

张卫娟, 谷洁, 高华, 等. 2012. 锌污染对猪粪堆肥过程中氧化还原类酶活性的影响[J]. 环境科学学报, 32(1): 241-247

Zhang W J, Gu J, Gao H, et al. 2012. Effects of Zn pollution on oxidoreductase activity during pig manure compostings [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 32(1): 241-247

## 锌污染对猪粪堆肥过程中氧化还原类酶活性的影响

张卫娟<sup>1</sup>, 谷洁<sup>1</sup>, 高华<sup>1,\*</sup>, 刘强<sup>2</sup>

1. 西北农林科技大学资环学院, 杨凌 712100

2. 西北农林科技大学林学院, 杨凌 712100

收稿日期: 2011-03-21

修回日期: 2011-05-21

录用日期: 2011-06-09

**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, 研究了重金属锌污染对猪粪堆肥过程中多酚氧化酶、脱氢酶活性的影响, 以及对堆腐过程堆体温度、堆料 pH 值、胡敏酸  $E_4/E_6$  值的影响. 结果表明: ①CK 以及低量重金属 Zn 污染的堆料升温快, 高温期持续时间长, 达到无害化处理. ②Zn 含量为  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的堆料  $E_4/E_6$  平均值小, 有利于腐殖质的缩合和芳构化. ③Zn 含量为  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的堆料多酚氧化酶平均活性、脱氢酶平均活性最高, 有助于堆料中木质素的降解及其产物的转化、微生物生长繁殖. ④Zn 含量为  $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的堆料对 pH 有较强的控制能力, 其脱氢酶活性均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; 锌; 理化性质; 氧化还原酶活性

文章编号: 0253-2468(2012)01-241-07

中图分类号: X705

文献标识码: A

## Effects of Zn pollution on oxidoreductase activity during pig manure composting

ZHANG Weijuan<sup>1</sup>, GU Jie<sup>1</sup>, GAO Hua<sup>1,\*</sup>, LIU Qiang<sup>2</sup>

1. College of Resources Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100

2. College of Forest, Northwest A & F University, Yangling 712100

Received 21 March 2011;

received in revised form 21 May 2011;

accepted 9 June 2011

**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. Pig manure and straw were used as the main experimental materials. There were five treatments in this experiment. The results showed that: ① The temperature of CK and the treatment which added low concentration of Zn raised quickly, and the high temperature duration lasted long and reached the requirement of the harmless; ② The average of  $E_4/E_6$  of the treatments which added  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and  $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  were low, and facilitated the Condensation and aromatization of humus; ③ The polyphenoloxidase and dehydrogenase activities of the treatment which added  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  were the highest, and beneficial to the decomposition of lignin, the conversions of products, and the growth and breeding of microorganism; and ④ The treatments which added  $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  had powerful ability on controlling pH, the dehydrogenase activities exhibited instability in the whole composting process. Zn may have inhibitory effect on dehydrogenase activity and resistive enzyme activity phenomenon may occur at the same time.

**Keywords:** pig manure; Zn; physicochemical properties; oxidoreductase activities

### 1 引言 (Introduction)

畜禽集约化规模养殖技术的全面推广, 使得以畜禽粪便处理为主体的无害化、资源化利用技术应用取得了快速发展 (董克虞, 1998; 史雅娟等, 1999). 将粪便进行无害化处理, 利用畜禽粪便和农

作物秸秆进行好氧高温堆肥是处理畜禽粪便的主要途径. 研究表明, 好氧堆肥的实质是在微生物参与和酶促作用下的原始有机物质分解成简单物质, 再由简单物质合成相对复杂、稳定、腐殖化物质的生物化学变化过程 (李亚红等, 2002).

目前各饲料厂和养殖场为了促进畜禽生长和

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 40771119, 41171203)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 40771109, 41171203)

作者简介: 张卫娟 (1984—), 女, E-mail: weijuan1106@163.com; \* 通讯作者 (责任作者), E-mail: gaohua@163.com

Biography: ZHANG Weijuan (1984—), female, E-mail: weijuan1106@163.com; \* Corresponding author, E-mail: gaohua@163.com

提高养殖效率普遍采用高铜、高锌等微量元素添加剂(王辉等, 2007), 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(Ren *et al.*, 2005; Hsu *et al.*, 2001), 这些重金属的存在会对堆肥化进程中酶活性产生较大的影响. 氧化还原酶是参与堆腐过程生物化学反应的重要酶, 研究在重金属 Zn 污染下堆腐过程中氧化还原酶活性的变化, 可以推断不同浓度污染下堆腐过程腐殖质化进程和强度(张福锁等, 1995a). 本研究以农业废弃物为

原料, 研究了在重金属 Zn 污染下多酚氧化酶、脱氢酶活性, 温度、 $E_4/E_6$  值等指标在堆腐过程中的变化, 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.

## 2 材料与方法(Materials and methods)

### 2.1 试验材料

本实验以农家养殖厂猪粪, 秸秆和菌棒为堆肥材料, 其原材料性质见表 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 Experiment material	有机碳 Organic C $/(g \cdot kg^{-1})$	全氮 Total nitrogen $/(g \cdot kg^{-1})$	全磷 Total $P_2O_5$ $/(g \cdot kg^{-1})$	全钾 Total $K_2O$ $/(g \cdot kg^{-1})$	C/N	Zn zinc $/(mg \cdot kg^{-1})$
猪粪 pig manure	409.70	34.50	9.70	10.58	11.88	244.62
秸秆 Straw	394.32	5.74	0.47	27.39	68.70	35.65
菌棒 Bacteria reat	317.20	13.30	5.72	32.80	23.85	306.58

### 2.2 试验方法

本试验于 2010 年 7 月 12 日至 8 月 7 日在西北农林科技大学资源环境学院室外大棚进行.

首先, 将小麦秸秆切成 3~5 cm 长, 与农家猪粪(农民以饲草和麦麸养猪, 不含饲料添加剂)、菌棒(栽培香菇后的废料)混合, 调节混合物 C/N 比为(30~35):1(张福锁等, 1995b), 加水使堆料水分含量在 55%~65%, 添加腐解复合微生物菌剂, 以加快发酵速度(倪永珍等, 1998), 将以上处理的混合有机物质分别装入堆肥装置中(图 1). 试验模拟重金属 Zn 污染猪粪堆肥, 设 5 个不同的重金属污染水平(表 2), 以无重金属施入的堆料作为对照. 堆料不同部位插有热敏温度计(精度 0.1 °C), 记录堆肥物料的温度变化. 定期从发酵罐不同位置取样, 充分混匀, 冷藏 4 °C 冰箱用于测定氧化还原类酶活性. 当发酵罐内温度与室温相当时停止采样.

表 2 重金属 Zn 影响下的堆肥试验设计

Table 2 Experimental design of compost effect on Zn heavy metal

处理 Treatment	CK	A1	A2	A3	A4
Zn 含量 Zinc content	0	300	600	900	1200

注: 重金属 Zn 以  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  的形式施入.

### 2.3 堆肥装置

堆腐装置主要由 5 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, 采用自然通风堆腐, 当空气从罐底部进入, 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).

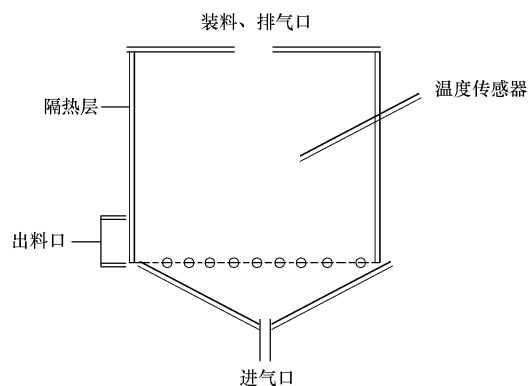


图 1 堆肥发酵装置图

Fig. 1 Diagram of composting device

### 2.4 项目测定与方法

酶活性的测定参照关松荫(1983)著作中的方法. 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.

### 2.5 数据处理

测定数据用 Microsoft Excel 2003 进行数据初步处理, 用 SAS 6.12 软件包进行统计方差分析.

### 3 结果与分析 (Results and analysis)

#### 3.1 Zn 对堆料理化性质的影响

3.1.1 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, 是堆肥状态的直观体现, 堆温的高低决定堆肥速度的快慢(陈同斌等, 2000). 根据有机物料堆腐过程中温度的变化将堆肥过程分为 4 个时期: 升温期(由常温升到 50 °C)、高温期(50 ~ 70 °C)、降温期(小于 50 °C)、腐熟保肥期(堆内温度稍高于室内温度)(谷洁等, 2006). 堆体温度在 55 °C 条件下保持 3 d 以上是杀死堆料中致病微生物、保证堆肥卫生指标合格和堆

肥腐熟的重要条件(GB7959—87).

由图 2 可见, 各处理堆肥体系分别出现了升温期、高温期、降温期和腐熟保肥期, 经历了完整的堆肥过程. A1 处理堆体温度在整个堆腐期均高于其他各处理, 在堆腐第 2 d 达到高温期, 持续 5 d, 最高温度达 68.65 °C. CK、A2 处理和 A3 处理也在堆腐第 2 d 达到高温期, 持续 4 d, 均已达到无害化标准, 而 A4 处理在高温期持续 3 d, 未完全达到无害化标准, 可能是由于 A4 处理 Zn 浓度过大使微生物和酶活性受到一定程度的抑制作用(Acosta-Martinez and Tabatabai, 2001).

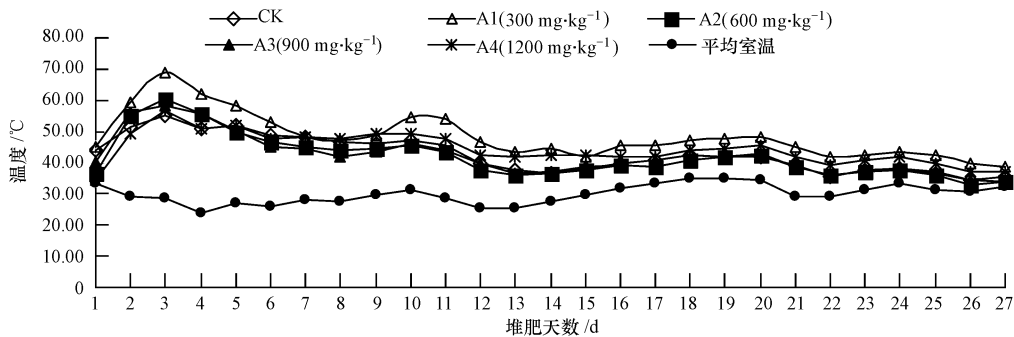


图 2 堆肥进程中的温度变化

Fig. 2 Changes of temperature during composting

3.1.2 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. 一般认为, pH 值在 7 ~ 8 时最好(Sanchez-Monedero *et al.*, 2001), 微生物增长速度和蛋白质分解速度最佳, 可以使微生物有效地发挥作用, 从而获得最大堆肥效率. 同时, pH 值的大小也影响到重金属的可迁移性、生物有效性, 一般 pH 值越大, 金属的水溶态含量越小, 金属越难迁移, 生物有效性也就越低, 金属毒性也相应越低. 而在整个堆肥过程中, pH 值随时间和温度的变化而变化. 故通过测定堆料基质 pH 值的变化可以了解发酵过程中微生物的活性及金属的毒性变化.

在堆肥最初阶段, 可利用的能量物质较多, 微生物繁殖快, 其活动产生的有机酸使堆肥的 pH 值下降, 小分子的有机酸随着堆肥温度的升高而挥发, 同时微生物分解含氮有机物所产生的氨使堆肥的 pH 值又开始上升, 如图 3 所示, 在整个堆腐过程中, 不同处理的 pH 值变化趋势相似. 在升温期和高温期(1 ~ 5 d)对照组的 pH 值相对于添加重金属组的 pH 值较高, 其 pH 值大小顺序为: CK > A2 > A1 >

A4 > A3. 堆腐后期, 矿质化过程产生的有机酸与其他物质合成腐殖质, 使 pH 值升高. 在有机发酵过程中, pH 值升高, 会增加氨气的产生, 一般来说, 应尽量控制 pH 的上升, 就会减少氮素损失(Smars *et al.*, 2002). 由图可以看出, A1、A2、A3 处理的 pH 值在堆腐后期(第 8 天以后)一直低于 CK、A4 处理, 表明添加适量的重金属对 pH 升高有较强的控制能力, 可减少氮素的损失.

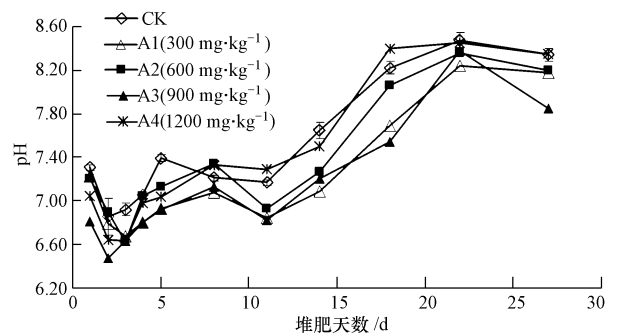


图 3 堆肥过程中的 pH 变化

Fig. 3 Changes of pH during composting

3.1.3 堆肥过程中  $E_4/E_6$  值的变化 堆肥过程中

$E_4/E_6$ 值是堆料浸提液在 465 nm 和 665 nm 波长下胡敏酸吸光值的比值,它是反映农业废弃物堆肥过程合成的腐殖质分子量大小与其分子结构的复杂程度的重要指标, $E_4/E_6$ 值愈低腐殖质缩合和芳构化程度愈高,分子量越大(李国学等,2000)。

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。A1 在第 2 天达到堆腐期胡敏酸  $E_4/E_6$  比值的最高值(5.87),而 CK、A2、A3、A4 处理均在第 3d 达到堆腐期高值,大小顺序为  $A4 > A3 > A2 > CK$ 。峰值过后,堆肥后期  $E_4/E_6$  值均呈迅速下降趋势。在整个堆腐期间,CK 处理  $E_4/E_6$  平均值为  $4.01 \pm 0.97$ ,A1、A2、A3、A4 处理平均值分别为  $4.27 \pm 0.61$ ,  $3.99 \pm 0.77$ ,  $3.98 \pm 0.79$ ,  $4.18 \pm 1.19$ ,在堆腐过程中 A2 和 A3 处理大多数情况下低于其余各处理。Amir 等(Amir *et al.*, 2006)研究了污泥堆肥产品的腐殖质来源,认为腐殖质的生成有两个途径:一是在微生物作用下,木质素的侧链氧化生成木质素类衍生物,构成了腐殖质的核心和骨架(Veecken *et al.*, 2000);二是由微生物代谢后的单体聚合而成。重金属 Zn 含量为  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的处理堆料微生物活性高,有利于增加群落的丰富度和功能多样性(另文报道)。进一步证实了 Zn 含量为  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的处理腐殖质缩合度和芳构化程度高,分子量大,而 CK、A1、A4 处理腐殖质的缩合度和芳构化程度低,分子量小。

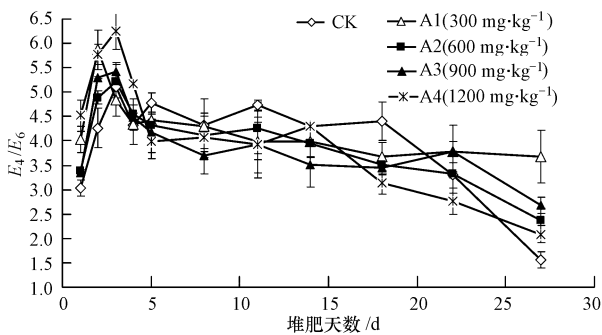


图 4 堆肥过程中的  $E_4/E_6$  值变化

Fig. 4 Changes of  $E_4/E_6$  during composting

### 3.2 Zn 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,酶的活性大小反映了有机物料堆制中各种生物化学过程的方向和强度。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

(谭小琴等,2006)。

3.2.1 堆肥过程中多酚氧化酶活性的变化 由于木质素分子过大,且不溶于水,不能进入微生物细胞壁,所以木质素的生物降解必须依靠微生物分泌的胞外降解酶。木质素降解酶包括两大类,即过氧化物酶和多酚氧化酶。目前研究较多的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(王宜磊,2003)。

从图 5 可以看出,在外源重金属 Zn 的影响下,A1、A2 和 A3 处理的多酚氧化酶活性在堆腐初始随着堆体温度的升高而增大,堆腐第 3 天同时达到第一个高峰,A1 为  $11.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,A2 为  $13.71 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,A3 为  $13.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。CK 在堆腐第 4 天达到第一个高峰  $12.87 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,A4 处理多酚氧化酶活性在堆腐第 2 天才开始上升,第 4 天达到第一个高峰  $10.72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。A1 处理和 A2 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,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(张文举等,2001)。在堆腐后期,堆腐中的主要生物化学反应是腐殖质类物质合成,A2 处理的多酚氧化酶活性在高温期之后大多数情况高于其他处理的活性,更好的促进了木质素的降解及其产物的转化。

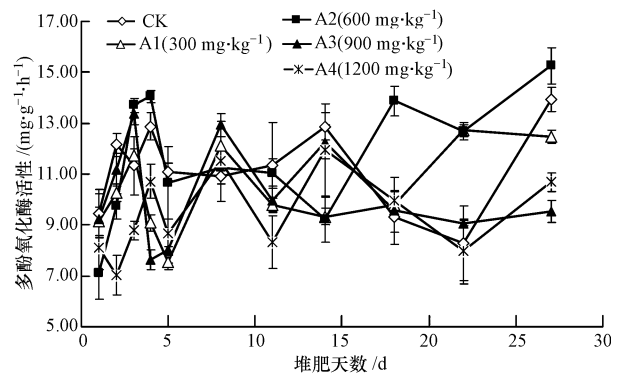


图 5 堆肥过程中多酚氧化酶活性变化

Fig. 5 Changes of polyphenol oxidase activity during composting

从堆肥过程中多酚氧化酶的平均活性来看(表 3),A2 处理的平均多酚氧化酶活性最高,为  $11.69 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,比 CK 高 14.94%,比 A1 处理高 12.84%,比 A3 处理高 14.05%,比 A4 处理高 8.70%,A2 处理与其他各处理之间差异均达到显著水平( $p < 0.05$ )。结果表明,A2 处理平均多酚氧化酶活性高,有助于堆料中木质素的降解以及胡敏酸的形成。

表 3 不同堆肥处理多酚氧化酶活性的变化特征

Table 3 Changes of polyphenol oxidase activity under different treatments

处理 Treatment	升温期 raising temperature period	高温期 high temperature period	降温期 dropping temperature period	腐熟后 Being finished	堆腐期平均值 Average of composting
CK	9.44 <sup>a</sup>	11.61 <sup>b</sup>	11.11 <sup>ab</sup>	11.10 <sup>c</sup>	11.14 <sup>b</sup>
A1(300 mg·kg <sup>-1</sup> )	9.15 <sup>ab</sup>	9.66 <sup>cd</sup>	10.25 <sup>c</sup>	12.59 <sup>b</sup>	10.36 <sup>c</sup>
A2(600 mg·kg <sup>-1</sup> )	7.11 <sup>c</sup>	12.04 <sup>a</sup>	11.35 <sup>a</sup>	13.97 <sup>a</sup>	11.69 <sup>a</sup>
A3(900 mg·kg <sup>-1</sup> )	9.24 <sup>a</sup>	10.05 <sup>c</sup>	11.18 <sup>a</sup>	9.31 <sup>d</sup>	10.25 <sup>c</sup>
A4(1200 mg·kg <sup>-1</sup> )	7.57 <sup>bc</sup>	9.40 <sup>d</sup>	10.44 <sup>bc</sup>	9.32 <sup>d</sup>	9.43 <sup>d</sup>

注: 同列中不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

3.2.2 堆肥过程中脱氢酶活性的变化 脱氢酶属于氧化还原酶,其来源主要是微生物的分泌活动,可以反映堆体中微生物的氧化还原能力,表征活性微生物量及其对有机物的降解活性(戴芳等, 2005)。

由图 6 可以看出,堆腐初期各处理脱氢酶活性随着堆料温度的升高而降低,这可能是由于升温阶段堆体内温度上升迅速,低温微生物不适应较高温度,活动能力降低,分泌的脱氢酶减少. 高温期过后,随着堆料温度的回落,嗜热微生物大量繁殖,大量分泌脱氢酶,脱氢酶活性升高. 在堆腐中期脱氢酶活性较高,说明堆腐过程的氧化反应主要在中期进行. 从整个堆肥过程看, A1、A2、A3 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,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(林匡飞等, 2005),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. 闫峰等(2008)研究结果表明,添加外源重金属 Cr 对土壤脲酶也表现出抗性酶活性现象. 此外,在堆腐 22d 时各处理 pH 在 8.24 ~ 8.48 之间,酶活性均达到最高值. 有研究表明(王丹丽, 2003),当 pH 为 8.2 时,腐殖质对 Zn<sup>2+</sup> 的吸附率最高,可达到 98.6%. 而腐殖质对重金属的吸附,使得重金属对微生物的毒害作用减小,酶活性增强.

从堆肥过程中脱氢酶的平均活性来看(表 4), A2 处理的平均脱氢酶活性最高,为 14.69 ug·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,比 CK 高 9.92%,比 A1 处理高 14.50%,比 A3 处理高 19.17%,比 A4 处理高 32.41%,A2 处理与其他各处理之间差异均达到显著水平 ( $p < 0.05$ ). A2 处理重金属浓度以及堆料 pH 有利于微生物生长繁殖,微生物活动分泌大量脱氢酶,使得脱氢酶活性高于其它两个处理.

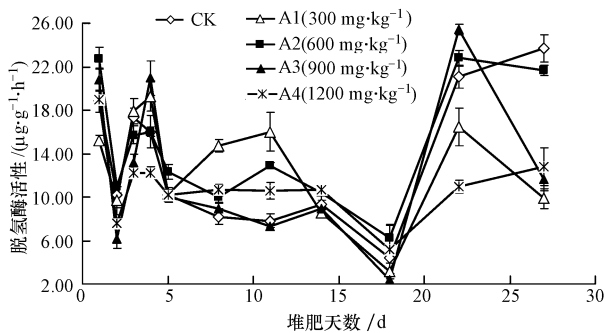


图 6 堆肥过程中脱氢酶活性变化

Fig. 6 Changes of dehydrogenase activity during composting

表 4 不同堆肥处理脱氢酶活性的变化特征

Table 4 Changes of dehydrogenase activity during composting

处理 Treatment	升温期 raising temperature period	高温期 high temperature period	降温期 dropping temperature period	腐熟后 Being finished	堆腐期平均值 Average of composting
CK	18.82 <sup>c</sup>	13.44 <sup>b</sup>	7.44 <sup>d</sup>	22.36 <sup>a</sup>	13.37 <sup>b</sup>
A1(300 mg·kg <sup>-1</sup> )	15.22 <sup>d</sup>	14.29 <sup>a</sup>	10.63 <sup>a</sup>	13.14 <sup>c</sup>	12.83 <sup>bc</sup>
A2(600 mg·kg <sup>-1</sup> )	22.76 <sup>a</sup>	13.74 <sup>b</sup>	9.86 <sup>b</sup>	22.24 <sup>a</sup>	14.69 <sup>a</sup>
A3(900 mg·kg <sup>-1</sup> )	20.80 <sup>b</sup>	12.55 <sup>c</sup>	6.88 <sup>e</sup>	18.54 <sup>b</sup>	12.33 <sup>c</sup>
A4(1200 mg·kg <sup>-1</sup> )	13.27 <sup>e</sup>	11.56 <sup>d</sup>	9.28 <sup>c</sup>	11.86 <sup>d</sup>	11.10 <sup>d</sup>

注: 同列中不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

#### 4 讨论 (Discussion)

锌与蛋白质关系最为重要,是构成含锌蛋白质的重要组成部分.同时,锌是多种酶的组分和激活剂.许多酶在有锌存在下才有活性并可达到最大酶活,同时锌可维持有些酶的有机分子配位基的结构构性并在酶反应时起到辅酶作用(张革,1993),调节微生物体内多种生理生化活动.由本试验结果可见,多酚氧化酶和脱氢酶活性对不同浓度的重金属污染均表现出含量为  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的处理高于其他各处理的现象,即重金属 Zn 的含量达到一个最适量时才有利于促进堆腐的进程.酶的重要来源—微生物,在遭受重金属长期污染的情况下可能产生一定的耐性.理论上一种微生物敏感种群消失的同时,有耐性种群随之产生,从而保证了相关生化过程的进行(Díaz-Raviña and Baath, 1996).有关本试验中重金属污染对酶活性产生影响的具体原因还有待于进一步研究,但酶作为一类特殊的蛋白质,其活性受其他环境因素,如重金属形态,堆料中有机物质的质量分数、堆料温度、pH 等的影响较大(和文祥,2000),加之重金属等有害物质在堆肥化中能抑制某些菌株合成特殊的酶物质(沈其荣,1997),使得研究者很难从这些“干扰”因素中剖析出重金属的独立作用,这也就是不同学者在不同试验条件下可能得出不同甚至相悖结论的缘故.在复杂的堆肥体系中,酶系统与重金属以及堆料自身和外界环境因素的相互作用机制尚不清楚,同时,微生物作为堆肥体系中重要的参与者,进一步研究重金属 Zn 污染对堆料微生物的影响具有重要的意义.

本实验所用猪粪、秸秆和菌棒等堆腐基本材料中含有一定量的锌,即实验的 CK 处理中锌含量本底值不为 0,而为  $586.85 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .在本研究中,Zn 含量为  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的 A2 处理对堆腐的进程起促进作用,综合基本材料中锌含量的本底值,则本次试验材料中实际锌含量为  $1186.85 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .而刘荣乐等(2005)在研究了中国的畜禽粪便和商品有机肥后指出,以猪粪为原料生产的有机肥中 Cu、Zn 含量最高,其中 Zn 含量为  $2286.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,高出本次试验材料中实际锌含量.畜禽粪便是商品有机肥料的主要原料,畜禽粪便中重金属含量超标,势必影响堆腐过程腐殖质化进程和强度.

#### 5 结论 (Conclusions)

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.从温度变化来看,CK 以及低量重金属 Zn 污染的堆料在堆腐过程中比高量重金属 Zn 污染 ( $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 的堆料升温快,且在高温期持续时间长,并达到无害化处理.从 pH 值变化来, A1、A2、A3 处理对 pH 升高有较强的控制能力,可减少氮素的损失.从  $E_4/E_6$  值变化来看,在堆腐过程中 A2 和 A3 处理大多数情况下低于其余各处理,有利于腐殖质的缩合和芳构化.

2)从堆肥过程中多酚氧化酶的活性来看, A1、A2、A3 处理在堆腐第 3 天同时达到第一个高峰,而 CK 和 A4 处理在第 4 天同时达到第一个高峰,且 A2 处理的多酚氧化酶平均活性最高,为  $11.69 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,有助于堆料中木质素的降解,催化醌与氨基酸合成胡敏酸,对多酚氧化酶活性有激活效应.

3)从堆肥过程中脱氢酶的平均活性来看, A2 处理的脱氢酶平均活性最高,为  $14.69 \text{ ug} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,有利于微生物生长繁殖和堆料的氧化还原.同时, A1、A2、A3 处理的脱氢酶活性变化很大,表现出一定的不稳定性.

**责任作者简介:**高华(1956—),男,高级农艺师.主要从事农业废弃物资源化利用研究.

#### 参考文献 (References):

- Acosta-Martinez V, Tabatabai M A. 2001. Arylamidase activity in soil: Effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases[J]. *Soil Biol Biochem*, 33:17-23
- Amir S, Hafidi M, Lemee L, *et al.* 2006. Structure characterization of humic acids, extracted from sewage sludge during composting, by thermochemolysis-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 41:410-422
- 陈同斌, 黄启飞. 2000. 城市污泥堆肥温度动态变化过程及层次效应[J]. *生态学报*, 22(5):736-741
- Chen T B, Huang Q F. 2000. Temperature dynamic during the sewage sludge composting process[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 22(5):736-741 (in Chinese)
- 戴芳, 曾光明, 牛承岗, 等. 2005. 堆肥化过程中生物酶活性的研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 148-151
- Dai F, Zeng G M, Niu C G. 2005. Advance in the studies on Bioenzyme activity during the composting[J]. *China Biotechnology*, 148-151
- 董克虞. 1998. 畜禽粪便对环境的污染及资源化途径[J]. *农业环境保护*, 17(6):281-283
- Dong K Y. 1998. Reclamation and environment pollution of wastes from livestock and poultry[J]. *Agro-Envir Protection*, 17(6):281-283 (in Chinese)
- Díaz-Raviña M, Baath E. 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 62:

- 2970-2977
- 谷洁, 李生秀, 秦清军, 等. 2006. 氧化还原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, 22(2):138-141
- Gu J, Li S X, Qin Q J, *et al.* 2006. 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, 22(2):138-141 (in Chinese)
- 关松荫. 1983. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社. 260-339
- Guan S Y. 1983. Soil Enzyme and Methodology for Soil Enzyme [M]. Beijing: Agriculture Press. 260-339 (in Chinese)
- 和文祥, 朱铭莪, 张一平. 2000. 土壤酶与重金属关系的研究现状[J]. 土壤与环境, 9(2):139-142
- He W X, Zhe M E, Zhang Y P. 2000. Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals[J]. Soil and Environmental Sciences, 9(2):139-142 (in Chinese)
- Hsu J H, Lo S L. 2001. Effect of composting on characterization and leaching of copper, manganese, and zinc from swine manure[J]. Environmental Pollution, 114(1):119-127
- 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. 38-40, 75-79, 91-95, 98-121
- Li G X, Zhang F S. 2000. Solid waste composting and organic fertilizer production[M]. Beijing: Chemistry Industry Press. 38-40, 75-79, 91-95, 98-121 (in Chinese)
- 李亚红, 曹林奎. 2002. 畜禽粪便好氧堆肥研究进展[J]. 农业科技通讯, (12):23-24
- Li Y H, Cao L K. 2002. Progress of study on aerobic composting of farmyard manure[J]. Bulletin of Agric Sci & Technol, (12):23-24 (in Chinese)
- 林匡飞, 徐小清, 金霞, 等. 2005. 土壤硒污染对土壤酶的生态毒理效应[J]. 中国环境科学, 25(增刊):94-97
- Lin K F, Xu X Q, Jin X, *et al.* 2005. Eco-toxicology effects of soil selenium pollution on soil enzyme [J]. China Environmental Science, 25(Suppl):94-97 (in Chinese)
- 刘荣乐, 李书田, 王秀斌, 等. 2005. 我国商品有机肥料和有机废弃物中重金属的含量状况分析[J]. 农业环境科学学报, 24(2):392-397
- Liu R L, Li S T, Wang X B, *et al.* 2005. Contents of heavy metal in commercial organic fertilizers and organic wastes [J]. Journal of agro-Environment Science, 24(2):392-397 (in Chinese)
- 倪永珍, 李维炯. 1998. EM 技术应用研究[M]. 北京: 中国农业大学出版社. 23-32
- Ni Y Z, Li W J. 1998. EM Technology Application Research [M]. Beijing: China Agricultural University Press. 23-32 (in Chinese)
- Ren S R, Shao Y C, Wang Z X. 2005. Analyze on heavy metals content of merchandise compost produced by animal wastes[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 24(Sup):216-318
- Sanchez-Monedero M A, Roig A, Paredes C, *et al.* 2001. 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, 78(3):301-308
- 沈其荣, 王瑞宝, 王岩, 等. 1997. 堆肥制作中的生物化学变化特征[J]. 南京农业大学学报, 20(2):51-57
- Shen Q R, Wang R B, Wang Y, *et al.* 1997. Biochemical characteristics of composting[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 20(2):51-57 (in Chinese)
- 史雅娟, 吕永龙. 1999. 农业废弃物的资源化利用[J]. 环境科学进展, 7(6):32-37
- Shi Y J, Lü Y L. 1999. Recycling use of agricultural disposals[J]. Adv of Envir Sci, 7(6):32-37 (in Chinese)
- Smars S, Gustafsson L, Bech-Friis B, *et al.* 2002. Improvement of the composting time for household Waste during an initial low pH phase by mesophilic temperature control[J]. Bioresource Technology, 84:237-241
- 谭小琴, 邓良伟, 伍钧, 等. 2006. 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, 25(1):244-248
- Tan X Q, Deng L W, Wu J, *et al.* 2006. Variations of the amount of microbe and the activity of decomposing enzyme during composting [J]. Journal of Agro-Environmental Science, 25(1):244-248 (in Chinese)
- Veeken A, Nierop K, de Wilde V, *et al.* 2000. Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste[J]. Bioresource Technology, 72(1):33-41
- 王丹丽, 关子川, 王恩德. 2003. 腐殖质对重金属离子的吸附作用[J]. 黄金, 24(1):47-49
- Wang D L, Guan Z C, Wang E D. 2003. Adsorption of heavy metal ions onto humus[J]. Gold, 24(1):47-49 (in Chinese)
- 王辉, 董元华, 张绪美, 等. 2007. 江苏省集约化养殖畜禽粪便盐分含量及粪便特征分析[J]. 农业工程学报, 23(11):229-233
- Wang H, Dong Y H, Zhang X M, *et al.* 2007. Salinity contents and distribution of dry animal manures on intensified-farms in Jiangsu Province [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 23(11):229-233 (in Chinese)
- 王宜磊. 2003. 白腐菌多酚氧化酶研究[J]. 山东理工大学学报(自然科学版), 17(1):100-102
- Wang Y L. 2003. Study on polyphenol oxidase of the white rot fungi[J]. Journal of Shandong Universtisy of Technology (Sci & Tech), 17(1):100-102 (in Chinese)
- 闫峰, 吴雄平, 梁东丽, 等. 2008. 外源重金属 Cr、Cu、Se 和 Zn 对壤土酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 7(36):91-98
- Yan F, Wu X P, Liang D L, *et al.* 2008. Influences of different concentrations of exterior heavy metals Cr, Cu, Se and Zn on three soil enzymes in Lou soil[J]. Journal of Northwest A&F University (Nat. Sci. Ed.), 36(7):91-98 (in Chinese)
- 张福锁, 龚元石, 李晓林. 1995. 土壤与植物营养研究新动态(第3卷)[M]. 北京: 中国农业出版社. 319-343
- Zhang F S, Gong Y S, Li X L. 1995. The New Research Dynamic of the Soil and Plant Nutrition [M]. Beijing: China Agricultural Press. 319-343 (in Chinese)
- 张革. 1993. 生命元素锌与动物营养[J]. 饲料工业, 14(12):1-3
- Zhang G. 1993. Study of life element Zn and animal nutrition[J]. Feed Industry, 14(12):1-3 (in Chinese)
- 张文举, 王加启, 龚月生, 等. 2001. 秸秆饲料资源开发利用的研究进展[J]. 国外畜牧科技, 28(3):15-18
- Zhang W J, Wang J Q, Gong Y S, *et al.* 2001. Crop stalks feedstuff resource development and utilization are reviewed [J]. Animal Science Abroad, 28(3):15-18 (in Chinese)
- 中华人民共和国卫生部. 1987. GB7959—87, 粪便无害化卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社
- Ministry of Health. 1987. GB7959—87, Sanitary standard for the non-hazardous treatment of night soil[S]. Beijing: Standards Press of China (in Chinese)