

氮源对复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆性能的影响^①

李梦祝, 潘云霞

西南大学 工程技术学院, 重庆 400715

摘要: 利用复合菌系降解稻秆生产生物基产品是生物质资源化利用的重要方式. 在这一过程中, 氮源是影响微生物增殖和降解效率的重要因素. 研究利用中温复合菌系 XCP-1(筛选于新疆多年连作棉田土壤)降解氨化稻秆, 分析有机氮源对复合菌系 XCP-1 发酵过程中微生物增殖, $\text{NH}_3\text{-N}$ 与 pH 动态变化, 氮源利用效率以及稻秆降解效率的影响. 结果表明, 添加豆粕和玉米酒糟能促进复合菌系 XCP-1 的增殖和稻秆降解率的提高. 复合菌系 XCP-1 对豆粕中氮的利用率高于玉米酒糟, 总氮利用率达到 78.1%; 对氨化稻秆的降解率也高于添加玉米酒糟, 总降解率达到 68.3%, 纤维素、半纤维素和木质素降解率分别达到 78.4%, 85.6% 和 14.3%. 所添加氮源(豆粕和玉米酒糟)对发酵过程中的 pH 值影响较小, pH 值始终维持在 5.0~9.5 之间. 以廉价豆粕或玉米酒糟代替蛋白胨作为稻秆生物降解的工业氮源, 降低了稻秆生物转化的成本, 这为稻秆转化为生物基产品的工业化应用提供了理论基础.

关键词: 复合菌系 XCP-1, 氨化稻秆, 氮源, 生物降解性能

中图分类号: X712

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)08-0016-06

我国秸秆资源丰富, 年产量在 7 亿 t 以上. 近年来, 随着农业产业结构调整以及农村经济发展和农民生活方式的转变, 秸秆的利用方式正在发生重大转变. 作为传统生活燃料的秸秆正在被天然气、煤炭以及电力等能源取代, 秸秆逐步变成了农业废弃物, 就地焚烧现象日趋严重. 每年作物收获季节, 因大量秸秆焚烧所产生的浓烟不仅导致空气质量下降, 甚至影响交通安全. 同时, 秸秆焚烧也对土壤生态和土壤结构造成破坏, 降低土壤肥力. 秸秆是重要的生物质资源, 如能将其能源化利用, 对解决当前所面临的能源紧张和环境污染问题无疑具有重要作用.

目前, 以秸秆为原料, 利用复合菌系生产生物饲料和生物肥料在规模化生产中已得到充分肯定^[1-4], 在实验室利用复合菌系降解秸秆也取得了较好的效果^[5-8]. 利用秸秆进行生物转化, 通过糖平台生产生物基产品显示了良好的应用前景. 复合菌系是由多种微生物组成的复杂生态系统, 适宜的碳氮比对提高微生物繁殖速度和维持较高活性具有重要作用. 以秸秆为底物的微生物发酵, 碳氮比过高(稻秆的碳氮比 70.5:1), 不利于微生物的繁殖, 这制约着秸秆的生物转化效率. 在实验室研究中, 通常以蛋白胨作为有机氮源, 提高复合菌系对秸秆的降解效率. 但蛋白胨成本较高, 不利于将其应用于大规模生产中. 农

① 收稿日期: 2015-05-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(51306155); 中央高校基本业务费专项资金资助(XDJK2016E051).

作者简介: 李梦祝(1992-), 男, 湖南常德人, 硕士研究生, 主要从事可再生能源的开发及利用的研究.

通信作者: 潘云霞, 副教授, 博士.

村沼气池通过添加碳铵或尿素来补充氮源,但沼气微生物对无机氮源的利用效率不高.而且,如果氮源不合适,复合菌系各种微生物间的内在平衡机制可能被打破,复合菌系自身的稳定性及其降解秸秆的效率都会受到影响.因此,筛选适宜的廉价工业氮源,对实现低功耗下,有效控制微生物生长,提高复合菌系降解秸秆效率具有重要价值.

氨化预处理不仅可以有效破坏秸秆的致密结构,还可以改善秸秆的碳氮比(氨化秸秆的碳氮比 33.5 : 1),有助于提高秸秆的生物降解性能.本研究以氨化秸秆为碳源,通过添加有机氮源(豆粕或玉米酒糟),分析中温复合菌系 XCP-1 降解氨化秸秆的发酵特性,以获得廉价有机氮源,降低秸秆生物转化为生物基产品的成本.

1 材料与方法

1.1 实验材料

氨化秸秆:将自然条件下风干的秸秆切断至 3~ 5 cm,放入高压反应釜,注入液氨,在 0.5 MPa 下保持 1 h,待余氨挥发后再烘干至恒质量.氨化后的秸秆成分见表 1.

菌株:试验菌株是由新疆多年连作的棉田土壤中自行筛选和培养的一组对秸秆有良好降解效果的中温复合菌系 XCP-1.

扩繁培养基:5.0 g/L NaCl, 3.0 g/L CaCO₃, 1.0 g/L 酵母粉, 10.0 g/L 的氨化秸秆, 5.0 g/L 有机氮源(A:玉米酒糟, B:豆粕, C:不加任何氮源做对照).

表 1 秸秆成分

	纤维素/%	半纤维素/%	木质素/%	总碳 TOC/%	总氮/%
未处理秸秆	36.7	25.1	3.9	40.9	0.58
氨化秸秆	27.5	31.5	2.7	31.2	0.93

1.2 实验方法

扩繁培养基灭菌后,将菌株 XCP-1 按 5%(体积比)接种于扩繁培养基中,在中温 35 ℃条件下,120 r/min 震荡培养,每隔 24 h 取样测定,每组设 3 个重复.

1.3 测定指标及方法

秸秆失质量:用盐酸和硝酸混合液洗涤发酵结束后秸秆,再用蒸馏水反复冲洗,于 105 ℃烘箱中烘至恒质量,再称质量,计算失重率.纤维素、半纤维素和木质素的质量分数用 Fibertec 2010 型纤维分析仪(丹麦 Foss 公司)进行测定.氨态氮(NH₃-N)和总氮(TN)采用 Kjeltac 2300 自动定氮系统(丹麦 Foss 公司)进行测定.细胞浓度:以未接菌的培养基为对照,用紫外可见分光光度计(TU-1810,北京普析通用仪器有限责任公司)在 600 nm 处测定供试样品的吸光度值作为细胞浓度.pH 值:用酸度计测定(PB-10,德国赛多利斯股份公司).总碳 TOC:用固体/液体 TOC 分析仪测定(Primacs SLC,荷兰 Skalar 公司).

2 结果与分析

2.1 有机氮源对复合菌系 XCP-1 增殖的影响

氨化处理后的秸秆,除自身结构和比表面积、孔径结构发生改变、易被微生物降解外,无机氮源质量分数也显著增加^[9].氮源是影响微生物增殖的重要因素,实验以氨化秸秆为碳源,添加玉米酒糟或豆粕作为氮源,研究氮源对复合菌系 XCP-1 生长的影响.由图 1 可以看出,添加玉米酒糟(A)或豆粕(B)的处理,复合菌系 XCP-1 生长曲线的延滞期较短,其 OD₆₀₀ 值增长较快,生长曲线斜率大于对照(C);而对照处理中的复合菌系 XCP-1 生长曲线延滞期相对较长,OD₆₀₀ 值增加缓慢,经过 2 d 后,OD₆₀₀ 值才快速增长,微生物增殖进入对数增长期.这表明, A 和 B 组中添加的有机氮源易被复合菌系 XCP-1 所利用,对照中没有添

加有机氮源, 稻秆的氨化预处理虽然增加了氮的质量分数(表 1), 但由于复合菌系对无机氮源的利用效率不高, 所以复合菌系 XCP-1 依然增殖速度缓慢, 经过较长的延滞期才进入对数生长期. 对比 A 和 B 两组可知, B 组处理的 OD_{600} 值一直高于 A 组. 这表明, 以豆粕作为补充的有机氮源, 对复合菌系 XCP-1 的增殖更为有利, 其细胞增殖速度快, 细胞浓度高.

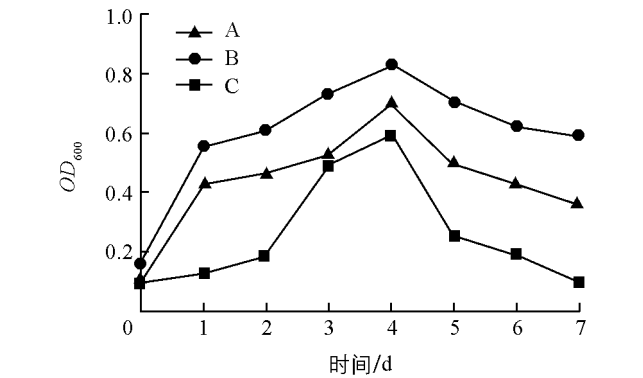


图 1 复合菌系 XCP-1 的生长曲线

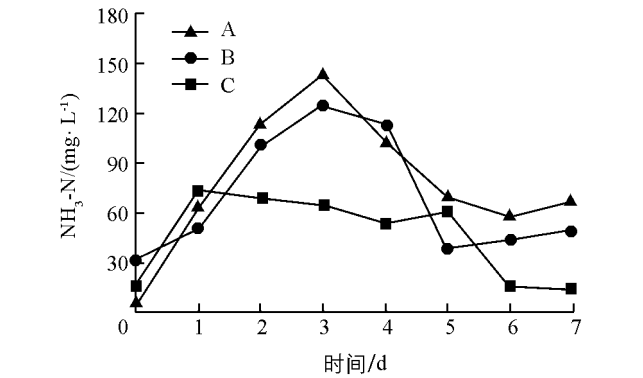


图 2 复合菌系 XCP-1 发酵液中 NH_3-N 浓度

2.2 复合菌系 XCP-1 对发酵底物中氮源利用效率分析

复合菌系 XCP-1 利用氮源合成自身细胞, 其代谢产物以 NH_3-N 的形式释放出来. 因此, 通过 NH_3-N 的变化也可以间接地反映复合菌系 XCP-1 的代谢活性. 由图 2 可以看出, 无论是否添加有机氮源, 发酵液中 NH_3-N 浓度都呈现先增加后降低的趋势, 这和复合菌系 XCP-1 的生长曲线相对应. 当复合菌系 XCP-1 以豆粕和玉米酒糟为氮源时, A 组的 NH_3-N 浓度高于 B 组, 而总氮利用率(表 2)却相反. 这表明, 复合菌系 XCP-1 更易利用豆粕中的有机氮为底物, 合成自身细胞进行增殖, 这同图 1 的 B 组细胞浓度高于 A 组相一致. 对照 C 中的氮质量分数最低, 推测底物中的氮源大都被复合菌系 XCP-1 用于合成细胞自身的物质, 所以其 NH_3-N 浓度相对较低, 但总氮利用率反而最高.

表 2 复合菌系 XCP-1 的总氮利用率

	玉米酒糟	豆粕	对照
总氮利用率/%	41.2±3.69	78.1±3.92	81.5±2.56

2.3 复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆过程中的 pH 值动态变化

pH 值是影响微生物活性和发酵产物的重要因素. 图 3 显示不同处理中, 复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆过程中发酵液 pH 值的动态变化. 由图 3 可以看出, 在复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆初期, 3 种处理发酵液的 pH 值都逐渐增加, 但 3 d 后发酵液的 pH 值开始降低. 这是由于在发酵初期, 复合菌系 XCP-1 利用培养基中的营养成分生长增殖, 产生代谢产物 NH_3-N , 使得发酵液中 pH 值增加. 随着复合菌系 XCP-1 中产酸菌的大量增殖, 氨化稻秆中的纤维素、半纤维素和木质素被降解转化为各种有机酸, 导致发酵液中有机酸积累, 使得发酵液中的 pH 值降低. 但由于培养基中有 $CaCO_3$, 对酸度有较好的调节能力, 所以无论采用何种氮源, 发酵液的 pH 值都在 5.0~9.5 之间变化, 不会产生过度酸化现象. 虽然 B 组处理中的复合菌系 XCP-1 对总氮的利用率要高, 但由于其含有较丰富的氮源, 碳氮比(C/N)低于 A 组(表 3), 故其 pH 值依然稍高于 A 组.

2.4 氮源对复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆效率的影响

图 4 显示不同氮源对复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆性能的影响. 由图 4 可以看出, 在 3 组处理中, A 组和 B 组的稻秆失重率、纤维素、半纤维素和木质素的降解率都显著高于 C 组. 这是由于对照 C 组中发酵底物的氮质量分数相对较低, 影响了微生物的浓度和活性, 使得复合菌系 XCP-1 对氨化稻秆的降解效率也

相对较低. 这也说明, 适宜的碳氮比是促进复合菌系 XCP-1 增殖和对氨化稻秆有效降解的重要因素. 复合菌系 XCP-1 以豆粕和玉米酒糟为氮源对氨化稻秆降解 7 d 后, B 组的失重率(68.3%)、纤维素(78.4%)和半纤维素降解率(85.6%)显著高于 A 组(52.1%, 69.3%和 76.5%)($p<0.01$), 但两组的木质素降解率差异无统计学意义(14.3%和 12.8%)($p>0.01$). 这表明, 氮源不仅影响着复合菌系 XCP-1 对氨化稻秆的降解率, 也对氨化稻秆中纤维成分的降解有影响, 复合菌系 XCP-1 对氨化稻秆中纤维素和半纤维素有良好的降解效果, 对木质素的降解效果不理想.

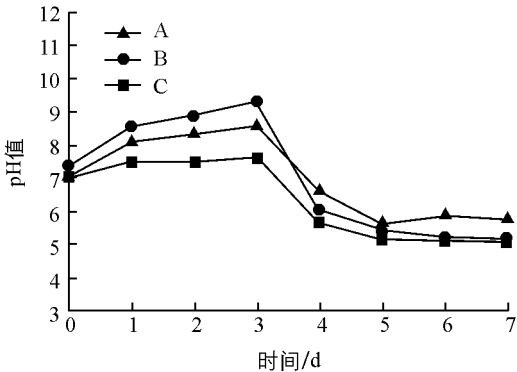


图 3 复合菌系 XCP-1 发酵液的 pH 值

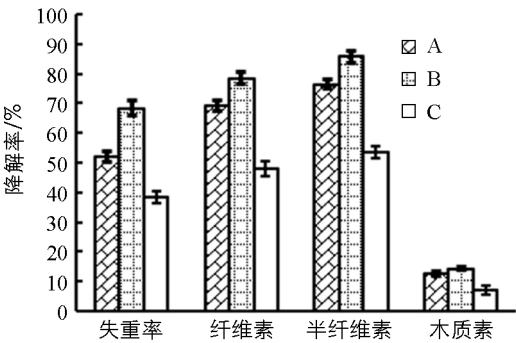


图 4 氨化稻秆生物降解的纤维成分

表 3 培养基中的碳氮比 (C/N)

	玉米酒糟	豆粕	对照
C/N	22.1 : 1	16.1 : 1	33.5 : 1

3 讨 论

中温复合菌系 XCP-1 对稻秆的降解率(68.3%)虽稍低于复合菌系 LZF-12(76%)^[10], 但高于以前报道的 XDC-2 和 RSS-4 等复合菌系(39.7%~45.0%)^[11-12], 同这些中温复合菌系(12~16 d)相比, 复合菌系 XCP-1(7 d)明显缩短了对稻秆的降解时间, 达到了同高温复合菌系相似的降解率和降解时间^[7, 13], 这可能是由于复合菌系 XCP-1 震荡培养, 增加了氧浓度引起. 路鹏等人曾报道, 特定氧浓度有利于复合菌系对纤维素的分解^[14], 但他们针对的是高温复合菌系的静置培养, 而对中温复合菌系, 目前还缺乏这方面的研究. 由于试验条件限制, 没有对氧浓度进行测定, 在后续的试验中, 将进行这方面的研究.

碳氮比不仅影响复合菌系的生长繁殖和代谢产物的形成和积累, 也影响发酵的类型^[15-17]. 复合菌系 XCP-1 以豆粕和玉米酒糟为氮源时, 其碳氮比不同, 对稻秆中纤维成分的降解效果也不同, 碳氮比低的培养基(豆粕), 由于微生物易于利用的有机氮源丰富, 复合菌系 XCP-1 的增殖率高, 对稻秆失重率和纤维素、半纤维素的降解率也高, 这同以前报道的结果一致^[18]. 虽然通常认为沼气发酵适宜的碳氮比为 25 : 1, 但由于不同的微生物, 适宜的碳氮比范围也不同. 复合菌系 XCP-1 降解氨化稻秆时, 较低的碳氮比反而有利于稻秆的降解, 而且, 低的碳氮比, 发酵产物 VFAs 产量也越高^[18]. 以豆粕为氮源时, 其碳氮比为 16.1 : 1, pH 值在 5.0~9.5 之间变化, 正处于丁酸型发酵阶段^[19-20], 避免了稻秆沼气发酵过程中易出现的酸化现象, 而且, 有利于后续发酵中沼气的产生.

本研究的廉价扩繁培养基中, 复合菌系 XCP-1 以工业废料豆粕作为氮源, 氨化稻秆作为碳源, 不仅实现了工农业废弃物的资源化利用, 也降低了沼气工业化生产的成本.

4 结 论

1) 有机氮源是影响复合菌系 XCP-1 增殖的重要因素. 复合菌系 XCP-1 以豆粕和玉米酒糟为氮源,

不经过适应期就直接进入对数生长期,复合菌系 XCP-1 对豆粕中的氮源利用率高于玉米酒糟,总氮利用率达到 78.1%。

2) 有机氮源(豆粕和玉米酒糟)对复合菌系 XCP-1 发酵过程中 pH 值的影响较小. 整个降解过程中,系统 pH 值始终维持在 5.0~9.5 之间。

3) 有机氮源(豆粕和玉米酒糟)影响复合菌系 XCP-1 对氨化稻秆纤维成分的降解. 复合菌系 XCP-1 对以豆粕为氮源的氨化稻秆降解率更高,氨化稻秆的总降解率达到 68.3%,纤维素、半纤维素和木质素降解率分别达到 78.4%,85.6%和 14.3%。

参考文献:

[1] 陈 娟,王治业,魏甲乾,等. 多菌种分步固态发酵果渣生产菌体蛋白饲料的工艺优化 [J]. 中国酿造, 2014, 33(3): 40—44.

[2] 陈 合,余建军,舒国伟,等. 多菌种分步降解玉米秸秆生产蛋白饲料的工艺 [J]. 农业工程学报, 2009, 25(12): 331—334.

[3] 王国基,柴 强,张玉霞,等. 干旱区玉米专用菌肥对玉米生长特性的影响 [J]. 草地学报, 2015, 23(1): 173—179.

[4] 邓振山,党军龙,张海州,等. 植物根际促生菌的筛选及其对玉米的促生效应 [J]. 微生物学通报, 2012, 39(7): 980—988.

[5] YANG Xue-wei, ZENG Ye-lin, MA Fu-ying, et al. Effect of Biopretreatment on Thermogravimetric and Chemical Characteristics of Corn Stover by Different White-Rot Fungi [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(14): 5475— 5479.

[6] YADAV K S, NASEERUDDIN S, PRASHANTHI G S, et al. Bioethanol Fermentation of Concentrated Rice Straw Hydrolysate Using Co-Culture of Saccharomyces Cerevisiae and Pichiastipitis [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(11): 6473—6478.

[7] 刘 爽,李文哲,王春影,等. 高效木质纤维素分解复合菌系降解稻草特性的研究 [J]. 环境工程学报, 2010, 4(3): 700—704.

[8] 郭 鹏,王小芬,朱万斌,等. 纤维素分解菌复合系 MC1 分解木薯淀粉厂残渣 [J]. 环境科学, 2008, 29(3): 795—798.

[9] 潘云霞,李文涛,刘 爽,等. 液氨预处理强化复合菌系 WSC-6 降解稻秆的性能 [J]. 环境工程学报, 2013, 7(11): 4502—4506.

[10] 李文哲,朱 婷,徐凤花,等. 稻草降解复合菌系 LZF-12 发酵特性研究 [J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(8): 99—104.

[11] 王 慧,刘小平,郭 鹏,等. 复合菌系 XDC-2 分解未经化学处理的水稻秸秆 [J]. 农业工程学报, 2011, 27(S1): 86—90.

[12] 刘甲锋,李 力,陈慧君,等. 水稻秸秆腐解复合菌系 RSS-4 的选育及其腐解特性 [J]. 微生物学通报, 2010, 37(9): 1293—1298.

[13] 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.

[14] 路 鹏,李国学,陈丽君,等. 氧浓度对复合菌系 MC1 纤维素降解能力的影响 [J]. 农业工程学报, 2008, 24(2): 209—213.

[15] 王 勇,孙寓姣,任南琪,等. C/N 对细菌产氢发酵类型及产氢能力的影响 [J]. 太阳能学报, 2004, 25(3): 375—378.

[16] HILLS D J. Effects of Carbon: Nitrogen Ratio on Anaerobic Digestion of Dairy Manure [J]. Agricultural Wastes, 1979, 1(4): 267—278.

[17] TANIMU M I, GHAZI T I M, HARUN R M, et al. Effect of Carbon to Nitrogen Ratio of Food Waste on Biogas Methane Production in a Batch Mesophilic Anaerobic Digester [J]. International Journal of Innovation and Technology Management, 2014, 5(2): 116—119.

[18] 种玉婷. 稻秆降解复合菌系的筛选及其发酵特性研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.

- [19] 董保成, 赵立欣, 万小春, 等. 挥发性有机酸对产沼气效果的模拟试验 [J]. 农业工程学报, 2011, 27(10): 249—254.
- [20] 陈 晨, 马邕文, 万金泉, 等. C/N 比对厌氧颗粒污泥生理生化的影响 [J]. 中国环境科学, 2012, 32(3): 478—484.

Effect of Nitrogen Sources on Biodegradation of Ammoniated Rice Straw by Microbial Consortium XCP-1

LI Meng-zhu, PAN Yun-xia

College of Engineering and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Biodegradation of rice straw using microbial consortium is an important way for conversion of biomass into useful products. In the process of biodegradation, nitrogen source is a main factor influencing the microbial growth and digest efficiency. The mesophilic microbial consortium XCP-1 (isolated from soil of continuous cropping cotton field in Xinjiang) was employed to digest ammoniated straw. This study seeks to investigate the influence of organic nitrogen source on the microbial growth, changes of $\text{NH}_3\text{-N}$ and pH, and biodegradation of rice straw. Results showed that organic nitrogen (corn lees and soybean meal) could increase microbial growth and digestion of rice straw. It was further indicated that total nitrogen utilization rate of soybean meal (78.1%) was higher than that of corn lees (41.2%). Moreover, the degradation rate of ammoniated rice straw supplied with soybean meal was also higher than that of corn lees, and degradation rate of cellulose, hemicellulose, lignin and total ammoniated rice straw were 78.4%, 85.6%, 14.3% and 68.3%, respectively. While the nitrogen resource (corn lees or soybean meal) has little effect on pH, which was ranging from 5.0 to 9.5. By adding economical nitrogen source (corn lees or soybean meal), biodegradation costs of rice straw can be reduced. It's important for the industrialization production of biomass-based products.

Key words: the microbial consortium XCP-1; ammoniated rice straw; nitrogen source; biodegradation

责任编辑 周仁惠

