

Pycnoporus sp. SYBC-L3 漆酶催化偶氮染料脱色

王琦¹, 徐楚涵², 窦欣¹, 管政兵¹, 蔡宇杰¹, 廖祥儒^{*1}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为考察 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 漆酶 Lac-L 对偶氮染料的脱色、解毒效果, 探究最佳的脱色反应条件, 采用单因素分析方法研究了不同的反应条件对 Lac-L 催化 3 种偶氮染料 (AR1、RB5、RV5R) 脱色的影响, 得到最佳处理条件, 并通过比较被漆酶降解前后的染料对小麦和水稻发芽率及根、芽生长的影响, 分析其毒性变化。结果表明: 在以 HBT 为介体、反应温度 50 °C、pH 分别为 4.0 (AR1, RV5R) 和 5.0 (RB5)、漆酶用量 1 U/mL、染料初始质量浓度分别为 30 mg/L (AR1) 和 50 mg/L (RB5、RV5R) 条件下, 漆酶对 3 种偶氮染料的脱色效率最高, AR1 和 RV5R 几乎完全降解, 脱色率达到 96.1% 和 97.8%, 而 RB5 也有 83.8% 的脱色率。植物毒理实验表明, 3 种偶氮染料经漆酶降解后对小麦和水稻发芽率没有影响, 对胚芽和根生长的抑制作用也有所降低。

关键字: *Pycnoporus* sp. SYBC-L3; 漆酶; 偶氮染料; 漆酶脱色

中图分类号: Q 554+.9 文章编号: 1673-1689(2020)09-0053-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.09.008

Decolorization of Azo Dyes by Laccase from *Pycnoporus* sp. SYBC-L3

WANG Qi¹, XU Chuhan², DOU Xin¹, GUAN Zhengbin¹, CAI Yujie¹, LIAO Xiangru^{*1}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The study aimed to investigate the decolorization and detoxification abilities of laccase from *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 for azo dyes and optimize decolorization reaction conditions. The effect of different reaction conditions on the decolorization of three azo dyes catalyzed by Lac-L was studied by single factor analysis, and the toxicity change was investigated by comparing the effect of dyes before and after degradations on the germination and the growth of roots and buds of wheat and rice. The results showed that the optimum treatment conditions were as follow: HBT as mediator, reaction temperature at 50 °C and pH at 4.0 (AR1, RV5R) or 5.0 (RB5), 1 U/mL of laccase dosage, initial dye concentration at 30 mg/L (AR1) or 50 mg/L (RB5, RV5R). Under the optimized conditions, AR1 and RV5R were almost completely degraded with decolorization rates of 96.1% and

收稿日期: 2018-09-03

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); 江苏省研究生培养创新工程项目 (KYLX15_1176)。

* 通信作者: 廖祥儒 (1964—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事生化与分子生物学和发酵工程研究。

E-mail: liaoxiangru@163.com

97.8%, while RB5 also had a decolorization rate of 83.8%. Plant toxicological experiments showed that the three azo dyes had no effect on the germination rate of wheat and rice after degraded by laccase, and the inhibition on the growth of germ and root was also reduced.

Keywords: *Pycnoporus* sp SYBC-L3, laccase, azo dyes, decolorization

目前世界上有 10 000 多种染料,被广泛地应用于纺织、造纸、皮革、化妆品等行业,每年的使用量超过 70 万吨^[1]。按照化学结构,可将染料分为偶氮染料、蒽醌染料、三芳甲烷染料、杂环染料等。偶氮染料是偶氮基两端连接芳基的一类有机化合物,占全球染料市场的比例超过 50%,广泛用于多种天然和合成纤维的染色和印花^[2]。染色过程中约有 10% 的染料未被利用而随废水排出^[3],偶氮染料废水的排放不仅会影响水体色泽、透明度、溶氧量等,还具有高致癌性和致畸性,如果未经处理直接排出,会对生态系统和人类的健康造成严重的威胁^[4]。虽然很多物理化学方法能起到较好的脱色效果,例如活性炭吸附、电凝聚、沉淀、絮凝、膜过滤、反向渗透、臭氧氧化法、离子交换处理法等,但成本高、能耗大、潜在二次污染的风险等缺陷限制了其实际应用^[5]。因此,探究对印染废水中偶氮染料高效、快速、经济的降解方法有重要的意义。其中,利用生物降解法尤其是利用漆酶降解染料因其经济性及环境友好等特点而得到广泛关注^[6]。

漆酶(Laccase, E.C.1.10.3.2)是一种含铜的多酚氧化酶,可催化氧化酚类、芳胺、羧酸等化合物及其衍生物,在小分子介体的协助下,漆酶的底物进一步扩大^[7],其在纸浆漂白、环境激素降解、印染废水处理、木材预处理等领域展现出较好的应用潜力^[8-9]。国内外学者已经开展了利用漆酶进行染料脱色的研究,漆酶来源涉及 *Ganoderma lucidum*^[10]、*Ganoderma weberianum*^[11]、*Trametes versicolor*^[12]、*Trametes trogii*^[13]、*Pycnoporus sanguineus*^[14]、*Bacillus pumilus*^[15]、*Lepista nuda*^[16]、*Cerrena unicolor*^[17]等。*Pycnoporus* sp. SYBC-L3 是作者所在实验室筛选出的优良菌株,漆酶产量高,发酵周期较短,其所产漆酶 Lac-L 有较好的 pH 稳定性和热稳定性^[18]。不同来源的漆酶有不同的酶学特性与底物范围,其对染料的脱色条件及脱色效率也不尽相同^[10-17,19],因此有必要对 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 所产漆酶 Lac-L 的染料脱色应用开展针对性研究,进而探讨 Lac-L 在工业染料处理中的应用前景。

本文作者利用 Lac-L 降解酸性红 1 (AR1)、活性黑 5(RB5)、活性紫 5R(RV5R)3 种偶氮染料,考察介体、温度、pH 等因素对脱色反应的影响;根据脱色前后的染料溶液对小麦和水稻种子发芽的影响,评估脱色前后染料的植物毒性变化,为 Lac-L 在偶氮染料废水脱色方面的进一步研究及工业应用提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 为作者所在实验室筛选到的漆酶高产菌株, PDA 固体斜面保藏。

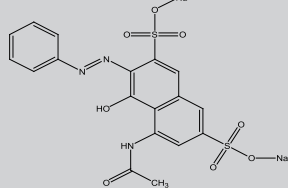
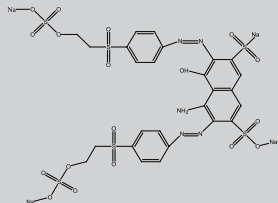
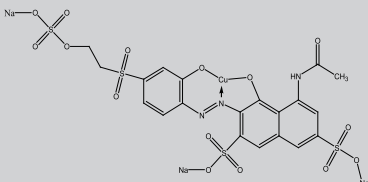
1.1.2 试剂 活性黑 5、酸性红 1、活性紫 5R,染料化学结构见表 1,购自 Sigma 公司;麦芽糖、一水柠檬酸、CuSO₄·5H₂O、MnSO₄·H₂O、KH₂PO₄、Na₂HPO₄、MgSO₄·7H₂O,购自国药集团化学试剂有限公司;2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、1-羟基苯并三唑(HBT)、2,2,6,6-四甲基哌啶氧化物(TEMPO)、2,6-二甲氧基苯酚(DMP)、乙酰丁香酮(AS)、香草醛(VAN)、丁香醛(SYR),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;漆酶 Lac-L 为 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 发酵液经纯化所得^[18]。

1.1.3 仪器与设备 紫外可见分光光度计:759S 上海棱光技术有限公司产品;THZ-82A 水浴恒温振荡器:苏州威尔实验用品有限公司产品;CP313 电子天平:奥豪斯仪器(上海)有限公司产品;TGL-16M 台式高速冷冻离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产品;SW-CJ-1FD 超净工作台:苏州净化设备有限公司产品;STARTER 3100 pH 分析仪:奥豪斯仪器(上海)有限公司产品;AKTA avant 蛋白质纯化系统:美国通用公司产品。

1.2 方法

1.2.1 漆酶酶活测定 以 ABTS 为底物测定漆酶酶活,参照黄亮等^[20]的测定方法并略做调整。反应体系为(3 mL):2.4 mL 0.1 mol/L 的醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 3)、0.5 mL 的 1 mmol/L ABTS 及 0.1 mL 的

表 1 3 种偶氮染料的化学性质
Table 1 Chemical characteristics of three azo dyes

名称	分子结构	相对分子质量	最大吸收波长/nm
AR1		509.42	506
RB5		991.82	597
RV5R		735.58	559

粗酶液。加入酶液之后在 420 nm 处测吸光值 ($\varepsilon=36\ 000\ \text{L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$)。1 个酶活力单位定义为:每分钟氧化 1 μmol 的 ABTS 所需要的酶量。

1.2.2 偶氮染料脱色反应及脱色率的计算 脱色实验初始反应体系:反应体系总体积 10 mL,染料质量浓度 50 mg/L,漆酶活性 1 U/L,氧化还原介体浓度 50 $\mu\text{mol/L}$ (ABTS 和 DMP 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$),体系 pH 值为 4.0 (20 mmol/L Na_2HPO_4 -柠檬酸缓冲液),反应温度 30 $^{\circ}\text{C}$ 。反应期间定时取样,

于各染料最大吸收波长处测定反应液的吸光度 A_e 。以反应体系中加入等量灭活漆酶作为对照组,于各染料最大吸收波长处测定反应液的吸光度 A_c ,按照以下公式计算脱色率:

$$\text{脱色率} = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100\%$$

1.2.3 反应体系中各参数对染料脱色的影响 实验中分别改变反应体系中缓冲液的 pH 值 (3.0~8.0)、反应温度 30~70 $^{\circ}\text{C}$ 和添加的小分子介体种类、染料质量浓度及酶用量,测定在不同反应条件下的脱色率,考察反应体系中上述参数对染料脱色的影响。

1.2.4 染料及其降解产物对作物发芽的研究 将 20 粒小麦或水稻种子均匀地撒在铺有干净滤纸的

9 cm 平板中,每 24 小时添加 5 mL 未降解染料溶液、漆酶降解后的染料溶液和蒸馏水(对照),置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱分别培养 3 d 后,测定发芽率、胚芽长度和根长度。

1.2.5 数据分析 每个实验重复 3 次,结果取平均值。采用 OriginLab Origin V8.5 软件对数据结果进行分析及绘图。

2 结果与分析

2.1 介体对脱色的影响

为了找到最佳的介体,作者探究了 7 种介体对偶氮染料脱色率的影响(见图 1)。不添加介体(CK)的情况下漆酶对偶氮染料的脱色率为 0,表明偶氮染料不是 Lac-L 的直接底物,Tavares 等^[21]和 Zeng 等^[22]也发现漆酶不可催化偶氮染料降解,而李松等报道了 *Trametes* sp. LS-10C 漆酶无须介体参与就可以降解偶氮染料,但无介体时脱色效率较低,添加介体后脱色效率显著提高。在添加介体的情况下,3 种偶氮染料都有不同程度的降解。以 DMP 为介体时效果最差,利用 HBT、ABTS、AS、SYR 4 种介体,漆酶对偶氮染料都有较好的脱色效果,其中以 HBT 为介体时脱色效率最高。Khelifi^[23]等发现 HBT 为 *Trametes troglia* 漆酶催化染料脱色的最佳介体,

而来源于 *Aspergillus* sp. 的漆酶以 ABTS 为介体时对 RB5 脱色效果最好, 以 HBT、TEMPO、VAN 为介体时脱色效率较低^[21], 王天女^[24]考察了酵母表达的重组血红素菌漆酶对 RB5 的脱色能力, 研究中发现 VAN 是促进 RB5 脱色的最佳介体, 而以 AS 为介体时脱色效果较差。因此, 不同来源的漆酶在催化染料脱色时不同介体的催化效率存在一定的差异。

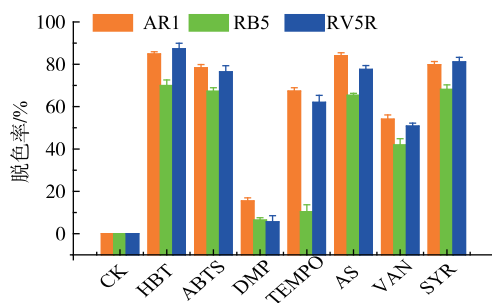


图1 介体对染料脱色的影响

Fig. 1 Effect of redox mediators on decolorization of dyes

2.2 温度对染料脱色的影响

反应温度是影响酶催化效率的重要因素, 在一定温度范围内, 染料脱色率随着温度的升高而升高, 当温度升高到 70 °C 时, 3 种染料的脱色率均有所下降, 可能与高温导致漆酶失活有关。在 40~60 °C 的温度范围内, 3 种染料均有较好的脱色率, 50 °C 时脱色率最高 (见图 2)。

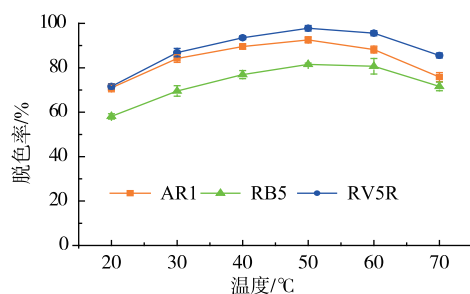


图2 温度对染料脱色的影响

Fig. 2 Effect of temperature on decoloration of dyes

以漆法降解染料的研究中, SUKALacc^[25]在反应温度大于 35 °C 后脱色效率逐渐下降, *Ganoderma lucidum* U-281 漆酶在温度大于 40 °C 后, 脱色效率迅速降低, 可能由于其热稳定性较差, 因而在较高温度下酶失活的速率快而导致染料的脱色率降低; 在以菌体降解染料的研究中, Karunya 等^[26]报道了利用 *Moraxella osloensis* 降解偶氮染料, 最适温度为 35 °C, 当温度达到 50 °C 时, 脱色效率大大降低, 反

应 48 h 后的脱色率仅有 24%, 石贝杰^[27]利用云芝降解偶氮染料, 当温度大于 28 °C 时, 脱色效率随着温度的升高而迅速下降。在印染工序中, 需要 45 °C 以上热水的工序占整个工序的 90% 左右, 60 °C 和 90 °C 以上的分别占整个工序的 45% 和 10% 左右, 因此印染废水的温度较高^[28], 在印染废水处理的实际应用中应该考虑到酶或菌体的耐热性。相比较而言, *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 漆酶 Lac-L 的反应温度高, 热稳定性较好^[18]。因此, 在工业化印染废水处理中有一定的应用前景。

2.3 pH 对染料脱色的影响

反应体系的 pH 是影响酶反应速率的另一个关键因素。AR1 和 RV5R 在 pH 值为 4.0 时脱色率最高, 而 RB5 的最适反应 pH 值为 5.0。随着 pH 的增高, 3 种染料的脱色率先升高后下降, 在中性和碱性条件下, AR1 和 RV5R 仅有不到 5% 的脱色率, RB5 在 pH 值为 8 时也仅有 6.4% 的脱色率 (见图 3)。在 Zeng^[29]、Ashrafi^[30]和 Forootanfar^[31]等的研究中, 漆酶在 pH 值在 3~5 时对染料的脱色率较高, 之后随着 pH 的升高脱色率逐渐下降, 本论文中 pH 对脱色率的影响与之相似。因此, 在印染废水脱色处理过程中, 为了提高脱色效率, 需适当调节原水的 pH 到酸性范围。

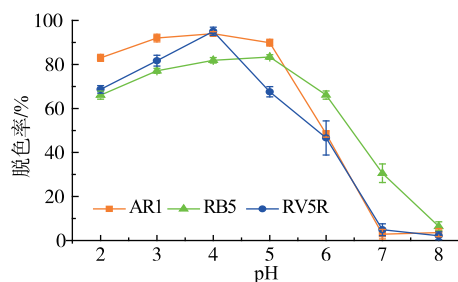


图3 pH 值对染料脱色的影响

Fig. 3 Effect of pH on decoloration of dyes

2.4 漆酶用量对脱色率的影响

反应体系中漆酶活力从 0.1 U/mL 上升至 1 U/mL 时, 3 种染料的脱色率随着漆酶活力的升高而升高, 当漆酶活力大于 1 U/mL 时, 脱色率无明显升高 (见图 4)。赵世光等^[10]利用漆酶降解偶氮染料, 酶用量为 2 U/mL, Murugesan 等^[32]的酶用量为 2.5 U/mL, 而李松等^[33]的漆酶用量达到了 10 U/mL。在实际处理染料废水时要考虑到成本问题, 酶用量越多其成本越高, 应该在充分考虑脱色率的基础上减少酶消

耗量,提高染料降解方法的经济性。

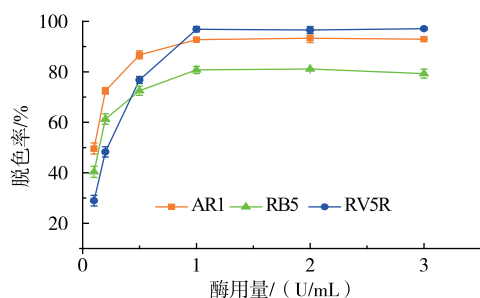


图4 漆酶用量对染料脱色的影响

Fig. 4 Effects of laccase dosage on decolorization of dyes

2.5 染料质量浓度对脱色率的影响

当染料质量浓度分别在 10~30 mg/L (AR1)、10~50 mg/L (RB5)、20~50 mg/L (RV5R) 的范围内时,漆酶对 3 种染料的脱色率最高,后续实验染料质量浓度分别选用 30 mg/L (AR1)、50 mg/L (RB5、RV5R) (见图 5)。不同的染料,其质量浓度变化对脱色率的影响不同,随着染料质量浓度升高,AR1 的脱色率下降最快,当染料质量浓度增加到 100 mg/L 时,与最高脱色率相比,3 种染料的脱色率分别下降了 43.4% (AR1)、14.3% (RB5)、10.5% (RV5R)。染料质量浓度对脱色反应存在一定的影响, Claus^[34]、Ramirez^[35]、Sayahi^[13]等的报道中也存在类似的情况。

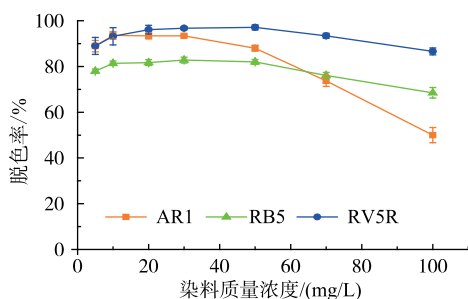


图5 染料质量浓度对染料脱色的影响

Fig. 5 Effects of dye concentration on decolorization of dyes

2.6 最优条件下脱色率随时间变化趋势

根据上述实验结果,在最佳脱色反应条件下,连续脱色一段时间,期间定时取样测定吸光度,观察脱色反应中脱色率随时间的变化规律,结果如图 6 所示。结果表明,漆酶对 3 种偶氮染料的脱色率随着反应时间的延长而增加,但是脱色速率逐渐减慢。AR1 和 RV5R 几乎完全降解,其脱色率分别为

96.1% (AR1) 和 97.8% (RV5R),而 RB5 的最大脱色率为 83.8%。不同染料的降解速度不同,AR1 在 2.5 h 即脱色完毕,而 RB5 和 RV5R 达到最大脱色率需要 5 h。

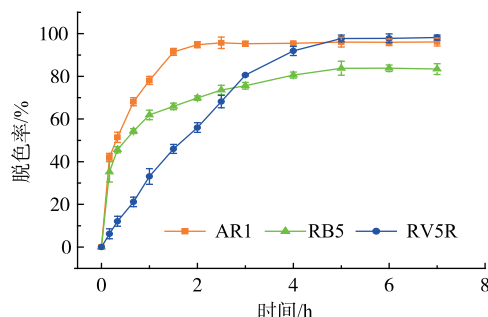


图6 脱色率随时间变化趋势

Fig. 6 Change of decolorization rate of dyes with time

在染料脱色处理中,脱色时间和脱色率是整体评价脱色效率的 2 个重要指标。Zhou 等^[15]使用固定化的芽孢杆菌漆酶处理 AR1,48 h 后脱色率仅有 69.7%。赵世光等^[10]采用 *Ganoderma lucidum* 粗漆酶处理直接橙 S 脱色,1.5 h 脱色率为 63.0%,此后随着脱色时间的延长,脱色率没有明显的上升。Yadav 等^[36]以重组漆酶催化降解台盼蓝 36 h,脱色率达到 91.7%。*Trametes versicolor* 漆酶在固定和游离状态下对酸性橙的脱色率 (6 h) 分别为 39% 和 63%,在添加外源介体 ABTS 的情况下,脱色率均上升到 73%^[37]。综合对比以上研究,本研究中密孔菌漆酶 Lac-L 对 3 种偶氮染料的脱色时间相对较短、脱色率较高,因此该漆酶具有较好的应用前景。

2.7 偶氮染料脱色前后吸收图谱变化

分别对脱色前后的染料溶液、HBT 和漆酶-HBT 反应液进行全波长扫描,结果如图 7 所示。结果显示,与对照样品相比,3 种偶氮染料在其最大吸收波长处的吸收峰均有明显的降低,其中 AR1 和 RV5R 的吸收峰几乎完全消失, RB5 在 597 nm 处仍有一定的吸光值,这与之前的实验结果相同。酶降解后的 AR1 的光谱图上出现了新的吸收峰,与未降解染料的最大吸收峰相比,该峰的最大吸收波长变短且吸光值显著降低,曾祥康^[38]在毛栓菌漆酶对 AR1 降解中也观察到了新的吸收峰的出现,王志新^[39]采用 HPLC 方法观察到漆酶降解 AR1 后有新物质的出现。

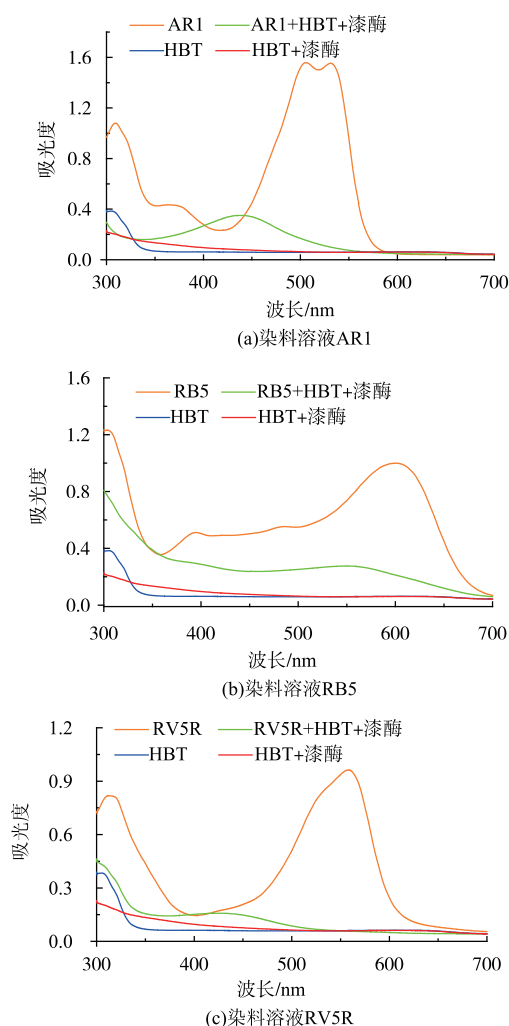


图7 染料溶液 AR1、RB5、RV5R 经漆酶催化脱色前后吸收图谱变化

Fig. 7 Absorption spectrograms of AR1, RB5, RV5R solutions before and after decoloration catalyzed by laccase

2.8 偶氮染料降解前后对作物发芽的研究

为了使染料废水得到处理,除了需要去除其中的颜色外,还得保证脱色后的产物没有毒性才能将其排放。对偶氮染料及其酶解产物进行小麦和水稻种子的生态毒理实验(见表2—3),结果显示,利用偶氮染料灌溉小麦和水稻种子,其发芽率显著降低,小麦发芽率仅有 57.6%~71.7%,水稻发芽率为 73.3%~81.7%,而染料降解后对种子发芽的影响大大降低,小麦和水稻发芽率均达到 90%以上,对发芽率无明显的抑制作用。使用未降解的染料灌溉小麦种子后,根和胚芽的生长受到强烈的抑制作用,对胚芽抑制率在 20%~25%,对根生长抑制率在

50%以上,染料降解后对根和胚芽生长的抑制显著降低,但仍存在一定的抑制作用,对胚芽生长的抑制率不到 10%,对根生长的抑制率在 24.5%~32.0%。与对照相比,偶氮染料对水稻种子芽生长的抑制率接近 30%,对水稻根生长的抑制率均超过 60%,而染料降解后对芽和根生长的胁迫有所减弱,但其生长仍有一定的影响。

表2 偶氮染料降解前后对小麦发芽的影响

Table 2 Effect of azo dyes before and after degradations on wheat germination

		发芽率/%	根长/cm	胚芽长/cm
对照		98.3±0.58 ^a	5.31±0.89 ^a	2.90±0.37 ^a
AR1	降解前	71.7±2.1 ^b	2.34±0.29 ^c	2.21±0.31 ^c
	降解后	96.7±1.15 ^a	4.01±0.68 ^b	2.74±0.42 ^a
RB5	降解前	56.7±1.5 ^b	2.17±0.33 ^c	2.16±0.42 ^c
	降解后	91.7±0.58 ^a	3.61±0.45 ^b	2.61±0.31 ^{ab}
RV5R	降解前	70±2.0 ^b	2.62±0.57 ^c	2.32±0.27 ^{bc}
	降解后	95±1 ^a	3.94±0.47 ^b	2.73±0.27 ^a

表3 偶氮染料降解前后对水稻发芽的影响

Table 3 Effect of azo dyes before and after degradations on rice germination

		发芽率/%	根长/cm	胚芽长/cm
对照		100±0 ^a	5.94±1.13 ^a	3.12±0.40 ^a
AR1	降解前	81.7±1.5 ^{bcd}	2.17±0.24 ^d	2.19±0.39 ^c
	降解后	100±0 ^a	4.52±0.75 ^b	2.50±0.3 ^{bc}
RB5	降解前	73.3±1.5 ^d	2.28±0.53 ^d	2.20±0.40 ^c
	降解后	95.0±1.7 ^{ac}	3.78±0.41 ^c	2.60±0.33 ^b
RV5R	降解前	80.0±1.7 ^{cd}	1.71±0.32 ^d	2.20±0.21 ^c
	降解后	98.3±0.58 ^{ab}	4.57±0.76 ^b	2.48±0.28 ^{bc}

偶氮染料降解前后对其他物种的毒性变化也有报道,Ghodake 等^[40]的研究表明,染料降解后对高粱和菜豆的发芽不存在抑制作用,对根和芽生长的抑制率也显著降低;Ashrafi 等^[30]报道了偶氮染料降解后对微生物 (*E. coli*、*P. aeruginosa*、*S. typhi*、*B. subtilis*、*S. aureus*、*M. luteus*)的毒性显著降低。因此利用漆酶降解偶氮染料不仅具有脱色作用,还有一定的脱毒作用。

3 结语

以 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 所产漆酶 Lac-L 对 3 种偶氮染料进行脱色,通过对介体、反应温度、pH、染料质量浓度、酶用量这些因素逐个考察后,得

到最佳脱色条件:采用 HBT 为介体、50 ℃、pH 分别为 4.0(AR1,RV5R)和 5.0(RB5)、染料质量浓度分别为 30 mg/L(AR1)和 50 mg/L(RB5、RV5R)、漆酶用量 1 U/mL。在该条件下,AR1 脱色 2.5 h 达到最大脱色率 96.1%,RB5 和 RV5R 在 5 h 分别达到最大脱色率 83.8%和 97.8%。Lac-L 催化 3 种偶氮染料脱色的效果良好,时间相对较短,并且能够在较高的温度下进行脱色反应,具有一定的开发利用价值。

工业废水排放后有可能被用于灌溉田地。脱色

前染料对种子发芽率、根和胚芽的生长有显著的抑制作用,可见未经处理的染料废水不可用于农田灌溉,而降解后的染料废水对小麦和水稻发芽率没有影响,对根和胚芽生长的影响也大大降低,说明其毒性有所降低。在偶氮染料废水处理中,除了颜色的脱去外,也需要关注有机物的降解及毒性的变化。染料脱色后产生的是何种降解产物,这些产物对不同的动物、植物、微生物是否有毒性,仍需要开展深入研究。

参考文献:

- [1] YAGUB M T, SEN T K, AFROZE S, et al. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review[J]. **Advances in Colloid and Interface Science**, 2014, 209(7): 172-184.
- [2] ERTUGAY N, ACAR F N. The degradation of Direct Blue 71 by sono, photo and sonophotocatalytic oxidation in the presence of ZnO nanocatalyst[J]. **Applied Surface Science**, 2014, 318: 121-126.
- [3] SOARES G M, COSTA-FERREIRA M, PESSOA DE AMORIM M T. Decolorization of an anthraquinone-type dye using a laccase formulation[J]. **Bioresource Technology**, 2001, 79(2): 171-177.
- [4] BEHNAJADY M A, MODIRSHAHLA N, SHOKRI M, et al. Design equation with mathematical kinetic modeling for photooxidative degradation of CI acid orange 7 in an annular continuous-flow photoreactor[J]. **Journal of Hazardous Materials**, 2009, 165(1): 168-173.
- [5] PANDEY R K, TEWARI S, TEWARI L. Lignolytic mushroom *Lenzites elegans* WDP2: laccase production, characterization, and bioremediation of synthetic dyes[J]. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2018, 158: 50-58.
- [6] MAJEAU J A, BRAR S K, TYAGI R D. Laccases for removal of recalcitrant and emerging pollutants[J]. **Bioresource Technology**, 2010, 101(7): 2331-2350.
- [7] 高玉千, 张利明, 张世敏, 等. 真菌漆酶高级结构研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(2): 166-171.
- [8] 王志新, 蔡宇杰, 李颜颜, 等. 培养基及培养条件对 *Pycnoporus* sp. SYBC-L1 分泌漆酶的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(6): 832-839.
- [9] 王鹏, 顾正彪, 程力, 等. 漆酶处理对木材性能的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(9): 991-995.
- [10] 赵世光, 杨帆, 孔芳, 等. 漆酶 / 介质系统催化偶氮染料直接橙 S 脱色[J]. 环境工程学报, 2016, 10(7): 3912-3918.
- [11] 陈琼华, 周玉萍, 江桂杰, 等. 韦伯灵芝发酵产漆酶及其对靛蓝脱色作用的研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(3): 25-30.
- [12] ASGHER M, NOREEN S, BILAL M. Enhancing catalytic functionality of *Trametes versicolor* IBL-04 laccase by immobilization on chitosan microspheres[J]. **Chemical Engineering Research and Design**, 2017, 119: 1-11.
- [13] SAYAHI E, LADHARI N, MECHICHI T, et al. Azo dyes decolorization by the laccase from *Trametes troglia*[J]. **Journal of the Textile Institute**, 2016, 107(11): 1478-1482.
- [14] 孙啸, 蔡宇杰, 廖祥儒, 等. 血红密孔菌 *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L12 固态发酵水稻秸秆产漆酶及其对染料的脱色作用[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(3): 240-249.
- [15] ZHOU W, GUAN Z B, CHEN Y, et al. Production of spore laccase from *Bacillus pumilus* W3 and its application in dye decolorization after immobilization[J]. **Water Science and Technology**, 2017, 76(1): 147-154.
- [16] ZHU M J, ZHANG G Q, MENG L, et al. Purification and characterization of a white laccase with pronounced dye decolorizing ability and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from *Lepista nuda*[J]. **Molecules**, 2016, 21(4): 415.
- [17] WANG S S, NING Y J, WANG S N, et al. Purification, characterization, and cloning of an extracellular laccase with potent dye decolorizing ability from white rot fungus *Cerrena unicolor* GSM-01[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017, 95: 920-927.
- [18] 刘家扬. 白腐真菌 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 产漆酶及应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.

- [19] SALAZAR-LOPEZ M, ROSTRO-ALANIS M D, CASTILLO-ZACARIAS C, et al. Induced degradation of anthraquinone-based dye by laccase produced from *Pycnoporus sanguineus* (CS43)[J]. **Water Air and Soil Pollution**, 2017, 228(12): 469.
- [20] 黄亮, 刘逸寒, 刘晓光, 等. 毕赤酵母 X33/pGAPZ α A-MLcc1 产漆酶的高密度发酵[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(3): 324-329.
- [21] TAVARES A P M, CRISTOVAO R O, LOUREIRO J M, et al. Optimisation of reactive textile dyes degradation by laccase-mediator system[J]. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2008, 83(12): 1609-1615.
- [22] ZENG X K, CAI Y J, LIAO X R, et al. Anthraquinone dye assisted the decolorization of azo dyes by a novel *Trametes trogii* laccase[J]. **Process Biochemistry**, 2012, 47(1): 160-163.
- [23] KHLIFI R, BELBAHRI L, WOODWARD S, et al. Decolourization and detoxification of textile industry wastewater by the laccase-mediator system[J]. **Journal of Hazardous Materials**, 2010, 175(1): 802-808.
- [24] 王天女, 李国富, 赵敏, 等. 重组血红密孔菌漆酶在染料脱色中的应用[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2016, 40(1): 92-96.
- [25] 张宇, 李明智, 梅荣武, 等. 应用漆酶 SUKALacc 脱色处理纺织染料[J]. 环境工程学报, 2015, 9(6): 2789-2794.
- [26] KARUNYA A, ROSE C, NACHIYAR C V. Biodegradation of the textile dye mordant black 17 (calcon) by *Moraxella osloensis* isolated from textile effluent-contaminated site[J]. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2014, 30(3): 915-924.
- [27] 石贝杰. 高效降解偶氮染料白腐真菌的筛选及其降解机理[D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2016.
- [28] 王福强. 印染废水余热回用热泵系统研究[D]. 北京: 清华大学, 2013.
- [29] ZENG X K, CAI Y J, LIAO X R, et al. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strain cultivated on solid agro-industrial residue[J]. **Journal of Hazardous Materials**, 2011, 187(1): 517-525.
- [30] ASHRAFI S D, REZAEI S, FOROOTANFAR H, et al. The enzymatic decolorization and detoxification of synthetic dyes by the laccase from a soil-isolated ascomycete, *Paraconiothyrium variable* [J]. **International Biodeterioration and Biodegradation**, 2013, 85: 173-181.
- [31] FOROOTANFAR H, REZAEI S, ZEINVAND-LORESTANI H, et al. Studies on the laccase-mediated decolorization, kinetic, and microtoxicity of some synthetic azo dyes[J]. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, 2016, 14(1): 1-9.
- [32] MURUGESAN K, DHAMIJA A, NAM I H, et al. Decolourization of reactive black 5 by laccase: optimization by response surface methodology[J]. **Dyes and Pigments**, 2007, 75(1): 176-184.
- [33] 李松, 刘宇, 海丹丹, 等. *Trametes* sp. LS-10C 漆酶对直接类偶氮染料的脱色作用[J]. 环境工程学报, 2016, 10(10): 6071-6076.
- [34] CLAUS H, FABER G, KONIG H. Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2002, 59(6): 672-678.
- [35] RAMIREZ-MONTOYA L A, HERNANDEZ-MONTOYA V, MONTES-MORAN M A, et al. Decolorization of dyes with different molecular properties using free and immobilized laccases from *Trametes versicolor*[J]. **Journal of Molecular Liquids**, 2015, 212: 30-37.
- [36] YADAV D, RANJAN B, MCHUNU N, et al. Secretory expression of recombinant small laccase from *Streptomyces coelicolor* A3 (2) in *Pichia pastoris*[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018, 108: 642-649.
- [37] KOKLUKAYA S Z, SEZER S, AKSOY S, et al. Polyacrylamide-based semi-interpenetrating networks for entrapment of laccase and their use in azo dye decolorization[J]. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, 2016, 63(5): 699-707.
- [38] 曾祥康. 毛栓菌发酵产漆酶及其在合成染料脱色中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- [39] 王志新. 血红密孔菌的筛选、鉴定及其发酵产漆酶的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- [40] GHODAKE G, JADHAV U, TAMBOLI D, et al. Decolorization of textile dyes and degradation of mono-azo dye amaranth by *Acinetobacter calcoaceticus* NCIM 2890[J]. **Indian Journal of Microbiology**, 2011, 51(4): 501-508.