

# 产木聚糖酶菌株 YS1069 的产酶条件优化\*

董延娟<sup>1,2</sup> 郝建华<sup>1</sup> 郑鸿飞<sup>1</sup> 孙 谥<sup>1①</sup>

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛市海洋酶工程重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 上海海洋大学食品学院 上海 201306)

**摘要** 为获得较高的木聚糖酶产量,采用单因素实验和响应面实验方法,筛选氮源、碳源、无机盐、接种量、装液量、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、发酵温度、发酵时间多个单因素,对产木聚糖酶的芽孢杆菌 YS1069 的发酵培养基和发酵条件进行了优化。结果显示,豆饼粉 25 g/L、麸皮 40 g/L、 $\text{NaNO}_3$  0.9 g/L、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  3 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.6 g/L、接种量 4%、装液量 30 ml/250 ml(v/v)、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  添加量 18 g/L、培养温度 30℃、培养时间 96 h 时,酶活性达到最高。再通过 Plackett-Burman 设计对影响木聚糖酶产量的 8 个主要因素进行评价,确定  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  浓度、麸皮浓度和  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  浓度是影响产酶量的 3 个主要因素。利用中心组合设计及 Design-Expert 8.05 软件分析,获得了主要因素的最优条件,即  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  浓度 21.86 g/L、麸皮浓度 51.41 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  浓度 0.59 g/L,实验最终酶活性比发酵优化前提高了 5 倍。

**关键词** 芽孢杆菌;木聚糖酶;响应面;发酵条件;优化

**中图分类号** S932 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)03-0154-06

木聚糖是植物半纤维素的主要成分,其含量仅次于纤维素,是自然界中最为丰富的可再生资源之一(单志琼等, 2012)。木聚糖的主链由 D-木糖以  $\beta$ -1,4-糖苷键连接而成(余英鹏等, 2014),内切- $\beta$ -1,4-木聚糖酶作用于木聚糖主链,可以将其水解为低聚木糖(Beg *et al.*, 2001)。低聚木糖一般由 2-7 个木糖残基构成,它在人体肠道内会促进有益菌的生长,改善肠道微环境,增强机体免疫力(凌沛学等, 2007)。另外,低聚木糖能有效降低高血压、高血脂和糖尿病的发病率;还可以润肠通便,治疗腹泻(孙毅等, 2014)。木聚糖酶也被广泛应用于饲料、造纸及食品等行业。

产木聚糖酶的微生物来源非常广泛,包括细菌(刘程程等, 2014; 孙明哲等, 2013)、放线菌(朱运平等, 2012)、霉菌(江正强等, 2007; 郑虹, 2014)及酵母(Liu *et al.*, 1999; 陆彬等, 2014),来源不同的木聚糖酶的酶学性质差异较大。真菌产的木聚糖酶多为酸性且热稳

定性不高(Shi *et al.*, 2012),细菌产的木聚糖酶多为中性或偏碱性且具有较好的耐碱性和热稳定性。本研究对分离自黄海海域的一株产木聚糖酶的芽孢杆菌进行发酵优化,优化筛选参考马子宾等(2015)、陈世建等(2014)的研究方法,使木聚糖酶产量达到较高水平。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌 株

芽孢杆菌 YS1069 由中国水产科学研究院黄海水产研究所海洋产物资源与酶工程研究室提供。

### 1.2 培养基及培养条件

**1.2.1 培养基** 种子培养基:淀粉 10 g/L,蛋白胨 5 g/L,酵母膏 5 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L,  $\text{NaCl}$  50 g/L,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10 g/L。基础发酵培养基:麸皮 40 g/L,豆饼粉 20 g/L,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  12 g/L。

\* 国家自然科学基金-联合基金(U1406402-5)和国际科技合作与交流专项(2014DFG30890)共同资助。董延娟, E-mail: dongyanjuan112@126.com

① 通讯作者: 孙 谥, 研究员, E-mail: sunmi@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2015-04-30, 收修改稿日期: 2015-06-07

**1.2.2 培养条件** 将保存的斜面菌种接种于液体种子培养基中, 30℃、200 r/min 培养 22 h, 再以 4% 的接种量将菌液转入基础发酵培养基中, 30℃、230 r/min 培养 96 h。

### 1.3 方法

**1.3.1 酶活性的测定方法** 发酵液离心(10000 × g、15 min)后, 上清液用 pH=8.0、50 mmol/L 的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(PBS)缓冲液适当稀释, 采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定木聚糖酶活性(孙丰慧等, 2008): 在比色管中加入 0.4 ml 用 pH=8.0 的 PBS 缓冲液配制的 1% 的木聚糖(Sigma 公司)溶液, 置于 55℃ 水浴中预热 10 min, 再加入稀释酶液 0.1 ml, 55℃ 水浴反应 30 min。用冰冷却终止反应, 加入 1.5 ml DNS, 煮沸 15 min, 加蒸馏水定容至 10 ml, 用分光光度法测定反应的 OD<sub>497 nm</sub>, 以木糖浓度和 OD<sub>497 nm</sub> 制作标准曲线。在 pH=8.0、55℃ 反应条件下, 以每小时木聚糖酶水解木聚糖产生 1 mg 木糖所需要的酶量定义为 1 个酶活力单位。

**1.3.2 单因素实验** 根据单因素实验设计原理, 在其他发酵条件不变的前提下, 依次考察氮源、碳源、无机盐、接种量、装液量、起始 pH、发酵温度和发酵时间对菌株产酶的影响, 每个实验重复两次, 每次设 3 个平行, 每组数据重复测定两次, 通过取各组数据的均值来评价各因素对菌株发酵产酶的影响。

**1.3.3 响应面实验** 在单因素实验的基础上, 根据 Plackett-Burman 实验设计和中心组合实验设计原理, 以每毫升发酵液中所含的酶活性单位数作为响应值 Y1(U/ml), 每个实验重复两次, 每次设 3 个平行, 每组数据重复测定两次, 取各组数据的均值, 利用 Design-Expert 8.05 软件对实验结果进行响应面回归分析, 考察各因素的主效应和交互效应对菌株产木聚糖酶的影响, 以获得最佳的产木聚糖酶条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验设计与分析

**2.1.1 氮源对菌株产木聚糖酶的影响** 从基础发酵培养基出发, 研究不同氮源(20 g/L)对菌株产木聚糖酶的影响。结果如图 1 所示, 其发酵产酶的最佳氮源为豆饼粉。随后进行了不同浓度的豆饼粉对产酶的影响(图 2), 当豆饼粉在浓度为 25 g/L 时, 相对酶活力最高。

**2.1.2 碳源对菌株产木聚糖酶的影响** 固定氮源为豆饼粉(25 g/L), 研究不同碳源(40 g/L)对产酶的影响

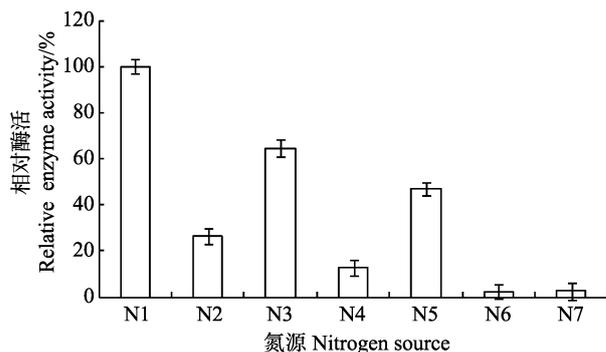


图 1 氮源种类对产酶的影响

Fig.1 Effects of nitrogen source on the production of xylanase

N1: 豆饼粉; N2: 酵母粉; N3: 蛋白胨; N4: 玉米浆; N5: 酵母膏; N6: 牛肉膏; N7: 硫酸铵

N1: bean cake powder; N2: yeast powder; N3: peptone; N4: corn paste; N5: yeast extract; N6: beef extract; N7: (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

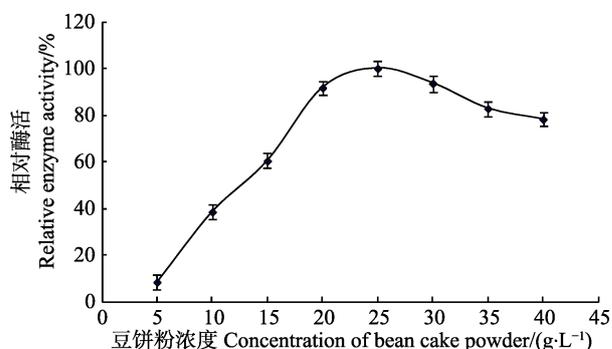


图 2 豆饼粉浓度对产酶的影响

Fig.2 Effects of concentration of bean cake powder on the production of xylanase

响(图 3 和图 4)。相同条件下, 麸皮为碳源时, 产酶效果最好; 麸皮浓度为 40 g/L 时, 获得较高的酶活力。

**2.1.3 无机盐对菌株产木聚糖酶的影响** NaNO<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 在添加量分别为 0.9 g/L、3 g/L 和 0.6 g/L 时, 菌株 YS1069 产酶量达到最高。

**2.1.4 接种量对菌株产木聚糖酶的影响** 在 30 ml 的发酵培养基中分别按照体积分数 1%、2%、4%、6%、8%、10% 和 12% 接入种子培养液。接种量为 4% 时, 酶活性相对较高。

**2.1.5 装液量对菌株产木聚糖酶的影响** 250 ml 三角瓶中, 较低装液量水平时(<40 ml), 酶产量相对稳定; 较高装液量水平时, 酶产量快速减少, 这主要是由于溶氧较低、供氧不足造成的。

**2.1.6 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浓度对菌株产木聚糖酶的影响** 其他条件不变, 通过改变 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的添加量来改变发酵培养基的起始 pH, 考察其对菌株产酶的影响(图 5)。当 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 添加量为 18 g/L、起始 pH 为 9.5 时, 酶产量相对较高。

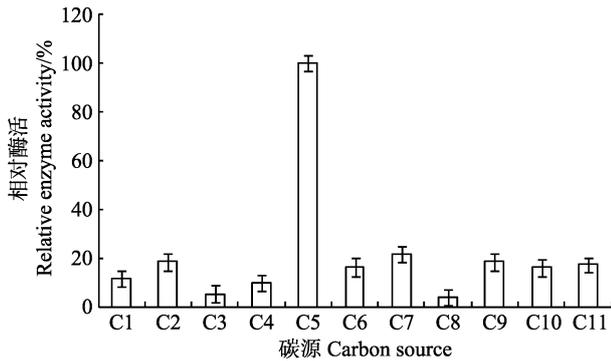


图3 碳源种类对产酶的影响

Fig.3 Effects of carbon source on the production of xylanase

C1: 可溶性淀粉; C2: 麦芽糖; C3: 葡萄糖; C4: 蔗糖;

C5: 麸皮; C6: 乳糖; C7: 木聚糖; C8:  $\beta$ -环糊精;

C9: 甘油; C10: 柠檬酸; C11: 糊精

C1: soluble starch; C2: maltose; C3: glucose; C4: sucrose;  
C5: wheat bran; C6: lactose; C7: xylan; C8:  $\beta$ -cyclodextrin;

C9: glycerin; C10: citric acid; C11: dextrin

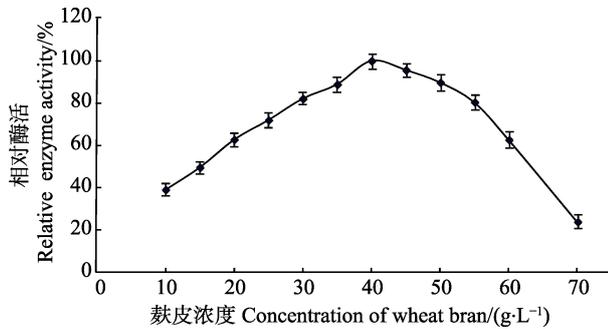
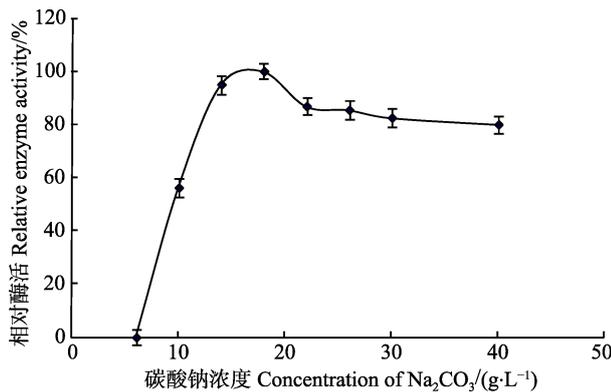


图4 麸皮浓度对产酶的影响

Fig.4 Effects of concentration of wheat bran on the production of xylanase

图5  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  浓度对产酶的影响Fig.5 Effects of concentration of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  on the production of xylanase

**2.1.7 发酵温度对菌株产木聚糖酶的影响** 考察不同温度(15℃、20℃、25℃、28℃、30℃、33℃、37℃和40℃)对产酶的影响(图6),该菌在相对较低温度下(25–33℃),产酶较高;在较高温度下(>37℃),

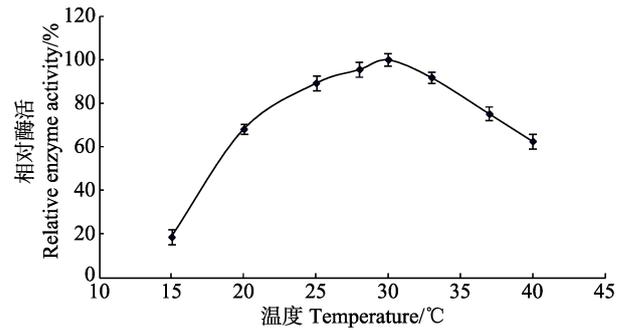


图6 发酵温度对产酶的影响

Fig.6 Effects of temperature on the production of xylanase

产酶量明显下降。这可能与菌株 YS1069 来自海洋环境并长期适应低温环境有关。

**2.1.8 发酵时间对菌株产木聚糖酶的影响** 种子培养液按 4%(v/v)接种量接种入 250 ml 三角瓶中的 30 ml 基础发酵培养基中,30℃、230 r/min 培养,间隔取样测定酶活力(图7),在培养 96 h 时,酶产量达到最大。因此,确定其最佳培养时间为 96 h。

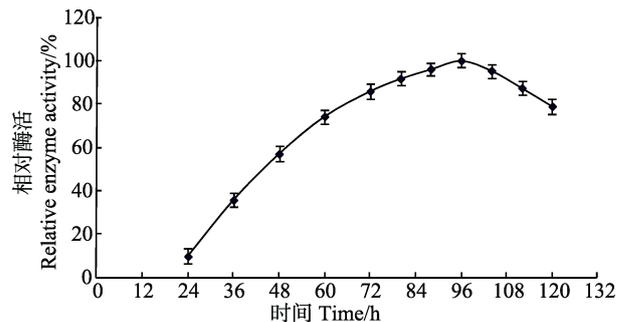


图7 发酵时间对产酶的影响

Fig.7 Effects of culturing time on the production of xylanase

## 2.2 响应面实验设计与分析

**2.2.1 Plackett-Burman 实验设计与结果** 单因素实验后,为筛选对发酵产木聚糖酶影响较大的因素,用每毫升发酵液中所含的酶活力单位数作为响应值 Y1(U/ml),选择麸皮、接种量、装液量、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、豆饼粉、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和  $\text{NaNO}_3$  作为研究对象,另外,在实验运行次数不增加的情况下,选择 3 个虚拟项,各影响因素的编码水平及 PB 实验结果分析见表 1 和表 2。

利用响应面软件分析 PB 实验结果,可以确定  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、麸皮为主要影响因素( $P < 0.05$ ),贡献值合计达 82.06。

**2.2.2 中心组合实验设计与结果** 为进一步研究因素之间的交互作用并获得最大产酶量,设计 3 个主要因素 5 个水平、 $N=20$  的中心组合实验,以 Design-

**表 1 Plackett-Burman 实验因素水平**  
Tab.1 Levels of independent variables in Plackett-Burman test

因素 Factors	单位 Unit	因素代码 Symbol code	低水平 Low level	高水平 High level
麸皮 Wheat bran	g/L	X <sub>1</sub>	10	70
接种量 Inoculum volume	%(v/v)	X <sub>2</sub>	2	6
装液量 Liquid volume	ml	X <sub>3</sub>	25	35
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	g/L	X <sub>4</sub>	0.3	0.9
豆饼粉 Bean cake powder	g/L	X <sub>5</sub>	10	40
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	g/L	X <sub>6</sub>	2	4
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	g/L	X <sub>7</sub>	10	22
NaNO <sub>3</sub>	g/L	X <sub>8</sub>	0	2

**表 2 Plackett-Burman 实验结果分析**

Tab.2 Analysis of experimental results in Plackett-Burman test

因素 Factors	代码 Code	影响值 Impact value	贡献值 Contribution value	F	P	显著性 Significance
麸皮 Wheat bran	X <sub>1</sub>	877.02	14.48	11.76	0.0415	*
接种量 Inoculum volume	X <sub>2</sub>	-16.48	0.02	0.021	0.9527	
装液量 Liquid volume	X <sub>3</sub>	813.24	12.45	10.12	0.0501	
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	X <sub>4</sub>	-962.26	17.43	14.16	0.0328	*
豆饼粉 Bean cake powder	X <sub>5</sub>	-46.05	0.04	0.032	0.8686	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	X <sub>6</sub>	-283.26	1.51	1.23	0.3488	
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	X <sub>7</sub>	1632.08	50.15	40.74	0.0078	*
NaNO <sub>3</sub>	X <sub>8</sub>	-110.88	0.23	0.19	0.6938	

**表 3 中心组合实验设计的因素及其编码值**

Tab.3 Factors and codes in central composite test design

因素 Factors	编码 Code	水平 Level				
		-1.682	-1	0	1	1.682
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g/L)	X <sub>7</sub>	11.27	14	18	22	24.73
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (g/L)	X <sub>4</sub>	0.16	0.3	0.5	0.7	0.84
麸皮 Wheat bran (g/L)	X <sub>1</sub>	16.36	30	50	70	83.64

值进行实验验证, 结果为 4408.63 U/ml, 比发酵优化前 (738.21 U/ml) 提高了约 5 倍。实验值与预测值基本相符, 说明预测模型可应用于该木聚糖酶发酵条件的优化。

由 Design-Expert 8.05 软件分析得到三因素交互作用(图 8), 其中, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和麸皮的交互作用对木聚糖酶活性的影响最为显著。

### 3 讨论

微生物发酵产酶量的高低受多种因素的影响, 因此, 为了获得较高的酶产量就需要对各种因素进行优化, 从而获得有利于产酶的最优组合。另外, 不同来源的菌种发酵产酶量也有很大的差别, 因此, 目的菌株的选择对于发酵的影响也是至关重要的。海洋环境的

Expert 8.05 软件对中心组合实验结果进行响应面回归分析。因素水平编码见表 3, 实验设计及结果见表 4。

通过 Design-Expert 数据分析软件对中心组合实验结果进行回归分析, 得到的方差分析结果如表 5 所示。结果显示, 实验所用模型  $P < 0.0001$ , 表明该二次方程模型达到极显著水平, 并且失拟项  $P = 0.1023 > 0.05$ , 表明该模型的失拟度不显著, 说明回归方程对数据进行了较好的拟合, 二次多项回归方程为:

$$Y = 4163.42 + 661.47X_7 + 29.10X_4 - 742.95X_1 + 209.02X_7X_4 + 871.90X_7X_1 + 105.09X_4X_1 - 426.06X_7^2 - 255.59X_4^2 - 1023.05X_1^2$$

由统计软件分析可知, Y 预测最大值为 4462.34 U/ml, 此时, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浓度为 21.86 g/L, 麸皮浓度为 51.41 g/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 浓度为 0.59 g/L。在该条件下对模型预测

**表 4 中心组合实验设计及其结果**

Tab.4 Experimental design and results of central composite test

Run NO.	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> X <sub>7</sub>	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O X <sub>4</sub>	麸皮 Wheat bran X <sub>1</sub>	木聚糖酶活性 Xylanase activity Y(U/ml)
1	-1	-1	-1	3768.6
2	1	-1	-1	2858.5
3	-1	1	-1	3106.3
4	1	1	-1	3150.8
5	-1	-1	1	262.4
6	1	-1	1	2958.4
7	-1	1	1	138.9
8	1	1	1	3552.6
9	-1.682	0	0	1809.3
10	1.682	0	0	4062.5
11	0	-1.682	0	3329.9
12	0	1.682	0	3506.3
13	0	0	-1.682	2488.5
14	0	0	1.682	6.3
15	0	0	0	4145.2
16	0	0	0	4138.4
17	0	0	0	4133.8
18	0	0	0	4161.1
19	0	0	0	4198.1
20	0	0	0	4211.7

表5 响应面模型方差分析  
Tab.5 Variance analysis of the response surface quadratic model

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F	P
模型 Model	$3.689 \times 10^7$	9	$4.099 \times 10^6$	1736.16	<0.0001
残差 Residual	23608.13	10	2360.81		
失拟性 Lack of fit	18252.09	5	3650.42	3.41	0.1023
纯误差 Pure error	5356.04	5	1071.21		
总差 Cor total	$3.691 \times 10^7$	19			

低温、高压、高盐环境使海洋微生物表现出许多独特的性质,因此,比来自陆地的微生物更具开发应用前景。

本研究通过单因素实验和响应面实验优化了芽孢杆菌 YS1069 产木聚糖酶的发酵条件。实验最终确定了发酵培养的最佳碳源麸皮、氮源豆粕饼的浓度分别为 51.41 g/L 和 25 g/L, 无机盐  $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  的最佳浓度分别为 0.9 g/L、3 g/L 和 0.59 g/L。在  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  浓度 21.86 g/L、4%接种量、30 ml 装液量和 30℃的条件下发酵 96 h 获得最优酶产量。优化后木聚糖酶的酶活力与未优化前相比,提高约 5 倍,优化效果显著,优化后的摇瓶发酵液 1 ml 可催化木聚糖生成木糖的速率为 483.26  $\mu\text{mol}/\text{min}$ 。目前,国内外也有许多对微生物产木聚糖酶的研究报道,芽孢

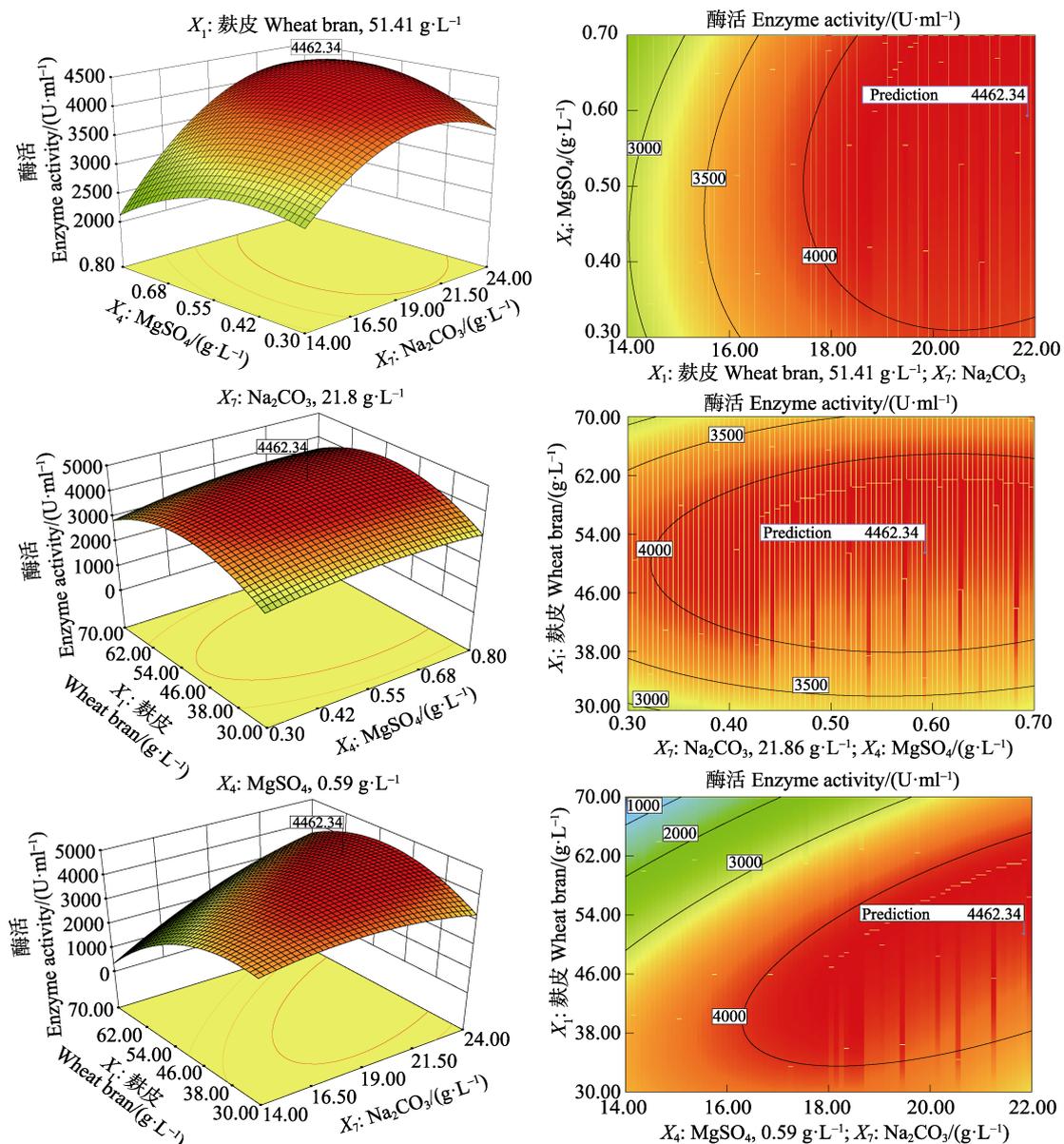


图8 响应面三维图和对应的等高线

Fig.8 Three-dimensional response surface diagrams and the corresponding contour plots

杆菌 *Bacillus* sp. QH14(单志琼等, 2014)和 *Bacillus* sp. No. X-18(葛方兰等, 2009)的摇瓶发酵液 1 ml 催化生成木糖的速率为 648.79  $\mu\text{mol}/\text{min}$  和 72.41  $\mu\text{mol}/\text{min}$ ; *Bacillus altitudinis* DHN8 的摇瓶发酵液 1 ml 催化生成木糖的速率为 245  $\mu\text{mol}/\text{min}$ (Adhyarua *et al*, 2014)。与其他芽孢杆菌产木聚糖酶的报道相比, 芽孢杆菌 YS1069 的产木聚糖酶活力相对较高且培养基原料成本低, 为该酶的理论研究和工业应用奠定了基础。

## 参 考 文 献

- 马子宾, 郑鸿飞, 刘均忠, 等. 一株海洋中性蛋白酶高产菌 S-3685 的鉴定及产酶条件. 渔业科学进展, 2015, 36(5): 131-137
- 朱运平, 褚文丹, 李秀婷, 等. 一株产木聚糖酶放线菌的液体发酵条件优化及水解特性研究. 食品科学, 2012, 33(21): 177-182
- 刘程程, 刘波, 蓝江林, 等. 产木聚糖酶芽孢杆菌的筛选及产酶条件优化. 福建农业学报, 2014, 29(8): 757-767
- 江正强, 邓伟, 翟倩, 等. 链霉菌 D21 产木聚糖酶的发酵条件研究. 林产化学与工业, 2007, 27(1): 52-56
- 孙丰慧, 李安明. 耐碱性木聚糖酶产生菌的筛选及发酵条件研究. 应用与环境生物学报, 2008, 14(3): 436-439
- 孙明哲, 郑宏臣, 孙君社, 等. 产耐高温木聚糖酶菌株的筛选及其产酶条件优化. 中国酿造, 2013, 32(8): 15-20
- 孙毅, 韩春超. 低分子木糖的制备与应用. 化工时刊, 2014, 28(6): 31-34
- 余英鹏, 姜腾飞, 李茜, 等. 黑曲霉木聚糖酶 XynB 耐热性的定向改造及表达、纯化. 应用与环境生物学报, 2014, 20(6): 1082-1085
- 陆彬, 万红贵. 木聚糖酶发酵工艺在 50 L 罐中的放大. 生物加工过程, 2014, 12(2): 63-65
- 陈世建, 王伟, 孙溢. 一株海洋过氧化氢酶高产菌的鉴定及产酶条件优化. 渔业科学进展, 2014, 35(4): 103-109
- 郑虹. 应用响应面法优化黑曲霉固态发酵稻谷壳产木聚糖酶条件. 食品工业科技, 2014, 35(8): 210-222
- 单志琼, 周峻岗, 周宇飞, 等. 产碱性木聚糖酶菌株的筛选及酶学性质. 遗传, 2012, 34(3): 356-365
- 凌沛学, 朱希强, 苏移山, 等. 低聚木糖功能与应用研究进展. 食品与药品, 2007, 9(9): 35-39
- 葛方兰, 王宇, 杜良俊, 等. 碱性木聚糖酶产生菌的筛选及培养基成分的优化. 西南农业学报, 2009, 22(2): 311-314
- Adhyarua DN, Bhatt NS, Modi HA. Enhanced production of cellulase-free, thermo-alkali-solvent-stable xylanase from *Bacillus altitudinis* DHN8, its characterization and application in sorghum straw saccharification. Biocat Agricult Biotech, 2014, 3(2): 182-190
- Beg QK, Kapoor M, Mahajan L, *et al*. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. Appl Microbiol Biotech, 2001, 56(3-4): 326-338
- Liu W, Lu YL, Ma GR. Induction and glucose repression of endo- $\beta$ -xylanase in the yeast *Trichosporon cutaneum* SL409. Process Biochem, 1999, 34(1): 67-72
- Shi P, Qiu Z, Bai Y, *et al*. A new xylanase from *Streptomyces megasporus* DSM41476 with high yield of xylobiose. World J Microbiol Biotechnol, 2012, 28(2): 687-692

(编辑 冯小花)

## Optimization of the Fermentation Conditions for Xylanase-Producing Strain YS1069

DONG Yanjuan<sup>1,2</sup>, HAO Jianhua<sup>1</sup>, ZHENG Hongfei<sup>1</sup>, SUN Mi<sup>1</sup>①

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Qingdao Key Laboratory of Marine Enzyme Engineering, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

**Abstract** In this study we applied one-single factor and response surface method to optimize the culture medium and other conditions for strain YS1069, which would improve the yield of xylanase. First, the single factor method was used to screen eight factors including the nitrogen source, the carbon source, the inorganic salts, the inoculation volume, the liquid volume,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , fermentation temperature and fermentation time. The optimal results corresponding to each single factor was as follows: bean cake powder 25 g/L, wheat bran 40 g/L,  $\text{NaNO}_3$  0.9 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  3 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.6 g/L, inoculums at 4%, 30 ml/250 ml (v/v) liquid volume,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  18 g/L, cultured at 30°C for 96 h. Secondly, these main variables were evaluated with the Plackett-Burman test. The results suggested that  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , wheat bran and  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  were the most impactful factors. Finally, the optimal levels of the three factors were determined with central composite design and Design-Expert 8.05 software. The results were shown as follows:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  21.86 g/L, wheat bran 51.41 g/L, and  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.59 g/L. Under the optimized conditions, the production of xylanase was increased by 5 folds.

**Key words** *Bacillus*; Xylanase; Response surface methodology; Fermentation conditions; Optimization

① Corresponding author: SUN Mi, E-mail: sunmi@ysfri.ac.cn