

纤维脱胶菌 RJ6 的筛选及脱胶性能

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2021.03.012

曾晓希 冉松 谭琴
徐鸿 张远科 陈启明
马靓

湖南工业大学
生命科学与化学学院
湖南 株洲 412007

摘要: 针对植物纤维因其纤长且坚韧在造纸和防治工业中应用受限的问题,从腐烂菜堆中筛选到分离得到纤维脱胶菌株 RJ6,将该菌接种到以苕麻汁为唯一有机营养成分的培养基中对苕麻进行脱胶实验,对其进行了形态鉴定、生理生化特性实验以及 16S rDNA 序列的比对,并对菌株的发酵条件进行优化。测得接种 RJ6 菌株实验组相对于对照组的脱胶率达到 91%,说明 RJ6 对植物纤维原料有高效的脱胶作用。对菌株的发酵条件进行优化,显示 RJ6 菌株在转速 160 r/min、接种量 5%、温度 37 °C 和起始 pH 7.0 条件下保持一个高水平的发酵。形态鉴定、生理生化特性实验以及 16S rDNA 序列比对结果表明, RJ6 为短杆状,两端钝圆,大小约为 (0.4~0.5) μm \times (1.1~1.8) μm ,革兰氏染色结果呈阴性,存在端生鞭毛。其 16S rDNA 序列与 GenBank 中的果胶杆菌属 (*Pectobacterium.sp*) 同源性大于 99%, RJ6 属于果胶杆菌属 (*Pectobacterium.sp*)。

关键词: 制浆预处理; 果胶杆菌; 筛选和鉴定; 16S rDNA

中图分类号: TS102.2 **文献标志码:** A

文章编号: 1674-7100(2021)03-0083-07

引文格式: 曾晓希,冉松,谭琴,等. 纤维脱胶菌 RJ6 的筛选及脱胶性能[J]. 包装学报, 2021, 13(3): 83-89.

1 研究背景

随着造纸技术与产业的不断发展,造纸原料供应紧缺的问题在世界范围内日益严重^[1]。为解决造纸原料缺乏和造纸工业产生的环境问题,需要尽快调整造纸原料结构,加大对非木材纤维原料利用的研究^[2]。目前,韧皮纤维类的非木材长纤维原料由于其纤维细长且柔韧、生长周期短、适应性好等优点,具有良好的应用前景。但在制浆造纸工艺中,植物纤维原料含有大量多糖胶状物质,其纤维长且坚韧不易断,

使其在造纸和纺织方面的应用受到了限制。为了解决这一问题,需要对植物纤维原料进行脱胶预处理,即对原料进行胶质去除,并使植物纤维的束纤维或者单纤维相互分离^[3-4]。传统的脱胶工艺设计采用烧碱蒸煮的化学法,但这种方法对环境污染严重、耗能高、处理后的纤维有不同程度的损伤,这些均与日益完善的现代工业发展要求不符^[5-7]。随着大量研究人员的不断努力,生物预处理技术不断完善,这些技术主要利用微生物代谢物中产生对应的酶来分解植物韧皮部纤维中的果胶、半纤维素等物质,整个反应条件温

收稿日期: 2021-03-20

基金项目: 湖南省高新技术产业科技创新引领计划基金资助项目(2020NK2001); 湖南省教育厅科学研究基金资助项目(20C0622); 国家重点研发计划政府间国际科技创新合作专项基金资助重点项目(2018YFE0110200)

作者简介: 曾晓希(1972-),女,湖南双峰人,湖南工业大学教授,博士,主要从事微生物选育和环境污染生物修复研究, E-mail: zengxiaoxi2003@163.com

通信作者: 马靓(1982-),女,湖南株洲人,湖南工业大学讲师,博士,主要研究方向为微生物资源的开发与利用,纳米材料的生物合成方法及其生物学效应, E-mail: maliangcc@126.com

和、能耗低、符合绿色环保发展的要求且不会破坏纤维素结构^[8-12]。生物预处理方式一般主要包括生物酶法和生物菌法,两者的关键都在于对微生物的筛选和特性研究^[4,10,13]。目前针对此类目标微生物,一般有两种方法,一是利用果胶作为营养物质配制培养基;二是采用植物纤维如剑麻叶、苧麻粉、大麻茎等为原料直接筛选的方法,利用该方法可以筛选出以底物为营养物质,并能分解果胶、半纤维素等成分代谢物的各类微生物。但在处理过程中,能分解纤维素的微生物会对麻类的纤维品质造成一定的影响和破坏,所以通过这种方法筛选出的微生物是否可以应用还有待考究^[9,14-15]。

已有研究表明微生物应用于生物预处理方法是可行的,如 Bajpai. P 等^[16]利用 *Ceriporiopsis subvernisporea* 对麦草进行预处理,然后再进行制浆,处理后的实验组木素含量达到和对照组的相同时,可节约 30 kg 碱,且污水的化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)负荷比也更低,成本大幅降低。脱胶菌 *B.Subtilis* A2-5 以及一种产生韧皮纤维脱胶酶的菌株 *B.Subtilis* No.13,对植物纤维原料的脱胶有一定的效果,但它从斜面菌种到二级种子罐需要培养 16~28 h,发酵至产酶需要 12~18 h,且脱胶酶液还需要适当处理后才能对原麻脱胶,菌株培养周期长且脱胶时间较长的缺点难以解决,阻碍了它在脱胶领域的应用^[17-18]。为此,本研究拟以麻类纤维为实验材料,通过筛选一种高效的脱胶菌株,对原变种生苧麻进行脱胶,以期对植物纤维原料的预处理提供新方法和技术参考。

2 实验

2.1 材料

2.1.1 菌种来源

将腐烂菜样(包括青菜、番茄、白菜和胡萝卜等多种腐烂蔬菜)加入无菌水振荡,从振荡后的溶液中筛选菌种。

2.1.2 试剂和样品

磷酸氢二钾($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$)、氯化铵(NH_4Cl)、测序试剂 BigDye Terminator v3.1 均为市售分析纯;蛋白胨、牛肉膏为生物试剂;苧麻(*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich)。

2.1.3 培养基

富集培养基:将 5 g 生苧麻剪成 1 cm 左右的小

段,加入适量水加热,待水沸腾后,降成小火熬煮;当水中苧麻变软,溶液逐渐由澄清变成棕黄色后,将苧麻捞出;在溶液中加入 0.3 g 牛肉膏、1 g 蛋白胨、0.5 g NaCl,再将该溶液加水混匀定容到 100 mL,在 pH 自然状态,采用高压蒸汽灭菌 20 min。

初筛培养基:将 8 g 生苧麻按照富集培养基中的方法处理;将苧麻捞出,加入 0.03 g K_2HPO_4 、0.05 g NH_4Cl 、2 g 琼脂,将该溶液加水混匀定容到 100 mL,在 pH 自然状态,采用高压蒸汽灭菌 20 min。

纯化培养基:将 0.3 g 牛肉膏、1 g 蛋白胨、0.5 g NaCl、2 g 琼脂,加水混匀将溶液定容到 100 mL,将 pH 调至 7.0,采用高压蒸汽灭菌 20 min。

复筛培养基:加入 0.03 g K_2HPO_4 、0.05 g NH_4Cl ,将该溶液加水混匀定容到 100 mL,然后加入 10 g 生苧麻,在 pH 自然状态,采用高压蒸汽灭菌 20 min。

2.2 实验方法

2.2.1 脱胶菌株的富集驯化

在装有 20 mL 无菌水的 200 mL 三角瓶中加入 1 g 腐烂菜样,同时加入适量无菌玻璃珠,在转速 150 r/min 的摇床中摇动 20 min,尽量使其混合均匀。移取振荡后的溶液 10 mL,在 100 mL 液体培养基中进行接种,然后在转速 170 r/min、温度 35 °C 的条件下培养 48 h。

2.2.2 脱胶菌株的筛选

首先稀释上述富集驯化后的混合物,在以苧麻汁为唯一营养物质的培养基平板上进行涂布,在 35 °C 的条件下培养 48 h。若产生水溶圈,则在周围挑取菌种,将其置于肉汤培养基平板上进行平板划线,然后置于 35 °C 条件下培养 48 h,此操作重复 3 次以上,直至连续多次观察到形态单一的菌体。将上述菌株接种于以苧麻为营养物质的复筛培养基中,在 35 °C、转速 180 r/min 条件下培养 24 h,对复筛培养基中的苧麻进行脱胶率检测,超过 80% 则认为脱胶能力显著,然后从筛选出的菌株中挑取效率最好的一株作为最优的目的菌株。

2.2.3 菌株的鉴定

1) 形态特征观察。利用菌株在不同的固体培养基的平皿上会有不同形态的特点,涂布菌株后在 28 °C 的条件下培养 48 h,然后对菌落的特点进行观察。参考中华根瘤菌的筛选方法,取培养至对数生长期的细菌,对其分别进行革兰氏染色、抗酸染色、荚膜染

色、芽孢染色和鞭毛染色^[19]。在扫描电子显微镜下察看各个细菌形态的大小和特点。

2) 菌株的各项生理生化鉴定根据《常见细菌系统鉴定手册》的相应说明进行选择^[8]。

2.2.4 16S rDNA 的序列分析

参考中华根瘤菌的筛选鉴定^[19], 对目的菌株进行 16S rDNA 分子鉴定。首先, 提取目的菌株的基因组, 取生长至对数期的菌液, 离心后加入 RNase 和溶菌酶, 混和均匀后置于水浴中; 在上述样品中加入蛋白酶 K 和十二烷基硫酸钠 ($C_{12}H_{25}SO_4Na$, sodium dodecyl sulfate, SDS), 混合均匀; 再在混合液中加入十六烷基三甲基溴化铵 ($C_{16}H_{33}(CH_3)_3NBr$, Hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB) 和 NaCl, 水浴操作后加入等体积的氯仿/异戊醇, 混合均匀后进行离心, 弃除沉淀, 将上清液移入干净离心管中并加入与上清液等体积的酚/氯仿/异戊醇, 再进行离心, 弃除沉淀, 取上清液; 然后加入异丙醇, 混合均匀直至 DNA 沉淀下来, 短时间静置后离心, 弃上清液, 留沉淀; 然后用体积分数为 70% 乙醇将沉淀洗数次, 放置片刻使乙醇挥发后加入 40 μ L ddH₂O 溶解 DNA。最后进行琼脂糖凝胶电泳实验, 观察分析电泳结果。然后对目的菌株进行 16S rDNA 的扩增, 使用 16S rDNA 的通用引物 63f:5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3' 和 1387r:5'-GGGCGGAGTGTACAAGGC-3' 作为引物。配置 50 μ L 的 PCR (polymerase chain reaction) 反应体系, 设置 PCR 的反应条件参考中华根瘤菌 NL 的鉴定^[19]。获得的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳实验, 剩余 PCR 产物回收后委托上海生物工程有限公司测序, 获得菌株的 16S rDNA 序列后上传至 GenBank 数据库, 与全部序列进行对照以确定其菌属, 并使用系统发育树软件 MEGA-X 构建发育树。

2.2.5 菌株的脱胶率检测

活化菌种备用, 将 300 mL 自来水和 30 g 经过预处理的生苧麻在锥形瓶中混合, 然后取 15 mL 菌液接种, 在 35 $^{\circ}C$ 、转速 170 r/min 条件下培养 8 h, 然后检测脱胶率。对照组为不接种目标菌株, 但需要完成同样的处理步骤。脱胶率 (G_r) 公式为

$$G_r = 1 - G_1/G_0,$$

式中 G_0 为对照组的含胶率,

G_1 为实验组的含胶率^[13]。

2.2.6 菌株的发酵条件优化

影响 RJ6 菌株发酵生长水平较为显著的因素有

培养温度、pH 值, 转速和接种量^[20]。对上述因素分别进行单因素实验, 以菌体数量水平为考察指标, 探究其对发酵培养基中菌株生长水平的影响。

3 结果与分析

3.1 脱胶菌株的筛选

用经过纯化后的单一菌株进行脱胶实验, 将纯化后的菌种接种到复筛培养基中, 然后通过检测培养基中苧麻的含胶率计算每一种菌株的脱胶率。对脱胶率达 80% 以上的菌株进行筛选, 然后将其中效果最优的, 即脱胶率达到 91% 的菌株命名为 RJ6。后续实验对象选择 RJ6。

3.2 RJ6 菌株的形态特征观察

固体培养基的平皿培养特征如图 1 所示。固体培养基平皿培养的菌株生长较快, 菌落呈乳白色的圆状, 边缘圆润, 轻微隆起, 质地不透明但其表面呈光滑状且有光泽, 培养 36 h 后菌落直径达 3~5 mm。

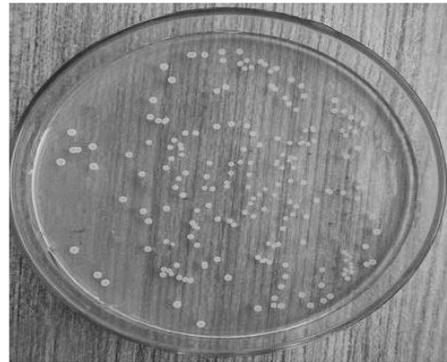


图 1 菌株 RJ6 的形态特征照片

Fig. 1 Morphological characteristics photograph of strain RJ6

RJ6 在电子显微镜下的个体形态如图 2 所示。

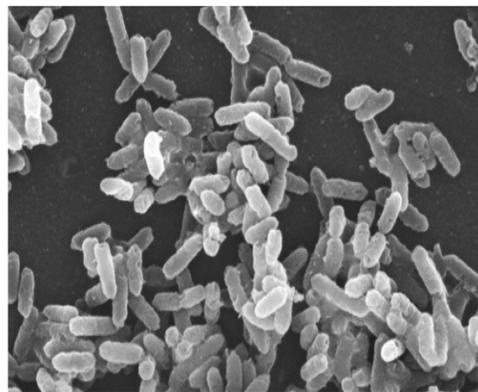


图 2 菌株 RJ6 的 SEM 照片

Fig. 2 SEM photograph of strain RJ6

从图2的EMS图像可以看出,菌株RJ6整体呈短杆状,两头钝圆,大小为(0.4~0.5) μm \times (1.1~1.8) μm ,革兰氏染色结果为阴性,存在鞭毛结构,没有芽孢,不产生色素。

3.3 RJ6 菌株的生理生化鉴定

脱胶菌株RJ6的生理生化鉴定结果如表1所示。

表1 RJ6 菌株的生理生化鉴定

Table 1 Physiological and biochemical identification of RJ6 strain

实验类型	结果	实验类型	结果
V-P 检测	+	荧光色素检测	-
淀粉水解实验	+	甲基红实验	-
乙酸氧化	-	葡萄糖利用	+
接触酶实验	+	乳糖利用	+
丙二酸利用	+	蔗糖利用	+
柠檬酸盐利用	+	明胶液化	+
果胶水解实验	+	麦芽糖利用	+
纤维素分解实验	-	脲酶实验	-

注: +, 阳性; -, 阴性; nd, 没有数据。

从表1的鉴定结果可以得到: V-P 测定结果为阳性, 甲基红实验结果为阴性, 说明该菌株可以分解

葡萄糖生成丙酮酸; 淀粉水解、果胶水解实验结果为阳性, 纤维素分解实验为阴性, 证明该菌株可以分解纤维果胶; 葡萄糖利用、乳酸利用、蔗糖利用和麦芽糖利用实验结果都为阳性, 说明上述物质皆可以作为唯一碳源使其生长繁殖; 在其他生理以及生化指标检测中, 该菌株能接触酶, 丙二酸利用和柠檬酸盐利用实验结果为阳性, 可分解明胶液化, 无脲酶活性, 不产生荧光色素。

3.4 RJ6 的 16S rDNA 分析

将RJ6的16S rDNA序列上传至GenBank数据库中, 登录号为DQ124677。在GenBank数据库中选择同源性高的序列, 经由序列同源性分析, 结果表明RJ6与GenBank中的欧文氏菌属(*Erwinia*.sp)的同源性最高, 大于99%。欧文氏菌属中分出4个属, 其中与RJ6关系密切的是果胶杆菌属(*Pectobacterium*.sp)。利用系统发育树软件MEGA-X构建发育树, 如图3所示。图3所示的菌株RJ6生长发育树也证明了上述结论。再将菌株形态结果、生理生化鉴定结果、序列比对结果和发育树构建结果综合得出RJ6属于果胶杆菌属(*Pectobacterium*.sp)。

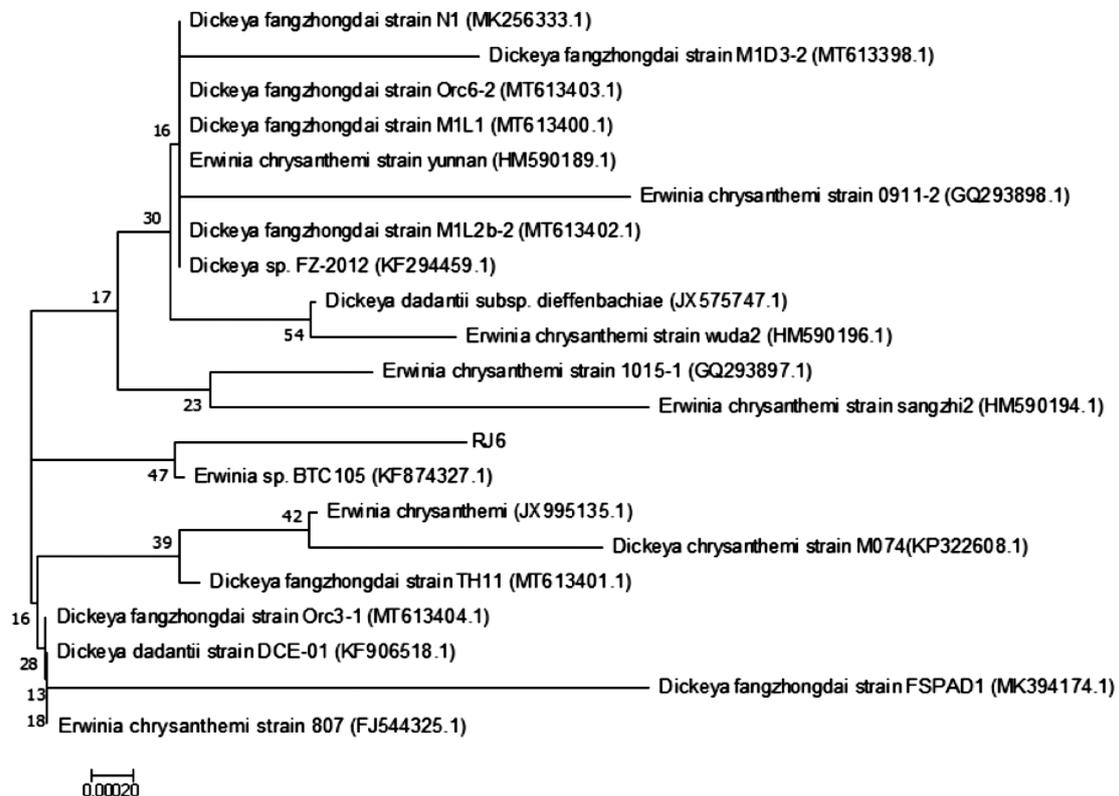


图3 菌株RJ6的生长发育树

Fig. 3 Growth and development tree of strain RJ6

3.5 菌株的脱胶率测定

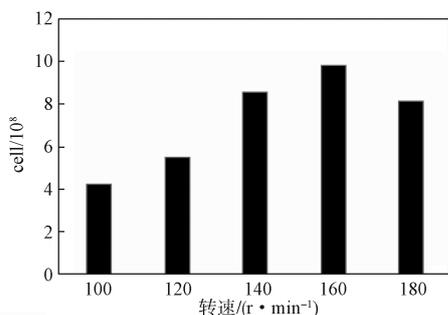
根据国家标准 GB 5889—1986 中公布的苧麻含胶率测定方法, 测定对照组的含胶率 (G_0) 和实验组的含胶率 (G_1)。然后计算实验初筛得到的菌株的脱胶率, 其中脱胶率最高的菌株为 RJ6, 其结果为 $G_0=21.67\%$, $G_1=1.95\%$, 脱胶率为 91.0%。

将 RJ6 与湖南师范大学、山东大学和陈其国等筛选出的 *B.Subtilis* A2-5、*B.Subtilis* No.13 和 M1 脱胶菌株的培养时间、开始产酶时间和脱胶效果进行对比^[17-18, 21], 结果如表 2 所示。

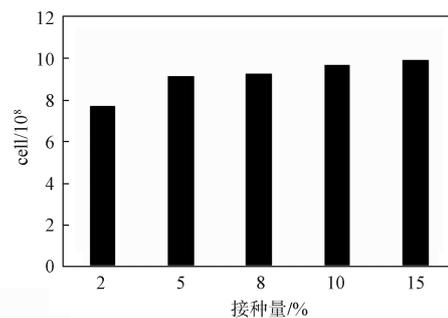
表 2 RJ6 与已发表菌株的脱胶性能对比

Table 2 Comparison of degumming performance between RJ6 and published strains

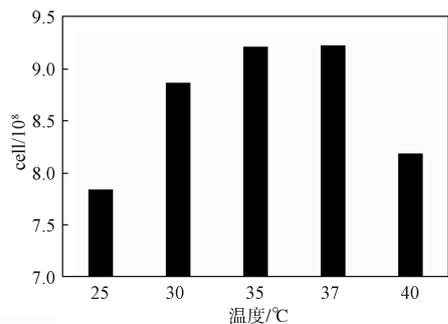
菌株	培养周期/h	开始产酶时间/h	脱胶率/%
RJ6	8	8	91.0
<i>B.Subtilis</i> A2-5	28	18	91.0
<i>B.Subtilis</i> No.13	28	18	95.0
M1	24	—	18.7



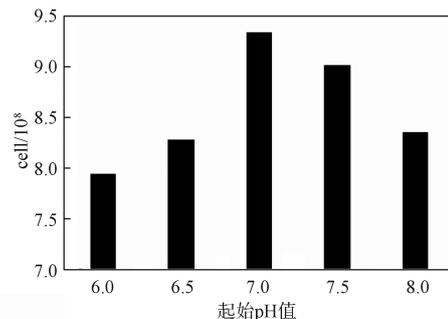
a) 转速



b) 接种量



c) 温度



d) 起始 pH 值

图 4 RJ6 的条件优化结果

Fig. 4 Condition optimization results of RJ6

由图 4 可知, 转速在 100~160 r/min 的范围内菌体数量随着转速的增大而增大, 且在 160 r/min 达到最大值, 超过 160 r/min 后缓慢下降。接种量对菌体

从表 2 的对比结果可以看出, *B.Subtilis* A2-5、*B.Subtilis* No.13 菌株的脱胶率高, 但培养周期和开始产酶时间长且脱胶酶液还需要进行处理, 而 M1 脱胶菌株培养周期长, 脱胶率低。本研究筛选出的目标菌株 RJ6 在接种到苧麻上进行恒温振荡 8 h, 菌株进入对数生长期, 开始大量产生脱胶酶, 测定其脱胶率可高达 91% 以上, 相比于其他菌株生长周期短, 脱胶酶产生的时间快, 脱胶率高, 整体的脱胶性能良好, 且处理后的纤维分散度高, 不伤纤维, 对生物脱胶领域有着积极的促进作用。

3.6 菌株的发酵条件优化

通过测定在不同条件下的菌体数量水平, 对菌株的发酵条件进行优化。脱胶菌株 RJ6 的发酵条件优化结果如图 4 所示, 实验分别对不同转速、接种量、温度和起始 pH 下的细菌生长水平进行了测定。

数量的影响表现在随着接种量的增大缓慢增大, 但在 5%~15% 接种量的范围内相差不大, 均维持在一个较高水平, 其中 5% 接种量为最佳。温度对菌体数量的

影响显著, 总体趋势是随着温度的增大先增加再减小, 35~37 ℃为适宜温度, 37 ℃为最佳温度。起始 pH 的影响需要保持在中性效果最佳, 偏酸和偏碱都会影响菌株的生长水平, 起始 pH 7.0 为最佳。综上所述, RJ6 菌株在转速为 160 r/min、接种量 5%、温度 37 ℃和起始 pH 7.0 的条件下保持一个最佳的发酵水平。

4 结论

本研究从腐烂菜堆中筛选得到一株对苧麻具有高效脱胶作用且不损伤苧麻纤维素成分的菌株 RJ6。该菌是革兰氏阴性杆菌, 有鞭毛结构, 没有内生芽孢, 通过对该菌株进行形态观察、生理生化鉴定和 16S rDNA 鉴定, 可将该菌鉴定为果胶杆菌 (*Pectobacterium*.sp), 菌落呈乳白色圆状, 表面光滑且有光泽, 细菌个体形态呈短杆状, 两头钝圆, 大小为 (0.4~0.5) μm × (1.1~1.8) μm。通过对 RJ6 菌株发酵水平条件进行优化, 在转速 160 r/min、接种量 5%、温度 37 ℃和起始 pH 7.0 的条件下 RJ6 菌株保持一个高水平的发酵。将菌株 RJ6 在接种到苧麻上后在优化的条件下培养 8 h, 可达 90% 以上的脱胶率。本研究所筛的脱胶菌株 RJ6 具有生长培养周期短, 产生脱胶酶的时间快, 脱胶率高的优点, 将该脱胶菌应用于苧麻的脱胶处理上, 以使苧麻在造纸行业及纺织工业中发挥更大的作用。

参考文献:

- [1] 姜云. 国家严格的环保政策对中国纸业的影响[J]. 造纸装备及材料, 2019, 48(4): 3-5.
JIANG Yun. The Impact of the Country's Strict Environmental Protection Policy on China's Paper Industry[J]. Papermaking Equipment & Materials, 2019, 48(4): 3-5.
- [2] 姚光裕. 利用非木材长纤维制浆造纸[J]. 国际造纸, 1996, 15(4): 19-23.
YAO Guangyu. Long Fibred Non-Wood Species for Pulping and Papermaking[J]. World Pulp and Paper, 1996, 15(4): 19-23.
- [3] 胡安琍. 苧麻蒸煮制浆探讨[J]. 中华纸业, 2014, 35(10): 39-41.
HU Anli. An Experiment on Digesting Ramie for Pulping[J]. China Pulp & Paper Industry, 2014, 35(10): 39-41.
- [4] 杨琦, 段盛文, 彭源德. 苧麻微生物脱胶技术的研究进展[J]. 中国麻业科学, 2018, 40(1): 36-42.
- [5] YANG Qi, DUAN Shengwen, PENG Yuande. Research Development on Microbial Degumming of Ramie[J]. Plant Fiber Sciences in China, 2018, 40(1): 36-42.
- [6] 谢莉敏, 陈桂华, 吴晓玉, 等. 苧麻脱胶工艺的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(2): 226-228.
XIE Limin, CHEN Guihua, WU Xiaoyu, et al. Research Progress of Ramie Degumming Technology[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2012, 40(2): 226-228.
- [7] 陈安庆. 苧麻脱胶菌复合系研究[D]. 武汉: 武汉纺织大学, 2018.
CHEN Anqing. Study on the Bacterial Consortium of Ramie Degumming[D]. Wuhan: Wuhan Textile University, 2018.
- [8] MAO K W, CHEN H G, QI H H, et al. Visual Degumming Process of Ramie Fiber Using a Microbial Consortium RAMCD407[J]. Cellulose, 2019, 26(5): 3513-3528.
- [9] 金玉娟, 陶菊红, 刘自镛, 等. 融合子菌株苧麻脱胶研究[J]. 纺织学报, 2004, 25(2): 30-31, 4.
JIN Yujuan, TAO Juhong, LIU Zirong, et al. Research on Ramie Degumming of Fusants[J]. Journal of Textile Research, 2004, 25(2): 30-31, 4.
- [10] 郑科. 苧麻脱胶细菌的筛选、多样性分析及脱胶性能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
ZHENG Ke. Screening, Diversity and Function Analysis of Bacteria for Ramie Bio-Degumming[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [11] 程毅. 生物脱胶关键酶基因的克隆和串联表达[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
CHENG Yi. Cloning and Tandem-Expression of Key Enzymes Genes for Biological Degumming[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015.
- [12] 张运雄, 王朝云. 麻类生物脱胶与生物制浆酶系[J]. 中国麻业, 2002, 24(2): 14-17.
ZHANG Yunxiong, WANG Chaoyun. Enzymes for Bio-Degumming/Retting and Bio-Pulping[J]. China's Fiber Crops, 2002, 24(2): 14-17.
- [13] YANG Q, DUAN S W, CHENG L F, et al. Engineering of a Bacillus Subtilis Strain Deficient in Cellulase: Application in Degumming of Ramie[J]. Fibers and Polymers, 2019, 20(1): 57-62.
- [14] 曾晓希, 杨政, 仓道平. 一种脱胶菌株的筛选方法及其筛选出的脱胶菌株: CN101948788B[P]. 2011-11-09.
ZENG Xiaoxi, YANG Zheng, CANG Daoping. Screening Method for Degumming Strain and Degumming Strain Screened by Same: CN101948788B[P]. 2011-11-09.
- [15] 王茜. 苧麻高效脱胶菌的筛选与应用研究[D]. 上海: 东华大学, 2017.

- WANG Qian. Screening and Application of Bacterial Strains for the Effective Retting of Ramie Fiber[D]. Shanghai: Donghua University, 2017.
- [15] 郑科, 段盛文, 成莉凤, 等. 苧麻脱胶细菌菌株的筛选、分类鉴定与多样性分析[J]. 中国麻业科学, 2018, 40(5): 201-207.
- ZHENG Ke, DUAN Shengwen, CHENG Lifeng, et al. Screening and Preliminary Analysis of Bacteria Strains for Ramie Bio-Degumming[J]. Plant Fiber Sciences in China, 2018, 40(5): 201-207.
- [16] BAJPAI P, MISHRA S P, MISHRA O P, et al. Biochemical Pulping of Wheat Straw[J]. TAPPI Journal, 2004, 3(8): 3-6.
- [17] 潘祖楷, 张秀清, 郑美珠, 等. 苧麻脱胶酶产生菌的培养方法及应用: CN85104285A[P]. 1987-02-04.
- PAN Zukai, ZHANG Xiuqing, ZHENG Meizhu, et al. Process For Culture of Bacteria Which Produce Ramie Degumming Enzyme and the Use Thereof: CN85104285A[P]. 1987-02-04.
- [18] 刘自镛, 任建平, 冯瑞良, 等. 一株产韧皮纤维脱胶酶的菌株及其在苧麻、大麻脱胶上的应用: CN1157475C[P]. 2004-07-14.
- LIU ZIRONG, REN Jianping, FENG Ruiliang, et al. Bacterial Strain Producing Phloem Fibre Degumming Enzyme and Its Application in Ramie and Hemp Degumming: CN1157475C[P]. 2004-07-14.
- [19] 曾晓希, 胡岳华, 柳建设, 等. 中华根瘤菌 NL 的筛选与鉴定[J]. 湖北农业科学, 2007, 46(2): 180-182.
- ZENG Xiaoxi, HU Yuehua, LIU Jianshe, et al. Study on Isolation and Characterization of Sinorhizobium NL[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2007, 46(2): 180-182.
- [20] 王承亮, 苏振华, 冯文英. 生物技术在制浆造纸工业中的应用[J]. 湖北造纸, 2010(2): 9-12.
- WANG Chengliang, SU Zhenhua, FENG Wenying. Application of Biotechnology in Pulp and Paper Industry[J]. Hubei Zaozhi, 2010(2): 9-12.
- [21] 陈其国. 三株苧麻脱胶菌的筛选[J]. 武汉职业技术学院学报, 2016, 15(1): 85-87.
- CHEN Qiguo. Screening of Three Strains Bacterium for Ramie Degumming[J]. Journal of Wuhan Polytechnic, 2016, 15(1): 85-87.

(责任编辑: 申剑)

Screening of Fiber Degumming Bacteria RJ6 and Its Degumming Performance

ZENG Xiaoxi, RAN Song, TAN Qin, XU Hong, ZHANG Yuanke, CHEN Qiming, MA Liang

(College of Life Science and Chemistry, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: Aiming at the issue of the limited use of plant fibers in paper making and control treatment industries due to their length and tenacity, the screening of fiber degumming bacteria RJ6 was isolated and screened from the rotting vegetable, and the strain was inoculated into a medium with ramie juice as the only organic nutrient component to perform degumming experiments on ramie. Morphological identification, physiological and biochemical characteristics and 16S rDNA sequence comparison were carried out, and the fermentation conditions of the strain were optimized. The results showed that the degumming rate of the experimental group inoculated with RJ6 was 91%, compared to the control group, indicating that RJ6 had an efficient degumming effect on plant fiber raw materials. By optimizing the fermentation conditions of strain RJ6, it was shown that the RJ6 maintained a high level of fermentation under the conditions of 160 r/min, 5% inoculation, 37°C and initial pH 7. The results of morphological identification, physiological and biochemical characteristics experiment, and 16S rDNA sequence alignment showed that RJ6 was short rod shaped, blunt round at both ends, approximately (0.4~0.5) $\mu\text{m} \times (1.1\sim 1.8) \mu\text{m}$ in size. The test results were negative for Gram staining, and there were terminal flagella. The 16S rDNA sequence of RJ6 was more than 99% homology with *Pectobacterium.sp* from GenBank, and it also showed that RJ6 belonged to *Pectobacterium.sp*.

Keywords: pulp pretreatment; pectobacterium; screening and identification; 16S rDNA

稿 约

《包装学报》(ISSN 1674-7100, CN 43-1499/TB)是由湖南工业大学主办、国内外公开发行人、具有国际视野的包装行业学术型期刊(双月刊)。本刊立足学术研究,及时和刊发包装科技领域的新技术、新成果,促进包装科技进步与交流,繁荣包装文化,搭建包装产学研结合的桥梁,推动我国包装产业可持续发展和包装工业科技进步。

《包装学报》将坚持质量第一的办刊原则,热忱欢迎行业专家、学者将内容新颖、有独立见解的高质量原创性论文投往本刊。本刊特色栏目有:绿色包装与包装安全,常设栏目有:新材料·新技术·新工艺、包装印刷与印后加工、包装结构与货架寿命、运输包装与物流、包装设备与自动化。

投稿须知

1 论文题名、作者姓名、作者单位名、摘要、关键词

文稿须包括中英文题名、作者姓名、单位名、单位所在城市名及邮政编码、摘要、关键词。中文题名一般不超过20个汉字。英文题名应与中文题名含义一致,开头不用定冠词。论文摘要一般为300字左右,采用第三人称写法,不要使用“本文”“作者”等作为主语,避免出现图表、公式和参考文献序号等。英文摘要应与中文摘要文意一致。中文关键词一般为3~8个,选词要规范,应尽量从汉语主题词表中选取,英文关键词应与中文关键词一一对应,不能采用英文缩写。

2 正文

正文篇幅一般为5 000~8 000字,包括简短引言、论述分析、结果和结论等内容。文中出现的外文缩写除公知公用的外,首次出现时一律应标有英文全称。

文中图/表应有自明性,且随文出现。图/表要有中英文的图/表序和名,图中文字、符号、坐标中的标值和标值线必须清晰,出现的数值都应标有明确的量与单位(无量纲除外)。文中有关的量与单位必须符合国家和国际标准。正文章节编号采用三级标题顶格排序,论文层次序号形如1,1.1,1.1.1排序,引言不排序。

3 参考文献

参考文献应在文中确切引用的专著、期刊文章、论文集文章、学位论文、报告、报纸文章、国家(国际)标准、专利、电子文献等,按文中引用的先后顺序编号,且应在文中相应的地方标示。每篇论文的参考文献不应少于15条,并要求中文文献有相应的英译,所引用的期刊文献一般应为近5年所发表的。

文献中,作者不超过3位时,全部列出;超过3位时,只列前3位,中文后加“等”,英文后加“et al”。作者姓名不论是外文还是汉语拼音一律姓在前、名在后(外文姓不可缩写且均应大写,名可缩写并省略缩写点“.”)。

4 作者简介、基金项目

作者简介包括姓名、出生年份、性别、籍贯、职称、最后学位(或在读学历)及主要研究方向。如果论文涉及的是有关基金项目的研究内容,须注明基金或资助机构的名称、项目编号,交稿时需附交项目批准文件复印件或电子文档。

作者投稿时请注明联系电话和电子邮箱。本刊对来稿有修改权。论文出版后将向国内外文献检索机构报送上网,届时将不再通知作者。

来稿文责自负,要遵守职业道德,如摘引他人作品,务请在参考文献中予以著录。署名的作者应为参与创作、对内容负责的人。所有署名作者都应对该文的署名和顺序签名认可,署名不可随意变更。

联系地址:湖南省株洲市天元区泰山路湖南工业大学期刊社

邮政编码:412007 电 话:0731-22183037

电子邮箱:baozhuangxuebao@163.com

网 址: <http://journals.hut.edu.cn>