

产聚羟基脂肪酸酯细菌的筛选与鉴定

李雪云, 付时雨*, 俞霁川, 傅恺, 陈元彩, 张睿哲, 刘运思

(华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室, 广州 510640)

摘要:【目的】聚羟基脂肪酸酯 (polyhydroxyalkanoates, PHAs) 是一种生物可降解的天然高分子聚酯, 本研究的目的是从广东省某啤酒厂废弃的活性污泥中分离筛选 PHAs 产生菌。【方法】首先, 从活性污泥中分离 PHAs 产生菌。分离方法分 3 步: (1) 富集培养 PHAs 产生菌; (2) 通过苏丹黑 B 染色法进行初筛; (3) 挑选 PHAs 产量较高的菌株, 然后对细胞内提取产物进行分析, 最后通过生理生化试验和 16S rRNA 基因序列分析法对该菌株进行鉴定。【结果】从广东省某啤酒厂的活性污泥样品中筛选获得 PHAs 产生菌 HG-B-1, 被鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)。细胞染色分析、胞内提取物的红外光谱分析表明 HG-B-1 胞内贮藏物为 PHAs。该菌株在以蔗糖为碳源、牛肉膏为氮源的发酵培养基中, 37℃ 振荡培养 24 h, PHAs 产量可达细胞干重的 23.4%。【结论】本文从广东省某啤酒厂的活性污泥中筛选得到 PHAs 产生菌, 获得了一株新型的 PHAs 产生菌, 为进一步研究和开发新型的 PHAs 产生菌提供了菌源和基础资料。

关键词: 聚羟基脂肪酸酯; 筛选; 鉴定; 嗜麦芽寡养单胞菌

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 11-1488-06

化学合成塑料给人类带来繁荣的同时, 其生物难降解性也会带来严重的环境污染, 因此人们不断地寻求新的可降解塑料。经长期探索, 发现聚羟基脂肪酸酯 (polyhydroxyalkanoates, PHAs) 是可降解的天然高分子材料, 它具有热塑性、良好的生物相容性及手性特征^[1], 其结构通式为

$$\left[\text{O}-\underset{\text{R}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}} \right]_n \quad (\text{R 为不同链长的饱和或不饱和的烷基}),$$

既可作为各种容器瓶、塑料袋、薄膜等一次性包装材料的原料^[2], 也可作为医用高分子材料用于药物缓释控释系统^[3]、心脏瓣膜的修复^[4]等, 还可作为化学合成光学活性物质的手性前体用于有机合成^[5]。微生物可合成胞内 PHAs 并以碳源和能源贮藏物的形式存在^[6]。目前, 用于合成 PHAs 的细菌主要有真养产碱杆菌^[7]、假单胞

菌^[3,8]、重组大肠杆菌^[9-10]。从工业化生产的角度看, 分离筛选利用廉价的底物合成 PHAs 的优良菌株, 具有重要的应用价值。

废水处理系统中形成的活性污泥是微生物与有机物的聚集体^[11], 其中许多细菌都具有合成 PHAs 的能力^[7,12], 能极大地降低 PHAs 的生产成本、实现剩余活性污泥的资源化利用。啤酒厂的废水中含有较高浓度的有机物和无机物, 是廉价的微生物培养基; 且 BOD/COD 值较高, 具有良好的可生化性^[13], 是筛选 PHAs 产生菌良好的原材料。本文从啤酒厂污水处理活性污泥中分离和筛选出 4 株产 PHAs 的菌株, 并对这 4 株菌进行复筛, 结果表明菌株 HG-B-1 产 PHAs 能力较强; 通过采用 16S rRNA 基因序列分析、形态学特征和生理生化特性相结合的方法, 将新的 PHAs 产生菌 HG-B-1 鉴定为嗜麦芽寡养单胞

基金项目: 国家自然科学基金 (30771689); 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 重点项目 (2007AA100704)

* 通信作者。Tel: +86-20-87112453; Fax: +86-20-22236078; E-mail: shyfu@scut.edu.cn

作者简介: 李雪云 (1985-), 女, 福建漳州人, 硕士研究生, 主要从事制浆化学与生物化学的研究。

收稿日期: 2010-04-30; **修回日期:** 2010-07-13

菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品:我们从广东省某啤酒厂污水处理车间各工段共采集了13个污水水样,水样采集时装入灭菌玻璃瓶中,编号,密封。静置啤酒厂采集的污水水样,使活性污泥沉淀后,弃去上清液,得到13个活性污泥样品,4℃冰箱保存。

1.1.2 主要试剂和仪器:Ls-C50L型立式压力蒸汽灭菌器(江阴滨江医疗设备厂);Thermo恒温摇床SHKE5000-8CE(USA);Friocell生化培养箱(BMH Instruments Co.),SW-CJ-IFD型单人单面净化工作台(苏州净化),3K15冷冻离心机(Sigma);Vector 33型傅里叶变换红外谱仪(德国Bruker公司);S-3700N扫描电子显微镜(日本日立公司);HS86150型自动顶空进样器(意大利DAN I公司);GC22010型气相色谱仪(日本岛津)。

1.1.3 培养基:(1)分离纯化培养基,尿素培养基(g/L):尿素0.5,葡萄糖1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, K_2HPO_4 0.1, pH 7.0, 121℃灭菌20 min。Stoke培养基(g/L):葡萄糖10,蛋白胨1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $CaCl_2$ 0.05, $FeCl_3$ 0.01, 琼脂20, pH 7.0-7.2, 121℃灭菌20 min。(2)筛选培养基,种子培养基(g/L):牛肉膏3.0,蛋白胨10.0, NaCl 5.0, pH 7.0-7.2, 121℃灭菌20 min。发酵培养基(g/L):蔗糖20,牛肉膏5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $CaCl_2$ 0.05, $FeCl_3$ 0.01, K_2HPO_4 0.04, KH_2PO_4 0.03, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.05, H_3BO_3 0.005, pH 7.0, 分装至300 mL三角瓶中,每瓶80 mL, 121℃灭菌20 min。

1.2 分离纯化

1.2.1 富集培养:取活性污泥1.0 mL,接于9.0 mL富集培养液(尿素培养基)中,37℃静止培养36 h。挑取少量经过富集的絮状物,在无菌水中洗涤3-4次后,置富集培养基,经4次富集后,进行分离。

1.2.2 分离纯化:参照文献^[14]所述方法,挑取少量经过多次富集的絮状物,用无菌水制备稀释梯度为 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 的菌悬液,分别涂布于Stoke平板上,37℃静止培养36 h,挑选形态不同的菌落,反复传代培养,直至获得纯培养菌株,接种于Stoke斜面,4℃冰箱保存。

1.3 产PHAs菌株的筛选

1.3.1 初筛:生物脂肪大多是以脂肪颗粒的形式存

在的,可被苏丹黑B染成蓝黑色的脂肪粒,是筛选产脂肪菌株较为理想的方法^[15]。将上述得到的纯培养菌株转接到发酵培养基中,37℃,150 r/min振荡培养36 h后,5000 r/min离心10 min,弃上清液。参照文献^[16],将分离后得到的菌体用0.3% (m/v)苏丹黑B染色15 min,倾去染色液,二甲苯冲洗至洗脱液无色,再用0.5% (m/v)蕃红复染10 s,去离子水冲洗、吸干后镜检,定性检查有无蓝黑色的脂肪颗粒为标准进行初筛。

1.3.2 复筛:分别取两环Stoke斜面培养基上活化了的初筛获得的菌株,放入80 mL种子培养基中,37℃,150 r/min振荡培养36 h。取此培养液2 mL转接于装有80 mL发酵培养基的三角瓶中,同上述条件培养36 h。从发酵液中提取PHAs并测定其含量(参照1.4),进行复筛。

1.4 胞内PHAs的提取^[17]

1.4.1 菌体收集:100 mL发酵液,5000 r/min离心15 min,菌体用去离子水洗涤、离心,重复2-3次,冷冻干燥后,称重备用。

1.4.2 冻干的菌体在甲醇/水溶液(80%, V:V)中,50℃抽提1 h,除去类脂和其他有色的物质。经过处理的菌体中加入氯仿/甲醇混合液(2:1, V/V),80℃下抽提4 h后,过滤,滤液旋转蒸发除去氯仿后,加入无水乙醇析出PHAs颗粒,冷冻离心20 min(5000 r/min、10℃),重复2次,析出的颗粒60℃烘干,得到浅白色薄膜状PHAs,称重。

1.5 菌株形态特征和生理生化试验

菌株HG-B-1在种子培养基上,37℃培养36 h,然后利用扫描电镜对其形态特征进行观察。菌株HG-B-1其它的形态特征、培养特性及生理生化试验均按文献^[18]和^[19]进行。

1.6 细菌16S rRNA基因序列分析和系统发育树的构建

采用16S rRNA基因直接测序法进行分子生物学鉴定。PCR扩增采用引物F27(5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3')及R1522(5'-TTATCCTAGTTGCGCGCTA-3')。PCR反应条件:94℃ 5 min,94℃ 1 min,56℃ 1 min,72℃ 2 min,30个循环,最后72℃ 7 min。扩增产物送上海英骏生物技术有限公司进行测序。测序结果用BLAST软件在GenBank进行同源性比较,以Clustal X进行多序列比对后,用MEGA 4.0构建系统发育树。

1.7 z10314细胞生长曲线的测定

细菌细胞呼吸的强度与细胞个数成正比,细胞

产生的 CO_2 可以采用气相色谱来测^[20]。取斜面活化菌种两环放入种子培养基中, 37℃ 振荡培养 24 h。取种子菌液 10 mL 移入 490 mL 发酵培养基, 37℃ 振荡培养 24 h。期间, 平均每小时取样 2 mL 放入装有 3 mL 培养基已灭菌的特制顶空瓶里(气相色谱测定备用), 37℃ 振荡培养 1 h。取出顶空瓶注入稀硫酸灭活, 利用顶空-气相色谱仪对顶空瓶中细菌产生的 CO_2 含量进行测定, 间接得出菌体 24 h 生长曲线。

1.8 FT-IR 分析

参照文献[21], 将提纯后的 PHAs 样品用 KBr 压片后, 利用德国 Bruker 公司的 Vector 33 傅里叶变换红外谱仪测定红外吸收光谱。

2 结果和讨论

2.1 分离纯化产 PHAs 菌株

将从广东省某啤酒厂采来的活性污泥样品接入富集培养基, 37℃ 静止培养 36 h, 经 4 次富集培养的絮状物经无菌水稀释后, 在 Stoke 平板上涂布, 37℃ 培养, 然后从平板上挑取形态不同的单菌落, 反复传代培养, 直至获得 20 株纯培养菌株。

2.2 产 PHAs 菌株的筛选

2.2.1 初筛: 将分离到的菌体经苏丹黑 B 染色, 光学显微镜下观察, 部分菌体外围泛红, 主体呈现蓝黑色, 可能是产生 PHAs 的细菌。挑取 4 株菌株用于复筛, 编号分别为 zl0314、b2t13a、a1x10a、a1x13b。

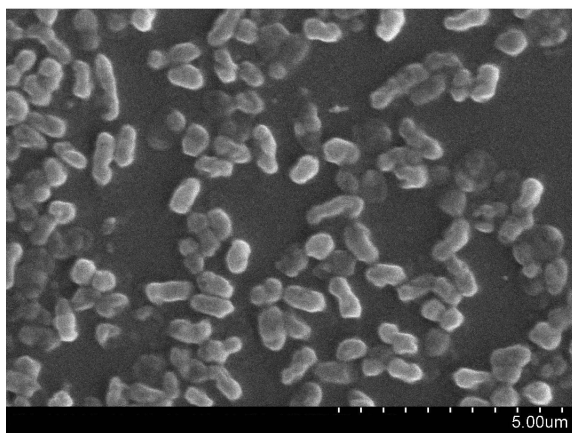


图 1 菌株 HG-B-1 的电子显微照片 (10000 ×)

Fig. 1 Scanning electron micrograph showing the morphology of strain HG-B-1 (10000 ×).

2.2.2 复筛: 将初筛得到的产 PHAs 的菌株进行液体发酵培养, 然后以 1.4 法测定 PHAs 含量, 结果见表 1。经比较, 编号 zl0314 的生物量较大, PHAs 产

率最高, 因此选其作为目标菌株, 并命名为 HG-B-1。

表 1 初筛的四株菌株产 PHAs 的情况

Table 1 Accumulation of PHAs by four primary

Strain No.	screened strains		PHAs yield percentage/%
	Dry weight of cells/(g/L)	Dry weight of PHAs/(g/L)	
zl0314	0.261	0.061	23.4
b2t13a	0.180	0.032	17.8
a1x10a	0.064	0.013	20.3
a1x13b	0.295	0.057	19.3

2.3 菌株鉴定

2.3.1 培养、形态和生理生化特征: 菌株 HG-B-1 在 Stoke 培养基上 37℃ 培养 36 h 后, 形成淡黄色的菌落, 边缘整齐, 有光泽; 在液体培养基中呈扩散性混浊, 能在 10 - 40℃、pH 6 - 10 范围内生长。24 h 培养的细胞呈杆状, 两端钝圆, 大小为 0.6 - 1.0 μm × 0.3 - 0.5 μm (图 1)。表 2 为菌株 HG-B-1 的生理生化特征。从上述培养、形态和生理生化特征可以看出, 菌株 HG-B-1 具有寡养单胞菌属的典型特征, 包括革兰氏染色阴性、非发酵型、产生接触酶、但不产生氧化酶^[22]。

2.3.2 基于 16S rRNA 基因序列同源性的系统发育分析: PCR 扩增到菌株 HG-B-1 的 16S rRNA 基因长 1445 bp 的序列, 其 GenBank 登录号为 HM007280, BLAST 比对结果显示, 菌株 HG-B-1 的 16S rRNA 基因序列与 *Stenotrophomonas africana* ATCC 700475^T (U62646.1)、*Pseudomonas geniculata* ATCC 19374^T (AB021404.1) 和 *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 13637^T (AB294553.1) 基因序列同源性分别达 97%、98%、99%。通过 ClustalX 程序进行多重序列比对后, 利用 MEGA4.0 软件, 以 *Frateuria aurantia* IFO3245^T (AB091194.1) 作为外群, 构建含有嗜麦芽寡养单胞菌 17 个序列的发育树 (图 2)。由系统发育树可知, 菌株 HG-B-1 与上述 3 个菌株聚为一簇, 其中与 *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 13637^T (AB294553.1) 的序列同源性最高 (99%)。结合 2.3.1 中培养、形态和生理生化特征的结果, 将 HG-B-1 确定为嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)。

2.4 菌株 HG-B-1 生长曲线的测定

通过 TCD 对顶空瓶中细菌的代谢产物 CO_2 含量的测定, 可间接得到嗜麦芽寡养单胞菌 HG-B-1 在 24 h 内的生长曲线 (图 3)。从图 3 可以看出, HG-B-1 的生长延滞期为 5 h; 18 h 后进入生长稳

表 2 菌株 HG-B-1 的生理生化特征

Table 2 Physiological and biochemical characteristics of strain HG-B-1		
Characteristics		
Biochemical characteristics	Carbon-substrates for acid production	
Gram's stain	-	Xylose -
Oxidize experiment on glucose	-	Mannitol -
Catalase	+	Salicin +
Cytochrome oxidase	-	L - Arabinose -
Urease	-	Utilization of carbon source
V - P reaction	-	Glucose +
Gelatin liquefaction	+	Maltose +
Nitrate reduction	-	Sucrose +
Indole production	-	lactose +
Lecithinase	+	semnose +
Casein hydrolysis	+	L - Glutamic acid +
Hydrolysis of starch	-	L - lactamine +
Denitrification	-	L - Proline +
Citrate salt	-	L - histidine +
Malonate	-	sodium acetate +

+, positive; -, negative

定期。在细菌进入稳定期后,初级代谢产物便会大量积累。由于 PHAs 是存在于菌体内部的脂类聚合物,为提高目标产物 PHAs 的产量,可在对数增长的后期适当补料,进行间歇式培养。

2.5 菌株 HG-B-1 胞内提取物的 FT-IR 谱图分析

FT-IR 谱图中,1735 cm^{-1} 附近有一个羰基特征峰,该峰的出现与否对应了样品中是否含有 PHAs,其形状和峰位反映样品的结晶程度^[23]。HG-B-1 菌体内提取的产物纯化后在数波由 4000 - 500 cm^{-1} 之间进行扫描(图 4),在 1737 cm^{-1} 有较为强烈的吸收峰,在此处的吸收主要来自中链 PHAs 的羰基吸收峰^[24-25],3376 cm^{-1} 出现宽的吸收峰是分子间氢键 O - H 伸缩振动;3000 - 2800 cm^{-1} 出现的谱带是饱和 C - H 伸缩振动吸收;指纹区波段 900 - 600 cm^{-1} 内,在 722 cm^{-1} 处出现吸收,证明 $n_{(-\text{CH}_2-)} \geq 4$ 。因此,初步确定 HG-B-1 细胞内贮存物含有中链的 PHAs。

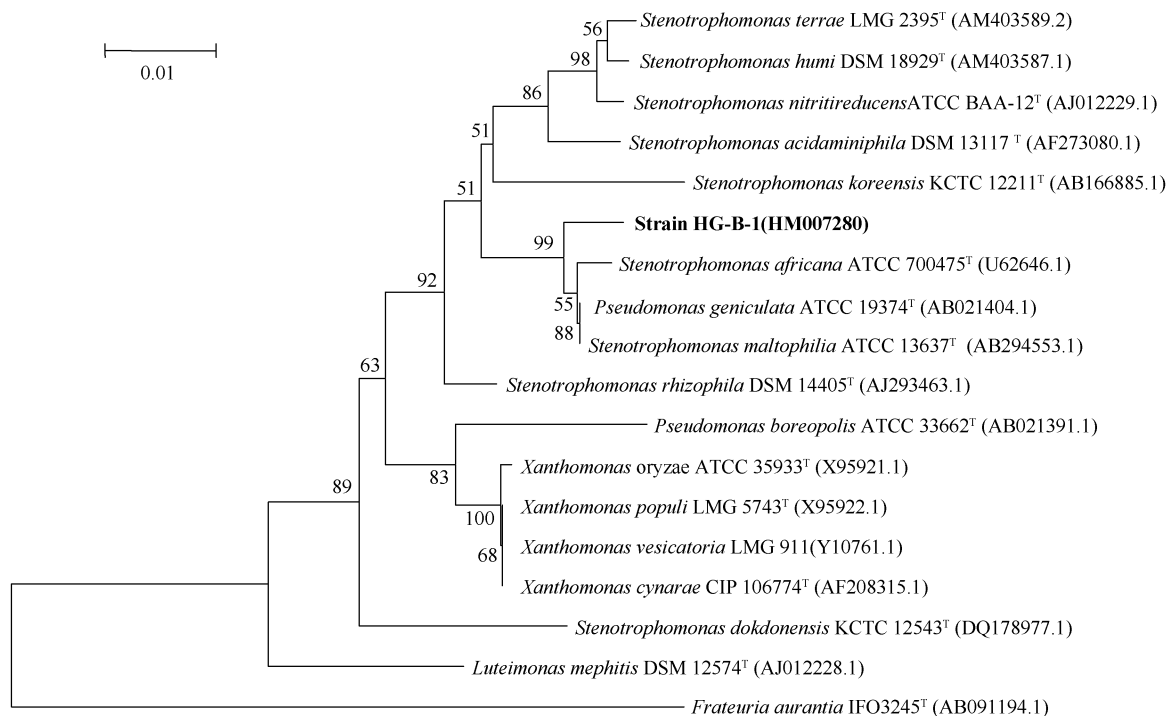


图 2 基于菌株 HG-B-1 的 16S rRNA 基因同源性的系统发育树

Fig. 2 The phylogenetic position of strain HG-B-1. Accession numbers are given in parentheses. The number at each branch node is percentage of 1000 bootstrap replications; only values greater than 50% are indicated. Bar, 1 percents of sequence divergence.

3 结论

经分离纯化、苏丹黑 B 染色结合镜检初筛获得 4 株积累 PHAs 的细菌 z10314、b2t13a、a1x10a、a1x13b;分别以蔗糖为碳源、牛肉膏为氮源进行摇瓶

发酵复筛,得到 z10314(命名为 HG-B-1)菌株积累 PHAs 的量最高,达到细胞干重的 23.4%。通过生理生化试验并结合 16S rRNA 基因序列分析,确定其为嗜麦芽寡养单胞菌。目前,与寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)有着亲缘关系的假单胞菌(*Pseudomonas*)产 PHAs 已有报道^[3,8],但该菌属细

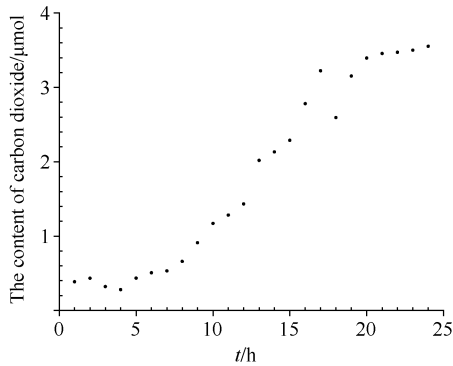


图3 HG-B-1 在 24 h 内的生长曲线

Fig. 3 Growth curve of strain HG-B-1 in 24 hours.

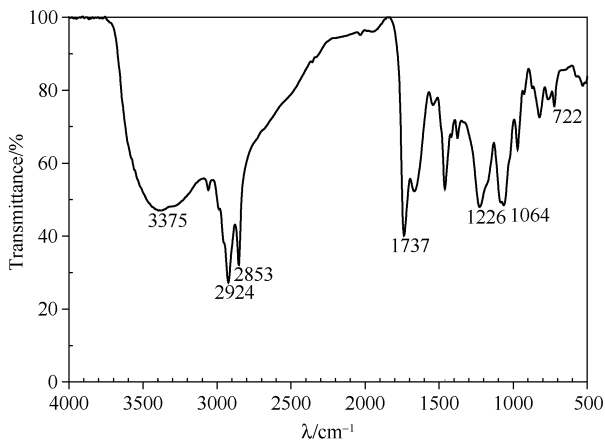


图4 HG-B-1 胞内 PHAs 的红外光谱图

Fig. 4 Infrared spectrum of PHAs in strain HG-B-1.

菌产 PHAs 鲜有报道。

通过气相色谱对密闭体系顶空瓶中 CO_2 含量的测定间接得到嗜麦芽寡养单胞菌 HG-B-1 的生长曲线,结果表明菌株 HG-B-1 具有适应期短(约 5 h)、对数增殖期长(约 12 h)、生长旺盛的特点,为今后进一步的试验生产发酵提供保证。因此优化嗜麦芽寡养单胞菌 HG-B-1 的发酵条件,研究各种因素对产物 PHAs 积累的影响,降低 PHAs 的生产成本,具有重要的意义,相关的研究将在以后报道。

参考文献

[1] Randriamahefa S, Renard E, Guérin P, Langlois V. Fourier transform infrared spectroscopy for screening and quantifying production of PHAs by *Pseudomonas* grown on sodium octanoate. *Biomacromolecules*, 2003, 4 (4): 1092-1097.

[2] Mergaert J, Ruffieux K, Bourban C, Storms V, Wagemans W, Wintermantel E, Swings J. In vitro biodegradation of polyester-based plastic materials by

selected bacterial cultures. *Journal of Polymers and the Environment*, 2000, 8(1): 17-26.

- [3] Pouton CW, Akhtar S, Biosynthetic polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1996, 18 (2):133-162.
- [4] Sodian R, Hoerstrup SP, Sperling JS, Daebritz S, Martin DP, Moran AM, Kim BS, Schoen FJ, Vacanti JP, Mayer JE. Early in vivo experience with tissue-engineered trileaflet heart valves. *Journal of the American Heart Association*, 2000, 102(suppl III): III-22-III-29.
- [5] Princival JL, Oliveira MS, Santos AA, Santos AA, Comasseto JV. A large-scale synthesis of enantiomerically pure γ -hydroxy-organochalcogenides. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, 20(23): 2699-2703.
- [6] Anderson AJ, Dawes EA, Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *American Society for Microbiology*, 1990, 54(4): 450-472.
- [7] Zhang SP, Norrl? w O, Wawrzynczyk J, Dey ES. Poly (3-Hydroxybutyrate) biosynthesis in the biofilm of *Alcaligenes eutrophus*, using glucose enzymatically released from pulp fiber sludge. *Applied and environmental microbiology*, 2004, 70(11): 6776-6782.
- [8] Kim YB, Kim DY, Rhee YH, PHAs produced by *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas oleovorans* grown with n-alkanoic acids containing aromatic groups. *Macromolecules*, 1999, 32(19): 6058-6064.
- [9] Zhang H, Obias V, Gonyer K, Dennis D. Production of polyhydroxyalkanoates in sucrose-utilizing recombinant *Escherichia coli* and *Klebsiella* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(4): 1198-1250.
- [10] Andreeben B, Lange AB, Robenek H, Robenek H, Steinbüchel A. Conversion of glycerol to poly (3-hydroxypropionate) in recombinant *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(2): 622-626.
- [11] Satoh H, Iwamoto Y, Mino T, Matsuo T. Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic. *Water Science and Technology*, 1998, 38(2): 103-109.
- [12] Law KH, Leung YC, Lawford H, Chua H, Lo WH, Yu PH. Production of polyhydroxybutyrate by *Bacillus* species isolated from municipal activated sludge. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2001, 91-93 (1-9): 515-524.
- [13] Yu PHF, Chua H, Huang AL, Lo WH, Ho KP. Transformation of industrial food wastes into polyhydroxyalkanoates. *Water Science and Technology*, 1999, 40 (1): 365-370.

- [14] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程. 第二版. 北京: 北京大学出版社, 2008.
- [15] 宋安东, 冯冲, 王风芹, 谢慧. 生物产油脂高产菌株筛选方法研究. 微生物学通报 (*Microbiology China*), 2009, 36 (3): 383-388.
- [16] Burdon KL. Fatty acid material in bacteria and fungi revealed by staining dried, fixed, slide preparation. *Journal of Bacteriology*, 1946, 52(6): 665-678.
- [17] Wendlandt KD, Geyer W, Mirschel G, Hemidi F. Possibilities for controlling a PHB accumulation process using various analytical methods. *Journal of Biotechnology*, 2005, 117(1): 119-129.
- [18] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 第一版. 北京: 科学出版社, 2001.
- [19] Buchanan R, Gibbons NE, 伯杰细菌鉴定手册. 第八版. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984.
- [20] Chai XS, Dong CX, Deng YL. In situ determination of bacterial growth by Multiple Headspace Extraction Gas Chromatography. *Analytical Chemistry*, 2008, 20 (80): 7820-7825.
- [21] Vogel C, Hoffmann GG, Siesler HW. Rheo-optical FT-IR spectroscopy of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(lactic acid) blend films. *Vibrational Spectroscopy*, 2009, 49 (2): 284-287.
- [22] Senol E. *Stenotrophomonas maltophilia*: the significance and role as a nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infection*, 2004, 57(1): 1-7.
- [23] Hong K, Sun S, Tian W, Chen GQ, Huang W. A rapid method for detecting bacterial polyhydroxyalkanoates in intact cells by fourier transform infrared spectroscopy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, 51(4): 523-526.
- [24] Padermshoke A, Katsumoto Y, Sato H, Ekgasit S, Noda I, Ozaki Y. Surface melting and crystallization behavior of polyhydroxyalkanoates studied by attenuated total reflection infrared spectroscopy. *Polymer*, 2004 (45): 6547-6554.
- [25] Misra AK, Thakur MS, Srinivas P, Karanth NG. Screening of poly-hydroxybutyrate-producing microorganisms using Fourier transform infrared spectroscopy. *Biotechnology Letters*, 2000, 22(15): 1217-1219.

Isolation and identification of a polyhydroxyalkanoate producing strain

Xueyun Li, Shiyu Fu^{*}, Jichuan Yu, Kai Fu, Yuancai Chen, Ruizhe Zhang, Yunsi Liu
(State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: [**Objective**] We screened and isolated polyhydroxyalkanoate producing bacteria. [**Methods**] The strains were isolated from sludge from a beer brewery and screened by Sudan black B staining method. The isolated strains were identified according to their morphological features, physiological and biochemical analysis as well as 16S rRNA gene sequence analysis. The product extracted with hot chloroform from the isolated strain HG-B-1 was confirmed by Fourier transform infrared spectra. [**Results**] We isolated a bacterium, HG-B-1, from sludge collected from a beer brewery in Guangdong province, China. The yield of polyhydroxyalkanoates was 23.4% (w/w) based on dried weight of the bacterium cells when HG-B-1 grew in a medium containing saccharose. We analyzed 16S rRNA nucleotide sequence, and ascertained the phylogenetic position of the strain. [**Conclusion**] Strain HG-B-1 with PHAs biosynthesis ability was identified as *Stenotrophomonas maltophilia*.

Keywords: polyhydroxyalkanoates (PHAs); screening; identification; *Stenotrophomonas maltophilia*

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30771689) and by the National High Technology Research and Development Program of China by Chinese Minister of Sciences and Technologies (2007AA100704)

^{*} Corresponding author. Tel: +86-20-87112453; Fax: +86-20-2236078; E-mail: shyfu@scut.edu.cn

Received: 30 April 2010/Revised: 13 July 2010