



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114477471 A

(43) 申请公布日 2022.05.13

(21) 申请号 202210143078.3

C12R 1/01 (2006.01)

(22) 申请日 2022.02.16

C12R 1/38 (2006.01)

(71) 申请人 杭州秀川科技有限公司

C02F 101/34 (2006.01)

地址 311100 浙江省杭州市余杭区仓前街
道欧美金融城4幢1903-9室

C02F 101/38 (2006.01)

(72) 发明人 苏悦 秦彦军 夏雨 李书峰
王伟 李栩琪 孙聪 徐林

(74) 专利代理机构 合肥伟晟壹腾知识产权代理
事务所(普通合伙) 34190

专利代理师 陈铖

(51) Int. Cl.

C02F 3/34 (2006.01)

C12N 1/02 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/025 (2006.01)

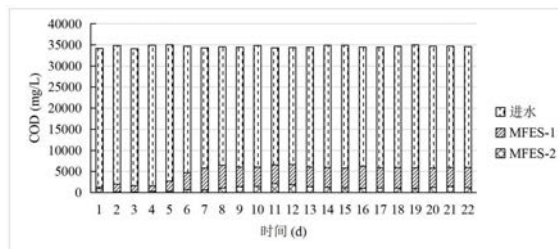
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法

(57) 摘要

本发明提供一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法。具体步骤为:A、通过海洋、盐湖、盐矿、化工废水及土壤极端环境中提供微生物菌株,并建立化工源菌株库;B、从化工源菌株库中选取备选菌株进行培养,经过多次转接后选取稳定生长的菌种,并按照比例构建复合菌群IMP。本发明提供的复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,解决了甲维盐产生的废水COD高、TN高、毒性大,废水处理难度高的问题,本发明采用生物预处理以替代化学高级氧化,不仅可将COD大部分去除,而且能将有机氮全部氨化,实现废水的高效预处理,为企业活性污泥系统降低处理负担。



1. 一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,具体步骤为:

A、通过海洋、盐湖、盐矿、化工废水及土壤极端环境中提供微生物菌株,并建立化工源菌株库;

B、从化工源菌株库中选取备选菌株进行培养,经过多次转接后选取稳定生长的菌种,并按照比例构建复合菌群IMP;

C、将甲维盐胺化废水稀释6倍,控制HRT为4d, $DO > 2\text{mg/L}$,水温 $30-35^{\circ}\text{C}$,复合菌群IMP种子液按照30%的接种量接种,通过搅拌系统搅拌,并添加营养物质,菌种处理池pH值控制在 $6.0-7.0$;

D、每天监测废水的基本水质数据,直至废水中TN和COD值不在发生变化。

2. 根据权利要求1所述的一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,步骤B中建复合菌群IMP的构建方法具体为:

a、从化工源菌株库中选取生长周期在3d内、培养温度在 $25-35^{\circ}\text{C}$ 、培养基简单的菌株作为备选菌株,并置于无菌96孔板中采用LB培养基活化;

b、将甲维盐胺化废水稀释6倍,经 $0.22\mu\text{m}$ 膜进行过滤除菌后再分装于无菌96孔板内,将活化后的备选菌株按照1%接种于甲维盐胺化废水中,在 30°C 下培养3d;

c、培养结束后,用酶标仪测定96孔板中菌株 OD_{600} 值,选取 $OD_{600} > 0.5$ 作为目标菌株,目标菌株经过多次转接后,选取仍能稳定生长的菌种作为待测菌株;

d、待测菌株分别用LB培养基进行活化,将处于对数期的新鲜菌液在 6000r/min 条件下离心5min获得菌体,用0.9%的生理盐水洗涤2次,再用无菌蒸馏水以重悬菌体,获得 $OD_{600} = 1.0$ 的种子液,取100mL已调节完营养的甲维盐胺化废水装于250mL锥形瓶中,并将种子液按照10%接种量接种于甲维盐胺化废水中,每个菌株设置3组平行,并设置不加菌株的对照组均置于 150r/min 、 30°C 培养,定期检测COD值,并选取处理效果好的菌株;

e、对在5d内COD去除率50%以上的菌种进行16S rRNA基因测序,将测序结果提交至EzBioCloud数据库进行序列比对,分离出4株具有高效降解效果的菌种分别为JW3、JW6、JW32和JW45;

f、将以上4株菌株种子液按照1:1等体积两两复配,并将不同复配混合液分别按照总接种量10%接种于已调节完营养的甲维盐胺化废水中,各体系均置于 150r/min 、 30°C 培养,定期检测COD值,通过不同复配组合对甲维盐胺化废水的处理效果,选取复合菌群IMP组成为菌种JW3、JW6和JW32,且比例为1:1:1。

3. 根据权利要求2所述的一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,其特征在于,所述LB培养基的成分为酵母粉 5g/L 、蛋白胨 10g/L 和 NaCl 110g/L 。

4. 根据权利要求1所述的一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,步骤C中,稀释6倍的甲维盐胺化废水中补充 KH_2PO_4 0.5g/L ,并采用 H_2SO_4 调节废水 $\text{pH} = 6.0-7.0$ 。

5. 根据权利要求1所述的一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,其特征在于,所述生化预处理池的底部安装有曝气系统。

一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及污水处理领域,尤其涉及一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法。

背景技术

[0002] 甲维盐全称甲胺基阿维菌素苯甲酸盐,是从发酵产品阿维菌素开始合成的一种新型高效半合成抗生素杀虫剂,其功效比阿维菌素杀虫活性高3个数量级,其结构修饰是以阿维菌素为母体,引入甲胺基与苯甲酸成盐,是众多阿维菌素化学衍生物中最具有代表性的一类,可以替代拟除虫菊酯和有机磷农药,在农业及畜牧业的害虫防治中有广泛的应用,甲维盐生产主要经保护氧化工序、氨化还原工序、成盐脱盐工序3个工艺过程,产生的废水COD高、TN高、毒性大,废水处理难度高,甲维盐废水处理相关报道较少,企业大多以芬顿等高级氧化处理后进行生化处理,并且高级氧化处理成本高、设备维护成本高,并产生危废及二次污染。

[0003] 因此,有必要提供一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法解决上述技术问题。

发明内容

[0004] 本发明提供一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,解决了上述的技术问题。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明提供的一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,具体步骤为:

[0006] A、通过海洋、盐湖、盐矿、化工废水及土壤极端环境中提供微生物菌株,并建立化工源菌株库;

[0007] B、从化工源菌株库中选取备选菌株进行培养,经过多次转接后选取稳定生长的菌种,并按照比例构建复合菌群IMP;

[0008] C、将甲维盐胺化废水稀释6倍,控制HRT为4d,DO>2mg/L,水温30-35℃,复合菌群IMP种子液按照30%的接种量接种,通过搅拌系统搅拌,并添加营养物质,菌种处理池pH值控制在6.0-7.0;

[0009] D、每天监测废水的基本水质数据,直至废水中TN和COD值不在发生变化。

[0010] 进一步地,步骤B中建复合菌群IMP的构建方法具体为:

[0011] a、从化工源菌株库中选取生长周期在3d内、培养温度在25-35℃、培养基简单的菌株作为备选菌株,并置于无菌96孔板中采用LB培养基活化;

[0012] b、将甲维盐胺化废水稀释6倍,经0.22μm膜进行过滤除菌后再分装于无菌96孔板内,将活化后的备选菌株按照1%接种于甲维盐胺化废水中,在30℃下培养3d;

[0013] c、培养结束后,用酶标仪测定96孔板中菌株OD₆₀₀值,选取OD₆₀₀>0.5作为目标菌株,目标菌株经过多次转接后,选取仍能稳定生长的菌种作为待测菌株;

[0014] d、待测菌株分别用LB培养基进行活化,将处于对数期的新鲜菌液在6000r/min条件下离心5min获得菌体,用0.9%的生理盐水洗涤2次,再用无菌蒸馏水以重悬菌体,获得OD₆₀₀=1.0的种子液,取100mL已调节完营养的甲维盐胺化废水装于250mL锥形瓶中,并将种

子液按照10%接种量接种于甲维盐胺化废水中,每个菌株设置3组平行,并设置不加菌株的对照组均置于150r/min、30℃培养,定期检测COD值,并选取处理效果好的菌株;

[0015] e、对在5d内COD去除率50%以上的菌种进行16S rRNA基因测序,将测序结果提交至EzBioCloud数据库进行序列比对,分离出4株具有高效降解效果的菌种分别为JW3、JW6、JW32和JW45;

[0016] f、将以上4株菌株种子液按照1:1等体积两两复配,并将不同复配混合液分别按照总接种量10%接种于已调节完营养的甲维盐胺化废水中,各体系均置于150r/min、30℃培养,定期检测COD值,通过不同复配组合对甲维盐胺化废水的处理效果,选取复合菌群IMP组成为菌种JW3、JW6和JW32,且比例为1:1:1。

[0017] 进一步地,所述LB培养基的成分为酵母粉5g/L、蛋白胨10g/L和NaCl10g/L。

[0018] 进一步地,步骤C中,稀释6倍的甲维盐胺化废水中补充 KH_2PO_4 0.5g/L,并采用 H_2SO_4 调节废水pH=6.0-7.0。

[0019] 进一步地,所述生化预处理池的底部安装有曝气系统。

[0020] 与相关技术相比较,本发明提供的复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法具有如下有益效果:

[0021] 本发明提供一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,通过复合菌群高效降解效果,解决了甲维盐产生的废水COD高、TN高、毒性大,废水处理难度高的问题,本发明采用生物预处理以替代化学高级氧化,不仅可将COD大部分去除,而且能将有机氮全部氨化,实现废水的高效预处理,为企业活性污泥系统降低处理负担。

附图说明

[0022] 图1为本发明复合菌群IMP对甲维盐胺化废水COD的处理效果。

具体实施方式

[0023] 下面结合附图和实施方式对本发明作进一步说明。

[0024] 请结合参阅图1所示,一种复合菌群处理甲维盐胺化废水的方法,具体步骤为:A、通过海洋、盐湖、盐矿、化工废水及土壤极端环境中提供微生物菌株,并建立化工源菌株库;B、从化工源菌株库中选取备选菌株进行培养,经过多次转接后选取稳定生长的菌种,并按照比例构建复合菌群IMP;C、将甲维盐胺化废水稀释6倍,控制HRT为4d, $\text{DO}>2\text{mg/L}$,水温30-35℃,复合菌群IMP种子液按照30%的接种量接种,通过搅拌系统搅拌,并添加营养物质,菌种处理池pH值控制在6.0-7.0;D、每天监测废水的基本水质数据,直至废水中TN和COD值不在发生变化;

[0025] 甲维盐胺化废水由于TN极高,若TN全部转化为 $\text{NH}_3\text{-N}$,会导致微生物中毒,故需控制配水TN在2000mg/L以内,胺化废水稀释6倍水质如表1所示;

指标	COD	$\text{NH}_3\text{-N}$	TP	TN	pH	TDS
	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
数据	33245	166	0	2202	8	5000

[0027] 表1

[0028] 本发明步骤B中建复合菌群IMP的构建方法具体为:a、从化工源菌株库中选取生长周期在3d内、培养温度在25-35℃、培养基简单的菌株作为备选菌株,并置于无菌96孔板中采用LB培养基活化;b、将甲维盐胺化废水稀释6倍,经0.22μm膜进行过滤除菌后再分装于无菌96孔板内,将活化后的备选菌株按照1%接种于甲维盐胺化废水中,在30℃下培养3d;c、培养结束后,用酶标仪测定96孔板中菌株OD₆₀₀值,选取OD₆₀₀>0.5作为目标菌株,目标菌株经过多次转接后,选取仍能稳定生长的菌种作为待测菌株;d、待测菌株分别用LB培养基进行活化,将处于对数期的新鲜菌液在6000r/min条件下离心5min获得菌体,用0.9%的生理盐水洗涤2次,再用无菌蒸馏水以重悬菌体,获得OD₆₀₀=1.0的种子液,取100mL已调节完营养的甲维盐胺化废水装于250mL锥形瓶中,并将种子液按照10%接种量接种于甲维盐胺化废水中,每个菌株设置3组平行,并设置不加菌株的对照组均置于150r/min、30℃培养,定期检测COD值,并选取处理效果好的菌株;e、对在5d内COD去除率50%以上的菌种进行16S rRNA基因测序,采用16S rRNA基因通用引物27F(5'-GAGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')和1492R(5'-TACGGYTACCTGTTACGAC-3')进行PCR扩增,将测序结果提交至EzBioCloud数据库进行序列比对,共分离出4株具有高效降解效果的菌种,其16S rRNA基因比对信息如表2所示,分离出4株具有高效降解效果的菌种分别为JW3、JW6、JW32和JW45;

[0029]

菌株名称	最相似菌种	相似度	COD去除率
JW3	IdiomarinaloihiensisDSM15497 ^T	99.20%	50.1%
JW6	MethylophagaalcalicaDSM14953 ^T	99.51%	55.3%
JW32	PseudomonasgeniculataATCC19374	99.50%	55.6%
JW45	AchromobacterdeleyiLMG3458 ^T	99.93%	54.5%

[0030] 表2

[0031] 本发明将以上4株菌株种子液按照1:1等体积两两复配,并将不同复配混合液分别按照总接种量10%接种于已调节完营养的甲维盐胺化废水中,各体系均置于150r/min、30℃培养,定期检测COD值,以评估不同复配组合对甲维盐胺化废水的处理效果,复配组合COD降解率与组合中单菌株COD降解率最大值的比值记为R,若R>1,则组合中两菌株为协同作用;若R≤1,则组合中两菌株为拮抗作用,优选具有协同作用的菌株作为复合菌群组成成员,各菌株间R值如表3所示,结果表明Achromobacter deleyi JW45与其他三株菌株具有拮抗作用,则复合菌群IMP组成为Idiomarina loihiensis JW3、Methylophagaalcalica JW6、Pseudomonas geniculataJW32,且比例为1:1:1;

[0032]

	JW45	JW32	JW6	JW3
JW3	<1	>1	>1	
JW6	<1	>1		
JW32	<1			
JW45				

[0033] 表3

[0034] 本发明发明的LB培养基的成分为酵母粉5g/L、蛋白胨10g/L和NaCl 10g/L,步骤C中,稀释6倍的甲维盐胺化废水中补充KH₂PO₄ 0.5g/L,并采用H₂SO₄调节废水pH=6.0-7.0,所述生化预处理池的底部安装有曝气系统。

- [0035] 本发明通过复合菌群处理甲维盐胺化废水进行试验；
- [0036] 本方案采用连续进出水装置以最大程度模拟现场处理系统来试验复合菌群对废水COD、TN处理效果；
- [0037] 连续进出水装置包含调节池、生化预处理池1 (MFES-1)、生化预处理池2 (MFES-2)、出水池,4者进行串联,每个容器有效容积3L,进水方式为下进上出；
- [0038] 调节池用以投加营养物质以调节水质,底部安装有搅拌系统；调节池内废水用蠕动泵提升至生化预处理池；
- [0039] 生化预处理池为复合菌群生化处理池,底部安装曝气系统；
- [0040] 出水池用于收集处理后废水。
- [0041] 本方案前期低负荷连续进水,待曝气生化池内菌体浓度稳定后,再进行高负荷连续进水,进入运行控制阶段；
- [0042] 菌种准备,为减少菌种培养基的含氮物质引入废水,且现场工程无离心设备,故菌株采用1/4浓度的LB培养基,即配方为,蛋白胨2.5g/L,酵母提取物1.25g/L,NaCl 2.5g/L,在pH为7.0进行发酵,待发酵至 OD_{600} 值达到1.0左右时,进行按照等体积比例混合,获得种子液；
- [0043] 废水营养调节,稀释6倍的甲维盐胺化废水中补充 KH_2PO_4 0.5g/L,并采用 H_2SO_4 调节废水pH=6.0-7.0；
- [0044] 生物预处理采用好氧工艺,控制MFES-1段及MFES-2段的HRT分别约4d, $DO > 2mg/L$,水温30-35℃,种子液按照30%的接种量投加在菌种处理期间,菌种处理池pH会上升至9.0,需投加 H_2SO_4 始终控制菌种处理池pH=6.0-7.0；
- [0045] 每天监测体系中的基本水质数据,取运行的最后一周数据计算平均值,以核算COD处理效果,结果如图1和表4所示；

	COD (mg/L)	TN (mg/L)	NH_3-N (mg/L)	有机氮 (mg/L)	COD 去除 率	氨化率
[0046] 进水	34607	2202	166	2036		
MFES-1	5914	2123	2100	23	82.9%	98.9%
[0047] MFES-2	1161	2000	2000	0	96.6%	100.0%

[0048] 表4

[0049] 注:COD去除率为累积去除率、氨化率为累积氨化率；

[0050] 如图1和表4所示,本发明的复合菌群IMP在甲维盐胺化废水中生长良好,HRT在4d时,可将废水COD由近35000mg/L处理至6000mg/L左右,COD去除率82.9%；HRT在8d时,可将废水COD继续处理至1200mg/L左右,COD去除率96.6%；并且菌群均可将废水中有机氮几乎全部氨化为 NH_3-N ,便于后端处理,经复合菌群IMA处理后,不仅可将COD大部分去除,而且能将有机氮全部氨化,为企业活性污泥系统处理废水大大降低了生化负荷。

[0051] 以上所述仅为本发明的实施例,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构或等效流程变换,或直接或间接运用在其它相关的技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

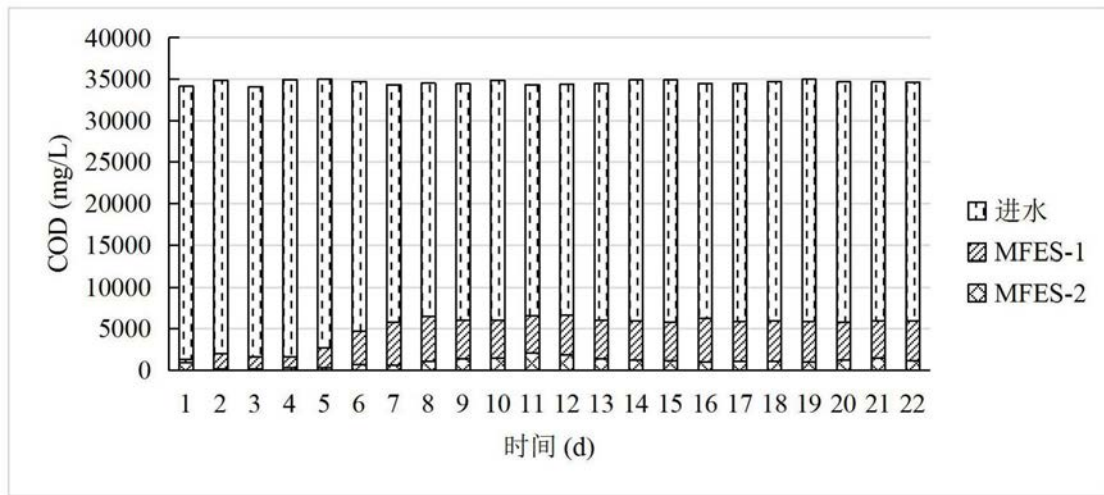


图1