

以生活污水中油脂为复合碳源的特性菌株 筛选与降解效率研究

李文君^{1,2}, 郭 勇², 侯思琰³, 黄 强¹, 富可荣³

(1.西安理工大学水利水电学院, 西安 710048; 2.海河流域水资源保护局, 天津 300170; 3.水利部海河水利委员会, 天津 300170)

摘 要:为了构建一套高效率的污水处理体系,从污水样品中分离、筛选出一株对动植物油脂均具有较强降解能力的菌株 JZZ2。在生理生化特性和 16S rDNA 序列系统发育分析的基础上,评价了该菌株对不同来源动植物油脂的降解能力,同时对其脂肪酶和生物表面活性剂活性进行了分析。研究发现,该菌株属于 *Pseudomonas aeruginosa*,在含 1% 油脂的 MS 培养基中,30 ℃ 培养 24 h 的 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 对橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油的降解率分别为 72.4%、90.2%、82.3% 和 84.5%,同样条件下培养 48 h 的 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 脂肪酶活性为 2 200 U·L⁻¹,研究进一步发现油脂的添加能够促使其生物表面活性物质的产生。由此可见,*Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 对动植物油脂均具有较强的降解能力,能生成脂肪酶和生物表面活性物质是其具有油脂降解特性的主要原因之一。

关键词:油脂降解;铜绿单胞菌;生物表面活性剂;污水处理

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)03-0580-07

Screening, Identification, and Characterization of a Lipid-Degrading Bacterium and Its Application to Lipid-containing Wastewater Treatment

LI Wen-jun^{1,2}, GUO Yong², HOU Si-yan³, HUANG Qiang¹, FU Ke-rong³

(1.Institute of Water Conservancy and Hydroelectric Power, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048, China; 2.Water Resources Protection Bureau of Haihe River Basin, Tianjin 300170, China;3.Haihe River Water Conservancy Committee, Ministry of Water Conservancy, Tianjin 300170, China)

Abstract: To construct an efficient lipid-containing wastewater treatment system is an important method for the wastewater treatment in China. The microorganisms that degrade lipids efficiently were isolated from wastewater samples and lipid-degrading bacterial strain isolated from wastewater was identified as *Pseudomonas aeruginosa* by biochemical properties and 16S rRNA analysis. This study results showed: The rate of degradation of olive oil, salad oil and beef tallow by *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 were 72.4%, 90.2%, 82.3% and 84.5%, respectively, during a 24 h cultivation at 30 ℃. Additionally the lipase and biosurfactant (BSF) activities of strain *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 after a 48 h cultivation was 2 200 U·L⁻¹. Strain JZZ2 has the ability to efficiently degrade different vegetable and animal fats or oils that also include edible-lipid wastes. The activities of lipase and biosurfactant (BSF) are one of the main reasons for oil degradation characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2. Further, we discuss the progress made by this method to improving the lipid-containing wastewater treatment system.

Keywords: lipid degradation; *Pseudomonas aeruginosa*; lipase and biosurfactant (BSF) activities; wastewater treatment

截止到 2008 年我国农副食品加工业废水排放量为 15.78 亿 t^[1],其中来源于肉类加工、油脂加工以及餐饮等加工企业的废水含有大量的油脂。由于油脂不溶于水,废水中的油脂很难被除去和降解,污水中含有的油脂,常常导致污水工业化处理过程中管道的堵塞。目前,解决这一问题的最有效方法就是先使污水

通过除油器,在除油器的分离作用下将污水中大部分油脂分离出来。分离出来的油脂可以焚烧掉或者送往垃圾场掩埋,但是这样的处理方式会导致环境的污染。微生物能将脂肪转化为甘油和脂肪酸,然后脂肪酸通过 β 氧化途径转化为乙酰辅酶 A 并最终进入三羧酸循环^[2]。近几十年来,国内外对生物法处理含油废水的研究逐渐形成热点,但目前文献多集中于石油类的研究,对油脂废水的报道还不多见。随着法律的完善和人们环保意识的提高,研究人员逐步展开了微生物在处理污水中油脂方面的研究^[3-5],这些研究中使用的菌株主要包括酵母菌、*Pseudomonas aeruginosa* 和

收稿日期:2011-10-09

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973)项目(2006CB403408);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07209-010);水利部公益性行业科研专项经费项目(200901043-2)

作者简介:李文君(1983—),男,河北零城人,博士研究生,从事水资源保护工作。E-mail:liwenjun@hwcc.gov.cn

Bacillus sp. 虽然取得了一定的成果,但使用微生物处理含油废水的研究目前仍处于研究阶段,还未投入工业运行。因此,对含油污水中的优势菌群进行分离,并从中筛选出具有高效油脂降解特性的菌株,仍是目前研究的重点^[3]。Hasanuzzaman 等^[5]以色拉油为唯一碳源,从自然界中分离、筛选到了一株具有较强油脂降解能力的菌株 *Pseudomonas aeruginosa* T1。Ettayebi K 等^[6]采用热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)处理橄榄油废水,能有效降低废水的有机负荷。Chigusa K 等^[7]以豆油为碳源从油脂加工厂废水中分离出 9 株酵母菌。王继华等^[8]以花生油为唯一碳源,从自然界中分离、筛选到了 8 株能在 5℃ 下生长并能降解生活污水中油脂的低温菌。游游等^[9]以豆油为唯一碳源,从餐厅下水道废水中分离出一株具有油脂降解特性的产酸克雷伯氏菌(*Klebsiella oxytoca*)。张英等^[10]以橄榄油为唯一碳源,从肉联厂废水中筛选出一株高效油脂降解菌。

生活污水中油脂主要包括动物油脂和植物油脂,生活污水中油脂的存在是以复合形式存在的。根据文献报道,目前筛选到的一些油脂降解菌株多是以单一的植物油或动物油为碳源来源,没有充分考虑到生活污水中油脂以复合形式存在这一实际情况,从而限制了其在后续的工业运行中的应用。针对这一情况,本研究以橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油等体积混合而成的混合油脂为碳源来源,旨在筛选出一株对动植物油脂均具有较强降解能力的菌株,并通过测定该菌株脂肪酶活性和生物表面活性剂活性(BSF),对其降解油脂的机理进行初步探讨,以期为进一步继续研究提供理论支持和技术指导。

1 材料与方法

1.1 培养基及溶液配制

除胰化蛋白胨和酵母提取物外,本试验中所用其他药品均为分析纯,所有药品均购自生工生物工程(上海)有限公司。试验中所用橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油均为市售。

MS (mineral salt) 固体培养基: 分别称取 4 g NH_4NO_3 、4.7 g KH_2PO_4 、0.119 g Na_2HPO_4 、0.01 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.015 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、1 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.01 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 0.1 g 酵母粉,溶于 1 L 蒸馏水中,调节培养基 pH 值至 7.0,121℃ 15 min 灭菌。

TE 缓冲液:10 mmol·L⁻¹ Tris, 1 mmol·L⁻¹ EDTA,调节 pH 值至 8.0。

CTAB/NaCl 溶液:10% CTAB,0.7 mol·L⁻¹ NaCl。

苯酚-氯仿-异戊醇溶液:按苯酚、氯仿和异戊醇体积比为 25:24:1 配制。

1.2 仪器设备

PTC-200 型梯度基因扩增仪,Eppendorf 5810R 冷冻离心机,CDS8000 型 UPV 凝胶成像分析系统,DYY-12 电泳仪,ND-1000 型微量紫外分光光度计,日本岛津分光光度计,恒温培养箱、OLYMPUS BX50 型光学显微镜、NSC-II A-1200 无菌工作台、恒温水浴锅、pH 计、恒温摇床、HIRAYAMA HA-300M 型全自动高压灭菌器和电子天平等。

1.3 污水样品的采集

2011 年 5—6 月,分别从塘沽南排河(A)、新河(B)、北辰(C)、东郊(C)、纪庄子(D)、咸阳路(E)、东突堤(F)和武清区(G)等天津市 8 处主要的污水处理场采集污水样本 12 份。采样点分布如图 1 所示,采样点的水环境特点如表 1 所示。

样品采集后置于灭菌采样瓶中,于 4℃ 恒温采样箱中存放,运回实验室。在无菌试验台中,使用双层无菌的纱布过滤污水样品,除去污水中的悬浮颗粒。

1.4 具有潜在油脂降解特性的细菌的初筛

取 1 mL 处理过的污水样品加入到 100 mL 含有 1%(V/V)色拉油的 MS 液体培养基中,三角瓶置于恒温摇床中,30℃ 180 r·min⁻¹ 培养 72 h。将培养好的细菌离心(3 000 g, 10 min),使用无菌蒸馏水洗涤两次后,收集菌泥并加入 100 mL 0.85%(W/V)的生理盐水,振荡均匀后,于 660 nm 波长下测定其浊度(OD)值。选取 OD 值大于 1.0 的菌悬液,于 MS 固体培养基平板中划线,置于恒温培养箱中 30℃ 培养 72 h。培养结束后,挑选具有不同菌落形态的单菌落,转接与含有 1%色拉油的 MS 液体培养基,30℃ 180 r·min⁻¹ 培养 24 h。培养结束后,将 OD 值大于 1.0 的细菌转接与含有 1%色拉油的 MS 固体培养基斜面中,置于 4℃ 保存,用于下一步的研究。

1.5 具有潜在油脂降解特性的细菌的复筛

将初筛到的细菌按 1%(V/V) 分别接种于含有 1%混合油脂(橄榄油:色拉油:芝麻油:牛油=1:1:1:1,M/M)的 MS 液体培养基中,于 30℃ 180 r·min⁻¹ 培养 24 h。培养结束后,3 000 g 10 min 离心,取上清液,采用氯仿-酚的方法测定其中油脂的含量。即 30 mL 氯仿-甲醇混合溶液(3:1,V/V)加入到 100 mL 上清液中,振荡 4 000 r 30 min 离心,取氯仿层,1 000 g 10 min 离心,用于测量剩余油脂的含量。同时,取未接菌的液体

μL 蛋白酶 K ($20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中进行消化; 4 h 后取出加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ NaCl ($5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 $80\text{ }\mu\text{L}$ CTAB/NaCl 溶液 (10% CTAB, $0.7\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl) 混匀后 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min ; 然后用苯酚-氯仿-异戊醇 (体积比 $25:24:1$) 混合溶液抽提二次去蛋白, 澄清的上清加等体积预冷的异丙醇和 0.1 倍体积的 NaAc ($3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 沉淀 DNA, $6\text{ }500\text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 3 min 后, 去上清并用 70% 乙醇洗涤两次; 自然风干后溶于适量的 TE 缓冲液储存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。提取完毕取 $2\text{ }\mu\text{L}$ DNA 原液用 ND-1000 型微量紫外分光光度计检测基因组 DNA 的浓度以及 OD 比值, 同时取 $2\text{ }\mu\text{L}$ DNA 原液用 0.8% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测。

1.7.2 细菌 16S rDNA 扩增

将上述制备的基因组 DNA 作为扩增的模板采用 $50\text{ }\mu\text{L}$ 体系进行扩增。运用的通用引物^[14-15]: 正向引物 27f ($5'-\text{AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG}-3'$) 和反向引物 1495r ($5'-\text{CTACGGCTACCTTGTACGA}-3'$) 均由上海桑尼生物科技有限公司合成。扩增循环为: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min 预变性; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min , $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 min , 30 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min 。扩增反应完毕后, 取 $2\text{ }\mu\text{L}$ 的 PCR 产物用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 若 PCR 成功则在 $1\text{ }500\text{ bp}$ 左右可见清晰的条带。

1.7.3 测序及系统发育树的构建

将扩增产物送上海桑尼生物技术有限公司测序。得到的序列运用 DNASTar 软件进行序列拼接和校准, 在 GenBank 数据库中进行 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 同源性比对分析, 并利用软件 Mega 4 与模式菌种进行系统进化亲缘关系研究。利用软件中的 Cluster W 构建系统发育树, 以同源性大于 99% 为种的分界阈值将待测菌株鉴定到种。

1.8 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 对不同类型油脂降解能力的比较分析

将 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 按 1% (V/V) 分别接种于含有 1% 橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油的 MS 液体培养基中, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h , 测定其对不同油脂的降解率。

1.9 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 脂肪酶活性和生物表面活性剂活性的测定

将 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 分别接种于含有 1% 混合油脂 (橄榄油:色拉油:芝麻油:牛油= $1:1:1:1$, V/V) 的 MS 液体培养基中, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h 。培养结束后, $3\text{ }000\text{ g}$ 10 min 离心, 取上清液。脂肪酶

活性测定使用脂肪酶活性检测试剂盒 (BioVision, American), 1 单位的脂肪酶活性定义为 1 min 生成 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 巯基所需的脂肪酶的量。

Pseudomonas aeruginosa JZZ2 分别接种于含有 1% 混合油脂 (橄榄油:色拉油:芝麻油:牛油= $1:1:1:1$, V/V) 和不含有油脂的 MS 液体培养基中, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h 。培养结束后, $3\text{ }000\text{ g}$ 10 min 离心, 取上清液。生物表面活性剂活性的测定使用排油圈检测法进行。即, 在一直径为 9 cm 的培养皿中, 加 30 mL 蒸馏水, 在水面上滴入 0.2 mL 经苏丹红染色的液体石蜡, 在油膜中央滴加 0.2 mL 发酵液上清液, 然后观察是否产生排油圈并测量其直径^[16]。

1.10 数据分析

每个样品各指标的测定均作 3 个平行样。数据分析采用 SAS 9.0 软件 (SAS Institute Inc, Cary, USA), 其中 ANOVA 分析在 $P<0.05$ 水平下进行分析, 作图采用 Origin 7.0 软件。

2 结果与分析

2.1 具有潜在油脂降解特性的细菌的初筛

12 份污水样品中共有 5 个样品在含有 1% (V/V) 色拉油的 MS 液体培养基中, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 72 h 后菌悬液 OD 值在 660 nm 波长处大于 1.0 。研究人员累计从这 5 份样品的菌悬液中挑取了 32 个单菌落, 其中有 12 个细菌在含有 1% 色拉油的 MS 液体培养基培养, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 其 OD 值在 660 nm 波长处大于 1.0 。

2.2 具有潜在油脂降解特性的细菌的复筛

将初筛得到的 12 株细菌分别接种于含有 1% 混合油脂 (橄榄油:色拉油:芝麻油:牛油= $1:1:1:1$) 的 MS 液体培养基中, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h , 其油脂降解率如图 2 所示:

由图 2 可知, 细菌 JZZ2 的油脂降解能力大于其他初筛菌株 ($P<0.05$), 因此选用该菌株作进一步的研究工作。

2.3 细菌 JZZ2 的生理生化特性研究

细菌 JZZ2 为革兰氏阴性杆菌, 在 MS 固体培养基上呈现圆形微黄色菌落。过氧化氢酶、尿素酶、硝酸盐还原实验和氧化酶反应呈现阳性。细菌 JZZ2 可以耐受 3% 的氯化钠, 并可以在 $15\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的环境中生长, 且产吡啶和硫化氢。该菌株能分解酪蛋白、明胶、海藻酸和乙酸铵, 同时可以利用橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油, 能利用吐温 80 。细菌 JZZ2 可以利用阿拉伯糖、果糖、甘露醇、甘露糖、半乳糖、葡萄糖和木糖产酸, 不

能利用麦芽糖、乳糖、鼠李糖、海藻糖、肌醇和面子糖产酸。

2.4 细菌 JZZ2 的 16S rDNA 序列比较分析

采用冻融-CTAB 方法提取的细菌 JZZ2 的基因组 DNA 大小均在 23 kb 左右,完整性较好,纯度也较高,满足后续的试验要求(图略)。扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳,细菌 JZZ2 的 16S rDNA 扩增的电泳图在约 1 500 bp 处有清晰可见的明亮条带,并且没有非特异性扩增条带(图略),这说明细菌 JZZ2 的 16S rDNA 扩增成功。

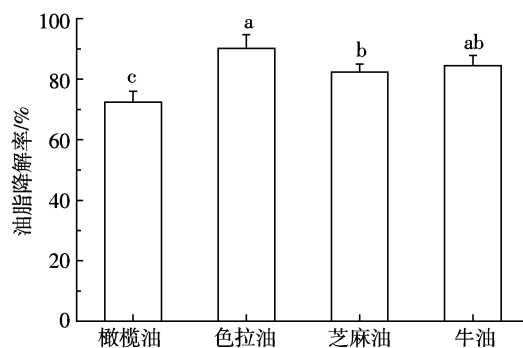
由细菌 JZZ2 的 16S rDNA 序列与参考菌株的 16S rDNA 序列利用软件中的 cluster W 构建系统发育树(图 3),从图中可见待测的 JZZ2 和 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145(X)聚为一类,所以可以判定 JZZ2 为 *Pseudomonas aeruginosa*。

2.5 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 对不同类型油脂降解能力的比较分析

将 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 按 1% (V/V) 分

别接种于含有 1% 橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油的 MS 液体培养基中,其油脂降解率如图 4 所示。

由图 4 可知,*Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 对橄榄油、色拉油、芝麻油及牛油都具有降解能力,其中对

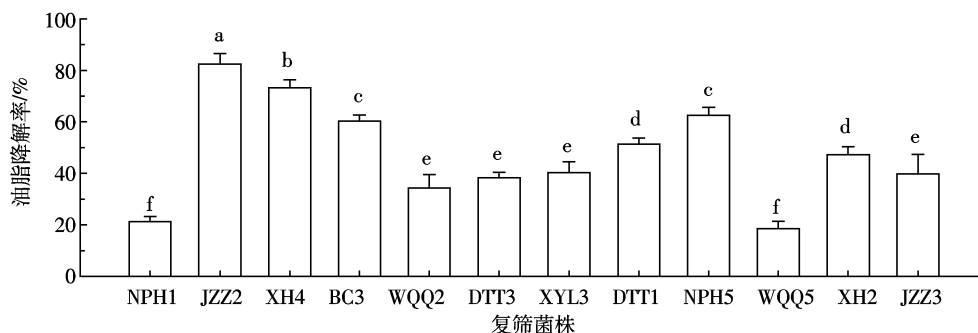


标有相同字母的复筛菌株,其油脂降解能力差异不显著 ($P>0.05$)

The Lipid degradation rates followed by same letters represent no significantly different ($P>0.05$)

图 4 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 对不同类型油脂降解能力的比较分析

Figure 4 Lipid degradation rates of *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 of different type oil



标有相同字母的复筛菌株,其油脂降解能力差异不显著 ($P>0.05$)

The Lipid degradation rates followed by same letters represent no significantly different ($P>0.05$)

图 2 复筛菌株对 1% 浓度复合油脂的降解能力的比较分析

Figure 2 Lipid degradation rates of isolated strains in the medium with 1% mixed oils

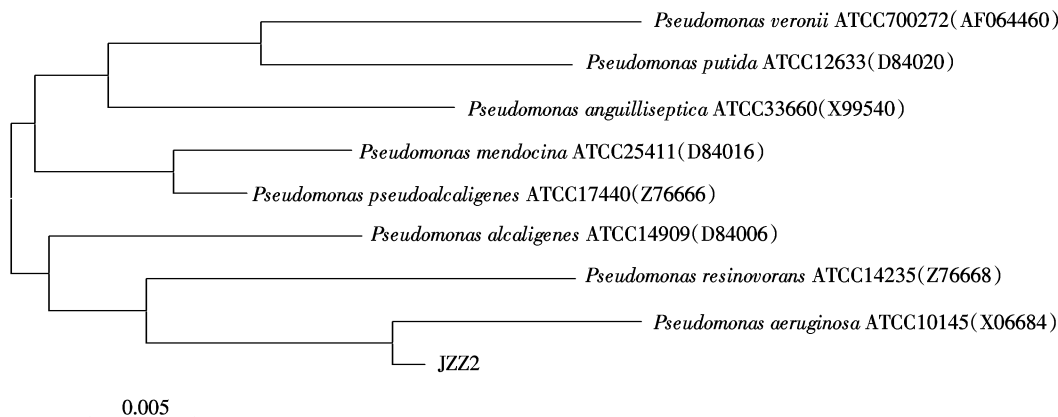


图 3 细菌 JZZ2 与参考菌株 16S rDNA 序列的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree of 16S rDNA among JZZ2 and standard bacterial strain

色拉油和牛油的降解能力最强($P<0.05$),降解率分别达到 90.2% 和 84.5%,对橄榄油的降解能力最弱($P<0.05$),但其降解率也能达到 72.4%。

2.6 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 脂肪酶活性和生物表面活性剂活性的测定

如图 5 可知,*Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 在 6~12 h 期间脂肪酶活性进入上升阶段,42 h 时脂肪酶活性最大($2\ 200\ \text{U}\cdot\text{L}^{-1}$),48 h 时进入下降阶段。在 24 h 时 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 油脂降解率即达到 81.2%,在后续培养过程中,虽然油脂降解率仍在不断上升,但已趋于平稳。

Pseudomonas aeruginosa JZZ2 在含有 1% 混合油脂和不含有油脂的 MS 培养基中其排油圈直径分别为 $(6.60\pm0.20)\text{cm}$ 和 $(3.20\pm0.36)\text{cm}$,且两者差异显著($P<0.05$)。这说明混合油脂的添加能够促使该细菌生物表面活性物质的产生。

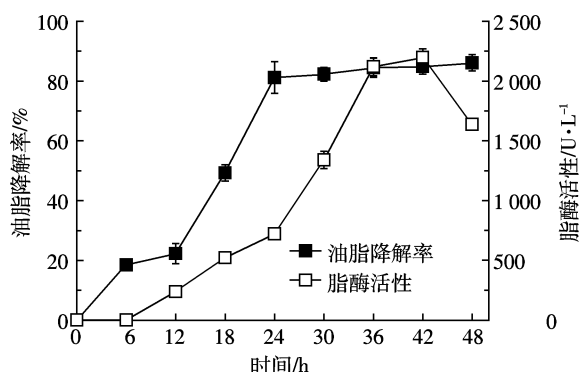


图 5 不同培养时间下 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 油脂降解能力及脂肪酶活性的比较分析

Figure 5 The lipid degradation rates and lipase activities of *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 in different times

3 讨论

富含油脂的污水能够形成油膜,减少了水中氧气的浓度,从而导致水生动物的死亡。对于含油(脂)污水的处理,目前采用的处理手段大体分为物理法、化学法、物理化学法和生物法。其中生物法与其他方法相比较具有成本低、投资小、效率高、无二次污染等特点,所以得到了广泛的应用。

脂肪酶是一类可以水解包括长链三酰甘油在内的水不溶性脂类的脂肪酶,研究发现脂肪酶具有降解污水中油膜,从而净化水环境的作用^[17-19]。脂肪酶普遍存在于动植物和微生物中,由于微生物来源的脂肪酶一般都是分泌性的胞外酶,适合于工业化大生产和获得高纯度样品,微生物脂肪酶是工业用脂肪酶的重要

来源。有报道显示微生物脂肪酶可以由脂质(如甘油三酯和游离脂肪酸)或环己烷的诱导产生。Marcin 等^[20]报道了橄榄油诱导 *Pseudomonas aeruginosa* MB 5001 脂肪酶的产生。Ito 等^[21]发现具有耐受有机溶剂特性的 *Pseudomonas aeruginosa* LST-03 在含有某些脂质的单一碳源合成培养基中生长时可以产生胞外脂肪酶。*Pseudomonas* 属的微生物广泛存在于土壤和水中,它能利用大多数的有机物生长,对一些自然或者人工合成的化合物具有降解能力^[22]。研究发现 *Pseudomonas* 属的细菌可以产生多种胞外酶,其中就包括脂肪酶,同时在所有的细菌产脂肪酶中,*Pseudomonas* 属细菌产的脂肪酶具有耐热和耐碱的特殊生化特性^[23]。

本研究中分离筛选到的细菌 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 DNA 的 G+C 含量为 65.7%,与 *Pseudomonas* 属 59%~68% 的含量是相符合的。*Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 能够有效降解不同来源的蔬菜油脂和动物脂肪,同时该菌株能够在含有橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油的培养基中产生高浓度的胞外脂肪酶(图 5)。我们研究还发现,在加入橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油后,不仅 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 的脂肪酶活性提高了,同时也促进了该菌株的生长,这一结果表明橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油这些脂质不仅是脂肪酶的诱导剂,同时还可以作为细菌的能量和碳源来源,能分泌一种有效的油/脂肪酸可诱导性胞外脂肪酶是 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 降解不同类型的动植物油脂的主要原因之一。

表面活性剂具有亲水和亲油基团,可防止油水之间的相互排斥。因此,生物表面活性物质的产生不仅增加了疏水性物质在水相中的溶解度,提高了油脂在水中的乳化度,同时也增大了污水中油脂与菌体的接触面积,从而增加了油脂的生物可利用性,提高了污水中油脂的降解速率^[25]。*Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 在含有 1% 混合油脂和不含有油脂的 MS 培养基中其排油圈直径分别为 $(6.60\pm0.20)\text{cm}$ 和 $(3.20\pm0.36)\text{cm}$,且两者差异显著($P<0.05$),这说明混合油脂的添加能够促使 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 生物表面活性物质的产生。因此,油脂促使 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 生物表面活性物质的产生是该菌株能降解不同类型的动植物油脂的另一主要原因。

油脂降解菌的分离具有极为重要的意义,其不仅是重要的生物催化剂来源,同时也可以推进脂肪酶的工业化生产。因此,为了推动 *Pseudomonas aeruginosa*

JZZ2 在污水处理和脂肪酶生产中的应用, 还需对该菌株的脂降解特性及作用机理展开进一步的研究。

4 结论

(1)本研究筛选到一株具有潜在降解污水中油脂特性的菌株, 经 16S rDNA 序列比较分析鉴定为 *Pseudomonas aeruginosa*。

(2)*Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 具有降解植物性油脂和动物性油脂的能力, 可以分解橄榄油、色拉油、芝麻油和牛油, 将该菌株分别接种于含有 1% 以上油脂的 MS 液体培养基中, 30 °C 180 r·min⁻¹ 培养 24 h, 其降解率依次为 72.4%、90.2%、82.3% 和 84.5%。

(3)初步研究表明, 能分泌一种有效的油/脂肪酸可诱导性胞外脂肪酶和油脂促使 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 生物表面活性物质的产生是 *Pseudomonas aeruginosa* JZZ2 具有降解动植物油脂能力的主要原因。

参考文献:

- [1] 水产品加工业水污染物排放标准编制组. 水产品加工业水污染物排放标准[P]. 2011, 5.
The group of aquatic products processing industry water pollutant discharge standards for the preparation. Aquatic products processing industry water pollutant discharge standards for the preparation[P]. 2011, 5.
- [2] 王镜岩. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 35-37.
WANG Jing-yan. Biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002: 35-37.
- [3] Canler JP, Royer C, Duchène P. Aerobic biological treatment of grease from urban wastewater treatment plants[J]. *Water Science and Technology*, 2011(2): 219-226.
- [4] Matsumiya Y, Wakita D, Kimura A, et al. Lipid containing wastewater treatment using lipid assimilative bacteria[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2007, 4: 325-330.
- [5] Mohammad Hasanuzzaman, Kathryn M, et al. Umadhay-Briones, et al. Isolation, identification, and characterization of a novel, oil-degrading bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* T1[J]. *Current Microbiology*, 2004, 49: 109-114.
- [6] Ettayebi K, Errachidi K, Jamaï L, et al. Biodegradation of polyphenols with immobilized *Candida calis* under metabolic induction[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 223: 215-219.
- [7] Chigusa K, Hasegawa T, Yamamoto N, et al. Treatment of wastewater from oil manufacturing plant by yeasts[J]. *Water Science Technology*, 1996, 34(11): 51-58.
- [8] 王继华, 李凤敏, 彭丽杰, 等. 低温高效油脂降解菌的分离筛选驯化[J]. 微生物学通报, 2009, 36: 1916-1920.
WANG Ji-hua, LI Feng-min, PENG Li-jie, et al. High-performance low-temperature oil-degrading bacteria isolated in domesticated[J]. *Journal of Microbiology*, 2009, 36: 1916-1920.
- [9] 游游, 朱琳, 张艳, 等. 含油废水中一株高效油脂降解菌的筛选和鉴定[J]. 生态环境学报, 2010, 19: 1378-1382.
YOU You, ZHU Lin, ZHANG Yan, et al. Screening and identification of an oil-degrading bacterium from oil-containing wastewater[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19: 1378-1382.
- [10] 张英, 秦华明, 朱明军, 等. 高效油脂降解菌株的筛选及特性研究[J]. 工业用水与废水, 2003, 34: 5-7.
ZHANG Ying, QIN Hua-ming, ZHU Ming-jun, et al. Selection of high-efficiency, oil-degrading strain and study of characteristics thereof[J]. *Industrial Water and Wastewater*, 2003, 34: 5-7.
- [11] Jeffrey WP, Angela M, Michael JA. Characterization of a low molecular weight glycolipid antigen from *Cryptosporidium parvum*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278: 52212-52222.
- [12] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 15-67.
DONG Xiu-zhu, CAI Miao-ying. The handbook of identification of common bacterial system[M]. Beijing: Science Press, 2005: 15-67.
- [13] 颜子颖, 王海林. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 37-39.
YAN Zi-ying, WANG Hai-lin. Molecular Biology Laboratory Manual[M]. Beijing: Science Press, 1998: 37-39.
- [14] Mora B, Fortina MG, Nicastro G, et al. Genotypic characterization of thermophilic bacilli: A Study on new soil isolates and several reference strains[J]. *Research in Microbiology*, 1998, 149: 711-722.
- [15] Jensen M A, Webster J A, Strauss N. Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59: 943-952.
- [16] 毕思宁, 王彦杰, 左豫虎. 生物表面活性剂排油圈检测方法的改进和应用[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2009, 21: 58-60.
BI Si-ning, WANG Yan-jie, ZUO Yu-hu. Improvement and application of oil spreading to detect biosurfactant[J]. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2009, 21: 58-60.
- [17] Dharmsthi S, Kuhasintisuk B. Lipase from *Pseudomonas aeruginosa* LP602: Biochemical properties and application for wastewater treatment[J]. *J Ind Microbiologic Biotechnology*, 1998, 21: 75-80.
- [18] Sarada R, Joseph R. Profile of hydrolases acting on major macromolecules of tomato processing waste during anaerobic digestion[J]. *Enzyme Microbiologic Technology*, 1993, 15: 339-342.
- [19] Zinebi S, Henriette C, Petitdemange E, Horet JC. Identification and characterization of bacterial activities involved in waste water treatment by aerobic fixed-bed reactor[J]. *Water Research*, 1994, 28: 2575-2582.
- [20] Marcin CL, Katz R, Gresham R, et al. Optimization of lipase production by *Pseudomonas aeruginosa* MB5001 in batch cultivation[J]. *Journal of India Microbiology Biotechnology*, 1998, 12: 29-34.
- [21] Ito T, Kikuta H, Nagamori E, et al. Lipase production in two-step fed-batch culture of organic solvent-tolerant *Pseudomonas aeruginosa* LST-03[J]. *Journal of Biosciences Bioengineering*, 2001, 91: 245-250.
- [22] Galli E, Silver S, Witholt B. *Pseudomonas* molecular biology and biotechnology[M]. Washington: American Society for Microbiology, 1992: 1-8.
- [23] Soberon-Chavez G, Palmeros B. *Pseudomonas* lipase: Molecular genetics and industrial applications[J]. *Critive Reviewer Biological*, 1994, 20: 95-105.
- [24] Talaie A, Beheshti M. Screening and batch treatment of wastewater containing floating oil using oil-degrading bacteria[J]. *Desalination and Water Treatment*, 2011, 28: 108-114.

致谢: 感谢北京师范大学刘静玲教授对英文摘要的修改, 感谢王立勇、张浩对文章修改所作的贡献。