[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C02F 3/34
C02F 3/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99107961.2

[45] 授权公告日 2004 年 1 月 7 日

[11] 授权公告号 CN 1133598C

[22] 申请日 1999.5.11 [21] 申请号 99107961.2
[30] 优先权
[32] 1998. 8. 6 [33] JP [31] 234983/1998
[71] 专利权人 东京拜奥克斯株式会社
地址 日本东京都
[72] 发明人 伊东荣三 伊东直树
审查员 鲍梦熊

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 齐曾度

权利要求书 1 页 说明书 8 页

[54] 发明名称 水净化剂和水净化方法

[57] 摘要

一种包含除芽孢杆菌属菌株以外的微生物的有效的水净化剂和水净化方法，所说的水净化剂含有类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母，所说的方法包括使类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母同时存在于水中以净化水。

ISSN1008-4274

1. 一种水净化剂，该净化剂含有类干酪乳杆菌类干酪亚种、病臭肠球菌和解脂假丝酵母，上述微生物在载体上的量在 5-20,000,000,000 个微生物/cm^3 之间。

2. 权利要求 1 的净化剂，其中三种微生物的数量百分比是：

类干酪乳杆菌类干酪亚种： 20-60%

病臭肠球菌： 20-60%

解脂假丝酵母： 10-30%。

3. 一种水净化方法，该方法包括使类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母同时存在于水中以净化水，上述微生物在载体上的量在 5-20,000,000,000 个微生物/cm^3 之间。

水净化剂和水净化方法

本发明涉及水净化剂和水净化方法，更具体地说涉及利用微生物的水净化剂和水净化方法。

就用于净化水(特别是废水)的微生物而言，各种芽孢杆菌属的微生物是已知的。本发明的一个目的是提供一种利用除芽孢杆菌属以外的微生物的有效的水净化剂以及采用上述微生物的水净化方法。

本发明发明人业已勤奋地研究了能够达到上述目的的微生物，并已发现类干酪乳杆菌类干酪亚种(Lactobacillus paracasei subspecies paracasei)，病臭肠球菌(Enterococcus malodoratus)和解脂假丝酵母(Candida lipolytica)的组合可以有效地净化水。

在上述发现的基础上已经完成了本发明，本发明的水净化剂含有类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母。

此外，由本发明提供的水净化方法包括使类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母同时存在于水中以净化水。

在本发明中，通过上述微生物与酵母(除芽孢杆菌属以外)的相互作用以及上述微生物和酵母与天然存在的微生物之间的相互作用，可以有效地净化水。

本发明的具体构成将在下文详尽解释。

本发明的水净化剂含有类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母。

乳酸杆菌是革兰氏阳性芽孢杆菌，其发酵蔗糖主要产生乳酸。有一些已知的类干酪乳杆菌类干酪亚种的例子，其是从乳制品，下水道，青贮饲料和临床物质分离的。

就类干酪乳杆菌类干酪亚种而言，优选地是利用本申请申请人按照用于专利程序的国际微生物保藏登记的布达佩斯条约(此后，在此意义上使用国际保藏这一术语)，已经在国立生物科学和人体技术研究所的工业科学技术机构进行了国际保藏的类干酪乳杆菌类干酪亚种，即专利微生物保藏物 DDD-a (保藏号为 FERM BP-6463)。

上述类干酪乳杆菌类干酪亚种的细菌学性质解释如下。

试验项目	试验结果
形态学	杆菌(vacillus)
革兰氏染色性	+
孢子	-
移动性	-
对氧的行为	兼性厌氧
过氧化氢酶	-
形成的乳酸	L(+)
从葡萄糖产生气体	-
从葡萄糖酸盐（glucoate）产生气体	+
在15℃生长	+
在45℃生长	-
蔗糖的发酵能力	
扁桃苷	+
阿拉伯糖	-
七叶甙	+
果糖	+
半乳糖	+
葡萄糖	+
葡萄糖酸盐	+
乳糖	+
麦芽糖	+
甘露糖醇	+
甘露糖	+
松三糖	+
蜜二糖	-
棉子糖	-
鼠李糖	-
核糖	+

水杨苷	+
山梨醇	+
蔗糖	+
海藻糖	+
木糖	-
微生物中 DNA 的 GC 含量(mol%)*1	46

*1 根据 HPLC 法

肠道球菌被称为肠球菌，从乳酪分离出的例子被称为病臭肠球菌。

就病臭肠球菌而言，优选地是利用本申请申请人已经在国立生物科学和人体技术研究所的工业科学技术机构进行了国际保藏的病臭肠球菌，即专利微生物保藏物 DDD-b (保藏号为 FERM BP-6464)

上述病臭肠球菌的细菌学性质解释如下。

试验项目	试验结果
形态学	链球菌
革兰氏染色性	+
孢子	-
移动性	-
对氧的行为	兼性厌氧
过氧化氢酶	-
从葡萄糖产生气体	-
形成的乳酸	L(+)
在 15℃生长	+
在 45℃生长	-
在有 6.5%NaCl 存在下生长	+
在 pH9.6 下生长	+
在有 40%胆汁存在下生长	+
溶血作用	α-溶血
精氨酸双水解酶	—
马尿酸	-
七叶甙水解	+

在0.1%美蓝奶中生长	-	
VP反应	-	
酸的形成		
木糖	-	
鼠李糖	+	
蔗糖	+	
乳糖	+	
蜜二糖	+	
棉子糖	+	
松三糖	+	*1
甘油	-	
侧金盏糖醇	-	*2
山梨醇	+	
甘露糖醇	+	
L-阿拉伯糖	-	
黄色染料的产生	-	
微生物中DNA的GC含量(mol%)*2	40	

*1 非典型性质

*2 根据HPLC法

假丝酵母属是不完全真菌类酵母，解脂假丝酵母有脂肪酶，因此作为造成黄油，人造黄油等变质的微生物被分离，已经发现从橄榄、土壤和动物(包括人类)分离的例子。

就解脂假丝酵母而言，优选地是利用本申请申请人已经在国立生物科学和人体技术研究所的工业科学技术机构进行了国际保藏的解脂假丝酵母，即专利微生物保藏物DDD-c（保藏号为FERM BP-6465)。

上述DDD-c解脂假丝酵母的细菌学性质解释如下。

试验项目	试验结果
滋养细胞形态学	卵形-椭圆形-圆柱形
生长形态学	多极芽殖
液体培养	观察到脱脂乳沉淀和形成(25℃，3天)

假菌丝体	形成(25℃，3天)
真菌	形成(25℃，3天)
子囊孢子	在ADAMS、GORODKOWA、麦芽、YM、V-8和土豆葡萄糖培养基的任何一种中未观察到形成
发酵能力	
葡萄糖	-
半乳糖	-
蔗糖	-
麦芽糖	-
乳糖	-
棉子糖	-
同化能力	
半乳糖	-
蔗糖	-
麦芽糖	-
纤维二糖	-
海藻糖	-
乳糖	-
蜜二糖	-
棉子糖	-
松三糖	-
淀粉	-
D-木糖	-
L-阿拉伯糖	-
D-核糖	+
L-鼠李糖	-
甘油	+
赤藓糖醇	+
核糖醇	-

D-甘露糖醇	+
乳酸盐	+
琥珀酸盐	+
柠檬酸盐	+
肌醇	-
硝酸盐的同化能力	-
在37℃下生长	-
在维生素-缺陷型培养基中生长	-
尿素分解	稍微
DBB的颜色	-
脂肪酶	+

如果培养基是一般的营养培养基，上述三种微生物菌株在任何培养基中都生长良好。类干酪乳杆菌类干酪亚种和病臭肠球菌特别优选地是在MRS培养基中培养，解脂假丝酵母特别优选地是在YM培养基中培养。

当大约在15-45℃培养时，上述微生物菌株的任何一种都生长良好。

在本发明的水净化剂中，上述三种微生物菌株优选地保持在这样一种状态，即所说的微生物组被固定在载体上，以便易于处理它们。

固定在载体上的微生物组中所包含的上述三种微生物菌株的数量比没有特殊的限制。即，当允许上述微生物菌株共存于水中时，它们稳定在几乎恒定的数量比，而这取决于保存或者培养条件。然而，当保存或者培养条件适当设定，以达到下列数量比时，可以显著有效地显示出水净化的功能。

类干酪乳杆菌类干酪亚种： 20-60%

病臭肠球菌： 20-60%

解脂假丝酵母： 10-30%

用于固定微生物组的载体优选地具有容纳微生物的大的容量，并且使得能够容易活化微生物。

所说的载体优选地选自石头和岩石(例如，珍珠岩和硅藻土)或者其磨碎的产物，砂砾，沙子，塑料，陶瓷(例如，矾土、硅石、天然沸石和合成沸石)以及滑石。特别优选地是使用具有连续孔的多孔材料，如多孔陶瓷或者多孔塑料。例如，

优选地是使用精细粉(商品名：Perlite)，其是通过在高温高压下热处理珍珠岩磨碎的产物，并剧烈减压把所述珍珠岩转化成多孔材料获得的，因为它具有允许微生物粘附于其上并且保持它们存活的性质。上述的多孔材料优选具有大约 2-10 μm 的孔径。上述载体的形式可以是块状，微粒，粉末，精细粉，平板以及针状材料的任何一种，而载体优选地是具有 2mm 或更小平均颗粒直径的粉末，特别优选地是具有大约 50 μm-1 mm 平均颗粒直径的粉末。固定到上述载体上的微生物组以这样一种状态使用，其中它们包含在水或气体可良好渗透的容器中，例如由布或网制造的容器中。

此外，带状或片状机织织物或无纺织物也可以用作上述载体。

当使得所说的载体可以支持微生物组时，可以混合该载体和本发明的微生物的分散体，然后可以干燥混合物，而微生物组可以在载体上直接培养。

尽管所支持的微生物组的量随支持条件的不同有所不同，但其优选地在 5-20,000,000,000 个微生物/cm^3之间，更优选地在 10-10,000,000,000 个微生物/cm^3之间。

通过相互作用，上述三种微生物菌株可以有效地分解废水中的有机物质。

此外，所说三种微生物菌株的每一种的安全性已由将其口头施用给小鼠得到确认。

在本发明提供的水净化方法中，通过使类干酪乳杆菌类干酪亚种，病臭肠球菌和解脂假丝酵母同时存在于水中来净化待处理的水。即通过将本发明的水净化剂引入待处理的水中/保持与待处理的水接触进行水净化。待处理的水包括普通家庭排放水和污水，工业废水以及河，湖，池塘的水等。

对于水的纯化，本发明的水净化剂优选地以每升待处理的水 1-50g 的量使用，特别优选地以每升待处理的水 5-20g 的量使用。

在水净化期间，优选地进行通气。

本发明提供的水净化方法不需要任何其它特殊的条件。

实施例

以下参照实施例解释本发明。

首先制备具有下列组成的培养基。

培养基

蛋白胨 5g

肉膏 5g

NaCl 2.5g

水 500ml (pH7.0)

将具有上述组成的培养基置入1,000ml容器中，接种与在上述专利微生物保藏处保藏的DDD-a，DDD-b和DDD-c相同的微生物，并充分搅拌。然后使容器静置，在30℃下培养所说的微生物1天。DDD-a : DDD-b : DDD-c的数量比大约为40 : 40 : 20。

将所形成的培养液放入离心分离器中以分离微生物，将微生物充分洗涤，并使它们粘附在载体上，以给出粉末状的水净化剂。已通过燃烧硅藻土并把它研磨成粉制备了载体。载体上所支持的微生物的量大约为5,000,000,000个微生物/cm^3。

将10克粉末状的上述水净化剂接种到20升测定目标物中，以测量生化需氧量(BOD)，化学需氧量(COD)，悬浮固体(SS)，以及澄清度随时间的变化。有关试验方法，根据日本工业标准K 0102-21和日本工业标准K 0102-32.3测定生物需氧量，根据日本工业标准K 0102-17测定化学需氧量，根据第59号推荐的方法所附的表6测定悬浮固体，并且根据给水试验方法(一般性质)测定澄清度。通过于1998年7月4日在Yukifuna公园(Edogawa Ward, 东京)池塘中取水样来制备测量目标物。将取样的水以各20升的量置入两个容器中，将10克上述水净化剂置入一个容器中并且对水通气(实施例)，使另一个其中有水的容器静置(比较实施例)。5天后，测定上述BOD等。在这些数据的测量中，使测量目标物和比较目标物静置2小时，它们的上清液用作试验液体。表1 显示了结果。

表 1

编号	测量项目	单位	CEx.	实施例
1	生化需氧量(BOD)	mg/l	7.7	3.1
2	化学需氧量(COD)	mg/l	37	8.7
3	悬浮固体(SS)	mg/l	86	2.8
4	澄清度	度	15	至少30

CEx.=比较实施例

如表1清楚说明的，本发明的水净化剂有效地净化水。