



pH 值和表面活性剂对桦褐孔菌降解甘蔗渣效率的影响

张 超, 王天珍, 陈肖肖, 徐向群
(浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018)

摘 要: 为了提高桦褐孔菌(*Inonotus obliquus*)液体发酵选择性降解甘蔗渣木质素的效率, 采用两因素多水平的方法进行正交实验, 并通过正交实验确定发酵条件参数, 对不同发酵时间处理后的甘蔗渣进行糖化水解, 分析 pH 值和表面活性剂(Tween-80)对桦褐孔菌降解甘蔗渣的影响。结果表明: 当 pH 值为 6.0, Tween-80 添加量为 0.1% 时, 桦褐孔菌表现出较强的选择性降解效率, 最高木质素降解率由对照的 21.3% 提升到 76.6%, 并且达到最高木质素降解率的发酵时间由 10 d 缩短至 2 d, 最高产糖量和糖化效率也分别由对照的 188.0 mg/g、22.8% 提升至 246.4 mg/g、30.5%; pH 值 6.0 和 0.1% Tween-80 对桦褐孔菌选择性降解甘蔗渣木质素有较好的促进作用。

关键词: 桦褐孔菌; 液体发酵; 选择性降解; pH 值; Tween-80; 糖化作用

中图分类号: Q933

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2021)09-0704-07

Effects of pH value and surfactant on degradation efficiency of sugarcane bagasse by *Inonotus obliquus*

ZHANG Chao, WANG Tianzhen, CHEN Xiaoxiao, XU Xiangqun

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

Abstract: In order to improve the efficiency of selective degradation of sugarcane bagasse lignin by *Inonotus obliquus* in liquid fermentation, we carried out an orthogonal experiment in a two-factor multi-level manner, the fermentation parameters were determined through the orthogonal experiment, the bagasse treated with different fermentation times was saccharified and hydrolyzed, and the effects of pH value and surfactant (Tween-80) on the degradation of bagasse by *Inonotus obliquus* were evaluated. The results showed that when pH value was 6.0 and the addition of Tween-80 was 0.1%, *Inonotus obliquus* showed strong selective degradation efficiency, the maximum lignin degradation rate increased from 21.3% for the control group to 76.6%, and the fermentation time to achieve the maximum lignin degradation rate was shortened from 10 d to 2 d. The maximum sugar yield and saccharification efficiency also grew from 188.0 mg/g and 22.8% to 246.2 mg/g and 30.5%. It was proved that proper pH value and addition of Tween-80 (6.0 and 0.1%, respectively) can improve the selective degradation of sugarcane bagasse lignin by *Inonotus obliquus* and significantly promote the saccharification of bagasse.

Key words: *Inonotus obliquus*; liquid fermentation; selective degradation; pH; Tween-80; saccharification

0 引 言

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)是一种多年生 C₄ 作物, 主要分布在亚热带和热带地区。糖和木质纤维

素生物物质被认为是替代化石燃料能源的良好来源^[1]。甘蔗渣可以作为生物能源进行发电^[2], 在生物乙醇的生产方面也具有很大的利用价值^[3]。中国甘蔗产量居世界第三, 但甘蔗渣并没有得到广泛的利用。

在木质纤维素糖化生产生物乙醇领域,白腐真菌被认为是具有潜力的生物处理菌种^[4-5]。白腐真菌与底物发酵作用的过程中,通过其分泌的木质素酶攻击木质素而改变并破坏其结构,进而使纤维素暴露出来进行糖化作用^[6]。不同的白腐真菌对木质素的降解能力和对纤维素、半纤维素的降解效率存在极大的差异,相同的白腐真菌对不同的木质纤维素的降解能力也不尽相同^[7]。目前,国际上对于白腐真菌降解甘蔗渣的研究较多,但选择性降解甘蔗渣木质素的白腐真菌很少,而且通常需要较长时间的发酵处理^[8-10]。桦褐孔菌(*Inonotus obliquus*)是一种白腐真菌,属于担子菌亚门,锈革孔菌科家族,主要存在于白桦树的树干上^[11]。桦褐孔菌适合生长在寒冷的条件下,主要分布在北纬45°~50°,不仅在俄罗斯、波兰、芬兰等国家有分布,在中国吉林、黑龙江一带也有分布^[12]。

桦褐孔菌通过分泌高活性的木质素降解酶(LiP)和锰过氧化物酶(MnP)对麦秆木质素的选择性降解^[13]。影响桦褐孔菌生长发酵的因素众多,其中表面活性剂和pH值的影响更显著^[14]。有机溶剂、脂肪酸类和表面活性剂Tween-80对桦褐孔菌的生长及多糖产生的效果更为显著^[15],并能促进桦褐孔菌对麦秆木质纤维素的降解^[16]。相比于温度,pH值对真菌发酵的影响更大,弱酸环境下具有更强的促进效果,碱性环境下酶的分泌受到抑制^[17]。

为了提高桦褐孔菌选择性降解甘蔗渣木质素的能力,本文以pH值和表面活性剂Tween-80的添加量进行正交实验,以发酵过程中木质纤维素选择降解系数的变化为指标确定最优发酵条件,在最优条件下进行10 d的发酵,以不同时间的发酵底物进行糖化水解,确定最佳发酵条件和时间。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种

桦褐孔菌菌种购于荷兰微生物菌种保藏中心(Centraalbureau voor schimmelcultures, CBS)。

1.1.2 甘蔗渣

甘蔗渣获取自浙江理工大学水果店。甘蔗渣浸泡洗净后自然条件下晾干,磨碎过筛,选取60~120目粒径大小甘蔗渣收集装袋并干燥保存。

1.2 实验方法

1.2.1 桦褐孔菌种子液培养

取1.0 mL桦褐孔菌母液接于种子培养基

(CaCl₂ 0.1 g/L、KH₂PO₄ 1.0 g/L、MgSO₄ 1.5 g/L、葡萄糖 20.0 g/L、蛋白胨 3.0 g/L和酵母浸出物 1.0 g/L),150 r/min、28℃,培养2 d,当培养液中菌球变得致密,取出放入4℃冰箱备用。

1.2.2 正交实验方法

先于250 mL锥形瓶中称量3.0 g粒径为60~120目的甘蔗渣,加入100 mL发酵培养基。发酵培养基配方为:玉米粉 35.00 g/L(水解液)、(NH₄)₂SO₄ 2.22 g/L、CoCl₂·6H₂O 0.02 g/L、FeSO₄·7H₂O 0.05 g/L、CuSO₄·5H₂O 0.02 g/L、K₂HPO₄·3H₂O 0.50 g/L、KH₂PO₄ 0.40 g/L、MgSO₄ 0.20 g/L、ZnSO₄·7H₂O 0.01 g/L、MnCl₂·4H₂O 0.09 g/L、CaCl₂ 0.50 g/L、Tween-80 4.0 mL/L,pH值4.5,甘蔗渣3.0 g,桦褐孔菌种子液的接种量为3 mL。变量pH值设置添加梯度为:4.5、5.0、5.5和6.0,变量Tween-80设置质量浓度梯度为:0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%。定容后先调节pH值,再添加Tween-80。按照表1和表2所示进行培养基的配制,每组设置3个平行,发酵时间设置为10 d。结束后用40目筛分离菌球,筛出的甘蔗渣悬液再用400目分选筛全部收集并抽滤,甘蔗渣放入烘箱55℃烘干至恒重用于测定木质纤维素含量和确定最优条件。

表1 因素水平

因素	水平				
	1	2	3	4	5
A: pH值	4.5	5.0	5.5	6.0	
B: Tween-80 质量浓度/%	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40

表2 正交实验

实验组	水平组合	实验条件	
		pH值	Tween-80 质量分数/%
1	A1B5	4.5	0.40
2	A3B4	5.5	0.30
3	A1B1	4.5	0.05
4	A3B2	5.5	0.10
5	A4B4	6.0	0.30
6	A1B2	4.5	0.10
7	A2B4	5.0	0.30
8	A2B2	5.0	0.10
9	A2B3	5.0	0.20
10	A3B3	5.5	0.20
11	A2B1	5.0	0.05
12	A4B1	6.0	0.05
13	A4B5	6.0	0.40
14	A3B1	5.5	0.05
15	A4B2	6.0	0.10

表2 续

实验组	水平组合	实验条件	
		pH 值	Tween-80 质量分数/%
16	A3B5	5.5	0.40
17	A2B5	5.0	0.40
18	A1B3	4.5	0.20
19	A1B4	4.5	0.30
20	A4B3	6.0	0.20

1.2.3 动态发酵

250 mL 锥形瓶中称量 3.0 g 粒径为 60~120 目的甘蔗渣,加入优化后的培养基 100.0 mL,放入灭菌锅中 121 °C 灭菌 30 min,冷却后于超净台中接种菌液 3.0 mL;摇床转速 150 r/min、28 °C 培养 10 d,以第 2、4、6、8、10 d 为监测点,每组设置 3 个平行。发酵结束后用 40 目筛分离菌球与甘蔗渣,并用清水冲洗以保证菌球与甘蔗渣完全分离。甘蔗渣放入烘箱 55 °C 烘干至恒重,用于测定木质纤维素含量及发酵后甘蔗残渣的糖化。

1.2.4 木质纤维素含量测定

纤维素、半纤维素和木质素含量测定采用了 Van Soest 分析方法,具体方法参考文献[18]。

a)中性洗涤纤维的测定。称取已恒重的木质纤维素样品 1.0 g,加入 100.0 mL 中性洗涤剂、0.2 mL 十氢萘和 0.5 g Na₂SO₃,迅速加热至回流并保持微沸状态 1 h,温度不宜太高防止木质纤维素样品被炭化。回流完毕后将用玻璃坩埚抽滤,用热的蒸馏水水洗 3 次,抽干后用丙酮洗 1~2 次,在 105 °C 条件下干燥至恒重。中性洗涤纤维计算方法如下:

$$NDF/\% = \frac{F}{M} \times 100 \quad (1)$$

其中:NDF 为木质纤维素与灰分含量,%;F 为中性洗涤后残渣质量,g;M 为样品质量,g。

b)酸性洗涤纤维的测定。称取已恒重的经中性洗涤剂处理的木质纤维素样品 0.8 g,加入 100.0 mL 酸性洗涤剂和 0.2 mL 十氢萘,迅速加热至回流并保持微沸状态 1 h,温度不宜太高防止木质纤维素样品被炭化。回流完毕后将用玻璃坩埚抽滤,用蒸馏水水洗 3 次,抽干后用丙酮洗 1~2 次,在 105 °C 条件下干燥至恒重,称重。此步骤为进一步除去半纤维素,酸性洗涤纤维计算方法如下:

$$ADF/\% = \frac{F}{M} \times 100 \quad (2)$$

其中:ADF 为木质素、纤维素与灰分总含量,%;F 为酸性洗涤后残渣质量,g;M 为样品质量。

c)酸不溶木质素的测定。取上述经酸性洗涤剂处理过得木质纤维素样品 0.3 g 加入 72% 硫酸至浸过样品为止,用玻璃棒充分搅拌成糊状,30 °C 条件下水浴放置 1 h,用热蒸馏水水洗至洗涤液为中性,在 105 °C 条件下干燥至恒重,此步为除去纤维素。在马弗炉中 550 °C,处理 2 h,灼烧至无炭状态,用差量法进行称重,此步骤为除去酸不溶木质素。酸不溶木质素含量计算方法如下:

$$C_L/\% = \frac{M_1 - M_2}{M} \times 100 \quad (3)$$

其中: C_L 为酸不溶木质素含量,%; M_1 为 72% 硫酸处理后残渣质量,g; M_2 为马弗炉处理后残渣质量,g; M 为样品质量,g。

纤维素含量计算方法如公式(4):

$$C_C/\% = \left(ADF - C_L - \frac{M_2}{M} \right) \times 100 \quad (4)$$

其中: C_C 为纤维素含量,%; ADF 为木质素、半纤维素与灰分总含量,%; C_L 为酸不溶木质素含量,%; M_2 为马弗炉处理后残渣质量,g; M 为步骤 3)样品质量。

半纤维素含量计算方法如公式(5):

$$C_H/\% = (NDF - ADF) \times 100 \quad (5)$$

其中: C_H 为半纤维素含量,%; NDF 为木质纤维素与灰分含量,%; ADF 为木质素、纤维素与灰分总含量,%。

1.2.5 糖化水解

称取发酵后干燥至恒重的甘蔗渣 1.0 g 放入 100 mL 锥形瓶中,按 20 FPU/g 的量添加纤维素酶(上海麦克林,10000 U/g),加入醋酸-醋酸钠缓冲液 10.0 mL,加入质量分数为 0.003% 四环素作为抑菌剂,放入摇床中,设置条件为转速 150 r/min、温度 50 °C 进行酶解反应。以 3、6、9、12、24、36 h 和 48 h 为取样点,取上清 1.0 mL,迅速冷却并测定还原糖,产糖量和糖化率的计算按照参考文献[19]进行。糖化率计算方法如公式(6):

$$X/\% = \frac{R \times 0.9}{C} \times 100 \quad (6)$$

其中: X 为糖化率,%; R 为总产糖量,g/kg; C 为纤维素与半纤维素含量,g/kg;0.9 为得糖系数。

2 结果与讨论

2.1 最佳 pH 值和 Tween-80 添加量的确定

通过对各正交实验组进行测定,获得了各正交实验组木质纤维素降解率及选择系数(木质素降解

率与对应纤维素降解率的比值),结果如图1所示。图1(a)为正交实验后甘蔗渣木质素降解率。由图1(a)可知,最高木质素降解率为18组的21.2%,最低为16组的1.0%,第15组的木质素降解率为15.42%,处于较高水平。除4、6组外,其他组均表现出了较高的木质素降解率,表明在一定的pH值和Tween-80质量分数范围内,桦褐孔菌都具有较强的木质素降解能力。图1(b)为正交实验后甘蔗渣纤维素降解率,由图1(b)可知,各组纤维素降解率差异较大,但与木质素相比,纤维素降解率处在较低水平。第18组纤维素降解率为14.0%,明显高于其他组($p < 0.05$)。第15组纤维素降解率仅为0.5%,基本保留纤维素,表明优化条件下桦褐孔菌对木质素的选择性降解能力。图1(c)为正交实验

后甘蔗渣半纤维素降解率,由图1(c)可知,半纤维降解水平高于纤维素,且各组呈现出较大差异。最大降解率为10组的21.8%,最低为1组的4.2%。说明相对于纤维素,桦褐孔菌偏向于降解半纤维素。图1(d)为正交实验后选择系数,由图1(d)可知,第15组表现出了最高选择系数28.8,说明在最大限度降解木质素的同时,也最大限度的保留了纤维素。同时,第2组的选择系数仅次于第15组,反映了较高pH值和较低的Tween-80质量分数对桦褐孔菌降解甘蔗渣是有利的。以上结果表明,桦褐孔菌液体发酵降解甘蔗渣的最佳优化条件为:pH值6.0、Tween-80质量分数0.1%。Xu等^[16,19]也证明,在相同条件下木质素降解酶的酶活能够得到很大程度的提升。

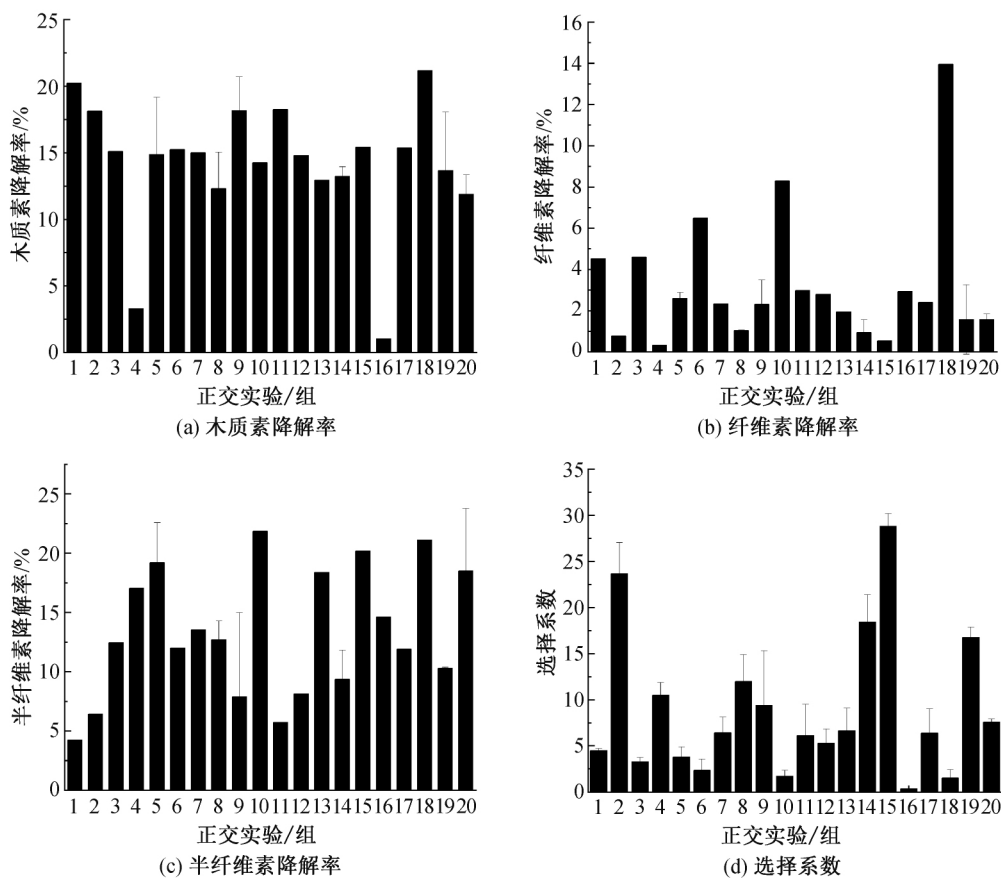


图1 正交实验木质纤维素降解率及选择系数

2.2 发酵过程中木质纤维素的含量变化

在pH值6.0、Tween-80质量分数0.1%条件下进行动态发酵,以获得优化前后木质纤维素含量和降解率,结果如图2和图3所示。图2(a)为发酵对照组甘蔗渣木质纤维素质量含量的变化,由图2(a)可知,甘蔗渣原料木质素、纤维素、半纤维素质量含量分别为17.81%、34.63%、37.96%;发酵对照组木质素质量含量变化较小,发酵进行到10d含量为14.41%,

依然较高,纤维素和半纤维素总质量含量也处于缓慢降低的状态。图2(b)为优化组甘蔗渣木质纤维素含量的变化,由图2(b)可知,优化组的木质素质量含量明显低于对照组($p < 0.01$),在发酵2d便降低至最低质量含量7.04%,同时在整个发酵过程中,纤维素和半纤维素总质量含量也基本保持不变,相对于对照组,表现出较强的木质素选择性降解能力,优化后条件对桦褐孔菌降解甘蔗渣木质素具有促进作用。

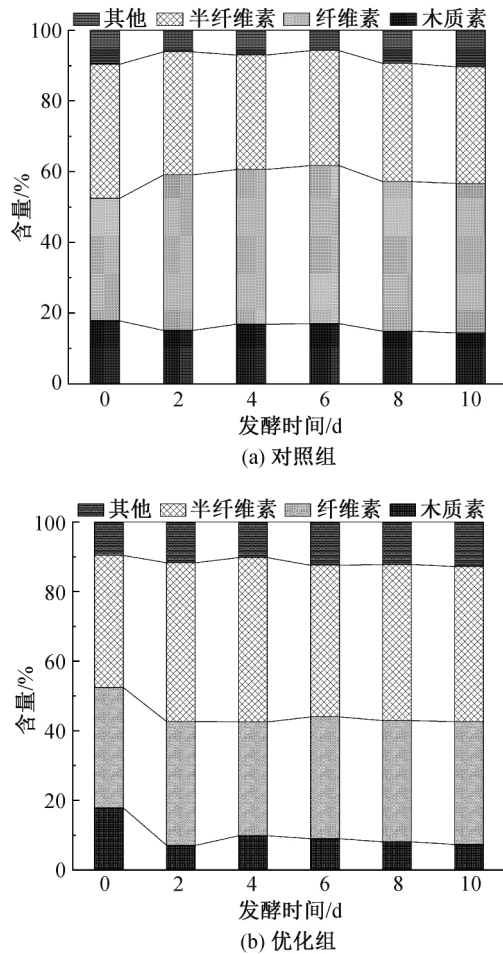


图2 优化前后甘蔗渣动态发酵各成分含量变化

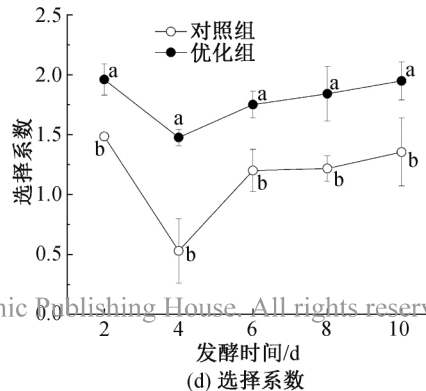
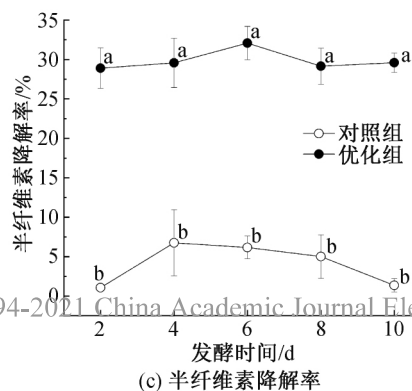
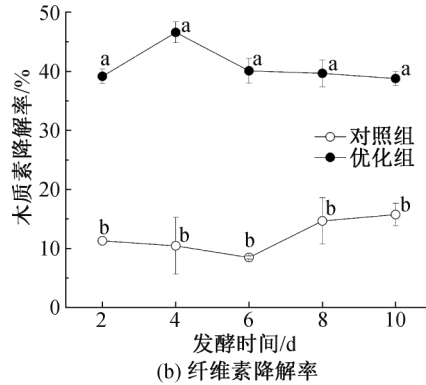
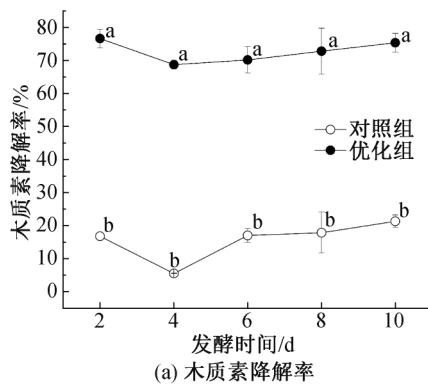


图3 甘蔗渣动态发酵木质纤维素降解率及选择系数

图3(a)为条件优化前后甘蔗渣动态发酵木质素降解率的变化,由图3(a)可知,优化组木质素降解水平显著高于对照组($p < 0.01$),仅在发酵2 d便达到最大木质素降解率76.6%,显著高于对照组16.8%的木质素降解率,说明优化条件对桦褐孔菌降解木质素具有较强的促进作用。图3(b)为条件优化前后甘蔗渣动态发酵纤维素降解率的变化,由图3(b)可知,优化组在发酵4 d达到最大纤维素降解率46.6%,显著高于对照组38.8%的最大降解率($p < 0.05$)。说明随着木质素的降解,大量纤维素暴露出来,促进了纤维素酶与纤维素的结合^[20]。图3(c)为条件优化前后甘蔗渣动态发酵半纤维素降解率的变化,由图3(c)可知,优化组半纤维素降解水平相对稳定,且显著高于对照组($p < 0.01$),说明在优化条件下,伴随着木质素的大量降解,半纤维素也表现出了较高的降解率。图3(d)为条件优化前后木质纤维素选择系数的变化,由图3(d)可知,优化组于发酵2 d便达到最高选择系数2.0,对照组2 d达到最高选择系数,显著低于优化组($p < 0.05$),优化后条件提高了桦褐孔菌对木质素的选择性降解。以上结果表明,优化后条件对甘蔗渣降解的促进作用明显,提高了木质素的选择性降解,还缩短发酵处理时间,仅发酵2 d达到最高选择系数。

2.3 产糖效分析

通过对发酵后的甘蔗渣用商业纤维素酶进行糖化,获得甘蔗渣产糖量与糖化率,以进一步明确pH值和表面活性剂的作用,结果如图4所示。图4(a)为对照组不同发酵天数甘蔗渣的产糖量,由图4(a)可知,对照组最高产糖量为发酵10 d的甘蔗渣水解36 h的188.0 mg/g,发酵处理2 d的甘蔗渣产糖量前期处于最高水平,最大产糖量却略低于10 d,为187.5 mg/g;糖化进行到36 h后,对照组产糖量达到平台期。图4(b)为优化组不同发酵天数甘蔗渣的产糖量,由图4(b)可知,优化组最高产糖量为发酵2 d的甘蔗渣在水解48 h后的246.4 mg/g,显著高于对照组($p < 0.05$),而且在糖化48 h后未达到平台期,说明由于优化后的发酵效果好,木质素大量降

解,因此对糖化水解的过程阻碍更小,高效率产糖的持续时间更长。图4(c)为对照组不同发酵天数甘蔗渣的糖化率,由图4(c)可知,对照组最高糖化率为发酵10 d的甘蔗渣水解36 h的22.8%,处于较低水平。图4(d)为优化组不同发酵天数甘蔗渣的糖化率,由图4(d)可知,优化组最大糖化率为发酵2 d甘蔗渣在水解48 h后的30.5%,显著高于对照组($p < 0.05$),说明木质素降解率的提高促进糖化效率的提高^[21-23]。由于纤维素与半纤维素总含量的稳定,因此糖化率与产糖量线性关系表现出了一致性;优化组的糖化效率与选择系数基本一致,发酵2 d选择系数最高,糖化效率也最高,进一步证实pH值和表面活性剂对桦褐孔菌发酵降解甘蔗渣有促进作用。

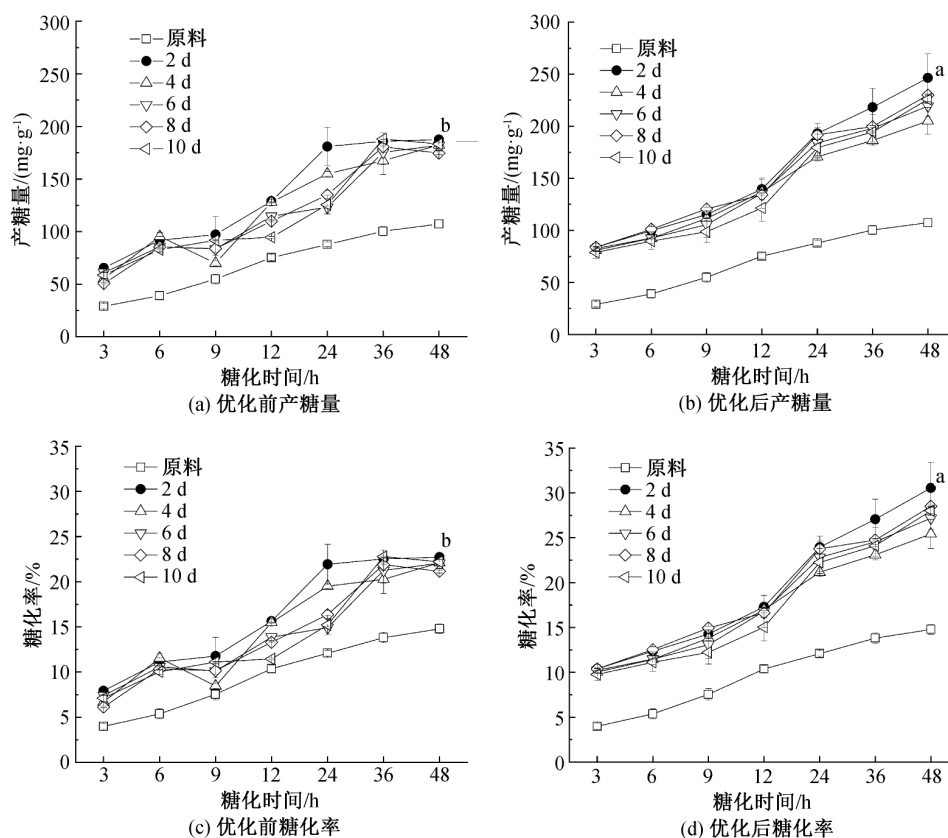


图4 优化前后甘蔗渣糖化效果

3 结论

本文对甘蔗渣发酵优化条件及其对甘蔗渣糖化效率的影响进行了研究,优化两个发酵影响因子pH值、Tween-80添加量,并以优化后的最佳条件进行10 d的动态发酵,分析pH值、Tween-80对桦褐孔菌降解甘蔗渣效率的影响。主要结论如下:

a) 发酵初期,桦褐孔菌首先降解木质素,之后降解纤维素、半纤维素,优化组的木质纤维素降解速率

高于对照组,木质素的降解率高于其他两种成分。

b) 木质素降解率及选择系数在2 d达到最佳,优化组的木质素降解率为76.6%,高于对照组的16.8%,发酵培养基中pH值、Tween-80的改变提高桦褐孔菌对甘蔗渣木质素的降解效率,对桦褐孔菌降解甘蔗渣具有促进作用。

c) 对照组甘蔗渣的最高产糖量与糖化率分别为188.0 mg/g、22.8%,为发酵10 d的甘蔗渣;优化组的甘蔗渣产糖量与糖化率分别为246.6 mg/g、

30.5%,且仅为发酵2 d的甘蔗渣;pH值和Tween-80的优化提高木质纤维素的选择性降解水平,还缩短发酵周期。

综述可知,通过改变培养基pH值和Tween-80添加量,可以提升桦褐孔菌对甘蔗渣的降解效率,提高甘蔗渣的糖化效率。

参考文献:

- [1] Alessandro J W, Paloma M S, Carolina G L, et al. Sugarcane for bioenergy production: An assessment of yield and regulation of sucrose content [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2010, 8(3): 263-276.
- [2] Ling P, Jackson P A, Li Q W, et al. Potential for bioenergy production from sugarcane in China [J]. *BioEnergy Research*, 2014, 7(3): 1045-1059.
- [3] Sowatad A, Todhanakasem T. Bioethanol production by repeated batch using immobilized yeast cells on sugarcane bagasse[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2019, 5(11): 2009-2016.
- [4] Lee H H, Jang Y S, Choi Y S, et al. Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2014, 97(1): 56-62.
- [5] Dong X Q, Yang J S, Zhu N, et al. Sugarcane bagasse degradation and characterization of three white-rot fungi [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 131: 443-451.
- [6] Dias A A, Freitas G S, Marques G S M, et al. Enzymatic saccharification of biologically pre-treated wheat straw with white-rot fungi [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(15): 6045-6050.
- [7] Rezanian S, Oryani B, Cho J, et al. Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview[J]. *Energy*, 2020, 199: 117457.
- [8] Salomao G S B, Agnezi J C, Paulino L B, et al. Production of cellulases by solid state fermentation using natural and pretreated sugarcane bagasse with different fungi[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2019, 17: 1-6.
- [9] Marques N P, Pereira J C, Gomes E, et al. Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse [J]. *Industrial Crops & Products*, 2018, 122: 66-75.
- [10] Sydney E B, Carvalho J C D, Letti L A J, et al. Current developments and challenges of green technologies for the valorization of liquid, solid, and gaseous wastes from sugarcane ethanol production[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 404: 124059.
- [11] Zheng W F, Miao K J, Liu Y B, et al. Chemical diversity of biologically active metabolites in the sclerotia of *Inonotus obliquus* and submerged culture strategies for up-regulating their production [J]. *Application Microbiology Biotechnology*, 2010, 87(4): 1237-1254.
- [12] 吴宇锋, 颜美秋. 桦褐孔菌降血糖作用及机制研究进展 [J]. *中药材*, 2018, 41(11): 2716-2720.
- [13] Xu X Q, Xu Z Q, Shi S, et al. Lignocellulose degradation patterns, structural changes, and enzyme secretion by *Inonotus obliquus* on straw biomass under submerged fermentation[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 415-423.
- [14] 王天珍. 桦褐孔菌降解木质纤维素的培养条件优化及糖化效率研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2019: 36-42.
- [15] Xu X Q, Quan L L, Shen M W, et al. Effect of chemicals on production, composition and antioxidant activity of polysaccharides of *Inonotus obliquus* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 73: 143-150.
- [16] Xu X Q, Wu P, Wang T Z, et al. Synergistic effects of surfactant-assisted biodegradation of wheat straw and production of polysaccharides by *Inonotus obliquus* under submerged fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 278(4): 43-50.
- [17] Fernández-Fueyo E, Castanera R, Ruiz-Dueñas F J, et al. Ligninolytic peroxidase gene expression by *Pleurotus ostreatus*; Differential regulation in lignocellulose medium and effect of temperature and pH[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2014, 72: 150-161.
- [18] Sluiter J B, Ruiz R O, Scarlata C J, et al. Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks. 1. review and description of methods[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(16): 43-53.
- [19] Xu X Q, Lin M M, Zang Q, et al. Solid state bioconversion of lignocellulosic residues by *Inonotus obliquus* for production of cellulolytic enzymes and saccharification[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 88-95.
- [20] Wang W, Zhuang X S, Tan X S, et al. Dual effect of nonionic surfactants on improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulose[J]. *Energy Fuels*, 2018, 32(5): 5951-5959.
- [21] Wang P, Chang J, Yin Q Q, et al. Effects of thermochemical pretreatment plus microbial fermentation and enzymatic hydrolysis on saccharification and lignocellulose degradation of corn straw [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 194: 165-171.
- [22] Matei J C, Soares M, Bonato A C H, et al. Enzymatic delignification of sugar cane bagasse and rice husks and its effect in saccharification[J]. *Renewable Energy*, 2020, 157: 987-997.
- [23] Wang Z N, Hou X, Sun J, et al. Comparison of ultrasound-assisted ionic liquid and alkaline pretreatment of Eucalyptus for enhancing enzymatic saccharification [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 254: 145-150.

(责任编辑:唐志荣)