混合发酵对纤维素酶和淀粉酶活性的影响*

司美茹, 薛泉宏, 蔡 艳
(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 采用混合培养法, 研究了假丝酵母对黑曲霉和烟曲霉固态发酵中纤维素酶及淀粉酶活性的影响。结果表明: ①接入少量假丝酵母混合培养, 可明显提高黑曲霉和烟曲霉纤维素酶系中滤纸酶、羧甲基纤维素酶、微晶纤维素酶及淀粉酶的活性。混合培养时, 黑曲霉发酵产物中上述 4 种酶的峰值酶活较黑曲霉单独培养时分别提高 36.1%, 11.1%, 16.2% 及 41.8%; 烟曲霉分别提高 24.9%, 52.8%, 40.8% 及 163.5%。②混合培养时, 在黑曲霉和烟曲霉中, 除黑曲霉的滤纸酶和淀粉酶外, 其余纤维素酶和淀粉酶的产酶高峰期较单纯培养提前 24 h 出现, 接入酵母菌加快了发酵进程, 使发酵周期缩短。③接入酵母菌后, 黑曲霉和烟曲霉固态发酵产物中细胞外可溶性蛋白质峰值含量, 较无酵母菌接入时分别提高 34.8% 和 41%; 且细胞外可溶性蛋白质含量随发酵时间的变化趋势与纤维素酶及淀粉酶的活性变化趋势吻合, 揭示了混合培养时纤维素酶及淀粉酶活性提高是酶蛋白合成与分泌量增加的结果。④酵母菌利用了固态发酵中水解形成的纤维二糖等小分子还原糖, 解除了纤维二糖对纤维素酶和淀粉酶合成的反馈阻遏, 提高了发酵产物的酶活性。

[关键词] 混合培养; 纤维素酶; 淀粉酶; 假丝酵母; 烟曲霉; 黑曲霉
[中图分类号] Q 556+.2 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2002)05-0069-05

纤维素是自然界植物合成量最大的有机物之一, 约占农作物秸秆的 30%～50%[1]。全球每年形成的 40 亿 t 秸秆中的纤维素若转化为葡萄糖, 将对缓解人类面临的粮食、能源及环境危机发挥重大作用。纤维素利用的核心问题是纤维素酶的活性低[2], 人们已在提高纤维素酶活方面作了大量研究[3], 在高酶活菌株选育及发酵工艺上取得了一定进展, 但至今仍无重大突破。近年有人已开始利用微生态原理提高酶活的探索, 张海及张苓花等人[4~6]的研究表明, 利用木霉生产纤维素酶时添加曲霉和酵母菌, 可提高纤维素酶活性, 并有效抑制杂菌生长。黑曲霉也是重要的纤维素酶产生菌, 利用混菌发酵能否提高黑曲霉的纤维素酶活性及其机理目前尚不清楚。本研究重点探索了加入假丝酵母对黑曲霉和烟曲霉纤维素酶活性的影响及酶活提高的机理, 旨在为利用微生态原理提高纤维素酶活性的研究与生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材 料

1.1.1 菌 种 UA 8 和 UF2 是本课题组用黑曲霉和烟曲霉通过紫外诱变选育出的纤维素酶高产突变株, y 为假丝酵母, 由西北农林科技大学资环学院微生物教研室保存。

1.1.2 培养基 UA 8 和 UF2 活化及孢子制备培养基: PDA 固体培养基[7]; 酵母菌液体菌种培养基: PDA 液体培养基[7]; 纤维素酶固态发酵培养基: 稻草粉∶麸皮(质量比) = 7∶3; Mandels 营养液[7]。

1.2 方 法

1.2.1 UA 8 和 UF2 孢子悬液制备 将 28 ℃培养好的 UA 8 和 UF2 斜面菌种用无菌水制成菌悬液, 接入装有 50 mL 孢子制备培养基的三角瓶中, 培养 3 d。向三角瓶中加入 100 mL 无菌水(其中含 0.5 g/L 吐温与数粒玻璃珠), 摇动制成孢子悬液。(UA 8 浓度为 1.8×10^{10} mL^{-1}; UF2 浓度为 2.4×10^{10} mL^{-1})。

1.2.2 酵母菌液体菌种制备 按无菌操作法向事先灭好菌的 100 mL PDA 液体培养基中接入少量酵母菌, 28 ℃培养 2 d, 细胞悬液浓度为 1.04×10^{10} mL^{-1}。

1.2.3 混合接种液制备 吸取酵母菌细胞悬液(1.04×10^{10} mL^{-1}) 1 mL 于 100 mL UA 8 或 UF2 孢子悬液中, 摇匀备用。

1.2.4 试验方案 本试验设 3 个不同处理: ①对照(CK), 不接菌, 仅加入 5 mL 无菌水; ②单菌发酵:

* [收稿日期] 2001-09-28
[作者简介] 司美茹(1978-), 女, 陕西咸阳市人, 在读硕士, 主要从事农业微生物方面的研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

UF2、UA8 及 y 分别表示仅接种烟曲霉(*Aspergillus fumigalus*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)及假丝酵母(*Candida*)的孢子或菌悬液; ③混合发酵: UF2-y 和 UA8-y 分别表示接种烟曲霉与假丝酵母和接种黑曲霉与假丝酵母的混合悬液。

1.2.5 纤维素酶的固态发酵 向罐头瓶中装 15 g 干料, 按干料∶Mandels 营养液(质量比) = 1∶5 加入 75 mL 营养液, 湿热灭菌, 冷却后按 1.2.4 试验方案向各个处理中接入 5 mL 孢子悬液或混合悬液; 前期(第 1 天) 28 ℃培养, 后期(第 2~6 天) 25 ℃培养, 分别于第 48, 72, 96, 120, 144 h 取样, 每处理重复 2 次。

1.2.6 酶液制备 发酵结束后将酶曲于 40 ℃低温烘干后粉碎, 按四分法取干酶曲 1.000 g, 按酶曲重量的 15 倍加入浸提液(0.05 mol/L pH4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液), 45 ℃浸提 1 h, 过滤得粗酶液。用相应缓冲液适当稀释原酶液, 测定酶活力。

1.2.7 酶活力测定 纤维素酶活力的单位为 μmol/(g·min), 即 1 g 干曲 1 min 内转化底物生成的葡萄糖 μmol 数。

滤纸酶活(FPA)及羧甲基纤维素酶活(Cmcase)分别按文献[8]及[9]测定。

微晶纤维素酶活(Avicelase) 吸取 1.0 mL 10 g/L 微晶纤维素悬浮液(称取 1.000 g 微晶纤维素, 加 0.05 mol/L pH4.8 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液溶解, 稀释定容至 100 mL)和 0.5 mL 适当稀释的酶液, 50 ℃保温 1 h, 离心后, 取 1.0 mL 上清液用 DNS 法测还原糖生成量[10]。

淀粉酶 吸取 10 g/L 可溶性淀粉(称取 1.000 g 淀粉溶于 100 mL 0.1 mol/L pH5.6 柠檬酸缓冲液中) 1 mL, 酶液 0.5 mL, DNS 法测定麦芽糖生成量。酶活力定义为 1 g 干曲 1 min 内转化底物生成的麦芽糖毫克数[11], 即 mg/(g·min)。

细胞外可溶性蛋白质含量 用考马斯亮兰法测定[12]。

2 结果与讨论

2.1 混合培养对纤维素酶活性的影响

纤维素酶包括内切葡聚糖酶(或称羧甲基纤维素酶)、纤维二糖水解酶(或称微晶纤维素酶或滤纸酶)和 β-葡萄糖苷酶 3 个主要组分。每一组分酶活力的高低都会影响纤维素酶对纤维素的降解。

2.1.1 FPA 从表 1 看出, 烟曲霉和黑曲霉分别与酵母菌(y)混合培养时, 平均滤纸酶活(UF2-y 和 UA8-y)较单纯培养时(UF2 和 UA8)分别提高 54.5% 和 26.8%。在烟曲霉处理中, 混合培养(UF2-y)与单纯培养(UF2)的 FPA 峰值的出现时间分别为 72 和 96 h, 即接入酵母菌时 UF2 的产酶高峰提前 24 h 出现; 且 UF2-y 和 UF2 峰值酶活分别为 6.67 和 5.34 μmol/(g·min), 接入酵母菌使峰值时的 FPA 提高 24.9%。对黑曲霉而言, 混合培养(UA8-y)与单纯培养(UA8)的 FPA 峰值均在 96 h 出现, 加入酵母菌并未加快 UA8 发酵进程, 但使峰值时的 FPA 由单独培养时的 9.1 μmol/(g·min)提高到混合培养时的 12.4 μmol/(g·min), 增幅达 36.1%。从表 1 还可知, 酵母菌的 FPA 很低, 与 CK 相当, 表明酵母菌不产滤纸酶。这也进一步说明, UA8 和 UF2 与酵母菌混合培养后 FPA 的提高并非酵母菌产酶所致, 而是接入酵母菌后产生的其他效应引起的。

表 1 供试菌株不同处理的滤纸酶活性

Table 1 Strain's FPA in different treatment μmol/(g·min)

发酵时间/h Fermentation time	黑曲霉 *Aspergillus niger*			烟曲霉 *Aspergillus fumigalus*			假丝酵母(Y) *Candida*	CK(不接菌) No microbe
	UA8	UA8-y	ΔA%	UF2	UF2-y	ΔB%		
48	2.55	2.98	17.1	2.29	3.77	64.4	0.64	0.59
72	8.88	11.91	34.0	4.36	6.67	52.9	0.045	0.079
96	9.10	12.4	36.1	5.34	6.51	21.9	0.091	0.062
120	4.77	5.44	14.2	2.49	5.27	119.4	0.039	0.043
144	4.04	4.49	44.2	1.73	2.81	62.8	0.078	0.077
平均值 Average	5.86	7.44	26.8	3.24	5.01	54.5	0.18	0.51
峰值 Peak value	9.10	12.4	36.1	5.34	6.67	24.9	—	—

注: $\Delta A\% = \frac{UA8\text{-}y - UA8}{UA8} \times 100$, $\Delta B\% = \frac{UF2\text{-}y - UF2}{UF2} \times 100$; Cmcase, Avicelase, 淀粉酶及胞外可溶性蛋白质含量测定结果的 ΔA% 和 ΔB% 计算与之相同。UA8-y 表示黑曲霉与酵母菌混合培养; UF2-y 表示烟曲霉与酵母菌混合培养。

Note: $\Delta A\% = \frac{UA8\text{-}y - UA8}{UA8} \times 100$, $\Delta B\% = \frac{UF2\text{-}y - UF2}{UF2} \times 100$; ΔA% and ΔB% of Cmcase, Avicelase, amylase activities and the content of extracellular protein are the same as this calculation. UA8-y indicates mixed culture of *Aspergillus niger* and *candida*; UF2-y indicates mixed culture of *Aspergillus fumigatus* and *candida*.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.1.2　羧甲基纤维素酶活(Cmcase)　从表 2 可知,UF2 和UA8 分别与酵母菌混合培养时,Cmcase 平均较单纯培养时分别提高 49.8% 和 19.3%。在黑曲霉处理中,UA8-y 与UA8 的Cmcase 峰值分别于 72 和 96 h 出现,即接入酵母菌使UA8 的Cmcase 高峰期提前 24 h 出现;且UA8-y 和UA8 在峰值时酶活分别为 58.44 和 52.60 μmol/(g·min),接入酵母菌使峰值时的Cmcase 提高 11.1%。烟曲霉与之类似。

表 2　供试菌株不同处理的羧甲基纤维素酶活

Table 2　Cmcase of strains in different treatment　　μmol/(g·min)

发酵时间/h Fermentation time	黑曲霉 *Aspergillus niger*			烟曲霉 *Aspergillus fumigalus*			假丝酵母(y) *Candida*	CK(不接菌) No microbe
	UA8	UA8-y	ΔA%	UF2	UF2-y	ΔB%		
48	13.13	24.41	85.9	12.03	15.34	27.5	0.303	0.278
72	47.18	58.44	23.9	42.19	71.09	68.5	0.781	0.801
96	52.60	56.89	8.2	46.54	67.03	44.0	0.703	0.791
120	42.08	43.23	2.7	18.29	28.13	53.8	0.001	0.005
144	11.98	16.33	35.5	16.25	21.09	29.8	0.065	0.067
平均值 Average	33.39	39.82	19.3	27.05	40.54	49.8	0.38	0.39
峰值 Peak value	52.60	58.44	11.1	46.54	71.09	52.8	—	—

2.1.3　Avicelase　微晶纤维素是用稀酸水解纤维材料,使结晶区与非结晶区断裂后得到的低聚合度及高结晶度的产物,它较棉纤维更易被纤维素酶水解,它反映的主要是纤维二糖水解酶的作用结果[13,14]。用它作为基质进行测定时,被测酶活明显高于滤纸作为基质时的酶活[15]。从表 3 可看出,在烟曲霉处理中,UF2-y 和UF2 的Avicelase 在峰值时分别为 13.94 和 9.90 μmol/(g·min),混合培养使峰值时的酶活提高 40.8%;UF2-y 和UF2 的Avicelase 峰值分别在 72 和 96 h 出现,接入酵母菌使UF2 的峰值提前 24 h 出现。黑曲霉与之类似。

表 3　供试菌株不同处理的微晶纤维素酶活

Table 3　Strain's avicelase in different treatment　　μmol/(g·min)

发酵时间/h Fermentation time	黑曲霉 *Aspergillus niger*			烟曲霉 *Aspergillus fumigalus*			假丝酵母(y) *Candida*	CK(不接菌) No microbe
	UA8	UA8-y	ΔA%	UF2	UF2-y	ΔB%		
48	6.78	7.45	9.9	3.47	5.24	5.1	0.031	0.041
72	7.99	8.66	8.4	7.85	13.94	77.6	0	0.031
96	8.41	10.48	24.6	9.90	11.20	13.1	0.59	0.59
120	9.02	9.54	5.8	5.09	6.89	35.4	0.16	0.17
144	3.42	3.48	1.8	4.74	4.92	3.8	0.16	0.17
平均值 Average	7.12	7.94	11.2	6.21	8.44	35.9	0.19	0.19
峰值 Peak value	9.02	10.48	16.2	9.90	13.94	40.8	—	—

由表 1～3 综合分析可知,酵母菌与UA8 或UF2 混合培养后,酶活提高是由于酵母菌利用了水解形成的纤维二糖等小分子还原糖,解除了小分子还原糖对纤维素酶合成的反馈阻遏的结果。

2.2　混合培养对淀粉酶活的影响

微生物发酵生产的粗纤维素酶制剂中含有一些辅助酶,主要有淀粉酶、蛋白酶及半纤维素酶等。这些辅助酶对饲料中纤维素之外的其他成分具有一定的降解作用,在饲料中添加淀粉酶可显著促进畜禽生长[16]。本试验的纤维素酶固态发酵培养基中含有 30% 麸皮,其中含有一定量的淀粉,在接入黑曲霉或烟曲霉后会产生一定量淀粉酶。

从表 4 可以看出,在黑曲霉和烟曲霉处理中,混合培养的淀粉酶活均明显高于单纯培养。对烟曲霉而言,UF2-y 和UF2 的淀粉酶活峰值分别在 72 和 96 h 出现,即接入酶母菌后淀粉酶活峰值提前 24 h 出现;且在峰值时UF2-y 和UF2 的酶活分别为 328.8 和 124.8 mg/(g·min),接入酵母菌使峰值时的酶活提高 163.5%。对黑曲霉而言,加入酵母后,淀粉酶的峰值期未提前,但酶活提高。从表 4 还可知,酵母菌的淀粉酶活与CK 相当,均非常小,说明酵母菌不产淀粉酶。由此可知,在固态发酵中,存在着淀粉水解生成的小分子还原糖阻遏淀粉酶合成的现象。在发酵中加入酵母菌解除了还原糖对淀粉酶合成的阻遏,增加了淀粉酶的合成量与分泌量。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 4 供试菌株不同处理的淀粉酶活

Table 4 Strain's amylase acivities in different treatment mg/(g·min)

发酵时间/h Fermentation time	黑曲霉 *Aspergillus niger*			烟曲霉 *Aspergillus fumigalus*			假丝酵母(y) *Candida*	CK(不接菌) No microbe
	UA8	UA8-y	ΔA%	UF2	UF2-y	ΔB%		
48	108.48	144.24	32.4	72.72	144	98	0.24	0.12
72	214.8	312	45.3	96.72	328.8	239.9	0.24	0.24
96	235.2	333.6	41.8	124.8	204	63	0.24	0
120	192	206.4	7.5	94.8	178.4	88	0.24	0.24
144	136	158.4	16.4	77.6	132	70	0.24	0
平均值 Average	176.4	230.4	31	92.88	197.3	119.9	0.24	0.11
峰值 Peak value	235.2	333.6	41.8	124.8	328.8	163.5	—	—

2.3 混合培养对细胞外可溶性蛋白质含量的影响

纤维素酶活提高可通过两条途径实现: 一是酶合成量增加, 二是酶合成量不变, 酶活性提高。

从表 5 可知, 烟曲霉或黑曲霉与酵母菌混合培养后, 细胞外可溶性蛋白质含量明显提高。与单独培养相比较, 混合培养产生的细胞外可溶性蛋白质含量峰值提前。对黑曲霉而言, 混合培养(UA8-y)和单独培养(UA8)时的平均细胞外可溶性蛋白质含量分别为 2.30 及 1.76 mg/g, 混合培养使可溶性蛋白质含量提高 30.7%; UA8-y 和 UA8 的细胞外可溶性蛋白质含量的峰值分别在 96 和 120 h 时出现, 即接入酵母菌使细胞外可溶性蛋白质含量峰值提前 24 h 出现; 且在峰值时 UA8-y 和 UA8 细胞外可溶性蛋白质含量分别为 3.33 和 2.47 mg/g, 接入酵母菌使细胞外可溶性蛋白质含量提高 34.8%。烟曲霉与之类似。从表 5 还可知, 酵母菌和 CK 的细胞外可溶性蛋白均未检出。

表 5 供试菌株不同处理的细胞外可溶性蛋白质含量

Table 5 The content of extracellular protein of strains in different treatment mg/g

发酵时间/h Fermentation time	黑曲霉 *Aspergillus niger*			烟曲霉 *Aspergillus fumigalus*			假丝酵母(y) *Candida*	CK(不接菌) No microbe
	UA8	UA8-y	ΔA%	UF2	UF2-y	ΔB%		
48	0.9	1.2	33	0.81	1.44	77	0	0
72	2.02	2.27	12	1.82	3.32	82	0	0
96	2.27	3.33	46	2.34	2.44	4.2	0	0
120	2.47	2.72	10	1.26	1.8	4.3	0	0
144	1.17	1.98	69	0.99	1.16	17	0	0
平均值 Average	1.76	2.30	30.7	1.44	2.03	41.1	0	0

比较表 1~5 可知, 细胞外可溶性蛋白质含量与纤维素酶及淀粉酶活随培养时间的变化趋势一致, 进而推知, 混合培养时纤维素酶及淀粉酶活性提高主要是酶合成量增加所致。

3 结 论

1) 利用黑曲霉和烟曲霉固态发酵生产纤维素酶时, 接入少量假丝酵母可显著提高纤维素酶系中 FPA, Cmcase 及 Avicelase 3 种酶组分和淀粉酶的活性。

2) 接入少量假丝酵母混合培养时, 除 UA8 的 FPA 和淀粉酶峰值期与单纯培养时同时出现外, 纤维素酶系中的 FPA, Cmcase 及 Avicelase 3 种酶组分和淀粉酶的高峰期较单纯培养时均提前 24 h。混合培养后, 加快了发酵进程, 使产酶周期缩短, 有利于提高工业生产中设备利用率和酶制剂质量。

3) 酵母菌与黑曲霉或烟曲霉混合培养提高了细胞外可溶性蛋白含量, 进而推知: 混合培养时纤维素酶和淀粉酶活提高主要是酶合成量增加所致。

4) 在固态发酵中也存在淀粉水解生成的小分子还原糖阻遏淀粉酶合成的现象, 加入酵母菌解除了还原糖对淀粉酶合成的阻遏, 增加了淀粉酶的合成量。

5) 在接种烟曲霉或黑曲霉以后, 稻草中的纤维素等多糖物质被水解, 产生一定量的还原糖——葡萄糖和纤维二糖, 它们对纤维素酶的合成产生反馈阻遏, 影响了酶活性的提高, 使产酶峰值期出现晚, 发酵周期延长。当接种酵母菌进行混合培养时, 酵母菌利用了烟曲霉和黑曲霉水解纤维素形成的小分子还原糖, 解除了小分子还原糖对纤维素酶的反馈阻遏, 促进了烟曲霉和黑曲霉合成更多的酶, 进而提高了纤维素酶和淀粉酶的活性。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[参考文献]

[1] 王顺鹏. 菇渣中纤维素酶及其在沼气发酵中的作用[J]. 南京农业大学学报, 1991, 14(2): 65- 68.

[2] 西沢一俊. 纤维素酶工程的近期发展[J]. 肖永澜译. 应用微生物, 1977, (1): 1- 6.

[3] 外山信男. 纤维素酶研究进展(综述)[J]. 发酵工业杂志, 1969, 47(11): 714.

[4] 张　海, 颜日祥, 刘　涛, 等. 混合培养对纤维素酶和细胞蛋白质合成的影响[J]. 西北大学学报, 1991, 1(21): 73- 77.

[5] 张苓花, 王运吉. 固态混合发酵生产纤维素酶的影响[J]. 中国饲料, 1998, (2): 14- 17.

[6] 张　海, 颜日祥. 用混合培养法提高木霉A 10 的纤维素酶活性[J]. 西北大学学报, 1990, 20(2): 73- 79.

[7] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1988.

[8] 王　泌, 赵学慧. 黑曲霉W 25 菌株纤维素酶合成调控问题初探[J]. 工业微生物, 1995, 25(3): 13- 15.

[9] 高培基. 纤维素酶活力测定方法进展[J]. 工业微生物, 1985, 153(6): 5- 8.

[10] Hossam M. 用于嗜热曲霉菌属进行纤维素酶和蛋白质生物合成的营养培养基成分之最佳组配[J]. 和致中译. 应用微生物, 1985, (6): 24 - 28.

[11] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1999.

[12] 李　琳, 焦新之. 考马斯亮蓝G-250 法测蛋白质含量[J]. 植物生理学通讯, 1980, (6): 52- 55.

[13] Walker L P, Wilson D E. Enzymatic hydrolysis of cellulose[M]. London: Elsvier Science Publishers Ltd, 1991. 38.

[14] Eveleigh D E. Cellulase: a Perspecive[J]. Ferment Technol, 1987, 26(6): 21- 25.

[15] 荒　井, 获　源. 微生物对纤维素资源的利用[J]. 中国科学技术情报研究所译. 应用微生物, 1972, (6): 7- 15.

[16] 王泉林. 饲用复合酶的应用及机理研究[A]. 汪儆主编. 饲料毒物与抗营养因子研究进展[C]. 西安: 西北大学出版社, 1997. 147- 149.

The effect of mixed fermentation on cellulase and amylase activities

SIM ei-ru, XUE Quan-hong, CA I Yan

(*College of Resources and Environmental Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: The effect of *Candida* on cellulase and amylase activities of *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* in soild fermentation was studied by mixed culture. The result showed: ① FPA, cmcase, avicelase in cellulase system of *Aspergillus niger* and *amylase* activities increased obviously by mixed culture. In Aspergillus niger, the peak values of the four kinds of enzyme activities in mixed culture increased by 36. 1%, 11. 1%, 16. 2% and 41. 8% respectively over those of sole culture; In *Aspergillus fumigatus*, they increased by 24. 9%, 52. 8%, 40. 8% and 163. 5%. ② In Aspergillus fumigatus and *Aspergillus niger*, the peak values of other cellulases and amylases activities in mixed culture were 24 h earlier than those of sole culture, excepting FPA and amylase of *Aspergillus niger*. Mixed culture accelerated fermentation process and shortened fermentation period. ③ The maximal content of extracellular protein of *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* in mixed culture increased respectively by 34. 8% and 41%; extracellular protein and cellulase and amylase activities changing were identical with fermentation time, which indicated that an increase in enzyme activities was the result of enzyme forming and exudation. ④ *Candida* could use dextrose and cellobiose produced in soild fermentation so that it breaked off feedback repression of glucose and cellobiose versus cellulase and amylse synthics, and enhanced enzyme activity of fermentation substance.

Key words: mixed culture; cellulase, amylase; *Candida*; *Aspergillus niger*; *Aspergillus fumigatus*

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net