



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 110257303 B

(45)授权公告日 2020.08.18

(21)申请号 201910647852.2

(22)申请日 2019.07.18

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110257303 A

(43)申请公布日 2019.09.20

(83)生物保藏信息
CGMCC No.18052 2019.06.28

(73)专利权人 重庆文理学院
地址 402160 重庆市永川区红河大道319号

(72)发明人 肖川 杨帆 梁佳慧 燕定君
豆建雄 姜文 向康杰 张剑涛
张文武

(74)专利代理机构 杭州永航联科专利代理有限公司 33304
代理人 侯兰玉

(51)Int.Cl.

C12N 1/20(2006.01)

C02F 3/34(2006.01)

C02F 101/18(2006.01)

C02F 101/34(2006.01)

C02F 101/38(2006.01)

C12R 1/01(2006.01)

审查员 何宇

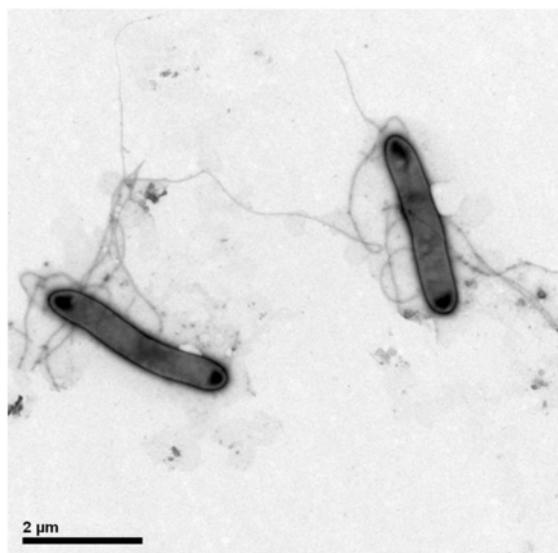
权利要求书1页 说明书4页
序列表1页 附图1页

(54)发明名称

一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌

(57)摘要

本发明涉及水处理领域,公开了一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌,所述鸟氨酸芽孢杆菌命名为鸟氨酸芽孢杆菌B1132,已在2019年6月28日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,其保藏编号为CGMCC18052,微生物分类命名为鸟氨酸芽孢杆菌 *Ornithinibacillus* sp.;所述鸟氨酸芽孢杆菌B1132的16s核糖体亚基基因序列如SEQ ID NO.1所示。本发明鸟氨酸芽孢杆菌B1132兼具耐碱、耐盐、耐氰化物和降解氰化物的能力,完全符合处理杀螟丹含氰废水的条件,是处理杀螟丹含氰废水的理想菌种资源。



1. 一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌 (*Ornithinibacillus sp.*), 其特征在于: 所述鸟氨酸芽孢杆菌命名为: B1132, 已在2019年6月28日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 其保藏编号为CGMCC18052, 微生物分类命名为鸟氨酸芽孢杆菌; 所述鸟氨酸芽孢杆菌的16s核糖体亚基基因序列如SEQ ID NO.1所示。

2. 一种含有如权利要求1所述鸟氨酸芽孢杆菌的菌体培养物。

3. 如权利要求2所述的菌体培养物, 其特征在于, 所述菌体培养物为菌剂或活性污泥。

4. 一种含有如权利要求1所述鸟氨酸芽孢杆菌的酶制剂或单细胞蛋白。

5. 权利要求1所述鸟氨酸芽孢杆菌在杀螟丹含氰废水处理中的应用。

一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌

技术领域

[0001] 本发明涉及水处理领域,尤其涉及一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌。

背景技术

[0002] 杀螟丹分子式为 $C_7H_{15}N_3O_2S_2$,白色粉末,有轻微臭味,溶于水,微溶于甲醇、乙醇,不溶于丙酮、乙醚、乙酸乙酯、氯仿、苯等有机溶剂。常温及酸性条件下稳定,碱性条件下不稳定。无致癌,制畸,致突变作用,对家蚕有毒,对鸟低毒,对蜘蛛等天敌安全。杀螟丹是沙蚕毒素类杀虫剂,具有高效、广谱、低毒、低残留等优点,具有内吸、胃毒、触杀等多种作用。杀螟丹可防治水稻螟虫、稻纵卷叶螟、稻苞虫、稻潜叶蝇、稻秆蝇及蔬菜菜青虫、小菜蝶、梨小食心虫、柑桔潜叶蛾等害虫,应用范围广市场前景好。

[0003] 现有技术中,大多数的杀螟丹生产工艺包含:调碱工序、氰化工序、三氯化磷水解、醇解、脱溶工序、结晶、离心、烘干工序等主体工程。在上述工艺中,在不同的工序中会产生不同的废水,其中占比最大的为氰化工序中产生的含氰废水。该含氰废水具有高氰、高盐、高碱的特点,属于高难处理废水。

[0004] 目前常用采用的废水处理方式是高温破氰:通过加碱调pH以后,在 $110^{\circ}C$ 高温条件下,将CN-水解生成无毒害的 NH_3 和 $HCOONa$, $HCOONa$ 进一步转化为 Na_2CO_3 ,冷凝回收的浓缩淡液再加双氧水进一步氧化除氰。上述方法中的高温环境的维持、大量的NaOH和双氧水的用量,虽然处理效果好但是成本高,同时还会产生二次污染,给企业增加了大笔开销,使杀螟丹生产实际成本提高,企业利润减少。

[0005] 传统生物法处理废水节能高效、价格低廉,但因传统微生物适应环境能力有限,很难处理高毒、高盐废水。杀螟丹的含氰废水其性质pH值高、盐分和含氰量高、毒大性,普通微生物难以直接生化降解。

[0006] 综上,目前利用极端微生物处理杀螟丹废水的应用主要存在以下几个问题:

[0007] 1) 杀螟丹废水兼具高碱、高盐的特性,要适应这样的水质环境,需要我们筛选或构建具备耐盐和耐碱的极端微生物。

[0008] 2) 杀螟丹废水除了具有相当高的盐度和碱度以外,还含有大量的有毒氰化物,对微生物具有毒害作用。因此要求耐碱耐盐菌种同时还需具备耐受和降解氰化物能力。

[0009] 3) 在对耐碱、耐盐、降解氰化物的微生物的研究中,大多仅适用于实验室的研究,适用于实际工程的成功案例较少,环保上嗜耐盐微生物的工程应用经验不足。

[0010] 4) 耐碱、耐盐、降解氰化物的微生物菌群不同于常规活性污泥,其生长需要的各类生长因子往往不能自给自足,需要外源投加,对污水系统管理上提出了新的要求。

发明内容

[0011] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌。本发明鸟氨酸芽孢杆菌B1132兼具耐碱、耐盐、耐氰化物和降解氰化物的能力,完

全符合处理杀螟丹含氰废水的条件,是处理杀螟丹含氰废水的理想菌种资源。

[0012] 本发明的具体技术方案为:

[0013] 本发明提供了一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌,其命名为鸟氨酸芽孢杆菌B1132,已在2019年6月28日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,其保藏编号为CGMCC18052,微生物分类命名为鸟氨酸芽孢杆菌*Ornithinibacillus* sp.;所述鸟氨酸芽孢杆菌B1132的16s核糖体亚基基因序列如SEQ ID NO.1所示。

[0014] 本发明B1132菌株分离自新疆拜城县盐山样本中,其底物范围较为广泛,能利用常见糖类、有机酸和醇等碳氮源进行生长。经测序鉴定,B1132菌株16s核糖体亚基基因序列最相似菌株为嗜盐鸟氨酸杆菌(*Ornithinibacillus halophilus*),但是嗜盐鸟氨酸杆菌对于氰化物的耐受和降解能力很差,而本发明鸟氨酸芽孢杆菌B1132则在耐碱、耐盐的基础上兼具对氰化物的耐受和降解,是处理杀螟丹含氰废水的理想菌种资源。

[0015] 本发明鸟氨酸芽孢杆菌B1132的特性如下:

[0016] (1)、通过HS培养基进行筛选、传代。所用培养基HS为:0.5g氰基环己醇,0.1g酵母提取物,50g氯化钠,20ml盐溶液(0.25g氯化钙,0.5g硫酸镁,1g磷酸氢二钾,1g磷酸二氢钾,10g碳酸氢钠,2g硝酸铵,1g柠檬酸铁,超纯水溶解,定容至1L),超纯水溶解定容至1L,pH=7.121℃高压蒸汽灭菌待用。

[0017] (2)、菌株B1132在HS培养基中所需生长条件:温度10-45℃(最适28℃),pH 6-12(最适9.5),盐度0-15%(w/v,最适5%)。

[0018] (3)、菌株B1132为革兰氏阳性杆菌,大小0.5-1×2-5(μm),有鞭毛。形态如图1所示。

[0019] (4)、在HS培养基中菌株B1132的代时约为0.5h。

[0020] (5)、菌株B1132对青霉素、万古霉素、链霉素、红霉素、氯霉素、卡那霉素、新霉素等多种抗生素敏感。

[0021] (6)、菌株B1132主要含有的脂肪酸为分枝链饱和脂肪酸ISO-C_{14:0}、ISO-C_{15:0}、ANTEISO-C_{15:0}、ISO-C_{16:0}。

[0022] (7)、菌株B1132具有酸性磷酸酶活性。

[0023] (8)、菌株B1132的甲基红试验和产硫化氢试验为阳性。

[0024] (9)、菌株B1132的产吡啶试验、V-P试验、触媒活性、氧化酶活性为阴性。

[0025] 如背景技术中所述的,目前针对杀螟丹含氰废水的破氰,普遍采用高温破氰法。上述方法需要维持高温环境、消耗大量的NaOH和双氧水,虽然处理效果好但是成本高,同时还会产生二次污染,给企业增加了大笔开销,使杀螟丹生产实际成本提高,企业利润减少。而在现有技术中并无对杀螟丹含氰废水进行微生物处理的先例。并且,也鲜有微生物能够同时兼备耐碱、耐盐以及耐受和降解氰化物的能力。

[0026] 本发明提供了一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌,为前述鸟氨酸芽孢杆菌B1132的培养物或者传代后的培养物。

[0027] 本发明提供了一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌的突变体,所述突变体为对前述鸟氨酸芽孢杆菌B1132进行诱变、驯化、基因重组或者经自然突变而获得的突变体。

[0028] 本发明提供了一种含有前述鸟氨酸芽孢杆菌或含有前述突变体的菌体培养物。

- [0029] 作为优选,所述菌体培养物为菌液、菌剂或活性污泥。
- [0030] 本发明提供了一种含有前述鸟氨酸芽孢杆菌或含有前述突变体的酶制剂或单细胞蛋白。
- [0031] 本发明将前述鸟氨酸芽孢杆菌或所述突变体应用于杀螟丹含氰废水处理中。
- [0032] 与现有技术对比,本发明的有益效果是:
- [0033] 本发明鸟氨酸芽孢杆菌B1132兼具耐碱、耐盐、耐氰化物和降解氰化物的能力,完全符合处理杀螟丹含氰废水的条件,是处理杀螟丹含氰废水的理想菌种资源。

附图说明

- [0034] 图1为鸟氨酸芽孢杆菌B1132的显微镜照片。

具体实施方式

- [0035] 下面结合实施例对本发明作进一步的描述。
- [0036] 总实施例
- [0037] 一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌,其命名为鸟氨酸芽孢杆菌B1132,已在2019年6月28日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,其保藏编号为CGMCC18052,微生物分类命名为鸟氨酸芽孢杆菌*Ornithinibacillus* sp.;所述鸟氨酸芽孢杆菌B1132的16s核糖体亚基基因序列如SEQ ID NO.1所示。。
- [0038] 一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌,为前述鸟氨酸芽孢杆菌B1132的培养物或者传代后的培养物。
- [0039] 一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌的突变体,所述突变体为对前述鸟氨酸芽孢杆菌B1132进行诱变、驯化、基因重组或者经自然突变而获得的突变体。
- [0040] 一种含有前述鸟氨酸芽孢杆菌或含有前述突变体的菌体培养物。作为优选,所述菌体培养物为菌液、菌剂或活性污泥。
- [0041] 一种含有前述鸟氨酸芽孢杆菌或含有前述突变体的酶制剂或单细胞蛋白。
- [0042] 本发明将前述鸟氨酸芽孢杆菌或所述突变体应用于杀螟丹含氰废水处理中。
- [0043] 实施例1:B1132的生产发酵
- [0044] B1132可采用普通玉米浆作为原料进行发酵生产。500L发酵罐中配置玉米浆6%、磷酸氢二钾0.1%时,pH=7。接种10%菌体,200rpm通气搅拌,28℃培养48h可获得最大的B1132菌体生物量,浓度达到 $10E9CFU/mL$ 。
- [0045] 实施例2:某农药厂杀螟丹含氰废水处理
- [0046] 将杀螟丹含氰废水(pH=10,盐度为3%)收集后进入生物氧化池,投放鸟氨酸芽孢杆菌B1132菌种,初始接种量为10%(菌液浓度为 $10E9CFU/mL$)。在室温条件下曝气,进行菌种扩增,48h后,池内废水中菌体密度达到 $10E9CFU/mL$ 。此后,使杀螟丹含氰废水连续通入含有鸟氨酸芽孢杆菌B1132菌种的生物氧化池进行连续处理,停留时间72h。该农药厂的杀螟丹含氰废水经过上述处理后,再和其他冲洗废水等低浓度废水混合,经过后续常规处理后,已经实现达标排放,并且指标稳定性好。
- [0047] 其中,进水(废水处理前)中的氰根含量为1050mg/L左右,而出水(废水处理后的)氰根含量为0.7mg/L左右,氰根去除率达到99.9%。

[0048] 对比例1:传统高温破氰法处理

[0049] 针对实施例1农药厂的杀螟丹含氰废水,采用传统的高温破氰法进行处理:通过加碱以后,在110℃高温条件下,将CN⁻水解生成无毒害的NH₃和HCOONa,HCOONa进一步转化为Na₂CO₃,冷凝回收的浓缩淡液再加双氧水进一步氧化除氰。最终其出水中的氰根含量为1mg/L左右。

[0050] 通过数据对比可知,本发明方法与传统高温破氰法相比,不仅无需维持高温环境、消耗大量的NaOH和双氧水,无二次污染,并且除氰效果相当,甚至略好。

[0051] 本发明中所用原料、设备,若无特别说明,均为本领域的常用原料、设备;本发明中所用方法,若无特别说明,均为本领域的常规方法。

[0052] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例,并非对本发明作任何限制,凡是根据本发明技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、变更以及等效变换,均仍属于本发明技术方案的保护范围。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 重庆文理学院
- [0003] <120> 一株适用于处理杀螟丹含氰废水的鸟氨酸芽孢杆菌
- [0004] <130> 2019
- [0005] <160> 1
- [0006] <170> SIPOSequenceListing 1.0
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 1527
- [0009] <212> DNA
- [0010] <213> 鸟氨酸芽孢杆菌(Ornithinibacillus sp.)
- [0011] <400> 1
- [0012] agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc 60
- [0013] gcgtgaaact tttcagatcc cttcgggggtg acgaattgtg gaacgagcgg cggacgggtg 120
- [0014] agtaacacgt gggcaacctg cctgtaagac tgggataact cgcggaaacg tgagctaata 180
- [0015] ccgataata cttttcatct catgatgaga agatgaaagg cggcttcggc tgtcacttac 240
- [0016] agatgggccc gcggcgcatt agctagttgg tgaggtaacg gctcaccaag gcaacgatgc 300
- [0017] gtagccgacc tgagagggtg atcggccaca ctgggactga gacacggccc agactcctac 360
- [0018] gggaggcagc agtagggaat cttccgcaat ggacgaaagt ctgacggagc aacgccgcgt 420
- [0019] gagtgatgaa ggttttcgga tcgtaaaact ctgttgttag ggaagaacaa gtactaaagt 480
- [0020] aactgttagt accttgacgg tacctaacca gaaagccccg gctaactacg tgccagcagc 540
- [0021] cgcgtaata cgtagggggc aagcgttgtc cggaattatt gggcgtaaag cgcgcgtagg 600
- [0022] cggtccttta agtctgatgt gaaagcccac ggcttaaccg tggagggtca ttggaaactg 660
- [0023] gaggacttga gtgcagaaga ggagagtgga attccacgtg tagcggtgaa atgcgtagag 720
- [0024] atgtggagga acaccagtgg cgaaggcgac tctctggtct gtaactgacg ctgaggtgcg 780
- [0025] aaagcgtggg tagcgaacag gattagatac cctggtagtc cacgccgtaa acgatgagtg 840
- [0026] ctaggtgta gggggtttcc gcccttagt gctgaagtta acgcattaag cactccgcct 900
- [0027] ggggagtac gcccaaggc taaaactcaa agaattgac gggggcccgc acaagcgggtg 960
- [0028] gagcatgtgg ttttaattcga agcaacgcga agaacctac caggtcttga catcctctga 1020
- [0029] caccctaga gatagggctt tcccttcggg gacagagtga caggtggtgc atggttgtcg 1080
- [0030] tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcacacc ttgatcttag 1140
- [0031] ttgccagcat taagttgggc actctaaggt gactgccggt gacaaaccgg aggaaggtgg 1200
- [0032] ggatgacgtc aaatcatcat gcccttatg acctgggcta cacacgtgct acaatggatg 1260
- [0033] gaacaaaggg cagcgaaac gcgaggtgaa gcaaatccca taaaaccatt ctcagttcgg 1320
- [0034] attgtggget gcaactcgcc tacatgaagc cggaatcget agtaatcgcg gatcagcatg 1380
- [0035] ccgcggtgaa tacgttcccg ggccttgtag acaccgcccg tcacaccacg agagttggta 1440
- [0036] acaccgaag tcggtgaggt aaccttttgg agccagccgc ctaaggtggg accaatgatt 1500
- [0037] ggggtgaagt cgtaacaagg tagccgt 1527

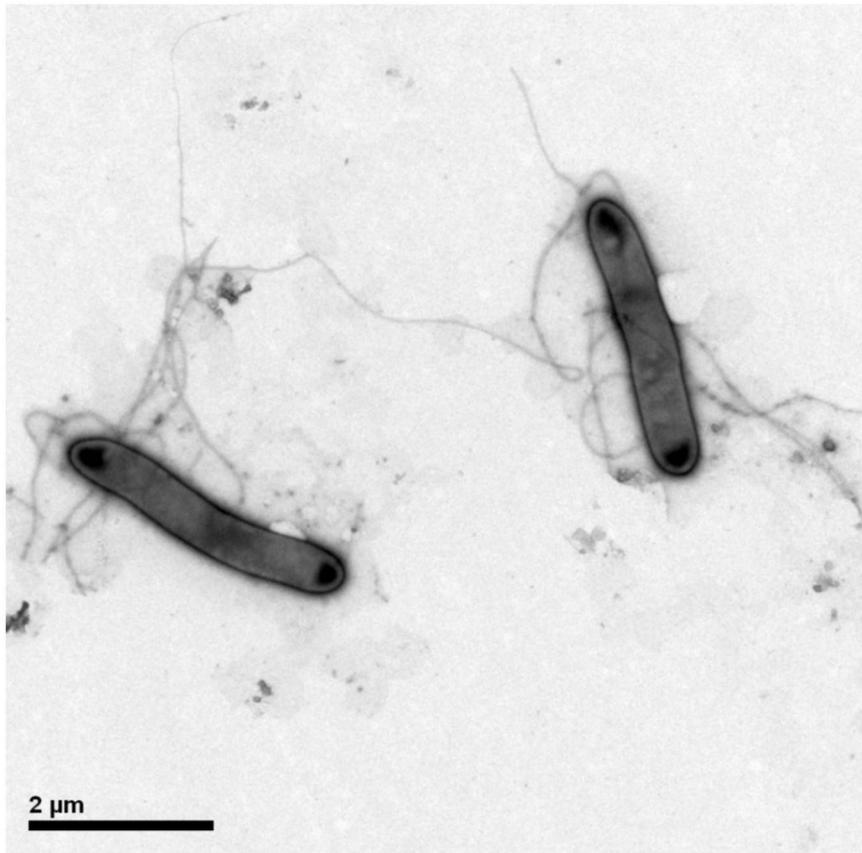


图1