



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102559542 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 11

-
- (21) 申请号 201110416289. 1 *C02F 3/02* (2006. 01)
- (22) 申请日 2011. 12. 14 *C02F 3/34* (2006. 01)
- (83) 生物保藏信息 *C12R 1/01* (2006. 01)
CGMCC No. 5284 2011. 09. 22
- (71) 申请人 首创爱华(天津)市政环境工程有限公司
地址 300191 天津市南开区水上公园西路
44 号 433 室
- (72) 发明人 胡春萍 杨蛟云 刘智晓 熊欢欢
张伟 沈旺
- (74) 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代
理事务所 12201
代理人 陆艺
- (51) Int. Cl.
C12N 1/20 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea*
sp. 及分离培养方法

(57) 摘要

本发明公开了低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea sp.* 及分离培养方法, 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea sp.* 亚黄-2CGMCC No. 5284, 其具有在低温好氧条件下去除污水中氨氮的能力。实验结果表明: 尽管受到低温环境的明显抑制, 投加本发明一种低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea sp.* 亚黄-2CGMCC No. 5284 在 10°C 低温下, 对氨氮去除有明显的强化作用, 氨氮去除率提高了 10%, 出水氨氮浓度最高为 5.1mg/L, 优于一级 A 的出水标准 (水温 ≤ 12°C 时, 一级 A 标准的控制指标为 8mg/L)。

1. 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 亚黄-2CGMCC No. 5284, 其具有在低温好氧条件下去除污水中氨氮的能力。

2. 权利要求 1 的低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 亚黄-2CGMCC No. 5284 在低温好氧条件下去除污水中氨氮的用途。

3. 根据权利要求 2 所述的用途, 其特征是所述低温为 8-12°C。

4. 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法, 其特征是包括如下步骤:

(1) 将第一种亚硝酸细菌培养液放入小试 SBR 反应器中, 将污水处理厂污泥接种所述第一种亚硝酸细菌培养液中, 在 8~12°C, 连续培养 4-6 天, 取出上清液, 加入第二种亚硝酸细菌培养液, 在 8~12°C, 连续培养 4-6 天, 取出上清液, 加入第三种亚硝酸细菌培养液, 在 8~12°C, 连续培养 4-6 天, 富集、驯化低温细菌;

(2) 取 10mL 步骤 (1) 获得的污泥, 加入已装有 90mL 灭菌蒸馏水和 20~30 粒灭菌玻璃珠的 250ml 锥形瓶中, 振荡 10~30min, 使细菌细胞充分释放到上清液中; 静置 20~40min, 取 1mL 上清液加入装有 9mL 无菌蒸馏水的试管中, 得到 10^{-2} 的菌悬液, 按上述方法依次做系列稀释, 一直做到 10^{-8} 为止;

(3) 选取梯度为 10^{-5} ~ 10^{-8} 的菌悬液, 分别取 1mL 接种于亚硝酸细菌固体培养基, 每个稀释度做 3 个平行样, 编号; 10°C 在有氧的条件下保湿培养 2~3 周;

(4) 从步骤 (3) 中的亚硝酸细菌固体培养基平板中挑选菌落大, 形态不同的单菌落, 在亚硝酸细菌固体培养基平板中再次划线分离, 重复平板划线分离 3-4 次, 使平板上的菌落在显微镜中的形态相同, 单一, 大小相似即为单菌落, 命名为亚黄-2, 经鉴定为低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp.。

5. 根据权利要求 4 所述的低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法, 其特征是所述第一种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.0764g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g, 加蒸馏水至 1000mL。

6. 根据权利要求 4 所述的低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法, 其特征是所述第二种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.191g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g, 加蒸馏水至 1000mL。

7. 根据权利要求 4 所述的低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法, 其特征是所述第三种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.382g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g, 加蒸馏水至 1000mL。

8. 根据权利要求 4 所述的低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法, 其特征是所述亚硝酸细菌固体培养基由下述组分组成: NH_4Cl 0.0764g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g、琼脂 20g, 加蒸馏水至 1000mL。

低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 及分离培养方法

技术领域

[0001] 本发明属于污水处理领域,涉及一株低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 及分离培养方法。

背景技术

[0002] 低温对生物处理能力产生重大影响的原因是由于温度的降低影响了微生物的生长及代谢并使污水处理系统中微生物群系发生了改变。在温度下降过程中,中温菌的代谢活性逐渐下降,到一定温度时便失去活性,而适于低温环境的低温微生物的数量由于自身的生理特性及各种生态因子的抑制作用,在数量上无法达到优势菌群的地位,从而导致污水处理厂冬季出水水质下降。因此亟需一种能在低温好氧条件下去除污水中氨氮的菌株。

发明内容

[0003] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供一种低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp.

[0004] 本发明的第二个目的是提供一种低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法。

[0005] 本发明的第三个目的是提供一种低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的用途。

[0006] 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 亚黄-2CGMCC No. 5284,其具有在低温好氧条件下去除污水中氨氮的能力。

[0007] 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 亚黄-2CGMCC No. 5284 在低温好氧条件下去除污水中氨氮的用途。

[0008] 所述低温优选为 8-12℃。

[0009] 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法,其特征是包括如下步骤:

[0010] (1) 将第一种亚硝酸细菌培养液放入小试 SBR 反应器中,将污水处理厂污泥接种所述第一种亚硝酸细菌培养液中,在 8~12℃,连续培养 4-6 天,取出上清液,加入第二种亚硝酸细菌培养液,在 8~12℃,连续培养 4-6 天,取出上清液,加入第三种亚硝酸细菌培养液,在 8~12℃,连续培养 4-6 天,富集、驯化低温细菌;

[0011] (2) 取 10mL 步骤 (1) 获得的污泥,加入已装有 90mL 灭菌蒸馏水和 20~30 粒灭菌玻璃珠的 250ml 锥形瓶中,振荡 10~30min,使细菌细胞充分释放到上清液中;静置 20~40min,取 1mL 上清液加入装有 9mL 无菌蒸馏水的试管中,得到 10^{-2} 的菌悬液,按上述方法依次做系列稀释,一直做到 10^{-8} 为止;

[0012] (3) 选取梯度为 10^{-5} ~ 10^{-8} 的菌悬液,分别取 1mL 接种于亚硝酸细菌固体培养基,每个稀释度做 3 个平行样,编号;10℃在有氧的条件下保湿培养 2~3 周;

[0013] (4) 从步骤(3)中的亚硝酸细菌固体培养基平板中挑选菌落大,形态不同的单菌落,在亚硝酸细菌固体培养基平板中再次划线分离,重复平板划线分离3-4次,使平板上的菌落在显微镜中的形态相同,单一,大小相似即为单菌落,命名为亚黄-2,经鉴定为低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp.。

[0014] 所述第一种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.0764g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g,加蒸馏水至 1000mL。

[0015] 所述第二种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.191g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g,加蒸馏水至 1000mL。

[0016] 所述第三种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.382g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g,加蒸馏水至 1000mL。

[0017] 所述亚硝酸细菌固体培养基由下述组分组成: NH_4Cl 0.0764g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g、琼脂 20g,加蒸馏水至 1000mL。

[0018] 实验结果表明:尽管受到低温环境的明显抑制,投加本发明一种低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 亚黄-2CGMCC No. 5284 在 10℃低温下,对氨氮去除有明显的强化作用,氨氮去除率提高了 10%,出水氨氮浓度最高为 5.1mg/L,优于一级 A 的出水标准(水温 $\leq 12^\circ\text{C}$ 时,一级 A 标准的控制指标为 8mg/L)。

附图说明

[0019] 图 1 为一种低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的驯化分离培养流程图。

[0020] 图 2 为亚黄-2 氨氮去除实验。

[0021] 图 3 为 *Pandoraea* sp. (亚黄-2) 细菌鉴定方法流程。

具体实施方式

[0022] 下面通过具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0023] 实施例 1

[0024] 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法,包括如下步骤:

[0025] (1) 将第一种亚硝酸细菌培养液放入小试 SBR 反应器中,将天津纪庄子污水处理厂曝气池的污泥接种所述第一种亚硝酸细菌培养液中,在 10℃,连续培养 5 天,取出上清液,加入第二种亚硝酸细菌培养液,在 10℃,连续培养 5 天,取出上清液,加入第三种亚硝酸细菌培养液,在 10℃,连续培养 5 天,富集、驯化低温细菌;

[0026] (2) 取 10mL 步骤(1)获得的污泥,加入已装有 90mL 灭菌蒸馏水和 30 粒灭菌玻璃珠的 250ml 锥形瓶中,振荡 20min,使细菌细胞充分释放到上清液中;静置 30min,取 1mL 上清液加入装有 9mL 无菌蒸馏水的试管中,得到 10^{-2} 的菌悬液,按上述方法依次做系列稀释,

一直做到 10^{-8} 为止；

[0027] (3) 选取梯度为 $10^{-5} \sim 10^{-8}$ 的菌悬液, 分别取 1mL 接种于亚硝酸细菌固体培养基, 每个稀释度做 3 个平行样, 编号; 10°C 在有氧的条件下保湿培养 3 周;

[0028] (4) 从步骤 (3) 中的亚硝酸细菌固体培养基平板中挑选菌落大, 滴入格里斯试剂变红的形态不同的单菌落, 在亚硝酸细菌固体培养基平板中再次划线分离, 重复平板划线分离 3 次, 使平板上的菌落在显微镜中的形态相同, 单一, 大小相似即为单菌落, 命名为亚黄-2, 经鉴定为低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp.。

[0029] 实施例 2

[0030] 第一种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.0764g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g, 加蒸馏水至 1000mL。

[0031] 实施例 3

[0032] 第二种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.191g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g, 加蒸馏水至 1000mL。

[0033] 实施例 4

[0034] 第三种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.382g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g, 加蒸馏水至 1000mL。

[0035] 实施例 5

[0036] 亚硝酸细菌固体培养基由下述组分组成: NH_4Cl 0.0764g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、 NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g、琼脂 20g, 加蒸馏水至 1000mL。

[0037] 实施例 6

[0038] 格里斯试剂的配制

[0039] 1、对氨基苯磺酸试剂 (A 液): 0.5 克对氨基苯磺酸溶于 150 毫升 20% 的稀醋酸溶液中, 储于棕色瓶, 冷藏备用。

[0040] 2、 α -萘胺试剂 (B 液): 0.5 克 α -萘胺加到 20 毫升蒸馏水和 150 毫升 20% 的稀醋酸溶液中, 储于棕色瓶, 冷藏备用。

[0041] 3、格里斯试剂的使用液: 取等比例的 A 液与 B 液混合即可使用。

[0042] 实施例 7

[0043] 本发明的低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 具有以下微生物学特性:

[0044] 1. 形态学特性

[0045] 在显微镜下观察, 为杆状, 长 $1.4 \mu\text{m}$, 宽 $0.28 \mu\text{m}$; 在亚硝酸细菌固体培养基上形成乳白色菌落。

[0046] 2. 培养学特性

[0047] 在 10°C 下, 在亚硝酸细菌固体培养基中培养时, 本发明的 *Pandoraea* sp. 菌株具有以下特性。

[0048] 表面光滑湿润, 边缘整齐规则, 个体微小呈圆形, 菌体呈乳白色。

[0049] 3. 生理特性

[0050] 好氧条件下去除污水中氨氮的革兰氏阴性细菌,接触酶阳性、甲基红试验阴性、不水解淀粉、不液化明胶、不产生吲哚、生长 pH 值为 6 ~ 8,生长温度 5 ~ 30℃。

[0051]

革兰氏	接触酶	甲基红	淀粉水解	明胶试验	吲哚试验	p H	温度
G ⁻	+	-	-	-	-	6 ~ 8	5 ~ 30

[0052] 本发明细菌的 16s 序列鉴定

[0053] 16SrDNA 是细菌类原核生物在漫长的进化过程中十分保守的序列,在现代微生物的分类学中扮演着重要的角色,作为细菌群落结构分析最常用的系统进化标记分子,用 16S rDNA 进行微生物群落结构分析更为快捷方便。

[0054] 用 16s 序列进行细菌鉴定按图 3 进行。

[0055] 图 3 中的牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 3g,蛋白胨 10g,氯化钠 5g,加蒸馏水至 1000mL, pH 7.0 ~ 7.2

[0056] LB 培养基:胰化蛋白胨 10g,酵母提取物 5g, NaCl 10g,加蒸馏水至 1000ml。

[0057] 本发明测得的 16s 序列如下所示:

[0058] ACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGAGT

[0059] GGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAATGTACCTTGTAGTGGGGGATAGCTCGGCGAAAAGCCGGATT

[0060] AATACCGCATAACGCTCTGAGGAGGAAAAGCGGGGACCTTCGGGCCTCGCGCTACAAGAGCAGCCGAT

[0061] GTCAGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAAGCTCACCAAGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGAC

[0062] GACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATTTTGG

[0063] ACAATGGGCGAAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACT

[0064] TTTGTCCGAAAAGAAATCCTCTGGGTAAATACCTCGGGGGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACC

[0065] GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTA

[0066] AAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTAAAGACGGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATTTCG

[0067] TGACTGCAAGGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGTAGAATTCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGA

[0068] TGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGCCAATACTGACGCTCATGCACGAAAAGCGTG

[0069] GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGGATT

[0070] CATTTCTTAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAATA

[0071] CTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGACAAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAA

[0072] AACCTTACCTACCCTTGACATGTACGGAATCCTGCTGAGAGGTGGGAGTGCTCGAAAAGAGAACCGTA

[0073] ACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCG

[0074] CAACCCTTGTCTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAG

[0075] GTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATACAATGGTTCGGTAC

[0076] AGAGGGCTGCCAAAACCGCGAGGTGGAGCTAACCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCT

[0077] GCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCC

[0078] CGGGTCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGTTTTGCCAGAAGTAGGTAGCCTAACCGT

[0079] AAGGAGGGCGCTTACCACGGCAGGATTCATGACTGGG

[0080] 根据上述微生物学特性,命名为亚黄-2,分类命名为菌 (*Pandoraea* sp.) 已于

2011年9月22日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCCNo. 5284,保藏地址为:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,并已存活。

[0081] 实施例 8

[0082] 亚黄-2 对污水中氨氮的降解效果

[0083] 在 1L 的烧杯中,加入 500m L 第四种亚硝酸细菌培养液(初始氨氮浓度为 30mg/L),加入适量的亚黄-2,保持 pH 为 7.5,测定 72 小时其对氨氮的降解情况,结果如图 2 所示。

[0084] 由图 2 可以看出,经 72 小时的降解,溶液中氨氮浓度为 1.2mg/L,氨氮基本去除,去除率为 96%,证明本发明中的亚黄-2 对氨氮有良好的去除能力。

[0085] 第四种亚硝酸细菌培养液组成:第一种亚硝酸细菌培养液由下述组分组成: NH_4Cl 0.1146g、乙酸钠 2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、 K_2HPO_4 0.2g、NaCl 0.12g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01g、 FeSO_4 0.01g,加蒸馏水至 1000mL。

[0086] 实施例 9

[0087] 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法,包括如下步骤:

[0088] (1) 将第一种亚硝酸细菌培养液放入小试 SBR 反应器中,将污水处理厂污泥接种所述第一种亚硝酸细菌培养液中,在 8°C,连续培养 6 天,取出上清液,加入第二种亚硝酸细菌培养液,在 8°C,连续培养 6 天,取出上清液,加入第三种亚硝酸细菌培养液,在 8°C,连续培养 6 天,富集、驯化低温细菌;

[0089] (2) 取 10mL 步骤 (1) 获得的污泥,加入已装有 90mL 灭菌蒸馏水和 20 粒灭菌玻璃珠的 250ml 锥形瓶中,振荡 10~30min,使细菌细胞充分释放到上清液中;静置 20~40min,取 1mL 上清液加入装有 9mL 无菌蒸馏水的试管中,得到 10^{-2} 的菌悬液,按上述方法依次做系列稀释,一直做到 10^{-8} 为止;

[0090] (3) 选取梯度为 10^{-5} ~ 10^{-8} 的菌悬液,分别取 1mL 接种于亚硝酸细菌固体培养基,每个稀释度做 3 个平行样,编号;10°C 在有氧的条件下保湿培养 3 周;

[0091] (4) 从步骤 (3) 中的亚硝酸细菌固体培养基平板中挑选菌落大,形态不同的单菌落,在亚硝酸细菌固体培养基平板中再次划线分离,重复平板划线分离 3 次,使平板上的菌落在显微镜中的形态相同,单一,大小相似即为单菌落,经鉴定为低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp.。

[0092] 实施例 10

[0093] 低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea* sp. 的分离培养方法,包括如下步骤:

[0094] (1) 将第一种亚硝酸细菌培养液放入小试 SBR 反应器中,将污水处理厂污泥接种所述第一种亚硝酸细菌培养液中,在 12°C,连续培养 4 天,取出上清液,加入第二种亚硝酸细菌培养液,在 12°C,连续培养 4 天,取出上清液,加入第三种亚硝酸细菌培养液,在 12°C,连续培养 4 天,富集、驯化低温细菌;

[0095] (2) 取 10mL 步骤 (1) 获得的污泥,加入已装有 90mL 灭菌蒸馏水和 30 粒灭菌玻璃珠的 250ml 锥形瓶中,振荡 10~30min,使细菌细胞充分释放到上清液中;静置 20~40min,取 1mL 上清液加入装有 9mL 无菌蒸馏水的试管中,得到 10^{-2} 的菌悬液,按上述方法依次做系

列稀释,一直做到 10^{-8} 为止;

[0096] (3) 选取梯度为 $10^{-5} \sim 10^{-8}$ 的菌悬液,分别取 1mL 接种于亚硝酸细菌固体培养基,每个稀释度做 3 个平行样,编号;10℃在有氧的条件下保湿培养 2 周;

[0097] (4) 从步骤(3)中的亚硝酸细菌固体培养基平板中挑选菌落大,形态不同的单菌落,在亚硝酸细菌固体培养基平板中再次划线分离,重复平板划线分离 4 次,使平板上的菌落在显微镜中的形态相同,单一,大小相似即为单菌落,经鉴定为低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea sp.*。

[0098] 实验证明,实施例 9 和实施例 10 经鉴定为低温条件下去除污水中氨氮的菌 *Pandoraea sp.* 的分离培养方法分离培养的菌 *Pandoraea sp.* 也有很好的去除氨氮的效果,去除率分别为 95.8%和 95.4%。

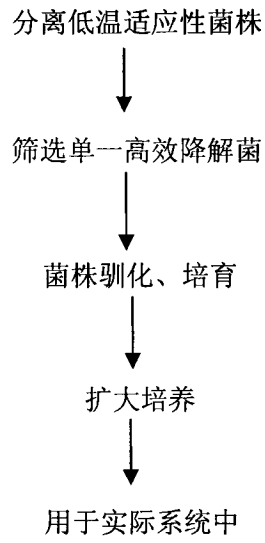


图 1

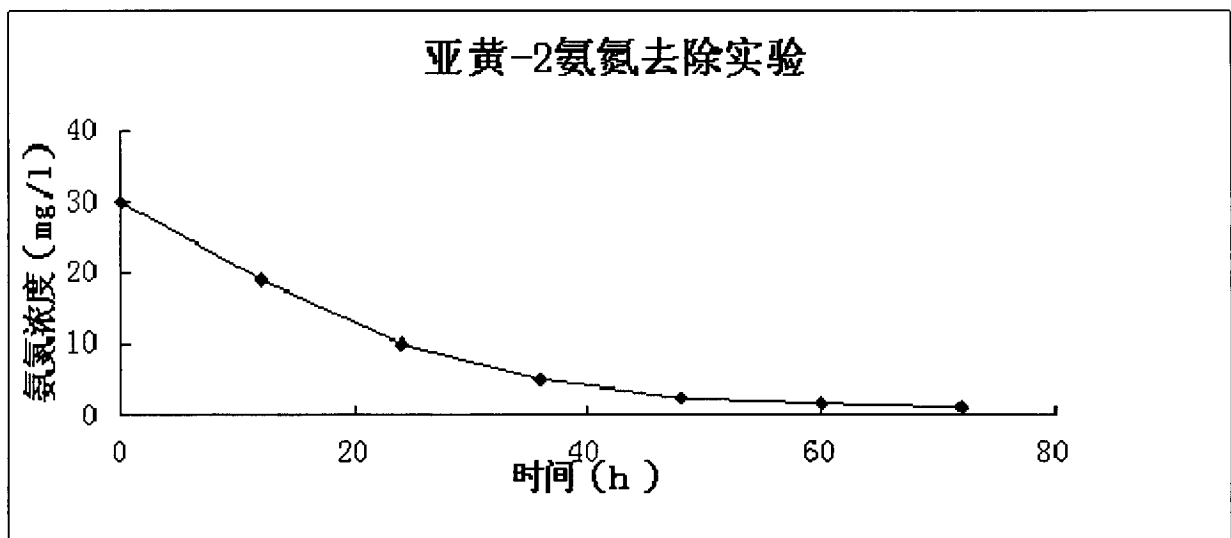


图 2

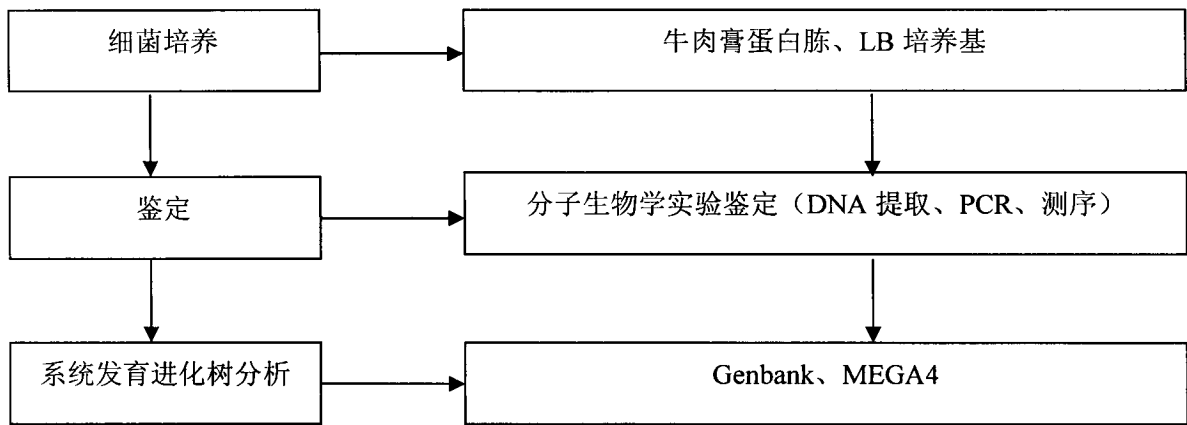


图 3