

环保酵素对土壤改良及污水污泥堆肥影响的应用研究进展

张紫晗, 刘佩勇*, 王雨琪, 林 玉

东北大学生命科学与健康学院, 辽宁 沈阳

收稿日期: 2023年3月15日; 录用日期: 2023年4月19日; 发布日期: 2023年4月26日

摘 要

本文综述了环保酵素在土壤改良及污水污泥堆肥方面的应用, 整理了近年来利用环保酵素进行土壤改良及污水污泥堆肥方面的一些研究, 结果表明, 在土壤改良方面, 环保酵素可以提高土壤养分。在污水污泥堆肥过程中, 环保酵素的施加可以提高微生物活性和堆肥质量。此外, 环保酵素在污水污泥堆肥过程中可以提高细菌群落多样性。旨在对未来土壤改良及污水污泥堆肥影响提供一些思路。

关键词

环保酵素, 土壤性质, 改良土壤, 污水污泥堆肥

Research Progress on the Effect of Garbage Enzymes on Soil Improvement and Sewage Sludge Composting

Zihan Zhang, Peiyong Liu*, Yuqi Wang, Yu Lin

College of Life Science and Health of Northeastern University, Shenyang Liaoning

Received: Mar. 15th, 2023; accepted: Apr. 19th, 2023; published: Apr. 26th, 2023

Abstract

In this paper, the application of environmental enzymes in soil improvement and sewage sludge composting was reviewed. Some studies on soil improvement and sewage sludge composting using environmental enzymes in recent years were summarized. The results showed that environ-

*通讯作者。

文章引用: 张紫晗, 刘佩勇, 王雨琪, 林玉. 环保酵素对土壤改良及污水污泥堆肥影响的应用研究进展[J]. 环境保护前沿, 2023, 13(2): 432-439. DOI: 10.12677/aep.2023.132054

mental enzymes can improve soil nutrients in soil improvement. In the process of sewage sludge composting, the application of environmental enzymes can improve the microbial activity and composting quality. In addition, environmental enzymes can improve bacterial community diversity during sewage sludge composting. The aim is to provide some ideas for soil improvement and sewage sludge composting in the future.

Keywords

Garbage Enzyme, Soil Properties, Ameliorate Soil, Sewage Sludge Composting

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

环保酵素是糖、新鲜蔬菜废弃物和水按照 1:3:10 的比例进行混合发酵 3 个月得到的产物(见图 1)。

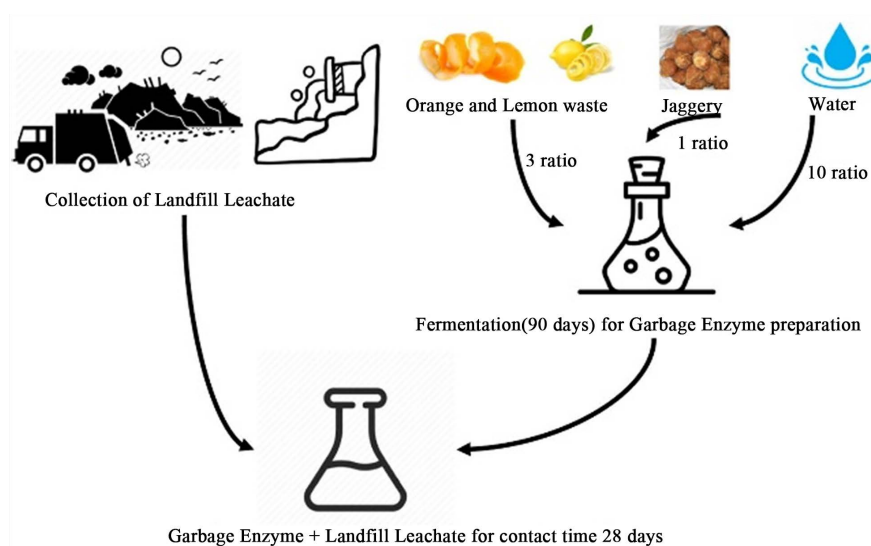


Figure 1. Preparation process of garbage enzymes

图 1. 环保酵素制备过程

环保酵素(Garbage Enzyme)是由废弃蔬菜和水果或其他厨余垃圾,水和红糖发酵产生的复杂有机溶液。这种酶溶液具有四类功能:分解,分解,转化和催化[1]。因此,GE已被广泛应用于污水处理、土壤肥料、植物生长激素和重金属的积累中[2]。在垃圾填埋场渗滤液中添加 20%的 GE 在 28 天后使渗滤液污染指数降低了 74.75% [3]。GE 也可用作土壤肥料。转基因喷施后,水稻中的 Cd 含量显著降低了 47.54~63.08% [4]。GE 添加使丹参的 Cd 吸收降低了 25.31% [5]。发酵 3 个月后,GE 还富含蛋白酶,淀粉酶和脂肪酶[6]。在土壤改良方面,环保酵素中营养成分浓度较高,有助于提高土壤中有机质、磷、钾、氮等营养物质的丰度。上述 GE 的四类功能,这些正是堆肥过程所需要的。然而,很少有研究评估转基因对堆肥过程的影响。因此,本研究的目的是调查 GE 添加对酶活性的影响,总氮(TN)含量等,并探索污水污泥堆肥过程中添加 GE 后对细菌群落多样性的影响。

2. 环保酵素对土壤理化性质的影响

施用环保酵素对土壤的 pH 值、电导率(electrical conductivity, EC)、土壤阳离子交换量(cation exchange capacity, CEC)、可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)等化学性质的影响比较显著。许多研究表明,对土壤施用不同类型的酵素均能降低 pH 值,改变土壤 EC 值,增加土壤 CEC 值和可溶性有机质含量(表 1)。刘泽霞[8]等利用环保酵素对盐碱土改良效果的研究发现,当施用 1:800 稀释比例的环保酵素时土壤的 EC 值降幅达 42.50%;在 1:200 的稀释比例下,土壤的 pH 值显著降低,土壤 DOC 显著增加了 34.28%。这些变化可能是因为酵素在发酵过程中产生大量的酸和有机物,酸能够使土壤 pH 值降低,活化钙镁盐类,提高 CEC 值;有机物则可以吸附无机盐离子,减弱盐分的副作用,促进 DOC 的积累;同时酵素中一些未被充分利用的无机阴离子和阳离子也能影响土壤中各种离子的含量,与有机物共同起到改变 EC 值的作用;而且酵素中存在的大量微生物可以加快有机质的分解,使上述的反应可以持续进行。

Table 1. Effects of different enzymes on main chemical properties of different soils [20]

表 1. 不同类型酵素对不同土壤主要化学性质的影响[20]

酵素类型	土壤类型	主要化学性质变化	参考文献
餐厨垃圾加红糖发酵	重金属污染土壤	提高土壤有机质含量和土壤阳离子交换量	[7]
餐厨垃圾加红糖发酵	盐碱土	降低盐碱土的 pH 值、电导率、EC 和碱化度	[8] [9]
植物有机废弃物加红糖发酵	沙质土壤	增加土壤有机质含量	[10]
酵素菌微生物肥料	黄绵土、黑垆土、盐土	土壤有机质增多,电导率降低, pH 值降低	[11] [12]
竹叶加糖发酵	碱性土壤	土壤 pH 值降低,土壤 EC、土壤有机质含量增加	[13]

3. 环保酵素对土壤主要养分的影响

Table 2. Effects of different enzymes on main nutrients in different soils [20]

表 2. 不同类型酵素对不同土壤主要养分的影响[20]

酵素类型和材料	土壤类型	氮	磷	钾	参考文献
水果皮、蔬菜叶等食物废弃物制成酵素	盐碱土	水解性氮减少	有效磷减少	速效钾增加	[8]
红糖、水果、水按 1:3:10 的比例混合制成酵素	碱性土	水解性氮增加	有效磷增加	速效钾减少	[16]
采用红糖、丢弃水果皮、菜叶等鲜厨余、水为原料,按 1:3:10 的比例混合制成酵素	碱性土	全氮增加,水解性氮增加	全磷增加,有效磷增加	全钾减少,速效钾增加	[17] [18] [19]
采用红糖、鲜厨余(水果皮、菜叶)、水为原料,按 1:3:10 的比例混合制成酵素	碱性土	有效氮增加	有效磷增加	---	[20] [21] [22]

环保酵素含有大量的糖分以及小分子的植物组分[11],并具有较高浓度的有机质、氮素、磷素、钾素等养分成分,施用后影响着土壤中主要养分的动态。许多研究表明施用酵素使土壤中的全氮、全磷、速效钾含量增加,而速效氮、速效磷、全钾在不同研究中产生相异的变化(表 2)。这种变化是因为酵素中本有的氮磷能够使土壤中的全氮、全磷含量增加。但酵素的施用促进了土壤微生物对含氮有机化合物的转

化[14]和氮素的有效化[15]。而速效磷的含量受 pH 值、无机盐离子和有机质的含量等影响。因此，速效磷和速效氮的含量变化无规律。从已有的研究来看，环保酵素的施加可以促进速效钾的含量，而全钾的含量各不相同。

4. 环保酵素对污水污泥堆肥过程中酶活性变化的影响

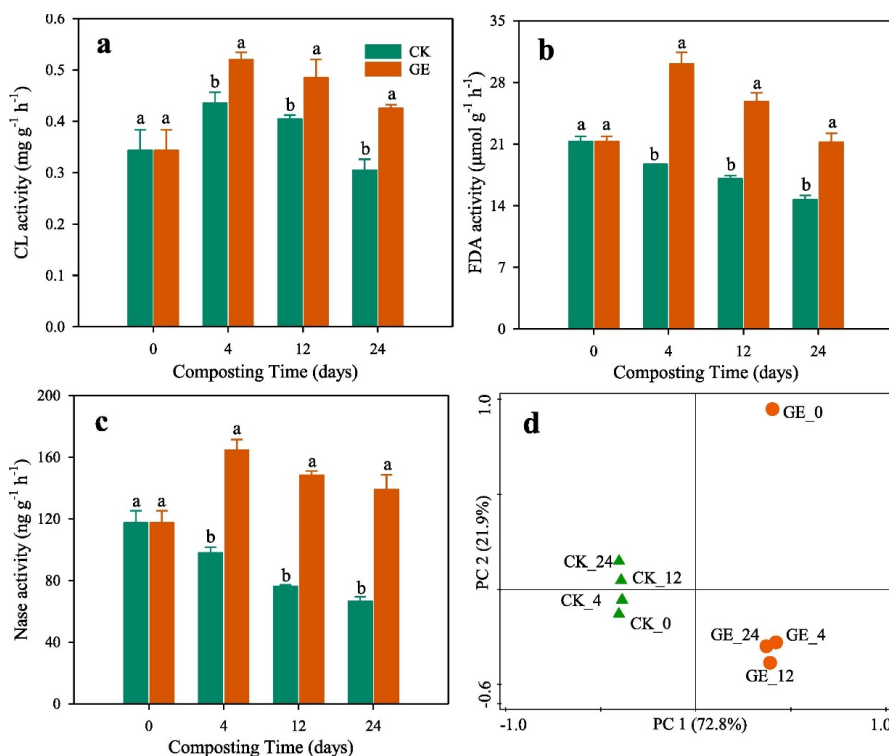


Figure 2. Changes in cellulase (a), fluorescein diacetate hydrolase (b), and nitrogenase (c) activities and principal component analysis of the three enzymes (d) during the composting process [28]

图 2. 堆肥过程中纤维素酶(a)、荧光素二乙酸水解酶(b)和氮酶(c)活性的变化以及三种酶(d)的主成分分析[28]

纤维素酶(CL)与有机物降解和碳代谢密切相关，在堆肥过程中增强可溶性营养物质中起着重要作用[23]。除第 0 天外，GE 处理全过程 CL 活性较对照组增加 20.0~39.3%，表明添加 GE 后 CL 活性增强(图 2(a))。富含水溶性 C 和 N 等矿物质的 GE 可以促进本土微生物的生长，最终导致更多 CL 的分泌。

荧光素二乙酸酯水解酶(FDA)用于评估微生物总活性，并且与土壤养分(例如土壤中的总碳和氮)密切相关[24] [25]。除初始值(第 0 天)外，FDA 在 GE 治疗中的活性也高于对照组。并在第 4 天达到峰值，值为 $30.1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ，并逐渐减少，直到堆肥结束(图 2(b))。这一结果也表明，GE 的添加几乎提高了整个过程的微生物活性。

氮酶活性是估计堆肥质量的重要指标[26]。固氮酶是固氮菌分泌的重要酶，可以转化氮气(N_2)转化为生物可利用铵($\text{NH}_4\text{-N}$)。作为土壤肥料，末端堆肥的氮酶活性是估计生物固氮能力的重要指标[27]。GE 处理中的氮酶活性在堆肥时间的延长下先增加后降低，对照组的氮酶活性逐渐降低(图 2(c))。第 12~24 天的减少可能与整体微生物活动在冷却和成熟阶段较弱的事实有关。堆肥结束时，GE 的氮酶活性相对于 CK 增加了 110%。结果表明，GE 的添加增强了末端堆肥的生物固氮能力，从而提高了堆肥质量。

环保酵素是由鼠李糖脂和槐脂组成，是两种生物表面活性剂组合物两种生物表面活性剂组合物。表面活性剂不仅可以促进微生物细胞外酶从堆肥培养基表面解吸，还可以增强酶的稳定性以提高其活性

[29]。这可以部分解释为什么 GE 处理中的三种酶高于 CK 中的酶。此外, PCA 结果表明, 与对照相比, GE 添加显著改变了三种酶活性(图 2(d))。GE 处理的三种酶在第 0 天和第 4 天, 第 12 天和第 24 天显著分离。

5. 环保酵素对污水污泥堆肥过程中细菌群落多样性的影响

环保酵素不仅具有强大的生物催化和抗氧化特性, 而且还具有抗菌特性, 因此也会影响细菌群落的生长。随着堆肥的进行, 抑制逐渐减弱, 为 GE 添加提供营养, 导致细菌的繁殖和生长[29]。

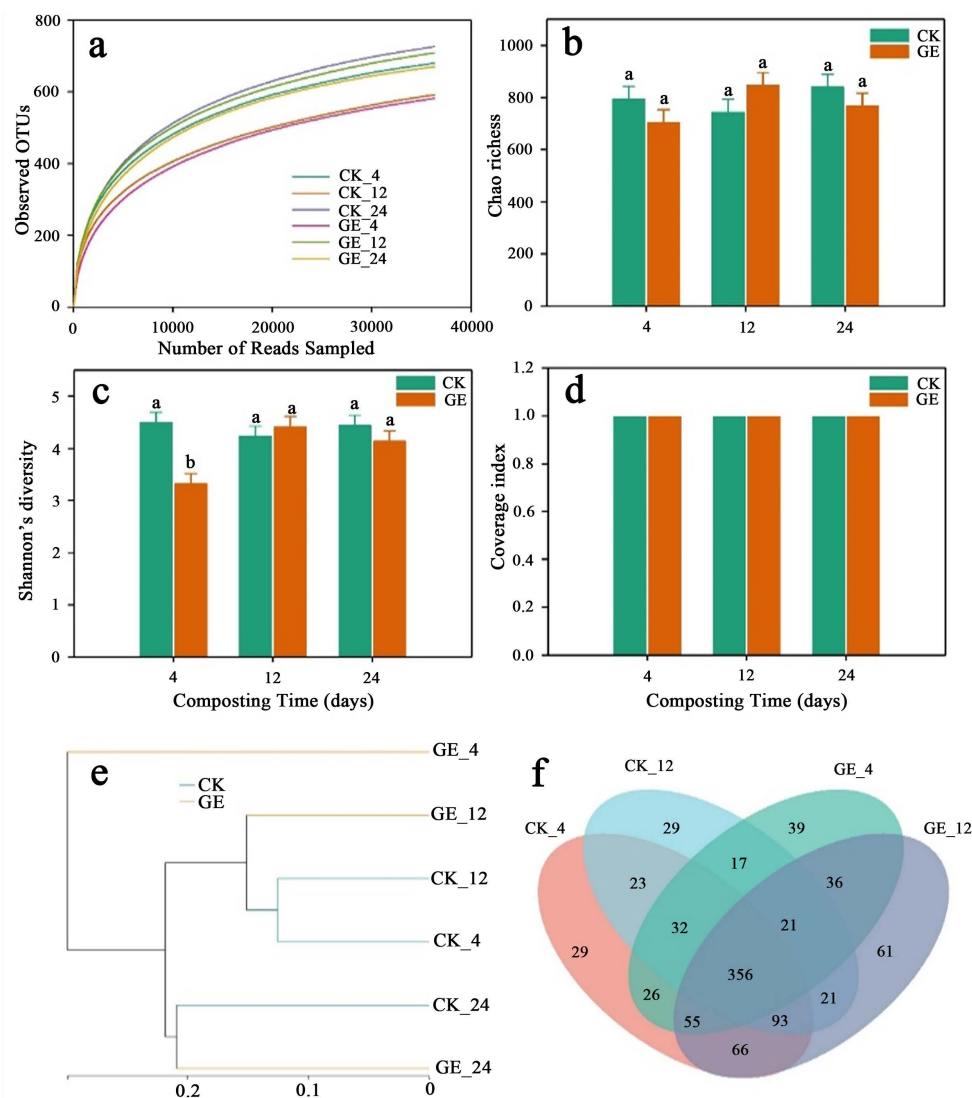


Figure 3. Bacterial community diversity of CK and GE treatments: (a) observed OTU, (b) Chao richness, (c) Shannon's diversity, (d) sequencing coverage, (e) weighted UniFrac cluster analysis, and (f) compare bacterial OTU from day 4 and day 12 by Venn diagram [29]

图 3. CK 和 GE 治疗的细菌群落多样性: (a) 观察到的 OTU, (b) Chao 丰富度, (c) 香农的多样性, (d) 测序覆盖率, (e) 加权 UniFrac 聚类分析, 以及(f) 通过维恩图比较来自第 4 天和第 12 天样品的细菌 OUT [29]

如图 3(a)所示, 6 个样品的曲线趋于渐近, 表明测序深度足以反映细菌群落结构。此外, 所有样品的覆盖率值也表明测序结果是足够的, 因为所有值都大于 0.99 (图 3(d))。GE 处理第 4 天的 Chao 和 Shannon

指数低于对照组(图 3(b)和图 3(c))。结果表明,添加 GE 降低了第 4 天的细菌群落和丰富度。基于加权 UniFrac 聚类的聚类分析表明,堆肥样品分为三组(图 3(e))。第 4 天 CK、第 12 天和 12 天 GE 形成一个集群,第 24 天 CK 和第 24 天 GE 形成一个集群,而第 4 天 GE 形成一个集群。这一结果部分表明,无论处理如何,同一阶段的样品都具有很高的相似性。这一结果表明,GE 添加显著改变了细菌群落相对于对照组的连续性,特别是在嗜热阶段(第 4 天)和冷却阶段(第 12 天)。此外,GE 处理中独特的 OTU 在两个阶段也高于 CK 处理,如图 3(f)所示。

6. 环保酵素对污水污泥堆肥质量的影响

总氮(TN)含量是评估堆肥质量的常用指标。对于 GE 处理,TN 含量首先下降,并在第 4 天达到最小值,然后,由于“富集效应”和 N 固定,它逐渐增加直到堆肥结束[30]。在 GE 堆肥结束时,TN 含量比初始值增加了 3.31%。然而,在整个过程中,对照中的 TN 含量急剧下降,可能是由于较低的 TOC 降解速率和较高的 NH₃ 排放。在整个过程中,对照中的 TN 含量相对于初始值降低了 26.5%。GE 处理 TN 含量较对照增加 39.2%,表明 GE 添加降低了 NH₃ 排放和增加的 NH₄-N 含量,最终增加 TN 含量。

C/N 比用于确定堆肥成熟度,并直接确认最终堆肥产品是否抑制植物生长[31]。如图 3(f)所示,GE 处理的 C/N 随着堆肥时间的延长而逐渐降低,与其他堆肥研究基本一致[32]。然而,CK 处理的 C/N 在整个阶段均呈上升趋势。推荐的最终 C/N 比小于 15 对于成熟堆肥是令人满意的[33]。堆肥结束时 GE 处理的 C/N 比低于 15,但 CK 处理的 C/N 比值不符合这一标准。

7. 小结

在土壤改良方面,环保酵素可以降低土壤盐碱度,提高土壤养分,且环保酵素无公害无污染的特点符合国家环保理念。因此,在未来土壤改良的应用中具有广阔的应用前景。在污水污泥堆肥过程中,环保酵素的施加可以提高纤维素酶、荧光素二乙酸酯水解酶、氨酶的活性,进而提高微生物活性和堆肥质量。此外,环保酵素在污水污泥堆肥过程中可以降低细菌群落丰富度和多样性[33]。

8. 展望

污水污泥堆肥和土壤改良有着密切关系。宋志蕾[34]研究发现,施用污水污泥堆肥可以增加全氮、全磷、全钾、有机质的含量。除此之外,污水污泥堆肥与单施化肥相比,土壤解氮度、速效磷、速效钾的含量也增加。因此施用污水污泥堆肥可以达到增加土壤肥力的目的。

目前,我国对与环保酵素在土壤改良、污水污泥堆肥方面的研究进展还处于探索阶段。未来还需要探究以下方面。第一,速效氮、速效磷、全钾在不同的研究中会产生不同的变化,而这种变化是否与环保酵素的原材料、比例和使用方法有关,目前这方面的研究还不够全面和深入,要加强这方面的研究验证。第二,从已有的国内外研究来看,环保酵素可以提高土壤养分。但这些结果大部分都停留在表面现象上,对造成这种结果的内在机理还挖掘不够,未来的研究需要在这面加强。第三,施用污水污泥堆肥如何通过内部机制来增加土壤肥力。这些可作为未来的研究方向。

参考文献

- [1] Arun, C. and Sivashanmugam, P. (2015) Identification and Optimization of Parameters for the Semi-Continuous Production of Garbage Enzyme from Pre-Consumer Organic Waste by Green RP-HPLC Method. *Waste Management*, **44**, 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.010>
- [2] Jiang, J.S., Wang, Y., Yu, D., et al. (2021) Garbage Enzymes Effectively Regulated the Succession of Enzymatic Activities and the Bacterial Community during Sewage Sludge Composting. *Bioresour Technol*, **327**, Article ID: 124792. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124792>

- [3] Rani, A., Negi, S., Hussain, A. and Kumar, S. (2020) Treatment of Urban Municipal Landfill Leachate Utilizing Garbage Enzyme. *Bioresource Technology*, **297**, Article ID: 122437. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122437>
- [4] Zhou, C., Zhu, L., Ma, Z. and Wang, J. (2017) *Bacillus Amyloliquefaciens* SAY09 Increases Cadmium Resistance in Plants by Activation of Auxin-Mediated Signaling Pathways. *Genes*, **8**, 173. <https://doi.org/10.3390/genes8070173>
- [5] Wei, X.M., Cao, P., Wang, G. and Han, J.P. (2020) Microbial Inoculant and Garbage Enzyme Reduced cadmium (Cd) Uptake in *Salvia miltiorrhiza* (Bge.) under Cd Stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **192**, Article ID: 110311. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110311>
- [6] Arun, C. and Sivashanmugam, P. (2015) Investigation of Biocatalytic Potential of Garbage Enzyme and Its Influence on Stabilization of Industrial Waste Activated Sludge. *Process Safety and Environmental Protection*, **94**, Article ID: 471-478. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.10.008>
- [7] 牛晓丛, 何益, 金晓丹, 等. 酵素渣和秸秆生物炭钝化修复重金属污染土壤[J]. 环境工程, 2018, 36(10): 118-123.
- [8] 刘泽霞. 生物炭和环保酵素联合对盐碱土改良效果的研究[D]: [硕士学位论文]. 包头: 内蒙古科技大学, 2019.
- [9] 韩剑宏, 刘泽霞, 张连科, 等. 环保酵素对盐碱土关键化学性质的影响[J]. 水土保持通报, 2019, 39(3): 126-131.
- [10] 赵玲玲, 张杰, 刘艳, 等. 植物源有机肥配方设计及对梨幼树的营养效应[J]. 中国农业科学, 2011, 44(12): 2504-2514.
- [11] 王斌, 呼天星, 杨延军, 等. 保护地栽培应用酵素菌微肥对土壤理化性状的影响[J]. 山西农业科学, 2015, 43(7): 854-856.
- [12] 柳敏, 宇万太, 姜子绍, 等. 土壤溶解性有机碳(DOC)的影响因子及生态效应[J]. 土壤通报, 2007, 38(4): 758-764.
- [13] 徐新, 刘博然, 杜艳, 等. 竹叶酵素制备及其在土壤改良中的应用[J]. 世界竹藤通讯, 2019, 17(2): 44-47.
- [14] Gao, J.F., Wang, J.H., Yuan, Q., et al. (2011) Utilization of Agricultural Waste Chestnut Shell for the Removal of Reactive Brilliant Red K-2G from Aqueous Solution. *Desalination & Water Treatment*, **36**, 141-151. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.2241>
- [15] Arun, C. and Sivashanmugam, P. (2015) Identification and Optimization of Parameters for the Semi-Continuous Production of Garbage Enzyme from Pre-Consumer Organic Waste by Green RP-HPLC Method. *Waste Management*, **44**, 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.010>
- [16] 陶津, 李云龙, 周根国, 等. 环保酵素对土壤理化性质及辣椒生长的影响[J]. 玉溪师范学院学报, 2017, 33(4): 35-40.
- [17] 李方志, 李丝丝, 王殷, 等. 环保酵素改良土壤中有机质与磷素的探索性研究[J]. 环境科学导刊, 2016, 35(5): 65-69.
- [18] 李方志, 王殷, 李丝丝, 等. 环保酵素对土壤钾素的改良效果[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(17): 168-169.
- [19] 李方志, 杨琴, 杨汝兰, 等. 环保酵素对土壤中有效氮、全氮及有机质改良效果的研究[J]. 玉溪师范学院学报, 2016, 32(4): 42-47.
- [20] 普燕爽, 陶津, 林森, 等. 环保酵素对朝天椒生长势及土壤有效磷、水解氮的影响研究[J]. 环境科学导刊, 2019, 38(3): 5-11.
- [21] 任卓然, 古维娜, 王茹颖, 杨灵婧, 刘克思. 环保酵素改良土壤系统的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2021(5): 111-114. <https://doi.org/10.16498/j.cnki.hnnykx.2021.005.027>
- [22] Guo, X.L., Gu, J., Gao, H., et al. (2012) Effects of Cu on Metabolisms and Enzyme Activities of Microbial Communities in the Process of Composting. *Bioresource Technology*, **108**, 140-148. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.087>
- [23] Green, V.S., Stott, D.E. and Diack, M. (2006) Assay for Fluorescein Diacetate Hydrolytic Activity: Optimization for Soil Samples. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**, 693-701. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.06.020>
- [24] Li, H., Yao, J., Gu, J.H., et al. (2018) Microcalorimetry and Enzyme Activity to Determine the Effect of Nickel and Sodium Butyl Xanthate on Soil Microbial Community. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **163**, 577-584. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.108>
- [25] Sun, J.J., Qian, X., Gu, J., et al. (2016) Effects of Oxytetracycline on the Abundance and Community Structure of Nitrogen-Fixing Bacteria during Cattle Manure Composting. *Bioresource Technology*, **216**, 801-807. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.060>
- [26] Liu, D.Y., Zhang, R.F., Wu, H.S., et al. (2011) Changes in Biochemical and Microbiological Parameters during the Period of Rapid Composting of Dairy Manure with Rice Chaff. *Bioresource Technology*, **102**, 9040-9049. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.052>
- [27] Shao, B.B., Liu, Z.F., Zhong, H., et al. (2017) Effects of Rhamnolipids on Microorganism Characteristics and Applica-

- tions in Composting: A Review. *Microbiological Research*, **200**, 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.005>
- [28] Rahman, S., Haque, I., Goswami, R.C.D., *et al.* (2020) Choudhury Characterization and FPLC Analysis of Garbage Enzyme: Biocatalytic and Antimicrobial Activity. *Waste and Biomass Valorization*, **12**, 293-302. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-00956-z>
- [29] Zhao, Y., Li, W.G., Chen, L., *et al.* (2020) Effect of Enriched Thermotolerant Nitrifying Bacteria Inoculation on Reducing Nitrogen Loss during Sewage Sludge Composting. *Bioresource Technology*, **311**, Article ID: 123461. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123461>
- [30] Bernal, M.P., Albuquerque, J.A. and Moral, R. (2009) Composting of Animal Manures and Chemical Criteria for Compost Maturity Assessment. A Review. *Bioresource Technology*, **100**, 5444-5453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>
- [31] Wang, Q., Li, R.H., Cai, H.Z., *et al.* (2016) Improving Pig Manure Composting Efficiency Employing Ca-Bentonite. *Ecological Engineering*, **87**, 157-161. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.11.032>
- [32] Bellenger, J.P., Xu, Y., Zhang, X., *et al.* (2014) Possible Contribution of Alternative Nitrogenases to Nitrogen Fixation by Asymbiotic N₂-Fixing Bacteria in Soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **69**, 413-420. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.11.015>
- [33] Ros, M., Rodríguez, I., García, C., *et al.* (2010) Microbial Communities Involved in the Bioremediation of an Aged Recalcitrant Hydrocarbon Polluted Soil by Using Organic Amendments. *Bioresource Technology*, **101**, 6916-6923. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.126>
- [34] 宋志蕾. 施用污泥堆肥对土壤养分、作物产量的影响及其安全性评价[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.