受外界环境因素所致及自生可分泌的纤维素酶较少,且纤维素酶水解玉米秸秆的过程中,纤维素酶不可逆地吸附在木质素表面,使纤维素酶的活性降低,导致秸秆的分解速度变慢,这样存在降低地温、加重病虫害、影响播种等问题<sup>[3-4]</sup>。为加快纤维素的酶解速度,在纤维素酶解过程中添加表面活性剂来阻止木质素对纤维素酶的无效吸附,添加纤维素酶的激活剂金属离子来提高纤维素酶解的反应速度。

到目前为止,有很多与产纤维素酶生产菌的相关报道,如青霉、假单胞菌属、木霉属、曲霉属以及构建的工程菌,这些研究都集中在工业酶的基础上<sup>[5-6]</sup>,对于土壤自身土著菌微生物的研究甚少。在长期的生产实践中发现,植物细胞壁成分的复杂性及不同细胞壁成分的差异导致分解纤维素微生物单独作用下不能完成或只能微弱完成纤维素的降解,所以必须

依靠 2 种及 2 种以上的微生物共同作用<sup>[7-8]</sup>。因此,本研究以玉米秸秆为原料,在不破坏原有土壤中降解纤维素菌群平衡的基础上,通过植物生长所需的金属离子及有利于土壤修复的表面活性剂对土著菌产酶条件优化的研究<sup>[9-11]</sup>,找出能够提高产酶效率的因子,制作成加速还田秸秆分解的菌剂,在秸秆还田时施肥在土壤中,加快还田秸秆的有效降解,为提高土壤的肥力及增加农作物产量奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

土样于 2017 年 4 月采自内蒙古自治区磴口县巴彦高勒镇周边玉米地,样品采集到无菌自封袋中,迅速压实挤掉多余空气,于 4 ℃ 冰箱中保存;试验用秸秆采自当地农户家中,除去样品中的杂质,截成长度 8~10 cm,带回实验室,粉碎,常温干燥环境条件下贮存,备用。

### 1.2 试验试剂

pH 值为 6.5 的 0.05 mol/L 柠檬酸缓冲液、1% 羧甲基纤维素钠溶液、DNS 试剂(配制);硫酸铁、硫酸亚铁、硫酸钠、硫酸锌、硫酸镁、硫酸铜、硫酸锰、氯化钙、氯化钴、硫酸钾,十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate,简称 SDS)、Tween 20、Tween 80、PEG 2000、PEG 6000、PEG 8000 为化学纯。

### 1.3 土著菌的最适温度、pH 值、氮源

将采到的土样各称取 10 g 于广口瓶中,加入已灭菌 490 mL 水、5 g 秸秆粉、1 g 微晶纤维素、1 g 羧甲基纤维素钠、3 g 尿素、3 g 滤纸条,放置于常温,隔 1 d 摇晃 1 次,为 1 代菌。20 d 后取 50 mL 1 代菌液,加入灭菌后的水 450 mL、5 g 秸秆粉、1 g 微晶纤维素、1 g 羧甲基纤维素钠、3 g 尿素、3 g 滤纸条,放置于常温,隔 1 d 摇晃 1 次,为 2 代菌,连续传代到第 10 代。各取第 9 代菌液 20 mL,加入已灭菌 80 mL 水、0.5 g 秸秆粉、0.2 g 微晶纤维素、0.3 g 羧甲基纤维素钠、0.1 g 尿素、0.2 g 滤纸条,于 250 mL 三角瓶中,2 个平行,分别置于 20、30、40、50 ℃,pH 值为 5、6、7、8,氮源尿素、硫酸铵、蛋白胨

收稿日期:2017-08-15

基金项目:内蒙古自治区科技创新引导奖励资金;内蒙古自治区研究生科研创新项目(编号:S20161012903)。

作者简介:杨耀刚(1991—),男,内蒙古乌兰察布人,硕士研究生,从事农作物秸秆还田及饲料发酵研究。E-mail:18647391482@163.com。

通信作者:田瑞华,副教授,从事微生物发酵及发酵产物分离与鉴定研究。E-mail:trh8611@126.com。

的恒温摇床中,50 r/min,测定酶活。

#### 1.4 葡萄糖标准曲线的制作

制备不同浓度的葡萄糖标准溶液,分别加入 1 mL DNS (3,5-二硝基水杨酸)溶液,摇匀,沸水浴 5 min,冷却,定容到 5 mL。在 540 nm 波长处测定其吸光度,以葡萄糖(mg/mL)为横坐标,对应的吸光度为纵坐标,绘制出葡萄糖标准曲线。

#### 1.5 酶活的测定及计算方法

向比色管中加入 0.5 mL、12 000 r/min 离心后的上清,加入 0.5 mL 的 1% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液,混匀后 50 ℃水浴 45 min,加入 1 mL 的 DNS 液,沸水浴 5 min,立刻冷却,加入 3 mL 蒸馏水,摇匀,取 200  $\mu$ L,540 nm 波长下测定各溶液的  $D_{540\text{ nm}}$  值。

纤维素酶活力定义:以 CMC-Na 为底物,在温度为 50 ℃、pH 值为 6.3、恒温 45 min 的条件下,以水解反应中 1 min 催化 CMC-Na 水解形成 1  $\mu$ mol 葡萄糖的酶量为 1 个单位,用“U”表示。

#### 1.6 不同金属离子对土著菌产酶的影响

试验考察植物在生长过程中所需的 9 种金属离子对纤维素产酶的影响,在土著菌群水解玉米秸秆的同时分别添加各自不同浓度的金属离子盐溶液与菌液充分混合(表 1),发酵 7 d,根据上述方法测定其纤维素酶活力。

表 1 添加不同金属离子的浓度梯度

编号	金属离子浓度(mmol/L)							
	Fe <sup>3+</sup>	Na <sup>+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0.30	0.7	1.0	0.1	0.3	0.3	0.3	0.3
3	0.6	1.4	1.4	0.3	0.6	0.6	0.6	0.6
4	0.9	2.1	1.8	0.6	0.9	0.9	0.9	0.9
5	1.2	2.8	2.2	0.9	1.2	1.2	1.2	1.2
6	1.5	3.5	2.6	1.2	1.5	1.5	1.5	1.5

#### 1.7 不同表面活性剂对土著菌产酶的影响

向水解反应体系中加入不同浓度的 6 种表面活性剂,发

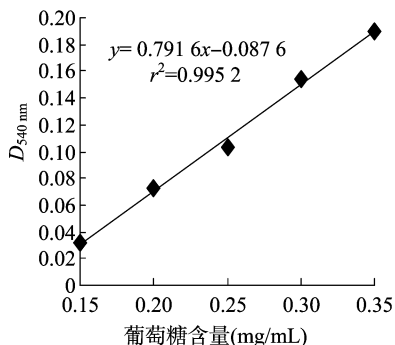


图1 葡萄糖标准曲线

在土著菌生长过程中,图 4 显示低浓度的 Zn<sup>2+</sup> 作为营养离子能够刺激土著菌加快完成生理代谢过程,有利于酶的合成,Zn<sup>2+</sup> 的浓度为 1.8 mmol/L 时,酶活力达到最大值。当 Zn<sup>2+</sup> 的浓度高于 1.8 mmol/L 时,影响菌体对营养物质的吸收,不利于酶的合成,成为毒性离子,因此由促进作用变为抑制作用。

图 5 显示,Ca<sup>2+</sup> 浓度在 0.0 ~ 0.1 mmol/L 时,对纤维素酶活力呈激活作用,且激活作用逐渐增加,从 0.1 mmol/L 开始,

酵 7 d,根据上述方法测定表面活性剂在不同加入量下对土著菌产纤维素酶的影响。

表 2 添加不同表面活性剂的浓度梯度

编号	表面活性剂浓度					
	Tween 20 (mL/L)	Tween 80 (mL/L)	PEG 2000 (g/L)	PEG 6000 (g/L)	PEG 8000 (g/L)	SDS (mmol/L)
1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	0.1	0.1	0.8	0.8	0.8	1.7
3	0.5	0.5	1.6	1.6	1.6	3.4
4	1.0	1.0	2.4	2.4	2.4	5.1
5	1.5	1.5	3.2	3.2	3.2	6.8
6	2.0	2.0	4.0	4.0	4.0	8.5

## 2 结果与分析

滤纸是结晶度和聚合度都居中的纤维材料,滤纸酶活性即纤维素酶的总酶活力,以其为底物测滤纸崩解可用来表征纤维素酶的总糖化能力,因此对滤纸有良好降解效果的则具有较强的产纤维素酶能力<sup>[8,12]</sup>。故根据不同单因素下的滤纸崩解情况,确定土著菌的最适生长产酶温度为 30 ℃、pH 值为偏酸性、氮源为蛋白胨,含量为 0.2%。葡萄糖标准曲线方程为  $y = 0.7916x - 0.0876$  ( $r^2 = 0.9952$ ) (图 1)。

### 2.1 不同金属离子对土著菌产酶的影响

在纤维素酶合成过程中,Fe<sup>3+</sup> 是许多酶的激活剂,由图 2 可知,在发酵过程中,低浓度的 Fe<sup>3+</sup> 对土著纤维素菌剂产酶有促进作用,当 Fe<sup>3+</sup> 的浓度为 0.3 mmol/L 时,促进作用最强,此浓度下使纤维素酶合成水平有较大的提高。随着 Fe<sup>3+</sup> 浓度的增加,对土著菌产酶几乎没有影响。

由图 3 可知,低浓度的 Na<sup>+</sup> 能够促进土著菌产纤维素酶,从而有利于对秸秆的水解,当 Na<sup>+</sup> 浓度为 0.7 mmol/L 时,其相对酶活达到最大值,为 111 U,随着溶液中 Na<sup>+</sup> 浓度的增加,对土著菌体的渗透压增高,抑制菌的生长,产纤维素酶下降,因此由促进转变为抑制。

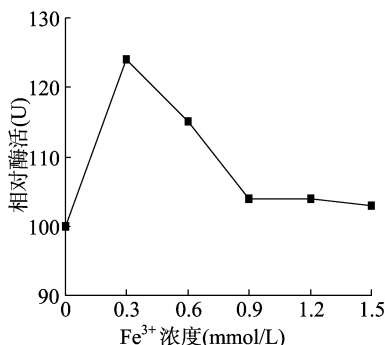


图2 Fe<sup>3+</sup> 对土著菌产纤维素酶的影响

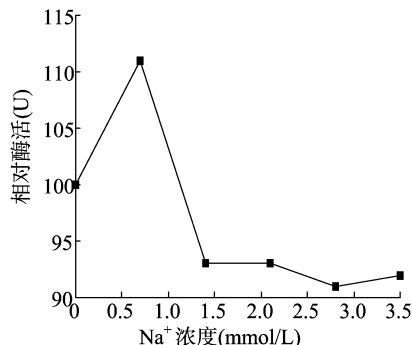


图3 Na<sup>+</sup> 对土著菌产纤维素酶的影响

激活作用开始下降。在浓度大于 0.1 mmol/L 时,Ca<sup>2+</sup> 对纤维素酶的作用转为抑制作用,抑制作用随浓度增大而加强。

由图 6 可知,Cu<sup>2+</sup> 对纤维素酶活性整体呈激活作用,Cu<sup>2+</sup> 浓度在 0.0 ~ 0.9 mmol/L 时,激活作用不显著,Cu<sup>2+</sup> 浓度在 1.0 mmol/L 以后,激活作用开始增加。可能是因为 Cu<sup>2+</sup> 是构成漆酶不可缺少的金属离子,铜作为漆酶活力中心的组成成分,参与漆酶蛋白的合成,在限铜或缺铜时,漆酶蛋白表达受限,所以活力较低。在秸秆的分解中,漆酶降解玉米秸秆

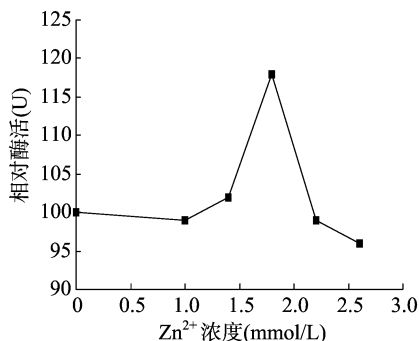


图4 Zn²⁺对土著菌产纤维素酶的影响

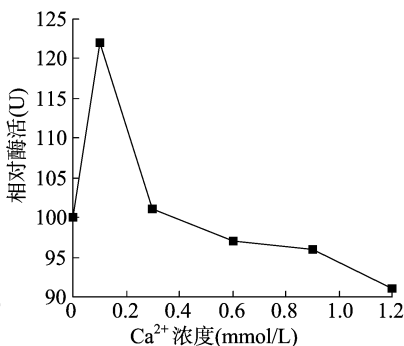


图5 Ca²⁺对土著菌产纤维素酶的影响

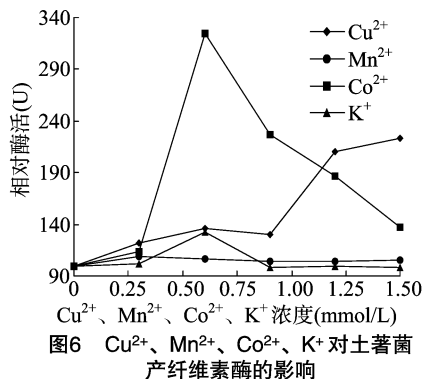


图6 Cu²⁺、Mn²⁺、Co²⁺、K⁺对土著菌产纤维素酶的影响

中的木质素,使秸秆中的纤维素暴露出来,间接地有利于土著菌对纤维素酶的分泌。

Mn²⁺能够参与细菌超氧化物歧化酶的活动,是锰过氧化物酶(MnP)、丙酮酸羧化酶、精氨酸酶等的辅助因子,也是腺嘌呤核苷酸酶和一些水解酶的激活剂,Mn²⁺对纤维素酶活力整体呈激活作用,Mn²⁺在浓度为0.3 mmol/L时,激活作用达到最大,以后开始减弱,但依旧表现为激活作用。

Co²⁺是微生物生长需要的具有特殊生物学功能的微量金属元素,其与微生物之间存在着密切的相互作用,在给定的范围内,对土著菌产酶具有促进作用。Co²⁺浓度为0.6 mmol/L时,其激活作用最强,随着环境中Co²⁺浓度增高,会影响甚至抑制微生物的生长及代谢活动,其激活作用呈下降趋势。

K⁺对土著菌产酶的影响与Na⁺相似,在低浓度是具有促进作用,当浓度为0.6 mmol/L时,其相对酶活达到最大值,随着环境浓度的升高,在微生物体内形成Na-K泵,影响土著菌的渗透压,因此变为抑制作用。

水解纤维素酶是蛋白质,物理、化学、生物等因子都能影响蛋白质空间结构的改变,金属离子对酶的催化作用尤其重要,金属离子主要通过影响底物反应定向或可逆改变金属离子的氧化态来调节氧化还原反应等途径参加催化过程<sup>[13]</sup>。国内外对此进行了研究,其结论有所不同,研究表明,金属离子对纤维素酶的影响除了金属离子本身以外,还与反应的条件及环境有关,在一定的浓度下有的表现为激活作用,有的则相反,何林富等在金属对林芝纤维素酶活力的研究中发现,K⁺、Zn²⁺对纤维素酶活有促进作用,Cu²⁺、Mn²⁺则对灵芝纤维素酶活有抑制作用<sup>[14]</sup>。王娜娜等在金属离子对纤维素酶水解玉米秸秆中研究发现,Ca²⁺、Cu²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺在一定的浓度范围内对纤维素酶有不同程度的促进作用<sup>[15]</sup>。安刚等研究金属离子对白蚁纤维素酶活力的影响发现,Na⁺、K⁺对酶活没有影响,Ca²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺有激活作用,Cu²⁺有抑制作用<sup>[16]</sup>。李德莹等在金属离子对纤维素酶活力影响的研究发现,Fe³⁺、Co²⁺对纤维素酶活性有激活作用,Cu²⁺、Zn²⁺、Mn²⁺对纤维素酶活性有抑制作用<sup>[6]</sup>。李文欢等研究认为,Co²⁺、Mn²⁺对纤维素酶有激活作用,Cu²⁺、Ca²⁺对纤维素酶具有不同程度的抑制作用<sup>[17]</sup>。Ferchark等研究了金属离子对纤维素酶活的影响,结果表明,Ca²⁺对纤维素酶活也有轻微的激活作用<sup>[18]</sup>。王闻等研究认为,Ca²⁺、Mn²⁺、Co²⁺在一定浓度范围内对纤维素酶有激活作用,但效果不明显<sup>[19]</sup>。李金宝等认为,Fe³⁺、Cu²⁺、Co²⁺能够促进纤维素酶对纤维素的水解<sup>[20]</sup>。

## 2.2 不同表面活性剂对土著菌产酶的影响

表面活性剂能起到良好的增溶和乳化作用,可以降低纤维素及所处溶液的表面张力,使纤维素酶在整个反应体系中分散得更均匀,提高纤维素这种高分子聚合物的亲水性,并促进底物与纤维素酶结合,提高酶的降解效率<sup>[21-22]</sup>。

图7所示,添加非离子表面活性剂Tween 20、Tween 80时,对土著菌分解纤维素产糖在设定的范围内低浓度时有轻微的促进作用,Kim等研究发现,0.5% Tween 80能够使纤维素和滤纸的转化率分别提高21.9%、23.0%<sup>[23]</sup>。Tween可以增加底物与酶的有效结合,提高纤维素酶的热稳定性,且Tween 20强于Tween 80,随着添加浓度的增加,由轻微的促进作用变为抑制作用,这与Kaar等研究结果<sup>[24-25]</sup>类似。

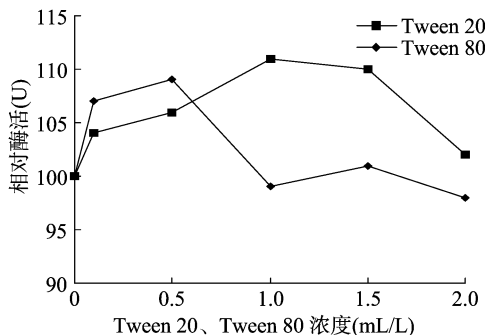


图7 Tween 20、Tween 80对土著菌产纤维素酶的影响

添加不同分子量大小非离子表面活性剂PEG时,在设定的范围内对土著菌分解纤维素产糖低浓度有促进作用,其中PEG 6000提高幅度最大(图8)。Qing等对作用机制进行了研究<sup>[26]</sup>;Kristensen等在秸秆的水解中加入PEG,同样得到PEG 6000对秸秆水解的影响最大<sup>[27]</sup>。李鑫等在水解玉米秸秆中报道,PEG 6000减少纤维素酶的非生产性吸附,改善纤维素酶对玉米秸秆的水解性能效果最好<sup>[28]</sup>;席琳乔等在探究不同分子量大小PEG对棉秆木质纤维素酶解的影响中发现,同样得到PEG 6000可以提高纤维素的转化率<sup>[29]</sup>。

添加离子表面活性剂SDS,在设定的浓度范围内有明显的促进作用,当加入SDS加入量为6.85 mmol/L时,效果最好,相对酶活为169 U(图9)。王娜娜等同样发现,SDS对纤维素酶水解玉米秸秆有促进作用<sup>[15]</sup>。

金属离子与表面活性剂对土著菌产纤维素酶的试验结果与其他学者研究结果不尽相同,可能主要有2个原因:一是不同微生物源所产生的纤维素酶结构上有差别;二是不同的研究者所设定的金属离子及表面活性剂浓度不同。

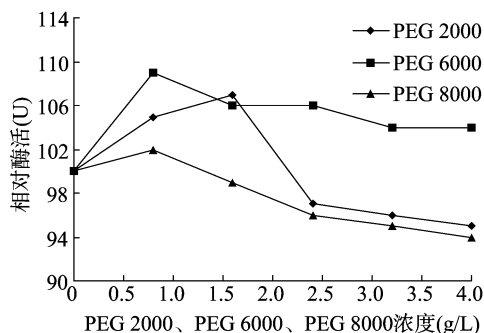


图8 PEG 2000、PEG 6000、PEG 8000 对土著菌产纤维素酶的影响

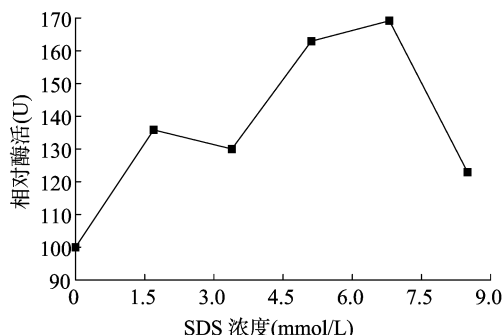


图9 SDS 对土著菌产纤维素酶的影响

### 3 结论

通过试验初步探索土著菌生长产酶的最适环境,混菌的产酶最适 pH 值为偏酸性,温度为 30 ℃,最适产酶的氮源为蛋白胨,其含量为 0.2%。本研究只在单因素水平上探索不同的金属离子与表面活性剂对土著纤维素菌产酶的影响,试验结果表明,金属离子与表面活性剂在一定的浓度范围内对秸秆的水解具有促进作用,可以提高土著纤维素菌剂对秸秆的有效降解速度,在玉米秸秆还田时配施菌剂,从而提高土壤的肥力,增加农作物产量。然而金属离子复配对纤维素菌产酶的研究较少,只有李文欢等研究 2 种金属离子的复配,结果表明,比单独添加 1 种金属离子效果好<sup>[17]</sup>。因此,金属离子复配以及金属离子与表面活性剂相结合对纤维素菌产酶的影响有待不断地深入研究。

### 参考文献:

- [1] 刘长跃. 秸秆还田的利与弊[J]. 农业资源与环境学报, 2004, 21(5): 37-38.
- [2] 刘晓霞, 陶云彬, 章日亮, 等. 秸秆还田对作物产量和土壤肥力的短期效应[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(3): 508-510.
- [3] 王 荣. 我国秸秆综合利用现状分析与对策[J]. 现代商业, 2013(5): 277.
- [4] 郑 侃, 陈婉芝, 杨宏伟, 等. 秸秆还田机械化技术研究现状与展望[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(9): 9-13.
- [5] 赵晓梅. 纤维素酶酶学性质研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- [6] 李德堂, 龚大春, 田毅红, 等. 金属离子对纤维素酶活力影响的研究[J]. 酿酒科技, 2009(6): 40-42, 46.
- [7] 宋金利. 纤维素酶、酯酶和木聚糖酶对玉米秸秆协同作用的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2011.

- [8] 王 影. 纤维素降解菌的分离筛选、酶学性质及其液体发酵条件的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
- [9] 刘千钧, 陈 迪, 邓 玉, 等. 污染土壤修复中表面活性剂的应用研究进展[J]. 土壤通报, 2017(1): 243-249.
- [10] 张 启. 表面活性剂在污染土壤修复中的应用[J]. 环境与发展, 2017, 29(3): 155-155.
- [11] 卢宁川, 冯效毅. 生物表面活性剂强化植物修复重金属污染土壤的可行性[J]. 环境科技, 2009, 22(4): 18-21.
- [12] Teeri T T. Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases[J]. Trends in Biotechnology, 1997, 15(5): 160-167.
- [13] 洪 培, 疏义林, 柯丽霞. 金属离子对平菇和杏鲍菇纤维素酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2015(26): 59-60, 66.
- [14] 何林富, 王文兵, 张志才, 等. 6 种金属离子对灵芝纤维素酶活性的研究[J]. 饲料研究, 2008(7): 29-31.
- [15] 王娜娜, 姚秀清, 张 全, 等. 金属离子及表面活性剂对纤维素酶水解预处理玉米秸秆的影响[J]. 科学技术与工程, 2011, 11(20): 4913-4916.
- [16] 安 刚, 陶毅明, 龙敏南, 等. 金属离子对白蚁纤维素酶活力的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, 47(增刊2): 107-109.
- [17] 李文欢, 王林凤, 闫德冉, 等. 金属离子对小麦秸秆酶解的影响[J]. 科学技术与工程, 2014, 14(33): 255-259.
- [18] Ferchak J D, Pye E K. Effect of cellobiose, glucose, ethanol, and metal ions on the cellulase enzyme complex of *Thermomonospora fusca*[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1983, 25(12): 2865-2872.
- [19] 王 闻, 庄新姝, 袁振宏, 等. 离子及表面活性剂对甜高粱秆渣酶解的影响[J]. 化工学报, 2013, 64(10): 3767-3774.
- [20] 李金宝, 贺 行, 张美云, 等. 金属离子催化纤维素酸水解制备微晶纤维素的研究[J]. 造纸科学与技术, 2014(2): 21-24.
- [21] Pérez J, Muñoz-Dorado J, de la Rubia T, et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview[J]. International Microbiology (the Official Journal of the Spanish Society for Microbiology), 2002, 5(2): 53-63.
- [22] 冯 月, 蒋建新, 朱莉伟, 等. 表面活性剂 Tween 80 及皂荚皂素对纤维素酶活力促进作用的研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(增刊1): 154-158.
- [23] Kim H J, Kim S B, Kim C J. The effects of nonionic surfactants on the pretreatment and enzymatic hydrolysis of recycled newspaper[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2007, 12(2): 147-151.
- [24] Kaar W E, Holtzapple M T. Benefits from Tween during enzymic hydrolysis of corn stover[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1998, 59(4): 419-427.
- [25] 孙付保, 姜秀平, 洪嘉鹏, 等. 非离子表面活性剂对木质纤维素酶解的促进作用[J]. 化工进展, 2011, 30(12): 2719-2723.
- [26] Qing Q, Yang B, Wyman C E. Impact of surfactants on pretreatment of corn stover[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(15): 5941-5951.
- [27] Kristensen J B, Borjesson J, Bruun M H, et al. Use of surface active additives in enzymatic hydrolysis of wheat straw lignocellulose[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(4): 888-895.
- [28] 李 鑫, 欧阳嘉, 陈 牧, 等. 非离子型表面活性剂辅助酶水解玉米秸秆蒸爆渣[J]. 离子交换与吸附, 2009, 25(5): 395-401.
- [29] 席琳乔, 吴书奇, 马春晖. 非离子表面活性剂 PEG 对棉秆木质纤维素酶解的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(23): 176-183.