

丙烯腈氧化菌在腈纶废水处理中的应用*

中国科学院微生物研究所污水微生物研究组

(北 京)

从污泥中分离到一株能利用丙烯腈作为碳源和氮源的珊瑚色诺卡氏菌11号(*Nocardia corallina* No.11),该菌能在较高浓度(200毫克/升至700毫克/升)丙烯腈下生长。当丙烯腈含量达800毫克/升至1000毫克/升时细胞量有所降低,但仍然保持99%的氧化能力。将该菌直接应用于滤塔,经接种挂膜后,处理腈纶废水,得到了良好的效果。生产滤塔运转结果,丙烯腈处理效果达99%以上,BOD₅效果在85—90%之间。

随着石油化学工业的蓬勃发展,合成纤维、合成橡胶和塑料等产品不断增长,这些工业生产的排出水中常含有有毒物质——腈类化合物,例如丙烯腈就是腈纶生产排出水中的主要毒物。这些有毒的排出水不经处理任意排放,会污染水体,不仅影响江湖的鱼业生产,而且严重威胁着人们的身体健康。为防止水体污染,做好环境保护工作,我们坚持“独立自主、自力更生”的方针,组成了工人、干部和科技人员三结合的协作小组,开展了腈纶废水生化处理的研究。

早在50年代初期,人们就开始注意含腈废水的污染及其处理问题,调查研究了鱼类对腈类化合物的可耐受量^[1,2]。并认识到腈化物在土壤中消失是生物氧化作用。随即有人^[3,4]用河水研究了丙烯腈等腈类化合物的生物氧化作用,发现腈的生物氧化有一延缓期,氧化活性随着生物种类、负荷、温度而异。推测这是一个酶解过程,其产物为有机酸、氨和二氧化碳等。关于含腈废水的生化处理,大都采用驯化活性污泥的方法^[5,6]。确定驯化过的比未驯化过的活性污泥,在处理效果上有显著提高。最近报道^[7]利用驯化活性污泥处理含丙烯腈的废

水,丙烯腈浓度 ≤ 140 毫克/升,能全部消失。另外一些研究是把人工分离的腈分解菌接到活性污泥中处理含腈废水,所采用的菌种有镰刀霉(*Fusarium solani*)^[8],棒状杆菌(*Corynebacterium nitrilophilus*)^[9],假单胞杆菌(*Pseudomonas*)^[10],产碱杆菌(*Alcaligenes viscolactis*)和无色杆菌(*Achromobacter nitriloclostes*)^[11]。至于废水处理的能力问题,因各报道中所处理废水的腈化物组成不一致,难以相互比较。但无论是用驯化方法或人工接菌方法,一般都采用活性污泥法。本文筛选到一株高效丙烯腈氧化菌,直接应用于塔滤处理腈纶废水,提高并稳定了腈纶废水生化处理的效能。

材料和方法

(一) 试样

取污泥样品共9个。

(二) 培养基

1. 分离、筛选培养基: 肉汁蛋白胨琼脂、马

本文于1977年4月6日收到。

* 试验滤塔和生产滤塔的运转工作是在上海第二化纤厂进行的,得到该厂领导和工作同志的大力支持和帮助。菌种鉴定得到中国科学院微生物研究所放线菌组的大力协助。

铃薯浸汁琼脂、高氏淀粉琼脂。合成培养基参照废水的水质配制,其成分(%)为:KNO₃ 0.05, MgSO₄ 0.01, KH₂PO₄ 0.05, 蛋白胨 0.02, 葡萄糖 0.1, (或在接种前加入丙烯腈 300 毫克/升代替葡萄糖为碳源), 琼脂 1.5, 用煮沸过的自来水配制, 自然 pH。

2. 最适生长条件试验培养基:用前述合成培养基, 分装于 250 毫升三角瓶中每瓶装 50 毫升。8磅 30 分钟灭菌, 接种前加入丙烯腈 300 毫克/升为碳源, 28—30℃ 振荡培养。不同碳源和氮源试验分别在结果部分叙述。

(三) 滤塔中生物膜的培养

1. 扩大培养: 要使滤塔中既快又好地形成生物膜, 必须先做好菌液的扩大培养。按菌种的生长最适条件, 分三步进行。第一步, 种子斜面培养, 培养基成分与前述合成培养基相同。接种后在 28℃ 培养两天备用。第二步, 振荡培养, 将两天菌龄的斜面培养物接至含合成培养基的三角瓶中, 28℃ 振荡培养两天。第三步, 通气培养, 从三角瓶中收集培养液加到玻璃缸或塑料桶中开口通气培养, 以废水代替自来水, 将废水稀释使丙烯腈保持在 300 毫克/升, 加少量葡萄糖, 蛋白胨和磷酸二氢钾。培养温度控制在 20—28℃ 通

气 40 小时, 获得生长旺盛的菌体。

2. 接种挂膜: 将培养好的菌液或常规方法驯化的活性污泥分别通过布水器均匀洒在滤料上, 在生产滤塔中只接菌液, 经过三次循环后, 直接用废水运转, 水温保持在 20—25℃。

(四) 分析方法

1. 细胞量测定: 在 72 型分光光度计上, 波长 460 毫微米处比色, 并换算成细胞干重。

2. 丙烯腈测定: 用 102 型气相色谱仪测定。

3. 铵离子浓度测定: 用奈氏试剂显色, 在 72 型分光光度计上, 波长 500 毫微米处比色测定。

4. BOD₅ 是用碘量法测定废水在 20℃ 培养 5 天的溶解氧, 计算生物化学需氧量。

5. OC 是用高锰酸钾法测定的化学耗氧量。

试验结果

一、菌种的分离与筛选

将污泥样品搅碎, 按常规稀释法采用前述分离培养基, 平板分离单菌落, 将单菌落接入以丙烯腈为碳源的液体培养基中筛选能利用丙烯腈的菌株。结果, 从九个污泥样品中分离筛选到有效菌株 25 株。

表 1 分离菌株在废水中的生长情况*

菌株号	生长情况	培养后丙烯腈残存量(毫克/升)	菌株号	生长情况	培养后丙烯腈残存量(毫克/升)
No.1	—	207.8	No.16	+	196.2
No.2	++++	0.2	No.17	++	192.1
No.3	++	149.5	No.18	++	118.4
No.4	++	134.6	No.19	—	216.0
No.5	++	148.9	No.20	++	123.4
No.6	+	178.1	No.21	++	113.5
No.7	++	147.2	No.22	++	124.8
No.8	++	151.8	No.23	—	197.6
No.9	+	184.3	No.24	++	134.5
No.10	+	189.1	No.25	+	178.3
No.11	++++	0.7	No.26	++	124.3
No.12	++	127.5	No.27	+++	4.3
No.13	+++	5.8	No.28	+++	2.5
No.14	+++	8.4	No.29	+++	3.5
No.15	+++	2.8	No.30	+	145.2

* 培养前丙烯腈含量为 253 毫克/升。表中“+”标记代表生长情况, “+”号愈多者表示生长愈好, “—”为未生长。

由于废水成分比较复杂,除丙烯腈外还含有其他物质。为了解这些物质对所筛选的菌种的影响,将筛出的 25 株丙烯腈氧化菌和原筛选的 5 株菌,分别接种到含丙烯腈的废水中,观察其生长情况和分解丙烯腈的能力。从表 1 结果可以看出: 2 号和 11 号两株菌在废水中生长最好,分解丙烯腈能力最强。因 11 号菌在合成葡萄糖琼脂培养基上呈桔橙色,易于在培养过程和生成生物膜中识别。因此我们挑选 11 号菌用于试验和生产滤塔的运转。

二、11 号菌株的鉴定

(一) 形态与培养特征

在营养琼脂上菌落圆形,边缘波状。表面崎岖、有皱褶突起,菌落中央凹下,较干燥,光泽差,随着培养时间的增长,颜色由瓜瓤粉加深至桔红色,菌丝呈纤细的树根状(图版 I-1)。培养 15—24 小时见到菌丝体的增长有分枝(图版 I-2),形成很多横隔膜,然后断裂为短杆状,菌体大小为 $1.5-20 \times 0.8-1.0$ 微米。革兰氏阳性,不抗酸,电镜形态见图版 I-3。

在马铃薯浸汁琼脂及马铃薯块上,生长良好,表面干燥皱皱,色泽从金叶黄至桔橙色,无可溶性色素。

瓦氏牛肉汁琼脂上较干燥皱、瓜瓤红色至桔红色。

高氏淀粉琼脂上生长不好,色泽很差。

合成葡萄糖琼脂上菌落桔橙色,干燥,皱,无可溶性色素。

营养肉汤中生长旺盛,清,粉色絮状菌膜下沉。

(二) 生理特性

纤维素上不生长,牛奶石蕊产碱,不水解淀粉,能还原硝酸盐,明胶不液化,不产生 H_2S 。

(三) 碳源利用

在木糖、棉子糖、甘油、肌醇、甘露醇、山梨醇、醋酸钠、石蜡和苯酚上生长良好,在阿拉伯糖、鼠李糖、菊糖、卫矛糖上微弱生长,在七叶树素上不生长。

按照上述形态、培养和生理特征,根据瓦克斯曼放线菌鉴定手册^[12]鉴定为珊瑚色诺卡氏菌(*Nocardia corallina*),而在营养肉汤和营养琼脂上的培养特征与典型菌的描述略有差异。该菌具有分解腈的能力,这在瓦克斯曼手册中没有描述。

三、珊瑚色诺卡氏菌 11

号的最适培养条件

(一) 生长最适温度和最适 pH

珊瑚色诺卡氏菌 11 号生长的最适温度在 $28-37^\circ\text{C}$ 范围内。当温度低于 10°C 或高于 40°C 生长缓慢或受到抑制(图 1)。该菌生长的 pH 范围较广,在 pH 6.5 至 9.5 都能生长,最适 pH 值在 7—8 之间(图 2)。

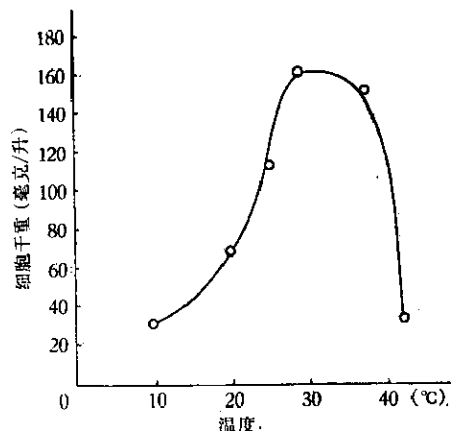


图 1 珊瑚色诺卡氏菌 11 号生长的最适温度

(二) 利用丙烯腈的能力

采取不同浓度的丙烯腈为碳源, 28°C 振荡培养 48 小时后,测定菌体的增殖和丙烯腈的利用情况。表 2 结果表明,珊瑚色诺卡氏菌 11 号能氧化较高浓度的丙烯腈,浓度高达 1000 毫克/升左右几乎全部被利用,

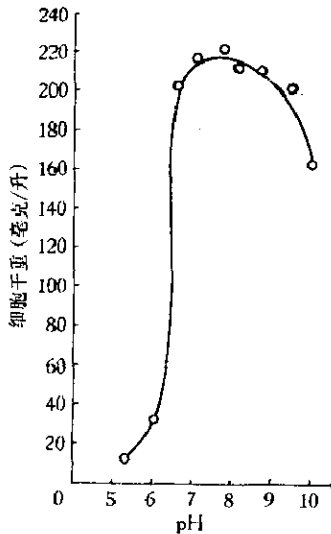


图 2 珊瑚色诺卡氏菌 11 号生长的最适 pH

而最适范围在200—700毫克/升之间,低于100 毫克/升和高于 800 毫克/升时,细胞量都降低,这是由于丙烯腈浓度低时供给的碳源不足,高时对菌的生长有抑制作用所致。

表 2 11 号菌株在不同丙烯腈浓度中的生长和氧化能力

丙烯腈初试浓度 (毫克/升)	细胞干重 (毫克/升)	丙烯腈去除率 (%)
59.7	52.0 44.0	100
139.4	88.5 91.0	100
234.0	122.0 137.0	100
338.1	200.0 168.0	100
572.5	190.0 147.0	100
738.9	105.0 120.0	100
803.3	95.0 78.0	100
928.0	40.0 56.5	99.0

珊瑚色诺卡氏菌11号的生长发育和利用丙烯腈间的关系来看(图 3),当菌发育

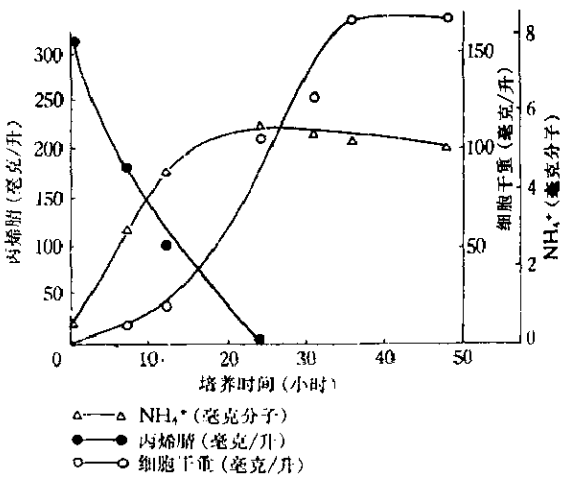


图 3 珊瑚色诺卡氏菌 11 号生长时利用丙烯腈的情况

处于对数生长期时丙烯腈强烈消耗,培养24 小时左右,丙烯腈基本氧化完毕。培养液中消耗丙烯腈的同时,氨量增加,氨量在24 小时后逐渐平缓。细胞量的繁殖到48 小时达最高峰。因此在扩大培养菌液时,可考虑于20 小时后补加300—500 毫克/升丙烯腈。用珊瑚色诺卡氏菌11号接种挂膜,适合采用培养40 小时的菌液。

(三) 对不同碳源、氮源的利用

为了获得珊瑚色诺卡氏菌11号生长旺

表 3 11 号菌株在不同碳源中的生长情况*
(28℃, 培养 2 天)

碳 源	细胞干重 (毫克/升)	碳 源	细胞干重 (毫克/升)
甘 油	8.5 12.5	葡 萄 糖	338.0 338.0
糖 蜜	173.0 164.0	醋 酸 钠	126.0 135.0
淀 粉	17.0 21.0	反丁烯二酸	198.0 190.0
糊 精	29.0 27.0	苯 酚	168.0 164.0
麦芽糖	262.0 224.0	丙 烯 腈	253.0 287.0
蔗 糖	92.0 97.0	对照(无碳)	12.5 10.0

* 苯酚和丙烯腈浓度为 300 毫克/升,其他碳源含量均为 1%。

盛的细胞,用于滤塔中接种挂膜,选择了
几种常用的碳源和氮源,以观察此菌对
其利用情况。从表 3 可见,该菌生长最
适的碳源是葡萄糖,其次为麦芽糖和丙
烯腈,也能利用苯酚生长。最适氮源试
验中用 0.1% 葡萄糖为碳源,用蒸馏水加
微量元素配制培养基。表 4 清楚地表明,
蛋白胨是该菌生长的最适氮源,硝态氮
和铵态氮的利用都比较差,利用丙烯腈
作为氮源的能力也很弱。此外,作了葡萄
糖和蛋白胨最适量试验。图 4 指出,葡
萄糖和蛋白胨的用量不需过多,葡萄糖
浓度为 2 克/升时,细胞干重即达 400 毫
克/升,蛋白胨用量在 0.5 克/升时细胞
发育已达最高水平。因此,建议用于滤
塔接种的菌种扩大培养中,最好加少量
葡萄糖和蛋白胨以利于富集菌量。

表 4 11 号菌株在不同氮源中的生长情况*

氮 源	细胞干重 (毫克/升)	氮 源	细胞干重 (毫克/升)
硝酸钠	71.5 52.0	尿 素	44.0 60.0
硝酸钾	17.5 20.05	天 门 冬 素	27.0 25.05
硫酸铵	16.5 17.5	麸 质 酸	115.0 160.0
氯化铵	14.5 16.5	丙 烯 腈	29.0 54.0
蛋白胨	419.0 420.0	对照(无氮)	7.5 7.5

* 丙烯腈含量为 300 毫克/升。其他氮源含量为 500 毫克/升。

四、试验滤塔和生产滤
塔运转结果

(一) 试验滤塔

试验滤塔在两个大小相等的塑料塔中
进行。它们的直径为 0.2 米,高 6 米,塔内
装孔径为 19 毫米的酚醛树脂的纸蜂窝滤
料,体积各为 0.145 米³,用转子流量计控制

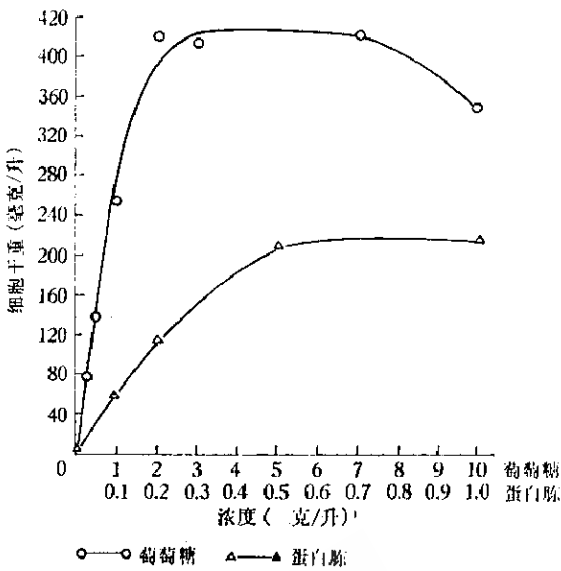


图 4 珊瑚色诺卡氏菌 11 号在不同浓度的葡萄糖
和蛋白胨中的生长情况

流量(流程见图 5)。在该两塔中,分别接
入用丙烯腈驯化过的活性污泥(I 塔)和珊

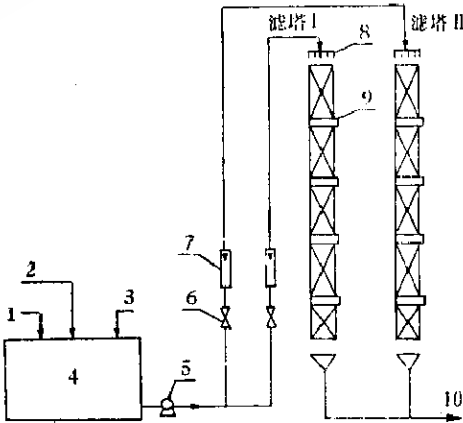


图 5 试验滤塔流程图

瑚色诺卡氏菌 11 号的菌液(II)。用菌液
挂膜的 II 塔第一天水力负荷为 4 米³/米³滤
料·日,第三天为 6 米³/米³滤料·日,第
五天水量增至 10 米³/米³滤料·日,开始正
式投入生产。用活性污泥挂膜的 I 塔需要
7—12 天才能正式运转。由此可见,用菌
液挂膜,生物膜的形成比用活性污泥挂膜
快。试验结果表明(表 5),当进水的平均

表 5 试验滤塔对比平均结果*

水力负荷(米 ³ /米 ² ·日)	进水	出水 丙烯腈				进水	出水 OC				进水	出水 BOD ₅			
	丙烯腈	I 塔	下降 (%)	II 塔	下降 (%)	OC	I 塔	下降 (%)	II 塔	下降 (%)	BOD ₅	I 塔	下降 (%)	II 塔	下降 (%)
11.4	268.2	19.76	92.43	9.5	94.46	355	142.5	59.9	121.1	65	456.1	258.1	43.4	218.8	52

* 表内所列数据单位为毫克/升。

丙烯腈含量为 268.2 毫克/升, OC 为 355 毫克/升, BOD₅ 为 456.1 毫克/升, 平均水力负荷为 11.4 米³/米²滤料·日, 处理该废水时用驯化活性污泥和珊瑚色诺卡氏菌 11 号接种都得到良好的效果, 而接菌液的比接活性污泥的更好一些。用菌种挂膜者出水中平均丙烯腈含量为 9.5 毫克/升, 而用活性污泥挂膜者为 19.76 毫克/升。出水中的 OC 和 BOD₅ 值也是菌种挂膜者比活性污泥挂膜者低。

(二) 生产滤塔

在试验滤塔基础上采用珊瑚色诺卡氏菌 11 号挂膜进行了生产性大塔考察, 塔内装酚醛树脂纸质蜂窝滤料和玻璃钢滤料, 水力负荷为 10—15 米³/米²滤料·日, 有机负荷 1.84—4.3 公斤/米³滤料·日, 日处理水量 500—750 吨, 采用顺抽风供氧, 为降低挥发用塔顶喷淋吸收。

由于生产性大塔高, 通风条件好, 结果在一年半时间内运转正常, 处理结果比试验滤塔更理想而且稳定, 当进水丙烯腈浓度为 160—200 毫克/升时, 丙烯腈处理效果达 99% 以上, 出水含量往往小于 1 毫克/升; BOD₅ 效果在 85—90% 之间, 出水 BOD₅ 小于 60 毫克/升。

生化处理过程中滤塔内的微生物菌群非常复杂, 为了探讨接入的珊瑚色诺卡氏菌 11 号菌在生产滤塔中的作用和存在情况, 在运转了八个多月以后, 我们分离和考察了滤塔中的丙烯腈氧化菌, 培养液采用废水与自来水对半混合, 过滤灭菌, 加少量磷源, 丙烯腈含量约为 300 毫克/升。取滤

塔中各层的生物膜分别稀释, 做平板分离计数, 并按不同类别挑出单菌落, 测定其利用丙烯腈的能力。同时鉴定了诺卡氏菌的种类。表 6 的结果表明, 在滤塔内, 丙烯腈氧化菌类中以珊瑚色诺卡氏菌的数量最多, 一级(滤塔的最上部)生物膜内其量高达 7.8×10^7 个/毫升。其次是深红色诺卡氏菌和鲑色诺卡氏菌。一级生物膜中能利用丙烯腈作为碳源的菌量也最高, 这种现象推测是布水器流出的水由塔上部向下流动, 一级生物膜接受污水中的丙烯腈浓度最高, 因而这里的丙烯腈氧化菌量亦最多。

表 6 丙烯腈氧化菌在生产滤塔中的数量

微生物名称	滤塔部位			
	一级	二级	三级	四级
珊瑚色诺卡氏菌	7.8×10^7	1.4×10^7	6.5×10^6	8.5×10^5
深红色诺卡氏菌	2.1×10^7	5×10^6	1.5×10^6	3×10^5
鲑色诺卡氏菌	8×10^6	1.5×10^6	5×10^5	—
细菌	2×10^6	1×10^6	1×10^6	1.5×10^6

讨 论

1. 我们从污泥中筛选到一株珊瑚色诺卡氏菌 11 号(*Nocardia corallina* No.11)能以丙烯腈为碳源或氮源, 具有对丙烯腈氧化速度快、能力强, 对 pH、温度和营养条件适应范围广及有特殊红色利于鉴别等特点, 因而有利于生产上采用。把该菌应用于生产规模滤塔挂膜, 处理含丙烯腈废水获得成功。

2. 用人工筛选出来的高效丙烯腈氧化菌珊瑚色诺卡氏菌 11 号在滤塔上直接挂膜

处理丙烯腈含量 160—200 毫克/升的腈纶废水,经生产性实践,证明是一种切实可行的处理方法。它具有制备菌液简单,生物膜形成快,耐高浓度丙烯腈,管理方便,使用比较卫生等优点。但在处理水量上,限于构筑物的特点,未能超过活性污泥法。然而基本上能满足要求。

3. 从本文初步考察生产滤塔中丙烯腈氧化菌的存在情况来看,所接入的珊瑚色诺卡氏菌对去除丙烯腈有较好的作用,但也不能否认生化处理过程中微生物菌群的复杂性,对于丙烯腈氧化菌和其它微生物菌群的生态关系,尚须作进一步的研究。

参 考 资 料

[1] Daugherty, F. and Gerret, J.: *Texas J. Science*, 3: 391, 1951.

- [2] Renn, C.: *J. Water Poll. Cont. Fed.*, 27 (3): 297—308, 1955.
- [3] Cherry, A. B. et al.: *ibid.*, 28 (9): 1137—1146, 1956.
- [4] Ludzack, F. J. et al.: *ibid.*, 31 (1): 33—44, 1959.
- [5] Ludzack, F. J. et al.: *ibid.*, 33 (5): 492—505, 1961.
- [6] 福岡誠一ら: 工業技術院醱酵研究所研究報告, No. 29, 81—88, 1966.
- [7] Ruffer, H.: *Chem. Ing. Tech.*, 47 (10): 445, 1975.
- [8] Mimura, A et al.: *Ger. Offen.*, 1,920,328 (cl. co2c), 1969.
- [9] 三村精男ら: 醱酵工学雑誌, 48 (2): 68—72, 1970.
- [10] Slave, T.: et al.: *Stud. Cercet. Biochim.*, 16 (2): 195—201, 1973.
- [11] Fujū, T. Y. and Oshimi, T.: *Canadian Patent*, 926,042, 1973.
- [12] Waksman, S. A.: *The Actinomycetes*, Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore, 1961, 阎逸初译: 放线菌, 第二卷, 科学出版社, 北京 1974.

THE APPLICATION OF ACRYLONITRILE OXIDIZING MICROORGANISMS FOR POLYACRYLONITRILE WASTE WATER TREATMENT

Water Pollution Microbes Research Group, Institute of
Microbiology, Academia Sinica
(Beijing)

A strain of Actinomycete, *Nocardia corallina* No. 11, capable of utilizing acrylonitrile as sole source of carbon as well as nitrogen, was isolated from sludge. This strain can grow under relatively high concentrations of acrylonitrile (200—700 mg/l). Although cell mass tended to decrease when the acrylonitrile concentration was at 800—1000 mg/l,

the cell still maintained 99% of its oxidizing capability. This strain was directly inoculated in trickling filter tower for biological film forming, and desirable results were obtained. Production filter tower tests showed that the effects of this strain in acrylonitrile treatment attained 99%, with a BOD₅ effect varying between 85% and 90%.