

# 沼液堆肥和牛粪堆肥发酵过程中酶活性及理化指标变化的差异

赵洪颜<sup>1,2</sup> 李杰<sup>1</sup> 刘晶晶<sup>1</sup> 赵野<sup>1</sup> 王小芬<sup>1</sup> 崔宗均<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院/生物质工程中心,北京 100193;

2. 延边大学 农学院,吉林 延吉 133002)

**摘要** 为评价沼液作为堆肥含氮添加剂的应用效果,开发沼液的处理应用技术,本研究以牛粪树叶堆肥为对照,沼液和树叶混合堆制发酵,探讨其发酵过程中主要酶活性及理化指标的变化。结果表明:沼液堆肥和牛粪堆肥在50℃以上的高温持续35d以上,且沼液堆肥持续50℃以上的高温期比牛粪堆肥缩短了8d。沼液堆肥β-葡萄糖苷酶活性和碱性磷酸单酯酶活性都是随堆肥时间延长呈降低趋势,最低值分别出现在第30天(为25.9 U/mL)和第45天(为0.15 U/mL),脲酶活性却呈现先升高后降低,第6天时NH<sub>3</sub>-N达到最高值4.2 mg/(g·24 h),第45天时NH<sub>3</sub>-N达到最低值1.02 mg/(g·24 h);而牛粪堆肥的β-葡萄糖苷酶、脲酶、碱性磷酸单酯酶活性随堆肥时间延长呈先升高后降低趋势,最高值出现在第6天分别是44.2 U/mL、2.93 mg/(g·24 h)和0.72 U/mL。沼液堆肥有机质降解旺盛腐熟时间缩短。

**关键词** 沼液; 牛粪; 堆肥; 酶活性; 发酵进程

中图分类号 X 705

文章编号 1007-4333(2013)02-0153-05

文献标志码 A

## Differences of enzyme activities and physicochemical indexes in biogas slurry compost and cattle manure compost

ZHAO Hong-yan<sup>1,2</sup>, LI Jie<sup>1</sup>, LIU Jing-jing<sup>1</sup>, ZHAO Ye<sup>1</sup>, WANG Xiao-fen<sup>1</sup>, CUI Zong-jun<sup>1\*</sup>

(1. College of Agronomy and Biotechnology/Center of Biomass Engineering, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. College of Agronomy, Yanbian University, Yanji 133002, China)

**Abstract** In order to evaluate potential nitrogen additives effect of composting from biogas slurry and develop the relevant treatment technology, changes of major enzyme activities and physicochemical indexes in biogas slurry and leaf composting were investigated with cattle manure and leaf compost as control. Result showed that the duration of thermophilic phase over 50℃ was 35 days for the biogas compost, which was 8 days longer than that of cattle manure compost. In the meantime, the β-glucosidase activity and alkaline phosphomonoesterase activity for biogas slurry compost have been reduced all the way, with the Schwellenwert of 25.9 U/mL at day 30 and 0.15 U/mL at day 45. The urease activity for the biogas slurry compost was increased initially with a crest value of NH<sub>3</sub>-N 4.2 mg/(g·24 h) at day 6, then decreased with a Schwellenwert of NH<sub>3</sub>-N 1.02 mg/(g·24 h) at day 45. The changes for cattle manure compost were different. Its β-glucosidase activity, alkaline phosphomonoesterase activity and urease activity were enhanced at first with a maximum level at day 6, the crest values were 44.2 U/mL, 2.93 mg/(g·24 h), 0.72 U/mL respectively, then decreased. The process duration for biogas slurry compost maturity were shorter since decomposition of its organic matter were exuberant.

**Key words** biogas slurry; cattle manure; compost; enzyme activity; process compost

近年来,随着沼气发酵工程建设的快速发展,以畜禽粪便为发酵原料的沼气工程数量也逐渐增加,每年沼液排放量高达1.3亿t<sup>[1]</sup>。沼液的处理又成为制约沼气工程进一步发展的因素之一。而沼液富

含氮磷钾等植物养分,是较好的植物肥料来源。但是沼液作为肥料长期大量的施用,可能存在土壤污染、环境污染及生态破坏等问题<sup>[2]</sup>。堆肥化是有机固体废弃物实现无害化、减量化和资源化的有效途

收稿日期:2012-06-04

基金项目:“十二五”国家支撑计划项目(2011BAD15B01);国家公益性行业(农业)科研专项(201303080)

第一作者:赵洪颜,博士研究生,讲师,主要从事生物质资源利用和微生物生态研究,E-mail:zhaohongyan0426@yahoo.com.cn

通讯作者:崔宗均,教授,主要从事生物质资源利用和微生物生态研究,E-mail:acuizj@cau.edu.cn

径<sup>[3]</sup>。如将沼液与其他高碳氮比有机废弃物混合堆肥制造优质有机肥,对沼液处理与丰富有机肥制造工艺都具有重要意义。

堆肥过程是在微生物的作用下降解和转化有机物质的生物学过程,经过这一过程,一部分有机物质分解矿化,释放出速效养分;一部分有机物质转化为腐殖质。而这些生物学过程主要通过各种酶来完成,所以堆肥过程与各种酶的活性紧密相连<sup>[3]</sup>。用城市固体废弃物、生活垃圾和畜禽粪便作为堆肥材料,研究表明稳定的纤维素酶、 $\beta$ -葡糖糖苷酶、脲酶、磷酸酶、蔗糖酶活性可以作为堆肥过程评价的参数指标<sup>[4-8]</sup>。而沼液作为有机肥的含氮添加剂在堆肥过程中酶活性的变化尚未见报道。为评价沼液作为堆肥化中含氮添加剂的应用效果,开发沼液的堆肥化应用技术,本研究将沼液和掉落树叶混合堆制发酵,与牛粪树叶堆肥作比较,通过分析 $\beta$ -葡糖糖苷酶、脲酶、碱性磷酸单酯酶以及有机质、总氮、速效磷等化学指标探讨其在发酵过程中的变化规律。

## 1 材料与方法

### 1.1 堆肥材料及配比

原料使用新鲜的牛粪、沼液和干树叶。牛粪取自中国农业大学上庄实验站秸秆饲料试验牛,沼液取自北京平谷区河南寨镇两河村养牛场牛粪沼气站,树叶为中国农业大学西校区校园内树叶。牛粪和树叶、沼液和树叶的重量比分别为1:3,用含氮的有机肥使C/N调至25~30,原材料充分吸水后,调节含水量至55%~60%。

试验中使用的原材料性质的理化指标见表1。

表1 原材料性质理化指标\*

Table 1 Physico-chemical properties of the materials

指标 Index	沼液 Biogas slurry	牛粪 Cattle manure	干树叶 Dry leaf
TN	967.89	2.84	1.02
TP	218.48	0.42	0.38
TK	3.42	0.28	0.96
TC	—	5.60	48.00
含水量 moisture	90.68	35.00	7.00
pH	8.50	7.30	—

注: \*牛粪、树叶的全氮、全磷、全钾、全碳的单位为%;沼液的全氮、全磷、全钾、全碳的单位为mg/L。

Note: TN, TP, TK and TC of Cattle manure and Dry leaf: %; TN, TP, TK and TC of Biogas slurry: mg/L.

### 1.2 堆制方法及取样

试验在中国农业大学上庄实验站生物质工程中心堆肥场发酵槽内进行。在宽2.0 m,高1.3 m,长40.0 m的发酵槽内堆成上部长2.0 m、下部长3.0 m,高1.1 m。人工翻堆,堆体温度上升到50℃开始翻堆,每隔一天翻一次堆,温度下降到35℃以后每5 d翻堆一次。试验堆制60 d。将堆制的当天作为第0天,在堆肥后的第3、6、18、30、45和60天取样,取样分别在距堆体顶部30、80和100 cm深处,各层采用对角线五点法取样后混合均匀,样品1份在4℃保存,用于酶活性分析,1份避光风干保存,用于理化指标测定。

### 1.3 测定项目及测定方法

#### 1.3.1 堆体温度测定

堆制过程中,将温度传感器分别插入离堆体表面30、80和100 cm深处,每天上午10:00记录,取3处温度的平均值,同时测定环境温度。

#### 1.3.2 化学指标的测定

有机质、速效磷、速效钾测定采用鲍士旦的方法<sup>[9]</sup>,总氮测定采用凯氏定氮法<sup>[9]</sup>。

#### 1.3.3 发酵过程中酶活性测定

$\beta$ -葡萄糖苷酶活性的测定采用硝基水杨酸比色法<sup>[10]</sup>。脲酶以24 h后1 g样品中生成 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的量表示,mg/(g·24 h)<sup>[11]</sup>。磷酸单酯酶以对硝基酚(PN)转化为磷酸单酯酶活性表示<sup>[12]</sup>, $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵过程中温度变化

由图1所示,沼液堆肥和牛粪堆肥的发酵温度均从第6天上升到50℃以上,维持35 d以上的高温期后逐渐下降。根据美国国家环保局(EPA)规定,堆体温度达55℃以上应至少需5 d,以杀死虫卵和致病菌<sup>[13]</sup>,可见本实验的发酵无害化的效果应达到标准。从堆体温度曲线的变化来看,沼液堆肥初期温度上升幅度大,后期下降早,50℃以上的堆温期持续36 d,而牛粪堆肥初期的温度上升较缓,在堆肥的20到45 d持续70℃的高温,其中50℃以上堆温维持了45 d,沼液堆肥50℃以上高温期比牛粪堆肥减少了8 d。堆体的温度反映微生物活动和物料分解强度,温度高说明分解旺盛,温度下降说明分解减弱,可见沼液堆肥早期分解旺盛,较早结束分解,而牛粪堆肥的旺盛分解主要发生在20到45 d的中后期。

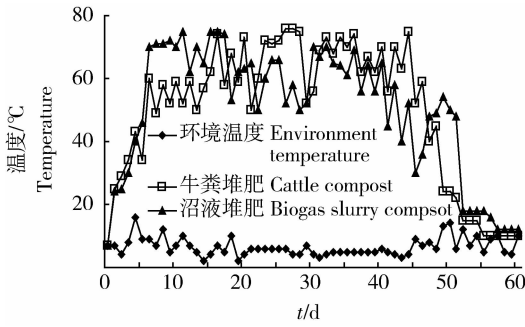


图 1 发酵过程中温度变化

Fig. 1 Change of temperature during fermentation process

2.2 发酵过程中酶活性的变化

2.2.1 发酵过程中 β-葡萄糖苷酶活性变化

由图 2 所示，沼液堆肥的 β-葡萄糖苷酶活性呈降低趋势，第 3 天时酶性活最高，其值为 35.41 U/mL，第 30 天时达到最低值，酶活为 25.96 U/mL，之后处于稳定状态；而牛粪堆肥的 β-葡萄糖苷酶活性呈先升高后降低的趋势，第 6 天时，牛粪堆肥的 β-葡萄糖苷酶活性达到最高值为 44.20 U/mL，第 30 天时，达到最低值 25.90 U/mL，之后一直处于稳定状态。由于 β-葡萄糖苷酶作用，堆肥中的碳水化合物释放低分子量的糖供微生物利用，参与堆肥中 C 素循环，所以与堆肥有机质也有密切的关系<sup>[14-15]</sup>。说明堆体随着发酵的进行，温度逐渐升高，耐高温、嗜中温的微生物逐渐增多，于是沼液堆肥第 3 天开始可溶性糖、有机质等物质旺盛分解，而牛粪堆肥的旺盛分解期出现在第 6 天，随着堆体温度的升高发酵时间的延长，过高的温度影响了中温微生物的活动，同时抑制了高温微生物的活动，使一些分泌 β-葡

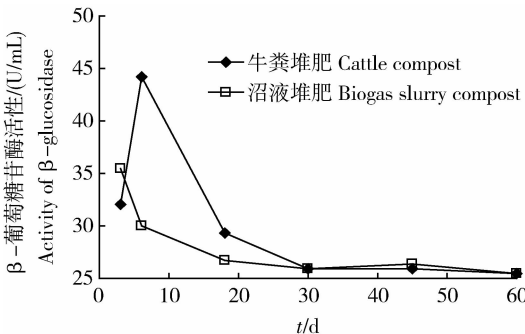


图 2 发酵过程中 β-葡萄糖苷酶活性的变化

Fig. 2 Change of β-glucosidase activity during fermentation process

萄糖苷酶的微生物致死<sup>[16]</sup>。因此，第 30 天时 2 种堆肥材料的 β-葡萄糖苷酶活性趋于稳定。

2.2.2 发酵过程中脲酶活性变化

由图 3 可知，沼液堆肥的脲酶活性呈先升高后降低趋势，第 6 天时，NH<sub>3</sub>-N 脲酶活性达到最高值 4.20 mg/(g · 24 h)，之后呈下降趋势，第 45 天时，达到最低值 1.02 mg/(g · 24 h)；牛粪堆肥的脲酶活性也是先升高后降低趋势，第 6 天时，牛粪堆肥的脲酶活性达到最高值 2.93 mg/(g · 24 h)，之后呈下降趋势，第 45 天时，达到最低值为 0.53 mg/(g · 24 h)。整个发酵过程的脲酶活性，沼液堆肥比牛粪堆肥高，原因是发酵过程中脲酶活性与氮的代谢密切相关，沼液堆肥较早达到高温期，高温有利于含氮有机物的降解，脲酶的活性高，前人研究也指出含氮有机物降解主要发生在堆肥初期<sup>[17-18]</sup>。

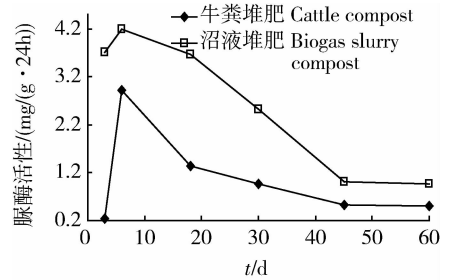


图 3 发酵过程中脲酶活性的变化

Fig. 3 Change of urease activity during fermentation process

2.2.3 发酵过程中碱性磷酸单酯酶活性变化

如图 4 所示，沼液堆肥的碱性磷酸单酯酶活性呈现波动状态，前 18 d 呈下降状态，第 18 天时，沼液堆肥的磷酸单酯酶活性是 0.27 U/mL，第 30 天时出现第一个峰值为 0.36 U/mL，第 45 天时出现最低值 0.15 U/mL，第 60 天时出现第二个峰值 0.25 U/mL。从 18 d 开始沼液堆肥的碱性磷酸单酯酶活性高于牛粪堆肥的碱性磷酸单酯酶活性；牛粪堆肥的碱性磷酸单酯酶活性先升高后降低，第 6 天时，达到最高值 0.72 U/mL，之后呈下降趋势，直到 45 d 时达到最低点 0.018 U/mL。由于碱性磷酸单酯酶能够水解各种有机磷酸酯，有机形态的磷经过微生物分泌的磷酸水解酶降解，释放出植物可直接利用的无机磷<sup>[6]</sup>，所以沼液堆肥更有利于 P 素的有效化。

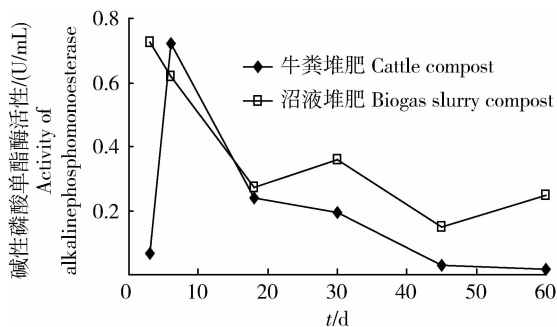


图4 发酵过程中碱性磷酸单酯酶活性的变化

Fig. 4 Change of alkaline phospho-monoesterase activity during fermentation process

### 2.3 不同堆肥理化性质的比较

由图5可知,在开始的前6 d,沼液堆肥有机质含量呈平稳状态,牛粪堆肥有机质含量先下降后升高,原因是升温期有机质含量随着温度的变化缓慢;随着堆体温度升高进入高温期,有机质含量迅速下降,沼液堆肥和牛粪堆肥分别由开始的296.56和307.69 g/kg下降到129.30和221.78 g/kg。说明有机质降解主要发生在高温期,低温期有机质降解缓慢。整个堆肥化过程,沼液堆肥有机质比牛粪堆肥有机质降解旺盛,说明沼液堆肥比牛粪堆肥腐熟时间短。

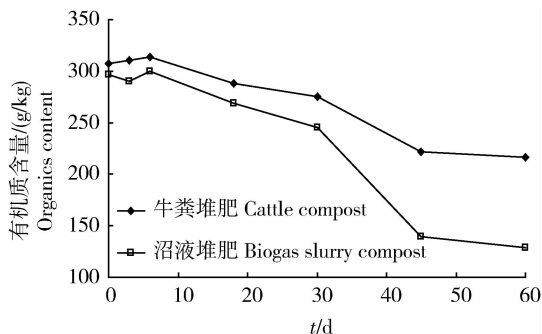


图5 发酵过程中有机质含量的变化

Fig. 5 Change of organics content during fermentation process

发酵过程中总氮含量的变化见图6,2种材料堆肥化过程中,总氮的含量波动上升,沼液堆肥的波动幅度更大;在第18天时2种材料堆肥化过程中总氮含量最低,原因是高温期微生物活动旺盛,消耗氮的速率明显大于总干物质的下降速率。牛粪堆肥总氮的含量呈现逐步增加趋势。第60天牛粪堆肥总氮含量高于沼液堆肥总氮含量。

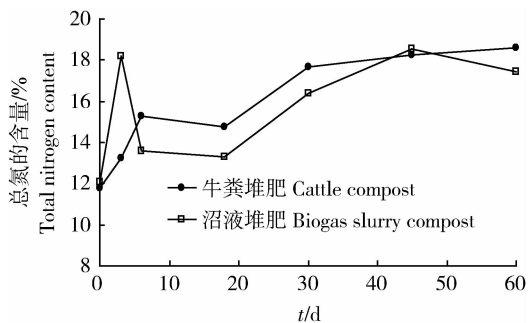


图6 发酵过程中总氮含量的变化

Fig. 6 Change of total nitrogen during fermentation process

由图7可知,2种材料堆肥化过程中速效磷的含量都是呈波动状态而且波动趋势一致。整个堆肥化过程沼液堆肥速效磷的含量高于牛粪堆肥速效磷的含量,沼液堆肥和牛粪堆肥由开始的273.05和256.49 mg/kg升高到375.96和304.6 mg/kg。说明沼液堆肥更有利于P素的有效化。

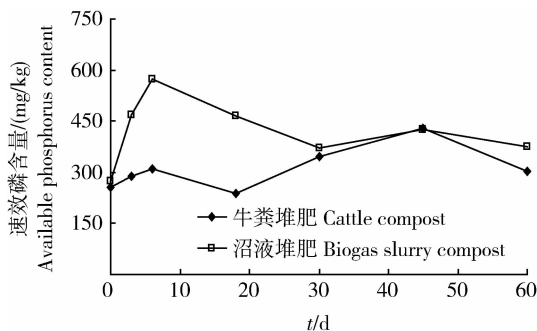


图7 发酵过程中速效磷含量的变化

Fig. 7 Change of available phosphorus content during fermentation process

速效钾含量的变化见图8。2种材料堆肥化过程中速效钾的含量都呈波动状态,牛粪堆肥的速效

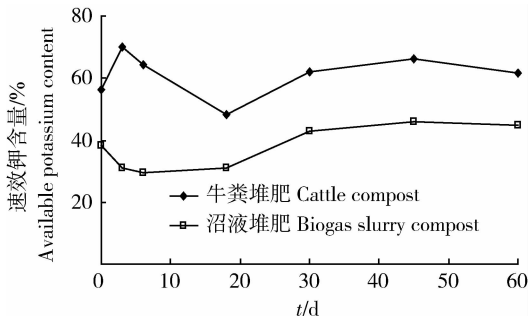


图8 发酵过程中速效钾含量的变化

Fig. 8 Change of available potassium content during fermentation process

钾含量高于沼液堆肥速效钾含量。沼液堆肥呈先降低后升高的趋势,牛粪堆肥呈先升高后降低再升高的趋势,第60天时,沼液堆肥的速效钾含量是44.65%,而牛粪堆肥的速效钾含量是61.67%。

### 3 结 论

1)沼液堆肥和牛粪堆肥高温期持续的时间都是35 d以上,且沼液堆肥比牛粪堆肥高温期持续的时间缩短了8 d。

2)沼液堆肥处理 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性和碱性磷酸单酯酶活性都是一直降低,最低值分别出现在第30和第45天其值分别为25.90和0.15 U/mL,脲酶活性呈现先升高后降低趋势,第6天时 $\text{NH}_3\text{-N}$ 达到最高值4.2 mg/(g·24 h),第45天时达到最低值1.02 mg/(g·24 h),而牛粪堆肥的 $\beta$ -葡萄糖苷酶、脲酶、碱性磷酸单酯酶活性都是先升高后降低,最高值都出现在第6天分别是44.20 U/mL、2.93 mg/(g·24 h)和0.72 U/mL。

3)沼液堆肥和牛粪堆肥相比,沼液堆肥更有利于P素的有效化。

### 参 考 文 献

[1] Lu J, Zhu L, Hu G, et al. Integrating animal manure-based bioenergy production with invasive species control: A case study at Tongren Pig Farm in China [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2010, 34(6): 821-827

[2] 史一鸣. 稻田生态系统消解沼液潜力及风险评估[D]. 杭州:浙江大学, 2010

[3] 崔宗均, 王小芬, 赵洪颜, 等. 生物质能源与废弃物资源利用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 220-234

[4] Benitez E, Nogales R, Elvira C, et al. Enzyme activities as indicator of the stabilization of sewage sludge composting with *Eisenia foetida* [J]. *Bioresource Technology*, 1999, 67: 297-303

[5] 戴芳, 曾光明, 牛承岗. 堆肥化过程中生物酶活性的研究进展

[J]. *中国生物工程杂志*, 2005: 148-151

[6] Godden B, Penninckx A P, Perard A, et al. Evolution of enzyme activities during composting of cattle manure [J]. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 1983, 17: 306-310

[7] Vuorinen A H. Effect of bulking agent on acid and alkaline phosphomonoesterase and  $\beta$ -glucosidase activities during manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2000, 75(2): 133-138

[8] Mondini C, Fornasier F, Sinicco T. Enzymatic activity as a parameter for the characterization of the composting process [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36: 1587-1594

[9] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 432-437

[10] 关松荫. 土壤酶学及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1983: 260-339

[11] Tabatabai M A. Soil enzymes [M] // Weaver R W, Augle J S, Bottomely P S. *Methods of Soil Analysis*. Madison: SSSA, 1994: 755-883

[12] Bernal M P, Alburquerque J A, Moral R. Composting of animal manure and chemical criteria for compost maturity assessment: A review [J]. *Bioresource Technology*, 2009: 5444-5453

[13] 李国学, 张福锁. 固体废弃物堆肥化与有机复混肥生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 10-18, 47-54

[14] Batistic L, Sarkan J M, Mayaudon J. Extraction purification and properties of soil hydrolases [J]. *Soil Biol Biochem*, 1980, 12: 59-63

[15] Moiler U, Wegener P. Interaction of humic substances with biota [M] // Frimmel F H, Christman R F. *Humic Substances and their Role in the Environment*. New York: John Wiley & Sons, 1988: 179-192

[16] 谷洁, 李生秀, 秦清军, 等. 农业废弃物静态高温堆腐过程中的生物化学变化 [J]. *中国农业科学*, 2005, 38(8): 1699-1705

[17] Meunchang S, Panichsapatana S, Weaver R W. Co-composting of filter cake and bagasse, by products from a sugar mill [J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96: 437-442

[18] 李敏清, 袁英英, 杨江舟, 等. 畜禽粪便堆肥过程中酶活性及微生物数量的变化研究 [J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(11): 56-60

责任编辑: 袁文业