

茶皂素对真菌液体发酵产纤维素酶的影响及酶学特性研究

张 健

广西卫生职业技术学院人事处, 广西 南宁

收稿日期: 2025年4月15日; 录用日期: 2025年5月16日; 发布日期: 2025年5月26日

摘 要

本实验对厚垣镰孢霉HML278采用液体发酵产纤维素酶, 加入0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%不同浓度的茶皂素, 探究茶皂素对其产纤维素酶的影响。实验结果显示, 加入0.6%浓度的茶皂素的纤维素酶活性最高。在酶学特性研究中, 酶的最适温度为60℃, 最适pH为6.4。在金属离子对酶活性的探究中, 发现Li⁺、K⁺、Ca²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺、Fe³⁺对酶促反应具有促进作用, 其中Ca²⁺、Mn²⁺对酶促反应的促进作用最强; 而Co²⁺、Al³⁺对酶促反应具有抑制作用。

关键词

茶皂素, 厚垣镰孢霉, 酶学性质, 酶活, 纤维素酶

Study on the Effect of Tea Saponin on Fungal Liquid Fermentation to Produce Cellulase and Its Enzymatic Characteristics

Jian Zhang

Personnel Division, Guangxi Health Science College, Nanning Guangxi

Received: Apr. 15th, 2025; accepted: May 16th, 2025; published: May 26th, 2025

Abstract

This experiment used liquid fermentation to produce cellulase from *Fusarium graminearum* HML278, and added tea saponin at different concentrations of 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, and 1.0% to investigate the effect of tea saponin on its cellulase production. The experimental results showed that the cellulase

activity was highest when 0.6% concentration of tea saponin was added. In the study of enzymatic characteristics, the optimal temperature and pH for the enzyme are 60°C and 6.4, respectively. In the exploration of metal ions on enzyme activity, it was found that Li^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , and Fe^{3+} have a promoting effect on enzymatic reactions, among which Ca^{2+} and Mn^{2+} have the strongest promoting effect on enzymatic reactions; Co^{2+} and Al^{3+} have inhibitory effects on enzymatic reactions.

Keywords

Tea Saponin, *Fusarium oxysporum*, Enzymatic Characteristics, Enzyme Activity, Cellulase

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

纤维素酶是重要的酶制剂, 广泛应用于生物能源、医药、食品、饲料、纺织、造纸、清洁用品等多个行业, 属工业消耗的第三大酶类[1][2]。纤维素在自然界中分布极为广泛且含量丰富, 纤维素酶可将富含纤维素的工业废料和农副产品等有效转化, 对于提高原料利用率、综合利用资源等具有重要意义。纤维素酶已广泛应用于纺织、造纸、饲料、食品及能源等行业。纺织行业: 纤维素酶用于牛仔纺织物的生物去石、纺织物及服饰软化、纺织物纤维的生物抛光及纺织物表面染料的去渍等方面。造纸行业: 纸浆和纸张作为一种可循环利用的再生资源, 其回收及利用对于节约能源、减轻环境污染具有重要意义, 纤维素酶可以防止纸张变黄, 显著提高纸张的亮度和清洁度。饲料行业: 纤维素酶可以使营养物质更易被动物消化系统分解吸收, 提高饲料的营养价值。食品行业: 纤维素酶在食品行业的应用极其广泛, 啤酒、白酒、酱油生产中大量应用[3]。在生物能源领域, 纤维素酶可将自然界中蕴藏的生物质转化成乙醇等清洁能源, 不仅能缓解化石燃料的短缺, 改善能源危机, 缓解因人类过度开发利用导致化石燃料日益枯竭的现状, 也有助于环境保护[4][5]。

第二代生物乙醇以富含木质纤维素的玉米芯、秸秆、蔗渣等农林废弃物为原料降解为还原性糖, 再发酵成生物乙醇, 又称纤维素乙醇[6][7]。广西是我国甘蔗生产的主要地区之一, 蔗糖年产量约 660 万吨, 产量占全国总量的一半以上, 具有非常可观的蔗渣产量[8]。蔗渣纤维素含量达 45%~50%, 半纤维素 22%~30%, 其木质素分子质量和聚合度较低, 并且含有丰富的多糖类物质, 具有开发优势[9]-[11], 是纤维素乙醇产业来源丰富、价格低廉的优质生物质能原料, 如能经生物转化成为燃料乙醇, 具有很高的社会效益和经济价值[11][12]。蔗渣的充分利用可为广西经济发展助力, 减少焚烧污染环境, 实现有机废弃物资源利用和环境保护效益的最大化。

纤维素是由 100~1000 个 D-吡喃型葡萄糖由 β -(1,4)-糖苷键连接的没有分支的同多糖, 是地球上最丰富的可再生碳源物质[13][14]。纤维素酶系主要有葡聚糖内切酶(endo-1,4- β -D-glucanase, E.C 3.2.1.4, EG)、葡聚糖外切酶(exo-1,4- β -D-glucanase, E.C 3.2.1.91, CBH, 也称纤维二糖水解酶)、 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, EC 3.2.1.21, BG)三类, 纤维素酶系可协同水解纤维素为葡萄糖[15][16]。

厚垣镰孢霉(*Fusarium chlamydosporum*)属于真菌, 是镰刀菌属。项目前期从亚热带区域广西环江县木论国家自然保护区取样筛选得到高产纤维素酶菌株新种: 厚垣镰孢霉 *Fusarium chlamydosporum* HML278 [17]。发现厚垣镰孢霉 HML278 可产完整纤维素酶, 分离纯化得到两种耐热新 β -葡萄糖苷酶(BGFH1 和

BGFH2), 其中 BGFH1 分子量 93 kDa, 最适反应温度 60℃, 70℃ 以下稳定, pH 4~10 之间较稳定, 具有潜在的应用价值[18]。

茶皂素(tea saponin)又称茶皂苷或皂角苷, 茶皂素具有很多表面活性性能, 是一种十分优质的生物表面活性剂, 除了具备与化学表面活性剂同样的性能外, 生物表面活性剂还有能被生物降解、生产资本投入少以及在高温高压下能起作用等显著优势[19][20]。茶皂素可以改变细胞通透性, 添加后微生物细胞产酶会增多。本次实验对厚垣镰孢霉 HML278 采用液体发酵使其产纤维素酶, 加入不同浓度的茶皂素, 探究茶皂素对其产纤维素酶的影响。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料与仪器

2.1.1. 供试菌种

厚垣镰孢霉 HML278, 河池学院微生物及植物资源开发利用广西高校重点实验室保存。

2.1.2. 培养基及实验试剂

1) DNS 显色液, 按照文献[10][11]配制。

2) pH 4.8、0.05 mol/L 柠檬酸缓冲液, 按照文献[12][13]配制。

3) 种子培养基: 马铃薯琼脂糖培养基(PDA) [21][22]。

4) 液体发酵培养基: 称取 NaNO_3 2 g, K_2HPO_4 1 g, KCl 0.5 g, MgSO_4 0.5 g, FeSO_4 0.01 g, 麦芽糖 10 g, 酵母浸膏 10 g, 配制成 1000 mL 的培养基, pH 自然, 121℃, 20 min [23]。

2.1.3. 主要仪器

分析天平, JA2003B, 上海越平仪器有限公司; 自动高压灭菌器, HVE-50, 华粤企业集团有限公司; 无菌操作工作台, SW-CJ-1F, 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; 立式全温振荡培养箱, MQL-621R, 上海旻泉仪器有限公司; 冷冻离心机, AvantiJ-E, 美国贝克曼库尔特有限公司; 紫外可见分光光度计, 8453, 美国安捷伦; 电热鼓风干燥箱, DHG-9075A, 上海一恒科学仪器有限公司。

2.2. 试验方法

2.2.1. 菌种的活化

在实验室中把保藏在冰箱的厚垣镰孢霉 HML278 菌种取出, 在无菌操作工作台中将菌种接到灭好菌的 PDA 斜面培养基中, 然后将其放入已调至 28℃ 的恒温培养箱中培养 3 d, 待用。

2.2.2. 不同茶皂素浓度培养液的制备

取 6 个 250 mL 的三角锥瓶, 量取 150 mL 发酵培养液于 250 mL 三角瓶中, 加入 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0% 不同茶皂素, 其中一瓶作空白对照。在温度 28℃, 摇床转速 180 r/min 条件下培养 3 d。

2.2.3. 纤维素酶的粗酶提取

将摇床培养 5 d 后的培养液, 用 8 层滤布过滤, 用离心机 5000 r/min, 离心 10 min, 取其上清液即为粗酶液, 将其放入冰箱暂存, 待用[24]。

2.2.4. 葡萄糖标准曲线的制定[25]

精密称取 50 mg 无水葡萄糖(预先在 100℃ 的恒温干燥箱中干燥至恒重), 放置于 100 mL 烧杯中将其溶解, 而后将其用玻璃棒转移至 50 mL 的容量瓶中, 定容, 配制得其浓度为 1 mg/ml 的葡萄糖标准溶液。取 6 支试管, 分别加入 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 的葡萄糖标准溶液, 然后按序加入蒸馏水至 2.4

mL, 添加 2 mL DNS 液, 摇匀, 用沸水煮沸 5 min, 取出将其置于冷水中冷却至室温, 加蒸馏水全部稀释至 10 mL, 震荡摇匀。另外, 再取一支试管, 在不加葡萄糖标准液的情况下, 按同样的方法制成空白对照液。于已调好波长为 540 nm 的紫外可见分光光度计下, 测定光吸收值, 并以吸收值 A 为横坐标, 以葡萄糖含量(mg/mL)为纵坐标, 绘制其标准曲线[26]。

2.2.5. 产酶活性的检验方法

1) 滤纸(FP)酶活测定

取稀释酶液 1 mL, 于 25 mL 具塞试管中, 加 pH 4.8、0.05 mol/L 柠檬酸缓冲液 1 mL, 再加卷曲的滤纸 1 张约 50 mg, 50℃恒温 60 min, 取出加 DNS 显色液 2 mL, 让其反应终止, 再将其置于沸水中水煮 5 min, 取出用冷水将其冷却至室温, 再用蒸馏水定容至 25 mL, 摇匀, 于紫外可见分光光度计在 540 nm 波长测定其吸收值, 对照样先于沸水中水煮 20 min 灭活。三次平行试验, 取其平均值[27]。

2) 酶活力单位定义

根据实际情况以及具体实验设计, 本论文定义每 h 催化水解底物生成 1 mol 葡萄糖所需的酶量为一个酶活单位 U [28]。

3) 酶活力计算公式

$$\text{滤纸酶活力(U/mL)} = \frac{\text{葡萄糖(mg)} \times 1(\text{min}) \times 1000(\mu\text{mol/mmol})}{180(\text{mg/mol}) \times 60(\text{min}) \times \text{反应中酶液加入量(mL)}} \times \text{稀释倍数}$$

2.2.6. 纤维素酶的酶学特性研究方法[29] [30]

1、不同 pH 对纤维素酶活性及酸碱稳定性的影响

1) 不同 pH 对纤维素酶活性的影响

分别配制 pH 值为 3.0、3.4、4.0、4.4、5.0、5.4、6.0、6.4、7.0、7.4、8.0、8.4 的柠檬酸缓冲液用于稀释粗酶液, 分别测定其酶活, 以最高酶活值为 100%, 比较纤维素酶在不同 pH 下酶促反应中的相对酶活力, 最后确定最适酶促反应 pH 值。

2) 不同 pH 对纤维素酶酸碱稳定性的影响

分别配制 pH 值为 3.0、3.4、4.0、4.4、5.0、5.4、6.0、6.4、7.0、7.4、8.0、8.4 的柠檬酸缓冲液用于稀释粗酶液, 在 4℃下放置一夜后, 在最适酶促反应条件下测定其酶活, 以未经缓冲液处理过的粗酶液的酶活力为对照, 对 pH 对酶的稳定性进行评价。

2、不同温度对纤维素酶活性及热稳定性的影响

1) 不同温度对纤维素酶活性的影响

在最适 pH 下, 分别设定 30℃、36℃、40℃、46℃、50℃、56℃、60℃、66℃、70℃、76℃、80℃、86℃在水浴中恒温 1.5 h 后, 分别测定其酶活, 以最高酶活值为 100%, 比较纤维素酶在不同温度下酶促反应中的相对酶活力, 最后确定最适酶促反应的温度。

2) 不同温度对纤维素酶热稳定性的影响

取稀释酶液 1 mL, 分别设定 30℃、36℃、40℃、46℃、50℃、56℃、60℃、66℃、70℃、76℃、80℃、86℃在水浴中恒温预处理 1.5 h 后, 再按照常规方法分别测定其酶活, 以未做特殊处理的粗酶液作对照, 评价两种酶的热稳定性。

3、不同金属离子对酶活性的影响

在最适温度、pH 条件下, 向酶系中分别加入 1 mL 0.01 mol/L 的 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 B^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Mo^{3+} 、 Cu^{2+} 保温 60 min 后, 测定酶的活性[31] [32]。

3. 结果与分析

3.1. 葡萄糖标准曲线的制作

取 7 支具塞刻度试管编号，分别加入浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖标准液、蒸馏水和 DNS 试剂，配成不同浓度的葡萄糖反应液，见表 1。

Table 1. Preparation of glucose standard curve

表 1. 葡萄糖标准曲线制作

管号	1 mg/mL 葡萄糖 标准液(mL)	蒸馏水 (mL)	DNS (mL)	葡萄糖含量 (mg)	光密度值 (OD-540 nm)
0	0	2.4	2.0	0	0
1	0.2	2.2	2.0	0.2	0.14462
2	0.4	2.0	2.0	0.4	0.26253
3	0.6	1.8	2.0	0.6	0.43178
4	0.8	1.6	2.0	0.8	0.55566
5	1.0	1.4	2.0	1.0	0.69939
6	1.2	1.2	2.0	1.2	0.85710

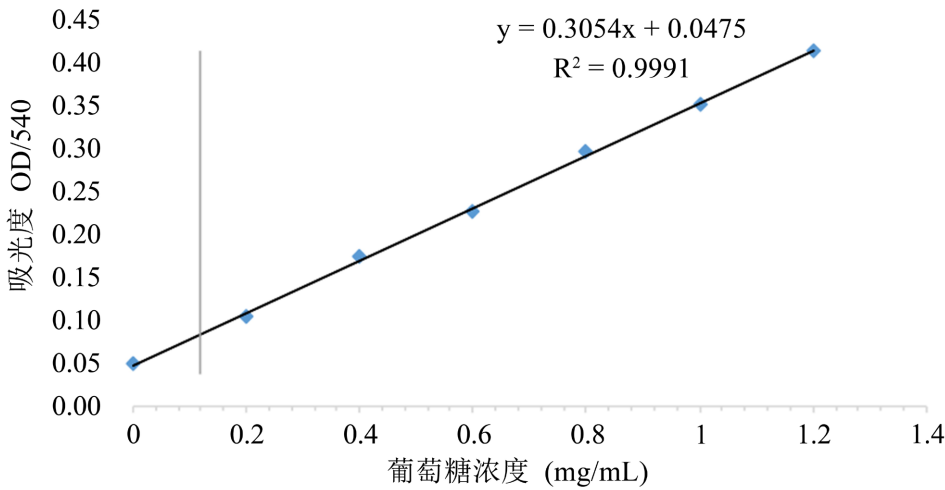


Figure 1. Glucose standard curve

图 1. 葡萄糖标准曲线

可知线性回归的方程为 $y = 0.7138x + 0.0078$ ， $R^2 = 0.9983$ ，说明线性关系良好，见图 1。

3.2. 不同茶皂素浓度对产酶的影响

取 6 个 250 mL 的三角锥形瓶，量取 150 mL 发酵培养液于 250 mL 三角瓶中，加入 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0% 不同浓度的茶皂素，其中一瓶作空白对照。

茶皂素对厚垣镰孢霉 HML278 液体发酵产纤维素酶具有促进的作用。其中添加 0.6% 的茶皂素对厚垣镰孢霉 HML278 液体发酵产纤维素酶的促进作用最大；当茶皂素浓度低于 0.6% 时，随着浓度的升高，其促进作用逐步增强；当茶皂素浓度高于 0.6% 时，随着浓度的升高，其促进作用逐渐降低，见图 2。

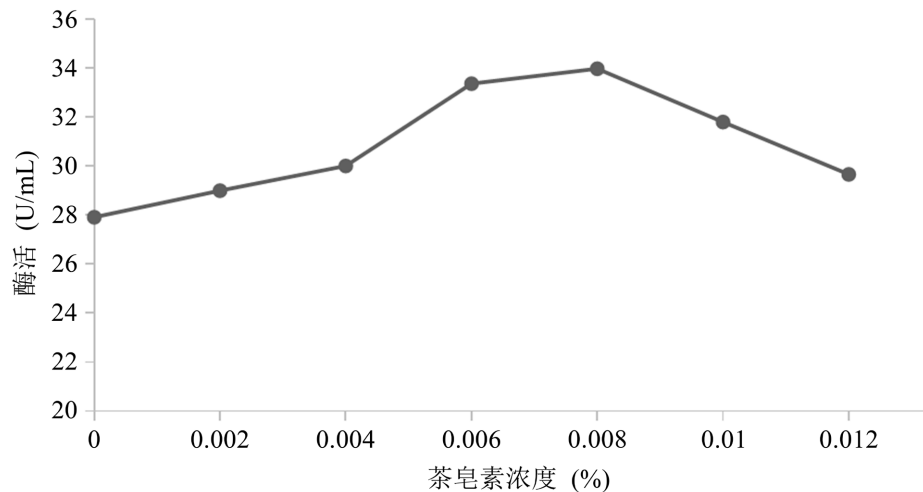


Figure 2. Effect of tea saponin on cellulase production by *Fusarium oxysporum* HML278 during liquid fermentation
图 2. 茶皂素对厚垣镰孢霉 HML278 液体发酵产纤维素酶的影响

3.3. 纤维素酶的酶学特性研究

3.3.1. 不同 pH 对纤维素酶活性的影响

分别配制 pH 值为 3.0、3.4、4.0、4.4、5.0、5.4、6.0、6.4、7.0、7.4、8.0、8.4 的柠檬酸缓冲液用于稀释粗酶液，分别测定其酶活，以最高酶活值为 100%，比较纤维素酶在不同 pH 下酶促反应中的相对酶活力。

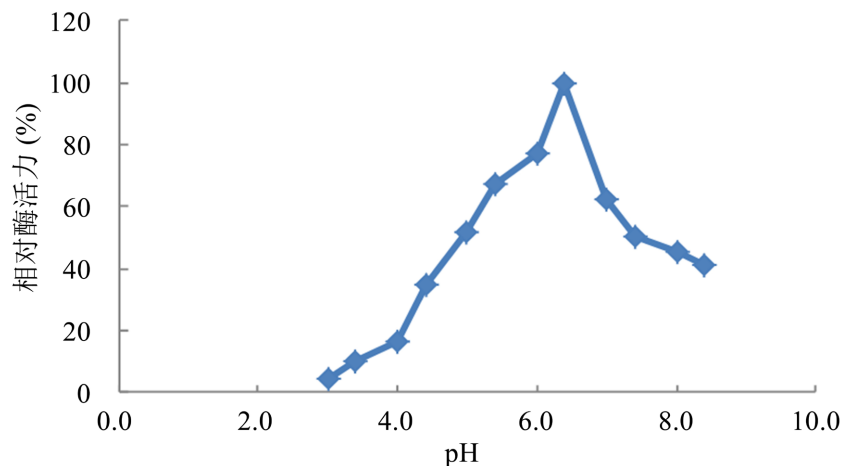


Figure 3. Effect of different pH values on cellulase activity
图 3. 不同 pH 对纤维素酶活性的影响

酶促反应的最适 pH 为 6.4。当 pH 低于 6.4 时，酶促反应随着 pH 的升高，酶促反应逐步增强；当 pH 高于 6.4 时，酶促反应随着 pH 的升高，酶促反应逐步被削减变弱，见图 3。

3.3.2. 不同 pH 对纤维素酶酸碱稳定性的影响

分别配制 pH 值为 3.0、3.4、4.0、4.4、5.0、5.4、6.0、6.4、7.0、7.4、8.0、8.4 的柠檬酸缓冲液用于稀释粗酶液，在 4℃ 下放置一夜后，在最适酶促反应条件下测定其酶活，用未经柠檬酸缓冲液处理过的粗酶液的酶活力为对照组。以最高酶活值为 100%，比较纤维素酶在不同 pH 下酶的酸碱稳定性。

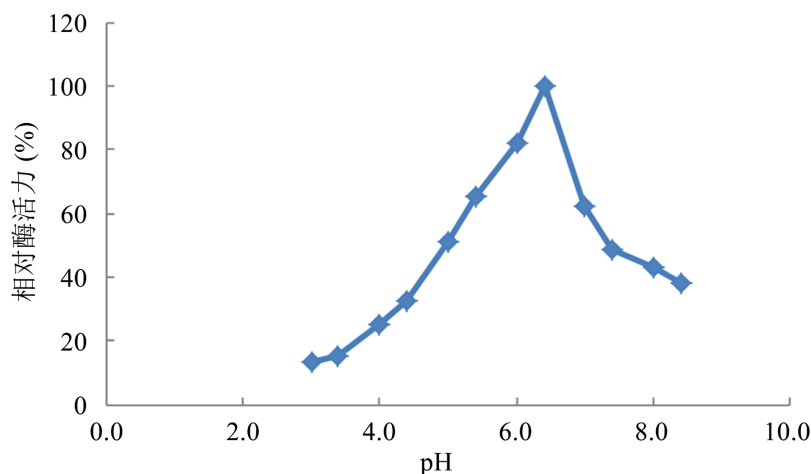


Figure 4. Effect of different pH values on the acid-base stability of enzymes

图 4. 不同 pH 对酶酸碱稳定性的影响

当 pH 为 5.0~7.4 时, 酶的活性维持在 50%以上, 说明当 pH 为 5.0~7.4 时, 酶具有较强的酸碱稳定性, 其中 pH 为 6.4 时, 酶的活力最高, 则酶的酸碱稳定性最强; 当 pH 低于 5.0 和 pH 高于 7.4 时, 酶的活性都较低, 同时可以看出当 pH 低于 5.0 相较于 pH 高于 7.4 时, 酶的活性显然更低, 则表明此酶更耐碱, 不耐酸, 见图 4。

3.3.3. 不同温度对纤维素酶活性的影响

在最适 pH 下, 分别设定 30℃、36℃、40℃、46℃、50℃、56℃、60℃、66℃、70℃、76℃、80℃、86℃在水浴中恒温 60 min 后, 分别测定其酶活, 以最高酶活值为 100%, 比较纤维素酶在不同温度下酶促反应中的相对酶活力。

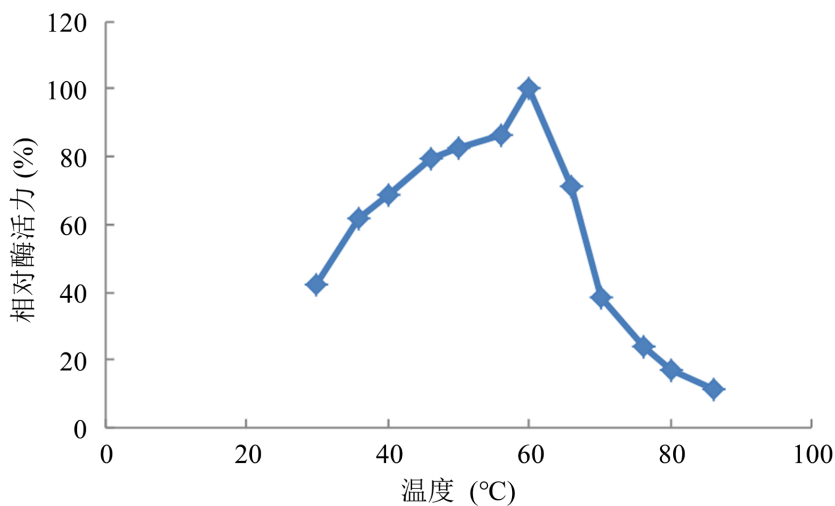


Figure 5. Effect of different temperatures on enzyme-producing activity

图 5. 不同温度对产酶活力的影响

酶促反应的最适温度为 60℃。温度在 30℃~60℃时, 随着温度的升高, 温度对酶促反应的作用也在逐步增强; 在 65℃时, 相对酶活力为 71.5%, 还具有较强的酶活力; 在温度为 70℃、76℃、80℃、86℃时, 纤维素酶的酶活力已不足 40%, 说明酶促反应作用较低, 见图 5。

3.3.4. 不同温度对纤维素酶热稳定性的影响

取稀释酶液 1 mL，分别设定 30℃、36℃、40℃、46℃、50℃、56℃、60℃、66℃、70℃、76℃、80℃、86℃在水浴中恒温预处理 1.5 h 后，再按照常规方法分别测定其酶活，以未做特殊处理的粗酶液作对照，评价两种酶的热稳定性。

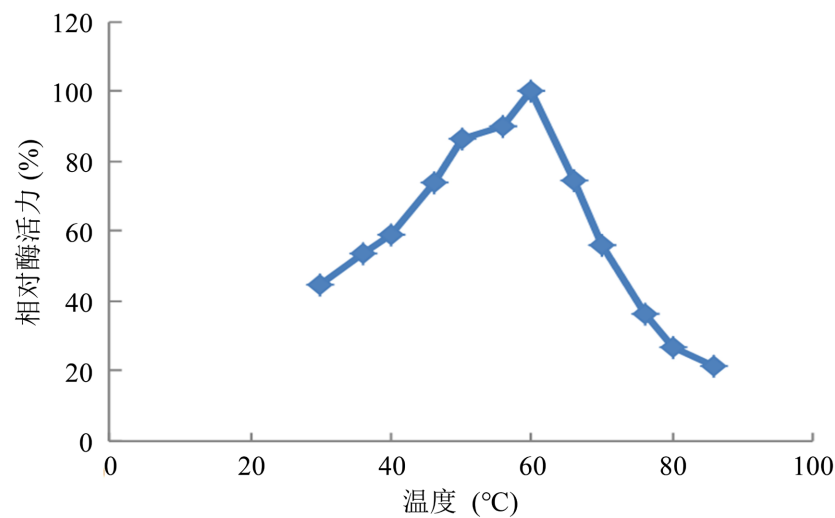


Figure 6. Effect of different temperatures on the thermal stability of cellulase
图 6. 不同温度对纤维素酶热稳定性的影响

温度在 46℃~66℃ 范围时，纤维素酶具有较强的热稳定性；其中温度为 60℃ 时，酶的热稳定性最强；温度小于 46℃ 和大于 66℃ 时，酶的热稳定性较弱，说明低温能抑制酶的活性，高温对酶的抑制作用更强，甚至能使酶失活，见图 6。

3.3.5. 不同金属离子对纤维素酶活力的影响

在最适温度、pH 条件下，向酶系中分别加入 1 mL 0.01 mol/L 的 Li⁺、K⁺、Ca²⁺、Zn²⁺、Mn²⁺、Al³⁺、Co²⁺、Fe³⁺保温 60 min 后，测定酶的活性。

Table 2. Effects of metal ions on cellulase activity
表 2. 金属离子对纤维素酶活性的影响

金属离子	纤维素酶的相对酶活力(%)
对照组	100
Co ²⁺	45
Al ³⁺	71
K ⁺	116
Li ⁺	124
Zn ²⁺	178
Mn ²⁺	202
Fe ³⁺	227
Mn ²⁺	262
Ca ²⁺	298

在该酶中加入 Li^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 后, 该酶的酶活力增强, 其中加入 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 后酶活力最强; 而加入 Co^{2+} 、 Al^{3+} 后, 该酶的酶活力减弱。说明 Li^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 对酶促反应具有促进作用, 其中 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 对酶促反应的促进作用最强; 表明这些金属离子可能在酶的催化过程中起到了重要的辅助作用, 可能是调节酶的构象和活性中心状态来提高活性水平, 增强了酶的催化效率。而 Co^{2+} 、 Al^{3+} 对酶促反应具有抑制作用, 这些抑制效果可能与这些金属离子干扰了酶的活性中心或改变了酶的构象有关, 重金属离子与酶活性中心的关键基团相互作用, 形成稳定的复合物, 阻断酶与底物的结合, 导致酶活性下降。见表 2。

4. 结论与展望

茶皂素作为一种生物表面活性剂, 对于细胞膜的通透性具有改善的作用, 通过此次试验发现, 当茶皂素浓度为 0.6%时, 所得到的厚垣镰孢霉 HML278 液体发酵产纤维素酶的活性最高, 过多或过少, 酶的活性都明显较低。

本次对厚垣镰孢霉 HML278 液体发酵产纤维素酶进行酶学特性研究, 得出酶的最适温度为 60°C , 最适 pH 为 6.4。在温度为 60°C 时, 酶的热稳定性较强, 在 pH 为 6.4 时, 酶的酸碱稳定性较强。在金属离子对酶活性的探究中, 发现 Li^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 对酶促反应均具有促进作用, 其中 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 对酶促反应的促进作用最强; 而 Co^{2+} 、 Al^{3+} 对酶促反应具有抑制作用。

参考文献

- [1] Alsahag, M., Alisaac, A., Al-Hazmi, G.A.A., Pashameah, R.A., Attar, R.M.S., Saad, F.A., *et al.* (2023) Preparation of Carboxymethyl Cellulose/Polyvinyl Alcohol Wound Dressing Composite Immobilized with Anthocyanin Extract for Colorimetric Monitoring of Wound Healing and Prevention of Wound Infection. *International Journal of Biological Macromolecules*, **224**, 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.119>
- [2] Chettri, D. and Verma, A.K. (2024) Statistical Optimization of Cellulase Production from *Bacillus* sp. YE16 Isolated from Yak Dung of the Sikkim Himalayas for Its Application in Bioethanol Production Using Pretreated Sugarcane Bagasse. *Microbiological Research*, **281**, Article ID: 127623. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127623>
- [3] 赵鑫, 张红, 门中华, 等. 纤维素酶的研究与应用进展[J]. 化学与生物工程, 2023, 40(9): 1-9.
- [4] Sarangthem, I., Rajkumari, L., Ngashangva, N., Nandeibam, J., Yendrembam, R.B.S. and Mukherjee, P.K. (2023) Isolation and Characterization of Bacteria from Natural Hot Spring and Insights into the Thermophilic Cellulase Production. *Current Microbiology*, **80**, Article No. 64. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03168-x>
- [5] Iyyappan, J., Pravin, R., Al-Ghanim, K.A., Govindarajan, M., Nicoletti, M. and Baskar, G. (2023) Dual Strategy for Bioconversion of Elephant Grass Biomass into Fermentable Sugars Using *Trichoderma Reesei* towards Bioethanol Production. *Bioresource Technology*, **374**, Article ID: 128804. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128804>
- [6] Gomes, J. and Jun, C. (2022) Development of Microalgae-based Biofuels as a Viable Green Energy Source: Challenges and Future Perspectives Mathushika. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, **12**, 3849-3882.
- [7] Rajnish, K.N., Samuel, M.S., John J, A., Datta, S., Chandrasekar, N., Balaji, R., *et al.* (2021) Immobilization of Cellulase Enzymes on Nano and Micro-Materials for Breakdown of Cellulose for Biofuel Production—A Narrative Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **182**, 1793-1802. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.176>
- [8] 广西: 蔗糖产量连续三年稳定在 600 万吨以上[J]. 中国食品, 2020(9): 63.
- [9] Srivastava, R.K., Shetti, N.P., Reddy, K.R., Kwon, E.E., Nadagouda, M.N. and Aminabhavi, T.M. (2021) Biomass Utilization and Production of Biofuels from Carbon Neutral Materials. *Environmental Pollution*, **276**, Article ID: 116731. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116731>
- [10] Kroukamp, H., den Haan, R., la Grange, D.C., Sibanda, N., Foulquié-Moreno, M.R., Thevelein, J.M., *et al.* (2017) Strain Breeding Enhanced Heterologous Cellobiohydrolase Secretion by *saccharomyces Cerevisiae* in a Protein Specific Manner. *Biotechnology Journal*, **12**, Article ID: 1700346. <https://doi.org/10.1002/biot.201700346>
- [11] Qiao, J., Cui, H., Wang, M., Fu, X., Wang, X., Li, X., *et al.* (2022) Integrated Biorefinery Approaches for the Industrialization of Cellulosic Ethanol Fuel. *Bioresource Technology*, **360**, Article ID: 127516. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127516>

- [12] Vieira, C.F.D.S., Codogno, M.C., Maugeri Filho, F., Maciel Filho, R. and Mariano, A.P. (2021) Sugarcane Bagasse Hydrolysates as Feedstock to Produce the Isopropanol-Butanol-Ethanol Fuel Mixture: Effect of Lactic Acid Derived from Microbial Contamination on *Clostridium Beijerinckii* DSM 6423. *Bioresource Technology*, **319**, Article ID: 124140. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124140>
- [13] Ma, K., Zhang, P., Zhao, J. and Qin, Y. (2025) Discovery of a Novel Translation-Machinery-Associated Protein That Positively Correlates with Cellulase Production. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, **18**, Article No. 20. <https://doi.org/10.1186/s13068-025-02624-7>
- [14] Gao, L., Jiang, Y., Hong, K., Chen, X. and Wu, X. (2023) Glycosylation of Cellulase: A Novel Strategy for Improving Cellulase. *Critical Reviews in Biotechnology*, **44**, 191-201. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2144117>
- [15] Heng, S., Sutheeworapong, S., Wangnai, C., Champreda, V., Kosugi, A., Ratanakhanokchai, K., *et al.* (2024) Hydrolysis of Ionic Liquid-Treated Substrate with an *Iocasia Fonsfrigidiae* Strain SP3-1 Endoglucanase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **108**, Article No. 63. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12918-1>
- [16] Moya, E.B., Syhler, B., Dragone, G. and Mussatto, S.I. (2024) Tailoring a Cellulolytic Enzyme Cocktail for Efficient Hydrolysis of Mildly Pretreated Lignocellulosic Biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, **175**, Article ID: 110403. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2024.110403>
- [17] Qin, Y., He, H., Li, N., Ling, M. and Liang, Z. (2010) Isolation and Characterization of a Thermostable Cellulase-Producing *Fusarium chlamydosporum* and Characterization of the Cellulolytic Enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **26**, 1991-1997. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0383-x>
- [18] Qin, Y., Li, Q., Luo, F., Fu, Y. and He, H. (2020) One-Step Purification of Two Novel Thermotolerant β -1,4-Glucosidases from a Newly Isolated Strain of *Fusarium chlamydosporum* HML278 and Their Characterization. *AMB Express*, **10**, Article No. 182. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01116-1>
- [19] 贾林林, 李洪安, 邓泽元, 等. 茶皂素的提取、纯化及其表面活性研究[J/OL]. 天然产物研究与开发: 1-16. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1335.q.20250307.0959.002.html>, 2025-05-07.
- [20] 黄青青, 潘凤然, 廖燕科, 等. 茶皂素与鼠李糖脂复配的表面活性增效作用[J]. 湖北农业科学, 2025, 64(2): 21-26+50.
- [21] 何海燕, 黄舒琳, 李东霖, 等. 产农用抗生素的菌种筛选鉴定及活性产物的初步研究[J]. 饲料研究, 2021, 44(18): 67-72.
- [22] 廖鑫琳, 郭鑫, 杨季学, 等. 拮抗青枯雷尔氏菌的放线菌筛选及其防病作用[J]. 中国农业科学, 2024, 57(7): 1319-1334.
- [23] 刘秀华. 纤维弧菌低温纤维素酶的分离纯化及性质探讨[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2007.
- [24] 郝志军, 李忠兴. 青霉 NXP25 纤维素酶的产生及性质[J]. 微生物学通报, 2002, 29(1): 64-66.
- [25] 姜欣彤. 磷酸化玉米耳多糖脂质体制备及其生物活性的研究[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 兰州理工大学, 2024.
- [26] 冉松. 产木质纤维素酶菌株的筛选应用及机理研究[D]: [硕士学位论文]. 株洲: 湖南工业大学, 2023.
- [27] 彭洪草, 许雪芹, 王晓凡, 等. 以麦秸秆综纤维素快速糖化液为碳源的 L-乳酸发酵条件研究[J]. 中国酿造, 2025, 44(2): 256-260.
- [28] 鲍飞. 纤维素降解细菌的筛选、产酶条件优化及内切葡聚糖酶基因表达[D]: [硕士学位论文]. 扬州: 扬州大学, 2024.
- [29] 吴日帮, 陈晨, 方博文, 周其洋. 米曲霉蛋白酶基因与酶学特性研究进展[J]. 中国酿造, 2024, 43(4): 8-13.
- [30] 张秀琼. 植物乳植杆菌 HQ-3 基因组分析及其重组 β -半乳糖苷酶异源表达、酶学特性研究[D]: [硕士学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2024.
- [31] 冯婷婷. 理性设计提升 D-阿洛酮糖 3-差向异构酶的稳定性和催化活性[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西大学, 2024.
- [32] 张东. GH11 家族木聚糖酶的筛选、抗抑制蛋白改造及应用研究[D]: [博士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2024.