餐厨垃圾原位处理菌株的筛选和鉴定

乔长晟[1,2]，宋可[1]，张娟琨[1]，徐红宏[1]，刘帅[2]
（1. 工业发酵微生物教育部重点实验室，天津科技大学生物工程学院，天津 300457）
（2. 天津北洋百川生物技术有限公司，天津 300457）

摘要：按照产酶能力强、菌株间无拮抗性的原则，从本实验室 27 株菌中筛选到 2 株淀粉酶产生菌；苏云金芽孢杆（*Bacillus thuringiensis*、TKFW r8）和枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*、TKFW 10004），2 株蛋白酶产生菌；蜡样芽孢杆菌（*Bacillus cereu. frankland* 、TWKF 11014）和纳豆芽孢杆菌（*Bacillus natto*、TWKF 11002）。将该 4 株菌与植物乳酸菌(*Lactobacillus plantarum*、TWKF 12006)和酿酒酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae Hansen*、TKFW 13024）等比例组合，试验结果表明处理后的餐厨垃圾没有恶味，蚊虫较少，具有淡淡的酒香味，能够抑制病原微生物的生长，具有一定的减量效果。为了保证菌株的生物安全性，对未知菌 TKFW r8 进行观察和鉴定，通过 16S rDNA 序列分析，确定为苏云金芽孢杆菌。

关键词：菌株筛选；餐厨垃圾；原位处理；菌株鉴定

文章篇号：1673-9078(2013)4-756-761

Screening and Identification of Strains in Situ Kitchen Waste Treatment

QIAO Chang-sheng[1,2], SONG Ke[1], ZHANG Juan-kun[1], XU Hong-hong[1], LIU Shuai[2]
(1.Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, College of Biotechnology, Tianjin University of science and technology, Tianjin 300457, China) (2.Tianjin Peiyang Biotrans Co., Ltd, Tianjin 300457, China)

Abstrsct: Two amylase-producing bacteria strains named *Bacillus thuringiensis* TKFW r8 and *Bacillus subtilis* TKFW 10004 , and two protease-producing bacteria strains named *Bacillus cereus. Frankland* TWKF 11014 and *Bacillus natto*TWKF 11002, were screened from 27 strains of the laboratory tested strains according to the principle of the enzyme good production and no antagonism. The 4 strains, *Saccharomyces cerevisiae* (*Saccharomyces cerevisiae Hansen* , TKFW 13024) and *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, TWKF 12006) were combined to deal with Kitchen waste in spring. Results showed kitchen waste smelled wine fragrance without foul odour, It indicated that the kitchen waste in situ treatment had certain reduction effect and avoided the secondary pollution. To ensure biosafety of the strains, the unknown strain named TKFW r8 was identified to be *Bacillus thuringiensis* with 16S rDNA sequence analysis.

Key words: strains screening; kitchen waste; in situ treatment; identification of strain

近年来，城市生活垃圾的无害化、减量化和资源化处理愈来愈受到国内外学者的高度重视，各国均致力于新的垃圾处理方法的研究[1]，我国每天产生的生活垃圾中餐厨垃圾约占 50%。中国城市每年产生餐厨垃圾不低于 6000 万 t[2]，国内主要城市的餐厨垃圾生产量均已超过 1000 t/d，其中北京高达 1600 t/d，上海达 1300 t/d，杭州达 1000 t/d。目前，餐厨垃圾的主要处理方法是生产饲料或者有机肥料，由于餐厨垃圾的来源比较分散，在收集和运输过程中，需要花费较长的时间，容易产生要害细菌，尤其是夏季，如果产生的垃圾不及时处理，数小时候就后滋生蚊虫，产生异味，带来二次污染，同时，也严重影响市容市貌和垃圾收集处理人员的工作环境。因此，保证餐厨垃圾的无害化，为实现减量化和资源化提供先决条件。

餐厨垃圾的原位处理是指在餐厨垃圾的收集地，对其进行某种简单的处理，以求达到控制有害菌繁殖、抑制异味和蚊虫滋生的目的，同时为其下一步减量化和资源化创造良好的条件。本研究通过筛选高产淀粉酶和蛋白酶分解菌株，与能抑制有害菌的植物乳杆菌和产生酯香味酿酒酵母菌进行组合，其中乳酸菌利用碳水化合物产生大量的乳酸，对食源性病原菌及腐败菌具有优越的抑菌活性[3]。首先利用餐厨垃圾中的有机物进行新陈代谢作用和矿化[4~5]，然后开始分泌淀粉酶和蛋白酶[6]进行降解，并通过植物乳杆菌和酿酒酵母菌抑制要害细菌的生长，去除臭味，减少蚊虫的滋生，处理过程中不需要任何外加动力，可以及时、就地的实现餐厨垃圾的无害化。原位处理后的餐厨垃圾没有恶臭，蚊虫滋生现象得到较好控制，还具有淡淡的酒香味，这样就在源头上避免了餐厨垃圾的污染问

收稿日期：2012-12-01

作者简介：乔长晟（1969-），男，博士，教授，硕士生导师，研究方向：生物化工

题，实现了餐厨垃圾的无害化，同时为餐厨垃圾的后处理，实现餐厨垃圾的资源化和减量化提供了先决条件，对改善当前餐厨垃圾的处理方式有着重要的参考意义。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌株

供试菌株 TKFW r1-TKFW r10 共 10 株来源于餐厨垃圾，并保藏于天津北洋百川生物技术有限公司，其他的 17 株供试菌株保藏于天津科技大学生化工程研究室。植物乳酸菌(*Lactobacillus plantarum*、TWKF 12006) 和酿酒酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae Hansen*、TKFW 13024）保藏于天津北洋百川生物技术有限公司。

1.1.2 培养基

肉汤培养基：牛肉膏 0.5%、蛋白胨 1%、NaCl 0.5%、琼脂 2%，pH=7.2，121 ℃灭菌 20 min。

淀粉培养基：牛肉膏 0.5%、蛋白胨 0.5%、NaCl 0.5%、可溶性淀粉 2%、琼脂 1.8%，pH=7.2，121 ℃灭菌 30 min。配制时，先用少量水将淀粉调成糊状，在火上加热，边搅拌边加水及其它成分，溶化后补足水分。

酪蛋白培养基：蛋白胨 2 g/L、葡萄糖 5 g/L、酵母粉 3 g/L、磷酸氢二钾 6 g/L、干酪素 7 g/L、pH 值 7.2、琼脂 1.8%、121 ℃灭菌 20 min。

淀粉发酵培养基：玉米粉 0.05%、淀粉 0.03%、硝酸钠 0.03%、磷酸氢二钾 0.0105%、磷酸二氢钾 0.0045%、氯化钠 0.001%、硫酸镁 0.005%、硫酸亚铁 0.0003%，pH 7.0。121 ℃灭菌 20 min。

酪蛋白发酵培养基：葡萄糖 10 g/L、蔗糖 10 g/L、大豆蛋白胨 20 g/L、磷酸氢二钾 4 g/L、磷酸二氢钾 2 g/L、$CaCl_2$ 0.2 g/L、$MgSO_4$ 0.5 g/L，pH=7.0，121 ℃灭菌 20 min。

1.1.3 主要试剂

3,5-二硝基水杨酸试剂（DNS）的配制：

甲液：溶解 6.9 g 结晶酚于 15.2 mL 10% NaOH 溶液中，并用水稀释至 69 mL，在此溶液中加 6.9 g 亚硫酸氢钠。乙液：称取 255 g 酒石酸钾钠加到 300 mL 10% NaOH 溶液中，再加入 880 mL 1% 3,5-二硝基水杨酸溶液。将甲乙两溶液相混合即得黄色试剂，贮于棕色试剂瓶中备用。在室温放置 7~10 d 以后使用。

0.1 mol/L pH=5.6 的柠檬酸缓冲液：

A 液（0.1 mol/L 柠檬酸）-称取分析纯柠檬酸 21.01 g，用蒸馏水溶解并定容至 1 L；B 液(0.1 mol/L 柠檬酸钠)-称取柠檬酸钠 29.41 g 用蒸馏水溶解并定容至 1 L；取 A 液 55 mL 与 B 液 145 mL 混匀即可。

1.1.4 主要仪器设备

生化培养箱、摇床、超净工作台、数显 pH 计、高压灭菌锅、紫外风光光度计、水浴锅、凯氏定氮仪、PCR 仪、凝胶成像系统。

1.2 方法

1.2.1 菌株的初筛

将活化的斜面接种于装有液体培养基的摇瓶中，摇瓶的容量为 500 mL，装液量为 50 mL，培养温度 37 ℃，摇床的转速为 220 r/min，培养时间为 24 h。取 1 mL 此溶液进行倍比稀释，分别把 10^{-8}~10^{-12} 这 5 个浓度的稀释液用涂布器分别涂布于淀粉培养基平板和酪素培养基平板，待表面干燥后，倒立，放置 37 恒温箱培养 16~18 h。待长出菌落后，分别用路哥氏碘液和三氯乙酸喷淋平板，然后用游标卡尺测定单菌落的淀粉透明圈直径（dH）和单菌落直径(dC)的比值，挑选在两种培养基上透明圈直径与菌株直径之比(dH/dC 值)较大的菌株[7]，同时对每种编号菌株都进行显微镜检，并将菌株保存。

1.2.2 生物拮抗性

采用琼脂块法[8]将筛选出的淀粉酶高产菌、蛋白酶高产菌，与酿酒酵母菌和植物乳酸菌进行拮抗性筛选，将待试菌接于涂好指示剂菌的平板上，正放 12 h 后再倒置培养 24 h，观察琼脂块周围病原菌的生长情况，并记录抑菌圈大小。

1.3 酶活测定方法

1.3.1 粗酶液的制备

挑取初筛得到的菌株接种于 LB 液体培养基，500 mL 的三角瓶装液量为 50 mL，培养条件为 37 ℃转速为 220 r/min，培养时间为 16 h。得到种子菌悬液，以 10%接种量将种子菌悬液接种于发酵培养基，相同条件下，培养时间为 24 h。取将发酵液 10 mL，于 5000 r/min 离心 10 min，除去菌体收集上清液，放入冰箱中保存。

1.3.2 淀粉酶活力测定方法

采用碘比色法[9]进行淀粉酶体外酶活测定，酶活力定义为 1 克固体酶粉或者 1 mL 酶液，在 40 ℃和 pH=5.6 条件下，1 min 水解淀粉产生 1 mg 麦芽糖即为一个酶活力单位，U/mL。

1.3.3 蛋白酶活力测定方法

采用 Folin-酚法[10]测定蛋白酶的酶活，酶活力定义为 1 克固体酶粉或者 1 mL 酶液在一定 pH 和蛋白酶活力是指 1 mL 酶液，在 40 ℃和 pH=3.6 条件下，1 分钟水解酪蛋白产生 1 μg 酪氨酸即为一个酶活力单

位，U/mL。

1.3 餐厨垃圾的原位处理

将从天津科技大学泰达校区餐厅收集到的餐厨垃圾装入桶里，每桶装样量为 1 kg，把筛选到的高产淀粉酶菌液和蛋白酶菌液与酿酒酵母菌液、植物乳杆菌的菌液混合后加入其中，添加比例为 1:1:1，添加量为 5% (*m*/*m*)，为了在短时间内达到原位处理的效果，放置时间为 24 h，放置在室外观察，并以不做任何处理的原始餐厨垃圾做为对照，每组做三个平行。观察其外观、气味、蚊虫滋生和霉变情况，并取样测定含固率、淀粉含量和氨基态氮含量的变化以及粪大肠菌群数的变化，类似上述方法，在春夏秋冬四个季节分别采样处理。

1.4 原位处理的检测方法

1.4.1 淀粉的测定

参照 ZB X 66027-87 中粗淀粉的测定方法。

1.4.2 氨基态氮的测定

参照 ZB X 66038-87 中氨基态氮的测定方法。

1.4.3 有机质的测定

参照 CJ/T96-1999 中城市生活垃圾有机质的测定灼烧法。

1.4.4 粪大肠菌群数

参照 GB/T19524.1-2004 中粪大肠菌群数的测定方法。

1.4.5 pH 值的测定

参照 NY/T798-2004 中 pH 值的测定方法。

1.5 菌落的鉴定

1.5.1 菌落的特征观察和生化测定

为了保证菌株的生物安全性，对筛选出的未知菌株 r8 进行菌落的形态特征、革兰氏染色和生理生化鉴别试验。

1.5.2 16S rDNA 鉴定

菌株 r8 的基因组 DNA 提取参照文献[11]，其中 DNA 提取试剂盒购买自鼎国。根据细菌 16S rDNA 中最保守的序列设计引物，引物 F：5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′；引物 R：5′-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′。PCR 反应体系(50 μL):含 ddH2O 36 μL，buffer 5 μL，dNTP 4 μL，16SR 2 μL，16SF2 μL，模板 2 μL，rTaq 酶 0.4 μL。扩增条件：预变性 95 ℃ 5 min，变性 94 ℃1 min，退火 53 ℃ 45 s，延伸 72 ℃ 1 min，循环 33 次，72 ℃延伸 10 min，4 ℃保温，取 3 μL 反应液进行质量分数 1%琼脂糖电泳检测，PCR 扩增产物送到华大基因生物技术有限公司测序。测序结果进行双向拼接后，在 NCBI 中进行 Blast 同源序列检索和比较，下载与其同源性最高的几株细菌模式株的 16S rDNA 进行同源性分析。

2 结果与分析

2.1 淀粉酶产生菌的初筛

本实验室的 27 株细菌在 37 ℃培养 24 h 后，用路哥氏碘液进行喷淋，除个别菌株外，其余菌株周围均具有水解圈，说明具有分泌淀粉酶的特性。分别测定淀粉酶产生菌株的水解圈直径和菌落直径的比值(dC/dH)，结果见表 1。由表 1 可见，编号为 10004、10001、10002、r8 和 10011 水解圈与菌落直径的比值比较大，初步确定为淀粉酶高产菌株。

表 1 淀粉酶产生菌的初筛（dC/dH 比值）

Table 1. The first screen of amylase-producing bacterial strains

菌名	菌圈 dC /mm	透明圈 dH/mm	dC/dH 比值
TKFW 10004	2.27	6.79	2.99
TKFW 10001	3.84	6.03	1.57
TKFW 10002	4.24	6.31	1.49
TKFW r8	3.99	5.4	1.35
TKFW 10011	5.64	7.2	1.28
TKFW 11009	6.26	7.83	1.25
TKFW r7	5.26	6.55	1.25
TKFW 10005	5.44	6.66	1.22
TKFW 11011	2.62	3.17	1.21
TKFW r2	1.77	2.06	1.16
TKFW 11016	5.16	5.82	1.13
TKFW 11013	2.86	3.17	1.11
TKFW 11015	6.31	6.97	1.10
TKFW 11008	3.41	3.62	1.06
TKFW 11012	4.89	5.02	1.03
TKFW r5	6.74	-	-
TKFW 11001	8.02	-	-
TKFW 11002	3.62	-	-
TKFW 11010	3.89	-	-
TKFW 11014	3.21	-	-
TKFW r3	3.92	-	-
TKFW r4	3.62	-	-
TKFW r6	5.34	-	-
TKFW r9	4.84	-	-
TKFW r10	3.61	-	-
TKFW 10003	4.92	-	-
TKFW 11017	4.89	-	-

注：“-”表示不产生透明圈。

2.2 蛋白酶产生菌的初筛

表 2 蛋白酶产生菌的初筛（dC/dH 比值）

Table 2 The first screening of protease -producing bacterial strains

名称	菌圈 dC/mm	透明圈 dH/mm	dC/dH 比值
TKFW 11008	3.37	11.04	3.28
TKFW 11015	5.45	11.42	2.10
TKFW 11014	2.89	6.01	2.08
TKFW 11012	4.88	10.09	2.07
TKFW 11002	3.96	7.9	1.99
TKFW 11010	3.22	5.96	1.85
TKFW r9	4.64	8.4	1.81
TKFW r8	4.92	8.89	1.81
TKFW 11013	2.88	5.14	1.78
TKFW r6	5.09	9.03	1.77
TKFW 10005	5.08	8.75	1.72
TKFW r7	5.16	8.35	1.62
TKFW 11009	4.2	6.71	1.60
TKFW 10004	5.77	9.1	1.58
TKFW 11016	2.77	4.35	1.57
TKFW 11001	8.33	11.78	1.41
TKFW r5	6.23	8.47	1.36
TKFW 10011	6.72	9.01	1.34
TKFW 10002	3.22	4.31	1.34
TKFW r4	3.42	4.19	1.23
TKFW 11011	3.02	3.12	1.03
TKFW r2	1.14	-	-
TKFW r3	3.21	-	-
TKFW r10	3.14	-	-
TKFW 10001	3.42	-	-
TKFW 10003	4.41	-	-
TKFW 11017	4.26	-	-

注：“-”表示不产生透明圈。

由表 2 可知，本实验室现有的 27 株菌中，酪素平皿经过三氯乙酸喷淋后，通过透明圈的直径（dH）和单菌落(dC)的直径的比值，初步筛选出 11008、11015、11014、11012 和 11002 五株蛋白酶高产菌，其中 11008、11015 和 11012 三株菌有微弱的产淀粉酶的能力。

2.3 拮抗实验

由表 3，筛选出的淀粉酶产生菌 10004、10001、10002、r8 和 10011 与蛋白酶产生菌 11008、11015、11014、11012 和 11002，与酿酒酵母菌和植物乳酸菌进行拮抗实验，最终确定 10004、r8、11014 和 11002 为所需目的菌株。

2.4 淀粉酶和蛋白酶活性测定结果

对筛选出的淀粉酶产生菌 10004 和 r8 进行淀粉酶的酶活测定（见表 4），分别为 59 U/mL 和 34 U/mL，并且两株菌都可以产生蛋白酶，酶活分别为 12 U/mL 和 19 U/mL；蛋白酶产生菌 11014 和 11002 进行蛋白酶的酶活测定，分别为 63 U/mL 和 54 U/mL，相对比较高，作为本实验的目的菌株。

2.5 餐厨垃圾的原位处理

按照 1.3 所述方法，对及时收集到的餐厨垃圾进行处理，将筛选到的高产淀粉酶菌液和蛋白酶菌液与酿酒酵母菌液、植物乳杆菌的菌液混合后加入其中，添加比例为 1:1:1，添加量为 5% (*m*/*m*)，放置时间为 24 h，以不做任何处理的原始餐厨垃圾作为对照，观察其外观、气味、蚊虫滋生和霉变情况，并取样测定淀粉含量和氨基态氮含量的变化以及粪大肠菌群数的变化。结果如表 5 所示。

表 3. 菌株之间的拮抗实验

Table 3 Antagonistic experiments of TKFW strains

	10004	10001	10002	r8	10011	11008	11015	11014	11012	11002	酿 Y	植 Z
10004	/	++	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
10001	++	/	-	++	-	-	-	++	++	++	++	++
10002	+	-	/	-	-	-	++	+	-	-	-	+
r8	-	++	-	/	+	++	+	-	++	-	-	-
10011	+	-	-	+	/	-	-	++	-	-	+	+
11008	+	-	-	++	-	/	-	-	-	-	++	++
11015	+	-	++	+	-	-	/	+	-	+	-	+
11014	-	++	+	-	++	-	+	/	+	-	-	-
11012	-	++	-	++	-	-	-	+	/	-	+	+
11002	-	++	-	-	-	-	+	-	-	/	-	-
酿 Y	-	++	-	-	+	++	-	-	+	-	/	-
植 Z	-	++	+	-	+	++	+	-	+	-	-	/

注：表中“/”表示不作拮抗试验；“－”表示无拮抗作用；“＋”表示抑菌圈直径 0~5 mm；“++”表示抑菌圈直径 5~10 mm。

表 4 淀粉酶和蛋白酶活性测定结果

Table 4 The activity of amylase and protease

名称	淀粉酶的酶活/(U/mL)	蛋白酶的酶活力/(U/mL)
TKFW 10004	59	-
TKFW r8	34	-
TKFW 11014	-	63
TKFW 11002	-	54

注：“-”表示不作酶活性测定

表 5 餐厨垃圾原位处理的结果

Table 5 The results of kitchen waste in situ treatment

	名称	蚊虫情况	霉变情况	气味	有机质%	淀粉含量%	氨基态的氮%	粪大肠菌群数个/100mL
春季	处理	-	-	-	78.23	10.42	0.55	<30
	对照	+	+	-	81.42	11.98	0.17	30
夏季	处理	-	-	-	74.1	10.03	0.87	<30
	对照	+	+	+	79.8	12.48	0.23	60
秋季	处理	-	-	-	77.34	9.98	0.52	<10
	对照	+	+	-	80.53	11.44	0.1	30
冬季	处理	-	-	-	79.92	12.2	0.39	<10
	对照	-	-	-	78.46	12.32	0.32	<10

注：蚊虫滋生情况中，“-”表示无蚊虫，“+”表示有蚊虫；气味中，“-”表示无异味，“+”表示有气味；霉变情况中，“-”表示无霉变，“+”表示有霉变。

筛选得到的淀粉酶高产菌和蛋白酶高产菌，可以分解利用餐厨垃圾中淀粉类物质和蛋白类物质，将大分子的有机物分解成小分子的寡糖、寡肽等氨基酸类物质，有效的降低了餐厨垃圾中有机物质的含量，改善了餐厨垃圾的营养价值，对其减量化和后续生物法处理的资源化有很大意义。同时，加入的酿酒酵母代谢产生酒精和酯香味的物质，有效的消除了餐厨垃圾的异味并能散发出淡淡的酯香味，乳酸菌可以抑制有害病原菌的生长，其代谢产物还有一定的防腐效果，有效的减少了苍蝇蚊虫的滋生，延长了餐厨垃圾的霉变期，尤其是夏季餐厨垃圾样品的原位处理，效果十分显著。冬季，菌的代谢较弱，但是餐厨垃圾的变质期也较长，餐厨垃圾的异味和蚊虫滋生情况不明显，因此筛选出的菌株在餐厨垃圾原位处理中达到了预期的效果。

2.6 菌株的初步鉴定

菌落在以淀粉为唯一碳源的培养基中生长，培养 24 h 形成白色菌落，表面光滑湿润，有光泽，边缘整齐，直径约为 4 mm，质地较密。革兰氏染色为阳性，营养体为直短杆，大小为 1.2~2.5 μm×4.5~5.5 μm，单个或成短链状。在质量分数 5%的 NaCl 肉汤培养基中可以生长，淀粉水解为阴性，蔗糖发酵、葡萄糖产酸反应为阴性。V-P 反应为阳性，MR 反应为阳性，初步归为苏云金芽孢杆菌类群。

2.7 菌株的分子生物学鉴定

PCR 扩增结果：r8 染色体 DNA 进行扩增后，约在 1500 bp 出有一明亮的特征条带[该细菌 16SrDNA 大小约为 1448 bp（平均值）]，经琼脂糖凝胶电泳验证，结果如图 1 所示。

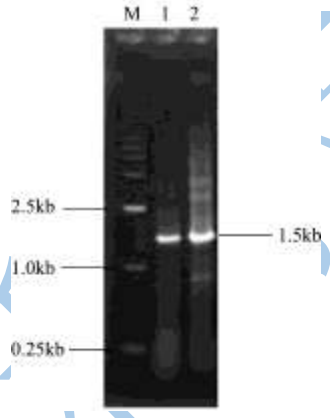


图 1 菌株 r8 的 16SrDNA PCR 产物电泳图

Fig1. The 16S rDNA PCR products of r8

注：M：DNA Marker；1 和 2：目的菌株 r8 的 16S rDNA 扩增产物。

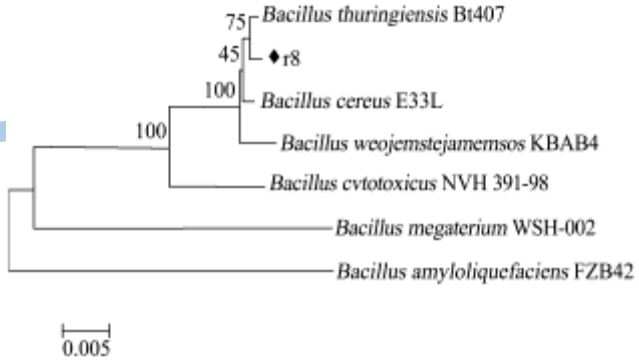


图 2 基于 16S rDNA 的 r8 与相关菌株的系统发育树

Fig2. Phylogenetic tree based on the 16S rDNA gene sequences of strain r8 and representatives

测序结果及其同源分析：将该菌株细菌测序结果拼接后，在 NCBI 中进行 Blast 同源序列检索和比较，下载与其同源性最高的几株细菌模式株的 16S rDNA 进行系统发育分析，其中 r8 与 *Bacillus thuringiensis* Bt407 同源性最高，二者在发育树上处于同一个分支上，系统发育树见图 2。又根据中国科学院微生物研究所细菌分类组编《一般细菌常用鉴定方法》[12]和《伯杰氏细菌鉴定手册》(第九版)[13]，最终确定 r8 为苏云金芽孢杆菌。

3 结论

本研究从 27 株细菌筛选出两株淀粉酶产生菌分别为苏云金芽孢杆（*Bacillus thuringiensis*、TKFW r8）和枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*、TKFW 10004），两株蛋白酶产生菌分别为蜡样芽孢杆菌（*Bacillus cereus.Frankland* 、TWKF 11014）和纳豆芽孢杆菌（*Bacillus natto*、TWKF 11002）。结合菌落形态、生理生化指标和 16SrDNA 序列分析，对 r8 的个体形态进行观察和鉴定，确定 r8 为苏云金芽孢杆菌。将该 4 株菌与酿酒酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae Hansen*、TKFW 13024）和植物乳酸菌(*Lactobacillus plantarum*、TWKF 12006)进行等比例混合后进行餐厨垃圾的原位处理，处理后的餐厨垃圾不仅没有臭味，还有酒精香味，能够抑制杂菌的生长，避免了二次污染，具有一定的减量效果，并且淀粉、氨基态的氮和有机质的含量都有所减少，达到了试验预期的效果。如果配合更详尽的处理工艺、处理设备的研究和设计，进行产业化开发，将为我国日常有机生活垃圾无害化、减量化和资源化处理提供新型的生物处理方法。

参考文献

[1] 曹作中,高海成.当前我国生活垃圾处理发展方向探讨[J].工程与技术,2001,10:13-18

[2] 新华网.餐厨垃圾:危险而宝贵的资源.(2009-01-07)

[3] 薛迎迎,杨汝德.乳酸菌基因组学与基因工程的研究新进展[J].现代食品科技,2008,24(6):617-620

[4] 王罗春.城市生活垃圾填埋场稳定化进程研究[D].上海:同济大学,1999

[5] 程云环,桑树勋,张兴,等.生活垃圾模拟填埋条件下水解酶活力及产气研究[J].东北林业大学学报,2007,35(5):7073

[6] 邓菊云.微生物碱性蛋白酶研究进展[J].现代食品科技,2008,24(3):102-105

[7] 肖怀秋,兰立新,李玉珍.亚硝酸与紫外线复合诱变原生质体选育产酶菌株[J].生物技术,2006,16(5):40-41

[8] Liu W,Hansen J N. Some chemical and physical and plysical properties of Nisin,a small protein antibiotic produced by lactococcus lactis [J].appl Envical, 1990, 25:57~66

[9] 叶应妩,王毓三.全国临床检验操作规程 3 版[M].南京:东南大学出版社,2006

[10] 吴国峰.工业发酵分析[M].北京:化学工业出版社,2006

[11] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 DW,黄培堂等译.分子克隆实验指南[M].北京:科学出版社,2003

[12] 中国科学院微生物研究所细菌分类组.一般细菌常用鉴定方法[M].北京:科学出版社,1978

[13] [13]HOLT J G. KRIEGNR. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M]. 9th ed. Baltimore London: Williams& Wilkins Co, 1994: 353-376