

# 三阶段控温堆肥过程中接种复合微生物菌群的变化规律研究

席北斗<sup>1,2</sup>, 孟伟<sup>1</sup>, 刘鸿亮<sup>1</sup>, 黄国和<sup>2,3</sup>, 曾光明<sup>3</sup>, 王琪<sup>1</sup> (1 中国环境科学研究院, 北京 100012, E-mail: xibeidou@hotmail.com; 2. EVSE Faculty of Engineering University of Regina; 3. 湖南大学 环境科学与工程系, 长沙 410082)

**摘要:** 接种复合微生物是提高堆肥效率的主要方法之一, 但由于堆料中土生微生物的竞争, 较高浓度的土生微生物浓度会抑制接种微生物的长生繁殖。实验表明: 当堆料中土生微生物初始浓度为  $4 \times 10^8$  CFU/g 时, 所接种的微生物不增殖, 且随着堆肥的进行, 浓度下降很快; 而非接种微生物增殖很快, 最高浓度可达  $10^{10}$  CFU/g。当土生微生物浓度降低至  $4 \times 10^5$  个/g, 接种微生物增殖较快, 最高达  $10^{11}$  CFU/g。因此, 本文利用堆肥自身产热和少许外来热源加热的三阶段控温法进行堆肥, 使堆温在 4 h 内迅速升到 70℃ 以上, 并维持 8 h, 从而使土生微生物浓度降至  $4 \times 10^5$  个/g 以下, 并起到软化堆料, 便于微生物降解的目的。待温度冷却至 35℃ ~ 45℃ 时, 接种复合微生物, 使其快速生长繁殖, 数量从  $10^8$  CFU/g 上升到  $10^{11}$  CFU/g (干样品), 且接种微生物以非接种微生物保持优势地位, 从而快速分解垃圾中的有机物。由于在最终产品中含有大量接种有益微生物, 可利用其作为菌肥进行回流接种堆肥, 以增加堆料中接种微生物数目, 改善堆肥微环境, 节约菌剂用量, 缩短堆肥发酵周期和降低堆肥成本。但利用接种微生物堆肥产品作为菌肥反复接种时, 随着反复次数的增加, 非接种微生物高浓度繁殖; 接种微生物和非接种微生物浓度比约为 1:3 (反复接种 5 次), 浓度情况发生了逆变。因此, 回流菌肥反复接种 5 次后, 接种菌剂基本上就不再起作用了。

**关键词:** 接种复合微生物; 土生微生物; 生活垃圾; 三阶段温度法; 回流接种

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2003)02-04-0152

## The Variation of Inoculation Complex Microbial Community in Three Stages MSW Composting Process Controlled by Temperature

Xi Beidou<sup>1,2</sup>, Meng Wei<sup>1</sup>, Liu Hongliang<sup>1</sup>, Huang Guohe<sup>2,3</sup>, Zeng Guangming<sup>3</sup>, Wang Qi<sup>1</sup> (1. Chinese Research Academy of Environmental Science, Beijing 100012, China E-mail: xibeidou@hotmail.com; 2. EVSE Faculty of Engineering University of Regina; 3. Department of Environmental Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

**Abstract:** Adding inoculation agent is one of the effective methods to accelerate the composting process of municipal solid wastes. However, because of the competing of indigenous microorganisms, high concentration of existing indigenous microorganisms could inhibit the prevalence of inoculating microorganisms. When indigenous microorganisms concentration in the raw material was  $4 \times 10^8$  CFU/g, the microorganisms of inoculating did not grow up. With the process, the microbial population of inoculation declined rapidly and no inoculating microbial population rose up quickly and reached a peak of  $10^{10}$  CFU/g. When indigenous microorganisms concentration was  $4 \times 10^5$  CFU/g, the microorganisms of inoculation could inhibit the prevalence of the indigenous microorganisms and inoculating microbial population increased quickly and reached a peak of  $10^{11}$  CFU/g. Therefore, this paper introduces a method of three stages composting technology, which combined the heat produced from composting system and some extra energy, and heated up the composting temperature above 75℃ in 4 hours as well as maintaining for 8 hours. It well controlled the concentration of the indigenous microorganisms under  $4 \times 10^5$  CFU/g and improve the structure of the compost media and make the remaining solids more amenable to biological attack. When composting materials temperature drops to 35℃ to 45℃, add complex microorganisms in composting process. Then they develop more quickly than the others, the concentration of them rose up from  $10^8$

基金项目: 国家 863 高技术资助项目 (No 2001 AA644020)

作者简介: 席北斗 (1969 ~), 男, 博士, 主要从事固体废物处理技术研究

CFU/g to  $10^{11}$  CFU/g and lie in a preponderate position. So with this method, advanced the rate of organic degradation in municipal solid wastes (MSW) composting process, and enhanced the numbers of inoculation microorganisms in composting products. Therefore, they can be as inoculation agent for improving composting conditions, speedup the next composting process, cutting down the composting time, saving original inoculation agent and making composting more economic. But using compost products as inoculum, with the number of feedback increasing, the concentration ratio of inoculation microorganisms and no-inoculation microorganisms is around 1:3 (fifth feedback compost products). So, the number of feedback compost products should not be more than five.

**Keywords:** inoculating complex microorganism; indigenous microorganisms; municipal solid wastes; Three Stages Composting of MSW controlled by temperature; re-inoculation

利用微生物群落的多样性和微生物间的相互协同作用,生成复杂而稳定的生态系统,可加速垃圾中有机物的分解,促进堆肥材料的腐熟,消灭某些病原体、虫卵和杂草种子,并控制臭气的产生,提高堆肥效率<sup>[1,2]</sup>。但由于堆肥原料复杂,接种的微生物和大量的土生微生物之间存在竞争,过高的土生微生物浓度直接影响接种微生物的生长繁殖并威胁其在堆料中的优势地位<sup>[3,4]</sup>。因此,降低土生微生物浓度,有利于接种微生物的生长繁殖。为提高接种堆肥效率,采用最经济的办法降低土生微生物的竞争,最大程度地发挥所接种微生物的作用,实验提出三阶段温度控制堆肥接种法,即合理利用堆料开始时自身产热和少许外来热源,产生高温,降低土生微生物的浓度。然后接种复合微生物菌剂,使其充分发挥作用,最终成品中必然包含大量接种微生物,可用作菌肥,作为下一次堆肥接种材料,从而节约菌剂用量、降低堆肥成本、提高堆肥质量;同时达到降低土生微生物的竞争、减少菌剂用量的双重目的,从而为堆肥复合微生物菌剂接种技术迈向实际应用提供技术保证。

## 1 实验

### 1.1 实验材料

菌种:复合微生物菌剂(自制)、生活垃圾(中国环境科学研究院)

仪器:烘箱、堆肥反应器<sup>[1]</sup>、 $O_2$ - $H_2S$ 测定仪、 $CO_2$ 测定仪等。

### 1.2 实验方法

(1)不同初始土生微生物浓度试验 分别采集新鲜垃圾和放置 24h 的陈垃圾作接种试验对比。新垃圾和陈垃圾的初始土生微生物浓度

分别为: $4 \times 10^5$  CFU/g 干样品和  $4 \times 10^8$  CFU/g 干样品,垃圾中碳和氮元素的分析值分别为 53.7% 和 2.5%,C/N 为 21.48。为了便于分析,接种剂选用白腐真菌与固氮菌、解磷菌、解钾菌按 1:1:1:1 的比例配制的复合菌剂(WNP)。接种后堆料中的接种剂浓度约为  $10^8$ /g,将含水率调节至 55%,供氧量为 0.5 L/(min·kg)。通过不同种微生物在固体培养基上的菌落特征计数堆肥中的微生物数目(包括白腐真菌、固氮菌、解磷菌、解钾菌)及其它微生物总数。

(2)三阶段控温法堆肥试验 三阶段温度控制堆肥法:在堆肥初期利用堆肥自身产热,然后通热空气使温度达到 70℃ 以上的高温维持 12h,利用高温将降低土生微生物浓度,最后冷却到室温,接种复合菌剂 WNK,进行自然发酵。

采集新鲜厨房垃圾各 10kg,分别采用普通接种法、三阶段温度接种堆肥法,三阶段温度法制备的固体菌肥回流堆肥法(回流比率:20%)进行堆肥对比实验。

### 1.3 堆肥检测方法

(1)温度、供气量、出口气体浓度的测定 环境温度通过温度计测定,堆肥温度由反应装置温度传感器在线显示;供气量由气体流量计控制;出口气体浓度由  $O_2$ - $H_2S$ 、 $CO_2$  测量仪测定。

(2)生物量与生物相 微生物数测定是采用测定固体样品浸出液的方法,但由于微生物会部分吸附于堆料上,很难将其完全浸出,因此需要测定微生物浸出率,以求得较为准确的微生物数目。①浸出方法:10g 固体样品和灭菌水 90 mL 混合,摇床振荡 20 min,得浸出液 1。②微生物浸出率测定:上述固体样品 5g 干燥灭菌后

加入 5 mL 刚得到的浸出液,混合 20 min,得浸出液 2. ③分别采用平板计数法测浸出液 1 和浸出液 2 的微生物数目得  $N_0$  和  $N$ ,则微生物浸出率为  $\eta = N / N_0$ . ④活菌数的测定采用平板计数法,将稀释后的菌悬液分别接种到普通琼脂培养基、高氏培养基和 PDA 培养基中培养,通过菌落特征和显微镜观察,对细菌、放线菌和真菌进行计数,菌体总数计数的培养温度为取样堆肥时温度,高温菌培养温度为 55℃,细菌、真菌培养时间为 48 h,放线菌培养时间为 72 h,中温菌培养温度为 30℃.

2 实验结果与讨论

2.1 土生微生物初始浓度对接种微生物浓度的影响

当堆料中土生微生物初始浓度为  $4 \times 10^8$  CFU/g 时,所接种的微生物菌剂不增殖,随着堆肥的进行,浓度下降很快,而接种微生物以外的细菌增殖很快,最高浓度可达  $10^{10}$  CFU/g (如图 1). 这时因为接种剂是外来微生物,需要适应环境,而堆料中的土生微生物由于开始浓度高,抑制接种微生物的生长繁殖. 当土生微生物浓度降低至  $4 \times 10^5$  CFU/g,堆肥过程中接种微生物菌剂增殖较快,最高达  $10^{11}$  CFU/g,且接种微生物对其它微生物保持优势地位(如图 2).

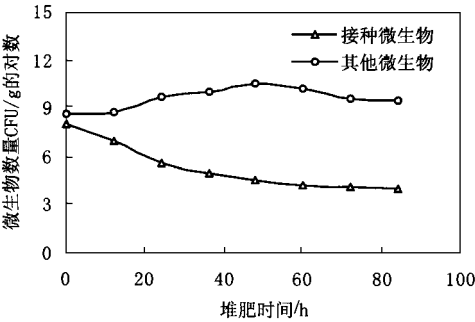


图 1 高土生微生物浓度条件下堆肥微生物变化  
Fig.1 Microbes profile during high indigenous microbial concentration composting process

上述结果表明:为使接种微生物菌剂在堆肥过程中快速增殖,应尽量降低原料中最初土生微生物浓度,使微生物菌剂能够充分生长繁殖.该结果在研究堆肥种菌接种效果时具有重

要意义.

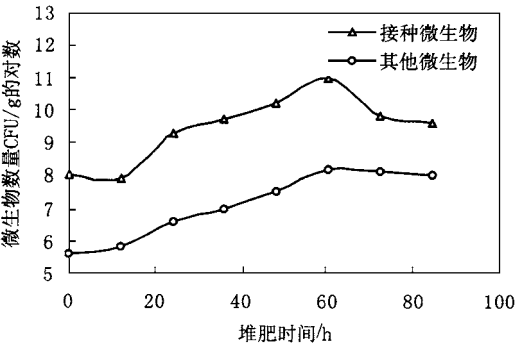


图 2 低土生微生物浓度条件下堆肥微生物变化  
Fig.2 Microbes profile during low indigenous microbial concentration composting process

2.2 堆肥方法对微生物数量和 CO<sub>2</sub> 产生速率的影响

三阶段温度法与普通接种法相比,其堆肥过程中温度变化、CO<sub>2</sub> 产生及微生物数量如图 3 ~ 图 5 所示.

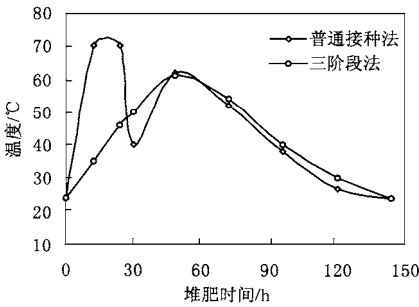


图 3 不同堆肥方法温度变化曲线  
Fig.3 Temperature profile of different composting methods

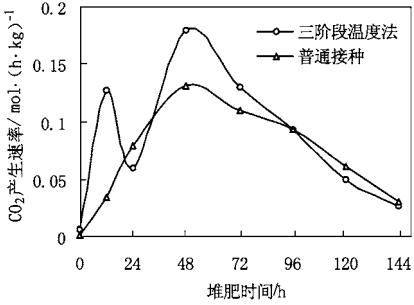


图 4 不同堆肥方法 CO<sub>2</sub> 产生速率变化曲线  
Fig.4 Carbon dioxide profile of different composting methods

传统接种法接种微生物时,由于土生微生物的竞争,接种微生物随着堆肥的进行数目不断减少,最后在腐熟堆肥中降至  $10^5$  CFU/g 左

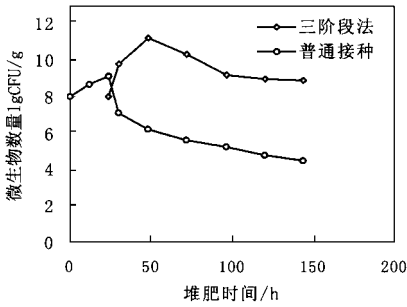


图 5 不同堆肥方法微生物数量变化曲线

Fig.5 Microbes concentration profile of different composting methods

右.而采用三阶段控温法,可使温度迅速升高,并保持一段时间后,冷却接种复合菌剂 WNK, WNK 数量从  $10^8$  CFU/g 上升到  $10^{11}$  CFU/g 干样品,最终堆肥中含有大量接种微生物.从堆肥过程中  $\text{CO}_2$  产生速率来看,三阶段温度法明显优于普通接种法,在高温阶段不仅杀死了大量杂菌,而且使纤维素、半纤维素、木质素等物质结构软化,易于降解,因此高温过后  $\text{CO}_2$  最大产生率达  $2.4 \times 10^{-4} \text{ mol}/(\text{h} \cdot \text{g})$ ,而普通接种法  $\text{CO}_2$  最大产生率仅为  $1.65 \times 10^{-4} \text{ mol}/(\text{h} \cdot \text{g})$ .传统接种微生物堆肥时,一般在堆肥开始或二次发酵阶段对原料进行接种,而现在可以在降低土生微生物浓度后接种微生物,这种交错接种时期的新的三阶段控温法堆肥,可以抑制非接种微生物在堆肥产品中高浓度残存,使堆制的成品中含有大量接种微生物,一方面可以通过筛选保证成品中的微生物安全性和施用于土壤良好的肥效,另一方面,用其作为回流菌肥亦具有良好的接种作用.

2.3 三阶段控温法菌肥回流次数对微生物浓度的影响

图 6 表示了随着堆肥的反复使用,48h 后复合菌剂 WNK 浓度和其它微生物在总体微生物中所占比例.使用纯培养的 WNK 堆肥成品中接种微生物总菌数高于其它微生物(图中显示为 0 次反复),在总体微生物中占有优势,将其作为种菌反复使用时,接种剂以外的微生物高浓度繁殖,接种微生物的浓度降为其它微生物浓度的  $1/3$  左右,浓度情况发生了逆变.由此

可知,反复的次数越多,接种微生物菌剂越少,而其它微生物越来越多,每反复使用一次,接种微生物相对于其它微生物总体的比例大约下降 1 位数,随着反复次数的增多,接种微生物最终被忽略.

将复合菌剂 WNK 加工成以生活垃圾为载体的菌肥反复接种使用,可以节省接种微生物菌剂,但反复次数不能太多,以确保接种微生物的浓度.实验表明:反复接种 5 次后,接种菌剂基本上就不再起作用了.

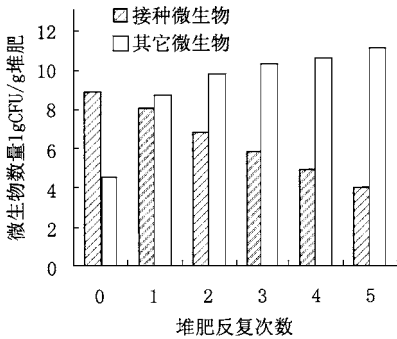


图 6 菌肥回流接种反复次数对微生物量的影响

Fig.6 Microbes profile of composting repeatedly feedback inoculum

3 结论

堆料初始土生微生物浓度是影响复合微生物堆肥接种效果的关键因素,而三阶段控温法利用堆肥自身产热和少许外来热源,迅速杀灭杂菌并软化堆料,使接种的复合微生物能快速生长繁殖,并始终处于优势地位,从而提高了堆肥效率.利用三阶段温度法制备的菌肥作为接种剂回流接种,由于菌肥中含有大量有益微生物并能较好地调节和适应堆肥微环境,加快了堆肥反应速率.但由于土生微生物的竞争,随着回流次数的增加,堆料中接种微生物浓度越来越低,因此菌肥回流次数应控制在 5 次以内.

参考文献:

- 1 席北斗,刘鸿亮,孟伟等.高效复合微生物菌群在垃圾堆肥中的应用.环境科学,2001,22(5):142~146.
- 2 Xi Beidou, Liu Hongliang et al. Composting MSW and Sewage Sludge with Effective Complex Microorganisms. Journal of Environmental Sciences, 2002, 14(2):264~268.
- 3 李国学,张福锁.固体废物资源化与有机复混肥生产.北京:化学工业出版社,2000.87~88.
- 4 Hatakka A. Lignin modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. FEMS Microbiol. Rev., 1994, 13:125~135.