



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101745531 B

(45) 授权公告日 2011.08.31

(21) 申请号 201010102446.7

审查员 张燕

(22) 申请日 2010.01.25

(73) 专利权人 中北大学

地址 030051 山西省太原市学院路 3 号

(72) 发明人 白红娟 贾万利 柴艳芳 牛伟平

叶增民 仪治本 肖根林 张肇铭

(74) 专利代理机构 山西五维专利事务所(有限
公司) 14105

代理人 李毅

(51) Int. Cl.

B09C 1/10 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

C12R 1/38 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

光合细菌发酵液在农药与金属复合污染土壤
修复中的应用

(57) 摘要

光合细菌发酵液在农药与金属复合污染土壤修复中的应用,是将含有有效活菌数为 10^8 - 10^{10} 个/ml 的光合细菌发酵液兑水稀释 10-150 倍,以每亩 10-50kg 的使用量均匀喷施于降解菌处理土壤,喷施完毕后翻耕地表 20cm 左右,使菌液与土壤充分混匀,使光合细菌高效地降解土壤中的氨基甲酸酯农药残留,同时降低金属的生物可利用性,用以修复氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤。本发明的光合细菌培养原料来源广,价格便宜,生长条件容易控制,在厌氧光照条件下能利用低分子有机物作为光合作用电子受体进行光能异养生长,在黑暗好氧条件下能利用有机物作为呼吸基质进行好氧或异养生长,能够进行不放氧的光合作用,适宜大规模工业化实施。

1. 光合细菌发酵液在氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤修复中的应用,其特征是将含有效活菌数为 10^8 - 10^{10} 个 /ml 的光合细菌发酵液与水以 1 : 10-1 : 150 的体积比配制成水溶液,按照每亩 10 ~ 50kg 均匀喷施于 pH 值为 5.0-9.0 的降解菌处理土壤,

其中,所述的光合细菌是下列光合细菌属中的任意株菌或它们的任意混合菌株:红螺菌属 *Rhodospirillum*,红假单胞菌属 *Rhodopseudomonas*,红细菌属 *Rhodobacter*。

2. 根据权利要求 1 所述的光合细菌发酵液的应用,其特征是在喷施光合细菌发酵液前 2 天对处理土壤进行漫灌。

3. 根据权利要求 1 所述的光合细菌发酵液的应用,其特征是所述的金属污染为铅、镉、汞、铜、锌、镍污染。

光合细菌发酵液在农药与金属复合污染土壤修复中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种微生物应用技术,具体地说是涉及一种光合细菌发酵液在氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤修复中的应用。

背景技术

[0002] 土壤是人类赖以生存的物质基础,是生态环境的重要组成部分。近年来,土壤农药及重金属的污染问题越来越受到重视,生物修复技术也成为土壤污染修复研究的热点。有关土壤重金属、农药的微生物降解研究已有较多文献报道(Wang C L, et al. Appl Environ Microbiol, 2000, 66; Bang W, et al. Biotechnol Lett, 2000, 22; 刘宪华等,南开大学学报(自然科学版), 2003, 36(4); 张德咏等,生命科学研究, 2005, 9(3); 武俊等,环境科学学报, 2004, 24(2); 蒋建东等,生物工程学报, 2005, 21(6); 张丽萍等,山西大学学报(自然科学版), 2005, 28(1); 张明星等,土壤学报, 2006, 43(4); 武俊等,光谱学与光谱分析, 2006, 26(9); 冯秀斌,河北农业大学硕士论文, 2008; 彭香,山东农业大学硕士论文, 2008; 李宝庆,河北农业大学硕士论文, 2008; 欧阳主才,华南农业大学学报, 2008, 29(2); Goswami S, et al. Biodegradation, 2009, 20)。经过几十年的研究,已筛选分离到许多可降解农药或转化重金属的微生物类群,并开发出一些可降解农药或转化重金属的微生物降解菌剂或生物降解有机肥、微生物复合制剂等,其中以南京农业大学的研究最为突出,该校富集筛选分离到能降解六六六、呋喃丹农药的菌株,完成的农药残留微生物降解技术研究与应用项目获2005年国家科技进步二等奖。目前对重金属、农药降解微生物的研究正方兴未艾,但大部分工作尚不能完全使降解菌从实验室走向实际应用。

[0003] 光合细菌是一种以光为能源,以CO₂或有机物为碳源而营养繁殖的微生物,具有培养原料来源广,价格便宜,生长条件容易控制,并且菌体可以循环利用等优点,近年来在农业上获得了较为广泛的应用。有关光合细菌降解农药残留或去除重金属铅、镉的研究也有一些文献报道(李乐等,农业环境科学学报, 2006, 25(B09); 罗源华等,天津农业科学, 2009, 2; 一种农药残留降解菌剂及其生产方法, ZL 01108446.4; 类球红细菌发酵液在农药残留降解中的应用, ZL200410036024.9; 白红娟等,环境科学学报, 2006, 26(11); 白红娟等,中国安全科学学报, 2007, 17(1)),但其研究仍以实验室研究为主,并且是农药与金属分开研究,对光合细菌发酵液生物修复氨基甲酸酯农药与金属复合污染的应用技术未见报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的是针对上述现有技术的不足,提供一种光合细菌发酵液在氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤修复中的应用。

[0005] 本发明提供的光合细菌发酵液在氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤修复中的应用的具体方法是:将含有效活菌数为10⁸-10¹⁰个/ml的光合细菌发酵液兑水稀释10-150倍,以每亩10-50kg的使用量均匀喷施于降解菌处理土壤,喷施完毕后翻耕地表

20cm 左右,使菌液与土壤充分混匀,使光合细菌高效地降解土壤中的氨基甲酸酯农药残留,同时降低金属的生物可利用性,用以修复氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤。

[0006] 一般地,可以在喷施光合细菌发酵液前 2 天对处理土壤进行漫灌,以提高土壤的水分含量。

[0007] 其中,所述的土壤是 pH 值为 5.0-9.0 的土壤,所述的金属污染为铅、镉、汞、铜、锌、镍污染。

[0008] 所述的光合细菌可以是下列光合细菌中的任意一株菌或它们的任意组合:红螺菌属 *Rhodospirillum*,如深红红螺菌 (*Rhodospirillum rubrum*);红假单胞菌属 *Rhodopseudomonas*,如沼泽红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas palustris*)、绿色红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas viridis*)、绿硫红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas sulfoviridis*)、海洋红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas marina*);红细菌属 *Rhodobacter*,如球形红细菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 等。

[0009] 上述菌种的文献出处:姚竹云,张肇铭.几株光合细菌的表型特征及其 DNA-DNA 同源性分析.应用与环境生物学报,1996,2(1):84-89;张肇铭,杨素萍,赵春贵.沼泽红假单胞菌的分离鉴定研究.山西大学学报(自然科学版),1992,(4):379-385;杨素萍,张肇铭,赵春贵.绿色红假单胞菌和绿硫红假单胞菌的分离与鉴定.微生物学报,1995,35(2):91-96;张肇铭,邓松录,赵良启等.紫色非硫光合细菌的研究 A.球形红假单胞菌的分离、鉴定和生理特性的研究.山西大学学报(自然科学版),1984,(4):54-59。

[0010] 这些菌种均来自于山西省太原市山西大学生命科学与技术学院光合细菌研究室。

[0011] 本发明使用的光合细菌发酵液是采用下述适合光合细菌生长的培养基培养得到的:

[0012]	乙酸钠	1000-2000mg	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50-100mg
[0013]	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100-300mg	EDTA	10-30mg
[0014]	酵母膏	500-1500mg	K_2HPO_4	500-1500mg
[0015]	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1000-2000mg	KH_2PO_4	400-1000mg
[0016]	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5-15mg	微量元素溶液	1-5ml
[0017]	去离子水	1000-2000ml		

[0018] 其中,微量元素溶液的组成为:

[0019]	H_3BO_3	200-300mg	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50-100mg
[0020]	CuSO_4	2-10mg	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	150-250mg
[0021]	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	20-30mg	去离子水	100-200ml

[0022] 以上培养基的 pH 值为 5-9。

[0023] 本发明利用光合细菌 (PSB) 微生物发酵液对氨基甲酸酯类农药与金属复合污染土壤进行修复,可以高效地降解土壤中的氨基甲酸酯农药残留,并且能降低金属的生物可利用性。

[0024] 光合细菌在厌氧光照条件下,能利用低分子有机物作为光合作用的电子受体进行光能异养生长;在黑暗好氧条件下,能利用有机物作为呼吸基质进行好氧或异养生长;能够进行不放氧的光合作用。光合细菌的培养原料来源广,价格便宜,生长条件容易控制,适宜大规模工业化实施,因此,本发明技术具有广阔的应用前景。

具体实施方式

[0025] 实施例 1

[0026] 按下列组份配置培养基：

[0027] 乙酸钠 1500mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 80mg

[0028] $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 150mg EDTA 20mg

[0029] 酵母膏 1200mg K_2HPO_4 1000mg

[0030] $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1500mg KH_2PO_4 800mg

[0031] $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10mg 微量元素溶液 3ml

[0032] 去离子水 1500ml

[0033] 其中微量元素溶液的组成为： H_3BO_3 240mg； $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 70mg； CuSO_4 7mg； $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 200mg； $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24mg；去离子水 1650ml。

[0034] 配制成的培养基 pH 值为 7。

[0035] 在经灭菌的培养基中接入 1/20 份数的球形红细菌，在光照 2500lux、室温、厌氧条件下培养 20 天，得到光合细菌球形红细菌发酵液。

[0036] 在一亩经检测呋喃丹污染浓度 15mg/kg 土壤，镉污染浓度 25mg/kg 土壤，pH = 5.0 的土壤中，在喷施菌剂前 2 天对处理土壤进行漫灌，用 10kg 含有效活菌数为 3×10^9 个/ml 的球形红细菌发酵液兑 50 倍的水喷施于处理土壤，喷施完毕后采用机械翻耕地表 20cm 左右，使菌液与土壤充分混匀。第 15 天取样检测，呋喃丹的降解率为 90%， Cd^{2+} 的生物可利用性降低 60%。

[0037] 实施例 2

[0038] 使用实施例 1 培养基和培养方法培养得到光合细菌沼泽红假单胞菌发酵液。

[0039] 在一亩经检测涕灭威污染浓度 10mg/kg 土壤，铅污染浓度 500mg/kg 土壤，pH = 8.5 的土壤中，喷施菌剂前 2 天对处理土壤进行漫灌，用 30kg 含有效活菌数为 5×10^8 个/ml 的沼泽红假单胞菌发酵液兑 80 倍的水喷施于处理土壤，喷施完毕后采用机械翻耕地表 20cm 左右，使菌液与土壤充分混匀。第 15 天取样检测，涕灭威的降解率为 94%，土壤中 Pb^{2+} 的生物可利用性降低 70%。

[0040] 实施例 3

[0041] 使用实施例 1 培养基和培养方法培养得到光合细菌绿色红假单胞菌和海洋红假单胞菌的混合菌发酵液。

[0042] 在一亩经检测氯苯胺灵污染浓度 30mg/kg 土壤，铜污染浓度 600mg/kg 土壤，pH = 6.5 的土壤中，喷施菌剂前 2 天对处理土壤进行漫灌，用 15kg 含有效活菌数为 8×10^9 个/ml 的绿色红假单胞菌和海洋红假单胞菌的混合菌发酵液兑 100 倍的水喷施于处理土壤，喷施完毕后采用机械翻耕地表 20cm 左右，使菌液与土壤充分混匀。第 15 天取样检测，氯苯胺灵的降解率为 93%，土壤中 Cu^{2+} 的生物可利用性降低 75%。

[0043] 实施例 4

[0044] 使用实施例 1 培养基和培养方法培养得到光合细菌深红红螺菌和红假单胞菌的混合菌发酵液。

[0045] 在一亩经检测呋喃丹污染浓度 40mg/kg 土壤，锌和汞污染浓度分别为 600mg/kg 土

壤和 10mg/kg 土壤, pH = 7.0 的土壤中, 喷施菌剂前 2 天对处理土壤进行漫灌, 用 45kg 含总有效活菌数为 6×10^8 个 /ml 的深红红螺菌和红假单胞菌的混合菌发酵液兑 150 倍的水喷施于处理土壤中, 喷施完毕后, 采用机械翻耕地表 20cm 左右, 使菌液与土壤充分混匀。第 15 天取样检测, 呋喃丹的降解率为 84%, 土壤中 Zn^{2+} 和 Hg^{2+} 的生物可利用性分别降低 76% 和 70%。

[0046] 以上实施例仅为了对本发明作进一步的说明, 而本发明的范围不受所举实施例的局限。