

学校编码: 10384

分类号_____密级_

学 号: 20620101151488

UDC___

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

豪氏变形杆菌功能性蛋白探究
及基因重组表达

Deciphering Funtional Proteins in *Proteus hauseri*
and Recombinant Gene Expression

带格式的: 缩进: 左 1 字符

郑雪松

指导教师姓名: 吴意珣 副教授

专业名称: 化 学 工 程

论文提交日期: 2 0 1 3 年 6 月

论文答辩日期: 2 0 1 3 年 6 月

学位授予日期: 2 0 1 3 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2013 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（）课题（组）的研究成果，获得（）课题（组）经费或实验室的资助，在（）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

随着环境污染和能源短缺的加剧，开发清洁环境友好型的新能源是当务之急，豪氏变形杆菌 (*Proteus hauseri*) ZMd44 作为一株新颖的产电菌，其能同步进行偶氮染料降解和生物产电，在未来环境保护和能源供给应用具有较大潜力。

本研究提出用微生物环境刺激的方式，系统研究金属离子、染料浓度及介质对豪氏变形杆菌降解染料速率的影响，实验结果表明添加 5mM 金属离子时，金属离子抑制偶氮染料降解速率顺序： $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{K}^+ = \text{Na}^+$ ，其中 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 对偶氮染料降解有强烈的抑制作用，而 K^+ 和 Na^+ 基本无影响。豪氏变形杆菌对偶氮染料降解呈两级反应，不同浓度染料的比脱色速率拟合类米氏方程 $V = V_{\max}[\text{Dye}]/(K_m + [\text{Dye}])$ ，得到 $V_{\max} = 93.6 \text{ mg/L/h/g-DCW}$ ； $K_m = 326 \text{ mg/L}$ 。豪氏变形杆菌全细胞、胞内蛋白及胞外蛋白在以 LB 培养基为介质的脱色体系中偶氮染料的降解率超过 90%，而在无菌水体系中偶氮染料无降解，培养基中酵母提取物和蛋白胨是重要的氧化还原介质。

本研究首次发现硫酸铜能诱导豪氏变形杆菌产生漆酶 McoA-laccase，最佳诱导条件为在接种或对数生长期前期添加 3 mM 的硫酸铜进行诱导。而且随着硫酸铜诱导浓度的增加，全细胞和胞内漆酶的酶活也递增，这可能是由于铜离子提高了豪氏变形杆菌的漆酶基因转录水平，同时利用生成的漆酶来提高其铜抗性。通过电子自旋共振分析漆酶 McoA-laccase 含有典型的 T1 和 T2 铜位点，其最佳反应温度和 pH 分别为 60°C 和 2.2，分析表明此酶在温度低于 50°C 和微酸性环境下活性较为稳定。

应用一维蛋白电泳耦合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析鉴定豪氏变形杆菌在不添加或添加 3 mM 硫酸铜培养时的全细胞和周质蛋白的差异蛋白，比较 10 条差异蛋白的信息，其中铜传输 ATPase，磷酸烯醇式丙酮酸激酶，鞭毛蛋白和外膜蛋白是可能与铜平衡相关的蛋白。亚细胞蛋白质组学分析清晰地展现了在不同亚细胞组分（细胞质，周质和细胞碎片）与铜平衡相关蛋白在不同硫酸铜浓度（0-4 mM）条件下蛋白表达量趋势，其变化趋势与实时荧光定量 PCR 的结果一致。与不添加硫酸铜相比，豪氏变形杆菌在含 3 mM 硫酸铜的 LB 平板上生长时群集运动性大大减少，并且电子扫描显微镜观察到细菌分泌物在添加硫酸

铜后也大量减少，这使得铜可以制成金属药物应用于变形杆菌感染的靶向治疗。本研究成功重组表达漆酶（多铜氧化酶）的基因 *lac2*，经过硫酸铜和乳糖的双重诱导培养后才会大量表达有活性的漆酶。

本研究初步探讨豪氏变形杆菌的对偶氮染料降解的影响因素，重点研究了金属铜刺激下，微生物产酶及铜抗性机制，为豪氏变形杆菌在复杂环境中的应用提供指导意义，为进一步开发此菌的功能提供理论依据。

关键词：豪氏变形杆菌；偶氮染料降解；漆酶生产；铜离子效应；亚细胞蛋白质组学；基因重组

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

With the exacerbation of environmental pollution and energy shortages, the development of clean and environment-friendly energy is a priority, *Proteus hauseri* ZMd44 as a novel electricigen, it could be carried out simultaneously azo dye degradation and bio-electricity production, making it potentially applications in environmental protection and energy supply in the future.

In the present study, environmental stimuli were employed to decipher the effects of metal ions, dye concentration and medium on the azo dye decolorization by *P. hauseri*. The results revealed that the order of metal inhibition on dye decolorization was $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{K}^+ = \text{Na}^+$, of which Cu^{2+} and Zn^{2+} could strongly inhibit dye decolorization, but K^+ and Na^+ had no influence. It was a two-stage reaction of azo dyes degradation under different concentrations of dye, fitting the Michaelis-Menten equation $V = V_{\max} [\text{Dye}] / (\text{K}_m + [\text{Dye}])$, to obtain $V_{\max} = 93.6 \text{ mg/L/h/g-DCW}$, $\text{K}_m = 326 \text{ mg/L}$. Azo dye Rbu160 could be decolored within LB medium by whole cell, intracellular and extracellular proteins from *P. hauseri*, but it could be decolored in sterile water system. Therefore, yeast extract and tryptone play a key role in dye decolorization.

The novel bioelectricity-generating bacterium of *P. hauseri* ZMd44 has been first identified to produce McoA-laccase (EC 1.10.3.2) induced by copper sulphate. The optimal concentration of copper is 3 mM as supplementation at the beginning of culture or early exponential growth phase, during which laccase is predominantly synthesized. Moreover, the whole cellular and intracellular activities of laccase increase in the degrees of inducible copper concentrations. A possible mechanism for this phenomenon is that copper ions enhance the laccase genetic transcription level during the laccase synthesis thus granting this strain in copper tolerance. McoA-laccase contains typical type 1 and type 2 Cu site laccase by electron paramagnetic resonance (EPR) analysis of intracellular enzyme. From our results, the optimal temperature and pH are 60°C and pH 2.2, respectively. The kinetic profiles show that this enzyme is stable under 50°C and in the slightly acidic environment.

Proteomic techniques including one-dimensional gel electrophoresis coupled with MALDI-TOF-TOF mass spectrometry was used to analyze the similarity and the dissimilarity of the whole cell (WC) and periplasm proteins (PE) isolated from strain *Proteus hauseri* ZMd44 cells grown in LB medium supplement of 3 mM CuSO₄. Ten candidate proteins were identified, of which copper-transporting P family ATPase (CTPP), phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), flagellin 2 (Fla) and outer membrane protein (Omp) were speculated to be copper-associated in *P. hauseri*. Comparative analysis of subcellular proteomics (i.e. cytoplasm, periplasma and cell debris) clearly revealed expression trends of copper-associated proteins in *P. hauseri* when exposed at range of 0 to 4 mM copper sulfate were in consistence with transcription levels by quantification real time PCR. From the results on the LB plate or copper-LB plate, and TEM analysis with *P. hauseri*, cell secretion significantly depressed as well as swarming motility disappeared with copper ions supplement, make it potentially lead to important therapeutic targets as *P. hauseri* lacking of swarming motility might loss urinary tract infections. The McoA-laccase gene *lac2* was successfully cloned into expression vector pET-20b1, and then transformed into *E.coli* BL21(DE3). Activated laccase could be expressed with both lactose and copper sulfate.

We explore the factors affecting degradation of azo dyes by *Proteus hauseri* and focus on the enzyme production and copper resistance mechanisms under stimulation of copper ions. This will provide guidance for *P. hauseri* to use in complex environments, as well theoretical basis for further development of the function in the bacteria.

Keywords: *Proteus hauseri*; degradation of azo dyes; laccase production; copper effect; subcellular proteomics; recombinant

目录

第一章 文献综述	1
1.1 染料废水污染概况	1
1.1.1 偶氮染料的废水治理.....	1
1.1.2 具脱色能力微生物概述.....	2
1.1.3 偶氮染料的生物降解机理研究.....	4
1.1.4 废水处理中氧化还原酶的研究.....	4
1.1.5 脱色微生物的应用及发展.....	5
1.2 重金属与微生物	6
1.2.1 重金属对微生物生长的影响.....	7
1.2.2 重金属与微生物蛋白.....	7
1.2.3 重金属与微生物生理形态.....	8
1.2.4 微生物重金属抗性及其解毒机制.....	8
1.2.4.1 生物吸附.....	8
1.2.4.2 胞外沉淀作用.....	9
1.2.4.3 胞内积累与金属的解毒.....	9
1.2.4.4 生物转化.....	10
1.2.4.5 外排作用.....	10
1.3 铜离子对微生物的影响	11
1.3.1 微生物的铜耐受性.....	11
1.3.2 微生物铜抗性因子.....	12
1.3.2.1 铜-腺苷三磷酸酶.....	12
1.3.2.2 多铜氧化酶.....	13
1.3.2.3 抗铜结节细胞分化家族 (RND).....	14
1.3.3 铜抗性调控子及基因.....	16
1.3.4 常见的铜传输模型.....	18
1.3.4.1 大肠杆菌模型.....	18
1.3.4.2 海氏肠球菌模型.....	19
1.3.4.3 嗜酸氧化亚铁硫杆菌模型.....	19
1.4 变形杆菌属与豪氏变形杆菌	20
1.5 本课题的研究内容及研究意义	21
1.5.1 研究意义.....	21
1.5.2 研究内容.....	22
1.5.2.1 豪氏变形杆菌对偶氮染料的脱色.....	22
1.5.2.2 铜离子诱导豪氏变形杆菌产漆酶.....	23
1.5.2.3 豪氏变形杆菌铜平衡的研究.....	24
1.5.2.4 多铜氧化酶基因重组表达.....	24
第二章 材料与方法	27
2.1 材料	27
2.1.1 菌种来源.....	27

2.1.2	化学药品及仪器	27
2.1.3	培养基	27
2.1.4	各种溶液、缓冲液及其配制方法	27
2.1.4.1	常用溶液	27
2.1.4.2	常用缓冲液	27
2.1.4.3	聚丙烯酰胺电泳(PAGE)所用溶液	28
2.1.4.4	蛋白纯化溶液	29
2.2	实验方法	29
2.2.1	<i>Proteus hauseri</i> ZMd44 生长曲线测定	29
2.2.2	<i>Proteus hauseri</i> ZMd44 染料脱色实验	30
2.2.2.1	探究不同金属离子对 <i>Proteus hauseri</i> ZMd44 染料脱色的影响	30
2.2.2.2	探究不同体系染料脱色	30
2.2.3	漆酶及 NADH 脱氢酶的酶活测试	32
2.2.3.1	漆酶酶活的测定	32
2.2.3.2	NADH 脱氢酶酶活测定	32
2.2.4	考马斯亮蓝法测蛋白浓度	33
2.2.5	原子吸收光谱检测铜含量	34
2.2.6	静置或摇动培养	34
2.2.7	脱辅漆酶的重构及酶活的测定	35
2.2.8	电子自旋共振(EPR)检测铜离子配位	35
2.2.9	全细胞及亚细胞结构蛋白样品制备	35
2.2.10	一维蛋白电泳	36
2.2.11	SDS-PAGE 酶谱法分析	37
2.2.12	串联质谱分析 MALDI-TOF MS/MS	37
2.2.13	实时荧光定量 PCR	38
2.2.14	透射电镜(TEM)	39
2.2.15	基因克隆操作	40
2.2.15.1	细菌基因组 DNA 提取	40
2.2.15.2	质粒的提取	40
2.2.15.3	聚合酶链式反应	41
2.2.15.4	PCR 产物回收	42
2.2.15.5	质粒及回收产物的酶切	42
2.2.15.6	酶切产物电泳割胶回收	43
2.2.15.7	DNA 与质粒的连接	43
2.2.15.8	感受态细胞的制备	44
2.2.15.9	基因转化	44
2.2.15.10	转化子的挑选及鉴定	44
2.2.16	重组菌株的诱导表达	45
2.2.17	漆酶的纯化	46

第三章 豪氏变形杆菌对偶氮染料的脱色 47

3.1	豪氏变形杆菌生长曲线	47
3.2	豪氏变形杆菌对偶氮染料的降解	47

3.3 不同浓度氯化钠对豪氏变形杆菌生长及染料脱色的影响	48
3.4 不同金属离子对比脱色速率的影响	49
3.5 偶氮染料脱色的参数估计	50
3.7 介质体系对偶氮染料脱色的影响	51
3.8 氧化还原酶系的酶活测定	52
3.9 本章小结	53
第四章 铜离子诱导豪氏变形杆菌产漆酶	54
4.1 豪氏变形杆菌产酶条件的优化	54
4.1.1 硫酸铜添加时间对豪氏变形杆菌生物量和漆酶酶活的影响	54
4.1.2 硫酸铜诱导浓度对豪氏变形杆菌生物量和漆酶酶活的影响	55
4.1.3 硫酸铜诱导浓度对豪氏变形杆菌生长的影响	56
4.2 铜诱导产酶的机理研究	58
4.2.1 全细胞及胞内铜含量	58
4.2.2 静置或摇动培养对酶活和生物量的影响	59
4.2.3 胞外添加硫酸铜对酶活的影响	60
4.3 酶学性质的表征	61
4.3.1 电子自旋共振分析	61
4.3.2 漆酶最佳反应条件的测定	62
4.3.3 抑制剂氯离子对漆酶酶活的影响	63
4.3.4 酶谱法分析漆酶	64
4.4 本章小结	66
第五章 铜离子对豪氏变形杆菌蛋白表达、基因调控及细胞形态的影响	67
5.1 铜离子对豪氏变形杆菌蛋白表达的影响	67
5.2 不同浓度的硫酸铜对蛋白表达的影响	70
5.3 不同基因的转录水平的鉴定	72
5.4 铜离子对豪氏变形杆菌菌落形态及群集运动的影响	76
5.5 豪氏变形杆菌铜平衡的机理	77
5.6 本章小结	79
第六章 豪氏变形杆菌漆酶基因于大肠杆菌重组表达	80
6.1 漆酶基因克隆	80
6.2 重组表达载体的构建	80
6.3 漆酶在大肠杆菌中的蛋白表达	81
6.3.1 不同培养条件对 pET20bI-lac2/BL21 生长的影响	81
6.3.2 SDS-PAGE 分析 pET20bI-lac2/ BL21 的蛋白表达	82
6.3.3 不同培养条件对 PET20bI-lac2/BL21 产漆酶酶活的影响	83
6.3.4 漆酶的镍柱纯化	83
6.4 本章小结	84

第七章 结论与展望.....	85
7.1 结论.....	85
7.2 展望.....	85
参考文献.....	87

厦门大学博硕士论文摘要库

Contents

Chapter 1 Literature review	1
1.1 Dye wastewater pollution	1
1.1.1 Wastewater treatment.....	1
1.1.2 Decolorization capability microorganisms	2
1.1.3 Azo dye biodegradation	4
1.1.4 Oxidoreductases in dye biodegradation	4
1.1.5 Applications of decolorizing microorganism	5
1.2 Microorganism and heavy metals	6
1.2.1 Effects of heavy metals on microorganism growth	7
1.2.2 Effects of heavy metals on microorganism proteins.....	7
1.2.3 Effects of heavy metals on microorganism morphology	8
1.2.4 Heavy metals resistance and detoxification of microorganism	8
1.2.4.1 Biosorption.....	8
1.2.4.2 Extracellular precipitation.....	9
1.2.4.3 Intracellular accumulation and detoxification.....	9
1.2.4.4 Biotransformation	10
1.2.4.5 Effluxion	10
1.3 Effects of copper on microorganism	11
1.3.1 Copper resistance in microorganism.....	11
1.3.2 Copper resistance determinants	12
1.3.2.1 Cu-ATPase	12
1.3.2.2 Multi-copper oxidase	13
1.3.2.3 Resistance nodules family of cell differentiation	14
1.3.3 Copper resistance regulator gene.....	16
1.3.4 Common copper transfer model	18
1.3.4.1 <i>E. coli</i> model	18
1.3.4.2 <i>Enterococcus hirae</i> model.....	19
1.3.4.3 <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> model	19
1.4 <i>Proteus</i> genus and <i>Proteus hauseri</i>	20
1.5 Contents and significance	21
1.5.1 Research significance and objectives.....	21
1.5.2 Contents	22
1.5.2.1 Decolorization of azo dyes by <i>P. hauseri</i>	22
1.5.2.2 Laccase production induced by copper	23
1.5.2.3 Copper homeostasis in <i>P. hauseri</i>	24
1.5.2.4 Gene recombinant	24
Chapter 2 Materials and Methods	27
2.1 Materials	27
2.1.1 Organisms	27

2.1.2 Chemicals and instruments	27
2.1.3 Medium	27
2.1.4 Solutions and buffers	27
2.1.4.1 Solutions.....	27
2.1.4.2 buffers	27
2.1.4.3 Solutions for PAGE.....	28
2.1.4.4 Solutions for Protein purification.....	29
2.2 Methods	29
2.2.1 Growth of <i>P. hauseri</i> ZMd44.....	29
2.2.2 Decolorization of azo dyes Rbu160 by <i>P. hauseri</i>	30
2.2.2.1 Metal effects on dye decolorization	30
2.2.2.2 Medium effects on dye decolorization	32
2.2.3 Enzyme assay	32
2.2.3.1 Laccase enzymatic assay.....	32
2.2.3.2 NADH dehydrogenase	33
2.2.4 Bradford methods	33
2.2.5 Atomic absorption analysis.....	33
2.2.6 Static or shaking culture	34
2.2.7 Preparation of holoenzyme forms	34
2.2.8 Electron paramagnetic resonance	35
2.2.9 Protein preparation	35
2.2.10 one-dimensional protein electrophoresis.....	35
2.2.11 SDS-PAGE zymogram	36
2.2.12 MALDI-TOF-TOF-MS/MS.....	37
2.2.13 qRT-PCR	37
2.2.14 Transmission electron microscope.....	39
2.2.15 Gene cloning	39
2.2.15.1 Genomic DNA extraction.....	39
2.2.15.2 Plasmid extraction.....	40
2.2.15.3 PCR.....	41
2.2.15.4 PCR production recovery.....	41
2.2.15.5 Digestion.....	42
2.2.15.6 Digestion production recovery.....	42
2.2.15.7 Ligation	43
2.2.15.8 Preparation of competent cells.....	43
2.2.15.9 Transformation	44
2.2.15.10 Selection and identification of transformants.....	44
2.2.16 Induced expression of the recombinant strain.....	45
2.2.17 Laccase purification.....	45

Chapter 3 Decolorization of azo dyes Rbu160 by *P. hauseri* . . . 47

3.1 Growth curve of <i>P. hauseri</i>	47
3.2 Decolorization of azo dye Rbu160.....	47
3.3 Effects of NaCl on decolorization of azo dye.....	48

3.4 Metal effects on specific decolorization rate	49
3.5 Effects of dye concentration on the specific decolorization rate.....	50
3.7 Comparison on decolorization of Rbu160 in different medium	51
3.8 Enzymatic assays of oxidoreductase	52
3.9 Chapter summary	53
Chapter 4 Copper ion-stimulated McoA-laccase production and enzyme characterization in <i>P. hauseri</i> ZMd44	54
4.1 Optimization of culture conditions for McoA-laccase production	54
4.1.1 Optimization of copper addition time	54
4.1.2 Optimization of copper concentration	55
4.1.3 Effects of copper on <i>P. hauseri</i> growth	56
4.2 Copper-induced mechanism of laccase production	56
4.2.1 Effects of copper contents	57
4.2.2 Effects of culture conditions	58
4.2.3 Effect of extra copper addition on apoenzyme	59
4.3 Enzyme characterization.....	60
4.3.1 EPR analysis.....	60
4.3.2 Optimal temperature and pH	61
4.3.3 Effects of chloridion inhibition.....	63
4.3.4 Zymogram anaylysis	64
4.4 Chapter summary	64
Chapter 5 Copper response on <i>Proteus hauseri</i> in protein and gene expression with cell morphology mechanism	67
5.1 Effect of copper ion on protein induction.....	67
5.2 Protein expression level by copper induction.....	70
5.3 Transcription level of candidate genes.....	72
5.4 Morphology of <i>P. hauseri</i> after Cu induction	76
5.5 Proposed mechanism for copper homeostasis.....	77
5.6 Chapter summary	79
Chapter 6 Molecular cloning and heterologous expression of laccase from <i>P. hauseri</i>.....	81
6.1 Gene cloning.....	81
6.2 Construction of the recombinant expression vector	81
6.3 Laccase expression.....	81
6.3.1 Effects of culture conditions on cell growth of pET20bI-lac2/BL21	82
6.3.2 SDS-PAGE profiling of expression in pET20bI-lac2/BL21.....	83

6.3.3 Effects of culture conditions on laccase activity	84
6.3.4 Laccase purification	84
6.4 Chapter summary	85
Chapter 7 Conclusion and prospect	85
7.1 Conclusion	86
7.2 Prospect	86
References.....	87

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 文献综述

1.1 染料废水污染概况

染料的种类和数量随着染料工业的发展不断增加。天然染料由于来源困难，成本较高，其应用受到限制。目前，生产用的染料绝大部分为人工合成的化学染料，大都是含有胺基的芳香族化合物，结构稳定、复杂，具有抗酸、抗碱、抗光、抗微生物等特性，难降解，毒性较大，环境滞留期较长，因而具有潜在的健康危害^[1]。而染料废水则由于染料的特殊性质不仅有机含量高，生化性差，色度高，成分复杂，毒性大^[2]，若大量的含染料废水不经处理直接排放会给整个水生生态系统带来持续和灾难性的后果，并可能通过食物链直接或间接影响人们的身体健康。随着人们环保意识的增加和国家对环境治理力度的加强，越来越多的企业急需有效的废水处理技术，有关染料废水的有效处理及其对环境、人体影响研究已经成为许多环保工作者的重要课题。

1.1.1 偶氮染料的废水治理

偶氮染料分子中含有偶氮基(-N=N-)，是染料中品种和数量最多的一种。绝大多数偶氮染料是芳香胺经重氮化后与酚类、芳香胺类具有活性的亚甲基化合物偶合而成的，占有机染料产品总量的80%。因其化学性质较稳定，降解成分复杂，因此偶氮染料废水是公认的难处理的高浓度有机废水。

文献报道的偶氮染料磺基橙对淡水中的微生物种群具有毒性，会引起水生生态系统微生物的减少，同时削弱有机化合物的微生物矿化作用^[3]。Ogawa等人^[4]确认染料对活性污泥中微生物的呼吸作用起抑制作用。染料结构上引入-CH₃、-NO₂、-SO₃H、-COOH等官能团或以萘环取代苯环都可以削弱染料对微生物呼吸作用的抑制，而引入-Cl、-Br则会加强抑制作用。

目前，国内外研究者对偶氮染料废水处理方法做了大量的研究工作，主要包括物理法、化学法、生物法及这些方法的组合，以生化法最为常见。常见的处理方法如表1.1。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库