

漆酶的发酵生产及其应用研究进展

彭滢钡, 曹福祥, 董旭杰, 彭继庆

(中南林业科技大学 生命科学与技术学院, 湖南 长沙 410004)

摘要:漆酶是一种古老的氧化还原酶,该文在介绍 1 株真菌被确定为高产漆酶菌株的过程以及影响漆酶合成的因素的基础上,简要介绍了优化培养条件提高漆酶产量、混合菌发酵生产漆酶、真菌诱变育种生产漆酶等研究进展;并对漆酶在印染工业、造纸工业、食品工业、环境工业、农业等方面的应用进行了综述;同时对漆酶在工业化生产上的研究以及提高漆酶对各种底物的利用率等方面进行了展望,以期能够为早日实现漆酶工业化生产起到促进作用。

关键词:漆酶;混合菌培养;诱变育种;应用

中图分类号:Q 554 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0206-05

漆酶也叫苯二酚或氧氧化还原酶(Benzenediol: oxygen oxidoreductase, EC1. 10. 3. 2),是一种含铜的多酚氧化酶,与植物抗坏血酸氧化酶(Ascorbic acid oxidase)、哺乳动物血浆铜蓝蛋白(*Ceruloplasmin*)同源,同属于蓝色多铜氧化酶(Blue multicopper oxidase)家族^[1],是一种古老的氧化还原酶。1883 年,日本学者 Yoshi^[2]首次从日本紫胶漆树(*Rhus verniciifera*)的分泌物中发现一种能催化油漆固定化的蛋白质,10 a 后, Bertrand^[3]又在真菌中发现了这种酶,并且将其命名为漆酶。随着研究的

不断深入,人们发现不仅在漆树中存在漆酶,在真菌分泌物^[3]、细菌^[4]、高等植物^[2]、昆虫^[5-6]、甚至动物的肾脏和血清中也存在着漆酶^[7-8]。目前研究最多的是真菌漆酶,分泌漆酶的真菌主要集中于担子菌亚门(Basidiomycotina)、子囊菌亚门(Ascomycotina)及半知菌亚门(Deuteromycotina)等高等真菌,其中最主要的是担子菌亚门的白腐真菌^[9]。已有研究表明^[10],生产漆酶的主要菌种包括:黄孢原毛平革菌、变色栓菌(*Trametes versicolor*)、香菇(*Lentinus edodes*)、平菇(*Pleurotus ostreatus*)、木蹄层孔菌(*Fomes fomentarius*)、丝核菌(*Rhizoctonia praticola*)、维氏针层孔菌(*Phellinus weirii*)、射脉菌(*Phlebia radiata*)、红孔菌(*Pycnoporus cinnabarinus*),其中栓菌属(*Trametes*)是最有效的漆酶生产者,其代表菌变色栓菌(*Trametes versicolor*)是生产漆酶的模式菌。该文介绍了 1 株真菌被确定为高产漆酶菌株的过

第一作者简介:彭滢钡(1990-),女,硕士研究生,研究方向为微生物育种。E-mail:414426489@qq.com.

责任作者:曹福祥(1963-),男,教授,博士生导师,现主要从事植物学和生物化学与分子生物学等研究工作。E-mail:csfucuo@163.com.

收稿日期:2013-09-09

Research Progress on Vegetable Sand Culture Technology in Solar Greenhouse

ZHAO Yun-xia, PEI Hong-xia, GAO Jing-xia, QIN Xiao-jun

(Institute of Germplasm Resources, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract: Research progress on vegetable sand culture technology in solar greenhouse were summarized from substrate selection, sand culture facilities, nutrient solution, vegetable variety selection and water saving. The problems existed in solar greenhouse vegetables sand culture of regional technology development imbalance, high technical requirements, the promotion of weak link, low degree of current technology were briefly introduced. And on this basis, the sand culture to avoid the happening of the root soil borne disease, and the advantages including saving water, fertilizer and work, fewer pests, easy to obtain high yield and good quality products, and it could effectively utilize the areas, industrial and mining land and saline-alkali land non-cultivated land, open up ways of rural employment, increase farmers' income, resolve conflict with food crops for land etc were prospected.

Key words: vegetable; sand culture; status; problem; progress

程以及影响漆酶合成的因素,以期通过这些研究能早日获得适用于工业化生产的菌株;同时还简要介绍了2种提高漆酶产量的方法;最后对漆酶在各个领域的应用做了简单概述,以期能够为早日实现漆酶工业化生产起到促进作用。

1 漆酶的生产

1.1 优化培养条件提高漆酶的产量

确定1株真菌是否是漆酶的高产菌一般要经过初筛和复筛2个过程,目前初筛主要通过平板显色法进行,最常用的方法包括愈创木酚显色法^[11-12]、鞣酸显色法^[13-14],前者通过变色圈直径与菌落直径的比值来初步确定真菌是否能产生漆酶,后者通过菌落周围是否出现红棕色的氧化带来确定是否能产生漆酶。

初筛成功的菌株要进行发酵生产。目前,发酵培养主要分为固态培养和液态培养2种方式。对于漆酶而言,固态和液态发酵过程所产漆酶同工酶的差异较大。现在研究发现固态发酵产生的漆酶活性远大于液态发酵产生的,叶选怡等^[15]以亮菌(*Armillariella tabescens*)为对象研究发现,固体发酵漆酶的酶活是3496.7 U/g,远远高于液体培养条件下的7.92 U/mL,但是液态培养过程中pH值、温度等相关参数易检测使整个发酵过程更易掌握。所以选择哪种培养方式比较合适,还需要从多方面进行综合考虑。目前关于这2种不同的培养方式对菌体生长和漆酶活力的影响还未有一个明确的说法。在液体培养中,大多采用振荡培养,且振荡培养产生的漆酶活力比静止培养产漆酶活力高,当然也有研究表明静止培养的活力高于振荡培养,如侯红漫等^[16]研究表明,静止培养漆酶的产量是振荡培养的几倍,所以研究1株真菌是否高产漆酶要从2种培养方式去研究。

目前对漆酶的研究大多采用的是液体振荡培养,通过培养试验条件来提高漆酶的产量。范文霞等^[17]研究表明,漆酶的发酵培养受多种因素影响,包括碳氮比、温度、摇床转速、培养基pH值、金属离子以及诱导剂等,碳源氮源是维持微生物代谢不可缺少的营养物质;董旭杰等^[18]研究表明,多数情况下高碳低氮更有利于漆酶的合成,同时不同微生物的最适碳源和氮源也不同,在研究中要通过单因素试验首先确定其最适碳源和氮源,然后再确定其最适碳氮比。温度也是影响微生物的重要因素之一,但是微生物生长的最适温度并不一定就是合成漆酶的最适温度,肖楚等^[19]研究表明,大部分漆酶合成的最适温度是25~32℃,当然也有少数嗜热菌除外,但是分泌漆酶的最适温度也不一定就是漆酶最大活性的温度;周雪等^[20]研究表明,漆酶的最大活性在35~50℃,这一温度高于微生物生长温度和漆酶的分泌温度,所以研究过程中研究漆酶酶学性质尤其重要,这对于漆酶作用底物的效率有直接关系。当然在生产工程中,应尽量

选择最大活性与漆酶合成最适温度相同或者相近的,这样便于控制温度与节约成本。由于在微生物的生长过程中大部分产生漆酶的真菌都是好氧菌,所以震荡培养更有利于漆酶的产生。董学卫^[21]、张安龙等^[22]、苏东海等^[23]、朱启忠等^[24]研究表明,大部分漆酶的最适转速都在120~180 r/min;pH值对微生物的影响效果也是显著的,研究表明,大部分产漆酶的最适pH在4.0~6.0^[22,24-28],偏酸性的生长环境更利于漆酶的分泌,这也符合真菌的生长环境为偏酸性。漆酶合成过程中金属离子的影响也至关重要。目前对漆酶的研究主要集中在 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Ag^{+} 、 Zn^{2+} 、 Na^{+} 、 Ca^{2+} 等离子上。由于漆酶自身的三铜结构, Cu^{2+} 作为其活性中心的组成部分对漆酶的合成影响最大。研究表明大多数时候 Cu^{2+} 可以促进漆酶的产生^[22,26,29-32],其它金属离子对漆酶的影响相对较小,且不同微生物所产生漆酶受不同金属离子影响不同^[32]。张丽等^[32]研究白腐菌(*Pan-us conchatus*)发现,加入 Cu^{2+} 比不加入酶活提高了11倍,而 K^{+} 、 Na^{+} 、 Mg^{2+} 等金属离子对酶活影响较小,但是浓度过高则会抑制其的产生。张安龙等^[22]研究表明添加 Cu^{2+} 后漆酶的产量是未添加的3倍,因而在漆酶生产中 Cu^{2+} 被认为是高效的诱导剂,同时也是现在研究中使用的最多的诱导剂^[33-34]。诱导剂通常可以诱导漆酶高效生产,除了 Cu^{2+} 外,天然物质也是使用的较多的一类诱导剂,张丽等^[32]研究表明豆粕和花生壳均能提高“黄小脆”柄菇产生漆酶的产量,且豆粕的作用更为明显,与不加诱导剂的基础培养基相比,其相对漆酶活性达到2.5倍。天然产物诱导作用明显,且对环境不会造成污染是今后选择诱导剂的一个方向,同时大多数天然产物本身就是农产品的副产物,合理利用也可以减轻环境的压力。除此之外,ABTS、愈创木酚、藜芦醇等对漆酶都具有一定诱导作用,且是目前研究中常使用的诱导剂^[25]。但是不同菌株诱导剂的作用是不同的,有些诱导剂不适用于某些菌株,添加或添加浓度过高会抑制漆酶的产量。孙海鑫^[35]以杂色云芝为对象研究了多种诱导剂,包括没食子酸、 α -萘酚、对苯二酚、阿魏酸、HBT、ABTS、香草醛等,发现能够促进漆酶生产的诱导剂是没食子酸、 α -萘酚、阿魏酸,香草醛对其几乎无影响;ABTS和HBT虽然没有促进漆酶的生产,却将漆酶的生产周期缩短了,没食子酸对其作用最大,紧接着研究了不同没食子酸浓度对漆酶的影响,发现过高过低的浓度都不利于漆酶的分泌,最佳浓度是0.5 mmol/L。因此在研究过程中,要研究不同诱导剂对不同菌株产生漆酶的影响,从而使漆酶的产量得到最大化,同时要考虑到成本问题和环境问题,少用难降解和有污染的物质。

1.2 混合菌发酵生产漆酶

除了优化培养条件提高漆酶的产量,近年来有多位

学者开始研究复合菌发酵生产以增加漆酶的产量,并且取得了一些成果,孙海鑫^[35]以杂色云芝为研究对象,研究其纯种培育和加入皱褶假丝酵母的培养效果,结果表明,混合培养比之前的纯种培养漆酶的产量提高约38.9%;戴文魁^[36]研究筛选到的高产菌株杂色云芝(*Coriolus versicolor*)‘Lz-8’与其它11株菌混合培养,结果得到其与层孔菌‘wl’混合所产漆酶是单独培养时的1.6倍,经过优化培养条件漆酶在第9天可以达到40.96 IU/mL,分别是‘Lz-8’和‘wl’单独培养产漆酶的3.35倍和4.84倍。孟瑶等^[37]研究了不同白腐真菌复配方式对产酶的影响筛选到最佳复配方式青顶拟多孔菌和糙皮侧耳菌以及偏肿拟栓菌混合,其最大酶活为75.98 U/mL,产酶峰值时间为14 d。蒋瑾等^[38]研究得到硫磺菌虽然自身不产生漆酶但是其余黑木耳共培养时可以使黑木耳的酶活提高20%。混合菌发酵生产漆酶是近年来才新兴起来的,因为其不需要多余的添加物,且操作简单,同时漆酶的合成增加明显,现已成为研究漆酶的又一趋势,但是并不是所有的真菌混合培养都能实现漆酶产量的提高,课题组在试验中曾经做过将本身漆酶活力都较高的木质层孔菌和烟色烟管菌混合培养,结果不但酶活不高,而且2个菌混合以后生长缓慢,5 d后几乎不再生长。所以在研究混合培养时首先考虑到混合培养的几个菌是否共生,再通过液体培养看其混合培养是否能促进漆酶的合成。

1.3 真菌诱变育种生产漆酶

除了优化培养条件,诱变育种也是提高漆酶的方式之一,诱变育种分为物理诱变和化学诱变,物理诱变包括紫外诱变、X射线、 γ 射线、激光诱变、离子束、快中子以及近些年新兴的空间诱变、微波诱变等。化学诱变剂主要有烷化剂、碱基类似物和吡啶化合物。不管是哪种诱变方法都是通过其DNA的改变来进行突变从而获得自己所需要的性状。目前对漆酶的研究主要集中在物理诱变,而物理诱变主要集中在紫外诱变、微波诱变、 ^{60}Co 辐射诱变以及复合诱变,且取得了一定成果。郑蕾^[39]通过紫外诱变白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)后获得1株高产诱变株,其酶活比之前提高了79.54%,经过5代传代培养,未见酶活下降,具有较好的遗传稳定性,优化其条件得到酶活为214.9 U/L。苏瑞等^[40]分别研究了黄孢原毛平革菌的紫外诱变和微波诱变得到2株诱变株‘PU-69’和‘PM-57’,与初始菌株相比,前者的漆酶活性是原来的1.31倍,后者的漆酶活性是原来的1.3倍。微波诱变是近些年新兴起的诱变技术,因其操作简单,作用明显而广泛使用于研究中,单独的微波诱变能起到一定作用,将其与使用最多的紫外诱变一起进行复合诱变能达到更好的效果。严平等^[41]通过对筛选到的高效降解木质素的菌株‘YJ-9-1’进行紫外微波复合诱变

得到菌株‘3-8’,并利用其对玉米秸秆中的木质素降解,结果发现在14 d的时候菌株‘3-8’对玉米秸秆木质素的降解率为48.43%,比出发菌株提高了16.03%。离子束在漆酶的研究中应用不多,但是其诱变效果显著;赵世光等^[42]通过低能 N^+ 束注入技术对漆酶产生菌灵芝菌(*Ganoderma lucidum*)U60菌丝体进行辐照诱变遗传性稳定的漆酶高产突变株‘UIM-281’,由于原始菌株具有2次产酶高峰,最后得到‘UIM-281’的产漆酶活力峰值分别是出发菌株‘U60’的1.7倍及2.28倍,且产酶发酵周期相对缩短24 h。紫外诱变因为其操作简单同时效果明显是目前各种诱变手段的首选方法,近年来新兴的微波诱变、空间诱变也是今后选育高产菌株的方法,目前微波诱变合成漆酶的高产菌的报告已经有不少,而空间诱变还未见其报道,相信这是今后解决高产漆酶的又一途径,同时复合诱变也是今后发展的一大趋势,其让几个诱变方法的优点有机的结合在一起,但是复合诱变后的菌株遗传稳定性将会更差,所以在应用于工业生产前要多做几代稳定性研究。

2 漆酶的应用

随着研究的不断深入,漆酶的作用范围也在不断扩大,目前已知漆酶可以催化氧化250余种不同类型的底物,其底物类型具有很大的广泛性,大致可以分为酚类及其衍生物、芳胺以及其衍生物、羧酸以及其衍生物、人工合成的偶氮类色素、甾体激素和生物色素、金属有机化合物以及其它非酚类底物。因为漆酶的底物广泛,所以其在纺织、食品、造纸、医药等工业中都有广泛的应用。

2.1 漆酶在印染工业上的应用

漆酶的作用广泛,其对染料的作用尤其显著,现在已经知道其可完全或部分脱去氨基黑、刚果红、甲基绿、甲基紫、考马斯亮蓝R等染料,郑苗苗等^[43]研究偏肿革菌发现,其产生的漆酶对茜素红、中性红、刚果红和结晶紫4种染料都具有脱色能力,且茜素红脱色效果要好于其它白腐真菌来源的漆酶,在5 U/mL的酶活下只需1 h脱色率就达到100%。这对工业上降解茜素红具有指导意义;赵美丽^[44]研究得到用3.9 IU/mL的漆酶来进行脱色降解靛蓝反应时,420 min时脱色较完全,可以达到90%;采用浓度为13.5 IU/mL的漆酶处理含有金橙II的溶液,反应达500 min时,脱色较完全,可以达到90%以上。刘文华等^[45]对*Trametes hirsuta* ‘SYBC-L19’进行研究发现,该菌优化试验条件后所产漆酶在60℃下对偶氮类染料AR1和RB5能迅速脱色,5 min内即可完成,这也说明漆酶的最适活力不一定是分泌漆酶的最适温度,在工业上应用的时候要合理设计2个温度达到漆酶的最佳利用率。

2.2 漆酶在造纸工业上的应用

我国人口众多,对纸张的需求量很大,造纸工业是我国重要的产业之一,随着科技的发展,人们发现传统的造纸技术对环境污染严重、能耗大,从而研究出一条新的道路—生物制浆。所谓生物制浆首先就是去除木质素,因为木质素的含量高低直接影响纸浆的质量,传统的氯漂法产生的废水对环境影响很大,漆酶不但可以选择性降解木质素生产纸浆^[46],而且去除木质素比传统方法彻底,避免因木质素去除不彻底引起的漂白,漂白不仅污染环境,且污水处理一直是研究的热点与难点,碱木素作为造纸工业的副产品,对环境污染显著,漆酶对其具有一定的降解作用,侯红漫等^[16]研究表明漆酶可以使碱木素脱色,优化试验条件在限氮条件下能使碱木素的脱色率达到90%。

2.3 漆酶在食品工业中的应用

漆酶作用底物广泛因而其能够广泛应用于食品行业,它能降解白酒、啤酒、果汁中的酚类物质,避免因酚类物质存在引起浑浊和色泽的变化,从而既能够保持其风味又能够降低变色和变质的速度。不仅如此,通过漆酶处理不仅能耗低,而且条件温和营养损失少。乔晓兰等^[47]以苹果汁为对象,进一步研究了漆酶的加入量,确定漆酶添加量为1.5%、酶解时间为40 min和酶解温度为45℃。在响应面分析优化的最佳条件下进行3次平行试验,得到总酚含量为2.98 mg/L,此试验对漆酶在工业上的进一步应用有指导作用。除此之外,漆酶能够使那些存在于植物中的氧脱除,测出食品处的抗坏血酸,由于这种方法快速简单,可用于食品中的在线测定,并广泛用于酒类、奶粉类的检测。在烘烤工业中,烘焙制品的品质、体积、风味及新鲜程度与面筋的筋力关系很大,而面筋蛋白中半胱氨酸间的二硫键数目是其空间结构和面团形成的关键。漆酶通过氧化芳香族氨基酸,使蛋白质二硫键异构酶能够重新排列半胱氨酸间的二硫键,从而达到改善面筋强度和提提高面筋筋力的作用,使得烘焙制品口感酥软、风味好、体积大、硬度低、稳定性好^[48]。除此之外,漆酶添加在漱口水、牙膏、口香糖、薄荷糖等各种口腔用品中可起到抑制口臭的作用^[49]。

2.4 漆酶在环境工业上的应用

漆酶作用底物广泛,能够有效降解环境中的有毒有害物质,因而其在环境中得到广泛应用,有效的对环境进行生物修复,人类社会的飞速发展也对环境造成巨大威胁,大量的废水排入环境对环境造成很大的影响。而漆酶对染料具有高效降解作用,因而能有效处理废水,且对环境不会造成2次污染。

2.5 漆酶在农业上的应用

我国是农业大国,秸秆是农业废弃物,大部分秸秆处理方式都是焚烧,不仅使资源遭到巨大浪费,而且对

环境也造成污染,秸秆中因为含有大量木质素而不能直接作为饲料或其它用途,因而有效的去除秸秆中的木质素是提高利用率的前提。木器对降解木质素主要有物理方法、化学方法和生物方法,前二者不仅能耗大,同时对环境有一定影响,而生物去除方法能够在有效去除木质素的同时,对环境没有影响,它是一种新兴的方法。张杰^[50]以土壤中分离的5株白腐菌为对象,通过⁶⁰Co诱变发现诱变前后的白腐菌发酵液均对秸秆的木质素有一定降解作用,且诱变后最高的降解率能够达到50.46%。虽然漆酶对木质素的降解是无污染的,但是有效提高其降解效率才能使其大范围的应用于生产。

3 展望

经过多年的努力在漆酶的各方面研究上都取得了一定进展,但是由于各种因素限制,现在仍然未见有漆酶工业化生产的报道。今后混合菌发酵培养和诱变育种将是提高漆酶产量的重要手段。同时由于漆酶的作用底物广泛,所以抓紧漆酶的利用对科学研究具有重要意义,同时提高漆酶对各种底物的利用率更是我们要解决的问题。

参考文献

- [1] Nina H, Laura-Leena K, Kristiina K, et al. Crystal structure of a laccase from *Melanocarpus albomyces* with an intact trinuclear copper site[J]. *Nat Struct Biol*, 2002, 9(8): 601-605.
- [2] Yoshi H. Chemistry of lacquer (Urusht) Part I[J]. *J Chem Soc*, 1883, 43: 472-486.
- [3] Bertrand G. Sur la presence simultanee de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons[J]. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 1896, 123: 463-465.
- [4] Claus H, Filip Z. The evidence for a laccase-like anzyme activity in a *Bacillus sphaericus* strain[J]. *Microbial Res*, 1997, 152: 209-216.
- [5] Kramer K J, Kanost M R, Hopkins T L, et al. Oxidative conjugation of catechols with proteins in insect skeletal systems[J]. *Tetrahedron*, 2001, 57: 385-392.
- [6] Hopkins T L, Kramer K J. Insect cuticle sclerotization[J]. *Annu Rev Entomol*, 1992, 37: 273-302.
- [7] Yaropolov A I, Skorobogatko O V, Vartanov S, et al. Laccase properties, catalytic mechanism, and application cability[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 1994, 49: 257-278.
- [8] Rheinhammar B. Laccase[M]//Lontie R. Copper proteins and copper anzymes. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc., 1984: 1-35.
- [9] 王佳玲, 余惠生, 付时雨, 等. 白腐菌漆酶的研究进展[J]. *微生物学通报*, 1998, 25(4): 233-236.
- [10] 李慧蓉. 白腐真菌生物学技术和生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 53.
- [11] 王瑞玲. 漆酶高产菌的筛选[J]. *玉溪师范学院学报*, 2012, 4(28): 45-47.
- [12] 燕红, 苏俊, 于彩莲, 等. 高效木质素降解菌的分离筛选[J]. *浙江大学学报*, 2011, 37(3): 259-262.
- [13] 张春霞. 13种白腐真菌产漆酶能力的比较研究[J]. *牡丹江师范学院学报*, 2009(2): 28-39.
- [14] 陆兵. 红芝漆酶高产菌株的诱变选育及其酶的化学修饰、固定化和

应用研究[D]. 桂林:广西师范大学,2012.

[15] 叶选怡,杨丽红,凌庆枝,等.亮菌产漆酶的液体和固体发酵条件优化[J].湖北农业科学,2013,5(26):1410-1414.

[16] 侯红漫,周集体,杨红.几种产木质素降解酶白腐菌对碱木素的降解研究[J].中国造纸学报,2003,18(1):40-45.

[17] 范文霞,蔡友华,刘学铭,等.毛云芝菌产漆酶液体培养条件的优化[J].食品与生物技术学报,2008,27(1):88-93.

[18] 董旭杰,曹福祥,陈静,等.3种白腐菌木质素降解酶的比较[J].中南林业科技大学学报,2007,27(3):131-135.

[19] 肖楚,刘佳,许修宏.黑木耳漆酶酶学性质的研究[J].中国农学通报,2011,27(25):158-161.

[20] 周雪,朱启忠.白腐真菌漆酶的纯化及性质[J].生物加工过程,2011,9(2):53-57.

[21] 董学卫,朱启忠,于秀敏,等.白毒鹅膏菌漆酶的诱导及其对直接黑G的脱色作用[J].工业水处理,2008,28(9):70-73.

[22] 张安龙,王桂秋,杜飞,等.木质素降解菌的筛选及产漆酶培养条件的优化[J].陕西科技大学学报,2013,31(2):96-100.

[23] 苏东海,苏东民,辛秀兰,等.白腐菌 TP21 液体培养产漆酶条件的研究[J].西北农业学报,2009,18(3):249-253.

[24] 朱启忠,李玉婷,于晓秋,等.毛木耳产漆酶发酵条件的研究[J].资源开发与市场,2012,28(8):679-680.

[25] 赵文娟,徐升运,任平,等.变色栓菌产漆酶培养条件优化及酶学特性研究[J].食品工业,2013,34(5):162-165.

[26] 胡艳,蔡宇杰,廖祥儒,等.竹黄菌液态发酵产漆酶培养条件的优化[J].食品与生物技术学报,2011,30(5):773-778.

[27] 吴香波,谢益民,冯晓静,等.白腐菌 *Coriolus versicolor* 的培养及产漆酶条件的研究[J].纤维素科学与技术,2009,17(2):12-18.

[28] 卢蓉,沈雪亮,夏黎明,等.彩绒革盖菌产漆酶及其对染料脱色的研究[J].林产化学与工业,2005,25(1):73-76.

[29] 李鑫,李建科,董攀,等.白腐菌发酵培养及诱导剂对漆酶合成的影响[J].食品工业科技,2013,34(5):160-163.

[30] 尹将来,马琰,贾红华,等.杂色云芝菌产漆酶条件优化及其对碱性紫 5BN 的降解化工环保[J].化工环保,2011,31(4):293-296.

[31] 李梦杰,王翠玲,张玉金,等.裂褶菌液体和固体培养产漆酶的比较研究[J].西南农业学报,2011,24(6):2311-2314.

[32] 张丽,付时雨,傅恺,等.白腐菌 *Panus conchatus* 产漆酶的诱导、纯化及酶学特性研究[J].造纸科学与技术,2013,32(2):24-29.

[33] 雷萍,吴亚召,张飞龙,等.桑黄漆酶的发酵条件研究初报[J].中国食用菌,2012,31(5):26-28.

[34] 刘苹,李刚,温少红.金针菇液体发酵产漆酶培养条件的研究[J].食品科学,2012,33(21):226-230.

[35] 孙海鑫.杂色云芝菌生产漆酶的发酵条件优化及漆酶的应用研究[D].杭州:浙江工业大学,2012.

[36] 戴文魁.白腐菌混合培养产漆酶及其机制和脱色效果研究[D].济南:山东大学,2008.

[37] 孟瑶,梁红,高大文.不同白腐菌复配方式对产酶的影响[J].环境科学,2013,34(1):271-275.

[38] 蒋瑾,刘驰,高玉千,等.4种白腐真菌单独及混合培养时漆酶活性比较[J].河南农业科学,2011,40(9):115-118.

[39] 郑蕾.白腐菌紫外诱变选育高产漆酶突变株及其产酶条件研究[J].生物学杂志,2012,9(5):96-99.

[40] 苏瑞,何丽娜,徐青萍,等.紫外、微波诱变黄孢原毛平革菌菌株的筛选比较[J].云南大学学报,2009,31(2):200-203.

[41] 严平,李江.高效木质素降解菌的复合诱变选育[J].湖北农业科学,2012,51(14):2983-2987.

[42] 赵世光,王诗然,薛正莲,等.低能离子注入诱变选育漆酶高产菌株[J].激光生物学报,2009,18(4):534-538.

[43] 郑苗苗,池玉杰.偏肿革菌漆酶基因克隆及不同染料脱色研究[J].华中师范大学学报,2012,46(6):744-749.

[44] 赵美丽.白腐菌产漆酶及其对印染污水处理的研究[D].南昌:南昌大学,2012.

[45] 刘文华,蔡宇杰,范晶晶,等.毛栓菌产漆酶条件优化及该酶对合成染料脱色的特性[J].微生物学通报,2013,40(5):727-738.

[46] 田野,刘鹏,杨秀丽.纸浆生物漂白的研究进展[J].江苏造纸,2010(4):27-32.

[47] 乔晓兰,李文钊,毛磊红,等.漆酶在浓缩苹果汁生产中的应用[J].食品工程,2012(3):102-104.

[48] 邱伟芬.酶制剂在面粉品质改良中的应用[J].食品科技,2002(3):28-31.

[49] 黄丹莲,曾光明,黄国和,等.白腐菌的研究现状及其在堆肥中的应用展望[J].微生物学通报,2004,31(2):112-116.

[50] 张杰.白腐真菌的筛选、诱变及其对秸秆降解能力的研究[D].扬州:扬州大学,2010.

Research Progress on Fermentation Production and Application of Laccase

PENG Yan-chao, CAO Fu-xiang, DONG Xu-jie, PENG Ji-qing

(College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004)

Abstract: Laccase is an ancient oxidoreductase. On the basis of an introduction of the progress of a fungus which was identified as a high yield laccase strain and the influence factors on laccase synthesis, the culture conditions to improve laccase production, mixed fermentation production of laccase, fungus mutation breeding production of laccase and so on were briefly discussed. Then laccase application on printing and dyeing industry, paper manufacturing industry, food industry, environment industry, agricultural and so on were reviewed. Meanwhile the industrialization production of laccase and enhancing the utilization of various substrates of laccase were prospected, so as to be able to realize industrialization of laccase production.

Key words: laccase; mixed bacterial culture; mutation breeding; application