(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108452666 B
(45)授权公告日 2019.03.19

(21)申请号 201810456004.9

(22)申请日 2018.05.14

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108452666 A

(43)申请公布日 2018.08.28

(83)生物保藏信息
CGMCC No.13748 2017.03.10

(73)专利权人 大江环境股份有限公司
地址 210019 江苏省南京市建邺区贤坤路1号
专利权人 南京江岛环境科技研究院有限公司

(72)发明人 任仁 朱利军 柴春燕 张徐祥

(74)专利代理机构 北京瑞盛铭杰知识产权代理事务所(普通合伙) 11617
代理人 栗华楠

(51)Int.Cl.
B01D 53/84(2006.01)
B01D 53/70(2006.01)
C12N 1/20(2006.01)
C12R 1/38(2006.01)

(56)对比文件
CN 104934090 A,2015.09.23,全文.
CN 102424806 A,2012.04.25,全文.
CN 107008085 A,2017.08.04,全文.
陈建孟等.生物滴滤池净化二氯甲烷废气的实验研究.《环境科学》.2002,第23卷(第4期),9.

审查员 邹帅

权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54)发明名称

一种包含蒙氏假单胞菌的生物活性填料在净化含氯废气中的应用

(57)摘要

本发明属于环境治理领域,具体涉及一种含有蒙氏假单胞菌的微生物活性填料在净化含氯废气中的应用。所述蒙氏假单胞菌具体为蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1,保藏编号为CGMCC No.13748,所述微生物活性填料是由蒙氏假单胞菌菌悬液吸附于填料上,并将填料装填在网面空心球中制备而成,该填料用于处理农药废水储池产生的含有机氯废气,气体流量为100-5000m^3/h,停留时间1.0-5.0min,温度35-55℃,含氯废气总浓度为5-100mg/m^3,三氯乙醛降解效率可以达到75%以上。

CN 108452666 B

1.一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述微生物活性填料是由蒙氏假单胞菌菌悬液吸附于填料上,并将填料装填在网面空心球中制备而成;

所述蒙氏假单胞菌具体为蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1,保藏编号为CGMCC No.13748。

2.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述填料为聚氨酯泡沫块、陶粒、火山岩或分子筛中的一种或多种;

所述填料密度为20-80kg/m^3,孔隙率为50-97%,粒径为10-100mm。

3.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述的微生物菌悬液与填料的质量比为1-12:1。

4.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述的微生物活性填料中蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度1.0×10^5-9.0×10^8CFU/g(填料)。

5.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述填料与空心球的质量比为0.9-3:1。

6.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述的网面空心球材质为聚乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

7.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述的网面空心球直径6cm,由两个半球组成,每个半球表面多孔,每个孔的孔径2-8mm;

所述的网面空心球中部有一圈加固环,加固环上设有锁扣,便于开启和闭合两个半球。

8.如权利要求1所述的一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,所述蒙氏假单胞菌菌悬液的制备方法如下:

①将蒙氏假单胞菌LW-1斜面活化后接入液体发酵培养基,按10-25%接种量进行逐级扩大发酵培养;

发酵培养条件为:于35-45℃,通风量10-100L/min,溶解氧>2.0mg/L,罐压0.03-0.10Mpa条件下,培养时间45-55h;

所述液体发酵培养基的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g,$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水1000mL,pH值6.2-7.0,115℃灭菌20min,灭菌后冷却至室温再加入4.5mg/L三氯乙醛;

②发酵培养结束后,将发酵液置于冷冻离心机中于4℃,2000-8000rpm,离心10-20min,弃去上清液,沉淀用无菌营养液稀释,获得菌体浓度为0.30-0.95g/L蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液;

所述无菌营养液的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g,$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgCl_2$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水1000mL,pH值6.8-7.2,121℃灭菌20min。

9.如权利要求1-8任意一项所述一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用,其特征在于,处理废气的步骤如下:

(1)将附载有蒙氏假单胞菌LW-1的微生物活性填料置于一容器中,通入含三氯乙醛的气体,活化微生物活性填料;活化时间为2-15天;

所述通入的含三氯乙醛气体中的三氯乙醛的浓度为50-200mg/m^3;

(2)将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中,通入含有机氯废气,用蒙氏假单胞

菌LW-1净化废气中的有机氯，微生物活性填料体积为0.1-1000m^3，有机氯的总浓度为5-100mg/m^3，气体流速为0.05-10000m^3/h，停留时间1.5-10.0min，净化温度为30-65℃；定期向微生物活性填料表面喷淋营养液维持微生物活性填料的活性，喷淋频率为1-3天喷淋1次，每次喷淋速度为1.0-200L/min，每次喷淋时间为10-90min。

10.如权利要求9所述一种微生物活性填料在净化含氯废气中的应用，其特征在于，所述的营养液的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水1000ml，pH值6.2-7.0。

一种包含蒙氏假单胞菌的生物活性填料在净化含氯废气中的应用

技术领域:

[0001] 本发明属于环境治理领域,具体涉及一种包含蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1的生物活性填料在净化含氯废气中的应用。

背景技术:

[0002] 农药生产中的废水含有大量的有机硫农药和有机氯农药中间体,成分复杂、浓度高、毒性强。部分有机硫农药和有机氯农药的产品或其中间体如对硫磷、马拉硫磷、甲基对硫磷、三氯乙醛、三氯化磷等,具有挥发性,并且大多数的有机硫和有机氯农药具有刺鼻的异味。

[0003] 对硫磷($C_{10}H_{14}NO_5PS$)是无色油状液体,水中溶解度为24mg/L(25℃)。微溶于石油醚及煤油,可与多数有机溶剂混溶,有蒜臭。在碱性介质中迅速地水解;在中性或微酸性溶液中较为稳定;对紫外光与空气都不稳定。对微生物有致突变性和动物致畸性。属高毒类,具有急性毒性、刺激性、致突变性。200μg/L时影响人体淋巴细胞姐妹染色单体交换;10μmol/L时影响人成纤维细胞程序外DNA合成;10μmol/L时,16小时内使大鼠淋巴细胞DNA损伤,IARC 致癌性评价为G3级;大鼠经口最低中毒剂量(TDLo):360μg/kg(孕2～22d/ 产后15d),影响新生鼠生化和代谢;大鼠皮下最低中毒剂量(TDLo):9800μg/kg (孕7～13d),致死胎。对硫磷能通过消化道、呼吸道及完整的皮肤和粘膜进入人体。环境中的对硫磷也可以通过食物链发生生物富集。

[0004] 马拉硫磷($C_{10}H_{19}O_6PS_2$)为无色或淡黄色油状液体,有蒜臭味。遇明火、高热可燃;与强氧化剂发生反应;受热分解产生磷、硫的氧化物气体;对动物有毒性,对眼睛、皮肤有刺激性;在pH 5.0以下有活性,pH7.0以上容易水解失效。雌鼠急性经口LD50为1751.5mg/kg,雄大鼠急性经口LD50为1634. 5mg/kg,大鼠急性经皮LD50为4000～6150mg/kg。中毒症状为头痛、头晕、恶心、无力、多汗、呕吐、流涎、视力模糊、瞳孔缩小、痉挛、昏迷、肌纤颤、肺水肿等。短期内接触(口服、吸入、皮肤、黏膜)大量有机磷农药后一般发病较快。马拉硫磷中毒的潜伏期较长。经皮肤吸收,在12h内发病,中毒症状表现为食欲减退、恶心、呕吐、腹痛、多汗、事物模糊、瞳孔缩小、呼吸道分泌物增加,支气管痉挛呼吸困难、肺水肿;样症状表现为肌束震颤,肌痉挛、肌麻痹;中枢神经系统症状表现为头痛、头晕、失眠活嗜睡、乏力、烦躁、抽搐、昏迷、脑水肿。口服中毒时病情较重,胃肠道症状更明显。部分病例可有心肌、肝、肾损害。

[0005] 甲基对硫磷($C_8H_{10}NO_5PS$):无色结晶粉末,工业品为棕色或黄色液体或固体,遇明火、高热可燃,受热分解释放磷、硫的氧化物等毒性气体,在碱液中能迅速分解。对大白鼠急性经口LD50为14～24mg/kg,对兔急性经皮LD50为 300～400mg/kg,属高毒级农药。甲基对硫磷具触杀和胃毒作用,能抑制害虫神经系统中胆碱酯酶的活力而致死,杀虫谱广,常加工成乳油或粉剂(见农药剂型)使用,主要用途是防治多种农业害虫。对微生物具有一定的致突变性,如鼠伤寒沙门氏菌667μg/皿;大肠杆菌:10mmol/L。气态、雾态、气溶胶状态或粉状的易为呼吸道吸收,液态可经眼黏膜、皮肤或肠胃道吸收。进入体内后,迅速分布至全身各

器官组织,并与组织蛋白牢固结合。

[0006] 有机氯农药是目前使用最广泛的杀虫剂之一,在农药市场中占有重要的地位。然而,在有机氯农药生产及农药废水处理过程中,具有挥发性的农药产品或中间体,从液相挥发,逸散到空气中,形成空气污染。

[0007] 易挥发的农药及中间体包括:敌百虫、敌敌畏、三氯化磷、敌草腈、茵草敌、甲拌磷、辛硫磷、联苯、甲氟磷、烷烃及取代烷烃类中间体、芳香族类中间体等(挑有机氯),这些物质大多数具有刺鼻的气味,有些物质如二乙基亚磷酸酯、三氯乙醛,属于致癌性、致突变性和致畸性的三致性物质。

[0008] 在废水处理过程中,因曝气、推动水流等机械扰动,这些具有异味的有机硫、有机氯从水中逸散到空气中,形成恶臭污染。如果不加以适当的处理,逸散到空气中的有机氯,严重污染环境,危害人体健康。

[0009] 生物技术因其具有成本低、操作简便、技术清洁、无二次污染等优点,是目前有效处理含有机物废气的重要方法之一。生物处理技术的原理是利用微生物的生物氧化作用将有机硫转化为硫酸盐、二氧化碳、水等无害或低害类物质的过程,如下:

[0010] 马拉硫磷→二氧化碳+硫酸盐+水;

[0011] 甲基对硫磷→对硝基苯酚+有机硫酸盐→硫酸盐+磷酸盐+二氧化碳+水;

[0012] 对硫磷→对硝基苯酚+有机硫酸盐→硫酸盐+磷酸盐+二氧化碳+水。

[0013] 生物处理技术的原理是利用微生物的生物氧化作用将有机氯转化为二氧化碳、盐酸盐和水等无害或低害类物质的过程(式1)。

[0014] $C_2HCl_3O+O_2 \rightarrow CO_2+H_2O+HCl$ (式1)

[0015] 已有研究表明,自然环境中的兼性化能异养细菌属于假单胞菌 (Pseudomonas sp.)X2(201310551914.2)、鞘氨醇杆菌(Sphingobacterium griseoflavus)SCU-B140(201510715812.9)、嗜酸氧化亚铁硫杆菌 (Acidithiobacillus ferrooxidans),嗜铁钩端螺旋菌(Leptospirillum ferriphilum) 和Ferroplasma acidiphilum的混合培养物(201310745138.X)等均对有机硫农药具有降解作用。但是尚未发现用于处理有机硫和有机氯的蒙氏假单胞菌 (Pseudomonas monteilii),以及采用蒙氏假单胞菌处理含硫、含氯污染物的方法。

发明内容:

[0016] 为了解决现有技术中挥发性有机氯处理效率低、微生物在混合载体表面负载不均匀、启动慢、长期使用填料出现塌陷的问题,本发明提供一株蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii),并将该菌株应用到脱除含有机氯废气中。

[0017] 所述的蒙氏假单胞菌,具体为蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1, 是从含甲基对硫磷、马拉硫磷、对硫磷等有机硫和三氯化磷、三氯乙醛等有机氯的农药废水中驯化、分离得到的分离菌。该菌株已于2017年3月10号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CGMCC No.13748,保藏地址: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,邮编100101。

[0018] 该菌株特点如下:

[0019] 蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1:细胞呈杆状,周生鞭毛,革兰氏染

色阴性，淀粉水解、VP、吲哚反应为阴性，明胶液化、葡萄糖反应为阳性。菌落为白色，圆形，表面光滑，湿润粘稠，扁平突起。在自然环境中，竞争能力强，适应范围广，可以广泛利用碳水化合物、氨基酸、有机酸为碳源， pH适应范围广(pH 3.0-7.0)，在高温(50℃-60℃)件下都可生长，最适生长温度为30-55℃，pH为4.0-6.5。

[0020] 本发明还提供一种微生物活性填料，所述微生物活性填料是由蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液吸附于填料上，并将填料装填在网面空心球中制备而成，可更好的处理净化含有机氯的废气。

[0021] 所述填料为聚氨酯泡沫块、陶粒、火山岩或分子筛中的一种或多种；

[0022] 所述填料密度为20-80kg/m^3，孔隙率为50-97％，粒径为10-100mm；

[0023] 所述的微生物菌悬液与填料的质量比为1-12∶1；

[0024] 所述的微生物活性填料中蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度1.0×10^5 -9.0×10^8CFU/g(填料)；

[0025] 所述的网面空心球材质为聚乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯；

[0026] 所述的网面空心球直径6cm，由两个半球组成，每个半球表面多孔，每个孔的孔径2-8mm；

[0027] 所述的网面空心球中部有一圈加固环，加固环上设有锁扣，便于开启和闭合两个半球。

[0028] 所述填料的具体制备步骤如下：

[0029] (1)蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液的制备

[0030] ①将蒙氏假单胞菌LW-1斜面活化后接入液体发酵培养基，按10-25％接种量进行逐级扩大发酵培养；

[0031] 发酵培养条件为：于35-45℃，通风量10-100L/min，溶解氧>2.0mg/L，罐压 0.03-0.10Mpa条件下，培养时间45-55h；

[0032] 所述液体发酵培养基的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g， $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000mL，pH值6.2-7.0，115℃灭菌20min，灭菌后冷却至室温再加入4.5mg/L 三氯乙醛；

[0033] ②发酵培养结束后，将发酵液置于冷冻离心机中于4℃，2000-8000rpm，离心10-20min，弃去上清液，沉淀用无菌营养液稀释，获得菌体浓度为0.30-0.95g/L 蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液；

[0034] 所述无菌营养液的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g， $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgCl_2$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000mL，pH值6.8-7.2，121℃灭菌20min；

[0035] (2)微生物活性填料的制备：

[0036] ①将方块体或颗粒形状的填料填充到网面空心球中，填料与网面空心球的质量比为0.9-3∶1；

[0037] ②将步骤(1)制备的蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到方块体或颗粒形状的填料的表面；

[0038] ③将负载有填料的网面空心球放入旋转混合器中旋转混合；

[0039] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液；

[0040] 重复步骤①-④2-3次，使空心球表面以及孔中填料上均附载有菌细胞，获得蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度达到1.0×105-9.0×108CFU/g(填料)的微生物活性填料，4℃保存备用。

[0041] 本发明还提供一种利用上述微生物活性填料处理含有机氯废气的方法，具体步骤如下：

[0042] (1)将上述附载有蒙氏假单胞菌LW-1的微生物活性填料置于一容器中，通入含三氯乙醛的气体，以三氯乙醛活化微生物活性填料；活化时间为2-15天；

[0043] 所述的三氯乙醛的浓度为50-200mg/m^3；

[0044] (2)将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中，通入含有机氯废气，用蒙氏假单胞菌LW-1净化废气中的有机氯，微生物活性填料体积为0.1-1000 m^3，有机氯的总浓度为5-100mg/m^3，气体流速为0.05-10000m^3/h，停留时间 1.5-10.0min，净化温度为30-65℃；定期向微生物活性填料表面喷淋营养液维持微生物活性填料的活性，喷淋频率为1-3天喷淋1次，每次喷淋速度为 1.0-200L/min，每次喷淋时间为10-90min；

[0045] 所述的营养液的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g， $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000ml，pH值6.2-7.0。

[0046] 有益效果：

[0047] 1.本发明的蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1具有较高的降解有机氯的效率，可达75％以上；并且优势菌的适应期短，接种1周内可以快速开始降解反应，应用在净化含有机硫的废气生物反应器中，能够缩短启动期。

[0048] 2.利用沉降、附着和离心等多种力学的作用，将降解蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1附载在网面空心球内部的轻质多孔材料上，形成微生物活性填料，菌细胞不仅能够均匀地附着在填料表面，而且能够进入填料内部的孔中，使微生物活性填料的菌细胞附载量高，不易从生物反应器中流失。

[0049] 3.蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1具有分布广、数量多、营养需要简单、繁殖快、竞争定殖力强的特点。该假单胞菌通过分泌抗生素，抑制其他微生物，含有噬铁素，可分泌的铁载体，在铁的竞争中有明显优势。

[0050] 4.蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1是化能有机营养型，具有接触酶，能利用和分解挥发性有机硫/有机氯。

[0051] 5.蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1有抗病毒活性，对TMV(烟草花叶病毒)、PVY(马铃薯Y病毒)等病毒有抑制作用，使用较安全。

[0052] 6.用于微生物活性填料的载体材料的表面粗糙、多孔，适于菌细胞附着；比表面积大，有利于菌细胞与对硫磷、三氯乙醛等挥发性有机硫、有机氯接触；装填轻质填料的网面空心球孔隙多，透气性好，阻力小，传质效率高；微生物活性填料重量轻、强度高、压力损失小；耐高温、耐腐蚀；不易腐烂变形，可以长期使用和适应多种复杂的实际条件。

附图说明：

[0053] 图1蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1系统发育树。

具体实施方式：

[0054] 为了使本专利的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合具体实施例，对本专利进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅用以解释本专利，并不用于限定本发明。

[0055] 菌种鉴定：

[0056] DNA提取：采用全自动磁珠核酸提取仪Smart LabAssist-16及相应环境样品 DNA提取纯化试剂盒(中国台湾圆点奈米技术股份有限公司)分别筛选获得的菌株 DNA进行提取和纯化，选用细菌通用引物F16S-27和R16S-1492进行PCR扩增，引物序列分别为：

[0057] F16S-27(5`-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3`)

[0058] R16S-1492(5`-CGGTTACCTTGTTACGACTTC-3`)

[0059] PCR反应条件设定为：94℃预变性5min；随后94℃变性30s，56℃退火 30s，72℃延伸90s，循环25个周期；然后72℃延伸10min；最后4℃保持 10min。经过对PCR产物纯化、质检后将PCR纯化产物连接到PMD-18T载体上，随后转化到大肠杆菌DH5α感受态细胞中。将转化后的感受态细胞50μL涂布于含有异丙基硫代半乳糖苷、X-gal和氨苄的LB培养基上。37℃恒温培养箱过夜培养，从每个平板挑取25个白色单菌斑进行液体LB培养基培养。培养2 小时后，将培养液进行测序分析。测得的序列首先采用DNAMAN软件进行相似性归并，将相似性大于97％的序列归并为一个操作单元，选取每个操作单元中的代表序列利用BLAST与GenBank数据库中的16SrDNA基因序列进行同源性分析，选取1400bp以上长度进行比对(Clustelx1.83)，采用邻位连接(Neighbour Joining)法进行系统学分析(MEGA3.1)，系统发育树如图1所示。经过DNA序列比对，该菌株为蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)，命名为蒙氏假单胞菌 (Pseudomonas monteilii)LW-1。

[0060] 实施例1：一种脱除含有机氯废气的微生物填料及其制备

[0061] 一种微生物活性填料，是由蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液吸附于聚氨酯泡沫块填料上，并将填料装填在网面空心球中制备而成；

[0062] 填料密度为20kg/m^3，孔隙率为90％，粒径为10mm；微生物菌悬液与填料的质量比为1∶1；微生物活性填料中蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度1.0×10^5 CFU/g(填料)；

[0063] 所述的网面空心球材质为聚乙烯；网面空心球直径6cm，由两个半球组成，每个半球表面多孔，每个孔的孔径2mm；网面空心球中部有一圈加固环，加固环上设有锁扣，便于开启和闭合两个半球。

[0064] 所述填料的具体制备步骤如下：

[0065] (1)蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液的制备

[0066] ①将蒙氏假单胞菌LW-1斜面活化后接入液体发酵培养基，按10％接种量进行逐级扩大发酵培养；

[0067] 发酵培养条件为：于35℃，通风量10L/min，溶解氧>2.0mg/L，罐压 0.03-0.10Mpa条件下，培养时间55h；

[0068] 斜面培养基组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水1000ml，琼脂 20g，pH值6.2-7.0，115℃灭菌20min；

[0069] 所述液体发酵培养基的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，(NH_4)

$_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000mL,pH值6.2-7.0,115℃灭菌20min,灭菌后冷却至室温再加入4.5mg/L 三氯乙醛;

[0070] ②发酵培养结束后,将发酵液置于冷冻离心机中于4℃,2000rpm,离心 10min,弃去上清液,沉淀用无菌营养液稀释,获得菌体浓度为0.30g/L蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液;

[0071] 所述无菌营养液的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgCl_2$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000mL,pH值6.8-7.2,121℃灭菌20min;

[0072] (2)微生物活性填料的制备:

[0073] ①将方块体填料填充到网面空心球中,填料与网面空心球的质量比为 0.9:1;

[0074] ②将步骤(1)制备的蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到方块体形状的填料的表面;

[0075] ③将负载有填料的网面空心球放入旋转混合器中旋转混合;

[0076] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液;

[0077] 重复步骤①-④2次,使空心球表面以及孔中填料上均附载有菌细胞,获得蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度达到1.0×10^5CFU/g(填料)的微生物活性填料,4℃保存备用。

[0078] 实施例2:一种脱除含有机氯废气的微生物填料及其制备

[0079] 一种微生物活性填料,是由蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液吸附于陶粒填料上,并将填料装填在网面空心球中制备而成;填料密度为80kg/m^3,孔隙率为50%,粒径为100mm;微生物菌悬液与填料的质量比为12∶1;微生物活性填料中蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度9.0×10^8CFU/g(填料);

[0080] 所述的网面空心球材质为聚氯乙烯;网面空心球直径6cm,由两个半球组成,每个半球表面多孔,每个孔的孔径8mm;网面空心球中部有一圈加固环,加固环上设有锁扣,便于开启和闭合两个半球。

[0081] 所述填料的具体制备步骤如下:

[0082] (1)蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液的制备

[0083] ①将蒙氏假单胞菌LW-1斜面活化后接入液体发酵培养基,按25%接种量进行逐级扩大发酵培养;

[0084] 发酵培养条件为:于45℃,通风量100L/min,溶解氧>2.0mg/L,罐压0.10Mpa 条件下,培养时间45h;

[0085] 斜面培养基组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g,$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水1000ml,琼脂 20g,pH值6.2-7.0,115℃灭菌20min;

[0086] 所述液体发酵培养基的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000mL,pH值6.2-7.0,115℃灭菌20min,灭菌后冷却至室温再加入4.5mg/L 三氯乙醛;

[0087] ②发酵培养结束后,将发酵液置于冷冻离心机中于4℃,8000rpm,离心 20min,弃去上清液,沉淀用无菌营养液稀释,获得菌体浓度为0.95g/L蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液;

[0088] 所述无菌营养液的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgCl_2$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000mL,pH值6.8-7.2,121℃

灭菌20min；

[0089] (2)微生物活性填料的制备：

[0090] ①将颗粒形状的填料填充到网面空心球中，填料与网面空心球的质量比为 2:1；

[0091] ②将步骤(1)制备的蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到颗粒形状的填料的表面；

[0092] ③将负载有填料的网面空心球放入旋转混合器中旋转混合；

[0093] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液；

[0094] 重复步骤①-④3次，使空心球表面以及孔中填料上均附载有菌细胞，获得蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度达到9.0×10^{8}CFU/g(填料)的微生物活性填料，4℃保存备用。

[0095] 实施例3：一种脱除含有机氯废气的微生物填料及其制备

[0096] 一种微生物活性填料，是由蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液吸附于火山岩填料上，并将填料装填在网面空心球中制备而成；填料密度为50kg/m^3，孔隙率为 75％，粒径为50mm；微生物菌悬液与填料的质量比为8:1；微生物活性填料中蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度3.0×10^{7}CFU/g(填料)；

[0097] 所述的网面空心球材质为聚丙烯；网面空心球直径6cm，由两个半球组成，每个半球表面多孔，每个孔的孔径5mm；网面空心球中部有一圈加固环，加固环上设有锁扣，便于开启和闭合两个半球。

[0098] 所述填料的具体制备步骤如下：

[0099] (1)蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液的制备

[0100] ①将蒙氏假单胞菌LW-1斜面活化后接入液体发酵培养基，按17％接种量进行逐级扩大发酵培养；

[0101] 发酵培养条件为：于40℃，通风量50L/min，溶解氧>2.0mg/L，罐压 0.03-0.10Mpa条件下，培养时间50h；

[0102] 斜面培养基组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水1000ml，琼脂 20g，pH值6.2-7.0，115℃灭菌20min；

[0103] 所述液体发酵培养基的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000mL，pH值6.2-7.0，115℃灭菌20min，灭菌后冷却至室温再加入4.5mg/L 三氯乙醛；

[0104] ②发酵培养结束后，将发酵液置于冷冻离心机中于4℃，5000rpm，离心 10-20min，弃去上清液，沉淀用无菌营养液稀释，获得菌体浓度为0.65g/L蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液；

[0105] 所述无菌营养液的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g， $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgCl_2$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000mL，pH值6.8-7.2，121℃灭菌20min；

[0106] (2)微生物活性填料的制备：

[0107] ①将方块体填料填充到网面空心球中，填料与网面空心球的质量比为3：1；

[0108] ②将步骤(1)制备的蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到方块形状的填料的表面；

[0109] ③将负载有填料的网面空心球放入旋转混合器中旋转混合；

[0110] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋蒙氏假单胞菌LW-1菌悬液；

[0111] 重复步骤①-④3次，使空心球表面以及孔中填料上均附载有菌细胞，获得蒙氏假单胞菌LW-1菌体浓度达到3.0×10^{7}CFU/g(填料)的微生物活性填料，4℃保存备用。

[0112] 实施例4：一种微生物活性填料处理含有机氯废气的方法

[0113] 本发明还提供一种利用实施例1所述微生物活性填料处理含有机氯废气的方法，具体步骤如下：

[0114] (1)将实施例1附载有蒙氏假单胞菌LW-1的微生物活性填料置于一容器中，通入含三氯乙醛的气体，活化微生物活性填料；活化时间为15天；

[0115] 所述通入的含三氯乙醛气体中的三氯乙醛的浓度为50mg/m^3；

[0116] (2)将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中，通入含有机氯废气，用蒙氏假单胞菌LW-1净化废气中的有机氯，微生物活性填料体积为0.1m^3，进气中三氯乙醛的浓度为37.4mg/m^3，气体流速为0.05m^3/h，停留时间1.5min，净化温度为30℃；定期向微生物活性填料表面喷淋营养液维持微生物活性填料的活性，喷淋频率为3天喷淋1次，每次喷淋速度为1.0L/min，每次喷淋时间为 10min；出气口三氯乙醛浓度减少至6.2mg/m^3，三氯乙醛的去除率达到83.4％。

[0117] 所述的营养液的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000ml，pH值6.2-7.0。

[0118] 实施例5：一种微生物活性填料处理含有机氯废气的方法

[0119] 本发明还提供一种利用实施例2所述微生物活性填料处理含有机氯废气的方法，具体步骤如下：

[0120] (1)将实施例2所得附载有蒙氏假单胞菌LW-1的微生物活性填料置于一容器中，通入含三氯乙醛的气体，活化微生物活性填料；活化时间为2天；

[0121] 所述通入的含三氯乙醛气体中的三氯乙醛的浓度为200mg/m^3；

[0122] (2)将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中，通入含有机氯废气，用蒙氏假单胞菌LW-1净化废气中的有机氯，微生物活性填料体积为1000m^3，进气中，三氯乙醛的浓度为97.6mg/m^3，气体流速为10000m^3/h，停留时间 10.0min，净化温度为65℃；定期向微生物活性填料表面喷淋营养液维持微生物活性填料的活性，喷淋频率为1天喷淋1次，每次喷淋速度为200L/min，每次喷淋时间为90min；出气口，三氯乙醛浓度减少至21.3mg/m^3，三氯乙醛的去除率达到78.2％。

[0123] 所述的营养液的组成为：葡萄糖0.5g，K_2HPO_4 0.5g，KH_2PO_4 1.5g，$(NH_4)_2SO_4$ 0.5g，NaCl 0.5g，$MgSO_4$ 0.2g，$CaCl_2$ 0.05g，$FeSO_4$ 0.02g，水 1000ml，pH值6.2-7.0。

[0124] 实施例6：一种微生物活性填料处理含有机氯废气的方法

[0125] 本发明还提供一种利用实施例3所述微生物活性填料处理含有机氯废气的方法，具体步骤如下：

[0126] (1)将实施例3所得附载有蒙氏假单胞菌LW-1的微生物活性填料置于一容器中，通入含三氯乙醛的气体，活化微生物活性填料；活化时间为7天；

[0127] 所述通入的含三氯乙醛气体中的三氯乙醛的浓度为100mg/m^3；

[0128] (2)将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中，通入含有机氯废气，用蒙氏假单胞菌LW-1净化废气中的有机氯，微生物活性填料体积为500m^3，进气中，三氯乙醛的浓度

为13.5mg/m^3,气体流速为5000m^3/h,停留时间5.0min,净化温度为50℃;定期向微生物活性填料表面喷淋营养液维持微生物活性填料的活性,喷淋频率为2天喷淋1次,每次喷淋速度为100L/min,每次喷淋时间为50min.

[0129] 出气口,三氯乙醛浓度减少至2.7mg/m^3,三氯乙醛的去除率达到80%

[0130] 所述的营养液的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000ml,pH值6.2-7.0。

[0131] 实施例7:实验效果

[0132] 将实施例3所得填料用于下述气体的处理:

[0133] 处理含三氯乙醛的废气,气体流量为300m^3/h,停留时间为100s,净化温度为30℃。生物反应器连续运行8月,pH 4-6,三氯乙醛的平均进气浓度为: 30mg/m^3,出气浓度为4.5mg/m^3,去除率达到85%。

[0134] 对比实验结果显示:营养液中不投加铁元素时,反应器运行1个月后,蒙氏假单胞菌LW-1数量从3.0×10^7CFU/g增加到7.0×10^7CFU/g。当向生物反应器投加含有0.02g/L铁元素的营养液后,反应器运行2个月后,蒙氏假单胞菌LW-1 数量由3.0×10^7CFU/g增加到3.0×10^8CFU/g,增加显著,使生物反应器能够长期有效脱除废气中的有机氯。

[0135] 所述的营养液的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g, $(NH4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000ml,pH值6.2-7.0;喷淋频率为2天喷淋1次,每次喷淋速度为200L/min,每次喷淋时间为50min.

[0136] (2)用于处理农药废水处理过程产生的含三氯乙醛废气,三氯乙醛的浓度为10mg/m^3,气体流量为3000m^3/h,停留时间为95s,气体温度30℃,定期补充含有0.02g/L铁元素的营养液(同上),三氯乙醛的去除率90%,排放气体达到国家制定的大气污染物排放标准。

[0137] 设备运行超过3个月,pH 4-6,蒙氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii)LW-1 数量维持7.0×10^6-7.5×10^7CFU/g,达到净化目的的同时,设备能够长期稳定运行。

[0138] 上述气体处理过程中,生物反应器的启动期为一周。而在同等条件下,将填料中的菌种替换为处理农药废水的活性污泥后,启动期为2周-1月。

[0139] 实施例8混合气体处理

[0140] 采用实施例3同样的方法制备微生物活性填料(仅将发酵培养基添加 4.5mg/L对硫磷替换为同时添加4.5mg/L对硫磷和4.5mg/L三氯乙醛)处理含有机硫、氯废气的方法,具体步骤如下:

[0141] (1)将附载有蒙氏假单胞菌LW-1的微生物活性填料置于一容器中,通入含对硫磷、三氯乙醛的气体,活化微生物活性填料;活化时间为7天;

[0142] 所述通入的含对硫磷气体中的对硫磷的浓度为100mg/m^3,三氯乙醛的浓度为100mg/m^3;

[0143] (2)将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中,通入含有机硫、氯废气,用蒙氏假单胞菌LW-1净化废气中的有机硫、氯,微生物活性填料体积为500 m^3,进气中,马拉硫磷37.7mg/m^3,对硫磷16.1mg/m^3三氯乙醛9.8 mg/m^3;气体流速为5000m^3/h,停留时间5.0min,净化温度为50℃;定期向微生物活性填料表面喷淋营养液维持微生物活性填料的活性,喷淋频率为2天喷淋1次,每次喷淋速度为100L/min,每次喷淋时间为50min.出气口,马拉硫磷 3.2mg/m^3,对硫磷1.3mg/m^3,三氯乙醛2.3mg/m^3。马拉硫磷去除率91.5%,对硫磷

去除率92%三氯乙醛去除率76.5%。。

[0144] 所述的营养液的组成为:葡萄糖0.5g,K_2HPO_4 0.5g,KH_2PO_4 1.5g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5g,NaCl 0.5g,$MgSO_4$ 0.2g,$CaCl_2$ 0.05g,$FeSO_4$ 0.02g,水 1000ml,pH值6.2-7.0。

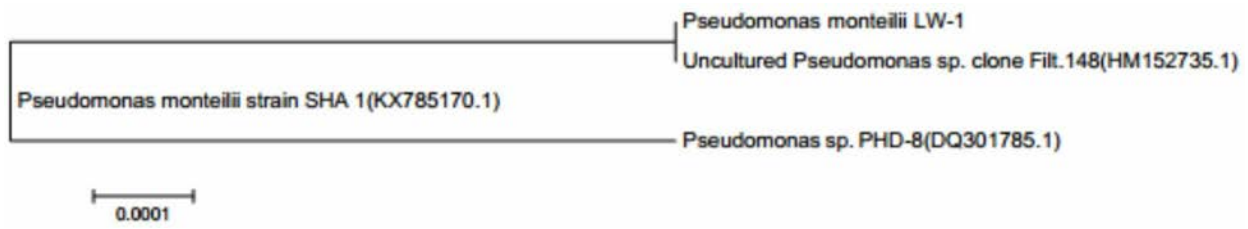

Pseudomonas monteilii LW-1
Uncultured Pseudomonas sp. clone Filt.148(HM152735.1)
Pseudomonas monteilii strain SHA 1(KX785170.1)
Pseudomonas sp. PHD-8(DQ301785.1)
0.0001

图1