



## 烟草废弃物中的难降解有机物的微生物降解研究进展

郑秀成, 陈泽裕, 陈国庆, 李骏, 钟卫鸿\*

浙江工业大学生物工程学院, 浙江 杭州 310032

**摘要:** 烟草废弃物的资源化利用及无害处理过程, 需要利用微生物高效降解其中的难降解物质, 如木质素与尼古丁。本文主要综述烟草废弃物中难降解物质的生物降解研究进展。迄今, 已经发现了不少木质素和尼古丁的微生物降解菌株, 对其降解机理及应用已有不少研究报道, 但其在烟草废弃物处理中的应用方面报道较少。木质素和尼古丁降解菌可以用于废次烟叶(烟梗)木质素的消减和尼古丁去除, 但同时也需要考察菌株的降解能力和应用环境的适用性。具备降解木质素和尼古丁双重功能的菌株更有应用前景, 但迄今发现较少。基于全基因组分析和微生物组学技术的复合菌群的研究也是重要的研究方向, 将推动含木质素和尼古丁等多种难降解物质的废次烟叶的处置技术发展和实际应用。

**关键词:** 烟草废弃物, 木质素, 尼古丁, 微生物, 降解, 微生物组

烟草是我国十分重要的经济作物之一, 每年种植面积约 1500 万亩, 年产烟叶约 500 万 t, 同时产生 216 万 t 的烟秆废弃物<sup>[1]</sup>及大量不符合收购要求的次等烟叶废弃物。在烟叶和卷烟加工过程中也会产生约占原料 1/3 的废(次)弃物。这些烟草废(次)弃物不仅造成了严重的资源浪费, 而且会破坏土壤的生态结构, 引起水体的污染。因此, 必须妥善处理这些烟草行业废弃物带来的环境污染问题。

目前处理烟草废弃物的主要方法有: (1) 直接焚烧; (2) 有用物质的提取利用; (3) 堆肥或再造

烟叶技术等资源化利用及无害处理技术。焚烧会带来空气污染和温室效应问题; 有用物质提取利用后, 还得面对残余废渣的处理问题; 堆肥和再造烟叶是对废弃物全利用技术。后两种技术都需要对其中的两种难降解物质, 即木质素与尼古丁进行降解处理。木质素是烟草细胞壁的主要组分, 不溶于水, 结构紧密, 具有一定的机械强度且难以降解, 这增加了细胞破碎的难度, 因此也限制了细胞内有用化合物的提取利用。尼古丁是烟草中主要的高值化合物之一, 结构稳定, 难以降解, 并且具有细胞毒性, 在自然界中会抑制微生物降

基金项目: 国家自然科学基金(31670115, 31800118, 31970104)

\*通信作者。Tel/Fax: +86-571-88320739; E-mail: whzhong@zjut.edu.cn

收稿日期: 2019-10-30; 修回日期: 2019-12-29; 网络出版日期: 2020-05-28

解烟草废弃物的活性, 甚至是杀死微生物, 也影响木质素的降解过程, 增加了烟草废弃物的降解难度。

一些物理、化学方法也可用于烟草废弃物处理, 但会影响烟草资源的后续利用。例如, 宋丽丽等<sup>[2]</sup>分别使用氢氧化钠和微波等处理烟杆材料, 实现对烟杆结构破坏, 但影响了其回收及后续的应用。故而, 理化方法更适用于有用化合物的提取。生物法处理(微生物和酶法)相对成本低、环境友好, 不影响后续应用。本文主要综述烟草废弃物中难降解物质(木质素和尼古丁)的生物降解研究进展和问题。

## 1 烟草废(次)弃物的处理和利用现状

烟草废弃物可分为农业源废弃物及工业源废弃物。农业源烟草废弃物主要为低等级烟叶及烟杆, 不符合收购条件, 不易腐烂。工业源烟草废弃物则是指在香烟生产过程中产生的烟草下脚料, 包括烟梗、碎烟叶、烟末、霉变烟叶等, 又可将之分为废次烟叶与废次烟梗。烟杆中尼古丁含量达 1.8 g/kg, 烟叶中尼古丁含量约为烟杆的 3.5 倍, 卷烟厂废水中的尼古丁含量可达 15.4 g/kg, 根据欧盟规定, 当尼古丁含量高于 0.5 g/kg 时, 即为有毒有害物质<sup>[3-4]</sup>。

农业源烟草废弃物处理方式主要有堆肥、焚烧、丢弃等, 极易引起大气、土壤和水体污染问题。工业源烟草废弃物主要是通过再造烟叶技术处理, 并形成了关联产业, 但其所产生的工业废水也含尼古丁等有害物质, 需要有效去除尼古丁再排放, 避免水体污染。

烟草废弃物在医药产业、畜牧业、农业、渔

业也有应用价值。例如: (1) 从中提取尼古丁<sup>[5]</sup>、茄尼醇<sup>[6]</sup>和果胶<sup>[7]</sup>等产品, 可广泛用于医药、化工等行业; (2) 利用烟杆制备高比表面积、吸附性能强的活性炭, 如张利波等<sup>[8]</sup>利用 CO<sub>2</sub> 为活化剂, 制备得到微孔型活性炭; (3) 将烟草废弃物转化为生物质能源或其它高附加值产品, 如 Guo 等<sup>[9]</sup>利用酶法水解烟杆, 制备还原糖, 同时进行糖化与乙醇发酵。

可见, 处理烟草废弃物的最佳方法是通过工业化回收和集中处理与利用。进行有用物质的提取和生物能源制备时, 需要解决烟草废弃物中难降解物质的处理问题。

## 2 烟草废弃物中木质素的生物降解研究

生物质作为一种重要的可再生资源, 其开发利用是解决目前能源危机的重要途径之一。但生物质的主要成分木质纤维素却很难降解。木质纤维素主要由木质素、纤维素、半纤维素组成, 其中的木质素是一种难降解的类苯基丙烷的生物高聚物, 通过共价键和氢键与易降解的纤维素和半纤维素紧密相连形成木质纤维素<sup>[10-11]</sup>。人们对木质素的结构研究自 19 世纪就开始了, 但至今仍未研究透彻。虽然人们已经清楚木质素的生物合成途径, 但其聚合(自由基偶联)过程却是随机的, 这导致了木质素结构的复杂性与随机性, 也使得人们难以建立具体的木质素模型<sup>[12]</sup>(图 1)。所以, 使用微生物来开发利用木质纤维素这一丰富的生物质资源时, 首先必须解决木质素的降解问题。烟草废弃物也是生物质的一种, 在对其处置和利用过程中, 同样面临木质素降解的问题。

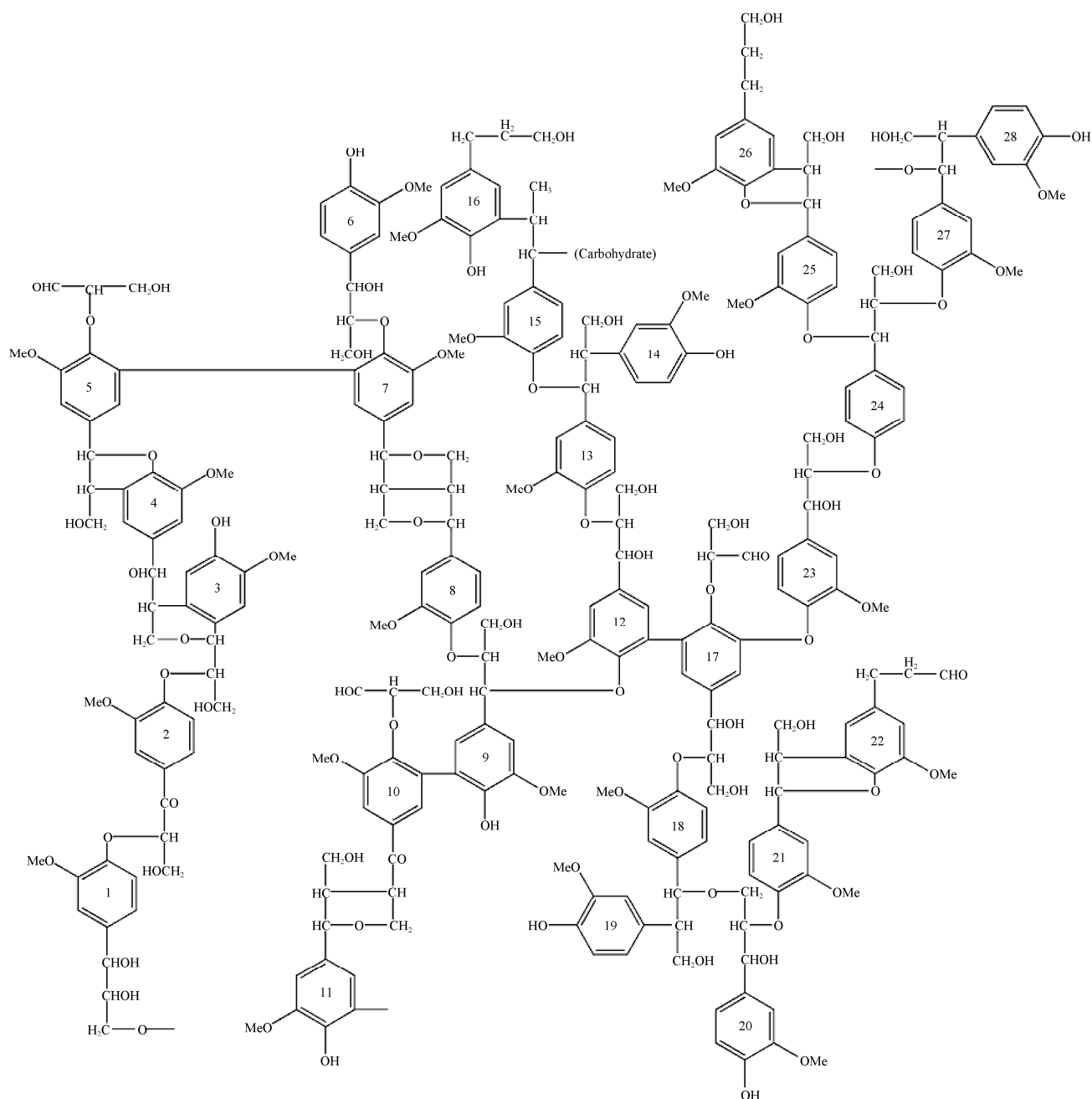


图 1. 木质素的结构模型

Figure 1. Structure model of lignin.

## 2.1 已发现的木质素降解微生物

迄今,已在自然界中发现了一些能将木质素降解为  $\text{H}_2\text{O}$  与  $\text{CO}_2$  的微生物,包括真菌、细菌、放线菌等。木质素降解真菌,主要有白腐真菌、软腐真菌与褐腐真菌这 3 类。白腐真菌是目前唯

一可独立地将木质素转化为  $\text{CO}_2$  与  $\text{H}_2\text{O}$  的微生物,因此对于白腐真菌的研究和利用较多。如直接用于造纸废水中木质素降解<sup>[13]</sup>,或利用电芬顿技术(E-Fenton)强化白腐真菌的木质素降解<sup>[14]</sup>。由于细菌的培养条件较真菌简单,来源也广,近几

年国内外所报道的新菌株也大多是细菌。如阿氏芽孢杆菌(*Bacillus aryabhatai* MG966493)<sup>[15]</sup>、纤孔菌(*Inonotus pachyphloeus* JP-1)<sup>[16]</sup>、丛毛单胞菌(*Comamonas serinivorans* C35)<sup>[17]</sup>、嗜吡啉红球菌(*Rhodococcus pyridinivorans* CCZU-B16)<sup>[18]</sup>、鞘氨醇菌(*Sphingobacterium* sp. HY-H)<sup>[19]</sup>等。目前已发现具有木质素降解能力的放线菌有高温放线菌属(*Thermoactinomyces*)、小单胞菌属(*Micromonospora*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)和褐色高温单胞菌(*Thermomonospora fusca*)等。

由于单一菌株对木质素降解速率不够快速、降解不够全面,人们尝试通过构建具有协同降解木质素效果的复合菌系来提高降解效率。例如,刘霄<sup>[20]</sup>构建了由 *Cladosporium* sp. Y-6、*Fusarium* sp. Y-7 和 *Trichoderma* sp. Y-R 组成的复合菌系,进行 30 d 的玉米秸秆液体发酵,对玉米秸秆的总降解率达到了 39.0%,分别比单一菌株 Y-6、Y-7 和 Y-R 高 3.3%、16.3%和 11.5%;并且也发现了木质素降解效果比单一菌株的降解效果好,达到了 25.8%,分别比 Y-6、Y-7 和 Y-R 高 0.9%、3.3%和 9.5%。因为该实验的主要目的在于纤维素的降解,所以在木质素的降解上没有显著提升,但也提供了一种新的思路。张保等<sup>[21]</sup>构建了由 *Stereum hirsutum* LS136、*Trametes versicolor* LJ485 与 *Antrodia zonata* LJ496 等体积混合组成的复合菌系 FHs,并在优化后的培养条件下进行 12 d 的木质素发酵实验,结果表明,复合菌系 FHs 对木质素的降解率达到了 37.3%,而单一菌株 LS136、LJ485、LJ496 对木质素的降解率分别为 28.3%、26.9%、20.9%。复合菌系比单一菌株具有更强的木质素降解能力,可能因为其具有更完善的酶系

统,且相应的酶活与产酶量都高于单一菌株。这还需要更进一步的研究来证明,同时也揭示了复合菌系的研究价值和应用前景。随着宏基因组学与宏转录组学技术的发展,更复杂菌系的构建和检测成为可能。通过木质素降解群落内各菌种间的组成优化,最终提高菌群的木质素或木质纤维素降解代谢能力和效果,也将是值得期待的。

## 2.2 木质素的降解机理

虽然近年来木质素降解细菌报道较多,但对于降解机理的研究更多地集中在白腐真菌。

白腐真菌完全降解木质素是由其复杂的胞外过氧化物酶系统完成。该酶系统包含木质素过氧化物酶(lignin peroxidase, LiP)、锰依赖过氧化物酶(manganese-dependent peroxidase, MnP)、漆酶(laccase, Lac)。其中, MnP 可将木质素的酚型苯环氧化成苯氧自由基,从而断裂芳香环与 C<sub>α</sub>之间的化学键; LiP 可将木质素中的酚型或非酚型苯环氧化成苯氧自由基,再利用不同的自由基来断裂木质素分子结构中主要的键。在反应体系中, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 能够加速 MnP 与 LiP 的分泌、提高酶活性,并且只有在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在时 MnP 与 LiP 才能催化木质素的降解。而 Lac 则不依赖于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 有 O<sub>2</sub> 存在时即可催化木质素中酚类化合物的氧化,并在氧化过程中将分子氧还原成水<sup>[21-22]</sup>。因此,漆酶 Lac 是木质素降解酶中最受关注的酶系,提高漆酶 Lac 活性,可显著提高菌株木质素降解能力。如 Senthilvelan 等<sup>[23]</sup>利用 1-羟基苯并三唑(HOBT)作为漆酶诱导剂,木质素降解率达 90.0%以上。

木质素的多样性及其具体结构的精准检测手段缺乏,限制了木质素生物降解机理的研究进展及其应用。需要不断开发新的检测技术,如固相 NMR 等来表征木质素的变化,以便更深入认知微

生物降解木质素机制。

### 2.3 烟草木质素的降解研究

烟草植物含有的尼古丁会影响木质素降解菌与酶的活性,以致大部分能够单独降解木质素的微生物或酶都不能或低效降解烟草木质素。因此,微生物降解烟草木质素的难度较其他植物木质素大。近年来,国内外对于烟草木质素降解菌的研究集中在菌株筛选及鉴定上,也有部分研究通过分析鉴定降解产物来构建烟草木质素的代谢途径。如,宋自力等<sup>[24]</sup>从30株血红密孔菌(*Pycnoporus sanguineus*)菌株筛选出的漆酶高产菌对烟梗木质素表现出较强的降解能力,发酵48 h烟梗木质素降解率达到65.1%;21 d后木质素的降解率达到79.1%。宋丽丽等<sup>[25]</sup>通过驯化方法提升黄孢原毛平革菌对烟碱的耐受度,使其从0.2 g/L的烟碱耐受度提升到了1 g/L,驯化后的菌株可有效定植于烟梗上。液体发酵24 h降解了23.1%的烟梗木质素,达到了人工陈化3个月的烟梗木质素降解效果,总糖含量提高了10.8%,葡萄糖含量提高了4.9%,改善了烟梗燃烧时产生的木质气。

烟草木质素降解菌的协同作用和酶法降解也有报道。如,黄小容<sup>[26]</sup>筛选到14株木质素降解酶(过氧化物酶,锰过氧化物酶和漆酶)活力较高的烟草木质素降解菌,根据各菌株三种木质素酶的活力差异,互补配置进行双菌株、三菌株和四菌株混合培养的木质素降解试验,35 d后,三菌株混合实验组(*Bacillus subtilis* Y38, *Colletotrichum gloeosporidides* P8, *Aspergillus versicolor* Y9)和四菌株混合实验组(*Bacillus subtilis* Y3, *Bacillus mojavensis* Y34, *Colletotrichum gloeosporidides* P8, *Aspergillus versicolor* Y9)对木质素的降解率

分别达到了44.6%和48.0%,纤维素与半纤维素的降解率也都达到30.0%以上;而对照组的木质素、纤维素与半纤维素的降解率分别只有为1.9%、1.0%、0.9%。于建军等<sup>[27]</sup>利用响应面法优化漆酶对烟梗的处理,在45 °C、20.0 U/g漆酶处理烟梗3 h,达到了55.1%的木质素降解率。与对照组相比,实验组的香气也得到了改善。Chen等<sup>[28]</sup>使用NaHCO<sub>3</sub>处理烟梗,提高了烟梗的孔隙率与比表面积,再用Tween 80加强漆酶的木质素降解能力,pH 5.0处理4 h,木质素去除率达40.3%。本实验室郑艳红等<sup>[29]</sup>从烟草废弃物提取液(tobacco waste extract, TWE)分离到*Bacillus subtilis* SM,将其接种到烟梗无机盐培养基,在pH 7.0、30 °C下培养4 d,烟梗的失重率达到50.0%以上(对照组约为18.9%),烟梗木质素含量减少了70.0%左右。该菌株同时能够适应TWE的高渗、高尼古丁和高酸环境,因此,是TWE环境中进行木质素消减处理的理想菌株。

综上所述,木质素降解菌可以用于废次烟叶(烟梗)木质素的消减。但是筛选和选用降解菌时,需要根据应用目标,同时考察菌株的木质素降解能力和应用环境的适用性。

### 3 尼古丁的生物降解研究

尼古丁(nicotine)是由一个吡啶与一个吡咯环组成的杂环复合物[1-甲基-2-(3-吡啶基)-吡咯烷],结构稳定、不易降解。环境中的尼古丁污染主要来源于烟草及其废弃物和烟碱型农药,其进入土壤,会破坏土壤的生态结构,并对动、植物产生不利影响<sup>[30]</sup>;其进入地下水,也会造成水体污染<sup>[31]</sup>。烟草废弃物的处理,尤其是尼古丁的降

解, 是人们亟待解决的问题。采用传统的物理化学方法降解尼古丁, 成本较高、副产物多, 而且在处理烟草废弃物过程中会影响其他有效组分的回收利用。故而, 利用微生物处理烟草废弃物及环境中的烟碱类污染问题受到了广泛关注。

### 3.1 降解尼古丁的微生物

自 1953 年 Wada 等<sup>[32]</sup>从烟叶上分离得到一株尼古丁降解菌(*Pseudomonas* sp. 41)以来, 越来越多具有尼古丁降解能力的微生物菌株被发现, 其中大部分是细菌, 如苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)等。近几年所发现的尼古丁代谢菌株大部分为假单胞菌属(表 1)。

表 1 中报道的尼古丁降解菌在最适培养条件下, 尼古丁降解能力最强的是 *Pseudomonas* sp. JY-Q, 可以在 24 h 内完全降解 5 g/L 的尼古丁, 对 8 g/L 的尼古丁的降解率为 13.0%, 对 10 g/L 的尼古丁的降解率为 5.0%<sup>[33]</sup>。尼古丁具有细胞毒性, 随着浓度升高毒性增强。因此, 当尼古丁浓度超过 5.0 g/L 后, 其对 *Pseudomonas* sp. JY-Q 产生明显的细胞毒性, 抑制了细胞生长与尼古丁降解。*Stenotrophomonas* sp. ZUC-3 在 48 h 内对 5.0 g/L 尼古丁的降解率也达到 80.0%<sup>[37]</sup>。因此, 我们依

然期待将来能有更多的高耐受尼古丁降解菌被发现, 用于推动微生物法降解尼古丁的应用。并且随着对各个菌株尼古丁代谢途径的完全解析, 可以实现基因组水平的细胞修饰改造, 不断提高菌株的耐受能力和降解效率, 以不断拓展其利用领域。尼古丁降解菌除了用于烟厂废水的处理<sup>[33]</sup>及烟草废弃物的堆肥处理<sup>[38]</sup>, 还可将其定植于活性污泥用于改善其生态系统<sup>[39]</sup>, 或用于修复被尼古丁污染的土壤<sup>[40]</sup>等。

### 3.2 尼古丁微生物降解机制

目前, 对于微生物降解尼古丁的代谢途径仍在研究当中。已有报道证实的尼古丁代谢途径主要有以下四种: 以革兰氏阳性菌节杆菌属<sup>[41]</sup>(*Arthrobacter*)和放线菌红球菌属<sup>[42]</sup>(*Rhodococcus*)为代表的吡啶途径(pyridine pathway); 以革兰氏阴性菌假单胞菌<sup>[35]</sup>(*Pseudomonas*)和真菌小克银汉霉属<sup>[43]</sup>(*Cunninghamella*)为代表的吡咯途径(pyrrolidine pathway); 以真菌米曲霉<sup>[44]</sup>(*Aspergillus oryzae*)为代表的去甲基途径(demethylation pathway); 以及以土壤杆菌(*Agrobacterium*)、苍白杆菌(*Ochrobactrum*)、鞘氨醇单胞菌<sup>[45]</sup>(*Sphingomonas*)为代表的 VPP 途径(variant of the pyridine and pyrrolidine, 吡啶和吡咯混合途径)(图 2)。

表 1. 近几年报道的尼古丁降解菌

Table 1. Nicotine degradation bacteria reported in recent years

Strains	Initial nicotine/(g/L)	t/h	Degrading ratio/%	T/°C	pH
<i>Pseudomonas</i> sp. JY-Q <sup>[33]</sup>	5.0	24	100.0	37	6.5–7.0
<i>P. putida</i> JQ581 <sup>[34]</sup>	1.0	4	100.0	30	NM <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas</i> sp. S-1 <sup>[35]</sup>	0.8	12	93.9	30	7
<i>P. fluorescens</i> 1206 <sup>[36]</sup>	1.0	24	97.1	30	7
<i>Stenotrophomonas</i> sp. ZUC-3 <sup>[37]</sup>	5.0	48	80.0	30	7

<sup>a</sup>NM: not mentioned.

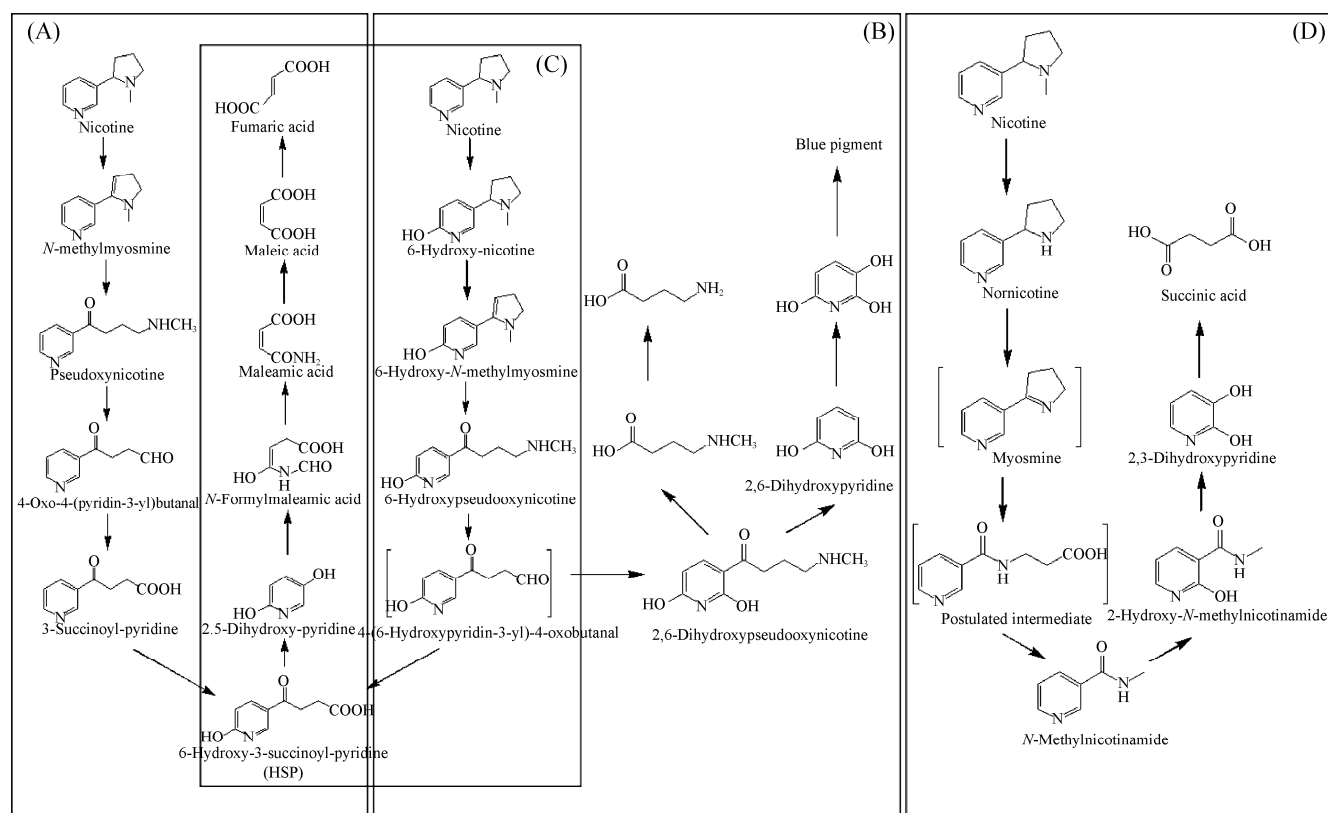


图 2. 已报道的微生物尼古丁代谢途径

Figure 2. Reported nicotine degradation pathways in microorganism. A: Pyrrolidine pathway; B: pyridine pathway; C: VPP pathway; D: demethylation pathway.

尼古丁降解微生物的代谢途径不仅有种属多样性，而且在同一种属下的不同菌株也有可能存在着些许差异。笔者实验室分离的 *Pseudomonas* sp. JY-Q 经全基因组生物信息学分析、转录组差异分析，结合代谢组分分析，发现其吡咯途径具有特殊的多位点远程重复的同功簇基因序列(图 3)，而且有着特异的调控模式，这可能是该菌株具有较强的尼古丁降解能力和高尼古丁适应性的机制所在<sup>[46-47]</sup>。

### 3.3 烟草废弃物尼古丁的微生物降解

不同的烟草废弃物对尼古丁降解菌的性能要

求不同。农业源烟草废弃物尼古丁降解菌需要适应堆肥与土壤环境，要求菌株具有一定的尼古丁耐受及降解能力，同时需能耐受堆肥发酵过程中温度的变化及外界环境的变化。工业源烟草废弃物尼古丁降解菌，需要适应再造烟叶工艺的特点，该工艺过程产生的 TWE 是一种酸性、高渗、高尼古丁浓度的极端环境(pH 约为 4.0，还原糖浓度约为 12.6%，尼古丁浓度约为 1.5%，且根据烟草来源与工艺条件差异，具体数值会有所波动)<sup>[4,33]</sup>。因此，用于 TWE 环境的尼古丁降解菌必须具备良好的耐酸、耐高渗、耐高尼古丁甚至耐高温(生产线温度为 40–50 °C)的能力。

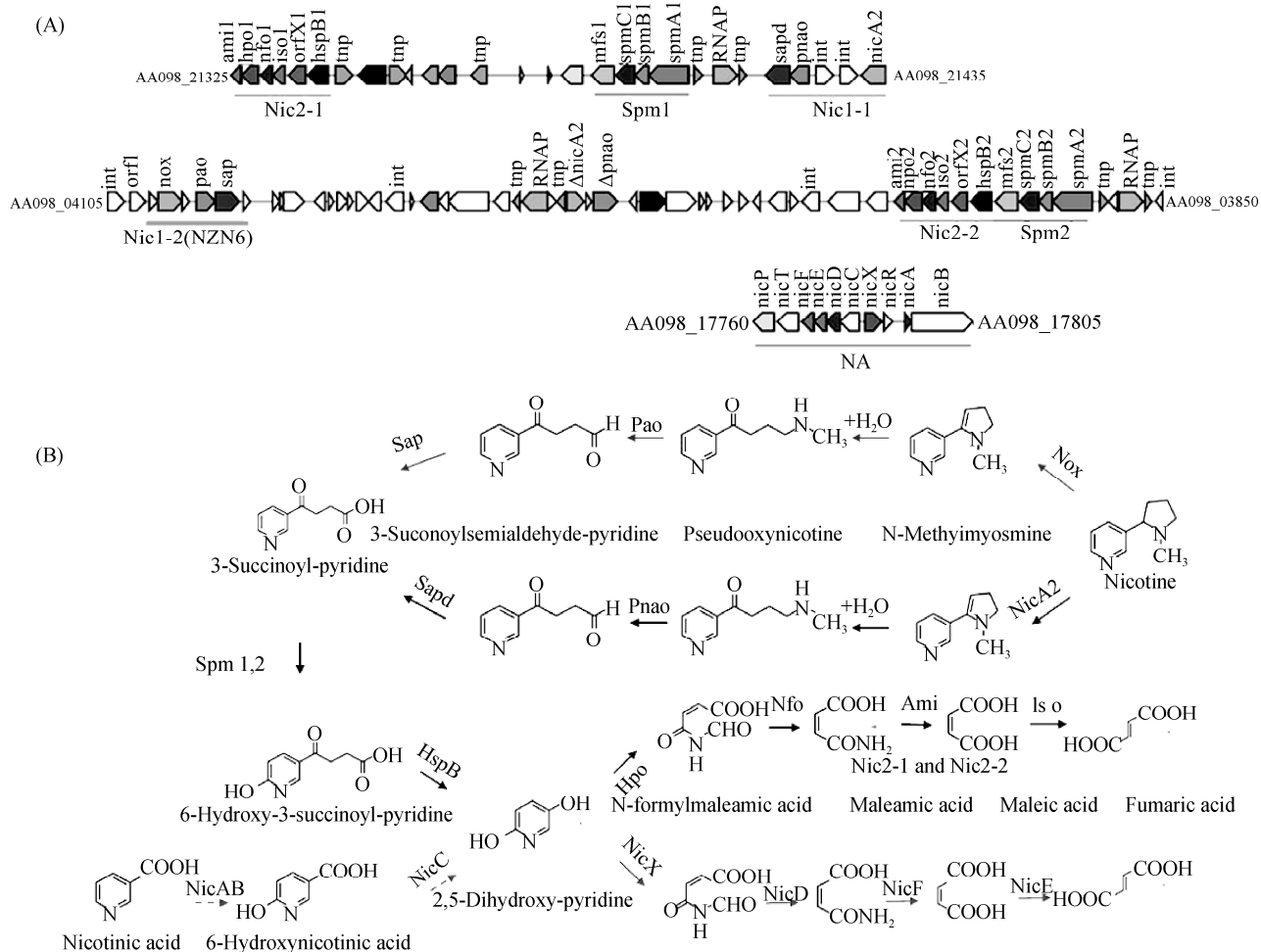


图 3. *Pseudomonas* sp. JY-Q 尼古丁代谢基因注释(A)和代谢途径预测(B)

Figure 3. Genetic determinants and nicotine metabolism pathways predicted based on the JY-Q genome. A: Schematic representation for genetic organization and immediate vicinity of putative nicotine-degradation gene clusters of *Pseudomonas* sp. JY-Q. tmp: transposase; int: integrase; HspB: HSP hydroxylase; Iso: maleate isomerase; Nfo: NFM deformylase; Hpo: 2,5-DHP dioxygenase; Ami: maleamateamidase; Hna: 6-hydroxynicotine 3-monooxygenase; Nox: nicotine oxidase; Pao: pseudooxynicotine amine oxidase; Sap: NADP<sup>+</sup>-dependent 3-succinoylsemialdehyde-pyridine dehydrogenase; NicA2: nicotine oxido-reductase; Pnao: pseudooxynicotineamidase; Sapd: DSP dehydrogenase; Spm: SP monooxygenase; Orf: no predicted function. Gene names followed by “Δ” imply these genes could be pseudogenes, lacking functionality compared to their prototypes. These schematics were drawn to scale. B: Proposed nicotine metabolic patterns of JY-Q.

而获得有实际应用价值的尼古丁降解菌最快捷、有效的方法便是直接从应用环境中筛选, 如烟草植株、烟草根际土壤、堆肥和 TWE。这些环境本身有丰富的尼古丁降解菌。例如, Lei 等<sup>[48]</sup>发现叶际与根际处均有许多能够以尼古丁为唯

一碳氮源的内生菌, 在叶际发现了 10 个菌属的尼古丁降解菌, 其中假单胞菌属(*Pseudomonas*)是优势菌群; 在根际发现有 6 个菌属的尼古丁降解菌, 其中节杆菌属(*Arthrobacter*)是优势菌群; 相比于叶际内生菌, 根系具有更多的、平均降解



能力更强的尼古丁降解菌群。Yuan 等<sup>[49]</sup>利用分离自土壤的 *Ochrobactrum intermedium* DN2 用于降解 6.0% TWE 稀释液中的尼古丁(TWE 浓缩液的尼古丁浓度约为 2.1%)，在 30 L 的发酵罐内采用补料分批发酵法，尼古丁的平均降解速率可达到 140.5 mg/(L·h)。

Liu 等<sup>[50]</sup>发现在 TWE 浓缩液中存在着大量耐酸、耐高尼古丁、耐高渗的菌株，通过群落的多样性分析后得知其中的优势菌群为厚壁菌门(*Firmicutes*)与变形菌门(*Proteobacteria*)，而乳杆菌属(*Lactobacillus*)与芽孢杆菌(*Lysinibacillus*)是厚壁菌门中主要的菌群，变形菌门中主要的菌群为假单胞菌属(*Pseudomonas*)。舒明等<sup>[33]</sup>直接从 TWE 浓缩液中筛选分离得到一株尼古丁高效降解菌 *Pseudomonas* sp. JY-Q，该菌株降解能力强，并且能够耐受 10 g/L 尼古丁的环境(表 1)。在 5.0% TWE 稀释液中，JY-Q 可于 12 h 内完全降解摇瓶中 TWE 所含的尼古丁(约为 1.1 g/L)；在 30 L 发酵罐中，12 h 后可将 5.0% TWE 稀释液中的尼古丁(1.1 g/L)降解 87.2%。通过优化 *Pseudomonas* sp. JY-Q 在 TWE 中尼古丁的降解条件，实现了在 30 L 发酵罐内 9 h 完全降解 10.0% TWE 稀释液中的尼古丁(1.5 g/L)，在 100 L 发酵罐中，24 h 将 10.0% TWE 稀释液内的尼古丁降解了 17.0%<sup>[51]</sup>。30 L 与 100 L 中尼古丁降解差异的最大因素在于发酵液的溶氧率，因为菌株降解尼古丁的过程中需要耗氧，而 30 L 发酵罐不仅有搅拌还配有空气压缩机，当溶氧低于 80.0% 时会自动泵入无菌空气，而 100 L 的发酵罐中只有搅拌而无空气压缩机，于是在发酵前 6 h 尼古丁有明显的下降，此后便无明显变化。

很显然，JY-Q 在 TWE 中(尤其是高浓度 TWE 中)的尼古丁降解效率低于在 MSM 培养基的降解

效率，这大大影响了其实际应用的可行性。究其原因，发现 JY-Q 在 TWE 中降解尼古丁时，会优先利用发酵液中的葡萄糖(约 15.0%)作为碳源，从而影响尼古丁降解效率。有研究尝试了通过阻遏或敲除葡萄糖代谢途径来提高菌株对其他碳源的利用。例如，Roca 等<sup>[52]</sup>通过敲除葡萄糖效应有关基因，使得连续发酵酿酒酵母突变株的木糖消耗率提高了 25.0%。蔡艳青等<sup>[53]</sup>构建的 SNF1 缺失酿酒酵母突变株加快了其在葡萄糖和木糖共存环境中木糖的利用率。而笔者实验室 Zhang 等<sup>[54]</sup>利用双交换同源重组法将葡萄糖代谢相关的起始 5 个基因全部敲除，获得的 *Pseudomonas* sp. JY-Q/Δ 菌在 5.0% TWE 稀释液中 24 h 内将 0.8 g/L 的尼古丁选择性完全降解，提高了其在 TWE 实际环境中的应用潜力。

## 4 烟草废弃物难降解物质的联合降解研究

烟草废弃物难降解物质主要是木质素与尼古丁。降解烟草木质素的意义在于有利于烟草资源的回收利用、加快自然降解烟草废弃物的速度、改善卷烟的口感(如降低吸食刺激性，提高烟气的柔和度、香味等)、降低吸食卷烟对人体的危害等。而烟草尼古丁的降解能够有效地解决环境中的尼古丁污染问题。

利用微生物来降解烟草废弃物中的木质素和尼古丁是最便捷、成本最低的技术。而烟草木质素及尼古丁降解菌的筛选与获取途径，主要有：(1) 烟草植株或根系土壤中；(2) 烟草废弃物的堆积处或排放池，如田间烟杆堆积处、烟厂废水排放池、TWE 浓缩液与工厂废料堆积处等；(3) 将

异源的木质素降解菌或尼古丁降解菌进行定植、驯化、基因改造等手段处理,使之能适应烟草木质素或尼古丁的环境。

目前,单独降解尼古丁或烟草木质素的微生物较多,但同时降解尼古丁和木质素的微生物相对较少。苏玉龙等<sup>[55]</sup>从烟田土壤中筛选得到一株能够降解烤烟秸秆与烟碱的巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*),该菌液态发酵 10 d 能将 2.4 g/L 的烟碱降解掉 90.0%, 20 d 可将其完全降解,同时木质素,半纤维素与纤维素的降解率分别达到了 18.1%、12.6%和 10.4%。Su 等<sup>[3]</sup>首次报道了 3 种白腐真菌 *Phanerochaete chrysosporium*、*Trametes versicolor* 与 *Trametes hirsute* 能够同步降解尼古丁和木质素。在以烟杆粉末为培养基的固态发酵过程中,它们分别在 10 d、10 d 与 15 d 将尼古丁的浓度从 1800 mg/kg 降至 500 mg/kg 以下,且在 25 d 内完全降解尼古丁。同时它们在发酵 15 d 时对木质素的降解率分别达到了 53.8%、37.7%与 51.6%,对纤维素的降解率分别为 22.2%、13.2%和 28.2%,对半纤维素的降解率分别为 24.3%、10.6%和 15.1%。郑艳红等<sup>[56]</sup>将纤维素降解菌 *Paenibacillus* sp. D7 与木质纤维素降解菌 *Bacillus subtilis* SM 分别和混合接入烟梗 BSM 发酵培养基,混合组烟梗失重率为 54.4%,而 SM 组、D7 组、对照组的烟梗失重率分别为 53.4%、19.05、18.9,处理效果好于单菌组。

## 5 总结与展望

对于烟草中存在的难降解物木质素和尼古丁而言,目前已筛选获得不少的降解菌,且对其降解机理也有很好的阐述。但迄今所发现的降解菌株大部分只具有单一降解功能(即只能降解木质

素或尼古丁),只有很少一部分的降解菌株具有双重降解功能(即能够同时降解木质素与尼古丁)。然而,后者无疑是更富有竞争力的。因此,若想获得具有双重降解功能的菌株,有几个途径值得去探索:(1) 继续从自然界中挖掘出新的具有双重降解能力的菌株,如从烟草种植环境或烟草废弃物堆放处等处有更大的可能性筛选获得双重降解功能菌;(2) 将已发现的具有单一降解功能的菌株移植到另一环境中,通过定殖并驯化,从而得到具有双重降解功能的菌株;(3) 通过对代谢途径的分析与分子生物学技术,进行基因敲除及插入,使之从单一降解功能改造成双重降解功能菌,甚至是从无降解能力改造成双重降解功能菌。除此之外,还可以通过对现有降解功能菌株的组合,构建出能够同时降解木质素与尼古丁的微生物群组,并且该方法具有更大的可行性。鉴于微生物组研究技术的发展,对于复合菌群的研究难度也逐渐降低,对于菌株之间的协同作用、拮抗作用、代谢网络间的相互影响研究也将不断深入和拓展。具有协同效应的菌株组合能够发挥出比单一菌株更强、更全的降解能力,也将推动含有木质素和尼古丁等多种难降解物质的废烟叶的处置技术发展和应用。

对于烟草中的难降解物质木质素和尼古丁而言,两者的降解微生物优势菌群存在较大的差别,木质素降解以白腐真菌为主,而尼古丁降解以假单胞菌为代表的细菌菌群为主。这两者在降解条件、环境等方面具有差异性。而从烟草废弃物的资源化利用来说,消除尼古丁对于生态环境的影响,特别是对于动植物的抑制是首要考虑的,而且土壤本身良好的生态学特征就需要适量的腐殖质,因此,尼古丁的降解应优先考虑。

## 参考文献

- [1] Fu CQ, Tong YX, Wang FQ, Ren TB, Song AD. Resources distribution and the utilization way of tobacco stem in China. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2015, 23(2): 74–79. (in Chinese)  
付晨青, 仝银杏, 王凤芹, 任天宝, 宋安东. 我国烟秆资源分布与利用途径. *纤维素科学与技术*, 2015, 23(2): 74–79.
- [2] Song LL, Zhang ZP, Wang GL, Yang X, Zhang JN. Effect of different pretreatment methods to the enzymatic hydrolysis and structural characteristic of tobacco stalks. *Journal of Light Industry*, 2019, 34(3): 52–59. (in Chinese)  
宋丽丽, 张志平, 王光路, 杨旭, 张靖楠. 不同预处理方法对烟秆酶解产糖和结构特征的影响. *轻工学报*, 2019, 34(3): 52–59.
- [3] Su YL, Xian H, Shi SJ, Zhang CS, Nuruzzaman Manik SM, Mao JJ, Zhang G, Liao WH, Wang Q, Liu HB. Biodegradation of lignin and nicotine with white rot fungi for the delignification and detoxification of tobacco stalk. *BMC Biotechnology*, 2016, 16(1): 81.
- [4] Zhong WH, Zhu CJ, Shu M, Sun KD, Zhao L, Wang C, Ye ZJ, Chen JM. Degradation of nicotine in tobacco waste extract by newly isolated *Pseudomonas* sp. ZUTSKD. *Bioresource Technology*, 2010, 101(18): 6935–6941.
- [5] Guo ZF, Dong JJ, Su HD, Cai R, Ma XL. Stability and performance study of newly developed emulsion prepared with polymeric rubber emulsifier and using the emulsion for nicotine extraction. *Separation and Purification Technology*, 2015, 156: 617–624.
- [6] Liu YX, Yong GP, Xu YB, Zhu DL, Tong HW, Liu SM. Simultaneous determination of free and esterified fatty alcohols, phytosterols and solanesol in tobacco leaves by GC. *Chromatographia*, 2010, 71(7/8): 727–732.
- [7] Zhang ML, Zeng GM, Pan YZ, Qi N. Difference research of pectins extracted from tobacco waste by heat reflux extraction and microwave-assisted extraction. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2018, 15: 359–363.
- [8] Zhang LB, Peng JH, Yang KB, Xia HY, Guo SH, Zhang SM. Activated carbon made from tobacco stalk with CO<sub>2</sub> activation and its pore characterization. *Tobacco Science & Technology*, 2007, (5): 7–11. (in Chinese)  
张利波, 彭金辉, 杨坤彬, 夏洪应, 郭胜惠, 张世敏. CO<sub>2</sub>活化烟秆制造活性炭及其孔结构表征. *烟草科技*, 2007, (5): 7–11.
- [9] Guo GN, Cai B, Li R, Pan X, Wei M, Zhang C. Enhancement of saccharification and ethanol conversion from tobacco stalks by chemical pretreatment. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2019, doi: 10.1007/s13399-019-00478-2.
- [10] Ponnusamy VK, Nguyen DD, Dharmaraja J, Shobana S, Banu JR, Saratale RG, Chang SW, Kumar G. A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. *Bioresource Technology*, 2019, 271: 462–472.
- [11] Dai YY, Zhong WH. Research progress on degradation of lignocellulose by bacteria. *Chemistry & Bioengineering*, 2016, 33(6): 11–16. (in Chinese)  
戴芸芸, 钟卫鸿. 细菌降解木质纤维素的研究进展. *化学与生物工程*, 2016, 33(6): 11–16.
- [12] Sakakibara A. Chemical structure of lignin related mainly to degradation products//Higuchi T, Chang HM, Kirk TK. Recent Advances in Lignin Biodegradation Research. Tokyo: Uni Publishers, 1985.
- [13] Costa S, Dedola DG, Pellizzari S, Blo R, Rugiero I, Pedrini P, Tamburini E. Lignin biodegradation in pulp-and-paper mill wastewater by selected white rot fungi. *Water*, 2017, 9(12): 935.
- [14] 陈兴. 电芬顿技术协同白腐真菌降解木质素的应用研究. 齐鲁工业大学硕士学位论文, 2018.
- [15] Zainith S, Purchase D, Saratale GD, Ferreira LFR, Bilal M, Bharagava RN. Isolation and characterization of lignin-degrading bacterium *Bacillus aryabhatai* from pulp and paper mill wastewater and evaluation of its lignin-degrading potential. *3 Biotech*, 2019, 9(3): 92.
- [16] Sarma R, Chiring M, Dutta D, Bora TC, Goswami T. Biodegradation of lignin of *Bambusa nutans* by the isolate *Inonotus pachyphloeus* JP-1. *Environmental Sustainability*, 2019, 2(2): 125–133.
- [17] Zhang PP, Sun JZ, Xie CX, Zhu DC. Lignin degradation by *Comamonas serinivorans* C35. *Microbiology China*, 2017, 44(5): 1131–1137. (in Chinese)  
张佩佩, 孙建中, 谢长校, 朱道辰. *Comamonas serinivorans* C35 木质素降解性能. *微生物学通报*, 2017, 44(5): 1131–1137.
- [18] Chong GG, Huang XJ, Di JH, Xu DZ, He YC, Pei YN, Tang YJ, Ma CL. Biodegradation of alkali lignin by a newly isolated *Rhodococcus pyridinivorans* CCZU-B16. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2018, 41(4): 501–510.

- [19] Wang JX, Liang JD, Gao S. Biodegradation of lignin monomers vanillic, *p*-coumaric, and syringic acid by the bacterial strain, *Sphingobacterium* sp. HY-H. *Current Microbiology*, 2018, 75(9): 1156–1164.
- [20] 刘霄. 高效降解玉米秸秆复合菌群的构建及其降解效果研究. 东北农业大学硕士学位论文, 2019.
- [21] Zhang B, Yuan HH, Liu GC, Yang B, Ao XY, Zhang Y. The effect of culture components on producing ligninolytic enzymes of microbial consortium FHs and its optimization. *Journal of Southwest Forestry University*, 2019, 39(1): 95–105. (in Chinese)  
张保, 袁海华, 刘贵超, 杨飏, 敖新宇, 张颖. 培养基成分对复合菌系产木质素降解酶的影响及优化研究. 西南林业大学学报, 2019, 39(1): 95–105.
- [22] Liu Y, Hu TJ, Wu ZP, Zeng GG, Huang DL, Shen Y, He XX, Lai MY, He YB. Study on biodegradation process of lignin by FTIR and DSC. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(24): 14004–14013.
- [23] Senthilvelan T, Kanagaraj J, Panda RC. Enhanced biodegradation of lignin by laccase through HOBt mediator: mechanistic studies supported by FTIR and GCMS studies. *Environmental Processes*, 2017, 4(1): 201–217.
- [24] Song ZL, Zhang W, Liao TG, Wang SH, Li W, Yin WB. Highly laccase-yielding strains of *Pycnoporus sanguineus* and their activities on tobacco stem biodegradation. *Mycosystema*, 2019, 38(3): 381–392. (in Chinese)  
宋自力, 张伟, 廖头根, 汪世华, 李伟, 尹文兵. 血红密孔菌高产漆酶菌株的筛选及其对烟梗的生物降解. 菌物学报, 2019, 38(3): 381–392.
- [25] Song LL, Zhang YL, Zhang ZP, Wang GL, Yang X, Zhang JN. Study on the degradation of lignin in tobacco stem by liquid fermentation with white rot fungi. *Journal of Light Industry*, 2019, 34(1): 36–42. (in Chinese)  
宋丽丽, 张永良, 张志平, 王光路, 杨旭, 张靖楠. 白腐菌液体发酵降解烟梗木质素的研究. 轻工学报, 2019, 34(1): 36–42.
- [26] 黄小容. 烟秆木质素高效降解菌的筛选、鉴定及降解效果研究. 湖北大学硕士学位论文, 2016.
- [27] Yu JJ, Wei DH, Tian BQ, Chang AR, Zhang S, Liu XY, Zhao SJ. Optimization of lignin degradation by laccase in cut stem with response surface method. *Tobacco Science & Technology*, 2017, 50(3): 57–64. (in Chinese)  
于建军, 魏登辉, 田斌强, 常安然, 张耸, 刘小勇, 赵士举. 响应面法优化漆酶降解梗丝木质素的工艺. 烟草科技, 2017, 50(3): 57–64.
- [28] Chen C, Jiang LF, Ma GF, Jin DX, Zhao LS, Ouyang XP. Lignin removal from tobacco stem with laccase improved by synergistic action of weak alkali and Tween 80. *Waste and Biomass Valorization*, 2019, 10(11): 3343–3350.
- [29] Zheng YH, Dai YY, Yang Y, Liu JL, Shu M, Zhong WH. Lignin degrading characteristics of *Bacillus subtilis* SM isolated from tobacco waste extract. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1525–1534. (in Chinese)  
郑艳红, 戴芸芸, 杨洋, 刘金莉, 舒明, 钟卫鸿. 废次烟叶提取液源木质素降解菌 *Bacillus subtilis* SM 降解特性. 微生物学通报, 2017, 44(7): 1525–1534.
- [30] Masanotti GM, Abbafati E, Petrella E, Vinciguerra S, Stracci F. Intensive tobacco cultivations, a possible public health risk? *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(12): 12616–12621.
- [31] Craddock HA, Huang DN, Turner PC, Quirós-Alcalá L, Payne-Sturges DC. Trends in neonicotinoid pesticide residues in food and water in the United States, 1999–2015. *Environmental Health*, 2019, 18(1): 7.
- [32] Wada E, Yamasaki K. Mechanism of microbial degradation of nicotine. *Science*, 1953, 117(3033): 152–153.
- [33] Shu M, Fan H, Yang Y, Liu JL, Xiong L, Jiao Y, He HL, Zhong WH. Isolation, identification and characteristics of nicotine degrading strain from tobacco waste extract. *Microbiology China*, 2017, 44(5): 1028–1037. (in Chinese)  
舒明, 樊虎, 杨洋, 刘金莉, 熊烈, 焦洋, 何厚龙, 钟卫鸿. 废烟叶提取液源尼古丁降解菌分离鉴定和特性. 微生物学通报, 2017, 44(5): 1028–1037.
- [34] Li AW, Qiu JG, Chen DZ, Ye JX, Wang YH, Tong L, Jiang JD, Chen JM. Characterization and genome analysis of a nicotine and nicotinic acid-degrading strain *Pseudomonas putida* JQ581 isolated from marine. *Marine Drugs*, 2017, 15(6): 156.
- [35] Pan DD, Sun MM, Wang YW, Lv P, Wu XW, Li QX, Cao HQ, Hua RM. Characterization of nicotine catabolism through a novel pyrrolidine pathway in *Pseudomonas* sp. S-1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(28): 7393–7401.
- [36] Xia ZY, Yu Q, Lei LP, Wu YP, Ren K, Li Y, Zou CM. A novel nicotine-degrading bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 1206. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2019, 55(2): 123–128.
- [37] Chen C, Zhu RQ, Ni XC, Liu ZZ, Gu MM, Zhu DH. Isolation, identification and characteristics of a new nicotine degrading strain. *Chinese Tobacco Science*, 2019, 40(1):

- 89–97. (in Chinese)  
陈辰, 朱润琪, 倪新程, 刘珍珍, 谷萌萌, 朱大恒. 一株新的尼古丁降解菌的分离鉴定及降解特性. *中国烟草科学*, 2019, 40(1): 89–97.
- [38] Briški F, Kopčić N, Ćosić I, Kučić D, Vuković M. Biodegradation of tobacco waste by composting: genetic identification of nicotine-degrading bacteria and kinetic analysis of transformations in leachate. *Chemical Papers*, 2012, 66(12): 1103–1110.
- [39] 何虹葵. 尼古丁降解菌 *Pseudomonas* sp. HF-1 在活性污泥中定植及其生态机理研究. 浙江工商大学硕士学位论文, 2014.
- [40] Wang X, Tang L, Yao YL, Wang HX, Min H, Lu ZM. Bioremediation of the tobacco waste-contaminated soil by *Pseudomonas* sp. HF-1: nicotine degradation and microbial community analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(13): 6077–6088.
- [41] Guo XH, Xie CY, Wang LJ, Li QF, Wang Y. Biodegradation of persistent environmental pollutants by *Arthrobacter* sp. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(9): 8429–8443.
- [42] Gong XW, Ma GH, Duan YQ, Zhu DL, Chen YK, Zhang KQ, Yang JK. Biodegradation and metabolic pathway of nicotine in *Rhodococcus* sp. Y22. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 32(11): 188.
- [43] Eberhardt HJ. The biological degradation of nicotine by nicotinophilic microorganisms. *Beiträge zur Tabakforschung*, 1995, 16(3): 119–129.
- [44] He CJ, Huang YG, Liu P, Wei JH, Yang YR, Xu L, Xiao M. Transcriptome analysis of genes and metabolic pathways associated with nicotine degradation in *Aspergillus oryzae* 112822. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 86.
- [45] Wang HX, Xie CX, Zhu PP, Zhou NY, Lu ZM. Two novel sets of genes essential for nicotine degradation by *Sphingomonas melonis* TY. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 7: 2060.
- [46] Li J, Qian SL, Xiong L, Zhu CY, Shu M, Wang J, Jiao Y, He HL, Zhang FM, Linhardt RJ, Zhong WH. Comparative genomics reveals specific genetic architectures in nicotine metabolism of *Pseudomonas* sp. JY-Q. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2085.
- [47] Li J, Wang J, Li SS, Yi FM, Xu J, Shu M, Shen MJ, Jiao Y, Tao F, Zhu CY, Zhang H, Qian SL, Zhong WH. Co-occurrence of functional modules derived from nicotine-degrading gene clusters confers additive effects in *Pseudomonas* sp. JY-Q. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103: 4499–4510.
- [48] Lei LP, Xia ZY, Liu XZ, Wei HL. Occurrence and variability of tobacco rhizosphere and phyllosphere bacterial communities associated with nicotine biodegradation. *Annals of Microbiology*, 2015, 65(1): 163–173.
- [49] Yuan YJ, Lu ZX, Huang LJ, Li Y, Lu FX, Bie MM, Teng YQ, Lin Q. Biodegradation of nicotine from tobacco waste extract by *Ochrobactrum intermedium* DN2. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2007, 34(8): 567–570.
- [50] Liu HG, He HL, Cheng CH, Liu JL, Shu M, Jiao Y, Tao F, Zhong WH. Diversity analysis of the bacterial community in tobacco waste extract during reconstituted tobacco process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(1): 469–476.
- [51] 何厚龙. 废烟叶水提液醇化过程中微生物多样性分析及功能微生物的筛选鉴定和特性研究. 浙江工业大学硕士学位论文, 2015.
- [52] Roca C, Haack MB, Olsson L. Engineering of carbon catabolite repression in recombinant xylose fermenting *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 63(5): 578–583.
- [53] Cai YQ, Qi XN, Qi Q, Lin YP, Wang ZX, Wang QH. Effect of *MIG1* and *SNF1* deletion on simultaneous utilization of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae*. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2018, 34(1): 54–67. (in Chinese)  
蔡艳青, 齐显尼, 齐奇, 蔺玉萍, 王正祥, 王钦宏. 敲除 *MIG1* 和 *SNF1* 基因对酿酒酵母共利用葡萄糖和木糖的影响. *生物工程学报*, 2018, 34(1): 54–67.
- [54] Zhang H, Zhao R, Huang CC, Li J, Shao YH, Xu J, Shu M, Zhong WH. Selective and faster nicotine biodegradation by genetically modified *Pseudomonas* sp. JY-Q in the presence of glucose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(1): 339–348.
- [55] Su YL, Wang Q, Zhang CS, Gu JG, Shi SJ, Nuruzzaman Manik SM, Mao JJ, Li SG, Lei Q, Wu RJ, Yin Y, Qu JK, Li L, Liu HB. Isolation of microorganisms producing enzyme capable of degrading tobacco straw and nicotine. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(12): 1543–1550. (in Chinese)  
苏玉龙, 王倩, 张成省, 顾金刚, 史素娟, Nuruzzaman Manik SM, 毛静静, 李世贵, 雷强, 伍仁军, 殷英, 屈健康, 李亮, 刘好宝. 降解烤烟秸秆和烟碱菌株的筛选及其产酶特性. *微生物学报*, 2015, 55(12): 1543–1550.
- [56] 郑艳红. 烟叶源 *Paenibacillus* sp. D7 木质纤维素降解特性及其基因组研究. 浙江工业大学学位论文, 2017.

# Progress in microbial degradation of refractory organics in tobacco waste

Xiucheng Zheng, Zeyu Chen, Guoqing Chen, Jun Li, Weihong Zhong\*

College of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, Zhejiang Province, China

**Abstract:** The resource utilization and harmless disposal of tobacco waste require efficient microbial degradation of refractory substances such as lignin and nicotine. This paper reviews the progress in biodegradation of refractory substances in tobacco waste. Up to now, an increasing number of strains capable of degrading lignin and nicotine have been isolated, and there are many publications on the mechanism and application of lignin and nicotine microbial degradation. However, there are few publications about their application in tobacco waste treatment. Lignin and nicotine-degrading bacteria also exhibit potential for lignin abatement and nicotine removal of waste tobacco leaves (tobacco stems). However, it is necessary to evaluate both the degradation ability and the adaptability to the real environment. Strains capable of degrading both lignin and nicotine are preferable for application, but few such strains have been isolated. The research of complex microflora based on complete genome analysis and microbiome technology, is obligated and will promote the development and application of microbial disposal technology for waste tobacco leaves containing lignin, nicotine and other refractory substances.

**Keywords:** tobacco waste, lignin, nicotine, microbes, degradation, microbiome

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31670115, 31800118, 31970104)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-571-88320739; E-mail: whzhong@zjut.edu.cn

Received: 30 October 2019; Revised: 29 December 2019; Published online: 28 May 2020

**钟卫鸿**, 二级教授, 博导。现任浙江工业大学微生物学与发酵工程研究所所长, 兼任中国微生物学会环境微生物专业委员会和微生物学教学工作委员会委员, 浙江省微生物学会副理事长。浙江省新世纪 151 人才工程第一层次人员。近年来主持国家自然科学基金面上项目和参与国家自然科学基金重点项目多项; 在废弃物和污染物的微生物降解利用菌株筛选、代谢机制和基因组编辑方面取得了一些重要进展, 在 *Biotechnology and Bioengineering*, *Bioresource Technology*, *Journal of Hazard Materials*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, *Enzyme Microbial Technology*, *Molecular Omics* 等国内外刊物发表 100 余篇论文, SCI 论文 60 余篇。主编出版《基因工程技术》和《基因工程技术实验指导》教材, 获授权国家发明专利 10 余项。

