

发酵菌剂接种量对堆肥理化性质和有关酶活的影响

胡红伟¹, 李吕木^{1,2*}, 钱 坤², 徐年军³, 朱宏斌⁴, 蒋光月⁴, 李 帆⁴, 许发芝¹, 丁小玲¹

(1.安徽农业大学 生命科学学院, 合肥 230036; 2.安徽省畜牧生物工程技术研究中心, 合肥 230031; 3.安徽太阳现代农业股份有限公司, 安徽 宁国 242300; 4.安徽省农业科学院土壤肥料研究所, 合肥 230031)

摘 要:以鸭场垫料(鸭粪和稻壳混合物)和孵化场及屠宰场废弃有机物为原料进行堆肥试验,采用单因素 4 水平 3 重复设计,研究由耐热芽孢杆菌和沙雷氏菌组成的微生物菌剂不同接种剂量(0%、0.35%、0.40%、0.45%)对堆肥过程中温度、含水率、C/N 等物理、化学指标和脲酶、过氧化氢酶、脱氢酶、蛋白酶和纤维素酶等酶活性变化的影响,来确定微生物菌剂适宜添加量。结果表明,接种微生物菌剂能迅速提高堆体温度,高温维持时间长,达到堆肥无害化的卫生标准。堆肥结束时,接菌各组 C/N 都显著低于对照组($P<0.05$),种子发芽指数、全氮、全磷、全钾及速效氮、磷、钾都显著高于对照组($P<0.05$),接菌各组间各元素含量差异不显著($P>0.05$)。除纤维素酶外,脲酶、过氧化氢酶、脱氢酶和蛋白酶活性在整个堆肥过程中都显著高于对照组($P<0.05$),而接菌各组间酶活性差异不显著($P>0.05$),接菌处理各酶活与理化指标呈现较好的相关性,说明接种外源微生物菌剂能加快堆料有机物的分解,缩短堆肥反应进程。综合判断,在本试验中接种剂量为 0.35%较为合适。

关键词:鸭场垫料;堆肥;菌剂;酶活

中图分类号:S141.4 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)06-1261-10 doi:10.11654/jaes.2013.06.025

Effect of Doses of Fermentation Inoculum on Physico-Chemical Properties and Related Enzymic Activities During the Composting Process

HU Hong-wei¹, LI Lü-mu^{1,2*}, QIAN Kun², XU Nian-jun³, ZHU Hong-bin⁴, JIANG Guang-yue⁴, LI Fan⁴, XU Fa-zhi¹, DING Xiao-ling¹

(1.College of Life Science, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China; 2.Anhui Animal Biological Engineering Technology Research Center, Hefei 230031, China; 3.Anhui Taiyang Modern Agriculture Limited Company, Ningguo 242300, Anhui, China; 4.Soil and Fertilizer Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230031, China)

Abstract: In the research, the duck farm cushion and organic waste of duck hatching plant and slaughter and processing plant were used as compost materials, single factor 4 levels 3 repeat design was carried out. Effects of adding different doses (0%, 0.35%, 0.40%, 0.45%) of microorganism agent (consisted of *Bacillus* and *Serratia*) on compost physicochemical indexes including temperature, moisture content, C/N, germination index, total N, total P, total K, available N, available P, available K, and the enzymic activities including urease, cellulase, dehydrogenase, catalase and protease were researched, to determine suitable addition amount of microorganism agent. The results showed that, adding microorganism agent treatment had faster temperature rising, higher temperature and longer high temperature duration than control. At the end of composting, C/N of those with adding microorganism agent were significantly lower than control ($P<0.05$), germination index, total N, total P, total K, available N, available P, available K were significantly higher than control ($P<0.05$). Urease, dehydrogenase, catalase and protease activities were significantly higher than control ($P<0.05$), however, those with adding microorganism agent were not significantly higher than control ($P>0.05$). Enzyme activity of experiment treatment and the physicochemical index shows a good correlation. In conclusion, adding 0.35% microorganism agent was optimum for composting in this research.

Keywords: duck farm cushion; compost; microorganism agent; enzymic activity

收稿日期:2012-12-02

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划(2012BAD14B13)

作者简介:胡红伟(1985—),男,山东聊城人,在读硕士,主要从事微生物学研究。

*通信作者:李吕木 E-mail:llm56@ahau.edu.cn

近年来,随着集约化养殖业的快速发展,产生了大量的堆积畜禽粪便,如不能及时处理,便会对环境造成严重的污染。如何高效、快捷地处理畜禽粪便,使其无害化和资源化,成为当今发展绿色畜牧业不可回避的难题之一。对于畜禽粪便等固体废弃物,从工艺的安全可靠、运行管理以及我国国情等角度来考虑,好氧堆肥是目前最常用的一种无害化、资源化处理的有效方法。好氧堆肥由于其处理成本低、无害化程度高、处理能力强,处理后的产品方便运输,也能在农田施用等特点而备受关注^[1]。传统的自然堆肥一般发酵周期较长,为了加快堆肥进程,很多研究人员接种外源微生物菌剂到堆肥物料中并结合翻堆取得了良好的效果^[2-4],好氧堆肥实质上是在微生物的作用下发生的酶促生化反应过程^[5-6],堆肥过程中,微生物对有机物的降解能力取决于相关酶的活性^[7-9]。

目前关于好氧堆肥的研究多以猪粪、鸡粪和牛粪为研究对象^[10-14],有关肉鸭场垫料及其屠宰加工厂与孵化厂混合物堆肥的研究未见报道,同时对于堆肥过程中原料理化性状变化关注较多^[15-17],而对堆肥过程中原料物化指标变化与有关酶活的关系鲜有研究。此外,粪便堆肥外接菌剂的菌种主要有芽孢杆菌、假单胞菌、青霉菌、白腐菌和放线菌等^[18-20],耐热芽孢杆菌和沙雷氏菌混合用于鸭场垫料等废弃有机物的发酵腐熟,也未见同类研究,而这两种菌混合在本实验室前期用于猪粪的堆肥中,证明可显著加快堆肥进程,提高有机肥品质^[21]。为此,本研究以鸭场垫料以及鸭孵化厂和屠宰加工厂废弃有机物为原料,系统研究其接种耐热芽孢杆菌和沙雷氏菌混合菌剂进行堆肥时原料的理化指标变化及其与有关酶活变化的关系,以确定适宜的菌剂添加量,为鸭产业废弃物的资源化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

堆肥原料为鸭场垫料(鸭粪和稻壳混合物)与鸭孵化厂和屠宰加工厂有机废弃混合物,由安徽太阳禽

业股份有限公司提供。原料的主要性状见表1。

1.2 微生物菌剂

菌剂由耐热芽孢杆菌和沙雷氏菌组成,安徽科创牧业生物技术有限公司生产,其菌种由本实验室提供。

1.3 试验设计

堆肥试验于2012年4月23日至5月7日在安徽太阳现代农业股份有限公司有机肥厂车间进行,采用单因素4水平3重复设计。试验进行条剁式堆肥,每个堆体长7 m,堆底宽1.2 m,高1 m。对照组、试验1组、试验2组和试验3组微生物菌剂(由耐热芽孢杆菌和沙雷氏菌组成)接种量分别为0%、0.35%、0.40%、0.45%(物料湿重基础),每个重复5 t物料,堆肥物料有两种,一种为鸭场垫料,另一种为鸭孵化厂和屠宰加工厂有机废弃混合物,鸭场垫料与有机废弃混合物按照质量比2:1的比例均匀混合,鸭孵化厂和屠宰加工厂有机废弃混合物在堆肥前进行粉碎处理。所有重复于堆肥当天及以后每7 d翻堆1次,采用大型翻堆混合机进行翻堆。调节各组初始含水率为50%左右,每天上午9:00和下午15:00在各肥堆50 cm深处测定温度,每3 d取样1次。采样方法:在翻堆充分拌匀后,按照五点采样法采样。

1.4 测定指标及方法

温度:采用刺入式温度计测定肥堆中心温度,在各处理50 cm深处沿3个(前左右)不同方向分别插入温度计,测定其温度取平均值。

含水率:通过烘干法测定。

发芽指数:取5 mL堆肥浸提液(新鲜样品:水=1:10)放入垫有滤纸的9 cm平皿里,以蒸馏水为对照,在平皿放入10粒小白菜种子,25℃条件下,黑暗培养48 h,测定种子发芽率及根长,种子发芽指数计算公式:发芽指数(GI)=(对照组平均发芽率×对照组平均根长)/(空白平均发芽率×空白平均根长)。

C/N比(总有机碳与全氮的比值):鲜样风干后,粉碎过1 mm筛,用于测定总有机碳、全氮、全磷、全钾、速效氮、速效磷和速效钾,测定方法分别为重铬酸钾容量法测定^[22]、硫酸-H₂O₂消化法^[23]、硫酸-硝酸消

表1 堆肥原料的基本性质

Table 1 Basic physical and chemical property of the compost materials

原料 Raw material	含水率 Moisture content/%	全碳 Total carbon/g·kg ⁻¹	全氮 Total nitrogen/g·kg ⁻¹	碳氮比(C/N ratio)
鸭场垫料 The duck farm cushion	58	258	14.8	17.4
孵化厂与屠宰场有机废弃混合物 Organic waste mixture of duck hatching plant and slaughter and processing plant	35	168	15.6	10.8

煮-钼钒黄比色法^[24]、硫酸-硝酸消煮-火焰光度法^[25]、NaCl 浸提-Zn-FeSO₄ 还原蒸馏法^[24]、1/2 NaHCO₃ 法^[26]、NH₄OAc 浸提-火焰光度法测定^[24]。

脲酶活性:在样品中加入尿素后培养,使尿素在脲酶作用下水解为氨,培养 24 h,测定氨含量,活性单位用 mg N-NH₃·g⁻¹·d⁻¹ 表示^[27]。

过氧化氢酶活性:在堆肥样品中加入过氧化氢后振荡培养 20 min,用 0.1 mol·L⁻¹ 高锰酸钾滴定,以每克样品 20 min 消耗高锰酸钾的体积来表示过氧化氢酶活^[28]。

脱氢酶活性:在样品中加入氢受体三苯基四唑氯化物(TTC)后培养 24 h,测定在脱氢酶作用下生成红色甲臍(TPF)的含量,活性单位用 μg TPF·g⁻¹·d⁻¹ 表示^[29]。

纤维素酶活性:在样品中加入羧甲基纤维素钠后,50℃培养 24 h,在纤维素酶的作用下,纤维素水解成葡萄糖,测定葡萄糖的生成量表征纤维素酶活,活性单位用 mg Glucose·g⁻¹·d⁻¹ 表示^[30]。

蛋白酶活性:以酪蛋白为底物,以 1 g 样品 1 min 水解酪蛋白产生 1 μg 酪氨酸为一个酶活单位^[31]。

1.5 数据处理

图表采用 Excel 制作,数据显著性分析采用 SAS 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 温度的变化

堆肥过程中微生物的活动与温度密切相关,试验结果如图 1 所示,接菌各组的温度升温速度大于对照组的升温速度,接菌各组堆肥第 1 d 都在 66℃以上,对照组只有 58℃,接菌各组最高温度显著高于对照组($P<0.05$),接菌各组最高温度达到 68℃,对照组的

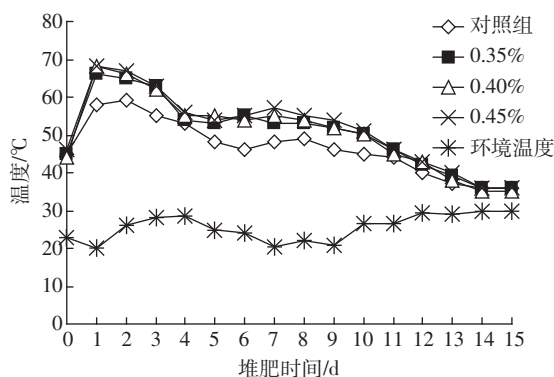


图 1 堆肥过程中堆料温度变化

Figure 1 Changes of the temperature of composted material during composting

最高温度为 59℃。随着高温期的维持及有机物消耗,微生物的代谢活动减慢,产热量减少,对照组和接菌各组的温度分别在第 5 d 和第 12 d 时降到 50℃以下,以后温度逐渐下降,至第 15 d 各组堆体基本接近环境温度。

2.2 水分的变化

堆肥过程中,各处理含水率变化如图 2 所示,各处理初始含水率在 50%左右,堆肥结束时,接菌各组间含水率差异不显著($P>0.05$),但它们的含水率均显著低于对照组($P<0.05$)。

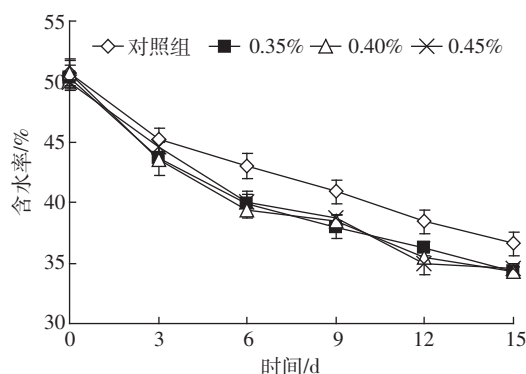


图 2 堆肥过程中含水率变化

Figure 2 Moisture changes in the compost process

2.3 种子发芽指数(GI)的变化

如图 3 所示,随着堆肥时间的增加,各处理 GI 值都呈上升趋势,表明随着堆肥的进行,粪便中的抑制性物质对植物的毒害作用减弱。对照组、接种量 0.35%、0.40%和 0.45%各组的 GI 在堆肥初期为 30%左右,到堆肥结束时,分别增加至 68%、83%、85%、86%。整个堆肥过程中,接菌各组间 GI 值差异不显著($P>0.05$)但均显著高于对照组($P<0.05$)。

2.4 C/N 变化

由图 4 可知,各处理初始 C/N 在 16 左右,堆肥结

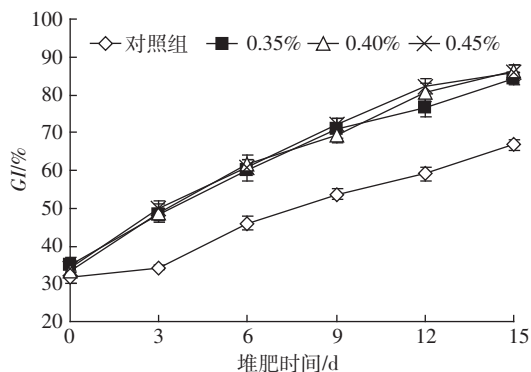


图 3 堆肥过程中发芽指数变化

Figure 3 Changes of germination index during composting

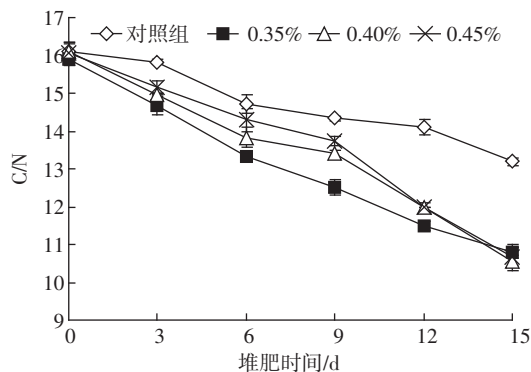


图4 堆肥过程中 C/N 的变化

Figure 4 Changes of C/N ratio during composting

束时,接种量 0.35%、0.40%和 0.45%的 C/N 分别为 10.8、10.5 和 10.7,对照组的 C/N 为 13.2。接菌各组 C/N 均低于对照组($P<0.05$),接菌各组间 C/N 差异不显著($P>0.05$)。

2.5 堆肥过程中养分的变化

由图 5 可以看出,堆肥初期,接菌量 0%、0.35%、0.40%、0.45%各组全氮含量分别为 14.6、14.8、14.4、14.4 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,各组间全氮含量差异不显著($P>0.05$),堆肥结束时,全氮含量除对照组有所降低外(13.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),接菌各组均增加,接种量为 0.35%、0.40%、0.45%时,各组全氮含量分别为 15.8、15.5、15.6 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,接菌各组间全氮含量差异不显著($P>0.05$),但显著高于对照组($P<0.05$)。堆肥初期,对照组、接菌量 0.35%、0.40%和 0.45%各组速效氮(图 6)含量分别为 2.13、2.00、2.03 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1.97 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,各组间差异不显著($P>0.05$),堆肥结束时速效氮含量分别为 1.07、1.30、1.40 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1.30 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。接菌各组间速效氮含量差异不显著($P>0.05$),但它们的速效氮含量均显著高于对照组($P<0.05$)。

磷和钾在整个堆肥过程中较氮素稳定,接种量 0%、0.35%、0.40%、0.45%各组全磷含量(图 7)最初分

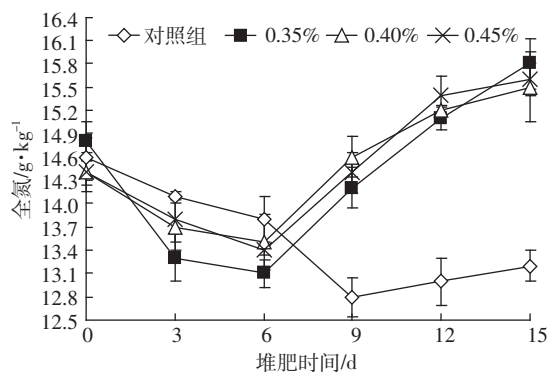


图5 堆肥过程中全氮变化

Figure 5 Changes of total nitrogen during composting

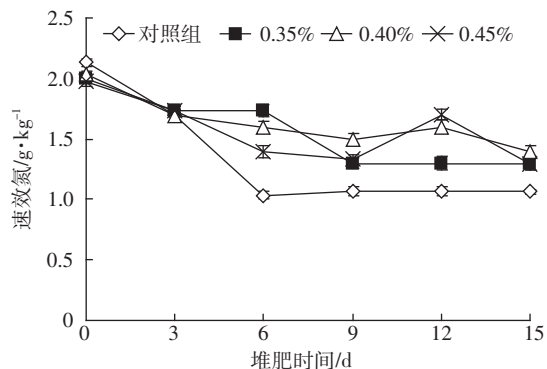


图6 堆肥过程中速效氮变化

Figure 6 Changes of available nitrogen during composting

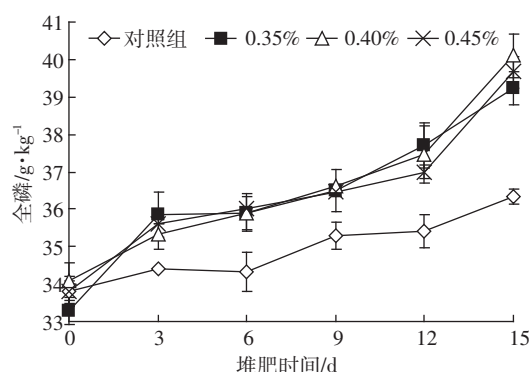


图7 堆肥过程中全磷变化

Figure 7 Changes of total phosphorus during composting

别为 33.8、33.3、34.1、33.8 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 各组间全磷含量差异不显著($P>0.05$),腐熟后提高至 36.3、39.2、40.1、39.7 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。接菌各组间差异不显著($P>0.05$),但显著高于对照组($P<0.05$)。堆肥初期,接菌量 0%、0.35%、0.40%、0.45%各组速效磷含量分别为 13.5、13.4、13.3、13.4 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,各组间速效磷含量差异不显著($P>0.05$),速效磷含量各组都呈增加趋势,堆肥结束时,接种量 0%、0.35%、0.40%、0.45%各组速效磷(图 8)含

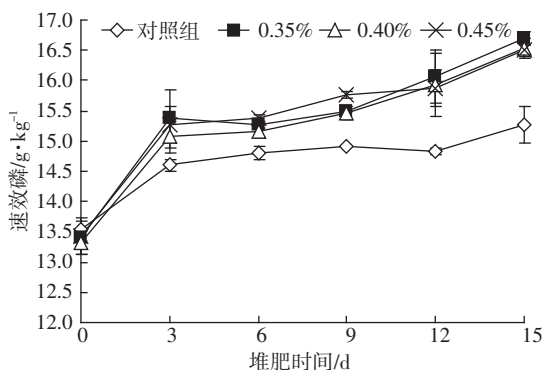


图8 堆肥过程中速效磷变化

Figure 8 Changes of available phosphorus during composting

量分别为 15.3、16.7、16.5、16.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效磷含量接菌各组间差异不显著 ($P>0.05$), 但均显著高于对照组 ($P<0.05$)。接种量 0%、0.35%、0.40%、0.45% 各组全钾含量 (图 9) 初始为 13.4、13.4、13.3、13.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 各组间差异不显著 ($P>0.05$), 堆肥结束时各组全钾含量增加至 14.2、16.2、15.9、15.7 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 接菌各组间全钾含量差异不显著 ($P>0.05$) 但均显著高于对照组 ($P<0.05$)。堆肥初期, 接种量 0%、0.35%、0.40%、0.45% 各组速效钾含量分别为 9.3、9.4、9.2、9.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 各组间速效钾含量差异不显著 ($P>0.05$), 堆肥结束时各组速效钾 (图 10) 分别增加至 9.94、11.4、11.3、11.3 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 接菌各组间速效钾含量差异不显著 ($P>0.05$), 但均显著高于对照组 ($P<0.05$)。

2.6 堆肥过程中酶活变化

2.6.1 脲酶

脲酶的酶活变化如图 11 所示, 各处理在堆肥初期, 脲酶酶活随温度升高而下降, 接菌各组在堆肥第 3 d, 脲酶酶活降到最低, 分别为 2.64、3.75、2.69 $\text{mg N-NH}_3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 随后各组酶活逐渐上升, 在堆肥第 6 d

接菌各组恢复到初始水平, 接菌各组最高酶活出现在第 9 d, 接种量 0.35%、0.40%、0.45% 各组的最高酶活分别为 10.13、10.33、10.0 $\text{mg N-NH}_3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 随后酶活开始下降, 第 12~15 d, 酶活变化平缓, 到堆肥结束时, 接菌各组酶活分别为 5.8、5.7、6.1 $\text{mg N-NH}_3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。对照组脲酶酶活最低值也出现在第 3 d (2.35 $\text{mg N-NH}_3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 脲酶酶活最高值出现在第 12 d。整个堆肥过程中除第 12 d 外, 接菌各组脲酶酶活显著高于对照组 ($P<0.05$)。

2.6.2 脱氢酶

由图 12 可以看出, 在整个堆肥过程中, 各组脱氢酶酶活随着堆肥时间的延长而逐渐升高。在堆肥前 6 d 脱氢酶酶活升高缓慢, 在第 9 d 时, 各组脱氢酶酶活达最高, 接种量 0%、0.35%、0.40%、0.45% 组脱氢酶酶活分别为 3347、5399、5647、5355 $\text{TPF} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。整个堆肥过程中接菌各组间过氧化氢酶酶活差异不显著 ($P>0.05$), 但显著高于对照组 ($P<0.05$)。

2.6.3 过氧化氢酶

各组过氧化氢酶酶活 (图 13) 总体呈先下降后上

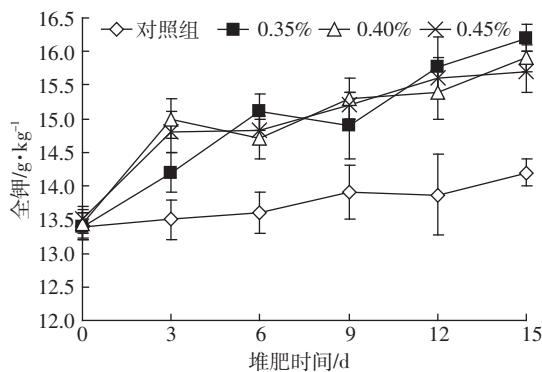


图 9 堆肥过程中全钾变化

Figure 9 Changes of total potassium during composting

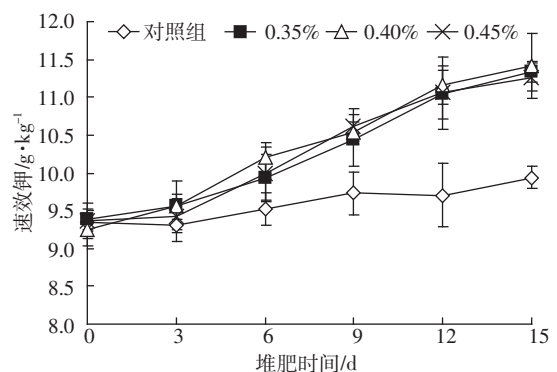


图 10 堆肥过程中速效钾的变化

Figure 10 Changes of available potassium during composting

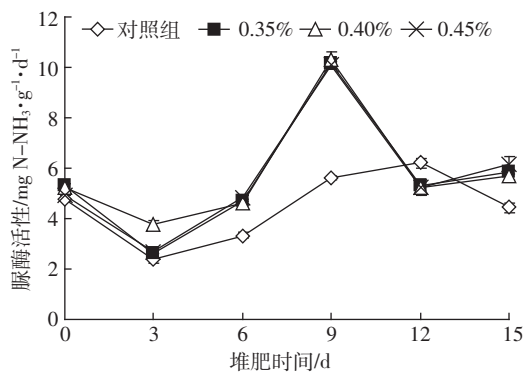


图 11 堆肥过程中脲酶酶活变化

Figure 11 Changes of urease activity during composting

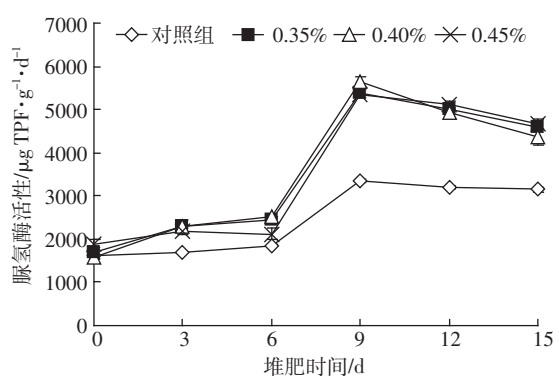


图 12 堆肥过程中脱氢酶酶活变化

Figure 12 Changes of dehydrogenase activity during composting

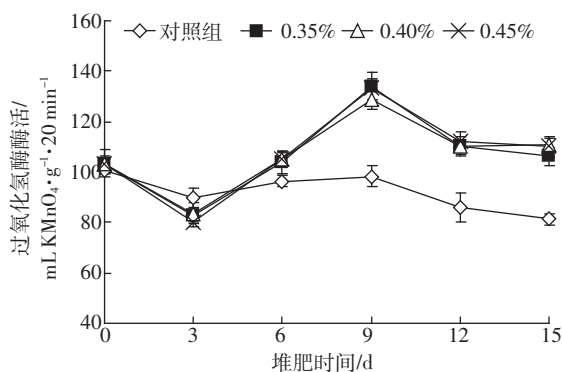


图13 堆肥过程中过氧化氢酶活变化

Figure 13 Changes of catalase activity during composting

升的趋势,在堆肥第3 d 接菌各组过氧化氢酶活降到最低。此时,接种量0.35%、0.40%、0.45%组过氧化氢酶活分别为83.00、83.67、80.00 mL 0.1 mol · L⁻¹ KMnO₄ · g⁻¹ · 20 min⁻¹,显著低于对照组(89.67 mL 0.1 mol · L⁻¹ KMnO₄ · g⁻¹ · 20 min⁻¹),此后,接菌各组过氧化氢酶活逐渐上升,在堆肥第9 d 时接菌各组过氧化氢酶活达到最高,分别为134.13、128.67、133.00 mL 0.1 mol · L⁻¹ KMnO₄ · g⁻¹ · 20 min⁻¹。与接菌各组不同,在整个堆肥过程中对照组过氧化氢酶活虽然也有上升,但变化较平缓,整个堆肥进程中过氧化氢酶活都低于初始值。除堆肥第3 d 外,在整个堆肥过程中,接菌各组过氧化氢酶活间差异不显著($P>0.05$),但都显著高于对照组($P<0.05$)。

2.6.4 蛋白酶

由图14可见,堆肥过程中蛋白酶活性的变化趋势随着堆肥的进行先下降后上升。各接菌处理在堆肥第9 d 均达到峰值,分别为30.42、32.67、33.17 U · g⁻¹,此时接菌各组蛋白酶活显著高于对照组($P<0.05$),接菌量0.40%和0.45%组蛋白酶活显著高于

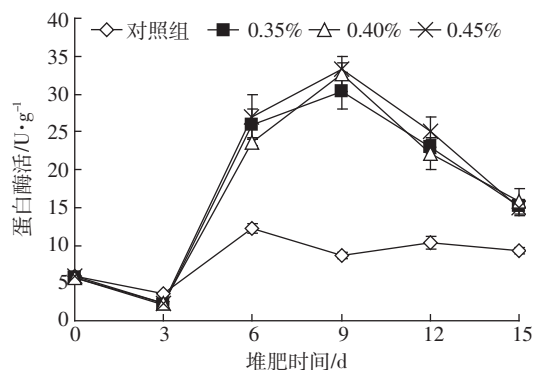


图14 堆肥过程中蛋白酶活变化

Figure 14 Changes of protease activity during composting

接菌量0.35%组($P<0.05$),而后接菌各组蛋白酶活迅速下降。对照组在堆肥初期蛋白酶活较接菌各组下降幅度小,比对照组提早3 d 在第6 d 达到蛋白酶活峰值(12.2 U · g⁻¹)。整个堆肥期间除第3 d 外,接菌各组蛋白酶活都显著高于对照组($P<0.05$)。

2.6.5 纤维素酶

各组纤维素酶活变化趋势为先下降后上升,堆肥第3 d 各组纤维素酶活降到最低,接种量0%、0.35%、0.40%、0.45%组纤维素酶活分别为3.03、2.33、2.16、2.20 mg Glucose · g⁻¹ · d⁻¹,此时对照组纤维素酶活显著高于接菌各组,而后各组纤维素酶活迅速上升,在堆肥第9 d 各组纤维素酶活均达到峰值,分别为5.86、5.83、6.10、5.50 mg Glucose · g⁻¹ · d⁻¹,随后各组纤维素酶活逐渐下降。在整个堆肥过程,除第3 d 和第6 d 对照组纤维素酶活显著高于接菌各组外($P<0.05$),其余时期各组纤维素酶活差异不显著($P>0.05$)。

2.7 堆肥过程中部分理化指标变化与有关酶活变化的关系

在堆肥过程中,各组全氮、C/N 及 GI 的变化与有关酶活的相关性见表2至表4。由表2可知,各处理C/N 与脱氢酶活呈显著负相关,与其他酶活变化无相关。全氮含量除对照组与脱氢酶活呈显著负相关外(表3),接菌各组全氮含量与各酶的活性变化均无显著相关。由表4可知,接菌各组 GI 值与脱氢酶活呈极显著相关。

3 讨论

温度是堆肥过程中生物能量积累的重要标志,根据我国堆肥无害化卫生标准(GB7959—1987)规定,

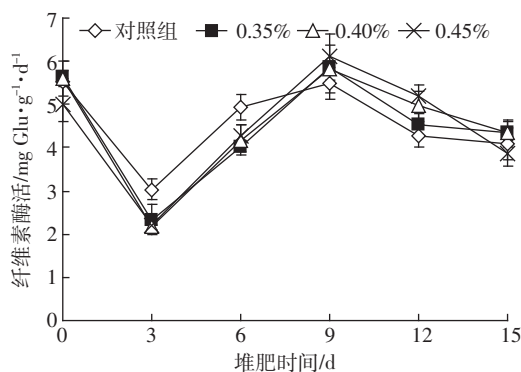


图15 堆肥过程中纤维素酶活变化

Figure 15 Changes of cellulase activity during composting

表 2 堆肥过程中 C/N 与有关酶活的相关关系

Table 2 Correlation coefficient of C/N and enzyme activities during composting

项目	对照组	0.35%处理	0.40%处理	0.45%处理
脲酶	-0.481 9	-0.338 5	-0.168 0	-0.284 7
过氧化氢酶	0.627 4	-0.414 2	-0.420 4	-0.377 4
纤维素酶	0.017 1	-0.057 6	-0.069 0	-0.107 4
脱氢酶	-0.840 2*	-0.841 6*	-0.769 8*	-0.773 0*
蛋白酶	-0.694 0	-0.572 5	-0.463 2	-0.355 5

注:* 是显著相关,** 是极显著相关,下同。

表 3 堆肥过程中全氮与有关酶活的相关关系

Table 3 Correlation coefficient of total nitrogen and enzyme activities during composting

项目	对照组	0.35%处理	0.40%处理	0.45%处理
脲酶	0.380 7	0.353 2	0.545 3	0.399 3
过氧化氢酶	0.378 7	0.353 7	0.545 6	0.398 9
纤维素酶	-0.045 5	0.501 9	0.484 0	0.312 4
脱氢酶	-0.912 0*	0.528 4	0.675 1	0.744 5
蛋白酶	-0.491 2	0.038 5	0.269 9	0.108 4

表 4 堆肥过程中 GI 值与有关酶活的相关关系

Table 4 Correlation coefficient of GI and enzyme activities during composting

项目	对照组	0.35%处理	0.40%处理	0.45%处理
脲酶	0.513 8	0.401 2	0.279 8	0.427 3
过氧化氢酶	-0.660 9	0.466 9	0.502 8	0.507 6
纤维素酶	-0.034 2	0.077 9	0.106 3	0.221 6
脱氢酶	0.494 2	0.879 7**	0.821 4**	0.893 4**
蛋白酶	0.641 3	0.624 6	0.610 2	0.601 0

最高堆肥温度达 50~55 ℃并持续 5~7 d, 认为堆肥达到无害化标准^[32]。根据温度的变化, 可将堆肥分成 3 个阶段, 即升温阶段、高温阶段和降温阶段, 不同阶段有不同的微生物起作用, 在一定的温度范围内, 温度每升高 10 ℃, 有机体生化反应速率提高一倍^[33], 试验中添加菌剂处理堆肥前期堆料升温速度高于对照组, 而在堆肥前 3 d, 接菌各组脲酶酶活和脱氢酶酶活都显著高于对照组 ($P<0.05$), 这可能是由于添加外源微生物菌剂后脲酶酶活和脱氢酶酶活的升高加快了有机物料的消耗, 微生物迅速繁殖产生大量热量。接菌各组 and 对照组 50 ℃以上高温的天数分别为 10 d 和 4 d, 根据无害化卫生标准的要求, 接菌各组达到了标准, 而对照组未达标。从堆肥第 3 d 后, 接菌各组脲酶、过氧化氢酶、脱氢酶和蛋白酶酶活都显著高于对照组, 较高的酶活加快了微生物对有机物的降解产

热, 这可能是接菌各组 50 ℃以上高温天数高于对照组的原因。

堆肥过程中, 水分是一个重要因素, 水分可溶解有机物, 参与微生物的新陈代谢, 水分的蒸发可带走部分热量, 起到调节温度的作用^[34]。堆肥含水率与堆体温度、通风量及翻堆次数有关^[35], 在通风量和翻堆次数相同的情况下, 堆体温度对堆肥的含水率影响占主导, 高温加快了堆料水分的蒸发, 试验组水分低于对照组, 可能是试验组加入堆肥菌剂后, 微生物代谢旺盛, 加快了水分的损失, 同时提高 3 堆体温度, 也加速了水分的蒸发。

GI 被认为是一种有效的生物学测定堆肥毒性的方法, 一般认为, 当 $GI>0.50$ 时, 堆肥对植物已基本没有毒性, 堆肥已基本腐熟; 当 $GI>0.80$ 时, 堆肥已经腐熟^[36-37]。在堆肥结束时, 接菌各组 GI 均高于 0.8, 显著高于对照组 ($P<0.05$), 接菌各组达到了腐熟的标准, 对照组只达到了基本腐熟的标准。由相关分析结果可知, 接菌各组 GI 与脱氢酶酶活呈显著正相关, 可能是由于接菌带来的脱氢酶酶活的增强, 加快了堆料中植物毒性物质的降解, 导致 GI 值随脱氢酶酶活的升高而增加。

C/N 是检验堆肥产品腐熟度的常用指标, 碳是堆肥生化反应的能量来源, 氮是控制生物合成的主要因素, 也是生化反应速度的控制因素, 堆肥过程的理想初始碳氮比为 20~35^[38-39], 一般认为, 当 C/N 降到 20 以下时堆肥就腐熟了, 但本试验各组 C/N 均低于 20, 显然这一标准不适用。Hirari 等^[40]认为, 由于堆肥原料的特性不同, C/N 一刀切以低于 20 作为堆肥腐熟的最终指标不妥。多数学者认为, C/N 小于 12 作为堆肥腐熟度为宜^[41], 按照这一标准, 接菌各组堆肥结束时均达到了腐熟标准, 对照组堆肥结束时没有达到腐熟。由相关分析结果可知, C/N 与脱氢酶酶活呈显著负相关, 原因可能是堆体中碳水化合物为氢供体, 脱氢酶酶活的升高有助于碳水化合物的降解, 堆料中的 C 素会随着脱氢酶酶活的升高而降低, 而有机物在脲酶和蛋白酶的作用下又会使 N 素含量升高, 最终导致 C/N 随着脱氢酶酶活的升高而降低。接菌各组脱氢酶、脲酶和蛋白酶酶活在堆肥大部分时期都显著高于对照组, 则可能是接菌各组 C/N 显著低于对照组的原因。

全氮的变化趋势为先下降后上升, 发酵开始阶段全氮含量下降, 主要原因可能是在堆肥前 6 d, 各组脱氢酶酶活处于较低水平, 而蛋白酶酶活较高, 脱氢酶

降解有机物的速率低于蛋白酶降解含氮化合物的速率,随着堆制时间的延长,各处理全氮含量出现增加趋势,可能是由于脱氢酶酶活升高导致总干物质下降幅度大于全氮的下降幅度,全氮相对含量增加。全氮含量除对照组与脱氢酶酶活呈显著负相关,接菌各处理全氮含量与脱氢酶酶活均呈正相关,可能是由于对照组全氮含量的增加抑制了脱氢酶活性,而接菌各组由于脲酶和蛋白酶活性较强,消除了全氮对脱氢酶的抑制作用。堆肥结束时,各处理堆肥全磷、全钾、速效磷和速效钾含量比堆肥初期增加,其原因可能是堆肥过程中磷素和钾素不会挥发损失,而堆肥的总干物质下降所致^[42]。

脲酶是一种作用于线性酰胺的 C-N 键(非肽)的水解酶,它能催化酰胺化合物转变为氨,在降解有机氮的过程中起重要作用^[43-44]。有研究表明^[45-46],脲酶酶活与微生物数量呈正相关,本试验各组堆肥第 2 d 就进入高温期,高温导致产脲酶微生物数量减少,可能是造成堆肥前期脲酶酶活较低的原因,第 6 d 堆肥温度下降时,产脲酶微生物数量增多,脲酶酶活又开始回升。本试验结果与 Paola Castaldi 等^[9]和 Bhattacharyya 等^[47]的研究结果一致。

堆肥过程中有机物的生物降解一般属于脱氢过程,脱氢酶和过氧化氢酶都属氧化酶,表征活性微生物量及其对有机物的降解活性^[43],堆肥前期,各处理脱氢酶的酶活上升缓慢,过氧化氢酶酶活略有下降,可能与微生物活动有关。由于前期堆体温度较高,抑制了部分中低温微生物的活动,导致微生物分泌的脱氢酶和过氧化氢酶减少^[48],从第 6 d 开始,堆体温度开始平缓下降,微生物的大量繁殖,脱氢酶和过氧化氢酶酶活逐渐升高,有机物降解速度加快,之后脱氢酶和过氧化氢酶酶活缓慢下降,可能与有机物被大量消耗有关。有研究显示^[9],脱氢酶和过氧化氢酶酶活与水溶性有机碳呈正相关关系,随着有机物的降解,有机碳含量下降,导致脱氢酶和过氧化氢酶酶活下降,此时有机物有可能转化为更加稳定的中间体^[49]。堆肥中后期(第 6~15 d),接菌各组脱氢酶和过氧化氢酶酶活均显著高于对照组($P<0.05$),说明添加菌剂可能对堆肥有机物的降解有促进作用。

蛋白酶主要参与含氮化合物的分解和蛋白质、氨基酸及其他含氮化合物的转化^[50],在蛋白质和多肽类聚合物浓度较高时,蛋白酶活力较高,在堆肥中期(第 3~12 d),蛋白酶酶活不断升高,可能与蛋白和多肽类物质快速分解有关,腐熟期(第 12~15 d)蛋白酶活力趋

于稳定,与 Aira 等^[51]的研究结果一致。在整个堆肥过程中,添加菌剂各组蛋白酶酶活显著高于对照组($P<0.05$),这可能与菌剂中耐热芽孢菌产蛋白酶有关。

纤维素酶是碳循环的重要酶类,其活性的强弱反应了堆肥过程碳素的降解情况。进入高温期后,纤维素酶酶活下降,这可能是产纤维素酶的菌种不耐高温所引起。除第 3 d 和第 6 d 对照组纤维素酶酶活显著高于接菌各组($P<0.05$)外,其余时间各组纤维素酶酶活差异不显著($P>0.05$),可见添加菌剂对纤维素的降解能力并没有提高,这可能与堆肥菌剂不产纤维素酶或产纤维素酶活性较低有关。

4 结论

堆肥过程中,添加发酵菌剂可增强有关酶的活性,物料高温维持时间长,发酵进程加快,可减少物料氮素挥发损失,提高堆肥的 GI 值以及总 N、P、K 和速效 P、K 含量。就本试验而言,菌剂添加量以 0.35% 较为合适。

参考文献:

- [1] Hachicha S, Sallemi F, Medhioub K, et al. Quality assessment of composts prepared with olive mill wastewater and agricultural wastes[J]. *Waste Management*, 2008, 28(12):2593-2603.
- [2] Pramanik P, Ghosh G K, Ghosal P K, et al. Changes in organic-C, N, P and K and enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98:2485-2494.
- [3] Beauchamp C J, Levesque G, Prevost D, et al. Isolation of free-living dinitrogen-fixing bacteria and their activity in compost containing deinking paper sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97:1002-1011.
- [4] Adebayo O S, Kabbashi N A, Alam M Z, et al. Composting of food and yard wastes by locally isolated fungal strains[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(81):18800-18806.
- [5] Benitez E, Sainz H, Nogales R. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96:785-790.
- [6] Shrestha K, Adetutu E M, Shrestha P, et al. Comparison of microbially enhanced compost extracts produced from composted cattle rumen content material and from commercially available inocula[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(17):7994-8002.
- [7] Vargas-Garcia M C, Suarez-Estrella F, Lopez M J, et al. Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials[J]. *Waste Management*, 2010, 30:771-778.
- [8] Justyna B, Teresa K K. Changes in enzymatic activity in composts containing chicken feathers[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100:3604-3612.
- [9] Paola C, Giovanni G, Pietro M. Maturity assessment of compost from mu-

- municipal solid waste through the study of enzyme activities and water-soluble fractions[J]. *Waste Management*, 2008, 28:534-540.
- [10] 高 定, 郑玉琪, 陈同斌, 等. 猪粪好氧堆肥过程中氧气的剖面分布特征[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(6):2189-2194.
- GAO Ding, ZHENG Yu-qi, CHEN Tong-bin, et al. Profile characteristics of oxygen concentration during aerobic composting of pig manure [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(6):2189-2194.
- [11] 汪开英, 朱凤香, 王卫平, 等. 不同辅料生物菌剂堆肥发酵层温度变化[J]. 农业工程学报, 2006, 22(1):186-188.
- WANG Kai-ying, ZHU Feng-xiang, WANG Wei-ping, et al. Variations of layer temperature during pig manure composting with different amendments[J]. *Transactions of the CSAE*, 2006, 22(1):186-188.
- [12] 李吉进, 邹国元, 徐秋明, 等. 鸡粪堆肥腐熟度参数及波谱的形态研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(2):219-226.
- LI Ji-jin, ZOU Guo-yuan, XU Qiu-ming, et al. Study on parameters of the maturity and spectrum characteristic of chicken manure composting [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, 12(2):219-226.
- [13] 刘 佳, 李 婉, 许修宏, 等. 接种纤维素降解菌对牛粪堆肥微生物群落的影响[J]. 环境科学, 2011, 32(10):3073-3081.
- LIU Jia, LI Wan, XU Xiu-hong, et al. Effect of cellulose-decomposing strain on microbial community of cow manure compost[J]. *Environmental Science*, 2011, 32(10):3073-3081.
- [14] Kotaro K, Nobuaki M. Effect of matured compost as a bulking and inoculating agent on the microbial community and maturity of cattle manure compost[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99:3372-3380.
- [15] 兰时乐, 曹杏芝, 戴小阳, 等. 鸡粪与油菜秸秆高温堆肥中营养元素变化的研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(3):564-569.
- LAN Shi-le, CAO Xing-zhi, DAI Xiao-yang, et al. The changes of nutrition elements during the composting chicken manure and rape straw under higher temperature[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(3):564-569.
- [16] 赵建荣, 高德才, 汪建飞, 等. 不同 C/N 下鸡粪麦秸高温堆肥腐熟过程研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(5):1014-1020.
- ZHAO Jian-rong, GAO De-cai, WANG Jian-fei, et al. The high-rate composting of chicken manure and wheat straw in different C/N [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(5):1014-1020.
- [17] 秦 莉, 沈玉君, 李国学, 等. 不同 C/N 比堆肥碳素物质变化规律研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(7):1388-1393.
- QIN Li, SHEN Yu-jun, LI Guo-xue, et al. C matter change of composting with different C/N [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(7):1388-1393.
- [18] 刘克锋, 刘悦秋, 雷增谱, 等. 不同微生物处理对猪粪堆肥质量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3):311-314.
- LIU Ke-feng, LIU Yue-qiu, LEI Zeng-pu, et al. Effects of different microorganism consortiums on quality of composting pig-dung [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(3):311-314.
- [19] HUANG Hong-li, ZENG Guang-ming, JIANG Rong-qing, et al. Fluorescence spectroscopy characteristics of humic acid by inoculating white-rot fungus during different phases of agricultural waste composting[J]. *J Cent South Univ Technol*, 2009, 16:440-443.
- [20] 施庆珊, 梁文涛, 疏秀林, 等. 一株高温放线菌及其在造纸污泥堆肥过程中的应用[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(1):368-371.
- SHI Qing-shan, LIANG Wen-tao, SHU Xiu-lin, et al. A thermophilic actinomycete strain and its application on composting of pulp and paper mill sludges[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(1):368-371.
- [21] LI Lü-mu, DING Xiao-ling, QIAN Kun, et al. Effect of microbial consortia on the composting of pig manure [J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011, 10(13):1738-1742.
- [22] Mebius L J. A rapid method for determination of organic carbon in soil [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1960, 22:120-124.
- [23] Bremner J M, Mulvaney R G. Methods of soil analysis[M]. American, Society of Agronomy, Madison, 1982:575-624.
- [24] Jackson M L. Soil chemical analysis[M]. Prentice Hall Private Ltd., New Delhi, India, 1973.
- [25] Bansal S, Kapoor K K. Vermicomposting of crop residues and cattle dung with *Eisenia foetida*[J]. *Bioresource Technology*, 2000, 73:95-98.
- [26] Olsen S R, Cole C V, Watanabe F S, et al. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate[M]. Washington, D. C. : U. S. Government Printing Office, 1954.
- [27] Kandeler E, Gerber H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1988, 6:68-72.
- [28] Rodriguez-Kabana R, Truelove B. Effects of crop rotation and fertilization on catalase activity in a soil of the south-eastern United States[J]. *Plant and Soil*, 1982, 69:97-104.
- [29] Alef K, Nannipieri P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry[M]. Academic Press, London, 1995.
- [30] Hope C F A, Burns R G. Activity origins and location of cellulase in a silt loam soil[M]. *Biology and Fertility of Soils*, 1987, 5:164-170.
- [31] Ladd J N, Butler J A H. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates[J]. *Soil Biol Biochem*, 1972, 4:19-30.
- [32] GB7959—1987. 粪便无害化卫生标准[S].
- GB7959—1987. Standard of the non-hazardous treatment of nightsoil [S].
- [33] Cardenas G B, Ergas S J, Switzenbaum M S. Characterization of compost biofiltration media[J]. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 1999, 49:784-793.
- [34] Miller F C. Composting as a process based on the control of ecologically selective factors[M]. Metting F B, eds. *Soil Micro Biol Ecology: Application in Agricultural and Environmental Management*, 1993.
- [35] Sneh G, Dhull S K. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity [J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96:1584-1591.
- [36] Zucconi F, Pera A, Forte M, et al. Evaluating toxicity of immature compost[J]. *Biocycle*, 1981, 22:54-57.
- [37] Rifaldi R, Levi-Minzi R, Pera A, et al. Evaluation of compost maturity by means of chemical and microbial analyses[J]. *Waste Manag Res*, 1986, 4:387-396.
- [38] Inbar Y, Chen Y, Hadar Y, et al. New approaches to compost maturity [J]. *Biocycle*, 1990, 12:64-68.

- [39] Manser A G R, Keeling A A. Practical handbook of processing and re-cycling municipal waste[M]. New York: Lewis Publishers, 1996.
- [40] Hirari M, Chanyasak V, Kubota H. A standard measurement for compost maturity[J]. *Biocycle*, 1983, 24: 54-56.
- [41] 刘克锋, 刘悦秋, 雷增谱, 等. 提高猪粪和城市垃圾堆肥质量的菌种选择[J]. 农村生态环境, 2003, 19(2): 47-50.
- LIU Ke-feng, LIU Yue-qiu, LEI Zen-pu, et al. Screening of starter strains for higher quality of pig-dung and urban waste compost[J]. *Rural Eco-environment*, 2003, 19(2): 47-50.
- [42] 张 鸣, 高天鹏, 刘玲玲, 等. 麦秆和羊粪混合高温堆肥腐熟进程研究[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(3): 566-569.
- ZHANG Ming, GAO Tian-peng, LIU Ling-ling, et al. Process of high temperature compost of sheep manure with addition of wheat straw[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(3): 566-569.
- [43] 谭小琴, 邓良伟, 伍 钧, 等. 猪场废水堆肥过程中生物及酶活性的变化[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1): 244-248.
- TAN Xiao-qin, DENG Liang-wei, WU Jun, et al. Variation of the amount of microbe and the activity of decomposing enzyme during composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(1): 244-248.
- [44] 邓良伟, 谭小琴, 李 建, 等. 利用秸秆堆肥过程处理猪场废水的研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6): 255-259.
- DENG Liang-wei, TAN Xiao-qin, LI Jian, et al. Composting with straw to treat waste water from pig farming[J]. *Transactions of CSAE*, 2004, 20(6): 255-259.
- [45] 顾文杰, 张发宝, 徐培智, 等. 接种菌剂对堆肥微生物数量和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(8): 1718-1722.
- GU Wen-jie, ZHANG Fa-bao, XU Pei-zhi, et al. Inoculum additions during composting: Impacts on microbial populations and enzyme activity[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(8): 1718-1722.
- [46] Haritha D S, Vijayalakshmi K, Jyotsna K P, et al. Comparative assessment in enzyme activities and microbial populations during normal and vermicomposting[J]. *Journal of Environmental Biology*, 2009, 30(6): 1013-1017.
- [47] Bhattachary P, Chakrabarti K. Microbial biomass and enzyme activities in submerged rice soil amended with municipal solid waste compost and decomposed cow manure[J]. *Chemosphere*, 2005, 60: 310-318.
- [48] Sonia M, Nahla L, Ons T. Ameliorative effect of municipal solid waste compost on the biological quality of mediterranean salt lake soil[J]. *Compost Science & Utilization*, 2010, 18(4): 242-248.
- [49] Ros M, Garcia C, Hernández T. A full-scale study of treatment of pig slurry by composting: Kinetic changes in chemical and microbial properties[J]. *Waste Management*, 2006, 26: 1108-1118.
- [50] Lazcano C, Gomez-Brandon M, Dominguez J. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure[J]. *Chemosphere*, 2008, 72: 10113-10119.
- [51] Aira M, Monroy F, Domínguez J. Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry[J]. *Science of the Total Environment*, 2007, 385: 252-261.