

梁文涓,牛明芬,武肖媛,等. 复合微生物菌剂和纤维素酶制剂在牛粪堆肥中的应用效果[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):362-365.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.105

复合微生物菌剂和纤维素酶制剂 在牛粪堆肥中的应用效果

梁文涓¹, 牛明芬¹, 武肖媛¹, 郝凤明², 刘 欢¹

(1. 沈阳建筑大学市政与环境工程学院, 辽宁沈阳 110168; 2. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁沈阳 110016)

摘要:将牛粪与稻壳混合堆肥,加入不同剂量的复合微生物菌剂和纤维素酶制剂,通过测定物理、化学、生物指标的变化,分析复合微生物菌剂和纤维素酶对牛粪堆肥效果的影响,从而确定复合微生物菌剂和纤维素酶的最佳组合。研究结果表明,加入 0.5% 微生物菌剂和 0.05% 纤维素酶的堆肥处理组升温快,最高温度高,高温持续时间长;含水量下降幅度最大;堆肥结束时 C/N 小于 20,达到腐熟标准;纤维素酶活性大于其他处理组;细菌繁殖最快,堆肥效果最优,可使堆肥更快达到腐熟;种子发芽指数最高。但是纤维素酶主要对堆肥的腐熟进程和质量有显著贡献,而对于堆肥的卫生指标并没有显著的影响。

关键词:复合微生物菌剂;纤维素酶制剂;牛粪;堆肥

中图分类号:Q939.9;S141.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)01-0362-04

牛粪主要用于生产有机肥和沼气,用牛粪堆肥处理后的有机肥在施入农田前需要经过无害化处理,杀灭其中的虫卵、病菌和草籽^[1]。牛粪属于冷性堆肥材料,所含纤维素量大,自然堆肥降解速度慢,并且不易起温,达不到我国堆肥无害化标准^[2]。大量研究结果表明,在牛粪堆肥中加入发酵菌剂可以促进牛粪堆肥的腐熟进程,并能提高堆肥的质量。徐大勇等将外源腐熟菌剂用于牛粪堆肥的研究结果表明,添加了腐熟菌剂的堆肥比自然堆肥进入高温期(>50℃)提前了 11 d^[3]。赵明梅等认为加入发酵菌剂的堆肥,C/N 下降速度比单独牛粪堆肥下降的速度快^[4]。刘佳等认为接种菌剂的牛粪堆肥中微生物数量变化趋势快于自然堆肥,接种微生物菌剂加快了微生物群落演替的速度^[5]。大量研究结果表明,接种单一种类的微生物不如接种复合菌剂的堆肥效果好^[6]。隋文志等认为加入调理剂能促使堆肥快速升温,并且调理剂不同会影响堆肥的养分^[1]。然而,对于加入菌剂和纤维素酶的综合研究比较少。

本试验将自制的复合微生物菌剂和纤维素酶制剂添加到堆肥中,共 4 个试验组,分别为处理 A(空白对照),处理 B(接种 0.5% 菌剂),处理 C(接种 0.5% 菌剂和 0.03% 纤维素酶),处理 D(接种 0.5% 菌剂和 0.05% 纤维素酶),通过测定堆肥中物理、化学、生物各指标的变化,判断堆肥的处理效果。其中,接种 0.5% 菌剂在先前的研究中确定为最佳的菌剂添加量,本研究侧重于鉴定堆肥中菌剂和酶的最佳组合。研究发现,处理 D(接种 0.5% 菌剂和 0.05% 纤维素酶)的堆肥效果最好。

收稿日期:2015-06-02

基金项目:中央级科研项目“农业区非点源污染控制与水质改善关键技术示范”(编号:Z1515021)。

作者简介:梁文涓(1990—),女,山西长治人,硕士研究生,主要从事固体废弃物资源化研究。E-mail:liangwenjuan100@163.com。

1 试验材料和方法

1.1 试验材料

试验所用堆肥材料为辽宁省本溪市木兰花牛场的脱水牛粪和稻壳。微生物菌剂为前期试验所制得的微生物菌剂。该菌剂是从腐熟牛粪与土壤中分离出的 HN1(枯草芽孢杆菌)、HP2(地衣芽孢杆菌)、TG1(放线菌)、P3(枯草芽孢杆菌)共 4 株菌,通过正交试验优化各菌种配合比例为 TG1:P3:HP2:HN1=3:1:1:1,经前期试验得出加入 0.5% 菌剂时堆肥效果最好。纤维素酶制剂为市面上所购,经试验测得其纤维素酶活性为 2.35 万 U/g。堆肥原料牛粪和稻壳成分见表 1。

表 1 堆肥原料主要理化性质

堆肥原料	含水率(%)	全碳(%)	全氮(%)	C/N
牛粪	71.93	23.21	1.23	18.9
稻壳	9.85	43.56	0.57	76.4

注:全碳与全氮为风干样含量。

研究结果表明,堆肥时最初的 C/N 应为 30~35,含水率在 50%~60%^[2,4,7-8]。计算得出当牛粪与稻壳的质量比约为 2:1 时,可满足上述条件。

1.2 堆肥设计

为研究复合微生物菌剂外加纤维素酶制剂在牛粪堆肥中应用效果,本试验设置的堆肥处理组如下:处理 A,200 kg 牛粪+100 kg 稻壳粉,即空白组;处理 B,200 kg 牛粪+100 kg 稻壳粉+0.5% (质量分数,下同)复合微生物菌剂;处理 C,200 kg 牛粪+100 kg 稻壳粉+0.5% 复合微生物菌剂+0.03% 纤维素酶;处理 D,200 kg 牛粪+100 kg 稻壳粉+0.5% 复合微生物菌剂+0.05% 纤维素酶。堆制时,堆长、堆宽、堆高分别为 100、100、80 cm,顶部尽量平整。雨天在堆体上加盖塑料膜,以免雨水对堆肥的冲刷。

1.3 采样及测定

1.3.1 样品采集 在堆制当日取样,并在开始堆肥后每2 d定时采样1次,采样方法采用多点采样法^[7]。将采回的样品48 h内测定。

1.3.2 测定项目 测定的项目有物理、化学、生物指标3类,包括堆肥温度、含水率、pH值、C/N、氨态氮、纤维素酶活性、细菌数、种子发芽指数、大肠杆菌群数和蛔虫卵死亡率。

用乙醇温度计测定堆温和气温,测定温度分别在09:00和15:00进行。将堆体分上层(10~25 cm)、中层(30~45 cm)、下层(50~65 cm)测温,每层选测3个温度值,将平均值作为该层的温度,将3层温度的平均值作为该堆体的温度,将当天测得的温度进行平均作为当天的温度。从堆肥开始到第1次升温,需每天测温,之后可隔1 d测1次,当堆体温度开始下降时,对堆体进行翻堆^[8]。

含水率、pH值、C/N、氨态氮测定参照国家农业标准NY 525—2011^[9]。纤维素酶活的测定参照文献^[10],细菌数的测定参照文献^[11],种子发芽指数的测定参照文献^[12](所选择的种子为小白菜籽),大肠杆菌群数和蛔虫卵死亡率的测定参照文献^[13]。

2 结果与分析

2.1 堆肥中温度的变化

堆肥温度是从表观上判定堆肥腐熟程度的重要指标。从图1可见,堆肥初期的升温速度为,处理D>处理C>处理B>处理A,处理A、处理B、处理C、处理D在堆肥1 d后温度分别升到了49.0、54.7、56.5、57.0℃。处理A、处理B、处理C、处理D温度在50℃以上维持天数及最高温度分别为:8 d(56.8℃)、9 d(57.7℃)、9 d(58.4℃)、9 d(60.1℃)。在堆肥10 d时,各处理温度都下降到50℃以下,3个处理组温度下降速度都明显快于空白组。此次堆肥在7月份进行,气温较高,由于牛粪经脱水再经过运输,所以堆肥的起始温度比环境高。本次试验在堆制3 d和6 d进行了翻堆,翻堆后温度又形成1个峰值。

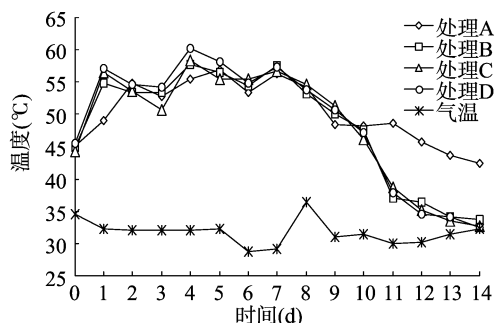


图1 堆肥温度变化情况

可见,堆肥中加入复合微生物菌剂和纤维素酶制剂可提高温度峰值,且高温持续时间较长,其中,加入0.5%的复合微生物菌剂+0.05%纤维素酶的处理组升温快,最高温度高,高温持续时间长,效果更好。

2.2 堆肥中含水率变化

本次堆肥每个处理的初始含水率都在70%左右(图2),原因是在堆肥的前1 d降雨淋湿了堆料。各个处理随着堆肥的进行水分含量整体趋势是下降的,但堆制4 d水分含量突

然增高,主要由于降雨从覆盖塑料膜缝隙进入了堆肥。4个对照组的含水率均在堆制4 d左右达到峰值(和温度峰值相对应)。在堆肥结束时,处理A、处理B、处理C、处理D的含水率分别下降了4.91、7.17、7.61、9.66百分点。虽然堆肥后的含水率依然比较大,但从含水率的减少量可知,处理B、处理C、处理D的效果要好于处理A,且处理D的处理效果最好。

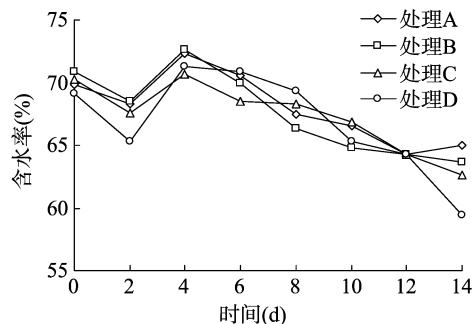


图2 堆肥含水率变化

2.3 堆肥中pH值变化

堆肥中pH值变化为先降低再升高(图3),造成这种趋势的原因是在堆肥初期可利用的能源物质较多,微生物繁殖较快,其活动产生的有机酸使堆肥pH值下降^[14-16],随着堆肥的进行,有机酸被分解,同时又有含氮有机物产生的氨,使堆肥的pH值升高。3个处理组的pH值在堆制6 d达到最低值,空白组比其他3个处理的pH值到达最低点的时间晚2 d。在堆肥结束时,堆肥的pH值大小排序为处理D>处理C>处理B>处理A。

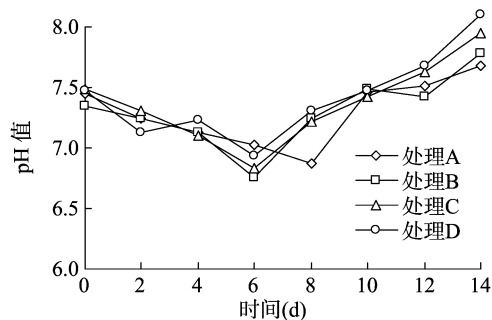


图3 堆肥中pH值变化

2.4 堆肥中C/N的变化

本次试验处理A、处理B、处理C、处理D的初始C/N值(图4)分别为34.84、32.22、32.34、34.23,堆肥结束时4组的最终C/N值为23.67、21.03、20.05、19.89,C/N值分别降低了11.17、11.19、12.29、14.34,由以上分析可知,处理D中C/N值的下降幅度最大,其次为处理C,在牛粪堆肥中加入微生物菌剂与纤维素酶共同作用更能促进堆肥的腐熟。

2.5 堆肥中氨态氮变化

堆肥初期氨态氮含量下降,之后氨态氮变化趋于平稳(图5),氨态氮的降低标志着堆肥趋于腐熟^[2]。处理B、处理C、处理D在堆肥前2 d氨态氮含量迅速降低,在2 d后氨态氮含量趋于稳定,说明3个处理前期氨气挥发速度与硝化细菌硝化作用之和大于微生物将有机氮转化为氨态氮的矿化作用,之后硝化细菌的硝化作用与微生物矿化作用平衡,使堆肥中氨态氮保持稳定,处理A在堆制6 d进入稳定期,比后3个

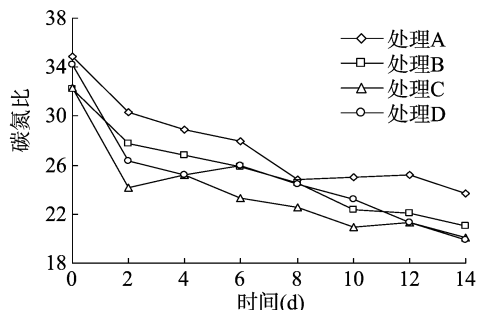


图4 堆肥中 C/N 值的变化

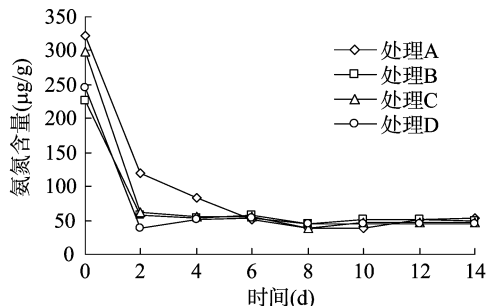


图5 堆肥中氨态氮的变化

处理晚了4 d。

2.6 堆肥中纤维素酶活性变化

本次试验在堆肥中加入纤维素酶,通过提高堆肥纤维素酶活性,促进牛粪中纤维素的降解。由图6可见,4个处理中纤维素酶活性的变化趋势是一致的,都经历了先增大后减小再增大最后减小的趋势。

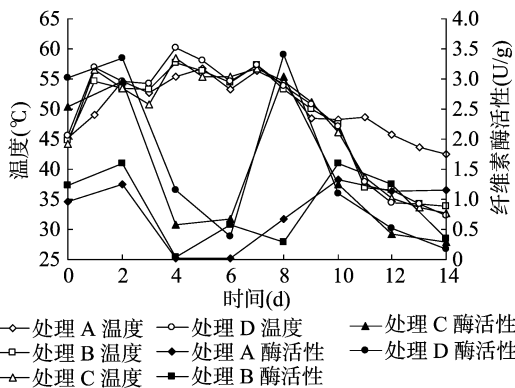


图6 堆肥中纤维素酶活性变化

处理A和处理B一直保持较低的纤维素酶活性,加入纤维素酶的堆肥酶活性的峰值要明显高。堆肥起始时,处理C、处理D的纤维素酶活性大于处理A和处理B,这是由于处理C、处理D中加入了纤维酶的原因;随着堆肥的进行,微生物快速繁殖,在堆制2 d纤维素酶活达到了峰值,此时4个处理的纤维素酶活性大小分别为1.254、1.587、2.954、3.345 U/g;到堆肥4~6 d出现了纤维素酶活性的极小值,可能是4~6 d出现的高温使嗜热微生物分泌的纤维素酶活性降低了,而嗜热微生物还未来得及大量繁殖;在堆制8 d时,处理C和处理D又一次出现峰值,而处理A和处理B在堆制10 d才出现峰值,这个阶段可能是由于嗜热微生物开始大量繁殖,使纤维素酶活性升高;处理C、处理D和处理A、处理B分别在堆制8 d和堆制10 d之后纤维素酶活性开始降低,堆肥开始进入腐熟

期;堆肥结束后,纤维素酶活性由小到大的排序为处理D < 处理C < 处理B < 处理A,且堆肥结束后处理B、处理C、处理D的纤维素酶活性小于开始堆肥时的纤维素酶活性,而处理A的仍大于堆肥开始的纤维素酶活性,表明处理A没有完全腐熟。

从上述分析可以推知,在牛粪堆肥中加入纤维素酶制剂有助于堆肥中纤维素酶活的提高,从而加快牛粪腐熟。

2.7 堆肥中细菌数变化

由图7可见,堆制4 d,细菌的数量达到了峰值,且处理C和处理D的峰值明显大于处理A和处理B,这可能是由于在堆肥中加入了纤维素酶,从而加快了牛粪中纤维素的分解,使堆肥前期的能量物质更加充分,因而细菌增殖速度加快;堆制4~6 d,细菌数目降低,可能是由于在4~6 d堆肥经历了高温期使细菌死亡或休眠的原因;堆制6~8 d又有1个增长期,是由于堆肥的温度下降,细菌开始繁殖,但峰值的高度远没有堆肥初期时大,主要是由于在堆肥的后期,营养物质的匮乏成为细菌增殖的制约因素;在堆制8 d以后细菌数量开始下降,主要是由于堆肥中有机物被微生物消耗,细菌数也随之下降。

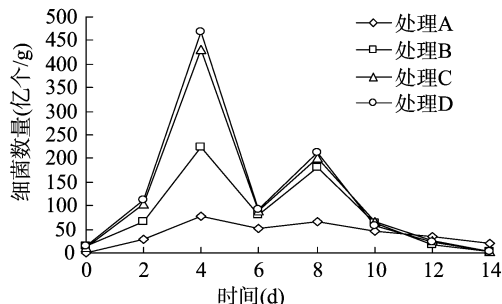


图7 堆肥中细菌数变化

从上述分析可知,在加入菌剂的堆肥中加入纤维素酶制剂,可以使细菌更快的繁殖,并且能够提高细菌的数量。处理A、处理B、处理C、处理D中细菌数目的最大值分别为78亿、223亿、432亿、467亿个/g,处理C和处理D的细菌数量明显大于处理A和处理B,且处理D细菌数量最大。

2.8 种子发芽指数

试验用的牛粪是经过粪尿分离的,所以堆肥开始时,堆肥材料对种子已基本无毒害作用了。试验对种子发芽率和平均根长进行了跟踪测定(表2),进而得出堆肥初始和堆肥结束时的种子发芽指数(GI)。由表2和图8可知,堆肥期间小白菜种子发芽指数有了大幅的提升。堆肥结束后种子发芽指数由高到低的排列顺序为,处理D > 处理C > 处理B > 处理A,且处理D远远大于其他3个处理,说明加入纤维素酶可以显著提高堆肥的卫生质量。

2.9 堆肥中大肠杆菌菌群数及蛔虫卵死亡率

由表3可知,4个处理的蛔虫死亡率都达到有机肥料标准(NY 525—2012),大肠杆菌菌群数发酵后明显少于发酵前,且处理B、处理C、处理D都小于100,达标。加入复合微生物菌剂可以显著降低大肠杆菌数,但是处理B、处理C、处理D的效果没有太大差别。处理D中纤维素酶对大肠杆菌数的降低并没有显著的优越性。可见,纤维素酶主要对堆肥的腐熟进程和质量有显著贡献,对于堆肥的卫生指标并没有显著的影响。

表 2 小白菜籽的种子发芽率和平均根长

时间(d)	处理 A		处理 B		处理 C		处理 D	
	发芽率(%)	平均根长(cm)	发芽率(%)	平均根长(cm)	发芽率(%)	平均根长(cm)	发芽率(%)	平均根长(cm)
0	66.47	1.61	56.45	1.95	51.43	1.89	65.00	1.53
2	62.50	2.58	70.00	2.34	57.50	2.34	57.50	2.67
4	57.50	4.00	70.91	2.03	55.00	2.69	48.89	4.17
6	62.50	3.75	67.50	2.76	60.00	4.36	70.00	3.27
8	77.50	3.55	85.00	2.47	80.00	3.32	70.00	3.22
10	75.00	2.56	70.00	2.05	77.50	2.34	67.50	2.64
12	76.00	2.10	80.00	2.10	75.00	2.35	72.00	2.47
14	85.00	2.05	70.00	2.56	75.00	2.50	85.00	2.60

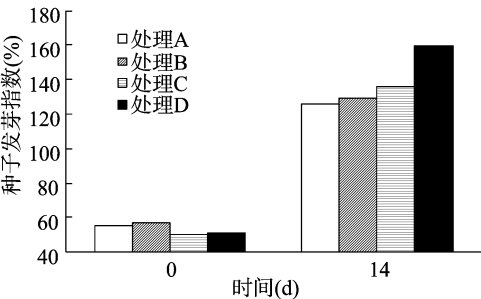


图8 小白菜种子的发芽指数变化

3 结论与讨论

试验中的堆肥在加入微生物菌剂的基础上添加了纤维素酶,设置了 4 个处理,通过测定堆肥物理、化学、生物指标中各参数的变化来判断堆肥的效果。

堆肥的初始阶段,处理 C、处理 D 升温速度要明显快于处理 A、处理 B;处理 D 出现的最高温度最高(60.1 ℃),高温持续时间最长(9 d),堆肥期间平均的高温为 55.6 ℃;虽然堆肥期间受到雨水的影响,但各处理的含水率在堆肥结束时都有所下降,处理 D 下降的幅度最大;堆肥中 C/N 值下降,在堆肥

表 3 堆肥中大肠杆菌菌群数及蛔虫死亡率变化

指标	大肠杆菌群最可能数(MPN,个/g)				蛔虫死亡率(%)			
	处理 A	处理 B	处理 C	处理 D	处理 A	处理 B	处理 C	处理 D
发酵前	54 万	79 万	68 万	59 万	0	0	0	0
发酵后	3 600	67	54	40	100	100	100	100

结束时,处理 D 的 C/N 值小于 20,达到腐熟标准,而其他 3 个组都大于 20,未达到腐熟;处理 C 和处理 D 由于在堆肥前期加入了纤维素酶,峰值明显高于处理 A 和处理 B,所以在菌剂堆肥的基础上加入纤维素酶,可以提高纤维素酶活性;加入纤维素酶的处理,其细菌增殖速度也较快,且最终达到的数量要高于单独用菌剂处理的堆肥;处理 D 的 GI 值最大;4 个处理的卫生指标中,蛔虫卵死亡率都达到了农业行业标准,而处理 A 的大肠杆菌菌群数比其他 3 个处理要大,而且大于 100 个/g,超过了行业标准。

总体而言,处理 C、处理 D(即接种了微生物菌剂与纤维素酶的处理)效果要优于处理 B(即只接种了微生物菌剂的处理);且处理 D 的效果好于处理 C,即在堆肥中加入 0.5% 的菌剂和 0.05% 的纤维素酶制剂效果最好,能更显著地促进牛粪腐熟。

参考文献:

[1]隋文志,胡广民,赵晓锋,等. 北方寒区牛粪无害化处理关键技术研究[J]. 农业环境科学学报,2010,29(3):578-585.

[2]李吉进. 畜禽粪便高温堆肥机理与应用研究[D]. 北京:中国农业大学,2004.

[3]徐大勇,黄为一. 接种外源腐熟菌剂对牛粪高温堆肥的影响[J]. 安徽农业科学,2012,40(13):7759-7762.

[4]赵明梅,牛明芬,何随成,等. 不同微生物菌剂对牛粪堆肥发酵影

响的研究[J]. 农业环境科学学报,2007,26(增刊2):587-590.

[5]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.

[6]席北斗,刘鸿亮,孟 伟,等. 垃圾堆肥高效复合微生物菌剂的制备[J]. 环境科学研究,2003(2):58-60,64.

[7]隆梦佳. 白腐菌对污泥堆肥木质素降解及重金属钝化影响[D]. 武汉:华中农业大学,2009.

[8]曲淑岩. 利用复合微生物菌剂发酵牛粪生产生物有机肥[D]. 长春:长春工业大学,2012.

[9]NY 525—2011 有机肥料[S]. 2011.

[10]牛明芬,武肖媛,于海娇,等. 牛粪纤维素降解菌的筛选与初步鉴定[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):393-395.

[11]GB 20287—2006 农用微生物菌剂[S]. 2006.

[12]朱凤香,王卫平,洪春来,等. 接种复合菌剂对牛粪堆肥发酵的影响[J]. 浙江农业学报,2012,24(2):275-278.

[13]GB/T 19524.2—2004 肥料中蛔虫卵死亡率测定[S]. 2004.

[14]张 磊,陈雅丽,陈双林,等. 低温型复合腐熟剂的研制及其对牛粪堆肥的处理效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):308-312.

[15]王 绍. 固体废弃物资源化技术与应用[M]. 北京:冶金工业出版社,2003.

[16]张盛华,郑凯琪,薛红波,等. 城市污泥堆肥过程中腐殖酸及重金属形态的变化[J]. 江苏农业学报,2014,30(6):1350-1354.