



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104163499 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 29

(21) 申请号 201410361460. 7

要 .

(22) 申请日 2014. 07. 25

审查员 王芳

(73) 专利权人 华南理工大学

地址 511458 广东省广州市南沙区环市大道
南路 25 号华工大广州产研院

(72) 发明人 黄少斌 吉海鹏 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

(51) Int. Cl.

C12N 1/20(2006. 01)

C02F 3/34(2006. 01)

C02F 103/16(2006. 01)

C12R 1/01(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102373169 A, 2012. 03. 14, 说明书摘要 .

CN 103865821 A, 2014. 06. 18, 说明书摘要 .

KR 20140093347 A, 2014. 07. 28, 说明书摘

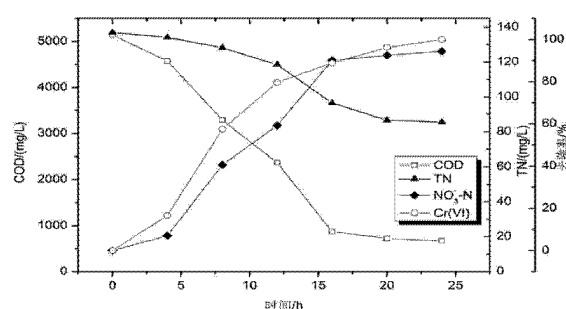
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54) 发明名称

一株螯台球菌在废水处理中的应用

(57) 摘要

本发明公开了一株螯台球菌在废水处理中的应用,该菌株为螯台球菌 (Chelatococcus daeguensis)TAD1,保藏编号为 CGMCC NO. 5226,螯台球菌 CGMCC5226 用于同步去除废水中的氮素和六价铬。该菌株对温度的适应具有广谱性,在 30-50℃均有较高的去除效率,菌株主要将 Cr(VI) 还原为毒性较小的 Cr(III)、部分氮素还原为 N₂或 N₂O,因此该菌株可实现同步脱除氮素、Cr(VI)、碳素,在污染水体修复中具有广阔的应用前景。



1. 一株螯台球菌在废水处理中的应用, 其特征在于, 该菌株为螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1, 保藏编号为 CGMCC NO. 5226, 螯台球菌 CGMCC5226 用于同步去除废水中的氮素和六价铬, 所述废水中 C/N 为 2 ~ 21。
2. 根据权利要求 1 所述的应用, 其特征在于, 所述废水中 C/N 为 12 ~ 18。
3. 根据权利要求 1 所述的应用, 其特征在于, 所述废水中的碳源为琥珀酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠和废糖蜜中的一种或两种以上, 氮源为硝态氮和 / 或氨氮。
4. 根据权利要求 1 或 2 或 3 所述的应用, 其特征在于, 所述废水中初始六价 Cr 的浓度 $\leq 40\text{mg/L}$ 。
5. 根据权利要求 4 所述的应用, 其特征在于, 所述废水中初始六价 Cr 的浓度为 5 ~ 15mg/L。
6. 根据权利要求 1 或 2 或 3 所述的应用, 其特征在于, 废水处理的温度为 30 ~ 50℃。
7. 根据权利要求 6 所述的应用, 其特征在于, 废水处理的温度为 45 ~ 50℃。
8. 根据权利要求 1 或 2 或 3 所述的应用, 其特征在于, 所述废水中初始六价 Cr 的浓度为 5 ~ 15mg/L, 废水处理的温度为 45 ~ 50℃, pH 为 7.0 ~ 9.0。
9. 根据权利要求 1 或 2 或 3 所述的应用, 其特征在于, 所述废水为垃圾渗沥液或电镀废水。

一株螯台球菌在废水处理中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一株螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 在废水生物脱氮除 Cr(VI) 中的应用。该菌株可在不同条件下发挥好氧反硝化脱氮功能,并在脱氮的同时完成对 Cr(VI) 的去除,从而达到废水同步脱氮除六价铬的目的。

背景技术

[0002] 随着人们对水需求量的增大,及水污染问题的加剧,水资源危机成为世界性的难题。中国水资源总储量,排名世界第四,人均水资源占有量仅为世界平均水平的 1/4,排名 110 位,是世界上 13 个贫水国家之一。工业废气氮氧化物的沉降、固体废物的迁移下渗、废水的不合理排放、氮肥的过量施用及污水的回用灌溉等诸多因素,造成水体硝酸盐污染严重。国土资源部统计发现,我国各地区地下水都有硝酸盐污染情况发生,硝酸盐已成为水污染的普遍因子。硝酸盐在人体内容易转化成亚硝酸盐,亚硝酸盐能引起人体器官的癌变、畸变,对人体健康十分有害。六价铬化合物是一种常见工业原料,被广泛应用于电镀、印染、制革等行业。含铬废水的排放、铬渣的随意堆弃、粉尘的沉降,都造成环境中的六价铬浓度超出正常范围。六价铬是公认的致癌金属,尤其能引起鼻部、肺部发生癌变。我国最著名的铬公害事件是,云南曲靖铬污染事件,由于铬渣的随意倾泄,使得水体六价铬浓度超过正常值 242 倍,给当地人民造成巨大的财产损失和健康伤害。

[0003] 自从上世纪 80 年代,Robertson Lesley 等报道发现了好氧反硝化酶,越来越多的研究者证实了好氧反硝化现象的存在,并成功分离获得多株好氧反硝化菌。相比其他脱氮技术,好氧反硝化具有快速、环保、低耗、高效等优点,是目前脱氮技术的研究热点。上世纪 70 年代,一株 Cr(VI) 还原功能菌在厌氧环境中分离得到,生物还原被认为是最具有潜力的 Cr(VI) 修复技术。污染水体中硝酸盐和重金属共存现象普遍存在,获得一种同时去除该两种污染物质的方法显得十分重要。国内的学者,大多是探讨重金属冲击对好氧反硝化脱氮的干扰作用,或者利用好氧污泥颗粒吸附去除重金属,对于同时去除两类污染物的生物治理技术鲜有报道。改性零价铁修复硝酸盐和重金属污染水体,该方法虽然较成熟,但投入成本较高、而且易造成二次污染。Cr(VI) 污染严重的水体,如制革废水、垃圾渗沥液,人们均发现了好氧反硝化现象的存在,使得利用生物法同步去除该两种污染物提供了可能。本发明中的菌株能够在不同溶解氧条件下发挥好氧反硝化脱氮功能,具体发明内容已申请发明专利(申请公开号 CN102373169A);通过对该菌在污水处理过程中的进一步研究发现,该菌在脱氮的同时表现出较强的 Cr(VI) 去除能力,在生物脱氮除六价铬的理论和实践应用上具有重大意义。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一株可同步脱氮和除 Cr(VI) 功能的螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) 及其应用,很好地解决了水体氮素和六价铬复合污染问题。

[0005] 本发明提供的菌株具有以下特征:

[0006] (1) 菌落特征 : 菌落为规则圆形, 表面光滑湿润透明, 呈淡黄色 ; (2) 细胞形态特征 : 细胞成短杆状, 大小为 $(0.67 \sim 0.89) \mu\text{m} \times (1.03 \sim 1.41) \mu\text{m}$, 周生鞭毛, 革兰氏染色阴性 ; (3) 螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 的 16S rDNA 基因序列特征 : 其 16S rDNA 具有列表所示的核苷酸序列, 片段长度为 1385bp, 在 GenBank 中的登录号为 HM000004, 与 GenBank 数据库比对表明, 该菌株与螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) 的同源性为 99%, 其中与模式菌株 *Chelatococcus daeguensis* strain K106 最相似同源性达 99%。应用 MEGA 软件采用 Neighbor-Joining 法绘制 16S rDNA 系统发育树, 确定其进化地位, 结合其形态特征和生理生化特征, 该菌株最有可能是螯台球菌属 (*Chelatococcus* sp.), 并命名为 *Chelatococcus daeguensis* strain TAD1。

[0007] 本发明螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1, 由中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏, 地址 : 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号, 其简称为 CGMCC, 其保藏编号是 CGMCC No. 5226, 保藏日期为 2011 年 9 月 6 日, 其保藏证明已在公告号为 CN102373169 的专利中提交。

[0008] 如上述提供的螯台球菌 CGMCC5226 可利用琥珀酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠、废糖蜜等为唯一碳源, 硝态氮或氨氮为唯一氮源进行生长代谢并发挥好氧反硝化作用, 从而去除氮素。该菌株可利用琥珀酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠、废糖蜜等为唯一碳源, 硝态氮或氨氮为唯一氮源进行生长代谢并发挥好氧反硝化作用的同时还原水体中的六价铬, 从而达到同步去除污染水体中氮素和六价铬等有害组分的目的。

[0009] 如上述提供的螯台球菌 CGMCC5226 不仅能以硝态氮等为电子受体, 以好氧反硝化的方式转化氮素为氮气或一氧化二氮 ; 而且能以六价铬为电子受体, 将六价铬还原为毒性较小的三价铬, 达到去除的目的, 因此该菌株不仅适用于硝酸盐和重金属单独污染的水体或土壤, 而且适用于二者复合污染的水体或土壤。该菌株对环境的适应性较强, 可在 C/N 为 2-21, 初始六价铬浓度为 0-40mg/L, 温度为 20-52℃, 在缺氧、厌氧、微好氧及好氧等不同溶解氧浓度环境同步脱氮除六价铬。

[0010] 一株螯台球菌在废水处理中的应用, 该菌株为螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1, 保藏编号为 CGMCC NO. 5226, 螯台球菌 CGMCC5226 用于同步去除废水中的氮素和六价铬。

[0011] 所述废水中 C/N 为 2 ~ 21。

[0012] 所述废水中 C/N 为 12 ~ 18。

[0013] 所述废水中的碳源为琥珀酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠和废糖蜜中的一种或两种以上, 氮源为硝态氮和 / 或氨氮。

[0014] 所述废水中初始六价 Cr 的浓度 $\leq 40\text{mg/L}$ 。

[0015] 所述废水中初始六价 Cr 的浓度为 5 ~ 15mg/L。

[0016] 废水处理的温度为 30 ~ 50℃。

[0017] 废水处理的温度为 45 ~ 50℃。

[0018] pH 为 7.0 ~ 9.0。

[0019] 所述废水为垃圾渗沥液或电镀废水。

[0020] 本发明的螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) 菌株 TAD1 在脱除氮素和六价铬的应用中具有如下有益效果 :

[0021] (1) 该菌株为好氧反硝化菌株,解决了传统脱氮工艺硝化和反硝化必须分开进行的难题,简约了工艺流程,减少了投入成本。

[0022] (2) 该菌株可实现同步脱氮还原六价铬,很好地解决了脱氮除铬过程中环境条件不统一及对电子供体竞争的问题,同时反硝化过程产生的中间产物及还原酶系能促进六价铬的还原,具有很好的经济性、环境友好性。

[0023] (3) 反硝化过程为产碱过程,不仅能弥补硝化过程产生的酸度,使得体系 pH 维持在中性左右,而且能够使得产生的三价铬易于沉淀分离,因此基本无需外加碱性物质,节约了工艺成本。

[0024] (4) 该菌株的适应范围较广,不仅可以制成菌剂强化已有的脱氮除铬工艺,而且可以与其他菌种或材料联合用于实际水体或土壤修复,最大限度节约工艺成本。

附图说明

[0025] 图 1 中 a、b 分别为螯台球菌 TAD1 在不同 C/N 条件下对氮素和 Cr(VI) 的去除曲线。

[0026] 图 2 中 a、b 分别为螯台球菌 TAD1 在不同 Cr(VI) 浓度下对氮素和 Cr(VI) 的去除曲线。

[0027] 图 3 螯台球菌 TAD1 对 COD、总氮、硝态氮和 Cr(VI) 的去除曲线。

[0028] 图 4 螯台球菌 TAD1 对总铬、Cr(VI) 的去除曲线。

具体实施方式

[0029] 下面结合附图与具体实施例对本发明进一步解释说明,但本发明的实施方式不限于此。

[0030] 实施例 1

[0031] 螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 用于垃圾填埋场渗沥液处理

[0032] 将该菌用于处理某垃圾填埋场垃圾渗滤液,渗滤液水质检测数据为 COD 3104mg/L, $\text{NO}_3\text{-N}$ 5.45mg/L, $\text{NH}_4\text{-N}$ 1129mg/L, pH 7.5 ~ 9, Cr(VI) 6.32mg/L, 水温 45 ~ 50℃。将该菌按 0.2% 的投菌量 (菌体干重为 8g/L) 添加到曝气生物池中,固定水力停留时间 $\text{HRT} = 24\text{h}$,曝气系统气体流量计的流速为 3L/min,处理后水质为 COD 135.21mg/L, $\text{NO}_3\text{-N}$ 0mg/L, $\text{NH}_4\text{-N}$ 12.09mg/L, Cr(VI) 0mg/L 相应的污染物去除率为 95.64%、100.00%、98.92%、100.00%。与未投加该菌的对照组比较, COD、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、Cr(VI) 的去除率分别为 61%、55%、79%、20%。因此,该菌的投加明显提高了系统的脱氮能力。

[0033] 实施例 2

[0034] 螯台球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 用于工业废水处理处理

[0035] 将该菌用于处理某公司工业铬渣浸出液,浸出液中含六价铬浓度约为 105.6mg/L,调节初始 pH 值为 7-7.5,将该电镀废水引入生化处理池中,同时加入 10% 扩大培养的 TAD1 菌液,投加 3% 的废糖蜜,混合液在 45-50℃ 搅拌处理,定期检测六价铬浓度,24h、48h、72h 后,六价铬的还原率分别达到 63.57%、84.21%、100%。

[0036] 实施例 3

[0037] 氮源对菌株脱氮除 Cr(VI) 影响的实验

[0038] 取实验室甘油管保存菌株 TAD1 接种至 50mL 已灭菌种子培养基 (每 L 培养基含 1g 蛋白胨, 0.5g 酵母提取粉, 0.5g NaCl, pH = 7), 在温度为 50℃、转速为 180r/min 条件下恒温震荡活化培养 12h, 然后移取 10mL 扩大培养的菌液接种于 100mL 灭菌含 Cr(VI) 浓度为 5mg/L 反硝化培养基 (每 L 培养基含 9.4g $C_4H_4Na_2O_4$, 1.0g KNO_3 , 7.9g Na_2HPO_4 , 1.5g KH_2PO_4 , 0.1g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 微量元素 1mL, pH = 7), 其中 Cr(VI) 是以 $K_2Cr_2O_7$ 的形式加入, 同时设置对照试验, 保持培养基 C/N 比及其他成分不变, 改变氮源为亚硝酸钠、氯化铵, 在相同条件下培养 24h。移取一定量的样品稀释 10 倍, 测定菌体生长光密度值 OD_{600} ; 以 5000r/min 离心所取样品 15min, 得上清液, 测定 Cr(VI) 和氮素。

[0039] 实验结果如表 1 所示。以硝酸钾为氮源, 菌体生长量最大, 达到 0.347, 其次是铵态氮, 而以亚硝酸钠为氮源, 菌株生长最缓慢, 只有 0.074。24 小时后, 以硝态氮、铵态氮、亚硝酸氮为氮源, 菌株 TAD1 对 Cr(VI) 去除率分别达到 100%、100%、38.49%; 24 小时后, 硝态氮、铵态氮、亚硝态氮脱除率分别为 98.43%、19.04%、84.92%。说明菌株 TAD1 能够以硝态氮、铵态氮为氮源很好地实现脱氮除 Cr(VI)。

[0040] 表 1 氮源对菌株脱氮除 Cr(VI) 的影响

[0041]

氮源	0h浓度/ (mg/L)		24h浓度/ (mg/L)		脱氮率 /%	除铬率 /%	OD_{600}
	氮素	Cr(VI)	氮素	Cr(VI)			
硝态氮	139.02	4.97	2.18	0.00	98.43	100%	0.347
亚硝态氮	139.08	4.78	112.6	2.94	19.04	38.49%	0.074
铵态氮	139.13	4.78	20.98	0.00	84.92	100%	0.276

[0042] 实施例 4

[0043] C/N 对菌株脱氮除 Cr(VI) 影响的实验

[0044] 配置初始 Cr(VI) 含量为 15mg/L 的反硝化培养基 (每 L 培养基含 9.4g $C_4H_4Na_2O_4$, 1.0g KNO_3 , 7.9g Na_2HPO_4 , 1.5g KH_2PO_4 , 0.1g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 微量元素 1mL, pH = 7), 保持氮源的量不变, 调整 C/N 为 2、4、6、9、12、15、18 七个梯度, 从而改变 $C_4H_4Na_2O_4$ 的加入量, 其中 Cr(VI) 是以 $K_2Cr_2O_7$ 的形式加入, 灭菌后装入 250mL 锥形瓶, 然后培养基接入 10% 扩大培养菌液, 在 50℃、150rpm 条件下恒温震荡培养 24h, 取样测定硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、Cr(VI) 浓度及 OD_{600} 。

[0045] 由图 1 可看出, 当 C/N 为 2、4、6、9、12 时, 139mg/L 的 NO_3^- -N 去除率分别为 13.68%、18.86%、30.23%、66.83%、91.04%, C/N 为 15、18 时 NO_3^- -N 去除率大于 95%, 且过程中均无亚硝氮积累; 当初 C/N 为 2、4、6、9、12、15、18 时, 在最初 12h 内, Cr(VI) 平均去除速率分别为 0.51、0.63、0.69、0.80、0.88、1.00、1.06mg/(L·h), 而且 C/N 超过 12 后, Cr(VI) 在 24 小时内实现全部去除。说明菌株 TAD1 在低碳和富碳环境均可以对 NO_3^- -N 和 Cr(VI) 发挥一定的去除作用 实施例 5

[0046] 初始 Cr(VI) 浓度对菌株脱氮除 Cr(VI) 影响的实验

[0047] 配置反硝化培养基 (每 L 培养基含 11.75g $C_4H_4Na_2O_4$, 1.0g KNO_3 , 7.9g Na_2HPO_4 , 1.5g KH_2PO_4 , 0.1g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 微量元素 1mL, pH = 7), 向灭菌反硝化培养基加入不同量的 $K_2Cr_2O_7$ 贮备液, 调整培养基初始 Cr(VI) 含量为 0、5、10、15、20、30、40mg/L 七个梯度。培养基接入 10% 扩大培养菌液, 在 50℃、150rpm 条件下恒温震荡培养 24h, 每隔 4h, 取样测定硝酸盐氮、

亚硝酸盐氮、Cr(VI) 浓度及 OD_{600} 。

[0048] 由图 2 可看出,初始 Cr(VI) 浓度为 0、5、10、15、20、30、40mg/L 时,在最初 12 小时内, NO_3^- -N 降解速率分别为 10.35、10.44、7.64、6.76、5.16、4.34、3.48mg/(L·h), Cr(VI) 还原速率分别为 0.42、0.73、1.01、0.95、0.79、0.78mg/(L·h)。24h 后, NO_3^- -N 去除率分别为 98.52%、99.19%、98.32%、94.52%、76.31%、56.39%、37.35%, Cr(VI) 还原率分别为 100%、100%、100%、100%、84.81%、57.27%、42.01%。说明菌株 TAD1 用于处理低含量 Cr(VI) 污染水体更占优势,对高含量 Cr(VI) 污染水体也可发挥去除效果,但需要花费更长时间。

[0049] 实施例 6

[0050] 温度对菌株脱氮除 Cr(VI) 影响的实验

[0051] 将初始 Cr(VI) 浓度为 15mg/L 的灭菌反硝化培养基(每 L 培养基含 11.75g $C_4H_4Na_2O_4$, 1.0g KNO_3 , 7.9g Na_2HPO_4 , 1.5g KH_2PO_4 , 0.1g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 微量元素 1mL, pH = 7), 接入 10% 扩大培养菌液, 调整培养温度为 30、35、40、45、50℃ 五个梯度, 在 150rpm 条件下恒温震荡培养 24h, 测定硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、Cr(VI) 浓度及 OD_{600} 。

[0052] 表 2 不同温度对 TAD1 脱氮效果的影响

[0053]

温度 (°C)	0 h 氮浓度		24 h 氮浓度		脱氮率 (%)
	NO_3^- -N (mg/L)	NO_2^- -N (mg/L)	NO_3^- -N (mg/L)	NO_2^- -N (mg/L)	
30	140.21	0	50.93	0.16	63.68
35	139.63	0	36.03	0.07	74.20
40	140.79	0	17.98	0.00	87.23
45	139.68	0	13.71	0.00	90.18
50	138.71	0	7.59	0.00	94.53

[0054] 表 3 不同温度对 TAD1 除 Cr(VI) 效果的影响

[0055]

温度 (°C)	Cr(VI)浓度/(mg/L)			Cr(VI)去除率/%		OD_{600}
	0 h	12 h	24 h	12 h	24 h	
30	14.32	5.83	0	59.26	100	0.244
35	14.97	4.44	0	70.37	100	0.265
40	14.62	3.25	0	77.78	100	0.268
45	14.93	2.54	0	83.01	100	0.292
50	15.01	3.06	0	79.63	100	0.315

[0056] 由表 2、表 3 得知,当温度为 30、35、40、45、50℃ 时,24 小时后,脱氮率分别为 63.68%、74.20%、87.23%、90.18、94.53, Cr(VI) 可全部被去除,且在最初 12h 内, Cr(VI) 还原速率分别为 0.71、0.87、0.95、1.03、1.00mg/(L·h)。说明菌株 TAD1 对温度的适应具有广谱性,非常适合工业应用,比化学方法如吸附等更具有应用潜力。

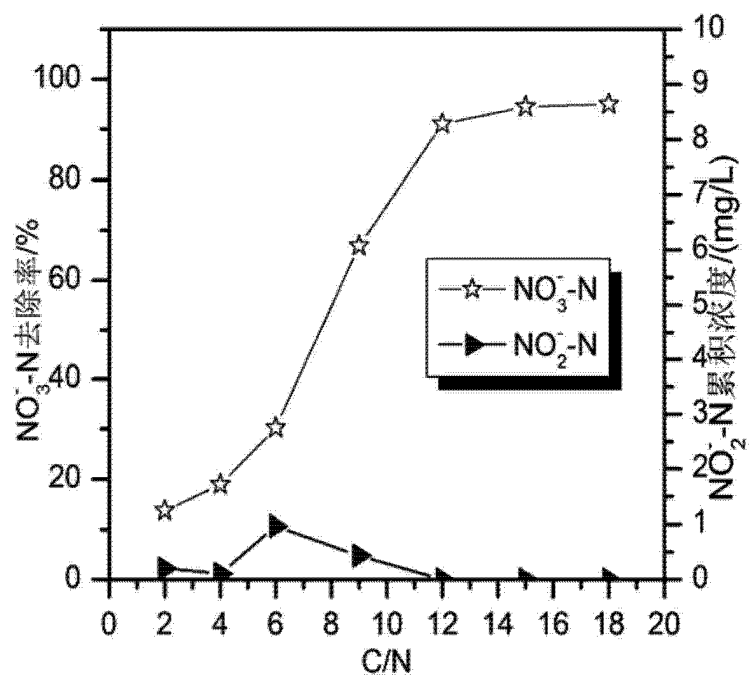
[0057] 实施例 7

[0058] 培养过程中 COD、氮素、铬变化

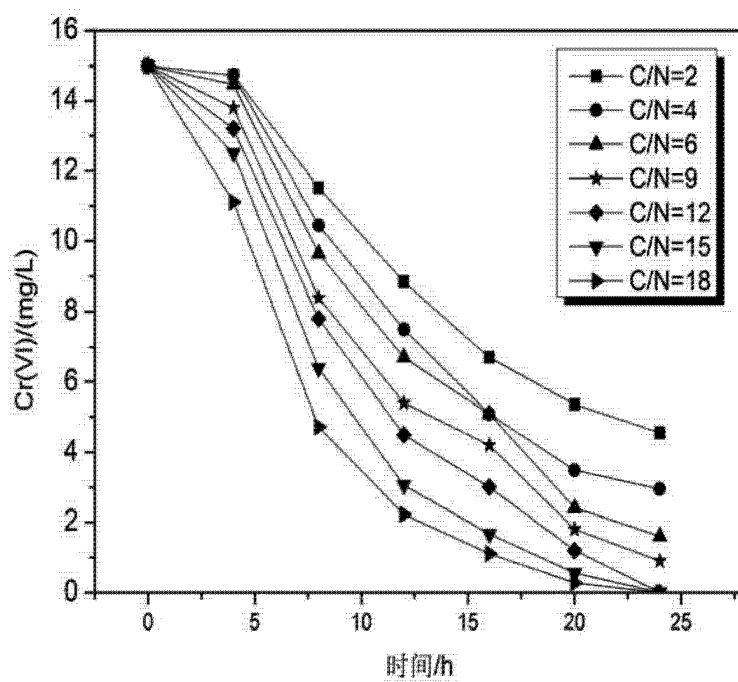
[0059] 配置初始 Cr(VI) 浓度为 15mg/L 的反硝化培养基(每 L 培养基含 11.75g $C_4H_4Na_2O_4$, 1.0g KNO_3 , 7.9g Na_2HPO_4 , 1.5g KH_2PO_4 , 0.1g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 微量元素 1mL, pH = 7), 接入 10%

扩大培养菌液,在温度为 50℃、180rpm 条件下恒温震荡培养 24h,每隔 4h,取样测定 COD、总氮、总铬。

[0060] 由图 3、图 4 可看出,TAD1 在整个脱氮除 Cr(VI) 过程中,COD 降解率为 86.99%,总氮脱除率为 37.50%,总铬脱除率为 14.28%。说明菌株 TAD1 可以实现碳素、氮素、Cr(VI) 的同步去除,且部分硝氮可还原为 N_2 或 N_2O ;与大多数 Cr(VI) 还原菌相同,菌株 TAD1 主要将毒性较大的 Cr(VI) 还原为 Cr(III),而不是简单的将 Cr(VI) 进行物相转移,十分具有市场应用前景。

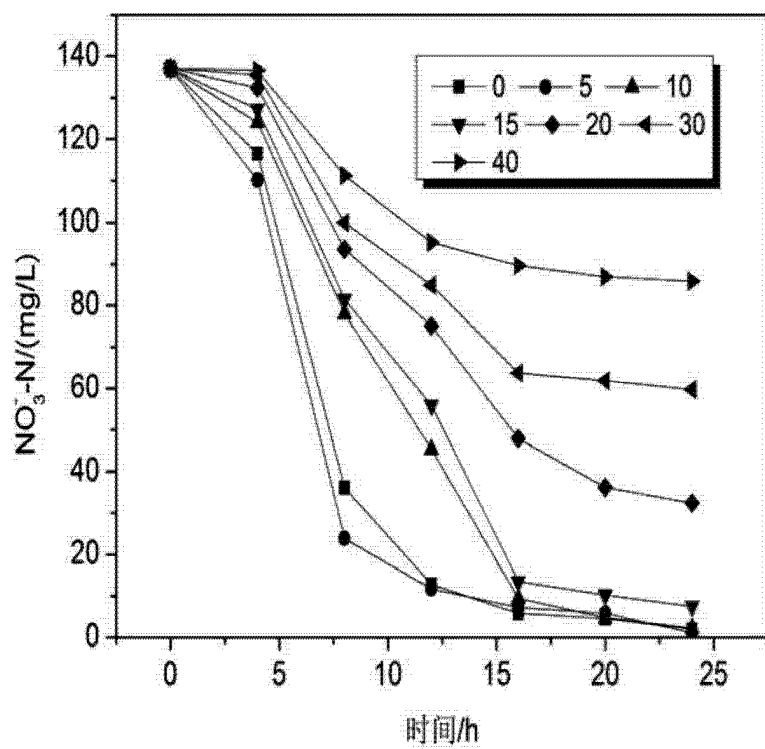


a

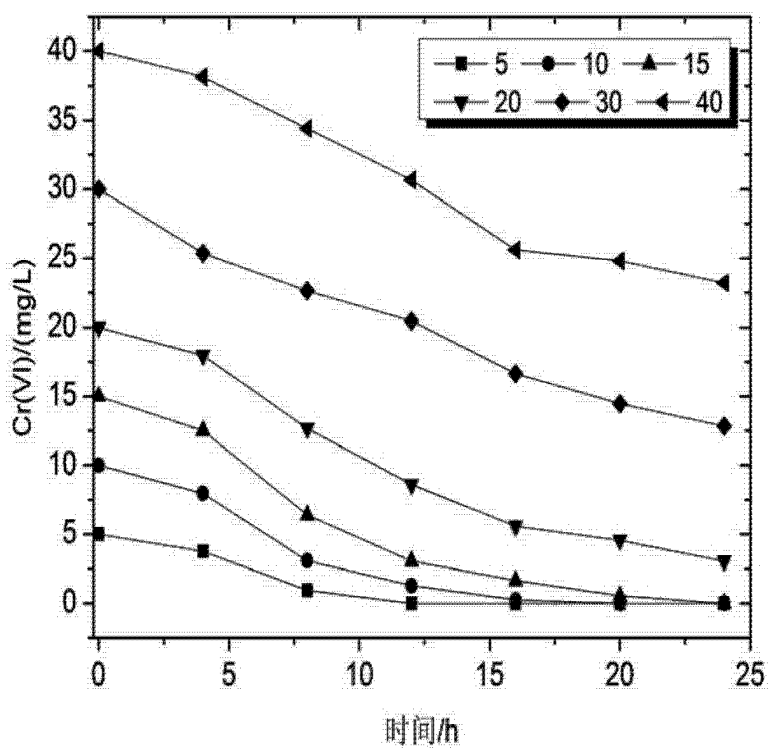


b

图 1



a



b

图 2

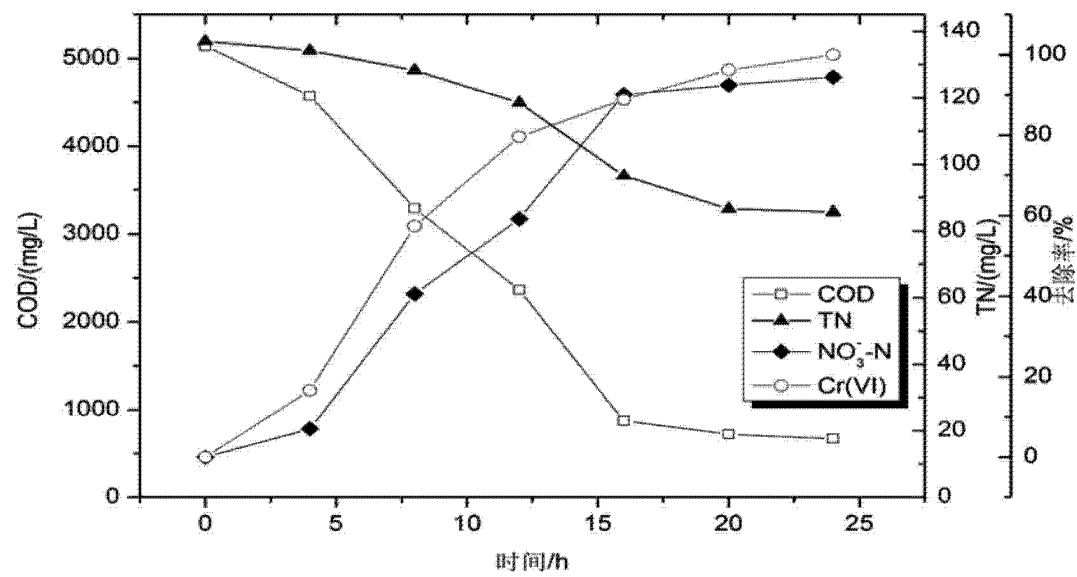


图 3

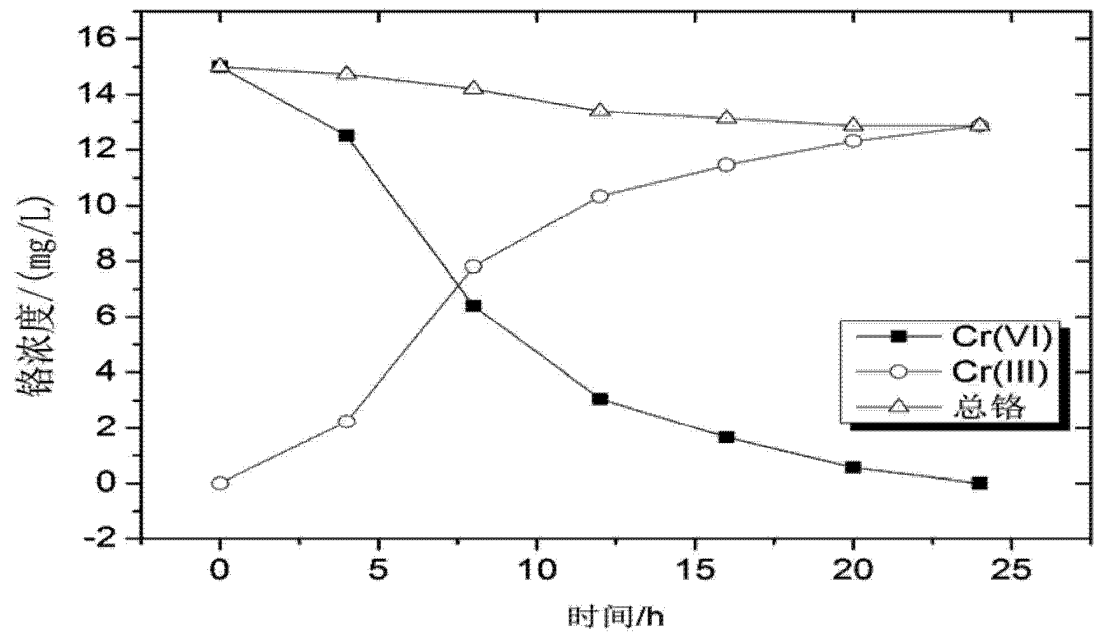


图 4