

微生物对引江济淮工程膨胀土改良效果室内试验

王丽娟^{1,2}, 陶月赞², 束兵³

(1.安徽水利水电职业技术学院市政与交通工程学院,安徽合肥 231603;2.合肥工业大学土木与水利工程学院,安徽合肥 230009;3.安徽省水利部淮河水利委员会水利科学研究院,安徽合肥 230088)

摘要:以引江济淮工程江淮分水岭段强膨胀土为研究对象,从非膨胀土中分离微生物,筛选出一种将强膨胀土改良为弱-中等膨胀土微生物菌株,观察其菌落形态和革兰氏染色形态并进行16SrRNA测序,鉴定该微生物菌株为枯草芽孢杆菌。采用正交试验设计,得到枯草芽孢杆菌最佳养护条件:含水量质量百分数为40%,掺菌质量分数为3%,养护温度为5℃,起始pH为7.5。在此条件下养护,膨胀土自由膨胀率与对照比较最大降幅为21.7%。

关键词:膨胀土改良;正交试验设计;菌株鉴定

中图分类号:TU443 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2020)04-0041-03

Laboratory Study on the Improvement Effect of Microorganism on Expansive Soil in the Water Diversion Project from Yangtze River to Huaihe River

WANG Lijuan^{1,2}, TAO Yuezan², SHU Bing³

(1.School of Municipal and Transportation Engineering, Anhui Technical College of Water Resources and Hydro Power,Hefei, Anhui231603, 2.School of Civil and Hydraulic Engineering, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui230009, 3.Anhui Institute of Water Resources and Hydropower Research of Huaihe Water Conservancy Commission,Hefei, Anhui 230009,China)

Abstract: In this paper, the expansive soil in the experimental section of the water diversion project from the Yangtze River to the Huaihe River has been selected as the research object, and a strain of microorganism has been selected from the non-expansive soil to turn the strong expansive soil into weak-medium expansive soil. The colony morphology, Gram staining morphology and 16S rRNA sequencing are observed, and the microbial strain is identified as *Bacillus subtilis*. With various experimental conditions of cultivating *Bacillus subtilis*, the orthogonal experimental design has been carried out to obtain the optimal culturing conditions of *Bacillus subtilis*: 40% water content, 3% bacteria incorporation, 5℃ curing temperature and initial pH7.5. Under this condition, the maximum reduction of free expansion rate is 21.7%.

Keywords: expansive soil improvement; design of orthogonal test; strain identification

0 引言

膨胀土是一种吸水膨胀软化、失水收缩干裂的特殊土,膨胀土的胀缩性变形对道路、建筑、管线、水利工程等造成巨额损失。对膨胀土改良方法的研究能有效预防膨胀土胀缩性引起的渠道边坡失稳、浅层滑坡或浅层崩解工程地质灾害^[1],保障工程建设的安全,从根本上解决膨胀土危害具有重要的理论价值和较好的工程应用前景。

目前膨胀土改良方法的研究主要集中在物理、

化学、生物三方面,其中物理与化学应用研究较多,理化改良膨胀土膨胀率取得一定效果,同时也存在施工难度大、养护周期长、成本高、对环境造成影响等缺点^[2]。利用微生物改良膨胀土,属跨学科交叉研究,涉及生物学与岩土工程,通过利用微生物培养与筛选,来研究微生物生长特点,利用微生物粘结对膨胀土内部结构,进一步控制膨胀土胀缩性,有效预防膨胀土引起的渠道边坡失稳、浅层滑坡或浅层崩解工程地质灾害^[3-6]。

引江济淮工程是以供水、航运、改善水生态环

境等功能的大型跨流域调水工程,其中位于江淮分水岭段处工程属深开挖高切岭段工程,有近38 km长的膨胀土区域(第二工程地质单元,桩号J25+850~63+640),该区域划为切岭段边坡,土体以5层重粉质壤土、粉质粘土为主,该土层的自由膨胀率为25.0%~86.0%,大部分属于强膨胀土^[7]。本次研究对引江济淮江淮分水岭段大开挖切岭段膨胀土采用生物改良的方式进行试验,通过培养筛选合适的微生物菌种来对膨胀率影响进行分析,利用正交试验设计极差分析理论对各影响因子进行评价,并分析各影响因素的影响权重,为进一步研究影响生物改良膨胀土边界条件提供参考。

1 微生的筛选与鉴定

选取引江济淮江淮沟通切岭试验段边坡膨胀土作为目标,该区域的土体膨胀性大,所处高边坡,开挖工程具有代表性。从非膨胀土中分离提纯细菌、放线菌、真菌;将提纯后的菌类分别接种至膨胀土上养护,通过试验,筛选出能在膨胀土中自然繁殖的微生物。测定记录各时间段膨胀土试样的液塑限和自由膨胀率,描绘微生物改良膨胀土的养护时间—胀缩特性曲线,并分析其规律。通过横向比较,筛选出能将目标土体由强膨胀土改良为弱—中等膨胀土的微生物。

1.1 试验土料选取

本次试验取土点位于引江济淮江淮分水岭段桩号J44+150,开挖深度37 m,属于高开挖边坡,经观察和分析其形状为粘结块状,土体外表呈灰褐色(图1)。所取土样天然呈坚硬至硬塑状态(表1),当土体遇水或土体结构扰动时土的强度会骤然降低,压缩性增大。



图1 土样照片与取土点位置

表1 土样基本物理特性

液限	塑限	塑性指标	自由膨胀率	粘聚力	内摩擦角	最优含水率	最大干密度
ω_p /%	ω_s /%	I_p	F_s /%	c /kPa	ϕ /($^\circ$)	ω_{op} /%	ρ_{dmax} /($g \cdot cm^{-3}$)
48.6	23	25.6	90.1	39.2	13.9	23	1.48

1.2 微生物分离提纯

1) 菌株从农田土壤中分离筛选。分离微生物方法为固体培养基稀释平板法,培养基分别使用营养琼脂培养基和高氏一号培养基。选取长势良好的菌株10株,用摇床进行扩大培养,制备膨胀土改良剂。(2) 将10种菌剂按5%质量比例拌入膨胀土中,进行养护。养护温度为25 $^\circ C$,控制土体含水量为50%,起始pH为7.0。(3) 按养护时间取出土样,进行膨胀土自由膨胀率的检测,测定方法按照《土工试验方法标准》(GB/T 50123 - 1999)规定。试验每组设3个试样,并设置参照试样。(4) 将掺入菌剂的膨胀土与未改良膨胀土自由膨胀率进行比较,筛选出改良作用明显的微生物,共3种,编号M1、M2、M3,并绘制养护龄期—自由膨胀率曲线图(图2)。

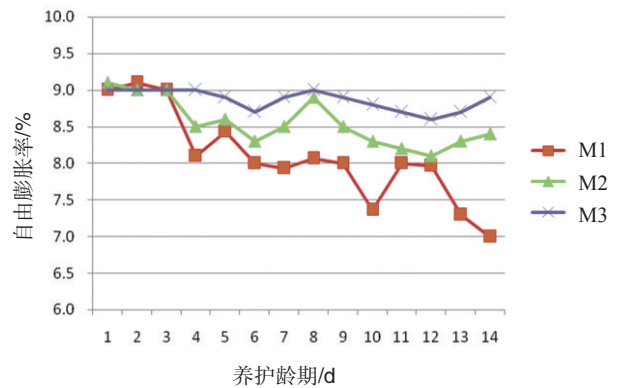
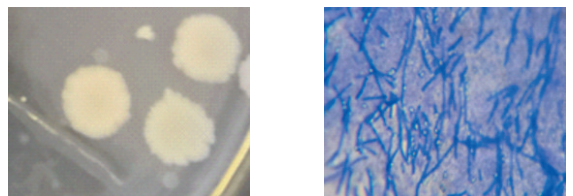


图2 养护龄期—自由膨胀率曲线

1.3 微生物菌株鉴定

分析养护龄期—自由膨胀率曲线,发现编号M1微生物使膨胀土自由膨胀率减小幅度最大,故选用M1微生物进行后续的试验研究。

1) M1菌落形态鉴定。将长有M1单菌落的培养皿放在自然光下拍照(图3a),M1菌落呈近似圆形,扁平状,表面粗糙,单菌落直径较大,颜色为不透明乳白色。采用革兰氏染色法染色后放在生物显微镜下用油镜观察并拍照。M1染色后为蓝紫色,是革兰氏阳性菌。观察放大400倍后的革兰氏染色照片(图3b),菌体形状为杆状,末端钝圆,杆状体中央或稍偏有圆形或椭圆形芽孢。



(a)微生物菌落照片 (b)革兰氏染色微生物照片

图3 微生物菌株鉴定照片

2) M1菌株测序。M1基因组DNA的提取、

Sanger测序由南昌科畅生物科技有限公司完成。拼接后的序列及NCBI比对结果显示该微生物与*Bacillus subtilis* strain有99%的相似性。

微生物菌落外形特征与枯草芽孢杆菌的特征相符。微生物革兰氏染色形态与枯草芽孢杆菌染色形态相符,均为革兰氏阳性。测序结果表明该微生物的16S rRNA全长序列与枯草芽孢杆菌在NCBI数据库中序列有99%的相似性。由此鉴定该菌株为枯草芽孢杆菌。

2 枯草芽孢杆菌正交试验设计极差分析

枯草芽孢杆菌大量存在于土壤中,具有很强的酶活性,对人畜安全,是一种环境友好型菌种^[8]。枯草芽孢杆菌微生态制剂目前已广泛应用于家禽、家畜以及水产养殖等领域,并有较长历史^[9]。国内外很多学者展开了对其微生态制剂性能改良和提升经济性的研究,目前已经趋于成熟。为探究枯草芽孢杆菌在何种培养条件下有最优的膨胀土改良效果,我们采用四因素三水平正交试验设计,并以极差分析对实验成果进行优化,对各试验因子进行主次优化排序。

2.1 试样制备

将筛选出的枯草芽孢杆菌用摇床进行扩大培养,培养后将其按照各试验条件拌入膨胀土中。设置养护温度为20、25、30℃3种温度;取菌掺量质量分数分别为3%、5%、7%;掺加水量质量分数为30%、40%、50%;起始pH为6.5、7.0、7.5四因素三水平的正交试验条件(表2)。

表2 正交试验设计的因素水平

水平	A 含水 质量分数/%	B 掺菌 质量分数/%	C 养护 温度/℃	D 起始 pH
1	30	3	20	6.5
2	40	5	25	7.0
3	50	7	30	7.5

2.2 对养护14 d的土样进行自由膨胀率试验

由于自由膨胀率试验误差较大,采用每组3个试样,并每组设置3个平行试样,平行试样养护温度、掺加水量质量百分数、起始pH均与目标试样一致,但不掺加枯草芽孢杆菌(表3)。

2.3 正交试验结果与分析

计算各水平自由膨胀率与对照比较降幅平均数,记为K1、K2、K3,填入对应的因素列。计算各因素的极差R,R为该因素在其取值范围内的指标变化幅度。 $R = \max K_i - \min K_i$, i 为因素水平。正交试验结果与分析见表3。根据正交试验设计,得到拌

入枯草芽孢杆菌的膨胀土自由膨胀率与对照比较最大降幅为21.7%,最佳培养条件:含水量质量分数为40%,掺菌质量分数为3%,养护温度为5℃,起始pH为7.5。

表3 正交试验结果与分析

试验 编号	因素				自由膨 胀率/%	自由膨 胀率对照 降幅 /%
	A 含水 质量分数 /%	B 掺菌 质量分数 /%	C 养护 温度 /℃	D 起始 pH		
1	1	1	1	1	71.5	20.6
2	1	2	2	2	71.3	19.2
3	1	3	3	3	73.5	18.2
4	2	1	2	3	70.2	21.7
5	2	2	3	1	72.8	17.9
6	2	3	1	2	73.6	17.5
7	3	1	3	2	70.3	20.5
8	3	2	1	3	72.3	19.4
9	3	3	2	1	72.3	19.7
K1	19.3	21.0	19.2	19.4		
K2	19.1	18.8	20.2	19.0		
K3	19.8	18.5	18.9	19.8		
R	0.7	2.5	1.3	0.8		

为了解各因素水平对试验的影响,作因素与指标关系图(图4),得到对膨胀土自由膨胀率的影响最大的因素为掺菌质量分数,影响最小的因素为含水量质量分数和起始pH。

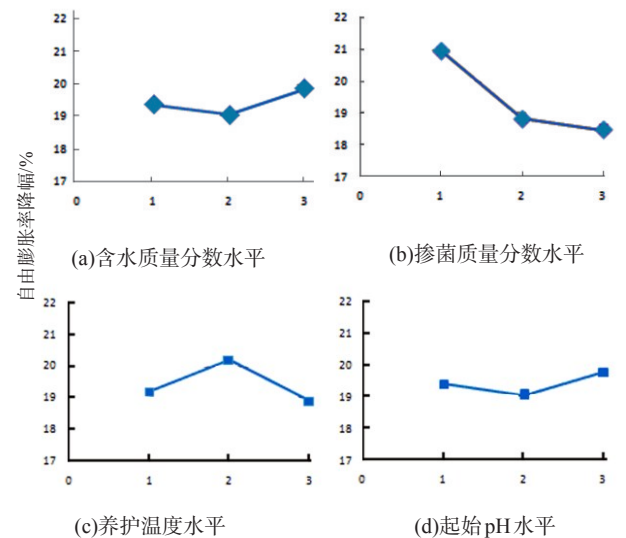


图4 因素与指标关系图

3 结果与讨论

1)通过微生物改良膨胀土自由膨胀率的试验设计,发现枯草芽孢杆菌能明显减小膨胀土自由膨胀率(下转第90页)

创新学科竞赛这一个平台,培养学生的专业综合实践能力,创新创业能力。参加学科竞赛,不但可以考查学生对计算机专业基本理论知识的掌握程度,激发学生的实践创新意识,系统培养学生的实践动手能力,还可以培养学生的团队协作能力,这些都是学生在就业过程中,招聘企业非常看重,可以提高学生就业竞争力的重要砝码。

4 结语

如何培养计算机类专业学生创新实践能力,成

为各大高校需要研究的一个课题。根据实际竞赛的内容和学科专业,进一步让“以赛促改、以赛促学、以赛促练、以赛促教”的思想融入教师的教学指导工作中^[1]。在培养学生实践创新能力时,积极开展创新活动。将创新的思想、内涵融入计算机专业相关学科竞赛中,不断改进现有的教育手段和方法,完善学科竞赛培训制度。引导学生改变陈旧的思维模式,激发学生的学习兴趣,培养其独立自主、求新求变的创造性思维习惯和理论结合实际的能力。

参考文献:

- [1] 范凌云.计算机应用型人才的创新意识和实践能力培养探索[J].科教文汇,2018(9):52-53.
- [2] 宁彬,谷琼,曹文平.基于学科竞赛的计算机类专业学生创新能力培养套索[J].教育教学论坛,2019(44):130-131.
- [3] 孙宝法.微控制系统设计与实现[M].北京:清华大学出版社,2015.
- [4] 王中心,刘飞彪,解珂.基于智能车竞赛的计算机专业学生综合实践能力培养[J].实验科学与技术,2018,16(12):117-119.
- [5] 樊洪斌.基于学科竞赛的计算机应用型创新人才培养研究[J].理论研究,2019(21):4-6.
- [6] 鲁世斌,张忠祥,范程华,等.基于飞思卡尔智能车竞赛谈创新型人才培养[J].合肥师范学院学报,2016,34(5):49-51.
- [7] 刘丽红.基于学科竞赛的应用型高校创新人才培养模式研究[J].教育教学论坛,2016(46):97-98.
- [8] 李全艳,孙凌,王国峰,等.应用型本科高校教师创新创业实践教学能力提升研究[J].中外企业家,2020(10):178.
- [9] 顾涵,钱斌,张惠国,等.基于学科竞赛的应用型本科院校创新能力培养模式探索与实践[J].实验室研究与探索,2019(38):213-218.
- [10] 黎昂,肖中云.应用型本科院校学生创新精神与实践能力培养研究[J].教育现代化,2018,5(6):32-33.
- [11] 王振辉.民办本科院校软件工程专业人才培养模式的改革与创新[J].微型电脑应用,2017,33(11):36-38.

(上接第43页)

胀率,降幅最大为21.7%。该菌株大量存在于土壤中,绿色环保,其生态制剂生产与应用都非常成熟,为后期大量应用提供可能性。

2)根据正交水平试验确定了枯草芽孢杆菌改良膨胀土的最佳养护条件,并确定养护条件各因素

的影响程度,为后期深入的试验提供依据。

3)为获得良好的试验观测条件,本研究中膨胀土试件采用养护箱恒温养护,未考虑自然环境中温度的变化,今后可优化该试验条件进一步开展研究。

参考文献:

- [1] 胡娜,谭晓慧,唐飞跃,等.膨胀土强度指标的试验研究及变异性分析[J].合肥工业大学学报(自然科学版),2013(3):332-336.
- [2] 胡晓军,吴延枝.膨胀土改良技术研究综述[J].合肥学报(自然科学版),2014,24(4):80-85.
- [3] 曾娟娟,文畅平,苏伟,等.基于生物酶改良膨胀土的试验研究[J].建筑科学,2017,33(5):69-72.
- [4] 杨和平,贺迎喜,江唯伟.微生物影响岩土工程的现状及用微生物技术改良膨胀土的思考[J].中外公路,2007,27(4):228-231.
- [5] ZHANG M, GUO H, EI-KORCHI T. Experimental feasibility study of geopolymer as the next-generation soil stabilizer[J]. Construction and building materials, 2013, 47:1468.
- [6] 查甫生,刘松玉,杜延军.石灰-粉煤灰改良膨胀土试验[J].东南大学学报(自然科学版),2007,37(2):339-344.
- [7] 陈新苗.引江济淮膨胀土工程特性研究[J].合肥工业大学学报(自然科学版),2009,32(7):1072-1075.
- [8] 周晓辉,李威,刘浩.枯草芽孢杆菌微生态制剂在禽畜养殖中的作用[J].河北科技大学报,2016,37(5):503-507.
- [9] 杜晓雨,赵恺等.枯草芽孢杆菌微生态制剂发酵研究进展[J].微生物学通报,2020,47(3):903-914.