

猴头菌和金针菇漆酶对不同染料的降解

徐圣东 周金洋 王丽[✉] 朱孟娟[✉]

山东农业大学植物保护学院 山东 泰安 271018

摘要: 利用漆酶 (laccase) 处理染料废水是近年来研究的热点。本研究以猴头菌 *Hericium erinaceus* 和金针菇 *Flammulina filiformis* 的发酵液为试验材料, 通过硫酸铵沉淀、离子交换层析和超滤等方法, 对发酵液中的漆酶进行了初步的分离纯化, 然后分别研究了两种初提纯漆酶及其与小分子介体组成的漆酶介体系统 (laccase-mediator system, LMS) 对 12 种常用染料的降解效果。结果表明, 猴头菌的初提纯漆酶对甲基红、铬黑 T、孔雀绿和活性蓝 R 都具有很好的降解效果, 反应 24h 后, 降解率分别为 79.6%、66.8%、80.3% 和 64.6%, 且表现出时间依赖性, 而对其他染料的降解效果不明显。当反应体系中加入介体 2,2'-连氨基-双-(3-乙基苯并二氢噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphate), ABTS] 后, 可增加猴头菌漆酶对考马斯亮蓝、结晶紫和孔雀绿的降解率, 分别提高到 33.7%、45.6% 和 94.2%。金针菇初提纯漆酶对孔雀绿、活性艳橙 K-7R 和活性红 KD-8B 都具有一定的降解效果, 降解率分别为 37.8%、39.9% 和 49%, 也表现出了明显的时间依赖性。当反应体系中也加入 ABTS 后, 金针菇漆酶对活性红 KM-8B 的降解率明显增加, 由 9.7% 增加到 58.2%。以上研究为猴头菌和金针菇漆酶在染料废水处理领域的应用提供了科学依据。

关键词: 白腐真菌, 漆酶介体系统, 染料降解

[引用本文] 徐圣东, 周金洋, 王丽, 朱孟娟, 2021. 猴头菌和金针菇漆酶对不同染料的降解. 菌物学报, 40(6): 1525-1537
Xu SD, Zhou JY, Wang L, Zhu MJ, 2021. Degradation of different dyes by laccases from *Hericium erinaceus* and *Flammulina filiformis*. Mycosystema, 40(6): 1525-1537

Degradation of different dyes by laccases from *Hericium erinaceus* and *Flammulina filiformis*

XU Sheng-Dong ZHOU Jin-Yang WANG Li[✉] ZHU Meng-Juan[✉]

College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China

Abstract: Treatment of dye wastewater by laccase becomes a research hotspot in recent years. In this study, laccase from the fermentation broth of *Hericium erinaceus* and *Flammulina filiformis* was preliminarily separated and purified successively by ammonium sulfate

基金项目: 国家自然科学基金 (31501813)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31501813).

✉ Corresponding authors. E-mail: haoyou0102@163.com, mengfan7777@163.com

ORCID: XU Sheng-Dong (0000-0002-5390-7680), ZHU Meng-Juan (0000-0002-5500-3693)

Received: 2020-10-20, accepted: 2020-12-09

precipitation, ion exchange chromatography and ultrafiltration. The degradation effects of the primary purified laccases and the laccase-mediator system (LMS) on 12 commonly used dyes were studied respectively. The results showed that the primary purified laccase from *H. erinaceus* had good degradation effect on methyl red, chrome black T, malachite green and reactive blue R, and the degradation rates were 79.6%, 66.8%, 80.3% and 64.6% in 24h, respectively, showing time-dependent, but the degradation effect on other dyes was not obvious. When 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphate) (ABTS) was added to the reaction system, the degradation rates of coomassie brilliant blue, crystal violet and malachite green by *H. erinaceus* laccase increased by 33.7%, 45.6% and 94.2%, respectively. The *F. filiformis* laccase had degradation effects to a certain extent on peacock green, reactive brilliant orange K-7R and reactive red KD-8B, and the degradation rate was 37.8%, 39.9% and 49%, respectively, also showing time dependence. When ABTS was added to the reaction system, the degradation rate of reactive red KM-8B by *F. filiformis* laccase increased significantly from 9.7% to 58.2%. The studies provide scientific basis for the application of *H. erinaceus* laccase and *F. filiformis* laccase in the field of dye wastewater treatment.

Key words: white rot fungi, laccase-mediator system, dye degradation

众所周知,我国印染废水的排放量在污水排放量中占很大的比重,印染工业已成为严重污染生态环境的产业(郭玉敏和代广辉 2019)。印染废水排放量大、治理难度高,是目前印染废水处理面临的棘手问题。究其原因,是因为在印染废水中含有大量色度高、难降解的芳香类染料等有机物质。这些有机物对环境中的生物具有强烈的毒害、致畸和致多发性脑神经病变等作用,用常规的物理和化学手段处理,成本高而且容易造成二次污染(Sarayu & Sandhya 2012; Liu *et al.* 2017; Collivignarelli *et al.* 2019)。

有研究表明,真菌漆酶可以对染料进行脱色降解,且不需要 H_2O_2 的加入(司静等 2011b, 2011c; Ba & Kumar 2017; Chao *et al.* 2018; 吴怡等 2019)。Iark *et al.* (2019) 研究证实,小奥德蘑 *Oudemansiella canarii* (Jungh.) Höhn 漆酶能够降解刚果红,降解率在 80% 以上。Ning *et al.* (2016) 发现粉褶白杯伞 *Leucoagaricus naucinus* (Fr.) Singer 漆酶

能够降解铬黑 T、伊文思蓝和碱性品红等染料。紫丁香蘑 *Lepista nuda* (Bull.) Cooke 漆酶对甲基红、溴酚蓝和孔雀绿具有很好的降解效果(Zhu *et al.* 2016)。落叶松锈迷孔菌 *Porodaedalea laricis* (Jacz. ex Pilát) Niemelä 漆酶能够降解活性亮蓝 X-BR、雷马素亮蓝 R 和刚果红,且降解率达 90% 以上(吴怡等 2020)。有关真菌漆酶降解染料的报道越来越多,成为近些年研究的热点(余昭琴等 2015; 曹文娟和袁海生 2016; 马倩倩等 2019)。

漆酶,全称为对苯二酚:(双)氧氧化还原酶,实质是一种含铜的氧化酶。漆酶通过产生自由基的单电子来催化不同类型的底物,从而进行氧化反应,主要表现在底物自由基中间体的产生和漆酶分子中 4 个铜离子的协同作用,最终将 O_2 还原为 H_2O (司静等 2011a; Kudanga *et al.* 2017; 郑飞等 2017; Patel *et al.* 2019; 徐鑫等 2020)。漆酶的作用底物非常广泛,按底物结构可归纳为 6 类:酚及其衍生物、芳胺及其衍生物、羧酸及其

衍生物、甾体激素和生物色素、金属有机化合物和其他非酚类底物（韩美玲等 2017；Mate & Alcalde 2017；Barrios-Estrada *et al.* 2018）。但到目前为止，已发现的漆酶的最高氧化还原电势不超过 800mV，当底物的氧化还原电势比漆酶高或者底物太大导致无法接近其催化位点时，漆酶的氧化还原作用就无法显现，这时就需要小分子介体作为临时的电子传递体，协助漆酶将这些物质氧化。这种漆酶和介体共同作用将底物氧化的系统称为 LMS（Upadhyay *et al.* 2016；Zhu *et al.* 2016）。最先报道用于降解木质素的小分子介体是 ABTS，随后越来越多的小分子介体被发现。到目前为止，大约有 100 多种介体，其中常用的介体包括 3-羟基-2-氨基苯甲酸（3-hydroxy-2-aminobenzoic acid，HAA）、ABTS、*N*-羟基苯并三唑（*N*-hydroxybenzotriazole，HBT）、*N*-羟基邻苯二甲酰亚胺（*N*-hydroxyphthalimide，HPI）等（罗爽等 2015；赵世光等 2016；Qiu *et al.* 2021）。

猴头菌 *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. 是一种珍贵的药膳两用大型食药食用菌（戴玉成和杨祝良 2008；戴玉成等 2010），也是典型的白腐真菌，能够分泌一系列胞外酶（岳影等 2020）。金针菇 *Flammulina filiformis* (Z.W. Ge, X.B. Liu & Zhu L. Yang) P.M. Wang, Y.C. Dai, E. Horak & Zhu L. Yang 是一种常见的大型食用真菌（戴玉成和杨祝良 2018），属于木腐真菌，能够产生纤维素酶、过氧化物酶、漆酶等胞外酶（宋琪等 2017）。有关这两种大型真菌的报道很多，但其在染料降解方面应用的研究鲜见报道。鉴于此，本研究对这两种漆酶进行了初步的分离纯化，研究其对常见 12 种染料的降解效果，以期对猴头菌和金针菇漆酶降解染料提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株：猴头菌菌株 He-03 和金针菇菌株 Ff-05 保存于山东农业大学植物保护学院菌物研究室。

1.1.2 培养基：马铃薯液体培养基（1.0L）：马铃薯 200g，葡萄糖 20g，蛋白胨 1.5g，磷酸二氢钾 1.5g，硫酸镁 0.5g，维生素 B₁ 0.1mg，水 1.0L，pH 自然。

1.1.3 试剂：ABTS（分析纯，Amresco）、DEAE-cellulose（Sigma）、Q-Sepharose（GE）；氯化钠、葡萄糖、蛋白胨、磷酸二氢钾、硫酸镁、维生素 B₁、硫酸铵、醋酸、无水醋酸钠、Tris（国产分析纯，天津市凯通化学试剂有限公司）；甲基红、甲基橙、铬黑 T、考马斯亮蓝、孔雀绿、结晶紫（国产分析纯，北京博瑞强欣有限公司）；活性艳橙 K-7R、活性红 KM-8B、活性红 KD-8B、活性蓝 R、活性藏青、活性黑（国产分析纯，张家港第五化工厂），详细信息见表 1。

表 1 本研究所用染料

Table 1 Dyes used in this study

染料 Dye	最大吸收波长 Maximum absorption wavelength (nm)
甲基红 Methyl red	524
甲基橙 Methyl orange	460
铬黑 T Chrome black T	540
考马斯亮蓝 Coomassie brilliant blue	549
孔雀绿 Malachite green	614
结晶紫 Crystal violet	584
活性艳橙 K-7R	490
Reactive brilliant orange K-7R	
活性红 KM-8B Reactive red KM-8B	520
活性红 KD-8B Reactive red KD-8B	550
活性蓝 R Reactive blue R	592
活性藏青 Reactive navy blue	600
活性黑 Reactive black	585

1.1.4 仪器和设备: 自动部分收集器(BS-100N, 上海沪西分析仪器厂)、数显恒流泵(HL-2N, 上海沪西分析仪器厂)、电热恒温水浴锅(XMTD-7000, 北京市永光明医疗仪器有限公司)、冷冻高速离心机(5804R, 美国 Sigma 公司)、紫外可见分光光度计[UV-1600, 翱艺仪器(上海)有限公司]。

1.2 粗酶液的制备

取猴头菌和金针菇母种试管, 在无菌条件下用接种钩将菌丝连同少许培养基捣碎, 接入上述制备好的三角瓶液体培养基中, 每个菌种各接 10 瓶。将接种后的三角瓶置于摇床上 120r/min、25℃振荡培养 8d。培养结束后, 将上述培养液于 8 000r/min 离心 15min 得上清液, 4℃保存备用。

1.3 漆酶活性的测定

在反应体系中加入 5.0μL 酶液和 0.195mL 1.0mmol/L ABTS 溶液[以 0.01mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 4.6)配制], 混合均匀, 置于 25℃水浴锅中反应 10min, 加入 0.3mL 5%(质量比)三氯乙酸溶液终止反应, 测定 405nm 处的吸光值。对照组用去离子水代替酶液。酶活力单位定义为: 在 25℃条件下, 每分钟氧化 1μmol 底物 ABTS 所需要的酶量为 1 个酶活力单位。

1.4 猴头菌漆酶的分离纯化

1.4.1 硫酸铵沉淀: 取上述备用的猴头菌漆酶发酵液 1.0L 放入大烧杯中, 不断向烧杯内加入硫酸铵并用玻璃棒持续搅拌, 直至硫酸铵终浓度为 80%, 待硫酸铵完全溶解后将烧杯放入冰箱中, 4℃静置 4h。

1.4.2 透析: 将静置后的溶液于 8 000r/min 离心 15min, 保留沉淀用去离子水溶解, 然后装入截留分子量为 3.5kDa 的透析袋中, 用去离子水透析 12h, 其间更换 3 次去离子水。

1.4.3 DEAE-cellulose 阴离子交换层析: 将层析柱(2.5cm×20cm)垂直安装, 并将用 0.01mol/L

Tris-HCl 缓冲液(pH 7.4)浸泡好的 DEAE-cellulose 阴离子交换层析介质在玻璃棒的引流下倒入柱中, 开启下方的阀门, 使缓冲液流出, 凝胶自然下沉。用 10 倍柱体积的相同浓度 Tris-HCl 缓冲液平衡层析柱。调整上述透析后的样品中 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.4)至终浓度 0.01mol/L, 然后以转速 8 000r/min 离心 15min, 取上清液上样, 分别以 0.01mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.4)配制的 NaCl 盐浓度为 0、0.15、0.3 和 1.0mol/L 的洗脱液进行分段洗脱, 流速 2.5mL/min。收集洗脱液, 每管 5.0mL, 测定各管洗脱液在 280nm 处的吸光值和漆酶活性, 合并有活性的洗脱液, 用去离子水充分透析。

1.4.4 超滤: 将透析后的样品用截留分子量为 10kDa 的超滤膜进行超滤浓缩, 至最终样品中的漆酶活性为 8.0×10^3 U/L, 即为猴头菌初提纯漆酶, 于 4℃保存备用。

1.5 金针菇漆酶的分离纯化

1.5.1 硫酸铵沉淀和透析: 按照 1.4.1 和 1.4.2 中的方法对备用的 1.0L 金针菇发酵液进行 80%硫酸铵沉淀和透析。

1.5.2 Q-Sepharose 阴离子交换层析: 将用 0.01mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.6)浸泡好的离子交换介质均匀装入层析柱(2.5cm×20cm)中, 并用 10 倍柱体积的相同浓度 Tris-HCl 缓冲液进行平衡。调整上述透析后样品中 Tris-HCl 缓冲液(pH 8.6)至终浓度 0.01mol/L, 然后 8 000r/min 离心 15min, 取上清液上样, 分别以 0.01mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.6)配制的 NaCl 盐浓度为 0、0.5 和 1.0mol/L 的洗脱液进行分段洗脱, 流速 2.5mL/min, 收集洗脱液, 每管 5.0mL, 测定各管洗脱液在 280nm 处的吸光值和漆酶活性, 合并有活性的洗脱液, 用去离子水充分透析。

1.5.3 超滤: 按照 1.4.4 中的方法将透析后的样品进行超滤, 得金针菇初提纯漆酶, 于 4℃

保存备用。

1.6 过氧化物酶活性的测定

以上述制备的猴头菌和金针菇漆酶初提纯酶液为待测样品,按照以下方法,分别测定锰过氧化物酶(manganese peroxidase, MnP)和木质素过氧化物酶(lignin peroxidase, LiP)的活性。

1.6.1 MnP 活性的测定:在反应体系中加入 3.4mL 0.2mol/L 乙酸-乙酸钠溶液、0.1mL 1.6mmol/L 硫酸锰溶液,混合均匀,加入 0.1mL 1.6mmol/L H_2O_2 ,最后加入 0.4mL 酶液,37℃反应 3min,测定 240nm 处的吸光值。对照组用去离子水代替酶液。酶活力单位定义为:在 37℃条件下,每分钟氧化 $1\mu\text{mol Mn}^{2+}$ 所需要的酶量为 1 个酶活力单位。

1.6.2 LiP 活性的测定:在反应体系中加入 1.0mL 0.015mol/L 藜芦醇溶液、1.5mL 0.25mol/L 酒石酸-酒石酸钠溶液(pH 3.0),混合均匀,加入 0.4mL 酶液,最后加入 0.1mL 0.02mol/L H_2O_2 启动反应,37℃反应 3min,测定 310nm 处的吸光值。对照组用去离子水代替酶液。酶活力单位定义为:在 37℃条件下,每分钟氧化 $1\mu\text{mol}$ 藜芦醇所需要的酶量为 1 个酶活力单位。

1.7 初提纯漆酶及其 LMS 对染料的降解

1.7.1 染料溶液的配制:用 0.05mol/L HAc-NaAc 缓冲液(pH 4.6)按照表 3 所示配制不同浓度的染料溶液。将配制好的染料溶液在 190–800nm 的范围内进行波长扫描,确定最大吸收波长。用相同的缓冲液配制 1.0mmol/L ABTS 溶液,用作染料降解的介体。

1.7.2 初提纯漆酶对染料的降解:在 0.38mL 染料溶液中加入 0.02mL 初提纯漆酶酶液,37℃条件下水浴反应,以热灭活的漆酶酶液代替作为对照组,每个反应设置 3 个重复。分别在 6h、12h、24h 定时取样,测定各染料在其最大吸收波长处的吸光值(A_2),同时测

定对照组吸光值(A_1)。降解率计算公式为:降解率(%)=100×(1- A_2/A_1) (朱林等 2010)。

1.7.3 LMS 对染料的降解:在 0.38mL 染料溶液中加入 0.02mL 初提纯漆酶酶液,再加入 3.0 μL 1.0mmol/L ABTS 溶液,37℃条件下水浴反应,以热灭活的漆酶酶液代替作为对照组,每个反应设置 3 个重复。在 6h、12h、24h 定时取样,降解率计算公式同 1.7.2。

1.8 数据处理与统计分析

采用 Excel 2016 软件进行基础数据处理。通过 SPSS 23.0 软件进行统计分析,结果用平均值±标准差(mean±SD)表示,对不同处理组数据进行单因素方差分析, $P<0.01$ 代表数据存在极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 猴头菌漆酶的分离纯化

将经过硫酸铵沉淀并透析后的猴头菌漆酶粗酶液经 DEAE-cellulose 阴离子交换层析纯化。上样后,先用 0.01mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.4)进行洗脱,得组分 D1,然后分别用 NaCl 浓度为 0.15mol/L 和 0.3mol/L 的 Tris-HCl 洗脱液(pH 7.4)进行分段洗脱,得到 D2 和 D3 组分,接着用 NaCl 浓度为 1.0mol/L 的 Tris-HCl 洗脱液(pH 7.4)洗脱,得到组分 D4 (图 1)。分别测定各个组分的漆酶活性,发现漆酶活性在 D3 组分。该漆酶粗酶液经 DEAE-cellulose 阴离子交换层析纯化后回收率为 78.3%,纯化倍数为 11.2 倍。

2.2 金针菇漆酶的分离纯化

将金针菇漆酶粗酶液进行 Q-Sepharose 阴离子交换层析纯化,先用 0.01mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.6)洗脱,得到不吸附组分 Q1,接着用 NaCl 浓度为 0.5mol/L 的 Tris-HCl 洗脱液(pH 8.6)洗脱,得到组分 Q2,然后用 NaCl 浓度为 1.0mol/L 的 Tris-HCl 洗脱液(pH 8.6)

进行洗脱，得到 Q3 组分（图 2）。分别测定各个组分的漆酶活性，发现漆酶活性在 Q2 组分。该漆酶粗酶液经 Q-Sepharose 阴离子交换层析后回收率为 81.5%，纯化倍数为 10.1 倍。

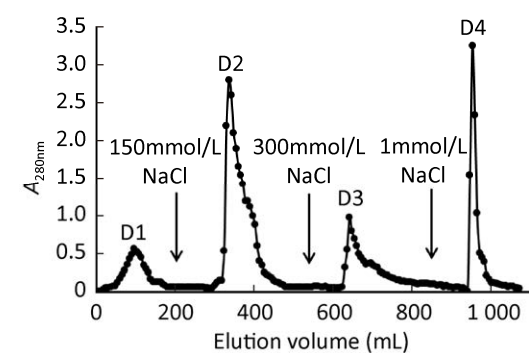


图 1 猴头菌漆酶粗酶液经 DEAE-cellulose 阴离子交换层析纯化的洗脱曲线

Fig. 1 Elution profile of crude laccase from *Hericium erinaceus* purified by ion exchange chromatography on DEAE-cellulose column.

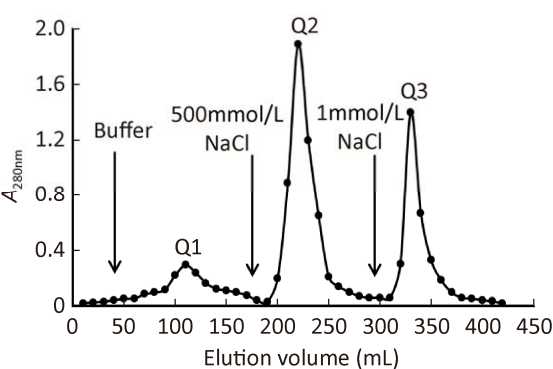


图 2 金针菇漆酶粗酶液经 Q-Sepharose 阴离子交换层析纯化的洗脱曲线

Fig. 2 Elution profile of crude laccase from *Flammulina filiformis* purified by ion exchange chromatography on Q-Sepharose column.

2.3 猴头菌和金针菇初提纯漆酶的过氧化物酶活性

猴头菌和金针菇都属于木腐真菌，其木质素降解酶系主要包括漆酶、MnP 和 LiP。为了探究这 2 种真菌中不同木质素降解酶对染料降解的影响，测定了初提纯漆酶酶液中 MnP 和 LiP 的活性，结合已测定的酶液中漆酶的酶活可以看出，猴头菌初提纯漆酶酶液中 MnP 活性为 0.11U/L，LiP 活性为 96.0U/L；金针菇初提纯漆酶酶液中 MnP 活性为 0.21U/L，LiP 活性为 86.0U/L。而已测定的两种初提纯漆酶酶液中漆酶的活性为 8 000.0U/L，与 MnP 和 LiP 活性相比，具有极显著优势，说明在初提纯酶液中起主要作用的酶为漆酶（表 2）。

2.4 猴头菌初提纯漆酶及其 LMS 对染料的降解效果

将猴头菌初提纯漆酶与染料混合后进行降解反应，测定不同时间点各种染料的降解率。当反应 6h 时，猴头菌漆酶对甲基红和孔雀绿的降解效果最好，降解率分别为 74.5% 和 73.8%，其次是铬黑 T、活性蓝 R 和甲基橙，降解率分别为 60.7%、59.7%和 43.6%。随着反应时间的增加，当反应 24h 时，这 5 种染料的降解率都有所增加，说明猴头菌漆酶对这 5 种染料的降解具有一定的时间依赖性。在反应 24h 时，猴头菌漆酶对考马斯亮蓝和结晶紫也具有一定的降解作用，降解率分别为 21.3%和 27.3%，对其他染料的降解作用不明显（表 3）。

表 2 猴头菌和金针菇初提纯漆酶酶液中的锰过氧化物酶、木质素过氧化物酶和漆酶活性

Table 2 Enzyme activities of MnP, LiP and laccase in primary purified laccase from *Hericium erinaceus* and *Flammulina filiformis*

初提纯漆酶酶液	锰过氧化物酶活性	木质素过氧化物酶活性	漆酶活性
Primary purified laccase	MnP activity (U/L)	LiP activity (U/L)	Laccase activity (U/L)
猴头菌 <i>H. erinaceus</i>	0.11±0.02	96.0±0.84	8 000.0±2.3
金针菇 <i>F. filiformis</i>	0.21±0.02	86.0±0.51	8 000.0±3.6

表 3 猴头菌初提纯漆酶及其 LMS 对染料的降解作用

Table 3 Degradation of dyes by *Hericium erinaceus* laccase and its LMS

染料 Dye	染料浓度 Dye concentration (g/L)	降解率 Degradation rate (%)					
		漆酶 Laccase			LMS		
		6h	12h	24h	6h	12h	24h
甲基红 Methyl red	0.25	74.5±0.9	76.2±0.8	79.6±0.7	76.7±0.6	77.8±0.5	78.1±0.7
甲基橙 Methyl orange	0.025	43.6±0.5	49.1±0.6	51.2±0.4	44.1±0.2	50.2±0.4	50.6±0.6
铬黑 T Chrome black T	0.75	60.7±0.5	62.6±0.8	66.8±0.3	61.7±0.5	65.3±0.8	66.2±0.4
考马斯亮蓝 Coomassie brilliant blue	0.025	9.7±0.1	16.4±0.3	21.3±0.3	25.3±0.3	28.5±0.5	33.7±0.4
孔雀绿 Malachite green	0.0063	73.8±0.8	76.6±0.7	80.3±0.5	89.2±0.9	92.1±0.8	94.2±0.5
结晶紫 Crystal violet	0.010	15.4±0.2	21.9±0.3	27.3±0.2	30.8±0.6	41.7±0.7	45.6±0.5
活性艳橙 K-7R Reactive brilliant orange K-7R	0.05	3.8±0.1	3.9±0.2	3.8±0.1	1.6±0.1	1.4±0.2	1.8±0.4
活性红 KM-8B Reactive red KM-8B	0.05	0.2±0.03	0.2±0.04	0.3±0.03	0.2±0.05	0.3±0.06	0.1±0.01
活性红 KD-8B Reactive red KD-8B	0.1	0.2±0.02	0.4±0.05	0.3±0.04	0.3±0.04	0.4±0.06	0.2±0.05
活性蓝 R Reactive blue R	0.125	59.7±0.8	65.1±0.6	64.6±0.7	60.1±0.9	63.1±0.5	64.2±0.4
活性藏青 Reactive navy blue	0.1	0.2±0.05	0.3±0.04	0.2±0.06	0.2±0.04	0.6±0.05	0.8±0.02
活性黑 Reactive black	0.05	0.3±0.04	0.4±0.03	0.7±0.05	0.4±0.05	0.3±0.02	0.2±0.04

当反应体系中加入 ABTS 介体后，猴头菌漆酶对孔雀绿、结晶紫和考马斯亮蓝的降解率有显著增加，表现为当反应 24h 时，猴头菌漆酶对孔雀绿的降解率由 80.3%增加到 94.2%，几乎完全降解；对结晶紫的降解率由 27.3%增加到 45.6%；对考马斯亮蓝的降解率由 21.3%增加到 33.7%。对于其他染料，加入 ABTS 后降解率无显著影响。以上结果说明，在猴头菌漆酶降解染料的反应体系中，

加入小分子介体 ABTS，可以提高特定染料的降解率。

2.5 金针菇初提纯漆酶及其 LMS 对染料的降解效果

将金针菇初提纯漆酶酶液与染料混合后进行染料降解反应，通过测定不同时间点的降解率。当反应 6h 时，金针菇漆酶对活性艳橙 K-7R 和活性红 KD-8B 的降解效果明显，降解率分别为 31.2%和 39.6%。当反应时间增加

到 24h 时，降解率分别增加到为 39.9%和 49.0%，具有一定的时间依赖性。在反应 24h 时，金针菇漆酶对考马斯蓝和孔雀绿具有一定的降解作用，降解率分别为 29.1%和 37.8%，对其他染料的降解作用不明显(表 4)。

在反应体系中加入 ABTS 后，金针菇漆酶对活性红 KM-8B 的降解率明显增加，在反应 24h 后，降解率为 58.2%，明显高于不加 ABTS 时的 9.7%，说明 ABTS 对金针菇漆酶降解活性红 KM-8B 具有促进作用。而对于考马

斯亮蓝的降解反应，在体系中加入 ABTS 并反应 24h 时，金针菇漆酶对其的降解率为 8.9%，低于不加 ABTS 时的 29.1%，说明反应体系中加入 ABTS 后金针菇漆酶对考马斯亮蓝的降解率下降。加入 ABTS 后，金针菇漆酶对表 4 中列出的其他染料的降解率无明显变化。以上结果说明，在金针菇漆酶降解染料 的反应中，加入小分子介体 ABTS，能够促进特定染料的降解，也可能降低对特定染料的降解。

表 4 金针菇初提纯漆酶及其 LMS 对染料的降解作用

Table 4 Degradation of dyes by *Flammulina filiformis* laccase and its LMS

染料 Dye	染料浓度 Dye concentration (g/L)	降解率 Degradation rate (%)					
		漆酶 Laccase			漆酶介体系统 LMS		
		6h	12h	24h	6h	12h	24h
甲基红 Methyl red	0.25	6.2±0.1	6.3±0.2	6.1±0.1	6.1±0.1	5.6±0.2	5.9±0.3
甲基橙 Methyl orange	0.025	4.6±0.2	4.5±0.5	4.3±0.2	8.6±0.2	10.2±0.3	12.1±0.3
铬黑 T Chrome black T	0.75	5.3±0.2	5.7±0.1	10.2±0.3	5.3±0.1	7.6±0.2	8.0±0.5
考马斯亮蓝 Coomassie brilliant blue	0.025	4.3±0.6	15.2±0.5	29.1±0.3	6.1±0.2	7.6±0.3	8.9±0.2
孔雀绿 Malachite green	0.0063	3.6±0.1	23.5±0.2	37.8±0.3	8.6±0.2	22.2±0.3	32.7±0.5
结晶紫 Crystal violet	0.010	4.8±0.1	8.3±0.2	13.4±0.3	6.8±0.2	9.3±0.5	12.7±0.3
活性艳橙 K-7R Reactive brilliant orange K-7R	0.05	31.2±0.1	30.9±0.2	39.9±0.3	28.9±0.5	30.5±0.2	38.5±0.3
活性红 KM-8B Reactive red KM-8B	0.05	8.8±0.1	9.1±0.2	9.7±0.3	34.6±0.2	46.2±0.6	58.2±0.4
活性红 KD-8B Reactive red KD-8B	0.1	39.6±0.5	41.9±0.6	49.0±0.2	28.6±0.5	37.5±0.6	42.2±0.8
活性蓝 R Reactive blue R	0.125	6.3±0.1	8.8±0.2	8.7±0.2	14.2±0.2	18.8±0.6	22.2±0.5
活性藏青 Reactive navy blue	0.1	5.1±0.1	4.9±0.2	5.5±0.2	3.5±0.2	4.3±0.1	4.7±0.3
活性黑 Reactive black	0.05	3.9±0.3	10.4±0.2	11.7±0.3	7.3±0.3	8.5±0.2	16.4±0.4

3 讨论

真菌漆酶最早是由 Bertrand (1896) 发现的, 但当时并没有受到重视, 直到发现了白腐真菌漆酶具有降解木质素的功能后才成为研究的热点 (Postemsky *et al.* 2017; Ali *et al.* 2020)。白腐真菌是漆酶的最主要分泌者, 分布于担子菌门 Basidiomycota 和子囊菌门 Ascomycota 中 (Ge *et al.* 2011; Mate & Alcalde 2017)。Mtibaà *et al.* (2018) 从子囊菌梭孢壳属 *Thielavia* 的菌株中发现了 1 种漆酶并对其酶学性质进行了研究。Othman *et al.* (2018) 证实双孢蘑菇 *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Singer 中存在 2 种漆酶异构体。东方栓孔菌 *Trametes orientalis* (Yasuda) Imazeki 和小皮伞 *Marasmius* 中的漆酶也有报道 (Vantamuri & Kaliwal 2016; Zheng *et al.* 2017)。猴头菌和金针菇中也有漆酶的存在 (Saito *et al.* 2012; Rajagopalu *et al.* 2016), 本研究进一步证实了这一点。

漆酶能够降解木质素的原因在于其能够有效氧化木质素的酚类结构, 使之形成不稳定的氧化态, 然后通过重排、转化等反应最终达到降解的目的 (徐鑫等 2020)。而纺织行业中多种常用染料都具有酚类结构, 因此能够被漆酶降解。目前, 已有很多真菌漆酶降解染料的研究报道。通过对比已发表的研究内容并结合本研究的结果, 可以发现不同的真菌漆酶对染料具有不同的偏好性。长毛香菇 *Lentinus crinitus* (L.) Fr. 漆酶能够降解咖啡豆荚和柠檬果肉中的亮蓝 R, 降解率都达到 70% 以上 (Almeida *et al.* 2018)。齿毛菌 *Cerrena* 能够有效降解孔雀绿, 降解率达 91.6% (Yang *et al.* 2015)。在冬生多孔菌 *Polyporus brumalis* (Pers.) Fr. 中发现了 1 个分子量为 70kDa 的漆酶, 能够有效降解雷玛唑

亮蓝 (Kim *et al.* 2012)。毛栓孔菌 *Trametes hirsuta* (Wulfen) Pilát 漆酶能够降解多种类型的染料, 包括三芳基甲烷、靛蓝类染料、偶氮染料等 (Abadulla *et al.* 2000)。本研究结果表明, 猴头菌漆酶对甲基红、铬黑 T、孔雀绿和活性蓝 R 都具有很好的降解效果, 而金针菇漆酶对考马斯蓝、孔雀绿、活性艳橙 K-7R 和活性红 KD-8B 都具有降解作用。从未来应用的角度来评价这 2 种漆酶, 猴头菌漆酶比金针菇漆酶具有更广泛的可降解的染料底物范围和更高的降解率, 更适合应用于染料污水的综合处理。

尽管目前研究发现真菌漆酶对多种染料都具有降解作用, 但印染废水中的染料组分复杂, 多数是酚类的多重衍生物, 而且在酚类结构的基础上还有偶氮、杂环等结构, 这使得其氧化还原电势远远高于漆酶而无法被降解。研究表明, 引入相应的介体可以使这些顽固污染物被降解 (Morozova *et al.* 2007)。在 *L. nuda* 漆酶降解染料的反应体系中加入介体 ABTS 后, 对结晶紫、活性红 KM-8B 和活性红 KD-8B 的降解率分别为 76.9%、78.6% 和 68.6%, 明显高于不加 ABTS 时的 15.9%、9.6% 和 9.2% (Zhu *et al.* 2016)。在青头菌 *Russula virescens* (Schaeff.) Fr. 漆酶降解染料时加入介体 ABTS 后, 对考马斯亮蓝和结晶紫的降解率明显增加, 降解率分别由 21.8% 和 37.6% 增加到 40.8% 和 77.1% (Zhu *et al.* 2013)。本研究发现当加入 ABTS 后, 猴头菌漆酶对孔雀绿、结晶紫和考马斯亮蓝的降解率有显著增加, 其中对孔雀绿的降解率由 80.3% 增加到 94.2%。而对于金针菇漆酶而言, 加入 ABTS 后, 对活性红 KM-8B 的降解率也由 9.7% 增加到 58.2%。以上结果均说明在反应体系中加入小分子介体, 可以明显增加某些染料的降解率。但本研究发现了一个特殊现象, 在金

针菇降解考马斯亮蓝的体系中加入 ABTS 后,降解率为 8.9%, 低于不加时的 29.1%, 说明加入小分子介体可以提高相应染料的降解率并不通用, 对于一些特殊的染料而言, 其降解率可能会降低。

本试验对猴头菌和金针菇漆酶进行了初步分离纯化并分别研究了其对染料的降解作用。结果表明猴头菌漆酶对甲基红、铬黑 T、孔雀绿和活性蓝 R 都具有很好的降解效果, 反应 24h 后, 降解率都在 60%以上, 其中对孔雀绿的降解率达到 80.3%; 当反应体系中加入 ABTS 后, 可增加其对考马斯亮蓝、结晶紫和孔雀绿的降解率, 其中对孔雀绿的降解率达到 94.2%。金针菇漆酶对考马斯蓝、孔雀绿、活性艳橙 K-7R 和活性红 KD-8B 都具有一定的降解效果, 当反应体系中加入 ABTS 后, 对活性红 KM-8B 的降解率明显增加, 由 9.7%增加到 58.2%。以上研究为猴头菌和金针菇漆酶在染料废水处理领域的应用提供了科学依据, 具有重要的参考价值。

[REFERENCES]

- Abadulla E, Tzanov T, Costa S, Robra KH, Cavaco-Paulo A, Gübitz GM, 2000. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8): 3357-3362
- Ali WB, Chaduli D, Navarro D, Lechat C, Turbé-Doan A, Bertrand E, Faulds CB, Sciara G, Lesage-Meessen L, Record E, Mechichi T, 2020. Screening of five marine-derived fungal strains for their potential to produce oxidases with laccase activities suitable for biotechnological applications. *BMC Biotechnology*, 20(1): 27
- Almeida PH, de Oliveira ACC, de Souza GPN, Friedrich JC, Linde GA, Colauto NB, do Valle JS, 2018. Decolorization of remazol brilliant blue R with laccase from *Lentinus crinitus* grown in agro-industrial by-products. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(4): 3463-3473
- Ba S, Kumar VV, 2017. Recent developments in the use of tyrosinase and laccase in environmental applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(7): 819-832
- Barrios-Estrada C, Rostro-Alanis MJ, Muñoz-Gutiérrez BD, Iqbal HMN, Kannan S, Parra-Saldívar R, 2018. Emergent contaminants: endocrine disruptors and their laccase-assisted degradation - a review. *Science of the Total Environment*, 612: 1516-1531
- Bertrand G, 1896. Sur la presence simultanee de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences*, 123: 463-465
- Cao WJ, Yuan HS, 2016. Immobilization and dye degradation of laccase from *Lenzites betulina*. *Mycosystema*, 35(3): 343-354 (in Chinese)
- Chao C, Guan HJ, Zhang J, Liu Y, Zhao YF, Zhang B, 2018. Immobilization of laccase onto porous polyvinyl alcohol/halloysite hybrid beads for dye removal. *Water Science & Technology*, 77(3): 809-818
- Collivignarelli MC, Abbà A, Miino MC, Damiani S, 2019. Treatments for color removal from wastewater: state of the art. *Journal of Environmental Management*, 236: 727-745
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. *Mycosystema*, 27: 801-824 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, 2018. Notes on the nomenclature of five important edible fungi in China. *Mycosystema*, 37(12): 1572-1577 (in Chinese)
- Dai YC, Zhou LW, Yang ZL, Wen HA, Bau T, Li TH, 2010. A revised checklist of edible fungi in China. *Mycosystema*, 29: 1-21 (in Chinese)
- Ge HH, Wu Y, Xiao YZ, 2011. Structure, catalytic mechanism and applications of laccases: a review. *Chinese Journal of Biotechnology*, 27(2): 156-163

- Guo YM, Dai GH, 2019. Principles of lignin degrading enzyme dyes degradation. Journal of Hebei Institute of Architecture and Civil Engineering, 37(2): 116-120 (in Chinese)
- Han ML, An Q, Wu XJ, Zheng F, Si J, 2017. Effects of different lignocellulose as inducers on laccase activities of *Pleurotus ostreatus* in submerged fermentation. Mycosystema, 36(3): 349-357 (in Chinese)
- Iark D, Buzzo AJR, Garcia JAA, Côrrea VG, Helm CV, Corrêa RCG, Peralta RA, Moreira RFPM, Bracht A, Peralta RM, 2019. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. Bioresource Technology, 289: 121655
- Kim H, Lee S, Ryu S, Choi HT, 2012. Decolorization of Remazol brilliant blue R by a purified laccase of *Polyporus brumalis*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 166(1): 159-164
- Kudanga T, Nemadziva B, Le Roes-Hill M, 2017. Laccase catalysis for the synthesis of bioactive compounds. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(1): 13-33
- Liu WJ, Liu C, Liu L, You YT, Jiang JH, Zhou ZK, Dong Z, 2017. Simultaneous decolorization of sulfonated azo dyes and reduction of hexavalent chromium under high salt condition by a newly isolated salt-tolerant strain *Bacillus circulans* BWL1061. Ecotoxicology and Environmental Safety, 141: 9-16
- Luo S, Xie T, Liu ZC, Wang GG, 2015. Laccase-mediator system: a review. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 21(6): 987-995 (in Chinese)
- Ma QQ, Zhao LH, Chen W, 2019. Application research progress of laccase in environmental protection. Industrial Safety and Environmental Protection, 45(8): 100-103 (in Chinese)
- Mate DM, Alcalde M, 2017. Laccase: a multi-purpose biocatalyst at the forefront of biotechnology. Microbial Biotechnology, 10(6): 1457-1467
- Morozova OV, Shumakovich GP, Shleev SV, Yaropolov YI, 2007. Laccase-mediator systems and their applications: a review. Applied Biochemistry and Microbiology, 43(5): 523-535
- Mtibaà R, Barriuso J, de Eugenio L, Aranda E, Belbahri L, Nasri M, Martínez MJ, Mechichi T, 2018. Purification and characterization of a fungal laccase from the ascomycete *Thielavia* sp. and its role in the decolorization of a recalcitrant dye. International Journal of Biological Macromolecules, 120: 1744-1751
- Ning YJ, Wang SS, Chen QJ, Ling ZR, Wang SN, Wang WP, Zhang GQ, Zhu MJ, 2016. An extracellular yellow laccase with potent dye decolorizing ability from the fungus *Leucoagaricus naucinus* LAC-04. International Journal of Biological Macromolecules, 93: 837-842
- Othman AM, Elsayed MA, Elshafei AM, Hassan MM, 2018. Purification and biochemical characterization of two isolated laccase isoforms from *Agaricus bisporus* CU13 and their potency in dye decolorization. International Journal of Biological Macromolecules, 113: 1142-1148
- Patel N, Shahane S, Soni S, Majumdar R, Mishra U, 2019. Mode of action, properties, production, and application of laccase: a review. Recent Patents on Biotechnology, 13(1): 19-32
- Postemsky PD, Bidegain MA, González-Matute R, Figlas ND, Cubitto MA, 2017. Pilot-scale bioconversion of rice and sunflower agro-residues into medicinal mushrooms and laccase enzymes through solid-state fermentation with *Ganoderma lucidum*. Bioresource Technology, 231: 85-93
- Qiu X, Wang SS, Miao SS, Suo HB, Xu HJ, Hu Y, 2021. Co-immobilization of laccase and ABTS onto amino-functionalized ionic liquid-modified magnetic chitosan nanoparticles for pollutants removal. Journal of Hazardous Materials, 401: 123353
- Rajagopalu D, Show PL, Tan YS, Muniandy S, Sabaratnam V, Ling TC, 2016. Recovery of laccase from processed *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr) Pers. fruiting bodies in aqueous two-phase

- system. Journal of Bioscience and Bioengineering, 122(3): 301-306
- Saito K, Ikeda R, Endo K, Tsujino Y, Takagi M, Tamiya E, 2012. Isolation of a novel alkaline-induced laccase from *Flammulina velutipes* and its application for hair coloring. Journal of Bioscience and Bioengineering, 113(5): 575-579
- Sarayu K, Sandhya S, 2012. Current technologies for biological treatment of textile wastewater-a review. Applied Biochemistry and Biotechnology, 167(3): 645-661
- Si J, Cui BK, Dai YC, 2011a. Primary screening of effective *Trametes* strains with high laccase-productivity and optimization of conditions on laccase production. Microbiology China, 38(3): 405-416 (in Chinese)
- Si J, Cui BK, He S, Dai YC, 2011b. Optimization of conditions for laccase production by *Perenniporia subacida* and its application in dye decolorization. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 17(5): 736-741 (in Chinese)
- Si J, Li W, Cui BK, Dai YC, 2011c. Advances of research on characteristic, molecular biology and applications of laccase from fungi. Biotechnology Bulletin, 2011(2): 48-55 (in Chinese)
- Song Q, Wang SX, Yu LM, 2017. Effects of different additives on the activities of several extracellular enzymes in *Flammulina velutipes*. Edible Fungi, 39(4): 10-14 (in Chinese)
- Upadhyay P, Shrivastava R, Agrawal PK, 2016. Bioprospecting and biotechnological applications of fungal laccase. 3 Biotech, 6(1): 15
- Vantamuri AB, Kaliwal BB, 2016. Purification and characterization of laccase from *Marasmius* species BBKAV79 and effective decolorization of selected textile dyes. 3 Biotech, 6: 189
- Wu Y, Ma HF, Cao YJ, Si J, Cui BK, 2019. Advances on properties, production, purification and immobilization of fungal laccase. Biotechnology Bulletin, 35(9): 1-10 (in Chinese)
- Wu Y, Ma HF, Cao YJ, Si J, Cui BK, 2020. Medium optimization for the laccase production by white rot fungus *Porodaedalea laricis* and its dye decolorizing capacity. Biotechnology Bulletin, 36(1): 45-59 (in Chinese)
- Xu X, Zhang GQ, Hu BY, Liu ZL, Sun Y, 2020. Fungal laccases and their mediator systems: sources, mechanisms and applications. Current Biotechnology, 10(1): 30-39 (in Chinese)
- Yang J, Yang X, Lin Y, Ng TB, Lin J, Ye XY, 2015. Laccase-catalyzed decolorization of malachite green: performance optimization and degradation mechanism. PLoS One, 10(5): e0127714
- Yu ZQ, Jia HH, Wang TT, Zhou H, Wei P, 2015. Degradation of bromophenol blue by laccase from *Coriolus versicolor*. Environmental Protection of Chemical Industry, 35(2): 137-141 (in Chinese)
- Yue Y, Wang AN, Ma RX, Yi JR, Tang SS, Chu Y, Liu XL, Dong XW, 2020. Study on eight extracellular enzyme activities in different periods of the *Hericium erinaceus*. Edible Fungi of China, 39(7): 32-34 (in Chinese)
- Zhao SG, Yang F, Kong F, Li BF, Xue ZL, Wang T, 2016. Decolorization of azo-type dye direct orange S catalyzed by laccase/mediator system. Chinese Journal of Environmental Engineering, 10(7): 3912-3918 (in Chinese)
- Zheng F, An Q, Meng G, Wu XJ, Dai YC, Si J, Cui BK, 2017. A novel laccase from white rot fungus *Trametes orientalis*: purification, characterization, and application. International Journal of Biological Macromolecules, 102: 758-770
- Zheng F, Meng G, An Q, Wu XJ, Si J, Liu HX, 2017. Physiological studies on laccase-producing process of white rot fungus *Trametes orientalis* incubated with two kinds of liquid media. Mycosystema, 36(5): 582-597 (in Chinese)
- Zhu L, Hong YZ, Fang ZM, Liu JJ, Xiao YZ, 2010. Decolorization of reactive dyes of anthraquinone and azo by fungal laccase. Sciencepaper Online, 5(3): 224-227 (in Chinese)
- Zhu MJ, Du F, Zhang GQ, Wang HX, Ng TB, 2013. Purification a laccase exhibiting dye decolorizing ability from an edible mushroom *Russula*

- virescens*. International Biodeterioration & Biodegradation, 82: 33-39
- Zhu MJ, Zhang GQ, Meng L, Wang HX, Gao KX, Ng TB, 2016. Purification and characterization of a white laccase with pronounced dye decolorizing ability and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from *Lepista nuda*. Molecules, 21(4): 415
- [附中文参考文献]
- 曹文娟, 袁海生, 2016. 桦褶孔菌漆酶固定化及其对染料的降解. 菌物学报, 35(3): 343-354
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. 菌物学报, 27: 801-824
- 戴玉成, 杨祝良, 2018. 中国五种重要食用菌学名新注. 菌物学报, 37(12): 1572-1577
- 戴玉成, 周丽伟, 杨祝良, 文华安, 图力古尔, 李泰辉, 2010. 中国食用菌名录. 菌物学报, 29: 1-21
- 郭玉敏, 代广辉, 2019. 木质素降解酶系染料降解原理概述. 河北建筑工程学院学报, 37(2): 116-120
- 韩美玲, 安琪, 吴雪君, 郑飞, 司静, 2017. 不同木质纤维素诱导对糙皮侧耳液体发酵产漆酶活性的影响. 菌物学报, 36(3): 349-357
- 罗爽, 谢天, 刘忠川, 王刚刚, 2015. 漆酶/介体系统研究进展. 应用与环境生物学报, 21(6): 987-995
- 马倩倩, 赵丽红, 陈威, 2019. 漆酶在环境保护中的应用研究进展. 工业安全与环保, 45(8): 100-103
- 司静, 崔宝凯, 戴玉成, 2011a. 栓孔菌属漆酶高产菌株的初步筛选及其产酶条件的优化. 微生物学通报, 38(3): 405-416
- 司静, 崔宝凯, 贺帅, 戴玉成, 2011b. 微酸多年卧孔菌产漆酶条件优化及其在染料脱色中的应用. 应用与环境生物学报, 17(5): 736-741
- 司静, 李伟, 崔宝凯, 戴玉成, 2011c. 真菌漆酶性质、分子生物学及其应用研究进展. 生物技术通报, 2011(2): 48-55
- 宋琪, 王烁翔, 于鲁萌, 2017. 不同添加物对金针菇几种胞外酶活性的影响. 食用菌, 39(4): 10-14
- 吴怡, 马鸿飞, 曹永佳, 司静, 崔宝凯, 2019. 真菌漆酶的性质、生产、纯化及固定化研究进展. 生物技术通报, 35(9): 1-10
- 吴怡, 马鸿飞, 曹永佳, 司静, 崔宝凯, 2020. 白腐真菌落叶松锈迷孔菌产漆酶液体培养基的优化及其对染料的脱色作用. 生物技术通报, 36(1): 45-59
- 徐鑫, 张国庆, 胡渤海, 刘子璐, 孙悦, 2020. 真菌漆酶及其介体系统: 来源、机理与应用. 生物技术进展, 10(1): 30-39
- 余昭琴, 贾红华, 王婷婷, 周华, 韦萍, 2015. 杂色云芝漆酶对溴酚蓝的高效降解. 化工环保, 35(2): 137-141
- 岳影, 王安宁, 马茹欣, 伊静茹, 汤爽爽, 初洋, 刘晓玲, 董新伟, 2020. 猴头菇不同生长阶段8种胞外酶活性的变化. 中国食用菌, 39(7): 32-34
- 赵世光, 杨帆, 孔芳, 李不凡, 薛正莲, 王陶, 2016. 漆酶/介质系统催化偶氮染料直接橙S脱色. 环境工程学报, 10(7): 3912-3918
- 郑飞, 孟歌, 安琪, 吴雪君, 司静, 刘红霞, 2017. 白腐真菌东方栓孔菌在两种液体培养基中产漆酶过程的生理学研究. 菌物学报, 36(5): 582-597
- 朱林, 洪宇植, 方泽民, 刘娟娟, 肖亚中, 2010. 真菌漆酶对蒽醌和偶氮类活性染料的脱色. 中国科技论文在线, 5(3): 224-227

(本文责编: 韩丽)