

钱静亚,张正沛,季蓉蓉,等. 3 株真菌固态发酵产木质素降解酶的研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(5):277-280.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.05.072

3 株真菌固态发酵产木质素降解酶的研究

钱静亚^{1,2}, 张正沛², 季蓉蓉², 马真², 陈菊², 李佳少², 张志才², 葛才林¹

(1. 扬州大学作物栽培生理江苏省重点实验室, 江苏扬州 225009; 2. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要:对菌株 JS-1008、米曲霉 CGMCC5992、黄孢原毛平革菌 CICC40719 等 3 株真菌固态发酵产木质素降解酶、纤维素酶、半纤维素酶进行了研究。结果表明,3 株菌株中,米曲霉发酵产木质素降解酶活性最高,木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶活性可达 2.08、1.79 U/g DS,产纤维素酶、半纤维素酶活性则相对较低,分别为 1.69、4.19 U/g DS,木质素降解率为 7.23%;菌株 JS-1008 产木质素降解酶、纤维素酶、半纤维素酶的活性均较低,木质素降解率最低;黄孢原毛平革菌产木质素降解酶的水平最低,木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶的活性分别为 0.40、0.51 U/g DS,但产纤维素酶、半纤维素酶的活性最高,分别达到 2.54、10.86 U/g DS,木质素降解率达 11.7%。

关键词:菌株 JS-1008;米曲霉;黄孢原毛平革菌;木质素过氧化物酶;锰过氧化物酶

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)05-0277-04

木质素是自然界中除纤维素外的第 2 大聚合物,由苯丙烷单元通过醚键、碳碳键连接形成聚酚类三维网状结构,由于其复杂、稳定、多样的无定形三维体型而成为农作物秸秆中比纤维素更难降解的成分,导致秸秆营养价值、利用率低^[1]。要彻底降解纤维素,关键在于降解包裹在纤维素晶体外面的木质素以及半纤维素。因此,秸秆利用研究从过去的降解纤维素的研究转向了木质素降解研究^[2]。

木质素降解过程中的关联酶系主要有 3 类: H_2O_2 产生酶系(如葡萄糖氧化酶、乙二醛氧化酶等)、木质素氧化酶系(木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶、漆酶等)、其他酶系(甲基化酶、纤维二糖脱氢酶等)^[3]。在木质素氧化酶系中,研究较多的酶主要有木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶、漆酶^[4]。木质素过氧化物酶是降解木质素酶系的主要成分,在木质素降解中起关键作用^[5]。锰过氧化物酶在 Mn^{2+} 、 H_2O_2 存在时,能氧化分解芳香环多聚体,被认为是木质素降解的关键酶之一^[6]。

自然界中产生降解木质素降解酶的微生物有真菌、放线菌、细菌等,其中可彻底将木质素降解为 CO_2 、 H_2O 的是白腐

真菌,如黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)^[7]、红色毛癣菌(*Trichophyton rubrum*)^[8]、栓菌属(*Trametes*)^[9]、侧耳属(*Pleurotus*)^[10]、糖单孢菌属(*Saccharomonospora*)^[11]、不动细菌属菌株 B-2(*Acinetobacter* sp. B-2.)、*Pandora* sp. B-6、纤孔菌属菌株(*Inonotus* sp.)^[12]等。但是白腐真菌在人工培养条件下产生的木质素降解酶活性较低,造成木质素酶生产成本较高,因此有必要探索木质素降解酶活性高的真菌。

笔者前期从污泥中分离得到了菌株 JS-1008 和米曲霉 CGMCC5992,但未对其降解木质素进行系统研究。本研究比较菌株 JS-1008、米曲霉 CGMCC5992、黄孢原毛平革菌产木质素降解酶、纤维素酶、半纤维素酶的能力,试图找到 1 株产高活性木质素降解酶活性的菌株,以期降低木质素酶的生产成本,实现其工业化生产应用奠定基础,也为真菌降解秸秆木质纤维素并用于秸秆的资源化利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 JS-1008,分离自江苏大学玉带河污泥样品中,初步鉴定为匍枝根霉。米曲霉,分离自江苏大学玉带河污泥样品中,现保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保存编号为 CGMCC5992。黄孢原毛平革菌 CICC40719,购自中国工业微生物菌种保藏中心。

1.1.2 培养基 玉米芯粉固体发酵培养基:称取一定量玉米芯粉和水,按照质量比 1:3 混合,分装在直径 15 cm、无热力学应变性的塑料盘中,每盘 60 g,并在 121 °C 灭菌 1 h。

收稿日期:2016-01-07

基金项目:江苏省作物栽培生理重点实验室开放课题(编号:K13017);江苏大学大学生实践创新训练计划项目(编号:201410299171W);江苏大学学生科研项目(编号:13A085)。

作者简介:钱静亚(1979—),女,江苏常熟人,博士,副教授,主要从事微生物发酵研究。E-mail:qianjingya@yeah.net。

通信作者:葛才林,博士,教授,主要从事生物物理研究。E-mail:gecailin10@163.com。

评价研究[J]. 长江流域资源与环境,2010(10):1192-1197.

[14] 余健,房莉,仓定帮,等. 嫡权模糊物元模型在土地生态安全评价中的应用[J]. 农业工程学报,2012,28(5):260-266.

[15] 黄辉玲,罗文斌,吴次芳,等. 基于物元分析的土地生态安全评价[J]. 农业工程学报,2010,26(3):316-322.

[16] 邱微,赵庆良,李崧,等. 基于“压力-状态-响应”模型的黑龙江省生态安全评价研究[J]. 环境科学,2008(4):1148-1152.

[17] 杜忠潮,韩申山. 基于主成分分析的土地生态安全评价实证研究——以陕西省 10 个省辖市为例[J]. 水土保持通报,2009(6):198-202,207.

[18] 黄海,刘长城,陈春. 基于生态足迹的土地生态安全评价研究[J]. 水土保持研究,2013(1):193-196,201.

[19] 许倍慎. 江汉平原土地利用景观格局演变及生态安全评价[D]. 武汉:华中师范大学,2012.

1.2 方法

1.2.1 玉米秸秆、玉米芯预处理 将同一批次、产地、采收季节的玉米秸秆、玉米芯,用小型药物粉碎机粉碎成粉末,并将粉末过 100 目筛,密封于塑料保鲜袋中,于背光、干燥处储藏备用。

1.2.2 固态发酵 在无菌条件下,将试管斜面中的菌种接种到已灭菌的含 15 g 麦麸、20 mL 水的 250 mL 三角瓶中,28 ℃ 培养 4~7 d 后转接到玉米芯粉的发酵培养基中,每盘接种 6 g,混匀后 28 ℃ 培养 30 d。为在发酵过程中能保持培养基湿度,所有塑料盘均用保鲜膜密封。

1.2.3 粗酶液制备 发酵结束后,称取 5 g 固态发酵基质于 250 mL 三角瓶中,加入 100 mL 蒸馏水,28 ℃、150 r/min 振荡提取 1 h, -4 ℃ 冷冻离心后获得的上清液即为粗酶液,置于 1.5 mL 的离心管中 -18 ℃ 保存备用。

1.2.4 酶活测定

1.2.4.1 木质素过氧化物酶活性的测定 在反应体系中加入 250 mmol/L 酒石酸缓冲液 3.2 mL,加入 10 mmol/L 藜芦醇溶液 0.1 mL,加入待测酶液 600 μL,30 ℃ 水浴预热,加入 10 mmol/L H₂O₂ 溶液 0.1 mL 启动反应,迅速测定 310 nm 处的吸光度,4 min 后再测定 1 次,计算 2 次测定结果之差,即为 1 min 的吸光度变化(Δ*D*_{310 nm})^[13]。1 min 内氧化藜芦醇产生 1 μmol 藜芦醛为 1 个酶活性单位(U)。木质素过氧化物酶活性(LiP)计算方法如下^[14]:

$$LiP = \frac{\Delta D_{310 \text{ nm}} \div 1 \text{ cm}}{9 \ 300 \text{ mol} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}} \times \frac{10^6 \text{ } \mu\text{mol}}{\text{mol}} \times \frac{10^{-3} \text{ L}}{\text{mL}} \times 4 \text{ mL} \div \frac{600}{10^{-6}} \text{ L} \div 1 \text{ min} \times 100 \text{ mL} \div 5 \text{ g} \times 2.5 = \frac{\Delta D_{310 \text{ nm}}}{9.3} \times \frac{10^6}{600} \div 5 \text{ (U/g)}。$$

(1)

1.2.4.2 锰过氧化物酶活性的测定 在反应体系中加入 50 mmol/L 乳酸钠缓冲液 3.4 mL,1.6 mmol/L 的硫酸锰溶液 0.1 mL,酶液 0.4 mL,预热至 37 ℃,加 1.6 mmol/L 的 H₂O₂ 溶液 0.1 mL,启动反应。在 240 nm 紫外光处,测定反应 4 min 内的吸光度差值 Δ*D*_{240 nm}。在对照组中,以煮沸灭活 15 min 酶液代替原酶液,以蒸馏水代替 H₂O₂ 溶液,其他反应物不变。1 min 内使 1 μmol/L 的 Mn²⁺ 转化为 Mn³⁺ 所需的酶量为 1 个酶活性单位(U)^[15]。锰过氧化物酶活性(MnP)计算方法如下^[14]:

$$MnP = \frac{\Delta D_{240 \text{ nm}} \div 1 \text{ cm}}{6 \ 500 \text{ mol} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}} \times \frac{10^6 \text{ } \mu\text{mol}}{\text{mol}} \times \frac{10^{-3} \text{ L}}{\text{mL}} \times 4 \text{ mL} \div \frac{400}{10^{-6}} \text{ L} \div 1 \text{ min} \times 100 \text{ mL} \div 5 \text{ g} \times 2.5 = \frac{\Delta D_{240 \text{ nm}}}{6.5} \times \frac{10^6}{400} \div 5 \text{ (U/g)}。$$

(2)

1.2.4.3 纤维素酶活性的测定 采用测定羧甲基纤维素酶活性(CMC)的方法测定纤维素酶活性。

葡萄糖标准曲线的制作:称取 1 g 于 105 ℃ 烘至恒质量的葡萄糖,加水定容至 1 L,得 1 g/L 的葡萄糖标准溶液。分别移取上述标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,加水补至 2 mL,加入 2 mL DNS 试剂,加塞后在沸水浴中加热 10 min,冷却后定容至 15 mL,用分光光度计测 550 nm 波长下的吸光度,以浓度-吸光度绘制标准曲线。

测定步骤:取 0.5 mL 粗酶液,再分别吸取 1.5 mL CMC

溶液,50 ℃ 水浴保温 30 min;对照样用 0.5 mL 稀释酶液,加入 1.5 mL 醋酸缓冲液,50 ℃ 水浴 30 min,再吸取 DNS 试剂 2 mL,摇匀后具塞,沸水浴反应 10 min,冷却后加水至 15 mL,振荡混匀,用对照调零点,于 550 nm 下测吸光度^[16]。1 min 内由底物生成 1 μmol 葡萄糖所需的酶量定义为 1 个酶活性单位(U)。纤维素酶(CMC)活性计算方法如下:

$$\text{CMC 酶活性} = \frac{\text{葡萄糖质量} \times 2 \times 1 \ 000}{60} \text{ (U/g)}。$$

(3)

1.2.4.4 半纤维素(木聚糖酶)酶活性的测定 木糖标准曲线的制作:称取 1 g 于 105 ℃ 烘至恒质量的木糖,加水定容至 1 L,得 1 g/L 木糖标准溶液。分别移取上述标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,加水补至 2 mL,加入 2 mL DNS 试剂,加塞后在沸水浴中加热 10 min,冷却后加水定容至 15 mL,用分光光度计在 550 nm 波长下测吸光度,以浓度-吸光度绘制标准曲线。

测定步骤:取粗酶液 0.5 mL,再吸取 1% 木聚糖溶液 1.5 mL,摇匀,50 ℃ 水浴 1 h,取出后,再吸取 2 mL DNS 试剂摇匀,加塞立即沸水浴反应 10 min,冷却后加水定容至 15 mL,轻轻上下摇匀,对照用 0.5 mL 稀释酶液加 1.5 mL 醋酸缓冲液,不加木聚糖溶液。按上述步骤,用对照调零点,于 550 nm 下测吸光度^[17]。1 min 内水解木聚糖生成相当于 1 μmol 木糖等还原物质的量为 1 个酶活性单位,以 U/g 表示。半纤维素(木聚糖酶)酶活性计算方法如下:

$$\text{半纤维素酶活性} = \frac{\text{木糖质量} \times 2 \times 1 \ 000}{50} \text{ (U/g)}。$$

(4)

1.2.5 木质素降解率的测定 称取一定量(G)样品(过 40 目筛)置于圆底烧瓶中,加入 2 mol/L 盐酸 100 mL,5~10 min 内煮沸,并持续保持微沸 60 min。趁热用已知质量的玻璃坩埚抽滤,并用沸水反复冲洗玻璃坩埚及残渣,至滤液呈中性。用少量丙酮冲洗残渣至抽下的丙酮液呈无色,并抽净丙酮。将玻璃坩埚置于 105 ℃ 烘箱中烘 2 h 后,在干燥器中冷却 30 min 称质量 G1,直至恒质量。将酸性洗涤纤维加入 72% 硫酸,在 20 ℃ 消化 3 h 后过滤,并冲洗至中性。将残渣烘干称质量(G2),并灼烧灰化称质量(G3),G3 与 G2 的差值即为木质素含量。木质素降解率计算方法如下:

$$\text{木质素降解率} = \frac{\text{未发酵秸秆中木质素含量} - \text{发酵后秸秆中木质素含量}}{\text{未发酵秸秆中木质素含量}} \times 100\%。$$

(5)

2 结果与分析

2.1 3 株菌株产木质素降解酶、纤维素酶、半纤维素酶的比较

2.1.1 葡萄糖和木糖标准曲线 如图 1 所示,葡萄糖标准曲线方程为 $y = 0.9537x - 0.0903$, r^2 为 0.9992;如图 2 所示,木糖标准曲线为 $y = 1.026x - 0.0225$, r^2 为 0.9990。说明其适合用于葡萄糖、木糖含量的测定。

2.1.2 3 株菌株产木质素过氧化物酶的分析 如图 3 所示,米曲霉在固态培养 18 d 时木质素过氧化物酶活性达到最大值,为 1.79 U/g DS。JS-1008 菌株产酶活性较低,在培养 9 d 时酶活性达到最大值,为 0.39 U/g DS。黄孢原毛平革菌培养 15 d 时产酶活性最大,为 0.40 U/g DS。米曲霉产木质

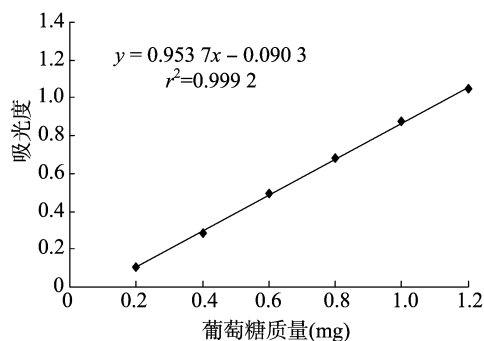


图1 葡萄糖标准曲线

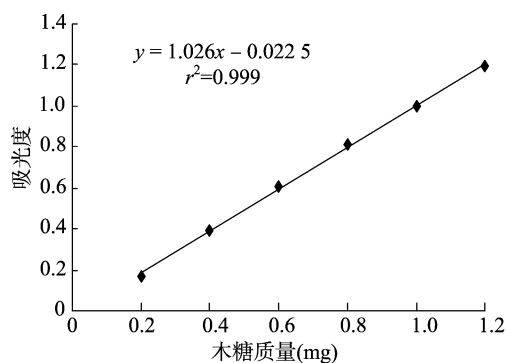


图2 木糖标准曲线

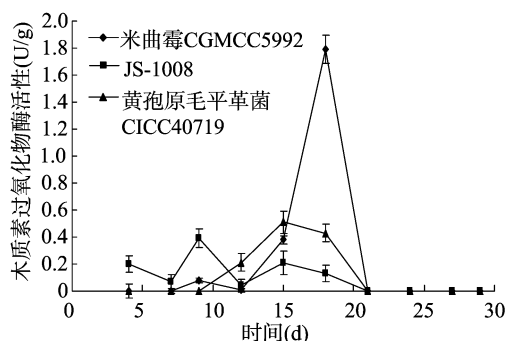


图3 3株菌株产木质素过氧化物酶能力分析

素过氧化物酶能力高于菌株 JS-1008、黄孢原毛平革菌,但是米曲霉产酶活性出现最大值的时间较 JS-1008 菌株、黄孢原毛平革菌明显滞后,这可能是因为木质素降解酶是次生代谢产物,米曲霉菌在生长后期限氮的条件下利于酶的产生,生长前期米曲霉菌体利用培养基中的氮等营养成分进行细胞快速生长,后期氮源消耗到一定程度才进入产酶期。而该培养基对于 JS-1008 菌株、黄孢原毛平革菌没有产生限制作用,产酶时期提前。

2.1.3 3株菌株产锰过氧化物酶的分析 如图4所示,米曲霉能产生较高的锰过氧化物酶活性,在发酵12d时酶活性最高,为2.27 U/g DS,而菌株 JS-1008、黄孢原毛平革菌产锰过氧化物酶活性相对较低,最高仅分别为0.52、0.51 U/g DS。JS-1008 菌株不能促进产酶的原因可能是匍枝根霉能分泌大量淀粉酶,这种酶降解秸秆中的淀粉后产生部分 β -环糊精,有研究表明 β -环糊精对锰过氧化物酶的产生有一定抑制作用^[18],此外淀粉酶会降解淀粉,产生大量葡萄糖,造成碳源过剩抑制菌体生长,从而也抑制了锰过氧化物酶的分泌。

2.1.4 3株菌株产纤维素酶的分析 纤维素酶是使纤维素

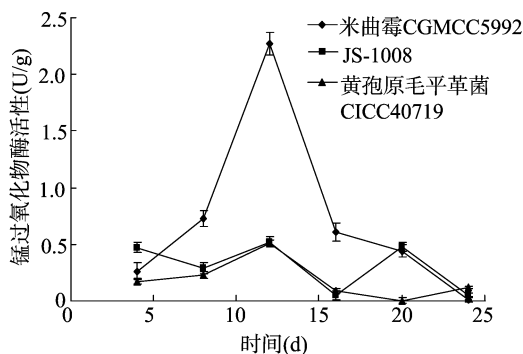


图4 3株菌株产锰过氧化物酶能力的分析

降解生成葡萄糖的酶的总称,主要有葡聚糖内切酶、葡聚糖外切酶、 β -葡萄糖苷酶,这3种酶协同作用可将天然纤维素降解为葡萄糖。如图5所示,在发酵20d时,黄孢原毛平革菌、米曲霉产纤维素酶活性都达到最大值,分别为2.54、1.69 U/g DS,JS-1008 菌株在发酵8d时酶活性最高,为2.18 U/g DS。黄孢原毛平革菌在发酵6d时酶活性迅速上升,12~20d时酶活性趋于稳定。米曲霉在发酵12d后到达酶活性迅速增长期,16~20d是酶的稳定生产期,但酶活性并不高,是3株菌株中产酶最低且产酶时间最迟的菌株,这种现象可能是由于米曲霉能产生葡聚糖内切酶、外切酶,但产生 β -葡萄糖苷酶能力弱,使纤维二糖积累造成产物抑制。JS-1008 菌株的产酶能力较米曲霉强,且产酶时间明显提前,但酶活性达到最高后很快降低,并没有出现产酶的稳定期。

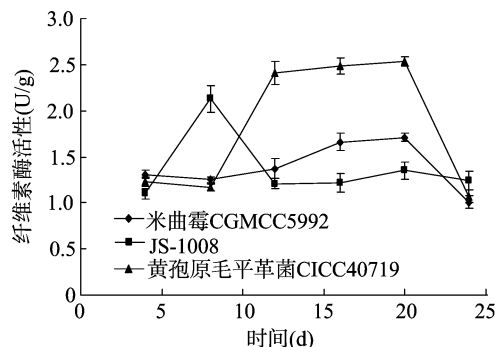


图5 3株菌株产纤维素酶能力的分析

2.1.5 3株菌株产半纤维素酶(木聚糖酶)的分析 微生物产生的半纤维素酶主要是指 β -D-1,4-木聚糖酶, β -木糖苷酶, β -D-1,4-木聚糖酶的主要水解产物为木二糖及其以上的低木聚糖, β -木糖苷酶可以作用于低聚木糖的末端,释放木糖。如图6所示,与米曲霉、菌株 JS-1008 相比,黄孢原毛平革菌产半纤维素酶的酶活性最高,在固态发酵16d产生高达10.86 U/g DS的木聚糖酶活性。菌株 JS-1008 在发酵8d时即达到酶活性最大值,为5.64 U/g DS,但菌株 JS-1008 无产酶的稳定期;米曲霉酶活性最低,12~20d是产酶较为稳定的时期,但酶活性最高时也为4.42 U/g DS。木聚糖酶是一种诱导酶,需要将秸秆中的淀粉降解为小分子物质后才能诱导菌株产生,3株菌株产木聚糖酶的趋势与产纤维素酶的趋势大致相同。

2.2 3株菌株降解木质素的比较

如图7所示,米曲霉木质素降解率达7.23%;菌株

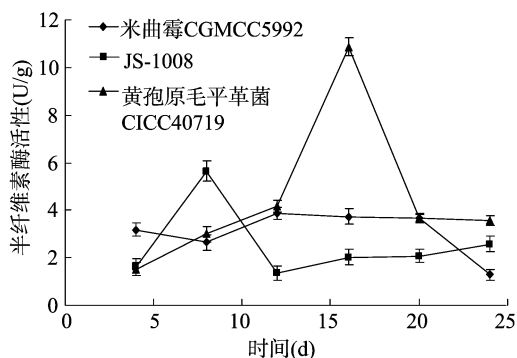


图6 3株菌株产半纤维素酶能力的分析

JS-1008 木质素降解率仅为 4.14%；而黄孢原毛平革菌对木质素的降解率最高，达到 11.00%。米曲霉能产生活性较高的与降解木质素有关的酶，因此降解率较高；而黄孢原毛平革菌能产生高活性的纤维素酶、半纤维素酶，破坏木质素与半纤维素之间紧密结合的化学键，使木质素游离被降解，所以木质素降解率最高，虽然黄孢原毛平革菌分泌锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶的酶活性不高，但能分泌葡萄糖氧化酶和乙二醇氧化酶等产 H_2O_2 的酶，这可能也是造成黄孢原毛平革菌降解率最高的原因。

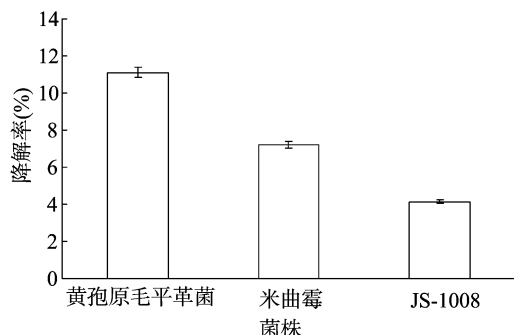


图7 3株菌株木质素降解率的分析

3 结论

米曲霉 CGMCC5992 产木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶等与降解木质素有关的酶的活性最高，但产纤维素酶、半纤维素酶的能力较弱，对木质素的降解率为 7.17%，可认为米曲霉是产酶专一性较强的菌株，具有用于生产木质素降解酶的潜力，也可考虑与产纤维素酶、半纤维素酶活性高的菌株进行混菌发酵，降解秸秆木质素和纤维素。

菌株 JS-1008 虽然具有一定的降解木质素的能力，但与黄孢原毛平革菌、米曲霉 CGMCC5992 相比，产降解木质素相关的酶及纤维素酶、半纤维素酶的活性较低，且降解木质素的能力较差，对菌株 JS-1008 的应用范围需要进一步研究。

黄孢原毛平革菌产木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶的水平低于米曲霉，但产纤维素酶、半纤维素酶的活性最高，且木质素降解率也最高。因此，黄孢原毛平革菌常被广泛应用于纤维素和木质素材料的降解中。

参考文献:

[1] 范 寰, 梁军锋, 赵 润, 等. 碳氮比对复合木质素降解菌产酶活

力和木质素降解能力的影响[J]. 中国饲料, 2010(14): 23 - 25, 29.

[2] 张爱武, 董 斌, 康 伟. 白腐真菌对秸秆的降解效果及影响因素[J]. 饲料研究, 2011(5): 15 - 17.

[3] 张 力, 邵喜霞, 韩大勇. 白腐真菌木质素降解酶系研究进展[J]. 吉林畜牧兽医, 2009, 30(2): 9 - 12.

[4] Iandolo D, Amore A, Birolo L, et al. Fungal solid state fermentation on agro-industrial wastes for acid wastewater decolorization in a continuous flow packed-bed bioreactor[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(16): 7603 - 7607.

[5] 杨 暖, 张妙直, 宋洪英. 木质素过氧化物酶应用研究进展[J]. 现代农业科学, 2009, 16(4): 19 - 20.

[6] 吴会广, Cai Y J, 苑博华, 等. 锰过氧化物酶产生菌的发酵优化及酶学性质研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(4): 17 - 21.

[7] 张 欢, 柴立元, 朱咏华, 等. 3株细菌降解木质素的条件调控研究[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2011, 42(10): 2922 - 2928.

[8] Bermek H, Yazici H, Ozturk H, et al. Purification and characterization of manganese peroxidase from wood-degrading fungus *Trichophyton rubrum* LSK - 27[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 35(1): 87 - 92.

[9] Zouari - Mechichi H, Mechichi T, Dhoubi A, et al. Laccase purification and characterization from *Trametes trogii* isolated in Tunisia: decolorization of textile dyes by the purified enzyme[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39(1): 141 - 148.

[10] Liu L H, Lin Z W, Zheng T, et al. Fermentation optimization and characterization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* strain 10969[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2009, 44(6/7): 426 - 433.

[11] 丁梦璇, 刘炳梅, 张国庆, 等. 绿色糖单孢菌木质素过氧化物酶的分离纯化及鉴定[J]. 生物技术通报, 2011(8): 198 - 202.

[12] 贺新生, 杨朝惠, 赵春花. 三种白腐菌对木质纤维素降解规律的初步研究[J]. 纤维素科学与技术, 2013, 20(1): 33 - 38.

[13] 荚 荣, 汤必奎, 张晓宾, 等. 藜芦醇和吐温 80 对白腐菌产木质素降解酶的影响及在偶氮染料脱色中的作用[J]. 生物工程学报, 2004, 20(2): 302 - 305.

[14] Ramirez D A, Munoz S V, Atehortua L, et al. Effects of different wavelengths of light on lignin peroxidase production by the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* grown in submerged cultures[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(23): 9213 - 9220.

[15] Li N J, Zeng G M, Huang D L, et al. Oxalate production at different initial Pb^{2+} concentrations and the influence of oxalate during solid-state fermentation of straw with *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(17): 8137 - 8142.

[16] Acharya B K, Mohana S, Jog R, et al. Utilization of anaerobically treated distillery spent wash for production of cellulases under solid-state fermentation[J]. Journal of Environmental Management, 2010, 91(10): 2019 - 2027.

[17] Bailey M J, Biely P, Poutanen K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity[J]. Journal of Biotechnology, 1992, 23(3): 257 - 270.

[18] 阮久莉, 王 勳, 毛 亮, 等. 白腐菌锰过氧化物酶对 2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚的降解[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(1): 20 - 24.