

堆肥反应器中 2 种微生物接种剂的堆肥效果研究

徐智^{1,2}, 张陇利², 张发宝³, 李季^{2*}

(1. 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; 2. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193; 3. 广东省农业科学院土壤肥料研究所, 广州 510631)

摘要: 在严格控制堆肥条件的情况下, 以鸡粪为堆肥基本原料, 选用单一微生物巨大芽孢杆菌和复合微生物 VT 菌为接种剂, 通过研究堆肥过程中的温度、氧气浓度、C/N、WSC(水溶性碳)、发芽指数(GI)以及脱氢酶和纤维素酶的活性动态变化来反映这 2 种微生物接种剂对堆肥效果的影响。结果表明, 接种复合微生物菌剂 VT 的处理在堆肥升温 and 保持高温效果明显, 接种微生物菌剂的 2 个处理的堆体内氧气浓度都较 CK 低, 其中最低的为接种复合微生物菌剂 VT 的处理。接种微生物菌剂, C/N 下降速度快, WSC 浓度相对高, GI 值上升速度明显加快, 有利于加快堆肥腐熟进程, 其中接种复合微生物菌剂 VT 的效果较单一微生物菌剂巨大芽孢杆菌好。接种微生物菌剂有利于堆肥升温期脱氢酶和纤维素酶活性增加, 促进堆肥的氧化还原反应和纤维素的分解, 且接种复合微生物 VT 的效果明显。

关键词: 堆肥; 微生物接种剂; 复合微生物接种剂; 酶的活性; 堆肥反应器

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)11-3409-05

Effects of Microbial Inoculation on Composting in a Bioreactor

XU Zhi^{1,2}, ZHANG Long-li², ZHANG Fa-bao³, LI Ji²

(1. College of Resources and Environmental Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. College of Resources and Environmental Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. Soil and Fertilizer Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510631, China)

Abstract: A composting experiment with chicken manure was carried out in a lab-scaled bioreactor to study the effects of microbial inoculation (a single *Bacillus megaterium* and a compound VT agent) on the changes of the temperature, oxygen concentration, C/N ratio, WSC (water-soluble carbon), germination index (GI), and cellulase and dehydrogenase activity. The results showed that the use of compound VT agent was more effective in the growing of starting temperature and maintaining of the high-temperature during composting than the single *Bacillus megaterium* treatment. The oxygen concentration in the composting with inoculation (both *Bacillus megaterium* and VT) was lower than that of the composting without inoculation. Meanwhile, the inoculation with compound microbial inocula (VT) showed lower of C/N ratio, higher WSC concentration and higher GI in the compost than that of the individual microbial inoculation. Further, microbial inoculation could increase the cellulase activity and dehydrogenase activity in the composting process and promote the decomposition of cellulose during the composting.

Key words: composting; microbial inocula; compound microbial inocula; enzyme activity; bioreactor

我国每年产生大约 24 亿 t 畜禽粪便、1 400 万 t 城市污泥和 1.6 亿 t 城市固体废弃物^[1], 这么多的废弃物的产生已对我国城乡环境造成巨大的压力。以畜禽粪便为例, 中国有大约 80% 的畜禽粪便没有经过处理就直接排放到环境中, 畜禽粪便对农业面源污染的氮、磷贡献率已分别达到 23% 和 32%^[2]。

有机肥在中国的传统农业的发展中一直有着广泛应用并且扮演重要角色。但是根据《中国环境公报》报道到 2003 年我国有机肥施用比例仅仅为 25%, 而合适的比例应该在 40% 以上。堆肥化的基本功能就是将有机固体废弃物转化为简单的有机质和氮等营养物质, 同时堆肥作为一种处理废弃物的方式又以其经济性和易操作性被广泛关注。这也正为堆肥的产业化发展提供了契机, 但是堆肥工厂化的发展一直受到堆肥时间和场地的困扰, 归结到一

点就是怎样促进堆肥化的进程、缩短堆肥时间。

堆肥过程实际上是一个微生物作用和分解过程^[3], 为了增加开始时堆肥原料中的微生物群体种类和数量、缩短堆肥达到高温期的时间、增强微生物的降解活性和加速有机物的分解, 近年来开展了一系列微生物接种剂方面的研究。一方面是功能微生物的筛选和应用, 如: 芽孢杆菌^[4,5]和木霉^[5]可以促进堆肥物质降解过程和有机物的腐殖化程度, 白腐菌^[6]可以加速纤维素水解; 另一方面是复合微生物

收稿日期: 2008-11-27; 修订日期: 2009-01-09

基金项目: 北京市生态学重点学科项目(XK10019440); 北京都市农业学科群建设项目(XK100190553); 广东省农业攻关项目(2006A20302001); 广东省教育部产学研结合项目(2007B090400101)

作者简介: 徐智(1980~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为有机固体废弃物资源化利用, E-mail: xuzhi9910@126.com, xuzhicau@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: lijij@cau.edu.cn

的复配与应用,如:Singh 等^[6]利用侧耳属、哈兹木霉和圆褐固氮菌属的菌株组合接种于园林固体废弃物中,可以明显改善堆肥的质量,还有很多研究认为复合微生物菌群各个菌种之间的相互协同作用,可迅速分解堆料中的有机物,从而加速堆肥过程,使堆肥腐熟时间提前^[7~11].但是,堆肥过程是一个复杂生化反应过程,受原料性质、实验条件和微生物专一性等多方面的影响,在不规范试验条件的情况下很难比较出单一微生物和复合微生物的作用大小.

本研究以鸡粪为堆肥的主要原料,利用卧式发酵仓系统,采用间歇式强制通风供氧堆肥方式,严格控制堆肥条件,采用巨大芽孢杆菌和复合微生物菌剂 VT 作为微生物接种剂,分析和比较微生物接种剂的效果,以为微生物接种剂的应用提供依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为风干鸡粪、糠醛渣和糖渣,均来自于河北省藁城市.巨大芽孢杆菌在实验室扩繁,待到有效活菌数达到 10^9 CFU·mL⁻¹ 以上后备用,VT 菌剂由北京沃土天地生物科技有限公司提供,有效活菌数为 10^9 CFU·mL⁻¹,主要由芽孢杆菌、酵母菌、乳酸菌等多个菌株复合而成.

1.2 试验设计

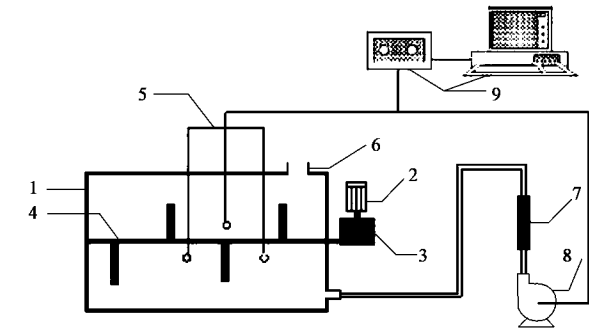
本试验设堆肥原料不加菌(CK)、堆肥原料 + 巨大芽孢杆菌(接巨大)和堆肥原料 + VT(接 VT)3 个处理.根据原料性质,将风干鸡粪、糠醛渣和糖渣按照 4:4:1(质量比)比例混合均匀,C/N 为 25 左右,菌剂均按照 0.5% 的量添加(质量分数),调节水分为 55% 左右后,放入实验室自制的堆肥反应器中,反应器为有效容积 100 L 的卧式圆柱形不锈钢罐体,外壁包有一层厚为 50 mm 的保温层,罐体内配有搅拌桨,以便于自动翻堆.通风方式为强制通风伴随翻堆方式,堆肥开始后以 $3.5\text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的压力向堆体中通风,通风量为 $30\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,通风频率为每间隔 1 h 通风 6 min;每 7 d 翻堆 1 次.堆肥时间设计为 15 d (2008-02-22 ~ 2008-03-09).

在堆体的中轴线上设置 2 个温度探头(PT-100 铂电极)和 1 个氧气探头(GNL-8100 型 O₂ 传感器),将每个探头连接到高精度远传数采系统上,并和计算机连接,实施温度和氧气的在线监测(图 1).

1.3 采样及测定

1.3.1 采样时间及方法

在堆肥开始后位于堆肥表层 10 cm 处分别于第



1. 发酵仓; 2. 电机; 3. 减速机; 4. 搅拌桨(轴); 5. 探头; 6. 排气孔; 7. 流量计; 8. 风机; 9. 计算机系统

图 1 堆肥反应器示意

Fig.1 Schematic map of the experimental bioreactor

0、3、6、9、12 和 15 d,按 5 点采样法的原则,充分混匀、分为干样和鲜样各 3 份,干样风干备用,鲜样储存于 4℃ 冰箱中待用.

1.3.2 测定指标及方法

温度和氧气通过 PT-100 铂电极和 GNL-8100 型 O₂ 传感器在线监测.有机碳用重铬酸钾容量-外加热法^[12],全 N 用 H₂SO₄-H₂O₂ 消煮,凯氏定氮法^[13].水溶性碳(WSC)采用重铬酸钾氧化法^[14].脱氢酶活性测定参照文献^[15]的方法,纤维素酶活性的测定方法参照文献^[16]测定.种子发芽指数(GI)测定:取 5 g 鲜样加入 50 mL 蒸馏水,振荡 1 h,吸取 5 mL 滤液,加到铺有 2 张滤纸的 9 cm 培养皿中,每个培养皿播 20 粒甘蓝种子,30℃ 下培养 48 h,测定发芽率和根长,计算种子发芽指数(GI)值.

2 结果与分析

2.1 温度和氧气浓度变化

堆肥过程中温度以及堆体中氧气浓度的变化如图 2 所示.接种复合微生物菌剂 VT 的处理的最高温度为 57.2℃,较接种巨大芽孢杆菌的 55.9℃ 和 CK

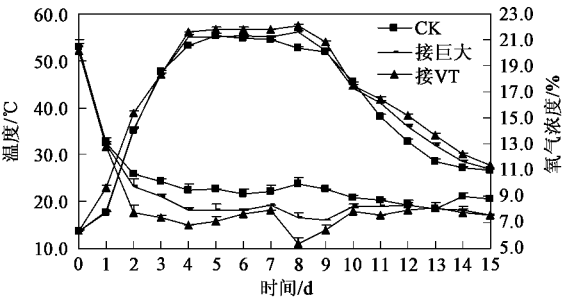


图 2 堆肥过程中温度和氧气浓度的变化

Fig.2 Changes of temperature and oxygen concentration during composting

的 54.7℃ 高,且在持续高温期($\geq 50^{\circ}\text{C}$)第 4~8 d 接种微生物菌剂的 2 处理的堆肥温度显著高于 CK($p < 0.05$);接种复合微生物菌剂 VT 的持续高温期($\geq 50^{\circ}\text{C}$)的时间较接种巨大芽孢杆菌和 CK 的长.堆肥各个处理氧气浓度基本都能维持在 5% 以上,在堆肥进行到 1 d 后,堆体内氧气浓度就出现一定差异,直到第 10 d,接种微生物菌剂的 2 个处理的堆体内氧气浓度较 CK 低,其中最低的为接种复合微生物菌剂 VT 的处理.

2.2 堆肥腐熟进程指标变化

2.2.1 C/N 和水溶性碳(WSC)变化

随着堆肥反应的进行,各个处理 C/N 呈下降趋势[图 3(a)].接种复合微生物 VT 的处理 C/N 下降

的速度较其他 2 个处理快,接种巨大芽孢杆菌处理和对照之间没有明显差异.各处理在堆肥过程中的水溶性碳的变化趋势大致也是下降的[图 3(b)].一般而言,随着堆肥的进行,堆肥物料中的碳被分解成了较多的水溶性碳,为微生物的繁衍提供碳源,被微生物利用降解,水溶性碳含量可能与物料的分解速度和微生物的利用有关.当堆肥进行到第 6、9 和 12 d 时,接种复合微生物 VT 的处理的水溶性碳含量显著高于其它 2 个处理($p < 0.05$),接种巨大芽孢杆菌的处理在第 6 d 和第 9 d 水溶性碳含量也显著高于 CK($p < 0.05$).说明接种微生物菌剂处理可能有助于堆肥物料的迅速分解,复合微生物 VT 的效果好于单一的巨大芽孢杆菌.

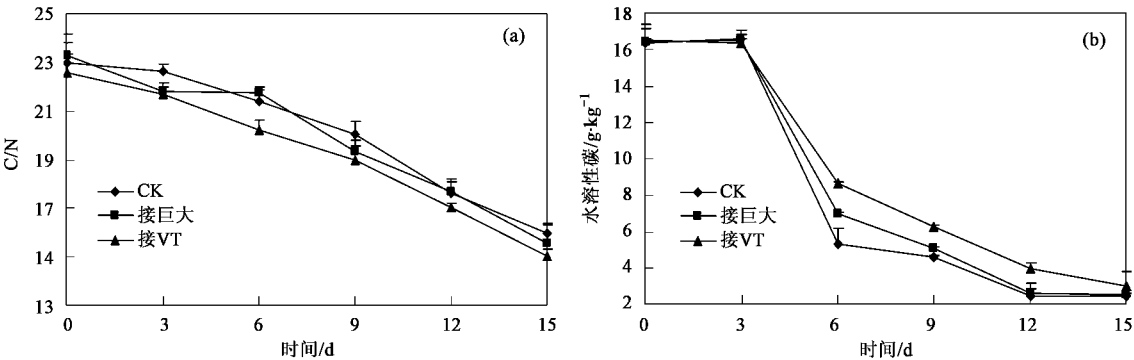


图 3 堆肥过程中 C/N 和水溶性碳(WSC)变化
Fig.3 Changes of C/N and WSC during composting

2.2.2 发芽指数(GI)值变化

随着堆肥过程的进行,各个堆肥处理 GI 值基本呈上升趋势(图 4).在堆肥结束后,接种复合微生物菌剂 VT 处理的 GI 值显著高于 CK($p < 0.05$)也高于接种巨大芽孢杆菌处理,但是没有差异显著性,同时接种巨大芽孢杆菌的处理 GI 值也有高于 CK 的趋势.3 个处理(CK、接巨大和接 VT)的 GI 值从堆肥初期的 69% 左右,到堆肥结束时分别增加为 75.7%,

79.4% 和 83%.因此,可以认为接种微生物菌剂有利于减少堆肥的生物毒性,其中复合微生物菌剂 VT 的效果更加明显一些.

2.3 脱氢酶和纤维素酶变化

堆肥过程中脱氢酶活性(以 TPF 计)的变化趋势随着反应的进行先上升后下降(图 5).接种复合微生物菌剂 VT 的处理脱氢酶活性上升得最快,并且在堆肥进行到第 3 d 时就达到了峰值,直到堆肥进

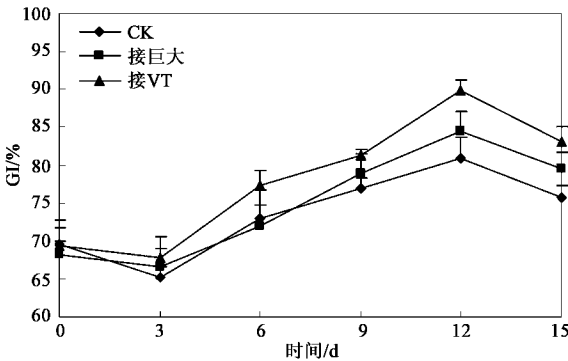


图 4 堆肥过程中发芽指数(GI)变化

Fig.4 Changes of germination index during composting

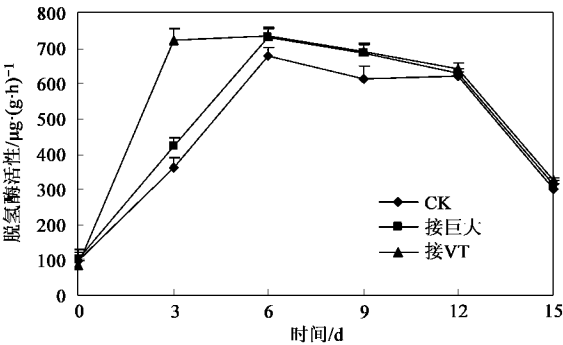


图 5 堆肥过程中脱氢酶活性变化

Fig.5 Changes of dehydrogenase activity during composting

行到第 12 d 以后,才迅速下降,接种单一微生物巨大芽孢杆菌的处理和 CK 在堆肥进行到第 6 d,脱氢酶的活性也能达到峰值,第 12d 以后,迅速下降.在高温期(6~12 d),脱氢酶的活性分别是:接复合微生物 VT 处理>接巨大芽孢杆菌处理>CK,且接微生物接种剂的 2 处理脱氢酶的活性显著高于 CK($p<0.05$),但这 2 处理间没有显著差异.

堆肥过程中纤维素酶活性(以葡萄糖计)变化趋势基本上也是先上升后下降,各个处理都在堆肥进行到第 9d 时,纤维素酶的活性达到峰值(图 6).接种复合微生物菌剂 VT 处理的纤维素酶活性增加和下降都较其它 2 个处理快,特别是堆肥结束后纤维素酶的活性的顺序是:接复合微生物接种剂 VT<接单一微生物接种剂巨大芽孢杆菌<CK,且三者之间都达到显著差异性($p<0.05$).说明添加复合微生物有利于堆肥过程中纤维素的分解.

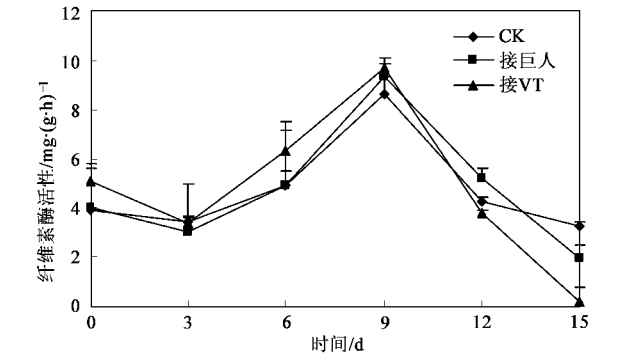


图 6 堆肥过程中纤维素酶活性变化

Fig.6 Changes of cellulase activity during composting

3 讨论

温度是堆肥过程中重要指标之一,是堆肥过程中生物能量积累的重要标志.本研究表明,接种微生物菌剂以后,对堆肥过程的温度的上升和持续高温的时间都有利,这一点和其他人的研究结果一致.温度和氧气浓度呈极显著负相关关系($p<0.01$),接种微生物菌剂以后,由于微生物的增殖和呼吸作用,在相同的通气量条件下,氧气浓度降低,因此这可以解释接种微生物菌剂以后有利于堆肥堆体的温度累积的原因.

本研究以 C/N 下降程度、WSC 和 GI 值作为判断堆肥进程的指标,通常会以 C/N 降为 15~20:1^[17]和(终点 C/N):(初始 C/N)值小于 0.5~0.6 之间^[18]时认为堆肥达到腐熟.水溶性碳是评价堆肥腐熟进程的另一个重要指标,堆肥过程中,水溶性碳含量

高,可能证明这个时期的堆肥反应快、有机物料分解迅速,腐熟后堆肥水溶性碳含量不超过 2.2 g·kg⁻¹.发芽指数(GI)的测定方法由 Zucchini 等^[19]提出以后就一直被认为是一种直接和有效的生物学测定堆肥毒性的方法,并且认为 GI>80%堆肥已消除植物毒性.按照上述指标判断,接种微生物菌剂有利于堆肥的腐熟进程的加快,复合微生物菌剂 VT 较单一微生物接种剂巨大芽孢杆菌在这一点的效果明显.

酶是微生物活动的产物,反映出微生物或者特异性微生物的活性和作用.堆肥的反应过程是一个复杂氧化还原反应过程,脱氢酶的活性涉及到微生物的呼吸链,一定程度上可以反映出微生物的活性^[20], Barrena 等^[21]认为可以用脱氢酶的活性描述微生物的活性状态,并且进一步指出脱氢酶的活性与静态呼吸系数(SRI)呈正相关关系,这一点与本研究脱氢酶活性与氧气浓度成极显著负相关($p<0.01$)、与温度成极显著正相关($p<0.01$)的结果一致.另外,堆肥过程也是一个包括纤维素在内的物质降解的过程,研究纤维素酶的活性可以在一定程度上反映出如纤维素一类物质的降解程度与快慢.本研究表明,接种微生物菌剂有利于脱氢酶和纤维素酶的快速累积和迅速下降,进一步说明了,接种微生物菌剂有利于堆肥氧化还原反应进行和纤维素类物质的降解.

4 结论

(1)接种复合微生物菌剂 VT 的处理在堆肥保持高温效果明显;接种微生物菌剂的 2 个处理的堆体内氧气浓度较 CK 低,其中最低的为接种复合微生物菌剂 VT 的处理.

(2)接种微生物菌剂,C/N 下降速度快,WSC 浓度相对高,GI 值上升速度明显加快,有利于加快堆肥腐熟进程,其中接种复合微生物菌剂 VT 的效果较单一微生物菌剂巨大芽孢杆菌好.

(3)接种微生物菌剂有利于堆肥过程中,特别是升温期脱氢酶活性增加,促进堆肥的氧化还原反应,且接种复合微生物 VT 的效果明显;接种微生物菌剂有利于堆肥过程中纤维素酶活性的快速积累和迅速下降,促进堆肥过程中纤维素的分解,且接种复合微生物 VT 的效果明显.

参考文献:

[1] 中国农业年鉴编委会.中国农业年鉴[M].北京:中国农业出版社,2006.

- [2] 张维理,武淑霞,冀宏杰,等.中国农业面源污染形势估计及控制对策 I. 21 世纪初期中国农业面源污染的形势估计[J]. 中国农业科学, 2004, **37**(7): 1008-1017.
- [3] Haug R T. The practical handbook of compost engineering[M]. Lewis Boca Raton, 1993.
- [4] Fang M, Wong M H, Wong J W C. Digestion activity of thermophilic bacterial isolated from ash-amended sewage sludge compost [J]. Water, Air and Soil Pollution, 2001, **126**: 1-12.
- [5] Requena N, Azcon R, Baca M T. Chemical changes in humic substances from compost due to incubation with ligno-cellulolytic microorganisms and effects on lettuce growth [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1996, **45**: 857-863.
- [6] Singh A, Sharma S. Effect of microbial inocula on solid waste composting, vermicomposting and plant response [J]. Compost Science and Utilization, 2003, **11**(3): 190-199.
- [7] 冯明谦,刘德明.滚筒式高温堆肥中微生物种类数量的研究[J]. 中国环境科学, 1999, **19**(6): 490-492.
- [8] 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[J]. 环境科学, 2001, **22**(5): 122-125.
- [9] 徐智,毛昆明,汤利,等.榕风对西番莲果渣高温堆肥过程中氮变化的影响[J]. 云南农业大学学报, 2005, (6): 800-803.
- [10] 徐智,汤利,毛昆明,等.微生物菌剂福贝对西番莲果渣高温堆肥过程中氮变化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**(增刊): 621-624.
- [11] 徐智,汤利,李少明,等.两种微生物菌剂对西番莲果渣高温堆肥腐熟进程的影响[J]. 应用生态学报, 2007, **18**(6): 1270-1274.
- [12] 南京农业大学.土壤农化分析[M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [13] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业行业标准 (NY525-2002) 有机肥料[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [14] Ciavatta C, Gavi M, Vittori-Antisari L, *et al.* Characterization of humified compounds by extraction and fractionation on solid polyvinylpyrrolidone [J]. Journal of Chromatography, 1990, **509**(1): 141-146.
- [15] Alef K, Nannipieri P. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry [M]. London: Academic Press, 1995.
- [16] Li M, Peng X Y, Zhao Y C, *et al.* Microbial inoculum with leachate recirculated cultivation for the enhancement of OFMSW composting [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, **153**: 885-891.
- [17] Garcia C, Hernaandez T, Costa F, *et al.* Evaluation of the maturity of municipal waste compost using simple chemical parameters [J]. Commun Soil Sci Plant Anal, 1992, **23**(3): 1501-1512.
- [18] Morel T L, Colin F, Germon J C, *et al.* Methods for the evaluation of the maturity of municipal refuse compost[A]. In: composting of Agriculture and other wastes [C]. London & New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. 56-72.
- [19] Zucconi F, Pera A, Forte M, *et al.* Evaluating toxicity of immature compost [J]. Biocycle, 1981, **22**: 54-57.
- [20] Ros M, Garcuá C, Hernández T. A full scale study of treatment of pig slurry by composting: kinetic changes in chemical and microbial properties [J]. Waste Management, 2006, **26**: 1108-1118.
- [21] Barrena R, Vázquez F, Sánchez A. Dehydrogenase activity as a method for monitoring the composting process [J]. Bioresource Technology, 2008, **99**: 905-908.