

耐高温餐厨垃圾分解细菌的筛选、鉴定及应用

The screening and identification of thermostable decomposition bacteria in kitchen waste and the relative application

万文娟¹ 张贇彬^{1,2} 聂志妍³

WAN Wen-juan¹ ZHANG Yun-bin^{1,2} NIE Zhi-yan³

毛彦佳¹ 许 静¹ 喻 莹⁴

MAO Yan-jia¹ XU Jing¹ YU Ying⁴

(1. 上海应用技术大学香料香精技术与工程学院, 上海 201418; 2. 上海中医药大学公共健康学院, 上海 201203; 3. 上海健康医学院医学技术学院, 上海 201318;

4. 上海捷浩后勤设施技术服务有限公司, 上海 201400)

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China;

2. School of Public Health, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

3. Shanghai Health Medical College School of Medical Technology, Shanghai, 201318, China;

4. Shanghai Jiehao Logistics Facilities Technology Service Co., Ltd., Shanghai, 201400, China)

摘要:将餐厨垃圾中的微生物采用营养琼脂培养基(LA)在温度 55 ℃, 相对湿度 50% RH 的条件下培养, 根据菌落形态进行筛选分离。经过筛选得到细菌 20 株, 测定其对淀粉、蛋白质、油脂和纤维素的分解效果, 并根据分解效果选出最优菌株 X13。对其进行形态学、生理生化以及分子生物学的鉴定并测定生长曲线, 最终判定菌株 X13 为地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)。再使用 X13 菌株制成菌制剂处理餐厨垃圾, 在小型餐厨垃圾处理器中运行 48 h 后, 测定餐厨垃圾降解率达到 72.82%。X13 菌株制成的菌制剂能够有效提高餐厨垃圾的降解效率, 缩短处理时间, 所以该地衣芽孢杆菌可以用于餐厨垃圾处理工业。

关键词:餐厨垃圾; 耐高温细菌; 筛选; 鉴定; 菌制剂; 应用

Abstract: The efficient degrading and high-temperature resistance bacteria in kitchen waste were isolated according to the characteristics of domestic kitchen waste. The microorganisms in the kitchen waste were cultured for 48 hours under the conditions of a temperature of 55 ℃ and a relative humidity of 50% RH using a nutrient agar medium (LA), and then they were screened and separated according to the colony morphology. 20 strains of bac-

teria were obtained, and their decomposition effects of starch, protein, oil and cellulose were determined. X13, which has the best decomposition effect, was selected and identified to be *Bacillus licheniformis* by morphology, physiology, biochemistry and molecular biology. The microbial agent prepared by X13 strain was used to decompose the kitchen waste. After running for 48 hours in the small kitchen waste disposer, the decomposition of the kitchen waste reached 72.82%. The results showed that the microbial agent could effectively improve the decomposition efficiency of the kitchen waste and shorten the decomposition time. Therefore, the *B. licheniformis* could be used in the kitchen waste decomposition industry.

Keywords: kitchen waste; decomposition bacteria; screening; identification; microbial agents; application

餐厨垃圾是家庭、单位食堂以及餐饮行业等在食品生产、加工和消费过程中产生的有机废弃物^[1-2], 容易腐烂, 在自然分解过程中, 会产生大量的氨气、硫化物等有害气体, 散发恶臭^[3-4]; 如果将餐厨垃圾直接作为饲料, 其中的致病菌可引发动物染病, 人畜交叉感染病, 危害人体健康^[5-6]。随着社会经济的迅猛发展, 中国餐厨垃圾的产量也急剧增长。据报道^[7], 餐厨垃圾产生量在 2015 年达到 0.62 亿~1.04 亿 t, 已成为影响城市环境健康发展的一个重要问题。国外开展餐厨垃圾快速处理技术的研究较早^[8], 随着经济的发展以及国家对环保重视程度的

基金项目:上海市联盟计划(编号:LM201764)

作者简介:万文娟, 女, 上海应用技术大学在读硕士研究生。

通信作者:张贇彬(1973—), 男, 上海中医药大学教授, 博士。

E-mail: ybzhang3386@sina.com

收稿日期:2019-01-17

提高,中国也已经开始研究。

目前,餐厨垃圾的处理方式主要包括粉碎直排法、脱水处理法、化学处理法、焚烧处理法、厌氧消化法和微生物处理法等^[9]。这些方法中除微生物处理法外大都耗能高,甚至对环境造成二次污染^[10],因此,采用微生物法处理餐厨垃圾成为国内外的研究热点^[11-13]。由于中国饮食文化的不同,餐厨废弃物成分同国外有明显差别,尤其是其中的油脂类成分、纤维素成分和含盐量都偏高;此外,从目前中国餐厨废弃物实际处理的效果来看,国外进口的微生物降解菌制剂不太适用于国内餐厨垃圾的成分,导致处理餐厨废弃物的成本偏高,而降解效率偏低。因此,针对中国餐厨垃圾研制可高效降解的微生物菌制剂具有较好研究潜力和实际应用价值。而对于餐厨垃圾中4类主要有机物的降解问题,有学者已经做过一些相关研究。有研究表明枯草芽孢杆菌对氨基酸态氮、三氯乙酸可溶性蛋白都有明显的降解作用^[14],*Serratia marcescens*和*Aeromonas hydrophila*对油脂有分解作用^[15],但这些研究只研究了目标菌株对单一有机物的分解效果,对其他有机物的分解效果尚不明确,此外,目前一些研究^[16-17]还存在着降解率低、稳定性差等缺点。在较高温度的条件下微生物对餐厨垃圾降解效率更高^[18-20],因此研制出含耐高温降解菌的菌制剂,并与相应的餐厨垃圾处理设备相配套,将可实现餐厨垃圾的快速降解。

本研究拟分离耐高温且能够高效降解有机物的细菌菌株,制作成菌制剂,配合餐厨垃圾处理设备应用于餐厨垃圾处理工业,以期实现餐厨垃圾的减量化和无害化。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 试验样品

取自某高校处理中的餐厨废弃物,过筛除去其中的骨头等大块杂质,混匀,样品置于55℃恒温恒湿箱中保存。

1.1.2 试验试剂

革兰氏染色剂、甲基红、无水肌酸:分析纯,上海源叶生物科技有限公司;

乙醇、氢氧化钾、三氯化铁、碘化钾、碘:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

石油醚:分析纯,上海泰坦科技股份有限公司;

过氧化氢、甘油:分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司;

DNA提取试剂盒:上海生工生物有限公司;

1.1.3 仪器与设备

恒温恒湿培养箱:HC92-2型,美国SHELLAB制造股份有限公司;

实验室pH计:FE20-K型,梅特勒—托利多仪器有

限公司;

数显恒温水浴锅:XMTD-204型,常州翔天实验仪器厂;

电热鼓风干燥箱:DHG-9140A型,上海凯朗仪器设备有限公司;

电子显微镜:BA210-T型,麦克奥迪实业集团有限公司;

立式压力蒸汽灭菌锅:TOMY SX-500型,日本Tomy Digital Biology公司;

电子天平:ME204E/02型,梅特勒—托利多仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-1800型,岛津仪器(苏州)有限公司;

超低温冰箱:WMQIS1M型,青岛海尔股份有限公司;

水浴恒温振荡摇床,VS-WHD型,无锡沃信仪器制造有限公司。

1.1.4 培养基

LA培养基和LB培养基:上海源叶生物科技有限公司;

葡萄糖蛋白胨水培养基:葡萄糖2g,蛋白胨2g,氯化钠1g,蒸馏水200g;

刚果红纤维素培养基:硝酸钠1.0g,硫酸镁0.5g,酵母浸出粉0.5g,氯化钾0.5g,磷酸二氢钾0.9g,磷酸氢二钠1.2g,刚果红0.2g,纤维素粉5.0g,酸水解酪蛋白0.5g,琼脂15.0g;

淀粉培养基:牛肉膏5.0g,蛋白胨10.0g,NaCl 5.0g,可溶性淀粉2.0g,琼脂20.0g;

蛋白培养基:酵母膏5.0g,可溶性淀粉10.0g, KH_2PO_4 1.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g,脱脂奶粉50.0g,琼脂20g;

脂肪培养基:蛋白胨10.0g,NaCl 5.0g, $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g,琼脂9.0g,pH 7.4,121℃灭菌20min,冷却至40~50℃,加入121℃单独灭菌20min的Tween-80至终浓度为1%。

1.2 试验方法

1.2.1 取样方法 按GB/T 9695.19—2008的取样方法取一定量的餐厨垃圾样品,装入无菌袋中密封,带回实验室,备用。

1.2.2 菌种分离与筛选

(1) 制备样品稀释液:使用电子天平精确称取样品10g,倒入250mL的锥形瓶中,加入90mL的灭菌生理盐水,震荡15min,使样品与生理盐水充分混匀,静置1min,制备成为 10^{-1} 浓度的菌稀释液,再使用经高温灭菌的枪头的移液枪,吸取1mL上述液体加入9mL小试管中,制成 10^{-2} 菌液,以此类推,制得 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 浓

度梯度的样品稀释液。

(2) 涂布:在 LA 培养基加 100 μL 各浓度梯度的样品稀释液,涂布均匀,各 3 个平行。

(3) 培养:将经过涂布后的培养皿倒置放于恒温恒湿培养箱中,在温度为 55 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 50% RH 的条件下在恒温恒湿箱中培养 48 h。

(4) 分离纯化:选取培养后菌落个数为 30~300 个的培养皿,挑选形态大小不同、有明显差异的单个菌落,采用平板划线法在 LA 培养基上划线分离,传代纯化 4~5 次,得到纯菌落于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保藏。

(5) 菌种保藏:甘油与灭菌生理盐水按 2:3 的体积比配制甘油溶液。将菌株接种于液体试管培养基中,在水浴摇床(55 $^{\circ}\text{C}$, 120 r/min)中培养 24 h,取菌液与甘油溶液按 2:1 的体积混匀,于 1.5 mL 的保藏管于保藏 -80 $^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱^[21]。

1.2.3 耐高温降解菌的分解效果测定

(1) 淀粉降解活性:配置淀粉固体培养基,取上述分离提纯后的菌株,点接于淀粉固体培养基,55 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h,在菌落周围滴加少量卢戈氏碘液^[22],反应 15 s 后,使用游标卡尺测量菌落周围透明圈的直径 D 与菌落直径 D_0 的比值(D/D_0),即为该菌株的淀粉降解活性。

(2) 蛋白质降解活性:配置蛋白质培养基,取上述分离提纯后菌株,点接于蛋白质培养基,55 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h。使用游标卡尺测量菌落周围模糊圈的直径 D 与菌落产生不透明圈的直径 D_0 的比值,即为该菌株的蛋白质降解活性。

(3) 纤维素降解活性:配置刚果红纤维素培养基,取上述分离提纯后的 4 类菌种,点接于刚果红纤维素培养基,55 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h。使用游标卡尺测量菌落周围水解圈的直径 D 与菌落直径 D_0 的比值,即为该菌株的纤维素降解活性。

(4) 油脂降解活性:将分离纯化后得到的各菌株点接到脂肪培养基平板上,倒置于恒温培养箱中在 55 $^{\circ}\text{C}$ 下培养,48 h 后取出,用游标卡尺测定晕圈直径 D 与菌落直径 D_0 的比值,即为该菌株的脂肪降解活性。

1.2.4 菌种鉴定

(1) 形态学鉴定:经过复筛后,选取对淀粉、蛋白质、油脂和纤维素降解效果最好的菌株,通过对分离菌株同《伯杰氏细菌鉴定手册》相比对,进行形态学鉴定。

(2) 生理生化鉴定:通过革兰氏染色试验、糖发酵试验、V-P 试验、过氧化氢酶试验、甲基红试验和苯丙氨酸脱氨试验来对有机物分解效果最好的菌种进行生理生化鉴定。

(3) 分子生物学鉴定:取 1 mL 过夜培养的菌液,入 1.5 mL 离心管中,8 000 r/min 离心 1 min,加入 180 μL 用 Enzymatic lysis buffer 配制的 20% 的溶菌酶溶液,重悬菌液,再根据 DNA 提取试剂盒步骤要求完成提取成操

作。收集 DNA 溶液,提取的 DNA 立即在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。提取的 DNA 送生工生物工程(上海)有限公司测序。

测序结果分析:16S rDNA 序列在核糖体数据库(ht-tp://rdp.cme.msu.edu/index.jsp)上比对。

1.2.5 生长曲线测定 保藏菌株活化后,挑取菌落接种于装有 5 mL 的液体培养基的试管中,在温度为 55 $^{\circ}\text{C}$, 120 r/min 的水浴恒温振荡摇床中培养培养 24 h,3 组平行。按 5% 的接种量再次接种于装有 100 mL 液体培养基的 250 mL 的锥形瓶中发酵培养 60 h,每隔 2 h 取样,在 605 nm 下测定发酵液值 OD 值,绘制该菌株的生长曲线。

1.2.6 餐厨垃圾的降解

(1) 菌制剂的制备:将降解效果最好的菌株接种于装有 5 mL 灭过菌的液体培养基的试管中,根据生长曲线确定的时间在温度 55 $^{\circ}\text{C}$, 120 r/min 的水浴恒温振荡摇床中培养。使用同样的方法按 15% 的接种量比再次接种扩大培养,测量菌液浓度。将培养好的菌悬液在 6 000 r/min 离心 10 min,弃 2/3 的上清液,剩余部分摇晃均匀,备用。

以锯末粉和活性炭质量比为 10:1 作为载体材料,将制备好的浓缩菌悬液按质量比 1:1 均匀喷洒在载体材料上制成菌制剂。

(2) 餐厨垃圾降解效果的测定:参考丁杰萍等^[23]对于餐厨垃圾中淀粉、蛋白质、脂肪和纤维素主要成分的研究结果,结合日常食物营养成分表配制本试验的餐厨垃圾模型(表 1)。

表 1 餐厨垃圾主要构成

Table 1 Main composition of kitchen waste %					
米饭	鸡蛋	豆腐皮	植物油	青菜	其他
54.0	8.0	21.4	5.4	1.9	9.3

将米饭、熟鸡蛋、熟青菜、植物油按表 1 配比,测量水分含量和总重量,制成餐厨垃圾基质。与菌制剂按 10:1 的质量比添加到餐厨垃圾处理器中,在 55 $^{\circ}\text{C}$ 处理 48 h 左右,根据餐厨垃圾质量的变化情况测量减量化效果。

2 结果与分析

2.1 菌种分离

根据菌落的形态学特点,在 LA 培养基上筛选分离出耐高温的细菌 20 株,分别命名为:X1、X2、……、X20。

2.2 菌种复筛

将上述分离得到的 20 株细菌分别进行淀粉、蛋白质、脂肪、纤维素的降解效果试验,结果见表 2。

参照其他研究^[24], $D/D_0 > 2$ 则表示该菌株对有机物分解效果较好。由表 2 可知,编号为 X1、X3、X5、X6、X8、X10、X13、X18、X19、X20 的 $D/D_0 > 2$,证明这些菌株对淀粉的分解效果较好。而对脂肪类有机物的分解效果,编号为 X13 和 X17 的细菌的 $D/D_0 > 2$ 。对于纤维素的

分解效果, $D/D_0 > 2$ 的菌株编号有: X6、X7、X8、X9、X11、X13、X14、X16、X17、X18。每株细菌对淀粉、蛋白质、脂

表 2 全部菌株对淀粉、蛋白质、脂肪、纤维素的降解效果

Table 2 Degradation effects of all strains on starch, protein, fat and cellulose ($n=3$)

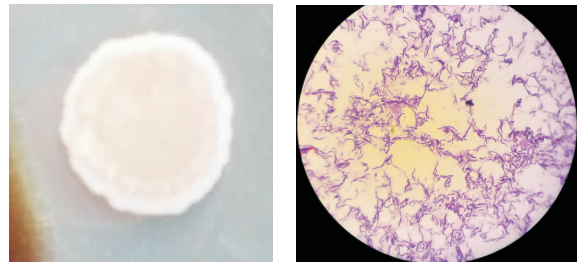
菌株编号	淀粉	蛋白质	脂肪	纤维素
X1	2.26±0.20	2.26±0.08	1.06±0.05	1.17±0.05
X2	1.90±0.08	1.90±0.08	1.10±0.09	1.00±0.11
X3	1.82±0.21	1.91±0.07	1.43±0.12	1.00±0.06
X4	1.78±0.05	1.78±0.19	1.20±0.11	1.00±0.11
X5	2.55±0.15	2.55±0.23	1.10±0.03	1.00±0.08
X6	2.35±0.11	2.35±0.11	1.68±0.14	2.00±0.25
X7	1.33±0.04	1.33±0.08	1.10±0.08	3.11±0.08
X8	2.97±0.10	2.97±0.17	1.00±0.24	3.13±0.26
X9	1.95±0.11	1.95±0.32	1.70±0.22	2.22±0.09
X10	2.50±0.08	2.50±0.19	1.12±0.09	1.12±0.17
X11	1.97±0.05	1.97±0.15	1.47±0.19	4.04±0.04
X12	1.24±0.04	1.24±0.04	1.10±0.04	1.00±0.16
X13	2.09±0.07	2.09±0.08	2.10±0.02	2.39±0.14
X14	1.35±0.09	1.35±0.06	1.31±0.09	2.45±0.08
X15	1.00±0.16	1.00±0.02	1.24±0.04	1.00±0.04
X16	1.97±0.05	1.97±0.17	1.20±0.07	4.29±0.72
X17	1.94±0.03	1.94±0.08	2.30±0.25	4.02±0.11
X18	2.33±0.05	2.33±0.20	1.20±0.22	4.51±0.50
X19	2.29±0.09	2.29±0.09	1.30±0.16	1.00±0.04
X20	2.26±0.12	2.26±0.13	1.29±0.02	1.00±0.07

肪、纤维素四类主要有机物的分解能力各不相同,综合各菌株对淀粉、蛋白质、脂肪和纤维素的降解效果,标号为 X13 细菌菌株对四类主要有机物分解效果俱佳,且分解效果系数 >2 。因此本研究选用对餐厨垃圾中四类主要的有机物降解效果俱佳的 X13 做进一步的菌种鉴定。

2.3 菌种鉴定

2.3.1 形态学鉴定 菌株 X13 在 LA 培养基上的形态图特征为:菌落为白色,表面粗糙皱褶,边缘不整齐且较为扁平,无明显异味,见图 1(a)。

2.3.2 生理生化鉴定 革兰氏染色: X13 菌株经染色,脱色,在显微镜下该菌体都呈紫色,为革兰氏染色阳性见图 1(b)。



(a) 菌落形态图 (b) 革兰氏染色图

图 1 X13 菌落形态和革兰氏染色图

Figure 1 Colony morphology and Gram stain of X13

根据细菌的形态学鉴定方法^[25],观察菌落的大小、表面特征、是否隆起、颜色、气味等形态学的特征,再根据革兰氏染色、过氧化氢酶和 V.P 试验等生理生化试验(表 3)进一步判断,初步确定 X13 菌株为地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)。

表 3 生理生化试验结果[†]

Table 3 Physiological and biochemical test results

革兰氏染色	V-P 试验	过氧化氢酶试验	甲基红试验	苯丙氨酸脱氨试验	糖发酵试验	
					产气	产酸
+	+	+	+	+	+	+

† “+”表示试验结果为阳性,“-”表示试验结果为阴性。

2.3.3 基于分子生物学 16S rDNA 的鉴定 选用 X13 菌株 rDNA 长度为 1 501 bp 的片段进行 16S rDNA 的测序,测序结果在 GenBank 数据库中进行同源性比对,结果(表 4)表明,细菌 X13 菌株与 GenBank 中编号为 KX785171.1 的地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)同源性最高,其相似度为 100%,菌株 X13 的 16S rDNA 的 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图见图 2。

2.3.4 菌株生长曲线 根据图 3 生长曲线,菌株 X13 地衣芽孢杆菌的延滞期为极短,在第 1 个 2 h 区间内几乎可以忽略;在此后地衣芽孢杆菌进入对数生长期,其活菌数呈对数增长;在 20 h 后到达稳定生长期,在此期间活菌数最高且不再增加;50 h 后进入衰亡期,此后活菌数量开

始下降。由此可知该地衣芽孢杆菌液体 20 h 活菌数达到最大,即确定为液体培养适宜时长。

2.3.5 餐厨垃圾降解 本试验中测得菌悬液离心前的浓度约为 8×10^9 CFU/mL,制备的餐厨垃圾水分含量约为 22.21%。采用对有机物降解效果最优的菌株地衣芽孢杆菌制作的菌制剂处理自制的餐厨垃圾,55 °C 条件下在小

表 4 X13 菌株 16S rDNA 比对结果

Table 4 16S rDNA sequence alignment results of X13 strain

最高分	总分	覆盖率	E 值	一致性	基因库
2 756	2 756	100%	0.0	100%	KX785171.1

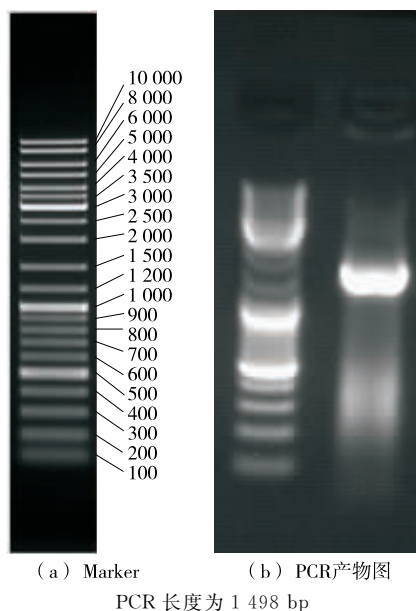


图 2 菌株 X13 的 16S rDNA 的 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图

Figure 2 Agarose gel electrophoresis of 16S rDNA gene PCR products of strain

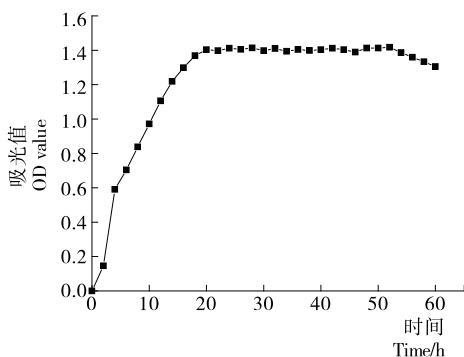


图 3 地衣芽孢杆菌生长曲线

Figure 3 The growth curve of *Bacillus licheniformis* strain

型餐厨垃圾处理机中搅拌发酵 48 h 后,测得处理后的餐厨垃圾水分含量约为 29.18%,餐厨垃圾减量化达到 72.82%。

3 结论

本研究从餐厨垃圾中筛选出耐高温的细菌地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*),将其与载体配合制作成菌制剂,配合餐厨垃圾处理器使用 48 h 后,餐厨垃圾的降解率达到 72.82%。与已有的研究^[26-27]差异在于本研究获得的有效菌耐高温且对餐厨垃圾的降解效率高。因此,使用本研究筛选出的耐高温菌株地衣芽孢杆菌制作的菌制剂能够快速分解餐厨垃圾,有效缩短餐厨垃圾降解的时间,实现餐厨垃圾的有效减量化。此外,本研究中获得

的地衣芽孢杆菌在较高的温度下能快速产生分解淀粉、蛋白质、油脂和纤维素的酶类,且在较高的温度下能加速生化反应的快速进行,与 Aurepatipan 等^[28]和荆哲华等^[29]的研究结果部分相似。

尽管降解餐厨垃圾中淀粉、蛋白质、脂肪和油脂四类主要有机物的微生物一般来说以细菌效果最好,但真菌和放线菌等也有一定的降解效率,后续研究将进一步筛选出耐高温且能高效降解餐厨垃圾的真菌和放线菌,与现有的菌株制成复合菌制剂,再配合餐厨垃圾处理器的各参数研究调试,实现餐厨垃圾的高效降解。

参考文献

- [1] 中华人民共和国住房和城乡建设部. CJJ 184—2012 餐厨垃圾处理技术规范[S]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2013: 2-3.
- [2] 金杨. 餐厨垃圾特性及处理技术研究[J]. 绿色环保建材, 2017(7): 222.
- [3] 李文, 魏晴, 马宁宁, 等. 校园餐厨垃圾组成及热解特性分析[J]. 甘肃科技, 2017, 33(13): 65-67.
- [4] TAN E K. Food waste disposal and recycling[J]. Advanced Materials Research, 2012, 518(5): 3 221-3 226.
- [5] 韩平. 餐厨垃圾的危害及综合治理对策[J]. 科技展望, 2016, 26(22): 322.
- [6] BERNSTAD A, LA C J J. Review of comparative LCAs of food waste management systems: Current status and potential improvements[J]. Waste Management, 2012, 32(12): 2 439-2 455.
- [7] 程亚莉, 毕桂灿, 沃德芳, 等. 国内外餐厨垃圾现状及其处理措施[J]. 新能源进展, 2017, 5(4): 266-271.
- [8] NAIR J, OKAMITSU K. Microbial inoculants for small scale composting of putrescible kitchen wastes[J]. Waste Management, 2010, 30(6): 977-982.
- [9] YIN Yao, LIU Ya-juan, MENG Shu-juan, et al. Enzymatic pretreatment of activated sludge, food waste and their mixture for enhanced bioenergy recovery and waste volume reduction via anaerobic digestion[J]. Applied Energy, 2016, 179(10): 1 131-1 137.
- [10] 赖明帅. 餐厨垃圾无害化处理与资源化利用技术[J]. 绿色环保建材, 2017(6): 246.
- [11] 李田宇. 餐厨垃圾生化降解系统的优化及其微生物群落结构特征研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015: 1-24.
- [12] GILL SS, JANA A M, SHRIVASTAV A. Anaerobic bacterial degradation of kitchen waste: A review[J]. Journal of Microbiology Biotechnology & Food Sciences, 2014, 4(2): 477-483.
- [13] KAUR M, ARORA S. Isolation and screening of cellulose degrading bacteria in kitchen waste and detecting their degrading potential [J]. Mechanical & Civil Engineering, 2012, 1(2): 33-35.

(下转第 68 页)

取物来增加烟草本身的香气物质。此外,愈创木酚类化合物、生物碱类化合物,以及氮杂环类化合物的种类与释放量也远低于传统卷烟。因此加热不燃烧卷烟在烤烟型传统卷烟的特征香韵方面比较薄弱,可通过向烟支原料中添加具有烘焙香、烟熏香味道的香精香料加以改善。

3 结论

采用 GC/MS 分别对 3 款加热不燃烧卷烟主流烟气中的香味成分进行了鉴定,结果显示:① 3 款产品抽吸时单位口数下酸性香味成分的释放量相对较低,中性及碱性香味成分释放量相对较高;② 各产品单位口数下的香味成分释放总量为 I>L>G;③ 与传统卷烟的典型香味成分比较,加热不燃烧卷烟烟气中来源于烟草本身的香气质及香气量均较低,且在烤烟型传统卷烟的特征香韵方面比较薄弱,可通过向烟支原料中增加烟草提取物,或者添加具有烘焙香、烟熏香味道的香精香料加以改善。加热不燃烧卷烟产品与传统卷烟烟气中典型香味成分的比较,对于加热不燃烧烟草制品研发中的原料控制、配方设计、品质改善等方面具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] BOMBICK B R, MURLI H, AVALOS J T, et al. Chemical and biological studies of a new cigarette that primarily heats tobacco Part 2: In vitro toxicology of mainstream smoke condensate[J]. Food and Chemical Toxicology, 1998, 36(3): 183-190.
- [2] BOMBICK D W, AYRES P H, PUTNAM K, et al. Chemical and biological studies of a new cigarette that primarily heats tobacco Part 3: In vitro toxicity of whole smoke[J]. Food and Chemical Toxicology, 1998, 36(3): 191-197.
- [3] SCHALLER J P, KELLER D, POGET L, et al. Evaluation of the tobacco heating system 2.2 Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2016, 81(2): S27-S47.
- [4] 杨继, 杨帅, 段沉杏, 等. 加热不燃烧卷烟烟草材料的热分析研究[J]. 中国烟草学报, 2015, 21(6): 7-13.
- [5] 马鹏飞, 李巧灵, 林凯, 等. 加热非燃烧烟草薄片的热解特性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(4): 71-74.
- [6] 刘珊, 唐培培, 曾世通, 等. 加热状态下烟叶烟气的释放特征[J]. 烟草科技, 2015, 48(4): 27-31.
- [7] 杨继, 汤建国, 尚膳斋, 等. 利用顶空-GC/MS 法对比新型卷烟和传统卷烟的挥发性成分[J]. 烟草科技, 2015, 48(11): 33-39.
- [8] 霍现宽, 刘珊, 崔凯, 等. 加热状态下烟草烟气香味成分释放特征[J]. 烟草科技, 2017, 50(8): 37-45.
- [9] 刘达岸, 李鹏飞, 刘冰, 等. 不同加热非燃烧再造烟叶特性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(6): 26-29.
- [10] 卢乐华. 云南清香型卷烟特征香味成分剖析与鉴定[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 26.
- [11] 章伟, 李德国, 鲍辰卿, 等. β -胡萝卜素衍生物制备及在卷烟中的应用[J]. 香料香精化妆品, 2017(2): 36-39, 43.
- [12] 洪华俏, 郭紫明, 易克, 等. 卷烟主流烟气的中性和碱性香气成分分析[J]. 湖南农业科学, 2008(3): 140-142.
- [13] 杨少丽, 卓越, 唐甜. 一种具有浓郁坚果香香精的制备及其在烟草中的应用研究[J]. 香料香精化妆品, 2017(3): 13-16.
- [14] 李华, 冯凤琴, 沈立荣, 等. 淡豆豉优势菌株的鉴定及其对大豆蛋白质的分解作用[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(1): 1-6.
- [15] 黄雁萍. 油脂分解菌之分离及其降解油脂能力之探讨[D]. 台北: 中兴大学, 2012: 1-19.
- [16] 邴君妍, 罗恩华, 金宜英, 等. 中国餐厨垃圾资源化利用系统建设现状研究[J]. 环境科学与管理, 2018, 43(4): 39-43.
- [17] 尹亚琳. 餐厨垃圾的处理技术[J]. 资源节约与环保, 2018(6): 106.
- [18] 李杨, 蔡海莺, 赵敏洁. 高产耐高温脂肪酶生产菌的筛选与鉴定[J]. 生物技术通报, 2015(1): 144-150.
- [19] VASEEKARAN S, BALAKUMAR S, ARASARATNAM V. Isolation and identification of a bacterial strain producing thermostable α -amylase [J]. Tropical Agricultural Research, 2010, 22(1): 1-11.
- [20] 张慧. 高温菌株生理生化及有机物降解性质研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2010: 4-12.
- [21] 彭孝斌. 甘油—生理盐水保存菌种方法介绍[J]. 预防医学情报杂志, 2014, 30(11): 933-936.
- [22] 季敏, 章建康. 美国帕斯适宜卫生科技组织[J]. 国际生物制品学杂志, 2011, 34(4): 211-213.
- [23] 丁杰萍, 周静, 王潇, 等. 兰州城区餐厨垃圾成分分析[J]. 甘肃科技, 2018, 34(18): 57-60.
- [24] 咸芳. 餐厨垃圾高效处理复合微生物菌剂的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2009: 17-23.
- [25] 布坎南. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组, 译. 北京: 科学出版社, 1995: 591-611.
- [26] 郑盱, 陈泽斌, 夏体渊, 等. 餐厨垃圾好氧降解菌的筛选鉴定[J]. 西南农业学报, 2016, 29(2): 420-424.
- [27] 段怡臣. 餐厨垃圾高效生物降解菌降解效果试验研究[J]. 科学家, 2016(17): 31-32.
- [28] AUREPATIPAN N, CHAMPREDA V, KANOKRAT-ANA P, et al. Assessment of bacterial communities and activities of thermotolerant enzymes produced by bacteria indigenous to oil-bearing sandstone cores for potential application in Enhanced Oil Recovery[J]. Journal of Petroleum Science & Engineering, 2018, 163(4): 259-302.
- [29] 荆哲华, 吴浩浩, 朱素芹, 等. 耐高温胶原蛋白酶菌株的筛选和产酶条件优化[J]. 食品科技, 2017(12): 11-17.

(上接第 58 页)