

纤维素酶的研究进展及在饮料生产中的应用

常伦峰^{1,2}, 吴菲菲^{1,2,3,4}, 李化强^{1,2,3,4*}, 赵良忠^{1,2}, 龙艳珍^{1,2}, 巢玲^{1,2}, 徐永平^{3,4}

(1. 邵阳学院生物与化学工程系, 邵阳 422000; 2. 湖南省果蔬清洁加工工程技术研究中心, 邵阳 422000;
3. 大连赛姆生物工程技术有限公司博士后工作站, 大连 116620; 4. 教育部动物性食品安全保障
技术工程研究中心, 大连理工大学生命科学与技术学院, 大连 116024)

摘要:近年来果蔬型饮料日益火热, 成为各研究机构研究开发的热点。然而现有的传统果蔬饮料生产技术却面临着营养物质损失、耗能、环境污染、食品安全等问题。解决这些问题的关键在于能够很好地对果蔬原料中的纤维素进行处理。针对这一问题, 近年来国内外学者对纤维素酶处理果蔬原料中纤维素的研究逐渐增加。并且随着生物酶技术的发展, 纤维素酶在饮料生产中的作用逐渐凸显。本文综述了纤维素酶的结构、纤维素分子酶解过程中的作用机制、产酶微生物来源以及在饮料加工中应用方面, 有利于纤维素酶在饮料生产中的发展, 并对纤维素酶在饮料生产加工中存在的问题的基础上对纤维素酶的应用前景和发展方向进行了展望, 为纤维素酶在饮料生产中应用提供理论参考。

关键词: 纤维素酶; 结构; 饮料; 加工; 应用

Research progress of cellulase and its application in the beverage industry

CHANG Lun-Feng^{1,2}, WU Fei-Fei^{1,2,3,4}, LI Hua-Qiang^{1,2,3,4*}, ZHAO Liang-Zhong^{1,2},
LONG Yan-Zhen^{1,2}, CHAO Ling^{1,2}, XU Yong-Ping^{3,4}

(1. Department of Biological and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China; 2. Hunan Provincial Engineering and Technology Research Center for Fruit and Vegetable Clean Processing, Shaoyang 422000, China; 3. Post-doctoral Research Workstation Dalian SEM Bio-Engineering Technology Co., Ltd., Dalian 116620, China; 4. Ministry of Education Center for Food Safety of Animal Origin, College of Life Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

ABSTRACT: The fruit and vegetable juice consumption increased rapidly and had become hotspots in research institutions in recent years. However, fruit and vegetable beverage produced by traditional technology faced problems as the loss of nutrition and energy, the environmental contamination and food security. A proper process to cellulose could be the core of solutions. A growing number of scholars around the world studied the process of cellulase to cellulose. With the rapid development of bio-enzyme technique, the cellulase function had been found profound status in beverage process. In this paper, cellulase structure, mechanism of cellulose degradation and microbial sources were mentioned, process to pectin degradation and clarification, studies for higher juice yield, less loss of

基金项目: 国家海洋公益项目(201405003-3)、湖南省科技厅重点研发计划项目(2015CK3031、13CY028)、湖南省科技厅创新平台与人才计划项目(2015TP2022)、湖南省教育厅科学研究一般项目(14C1022)、邵阳学院研究生科研创新项目(CX2016SY028)

Fund: Supported by the National Special Fund for Scientific Research in the Public Interest (201405003-3), Key Research Items from Hunan Provincial Science & Technology Department (2015CK3031, 13CY028), Innovative Platform and Talents Program from Hunan Provincial Science & Technology Department (2015TP2022), Research Foundation of The Education Department of Hunan Province (14C1022), and Graduate Student Research Innovation Project of Shaoyang University (CX2016SY028).

*通讯作者: 李化强, 博士, 主要研究方向为果蔬清洁加工。E-mail: 50990502@qq.com

*Corresponding author: LI Hua-Qiang, Ph.D., Department of Biological and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China. E-mail: 50990502@qq.com

nutrition and sensory improvement were also included. As a comprehensive review in cellulase application, this paper showed prospects of cellulase development direction and application perspective, providing further basis and reference for cellulase utilization in fruit and vegetable juice industrial processing.

KEY WORDS: cellulase; structure; beverages; processing; application

1 引言

随着人们生活水平的不断提高,纯天然、高果汁含量的饮料成为行业发展的新趋势^[1]。水果中富含纤维素且不易水解,其结晶状刚性结构加大果汁加工难度。纤维素易被专性纤维素酶水解,所以纤维素酶的研究成为饮料生产中的关注热点。来源于黑曲霉(*Aspergillus niger*)的半纤维素酶(hemicellulase)和纤维二糖酶(cellobiase);来源于黑曲霉、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)、绿色木霉(*Trichoderma viride*)等^[2]的纤维素酶(cellulase)在 GB 2760-2014 中允许使用。随着人们对食品安全的期望越来越高,纤维素酶高安全性在食品加工中有着极大的优势^[3]。

2 纤维素酶的结构

纤维素酶是由多种水解酶组成的一个复杂酶系,主要由葡萄糖内切酶、葡萄糖外切酶、 β -葡萄糖苷酶 3 种酶组成(见表 1)。要把纤维素分子降解成葡萄糖,需要 3 种酶共同作用完成^[4]。

3 纤维素酶的来源

3.1 产纤维素酶的黑曲霉

黑曲霉细胞拥有内质网、高尔基体等蛋白质后加工模块,其表达体系可生产结构复杂适用于工业加工、食品加工、医药生产的纤维素酶^[6]。黑曲霉产纤维素酶活力较高,稳定性和对环境的适应能力较好,且不易产其他真菌毒素。目前,在黑曲霉的菌种选育上普遍采用自然选育、诱变育种和基因工程育种等。

从表 2 可见黑曲霉的诱变方式以物理诱变为主,且酶活力提高比较明显。基因工程技术辅助自然筛选和物理诱

变可提升酶活和稳定性。同时,优化黑曲霉产酶工艺也可以提升其酶活性。传统的黑曲霉发酵采用固体发酵法,优点是成本低、工艺简单,但发酵过程中温度、pH、营养成分含量等工艺条件不易控制与检测。采用固液连续发酵法产酶量高于传统的固体发酵法^[18]。

3.2 产纤维素酶的棘孢木霉

棘孢木霉产纤维素酶活力高,发酵工艺简单,易于操作和控制,产酶性质稳定。但棘孢木霉在国内的报道较少。张荣等^[19]利用棘孢木霉 1285 对麦秸的降解及厌氧发酵的影响进行了研究,确定 8 d 为最佳预处理时间,经 *T. asperellum*128 生物预处理的比未经预处理的对照组麦秸厌氧发酵产气效率提高了 85.95%。王剑锋等^[20]分离的菌株 *Trichoderma asperellum* W03 在液态培养条件下能分泌 3 种酶学性质相近的 β -糖苷水解酶:木聚糖酶、羧甲基纤维素酶和几丁质酶。在 33 ℃、180 r/min 和 50 mL/250mL 的摇瓶培养条件下发酵 72 h,木聚糖酶、羧甲基纤维素酶和几丁质酶的酶活分别达到 87 U/mL, 58 U/mL 和 30 U/mL。王军等^[21]采用马铃薯液体培养基(PDB)对碳源、氮源、初始 pH、温度、接种量等因素进行了优化测试。结果表明优化后的棘孢木霉菌株 Tr148c 培养 144 h 可产分生孢子量为 2×10^8 个/mL。

相对于黑曲霉而言,棘孢木霉多数研究仍停留在发酵条件的优化层面且发酵底物单一,原因可能是棘孢木霉此前的关注点集中于其生物防治功效上,近年才关注其产纤维素酶的特性。于跃等^[22]认为影响纤维素酶解的主要因素是温度、pH、底物浓度、金属离子及表面活性剂,选择合适的工艺条件可以提高纤维素酶解的效率。刘苏苏等^[23]认为将纤维素酶与具有高亲和性、反应功能基团多样化、生物相容性好的固定载体材料相结合可有效提高酶活性、稳定性以及酶的利用率。

表 1 纤维素酶作用位点
Table 1 Binding Site of cellulase

名称	作用位点	特点
葡萄糖内切酶	纤维素分子内的非结晶区,随机水解 β -1, 4-糖苷键	产生有非还原性末端的小分子纤维素,不能单独作用结晶的纤维素,能水解小分子的纤维寡糖
葡萄糖外切酶	纤维素分子的末端	作用于纤维素分子内的结晶区、无定形区和羧甲基纤维素
β -葡萄糖苷酶	末端非还原性的 β -D-葡萄糖苷键	将纤维二糖、纤维三糖和纤维六糖水解为葡萄糖的非专一性酶;降低水解过程产物的抑制作用,提高纤维素水解效率 ^[5]

表 2 黑曲霉产纤维素酶研究进展
Table 2 Research progress of the production of cellulase by *Aspergillus niger*

筛选出/诱变的出发菌株	诱变方式	酶活	文献
黑曲霉 EBR106	电子束诱变	378.11 FPU / mL	李兆周等 ^[7]
黑曲霉 AS3.316	离子辐照诱变	滤纸酶活 71.3 U/mL 葡萄糖内切酶活 116.2 U/mL 葡萄糖外切酶活 29.9 U/mL β -葡萄糖苷酶活 35.9 U/mL	唐嘉徽 ^[8]
黑曲霉 CGMCC3.316	紫外诱变	β -葡萄糖苷酶酶活 23U/mL	王春丽等 ^[9]
嗜盐海洋黑曲霉	无	无 NaCl 溶液中的 1.33 倍	薛栋升 ^[10]
黑曲霉 FTA008	基因工程育种	β -葡萄糖苷酶活 7.85 U/mg	唐德芳等 ^[11]
黑曲霉突变株 DM1	紫外诱变	滤纸酶活和 β -葡萄糖苷酶活分别为 95 和 1200 mg 葡萄糖/g DMh	邬敏辰等 ^[12]
黑曲霉 FSDZH-1	发酵工艺优化	酶活可达 315.6 U/mL	任海霞等 ^[13]
黑曲霉突变株 60B-3D	紫外诱变	酶活可达 23.4IU/mL	王春丽等 ^[14]
黑曲霉 30786	UV +DES 复合诱变	酶活提高了 6.0U\mL	游庆红等 ^[15]
黑曲霉突变株 ZM-8	航空诱变	滤纸酶活力(FPA)、纤维二糖水解酶活力(C1)、葡聚糖内切酶活力(CMCase)、 β -葡萄糖苷酶活力(β -Glase)比出发菌株分别提高了 2.1 倍、3.5 倍、1.7 倍和 1.8 倍	马旭光等 ^[16]
黑曲霉酶菌株 NW1	紫外诱变	较出发菌株酶活提高了 1.58 倍	屈二军等 ^[17]

表 3 里氏木霉产纤维素酶研究进展
Table 3 Research progress of the production of cellulase by *Trichoderma reesei*

出发菌株/突变菌株	诱变方式	酶活	文献
里氏木霉 ATCC66589/M2-1、M3-1	紫外诱变	滤纸酶活分别为 257 U、281 U	Ike 等 ^[29]
里氏木霉 A13	能量辐射、亚硝基胍	滤纸酶活为 4.328 U/mL	覃玲灵 ^[30]
里氏木霉 WXR-8/突变株 RM-27	紫外线和亚硝基胍诱变	滤纸酶活和 β -葡萄糖苷酶活分别为 600 mg 和 115 mg 葡萄糖/g DMh	邬敏辰 ^[31]
里氏木霉 Y07	紫外线和亚硝酸联合诱变	纤维素酶活 2600 U/g	张秀江等 ^[32]
里氏木霉	基因工程	内切- β -葡聚糖酶活力为 382.6 U/mL	夏颖 ^[33]
里氏木霉 Rut-C30	工业纤维素诱导	滤纸酶活达 4.845 U/mL	杜先林等 ^[34]
里氏木霉 Rut-C30	紫外照射和甲基横酸乙酯(EMS)诱导	酶活达 3.74LU\mL	王芳 ^[35]

3.3 产纤维素酶的瑞氏木霉

瑞氏木霉高产纤维素酶, 是目前研究纤维素降解的主要研究对象。瑞氏木霉所产纤维素酶组份中, 酶活最低且产量最少的是 β -葡聚糖酶。提高 β -葡聚糖酶的产量和活性是瑞氏木霉的研究重点^[24]。张纪伟^[25]通过基因工程手段优化瑞氏木霉产纤维素酶过程, 葡萄糖苷酶转化子的纤维素对木质纤维素底物木糖渣的糖化效率比出发菌株提高了 11%~29%。徐金涛^[26]对瑞氏木霉 3 个主要 β -葡萄糖苷酶编码基因 *bgl1/cel3a*、*cel1a*、*cel1b* 进行基因敲除, 并构建了多基因缺失菌株 *cel1a*、*cel1b* 和 *triβG*, 以研究不同葡萄糖

苷酶的生物学功能。丁新丽等^[27]将 PCR 合成的瑞氏木霉 β -内切葡聚糖酶 I (EGI) cDNA 基因片段分别插入酵母 *met10* 和 *pgk1* 启动子和终止子序列之间, 利用电转化将重组质粒植入实验室酿酒酵母 H158 菌株中, 分别得到了 3 株酵母转化子 H1p、H2p 和 H1m。经 YPD 培养基培养, H1m、H1p 与 H2p 的内切葡聚糖酶活力分别为 70.4 U/mL、126.7 U/mL、125.0 U/mL。陈小玲等^[28]以瑞氏木霉基因组 DNA 为模板利用基因技术获得 1 株纤维素滤纸酶活比出发菌株提高 0.7 倍的突变菌株 *Cre*₂₋₃ 并推测 *cre1* 基因与瑞氏木霉菌株的生长代谢有关。

3.4 产纤维素酶的里氏木霉

里氏木霉产纤维素酶量高、稳定性好、安全无毒,便于控制和培养,具有很高的科研价值和工业生产价值。

从表3可以看出,国内外对里氏木霉菌株的选育多为物理和化学方法联合作用筛选高产纤维素酶的菌株,且相比于出发菌株都有明显提高。目前,国内学者大部分是利用诱导和基因工程等技术手段选育高效纤维素酶产生菌并配套优化发酵生产工艺相结合,构建可规模化生产低价有机碳源^[36]。国外也有部分学者采用基因工程改造里氏木霉以提高其产纤维素酶活力。目前已成功在里氏木霉中克隆表达的基因有纤维素二糖酶基因、*celEn*、*pBGL1*、*af211*、*Neg*^[37]。

3.5 产纤维素酶的绿色木霉

绿色木霉在工业、农业和环境科学等方面有着广泛的用途和研究,其近年成为木霉属研究的热点。张玉梅等^[38]利用紫外-硫酸二乙酯复合诱变绿色木霉得到酸性蛋白酶缺陷受体菌株并通过正交试验得出最佳的诱变条件:DES浓度1.5%,处理30 min,诱变温度30℃。王仪明等^[39]利用麦秆和麸皮为主要原料,通过正交试验和单因素试验优化绿色木霉 *Trichoderma viride* 固态发酵产纤维素酶的最佳工艺条件。得出不同条件下绿色木霉产纤维素酶活力存在显著差异($P<0.05$),发酵后小麦秸秆中中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、纤维素含量和半纤维素含量比发酵前分别下降5.22%、6.88%、4.73%和4.16%。李宝成等^[40]通过正交试验和验证实验等方法对绿色木霉固体培养基比例进行优化并得到最佳固体种子发酵培养基组成,经小试摇瓶实验和100 L液体发酵体系实验得到发酵30 h绿色木霉菌丝量提高了1.25倍。王晓明等^[41]以麸皮与秸秆粉为主要原料,对影响绿色木霉固态发酵的因素进行研究得到羧甲基纤维素酶活达到1132.5 U/g的菌株,比未优化条件下菌株酶活提高了84.9%。

4 纤维素酶在果汁饮料中的应用

4.1 柑橘汁生产中的应用

由于柑橘味道酸甜可口,富含维生素C、叶酸和钾,对人体健康有重要作用。但柑橘囊衣富含纤维素和有苦味的苷类物质,简单的直接榨汁技术不能满足人们对柑橘汁品质的要求,利用纤维素酶水解柑橘囊衣中的纤维素可得到完整的柑橘囊胞,生产污染远远小于传统生产工艺。Baker^[42]研究表明,柑橘果皮和果肉之间的黏附作用与果胶、纤维素和半纤维素有关。Ben-Shalom^[43]利用纤维素酶水解柑橘内果皮中的囊衣部分,柑橘汁出汁率高且保持柑橘原有的味道和品质。

4.2 草莓汁生产中的应用

草莓富含多种天然营养物质且口感酸甜,深受人们

喜爱。但草莓结构松软,破碎以后草莓浆黏度太大且浆渣不易分离导致草莓汁得率极低。一般工厂会采用果胶酶预处理原料。但国内果胶酶多为单一酶,且主要用于果汁的脱胶和澄清等方面,不能充分释放出果浆中大量营养性可溶物,极大影响草莓汁的营养价值。万日余等^[44]采用绿色木霉菌株 YV950s 生产的纤维素酶制剂应用于草莓果汁加工与传统生产工艺相比,出汁率提高9.2%,压榨时间缩短15 min,提高草莓汁的生产效率。为降低草莓果汁中纤维素的聚合度、结晶度,增加纤维素的可及度、提高纤维素的反应活性可对果汁进行超声或酯化预处理。

4.3 芒果汁生产中的应用

芒果含有丰富多种营养物质,且香甜可口是世界五大水果之一,素有热带水果之王的美称^[45]。但芒果采收期短、含水量高,鲜果极易腐败变质。芒果汁是芒果深加工的主要产品形式。由于芒果富含可食性纤维和果胶,导致果浆黏度大、出汁率不高;纤维素酶和果胶酶水解果浆中的纤维素与果胶降低了果浆的黏度、提高出汁率。Sreenath等^[46]研究了纤维素酶和果胶酶对降低芒果浆黏度的影响,发现丹麦产的 Ultrazym100 对芒果浆黏度的降低效果最好,可使黏度降低82%,果胶酶和纤维素酶同时使用时能将出汁率提高8%~10%。李昌宝等^[47]以“象牙”芒果为原料,用纤维素酶和果胶酶对果浆进行处理,当果胶酶添加量0.01%、纤维素酶添加量0.007%时,芒果的出汁率最高可达71.15%。

4.4 菠萝汁生产中的应用

菠萝多汁且味道酸甜可口,富含多种营养物质深受消费者喜爱。但是,菠萝生产季节性较强,收获期较为集中,含水量高,呼吸强度大,在贮藏、运输过程容易腐烂变质^[48]。菠萝汁加工是菠萝深加工的重要生产方式。但现有的菠萝汁加工无法得到澄清菠萝汁。而引起菠萝汁浑浊的主要物质是纤维素和果胶物质。陈渝等^[49]研究了果胶酶和纤维素酶对菠萝汁澄清效果,未经处理的菠萝汁在20℃时的透光性为40%,在30℃条件下使用8.84 U/100 mL果胶酶、42.13 U/100 mL纤维素酶处理菠萝汁40 min可得到透光性为87%的果汁。

4.5 牛心柿汁生产中的应用

牛心柿果富含多糖、纤维素、有机酸及矿物质和人体必需氨基酸,具有很高的食用价值和药用价值。但柿果中富含纤维素和多糖类物质,果浆黏度大。工业榨汁机械挤压果浆出汁率低,产品质量差。采用纤维素酶处理柿果果浆,能够大大减少果浆中的纤维素含量,使果浆黏度降低。王军等^[50]采用陕西牛心柿为原料在50℃条件下用0.20%的果胶酶和0.03%纤维素酶对牛心柿果浆处理5 h出汁率为74.9%。

5 展 望

在食品加工中,利用纤维素酶预处理水果原料生产果汁饮料相对于传统的水果饮料加工不仅减少了水果营养的损失,改善了口感,更利于消化吸收,节约了加工时间和成本,减少环境污染等。同时,纤维素酶的利用不仅仅只使用在水果的深加工方面,在发酵、酿造及新型能源的开发研究上也有使用。并且利用纤维素酶把纤维素废渣回收利用变废为宝是开辟食品工业的原料来源的未来发展方向之一。

目前纤维素酶已经广泛地应用在包括食品在内的各个不同行业。纤维素酶的生产最大的瓶颈问题是菌种的产酶条件优化以及工业生产中酶活不高且耐酸碱性强。采用诱变育种结合基因工程等手段有望逐步解决此类问题。而探究多种微生物协同作用来降解纤维素,有针对性的选择酶种类和复配酶来提高产品品质也是纤维素降解菌剂发展的趋势。

参考文献

- [1] 彭海容. 共促果汁饮料消费市场增长——中国西安国际果蔬汁产业大会召开[J]. 中国食品, 2015, 14: 68.
Peng HR. Jointly promote fruit juice beverage consumption market growth - China International Fruit and Vegetable Juice Industry Conference held in Xi'an [J]. Chin Food, 2015, 14: 68.
- [2] GB 2760-2014 食品安全国家标准食品添加剂使用标准[S].
GB 2760-2014 National food safety standards of food additives using a standard [S].
- [3] 李永莲, 林凯城. 纤维素酶生产方法的研究进展[J]. 济南职业学院学报, 2016, 2: 99-101.
Li YL, Lin KC. Advances cellulase production methods [J]. Jinan Vocat Coll, 2016, 2: 99-101.
- [4] 李永莲, 刘文锋, 林凯城. 纤维素酶的研究进展[J]. 清远职业技术学院学报, 2013, 3: 70-73.
Li YL, Liu WF, Lin KC. Advances cellulase [J]. Qingyuan Vocat Technol Coll, 2013, 3: 70-73.
- [5] 柯轶, 王娜, 林俊涵. 纤维素酶分子改造技术研究进展[J]. 台湾农业探索, 2015, 3: 69-73.
Ke Y, WN, Lin JH. Research progress in molecular modification of cellulose [J]. Taiwan Agric Res, 2015, 3: 69-73.
- [6] 刘旭. 黑曲霉 α -葡萄糖苷酶在毕赤酵母中的高效表达研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
Liu X. Study on high expression of α -glucosidase in Pichapastoris [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [7] 李兆周, 王学红, 陈化靓, 等. 黑曲霉高产纤维素酶菌株的高通量筛选[J]. 甘肃农业大学学报, 2011, 5: 151-156.
Li ZZ, W XH, Chen HL, et al. High-throughput screening of *Aspergillus niger* strains with high production of cellulase [J]. Gansu Agric Univ, 2011, 5: 151-156.
- [8] 唐嘉徽. 黑曲霉(AS3.316)产纤维素酶条件优化及重离子辐照诱变高产菌株筛选[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012.
Tang JW. The condition optimizing about cellulase enzyme production of *Aspergillus niger*(AS3.316) and using Heavy-ion mutagenesis technology to select the high-yield strains [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2012.
- [9] 王春丽, 武改红, 陈畅. 黑曲霉原生质体诱变选育 β -葡萄糖苷酶高产菌株[J]. 生物工程学报, 2009, 25(12): 1921-1926.
Wang CL, Wu GH, Chen C. *Aspergillus niger* Protoplast Mutagenesis β -glucosidase yielding strains [J]. J Biotechnol, 2009, 25 (12): 1921-1926.
- [10] 薛栋升. 海洋黑曲霉生产耐盐型纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶及其酶学性质研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
Xue DS. Production and properties of salt tolerant cellulases and β -glucosidase from a marine *Aspergillus niger* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [11] 唐德芳, 裴小琼, 李晓璐, 等. 黑曲霉 β -葡萄糖苷酶的筛选、克隆及表达[J]. 应用与环境生物学报, 2009, 3: 423-426.
Tang DF, Pei XQ, Li XL, et al. Screening, cloning and expression of *Aspergillus niger* β -glucosidase [J]. Appl Environm Biol, 2009, 3: 423-426.
- [12] 郭敏辰, 李江华, 郭显章. 黑曲霉纤维素酶的特性研究[J]. 山西食品工业, 1997, 4: 1-4+11.
Wu MC, Li JH, Wu XZ. Study of characteristic *Aspergillus niger* cellulose [J]. Shanxi Food Ind, 1997, 4: 1-4 +11.
- [13] 任海霞, 杨鹏, 郭惠东, 等. 一株黑曲霉产纤维素酶培养基优化[J]. 山东农业科学, 2016, 1: 67-70.
Ren HX, Yang P, Guo HD, et al. Optimization of culture media for one *asp* and *gil* road *niger* strain producing cell UL acolor [J]. Shandong Agric Sci, 2016, 1: 67-70.
- [14] 王春丽. β -葡萄糖苷酶高产菌株的选育及玉米芯的诱导作用研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2010.
Wang CL. Screening of strain producing β -Glucosidase and studies on the induction effects of corncob [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2010.
- [15] 游庆红, 尹秀莲. 黑曲霉原生质体诱变及其产纤维素酶条件研究[J]. 酿酒科技, 2010, 4: 34-37.
You QH, Yin XL. Study on protoplast induced mutation of *aspergillus niger* and its cellulase-producing conditions [J]. Mak Sci Technol, 2010, 4: 34-37.
- [16] 马旭光, 张宗舟, 蔺海明, 等. 黑曲霉高产纤维素酶突变株的筛选[J]. 中国酿造, 2008, 9: 61-63+73.
Ma XG, Zhang ZZ, Lin HM, et al. Screening of *Aspergillus niger* mutants with high activity of cellulose [J]. Chinese Brewing, 2008, 9: 61-63 + 73.
- [17] 屈二军, 索向阳, 赵桢, 等. 高产纤维素酶的黑曲霉菌种的选育[J]. 安徽农业科学, 2008, 24: 10303-10304.
Qu EJ, Suo XY, Zhao Z, et al. Breeding of a high cellulase producing strain *Aspergillus niger* [J]. Anhui Agric Sci, 2008, 24: 10303-10304.
- [18] 高鹏. 纤维素酶新型发酵工艺研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
Gao P. Study on the new fermentation technology of cellulolytic strains [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2005.
- [19] 张荣, 奚永兰, 叶小梅, 等. 棘孢木霉 1285 对麦秸的降解及厌氧发酵的影响[J]. 江苏农业学报, 2015, 2: 328-333.
Zhang R, Xi YL, Ye XM, et al. Degradation and anaerobic fermentation of wheat straw affected by *Trichoderma asperellum* 1285 [J]. Agric Scie, 2015, 2: 328-333.

- [20] 王剑锋, 李江, 杨红, 等. 棘孢木霉胞外 β -糖苷水解酶的产生条件及基本特征[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 5: 687–692.
- Wang JF, Li J, Yang H, *et al.* Production and characterization of extracellular β -glycoside hydrolase from *Trichoderma asperellum* W03 [J]. Food Sci Biotechnol, 2010, 5: 687–692.
- [21] 王军, 旷文丰, 陈晨, 等. 液体发酵因子对棘孢木霉 Tr148c 分生孢子产量的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2015, 4: 595–599.
- Wang J, Kuang WF, Chen C, *et al.* Effect of liquid fermentation factors on conidial production of *Trichoderma asperellum* strain Tr148c [J]. Anhui Agric Univ, 2015, 4: 595–599.
- [22] 于跃, 张剑. 纤维素酶降解纤维素机理的研究进展[J]. 化学通报, 2016, 2: 118–122+128.
- Yu Y, Zhang J. Research progress in cellulose degradation by cellulase [J]. Chem Bull, 2016, 2: 118–122 + 128
- [23] 刘苏苏, 吕长鑫, 李萌萌, 等. 酶制剂在果蔬汁澄清及加工中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 10: 3276–3283.
- Liu SS, Lv CX, Li MM, *et al.* Application progress of enzyme preparation in fruit and vegetable juice clarification and processing [J]. J Food Saf Qual, 2014, 10: 3276–3283.
- [24] 陈小玲, 陈东, 芦志龙. 瑞氏木霉内切- β -1,4 葡聚糖酶基因 Egl1 的分子改造[J]. 广西科学, 2011, 3: 264–268.
- Chen XL, Chen D, Lu ZL. Molecular modification of Endo -1, 4-glucanase Gene Egl1 from *Trichoderma reesei* [J]. Guangxi Sci, 2011, 3: 264–268.
- [25] 张纪伟. 瑞氏木霉 Ras 信号途径对形态建成和纤维素酶合成的作用研究及酶系改良[D]. 济南: 山东大学, 2013: 24–27.
- Zhang JW. *Trichoderma reesei* Ras signaling pathway of morphogenesis and cellulase enzymes synthesis of research and improvement [D]. Jinan: Shandong University, 2013: 24–27.
- [26] 徐金涛. 瑞氏木霉 β -葡萄糖苷酶在纤维素酶诱导表达过程中作用机制的研究[D]. 济南: 山东大学, 2014, 7–9.
- Xv JT. Study *Trichoderma reesei* β -glucosidase in cellulase induction of expression during the mechanism [D]. Jinan: Shandong University, 2014, 7–9.
- [27] 丁新丽, 黄晶, 汪天虹. 瑞氏木霉内切葡聚糖酶基因在酿酒酵母中的表达研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 11: 18–22.
- Din XL, Huang J, Wang TH. Research of *Trichoderma reesei* endoglucanase gene in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Food Ferment Ind, 2004, 11: 18–22.
- [28] 陈小玲, 龙思宇, 陈英, 等. 瑞氏木霉纤维素酶研究进展[J]. 广西科学院学报, 2015, 2: 113–120.
- Chen XL, Long SY, Chen Y, *et al.* Research progress on cellulase from *Trichoderma reesei* [J]. Guangxi Acad Sci, 2015, 2: 113–120.
- [29] Ike, Park JY, Tabuse M, *et al.* Cellulase production on glucose-based media by the UV-irradiated mutants of *Trichoderma reesei* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 87(6): 2059–2066.
- [30] 覃玲灵. 里氏木霉的紫外诱变和高活性纤维素酶突变株的选育[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2011.
- Qian LL. UV in *Trichoderma reesei* and selective breeding of its hypercellulolytic mutant strains [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2011.
- [31] 邬敏辰, 李剑芳. 里氏木霉纤维素酶突变株选育的研究[J]. 中国酿造, 1998, 2: 11–14.
- Wu MC, Li JF. Research of *Trichoderma reesei* cellulase mutant breeding [J]. Chin Brewing, 1998, 2: 11–14.
- [32] 张秀江, 兰芳菲, 胡虹, 等. 里氏木霉产酶菌株的选育研究[J]. 河南科学, 2014, 11: 2244–2247.
- Zhang X, Lan FF, Hu H, *et al.* Breeding of the strain *Trichoderma reesei* for producing enzyme [J]. Henan Sci, 2014, 11: 2244–2247.
- [33] 夏颖. 新型内切- β -葡聚糖酶基因在里氏木霉中的重组与表达[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- Xia Y. Recombination and expression of a novel endo- β -glucanase gene from *Penicillium echinulatum* in *Trichoderma reesei* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016.
- [34] 杜先林, 李辉, 王义强, 等. 里氏木霉 Rut—30 产纤维素酶发酵条件的优化[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 9: 112–119.
- Du XL, Li H, Wang YQ, *et al.* Optimization of fermentation conditions for cellulase production by *Trichoderma reesei* Rut—C30 [J]. Central South University of Forestry & Technology, 2010, 9: 112–119.
- [35] 王芳. 里氏木霉的复合诱变及酶系优化[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2015.
- Wang F. The composite mutagenesis and enzyme system optimization of *Trichoderma reesei* [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2010, 9: 112–119.
- [36] 王天佑, 陈景浩, 卢必涛, 等. 纤维素改性处理的研究进展[J]. 丝绸, 2014, 11: 10–16.
- Wang TY, Chen JH, Lu BT, *et al.* Progress cellulose modification treatment [J]. Silk, 2014, 11: 10–16.
- [37] 王芳, 陈介南, 张林, 等. 产纤维素里氏木霉的研究进展[J]. 中国酿造, 2014, 6: 1–5.
- Wang F, Chen JN, Zhang L, *et al.* Progress of production of cellulase by *Trichoderma reesei* [J]. Chin Brewing, 2014, 6: 1–5.
- [38] 张玉梅. 绿色木霉 β -葡萄糖苷酶的酶学性质及其基因的体外扩增[D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2014.
- Zhang YM. Enzymatic properties of β -glucosidase and amplification of its gene in vitro from *Trichoderma viride* [D]. Qinhuangdao: Hebei Normal University, 2014.
- [39] 王仪明, 张宗舟, 简海明, 等. 绿色木霉固态发酵产纤维素酶活力的研究[J]. 草业科学, 2009, 5: 123–127.
- Wang YM, Zhang ZZ, Lin HM, *et al.* Study on solid fermentation of *Trichoderma viride* cellulase activity [J]. Grassland Sci, 2009, 5: 123–127.
- [40] 李宝成, 满丽萍, 果然, 等. 绿色木霉菌种制备工艺优化与工业化制备考察[J]. 中国农业信息, 2015, 16: 114–116.
- Li BC, Man LP, Guo R, *et al.* *Trichoderma* strains prepared in preparation industrialization process optimization study [J]. China Agric Inf, 2015, 16: 114–116.
- [41] 王晓明, 孙玉辉, 张欢, 等. 绿色木霉固态发酵生产纤维素酶条件优化与酶的固定化[J]. 浙江农业学报, 2014, 1: 186–193.
- Wang XM, Sun YH, Zhang H, *et al.* Studies on the conditions of solid-state fermentation for cellulase production by *Trichoderma viride* and cellulase immobilization [J]. Zhejiang Agric Sci, 2014, 1: 186–193.
- [42] Baker RA, Wicker L. Current and potential applications of enzyme infusion in the food industry [J]. Trends Food Sci Technol, 1996, 7: 279–284.
- [43] Ben-Shalom N, Levi A, Pinto B.P. Ectolytic enzyme studies for peeling of grapefruit segment membrane [J]. J Food Sci, 1986, 51(2): 421–423.

- [44] 万日余, 顾岱芳, 张健, 等. 纤维素酶在草莓汁生产中的应用[J]. 冷饮与速冻食品工业, 1996, 4: 20–21.
Wan RY, Gu DF, Zhang J, *et al.* Cellulase enzymes in strawberry production [J]. Frozen Food Ind, 1996, 4: 20–21.
- [45] 朴一龙, 赵兰花. 软枣猕猴桃研究进展[J]. 北方园艺, 2008, 3: 76–78.
Pu YL, Zhao LH. Research Progress of actinidia [J]. Northern Hortic, 2008, 3: 76–78.
- [46] Sreenath HK, Nanjundaswamy AM, Sreekantiah KR. Effect of various cellulases and pectinases on viscosity reduction of mango pulp[J]. J Food Sci, 2006, 52(1): 230–231.
- [47] 李昌宝, 李丽, 任二芳, 等. 果胶酶和纤维素酶对芒果出汁率及品质的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 13: 217–219+224.
Li CB, Li Y, Ren RF, *et al.* Optimization of pectinase and cellulose treatment condition for improving the mango juice [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 13: 217–219 +224.
- [48] 曹海燕, 高燕. 浅谈菠萝半成品综合加工[J]. 广西热带农业, 2001, 1: 33–34.
Cao HY, Gao Y. Comprehensive processing of semi-finished pineapple [J]. Guangxi Trop Agric, 2001, 1: 33–34.
- [49] 陈渝, 李远志. 果胶酶和纤维素酶对菠萝汁澄清效果的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 6: 61–64.
Chen Y, Li YZ. Study on the clarification effect of pectinase and cellulase on the pineapple juice [J]. Food Res Dev, 2005, 6: 61–64.
- [50] 王军, 张宝善, 张润光. 果胶酶和纤维素酶对牛心柿出汁率的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 5: 139–141.
Wang J, Zhang BS, Zhang RG. Study on effect of pectinase and cellulase on the juice of bovine heart persimmon [J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 5: 139–141.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



常伦峰, 硕士研究生, 主要研究方向为果蔬清洁加工。
E-mail: 757567689@qq.com



李化强, 博士, 硕士生导师, 主要研究方向为果蔬清洁加工。
E-mail: 50990502@qq.com