

## 中间硫杆菌 C3 对硫氰酸钠的氧化

谢树华 杨惠芳

(中国科学院微生物研究所, 北京)

从处理硫氰酸盐废水的混合菌中分离到一株兼性自养菌——中间硫杆菌 C3。该菌既能利用有机化合物,如糖、有机酸、醇、蛋白胨、尿素和丙烯腈而异养生长,也能氧化硫代硫酸钠和硫氰酸盐自养生长。该菌氧化硫氰酸钠的能力强、速度快,48 小时可氧化 1200mg/L, 硫氰酸钠既能作为能源,又能作为碳和氮源。低浓度的糖、醇和有机酸不影响菌对硫氰酸钠的氧化能力,而 300mg/L 丙烯腈和低浓度酵母浸出液及天冬酸钠对硫氰酸钠的氧化有抑制作用。氧化 1mM 硫氰酸钠形成 1mM 硫酸盐和 0.5mM 的氨, pH 变化不大。呼吸试验表明,氧的吸收与细胞的培养条件,以及反应时的细胞浓度和基质浓度有关。从加葡萄糖和硫氰酸钠的培养基中,收集的细胞悬液为 40mg/L, 在 300mg/L 硫氰酸钠时,氧的吸收最高。氧和硫氰酸钠的克分子比为 1.52—1.61:1, 呼吸商值为 0.35。本文根据呼吸商值和代谢过程推论出硫氰酸钠生物氧化的反应式。

**关键词** 中间硫杆菌;硫氰酸钠;氧化作用

中间硫杆菌 (*Thiobacillus intermedius*) 是一种兼性化能无机营养菌,首先由 London<sup>[1]</sup> 分得。近年来,中间硫杆菌的异养生长和葡萄糖代谢及其酶系已有许多报道<sup>[2-5]</sup>。该菌的自养性能主要表现在对硫代硫酸钠和硫化氢的氧化<sup>[1,6]</sup>, 其氧化硫氰酸钠的能力未见报道。关于硫氰酸盐的氧化菌主要是排硫杆菌 (*Thiobacillus thio-parus*) 又称硫氰酸盐氧化菌 (*Thiobacillus thiocyanooxidans*)<sup>[8-10]</sup>, 其次有施氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*)<sup>[11]</sup>、墨西哥诺卡氏菌 (*Nocardia mexicana*)<sup>[12]</sup> 和节细菌 (*Arthrobacter*)<sup>[13,14]</sup> 等。

本文报道从处理硫氰酸钠腈纶废水的混合菌 SAT13 中分离到一株具有氧化硫氰酸钠的中间硫杆菌 (*Thiobacillus intermedius* C3)<sup>[15]</sup>, 并研究了该菌氧化硫氰酸钠的代谢特性及自养和异养性能。

## 材料和方法

### (一) 菌株

从处理腈纶废水的混合菌 SAT13 中分得一株中间硫杆菌 (*Thiobacillus intermedius*) 编号 C3, 其主要鉴定特征已有报道<sup>[16]</sup>。

### (二) 培养基

1. 基础无机盐培养基 (g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2, 微量元素 1ml, 蒸馏水 1000ml, pH 7.0—7.2, 250ml 三角瓶装 50ml 培养液, 8 磅 30 分钟灭菌。

2. 菌种培养及氧化硫氰酸钠所用培养基: 于基础培养基中加入硫氰酸钠和丙烯腈, 其浓度为 150mg/L。

3. 碳源试验用培养基: 基础培养基中加蛋白胨 (1g/L)。分别加入各种碳源。

4. 氮源试验培养基: 基础培养基中加丙烯

本文于 1986 年 4 月 5 日收到。

酸钠(2g/L)。分别加入各种氮源。

### (三) 菌体收集

所试验各组均按 5% 接种量接种, 28℃ 振荡培养(200 转/分), 10000r/min 离心 20 分钟收集细胞, 用 pH7.2 磷酸缓冲液洗涤两次, 悬浮于缓冲液中备用, 4℃ 保存, 可使用 2—3 天。

### (四) 氧的吸收

用瓦勃氏检压技术测定氧的吸收。反应瓶中加入 2ml 菌液, 侧臂加 1ml 基质(硫氰酸钠), 中央小杯加 20% KOH 0.2ml, 总体积为 3.2ml。与此同时做一内呼吸瓶, 基质以 1ml pH7.2 磷酸缓冲液代替, 待平衡到 30℃ 后开始反应。

### (五) 分析方法

用硝酸银滴定硫氰酸钠; 以 2305 型气相色谱仪测定丙烯腈含量; 以费林-酚试剂显色法测定细胞蛋白量; 碘量法测定硫代硫酸钠; 奈氏比色法测定氨量; 用乙二胺四乙酸二钠容量法测定硫酸盐; 用 S-2 型酸度计测定 pH 值。

### (六) G/C 百分比测定

采用紫外分光光度计测定  $T_m$  值, 以大肠杆菌 (*E. coli*) 作标准对照。

## 结 果

### (一) 中间硫杆菌 C3 的生理生化特征

1. DNA 中 G + C 含量: 表 1 指出, 中间硫杆菌 C3 DNA 中 G + C 克分子 %

表 1 硫杆菌属、新型硫杆菌和中间硫杆菌 C3 DNA 中 G + C 克分子百分数

Table 1 DNA mol percent of *Thiobacillus*, *T. novellus* and *T. intermedius*

菌 名 Strain	G + C mol%	
	手 册 值* Manual value	测 定 值 Determined value
硫杆菌属 <i>Thiobacillus</i>	50—68	—
新型硫杆菌 <i>T. novellus</i>	62—68	—
中间硫杆菌 C3 <i>T. intermedius</i> C3	—	51—59

\* 伯吉氏细菌鉴定手册第八版第 458 页。  
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,  
Eighth Edition, p. 458.

在 51—59 范围内, 该值完全符合伯吉氏细菌鉴定手册中硫化杆菌属 G + C 含量为 50—68 克分子 % 的范围。

2. 有机碳、氮源的利用: 碳源试验采用糖类、醇类、有机酸以及工业废水中存在的氰类化合物作为菌生长的碳源, 以蛋白胨作为氮源。表 2 结果表明, 22 种化合物均可作为该菌生长的碳源和能源。菌在有机酸和醇类中的生长比在糖类中好, 以丙酮酸钠最佳, 延胡索酸次之。硫氰酸钠也可作为菌生长的碳源。

氮源的利用见表 3, 蛋白胨是该菌生长的最适氮源, 硝态氮的利用也很强, 而铵态氮及氰化钾作为氮的利用能力极弱, 硫氰酸钠也可作为该菌生长较好的氮源。表 2—3 指出, 丙烯腈可作为该菌生长的氮、碳源和能源。为了阐明该菌利用丙烯腈的能力, 在基础培养基中加入不同浓度的丙烯腈, 30℃ 培养 48 小时, 测定丙烯腈的降低量, 以计算其去除率。表 4 结果表明, 中间硫杆菌 C3 具有较高的去除丙烯腈的能力, 丙烯腈浓度在 500mg/L 以下可全部去除, 随着丙烯腈浓度的提高, 去除能力也随之降低, 当丙烯腈浓度为 1200mg/L 左右时, 去除率只有 6% 左右。由此表明, 该菌利用有毒化合物丙烯腈时受其浓度的限制。

3. 硫源的利用: 表 5 结果表明, 硫代硫酸钠是中间硫杆菌 C3 生长最适硫源, 其次为硫氰酸钠, 利用过硫酸铵、连二亚硫酸钠作为硫源的能力较弱。该菌不能以元素硫、无水亚硫酸钠和焦硫酸钾作为生长硫源。其氧化硫代硫酸钠的特性与文献报道相符<sup>(8)</sup>。

进一步测定了中间硫杆菌 C3 在生长过程中硫代硫酸钠的氧化(图 1), 随着细菌细胞蛋白量的增长, 硫代硫酸钠被氧化, 同时  $SO_4^{2-}$  的含量从 1000mg/L 增加到

表 2 中间碳杆菌 C3 在不同碳源中的生长

Table 2 Growth of *T. intermedius* C3 at varied carbon sources

碳源 Carbon source	加入的碳源 Added carbon source (g/L)	蛋白含量 Protein ( $\mu\text{g/ml}$ )	碳源 Carbon source	加入的碳源 Added carbon source (g/L)	蛋白含量 Protein ( $\mu\text{g/ml}$ )
葡萄糖 Glucose	5	34.7	琥珀酸 Succinic acid	2	47.2
蔗糖 Sucrose	5	37.5	延胡索酸 Fumaric acid	2	51
麦芽糖 Maltose	5	38	苹果酸 Malic acid	2	42.5
果糖 Fructose	5	34.5	柠檬酸钠 Sodium citrate	2	42.2
木糖 Xylose	5	36.5	醋酸钠 Sodium acetate	2	36.5
甘露醇 Mannitol	5	34.7	葡萄糖酸钠 Sodium gluconate	2	47.2
山梨醇 Sorbitol	5	37.5	丙酮酸钠 Sodium pyruvate	2	52
甜醇 Dulcitol	5	21.3	丙烯酸钠 Sodium acrylate	2	46.7
肌醇 Inositol	5	40	硫氰酸钠 Sodium thiocyanate	0.15	34.7
赤藓醇 Erytritol	5	40	丙烯腈 Acrylonitrile	0.15	27
丙三醇 Glycerol	5	47.5	氰化钾 Potassium cyanide	0.15	20

表 3 中间碳杆菌 C3 在不同氮源中的生长

Table 3 Growth of *T. intermedius* C3 at varied nitrogen sources

氮源 Nitrogen source	加入的氮源 Added nitrogen source (g/L)	蛋白含量 Protein ( $\mu\text{g/ml}$ )	氮源 Nitrogen source	加入的氮源 Added nitrogen source (g/L)	蛋白含量 Protein ( $\mu\text{g/ml}$ )
硝酸钾 Potassium nitrate	1	71	天冬酸 Asparaginic acid	1	15.5
硝酸钠 Sodium nitrate	1	76	乙酸胺 Ammonium acetate	1	65
硫酸铵 Ammonium sulfate	1	1.35	硫氰酸钠 Sodium thiocyanate	0.15	50
氯化铵 Ammonium chloride	1	1.1	丙烯腈 Acrylonitrile	0.15	53
硝酸铵 Ammonium nitrate	1	74	氰化钾 Potassium cyanide	0.075	0.65
蛋白胨 Peptone	1	82.5	对照 Control, without additional nitrogen	—	0
尿素 Urea	1	54.5			

表 4 中间硫杆菌 C3 降解丙烯腈的能力 (30°C, 培养 2 天)

Table 4 Degradation of acrylonitrile by *T. intermedius* C3 (30°C, 2 days)

初始浓度 (mg/L) Initial concentration	最终浓度 (mg/L) Final concentration	CH <sub>2</sub> CHCN 降解量 (mg/L) Degraded CH <sub>2</sub> CHCN	CH <sub>2</sub> CHCN 去除率 (%) Removal percentage
558.1	0	558.1	100
797.3	333.3	464	58.2
993.3	493.4	499.9	50.3
1180.2	705.8	474.4	40.2
126.3	771.1	490.2	38.9
1215.5	1130.6	84	6.99

表 5 中间硫杆菌 C3 在硫化合物中的生长

Table 5 Requirements of sulfur source for growth of *Thiobacillus intermedius* C3

硫 源 Sulfur compounds	加入的硫源 (g/L) Added sulfur source	蛋白含量 (μg/ml) Protein contents
元 素 硫 Elementary sulfur	10	0
硫 代 硫 酸 钠 Sodium thiosulfate	10	63.7
无 水 亚 硫 酸 钠 Sodium sulfiteanhydrous	2	0
焦 硫 酸 钾 Potassium pyrosulfate	2	0
过 硫 酸 铵 Ammonium persulfate	2	8.8
连 二 亚 硫 酸 钠 Sodium disulfite	2	9.5
硫 氰 酸 钠 Sodium thiocyanate	0.15	19

4500mg/L 以上, 溶液 pH 也由 7.6 下降至 5.5 左右。

## (二) 中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠的特征

1. 硫氰酸钠的氧化: 该菌氧化硫氰酸钠的能力示于图 2。随着细菌生长, 硫氰酸钠被氧化, 同时培养液中产生氨, 当硫氰酸钠完全氧化时, 氨量达到最高。培养液的 pH 略有提高。表 6 结果表明, 此菌氧化

硫氰酸钠的能力较强, 当硫氰酸钠在 100—780mg/L 时, 培养 48 小时可全部被氧化, 浓度提高到 1200 和 2400mg/L 时, 虽然硫氰酸钠的去除率分别下降为 94% 和 36%, 但其氧化硫氰酸钠的绝对量仍为 1000mg/L 左右, 而浓度高于 3600mg/L 以上, 氧化率明显下降, 然后逐渐处于抑制状态。

为阐明中间硫杆菌氧化硫氰酸钠的代谢过程, 测定了氧化终了产物, 表 7 结果表

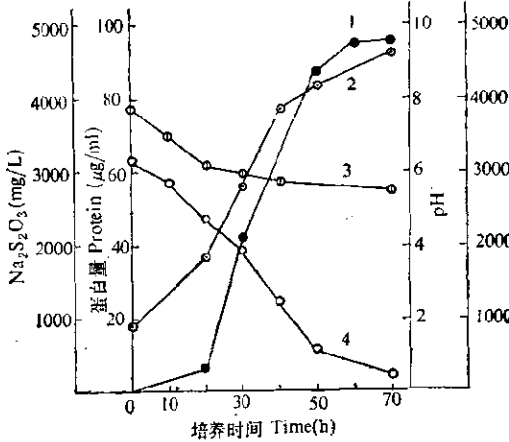


图1 中间硫杆菌 C3 的生长和硫代硫酸钠的氧化

Fig. 1 Growth of *T. intermedium* C3 and oxidation of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

1. 蛋白量 Protein; 2.  $\text{SO}_4^{2-}$ ; 3. pH; 4.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

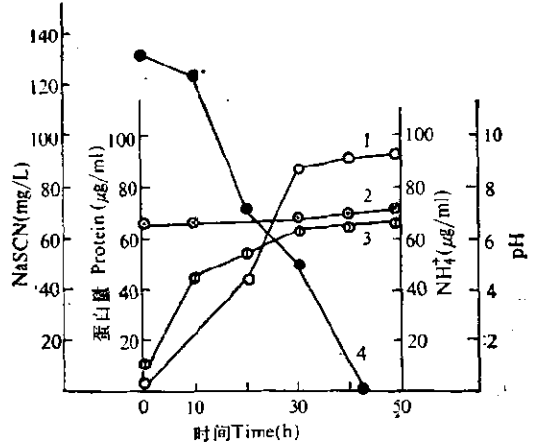


图2 中间硫杆菌 C3 的生长和氧化硫氰酸钠

Fig. 2 Growth of *T. intermedium* C3 and oxidation of NaSCN

1. protein; 2. pH; 3.  $\text{NH}_4^+$ ; 4. NaSCN

表6 中间硫杆菌 C3 对硫氰酸钠的氧化

Table 6 Oxidation of sodium thiocyanate by *T. intermedium* C3

NaSCN 的初始浓度 (mg/L) Initial concentration	NaSCN 的最终浓度 (mg/L) Final concentration	氧化的 NaSCN (mg/L) Oxidized NaSCN	NaSCN 的去除率 (%) Removal percentage
107.03	0	107.03	100
307.91	0	307.91	100
569.96	0	569.96	100
786.15	0	786.15	100
1277.50	6551	1211.99	94.87
2423.98	1539.56	844.42	36.49
3635.97	3013.60	622.37	17.12
4795.6	4015.95	779.65	16.26
6420.27	6354.76	65.51	1.02

表7 中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠时硫酸盐和氨的形成

Table 7 The production of sulphate and ammonia during the oxidation of thiocyanate by *T. intermedium* C3

加入的 NaSCN Added NaSCN (mM)	氧化的 NaSCN Oxidized NaSCN (mM)	生成的 $\text{SO}_4^{2-}$ Produced $\text{SO}_4^{2-}$ (mM)	产生的 $\text{NH}_3$ Produced $\text{NH}_3$ (mM)
3.5	3.5	3.0	1.3
7.6	5.2	5.0	2.4
10.5	6.78	6.0	2.5

明,此菌氧化 1mM 的硫氰酸钠可形成 1—0.8mM 的硫酸盐和 0.5—0.4mM 的氨,试验过程中可能有部分氨自行挥发,因此该值低于实际值。

2. 有机化合物对硫氰酸钠氧化的影响: 中间硫杆菌 C3 具有异养和自养两种性能。大部分有机化合物如糖类、醇类、有机酸,在低浓度 (0.2%) 情况下对硫氰酸

钠氧化的影响不大，但同样浓度的酵母浸出液和天冬酸钠对其氧化有明显的抑制作用。在腈纶废水中硫氰酸钠与丙烯腈经常同时存在，从图 3 的结果可见，当硫氰酸钠初始浓度为 250mg/L 条件下，丙烯腈浓度为 300mg/L 时才明显抑制此菌氧化硫氰酸钠的能力，此时硫氰酸钠的氧化率为 25%。丙烯腈高于 400mg/L 时，硫氰酸钠的氧化率仅 12% 左右。

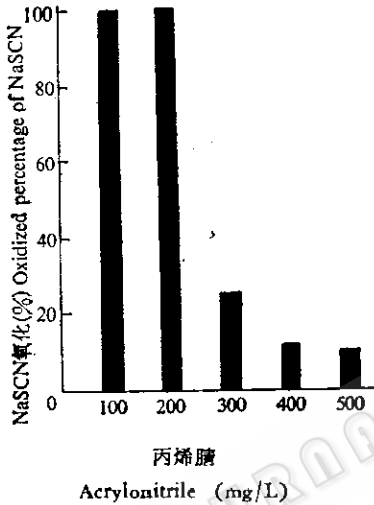


图 3 丙烯腈对中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠的影响  
Fig. 3 Effect of acrylonitrile on oxidation of NaSCN By *T. intermedius* C3

3. 氧的吸收：从氧的吸收表明，该菌氧化硫氰酸钠时氧的吸收与细胞的浓度和反应基质浓度有关。图 4 表示细胞浓度分别采用 5、10、20、30、40(mg/ml)，反应基质硫氰酸钠浓度为 300mg/L 时，当细胞浓度 5mg/ml，氧的吸收为 90 $\mu$ l，增加细胞浓度至 40mg/ml，其氧的吸收量增加到 475 $\mu$ l，由此表明，细胞氧化硫氰酸钠的耗氧量随细胞浓度的提高有一定增加。该菌氧化硫氰酸钠的耗氧量与反应基质硫氰酸钠的浓度有关（图 5），硫氰酸钠浓度在一定范围内增加时，则耗氧量有所提高，而当其浓度高于 400mg/L 时，耗氧量明显降

低。由此可见，该菌氧化硫氰酸钠采用细胞浓度为 40mg/ml，硫氰酸钠浓度为 300 mg/L 为宜。

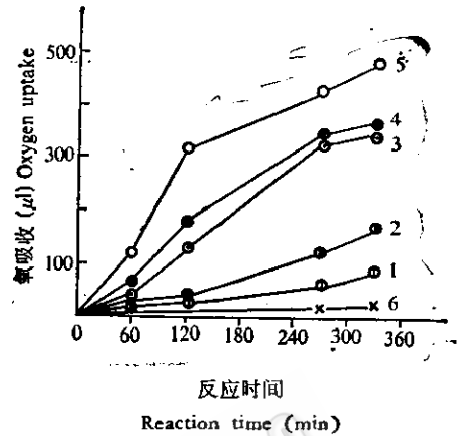


图 4 细胞浓度对氧吸收的影响  
Fig. 4 Effect of cell contents on O<sub>2</sub> uptake  
细胞浓度 Cell contents (mg/ml): 1.5; 2. 10; 3. 20; 4. 30; 5. 40; 6. 内呼吸 Endogenous respiration

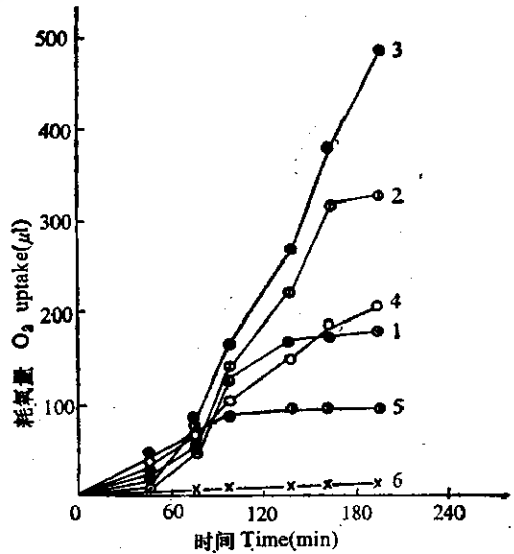


图 5 硫氰酸钠浓度对氧吸收的影响  
Fig. 5 Effect of concentration of NaSCN on O<sub>2</sub> uptake  
1. 100mg/L; 2. 200mg/L; 3. 300mg/L; 4. 400mg/L; 5. 600mg/L; 6. 内呼吸 Endogenous respiration

为了阐明该菌氧化硫氰酸钠的诱导作用,收集不同条件下生长的细胞,比较其氧化硫氰酸钠时的耗氧量。分三组进行:第一组分别在葡萄糖、丙酮酸和丙烯腈的培养液中加入硫氰酸钠;第二组在以上有机化合物中不加硫氰酸钠;第三组不加任何有机化合物,只加硫氰酸钠。取以上三种条件下生长的完整细胞,用 300mg/L 硫氰酸钠作为反应基质,测定耗氧量。从图 6 可见,凡是在有机化合物中加硫氰酸钠培养的细胞,其耗氧量均高于不加硫氰酸钠培养的细胞。只用丙烯腈培养的细胞耗氧量远远低于在丙烯腈加硫氰酸钠培养液中的细胞,它们耗氧量的差为 224 $\mu$ l,而且培养细胞的条件以葡萄糖加硫氰酸钠为最好。由此表明,该菌氧化硫氰酸钠的能力,与细胞的适应作用有一定关系,受硫氰酸钠适应的细胞氧化硫氰酸钠的能力比未适应的细胞强。

根据细菌的呼吸作用及其呼吸商值可以指示细菌代谢的特征。中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠时的呼吸作用见表 8。测定结果表明,该菌氧化硫氰酸钠时氧的吸收和放出的二氧化碳值与 Happold 报道<sup>[8]</sup>的硫氰酸盐氧化菌 (*Thiobacillus thiooxydans*) 氧化硫氰酸钾的相似,其平

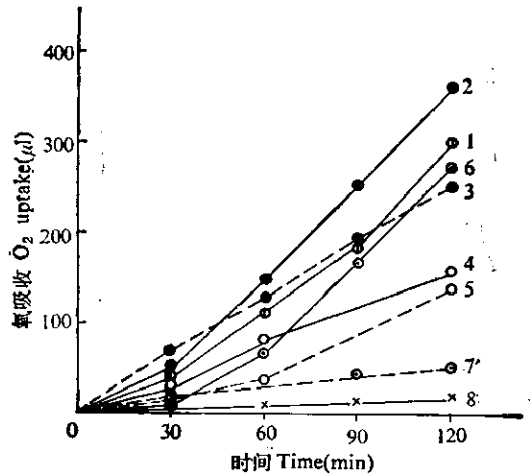
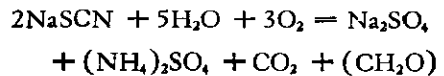


图 6 细菌的培养条件对氧吸收的影响

Fig. 6 Effect of cultural condition of bacteria on O<sub>2</sub> uptake

- 1. NaSCN; 2. Glucose + NaSCN; 3. Glucose;
- 4. Sodium pyruvate + NaSCN; 5. Sodium pyruvate;
- 6. Acrylonitrile + NaSCN; 7. Acrylonitrile;
- 8. 内呼吸 Endogenous respiration

均呼吸商值为 0.35。依据呼吸商值计算,以及该菌氧化硫氰酸钠过程中产生的氨和硫酸盐的情况(表 7),综合考虑,推算该菌氧化硫氰酸钠的反应式为:



从这化学反应方程式可以看出,硫氰酸钠被氧化生成  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NH}_3$ 、 $\text{CO}_2$  和一个

表 8 中间硫杆菌 C3 对硫氰酸钠的呼吸作用\*

Table 8 The respiration of sodium thiocyanate by *T. intermedius* C3

NaSCN ( $\mu$ M)	O <sub>2</sub> 的吸收 O <sub>2</sub> uptake ( $\mu$ M)		产生的 CO <sub>2</sub> 量 Produced CO <sub>2</sub> ( $\mu$ M)		呼吸商值 Respiratory quotient	
	试验值 Test value	文献值 Document value	试验值 Test value	文献值 Document value	试验值 Test value	文献值 Document value
0	0.23	0.3	2.11	2.5	—	—
2	3.22	3.2	3.24	3.4	0.35	0.31
4	6.31	6.4	4.31	—	0.34	—
6	9.23	—	5.36	5.1	0.35	—
8	12.14	12.8	6.42	6.2	0.36	0.30
10	15.89	15.6	8.01	7.9	0.37	0.35

\* 文献值<sup>[8]</sup> Document value<sup>[8]</sup>

模式的细胞有机物, 由此认为中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠是细胞中的碳水化合物合成的氧化同化过程。

## 讨 论

1. 中间硫杆菌 C3 有自养和异养两种性能, 除氧化硫代硫酸钠的一般性能外, 还具有氧化硫氰酸钠和降解一定浓度丙烯腈 (500mg/L) 的新功能。因此, 该菌在处理硫代硫酸钠、硫氰酸钠和丙烯腈等混合工业废水中会起相当重要的作用。

2. 本文的研究表明, 中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠, 可作为菌生长的碳、氮、硫和能源。根据该菌在生长过程中细胞蛋白量的增长和最终产物有  $\text{NH}_3$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  形成, 以及测定完整细胞氧化硫氰酸钠的呼吸商值, 可以认为中间硫杆菌 C3 氧化硫氰酸钠是导致合成细胞物质的同化作用。其化学反应方程式与排硫杆菌氧化硫氰酸钾相类似。

## 参 考 文 献

[1] London, J.: *Arch. Microbiol.*, 46: 329—337,

- 1963.
- [2] Smith, D. W.: *Arch. Microbiol.*, 100(1): 65—71, 1974.
- [3] Purohit, K. et al.: *J. Bacteriol.*, 127(1): 505—515, 1976.
- [4] Purohit, K. et al.: *J. Bacteriol.*, 127(1): 516—522, 1976.
- [5] Bowman, L. H.: *J. Bacteriol.*, 141(2): 652—657, 1980.
- [6] Charles, A. M.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 129(1): 124—130, 1969.
- [7] Vainshtein, M. B.: *Mikrobiologiya*, 40(6): 1114—1116, 1977.
- [8] Happold, F. C.: *J. Gen. Microbiol.*, 10: 261—266, 1954.
- [9] Kuraishi, H. and K. Aida.: *Microbiology for Environment Cleaning* (ed. by Armia, K.), p. 425—486, 1978.
- [10] 鲜海军, 杨惠芳: *环境科学学报*, 4: 258—264, 1984.
- [11] Stafford, D. A. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 55: 285, 1969.
- [12] Горбунов, А. В.: *Кокс Химия*, 6: 33—36, 1975.
- [13] Betts, P. M.: *Can. J. Microbiol.*, 25(11): 1277—1282, 1979.
- [14] Fleeker, J. R.: PB 80-175029.
- [15] 杨惠芳等: *环境科学学报*, 2(2): 162—169, 1982.
- [16] 杨惠芳等: *微生物学报*, 24(3): 256—261, 1984.



## OXIDATION OF SODIUM THIOCYANATE BY *THIOBACILLUS INTERMEDIUS* C3

Xie Shuhua Yang Huifang

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

*Thiobacillus intermedius* C3, a facultative autotroph, isolated from mixed culture, which has been used to treat wastewater containing thiocyanate, and could utilize organic compounds such as saccharides, organic acids, protein, urea and acrylonitrile for heterotrophic growth and oxidize thiosulfate and thiocyanate as autotrophic nutrition. Thiocyanate served both as source of carbon and nitrogen. The ability of oxidizing sodium thiocyanate was quite strong. The speed of its oxidation was fast, 1200 mg/L sodium thiocyanate could be oxidized in 48 hours. The limited quantities of organic compounds did not influence the oxidation of thiocyanate, but which was inhibited by 300 mg/L acrylonitrile, yeast extract and asparate. When sodium thiocyanate was used by this bacterium, ammonia and sulfate were produced and the pH change of medium did not occur. About 1.0

mM sulfate and 0.5 mM ammonia could be produced from the oxidation of 1.0 mM sodium thiocyanate. The results of respiration experiments showed that the absorption of oxygen was closely related to the conditions of culturing the bacteria, concentration of cells and substrate. The maximum absorption of oxygen was obtained by the application of a concentration of 40 mg/L whole cells and 300 mg/L sodium thiocyanate. The ratio of mole O<sub>2</sub>: mole NaSCN was found to be 1.52 to 1.61: 1 and the respiratory quotient was 0.35. According to experimental results the equation of oxidation of sodium thiocyanate was suggested.

### Key words

*Thiobacillus intermedius*; Sodium thiocyanate; Oxidation