

刘 标,尹红梅,刘慧知. 添加外源菌剂对病死猪堆肥中油脂含量和氮素损失的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(3):240-243.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.03.057

添加外源菌剂对病死猪堆肥中油脂含量和氮素损失的影响

刘 标,尹红梅,刘慧知
(湖南省微生物研究院,湖南长沙 410009)

摘要:为了解添加外源菌剂对病死猪堆肥过程中油脂含量和氮素损失的影响,以病死猪尸体、锯木屑为堆肥基质,分别设置了不加外源菌剂(CK)、添加自主研制的菌剂 1(T₁)、添加市售菌剂 2(T₂)3 个处理,进行为期 30 d 的堆肥发酵试验,研究堆肥过程中堆肥的基本理化性质、各种氮素形态、油脂含量和种子发芽指数(GI)等参数变化。结果表明,外源菌剂添加对堆肥温度无显著影响,各堆体的高温持续时间均能满足堆肥无害化的要求;堆肥结束时,添加菌剂的 T₁ 和 T₂ 组的有机质含量、硝态氮含量显著高于对照组(CK);添加菌剂 1 能够降低堆肥的 pH 值和油脂含量,增加堆肥的铵态氮、全氮含量;堆肥结束时,菌剂 1 添加组(T₁)的 GI 达到 127.3%,显著高于 CK、T₂ 组。由枯草芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、木霉菌组合而成的微生物菌剂能显著降低堆肥的油脂含量,较少氮素损失,促进了病死猪堆肥的腐熟,具有广阔的应用前景。

关键词:微生物菌剂;病死猪堆肥;油脂含量;氮素含量

中图分类号: S141.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)03-0240-04

我国是生猪养殖和消费大国,据统计 2017 年我国生猪存栏 4.33 亿头、出栏 6.88 亿头。随着国家对生猪养殖行业环保要求的持续提高,生猪养殖规模化程度越来越高,高密度的养殖模式使动物染疫和死亡的概率大大增加,据调查,每年因各类疾病引起生猪的死亡数占养殖总数的 8%~12%^[1]。病死猪如果处理不当,将对生态环境造成严重威胁^[2-3]。利用堆肥法处理死畜禽成为近年来国内外的研究热点^[4-9],堆肥法相对于焚烧、掩埋、化制等方法,成本低、对环境污染小,且堆肥产品可以制成有机肥,实现畜禽死体的资源化利用,应用前景广阔。

目前,市场上没有针对畜禽死体堆肥专用的菌剂,而利用堆体中的土著微生物或添加畜禽粪便堆肥菌剂会导致堆肥效率低下和堆肥产品质量不佳^[10]。相比畜禽粪便堆肥,病死猪堆肥过程中存在 2 个突出问题:(1)氮素损失和恶臭更严重,不仅造成空气污染,而且降低了肥料中的氮素养分含量^[1];

(2)堆肥中的油脂含量可高达 20.3%,对植物具有一定的毒性,严重影响堆肥产品的质量^[11-12]。目前,研制专门针对畜禽死体堆肥的微生物菌剂成为科研工作者的关注重点^[13]。因此,本研究采用模拟堆肥试验,研究了前期实验室筛选出的高产脂肪酶菌株和除臭保氮菌株在病死猪堆肥过程中的保氮效果和降油脂效果,旨在为病死猪堆肥菌剂的研发提供科学依据,推进堆肥法在畜禽死体无害化处理方面的推广。

1 材料与方法

1.1 堆肥材料

试验在湖南永安原生生物科技股份有限公司进行,堆肥原料主要是病死猪和锯木屑。试验前将病死猪和锯木屑按 3:1 比例(鲜质量比)投入 LT-2000 型无害化高速处理设备运行 48 h 后放料,主要目的是对病死猪及辅料进行物理性粉碎和混匀,物料的基本理化性质见表 1。

表 1 堆肥原料的理化性质

原料	含水率(%)	全碳(g/kg)	全氮(g/kg)	C/N
病死猪	72.5	403.8	35.4	11.4
锯木屑	12.6	384.1	7.8	49.2

1.2 堆肥菌剂

枯草芽孢杆菌 KF-1 为实验室分离筛选获得的具有降解油脂效果的菌株,纳豆芽孢杆菌 J-2 为实验室分离获得的

收稿日期:2018-05-18

基金项目:湖南省科技厅重点研发计划(编号:2017NK2155);湖南省生猪产业技术体系生猪产业规模养殖与环境控制岗位项目。

作者简介:刘 标(1986—),男,湖南浏阳人,助理研究员,从事环境微生物研究。E-mail:280795307@qq.com。

通信作者:刘慧知,男,湖南宁乡人,教授,从事环境微生物学方面的研究。E-mail:hndwsw@126.com。

[27] Prost K, Borchard N, Siemens J, et al. Biochar affected by composting with farmyard manure[J]. Journal of Environmental Quality, 2013, 42(1):164-172.

[28] Steiner C, Das K C, Melear N, et al. Reducing nitrogen loss during poultry litter composting using biochar[J]. Journal of Environmental Quality, 2010, 39(4):1236-1242.

[29] Zhang J N, Lü F, Luo C H, et al. Humification characterization of biochar and its potential as a composting amendment[J]. Journal of Environmental Sciences, 2014, 26(2):390-397.

[30] Meng L Q, Li W G, Zhang S, et al. Effects of sucrose amendment on ammonia assimilation during sewage sludge composting[J]. Bioresource Technology, 2016(210):160-166.

具有除臭效果的菌株,木霉菌 Y-5 为具有快速降解纤维素功能的菌株。先制备各菌株的种子液,然后接种至发酵培养基中 30 ℃ 培养 48 h,低温保存发酵液(活菌数均约为 3.0×10^9 CFU/mL)。菌剂 1 为菌株 KF-1、J-2、Y-5 等体积混匀后制成的发酵液,菌剂 2 为商业复合有机肥发酵剂(购自江苏绿科生物技术有限公司,活菌数约为 3.0×10^9 CFU/g),具有促进畜禽粪便腐熟的功能。

1.3 试验方案

堆肥基质为“1.1”节中经过粉碎与混匀后的物料,各堆体总质量约为 300 kg,堆肥开始时调节各堆体的 C/N 约为 25,含水量为 55%~60%。本试验共设 3 个处理:(1)对照(CK):300 kg 堆肥基质,不添加外源菌剂;(2)试验组 T_1 :300 kg 堆肥基质,加入 6 L 菌剂 1;(3)试验组 T_2 :300 kg 堆肥基质,加入 6 kg 商业化菌剂 2。将菌剂与堆肥基质充分混匀后堆制成长、宽、高约为 $1.5 \text{ m} \times 1.5 \text{ m} \times 1.0 \text{ m}$ 的堆体,每个处理重复 3 堆。本次试验于 2017 年 6—7 月在室内大棚进行,持续时间共 30 d。每天上午 10:30 用水银温度计测定距堆体表面 20 cm 左右深度的温度和同一时刻的环境温度,分别在堆肥的 7、14、21、28 d 进行机械翻堆。

1.4 测定项目及方法

分别在堆肥 0、3、6、9、12、15、20、25、30 d 的堆体前后左右及中心位置点进行 5 点混合取样,各堆体每次取样量约为 500 g,样品风干后用于各指标的测定。pH、有机质、全氮(TN)含量按照有机肥标准《NY 525—2012》中的方法测定,水溶性铵态氮和硝态氮含量分别采用靛酚蓝比色法和紫外分光光度法测定^[14]。

分别测定各堆体初始时间、15、20、25、30 d 样品的油脂含量和种子发芽指数(GI)。油脂含量的测定采用索氏提取法测定。种子发芽指数测定方法:取 10 g 各样品加入 100 mL 蒸馏水浸泡,振荡 1 h 后滤纸过滤。吸取 6 mL 滤液,加入到铺有滤纸的培养皿(直径为 9 cm)中,每个培养皿均匀点播 20 粒饱满萝卜种子,30 ℃ 暗培养 48 h,测定发芽率和根长,同时以蒸馏水为空白对照^[1]。计算公式: $GI = (\text{处理的种子发芽率} \times \text{处理种子根长}) / (\text{对照的种子发芽率} \times \text{对照种子根长}) \times 100\%$ 。

1.5 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 进行处理及作图,利用 SPSS 18.0 统计分析软件进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 堆肥温度变化

堆体温度变化是微生物活动的结果,是反映堆肥发酵是否正常进行的最直观和最重要的指标。由图 1 可知,在发酵过程中,各处理的温度变化均呈现出“先升高后降低,然后保持稳定”的趋势。CK、 T_1 、 T_2 处理分别在堆肥 4、3、3 d 达到高温期(>50 ℃),各堆体高温维持时间分别为 12、14、13 d。根据高温堆肥的无害化要求(GB 7959—2012),堆温在 50 ℃ 以上持续 10 d 可完全杀灭病原细菌及虫卵,本研究所有处理均达到无害化要求。 T_1 、 T_2 处理与 CK 处理在达到高温期的时间及高温维持时间方面无显著性差异,说明本试验添加的外源菌剂对堆肥温度无显著的促进作用。

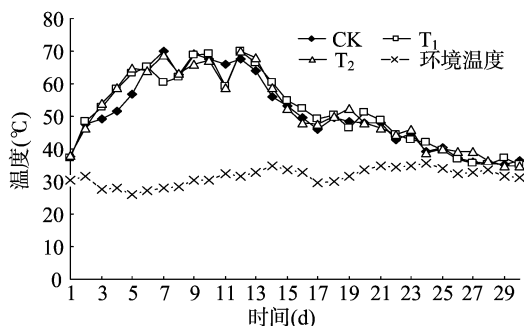


图1 堆肥温度的变化

2.2 堆肥 pH 值变化

由图 2 可见,各处理的 pH 值均呈先升后降趋势,这与温度的变化趋势类似。堆肥起始时,各堆体的 pH 值基本相同,随着堆肥的进行,由于微生物的氨化作用,导致堆体中有有机氮分解,产生大量氨氮,使得 pH 值上升。CK、 T_1 、 T_2 处理 pH 值最大值分别出现在 12、9、6 d,分别为 7.72、7.81、7.88。此后,各堆体随着氨化作用减弱、硝化作用增强,pH 值下降。堆肥结束时,CK、 T_1 、 T_2 组 pH 值分别为 7.23、6.65、7.06, T_1 处理的 pH 值显著低于 CK、 T_2 处理($P < 0.05$)。

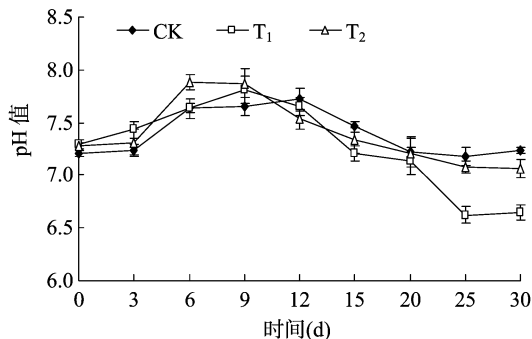


图2 堆肥 pH 值的变化

2.3 堆肥中有机质含量的变化

由图 3 可知,各堆体中的有机质含量前期不断降低,后期趋于稳定。堆肥结束时,堆体 CK、 T_1 、 T_2 处理的有机质含量分别为 52.4%、62.1%、59.5%,与初始相比分别下降了 17.2、8.0、9.8 百分点,添加了外源菌剂的有机质下降幅度小于对照处理组。

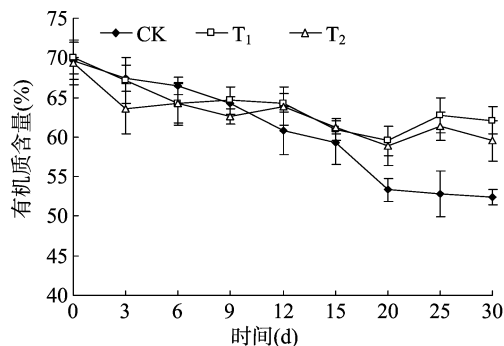


图3 堆肥有机质含量的变化

2.4 堆肥中铵态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^- - \text{N}$)和全氮含量的变化

堆肥中的铵态氮含量与堆肥过程中的臭度呈正相关关系,铵态氮转化为氨气挥发是氮素损失的主要来源。铵态氮

含量的变化,由图4可知,各处理的铵态氮含量均表现为先升后降的趋势。堆肥前期,由于具有氨化作用微生物的活动,堆肥中含氮有机物大量转化 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, 铵态氮含量大量增加。CK、 T_1 、 T_2 处理的峰值分别在 15、15、12 d 时出现,最大值分别为 2 018.6、2 634.7、2 597.6 mg/kg。此后,伴随着堆肥过程中氨气挥发损失及硝化作用的增强,各堆体的铵态氮含量迅速下降。堆肥结束时,各处理组铵态氮含量分别降低至 613.2、996.4、779.6 mg/kg,与初始量相比,降低幅度分别为 46.4%、14.0%、30.7%, T_1 处理的铵态氮含量显著高于对照组和 T_2 处理 ($P < 0.05$),说明病死猪堆肥中添加菌剂 1 可以显著增加堆肥中铵态氮的含量。

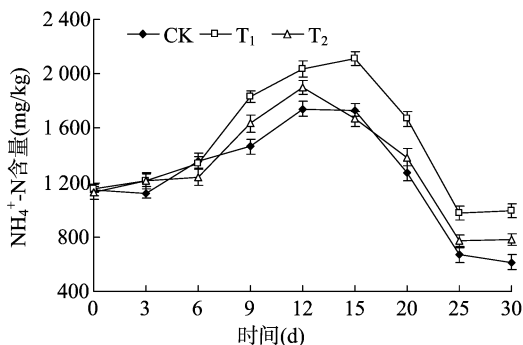
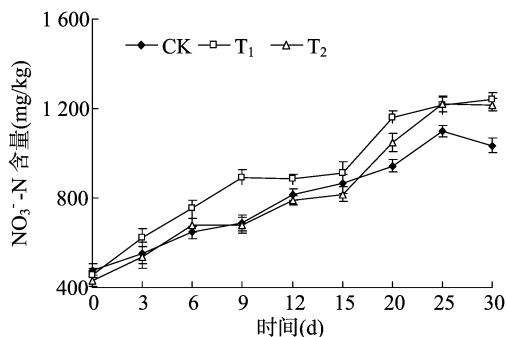


图4 堆肥铵态氮的变化

由图5可知,各处理的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量变化总体呈增加的趋势,但在堆肥降温期增加速率最快。堆肥结束时,CK、 T_1 、 T_2 处理的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量分别为 1 033.6、1 241.6、1 216.4 mg/kg,比堆肥初期分别增加了 117%、172%、183%, T_1 、 T_2 处理的确态氮含量显著高于 CK 处理 ($P < 0.05$)。

图5 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量的变化

全氮含量是判断有机肥效果的一个重要指标,由图6可知,各处理的全氮含量变化趋势相同,均呈下降趋势。堆肥结束时,CK、 T_1 、 T_2 处理的全氮含量分别为 15.3、18.9、15.5 g/kg,比堆肥初期分别降低了 40.2%、25.9%、40.2%。 T_1 处理的全氮含量显著高于对照和 T_2 处理 ($P < 0.05$),这说明添加菌剂 1,可以降低氮素损失,具有保氮效果。

2.5 堆肥油脂含量的变化

由图7可知,堆肥的前 25 d,各组的油脂含量均呈不断降低的趋势;25~30 d,各堆体中的油脂含量无明显变化。堆肥结束时, T_2 处理的样品由于油脂含量高,堆肥呈深褐色,而 T_1 处理的样品油脂含量低,颜色较 T_2 浅(图8)。CK、 T_1 、 T_2 样品的油脂含量分别为 14.84%、7.52%、15.95%,各组的油脂降解率分别为 39.2%、70.9%、37.1%, T_1 的油脂含量显著低

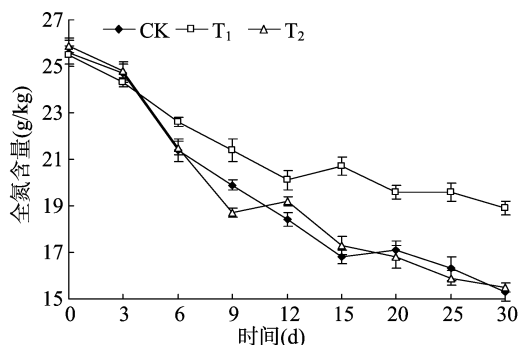


图6 堆肥全氮含量的变化

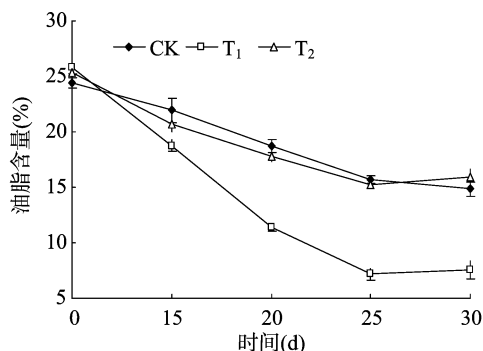


图7 堆肥油脂含量的变化

图8 堆肥的外观形态(左: T_2 , 右: T_1)

于 CK、 T_2 的油脂含量 ($P < 0.05$)。堆肥中的油脂含量与堆肥的植物毒性密切相关,油脂含量高,会降低肥料的品质。结果表明,添加菌剂 1 有利于降低堆肥中的油脂含量。

2.6 外源菌剂对种子发芽指数 (GI) 的影响

种子发芽指数是判断堆肥产品是否腐熟的主要指标之一,同时也能反映堆肥产品的植物毒性。一般认为,当 $GI > 80\%$ 时,说明堆肥产品对植物基本无毒性,达到完全腐熟^[15]。表2可知,堆肥开始时,萝卜种子的萌发受到抑制,随着堆肥的进行,各组的 GI 逐渐增大,25 d 时, T_1 处理的 GI 值达到 128.9%,而 CK、 T_2 处理的 GI 仍小于 80%。堆肥结束时, T_1 处理的 GI 达到 127.3%,显著大于 CK、 T_2 的 GI ($P < 0.05$)。

3 讨论

目前,微生物菌剂在畜禽粪便、农作物秸秆等堆肥中得到广泛的应用,大量研究表明,外源菌剂的添加对于堆肥的升温、腐熟均有促进作用。但以畜禽死体为原料的堆肥,由于原料中的氮素含量和油脂含量高,在堆肥过程中易产生臭味重、氮素损失量多、肥料的腐熟度低、对植物具有毒性等问题^[4]。针对畜禽死体原料的性质,筛选特定的微生物菌剂,是促进畜禽死体堆肥腐熟、减少臭气排放的重要途径之一。

本试验中对照组 (CK)、添加自主研发的菌剂组 (T_1) 和商品菌剂组 (T_2) 在堆体最高温度、高温维持天数方面无显著

表 2 外源菌剂对种子发芽指数的影响

处理	种子发芽指数(%)				
	0 d	15 d	20 d	25 d	30 d
CK	21.3 ± 4.5a	23.4 ± 5.1a	42.8 ± 5.2a	68.6 ± 9.5a	78.6 ± 10.2a
T ₁	22.4 ± 5.8a	43.8 ± 4.7b	72.6 ± 8.5b	128.9 ± 8.7b	127.3 ± 8.3b
T ₂	22.7 ± 7.2a	27.6 ± 6.8a	51.3 ± 7.7a	74.3 ± 4.6a	81.2 ± 6.9a

注:同列数据后不同小写字母表示各处理间差异显著($P < 0.05$)。

性差异,均符合高温堆肥的无害化要求(GB 7959—2012)。堆肥结束时,T₁处理的pH值显著低于CK、T₂处理,推测原因可能是菌剂1中的微生物在代谢过程中产生了大量的酸性物质,较低的pH值可抑制铵态氮转化为氨气,有利于堆肥中氮素的保持^[16]。

堆肥中氮的主要形态包括有机氮、硝态氮、铵态氮和氨气等,不同形态的氮素发生的转化与微生物的活动密切相关。本试验中,各处理组的铵态氮含量表现为先升高后降低的趋势、硝态氮含量表现为逐渐增加的趋势,而全氮含量表现为逐渐降低的趋势,这与林小凤等报道的鸡粪堆肥^[17]、徐路魏等报道的蔬菜废弃物堆肥^[18]、肖礼等报道的猪粪堆肥^[19]等研究中的变化趋势一致。造成这一趋势的原因可能是前期堆体中氨化细菌大量繁殖,有机氮大部分转化为铵态氮,铵态氮含量大量上升,由于氨气的释放量与铵态氮含量呈正相关关系,导致氨气大量挥发,全氮含量快速降低。堆肥后期,随着堆肥温度降低,硝化细菌大量繁殖,硝化作用增强,铵态氮转化为硝态氮,因此铵态氮含量大幅减少,而硝态氮含量大量上升。堆肥后期,由于氨气的释放及反硝化作用(硝态氮被还原成氨气),因此堆肥的全氮含量继续降低。堆肥结束时,添加菌剂1的T₁处理组的铵态氮、硝态氮和全氮含量均显著高于CK组、T₂组,说明自主研发的菌剂可以减少堆肥氮素的损失,对提高肥料的品质具有较好效果。

与以猪粪^[19]、鸡粪^[20]为原料的堆肥相比,本研究中各处理组在相同时间的种子发芽指数均较低,综合分析堆肥过程中有机质的含量及油脂的含量变化,推测造成种子发芽指数偏低的原因可能是堆体中的油脂含量高,抑制了萝卜种子的萌发。与市场上购买的商品菌剂相比,本试验中添加的自主研发的菌剂,能使堆肥中的油脂含量大幅降低,对于促进堆肥的腐熟具有显著效果。

本试验结果显示,在病死猪堆肥中添加以枯草芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、木霉菌组合而成的微生物菌剂,可以显著降低堆体中的油脂含量,减少堆肥氮素的损失,促进堆肥的腐熟,在病死猪堆肥中具有广阔的应用前景。

参考文献:

[1]雷平,刘标,尹红梅. 过磷酸钙在病死猪堆肥中保氮效果研究[J]. 农业资源与环境学报,2017,34(3):266-271.

[2]薛瑞芳. 病死畜禽无害化处理的公共卫生学意义[J]. 畜禽业,2012(11):54-57.

[3]陈腾飞,吴志明,刘阳利,等. 热辅快速生物发酵分解工艺无害化处理病死猪尸体效果评估[J]. 动物医学进展,2015,36(5):81-85.

[4]陶秀萍,董红敏. 畜禽尸体堆肥无害化处理技术现状[J]. 现代畜牧兽医,2014(7):25-29.

[5]Berge A C, Glanville T D, Millner P D, et al. Methods and microbial risks associated with composting of animal carcasses in the United States[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2009,234(1):47-56.

[6]Eamens G J, Dorahy C J, Muirhead L, et al. Bacterial survival studies to assess the efficacy of static pile composting and above ground burial for disposal of bovine carcasses[J]. Journal of Applied Microbiology, 2011,110(6):1402-1413.

[7]Schwarz M, Bonhotal J, Harrison E, et al. Effectiveness of composting Road-Killed deer in New York state[J]. Compost Science and Utilization,2010,18(4):232-241.

[8]Petersen S O, Sommer S G. Ammonia and nitrous oxide interactions: Roles of manure organic matter management[J]. Animal Feed Science and Technology,2011,166-67(SI):503-513.

[9]习佳林,董红敏,朱志平,等. 死畜禽堆肥化处理研究进展[J]. 中国农业科技导报,2010,12(2):76-80.

[10]卢青青. 猪尸体好氧堆肥生物强化技术研究[D]. 武汉:华中农业大学,2017:4-5.

[11]肖翰,刘标,尹红梅,等. 病死猪堆肥高效油脂降解菌的筛选及堆肥效果研究[J]. 浙江农业学报,2017,29(1):44-50.

[12]阚慧,孙翔,肖芸,等. 基于好氧堆肥的餐厨垃圾肥料化利用污染分析及控制策略[J]. 环境工程,2014,32(1):97-101.

[13]李海龙,李吕木,钱坤,等. 病死猪堆肥高温降解菌的筛选、鉴定及堆肥效果[J]. 微生物学报,2015,55(9):1117-1125.

[14]鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社,2000:107-160.

[15]张雪辰,邓双,杨密密,等. 畜禽粪便堆腐过程中有机碳组分与腐熟指标的变化[J]. 环境科学学报,2014,34(10):2559-2565.

[16]李冰,王昌全,江连强,等. 化学改良剂对稻草猪粪堆肥氨气释放规律及其腐熟进程的影响[J]. 农业环境科学学报,2008,27(4):1653-1661.

[17]林小凤,李国学,任丽梅,等. 氯化铁和过磷酸钙控制堆肥氮素损失的效果研究[J]. 农业环境科学学报,2008,27(4):1662-1666.

[18]徐路魏,王旭东. 生物质炭对蔬菜废弃物堆肥化过程氮素转化的影响[J]. 农业环境科学学报,2016,35(6):1160-1166.

[19]肖礼,黄懿梅,赵俊峰,等. 外源菌剂对猪粪堆肥质量及四环素类抗生素降解的影响[J]. 农业环境科学学报,2016,35(1):172-178.

[20]张翠娟,贾楠,胡栋,等. 低温型复合发酵菌剂接种鸡粪堆肥的效应[J]. 环境工程学报,2016,10(10):5881-5885.