

小鼠胃肠道中乙醛降解菌的分离·鉴定及乙醛降解特性的测定

王振杰, 杨鹏, 马桢朋, 张艺豪, 刘聚源, 田晓柱* (兰州大学生命科学学院, 甘肃兰州 730000)

摘要 [目的]从小鼠胃肠道分离并鉴定乙醛降解菌,测定其乙醛降解率。[方法]以C57小鼠为实验动物,分别采集小鼠胃、小肠及结肠内容物,分离可培养的菌株,然后在培养基中加入乙醛,筛选乙醛耐受菌并测定其乙醛耐受能力,采用间苯二酚法测定乙醛降解能力,最后通过16S rRNA测序鉴定乙醛降解菌。[结果]从小鼠胃、小肠及结肠中分别筛选出一株能够降解乙醛的菌株,分别命名为TXZ-1、TXZ-2、TXZ-3。鉴定结果显示,这3株菌都属于粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*),相似度达到99%,这些菌株的乙醛耐受能力和降解能力各不相同,其中TXZ-3的耐受和降解能力最强,耐受能力达到1.6 g/L。乙醛的最适降解条件为:接种量2.0%,乙醛浓度1.0 g/L,培养温度35℃,pH 7.0,摇床转速160 r/min,培养时间24 h,乙醛降解率达到了(93.6 ± 4.9)%。[结论]从小鼠胃肠道中筛选出高效快速降解乙醛的菌株TXZ-3,为研究乙醛污染的生物治理及人体中乙醛的清除提供了新思路。

关键词 乙醛;生物降解;乙醛降解菌;菌株鉴定;粪肠球菌

中图分类号 S865.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)31-0080-05

Isolation and Identification of Acetaldehyde-degrading Bacteria from the Gastrointestinal Tract of Mice and Determination of Their Acetaldehyde Degradation Characteristics

WANG Zhen-jie, YANG Peng, MA Zhen-peng et al (School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract [Objective] The study aimed to isolate and identify acetaldehyde-degrading bacteria from gastrointestinal tract of mice and determine their acetaldehyde degradation rates. [Method] Taking C57 mice as experimental animal, the contents of mouse stomach, small intestine and colon were collected to isolate bacterial strains. Then acetaldehyde was added in the medium to screen acetaldehyde-tolerant bacteria and determine their acetaldehyde-tolerant ability. Resorcinol method was used to determine acetaldehyde degradation ability. Finally, 16S rRNA sequencing was used to identify acetaldehyde-degrading bacteria. [Result] Acetaldehyde-degrading bacteria strains were screened from mouse stomach, small intestine and colon, named as TXZ-1, TXZ-2, TXZ-3, respectively. The identification results showed that the three strains belonged to *Enterococcus faecalis* and the similarity reached 99%. The acetaldehyde tolerance and acetaldehyde degradation ability of these bacteria were different. Among them, TXZ-3 strain had the strongest tolerance and degradation ability, the tolerance reached 1.6 g/L. The optimum degradation conditions for acetaldehyde were as follows: inoculation amount 2.0%, acetaldehyde concentration 1.0 g/L, incubation temperature 35℃, pH 7.0, rotating rate of 160 r/min. Acetaldehyde degradation rate reached (93.6 ± 4.9)% after 24 h. [Conclusion] TXZ-3 strain screened from the gastrointestinal tract of mice had the ability to degrade acetaldehyde efficiently and rapidly, which could provide new ideas for biological treatment of acetaldehyde pollution and removal of acetaldehyde from human body.

Key words Acetaldehyde; Biodegradation; Acetaldehyde-degrading bacteria; Strain identification; *Enterococcus faecalis*

醛类污染已经引起广泛关注,乙醛作为醛类污染物在工农业生产中的使用日益增多,不仅造成了环境污染,而且严重危害了人类健康^[1]。乙醛是一种生物毒性物质,一般毒性表现为对皮肤、眼睛、呼吸道的刺激,进而引发咳嗽、头晕等症状,长期接触乙醛会引起类似慢性酒精中毒的表现。研究表明,乙醛具有高毒性、诱变性和致癌性^[2-4],一次性摄入过量的乙醛会导致呼吸麻痹甚至致死。长期过量饮酒也能引起机体乙醛的积累,从而对机体造成损伤^[5]。乙醇进入机体后经过消化道吸收后首先作用于肝脏^[6],90%~95%的乙醇在肝脏中代谢,极少部分通过尿液和汗腺排出,在肝脏中乙醇脱氢酶的作用下乙醇代谢成乙醛^[7],当机体乙醛脱氢酶缺失时,乙醛难以被氧化为乙酸,导致机体大量乙醛的积累,引起肝脏组织的损伤^[8],进一步危害中枢神经系统、心脏、胆囊等器官。2017年10月27日,世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单初步整理参考,与酒精饮料摄入有关的乙醛在II类致癌物清单中。环境中乙醛浓度过高时也会导致微生物的大量死亡^[9]。乙醇进入机体最先损害的是胃肠道消化系统。据报道,长期饮酒能使大鼠小肠黏膜需氧菌总

数增加约10倍,这些菌类过度生长可增加对外源性乙醇的氧化,导致大量乙酸盐和乙醛在肠道内积累,乙醛及其他细菌代谢物共同作用,引起肠黏膜的损伤,增加肠道通透性,从而导致机体一系列疾病的发生^[10-13]。

目前,对乙醛污染的处理经常采用生化或物化的方法,如活性淤泥处理高浓度乙醛废液和采用厌氧反应器处理乙醛废水,而对于饮酒引起的体内乙醛积累的处理鲜见报道。笔者从小鼠体内胃肠道中筛选出能够高效降解乙醛的菌株,并对这些菌的鉴定分类以及体外乙醛耐受降解能力进行了研究,以期环境中乙醛的微生物降解以及机体内乙醛的清除提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 昆明系雄性成年小鼠(10周),体重(25 ± 2) g,颈椎脱臼法处死,迅速取出胃、小肠及结肠内容物。

1.2 试验材料

1.2.1 试剂。40%乙醛、0.85%无菌氯化钠溶液、果糖、间苯二酚、氢氧化钠、盐酸溶液。

1.2.2 培养基。2216E培养基:蛋白胨10 g/L、酵母提取物5 g/L、NaCl 5 g/L。固体培养基:蛋白胨10 g/L、酵母提取物5 g/L、琼脂15 g/L(pH 7.0)。基础盐液体培养基:KH₂PO₄ 5.71 g/L、K₂HPO₄ · 3H₂O 1.70 g/L、NaCl 5 g/L、NH₄NO₃ 1 g/L,用NaOH溶液调节pH至7.0。向2261E培养基中加入不同体积40%乙醛溶液配成不同浓度的乙醛培养基用于

基金项目 国家基础科学人才培养基金项目(J1210033);2017年兰州大学教学研究项目;2018年兰州大学大学生创新创业训练项目。

作者简介 王振杰(1997—),男,河南淮阳人,研究方向:生物技术。
*通讯作者,实验师,博士,从事肠道微生物研究。

收稿日期 2018-05-08;修回日期 2018-05-25

乙醛耐受性测定实验:向基础盐液体培养基中加入不同体积乙醛溶液制成乙醛降解测定培养基,乙醛作为唯一碳源。以上培养基均在 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

1.3 方法

1.3.1 胃肠道中乙醛耐受菌的分离。采集小鼠胃、小肠及结肠内容物,分别溶于 10 mL 无菌 0.85% NaCl 中,振荡混匀,1 000 r/min 离心 5 min,收集上清,稀释 100 倍,无菌环境中分别取 0.5 mL 接种到 50 mL 2216E 培养基中混匀,于 37 °C、160 r/min 摇床培养 36 h,再转接到含有 0.1 g/L 乙醛的上述培养基中相同条件培养,最后依次增加乙醛含量至 0.2、0.4、0.8 和 1.0 g/L 进一步驯化富集筛选,观察细菌的生长状况,然后通过平板划线分离法将上述菌液接种到含有 1.0 g/L 乙醛固体培养基平板上,挑取单菌落并标记,再平板划线分离并纯化,纯化后的单菌落划线接种到不含乙醛的细菌固体培养基中,37 °C 下培养 36 h 后,取出后置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.3.2 菌株的鉴定。16S rDNA 基因序列扩增采用通用引物 27F/1492R 进行 PCR 扩增(27F 为 5'-AGAGTTTGATCCTG-GCTCAG-3'; 1492R 为 5'-GGYTACCTTGTTACGACTT-3')^[14]。PCR 反应条件如下:94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s, 54 °C, 45 s, 72 °C, 1 min, 共 33 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 下保存。16S rRNA 基因序列的测定由华大基因完成。测序结果在 GenBank 中进行 Blast 比对分析,得出鉴定结果。

1.3.3 乙醛耐受菌耐受力的测定。配制不同乙醛浓度梯度的细菌液体培养基作为乙醛耐受力测定培养基,乙醛浓度梯度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 g/L。以 2.0% 接种量分别接种乙醛降解菌液于上述培养基,置于 160 r/min 摇床中,37 °C 下培养 36 h,使用分光光度计,在 600 nm 波长条件下,测定各培养基中初始菌液浓度与培养后菌液浓度的吸光值($OD_{600\text{ nm}}$),比较乙醛耐受菌的生长情况,吸光值高的为乙醛耐受力最好的,从而确定乙醛降解菌的耐受力。

1.3.4 乙醛耐受菌降解乙醛能力的测定。

1.3.4.1 乙醛含量的测定方法。采用间苯二酚显色法,乙醛在果糖存在的条件下,间苯二酚作为显色剂,80 °C 孵育 30 min 生成紫色化合物,冷却至室温,用 1 cm 比色皿在波长 555 nm 处测定显色液的吸光值 $OD_{555\text{ nm}}$ 。

1.3.4.2 乙醛标准曲线的制作。在基础盐液体培养基中添加不同体积的 40% 乙醛溶液,使乙醛的浓度分别为 0、100、200、400、600、800、1 000 mg/L。分别吸取 0.5 mL 不同浓度乙醛培养基、1 mL 4 mmol/L 果糖溶液、7 mL 84 mmol/L 间苯二酚溶液于试管中,1.5 mL 基础盐培养基补足体积 10 mL,以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,乙醛终浓度分别为 0、5、10、20、30、40、50 mg/L,按照上述间苯二酚法测定吸光值,制作标准曲线(图 1)。

1.3.4.3 乙醛耐受菌 TXZ-3 降解乙醛能力的测定。活化经纯化保存的菌株,单菌落接种到 2261E 培养基中,置于 160 r/min 摇床,37 °C 下培养 36 h,菌液于 10 000 r/min 离心

5 min,弃上清液,加入基础盐培养基洗涤 3 次,最后用基础盐培养基重悬,以 2.0% 的接种量接种到 5 mL 含乙醛的基础盐培养基中,置于 160 r/min 摇床,37 °C 下培养 36 h,以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,间苯二酚法测定吸光值。若吸光值太大,则要将原液稀释一定倍数后重新测定。

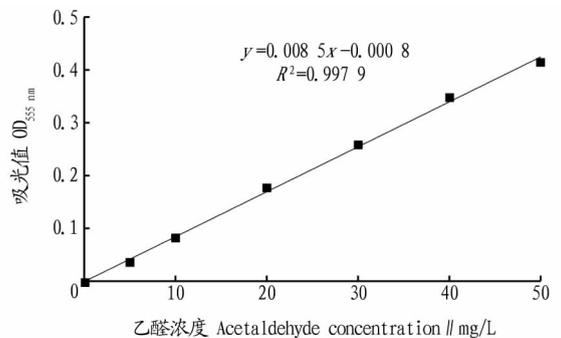


图 1 标准曲线

Fig. 1 The standard curve

1.3.5 菌株 TXZ-3 的乙醛降解能力与菌体生长的关系。将菌株 TXZ-3 以 2.0% 的接种量接种到乙醛浓度 50 mg/L 的基础盐培养基中,置于 160 r/min 摇床,37 °C 培养 36 h,以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,每隔 4 h 在超净台无菌环境中迅速取 1 mL 菌液于 600 nm 波长条件下测吸光值($OD_{600\text{ nm}}$),做出吸光值与时间相关曲线。同样,每隔 4 h,取 0.5 mL 培养液,采用间苯二酚法于 555 nm 波长条件下测定吸光值($OD_{555\text{ nm}}$)。若吸光值太大,将原液稀释一定倍数后重新测定,计算乙醛降解率,确定最优培养时间。

1.3.6 不同培养条件对菌株 TXZ-3 的生长及乙醛降解能力的影响。

1.3.6.1 乙醛浓度对菌株 TXZ-3 的生长及乙醛降解能力的影响。将菌株 TXZ-3 以 2.0% 的接种量接种到不同乙醛浓度(0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6 g/L)的 50 mL 基础盐液体培养基中,置于 160 r/min 摇床,37 °C 培养 24 h。培养结束,以初始菌液浓度为对照,取 1 mL 培养后的菌液测吸光值($OD_{600\text{ nm}}$);以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,取 0.5 mL 培养液,采用间苯二酚法于 555 nm 波长条件下测定吸光值($OD_{555\text{ nm}}$)。若吸光值太大,则要将原液稀释一定倍数重新测定,计算乙醛降解率,确定最适底物浓度。

1.3.6.2 温度对菌株 TXZ-3 的生长及乙醛降解能力的影响。将菌株 TXZ-3 以 2.0% 的接种量接种到乙醛浓度 1.0 g/L 的 50 mL 基础盐液体培养基中,置于 160 r/min 摇床,不同温度(20、25、30、35、37、40 °C)培养 24 h,以初始菌液浓度为对照,取 1 mL 培养后的菌液测定吸光值($OD_{600\text{ nm}}$);以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,取 0.5 mL 培养液,采用间苯二酚法于 555 nm 波长条件下测定吸光值($OD_{555\text{ nm}}$)。若吸光值太大,将原液稀释一定倍数后重新测定,计算乙醛降解率,确定适合的培养温度。

1.3.6.3 pH 对菌株 TXZ-3 的生长及乙醛降解能力的影响。将菌株 TXZ-3 以 2.0% 的接种量接种到不同 pH(2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0)、乙醛浓度 1.0 g/L 的

50 mL 基础盐液体培养基中,置于 160 r/min 摇床上,35 ℃ 下培养 24 h,以初始菌液浓度为对照,取培养的菌液 1 mL 测定吸光值($OD_{600\text{ nm}}$);以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,取 0.5 mL 培养液,采用间苯二酚法于 555 nm 波长条件下测定吸光值($OD_{555\text{ nm}}$)。若吸光值太大,将原液稀释一定倍数后再测定,计算乙醛降解率,确定最适 pH。

1.3.6.4 接种量对菌株 TXZ-3 的生长及乙醛降解能力的影响。将菌株 TXZ-3 以不同的接种量(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%)接种到乙醛浓度 1.0 g/L 的 50 mL 基础盐液体培养基中,置于 180 r/min 摇床,35 ℃ 下培养 24 h,以初始菌液浓度为对照,取 1 mL 培养后的菌液测定吸光值($OD_{600\text{ nm}}$);以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,取 0.5 mL 培养液,采用间苯二酚法于 555 nm 波长条件下测定吸光值($OD_{555\text{ nm}}$)。若吸光值太大,将原液稀释一定倍数后重新测定,计算乙醛降解率,确定最适接种量。

1.3.6.5 摇床转速对菌株 TXZ-3 的生长及乙醛降解能力的影响。将菌株 TXZ-3 以 2.0% 的接种量接种到乙醛浓度 1.0 g/L 的 50 mL 基础盐液体培养基中,置于不同转速(40、80、120、160、200、240 r/min)的摇床上,35 ℃ 下培养 24 h,以初始菌液浓度为对照,取培养的菌液 1 mL 测定吸光值($OD_{600\text{ nm}}$);以乙醛浓度为 0 mg/L 的培养基为空白对照,取 0.5 mL 培养液,采用间苯二酚法于 555 nm 波长条件下测定吸光值($OD_{555\text{ nm}}$)。若吸光值太大,将原液稀释一定倍数后重新测定,计算乙醛降解率,确定最优转速。

1.3.7 数据统计与分析。所有数据采用平均值 \pm 标准误(Mean \pm SE)($n=6$),利用 SPSS 16.0 统计软件进行数据统计与分析。不同组间的差异分析采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选分离与鉴定 通过对小鼠胃肠道中乙醛耐受菌的筛选、分离纯化及鉴定,从胃、小肠和结肠中各分离出一株乙醛耐受菌,分别命名为 TXZ-1、TXZ-2、TXZ-3。通过 16S rRNA 基因测序,在 GenBank 数据库中进行 Blast 比对,发现这些序列与粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*) 序列的相似度达到 99%。

2.2 3 个菌株的乙醛耐受能力 乙醛浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 g/L 的培养基中,接种量相同,培养条件一致, TXZ-1、TXZ-2、TXZ-3 菌株的生长情况有所不同。从图 2 可以看出,菌株 TXZ-1 的乙醛耐受浓度为 0.8 g/L, TXZ-2 的乙醛耐受浓度为 1.2 g/L, TXZ-3 的乙醛耐受浓度为 1.6 g/L。

2.3 菌株 TXZ-3 的生长与乙醛降解率的关系曲线 由图 3 可知,菌株 TXZ-3 的生长曲线与乙醛降解率曲线基本吻合,培养前 8 h 菌株处于延滞期,菌体生长缓慢,相应乙醛降解速率非常缓慢,随后进入对数生长期(8~20 h)菌体生长明显加快,乙醛的降解速率也随之升高,降解率达到(92.5 \pm 6.3)%,菌体进入稳定期和衰亡期(20~36 h),繁殖缓慢,乙醛的降解速率又趋于下降,菌体培养至 36 h 乙醛降解趋于稳定,乙醛

降解率达到(93.6 \pm 6.2)%,但较 20 和 24 h 没有显著差异($P>0.05$)。这是由于一方面进入衰亡期后菌株 TXZ-3 的活性降低,另一方面可能由于底物浓度降低,而产物乙酸浓度的升高抑制了乙醛降解能力。结果表明,培养 24 h 菌株 TXZ-3 降解乙醛的效果最好。

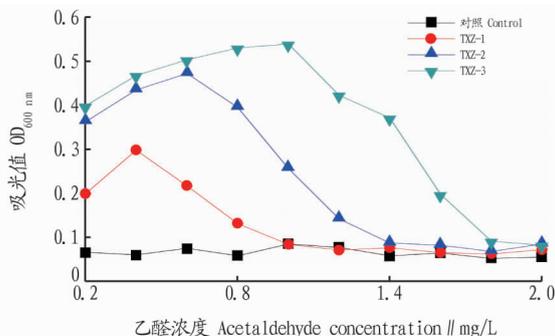


图2 小鼠胃、小肠及结肠中分离的3株乙醛降解菌的乙醛耐受性测定

Fig.2 Determination of acetaldehyde tolerance of three strains of acetaldehyde-degrading bacteria isolated from mouse stomach, small intestine and colon

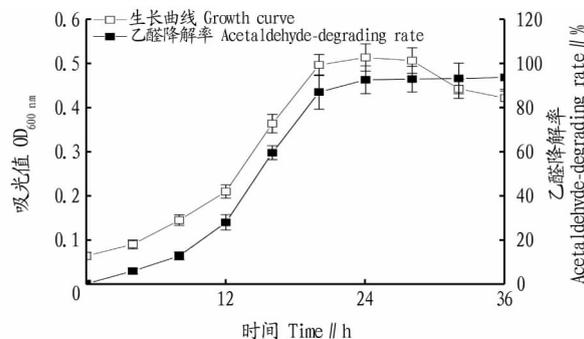


图3 菌株 TXZ-3 的生长曲线与乙醛降解率曲线

Fig.3 The growth curve and acetaldehyde-degrading rate curve of strain TXZ-3

2.4 各因素对菌株 TXZ-3 的乙醛降解能力及菌体生长的影响

2.4.1 乙醛浓度。由图 4 可知,菌株 TXZ-3 生长与乙醛降解率呈正相关,乙醛浓度较低时,随着乙醛浓度的升高,菌体的数量增加,降解率也随之升高,这是因为乙醛作为 TXZ-3 的唯一碳源,当乙醛的浓度很低时菌体的生长受到抑制,进而影响乙醛的降解率。当乙醛浓度为 0.8~1.2 g/L 时,乙醛降解率趋于稳定;当乙醛浓度为 1.0 g/L 时,乙醛降解率最大,为(92.6 \pm 6.8) %。随着乙醛浓度的升高,当乙醛浓度为 1.4 g/L 时,乙醛降解率明显降低($P<0.05$);当乙醛浓度为 1.6 g/L 时,菌体生长缓慢,乙醛降解率仅为(24.1 \pm 3.2) % ($P<0.01$)。这可能是由于乙醛本身具有毒性,浓度过高时引起了菌体中毒死亡。

2.4.2 温度。从图 5 可以看出,当温度为 20 ℃ 时,菌株 TXZ-3 生长缓慢,乙醛降解率为(53.7 \pm 4.7) %,随着温度的升高,菌体的生长态势逐渐变好,乙醛降解率也随之升高;当温度为 35~37 ℃ 时,乙醛降解率趋于稳定,乙醛降解率达到

(91.7±7.2)%;当温度为 40 ℃时,菌体生长缓慢,乙醛降解率明显降低($P<0.05$),为(72.2±5.4)%。这表明菌株 TXZ-3 降解乙醛的最适温度为 35~37 ℃,温度过低或过高都会抑制菌株的生长,导致乙醛降解率降低。

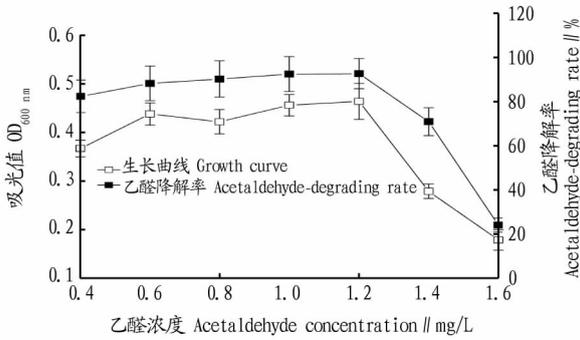


图 4 乙醛浓度对菌株 TXZ-3 生长及乙醛降解效果的影响

Fig. 4 Effects of acetaldehyde concentration on the growth and acetaldehyde degradation of strain TXZ-3

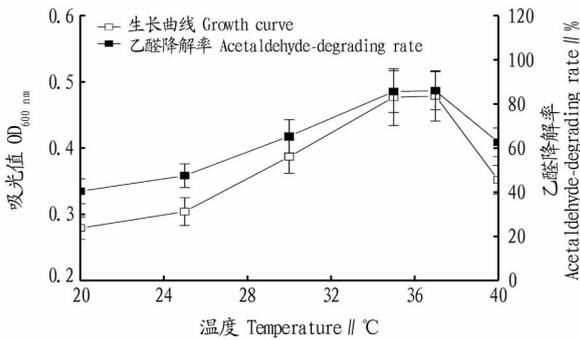


图 5 温度对菌株 TXZ-3 生长及乙醛降解效果的影响

Fig. 5 Effects of temperature on the growth and acetaldehyde degradation of strain TXZ-3

2.4.3 pH.由图 6 可知,菌株 TXZ-3 在 pH 为 2.0 时,乙醛降解率为(76.8±4.4)%;当 pH 为 4.0 时,乙醛降解率明显升高($P<0.05$),达到(85.3±4.8)%;当 pH 为 6.0 时,乙醛降解率为(90.5±4.3)%。随着 pH 的升高,乙醛降解率也逐渐增加;当 pH 为 7.0 时,乙醛降解率最高可达(93.6±4.9)%,但较 pH 为 4.0 时乙醛降解率没有明显变化($P>0.05$),随着 pH 的继续升高,菌体生长受到抑制,乙醛降解率也随之降低;当 pH 为 8.0 时,乙醛降解率也达到(84.1±5.6)%,但当 pH 升至 10.0 时乙醛降解率明显降低,降至(27.4±3.6)%($P<0.01$),因此 pH 低于或稍高于 7.0 时,乙醛也都能维持较高的降解率,较适合的 pH 范围为 4.0~8.0,最适 pH 为 7.0。菌株 TXZ-3 在酸性环境中乙醛降解率也很高,这可能是由于乙醛的代谢产物为乙酸,菌株 TXZ-3 有一定的耐酸性,而在碱性环境中乙醛降解能力会受到抑制。

2.4.4 接种量.接种量不仅影响菌体的生长曲线,而且影响降解率。由图 7 可知,当接种量为 0.5% 时,菌体的数量明显较少,乙醛降解率为(77.8±6.5)%;当接种量为 2.0% 时,菌体长势最好,菌体浓度最大,乙醛降解率也最大,达到(93.5±7.2)%($P<0.05$)。随着接种量的增加,乙醛降解率没有显著变化。当接种量为 3.0% 时,乙醛降解率有所下降,

但较接种量为 2.0% 时并没有显著变化($P>0.05$)。试验结果表明,接种量较少时乙醛降解率较低,可能是由菌体的量较少引起的;接种量过多时,菌体的繁殖过快,浓度达到一定程度,菌体生长需氧量增加,而培养基中氧含量有限,导致对乙醛的利用率下降,从而使乙醛降解率下降。

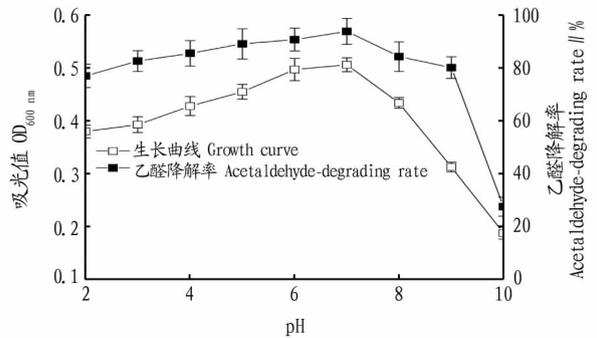


图 6 pH 对菌株 TXZ-3 生长及乙醛降解效果的影响

Fig. 6 Effects of pH on the growth and acetaldehyde degradation of strain TXZ-3

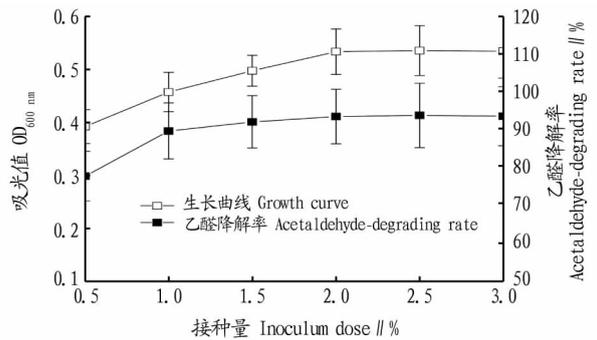


图 7 接种量对菌株 TXZ-3 生长及乙醛降解效果的影响

Fig. 7 Effects of inoculation amount on the growth and acetaldehyde degradation of strain TXZ-3

2.4.5 摇床转速.摇床的转速不同,培养基溶解的氧的量也有所不同,对菌体的生长状况也存在差异。由图 8 可知,摇床转速过高或过低都会影响菌体的生长。当转速为 40~160 r/min 时,随转速的增加,菌体的生长越来越好,乙醛降解率也逐渐增加;当转速为 160 r/min 时,乙醛降解率为(93.3±6.5)%;当转速为 200 r/min 时,乙醛降解率达到(93.5±5.7)%,较转速为 160 r/min 时没有明显升高($P>$

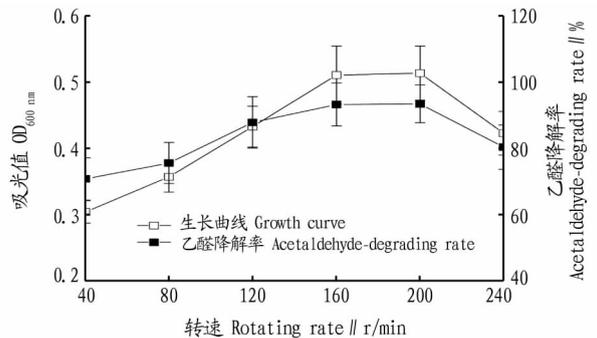


图 8 转速对菌株 TXZ-3 生长及乙醛降解效果的影响

Fig. 8 Effects of rotating rate on the growth and acetaldehyde degradation of strain TXZ-3

0.05),若再增加转速,菌体生长会受到影响,乙醛降解率也随之降低。当转速为240 r/min时,菌体的浓度下降,乙醛降解率为(80.4±6.7)%,这可能是由于随着转速的增加,培养基中溶氧量的增多,抑制了菌体的生长。研究表明,氧分压过高时会引起菌体中毒死亡^[15-16]。

3 结论

乙醛是制造聚酯的重要原料,在农药和化纤行业用途广泛。随着乙醛需求量的日益增加,环境中所排放的含乙醛废水废弃物也日益增多,不仅造成了污染环境,也严重危害了人类的健康。目前,乙醛污染物的处理主要采用物理化学方法,不仅成本高,处理效果差,而且容易造成二次污染。乙醛作为酒精的中间代谢产物,在人体内大量的积累,引发身体器官产生各种疾病,甚至癌症的发生,已经成为全球性公共健康问题。2014年,全球因饮酒导致的酒精性肝炎而死亡的人数达到了350万,占全球每年因疾病死亡总人数的5.1%,而与此相关的疾病多达200多种^[17]。当前酒精性疾病的预防和治疗主要依赖中草药为原料的解酒产品,解酒效果很差,另外,从动植物体内提取乙醛脱氢酶作为解酒物质,成本则较高提取效率低。自然界中蕴含大量有价值的微生物,寻找并筛选乙醛降解菌,并利用微生物防治和修复的新思路,开发利用乙醛降解微生物将成为治理乙醛引起的环境污染以及预防酒精性疾病的有效途径。

已有报道从乙醛废水或乙醛污染土壤中分离乙醛降解菌,降解乙醛的浓度为1000 mg/L,降解率达到94%,但用时48 h^[18],从深海中筛选的乙醛降解菌,可耐受1.5 g/L乙醛,24 h仅能降解350 mg/L乙醛。已报道希瓦氏菌属(*Shewanella*)能够在28℃,培养48 h完全降解200 mg/L乙醛^[19],然而,目前为止,已发现的乙醛降解菌巴氏醋酸杆菌的乙醛耐受能力最高,为2.0 g/L,24和48 h对500 mg/L乙醛的降解率分别为77.4%和100%^[20]。这些乙醛降解菌对环境要苛刻,对酸碱及温度耐受性差。目前,从动物体内筛选乙醛降解菌还鲜有报道。笔者从小鼠胃、小肠、结肠分别筛选出乙醛降解菌TXZ-1、TXZ-2和TXZ-3,经测序鉴定均为粪便球菌,乙醛耐受性及降解能力试验结果表明,菌株TXZ-3的乙醛耐受能力最强,乙醛耐受浓度为1.6 g/L。该菌株降解乙醛的最适条件为:接种量2.0%,乙醛浓度1.0 g/L,培养温度35℃,pH 7.0,摇床转速160 r/min,培养时间24 h,乙醛的降解率达到(93.6±4.9)%。该菌株对乙醛具有高效快速的降解能力,并且具备适应环境能力强、所需培养基简单、直接以乙醛作为唯一碳源、pH适用范围广等优点,为快速降解乙醛提供了优质微生物样本。从动物肠道分离出具有高效降解乙醛能力的粪肠球菌,目前尚属首次,为动物体内微生物的开发利用提供参考。今后将研究菌株TXZ-3降解乙醛的分子机制,探索菌株TXZ-3中编码乙醛脱氢酶的基因,以期环境中乙醛的微生物降解以及机体内

乙醛的清除提供更可靠的理论依据。

参考文献

- [1] 方家龙,刘玉瑛.乙醛及其毒性[J].国外医学(卫生学分册),1996(2):101-105.
- [2] KURKIVUORI J, SALASPURO V, KAIHOVAARA P, et al. Acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci [J]. Oral oncology, 2007, 43(2):181-186.
- [3] LACHENMEIER D W, SOHNUS E M. The role of acetaldehyde outside ethanol metabolism in the carcinogenicity of alcoholic beverages: Evidence from a large chemical survey [J]. Food and chemical toxicology, 2008, 46(8):2903-2911.
- [4] SEITZ H K, STICKEL F. Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: Role of genetics in ethanol metabolism [J]. Genes and nutrition, 2010, 5(2):121-128.
- [5] LINDERBORG K, SALASPURO M, VÄKEVÄINEN S. A single sip of a strong alcoholic beverage causes exposure to carcinogenic concentrations of acetaldehyde in the oral cavity [J]. Food and chemical toxicology, 2011, 49(9):2103-2306.
- [6] GALLI A, PINAIRE J, FISCHER M, et al. The transcriptional and DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor α is inhibited by ethanol metabolism. A novel mechanism for the development of ethanol-induced fatty liver [J]. Journal of biological chemistry, 2001, 276(1):68-75.
- [7] LIEBER C S. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998): A review [J]. Alcoholism, clinical and experimental research, 1999, 23(6):991-1007.
- [8] SURRENTI C, GALLI M. Molecular mechanisms of alcohol-induced liver injury. An Update [J]. Minerva gastroenterologica e dietologica, 2003, 49(2):95-105.
- [9] 何建春. 加压生物法处理乙醛废水中试研究 [D]. 北京:北京化工大学, 2003.
- [10] KÖHLER H, MCCORMICK B A, WALKER W A. Bacterial enterocyte crosstalk: Cellular mechanisms in health and disease [J]. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 2003, 36(2):175-185.
- [11] BARAONA E, JULKUNEN R, TANNENBAUM L, et al. Role of intestinal bacterial overgrowth in ethanol production and metabolism in rats [J]. Gastroenterology, 1986, 90(1):103-110.
- [12] ICHIKAWA H, KUROIWA T, INAGAKI A, et al. Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat [J]. Digestive diseases and sciences, 1999, 44(10):2119-2123.
- [13] DUGGAN C, GANNON J, WALKER W A. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract [J]. American journal of clinical nutrition, 2002, 75(5):789-808.
- [14] LANE D J. 16S/23S rRNA sequencing [M]//STACKEBRANDT E, GOODFELLOW M. Nucleic acid techniques in bacterial systematics. Chichester: Wiley, 1991:115-175.
- [15] 强婧,尹华,彭辉,等. 茵陈降解菌烟曲霉 A10 的分离及降解性能研究 [J]. 环境科学, 2009, 30(5):1298-1305.
- [16] 孔芳,郭凤献,吴木章,等. 一株甲酯降解菌的筛选及降解特性的研究 [J]. 微生物学通报, 2014, 41(6):1244-125.
- [17] World Health Organization. Global status report on alcohol and health [R]. 2014.
- [18] 田静,李尔扬.乙醛降解菌的分离鉴定及降解特性研究 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(35):11502-11503.
- [19] LIU Y, SHANG X X, YI Z W, et al. *Shewanella mangrove* sp. nov., an acetaldehyde-degrading bacterium isolated from mangrove sediment [J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2015, 65(8):2630-2634.
- [20] 蔡志强,赵希岳,王利群,等. 一株乙醛耐冷降解菌 A27 的分离鉴定和降解特性的研究 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(8):12078-12079.