

雲芝品系及培養基對木質素分解、漆酶活性及其於染料廢水脫色處理之應用

周子耀、徐泰浩、林芳儀

E-mail: 387157@mail.dyu.edu.tw

摘要

雲芝 (*Trametes versicolor*) 為一種藥用真菌，也為知名白腐真菌。因在其特殊的胞外木質素降解酵素系統中，含有多種酵素，可降解環境中有機物質，以供菌絲體生長，在過程中所分泌出漆酶(Laccase)、錳過氧化酶(MnP)、木質素過氧化酶(LiP)或木聚醣(Xylanase)等對木質素具有一定的降解能力。台灣本土不同品系雲芝菌在木質素降解能力上有所不同，又因培養環境差異所分系酵素種類、酵素活性有顯著不同，所以本實驗以農產品培養基以及半化合培養基培養台灣本土雲芝菌BCRC35644、BCRC35759、BCRC35682、BCRC35683以及本實驗室篩出雲芝菌LH1等，以液態發酵培養後，比較漆酶活性、錳過氧化酶及木質素等，結果顯示，半化合培養基所產出之漆酶活性分別為23U/mL、35U/mL、61U/mL、76U/mL、37 U/mL，農產品培養基產出漆酶產量分別為81 U/mL、69 U/mL、282 U/mL、188U/mL、342 U/mL。而後挑選出漆酶活性較高之菌株BCRC35682與LH1，並使用苯酚藍瓊脂測試LH1及BCRC35682之錳過氧化酶，顯示出LH1具有對苯酚藍脫色能力，進一步探討LH1菌種以液態培養後錳過氧化酶活性。以農產品培養基所得最高錳過氧化酶活性於第6天有最高活性36.7U/mL，木聚醣也於第6天有最高活性2.5U/ml。脫色試驗中，以工廠染劑經稀釋後加入培養基中培養，探討游離菌絲對衣物染劑之脫色能力，結果顯示游離菌絲對染料之脫色能力可達95%。最後以不同階段之染坊場廢水接入雲芝菌培養，同樣也可將色度降低，顯示出雲芝具有良好的脫色能力。由實驗結果顯示，以農產品培養基培養能使漆酶產量提高約2~10倍，其中又以LH1活性最高，且具有較佳的錳過氧化物酶活性及木聚醣活性，脫色試驗也具有良好成效，未來經由酵素純化後可提高漆酶應用於廢水處理的價值，對環境保護具有極大的意義。

關鍵詞：雲芝、醱酵、漆酶、錳過氧化酶、脫色

目錄

封面內頁 簽名頁 中文摘要 iii 英文摘要 v 誌謝 vii 目錄 viii 圖目錄 x 表目錄 xi 1.前言 1 2.文獻回顧 2 2.1雲芝簡介 2 2.2雲芝液態培養 3 2.3木質素降解酵素系統 3 2.3.1漆酶 3 2.3.1.1漆酶簡介 3 2.3.1.2漆酶特性 4 2.3.1.3漆酶的作用機制 5 2.3.2錳過氧化酶 7 2.3.2.1錳過氧化酶簡介 8 2.3.2.2錳過氧化酶的特性 8 2.3.2.3錳過氧化酶的作用機制 8 2.3.3木質素過氧化酶 11 2.3.4木聚醣 13 2.4工業染料的現況 14 2.5染料廢水的處理 14 3.材料與方法 16 3.1實驗架構流程圖 16 3.2實驗菌株 16 3.3實驗藥品 18 3.4儀器設備 19 3.5實驗材料 20 3.5.1雲芝種菌培養 20 3.5.2菌種保存 20 3.5.3化合培養基製備 21 3.5.4農產品培養基製備 21 3.5.5苯酚藍試驗培養基 22 3.6酵素測定 22 3.6.1粗液製備 22 3.6.2試劑製備 22 3.6.2.1漆酶測定相關試劑 22 3.6.2.2錳過氧化酶相關試劑 24 3.6.2.3木聚醣相關試劑 25 3.6.3測定方法 26 3.6.3.1漆酶活性測定 26 3.6.3.2錳過氧化酶活性測定 26 3.6.3.3木聚醣活性測定 27 3.6.4脫色試驗 29 4.結果與討論 30 4.1不同品系雲芝菌外觀觀察及比較 30 4.2不同品系雲芝菌在半化合培養基培養探討生物質量、胞外多醣、漆酶活性之比較 33 4.3不同品系雲芝菌在農產品培養基培養探討生物質量、胞外多醣、漆酶活性之比較 35 4.4以苯酚藍平板定性MnP、LiP試驗 37 4.5胞外木質素降解系統酵素活性試驗 39 4.6雲芝對工業用染劑之脫色試驗 41 4.7雲芝對染紡廠廢水處理試驗 44 4.8雲芝對染紡廠廢水脫色試驗 51 5.結論 53 參考文獻 54 圖目錄 圖2.1漆酶的結構 5 圖2.2漆酶催化過程 7 圖2.3 MnP的催化過程 10 圖2.4 LiP的催化過程 12 圖4.1不同品系雲芝菌第7天型態 31 圖4.2不同品系雲芝菌絲於光學顯微鏡第7天型態 32 圖4.3不同品系雲芝菌化合培養基代謝產物比較 34 圖4.4不同品系雲芝菌於農產品培養基培養代謝產物比較 36 圖4.5苯胺藍平板脫色試驗 38 圖4.6 LH1於農產品培養基木質素降解酵素活性 40 圖4.7 LH1培養於農產品培養基添加染劑之脫色率 42 圖4.8 LH1處理不同染料全波長掃描 43 圖4.9不同處理階段之染坊場廢水 45 圖4.10 LH1處理不同階段之廢水 46 圖4.11 LH1於染色後廢水培養之生物質量、漆酶活性、錳過氧化酶活性 47 圖4.12 LH1於處理前廢水培養之生物質量、漆酶活性、錳過氧化酶活性 48 圖4.13 LH1於處理後廢水培養之生物質量、漆酶活性、錳過氧化酶活性 49 圖4.14 LH1於不同階段廢水培養之脫色率 52 表目錄 表3.1真菌菌株 17 表3.2檸檬酸-檸檬酸鈉緩衝液配置比例 24 表4.1 LH1培養於不同處理階段之酵素活性 50

參考文獻

1. 尹亮、陳章和、趙樹進。2008。白地黴產漆酶條件優化及對偶氮染料的脫色。華南理工大學學報（自然科學版）。36(12): 85-92。
2. 王伯徹、陳啟楨、華傑。1998。食藥用菇類的培養與應用。財團法人食品工業發展研究所。
3. 王璐。2008。木腐真菌分泌的低分子量物質在木素生物降解中的作用機制。山東大學博士論文。
4. 王紅。2009。論白腐真菌產木質素降解在環境治理中的應用。現代商貿工業。7: 297-299。
5. 王鋒、劉英、汪印、劉春朝、許光文。2012。漆酶及其應用。生物加工過程。10(4): 70-79。
6. 冉麗紅。2003。雲芝菌用

於糖廠有色廢水生物漂白及產生多糖的研究。華南理工大學博士論文。7. 冉艷紅、於淑娟、楊連生、李國基、豐永紅。2003。雲芝菌用於糖廠廢水生物脫色及產生多糖的研究。華南理工大學學報。31(3): 40-44。8. 司靜、崔寶凱、戴玉成。2011。栓孔菌屬漆?高產菌株的初步篩選及其產?條件的優化。北京林業大學微生物學報。38(3)。9. 田玉萍、宋明閣。2011。白腐真菌對不同種類直接染料廢水的脫色性能研究。工業用水與廢水。42(3): 32-37。10. 朱雄偉。2003。優化自固定化和固定化白腐菌產漆?培養條件研究。華中科技大學碩士論文。11. 朱雄偉、劉玉蘭、胡道偉。2007。固定化白腐菌產漆?培養條件的研究。武漢工程大學學報。29(1): 13-16。12. 江凌。2007。白腐菌降解木質素?系的特徵及其應用。化工進展。26(2): 198-205。13. 何孟儒。2010。利用白腐真菌生產漆氧化酵素進行染料脫色之研究。國立臺灣海洋大學碩士論文。14. 邱文娜、王秋穎、蘇明聲、吳麗偉、王秋雯。2009。鮑氏針層孔菌液體發酵過程中菌體形態及其相關生理代謝指標。食用菌學報。16(3):39-42。15. 吳義祥、柯麗霞、吳青、鄧江濤。2011。豆渣對平菇和靈芝發酵產生木質素?系的影響。生物學雜誌。28(4): 47-51。16. 呂聰、曹福祥、董旭傑。2008。錳過氧化物?對結晶紫脫色的研究。中南林業科技大學學報。28(3): 172-176。17. 宋安東、吳坤、黃保、張百良。2005。雜色雲芝產木質纖維素?及對稻草秸稈的降解。中國科學院過程工程研究所。5(4): 414-422。18. 李日強、王愛英、孔令冬。2006。一株纖維素分解菌的分離選育。山西大學學報(自然科學版)。29(3): 317-322。19. 李傑、劉坦、劉敏、荊義。2011。不同細微性對側耳菌處理玉米秸稈?和纖維降解的影響。飼料工業。32(6): 31-34。20. 李彩霞、房桂幹、劉書釵。2001。木聚糖??活的具體測定方法。林產化工通訊。35(1): 20-25。21. 李華、孔新剛、王俊。2007。秸稈飼料中纖維素、半纖維素和木質素的定量分析研究。新疆農業大學學報。30(3): 65-68。22. 李華鐘、張燕芳、華兆哲、陳堅。2002。黃孢原毛平革菌選擇性合成木質素過氧化物?和錳過氧化物?。中國科學院過程工程研究所。2(2): 137-142。23. 李夢傑、王翠玲、張玉金、陳世通、李榮春。2011。裂褶菌液體和固體培養產漆?的比較研究。西南農業學報。24(6): 2311-2316。24. 李澤宏、王均琿。2011。六種菇菌纖維素分解酵素與木聚糖分解酵素活性之分析。高雄區農業改良場研究彙報, 20(1) 25. 杜甫佑。2004。白腐菌木質纖維素降解次序研究。華中科技大學碩士論文。26. 杜東霞。2011。漆?的特性及其在工業中的應用。安徽農業科學。39(4): 1904-1910。27. 汪勇、李富傳、湯海鷗。2009。?活梯度曲線法測定飼料中木聚糖?的含量。北京挑戰生物技術有限公司。28. 周菊英、黃俊、肖海燕、龍勝亞、吳義溫、趙俊。2005。血紅素孔菌漆?的活性研究。武漢理工大學學報。27(4): 23-30。29. 周德明、馮友仁、梁帥。2009。木質素過氧化物?和錳過氧化物?高產菌株的誘變育種。中南林業科技大學學報。29(5): 115-120。30. 周菊英、薑德生、龍勝亞、黃俊、肖海燕。2005。漆?在磁性殼聚糖微球上的固定及其?學性質研究。微生物學報。45(4): 630-633。31. 阮久莉、王猛、毛亮、高士祥。2012。白腐菌錳過氧化物?對2,2,4,4-四溴聯苯醚的降解。環境科學與技術。35(1): 20-25。32. 孟瑤、高大文、梁紅。2012。不同白腐真菌複配對受質碳和氮的利用規律的研究。森林工程。28(4): 12-18。33. 孟慶強、陳凌雲、趙鏡浩。2003。用自由漆?和固定漆?處理2,4-二氯苯酚土壤污染的研究。水土保持科技情報。4: 33-35。34. 孟慶輝、崔艷紅。2009。黃孢原毛平革菌低溫產?條件優化及?學性質研究。中國釀造。9(210): 75-78。35. 季立才、王光輝、胡培植、周穗。1992。漆樹漆?的催化氧化作用— 二價鐵及其衍生物的?氧化。無機化學學報。8(1): 76-77。36. 林俊芳、劉志明、陳曉陽、郭麗瓊、王傑。2009。真菌漆?的?活測定方法評價。生物加工過程期刊。7(4): 1-8。37. 林嘉隆。2006。培養條件對雲芝菌絲體生長及多醣生成之影響。東海大學化學工程研究所碩士論文。38. 河北海、林鹿、孫潤倉、孫勇。2007。木質纖維素化學水解產生可發酵糖研究。化學進展。19(7)(8): 1141-1146。39. 姚朝陽、郭偉雲、牛敬媛、邵強、李宗義。2009。雲芝漆?的生物降解與染料脫色作用研究。安徽農業科學。37(20): 9363-9368。40. 段新源、王蔚、盧雪梅、高培基。2003。多種小分子物質在木素降解中的作用研究進展。生物工程學報。23(1): 52-57。41. 倪明。2004。白腐真菌染料廢水脫色及其包埋技術研究。南京理工大學碩士論文。42. 倪明、周李、李大力、黃西川、安立超。2005。雜色雲芝對2種染料的脫色條件研究。環境汙染治理技術與設備。6(6): 44-47。43. 唐菊、段傳人、黃友瑩。2011。白腐菌木質素降解?及其在木質素降解過程中的相互作用。生物技術通報。10: 32-38。44. 夏文靜。2009。高活力漆?的固體發酵及在染料降解中的應用。南京林業大學碩士論文。45. 孫建華、宇克莉、路福平、杜連祥。2005。絲狀真菌Sr18發酵過程中的形態學研究。天津大學學報。20(4): 1-6。46. 徐建中、胡開輝、孫淑靜、張俊蘭、肖雅敏、林胤煌。2011。不同類型食用菌產木素氧化?系能力比較與分析。江西農業大學學報。33(2): 375-382。47. 秦文娟、余惠生、付時雨。2001。利用漆?降解有機污染物。中國造紙雜誌。20(5): 58-62。48. 秦文娟、余惠生、付時雨。2011。亞熱帶木腐真菌產漆?及其?學性質。中國造紙雜誌。20(5): 152-159。49. 郝魯江。2001。采絨革蓋菌(Trametes versicolor)染料脫色機理的研究。山東大學碩士論文。50. 馬亞敏。2008。雲芝液體深層發酵天冬氨酸蛋白?抑制劑的研究。江南大學碩士論文。51. 高大文、文湘華、周曉燕、曾永剛、錢易。2005。pH值對白腐真菌液體培養基抑制雜菌效果的影響研究。環境科學期刊。26(6): 173-182。52. 高玉千、張利明、世敏、徐淑霞、吳剛。2011。真菌漆?高級結構研究進展。食品與生物技術學報。30(2): 166-173。53. 崔艷紅、韓慶功、常魁珍、魏龍龍、張貝貝、胡志明。2012。木質層孔菌產錳過氧化物?條件的優化及?學性質研究。飼料工業。33(12): 55-60。54. 張如慧。2007。白腐真菌漆氧化酵素之純化與染料褪色能力之探討。私立東吳大學微生物學碩士論文。55. 張淵、王謙、張筱梅、張煥英。2005。白靈側耳木質素?、纖維素?高活性菌株的誘變選育。河北大學學報(自然科學版)。25(6): 654-659。56. 張莉、李志西、賈志寬。2008。白腐菌(Trametes pubescens MB89)漆?的培養與純化。西北農林科技大學。36(7): 196-202。57. 張連慧、楊秀清、葛克山、錢世鈞。2005。變色栓孔菌錳過氧化物?同工?的純化及其性質研究。微生物學報。45(5): 711-715。58. 張樹江。2006。固態發酵產漆?及其應用基礎研究。浙江大學碩士論文。59. 張營。2012。漆?的固定化及其對染料脫色降解的研究。天津工業大學碩士論文。60. 張鵬。2007。以ABTS為受質測定漆?活力的方法。印染助劑。24(1): 43-45。61. 曹明樂、張海波、黃峰、鹹漠。2012。漆?的研究進展。山東林業科技。42(3): 106-128。62. 梁帥、周德明、馮友仁。2008。白腐真菌漆?的研究進展及應用前景。安徽農業科學。36(4): 1317-1322。63. 莫樹平、吳清平、張菊梅、柏建玲。2009。真菌多糖提取液脫色方法的比較研究。現代食品科技。25(12): 1462-1464。64. 郭偉雲。2005。雲芝(Trametes versicolor)1126產漆?條件及漆?同工?性質研究。河南師範大學碩士論文。65. 郭清吉。2008。木聚糖?產生菌的篩選、?學性質及宏基因組文庫的構建與篩選。青島科技大學碩士論文。66. 閔世梁、李培睿、李宗義、李宗偉、秦廣雍。2008。雲芝Trametes versicolor1126所產漆?對靛藍廢水脫色的初步研究。菌物學報。27(2): 309-315。67. 陳兆林、胡大烽、李慧蓉。2008。白腐真菌錳過氧化物?的研究。江蘇工業學院學報 18(1): 14-17。68. 陳沃洪、趙繼倫。2009。雲芝

用於糖蜜廢水脫色處理的研究。現代食品科技。25(5): 487-490。69. 陳俊維。2011。蛋白?生產菌株篩選與酵素純化。大仁科技大學碩士論文。70. 游凱翔。2006。探討白腐真菌之錳離子過氧化酵素於液態和半固態環境下的最適生產條件。東吳大學碩士論文。71. 鈔亞鵬、錢世均。2001。真菌漆?及其應用。生物工程進展。21(5): 23-28。72. 馮曉靜。2008。白腐菌*Coriolus versicolor*漆?及其在制漿造紙廢水深度處理中的應用。山東輕工業學院碩士論文。73. 馮曉靜、謝益民、洪衛。2008。雜色雲芝漆?對造紙廢水脫色的培養條件。紙和造紙。27(5): 65-68。74. 黃茜、黃鳳洪、江木蘭、萬楚筠、劉睿。2008。木質素降解菌的篩選及混合菌發酵降解秸稈的研究。中國生物工程雜誌。28(2): 66-70。75. 黃思齊。2011。發酵產程擴大化及不同培養基對雲芝胞外醣?化學特性之影響。大葉大學碩士論文。76. 黃華山、祁佩時、劉雲芝、丁雷、韓洪彬。2008。複合好氧生物法處理高品質濃度抗生素廢水。哈爾濱商業大學學報(自然科學版)。24(1): 32-35。77. 詹豪強。1998。偶氮染料結構、光穩定性和光化學降解機理研究。華東理工大學精細化工研究所。10(4):415-426。78. 楊兵。2011。裂褶菌F17錳過氧化物?固態發酵的條件優化及其擴大培養。安徽大學碩士論文。79. 楊佳蓉。2012。應用玉米軸芯以靜置培養雲芝*Trametes versicolor* LH1生產木寡糖之探討。大葉大學碩士論文。80. 萬雲洋、杜予民。2007。漆?結構與催化機理。化學通報。70(9) 81. 葛宏華、武贊、肖亞中。2011。漆?空間結構、反應機理及應用。生物工程學報。27(2): 156-163。82. 董旭傑、曹福祥、龍鋒雪。2009。木質層孔菌產錳過氧化物?條件的優化。江西農業學報。21(3): 94-95,111-113。83. 董玲玲。2010。生物被膜型白念珠菌代謝物分析及代謝變化的初步研究。第二軍醫大學碩士論文。84. 雷德柱、龍嘉欣、田長恩。2008。產漆?的草菇菌株的篩選。工業微生物。38(3): 51-57。85. 熊亞紅、高敬忠、鄭堅鵬。2011。提高漆?穩定性的化學修飾方法的研究。化學研究與應用。23(8): 986-992。86. 葉友賢。2010。富氮條件下高產漆?雜色雲芝選育及其產?特性研究。福建農林大學碩士論文。87. 趙敏、朱琳、魏巍。2009。木腐菌氧化?系檢定及漆?產生的研究。菌物學報。28(2): 244-252。88. 趙華、齊剛、代彥。2004。酒糟和秸稈混合發酵生產蛋白飼料的研究。料資源開發與利用。8: 36-38。89. 劉秀美。2010。農業廢棄物生產木質分解酵素之研究。農業生技產業季刊。24: 53-58。90. 劉悅秋、劉克鋒、石愛平、雷增譜、劉采苓、王紅利。2003。生活垃圾堆肥優良菌劑的篩選。農業環境科學學報。22(5): 597-601。91. 潘峰、朱慧傑。2006。白腐真菌產?反應器研究進展。環境污染治理技術與設備。7(8): 12-21。92. 潘進權、劉耘。2002。菌絲結團問題的探討。中國釀造。4(3):33-42。93. 燕紅、張曉甜、劉明。2011。木質素降解菌株產木質素降解?的研究。黑龍江大學自然科學學報28(6): 845-849。94. 蕭英倫、陳清環、藍浩繁、王亞男。2007。固定化白腐菌處理硫酸鹽紙漿漂白廢水之研究。台大實驗林研究報告。21(3): 193-205。95. 戴文魁。2008。白腐菌混合培養產漆?及其機制和脫色效果研究。山東大學碩士論文。96. 謝君、孫迅、任路、張義正。2001。粗毛栓菌產生木質纖維素?及其降解植物生物質的研究。高技術通訊。11(8): 11-17。97. 賈逸昕。2005。白腐真菌漆氧化酵素最佳條件探討。私立東吳大學碩士論文。98. 魏志艷、楊小兵。2009。雲杉木屑培養食用菌的研究。中國食用菌。28(4): 23-25。99. Archibald, F.S. 1992. A new assay for lignin-type peroxidases employing the dye azure b. Applied and environmental microbiology. 58(9): 3110-3116. 100. Adalakun, O. E., Kudanga, T., Parker, A., Green, I. R., le Roes-Hill, M. and Burton, S. G. 2012. Laccase-catalyzed dimerization of ferulic acid amplifies antioxidant activity. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 74(1-2): 29-35. 101. Amid, A., Ismail, N. A., Yusof, F. and Salleh, H. M. 2011. Expression, purification, and characterization of a recombinant stem bromelain from Ananas comosus. Process Biochemistry, 46(12): 2232-2239. 102. Ana Robles, R. L., Magdalena Mart??nez-Ca?amero, Nabil Ben Omar, Rub?n P?rez, Antonio G?lvez. 2002. Characterisation of laccase activity produced by the hyphomycete, Enzyme and Microbial Technology. 31: 516-522. 103. Bonugli-santos, R. C., Durrant, L. R. and Sette, L. D. 2010. Laccase activity and putative laccase genes in marine-derived basidiomycetes. Fungal Biol. 114(10): 863-872. 104. Borr?s, E., Llorens-Blanch, G., Rodr?guez-Rodr?guez, C. E., Sarr?, M. and Caminal, G. 2011. Soil colonization by *Trametes versicolor* grown on lignocellulosic materials: Substrate selection and naproxen degradation, International Biodeterioration & Biodegradation. 65(6): 846-852. 105. Crist?v?o, R. O., Tavares, A. P. M., Br?gida, A. I., Loureiro, J. M., Boaventura, R. A. R., Macedo, E. A. and Coelho, M. A. Z. 2011. Immobilization of commercial laccase onto green coconut fiber by adsorption and its application for reactive textile dyes degradation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 72(12): 6-12. 106. Dhillon, G. S., Kaur, S. and Brar, S. K. 2012. In-vitro decolorization of recalcitrant dyes through an ecofriendly approach using laccase from *Trametes versicolor* grown on brewer's spent grain. International Biodeterioration & Biodegradation. 72: 67-75. 107. Fernando Bautista, L., Morales, G. and Sanz, R. 2010. Immobilization strategies for laccase from *Trametes versicolor* on mesostructured silica materials and the application to the degradation of naphthalene, Bioresour Technol. 101(22): 8541-8548. 108. Forde, J., Tully, E., Vakurov, A., Gibson, T. D., Millner, P. and F?g?in, C. 2010. Chemical modification and immobilisation of laccase from *Trametes hirsuta* and from *Myceliophthora thermophila*, Enzyme and Microbial Technology. 46(6): 430-437. 109. Grassi, E., Scodeller, P., Filie, N., Carballo, R. and Levin, L. 2011. Potential of *Trametes trogii* culture fluids and its purified laccase for the decolorization of different types of recalcitrant dyes without the addition of redox mediators, International Biodeterioration & Biodegradation. 65(4): 635-643. 110. Hofrichter, M. 2002. Review lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). Enzyme and Microbial Technology. 30: 454-466. 111. J. Phetsom, S. K., P. Suwannawong and R. Sarnthima. 2009. Copper-alginate encapsulation of crude laccase from *Lentinus polychrous* lev. and their effectiveness in synthetic dyes decolorizations. Journal of Biological Sciences, 9(6): 573-583. 112. Jaszek, M., Grzywnowicz, K., Malarczyk, E. and Leonowicz, A. 2006. Enhanced extracellular laccase activity as a part of the response system of white rot fungi: *Trametes versicolor* and *Abortiporus biennis* to paraquat-caused oxidative stress conditions. Pesticide Biochemistry and Physiology, 85(3): 147-154. 113. Jiang, D.S., Long, S.-Y., Huang, J., Xiao, H.Y. and Zhou, J.Y. 2005. Immobilization of *Pycnoporus sanguineus* laccase on magnetic chitosan microspheres, Biochemical Engineering Journal, 25(1): 15-23. 114. Laura L., Eliana M., Araceli M. R. 2010. Effect of nitrogen source and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. dye decolorization by selected culture filtrates. Bioresource technology. 101:4554-4563. 115. Martin Hofrichter. 2002. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). Enzyme and microbial technology. 30: 454-466. 116. Pla?kov?, M., Svobodov?, K. and Cajthaml, T. 2012. Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *Trametes versicolor*. International Biodeterioration

& Biodegradation. 71: 22-28. 117. Ranao, L., Lorenzo, M., Molares, J., Rodríguez-Coto, S. and Sanromán, M. J. 2003. Production of laccase by *Trametes versicolor* in an airlift fermentor. *Process Biochemistry*, 39(4): 467-473. 118. Riva, S. 2006. Laccases: blue enzymes for green chemistry, *Trends biotechnol.* 24(5): 219-226. 119. Rodríguez E, P. M., Vázquez-Duhalt R. 1999. Industrial Dye Decolorization by Laccases from Ligninolytic Fungi, *Curr Microbiol.* 38(1): 27-32. 120. Sergio R. 2006. Laccase: blue enzyme for green chemistry. *Trends in Biotechnology.* 24(5):219-226. 121. Soest, V. 1991. Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 74: 3583-3597. 122. Trevor M. D. S., Boominathan K. and Adinarayana, C. R. 1996. Isolation of Laccase Gene-Specific Sequences from White Rot, *Appl. Environ. Microbiol.* 62(10): 3739-3745. 123. Trevor M. D. S., Carlos S. M. AND C. Adinarayana, C. R. 1999. Lignin-Modifying Enzymes of the White Rot Basidiomycete. *Applied and environmental microbiology.* 65(12): 5307-5313. 124. Ujor, V. C., Monti, M., Peiris, D. G., Clements, M. O. and Hedger, J. N. 2012. The mycelial response of the white-rot fungus, *Schizophyllum commune* to the biocontrol agent, *Trichoderma viride*. *Fungal Biol.* 116(2):332-341. 125. Vite-Vallejo, O., Palomares, L. A., Dantón-González, E., Ayala-Castro, H. G., Martínez-Anaya, C., Valderrama, B. and Folch-Mallol, J. 2009. The role of N-glycosylation on the enzymatic activity of a *Pycnoporus sanguineus* laccase, *Enzyme and Microbial Technology.* 45(3): 233-239. 124. Yang, Y., Ma, F., Yu, H., Fan, F., Wan, X., Zhang, X. and Jiang, M. 2011. Characterization of a laccase gene from the white-rot fungi *Trametes* sp. 5930 isolated from Shennongjia Nature Reserve in China and studying on the capability of decolorization of different synthetic dyes, *Biochemical Engineering Journal*, 57: 13-22. 125. Xiangkang Z., Yujie C., Xiangru L., Xianglong Z., Wenxiu L., Dabing Z., Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strain cultivated on solid agro-industrial residue. 2010. *Journal of hazardous materials.* 187:517-525. 126. Zeng, X., Cai, Y., Liao, X., Zeng, X., Li, W. and Zhang, D. 2011. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strain cultivated on solid agro-industrial residue. *J Hazard Mater*, 187(1)3: 517-525. 127. Zhang, G.-Q., Tian, T., Liu, Y.-P., Wang, H.-X. and Chen, Q.-J. 2011. A laccase with anti-proliferative activity against tumor cells from a white root fungus *Abortiporus biennis*, *Process Biochemistry.* 46(12): 2336-2340.