

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2015.0416

韩玮, 何明. 2015. 外源酶对秸秆堆肥进程的影响及腐熟度模糊评价[J]. 环境科学学报, 35(11): 3742-3749

Han W, He M. 2015. Effects of exogenous enzymes on composting of straw and maturity assessment by fuzzy evaluation[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 35(11): 3742-3749

## 外源酶对秸秆堆肥进程的影响及腐熟度模糊评价

韩玮<sup>1,\*</sup>, 何明<sup>2</sup>

1. 南京信息工程大学应用气象学院, 江苏省农业气象重点实验室, 南京 210044

2. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240

收稿日期: 2015-01-06 修回日期: 2015-04-08 录用日期: 2015-04-13

**摘要:**为探讨外源酶制剂对秸秆堆肥腐熟进程的影响, 通过模拟堆肥试验研究了分别添加纤维素酶、蛋白酶, 以及纤维素酶与蛋白酶混合添加情况下堆肥各项指标的动态变化规律, 并利用模糊综合评价法对堆肥腐熟度进行了评价. 结果表明, 纤维素酶与蛋白酶配合使用对堆肥中纤维素的降解及氮素释放都有较强的促进效果, 与对照处理相比, 纤维素含量降低了 14.9%, C/N 降低了 18.4%, 发芽指数提高了 6.0%; 单施外源纤维素酶主要是促进了纤维素类物质降解速率, 显著提高了发芽指数; 单施外源蛋白酶则显著促进了含氮物质的分解, 铵态氮及硝态氮含量提高; 通过对  $E_4/E_6$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、C/N、发芽指数等指标进行模糊综合评价, 得出纤维素酶与蛋白酶的配合使用对于促进堆肥腐熟效果最佳, 其次是纤维素酶堆肥和蛋白酶堆肥, 常规堆肥腐熟程度最低. 可见, 纤维素酶与蛋白酶配合使用对堆肥腐熟有更好的促进效果, 可以推测外源纤维素酶和蛋白酶对于促进堆肥腐熟具有协同作用.

**关键词:** 稻草; 堆肥; 纤维素酶; 蛋白酶; 模糊综合评价

文章编号: 0253-2468(2015)11-3742-08 中图分类号: X705 文献标识码: A

## Effects of exogenous enzymes on composting of straw and maturity assessment by fuzzy evaluation

HAN Wei<sup>1,\*</sup>, HE Ming<sup>2</sup>

1. College of Applied Meteorology, Jiangsu Key Laboratory of Agricultural Meteorology, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044

2. College of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240

Received 6 January 2015; received in revised form 8 April 2015; accepted 13 April 2015

**Abstract:** In order to investigate the effects of exogenous enzymes on composting of rice straw, the simulated composting experiment was conducted by the application of exogenous cellulase, protease, and mixed exogenous enzymes (cellulase and protease). The related indices during composting were analyzed. In addition, the effects of exogenous enzymes on the composting process were also evaluated by fuzzy comprehensive evaluation. The main results showed that mixed cellulase and protease had significant promoting effects on cellulose degradation and nitrogen release, cellulose content decreased by 14.9%, C/N decreased by 18.4%, and germination index increased by 6% compared with the control test; exogenous cellulase promoted the degradation of cellulose, and germination index increased significantly; exogenous protease promoted the decomposition of nitrogenous substances significantly, and ammonium nitrogen and nitrate nitrogen increased significantly. According to fuzzy comprehensive evaluation through  $E_4/E_6$ ,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , C/N and germination index, the optimal treatment was compost with mixed enzymes application, followed by cellulase application, protease application, and no enzyme application. The results suggested that mixed exogenous enzymes (cellulase and protease) application accelerated the compost maturity. The exogenous cellulase and protease may have a synergistic effect on the maturing process of compost.

**Keywords:** rice straw; compost; cellulase; protease; fuzzy comprehensive evaluation

**基金项目:** 土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放课题 (No.Y212000016); 江苏省高校自然科学研究面上项目 (No.14KJB170013); 江苏省农业气象重点实验室开放基金 (No.JKLAM201205)

**Supported by** the Open Fund of the State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (No.Y212000016), the Natural Science Fund for Colleges and Universities in Jiangsu Province (No.14KJB170013) and the Open Fund of the Jiangsu Key Laboratory of Agricultural Meteorology (No. JKLAM201205)

**作者简介:** 韩玮 (1981—), 女, 讲师 (博士), E-mail: binzhouhanwei@163.com; \* 通讯作者 (责任作者)

**Biography:** HAN Wei (1981—), female, lecturer (Ph.D.), E-mail: binzhouhanwei@163.com; \* Corresponding author

## 1 引言(Introduction)

农作物秸秆有机质含量高,并且含有作物和微生物所需要的各种营养元素,开发利用秸秆资源可以保持土壤肥力(Chaves *et al.*, 2005; Fliebbach *et al.*, 2000; Hadas *et al.*, 2004; Hasegawa *et al.*, 2005).堆肥化是解决农业废弃物循环利用的重要途径,但存在分解慢、时间长、堆肥质量较差等问题。

堆肥生物化学过程的本质是各种微生物通过发酵,对较难降解的纤维素等大分子物质进行分解转化、合成腐殖质和产生植物生长生理活性物质的过程,整个过程属于酶促反应(李国学等, 2000; 杨玖等, 2013; 于鑫等, 2014).国内外关于微生物降解剂的研究较多(高云航等, 2014),但酶制剂对秸秆降解的影响目前尚鲜见报道.秸秆中含有丰富的纤维素,而纤维素致密的结构及不易降解的特性,阻碍了堆肥的腐熟.因此,在堆肥中添加外源纤维素酶有利于纤维素的充分降解,加快堆肥的腐熟,提高堆肥产物的品质.氮元素用于合成细胞原生质,对于堆肥进程有重要的影响,C/N也是影响堆肥进程的主要因素之一.添加外源蛋白酶可促进蛋白质类物质的分解矿化,对于提高堆肥氮含量有重要意义.可见,利用外源酶促进秸秆堆肥腐熟具有理论可行性。

虽然酶制剂在食品、饲料、纺织等各个领域有着广泛应用,但未见外源混合酶制剂在堆肥中的应用研究.因此,本研究通过模拟堆肥试验,研究在堆肥化过程中添加外源酶对堆肥腐熟进程的影响,并利用模糊综合评价法对堆肥腐熟程度进行评价,以了解不同外源酶处理的促腐效果,研究结果将为外源酶在堆肥中的应用提供理论依据。

## 2 材料与方法(Materials and methods)

### 2.1 试验材料

纤维素酶为木霉产纤维素酶,羧甲基纤维素酶活性为  $1034 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ (Ghose, 1987).最适作用温度为  $40 \sim 50 \text{ }^\circ\text{C}$ ,最适 pH 为  $4.5 \sim 5.5$ .供试蛋白酶为 AS1.398 中性蛋白酶(*Bacillus subtilis* neutral protease),活力为  $58820 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ .外源蛋白酶的最适宜 pH 值是  $6.5 \sim 7.5$ ,最适宜温度是  $35 \sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$ .

秸秆为稻草秸秆,其有机碳含量为 39.3%,全氮含量为 10.5%,全磷含量为 3.4%,全钾含量为 9.9%,C/N 为 37.4,纤维素含量为 35.2%。

小白菜种子品种为上海青(*Brassica chinensis* L.).

### 2.2 试验处理

将稻草剪为 5 cm 左右的小段,调节含水率为 65%(表 1),置于小桶(高约 23 cm,内径约 20 cm)内,盖上盖子,略留有缝隙,置于控温培养箱内.每 5 d 进行机械翻动以补充氧气,堆肥过程中的温度控制如图 1 所示(韩玮等, 2014)。

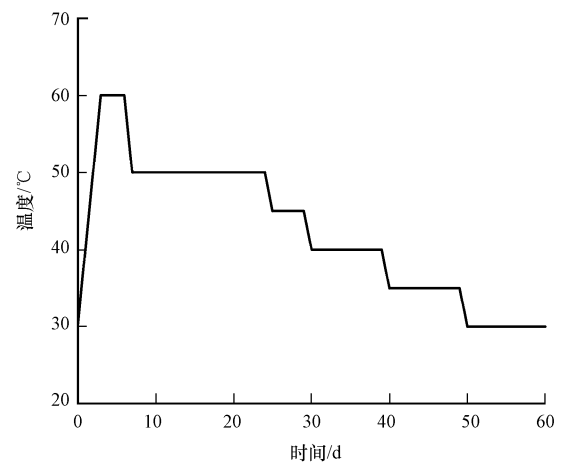


图 1 控温培养箱的温度控制

Fig.1 Temperature control during the composting process

由于外源纤维素酶和外源蛋白酶在高温下容易失活,为了避免酶制剂被堆肥初期的高温灭活,在堆肥的第 20 d 时加入外源酶.各组添加酶量如表 1 所示,各处理分别记为 CK(对照处理)、C(纤维素酶处理)、P(蛋白酶处理)、CP(纤维素酶+蛋白酶处理).将酶制剂按质量比 1:10 溶于水,喷洒于堆肥上并迅速混匀,每个处理设置 3 个重复。

表 1 各组处理的添加酶量

Table 1 Enzyme concentrations of different treatments g				
处理	外源纤维素酶	外源蛋白酶	秸秆	水分
CK	—	—	175	325
C	10	—	175	325
P	—	10	175	325
CP	5	5	175	325

### 2.3 测定项目与方法

在堆肥的第 25、30、40、50、60 d 时分别取样,在上、中、下共 3 个部位分别取鲜样共 20 g,测定相关指标后于  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  烘干保存,用于之后的分析测定。

含水率采用烘干减重法测定;pH 值用 pH 计测定(固液比 1:20);EC 用电导率仪测定(固液比

1:20);  $E_4/E_6$  (堆肥腐殖酸在 465 和 665 nm 的吸光度的比值) 用分光光度计测定; 铵态氮 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) 用凯氏定氮法测定; 硝态氮 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) 用紫外分光光度法测定; 全碳含量采用重铬酸钾容量法-外加热法测定; 全氮含量采用凯氏定氮法测定 (鲍士旦, 2000); 纤维素及半纤维素含量由范氏洗涤剂法测定 (Van Soest *et al.*, 1968)。

生物毒性由发芽指数表征 (Xiao *et al.*, 2009; Zucconi *et al.*, 1981), 取固液比 1:20 的浸提液 8 mL 于垫有滤纸的培养皿中, 同时设空白对照 (蒸馏水), 每个培养皿内放 10 粒饱满的小白菜种子, 放置在 30 °C 培养箱中培养 48 h, 测定发芽率和根长, 发芽指数 (GI) 计算方法为:

$$\text{GI} = (R_s \times L_s) / (R_{ck} \times L_{ck}) \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $R_s$ 、 $R_{ck}$  分别为样品的种子发芽率 and 对照的种子发芽率,  $L_s$ 、 $L_{ck}$  分别为样品根长和对照根长。

#### 2.4 统计分析

本研究均采用 SPSS 统计软件进行统计分析. 采用 Duncan's 新复极差法检验. 模糊综合评价是指对多种因素所影响的事物或现象进行总的评价 (Sheng *et al.*, 2008; 陈贻源, 1984). 本研究采用熵权法赋权, 利用模糊综合评价法对堆肥腐熟程度进行排序。

第一步, 选取评价指标. 评估指标为:

$$U = (U_1, U_2, \dots, U_m) \quad (2)$$

共设  $n$  个处理,  $X_{mn}$  代表指标  $U_m$  各个处理中的不同值:

$$U_m = (X_{m1}, X_{m2}, \dots, X_{mn}) \quad (3)$$

然后确定评价因素的隶属度函数. 根据前人的研究成果, 腐熟度参数的隶属度函数有如下几种情况, 根据情况分别确定适宜函数。

$$r_{ij} = \begin{cases} 1 & x_{ij} = x_{\min} \\ \frac{x_{\max} - x_{ij}}{x_{\max} - x_{\min}} & x_{\min} < x_{ij} < x_{\max} \\ 0 & x_{ij} = x_{\max} \end{cases} \quad (4)$$

$$r_{ij} = \begin{cases} 1 & x_{ij} = x_{\max} \\ \frac{x_{ij} - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} & x_{\min} < x_{ij} < x_{\max} \\ 0 & x_{ij} = x_{\min} \end{cases} \quad (5)$$

式中,  $x_{ij}$  表示  $m$  项评价指标  $n$  个处理的堆肥腐熟评价矩阵, 即第  $i$  项评价指标下第  $j$  个处理的数据,  $i = 1, 2, \dots, m; j = 1, 2, \dots, n; m$  为评价指标,  $n$  为评价处理;  $r_{ij}$  为原指标数据矩阵的标准化数据矩阵。

将各项评价因子实测值代入相应的隶属函数, 从而可以得出模糊综合评价矩阵  $R$  ( $R$  为  $m \times n$  阶)。

$$R = \begin{Bmatrix} r_{11}, & r_{12}, & \dots & r_{1n} \\ r_{21}, & r_{22}, & \dots & r_{2n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ r_{m1}, & r_{m2}, & \dots & r_{mn} \end{Bmatrix} \quad (6)$$

式中,  $R$  为模糊综合评价矩阵;  $r_{m1}, r_{m2}, \dots, r_{mn}$ , 隶属函数值。

第二步, 确定权数. 本文采用熵权法赋权, 熵权法具体方法如下 (贾艳红等, 2006; 李灿等, 2013):

$$W_i = \frac{1 - H_i}{m - \sum_{i=1}^m H_i} \quad (7)$$

其中,  $H_i = -k \sum_{j=1}^n f_{ij} \ln f_{ij}$ ,  $f_{ij} = \frac{r_{ij}}{\sum_{j=1}^n r_{ij}}$ ,  $k = \frac{1}{\ln n}$ ;  $H_i$  为第

$i$  项指标的熵, 并假定当  $f_{ij} = 0$  时,  $f_{ij} \ln f_{ij} = 0$ ;  $W_i$  为第  $i$  项指标的权重值, 且满足  $0 \leq W_i \leq 1$  和  $\sum_{i=1}^m W_i = 1$ . 计算得到权重如下:

$$W = (W_1, W_2, \dots, W_m) \quad (8)$$

式中,  $W$  为权重集合;  $W_1, W_2, \dots, W_m$  为相应各指标的权重。

最后, 得到模糊综合评价的最后结果:

$$B = W \times R \quad (9)$$

式中,  $B$  为模糊综合评价集合,  $W$  为权重集合,  $R$  为模糊综合评价矩阵。

### 3 结果 (Results)

#### 3.1 外源酶添加对堆肥性质的影响

pH 值是影响微生物生长的重要因素之一 (Lei *et al.*, 2000). 如图 2a 所示, 与 CK 相比, 蛋白酶处理 pH 值上升, 而纤维素酶处理及纤维素酶+蛋白酶处理使 pH 值下降. 可能是外源蛋白酶的添加促进了氨化作用的进行, 吸收更多的  $\text{H}^+$ , 因此, pH 上升; 纤维素酶处理及纤维素酶+蛋白酶处理中, 可能是堆肥过程中产生的微量有机酸使得 pH 值下降. 各组的 pH 值基本都保持在 7.5~8.5 范围内。

堆肥中的可溶性盐是对作物产生毒害作用的重要因素之一, 电导率 (EC) 反映了堆肥浸提液中可溶性盐的含量. 从图 2b 可见, 各处理之间从大到小依次为 P、CP、C、CK. 研究证明, 根据土壤浸出液的 EC 与盐分含量和作物生长的关系, 作物生长受抑制

的限定 EC 值为  $0.4 \times 10^4 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$  (鲍士旦, 2000). 虽然添加外源酶制剂增加了土壤 EC 值, 但各组样品 60 d 时的 EC 值都在该限定值以下, 即对作物生长基本无限制, 可以排除盐害影响.

$E_4/E_6$  是堆肥腐殖酸在 465 和 665 nm 的吸光度的比值,  $E_4/E_6$  比值愈低, 表明腐殖质的缩合度和芳构化程度愈高. 从堆肥腐殖化作用的本质来看, 主要是小分子腐殖酸向着大分子腐殖酸转化, 表现在  $E_4/E_6$  比值上, 即是从大到小的一个变化趋势. 图 2c 中显示, 4 组样品在 25~30 d 时的  $E_4/E_6$  值都呈上升

趋势, 说明在此阶段随着秸秆成分的降解, 有大量小分子腐殖酸产生; 30 d 以后都开始下降, 表明小分子腐殖酸开始转化成大分子腐殖酸, 分子量增加, 缩合度增大, 从而使堆肥得到腐熟. 其中, 纤维素酶+蛋白酶处理的堆肥样品在堆肥中后期的  $E_4/E_6$  比值低于纤维素酶处理和蛋白酶处理, 明显低于 CK. 可见纤维素酶和蛋白酶都促进了大分子腐殖酸的合成, 有利于提高堆肥的腐熟化程度, 而纤维素酶+蛋白酶处理的效果更为明显.

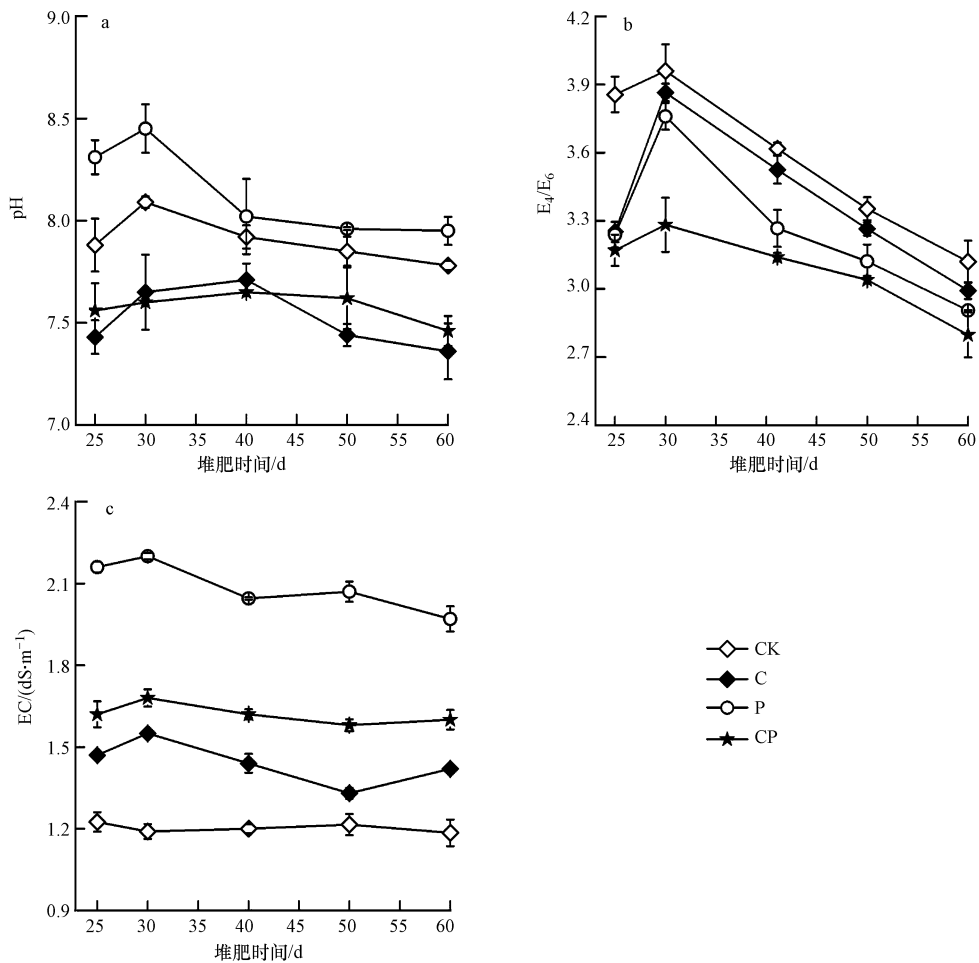


图 2 不同酶制剂添加情况下堆肥的 pH(a)、 $E_4/E_6$ (b)、电导率(c)的变化

Fig.2 pH(a),  $E_4/E_6$ (b), and EC(c) during composting process

在本试验 4 个处理中, 水溶性铵态氮和硝态氮的变化规律相同, 但各个处理之间存在显著性差异 ( $p < 0.05$ ) (图 3). 堆肥 25~30 d 之间, 添加外源酶的所有处理  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量都有大幅下降, 30 d 后下降趋势减缓, CK 则一直保持平缓下降趋势, 含量从多到少的顺序保持为 P、CP、C、CK. 各组的  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量都有很大提升, 其中, 添加外源酶处理都明显高于

对照, 从高到低的顺序为 P、CP、C、CK. 可见由于外源酶显著加速了秸秆中含氮物质的分解, 释放出大量  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , 继而促进了  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  向  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  转化, 增加了堆肥中硝态氮的含量. 尤其是外源蛋白酶对秸秆中含氮物质有着十分强烈的促进作用.

C/N 是最常用于评价腐熟度的参数, 理论上 C/N 在腐熟的堆肥产品中像腐殖质一样约为 10,



Golueke 等 (1990) 指出腐熟的堆肥 C/N 值应小于 20. 由图 3c 可见, 各组的 C/N 均有明显下降, 在堆肥化的初期, 随着温度的升高, 堆体内微生物大量繁殖, 微生物活性较强, 有机质分解剧烈, 相对于氮素损失, 含碳量下降较快 (李国学等, 2000), 因此, 堆肥的 C/N 呈下降趋势. 到堆肥化的中后期, 氮素损

失逐渐减小, 而有机物的分解速度也逐渐减缓, 因此, 堆肥的 C/N 变化趋于稳定, 最后稳定在 10 左右. C/N 从小到大为 C、CP、P、CK, 这说明添加外源纤维素酶和外源蛋白酶对秸秆堆肥腐熟都有促进作用 ( $p < 0.05$ ).

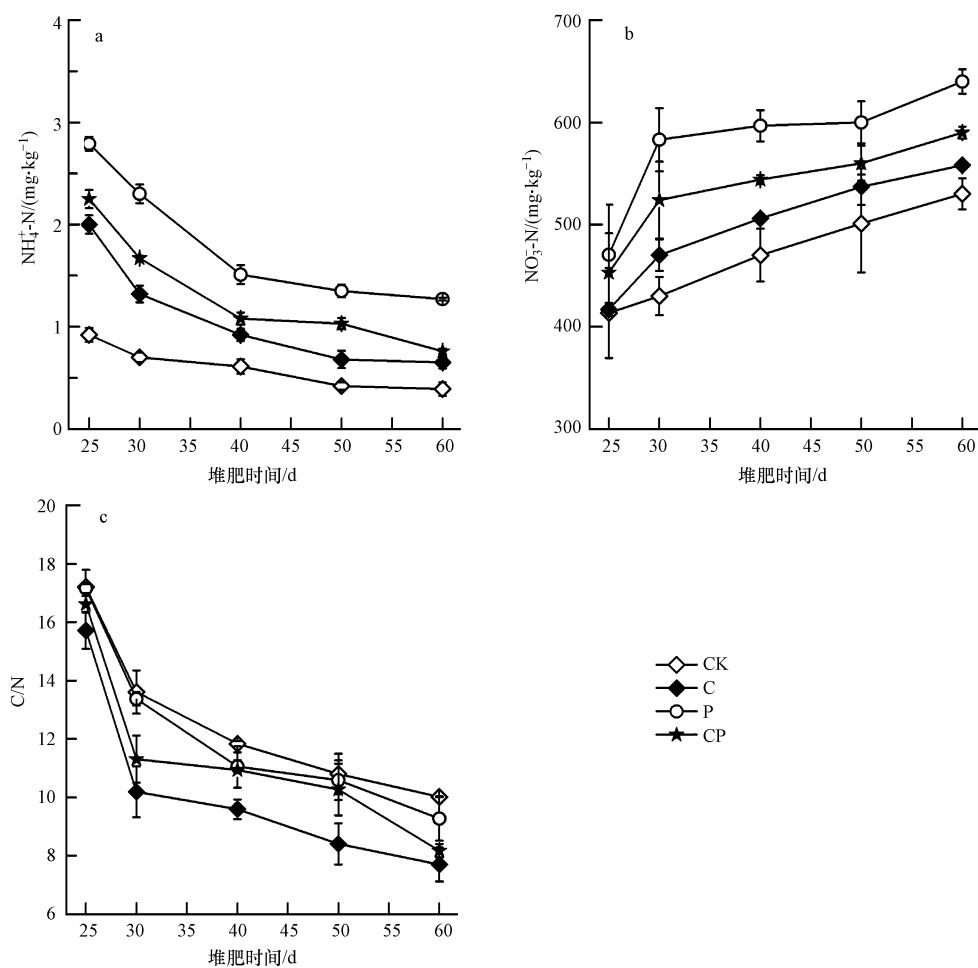


图 3 不同酶制剂添加情况下堆肥的铵态氮 (a)、硝态氮 (b)、碳氮比 (c) 的变化

Fig.3  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  (a),  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  (b), and C/N (c) during composting process

纤维素类物质是影响稻草堆肥进程的一个重要制约因素. 由表 2 可以看出, 所有处理的纤维素和半纤维素含量都随着堆肥发酵的进行而降低, 到堆肥结束时纤维素酶处理纤维素含量比 CK 处理低 35.1%, 混合酶处理比 CK 低 14.9%, 但蛋白酶处理纤维素含量与 CK 相似 ( $p > 0.05$ ). 这说明外源纤维素酶在纤维素类物质的生物降解中发挥了积极的作用, 因此, 添加外源纤维素酶可以促进堆肥化进程.

从表 2 中还可以看出, 各组处理的半纤维素含量也明显降低, 半纤维素是相对容易分解的物质,

半纤维素总量的 90% 以上可在堆肥化过程中被分解. 到堆肥结束时纤维素酶处理半纤维素含量比 CK 低 17.4%, 混合酶处理比 CK 低 13.0%, 而蛋白酶处理与 CK 差异不显著 ( $p > 0.05$ ). 说明添加外源纤维素酶可以在短期内迅速提高半纤维素的降解速度, 而外源蛋白酶对此没有明显效果.

发芽指数是通过测试堆肥浸出液的生物毒性来评价堆肥的腐熟度 (Huang *et al.*, 2004), 一般认为, 发芽指数大于 90% 就表明堆肥的腐熟度较高. 如图 4 所示, 各处理发芽指数都超过 50%, 说明稻草堆肥本身生物毒性较小. 前 30 d 不同处理的发芽指数

都低于 100%;随着堆肥的进行,各处理发芽指数均逐渐升高,最终都超过了 100%.纤维素酶处理上升最快,其次是纤维素酶+蛋白酶处理、蛋白酶处理,

CK 最慢.说明外源酶的添加进一步降低了堆肥的生物毒性,促进堆肥腐熟.

表 2 堆肥过程中纤维素和半纤维素含量的变化

Table 2 Cellulose and hemicellulose during composting process

堆肥时间/d	纤维素含量				半纤维素含量			
	CK	C	P	CP	CK	C	P	CP
25	22.33%±0.98% <sup>a</sup>	18.29%±0.57% <sup>c</sup>	22.00%±0.30% <sup>a</sup>	20.00%±0.26% <sup>b</sup>	12.81%±0.29% <sup>a</sup>	11.50%±0.67% <sup>b</sup>	12.72%±0.77% <sup>a</sup>	12.30±±0.02% <sup>ab</sup>
30	21.00%±0.51% <sup>a</sup>	14.90%±0.08% <sup>c</sup>	20.40%±0.45% <sup>a</sup>	18.00%±0.16% <sup>b</sup>	8.70%±0.63% <sup>a</sup>	6.30%±0.18% <sup>c</sup>	9.00%±0.52% <sup>a</sup>	7.30±±0.49% <sup>b</sup>
40	19.00%±0.28% <sup>a</sup>	13.16%±0.58% <sup>c</sup>	19.19%±0.58% <sup>a</sup>	16.00%±0.80	6.60%±0.55% <sup>ab</sup>	4.70%±0.17% <sup>c</sup>	6.90%±0.25% <sup>a</sup>	6.00±±0.27% <sup>b</sup>
50	18.00%±0.20% <sup>a</sup>	12.00%±0.42% <sup>c</sup>	17.70%±0.33% <sup>a</sup>	15.50%±0.87% <sup>b</sup>	5.70%±0.84% <sup>a</sup>	4.20%±0.93% <sup>b</sup>	5.90%±0.43% <sup>a</sup>	5.20±±0.65% <sup>ab</sup>
60	17.86%±0.59% <sup>a</sup>	11.59%±0.77% <sup>c</sup>	17.50%±0.87% <sup>a</sup>	15.20%±0.73% <sup>b</sup>	4.60%±0.77% <sup>a</sup>	3.80%±0.27% <sup>a</sup>	4.50%±0.60% <sup>a</sup>	4.00±±1.00% <sup>a</sup>

注:小写字母表示具有显著性差异( $p<0.05$ ).

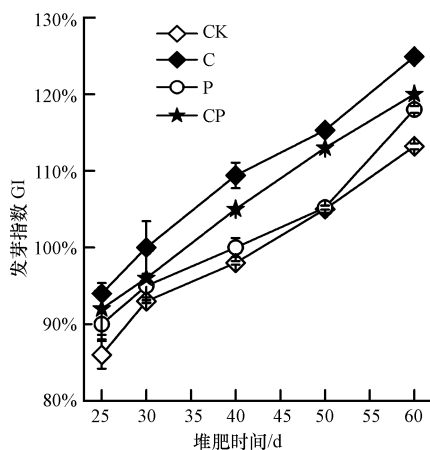


图 4 不同酶制剂添加情况下堆肥发芽指数的变化

Fig.4 Germination index during composting process

### 3.2 各处理堆肥腐熟程度的模糊综合评价

到堆肥结束时,所有堆肥处理的腐熟程度各不相同,堆肥质量优劣是由诸多因素优劣状况决定的,具体 4 个处理的优劣难以用一个指标来评价确定(任春晓等, 2012; 田赞等, 2010; 杨帆等, 2012).目前较为认同的堆肥腐熟度的评价方法根据多个指标综合反映堆肥的腐熟状况(史殿龙等, 2010).模糊综合评价可以对多种因素所影响的事物或现象进行总的评价(Sheng *et al.*, 2008; 陈贻源, 1984).本研究利用模糊综合评价方法对堆肥各处理开展多指标的评定以确定堆肥的腐熟度,以科学评价研究不同外源酶处理的促腐效果.

因整个堆肥过程中 pH、EC 变化不大,且都在堆肥合格范围之内,纤维素及半纤维素含量不属于堆肥腐熟度指标,所以不列入稻草堆肥腐熟程度的评价因子之中,本研究中选取的评价指标为:

$$U = (U_1, U_2, \dots, U_m) = (E_4/E_6, NO_3^- - N, NH_4^+ - N, C/N, GI) \quad (10)$$

确定评价因素的隶属度函数,关系到堆肥腐熟度评价结果的科学性和精确度.对小者为优的指标,  $E_4/E_6$ 、 $NH_4^+ - N$ 、 $C/N$  由式(1)进行归一化计算;对大者为优的指标,  $NO_3^- - N$ 、 $GI$  由式(2)进行归一化计算.

根据熵权法计算得到本试验中各指标权重如下:

$$W = (W_1, W_2, \dots, W_m) = (0.19E_4/E_6, 0.17NH_4^+ - N, 0.23NO_3^- - N, 0.21C/N, 0.20GI) \quad (11)$$

最后,模糊综合评价的结果为  $B = (0.17CK, 0.67C, 0.50P, 0.70CP)$ .由此得知,纤维素酶+蛋白酶处理堆肥腐熟程度最好,之后依次是纤维素酶处理、蛋白酶处理、CK.因此,可以得知,纤维素酶和蛋白酶的配合使用可以促进堆肥腐熟,提高稻草堆肥品质,当然单独使用纤维素酶或蛋白酶也对堆肥腐熟起到一定促进作用.

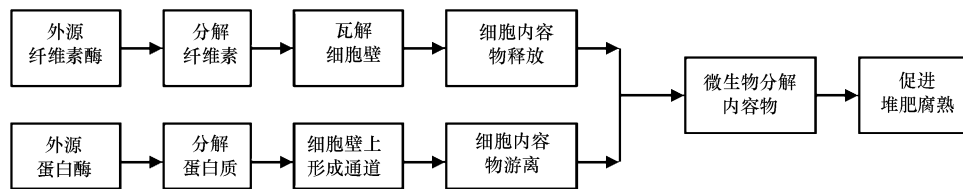
### 4 讨论(Discussion)

由于堆肥过程中所有复杂的生化反应过程都是在生物酶的催化作用下发生的,酶活性深刻影响堆肥产品的腐熟程度、有机物质的转化(李国学等, 2000; 张晓倩等, 2012).堆肥物料中的有机物只有小部分小分子有机物可以被微生物直接吸收利用,而大部分的有机物是以高聚物的形式存在,只有通过胞外酶将其分解为溶解性有机物质,再渗入到细胞中供微生物代谢利用(时进钢, 2007).生物酶可分为胞内酶和胞外酶,胞内酶催化是在细胞内发生的生化反应,而胞外酶是释放在细胞外的酶,通常催化

聚合物的降解,如植物聚合物、纤维素、木质素等降解,使分解后的小分子物质穿透细胞质膜,实现进一步降解(苏峰峰等,2009).本试验中外源酶的加入正是由于增加了堆肥中的酶活力而促进了稻草堆肥的腐熟进程.

堆肥化的关键步骤是难分解的纤维素类物质的分解,在植物秸秆的结构中,纤维素是秸秆细胞壁的重要组成部分,起着支持和固定植物体的主要功能,难于被生物分解,阻碍了细胞内容物的释放和矿化(Bernabé *et al.*,2013;王伟东,2005).纤维素酶对纤维素等物质具有稳定的分解能力,可以分解纤维素,从而瓦解秸秆细胞壁的骨架结构,使得细胞内容物游离出来,增大细胞内容物与土壤微生物的接触面积,从而加速了堆肥腐熟.外源蛋白酶则可以分解秸秆细胞壁上的粗蛋白,在细胞壁上形成通道,使得细胞内容物可以通过细胞壁上的通道游离出来,接触到外界的微生物,并提高铵态氮含量,因此,也促进了堆肥的腐熟.另外,堆肥的C/N比对堆肥进程也有很重要的作用,添加外源蛋白酶加速蛋白质分解,降低C/N,也有利于堆肥的进行.

对于堆肥进程及腐熟度的评价,现在国内外没



当然,在堆肥原生酶浓度较低时,人为地增加外源酶可能对堆肥起到促进作用.但当添加酶制剂之后,就要尽量创造适宜酶活性发挥的环境条件,二者结合才可能更好地加速堆肥腐熟(Fante *et al.*,2012; Bao *et al.*,2013).

另外,外源酶应用的成本问题是大家所关注的焦点.按本文中混合酶处理的酶制剂添加比例,处理每吨秸秆需纤维素酶和蛋白酶各28.57 kg,按照目前市价,纤维素酶每吨价格约为21000元左右,蛋白酶每吨价格约为13000元左右,因此,每吨秸秆的酶处理费用不到1000元.当然目前看来,在大田范围内直接应用此种堆肥不太经济,但应用在高端生态有机肥的生产上则比较适宜.目前,精细有机肥每吨价格可达到2000~7000元不等,如将加酶有机肥用于高利润的园艺作物等,有利于保障环境和农产品安全.另外,随着发酵工艺的发展,酶制剂生产系统的多样化,酶制剂价格在今后很有可能继续降

有统一的指标体系,选取合理的指标及评价方法是进行合理评价的重要条件,对此国内外学者作了大量的研究,主要从C/N比、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量、 $E_4/E_6$ 的变化和种子发芽指数GI的变化等方面进行综合评价(Bernal *et al.*,2009; Cheng *et al.*,2013; Hosseini *et al.*,2013).本研究结果表明,添加外源纤维素酶或蛋白酶都有利于稻草堆肥腐熟,纤维素酶处理主要降低了堆肥的C/N比,提高了发芽指数;蛋白酶处理则主要提高了 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量;而从 $E_4/E_6$ 来看,纤维素酶+蛋白酶处理促进了堆肥腐熟,而且纤维素酶+蛋白酶处理的C/N比、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量及GI比较接近最优处理;通过模糊综合评价得出纤维素酶+蛋白酶处理为最优处理.

可以推测外源纤维素酶和蛋白酶对于促进稻草堆肥腐熟具有协同作用,更有利秸秆堆肥的进行.外源纤维素酶和外源蛋白酶的协同作用机制可能为:外源纤维素酶促进了秸秆纤维素的降解,破坏了秸秆细胞壁的骨架结构;外源蛋白酶分解堆肥秸秆细胞壁上的粗蛋白,在细胞壁上形成通道,破坏细胞壁结构并提高氮含量,如下所示.

低,在堆肥上将有更广阔的应用前景.

## 5 结论(Conclusions)

1)同时添加外源纤维素酶和外源蛋白酶对堆肥中纤维素类物质降解及氮素释放都有较强的促进作用,可显著促进腐殖酸的合成,降低堆肥的碳氮比,降低堆肥的生物毒性.

2)根据模糊综合评价,纤维素酶与蛋白酶的配合使用对于促进堆肥腐熟效果最佳.

3)可以推测外源纤维素酶和蛋白酶的应用具有协同作用,更有利于秸秆堆肥的进行.外源纤维素酶和外源蛋白酶的协同作用机制可能为:外源纤维素酶促进了秸秆纤维素的降解,破坏了秸秆细胞壁的骨架结构;外源蛋白酶则可以分解秸秆细胞壁上的粗蛋白,在细胞壁上形成通道并提高氮含量.

责任作者简介:韩玮(1981—),女,博士,讲师,主要研究方

向为固体废弃物处理及土壤生态环境. E-mail: binzhouhanwei@163.com.

#### 参考文献 (References):

- 鲍士旦.2000.土壤农化分析(第3版)[M].北京:中国农业出版社
- Bao Y Y, Chen L, Wang H L, *et al.* 2013. Application of an integrated statistical design to optimize the cold enzyme hydrolysis conditions for ethanol production [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 74: 27-35
- Bernabé G A, Kobelnik M, Almeida S, *et al.* 2013. Thermal behavior of lignin and cellulose from waste composting process [J]. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 111(1): 589-595
- Bernal M P, Albuquerque J A, Moral R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review [J]. *Bioresource Technology*, 100(22): 5444-5453
- Chaves B, De Neve S, Boeckx P, *et al.* 2005. Screening organic biological wastes for their potential to manipulate the N release from N-rich vegetable crop residues in soil [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 111(1/4): 81-92
- 陈贻源.1984.模糊数学[M].武汉:华中工学院出版社
- Cheng Q Y, Guo S S, Ai W D, *et al.* 2013. A straw-soil co-composting and evaluation for plant substrate in BLSS [J]. *Advances in Space Research*, 51(3): 483-491
- Fante L, Noreña C P Z. 2012. Enzyme inactivation kinetics and colour changes in Garlic (*Allium sativum* L.) blanched under different conditions [J]. *Journal of Food Engineering*, 108(3): 436-443
- Fließbach A, Mäder P, Niggli U. 2000. Mineralization and microbial assimilation of <sup>14</sup>C-labeled straw in soils of organic and conventional agricultural systems [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(8/9): 1131-1139
- 高云航, 勾长龙, 王雨琼, 等. 2014. 低温复合菌剂对牛粪堆肥发酵影响的研究 [J]. *环境科学学报*, 34(12): 3166-3170
- Ghose T K. 1987. Measurement of cellulase activities [J]. *Pure and Applied Chemistry*, 59(2): 257-268
- Gloucke C G, Diaz L F. 1990. Low tech composting for small communities [J]. *BioCycle*, 1990, 31(11): 62-64, 74
- Hadas A, Kautsky L, Goek M, *et al.* 2004. Rates of decomposition of plant residues and available nitrogen in soil, related to residue composition through simulation of carbon and nitrogen turnover [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(2): 255-266
- 韩玮, 何明, 杨再强. 2014. 添加外源纤维素酶对水稻秸秆模拟堆肥过程的影响 [J]. *环境工程学报*, 8(11): 4955-4962
- Hasegawa H, Furukawa Y, Kimura S D. 2005. On-farm assessment of organic amendments effects on nutrient status and nutrient use efficiency of organic rice fields in Northeastern Japan [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 108(4): 350-362
- Hosseini S M, Aziz H A. 2013. Evaluation of thermochemical pretreatment and continuous thermophilic condition in rice straw composting process enhancement [J]. *Bioresource Technology*, 133: 240-247
- Huang G F, Wong J W C, Wu Q T, *et al.* 2004. Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust [J]. *Waste Management*, 24(8): 805-813
- 贾艳红, 赵军, 南忠仁, 等. 2006. 基于熵权法的草原生态安全评价——以甘肃牧区为例 [J]. *生态学杂志*, 25(8): 1003-1008
- Lei F, VanderGheynst J S. 2000. The effect of microbial inoculation and pH on microbial community structure changes during composting [J]. *Process Biochemistry*, 35(9): 923-929
- 李灿, 张凤荣, 朱泰峰, 等. 2013. 基于熵权 TOPSIS 模型的土地利用绩效评价及关联分析 [J]. *农业工程学报*, 29(5): 217-227
- 李国学, 张福锁. 2000. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产 [M]. 北京: 化学工业出版社
- 任春晓, 席北斗, 赵越, 等. 2012. 有机生活垃圾不同微生物接种工艺堆肥腐熟度评价 [J]. *环境科学研究*, 25(2): 226-231
- Sheng G X, Rong D W, Guo H J, *et al.* 2008. Fuzzy comprehensive evaluation on the quality of different mixed feeds for fattening lambs by using *in vitro* method [J]. *Livestock Science*, 115(2/3): 137-143
- 史殿龙, 张志华, 李国学, 等. 2010. 堆高对生活垃圾中 15 mm 筛下物堆肥腐熟的影响 [J]. *农业工程学报*, 26(1): 324-329
- 时进钢. 2007. 表面活性剂对堆肥过程中微生物胞外酶的作用及其机理研究 [D]. 长沙: 湖南大学
- 苏峰峰, 曾光明, 黄丹莲, 等. 2009. 胞外酶对堆肥中微生物群落演替的影响 [J]. *中国环境科学*, 29(5): 524-530
- 田赞, 王海燕, 孙向阳, 等. 2010. 添加竹酢液和菌剂对园林废弃物堆肥理化性质的影响 [J]. *农业工程学报*, 26(8): 272-278
- Van Soest P J, Wine R H. 1968. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate [J]. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 51(4): 780-785
- 王伟东. 2005. 木质纤维素快速分解菌复合系及有机肥微好氧新工艺 [D]. 北京: 中国农业大学
- Xiao Y, Zeng G M, Yang Z H, *et al.* 2009. Continuous thermophilic composting (CTC) for rapid biodegradation and maturation of organic municipal solid waste [J]. *Bioresource Technology*, 100(20): 4807-4813
- 杨帆, 李国学, 江滔, 等. 2012. 蚯蚓辅助堆肥处理蔬菜废弃物及其温室气体减排效果 [J]. *农业工程学报*, 28(16): 190-196
- 杨玖, 谷洁, 张友旺, 等. 2013. 磺胺甲唑对猪粪堆肥过程中堆料性质与酶活性的影响 [J]. *环境科学学报*, 33(12): 3267-3274
- 于鑫, 邵晨, 田兴军. 2014. 餐厨降解菌的生物特性研究 [J]. *环境科学学报*, 34(7): 1781-1787
- 张晓倩, 许修宏, 王晶, 等. 2012. 添加木质素降解菌对堆肥中酶活性的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 31(4): 843-847
- Zucconi F, Pera A, Forte M, *et al.* 1981. Evaluating toxicity of immature compost [J]. *BioCycle*, 22(2): 54-57