



茅草菇菌丝球对铬黑 T 的脱色降解性能及毒性评价

赵锦¹, 王晓慧¹, 王栋¹, 吴志¹, 吴庆喜^{1,2,3*}, 陈彦^{1,2,3}

1 安徽大学生命科学学院, 安徽 合肥 230601

2 安徽大学生态工程与生物技术安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230601

3 安徽大学现代生物制造安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230601

赵锦, 王晓慧, 王栋, 吴志, 吴庆喜, 陈彦. 茅草菇菌丝球对铬黑 T 的脱色降解性能及毒性评价. 微生物学报, 2022, 62(4): 1513–1523.

Zhao Jin, Wang Xiaohui, Wang Dong, Wu Zhi, Wu Qingxi, Chen Yan. Decolorization and degradation of Eriochrome Black T by mycelial pellets of *Lactarius deliciosus* and toxicity evaluation. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(4): 1513–1523.

摘要:【目的】利用真菌茅草菇菌丝球对染料铬黑 T (EBT) 进行脱色和降解, 探究在不同环境条件下对染料脱色性能的影响及作用机制。【方法】采用单因素分析探究真菌的最佳脱色能力, 分光光度法测定真菌酶活, 小麦种子萌发、大肠杆菌接触抑制试验及秀丽隐杆线虫毒性试验测定脱色前后废水的毒性。【结果】茅草菇菌丝球受摇床温度和转速影响较小, 在 pH 5、28 °C、120 r/min 下, 400 mg/L 的 EBT 溶液脱色率为 97.14%。研究表明, 茅草菇菌丝球在脱色过程中主要分泌 3 种木质素酶, 即木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶, 其最大酶活分别为 (134.15±9.93)、(64.1±2.98) 和 (12.43±0.34) U/L。推断了染料降解的潜在路径, 证实 EBT 的去除是通过生物吸附与降解的协同作用实现的。最后对脱色后的染料废水进行了多级毒性评价, 包括植物毒性、微生物毒性和动物毒性, 结果表明, 脱色后的染料废水毒性显著降低。【结论】该研究对探讨生物法处理工业染料废水具有重要参考价值。

关键词: 真菌发酵; 染料脱色; 木质素酶; 毒性评价

基金项目: 国家自然科学基金(21606002); 安徽省重点研究与开发计划(202004a06020021); 安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2020A0049); 绿色高分子材料安徽省重点实验室资助项目(2022KF009)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (21606002), Anhui Provincial Program on Key Research and Development Project (202004a06020021), Key Research Program on Natural Science of Anhui Higher Education (KJ2020A0049) and by the Anhui Province Key Laboratory of Environment-Friendly Polymer Materials (2022KF009)

*Corresponding author. E-mail: wuqx@ahu.edu.cn

Received: 27 August 2021; Revised: 21 October 2021; Published online: 29 October 2021

Decolorization and degradation of Eriochrome Black T by mycelial pellets of *Lactarius deliciosus* and toxicity evaluation

ZHAO Jin¹, WANG Xiaohui¹, WANG Dong¹, WU Zhi¹, WU Qingxi^{1,2,3*}, CHEN Yan^{1,2,3}

¹ School of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

² Anhui Key Laboratory of Ecological Engineering and Biotechnology, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

³ Anhui Key Laboratory of Modern Biomanufacturing, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

Abstract: [Objective] The mycelial pellets of *Lactarius deliciosus* were used to decolorize and degrade the dye Eriochrome Black T (EBT). We investigated the performance and mechanism of the decolorization by the mycelial pellets under different environmental conditions. [Methods] Single factor experiments were conducted to explore the optimal decolorization performance of the fungi. We measured the fungal enzyme activity by spectrophotometry, and performed wheat seed germination test, *E. coli* contact toxicity test, and *Caenorhabditis elegans* toxicity test to evaluate the toxicity of the EBT solutions before and after decolorization. [Results] The results manifested that the mycelial pellets of *L. deliciosus* were slightly affected by the shaker temperature and rotation speed. At pH 5, 28 °C, and 120 r/min, the decolorization rate for 400 mg/L EBT solution was 97.14%. In the decolorization process, the mycelial pellets of *L. deliciosus* secreted three ligninases, namely lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase, which had the maximum activities of (134.15±9.93), (64.1±2.98), and (12.43±0.34) U/L, respectively. We deduced that the mycelial pellets of *L. deliciosus* removed EBT by the synergistic effects of biosorption and degradation. The multi-level toxicity evaluation demonstrated that the dye wastewater after decolorization had significantly reduced toxicity. [Conclusion] All these results have an important reference value in exploring the process of dye wastewater treatment with biological method.

Keywords: fungal fermentation; dye decolorization; ligninase; toxicity evaluation

偶氮染料是纺织工业中使用最广泛的一类染料，在自然环境中不易降解，还具有潜在的致突变性和致癌性^[1-2]。该类染料废水会影响水生植物的光合作用，降低水体溶解氧，进而影响水生生态系统并危害健康^[3-4]。有研究报道，偶氮染料的使用约占全球染料市场的 70%，产生的染料废水量巨大，废水中含有各种染料(10–200 mg/L)和一些有机/无机化合物，已成为当前严重的环境问题之一，染料废水在排放之前的处理技术开发尤为重要^[5-7]。

目前染料废水的处理方法有物理法、化学法和生物法等，传统的物理、化学法虽然可以

在短时间内改善水质，但其成本高、二次污染严重^[8-11]；相比之下，生物法因其适应性强、无毒、成本低、高效等优点而倍受关注^[12-16]。研究表明，藻类、真菌、细菌均可用于染料废水的处理，丝状真菌因其独特的吸附和生物降解特性而成为人们关注的焦点^[17]。已报道用于染料废水降解和脱毒作用的真菌种类有黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)、平菇(*Pleurotus ostreatus*)、云芝(*Trametes versicolor*)等^[18-20]。有研究报道白腐真菌云芝(*Trametes versicolor*)能使染料酸性蓝 4、酸性红 114 降解脱色，6 d 内脱色率均在 90%以上^[21]。真菌不仅

可以利用本身的物质材料特性对染料进行吸附, 而且可以通过真菌产生的胞外木质素酶系进行生物降解, 如漆酶(Lac)、木质素过氧化物酶(LiP)和锰过氧化物酶(MnP), 该类酶系能将有害的染料分子降解成低毒或无毒的小分子^[22-23]。

本文以茅草菇(*Lactarius deliciosus*)液体发酵菌丝球为材料, 以铬黑 T (EBT)为模型染料, 探究了茅草菇菌丝球对染料废水脱色的影响因素, 分析了茅草菇菌丝球分泌的胞外酶对染料的降解及作用机制, 并对脱色后的染料废水进行了毒性评价, 为茅草菇菌丝球在染料废水处理方面的潜在应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种: 本文中所用的真菌菌株来源为野生茅草菇(*Lactarius deliciosus*)子实体, 采摘自安徽省安庆市潜山县, 菌丝体由子实体活化培养得到, 采用平板进行多次纯化, 然后在摇瓶中进行液体发酵得到菌丝球; 茅草菇菌丝体由本实验室保藏。

实验染料: 铬黑 T, 分子式: $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$, 分子量: 461.38, 单偶氮染料, 黑色粉末, 购自北京西中化工厂。

1.2 EBT 染料最大吸收波长的测定

将 EBT 染料配制成一定浓度的染液, 用紫外-分光光度计对染液进行全波长扫描, 根据图谱确定染料的最大吸收波长。

1.3 染料标准曲线的绘制

配制浓度为 50 mg/L 的 EBT 染液, 并稀释成不同浓度梯度的染料标准液, 用紫外-分光光度计测定吸光值, 以 EBT 染料浓度为横坐标, 测定的吸光值为纵坐标绘制标准曲线, 每组测量重复 3 次。

1.4 EBT 染料脱色率的测定

在摇床 28 °C、120 r/min 下将培养好的茅草菇菌丝球加入到含有 EBT 染液的液体培养基中, 液体发酵培养基(LCM)包含: 2.8%葡萄糖(W/V)、0.4%酵母粉(W/V)、0.2%硫酸镁(W/V)、0.4%磷酸二氢钾(W/V), 并在一定的时间间隔进行取样测定吸光值, 计算染料脱色率和染料去除率, 每组测量重复 3 次。染料脱色率 D (%)按照公式(1)计算, 染料去除率 R[mg/(L·h)]按照公式(2)计算。

$$D(\%) = (C_0 - C_t) / C_0 \times 100 \quad (1)$$

$$R = (C_0 - C_t) / t \quad (2)$$

其中, C_0 为初始染料浓度, mg/L; C_t 为处理 t 小时后的染料浓度, mg/L。

EBT 染料脱色实验设置: 在不同染料浓度(100、200、400、600、800 mg/L), 转速(90、120、150、180 r/min), pH (3、5、7、9、11)和温度(16、22、28、34、40 °C)下, 计算染料脱色率和染料去除率, 每组测量重复 3 次。

1.5 脱色作用机制

1.5.1 紫外-可见吸收光谱分析

对 100 mg/L 的染料浓度进行脱色性能研究, 在一定的时间间隔取上清, 然后用紫外-分光光度计进行全波长扫描, 并与样品峰进行对比, 观察其脱色前后的峰值变化。

1.5.2 木质素酶系分析

测定茅草菇菌丝球在脱色 EBT 过程中 3 种木质素酶的活性, 即漆酶(Lac)、木质素过氧化物酶(LiP)和锰过氧化物酶(MnP)。在不同的酶活反应体系中, 用酶标仪分别在 310、240 和 420 nm 波长处分别测定 LiP、MnP 和 Lac 的酶活。

为探究茅草菇菌丝球在脱色 EBT 染料过程中的作用机理, 在含菌丝球的液体培养基中加入 NaN_3 抑制真菌的生长, 然后加入 EBT 染料进行脱色性能分析, 并间隔一定的时间进行取

样测定 OD 值, 根据已有文献分析推测茅草菇菌丝球对染料 EBT 的潜在降解路径。

1.6 染料废水的毒性评价

1.6.1 植物毒性测试

研究脱色后染料废水对小麦种子萌发的植物毒性。首先将小麦种子在无菌蒸馏水中浸泡 9 h 左右, 然后从浸泡的种子中选取 15 粒饱满的种子放于铺有育苗纸的培养皿上, 分散均匀, 用不同处理时间的染料脱色溶液和蒸馏水在室温下, 每天喷洒脱色后的染料废水 3–4 次, 每次 1 mL, 使小麦种子始终保持湿润状态。以蒸馏水为对照组, 4 d 后记录处理不同时间的种子的发芽率(%)、根的长度(cm)和胚芽长度(cm), 每组实验重复测试 3 次^[24]。

1.6.2 大肠杆菌的接触抑制毒性测试

采用平板涂布法测定脱色后的染料废水对大肠杆菌的接触毒性。首先将大肠杆菌菌种进行活化, 稀释到一定浓度后, 涂布于相应的培养基上, 即采用平板涂布法测定接触抑制毒性。用不同处理时间的染料脱色溶液和蒸馏水分别配成 LB 固体培养基, 以蒸馏水为对照, 将浓度适宜的大肠杆菌涂布在培养基上, 在 37 °C 培养 12 h 后, 通过平板上生长的菌落数来评估大肠杆菌的接触抑制毒性。所有实验重复 3 次^[25]。抑制率 I (%)按公式(3)计算。

$$I(\%) = (A_0 - A_t) / A_0 \times 100 \quad (3)$$

其中, A_0 为蒸馏水处理后大肠杆菌菌落数, A_t 为完全脱色后染料废水处理的大肠杆菌菌落数。

1.6.3 秀丽隐杆线虫的毒性评价

将秀丽隐杆线虫分别同步化到 L1 和 L4 期, 用不同脱色时间的染料溶液分别对线虫暴露 72 h 和 24 h 处理, 在带有标尺的显微镜下测定麻醉后的秀丽隐杆线虫的体长; 通过光学显微镜记录线虫头部摆动和身体弯曲频率; 通过倒置荧光显微镜观察线虫体内脂褐素的积累,

利用 Image J 软件确定线虫体内的平均荧光强度。体长变化检测用的是 L1 期线虫, 运动行为(头部摆动和身体弯曲)变化和线虫体内脂褐素累积变化的检测用的是 L4 期线虫, 每组实验至少 25 只秀丽隐杆线虫, 重复 3 次以上^[26–27]。

2 结果与讨论

2.1 EBT 染料吸收图谱和标准曲线

将 EBT 染料配制成一定浓度的染液, 用紫外-分光光度计对染液进行全波长扫描, 结果显示 EBT 染料在 532 nm 处有最大特征吸收峰, 与文献报道类似^[28]。配制不同浓度的染料标准液, 用紫外-分光光度计在 532 nm 处测定吸光值, 以 EBT 染料浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标作图^[29]。结果显示在一定浓度范围内染液的吸光值与染液的浓度呈线性关系, 线性回归方程为 $y=0.0202x-0.0217$, $R^2=0.997$, $n=3$, 在后续脱色实验中可根据不同时间脱色液的 OD 值计算 EBT 染液的浓度。

2.2 EBT 染料脱色性能的影响参数

按照 1.4 所述的方法, 对茅草菇菌丝球进行不同浓度条件下的 EBT 染料脱色降解, 结果如图 1 (A 和 B)所示。结果表明, 菌丝球可以脱色 EBT 染料的最大浓度为 400 mg/L, 最大脱色率都在 95%以上。当浓度为 600 和 800 mg/L 时, EBT 的脱色率受到明显影响, 随着染料浓度的增大脱色率呈下降趋势, 说明菌丝球的处理浓度达到了饱和状态。脱色后的茅草菇菌丝球上有染料残留, 说明在脱色过程中一部分染料吸附到了菌丝球上^[30]。综合考虑茅草菇菌丝球对染料的适宜处理能力, 选择 EBT 染料浓度为 100 mg/L 进行后续实验。

图 1 (C 和 D)为溶液 pH 对 EBT 脱色的影响结果, 当初始溶液 pH 值偏酸性(3 或 5)时, EBT 的脱色率较高, 均在 96%以上, 当 pH 值为 5 时

脱色率达到最大值, 具体的脱色率为 96.4%。
当 pH 值为 7 时, 脱色率显著降低, 随着 pH 值

继续增大, 脱色率和单位时间内的染料去除率
也逐渐降低。该现象的产生分析由于 pH 值不

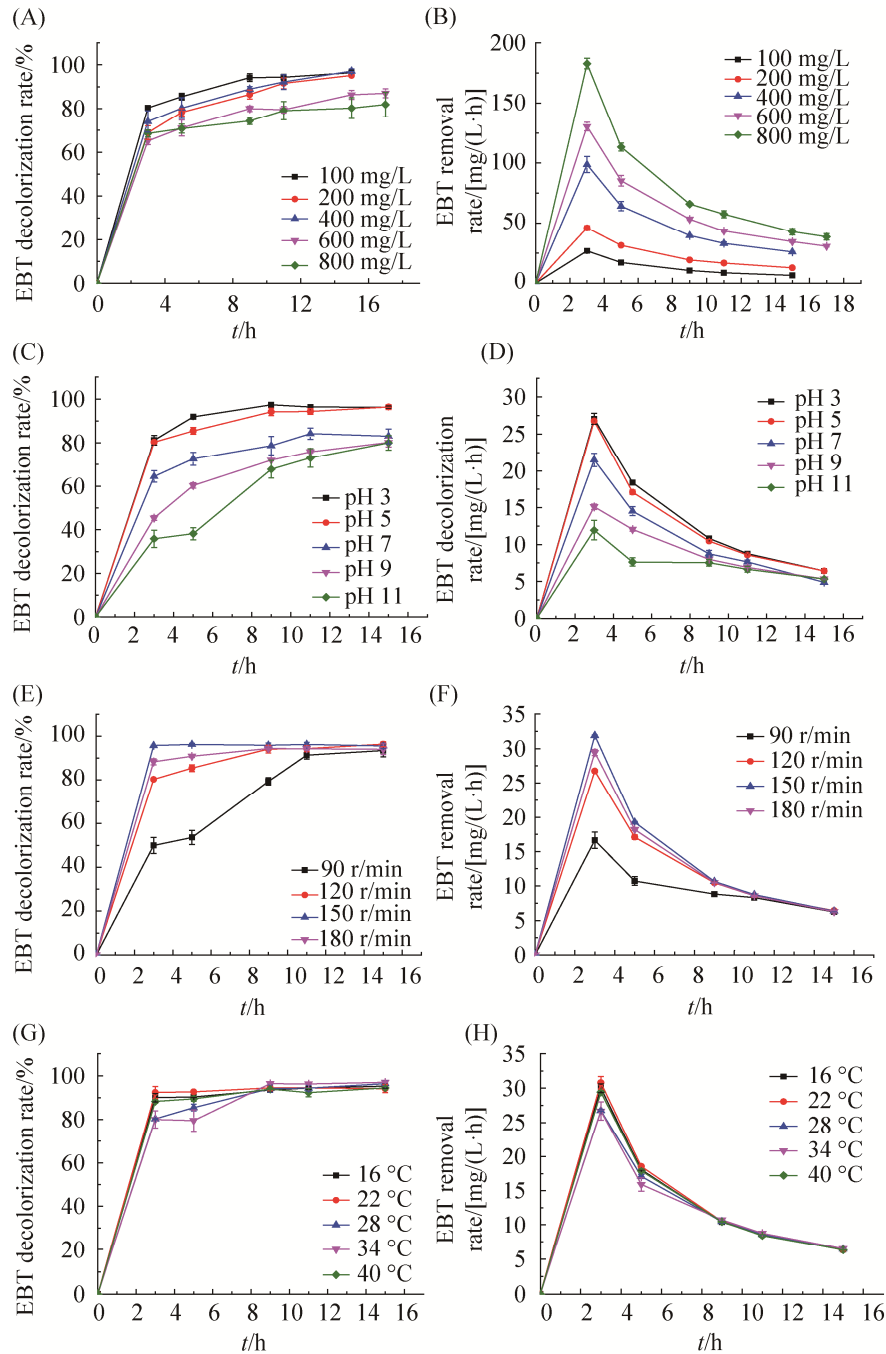


图 1 不同处理参数对茅草菇菌丝球脱色 EBT 的性能影响

Figure 1 Effects of different treatment parameters on decolorization of EBT by *L. deliciosus* mycelial pellets. A, B: time effect on decolorization rate; C, D: pH effect on decolorization rate; E, F: revolutions effect on decolorization rate; G, H: temperature effect on decolorization rate. The data are expressed as mean±SD, $n=3$.

同, 溶液中染料分子表面所带的电荷及相应酶的分泌发生改变, 影响染料分子的吸附和降解性能, 进而影响染料的脱色效率^[31]。

图 1 (E 和 F)为转速对 EBT 脱色的影响结果, 结果显示, 转速为 90、120、150、180 r/min 时, 染料都接近完全脱色, 处理能力达到饱和。显而易见, 转速会影响氧气的通入量(溶氧浓度), 从而影响真菌的生长和酶的分泌。综合考虑, 选用转速为 120 r/min 进行后续实验。

图 1 (G 和 H)为温度对 EBT 脱色的影响结果, 结果显示菌丝球在处理 EBT 时受温度影响较小, 在 16–40 °C 内均维持了较高的脱色率(94%以上), 单位时间内染料的去除率也无明显差异。说明茅草菇菌丝球对 EBT 染液的处理温度范围较宽, 避免了多数真菌处理染料废水时受温度限制的缺点, 综合考虑, 选取 28 °C 进行后续实验。

2.3 紫外-可见光扫描结果

为了探究在菌丝球脱色 EBT 染液过程中是否有降解作用, 对不同处理时间后的染料废水进行全波长扫描, 观察其特征吸收峰的变化, 结果如图 2 所示。分析表明, 随着处理时间的延长, 染料的特征吸收峰在逐渐降低, 直至完全消失, 进一步说明在脱色过程中存在降解作用^[18]。

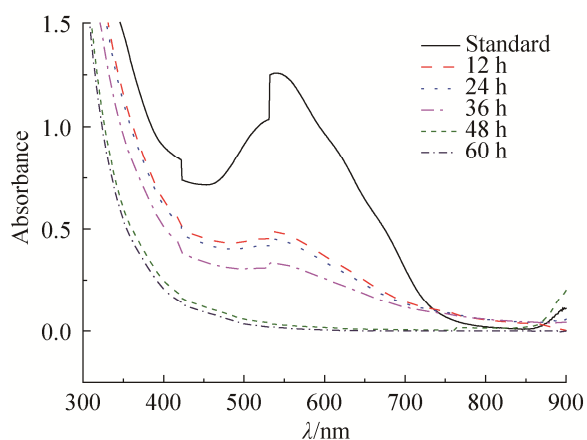


图 2 降解前后 EBT 染料的紫外-可见光扫描结果
Figure 2 UV-vis spectra scanning results of EBT dyes before and after degradation.

2.4 脱色机理

2.4.1 酶活的测定

对 EBT 染液脱色过程中分泌的木质素酶系进行了测定, 结果如图 3A 所示。分析表明, Lac、LiP、MnP 酶的活性相差较大, 木质素过氧化物酶的最大酶活为 134.15 ± 9.93 U/L, 锰过氧化物酶的最大酶活为 64.1 ± 2.98 U/L, 漆酶的最大酶活为 12.43 ± 0.34 U/L。可以看出在本研究中, 漆酶活性最低, 我们在研究茅草菇菌丝体对考马斯亮蓝的脱色作用时也得到了类似的结果^[32]。有研究表明, 在白腐真菌 *Lenzites elegans* WDP2 染料脱色体系中, 检测到漆酶在脱色过程中起主导作用, 而未检测到 LiP 和 MnP 的酶活性^[22]。类似体系中, 有研究报道在此过程中仅检测到 LiP 和 MnP 酶活性, 也就是说, 在染料降解过程中, 漆酶、木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶或它们的组合在不同真菌中可能起着不同的主导作用^[33]。本研究中木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶活性较高, 表明这 2 种酶可能参与了 EBT 染料的降解脱色。随着处理时间延长, 酶活性呈现下降趋势, 分析由于部分酶分子直接与吸附在菌丝球上的染料发生相互作用, 从而导致胞外液中检测到的酶活降低。

2.4.2 吸附和降解作用

为了探讨染料脱色的作用机制, 利用叠氮化钠(NaN_3)抑制茅草菇菌丝体生长活性, 其结果如图 3B 所示。可以看出, 随着处理时间的增大, 未添加叠氮化钠组脱色率的增长趋势始终显著高于添加了叠氮化钠组脱色率的增长趋势, 由此说明, 在菌丝球脱色 EBT 染液的过程中, 生物吸附与降解协同发挥作用, 与 Shabbir 等报道的甲基橙生物脱色作用机制类似^[34]。

2.4.3 降解路径

真菌类微生物降解偶氮染料的步骤主要包括: 第一步偶氮基还原, 所形成的代谢中间物在酶催化、还原介体介导、还原剂还原或者联

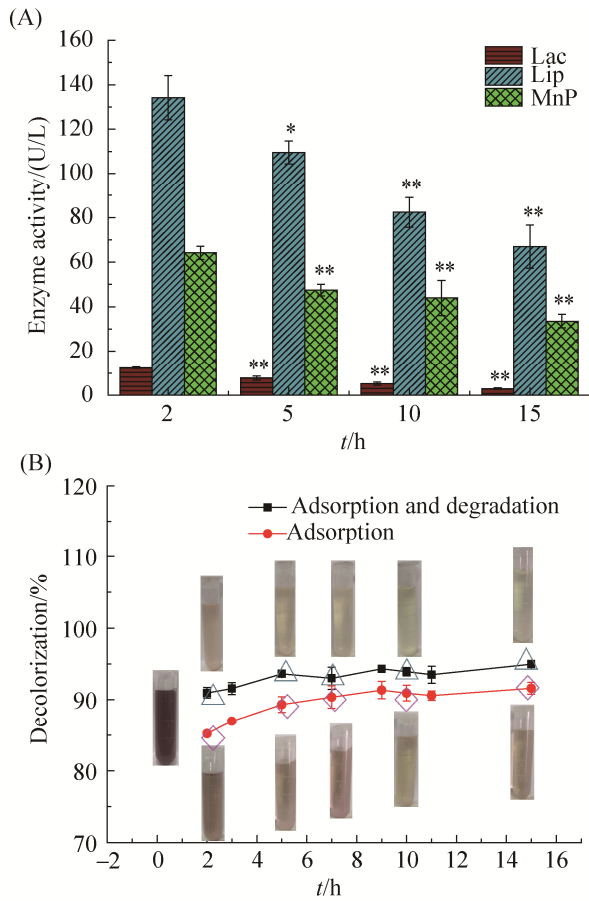


图 3 EBT 脱色过程中胞外木质素酶系酶活的变化(A)及吸附(添加 NaN_3)与降解(不加 NaN_3)的比较(B)

Figure 3 Variation of extracellular lignin enzymes activity during the decolorization process (A) and comparison of EBT removal by adsorption (with the addition of NaN_3) and by adsorption and degradation (in the absence of NaN_3) (B). * indicates statistical significance at $P < 0.05$; ** indicates statistical significance at $P < 0.01$; significant differences compared from the first point.

合作用下脱硫基和脱磺基，最后通过一步或两步连续的反应代谢成相应的苯胺类终产物，在此基础上我们对 EBT 染液降解路线进行了推测，根据所得实验结果并结合相关文献分析^[19,35]，推测茅草菇菌丝球对 EBT 染液的可能降解路径如图 4 所示。在降解作用过程中，EBT 分子(A)

的偶氮键首先发生断裂，生成 4-氨基-7-硝基-3-羟基-1-萘磺酸(B)和 2-氨基萘酚(C)，然后进一步在相关酶的作用下，降解为 2,5-二羟基苯甲酸(D)和 1,2-二羟基苯(E)。酶分子与底物分子之间的特异相互作用机制有待进一步的深入研究。

2.5 毒性评价

2.5.1 植物毒性评价

不同脱色时间处理后的染料废水对小麦种子的毒性各不同，结果如表 1 所示。与蒸馏水处理组相比，EBT 染料溶液对小麦种子萌发、胚芽和根系生长有明显的毒性作用。与对照组相比，未处理的染液组种子的发芽率降低了 31.11%，相

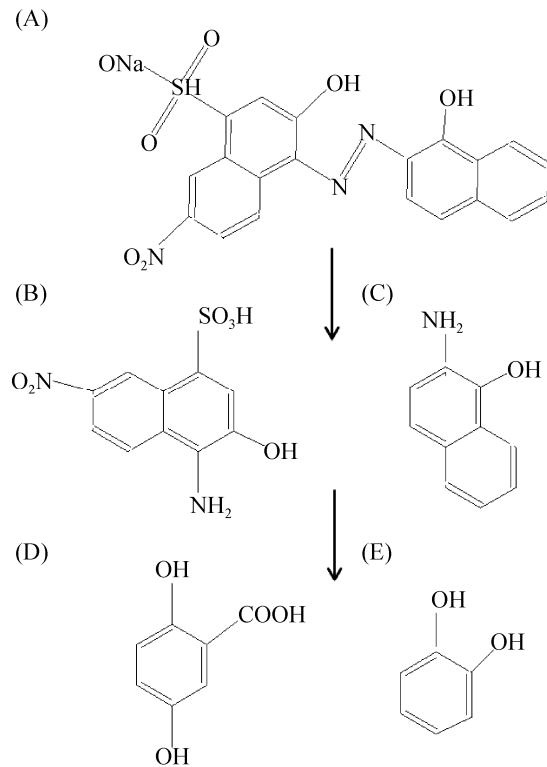





图 4 茅草菇菌丝球对 EBT 的可能降解路径

Figure 4 The proposed pathway of EBT degradation by *L. deliciosus* mycelial pellets. A: 1-(1-hydroxy-2-naphthylazo)6-nitro-2-naphthol-4-sulfonic acid sodium salt; B: 4-amino-7-nitro-3-hydroxy-1-naphthalene sulfonic acid; C: 2-aminonaphthol; D: 2,5-dihydroxybenzoic acid; E: 1,2-dihydroxybenzene.

表 1 脱色前后染料废水对小麦种子生长的植物毒性

Table 1 Phytotoxicity of the dye wastewater to wheat seed growth before and after decolorization

Parameters	Distilled water	Untreated dye solution	Treated dye solution
Germination rate/%	91.11	60.00	75.56
Plumule length/cm	1.93±0.29	0.79±0.03	0.88±0.08
Root length/cm	3.45±0.43	0.19±0.03	0.31±0.06
Images			

比之下, 用菌丝球处理后的染料废水的种子发芽率仅降低了 15.55%, 根的长度与芽的长度也有显著增加, 说明脱色后的染料废水对植物的生长毒性显著下降, 与已有的研究报道一致^[36]。



2.5.2 大肠杆菌的生长抑制评价

在大肠杆菌接触抑制实验中也得到了类似的结果, 如表 2 所示。结果表明, 未处理的染料溶液的毒性最高, 初始抑制率为 10.08%; 相比较而言, 用茅草菇菌丝球处理后的染料废水对大肠杆菌的抑制率显著降低, 为 3.36%, 对大肠杆菌的生长抑制作用显著下降, 说明处理后的染料废水对大肠杆菌的毒性明显降低。Legerská 等也观察到偶氮染料经脱色处理后对大肠杆菌的生长没有产生影响^[37]。

2.5.3 秀丽隐杆线虫的毒性评价

以模式生物秀丽隐杆线虫为模型研究表明, 与对照组(纯水组)相比, 脱色前($t=0$ h) EBT 染料的毒性对秀丽隐杆线虫的体长、运动行为与头部摆动都产生了显著影响(图 5); 脱色后, EBT 染料的毒性对秀丽隐杆线虫的体长、

表 2 脱色前后染料废水对大肠杆菌生长的毒性
Table 2 Toxicity of dye wastewater to *E. coli* growth before and after decolorization

Parameters	Untreated dye solution	Treated dye solution
Inhibition rate/%	10.08	3.36
Images		

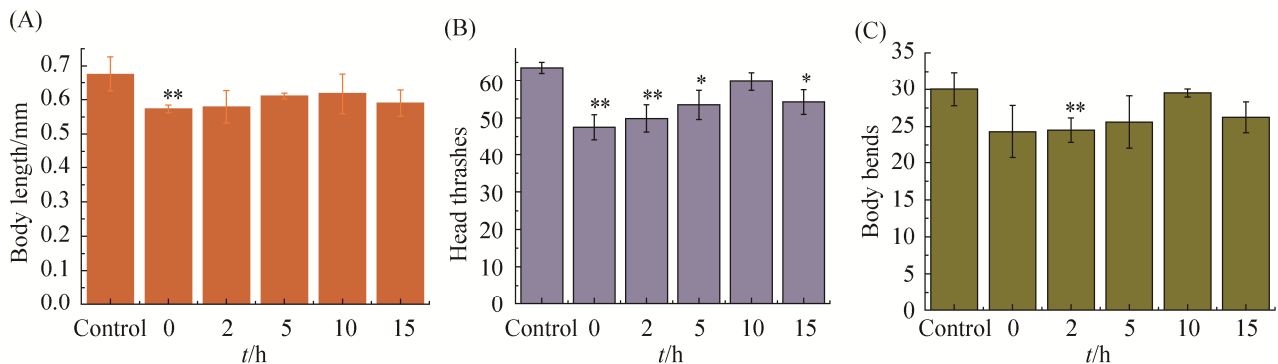


图 5 处理不同时间的染料废水对秀丽隐杆线虫的体长和运动行为的影响

Figure 5 Effects of dye wastewater with different treatment time on body length and locomotion behavior of *C. elegans*. A: body length; B: head thrashes in 30 s; C: body bends in 20 s. * indicates statistical significance at $P < 0.05$; ** indicates statistical significance at $P < 0.01$; significant differences compared from the control.

运动行为与头部摆动的影响随着处理时间的增大而显著降低, $t=10$ h 时已无显著性差异, 说明脱色后的染料废水的毒性大大降低。

同时, 根据秀丽隐杆线虫自发荧光强度的检测结果可以看出, 与对照组(纯水组)相比, 经茅草菇菌丝球处理后的 EBT 染料废水对秀丽隐杆线虫体内脂褐素的累积无显著性影响(图 6),

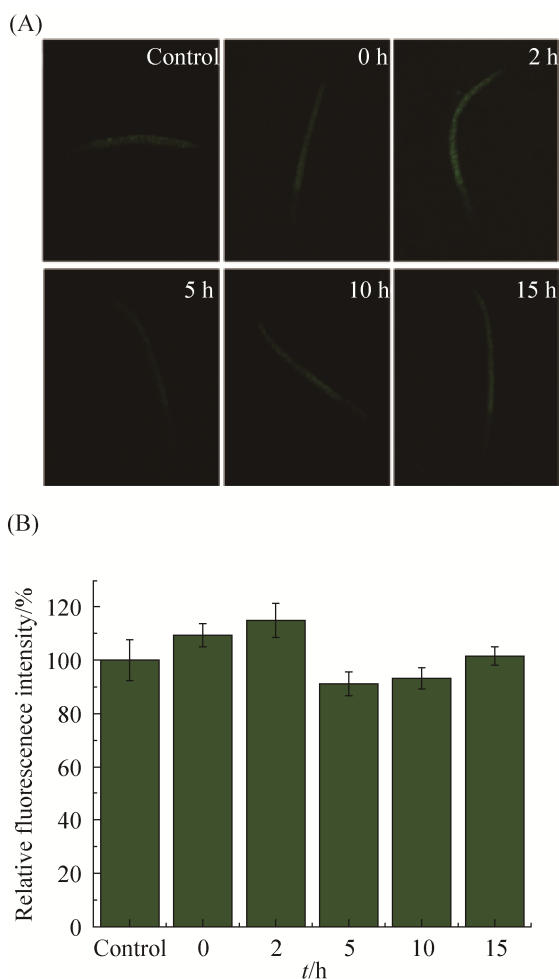


图 6 处理不同时间的染料废水对秀丽隐杆线虫体内脂褐素累积的影响

Figure 6 Effects of dye wastewater with different treatment time on *C. elegans*. A: representative images; B: comparison of the intestinal autofluorescence intensities. * indicates statistical significance at $P<0.05$; ** indicates statistical significance at $P<0.01$; significant differences compared from the control.

进一步表明脱色后的染料废水的毒性显著降低。因此, 经茅草菇菌丝球脱色后的 EBT 染料废水对秀丽隐杆线虫体长、运动行为及体内脂褐素的累积均无显著性的毒副作用。有研究报道秀丽隐杆线虫暴露在三氯生(TCS)下会使线虫的运动行为减少, 而氧化应激增加^[27]。

3 讨论与结论

(1) 脱色影响因素研究表明, 茅草菇菌丝球能脱色处理 EBT 染液的最高浓度为 400 mg/L, 且脱色过程受温度影响较小, 潜在的环境温度适应性较好。

(2) 酶活测定分析及生长抑制等研究表明, 在脱色过程中吸附和降解协同发挥作用, 分析了 EBT 染料的可能降解路径。

(3) 植物毒性、大肠杆菌生长抑制性及对秀丽隐杆线虫的影响等多级毒性评价表明, 脱色后的染料废水毒性显著降低。

参考文献

- [1] Shoiful A, Kambara H, Cao LTT, Matsushita S, Kindaichi T, Aoi Y, Ozaki N, Ohashi A. Mn(II) oxidation and manganese-oxide reduction on the decolorization of an azo dye. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2020, 146: 104820.
- [2] Tan L, He MY, Song L, Fu XM, Shi SN. Aerobic decolorization, degradation and detoxification of azo dyes by a newly isolated salt-tolerant yeast *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF₁. *Bioresource Technology*, 2016, 203: 287–294.
- [3] Berkessa YW, Yan B, Li T, Jegatheesan V, Zhang Y. Treatment of anthraquinone dye textile wastewater using anaerobic dynamic membrane bioreactor: performance and microbial dynamics. *Chemosphere*, 2020, 238: 124539.
- [4] Yeruva DK, Shanthi S, Butti SK, Annie Modestra J, Venkata Mohan S. Spatial variation of electrode position in bioelectrochemical treatment system: design consideration for azo dye remediation. *Bioresource Technology*, 2018, 256: 374–383.
- [5] Shabbir S, Faheem M, Ali N, Kerr PG, Wu YH.

- Evaluating role of immobilized periphyton in bioremediation of azo dye amaranth. *Bioresource Technology*, 2017, 225: 395–401.
- [6] Xiao X, Li TT, Lu XR, Feng XL, Han X, Li WW, Li Q, Yu HQ. A simple method for assaying anaerobic biodegradation of dyes. *Bioresource Technology*, 2018, 251: 204–209.
- [7] Ali SS, Al-Tohamy R, Xie R, El-Sheekh MM, Sun J. Construction of a new lipase- and xylanase-producing oleaginous yeast consortium capable of reactive azo dye degradation and detoxification. *Bioresource Technology*, 2020, 313: 123631.
- [8] Wang N, Chu YL, Wu FA, Zhao ZL, Xu XY. Decolorization and degradation of Congo red by a newly isolated white rot fungus, *Ceriporia lacerata*, from decayed mulberry branches. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 117: 236–244.
- [9] Tan L, Shao YF, Mu GD, Ning SX, Shi SN. Enhanced azo dye biodegradation performance and halotolerance of *Candida tropicalis* SYF-1 by static magnetic field (SMF). *Bioresource Technology*, 2020, 295: 122283.
- [10] 卢莱雅, 秦嘉玲, 杨圩. 关于印染废水处理方法的综述. *山东化工*, 2020, 49(15): 67–68.
Lu LY, Qin JL, Yang W. A review on the method for textile wastewater. *Shandong Chemical Industry*, 2020, 49(15): 67–68. (in Chinese)
- [11] 宋昭仪, 胥维昌, 马文静, 胡金玲, 杨洪新. 偶氮染料废水处理技术及研究进展. *染料与染色*, 2018, 55(6): 50–54.
Song ZY, Xu WC, Ma WJ, Hu JL, Yang HX. Treatment technology and research progress of azo dye wastewater. *Dyestuffs and Coloration*, 2018, 55(6): 50–54. (in Chinese)
- [12] Patil SM, Suryavanshi MV, Chandanshive VV, Kurade MB, Govindwar SP, Jeon BH. Regeneration of textile wastewater deteriorated microbial diversity of soil microcosm through bioaugmentation. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 380: 122533.
- [13] Du YW, Ma H, Huang LP, Pan Y, Huang J, Liu Y. Electrochemical characteristics of the decolorization of three dyes by laccase mediator system (LMS) with synthetic and natural mediators. *Chemosphere*, 2020, 239: 124779.
- [14] Guo G, Hao JX, Tian F, Liu C, Ding KQ, Xu J, Zhou W, Guan ZB. Decolorization and detoxification of azo dye by halo-alkaliphilic bacterial consortium: systematic investigations of performance, pathway and metagenome. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 204: 111073.
- [15] Chen GT, An XJ, Feng LL, Xia X, Zhang QH. Genome and transcriptome analysis of a newly isolated azo dye degrading thermophilic strain *Anoxybacillus* sp. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 203: 111047.
- [16] 杨爽, 宋迪慧, 安路阳, 张立涛, 柳丽芬, 屈泽鹏, 徐歆未, 李红欣. 厌氧 E-MBR 反应器在焦化废水处理中的微生物特性研究. *微生物学报*, 2021, 61(8): 2427–2441.
Yang S, Song DH, An LY, Zhang LT, Liu LF, Qu ZP, Xu XW, Li HX. Study on rapid start-up of anaerobic E-MBR and microbial characteristics and membrane fouling. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(8): 2427–2441. (in Chinese)
- [17] 陈敏, 魏桂芳, 高平平, 王凌华, 庞晓燕, 赵立平. 用 ERIC-PCR 结合分子杂交监测焦化废水处理系统 (A²/O) 中微生物群落结构的变化. *生态学报*, 2004, 24(7): 1330–1334.
Chen M, Wei GF, Gao PP, Wang LH, Pang XY, Zhao LP. Using ERIC-PCR and molecular hybridization for monitoring changes in the structure of microbial community in coking wastewater treatment system. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(7): 1330–1334. (in Chinese)
- [18] Munck C, Thierry E, Gräble S, Chen SH, Ting ASY. Biofilm formation of filamentous fungi *Corioloopsis* sp. on simple muslin cloth to enhance removal of triphenylmethane dyes. *Journal of Environmental Management*, 2018, 214: 261–266.
- [19] Iark D, Buzzo AJDR, De Garcia JAA, Côrrea VG, Helm CV, Corrêa RCG, Peralta RA, Peralta Muniz Moreira RDF, Bracht A, Peralta RM. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. *Bioresource Technology*, 2019, 289: 121655.
- [20] Bankole PO, Adekunle AA, Govindwar SP. Biodegradation of a monochlorotriazine dye, cibacron brilliant red 3B-A in solid state fermentation by wood-rot fungal consortium, *Daldinia concentrica* and *Xylaria polymorpha*: co-biomass decolorization of cibacron brilliant red 3B-A dye. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 120: 19–27.
- [21] 王琦. 稀土元素对 *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 产漆酶的影响与漆酶催化偶氮染料脱色的研究. 江南大学硕士学位论文, 2019.
- [22] Pandey RK, Tewari S, Tewari L. Lignolytic mushroom

- Lenzites elegans* WDP2: laccase production, characterization, and bioremediation of synthetic dyes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 158: 50–58.
- [23] Lopez-Barbosa N, Florez SL, Cruz JC, Ornelas-Soto N, Osma JF. Congo red decolorization using textile filters and laccase-based nanocomposites in continuous flow bioreactors. *Nanomaterials*, 2020, 10(6): 1227.
- [24] 赵振. 白腐真菌对偶氮染料酸性橙 7 的降解及其产物分析. 浙江工商大学硕士学位论文, 2018.
- [25] Jasińska A, Soboń A, Góralczyk-Bińkowska A, Długoński J. Analysis of decolorization potential of *Myrothecium roridum* in the light of its secretome and toxicological studies. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(25): 26313–26323.
- [26] Chen HB, Guo S, Li H, Zhou D, Cao X, Wang C, Liu YD, Xiang MD, Li LZ, Yu YJ. Multi-generational effects and variations of stress response by hexabromocyclododecane (HBCD) exposure in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Environmental Management*, 2019, 245: 216–222
- [27] Kim HM, Long NP, Yoon SJ, Nguyen HT, Kwon SW. Metabolomics and phenotype assessment reveal cellular toxicity of triclosan in *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 2019, 236: 124306.
- [28] 陈超, 冯旭东, 朱秋锋, 胡巧开. 硅藻土负载壳聚糖对铬黑 T 的吸附研究. 化工新型材料, 2017, 45(6): 195–197.
Chen C, Feng XD, Zhu QF, Hu QK. Study on adsorption of diatomite-loading chitosan on Eriochrome Black T. *New Chemical Materials*, 2017, 45(6): 195–197. (in Chinese)
- [29] 胡金梅. 克雷伯氏菌脱色偶氮染料废水的生化机理研究. 苏州科技大学硕士学位论文, 2017.
- [30] Kumar R, Negi S, Sharma P, Prasher IB, Chaudhary S, Dhau JS, Umar A. Wastewater cleanup using *Phlebia acerina* fungi: an insight into mycoremediation. *Journal of Environmental Management*, 2018, 228: 130–139.
- [31] 陆涛, 张其磊, 姚善涇. 丝状真菌在废水处理过程中的生物脱除作用. 高校化学工程学报, 2016, 30(4): 741–753.
Lu T, Zhang QL, Yao SJ. Biosorption applications of filamentous fungi in wastewater treatment. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2016, 30(4): 741–753. (in Chinese)
- [32] Zhao J, Wu QX, Cheng XD, Su T, Wang XH, Zhang WN, Lu YM, Chen Y. Biodegradation and detoxification of the triphenylmethane dye coomassie brilliant blue by the extracellular enzymes from mycelia of *Lactarius deliciosus*. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 2021, 15(2): 421–436.
- [33] Kulkarni AN, Watharkar AD, Rane NR, Jeon BH, Govindwar SP. Decolorization and detoxification of dye mixture and textile effluent by lichen *Dermatocarpon vellereceum* in fixed bed upflow bioreactor with subsequent oxidative stress study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 148: 17–25.
- [34] Shabbir S, Faheem M, Ali N, Kerr PG, Wu YH. Periphyton biofilms: a novel and natural biological system for the effective removal of sulphonated azo dye methyl orange by synergistic mechanism. *Chemosphere*, 2017, 167: 236–246.
- [35] Mostafa AAF, Elshikh MS, Al-Askar AA, Hadibarata T, Yuniarto A, Syaifiuddin A. Decolorization and biotransformation pathway of textile dye by *Cylindrocephalum aurelium*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2019, 42(9): 1483–1494.
- [36] He XL, Song C, Li YY, Wang N, Xu L, Han X, Wei DS. Efficient degradation of azo dyes by a newly isolated fungus *Trichoderma tomentosum* under non-sterile conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 150: 232–239.
- [37] Legerská B, Chmelová D, Ondrejovič M. Decolourization and detoxification of monoazo dyes by laccase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Journal of Biotechnology*, 2018, 285: 84–90.

(本文责编 张晓丽)