

农村有机生活垃圾沼气发酵工艺优化及菌群分析

魏珞宇, 罗臣乾, 张敏, 施国中, 张国治
(农业农村部沼气科学研究所, 成都 610041)

摘要: 为了了解沼气发酵对农村有机生活垃圾中细菌菌群的影响, 文章从 2 个正在稳定运行的 20 L 反应器中选取两个水力停留时间(15 d, 20 d) 进行实验。实验结果表明, 农村有机生活垃圾在 2 个水力停留时间内, 沼气产量随水力停留时间的缩短而提高; 沼气中甲烷成分均大于 50%, 粒径大的反应器中沼气甲烷成分要高于粒径小的反应器; 在所选 4 批次的原料中, 存在的病原菌为 *Enterobacter* 和 *Enterococcus*, 未发现 *Salmonella*, *Shigella Castellani* 及 *Staphylococcus Aureus*。随着沼气发酵的进行, 原料中腐败性细菌减少, 发酵性细菌增加。

关键词: 农村生活垃圾; 沼气发酵; 细菌菌群

中图分类号: S216.4; X705 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1166(2019)01-0027-04

Optimization of Biogas Fermentation Process and Microflora Analysis of Rural Organic Household Waste / WEI Luo-yu, LUO Cheng-qian, ZHANG-min, SHI Guo-zhong, ZHANG Guo-zhi / (Biogas Institute of Ministry of Agricultural and Rural Affairs, Chengdu 610041, China)

Abstract: In order to understand the effect of biogas fermentation on bacterial flora in the rural organic waste, two 20 L reactors in stable operation were selected and two hydraulic retention times (15 d, 20 d) were experimented. The experimental results showed that from the tested 2 hydraulic retention time, the biogas production increased with the shortening of the hydraulic retention time. The methane content in biogas was greater than 50%, and the methane content in the reactor with larger particle size was higher than that with smaller particle size. In the 4 batches of raw materials selected, there existed pathogenic bacteria *Enterobacter* and *Enterococcus*, no *Salmonella*, *Shigella Castellani* and *Staphylococcus Aureus* were found. As the biogas fermentation went on, pathogenic bacteria became less, and fermentation bacteria became more.

Key words: rural domestic waste; biogas fermentation; bacterial flora

近年来,随着农村经济的发展,农民生活水平的提高,农村生活垃圾的数量已经达到了每年 3 亿吨^[1]。根据调查,中国农村生活垃圾主要组分包括厨余类、灰土类、橡塑类和纸类。而在厨余类主要包括剩菜叶、剩果皮、蛋壳、骨头以及剩饭等。根据文献研究所得,除东北地区外,我国大部分农村生活垃圾中,厨余类垃圾占 40% 以上^[2]。该部分垃圾有机质含量高,尤其是糖类物质含量高,并且含有氮、磷、钾、钙及微量元素^[3]。以往,该类生活垃圾通常是用来当做家庭饲养家禽及牲畜的饲料或者用于田间堆肥^[4]。随着农村生产生活方式的转变,失去了就地消纳该类垃圾的能力。该部分垃圾随其他生活垃圾被农户丢弃于户外。在一些经济农村条件较好的农村,设有生活垃圾集中收集点,村民集中堆放后由村里转运至垃圾处理厂或填埋,在其他地方,更多的

是随意丢弃^[5]。对农村的土壤、河流、空气造成了污染。尤其是其中的有机质部分,极易腐烂变质,易携带滋生病菌的 *Colibacillus* 和 *Salmonella* 等,对人们的健康造成了很大的威胁^[6]。因此,对这部分垃圾需要进行妥善处理。

厌氧消化是一种处理有机废弃物行之有效的方法。它可以生产出清洁能源—沼气,并且沼渣沼液是一种肥料,可以还田利用,实现了该类垃圾的减量化与资源化^[7]。也有研究证明,厌氧消化同时可以去除一些病原菌,减少垃圾随意丢弃所带来的病菌感染^[8-9]。目前,针对农村有机生活垃圾中致病菌及厌氧发酵的研究较少,本研究利用农村有机生活垃圾开展连续厌氧发酵实验,研究厌氧发酵过程中细菌菌群的变化。沼渣沼液中病原菌携带情况会影响其还田利用,因此本研究有重要的意义。

收稿日期: 2018-12-13

项目来源: 中国农业科学院创新工程团队。

作者简介: 魏珞宇(1988-),女,四川成都人,助理研究员,主要从事农村生活垃圾厌氧发酵相关研究工作, E-mail: weiluoyu1128@163.com

通信作者: 张国治, E-mail: 13308189417@163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

根据前期对农村有机生活垃圾成分的调研结果(农村有机生活垃圾中菜叶比例 50%、果皮 25%、剩饭 20%、废旧纸张 5%)收集研究所附近菜市场以及

餐馆的有机垃圾按比例配置成农村有机生活垃圾。收集到的垃圾挑选出塑料袋、筷子、等不可发酵物质,分别做切碎处理(粒径 1 cm)和粉碎处理(粒径 1 mm)。接种物取自农业农村部沼气科学研究所实验基地。原料及接种物性质见表 1。

表 1 农村有机生活垃圾及接种物性质

(%)

性质	餐厨垃圾	废弃菜叶	果皮	废纸	混合原料	接种物
总固体(TS)	12.20	7.40	16.80	93.80	10.52	22.77
挥发性固体(VS)	10.40	6.90	13.80	92.80	9.32	12.25
粗脂肪	1.54	1.96	2.15	—	1.93	—
粗纤维	14.56	15.29	14.21	91.24	15.42	10.21
粗蛋白	18.63	19.81	18.44	—	19.24	7.69
C	41.70	44.01	71.52	29.12	46.98	29.70
N	2.98	3.21	2.95	0.01	3.10	1.08
C/N	13.90	13.10	23.50	2912.20	15.88	27.5

1.2 实验装置及方法

实验装置如图 1 所示,为 CSTR 反应器。罐体容积为 22 L,有效容积为 20 L。设有自动温控及搅拌系统。进料口位于反应器下部,出料口位于反应器上部,中部设有取样口。进料方式为 1 日 1 进。采用连续厌氧发酵,原料 TS 浓度控制在 8%,原料粒径为 1 cm 和 1 mm,温度为 35℃,搅拌条件为转速为 60 r·min⁻¹,每 10 分钟搅拌 1 次。采用 LML-1 型湿式气体流量计记录沼气产量,使用气袋收集沼气以用来测量沼气成分。

发酵罐内原料与接种物按照 TS 比为 1:1 投入,

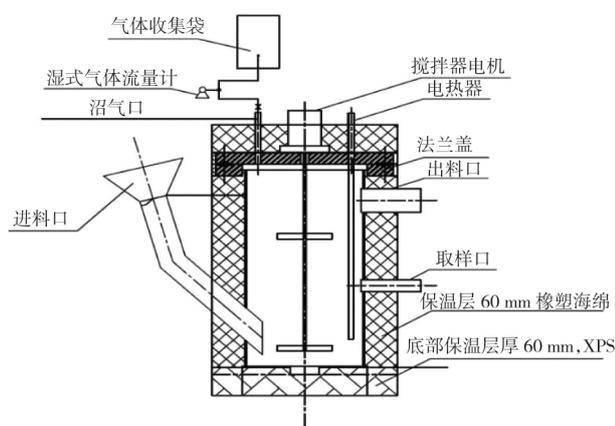


图 1 实验装置示意图

表 2 实验条件设置

温度	原料粒径	编号
35℃	1 cm	1#
35℃	1 mm	2#

待发酵罐内产气稳定后开始进料,逐步提高进料负荷,直至水力停留时间(HRT)缩短至 12 d。本次实验选取 HRT = 15 d 和 20 d 两个阶段进行细菌菌群分析。每次进料前将原料 TS 浓度用沼液控制到 8%。添加微量元素如下:铁元素添加量 4 g·L⁻¹, Co 0.58 ug·L⁻¹, Ni 2 mmol·L⁻¹。实验条件设置如表 2 所示。

每天记录甲烷产量,每天取样测 pH 值和挥发酸。

1.3 分析方法

日产气量由流量计读数所得。气体成分由便携式气体成分分析仪测量所得。仪器型号为: BIO-GAS-5000。pH 值测定,便携式 pH 计型号为 pH-100。细菌菌群变化由上海美吉生物科技有限公司进行测序分析,测序方法采用 16s rDNA 分析技术。

2 结果与讨论

2.1 日沼气产量与水力停留时间的关系

如图 2 所示,为 2 个反应器在 HRT 为 20 d 和 15 d 阶段的日产沼气体量,每个阶段为期 10 天。日产沼气体量随水利停留时间缩短而提高。水利停留时间为 20 d 时,1#反应器中的日产沼气体量高于 2#反应器中的日产沼气体量,表明在该水利停留时间条件下,反应温度为 35℃时,原料粒径为 1 cm 时的日产沼气体量高于原料粒径为 1 mm。水利停留时间为 15 d 时,2#反应器中的日产沼气体量高于 1#反应器中的日产沼气体量,表明在该水利停留时间条件下,反应温度为 35℃时,原料粒径为 1 mm 时的日产沼气体量高于原料粒径为 1 cm。1#反应器中的容积产气率由 1.8

$L \cdot L^{-1} d^{-1}$ 提高到 $2.69 L \cdot L^{-1} d^{-1}$ 2#反应器中的容积产气率由 $2.14 L \cdot L^{-1} d^{-1}$ 提高到 $2.96 L \cdot L^{-1} d^{-1}$,表明原料粒径越小,水利停留时间缩短对沼气产量的提升程度越大。

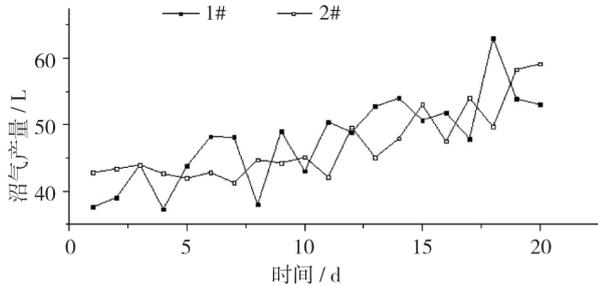


图2 日产沼气

2.2 甲烷含量变化

如图3所示为甲烷含量变化,可以看到,1#反应器中沼气的甲烷含量要高于2#反应器中沼气甲烷含量。表明原料粒径小,发酵体系中原料水解酸化速率高,体系中挥发酸浓度较高,抑制了产甲烷菌的活性,使得沼气中甲烷含量低^[10]。两个反应器中沼气甲烷含量均在50%以上。

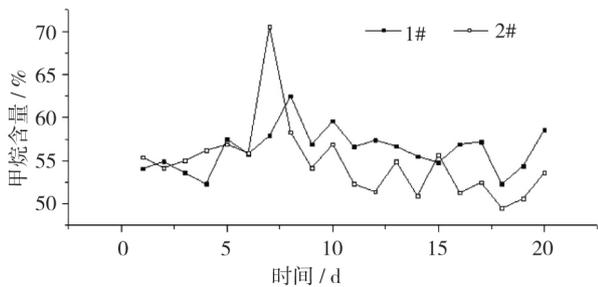


图3 甲烷含量变化

2.3 pH值变化

图4所示为两个反应器中pH值的变化。水利停留时间为20d时,pH值均偏高,当水利停留时间为15d时,pH值下降。表明随着水利停留时间缩短,发酵体系中挥发酸积累量提高,使得pH值下降。两个反应器中的pH值均处于发酵正常范围内。

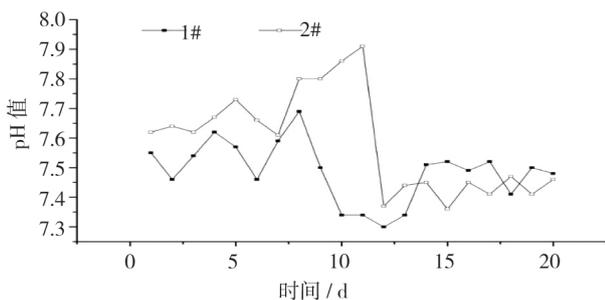


图4 pH值变化

2.4 细菌菌群变化

图5为原料和沼渣中细菌菌群结构图。A为原料细菌菌群结构图,在4批次的原料中,存在的病原菌为 *Enterobacter* 和 *Enterococcus*。其中, *Enterobacter* 所占比例分别为为21%、6%、13.1%、11.4%。 *Enterococcus* 在第3批次的原料中所占比例为2.91%,在其他批次的原料中比例很小。其余优势菌主要有 *Lactobacillus*、*Leuconostoc*、*Weissella*、*Acetobacter*、*Streptococcus* 等。未检测到 *Salmonella*、*Shigella*、*Castellani* 及 *Staphylococcus Aureus*。图6为两个反应器中7个不同时间段沼渣中细菌群落结构图,其主要细菌菌群为 *Rikenella*、*Rumin*、*Lachnospira*、*clostridium* 等,未检测到 *Enterobacter*、*Enterococcus*、*Salmonella*、*Shigella*、*Castellani* 及 *Staphylococcus Aureus*。

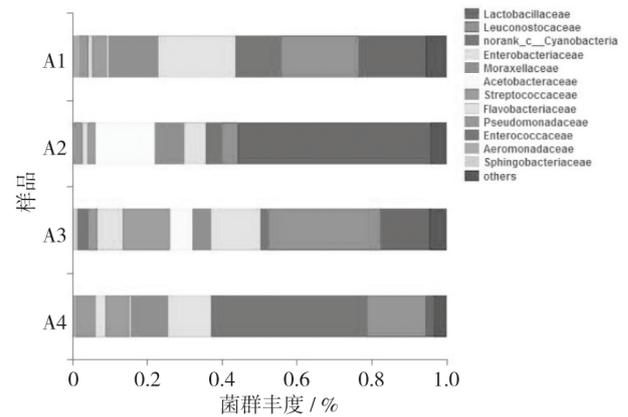


图5 原料中细菌菌群

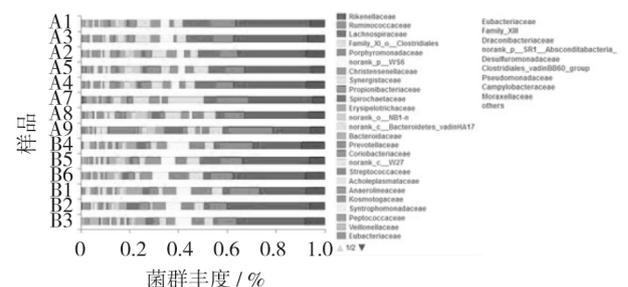


图6 沼渣中细菌菌群

Enterobacter 是1种不治病或条件致病菌,在机体免疫能力低下时,容易发生感染。 *Enterococcus* 是1种革兰氏阳性菌,其致病能力强。因此,对这两种菌的去除显得很重要。通过本次实验发现,厌氧作用对这两种菌具有100%的去除能力,消除了这两种菌伴随有机生活垃圾而对人、畜的健康威胁。Leena^[11]等人通过研究发现厌氧消化可以去除猪粪中 *Salmonella* 和 *Colibacillus* 等病原菌。原料中大量存在着 *Weissella*,它是一种以葡萄糖为底物产生乳酸的细菌,能够参与食品的腐烂变质。张严化^[12]发

现,在餐厨废弃物早期储运过程中,*Weissella*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* 为主要优势菌,在米面型餐厨废弃物和肉菜型餐厨废弃物中有差别。*Salmonella*, *Shigella Castellani* 及 *Staphylococcus Aureus* 是人畜共患菌,在食品和饲料中污染比较严重,在本 4 批原料中未测得这些菌,表明在实验室条件下对农村有机生活垃圾进行收集,虽然是在一个开放的、非严格控菌的条件下,农村有机生活垃圾不会被 *Salmonella*, *Shigella Castellani* 及 *Staphylococcus Aureus* 感染。张严化^[12] 在研究餐厨废弃物早期储运过程中细菌菌群变化中同样也未发现这些菌。

对沼渣中细菌菌群进行群落结构分析发现,主要以发酵性细菌为主,*Rikenella*, *Rumin*, *Lachnospira*, *Clostridium* 等均属于 *Bacteroidetes* 和 *Firmicutes*^[13], 这些细菌可以分一系列解大分子物质如蛋白质、碳水化合物等,将这些有机物转变为乙酸、丙酸、丁酸等挥发性有机酸^[14], 这与人前所得结果类似^[15-17]。

通过细菌菌群结构分析发现,原料中主要以 *Lactobacillus*, *Weissella* 等为主,这些菌为兼性厌氧细菌,他们主要以原料中有机物为底物,分解产生乳酸;原料进入发酵罐后,发酵体系为严格厌氧环境,原料本身携带的细菌不适应发酵罐中环境,发酵体系中发酵性细菌逐渐取代原料中原有细菌,直至完全取代。随着沼气发酵过程的进行,原料中原有的细菌菌群已经发生了变化。

3 结论

(1) 农村有机生活垃圾在 TS 为 8% 的时候进行连续厌氧发酵,原料粒径为 1 mm 时,发酵效果优于原料粒径为 1 cm。HRT = 20 d 时,最佳容积产气率为 $2.14 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$, HRT = 15 d 时,最佳容积产气率为 $2.96 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$ 。

(2) 厌氧发酵对农村有机有机生活垃圾中的 *Enterobacter* 和 *Enterococcus* 有良好的灭杀效果,证明厌氧发酵可以去除农村有机生活垃圾中此类病原菌对环境的影响。

(3) 随着沼气发酵的进行,原料中原有的细菌菌群发生变化,由原先的 *Lactobacillus* 及 *Weissella* 转变为发酵性细菌。

参考文献:

- [1] 赵晶薇, 赵蕊, 何艳芬, 等. 基于“3R”原则的农村生活垃圾处理模式探讨[J]. 中国人口·资源与环境, 2014, 24(5): 23-266.
- [2] 韩智勇, 费勇强, 刘丹, 等. 中国农村生活垃圾的产生

- 量与物理特性分析及处理建议[J]. 农业工程学报, 2017, 33(15): 1-14.
- [3] 王延昌, 袁巧霞, 谢景欢, 等. 餐厨垃圾厌氧发酵特性的研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(9): 1667-1682.
- [4] 岳波, 张志彬, 孙英杰, 等. 我国农村生活垃圾的产生特征研究[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(6): 129-134.
- [5] 张敏, 韩智勇, 姜磊, 等. 我国部分地区农村生活垃圾处理现状及模式[J]. 中国沼气, 2016, 34(2): 89-95.
- [6] Manas Ranjan Ray, Sanghita Raychoudhury, Gopeshwar Mukherjee, et al. Respiratory and general health impairments of workers employed in a municipal solid waste disposal at an open landfill site in Delhi [J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2005, 208(4): 255-262.
- [7] 罗臣乾, 王星, 张国治, 等. 接种率及尿素添加量对农村生活垃圾厌氧发酵产甲烷的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2017, (02): 168-174.
- [8] Theresa E, Kearney M J, Larkin Frost, et al. Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1993, 75: 215-219.
- [9] A J Termorshuizen, D Volker, W J Block, et al. Survival of human and plant pathogens during anaerobic mesophilic digestion of vegetable, fruit, and garden waste [J]. European Journal of Soil Biology, 2003, 39: 165-171.
- [10] 王艳芹, 付龙云, 杨光, 等. 农村有机生活垃圾等混合物料厌氧发酵产沼气性能[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(6): 1173-1179.
- [11] Leena Sahlstrom. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants [J]. Bioresource Technology, 2003, 87: 161-166.
- [12] 张严化. 餐厨废弃物早期储运过程中菌群动态的研究及抑菌初探 [D]. 北京: 中国农业科学院研究生院, 2015
- [13] Da Silva M L B, Cantao M E, Mezzari M P, et al. Assessment of bacterial and archaeal community structure in swine wastewater treatment processes [J]. Microb Ecol, 2015, 70: 77-87.
- [14] 邓良伟, 刘刘, 郑丹, 等. 沼气工程 [M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [15] Ariesyady H D, Ito T, Okabe S. Functional bacterial and archaeal community structures of major trophic groups in a full-scale anaerobic sludge digester [J]. Water Res, 2007, 41: 1554-1568.
- [16] Da Silva M L B, Cantao M E, Mezzari M P, et al. Assessment of bacterial and archaeal community structure in swine wastewater treatment processes [J]. Microb Ecol, 2015, 70: 77-87.
- [17] 麻微微. 沼气发酵复合菌系厌氧发酵特性及微生物群落结构分析 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.