



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108611302 B

(45)授权公告日 2019.05.28

(21)申请号 201810455513.X

(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 108611302 A

(43)申请公布日 2018.10.02

(83)生物保藏信息  
CGMCC No.13747 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.  
*C12N 1/20*(2006.01)  
*B01D 53/85*(2006.01)  
*B01D 53/70*(2006.01)  
*C12R 1/01*(2006.01)

(56)对比文件  
CN 103275899 A,2013.09.04,摘要,说明书  
第16-20,24-31,35段.  
CN 107930378 A,2018.04.20,全文.  
CN 1793328 A,2006.06.28,说明书第2页第  
1、3、5、6段.

审查员 刘东川

权利要求书2页 说明书9页 附图1页

### (54)发明名称

一种包含涅氏短状杆菌的生物活性填料的应用

### (57)摘要

本发明属于环境治理领域,具体涉及一种含有涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用。所述涅氏短状杆菌具体为涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*)NY-1,保藏编号为CGMCC No.13747。所述含有涅氏短状杆菌NY-1的微生物活性填料可以处理净化含有机氯的废气,具有较高的降解有机氯的效率,可达90-96%;并且优势菌的适应期短,1周内可以快速开始降解反应,应用在净化含有机氯的废气生物反应器中,能够缩短启动期。

1. 一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,所述微生物活性填料是由涅氏短状杆菌NY-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;

所述涅氏短状杆菌具体为涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-1,保藏编号为CGMCC No.13747;

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。

2. 如权利要求1所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,所述的微生物菌悬液与填料的质量比为2-90:10。

3. 如权利要求1所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,所述空心球与填料的质量比为100:100-450。

4. 如权利要求1所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,所述的微生物活性填料中涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度为 $2.5 \times 10^7$ CFU/g(填料)- $1.0 \times 10^{10}$ CFU/g(填料)。

5. 如权利要求1所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,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。

6. 如权利要求1所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,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。

7. 如权利要求1所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,所述涅氏短状杆菌NY-1菌悬液的制备方法如下:

①将涅氏短状杆菌NY-1经斜面培养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36℃,通风量10-100L/min,溶解氧 $>2.0$ mg/L,罐压0.03-0.10Mpa条件下,培养时间48h;

所述液体发酵培养基的组成为:葡萄糖0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g,水1000ml, pH值6.8-7.2, 121℃灭菌20min,灭菌后冷却至室温再加入2.0mg/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0.5-1.5g/L涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

所述无菌营养液的组成为:葡萄糖0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g,水1000ml, pH值6.8-7.2, 121℃灭菌20min。

8. 如权利要求1-7任意一项所述一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,处理废气的步骤如下:

(1) 将上述附载有涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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,以三氯乙醛为碳源和氮源,活化微生物活性填料;活化时间为2-15天;

所述的三氯乙醛的浓度为10-250mg/m<sup>3</sup>;

(2) 将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中,通入含三氯乙醛的气体,用涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-1净化废气中的三氯乙醛,微生物活性填料

体积为 $0.01-100\text{m}^3$ ,三氯乙醛的总浓度为 $10-250\text{mg}/\text{m}^3$ ,气体流速为 $0.05-10000\text{m}^3/\text{h}$ ,停留时间 $0.5-5\text{min}$ ,净化温度为 $20-35^\circ\text{C}$ ;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 $1.0-200\text{L}/\text{min}$ ,每次喷淋时间为 $10-90\text{min}$ 。

9.如权利要求8所述的一种包含涅氏短状杆菌的微生物活性填料的应用,其特征在于,所述的营养液的组成为:葡萄糖 $0.5\text{g}$ ,酵母粉 $0.2\text{g}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $2.0\text{g}$ , $\text{NaHCO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{KNO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$   $0.5\text{g}$ , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $0.5\text{g}$ , $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.01\text{g}$ ,水 $1000\text{ml}$ ,pH  $6.5-7.0$ 。

## 一种包含涅氏短状杆菌的生物活性填料的应用

### 技术领域:

[0001] 本发明属于环境治理领域,具体涉及一株涅氏短状杆菌 (*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-1 的生物活性填料的应用。

### 背景技术:

[0002] 有机氯农药是用于防治植物病虫害的组成成分中含有有机氯元素的有机化合物,是公认的很重要的一类持久性有机污染物。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。易挥发的农药及中间体包括:敌百虫、敌敌畏、三氯化磷、滴滴涕、三氯乙醛脲、三氯乙酸钠、六六六、艾氏剂、氯丹、异狄氏剂、七氯、毒杀芬、六氯苯、灭蚁灵、三氯乙醛等,这些物质大多数具有刺鼻的气味,有些物质如三氯乙醛,属于致癌性、致突变性和致畸性的三致性物质。

[0003] 三氯乙醛无色易挥发油状液体,有刺激性气味,沸点 $97.8^{\circ}\text{C}$ ,熔点 $-57.5^{\circ}\text{C}$ ,相对密度1.5121,折射率1.4580,溶于水、乙醇、乙醚和氯仿,与水化合生成三氯乙醛水合物,以乙醇为原料在 $80\sim 90^{\circ}\text{C}$ 下与氯反应生成三氯乙醛与醇合三氯乙醛的混合物,再与浓硫酸反应,经蒸馏而制得,用作有机合成原料。如用于制造滴滴涕、敌百虫、敌敌畏等杀虫剂及三氯乙醛脲除草剂,不仅对生态环境造成严重影响,而且对人体健康具有极大危害。长期处于易挥发的有机氯农药环境中,会引起头痛、头晕、眼红充血、流泪怕光、咳嗽、咽痛、乏力、出汗、流涎、恶心、食欲不振、失眠以及头面部感觉异常等,中度中毒者除有以上述症状外,还有呕吐、腹痛、四肢酸痛、抽搐、紫绀、呼吸困难、心动过速等;重度中毒者除上述症状明显加重外,尚有高热、多汗、肌肉收缩、癫痫样发作,甚至死亡。

[0004] 目前,含有机氯挥发性有机物质的废气的处理技术包括吸收处理技术、催化燃烧处理技术、液体吸收处理技术、生物处理技术、光催化氧化处理技术、低温等离子处理技术、膜基吸收技术等。与其它物理化学处理方法相比,生物处理方法具有处理效果好、投资及运行费用低、安全性好、无二次污染、易于管理等优点。其原理是利用微生物的生物氧化作用将有机氯转化为 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 、氯酸盐、氢离子和其他(式1)。

[0005] 有机氯  $\xrightarrow{\text{微生物}}$   $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{氯酸盐} + \text{其他} + \text{H}^+$  (1)

[0006] 在废气处理生物反应器中,通常装填一定厚度的填料作为微生物的载体,使微生物形成的生物膜能够附着在填料颗粒上,而且还能向微生物提供必须的营养。生物填料的材质、比表面积的大小、布气性能、强度和密度等因素直接影响废气的处理效率和生物反应器的运行可靠性。填料的种类有很多,可分为有机填料和无机填料。有机填料包括聚氨酯、聚乙烯、堆肥材料等;无机填料包括活性炭、陶粒、火山岩、珍珠岩等。每种填料各具特点。颗粒活性炭、陶粒、火山岩、聚氨酯等材料,表面粗糙、孔隙率高、比表面积大,表面具有亲和性,易于微生物附着和生长,形成生物膜,且性质稳定,不会分解。因此,应用较多。但是聚氨酯材料质地软,机械性能差,长期使用易发生填料层塌陷现象;陶粒、火山岩等材料含有大量的矿物质,受水、废气、以及微生物的侵蚀,表面形成松散堆积物,堵塞气路,增大填料层的压力损失,使反应器处理效果下降,能耗增加。

[0007] 净化含有机氯废气的生物反应器的接种物多为有机氯农药污染土壤或是污水处理厂的活性污泥,微生物适应期长,生物反应器启动慢。接种驯化富集后的功能菌,可以缩短生物反应器的启动时间。但是,在实验室驯化富集的微生物,竞争能力弱,在实际应用中,通常被竞争能力强的微生物取代。

#### 发明内容:

[0008] 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,本发明提供一株涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*)NY-1,并将该菌株应用到脱除含有机氯废气中。

[0009] 本发明所涉及的涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*)NY-1,为从含三氯乙醛、敌百虫、敌敌畏、三氯化磷等物质的农药废水驯化、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.13747,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。

[0010] 该菌株特点如下:

[0011] 革兰氏阳性菌,形态为短杆状,大小为(0.5~0.75) $\mu\text{m}$ ×(1.0~2.5) $\mu\text{m}$ ,不产内生孢子,无运动性;NY-1菌株可以利用L-乳酸、乙酸、丙酮酸、 $\alpha$ -酮基-戊二酸、D-半乳糖、龙胆二糖、 $\alpha$ -D-葡萄糖和D-木糖等多种糖类物质作为该菌株的碳源,也可以利用L-丙氨酸、L-谷氨酸、L-天冬酰胺和丁二胺作为它的氮源;NY-1菌株可以产过氧化氢酶、酯化酶、乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶等多种酶。

[0012] 生长温度为20~37 $^{\circ}\text{C}$ ,最适生长温度为30 $^{\circ}\text{C}$ 。生长pH为6~11,最适宜生长的pH为7。可利用鼠李糖、D-蔗糖、D-蜜二糖等产酸,在pH为11的强碱性环境下仍能生存。

[0013] 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涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*)NY-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。

[0014] 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;

[0015] 所述填料密度为20~900 $\text{kg}/\text{m}^3$ ,孔隙率为55~90%,粒径为4~85mm;

[0016] 所述的微生物菌悬液与填料的质量比为2~90:10;

[0017] 所述的微生物活性填料中涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度为 $2.5 \times 10^7$ CFU/g~ $1.0 \times 10^{10}$ CFU/g(填料);

[0018] 所述的网面空心球材质为聚乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯;

[0019] 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;

[0020] 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。

[0021] 所述填料的具体制备步骤如下:

[0022] (1)涅氏短状杆菌NY-1菌悬液的制备

[0023] ①将涅氏短状杆菌NY-1经斜面培养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;

[0024] 发酵培养条件为：于36℃，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48h；

[0025] 所述液体发酵培养基的组成为：葡萄糖0.5g，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g，NaHCO<sub>3</sub> 2.0g，KNO<sub>3</sub> 2.0g，NH<sub>4</sub>Cl 0.5g，MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.5g，FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01g，水1000ml，pH值6.8-7.2，121℃灭菌20min，灭菌后冷却至室温再加入2.0mg/L三氯乙醛；

[0026] 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0.5-1.5g/L涅氏短状杆菌NY-1菌悬液；

[0027] 所述无菌营养液的组成为：葡萄糖0.5g，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g，NaHCO<sub>3</sub> 2.0g，KNO<sub>3</sub>2.0g，NH<sub>4</sub>Cl 0.5g，MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.5g，FeCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01g，水1000ml，pH值6.8-7.2，121℃灭菌20min；

[0028] (2) 微生物活性填料的制备：

[0029] ①将方块体或颗粒形状的填料填充到网面空心球中，网面空心球同填料质量比为100:100-450；

[0030] ②将步骤(1)制备的涅氏短状杆菌NY-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；

[0031] 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；

[0032] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋涅氏短状杆菌NY-1菌悬液；

[0033] 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，获得涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度达到 $2.5 \times 10^7$ CFU/g- $1.0 \times 10^{10}$ CFU/g(填料)的微生物活性填料，4℃保存备用。

[0034] 本发明还提供一种利用上述微生物活性填料处理含三氯乙醛气体的方法，具体步骤如下：

[0035] (1) 将上述附载有涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*)NY-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，以三氯乙醛为碳源和氮源，活化微生物活性填料；活化时间为2-15天；

[0036] 所述的三氯乙醛的浓度为10-250mg/m<sup>3</sup>；

[0037] (2) 将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中，通入含三氯乙醛的气体，用涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*)NY-1净化废气中的三氯乙醛，微生物活性填料体积为0.01-100m<sup>3</sup>，三氯乙醛的总浓度为10-250mg/m<sup>3</sup>，气体流速为0.05-10000m<sup>3</sup>/h，停留时间0.5-5min，净化温度为20-35℃；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；

[0038] 所述的营养液的组成为：葡萄糖0.5g，酵母粉0.2g，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0g，NaHCO<sub>3</sub> 2.0g，KNO<sub>3</sub> 2.0g，NH<sub>4</sub>Cl 0.5g，MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.5g，FeCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01g，水1000ml，pH 6.5-7.0；

[0039] 跟踪检测三氯乙醛的降解能力，本发明采用气相色谱法跟踪检测三氯乙醛；所述的气相色谱法为：采用安捷伦GC-6890N气相色谱仪分析测定三氯乙醛浓度，色谱柱为HP-5毛细管柱(30m×0.32mm×0.25μm)，汽化室、FPD检测器、柱温分别设置为250℃、250℃、100℃，进样量100μL，N<sub>2</sub>流速为45mL/min。结果显示，采用上述填料对含有三氯乙醛的废弃进行

净化处理,三氯乙醛的降解率达到90%以上。

[0040] 有益效果:

[0041] 1. 本发明的涅氏短状杆菌NY-1具有较高的降解有机氯的效率,可达90-96%;并且优势菌的适应期短,1周内可以快速开始降解反应,应用在净化含有机氯的废气生物反应器中,能够缩短启动期。

[0042] 2. 利用沉降、附着和离心等多种力学的作用,将降解涅氏短状杆菌NY-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。

[0043] 3. 涅氏短状杆菌NY-1竞争能力很强,可以利用含氯有机物作为碳源和氮源,通过抢夺L-乳酸、乙酸、丙酮酸、 $\alpha$ -酮基-戊二酸、D-半乳糖、龙胆二糖、 $\alpha$ -D-葡萄糖和D-木糖等多种糖类物质,产生过氧化氢酶、酯化酶、乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶等多种酶。

[0044] 4. 涅氏短状杆菌NY-1具有很强的耐碱性,能够在碱性环境中持续有效地净化挥发性含氯有机废气。

[0045] 5. 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,有利于菌细胞与三氯乙醛等挥发性有机氯接触;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:

[0046] 图1涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-1 (NCBI基因库序列号KY 979105) 系统发育树。

#### 具体实施方式:

[0047] 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。

[0048] 菌种鉴定

[0049] 采用全自动磁珠核酸提取仪Smart LabAssist-16和MO-BIO PowerSoil DNA提取试剂盒(台湾圆点奈米技术股份有限公司)提取及纯化所获得菌株涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-1的DNA。取5 $\mu$ L DNA样品在120V, 20-25min条件下进行电泳检测,在凝胶电泳仪下进行观察质检。

[0050] 选用细菌通用引物F16S-27(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和R16S-1492(5'-CGGTTACCTGTTACGACTTC-3')进行PCR扩增。PCR反应条件为:94 $^{\circ}$ C预变性3min, 94 $^{\circ}$ C变性30s, 54 $^{\circ}$ C退火30s, 72 $^{\circ}$ C延伸90s, 循环30个周期;然后72 $^{\circ}$ C延伸10min;最后4 $^{\circ}$ C保持。

[0051] 依次经过PCR产物纯化和质检、PCR纯化产物的连接、大肠杆菌感受态的热激转化,并进行质粒提取、测序。

[0052] 使用DNAMAN将测得的相似性大于97%的序列归并为一个OTU(操作单元),选取每个OTU中代表序列利用NCBI的GenBank数据库和BLAST进行序列(1400bp以上长度)间对比,

利用系统学分析 (MEGA3.1) 软件邻位连接 (Neighbour Joining) 法构建系统发育树 (如图1所示)。

[0053] 实施例1一种脱除含有机氯废气的微生物活性填料及其制备

[0054] 一种微生物活性填料,所述微生物活性填料是由涅氏短状杆菌 (*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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。

[0055] 所述填料为火山岩;填料密度为 $900\text{kg}/\text{m}^3$ ,孔隙率为55%,粒径为4mm;微生物菌悬液与填料的质量比为2:10;微生物活性填料中涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度为 $2.5 \times 10^7\text{CFU}/\text{g}$  (填料);

[0056] 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。

[0057] 所述填料的具体制备步骤如下:

[0058] (1) 涅氏短状杆菌NY-1菌悬液的制备

[0059] ①将涅氏短状杆菌NY-1经斜面培养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;

[0060] 发酵培养条件为:于 $36^\circ\text{C}$ ,通风量 $10\text{--}100\text{L}/\text{min}$ ,溶解氧 $>2.0\text{mg}/\text{L}$ ,罐压 $0.03\text{--}0.10\text{Mpa}$ 条件下,培养时间48h;

[0061] 所述液体发酵培养基的组成为:葡萄糖 $0.5\text{g}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $2.0\text{g}$ , $\text{NaHCO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{KNO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$   $0.5\text{g}$ , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $0.5\text{g}$ , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.01\text{g}$ ,水 $1000\text{ml}$ ,pH值 $6.8\text{--}7.2$ , $121^\circ\text{C}$ 灭菌 $20\text{min}$ ,灭菌后冷却至室温再加入 $2.0\text{mg}/\text{L}$ 三氯乙醛;

[0062] ②发酵培养结束后,将发酵液置于冷冻离心机中于 $4^\circ\text{C}$ , $2000\text{rpm}$ ,离心 $10\text{min}$ ,弃去上清液,沉淀用无菌营养液稀释,获得菌体浓度为 $0.5\text{g}/\text{L}$ 涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

[0063] 所述无菌营养液的组成为:葡萄糖 $0.5\text{g}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $2.0\text{g}$ , $\text{NaHCO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{KNO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$   $0.5\text{g}$ , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $0.5\text{g}$ , $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.01\text{g}$ ,水 $1000\text{ml}$ ,pH值 $6.8\text{--}7.2$ , $121^\circ\text{C}$ 灭菌 $20\text{min}$ ;

[0064] (2) 微生物活性填料的制备:

[0065] ①将方块状的填料填充到网面空心球中,网面空心球同填料质量比为 $100:450$ ;

[0066] ②将步骤(1)制备的涅氏短状杆菌NY-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到填料的表面;

[0067] 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;

[0068] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

[0069] 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,获得涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度达到 $2.5 \times 10^7\text{CFU}/\text{g}$  (填料)的微生物活性填料, $4^\circ\text{C}$ 保存备用。

[0070] 实施例2一种脱除含有机氯废气的微生物填料及其制备

[0071] 一种微生物活性填料,所述微生物活性填料是由涅氏短状杆菌 (*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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。

[0072] 所述填料为聚氨酯泡沫块;填料密度为 $20\text{kg}/\text{m}^3$ ,孔隙率为90%,粒径为85mm;微生



物菌悬液与填料的质量比为90:10;微生物活性填料中涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度为 $1.0 \times 10^{10}$ CFU/g(填料);

[0073] 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。

[0074] 所述填料的具体制备步骤如下:

[0075] (1) 涅氏短状杆菌NY-1菌悬液的制备

[0076] ①将涅氏短状杆菌NY-1经斜面培养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;

[0077] 发酵培养条件为:于36℃,通风量10-100L/min,溶解氧 $>2.0$ mg/L,罐压0.03-0.10Mpa条件下,培养时间48h;

[0078] 所述液体发酵培养基的组成为:葡萄糖0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g, 水1000ml, pH值6.8-7.2, 121℃灭菌20min, 灭菌后冷却至室温再加入2.0mg/L三氯乙醛;

[0079] 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1.5g/L涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

[0080] 所述无菌营养液的组成为:葡萄糖0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g, 水1000ml, pH值6.8-7.2, 121℃灭菌20min;

[0081] (2) 微生物活性填料的制备:

[0082] ①将颗粒状的填料填充到网面空心球中,网面空心球同填料质量比为100:100;

[0083] ②将步骤(1)制备的涅氏短状杆菌NY-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到填料的表面;

[0084] 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;

[0085] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

[0086] 重复步骤①-④2次,使空心球表面以及孔中填料上均负载有菌细胞,获得涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度达到 $1.0 \times 10^{10}$ CFU/g(填料)的微生物活性填料,4℃保存备用。

[0087] 实施例3一种脱除含有机氯废气的微生物填料及其制备

[0088] 一种微生物活性填料,所述微生物活性填料是由涅氏短状杆菌(*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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。

[0089] 所述填料为分子筛;填料密度为 $500\text{kg}/\text{m}^3$ ,孔隙率为75%,粒径为50mm;微生物菌悬液与填料的质量比为50:10;微生物活性填料中涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度为 $6.0 \times 10^8$ CFU/g(填料);

[0090] 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。

[0091] 所述填料的具体制备步骤如下:

[0092] (1) 涅氏短状杆菌NY-1菌悬液的制备

[0093] ①将涅氏短状杆菌NY-1经斜面培养后接入液体发酵培养基,按15%接种量进行逐级扩大发酵培养;

[0094] 发酵培养条件为:于36℃,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48h;

[0095] 所述液体发酵培养基的组成为:葡萄糖0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g, 水1000ml, pH值6.8-7.2, 121℃灭菌20min, 灭菌后冷却至室温再加入2.0mg/L三氯乙醛;

[0096] 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15min, 弃去上清液, 沉淀用无菌营养液稀释, 获得菌体浓度为1.0g/L涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

[0097] 所述无菌营养液的组成为:葡萄糖0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g, 水1000ml, pH值6.8-7.2, 121℃灭菌20min;

[0098] (2) 微生物活性填料的制备:

[0099] ①将方块状的填料填充到网面空心球中, 网面空心球同填料质量比为100:250;

[0100] ②将步骤(1)制备的涅氏短状杆菌NY-1菌悬液通过网面空心球的孔喷淋到填料的表面;

[0101] 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;

[0102] ④再次向装有填料的网面空心球表面喷淋涅氏短状杆菌NY-1菌悬液;

[0103] 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, 获得涅氏短状杆菌NY-1菌体浓度达到 $6.0 \times 10^8 \text{CFU/g}$  (填料) 的微生物活性填料, 4℃保存备用。

[0104] 实施例4一种微生物活性填料处理含有机氯废气的方法

[0105] 本发明还提供一种利用实施例1所得微生物活性填料处理含三氯乙醛气体的方法, 具体步骤如下:

[0106] (1) 将实施例1所得附载有涅氏短状杆菌 (*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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, 以三氯乙醛为碳源和氮源, 活化微生物活性填料; 活化时间为15天;

[0107] 所述的三氯乙醛的浓度为 $20 \text{mg/m}^3$ ;

[0108] (2) 将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中, 通入含三氯乙醛的气体, 用涅氏短状杆菌NY-1净化废气中的三氯乙醛, 微生物活性填料体积为 $1 \text{m}^3$ , 进气口中三氯乙醛的浓度为 $20 \text{mg/m}^3$ , 气体流速为 $100 \text{m}^3/\text{h}$ , 停留时间0.5min, 净化温度为20℃, pH 10-11; 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 $1.0 \text{L}/\text{min}$ , 每次喷淋时间为10min; 出气口三氯乙醛浓度为 $1.0 \text{mg}/\text{m}^3$ , 去除率达到95%;

[0109] 所述的营养液的组成为:葡萄糖0.5g, 酵母粉0.2g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0g,  $\text{NaHCO}_3$  2.0g,  $\text{KNO}_3$  2.0g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g, 水1000ml, pH 6.5-7.0。

[0110] 实施例5一种微生物活性填料处理含有机氯废气的方法

[0111] 本发明还提供一种利用实施例2所得微生物活性填料处理含三氯乙醛气体的方法, 具体步骤如下:

[0112] (1) 将实施例2所得附载有涅氏短状杆菌 (*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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,以三氯乙醛为碳源和氮源,活化微生物活性填料;活化时间为2天;

[0113] 所述的三氯乙醛的浓度为 $250\text{mg}/\text{m}^3$ ;

[0114] (2) 将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中,通入含三氯乙醛的气体,用涅氏短状杆菌NY-1净化废气中的三氯乙醛,微生物活性填料体积为 $100\text{m}^3$ ,进气口中三氯乙醛的浓度为 $180\text{mg}/\text{m}^3$ ,气体流速为 $10000\text{m}^3/\text{h}$ ,停留时间 $5\text{min}$ ,净化温度为 $35^\circ\text{C}$ ,pH 10-11;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 $200\text{L}/\text{min}$ ,每次喷淋时间为 $90\text{min}$ ;出气口三氯乙醛浓度为 $7.8\text{mg}/\text{m}^3$ ,去除率达到95.7%;

[0115] 所述的营养液的组成为:葡萄糖 $0.5\text{g}$ ,酵母粉 $0.2\text{g}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $2.0\text{g}$ , $\text{NaHCO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{KNO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$   $0.5\text{g}$ , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $0.5\text{g}$ , $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.01\text{g}$ ,水 $1000\text{ml}$ ,pH 6.5-7.0。

[0116] 实施例6一种微生物活性填料处理含有机氯废气的方法

[0117] 本发明还提供一种利用实施例3所得微生物活性填料处理含三氯乙醛气体的方法,具体步骤如下:

[0118] (1) 将实施例3所得附载有涅氏短状杆菌 (*Brachybacterium nesterenkovii*) NY-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,以三氯乙醛为碳源和氮源,活化微生物活性填料;活化时间为5天;

[0119] 所述的三氯乙醛的浓度为 $250\text{mg}/\text{m}^3$ ;

[0120] (2) 将活化后的微生物活性填料置于生物反应器中,通入含三氯乙醛的气体,用涅氏短状杆菌NY-1净化废气中的三氯乙醛,微生物活性填料体积为 $50\text{m}^3$ ,进气口中三氯乙醛的浓度为 $218\text{mg}/\text{m}^3$ ,气体流速为 $5000\text{m}^3/\text{h}$ ,停留时间 $3\text{min}$ ,净化温度为 $30^\circ\text{C}$ ,pH 10-11;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 $100\text{L}/\text{min}$ ,每次喷淋时间为 $50\text{min}$ ;出气口三氯乙醛浓度为 $10.3\text{mg}/\text{m}^3$ ,去除率达到95.3%;

[0121] 所述的营养液的组成为:葡萄糖 $0.5\text{g}$ ,酵母粉 $0.2\text{g}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $2.0\text{g}$ , $\text{NaHCO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{KNO}_3$   $2.0\text{g}$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$   $0.5\text{g}$ , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $0.5\text{g}$ , $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.01\text{g}$ ,水 $1000\text{ml}$ ,pH 6.5-7.0。

[0122] 实施例7:实验对比效果

[0123] 将实施例3所得填料用于下述气体的处理:

[0124] (1) 处理含三氯乙醛的废气,气体流量为 $0.2\text{m}^3/\text{h}$ ,停留时间为 $8\text{s}$ ,净化温度为 $25^\circ\text{C}$ 。生物反应器连续运行1月,pH 10-11,三氯乙醛的平均进气浓度为: $527\text{mg}/\text{m}^3$ ,出气浓度为 $35\text{mg}/\text{m}^3$ ,去除率达到91%。菌体浓度 $6.0 \times 10^8\text{CFU}/\text{g}$ (填料)。

[0125] 对比实验结果显示:pH为5-6时,生物反应器连续运行1月,涅氏短状杆菌NY-1数量从 $6 \times 10^8\text{CFU}/\text{g}$ 增加到 $9.2 \times 10^8\text{CFU}/\text{g}$ 。当将生物反应器中pH调节为10-11,反应器运行1个月后,涅氏短状杆菌NY-1数量由 $6 \times 10^8\text{CFU}/\text{g}$ 增加到 $3.9 \times 10^9\text{CFU}/\text{g}$ ,增加显著。3个月后,涅氏短状杆菌NY-1数量维持 $7.1 \times 10^8$ - $5.2 \times 10^9\text{CFU}/\text{g}$ 。可见,涅氏短状杆菌NY-1可以长期保持数量及活性,使生物反应器能够长期有效脱除废气中的三氯乙醛。

[0126] (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 $50\text{mg}/\text{m}^3$ ,气体流量为 $5000\text{m}^3/\text{h}$ ,停留时间为 $85\text{s}$ ,气体温度 $25^\circ\text{C}$ ,三氯乙醛的去除率大于90%。

[0127] 设备运行超过2个月,pH 7-8.5,涅氏短状杆菌NY-1数量维持 $8.04 \times 10^9$ - $1.4 \times$

$10^{10}$ CFU/g,达到净化三氯乙醛的同时,设备能够长期稳定运行。

[0128] 上述气体处理过程中,生物反应器的启动期为3-7天。而在同等条件下,将填料中的菌种替换为农药废水处理的活性污泥后,启动期为2周-1月。

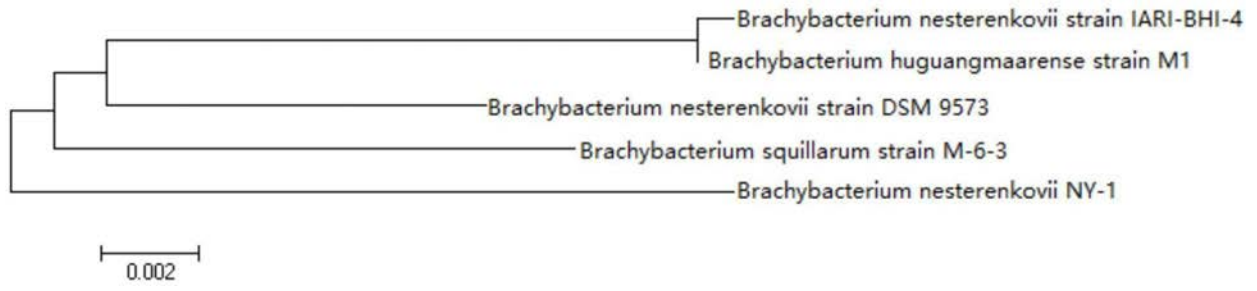


图1