

自产生物表面活性剂的二甲基二硫醚除臭功能菌筛选及其性能分析

吴江丽¹, 孙蕾², 袁丹², 万顺刚^{2*}

1 海南大学 生态学院, 海南 海口

2 海南大学 化学化工学院, 海南 海口

吴江丽, 孙蕾, 袁丹, 万顺刚. 自产生物表面活性剂的二甲基二硫醚除臭功能菌筛选及其性能分析[J]. 微生物学报, 2025, 65(8): 3615-3629.

WU Jiangli, SUN Lei, YUAN Dan, WAN Shungang. Screening and characterization of self-producing biosurfactant bacteria for dimethyl disulfide deodorization[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(8): 3615-3629.

摘要: 微生物除臭是一种有效的恶臭废气处理技术, 菌种对生物除臭效果具有决定性的影响。**【目的】** 筛选可降解二甲基二硫醚(dimethyl disulfide, DMDS)的菌株, 并探究其在不同条件下的降解效果及产表面活性剂的能力。**【方法】** 以含硫恶臭有机物 DMDS 为唯一碳源, 从红树林底泥中筛选可自产生物表面活性剂并能降解 DMDS 的菌株 R1。利用生理生化特性分析和 16S rRNA 基因测序对菌株进行鉴定, 利用红外光谱和核磁分析确定自产生物表面活性剂的种类。**【结果】** 通过生理生化特性及 16S rRNA 基因序列分析鉴定, 菌株 R1 属于木糖氧化无色杆菌(*Achromobacter xylosoxidans*)。研究表明, 在 DMDS 初始浓度为 12.49 mg/L、温度为 30 °C、接种量为 1.0 g/L 的条件下, DMDS 的降解率可达 70.74%。乳化实验表明, 菌株 R1 能够利用 DMDS 作为碳源分泌生物表面活性剂, 核磁和红外光谱分析鉴定表明, 菌株 R1 产生的表面活性剂种类为糖脂类。**【结论】** DMDS 降解的中间产物主要为甲硫醇, 硫元素的转化率为 65.99%。菌株 R1 表现出良好的降解能力和产表面活性剂性能。

关键词: 二甲基二硫醚; 生物降解; 分离鉴定; 生物表面活性剂; 除臭

资助项目: 海南省自然科学基金(425RC684); 国家自然科学基金(32060291)

This work was supported by the Hainan Provincial Natural Science Foundation (425RC684) and the National Natural Science Foundation of China (32060291).

*Corresponding author. E-mail: wanshungang@163.com

Received: 2025-01-17; Accepted: 2025-03-05; Published online: 2025-06-10

Screening and characterization of self-producing biosurfactant bacteria for dimethyl disulfide deodorization

WU Jiangli¹, SUN Lei², YUAN Dan², WAN Shungang^{2*}

¹ School of Ecology, Hainan University, Haikou, Hainan, China

² School of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan, China

Abstract: Microbial deodorization is an effective technology for treating odorous waste gases, in which microbial strains play a decisive role. **[Objective]** To screen the strains capable of degrading dimethyl disulfide (DMDS) and investigate their degradation efficiency and ability to produce surfactants under various conditions. **[Methods]** DMDS, a typical sulfur-containing odorous organic compound, was selected as the sole carbon source. A strain R1 capable of simultaneously producing biosurfactants and degrading DMDS was isolated from mangrove sludge. The strain was identified based on the physiological and biochemical characteristics analysis and 16S rRNA gene sequencing. The types of self-produced biosurfactants were determined using infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy analysis. **[Results]** Based on physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence, strain R1 was identified as *Achromobacter* sp. The strain was capable of degrading DMDS, with optimal degradation conditions of an initial DMDS concentration of 12.49 mg/L, a system temperature of 30 °C, and an inoculum amount of 1.0 g/L, under which the DMDS degradation rate reached 70.74%. Emulsification experiments showed that strain R1 can use DMDS as a carbon source to produce biosurfactants, which were identified as glycolipids through nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy. **[Conclusion]** The main intermediate product in the biodegradation of DMDS is methyl mercaptan, and the transformation rate of sulfur to SO_4^{2-} is 65.99%. Strain R1 exhibits impressive performance in degrading DMDS and producing biosurfactants.

Keywords: dimethyl disulfide; biodegradation; isolation and identification; biosurfactant; deodorization

挥发性有机硫化合物(volatile organic sulfur compounds, VOSCs)具有非常低的嗅阈值和高毒性,极易引起空气污染,是典型的恶臭污染物之一^[1]。VOSCs主要包括二甲基三硫醚、甲硫醇、二甲基硫醚和二甲基二硫醚(dimethyl disulfide, DMDS)等^[2],在各种污染源排放的VOSCs中DMDS的检出频率和浓度均高于其他VOSCs。崔健等^[3]对无锡市5处典型重度黑臭水体连续5个月采样分析,结果表明DMDS是检测到的唯一VOSCs,检出频率为88%,最高浓

度为420.85 ng/L。丁家正等^[4]总结了城镇污水处理厂各处理单元VOSCs的排放特征,结果发现均有DMDS排放,并且在多数单元检测到的DMDS浓度均高于其他VOSCs。因此,采取有效的处理技术去除以DMDS为代表的VOSCs具有重要的研究意义。目前,VOSCs的去除方法主要有物理、化学和生物等方法。其中,物理法主要包括吸附、冷凝和吸收;化学法主要有光催化、焚烧和等离子体技术等^[5]。与物理和化学方法相比,生物法是利用微生物将VOSCs作

为碳源和能量, 通过自身代谢降解 VOSC_s 的方法^[6], 生物法具有节能环保的潜在优势, 特别适用于处理废气中低浓度的 VOSC_s。因此, 微生物法可以有效解决其他 VOSC_s 处理技术存在的降解效率低以及副产物残留的问题^[7]。然而, VOSC_s 均为疏水性有机物, 其难溶于水的特性导致其生物利用性差, 已成为生物降解疏水性 VOSC_s 的瓶颈问题。

现有研究表明, 在生物降解疏水性有机物的过程中添加表面活性剂, 通过降低界面表面张力和形成胶束, 强化气液两相传质, 促进疏水性有机物在液相中的溶解性, 被认为是一种行之有效的生物降解强化策略, 具有极大的应用潜力^[8]。Dewidar 和 Sorial^[9]在接种真菌的生物滴滤池中添加生物表面活性剂鼠李糖脂, 降低了表面张力并形成胶束, 提高了甲苯的扩散速率, 从而增强了气相甲苯的去除效果。此外, 鼠李糖脂在适当浓度下有利于微生物生长。Lamprea-Pineda 等^[10]在生物过滤反应器中添加表面活性剂皂苷, 强化了 2 种疏水性 VOC_s (环己烷和己烷混合物) 的生物降解效果, 发现环己烷和己烷在生物过滤器中的停留时间缩短, 去除率提高了 26%。这表明生物表面活性剂在增效去除疏水性 VOC_s 方面具有很好的潜力。与外源添加的人工合成化学表面活性剂可能带来的毒性相比, 利用微生物在降解疏水性 VOSC_s 的同时自产生物表面活性剂, 强化降解过程中疏水性 VOSC_s 的气液两相传质, 具有更低的生物毒性和更好的环境兼容性。尽管目前已有相关研究报道了 VOSC_s 降解菌种的筛选, 但对于以 VOSC_s 为唯一营养源, 兼具降解和自产生物表面活性剂能力的菌种筛选, 相关研究仍较为缺乏。

本研究针对生物降解疏水性 VOSC_s 过程中存在的问题, 以典型的含硫恶臭污染物 DMDS 为目标污染物, 以海南省海口市东寨港红树林湿地的底泥为筛选菌源, 从中筛选兼具降解 DMDS 能力以及分泌生物表面活性剂能力的功

能性菌株。通过 16S rRNA 基因测序和生理生化性质鉴定菌株的属性, 并采用乳化实验和核磁共振分析手段明确了所产生物表面活性剂的种类。结合气相色谱质谱(GC/MS)分析降解过程中生成的中间产物, 提出可能的生物降解机理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源

海南省海口市东寨港红树林湿地的底泥作为筛选 DMDS 降解菌株的菌源。

1.1.2 培养基

LB 培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, 牛肉膏 3.0, 氯化钠 5.0。亚甲基蓝培养基(g/L): 蛋白胨 5.000, 酵母提取物 0.200, 琼脂 18.000, 葡萄糖 20.000, 牛肉提取物 1.000, 亚甲基蓝 0.005, 十六烷基三甲基溴化铵 0.200。血琼脂平板培养基购自广东环凯生物科技有限公司。无机盐培养基 MSM(g/L): $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1.20, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.20, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, KH_2PO_4 1.20, NH_4Cl 0.40, 微量元素液 1.00 mL。微量元素液组成(g/L): $CaCl_2$ 0.200, H_3BO_3 0.006, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.090, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.100, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.200, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.120, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.200。

1.2 兼具 DMDS 降解和自产生物表面活性剂菌株的筛选

将 10 mL 新鲜红树林底泥样品接种到含 90 mL MSM 和 20.82 mg/L DMDS 的 650 mL 顶空瓶中, 35 °C、100 r/min 培养 5 d 进行 DMDS 降解菌的富集和筛选。将初步筛选的菌种培养物接种到血琼脂平板上, 在 35 °C 下进一步培养 2-3 d, 通过观察平板上菌落的均匀性和差异, 挑取单个菌落进一步涂布在亚甲基蓝平板上, 在 35 °C 下培养 2-3 d 分离出能在血琼脂平板和亚甲基蓝平板上生长的细菌菌株。最后, 将得到的菌落重新接种到 LB 培养基中, 35 °C、100 r/min 培养 24 h。培养完成后, 将细胞悬液

在常温 10 000×g 离心 2 min, 取湿基固体菌株接种到 100 mL 含有 12.49 mg/L DMDS 的 MSM 液体培养基中, 35 °C、100 r/min 继续驯化和筛选。通过在血琼脂平板、亚甲基蓝平板、LB 培养基和 MSM 液体培养基中进行多轮培养驯化和分离, 最终得到能够以 DMDS 为唯一营养源进行生长的菌种, 命名为菌株 R1。

1.3 菌种鉴定

菌株 R1 的生理生化性质鉴定和分子生物学检测由广东省微生物分析检测中心完成。菌种同源性分析: 通过 BLAST 程序, 将菌株 R1 的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中已登录的微生物菌种序列进行同源性比较。利用开源软件 MEGA 11, 采用邻接法构建系统发育树, Bootstrap 值为 1 000 次重复。

1.4 生物降解 DMDS 性能研究

从平板上挑取已经分离好的菌种置于灭菌的 LB 培养基中培养 24 h。培养液在 10 000×g 下离心 2 min, 沉淀物用浓度为 8% 的灭菌无机盐溶液洗涤后再离心, 重复洗涤离心 3 次, 去除 LB 培养基并获得菌体。在顶空瓶中依次加入 100 mL 灭菌处理的 MSM 培养基溶液和适量菌体配制成菌悬液, 并用带聚四氟乙烯垫片的顶空瓶盖密封。利用精密液体取样针准确移取适量液体 DMDS, 并快速注入到顶空反应器的内壁上, 液体迅速挥发成 DMDS 气体。采用公式(1)计算气相中 DMDS 的初始浓度。

$$C_0 = \frac{\rho V_1}{V_0} \quad (1)$$

式中: C_0 为 DMDS 的初始浓度(mg/L); ρ 为 DMDS 的密度(1.062×10^6 mg/L); V_1 为注入液体 DMDS 的体积(L); V_0 为反应器内的气相体积(0.550 L)。

通过改变注入液体 DMDS 的体积, 调控顶空瓶内气态 DMDS 的初始浓度分别为 4.16、8.33、12.49、16.66 和 20.82 mg/L, 研究 DMDS 初始浓度对菌种降解性能的影响。同时, 按照相同的步骤, 将含有 100 mL MSM 培养基和

12.49 mg/L 气态 DMDS 的顶空瓶分别在不同温度(25、30、35 和 40 °C)和不同湿基生物量(0.6、1.0、1.4、1.8 和 2.2 g/L)下进行培养, 定时取样分析气相和液相中 DMDS 的浓度, 并计算 DMDS 的降解率。

气相中 DMDS 的检测方法: 采用 500 μ L 气密针(Agilent 公司), 抽取顶空瓶上方的气体 200 μ L, 注入配备 FID 检测器及 HP-5 MS 毛细管柱的气相色谱仪(上海天美科学仪器有限公司)进行检测分析。检测条件为: 进样器温度 180 °C, 色谱柱温度 60 °C, 检测器温度 220 °C。液相中 DMDS 的检测方法: 从顶空瓶内抽取 0.5 mL 液体培养基, 注入含有 1 mL 二氯甲烷的色谱进样瓶进行原位萃取, 取 1 μ L 萃取液注入配有 HP-5 MS 毛细管柱的气相色谱质谱联用仪(Agilent Technologies 公司)进行检测分析。检测条件: 色谱柱温度 100 °C, 质谱检测器温度 230 °C, 进样器温度 200 °C。

DMDS 的生物降解率计算如公式(2)所示。

$$\text{降解率} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_0 和 C 分别为 DMDS 的初始浓度和剩余浓度(mg/L)。

1.5 乳化能力的测定

以花生油为模拟油相, 以溶于液体培养基中的自产表面活性剂为乳化剂, 通过计算乳化指数(E_{24})评估菌种自产表面活性剂的能力^[11]。具体操作方法为: 菌株 R1 在含有气态 DMDS (12.49、16.66 和 20.82 mg/L)作为唯一碳源的 100 mL MSM 培养基中进行培养。待 DMDS 完全降解后 10 000×g 离心 2 min, 获得含表面活性剂的无细胞上清液。取 3 mL 花生油加入试管中, 加入等量的无细胞上清液于同一试管, 振荡 1 min。制备的乳液在常温下沉降 24 h, 观察并记录乳化的高度, 乳化指数计算如公式(3)所示^[12]。

$$\text{乳化指数}(E_{24}) = \frac{H_c}{H_T} \times 100\% \quad (3)$$

式中: H_e 表示乳化层的高度(cm); H_T 表示溶液的总高度(cm)。

1.6 生物表面活性剂的种类鉴定

将 1 mL DMDS 加入含有菌株 R1 溶液的 100 mL MSM 培养基顶空瓶中, 并将顶空瓶在 30 °C、100 r/min 下培养 14 d。用 6 mol/L 盐酸将菌液离心后所得无细胞上清液的 pH 值调整到 2.0, 4 °C 静置 24 h。利用等体积的乙酸乙酯萃取沉积物, 重复 3 次, 并在 40 °C 的旋转蒸发仪中蒸发除去有机相中的乙酸乙酯以提取纯生物表面活性剂。收集有机相约 1 mL, 使用核磁共振波谱仪(NMR, Bruker BioSpin AG 公司)分析生物表面活性剂的组成, 频率为 400 MHz, 溶剂为氘代甲醇(CD_3OD)。利用傅里叶变换红外光谱(FT-IR, Bruker 公司)分析生物表面活性剂的化学基团。

1.7 降解中间产物和代谢终产物的测定

将菌株 R1 接种于 LB 培养基中, 30 °C、100 r/min 培养 24 h。培养液在常温下 10 000×g 离心 2 min 后, 用 MSM 培养基洗净细菌菌体, 并将其转移到含有 100 mL MSM 培养基的 650 mL 顶空瓶中, 注入 1 mL DMDS, 并在摇床转速 100 r/min、温度 30 °C、pH 7.0 条件下培养 10 d。10 d 后 10 000×g 离心 2 min 收集无细胞上清液, 用等体积的乙酸乙酯进行提取, 再用旋转蒸发仪将有机相浓缩至 1 mL。通过气相色谱质谱法测定 DMDS 的降解产物。气相色谱质谱仪的柱箱温度从 40 °C 以 5 °C/min 的速率逐渐升温至 100 °C, 进样器温度设置为 200 °C, 检测器温度设置为 230 °C。所有中间产物的化学结构均通过质谱分析获得。

通过离子色谱对 S 元素降解终产物 SO_4^{2-} 进行定量分析测定。将菌株 R1 在 LB 培养基中富集培养 24 h, 10 000×g 离心 2 min 后用无机盐溶液洗净菌体同样条件再次离心后将其转移到含有 100 mL MSM 培养基的顶空瓶中, DMDS 浓度设置为 16.66 mg/L, 并在 30 °C、pH 7.0 条件

下分别培养 3、5、10 d。以 10 000×g 离心 2 min 收集无细胞上清液 5 mL, 依次经过 C18 柱和 0.22 μm 针筒式滤膜过滤器过滤处理后, 收集 1 mL 滤液, 注入离子色谱(Dionex 公司)进行浓度检测。分析条件: 淋洗液为 15 mmol/L KOH, 流速为 0.6 mL/min, 色谱柱为 SH-AP-1。

采用矿化率评估菌株 R1 生物降解 DMDS 生成 CO_2 的能力, 计算如公式(4)所示。气相中 CO_2 浓度的检测方法: 采用气密针(Agilent 公司)抽取顶空瓶上方的气体 200 μL, 注入配备镍转化炉的气相色谱仪(浙江福立分析仪器有限公司)分析气相中 CO_2 浓度。检测条件为: 进样器温度 180 °C, 色谱柱温度 80 °C, FID 检测器温度 200 °C, 镍转化炉温度 350 °C, 色谱柱为 HP-5 MS 毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)。

$$\text{矿化率} = \frac{C_A}{C_T} \times 100\% \quad (4)$$

式中: C_A 为菌株 R1 生物降解 DMDS 实际生成 CO_2 的量(mg/L); C_T 为 DMDS 完全降解后理论上生成的 CO_2 量(mg/L)。

2 结果与分析

2.1 菌株的鉴定和表征

菌株 R1 在营养琼脂平板上恒温培养 2 d 后(图 1A), 菌落呈圆形, 凸起, 表面光滑, 边缘整齐。菌株 R1 可以在血琼脂平板(图 1B)和亚甲基蓝平板(图 1C)上生长, 并表现出表面湿润、光滑、透明、微隆起、边缘较整齐、胶状、黏性强的特征。菌株 R1 革兰氏染色结果为红色(图 1D), 说明其为革兰氏阴性菌。采用扫描电子显微镜进行形态学观察, 发现菌株 R1 呈短杆状、表面光滑(图 1E、1F)。结合表 1 所示的生理和生化特性, 菌株 R1 是一株革兰氏阴性兼性厌氧菌, 糖利用试验均呈阳性。

在 GenBank 中将菌株 R1 的 16S rRNA 基因测序序列与已知菌种序列比对, 并构建系统发育树, 结果如图 2 所示。菌株 R1 与木糖氧化无色杆菌(*Achromobacter xylosoxidans*)具有最高的

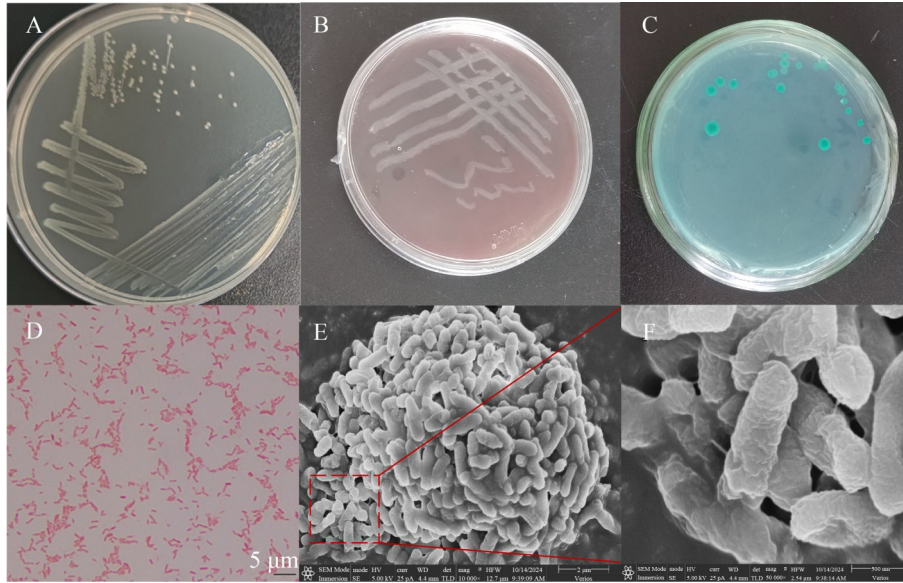


图1 菌株R1的形态特征。A-C: 菌落形态图; D: 革兰氏染色图; E-F: 扫描电镜图(E为放大10 000倍, F为放大50 000倍)。

Figure 1 Morphological characteristics of strain R1. A - C: Colony morphology; D: Gram staining; E - F: Scanning electron microscopy image (E: 10 000 \times ; F: 50 000 \times).

表1 生理生化特性

Table 1 Physiological and biochemical characteristics

| Physiological and biochemical experiments | Results |
|---|---------|
| Enzyme | + |
| Oxidase | + |
| Anaerobic growth | - |
| Nitrate reduction | + |
| Utilization of citrate | + |
| Urease | - |
| Gelatin liquefaction | - |
| Hemolysis | - |
| Lysine decarboxylase | - |
| Arginine dihydrolase | - |
| Glucose fermentation | + |
| Galactose fermentation | + |
| Mannose fermentation | + |

+: Positive; -: Negative.

相似性, 相似度达 100%, 说明菌株 R1 属于无色杆菌属(*Achromobacter* sp.), 该菌株 R1 在广东省微生物菌种保藏中心的保藏号为 3GDMCC. NO 65642。

2.2 DMDS 降解条件优化

2.2.1 DMDS 初始浓度的影响

DMDS 初始浓度对菌株 R1 降解效果的影响如图 3 所示。随着 DMDS 初始浓度从 4.16 mg/L 增加到 20.82 mg/L, 气相(图 3A)和液相(图 3B)中 DMDS 的浓度逐渐增加, 总的 DMDS 降解率逐渐下降(图 3C), 而 DMDS 的矿化率提高(图 3D), 表明初始浓度显著影响微生物对 DMDS 的利用效率。生物降解效率在最初的 48 h 内迅速提高, 随后逐渐趋于平稳, 这与 Liang 等^[13]利用微生物降解 DMDS 的研究结果一致。液相中 DMDS 的残留量极少, 即使在 DMDS 浓度为 20.82 mg/L 时, 总降解率也达到了 60.33%。这表明菌株 R1 本身分泌的表面活性剂起到了一定作用, 使疏水性的 DMDS 能够更好地溶解于水中, 从而被细菌利用。

2.2.2 接种量的影响

菌株 R1 的添加量对 DMDS 去除效果的影响如图 4 所示。随着菌株 R1 添加量的增加,

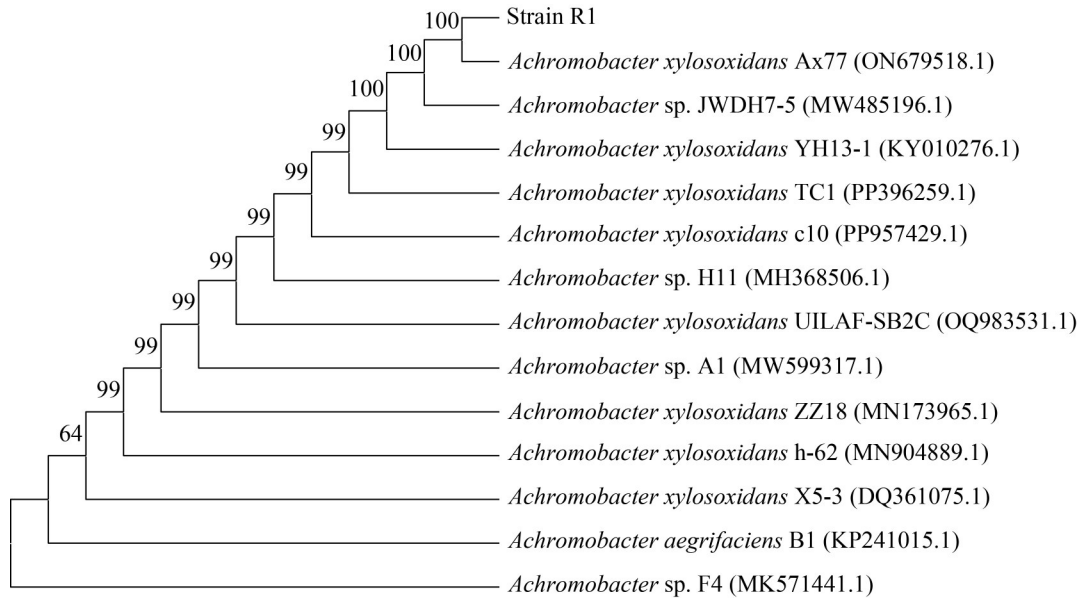


图2 菌株R1基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树。括号内为GenBank登录号；分支点显示了基于1 000次重复计算得出的Bootstrap值。

Figure 2 Phylogenetic tree of strain R1 based on 16S rRNA gene sequence. GenBank accession numbers are provided in parentheses. The Bootstrap value based on 1 000 repeated calculations are shown at the branch point.

对气相中 DMDS 的浓度变化不明显(图 4A), 而液相中 DMDS 的浓度呈现先降低后增加的变化趋势(图 4B)。菌种添加量对 DMDS 生物降解率的影响结果(图 4C)表明, 过高的菌种添加量并不会明显促进 DMDS 的生物降解。菌株 R1 添加量对 DMDS 矿化率的影响结果(图 4D)表明, 当 DMDS 作为唯一碳源时, 菌种生物量越大, DMDS 的矿化效果越明显。当菌株 R1 投加量过低时, 培养液中菌种数量较少, 导致菌种整体增殖缓慢。当菌种投加量过高时, 菌种会加快 DMDS 的分解代谢并促进代谢产物的累积, 导致菌种后期生长所需的营养缺乏。在这种情况下, 局部环境中会产生菌株之间的竞争作用, 从而抑制生物活性并影响 DMDS 的生物降解率。这一结果与其他研究者关于菌种添加量对不同污染物生物降解效果的研究结果一致^[14-15]。因此, 后续研究中采用 1.0 g/L 的菌种接种量。

2.2.3 温度的影响

在 DMDS 浓度为 12.49 mg/L、pH 7.0 和生物量 1.0 g/L 的条件下, 研究了体系温度变化对菌株 R1 降解 DMDS 效率的影响(图 5)。当温度在 25–35 °C 范围内时, 温度升高对气相和液相中 DMDS 浓度的变化影响显著, 对降解率的增加具有一定的促进作用, 总降解率分别为 51.72%、70.74% 和 70.31%, 说明温度的提高有利于微生物活性的增加。然而, 当温度升高至 40 °C 时, DMDS 降解率降低至 51.08%。这表明过高或过低的温度都会对微生物的生长和活性产生抑制作用, 进而抑制生物降解活性。从上述结果可以看出, 在 pH 7.0、100 r/min、生物量 1.0 g/L 和 DMDS 浓度 12.49 mg/L 的条件下, 菌株 R1 去除 DMDS 的最佳温度为 30 °C。这主要是因为微生物对温度较为敏感, 在较低或较高的温度下对 DMDS 的去除能力均较差^[16]。

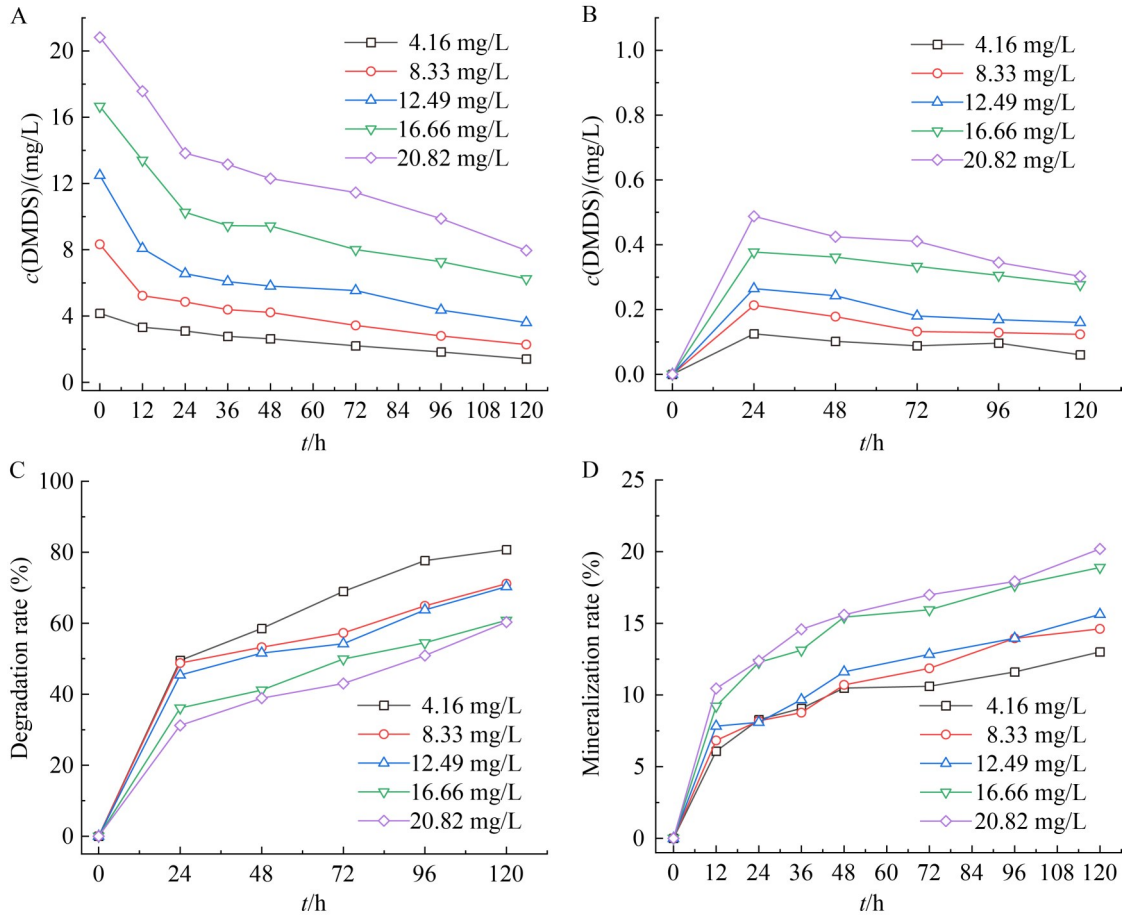


图3 DMDS初始浓度对降解效果的影响。 A: 气相中DMDS浓度; B: 液相中DMDS浓度; C: DMDS降解率; D: DMDS矿化率。降解条件: 接种量1.0 g/L, 35 °C。

Figure 3 Effect of initial DMDS concentration on biodegradation performance. A: DMDS concentration in gas phase; B: DMDS concentration in liquid phase; C: Degradation rate; D: DMDS mineralization rate. Degradation conditions: Inoculation amount 1.0 g/L, 35 °C.

2.3 表面活性剂的鉴定

采用乳化指数对菌株 R1 降解 DMDS 过程中产表面活性剂的能力进行了分析, 结果如图 6 所示。在降解时间达到 5 d 时, DMDS 浓度为 12.49、16.66 和 20.82 mg/L 时的乳化能力分别为 36.58%、34.06% 和 31.74%。DMDS 完全降解后, 乳化能力有一定提高, 分别为 38.37%、36.84% 和 34.29%。在 DMDS 的生物降解过程中, 乳化指数在 DMDS 浓度为 12.49 mg/L 时达到最佳。DMDS 降解完成后, 乳化指数达到最大值, 说明在 DMDS 降解过程中, 生物表

面活性剂的含量逐渐增加。因此在生物利用 DMDS 的过程中, 适当浓度的 DMDS 促进了菌株 R1 表面活性剂的产生, 同时提高了 DMDS 的生物利用率, 从而加快了 DMDS 的降解速率。

菌株 R1 自产生物表面活性剂的 FT-IR 和 ^1H NMR 表征结果如图 7 所示。图 7A 为自产生物表面活性剂样品的 FT-IR 光谱图。-OH 的振动特征峰出现在 3444 cm^{-1} 和 3461 cm^{-1} , 证实了羟基的存在。 $2848\text{--}2995\text{ cm}^{-1}$ 处的双带归属于脂肪族群的 C-H 拉伸振动。 $1756\text{--}1758\text{ cm}^{-1}$ 处

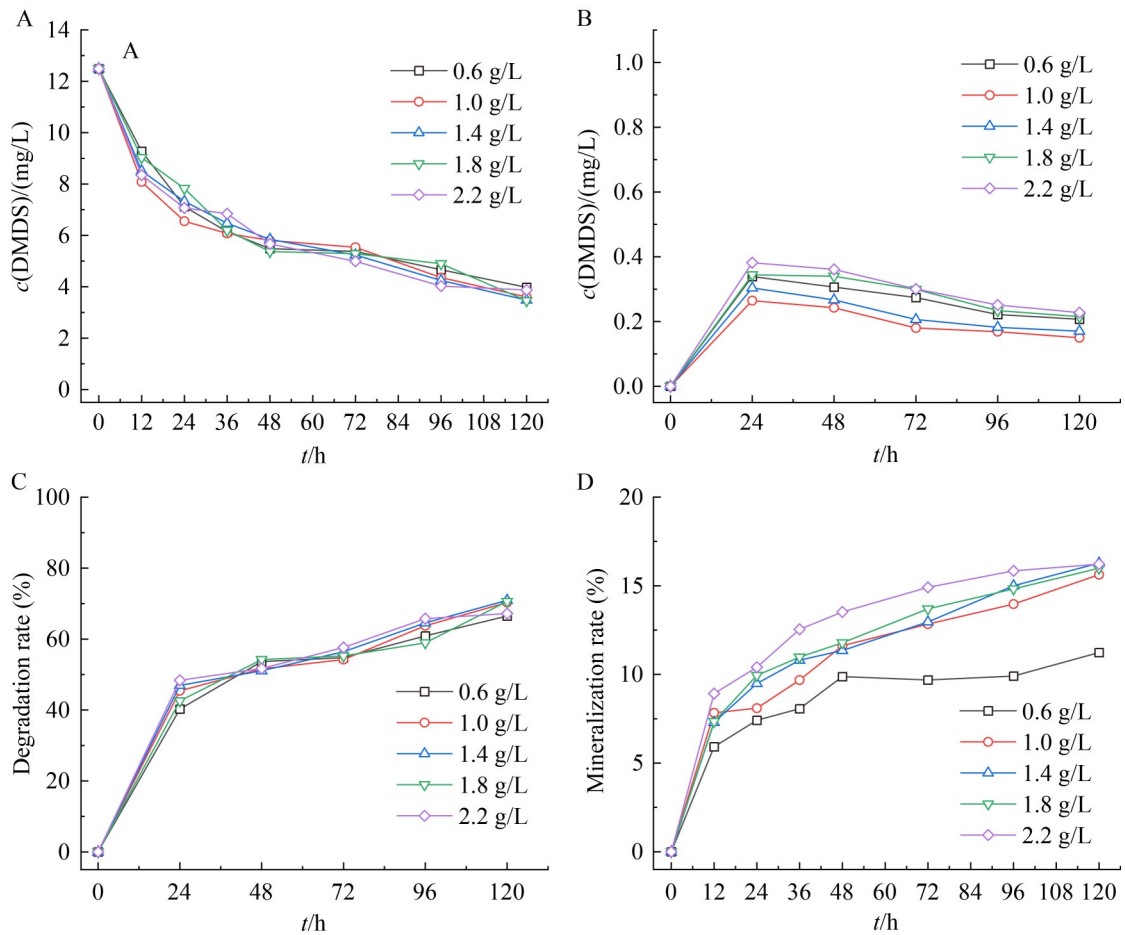


图4 菌株R1添加量对DMDS降解效果的影响。A: 气相中DMDS浓度; B: 液相中DMDS浓度; C: DMDS降解率; D: DMDS矿化率。降解条件: DMDS 12.49 mg/L, 35 °C。

Figure 4 Effect of inoculation amount of strain R1 on DMDS biodegradation performance. A: DMDS concentration in gas phase; B: DMDS concentration in liquid phase; C: Degradation rate; D: DMDS mineralization rate. Degradation conditions: DMDS 12.49 mg/L, 35 °C.

的特征峰对应酯基和羧酸基团的 C=O 拉伸键。1 245–1 379 cm^{-1} 之间的波段是碳水化合物 C-H 和 O-H 振动的典型特征，通常为鼠李糖单元^[17]。1 054–1 056 cm^{-1} 的峰是最重要的特征峰，它们直接指示了糖苷键中的 C-O 和 C-O-C 的存在。同时，将自产生物表面活性剂的 FT-IR 谱图与典型生物表面活性剂(图 7B)进行对比分析，结果表明菌株 R1 利用 DMDS 自产的生物表面活性剂与鼠李糖脂的表征结果高度相似，证明该菌株产生的生物表面活性剂为糖脂类。

此外，根据 ^1H NMR 波谱进一步分析了菌

株 R1 自产的生物表面活性剂的类型，并将其与鼠李糖脂的 ^1H NMR 光谱进行比较，结果如图 7C 和图 7D 所示。化学位移在 3.3 ppm 的峰是由 CD_3OD 溶剂引起的。 ^1H NMR 谱图显示，信号分别归属于脂质(脂肪酸)和糖(碳水化合物)部分^[18]。脂肪酸官能团 $-(\text{CH}_2)_n$ 和 $-\text{C}-\text{OH}$ 基团分别位于化学位移 1.22–1.26 ppm 处和 2.01–2.17 ppm 范围^[19]。关键的指示峰出现在化学位移 3.5–5.2 ppm 处，表明存在糖苷键，信号显示存在糖分子的糖苷键^[20]。因此，可进一步判断菌株 R1 自产的生物表面活性剂为糖脂类。

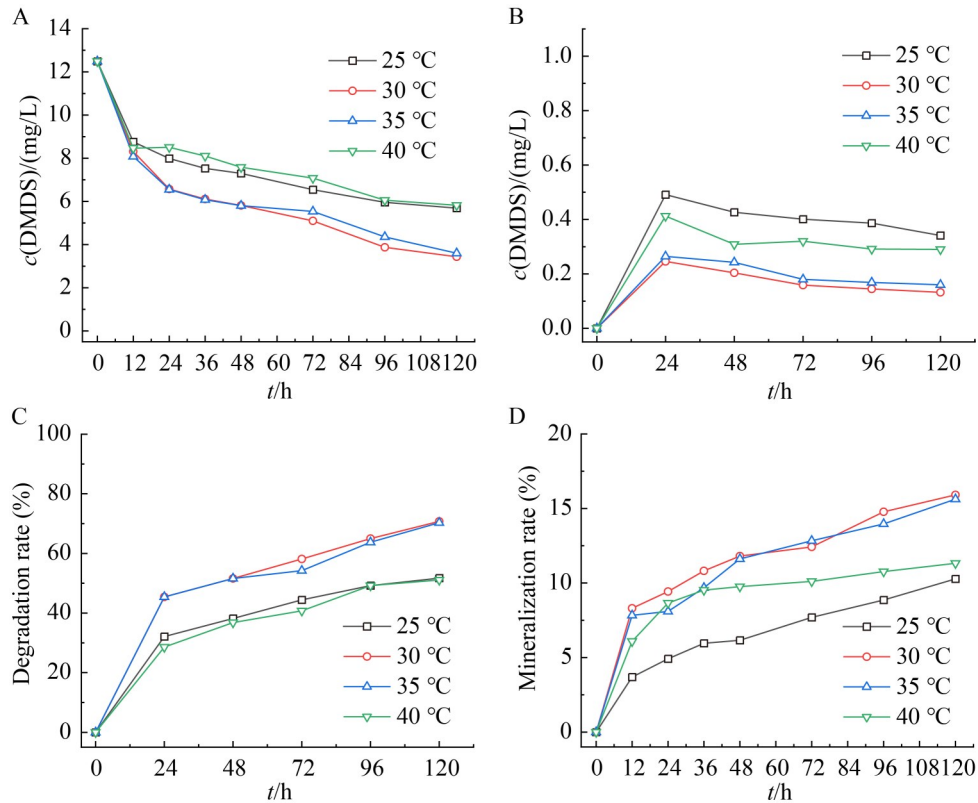


图5 体系温度对DMDS降解效果的影响。A: 气相中DMDS浓度; B: 液相中DMDS浓度; C: DMDS降解率; D: DMDS矿化率。降解条件: DMDS 12.49 mg/L, 接种量1.0 g/L。

Figure 5 Effect of temperature on DMDS biodegradation performance. A: DMDS concentration in gas phase; B: DMDS concentration in liquid phase; C: Degradation rate; D: DMDS mineralization rate. Degradation conditions: DMDS 12.49 mg/L, inoculation amount 1.0 g/L.

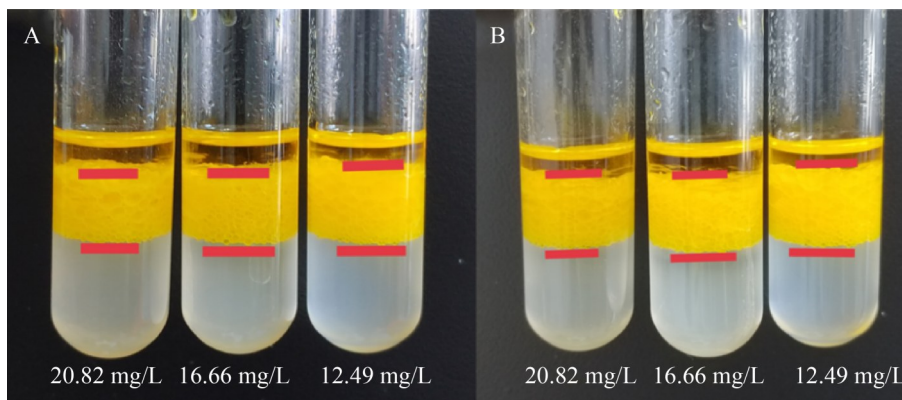


图6 DMDS浓度对菌株R1自产生物表面活性剂能力的影响。A: 降解时间第5天; B: 完全降解。

Figure 6 Effect of DMDS concentration on emulsifying ability of biosurfactant produced by strain R1. A: Degradation time 5 days; B: Complete degradation.

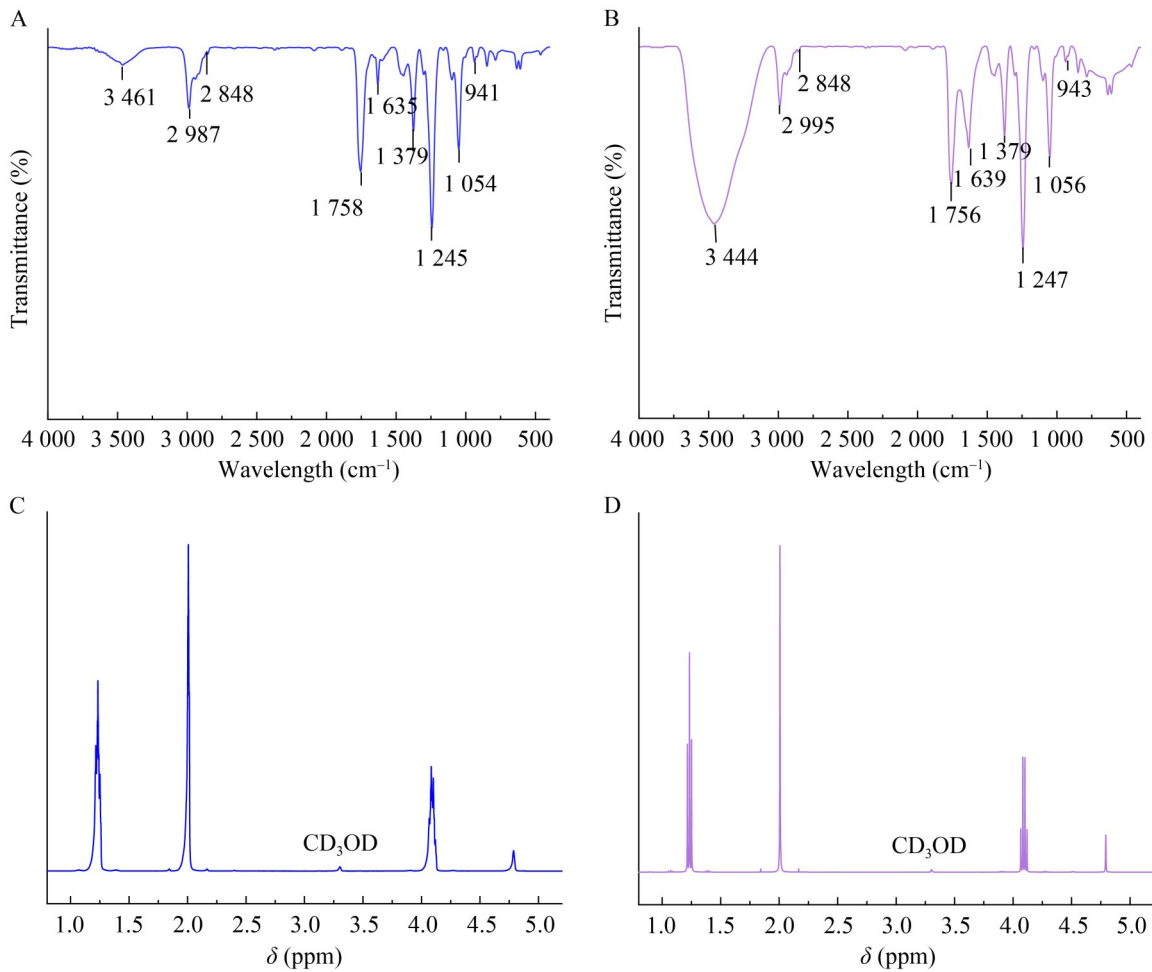


图7 FT-IR光谱和核磁共振波谱。A: 菌株R1分泌的表面活性剂的FT-IR光谱; B: 鼠李糖脂的FT-IR光谱; C: 菌株R1分泌的生物表面活性剂的核磁共振波谱; D: 鼠李糖脂的核磁共振波谱。

Figure 7 FT-IR spectra and nuclear magnetic resonance spectroscopy. A: FT-IR spectra of biosurfactants secreted by strain R1; B: FT-IR spectra of rhamnolipid; C: Nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR) of biosurfactants secreted by strain R1; D: Nuclear magnetic resonance spectroscopy of rhamnolipid.

2.4 DMDS 的降解机理

采用 GC/MS 测定 DMDS 降解过程中生成的中间产物，结果发现菌株 R1 降解 DMDS 过程中共检出 2 个中间产物：二甲硫基甲烷(S1)和甲硫醇(S2) (图 8)。根据检测到的中间产物种类并结合相关文献，推测 DMDS 的可能生物降解途径如图 9 所示。途径 1：DMDS 先在还原酶的作用下被还原为甲硫醇，甲硫醇在氧化酶作用下逐渐被氧化、裂解，最终转化为 CO₂、SO₄²⁻和 H₂O^[21-22]；途径 2：DMDS 先转化生成二甲硫

基甲烷并最终转化为无机产物 CO₂、SO₄²⁻和 H₂O。

2.5 代谢终产物的测定

利用离子色谱检测菌株 R1 降解 DMDS 生成硫酸根的累积量，结果如图 10 所示。初始 DMDS 的浓度为 16.66 mg/L，待 DMDS 完全降解后，理论上所有的硫元素都应该转化为 SO₄²⁻^[23]。DMDS 的含硫量为 53.3%，因此 16.66 mg/L 的 DMDS 应转化生成 8.704 mg/L 的硫酸根。离子色谱检测到硫酸根离子的浓度为

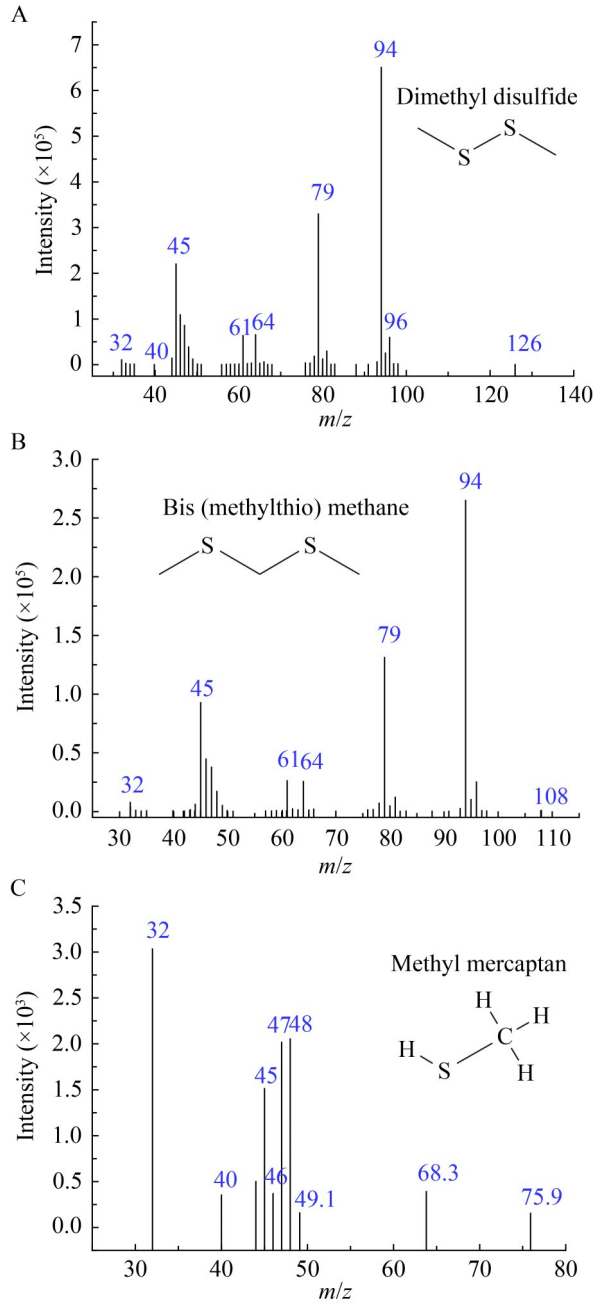


图8 DMDS和中间产物的质谱图。A: 二甲基二硫醚; B: 二甲硫基甲烷; C: 甲硫醇。

Figure 8 Mass spectra of DMDS and intermediates. A: Dimethyl disulfide; B: Bis (methylthio) methane; C: Methyl mercaptan.

5.86 mg/L, 因此 DMDS 完全降解转化生成硫酸根的转化率为 65.99%。随着 DMDS 的降解, SO_4^{2-} 浓度不断增加, 但 SO_4^{2-} 的产生与 DMDS

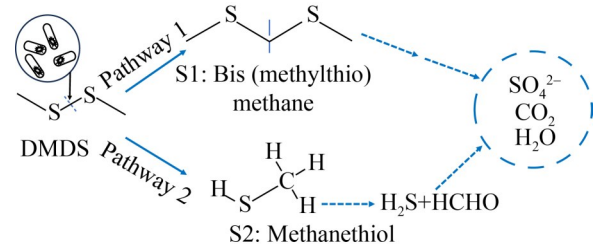


图9 生物降解DMDS的可能途径。

Figure 9 Possible degradation pathways of DMDS.

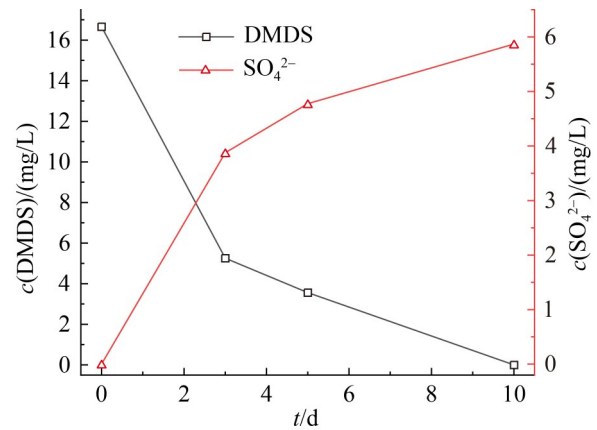


图10 DMDS浓度变化与 SO_4^{2-} 累积量的关系。

Figure 10 The relationship between the changes in DMDS concentration and the accumulation of SO_4^{2-} concentration.

降解之间存在一段延滞期, 这是因为 DMDS 首先被降解为中间产物。在 12 h 内可检测到甲硫醇, 随后才被彻底降解为无机物^[24]。

3 讨论

目前, 利用微生物体系降解 VOCs 污染物已有相关报道^[25], 但关于微生物自身分泌表面活性剂降解 DMDS 的研究较少。本研究从东寨港红树林底泥中分离到一株可以高效降解 DMDS 且兼具自产表面活性剂功能的菌株 R1, 并在 GenBank 中将菌株 R1 的 16S rRNA 基因测序与已知菌种序列比对并构建系统发育树, 发现菌株 R1 与木糖氧化无色杆菌 (*Achromobacter* sp.) 具有最高相似性(100%), 表

明菌株 R1 为木糖氧化无色杆菌。在体系温度 30 °C 和 pH 7.0 的条件下, 经过 120 h 降解后, 12.49 mg/L DMDS 的降解率达到 70.74%。Liang 等^[13]利用蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) GIGAN2 开展生物降解 10 mg/L 气态 DMDS 的研究, 96 h 后去除率可达 100%, 但生成了二甲基硫和二甲基三硫等中间产物。丁军等^[16]利用 DMDS 降解菌芽孢杆菌属(*Bacillus* Cohn) SZT-1, 在 DMDS 初始浓度为 250 mg/L、温度为 30 °C、pH 5.0 的条件下, 通过添加淀粉和蛋白胨作为额外的碳源和氮源辅助 DMDS 的生物利用, 经过 86.6 h 对 DMDS 的降解率达到 50%, 但并未对生物降解 DMDS 的机制进行阐明。

目前已有研究报道, 添加表面活性剂可提高生物处理疏水性 VOCs 的生物利用度。表面活性剂因其具有提高溶解度、降低表面张力、润湿能力及发泡能力等特性而被广泛应用。Li 等^[26]报道称, 在生物滴滤器降解八甲基环四硅氧烷(D4)的过程中, 发现铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) S240 产生的生物表面活性剂鼠李糖脂是改善去除 D4 的主要因素。Tu 等^[27]报道, 生物表面活性剂皂苷可有效增强正己烷的去除效率, 并降低生物质在生物滴滤池中的生物量积累速率, 表明使用生物表面活性剂能够提高生物处理疏水性 VOCs 的去除效率。然而, DMDS 是一种疏水性 VOCs, 其溶解度较低, 对细菌种类的毒性较高, 且对人体危害较大。本研究表明, 微生物菌株 R1 不仅可以高效降解 DMDS, 还兼具自产生物表面活性剂的功能。通过乳化能力测定、¹H NMR 和 FT-IR 分析, 结果表明菌株 R1 利用 DMDS 自产的生物表面活性剂与鼠李糖脂的表征结果高度相似, 证明该菌株产生的生物表面活性剂为糖脂类。这一结果与 Moura 等^[28]利用铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*) LBI 2A1 分泌的生物表面活性剂种类相似。

Zheng 等^[29]研究表明甲硫醇是 DMDS 降解的主要中间产物。本研究通过 GC/MS 验证, 菌株 R1 降解 DMDS 的中间产物为二甲硫基甲烷和甲硫醇, 推测可能存在 2 条降解途径, 待甲硫醇持续矿化后最终生成硫酸根沉淀及其他无机物, 硫元素的转化率为 65.99%。硫元素的分析尚未达到平衡, 但大部分硫元素已转化为 SO_4^{2-} 。Zhao 等^[30]研究发现, 在微生物燃料电池降解 DMDS 时, DMDS 中 68.5% 的硫元素转化为 SO_4^{2-} , 0.08% 转化为 S^{2-} (或 HS^- 、 H_2S), 0.7% 转化为 S^0 。这些结果表明菌株 R1 在降解 DMDS 方面具有较大潜力。

4 结论

从东寨港红树林底泥中分离到一株可以高效降解 DMDS 且兼具自产表面活性剂的菌株 R1, 经 16S rRNA 基因鉴定该菌为木糖氧化无色杆菌。在降解时间为 120 h、温度为 30 °C、DMDS 浓度为 12.49 mg/L、湿基固体接种量为 1.0 g/L 的条件下, 菌株对 DMDS 的总降解率为 70.74%。经乳化能力测定, ¹H NMR 和 FT-IR 分析, 该菌株产生的生物表面活性剂类型为糖脂类。在不同 DMDS 浓度范围内, 该菌株表现出较好的降解能力和表面活性剂产生性能。经 GC/MS 验证, 主要降解中间产物为甲硫醇和二甲硫基甲烷, S 元素转化率为 65.99%。

作者贡献声明

吴江丽: 实验操作, 数据收集和处理, 论文撰写和修改; 孙蕾: 论文修改; 袁丹: 协助数据处理与分析; 万顺刚: 研究构思和设计, 论文审阅和修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 万顺刚, 李桂英, 安太成. 固定化微生物技术在大气恶臭污染物处理中应用研究进展[J]. 生态环境学报, 2011, 20(10): 1575-1584.
WAN SG, LI GY, AN TC. Recent advance in immobilized microorganisms' technology and its application in the treatment of atmospheric odorous pollutants[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(10): 1575-1584 (in Chinese).
- [2] GUTAROWSKA B, MATUSIAK K, BOROWSKI S, RAJKOWSKA A, BRYCKI B. Removal of odorous compounds from poultry manure by microorganisms on perlite-entonite carrier[J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, 141: 70-76.
- [3] 崔健, 李雨平, 缪恒锋, 阮文权, 潘杨. 黑臭水体中主要致嗅组分特征分析[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(10): 128-133.
CUI J, LI YP, MIAO HF, RUAN WQ, PAN Y. Characteristic analysis of odor-causing components in the black-odorous water[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 42(10): 128-133 (in Chinese).
- [4] 丁家正, 谢文玉, 王庆宏, 梁家豪, 谭湘, 李长刚, 陈晓青. 城镇污水处理厂挥发性硫化物的排放特征及控制技术研究进展[J]. 环境污染与防治, 2024, 46(12): 1822-1828.
DING JZ, XIE WY, WANG QH, LIANG JH, LI CG, CHEN XQ. Research progress on emission characteristics and control technologies of volatile sulfur compounds in municipal wastewater treatment plants[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2024, 46(12): 1822-1828 (in Chinese).
- [5] CHANG T, WANG Y, WANG YQ, ZHAO ZT, SHEN ZX, HUANG Y, VEERAPANDIAN SKP, GEYTER ND, WANG CY, CHEN QC, MORENT R. A critical review on plasma-catalytic removal of VOCs: catalyst development, process parameters and synergetic reaction mechanism[J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 828: 154290.
- [6] ZHANG Y, LIU J, XING HH, LI J. Effect of liquid supply on the performance of a fungal bio-trickling filter treating hydrophobic VOC[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2020, 161: 107658.
- [7] BANERJEE S, BEDICS A, TÓTH E, KRISZT B, SOARES A R, BÓKA K, TÁNCICS A. Isolation of *Pseudomonas aromaticivorans* sp. nov. from a hydrocarbon-contaminated groundwater capable of degrading benzene-, toluene-, m- and p-xylene under microaerobic conditions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 929128.
- [8] MILLER U, SÓWKA I, ADAMIAK W. The effect of betaine on the removal of toluene by biofiltration[J]. *SN Applied Sciences*, 2019, 1(9): 1-8.
- [9] DEWIDAR AA, SORIAL GA. Effect of rhamnolipids on the fungal elimination of toluene vapor in a biotrickling filter under stressed operational conditions[J]. *Environmental Research*, 2022, 204: 111973.
- [10] LAMPREA-PINEDA PA, DEMEESTERE K, GONZÁLEZ-CORTÉS JJ, BOON N, DEVLIEGHERE F, LANGENHOVE HV, WALGRAEVE C. Addition of (bio) surfactants in the biofiltration of hydrophobic volatile organic compounds in air[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 353: 120132.
- [11] LONG XW, HE N, HE YK, JIANG JJ, WU TY. Biosurfactant surfactin with pH-regulated emulsification activity for efficient oil separation when used as emulsifier[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 200-206.
- [12] NEHAL N, SINGH P. Role of nanotechnology for improving properties of biosurfactant from newly isolated bacterial strains from Rajasthan[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2022, 50: 2555-2561.
- [13] LIANG ZS, AN TC, LI GY, ZHANG ZY. Aerobic biodegradation of odorous dimethyl disulfide in aqueous medium by isolated *Bacillus cereus* GIGAN2 and identification of transformation intermediates[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 175: 563-568.
- [14] 王晓晗, 律泽, 张驰, 王宇佳, 吴雨阳, 姚思泉, 孙丽. 佳乐麝香降解菌的筛选、鉴定及降解特性研究[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(6): 128-139.
WANG XH, LV Z, ZHANG C, WANG JY, WU YY, YAO SQ, SUN L. Screening, identification and degradation characteristics of galaxolide degrading bacteria[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2024, 19(6): 128-139 (in Chinese).
- [15] 江懿枫, 刘冬啟, 程龙, 胡智泉. 一株新型四环素降解菌的分离鉴定及降解条件优化[J]. 环境污染与防治, 2024, 46(11): 1561-1566, 1574.
JIANG YF, LIU DQ, CHENG L, HU ZQ. Isolation, identification and degradation conditions optimization of a novel tetracycline degrading bacterium[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2024, 46(11): 1561-1566, 1574 (in Chinese).
- [16] 丁军, 吴洪生, 孙倩, 王娜, 程诚, 石陶然, Muhammad Faheem, 倪妮, 田伟, 吴云成, 单正军. 一株二甲基二硫醚降解菌的筛选、鉴定与降解性能[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(3): 622-630.
DING J, WU HS, SUN Q, WANG N, CHENG C, SHI TR, FAHEEM M, NI N, TIAN W, WU YC, SHAN ZJ. Screening, identification, and degradation performance of a dimethyl disulfide degrading strain[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(3): 622-630 (in Chinese).
- [17] LEITERMANN F, SYLDATK C, HAUSMANN R. Fast quantitative determination of microbial rhamnolipids from cultivation broths by ATR-FTIR Spectroscopy[J]. *Journal of Biological Engineering*, 2008, 2(1): 13.
- [18] WEI YH, CHOU CL, CHANG JS. Rhamnolipid production by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* J4 originating from petrochemical wastewater[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2005, 27(2): 146-154.
- [19] HAJFARAJOLLAH H, MOKHTARANI B, NOGHABI KA. Newly antibacterial and antiadhesive lipopeptide biosurfactant secreted by a probiotic strain, *Propionibacterium feudenreichii*[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 174(8): 2725-2740.
- [20] DIKIT P, MANEERAT S, SAIMMAI A. The effective emulsifying property of biosurfactant-producing

- Marinobacter hydrocarbonoclasticus* ST1 obtained from palm oil contaminated sites[J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2019, 55(6): 615-625.
- [21] 余鹏举, 曹先贺, 王宏志, 李少杰. 微生物在恶臭污染治理中的研究及应用[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(1): 165-179.
- YU PJ, CAO XH, WANG HZ, LI SJ. Microbial deodorization: mechanisms and application[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(1): 165-179 (in Chinese).
- [22] ARELLANO-GARCÍA L, le BORGNE S, REVAH S. Simultaneous treatment of dimethyl disulfide and hydrogen sulfide in an alkaline biotrickling filter[J]. *Chemosphere*, 2018, 191: 809-816.
- [23] DU WW, PARKER W. Modeling volatile organic sulfur compounds in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of methionine[J]. *Water Research*, 2012, 46(2): 539-546.
- [24] HAYES AC, ZHANG YF, LISS SN, GRANT ALLEN D. Linking performance to microbiology in biofilters treating dimethyl sulphide in the presence and absence of methanol[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(4): 1151-1166.
- [25] 李远啸, 郭斌, 刘烁. 微生物生物技术处理气态污染物的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(12): 3475-3482.
- LI YX, GUO B, LIU S. Recent progress and perspectives in biological treatment for gaseous pollutants[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(12): 3475-3482 (in Chinese).
- [26] LI YH, ZHANG WJ, XU J. Siloxanes removal from biogas by a lab-scale biotrickling filter inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* S240[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 275: 175-184.
- [27] TU YH, YANG CP, CHENG Y, ZENG GM, LU L, WANG L. Effect of saponins on n-hexane removal in biotrickling filters[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 175: 231-238.
- [28] MOURA CC, SALAZAR-BRYAM AM, PIAZZA RD, dos SANTOS CC, JAFELICCI M Jr, MARQUES RFC, CONTIERO J. Rhannolipids as green stabilizers of nZVI and application in the removal of nitrate from simulated groundwater[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 794460.
- [29] ZHENG XY, LI YY, XU JC, ZHANG QX, ZHANG YX. Characterization of three novel dimethyl disulfide degrading bacteria and their potential degradation pathways[J]. *Bioresource Technology*, 2025, 417: 131833.
- [30] ZHAO JK, GAO JL, JIN XY, YOU JP, FENG K, YE JX, CHEN JM, ZHANG SH. Superior dimethyl disulfide degradation in a microbial fuel cell: extracellular electron transfer and hybrid metabolism pathways[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 315: 120469.