

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第3期

Vol.33 No.3

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办



採 施 静 尊 (HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第3期 2012年3月15日

目 次

典型排放源黑碳的稳定碳同位素组成研究	673)
典型排放源黑碳的稳定碳同位素组成研究 ····································	679)
兰州市夏秋季颗粒物谱分布特征研究 赵素平 余晔 陈晋北 刘娜 何建军(687)
不同交通状况下道路边大气颗粒物粉浓度粒径分布蛙征	694	<i>)</i>
不同交通状况下道路边大气颗粒物数浓度粒径分布特征 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	701)
用水中发子八、【作放初型】主风事门升灯 ————————————————————————————————————	701)
西北干旱区降水中 8 ¹⁶ 0 变化特征及其水汽输送 ············· 李小飞,张明军,李亚举,王圣杰,黄小燕,马潜,马雪宁(1)	720)
海南东部河口和近岸海域总溶解态无机砷的分布及季节变化········· 曹秀红,任景玲,张桂玲,张金娥,杜金洲,朱德弟(大辽河口痕量元素砷的河口混合行为····································	720)
大过河口粮重兀系岬的河口混合行为····································	727)
渤海湾表层沉积物各形态重金属的分布特征与生态风险评价 徐亚岩,宋金明,李学刚,袁华茂,李宁(
青岛近岸表层海水中 PAHs 的分布特征及物源初步解析 ······ 李先国,邓伟,周晓,唐旭利,魏新运,王岩(江	741)
广西乐业大石围天坑群多环芳烃的干湿沉降 孔祥胜,祁士华,黄保健,张原,李杰(746)
上海宝山区城市土壤铅污染来源的同位素判别 董辰寅,张卫国,王冠,马鸿磊,刘圆,刘莹,叶雷平,俞立中(
溶质迁移模型在地下水有机污染源识别中的应用 王树芳,王丽亚,王晓红,林沛,刘久荣,辛宝东,贺国平(760)
地下水污染风险评价中特征污染物量化方法探讨	771)
用于地下水回灌的再生水预处理工艺研究高淯湍,张薛,赵璇,赵刚(777)
菲律宾蛤仔养殖对胶州湾沉积物-水界面生源要素迁移的影响 邓可,刘素美,张桂玲,陆小兰,张经()	782)
上海都市农业村域地表水非点源氮素的时空分异特征 王楠,毛亮,黄海波,张进忠,周培(2	802)
不同粒径地表街尘中重金属在径流冲刷中的迁移转化 何小艳,赵洪涛,李叙勇,连宾,王小梅(810)
新型人工湿地对工业区降雨径流的净化研究	817)
改性膨润十位) 裁留 游 态 有 机 物的性能 及 机 制 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	825)
和周丰店蓝香港株计每V与产生的影响因麦研室	832)
是两大营 D1 的从还是他们是一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个一个	020)
才記打困 D1 胞介值性初灰内外形体表保的俗保付住明九	030)
版化对任何小件假裹课相里胜课生飞影响的研究 ····································	0.40)
用京印几乡河流域京观怜同全间分开对河流水质的影响	849)
La/Ce 掺涂铁基_氧化铅电极的制备及电催化性能研究	85/)
La/Ce 掺杂钛基二氧化铅电极的制备及电催化性能研究 郑辉,戴启洲,王家德,陈建孟(DTT 对三苯基二氧化铅电极的制备及电催化性能研究 潘涛,刘大伟,任随周,郭俊,孙国萍(N 对地位的对象 ************************************	866)
pH 及络合剂对亚铁活化 $S_2O_8^{2-}$ 氧化去除活性艳蓝的影响研究 …	871)
昊氧降解高浓度腐殖酸动力学····································	879)
采用体积信息熵表征颗粒污泥系统稳定性及其稳定机制 李志华,姬晓琴,李胜,谢磊,赵海龙,王晓昌(885)
活性污泥的理化性质与絮凝调理投药量的关系 李婷,王毅力,冯晶,徐萌({	889)
采用体积信息熵表征颗粒污泥系统稳定性及其稳定机制·······李志华,姬晓琴,李胜,谢磊,赵海龙,王晓昌(名) 活性污泥的理化性质与絮凝调理投药量的关系········李婷,王毅力,冯晶,徐萌(名) 不同颗粒龄的好氧颗粒污泥性能的研究····································	896)
颗粒粒径与数量对硝化与反硝化过程的影响 李志华,曾金锋,李胜,姬晓琴,王晓昌(9	903)
氧化沟不同曝气模式对氮磷去除性能的优化与比较 郭昌梓, 彭党聪, 陈雪梅, 王丹(9	910)
生物沥浸的酸化效应对城市污泥脱水性能的影响 朱海凤,周立祥,王电站(9	916)
2种不同生物接触氧化工艺性能差异的微生态研究 钱殷,全向春,裴元生,马景赟,陶银(9	922)
网生物供价外上橡胶生物的效应平及共血及效应压的影响。	734	,
干旱沙区人工固沙植被演变过程中土壤有机碳氮储量及其分布特征 贾晓红,李新荣,周玉燕,李元寿(9	938)
密云水库上游流域土壤有机碳和全氮密度影响因素研究 王淑芳,王效科,欧阳志云(9	946)
外加营养源作用下微生物黏结剂对土壤团聚体的影响 莫艳华,汤佳,张仁铎,李方舟(9	952)
低分子量腐殖酸改性蒙脱土对黄曲霉素的吸附作用		
液固比对土壤洗涤去除多环芳烃效果的影响	965)
基于 PPI 的土地利用优化研究	071)
若尔盖高原湿地藻类多样性研究	070)
3种杀真菌剂对 AM 真菌侵染和黄芩生长的影响	7/7)
崇明东滩夏季沉积物厌氧氨氧化菌群落结构与空间分布特征 ········· 郑艳玲,侯立军,陆敏,谢冰,刘敏,李勇,赵慧(9	20/)
厌氧条件下 2,2',4,4'-四溴联苯醚的微生物降解 卢晓霞,陈超琪,张姝,欧阳,尹力,吴蔚(1		
重金属对白腐菌降解十溴联苯醚的影响 熊士昌, 尹华, 彭辉, 何宝燕, 龙焰, 叶锦韶, 张娜, 彭素芬(1		
有机农药滴滴涕和毒死蜱生物降解机制的分子模拟研究 林玉珍,曾光明,张娱,陈明,蒋敏,张嘉超,鲁伦慧,刘利锋(1		
高效木薯渣分解复合菌群 RXS 的构建及其发酵特性研究 何江,毛忠贵,张庆华,张建华,唐蕾,张宏建(1	.020)
四环素类抗生素污染畜禽粪便的厌氧消化特征	.028)
上推流厌氧反应器连续干发酵猪粪产沼气试验研究············· 陈闯,邓良伟,信欣,郑丹,刘刈,孔垂雪(1《环境科学》征稿简则(878) 《环境科学》征订启事(1007) 信息(759,770,870,1027)	.033)
《 外境科学》 征楊简则 (878) 《 环境科学》 征订启事 (1007) 信息 (759,770,870,1027)		

高效木薯渣分解复合菌群 RXS 的构建及其发酵特性研究

何江1,2,毛忠贵1,2*,张庆华1,2,张建华1,2,唐蕾1,2,张宏建1,2

(1. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122; 2. 江南大学生物工程学院, 无锡 214122)

摘要:从富含腐烂纤维质的环境中取样,通过以木薯渣及滤纸为碳源的蛋白胨纤维素培养基不断地富集培养,构建了一组高效稳定的纤维质分解复合菌群.考察了该复合菌群对不同纤维质底物的分解性能及其在木薯渣水解过程中主要参数的变化.研究发现该复合菌群对滤纸、脱脂棉、微晶纤维素、麦秸秆和木薯渣等原料均能够进行有效的降解.在该复合菌群应用于木薯渣的水解过程中,监测发现纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶等关键酶的酶活力分别在第2~3 d达到最大值34.4、90.5 和15.8 U;经过10 d的发酵后,木薯渣中的纤维素、半纤维素及木质素分别降解了79.8%、85.9%和19.4%,且木薯渣的失重高达61.5%;此外,代谢产物主要是乙酸、丁酸、己酸和甘油;而溶解性COD、总糖和总挥发酸的变化表明第2d时木薯渣的水解率最高.上述结果表明,该复合菌群能够有效地水解木薯燃料酒精生产过程中的废弃物木薯渣,并有望用于木薯渣高效沼气发酵的前处理中.

关键词:木薯渣; 复合菌群; 水解酶活力; 失重; 代谢产物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)03-1020-08

Construction of a Microbial Consortium RXS with High Degradation Ability for Cassava Residues and Studies on Its Fermentative Characteristics

HE Jiang^{1,2}, MAO Zhong-gui^{1,2}, ZHANG Qing-hua^{1,2}, ZHANG Jian-hua^{1,2}, TANG Lei^{1,2}, ZHANG Hong-jian^{1,2} (1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: A microbial consortium with high effective and stable cellulosic degradation ability was constructed by successive enrichment and incubation in a peptone cellulose medium using cassava residues and filter paper as carbon sources, where the inoculums were sampled from the environment filled with rotten lignocellulosic materials. The degradation ability to different cellulosic materials and change of main parameters during the degradation process of cassava residues by this consortium was investigated in this study. It was found that, this consortium can efficiently degrade filter paper, absorbent cotton, avicael, wheat-straw and cassava residues. During the degradation process of cassava residues, the key hydrolytic enzymes including cellulase, hemicellulase and pectinase showed a maximum enzyme activity of 34.4, 90.5 and 15.8 U on the second or third day, respectively. After 10 days' fermentation, the degradation ratio of cellulose, hemicellulose and lignin of cassava residues was 79.8%, 85.9% and 19.4% respectively, meanwhile the loss ratio of cassava residues reached 61.5%. Otherwise, it was found that the dominant metabolites are acetic acid, butyric acid, caproic acid and glycerol, and the highest hydrolysis ratio is obtained on the second day by monitoring SCOD, total volatile fatty acids and total sugars. The above results revealed that this consortium can effectively hydrolyze cassava residues (the waste produced during the cassava based bioethanol production) and has great potential to be utilized for the pretreatment of cassava residues for biogas fermentation

Key words: cassava residues; microbial consortium; hydrolase activity; weight loss; metabolite

在木薯燃料乙醇的生产过程中,每生产1 t 95%的燃料乙醇会产生 12~15 t 高 COD、高悬浮物、低 pH 的酒精蒸馏废液. 这些废液中的主要固型物就是木薯渣,主要由木质纤维素、果胶等物质组成,因营养成分少而不能像玉米燃料乙醇那样制作成 DDGS 饲料,直接排放则造成资源浪费和环境污染. 本实验室正在研究"木薯燃料酒精沼气双发酵生态耦联技术",以期实现木薯燃料乙醇生产的"零污染、零能耗"目标[1],在前期的研究工作中已初步

实现了木薯燃料乙醇生产过程中废水的零排放,目前正在集中攻克"零能耗"技术,即实现耦联工艺中沼气发酵的高效高产目标^[2,3].由于木薯渣主要由纤维质组成,其主要成分是纤维素、半纤维素及木质素,这些成分通过共价键相连形成了一个复杂的刚

收稿日期: 2011-04-21; 修订日期: 2011-06-20

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2008AA10Z338) 作者简介: 何江(1986~),男,硕士研究生,主要研究方向为发酵与

生态工程学,E-mail:success-hj@163.com * 通讯联系人:E-mail: feelingmao@yahoo.cn

性结构,限制了微生物及酶的接触攻击,从而降低了 直接厌氧消化时的效率,导致沼气产量及产率的降 低[4]. 为此,合适的预处理对木薯渣的高效沼气发 酵有着至关重要的作用. 生物预处理作为一种具有 投资少、能耗低、产生的有害抑制物少等优势的预处 理方式受到了越来越多的青睐. 在生物预处理研究 中,由于复合菌预处理符合自然界中微生物降解木 质纤维素资源的规律,受到了广泛的关注. 为获得木 质纤维素高效降解的微生物菌群,许多学者采用效 仿自然界中不同的微生物(好氧、兼性、厌氧)分泌 纤维素酶、半纤维素酶等酶系进行快速分解木质纤 维素的现象,采用底物限制性培养技术富集培养,取 得了很好的研究成果. 如 Haruta 等[5] 从稻草堆肥中 获得了一组结构稳定而高效的木质纤维素降解复合 菌系,该菌4d能够降解稻草60%.牛俊玲等[6]也从 堆肥中获得了一组高效降解纤维素林丹的复合菌系 NSC-7, 该复合菌群在 14 d 内可降解稻秆干重的 73.6%, 其中降解纤维素 82.1%, 半纤维素 58.2%, 木质素 5.4%. Wongwilaiwalin 等[7] 以甘蔗渣为底

物,获得了一组高温微好氧木质纤维素分解复合菌群,该复合菌群主要由8种微生物组成,包括厌氧菌、兼性菌和不可培养菌,并且在发酵液中检测到纤维素分解内切酶、木聚糖酶和β-葡萄糖苷酶.

目前,国内外针对燃料酒精的木薯渣构建高效复合菌系的研究尚鲜见报道,本研究通过从不同富含腐烂纤维物质的环境中取样,以木薯渣和滤纸为底物直接定向富集,然后按照不同组配方式构建了一组木薯渣降解复合菌群.在以木薯渣为底物的发酵过程中,考察了生物量、关键水解酶活、木薯渣成分以及水解液中代谢产物浓度等的变化情况,以期为提高木薯酒精废液的厌氧发酵性能和甲烷产率奠定一定的研究基础.

1 材料与方法

1.1 材料

(1)试验底物 木薯渣由江苏泰兴金江化学有限公司提供,晒干后基本性质如表 1. 滤纸为定性滤纸.

表 1 木薯渣中相关成分的质量分数/%

Table 1 Contents of the components of cassava residues/	%	o
---	---	---

组分	水分	可溶性物质	纤维素	半纤维素	木质素	灰分
质量分数	7 ~ 9	8 ~ 10	26 ~ 34	19 ~ 23	13 ~ 15	13 ~ 15

- (2) 富集培养基(g·L⁻¹) 胰蛋白胨 5.0、酵母粉 1.0、CaCO₃ 2.0、NaCl 5.0、滤纸 5.0、木薯渣 8.0,初始 pH 8.0.
- (3)发酵培养基(g·L⁻¹) 胰蛋白胨 5.0、酵母粉 1.0、CaCO₃2.0、NaCl 5.0、木薯渣 20.0,初始 pH 8.0.

1.2 试验方法

1.2.1 复合菌群富集筛选

分别从稻田淤泥、高温堆肥、牛粪堆、腐木下层土壤、高温厌氧污泥(实验室"木薯酒精沼气双发酵生态耦联工艺"中厌氧发酵的种泥,来源于木薯酒精厂)等富含腐烂纤维质的环境中采样.将采集的土样分别称取 15 g 于装有 90 mL 富集培养基的三角瓶中,铝箔纸封口后 55℃条件下静置培养.当三角瓶内的滤纸完全降解时(无片状滤纸存在),取 10 mL 的培养液接种到新鲜的富集培养基中,同时淘汰没有明显降解能力的样品(滤纸没有明显的崩解).如此传代培养几个周期,结合滤纸分解状况、关键酶活力等指标,从中挑选出 4 组效果良好的培养物.最后按照不同的组配方式接种筛选并且连续传代培

养,待菌群稳定后得到一组高效木薯酒糟纤维质酶 解复合菌群.

1.2.2 复合菌群对纤维质底物的水解能力分析

分别以 0.5 g 滤纸、脱脂棉、微晶纤维素、麦秸秆和木薯渣为碳源,然后添加 90 mL 培养基于 150 mL 三角瓶中,接种量为 5%,铝箔纸封口后于 55℃静置培养.分析不同时间段各底物的失重状况.

1.2.3 复合菌群降解木薯渣试验

在150 mL的三角瓶中添加90 mL发酵培养基, 120℃高压灭菌20 min,将培养2 d生长旺盛的菌种以5%的接种量接种,铝箔纸封口后55℃静置培养. 试验共28个三角瓶,其中3个试验组、1个对照组(不接种),整个发酵时间为10 d.分别在第0(灭菌后、接种前)、1、2、3、5、7、10 d取4瓶进行分析.

1.3 测试分析方法

pH 值采用 PHSJ-4A 型数字 pH 计测定;生物量采用 721 型可见光分光光度计在 600 nm 处测定发酵液的吸光度来表示;底物残重是用砂芯漏斗将发酵液过滤,利用盐酸和硝酸混合液洗涤,再过滤烘干至恒重后测定^[8];成分分析参考范式洗涤法^[9];

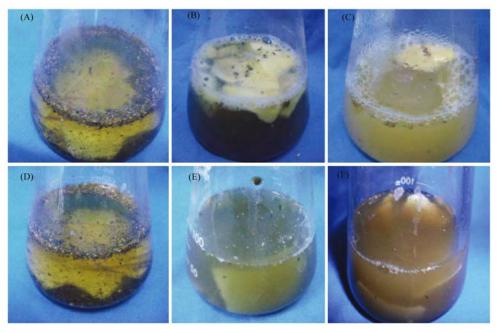
纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶活力是将发酵液8 000 r·min $^{-1}$ 离心 10 min 后的粗酶液利用 DNS 法测定 $^{[10,11]}$,酶活定义:1 mL 粗酶液 1 min 酶解底物产生 1 μ g 还原糖定义为一个酶活力单位 U; SCOD是将样品经 0. 45 μ m 的微孔滤膜过滤后,利用重铬酸钾法测定 $^{[12]}$; 总糖采用苯酚硫酸法 $^{[13]}$; 总 VFA采用比色法测定 $^{[14]}$; 代谢产物利用美国 Dionex UltiMate 3000 HPLC 分析,其示差折光检测器日本Shodex RI-101,分析柱 Bio-Rad HPX-87 H离子交换柱,色谱条件为柱温 60° C,流动相 0. 005 mol·L $^{-1}$ 稀硫酸,流速 0. 6 mL·min $^{-1}$,进样量 20 μ L.

2 结果与讨论

2.1 复合菌群构建结果

采集了25种不同环境的土样,分别经过5代的底物限制性富集培养,发现B(腐木下层土)、R(高温堆肥)、X(牛粪堆)和S(腐烂稻草)样品能够在72h将滤纸完全分解,其中纤维素酶(CMC酶)活力和半纤维酶(木聚糖酶)活力分别为20.5 U和62.0 U左右;而来源于木薯酒精厂的厌氧污泥对底物也有一定程度的崩解,但效果并不明显,同时纤维素酶活力和半纤维素酶活力分别为9.5 U和25.5 U左右.这表明处理木薯蒸馏废液的传统种泥确实缺乏高效分解木薯渣的微生物菌群,有必要进行高效微生物(接种物)的筛选.然后对B、R、X和S四组样

品按照不同的组配方式组合接种,经过 60 h 的培 养,TXS、RXS的组合能使滤纸基本完全分解,其纤 维素酶酶活力分别为 38.4 U、40.5 U. 然后对这两 组培养液继续培养,发现 TXS 对滤纸的分解速率逐 渐下降,而RXS基本稳定.因此淘汰复合菌群TXS, 将 RXS 连续培养 50 代考察其稳定性. 结果如表 2 所示,直到第50代复合菌群对纤维质的分解能力 都比较稳定,滤纸经过48 h 完全分解,纤维素酶、 半纤维素酶、果胶酶活力稳定在(37 ± 5.0) U、(78 ±5.0) U、(10 ±5.0) U; 而图 1 是接种和不接种 复合菌群 RXS 后木薯渣和滤纸底物分解过程中的 表观状态,可以看出接种后滤纸崩解效果明显、木 薯渣也变得细小;发酵液颜色由最初的浅黄色逐 渐变成黑色再变为淡黄色,其中黑液的出现可能 与木薯渣中纤维质的降解产物有关,然而随着发 酵时间的延长,这些降解产物进一步分解转化,故 颜色又发生变化;同时还有大量的气泡产生.而没 有接种时底物几乎没有得到降解、颜色变化不明 显、无大量气泡产生. 这表明实验室富集构建的这 组纤维质分解复合菌群稳定性能较好,并且可以 高效分解木薯渣和滤纸等底物,将其命名为复合 菌群 RXS. 此外,通过显微观察可以看出复合菌群 RXS由长杆菌、短杆菌、球菌等不同形态的微生物 组成,这些复杂的微生物可能具有不同的需氧及 纤维质分解能力,它们之间相互协同作用从而具 有高效降解纤维质底物的能力[15,16].



A:接种0 h 后; B:接种 18 h 后; C:接种 40 h 后; D:不接种 0 h 后; E:不接种 18 h 后; F:不接种 40 h 后 **图1** 底物的降解效果比较

Fig. 1 Comparison of degradation result of substrate

表 2 复合菌群 RXS 在不同代时的滤纸分解速率及 48 h 时酶活

Table 2 Enzyme activity cultivated 48 hours and degradation rate of filter paper at different generations of microbial consortium RXS

培养代数	滤纸分解速率 /g·h ⁻¹	纤维素酶活力 /U	半纤维素酶活力 /U
5	0. 83 × 10 ⁻²	38. 4	74. 5
10	0. 83 $\times 10^{-2}$	36. 9	72. 4
25	0.91×10^{-2}	35. 8	77. 1
30	1. 04 \times 10 $^{-2}$	38. 1	74. 7
40	1. 25 \times 10 $^{-2}$	41. 3	82. 9
50	1. 25 \times 10 $^{-2}$	42. 7	83. 9

2.2 复合菌群分解纤维质能力的分析

如图 2 所示,复合菌群对滤纸、脱脂棉、微晶纤维素、麦秸秆和木薯酒糟纤维质都有较强的降解能力,在 5 d 的时间内,降解率分别达到 94.5%、77.9%、77.2%、60.1%和 50.1%. 很明显,复合菌群对滤纸、脱脂棉和微晶纤维素的分解能力明显强于麦秸秆和木薯酒糟纤维质,其原因可能与底物的性质有关,麦秸秆和木薯渣的结构相对滤纸、脱脂棉和微晶纤维素更紧密,如木质素等成分使其更难于降解^[17].

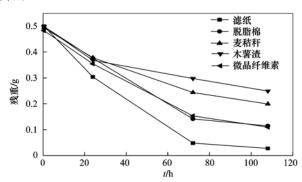


图 2 几种纤维质底物的固形物残重变化

Fig. 2 Change curves of weight of some fiber substrates'solid matter

2.3 复合菌群分解木薯酒糟纤维质的发酵特性

2.3.1 pH 与生物量的变化

图 3 表明,pH 在发酵前 48 h 由初期的 7.97 快速下降到 5.98,然后逐渐上升到 8.5 左右,其主要原因可能是由于发酵前 48 h,微生物大量生长并且分泌关键的水解酶系,导致大量挥发性脂肪酸和醇类等代谢产物的产生,这些挥发酸几乎都具酸性,从而导致消化液的 pH 迅速下降;而当挥发酸累积到一定数量之后进入酸性消退阶段,有机酸和溶解的含氮化合物可能逐渐被另一些微生物如甲烷菌系和产氨细菌吸收转化为 CH₄、CO₂、N₂ 和 H₂S 等气体(这一点可以从培养过程中气泡的产生得以体现),

同时还产生氨、胺及其碳酸盐等产物,其中氨以强碱性亚硝酸铵的形式存在于消化液中,亚硝酸铵可以中和有机酸,因此 pH 又逐渐上升. 这样的变化趋势符合细菌复合菌群分解木质纤维素时的特殊规律,同时也是复合菌群正常分解能力的体现,如果 pH 不能回升则证明复合菌群已经失去分解效果^[18].同时可以看出,复合菌群的生长基本符合典型的微生物生长模式,但是该复合菌群的适应期较短,很快就进入对数生长期,从 D₆₀₀的变化趋势可以看出,前 48 h 几乎呈直线上升,由接种初期的 0.091 上升到 3.34 左右;在 48~120 h 呈稳定状态;而在 120 h 以后菌体浓度逐渐降低到 1.42.

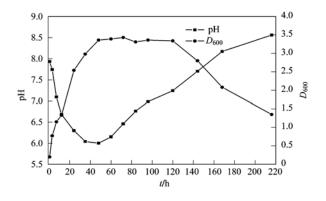


图 3 木薯渣降解过程中 pH 与生物量的变化

Fig. 3 Changes of pH and biomass during degradation of cassava residues

2.3.2 关键水解酶活力的变化

复合菌群分解木薯渣,实质就是微生物分泌水解酶系,如纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶、蛋白酶、淀粉酶等,从而破坏和分解纤维素、半纤维素、蛋白质等不溶性大分子物质的结构,将其分解和转化为简单的糖类、脂肪酸、氨基酸等小分子物质的过程^[19].图4是复合菌群分解木薯渣时关键水解酶活力的动态变化,可以看出复合菌群分泌的水解酶是

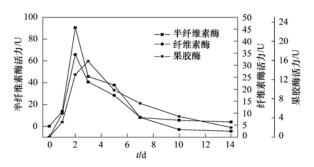


图 4 降解过程中关键水解酶活力的动态变化

Fig. 4 Dynamic changes of key hydrolytic enzymes activity during degradation process

一组能够降解纤维素、半纤维素和果胶的酶系,并且酶活力都呈单峰状态.纤维素酶、半纤维素酶活力在第2d时有最大值34.4、90.5U;果胶酶活力在第3d有最大值15.8U.在出现峰值以后,几组关键酶活力呈逐渐降低的趋势.其原因可能是随着发酵时间的延长,营养物质逐渐减少、中间代谢产物不断积累使得水解菌系不能再旺盛的生长和关键酶的表达受到抑制.同时发酵体系中可能存在蛋白质分解酶将关键酶逐渐分解.

2.3.3 复合菌群对木薯渣降解效果的影响及水解 液物质成分分析

复合菌群对木薯渣底物降解的影响如图 5、6 所示. 经过 10 d 的培养,木薯渣中的纤维素、半纤维素、木质素分别降解了 79.8%、85.9%、19.4%,且木薯渣自身的失重达到 61.5%. 在培养的前 3 d,降解效果最明显,其纤维素、半纤维素和木质素的降解分别为总降解量的 72.1%、84.7%、82.4%,而木薯渣为 76.8%. 结合图 3 发现,木薯渣的分解主要发生在发酵前 3 d,这个时间段正是复合菌群快速生

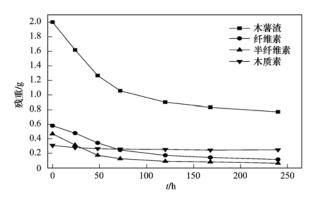
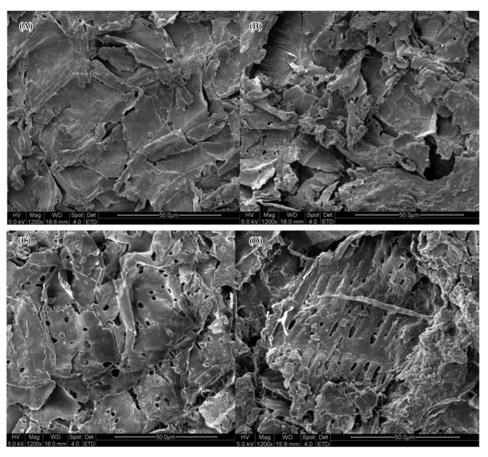


图 5 培养过程中木薯渣残重变化

Fig. 5 Changes of residual weight of cassava residues during the cultivation process

长阶段,也是木薯渣底物降解最旺盛的阶段;在第3~5d阶段,尽管菌体浓度基本稳定,但是木薯渣的分解率却有所下降,其原因可能与代谢产物的抑制、底物的减少等因素有关.在对其成分的降解中,半纤维素分解速率要高于纤维素和木质素,而木质素在整个发酵过程中降解率最低,这与木质素相比纤维素和半纤维素更难于分解的观点是一致的.结合图



A:未处理; B:24 h 处理; C:48 h 处理; D:72 h 处理 图 6 木薯渣分解过程中电镜照片

Fig. 6 SEM photos of cassava residues during degradation

4 可知,关键酶活力的变化基本反映了复合菌群分解木薯渣的一般规律,即酶活力与木薯渣的分解具有一定的一致性.然而在实际的纤维质的分解过程中,酶解效率受多种因素的影响,如底物结构的复杂性、酶与底物的吸附性能以及底物中各成分含量^[20].因此要彻底了解复合菌群中各种水解酶系对木薯渣的作用机制,还需要进一步研究分析.

从复合菌群降解木薯渣过程中木薯渣微观形态(图6)可以看出,蒸馏废液中的木薯渣[6(A)]经过了酒精发酵、蒸馏等工艺流程,致密规则的表面结构有明显的破损,纤维物质也部分暴露.而经过复合菌群处理的木薯渣[6(B)~6(D)],壁面变薄,纤维束发生分散和破裂,并且呈现多孔状态,这表明纤维质等物质的结构已经被破坏,其形态更有利于微生物分泌的酶系的接触,从而实现对木薯渣的高效转化和降解.

图7是复合菌群发酵木薯渣2d后水解液的高

效液相图谱,可以看出水解液成分非常复杂,主要是 乙酸、丁酸、己酸、甘油,并没有产生大量的丙酸和乳 酸等对沼气发酵有抑制的物质,这些小分子物质可 以为甲烷发酵微生物菌群直接利用或者容易转 化[21].这样的结果进一步说明了木薯渣是由不同微 生物协同分解的结果. 图 8 是发酵过程中主要代谢 产物、总糖、TVFA及 SCOD的动态变化,可以看出 主要的代谢产物在发酵前期呈逐渐增加的趋势,乙 酸和丁酸在 48 h 时分别达到 2.71 g·L⁻¹、1.60 g·L⁻¹; 己酸在72 h 达到最大值1.75 g·L⁻¹; 丙酸、 乳酸、乙醇在整个培养过程中浓度较小;甘油在前3 d 基本稳定,可能是复合菌群对甘油的利用较少. 这 些有机酸物质的动态变化趋势与 pH 的变化一致, 因此可以说 pH 是复合菌群发酵木薯渣水平的关键 指标. 结合代谢产物和木薯渣的失重变化表明这些 小分子物质的产生正是由复合菌群降解了木薯渣中 大分子物质所致. 此外,复合菌群分解木薯渣过程中

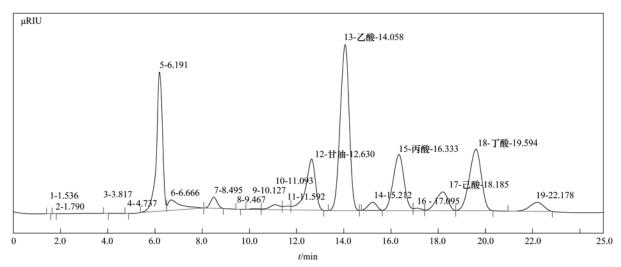


图 7 木薯渣水解液的高效液相图谱

Fig. 7 HPLC chromatogram of hydrolysates of cassava residues

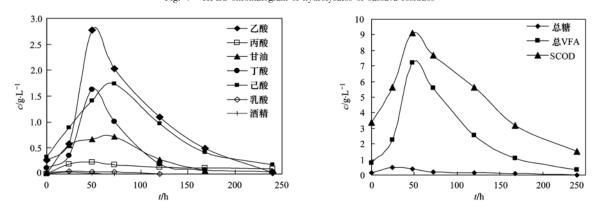


图 8 主要代谢产物、总挥发酸、总糖和 SCOD 浓度的变化曲线

Fig. 8 Changes curves of concentration of the main metabolites, TVFA, total sugars and SCOD

产生的总糖、总 VFA 以及 SCOD 在发酵 48 h 后达到最大. 因此代谢产物浓度和 SCOD 并不随着培养时间的增加而增加,而是存在一个最佳的培养时间,使底物的水解率最高. 这表明利用复合菌群水解木薯渣作为沼气发酵的前发酵手段时,也存在一个最优的水解时间,使得最后的甲烷产量越高.

利用木薯酒糟纤维质酶解复合菌群提高木薯酒糟厌氧发酵的效果,实质就是复合菌群强化厌氧发酵的一个过程,例如采用复合菌群作为两相厌氧发酵系统中水解酸化相的接种物,提高水解酸化程度,进而提高产沼气速率^[22,23];或者在厌氧发酵反应器启动过程中添加复合菌群,从而加快启动速度^[24].但是要将复合菌群应用到大规模的生产中,还有很多方面需要完善,如菌体流失、DO 控制、N 源替换等问题.

3 结论

- (1)构建了一组高效稳定的木薯渣纤维质酶解复合菌群 RXS. 该复合菌群经过 50 代传代培养,纤维质分解能力较为稳定. 同时,该复合菌群能够在 5 d 将滤纸、脱脂棉、微晶纤维素、麦秸秆和木薯渣等物质降解 94.5%、77.9%、77.2%、60.1%和50.1%.
- (2)对复合菌群发酵木薯酒糟纤维质的过程分析表明,发酵液的pH呈先降低再升高的趋势;生物量变化基本符合典型的微生物生长曲线,有明显的适应期、对数期、稳定期和衰亡期;关键水解酶系有纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶,其中酶活力动态变化呈单峰状态,分别能达到最大值34.4、90.5和15.8U;经过10d的分解,木薯渣、纤维素、半纤维素、木质素分别降解了61.5%、79.8%、85.9%、19.4%;主要的代谢产物有乙酸、丁酸、己酸、乙醇等小分子物质,并无大量的丙酸等抑制沼气发酵的物质的积累.因此利用复合菌群强化木薯渣厌氧沼气发酵或者提高水解效果,从而实现大量的木薯渣资源向沼气的高效转化,具有一定的研究价值.

参考文献:

- [1] Mao Z G, Zhang J H. Trend of "zero energy consumption and wastewater" in fuel ethanol production [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2008, 24(6): 946-949.
- [2] Zhang Q H, Lu X, Tang L, et al. A novel full recycling process through two-stage anaerobic treatment of distillery wastewater for bioethanol production from cassava [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 179(1-3): 635-641.

[3] Zhang C M, Mao Z G, Wang X, et al. Effective ethanol production by reutilizing waste distillage anaerobic digestion effluent in an integrated fermentation process coupled with both ethanol and methane fermentations [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2010, 33(9): 1067-1075.

学

- [4] Bruni E, Jensen A P, Angelidaki I, et al. Steam treatment of digested biofibers for increasing biogas production [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(19): 7668-7671.
- [5] Haruta S, Cui Z, Huang Z, et al. Construction of a stable microbial community with high cellulose-degradation ability [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 59 (4-5): 529-534
- [6] 牛俊玲, 李国学, 崔宗均, 等. 堆肥中高效降解纤维素林丹 复合菌系的构建及功能[J]. 环境科学, 2005, **26**(4): 186-190.
- [7] Wongwilaiwalin S, Rattanachomsri U, Laothanachareon T, et al. Analysis of a thermophilic lignocellulose degrading microbial consortium and multi-species lignocellulolytic enzyme system[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2010, 47(6): 283-290.
- [8] Updegraff D. M. Semimicro determination of cellulose in biological materials [J]. Analytical Biochemistry, 1969, 32(3): 420-424.
- [9] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(10): 3583-3597.
- [10] 施特马赫 B, 著. 钱嘉渊, 译. 酶的测定方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1992. 103-177.
- [11] 张飞,岳田利,费坚,等. 果胶酶活力的测定方法研究[J]. 西北农业学报,2004,13(4):134-137.
- [12] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京:中国环境科学出版社, 2002. 280-284.
- [13] DuBois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.
- [14] 任南琪,王爱杰,马放.产酸发酵微生物生理生态学[M]. 北京:科学出版社,2005.287-289.
- [15] Kato S, Haruta S, Cui Z J, et al. Stable coexistence of five bacterial strains as a cellulose-degrading community[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005; 71(11): 7099-7106.
- [16] Kato S, Haruta S, Cui Z J, et al. Effective cellulose degradation by a mixed-culture system composed of a cellulolytic Clostridium and aerobic non-cellulolytic bacteria [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 51(1): 133-142.
- [17] 孟卓,郑正,杨世关,等. 木质纤维素原料预处理技术研究 近况[J]. 四川环境,2007,26(4):113-118.
- [18] Liu J B, Wang W D, Yang H Y, et al. Process of rice straw degradation and dynamic trend of pH by the microbial community MC1[J]. Journal of Environmental Sciences, 2006, 18 (6): 1142-1146.
- [19] Kumar R, Singh S, Singh O V. Bioconversion of lignocellulosic biomass; biochemical and molecular perspectives [J]. Journal of

- Industrial Microbiology and Biotechnology, 2008, **35**(5): 377-391.
- [20] Chang V S, Holtzapple M T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, 84-86(1-9): 5-37.
- [21] 任南琪,刘敏,王爱杰,等.两相厌氧系统中产甲烷相有机 酸转化规律[J].环境科学,2003,24(4):89-93.
- [22] Mshandete A, Björnsson L, Kivaisi A K, et al. Enhancement of anaerobic batch digestion of sisal pulp waste by mesophilic
- aerobic pre-treatment [J]. Water Research, 2005, 39 (8): 1569-1575.
- [23] Hagesawa S, Shiota N, Katsura K, et al. Solubilization of organic sludge by thermophilic aerobic bacteria as a pretreatment for anaerobic digestion [J]. Water Science and Technology, 2000,41(3): 163-169.
- [24] Bagi Z, Ács N, Bálint B, et al. Biotechnological intensification of biogas production [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(2): 473-482.

《环境科学》编辑部关于启用编辑信息管理系统的公告

《环境科学》编辑部已经开通本刊网站并启用编辑信息管理系统(网站地址:http://www.hjkx.ac.cn). 该系统能实现在线投稿、在线审稿、期刊浏览检索等功能,欢迎广大作者、读者和审稿专家使用.目前我刊所有来稿都通过网站编辑信息管理系统进行.作者使用编辑信息管理系统投稿时请先进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面上给出的提示投稿即可.如果您在使用过程中有问题,请及时与我刊编辑部联系.

邮政地址:北京市海淀区双清路18号《环境科学》编辑部

邮 编:100085

电 话:010-62941102,010-62849343

传 真:010-62849343

E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn

网 址:www. hjkx. ac. cn

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 33 No. 3 Mar. 15, 2012

CONTENTS

COMEMIS
Stable Carbon Isotope of Black Carbon from Typical Emission Sources in China
Size Distribution Properties of Atmospheric Aerosol Particles During Summer and Autumn in Lanzhou
Particle Number Size Distribution near a Major Road with Different Traffic Conditions
Atmospheric Particle Formation Events in Nanjing During Summer 2010
Characteristics of δ ¹⁸ O in Precipitation and Moisture Transports over the Arid Region in Northwest China ······· LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, LI Ya-ju, et al. (711)
Distributions and Seasonal Variations of Total Dissolved Inorganic Arsenic in the Estuaries and Coastal Area of Eastern Hainan
CAO Xiu-hong, REN Jing-ling, ZHANG Gui-ling, et al. (720)
Mixing Behavior of Arsenic in the Daliaohe Estuary JIAN Hui-min, YAO Qing-zheng, YU Li-xia, et al. (727)
Variation Characteristics and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of Bohai Bay XU Ya-yan, SONG Jin-ming, LI Xue-gang, et al. (732)
Distribution of PAHs in Surface Seawater of Qingdao Coast Area and Their Preliminary Apportionment LI Xian-guo, DENG Wei, ZHOU Xiao, et al. (741)
Atmospheric Deposition of PAHs in Dashiwei Karst Tiankeng Group in Leye, Guangxi
Lead Isotope Signatures and Source Identification in Urban Soil of Baoshan District, Shanghai
Solute Transport Modeling Application in Groundwater Organic Contaminant Source Identification WANG Shu-fang, WANG Li-ya, WANG Xiao-hong, et al. (760)
Quantitative Method of Representative Contaminants in Groundwater Pollution Risk Assessment
Study on the Advanced Pre-treatments of Reclaimed Water Used for Groundwater Recharge
Influence of Ruditapes philippinarum Aquaculture on Benthic Fluxes of Biogenic Elements in Jiaozhou Bay DENG Ke, LIU Su-mei, ZHANG Gui-ling, et al. (782) Influence of Spatial Difference on Water Quality in Jiuxiang River Watershed, Nanjing
Temporal and Spatial Variation of Non-Point Source Nitrogen in Surface Water in Urban Agricultural Region of Shanghai
Migration and Transformation of Heavy Metals in Street Dusts with Different Particle Sizes During Urban Runoff WANG Nan, MAO Liang, HUANG Hai-bo, et al. (802)
HE Xiao-yan, ZHAO Hong-tao, LI Xu-yong, et al. (810)
Treatment Studies of Industrial Rainoff With a New Type of Constructed Wetland
Emergent Retention of Organic Liquid by Modified Bentonites; Property and Mechanism LI Yu, LIU Xian-jun, ZHANG Xing-wang, et al. (825)
Production of Peroxide Hydrogen in Chattonella ovata Hong Kong Strain
Characteristics Study of Extracellular Active Substance of Bacillus sp. B1 on Phaeocystis globosa · · · · LI Qiang, ZHAO Ling, YIN Ping-he (838)
Effects of Sediment on the Growth of Microcystis and Anabaena in Yanghe Reservoir
New-Type Electrodeless Excilamp for Advanced Treatment on Nitrogen-Heterocyclic Compounds (NHCs) in Aqueous Solution YE Zhao-lian, WANG Bin, LU Juan-juan, et al. (849)
Preparation and Electro-catalytic Characterization on La/Ce Doped Ti-base Lead Dioxide Electrodes ZHENG Hui, DAI Qi-zhou, WANG Jia-de, et al. (857)
Study on Decolorization of Triphenylmethane Dyes by DTT PAN Tao, LIU Da-wei, REN Sui-zhou, et al. (866)
Influences of nH and Complexing Agents on Degradation of Reactive Brilliant Blue KN-R by Ferrous Activated Persulfate
Degradation Kinetics of Ozone Oxidation on High Concentration of Humic Substances
Index of Stability and Its Mechanisms of Aerobic Granular System Using Volume-based Information Entropy LI Zhi-hua, JI Xiao-qin, LI Sheng, et al. (885)
Relationship Between Physicochemical Characteristics of Activated Sludge and Polymer Conditioning Dosage LI Ting, WANG Yi-li, FENG Jing, et al. (889) Research of Aerobic Granule Characteristics with Different Granule Age
Effect of Size and Number of Aerobic Granules on Nitrification and Denitrification
Optimization and Comparison of Nitrogen and Phosphorus Removal by Different Aeration Modes in Oxidation Ditch
GUO Chang-zi, PENG Dang-cong, CHENG Xue-mei, et al. (910)
Effect of Acidification on the Dewaterability of Sewage Sludge in Bioleaching
Microbial Ecology Analysis of the Biofilm from Two Biological Contact Oxidation Processes with Different Performance
QIAN Yin, QUAN Xiang-chun, PEI Yuan-sheng, et al. (922)
Altered Microbial Communities Change Soil Respiration Rates and Their Temperature Sensitivity FAN Fen-liang, HUANG Ping-rong, TANG Yong-jun, et al. (932)
Storages and Distributed Patterns of Soil Organic Carbon and Total Nitrogen During the Succession of Artificial Sand-Binding Vegetation in Arid Desert Ecosystem JIA Xiao-hong, LI Xin-rong, ZHOU Yu-yan, et al. (938)
Factors Controlling Soil Organic Carbon and Total Nitrogen Densities in the Upstream Watershed of Miyun Reservoir, North China
WANG Shu-fang, WANG Xiao-ke, OUYANG Zhi-yun (946)
Impact of Microbial Aggregating Agents on Soil Aggregate Stability Under Addition of Exogenous Nutrients MO Yan-hua, TANG Jia, ZHANG Ren-duo, et al. (952)
Adsorption of Aflatoxin on Montmorillonite Modified by Low-Molecular-Weight Humic Acids
Influence of Operating Parameters on Surfactant-enhanced Washing to Remedy PAHs Contaminated Soil
Study on the Land Use Optimization Based on PPI WU Xiao-feng, LI Ting (971)
Research on Algal Diversity in Zoige Alpine Wetland
Effects of Three Fungicides on Arbuscular Mycorrhizal Fungal Infection and Growth of Scutellaria baicalensis Georgi HE Xue-li, WANG Ping, MA Li, et al. (987) Community Structure and Spatial Distribution of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria in the Sediments of Chongming Eastern Tidal Flat in Summer
Community Structure and Spatial Distribution of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria in the Sediments of Chongming Eastern 11dal Flat in Summer
Microbial Degradation of 2,2',4,4'-Tetrabrominated Diphenyl Ether Under Anaerobic Condition LU Xiao-xia, CHEN Chao-qi, ZHANG Shu, et al. (1000)
Effect of Heavy Metals on Degradation of BDE-209 by White-rot Fungus
Biodegradation Mechanism of DDT and Chlorpyrifos Using Molecular Simulation LIN Yu-zhen, ZENG Guang-ming, ZHANG Yu, et al. (1015)
Construction of a Microbial Consortium RXS with High Degradation Ability for Cassava Residues and Studies on Its Fermentative Characteristics
HE Jiang, MAO Zhong-gui, ZHANG Qing-hua, et al. (1020)
Anaerobic Digestion of Animal Manure Contaminated by Tetracyclines
Continuous Dry Fermentation of Pig Manure Using Up Plug-Flow Type Anaerobic Reactor

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编:欧阳自远

副主编:赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委:(按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军

朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明

欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞

黄耀 鲍强潘纲潘涛魏复盛

环枪种草

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊) 2012年3月15日 33卷 第3期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 3 Mar. 15, 2012

主	管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主	办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese
协	办	(以参加先后为序)			Academy of Sciences
		北京市环境保护科学研究院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental
		清华大学环境学院			Protection
主	编	欧阳自远			School of Environment, Tsinghua University
编	辑	《环境科学》编辑委员会	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
2m	74	北京市 2871 信箱(海淀区双清路	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING
		18号,邮政编码:100085)			KEXUE)
		电话:010-62941102,010-62849343			P. O. Box 2871, Beijing 100085, China
		传真:010-62849343			Tel: 010-62941102, 010-62849343; Fax: 010-62849343
		E-mail; hjkx@ rcees. ac. cn			E-mail; hjkx@ rcees. ac. cn
		http://www.hjkx.ac.cn			http://www. hjkx. ac. cn
出	版	4 学 出 版 社	Published	by	Science Press
щ	700	北京东黄城根北街 16 号			16 Donghuangchenggen North Street,
		邮政编码:100717			Beijing 100717, China
印刷装	ŧίΤ	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发	行	舒 学 出 版 社	Distributed	by	Science Press
		电话:010-64017032			Tel:010-64017032
		E-mail: journal@ mail. sciencep. com			E-mail:journal@mail.sciencep.com
订 购	处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总统	发行	中国国际图书贸易总公司	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji
		(北京 399 信箱)			Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301 CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价:70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行