

假单胞菌 5207 号菌株对无机氰及丙烯腈的分解

中国科学院微生物研究所污水微生物组

(北 京)

氰化物是一种剧毒物质,但近些年来,的研究指出有些微生物能分解氰化物,以达到净化含氰废水的目的。目前已报道的氰分解菌有放线菌科(Actinomycetaceae)中的菌^[1],诺卡氏菌(*Nocardia*)^[2],假单胞菌(*Pseudomonas*)^[3],解硝无色杆菌(*Achromobacter nitriloclostes*)、粘乳产碱杆菌(*Alcaligenes viscolactis*)^[4],未定名的红色细菌^[5],腐皮镰孢(*Fusarium solani*)^[6]等。

为了解决含氰废水生化处理问题,我们从含氰废水的活性污泥中分离出 70 余株菌,经测定,发现假单胞菌 5207 号菌株(以下简称 5207 号菌株)对无机氰及丙烯腈均具较高的分解能力,并能以丙烯腈作为生长的唯一碳源和氮源。现将试验结果简报如下。

材 料 和 方 法

一、菌种的分离与筛选

从处理含氰废水的活性污泥中取样,用稀释倒平板法从样品中分离到各类菌 70 余株,纯化后作为待筛菌种。筛选时,将新鲜斜面菌苔一环,接入盛有 150 毫升培养基的 500 毫升三角瓶内[培养基成份(%):葡萄糖 1.0,蛋白胨 0.2,硝酸钾 0.2,磷酸二氢钾 0.1,硫酸镁 0.05,自然 pH。8 磅 20 分钟灭菌],于 28—30℃ 摇床培养 20 小时后,于三角瓶内加入氰化钾或丙烯腈,测定培养液中毒物的实际浓度,继续培养 7 小时,测定培养液中氰或丙烯腈的残留量,从而筛选出对无机氰及丙烯腈均具较高分解能力的 5207 号菌株。在我所细菌分类组帮助下,将 5207 号菌株鉴定为 *Pseudomonas* sp.。

二、对无机氰及丙烯腈的分解试验

用常规法离心收集菌体并制备成静息细胞,以其 0.2 克湿重量接入 500 毫升三角瓶中,瓶内盛有 pH7.0 的磷酸缓冲液 150 毫升,即瓶内细胞浓度为 1.3 毫克湿重/毫升。加入氰化钾或丙烯腈,用橡皮塞塞紧瓶口,于 28—30℃ 摇床上振荡。根据试验要求的时间取样,测定无机氰及丙烯腈的残留量。另有不接入菌体的对照,以了解毒物在同样条件下的挥发及其它损耗。

三、碳源及氮源试验

在无碳或无氮培养基(表 1)中分别加入不同浓度的丙烯腈作为 5207 号菌株生长的唯一碳源或氮源,摇床培养 48 小时后,于 72 型分光光度计 460 毫微米处比浊,以光密度表示菌体的生长情况,从而求得对 5207 号菌株生长较适宜的丙烯腈浓度范围,并与其它碳源或氮源比较。

表 1 无碳、无氮培养基成份

成 份	无碳培养基	无氮培养基
葡萄糖	—	10.0 克
硝酸铵	2.0 克	—
磷酸二氢钾	1.0 克	1.0 克
硫酸镁	0.5 克	0.5 克
酵母膏	0.05 克	0.05 克
蒸馏水	1000 毫升	1000 毫升
pH	7.0—7.2	7.0—7.2

四、毒物的测定

用硝酸银法^[7]测定无机氰(以 CN 计),用

实验结果

一、5207号菌株对无机氰及丙烯腈的分解能力

5207 号菌株在 7 小时内对不同浓度无机氰的分解情况见表 2；在 1 小时内对不同浓度丙烯腈的分解情况见表 3。

表 2 5207 号菌株对不同浓度无机氰的分解 (7 小时)

初始氰浓度 (毫克/升)	终了氰浓度 (毫克/升)	分解量 (毫克/升)	分解率(%)
97.22	7.89	89.33	91.88
191.88	18.97	172.91	90.11
281.42	27.29	254.13	91.76
378.43	37.31	341.12	90.14
501.02	40.50	460.52	91.91
573.50	69.85	503.65	87.82
748.00	395.45	352.55	47.13
865.60	539.4	326.2	37.68

表 3 5207 号菌株对不同浓度丙烯腈的分解 (1 小时)

初始丙烯腈浓度 (毫克/升)	终了丙烯腈浓度 (毫克/升)	分解量 (毫克/升)	分解率(%)
560.3	0	560.3	100
823.5	116.6	706.9	85.8
1113.8	380.3	733.5	65.9
1339.3	553.5	785.8	58.7
1735.2	958.5	776.7	44.8
2246.2	1606.6	639.6	28.5

从表 2 可以看出，无机氰浓度从 97.22 毫克/升增至 573.50 毫克/升时，5207 号菌株对氰的分解率可保持在 90% 左右，当氰浓度增高到 700 毫克/升以上时，该菌株对氰的分解量及分解率显著下降。

从表 3 可以看出，随着丙烯腈浓度从约 600 毫克/升增至 2000 毫克/升左右时，5207 号菌株对丙烯腈的分解率依次下降，但对丙烯腈的分解量保持在 600—800 毫克/升之间，由此可见，5207 号菌株在 1 小时内可以去除 600—800 毫克/升的丙烯腈。

二、5207号菌株对无机氰及丙烯腈的分解速度

试验结果表明，丙烯腈比 无机 氰 容 易 被 5207 号菌株所分解。如 600 毫克/升左右的丙

烯腈可在 1 小时内分解完毕(图 1)；而 100 毫克/升左右的无机氰在 10 小时内的分解率约为 95%，而且在 4 小时后分解速度逐渐缓慢(图 2)。从而说明腈类化合物容易进行生化处理，而氰化物较难进行生化处理。从图 1、2 还可看出，对照中的氰及丙烯腈的挥发及其它损耗很小，因此毒物的去除主要是依赖菌体的分解作用。

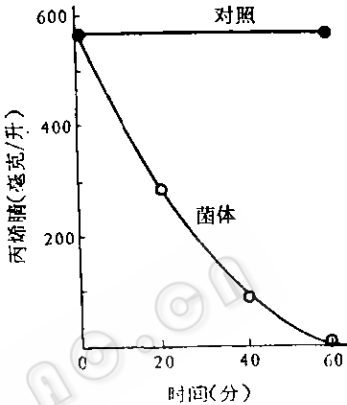


图 1 5207 号菌株对丙烯腈的分解速度

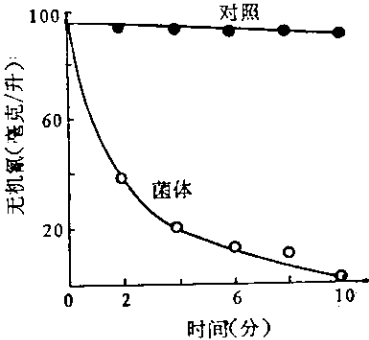


图 2 5207 号菌株对无机氰的分解速度

三、5207 号菌株对丙烯腈及其它碳源和氮源的利用

以不同浓度的丙烯腈作为 5207 号菌株生长的唯一碳源或氮源试验(见表 4)，结果表明，丙烯腈作为该菌株生长的唯一碳源或氮源的适宜浓度在 100—200 毫克/升之间，丙烯腈作氮源比作碳源更有利于该菌的生长。

在已试验的几种碳源和氮源中，对该菌株

表 4 5207 号菌株在不同浓度丙烯腈中的生长

丙烯腈* 作碳源		丙烯腈* 作氮源	
浓度(毫克/升)	光密度	浓度(毫克/升)	光密度
70.2	0.12	40.8	0.27
128.7	0.15	92.3	0.43
248.5	0.07	197.9	0.45
334.8	0.04	328.6	0.05
546.8	0.01	461.4	0.01
对照 (无碳源)	0.03	对照 (无氮源)	0.06

* 培养基灭菌后加入丙烯腈。

生长的最好碳源是甘露醇,其次是葡萄糖(见表 5);最好的氮源是天门冬素和蛋白胨,其次是丙烯腈(见表 6)。

表 5 5207 号菌株在不同碳源中的生长

碳源	甘露醇	葡萄糖	丙烯腈*	柠檬酸	乳酸	蔗糖	对照
光密度	1.05	0.30	0.18	0.14	0.13	0.10	0.06

表 6 5207 号菌株在不同氮源中的生长

氮源	天门冬素	蛋白胨	丙烯腈*	硫酸铵	硝酸钾	尿素	对照
光密度	1.30	0.90	0.49	0.30	0.24	0.17	0.10

* 培养基灭菌后加入丙烯腈,其浓度约为 200 毫克/升,其它碳源为 1.0%,氮源为 0.2%。

参 考 文 献

- [1] Ware, G. C. and H. A. Painter: *Nature*, 175: 900, 1955.
- [2] Winter, J. A.: Proc. 17th Ind. Waste Conf., Purdue Uni., 1962, 112, p. 703.
- [3] Путилина, Н. Т.: *Микробиология*, 30: 294, 1961
- [4] Fujii, Y. and Oshimi, T.: *Canadian Patent*, 926, 042, 1973.
- [5] 古城方和、山本 正、志村 亨、立花 精: *发酵工学雑誌*, 50: 298, 1972.
- [6] 清水達雄: *石油と微生物*, No.7: 13, 1972.
- [7] 中国医学科学院卫生研究所: *水质分析法*, 人民卫生出版社, 北京, 1974. 第 179 页。