

城市生活污水蚯蚓处理过程中相关酶活性的动态变化特征

徐轶群^{1,2}, 封克², 王子波², 许健²

(1.南京农业大学资源与环境学院, 南京 210095; 2.扬州大学环境科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要:利用大平 2 号蚯蚓处理城市生活污水, 分析了其对污泥磷酸酶、脲酶、蛋白酶、蔗糖酶活性的影响。结果表明, 污泥经蚯蚓处理后, 相关酶的活性发生了较大的变化, 污泥酸性和碱性磷酸酶活性先升高而后下降, 中性磷酸酶的活性则持续下降; 污泥脲酶的活性先升高后下降; 蛋白酶和蔗糖酶的活性则持续下降。总体来说, 所研究的 4 种酶的活性随着时间延长有下降的趋势, 其中污泥蛋白酶的活性下降最为显著, 其他相对较小。污泥蚯蚓处理过程中有机质等的降低可能是酶活性下降的主要原因。

关键词:城市生活污水; 蚯蚓; 蚯蚓处理; 酶活性

中图分类号:X703.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)05-0995-05

Dynamic Changes of Sewage Sludge Enzyme Activities During Vermicomposting

XU Yi-qun^{1,2}, FENG Ke², WANG Zi-bo², XU Jian²

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Environmental Sciences and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: Land use is the trend for sludge disposal in the world. In soil-sludge system, sludge enzyme play a important role in the conversion of nutrients. In this paper, earthworms were used for vermicomposting experiments, the effects of vermicomposting on enzymatic activities, including phosphatase, urease, protease and invertase in sewage sludge were studied during vermicomposting. The results showed that the activities of sludge enzyme had much change after treated by earthworms. The activities of acidic phosphatase and alkaline phosphatase increased in the early stage of vermicomposting whereas decreased in the late stage, while the activity of neutral phosphatase kept decrease in the whole stage. The other enzyme activities in sewage sludge had also changed after vermicomposting. The activities of urease increased in the early stage of vermicomposting process whereas decreased in the late stage, while the activity of protease and invertase kept decrease in the whole stage. As a whole, with time, the activities of these enzyme decreased as organic matter contents decreased. A significant decrease of the activity of protease was observed as compared to the other enzyme. The lower activities of enzyme in sewage sludge may be due to the decrease of organic matter contents after treated by earthworms.

Keywords: sewage sludge; earthworm; vermicomposting; enzyme activity

城市生活污水的管理已成为一个世界性的难题。据估计, 我国城市污水处理厂每年大概产生约 3 000 万 t 污泥(以干重计)。传统的污泥处置方法包括土地

填埋、焚烧和农业利用等^[1]。近年来, 许多国家包括我国颁布了一系列法规禁止土地填埋, 原因是土地填埋浪费土地, 填埋场容易产生渗滤液污染。污泥焚烧则会消耗大量能源并能导致空气污染。因此, 污泥处置的最有效方法是土地利用。污泥含有大量有机质和营养元素, 可以作为肥料用于贫瘠土壤的开垦。但是, 研究表明, 如果富含营养元素特别是 N、P 的污泥未经任何处理直接农用, 将降低土壤微生物的代

收稿日期: 2009-10-09

基金项目: 江苏省高校自然科学基金基础研究计划项目(08KJD610004)

作者简介: 徐轶群(1974—), 男, 江西丰城人, 在读博士, 讲师, 主要从事固体废弃物处理及资源化利用方面的研究。

E-mail: qunxyq@163.com

通讯作者: 封克 E-mail: fengke@yzu.edu.cn

谢机制,影响植物生长^[2],所以在污泥农用前有必要进行稳定化处理^[3]。蚯蚓处理常常作为污泥农用前的措施并被证实是一种行之有效的手段。蚯蚓对土壤酶活性有积极影响,Parthasarathi 和 Ranganathan 发现蚓粪中各种酶活性较原状土高^[4]。以往的研究多集中在蚯蚓作用于土壤后酶活性的变化或者污泥施用于土壤后土壤中酶活性的变化情况,虽然蚯蚓能增强许多酶的活性得到多数学者认可,但是,国内外关于蚯蚓处理污泥后相关酶的变化研究较少且缺乏系统研究。Le Bayon 和 Binet 研究发现,污泥经蚯蚓处理后,污泥产品(蚓粪)中的酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性升高^[5]。污泥中的酶对污泥的营养成分产生重要影响,进而影响污泥的合理施用。为此,本研究以蚯蚓处理前后的污泥为研究对象,以污泥磷酸酶、脲酶、蛋白酶、蔗糖酶为研究指标,旨在揭示蚯蚓对污泥相关酶的影响和变化规律,为污泥的科学处置与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试蚯蚓与污泥

本研究所选用的蚯蚓品种为成熟的大平2号,该种蚯蚓源自日本,具有惊人的食量和强大的吞食有机废物的能力。蚯蚓取自江苏省农业环境安全服务中心扬州大学环境科学与工程学院实验基地,蚯蚓以牛粪作为繁殖原料,平均体重0.167~0.329 g。

污泥取自扬州汤旺污水处理厂,为脱水污泥,含水率为80.90%,有机质含量(以有机碳计)为319.71 g·kg⁻¹,全氮(凯氏氮)为66.70 g·kg⁻¹,全磷6.12 g·kg⁻¹,全钾6.62 g·kg⁻¹,速效氮7.32 g·kg⁻¹,速效磷0.62 g·kg⁻¹,速效钾1.90 g·kg⁻¹,pH 6.86。一部分污泥装好塑料袋后立即运往实验室,保存在4℃冰箱中,留待实验分析。其他污泥用于蚯蚓处理实验。

1.2 实验设计

蚯蚓对污泥的处理实验在塑料温棚中进行,脱水污泥堆成(长×宽×高=200 cm×50 cm×35 cm)一系列垄,垄与垄之间保持约30 cm的距离。带有蚓粪的蚯蚓接种于垄间,黑色遮阳网覆盖于污泥上面。蚯蚓处理污泥期间,每隔3 d调节1次污泥水分,使之维持在一个相对恒定湿度以利蚯蚓生长。蚯蚓处理的前期污泥的理化性质变化较为剧烈,随着蚯蚓处理的进行,污泥有机质等物质的变化较为平稳且趋于稳定。按照实验设计的时段,分别在处理后的第6、8、11、33 d,从上到下采集适量的处理污泥(蚓粪),去掉其中的蚯蚓、

石块、植物残体和塑料、金属等,保存在4℃冰箱中,直到实验分析。

1.3 测定方法

污泥基本理化性质采用常规分析法测定^[6],其中有机质用重铬酸钾容量法,全氮用半微量凯氏法,全磷用高氯酸-硫酸-钼锑抗比色法,全钾用火焰光度法。

污泥酶活性的测定参照土壤中酶的测定方法^[7-8]。磷酸酶的测定采用磷酸苯二钠比色法,活性以1 g污泥在37℃下培养24 h后污泥中释放出的酚的毫克数表示;蛋白酶采用茚三酮比色法,活性以1 g污泥在37℃下培养24 h释放出甘氨酸的微克数表示;脲酶活性采用靛酚蓝比色法,酶活性以1 g污泥在37℃下培养24 h释放出NH₃-N的毫克数表示;蔗糖酶活性的测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法,活性以1 g污泥在37℃下培养24 h后生成的葡萄糖的毫克数表示。所有实验数据都换算成污泥干样表示。

2 结果与讨论

2.1 蚯蚓处理对污泥磷酸酶活性的影响

以前对酶的研究多集中在土壤的研究中。磷酸酶可加速有机磷的脱磷速度,积累的磷酸酶对土壤磷素的有效性具有重要作用。图1为蚯蚓处理前后,污泥磷酸酶活性的动态变化。蚯蚓处理前,污泥中性和碱性磷酸酶活性处于一个较高水平,而酸性磷酸酶活性相对较低。污泥被蚯蚓处理后的第6 d,酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性分别升高约14.4%和17.4%,而中性磷酸酶的活性降低约17.7%。对于酸性磷酸酶来说,从第6 d开始,酶的活性逐渐降低,在6~11 d这段时间,酸性磷酸酶的活性比较稳定,活性接近处理前污泥。随着处理时间的延长,至第22 d,污泥酶的活性降低,与处理前污泥相比约降低了20%。孙瑞莲^[9]和

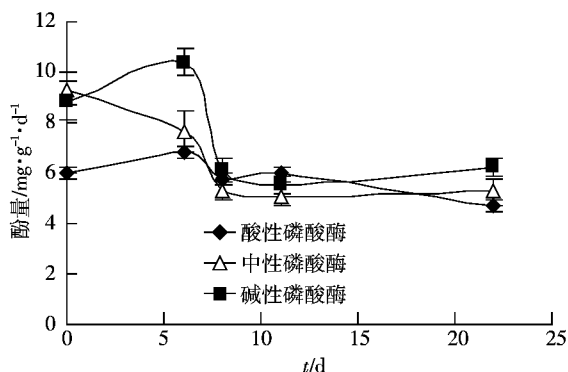


图1 蚯蚓处理对污泥磷酸酶活性的影响

Figure 1 Effects of vermicomposting on the activities of sludge phosphatase

岳中辉等^[10]分别研究了不同肥力的土壤,发现土壤磷酸酶的活性约为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 酚量,所以虽然污泥磷酸酶的活性有所降低,但相对土壤来说,污泥磷酸酶的活性仍处于一个较高的水平,达 $4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 酚量左右,这对于污泥施用土壤后提高土壤磷素的有效性是非常有益的。污泥中性磷酸酶的活性随着时间的延长呈下降趋势,开始的几天下降较为显著,而后趋于稳定,稳定后的中性磷酸酶的活性约为处理前的56%,说明污泥经蚯蚓处理后中性磷酸酶的活性有一个较大幅度的下降。污泥碱性磷酸酶的变化与酸性磷酸酶的变化类似,先上升而后下降趋于稳定,但碱性磷酸酶活性的变化幅度较酸性磷酸酶大。

2.2 蚯蚓处理对污泥脲酶活性的影响

在土壤酶中,脲酶是唯一对尿素的转化作用具有重大影响的酶,脲酶的酶促反应产物氨又是植物氮源之一,它的活性可以用来表示土壤氮素状况。土壤脲酶能促进土壤尿素分子中酰胺碳氮键的水解,生成的氨是植物氮素营养来源之一,在氮肥利用和土壤氮素代谢方面具有重要的意义^[11]。由图2可以看出,污泥经蚯蚓处理后,脲酶的活性在第6d出现上升,随后呈下降趋势,但下降幅度不大,22d后脲酶的活性仍达到一个较高水平,为 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 左右,约为较肥土壤的10倍^[9]。大多数研究表明,土壤脲酶活性与土壤的微生物量、有机质、全氮和速效氮含量呈正相关。本研究中,蚯蚓处理的前6d虽然污泥中的有机质含量下降,但污泥脲酶的活性依然升高,可能的原因是污泥脲酶的活性不仅受到有机质等的影响,还可能受到其他因素的影响。

蚯蚓对污泥的处理导致了污泥一系列理化性质的变化,污泥理化性质对污泥酶活性具有深刻的影响,除有机质外,污泥水分、温度、空气、团聚体、矿质

元素和pH等也影响着污泥酶的活性及稳定性^[7,12-13]。污泥湿度较大时,酶活性较高,但过湿时,酶活性减弱。本研究开始时污泥的含水率达80%左右,含水率过高,酶活性减弱,随着处理的进行,污泥的含水率持续下降,第6d降至71%左右,处理结束时为64%左右,含水率处于一个较高、适宜蚯蚓生长的水平,有利于酶活性的提高。温度直接影响释放酶类的微生物种群及数量。本研究前期温度相对较高,后期温度降低,表现出来的现象是脲酶的活性先上升而后下降,相对其他酶,温度对脲酶的活性影响可能较大,这需要实验进一步证明。蚯蚓处理使污泥的pH值稍有下降,处于6.44~6.86之间,故对酶活性的影响不大。小团聚体污泥的酶活性要比大团聚体中的高。蚯蚓的作用使得污泥的团聚体变小,有利于酶活性的提高。可以看出,不同的因素对酶的活性有不同的影响,且差异较大,酶的活性是各因素综合影响的结果。

2.3 蚯蚓处理对污泥蛋白酶活性的影响

蛋白酶来源于微生物、植物和动物。许多微生物能产生蛋白酶^[10],植物根能够分泌蛋白酶,如小麦根^[7],动物可产生蛋白酶,如胰蛋白酶、胃蛋白酶等。张宝贵等^[14]在两种不同生态类型的蚯蚓肠道和排泄物中检测到蛋白酶活性。蛋白酶是土壤有机氮水解为氨基酸过程中重要的酶。蛋白酶能够分解蛋白质、肽类为氨基酸,参与调节生物的氮素代谢,是促进土壤氮循环的重要组分^[5],可以用来作为氮矿化的一种指示剂^[6],是土壤中氮矿化过程的限速酶^[17]。重金属、有机污染物和不良土壤pH都可以抑制土壤蛋白酶活性,因此,蛋白酶活性也可以反映土壤的环境质量状况^[8]。

研究表明,相对于未处理污泥,蚯蚓作用后,污泥蛋白酶的活性急剧降低,如图3所示,特别是蚯蚓处

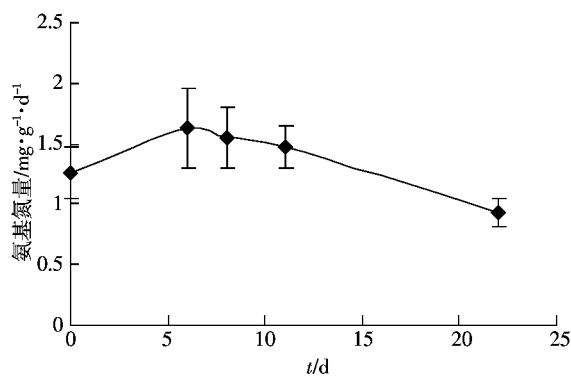


图2 蚯蚓处理对污泥脲酶活性的影响

Figure 2 Effects of vermicomposting on the activities of sludge urease

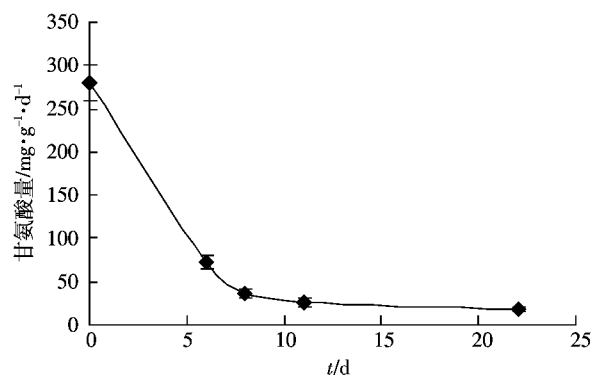


图3 蚯蚓处理对污泥蛋白酶活性的影响

Figure 3 Effects of vermicomposting on the activities of sludge protease

理的前6 d下降尤为明显,而后下降趋于平缓。可能的原因是,随着蚯蚓处理的进行,蚯蚓和微生物的矿化作用使污泥中的有机质含量持续下降,已有研究表明,蛋白酶活性与有机碳、有机氮的含量显著正相关^[18-20]。

2.4 蚯蚓处理对污泥蔗糖酶活性的影响

蔗糖酶又名转化酶,参与污泥-土壤体系中碳水化合物的转化,能促进蔗糖水解生成葡萄糖和果糖,它对增加土壤中易溶性营养物质起着重要的作用。如图4所示,蚯蚓处理后,污泥蔗糖酶的活性缓慢下降,下降幅度较蛋白酶活性小,在22 d的处理时间内约下降19%。和蛋白酶相类似,土壤(污泥)蔗糖酶的活性与土壤有机碳、全氮含量有非常好的相关关系^[21],富含有机质的污泥为蔗糖酶提供了更多的酶促基质,其本身亦带有丰富的微生物和酶。蚯蚓处理使污泥中的有机质含量下降,微生物的量也随之减少,在污泥中,微生物及其残体是酶的主要来源。

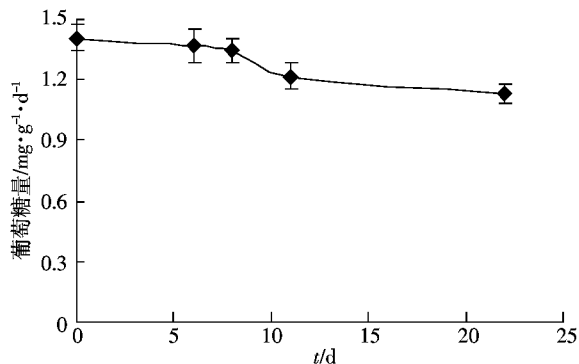


图4 蚯蚓处理对污泥蔗糖酶活性的影响

Figure 4 Effects of vermicomposting on the activities of sludge invertase

3 结论

(1)未处理城市生活污水污泥磷酸酶、脲酶、蛋白酶、蔗糖酶的活性处于一个相对较高的水平。蚯蚓处理对城市生活污水污泥相关酶的活性产生重要影响,所研究酶的活性均发生不同程度的变化。

(2)污泥酸性和碱性磷酸酶活性均为先上升而后下降,中性磷酸酶活性持续下降,3种磷酸酶的活性在后期的下降幅度较小且趋于稳定。

(3)污泥脲酶的活性经蚯蚓处理后,开始时有所上升随后下降。

(4)污泥经蚯蚓处理后,污泥蛋白酶和蔗糖酶的活性持续下降,但两者下降幅度有所差别,其中蛋白酶的活性下降较为剧烈,而蔗糖酶的活性下降较为平缓。

(5)总体来看,污泥经蚯蚓处理后,磷酸酶、脲酶、蛋白酶、蔗糖酶的活性呈下降趋势,这可能与污泥经蚯蚓处理后其中有机质等成分的持续下降有关。尽管如此,相对土壤来说,污泥相关酶的活性仍处于较高的水平,这对污泥-土壤体系营养物质的转化将发挥重要作用。

参考文献:

- [1] Zheng G D, Chen T B, Gao D, et al. Dynamic of lead speciation in sewage sludge composting[J]. *Water Sci Technol*, 2004, 50:75-82.
- [2] Ayusho M, Pascual J A, Garcia C, et al. Evaluation of urbanwastes for agricultural use[J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 1996, 42: 105-111.
- [3] Spinosa L, Vesilind P A. Sludge into biosolids[M]//Processing, Disposal, Utilization. IWA Publishing, London, UK. 2001.
- [4] Parthasarathi K, Ranganathan L S. Longevity of microbial and enzyme activity and their influence on NPK content in pressmud vermicasts[J]. *European Journal of Soil Biology*, 1999, 35(3): 107-113.
- [5] Le Bayon R C, Binet F. Earthworms change the distribution and availability of phosphorous in organic substrates[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38: 235-246.
- [6] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1981:62-142.
Institute of Soil Science. Chinese Academy of Sciences. Analytical methods of soil physics and chemistry[M]. Shanghai:Shanghai Scientific and Technical Press, 1981:62-142.
- [7] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:15-306.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and study method[M]. Beijing:China Agriculture Press, 1986:15-306.
- [8] 蔡红, 沈仁芳. 改良茚三酮比色法测定土壤蛋白酶活性的研究[J]. 土壤学报, 2005, 42(2):306-313.
CAI Hong, SHEN Ren-fang. Determination of soil protease activity with modified ninhydrin colorimetry[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005, 42(2): 306-313.
- [9] 孙瑞莲, 赵秉强, 朱鲁生, 等. 长期定位施肥田土壤酶活性的动态变化特征[J]. 生态环境, 2008, 17(5):2059-2063.
SUN Rui-lian, ZHAO Bing-qiang, ZHU Lu-sheng, et al. Dynamic changes of soil enzyme activities in long-term fertilization soil [J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(5):2059-2063.
- [10] 岳中辉, 王博文, 王洪峰, 等. 松嫩平原西部退化盐碱草地土壤酶活性的季节动态[J]. 水土保持学报, 2008, 22(6):162-165.
YUE Zhong-hui, WANG Bo-wen, WANG Hong-feng, et al. Seasonal dynamics of soil enzymatic activities in West Songnen Alkali Degraded Grassland[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2008, 22(6): 162-165.
- [11] 李永红, 高玉葆. 土壤中单噻磺隆对谷子生长及土壤微生物若干生化功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(4):633-637.
LI Yong-hong, GAO Yu-bao. Effects of monosulfuran on respiration, hydrogenase and invertase activity in soil[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2004, 23(4):633-637.
- [12] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京:科学出版社, 1987:129-274.

- ZHOU Li-kai. Soil enzymology[M]. Beijing: Science Press, 1987: 129–274.
- [13] Kunar V, Singh M. Inhibition of soil urease activity and nitrification with some metallic cations[J]. *Aust J Soil Res*, 1986, 24(4): 527–532.
- [14] 张宝贵, 李贵桐, 孙 钊, 等. 两种生态类型蚯蚓几种消化酶活性比较研究[J]. *生态学报*, 2001, 21(6): 978–981.
- ZHANG Bao-gui, LI Gui-tong, SUN Zhao, et al. Comparative study of digestive enzyme activities in earthworms belonging to two distinct ecological categories[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(6): 978–981.
- [15] Ka Mimura Y, Hayano K. Properties of protease extracted from tea-field soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 30: 351–355.
- [16] Zaman M, Di H J, Cameron K C, et al. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil microbial biomass in soils treated with dairy shed effluent and ammonium fertilizer at different water potentials [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29: 178–186.
- [17] Watanabe K, Hayano K. Seasonal variation of soil protease activities and their relation to proteolytic bacteria and bacillus spp in paddy field soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(2): 197–203.
- [18] Mishra S, Di H J, Cameron K C, et al. Gross nitrogen mineralisation rates in pastoral soils and their relationships with organic nitrogen fractions, microbial biomass and protease activity under glasshouse conditions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2005, 42: 45–53.
- [19] Bonmati M, Ceccanti B, Nanniperi P. Spatial variability of phosphatase, urease, protease, organic carbon and total nitrogen in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1991, 23(4): 391–396.
- [20] De La Paz J M, De Ln Horrn A M, Pruzzo L, et al. Soil quality: A new index based on microbiological and biochemical parameters[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35: 302–306.
- [21] 曹承绵, 李荣华, 张志明, 等. 红壤的酶活性与土壤肥力[J]. *土壤通报*, 1986, 17(7): 15–19.
- CAO Cheng-mian, LI Rong-hua, ZHANG Zhi-ming, et al. Enzyme and fertility of red soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1986, 17(7): 15–19.