

重金属锌对猪粪堆肥过程中氧化还原类酶活性的影响

张卫娟¹, 谷洁^{1*}, 高华¹, 张洪宾¹, 刘强², 李海龙¹

(1.西北农林科技大学资环学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以猪粪和秸秆为主要试验材料,添加不同浓度重金属 Zn,采取发酵罐处理方法,在好氧高温条件下研究了重金属 Zn 对猪粪堆肥过程中多酚氧化酶、脱氢酶活性的变化,以及堆腐过程堆体温度、堆料 pH 值、胡敏酸 E_4/E_6 值的变化。结果表明:(1)低量重金属 Zn 处理(L)较不添加重金属 Zn(CK)和添加高量重金属 Zn(H)堆料升温快、温度高、高温持续时间长。(2)重金属 Zn 的加入对堆料的 pH 值影响不大,不是影响堆肥进程的直接原因。(3)H 处理在整个堆肥过程中 E_4/E_6 值均高于 L 和 CK,表明高浓度 Zn 处理抑制腐殖质的缩合和芳构化。(4)L 处理的多酚氧化酶活性大多数时间高于 H 处理的活性,说明低量重金属 Zn 更好地促进了木质素的降解及其产物的转化。(5)从整个堆肥过程来看,3 个不同处理的脱氢酶活性表现出一定的不稳定性,可能是重金属对脱氢酶活性有抑制作用的同时发生“抗性酶活性”现象。

关键词:猪粪;重金属锌;理化性质;氧化还原酶活性

中图分类号:S141.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)02-0383-06

Effects of Heavy Metals Zn on Oxidoreductase Activity During Co-composting of Pig Manure and Straw

ZHANG Wei-juan¹, GU Jie^{1*}, GAO Hua¹, ZHANG Hong-bin¹, LIU Qiang², LI Hai-long¹

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

Abstract: The changes of polyphenoloxidase and dehydrogenase activities, and the changes of composting temperatures, pH and humic acid E_4/E_6 of composting materials during aerobic fermentation in thermophilic aerobic state were studied in this paper. Pig manure and straw were used as the main experimental materials. There were three treatments in this experiment, one was with adding low content heavy metals Zn (L), one was with adding high content heavy metals Zn(H), another one was without adding exogenous heavy metals Zn(CK). The results showed that: (1)The temperature of the treatment L increased more quickly compared with CK and H, with higher temperature and longer high temperature duration. (2)Heavy metals Zn had little effect on the pH of stacking, it was not the direct cause of composting process. (3)The E_4/E_6 value of the treatment H was higher than treatment L and CK, which indicated that adding high content heavy metals Zn inhibited condensation and aromatization of humus. (4)The polyphenoloxidase activity of treatment L were higher than the H, which indicated that low content of heavy metals Zn facilitated the decomposition of lignin and conversion of products. (5)Dehydrogenase activities of the three different treatments exhibited certain instability in the whole composting process, maybe heavy metals Zn had inhibitory effect on dehydrogenase activity meanwhile occurred resistive enzyme activity phenomenon.

Keywords: pig manure; heavy metals Zn; physicochemical properties; oxidoreductase activities

近年来,随着我国人民生活水平的提高,畜牧业得到了迅速的发展,畜牧场规模化和集约化程度不断

提高,未经处理的畜禽粪便大量排放对养殖区域环境造成了严重的污染^[1],成为制约集约化养殖业发展的主要问题之一。为了促进畜禽生长和提高养殖效率,一些微量元素如 Cu、Zn 等被广泛添加到畜禽饲料中^[2],致使大量未被畜禽吸收的重金属(95%以上)积累在畜禽粪便中^[3-4]。采用高温好氧堆肥法处理畜禽粪便是实现其无害化与资源化的主要途径。然而,在畜禽粪便的堆肥过程中,重金属可能对堆料中的微生

收稿日期:2010-07-22

基金项目:国家自然科学基金(40771109,40871119);科技部星火计划(2008GA850013,2008GA850007);农业部 948 项目(2010-Z20)

作者简介:张卫娟(1984—),女,陕西商洛人,硕士研究生,研究方向为农业废弃物的资源化利用。E-mail:weijuan1106@163.com

* 通讯作者:谷洁 E-mail:gujoyer@sina.com.cn

物产生一定的毒害作用,重金属离子往往富集在微生物表面,能够破坏细胞膜的功能而进入细胞内部,使某些细胞成分逸出,同时与酶蛋白结合,使酶的活性受到抑制^[5]。

畜禽粪便堆腐的研究已经有很长的历史,但主要集中在堆腐条件的控制^[6-7]以及堆腐过程中重金属形态的变化方面^[8],而对于堆腐过程中重金属对酶活性的变化涉及不多。由于堆腐过程是在微生物及其分泌的酶作用下进行的,研究酶活性的变化可以进一步推断在重金属影响下畜禽粪便腐解进程和机理。氧化还原酶是参与堆腐过程生物化学反应的一类重要酶,研究氧化还原酶活性的变化,可以推断堆腐过程腐殖质化进程和强度^[9]。因此,本研究以农业废弃物为原料,研究了在重金属 Zn 影响下堆腐过程中多酚氧化酶、脱氢酶活性,温度、 E_4/E_6 值等指标的变化,为揭示在重金属 Zn 的影响下堆腐过程腐殖化的生物行为提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以猪粪、小麦秸秆和菌棒为堆肥材料。猪粪来源于农民以饲草和麦麸喂养的猪,不含饲料添加剂,菌棒为栽培香菇后的废料。原材料的理化性质见表 1。

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	有机碳/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全磷/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全钾/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	C/N	重金属 Zn/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
农家猪粪	409.7	34.5	9.7	10.58	11.875	244.62
小麦秸秆	394.32	5.74	0.47	27.39	68.70	35.65
菌棒	317.202	13.3	5.72	32.8	23.85	306.58

1.2 试验方法

本试验于 2010 年 3 月 9 日至 3 月 30 日在西北农林科技大学资源环境学院室外大棚进行。

将小麦秸秆切成 3~5 cm 长,与农家猪粪、菌棒混合,调节混合物 C/N 比为(25~35):1^[9],加水使堆料水分含量在 50%~60%^[10],接种腐解复合微生物菌剂以加快发酵速度^[11]。试验设不添加外源重金属 Zn(CK)、添加低浓度外源重金属 Zn(L)和添加高浓度外源重金属 Zn(H)3 组处理(表 2),将以上处理的混合有机物质分别装入堆肥装置中(图 1),在不同部位插入热敏温度计(精度 0.1 ℃),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 ℃冰箱用于

表 2 重金属 Zn 影响下的堆肥试验设计
Table 2 Experimental design of compost effected by Zn heavy metals

代码	处理	添加 Zn 含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	实际 Zn 含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
CK	不添加外源重金属	0	244.62
L	添加低浓度外源重金属 Zn	400	644.62
H	添加高浓度外源重金属 Zn	1 000	1 244.62

注:外源重金属 Zn 以 $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的形式加入。

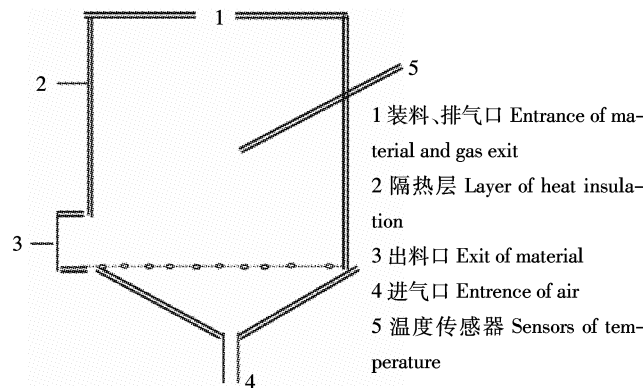


图 1 堆肥发酵装置图

Figure 1 Diagram of composting device1

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

堆腐装置主要由 3 个高 1.0 m,内径 0.6 m,外径 0.7 m 的圆柱形发酵罐(反应器)组成。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;底部为带有小孔的不锈钢圆板,堆腐材料混匀置于其上,空气从罐底部进入,通过圆板的透气小孔进入罐内,穿过堆腐物料后从上部排出(图 1)。

1.4 测定项目与方法

酶活性的测定参照关松荫^[12]的方法。多酚氧化酶活性的测定采用乙醚萃取法,脱氢酶的测定采用甲苯提取法。

1.5 数据处理

利用 Microsoft Excel 2003 进行数据初步处理,采用 SAS 6.12 软件包进行统计方差分析。

2 结果与讨论

2.1 重金属 Zn 在堆肥过程中对堆料理化性质的影响

2.1.1 堆肥过程中温度变化

温度是影响微生物活动和堆肥工艺过程的重要因素,是堆肥状态的表观体现,堆温的高低决定堆肥速度的快慢^[13]。堆制初期堆料中富含易分解有机物,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^[14]。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,当温度低于 50℃ 时即进入降温阶段^[15]。

由图 2 可见,不添加重金属 Zn 的 CK 处理和添加高量重金属 Zn 的 H 处理分别在第 7 d 和第 9 d 上升到 45℃ 以上,而添加低量重金属 Zn 的 L 处理在第 5 d 就上升到 45℃ 以上。L 处理升温最快,堆置 5 d 就达到了 50℃,升温速度达到 $10\text{℃}\cdot\text{d}^{-1}$,第 6 d 达到最高温度 56.72℃;而 CK 升温至 50℃ 用了 8 d,升温速度为 $6.25\text{℃}\cdot\text{d}^{-1}$,第 9 d 达到最高温度 52.75℃;H 处理升温至 50℃ 用了 9 d,升温速度为 $5.56\text{℃}\cdot\text{d}^{-1}$,第 9 d 达到最高温度 50.50℃。CK 和 H 处理高温期持续了 3 d,而 L 处理高温期持续了 4 d。相对而言,L 处理到达高温期时间短且高温期持续时间长,各处理达 50℃ 时升温速度大小是 $L>CK>H$ 。可能是由于堆料中的有机物被微生物降解形成稳定的腐殖质,带负电荷的腐殖质有吸附阳离子的作用,还具有螯合作用^[16],与 Zn 反应降低了对微生物的毒害作用,而低浓度的重金属是微生物新陈代谢所必需的微量元素,能够促

进微生物的生长。结果表明,猪粪中含有低量重金属 Zn 使得堆料升温较快,高温持续时间长。

2.1.2 堆肥过程中 pH 值的变化

pH 是能对微生物环境做出估价的参数,是影响微生物生长的重要因素之一。堆肥过程中,pH 随时间和温度的变化而变化。适宜的 pH 可使微生物有效地发挥作用,一般认为 pH 值在 7.5~8.5 时最好^[17],pH 值太高或太低,都会影响堆肥过程的正常进行。

从图 3 可以看出,在堆肥初期各处理的 pH 值在 7.3 左右,基本呈中性,有利于堆肥微生物的生长。堆肥初期(1~5 d)各处理 pH 值变化趋势基本一致,可能是由于堆肥初期堆料中可利用的有机物质较多,重金属离子被螯合,对 pH 值的影响不大^[18]。随着堆料温度的升高,嗜热菌和嗜温菌大量繁殖,其活动产生的有机酸使堆料的 pH 值下降,同时有机物质被大量利用,使 L 处理和 H 处理 pH 值急速下降,其中 L 处理在第 11 d 降至最低点 7.33, H 处理在第 9 d 降至最低点 6.35。小分子有机酸随着温度的升高而挥发,同时微生物分解含氮有机物所产生的氨使堆肥的 pH 值上

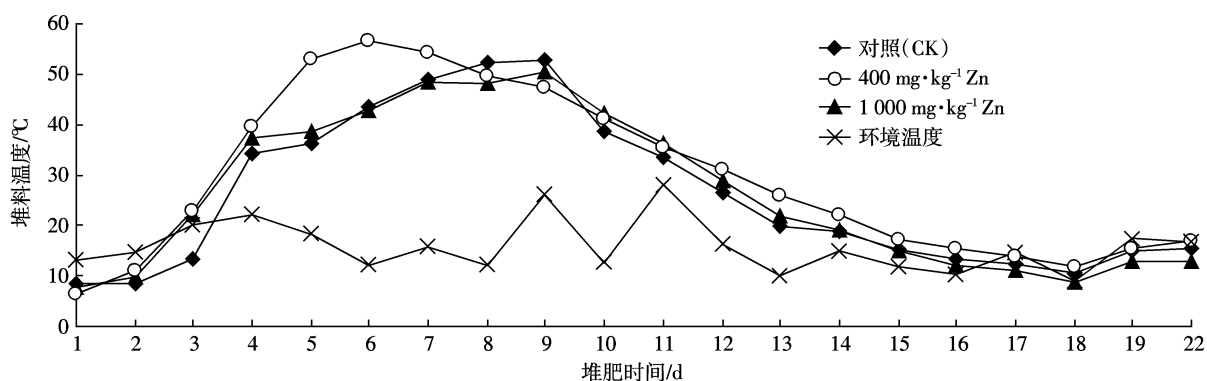


图 2 堆肥进程中温度的变化

Figure 2 Changes of temperature during composting

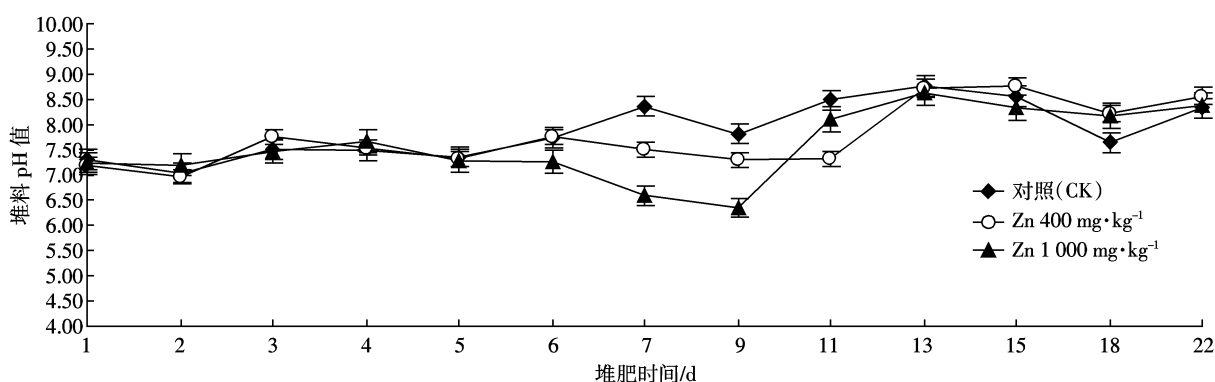


图 3 堆肥过程中 pH 值的变化

Figure 3 Changes of pH during composting

升^[9]。从整个堆肥过程来看,重金属 Zn 的加入对堆料的 pH 值影响不大,不是影响堆肥进程的直接原因。

2.1.3 堆肥过程中 E_4/E_6 值的变化

胡敏酸在 465 nm 和 665 nm 处光密度的比值通常用来作为腐殖质的缩合度和芳构化程度的重要指标,以 E_4/E_6 表示,通常 E_4/E_6 值越低,表明腐殖质的缩合度和芳构化程度愈高,分子量愈大^[20]。

由图 4 可见,堆腐前期, E_4/E_6 值随温度的增高呈增长趋势。前 3 d 加 Zn 处理 E_4/E_6 值均高于对照,可能是前期 Zn 溶液未完全浸溶于堆料,只吸附在堆料表面。第 3 d 以后 Zn 对 E_4/E_6 的作用表现出来,并在堆肥第 11 d 各处理同时达到峰值,其峰值大小为 $CK > L > H$ 。峰值过后,堆肥后期 E_4/E_6 值均呈迅速下降趋势。

从堆肥的三个时期来看,H 处理在整个堆肥过程中 E_4/E_6 值均高于 L 和 CK,表明高浓度 Zn 处理腐殖质的缩合度和芳构化程度低,分子量小,不利于腐殖质的缩合和芳构化。在高温期和降温期各处理 E_4/E_6 值大小顺序为: $H > CK > L$,由此可见,在堆肥后期,低

浓度 Zn 处理促进腐殖质的缩合和芳构化。

2.2 Zn 在堆肥过程中对氧化还原类酶活性的影响

堆腐过程中的生物化学反应,都是在酶的催化作用下进行的。氧化还原酶与碳、氮、磷等基础物质代谢密切相关,分析相关酶的活性及其变化趋势可以反映堆腐的物质变化过程^[21]。

2.2.1 堆肥过程中多酚氧化酶活性的变化

木质素是秸秆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^[22-23]。

由图 5 可见,堆肥第 6 d,CK 处理达到第一个峰值 15.45 $\text{mg 没食子素} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,L 处理达到第一个峰值 19.33 $\text{mg 没食子素} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,比 CK 处理高出 25.11%,而 H 处理在堆肥第 15 d 到达第一个峰值,此时 CK 处理和 L 处理已经同时到达第二个峰值。在整个堆腐过程中,L 处理的多酚氧化酶活性大多数时间高于 H 处理的活性,这说明添加低浓度的 Zn 更好地促进了木质素的降解及其产物的转化。L 处理和 CK 处理的多酚氧化酶活性在堆肥中后期的活性比堆肥前期高,

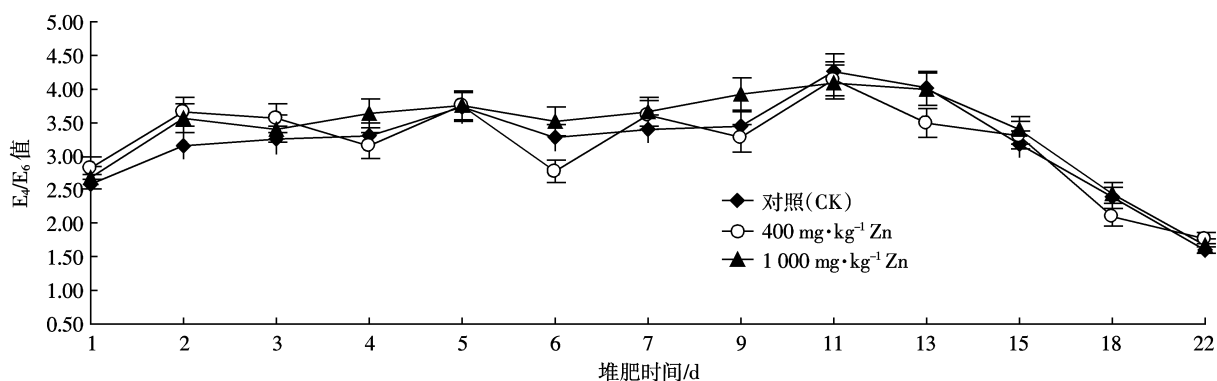


图 4 堆肥过程中的 E_4/E_6 值变化

Figure 4 Changes of E_4/E_6 during composting

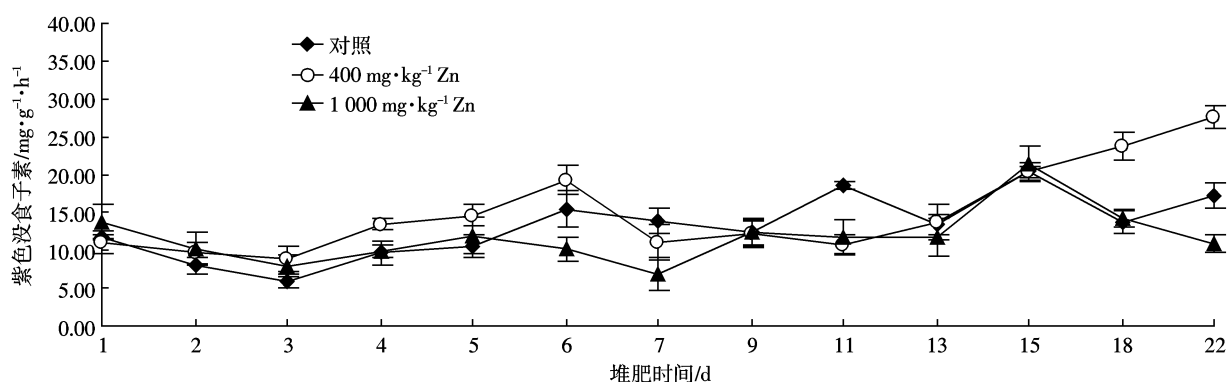


图 5 堆肥过程中多酚氧化酶活性变化

Figure 5 Changes of polyphenol oxidase activity during composting

可能与堆肥过程中木质素在中后期分解以及胡敏酸在中后期合成有关^[24]。

从堆肥过程中多酚氧化酶的平均活性来看(表3),L处理的平均多酚氧化酶活性最高,为 $14.88 \text{ mg 没食子素} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,比CK处理高13.24%,比H处理高26.42%,3个处理相互之间差异均达到显著水平($P < 0.05$)。结果表明,较低浓度重金属Zn对多酚氧化酶活性有激活效应^[25],有助于堆料中木质素的降解,催化醌与氨基酸合成胡敏酸。

表3 各处理多酚氧化酶活性的变化特征($\text{mg 没食子素} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

Table 3 Changes of polyphenol oxidase activity under different treatments				
处理	升温期	高温期	降温期	堆腐期平均
CK	5.91b	13.83a	13.73b	13.14b
L	8.87a	11.04b	23.78a	14.88a
H	7.89a	6.88c	14.20b	11.77c

2.2.2 堆肥过程中脱氢酶活性的变化

脱氢酶能酶促脱氢反应,它起着氢的中间传递体的作用,能从基质中析出氢而进行氧化作用,属于氧化酶,其变化可以反映堆肥过程中物质的氧化程度^[28]。

由图6可见,在堆肥初期(1~3 d),3个不同处理脱氢酶活性均升高,同时到达第一个小高峰,其大小顺序为:CK>L>H。从整个堆肥过程看,3个不同处理的脱氢酶活性变化很大,在堆置过程中都出现了几个高峰和低谷,但高峰和低谷出现的时间各异,表现出一定的不稳定性。

从堆肥的3个特征时期脱氢酶活性来看,3个处理均表现为降低后又增大,可能是重金属对脱氢酶活性有抑制作用的同时发生“抗性酶活性”现象^[26],认为

当重金属在土壤达到一定质量分数时,大部分微生物死亡,而一小部分微生物在有毒物质污染下生存下来,自行繁殖,从而产生抗性酶活性,表现为酶活性值降低后又增大,有时还会出现多个抗性峰。

3 结论

(1)不同浓度的重金属Zn在堆肥过程中对堆料理化性质的影响不同。添加低量Zn的L处理较其他两个处理到达高温期时间短,在高温期持续时间长。重金属Zn的加入对堆料的pH值影响不大,不是影响堆肥进程的直接原因。H处理在整个堆肥过程中 E_4/E_6 值均高于L和CK,表明高浓度Zn处理抑制腐殖质的缩合和芳构化。

(2)在整个堆腐过程中,L处理的多酚氧化酶活性大多数时间高于H处理的活性,这说明添加低浓度的Zn更好地促进了木质素的降解及其产物的转化。

(3)从整个堆肥过程来看,3个不同处理的脱氢酶活性变化很大,表现出一定的不稳定性,可能是重金属对脱氢酶活性有抑制作用的同时发生“抗性酶活性”现象。

参考文献:

- [1] Tiquia S M, Tam N F Y, Hodgkiss I J. Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents [J]. *Bioresource Technology*, 1996, 55:201-206.
- [2] 王 辉,董元华,张绪美,等.江苏省集约化养殖畜禽粪便盐分含量及分布特征分析[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(11):229-233.
WANG Hui, DONG Yuan-hua, ZHANG Xu-mei, et al. Salinity contents and distribution of dry animal manures on intensified-farms in Jiangsu Province[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2007, 23(11):229-233.
- [3] Ren S R, Shao Y C, Wang Z X. Analyze on heavy metals content of mer-

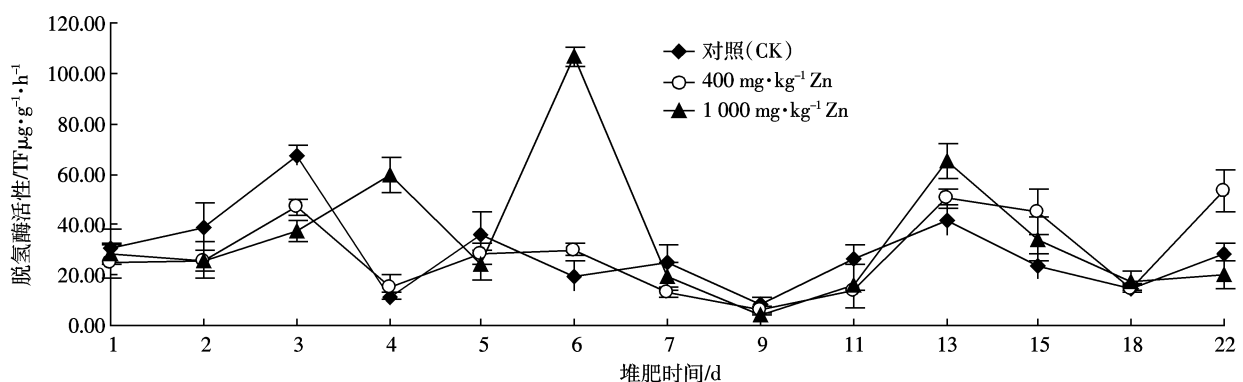


图6 堆肥过程中脱氢酶活性变化

Figure 6 Changes of dehydrogenase activity during composting

- chandise compost produced by animal wastes[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(Suppl):216-318.
- [4] Hsu J H, Lo S L. Effect of composting on characterization and leaching of copper, manganese, and zinc from swine manure [J]. *Environmental Pollution*, 2001, 114(1):119-127.
- [5] 康湛莹, 李瑞增, 车承斌. 重金属离子杀菌作用的机理[J]. 哈尔滨理工大学学报, 1995, 19(3):103-105.
- KANG Zhan-ying, LI Rui-zeng, CHE Cheng-bin. The mode of the fungicidal action of heavy metal ions[J]. *Journal of Harbin University of Science and Technology*, 1995, 19(3):103-105.
- [6] Smars S, Gustafsson L, Beck-Friis B, et al. Improvement of the composting time for household waste during an initial low pH phase by mesophilic temperature control[J]. *Bio Resource Technology*, 2002, 84(3):237-241.
- [7] Miguel Angel Lopez Zavala, Naoyuki Funamizu, Tetsuo takakuwa. Modeling of aerobic biodegradation of feces using saw dust as a matrix[J]. *Water Research*, 2004, 38(5):1327-1339.
- [8] Liu Y, Ma L, Li Y, et al. Evolution of heavy metal speciation during the aerobic composting process of sewage sludge[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(5):1025-1032.
- [9] 张福锁, 龚元石, 李晓林. 土壤与植物营养研究新动态[M]. 第三卷. 北京: 中国农业出版社, 1995:319-343.
- ZHANG Fu-suo, GONG Yuan-shi, LI Xiao-lin. The new research dynamic of the soil and plant nutrition[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agricultural Press, 1995:319-343.
- [10] Haug R T. Engineering print plates of sludge composting[J]. *Pollut Control*, 1979, 51:2189-2206.
- [11] 倪永珍, 李维炯. EM 技术应用研究[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998:23-32.
- NI Yong-zhen, LI Wei-jiong. EM technology application research[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1998:23-32.
- [12] 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.
- [13] 陈同斌, 黄启飞, 高 定, 等. 城市污泥堆肥温度动态变化过程及层次效应[J]. 生态学报, 2002, 22(5):736-741.
- CHEN Tong-bin, HUANG Qi-fei, GAO Ding, et al. Temperature dynamic during the sewage sludge composting process[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(5):736-741.
- [14] 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 availability[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2006, 25(6):1631-1635.
- [15] 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.
- [16] 王丹丽, 关子川, 王恩德. 腐殖质对重金属离子的吸附作用[J]. 黄金, 2003, 24(1):47-49.
- WANG Dan-li, GUAN Zi-chuan, WANG En-de. Adsorption of heavy metal ions onto humus[J]. *Gold*, 2003, 24(1):47-49.
- [17] Sanchez-Monedero M A, Paredes C, et al. Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures[J]. *Bioresource Technology*, 2001, 78(3):301-308.
- [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, 22(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, 22(2):234-236.
- [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 of Agricultural Engineering*, 2006, 22(2):138-141.
- [20] 李国学, 张福锁. 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, 2000:75-79, 91-95, 38-40, 98-121.
- LI Guo-xue, ZHANG Fu-suo. Solid waste composting and organic fertilizer production[M]. Beijing: Chemistry Industry Press, 2000:75-79, 91-95, 38-40, 98-121.
- [21] 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-Environment Science*, 2006, 25(1):244-248.
- [22] 谢春艳, 宾宝华, 陈兆平, 等. 多酚氧化酶及其生理功能[J]. 生物学通报, 1999, 34(6):11-13.
- XIE Chun-yan, BIN Bao-hua, CHEN Zhao-ping, et al. Polyphenol oxidase and physiological function[J]. *Bulletin of Biology*, 1999, 34(6):11-13.
- [23] 王宜磊. 白腐菌多酚氧化酶研究[J]. 山东理工大学学报(自然科学版), 2003, 17(1):100-102.
- WANG Yi-lei. Study on polyphenol oxidase of the white rot fungi[J]. *Journal of Shandong University of Technology (Sci&Tech)*, 2003, 17(1):100-102.
- [24] 张文举, 王加启, 龚月生, 等. 秸秆饲料资源开发利用的研究进展[J]. 国外畜牧科技, 2001, 28(3):15-18.
- ZHANG Wen-ju, WANG Jia-qi, GONG Yue-sheng, et al. Crop stalks feedstuff resource development and utilization are reviewed[J]. *Animal Science Abroad*, 2001, 28(3):15-18.
- [25] Huang Q, Shindo H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilised acid phosphatase[J]. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32:1885-1892.
- [26] 沈桂琴, 廖瑞章. 重金属、非金属、矿物油对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境保护, 1987, 6(3):24-27.
- SHEN Gui-qin, LIAO Rui-zhang. Affect of heavy metals, non-metallic and mineral oil on soil enzyme[J]. *Agro-environmental Protection*, 1987, 6(3):24-27.