

## 脂解麻疯树油脂肪酶产生菌的筛选鉴定及其催化特性

黄晶,袁丽红\*,孙镇

南京工业大学生物与制药工程学院,南京 210009

**摘要:**【目的】分离筛选具有脂解麻疯树油能力的脂肪酶产生菌株,为以麻疯树油为原料酶法生产生物柴油奠定基础。【方法】以麻疯树油为唯一碳源,从麻疯树种子粉末处理过的土壤中分离筛选出1株具有脂解麻疯树油能力的脂肪酶产生菌,考察该菌株及其脂肪酶对有机溶剂耐受性以及脂肪酶催化酯化和转酯反应的能力,并通过生理生化特征和16S rDNA序列分析鉴定目的菌株。【结果】菌株LP-2脂肪酶活性为3.03 U/mL,菌LP-2在5% (v/v)甲醇中相对生长量为87.3%,LP-2脂肪酶在10% (v/v)正己烷中相对酶活为80.9%,能够催化月桂酸、棕榈酸与正丁醇、正辛醇、月桂醇、丙三醇之间,硬脂酸与正辛醇、月桂醇、丙三醇之间,油酸与甲醇、正丁醇、正辛醇、月桂醇之间酯化反应,可以催化麻疯树油与甲醇进行转酯反应。鉴定结果表明,该菌株为表皮葡萄球菌,命名为表皮葡萄球菌LP-2 (*Staphylococcus epidermidis* LP-2)。【结论】*Staphylococcus epidermidis* LP-2脂肪酶具有脂解麻疯树油能力,可以催化酯化和转酯反应,具有酶法生产生物柴油的潜力。

**关键词:** 脂肪酶, 表皮葡萄球菌, 麻疯树油, 有机溶剂, 生物柴油

**中图分类号:** Q814   **文献标识码:** A   **文章编号:** 0001-6209 (2011) 04-0488-07

脂肪酶(Lipase, EC 3.1.1.3)又名三酰甘油酯水解酶,在油水界面能高效地催化三酰甘油酯的水解,在有机相中催化酯化及转酯等反应<sup>[1]</sup>,广泛应用于食品加工及风味改革、油脂水解、皮革绢纺原料脱脂、医药、化妆品、洗涤剂、造纸和生物能源等领域<sup>[2]</sup>。

随着能源危机愈演愈烈,生物柴油作为可再生的绿色能源得到人们的广泛关注。酶法制备生物柴油因具有反应条件温和、醇用量小、甘油易回收、无污染排放等优点,使其成为新能源开发的研究热点。用于制备生物柴油常用的原料主要有大豆油,菜籽油和废弃食用油等<sup>[3]</sup>,其制备成本的75%来自原料成本,因此,寻求价廉原料是降低生物柴油生产成本

的关键。在我国西部退耕还林工程中,大面积种植的麻疯树是生产生物柴油的理想原料<sup>[4]</sup>。但不同来源的脂肪酶底物专一性和催化特性不同,不同应用目的需要不同脂肪酶<sup>[5]</sup>。目前,有关脂解麻疯树油脂肪酶产生菌和以麻疯树油为原料制备生物柴油的脂肪酶尚少见报道。Shah等<sup>[6]</sup>报道了3种不同来源脂肪酶催化麻疯树油转酯反应,发现*Chromobacterium viscosum*脂肪酶具有催化麻疯树油转酯能力。周海霞等<sup>[7]</sup>从麻疯树油种子粉末预埋半年的土壤中分离出一株能脂解麻疯树油的假单胞菌(*Pseudomonas* sp. LP-1)。另外,酶法制备生物柴油的反应体系中,有机溶剂对菌体和脂肪酶的毒性容易使代谢功能或酶活受到抑制或失活<sup>[8,9]</sup>。因

**基金项目:**国家“973项目”——国家重点基础研究发展计划项目(2009CB724700)

\*通信作者。Tel: +86-25-83172082; E-mail:yuanlhong@163.com

**作者简介:**黄晶(1986-),男,江苏海安人,硕士研究生,研究方向微生物发酵。E-mail:david11th@163.com

**收稿日期:**2010-09-14; **修回日期:**2011-01-10

此,筛选和开发能脂解麻疯树油、耐有机溶剂、催化麻疯树油转酯的脂肪酶产生菌,对以麻疯树油为原料生产生物柴油具有重要的意义。本研究从以麻疯树种子粉末预处理1年的土壤中分离出1株具有脂解麻疯树油能力的脂肪酶产生菌株,并研究菌株对有机溶剂的耐受性和催化酯化及转酯反应的能力,为以麻疯树油为原料酶法生产生物柴油奠定一定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 土样:** 经过麻疯树种子粉末预埋一年的土壤。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** DNA Marker、rTaq 酶、dNTP 等购自 TaKaRa, 溶菌酶、琼脂糖、蛋白胨、有机醇和脂肪酸等购自国药集团, 棕榈酸月桂醇酯购自上海千为油脂科技有限公司, 2800UV/VIS 分光光度计(尤尼柯仪器有限公司); 5804R 冷冻离心机, Mastercycler gradient PCR 仪(Eppendorf AG, Hamburg, Germany); DYY-6C 电泳仪, DYCP-31C 水平电泳槽(北京六一仪器厂)。

**1.1.3 培养基:** 富集培养基(g/L): 酵母膏 2.0,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.0,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  3.0,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0, 麻疯树油 50 mL, pH 7.2; 分离培养基(g/L): 蛋白胨 5.0, 牛肉膏 3.0, 琼脂 15.0, 麻疯树油 20 mL, pH 7.2, 灭菌后乳化 30 min; 发酵培养基(g/L): 酵母膏 5.0,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5.0,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2.0,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5, NaCl 3.0, 麻疯树油 20 mL, pH 6.5; 种子培养基: LB 培养基; 酯化反应培养基(g/L): 蛋白胨 5.0, 牛肉膏 3.0, NaCl 4.0, 灭菌后冷却至 60℃, 加入 10 mL 1 mg/mL Rodanmin B 水溶液, 脂肪酸 0.05 mol/L, 有机醇 0.05 mol/L, 乳化 30 min。

### 1.2 脂肪酶产生菌的分离筛选

**1.2.1 富集培养:** 取 5 g 土样与 40 mL 无菌水混合, 180 r/min 振荡 30 min, 取 5 mL 上清液加到 50 mL 富集培养基中, 于 30℃, 180 r/min 条件下培养 48 h, 取 15 mL 转入 50 mL 新鲜富集培养基中, 连续转接 3 次。

**1.2.2 脂肪酶产生菌的分离:** 将富集培养的菌液适当稀释后涂布于分离培养基上, 35℃ 培养 48 h, 挑取水解圈较大的单菌落。

**1.2.3 摆瓶筛选:** 将平板分离得到的菌株接种到种

子培养基中培养过夜, 将种子液接种到发酵培养基中, 接种量为 5%, 于 35℃, 180 r/min 条件下培养 48 h, 测定脂肪酶脂解活性。

**1.2.4 脂肪酶脂解活性测定:** 采用醋酸铜比色法<sup>[10]</sup>。酶活单位定义为每分钟催化底物水解产生 1 μmol 脂肪酸为 1 个酶活单位(U)。以油酸为脂肪酸检测的标准品。

### 1.3 脂肪酶初步纯化

将发酵培养液在 4℃, 3000 × g 离心 15 min, 取上层清液, 向上层清液中缓缓加入研磨均匀的硫酸铵, 饱和度为 60%, 4℃ 静置 8 h, 在 12850 × g 下离心 15 min, 收集沉淀, 溶于 0.025 mol/L pH 7.5 磷酸缓冲液。考马斯亮蓝法测定蛋白质含量, 醋酸铜比色法测定脂肪酶酶活, 计算得比酶活为 14.3 U/mg, 纯化倍数为 1.36, 回收率为 95.6%。

### 1.4 菌体及脂肪酶对有机溶剂的耐受性

**1.4.1 菌体对有机溶剂耐受性检测**<sup>[11]</sup>: 将菌株接种到种子培养基培养过夜, 5% (v/v) 种子液转接到装有 20 mL LB 培养基的具塞三角瓶, 加 5% (v/v) 有机溶剂, 塞紧瓶塞并用封口膜封住, 35℃, 180 r/min 培养 48 h。培养液于分光光度计上测 OD<sub>600</sub>, 以不加有机溶剂的培养液为对照, 计算相对生长量。

**1.4.2 酶对有机溶剂耐受性:** 在初步纯化的酶液中加入 10% (v/v) 有机溶剂, 在 35℃, 180 r/min 条件下处理 48 h。以不加有机溶剂为对照, 检测相对酶活。

### 1.5 脂肪酶对不同油脂底物水解能力的比较

采用醋酸铜比色法, 选择橄榄油、麻疯树油、葵花籽油、大豆油、花生油为底物, 考察由麻疯树油和橄榄油诱导产生的脂肪酶对以上油脂的水解能力。以麻疯树油诱导产生的脂肪酶对麻疯树油的水解活性为 100%。

### 1.6 脂肪酶催化酯化及转酯反应

**1.6.1 脂肪酶催化酯化反应:** (1) 平板酯化反应<sup>[12]</sup>: 在酯化反应培养基平板上打孔, 直径为 6 mm, 将 100 μL 酶液加到孔中, 4℃ 过夜后于 35℃ 反应 24 h, 在紫外光下观察孔周围的变色情况。(2) 摆瓶酯化反应: 参照文献<sup>[13]</sup>, TLC 法检测酯化反应产物, 展开剂为氯仿: 醇: 乙酸(80: 10: 1)。

**1.6.2 脂肪酶催化转酯反应:** 将 0.5 g 麻疯树油和适量甲醇溶于 10 mL 正己烷中, 油醇摩尔比为 1: 4,

混合液置于 50 mL 具塞三角瓶中, 加 2 mL 脂肪酶, 40℃, 180 r/min 条件下反应 24 h, 取反应液离心分层, 上层液用 TLC 法检测, 以碱法催化的转酯产物为对照。硅胶 G 薄层色谱板, 展开剂为正己烷: 乙酸乙酯: 乙酸(90: 10: 1), 碘蒸气显色。

## 1.7 菌种鉴定

**1.7.1 形态学及生理生化鉴定:**参考《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[14]</sup>和《伯杰氏系统细菌学手册》<sup>[15]</sup>对菌株进行形态学观察和生理生化实验。

**1.7.2 分子鉴定:**细菌全基因组 DNA 的提取方法参照文献<sup>[16]</sup>。细菌 16S rDNA 序列的 PCR 扩增: 引物正向序列为 fD1 (5'-AGAGTTGATCCTGGCTC AG-3'), 反向序列为 rP2 (5'-ACGGCTACCTTG TTACGACTT-3')。反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 1 min 20 s, 30 个循环后, 72℃ 延伸 5 min<sup>[17]</sup>。PCR 产物经 1% 琼脂糖电泳分析, 由南京金斯瑞生物技术有限公司纯化和测序。将目的菌株 16S rDNA 测序结果在 NCBI 上进行 BLAST 对比分析, 利用 MEGA4.0 软件构建系统发育树图。

## 2 结果和讨论

### 2.1 产脂肪酶菌株的分离和筛选

经过麻疯树种子粉末预埋一年的土壤, 在富集培养基中富集 3 次后, 在以麻疯树油为唯一碳源的分离培养基上筛选到 36 株水解圈明显菌株。其中 7 株菌脂肪酶水解活性在 2.0 U/mL 以上, 尤其 LP-2 菌株的酶活最大, 为 3.03 U/mL。因此在以下实验中选择 LP-2 继续研究。

文献报道用于脂肪酶产生菌分离的培养基多为 Rodanmin B-橄榄油培养基<sup>[18]</sup>, 由于麻疯树油与橄榄油的脂肪酸组成有区别<sup>[4]</sup>, 以橄榄油为选择底物不能准确获得水解麻疯树油的脂肪酶产生菌, 因此

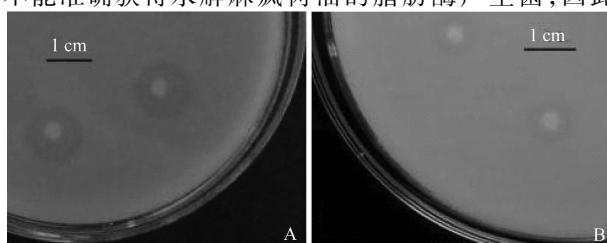


图 1 菌株 LP-2 在分离平板上产生的水解圈

Fig. 1 Formation of clearance zone on selective media by strain LP-2. A: Jatropha oil as carbon source; B: Olive oil as carbon source.

本研究以麻风树油作为分离筛选平板的唯一碳源(图 1)。

### 2.2 LP-2 菌的生长及产酶特征

图 2 为菌株 LP-2 发酵培养基中的生长和产酶情况, 菌体生物量在 56 h 左右达到最大, 随后生物量在一定时间内保持稳定, 64 h 后缓慢下降。在生长对数期, LP-2 脂肪酶活性随菌体生长量增加而增加, 发酵 48 h 酶活达到最高, 在 56 h 后酶活缓慢下降。

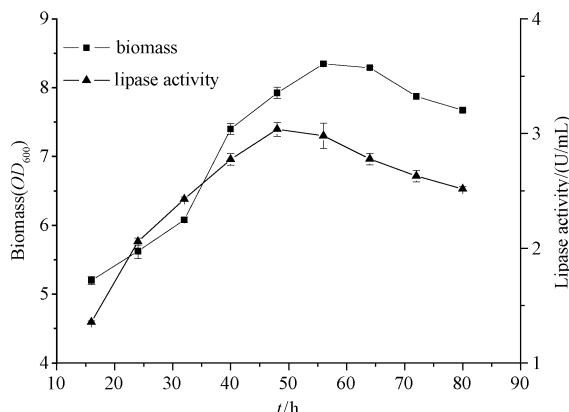


图 2 菌株 LP-2 生长和脂肪酶形成特征曲线

Fig. 2 Time courses of the growth and lipase production of strain LP-2.

### 2.3 LP-2 菌及其脂肪酶对有机溶剂的耐受性

酶法制备生物柴油工艺中, 多以正己烷或叔丁醇作为反应介质, 甲醇作为酰基受体。因此, 考察了菌 LP-2 及其脂肪酶对甲醇、叔丁醇、正己烷的耐受性。菌 LP-2 对甲醇的耐受性最高, 相对生长量为 87.3%, 其次是叔丁醇, 对正己烷的耐受性最低, 相对生长量仅为 31.6%。LP-2 脂肪酶对三种有机溶剂都有较高的耐受性, 其中对正己烷的耐受性最高, 相对酶活为 80.9%。

### 表 1 有机溶剂对菌 LP-2 及脂肪酶酶活的影响

Table 1 Effect of different organic solvents on strain LP-2 and LP-2 lipase

Organic solvents	Relative biomass(%) at concentration of 5%	Relative activity(%) at concentration of 10%
Control	100	100
Methanol	87.3	60.8
Tert-butanol	73.5	67.8
Hexane	31.6	80.9

### 2.4 LP-2 脂肪酶对不同油脂水解能力比较

图 3 显示, 由麻疯树油诱导产生的脂肪酶对麻

疯树油的水解能力较高,其次是花生油和大豆油,再其次是橄榄油和葵花籽油。而由橄榄油诱导产生的脂肪酶对油脂的水解能力由大到小依次为橄榄油、葵花籽油、麻疯树油、大豆油、花生油。对比后发现,以橄榄油或麻疯树油诱导产生的脂肪酶都对麻疯树油有很高的水解能力。此外,两种油脂诱导产生的脂肪酶对不同植物油脂水解能力具有一定差异,说明该菌株由不同诱导物诱导合成的脂肪酶具有不同催化水解性质,Helmy 等<sup>[19]</sup>报道培养基的营养物质影响合成的脂肪酶性质,袁丽红等<sup>[13]</sup>也报道了 *Pseudomonas sp.* X-2-45 由不同碳源诱导产生脂肪酶对不同油脂水解能力差异。对于 LP-2 菌由不同诱导物诱导产生的脂肪酶特性将有待进一步研究。

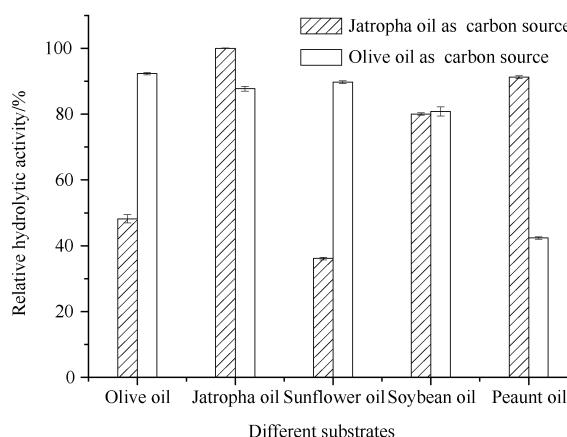


图 3 LP-2 脂肪酶对不同植物油脂水解能力

Fig. 3 Hydrolytic activity of LP-2 lipase toward different vegetable oils.

## 2.5 LP-2 脂肪酶催化酯化反应

平板酯化反应结果(表 2)表明,LP-2 脂肪酶能够催化月桂酸、棕榈酸与正丁醇、正辛醇、月桂醇、丙三醇之间,硬脂酸与正辛醇、月桂醇、丙三醇之间,油酸与甲醇、正丁醇、正辛醇、月桂醇之间酯化反应,尤其对正辛醇与油酸,月桂醇与棕榈酸、硬脂酸、油酸之间的酯化反应催化能力较强。图 4 为 LP-2 脂肪酶催化月桂醇与棕榈酸酯化反应平板结果。再将甲醇、月桂醇和四种脂肪酸在正己烷体系中进行酯化反应,结果发现在正己烷体系中,LP-2 脂肪酶也能催化甲醇与油酸,月桂醇与月桂酸、棕榈酸、硬脂酸和油酸间的酯化反应。图 5 为月桂醇与棕榈酸酯化反应产物 TLC 法检测结果,反应物样比底物样多出一个斑点,与棕榈酸月桂醇酯标准品对照,初步判断产物中有棕榈酸月桂醇酯的生成。Chang 等<sup>[20]</sup>曾

报道由表皮葡萄球菌产生的脂肪酶(M419A 和 V649I)催化不同链长的脂肪酸和有机醇酯化的反应,但两种脂肪酶不能催化乙醇与油酸酯化反应,且对催化甲醇与油酸的酯化反应没有研究。本研究中 LP-2 脂肪酶能够催化短链醇甲醇与油酸酯化反应。

表 2 菌株 LP-2 脂肪酶催化酯化反应

Table 2 Esterification catalyzed by LP-2 lipase

	Methanol	n-butanol	n-octanol	l-dodecanol	Glycerol
Lauric acid	-	+	+	+	+
Palmitic acid	-	+	+	++	+
Stearic acid	-	-	+	++	+
Oleic acid	+	+	++	++	-

Note: “-”, No dark halo; “+”, The diameter of dark halo is less than 10 mm; “++”, The diameter of dark halo is larger than 10 mm

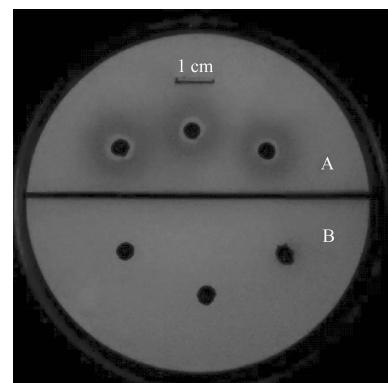


图 4 LP-2 脂肪酶在平板上催化月桂醇和棕榈酸酯化反应

Fig. 4 Esterification between dodecanol and palmitic acid catalyzed by LP-2 lipase. A :LP-2 lipase ; B :LP-2 lipase without activity.

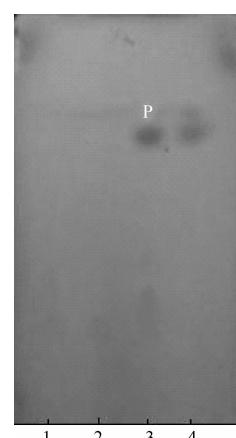


图 5 LP-2 脂肪酶催化酯化反应的薄层色谱分析

Fig. 5 TLC analysis of esterification catalyzed by LP-2 lipase. 1 : Palmitic acid; 2 :Dodecanol; 3 :Reaction product; 4 :Lauryl Palmitate P :Product of esterification.

Shah 等<sup>[6]</sup>研究了 3 种脂肪酶 (*Chromobacterium viscosum*, *Candida rugosa*, and *Porcine pancreas*) 催化麻疯树油转酯反应, 只有 *C. viscosum* 脂肪酶具有催化麻疯树油转酯能力。我们研究了 LP-2 脂肪酶催化麻疯树油与甲醇转酯, 从图 6 中可以看出, LP-2 脂肪酶催化麻疯树油与甲醇转酯反应, 得到的转酯产物与化学法催化的转酯产物一致, 说明 LP-2 脂肪酶能催化麻疯树油与甲醇转酯反应。具有应用到酶法生产生物柴油的潜力。

## 2.6 菌种的鉴定

**2.6.1 形态及生理生化特征:** LP-2 菌在营养琼脂平板上生长 24 h, 菌落呈白色、圆形, 菌落直径 2–3 mm, 边缘整齐, 表面光滑, 稍隆起; 细胞球形, 成不规则堆状排列。革兰氏染色反应阳性, 不运动, 不生芽孢, 兼性厌氧, 过氧化氢酶阳性, 氧化酶阴性, 能在 10% NaCl 和 45℃ 下生长, 能利用蔗糖、麦芽糖、半乳糖和果糖, 不能利用甘露醇和阿拉伯糖, 硝酸盐还原酶、脲酶、精氨酸双水解酶呈阳性, 初步鉴定为 *Staphylococcus epidermidis*。

**2.6.2 分子生物学鉴定:** 通过测定菌株 LP-2 的

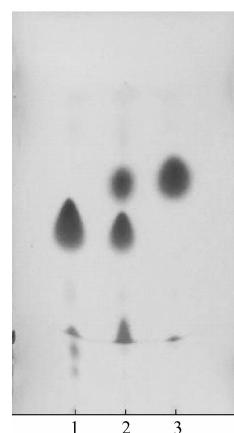


图 6 催化麻疯树油与甲醇转酯的薄层色谱分析

Fig. 6 TLC analysis of transesterification of *Jatropha* oil with methanol. 1: *Jatropha* oil; 2: Transesterification catalyzed by LP-2 lipase; 3: Transesterification catalyzed by NaOH.

16S rDNA 序列 (序列号: HQ203080), 并与 GenBank 中同源种属的 16S rDNA 序列进行比对, 并构建该菌的系统进化树 (图 7)。鉴定结果显示, 菌株 LP-2 属于表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*), 并命名为 *Staphylococcus epidermidis* LP-2。

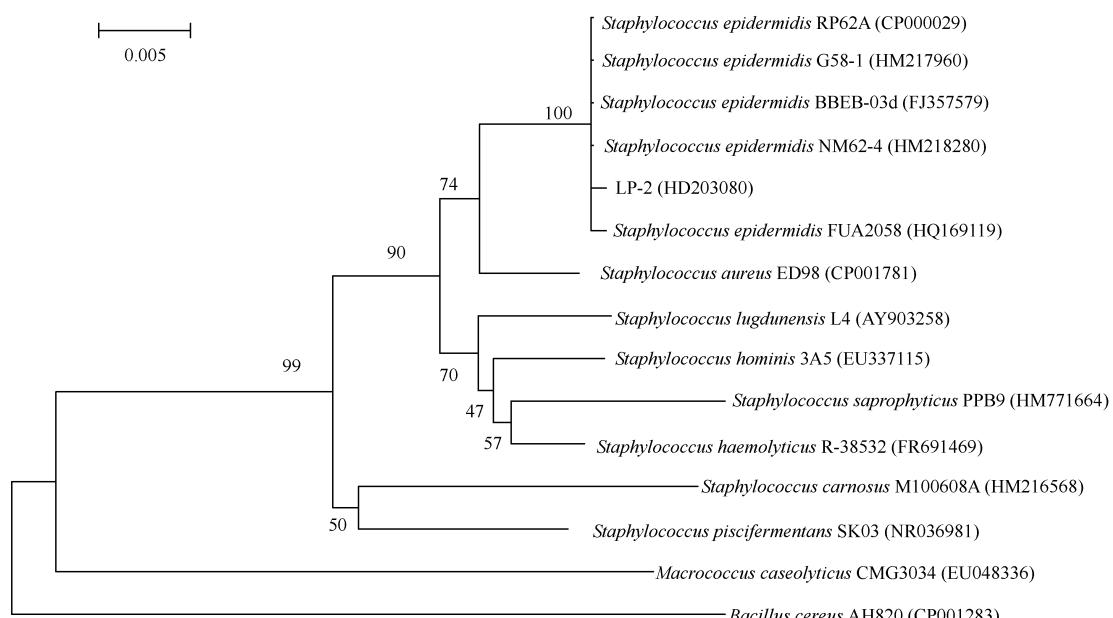


图 7 菌株 LP-2 的 16S DNA 系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of strain LP-2. Numbers in parentheses represent the sequences accession number in Genbank. The numbers at each branch points indicate the percentage supported by bootstrap based on 1000 replicates. Bar, 0.005 sequence divergence.

## 参考文献

- [ 1 ] Arpigny JL, Jaeger KE. Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. *Biochemistry Journal*, 1999, 343:177-183.
- [ 2 ] Fariha H, Aamer AS, Abdul H. Industrial application of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 39:235-251.
- [ 3 ] Ana V, Lara P, Enoch YP. Lipase-catalyzed production of biodiesel fuel from vegetable oils contained in waste activated bleaching earth. *Process Biochemistry*, 2003, 38:1077-1082.
- [ 4 ] 林娟,周选国,唐克轩,陈放. 麻疯树植物资源研究概况. 热带亚热带植物学报(*Journal of Tropical and Subtropical Botany*) ,2004,12(3):285-290.
- [ 5 ] Vijay G, Debabrata D. Lipase fermentation: progress and prospects. *Indian Journal of Biotechnology*, 2005, 4:437-445.
- [ 6 ] Shah S, Sharma S, Gupta MN. Biodiesel Preparation by Lipase-Catalyzed Transesterification of *Jatropha* Oil. *Energy & Fuels*, 2004, 18:154-159.
- [ 7 ] 周海霞,袁丽红,欧阳平凯. 脂肪酶假单胞菌的分离培养及最佳产酶条件研究. 现代生物医学进展(*Progress in Modern Biomedicine*) ,2008, 8 ( 2 ) : 259-262.
- [ 8 ] 汪勇,欧仕益,温勇,刘鹏展,薛枫. 酶法催化合成生物柴油的研究进展. 中国油脂(*China Oils and Fats*) , 2006, 31(1):65-68.
- [ 9 ] Kaieda M, Samukawa T, Kondo A, Fukuda H. Effect of methanol and water contents on production of biodiesel fuel from plant oil catalyzed by various lipases in a solvent-free system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2001, 91:12-15.
- [ 10 ] 江慧芳,王雅琴,刘春国. 三种脂肪酶活力测定方法的比较及改进. 化学与生物工程(*Chemistry and Bioengineering*) ,2007, 8(24):72-75.
- [ 11 ] 舒正玉,林瑞凤,江欢,张岩峰,黄建忠. 从植物根际定向批量筛选广谱有机溶剂耐受性脂肪酶产生菌. 微生物学通报(*Microbiology*) ,2009, 36 ( 6 ) : 809-814.
- [ 12 ] Georgina S, Alain M. Screening methods for synthetic activity of lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 40:390-393.
- [ 13 ] 袁丽红,黄晶,陆玉婷,周海霞. 利用麻风树油驯化筛选高活性脂肪酶产生菌及其催化酯化反应. 微生物学通报(*Microbiology*) ,2009, 36(12):1807-1811.
- [ 14 ] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京:科学出版社,2001:364-389.
- [ 15 ] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manual of Determination Bacteriology. Ninth edition. Baltimore: Williams and Wilkins, 1994:532-551.
- [ 16 ] 张维铭. 现代分子生物学实验手册. 北京:科学出版社,2003:81-91.
- [ 17 ] Fang YW, Lu ZX, Lv FX, Bie XM, Ding ZY, Xu WF. A newly isolated organic solvent tolerant *Staphylococcus saprophyticus* M36 produced organic solvent-stable lipase. *Current Microbiology*, 2006, 53(6):510-515.
- [ 18 ] Haba E, Bresco O, Ferrer C, Marques A, Busquets M, Manresa A. Isolation of lipase-secreting bacteria by deploying used frying oil as selective substrate. *Enzyme and Microbial Technology*, 2000, 26:40-44.
- [ 19 ] Helmy M, El-Adl N. One-step purification of a *Pseudomonas pseudoalcaligenes* lipase induced by a specific substrate. *Journal of Biochemistry (Tokyo)* , 2007, 141:101-108.
- [ 20 ] Chang RC, Chou SJ, Shaw JF. Synthesis of Fatty Acid Esters by Recombinant *Staphylococcus epidermidis* Lipases in Aqueous Environment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49:2619-2622.

# Screening and identification of a strain with lipolytic activity against *Jatropha* oil and its catalytic capacity

Jing Huang, Lihong Yuan<sup>\*</sup>, Zhen Sun

College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China

**Abstract:** [Objective] To screen lipases applied to biodiesel production, a lipase-producing microorganism was isolated and the enzyme was characterized. [Methods] A strain with lipolytic activity against *Jatropha* oil was isolated from the soil pretreated by *Jatropha curcas* L. seed and cultivated on *Jatropha* oil as sole carbon source. The organic solvent tolerance of the isolated strain and its lipase were measured. The esterification and transesterification catalyzed by the isolated lipase were surveyed. The isolated strain was identified according to the physiological and biochemical characteristics as well as 16S rDNA sequences analysis. [Results] The lipolytic activity of the strain LP-2 was 3.03 U/mL. The relative biomass of strain LP-2 in the media containing 5% (v/v) methanol was 87.3%. The residual activity of LP-2 lipase in 10% (v/v) hexane was 80.9%. LP-2 lipase could catalyze esterification between lauric acid or palmitic acid and n-butanol, n-octanol, dodecanol or glycerol; stearic acid and n-octanol, dodecanol or glycerol; oleic acid and methanol, n-butanol, n-octanol or dodecanol. The transesterification of *Jatropha* oil with methanol could be catalyzed by LP-2 lipase. Strain LP-2 was identified as *Staphylococcus epidermidis* and named *Staphylococcus epidermidis* LP-2. [Conclusion] *S. epidermidis* LP-2 lipase had the ability to catalyze esterification and transesterification reactions, which suggested that it had potential of producing biodiesel.

**Keywords:** lipase, *Staphylococcus epidermidis*, *Jatropha* oil, organic solvent, biodiesel

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2009CB724700)

\* Corresponding author. Tel: +86-25-83172082; E-mail:yuanhong@163.com

Received: 14 September 2010/ Revised: 10 January 2011