

吴 桐,贾锐鱼,路强强,等.白腐菌在木质纤维素酶解中的研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(5):38-45.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.05.007

白腐菌在木质纤维素酶解中的研究进展

吴 桐^{1,2},贾锐鱼¹,路强强²,赵叶子^{1,2},陈智坤²,任英英²,邢国强³

[1. 西安科技大学地质与环境学院,陕西西安 710043; 2. 陕西省科学院土壤资源与生物技术应用重点实验室/
陕西省西安植物园(陕西省植物研究所),陕西西安 710061; 3. 西安市阎良区国强瓜菜专业合作社,陕西西安 710089]

摘要:木质纤维素是参与生物地球化学循环的重要组成物,生物酶解是实现其物质利用的有效途径。白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)作为腐殖质寄生型真菌,是酶解园林生物质的模式菌种之一,已被广泛应用于生物降解领域。为更全面认识白腐菌对木质纤维素的酶解能力和研究现状,从酶活水平对白腐菌的酶解机制和适用条件进行综述,介绍该菌种在饲料生产、生物堆肥、生物预处理等方面的应用进展。构建以白腐菌为核心的酶解菌系是实现园林生物质快速降解、高效利用的有效途径。

关键词:白腐菌;木质纤维素;生物酶解;应用现状

中图分类号: X172;S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)05-0038-07

园林生物质是园艺维护及农林作业所产生的废弃物,是地球生物圈储量最为丰富的碳水化合物资源^[1]。按照化学组成分类,主要是由纤维素、半纤维素和木质素构成的大分子交联体-木质纤维素(图1),也包含一些植物营养元素(钙、铁、镁、锌等),是参与生态系统物质循环的重要有机物^[2]。根据植物种类和组织部位的不同,木质纤维素3种主要成分亦有所差异,其中纤维素是由D-葡萄糖以 β -1,4糖苷键组成的大分子多糖,多以排列紧密的微丝状存在,是构成细胞壁的骨架;半纤维素是由多种单糖构成的异质多聚体,主要分散或包裹在纤维素微束周围或表面,起到保护纤维素的作用;木质素则主要是由苯丙烷醇及其衍生物通过醚键和碳键链合而成复杂的、近似球状的聚酚类三维网状高分子化合物^[3],主要沉积于次生加厚的细胞壁中,起到机械支撑和组织保护的作用,是目前公认的微生物难降解的芳香族化合物之一。

自然条件下,由于其自身物理结构和化学组成的特殊性,木质纤维素具有水不溶性和生物抵抗性,故难以被水解或被微生物直接代谢,从而阻碍

其快速降解和再生利用^[4-5]。传统溶解或预处理木质纤维素的方法,是通过物理机械破碎、化学酸碱消融或物理-化学组合法等打破其分子内聚合键,释放水解位点。通常,这种高能耗、高污染的处理方式会导致废气、废水、扬尘、噪音等环境污染源产生。然而,生物降解则很大程度地避免了该弊端,它是促进木质纤维素水解转化为可利用小分子物质(葡萄糖、果糖、半乳糖等可发酵单糖)的主要途径。生物降解主要通过微生物代谢(好氧或厌氧发酵)所合成的纤维素酶、木质素降解酶等酶系来实现木质纤维素各组分键合链的裂解^[6],可有效降低其组分内或组分间的分子聚合合力、减少纤维素结晶度、水解半纤维素、破坏木质素结构,并提高木质纤维素的比表面积,释放更多酶解糖化位点、加速催化裂解进程。因此,生物酶解已广泛应用于园林生物质的降解与再利用领域,不仅可加快物质循环和资源利用,也可有效解决农林生产废弃物的肆意堆放问题。

白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)被认为是可突破木质纤维素结构中木质素难降解屏障,提高园林生物质转化效率的一类模式微生物,在生物有机碳循环中发挥着关键作用^[7-8]。作为可直接入侵细胞腔内的丝状真菌,白腐菌通过多酶解途径使木材腐烂成白色海绵状团块,其菌丝体为多核、少隔膜、无锁状联合,存在同宗和异宗配合体系^[9-11],在分类上属真菌门,绝大多数为担子菌纲(Basidiomycetes),少数为子囊菌纲(Ascomycetes),包

收稿日期:2020-07-28

基金项目:陕西省科学院科技计划(编号:2018K-11、2020K-08);
西安市科技计划(编号:2193058YF046NS046)。

作者简介:吴 桐(1994—),女,吉林松源人,硕士,主要从事植物资源利用研究。E-mail:270276491@qq.com。

通信作者:路强强,博士,主要从事植物资源化学相关工作。
E-mail:luqiang@xab.ac.cn。

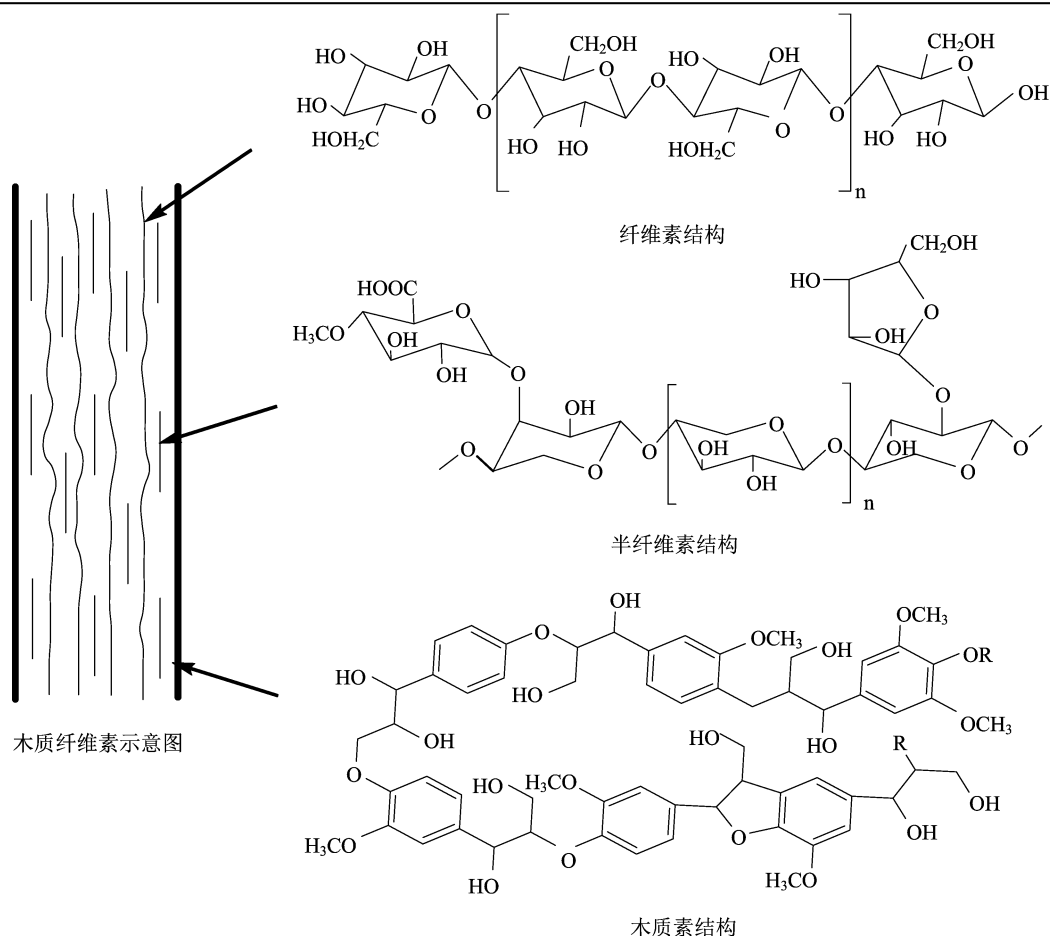


图1 木质纤维素结构

括多孔菌、侧耳、香菇等 200 多个品种。其中,黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)为白腐菌典型菌种,属非褶菌目(Aphyllorphorales),是降解木质纤维素的模式菌株^[12-13]。20 世纪 80 年代初首次报道了白腐菌的降解作用,并持续热点研究至今^[14-15]。

1 白腐菌对木质纤维素的酶解研究

1.1 木质纤维素降解酶系

木质纤维素的降解是水解、氧化的过程,并通过多酶系协同效应而实现。根据被降解物质的不同,其降解酶系主要包括:

1.1.1 木质素氧化酶系 木质素是一类结构异常复杂的聚合物,多以醚键、酯键、碳键等形式聚合,且不含可水解的键链,这就要求降解木质素的酶必须为氧化酶。白腐菌对木质素的降解是由其胞外分泌的木质素降解酶系完成的,并提供了一个以自由基反应为基础的非特异性降解模式,主要包括木质素过氧化物酶(lignin peroxidases,简称 LiP)、锰过

氧化物酶(manganese peroxidases,简称 MnP)和漆酶(laccases,简称 Lac)。

木质素过氧化物酶是一种糖基化的亚铁血红素蛋白胞外酶,最早发现于黄孢原毛平革菌中^[16],其氧化底物主要包括酚型结构(酚和芳香胺等)和非酚型结构(芳香醚和多酚等)。反应过程中,LiP 由 H_2O_2 启动后,先夺取芳香环上一个电子形成芳香环阳离子自由基,其后在分子氧的参与下生成相应的降解片断。通常,以小分子自由基介体(如藜芦醇)作为 LiP 分析底物,是氧化还原中间体的理想电子给体^[17]。

锰过氧化物酶也是一种发现于黄孢原毛平革菌的胞外酶,分子量为 50 ~ 60 ku,最适 pH 值为酸性。MnP 的催化循环过程由 H_2O_2 启动,被氧化夺取 2 个电子后形成化合物 MnP I,并通过还原 Mn^{2+} 为 Mn^{3+} 而释放酶活位点。其中, Mn^{3+} 螯合物亦可作为氧化剂^[7],直接氧化木质素中的酚型结构,若彻底氧化底物还需要 MnP 产生的一系列自由基中间体来完成^[8]。

漆酶是一种含 Cu 的氧化还原酶,于 1888 年被发现,其广泛存在于真菌和高等植物中。Lac 可将对苯二酚类物质氧化成苯醌,并在脱羟基的同时将分子氧还原成水,通过氧化 C α 使芳香烷基键断裂,并催化酚基 β -1- 和 β -O-4- 木质素模型二聚体中 C α -C β 键的断裂。因其氧化活性较低,Lac 并不是实现木质素降解的关键酶,且只能实现 15% 以下酚型结构单元的氧化^[18]。

1.1.2 纤维素降解酶系 纤维素酶是由纤维素内切酶 (endoglucanase, 简称 EG), 纤维素外切酶 (cellobiohydrolase, 简称 CBH) 和 β -葡萄糖苷酶 (β -glucosidase, 简称 BG) 组成。一般来说,EG 的酶解位点为纤维素分子的非结晶区,可随机水解 β -1,4-糖苷键,将长链纤维分子截断,产生游离的链末端基;CBH 又称为纤维二糖水解酶,作用于纤维素分子的末端,水解 β -1,4-糖苷键并从游离的链末端脱除纤维二糖单元,进一步降解纤维素分子;而 BG 则通过水解纤维二糖和短链的纤维寡糖来产生葡萄糖^[19]。白腐菌的纤维素内切酶可以引起棉花纤维素的快速解聚,外切酶的活性中心位于陷入催化域内的隧道结构,并与内切酶共同作用^[20]。

1.1.3 半纤维素降解酶系 白腐菌同时具有与其他真菌功能相似的半纤维素降解酶系,主要由 β -1,4-内切木聚糖酶 (β -1,4-endoxylanase)、 β -木糖苷酶 (β -xylosidase) 和 α -L-阿拉伯糖苷酶 (α -L-arabinase) 组成。作为木聚糖酶系中最关键的水解酶, β -1,4-内切木聚糖酶通过水解木聚糖分子的 β -1,4-糖苷键,将木聚糖水解为寡糖、木二糖以及少量木糖和阿拉伯糖; β -木糖苷酶则通过水解低聚木糖的末端来释放木糖残基;彻底降解木聚糖还需 α -L-阿拉伯糖苷酶参与水解木糖与侧链取代基之间的糖苷键,并协同将木聚糖转化为其组成单糖^[21]。

1.2 降解机制

基于木质纤维素的结构组成与特性,生物酶解的关键在于木质素聚合物的裂解,并为纤维素和半纤维素的水解提供酶活位点。因此,白腐菌的木质素氧化酶系是降解系统中的主导酶系^[22-23]。其木质素降解分为胞内和胞外 2 个阶段^[24],在细胞内,白腐菌代谢合成的酶包括 H₂O₂ 产酶系、木质素酶系以及还原酶等;在细胞外,木质素氧化酶系靠自身合成的 H₂O₂ 形成高活性酶中间体,并启动一系

列自由基链反应,来实现木质素的裂解。

木质素氧化酶系中 LiP、MnP 和 Lac 的催化功能十分特殊^[25-27]。自然状态下,LiP 含有高自旋 Fe³⁺,被 H₂O₂ 氧化失去 2 个电子后形成 LiP I (氧带铁卟啉环自由基含 Fe⁴⁺),LiP I 经单电子还原形成 LiP II (氧带铁卟啉环含 Fe⁴⁺),完成 1 次催化循环。由于 LiP I 具较高氧化还原电位,可使木质素中的酚型或非酚型基团发生单电子氧化并形成阳离子活性基团,进而实现木质素底物的非酶促裂解^[28]。MnP 的催化则依赖于其活性中心的 Mn²⁺,由 H₂O₂ 触发 MnP 将 Mn²⁺ 氧化成 Mn³⁺,Mn³⁺ 进一步被由真菌分泌的有机酸螯合剂 (如草酸盐、乙醇酸盐等) 固定于酶表面,使 Mn³⁺ 从酶的活性位点中释放出来,形成一种低分子量的氧化还原调节剂^[29-30]。Lac 所催化的主要是氧化反应^[31],且不需要 H₂O₂ 启动,其利用氧作为电子受体,并通过 2 个活性位置的 4 个铜离子间的电子传递来实现。Lac 的氧化进程由 T1 位点开始,将捕获的电子转移到 T2、T3 位点,使 O₂ 被还原为水。由于 Lac 的氧化还原电位较低,大多数的非酚型结构单元不能被直接氧化,须添加一些低氧化还原位的化合物作调节剂,形成高活性的稳定中间体,从而降解木质素^[32]。LiP、MnP、Lac 的催化循环机制见图 2。

1.3 多酶系协同作用

白腐菌降解木质纤维素是多酶系协同作用的结果,任何单一酶都很难完全实现^[33]。Bak 等发现黄孢原毛平革菌在利用木质纤维素时,有 39 种代谢物和 123 种调控基因参与木质纤维素水解反应,这些因素通过胞内的调控网络及级联反应实现降解的过程^[34]。Salvachúa 等利用乳白耙齿菌 (*Irpex lacteus*) 处理麦秸,降解过程中发现产生了多种与木质纤维素降解相关的酶,如锰过氧化物酶和过氧化氢酶等,并证明混合酶对麦秸的降解起到更高效的作用^[35]。Hori 等研究了虫拟蜡菌 (*Ceriporiopsis subvermispora*) 胞外分泌蛋白的降解过程,先分泌促木质素氧化的相关酶如过氧化物酶等,随后分泌参与纤维素及半纤维素等水解的纤维二糖酶和木聚糖酶等,并通过各酶系协同作用实现木质纤维素降解^[36]。

在白腐菌对木质纤维素的降解机制上,木质素过氧化物酶主要氧化木质素中的非酚型结构,锰过氧化物酶和漆酶则氧化酚型结构;芳香醇氧化酶和葡萄糖氧化酶以催化产生的 H₂O₂ 作为反应底物,

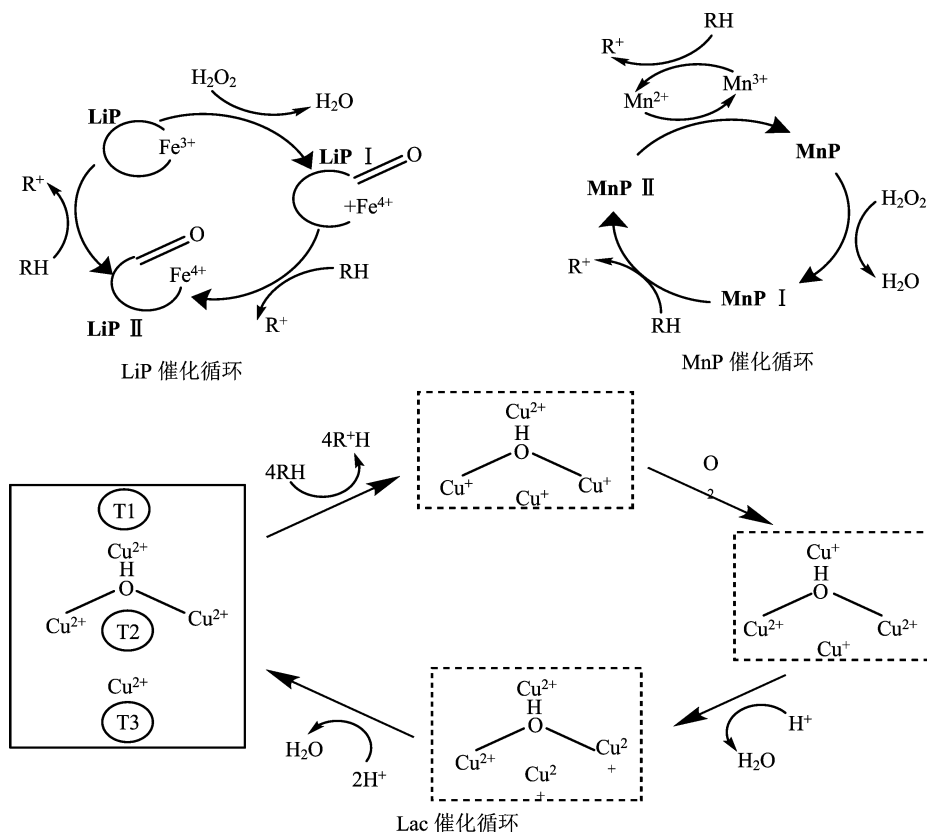


图2 LiP、MnP、Lac 的催化循环

通过促木质素 C α - C β 键断裂、芳香开环、苯丙烷基侧链基团断裂等过程,实现木质纤维素的解聚^[37];此外,纤维二糖脱氢酶体系可在 O₂ 和 H₂O₂ 存在时参与苯氧自由基和醌的氧化还原反应,在水解阶段完成对纤维素和半纤维素等的降解。这些酶系间的协同降解过程见图 3^[38-40]。

1.4 外界条件对降解效果的影响

白腐菌代谢产酶能力受含氧率(料液比)、培养基成分(碳源、氮源、维生素及矿物质元素等)、pH 值、温度、缓冲成分、底物浓度以及培养方式等因素影响,这些因素的改变会影响其对木质纤维素的降解效率。具体影响因素见表 1^[41]。

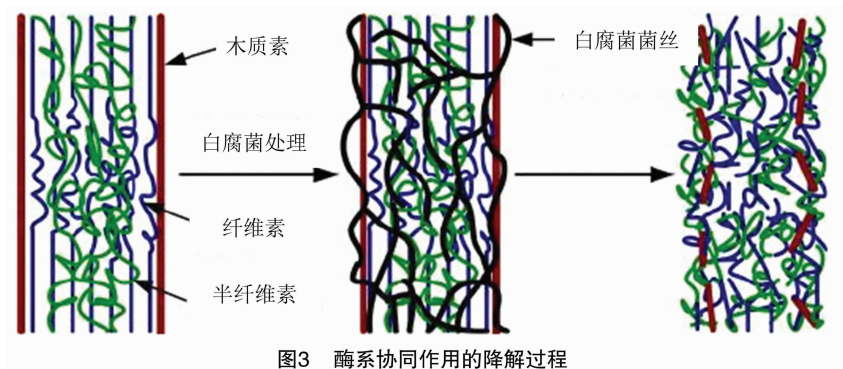


图3 酶系协同作用的降解过程

2 白腐菌降解木质纤维素应用研究

2.1 饲料生产应用研究

白腐菌在饲料生产中的普遍效果在于降低粗纤维含量、提高粗蛋白质含量等,从而增加饲料适口性和动物采食量。张辉等研究表明,白腐真菌对

油菜秸秆的降解效果极显著,发酵第 20 d 时,油菜秸秆的降解率最高达 58.07%,可利用白腐真菌降解秸秆和发酵生产蛋白质饲料的特点,进行混菌发酵生产蛋白质饲料^[42];韦丽敏等研究了 6 种白腐真菌的产酶能力及对稻草的降解效果,结果表明,黄孢原毛平革菌的酶活力最高,降解效果较好,尤其

表 1 影响白腐菌降解木质纤维素的外界条件

影响因素	影响方式	改善措施
氧	降解需氧作电子受体;酶的作用需高氧环境	改善料液比、搅拌
pH 值	影响酶活性	一般 pH 值为 3.5 ~ 5.5
温度	影响产酶时间	一般视试验要求设定
表面活性剂	刺激酶的合成	添加、搅动
底物浓度	影响酶与底物的结合程度	底物过量
培养方式	影响菌体的生长及产酶	固态发酵
培养基成分	木质素的降解依赖于碳源;氮源过量,抑制木质素降解	一般是高碳低氮

是纤维素、半纤维素的降解率分别达到 42% 和 30%^[43];王雨琼等研究了白腐菌对玉米秸秆营养价值及抗氧化性能的影响,分别接种了 4 种侧耳属白腐菌于玉米秸秆,结果表明,各营养成分含量增加了 29.49% ~ 79.48%,干物质消化率增加了 6.57% ~ 90.08%,经发酵处理的秸秆作为抗氧化剂添加到动物饲料中可起到重要的调节作用,提高消化率^[44];曾凡清等利用白腐菌分解秸秆中的木质素提高粗蛋白质含量,经白腐菌与尿素共同处理的玉米秸秆粗蛋白质含量平均提高 180%,在白腐菌的单独作用下,平均降解木质素 33.4%^[45];霍春晓等通过单因素和正交试验得到最佳降解工艺组合并用于降解甘草渣,结果表明,其对木质素、纤维素及半纤维素降解率分别达 31.23%、39.57%、40.68%,为进一步对甘草渣的饲料化提供了理论依据^[46]。

2.2 降解堆肥应用研究

Hassen 等在麦秆上接种黄孢原毛平革菌进行堆肥,结果表明,堆制过程中干物质的损失量与菌的接种量成正比,接种 10 d 后木质素的降解率从 0.67% 提高到 12.51%^[47];黄丹莲等对接种白腐菌处理园林垃圾的堆肥做了系统研究,接种白腐菌的堆肥中木质素降解率迅速提高,在 12 d 达到最大值 13.4%,直到堆肥结束木质素总降解率达 43.86%^[48];王玲等在北京和山东的农田栽培西洋参上发酵玉米秸秆来改良土壤养分,均取得良好效果,结果表明,EM 菌发酵玉米秸秆施入农田,可以有效降低黑斑病的发病率和病情指数^[49];Gong 等在绿化废弃物堆肥中接种白腐菌,测定其对堆肥时间和堆肥质量的影响,结果表明,添加云芝(*Coriolus versicolor*)和黄孢霉(*Phanerochaete chrysosporium*)使木质素的降解率增加了 7.1%、8.2%,纤维素降解率增加了 10.6%、13.6%^[50];Voběrková 等对城市固体废物有机部分进行堆肥处理,在添加白腐菌堆肥

37 d 后与未接种堆肥相比,微生物酶活性和成品质量均有提高。这都说明接种一定量的白腐菌菌剂能有效地促进降解,利于堆肥化进行^[51]。

2.3 生物预处理应用研究

生物预处理是促纤维素和半纤维素水解、木质素裂解转化的主要途径,白腐菌的参与可有效降低木质纤维素组分内或组分间的分子聚合力、减少纤维素结晶度、破坏木质素结构,并释放更多酶解位点、加速催化裂解进程^[52-53]。Itoh 等分别用猪头孢子虫(*Ceriporiopsis subvermispora*)、鳞癣(*Dichomitus squalens*)、糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)和云芝处理山毛榉木屑,结果表明,经猪头孢子虫预处理后产生的乙醇最多,是未经处理试样的 1.6 倍^[30];近些年,Liu 等通过对黄孢原毛平革菌固态培养对玉米秸秆进行微生物预处理,结果表明,微生物预处理后玉米秸秆有较高的干质量损失,并将沼气产量提高 10.5% ~ 19.7%,将 CH₄ 产量提高 11.7% ~ 21.2%^[54];Wu 等利用白腐菌生物预处理的杨木刨花生产了不含黏合剂的环保纤维板,并研究了代谢产物和木质纤维素成分与纤维板的弯曲强度的相关性,使得这种材料的生产更加环保,并消除潜在的甲醛排放^[55];Fang 等研究了白腐真菌对富木质素的材料进行预处理,以提高发酵挥发性脂肪酸的产量,结果表明,挥发性脂肪酸的生产效率受菌株和底物的影响,经预处理后的木素降解效果较好,且挥发性脂肪酸产量最高,比对照和未预处理前分别提高了 60%、74%^[56]。

3 展望

白腐菌作为模式降解菌,在基础研究和应用领域中独具优势,酶活力提高是发挥其降解应用价值的关键。石亚攀等研究不同诱导剂对漆酶的诱导效果,通过 12 种不同诱导剂进行单因素试验和组合

试验,结果表明,单独添加诱导剂时酶活性是初始产酶培养基酶活性的 13.0 倍和 13.7 倍,而 2 种诱导剂组合时比单独使用其中 1 种诱导剂的效果更好,是初始培养条件酶活性的 24.9 倍^[57];Nurika 等的研究表明,铜在白腐菌产生漆酶的过程中,能诱导漆酶和锰过氧化物酶活性,促进过氧化氢和草酸生成^[58],也有报道称在木质纤维素降解过程中添加金属,也使酶的活性提高^[59]。

另外,能提高酶系协同作用的复合微生物体构建也是实现白腐菌高效降解效果的有效手段。焦有宙等选取了一些木质纤维素降解优势土著菌,在菌种间的拮抗试验后进行复合菌系构建培养,对玉米秸秆的降解能力进行了测定,结果表明,白腐菌复合菌系对纤维素、半纤维、素木质素的降解率分别为 36.38%、48.53%、40.11%,在提高木质素降解率的同时减少了纤维素消耗^[60];de Lima 等利用 3 种不同的植物基质,从森林土壤中培育出 4 种木质纤维素降解复合菌体,利用不同的植物生物量来源产生特定降解木质纤维素的微生物群,结果表明,SG 处理的木质素降解率最高,而纤维素降解率最高的是 WS1 处理,CS 对半纤维素降解效率最高^[61];菌系构建结果表明,白腐菌参与的组合菌系较其单一菌株降解效率高,5、10、15 d 时降解失质量率分别提高了 151.94%、73.21%、67.49%^[62]。

4 结束语

构建以白腐菌为核心的酶解菌系是实现园林生物质快速降解、高效利用的有效途径。作为木质纤维素生物酶解的模式菌,白腐菌已广泛应用于农业资源环境领域。然而,白腐菌的酶间作用机制,尤其对木质素的氧化裂解机制还有待深入研究。未来,有关高表达酶基因调控和响应因子筛选仍是白腐菌功能开发的重点,也是实现其生物农业应用、加快生态系统物质循环的关键。

参考文献:

- [1] 黄生林. 滨海盐碱地景观绿化植物研究[D]. 杭州:浙江大学,2013.
- [2] 崔俊阳,杨俊红,雷万宁,等. 生物质成型燃料制备及燃烧过程添加剂应用及研究进展[J]. 化工进展,2017,36(4):1247-1257.
- [3] Brandt A, Chen L, van Dongen B E, et al. Structural changes in lignins isolated using an acidic ionic liquid water mixture[J]. Green Chemistry, 2015, 17(11):5019-5034.
- [4] Malherbe S, Cloete T E. Lignocellulose biodegradation; fundamentals and applications [J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2002, 1(2):105-114.
- [5] Zhu J Y, Zhuang X S. Conceptual net energy output for biofuel production from lignocellulosic biomass through biorefining [J]. Progress in Energy and Combustion Science, 2012, 38(4):583-598.
- [6] Kristensen J B, Felby C, Jørgensen H. Yield - determining factors in high - solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose [J]. Biotechnology for Biofuels, 2009, 2(1):11.
- [7] Kirk T K, Cullen D. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white - rot fungi [EB/OL]. [2020-05-20]. <https://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1998/kirk98a.pdf>.
- [8] Tuomela M, Hatakka A, Raikila S, et al. Biodegradation of radiolabelled synthetic lignin (14C - DHP) and mechanical pulp in a compost environment [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 55(4):492-499.
- [9] Crawford R L. Lignin biodegradation and transformation [J]. FEMS Micro, 1981, 36(24):86-104.
- [10] 中野准三. 木质素的化学:基础与应用[J]. 高洁,译. 北京:轻工业出版社,1988.
- [11] Ander P. The cellobiose - oxidizing enzymes CBQ and CbO as related to lignin and cellulose degradation—A review [J]. FEMS Microbiology Reviews, 1994, 13(2):297-311.
- [12] David P. Pollutant degradation by white rot fungi reviews of environmental contamination [J]. Tech & Biotechnol, 1994, 12(4):49-72.
- [13] Tien M. Properties of ligninase from *Phanerochaete chrysosporium* and their possible applications [J]. Critical Reviews in Microbiology, 1987, 15(2):141-168.
- [14] Michael H. Molecular biology of lignin - degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Microbiological Reviews, 1993, 57(3):605-622.
- [15] 任大军. 白腐菌对氮杂环化合物的降解及机理研究[D]. 武汉:华中科技大学,2006:9-14.
- [16] Tien M, Kirk T K. Lignin - degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* burds [J]. Science, 1983, 221(4611):661-663.
- [17] 余洪波. 三种类型木质纤维素的白腐菌降解异质性研究[D]. 武汉:华中科技大学,2007.
- [18] Collins P J, Dobson A, Field J A. Reduction of the 2,2' - azinobis (3 - ethylbenzthiazoline - 6 - sulfonate) cation radical by physiological organic acids in the absence and presence of manganese [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(6):2026-2031.
- [19] 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, 2002, 5(2):53-63.
- [20] Wang L S, Zhang Y Z, Yang H, et al. Quantitative estimate of the effect of cellulase components during degradation of cotton fibers [J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(4):819-824.
- [21] 陈洪洋, 蔡俊, 林建国, 等. 木聚糖酶的研究进展[J]. 中国酿

- 造,2016,35(11):1-6.
- [22] Rouches E, Herpoel - Gimbert I, Steyer J P, et al. Improvement of anaerobic degradation by white - rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass; a review [J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2016, 59: 179 - 198.
- [23] Zhou X W, Su K Q, Zhang Y M. Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 93 (3): 941 - 963.
- [24] Usha K Y, Praveen K, Reddy B R. Enhanced production of ligninolytic enzymes by a mushroom *Stereum ostrea* [J]. Biotechnology Research International, 2014: 815495.
- [25] Argyropoulos D S, Menachem S B. Lignin [M]. Berlin: Springer, 1998.
- [26] 范荣桂, 刘博, 王权程, 等. 白腐真菌固定化技术及其研究进展 [J]. 广东化工, 2011, 38(10): 65 - 66.
- [27] Ferraz A, Guerra A, Mendonça R, et al. Technological advances and mechanistic basis for fungal biopulping [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2008, 43(2): 178 - 185.
- [28] Christian V, Shrivastava R, Shukla D, et al. Mediator role of veratryl alcohol in the lignin peroxidase - catalyzed oxidative decolorization of Remazol Brilliant Blue R [J]. Enzyme and microbial technology, 2005, 36(2/3): 327 - 332.
- [29] Wesenberg D, Kyriakides I, Agathos S N. White - rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents [J]. Biotechnology Advances, 2003, 22(1/2): 161 - 187.
- [30] Itoh H, Wada M, Honda Y, et al. Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi [J]. Journal of Biotechnology, 2003, 103(3): 273 - 280.
- [31] Amirta R, Tanabe T, Watanabe T, et al. Methane fermentation of Japanese cedar wood pretreated with a white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispota* [J]. Journal of Biotechnology, 2006, 123(1): 71 - 77.
- [32] Matera I, Gullotto A, Tilli S, et al. Crystal structure of the blue multicopper oxidase from the white - rot fungus *Trametes trogii* complexed with p - toluate [J]. Inorganica Chimica Acta, 2008, 361(14): 4129 - 4137.
- [33] 李振华. 木质素降解过程中纤维二糖脱氢酶和漆酶协同作用的初步研究 [D]. 济南: 山东大学, 2009.
- [34] Bak J S. Lignocellulose depolymerization occurs via an environmentally adapted metabolic cascades in the wood - rotting basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* [J]. MicrobiologyOpen, 2015, 4(1): 151 - 166.
- [35] Salvachúa D, Martínez A T, Tien M, et al. Differential proteomic analysis of the secretome of *Irpex lacteus* and other white - rot fungi during wheat straw pretreatment [J]. Biotechnology for biofuels, 2013, 6(1): 115.
- [36] Hori C, Gaskell J, Igarashi K, et al. Temporal alterations in the secretome of the selective ligninolytic fungus *Ceriporiopsis subvermispota* during growth on aspen wood reveal this organism's strategy for degrading lignocellulose [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(7): 2062 - 2070.
- [37] Chen S, Zhang X, Singh D, et al. Biological pretreatment of lignocellulosics; potential, progress and challenges [J]. Biofuels, 2010, 1(1): 177 - 199.
- [38] 唐菊, 段传人, 黄友莹, 等. 白腐菌木质素降解酶及其在木质素降解过程中的相互作用 [J]. 生物技术通报, 2011(10): 32 - 36.
- [39] Valášková V, Šnajdr J, Bittner B, et al. Production of lignocellulose - degrading enzymes and degradation of leaf litter by saprotrophic basidiomycetes isolated from a *Quercus petraea* forest [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(10): 2651 - 2660.
- [40] Jiao J, Gai Q Y, Fu Y J, et al. Application of white - rot fungi treated *Fructus forsythiae* shell residue as a low - cost biosorbent to enrich forsythiaside and phillygenin [J]. Chemical Engineering Science, 2012, 74: 244 - 255.
- [41] 李阿敏, 李国庆, 常艳, 等. 白腐菌降解木质素的研究进展 (综述) [J]. 食药菌, 2015, 23(2): 95 - 101.
- [42] 张辉, 吴华, 兰洋. 白腐真菌降解油菜秸秆的效果 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(12): 2413 - 2415.
- [43] 韦丽敏, 史兆国, 张力, 等. 6 种白腐真菌的产酶能力及对稻草的降解效果 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 319 - 322.
- [44] 王雨琼, 周道玮. 白腐菌对玉米秸秆营养价值及抗氧化性能的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29(11): 4108 - 4115.
- [45] 曾凡清, 周天星, 陈琳. 白腐菌对玉米秸秆木质素降解的效果 [J]. 浙江农业科学, 2018, 59(12): 2274 - 2276.
- [46] 霍春晓, 李鑫, 成真锐, 等. 白腐菌降解甘草渣木质素及综纤维素工艺研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医: 2020(2): 87 - 90.
- [47] Hassen A, Belguith K, Jedidi N, et al. Microbial characterization during composting of municipal solid waste [J]. Bioresource Technology, 2001, 80(3): 217 - 225.
- [48] 黄丹莲, 曾光明, 胡天觉, 等. 白腐菌应用于堆肥处理含木质素废物的研究 [J]. 环境污染治理技术与设备, 2005, 6(2): 29 - 32.
- [49] 王玲. EM 菌发酵玉米秸秆条件优化及对人参黑斑病影响研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [50] Gong X, Li S, Sun X, et al. Maturation of green waste compost as affected by inoculation with the white - rot fungi *Trametes versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Environmental Technology, 2017, 38(7): 872 - 879.
- [51] Voběrková S, Vavěrková M D, Burešová A, et al. Effect of inoculation with white - rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste [J]. Waste Management, 2017, 61: 157 - 164.
- [52] Thomsen S T, Londoño J E, Ambye - Jensen M, et al. Combination of ensiling and fungal delignification as effective wheat straw pretreatment [J]. Biotechnology for Biofuels, 2016, 9: 16.
- [53] Ding C, Wang X, Li M. Evaluation of six white - rot fungal pretreatments on corn stover for the production of cellulolytic and ligninolytic enzymes, reducing sugars, and ethanol [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(14): 5641 - 5652.

左映平,孙国勇. 生物散斑激光技术及在生鲜农产品品质控制中的应用[J]. 江苏农业科学,2021,49(5):45-50.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.05.008

生物散斑激光技术及在生鲜农产品品质控制中的应用

左映平,孙国勇

(茂名职业技术学院化学工程系,广东茂名 525000)

摘要:生物散斑激光技术与 Fujii 法、绝对值差法、惯性矩法、广义差法等定性定量分析方法相结合,可用于判断果蔬瘀伤、果蔬成熟过程生化变化、肉类品质、种子活力和果蔬真菌菌落感染程度等,该方法快速、简便、经济,可以保证生鲜农产品的质量和安全。对生物散斑激光技术的原理、计算方法、在生鲜农产品品质控制中的应用及面临的挑战进行综述,以期生物散斑激光技术在生鲜农产品品质控制中的应用实践提供参考。

关键词:生物散斑激光技术;果蔬保鲜;生鲜农产品;品质控制

中图分类号: S123 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)05-0045-06

生鲜农产品包括生鲜果蔬及生鲜肉类,由于受到机械伤、呼吸作用或微生物污染等影响,生鲜果蔬在采摘、运输和加工处理过程中非常容易变质,从而丧失货架期^[1]。若贮藏方式或加工方式不当,生鲜肉类的成熟反应和微生物生长就会加速,因此,对生鲜农产品从种植、养殖基地到餐桌期间的品质保障至关重要^[2]。依据光学、超声、电学和声学特性原理,用于生鲜农产品无损检测的光学检测方法包括显微镜、激光散斑、功能化原子力显微镜、多普勒光谱、高光谱成像技术、振动光谱技术、图像分析等。这些方法可用于生鲜农产品品质、内部缺

陷、口感、含糖量等的检测^[3],几种适用于生鲜农产品的无损检测方法见表 1^[4]。

生物散斑激光技术属于光学检测技术之一,近年来在生鲜农产品品质控制领域被广泛研究,包括鉴定果蔬机械伤、成熟度和成熟变化、肉类成熟、种子活力、真菌菌落感染等,该技术也被用于评估黏弹性食品的光学和动态性能^[5]。

1 生物散斑激光技术原理

生物散斑激光技术原理见图 1^[6],其主要设备是激光器、电荷耦合器件 (CCD) 相机、计算机等。首先,激光器发射激光照射生鲜农产品样品的表面及内部,产生相干激光,由于受到背向散射光的干扰,在观测平面上产生散斑图。通过光的反射、透射等方式,CCD 相机获取到生物散斑图像后传输到

收稿日期:2020-07-01

作者简介:左映平(1981—),女,湖南双峰人,硕士研究生,讲师,主要从事农产品综合利用与深加工研究。E-mail: zuoyingping@aliyun.com。

[54] Liu S, Wu S, Pang C, et al. Microbial pretreatment of corn stovers by solid-state cultivation of *Phanerochaete chrysosporium* for biogas production[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 172(3): 1365-1376.

[55] Wu J G, Chen C Y, Zhang H Y, et al. Eco-friendly fiberboard production without binder using poplar wood shavings bio-pretreated by white rot fungi *Coriolus versicolor* [J]. Construction and Building Materials, 2020, 236: 117620.

[56] Fang W, Zhang X, Zhang P, et al. Evaluation of white rot fungi pretreatment of mushroom residues for volatile fatty acid production by anaerobic fermentation: feedstock applicability and fungal function[J]. Bioresource Technology, 2020, 297: 122447.

[57] 石亚攀, 池玉杰, 于存. 偏肿革菌产漆酶活性的诱导[J]. 林业科学, 2016, 52(12): 150-155.

[58] Nurika I. The pattern of lignocellulose degradation from cacao pod

using the brown rot (*Serpula lacrymans*) and white rot (*Schizophyllum commune*) fungi [J]. Earth and Environmental Science, 2019, 230(1): 12080.

[59] Vrsanska M, Buresova A, Damborsky P, et al. Influence of different inducers on ligninolytic enzyme activities [J]. Journal of Metallomics and Nanotechnologies, 2015, 3: 64-70.

[60] 焦有宙, 高赞, 李刚, 等. 不同土著菌及其复合菌对玉米秸秆降解的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(23): 201-207.

[61] de Lima B M J, Jiménez D J, Cortes-Tolalpa L, et al. Soil-derived microbial consortia enriched with different plant biomass reveal distinct players acting in lignocellulose degradation [J]. Microbial Ecology, 2016, 71(3): 616-627.

[62] 路强强, 赵叶子, 陈智坤, 等. 城市园林废弃物中纤维素高效降解微生物菌系的构建[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(6): 272-277.