

不动杆菌属(*Acinetobacter*)细菌降解石油烃的研究进展

刘玉华^{1,2} 王慧¹ 胡晓珂^{1*}

(1. 中国科学院烟台海岸带研究所 海岸带生物学与生物资源利用重点实验室 山东 烟台 264003)

(2. 中国科学院大学 北京 100864)

摘要: 不动杆菌属细菌分布广泛, 作为重要的石油烃降解者, 在乳化和降解石油烃、降低石油烃生物毒性等方面有重要作用。本文概述了不动杆菌属细菌对烷烃、芳香烃等石油烃组分的降解, 总结了该属细菌中已发现的烷烃氧化酶和芳香烃氧化酶, 综述了该属细菌所分泌的表面活性剂的类型和乳化机理, 讨论了固定化对该属细菌降解石油烃的影响, 展望了该属细菌降解石油烃的应用前景。基于此, 作者认为探索不动杆菌属细菌降解石油烃的详细机理和途径、发现关键酶、寻找遗传工具、构建基因工程菌、发掘环境友好的固定化材料, 应是未来的研究重点及热点。

关键词: 不动杆菌属, 石油烃, 生物降解, 表面活性剂, 固定化

Recent advances in the biodegradation of hydrocarbons by *Acinetobacter* species

LIU Yu-Hua^{1,2} WANG Hui¹ HU Xiao-Ke^{1*}

(1. Key Laboratory of Coastal Biology and Bioresource Utilization, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264003, China)

(2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China)

Abstract: Bacteria affiliated with the genus *Acinetobacter* distribute widely in the natural environment. By emulsifying and degrading hydrocarbons, bacteria in this genus play great roles in biodegrading of hydrocarbons. In this review, we summarized the research progress in biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Acinetobacter* spp. We also discussed known alkane and aromatic oxidases. Different types of surfactant produced by bacteria in the genus *Acinetobacter* and their emulsifying mechanisms were concluded. Immobilization of functional bacteria and their potential use were mentioned. Biodegradation of hydrocarbons using bacteria in field were prospected in this review.

Keywords: *Acinetobacter*, Hydrocarbons, Biodegradation, Surfactant, Immobilization

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 41376138, 41576165); Hundred Talent Program of the Chinese Academy of Sciences (No. 1191100502)

***Corresponding author:** Tel: 86-535-2109127; Fax: 86-535-2109000; E-mail: xkhu@yic.ac.cn

Received: July 23, 2015; **Accepted:** December 11, 2015; **Published online** (www.cnki.net): January 07, 2016

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41376138, 41576165); 中国科学院百人计划项目(No. 1191100502)

***通讯作者:** Tel: 86-535-2109127; Fax: 86-535-2109000; E-mail: xkhu@yic.ac.cn

收稿日期: 2015-07-23; **接受日期:** 2015-12-11; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-01-07

在石油加工、贮存和运输过程中引起的石油污染已经成为世界性的难题。石油渗漏和垃圾填埋是地球环境的两颗毒瘤之一^[1]。石油污染严重破坏生态环境,通过食物链危害人类的健康。石油污染的自然修复十分缓慢,远远达不到实际需求,需要人为的修复方法进行强化。修复方法分为化学修复、物理修复和生物修复。生物修复是利用生物消除被污染地区污染物使其无害化的方法^[2-3],可以经济、有效地替代物理和化学方法修复石油污染。目前石油生物修复的研究重点是微生物修复。微生物修复是指利用微生物最大程度地快速清除土壤和水体中的石油,降低石油污染的毒害作用或使其无害化。微生物可以通过代谢活动氧化石油组分,使其分解成低分子量的物质,满足其生命活动所需的能量,同时降低毒害作用。

自然界中存在大量可以降解石油的微生物,不同种属的微生物对石油的降解能力不同。至今已发现有细菌、放线菌、霉菌、酵母和藻类等微生物能降解石油,共 70 余属 200 多种。其中细菌在石油烃降解者中占主要地位^[4-5],比如假单胞菌属(*Pseudomonas*)^[6]、不动杆菌属、黄杆菌属(*Flavobacterium*)^[7]、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)^[8]、无色杆菌属(*Achromobacter*)^[9]、节杆菌属(*Arthrobacter*)^[10]、弧菌属(*Vibrio*)^[11]、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)^[12]、芽孢杆菌属(*Bacillus*)^[6]、鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)^[13]、沙雷氏菌属(*Serratia*)^[14]等。而近十年来在海洋中发现的食烷菌属(*Alcanivorax*)、解环菌属(*Cycloclasticus*)、嗜油菌属(*Oleiphilus*)、油螺旋菌属(*Oleispira*)、深海弯曲菌属(*Thalassolituus*)、游动球菌属(*Planomicrobium*)等能够以石油烃为唯一碳源和能源^[15],食烷菌属、嗜油菌属、油螺旋菌属和深海弯曲菌属可以降解直链和支链烷烃,解环菌属则可以利用众多的多环芳香烃。目前研究最多的革兰氏阴性石油烃降解菌为假单胞菌属,而革兰氏阳性菌为红球菌属。不动杆菌

属细菌有效降解石油烃中含量最高的烷烃,而假单胞菌属细菌则对芳香烃的降解效率较高;不动杆菌属细菌降解烷烃一般通过脂肪酸 β 氧化,而在红球菌属中可同时进行脂肪酸的 β 氧化和 ω 氧化。

不动杆菌属细菌在自然界广泛存在,可以在潮湿和干燥的表面生存,是重要的土壤微生物,并可在水体中聚集存在,是海洋环境中的优势菌。1954年Brisou和Prevot对*Micrococcus calcoaceticus*重新鉴定,1968年Baumann等提出不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)^[16],该属模式菌株为醋酸钙不动杆菌(*A. calcoaceticus* strain ATCC 23055^T)。目前已经被正式命名的不动杆菌属共有 37 个种^[17]。历史上不动杆菌的分类地位存在着争议和改变,现在认为不动杆菌属为 γ -变形菌纲(γ -Proteobacteria),假单胞菌目(Pseudomonadales),莫拉氏菌科(Moraxellaceae)的非发酵革兰氏阴性菌,好氧,过氧化氢酶阳性,G+C含量为39%–47%^[18]。大多数的不动杆菌属细菌可以在寡营养培养基中生长,菌落一般为圆形光滑,直径2 mm左右,无色,少数菌株菌落为淡黄色或灰色^[19]。不动杆菌属细菌可耐受的pH范围为3.0–9.0,生长温度范围为20–40 °C,最适pH为6.0–7.0,最适生长温度约为30 °C。该属部分细菌为条件致病菌,国内外均报道其具有耐药性,鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)更是医院常见的感染菌之一。众多研究集中在不动杆菌属菌株的感染和耐药性研究上。不动杆菌属细菌具有代谢多样性,可以降解己内酰胺、除草剂、有机磷农药和多种石油烃组分等。随着世界范围内溢油事件的不断发生,不动杆菌属菌株降解石油的研究和报道日益增多。石油烃与其他物质颗粒粘附,难以被生物利用,不动杆菌产生的生物表面活性剂可以促进石油烃乳化,进而促进石油烃的降解。不动杆菌属细菌非常有希望应用于石油烃的修复工程,因此研究不动杆菌属细菌对石油的降解具有重要意义。

本文首次从不动杆菌属细菌降解石油烃的效

率、遗传机制、表面活性剂以及固定化应用等方面综述不动杆菌属细菌降解石油烃的研究情况,以期 为不动杆菌属细菌降解石油烃的机制解析、石油烃污染的微生物修复等研究工作提供支持。

1 环境中降解石油烃的不动杆菌属细菌

环境中微生物是一个巨大的资源宝库,但在当前实验条件下只有 0.01%–1%的微生物可以被培养^[20]。认知石油烃污染对未培养微生物的影响是研究环境石油烃降解微生物的重要部分。分子生物学技术的迅猛发展,为环境微生物的研究提供了依据和方法。

作者课题组利用非培养的 DGGE 和克隆文库技术研究蓬莱 19-3 平台附近的细菌群落变化,系统地认识石油修复细菌群落演替^[21]。30 d 后,沉积物中土著菌促进了原油,特别是烷烃的降解,原油的高效降解与溢油前后细菌群落的变化相关,尤其是专门降解石油烃细菌的出现。作者课题组研究分析海洋沉积物环境中石油烃组分胁迫下细菌群落结构的演替,为针对海洋环境进行生物修复提供理论依据,有利于制定海洋生态系统中的生物修复策略。

认识环境中降解石油烃的不动杆菌属细菌,对了解其对石油烃的降解作用和应用研究有重要意义。Labbé 等^[22]利用 DGGE 技术发现在烃类污染土壤后检测到 γ -变形菌纲的富集,其中主要是假单胞菌属和不动杆菌属细菌,证明在石油烃胁迫下,不动杆菌属细菌得到了富集和驯化。李博等^[23]利用 DGGE 和克隆文库技术比较分析了石油污染海水中石油降解菌的动态变化,发现污染前海水中石油烃降解菌数量很少,石油污染后其数量增加,21 d 后不动杆菌属细菌成为优势菌之一。利用 454 高通量测序,崔庆锋等^[24]发现激活剂激活油藏产出液中的内源微生物后,微生物群落结构明显改变,生物多样性降低,不动杆菌属细菌被高效激活成为优势菌之一。采用非培养的方法研究环境中不动杆菌属细菌在石油烃污染前后的差异,真实地反应了石油烃对环境群落中不动杆菌属细菌的影响,以及不动杆

菌属细菌对石油烃胁迫的响应,证实了在降解石油烃中不动杆菌属细菌具有重要作用,为从石油烃污染环境 中分离纯菌,进行深入应用研究提供了指导。

分子生物学技术的发展促进了对环境中石油烃降解细菌的认知,而纯培养技术则能挖掘各种油污环境中(土壤、污泥、淡水、海水、海洋沉积物等环境)的不动杆菌属细菌资源。Chen 等^[25]从石油污染的土壤样品中分离得到 *Acinetobacter* sp. XM-02,该菌株可以有效降解石油,10 d 后 74.32%的石油被降解,而且与 *Pseudomonas* sp. XM-01 共同培养后降解率可提高到 87.29%。从炼油厂污泥中得到 *Acinetobacter* sp. A3,在 120 h 内使 70%石油降解,且处理后土壤的毒性明显降低,使绿豆的发芽率和生长状况都得到提高^[26]。

在各种水体中,可以降解石油烃的不动杆菌属细菌众多。梁生康等^[27]从油田石油污染的水样中分离得到 *Acinetobacter* sp. O-46,实验室模拟条件下与 *Pseudomonas* sp. O-8-3 和 *Bacillus* sp. O-28-2 混合接种可在 72 h 内降解 96.9%的石油污染物,证明了所筛选降解菌株处理采油废水的应用潜力。Sun 等^[28]从含油废水中分离得到不动杆菌属细菌,该菌株可以正十六烷为唯一碳源。而早在 1975 年,降解石油的不动杆菌属细菌被 Walker 等^[29]从海水中发现,此后大量的不动杆菌从海洋环境中分离,比如 Al-Awadhi 等^[30]从阿拉伯湾海水中分离 *A. calcoaceticus*,Luo 等^[31]从舟山渔港分离的海洋降解菌 *Acinetobacter* sp. strain Y2, Pucci 等从 San Jorge Gulf 分离鉴定到 745 株海洋降解菌,其中 3.89%为不动杆菌属细菌^[32]。海水沉积物是石油污染的蓄积库,大量降解石油的功能菌被从中发现。从红树林沉积物中分离得到的菌株 *Acinetobacter* sp. MSIC01 可以在 48 h 内将培养基中 1%的十六烷完全降解^[33]。作者课题组从渤海蓬莱 19-3 平台附近沉积物中分离得到不动杆菌属细菌 *Acinetobacter* sp. HC8-3S,该菌株能以原油为唯一碳源和能源,气相色谱分析表明该菌能够高效降解饱和烃^[34]。

从各种环境中分离纯培养的不动杆菌属细菌表明,在石油烃污染环境不动杆菌属细菌能够大量增殖,利用石油烃降解代谢,降低石油烃含量。研究纯培养的不动杆菌的石油烃降解机理,能够促进其工业化探索,强调其在生物修复过程潜在的应用价值。

2 不动杆菌属对不同石油烃组分的降解

石油的化学组分主要可以分为饱和烃、芳香烃、沥青质(酚类、脂肪酸、酮类、酯类和卟啉)和树脂(吡啶、喹啉、呋喃类、亚砷和酰胺)等^[35]。不动杆菌属细菌可以降解各种烃类,其降解效率受石油烃组分的影响。石油烃中含量最高的组分是饱和烃(烷烃和环烷烃)和芳香烃,不动杆菌属细菌对三者的降解效率为烷烃>环烷烃>芳香烃。

烷烃,一般指链烷烃,碳原子之间以单键结合成链状的饱和烃,是石油中含量最高、最易被降解的组分。不动杆菌属细菌是 γ -变形菌纲中最有代表性的烷烃降解者,是环境中烷烃的两大主要降解者之一^[36]。作者课题组分离得到的 *Acinetobacter* sp. strain HC8-3S 可以利用饱和烃,在 pH 5.6–8.6 范围内,菌株 HC8-3S 对原油的饱和烃馏分表现出相对高的生物降解性(>60%); NaCl 浓度在 30–90 g/L 对细菌的降解活动没有明显影响(>70%)^[34]。从石油污染土壤中分离的 *Acinetobacter* sp. D3-2 可以利用各种烷烃作为唯一的碳源和能源,在 30 °C 和 3%的 NaCl 浓度时对烷烃的降解率可达到 82%^[37]。Hassanshahian 等^[38]分离自黑海的 *Acinetobacter* sp. BS 和 *Acinetobacter* sp. PG3 对石油烃的降解率高达 82%和 65%,进一步研究发现,它们可降解 C₉–C₂₅ 等烷烃。菌株 BS 可 100%降解 C₉、C₁₀、C₂₁–C₂₅ 等烷烃,菌株 PG3 对烷烃 C₉–C₁₆、C₁₈、C₂₀–C₂₅ 的降解率均为 100%。

环烷烃是碳氢单键组成的含有脂环的烃类化合物,其物理性质类似于烷烃,但具有更高的沸点、熔点和密度。只含有一个环的环烷烃可以看作对应烯烃的异构体^[39]。对降解环烷烃的细菌研究并不充

分,但研究人员已证实不动杆菌属细菌能够有效降解环烷烃。Gallego 等^[40]从土壤分离的 *A. calcoaceticus* 和从地下水分离的 *A. lwoffii* 对环烷烃的降解率分别为 45%和 58%。Pleshakova 等发现 *A. calcoaceticus* strain TM-31 可以降解矿物油中的环烷烃,菌株 TM-31 含有可以稳定遗传的质粒,将质粒转入可使无质粒细胞和假单胞菌具有降解功能^[41]。

芳香烃是含有一个或多个苯环的烃类化合物,主要分为单环芳烃、稠环芳烃和多环芳烃。芳香烃,尤其是多环芳烃对人和动物具有诱变致癌等作用,自然条件下难以被降解,因此对环境的危害非常大。不动杆菌属细菌可以降解芳香烃^[25],利用其作为碳源和能量来源,通过氧化作用开环裂解并利用。Amund 等^[42]分离得到 *A. lwoffii*,发现此菌株除可以降解直链烷烃(C₁₂–C₂₈)外,还可以降解长链烷基苯(十二烷基苯、十三烷基苯和十四烷基苯),并指出其十二烷基苯降解机理是与芳香族氨基酸的分解代谢途径密切相关。Yuan 等从北京焦化厂被污染的土壤中分离得到 *Acinetobacter* strain USTB-X,可以利用萘、蒽、芴、菲、苯、甲苯、乙苯、乙醇、甲醇和吐温-80 作为唯一的碳源和能量来源。菌株 USTB-X 可以分泌表面活性剂,加强对萘的利用,在 16 d 内可使 100 mg/L 的萘去除 63%^[43]。这些结果表明,不动杆菌属细菌有较高的潜力,可以降解污染场地的多环芳烃,降低毒性。

石油根据物理性质可分为轻油和重油,轻油所含烷烃和芳香烃较多,易被降解;而重油所含沥青质较多,难于被降解。沥青质是影响石油烃降解效果的重要因素之一。国内外科科研人员已经筛选到可降解重油的红球菌属(*Rhodococcus*)、假单胞菌属、枯草芽孢杆菌(*Bacillus*)、微杆菌属(*Microbacterium*)等,这些细菌对重油的降解率仅在 30%左右,但不动杆菌属细菌对重油具有更好的降解效果^[44]。*Acinetobacter* sp. GS02 和 *Acinetobacter* sp. GS07 可以重油作为唯一碳源,72 h 后对 1 g/L 重油的降解率分别为 45.3%和 46.1%。以不动杆菌属细菌为优

势菌群的生物处理系统对重油污水的处理十分有效, 18 h 后有机污染物被降解 64%, 达到我国水处理排放标准^[45]。研究结果表明, 不动杆菌属细菌在重油污染治理方面有巨大潜力。

石油组分和结构复杂, 是地球上最复杂的有机混合物之一, 这也成为微生物降解石油烃的阻碍, 但是不动杆菌属细菌可降解多种石油组分。分离不动杆菌属细菌、评估其降解效率是不动杆菌修复应用的基础, 也是解析其降解机制的重要前提。

3 不动杆菌属降解石油烃的机理

不动杆菌通过氧化酶将石油烃氧化成小分子物质, 或彻底氧化分解成 CO_2 和水, 在这个过程中获得能量进行代谢。石油烃的组分复杂, 因此不动杆菌也存在多种复杂的酶系, 通过不同的代谢途径降解石油烃。

有氧条件下, 微生物通过 4 种途径有氧化降解烷烃: 末端氧化途径、亚末端氧化途径、双末端氧化途径和 Finnerty 途径; 厌氧条件下, 通过延胡索酸加入和亚末端羧基反应两种方式氧化烷烃^[46]。不动杆菌通过两种途径将分子氧加到烷烃上进行氧化(图 1)。(1) 末端氧化途径。烷烃被氧化成伯醇、伯醛, 最后变成脂肪酸进入脂肪酸 β -氧化途径。关键步骤是由烷烃单加氧酶催化烷烃氧化成伯醇。不动杆菌中烷烃单加氧酶有两种: 1) 烷烃羟化酶、红素氧还蛋白和红素氧还蛋白还原酶组成的复合物^[37,47-49]。烷烃羟化酶是烷烃降解起始的关键酶, 是一类执行末端羟化功能的非血红素铁膜整合蛋白, 其第 55 位或 58 位的色氨酸(W55 或 W58)对功能非常重要, 决定底物范围; 红素氧还蛋白和红素氧还蛋白还原酶将电子传递给烷烃羟化酶^[48]。*Acinetobacter* sp. M1 可以 C_{13} – C_{44} 烷烃为唯一碳源和能源, 该菌株中发现烷烃羟化酶 AlkB 的两种同系物 AlkMa 和 AlkMb^[47]。目前, 研究人员尚不能确定两种蛋白之间的酶学差异, 但是它们被不同的底物诱导。AlkMa 被长链烷烃($>\text{C}_{22}$)诱导, 而 AlkMb 在 C_{16} – C_{22} 烷烃的存在下被诱导。2) 细胞色素 P450

烷烃氧化酶。细胞色素 P450 是广泛存在于细菌和动植物中的血红素硫铁蛋白, 能催化众多物质的氧化。细菌中拥有可溶性细胞色素 P450 单氧酶, 可以降解 C_5 – C_{10} 的烷烃羟化酶。从 *Acinetobacter* sp. EB104 中发现的 CYP153 是细胞色素 P450 单加氧酶 I 家族成员, 其需要电子传递系统(铁氧还蛋白, 铁氧还蛋白还原酶)传递电子, 催化未被取代的正烷烃烷基化^[36,50]。作者课题组所分离的 *Acinetobacter* sp. BZ-15 和 *Acinetobacter* sp. strain HC8-3S 的烷烃单加氧酶只有 AlkMa, 通过末端氧化途径将烷烃转化为脂肪酸, 进行 β -氧化最终进入三羧酸循环彻底分解代谢。(2) Finnerty 途径。在双加氧酶的作用下, 烷烃生成过氧化醇、过氧醛和脂肪酸, 进入脂肪酸 β 氧化。在 *Acinetobacter* sp. M-1 中发现一种双加氧酶^[36], 其依赖分子氧, 不需要 NAD(P)H 提供电子, 但必需有黄素腺嘌呤二核苷酸和 Cu^{2+} 存在时才能发挥其作用。

细菌对多环芳烃的代谢过程存在 2 个关键的双加氧酶。一个是第一步反应的双加氧酶, 将分子氧加入构成苯环的两个碳原子上, 催化多环芳烃的羟基化, 形成顺式二氢二醇, 这个催化过程具有高度的特异性^[51]; 另一个是邻苯二酚双加氧酶, 催化单环芳烃氧化, 彻底开环裂解, 生成小分子物质进入 TCA 循环。以萘为唯一碳源的 *Acinetobacter* sp. strain AGAT-W 菌株能够产生 1-羟基萘脱氢酶, 水杨醛脱氢酶和儿茶酚 1,2-双加氧酶等关键酶, 能将萘通过萘-1,8-二羧酸、1-萘甲酸、水杨酸和儿茶酚的降解途径进入三羧酸循环^[52]。这些酶的降解机制研究和分子生物学方法可用于扩展不动杆菌属菌株在石油、化工行业或在石油污染环境的生物修复, 发挥它们的催化作用。

共代谢是指微生物通过其他物质提供碳源和能源, 代谢利用某些难降解有机污染物的过程^[53]。共代谢过程作为一种新的代谢现象出现在不动杆菌属降解有机物中, 促进难降解物质如马拉硫磷、炔雌醇、氯代愈创木酚的转化降解^[54-56]。共代谢生物

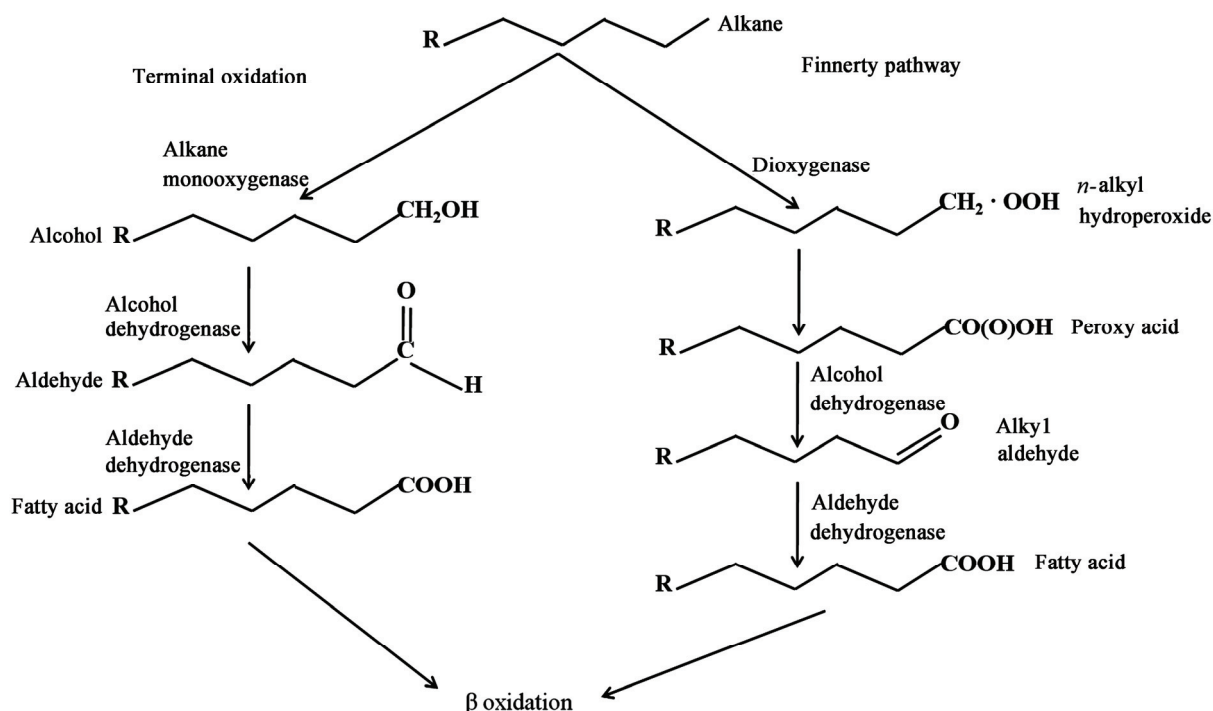


图1 不动杆菌属细菌降解烷烃的两种主要途径

Figure 1 Two aerobic pathways of alkane degradation by *Acinetobacter*

修复在降解痕量污染物过程中也有优势^[55], 因为这种生物降解不依赖污染物为唯一碳源或能源。不动杆菌属细菌也通过共代谢降解芳香类化合物。Hao 等发现当苯酚和 4-氯酚同时存在时, 不动杆菌可以代谢高浓度的 4-氯酚(苯酚:4-氯酚浓度比 > 200:50 mg/L)^[57]。巩宗强等研究中间产物(水杨酸、邻苯二甲酸、琥珀酸钠)存在下萘的降解过程, 25 d 后萘的降解率提高到 80%, 且在降解过程中半衰期缩短, 其中琥珀酸钠促进萘共代谢的效果最好; 低分子量的菲与高分子量的萘之间也存在共代谢关系^[58]。研究结果表明利用不动杆菌属细菌进行石油的生物降解和环境生物修复时可以提供适合的碳源通过共代谢促进石油组分被利用, 提高降解效率。

随着大规模测序技术的突破, 测序成本降低, 效率提高, 因此全基因组测序研究进展快速, 也成为微生物研究的一个重点。全基因组测序为不动杆菌属细菌的研究和产业化发展提供了基础。全基因

组测序对全面了解不动杆菌的基因组成和基因调控有着非常重要的意义。研究者已启动不动杆菌属细菌全基因组测序计划, 获得了 3 株鲍曼不动杆菌属全基因组序列: *A. baylyi* ADP1^[59]、*A. baumannii* ACICU 和 *A. baumannii* ATCC 17978^[60]。这些基因数据可用于研究参与烃类代谢及其调控的遗传元件。显然, 更多环境菌株的基因组序列对补充不动杆菌属的功能基因组学研究、理解烃代谢的生化遗传网络必不可少。2013 年意大利学者 Fondi 对 *A. venetianus* VE-C3 进行了全基因组测序^[61], 发现 *A. venetianus* VE-C3 含有一整套与降解多种物质有关的基因, 包括长链烷烃代谢和砷、镉、钴和锌等重金属抗性的基因; 基因信息还显示 *A. venetianus* VE-C3 可能采取特殊的策略粘附到油滴上; 此外, 与 DNA 移动有关的基因(比如转座子、整合酶基因、解离酶基因)表明水平基因转移对 *A. venetianus* VE-C3 适应石油污染环境具有重要意义。

4 不动杆菌属产生的生物表面活性剂

石油烃组分的疏水性是微生物发挥修复作用的限制因素之一,疏水性使石油烃组分的生物利用度大大降低。表面活性剂为两亲分子,具有亲水结构和亲脂结构,能够在水和石油烃之间形成分子层,降低表面张力,使石油烃易被降解。

目前,石油降解研究中主要采用非离子表面活性剂 Tween-80 和 Triton X-100,虽然可以促进石油烃在水中的溶解,增加石油烃的利用度,但高浓度的表面活性剂会产生二次污染。石油烃降解菌产生的各种不同性质和分子量的生物表面活性剂,可以提高其对石油烃的摄取利用度,并且对环境友好。微生物产生的生物表面活性剂主要分为糖脂、类脂(脂肽和脂蛋白)、磷脂、脂肪酸和聚合物五类,不动杆菌属菌株产生的表面活性剂主要为糖脂、脂肽和聚合物等三类,往往具有较高的乳化能力^[62]。

国内对不动杆菌产生生物表面活性剂的研究主要集中在发现表面活性剂、鉴定表面活性剂种类、降低表面张力的水平,缺乏对生物表面活性剂组成、结构和功能机理等方面研究。*Acinetobacter* sp. BYS6 可产生糖脂类生物表面活性剂,发酵后糖脂产量达到 4.73 g/L。摇瓶发酵培养后可将发酵培养基表面张力从 69.9 mN/m 降低至 32.3 mN/m^[63]。*Acinetobacter* sp. BHSN 对烷烃、甚至超长链烷烃降解效率较高,降解效率达到 97%,其分泌的表面活性剂具有较强的乳化作用,被鉴定为脂肽类生物表面活性剂^[64]。菌株 BHSN 所产的生物表面活性剂可使培养液的表面张力值由 68.3 mN/m 下降至 28.6 mN/m。培养液与液体石蜡等比例混合后,24 h 内乳化体积保持 100%。随着时间延长,乳化体积下降速度非常缓慢,120 h 后乳化体积可达到 78%,放置 10 d 后乳化体积仍可达到 65%。

A. calcoaceticus 可产生生物表面活性剂,是最有希望应用的海洋微生物。国外对不动杆菌(*A. calcoaceticus*) RAG-1 表面活性剂的研究则更为深入。在 1979 年研究人员提取到 *A. calcoaceticus*

RAG-1 表面活性剂 Emulsan^[65]。Emulsan 由阴离子杂多糖和蛋白质组成骨架,O-连接和 N-连接与多糖骨架连接的脂肪酸决定了表面活性;多糖链含有 D-半乳糖胺、D-半乳糖胺糖醛酸和二脱氧-二氨基己糖;相连的脂肪酸主要有十二酸、烃基十二酸、十四酸、十六酸、十八酸等。Emulsan 可以与细胞表面的酯酶结合乳化烃类,除去酯酶的 ApoEmulsan 乳化性能显著下降,ApoEmulsan 与异源表达的酯酶结合后,乳化能力提高。酯酶对 Emulsan 发挥乳化作用至关重要^[66]。Emulsan 乳化作用显著,是目前市场上唯一销售的生物表面活性剂,用于清洗贮油容器、清理溢油、提高采收率和管道运输^[67]。

生物表面活性剂与化学合成表面活性剂相比,表面活性更强、毒性较低、对环境友好,但前者的产量低、成本高限制了其应用。因此分离高效生产菌株、降低发酵成本就成为研究方向。*A. calcoaceticus* IMV B-7241 可以利用工业废物(工业油脂、葵花籽油、甘油和石蜡)代替昂贵的正十六烷和乙醇生产生物表面活性剂,产量为利用正十六烷和乙醇生产的 2-3 倍^[68]。不动杆菌属细菌在降解工业废物的过程中同时生产表面活性剂,降低了生产成本,为生物表面活性剂的开发利用进行了有益的探索,是未来进行生物表面活性剂研究和生产的方向。

5 固定化不动杆菌属细菌降解石油烃的研究

研究微生物对石油烃降解的最终目的是在实际污染修复中应用。但游离细菌在环境中,特别是在海洋等水体环境中易扩散,石油烃降解效率容易受环境条件的影响。因此在修复实验中石油烃降解微生物常被固定在一些材料上。与游离细菌相比,固定化细菌密度大,与石油烃接触面积更大,而且可以远离掠食者和土著菌的竞争,固定材料可以作为缓冲减少环境因素的影响,促进降解微生物的生长^[69-70]。固定化的工艺简单、成本低,对微生物的影响小,是功能微生物进行生物修复的有效策略^[71-72]。固定载体材料可以影响微生物的活性、稳定性和污

染物清除效果。固定载体一般要求无毒、稳定、价格低、易获得、可长期使用。目前已经研究的载体材料包括聚氨酯泡沫、壳聚糖、木屑、麦麸、海藻酸钙、马铃薯淀粉纤维、泡沫塑料和棉花纤维等^[34,73-76]。固定方式对微生物降解石油烃的效果有很大影响。固定方式要综合制备难易程度、结合稳定性、细胞活性等因素,目前广泛使用的固定方式是吸附法和包埋法。

将 *Acinetobacter* sp. F9 吸附固定在海藻酸钙-壳聚糖多孔复合物上, 4 h 即可固定 5×10^9 CFU/g 活细胞, 且固定后的材料在 4 °C 和 -20 °C 保存 10 周活性不会降低。游离的 F9 细菌在 7 d 后对柴油的降解率达到 90%, 与游离的细菌相比, 固定化的 F9 细菌对柴油的降解速率显著提高, 2 d 的降解率即达到 90%^[75]。本研究组将海洋沉积物中分离得到的 *Acinetobacter* sp. HC8-3S 通过吸附法紧密结合固定在棉花纤维上, 研究不同 NaCl 浓度和 pH 等环境条件对固定化后降解率的影响^[34]。菌株 HC8-3S 可能通过所产生的胞外多糖附着在棉纤维的表面。结果表明固定化 HC8-3S 对烷烃的降解率比游离 HC8-3S 提高了 30%; 固定化的 HC8-3S 更能耐受环境的改变, 在 30%–70% NaCl 浓度范围, 固定化 HC8-3S 对烷烃的降解效率高于游离 HC8-3S; 在 pH 4.6–9.6 固定化 HC8-3S 的降解效率均高于游离 HC8-3S, 尤其在 pH 4.6 时游离细菌对石油烃基本无降解, 而固定化细菌对烷烃的降解仍达到 50%。研究结果表明固定化有益于不动杆菌对石油的降解。固定化后细菌降解速率的加快, 可能与高固定效率、疏水固定材料与底物更高的亲和力等有关, 研究人员认为这些因素增加了固定化细菌与底物的接触, 增加了固定化细菌对底物的利用, 从而加快了降解率。但是固定化机理和材料研究限制了固定化不动杆菌的修复研究和应用。因此, 筛选环境友好的高效材料, 研究菌与材料连接方式将是未来的研究方向。

6 展望

随着石油烃对环境的污染日益严重, 微生物对

石油烃的降解已经成为研究热点。不动杆菌属细菌广泛分布于石油污染的区域, 对其研究已经不仅仅局限于发现新的不动杆菌属菌株, 主要集中在以下几方面: (1) 不动杆菌属细菌对烷烃的降解被认为遵循经典的脂肪酸氧化途径, 未证明对芳香烃的降解与其他降解者有根本差异, 但对芳香烃降解机理仍需要深入研究, 海洋沉积物中起重要作用的石油烃厌氧或兼性厌氧研究尚不足, 分子生物学和蛋白组学技术的应用可促进降解过程功能基因和关键酶结构功能研究, 揭示其在好氧和厌氧条件下的降解分子机理和代谢途径。(2) 在石油烃污染环境中不动杆菌属细菌占据降解细菌的很大一部分, 并且其对石油烃的降解效率已经被大量的研究证明。然而可操作的遗传工具极少。良好的工具, 比如定点突变和报告基因, 这些工具对于了解不动杆菌属细菌石油烃代谢及其调控是必不可少的。在石油烃降解过程中, 不动杆菌对其他生物的影响, 在环境中的降解性能研究需要利用这些技术, 标记不动杆菌, 解析其在环境中的行为特征。利用基因工程技术改造不动杆菌属细菌, 提高其环境适应能力和降解能力, 也应是不动杆菌属细菌应用化研究的方向。(3) 国内对生物表面活性剂的研究多处于发现新表面活性剂的阶段, 未来应更着重于研究已发现表面活性剂的结构和功能。在此基础上, 选育、构建高产不动杆菌属菌株, 分析所产表面活性剂结构与性能, 降低生产成本, 进行大规模的工厂研究, 优化生产, 使其达到所需的生产产量, 促进其应用, 升级或替代化学表面活性剂。同时, 生物表面活性剂对石油烃的乳化和分散作用应该进行分析, 并评估其对环境的影响。(4) 固定化研究为不动杆菌属细菌的生物修复应用进行了探索。固定化为不动杆菌属细菌提供了一种更有效的吸附和降解石油烃的方式。寻找环境友好的固定材料, 探索固定材料与细菌之间的联系, 评估固定材料对细菌生存、降解效率和环境的影响, 是不动杆菌属应用化研究未来的重点。

参考文献

- [1] Zhao ZY. Petroleum pollution is the second largest sources of water pollution[EB/OL]. 2010. Available from: <http://www.gootech.com/news/detail-10167137.html> (in Chinese)
赵章元. 石油污染是水体环境的第二大污染源[EB/OL]. 2010. Available from: <http://www.gootech.com/news/detail-10167137.html>
- [2] Biegert T, Altensmidt U, Eckerskorn C, et al. Purification and properties of benzyl alcohol dehydrogenase from a denitrifying *Thauera* sp.[J]. Archives of Microbiology, 1995, 163(6): 418-423
- [3] Rowland AP, Lindley DK, Hall GH, et al. Effects of beach sand properties, temperature and rainfall on the degradation rates of oil in buried oil/beach sand mixtures[J]. Environmental Pollution, 2000, 109(1): 109-118
- [4] Zhou NY. Petroleum-degrading microorganisms[J]. Microbiology China, 2013, 40(12): 2335 (in Chinese)
周宁一. 石油降解微生物[J]. 微生物学通报, 2013, 40(12): 2335
- [5] Zhao DY. Research progress on microbial degradation of petroleum hydrocarbon[J]. Environmental Protection and Circular Economy, 2012(4): 48-51 (in Chinese)
赵东宇. 微生物降解石油烃类污染物的研究进展[J]. 环境保护与循环经济, 2012(4): 48-51
- [6] Das K, Mukherjee AK. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(7): 1339-1345
- [7] Essien JP, Ebong GA, Asuquo JE, et al. Hydrocarbons contamination and microbial degradation in mangrove sediments of the Niger Delta region (Nigeria)[J]. Chemistry and Ecology, 2012, 28(5): 421-434
- [8] Oyetibo GO, Ilori MO, Obayori OS, et al. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the presence of nickel and cobalt[J]. Journal of Basic Microbiology, 2013, 53(11): 917-927
- [9] Deng MC, Li J, Liang FR, et al. Isolation and characterization of a novel hydrocarbon-degrading bacterium *Achromobacter* sp. HZ01 from the crude oil-contaminated seawater at the Daya Bay, southern China[J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 83(1): 79-86
- [10] Rahman KSM, Rahman T, Lakshmanaperumalsamy P, et al. Occurrence of crude oil degrading bacteria in gasoline and diesel station soils[J]. Journal of Basic Microbiology, 2002, 42(4): 284-291
- [11] Ijah UJJ, Antai SP. Removal of Nigerian light crude oil in soil over a 12-month period[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2003, 51(2): 93-99
- [12] Li FL, Zhang ZZ, Feng JH, et al. Biodesulfurization of DBT in tetradecane and crude oil by a facultative thermophilic bacterium *Mycobacterium goodii* X7B[J]. Journal of Biotechnology, 2007, 127(2): 222-228
- [13] Tang JC, Wang RG, Niu XW, et al. Enhancement of soil petroleum remediation by using a combination of ryegrass (*Lolium perenne*) and different microorganisms[J]. Soil and Tillage Research, 2010, 110(1): 87-93
- [14] Rajasekar A, Babu TG, Pandian STK, et al. Role of *Serratia marcescens* ACE2 on diesel degradation and its influence on corrosion[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2007, 34(9): 589-598
- [15] Head IM, Jones DM, Rölting WFM. Marine microorganisms make a meal of oil[J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(3): 173-182
- [16] Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the *Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*)[J]. Journal of Bacteriology, 1968, 95(5): 1520-1541
- [17] Genus *Acinetobacter*[EB/OL]. 2014. Available from: <http://www.bacterio.net/acinetobacter.html>
- [18] Rossau R, van Landschoot A, de Gillis M, et al. Taxonomy of *Moraxellaceae* fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and related organisms[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1991, 41(2): 310-319
- [19] Visca P, Seifert H, Townner KJ. *Acinetobacter* infection--an emerging threat to human health[J]. IUBMB Life, 2011, 63(12): 1048-1054
- [20] Remenár M, Karellová E, Harichová J, et al. Isolation of previously uncultivable bacteria from a nickel contaminated soil using a diffusion-chamber-based approach[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 95: 115-127
- [21] Wang H, Wang CX, Lin M, et al. Phylogenetic diversity of bacterial communities associated with bioremediation of crude oil in microcosms[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 85: 400-406
- [22] Labbé D, Margesin R, Schinner F, et al. Comparative phylogenetic analysis of microbial communities in pristine and hydrocarbon-contaminated Alpine soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 59(2): 466-475
- [23] Li B, Shen L, Zhang DM. Dynamics of petroleum-degrading bacterial community with biodegradation of petroleum contamination in seawater[J]. Journal of Ningbo University (NSEE), 2009, 22(4): 477-483 (in Chinese)
李博, 沈璐, 张德民. 石油污染海水中细菌群落的动态变化[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2009, 22(4): 477-483
- [24] Cui QF, Qi YB, Yi LN, et al. Study on indigenous microorganism activator in a oil reservoir of calcium Chloride water[J]. Science Technology and Engineering, 2015, 15(4): 78-83 (in Chinese)
崔庆峰, 齐义彬, 伊丽娜, 等. 氯化钙水型油藏内源微生物激活剂研究[J]. 科学技术与工程, 2015, 15(4): 78-83
- [25] Chen Y, Li C, Zhou ZX, et al. Enhanced biodegradation of alkane hydrocarbons and crude oil by mixed strains and bacterial community analysis[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 172(7): 3433-3447
- [26] Hanson KG, Nigam A, Kapadia M, et al. News & Notes: Bioremediation of crude oil contamination with *Acinetobacter* sp. A3[J]. Current Microbiology, 1997, 35(3): 191-193
- [27] Liang SK, Wang XL, Wang WD, et al. Screening highly efficient petroleum-degrading bacteria and their application in advanced treatment of oil field wastewater[J]. Environmental Protection of Chemical Industry, 2004, 24(1): 41-46 (in Chinese)
梁生康, 王修林, 汪卫东, 等. 高效石油降解菌的筛选及其在油田废水深度处理中的应用[J]. 化工环保, 2004, 24(1): 41-46
- [28] Sun JQ, Xu L, Zhang Z, et al. Diverse bacteria isolated from microtherm oil-production water[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2014, 105(2): 401-411
- [29] Walker JD, Colwell RR, Petrakis L. Evaluation of petroleum-degrading potential of bacteria from water and sediment[J]. Applied Microbiology, 1975, 30(6): 1036-1039
- [30] Al-Awadhi H, Al-Hasan RH, Radwan SS. Comparison of the potential of coastal materials loaded with bacteria for bioremediating oily sea water in batch culture[J]. Microbiological Research, 2002, 157(4): 331-336
- [31] Luo Q, Zhang JG, Shen XR, et al. Isolation and characterization of marine diesel oil-degrading *Acinetobacter* sp. strain Y2[J]. Annals of Microbiology, 2013, 63(2): 633-640
- [32] Pucci GN, Acuña AJ, Tonin NL, et al. Diversity of culturable marine bacteria on the coastline of the central area of San Jorge Gulf, Argentina[J]. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 2012, 47(2): 367-371
- [33] Rocha LL, Colares GB, Angelim AL, et al. Culturable populations of *Acinetobacter* can promptly respond to contamination by alkanes in mangrove sediments[J]. Marine

- Pollution Bulletin, 2013, 76(1/2): 214-219
- [34] Lin M, Liu YH, Chen WW, et al. Use of bacteria-immobilized cotton fibers to absorb and degrade crude oil[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 88: 8-12
- [35] Colwell RR, Walker JD, Cooney JJ. Ecological aspects of microbial degradation of petroleum in the marine environment[J]. CRC Critical Reviews in Microbiology, 1977, 5(4): 423-445
- [36] Geißdörfer W, Kok RG, Ratajczak A, et al. The Genes *rubA* and *rubB* for Alkane degradation in *Acinetobacter* sp. strain ADP1 are in an operon with *estB*, encoding an esterase, and *oxyR*[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(14): 4292-4298
- [37] Bao M, Pi Y, Wang L, et al. Lipopeptide biosurfactant production bacteria *Acinetobacter* sp. D3-2 and its biodegradation of crude oil[J]. Environmental Science-Processes & Impacts, 2014, 16(4): 897-903
- [38] Hassanshahian M, Emtiazi G, Cappello S. Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea[J]. Marine Pollution Bulletin, 2012, 64(1): 7-12
- [39] Wikipedia. Cycloalkane[EB/OL]. 2015-06-20. Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/Cycloalkane>
- [40] Gallego JLR, García-Martínez MJ, Llamas JF, et al. Biodegradation of oil tank bottom sludge using microbial consortia[J]. Biodegradation, 2007, 18(3): 269-281
- [41] Pleshakova EV, Muratova AY, Turkovskaya OV. Degradation of mineral oil with a strain of *Acinetobacter calcoaceticus*[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2001, 37(4): 342-347
- [42] Amund OO, Higgins IJ. The degradation of 1-phenylalkanes by an oil-degrading strain of *Acinetobacter lwoffii*[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1985, 51(1): 45-56
- [43] Yuan HY, Yao J, Masakorala K, et al. Isolation and characterization of a newly isolated pyrene-degrading *Acinetobacter* strain USTB-X[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(4): 2724-2732
- [44] Jia QC, Guo CL, Lu GN, et al. Isolation and identification of two strains efficiently degrading heavy oil and their degradation characteristics[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2011, 5(5): 1181-1186 (in Chinese)
贾群超, 郭楚玲, 卢桂宁, 等. 两株稠油高效降解菌的筛选鉴定及其降解性能研究[J]. 环境工程学报, 2011, 5(5): 1181-1186
- [45] Tong K, Zhang YH, Liu GH, et al. Treatment of heavy oil wastewater by a conventional activated sludge process coupled with an immobilized biological filter[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 84: 65-71
- [46] Ji Y, Mao G, Wang Y, et al. Structural insights into diversity and n-alkane biodegradation mechanisms of alkane hydroxylases[J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 58
- [47] Tani A, Ishige T, Sakai Y, et al. Gene structures and regulation of the alkane hydroxylase complex in *Acinetobacter* sp. strain M-1[J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(5): 1819-1823
- [48] Ratajczak A, Geissdörfer W, Hillen W. Alkane hydroxylase from *Acinetobacter* sp. strain ADP1 is encoded by *alkM* and belongs to a new family of bacterial integral-membrane hydrocarbon hydroxylases[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(4): 1175-1179
- [49] Ratajczak A, Geissdörfer W, Hillen W. Expression of alkane hydroxylase from *Acinetobacter* sp. strain ADP1 is induced by a broad range of n-alkanes and requires the transcriptional activator AlkR[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(22): 5822-5827
- [50] Maier T, Förster HH, Asperger O, et al. Molecular characterization of the 56-kDa CYP153 from *Acinetobacter* sp. EB104[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 286(3): 652-658
- [51] Koukkou AI, Drinas C. Addressing PAH biodegradation in Greece: biochemical and molecular approaches[J]. IUBMB Life, 2008, 60(5): 275-280
- [52] Ghosal D, Dutta A, Chakraborty J, et al. Characterization of the metabolic pathway involved in assimilation of acenaphthene in *Acinetobacter* sp. strain AGAT-W[J]. Research in Microbiology, 2013, 164(2): 155-163
- [53] Jensen HL. Carbon nutrition of some microorganisms decomposing halogen-substituted aliphatic acids[J]. Acta Agriculturae Scandinavica, 1963, 13(4): 404-412
- [54] Xie S, Liu JX, Li L, et al. Biodegradation of malathion by *Acinetobacter johnsonii* MA19 and optimization of cometabolism substrates[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21(1): 76-82
- [55] Pauwels B, Wille K, Noppe H, et al. 17 α -ethinylestradiol cometabolism by bacteria degrading estrone, 17 β -estradiol and estriol[J]. Biodegradation, 2008, 19(5): 683-693
- [56] González B, Acevedo C, Brezný R, et al. Metabolism of chlorinated guaiacols by a guaiacol-degrading *Acinetobacter junii* strain[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(10): 3424-3429
- [57] Hao OJ, Kim MH, Seagren EA, et al. Kinetics of phenol and chlorophenol utilization by *Acinetobacter* species[J]. Chemosphere, 2002, 46(6): 797-807
- [58] Gong ZQ, Li PJ, Wang X, et al. Co-metabolic degradation of pyrene in soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2001, 12(3): 447-450 (in Chinese)
巩宗强, 李培军, 王新, 等. 芘在土壤中的共代谢降解研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(3): 447-450
- [59] Barbe V, Vallenet D, Fonknechten N, et al. Unique features revealed by the genome sequence of *Acinetobacter* sp. ADP1, a versatile and naturally transformation competent bacterium[J]. Nucleic Acids Research, 2004, 32(19): 5766-5779
- [60] Iacono M, Villa L, Fortini D, et al. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II group[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2008, 52(7): 2616-2625
- [61] Fondi M, Rizzi E, Emiliani G, et al. The genome sequence of the hydrocarbon-degrading *Acinetobacter venetianus* VE-C3[J]. Research in Microbiology, 2013, 164(5): 439-449
- [62] Cai QH, Zhang BY, Chen B, et al. Screening of biosurfactant producers from petroleum hydrocarbon contaminated sources in cold marine environments[J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 86(1/2): 402-410
- [63] Men X, Shen WR, Sun XY, et al. Isolation and identification of biosurfactant producing strain BYS6[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2011(15): 19-25 (in Chinese)
门欣, 沈卫荣, 孙晓宇, 等. 生物表面活性剂产生菌株 BYS6 的分离筛选与鉴定[J]. 现代农业科技, 2011(15): 19-25
- [64] Cao J, Xu ZH, Li LZ, et al. Biosurfactant-producing petroleum-degrader- *Acinetobacter* BHSN[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2009, 25(1): 73-78 (in Chinese)
曹娟, 徐志辉, 李凌之, 等. 产生物表面活性剂的石油降解菌 *Acinetobacter* BHSN 的研究[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(1): 73-78
- [65] Rosenberg E, Zuckerberg A, Rubinovitz C, et al. Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: isolation and emulsifying properties[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1979, 37(3): 402-408
- [66] Bach H, Berdichevsky Y, Gutnick D. An exocellular protein from the oil-degrading microbe *Acinetobacter venetianus* RAG-1 enhances the emulsifying activity of the polymeric bioemulsifier emulsan[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(5): 2608-2615
- [67] Luo Q, Pu WF, Teng XL, et al. Progress in high-molecular-weight biosurfactant emulsan[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2008, 38(3): 185-188 (in Chinese)
罗强, 蒲万芬, 滕小兰, 等. 高分子生物表面活性剂 Emulsan

的研究进展[J]. 日用化学工业, 2008, 38(3): 185-188

[68] Pirog T, Shulyakova M, Sofilkanych A, et al. Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel production[J]. Food and Bioproducts Processing, 2015, 93: 11-18

[69] Wang ZY, Xu Y, Wang HY et al. Biodegradation of crude oil in contaminated soils by free and immobilized microorganisms[J]. Pedosphere, 2012, 22(5): 717-725

[70] Rahman RN, Ghaza FM, Salleh AB, et al. Biodegradation of hydrocarbon contamination by immobilized bacterial cells[J]. The Journal of Microbiology, 2006, 44(3): 354-359

[71] Mollaei M, Abdollahpour S, Atashgahi S, et al. Enhanced phenol degradation by *Pseudomonas* sp. SA01: gaining insight into the novel single and hybrid immobilizations[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 175(1/3): 284-292

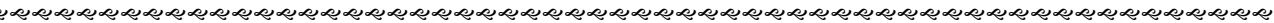
[72] Oh YS, Maeng J, Kim SJ. Use of microorganism- immobilized polyurethane foams to absorb and degrade oil on water surface[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, 54(3): 418-423

[73] Quek E, Ting YP, Tan HM. *Rhodococcus* sp. F92 immobilized on polyurethane foam shows ability to degrade various petroleum products[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(1): 32-38

[74] Gentili AR, Cubitto MA, Ferrero M, et al. Bioremediation of crude oil polluted seawater by a hydrocarbon-degrading bacterial strain immobilized on chitin and chitosan flakes[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2006, 57(4): 222-228

[75] Hou DY, Shen XR, Luo Q, et al. Enhancement of the diesel oil degradation ability of a marine bacterial strain by immobilization on a novel compound carrier material[J]. Marine Pollution Bulletin, 2013, 67(1/2): 146-151

[76] O'Reilly KT, Crawford RL. Degradation of pentachlorophenol by polyurethane-immobilized *Flavobacterium* cells[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55(9): 2113-2118



2016 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-2)

序号	会议名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
13	第七届中国微生物学大会暨生物学与免疫学论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9 月	400	待定	王苗苗 18758810661
14	2016 年全国青年病毒学者学术年会	中国微生物学会病毒学专业委员会	9 月	200	待定	吴莹 010-64807688
15	首届临床微生物学与医院感染论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9 月	350	待定	王苗苗 18758810661
16	2016 年微生物与人类健康学术研讨会	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	9 月	200	上海	胡福泉 13594616136
17	第十一届中国微生物学会兽医微生物学专业委员会委员会议	中国微生物学会兽医微生物学专业委员会	10 月	400	待定	丁家波 13683505108
18	第十三届国际工业微生物遗传学大会	中国微生物学会	10 月 16-20 日	400	湖北武汉	孙雪 027-68756642
19	2016 年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	10 月	600	陕西西安	杨海花 010-64807200
20	食品酿造技术与产业发展学术报告会	中国微生物学会酿造分会	10 月	200	广东汕头	张秀梅 13503213265
21	第 14 届中日韩国际酶工程学术会议	中国微生物学会酶工程专业委员会	11 月	200	广西南宁	欧阳浩森 010-64807420
22	第十九次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	11 月	500	重庆	蒋建东 13915976780
23	中国微生物与白酒酿造技术研讨会	中国微生物学会工业微生物学专业委员会	12 月	200	待定	010-53218310
24	第六届全国微生物基因组学学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	12 月	200	海南乐东	吴悦 027-87287254