

高效除臭菌的分离筛选及 Biolog 鉴定

窦建军¹, 徐芯渝^{2*}

(1. 重庆沐联环境工程有限公司, 重庆 400000; 2. 重庆大学城市建设与环境工程学院, 重庆 400045)

摘要 [目的]对高效除臭菌进行分离筛选及 Biolog 鉴定。[方法]以养猪场的猪粪便和生物滴滤器中的生物膜为样本, 经过分离纯化, 得到 3 株具有除臭作用的菌株, 命名为 DR、DJ、DS, 分别对 DR、DJ 和 DS 进行 16S rRNA 和 26S rRNA 菌种鉴定和 Biolog 鉴定。[结果] DR、DJ 和 DS 在 48 h 可以使臭源的恶臭强度从 4.0 级降低至 2.5 级左右。经 16S rRNA 菌种鉴定, DR、DJ 和 DS 分别为副干酪乳杆菌、啤酒酵母菌和梭形杆菌, 均为革兰氏阳性菌; 在 Biolog 鉴定试验中, DR、DJ 和 DS 不仅能够代谢 20 多种糖类及其衍生物, 产生乙醇、乳酸、醋酸等物质, 而且还能够代谢 10 多种氨基酸及其衍生物, 尤其是腐胺这种低嗅阈值的恶臭物质。[结论] DR、DJ 和 DS 是高效除臭菌, 对于有机质恶臭污染的控制有一定的作用。

关键词 除臭菌; 分离筛选; 16S rRNA; 26S rRNA; Biolog

中图分类号 X 172 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)32-0066-05

Isolation and Screening of High-efficiency Deodorizing Bacteria and Identification of Biolog

DOU Jian-jun¹, XU Xin-yu² (1. Chongqing Muli Environmental Protection Engineering Co., Ltd., Chongqing 400000; 2. Faculty of Urban Construction and Environment Engineering, Chongqing University, Chongqing 400045)

Abstract [Objective] The aim was to isolate and screen high-efficiency deodorant bacteria and perform Biolog identification. [Method] Using the pig manure from the pig farm and the biofilm in the biological drip filter as samples, three strains with deodorization were obtained by separation and purification, named DR, DJ, DS, 16S rRNA and 26S rRNA species identification and Biolog identification were performed on DR, DJ and DS, respectively. [Result] DR, DJ and DS can reduce the malodor intensity of the stinky source from 4.0 to 2.5 at 48 h. According to 16S rRNA strain identification, DR, DJ and DS were respectively *Lactobacillus paracasei*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Lysinibacillus sphaericus*, which were Gram-positive bacteria; in the Biolog identification test, DR, DJ and DS could not only metabolize more than 20 kinds of sugars and their derivatives, but also produced ethanol, lactic acid, acetic acid, etc., and also metabolized more than 10 amino acids and their derivatives, especially the odorous substance of the low odor threshold of putrescine. [Conclusion] DR, DJ and DS are high-efficiency deodorizing bacteria, which have a certain effect on the control of organic odor pollution.

Key words Deodorizing bacteria; Isolation and screening; 16S rRNA; 26S rRNA; Biolog

恶臭污染属于大气污染, 是由于刺激嗅觉器官而引起的心理不愉快, 严重时会影响生活环境。由于恶臭污染是以人的嗅觉感知为判断标准, 因此区别于其他类型的污染。已知的恶臭气体中, 易对生命造成伤害的有几十种, 危害较大的如二甲基二硫、三甲胺、硫酚类化合物、硫醇类化合物甲胺、和苯乙烯等, 而最常见的就是氨气和硫化氢^[1]。

目前国内外已发现的除臭菌包括赖氨酸芽孢杆菌 (*Lysinibacillus sphaericus*)、东方伊萨酵母 (*Issatchenkia orientalis*)、异常威克汉姆酵母 (*Wickerhamomyces anomalus*)、植物乳酸菌 (*Lactobacillus plantatum*)、嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 等^[2-4]。笔者从养猪场的猪粪便和生物滴滤器中的生物膜中取样, 经过分离纯化, 得到 3 株具有除臭作用的菌株, 命名为 DR、DJ、DS, 通过对菌株的培养及脱硫脱氮性能的研究, 并经过 16S rRNA 和 26S rRNA 的菌种鉴定, 为其将来运用于垃圾场、养殖场及污水处理场提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 菌种。养猪场中新鲜及经过堆肥和腐熟的猪粪便, 运行良好的生物滴滤器中生物膜。

1.1.2 仪器。电热恒温培养箱-HPX-9272MBE(上海博讯公司); QYC-200 小型恒温摇床(上海福玛公司); 数显控温水浴锅-GKC112(上海浦东新区电测仪器厂); TProfessional 196

全自动 PCR 扩增仪(德国 Biometra 公司); DYY-6C 型琼脂糖凝胶电泳仪(北京市六一仪器厂); 凝胶成像系统(UVP)(BioSpectrum AC+Gel Camera 美国 UVP 公司); BA200 显微镜(MOTIC, 麦克奥迪); Biolog 微生物自动鉴定仪-MicroStation(美国 BIOLOG 公司); LXJ-IIB 型低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂); 高速离心机-HC-2518(安徽中科中佳科学仪器有限公司); Starter 3100 pH 计(奥豪斯仪器(上海)有限公司); 生化培养箱-SPX 智能型(上海予腾生物科技有限公司); 电热恒温培养箱-JC303(上海成顺仪器仪表有限公司); 752 紫外可见分光光度计(上海右一仪器有限公司)。

1.1.3 试剂。氯化钠、硫酸镁等均为国产分析纯, 蛋白胨、牛肉膏等为生物试剂。

1.2 方法

1.2.1 培养基。

1.2.1.1 菌种富集培养基。牛肉膏蛋白胨培养基: 蛋白胨 10 g、牛肉膏 5 g、氯化钠 5 g、水 1 000 mL, pH 7.2, 121 °C 灭菌 20 min。

1.2.1.2 菌种筛选培养基。

(1) 除臭菌株筛选培养基。孟加拉红培养基 3.5%、酵母膏 0.1%、蛋白胨 1.5%、葡萄糖 1.0%、琼脂 1.8%、pH 6.0, 121 °C 灭菌 20 min, 葡萄糖单独进行灭菌。

(2) 除氮菌株筛选培养基。蛋白胨 1.0%、牛肉粉 0.5%、酵母粉 0.5%、葡萄糖 2.0%、吐温 80 0.1%、磷酸氢二钾 0.2%、乙酸钠 0.5%、柠檬酸三钠 0.2%、硫酸镁 0.02%、硫酸锰 0.005%、碳酸钙 1.0%, pH 6.3~6.8, 121 °C 灭菌 20 min。

作者简介 窦建军(1982—), 男, 山西寿阳人, 高级工程师, 博士, 从事环境微生物及微生物生态研究。* 通讯作者, 硕士研究生, 研究方向: 水污染控制。

收稿日期 2018-07-04; **修回日期** 2018-07-12

(3) 除氮菌株筛选培养基。大豆胨 0.5%、蛋白胨 0.025%、酪蛋白胨 0.03%、酵母浸粉 0.3%、牛肉粉 0.5%、乳糖 0.6%、抗坏血酸 0.05%、 β -甘油磷酸钠 2%、硫酸镁 0.025%、琼脂 2%、pH 7.0~7.4, 121 °C 灭菌 20 min。

(4) 除硫菌株筛选培养基。氯化铵 0.2%、磷酸氢二钾 0.05%、氯化镁 0.02%、碳酸氢钠 0.5%、氯化钠 0.5%、九水硫化钠 0.06%、柠檬酸钠 1.5%, pH 7.2, 121 °C 灭菌 20 min。

1.2.2 菌种的分离和纯化。将养猪场的粪便以采集的生物膜分别置于锥形瓶中,加入 100 mL 纯水进行稀释,取 20 mL 加入 200 mL 牛肉膏蛋白胨液体培养基当中,分为两组进行培养,A 组在 35 °C、120 r/min 的摇床中恒温培养,B 组放置于 35 °C 恒温厌氧缸中静置进行厌氧培养,富集 10 d。

将两组发酵液进行梯度稀释,用平板涂布法接种在筛选培养基平板上,放置在 35 °C 培养箱中,A 组直接进行培养,B 组继续进行厌氧培养,挑取平板上长出的单菌落用划线法反复进行纯化,直到得到单一的菌株。

将筛选到的菌株进行液体培养,培养 2~3 d 以后将培养液喷洒在粪便上,间隔 6 h 用嗅辨法测定粪便的恶臭强度。臭味强度指人们通过嗅觉感觉到的气味的强弱程度,0 级为无气味;1 级为能稍微感觉到极微弱的臭味;2 级为能勉强辨别出臭味的品质;3 级可明显感觉到有臭味;4 级为较强的气味;5 级为让人无法忍受的强烈臭味。当臭味强度超过 3 级时,即可认为大气已受到恶臭污染。具体方法为:由 3 名嗅辨员测定恶臭强度,取其平均值。选择具有除臭效果的菌株用甘油保种方法,置于 4 °C 的冰箱中进行菌种保藏^[5]。

1.2.3 菌种的形态特征观察。

1.2.3.1 菌落形态观察。观察平板中固体培养基上的菌落,描述其大小、颜色、形状等。

1.2.3.2 革兰氏染色观察。用接种环挑取待测固体培养基上经过筛选后纯化的菌落,在滴过纯水的载玻片上涂匀成薄膜状,使载玻片通过酒精灯火焰,加热并将细菌固定。然后对其进行革兰氏染色:①加草酸铵结晶紫 1 滴,约 1 min,水轻轻冲洗;②媒染:滴加卢戈氏碘液冲去残水,并覆盖约 1 min,水轻轻冲洗;③用 95% 乙醇滴洗涂片,直至流出乙醇不出现紫色为止,脱色约 20 s,立即用水冲净乙醇;④用番红染液复染 1 min,水轻轻冲洗。在光学显微镜下对染色后的菌体形态 100 倍放大进行观察记录。

1.2.4 菌种的 rRNA 序列分析。在 PCR 管中添加 4 μ L 无菌超纯水,然后用无菌的枪头挑取单菌落在其中洗脱作为 PCR 模板,上下引物均选取细菌通用引物,①上游引物(27F):5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',下游引物(1492R):5'-TACGGYTACCTGTTACGACTT-3';②上游引物(F341):5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'和下游引物(R518):5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3';③上游引物(NL1):5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3',下游引物(LS2):5'-GGTC-CGTGTTTCAAGACGG-3'^[6-7]。

建立 PCR 的反应体系 50 μ L:模板 4 μ L、Master Mix 25 μ L、27F (10 μ mol/L) 2 μ L、1492R (10 μ mol/L) 2 μ L、

ddH₂O 补足至 50 μ L。反应条件:95 °C 预反应 5 min;94 °C 变性 1 min,56 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1.5 min,反应循环 35 次;72 °C 延伸 10 min;18 °C 保温 60 min。

反应完成,用琼脂糖凝胶电泳检验 PCR 产物纯度以及大小:预先制备的 1% 的琼脂糖凝胶,内含核酸染料,PCR 反应完成后,取 4 μ L 的 PCR 扩增产物点样于琼脂糖凝胶点样孔中,在 1 \times TAE 的电泳液中进行电泳,电压 100 V。使用凝胶成像系统,在紫外灯下观察,检测合格后,-20 °C 冰箱保存备用。

将 PCR 产物委托金瑞斯生物科技有限公司进行测序,并将测序结果中 Blast 板块与 Genbank 数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov)中已有细菌的 16S rRNA 序列进行相似性比对。

1.3 菌种的 Biolog 鉴定分析 Biolog 系统说明如表 1 所示^[8]。Biolog 技术的操作顺序如表 2 所示。根据之前的 rRNA 序列分析,判断菌种类型,试验程序按 Biolog 公司的操作指南,菌株 DR 使用 Biolog GEN III Plate, DJ 和 DS 使用 Biolog EcoPlate 进行,所有菌株在 Biolog 推荐的培养基(BUG + B)上在 30 °C 恒温培养箱中培养 36 h^[9]。用木制接种棒挑取外半部分的单菌落,在试管内壁旋转几圈,将菌落转移至试管内壁,将其接种在 GN/GP-IF 接种液中,进行搅动,使菌落分散均匀,制成悬浊液。

表 1 Biolog 系统组成与说明

Table 1 Composition and description of Biolog system

序号 No.	系统组成 System composition	说明 Description
1	Biolog 微 平板	共 96 小孔,每个孔中有微量四唑盐 TTC 和生长用营养盐,其中 Eco Plate 有一个不含碳源的对照孔,GEN III Plate 有 2 个对照孔
2	读数器	读取每个小孔在 590 和 750 nm 的波长下的吸光度
3	微机系统	与读数器相连,自动采集数据并与数据库比对,分析判断出与试验结果最接近的微生物种类

表 2 Biolog 方法操作主要流程

Table 2 Main flows of Biolog method operation

序号 No.	步骤 Step	说明 Description
1	选择微平板	针对菌种的不同特性和研究目的选择不同的鉴定平板
2	制备样品	提取微生物制成标准的菌悬液
3	添加样品	取等量体积菌悬液加入小孔(一般 100~150 μ L/孔)
4	培养与检测	在一定条件下培养,记录每个小孔吸光度值及其变化

测定时使用 Biolog 系统读数器读数,待鉴定结果出现时保存数据,并分析 Biolog Plate 在 590 nm 波长下的光密度值 OD^[10]。

2 结果与分析

2.1 菌种的分离和纯化 从养猪场粪便以及生物膜中分离得到 3 株具有除臭作用的菌株,命名为 DR、DJ 和 DS,其中,DR 分离自生物膜中,在厌氧环境下生长;菌株 DS 和 DJ 来自猪粪, DJ 在厌氧环境下生长,DS 则能同时在有氧和缺氧条件下生长。菌株 DR、DJ 和 DS 对恶臭强度的缓解能力见表 3。

从表3可以看出,所得到的3株菌株对恶臭均有着较好的控制能力,在48 h内,恶臭强度能从4级降至2.2~2.5级。

表3 48 h内各菌株的恶臭强度变化情况

Table 3 Changes of malodor intensity of each strain within 48 h

菌株 Strain	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
空白对照 Blank control	4.0	4.0	3.5	3.0	3.0
DR	4.0	3.5	3.0	2.5	2.2
DJ	4.0	3.0	3.0	2.5	2.2
DS	4.0	3.8	3.0	2.5	2.5

2.2 菌种的形态特征 DR、DJ和DS对应的菌落形态以及经过革兰氏染色后的显微镜观察结果如图1和表4所示。

2.3 菌种的 rRNA 序列分析 对DR、DJ和DS的PCR扩增产物用电泳凝胶成像系统进行检查,如图2所示,DS和DJ在1 500 bp处的明亮条带,DR在500 bp处的明亮条带,其扩增结果良好,符合微生物 rRNA 测序的要求。

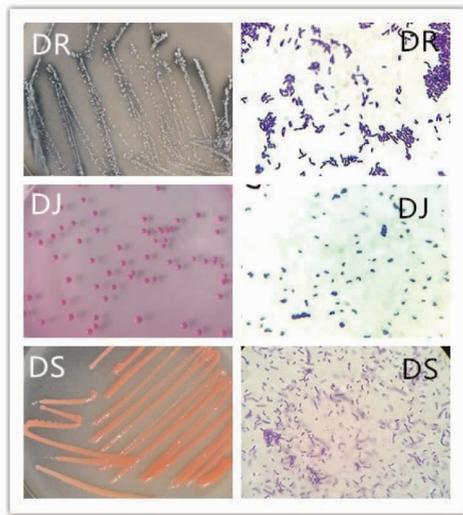


图1 菌落形态及显微镜观察

Fig.1 Colony morphology and microscopy

表4 菌株特征记录

Table 4 Strain characteristic record

菌株编号 Strain number	菌落特征 Strain characteristic						革兰氏染色 Gram stain
	颜色 Colour	边缘 Edge	表面 Surface	大小 Size	透明度 Transparency	形状 Shape	
DR	白色	规则,光滑	湿润	小	不透明	杆状	阳性
DJ	玫红色	规则,光滑	湿润	中	不透明	球状	阳性
DS	橙色	规则,光滑	湿润	小	不透明	短杆状	阳性

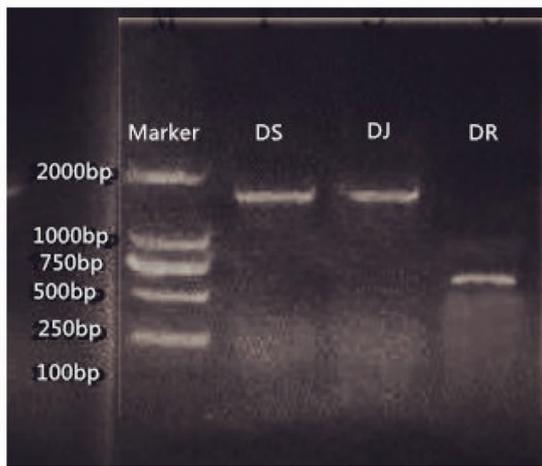


图2 PCR产物的琼脂糖凝胶电泳图

Fig.2 PCR product agarose gel electrophoresis

3株待测菌经金瑞斯生物科技有限公司的菌种测序鉴定,得到了3株菌种的片段基因序列。将测序结果提交至Genbank中的Blast板块,在基因数据库中进行相似性比对,其结果见表5。测序结果显示,3种菌株分别为副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)和梭形杆菌(*Lysinibacillus sphaericus*)。

2.4 生长曲线的测定及 pH 变化 根据测得的 OD_{600} 的吸光度和pH,以时间(h)为横坐标,绘制了菌株DR的生长曲线,并描述了在生长过程中DR的pH变化(图3)。菌株DR在初始12 h处于生长延缓期,生长速率较缓慢;12~22 h进入

对数生长期,22~32 h为其生长稳定期,在培养过程中pH不断下降至3.56,在厌氧培养过程中,在厌氧呼吸的作用下产生大量乳酸改变了培养液的pH。菌株DJ的生长较迅速,在经历了4 h的生长延缓期后就迅速进入了对数生长期,10 h后进入生长稳定期;在培养过程中pH在5~7浮动,略有增加的趋势;DJ的生长曲线符合一般细菌的生长规律;菌株DJ的稳定期较长,便于批量培养。菌株DS的生长较快,生长延缓期只有短暂的2 h,紧接着就开始了的对数生长期直到14 h,14~22 h为生长稳定期;在培养过程中pH在9.35上下浮动,先下降后升高;由于菌株DS的衰亡非常缓慢,便于批量培养,因此选取培养48 h的培养物进行后续试验。

表5 各菌株序列比对结果

Table 5 Sequence comparison of each strain

菌株 Strain	序列号 Serial number	种属 Species	同源性 Homology %	G+/G-
DR	CP016355.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> sp.	100	G+
DJ	KY102419.1	<i>Candida succiphila</i>	100	G+
DS	MF967404.1	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> strain	100	G+

2.5 菌种的 Biolog 鉴定分析 3株除臭菌株在Biolog ECO和GENIII鉴定板上的显色反应如图4所示。以A₁孔为对照,定义为阴性反应,记录GenIII鉴定板1~9列共71种碳源,分析它们的利用情况。从显色反应的结果来看,与A₁孔类似的反应标记为“阴性”反应(-),看起来偏紫色(深于

A₁₀) 的标记为“阳性”反应(+)。有时, Biolog 的平板总微孔中的色反应不明显的则标记为中性(\)。以 GenIII 鉴定板的 A₁₀孔为对照, 10~12 列所检测的是化学敏感性, 孔内吸光值

不到 A₁₀孔的一半, 定为“阴性”反应(-), 孔内吸光值超过 A₁₀孔一半的反应被定为“阳性”反应(+)

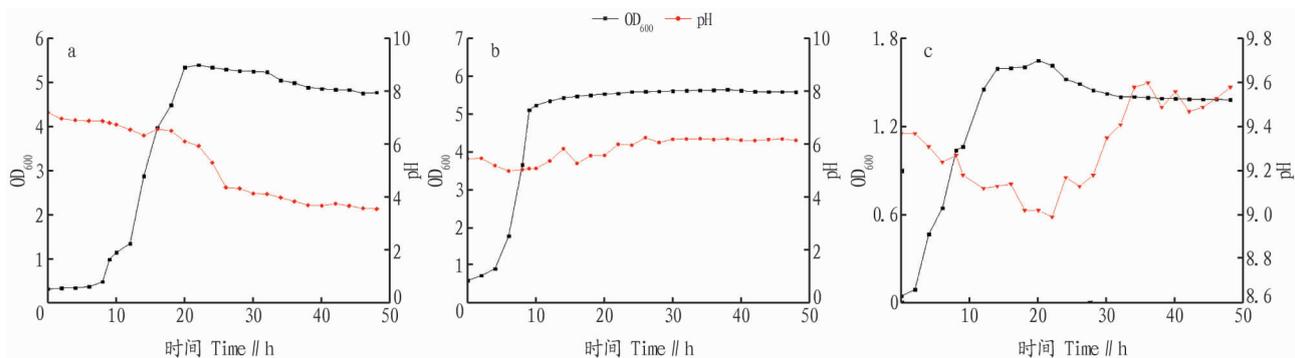


图3 DR(a)、DJ(b)和DS(c)生长曲线及pH变化

Fig.3 DR(a), DJ(b) and DS(c) growth curves and pH changes

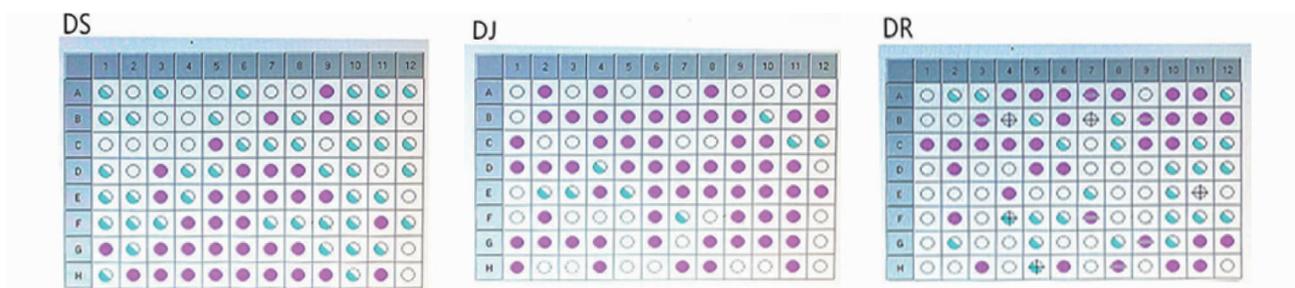


图4 各菌株的显色反应

Fig.4 Color reaction of each strain

从图4可看出, 3株细菌的阳性反应均很明显, 对鉴定板中碳源的利用情况不完全相同(显色反应上存在一些差异)。Biolog Eco 鉴定板含有31种不同的碳源, 每一种碳源重复3组。通过分析菌株对几种典型的碳源底物在不同生长阶段的代谢情况, 来描述各菌株之间对于不同碳源的利用差异。鉴定板中的碳源底物根据其官能团和代谢途径的不同可分为6类: 糖类及其衍生物、羧酸、氨基酸、多聚物、酚酸类和胺类。Biolog Eco 鉴定板反应一般采用每孔颜色平均变化率(AWCD)^[8]来描述, 表征微生物利用碳源的整体能力以及微生物的代谢活性。

菌株DR的碳源利用情况如图5, 在培养初始阶段, 利用率最高的是D-海藻糖和D-果糖, 且DR对于这2种碳源的高利用效率始终持续到碳源消耗殆尽。初始阶段对于L-乳酸和 α -羟基-丁酸也有利用, 但是略低于D-海藻糖和D-果糖, 可见以上4种碳源都是DR最容易利用的碳源, 同时消耗速度也非常快。在24h时, 肌苷、甘油和N-乙酰神经氨酸也能得到利用, 其中肌苷的利用能力最好, 相对维持的时间也最长。最滞后的是乙酸, 在48h后才开始得到充分利用。

利用能力最高的9种碳源底物中, 4种是糖类, 4种是羧酸, 1种是脂类^[11]。最终的消耗结果分别为甘油>乙酸>肌苷>N-乙酰神经氨酸> α -羟基-丁酸>蜜二糖>D-果糖>L-乳酸>D-海藻糖。

除此之外, 菌株DR对包括葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、半乳糖、甘露糖、水杨苷、龙胆二糖等在内的10种糖类都有一定

的利用能力, 在代谢过程中产生乙醇、乳酸、醋酸等产物, 同时, 对组胺、N-乙酰-D-半乳糖胺等多种氨基酸及其衍生物有降解作用, 也说明菌株DR对氨基酸类物质的利用能力远不及糖类物质。

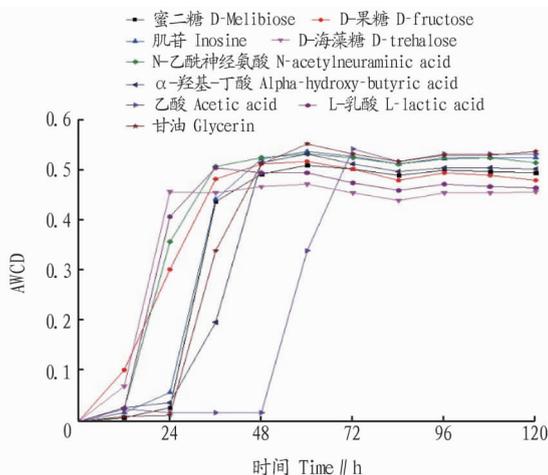


图5 菌株DR的碳源利用随时间变化

Fig.5 Change of carbon source utilization of strain DR with time

菌株DJ的碳源利用情况如图6, 事实上DJ对多种碳源都能很好的利用, 因此在碳源消耗上较均匀持久, 在此仅选取了其中最为显著的一部分。菌株DJ的适应期较长, 在24h后出现明显的变色反应, 其中最容易被利用的L-赤藻糖

醇,其利用效率缓慢稳定持久,一直持续到中后期;48 h时,D-纤维二糖的利用效率明显提升,且稳定增长,持续代谢;在72 h时,L-天冬酰胺酸的吸光度增长率迅速升高。D-苹果酸直到84 h才开始进行剧烈的代谢反应。而D-葡萄糖胺在DJ生长的整个过程都是持续稳定的碳源,其吸光度稳定增长。菌株DJ作为一种酵母菌它还能将腐胺(丁二胺)这种阈值极低的恶臭物质进行代谢。

6种碳源底物^[12]中,2种属于糖类及其衍生物,3种是羧酸,1种属于氨基酸底物及其衍生物,最终的AWCD值分别为L-天冬酰胺酸>D-葡萄糖胺>D-苹果酸>I-赤藻糖醇>D-纤维二糖>N-乙酰-D-葡萄糖胺。

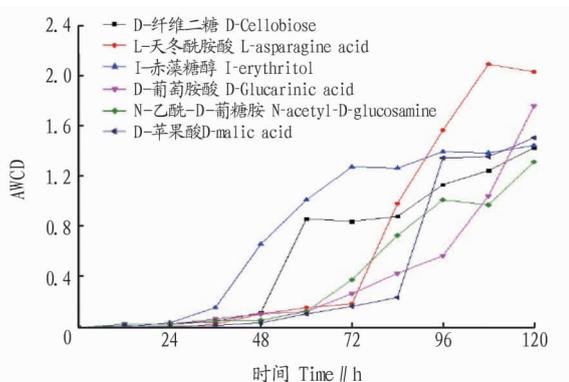


图6 菌株DJ的碳源利用随时间变化

Fig.6 Change of carbon source utilization of strain DJ with time

菌株DS碳源利用情况如图7,生长初期利用的主要碳源是D-甘露醇、吐温80和L-天冬酰胺酸。在36~48 h,利用效率较高,而从48 h开始,D-木糖、D-纤维二糖、吐温40、苯乙基胺和甘氨酸-L-谷氨酸都开始得到利用,效率平缓稳定。

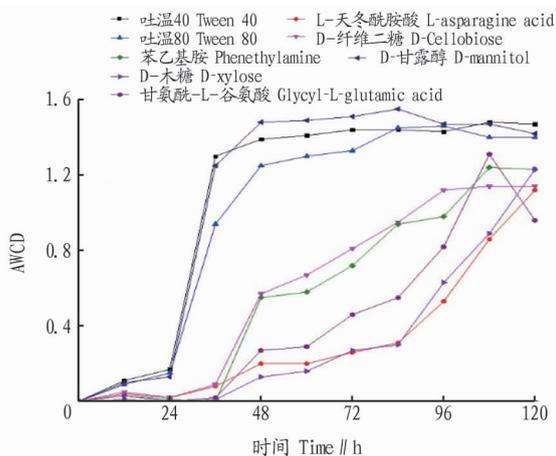


图7 菌株DS的碳源利用随时间变化

Fig.7 Change of carbon source utilization of strain DS with time

8种碳源底物中,3种属于糖类及其衍生物,2种多聚物,2种属于氨基酸底物及其衍生物,1种属于胺类,最终的

AWCD值分别为吐温40>L-天冬酰胺酸>吐温80>D-纤维二糖>苯乙基胺>D-甘露醇>D-木糖>甘氨酸-L-谷氨酸。

另外,菌株DS属于梭形杆菌,能够很好地利用 β -甲基D-葡萄糖苷、葡萄糖-1-磷酸盐、D-半乳糖醛酸、 α -D-乳糖这4种糖类物质,同时,对N-乙酰基-D-葡萄糖胺、L-苯基丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、腐胺和N-乙酰基-D-葡萄糖胺等氨基酸类物质有较好的代谢能力。

3 结论

从臭源猪粪便等筛选获得了能够高效去除氨气和硫化氢等恶臭物质的3种菌株DR、DJ和DS,对其进行形态观察、分子生物学鉴定以及生长曲线测定,3种菌种分别为副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei* sp.)、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)和梭形杆菌(*Lysinibacillus sphaericus*)。经过Biolog的鉴定分析,DR、DJ、DS不仅对20多种糖类及其衍生物类型的碳源具有良好的利用能力,并在培养过程中产生乙醇、乳酸、醋酸等物质,而且对10多种氨基酸及其衍生物类型的碳源有良好的代谢能力,尤其是腐胺这种低阈值的恶臭物质,这对于有机质恶臭污染的控制有一定作用。

基于已经得到的高效除臭菌株,可以通过物理、化学等多种诱变方法使其基因突变,得到更加高效、广谱的菌株,获得更高降解效率,并深入研究除臭菌株的大罐发酵的技术;寻找菌株之间的最佳组合和最佳除臭效率,以期能更好地应用于实际的工业化生产中。

参考文献

- [1] BARBUSINSKI K, KALEMBA K, KASPERCZYK D, et al. Biological methods for odor treatment: A review[J]. Journal of cleaner production, 2017, 152: 223-241.
- [2] 马肖卫, 李国建. 生物法净化H₂S气体的研究[J]. 环境工程, 1994(2): 18-21.
- [3] 唐微微, 张殊, 李树伟, 等. 两株酵母菌的筛选及其除臭性能[J]. 安全与环境学报, 2013, 13(2): 26-30.
- [4] 邱艳君, 龙炳清, 闫志英, 等. 两株乳酸菌的分离及其除臭性能[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(3): 511-514.
- [5] 田雅楠, 王红旗. Biolog法在环境微生物功能多样性研究中的应用[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(3): 50-57.
- [6] 谭兆赞, 刘可星, 廖宗文. 土壤微生物 BIOLOG 分析中特征碳源的判别[J]. 华南农业大学学报, 2006, 27(4): 10-13.
- [7] 钟以蓉. 铬污染土壤微生物多样性分析及Cr(VI)还原细菌特性研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2012.
- [8] 张燕燕, 曲来叶, 陈利顶. Biolog EcoPlate™ 实验信息提取方法改进[J]. 微生物学通报, 2009, 36(7): 1083-1091.
- [9] 张将. 应急性溶藻菌剂生产技术及其溶藻效应研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2011.
- [10] HAACK S K, GARCHOW H, KLUG M J, et al. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns[J]. Applied & environmental microbiology, 1995, 61(4): 1458-1468.
- [11] 李亚君, 姚萍, 王春侠, 等. 反复冻融法破碎基因工程受体细胞的研究[J]. 生物技术世界, 2013(4): 1.
- [12] CHOI K H, DOBBS F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. J Microbiol Methods, 1999, 36(3): 203-213.

本刊提示 文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年—),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。