



文章栏目: 环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.201902121

中图分类号 X705

文献标识码 A

顾娟, 齐希光, 李秀芬, 等. 固态微生物菌剂的制备及其在好氧堆肥中的应用[J]. 环境工程学报, 2020, 14(1): 253-261.

GU Juan, QI Xiguang, LI Xiufen, et al. Preparation of solid microbial inoculants and its application in aerobic composting[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(1): 253-261.

固态微生物菌剂的制备及其在好氧堆肥中的应用

顾娟^{1,2}, 齐希光³, 李秀芬^{1,2,4,*}, 任月萍^{1,2}, 王新华^{1,2}

1. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122

2. 江苏省厌氧生物技术重点实验室, 无锡 214122

3. 江南大学食品学院, 无锡 214122

4. 江苏省水处理技术与材料协同创新中心, 苏州 215009

第一作者: 顾娟(1994—), 女, 硕士研究生。研究方向: 固体废物资源化。E-mail: 1447146179@qq.com

*通信作者: 李秀芬(1968—), 女, 博士, 教授。研究方向: 环境生物技术。E-mail: xfli@jiangnan.edu.cn

摘要 与液态微生物菌剂相比, 固态菌剂的保藏时间长, 菌种不易退化失活, 且便于存储及运输, 对降低菌剂运输及使用成本具有重要意义。在优化固态微生物菌剂制备关键影响因素的基础上, 通过 3 因素 3 水平正交实验获得了最佳制备方法, 即以腐熟物料作为载体, 投加 4% 的海藻糖, 含水率为 15%。将所得固态微生物菌剂保存一定时间后, 以食品厂污水处理剩余污泥和玉米秸秆的混合物为堆肥原料进行好氧堆肥, 发现不同保存时间的固态微生物菌剂的堆肥效果相近, 均可使堆体在 18 h 左右进入 55 °C 以上的高温期, 高温持续时间长, 所得堆肥产品的理化性质也相差不大, 且均符合我国生物有机肥标准(NY 884-2012)中的相关要求, 所得固态菌剂的制备方法具有重要的实际价值。

关键词 污泥; 好氧堆肥; 固态菌剂; 保存

目前, 我国每年大约产生 3.0×10^7 t 城市污泥^[1], 且随着中国污水处理厂的升级和扩建, 城市污泥产量每年以 13% 的速率递增^[2]。大量城市污泥的处理与处置是我国目前亟待解决的环境问题。食品处理厂剩余污泥中有机物含量高, 营养丰富, 大多为蛋白质、多糖、脂肪等^[3], 不含有毒有害物质。目前, 我国食品污泥处理的方法主要有厌氧消化、好氧发酵、焚烧、卫生填埋、土地利用等。同时, 我国农作物秸秆近 20 种, 年产量约 7.0×10^8 t, 约占世界秸秆总量的 25%。随着社会经济迅速发展和人口的增加, 农作物秸秆总量将以每年 5%~10% 的速度递增^[4]。然而, 目前农村地区的秸秆利用率还很低, 存在秸秆焚烧、随意丢弃等现象^[5]。好氧堆肥方法成本低、无害化程度高、处理量大、处理后的产品可作为有机肥, 在农业生产上具有广阔的应用前景。利用食品厂污水处理剩余污泥与农作物秸秆进行混合好氧堆肥, 既解决了剩余污泥与农作物秸秆问题, 又可得到生物有机肥^[6], 适用于农业大田生产、果树种植及园林绿化, 对减轻长期施用化肥造成的农田环境污染、增加土壤肥力^[7-8]、提高农产品品质及增加农业收入, 具有良好的经济、环境和社会效益。

在堆肥初期, 由于堆体中土著微生物数量较少, 微生物活性较低, 存在着发酵周期长、堆肥效率慢等缺点。复合微生物菌剂因微生物间的协同作用, 可有效调节堆肥原料中的菌群结构, 加

收稿日期: 2019-02-27; 录用日期: 2019-04-16

基金项目: 国家重点研发计划课题(2016YFC0400707); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX18_1848)

快堆肥速率, 缩短堆肥周期, 促进堆体腐熟^[9]。目前, 我国已在堆肥微生物菌剂的研究方面取得了一定进展。ZHAO等^[10]从堆肥中筛出4株嗜热放线菌, 制成一种微生物菌剂, 能够提高堆体腐熟程度, 缩短了堆肥周期。XI等^[11]在堆肥过程中投加了一种复合微生物菌剂, 增加堆肥过程中优势菌的多样性, 提高堆肥效率。ZHOU等^[12]在堆肥过程中接种了一种由放线菌、哈茨木霉、米曲霉等组成的复合微生物菌剂, 缩短了堆肥周期, 提高了木质纤维的降解效率。

与液态微生物菌剂相比, 固态菌剂中的微生物更易存活, 保存时间长, 保存成本低, 运输方便, 更适用于大规模的生产与应用。针对食品厂剩余污泥与秸秆的组成, 本研究筛选出5株优势芽孢杆菌, 研制出一种固态微生物菌剂。本研究首先以活菌数和芽孢率为评价依据, 优化固态微生物菌剂制备过程中的关键影响因素, 在此基础上, 通过正交实验获得最佳固态微生物菌剂的制备方法, 通过比较不同保存时间固态微生物菌剂的实际堆肥效果, 研究固态微生物菌剂的稳定性, 为其工业化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用脱水污泥为某食品厂污水处理剩余污泥, 玉米秸秆购自河南郑州。营养肉汤培养基购自青岛海博生物技术有限公司。

堆肥反应器为聚丙烯塑料箱(560 mm×360 mm×325 mm), 总容积为65 L, 曝气泵底部间歇供气, 每12 h曝气1次, 曝气1 h, 曝气量为0.3 L·(L·min)⁻¹, 并通过距离箱底高约10 cm的多孔筛板实现均匀供气。当堆体温度高于55 ℃时, 每天翻堆1次。

1.2 实验方法

1) 菌株来源。本研究用于制备固态微生物菌剂的菌株为实验室已有5株芽孢杆菌, 编号分别为ZX5、ZX6、GX2、GX5和GX9, 其获得方法如下: 以食品厂污水处理剩余污泥为堆肥原料、市售玉米秸秆为辅料, 二者的添加比例分别为60%和40%, 再加入5%江苏省无锡市某区含落叶的表层土壤; 所得混合物料共计30 kg, 混合物的含水率为60%±5%, 碳氮比(C/N比)为25±5, 混合均匀后, 装入堆肥反应器中, 持续曝气, 定期翻堆, 进行好氧堆肥; 当堆体温度维持35 ℃和55 ℃达7 d左右时, 分别从堆体中心和四周取5个等量堆肥样品, 混匀后, 依次进行微生物的初筛、复筛及分离纯化, 进而获得上述菌株。将5株芽孢杆菌分别接种至高温灭菌后的营养肉汤培养基中, 接种量为1.0×10⁷ CFU·mL⁻¹。ZX5和ZX6的培养温度为35 ℃, 培养1~2 d; GX2、GX5和GX9的培养温度为50 ℃, 培养1~2 d。将获得的不同菌株的发酵液按1:7:617:295:443的比例混合, 制成复合微生物菌液, 备用。

2) 固态微生物菌剂的影响因素研究。①载体筛选。分别选择秸秆、炭化秸秆、腐熟物料、褐煤作为载体, 将其研磨, 过30目筛网, 121 ℃灭菌30 min, 然后放在105 ℃烘箱中烘干备用。将复合微生物菌液与载体按照5:1的比例混匀, 放在35 ℃烘箱中烘干。将制备好的微生物菌剂室温下密封干燥保藏30 d后, 测定菌剂中活菌数及芽孢率。②海藻糖浓度。以腐熟物料作为载体, 将其研磨, 过30目筛网, 121 ℃灭菌30 min, 然后放在105 ℃烘箱中烘干备用。在复合微生物菌液中投加0%、4%、8%、12%、16%和20%的海藻糖, 混匀后, 再与载体按照5:1的比例混匀, 放在35 ℃烘箱中烘干。将制备好的微生物菌剂室温下密封干燥保藏30 d后, 测定菌剂中活菌数及芽孢率。③含水率。以腐熟物料作为载体, 将其研磨, 过30目筛网, 121 ℃灭菌30 min, 然后放在105 ℃烘箱中烘干备用。将复合微生物菌液与载体按照5:1的比例混匀, 放在35 ℃烘箱中烘至含水率为15%、20%、25%、30%、35%和40%。将制备好的微生物菌剂室温下密封干燥保藏30 d后, 测定菌剂中活菌数及芽孢率。

3) 固态微生物菌剂影响因素的正交实验。根据单因素实验的结果, 进行 3 因素 3 水平正交实验(见表 1), 将制备好的微生物菌剂室温下密封干燥保藏 30 d 后, 测定菌剂中活菌数及芽孢率。研究载体种类、海藻糖浓度及含水率对菌剂保存效果的影响, 进而获得最佳菌剂制备条件。

4) 所得固态微生物菌剂的堆肥效果。

以食品厂污水处理剩余污泥为堆肥原料, 市售玉米秸秆为辅料(二者质量之比为 6:4), 获得用于好氧堆肥的混合物料, 其组成如下: 有机质含量为 87.29%、凯氏氮含量为 19.24 mg·g⁻¹、C/N 比为 26.32、pH 为 6.35、含水率为 67.24%、粪大肠菌群数为 2.0×10³ MPN·g⁻¹、蛔虫死亡率为 45.14%、种子发芽指数 44.79%、半纤维素、纤维素和木质素含量分别为 238.1、318.2 和 59.4 mg·g⁻¹。将 15 kg 物料装入堆肥箱中进行好氧堆肥, 具体操作同菌株来源, 共 4 个堆肥箱, 其中, 对照实验不添加任何菌剂, 记为 CK, 添加新鲜固态复合微生物菌剂的实验记为 ZJ, 添加室温下保存 30 d 菌剂的实验记为 ZJ-30, 添加室温下保存 60 d 菌剂的实验记为 ZJ-60, 研究所得固态微生物菌剂保存时间对堆肥效果的影响。微生物菌剂直接添加在堆肥原料中, 菌剂添加量均为堆体湿重的 0.3%, 整个堆肥过程持续 10 d。

1.3 分析测试项目与方法

菌剂中有效活菌数采用平板计数法^[13]测定。芽孢率的测定: 将菌液在 70 °C 下加热 10 min, 再利用平板计数法检测菌剂中的芽孢数, 其芽孢率^[14]计算见式(1)。

$$w = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中: w 为芽孢率; m_0 为灭菌前菌落数, CFU·g⁻¹; m_1 为加热后菌落数, CFU·g⁻¹。

粪大肠菌群数和蛔虫死亡率均按照生物有机肥标准(NY 884-2012)中的方法测定。种子发芽指数(GI)测定方法: 堆肥样品按水:物料=10:1 浸提, 160 r·min⁻¹ 振荡 1 h 后过滤, 吸取 5 mL 滤液于铺有滤纸的培养皿中, 滤纸上放置 10 颗籽粒饱满、均匀一致的种子, 25 °C 下培养 72 h 后, 测定种子的根长, 同时用去离子水做空白对照, 种子发芽指数计算方法^[15]见式(2)。

$$R_{GI} = \frac{q_1 l_1}{q_0 l_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: R_{GI} 为种子发芽指数; q_0 为去离子水处理的种子发芽率; q_1 为堆肥浸提液处理的种子发芽率; l_0 为去离子水处理的种子根长, cm; l_1 为堆肥浸提液处理的种子根长, cm。

有机质含量采用重铬酸钾氧化法(NY 525-2012)测定。有机碳含量=有机质含量/1.724(氧化系数)^[16]。凯氏氮(TKN)采用凯氏定氮法^[17]测定。C/N 比为有机碳含量/凯氏氮含量^[18]。pH 的测定是将样品与水按 1:10 的比例混合, 浸提 1 h 后, 采用 pH 计法^[19]测定。含水率采用烘箱干燥法^[20]测定。

半纤维素、纤维素、木质素的测定: 采用 ANKOM A2000i 型全自动纤维分析仪测定堆体中半纤维素、纤维素和木质素的含量^[21]。

堆体温度每隔 12 h 测定 1 次, 在堆体的中央和四周均匀测温 5 次, 取平均值^[17]。

2 结果分析

2.1 固态微生物菌剂的制备技术

活菌数是衡量菌剂质量的有效指标^[22]。芽孢杆菌是一种革兰氏阳性菌, 在其生长的一定阶段内, 会在营养细胞内形成一个圆形、卵圆形或圆柱形的休眠体, 即为芽孢^[23]。芽孢能适应不良环

表 1 正交实验设计

水平	因素		
	(A)载体	(B)海藻糖浓度/%	(C)含水率/%
1	炭化秸秆	0	15
2	秸秆	4	20
3	腐熟物料	8	25

境,对高温、紫外线、干燥、电离辐射和很多有毒的化学物质都有很强的抵抗力^[24],而在条件适宜时又可转变为营养细胞,从事正常的代谢活动,因此,在测定活菌数的同时,可观察芽孢率的变化情况^[25]。

1) 载体类型对活菌数及芽孢率的影响。由图1可知,4种载体对菌剂活菌数及芽孢率的影响顺序依次为腐熟物料>秸秆>炭化秸秆>褐煤,其中,以腐熟物料作为载体的菌剂活菌数和芽孢率最高,以秸秆为载体的菌剂次之。以腐熟物料、秸秆和炭化秸秆为载体的菌剂保藏30d后,活菌数均较高,均为 5.0×10^9 CFU·g⁻¹以上,芽孢率则分别为87.3%、76.4%和72.1%。以褐煤为载体的菌剂保藏30d后,活菌数仅为 1.0×10^9 CFU·g⁻¹,芽孢率仅为37.5%,不利于长期保藏。因此,选择腐熟物料、秸秆和炭化秸秆作为正交实验时的3个水平。由于腐熟物料更易得,以下研究均以腐熟物料为固态微生物菌剂的载体。

2) 海藻糖浓度对活菌数及芽孢率的影响。研究表明,在高温、冷冻、干燥等恶劣条件下,海藻糖能够在细胞表面形成独特的保护膜,有效保护生物分子不被破坏,提高微生物菌剂的存活率,延长微生物菌剂的储存期^[26]。由图2可知,随着海藻糖浓度的提高,菌剂中芽孢率呈现先上升后下降的趋势,而活菌数含量却呈现先下降后上升的趋势。海藻糖也是生物体储备的碳源^[27],可以被微生物所利用。海藻糖浓度过高时,微生物可利用的碳源增多,芽孢就会萌发,转化为营养细胞而过早失活,降低菌剂的使用效果。因此,当海藻糖投加量为12%~20%时,菌剂中芽孢率较低。当海藻糖投加量为0%~8%时,菌剂中芽孢率较高,且此时菌剂中活菌数也较高,均为 5.0×10^9 CFU·g⁻¹以上。故选用0%、4%、8%作为正交实验中3个水平。

3) 含水率对活菌数及芽孢率的影响。固态菌剂的含水率会显著影响菌剂的保存效果,含水率越高,越不利于菌剂的长期保藏^[28]。菌剂中含水率越高,越促进芽孢的萌发,使其转化为营养细胞,不利于长期保存。此外,菌剂中含水率越高,越易在保存过程中发霉,滋生大量杂菌^[29]。由图3可知,随着固态菌剂最终含水率的提高,菌剂中芽孢率在不断降低。含水率为15%~25%时,菌剂中芽孢率较高,高于80%;活菌数高于 5.0×10^9 CFU·g⁻¹。当菌剂的含水率为30%~

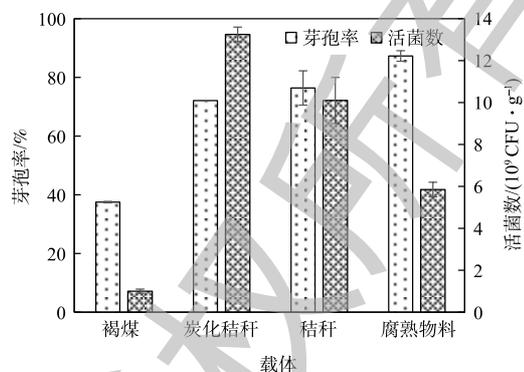


图1 不同载体的微生物菌剂中活菌数及芽孢率
Fig. 1 Viable counts and sporulation rates of microbial inoculants in different carriers

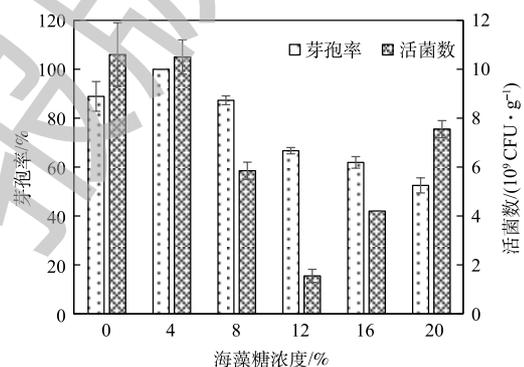


图2 不同海藻糖浓度的微生物菌剂中活菌数及芽孢率
Fig. 2 Viable counts and sporulation rates of microbial inoculants with different trehalose concentrations

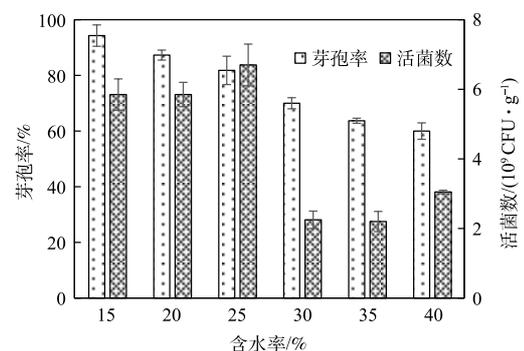


图3 不同含水率的微生物菌剂中活菌数及芽孢率
Fig. 3 Viable counts and sporulation rates of microbial inoculants with different water contents

40% 时，菌剂中芽孢率较低，均在 70% 以下，活菌数也较低，不利于菌剂的长期保存。这可能是由于菌剂中水分适宜，会促进芽孢萌发，使其转换为营养细胞，降低了菌剂中的芽孢率；在长期保存过程中，营养细胞失活，降低了菌剂中活菌数。减少含水率，更有利于菌剂的长期保存^[30]。故选用 15%、20%、25% 作为正交实验中的 3 个水平。

4) 正交实验。在上述单因素实验的基础上，进行影响因素的正交实验(见表 2)。对正交实验结果进行分析，结果如表 3 所示。从活菌数来看，载体、海藻糖浓度和含水率对其影响程度分别为海藻糖浓度 (B)>含水率 (C)>载体 (A)，菌剂最佳配方为 B₂C₁A₃。从芽孢率来看，载体、海藻糖浓度和含水率对其影响程度分别为含水率 (C)>载体 (A)>海藻糖浓度 (B)，菌剂最佳配方为 C₁A₃B₂。综合考虑活菌数和芽孢率的变化情况，最佳菌剂配方为：以腐熟物料作为载体，投加 4% 的海藻糖，含水率为 15%。

对上述正交实验结果进行了方差分析，结果如表 4 所示。在置信区间 $\alpha=0.05$ 范围内，载体、海藻糖浓度和含水率对活菌数影响显著。在置信区间 $\alpha=0.05$ 范围内，含水率对芽孢率影响显著，而载体和海藻糖浓度对芽孢率影响不显著。因此，确定腐熟物料作为载体，投加 4% 的海藻糖，含水率为 15% 作为最佳菌剂配方。

2.2 固态微生物菌剂的堆肥效果

1) 堆体温度的变化。以空白为对照，分别将新鲜固态微生物菌剂、保藏 30 d 的菌剂以及保藏 60 d 的菌剂用于好氧堆肥，研究菌剂保存时间对堆肥效果的影响。随着保存时间的延长，4 个堆体中温度变化如图 4 所示。

结果表明，堆体 CK 在 60 h 左右进入 55 °C 以上的高温期，在 84 h 左右出现堆体最高温度，为 58 °C，55 °C 以上的高温持续时间为 40 h，50 °C 以上的持续时间为 70 h。堆体 ZJ 在 18 h 左右进入 55 °C 以上的高温期，在 60 h 左右出现堆体最高温度，为 64 °C，55 °C 以上的高温持续时间为 114 h，50 °C 以上的持续时间为 144 h。堆体 ZJ-30 在 18 h 左右进入 55 °C 以上的高温期，在 36 h 左右出现堆体最高温度，为 69 °C，55 °C 以上的高温持续时间为 129 h，50 °C 以上的持续时间为 147 h。堆体 ZJ-60 在 19 h 左右进入 55 °C 以上的高温期，在 48 h 左右出现堆体最高温度，为 66 °C，55 °C 以上的高温持续时间为 132 h，50 °C 以上的持续时间为 148 h。相比于堆体 CK，堆体 ZJ、堆体 ZJ-30、堆体 ZJ-60 分别提前了 42、42 和 41 h 进入高温阶段，高温持续时间分别延长了 74、89 和 92 h，50 °C 以上的持续时

表 2 正交实验结果

Table 2 Results of the orthogonal experiment

序号	因素			活菌数/ (10 ⁹ CFU·g ⁻¹)	芽孢率/%
	载体 (A)	海藻糖因 素浓度(B)	含水 率(C)		
1	1	1	1	2.42±0.06	100
2	1	2	2	3.75±0.21	93.4±1.48
3	1	3	3	2.64±0.09	43.2±0.21
4	2	1	3	3.00±0.28	91.6±1.27
5	2	2	1	3.50±0.14	64.3±0.14
6	2	3	2	4.05±0.35	95.0±0.42
7	3	1	2	2.40±0.06	63.5±1.13
8	3	2	3	4.40±0.14	100
9	3	3	1	3.85±0.26	100

表 3 正交实验数据分析

Table 3 Analysis of the orthogonal experiment

指标	因素	K ₁	K ₂	K ₃	R
活菌数	载体(A)	29.37	35.17	35.50	6.13
	海藻糖浓度(B)	26.07	38.83	35.13	12.76
	含水率(C)	36.23	35.33	28.47	7.76
芽孢率	载体(A)	78.87	83.63	87.83	8.96
	海藻糖浓度(B)	85.03	85.90	79.40	6.50
	含水率(C)	98.33	95.00	57.00	41.33

表 4 方差分析结果

Table 4 Variance analysis of the orthogonal experiment

指标	因素	偏差平方和	自由度	F值	F临界值	显著性
活菌数	载体(A)	71.37	2	22.66	19	有
	海藻糖浓度(B)	258.88	2	82.18	19	有
	含水率(C)	108.28	2	34.37	19	有
	误差	3.15	2			
芽孢率	载体(A)	120.76	2	0.83	19	
	海藻糖浓度(B)	74.74	2	0.51	19	
	含水率(C)	3 163.56	2	21.63	19	有
	误差	146.27	2			

间分别延长了74、77和78 h。比复合微生物菌剂PTCMA, 自制复合微生物菌剂能够提前7 d进入高温期, 且最高温度可提高2~7℃^[31]; 比复合菌剂F12, 能够延长高温持续时间, 其50℃以上的持续时间可延长2 d^[32]。

可见, 尽管固态菌剂的保存时间不同, 但均能在18~19 h左右促使堆体进入高温期, 随着菌剂保存时间的延长, 堆体的高温持续时间略有增加, 而50℃以上的持续时间变化不大。该固态菌剂的性能稳定, 保存一段时间后依旧能使堆体快速进入高温阶段, 且持续时间长, 可使堆体达到无害化要求。

2) 半纤维素、纤维素和木质素的降解率。如图5所示, 堆肥结束后, 堆体中半纤维素、纤维素和木质素含量均有所降低。半纤维素最易降解, 而木质素是一种高分子有机化合物, 结构非常复杂^[31], 较难降解, 因此, 堆体中半纤维素降解率最高, 木质素降解率最低。

由于添加自制复合微生物菌剂中含有芽孢杆菌, 在堆肥高温阶段具有良好的活性, 可有效促进木质素和纤维素的降解; 优化堆体的微生物生态, 可激活并促进木质纤维素降解菌的生长繁殖; 且投加菌剂的堆体中高温持续时间更长, 有助于促进堆体中半纤维素、纤维素和木质素的降解^[33-34]。因此, 与空白相比, 不同保藏时间的菌剂依旧能够有效促进堆体中半纤维素、纤维素和木质素的降解。随着菌剂保存时间的延长, 堆体中半纤维素降解率分别为56.93%、41.91%、49.10%; 纤维素降解率分别为29.03%、27.58%、31.45%; 木质素降解率分别为18.12%、12.64%、17.02%; 堆体中半纤维素、纤维素和木质素的降解率呈现先下降后上升的变化规律。

与复合微生物菌剂DN-1堆肥12 d后相比, 自制复合微生物菌剂提高了半纤维素和木质素的降解率, 半纤维素降解率分别提高了58.27%、16.51%、36.50%; 木质素降解率分别提高了87.97%、31.12%、76.56%^[35]。与复合微生物菌剂HJ相比, 自制复合微生物菌剂提高了堆体中半纤维素和纤维素降解率, 半纤维素降解率分别提高了244.61%、153.69%、197.22%, 纤维素降解率分别提高了28.51%、22.09%、39.22%^[36]。自制固态微生物菌剂具有较好的降解木质纤维素的能力。

3) 堆肥产品的品质。堆肥结束后, 测定了各堆体中有机质含量、TKN、C/N、pH、含水率、蛔虫死亡率、粪大肠菌群数和GI, 其结果如表5所示。

堆肥结束后, 堆体CK、堆体ZJ、堆体ZJ-30、堆体ZJ-60中有机质含量分别为66.30%、58.67%、58.19%、57.56%, 其降解率分别为24.05%、32.79%、33.34%、34.06%。投加菌剂的堆体中有机质降解率更高, 这是由于其高温持续时间更长, 嗜热菌活动剧烈, 使得更多有机物被降解。与放线菌菌剂^[33]相比, 自制复合微生物菌剂提高了有机质降解率, 降解率分别提高了20.55%、22.57%、25.22%。与堆肥初期(表2)相比, 4个堆体中TKN即全氮含量均呈现上升趋势, 添加自制复合微生物菌剂的3个堆体中全氮含量上升幅度更大。与勾云龙^[37]制备的复合微生物菌剂相比, 自制复合微生物菌剂中氮素含量分别提高了153.03%、255.93%、231.33%。表明自制复合微生物菌剂能够有效促进对氮素的吸收与利用, 有利于堆肥产品保氮, 提高堆肥产品的养分含量^[12]。

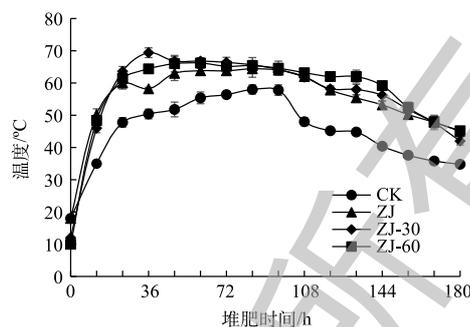


图4 4个堆体的温度变化

Fig. 4 Temperature changes of four piles

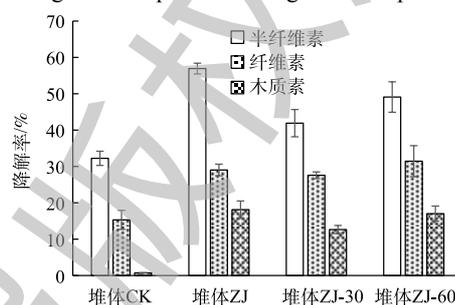


图5 4个堆体中半纤维素、纤维素、木质素的降解率

Fig. 5 Degradation rates of hemicellulose, cellulose and lignin in four piles

表 5 4 个堆体的堆肥产品品质
Table 5 Quality of composting products of four piles

名称	有机质含量/%	凯氏氮/(mg·g ⁻¹)	C/N	pH	含水率/%	蛔虫死亡率/%	粪大肠菌群数/(MPN·g ⁻¹)	种子发芽指数/%
CK	66.30±3.38	25.53±0.06	15.06±0.04	7.95±0.18	58.43±1.56	84.36±0.68	200±10	59.72±1.02
ZJ	58.67±1.17	28.64±0.15	11.89±0.04	8.07±0.06	52.97±0.66	95.98±1.07	4	85.89±0.75
ZJ-30	58.19±0.23	32.47±0.04	10.40±0.01	8.12±0.04	54.84±0.31	96.82±0.79	9	91.73±1.82
ZJ-60	57.56±0.94	31.55±0.16	10.59±0.04	8.12±0.11	58.28±1.32	96.54±0.65	4	89.38±0.71

采用不同保存时间的固态微生物菌剂进行好氧堆肥，所得堆肥产品的理化性质包括有机质及TKN的含量等均相差不大；蛔虫死亡率均大于95%，粪大肠菌群数均低于100 MPN·g⁻¹，满足我国生物有机肥标准(NY 884-2012)中的生物学指标要求。同时，C/N比低于20，种子发芽指数均高于85%，完全腐熟。与常温微生物菌剂(36 d时C/N比低于20，30 d时GI高于50%)^[19]相比，自制复合微生物菌剂能够缩短堆肥周期，提高堆体腐熟度。然而，由于高温持续时间不足，对照堆肥产品的卫生状况未能达到上述标准，且种子发芽指数较低。

3 结论

1) 固态微生物菌剂的最佳制备条件为以腐熟物料作为载体，投加4%的海藻糖，含水率为15%。

2) 随保存时间的延长，固态微生物菌剂的性能稳定，均能在18~19 h左右促使堆体进入高温期，并有效促进堆体中半纤维素、纤维素和木质素的降解，所得堆肥产品的理化性质相差不大，各项指标均符合我国生物有机肥标准(NY 884-2012)中的相关要求，且种子发芽指数均高于85%，完全腐熟。

3) 所得固态微生物菌剂的制备方法有助于菌剂的大规模生产与应用，具有较为重要的实践价值。

参 考 文 献

- [1] AWASTHI M K, WANG Q, HUANG H, et al. Influence of zeolite and lime as additives on greenhouse gas emissions and maturity evolution during sewage sludge composting[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 216: 172-181.
- [2] WANG K, WU Y Q, LI W G, et al. Insight into effects of mature compost recycling on N₂O emission and denitrification genes in sludge composting[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 251: 320-326.
- [3] 焦晓霞. 预处理后剩余污泥高效制氢效能研究[D]. 吉林: 吉林建筑大学, 2014.
- [4] 王明友, 宋卫东, 王教领, 等. 基于食用菌生产的农业废弃物基质化利用研究进展[J]. *山东农业科学*, 2017, 49(1): 160-164.
- [5] 马秋颖. 东北地区玉米秸秆主要利用方式成本效益分析研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [6] YU H Y, XIE B T, KHAN R, et al. The changes in carbon, nitrogen components and humic substances during organic-inorganic aerobic co-composting[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 271: 228-235.
- [7] MENG X Y, LIU B, XI C, et al. Effect of pig manure on the chemical composition and microbial diversity during co-composting with spent mushroom substrate and rice husks[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 251: 22-30.
- [8] WANG X K, ZHENG G D, CHEN T B, et al. Effect of phosphate amendments on improving the fertilizer efficiency and reducing the mobility of heavy metals during sewage sludge composting[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 235:

124-132.

- [9] SUN Q H, WU D, ZHANG Z C, et al. Effect of cold-adapted microbial agent inoculation on enzyme activities during composting start-up at low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 244(1): 635-640.
- [10] ZHAO Y, ZHAO Y, ZHANG Z C, et al. Effect of thermo-tolerant actinomycetes inoculation on cellulose degradation and the formation of humic substances during composting[J]. *Waste Management*, 2017, 68: 64-73.
- [11] XI B D, HE X S, DANG Q L, et al. Effect of multi-stage inoculation on the bacterial and fungal community structure during organic municipal solid wastes composting[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 399-405.
- [12] ZHOU C, LIU Z, HUANG Z L, et al. A new strategy for co-composting dairy manure with rice straw: Addition of different inocula at three stages of composting[J]. *Waste Management*, 2015, 40: 38-43.
- [13] HUO Z H, ZHANG N, XU Z H, et al. Optimization of survival and spore formation of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 during bioorganic fertilizer storage[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 108: 190-195.
- [14] 王银环, 钱凌, 董芳华, 等. 流式细胞术和平板计数法用于地衣芽孢杆菌活菌制剂检测的比较研究[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(3): 352-356.
- [15] WANG X Q, CUI H Y, SHJ J H, et al. Relationship between bacterial diversity and environmental parameters during composting of different raw materials[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 198: 395-402.
- [16] 黄翠. 堆肥嗜热纤维分解菌的筛选鉴定及其强化堆肥研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2010.
- [17] 李天枢. 畜粪堆肥高效复合微生物菌剂的研制与应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [18] ZHANG L, SUN X Y. Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 171(1): 274-284.
- [19] 高云航, 勾长龙, 王雨琼, 等. 低温复合菌剂对牛粪堆肥发酵影响的研究[J]. *环境科学学报*, 2014, 34(12): 3166-3170.
- [20] 袁京, 何胜洲, 李国学, 等. 添加不同辅料对污泥堆肥腐熟度及气体排放的影响[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(s2): 241-246.
- [21] 徐速, 曾凡锁, 赵兴堂, 等. 不同种源水曲柳木材主要化学成分含量变异分析[J]. *西北林学院学报*, 2016, 31(2): 234-238.
- [22] 王毕英, 王洪丽, 刘彦民. 微生态制剂活菌数方法研究进展[J]. *农产品加工*, 2018(12): 77-79.
- [23] 诸葛建, 李华钟. *微生物学*[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2009.
- [24] 王继雯, 刘莹莹, 陈国参, 等. 巨大芽孢杆菌C2产芽孢培养条件的优化[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(36): 155-160.
- [25] 王玉丽. 腐熟用枯草芽孢杆菌菌剂的研制[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2015.
- [26] 王芳, 康超, 林静, 等. 海藻糖对乳酸杆菌耐热和室温贮存保护作用的研究[J]. *中国饲料*, 2017(10): 17-19.
- [27] 王宁. 海藻糖合酶的作用和特点[J]. *河南化工*, 2010, 27(4): 95-96.
- [28] 谢贻天. 干酪乳杆菌固态发酵及干燥工艺研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [29] 张志红, 李华兴, 冯宏, 等. 堆肥作为微生物菌剂载体的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(7): 1382-1387.
- [30] 刘冬华, 伍善东, 肖蕾, 等. 菌糠用作菌剂吸附剂的初步探索[J]. *中国食用菌*, 2017, 36(2): 30-32.

- [31] GOU C L, WANG Y Q, ZHANG X Q, et al. Inoculation with a psychrotrophic-thermophilic complex microbial agent accelerates onset and promotes maturity of dairy manure-rice straw composting under cold climate conditions[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 243: 339.
- [32] 吴海露. 复合微生物菌剂研制及在污泥堆肥中的应用[D]. 郑州: 河南工业大学, 2013.
- [33] WEI Y Q, WU D, WEI D, et al. Improved lignocellulose-degrading performance during straw composting from diverse sources with actinomycetes inoculation by regulating the key enzyme activities[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 271: 66-74.
- [34] VARMA V S, NASHINE S, SASTRI C V, et al. Influence of carbide sludge on microbial diversity and degradation of lignocellulose during in-vessel composting of agricultural waste[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 101: 155-161.
- [35] 刘月. 功能菌剂对堆肥中木质纤维素降解及微生物多样性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [36] 诸葛诚祥. 菌糠高效降解菌剂的研发及其在堆肥中的应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [37] 勾长龙. 低温纤维素降解菌的筛选及其复合菌系在牛粪堆肥中的应用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.
(本文编辑: 郑晓梅, 张利田)

Preparation of solid microbial inoculants and its application in aerobic composting

GU Juan^{1,2}, QI Xiguang³, LI Xiufen^{1,2,4,*}, REN Yueping^{1,2}, WANG Xinhua^{1,2}

1. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Anaerobic Biotechnology, Wuxi 214122, China

3. School of Food, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

4. Jiangsu Cooperative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment, Suzhou 215009, China

*Corresponding author, E-mail: xfli@jiangnan.edu.cn

Abstract Compared to liquid microbial inoculants, the solid microbial inoculants have longer preservation time and more active strains, which was of great significance for reducing the costs of transportation and usage. The three-factor and three-level orthogonal experiments were conducted to optimize the key impact factors for the preparation of solid microbial inoculants, and the corresponding optimal preparation method was determined as follows: the decomposed material was used as a carrier, and 4% trehalose was added with water content of 15%. After preserved for a period, the solid microbial agents were then added to a mixture of corn straw and waste activated sludge (WAS) from food factory for aerobic composting. Similar composting results were obtained by using these solid microbial inoculants with different storage time. All the piles reached high temperature period of 55 °C within around 18 h, and the thermophilic phases (>55 °C) were extended for a long time. In addition, the physicochemical properties of the obtained composting products were similar, which could meet the requirements of Chinese bio-organic fertilizer standards (NY 884-2012). Therefore, the obtained preparation method for solid microbial inoculants has significant values in practical applications.

Keywords sludge; aerobic composting; solid microbial inoculants; preservation