



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104911133 B

(45)授权公告日 2018.06.19

(21)申请号 201510362940.X

C02F 101/16(2006.01)

(22)申请日 2015.06.25

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

CN 103721692 A, 2014.04.16,

申请公布号 CN 104911133 A

US 2008006539 A1, 2008.01.10,

(43)申请公布日 2015.09.16

吴智导 等.曝气生物滤池处理含硝态氮废水的研究.《水处理技术》.2012,第38卷(第1期),第80-83页.

(83)生物保藏信息

CCTCC NO: M 2015197 2015.04.06

蒋然 等.在有氧条件下用生物过滤系统去除NO_x.《环境科学学报》.2007,第27卷(第9期),第1469-1475页.

(73)专利权人 华南理工大学

杨金水 等.直流电场对铜绿假单胞菌PKE117产酶及降解性能的影响.《生物技术通报》.2010,(第6期),第185-188页.

地址 510006 广东省广州市番禺区广州大学城华南理工大学

(72)发明人 黄少斌 周少锋 张永清

(74)专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245

代理人 宫爱鹏

吴智导.好氧反硝化菌的筛选及其性能研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑》.2014,(第01期),B027-180.

(51)Int.Cl.

吴智导.好氧反硝化菌的筛选及其性能研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑》.2014,(第01期),B027-180.

C12N 1/20(2006.01)

C02F 3/02(2006.01)

C02F 3/34(2006.01)

B01D 53/84(2006.01)

B01D 53/56(2006.01)

C12R 1/385(2006.01)

审查员 于淼

权利要求书1页 说明书7页

序列表3页 附图4页

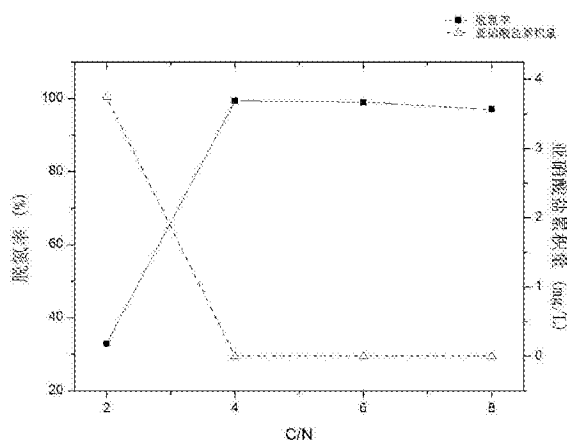
(54)发明名称

盐积累。

一种铜绿假单胞菌及应用

(57)摘要

本发明公开了一种铜绿假单胞菌及应用,所述铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*) CP1,由中国典型培养物保藏中心保藏,其保藏编号是CCTCC NO:M 2015197,保藏日期为2015年4月6日。该菌株用于含氮废水的脱氮处理,或用于含NO_x烟气或废气的好氧反硝化脱硝处理。在不存在外加电流的情况下,该菌株最优培养条件为30~40℃、C/N≥12。该菌株在好氧条件下,仍然可以维持高效的硝酸盐降解过程。然而在10mA的电流刺激下,该菌株可以C/N降为4~6的情况下在16小时内对初始浓度为250mg/L的硝酸盐氮的去除率达99.01%以上,并且几乎不存在亚硝酸



1. 一种铜绿假单胞菌的应用, 其特征在于, 所述铜绿假单胞菌 (*pseudomonas aeruginosa*) CP1, 由中国典型培养物保藏中心保藏, 其保藏编号是 CCTCC NO: M 2015197, 保藏日期为 2015 年 4 月 6 日; 该铜绿假单胞菌用于含氮废水的脱氮处理, 或用于含 NO_x 烟气或废气的好氧反硝化脱硝处理; 所述脱氮和脱硝处理均是在外加电流的刺激下进行, 所述电流强度为 5~15mA; 所述脱氮和脱硝处理所用培养基中的碳源为丁二酸钠、柠檬酸钠或葡萄糖, 所述培养基的 C/N 比为 4~6。

2. 根据权利要求 1 所述的应用, 其特征在于, 所述电流强度为 10mA。

3. 根据权利要求 2 所述的应用, 其特征在于, 所述脱氮和脱硝处理均在 30~40℃ 温度条件下进行。

4. 根据权利要求 3 所述的应用, 其特征在于, 所述培养基成分如下: 碳源为 2.00~8.735, KNO₃ 1; Na₂HPO₄ 7.9; KH₂PO₄ 1.5; MgSO₄ · 7H₂O 0.1, 单位 g/L; 微量元素溶液 2 mL/L; pH 7.0~7.5。

5. 根据权利要求 4 所述的应用, 其特征在于, 所述微量元素溶液成份如下: EDTA 50.0; ZnSO₄ 2.2; CaCl₂ 5.5; MnCl₂ · 4H₂O 5.06; FeSO₄ · 7H₂O 5.0; (NH₄)₆Mo₇O₂ · 4H₂O 1.1; CuSO₄ · 5H₂O 1.57; CoCl₂ · 6H₂O 1.61, 单位 g/L。

一种铜绿假单胞菌及应用

技术领域

[0001] 本发明属于环境工程、生物领域,涉及一株具有电活性的好氧反硝化性能的铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*) CP1菌株及其在高温环境下脱除废水中脱除水中的硝酸根与亚硝酸根的应用。

背景技术

[0002] 我国是农业大国,每年产生的农业废弃物数量巨大。而长期以来,我国把污染治理的重点都放在了城市,却忽视了占全国总面积高达90%的广大农村。大量农作物的废弃物被随意燃烧或自然腐烂,增加了空气污染指数并影响到交通和航空运输事业,农药、垃圾粪便等残留进入土壤,导致形成的硝酸盐、亚硝酸盐等流入河、湖并渗入地下,造成地表水和地下水的硝酸盐污染。一方面影响到农产品的产量和品质,另一方面也制约经济发展,也严重危害到人体健康。不仅对环境造成了严重的破坏,同时也造成了大量的资源浪费。

[0003] 在众多处理硝酸氮废水的研究中,生物脱除法作为一种绿色高效的处理技术而越来越被重视,生物处理技术具有对环境影响程度轻、无二次污染、工艺简单、处理能力强、方式灵活等优点,已成为近年来应用最广的废水脱氮技术,开发经济高效的生物脱氮方法和技术已成为水污染控制领域热点之一。

[0004] 国内外学者在好氧反硝化领域进行了广泛深入的研究,证明好氧反硝化较之传统反硝化技术存在明显优势。好氧反硝化应用的主体是好氧反硝化菌群,近年来,不断有好氧反硝化菌被分离出来,存在于副球菌属、假单胞菌属、产碱菌属、芽孢杆菌属等50多个属。传统上,处理含高氮废水时,碳源不足一直是污水处理领域难题,需要消耗大量的外加有机碳源以满足反硝化过程,随着对污水中氮磷的排放控制更加严格,碳源不足问题更加突出。所以如何在高效处理含氮废水的同时有效降低碳源成本和减少氧化亚氮 N_2O 的排放一直是研究热点问题。结合以上分析,如果能利用电化学结合好氧反硝化的方法,使得好氧微生物可以直接或者间接地与阴极进行电子转移。这意味着不需要添加大量的有机碳源,在环境治理中,不仅可以防止过量的有机物进入出水,也有可能使得生物固体产量减少。

[0005] 因此,筛选分离在具有高效的好氧反硝化细菌以及对其在外加电场催化的条件下好氧反硝化的机理的研究处理含氮废水就能够从一定程度上解决以上问题。

发明内容

[0006] 本发明之目的是提供一种可以在中温条件下具有高效好氧反硝化性能的菌株及其电化学好氧反硝化用途。

[0007] 本发明的目的通过以下技术方案实现:

[0008] 本发明具有高效好氧反硝化性能的菌株是铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) CP1,该菌株具有以下特征:

[0009] (1) 菌落特征:菌落扁平,浅褐色,表面光滑不透明,边缘不整齐,杆状,革兰氏染色阴性,能够在厌氧条件下生长,属于兼性菌;

[0010] (2) 葡萄糖氧化发酵实验显示为非发酵型,接触酶、氧化酶、明胶液化实验、硝酸盐还原实验、D-葡萄糖发酵实验、果糖发酵实验、脲青素实验、精氨酸双水解酶实验、柠檬酸盐利用均呈阳性;硫化氢实验、V-P鉴定、赖氨酸脱羧酶实验、ONPG测定、淀粉水解实验为阴性,可进行反硝化作用,能以氨氮、硝态氮或亚硝态氮为氮源生长;

[0011] (3) 采用北京百忒克生物技术有限公司生产的细菌基因组DNA提取试剂盒对该细菌的基因组DNA进行提取可得,该菌株CP1的16S rDNA基因序列特征:其16S rDNA具有序列的片段长度为1387bp,将测得的序列用BLAST软件在GenBank数据库中与已知细菌的16SrDNA序列进行比对,查找出与CP1相似性最高的已知菌株。采用NJ法在MEGA软件中构建系统发育树,以确定菌株CP1的进化地位。

[0012] 以上实验的结果表明,菌株CP1与*Pseudomonas aeruginosa*的同源性为99%,其中与模式菌株*Pseudomonas aeruginosa* strain N002最相似,同源性达99%。应用MEGA软件通过Neighbor-Joining法计算进化距离绘制16S rDNA系统发育树进行分析。同时结合生理生化鉴定的结果,确定该菌株最有可能是*Pseudomonas aeruginosa*,命名为*Pseudomonas aeruginosa* strain CP1。

[0013] 所述铜绿假单胞菌CP1,适宜在温度30~40℃环境中生长,特别地,在4℃不生长而在41℃生长。

[0014] 所述铜绿假单胞菌用于含氮废水的脱氮处理,也可以用于含NO_x烟气或废气的好氧反硝化脱硝处理。

[0015] 所述脱氮和脱硝处理均是在外加电流的刺激下进行。

[0016] 所述电流强度为5~15mA。

[0017] 所述电流强度为10mA。

[0018] 所述脱氮和脱硝处理所用培养基中碳源为丁二酸钠、柠檬酸钠或葡萄糖。

[0019] 所述培养基的C/N比为4~6。

[0020] 所述脱氮和脱硝处理均在30~40℃温度条件下进行。

[0021] 本发明涉及的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)CP1对氧气的耐受性较强,如今已掌握其部分生理生化特性。在研究高浓度氧的环境下烟气脱硝过程中,对该菌进行好氧反硝化初步实验已经表明,在30-40℃温度、好氧条件下,该菌能有效去除培养液中的硝酸盐氮,反应过程中没有检测到亚硝酸盐氮的积累,并且在前期的反硝化处理NO_x过程中显示其反硝化最适宜的pH值为弱碱性,对0~11.2mg/L溶解氧浓度不敏感。通过采用高密度好氧反硝化菌培养方法,开发了利用外加电流提高生物量来强化好氧反硝化的处理方法。对不同电流强度刺激下的好氧反硝化反应条件进行了PB实验以及响应面优化之后,在外加电流为10mA的条件下,生物量和反硝化率都达到了最大值。

[0022] 在存在外加电流的情况下,碳源的需求量明显下降,C/N仅为4.0即可实现完全反硝化并且几乎不存在亚硝酸盐的积累。而PB试验中初始氮源浓度、pH以及反应温度并无太大的显著影响。因此,整个外加电场强化好氧反硝化的反应过程可以承受一定程度的反应条件变化,确保了CP1可以作为处理系统中的优势菌种,即使出现处理负荷以及温度波动也能保持较高效的硝酸盐脱除过程。最佳的电流强度为10mA,最佳C/N比为4~5。

[0023] 与现有技术相比,本发明具有如下优点:

[0024] 在不存在外加电流的情况下,该菌株最优培养条件为30~40℃、C/N≥12。该菌株

特点为对0~11.2mg/L浓度的氧不敏感,表明其在好氧条件下,仍然可以维持高效的硝酸盐降解过程。在10mA的电流刺激下,该菌株可以C/N降为4~6的情况下在16小时内对初始浓度为250mg/L的硝酸盐氮(以N含量计)去除率达99.01%以上,并且几乎不存在亚硝酸盐积累。表明该菌种在碳源较为不足的情况下,可以与外加电场协同高效地完成反硝化作用。

[0025] 本发明所述铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*) CP1,由中国典型培养物保藏中心保藏(简称CCTCC),其保藏编号是CCTCC NO:M 2015197,保藏日期为2015年4月6日,保藏地址为中国武汉大学。

附图说明

[0026] 图1为*Pseudomonas aeruginosa* CP1的系统发育树图;

[0027] 图2为不同碳源下菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能图;

[0028] 图3为不同温度下菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能图;

[0029] 图4为不同电流强度下菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能图;

[0030] 图5为无电流刺激不同C/N比下菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能图;

[0031] 图6为恒定电流下不同C/N比下菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能图;

[0032] 图7为在不同进气NO浓度下培养菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能图;

[0033] 图8为烟气脱硝生物过滤装置示意图,烟气1,气体调节器2,控温设备3,生物滴滤塔4,微生物再生装置5,泵6,排气口7。

具体实施方式

[0034] 实施例1:菌种的分离、纯化及鉴定

[0035] 本研究从上述生物滴滤系统的反应器内取出一块长有生物膜的填料至装有90mL无菌的反硝化培养液的三角瓶中,在振荡器中将填料上的生物膜震荡至脱落,取出填料后继续将生物膜摇匀打碎。打碎后的生物膜重新提取加入新的无菌反硝化液体培养基中,并将其放置在30℃,160r/min的气浴恒温摇床振荡培养中。24h后,以体积比为10%的接种量接入100mL新鲜的无菌反硝化培养液中。重复此过程三天后发现菌液生长良好,并且脱氮率达到了80%以上。将菌液取1ml至装有9ml无菌水的试管中,充分混合后得到 10^{-1} 梯度的菌悬液,以此类推制备 10^{-2} ~ 10^{-8} 不同梯度的菌悬液,同时根据原液中的菌液浓度,选取 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 梯度的菌悬液0.1ml涂布至已制备好的带有溴百里酚蓝(BTB)显色的反硝化固体培养基中,倒置放入30℃恒温恒湿培养箱48h后,可见平板中长有单菌落,由于BTB显色剂的作用,发生反硝化作用的菌落周围将产生蓝色晕圈,重复挑选并平板划线三次得到纯菌落。在复筛阶段将上述分离得到后的不同形态的单菌落分别接种于装有50ml的无菌反硝化培养基中,在上述相同条件下震荡培养24小时,取培养后的菌液测量OD₆₀₀值以及培养液中的硝态氮和亚硝态氮的浓度,考察其在24h内的生长状况和硝态氮去除效果,最后筛选出一株优势菌种,取名为*Pseudomonas aeruginosa* CP1。

[0036] 将上述分离纯化后得到的纯菌种进行生理生化鉴定及16S rDNA测序。PCR引物为一对通用引物16SF:5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3'(上游引物)和16SR:5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'(下游引物)。PCR扩增反应条件为:95℃下预变性5min,94℃变性

0.5min, 56℃退火0.5min, 72℃扩增2min, 变性到扩增经过30个循环, 最后72℃延伸10min。得到的产物进行16S rDNA测序(上海英俊生物技术有限公司), 得到的菌株CP1的16SrDNA长度为1387bp, 测序结果见序列表。将测序结果通过BLAST程序在GeoBank数据库中进行同源性比较, 与*Pseudomonas aeruginosa*同源性达99%, 命名为CP1, 采用NJ法在MEGA软件中构建系统发育树, 参见图1。

[0037] 此后对该菌进行电活性驯化, 将筛选并保存的CP1接入LB培养基中进行扩大培养, 培养条件为35℃, 160rpm, 之后按照10% (体积比) 的接种量接入灭菌的装有反硝化液体培养基的三角瓶中, 培养条件同上。以此同时, 在该三角瓶中插入电极棒(阳极为不锈钢, 阴极为石墨碳棒), 联接电源并保持输入电流恒定为5mA培养12小时, 之后按上述条件将CP1重新接入另一三角瓶中, 将恒定电流升为10mA培养12小时, 以此类推至恒定电流升为20mA, 如此反复三次, 并且测定菌种的OD₆₀₀值以及反硝化效率, 考察其在外电场刺激下的反硝化去除效率以及生长性能。最后可以认为该菌株CP1具有电化学生活性能够在有外电场刺激的条件良好生长以及进行好氧反硝化作用。

[0038] 实施例2: 铜绿假单胞菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1反硝化性能检测

[0039] 1、不同碳源下*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能

[0040] 在保持反硝化培养基中氮源(KNO₃) 不变的情况下, 考察菌株对于丁二酸钠、柠檬酸钠、葡萄糖、乙酸钠和蔗糖这几种碳源的利用情况。具体操作步骤如下:

[0041] 将1mL菌悬液接种于99mL反硝化培养基中, 反硝化培养基成分如下(g/L): KNO₃ 1; Na₂HPO₄ 7.9; KH₂PO₄ 1.5; MgSO₄ · 7H₂O 0.1; 微量元素溶液2mL/L; pH 7.0~7.5。微量元素溶液成份(g/L): EDTA 50.0; ZnSO₄ 2.2; CaCl₂ 5.5; MnCl₂ · 4H₂O 5.06; FeSO₄ · 7H₂O 5.0; (NH₄)₆Mo₇O₂ · 4H₂O 1.1; CuSO₄ · 5H₂O 1.57; CoCl₂ · 6H₂O 1.61。分别加入以上5种碳源(浓度分别为9.4g/L, 6.79g/L, 4.16g/L, 5.68g/L, 3.95g/L), 使C/N为12, 于30℃、160rpm条件下振荡培养。

[0042] 取0h和24h的样检测硝酸根、亚硝酸根、OD₆₀₀含量, 结果如图2所示, 不同碳源对菌株CP1反硝化效果的影响存在一些差别, 菌株以丁二酸钠和柠檬酸钠为碳源时, 菌株CP1反硝化效果最好, 脱氮率分别达到了95.82%和92.31%啊, 同时不存在亚硝酸盐的积累; 其次是以葡萄糖作为碳源, 脱氮率为87.34%, 相对于前两种碳源有略微的下降, 这可能是因为葡萄糖需要被水解为分子量较小的有机酸才能被微生物所利用, 所以效果不如丁二酸钠和柠檬酸钠。

[0043] 2、不同温度下菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能比较;

[0044] 将接种有同样1% 体积比菌液的相同反硝化液体培养基分别放于20℃、25℃、30℃、37℃、40℃和45℃的恒温振荡培养箱中, 均以160r/min的转速培养24h后, 测其菌体生长吸光度值(OD₆₀₀)、NO₃⁻及NO₂⁻含量, 以考察在不同温度下, 菌株CP1的生长状况及反硝化效果。其中, 反硝化液体培养基以丁二酸钠为碳源, 其他组分与以上实验一致。如无特殊说明, 以下实施例均以丁二酸钠为唯一碳源, 具体的使用量以C/N(元素质量比) 核算。

[0045] 实验结果如图3所示, 当温度为20℃时, 菌株CP1的生长受到抑制, 脱氮率仅为21.79%, 且亚硝酸盐的积累率较高, 达到了20.88%。当温度升高至25℃时, 虽然OD₆₀₀和脱氮率都有了略微的升高, 但是亚硝酸盐的积累率也随之增加了, 说明在低温条件下, 细菌不能正常的利用外界的营养物质, 使得其生长速率及脱氮效率都较低; 随着温度的继续升高,

菌体生长良好,脱氮率也逐渐升高,当温度升高到30℃时,菌株的OD₆₀₀值达到最高,脱氮率也升高到97.54%,且基本无亚硝酸盐的积累。当温度一直升高到40℃时,菌体OD₆₀₀值和脱氮率只是略微有些降低,脱氮率仍能保持在95%左右,说明菌株CP1在30~40℃均能生长良好,且有良好的反硝化效果;因此后续实验中将反应的温度定为35℃。当温度为45℃时,菌液的OD₆₀₀值略微有所下降,但其脱氮率下降非常明显,减少到8.5%,主要原因是亚硝酸盐氮积累率非常高,水中硝态氮大部分转化成亚硝酸盐后没有进一步被菌体消耗,可能是由于在高温条件下,虽然细菌的生长及硝酸盐还原酶的活性只是略微下降,但是菌株体内的亚硝酸盐还原酶受到明显的抑制,使得水中的亚硝酸盐不能被进一步转化。

[0046] 3、不同电流强度刺激条件下*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能

[0047] 按1%的接种量将菌液接种反硝化培养基中,反硝化培养基中组分不变,调节直流电源使得反应中的电流强度分别为5、10、15、20mA,温度均为35℃,160rpm振荡培养。此实验可以表明在电流强度情况下,菌株CP1的反硝化作用,以检验前期对该菌株的驯化结果。

[0048] 取0h和24h的样检测硝酸根、亚硝酸根含量,结果如图4所示,菌种的脱氮率均能达到95%以上。最佳的电流强度为10mA,脱氮率能达到99%。说明该菌株具有良好的电化学性能,这使得该菌种能够在实际工程中有更广泛的应用领域。

[0049] 4、不同C/N(C、N元素质量比)比下*Pseudomonas aeruginosa* CP1的电

[0050] 流催化反硝化性能

[0051] 考察在外加恒定电流 $I = 10\text{mA}$ 时,C/N比分别为2、4、6、8的情况下,*Pseudomonas aeruginosa* CP1的反硝化性能,并对比在没有外加电场的情况下不同C/N比(1、3、6、9、12、15)的反硝化性能表现的不同。

[0052] 将经过种子培养基扩大培养的菌液以1%的体积比接种于上述不同C/N比的液体培养基中,于160rpm转速、30℃温度条件下振荡培养。反硝化培养基成分如上所述,加入丁二酸钠作为唯一碳源。结果如图5、6所示,菌株在没有电场刺激的条件下的硝酸根去除率最高需要达到12左右,然而在存在10mA阴极电流的作用下,C/N大幅下降至4~6即可完成硝酸盐的脱除并且不存在亚硝酸盐的积累。因此,此菌具有非常良好的电活性,能够很好的适应外加电场的环境并且好氧反硝化作用被电流极大地促进,与无电流刺激的反应条件相比,外加电流可以使得该菌株在反硝化过程中大大降低碳源成本,这使得该菌在工业脱硝应用中更加广泛。

[0053] 5、培养过程中在无电流刺激条件下不同转速*Pseudomonas aeruginosa*

[0054] CP1的反硝化性能比较

[0055] 按1%的接种量将菌液接种反硝化培养基中,反硝化培养基中组分不变,调节摇床转速分别为0、40、80、120、160、180、200rpm,分别对应了缺氧以及氧浓度逐步上升的过程,温度均为30℃,振荡培养。此实验可以表明在不同氧浓度情况下,CP1的反硝化作用。

[0056] 取0h和24h的样检测硝酸根、亚硝酸根含量,结果如表1所示,当培养液中初始硝态氮浓度为140mg/L左右,菌液的脱氮率均能达到95%左右。说明该菌株具有良好的耐氧性能,这使得该菌种能够在实际工程中有更广泛的应用领域。

[0057] 表1 不同转速对菌株CP1脱氮效果的影响

[0058]

转速 (r/min)	初始氮浓度		培养 24h 后氮浓度		脱氮率 (%)	亚硝氮累积率(%)
	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)		
缺氧	140.64	0	4.4	0.04	96.9	0.03
40	142.26	0	6.88	0.06	95.12	0.04
80	143.95	0	5.79	0.19	95.84	0.13
120	142.75	0	3.39	0.18	97.5	0.13
160	141.81	0	4.21	0.15	96.92	0.1
180	143.32	0	3.48	0.21	97.42	0.15
200	143.93	0	2.06	0.23	98.42	0.16

[0059] 实施例3:铜绿假单胞菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1的无电流烟气脱硝实验

[0060] 利用生物滴滤塔进行高温环境下脱除NO的实验。生物过滤系统如图8。生物滤塔挂膜期储液池内营养组分同实施例2的反硝化培养基,将细菌接种挂膜于生物滴滤塔内,考察该系统在长期运行状况下脱除烟气中NO_x的效果。先将扩大培养后的菌株CP1接入循环液的的贮液瓶内。挂膜过程采用的是间歇浸泡填料的方式,具体包括两种方式:将循环液通过泵输送至塔的顶端,再经过整个滴滤塔后回到贮液瓶中,同时在贮液瓶中放入曝气头以加大循环液中的溶解氧,利用循环液在流动过程中与填料的接触进行挂膜;将循环液倒入生物滴滤塔内并把所有填料浸泡,在塔的底部安装曝气头对循环液进行曝气。两种挂膜方式的周期转换是一天滴滤一天浸泡。每天都更换新的循环液,并将新培养的菌液以10%比例接入,这样同时也可以避免菌体数量过多而形成生物絮状体,而不附着在填料表面上。经过20天的挂膜后,填料表面上有一层棕黄色的生物膜形成,并且在循环液中无菌液接入的条件下,NO₃⁻去除效率接近于100%,说明挂膜成功,开始通入烟气。开始通入工业烟气后,循环液中不再接入菌种,并且加入其中的NO₃⁻的浓度逐渐降低,使微生物对氮源种类的改变有一个适应过程。烟气的流量为1L/min,对应的空床停留时间为1.5min,氧浓度(体积比)为8%,进气中NO浓度由100ppm(133.9mg/m³)开始逐渐升高,循环液每两天更换一次以维持微生物的生长及活性,其含量除氮源发生改变外,其余物质含量不变。

[0061] 以NO的去除率作为系统脱除效果的研究对象。生物滴滤塔在不同进气NO浓度下连续运行了一个月,其运行状况如图7所示。

[0062] 在最初通气时,循环液中加入0.5g/L氮源KNO₃,随后每天逐渐减少,从第9天开始不再加入KNO₃。由图可知,在系统运行的第一天,进气NO浓度为100ppm,去除率仅有46.5%,随着生物膜对反硝化途径变化的适应,NO的去除率也随之提高,在第5天NO去除率已升高至62.1%。随后,NO的进气浓度每隔五天增加约100ppm,NO去除率也继续随着升高。当进气NO浓度增加至约500ppm时,去除率维持在90%左右,最高时达到91.3%。在第25天时,NO的去除率突然从90.9%降至81.7%,这可能是由于NO负荷骤然增大的原因,随后去除率又逐渐恢复至90.5%。长期运行状况说明此生物滴滤塔在有氧条件下对NO有较好的去除效果。

[0063] 该实施例证明在有氧浓度条件下,菌株*Pseudomonas aeruginosa* CP1具有高效的

好氧反硝化性能,能够有效脱除烟气中的NO。

[0064] 实施例4:铜绿假单胞菌*Pseudomonas aeruginosa* CP1结合电化学手段用于海产养殖废水脱氮

[0065] 将该菌用于某海域养殖废水好氧段的脱氮处理。进入好氧段的相关水质指标为水质含亚硝酸盐氮1.27mg/L,氨氮44.83mg/L,水温在30℃左右。处理过程为,在启动阶段按1%的体积比将CP1菌液添加入好氧反应池中。以24小时为周期,在实施恒定电流刺激(10mA)12h后撤去直流电源,循环反复。

[0066] 在稳定后,测定出水的氨氮以及亚硝酸盐浓度。在恒定电流的作用,亚硝酸盐去除率基本稳定在95%左右,出水浓度低于0.079mg/L,氨氮出水浓度为0.884mg/L,而以未施加电场刺激的作为对照组,其出水亚硝酸盐浓度为0.283mg/L,氨氮出水浓度为4.96mg/L,可以看出,电场的作用使得菌株CP1在较低浓度氨氮和亚硝酸盐阶段的反硝化速率明显大于未施加电场刺激的处理阶段。因此,该菌的添加与外加电场的施加明显提高了脱氮能力,能够很好的适应养殖废水低C/N比的水质。

[0067] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

[0001]

SEQUENCE LISTING

<110> 华南理工大学

<120> 一种铜绿假单胞菌及应用

<130> 1

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1387

<212> DNA

<213> 铜绿假单胞菌 (*pseudomonas aeruginosa*) CP1

<220>

<223> 1

<400> 1

gagcggatga agggagcttg ctctggatt cagcggcgga cgggtgagta atgectagga 60

atctgcctgg tagtggggga taacgtccgg aaacgggcgc taataccgca tacgtctga 120

gggagaaagt gggggatctt cggacctcac gctatcagat gagcctaggt cggattagct 180

agttggtggg gtaaaggcct accaaggcga cgatccgtaa ctggtctgag aggatgatca 240

[0002]

gtcacactgg aactgagaca cgggccagac tctacggga ggcagcagt gggaatattg	300
gacaatgggc gaaagcctga tccagccatg ccgcgtgtgt gaagaaggtc ttccgattgt	360
aaagcacttt aagttgggag gaagggcagt aagttaatac ctgtctgttt tgacgttacc	420
aacagaataa gcaccggcta acttegtgcc agcagccgcg gtaatacgaa gggcgcaagc	480
gttaategga attactgggc gtaaagcgcg cgtagggtgt tcagcaagtt ggatgtgaaa	540
tcccggggt caacctggga actgcatcca aaactactga gctagagtac ggtagagggt	600
gggtggaatt tctgtgtag cggtgaaatg cgtagatata ggaaggaaca ccagtggcga	660
aggcgaccac ctggactgat actgacactg aggtgcgaaa gcgtggggga gcaaacagga	720
ttagataccc tggtagteca cggcgtaaac gatgtcgact agccgttggg atccttgaga	780
tcttagtgge gcagctaacg cgataagtcg accgcctggg gactacggcc gcaagggtta	840
aactcaaatg aattgacggg ggcgcgcaca agcgggtggag catgtgggtt aattcgaagc	900
aacgcgaaga acctacctg gccttgacat gctgagaact tccagagat ggattgggtc	960
cttcgggaac tcagacacag gtgtgtcatg gctgtctga gctctgtctg tgagatgttg	1020
ggtaagtcc cgtaacgagc gcaaccttg tcttagtta ccagcacctc gggggggcac	1080
tctaaggaga ctgccgtga caaacggag gaaggtgggg atgacgtcaa gtcacatgg	1140

[0003]

cccttacggc cagggctaca cacgtgtac aatggteggt acaaagggtt gccaaagecgc 1200

gaggtggage taateccata aaaccgatcg tagtceggat cgcagtctgc aactegactg 1260

cgtgaagtcg gaategctag taategtgaa tcagaatgtc acggtgaata cgtteccggg 1320

ccttgtaac accgcccgtc acaccatggg agtgggttgc tccagaagta gctagtctaa 1380

ccgcaag 1387

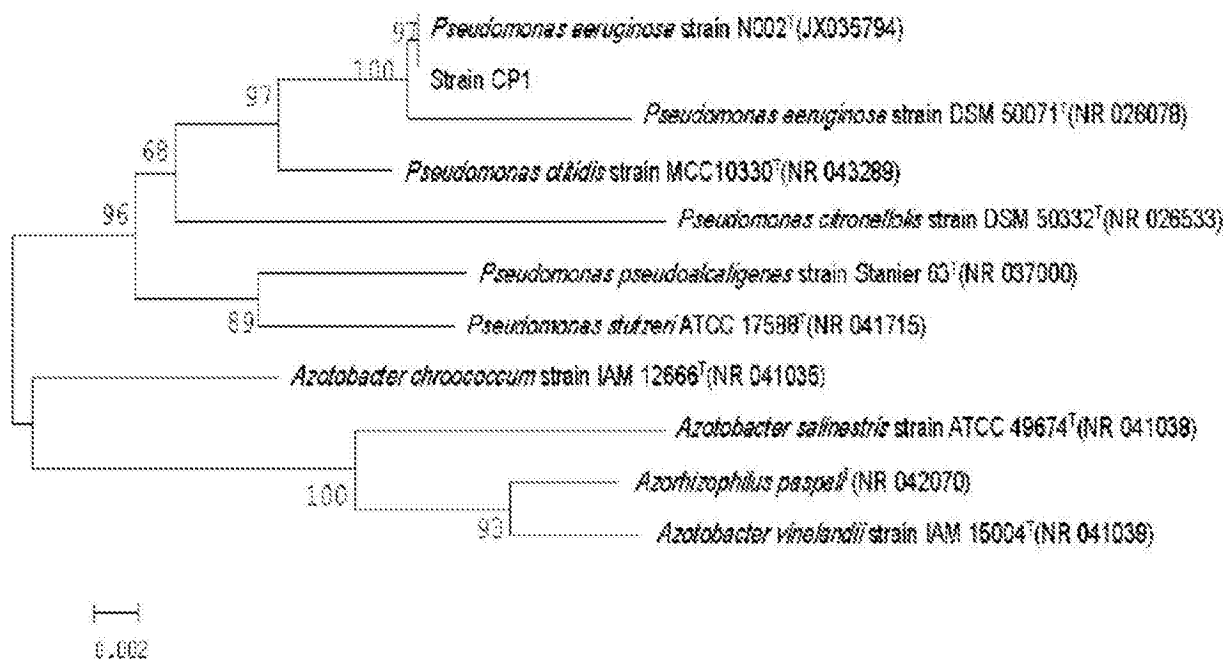


图1

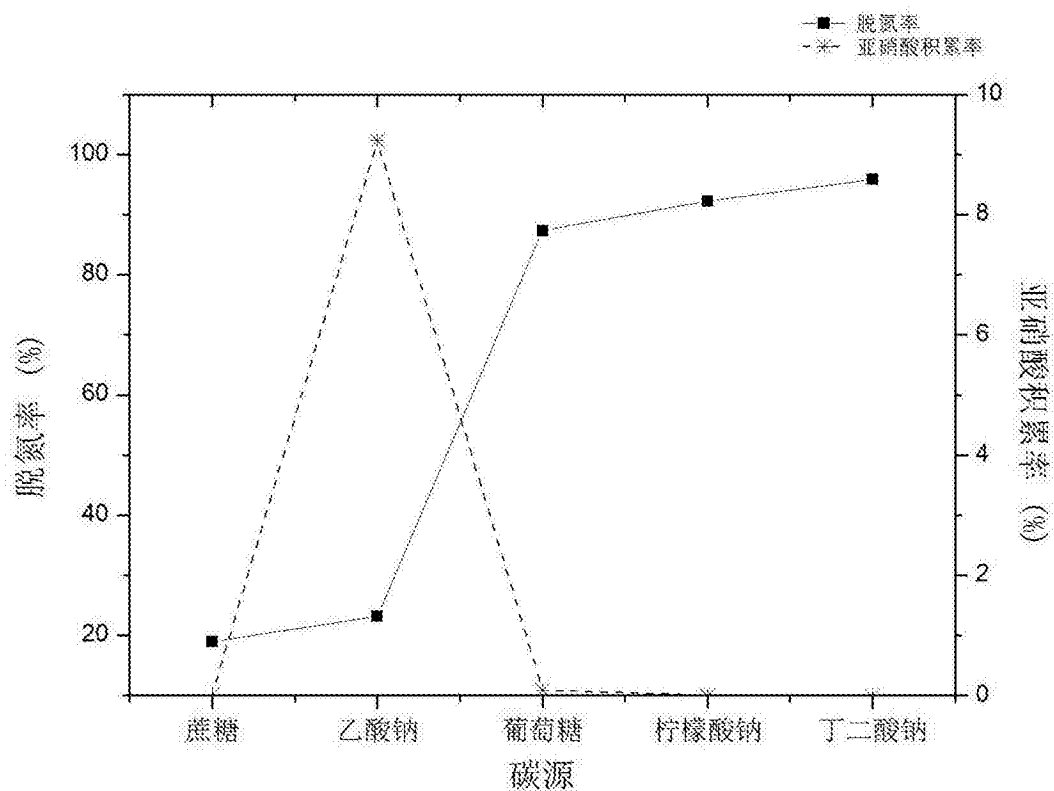


图2

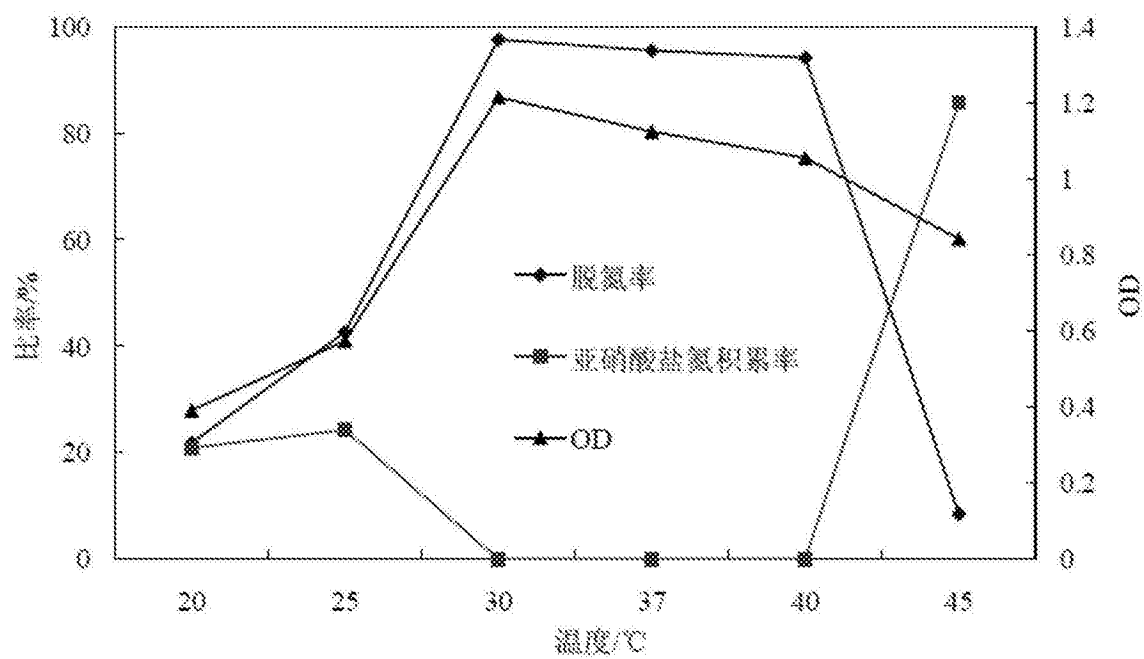


图3

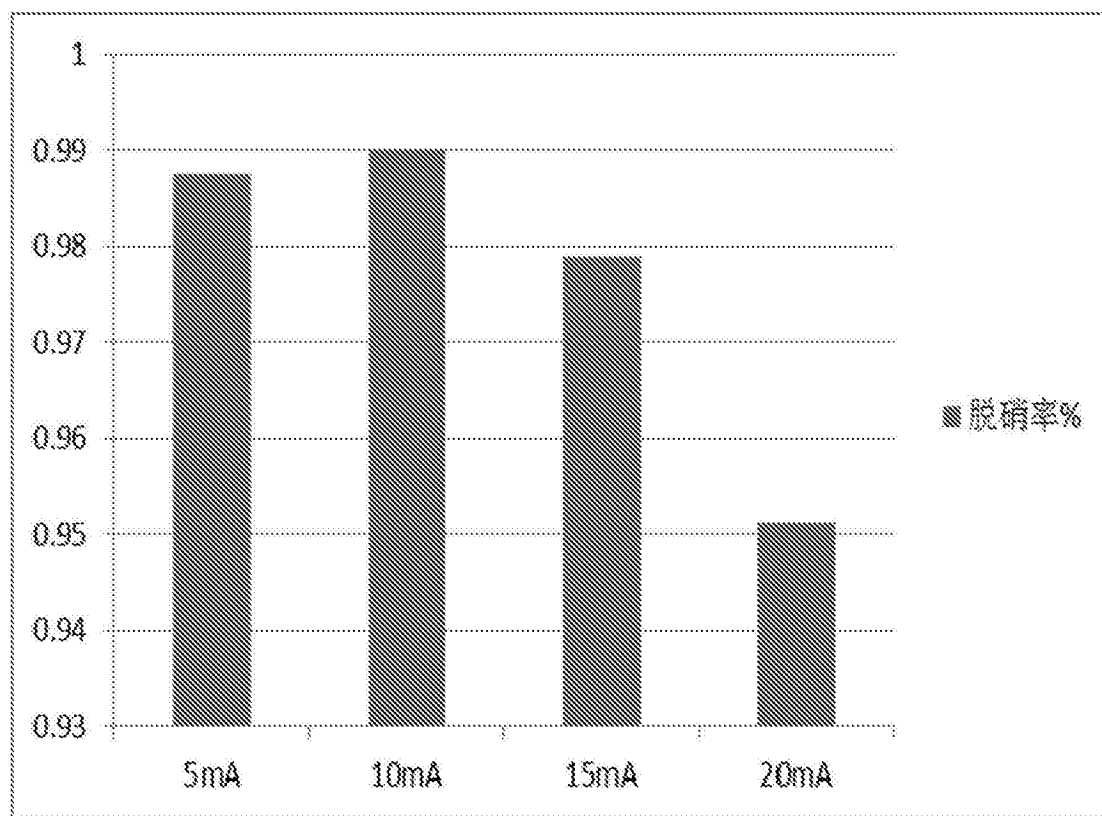


图4

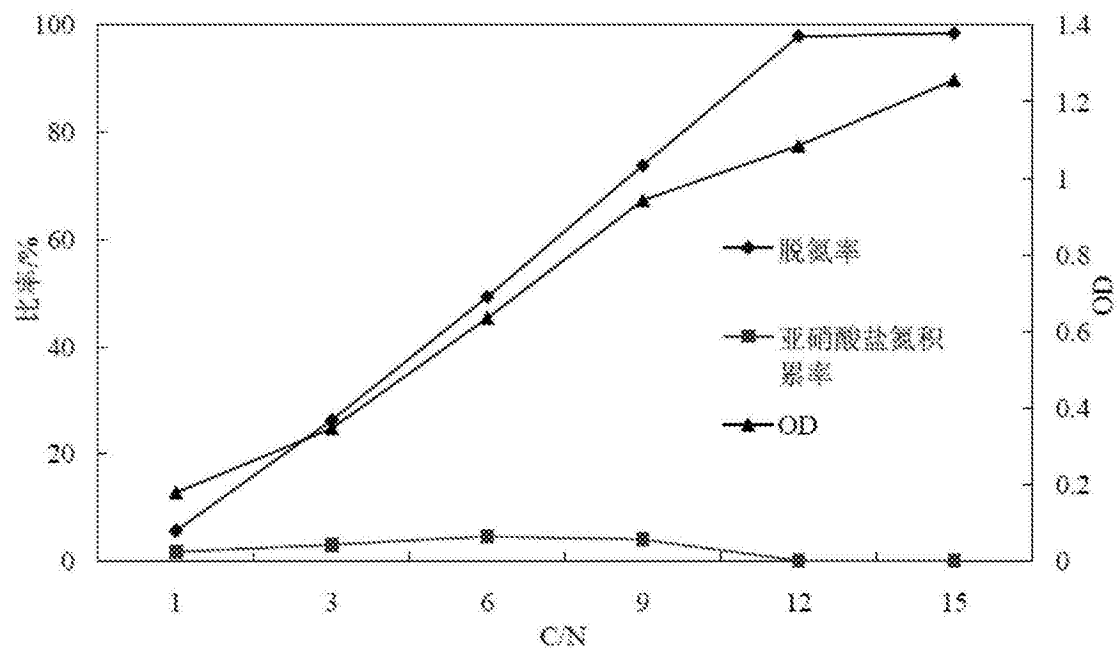


图5

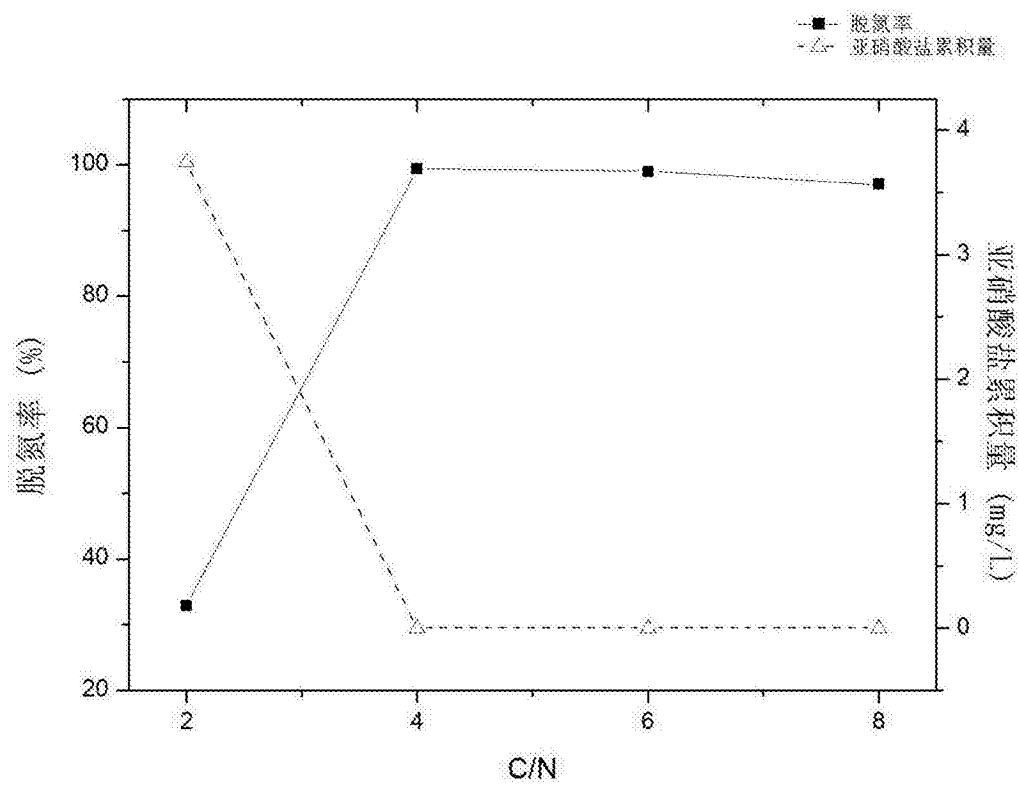


图6

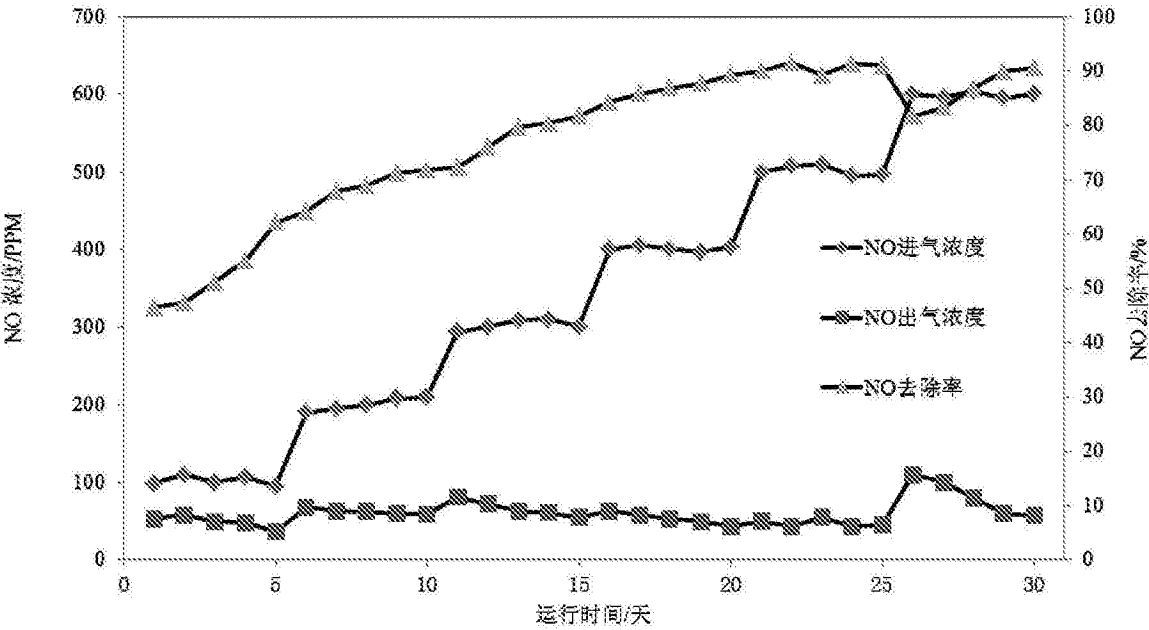


图7

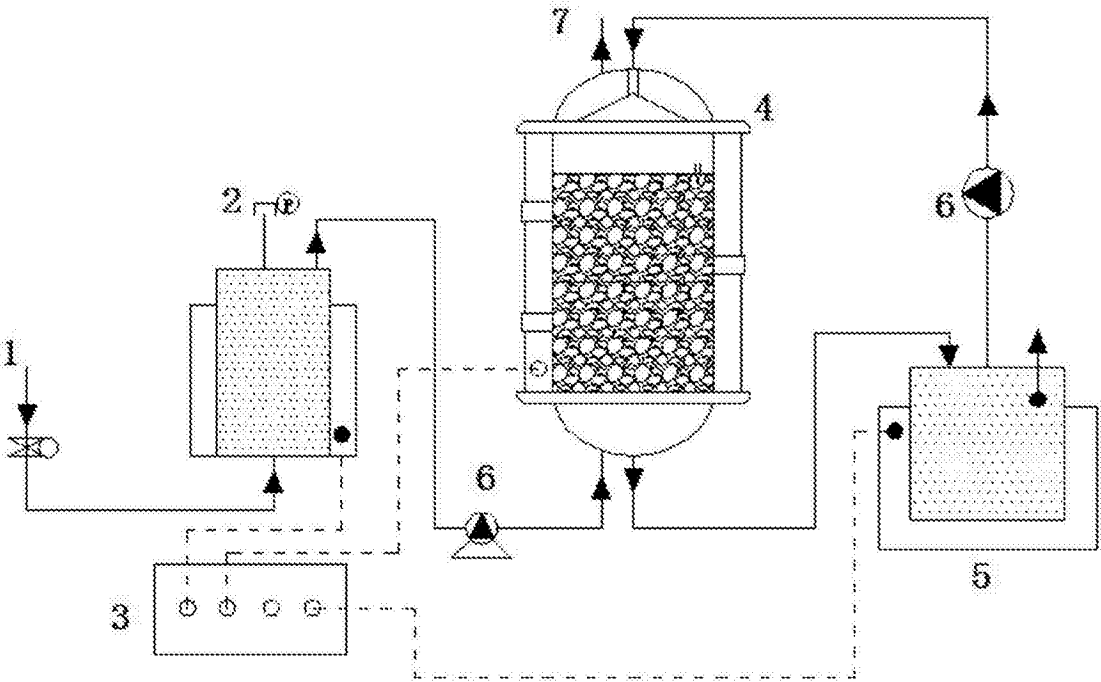


图8