

文章编号: 1000-5013(2011)06-0663-05

# 米曲霉木聚糖酶高产菌株选育

李晨, 陈宏文

(华侨大学 工业生物技术福建省高校重点实验室, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 以米曲霉 C-2 为出发菌株, 紫外诱变后, 利用透明圈初筛, 再分别以农业废弃物 1% 蔗渣-1% 麸皮复合物、2% 蔗渣、2% 碱提蔗渣半纤维素和 2% 纤维素溶剂分馏法(CSLF)提取的蔗渣半纤维素为碳源摇瓶复筛, 得到一株高产木聚糖酶的米曲霉菌株 A73. 结果表明: 米曲霉 A73 在上述碳源培养基中, 产木聚糖酶活力比出发菌株分别提高了 281.15%, 82.81%, 56.09% 和 33.11%; CSLF 蔗渣半纤维素诱导米曲霉 C-2 及其诱变菌株产酶能力较弱, 明显低于其他 3 种诱导物.

**关键词:** 木聚糖酶; 米曲霉; 紫外诱变; 纤维素溶剂木质纤维素分馏法; 半纤维素

**中图分类号:** Q 933; TQ 914.3

**文献标志码:** A

半纤维素是以木聚糖为主要成分的杂多糖, 在自然界碳水化合物中含量仅次于纤维素. 木聚糖酶是将木聚糖(半纤维素)降解成低聚木糖或木糖的木糖苷键水解酶系<sup>[1]</sup>. 目前的工业生产中, 木聚糖酶生产菌主要涉及杆菌、放线菌及真菌中的酵母和霉菌, 其中丝状真菌如曲霉类黑曲霉、瑞氏木霉等因产酶水平高于酵母菌和细菌而引起关注<sup>[2]</sup>. 米曲霉(*Aspergillus oryzae*)具有许多独特的生物特征, 能胞外分泌大量的木聚糖降解酶, 如  $\beta$ -1,4-D-内切木聚糖酶、 $\beta$ -1,4-D-木糖苷酶和  $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶等<sup>[3-5]</sup>. 人们期望能利用其木聚糖酶的水解物木糖生产燃料乙醇、食品和医药保健品低聚木糖、多元糖醇等, 或者直接生产食品级酶制剂. 因此, 提高木聚糖酶活力是米曲霉有效利用半纤维素(木聚糖)用于自身生长和发酵的关键, 但关于米曲霉木聚糖酶的相关报道较少. 纤维素溶剂木质纤维素分馏法(cellulose solvent-based lignocellulose fractionation, 简称 CSLF)<sup>[6]</sup>是近几年来提出的, 利用纤维素溶胀试剂浓磷酸、有机溶剂丙酮和水来分离纤维素、半纤维素和木质素的新方法. 该方法处理条件温和(常压, 50℃)、时间短(2~4 h)、试剂易回收, 所得到的纤维素去结晶明显, 酶触及性高; 而且, 糠醛、羟甲基糠醛、酚类衍生物和乙酸等抑制副产物少, 通过高效液相色谱检测的木聚糖(半纤维素)提取率可达 45%~65%<sup>[7-9]</sup>. 但是, 目前还没有关于 CSLF 半纤维素成品利用的报道. 本文以米曲霉 C-2 为出发菌株, 通过紫外线诱变, 分别利用农业废弃物蔗渣-麸皮复合物、蔗渣、碱提蔗渣半纤维素和 CSLF 半纤维素筛选木聚糖酶高产菌株, 并考查了 CSLF 半纤维素诱导米曲霉 C-2 及其诱变菌株产木聚糖酶的效果.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与仪器

(1) 材料. 米曲霉菌株 C-2, 实验室保存菌种. 蔗渣榨汁后用水清洗, 尽量去除蔗渣中残留的蔗糖, 置于 60℃ 烘箱 4 d 烘干. 将干燥的蔗渣用中药粉碎机粉碎, 筛取 40~60 目蔗渣粉备用(保存于干燥剂器中). 丙酮(AR 级, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸(AR 级, 广东汕头西陇化工厂); 无水乙醇(AR 级, 福建厦门德邦化工有限公司).

(2) 仪器. 4K15 型大容量高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); D2F-6020 型真空干燥箱(上海博源

收稿日期: 2011-03-23

通信作者: 陈宏文(1969-), 女, 副教授, 主要从事生物工程和基因工程的研究. E-mail: chenhw@hqu.edu.cn.

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(D0810015); 教育部留学回国人员科研启动项目(2010); 福建省高等学校新世纪优秀人才支持计划项目(07FJRC03)

实业有限公司);DKZ-2 型电热恒温震荡水槽(上海精密实验设备有限公司);UV-2800AH 型紫外可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司).

1.2 培养基

(1) 基础培养基(质量分数): 2%葡萄糖,1%蛋白胨,0.5%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,0.1%NaNO<sub>3</sub>,0.007%Uracil,0.015%Uridine,0.1%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O,1.5%琼脂,pH=6.0.

(2) 初筛双层培养基:下层为 1.5%水琼脂层,上层为碱提半纤维素培养基,即将基础培养基的葡萄糖用碱提半纤维素替代.

(3) 种子培养基(液体基础培养基):复筛培养基碳源分别为 1%蔗渣粉-1%麸皮,2%蔗渣粉,2%碱提蔗渣半纤维素,2%CSLF 蔗渣半纤维素,其他与基础培养基相同.

1.3 实验方法

1.3.1 蔗渣半纤维素的提取 蔗渣半纤维素提取采用如下两种方法:(1) 碱提法. 详见参考文献[10];(2) CSLF 法. 称取 1 g 的蔗渣粉,加入 8 mL 质量分数为 85%的浓磷酸,搅匀,于 50 ℃,150 r·min<sup>-1</sup>下水浴振荡 40 min;加入冰冷的丙酮充分搅拌停止反应,使溶于磷酸的纤维素和半纤维素析出,以及不溶于磷酸的木质素溶于 40 mL 的预冷丙酮中. 在 7 000 r·min<sup>-1</sup>下离心 10 min,弃去含有木质素的上清丙酮溶液,再用 40 mL 丙酮洗涤沉淀 3 次,以去除残余木质素和磷酸,得到总纤维素(纤维素和半纤维素)沉淀;同上述方法再用 40 mL 蒸馏水洗洗涤总纤维素沉淀 3 次,以分离溶于水的半纤维素和不溶于水的纤维素.最后,通过调节 pH 值抽滤、减压蒸馏,以及利用半纤维素不溶于乙醇的特点,在 7 000 r·min<sup>-1</sup>下离心 10 min,用 3~4 倍体积的无水乙醇将水提液中的半纤维素醇沉分离出来.

1.3.2 菌种诱变 斜面接种,于 30 ℃静置培养 3 d,加入 10 mL 无菌水,用接种环将所有孢子刮下,经 4 层擦镜纸过滤得孢子悬液.将孢子悬液镜检并适当稀释到 10<sup>3</sup>~10<sup>4</sup> 个·L<sup>-1</sup>备用.

紫外线灯(30 W)预热 20 min,取 2 mL 上述孢子悬液于直径为 90 mm 的培养皿(用黑色胶带全部粘住以避光)中,放置在紫外灯 30 cm(垂直距离)处照射.照射时匀速晃动平板使得照射均匀.将照射过的菌液于暗室放置 2 h 后,稀释 10<sup>3</sup> 倍和 10<sup>4</sup> 倍,分别涂布到基础培养基平板,涂布量为每个器皿 0.2 mL,于 30 ℃避光静置培养 2 d,然后,计数菌落,计算致死率( $\eta$ )并绘制致死率曲线.

1.3.3 菌株的筛选 (1) 初筛.挑取诱变平板上所有的菌落到半纤维素双层培养基平板上,于 30 ℃培养 3 d,然后挑选平板上生长快且 HC 值(HC=透明圈直径  $D_{\text{透明圈}}$ /菌落直径  $D_{\text{菌落}}$ )大的菌落,传 2 代后点接到初筛培养基上进一步筛选,筛取 HC 值大的菌落,缩小复筛量.(2) 复筛.将初筛选出的菌株转接到基础斜面培养基继续传种 3 代.在 45 mL 种子培养基中接种 2 环菌体,于 30 ℃,200 r·min<sup>-1</sup>下培养 24 h 后,抽滤培养基得到菌球并接种到 250 mL 摇瓶发酵,发酵培养基装液量 50 mL.接种后用 8 层纱布扎口,置于 30 ℃,200 r·min<sup>-1</sup>培养箱培养 96 h,测木聚糖酶酶活力.

1.3.4 木聚糖酶酶活的测定 取摇瓶培养液于 4 ℃,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,得上清粗酶液.用桦木木聚糖(birch wood xylan)做为底物.称取 1.0 g 桦木木聚糖,尽可能溶解于 80 mL 0.05 mol·L<sup>-1</sup>的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲液(pH=6.8)中,121 ℃灭菌 15 min,取出后摇匀木聚糖溶液使其充分溶解;冷却至室温后,再用上述缓冲液定容至 100 mL,配制成质量分数为 1%的木聚糖溶液,置于-20 ℃保存备用.取 0.9 mL 上述木聚糖溶液到试管中,于 50 ℃预热 1 min,加入适当稀释的粗酶液 0.1 mL,50 ℃反应 3 min,利用 DNS 法<sup>[11]</sup>测定产生的还原糖.木聚糖酶酶活力( $z$ )的计算式为

$$z = M \times A / (V \times t).$$

其中: $M$  为酶液稀释倍数; $A$  为酶解溶液中木糖的含量; $V$  为酶液量; $t$  为酶解时间.酶活单位的定义:在 50 ℃,pH=6.8 的最适合条件下,每秒钟使得每摩尔底物桦木木聚糖转化所需的酶量.

2 结果与讨论

2.1 半纤维素的分离和回收

利用 CSLF 法提取得到的半纤维素水提液用 CaCO<sub>3</sub> 调节 pH 值,一边加入 CaCO<sub>3</sub> 一边不停搅拌,当 pH 值达到 4~5 时停止加入;静置 10 min 后抽滤得到清液,再利用旋转蒸发仪减压蒸馏得到浓缩

液,用 3~4 倍无水乙醇进行醇沉,静置得到白色半纤维素沉淀;然后,于  $7\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心  $10\text{ min}$  得到半纤维素,用 95%乙醇离心洗涤 2 次,再真空干燥至恒重.

醇沉前,溶液 pH 值对半纤维素醇沉形态和得率有重要影响. 随着 pH 值的升高,半纤维素得率先升后降,但在 pH 值为 4~5 之间得率最高且变化不大. 醇沉前溶液的 pH 值小于 3 或大于 7 时,半纤维素为颗粒状,形成沉淀难,醇沉速度慢;而 pH 值在 3~5 时,醇沉的半纤维素为絮状,醇沉速度快. 干燥之后得到的半纤维素为白色或浅棕色粉末状,难溶于 pH 值大于 4 的水溶液,降低 pH 值可以使其慢慢溶解为棕色溶液,再提高 pH 值又可使其再沉析出来. 因此,CSLF 半纤维素为酸溶性物质.

2.2 致死率曲线

紫外灯功率 30 W,照射距离 30 cm,分别照射 0,45,90,135,180,225 s 后稀释涂布平板,30 ℃ 培养 2 d 计数. 结果表明,稀释  $10^4$  倍时菌落生长数目和分散度较适宜. 计算其致死率( $\eta$ ),绘制致死率曲线,如图 1 所示. 实验选择致死率在 75% 的紫外线剂量<sup>[12]</sup>,照射时间为 173 s.

2.3 透明圈法初筛

采用紫外线照射剂量 173 s 作为诱变剂量,稀释  $10^4$  倍后涂布于基础培养基. 30 ℃ 培养 2 d 后共挑取 73 株菌落点接到双层培养基上,培养 3 d 出现明显透明圈. 将培养皿置于冰箱中过夜,使得透明圈更清晰,测量透明圈和菌落直径,计算菌落 HC 值. 挑选 HC 值较大的 23 株,传 2 代后点接到初筛双层培养基上进行第 2 次透明圈筛选. 根据 HC 值大小选取 6 株菌株进行复筛,分别编号为 A26,A33,A48,A54,A69 和 A73,其 HC 值和透明圈分别如表 1,图 2 所示.

表 1 菌株的 HC 值  
Tab.1 HC values of strains

| 菌株  | $D_{\text{透明圈}}/\text{cm}$ | $D_{\text{菌落}}/\text{cm}$ | HC 值 |
|-----|----------------------------|---------------------------|------|
| C-2 | 2.86                       | 1.57                      | 1.82 |
| A26 | 3.23                       | 1.52                      | 2.13 |
| A33 | 2.40                       | 1.25                      | 1.92 |
| A48 | 3.23                       | 1.58                      | 2.04 |
| A54 | 2.97                       | 1.30                      | 2.28 |
| A69 | 2.90                       | 1.38                      | 2.10 |
| A73 | 3.17                       | 1.55                      | 2.05 |

2.4 菌种复筛

蔗渣-麸皮、蔗渣、碱提蔗渣半纤维素和 CSLF 蔗渣半纤维素碳源诱导各菌株的产酶情况,结果如表 2 所示.

表 2 碳源对各菌株产酶的影响  
Tab.2 Effect of carbon sources on xylanase production by strains

| 菌株  | 蔗渣-麸皮                             |        | 蔗渣                                |       | 碱提蔗渣半纤维素                          |       | CSLF 蔗渣半纤维素                       |       |
|-----|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|
|     | $z/\text{mkat}\cdot\text{L}^{-1}$ | 增幅/%   | $z/\text{mkat}\cdot\text{L}^{-1}$ | 增幅/%  | $z/\text{mkat}\cdot\text{L}^{-1}$ | 增幅/%  | $z/\text{mkat}\cdot\text{L}^{-1}$ | 增幅/%  |
| C-2 | 0.540                             | 0      | 1.289                             | 0     | 1.561                             | 0     | 0.123                             | 0     |
| A26 | 0.917                             | 69.74  | 1.851                             | 43.65 | 2.025                             | 29.72 | 0.163                             | 33.11 |
| A33 | 0.941                             | 74.06  | 1.555                             | 20.70 | 2.211                             | 41.60 | 0.146                             | 19.00 |
| A48 | 0.877                             | 62.25  | 1.347                             | 4.50  | 1.924                             | 23.21 | 0.188                             | 51.97 |
| A54 | 0.819                             | 51.51  | 1.805                             | 40.05 | 2.063                             | 32.13 | 0.146                             | 19.00 |
| A69 | 0.772                             | 42.94  | 1.897                             | 47.26 | 2.135                             | 36.78 | 0.133                             | 9.50  |
| A73 | 2.060                             | 281.15 | 2.356                             | 82.81 | 2.437                             | 56.09 | 0.163                             | 33.11 |

2.4.1 蔗渣-麸皮复合碳源 从表 2 可知:以蔗渣-麸皮为碳源,菌株 A69 产酶能力较出发菌株 C-2 提高 42.94%,低于其他菌株,菌株 A26 和 A33 产酶能力相近,菌株 A73 的木聚糖酶酶活力最高,较出发菌株 C-2 提高 2.81 倍.

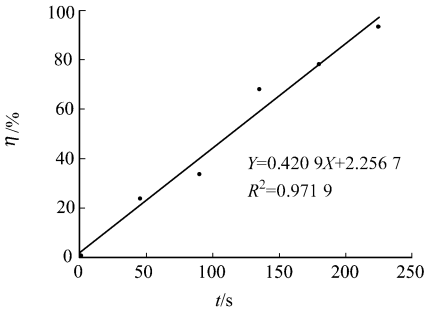
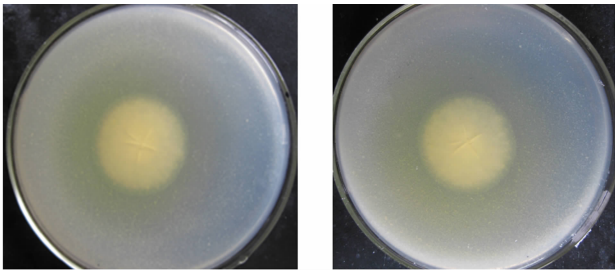


图 1 出发菌株 C-2 的致死曲线  
Fig.1 Lethal curve of initial strain C-2



(a) 出发菌株 C-2 (b) 突变株 A73  
图 2 透明圈法筛选木聚糖酶高产菌  
Fig.2 Transparent circle screening for high-yield xylanase strains

2.4.2 蔗渣碳源 从表 2 可知:以 2%蔗渣为碳源,菌株 A48 的产酶能力较弱,比出发菌株 C-2 仅提高 4.50%;菌株 A73 产酶能力最强,是出发菌株 C-2 的 1.83 倍.与麸皮-蔗渣复合碳源相比,包括出发菌株 C-2 在内的 7 个菌株生产的木聚糖酶活力都有所上升,但产酶能力提高幅度低于复合碳源培养基.

2.4.3 碱提蔗渣半纤维素碳源 从表 2 可知:菌株 A73 的木聚糖酶活力最高,在出发菌株 C-2 基础上提高了 56.09%,而菌株 A48 却最低,仅仅提高了 23.21%.

2.4.4 CSLF 蔗渣半纤维素碳源 从表 2 可知:CSLF 蔗渣半纤维素诱导各菌株产木聚糖酶的能力明显低于其他诱导底物.与出发菌株 C-2 相比,菌株 A48 在以蔗渣和碱提蔗渣半纤维素为碳源的培养基中产酶能力几乎没有提高,但是在 CSLF 蔗渣半纤维素诱导下比出发菌株 C-2 提高了 51.97%.

3 讨论

虽然组成型生产木聚糖酶<sup>[13]</sup>亦有报道,但是木聚糖酶主要是诱导酶,受到培养基中木聚糖和富含木聚糖物质的诱导合成和分泌.农业废弃物小麦麸皮、玉米芯、甘蔗渣和水稻秸秆等都可以用于木聚糖酶的诱导生产.实验结果表明:在以蔗渣-麸皮、蔗渣和碱提蔗渣半纤维素为诱导物的培养基中,菌株 A73 产木聚糖酶活力在 7 种菌株中都是最高,相对出发菌株 C-2 都有大幅度的提高,蔗渣-麸皮诱导甚至高出 2.81 倍.7 个菌株中,大多菌株在不同诱导物中的产酶能力都有较大变化,但菌株 A73 在几种诱导物间产酶能力最稳定.

对 4 种碳源的诱导能力(表 2)进行比较可以发现:除菌株 A73 外,其他所有菌株在以蔗渣为诱导物时产木聚糖酶活力几乎是蔗渣-麸皮的两倍,略低于碱提半纤维素;而以 CSLF 半纤维素为碳源时,酶活力显著降低.总体来说,碱提半纤维素诱导该 7 株米曲霉产木聚糖酶能力最强,蔗渣其次,CSLF 半纤维素最弱.

CSLF 蔗渣半纤维素诱导各菌株产木聚糖酶活力非常低.一般来说,半纤维素抽提过程中常有乙酸、糠醛,羟甲基糠醛和酚类衍生物等抑制性副产物生成,对菌株代谢具有抑制作用.但是,CSLF 法提取条件温和,较少产生抑制性副产物糠醛等<sup>[6]</sup>,并且半纤维素水提液经减压蒸馏后,抑制副产物基本去除.因此,CSLF 蔗渣半纤维素诱导米曲霉 C-2 及其诱变菌株生产的木聚糖酶活力较低与抑制性副产物无关.

米曲霉代谢木聚糖过程中,木聚糖大分子无法进入细胞中,而诱导木聚糖酶的物质主要是由少量组成型木聚糖酶水解木聚糖形成的低分子量的木聚糖片段.因此,木聚糖酶的表达水平受到酶作用底物木聚糖的性质(如易感性)、浓度、释放低聚木糖的速率和释放量影响.另外,CSLF 法得到的半纤维素为乳白色,与天然木质素颜色相近<sup>[14]</sup>.该方法得到的半纤维素中可能含有木质素成分.因为在木质纤维素中,纤维素与半纤维素和木质素通过氢键相连,而半纤维素和木质素之间除了氢键,还通过化学键连接紧密形成稳定的木质素-碳水化合物结构(LCC)<sup>[15]</sup>.

CSLF 法处理木质纤维素过程中,木质素和半纤维素之间的化学键可能没有全部断裂,而是形成大量水溶性片段 LCC.由于 LCC 片段为两亲性<sup>[16]</sup>,不能溶解在弱极性的有机溶剂中<sup>[17]</sup>.因此,在对提取浓缩液进行醇沉时,LCC 片段随分离出的半纤维素一起沉淀下来.CSLF 法提取的蔗渣半纤维素为乳白色粉末状,酸溶性,其成分、含量和结构性质,以及其对产木聚糖酶的影响都有待进一步研究.

参考文献:

[1] AHMED S, RIAZ S, JAMIL A. Molecular cloning of fungal xylanases: An overview[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 84(1): 19-35.

[2] 万红贵, 武振军, 蔡恒, 等. 微生物发酵产木聚糖酶研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(2): 141-146.

[3] AACHARY A A, PRAPULLA S G. Corn-cob-induced endo-1,4-β-D-xylanase of *Aspergillus oryzae* MTCC 5154: Production and characterization of xylobiose from glucuronoxylan[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(11): 3981-3988.

[4] OZEKI K, TAKAGI Y, ODA S, et al. Production of xylanase with a transformant of *Aspergillus oryzae* RIB40 in a liquid-surface immobilization (LSI) system[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2010, 109(3): 224-226.

[5] 王海娟,苏玉春,吴铭,等. 米曲霉木聚糖酶基因的克隆及其在毕赤酵母中的表达[J]. 生物技术通讯,2010,21(3): 343-346.

[6] ZHANG Y,DING S Y,MIELLENZ J R,et al. Fractionating recalcitrant lignocellulose at modest reaction conditions [J]. Biotechnology and Bioengineering,2007,97(2):214-223.

[7] ZHU Z,SATHITSUKSANO N,VINZANT T,et al. Comparative study of corn stover pretreated by dilute acid and cellulose solvent-based lignocellulose fractionation: enzymetic hydrolysis, supramolecular structure, and substrate accessibility[J]. Biotechnology and Bioengineering,2009,103(4):715-724.

[8] SATHITSUKSANO N,ZHU Z G,TEMPLETON N,et al. Saccharification of a potential bioenergy crop, phragmites australis (common reed), by lignocellulose fractionation followed by enzymatic hydrolysis at decreased cellulase loadings[J]. Industrial and Engineering Chemistry Research,2009,48(13):6441-6447.

[9] MOXLEY G, ZHU Z G,ZHANG Y. Efficient sugar release by the cellulose solvent-based lignocellulose fractionation technology and enzymatic cellulose hydrolysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2008,56(17): 7885-7890.

[10] 林艳,谢向前,陈宏文. 农业废弃物木质纤维素化学组成数据库的建立[J]. 现代化工,2008,28(增刊 2):177-181.

[11] 周欣,吕淑霞,代义,等. 紫外诱变选育木聚糖酶高产菌株及产酶条件初步研究[J]. 生物技术,2009,19(1):71-74.

[12] 杜连祥,路福平. 微生物学实验技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005:174-183.

[13] GOMEZ D S B,DURAND R,FEVRE M. Multiplicity and expression of xylanases in the rumen fungus *Neocallimastix frontalis*[J]. FEMS Microbiol Lett,1998,164(1):47-53.

[14] 姚穆,孙润军,陈美玉,等. 植物纤维素、木质素、半纤维素等的开发和利用[J]. 精细化工,2009,26(10):937-941.

[15] 朱超宇. 麦草碱提取液中 LCC 的分级分离及其结构特性研究[D]. 南京:南京林业大学,2008.

[16] URAKI Y,USUKURA Y,KISHIMOTO T,et al. Amphiphilicity of a lignin-carbohydrate complex[J]. Holzforschung,2006,60(6):659-664.

[17] ROGOVINA L Z,VASILEV V G,CHUROCHKINA N A,et al. Hydrophobically associating water-soluble polymers: A dramatic growth of solution viscosity and the specificity of physical gel formation[J]. Macromolecular Symposia,2001,171(1):225-232.

## Breed of *Aspergillus oryzae* Producing High-Yield Xylanase

LI Chen, CHEN Hong-wen

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Fujian Province University, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** *Aspergillus oryzae* C-2 was treated with ultraviolet irradiation. High-yield xylanase mutant A73 was obtained after primary transparent circle screening and secondary screening in which 4 different carbon sources-1% wheat bran-1% sugarcane bagasse, 2% sugarcane bagasse, 2% alkali pretreatment hemi-cellulose and 2% CSLF (cellulose solvent-based lignocellulose fractionation) pretreatment hemi-cellulose were used as fermentation substrates. The xylanase activity of *Aspergillus oryzae* A73 improved 281.15%,82.81%,56.09% and 33.11% compared with the original strain on respective carbon source, but the xylanase activity induced by CSLF pretreatment hemi-cellulose was apparently lower than that of other substrates.

**Keywords:** xylanase; *Aspergillus oryzae*; ultraviolet irradiation; cellulose solvent-based lignocellulose fractionation; hemi-cellulose

(责任编辑: 钱筠      英文审校: 刘源岗)