

加速垃圾脱水组合菌的筛选及接种堆酵初步研究

商 平, 李芳然

(天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457)

摘 要: 针对垃圾含水量较高对焚烧技术的制约问题, 研究采用微生物接种加速垃圾脱水的方法. 分别从腐熟矿化垃圾、白菜软腐组织、风干牛粪中分离筛选出4个实验菌株 M1、CX1、GX1、RX1, 实验菌株两两共存, 两两接种发酵最佳组合比例分别为: M1 : GX1 为 1 : 1, M1 : CX 为 2 : 1, M1 : RX1 为 1 : 1. 将4株菌 M1、GX1、RX1、CX1 按照 2 : 2 : 2 : 1 的比例接入具有明显的优势性, 脱水效果高于单菌及两菌组合接种发酵实验组. 采用正交实验对组合菌比例进行优化, 得到 M1、GX1、RX1、CX1 比例为 2.5 : 2.5 : 2.5 : 1 时垃圾减重比率最高. 以最佳比例按照 0.4% 的接种量进行接种, 可实现 61.63% 的较高垃圾脱水率, 能够保证实际扩大应用的可行性.

关键词: 堆酵; 菌种筛选; 加速脱水; 组合菌

中图分类号: X172

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2013)03-0015-05

Selection of Combined Strains for Accelerating the Dehydration Rate of Garbage and Preliminary Study of Inoculated Fermentation

SHANG Ping, LI Fangran

(Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine Science and Engineering,
Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: According to the problem about solid waste incineration caused by the high water content, a method of accelerating garbage dehydration by vaccinating microorganism was provided in this experimental research. A set of multiple strains: M1, CX1, GX1, RX1 were selected from the mineralized rubbish, rotten Chinese cabbage, and air dried cow muck respectively, and physiological and biochemical experiment were done to test these strains. The results showed that every isolated strain can coexist with another. The combination of the four strains through vaccination with the ratio of 2 : 2 : 2 : 1 has obvious advantage over any single strain or the combination of any two of them. Orthogonal experiments were conduct to obtain the optimized proportion of bacteria combination, which was 2.5 : 2.5 : 2.5 : 1 of M1, GX1, RX1 and CX1. With the best proportion and 0.4% of inoculation, a higher garbage dehydration rate of 61.63% could be realized, which can ensure the feasibility of a large scale application of the method.

Key words: fermentation; strain selection; accelerate dehydration; combined strains

垃圾焚烧技术可以有效实现垃圾无害化、稳定化、资源化处置技术, 凭借其特有优势性近年来备受关注^[1]. 而由于我国城市生活垃圾含水量普遍较高(40%~60%)^[2], 焚烧厂广泛采用的传统垃圾堆酵技术能够在一定程度上实现新鲜垃圾水分脱除, 但焚烧过程仍需要混合添加大量助燃剂提高垃圾整体低位热值, 导致该工艺处理成本相对较高^[3].

传统堆酵技术脱水主要通过以下过程实现^[4]: 堆酵初期(1~2 d)通过重力挤压作用脱除大部分外部水分, 后经微生物对有机成分降解作用沥出部分结合水及其他液态物质. 从该技术原理出发, 选择在第二阶段即微生物降解阶段接种外源微生物方法, 从加速垃圾生物降解速率的角度提升其脱水效果具有一定的理论依据.

收稿日期: 2012-12-21; 修回日期: 2013-03-13

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目(2012BAC05B04); 天津市滨海新区塘沽科技发展资金资助项目(2011STHB06-01)

作者简介: 商 平(1953—), 男, 天津人, 教授, shangp@tust.edu.cn.

微生物接种技术是垃圾生物处理技术中常用方法,具有特定效用或适应特定环境的人工筛选合成微生物菌剂的加入能够缩短垃圾堆酵反应进程^[5]。相关研究表明,采用接种微生物的方法可显著增加垃圾堆体微生物数量,提高纤维素酶活性^[6-7]。而就微生物接种技术加快堆酵脱水反应速率方面国内外研究甚少。本文从不同菌源筛选出不同种类及功能的菌种(高温纤维素分解霉菌与细菌、除臭菌、软腐菌),进行一定组合后接种于垃圾堆体中,探讨垃圾脱水量变化情况。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 堆酵原料

原料取自天津科技大学食堂及水果店,分类后粉碎至 5 mm 粒径,按照生活垃圾组成成分配制为模拟垃圾,组成成分为果蔬 60%、厨余 15%、渣土 10%、纸张 10%、麦麸 5%。添加锯末调节碳氮比至 25^[8],含水量为 70%左右。

1.1.2 菌源

矿化腐熟垃圾,取自大连某垃圾填埋场;风干牛粪堆肥;大白菜软腐组织。

1.1.3 培养基

察氏培养基(g/L):蔗糖 30,硝酸钾 3,氯化钾 0.5,磷酸氢二钾 1,硫酸亚铁 0.01,硫酸镁 0.5。

LB 培养基(g/L):蛋白胨 10,酵母浸出汁 5,氯化钠 10。

牛肉膏蛋白胨培养基(g/L):蛋白胨 10,牛肉膏 5。

刚果红(CMC)培养基(g/L):磷酸氢二钾 1,羧甲基纤维素钠 10,硝酸钠 2.5,硫酸镁 0.3,氯化钙 0.1,氯化钠 0.1,氯化亚铁 0.01。

以上培养基中以 20 g/L 的量加入琼脂粉即制备成为固体培养基。

灭菌麦麸:霉菌扩培,含水量 60%。

1.2 方法

1.2.1 菌体筛选

(1) 高温纤维素分解菌(霉菌、细菌)筛选

初筛:取 10 g 矿化腐熟垃圾样品加入至 90 mL 生理盐水中,振荡 20 min 后静置,制备 10⁻⁶ 稀释液;取稀释液分别涂布接种于察氏培养基和牛肉膏蛋白胨培养基中,55 ℃ 恒温培养 24 h。

复筛:分别取两种培养基长势良好的菌落 1 环接种于 5 mL 的 LB 液体培养基中,35 ℃、130 r/min 恒温摇床振荡培养 1 d 即成种子液。无菌条件下分别吸取 1 mL 种子液于 100 mL 的 LB 液体培养基中,35 ℃、130 r/min 恒温摇床振荡培养 1 d 即成扩培液。分别吸取 1 mL 扩培液于刚果红培养基上进行平板涂布培养,55 ℃ 恒温培养 24 h,形成透明圈的菌株接种于斜面培养基,恒温 35 ℃ 培养 24 h,4~6 ℃ 保存。具有纤维素分解功能的霉菌与细菌各 1 株分别标记为 M1、GX1。

(2) 除臭菌的筛选

初筛:取 10 g 风干牛粪堆肥样品同于牛肉膏蛋白胨固体培养基进行涂布分离并划线分离纯化 3 次,得到 4 组纯化平板,从中分别挑选 1 个优势单菌落接种于斜面培养基,恒温 28 ℃ 培养 24 h,4~6 ℃ 保存。

复筛:将分离得到的 4 种菌株分别接种于装有 100 mL 垃圾渗滤液(取自泰达环保)的 250 mL 三角瓶中,用保鲜膜封口,30 ℃ 恒温培养,间隔 24 h 用感官法初步判断除臭效果并进行记录,选择除臭效果最好的 1 株菌标记为 CX1。

(3) 软腐菌的筛选

取大白菜软腐组织于 70% 酒精中浸泡 2~3 s^[9],用去离子水冲洗,将浸泡组织转移至 0.5 mL 生理盐水中捣碎,静置 15 min,制备菌悬液。稀释菌悬液于 LA 培养基上进行平板划线分离,恒温 28 ℃ 培养 24 h 后挑取 2 个长势良好、菌落形态明显的单菌落进一步转接纯化,获得 4 组纯化平板,从其中挑选 1 株优势单菌落将其标记为 RX1。

1.2.2 堆酵实验

(1) 堆酵设备

堆酵反应在自行设计的底部锥形的柱状 PET 材质容器中进行,设备简图如图 1 所示。设备分为堆酵反应区、压重、出水收集三部分,反应区下部为倒锥形以保证出水效果,柱形区高度为 20 cm,直径为 6 cm,锥形区高度为 5 cm,由于堆酵材料量较少且需排除蒸发失水的测定误差,为模拟堆酵过程条件,反应区进行密封,底部出水面设置孔径为 1 mm 的纱网。压重的作用为模拟堆酵过程中重力挤压脱水作用,弥补堆酵材料质量较小的不足,压重质量为 300 g。

(2) 堆酵方法

实验过程中,因反应器未设计保温系统,由于堆

酵物料质量较小(400 g), 在模拟真实堆酵进程中高温内部环境有一定困难, 反应器置于 30 ℃ 恒温培养箱中以确保所分离微生物均能较好地生长。将筛选出的各菌株进行种子液培养后制备扩培液, 霉菌则在含水率为 60% 的麦麸培养基进行扩培, 以 10% 接种量接种至收集的模拟高含水量垃圾中。由前期初步堆酵可行性实验得知, 烧杯中析出液体为均质、密度相同或相近, 以析出液体质量与初始堆酵材料质量比值即减重比率作为表征脱水效果的指标。

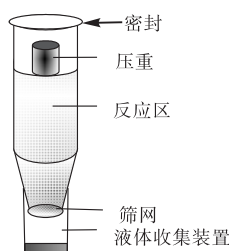


图 1 设备示意图

Fig. 1 The equipment diagram

1.2.3 脱臭实验

将待试菌株按照一定比例接种于模拟垃圾(约 300 g), 模拟垃圾置于以保鲜膜密封的大烧杯中, 充分搅拌、混匀, 以加入等量的自来水实验组为空白对照组, 将各实验组恒温 30 ℃ 堆酵处理, 采用六阶段臭气强度法^[10]每隔 24 h 评价各堆酵组产生的臭气强度。

2 结果与分析

2.1 堆酵结果分析

2.1.1 筛选菌株共存性分析

向反应器中分别以 10% 接种量接种 CX1、GX1、RX1、M1 单菌种及任意两种菌株 1:1 组合菌(CX1 + GX1、CX1 + RX1、CX1 + M1、GX1 + RX1、GX1 + M1、M1 + RX1), 以加入等量自来水实验组为空白对照组进行 98 h 堆酵反应, 以脱水量所占堆酵原料的比例, 即减重比率为指标绘制曲线, 结果如图 2 所示。

由图 2 可以看出: 各实验组累积出水量变化趋势大致相同, 0~40 h 各组脱水量增长速率较大, 可能是因为在此阶段垃圾自由水含量较高, 较易通过重力挤压及微生物分解作用实现较好脱水效果; 各组间总脱水量差别明显, 霉菌第 98 h 累积脱水率(总减重比率)达到 48.84%, 脱水效果最佳, 菌株 GX1 的累积脱

水率为 45.69%, 仅次于菌株 M1, 菌株 CX1 第 98 h 后累积脱水率为 38.36%, 与菌株 GX1 相比脱水率较低, 而接种菌株 RX1 单菌实验组该指标值仅为 33.98%; 菌株 M1、GX1 各复合菌减重比率均低于单菌发酵减重比率, 并且减重比率值大小同单菌脱水效率有关; 菌株 CX1、RX1 与其他菌种复合后脱水效率显著提高; 空白对照组 98 h 后减重比率仅为 30.92%, 远低于以上各组单菌及复合菌这一比率值, 可确定各菌株两两间可以共存。

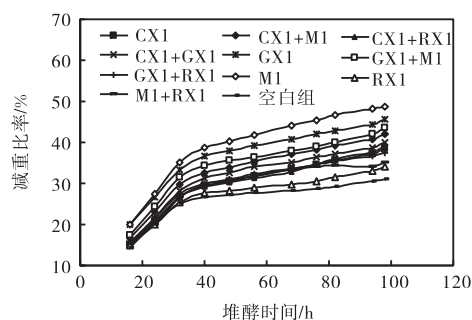


图 2 接种不同菌株对脱水效果的影响

Fig. 2 Effect of inoculating different microorganisms on dehydration

2.1.2 菌种复合比例

(1) 比例初步确定

以菌株 M1 为两两组合菌的固定菌种, 按照表 1 设定各菌种的组合比例, 根据各测定阶段累积出水量计算出各组垃圾减重比率作为分析指标, 得到不同配比各组复合菌剂的堆酵脱水情况, 如图 3—图 5 所示。

表 1 菌株 M1 与各实验菌种复合比例

Tab. 1 Mixing proportions of M1 with other strains

复合菌	比例条件		
M1 + GX1	2 : 1	1 : 1	1 : 2
M1 + CX1	2 : 1	1 : 1	1 : 2
M1 + RX1	2 : 1	1 : 1	1 : 2

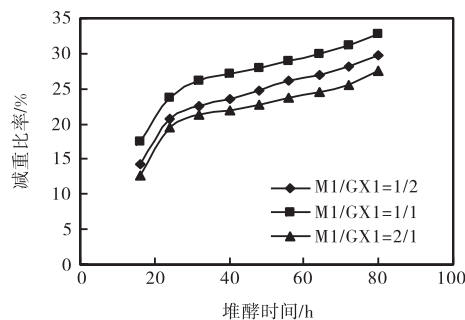


图 3 菌株 M1、GX1 接种比例对脱水效果的影响

Fig. 3 Dehydration curve of different M1/GX1 ratio

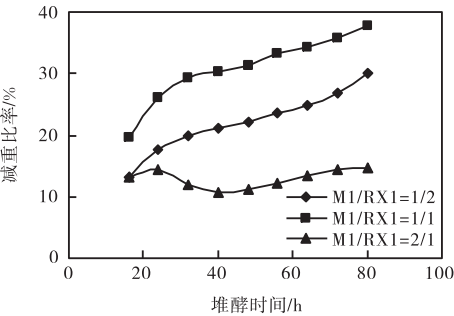


图4 菌株 M1、RX1 接种比例对脱水效果的影响
Fig. 4 Dehydration curve of different M1/RX1 ratio

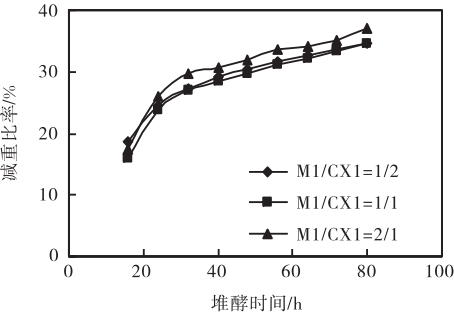


图5 菌株 M1、CX1 接种比例对脱水效果的影响
Fig. 5 Dehydration curve of different M1/CX1 ratio

由图 3—图 5 可以看出: 菌株 M1 与 GX1 最佳复合比例为 1 : 1, 以该比例接种, 培养 80 h 时累积减重比率可达 32.76%; 菌株 M1 与 CX1 最佳复合比例为 2 : 1, 以该比例接种, 培养 80 h 时累积减重比率可达 37.17%; 菌株 M1 与 RX1 最佳复合比例为 1 : 1, 以该比例接种, 培养 80 h 时累积减重比率可达 37.67%。综上分析可初步确定菌株 M1、GX1、RX1、CX1 组合比例为 2 : 2 : 2 : 1。

(2) 多菌组合接种优势性分析

以初步确定的最佳接种比例 2 : 2 : 2 : 1 同时接种菌株 M1、GX1、RX1、CX1, 与以上确定的双菌优势组合及单菌优势菌进行接种脱水效果对比, 以确定 4 菌株组合接种的脱水优势性。各堆酵组脱水效果见图 6。

由图 6 可知: 菌株 M1、GX1、RX1、CX1 复合实验组前 24 h 优势性并不明显, 可能是因为各菌在发酵系统中首次组合需要一定的适应稳定期, 24 h 后组合优势性逐渐明显, 脱水速率迅速升高, 72 h 时累积减重比率最高, 可达到 52.42%; 菌株 M1、RX1 复合实验组仅次之, 累积减重比率为 50.07%。由此可知, 菌株 M1、GX1、RX1、CX1 复合菌在加速模拟垃圾堆酵脱水方面具有优势性。

各菌在堆酵过程中协同作用, 共同加速堆酵进程。生活垃圾中水分含量较高的组分为果蔬等有机

垃圾, 这些有机组分纤维素分解能够使得细胞壁组织快速降解、加速堆体的腐化及结合水释放。通过接种纤维素分解菌, 可显著提高高纤维物质的降解率^[11]、加快堆肥升温^[12]。从腐熟矿化垃圾中筛选出的高温纤维素分解功能的霉菌与细菌既具有特定分解功能, 同时还长期适应垃圾堆酵环境, 能够缩短接种后适应调整期; 从风干牛粪堆肥中筛选得到的除臭菌的复合加入在加速堆酵脱水方面是明显增进的; 软腐菌作为一种致病性细菌, 能够起到使果蔬快速腐烂的作用, 该部分接种实验软腐菌的加入虽效果不太明显, 但对于复合菌种整体而言, 其具有正面的促进作用。

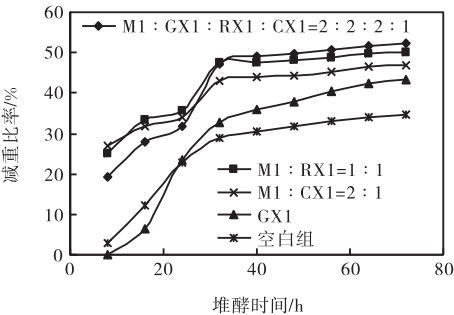


图6 多菌组合接种与优势组脱水效果对比
Fig. 6 Contract of dehydration results between the inoculated combined strains and the dominant groups

(3) 复合比例的优化

4 菌株复合接种, 在初步确定的菌株 M1、GX1、RX1、CX1 组合比例为 2 : 2 : 2 : 1 上下取值进行 4 因素 3 水平正交实验, 实验结果见表 2。

表 2 正交实验结果

Tab. 2 Results of the orthogonal experiments

实验号	M1	GX1	RX1	CX1	减量比率/%
1	1.5	1.5	1.5	0.5	40.68
2	1.5	2.0	2.0	1.0	45.16
3	1.5	2.5	2.5	1.5	41.78
4	2.0	1.5	2.0	1.5	43.66
5	2.0	2.0	2.5	0.5	49.99
6	2.0	2.5	1.5	1.0	48.86
7	2.5	1.5	2.5	1.0	52.40
8	2.5	2.0	1.5	1.5	45.39
9	2.5	2.5	2.0	0.5	54.54
k_1	42.54	45.58	44.97	48.40	
k_2	47.50	46.85	47.79	48.81	
k_3	50.78	48.39	48.06	43.61	
R	8.24	2.81	3.09	5.21	

由正交实验结果可分析得出, 菌株最佳复合配比为菌株 M1 : GX1 : RX1 : CX1 = 2.5 : 2.5 : 2.5 : 1。按照此比例进行证实性接种堆酵实验, 72 h 时脱水比率可达 60%。

2.1.3 复合菌接种量对脱水效果的影响

增大接种量能够使得引入菌群更快适应堆酵环境从而缩短调整期, 加快堆酵反应进程. 接种量的多少直接关系到垃圾生物处理实际应用的投入成本, 该部分实验目的是在实现垃圾堆酵脱水量较大的同时尽可能较大程度上减少复合菌剂接种量. 以 4% 为最大选择接种量, 结果如图 7 所示.

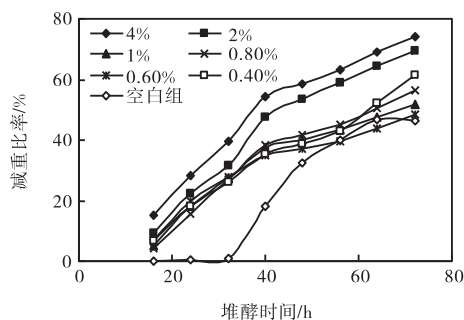


图 7 不同接种量对脱水效果的影响

Fig. 7 Dehydration results of different inoculation amount

由图 7 可知, 接种量为 4% 时堆酵系统脱水效果最好, 72 h 时累积减重比率为 74.25%, 接种量为 2% 时次之, 累积减重比率为 69.31%, 接种量为 0.4% 时, 前 56 h 接种优势性不明显, 小于接种量为 1%、0.8% 实验组, 而随着堆酵反应进行, 56 h 开始该实验组脱水量以较大速率增加, 72 h 时其累积减重比率可达 61.36%, 高于接种量 1%、0.8% 实验组. 可能是由于当接种量足够大(4%、2%)时, 引入微生物的优势性比较显著, 大量的外来微生物能够显著抑制土著微生物生长代谢作用, 成为堆酵反应系统的主导菌种, 而当接种量减小(1%、0.8%、0.6%)时, 外来引入微生物在堆酵前期仍存在优势性, 但由于其数量限制不足以抑制土著微生物的生长繁殖, 在堆酵后期, 土著微生物适应调整期后数量增加, 引入菌种与土著微生物之间相互抑制, 从而导致堆酵后期脱水速率较低, 而当接种量为 0.4% 时, 接种微生物能够在堆酵前期发挥主导微生物作用, 堆酵后期与土著微生物相互抑制作用减弱, 从而使得土著微生物在堆酵后期能够发挥降解优势, 这一推测可通过空白组脱水率变化印证.

以 0.4% 接种量, 按照最佳接种条件进行验证实验, 各组 72 h 时累积减重比率分别为 62.35%、61.94%、65.78%.

2.2 组合菌除臭效果分析

分别按照 0.4% 的接种量向模拟垃圾中以 M1 : GX1 : RX1 : CX1 = 2.5 : 2.5 : 2.5 : 1 的比例接种组合菌及菌株 CX1, 与空白对照组堆酵产生的臭气强

度对比, 结果见表 3.

表 3 接种堆酵除臭效果分析

Tab. 3 Deodorizing result of the inoculated experimental strains

时间/h	CX1	组合菌	空白对照
0	1 级	1 级	1 级
24	2.5 ~ 3.5 级	2 级	4 级
48	2 级	2 级	4 级
72	2 级	2 级	4 级

注: 1 级表示可感知域值; 2 级表示可认知域值; 2.5 ~ 3.5 级表示可轻松认知值; 4 级表示较强气味.

由表 3 可以得出, 组合菌与除臭菌 CX1 的接种均能够较为显著降低堆酵垃圾的臭度, 发挥较好的脱臭效果. 小试实验并不能模拟真实产生大量 H_2S 、 NH_3 的实际堆酵过程, 组合菌的脱臭效果需在中试实验中进行观察或量化探讨.

3 结 论

从矿化垃圾中筛选出了具有纤维素分解功能的高温霉菌与高温细菌各 1 株, 从风干腐熟牛粪中筛选出 1 株具有除臭效果的细菌, 从大白菜软腐组织中筛选出 1 株软腐菌. 各菌种两两共存, 且都具有较高的有机物降解能力, 接种量为 10% 时, 接种霉菌与高温菌脱水量可分别提高堆酵脱水量至空白组的 25 倍、20 倍.

多菌种复合接种堆酵具有可行性, 堆酵脱水结果较单菌接种及两两接种有明显提升, 确定了 M1 : GX1 : RX1 : CX1 的最佳组合比例为 2.5 : 2.5 : 2.5 : 1.

以 0.4% 接种量进行接种, 既能够达到较高的堆酵脱水率(61.36%), 又能保证今后菌种扩大应用成本不致过高, 且具有一定的脱臭效果, 为复合菌种的实用性提供了理论基础.

本文以模拟垃圾为堆酵原料, 初步确定了筛选所得微生物菌种的最佳接种条件, 为在真实生活垃圾的接种堆酵脱水应用提供了可行性依据.

参考文献:

- [1] 吕晓蕾. 垃圾焚烧发电厂建设争论的解决途径研究[J]. 环境科学与技术, 2012, 33(S2): 664-665.
- [2] 李晓东, 陆盛勇, 徐旭, 等. 中国部分城市生活垃圾热值的分析[J]. 中国环境科学, 2001, 21(2): 156-160.

(下转第 33 页)