

doi:10.3969/j.issn.2095-0411.2020.06.015

## 罗红霉素高效降解菌的筛选鉴定及其降解特性

任建军<sup>1</sup>, 樊 博<sup>2</sup>, 袁钰龙<sup>2</sup>, 葛峻宏<sup>2</sup>, 李春雨<sup>1</sup>, 牛东泽<sup>1</sup>, 张 晋<sup>3</sup>, 沈云鹏<sup>4</sup>

(1. 常州大学 生物质高效炼制及高质化利用国家地方联合工程研究中心, 江苏 常州 213164; 2. 常州大学 药学院, 江苏 常州 213164; 3. 河北慈心环保科技有限公司, 河北 廊坊 065600; 4. 伊犁川宁生物科技有限公司, 新疆 伊犁 710699)

**摘要:**以罗红霉素作为唯一碳源从罗红霉素污染的土壤中分离出 1 株具有高效降解罗红霉素能力的菌株, 命名为 RJJ-3。根据菌落形态学特征及其 16S rRNA 序列进行聚类分析并构建系统发育树对菌株进行种属鉴定; 利用高效液相色谱法(HPLC)检测 RJJ-3 对罗红霉素降解的降解效率; 然后对 RJJ-3 的降解条件进行优化。结果表明:本研究筛选到的罗红霉素降解菌 RJJ-3, 经分子鉴定其与 GenBank 中 *Pseudomonas aeruginosa* CM3 相似度为 99.85%, 因此命名该菌为 *P. aeruginosa* RJJ-3; 菌株 RJJ-3 对罗红霉素降解最优条件为: pH 为 7.0、温度 30 ℃、转速 200 r/min、接种量 1.5%; 在 100 mg/L 罗红霉素培养基中添加葡萄糖作为共代谢碳源, 以不加葡萄糖作为对照, 避光培养 4 d 后, 罗红霉素的降解率分别为 100% 和 95.54%。以上研究结果表明菌株 RJJ-3 在罗红霉素污染环境的生物修复方面具有良好的应用前景。

**关键词:**罗红霉素; 生物降解; 分离鉴定; 假单胞菌

中图分类号: X 172

文献标志码: A

文章编号: 2095-0411(2020)06-0097-08

## Isolation, Identification and Biodegradation Characteristics of a Novel Erythromycin-Degrading Bacteria

REN Jianjun<sup>1</sup>, FAN Bo<sup>2</sup>, YUAN Yulong<sup>2</sup>, GE Junhong<sup>2</sup>, LI Chunyu<sup>1</sup>,  
NIU Dongze<sup>1</sup>, ZHANG Jin<sup>3</sup>, SHEN Yunpeng<sup>4</sup>

(1. National-Local Joint Engineering Research Center for Biomass Refining and High-Quality Utilization, Changzhou University, Changzhou 213164, China; 2. School of Pharmacy, Changzhou University, Changzhou 213164, China; 3. Hebei Cixin Environmental Technology Co., Ltd., Langfang 065600, China; 4. Yili Chuanning Biothechnology Co., Ltd., Yili 710699, China)

**Abstract:** This study aims to screen effective bacteria for remediation of erythromycin contaminated environment. By using enrichment culture and spread plate method and based on the degradation ability, a

收稿日期: 2020-08-10。

基金项目: 伊犁川宁生物技术有限公司资助项目(2019K1238, 2019K1237); 河北慈心环保科技有限公司资助项目(2018K0948); 西安新天地草业股份有限公司资助项目(2018K0947)。

作者简介: 任建军(1983—), 男, 山西朔州人, 博士, 研究员。通信联系人: 沈云鹏(1972—), E-mail: johnshen0707@163.com

引用本文: 任建军, 樊博, 袁钰龙, 等. 罗红霉素高效降解菌的筛选鉴定及其降解特性[J]. 常州大学学报(自然科学版), 2020, 32(6): 97-104.

strain named RJJ-3 was selected for further study cultured in nutrition broth with erythromycin as solo carbon sources. The strains RJJ-3 were identified on the basis of morphological and 16S rRNA sequence phylogenetic analyses. The degradation characters of the strains were also investigated under different conditions. The results showed that strain RJJ-3 colony produced on common agar plate appeared as round, yellowish, sticky, opaque, moist and smooth. 16S rRNA sequence of strain RJJ-3 had high identity of 99.85% with *Pseudomonas aeruginosa* CM3 ((Accession number: MN647070.1). Combined with the results of the traditional morphological characteristics and 16S rRNA sequence analysis, strain RJJ-3 was identified as *P. aeruginosa* RJJ-3 (Accession number: MN759463.1). Moreover, the optimal conditions for erythromycin degradation by strain RJJ-3 were pH 7.0, a temperature of 30 °C, a shaking speed of 200 r/min and the inoculation dosage of 1.5%. Glucose as co-metabolites carbon source was investigated in this study. It was found that the glucose could enhance the degradation rate of erythromycin. This study indicates that the strains RJJ-3 have potential utility as agents for the bioremediation of erythromycin contaminated environment.

**Key words:** erythromycin; biodegradation; screening; *Pseudomonas aeruginosa*

抗生素是由微生物产生的一种代谢产物,可以通过破坏细菌的细胞壁来杀死细菌从而抑制其生长,并适用于多种微生物或病原体。根据化学结构可将其分为 5 类:四环素类、喹诺酮类、 $\beta$ -内酰胺类、大环内酯类、氨基糖苷类<sup>[1-2]</sup>。抗生素主要应用在人类、禽畜的疾病预防与治疗、农业病害防治以及水产养殖等领域,但过于依赖抗生素则会对人体产生毒害也会危害生态环境导致超级细菌的产生<sup>[3-4]</sup>。

罗红霉素是新一代大环内酯类药物,主要用于治疗咽炎、支气管炎以及肺炎等,由于其体内作用效果远远超过红霉素而被广泛使用。罗红霉素的过量使用,导致其大量排放到环境引起非常严重的污染。罗红霉素在环境中具有易吸附、难降解的特点,是环境治理上公认的难题。目前主要的治理方法是光解、TiO<sub>2</sub> 化学催化、臭氧氧化等,降解效率为 30%~60%<sup>[5]</sup>,但这些方法存在二次污染、只适合实验室研究等缺陷,无法在治理污染环境中进行大规模应用。对此,国内外不少学者将研究转向生物降解<sup>[6]</sup>。自然环境中存在大量可以降解罗红霉素的微生物,这些微生物将结构复杂的罗红霉素降解转化为自身生长繁殖过程中所需的化合物或者无害的小分子化合物,最终代谢为二氧化碳和水。由于生物降解成本低、无二次污染等优势,对罗红霉素引起的环境污染修复具有实际应用价值<sup>[7-8]</sup>。生物法处理的关键是高效的降解菌株,然而目前关于罗红霉素的微生物降解菌株的研究还未发现报道。因此,本研究以罗红霉素为靶标物,从自然界筛选并鉴定高效的降解菌,并对其降解特性进行深入研究旨在为生物降解罗红霉素提供可靠微生物源材料并提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

#### 1.1.1 试剂及土壤样品

罗红霉素纯品,购于四川科伦药业有限公司;分子生物试剂,购于上海生工生物有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒,购于南京奥青生物有限公司;土壤样品,取自伊犁川宁生物科技有限公司的罗红霉素菌渣和药厂周边土壤;其他化学试剂(分析纯),购于上海国药集团。

#### 1.1.2 培养基

MSM 无机盐培养基<sup>[9]</sup>: 0.630 g NH<sub>4</sub>Cl, 1.965 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 3H<sub>2</sub>O, 0.500 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.00 g

NaNO<sub>3</sub>, 0.10 g MgSO<sub>4</sub>, 1 000 mL 超纯水, pH 为 7.0, 以罗红霉素为碳源, 其浓度根据需要添加 (MSM 固体培养基添加 1.5% 的琼脂粉)。

LB 培养基: 5 g 酵母粉, 10 g 蛋白胨, 10 g 氯化钠, 1 000 mL 超纯水, LB 固体培养基添加琼脂粉 15 g。

### 1.1.3 仪器设备

恒温摇床, 电泳仪 (北京六一仪器厂), 自动凝胶图像分析仪 (Tanon-3500), 恒温培养箱 (LRH-250F), 高速离心机 (Centrifuge 5810 R), 高压灭菌锅 (GR60DA), 通风干燥箱, 超纯水仪 (EPED-E2-30TH), 紫外分光光度计 (UV1900), 高效液相色谱 (Ultimate 3000), 液相色谱-质谱联用仪 (WATERS Xevo TQD), PCR 扩增仪 (FlexCycler)。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 菌株富集与分离

取罗红霉素生产厂周围土壤样品 5 g, 加入至 100 mL 罗红霉素质量浓度为 100 mg/L 的液体基础盐培养基中, 置于 37 °C, 180 r/min 条件下培养 7 d, 以 3% 的接种量接入到相同的培养基中, 传代 3 次。取富集培养物 1 mL 分别进行梯度稀释, 用移液枪吸取 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> 稀释梯度各 100 μL 分别涂布于质量浓度为 100 mg/L 的罗红霉素 MSM 固体培养基上, 置于 37 °C 恒温生化培养箱中培养 3~5 d, 挑取有透明光圈的菌落在固体 LB 培养基上划线培养, 挑取单菌落得纯化菌株。纯化后的菌株分别在 37 °C, 180 r/min 条件下培养 5 d, 以 3% 的接种量接入红霉素质量浓度为 100, 300 mg/L 的 MSM 盐培养基中做降解效率测定, 确定最优菌株。

### 1.2.2 菌株鉴定

纯化菌株通过 16S rRNA 基因序列鉴定其种属。提取降解菌的基因组 DNA 为模板, 扩增 16S rRNA 基因, 使用 16S 通用引物: 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492R: 5'-TACCTTGTTACGACTT-3'<sup>[10]</sup>; 25 μL 扩增体系为 10 × buffer 2.5 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 2.0 μL, 引物 (25 mol/mL) 各 0.75 μL, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 2.5 μL, 模板 DNA 0.25 μL, rTaq DNA 聚合酶 (5 kU/mL) 0.2 μL, ddH<sub>2</sub>O 补齐至 25 μL; 聚合酶链式反应 (PCR) 条件为 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 53 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 循环 35 次, 72 °C 延伸 10 min; PCR 扩增产物送上海生工公司完成测序, 基因序列在 NCBI 上进行 Blast 比对分析, 并与 Genbank 中其他菌株的 16S rRNA 基因序列进行同源性比较, 利用 Mega 6.0 构建系统进化树, 分析对应各枝的靴值<sup>[11,21]</sup>。

### 1.2.3 环境条件对罗红霉素降解效率的影响

1) pH。将上述菌悬液接种到初始质量浓度为 100 mg/L 罗红霉素无机盐培养基中, 用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L NaOH 调节培养基的 pH 分别为 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 在接种量 1.0% (体积分数)、温度 25 °C、转速 150 r/min 的条件下振荡培养 5 d, 测定罗红霉素含量, 并利用紫外分光光度计测定其 OD<sub>600</sub> 值。每个处理设置 3 个重复。

2) 温度。将上述菌悬液接种到初始质量浓度为 100 mg/L 罗红霉素无机盐培养基中, 设置培养温度为 25, 30, 35, 40, 45 °C, 在接种量 1.0% (体积分数)、pH=7.0、转速 150 r/min 条件下振荡培养 5 d, 测定罗红霉素含量, 并利用紫外分光光度计测定其 OD<sub>600</sub> 值。

3) 转速。将上述菌悬液接种到初始质量浓度为 100 mg/L 罗红霉素无机盐培养基中, 设置转速 0, 100, 150, 200, 250 r/min, 在接种量为 1.0% (体积分数)、pH=7.0、温度 25 °C 的条件下振荡培养 5 d, 测定罗红霉素含量, 并利用紫外分光光度计测定其 OD<sub>600</sub> 值。

4) 接种量。将上述菌悬液接种到初始质量浓度为 100 mg/L 罗红霉素无机盐培养基中, 接种量分

别为 0, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% (体积分数), 在 pH=7.0、温度 25 ℃、转速 150 r/min 的条件下振荡培养 5 d, 测定剩余罗红霉素含量, 并利用紫外分光光度计测定其 OD<sub>600</sub> 值。

#### 1.2.4 葡萄糖对罗红霉素降解效率的影响

配制 MSM 培养基, 每瓶添加 1% 的过 0.22 μm 滤膜的葡萄糖溶液, 添加溶于乙醇的罗红霉素 0.3 mL, 使罗红霉素质量浓度保持在 100 mg/L, 接种量 1.5%, 30 ℃, 200 r/min 摇床中发酵, 每 24 h 取样 1 次, 培养 5 d, 以不加葡萄糖的培养液为对照利用液相色谱测定降解率。

#### 1.2.5 罗红霉素含量的测定

液相条件<sup>[12]</sup>: 色谱柱为 C<sub>18</sub> 填料, (250 mm × 4.6 mm) 不锈钢柱; 流动相 V(0.025 mol/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) : V(乙腈)=40 : 60; 流速为 0.75 mL/min; 进样量 100 μL; 柱温 50 ℃; 保留时间 15 min; 检测波长 210 nm。

准确称取 10.0 mg 罗红霉素纯品于 100 mL 容量瓶中, 用流动相定容至标线, 制备成每毫升含有 100.0 mg/L 的罗红霉素标准液, 加入流动相稀释制备成 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 50.0, 80.0 mg/L 的罗红霉素标准溶液。根据 HPLC 结果, 制作标准曲线。

发酵样品用 4 mL 流动相稀释, 后取 2 mL 液体, 10 000 r/min 离心 1 min, 将上清液通过 0.22 μm 滤膜打入进样瓶中, 用高效液相色谱法 (HPLC) 进行检测。再以制备标准曲线时相同的液相条件进行测定, 得出罗红霉素的降解率。

### 1.3 数据处理

使用 SPSS 软件进行数据的统计分析与计算, 并使用 ANOVA 进行多重比较, Duncan 检验差异显著性, Origin 8.5 画图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 罗红霉素降解菌株的分离及其形态特征

经富集培养、分离纯化得到 4 株能以罗红霉素为唯一碳源生长且对罗红霉素有较好耐受性的菌株, 见表 1。4 株细菌在罗红霉素质量浓度为 100 mg/L 的条件下, 第 5 d 的降解率分别是 32.22%, 86.51%, 46.72%, 23.16%; 在罗红霉素质量浓度为 300 mg/L 的条件下, 第 5 d 的降解率分别是 53.13%, 93.33%, 67.16%, 38.37%; 其中菌株 RJJ-3 对罗红霉素降解效率最高 ( $P < 0.01$ )。

表 1 罗红霉素降解菌株的筛选

Table 1 Screening of the strains with erythromycin degradation function

抗生素名称	质量浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> )	降解率/%			
		RJJ-151	RJJ-3	RJJ-112	RJJ-9
罗红霉素	100	32.22±2.20 <sup>1)</sup>	86.51±2.13 <sup>2)</sup>	46.72±3.61 <sup>3)</sup>	23.16±1.08 <sup>4)</sup>
	300	53.13±1.36 <sup>1)</sup>	93.33±3.05 <sup>2)</sup>	67.16±1.86 <sup>3)</sup>	38.37±3.21 <sup>4)</sup>

说明: 1)C; 2)A; 3)B; 4)D。A, B, C, D 表示不同菌株对红霉素降解率在  $P < 0.01$  水平上的显著性差异。

因此, 选择菌株 RJJ-3 为后续实验菌株。由表可知, 罗红霉素的起始浓度对菌株的降解率有显著影响, 浓度越大, 降解率越高。这可能是因为底物浓度越高, 与细菌的接触的面积越大, 降解效率就越高, 同时细菌得到充足的碳源的情况下, 增殖速率也会增加, 起到了协同增效的作用。

将菌株 RJJ-3 在 LB 平板划线, 置于 30 ℃ 恒温培养 2 d 后观察其菌落形态 (图 1)。RJJ-3 菌落呈圆形、淡黄色、黏质不透明、边缘整齐、表面隆起、湿润光滑。革兰氏染色后, 细菌在 1 600× 显微镜下观察,

如图 2 所示。菌体呈单个棒状,有单端鞭毛、有荚膜、无芽胞(图 2)。其表型与大部分假单胞属细菌形态特征类似。



图 1 罗红霉素降解菌 RJJ-3 在 LB 培养基上的菌落形态

Fig.1 The morphological characteristics of strain RJJ-3

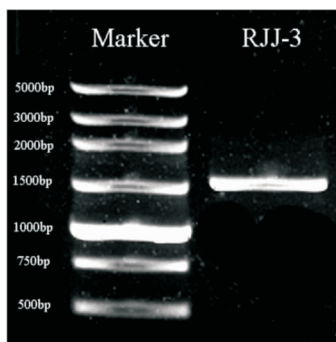


图 2 革兰氏染色后的 RJJ-3 的光学显微图(1 600×)

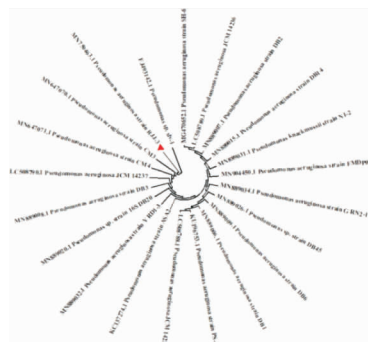
Fig.2 Microstructure of strain RJJ-3 under an optical microscope (1 600×) after crystal violet staining

## 2.2 罗红霉素降解菌株的鉴定

对分离纯化的菌株 RJJ-3 进行 DNA 提取、16S rRNA 基因扩增,如图 3(a)所示,琼脂糖凝胶电泳显示其基因片段约为 1 500bp。将 PCR 产物测序得到的序列提交 GenBank 中进行 BLAST,下载相似度较高的序列,用 MEGA 6 软件构建系统发育树。如图 3(b)所示,RJJ-3 与铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* CM3 相似度为 99.85%综合菌株的形态特征及 16S rRNA 序列分析结果,初步鉴定菌株 RJJ-3 为铜绿假单胞菌,因此,将其命名为 *P. aeruginosa* RJJ-3(登录号:MN759463.1)。



(a) 菌株RJJ-3 16S rRNA基因片段克隆



(b) 菌株16S rRNA序列系统发育树

图 3 菌株 RJJ-3 16S rRNA 分子鉴定及聚类分析

Fig.3 16S rRNA cloning of strain RJJ-3 and phylogenetic tree based on nucleotide sequence of the 16S rRNA

## 2.3 RJJ-3 发酵条件对罗红霉素降解率的影响

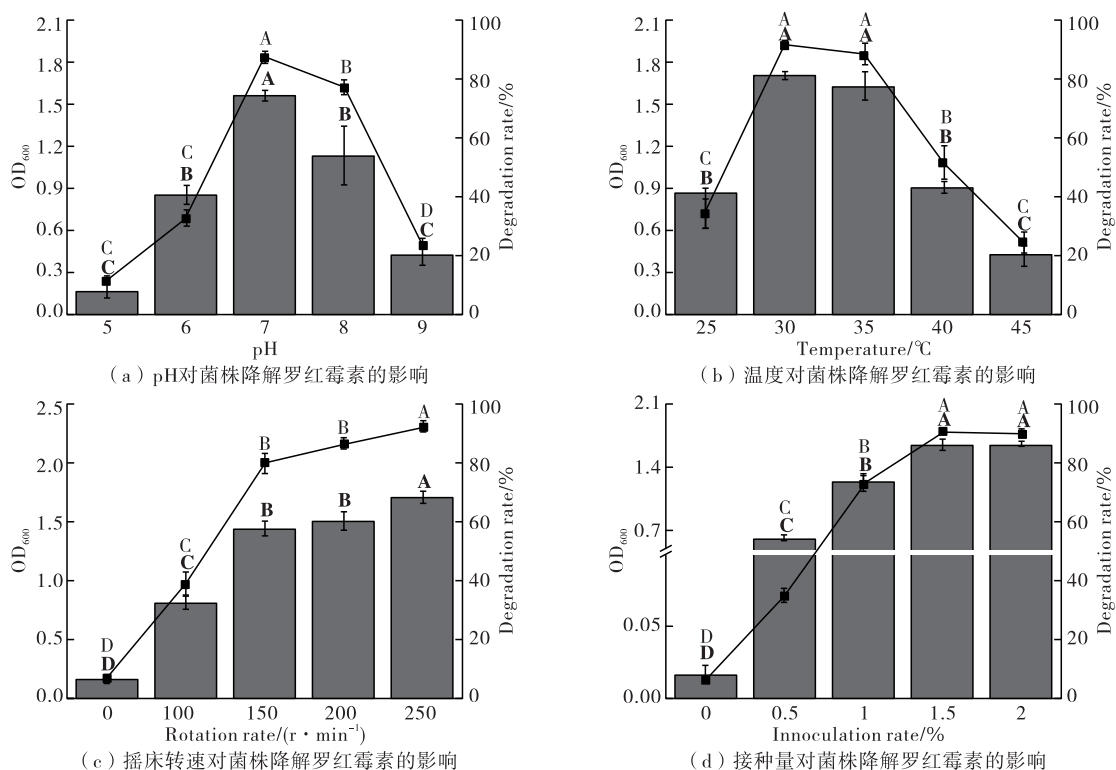
### 2.3.1 pH 对罗红霉素降解率的影响

保持其他培养条件相同,本实验研究了初始 pH 为 5.0,6.0,7.0,8.0,9.0 条件下 RJJ-3 菌降解罗红霉素的能力。在不同 pH 条件下菌株对罗红霉素降解的效果如图 4(a)所示。结果表明,随 pH 升高其罗红霉素的降解率呈先降低后增加最后降低趋势,其中 pH 为 7.0 时,效果最好,达 87.5%( $P<0.01$ ),而 8 W 光处理对罗红霉素的降解率仅为 30%<sup>[5]</sup>。在  $\text{pH}\geq 9.0$  的条件下,RJJ-3 对罗红霉素的降解率均不足 40%。这说明在中性和稍偏碱性条件下,菌株对罗红霉素的降解能力最强,这种现象与已报道的

大部分假单胞菌对酸碱度的偏好选择是一致的<sup>[13-15]</sup>。由此说明菌株 RJJ-3 适合在中性或者中性稍偏碱环境中生存,当  $\text{pH} \leq 6.0$  时,降解率达 70% 以上,而  $\text{OD}_{600}$  不足 0.2,这是因为罗红霉素在酸性环境下易水解。因此,选择  $\text{pH}=7.0$  作为降解罗红霉素的最佳  $\text{pH}$ 。

### 2.3.2 培养温度对罗红霉素降解率的影响

在其他培养条件不变的情况下,温度分别设为 25, 30, 35, 40, 45  $^{\circ}\text{C}$ ,由图 4(b)可以看出,随着温度升高,菌数的增长和降解率呈现先升高后降低的趋势。在 30~35  $^{\circ}\text{C}$  的范围内,菌株 RJJ-3 生长良好,对罗红霉素的降解率分别达 91.3% 和 88.5%。低于 30  $^{\circ}\text{C}$  或超过 35  $^{\circ}\text{C}$  时降解率明显降低( $P < 0.01$ )。其原因可能是低温培养时,菌株代谢缓慢,到达对数期的时间会延长,菌种数量少,分泌罗红霉素水解相关酶的量会相对较低,进而影响降解效率;而培养温度太高时,菌株生长迅速,逐渐会产生并积累有害代谢物,影响菌株生长<sup>[15-17]</sup>。另外,温度太高不仅影响降解酶的活性,也降低了降解酶的稳定性和半衰期,导致罗红霉素的降解率降低。因此,选择 30  $^{\circ}\text{C}$  为最佳发酵温度。



说明:折线上白体字母表示降解率在  $P < 0.01$  水平上显著性差异,柱形图上黑体大写字母表示  $\text{OD}_{600}$  在  $P < 0.01$  水平上显著性差异。

图 4 培养条件优化

Fig.4 Optimizing of the degradation condition

### 2.3.3 摇床转速对罗红霉素降解率的影响

如图 4(c)所示,在摇床转速的筛选过程中,摇床转速从 0 到 200  $\text{r}/\text{min}$ ,菌株的生长量和降解能力都逐渐升高,并在 200  $\text{r}/\text{min}$  时达到最高速率,降解率最高达 92.5% ( $P < 0.01$ )。而在 200  $\text{r}/\text{min}$  之后,升高的速度逐渐变缓,菌株生长量和降解率差异不大。这是由于随着转速的增高,培养液中溶氧量增高,细菌繁殖加快,对罗红霉素的降解能力明显大于转速相对较慢的培养液。另外,当转速达到一定值后,细菌的生物量和降解率增加均不明显,这说明过度通氧对细菌繁殖和罗红霉素降解影响均不明显,这可能是与细菌代谢过程中对氧的需求有一个平衡点<sup>[15,18-19]</sup>。

### 2.3.4 接种量对罗红霉素的降解率影响

不同接种量条件下的降解情况如图4(d)所示。从图4(d)可以看出,降解率随着接种量的增加而增加,当菌株RJJ-3的接种率为1.5%时,降解效果最好,降解率达到90.64%。当接种率为2%时,降解率和接种1.5%的相比变化不明显( $P < 0.01$ )。这是因为当接种量较少时,细菌繁殖基数比较低,分泌群体感应信号激素较少,产生的与罗红霉素降解相关酶的量比较少<sup>[18]</sup>。另外,当接种量较少时,罗红霉素分子不能与细菌充分接触,降解速率较慢;当接种量较多时,在细菌生长初期会形成碳源竞争,抑制细菌的繁殖,影响降解速率<sup>[15,20]</sup>。罗红霉素底物含量一定,当细菌产生的降解酶足够多的时候形成了动态平衡,过量的降解酶对底物的催化效率影响不大。所以最佳接种量为1.5%为最合适。

### 2.4 葡萄糖对罗红霉素降解效率的影响

从图5可看出,随着时间推移,两组处理的降解率均在升高,以葡萄糖为辅助碳源时RJJ-3降解率比不加葡萄糖的对照组显著提高( $P < 0.01$ )。降解率显著提高的时间段为24~48 h。这是符合一般细菌增长为“S”型曲线的规律。在72 h后,降解效率达到99.15%,96 h后为100%,而对照组不添加葡萄糖72 h降解率为88.65%,96 h降解率为95.54%,是因为葡萄糖分子易于被微生物利用。菌株RJJ-3优先利用葡萄糖作为营养物质,加快繁殖代谢,而随着时间的延长,葡萄糖逐渐被消耗,菌株RJJ-3通过降解罗红霉素来提供自身生长需的碳源和能源。

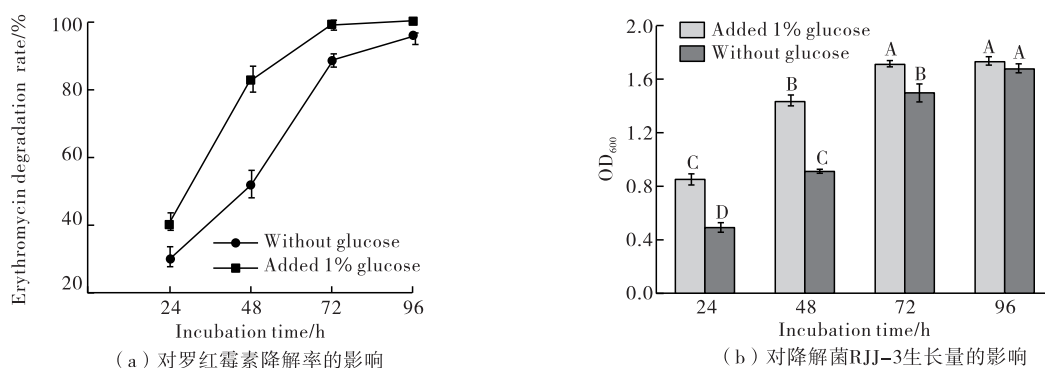


图5 添加葡萄糖对罗红霉素降解效率的影响

Fig.5 Effects of glucose on the erythromycin degradation rate by strain RJJ-3

## 3 结 论

本研究筛选并鉴定了一株新的红霉素降解菌命名为铜绿假单胞菌 *P. aeruginosa* RJJ-3;铜绿假单胞菌 *P. aeruginosa* RJJ-3 在红霉素初始质量浓度为 100 mg/L 的条件下,最合适的培养条件是 pH 为 7.0,温度为 30 ℃,转速为 200 r/min,接种量为 1.5%;葡萄糖共代谢可提高降解速率。

以上研究发现该菌能够应用于含罗红霉素污染物的有机废水处理及红霉素污染土壤修复,为微生物修复罗红霉素污染土壤中的实际应用提供了理论依据。尽管对分离菌株的降解效率及最适培养条件进行了研究,但是对于罗红霉素的生物降解途径和代谢产物尚不明确,在今后的研究中,通过改进代谢产物提取方法和优化检测系统,进一步探索其降解机理,更好地促进其在实际应用中的推广。



## 参考文献:

- [1]杨俊杰. 抗生素水体污染的处理方法研究[J]. 化工管理, 2018(33): 161-162.
- [2]高俊红, 王兆伟, 张涵瑜, 等. 兰州市污水处理厂中典型抗生素的污染特征研究[J]. 环境科学学报, 2016, 36(10): 3765-3773.
- [3]THOMAS B, MICHAEL F. Predictive environmental risk assessment of chemical mixtures: a conceptual framework [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(5): 2564-2573.
- [4]李士俊, 谢文明. 污水处理厂中抗生素去除规律研究进展[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(3): 17-29.
- [5]肖健, 刘林海, 邹世春. 水环境中红霉素和罗红霉素抗生素光降解的研究[J]. 广州化学, 2008, 33(2): 1-5.
- [6]李玮. 大环内酯类抗生素热稳定性及分解动力学研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(8): 1544-1547.
- [7]范寅娣. 红霉素高效降解菌的筛选及降解性能研究[D]. 沈阳: 东北大学, 2010.
- [8]DOLLIVER H, GUPTA S, NOLL S. Antibiotic degradation during manure composting[J]. Journal of Environmental Quality, 2008, 37(3): 1245.
- [9]YAN Q X, HONG Q, PENG H, et al. Isolation and characterization of a carbofuran-degrading strain *Novosphingobium* sp. FND-3[J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 271(2): 207-213.
- [10]REN J J, SHI G L, WANG X Q, et al. Identification and characterization of a novel *Bacillus subtilis* strain with potent antifungal activity of a flagellin-like protein[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2013, 29(12): 2343-2352.
- [11]LI C Y, HU W C, PAN B, et al. Rhizobacterium *Bacillus Amylolyquefaciens* SQRT3 induced systemic resistance controls bacterial wilt[J]. Pedosphere, 2017, 27(6): 1135-1146.
- [12]杨德智, 徐维盛, 张丽, 等. 优化《中国药典》罗红霉素 HPLC 含量测定方法研究[J]. 中国药房, 2011(17): 1604-1606.
- [13]杨海洋, 李轶, 胡洪营, 等. 恶臭假单胞菌对硝基苯污染河水的修复研究[J]. 安全与环境工程, 2008, 15(1): 54-57.
- [14]谢朝云, 熊芸, 孙静, 等. 91 株恶臭假单胞菌流行病学特征及耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(12): 1185-1188.
- [15]毛菲菲, 刘畅, 何梦琦, 等. 红霉素降解菌的筛分及其降解特性的研究[J]. 环境科学与技术, 2013, 36(7): 9-12.
- [16]张印, 薛永常. 油脂降解菌种的鉴定及降解条件优化[J]. 微生物学杂志, 2015(2): 90-94.
- [17]郝莹, 孙军, 曾金金, 等. 降解多种抗生素残留的乳酸菌的筛选鉴定及特性研究[J]. 中国酿造, 2017, 36(10): 104-108.
- [18]LI W, XU X, LU B, et al. Degradation of typical macrolide antibiotic roxithromycin by hydroxyl radical: kinetics, products, and toxicity assessment[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2019, 26: 14570-14582.
- [19]ZHANG Y X, LIU H L, XIN Y X, et al. Erythromycin degradation and ERY-resistant gene inactivation in erythromycin mycelial dreg by heat-activated persulfate oxidation[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 358(15): 1446-1453.
- [20]沈怡雯, 黄智婷. 抗生素及其抗性基因在环境中的污染、降解和去除研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2015, 21(2): 181-187.
- [21]REN J J, HE W H, LI C Y, et al. Purification and identification of a novel antifungal protein from *Bacillus subtilis* XB-1[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 35(10): 1-7.

(责任编辑:李艳,谭晓荷)