氧化还原类酶活性在小麦秸秆静态高温堆肥过程中的变化

孙利宁1,谷 洁2,高 华2,张社奇1,陈胜男1,陈强龙2,甄莉莎2

(1.西北农林科技大学理学院,陕西 杨凌 712100;2.西北农林科技大学资源环境学院,陕西 杨凌 712100)

摘 要 选取小麦秸秆为试验材料 采取发酵罐处理方法 在静态通气条件下研究了堆腐过程中堆体温度变化、氧化还原类酶活性变化、温度与酶活性变化的关系、不同酶活性之间的关系。结果表明(1)添加微生物菌剂处理较不添加微生物菌剂处理(CK)升温快、温度高、高温持续时间长 添加微生物菌剂处理堆体温度第 2 d 上升到 50 $^{\circ}$ C以上,第 3 d 达最高温度 67.1 $^{\circ}$ 50 $^{\circ}$ C以上持续 6 d $^{\circ}$ CK 堆肥第 3 d 达到 50 $^{\circ}$ 第 4 d 达最高温度 59.5 $^{\circ}$ 50 $^{\circ}$ C以上持续 5 d。(2)过氧化氢酶活性初期较低 ,中期迅速升高,并维持在较高水平 堆肥第 10 d 到堆肥结束 添加微生物菌剂处理的过氧化氢酶活性明显高于 CK 添加菌剂处理多酚氧化酶活性在堆肥前期和后期高于 CK 说明添加菌剂可加速木质素的降解及其产物的转化,添加菌剂处理的脱氢酶活性在堆肥中期显著高于 CK 添加菌剂处理的过氧化物酶从堆肥第 12 d 到堆肥结束活性均高于 CK 的过氧化物酶活性 表明添加微生物菌剂可促进物质的氧化。(3) 脱氢酶活性和过氧化物酶活性在堆肥中期达到最高值,两者变化趋势相同,过氧化氢酶活性、脱氢酶活性、过氧化物酶活性在堆腐后期上增长趋势。

关键词 秸秆 好氧气发酵 温度 氧化还原酶

中图分类号 S141.4 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2009)05-1042-06

Changes of the Activity of Oxidization-Reduction Wheat Straw During Composting at High Temperature and Static State

SUN Li-ning¹, GU Jie², GAO Hua², ZHANG She-qi¹, CHEN Sheng-nan¹, CHEN Qiang-long², ZHEN Li-sha²

(1.College of Sciences Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2.College of Resources Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract The changes of composting temperature and oxidoreductase activities and their relationship during aerobic fermentation in high static state were studied in this paper. There were two treatments in this experiment, one was with adding microorganism agent, another one was without adding microorganism agent (CK). The results showed that (1) Adding microorganism agent treatment had faster temperature rising, higher temperature and longer high temperature duration than CK.(2) Catalase kept a lower activity in the early stage and increased quickly later, after that it kept stably at a higher activity for both treatments. Catalase activity of adding microorganism agent treatment was bigger than that of CK from the 10th day of composting to the end. The polyphenol oxidase activity in the treatment with microorganism agent was bigger than that of CK during the prophase and anaphase of composting. It indexed that adding microorganism agent could reinforce lignin-degrading and transition of products. Dehydrogenase activity of adding microorganism agents was significantly greater than that of CK at middle period of composting. Peroxidase activity of adding microorganism fungus was higher than that of CK from the 12th day of composting to the end, it showed that adding microorganism agents could promote oxidation of raw material.(3) Dehydrogenase activity and Perroxidase activity reached the peak in the middle stage of the composting, and they had the same trend. The activity of Catalase, Dehydrogenase and Peroxidase were stable at the later stage, while polyphenol oxidase enzyme activity had an obviously increasing tendency.

Keywords straw; aerobic fermentation; temperature; oxidization and reduction enzymes

秸秆约占作物生物产量的 50% 是一重要的可再

收稿日期 2008-08-13

基金项目 国家自然科学基金(40771109);科技部农转资金(2007GB000394);国家科技支撑计划(2007BAD89B16, 2006BAD17B01-01)

作者简介: 孙利宁(1981—) ,女 陕西渭南人 硕士研究生 主要从事农业 废弃物生物腐解研究。E-mail sunlining19810505@126.com

生有机资源[1]。大量农作物被弃置或秸秆被焚烧于田间,既污染环境又浪费了有机肥资源[2]。堆肥化处理是农业废弃物资源化利用的有效途径[3]。农作物秸秆的有机质含量高,是堆肥的较佳原料,其堆肥产品的农用价值较高[6],是重要的有机肥。

有机物料堆肥早已有了研究,人们对堆腐的研究主要集中在堆腐条件的控制(如温度、氧气、C/N、pH

值等方面)^[7-8],对于堆腐过程中酶活性变化的研究甚少。由于堆腐过程是在微生物及其分泌的酶作用下进行的,所以酶活性的变化可以反映堆腐的进程和机理^[7]。氧化还原类酶又是堆腐过程中腐殖化的重要酶类。因此 本研究以小麦秸秆为原料 研究了堆腐过程中温度、过氧化氢酶、多酚氧化酶、脱氢酶、过氧化物酶等指标在不同发酵阶段的变化,旨在通过研究氧化还原酶活性变化,为揭示堆腐过程腐殖质化的生物行为提供依据。

1 材料方法

1.1 试验材料

本试验以小麦秸秆为原料 , 堆肥原材料性质见表1。

1.2 试验方法

试验于 2008 年 3 月 26 日至 5 月 16 日在西北农林科技大学资源环境学院室外大棚进行。首先 將小麦秸秆切成 $3\sim5$ cm 长 将尿素溶于水中均匀喷洒 ,调节混合物 C/N 比为 30:1 ,加水使堆料水分含量在 $70\%\sim72\%$ 。试验分添加腐解复合微生物菌剂处理和不添加腐解复合微生物菌剂处理和不添加腐解复合微生物菌剂处理(CK)两组 将以上处理的混合有机物质分别装入堆肥装置中(图 1)。堆料不同部位插有热敏温度计(精度 0.1~C),记录堆肥物料的温度变化。定期从堆肥装置中部采样,混匀,冷藏 4~C冰箱用于测定氧化还原类酶活性。堆肥腐熟后停止采样。

1.3 堆肥装置

堆肥装置为高 1.0 m、内径 0.6 m、外径 0.7 m 的圆柱形发酵罐(反应器)。发酵罐由双层不锈钢构成外壳 层间有 0.5 cm 厚的保温材料 发酵罐底部的不锈

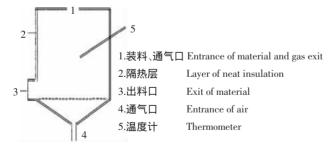


图 1 堆肥发酵装置图

Figure 1 Diagram of composting device

钢圆板上有小孔,空气从罐底部进入,通过圆板的透气小孔进入罐内,穿过堆肥物料后从上部排出。

1.4 测定项目与方法

每天上午 10.00 测定温度,取堆料不同部位温度的平均值作为堆体温度。酶活性测定方法参照关松荫著作中的方法 91 ,过氧化氢酶测定是在样品中加入过氧化氢后振荡,用高锰酸钾滴定,活性单位以 $0.2~\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高锰酸钾 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot(20~\text{min})^{-1}$ 表示。多酚氧化酶测定是在样品中加入邻苯三酚后培养,使邻苯三酚在多酚氧化酶作用下氧化成紫色没食子素,通过测定紫色没食子素含量以表示多酚氧化酶的活性,单位为 mg 没食子素 $\cdot \text{g}^{-1}\cdot(2~\text{h})^{-1}$ 。脱氢酶是在样品中加入氢受体三苯基四唑氯化物,然后 $37~^{\circ}\text{C}$ 培养,测定脱氢酶作用下生成红色甲月替量(TF) 酶活性用 $\text{TF}\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 表示,过氧化物酶活性测定是在样品中加入邻苯三酚和过氧化氢后培养,测定没食子素含量以表征过氧化物酶活性 单位为 mg 没食子素 $\cdot\text{g}^{-1}\cdot(2~\text{h})^{-1}$ 。

1.5 数据处理

图表采用 Excel 制作 ,数据采用 DPS 软件进行相关性分析。

2 结果与讨论

2.1 堆肥过程中温度变化

温度是堆肥过程的重要参数。堆肥温度变化反映了堆体微生物的变化。温度上升是微生物代谢产热积累的结果,反映了微生物代谢强度和堆肥物质转化速度^[10-11]。堆制初期堆料中富含的易分解有机物,在好氧微生物的作用下快速分解,在此过程中产生大量热量促使堆体温度上升^[12]。当堆温升至 45 ℃以上时就进入高温阶段、堆肥中的复杂有机物开始被强烈分解^[13],当温度<50 ℃时即进入降温阶段^[14]。

由图 2 可见 添加微生物菌剂处理堆体温度在堆肥第 2 d 上升到 50 $^{\circ}$ C以上,第 3 d 达到最高温度 67.1 $^{\circ}$ C、CK 在堆肥第 3 d 上升到 50 $^{\circ}$ C,堆肥第 4 d 达到最高温度 59.5 $^{\circ}$ C。添加菌剂处理和 CK 在 50 $^{\circ}$ C以上分别持续了 6 d 和 5 d。堆体温度在 55 $^{\circ}$ C条件下保持 3 d 以上(或 50 $^{\circ}$ C保持 5 $^{\circ}$ 7 d)是杀死堆料中致病微生物、保证堆肥卫生指标合格和堆肥腐熟的重要条件[15]。两

表1 堆肥原材料性质(烘干样)

Table 1 Physical and chemical properties of raw materials for composting (oven-dried base)

试验材料 Experiment material	有机碳 Organic C/ g·kg ⁻¹	全氮 Total nitrogen/g·kg ⁻¹	C/N	粗有机物 Raw organic matte/g·kg ⁻¹	全磷 Total P ₂ O ₅ / g·kg ⁻¹	全钾 Total K ₂ O/ g·kg ⁻¹
小麦秸秆 Straw of wheat	396.1	6.3	62.9	817.4	1.86	12.4

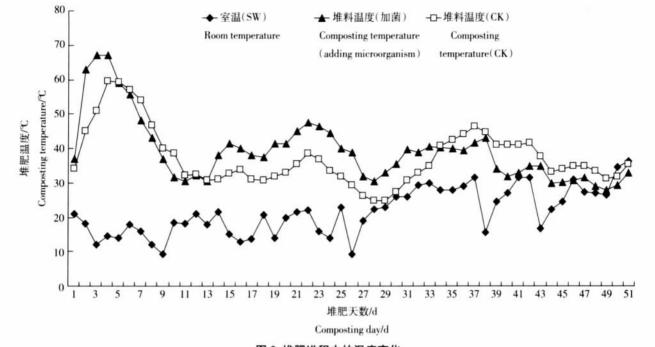


图 2 堆肥进程中的温度变化

Figure 2 Changes of temperature during composting

种处理均达到这一标准 相对而言 添加菌剂处理的 升温较快 高温持续时间长。

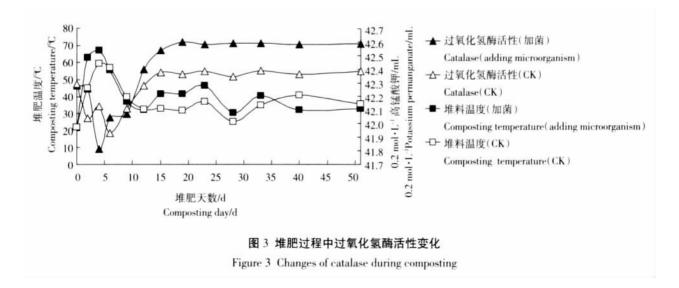
2.2 堆腐过程中氧化还原类酶活性变化

堆肥过程中的一切生物化学变化,都是在酶的催化作用下进行的^[16]。氧化还原酶与碳、氮、磷等基础物质代谢密切相关,分析相关的酶活性及其变化趋势可以反映堆腐的物质变化过程^[17]。

2.2.1 过氧化氢酶活性变化

堆肥过程中有机物的生物降解一般属于脱氢过程 因此过氧化氢酶是堆肥过程的重要指标^{□8}。堆肥初期两种不同处理的过氧化氢酶活性迅速下降(图3) 随后升高。这与朴哲等□高温堆肥的生物化学变化特征

中过氧化氢酶的变化规律一致。添加菌剂处理过氧化氢酶活性堆肥第 4 d 降到低谷值 41.80 mL 0.2 mol·L⁻¹ 的高锰酸钾 ,CK 的过氧化氢酶活性堆肥第 6 d 活性降至最低值 41.93 mL 0.2 mol·L⁻¹ 的高锰酸钾 ,添加菌剂处理的过氧化氢酶活性较 CK 的过氧化氢酶活性降低的快 这可能与添加菌剂处理的较早进入高温期有关 随着温度下降两种处理过氧化氢酶活性开始上升。添加菌剂处理的过氧化氢酶活性在堆腐第 $4\sim12$ d 与温度变化呈显著负相关(r=-0.964 2 $\mu=0.05$ r=0.9500; a=0.01 r=0.990 0)。堆肥后期添加菌剂处理的过氧化氢酶活性约为 42.6 mL 0.2 mol·L⁻¹ 的高锰酸钾 ,CK过氧化氢酶活性保持在 42.2 mL 0.2 mol·L⁻¹ 的高锰



酸钾 ,添加菌剂处理过氧化氢酶活性高于 CK 的过氧化氢酶活性。

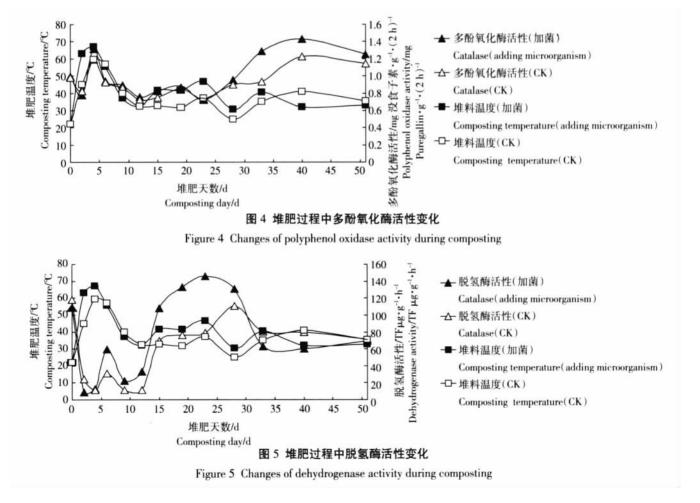
2.2.2 多酚氧化酶活性变化

木质素是农业废弃物中含量较高而又不易分解 的一种物质。多酚氧化酶不仅能催化木质素降解 还 能使木质素氧化后的产物醌与氨基酸缩合生成胡敏 酸[19]。从图 4 可以看出 堆肥初期两种处理的多酚氧 化酶活性都有所下降,然后迅速上升。堆肥第 4~12 d, 加菌剂处理多酚氧化酶活性与温度呈显著正相关(r= $0.9697 \mu = 0.05 r = 0.9500 \mu = 0.01 r = 0.9900$ 加入菌 剂处理的多酚氧化酶活性的在堆腐第 4 d 达到第一 个高峰值 1.311 mg 没食子素·g-1·(2 h)-1 CK 的多酚 氧化酶活性也在堆腐第 4 d 达到第一个高峰值 1.192 没食子素·g-1·(2 h)-1。在堆腐第 40 d 添加菌剂处理 达到第二个高峰值 1.429 mg 没食子素·g-1·(2 h)-1 ,CK 也达到第二个高峰值 1.228 mg 没食子素·g-1·(2 h)-1。 在堆腐后期 腐殖质类物质合成是堆腐中的主要生物 化学反应,多酚氧化酶催化醌与氨基酸合成胡敏酸。 加菌处理多酚氧化酶活性在堆腐后期高 ,可以加速有 机质的合成。添加菌剂处理的多酚氧化酶活性大多数 情况下高于 CK 的 ,说明添加微生物腐解菌剂能促进腐殖质的合成过程。

2.2.3 脱氢酶活性变化

脱氢酶属于氧化酶 其变化可以反映堆肥过程的物质氧化程度^[17]。从图 5 可以看出 堆制初期堆温开始上升时两种处理的脱氢酶活性均有所下降 ,可能与微生物的活动有关,低温微生物不适应较高温度,活动能力降低,分泌的脱氢酶减少^[20]。随着温度降低,嗜热微生物大量繁殖,大量分泌脱氢酶,脱氢酶活性升高^[19]。堆腐第 6 d,添加菌剂处理的脱氢酶活性达到第一个高峰值 59.599 μg TF·h⁻¹·g⁻¹ ,CK 达到第一个高峰值 30.748 μg TF·h⁻¹·g⁻¹ 。脱氢酶活性在堆腐中期较高,添加菌剂处理的脱氢酶活性在第 23 d 达到第二个高峰值145.86 μg TF·h⁻¹·g⁻¹ ,CK 的脱氢酶活性在堆腐第 28 d 达到第二个高峰值110.67 μg TF·h⁻¹·g⁻¹。添加菌剂处理的脱氢酶活性高于 CK 的脱氢酶活性 表明添加腐解复合微生物菌剂有利于物质的氧化还原。2.2.4 过氧化物酶活性变化

过氧化物酶能氧化有机物质 ,在腐殖质的形成过程中具有重要的作用 [8]。由图 6 可以看出堆腐中期过氧



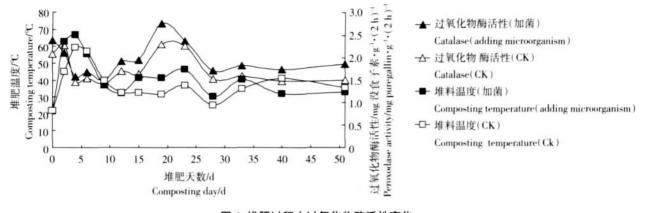


图 6 堆肥过程中过氧化物酶活性变化

Figure 6 Changes of peroxodase activity during composting

化物酶活性较高,说明物质氧化过程主要在堆腐中期进行。添加菌剂处理的过氧化物酶活性和 CK 的过氧化物酶活性均在堆肥第 19 d 达到高峰值,添加菌剂处理的过氧化物酶活性为 2.753 mg 没食子素·g⁻¹·(2 h)⁻¹,CK 的过氧化物酶为 2.301 mg 没食子素·g⁻¹·(2 h)⁻¹。堆腐后期过氧化物酶活性高于 CK 的过氧化物酶活性,说明添加复合微生物可加速物质的氧化过程。

2.3 堆肥过程中各种酶活性之间的关系

由图 5 可见堆腐前期脱氢酶活性较低,堆腐中期脱氢酶活性达到最高值,之后迅速下降,并稳定在一个较低水平。过氧化物酶活性和脱氢酶活性变化趋势相同,两种酶活性均在堆腐中期达到最高值,过氧化物酶活性变化幅度小;由图 3、4、5、6 可见过氧化氢酶活性、脱氢酶活性、过氧化物酶活性从堆腐第 33 d 到堆肥结束比较稳定,并且保持在一定范围,而多酚氧化酶活性堆腐后期呈增长趋势。

3 结论

(1)小麦秸秆静态高温堆腐过程中添加菌剂处理 较 CK 升温快 ,升温明显且高温持续时间长。添加菌剂 处理在堆肥第 2 d 上升到 50 ℃ ,第 3 d 达到最高温度 67.1 ℃。CK 第 3 d 上升到 50 ℃ ,第 4 d 达到最高温度 59.5 ℃。添加菌剂处理在 50 ℃以上维持 6 d ,CK 50 ℃以上维持 5 d。

(2)在整个堆制过程中,过氧化氢酶活性前期呈下降趋势,中后期有所回升,添加菌剂处理的过氧化氢酶活性从堆肥第 10 d 到堆肥结束明显高于 CK;加入菌剂处理的多酚氧化酶活性从堆肥第 28 d 到堆肥结束高于 CK,表明添加微生物菌剂有利于有机质的腐殖质化,添加菌剂处理的脱氢酶活性在堆肥中期高于 CK,说明添加菌剂对物质的氧化还原有促进作用;

添加微生物菌剂处理的过氧化物酶活性在堆腐中期高于 CK 的过氧化物酶活性 表明加入微生物菌剂可加速物质的氧化还原过程。

(3)添加微生物菌剂处理的堆肥第 4~12 d 过氧化 氢酶活性与温度呈显著负相关 降温阶段过氧化氢酶 活性保持稳定 加入微生物菌剂处理的堆肥第 4~12 d 多酚氧化酶活性与温度呈显著正相关 降温阶段多酚 氧化酶活性呈增长趋势 脱氢酶活性和过氧化物酶活 性均在降温阶段达到最高。

(4)脱氢酶活性和过氧化物酶活性变化趋势相同,均在堆腐中期达到最高值。过氧化氢酶活性、脱氢酶活性、过氧化物酶活性在堆腐后期保持稳定,多酚氧化酶活性在堆腐后期呈增长趋势。

参考文献:

[1] 杨文钰, 王兰英. 作物秸秆还田的现状与展望[J]. 四川农业大学学报, 1996, 17(2) 211–216.

YANG Wen-yu, WANG Lan-ying. Present situation and prospects of returning application of crop straw [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 1996, 17(2) 211–216.

[2] 余媛媛. 城市生活垃圾堆肥处理及其前景展望[J]. 有色冶金设计与研究, 2000, 21(1) 52-55.

YU Yuan-yuan. Composting treatment and prospect of municipal solid waste[J]. Nonferrous Metals Engineering & Research, 2000, 21(1) 52-55

[3] 张夫道, 张树清, 王玉军, 等. 有机物料高温快速连续发酵除臭技术研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(4) .796-800.

ZHANG Fu-dao, ZHANG Shu-qing, WANG Yu-jun, et al. Deodorization techniques on fleeting continuous zymosis of organic feces with high temperature [J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2004, 23(4): 796–800.

[4] 鲍艳宇, 颜 丽, 娄翼来, 等. 鸡粪堆肥过程中各种碳有机化合物及腐熟度指标的变化[J]. 农业环境学学报, 2005, 24(4) 820-824. BAO Yan-yu, YAN Li, LOU Yi-lai, et al. Dynamics of organic carbons

- during composting of chicken manure and evaluation of maturity parameters [J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2005, 24(4):820-824.
- [5] 任顺荣. 不同通气方式对畜禽废弃物快速高温堆腐效果影响的比较[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(6):1115-1118.
 - REN Shun-rong. Effects of different aeration ways on quick high tem-perature aerobic composting for animal wastes[J]. *Journal of Agro-Envi-ronmental Science*, 2004, 23(6):1115–1118.
- [6] 魏源送, 李承强, 樊耀波, 等. 不同通风方式对污泥堆肥的影响[J]. 环境科学, 2001, 22(3) 54-59.
 - WEI Yuan—song, LI Cheng—qiang, FAN Yao—bo, et al. Effect on sewage sludge composting with different aeration modes[J]. *Environmental Science*, 2001, 22(3) 54–59.
- [7] Smars S, Gustafsson L, Beck-Friis B, et al. Improvement of the composting time for household waste during aninitial low pH phase by mesophilic temperature control [J]. Bio Resource Technology, 2002, 84(3) 237– 241
- [8] M iguelAngel Lopez Zavala, N aoyuk i Funam izu, TetsuoTakakuw a. Modeling of aerobic biodegradation of fecesusing saw dust as a matrix[J]. Water Research, 2004, 38(5):1327-1339.
- [9] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京 农业出版社, 1983 260-339. GUAN Song-yin. Soil enzyme and methodology for soil enzyme [M]. Beijing 'Agriculture Press, 1983 260-339.
- [10] Cardenas-Gonzalez B, Ergas S J, Switzenbaum M S. Characterization of compost biofiltration media [J]. Journal of the Air and Waste Manage – ment Association, 1999, 49 784–793.
- [11] M acgregor S T, Miller F C, P sarianos K M, et al. Composting process control based on interaction between microbial heat output and temper– ature[J]. Applied and Environment Microbiology, 1981, 41(6):1321– 1330
- [12] 郑 丹, 阎 静, 陶光灿, 等. 添加无机肥料对高温堆肥化及磷素有效性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(6):1631-1635.

 ZHENG Dan, YAN Jing, TAO Guang—can, et al. Effects of inorganic fertilizer amendments on dairy waste composting and phosphorus avail—ability[J]. Journal of Agro—Environmental Science, 2006, 25(6):1631—1635.
- [13] 赵由才, 柴晓利. 生活垃圾资源化原理与技术[M]. 北京:化学工业出

- 版社, 2002:142-144.
- ZHAO You-cai, CHAI Xiao-li. Principles and technology for utilizing domestic waste as resource[M]. Beijing Chemistry Industry Press, 2002: 142–144.
- [14] 毛知耕. 肥料学[M]. 北京:中国农业出版社, 1997-313-317.

 MAO Zhi-geng. Fertilizer science[M]. Beijing China Agriculture Press, 1997-313-317.
- [15] GB7959—87, 粪便无害化卫生标准[S].
 GB7959—87, Sanitary standard for the non-hazardous treatment of night soil[S].
- [16] 朴 哲, 崔宗均, 苏宝林. 高温堆肥的生物化学变化及抑制物质的 降解规律[J]. 农业环境保护, 2001, 20(4) 206–209. PIAO Zhe, CUI Zong-jun, SU Bao-lin. Characterization of biochemistry and degradation of plant-inhibited materials during high-temperature composting.[J]. Agro-Environmental Protection, 2001, 20(4) 206– 209
- [17] 谭小琴, 邓良伟, 伍 钧, 等. 猪场废水堆肥化处理过程中微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. Variations of the amount of microbe and the activity of decomposing enzyme during composting[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 2006, 25(1) 244-248.
- [18] 李吉进, 郝晋珉, 邹国元, 等. 畜禽粪便高温堆肥生物化学变化特征研究[J]. 土壤通报, 2005, 36(2) 234-236.
 LI Ji-jin, HAO Jin-min, ZOU Guo-yuan, et al. Study on biochemical characteristics of high-temperature composting[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2005, 36(2) 234-236.
- 高温堆腐过程中变化的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(2):138-141.
 GU Jie, LI Sheng-xiu, QIN Qing-jun, et al. Changes of oxidization and reduction enzymes of agricultural waste materials during composting at high temperature and static state[J]. Transactions of the Chinese Society

[19] 谷 洁, 李生秀, 秦清军, 等, 氧化还原类酶活性在农业废弃物静态

[20] 贾世儒. 生物反应工程原理[M]. 北京 科学出版社, 2003 34-47. JIA Shi-ru. Biological reaction engineering principle[M]. Beijing Science Press, 2003 34-47.

of Agricultural Engineering, 2006, 22(2):138-141.