

文章编号:0253-9721(2007)12-0065-04

# 大麻快速脱胶菌株的选育与脱胶性能鉴定

彭源德,唐守伟,杨喜爱,严理,朱爱国,温岚,熊和平

(中国农业科学院麻类研究所,湖南长沙 410205)

**摘要** 针对以烧碱蒸煮为中心的大麻化学脱胶工艺存在脱胶质量不稳定,纤维强度和出麻率低,环境污染严重等问题,进行了大麻脱胶菌株的选育与脱胶性能鉴定的研究。通过广泛采集菌样,初筛、复筛和诱变育种,获得了1株在16 h内完成大麻脱胶的快速脱胶菌株;在实验室条件下,该菌株进行大麻生物脱胶具有脱胶周期短,纤维产量高和品质好等特点;与传统水沤法相比,缩短脱胶周期90%以上,干茎出麻率提高2.1%,束纤维强力提高7.9%,且纤维颜色浅,质地均匀,光泽好。

**关键词** 大麻;快速生物脱胶;菌株;脱胶性能

中图分类号:TS192.552 文献标识码:A

## Breeding of a fast retting bacterium and appraisal of retting function in hemp

PENG Yuande, TANG Shouwei, YANG Xi'ai, YAN Li, ZHU Aiguo, WEN Lan, XIONG Heping

(Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410205, China)

**Abstract** Breeding and selection of hemp retting strains and their retting functions were studied aiming at problems such as unstable quality, low fiber intensity, low products rate, serious environment pollution brought about by chemical retting technology. After collected strains broadly, we selected them and mutated strains, sifted a new strain. This strain can accomplish hemp retting within 16 h. Under laboratory condition retting of hemp this strain has advantages of short retting period, high yield and superior quality. Compared with traditional retting method, the fast retting technique can shorten retting time by 90% or more, the output for short fiber has been increased by 2.1%, and the fiber strength has been increased by 7.9%. And the fiber has got light color, homogeneous texture and good luster.

**Key words** hemp; fast microbial retting; bacterium; retting function

大麻纤维除了具有其他麻类纤维的特点外,还有抗菌防臭,吸湿透气等独特性能,是一种优良的纺织原料,但脱胶是大麻生产中极其重要的加工环节,脱胶质量的好坏直接影响着纤维的产量与应用价值<sup>[1-5]</sup>。工业生产中普遍采用的以烧碱蒸煮为中心的化学脱胶方法,存在着脱胶质量不稳定,纤维强度和出麻率低,环境污染严重等诸多问题,制约了大麻业的进一步发展。为此,国内外广泛开展了汽蒸脱胶法、超声波脱胶法、生物化学处理法、汽爆制备大麻纤维和微生物或酶解非纤维素法<sup>[6-17]</sup>等大麻脱胶

新方法的研究。

实践证明,大麻脱胶新工艺能大幅降低大麻韧皮中果胶、半纤维素和木质素的含量,提高了大麻的可纺性,降低了环境污染,但因脱胶菌株的产酶能力不强,脱胶时间长,成本较高等原因,大麻生物脱胶技术很难投入规模化生产。

本文从菌样的广泛采集入手,通过采取初筛、复筛和诱变等微生物常规育种手段,获得大麻快速脱胶菌株,以解决大麻化学脱胶工艺中存在的问题,促进大麻产业的发展。

收稿日期:2007-03-07

修回日期:2007-06-14

基金项目:国家“948”项目(2006-G18-2);国家“十一五”支撑计划项目(2006BAD06B03);公益性行业科研专项(nyhyzx07-018)

作者简介:彭源德(1965—),男,研究员。主要研究方向为农产品生物加工。熊和平,通讯作者,E-mail:ramiehp@2118.cn。

# 1 试验部分

## 1.1 材料

大麻麻茎小样来自云南工业大麻股份有限公司;菌样采自湖南、重庆、河南、陕西 4 省(市)11 个县(市),包括麻园土、菜园土、沔麻塘泥、腐烂麻壳、腐烂大麻、农家肥、湖水、沔麻水等;主要化学试剂:CMC(sigma c-5678)、木聚糖、聚半乳糖醛酸、无水葡萄糖、柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液、氢氧化钠溶液、盐酸、硫酸、3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、高锰酸钾和草酸钠等;工艺辅料主要包括菌种活化、扩大培养和发酵的培养基组分等,这些物质均为市售商品;自制脱胶助剂。

## 1.2 方法

### 1.2.1 样品处理

称取固体菌样30 g左右,加入300 mL无菌水中,120 r/min摇10 min,用2层纱布过滤,收集滤液备用;液体菌样不处理,直接用于富集培养。

### 1.2.2 富集培养

取菌液20 mL,加入富集培养基中,于30~35℃静置发酵至大麻脱胶完成。富集培养基配方为:剪断成3~5 cm的大麻麻茎15 g,加水200 mL,自然 pH 值,用500 mL锥形瓶装。

### 1.2.3 分离纯化

将稀释的富集培养液,分别涂布于葡萄糖营养琼脂平板,于30~35℃培养24 h,挑菌至斜面、编号、培养,性能鉴定后将脱胶菌划线分纯、保藏。

### 1.2.4 初筛

将分离得到的菌株经扩大培养后,分别接入性能鉴定锥形瓶中,30~35℃静止发酵48 h,观察大麻麻茎的脱胶情况,凡能使大麻麻茎皮骨分离、纤维分散的菌株即为脱胶菌。

### 1.2.5 复筛

取脱胶菌菌液10 mL,加入复筛麻瓶中,30~35℃分别发酵24 h后,观察大麻干茎的脱胶情况。脱胶终点判定方法同上。

### 1.2.6 诱变育种

以复筛后的脱胶菌株为始发菌,通过高温(50℃处理20 min)、紫外线(照射功率15 W、照射距离20 cm、杀伤率在99.99%以上)3次物理诱变处理,进行分离、富培、纯化和菌株表型特征观察。同时,对始发菌和诱变菌株进行大麻脱胶,分别测定脱胶完成时的果胶酶、木聚糖酶和纤维素酶酶活。

### 1.2.7 脱胶试验

大麻麻茎为500 g,按脱胶菌接种量(对麻)15%、脱胶助剂(对麻)0.1%、浴比1:15,在常温条件下浸泡接种15~20 min;倒出菌液后,在温度33~35℃下进行湿润发酵;脱胶完成后,分别记录大麻脱胶完成时间,测定出麻率、纤维强度和纤维分裂度等;同时,以未加脱胶菌的塘水沔麻为对照。试验重复3次。

### 1.2.8 测定方法

酸性纤维素酶活性测定采用 CMC 法;木聚糖酶和果胶酶的酶活测定采用 DNS 法,底物为 Sigma 公司生产的木聚糖和聚半乳糖醛酸;大麻纤维品质检测参照 GB/T 17345-1998 进行。

# 2 结果与讨论

## 2.1 大麻脱胶菌株的初筛与复筛

大麻脱胶菌的分离与筛选结果列于表1。可以看出,采集的16个菌样中共分离出79个菌株,经初筛,获得12株大麻脱胶菌,占分离菌株的15.2%,说明以大麻胶质为唯一碳源的富集培养基具有良好的富培效果;脱胶菌广泛分布于7类菌样中;经复筛,获得2株(编号分别为 Dm36 和 Dm71)在24 h内完成大麻脱胶的优良菌株,分别来自菜园土和沔麻水菌样。

表 1 大麻脱胶菌的分离与筛选结果

Tab.1 Result of separation and selection on the retting bacterium of hemp

菌样种类	菌样数/个	菌数/株	初筛脱胶菌/株	复筛脱胶菌/株
麻园土	2	9	1	0
菜园土	1	3	3	1
沔麻塘泥	2	12	1	0
腐烂麻壳	3	13	1	0
腐烂大麻	2	11	2	0
农家肥	2	8	1	0
湖水	1	5	0	0
沔麻水	3	18	3	1
合计	16	79	12	2

## 2.2 大麻脱胶菌的诱变育种

为进一步提高大麻脱胶优良菌株 Dm36 和 Dm71 的脱胶能力,缩短大麻脱胶时间,对它们分别

进行高温处理和紫外线诱变育种试验,大麻脱胶菌诱变育种结果如表 2 所示。可以看出:高温和紫外线处理对这 2 株菌的脱胶能力均有不同程度的提高;并获得了 1 株在 16 h 内完成大麻脱胶的快速脱胶菌株,编号为 Dml11。

表 2 大麻脱胶菌诱变育种结果

Tab.2 Result of seducement breeding on the retting bacterium of hemp

始发菌 菌号	处理前 脱胶时间/h	处理后 脱胶时间/h	脱胶时间 缩短率/ %
Dm36	24	20	16.7
Dm71	24	16	28.6

脱胶菌株诱变处理前后的酶活测定结果见表 3。可以看出:Dm71 菌株经过诱变处理后,果胶酶和木聚糖酶活性均大幅度提高,比始发菌分别提高 86.2%和 95.5%;2 株大麻脱胶菌株都不产纤维素酶。

表 3 脱胶菌诱变处理前后的酶活测定结果

Tab.3 Result of enzyme activity before and after mutation manage IU/L

脱胶菌株	果胶酶	木聚糖酶	纤维素酶
Dm71	87	67	0
Dml11	162	131	0

### 2.3 快速脱胶菌株表型特征观察

将分离纯化后的大麻快速脱胶菌株 Dml11 转接到营养琼脂培养基培养 24 h 后,菌落特征见图 1, Dml11 菌落呈白色,菌膜有皱,边缘不整齐,不隆起,不透明,易挑起,黏稠。从 Dml11 的个体形态看出, Dml11 菌体为杆状,部分链生,如图 2 所示。

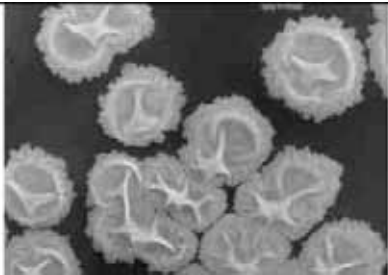


图 1 大麻脱胶菌株 Dml11 的菌落形态

Fig.1 Degumming bacterial Dml11 colony form

### 2.4 快速生物脱胶效果

表 4 示出采用大麻快速脱胶菌株 Dml11 的纯培养物进行大麻快速脱胶的效果。结果表明,与天然水沤麻相比,在纤维分裂度相当的情况下,其脱胶时间缩短了 152 h,缩短脱胶周期 90%以上;干茎出

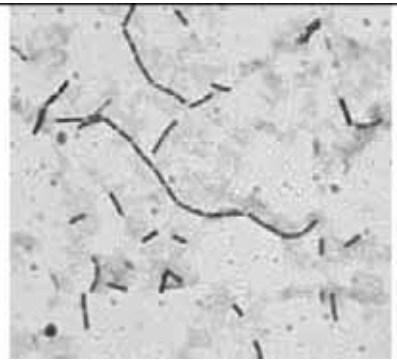


图 2 脱胶菌株 Dml11 的个体形态

Fig.2 Degumming bacterial Dml11 individual form

麻率提高了 2.1%;束纤维强力提高 7.9%。从生物脱胶大麻纤维看出,纤维颜色浅,质地均匀,光泽好,见图 3。这是由于大麻脱胶菌株 Dml11 产生脱胶酶的专一性和高效性,既有利于提高纤维产量和品质,缩短脱胶周期,又避免了因传统脱胶方法的脱胶时间较长,沤麻液中的金属离子(如铁离子)大量渗入麻纤维中,使麻纤维色泽变差的现象发生。

表 4 大麻快速生物脱胶效果

Tab.4 Effects of fast microbial retting in hemp

脱胶方法	脱胶时 间/h	干茎出 麻率/ %	束纤维 强力/N	纤维分裂 度/(m·g <sup>-1</sup> )	纤维颜色
快速生物脱胶	16	15.5	86	689	浅 光泽好
天然水沤	168	13.4	80	679	深 光泽差



图 3 生物脱胶大麻纤维

Fig.3 Biological degumming hemp fiber

## 3 结 论

1) 广泛采集菌样,通过初筛、复筛和诱变育种等手段,获得了 1 株在试验室条件下 16 h 内完成大麻快速脱胶的菌株,编号为 Dml11。

2) 大麻快速脱胶菌株 Dml11 的菌膜有皱,边缘不整齐,不隆起,不透明,易挑起,黏稠;形态为杆状,

部分链生。

3) 应用大麻快速脱胶菌株 Dml11 的纯培养物,进行了规模为500 g的大麻快速脱胶试验,具有脱胶周期短,纤维产量高,品质好等特点。与传统水沤法相比,缩短脱胶周期 90 % 以上;干茎出麻率提高 2.1 %;束纤维强力提高 7.9 %,且纤维颜色浅,质地均匀,光泽好。

FZXB

参考文献:

[ 1 ] 高月琴.大麻脱胶及助剂选用[ J ].印染助剂,1992(4):23 - 25 .

[ 2 ] 陆筱斋.大麻纤维理化性能和脱胶纺纱工艺原理及特征的初步探讨[ G ]/第二届陈维稷优秀论文汇编.北京:中国纺织工程学会,1992:116 - 120 .

[ 3 ] 张长礼.大麻脱胶工艺探讨[ J ].棉纺织技术,1987(5):38 - 40 .

[ 4 ] 张元明.大麻不同部位脱胶的研究[ J ].纺织学报,2002,23(3):48 - 49 .

[ 5 ] 张金秋,张华,郝新敏,等.大麻纤维高温煮练时间与脱胶质量的关系[ J ].纺织学报,2006,27(2):81 - 83 .

[ 6 ] Mussig J, Martens R, Harig H. Hemp fiber as a textile resource[ J ]. Textile Asia, 1998, 29(5):39 - 50 .

[ 7 ] 张昌英,译.韧皮纤维会成为未来的纤维代替物或基本纤维原料吗[ J ].国外纺织技术,2001(3):1 - 9 .

[ 8 ] 蒋国华.超声波在大麻脱胶预处理中的应用[ J ].中国麻业,2003,25(2):83 - 85 .

[ 9 ] 俞春华,冯新星,贾长兰,等.高温脱胶对大麻纤维成分与结构的影响[ J ].纺织学报,2006,27(10):80 - 83 .

[ 10 ] 温桂清,孙小,郝凤鸣.大麻生物酶-化学联合脱胶工艺研究[ J ].北京纺织,2001,22(6):19 - 21 .

[ 11 ] 殷祥刚,滑钧凯,于伟东.“闪爆”处理对大麻脱胶及纤维性能的影响[ J ].中国麻作,2003,25(5):243 - 248 .

[ 12 ] 刘自镛,任建平,冯瑞良,等.大麻酶法脱胶研究[ J ].纺织学报,1999,20(5):26 - 28 .

[ 13 ] 程海,刘自镛,冯瑞良,等.大麻脱胶高酶活菌株的诱变育种[ J ].东华大学学报:自然科学版,2001(2):94 - 95 .

[ 14 ] Foulk J A, Akin D E, Dodd R B. Processing techniques for improving enzyme- retting of flax[ J ]. Industrial Crops and Products,2001,13(3):239 - 248 .

[ 15 ] 刘自镛,程海,任建平,等.大麻酶法脱胶机理初探[ J ].纺织学报,2001,22(3):52 - 53 .

[ 16 ] 钱微君,程海敏,陈建勇,等.大麻韧皮果胶分解菌株的分离与鉴定[ J ].纺织学报,2006,27(11):52 - 54 .

[ 17 ] 冯新星,陈建勇,钱微君,等.好氧菌脱胶大麻的研究[ J ].纺织学报,2006,27(4):25 - 27 .