

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.20260302001

黄孢原毛平革菌 BZ103 液体与固体发酵降解小麦秸秆效能比较

王馨宜¹, 徐海舟², 刘舒欣¹, 陈曦², 张殿朋³, 赵洪新^{1*}

(1. 浙江理工大学 生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310018;

2. 温州市乡村振兴发展中心, 浙江 温州 325000;

3. 北京市农林科学院 植物保护研究所, 北京 100097)

摘要: 农业秸秆的绿色生物转化利用对减少环境污染和农业废弃物资源利用具有重要意义。本研究以黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) BZ103 菌株为对象, 比较其在液体发酵与固体发酵条件下对小麦秸秆的酶系表达、木质纤维素组分降解及秸秆结构变化特征。结果表明: BZ103 液体发酵更利于木质素降解酶的表达, 锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶最高酶活分别为 1 415 U/g 和 1 784 U/g, 12 d 时木质素降解率为 40.34%, 显著高于固体发酵的 34.14%; 固体发酵则更有利于部分纤维素降解酶在前中期的表达, 葡聚糖内切酶和 β -葡萄糖苷酶最高酶活分别为 4.8 U/g 和 9.1 U/g, 均高于液体发酵。扫描电子显微镜、衰减全反射傅里叶变换红外光谱与 X 射线衍射分析表明, BZ103 液体发酵对秸秆表层结构破坏更快, 木质素相关特征官能团衰减更明显; 固体发酵对纤维素相关特征结构及结晶区影响更强, 结晶度指数降至 38.07%, 低于液体发酵的 40.64%。结果表明, 在本研究条件下, BZ103 液体发酵具有更好的选择性脱木质素作用, 而固体发酵则更有利于纤维素结构松散化。本研究为基于黄孢原毛平革菌 BZ103 的小麦秸秆资源化利用的生物预处理工艺选择提供了实验依据。

关键词: 小麦秸秆; 黄孢原毛平革菌; 选择性脱木质素; 木质素降解酶; 发酵方式

中图分类号: Q93

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2026)04-0372-09

Comparison of wheat straw degradation by *Phanerochaete chrysosporium* BZ103 under submerged and solid-state fermentationWANG Xinyi¹, XU Haizhou², LIU Shuxin¹, CHEN Xi², ZHANG Dianpeng³, ZHAO Hongxin^{1*}

(1. College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, Zhejiang, China;

2. Wenzhou Rural Revitalization and Development Center, Wenzhou 325000, Zhejiang, China;

3. Institute of Plant Protection, Beijing Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: The green bioconversion of agricultural straw is of great significance for reducing environmental pollution and promoting the resource utilization of agricultural waste. In this study, *Phanerochaete chrysosporium* BZ103 was used to compare enzyme expression, lignocellulosic component degradation, and structural changes in wheat straw under submerged fermentation (SmF) and solid-state fermentation (SSF). The results showed that SmF was more favorable for the expression of lignin-degrading enzymes, with the maximum activities of manganese peroxidase and lignin

收稿日期: 2026-03-02 修回日期: 2026-07-23 接受日期: 2026-08-24

作者简介: 王馨宜(1999-), 女, 硕士生, 研究方向为资源微生物的开发和利用, E-mail: wxy101723@163.com

* 通信作者: 赵洪新(1967-), 男, 博士, 教授, 主要从事资源微生物、生物化工、合成生物学方面的研究, E-mail: hxzhao2014@zstu.edu.cn

基金项目: 北京市食用菌创新团队项目(BAIC03-19-2026); 浙江省产业技术团队项目(浙农科发[2025]5号)

引用格式: 王馨宜, 徐海舟, 刘舒欣, 等. 黄孢原毛平革菌 BZ103 液体与固体发酵降解小麦秸秆效能比较[J]. 生物资源, 2026, 48(4): 372-380.

Wang X Y, Xu H Z, Liu S X, et al. Comparison of wheat straw degradation by *Phanerochaete chrysosporium* BZ103 under submerged and solid-state fermentation [J]. Biotic Resources, 2026, 48(4): 372-380.

peroxidase reaching 1 415 U/g and 1 784 U/g, respectively. After 12 d of fermentation, the lignin degradation rate under SmF reached 40.34%, which was significantly higher than that under SSF (34.14%). In contrast, SSF was more favorable for the expression of some cellulolytic enzymes during the early and middle stages of fermentation, with the maximum activities of endoglucanase and β -glucosidase reaching 4.8 U/g and 9.1 U/g, respectively, both higher than those under SmF. Scanning electron microscopy (SEM), attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), and X-ray diffraction (XRD) analysis showed that SmF caused faster disruption of the straw surface structure and more pronounced attenuation of lignin-related characteristic functional groups, whereas SSF exerted a stronger effect on cellulose-related structural features and crystalline regions, with the crystallinity index decreasing to 38.07%, lower than that under SmF (40.64%). These results indicate that, under the conditions of this study, SmF shows a more pronounced selective delignification effect, whereas SSF is more favorable for the loosening of cellulose structure. This study provides an experimental basis for selecting suitable biological pretreatment strategies for the wheat straw resource utilization by *P. chrysosporium* BZ103.

Key words: wheat straw; *Phanerochaete chrysosporium*; selective delignification; lignin-degrading enzymes; fermentation mode

0 引言

中国每年秸秆(straw)产量超过8亿吨^[1],其中小麦秸秆资源量在2020年达 1.66×10^8 t,在黄淮海地区的农田废弃物中占比超35%,是北方农田主要农业废弃物之一^[2]。传统焚烧处理方式不仅造成了资源浪费,还会向大气中释放大量的烟尘、温室气体及有害污染物如氮氧化物、多环芳烃等^[3-4],加剧了灰霾天气与温室效应,对人体健康构成威胁。因此,如何实现农业秸秆废弃物的绿色生物降解与转化,对实现农业绿色循环发展与“双碳”目标达成具有重要现实意义。

农业秸秆的核心成分——木质纤维素(lignocellulose),是由纤维素、半纤维素和木质素3种高分子聚合物,通过物理缠绕和化学键连接形成复杂、致密的三维网状结构组成。其中,纤维素形成结晶化的微纤维束,提供机械强度;半纤维素作为无定形基质,起连接作用;而木质素则作为一种疏水性芳香族聚合物,填充并包裹在纤维素和半纤维素周围,形成一道天然的“屏障”^[5]。这种复杂的交联结构,使得木质纤维素抗生物降解性极强,在自然条件下分解缓慢。现有的物理化学预处理方法如机械粉碎、酸碱处理等,不但成本高、能耗大,还易带来二次污染等问题^[6];而基于微生物的生物转化策略具有条件温和、环境友好、能耗低、底物损失少、绿色环保等优点,备受研究者关注。秸秆可通过预处理、酶解和发酵转化为燃料乙醇等生物基产品,具有良好的资源化利用前景^[7-8]。由于预处理效果直接关系到纤维素的可及性及后续糖化发酵效率^[9],开发高效、选择性强的生物预处理技术尤为关键。

白腐真菌(white rot fungus)是一类在代谢过程

中,可分泌由木质素过氧化物酶(lignin peroxidase, LiP)、锰过氧化物酶(manganese peroxidase, MnP)及漆酶(laccase, Lac)组成的复合酶系^[10-11],能将木质素彻底降解为二氧化碳和水的微生物类群,具有强大的木质素降解能力和广泛的底物适应性,在农林废弃物生物转化、有机污染物降解清除等方面具有巨大潜力^[12]。白腐真菌中,LiP产生底物阳离子自由基,引发木质素降解;MnP将 Mn^{2+} 氧化为 Mn^{3+} ,参与木质素降解及污染物处理;而Lac不需要辅助因子,即可催化酚类、芳香胺、脂肪胺等化合物的氧化,从而降解木质素^[13]。黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)是白腐真菌的模式菌株,具有十分发达的菌丝体^[14],不但具有高效的降解能力和生物吸附能力,对重金属污染的农业废物、废水和有毒有机污染物处理具有极大的应用潜力^[15-18]。因此,从自然环境中寻找和挖掘高活性黄孢原毛平革菌,是研究者关注的研究方向。

本研究以温州市郊枯树中分离获得的黄孢原毛平革菌BZ103^[19]为研究对象,以小麦秸秆为底物,围绕发酵方式如何影响黄孢原毛平革菌酶系表达及其对秸秆组分的选择性降解这一问题展开研究。通过比较液体发酵(submerged fermentation, SmF)与固体发酵(solid-state fermentation, SSF)条件下关键木质素降解酶和纤维素降解酶的动态变化,结合木质素、纤维素和半纤维素降解率分析,阐明酶活变化与底物组分降解之间的关系;进一步借助扫描电子显微镜(SEM)、衰减全反射傅里叶变换红外光谱(ATR-FTIR)和X射线衍射(XRD)分析秸秆表面形貌、官能团及结晶结构变化,在不同发酵方式下降解小麦秸秆的差异特征,并为其生物预处理工艺选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

出发菌株:黄孢原毛平革菌BZ103,由浙江理工大学微生物实验室提供。

实验材料:小麦秸秆,购自江苏南通农村。

小麦秸秆前处理:水浸泡24 h、换水3次,烘干,粉碎,60目过筛,121℃高压蒸汽灭菌20 min,备用。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)按常规配制(马铃薯提取液200 g/L、葡萄糖20 g/L、磷酸二氢钾3 g/L、七水硫酸镁1.5 g/L、维生素B1 0.01 g/L、琼脂18 g/L)。马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB)除不加琼脂外,其余成分与PDA培养基相同。

微量元素溶液参照NTA(氨基三乙酸)体系配制:七水硫酸镁3.0 g/L,一水硫酸锰0.5 g/L,氯化钠1.0 g/L,七水亚硫酸铁0.1 g/L,五水硫酸铜0.1 g/L,六水氯化钴0.18 g/L,十二水硫酸铝钾0.01 g/L,二水钼酸钠0.01 g/L,氨基三乙酸1.5 g/L。

液体发酵培养基组成为葡萄糖10 g/L,酒石酸铵0.2 g/L,磷酸二氢钾2.0 g/L,七水硫酸镁0.5 g/L,氯化钙0.01 g/L,维生素B1 1.0 mg/L,微量元素溶液70 mL/L,0.1 mol/L醋酸-醋酸铵缓冲液(pH 4.5)100 mL/L,以蒸馏水定容至所需体积。

1.3 菌株活化与发酵培养

从-80℃取出保藏的黄孢原毛平革菌BZ103菌株,接种于PDA平板,28℃培养5至7 d,以无菌水洗脱孢子并调整至 10^6 个/mL,按体积比5%接入PDB,28℃、200 r/min振荡培养48 h,制得种子液。

液体发酵:在250 mL锥形瓶中加入100 mL液体发酵培养基与3 g小麦秸秆粉末,121℃灭菌20 min,冷却后接入2 mL种子液,30℃、200 r/min振荡培养。

固体发酵:在250 mL锥形瓶中加入3 g长约1.5 cm小麦秸秆,并加入6 mL液体发酵培养基润湿,灭菌后接入2 mL种子液,30℃、相对湿度80%静置培养。

两种发酵分别于第2天、第4天、第6天、第8天、第10天、第12天取样,每组设3个平行。

1.4 生物量测定

1)液体发酵生物量的测定。液体发酵样品经40目筛分离菌丝球后,用蒸馏水充分洗涤,除去附着的秸秆粉末及培养液残留物,于50℃烘干至恒重后称量,菌体干重作为液体发酵生物量。

2)固体发酵生物量的测定。由于固体发酵体系中菌丝体与秸秆基质紧密附着,难以直接分离称量,

故采用麦角固醇法间接测定生物量。固体发酵样品经70℃烘干、粉碎后,称取0.3 g样品进行碱性甲皂化,并以正庚烷萃取麦角固醇,取萃取液用95%乙醇稀释后测定282.5 nm处吸光度。依据麦角固醇标准曲线($y=0.02378+23.4562x$)计算麦角固醇含量,再结合纯菌丝体重量标准曲线($y=-0.00328+0.41237x$)计算得到固体发酵生物量。

1.5 粗酶液制备

液体发酵粗酶液制备:取各时间点发酵液,4 500 r/min离心5 min,收集上清;再4℃、8 000 r/min离心10 min,取最终上清液作为粗酶液。

固体发酵粗酶液制备:取各时间点固体发酵物,加入100 mL 50 mmol/L醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0),30℃、200 r/min振荡提取1 h。提取液先于4 500 r/min离心5 min,取上清;再4℃、8 000 r/min离心10 min,取最终上清液作为粗酶液。

1.6 酶活测定

以粗酶液为酶源,采用分光光度法测定MnP、LiP、Lac、羧甲基纤维素酶(CMCase)、滤纸酶(filter paperase, FPase)和 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, β -G)活性。各反应均设置1个空白对照,每个样品平行测定3次。

1)MnP活性测定。MnP活性参照 Mn^{2+} 氧化法测定。反应体系为:50 mmol/L乳酸-乳酸钠缓冲液(pH 4.5)3.4 mL、1.6 mmol/L硫酸锰溶液0.1 mL和粗酶液0.4 mL,于30℃预温后加入3.2 mmol/L过氧化氢溶液0.1 mL启动反应。反应2 min后测定240 nm处吸光度变化值(ΔOD_{240})。消光系数 $\epsilon_{240}=6.5 \times 10^3$ L/(mol·cm),MnP活性按下式计算:

$$\text{酶活力(U/g)} = \frac{\Delta OD \times V_{\text{总}} \times n \times m}{\Delta t \times V_{\text{酶}} \times \epsilon \times 10^{-6}} \quad (1)$$

式中, ΔOD 为吸光度变化值; $V_{\text{总}}$ 为反应体系总体积(mL); n 为稀释倍数; m 为浸提每克小麦秸秆的缓冲液体积(mL/g); Δt 为反应时间(min); $V_{\text{酶}}$ 为反应体系内稀释的酶液体积(mL); ϵ 为消光系数。

2)LiP活性测定。LiP活性参照藜芦醇法测定。反应体系为:50 mmol/L酒石酸钠缓冲液(pH 4.5)2.7 mL、10 mmol/L藜芦醇溶液0.1 mL和粗酶液0.1 mL,于30℃预温后加入20 mmol/L过氧化氢溶液0.1 mL启动反应。反应2 min后测定310 nm处吸光度变化值(ΔOD_{310})。LiP活性按式(1)计算,消光系数 $\epsilon_{310}=9.3 \times 10^3$ L/(mol·cm)。

3)漆酶(Lac)活性测定。Lac活性参照2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)法测定。反应体系为:50 mmol/L醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)

2.7 mL、1 mmol/L 2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)溶液 0.1 mL 和粗酶液 0.1 mL,于 30 ℃ 预温后加入 20 mmol/L 过氧化氢溶液 0.1 mL 启动反应。反应 2 min 后测定 420 nm 处吸光度变化值 (ΔOD_{420})。Lac 活性按式(1)计算,消光系数 $\epsilon_{420} = 3.6 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。

4)CMCase 活性测定。CMCase 活性以羧甲基纤维素钠(CMC-Na)为底物,采用 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid,DNS)法测定。反应体系为 2% 质量浓度 CMC-Na 底物溶液 1 mL 和粗酶液 1 mL,其中底物溶液由 50 mmol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)配制而成,反应体系于 50 ℃ 水浴中反应 30 min 后,加入 DNS 试剂 3 mL 终止反应,沸水浴显色 10 min,冷却后用蒸馏水定容至 25 mL,于 540 nm 处测定吸光度。根据葡萄糖标准曲线($y = -0.00702 + 0.65738x$)计算还原糖生成量(以葡萄糖计),CMCase 活性按下式计算:

$$\text{酶活力(U/g)} = \frac{G \times n \times m}{\Delta t \times V \times 0.18} \quad (2)$$

式中, G 为反应中还原糖生成量(以葡萄糖计); n 为稀释倍数; m 为浸提每克小麦秸秆的缓冲液体积; V 为稀释后反应体系总体积; Δt 为反应时间。

5)FPase 活性测定。FPase 活性以滤纸条为底物,采用 DNS 法测定。反应体系为:规格为 1 cm × 6 cm 的滤纸条 1 张,完全浸没在 1 mL 50 mmol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)中,加入粗酶液 1 mL,于 50 ℃ 水浴反应 1 h 后,加入 DNS 试剂 3 mL 终止反应,沸水浴显色 10 min,冷却后用蒸馏水定容至 25 mL,于 540 nm 处测定吸光度。根据葡萄糖标准曲线计算还原糖生成量(以葡萄糖计),FPase 活性按式(2)计算。

6) β -G 活性测定。 β -G 活性以对硝基苯基- β -D-葡萄糖苷(pNPG)为底物进行测定。反应体系包括 5 mmol/L pNPG 底物溶液 1 mL 和 1 mL 粗酶液,其中底物溶液由 50 mmol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)配制而成,反应体系于 50 ℃ 水浴反应 10 min 后,加入 1 mol/L 碳酸钠溶液 2 mL 终止反应,用蒸馏水定容至 10 mL,于 405 nm 处测定吸光度。根据对硝基苯酚(pNP)标准曲线($y = 0.00121 + 1.80191x$)计算 pNP 生成量, β -G 活性按下式计算:

$$\text{酶活力(U/g)} = \frac{M \times n \times m}{\Delta t \times V \times 0.139} \quad (3)$$

式中, M 为反应中 pNP 生成量; n 为稀释倍数; m 为浸提每克小麦秸秆的缓冲液体积; V 为稀释后反应体系总体积; Δt 为反应时间。

1.7 木质纤维素含量测定

采用范式(Van Soest)分析法测定小麦秸秆中初始以及经过发酵后木质素、纤维素和半纤维素的含量^[20]。液体发酵样品直接取烘干后的秸秆粉末进行测定;固体发酵样品因含有菌体成分,需以扣除前文计算得到的菌丝体生物量后的实际秸秆干重作为计算基准。各组分含量均以原始样品干重计。

1)中性洗涤纤维(NDF)的测定。称取干燥样品粉末 1.0 g,记为 W_1 ;其中固体发酵样品的 W_1 为扣除菌体生物量后的实际秸秆干重。向样品中加入无水亚硫酸钠 0.5 g、中性洗涤剂 100 mL 和十氢萘 200 μL ,加热并保持微沸 1 h。反应结束后冷却并进行抽滤,滤渣以蒸馏水反复洗涤至无泡沫,再用丙酮洗涤,干燥至恒重,记为 M_1 。NDF 含量按下式计算:

$$\text{NDF} = M_1 / W_1 \quad (4)$$

2)酸性洗涤纤维(ADF)的测定。取所得中性洗涤后烘干残渣加入酸性洗涤剂 100 mL 和十氢萘 200 μL ,加热并保持微沸 1 h。反应结束后冷却,抽滤,滤渣以蒸馏水和丙酮依次洗涤后干燥至恒重,记为 M_2 。ADF 含量按下式计算:

$$\text{ADF} = M_2 / W_1 \quad (5)$$

3)酸不溶木质素(ADL)的测定。取所得酸性洗涤后残渣,加入少量 72% 硫酸充分浸润呈黑色糊状,于室温下反应 3 h。反应结束后抽滤,并用蒸馏水反复洗涤至中性,残渣干燥至恒重,记为 M_3 。随后置于 550 ℃ 马弗炉中灼烧 2 h 至恒重,灰分质量记为 M_4 。ADL、纤维素、半纤维素含量按下式计算:

$$\begin{cases} \text{ADL} = (M_3 - M_4) / W_1 \\ \text{纤维素} = \text{ADF} - \text{ADL} - (M_4 / W_1) \\ \text{半纤维素} = \text{NDF} - \text{ADF} \end{cases} \quad (6)$$

1.8 扫描电子显微镜分析

取固体及液体发酵 0 d、6 d、12 d 的样品用蒸馏水简单清洗,50 ℃ 条件下进行干燥后,将准备好的样品粘在导电胶上,喷金进行测试。在扫描电子显微镜下观察表面形态变化。

1.9 衰减全反射傅里叶变换光谱分析

样品处理与扫描电镜时处理相同,使用 Perkin-Elmer 400 FT-IR/FT-FIR 光谱仪上的金刚石/硒化锌晶体 ATR 附件获得光谱,扫描范围为 500 cm^{-1} ~ 4 000 cm^{-1} ,分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数 24 次,分析木质纤维素特定官能团的组成及降解前后官能团的变化情况。峰面积衰减百分比按下式计算:

$$\text{峰面积衰减百分比} = (A_0 - A_t) / A_0 \quad (7)$$

式中, A_0 为未发酵样品在对应特征波数处的吸收峰

面积; A_t 为发酵第 t 天后对应吸收峰面积。

1.10 X射线衍射分析

样品处理与扫描电镜时处理相同,使用Cu K α 辐射($\lambda=1.5406\text{ \AA}$)在DX 2700衍射仪上记录样品的粉末X射线衍射图,2 θ 角为 $5^\circ\sim 80^\circ$,采用Segal经验公式计算纤维素结晶度,阐明纤维素降解情况。

1.11 统计分析

所有实验均设置3个平行,结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。采用SPSS 26.0软件对组间差异进行独立样本 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 液体与固体发酵模式下关键酶系的表达规律比较

木质素降解酶在不同发酵条件下均表现出先升高后下降的动态变化趋势,但液体发酵条件下酶活整体更高(图1)。其中,液体发酵条件下MnP与LiP分别于第6天和第10天达到峰值,酶活分别为1415 U/g和1784 U/g,均高于固体发酵条件下的954 U/g和981 U/g。此后,MnP与LiP酶活均有所下降,但仍保持在相对较高水平。Lac活性在整个发酵周期中均低于50 U/g,表明其并非在本实验条件下BZ103降解木质素的主要功能酶。结合表1可

见,木质素降解率在6~12 d持续上升,表明虽然MnP酶活在第6天后开始下降,但前期较高的MnP酶活与持续升高至后期第10天的LiP酶活共同促进了木质素的持续降解。总体而言,液体发酵更有利于木质素降解酶的表达。

与木质素降解酶相比,纤维素降解酶在两种发酵条件下的变化规律存在一定差异,固体发酵在 β -G和CMCase部分纤维素降解酶的表达上更具优势(图2)。FPase的酶活在两种体系中的动态变化趋势较为接近,均在前期快速升高后趋于稳定,液体发酵和固体发酵的峰值分别为8.2 U/g和7.7 U/g,差异较小。固体发酵条件下 β -G与CMCase酶活分别于第6天和第8天达到峰值,分别为9.1 U/g和4.8 U/g,均高于液体发酵条件下的6.1 U/g和1.9 U/g。此后两者酶活均明显下降,其中 β -G在固体发酵末期已接近液体发酵水平,而CMCase虽在固体发酵中大幅下降,但最终仍高于液体发酵,这说明固体发酵更有利于纤维素降解酶在发酵中期的集中表达,但这一优势并未在后期持续扩大。

2.2 液体与固体发酵模式下小麦秸秆木质纤维素各组分降解规律比较

图3与表1显示,不同发酵方式对小麦秸秆各组分的降解表现出明显不同的时间累积特征。液体发

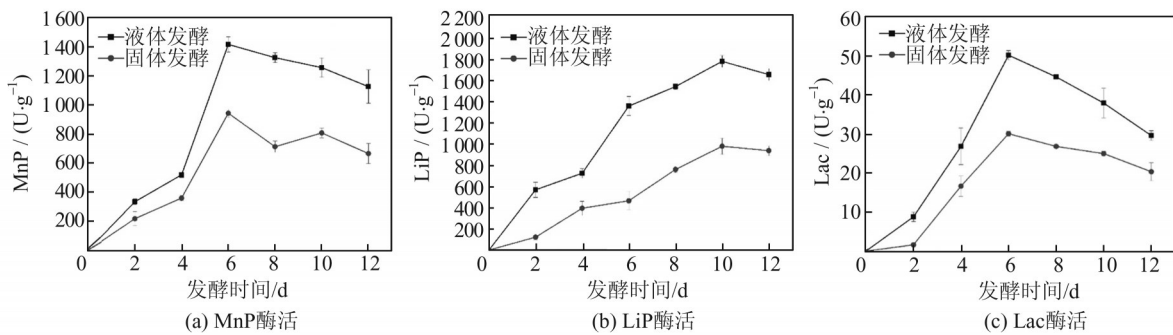


图1 小麦秸秆液体与固体发酵过程中木质素降解酶活性动态变化

Figure 1 Dynamic changes in lignin-degrading enzyme activities during submerged fermentation (SmF) and solid-state fermentation (SSF) of wheat straw

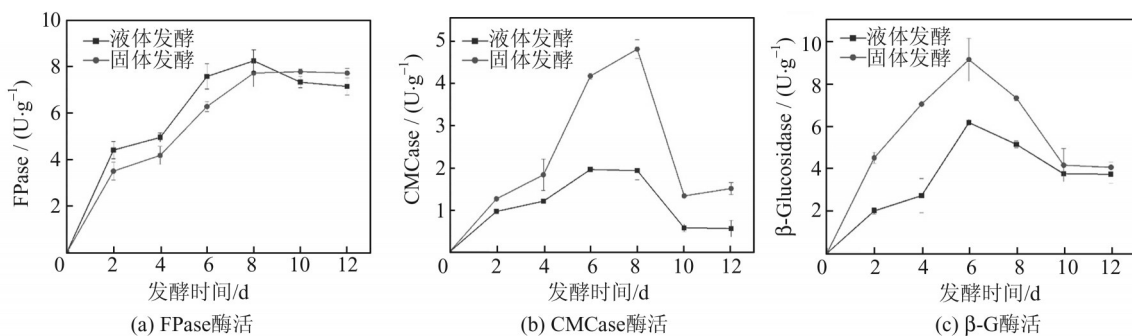


图2 小麦秸秆液体与固体发酵过程中纤维素降解酶活性动态变化

Figure 2 Dynamic changes in cellulolytic enzyme activities during SmF and SSF of wheat straw

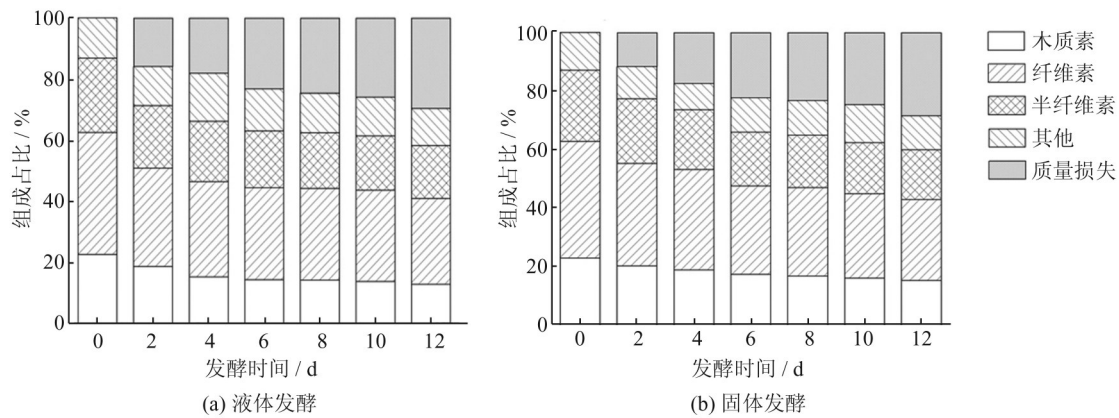


图3 小麦秸秆液体与固体发酵过程中木质纤维素组分变化

Figure 3 Changes in lignocellulosic components of wheat straw during SmF and SSF.

表1 小麦秸秆液体与固体发酵中木质纤维素组分降解率
Table 1 Degradation rates of lignocellulose components of wheat straw during SmF and SSF

类别	天数	降解率/%		
		木质素	纤维素	半纤维素
SmF	2	19.07±0.2 ^a	17.48±0.7 ^a	15.82±0.4 ^a
	4	26.12±2.5 ^a	19.94±1.1 ^a	18.29±0.5 ^a
	6	32.26±0.3 ^a	23.24±0.2 ^a	22.92±0.2 ^b
	8	35.64±0.1 ^a	23.63±0.4 ^a	23.63±0.3 ^b
	10	37.83±0.9 ^a	23.95±1.8 ^a	24.66±1.0 ^b
	12	40.34±1.2 ^a	31.42±0.1 ^a	30.15±0.4 ^a
SSF	2	12.08±2.0 ^b	12.25±0.1 ^b	12.79±0.2 ^b
	4	18.17±0.3 ^b	13.98±0.6 ^b	19.48±0.7 ^a
	6	25.01±1.3 ^b	23.98±0.8 ^a	23.81±0.2 ^a
	8	27.53±0.9 ^b	24.19±0.7 ^a	26.19±1.1 ^a
	10	30.48±2.1 ^b	27.50±2.1 ^a	28.02±0.9 ^a
	12	34.14±1.8 ^b	31.40±0.4 ^a	32.11±1.2 ^a

注:同一时间点同一组分的降解率在两种发酵方式之间差异显著时($P<0.05$),较高值后标注小写字母a,较低值后标注小写字母b;差异不显著时($P\geq 0.05$),用相同小写字母标注。

Note: When the degradation rates of the same component at the same time point show significant differences between the two fermentation methods ($P<0.05$), the higher value is marked with lowercase letter a and the lower value is marked with lowercase letter b; when differences are not significant ($P\geq 0.05$), the same lowercase letter is used.

醇在整个发酵过程中均表现出更高的木质素降解率,2~12 d始终高于固体发酵,且差值总体维持在约6%~8%,表明其在木质素去除上具有持续的累积优势。

相比之下,纤维素和半纤维素降解的差异更具有发酵时间依赖性。纤维素方面,液体发酵在前期(2~4 d)较高,而固体发酵自第6天起表现出阶段性优势,但至第12天两者最终降解率接近;半纤维素

方面,固体发酵自第4天后整体高于液体发酵。结合图2分析,固体发酵中 β -G和CMCase酶活虽在中期达到峰值后明显下降,但纤维素和半纤维素降解率在后续阶段仍继续上升,说明结构性多糖的降解率大小并不完全依赖于某一时点的瞬时酶活,而更可能体现为发酵中期较高酶活作用下的累积效应。

2.3 液体与固体发酵模式下小麦秸秆结构与组分降解的多尺度表征

扫描电子显微镜观察(图4)显示,液体发酵6 d时秸秆表面即出现明显孔洞与裂缝,12 d时结构松散;固体发酵同期表面侵蚀程度较轻,结构完整性相对保留。这表明液体发酵更快破坏秸秆表层屏障,而固体发酵对表面形貌的改变相对缓慢。

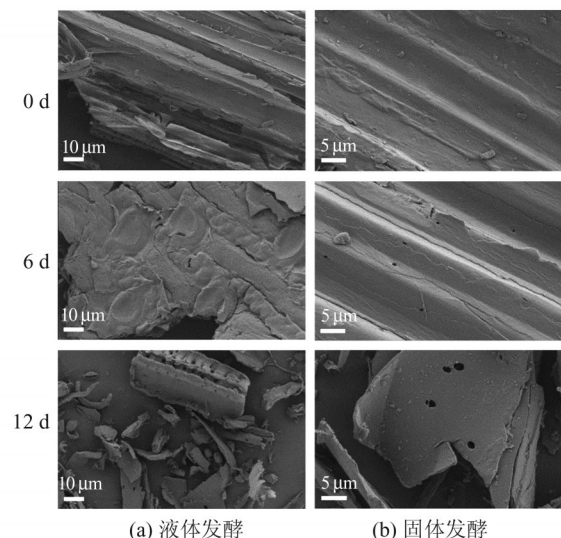


图4 液体和固体发酵过程中小麦秸秆的扫描电子显微镜结果
Figure 4 Scanning electron microscopy results of wheat straw during SmF and SSF

ATR-FTIR分析(图5和表2)表明,液体发酵对木质素特征峰(1423 cm^{-1} 、 1514 cm^{-1})的衰减幅度高于固体发酵,与其木质素高降解率结果一致;固

表 2 液体和固体发酵过程中小麦秸秆的衰减全反射傅里叶变换红外光谱特征吸收峰峰面积衰减百分比

Table 2 Percentages of peak area attenuation of ATR-FTIR characteristic absorption peaks of wheat straw during SmF and SSF

类别	天 数	特征吸收峰处波数/cm ⁻¹							
		897	1 100	1 158	1 363	1 423	1 514	1 734	
液体 发酵	6	10.2	13.6	14.1	8.7	16.7	12.7	10.6	
	12	26.6	33.3	25.3	19.9	32.6	33.2	28.9	
固体 发酵	6	12.2	13.6	17.1	15.9	13.1	14.1	9.1	
	12	25.6	30.4	38.7	25.5	28.8	30.4	24.6	

体发酵对纤维素相关特征峰(1 158 cm⁻¹、1 363 cm⁻¹)的衰减更为明显,该结果与前述酶系表达和组分降解规律相一致,进一步印证了酶系表达差异驱动的组分选择性降解特征,说明液体发酵更有利于木质素特征结构的去除,而固体发酵更有利于纤维素相关结构的削弱。

XRD 分析结果(图 6)显示,两种发酵后样品的

衍射峰整体变化趋势基本一致,但固体发酵处理后特征峰强度衰减更明显。根据 XRD 图谱并结合 Segal 经验公式计算,未经发酵处理的小麦秸秆纤维素结晶度指数为 47.75%,经液体发酵 12 d 后降至 40.64%,而固体发酵 12 d 后可降至 38.07%。上述结果表明,固体发酵对纤维素结晶区的破坏作用更强。

3 讨 论

白腐真菌降解木质纤维素的效率与其分泌的酶系密切相关。不同发酵方式通过改变菌体与底物的接触状态、传质条件及局部微环境,进而影响相关酶系的诱导表达和持续作用。本研究中,液体发酵更利于黄孢原毛平革菌 BZ103 木质素降解酶的表达,其中 MnP 和 LiP 峰值酶活均高于固体发酵,而 Lac 酶活始终处于较低水平,表明 BZ103 在本试验条件下主要依赖 MnP-LiP 的过氧化物酶系统介导木质素降解。这与已有研究^[11]关于不同白腐真菌对

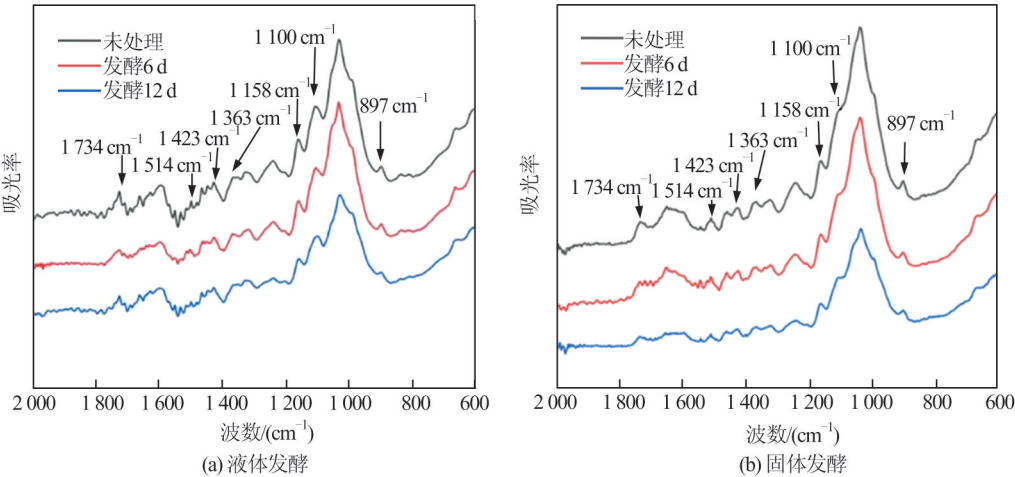


图 5 液体和固体发酵过程中小麦秸秆的衰减全反射傅里叶变换红外光谱图
Figure 5 ATR-FTIR spectra of wheat straw during SmF and SSF

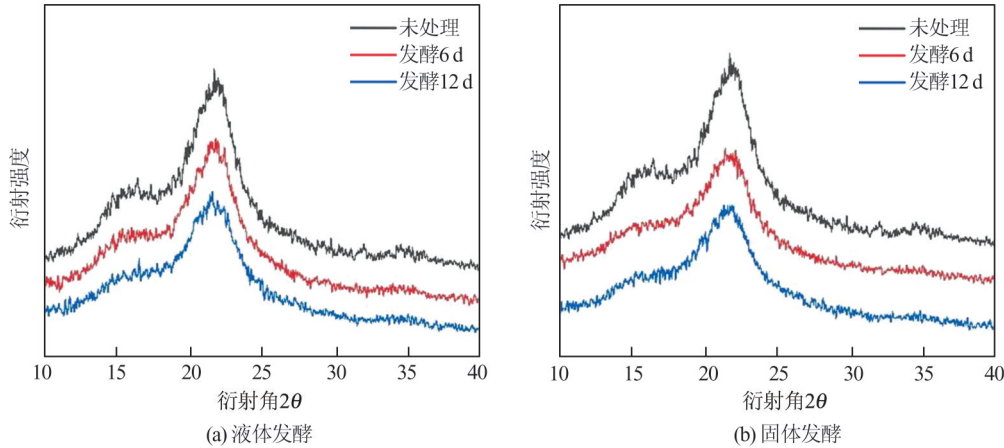


图 6 液体与固体发酵过程中小麦秸秆的 X 射线衍射图
Figure 6 XRD patterns of wheat straw during SmF and SSF

LiP、MnP 和 Lac 依赖程度存在差异的认识一致,提示 BZ103 在液体体系中具有较强的选择性脱木质素潜力。进一步结合酶活动态变化可见,MnP 在发酵中期达到较高水平后开始下降,而 LiP 在后期仍维持较强表达,说明木质素的持续降解并非由单一酶在某一时刻主导,而更可能是不同木质素降解酶在不同阶段连续作用的结果。即使部分酶活在后期下降,木质素降解率仍持续上升,也提示前期形成的氧化降解体系仍可在一定时期内延续其作用。

与木质素降解酶相比,固体发酵更有利于部分纤维素降解酶在前中期集中表达,尤其是 CMCase 和 β -G 的峰值均高于液体发酵。这一现象可能与固体基质提供了更接近天然木质纤维素生态位的界面环境有关,有利于菌丝附着并与纤维素底物持续接触,从而增强纤维素酶的诱导表达^[6]。需要注意的是,虽然 CMCase 和 β -G 酶活在中后期出现回落,但纤维素和半纤维素降解率仍继续增加,说明结构性多糖的去除更体现为阶段性高酶活基础上的累积效应,而不完全对应某一时间点的瞬时酶活水平。因此,固体发酵的优势主要体现在结构性多糖降解进程于中期的提前推进,而非最终累计降解率的显著提高。

在本研究条件下,BZ103 经液体发酵培养 12 d 后,木质素降解率达到 40.34%,高于固体发酵的 34.14%;而两种发酵方式在第 12 天时的纤维素降解率接近。与文献报道的部分经典选择性白腐真菌^[21]相比,BZ103 液体发酵在本研究条件下表现出较短处理周期和较好脱木质素效果。结合 SEM、ATR-FTIR 和 XRD 结果可见,液体发酵对秸秆表层结构破坏更快,木质素相关特征峰衰减更明显;固体发酵虽然最终纤维素降解率并未明显高于液体发酵,但其对纤维素相关特征峰及结晶区的影响更强。这说明两种发酵方式在作用重点上存在差异:在本研究条件下,液体发酵更突出木质素去除,而固体发酵更突出对纤维素有序结构的削弱。进一步看,液体发酵在 10~12 d 期间纤维素降解明显加快,提示当前体系在发酵后期可能由以脱木质素为主逐渐转向对结构性多糖的同步利用。这一变化可能与木质素屏障持续削弱后纤维素暴露度提高有关,因此,若以选择性脱木质素为目标,可将第 10 天前作为后续工艺优化的重点时间窗口。

还应指出的是,本研究中液体发酵和固体发酵所使用的秸秆形态并不完全一致:前者为粉末,后者为约 1.5 cm 短段。底物粒径差异可能影响菌丝附着方式、底物可及性和传质过程,从而在一定程度上

影响酶系表达强度及降解速率。因此,本文结果反映的是当前实验设置下两种发酵模式的综合表现。尽管如此,液体发酵偏向木质素去除、固体发酵偏向纤维素结构破坏的总体趋势,在酶活、组分降解以及结构表征结果之间具有较好一致性。

4 结 论

本研究系统比较了黄孢原毛平革菌 BZ103 在液体发酵与固体发酵条件下降解小麦秸秆过程中酶系表达、木质纤维素组分变化及结构演变特征。结果表明,在本研究条件下,液体发酵更有利于 MnP 和 LiP 等木质素降解酶的表达,第 12 天时木质素降解率达到 40.34%,高于固体发酵的 34.14%,表现出更明显的脱木质素特征;固体发酵则更有利于 CMCase 和 β -G 在发酵前中期的表达,并对纤维素相关特征结构及结晶区产生更强影响。综合酶活动态、组分降解规律及结构表征结果,液体发酵更适于以脱木质素为主要目标的小麦秸秆生物预处理,而固体发酵在促进纤维素结构松散化方面具有一定优势。本研究为黄孢原毛平革菌 BZ103 用于小麦秸秆生物预处理的工艺选择提供了实验依据。

参考文献

- [1] 中国农业农村部信息网. 肥料化、饲料化、能源化、基料化、原料化:我国形成秸秆多元利用新格局[EB/OL]. (2024-05-14)[2025-06-15]. http://www.agri.cn/zx/nyyw/202405/t20240514_8632898.htm.
China Agricultural Information Network. Fertilizer, feed, energy, substrate and raw material utilization: China has formed a new pattern of diversified straw utilization[EB/OL]. (2024-05-14)[2025-06-15]. http://www.agri.cn/zx/nyyw/202405/t20240514_8632898.htm.
- [2] 杨传文,邢帆,朱建春,等. 中国秸秆资源的时空分布、利用现状与碳减排潜力[J]. 环境科学, 2023, 44(2): 1149-1162.
Yang C W, Xing F, Zhu J C, et al. Temporal and spatial distribution, utilization status, and carbon emission reduction potential of straw resources in China[J]. Environmental Science, 2023, 44(2): 1149-1162.
- [3] 张恒,王柏杰,王飞. 内蒙古主要农作物秸秆燃烧释放烟气污染物研究[J]. 环境工程技术学报, 2022, 12(4): 1015-1021.
Zhang H, Wang B J, Wang F. Study on flue gas pollutants from burning of main crop straws in Inner Mongolia[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2022, 12(4): 1015-1021.

- [4] Wang L L, Jin X, Wang Q L, et al. Spatial and temporal variability of open biomass burning in Northeast China from 2003 to 2017 [J]. *Atmospheric and Oceanic Science Letters*, 2020, 13(3): 240-247.
- [5] Chen H Z. Chemical composition and structure of natural lignocellulose [M]//*Biotechnology of Lignocellulose*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014: 25-71.
- [6] Ahmed S F, Mofijur M, Chowdhury S N, et al. Pathways of lignocellulosic biomass deconstruction for biofuel and value-added products production[J]. *Fuel*, 2022, 318: 123618.
- [7] Song G J, Hu W H, Zhang E Z, et al. Polyethylene glycol-driven lignin-first biorefinery: a pathway for efficient conversion of lignocellulose to ethanol, furfural, and lignin-derived solid electrolytes[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2025, 515: 163530.
- [8] 胡敏, 何昌义. 我国秸秆生物转化燃料酒精研究现状[J]. *生物资源*, 2006, 28(3): 36-40.
- Hu M, He C Y. Recent advances in study of producing fuel ethanol by bio-conversion of straw[J]. *Biotic Resources*, 2006, 28(3): 36-40.
- [9] Sun W, Li X Z, Zhao J, et al. Pretreatment strategies to enhance enzymatic hydrolysis and cellulosic ethanol production for biorefinery of corn stover[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(21): 13163.
- [10] 孙雨, 张海伦, 王文博, 等. 漆酶的功能特性与微生物生产研究进展[J]. *微生物前沿*, 2023, 12(4): 121-129.
- Sun Y, Zhang H L, Wang W B, et al. Advances in the function and properties of laccase and its microbial production[J]. *Advances in Microbiology*, 2023, 12(4): 121-129.
- [11] Hatakka A. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1994, 13(2/3): 125-135.
- [12] Rodríguez-Couto S. Industrial and environmental applications of white-rot fungi[J]. *Mycosphere*, 2017, 8(3): 456-466.
- [13] Arora D S, Sharma R K, Chandra P. Biodelignification of wheat straw and its effect on *in vitro* digestibility and antioxidant properties[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, 65(2): 352-358.
- [14] Wohlschlager L, Csarman F, Zrilić M, et al. Comparative characterization of glyoxal oxidase from *Phanerochaete chrysosporium* expressed at high levels in *Pichia pastoris* and *Trichoderma reesei*[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2021, 145: 109748.
- [15] Suzuki H, Mori R, Kato M, et al. Biochemical characterization of hydroquinone hydroxylase from *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2023, 135(1): 17-24.
- [16] 陈中维, 杨锐, 李宁杰, 等. 黄孢原毛平革菌产漆酶优化培养及其对刚果红的脱色降解[J]. *菌物学报*, 2021, 40(6): 1538-1548.
- Chen Z W, Yang R, Li N J, et al. Optimization of culture conditions for laccase production of *Phanerochaete chrysosporium* and efficiency of the laccase in Congo Red degradation[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(6): 1538-1548.
- [17] Li N J, Lan Q, Wu J H, et al. Soluble microbial products from the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* as the bioflocculant for municipal wastewater treatment[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 780: 146662.
- [18] Zhuo R, Fan F F. A comprehensive insight into the application of white rot fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 778: 146132.
- [19] Liu S X, Liu T, Chen J L, et al. ARTP mutagenesis of *Phanerochaete chrysosporium* BZ103 to enhance laccase activity and transcriptomic analysis of the mutants[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2025, 35: e2502014.
- [20] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583-3597.
- [21] Ahmad Khan N, Sufyan A, Ullah M W, et al. Fungal pretreatment of lignocellulosic feedstocks: challenges and opportunities in lignin degradation, structural polysaccharide preservation, and conversion into ruminant feed[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(44): 27909-27932.