

血红密孔菌 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产纤维二糖脱氢酶的发酵优化

冯圆圆, 唐明月, 管政兵, 蔡宇杰, 廖祥儒*

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 研究了血红密孔菌 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产纤维二糖脱氢酶的发酵优化。该酶是诱导酶,微晶纤维素是其最好的诱导底物。通过对发酵培养基中培养成分的优化,添加大分子碳源微晶纤维素和小分子碳源葡萄糖作为复合碳源,发酵优化后提高到 78 ± 5.94 U/L,是未优化前的 2 倍(39 ± 4.78 U/L)。通过对氮源的优化,即有机氮源黄豆粉和无机氮源磷酸氢二铵的添加,使酶活达到 700 ± 35.78 U/L,比优化前提高了近 17 倍。而通过四因素四水平的碳氮源正交实验之后酶活达到 1245 ± 35.78 U/L,比优化前提高了近 32 倍。由此,确定了当微晶纤维素为 7 g/L,葡萄糖 5 g/L,黄豆粉 6 g/L,磷酸氢二铵 2 g/L 时,其他不变,此时的产酶最高,达到 1245 ± 35.78 U/L。

关键词: 纤维二糖脱氢酶;发酵优化;正交实验;血红密孔菌

中图分类号:Q 81 文献标志码:A 文章编号:1673-1689(2018)03-0303-06

Culture Optimization for Cellobiose Dehydrogenase Production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

FENG Yuanyuan, TANG Mingyue, GUAN Zhengbing, CAI Yujie, LIAO Xiangru*

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Effects of various parameters on cellobiose dehydrogenase (CDH) production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10. CDH was induced by cellulosic, and microcrystalline cellulose with high crystallinity supported the maximum CDH production. Though the optimization of fermentation medium composition, microcrystalline cellulose and glucose as the complex carbon source were add to the culture, the production of CDH reached 78 ± 5.94 U/L, with 2 folds higher than that before optimization (39 ± 4.78 U/L). Though adding the soybean meal and $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ to the culture, the production of CDH reached 702 ± 25.68 U/L, with 17 folds higher than that before optimization. Selecting the optimum carbon sources and nitrogen sources to get the optimum liquid medium recipe by the orthogonal test in four factors and four levers, The production of CDH reached

收稿日期: 2015-10-23

基金项目: 江苏省产学研前瞻项目(BY2014023-28);无锡市科技发展农业支撑项目(CLE01N1310)。

* 通信作者: 廖祥儒(1964—),男,江西赣州人,理学博士,教授,博士研究生导师,主要从事生化与分子生物学、发酵工程方面的研究。

E-mail: liaoxiangru@163.com

引用本文: 冯圆圆,唐明月,管政兵,等. 血红密孔菌 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产纤维二糖脱氢酶的发酵优化[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(03): 303-308.

1245±35.78 U/L. The optimum fermentation medium consisted: microcrystalline cellulose 7 g/L, glucose 5 g/L, soybean meal 6 g/L, (NH₄)₂HPO₄ 2 g/L. The production of CDH reached 1 245±35.78 U/L.

Keywords: cellobiose dehydrogenase, fermentation optimization, orthogonal experimental, *Pycnoporus sanguineus*

纤维二糖脱氢(Cellobiose Dehydrogenase, CDH)可由降解木质素和纤维素的真菌产生,主要的生产者是担子菌中的白腐菌^[1]。大量研究表明^[2-6],白腐菌对纤维素有良好的降解效果。但是从自然界分离、筛选出的天然菌株往往产酶能力较低,因此有必要对其产酶的培养条件进行优化,通过优化提高酶的产量^[7]。

CDH的相对分子质量大约为90 000,其中10 000为糖基,80 000为氨基酸,其中糖基中的糖多为甘露糖^[8]。CDH是一个黄素血色素蛋白,含有两个独立的基团:黄素基团和血色素基团。黄素基团含有焦磷酸化酶即FAD;血色素基团含细胞色素b。两个基团通过15个氨基酸相连。CDH是一种对pH值和温度稳定的酶。室温下,在pH 3~10的范围内24 h活力稳定。CDH可以氧化纤维二糖、纤维寡糖和纤维素。纤维二糖失去两个电子被氧化的同时,CDH的FAD部分被还原。铁血色素基团得到一个电子生成亚铁血色素和黄素基。得到电子的CDH可以还原多种电子受体,如细胞色素c、二氯酚靛酚、Fe³⁺和氧气。

CDH可增强纤维素酶对纤维素的水解作用^[9],由于酶产生的羟基可分解纤维素的微晶格从而分裂纤维素。CDH可还原木质素降解中产生的苯氧基,由此阻止木质素的重聚合^[10]。CDH可减少纤维素酶的产物抑制作用。纤维二糖抑制降解木质素的白腐菌产生的纤维素酶,但是CDH催化纤维二糖所产生的纤维二糖内酯对纤维素酶并不产生抑制,所以培养基中加入较低浓度的CDH可帮助纤维素酶降解纤维素,加速纤维素的降解速率,但是高浓度的CDH对纤维素的降解有抑制作用^[9]。CDH还可以防止纤维素的重聚合。加速纤维素的降解。在漆酶或者过氧化物酶的辅助下,CDH可连续催化乳糖产生乳糖酸,乳糖酸是一种高附加值的有机酸^[11]。

作者所在实验室从江苏无锡惠山的朽木上筛选出一株能较好的产CDH的菌株,即*Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10,并初步研究了其产CDH所需要的产酶培养基的条件,为今后的研究和工业应

用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌种

菌株*Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10:作者所在实验室保藏菌种。

1.2 主要材料及试剂

黄豆粉:将黄豆直接磨成粉状,黄豆购于江苏无锡欧尚超市;其他试剂均为国产分析纯。

1.3 培养基

1) PDA培养基(g/L):新鲜土豆200,葡萄糖20,琼脂20;pH自然。

2) PDA液态培养基(g/L):新鲜土豆200,葡萄糖20;pH自然。

3) 液态发酵基础培养基(L):纤维二糖5 g,酵母膏0.1 g,磷酸氢二铵6 g,磷酸二氢钾1 g,七水硫酸镁0.3 g,氯化钙0.08 g,七水硫酸锌5 mg,四水硫酸锰1.5 mg,六水氯化钴1.5 mg,七水硫酸亚铁5 mg,VB₁ 1.5 mg^[12]。

以上培养基均在115℃高温灭菌20 min。

1.4 种子液的制备

将培养3 d的PDA斜面用无菌水将血红密孔菌孢子洗下转到事先灭菌的装有玻璃珠的三角瓶中,在摇床上振摇30 min,然后配制成10⁶个/mL的孢子悬浮液。将孢子悬液以体积分数4%接种于PDA液态培养基中,在30℃、200 r/min条件下培养2 d,得到种子液^[13]。

1.5 粗酶液的制备

将生长好的种子液以体积分数10%接种于液态发酵基础培养基中,于30℃、200 r/min条件下摇床培养7 d,得到含酶的发酵液。将发酵液用冷冻离心机以转速8 000 r/min离心10 min,得到的上清液即为粗酶液^[14]。

1.6 纤维二糖脱氢酶活力的测定方法

反应体系5 mL,包括纤维二糖(2 mmol/L)0.5 mL,DCIP(0.2 mmol/L)0.5 mL,氟化钠(4 mmol/L)50 μL,乙酸-乙酸钠缓冲溶液(100 mmol/L, pH 4.5)

2.25 mL,在 520 nm 处测定 OD 吸收值。以 1 min 内还原 1 μmol DCIP 所需要的酶量定义为 1 个酶活力单位(U), $\epsilon_{520\text{ nm}}=6.8\text{ L}/(\text{mmol}\cdot\text{cm})^{[8]}$ 。

1.7 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 条件优化

将培养好的种子液以体积分数 10%接种至液态发酵培养基中,发酵条件为:温度 30 $^{\circ}\text{C}$,摇床转速为 200 r/min,装液量为 50 mL 培养基/250 mL 三角瓶,发酵周期为 7 d。

1.7.1 不同碳源对 L10 液态发酵产 CDH 的影响 分别以不同的碳源(葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、可溶性淀粉、马铃薯淀粉、微晶纤维素、玉米粉、麸皮、木屑、甘蔗渣)替代液态发酵基础培养基中纤维二糖,其他条件固定,提取粗酶液测定并测定 CDH 酶活力。

1.7.2 微晶纤维素与葡萄糖质量比对 L10 液态发酵产 CDH 的影响 微晶纤维素与葡萄糖之比分别以不同的比例(0:10、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、10:0)添加到发酵培养基中,探究复合碳源对 L10 发酵产 CDH 的影响,替他条件不变,提取粗酶液并测定 CDH 酶活力^[15]。

1.7.3 不同有机氮源对 L10 液态发酵产 CDH 的影响 分别以不同的有机氮源(胰蛋白胨、鱼蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉浸膏、酵母粉、黄豆粉、豆粕)替代液态发酵基础培养基中的酵母膏,其他条件不变,提取粗酶液并测定 CDH 酶活力。

1.7.4 黄豆粉质量浓度对 L10 液态发酵产 CDH 的影响 分别添加不同质量浓度的黄豆粉(1、2、4、6、8、10、12 g/L)至碳源优化后的培养基,提取粗酶液并测定 CDH 酶活力。

1.7.5 不同无机氮源对 L10 液态发酵产 CDH 的影响 分别以不同的无机氮源(氯化铵、过硫酸铵、酒石酸铵、硫酸亚铁铵、硝酸铵、磷酸二氢铵、硫酸铵、硝酸镁、硝酸钙、尿素、硝酸铁)替代基础发酵培养基中的磷酸氢二铵,对照为不加无机氮源,提取粗酶液并测定 CDH 酶活力。

1.7.6 磷酸氢二铵的质量浓度对 L10 液态发酵产 CDH 的影响 在碳源优化的基础上,分别添加不同质量浓度的磷酸氢二铵(2、4、6、8、10、12、14 g/L)至培养基中,提取粗酶液并测定 CDH 酶活力。

1.7.7 最优碳氮源质量浓度组合的正交实验设计 确定发酵培养基中碳氮源的种类和浓度后,利用正

交实验确定最优的碳氮源组合。实验的设计、数据分析利用软件 JMP 完成,见表 1。

表 1 正交试验的因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A 微晶纤维素 质量浓度/ (g/L)	B 葡萄糖 质量浓度/ (g/L)	C 黄豆粉 质量浓度/ (g/L)	D 磷酸氢二铵 质量浓度/ (g/L)
1	5	3	4	2
2	7	5	6	4
3	9	7	8	6
4	11	9	10	8

2 结果与讨论

2.1 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 条件优化

2.1.1 碳源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响 碳源是微生物生长过程中需求量最大的营养物质,不仅为微生物的生理活动提供能量还是细胞结构和代谢产物的主要构成组分。各种小分子碳源和大分子碳源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响结果见图 1。

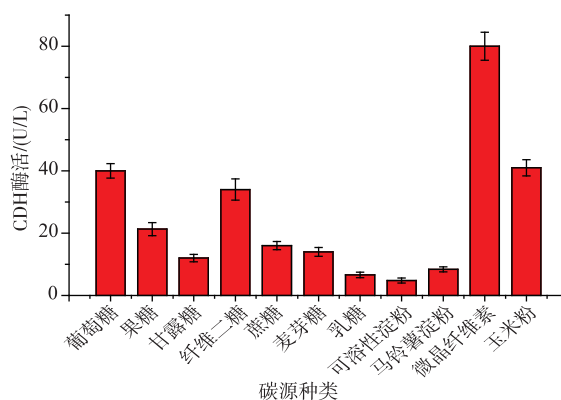


图 1 碳源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响

Fig. 1 Effect of carbon sources on CDH production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

对于 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 而言,不同碳源对其产酶的影响差异显著($P<0.05$);其中以微晶纤维素为碳源时,CDH 的产量最高,因此选用微晶纤维素为发酵产酶培养基的大分子碳源。其中酶活几乎为零的麸皮、木屑在图中没有显示。

L10 单独以小分子糖类为碳源时其菌体生长良

好,但是在一些大分子多聚物如微晶纤维素中生长不良,菌体量少。在培养基中添加一些小分子糖类如葡萄糖,可以先被菌体吸收,促进其快速生长,等菌体长到一定的程度在利用大分子的糖类碳源,这样有利于增加 CDH 产量。所以,拟进一步考察大分子和小分子复合碳源对 CDH 合成的影响。

在小分子糖类中以葡萄糖为碳源时产酶量最高,并且相对其它小分子糖类来说,葡萄糖物美价廉,容易获得,因此作者以葡萄糖作为 CDH 发酵的小分子碳源,研究与微晶纤维素作为复合碳源对菌体产 CDH 的影响。图 2 显示,微晶纤维素与葡萄糖质量比为 1:1 时有利于产酶,CDH 酶活力明显高于单一碳源。

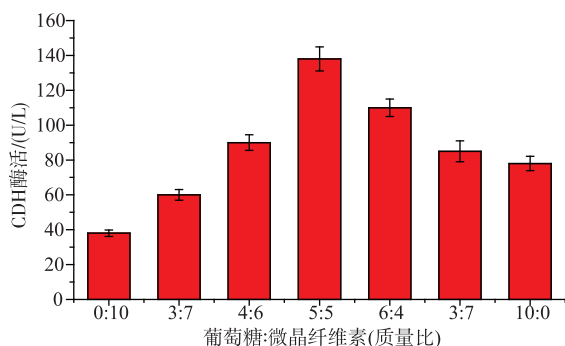


图 2 微晶纤维素与葡萄糖质量比对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响

Fig. 2 Effect of cellulose microcrystalline to D-glucose ratio on CDH production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

2.1.2 有机氮源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响 氮源不仅是构成菌体细胞中核酸和蛋白质等重要物质的营养来源,同时还是代谢产物中氮元素的主要来源。氮源主要包括有机氮源和无机氮源两种。不同的有机氮源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 的影响见图 3。

从图 3 可以看出,以黄豆粉为有机氮源时,发酵液中 CDH 酶活最高可达到 500 多个酶活单位,酵母粉、蛋白胨、豆粕与其相比,酶活力明显偏低。以黄豆粉为氮源时 CDH 酶活显著提高($P < 0.05$),这可能与黄豆粉中富含的营养成分有关,黄豆粉中富含蛋白质和脂质,既可以满足菌体生长的需要,又因为 CDH 为细胞周质酶,黄豆中的脂质可改变细胞膜的通透性,提高发酵液中 CDH 的产量,从而提

高菌体的产酶量。

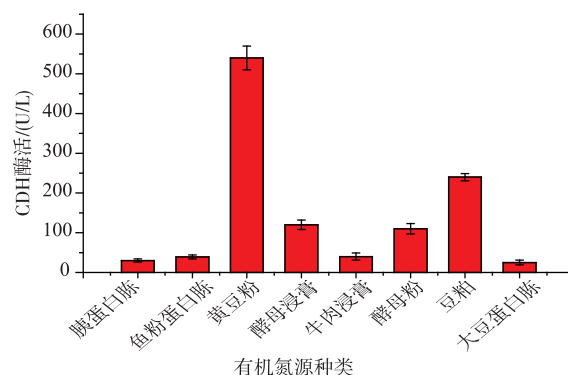


图 3 有机氮源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响

Fig. 3 Effect of Organic nitrogen sources on CDH production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

本研究确定有机氮源为黄豆粉,考察黄豆粉不同质量浓度(1、2、4、6、8、10、12 g/L)下对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响。如图 4 所示,随着黄豆粉的变化,CDH 的产量明显升高 ($P < 0.05$),当黄豆粉在培养基的终质量浓度为 4 g/L 时,此时 CDH 达到最大,最有利于 CDH 合成,此质量浓度下 CDH 的产量为 570 U/L。随着黄豆粉质量浓度的增大,CDH 的产量下降明显。所以黄豆粉的质量浓度为 4 g/L,在此质量浓度下最有利于产酶。

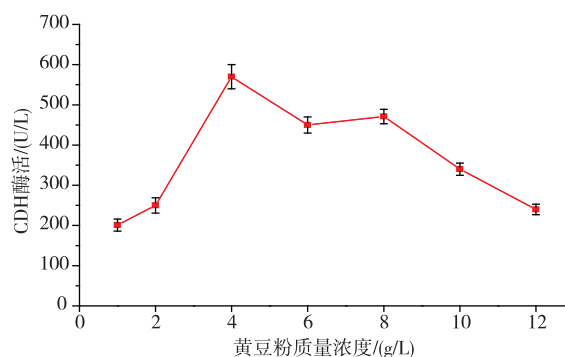


图 4 黄豆粉质量浓度对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响

Fig. 4 Effect of soybean meal on CDH production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

2.1.3 无机氮源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产 CDH 的影响 由于微生物可以快速利用无机氮源,促进菌体的生长,而有机氮源含有菌体必需的生长因子为氨基酸发酵提供前体物质及辅酶,所以在以上优化的基础上,研究不同无机氮源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH

的影响,结果见图 5。

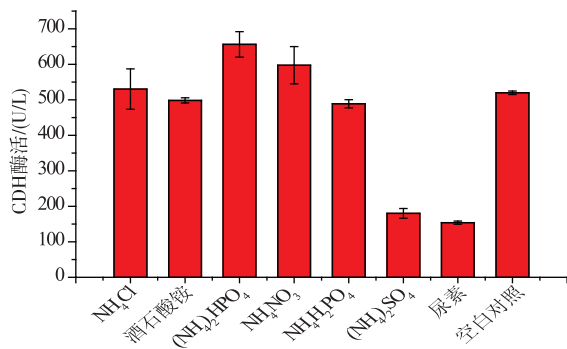


图 5 无机氮源对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产酶的影响

Fig. 5 Effect of inorganic nitrogen sources on CDH production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

由图 5 可知,磷酸氢二铵和硝酸铵对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 有促进作用,其中磷酸氢二铵的促进作用较为明显,而氯化铵、柠檬酸铵、磷酸二氢铵对菌体产酶影响不明显,而硫酸铵和尿素对菌体产酶的抑制作用较明显,所以选择磷酸氢二铵为液态发酵产酶培养基中的无机氮源。

确定无机氮源为磷酸氢二铵,考察磷酸氢二铵的质量浓度(2、4、6、8、10、12、14 g/L)对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 的影响,结

果见图 6。当磷酸氢二铵的质量浓度增大时,CDH 的产量也随之增大,并且在磷酸氢二铵的质量浓度为 6 g/L 时,此时 CDH 的产量达到最大;之后磷酸氢二铵的质量浓度增大,CDH 的产量降低,说明高质量浓度的磷酸氢二铵不利于 CDH 的积累。因此磷酸氢二铵的质量浓度为 6 g/L,此时产酶量最高可达到 700 U/L。

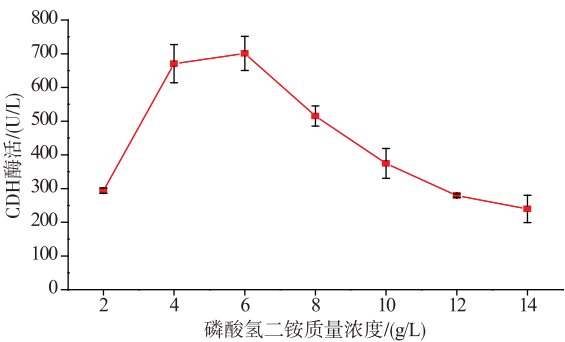


图 6 磷酸氢二铵质量浓度对 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 产酶的影响

Fig. 6 Effect of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ on CDH production by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10

2.1.3 最优碳氮源浓度组合的正交实验设计 根据上述实验结果,4 个组分分别设定 4 个质量浓度,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计研究不同质量浓度的碳源和氮源组成对 CDH 合成的影响,试验设计及结果见表 2。

表 2 $L_{16}(4^5)$ 正交实验结果及分析

Table 2 Result and analysis of the $L_{16}(4^5)$ orthogonal array design

试验号	A 微晶纤维素	B 葡萄糖	C 黄豆粉	D $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	CDH 酶活/(U/L)
1	1(5 g/L)	1(3 g/L)	1(4 g/L)	1(2 g/L)	496.50±56.4
2	1	2(5 g/L)	2(6 g/L)	2(4 g/L)	502.33±60.7
3	1	3(7 g/L)	3(8 g/L)	3(6 g/L)	263.00±66.1
4	1	4(9 g/L)	4(10 g/L)	4(8 g/L)	4.75±2.3
5	2(7 g/L)	1	2	3	1 057.17±52.5
6	2	2	1	4	481.50±39.5
7	2	3	4	1	8.00±2.3
8	2	4	3	2	779.10±77.8
9	3(9 g/L)	1	3	4	513.00±77.0
10	3	2	4	3	527.87±92.8
11	3	3	1	2	301.33±84.1
12	3	4	2	1	962.40±20.3
13	4(11 g/L)	1	4	2	25.33±3.9
14	4	2	3	1	923.00±56.7
15	4	3	2	4	555.97±23.3
16	4	4	1	3	503.90±94.8
R_1	316.63	522.93	445.50	597.48	
R_2	581.43	608.45	769.23	401.83	
R_3	575.85	281.75	619.50	587.55	
R_4	501.50	562.23	141.19	388.56	
极差 R	264.79	326.70	628.04	208.91	

各因素对 CDH 发酵的影响程度排列为 $C > B > A > D$, 即黄豆粉对 CDH 合成的影响最大, 可见, 黄豆粉是 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 CDH 液态发酵过程中的关键因素, 黄豆粉中含有丰富的蛋白质和脂类, 可为菌体生长和发酵提供有利的条件, 并且黄豆粉中还含有丰富的维生素, 可以为菌体合成 CDH 提供前体物质。碳氮源的最佳组合为微晶纤维素 7 g/L, 葡萄糖 5 g/L, 黄豆粉 6 g/L, 磷酸氢二铵 2 g/L, 在此条件下, CDH 的产量最高。为了验证预测结果, 利用此条件进行重复实验, 得出的 CDH 酶活为 $1\,245 \pm 35.78$ U/L, 比 16 个实验的实验值都高, 所以这一实验条件即为发酵产 CDH 的发酵条件。

参考文献:

- [1] LI Yanni, LIU Junhong. The recent advance on cellobiose dehydrogenase[J]. **Journal of Chemical Industry of Forest Products**, 2003, 37(2): 26-30. (in Chinese)
- [2] HE Xinsheng, YANG Chaohui, ZHAO Chunhua, et al. Research of lignocelluloses degradation by three white rot fungi[J]. **Journal of Cellulose science and Technology**, 2012, 20(1): 33-38. (in Chinese)
- [3] ZHENG Peng, LI Qinfen, LI Guangyi, et al. Comparison of cellulose decomposing abilities of eight microbial strains[J]. **Chinese Journal of Tropical Crops**, 2012, 33(6): 1121-1125. (in Chinese)
- [4] LU Shixiang, WANG Qiuyu. Application progress of white rot fungi in lignocelluloses degradation[J]. **Forest Engineering**, 2009, 25(4): 26-31. (in Chinese)
- [5] LIU Wenhua, CAI Yujie, SUN Fubao, et al. Study of *Trametes hirsuta* SYBC-L19 liquidstate fermentation for laccase production [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(12): 1252-1261. (in Chinese)
- [6] LIU Kun, LI Huixuan, LI Jing. Studies on the co-culture of white rot fungi for degrading corn stalk [J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 2003, 36(4): 1327-1329. (in Chinese)
- [7] FANG Jing, LIU Wen, GAO Peiji. Optimization of cellobiose dehydrogenase production by schizophyllum commune and some properties of the enzyme[J]. **Mycosystema**, 2000, 19(1): 107-110. (in Chinese)
- [8] BAMINGER U, SUBRAMANIAM S S, RENGANATHAN V, et al. Purification and characterization of cellobiose dehydrogenase from the plant pathogen *Sclerotium (Athelia) rolfsii* [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2001, 67(4): 1766-1774.
- [9] FANG Jing, GAO Peijing. Study on the role of cellobiose dehydrogenase in cellulose degradation[J]. **Microbiology**, 2000, 27(1): 15-18. (in Chinese)
- [10] FANG Jing, LIU Wen, GAO Peijing. Cellobiose dehydrogenase: inhibition of polymerization of phenolic compounds and enhancing lignin degradation by ligninases[J]. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, 1999, 31(4): 415-419. (in Chinese)
- [11] ALONSO S, RENDUELES M, DIAZ M. Bio-production of lactobionic acid: current status, applications and future prospects[J]. **Biotechnology Advances**, 2013, 31(8): 1275-1291.
- [12] TEMP U, EGGERT C. Novel interaction between laccase and cellobiose dehydrogenase during pigment *Pycnoporus cinnabarinus* [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 1999, 65(2): 389-395.
- [13] YUE Cuicui, SHEN Jianzeng, CAI Yujie, et al. Optimization of fermentation conditions for cordycepin by *Cordyceps militaris* JN168[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(2): 135-141. (in Chinese)
- [14] FAN Jingjing, MA Deli, LIAO Xiangru, et al. Laccase production under solid-state fermentation of wheat straw and its degradation by *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L12 [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015, 34(2): 128-133. (in Chinese)

3 结 语

经研究确定, *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 的发酵条件的优化, 经过碳源中大分子碳源和小分子碳源的优化, 使大小分子碳源组合成复合碳源使菌体产酶提高, 经过氮源的优化, 其中包括有机和无机氮源的优化, 进一步提高了菌体的产酶量, 通过优化发现现在菌体的产酶为 $1\,245 \pm 35.78$ U/L, 未优化时产酶为 39 ± 4.78 U/L, 提高了近 32 倍, 已达到国内领先水平^[7]。而 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L10 液态发酵产 CDH 的培养条件和 CDH 的酶学性质还有待进一步研究。