

# 堆肥中纤维素和木质素的 生物降解研究现状

席北斗<sup>1</sup> 刘鸿亮<sup>2</sup> 白庆中<sup>1</sup> 黄国和<sup>3</sup> 曾光明<sup>3</sup> 李英军<sup>1</sup>

(1. 清华大学环境科学与工程系, 北京 100084; 2. 中国环境科学研究院, 北京 100012;

3. 湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082)

**摘要** 堆肥是垃圾处理的主要方法之一, 厨房垃圾、园林垃圾、农村秸秆和日常生活中的废弃纤维产品均可作为堆肥原料, 这些原料中含有一定量的纤维素和木质素, 而纤维素和木质素在堆肥过程中较难生物降解。因此, 国内外学者致力于研究能加速纤维素和木质素降解的高效微生物。研究发现, 对纤维素和木质素有降解能力的微生物主要是高温放线菌和高温真菌, 其中有独特降解机制的白腐菌在木质素降解中起着重要作用。

**关键词** 堆肥 纤维素 木质素 生物降解 高温放线菌 高温真菌 白腐菌

## Study on current status of lignin and cellulose biodegradation in composting process

Xi Beidou<sup>1</sup> Liu Hongliang<sup>2</sup> Bai Qingzhong<sup>1</sup> Huang Guohe<sup>3</sup> Zeng Guangming<sup>3</sup> Li Yingjun<sup>1</sup>

(1. Department of Environmental Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084;

2. Chinese Research Academy of Environmental Science, Beijing 100012;

3. Department of Environmental Engineering, Hunan University, Changsha 410082)

**Abstract** Composting is nowadays a general treatment method for solid wastes. Compostable wastes include household, garden waste, straw etc. These materials contain lignin and cellulose which are difficult for biodegradation. Thus, efficient degradation lignin and cellulose in composting process is needed. Complex organic compounds like lignin and cellulose are mainly degraded by thermophilic microfungi and actinomycetes. Due to its special enzyme system, white-rot fungi play a significant role in lignin degradation.

**Key words** composting; cellulose; lignin; biodegradation; thermophilic actinomycetes; thermophilic microfungi; white-rot fungi

### 1 前言

随着人口的不断膨胀, 农业废弃物, 包括稻草、谷物秸秆、水稻壳、甘蔗渣、动物粪便, 日常生活的废弃纤维产品, 如废纸及其他废纸产品等, 越来越多, 这些原料用于生产肥料或土壤改良剂, 越来越受到人们的关注。好氧堆肥处理是依靠垃圾中各类微生物(细菌、真菌和放线菌)在分解有机物中交替出现, 使堆温上升、下降, 从分解水溶性有机物开始, 逐渐分解难分解有机物(如纤维素和木质素), 并转化为腐殖质的生物化学过程。但传统堆肥法存在发酵时间长、肥效低(腐殖质转化不完全)等问题, 因此, 加速腐殖化进程可提高堆肥效率和堆肥质量。由于废

弃物中含有大量木质纤维素, 加强木质纤维转化为腐殖质便成为堆肥充分腐熟的关键<sup>[1]</sup>。近几十年来, 国内外学者一直在寻找降解木质纤维素的最佳途径, 研究主要包括以下几个方面: (1) 将秸秆等含木质纤维素的物质进行理化处理, 如辐射、蒸气爆破、膨化、碾磨等<sup>[1-4]</sup>; (2) 酶解、生物发酵和生物堆肥<sup>[5,6]</sup>; (3) 将上述两个方面综合考虑<sup>[1,2]</sup>。理化处理约可以去掉 50% 的木质素, 并使纤维成为非结晶态<sup>[7]</sup>, 但成本较高, 易产生二次污染。利用微生物降解木质纤维素国内研究报道不多, 特别是在木质纤维作为堆肥原料, 其生物可降解性方面研究也较少<sup>[8,9]</sup>。

本文研究了堆肥中利用微生物分解木质素和纤

纤维素的降解机理及微生物生存环境,重点讨论了白腐菌降解木质素机理及其重要作用。

## 2 木质素和纤维素

### 2.1 木质素和纤维素的碳循环

木质纤维作为自然界中的主要有机物构成一年生植物量的 1/3、多年生植物量的 1/2,在碳循环中起着重要的作用,如图 1 所示。堆肥中木质纤维的主要结构形式是木质纤维素,约占 40%、半纤维素约占 20%—30%,木质素约占 20%—30%。尽管许多微生物能分解单独存在的纤维素,但由于在细胞壁中纤维素受到木质素的保护,而木质素有完整坚硬的外壳,生物不易被微生物降解<sup>[9]</sup>,因此,纤维素的分解受到限制<sup>[10]</sup>。

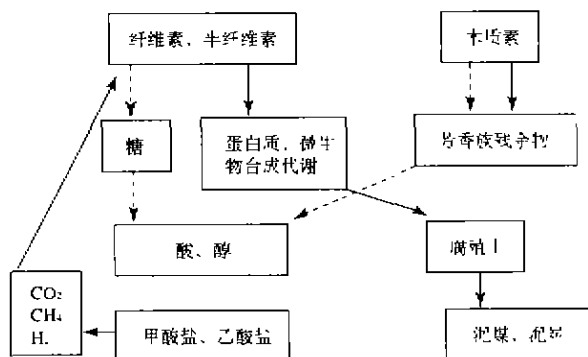


图 1 纤维素和木质素碳循环

### 2.2 木质素和纤维素的结构及其生物可降解性

堆肥是通过微生物(细菌、放线菌和真菌)的协同作用,将复杂的有机物降解为细胞可以吸收利用的小分子物质及腐殖质作为最终产品,并释放  $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$  和能量(热)。微生物分解有机物的能力取决于它们所产生分解有机物酶的能力。底物越复杂,所需要的酶系统也越广泛和具有综合性。

#### 2.2.1 纤维素

纤维素是植物残体中最丰富的部分,它是由  $\beta$  (1—4)键的葡萄糖单元所组成的长链状大分子。通常一条链中含有 10 000 多个葡萄糖分子(图 2),其葡萄糖亚基排列紧密有序,形成类似晶体的不透水

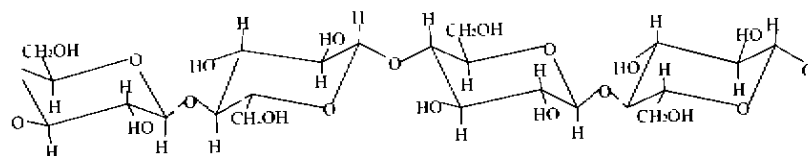


图 2 纤维素的结构示意图

的网状结构,以及分子间结合不甚紧密、排列不整齐的无定形区域。纤维素易与半纤维素、木质素等难分解的物质相复合,因此,纤维素不能溶于水,难以水解,其分解需要至少 3 组水解酶的协同作用:纤维素内切酶(*endo-cellulase*)、端解酶(*exo-cellulase*)和纤维素二糖酶(*cellobiase*)。纤维素分解首先是纤维素的晶体消失,继而生成纤维二糖、戊二糖,最后纤维二糖酶将其分解成葡萄糖,葡萄糖便于吸收。尽管多种微生物如:假单胞菌(*Pseudomonas*)、色杆菌(*Chromobacterium*)、芽孢杆菌(*Bacillus*),以及多种真菌诸如木霉(*Trichoderma*)、毛壳素菌(*Chaetomium*)、青霉(*Penicillium*)等可通过纤维素酶的作用分解纤维素。但利用纤维素之前,必须把它从木质素和半纤维素包裹中释放出来,因此,纤维素的分解和木质素的分解是紧密相关的。

#### 2.2.2 木质素

木质素是由苯丙烷结构单元组成的复杂的、近似球状的芳香族高聚体,由对羟基肉桂醇(*p*-hydroxycinnamyl alcohols)脱氢聚合而成,由于分子大(相对分子质量  $>1.0 \cdot 10^5$ )、溶解性差,没有任何规则的重复单元或易被水解的键(图 3),所以木质素分子结构复杂而不规则,由于含有各种生物学稳定的复杂键型,因而微生物及其分解的胞外酶不易与之结合,与其他成分如纤维素、半纤维素等降解物不同,木质素不含有易水解而重复的单元,并且对酶的水解作用呈抗性,是目前公认的微生物难降解的芳香族化合物之一<sup>[11]</sup>。

木质素的分解是一个氧化过程,首先被细胞外酶分解成小分子物质,然后这些小分子物质被植物细胞所吸收,部分转化成石炭酸和苯醌,这些物质和氧化酶一起排放到环境中。降解后的产物多含有芳香族和脂肪族羟基基团。成熟堆肥中腐殖质主要是由木质素、多聚糖和含氮化合物所形成的腐殖酸,芳香结构较多、羟基较多、碳水化合物较少。

## 3 微生物对木质纤维的降解

### 3.1 细菌对木质素和纤维素的分解作用

细菌通常是单细胞的,大小从 0.5—3.0 $\mu\text{m}$ ,由

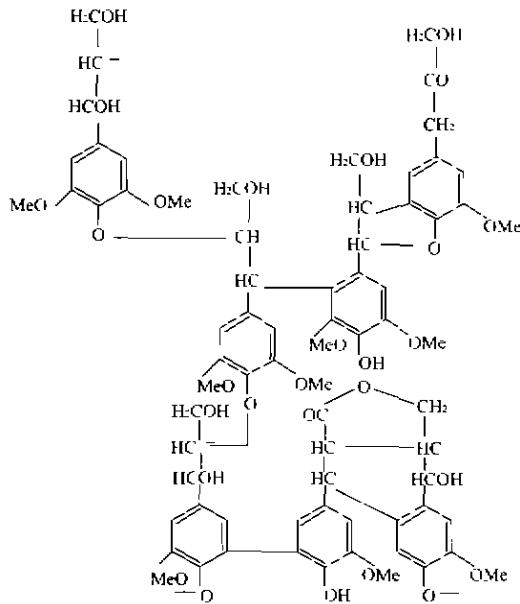


图3 木质素结构示意图

于体积小,细菌具有较大的比表面积,能使物质快速进入细胞。因此,细菌往往比真菌多得多,一些芽孢杆菌由于能产生较厚的孢子,可以抵御高温、辐射及化学灭菌作用<sup>[13]</sup>。大量研究证明,在堆肥高温期,主要微生物是链霉菌和微单胞杆菌,其中87%的高温菌属于杆菌属<sup>[12]</sup>,一些细菌如:假单胞菌属、杆菌属中的芽孢杆菌、枯草杆菌、地衣球菌。另外,深黄纤维弧菌、普通纤维弧菌、纤维杆菌、荧光假单胞杆菌、瘤胃球菌等均具有纤维素分解能力。

堆肥过程中,真菌有激发作用,而放线菌则能在较长时间维持这种分解活性。特别在堆肥过程的后期,由于易利用和较易利用的有机物逐渐消耗,仅剩下木质素等极难分解的物质,微生物之间的竞争也日趋激烈,能在一定程度上分解木质素,并产生抗生素的放线菌逐渐占优势。放线菌通常由许多细胞菌丝缠绕在一起,像真菌一样,它们可以在高温阶段、降温阶段和熟化阶段出现,放线菌数量相对较多,以致于在堆肥表面肉眼可见。放线菌很少利用纤维素,但它们能容易地利用半纤维素,并能在一定程度上改变木质素的分子结构,继而分解溶解的木质素<sup>[14,15]</sup>。

高温放线菌可以从自然界中许多地方分离出来<sup>[16]</sup>,如:沙子、成熟堆肥、马粪和果园土中。主要包括:诺卡氏菌属(*Nocardia*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、高温放线菌属(*Thermoactinomyces*)、小单胞菌属<sup>[26]</sup>。因此,尽管由于放线菌繁殖慢其降解纤

维素和木质素的能力不及真菌,但因为在不利的条件下,放线菌能形成有芽孢细菌<sup>[16]</sup>,与真菌相比较耐高温和各种酸碱度,所以在高温阶段放线菌对分解木质素和纤维素起着重要的作用<sup>[14,15]</sup>。

大多数木质素降解放线菌是好氧菌,但也有一部分厌氧菌<sup>[17]</sup>,特别当堆肥温度升至55℃以上时,木质素厌氧分解速度提高,这与作者进行的堆肥实验结果一致<sup>[16]</sup>。

### 3.2 真菌

#### 3.2.1 堆肥中真菌

在堆肥过程中,真菌对堆肥物料的分解和稳定起着重要作用。真菌一般可分为嗜温真菌和高温真菌,大多数的真菌属于嗜温真菌,在5—37℃下生长良好,最佳温度范围是25—30℃<sup>[19]</sup>。然而,堆肥需要一定的温度杀灭病原微生物,温度提高意味着仅有部分高温真菌起着重要的降解作用。在自然环境中,高温真菌生长在庭院堆肥、鸟粪、木炭、植物、冷却管及排水中。在许多农产品中、木片堆中和泥炭土中也有高温真菌的存在<sup>[19,20]</sup>。

高温真菌对纤维素、半纤维素和木质素有很强的分解作用,它们不仅能分泌胞外酶,而且其菌丝具有机械穿插作用,共同降解堆肥中难降解有机物(如纤维素和木质素),促进生物化学作用,它们在堆肥中的作用如表1所示。

#### 3.2.2 真菌的生长条件

温度、碳、氮、pH、含水率是真菌生长的重要影响因素,尽管真菌中的木腐菌需要在比较低的氮水平上生长,并降解木质素。但大多数的真菌生长仍需要适宜的氮素<sup>[19,21]</sup>。因为,氮素含量太低,不利于纤维素的分解<sup>[19]</sup>。除了担子菌属中的鬼伞在适宜于微碱条件下生长外,大多数真菌适于在微酸性条件下生长,但一般可以接受较宽的pH范围。与细菌相比,真菌抗干燥能力强,而当物料含水量大,通风不良时不利于真菌的生长和繁殖;另外,过于频繁机械搅拌会破坏真菌菌丝,从而不利于真菌的活动。

按照Cooney和Emerson研究结果<sup>[22]</sup>,大多数的高温真菌最适生长温度范围是40—50℃,最高生长温度随菌种不同而不同,一般是55℃,部分菌种在60℃仍能生长一段时间<sup>[23]</sup>。

真菌中的木腐菌对木质素的生物降解起着至关重要的作用,木腐菌主要分为白腐菌、褐腐菌和软腐菌,其对木质素的分解能力见表1。褐腐菌主要分

表1 对堆肥中纤维素和木质素有分解能力的真菌

菌种名称	分解物质	菌种名称	分解物质
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	纤维素	绿色木霉 <i>Trichoderma viride</i>	木质素,纤维素
血红枪菌 <i>Trametes sanguinea</i>	纤维素	木质素木霉 <i>T. lignorum</i>	木质素,纤维素
卧孔菌 <i>Poria</i> sp.	纤维素	康氏木霉 <i>T. koningi</i>	纤维素
伊利亚青霉 <i>Penicillium trants</i>	木质素、纤维素	嗜热毛壳 <i>Chaetomium thermophile</i>	木质素、纤维素
绳状青霉 <i>P. funiculosus</i>	木质素、纤维素	腐皮镰孢菌 <i>Fusarium solani</i>	纤维素
多变青霉 <i>P. variable</i>	木质素、纤维素	白腐菌 White-rot	木质素,纤维素
变色多孔菌 <i>Polyporus versicolor</i>	纤维素	褐腐菌 Brown-rot	纤维素,半纤维素
乳白耙齿菌 <i>Irpez lacteus</i>	纤维素	软腐菌 Soft-rot	木质素,纤维素

解纤维素和半纤维素(都是糖的聚合物),对木质素的分解有限<sup>[24]</sup>(苯丙烯醇的聚合物),褐腐菌降解后的木质是棕色的,仍保持大量木质素改良残留物和少部分碳水化合物,能在森林里存活很长时间<sup>[25]</sup>。软腐菌在中温环境下对木质素有降解能力<sup>[25]</sup>,它能降解硬木或软木<sup>[26]</sup>,包括土壤中的植物残渣,但其降解速度非常慢<sup>[21]</sup>。在自然界中木质素的降解主要靠白腐菌,大多数白腐菌既可降解硬木又可降解软木<sup>[27]</sup>,其对木质素的降解速度和效率与其他菌种相比,具有明显的优越性。因此,对白腐菌的研究最为广泛,下面将对白腐菌做详细介绍。

### 3.2.3 白腐菌降解木质素机理

白腐菌对木质素较强的分解能力是由其独特的降解机制所决定的,目前认为,白腐菌降解木质素的过程可分为细胞内和细胞外两过程<sup>[28]</sup>。

在细胞内过程,由于白腐菌降解木质素等有机物的活动需要一系列酶的支持,而这些酶不是外界提供的,是白腐菌自身生成的。在主要营养物质(碳、氮、硫)限制条件下,白腐菌启动形成整个降解系统。首先是产生  $H_2O_2$  的氧化酶:细胞内葡萄糖氧化酶,细胞外乙二醛氧化酶。它们在分子氧的参与下氧化相应底物激活过氧化物酶,从而启动酶催化循环<sup>[29]</sup>。

同时,合成对木质素降解起作用的是细胞外酶,包括:过氧化物酶(LiPs)、锰过氧化物酶(MnP)、漆酶(LaC)3种<sup>[28]</sup>,在白腐菌降解木质素过程中,木质素降解酶作为高效催化剂参与反应,借助自身形成的  $H_2O_2$ ,靠酶触启动一系列的自由基链反应,先形成高活性的酶中间体,将木质素等有机物(RH)氧化成许多不同的自由基( $R\cdot$ ),其中包括氧化能力很强的羟基自由基( $\cdot OH$ ),实现对木质素的生物降解<sup>[30]</sup>。

### 3.2.4 白腐菌的优点<sup>[31]</sup>

(1)低成本、高效率,白腐菌生长对营养要求不高,可以利用废弃物中的木质纤维等廉价的营养源,将其转化为腐殖质。

(2)白腐菌产生氧化能力极强的羟基自由基( $\cdot OH$ ),它们对其他微生物具有很大杀伤力,所以白腐菌可以抑制其他微生物,在竞争中保持一定优势。

(3)降解对象不须进入细胞内代谢,因而白腐菌不易受到有毒有害物质的伤害。另外白腐菌能产生对其他微生物产生抗性的自由基,因此,具有旺盛的生命力。

(4)降解底物的非专一性机制,使白腐菌能降解多种污染物,这使白腐菌有更大的实用性。

## 4 结论

(1)木质纤维素的分解是一个复杂的过程,是各种酶之间相互协同作用的结果,纤维素和木质素的生物降解是紧密相连,密不可分的。

(2)纤维素的分解需要纤维素内切酶、端解酶和纤维素二糖酶的协同作用。首先,纤维素的晶体消失,继而纤维素发生分解,生成纤维二糖、戊二糖,最后纤维二糖酶将其分解成葡萄糖,葡萄糖便于吸收。木质素的分解是细胞内酶和细胞外酶共同作用下的氧化过程,首先被细胞外酶分解成小分子物质,然后这些小分子物质被植物细胞所吸收,部分转化成石炭酸和苯醌,这些物质和氧化酶一起排放到环境,降解后的产物多含有芳香族和脂肪族羟基基团。

(3)堆肥中木质素的降解微生物有放线菌和真菌,在合适的生长条件下它们交互作用,提高木质素的降解率。

(4)白腐菌集许多优点于一身,作为高效、低耗、广谱、适用性强的木质素降解微生物,最具研究价值。

## 参 考 文 献

- [1] El Mastry H G Utilization of egyptian rice straw in production of cellulases and microbial protein: effect of various pretreatments on yields of protein and enzyme activity. *J. Sci. Food Agric.*, 1983, 34:725—732
- [2] Han Y W, Yu P L, Smith S K. Alkali treatment and fermentation of straw for animal feed. *Biotech. and Bioeng.*, 1978, 20:1015—1026
- [3] Tassinari T, Macy C, Spano L. Energy requirements and process design consideration in compression milling pretreat of cellulosic wastes for enzymatic hydrolysis. *Biotech and Bioeng.*, 1980, 22:1689—1705
- [4] Gould J M. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues. *Biotech. and Bioeng.*, 1985, 26: 46—72
- [5] Saddler J N, Broanell H H, Clermont L P, et al Enzymatic hydrolysis of cellulose and various pretreated wood fractions. *Biotech. and Bioeng.*, 1982, 24:1389—1402
- [6] 张群发,舒远才,郝军 康氏木霉,纤维素酶转化蔗糖纤维素成糖及生产 SCP. *微生物学通报*, 1991, 18(4): 214—220
- [7] 周敬红,王双飞,韦小英等. 蔗渣白腐菌处理的电镜观察. *中国造纸学报*, 1999, 14:15—19
- [8] Biermann, C. J. *Essentials of Pulping and Papermaking*. USA: Academic Press, 1993
- [9] 李国学,张福锁. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产. 北京:化学工业出版社, 2000
- [10] 礼嘉,顾红雅,胡平等. *现代生物技术导论*. 北京:高等教育出版社, 1998
- [11] Sjostrom, E. *Wood Chemistry, Fundamentals and Applications*, 2<sup>nd</sup> ed. New York/London: Academic Press, 1993
- [12] Peter F. Strom. Identification of Thermophilic Bacteria in Solid-Waste Composting. *Applied and Environmental Microbiology*. Oct. 1985, 906—913
- [13] Beffa, T., Blanc, M., Lyon, P. F., Vogt, G., Marchibani, M., Fiscber, J. L., Araganu, M. Isolation of thermus strains from hot composts 60—80°C. *Appl Environ. Microbiol.*, 1996, 62:1723—1727
- [14] Crawford, J. H., Composting of agricultural wastes: a review *Process Biochem.*, 1983, 18: 14—18
- [15] Godden, B., Ball, A. S., Helvenstein, P., McCarthy, A. J., Penninckx, M. J. Towards elucidation of the lignin degradation pathway in actinomycetes. *J., Gen. Microbiol.*, 1992, 138:2441—2448
- [16] Cross, T. Thermophilic actinomycetes. *J. Appl. Bact.*, 1968, 31:36—53
- [17] Atkinson, C. F., Jones, D. D., Gauthier, J. J. Putative anaerobic activity in aerated composts. *J. Ind. Microbiol.*, 1996b, 16:182—188
- [18] 席北斗,刘鸿亮,孟伟等. 高效复合微生物菌群在垃圾堆肥中的应用. *环境科学*, 2001, 22(5):122—125
- [19] Dix, N. J., Webster, J. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *Fungal Ecology*, 1995, 13:125—135
- [20] Sharma, H. S. S. Economic importance of thermophilous fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1989, 31:1—10
- [21] Eriksson, K.-E. L., Blanchette, R. A., Ander, P. *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Component*. Springer, Berlin, Germany, 1990
- [22] Cooney, D. G., Emerson, R. Thermophilic microorganisms and life at high temperatures. *Thermophilic Fungi, USA*, 1964, 4:108—116
- [23] Ofosu-Asiedu, A., Smith, R. S. Some factors affecting wood degradation by thermotolerant fungi. *Mycologia.*, 1973, 65:87—98
- [24] Kirk, T. K., Farrell, R. L. Enzymatic combustion: the microbial degradation of lignin. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1987, 41: 465—505
- [25] Blanchette, R. A. Degradation of lignocellulose complex in wood. *Can. J. Bot.*, 1995, 73:999—1010
- [26] Kuhad R. C., Singh, A., Eriksson, K. E. L. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. In: Eriksson, K. E. L. (ED), *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 1997, 57: 46—125
- [27] Hatakka, A., Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1994, 13: 125—135
- [28] 何德文,陆雍森. 白腐真菌生化降解酸性染料废水的效果研究. *污染防治技术*, 1998, 11(4):197—198
- [29] Srinivasan, C., D'Souza, T. M., Boominathan, K., Reddy, C. A. Demonstration of laccase in the white rot basidiomycete *phanerochaete chrysosporium* BKM-F1767. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, 61: 4274—4277
- [30] Argyropoulos, D. S., Menachem, S. B. Lignin. In: Eriksson, K.-E. L. (ED), *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, 1997, 57: 127—158
- [31] 郭腾,陈敏,陈中豪. 高效降解木质素优势混合菌的诱变选育研究. *广东工业大学学报*, 1997, 14(4):30—35

(责任编辑:刘颖)