

猪粪尿中添加不同底物对挥发性脂肪酸 和本土菌群的影响研究

黄 灿¹, 唐新燕², 彭绪亚¹, 李 季³

(1.重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045; 2.重庆大学生物工程学院, 重庆 400044; 3.中国农业大学资源与环境学院, 北京 100094)

摘 要:猪粪尿中含有一些未经消化的有机物质,如蛋白质、淀粉,在厌氧或兼性厌氧条件下,粪尿中的微生物能利用这些有机质作为代谢底物,产生挥发性脂肪酸、醇类、胺类、芳香类等恶臭化合物,然而很少有研究比较不同底物在粪尿恶臭产生过程中的作用。本研究采用室内培养方法,将收集的新鲜猪粪、尿和去离子水按 10:7:3 的比例(重量比)进行混合摇匀配成猪排泄物样本,旨在探讨蛋白质、淀粉等不同底物在粪尿挥发性脂肪酸等恶臭化合物产生过程中的作用及其对粪尿本土菌群的影响。结果表明,玉米淀粉、酪蛋白的添加均促进了猪粪尿中总挥发性脂肪酸的产生量,5 周后未添加的对照组、添加玉米淀粉、酪蛋白组总挥发性脂肪酸浓度分别由培养初期的 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加至 5 周后的 133、183、172 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。就粪尿中总挥发性脂肪酸的具体组分而言,酪蛋白的添加增加了异丁酸、戊酸、异戊酸等长链或分支的挥发性脂肪酸在猪粪尿总挥发性脂肪酸中的比例,5 周内异丁酸、戊酸、异戊酸占总挥发性脂肪酸比例分别由培养前的 1.4%、7.4%、5.6%增加至 5 周后的 13.9%、10%、14%。本土菌群中,玉米淀粉、酪蛋白的添加促进了猪粪尿中乳酸菌、优杆菌的增殖。玉米淀粉、酪蛋白的添加对链球菌、梭菌作用效果并不相同,玉米淀粉更易于链球菌的生长,而酪蛋白更易于梭菌的生长。

关键词:底物;猪粪尿混合物;挥发性脂肪酸;本土菌群

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)02-0388-05

Effect of Adding Different Substrates to Swine Waste Slurries on Volatile Fatty Acids and Indigenous Bacterial Genera

HUANG Can¹, TANG Xin-yan², PENG Xu-ya¹, LI Ji³

(1.Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 2.College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China; 3.College of Resource and Environment Science, China Agriculture University, Beijing 100094, China)

Abstract: Microorganisms play an important role in the production of odors in swine waste slurries. It has accessed to a wide variety of undigested swine waste slurries substances, including lipids, protein and carbohydrates to produce a complex chemical mixture of volatile fatty acids (VFAs), alcohols, amides and aromatic compounds. It is proved that VFAs most closely correlate to manure odor. However, no information is available on the effect of different manure substances on VFAs production *in vitro*. The objective of this study was to assess *in vitro* the effect of different manure substances on total VFAs, individual VFAs and main indigenous bacterial genera in swine waste slurries. After collection, swine waste slurry (faeces:urine:deionized water, 10:7:3, weight basis) were blended. The treatments used for this study were no addition control, 5% (m/m) corn starch and 5% (m/m) casein. The results indicated that the total VFAs in all treatments continuously increased throughout the 5 weeks of the incubation. After the 5-week incubation, the content of total VFAs in no addition control, corn starch and casein group increased from an initial average concentration of $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ to 133 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 183 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and 172 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. As for individual VFAs, addition of casein had a substantial impact on the accumulation of isobutyrate, valerate and isovalerate and percentages of

收稿日期:2008-04-24

基金项目:国家自然科学基金资助(20807059);重庆大学青年骨干教师创新能力培育基金资助(CDCX025)

作者简介:黄 灿(1977—),男,博士,主要从事固体废弃物处理与资源化方面的教学与研究工作。E-mail:huangcancau@163.com

isobutyrate, valerate and isovalerate relative to total VFA concentration in swine waste slurry increased from an initial 1.4%, 7.4% and 5.6% to 13.9%, 10% and 14% respectively after the 5-week incubation. Addition of different substances *in vitro* to swine waste slurry had different impact on different indigenous bacterial genera. Addition of both corn starch and casein increased the number of *Lactobacillus* and *Eubacterium* in swine waste slurries. Compared with others indigenous bacterial genera, corn starch was more beneficial to the growth of *Streptococcus*. In contrast, *Clostridium* was prone to use casein.

Keywords: substrates; swine waste slurries; volatile fatty acids; indigenous bacterial genera

随着我国畜禽养殖业的迅速发展,城郊和工矿区集中了大量的集约化大型畜禽养殖场,而多数尚无完善的粪尿处理设施,造成了大气的恶臭污染和土壤、水体的有机物及病原菌污染。与畜禽粪尿引发的土壤、水体污染相比,恶臭是一种多组分混合物形成的感官污染,很难量化和评价。研究表明^[1],恶臭的强度与其组成物分子浓度的对数(而不是组成物的分子浓度)呈正比,这就意味着即使恶臭的组成物浓度下降了90%,而人的感觉却只有50%。恶臭的这些特征增加了其控制的难度和复杂性。

畜禽粪尿中含有未消化的有机物质,如淀粉、脂肪、蛋白质、非淀粉碳水化合物。粪尿中的这些有机质在厌氧或兼性厌氧条件下经过微生物的酵解作用,产生挥发性脂肪酸、醇类、胺类、芳香类等恶臭化合物^[2]。粪尿中的有机质是微生物作用的底物,目前,已有的畜禽粪尿恶臭报道多集中在控制方法上^[3-4],很少有研究比较不同底物在粪尿恶臭产生过程中的作用。本研究旨在探讨蛋白质、淀粉等不同底物在粪尿挥发性脂肪酸等恶臭化合物产生过程中的作用及其对粪尿本土菌群的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜猪粪尿取自中国农科院畜牧所养猪场(育肥猪,日粮主要成分是85%的玉米和11%豆粕)。试验所用的玉米淀粉和酪蛋白等试剂均购至北京化学试剂公司。

1.2 试验设计

试验开始前将收集的新鲜猪粪、尿和去离子水按10:7:3的比例进行混合摇匀配成猪排泄物样本。将猪排泄物样本500 mL装入1 L三角瓶中,每组3瓶,共3组,分别为不添加的对照,添加5%(m/m,下同)的玉米淀粉组,5%的酪蛋白,用橡皮塞密封瓶口,置于室温25℃的环境下静止培养。各组接入以上添加物充分摇匀1 min后取样,该时间点定为0。试验共进行35 d。

1.3 粪尿中挥发性脂肪酸的测定

在5周时间内,每隔1周取样(取样前充分摇匀)测定猪粪尿混合物液相中的总挥发性脂肪酸(包括乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸)和单个挥发性脂肪酸浓度。

挥发性脂肪酸的测定:取培养后的猪粪尿与无离子水按1:1的比例混合均匀,1 000 r·min⁻¹离心15 min,取其上清液用20%的盐酸将pH值调至2.6~3.2之间,用Shimadzu14A气相色谱仪按内标法测定挥发性脂肪酸含量。色谱法测定挥发性脂肪酸的条件为:规格为Φ3 mm×2 m的玻璃柱,填充物为10% SP-1200和1% H₃PO₄涂于Chromosorb WHP(80-100目),检测器为氢火焰离子化检测器,测试条件柱温160℃,气化室温度190℃,检测室温度190℃,载气(H₂)50 mL·min⁻¹,燃气(N₂)50 mL·min⁻¹。

1.4 粪尿中主要本土菌群数量的测定

分别在第10、20、35 d取培养好的猪粪尿,按活菌稀释平板计数法进行测定,乳酸菌(*Lactobacillus*)和链球菌(*Streptococcus*)分别采用改良的APT和PDA琼脂^[6],乳酸菌在普通厌氧手套箱中培养48 h,链球菌在需氧情况下培养72 h;梭菌(*Clostridium*)和优杆菌(*Eubacterium*)分别采用Clostrisel和改良的ES琼脂^[6],以上各菌均在37℃条件下进行培养。

2 结果与分析

2.1 添加不同底物对猪粪尿混合物总挥发性脂肪酸浓度的影响

畜禽粪尿产生的恶臭成分复杂,且各种组分的臭味相互干扰而非简单叠加,这增加了恶臭控制的难度。目前有两种方法评价恶臭:测定恶臭组分中单一气体的浓度、直接用人的嗅觉闻臭。然而,这两种方法评价恶臭的结果之间并没有很好的相关性^[7]。当评价畜禽粪尿产生的恶臭时,重点考虑的是人嗅觉对恶臭刺激物的反应,如果一种或一组化合物容易测定且与闻臭法之间有很好的相关性,它就有可能被选为畜禽粪尿恶臭的指示物(Indicators of odors)^[1]。

近几十年来,许多研究者尽力阐明畜禽粪尿恶臭各组分气体之间的关系,试图寻找到恶臭的指示物。Lunn 和 Van De Vyver^[8]报道,尽管氨在畜禽粪尿中浓度较高,在评估粪尿恶臭强度时却被证明是一个很差的参数。Spoelstra^[9]报道,大部分刺激性强、嗅阈值低的恶臭组分缘于蛋白质的分解,氨和硫化氢作为畜禽粪尿中恶臭的指示物是不合适的,氨并不能反映粪尿有机物降解的动力学特征,因为大部分粪尿中的氨来源于尿素水解,而且在甲烷菌利用底物生成甲烷的过程中,氨的浓度几乎保持不变。与挥发性有机物相比,氨对好氧处理也显示出滞后效应。硫化氢的形成也不能反映粪尿有机物降解动力学特征,因为相当一部分硫化氢来自硫酸盐的还原。因而,他推荐使用挥发性脂肪酸作为指示物用于评价粪尿各种恶臭控制技术的除臭效果。Williams^[10]研究也指出,氨、硫化物作为粪尿恶臭的指示物是没有价值的。Zahn 等^[11]在对 29 个养猪场的调查发现 C_{2-9} 挥发性脂肪酸的存在与猪场空气质量下降存在着最大相关性。以上各研究者都一致推荐挥发性脂肪酸作为猪粪尿中恶臭的指示物,因而减少挥发性脂肪酸的形成或及时对其转化可能在猪场粪尿恶臭污染的控制过程中起着重要作用。

畜禽粪尿中挥发性脂肪酸来源于氨基酸脱氨和可溶性碳水化合物的厌氧发酵^[2]。从图 1 可以看出,不管是对照还是添加玉米淀粉、酪蛋白组,猪粪尿中总挥发性脂肪酸在培养的 5 周内持续增加。总挥发性脂肪酸浓度持续增加主要是由于发酵型细菌降解粪尿有机质的能力超过本土共生菌、产甲烷菌利用发酵后代谢产物的能力^[1]。从图 1 还可看出,不同底物对总挥发性脂肪酸产生的贡献率并不相同,未添加的对照组、添加玉米淀粉、酪蛋白组总挥发性脂肪酸浓度分别由培养初期的 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加至 5 周后的 133、183、172 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究中添加玉米淀粉后 5 周内总挥发性脂肪酸的增加值超过酪蛋白组,这是否意味着猪粪尿中本土菌群更易利用玉米淀粉厌氧酵解产生挥发性脂肪酸还有待于进一步验证和研究。畜禽粪尿中氨基酸、可溶性碳水化合物主要来自日粮中未消化的蛋白质和淀粉,减少排泄物中这些物质含量的一种有效方法就是合理对畜禽日粮进行调节,增加日粮的消化率,目前,许多研究者已证实了这种方法的可行性^[5]。

2.2 添加不同底物对猪粪尿混合物单个挥发性脂肪酸浓度的影响

近几来,有研究显示,不同的挥发性脂肪酸对粪

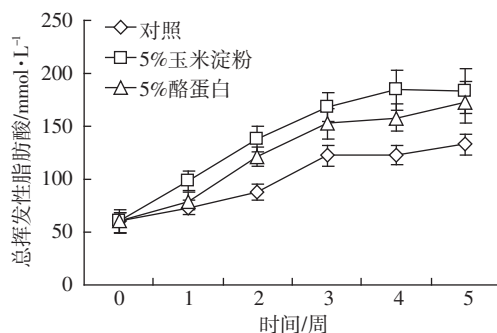


图 1 不同底物添加后对猪粪尿中总挥发性脂肪酸浓度的影响
Figure 1 Effect of adding different substrates on total volatile fatty acids in swine waste slurry

尿恶臭的贡献可能并不相同。Mackie^[2]研究指出,尽管短链挥发性脂肪酸在粪尿中浓度高且具有很强的挥发性,低臭阈值的长链挥发性脂肪酸从本质上来说更令人难以忍受,粪尿中总挥发性脂肪酸浓度高并不总是意味着相应的恶臭强度也高,因为高臭阈值的短链挥发性脂肪酸在总挥发性脂肪酸中占有很大比重。Zhu^[12]评估了 5 种商业添加剂在畜禽粪尿中的应用,发现一些添加剂能减少恶臭的臭阈值,但对总挥发性脂肪酸的浓度却无显著影响,粪尿的恶臭强度与总挥发性脂肪酸的浓度并不直接相关,它取决于总挥发性脂肪酸中单个挥发性脂肪酸的组成和浓度。此外,Zhu^[1]在一篇综述性文章中也指出,与畜禽特别是猪粪尿恶臭强度紧密相关的挥发性脂肪酸可能局限于那些长链($<C_{10}$)或支链的挥发性脂肪酸,主要包括异丁酸、戊酸、异戊酸、己酸和异己酸等。

表 1 表明,5 周内对照、玉米淀粉、酪蛋白组乙酸占总挥发性脂肪酸的比例分别由培养前的 47%、47%、50%降至 5 周后的 37.5%、45.3%、24.4%,而同期内以上组别丁酸的比例却由培养前的 6.6%、6%、6.8%增加至 5 周后的 14.2%、15.6%、15.6%。粪尿中的有机质在不同微生物的作用下能通过同型、异型或混合型乳酸发酵产生醇类、直链或支链挥发性脂肪酸、乳酸。Kung 和 Hessin^[13]研究指出,畜禽粪尿中的埃氏巨型球杆菌(*Megasphaera elsdenii*)和月型单胞菌(*Selenomonas ruminantium*)能将乳酸转变为丁酸,这可能是 5 周内丁酸不管是净浓度还是占总挥发性脂肪酸比例持续增加的原因。

从表 1 还可看出,猪粪尿中添加酪蛋白 5 周内异丁酸、戊酸、异戊酸占总挥发性脂肪酸比例持续增加,分别由培养前的 1.4%、7.4%、5.6%增加至 5 周后的 13.9%、10%、14%,而对照组在同期内异丁酸、戊酸占总挥发性脂肪酸比例分别由培养前的 1.7%、7.5%增加至

表 1 不同底物添加后对猪粪尿中单个挥发性脂肪酸浓度的影响
Table 1 Effect of different substrates on individual volatile fatty acids in swine waste slurry

组别	时间/周	浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$					
		乙酸	丙酸	丁酸	异丁酸	戊酸	异戊酸
对照	0	28.15	18.88	3.97	1.03	4.51	3.38
	1	29.38	24.90	8.52	0.83	5.63	4.19
	2	34.35	29.83	10.12	0.98	8.06	4.30
	3	49.07	40.33	12.23	1.76	10.80	7.85
	4	47.53	42.34	17.00	1.99	9.33	4.55
	5	48.71	43.66	18.48	2.96	10.83	5.38
5% 玉米淀粉	0	28.26	19.12	3.60	1.14	4.20	3.68
	1	42.27	29.62	11.37	2.27	6.50	6.35
	2	61.82	43.20	14.99	1.49	10.31	6.34
	3	70.40	55.55	21.33	3.24	10.14	7.27
	4	78.81	62.92	25.73	1.44	9.99	5.42
	5	82.93	61.92	28.62	1.72	6.93	1.12
5% 酪蛋白	0	30.52	17.38	4.12	0.83	4.50	3.40
	1	38.19	20.34	8.66	1.18	6.19	4.78
	2	46.45	31.54	12.79	6.43	11.24	12.40
	3	50.43	39.05	19.45	12.39	13.51	17.81
	4	50.79	35.96	20.79	16.76	14.31	19.51
	5	42.10	38.13	26.95	23.90	17.31	24.16

5 周后 2.3% 和 8.3%, 异戊酸比例由 5.6% 降至 4.1%。5 周后玉米淀粉组总挥发性脂肪酸中以乙酸、丙酸、丁酸为主, 分别占总挥发性脂肪酸的 45.3%、33.8%、15.6%, 而异丁酸、戊酸、异戊酸占总挥发性脂肪酸的比例很小, 分别为 0.9%、3.8%、0.6%。Mackie^[2]研究指出, 粪尿中支链和芳香类化合物的产生与蛋白质的发酵紧密相关, 蛋白质降解过程中氨基酸脱氨后能产生异丁酸、戊酸、异戊酸等长链或分支的挥发性脂肪酸。

综观以上研究可以发现, 不同底物在猪粪尿恶臭产生过程中的作用并不相同, 玉米淀粉对总挥发性脂肪酸的贡献率更大, 而可溶性的酪蛋白在异丁酸、戊酸、异戊酸等与粪尿恶臭紧密相关的挥发性脂肪酸产生过程中起着重要作用。以上研究是否可得出, 减少畜禽日粮中蛋白质的含量比减少可溶性碳水化合物含量更有利于降低排泄后粪尿恶臭强度结论还不得而知, 进一步研究是必须的。

2.3 添加不同底物对猪粪尿混合物中主要本土菌群的影响

猪粪尿中含有未被消化的蛋白质、碳水化合物。这些物质很容易在厌氧情况下被微生物分解成胺类、硫醇类和挥发性有机酸等恶臭化合物, 微生物是粪尿恶臭产生的主导因素。因而, 分离粪尿混合物中的微

生物, 明确不同菌群在恶臭化合物产生过程中的作用, 对于恶臭的预防和控制具有特别的意义。采用 16S rDNA 技术研究表明^[13], 猪粪尿中主要菌群是专性或兼性厌氧的低 G(鸟苷酸)+C(胞苷酸)值的革兰氏阳性菌, 包括梭菌(*Clostridium*)、优杆菌(*Eubacterium*)、乳酸菌(*Lactobacillus*)和链球菌(*Streptococcus*), 其中梭菌和优杆菌分别由于适应温度范围广、存在数量大而成为猪粪尿中的主要恶臭产生菌。尽管大肠杆菌不是挥发性脂肪酸等重要恶臭指示物的产生菌, 但许多研究者把大肠杆菌作为粪便污染水体的指示菌, 而且大肠杆菌中的许多菌株含有致病因子, 因而控制猪粪尿中的大肠杆菌对于减轻粪便对水体的污染和病原菌的传播具有重要意义^[14]。

表 2 表明, 尽管在各个取样时间点发现添加玉米淀粉、酪蛋白后大肠杆菌的数量较对照组高, 从总体来看, 培养的 5 周内大肠杆菌数量呈现下降的趋势。大肠杆菌是需氧或兼性厌氧菌, 具有呼吸和发酵两种代谢类型, 葡萄糖和其他碳水化合物能被其发酵生成丙酮酸, 进而转化为乳酸、甲酸、乙酸等脂肪酸。本研究采用的是厌氧培养方式, 在培养过程中粪尿中的氧逐渐被消耗, 而大肠杆菌是兼性厌氧菌, 这可能是其培养过程中数量逐渐下降的原因。5 周培养过程中, 乳酸菌数量逐渐增加, 3 个时间点取样均发现玉米淀粉组的乳酸菌数量最高。乳酸菌是严格发酵的耐氧或

表 2 不同底物添加后对猪粪尿中主要本土菌群的影响($\lg\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 2 Effect of different substrates on main indigenous bacterial genera in swine waste slurry($\lg\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$)

时间/d	指标	对照	5%玉米淀粉	5%酪蛋白
10	乳酸菌	9.84	12.73	10.32
	梭菌	7.60	8.02	12.54
	优杆菌	9.05	13.97	13.50
	链球菌	3.47	6.29	4.00
	大肠杆菌	6.04	8.35	7.26
	乳酸菌	12.30	19.57	17.15
20	梭菌	8.42	8.39	16.18
	优杆菌	10.24	15.20	16.06
	链球菌	3.70	8.64	4.79
	大肠杆菌	5.80	8.22	7.09
	乳酸菌	11.94	21.05	20.87
	梭菌	8.10	8.54	19.43
35	优杆菌	8.56	19.17	17.28
	链球菌	2.07	10.04	4.59
	大肠杆菌	3.44	4.16	3.72

厌氧菌,该菌有些菌株能耐酸,有些菌株具有嗜酸性,利用葡萄糖作为碳源,同型乳酸发酵时能产生 85% 以上的乳酸;异型乳酸发酵时能产生相同摩尔数的乳酸、二氧化碳、乙醇或乙酸等代谢产物。在粪尿的发酵过程中,碳水化合物(如玉米淀粉)、蛋白质(如酪蛋白)等代谢底物在粪尿混合菌群的作用下转化为有机酸等化合物,导致环境 pH 值的降低,相比未添加外源营养物质的对照更有利于乳酸菌的生长。有研究表明^[1],与蛋白质相比,乳酸菌更易使用可溶性碳水化合物作为碳源,这可能是本研究中玉米淀粉组乳酸菌数量较酪蛋白组高的原因。从表 2 还可看出,添加玉米淀粉和酪蛋白后显著促进了优杆菌的生长,35 d(5 周)后对照组的优杆菌数为 $8.56 \lg\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,而玉米淀粉和酪蛋白组优杆菌数却分别为 $19.17 \lg\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $17.28 \lg\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。优杆菌是化能异氧的专性厌氧菌,能通过发酵碳水化合物和蛋白质产生有机酸,发酵产物包括甲酸、乙酸、丁酸、乳酸等^[12]。从本研究 3 个时间点取样测定可得出优杆菌更易使用玉米淀粉发酵产酸。梭菌适应生长的温度范围很广,是专性厌氧菌,在厌氧条件生长时能进行 Stickland 反应,即以氨基酸为氢供体,进行氧化脱氨,另一种氨基酸作为氢的受体进行还原脱氨,两者偶联进行氧化还原脱氨,其中有 ATP 的生成^[1]。本研究中,玉米淀粉和对照之间各时间点取样梭菌数量无显著差异,添加酪蛋白显著增加了猪粪尿中梭菌的数量,35 d 后,对照组和玉米淀粉组梭菌数量分别为 8.10 和 $8.54 \lg\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,而添加酪蛋白组梭菌数量却为 $19.43 \lg\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。链球菌是能通过发酵途径代谢底物的化能异养菌,该菌的一些菌株是兼性厌氧的,一些菌株的生长要求一定的二氧化碳浓度,还有一些菌株是严格厌氧的^[1]。本研究中,玉米淀粉显著促进了链球菌的增殖。有研究指出,与蛋白质相比,链球菌能易发酵碳水化合物产生乳酸、乙醇、甲酸、乙酸等其他挥发性脂肪酸^[12],这与本研究的结果基本一致。

3 结论

通过对玉米淀粉、酪蛋白在猪粪尿总挥发性脂肪酸、单个挥发性脂肪酸产生过程中的作用及其对粪尿本土菌群的影响研究可得出如下结论:

(1)玉米淀粉、酪蛋白的添加促进了猪粪尿中总挥发性脂肪酸的产生量,两者相比,玉米淀粉的效果更为明显。

(2)酪蛋白的添加增加了异丁酸、戊酸、异戊酸等长链或分支的挥发性脂肪酸在猪粪尿总挥发性脂肪

酸中的比例。

(3)玉米淀粉、酪蛋白的添加促进了猪粪尿中乳酸菌、优杆菌的增殖。

(4)猪粪尿中添加玉米淀粉和酪蛋白两种底物相比较,玉米淀粉更易于链球菌的生长;酪蛋白更易于梭菌的生长。

参考文献:

- [1] Zhu J. A review of microbiology in swine manure odor control[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2000, 78:93-106.
- [2] Mackie R I, Stroot P G, Varel V H. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste [J]. *Journal of Animal Science*, 1998, 76:1331-1342.
- [3] McCrory D F, Hobbs P J. Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock waste;a review[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30:345-355.
- [4] Nahm K H. Environmental effects of chemical additives used in poultry litter and swine manure[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2005, 35:487-513.
- [5] Otto E R, Yokoyama M, Hengemuehle S, et al. Ammonia, volatile fatty acids, phenolics, and odor offensiveness in manure from growing pigs fed diets reduced in protein concentration[J]. *Journal of Animal Science*, 2003, 81:1754-1763.
- [6] 李影林. 培养基手册[M]. 长春:吉林科学出版社, 1991.
LI Ying-lin. Manual of medium [M]. Changchun:Jilin Sciences Press, 1991.
- [7] Gostelow P, Parsons S A, Stuetz R M. Odour measurement for sewage treatment works[J]. *Water Resources*, 2001, 35:579-597.
- [8] Lunn F, Van De Vyver J. Sampling and analysis of air in pig house[J]. *Agriculture and Environment*, 1977, 3:159-169.
- [9] Spoelstra S F. Origin of objectionable odorous components in piggery wastes and the possibility of applying indicator components for studying odour development[J]. *Agriculture and Environment*, 1980, 5:241-260.
- [10] Williams A G. Indicator of piggery slurry odour offensiveness[J]. *Agriculture Waste*, 1984, 10:15-36.
- [11] Zahn J A, DiSpirito A A, Do Y S, et al. Correlation of human olfactory responses to airborne concentrations of malodorous volatile organic compounds emitted from swine effluent[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30:624-633.
- [12] Zhu J, Bundy D S, Li X, et al. Controlling odor and volatile substances in liquid hog manure by amendment[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1997, 26:740-743.
- [13] Leung K, Topp E. Bacterial community dynamics in liquid swine manure during storage; molecular analysis using DGGE/PCR of 16S rDNA[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 38:169-177.
- [14] Donnenberg M S. Pathogenic strategies of enteric bacteria[J]. *Nature*, 2000, 68:7028-7038.