

除臭菌株对 NH_3 和 H_2S 释放及物质转化的影响

刘春梅, 徐凤花*, 曹艳花, 齐婧媛, 杜俊杰

(东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030)

摘要:将通过高温和氨水逐级驯化筛选的除臭菌株用于牛粪堆肥,研究其对 NH_3 和 H_2S 释放量及物质转化的影响。其中菌株 B1 与 A1 除臭效果最好, NH_3 总释放量较对照分别降低 68.59%和 61.00%, NH_4^+-N 仅增加 4.47%和 7.19%, NO_3^--N 略有提高,而有机氮分别增加 28.99%和 27.42%,说明除臭菌株能将无机态氮转化为有机氮,使全氮含量提高 19.81%和 18.80%,有效地减少了氮素损失; H_2S 总释放量较对照分别降低 89.69%和 86.88%,硫酸盐增加 40.77%和 36.49%,说明菌株可有效促进 H_2S 向硫酸盐转化,减少 H_2S 挥发,使全硫含量提高 29.05%和 22.64%。相关分析显示 NH_3 释放量与 H_2S 释放量、pH 呈极显著正相关,与全氮、有机氮和硫酸盐呈负相关; H_2S 释放量与 pH 呈显著正相关,而与全硫和硫酸盐呈负相关。添加与未添加除臭菌株的 NH_3 和 H_2S 释放量经方差分析差异达到显著水平,表明添加除臭菌株可有效地控制牛粪堆肥 NH_3 和 H_2S 释放,保留氮素和硫素养分。

关键词: NH_3 释放量; H_2S 释放量;氮素;硫素

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)03-0585-06

Effect of Deodorization Microorganisms on Release of NH_3 and H_2S and Matter Transformation

LIU Chun-mei, XU Feng-hua*, CAO Yan-hua, QI Jing-yuan, DU Jun-jie

(College of Resource and Environment Science, Northeast Agricultural University, Haerbin 150030)

Abstract:In this study, the deodorization strains for cow mattle compost were selected by hyperthermia and ammonia sequential domestication, these strains's effect on release amount of NH_3 and H_2S and matter transformation were investigated. Deodorization strains B1 and A1 showed the best effect on deodorization, the total release amount of NH_3 decreased by 68.59% and 61.00% compared to control, NH_4^+-N just increased by 4.47% and 7.19%, NO_3^--N increased slightly, organic nitrogen increased by 28.99% and 27.42%, and total nitrogen increased by 19.81% and 18.80% respectively, the result indicated that deodorization strains can not only stimulate nitrogen transformation, from inorganic nitrogen into organic nitrogen, but also reduce nitrogen loss effectively; Total release amount of H_2S decreased by 89.69% and 86.88% compared to control, sulfate increased by 40.77%, 36.49% and total sulphur content increased by 40.77%, 36.49% respectively, the experimental result showed that deodorization strains promoted transformation of sulfate and reduced sulphur loss. The correlation analysis showed that release amount of NH_3 had a extremely significant positive correlation with release amount of H_2S and pH and a negative correlation with total nitrogen, organic nitrogen and sulfate. Release amount of H_2S had a significant positive correlation with pH and a negative correlation with total sulphur and sulfate. The analysis of variance showed that release amount of NH_3 and H_2S for treatment and control had a significant difference, the results displayed that deodorization strains can control release of NH_3 and H_2S on cow mattle compost effectively, and keeping nitrogen and sulphur.

Keywords:release amount of NH_3 ; release amount of H_2S ; nitrogen; sulphur

畜禽粪便在堆肥过程中会产生大量有害气体,其中 NH_3 和 H_2S 是最主要的恶臭物质,若处理不当会

对周边大气造成严重污染,危及周围居民的健康,还会导致畜禽养殖环境恶化,直接影响养殖业的健康发展。 NH_3 和 H_2S 的释放还会降低堆肥产物中氮素和硫素的含量,影响堆肥产品品质。因此,应采取有效措施减少堆肥过程中 NH_3 和 H_2S 的释放,使其转化成可利用的物质。

恶臭处理分为物理法、化学法和生物法,其中生

收稿日期:2010-09-08

基金项目:黑龙江省科技攻关项目(GB08B501);国家农业科技成果转化基金项目(009GB2B200106)

作者简介:刘春梅(1984—),女,黑龙江齐齐哈尔人,硕士研究生,主要从事农业微生物学研究。E-mail:liuchunmei513@tom.com

* 通讯作者:徐凤花 E-mail:xfh00001@126.com

物脱臭法已成为治理恶臭的重要方法。目前国内筛选的许多除臭菌株在常温下试验均表现出较好的除臭效果^[1-2],而畜禽粪便堆肥时,高温期 NH_3 和 H_2S 释放最高,因此应选育耐高温除臭菌株才能有效控制高温期 NH_3 和 H_2S 释放。关于堆肥过程中氮素损失及转化途径,贺琪、曹喜涛等^[3-4]进行了很多的研究,而对硫素损失及转化途径尚未见报道。

堆肥时加入选育的耐高温除臭菌株,研究其对 NH_3 和 H_2S 释放量的影响,揭示氮素和硫素的转化途径,为畜禽粪便堆肥过程中控制臭气产生提供依据及菌种资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

菌株来源:将从鸡粪、牛粪、猪粪和活性污泥中分离菌株,通过高温和氨水逐级驯化,选育出使新鲜牛粪 NH_3 和 H_2S 释放量降低 50% 以上的 5 个菌株,用于本试验。其中细菌编号为 B1、B2 和 B3,放线菌编号为 A1 和 A2。

堆肥材料:新鲜牛粪、稻草取自香坊农场。

1.2 试验方法

新鲜牛粪和稻草混合均匀后接入 0.5% 高温除臭菌培养液,含水量调至 65% 左右,堆成 2 m×1.5 m×1.2 m 的堆体。设 5 个菌株和 1 个不加菌株共 6 个处理,每个处理放置 6 个瓶,其中 3 个瓶内放置装有硼酸溶液的烧杯用以吸收 NH_3 ;另外 3 个瓶内放置装有锌铵络盐溶液的烧杯用以吸收 H_2S 。人工翻堆,堆肥时间为 15 d。

1.3 测定项目及方法

NH_3 测定采用酸碱滴定法^[5]; H_2S 测定采用锌铵络盐吸收比色法^[6]。

水分含量采用重量法^[7]; pH 值用 pH 计测定^[7]。

全氮采用硫酸-过氧化氢消煮和凯氏定氮法测定^[7];有机氮采用 Bremner 法^[8]; NH_4^+-N 采用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 浸提法^[9]; NO_3^--N 采用还原蒸馏法^[9];硫酸盐用 EDTA 间接络合滴定法^[9];总硫采用灼烧法测定^[10]。

1.4 菌株初鉴定

对具有较强抑制堆肥过程中 NH_3 和 H_2S 释放的菌株,按《常见细菌系统鉴定手册》^[11]和《放线菌的分类和鉴定》^[12]进行菌株初鉴定。

1.5 数据分析

采用 Excel 2003 和 SPSS17.0 进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同菌株处理对 NH_3 和 H_2S 释放量的影响

2.1.1 对 NH_3 释放量的影响

堆肥初期随着温度上升,大量有机物质分解,转化成 NH_4^+-N ,进一步转化为 NH_3 ,所有处理 NH_3 释放量迅速增加,并在第 7 d 达到最高,随着温度逐渐下降及微生物矿化作用减弱,有机态氮降解为 NH_4^+-N 量减少, NH_3 释放量也随之下降。

NH_3 释放量变化见图 1。不同处理在堆肥过程中一直有 NH_3 释放,对照 NH_3 释放量一直较菌株处理高,释放高峰期均出现在高温期,显示高温期是调控 NH_3 释放的关键时期。高温期各处理的 NH_3 释放量均占总释放量的 60% 左右,菌株 B1、A1 与 A2 较对照分别降低了 71.13%、67.74% 和 63.17%;堆肥结束时对照 NH_3 总释放量为 $1.892 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干样,菌株 B1、A1 与 A2 除氨效果较好,较对照分别降低了 68.59%、61.00% 和 54.01%。欧亚玲等^[13]筛选的高温除臭细菌应用于鸡粪堆肥时对 NH_3 去除率最高可达 48.91%,表明选育的除臭菌株对于控制堆肥过程中 NH_3 的释放有很好的效果。

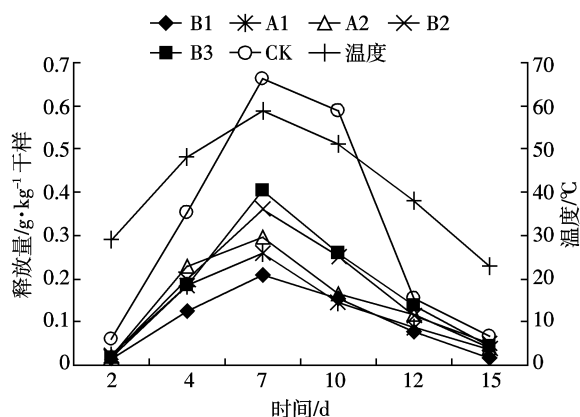


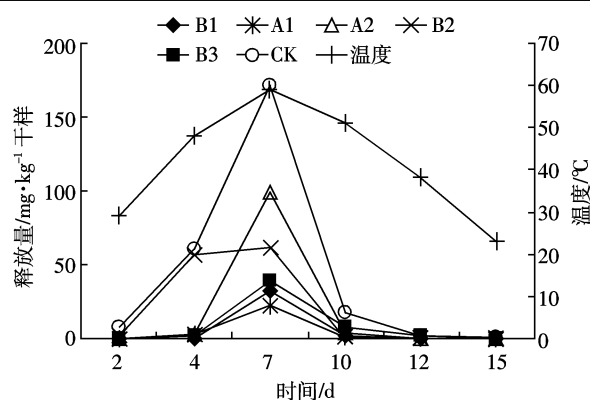
图 1 不同菌株处理 NH_3 释放量

Figure 1 NH_3 release amount of deferent strains

2.1.2 对 H_2S 释放量的影响

随着堆肥时间延长及温度上升,易分解有机物质被快速分解产生大量的含硫化合物, H_2S 释放量逐渐上升,第 7 d 时 H_2S 释放量最高,随后下降。新鲜牛粪 H_2S 的大量释放主要在高温期,因此需要在堆肥高温期控制 H_2S 释放。

不同菌株对降低 H_2S 释放均有一定的抑制作用(图 2),但抑制程度存在一定差异,除菌株 B3 外其他

图2 不同菌株处理 H₂S 释放量Figure 2 H₂S release amount of deferent strains

菌株在第 12 d 时已基本无 H₂S 释放,而对照则一直有 H₂S 释放,并且各时期均较单菌株高。

堆肥结束时菌株 A1、B1 与 B3 较对照分别降低了 89.69%、86.88% 和 80.27%,高温期各处理的 H₂S 释放量均占总释放量的 85% 左右,菌株 A1、B1 与 B3 较对照分别下降了 87.26%、81.92% 和 75.02%,表明除臭菌株在高温阶段有很强的抑制 H₂S 释放能力。

分析图 1 和图 2 可知,菌株 B1 与 A1 对 NH₃ 和 H₂S 的释放均有很好的抑制作用,而菌株 B3 虽然能降低 H₂S 的释放,但对减少 NH₃ 释放的作用则不明显。

2.2 温度对气体释放量的影响

已有研究表明,温度与鸡粪中氮素损失高度相关($r=0.98$),关于猪粪的资料也证明 NH₃ 挥发量与发酵期内物料温度呈显著正相关($r=0.879$),温度越高,损失越多^[14]。不同温度与 NH₃ 和 H₂S 释放量的相关分析结果表明,堆体温度与 NH₃ 释放量间呈极显著正相关($r=0.943^{**}$),与 H₂S 释放量间呈显著正相关($r=0.886^{*}$),即温度越高,气体释放量越多,反之,则越少。

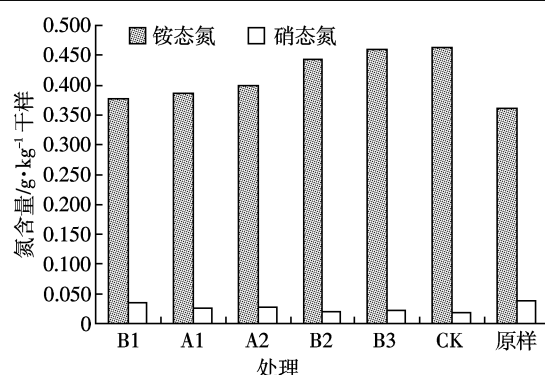
经方差分析,不同除臭菌株处理的高温期 NH₃ 和 H₂S 释放量与对照间差异达到显著性水平 ($P<0.05$),表明选育的菌株在高温期可有效地控制 NH₃ 和 H₂S 释放,抑制臭味产生。因此,应在满足堆肥无害化的前提条件下尽可能缩短高温期,以减少 NH₃ 和 H₂S 的释放,有效地保留氮素和硫素,提高堆肥产品品质。

2.3 不同菌株处理对物质转化的影响

2.3.1 对含氮物质转化的影响

(1) NH₄⁺-N 与 NO₃⁻-N 的变化

堆肥结束时 NH₄⁺-N 含量(图 3)均比堆肥前略有

图3 不同菌株处理对 NH₄⁺-N 与 NO₃⁻-N 的影响Figure 3 Effect of deferent strains on NH₄⁺-N and NO₃⁻-N

提高,pH 值上升,说明有机氮矿化为 NH₄⁺-N 的速率大于 NH₄⁺-N 向其他形态转化的速率。堆肥结束时对照 NH₄⁺-N 含量较堆肥前增加了 28.44%,而除臭效果好的 B1、A1 与 A2 菌株仅分别增加了 4.47%、7.19% 和 10.35%。NH₄⁺-N 含量较对照低是由于 NH₄⁺-N 进一步转化为 NO₃⁻-N 或被微生物吸收利用,说明添加微生物可以更好地保留氮素;NH₄⁺-N 含量低,pH 值较小,可以减少 NH₃ 在碱性条件下挥发。

初期反硝化作用较强,部分 NO₃⁻-N 通过反硝化作用转化成 N₂ 或被微生物固定,各处理 NO₃⁻-N 含量均比堆肥前略有下降;菌株 B1、A1 与 A2 NO₃⁻-N 含量比对照略有提高但变化幅度相对较小,原因是降温期时间较短,硝化细菌数量较少、硝化作用较弱。

(2) 全氮与有机氮的变化

随着温度升高,有机氮在微生物的作用下矿化为 NH₄⁺-N,一部分被转化为 NO₃⁻-N 和 NH₃,NH₃ 挥发导致全氮降低,另一部分被微生物利用合成细胞中的有机氮。

由图 4 可知,不同处理有机氮、全氮含量较堆肥

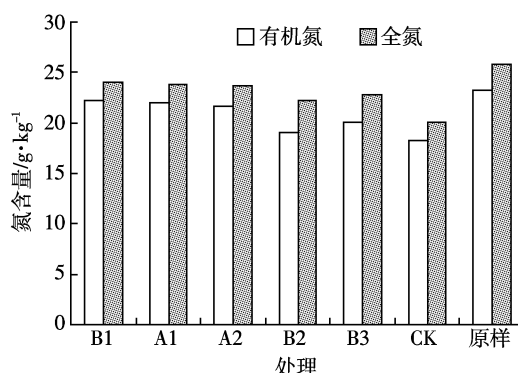


图4 不同菌株处理对全氮与有机氮的影响

Figure 4 Effect of deferent strains on total nitrogen and organic nitrogen

和硫素转化。

2.4.2 硫素损失与形态转化的关系

堆肥过程中硫素形态间转化是一个复杂的过程,硫素主要以元素硫、硫化物、硫酸盐、亚硫酸盐和有机硫等形式存在。在堆肥过程中随着温度升高,含硫有机化合物在异养微生物作用下分解生成含硫气体,是导致堆肥中硫素损失和臭味产生的主要原因。

堆肥时释放的 H_2S 部分被异养微生物转化为硫酸盐,转化能力越强,全硫含量越高, H_2S 释放则越少。堆肥过程中不同硫素间相关性分析(表1)表明, H_2S 释放量与 pH 呈显著正相关,与全硫和硫酸盐含量呈负相关,即 H_2S 释放量越高,全硫和硫酸盐含量越低,由此可见选育的除臭菌株可以调控硫素转化,减少 H_2S 挥发,控制臭味产生保留更多的硫素。

2.5 菌株鉴定

对具有较强抑制堆肥过程中 NH_3 和 H_2S 释放的菌株 B1 与 A1 进行如下鉴定:

菌株 B1 在细菌培养基上培养菌落为白色,边缘整齐,突起,表面光滑,湿润粘稠,不透明,革兰氏染色为阴性无芽孢杆菌,采用深层琼脂法确定菌株 B1 为兼性厌氧;该菌株在产 NH_3 和 H_2S 培养基上不产 NH_3 和 H_2S ,不水解淀粉和葡萄糖,能还原硝酸盐,氧化酶和接触酶试验阳性,初步确定为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)。

菌株 A1 在高氏一号培养基上培养菌落平滑,气生菌丝灰色,基质菌丝黑色,孢子白色,显微镜观察气生菌丝发达,基内菌丝纤细,无横隔,孢子丝呈链状,孢子圆形,在产 H_2S 培养基上不产 H_2S ,可水解淀粉和纤维素,初步确定为链霉菌属(*Streptomyces* sp.)。

3 讨论

(1)本研究筛选的除臭菌株可降低堆肥过程中 NH_3 和 H_2S 的释放,具有较强的除臭效果。冯伟、昌艳萍等研究表明混合菌株的除臭效果优于单菌^[20-21],因此应进一步研究菌株间的协同性和拮抗关系,合理组合优化出高效的混菌组合,将其用于畜禽粪便堆肥,探讨混菌除臭效果,以期在实际应用中发挥更好作用。

(2)堆肥过程中硫素主要以元素硫、硫化物、硫酸盐、亚硫酸盐和有机硫等形式存在,目前国内对堆肥中的硫素损失的研究未见报道,而本文只对全硫和硫酸盐的含量进行了初探,还应对有机硫等物质进行深入研究,以揭示硫素的去向。

4 结论

(1)牛粪堆肥加入选育的菌株均有较强的除臭效果,菌株 B1 与 A1 除臭效果最好,对 NH_3 与 H_2S 去除率分别在 60%与 85%以上,可有效地控制 NH_3 与 H_2S 挥发。

(2)测定堆肥前后原料养分含量变化,研究了 NH_3 与 H_2S 物质转化。菌株 B1、A1 可以促使氮类物质向有机氮和 NO_3^--N 转化,同时可以降低 H_2S 释放,促使其向硫酸盐类转化,有效地保留了氮素和硫素。

(3)温度与 NH_3 与 H_2S 释放量之间呈极显著的正相关,不同菌株处理与对照间气体释放量均有显著差异($P<0.05$),表明选育的菌株能在高温下有效地控制气体释放。

(4)相关性分析表明,有机氮被微生物矿化为 NH_4^+-N 含量越高,pH 值越高,则 NH_3 释放越多;而 NH_4^+-N 被微生物转化为 NO_3^--N 、有机氮含量越多,则 NH_3 挥发越少。有机硫化物被微生物大量分解生成的 H_2S 越少,转化为硫酸盐的含量越多,硫素损失的越少。

参考文献:

- [1] 陈书安,黄为一.除臭微生物分离及效果测定[J].上海环境科学,2002,21(9):571-573.
CHEN Shu-an, HUANG Wei-yi. Isolation and effective detection of deodorizing microorganism[J]. *Shanghai Environmental Sciences*, 2002, 21(9):571-573.
- [2] 陈丽园,吴东,夏伦志,等.畜禽粪便除臭微生物的分离与筛选[J].畜牧与兽医,2008,40(12):59-61.
CHEN Li-yuan, WU Dong, XIA Lun-zhi, et al. Isolation and screening of deodorization microorganisms of livestock manure[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2008, 40(12):59-61.
- [3] 贺琪,李国学,张亚宁,等.高温堆肥过程中的氮素损失及其变化规律[J].农业环境科学学报,2005,24(1):169-173.
HE Qi, LI Guo-xue, ZHANG Ya-ning, et al. N loss and its characteristics during high temperature composting[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2005, 24(1):169-173.
- [4] 曹喜涛,黄为一,常志州,等.鸡粪堆制过程中氮素损失及减少氮素损失的机理[J].江苏农业学报,2004,20(2):106-110.
CAO Xi-tao, HUANG Wei-yi, CHANG Zhi-zhou, et al. Mechanism of nitrogen loss and reduction in nitrogen loss during the compost of chicken manure[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2004, 20(2):106-110.
- [5] 中国科学院土壤研究所.土壤理化分析[M].上海:上海科学技术出版社,1981.
Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Soil physical

- and chemical properties analysis[M]. Shanghai:Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1981.
- [6] 吴鹏鸣. 环境空气监测质量保证手册[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1989.
- WU Peng-ming. Quality pledge directory of air-quality monitoring[M]. Beijing:China Environmental Science Press, 1989.
- [7] NY525—2002. 有机肥料[S]. 北京:中国标准出版社, 2002.
- NY525—2002. Organic fertilizer[S]. Beijing:China Standards Press, 2002.
- [8] Bremner J M. Organic forms of nitrogen[A]. USA:Madison, American Society of Agronomy, 1965:1148—1178.
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第三版. 北京:中国农业出版社, 2000.
- BAO Shi-dan. Analysis of soil and agrochemicals[M]. Third Edition. Beijing:China Agricultural Press, 2000.
- [10] GB/T 19203—2003, 复混肥料中钙、镁、硫含量的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2003.
- GB/T 19203—2003, Determination of calcium, magnesium and sulphur content for compound fertilizer[S]. Beijing:China Standards Press, 2003.
- [11] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社, 2001.
- DONG Xiu-zhu, CAI Miao-ying. Manual of systematic determinative bacteriology[M]. Beijing:Science Press, 2001.
- [12] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定[M]. 北京:科学出版社, 1992.
- YAN Xun-chu. Classification and identification of actinomycetes[M]. Beijing:Science Press, 1992.
- [13] 欧亚玲, 陈强, 邹宇, 等. 接种高温细菌复合菌剂对鸡粪堆肥的影响研究[J]. 四川农业大学学报, 2008, 26(1):89—92, 120.
- OU Ya-ling, CHEN Qiang, ZOU Yu, et al. The Effects of inoculating thermophilic bacterial mixture on chicken manure composting[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2008, 26(1):89—92, 120.
- [14] 李吉进, 郝晋珉, 邹国元, 等. 畜禽粪便高温堆肥及工厂化生产研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2004, 6(3):50—53.
- LI Ji-jin, HAO Jin-min, ZOU Guo-yuan, et al. Advance on composting of livestock manure and its industry production[J]. *Review of China Agricultural Science and Technology*, 2004, 6(3):50—53.
- [15] 高华, 秦清军, 谷洁, 等. 除臭菌剂在家禽粪便无害化处理中的效果研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(11):59—64.
- GAO Hua, QIN Qing-jun, GU Jie, et al. Study on the effects of deodorizing microorganism on poultry manure composting [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2004, 32(11):59—64.
- [16] 李彪. 猪粪高温堆肥添加微生物的筛选和堆肥机理及效果研究[D]. 雅安:四川农业大学, 2007.
- LI Biao. Screening porcine manure composting added microorganism and studying composting mechanism and effect[D]. Ya'an:Sichuan Agricultural University, 2007.
- [17] 李莎璐, 蒋文举, 金燕, 等. 微生物脱臭研究应用进展[J]. 环境科学与技术, 2007, 30(5):108—114.
- LI Sha-lu, JIANG Wen-ju, JIN Yan, et al. Advance on biotreatment of odors[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 30(5):108—114.
- [18] 黄红英, 常志州, 朱万宝, 等. 调理剂在猪粪处理中的除臭及保氮作用[J]. 农业环境保护, 2001, 20(3):169—171.
- HUANG Hong-ying, CHANG Zhi-zhou, ZHU Wan-bao, et al. Odor reduction and inhibitor of nitrogen losses by chemical amendments during composting pig manure[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2001, 20(3):169—171.
- [19] 闵航. 微生物学[M]. 杭州:浙江大学出版社, 2005.
- MIN Hang. Microbiology[M]. Hangzhou:Zhejiang University Press, 2005.
- [20] 冯伟, 周晓芬, 杨军芳, 等. 鸡粪高效除臭的组合筛选研究[J]. 河北农业科学, 2009, 13(10):86—88, 92.
- FENG Wei, ZHOU Xiao-fen, YANG Jun-fang, et al. Study on the screening of highly efficient deodorizing bacterial consortia for chicken manure[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2009, 13(10):86—88, 92.
- [21] 昌艳萍, 李彦芹, 陈娟, 等. 鸡粪除臭放线菌的筛选及拮抗试验[J]. 湖北农业科学, 2007, 46(1):60—61.
- CHANG Yan-ping, LI Yan-qin, CHEN Juan, et al. Actinomycetes screened from chicken manure and the test of their antagonising[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2007, 46(1):60—61.
- [22] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社, 1999.
- SHEN Ping, FAN Xiu-rong, LI Guang-wu. Experiments of microbiology[M]. Beijing:Higher Education Press, 1999.