

一色齿毛菌漆酶-介体系统在染料脱色中的应用

赵丽艳 赵 敏 卢 磊 王天女

(东北林业大学生命科学学院)

摘要:本文通过一色齿毛菌 LS0547 漆酶粗酶液与紫脲酸(VA)或乙酰丁香酮(Ace)组成的漆酶-介体系统对结晶紫、靛红、活性黑 KN-B 染料进行脱色试验,探索 pH、温度、染料浓度和漆酶浓度等条件对其脱色效果的影响。结果表明:在介体乙酰丁香酮(Ace)作用下,漆酶脱色靛红和活性黑 KN-B 效率高;在介体紫脲酸(VA)作用下结晶紫脱色效果好。pH 4.0、50℃结晶紫的脱色率为 95.42%,40℃靛红脱色率为 99.86%,且基本不受 pH 限制;pH 6.0、40℃活性黑 KN-B 脱色率达 92.38%,表明一色齿毛菌漆酶在介体参与下可有效用于工业染料废水的处理。

关键词:一色齿毛菌;漆酶;介体;染料;脱色

中图分类号:X712 文献标志码:A 文章编号:1000-1522(2010)04-0130-06

ZHAO Li-yan; ZHAO Min; LU Lei; WANG Tian-nü. **Application of *Cerrena unicolor* laccase-mediator system in dye decolorization.** *Journal of Beijing Forestry University* (2011) 33(4) 130-135 [Ch, 17 ref.] College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin, 150040, P. R. China.

In this study, we investigated the decolorization of the crystal violet, indigo carmine and reactive black KN-B by a laccase-mediator system. The mediator system was composed of laccase from *Cerrena unicolor* LS0547 and the mediator of violuric acid (VA) or acetosyringone (Ace). The effects of initial pH, temperature, dye concentration and the dosage of laccase on the decolorization of dyes were tested. The results showed that the decolorization of indigo carmine and reactive black KN-B was remarkably improved in the presence of Ace, while crystal violet was more efficiently decolorized with the addition of VA. The decolorization rate of crystal violet reached 95.42% at pH 4.0 and 50℃. Indigo carmine could be decolorized with a rate of 99.86% at 40℃, which was not affected by pH. And 92.38% of reactive black KN-B was decolorized at pH 6.0 and 40℃. Therefore, the *C. unicolor* laccase-mediator system has a potential application in the treatment of industrial dye wastewater.

Key words *Cerrena unicolor*; laccase; mediator; dyes; decolorization

在染料的生产和使用中,约有 10%~15% 的染料随废水排入环境中,对水体的生态环境造成严重破坏^[1]。染料废水的处理方法包括物理法、化学法和生物法等。相对传统的物理化学方法来说,生物法在经济、环保等方面更具优势。白腐菌是一类对染料具有较强脱色能力的微生物,它通过分泌胞外降解酶系及其他机制能将多种人工合成染料彻底降解为 CO₂ 和 H₂O^[2]。漆酶是白腐菌胞外木质素氧化酶系的一种,底物作用范围广泛,可以氧化降解多种芳香类有机化合物^[3],在染料脱色上具有较好的应

用前景。

近年来,人们对漆酶脱色染料的研究主要集中在栓菌属(*Trametes*)、侧耳属(*Pleurotus*)和密孔菌属(*Pycnoporus*)等少数几个属的漆酶^[2,4-5]。一色齿毛菌(*Cerrena unicolor*)是一种漆酶产量较高的白腐菌^[6],其漆酶对蒽醌染料显示出较好的脱色效果^[7]。目前关于 *C. unicolor* 漆酶-介体系统脱色染料的研究未见报道,本文考察了该漆酶在介体存在条件下对不同结构染料的脱色能力,并对其脱色染料条件做了优化。

收稿日期:2010-09-18

基金项目:国家自然科学基金项目(30671702)。

第一作者:赵丽艳。主要研究方向:污染物降解微生物学。电话:13836165036 Email: zhao5361790@126.com 地址:150040 黑龙江省哈尔滨市和兴路 26 号东北林业大学生命科学学院微生物学科。

责任作者:赵敏,教授,博士生导师。主要研究方向:污染物降解微生物学、药用植物生理学。电话:0451-82191513 Email:82191513@163.com 地址:同上。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

一色齿毛菌 LS0547 采自黑龙江省凉水国家自然保护区(128°53'E 47°53'N),采用 PDA 斜面 4℃ 保存于东北林业大学微生物实验室。

1.1.2 试剂

活性黑、靛红、2,2'-连氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)(ABTS)、紫脲酸(VA)、乙酰丁香酮(Ace)、香兰素(Van)、4-羟基苯甲酸(HBA)购自 Sigma 公司,1-羟基苯并三唑(HBT)购自上海共价化学科技有限公司,其他试剂为国产分析纯。

1.1.3 培养基

1.1.3.1 PDA 培养基

葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, 马铃薯 200 g, 琼脂 15 g, VB_1 微量,定容至 1 L, pH 自然。

1.1.3.2 发酵培养基

葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, 马铃薯 200 g, VB_1 微量,定容至 1 L, pH 自然。

1.2 方法

1.2.1 粗酶液的制备

从 PDA 斜面上挑取少量 *C. unicolor* 菌丝接至

PDA 平板中活化,28℃ 培养 7 d 后,用打孔器将其转接到液体发酵培养基于 28℃、160 r/min 培养 9~10 d,将得到的发酵液 4℃、8 000 r/min 离心 20 min,上清液即为试验所用粗酶液。

1.2.2 漆酶活性测定方法

取 1 mmol/L ABTS 溶液 1 mL, pH 3.0 的 0.2 mol/L 柠檬酸- Na_2HPO_4 缓冲液 3.95 mL,加入 50 μL 稀释的粗酶液启动反应,25℃ 反应 3 min,测定 420 nm 处吸光度的变化。以 1 min 氧化 1 μmol ABTS 所需要的酶量为 1 个酶活力单位(U)^[8]。

1.2.3 漆酶-介体系统优化染料脱色条件

在 200~800 nm 分别对结晶紫、靛红、活性黑 KN-B 3 种染料进行吸收光谱扫描,确定它们的最大吸收波长分别为 583、610、597 nm。在 5 mL 0.2 mol/L 柠檬酸- Na_2HPO_4 缓冲液反应体系中加入 3 U/mL 漆酶、介体、染料(介体、染料终浓度见表 1),于 30℃、100 r/min 的恒温摇床进行染料脱色反应,每隔一定时间测定反应体系的吸光度 A 。相同试验条件下,加入等量 100℃ 灭活 5 min 的酶液作为对照,测其吸光度 A_0 。每次试验重复 3 次取平均值。脱色率的计算式为:脱色率 = $(A_0 - A) / A_0 \times 100\%$ 。

表 1 染料及介体的终浓度
Tab. 1 Concentration of dyes and the dosage of mediator

染料	染料/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	介体 HBA/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	介体 HBT/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	介体 Van/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	介体 VA/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	介体 Ace/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	介体 ABTS/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
靛红	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	1
结晶紫	5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	1
活性黑	40	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	1

1.2.3.1 pH 对染料脱色影响的测定

为考察 pH 对染料脱色的影响,调节缓冲液的 pH 分别为 2.0~8.0,加入终浓度为 3 U/mL 的漆酶、染料及介体(表 1),置于 30℃、100 r/min 的恒温摇床进行脱色反应,定时取样检测脱色率。选择脱色染料效果较好的介体作为后续试验的主要介体。

1.2.3.2 温度对染料脱色影响的测定

不同来源的漆酶最适作用温度不同,选择 20~60℃ 考察温度对漆酶-介体系统脱色染料的影响。在其他条件均相同条件下,根据优化结果调节反应体系中缓冲液 pH,除漆酶-Ace 介体系统脱色结晶紫、活性黑 KN-B 的最适 pH 为 6.0 外,其他漆酶-介体系统脱色染料的最适 pH 均为 4.0,定时取样检测脱色率。

1.2.3.3 染料浓度对染料脱色影响的测定

为考察染料浓度对脱色的影响,将结晶紫终浓度

调节为 5、6、7、8 mg/L,靛红终浓度调节为 25、50、75、100 mg/L,活性黑 KN-B 终浓度调节为 40、60、80、100 mg/L。据温度优化结果,将 VA 介导漆酶脱色靛红、结晶紫、活性黑 KN-B 的反应温度分别调节为 50、50、60℃;将 Ace 介导漆酶脱色靛红、结晶紫、活性黑 KN-B 的反应温度分别调节为 40、50、40℃。

1.2.3.4 漆酶浓度对染料脱色影响的测定

调节漆酶终浓度分别为 0.5、1、2、3 U/mL,考察漆酶浓度对染料脱色的影响。在其他条件不变的情况下,靛红、结晶紫溶液终浓度分别为 75、7 mg/L,而漆酶-VA、漆酶-Ace 2 个介体系统脱色活性黑 KN-B 的终浓度分别为 40、100 mg/L。

2 结果与分析

2.1 漆酶以及漆酶-介体系统对染料脱色的比较

随脱色时间的增加,染料脱色逐渐稳定,1 h 后

脱色结果见图 1。未加介体时漆酶对 3 种染料的脱色效率很低(脱色率均在 15% 以下),而在不同介体的作用下,漆酶对染料脱色效果也有所不同。介体 HBA 对漆酶脱色靛红基本没有影响,介体 HBT、Van 只能将靛红脱色率提高 5% 左右,但介体 VA、ABTS、Ace 对靛红脱色效果显著,脱色率可达到 90% 以上。介体 HBA 对结晶紫的脱色无促进作用,而 HBT、Van 能将结晶紫脱色率提高 1 倍左右,VA、ABTS、Ace 对结晶紫脱色效果显著。漆酶-Ace 介

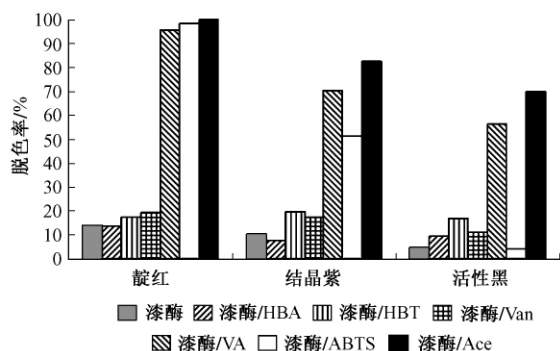
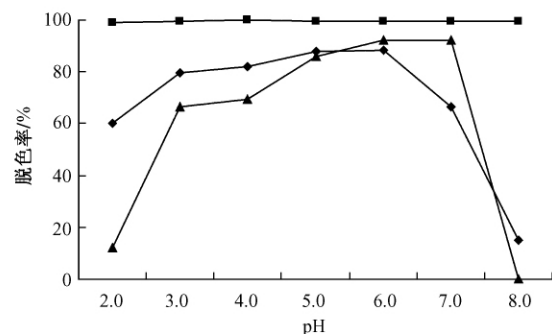


图 1 漆酶和漆酶-介体系统对染料的脱色率

Fig. 1 Decolorization of dyes by laccase with or without mediator



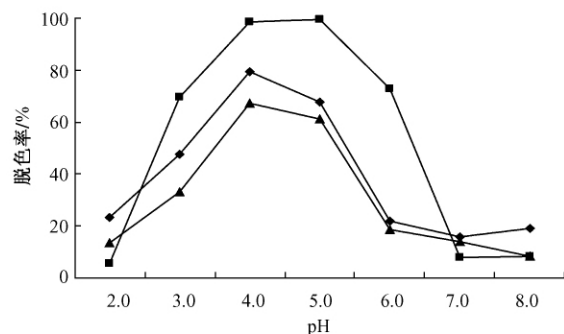
—●— 漆酶/Ace 脱色结晶紫 —■— 漆酶/Ace 脱色靛红 —▲— 漆酶/Ace 脱色活性黑

体系脱色活性黑 KN-B, 脱色能力基本不受 ABTS 的影响;在 HBA、Van 介导下,漆酶对活性黑 KN-B 的脱色率能提高 1 倍;HBT 可使脱色率约提高 3.6 倍;虽然 VA、Ace 介导漆酶脱色活性黑 KN-B 的效率为 56.53%、70.03%,但与单独使用漆酶相比,脱色率分别为原来的 11 倍、14 倍。所测试的 6 种介体中,VA 和 Ace 对几种染料的脱色都表现出较好的促进作用,因此后续脱色试验选用 VA、Ace 作为主要的介体。

2.2 漆酶-介体系统对染料脱色条件的优化

2.2.1 pH 对染料脱色的影响

漆酶-介体系统与染料反应 0.5 h,染料脱色达到稳定状态,Ace 对漆酶脱色靛红促进作用明显,且基本不受 pH 限制,10 min 脱色率已达 90% 以上,染料溶液几近无色。其他漆酶-介体系统脱色染料均会受 pH 影响:VA 介导的漆酶脱色活性黑 KN-B、靛红、结晶紫的最适 pH 为 4.0;在 pH 6.0 时,Ace 介导的漆酶脱色活性黑 KN-B、结晶紫效率高,过酸或过碱环境中,漆酶脱色染料能力迅速下降(图 2)。



—●— 漆酶/VA 脱色结晶紫 —■— 漆酶/VA 脱色靛红 —▲— 漆酶/VA 脱色活性黑

图 2 pH 对漆酶-介体脱色染料的影响

Fig. 2 Effects of pH on the decolorization with laccase-mediator system

2.2.2 温度对染料脱色的影响

由图 3 可以看出:较低温度下,结晶紫脱色率随温度升高而增大,在 50 °C 时达到最大值,超过 50 °C 脱色率随温度上升而下降;VA 介导漆酶脱色活性黑 KN-B 在 20 ~ 60 °C 的脱色率一直呈上升趋势;而漆酶脱色靛红、Ace 介导漆酶脱色活性黑 KN-B 脱色率稳定,漆酶适宜的脱色温度范围较宽,在 20 ~ 60 °C 的脱色率均在 90% 以上。

2.2.3 染料浓度对染料脱色的影响

由图 4 可以看出:结晶紫浓度较低时,漆酶对其脱色率几乎相同,但大于 7 mg/L 时,脱色率降低,Ace 作用下,漆酶对结晶紫脱色率约 90%,VA 作用下的脱色率约 95%;漆酶脱色靛红的最大浓度为 75

mg/L,脱色率达 99% 以上,最终反应液几近透明;活性黑 KN-B 浓度由 40 mg/L 增加到 100 mg/L 时,Ace 作用下的漆酶对其脱色率保持在 90%,而 VA 作用下的漆酶对活性黑 KN-B 的脱色率却随浓度的增加而降低。

2.2.4 漆酶浓度对染料脱色的影响

由图 5 可以看出,在 VA 作用下,随着漆酶浓度的增加,靛红脱色率呈上升趋势,当漆酶浓度大于 2 U/mL 时,靛红脱色率不再增加,维持在稳定状态,即 2 U/mL 为脱色靛红时加入漆酶的最佳浓度。而漆酶-Ace 介体系统脱色结晶紫、靛红、活性黑 KN-B 和漆酶-VA 脱色结晶紫、活性黑 KN-B 的试验结果显示,漆酶最佳浓度为 0.5 U/mL。

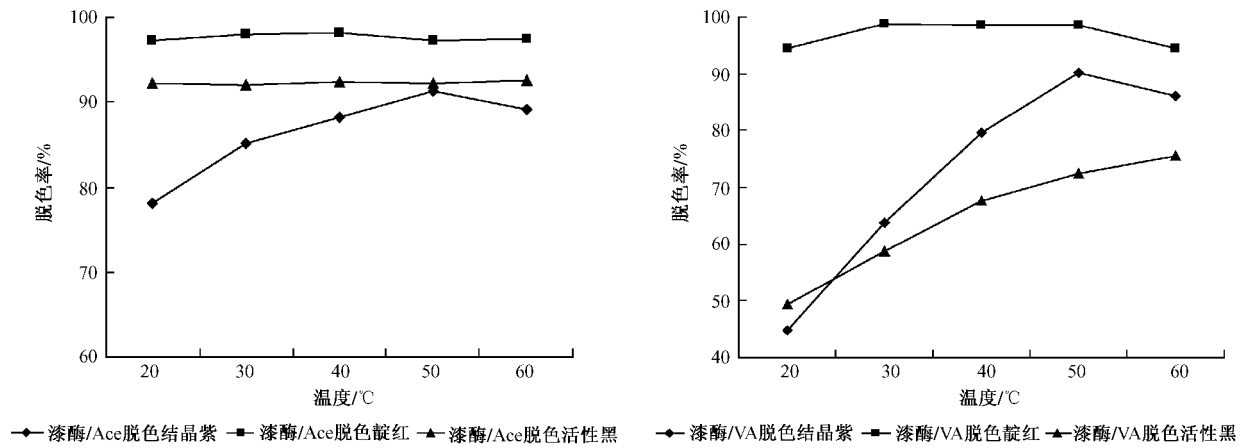


图3 温度对漆酶-介体脱色染料的影响

Fig.3 Effects of temperature on the decolorization with laccase-mediator system

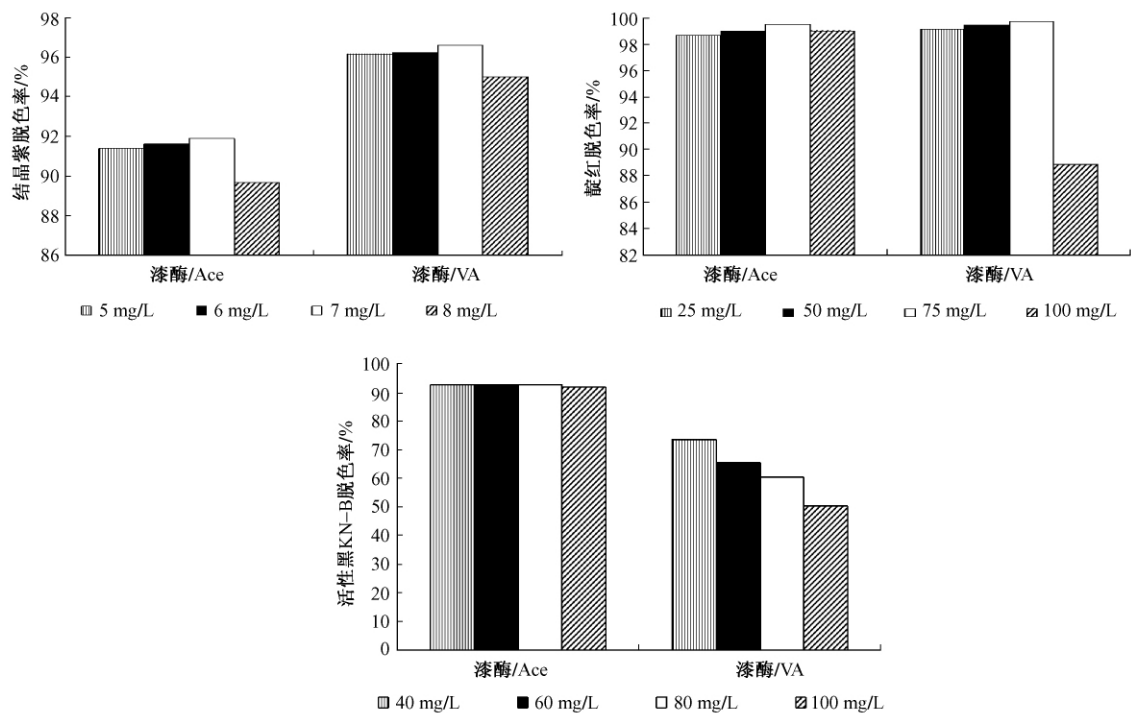


图4 染料浓度对漆酶-介体脱色染料的影响

Fig.4 Effects of dye concentration on the decolorization with laccase-mediator system

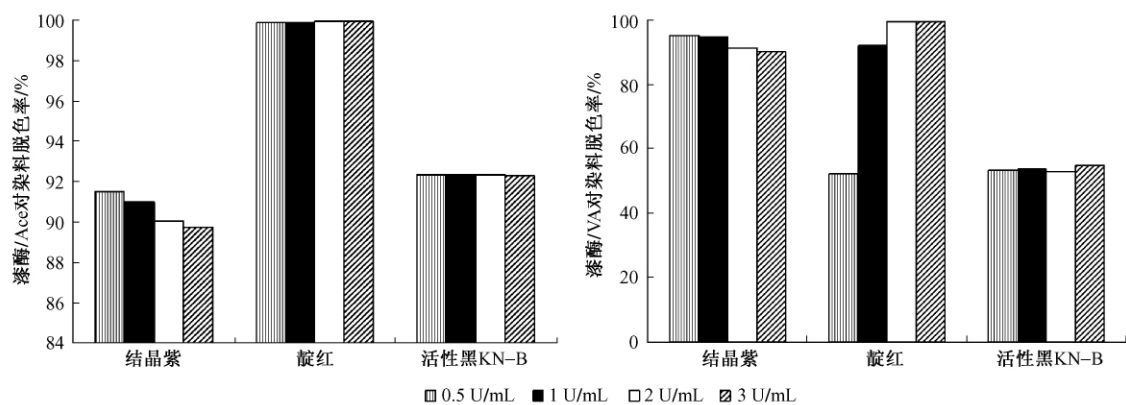


图5 漆酶浓度对漆酶-介体脱色染料的影响

Fig.5 Effects of the dosage of laccase on the decolorization with laccase-mediator system

3 结论与讨论

3.1 漆酶及漆酶-介体系统脱色染料的比较分析

C. unicolor 是一种白腐真菌,其胞外的木素氧化酶系对染料脱色起主要作用,其中锰过氧化物酶和木素过氧化物酶的催化反应分别需要 H_2O_2 ^[9] 和 Mn^{2+} ^[10] 存在时才能发挥作用。本试验结果显示,未加介体时粗酶液对染料的脱色效果有限,而加入漆酶介体后脱色率才有较高的提升。此外,本实验室前期研究结果^[7]表明,试验所采用的 *C. unicolor* 的胞外漆酶经纯化后对不同结构的染料仍具有较好的脱色能力。本试验研究的主要是漆酶-介体系统对染料的脱色。

介体是一类低氧化还原电势的化合物,漆酶在传递电子的介体帮助下能够氧化非酚型的木素结构单元^[11]。Reyes 等^[12]加入介体 HBT 扩大漆酶处理印染废水范围,侯红漫等^[13]采用白腐菌漆酶对工业染料 SN4R 脱色研究,李剑凤等^[14]使用重组漆酶脱色三甲基类染料和偶氮类染料均发现小分子介体能够显著提高漆酶对一些染料的脱色率。*C. unicolor* 可直接脱色蒽醌染料 RBBR,但很难脱色结晶紫等非酶底物染料^[7]。为考察 *C. unicolor* 漆酶在介体作用下脱色染料的能力,选用终浓度均为 0.1 mmol/L(介体 ABTS 终浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$) ,与对照组相比,Ace、VA 对漆酶脱色染料促进作用显著,这可能是漆酶脱色染料和在介体作用下漆酶脱色染料机制不同所致。

漆酶脱色染料是酶与底物的反应,结晶紫、活性黑 KN-B 和靛红不属于漆酶底物染料,单独使用漆酶脱色染料效率低。介体可在酶的作用下会形成阳离子自由基,这些自由基不稳定,自动分解为酶氧化反应产物或者氧化非酶底物染料,从而使染料脱色^[15],可见,小分子的还原介体可介导漆酶与非酶底物染料之间的氧化作用。

3.2 染料脱色条件优化的分析

漆酶处理染料废水时,会受到环境中各种因子的影响,pH 在很大程度上能影响漆酶活力,从而影响漆酶对整个反应体系的催化作用。过酸或过碱的缓冲环境对漆酶脱色染料都有抑制作用,pH 的改变可能破坏了漆酶的空间结构,引起酶构象的改变,使酶活性降低甚至丧失。而在最适 pH 附近,pH 改变不剧烈时,脱色效果受到影响可能是 pH 影响了染料的解离状态,使染料不能和介体作用下的漆酶结合;也可能是 pH 影响了介体作用下漆酶分子活性部位上有关基团的解离,影响其与染料的结合。但漆酶-Ace 系统处理靛红时脱色效果基本不受 pH

影响,可能是 Ace 作为 *C. unicolor* 漆酶的一种高效介体(图 2),其催化氧化过程受 pH 影响较小,即使在较低的漆酶活性下(过酸或过碱环境中漆酶活性下降),也可迅速被氧化成自由基,而该漆酶对其他介体如 VA 的催化则受 pH 影响较大(图 2)。另外,Ace 被氧化后的自由基对靛红的催化作用具有较高的特异性,少量的活性自由基在短时间内便可使其迅速脱色(加入介体后几乎立刻变成无色),而对其他不同结构的染料如结晶紫和活性黑 KN-B 的催化特异性稍差,脱色过程相对缓慢(图 2)。因为过酸或过碱环境导致漆酶活性下降,从而使反应体系中 Ace 自由基的数量下降,结晶紫和活性黑 KN-B 只有在较多的 Ace 自由基存在下才能达到相对较高的脱色率。

温度的升高能促进酶分子运动,酶的活性增强,从而使漆酶脱色染料能力增强,当达到酶的最适温度后,染料脱色率呈下降趋势,可能是酶的变性逐渐突出,酶的失活速率高于染料的脱色率所致;温度的升高还导致染料自身稳定性的下降。

染料浓度过高或过低都将给染料处理效率和处理效果带来影响,当染料浓度较小,漆酶用量一定时,脱色率几乎相同,当达到最佳染料浓度后,脱色率随染料浓度升高而降低,这可能是反应体系中存有的漆酶-介体系统被染料饱和,不能生成中间复合物所致。

结晶紫、靛红、活性黑 KN-B 不是 *C. unicolor* 漆酶的底物,它们的脱色率与漆酶酶活不成正比。当反应体系中酶活由 0.5 U/mL 增加到 3 U/mL 时,染料脱色率无明显变化(VA 作用下的漆酶脱色靛红除外);在 VA 作用下的漆酶随浓度增加,靛红脱色率增加,当漆酶浓度大于 2 U/mL 时,靛红脱色率无明显变化。脱色率增加可能是因为反应中存有的漆酶-介体系统未达到饱和,在漆酶-介体达到饱和时,增大漆酶浓度对染料脱色也无促进作用。可见,在漆酶-介体系统中,协调好二者的比例关系,有利于提高染料的脱色率。

C. unicolor 漆酶在介体的协助下具有较强的催化氧化能力,能快速有效脱色靛红、活性黑 KN-B、结晶紫,3 种染料分别属于靛族类、偶氮类和三苯甲烷类染料,均属于非酶底物染料。在 Ace 作用下,靛红(pH 4.0、40 $^{\circ}\text{C}$)和活性黑 KN-B(pH 6.0、40 $^{\circ}\text{C}$)的脱色效果好,脱色率分别为 99.86% 和 92.38%;在 VA 作用下结晶紫脱色率为 95.42% (脱色条件为 pH 4.0、50 $^{\circ}\text{C}$)。张玉等^[16]曾用彩绒革盖菌漆酶粗酶液在 pH 5.0、40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下脱色活性黑 BES 达 96 h,脱色率才达 33.5%,而本试验中的活性黑

KN-B 在 Ace 作用下,在 pH 6.0、40 ℃ 条件下 4 h 脱色率即可达 92.38%。朱海潇等^[17]用凤尾菇漆酶脱色三苯甲烷类染料孔雀绿和结晶紫 5 d 后才基本脱色,且在加入介体 ABTS 的情况下,脱色率才达 50%,与 *C. unicolor* 漆酶-介体系统相比,不仅脱色时间长,而且脱色效率低。本试验仅用终浓度 0.5 U/mL 漆酶就可使 3 种不同类型染料的脱色率达到 90% 以上。因此, *C. unicolor* 漆酶-介体系统在印染废水处理中具有很大的潜在应用价值。

参 考 文 献

- [1] O'NEILL C, HAWKES F R, HAWKES D L, et al. Colour in textile effluents—sources, measurement, discharge consents and simulation: A review [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 1999, 74(11): 1009–1018.
- [2] WESENBERG D, KYRIAKIDES I, AGATHOS S N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents[J]. *Biotechnology Advances*, 2003, 22(1–2): 161–187.
- [3] JUNG H, XU F, LI K. Purification and characterization of laccase from wood-degrading fungus *Trichophyton rubrum* LKY-7 [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2002, 30(2): 161–168.
- [4] ERKURT E A, ÜNYAYAR A, KUMBUR H. Decolorization of synthetic dyes by white rot fungi, involving laccase enzyme in the process[J]. *Process Biochemistry*, 2007, 42(10): 1429–1435.
- [5] MOLDES D, SANROMÁN M Á. Amelioration of the ability to decolorize dyes by laccase: Relationship between redox mediators and laccase isoenzymes in *Trametes versicolor* [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2006, 22(11): 1197–1204.
- [6] WINQUIST E, MOILANEN U, METTÄLÄ A, et al. Production of lignin modifying enzymes on industrial waste material by solid-state cultivation of fungi [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2008, 42(2): 128–132.
- [7] ZHANG B B, ZHAO M, LU L, et al. Characterization and decolorization ability of a laccase from white rot fungus *Cerrena unicolor* LS0547 [J]. *Mycosystema*, 2009, 28(5): 737–743.
- [8] LU L, ZHAO M, ZHANG B B, et al. Purification and characterization of laccase from *Pycnoporus sanguineus* and decolorization of an anthraquinone dye by the enzyme [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 74(6): 1232–1239.
- [9] 赵敏, 钱程. 白腐菌木素氧化酶系的检测及其漆酶诱导产生的研究[J]. *中国造纸学报*, 2005, 20(2): 101–105.
- [10] 池玉杰, 闫洪波. 红平菇木质素降解酶系统漆酶、锰过氧化物酶及木质素过氧化物酶的检测 [J]. *林业科学*, 2009, 45(12): 154–158.
- [11] BOURBONNAIS R, PAICE M G. Demethylation and delignification of kraft pulp by *Trametes versicolor* laccase in the presence of 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1992, 36(6): 823–827.
- [12] REYES P, PICKARD M A, VAZQUEZ-DUHALT R. Hydroxybenzotriazole increases the range of textile dyes decolorized by immobilized laccase [J]. *Biotechnology Letters*, 1999, 21(10): 875–880.
- [13] 侯红漫, 周集体, 王竞, 等. 白腐菌 *Pleurotus ostreatus* 漆酶对蒽醌染料 SN4R 脱色研究 [J]. *大连理工大学学报*, 2004, 44(5): 640–645.
- [14] 李剑凤, 洪宇植, 肖亚中. 栓菌 420 漆酶 C 基因的克隆、高效表达及重组酶的染料脱色潜能 [J]. *微生物学报*, 2007, 41(1): 54–58.
- [15] WONG X Y, YU J. Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes [J]. *Water Research*, 1999, 33(16): 3512–3520.
- [16] 张玉, 洪枫. 优化彩绒革盖菌产漆酶条件及染料脱色研究 [J]. *林产化学与工业*, 2006, 26(3): 41–46.
- [17] 朱海潇, 黄桂英, 王霖, 等. 凤尾菇漆酶性质及应用的研究 [J]. *福建农业学报*, 2008, 23(1): 48–52.

(责任编辑 董晓燕)