

淀粉基高吸水树脂降解菌的筛选及初步鉴定*

赵妍嫣 姜绍通** 郑志 李军红 王琼

(合肥工业大学生物与食品工程学院 合肥 230069)

摘要:以淀粉接枝丙烯酸高吸水树脂为唯一碳源,从土壤中筛选出 4 个菌株,纯化后进行菌种鉴定。经过表面观察和理化实验,初步鉴定出它们分别为两类放线菌(放线菌科, Actinomycetaceae 和固氮菌科, Azotobacteraceae)、酵母菌(隐球酵母科, 红酵母属, *Rhodotorula*)和霉菌(毛霉科, 根霉属, *Rhizopus* sp.), 为深入研究高吸水树脂的降解性能提供参考。

关键词:高吸水树脂, 生物降解, 筛选, 鉴定

中图分类号: Q939.9 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2004) 06-0083-04

The Screening and Identification of Strains Biodegrading Superabsorbent*

ZHAO Yan-Yan JIANG Shao-Tong** ZHENG Zhi LI Jun-Hong WANG Qiong

(Department of Biology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230069)

Abstract: Using the superabsorbent of starch graft sodium acrylate copolymer as the only carbon source, 4 excellent strains which can utilize the synthesized superabsorbent were obtained from soil after one month's screening and purification, then the taxa of the strain were identified, i.e., two kind of actinomycetes, yeast and mould. The result shows that the superabsorbent can be degraded successfully.

Key words: Superabsorbent, Biodegradation, Screening, Identification

用化学、物理等引发方法将淀粉与烯类单体接枝共聚可以制备出一种具有优异吸水性能的高吸水树脂,它能够吸收并保持自身重量数百倍乃至数千倍的水分。高吸水树脂在农业、石油、化工、医疗卫生等方面都具有广泛的用途^[1,2]。目前,在对淀粉与烯类单体接枝共聚的研究中,许多报道的重点是对接枝反应规律的研究,而对淀粉与烯类单体接枝共聚物的生物降解性能的研究甚少。随着应用范围逐步扩大,其降解性能已越来越受到重视^[3,4]。本文对高吸水树脂的生物降解性能进行了初步研究,并从土壤中筛选出 4 株可降解高吸水树脂的菌株,初步进行了菌种鉴定,以期为进一步深入研究高吸水树脂的生物降解性能提供参考。

1 材料与方法

1.1 高吸水树脂的合成及性质

1.1.1 合成:将一定质量的淀粉糊化,然后依次加入过硫酸钾、丙烯酸(用氢氧化钠中和,中和度 70%)和甘油,充分搅拌,送入 70℃烘箱,干燥后粉碎即得高吸水树脂。

1.1.2 吸水率的测定:取 0.1g 左右的高吸水树脂(m_1)放入蒸馏水中浸泡 24h,取出,用 100 目筛过滤、称重(m_2),得吸水率 Q : $Q = (m_2 - m_1) / m_1$ 。

* “十五”安徽省攻关重点资助项目 (No.01703003)

** 联系人 E-mail: jiangst@hfut.edu.cn

收稿日期: 2004-03-08, 修回日期: 2004-08-10

1.1.3 接枝率的测定:以丙酮为提取液,将高吸水树脂(w_1)在索氏提取器中抽提24h,以除去未接枝的均聚物,然后50℃真空干燥至恒重,得纯淀粉接枝共聚物,将此纯接枝共聚物在100毫升1mol/L的盐酸溶液中回流1h,过滤,水洗至中性,50℃真空干燥至恒重,得接枝支链(w_2),则接枝率 $G = w_2/w_1 \times 100\%$ 。

1.2 土壤降解试验

将高吸水树脂制成2mm厚的膜状,埋于校园人工湖旁地表下20cm处,30d后取出,用无水乙醇冲洗,干燥至恒重,用日立X-650型扫描电子显微镜观察高吸水树脂降解前后的形态。

1.3 菌株分离

1.3.1 土壤稀释液:从校园人工湖旁采集土样,并用无菌水稀释成 10^{-3} 土壤稀释液。

1.3.2 选择培养基:高吸水树脂粉末10g,磷酸二氢钾0.7g,一水硫酸镁0.7g,硝酸铵1.0g,氯化钠0.005g,硫酸铵0.003g,硫酸亚铁0.003g,七水硫酸锌0.002g,琼脂15.0g,定容至1L,调pH=6.0, 1×10^5 Pa灭菌30min,在培养皿中制成选择培养基。

1.3.3 菌株分离:取适量土壤稀释液涂布于选择培养基,置于30℃培养箱中培养。不定期检查选择培养基,在各菌落尚未连成一片前挑取菌种再次接种于选择培养基中,不断重复选取,进行纯化培养,1个月后分离得到4株菌落特征明显不同的菌株。

1.4 菌种鉴定

将筛选到的菌株根据文献[5~7]进行初步鉴定。

2 结果与讨论

2.1 高吸水树脂的性质

经检测,实验中合成的高吸水树脂吸水率为459.3,说明高吸水树脂的制备较成功。接枝率达84.5%,说明其中均聚物和游离淀粉含量少,淀粉和丙烯酸大部分以接枝共聚物形式存在。

2.2 土壤降解前后的形态

从图1可以看到:降解前的高吸水树脂断面平滑(左图),而降解后的高吸水树脂断面出现许多沟壑(右图),说明土壤中的微生物可以有效利用高吸水树脂中的某些成分,实验中合成的高吸水树脂具有较好的生物降解性。

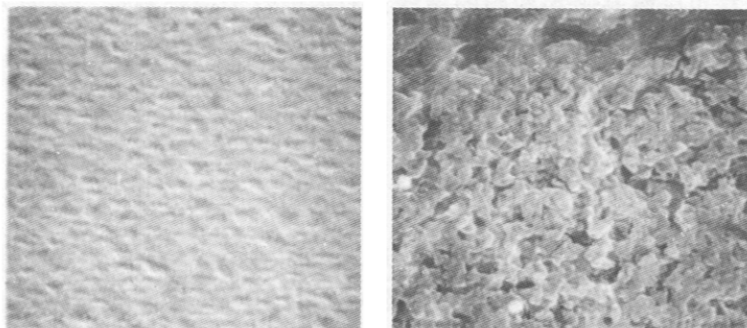


图1 高吸水树脂降解前后形态($\times 1,500$)

2.3 菌株的初步鉴定

2.3.1 菌株I的初步鉴定:该菌株在培养基中从接种到可观察到明显的菌丝约3~4d,

菌落大而致密, 表面干燥, 粗糙, 大量菌丝向基质内层伸展, 菌丝呈放射状排布, 随着菌体的生长, 菌落颜色逐渐加深, 呈棕绿色。根据上述特征, 菌株 I 可能为放线菌或霉菌, 将其接种于含 0.1g/100mL 青霉素的选择培养基中培养, 1 周后观察, 无任何菌种出现, 说明菌株 I 为放线菌, 简单染色的显微观察如图 2。可以看到: 菌株有分枝菌丝, 菌丝无隔, 长时间培养后有孢子产生。革兰氏染色, 阳性; 抗酸性染色, 阴性。根据《放线菌的分类和鉴定》, 可归于放线菌目, Actinomycetales, 放线菌科, Actinomycetaceae。

2.3.2 菌株 II 的初步鉴定: 该菌株在选择培养基中培养 2d 后就明显可见, 米白色, 长于培养基表面, 菌落小而密, 隆起, 低凸面状, 表面粗糙。简单染色的显微观察如图 3。可以看到: 细胞圆形或椭圆形, 串连, 有分散的零星细胞, 串连时时有分枝。在好氧条件下培养, 细胞始终为球形。进一步在无氮培养基中培养, 菌株生长良好。革兰氏染色, 阳性; 抗酸性染色, 阴性。对照《常见细菌初步检索表》, 菌株 II 应属于固氮菌科, Azotobacteraceae。

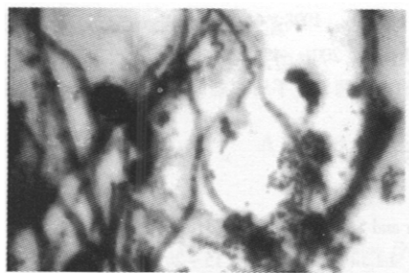


图 2 菌落 I 的显微观察 ($\times 1,000$)



图 3 菌落 II 的显微观察 ($\times 1,000$)

2.3.3 菌株 III 的初步鉴定: 在 3 次扩大纯化后, 在选择培养基中用 3 点点种法培养 3d, 可明显观察到菌落, 黄色, 体积较大, 表面光滑, 边缘不规则, 隆起, 高凸面状, 同培养基结合较牢固。对照《真菌鉴定手册》, 可能为酵母菌, 接种于含 0.1g/100mL 青霉素的选择培养基中培养 2d 后很快出现, 再接种于马铃薯培养基中, 经过 1d, 培养基上就出现明显菌落, 且生长极为茂盛。简单染色的显微观察如图 4。根据《真菌鉴定手册》, 归于半子囊亚纲, 菌体丝状或单细胞, 为酵母目, 由于子囊世代未发现, 故为隐球酵母科, 细胞为黄色或红色, 偶尔形成假菌丝或菌丝, 为红酵母亚科下的一个红酵母属 (*Rhodotorula*)。

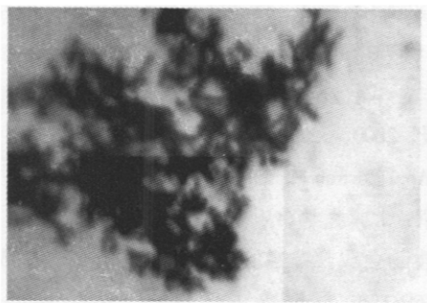


图 4 菌落 III 的显微观察 ($\times 1,000$)



图 5 菌落 IV 的显微观察 ($\times 1,000$)

2.3.4 菌株 IV 的初步鉴定: 2~3d 后就有明显的菌落出现, 菌落大而疏松, 表面粗糙, 隆起, 边缘丝状, 菌丝白色, 继续培养会出现棕黑色孢子。挑取该菌菌落接种于查氏

培养基上, 2d后长出明显菌落, 对照《真菌鉴定手册》, 确定为霉菌。简单染色的显微观察如图5。可以看到: 菌丝粗, 有子囊盘, 串生孢子, 根据《真菌鉴定手册》, 为毛霉或根霉, 进行假根实验, 显微观察到明显的假根, 故菌株IV为毛霉科, 根霉属, *Rhizopus* sp.。

3 小结

高吸水树脂作为一种新型功能高分子材料, 其生物降解性能越来越受到关注, 本文在合成高吸水树脂的基础上, 从土壤中分离出4株菌株, 进行了分离纯化及初步鉴定, 是对现有文献资料的一种补充^[8,9]。结果表明, 所合成的高吸水树脂具有较好的生物降解性能。

参考文献

- [1] 邹新禧. 超强吸水剂. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [2] 王解新, 陈建定. 功能高分子学报, 1999, 12(2): 211~217.
- [3] Choi W M, Jung I D, Kwon S K, et al. Polymer Degradation and Stability, 1998, 61: 15~20.
- [4] Lutfur M R, Sidik S, Wan Yunus W M Z, et al. Carbohydrate Polymers, 2001, 45: 95~100.
- [5] 布坎南 R E, 吉本斯 N E 等编. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组译. 伯杰氏细菌鉴定手册. 北京: 科学出版社, 1984.
- [6] 阎述初主编. 放线菌的分类和鉴定. 北京: 科学出版社, 1992.
- [7] 魏景, 超遗著. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [8] Delphine R, Emmanuel D, Isabelle Y, et al. Polymer Degradation and Stability, 2001, 73: 561~566.
- [9] Choi W M, Jung I D, Kwon S K, et al. Polymer Degradation and Stability, 1998, 61, 15~20.