



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103381418 A

(43) 申请公布日 2013. 11. 06

(21) 申请号 201210483488. 9

C02F 101/36(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 11. 22

(71) 申请人 浙江工商大学

地址 310018 浙江省杭州市下沙高教园区学
正街 18 号

(72) 发明人 汪美贞 郑昕 王珏华 许俊杰
王硕 何虹蓁 闵航 沈东升

(74) 专利代理机构 杭州天勤知识产权代理有限
公司 33224

代理人 胡红娟

(51) Int. Cl.

B09B 3/00(2006. 01)

C02F 3/12(2006. 01)

C02F 3/34(2006. 01)

权利要求书1页 说明书8页
序列表2页 附图1页

(54) 发明名称

一种处理烟草废弃物或有机氟废水的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种处理烟草废弃物或有机氟废水的方法,处理烟草废弃物的方法包括:将烟草废弃物加入水中混匀,得到混合液,向混合液中加入活性污泥、节杆菌 TW 种子液和信号分子制剂,曝气处理 18-48h;处理有机氟废水的方法包括:向有机氟废水中加入活性污泥、节杆菌 TW 种子液和信号分子制剂,曝气处理 24-72h;其中,节杆菌 TW 的保藏号为 CGMCC No. 7. 47;信号分子制剂由 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液和 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液混合而成。本发明方法投加次数少,经济环保,持久性好,能优先、快速、高效地降解烟草废弃物中的尼古丁或有机氟废水中的 4- 氟苯胺,减少其危害,对环境保护具有较大意义。

1. 一种处理烟草废弃物的方法,包括:将烟草废弃物加入水中混匀,得到混合液;向混合液中加入活性污泥、节杆菌 (*Acinetobacter* sp.) TW 种子液和信号分子制剂,曝气处理 18-48h;

其中,节杆菌 TW 的保藏号为 CGMCC No. 7. 47;

信号分子制剂由浓度为 8-16mmol/L 的 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液和浓度为 4-8mmol/L 的 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液按体积比 2 : 1-1 : 2 混合而成。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述的 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液和 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液的体积比为 1 : 1。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,以每升水计,各物质的添加量为:烟草废弃物 50-200g,活性污泥 150-250mL,节杆菌 TW 种子液 10-30mL,信号分子制剂 5-10mL。

4. 根据权利要求 1-3 任一所述的方法,其特征在于,所述的节杆菌 TW 种子液通过如下方法制备:将节杆菌 TW 接入液体培养基中,于 28-32°C 摇床培养 18-28h;

其中,以体积 1L 计,所述的液体培养基由以下组分组成:K₂HPO₄0. 15-0. 25g, KH₂PO₄0. 7-0. 9g, Na₂MoO₄ · H₂O 0. 003-0. 0036g, MgSO₄0. 15-0. 25g, CaSO₄ · 2H₂O 0. 05-0. 15g, FeSO₄ · 7H₂O 0. 003-0. 007g, 尼古丁 0. 8-1. 2g, 余量为水;液体培养基的 pH 为 6-7。

5. 一种处理有机氟废水的方法,包括:向有机氟废水中加入活性污泥、节杆菌 (*Acinetobacter* sp.) TW 种子液和信号分子制剂,曝气处理 24-72h;

其中,节杆菌 TW 的保藏号为 CGMCC No. 7. 47;

信号分子制剂由浓度为 8-16mmol/L 的 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液和浓度为 4-8mmol/L 的 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液按体积比 2 : 1-1 : 2 混合而成。

6. 根据权利要求 5 所述的方法,其特征在于,所述的 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液和 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液的体积比为 1 : 1。

7. 根据权利要求 5 所述的方法,其特征在于,所述的有机氟废水为含 4- 氟苯胺的废水。

8. 根据权利要求 7 所述的方法,其特征在于,废水中 4- 氟苯胺的浓度为 0. 2-1. 5g/L; 以每升废水计,各物质的添加量为:活性污泥 150-250mL,节杆菌 TW 种子液 20-40mL,信号分子制剂 5-10mL。

9. 根据权利要求 5-8 任一所述的方法,其特征在于,所述的节杆菌 TW 种子液通过如下方法制备:将节杆菌 TW 接入液体培养基中,于 28-32°C 摇床培养 24-48h;

其中,以体积 1L 计,所述的液体培养基由以下组分组成:K₂HPO₄0. 15-0. 25g, KH₂PO₄0. 7-0. 9g, Na₂MoO₄ · H₂O 0. 003-0. 0036g, MgSO₄0. 15-0. 25g, CaSO₄ · 2H₂O 0. 05-0. 15g, FeSO₄ · 7H₂O 0. 003-0. 007g, 4- 氟苯胺 0. 8-1. 2g, 余量为水;液体培养基的 pH 为 7. 5-8. 5。

一种处理烟草废弃物或有机氟废水的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及应用微生物技术领域,尤其涉及一种处理烟草废弃物或有机氟废水的方法。

背景技术

[0002] 尼古丁是烟叶中主要的生物碱,其对人体有显著的毒害作用。我国烟草行业每年产生烟草废弃物约 130-170 万吨,干废物中尼古丁平均含量高达 18g/kg,高出欧盟有毒有害烟草废弃物中尼古丁含量控制标准的 36 倍;产生烟草加工废水上千万吨,其尼古丁含量亦高达 1.0g/L,这些废物都被认为是“有毒的危险废物”。生态毒理学试验显示,尼古丁溶于水和多种有机溶剂,可通过血-脑屏障等复杂生物膜系统,对生物体多器官系统产生毒性,具有致癌、致畸、致突变效应,是一种环境恶性污染物。所以,减少烟草废物中的尼古丁含量成为了一个十分重要的环境问题。

[0003] 因为生物学方法的有效性,低价性,其在废水处理中得到了普遍应用,而且生物学方法可以适用于连续变化的污染物浓度。目前围绕烟草废物中高尼古丁污染,国内外开展了大量降解菌的分离筛选工作,并取得了显著成果。分离的尼古丁降解菌中以假单胞菌最多,包括菌株 HF-1、No. 41、Nic22、ZUTSKD、S16、ZB-16A 等。公告号 CN100537747C 的发明专利公开了一株假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) ZUTSKD,能用于烟草中尼古丁的降解。公告号 CN100434513C 的发明专利公开了一种可以代谢尼古丁的恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) XPSN,具有较强的尼古丁代谢能力和尼古丁毒性抗性能力。这些尼古丁降解菌的降解效率较高,多可在 12h 内 100%降解培养基中 1g/L 的尼古丁,但是,其在实际工程应用时,多存在降解效果不稳定、运行环境条件苛刻、菌剂与土著菌之间竞争激烈等弊端。

[0004] 有机氟化合物在工业上用途相当广泛,比如军工、航空航天、电子、纺织等行业。但在氟化工企业蓬勃发展的同时,其所产生的工业废水也给我们带来了很大危害,有机氟具有致畸、致突变与致癌性,如其在环境中长期存在,必将对环境与人体造成影响,所以我们要对其进行处理。

[0005] 长期以来,对高浓度含氟有机废水,一般是先采用化学处理、焚烧处理等方法,待其浓度降低后再进行后续处理,但这些方法不能从根本上解决问题,而且处理成本较高。有机氟加工厂排水经前期厌氧工艺处理后,会产生进入好氧阶段的含 4-氟苯胺废水,这一类的废水通常较难处理。目前,应用生物技术来治理有毒、难降解有机废水所具有的潜在优势得到了广泛认可,它不仅经济、安全,而且所能处理的污染物浓度高、残留少,应用前景看好。

发明内容

[0006] 本发明提供了一种处理烟草废弃物或有机氟废水的方法,用于快速、有效地降解烟草废弃物中的尼古丁或有机氟废水中的 4-氟苯胺。

[0007] 一种处理烟草废弃物的方法,包括:将烟草废弃物加入水中混匀,得到混合液;向

混合液中加入活性污泥、节杆菌 (*Acinetobacter* sp.) TW 种子液和信号分子制剂,曝气处理 18-48h;

[0008] 其中,节杆菌 TW 分类命名为节杆菌 (*Acinetobacter* sp.),株号为 TW,保藏号为 CGMCC No. 7. 47;

[0009] 信号分子制剂由浓度为 8-16mmol/L 的 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (3-oxo-C₆-HSL) 溶液和浓度为 4-8mmol/L 的 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (C₆-HSL) 溶液按体积比 2 : 1-1 : 2 混合而成。

[0010] 所述的烟草废弃物为烟草在种植、加工过程中由于地理环境、加工技术等因素影响不能用作成品烟制造的烟叶、烟末等。本发明中所述的烟草废弃物可以来源于种植过程中废弃的烟叶,也可以来源于烟草加工厂的下脚料。

[0011] 节杆菌 TW 已保藏,保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏日期:2011 年 11 月,保藏号:CGMCC No. 7. 47。该菌株同时保藏于浙江工商大学固体废弃处理处置与资源化利用实验室,Wang 等 (Wang Meizhen, Yang Guiqin, Wang Xin, Yao Yanlai, Min Hang, Lv Zhenmei. Nicotine degradation by two novel bacterial isolates of *Acinetobacter* sp. TW and *Sphingomonas* sp. TY and their responses in the presence of neonicotinoid insecticides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27 (7) :1633-1640.) 公开了该菌株的鉴定。节杆菌 TW 为革兰氏阴性菌,在含尼古丁或 4- 氟苯胺的 ISM 固体培养基上,大小为 (0. 5-0. 7×1. 6-2. 0 μ m),菌落呈白色、湿润的圆形;在含尼古丁的 ISM 液体培养基中,为黄绿色,在含 4- 氟苯胺的 ISM 液体培养基中,为乳白色。该菌株 16S rDNA 基因序列 (GenBank 登陆号为 FJ753401) 如序列表中 SEQ ID NO. 1 所示。

[0012] 所述的 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液为 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶于水与乙腈的混合液 (v : v = 1 : 1) 后制得的溶液,N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液为 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶于水与乙腈的混合液 (v : v = 1 : 1) 后制得的溶液。这两种物质同属于 N- 酰基 - 高丝氨酸内酯类 (AHLs) 化合物,是革兰氏阴性菌群体感应系统中最重要的一类信号分子,其调控许多生理特性的表达,这两种溶液按体积比 2 : 1-1 : 2 混合得到的信号分子制剂,在一定程度上能提高活性污泥的性质,能使节杆菌 TW 的胞外聚合物分泌增加,促使生物膜形成,有利于菌株定植,从而保证目的污染物的快速降解。

[0013] 为了获得更好的协同效果,优选地,N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液和 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯溶液的体积比为 1 : 1。

[0014] 以每升水计,各物质的添加量优选为:烟草废弃物 50-200g,活性污泥 150-250mL,节杆菌 TW 种子液 10-30mL,信号分子制剂 5-10mL。该用量条件下,节杆菌 TW 种子液与信号分子制剂配比合适,使菌株更易在活性污泥体系中生长繁殖,有利于污染物的降解。

[0015] 所述的节杆菌 TW 种子液可以通过如下方法制备:将节杆菌 TW 接入液体培养基中,于 28-32℃ 摇床培养 18-28h。通过该培养方式对菌株进行培养,直至菌液 OD600 ≥ 0. 65,即为培养至对数生长期的种子液。

[0016] 其中,所述的液体培养基可以选用 Inorganic salt medium (ISM) 培养基。优选地,以体积 1L 计,所述的液体培养基由以下组分组成:K₂HPO₄ 0. 15-0. 25g, KH₂PO₄ 0. 7-0. 9g, Na₂MoO₄ · H₂O 0. 003-0. 0036g, MgSO₄ 0. 15-0. 25g, CaSO₄ · 2H₂O 0. 05-0. 15g, FeSO₄ · 7H₂O

0.003-0.007g, 尼古丁 0.8-1.2g, 余量为水; 液体培养基的 pH 为 6-7。更优选地, 以体积 1L 计, 所述的液体培养基由以下组分组成: K_2HPO_4 0.2g, KH_2PO_4 0.8g, $Na_2MoO_4 \cdot H_2O$ 0.0033g, $MgSO_4$ 0.2g, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.1g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005g, 尼古丁 1g, 余量为水; 液体培养基的 pH 为 6.5。添加适量的尼古丁, 以作为节杆菌 TW 种子液生长繁殖所必须的碳氮源。

[0017] 所述的摇床转速优选为 120-150rpm, 能防止菌体结块。

[0018] 所述的曝气处理可以在实验室序批式活性污泥反应器 (SBR) 中进行。实验室序批式活性污泥反应器的内壁可以为光滑的, 也可以为粗糙的; 优选为内壁粗糙的反应器。内壁粗糙的反应器可以由内壁光滑的反应器通过内壁打毛制成, 也可以通过内衬尼龙网实现, 微生物生物膜更容易在其上形成, 有利于提高降解效率。

[0019] 所述的曝气处理时间优选为 24h。具体处理时间可以根据混合液中烟草废弃物的浓度适当调整。

[0020] 一种处理有机氟废水的方法, 包括: 向有机氟废水中加入活性污泥、节杆菌 (*Acinetobacter* sp.) TW 种子液和信号分子制剂, 曝气处理 24-72h;

[0021] 其中, 节杆菌 TW 的保藏号为 CGMCC No. 7.47;

[0022] 信号分子制剂由浓度为 8-16mmol/L 的 N-3 氧代-己酰基-高丝氨酸内酯 (3-oxo- C_6 -HSL) 溶液和浓度为 4-8mmol/L 的 N-己酰基-高丝氨酸内酯 (C_6 -HSL) 溶液按体积比 2 : 1-1 : 2 混合而成。

[0023] 所述的 N-3 氧代-己酰基-高丝氨酸内酯溶液为 N-3 氧代-己酰基-高丝氨酸内酯溶于水与乙腈的混合液 (v : v = 1 : 1) 后制得的溶液, N-己酰基-高丝氨酸内酯溶液为 N-己酰基-高丝氨酸内酯溶于水与乙腈的混合液 (v : v = 1 : 1) 后制得的溶液。优选地, N-3 氧代-己酰基-高丝氨酸内酯溶液和 N-己酰基-高丝氨酸内酯溶液的体积比为 1 : 1。

[0024] 所述的有机氟废水可以为含 4-氟苯胺的废水。含 4-氟苯胺的废水为有机氟加工厂排水经前期厌氧工艺处理后, 所产生的进入好氧阶段的含 4-氟苯胺废水。对于该废水, 常规方法较难处理, 但节杆菌 TW 和信号分子制剂组合能选择性地降解 4-氟苯胺, 且降解效率较高。

[0025] 废水中 4-氟苯胺的浓度可以为 0.2-1.5g/L; 以每升废水计, 各物质的添加量优选为: 活性污泥 150-250mL, 节杆菌 TW 种子液 20-40mL, 信号分子制剂 5-10mL。该用量条件下, 节杆菌 TW 种子液与信号分子制剂配比合适, 使菌株更易在活性污泥体系中生长繁殖, 有利于污染物的降解。

[0026] 所述的节杆菌 TW 种子液可以通过如下方法制备: 将节杆菌 TW 接入液体培养基中, 于 28-32°C 摇床培养 24-48h。通过该培养方式对菌株进行培养, 直至菌液 OD600 \geq 0.65, 即为培养至对数生长期的种子液。

[0027] 其中, 所述的液体培养基可以选用 Inorganic salt medium (ISM) 培养基。优选地, 以体积 1L 计, 所述的液体培养基由以下组分组成: K_2HPO_4 0.15-0.25g, KH_2PO_4 0.7-0.9g, $Na_2MoO_4 \cdot H_2O$ 0.003-0.0036g, $MgSO_4$ 0.15-0.25g, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.05-0.15g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.003-0.007g, 4-氟苯胺 0.8-1.2g, 余量为水; 液体培养基的 pH 为 7.5-8.5。更优选地, 以体积 1L 计, 所述的液体培养基由以下组分组成: K_2HPO_4 0.2g, KH_2PO_4 0.8g, $Na_2MoO_4 \cdot H_2O$ 0.0033g, $MgSO_4$ 0.2g, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.1g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005g, 4-氟苯胺 1g, 余量为水; 液体

培养基的 pH 为 8.0。添加适量的 4- 氟苯胺,以作为节杆菌 TW 种子液生长繁殖所必须的碳氮源。

[0028] 所述的摇床转速优选为 120-150rpm,能防止菌体结块。

[0029] 所述的曝气处理也可以在实验室序批式活性污泥反应器 (SBR) 中进行;优选采用内壁粗糙的反应器,更有利于微生物生物膜的形成,有利于提高降解效率。

[0030] 所述的曝气处理时间优选为 32h。具体处理时间可以根据废水中 4- 氟苯胺浓度适当调整。

[0031] 本发明方法以节杆菌 TW 为菌剂,以 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (3-oxo-C₆-HSL) 和 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (C₆-HSL) 的混合物为信号分子制剂,通过合适的步骤在实验室序批式活性污泥反应器 (SBR) 中对含有尼古丁的烟草废弃物或含有 4- 氟苯胺的有机氟废水进行了处理。

[0032] 采用本发明方法,具有如下有益效果:

[0033] (1) 节杆菌 TW 及有利于其在环境中定植的信号分子制剂(对微生物几乎没有毒性,能提高活性污泥的性质),在丰富营养源条件下能优先、快速、高效地降解尼古丁或 4- 氟苯胺;同时,在处理烟草废弃物时,还能降低烟草废弃物总 COD 值。

[0034] (2) 采用本发明方法,具有投加次数少,并可持久作用的优点,不仅操作方便,而且大大降低了成本和维护费用。

[0035] (3) 采用本方法还大大缩短了反应器启动时间,加速了反应器稳定,是一种较为理想的高效、经济、环保的针对烟草废弃物或有机氟废水的处理方法,能减少废弃物对环境与人体的危害,对环境保护具有重大意义。

附图说明

[0036] 图 1 为本发明中实验室序批式活性污泥反应器 (SBR) 的结构示意图。

具体实施方式

[0037] 实施例 1 采用节杆菌 TW 及有利于其定植的信号分子制剂处理烟草废弃物

[0038] (1) 节杆菌 TW 的筛选和培养:

[0039] 取杭州利群卷烟厂烟草废弃物,持续培养 14d,以富集尼古丁降解菌;把富集培养物稀释、涂布接种到尼古丁无机盐培养基上培养;挑取菌落,继续稀释涂布培养,直至挑取得到单菌落。

[0040] 经鉴定,该单菌落为节杆菌 (*Acinetobacter* sp.),命名为节杆菌 TW。节杆菌 TW 已保藏,保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏日期:2011 年 10 月,保藏号:CGMCC No. 7. 47。该菌株为革兰氏阴性菌,大小为 (0.5-0.7×1.6-2.0 μm),节杆菌 TW 菌落呈白色、湿润的圆形;该菌 16S rDNA 序列的 GenBank 登陆号为 FJ753401。Wang 等 (Wang Meizhen, Yang Guiqin, Wang Xin, Yao Yanlai, Min Hang, LvZhenmei. Nicotine degradation by two novel bacterial isolates of *Acinetobacter* sp. TW and *Sphingomonas* sp. TY and their responses in the presence of neonicotinoid insecticides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(7): 1633-1640.) 公开了节杆菌 TW 的鉴定。

[0041] 节杆菌 TW 的种子液培养基配方为： K_2HPO_4 0.2g/L、 KH_2PO_4 0.8g/L、 $NaMoO_4 \cdot H_2O$ 0.0033g/L、 $MgSO_4$ 0.2g/L、 $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.1g/L、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005g/L、琼脂 10g/L（固体培养基中）、尼古丁 1g/L，pH6.5。

[0042] (2) 有利于 TW 定植的信号分子制剂配制：该信号分子制剂由 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (3-oxo- C_6 -HSL) 与 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (C_6 -HSL) 组成，其母液的浓度分别为 8mmol/L 与 4mmol/L，两者的混合比例为 1 : 1，总体积为 10mL。所述信号分子制剂的作用，是使菌株的胞外聚合物分泌增加，促使生物膜形成，利于菌株定植，从而保证菌株对目的污染物的降解。

[0043] (3) 处理烟草废弃物：

[0044] 将培养至对数生长期的节杆菌 TW 接入实验室序批式活性污泥反应器 (SBR) 中；活性污泥取自杭州七格污水处理厂，SBR 反应器为有机玻璃圆柱体，有效容积为 2L（高：内径 \approx 10 : 1），装置如图 1 所示。

[0045] 烟草废水中烟草废弃物来源于杭州利群卷烟厂，浓度随反应器运行逐渐提高；活性污泥的接种量为 20%；节杆菌 TW 种子培养液的接种量为 2%，信号分子制剂由信号分子 1 与信号分子 2 混合而成的，有利于 TW 定植的信号分子制剂加入量为 10mL；反应条件为室温，pH5.0-8.0，DO 为 3-5mg/L，曝气量为 20L/h；运行程序为：5min 进样，5min 排水及排泥，根据活性污泥沉降性能设定 5-15min 的污泥沉淀时间，根据出水性能设定 18-48h 的水力停留时间。每次排水后补加的反应液体积为反应器总体积的 1/2。

[0046] 结果显示，接种一次，即可在反应器污泥中持续监测到节杆菌 TW，持续监测的时间为 100d；反应器运行稳定后，烟草废水中尼古丁在 24hHRT 内降解率为 100%，其中尼古丁进水浓度在 1.0-1.5g/L 之间；COD 的去除率高达 75%，其中反应器每次换水后 COD 浓度在 25000mg/L 左右。

[0047] 对比例 1 使用内壁粗糙的 SBR 反应器，接种活性污泥与节杆菌 TW，添加信号分子制剂

[0048] 将实施例 1 中的 SBR 反应器换成内壁粗糙的，即内衬尼龙网，其他与上述例子相同。

[0049] 结果显示，接种一次，即可在反应器污泥中持续监测到节杆菌 TW，且活性污泥与菌株 TW 在尼龙网上挂壁明显，显示出了信号分子制剂在生物膜形成方面的出色作用，这样活性污泥不再只沉在反应器底部，而是在整个反应器中都分布，使尼古丁与 COD 的去除率维持在较高水平，持续监测 100d；反应器运行稳定后，烟草废水中尼古丁在 24h HRT 内降解率为 100%，其中尼古丁进水浓度在 1.0-1.5g/L 之间；COD 的去除率超过 80%，其中反应器每次换水后 COD 浓度在 25000mg/L 左右。

[0050] 对比例 2 接种活性污泥与接种节杆菌 TW，不添加信号分子制剂

[0051] 将实施例 1 中筛选获得的节杆菌 TW 培养 24h 后，以 2% 的接种量接种至上述 SBR 反应器中。实验结果显示，如果持续每天添加节杆菌 TW，则能在 24h 内 100% 去除烟草废弃物中 1.0-1.5g/L 的尼古丁；如果不持续每天添加节杆菌 TW，则尼古丁的去除率随时间下降，在 7d 后尼古丁去除率降至 20% 左右。

[0052] 对比例 3 接种活性污泥，不接种节杆菌 TW，不添加信号分子制剂

[0053] 在上述 SBR 反应器中，不接种节杆菌 TW，亦不添加利于 TW 定植的信号分子制剂，处

理烟草废水。

[0054] 结果显示,随着烟草废水中尼古丁含量和 COD 含量的提高,反应器的处理能力急剧下降。在进水尼古丁浓度为 40mg/L, COD 浓度为 1000mg/L 时,反应器可以在 24h 内 100% 去除反应器中的尼古丁,对 COD 的去除能力达 85%。但是当进水尼古丁浓度上升到 250mg/L, COD 浓度为 6000mg/L 时,反应器在 48h 内对尼古丁的去除率仅为 20.5%, COD 的去除率仅为 54.6%。当进水尼古丁浓度上升到 1000mg/L, COD 浓度为 20000mg/L, 反应器基本处于系统崩溃状态,污泥上浮,大量泡沫外溢。

[0055] 对比例 4 接种活性污泥,不接种节杆菌 TW, 添加信号分子制剂

[0056] 如实施例 1 中所述 SBR 反应器中,除不接种节杆菌 TW 外,其他都相同。实验结果显示,随着烟草废水中尼古丁含量和 COD 含量的提高,反应器的处理能力急剧下降。在进水尼古丁浓度为 40mg/L, COD 浓度为 1000mg/L 时,反应器可以在 24h 100% 去除反应器中的尼古丁,对 COD 的去除能力达 89% 以上。但是当进水尼古丁浓度上升到 250mg/L, COD 浓度为 6000mg/L 时,反应器在 48h 内对尼古丁的去除率不到 25%, COD 的去除率仅为 60%。当进水尼古丁浓度上升到 1000mg/L, COD 浓度为 20000mg/L, 反应器基本处于系统崩溃状态,污泥上浮,大量泡沫外溢。这表明,信号分子的添加,不改变反应器的基本状况,同时对微生物几乎没有毒性,在某种程度上反而会提高活性污泥的性质,利于污染物的降解。

[0057] 对比例 5 不接种活性污泥,接种节杆菌 TW, 不添加信号分子制剂

[0058] 如实施例 1 中所述 SBR 反应器中,不接种活性污泥,不添加有利于 TW 定植的信号分子制剂,只添加节杆菌 TW。实验结果显示,随着烟草废水中尼古丁含量和 COD 含量的提高,反应器的处理能力下降明显。在进水尼古丁浓度为 40mg/L, COD 浓度为 1000mg/L 时,反应器可以在 24h 100% 去除反应器中的尼古丁,对 COD 的去除能力大约在 40% 左右。但是当进水尼古丁浓度上升到 250mg/L, COD 浓度为 6000mg/L 时,反应器在 48h 内对尼古丁的去除率大约为 100%, COD 的去除率只有 18.8%。当进水尼古丁浓度上升到 1000mg/L, COD 浓度为 20000mg/L, 反应器基本运行效果不佳,虽能 100% 降解系统中的尼古丁,但是 COD 降解率仅为 15%。

[0059] 实施例 2 采用节杆菌 TW 及有利于其定植的信号分子制剂处理有机氟加工废水

[0060] (1) 节杆菌 TW 的培养:

[0061] 将实施例 1 中筛选获得的节杆菌 TW 接种到 4- 氟苯胺浓度为 1.0g/L 的无机盐培养基中,培养基配方为: K_2HPO_4 0.2g/L、 KH_2PO_4 0.8g/L、 $NaMoO_4 \cdot H_2O$ 0.0033g/L、 $MgSO_4$ 0.2g/L、 $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.1g/L、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005g/L、4- 氟苯胺 1g/L, pH8.0; 在 130rpm、30℃ 摇床中培养 32h。

[0062] (2) 有利于 TW 定植的信号分子制剂配制: 该信号分子制剂由 N-3 氧代 - 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (3-oxo-C₆-HSL) 与 N- 己酰基 - 高丝氨酸内酯 (C₆-HSL) 组成, 其母液的浓度分别为 8mmol/L 与 4mmol/L, 两者的混合比例为 1 : 1, 总体积为 10mL。所述信号分子制剂的作用, 是使菌株的胞外聚合物分泌增加, 促使生物膜形成, 利于菌株定植, 从而保证目的污染物的降解。

[0063] (3) 处理有机氟加工废水:

[0064] 将培养至对数生长期的节杆菌 TW 接入实验室序批式活性污泥反应器 (SBR) 中; 活性污泥取自杭州七格污水处理厂, SBR 反应器为有机玻璃圆柱体, 有效容积为 2L (高: 内径

≈ 10 : 1), 装置如图 1 所示。

[0065] 含 4- 氟苯胺的有机氟加工废水, 为有机氟加工厂排水经前期厌氧工艺处理后, 所产生的进入好氧阶段的含 4- 氟苯胺废水; 活性污泥的接种量为 20%; 信号分子制剂由信号分子 1 与信号分子 2 混合而成的, 有利于 TW 定植的信号分子制剂加入量为 10mL; 节杆菌 TW 种子培养液的接种量为 3%; 反应条件为室温, pH 6.5-9.5, DO 为 3-5mg/L, 曝气量为 20L/h; 运行程序为: 5min 进样, 5min 排水及排泥, 根据活性污泥沉降性能设定 5-15min 的污泥沉淀, 根据出水性能设定 24-72h 的水力停留时间。每次排水后补加的反应液体积为反应器总体积的 1/2。

[0066] 结果显示, 以 3% 的接种量, 只接种一次, 即可在反应器污泥中持续监测到节杆菌 TW, 持续监测的时间为 100d; 反应器运行稳定后, 有机氟加工废水中 4- 氟苯胺在 32h HRT 内降解率为 100%, 其中 4- 氟苯胺进水浓度在 1.0-1.5g/L 之间; COD 的去除率达 78%, 其中反应器每次换水后 COD 浓度在 15000mg/L 左右。

[0067] 对比例 6 使用内壁粗糙的 SBR 反应器, 接种活性污泥与节杆菌 TW, 添加信号分子制剂

[0068] 将实施例 2 中的 SBR 反应器换成内壁粗糙的, 即内衬尼龙网, 其他与上述例子相同。

[0069] 结果显示, 接种一次, 即可在反应器污泥中持续监测到节杆菌 TW, 且活性污泥与菌株 TW 在尼龙网上挂壁明显, 显示出了信号分子制剂在生物膜形成方面的出色作用, 这样活性污泥不再只沉在反应器底部, 而是在整个反应器中都分布, 使 4- 氟苯胺与 COD 的去除率维持在较高水平, 持续监测 100d; 反应器运行稳定后, 4- 氟苯胺在 32h HRT 内降解率为 100%, 其中 4- 氟苯胺进水浓度在 1.0-1.5g/L 之间; COD 的去除率超过 80%, 其中反应器每次换水后 COD 浓度在 15000mg/L 左右。

[0070] 对比例 7 接种活性污泥与接种节杆菌 TW, 不添加信号分子制剂

[0071] 将实施例 2 中筛选获得的节杆菌 TW 培养 32h 后, 以 3% 的接种量接种至上述 SBR 反应器中。实验结果显示, 如果持续每天添加节杆菌 TW, 则能在 32h 内 100% 去除废水中的 4- 氟苯胺; 如果不持续每天添加节杆菌 TW, 则 4- 氟苯胺的去除率随时间下降, 在 5d 后 4- 氟苯胺去除率降至 15% 左右。

[0072] 对比例 8 接种活性污泥, 不接种节杆菌 TW, 不添加信号分子制剂

[0073] 在上述 SBR 反应器中, 不接种节杆菌 TW, 亦不添加利于 TW 定植的信号分子制剂, 处理含 4- 氟苯胺废水。

[0074] 结果显示, 随着废水中 4- 氟苯胺含量和 COD 含量的提高, 反应器的处理能力急剧下降。在进水 4- 氟苯胺浓度为 50mg/L, COD 浓度为 1000mg/L 时, 可以在 32h 内 100% 去除反应器中的 4- 氟苯胺, 对 COD 的去除能力达 60%。但是当进水 4- 氟苯胺浓度上升到 300mg/L, COD 浓度为 6000mg/L 时, 反应器在 56h 内对 4- 氟苯胺的去除率仅为 15%, COD 的去除率仅为 20%。当进水 4- 氟苯胺浓度上升到 900mg/L, COD 浓度为 15000mg/L, 反应器基本处于系统崩溃状态, 污泥上浮。

[0075] 对比例 9 接种活性污泥, 不接种节杆菌 TW, 添加信号分子制剂

[0076] 如实施例 2 中所述 SBR 反应器中, 除不接种节杆菌 TW 外, 其他都相同。实验结果显示, 随着反应器中 4- 氟苯胺含量和 COD 含量的提高, 反应器的处理能力急剧下降。在进

水 4-氟苯胺浓度为 50mg/L, COD 浓度为 1000mg/L 时, 反应器可以在 32h 100% 去除反应器中的 4-氟苯胺, 对 COD 的去除能力达 65% 以上。但是当进水 4-氟苯胺浓度上升到 300mg/L, COD 浓度为 6000mg/L 时, 反应器在 56h 内对 4-氟苯胺的去除率不到 15%, COD 的去除率仅为 25% 左右。当进水 4-氟苯胺浓度上升到 900mg/L, COD 浓度为 15000mg/L, 反应器基本处于系统崩溃状态, 污泥上浮。这表明, 信号分子的添加, 不改变反应器的基本状况, 同时对微生物几乎没有毒性, 在某种程度上反而会提高活性污泥的性质, 利于污染物的降解

[0077] 对比例 10 不接种活性污泥, 接种节杆菌 TW, 不添加信号分子制剂

[0078] 如实施例 2 中所述 SBR 反应器中, 不接种活性污泥, 不添加有利于 TW 定植的信号分子制剂, 只添加节杆菌 TW。实验结果显示, 随着废水进水 4-氟苯胺和 COD 含量的提高, 反应器的处理能力下降明显。在进水 4-氟苯胺浓度为 50mg/L, COD 浓度为 1000mg/L 时, 反应器可以在 32h 100% 去除反应器中的 4-氟苯胺, 对 COD 的去除能力大约在 48% 左右。但是当进水 4-氟苯胺浓度上升到 300mg/L, COD 浓度为 6000mg/L 时, 反应器在 56h 内对 4-氟苯胺的去除率约为 100%, COD 的去除率只有 23%。当进水 4-氟苯胺浓度上升到 900mg/L, COD 浓度为 15000mg/L, 反应器整体基本运行效果不佳, 4-氟苯胺降解率虽接近 100%, 但对 COD 的降解能力低于 17%。

[0001]

序 列 表

SEQUENCE LISTING

<110> 浙江工商大学

<120> 一种处理烟草废弃物或有机氟废水的方法

<130>

<160> 1

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1452

<212> DNA

<213> 节杆菌 (Acinetobacter sp.)

<400> 1

caaaaaggat tgcgggggct taccatgcaa gtcgagcggg ggaaggtage ttgctactgg	60
acctagcggc ggacgggtga gtaatgctta ggaatctgcc tattagtggg ggacaacate	120
tcgaaaggga tgctaatacc gcatacgtcc tacgggagaa agcaggggat ctfcggacct	180
tgcgctaata gatgagccta agtcggatta gctagtggg ggggtaaagg cctaccaagg	240
cgacgatctg tagcgggtct gagaggatga tccgccacac tgggactgag acacggccca	300
gactcctacg ggaggcagca gtggggaata ttggacaatg gggggaaccc tgatccagcc	360
atgccgcgtg tgtgaagaag gccffatggt tgtaaagcac tttaagcgag gaggaggcta	420
ctctagtaa tacctagga tagtggacgt tactcgcaga ataagcaccg gtaactctg	480
tgccagcagc cgcggtaata cagaggggtgc gagcgftaat cggafftact gggcgtaaag	540
cgctgcgtagg cggcttatta agtcggatgt gaaatccccg agcttaactt gggaaftgca	600
ttcgatactg gtgagctaga gtatgggaga ggatggtaga attccaggtg tagcggtgaa	660

[0002]

atgcgtagag atctggagga ataccgatgg cgaaggcagc catctggcct aatactgacg	720
ctgaggtagc aaagcatggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc catgccgtaa	780
acgatgtcta ctagccgttg gggccttga ggcttagtg gcgcagctaa cgcgataagt	840
agaccgcctg gggagtacgg tgcgaagact aaaactcaaa tgaattgacg ggggcccga	900
caagcggtagg agcatgtggt ttaattcgat gcaacgcgaa gaacctacc tggccttgac	960
atactagaaa cttccagag atggattggt gccttcggga atctagatac aggtgctgca	1020
tggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggtaagt cccgcaacga gcgcaacct	1080
tttccitact tgccagcatt tcggatggga actttaagga tactgccagt gacaaactgg	1140
aggaaggcgg ggacgacgtc aagtcacat gccccttacg gccagggcta cacacgtgct	1200
acaatggtag gtacaaaggg ttgctacaca gcgatgtgat gctaattca aaaagccgat	1260
cgtagtccgg attggagtct gcaactcgac tccatgaagt cggaatcgt agtaatcgcg	1320
gatcagaatg ccgcggtgaa tacgttcccg ggccttgtag acaccgcccg tcacacatg	1380
ggagtttgtt gcaccagaag tagctagcct aactgcaaag agggcggtac cacggtgccc	1440
gtggctttct tt	1452

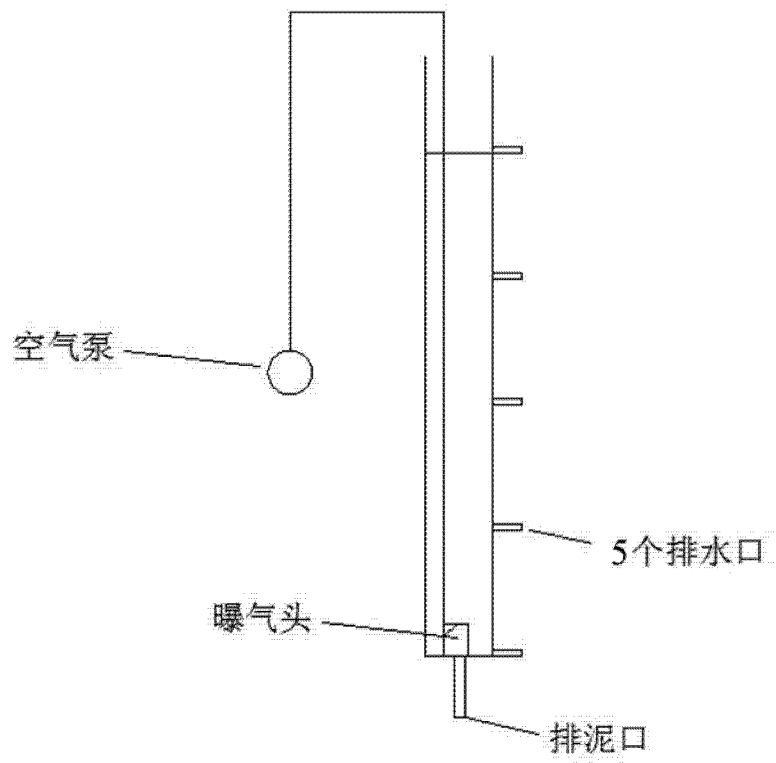


图 1