

高大文,文湘华,周晓燕,等.非灭菌环境投加染料时间对白腐真菌降解活性染料的影响[J].环境科学学报,2005,25(4):519-524

GAO Dawen, WEN Xianghua, ZHOU Xiaoyan, et al. Influence of injecting time of dyes on decolorizing reactive dyes with white rot fungus under non-sterile condition[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 25(4): 519 - 524

非灭菌环境投加染料时间对白腐真菌降解活性染料的影响

高大文*,文湘华,周晓燕,曾永刚,钱 易

清华大学环境科学与工程系 环境模拟与污染控制国家重点实验室,北京 100084

摘要:应用氮限制液体培养基(C/N = 56/8.7)研究了非灭菌环境投加染料时间对白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 降解活性艳红 K2BP 染料的影响. 试验结果表明, 纯培养 2 d 和 3 d 后, 在非灭菌环境投加活性艳红 K2BP 染料的体系脱色率与在灭菌环境投加该染料的体系基本相当, 其 5 d 脱色率在 90% 以上; 而纯培养 1 d 时, 在非灭菌环境投加染料体系的脱色率却只有 81%. 引起纯培养 1 d 体系脱色率降低的主要原因是活性艳红 K2BP 对白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 的生长有抑制作用和反应体系感染了酵母菌. 但是, 如果纯培养延长至 2 d 以后, 由于白腐真菌菌丝体已在体系内占优势, 尽管在非灭菌环境下还有酵母菌侵入, 但它不会占优势, 从而也就不会影响白腐真菌对染料的降解作用. 因此, 在氮限制液体培养基中, 只要白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 在反应体系占优势, 就可以适当缩短纯培养时间, 提前在非灭菌环境投加染料, 使白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 的培养和对活性染料的脱色同步进行.

关键词:白腐真菌; *Phanerochaete chrysosporium*; 非灭菌条件; 脱色; 活性艳红 K2BP

文章编号:0253-2468(2005)04-0519-06 中图分类号:X703.1 文献标识码:A

Influence of injecting time of dyes on decolorizing reactive dyes with white rot fungus under non-sterile condition

GAO Dawen*, WEN Xianghua, ZHOU Xiaoyan, ZENG Yonggang, QIAN Yi

ESPC State Key Joint Laboratory, Department of Environment Science and Engineering, Tsinghua University, China, Beijing 100084

Abstract: Influence of different injecting time of dyes on decolorizing reactive brilliant red K2BP with white rot fungus under non-sterile condition were investigated using nitrogen limited liquid culture medium. The results showed that the decolorization under non-sterile condition was similar with sterile condition, after it was incubated for 2 or 3 days under sterile condition. And its efficiency of decolorization was above 90% at 5 days; however, The efficiency was only 81% at 5 days if white rot fungus had been incubated for 1 day under sterile condition. The reason of that decrease was because the growth of white rot fungus was suppressed by reactive brilliant red K2BP and the reaction system was contaminated by yeast fungus. But if white rot fungus was incubated for 2 days under sterile condition, it would become predominated strain in reaction system; meanwhile, although yeast fungus still might colonize into liquid medium, it could not influence decolorization. So, in decolorizing reactive brilliant red K2BP system with nitrogen limited liquid medium, if only white rot fungus is predominated strain in reaction system, the incubating time under sterile condition could be shortened.

Key words: white rot fungus; *Phanerochaete chrysosporium*; non-sterile condition; Decolorization; reactive brilliant red K2BP

随着社会的发展,人工合成的有机、有毒物质的种类和数量急剧增加.同时,这些有机、有毒物质按照常规的物理、化学和生物方法又很难去除,这就促使人们研究新方法和新技术来解决日益突出的环境问题.1987年 Kirk 等人发现白腐真菌在次生代谢阶段产生的木质素降解酶系统具有非特异性,它不仅能降解木质素,而且还能降解环境中的许多有机、有毒物质^[1].由于白腐菌在碳、氮营养限制时,能够分

泌氧化木质素等一些难降解化合物的过氧化物酶^[2-4],因此,该菌在水污染控制和土壤修复等方面越来越得到广泛的应用.

然而,无论国内还是国外,对白腐真菌处理染料废水的研究都还停留在实验室研究阶段,应用到实际工程中的案例基本没有.制约白腐真菌在实际工程中应用的主要原因是反应体系的染菌问题.一旦反应体系有白腐真菌以外的其它菌群进入,这些菌

收稿日期:2004-08-05;修订日期:2005-01-14

基金项目:国家自然科学基金(批准号:50478010)和中国博士后科学基金资助项目(2004035035)

作者简介:高大文(1967—),男,博士,副教授,gdw@mail.tsinghua.edu.cn,电话:010-62788885,62792923; * 通讯作者(责任作者)

群就会与白腐真菌争夺培养基中的营养物质. 如果这些菌群的繁殖速度比白腐真菌快, 那么, 这些外来菌群就会在反应体系内占优势, 而白腐真菌因缺乏营养将停止生长, 进而影响胞外降解酶系的分泌, 使整个处理系统失去降解染料的功能^[5]. 如果对实际工程中的反应器、培养液、载体以及废水都进行灭菌处理并保证处理过程不染菌, 显然将大大增加处理工艺的运行成本, 即使在国外, 采用灭菌手段来解决污水处理过程中的染菌问题也是没有先例的. 因此, 如何解决白腐真菌降解含染料废水过程中的染菌问题是该工艺能否应用到实际工程中的瓶颈. 前期研究发现, 氮限制液体培养基 ($C/N = 56/2.2$) 经纯培养 5 d 后在非灭菌环境下容易抑制细菌生长, 使该培养基下的白腐真菌在非灭菌环境对活性艳红仍具有很高的脱色率; 而碳限制液体培养基 ($C/N = 28/44$) 很容易感染细菌, 从而影响脱色效果^[6]. 最近几年, 白腐真菌的染菌问题也引起国外科学家的重视, 并开始了一些研究工作^[7,8]. 1999 年 Leidig 等^[7] 用聚乙烯醇包埋法保护了白腐真菌 *Trametes versicolor* 和细胞外产生的过氧化物酶免受细菌攻击, 达到对染料 Poly R-478 的连续生物氧化. 但是, 随着白腐真菌的生长, 它会逐渐挣破包埋它的聚乙烯醇小球. 因此, 在长期运行时可能带来许多问题. 2003 年 Libra 等^[8] 应用白腐真菌 *Trametes versicolor* 研究了非灭菌环境降解活性染料的控制策略. 试验结果显示, 在悬浮培养试验中, 培养液 pH 值降低到 3 以下都没有抑制细菌生长, 相反白腐真菌在此 pH 值时已停止生长和产酶; 单独使用粗酶液可以将白腐真菌生长和处理废水 2 个过程分开, 从而间接减小细菌对白腐真菌的影响, 但是, 试验发现, 在非灭菌环境使用酶液时酶活急剧降低, 最终影响处理废水的效果.

本文在前期研究工作的基础上, 为优化灭菌培养非灭菌降解染料方法, 缩短纯培养操作时间, 进行了非灭菌环境投加染料时间对白腐真菌降解活性艳红 K2BP 的影响研究. 目标在于找到不影响脱色效果的最短纯培养时间, 减少实际工程运行成本, 为在自然(非灭菌)环境下实施白腐真菌处理染料废水奠定理论基础.

1 材料与方法

1.1 菌种

采用的白腐真菌菌种是由本实验室保存的黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium* BKM-F

1767).

1.2 培养基

固体培养基采用 PDA 培养基, 即马铃薯浸出液 200 g L^{-1} , 葡萄糖 20 g L^{-1} , 琼脂 20 g L^{-1} . 液体培养基(白腐真菌生长培养基)参照 Tien 和 Kirk 的 *Phanerochaete chrysosporium* 基本培养基配制^[9], 成分如下: 葡萄糖 10 g L^{-1} , 酒石酸氨 0.8 g L^{-1} , KH_2PO_4 2.0 g L^{-1} , MgSO_4 0.5 g L^{-1} , CaCl_2 0.1 g L^{-1} , 20 mmol L^{-1} 醋酸-醋酸钠缓冲液 ($\text{pH} = 4.4$), MgSO_4 0.21 g L^{-1} , MnSO_4 0.035 g L^{-1} , NaCl 0.070 g L^{-1} , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.007 g L^{-1} , CoCl_2 0.007 g L^{-1} , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.007 g L^{-1} , CuSO_4 0.007 g L^{-1} , $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.0007 g L^{-1} , H_3BO_3 0.0007 g L^{-1} , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.0007 g L^{-1} , Nitritriacetate 0.105 g L^{-1} , 1.5 mmol L^{-1} 藜芦醇. 接种前无菌过滤加入 VB1 溶液, 使其浓度为 0.001 g L^{-1} .

1.3 染料

本实验采用的染料为活性艳红 K2BP (reactive brilliant red K2BP), 其结构式见图 1.

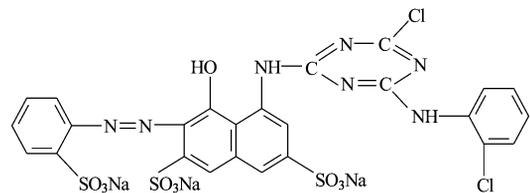


图 1 活性艳红结构式

Fig. 1 Chemical structure of reactive brilliant red K2BP

1.4 培养条件

将斜面种子接种到 PDA 培养基平板上, 于 32 下培养 5~7 d. 用接种针剥取适量孢子入无菌水中制成孢子悬浊液, 用移液枪吸取相同体积的孢子悬浊液接入含 100 mL 液体培养基的一系列 250 mL 锥形瓶中, 每瓶中孢子的接种量相当于 10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 并用带有过滤孔的聚乙烯封口膜封口. 然后放入温度为 37 的恒温摇床中, 在空气条件下培养, 转速设为 160 r min^{-1} . 培养过程中每天定时取样. 对于所要考察的每 1 种情况同时进行 3 组平行实验, 实验结果取其平均数值.

1.5 试验方法

根据前期的研究结果^[10], 本试验选择氮限制液体培养基(碳氮比为 56/8.7, 即培养基中葡萄糖终浓度为 10 g L^{-1} , 酒石酸铵终浓度为 0.8 g L^{-1}); 活性艳红 K2BP 终浓度为 20 mg L^{-1} . 非灭菌环境(指自

然暴露于有菌环境)染料投加的时间分别选择为白腐真菌培养 1 d, 2 d, 3 d, 4 d 和 5 d(以接种当天为第 0 d, 24 h 为 1 d)。

白腐真菌同其它微生物一样,有一定的酸碱适应范围. 超过这一范围,将对白腐真菌的生长、产酶以及脱色都不利. 有研究发现,白腐真菌-黄孢原毛平革菌在 pH 值为 3~5 时对染料废水具有最大的脱色能力^[11]. 而酵母菌对环境 pH 值的要求较宽,随着菌系或种的不同,可在从 pH 为 2.2~8.0 的环境内生存. 因此,在有菌环境投加染料和进行染料脱色时,考察反应体系 pH 值的变化有利于正确评价体系的染杂菌情况. 因此,从加入活性艳红 K2BP 染料时,就对脱色反应体系的 pH 值进行检测(采用奥立龙 868 型 pH 计)。

为了正确评价非灭菌环境投加染料后在非灭菌条件下白腐真菌对活性艳红 K2BP 的脱色效果,在脱色试验中,每组试验都进行了灭菌环境(指实验操作严格控制在无菌环境中进行)投加染料后在灭菌条件下进行活性艳红 K2BP 脱色的平行试验. 同时,对不同灭菌培养时间下的灭菌降解和非灭菌降解染料的效果也进行了比较。

2 结果

2.1 不同染料投加时间下 *Phanerochaete chrysosporium* 的生长情况

2.1.1 菌丝体生长情况 在灭菌环境对白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 进行培养时,由于体系采用了前期试验得出的最佳碳氮比和最适 pH 值,使得白腐真菌在灭菌培养阶段生长情况良好. 随着活

性艳红 K2BP 染料的投加,已形成的菌丝小球表面和大小都发生了变化. 表 1 显示了不同染料投加时间下的 *Phanerochaete chrysosporium* 生长情况. 表观观察发现,投加染料时间越晚的体系中菌丝小球生长情况越好. 从菌丝小球表面来看,试验进行到第 3 d 时,没有投加染料体系的菌丝小球表面已经开始出现毛刺,而在第 1 d 和第 2 d 投加染料体系的菌丝小球表面并没有明显毛刺产生;从菌丝小球大小和数量来看,越早投加染料,体系菌丝小球越小并且数量也越少。

表 1 不同染料投加时间下的 *Phanerochaete chrysosporium* 生长
Table 1 Growth of *Phanerochaete chrysosporium* under different dyes adding time

染料投加时间/d	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> 生长情况
1	+
2	+
3	++
4	++
不投加染料	+++

注:“+”-生长一般;“++”-生长较好;“+++”-生长良好。

2.1.2 反应体系 pH 变化 灭菌培养灭菌降解染料体系 pH 变化和灭菌培养非灭菌降解染料体系 pH 变化的结果如图 2 所示. 图 2(a) 显示了灭菌培养灭菌降解活性艳红 K2BP 体系 pH 值变化. 从图中可以看出,反应体系 pH 较稳定,一直在 4.4 附近波动;由于是在严格无菌操作下实施染料脱色的,所以显微镜观察并未发现体系有白腐真菌以外的其它菌群,体系 pH 的上下波动是由于白腐真菌本身生长过程和降解活性艳红染料时引起的. 图 2(b) 显示了灭菌培养非灭菌降解活性艳红 K2BP 体系 pH 值变化. 从图中可以看出,只有培养 1d 后投加染料的体

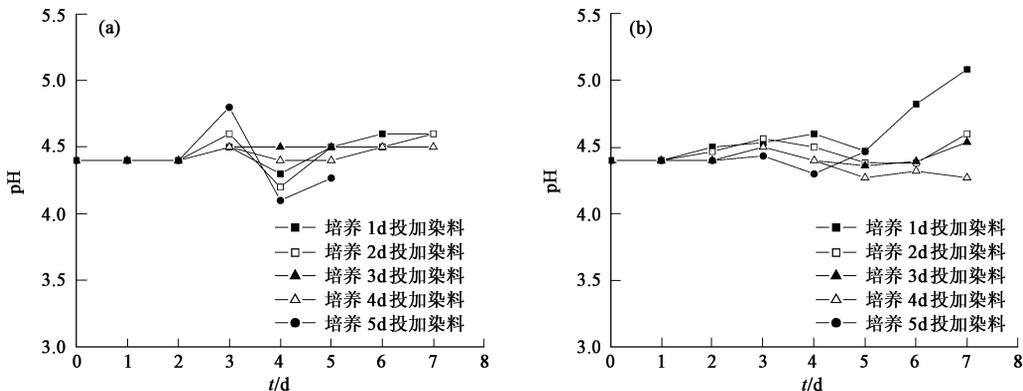


图 2 不同环境降解染料体系的 pH 变化
(a) 灭菌环境; (b) 非灭菌环境。

Fig. 2 Variation of pH during decolorizing dyes under different conditions
(a) Sterile conditions; (b) Non-sterile conditions.

系 pH 有升高的趋势,其它几天投加染料体系 pH 变化不大.结合显微镜观察发现,培养 1d 后投加染料体系感染的酵母菌的数量要多于其它几天投加染料的体系.

2.1.3 生物量变化 为了准确评价投加的染料和酵母菌感染对白腐真菌生长的影响,在试验进行到第 8 d 时,进行了不同染料投加时间下的反应体系生物量的测定,结果如表 2 所示.从表 2 可以看出,染料对体系白腐真菌的生长有一定影响,随着染料投加时间的延后,菌丝体重量在增加.

2.2 不同染料投加时间下 *Phanerochaete chrysosporium* 对活性艳红 K2BP 的脱色情况 灭菌培养后在

表 2 不同染料投加时间下的反应体系生物量

Table 2 Biomass of reaction system under different dyes adding time 10^{-2}g mL^{-1}

染料投加时间/d	dyes adding time		
	灭菌环境 降解染料	非灭菌环境 降解染料	灭菌环境 培养
1	0.2626	0.2054	
2	0.3056	0.2823	
3	0.3377	0.3262	
4	0.4745	0.4625	
不投加染料	0.4885		

灭菌环境投加染料和降解染料试验,结果如图 3(a)所示.而灭菌培养后在非灭菌环境投加染料的试验结果见图 3(b).二者的比较见图 4.

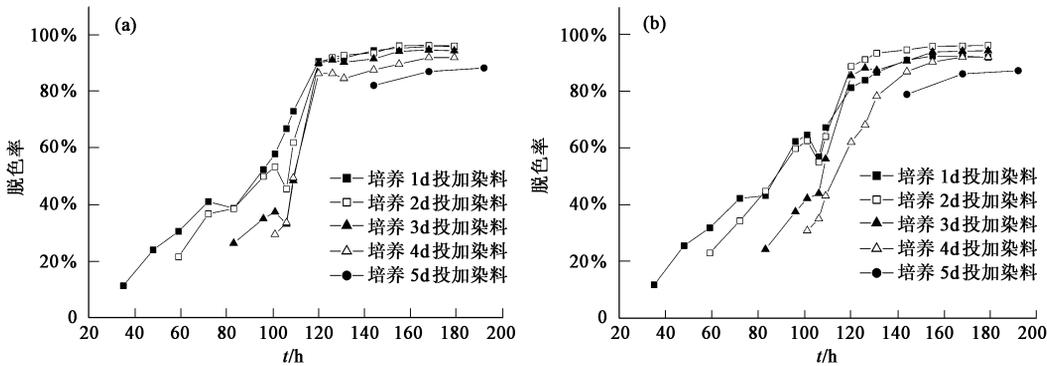


图 3 不同环境降解染料体系的脱色效果

(a) 灭菌环境; (b) 非灭菌环境

Fig. 3 The result of decolorization under different conditions

(a) Sterile conditions; (b) Non-sterile conditions

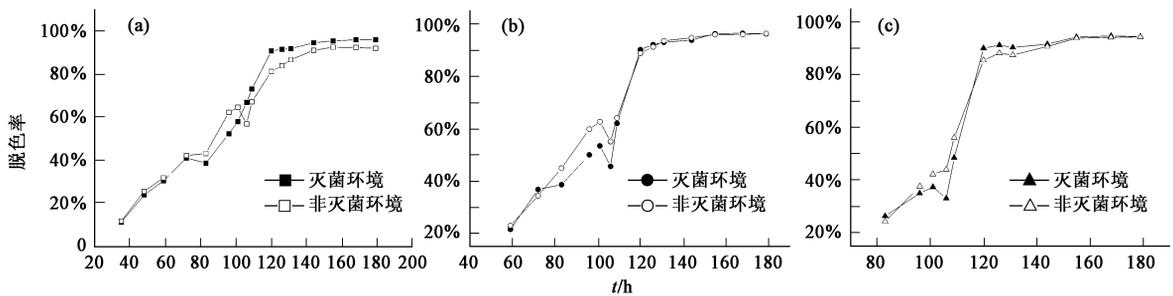


图 4 灭菌和非灭菌环境对活性艳红 K2BP 脱色效果比较

(a) 灭菌培养 1d; (b) 灭菌培养 2d; (c) 灭菌培养 3d

Fig. 4 Comparison of decolorization both under sterile and non-sterile conditions

(a) incubated for 1 day under sterile condition; (b) incubated for 2 days under sterile condition; (c) incubated for 3 days under sterile condition

3 讨论

3.1 染料投加时间对 *Phanerochaete chrysosporium* 生长的影响

从不同染料投加时间下菌丝体的生长情况可以

得出投加的染料对白腐真菌生长有抑制作用.另外,采用显微镜对灭菌和非灭菌 2 种方式投加染料的体系进行观察发现,非灭菌环境投加染料体系中有卵圆形菌体,从大小和形态上初步判断为假丝酵母菌.这些酵母菌基本上都是在非灭菌(有菌)环境投加染

料脱色第 3 d 时出现的,除酵母菌外并没有发现降解体系感染其它菌种,特别是细菌.从这点也可以说明低 pH 值(液体培养基 pH = 4.4)和限氮液体培养基(C/N = 56/8.7)有利于抑制细菌生长,但对抑制酵母菌效果不大.其主要原因是:酵母菌与白腐真菌同属于真菌类生物,它对碳源和氮源的需求上与白腐真菌类似,同时它对环境 pH 适应较宽.从体系感染的酵母菌数量上,第 1 d 投加染料体系中的酵母菌要多于其它投加染料的时间.因此,可以认为白腐真菌在灭菌环境培养 2 d 以上时,已成为体系的优势菌种,当在非灭菌环境投加染料时,虽然其它菌群可以侵入,但不会成为优势菌.

不同染料投加时间下 *Phanerochaete chrysosporium* 生物量的变化可以进一步证明投加的染料对白腐真菌生长具有抑制作用.另外,通过对灭菌和非灭菌环境降解活性艳红 K2BP 后体系生物量的比较,发现降解环境对白腐真菌的生长也有一定影响.灭菌降解体系的生物量较非灭菌降解体系大,并且随着灭菌环境培养时间的延长,这种影响越来越不显著.造成非灭菌环境降解染料体系菌丝量少的主要原因是体系感染了酵母菌,由于酵母菌自身生长繁殖也要消耗培养基中的营养物,这样使得白腐真菌生长所需营养物减少,导致菌丝量降低.但随着灭菌环境培养时间的延长,培养基中营养物已基本被白腐真菌消耗殆尽,同时白腐真菌已完成对数生长期,进入平台区,这样酵母菌生长繁殖受到限制,使得在灭菌培养第 3d 和第 4d 后非灭菌投加染料的体系生物量与灭菌投加染料的体系生物量相近.

3.2 染料投加时间对 *Phanerochaete chrysosporium* 脱色效果的影响

通过前面的研究,可知活性艳红 K2BP 染料对白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 具有一定的抑制作用.这种抑制作用是否会影响到该染料的降解?为此,开展了不同染料投加时间对 *Phanerochaete chrysosporium* 脱色效果的影响研究.

3.2.1 染料投加时间对灭菌环境降解染料体系脱色效果的影响 由灭菌环境不同染料投加时间对活性艳红 K2BP 的脱色结果可以得出,5 组投加染料时间试验均获得了较好的脱色效果,在培养(脱色)5 d 后均能达到 85% 以上的脱色率,其中培养第 1 d,2 d,3 d 投加染料的试验组都获得了 90% 以上的脱色率.从脱色率随时间的变化趋势上看,在培养第 1 d,2 d,3 d 和 4 d 投加染料的体系进行到第 5 d 时,脱色

率有一个突跃.结合前期对纯培养体系酶活的测定,得出发生脱色率突跃的原因是此时体系的酶活最高,而白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 对活性艳红 K2BP 脱色主要依靠的就是它在次生代谢阶段分泌的木质素降解酶系.另外,从灭菌培养灭菌降解染料体系脱色效果还可以看出,培养第 1d,2d,3d,4d,5d 时投加染料的体系在投加染料当天的去除率分别为 11.3%,21.5%,26.4%,29.5% 和 82.3%,染料投加当天对其去除率主要来自菌丝小球的吸附和木质素降解酶系的氧化降解.从脱色率的数值并结合酶活检测可以得出,培养 1d 投加染料体系的当天脱色率主要由菌丝小球吸附完成;而在培养 2d 以后,脱色率不仅由菌丝小球吸附完成,更重要的是通过白腐真菌分泌的木质素降解酶系的降解来完成的.

综上所述,灭菌培养 1~3 d 投加染料体系,在第 5 d 时染料的脱色率均在 90% 以上.第 5 d 以后脱色率虽有增加,但增幅不大.因此,可以得出在灭菌环境降解活性艳红染料时,投加的染料虽然对白腐真菌生长有抑制作用,但它不影响产酶,从而也就不影响到活性艳红染料的降解.

3.2.2 染料投加时间对非灭菌环境降解染料体系脱色效果的影响 如果在实际工程中应用白腐真菌降解染料废水时,对反应器、培养液以及废水都进行灭菌处理并保证处理过程不染杂菌,显然将大大增加处理工艺的运行成本.即使在国外,采用灭菌手段来解决污水处理过程中的染杂菌问题也是没有先例的.前期研究发现,当在灭菌环境培养白腐真菌 5 d 后,在非灭菌环境下对染料的脱色率与灭菌环境基本相当,这部分内容另外撰文详述.因此,在不影响到染料脱色效率的基础上,缩短灭菌操作时间对该工艺的实际工程应用具有重要意义.

由非灭菌环境不同染料投加时间对活性艳红 K2BP 的脱色结果可以得出,灭菌培养非灭菌降解染料体系也获得了较好的脱色效果.在培养第 1 d,2 d,3 d 投加染料的体系进行到第 6 d 时,脱色率均在 90% 以上,其中第 2 天投加染料的体系获得的脱色效果最好,达到 95%.因此,当白腐真菌菌丝体形成以后,灭菌培养时间可以缩短.但灭菌培养时间也不能太短,如灭菌培养 1 d 后投加染料的体系的脱色率就低于灭菌培养 2d 后投加染料体系的结果.这将大大节约因灭菌带来的运行成本.

3.2.3 灭菌和非灭菌环境对活性艳红 K2BP 脱色效果比较 经过对灭菌和非灭菌环境对活性艳红

K-2BP 脱色效果进行比较,得出灭菌培养 1 d 后在非灭菌环境投加染料体系的脱色率低于灭菌环境投加染料的体系;并且随着在非灭菌环境降解染料时间的延长,该体系的脱色率与灭菌环境相比差距越来越大.到第 5 d 时,灭菌环境降解染料体系的脱色率达到 90% 以上,而非灭菌环境只有 81%. 经过对非灭菌环境降解染料体系进行显微镜观察,发现体系有少量酵母菌,并且酵母菌的数量随时间不断增加.因此,可以推测,造成灭菌培养 1 d 后非灭菌投加染料的体系脱色率降低的原因是体系感染了酵母菌.但灭菌培养 2 d 和 3 d 后在非灭菌环境投加染料的体系脱色率与灭菌环境投加染料的体系基本相当,也在 90% 以上.经过对这 2 种体系的混合液进行显微镜观察,发现 2 种体系内也存在酵母菌,但酵母菌数量极少.因此,可以得出灭菌培养 2 d 以后,白腐真菌菌丝体已在体系内占优势.虽然在非灭菌环境有酵母菌侵入,但它不会占优,从而也就不会影响白腐真菌对染料的降解作用.

4 结论

1) 活性艳红 K-2BP 染料对白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 生长有一定抑制作用,主要表现在投加染料的时间越早,体系的菌丝小球的数量和大小越小.另外,非灭菌环境投加染料体系很容易感染酵母菌,使得非灭菌环境下的白腐真菌生物量小于灭菌环境的生物量.但是,只有灭菌培养 1 d 后在非灭菌环境投加染料体系受酵母菌影响较大,当灭菌培养 2d 以上时,这种影响随灭菌培养时间的延长,影响也减弱.

2) 灭菌环境培养 1 d, 2 d, 3 d 后在灭菌环境下投加染料的体系的脱色率在第 5 d 时均在 90% 以上,第 5 d 以后脱色率虽有增加,但增幅不大.而灭菌环境培养 1 d 后非灭菌环境投加染料体系的脱色率在第 5 d 时只有 81%. 结合不同染料投加时间脱色体系的微观观察,得出造成这一结果的主要原因是体系感染了酵母菌.但是,灭菌培养 2 d 和 3 d 后

在非灭菌环境投加染料的体系脱色率与灭菌环境投加染料的体系基本相当,也在 90% 以上.因此,可以认为,灭菌培养 2 d 以后,白腐真菌菌丝体已在体系内占优势,虽然在非灭菌环境有酵母菌侵入,但它不会占优,从而也就不会影响白腐真菌对染料的降解作用.

参考文献 (References):

- [1] Kirk T K, Farrell R L. Enzymatic "combustion": the microbial degradation of lignin[J]. *Ann Rev Microbiol*, 1987, 41: 465—505
- [2] Keyser P, Kirk T K, Zeikus J G. Ligninolytic enzyme system of *Phanerochaete chrysosporium* synthesized in absence of lignin in response to nitrogen starvation[J]. *J Bacteriol*, 1978, 135: 790—797
- [3] Jeffries T W, Choi S, Kirk T K. Nutritional regulation of lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1981, 42: 290—296
- [4] Thurston C F. The structure and function of fungal laccases[J]. *Microbiology*, 1994, 140: 19—26
- [5] Heinfling A, Martinez MJ, Martinez A T, *et al.* Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese-independent reaction[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64(8): 2788—2793
- [6] Gao D W, Wen X H, Qian Y. Decolorization of reactive brilliant red K-2BP with the white rot fungi under non-sterile conditions[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(9): 981—982
- [7] Leidig E, Prusse U, Vorlop K D, *et al.* Biotransformation of Poly R-478 by continuous cultures of PVAL-encapsulated *Trametes versicolor* under non-sterile conditions[J]. *Bioprocess Eng*, 1999, 21(1): 5—12
- [8] Libra J A, Borchert M, Banit S. Competition strategies for the decolorization of a textile-reactive dye with the white-rot fungi *Trametes versicolor* under non-sterile conditions[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 82(6): 736—744
- [9] Tien M, Kirk T K. Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Methods in Enzymology*, 1988, 161: 238—249
- [10] Gao D W, Wen X H, Qian Y, *et al.* Effect of nitrogen concentration in culture mediums on growth and enzyme production of *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *J Environ Sci*, 2005, 17(2): 190—193
- [11] Mahnaz Mazaheri Assadi, Khosrow Rostami, Majid Shahvali, *et al.* Decolorization of textile wastewater by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Desalination*, 2001, 141: 331—336