

外源微生物对堆肥理化性质及酶活影响的研究

李 琬, 许修宏

(东北农业大学资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:利用牛粪和稻草为原料进行堆肥实验,通过测定堆肥过程中的温度、含水率等物理、化学指标以及酶活性的变化,研究了接种外源微生物对堆肥过程的影响。结果表明,接种外源微生物比对照提前 2 d 达到高温期,并且维持时间长。大肠杆菌数量及植物毒性比不接种大幅度降低,纤维素酶、脲酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶均有所增加。说明接种外源微生物可以使堆肥中微生物数量增多,加速堆料中有机物的分解,加快堆肥腐熟,缩短堆肥反应的进程,对优化堆肥工艺具有重要的意义。

关键词:牛粪;堆肥;外源微生物;酶活性

中图分类号:S141.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)03-0592-05

Physico-Chemical Properties and Enzymic Activities in Composting by Inoculating Exogenous Microbes

LI Wan, XU Xiu-hong

(College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The daily increasing of agricultural wastes has posed a huge threat to the environmental safety. The poultry manure may lead to serious environmental pollution if it is not handled properly, for it has such features as higher water content, odorous smell, as well as containing the pathogenic microorganisms. On the other side, if the poultry manure is disposed in a scientific way, the pollution may be controlled, and moreover the wastes may be turned into treasure. Composting is a common technology for disposing of agricultural wastes at present, which may lead to harmlessness, reduction and recycling of agricultural wastes. Inoculating microorganisms may speed up the composting process and enhance the quality of composting product. In this research cellulolytic microorganisms and azotobacter were isolated and selected from fresh dairy manure and composting materials and inoculated back into composting of cattle manure and rice straw to enhance the process. Physical indexes such as temperature, water and enzyme activities were determined. The result showed that the inoculated compost was characterized by reaching high temperature 2 days earlier and keeping this period longer, higher activities of cellulose enzymic, urease, polyphenol oxidase, catalase, significant reduction in number of *Escherichia coli*. and phytotoxicity than the control. The results indicated that inoculating exogenous microbes could enhance the activity of microbes, speed decomposition of organic matter, accelerate maturity, shorten the time of composting and was of great significance to optimize the technology of composting.

Keywords: cattle manure; compost; exogenous microbes; enzymic activities

堆肥化是处理禽畜粪便并使之资源化的一项重要技术,有广阔的发展前景。传统堆肥过程主要是一个由自然微生物参与实现腐熟的生理生化过程,伴有恶臭、污水、蚊蝇,而且耗时长,难以适应经济发展的

需要^[1]。理论上有可能通过接种外源微生物来加速堆肥进程^[2],一些研究已表明,在人工条件下通过接种可提高堆肥微生物数量,加速堆肥反应进程^[3-5]。国内外微生物接种剂的发展趋势可分为两类:一类是在发酵过程中添加纤维素分解菌,以便促进有机质分解,缩短发酵时间;另一类是接种固氮微生物、解磷和解钾菌,有利于堆肥过程中养分的保存^[6]。本试验中所添加的复合微生物中含有纤维素分解菌、固氮菌菌株,通过接种该复合微生物研究在堆肥过程中的物理化学指标、酶活性变化特征,比较接种外源微生物对堆肥的影响,为有效处理牛粪等高纤维类废弃物提供一定

收稿日期:2009-07-06

基金项目:中国科学院知识创新工程重大项目(KSCX1-YW-09-09-03);黑龙江省科技计划项目(KT05A400-1);哈尔滨市科技攻关计划项目(2007AA6CN105);东北农业大学创新团队发展计划项目(CXT003-2-1)

作者简介:李 琬(1977—),女,黑龙江哈尔滨人,在读博士,主要从事微生物学研究。E-mail:hliwan@hotmail.com

通讯作者:许修宏 E-mail:howard2857@hotmail.com

的理论基础。

1 材料与方法

1.1 堆肥原料及理化性质

堆肥原料的基本性质见表 1, 其中堆肥物料为牛粪和稻草, 牛粪由幸福农场提供, 填充料选用稻草。稻草是一种理想的填充料, 它干燥、疏松, 可增加堆体的孔隙度, 扩大物料与空气的接触面积, 增大堆肥介质中氧的含量和加强空气对流, 利于好氧发酵的进行。

表 1 堆肥原料的基本性质

Table 1 Physical and chemical properties of the raw materials used in composting process

原料	TOC/%	全氮/%	C/N	含水率/%
牛粪	31.80%	1.34%	23.73	37.95%
稻草	41.98%	0.73%	57.51	12.01%

1.2 试验设计

堆肥试验于东北农业大学园艺站室内进行, 通风状况良好, 实行人工翻堆通气。试验设置 2 个堆体, 一堆接种外源微生物(处理), 另一堆不接种作为对照(CK)。所添加外源微生物由本实验室选育、保藏, 其中包括纤维素分解菌及固氮菌, 活菌数为 10^9 个·g⁻¹ 以上, 按体积比 0.5% 接种到堆肥物料中, 对照中加入等量灭菌培养基。每个堆体高 1.2 m, 直径约为 1.5 m, 呈锥形。将稻草切成 5~8 cm 调节 C/N 为 30, 调节堆料含水率为 65% 左右。试验分别在堆肥发酵的第 0、3、6、9、12、15、19、22、25、30 d 取样, 距堆体顶端 40~50 cm 处分 5 点采集样品, 将样品混合均匀待测。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 测定指标

温度、含水率、pH 值、C/N、种子发芽指数(GI)、大肠杆菌数量、酶活性。

1.3.2 测定方法

温度采用温度传感器测量; 含水率通过测定 105 °C 24 h 烘干前后样品的重量变化来确定; 取 10 g 新鲜样品加 90 mL 去离子水, 振荡 1 h, 然后过滤, 滤液测定 pH 值; 发芽指数: 吸取 5 mL 堆肥浸提液(新鲜样品: 水=1:10)于垫有滤纸的培养皿中, 均匀放入 10 颗饱满的黄豆种子, 以蒸馏水作对照, 每个处理 3 次重复, 在 25 °C 恒温培养箱中培养 48 h, 测定种子发芽率和根长; 总有机碳用磷酸浴外源加热重铬酸钾氧化法测定; 全氮用凯氏定氮法测定^[7]; C/N 为总有机碳与全氮的比值; 酶活性测定方法参照关松荫编写的《土

壤酶及其研究法》^[8]。

2 结果与讨论

2.1 温度的变化

温度是影响有机固体废弃物好氧堆肥的一个重要因素, 堆肥过程中微生物的新陈代谢与温度具有紧密的相关性。本试验结果如图 1 所示, 处理的升温速度大于 CK 的升温速度, 最高温度高于 CK, 并且比 CK 提前 2 d 达到 55 °C, 最高温度为 70 °C, CK 的最高温度为 68 °C。我国粪便无害化卫生标准认为堆肥温度在 50~55 °C 以上 5~7 d, 符合粪便卫生无害化要求^[9], 本试验 CK 和处理的堆体温度在 55 °C 以上分别为 9 d、13 d, 均达到无害化要求。在第 9 d 和第 20 d 以人工翻堆的方式对堆体进行通风供氧, 因此堆体温度下降较大。两个堆体在 24 d 左右温度自然下降, 从表观特征说明堆肥开始进入腐熟阶段。

堆肥温度在一定程度上反应堆肥系统中微生物活性, 从温度的变化可看到接种外源微生物可提高堆肥微生物活性, 说明接种后的堆体有机物分解速度比不接种剧烈。

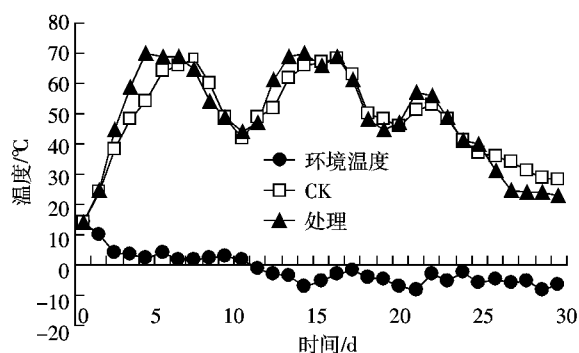


图 1 不同处理中温度的变化

Figure 1 Variations of temperature during composting

2.2 pH 值的变化

pH 值是影响微生物生长的重要环境因素之一, 细菌、放线菌适宜在 pH 值为中性或微碱性的环境生长, 真菌适宜在 pH 值为中性或微酸性环境生长。pH 值大小不仅影响有机物质分解、矿物质的溶解、氧化还原及微生物活动强度, 而且直接影响酶参与的生化反应速度。根据美国环保局的规定, 堆肥混合物的 pH 值应在 6.0~9.0 之间, 如图 2 所示, 本试验的 pH 一直在比较理想的范围内。

CK 与处理初始 pH 值分别为 7.42、7.43, 结束后的 pH 值分别为 7.73、7.76。CK 和处理的 pH 值均呈

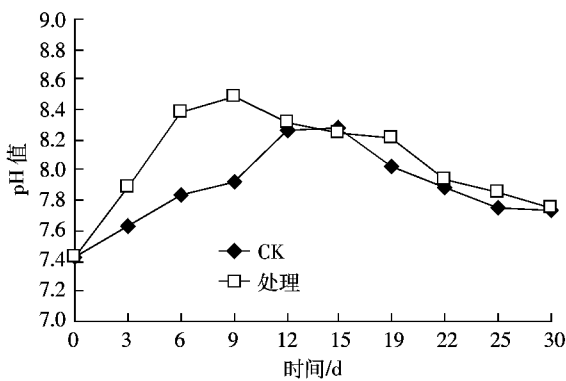


图 2 不同堆肥处理中 pH 的变化
Figure 2 Variations of pH value during composting

先上升后下降的趋势。

2.3 含水率的变化

本试验选用的牛粪初始含水率为 37.95%，加入一定比例的稻草后，堆肥含水率调整到 65%左右，随着堆肥化的进行，各堆体的含水率总体呈下降趋势，如图 3 所示。堆制到 30 d 时,CK 和处理的含水率分别从 64.5%、65.5%降低到 29.6%、23.1%，处理的含水率比 CK 低的原因分析是由于高温的持续时间长所致。

2.4 C/N 的变化

堆肥过程中各处理的 C/N 均呈现出下降趋势,C/N 是腐熟度评价的重要指标之一，通常认为堆肥物料的 C/N 由最初 30 左右下降为 20 以下时，可以初步判定堆肥达到腐熟^[10-11]。由表 2 可以看出,堆肥过程中,对照的 C/N 比值始终高于处理,表明其腐熟速度比处理慢。

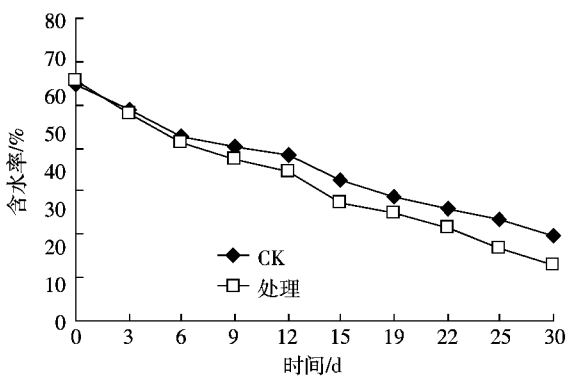


图 3 不同堆肥处理中含水量的变化
Figure 3 Variations of water content during composting

2.5 大肠杆菌数量的变化

大肠杆菌是一类指示菌,当堆肥中存在大肠杆菌时表明其他种类病原菌的存在,高温可致使大肠杆菌死亡,其他病原微生物也相当于被杀死。一般认为,粪大肠菌值为 $10^{-1} \sim 10^{-2}$,符合粪便无害化卫生标准^[9]。从表 3 可以看出,堆肥初期大肠杆菌数量很高,处理和 CK 分别为 2.18×10^5 、 2.53×10^5 ,随着堆肥温度的不断升高,其数量不断下降,其中,处理的下降幅度比 CK 大。到第 15 d,处理中已未有大肠杆菌检出^[12],CK 则到第 22 d 才未有大肠杆菌检出。这是由于添加该外源微生物组合可以使堆体温度迅速上升并且维持高温的时间比对照长,有助于快速杀死病原菌。

表 2 不同处理 C/N 的变化
Table 2 Variations of C/N during composting

时间/d	0	3	6	9	12	15	19	22	25	30
CK	28.84	27.59	24.01	24.69	23.58	22.88	22.31	20.96	19.06	18.12
处理	29.16	27.31	25.87	24.57	23.09	22.03	21.81	19.87	18.96	17.59

2.6 发芽指数(GI)的变化

GI 常用来评价堆肥的植物毒性,当 $GI > 50\%$,可认为基本无毒性,当 GI 达到 80%时,可认为堆肥对植物没有毒性或基本达到腐熟^[13]。如图 4 所示在堆肥初期 GI 下降,这是因为有机物质开始分解产生对植物生长有害的物质使 GI 下降,6 d 后 GI 开始逐渐上升,处理比 CK 上升的快,经过 30 d,CK 和处理的 GI 分别为 76.5%、85.4%,表明接种该外源微生物组合可降

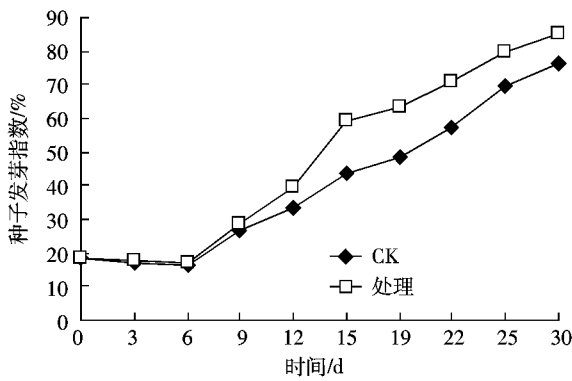


图 4 不同处理中种子发芽指数的变化
Figure 4 Variations of germination index during composting

表 3 不同处理中大肠杆菌数量的变化($\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$)
Table 3 Variations of *E.coli* during composting($\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$)

时间/d	0	3	6	9	12	15	19	22	25	30
处理	2.18×10^5	5.26×10^4	3.65×10^3	6.56×10^2	1.02×10^1	0	0	0	0	0
CK	2.53×10^5	8.31×10^4	6.53×10^4	8.24×10^3	1.51×10^3	6.27×10^2	2.30×10^1	0	0	0

低植物毒性,加速堆肥的腐熟。

2.7 酶活动态变化

堆肥过程是在微生物分泌的胞外酶的作用下,把复杂的有机物质转化成简单的有机物和无机物。但有机物质的变化并不限于分解,同时还进行新的有机物质合成,这是在酶促作用下进一步把矿化的中间产物合成复杂的腐殖质。因此,酶活性的强弱直接决定堆肥的进程和强度^[14]。

2.7.1 纤维素酶活性变化

纤维素的降解主要是在纤维素酶的参与下进行的。纤维素酶活性的变化可反映堆肥过程中碳素的降解情况,其活性与环境呼吸强度有密切关联。纤维素酶活性(U)以单位样品重 24 h 产生的葡萄糖的“mg”数表示。纤维素酶活性变化如图 5 所示,堆肥前期处理的纤维素酶活性明显高于 CK,说明接种外源微生物可促进纤维素的降解,缩短堆肥周期。

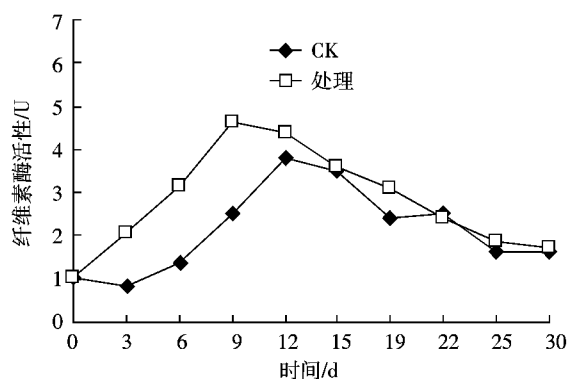


图 5 不同处理中纤维素酶活性变化

Figure 5 Variations of cellulose enzyme activity during composting

2.7.2 脲酶活性变化

脲酶活性(U)以单位样品重 24 h 酶促反应消耗尿素生成氨的数量表示。从图 6 可以看出,2 个堆肥处理中脲酶活性的变化均先升高后降低。处理在堆肥过程中脲酶活性最高峰值(28.87 U)和活性平均值(16.43 U)都分别高于对照处理的最高峰值(21.06 U)和活性平均值(12.76 U),表明接种菌剂能有效提高脲酶活性水平及高峰值。脲酶的活性常用作表示氮素的营养状况,第 30 d 时处理比 CK 脲酶活性高 3.04 U,表示添加该微生物能促进尿素分解,提高堆肥产品质量。

2.7.3 多酚氧化酶活性变化

多酚氧化酶活性以单位样品重 3 h 生成的紫色没食子素的“mg”数表示。如图 7 所示,随着堆体温度的上升,多酚氧化酶活性增加,在第 12 d 达到一个峰

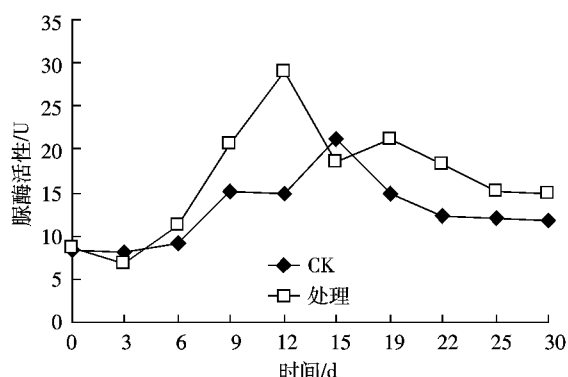


图 6 不同处理中脲酶活性变化

Figure 6 Variations of urease activity during composting

值 0.119 U, 多酚氧化酶活性在堆肥中后期的活性比前期高,与堆肥过程中木质素在中后期分解以及胡敏酸在中后期合成有关。在堆肥的第 12 d 至第 30 d,处理的多酚氧化酶活性始终高于 CK,说明其可更好地促进木质素的降解。

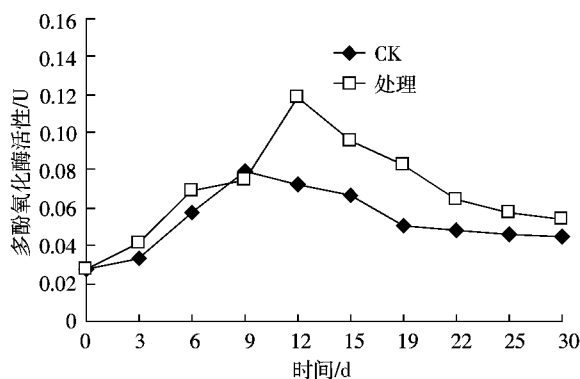


图 7 不同处理中多酚氧化酶活性变化

Figure 7 Variations of polyphenol oxidase activity during composting

2.7.4 过氧化氢酶活性变化

过氧化氢酶活性与好氧堆肥中的有机质含量及微生物数量密切相关,其活性大小反映堆肥中有机质转化的强度。从图 8 可看出,在堆肥过程中接种处理的过氧化氢酶活性在 3~12 d 均略高于 CK,堆肥后期该酶活性降低,这与高温引起的微生物数量及有机质含量减少有关。堆肥的 19~30 d 过氧化氢酶活性比较稳定,说明堆肥后期有机质转化速度减慢。

3 结论

(1) 接种处理比 CK 提前 2 d 达到 55 ℃,并且高温期持续时间长,加速了堆肥物料的有机物质分解。

(2) 堆肥到第 30 d 时 2 个处理均符合粪便无害化卫生标准,接种处理比 CK 种子发芽指数高,大肠

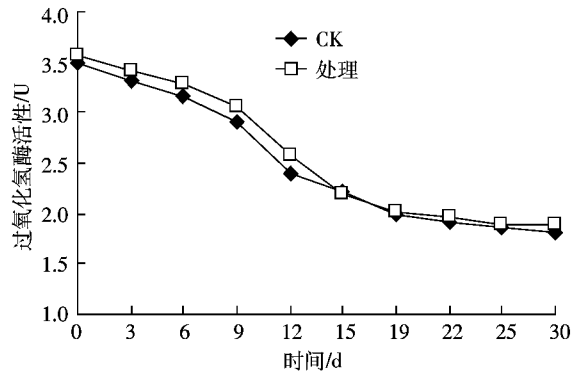


图 8 不同处理中过氧化氢酶活性变化

Figure 8 Variations of catalase activity during composting

杆菌死亡率高,提前达到腐熟。

(3)接种处理的纤维素酶、脲酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶均不同程度地高于 CK,说明接种该外源微生物组合可增加堆肥初期微生物数量,加速堆肥中纤维素和尿素的分解,促进堆肥进程,提高堆肥产品的质量。

综上所述,接种该外源微生物组合能够在一定程度上加快升温过程,加速对有机物的降解,高温维持时间长,可有效杀灭病原微生物,缩短堆肥周期。

参考文献:

- [1] 席北斗,等.生活垃圾堆肥接种技术[J].环境科学,2003,24(1):157-160.
XI Bei-dou, et al. Composting technology of municipal solid waste with inoculation agent[J]. *Environmental Science*, 2003, 24(1): 157-160.
- [2] 胡 菊,肖湘政,吕振宇,等.接种 VT 菌剂堆肥过程中物理化学变化特征分析[J].农业环境科学学报,2005,24(5):970-974.
HU Ju, XIAO Xiang-zheng, LV Zhen-yu, et al. Physical and chemical indexes of composting inoculated VT microbes[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(5): 970-974.
- [3] 黄懿梅,曲 东,李国学,等.两种外源微生物对鸡粪高温堆肥的影响[J].农业环境保护,2002,21(3):208-210.
HUANG Yi-mei, QU Dong, LI Guo-xue, et al. Effects of two kinds of inoculating microbes on chicken manure composting[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2002, 21(3): 208-210.
- [4] 冯 宏,李华兴.菌剂对堆肥的作用及其应用[J].生态环境,2004,13

(3):439-441.

FENG Hong, LI Hua-xing. The functions of microbial inoculum and its application in composting[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(3): 439-441.

- [5] 殷培杰,孙军德,石星群,等.微生物菌剂在鸡粪有机肥料堆制发酵中的应用[J].微生物学杂志,2004,24(6):43-46.

YIN Pei-jie, SUN Jun-de, SHI Xing-qun, et al. Application of microbial preparation on compost of chicken droppings[J]. *Journal of Microbiology*, 2004, 24(6): 43-46.

- [6] 李国学,李玉春,李彦富.固体废物堆肥化及堆肥添加剂研究进展[J].农业环境科学学报,2003,22(2):252-256.

LI Guo-xue, LI Yu-chun, LI Yan-fu. Advance on composting of solid waste and utilization of additives[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(2): 252-256.

- [7] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000:433-440.

BAO Shi-dan. Agricultural soil analysis[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 433-440.

- [8] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986:274-325.

GUAN Song-yin. Soil enzymes and the research method[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 274-325.

- [9] GB7959—1987 中华人民共和国国家标准.粪便无害化卫生标准[S]. GB7959—1987 People's Republic of China National Standard. Faeces harmless health standards[S].

- [10] Eklind Y, Kirchmann H. Composting and storage of organic household waste with different litter amendments. I: Carbon turnover[J]. *Biore-source Technology*, 2000, 74: 115-124.

- [11] 程 刚,耿冬梅,马梅荣,等.生活垃圾接种堆肥中试研究[J].哈尔滨工业大学学报,2004,36(10):1417-1419.

CHENG Gang, GENG Dong-mei, MA Mei-rong, et al. Pilot research on the inoculated composting of municipal solid waste[J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2004, 36(10): 1417-1419.

- [12] Tiquia S M, Tam N Y. Co composting of spent pig litter and sludge with forced aeration[J]. *Biore Technol*, 2000, 72: 1-7.

- [13] Riffaldi R, Levi-Minzi R, Pera A, et al. Evaluation of compost maturity by means of chemical and microbial analyses[J]. *Waste Management and Research*, 1986(4): 387-396.

- [14] 朴 哲,等.高温堆肥的生物化学变化特征及植物抑制物质的降解规律[J].农业环境保护,2001,20(4):206-209.

PIAO Zhe, et al. Characterization of biochemistry and degradation of plant-inhibited materials during high temperature composting[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2001, 20(4): 206-209.