



中国农业科技导报
Journal of Agricultural Science and Technology
ISSN 1008-0864, CN 11-3900/S

《中国农业科技导报》网络首发论文

题目: 猪场沼液热处理对病原微生物杀灭的关键因素研究
作者: 陈腾, 董红敏, 张万钦, 尹福斌
DOI: 10.13304/j.nykjdb.2019.0671
收稿日期: 2019-08-19
网络首发日期: 2020-04-01
引用格式: 陈腾, 董红敏, 张万钦, 尹福斌. 猪场沼液热处理对病原微生物杀灭的关键因素研究[J/OL]. 中国农业科技导报. <https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2019.0671>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



猪场沼液热处理对病原微生物杀灭的关键因素研究

陈腾, 董红敏*, 张万钦, 尹福斌

(中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 农业农村部设施农业节能
与废弃物处理重点实验室, 北京 100081)

摘要:农田利用和回冲圈舍是猪场沼液资源利用的主要途径,然而常温或中温厌氧发酵产生的猪场沼液有存在病原微生物的风险。借鉴欧盟厌氧发酵后巴氏消毒技术,采用热处理消毒法对猪场沼液工程厌氧发酵沼液进行消毒试验研究,为优化沼液热处理消毒的参数,以大肠菌群、粪大肠菌群的数量为指标,在进行 50~80 ℃ 预备试验基础上,采用 3 种总固体含量(2%、4%、6%)的沼液、在 4 种加热温度(52.5、55、57.5、60 ℃)、3 种加热时间(35 ℃ 升温至加热温度、15 min、30 min)的试验条件下,探讨猪场沼液热处理消毒的影响因素及其消毒效果。研究表明,加热温度和加热时间对沼液热处理消毒效果均有极显著影响($P < 0.01$),沼液总固体含量对沼液热处理消毒效果无显著影响($P > 0.05$),但沼液总固体含量越大,沼液升温速率越慢。对于本研究所用厌氧发酵沼液,在加热温度 60 ℃,持续加热 15 min 后,沼液中大肠菌群数平均小于 $1 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、粪大肠菌群数平均小于 $0.03 \text{ MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$,满足《再生水水质标准》(SL368-2006)再生水回用于农业病原微生物杀灭要求。研究可为猪场沼液消毒处理技术开发提供参考依据。

关键词:沼液;热处理;消毒;温度;时间

doi:10.13304/j.nykjdb.2019.0671

中图分类号:X712

文献标识码:A

文章编号:1008-0864(2020)05-0000-00

Study on the Key Factors of Heat Treatment Disinfection of Pathogenic Microorganisms in Digested Slurry from Swine Manure

CHEN Teng, DONG Hongmin*, ZHANG Wanqin, YIN Fubin

(Key Laboratory of Energy Conservation and Waste Management in Agricultural Structures,
Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Institute of Environment and Sustainable
Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Farmland application and backwash of pig house are the main ways of utilization of swine manure based digested slurry from swine manure. However, the potential risk of pathogenic microorganisms exists in digested slurry produced by psychrophilic and mesophilic biogas digesters. Referring to the pasteurization technology after anaerobic fermentation in the European Union, the heat treatment disinfection method was used to disinfect the digested slurry from swine manure. In order to optimize heat treatment disinfection parameters of digested slurry, the number of coliform bacteria and fecal coliform were used as indicators to evaluate the key factors and disinfection effects of heat treatment. Based on the preliminary test of heating temperature of 50~80 ℃, the experiments were carried out using digested slurry with 3 total solids (TS) content (2%, 4%, 6%), 4 heating temperatures (52.5, 55, 57.5, 60 ℃), 3 heating time (the time from 35 ℃ to heating temperature, 15min, 30 min), respectively. The Results showed that the heating temperature and heating time had an significant influence on the disinfection efficiency of swine manure digested slurry ($P < 0.01$), while the TS of digested slurry had no significant effect on the disinfection effect ($P > 0.05$). In addition, the temperature growth rate of digested slurry decreased with the increase of total solids content in digested slurry. For digested slurry from swine manure used in this study, the average group number of

收稿日期:2019-08-19; 接受日期:2020-02-10

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-35);公益性行业(农业)科研专项(201303091)。

联系方式:陈腾 E-mail:904017982@qq.com; *通信作者 董红敏 Email:donghongmin@caas.cn



coliform and fecal coliform in digested slurry were less than $1 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $0.03 \text{ MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$ after continuous heating time for 15 min at 60°C , respectively, which could meet the requirements of reclaimed water quality standard (SL368-2006) for pathogenic microorganisms disinfection in the reuse of reclaimed water for agriculture. The present research provided a reference for the development of disinfection technology of digested slurry from swine manure.

Key words: digested slurry; heat treatment; disinfection; temperature; time

厌氧发酵作为农业废弃物处理和资源化利用的有效技术手段,已成为规模化猪场废弃物处理过程中的重要环节^[1]。厌氧发酵多采用中温或常温运行条件^[2],但是这种运行情况下产生的沼液可能会携带一部分病原微生物^[3],直接利用存在生物学风险问题。为此,国内外对沼液或养殖污水的消毒技术进行了一定研究,开发了多种物理和化学消毒方法,并对其消毒效果进行比较^[4-5]。紫外线消毒技术在水质条件较好情况下消毒效率较高、无需添加任何化学试剂、不产生副产物,但存在灯管寿命短、易出现光复活或暗复活现象、对水的透射率要求高的局限性,进入紫外线消毒装置的污水透射率(T_{254})应不小于 60%^[6-8];臭氧消毒技术具有氧化性强、消毒能力强、可脱色除臭、无二次污染的优势,但存在臭氧不稳定易分解、设备管理复杂、对水中悬浮物要求高等问题,悬浮物(suspended solid, SS)含量越小($<5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),消毒效果越好^[9];二氧化氯消毒技术具有消毒效果好、广谱性强的优势,是国际上公认的氯系消毒剂中最理想的更新替代产品,但二氧化氯不稳定,运输不便,现场制备无法满足大型污水处理,且产生有毒副产物,色度、SS 和化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)偏高影响消毒效果^[10]。但是,如果用以上三种消毒技术对沼液进行消毒的话,沼液需进行预处理,才能达到较好的消毒效果。电解水消毒技术具有消毒效率高、广谱性强的优势,但无论酸性电解水或中性电解水,其最终杀菌机理是通过电解产生氯气溶于水生成次氯酸进行消毒^[11]。超声波消毒技术可去除有机物,对原水浓度要求低,无副产物,与其他工艺联用效果倍增,但超声波只能改变细胞的结构,而不能破坏其 DNA,存在能量利用率低、消毒物品量小、难以大规模应用、需与其他工艺联用的局限性^[12]。热处理消毒技术具有消毒效果好、无副产物、工艺相对简单的优势,但存在能耗相对较高,耐热性强的微生物不易杀灭的局限性^[13]。

沼液或养殖污水原液的 SS 一般在 500

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上,上清液浊度在 200 NTU 以上,色度高,紫外线透射率(T_{254})基本为 0。紫外线、二氧化氯、臭氧消毒技术对水质要求较高,为了保证消毒效果,沼液必须进行预处理,从而提高了消毒成本^[14-16]。二氧化氯、电解水消毒技术存在易产生副产物问题^[17-18]。超声波消毒技术能量利用率低,很难在实际中大规模独立应用,与其他工艺联合作用才能达到较好的效果^[19]。相比之下,热处理消毒技术凭借其消毒效果好,对水质要求低、无消毒副产物、工艺相对简单的优势,可作为强化沼气工程后处理阶段的消毒方式,弥补中/常温厌氧发酵处理对沼液病原微生物处理不彻底的不足。欧盟动物副产物法规(EC 1774/2002)规定经处理的粪肥和粪肥产品上市销售,必须来自根据本条例经主管当局批准的设有巴氏消毒/卫生装置的技术工厂、沼气工厂或堆肥工厂处理,且必须经过 70°C 以上加热至少 60 min 的热处理^[20]。但是, Watanabe 等^[21]研究得出,对厌氧发酵后的有机废物进行低于 70°C 的热处理,也可有效杀灭发酵原料中大肠杆菌、沙门氏菌和肠球菌等。Coultry 等^[22]研究得出, 60°C 加热 60 min, 70°C 加热 60 min 和 80°C 加热 30 min 的热处理都可以成功去除厌氧发酵后有机物中所有存活的大肠杆菌。Sahlström 等^[13]研究得出,沼气工厂的副产品在 70°C 热处理 30 和 60 min 可有效减少病原菌、蛔虫卵、猪水疱疹病毒以及指示生物。Turner 和 Burton^[23]研究表明热处理消毒是最适合动物废水的消毒技术, 60°C 维持 30 min 就足以使大多数病毒失活。但是,由于国外沼气工程受补贴政策的影响,一般以生产能源为主,大多采用混合原料发酵,总固体含量一般在 6% 以上,为此,目前热处理消毒相关研究中,热处理消毒对象或杀灭病原微生物种类较为宽泛,但一般温度较高、时间也长、能耗相对较高。针对此问题,本研究以我国猪场沼液为试验对象,通过考察热处理消毒对不同总固体含量的沼液中特定病原微生物的消毒效果,探讨在满足热处理消毒杀灭要求的前提下,



降低热处理消毒加热温度和时间,达到节能的目的,以期为规模化猪场沼液深度处理及消毒处理后安全回用提供参考。

为了确保公共卫生和环境安全,必须对沼液中病原微生物进行有效杀灭,欧盟热处理消毒标准对处理后消化原料中病原微生物含量要求以及国内

相关标准病原微生物指标参数如表 1 所示^[20,24-27],其中《再生水水质标准》(SL368-2006)再生水回用于农业的要求最严格,要求粪大肠菌群数小于等于 10 个·mL⁻¹。本研究中沼液热处理消毒病原微生物杀灭要求按照该标准执行,同时要求沙门氏菌不得检出(25 g)⁻¹,蛔虫卵小于等于 2 个·L⁻¹。

表 1 部分污水处理标准中病原微生物指标

Table 1 Pathogenic microorganism index in some sewage treatment standards

法规和标准 Regulation or standard	肠杆菌科 Enterobacteriaceae	总大肠菌群 Coliform bacteria	粪大肠菌群 Fecal coliform	沙门氏菌 Salmonella	蛔虫卵 Ascaris egg
(欧洲 1774/2 002 条例)厌氧消化 设施处理后消化物质 ^[20] (No 1774/2002/EC) Digestive substances after the treatment of anaerobic digestion facilities ^[20]	≤1000 CFU · g ⁻¹	—	—	不得检出 (25 g) ⁻¹ No detected (25 g) ⁻¹	—
《再生水水质标准》(SL368-2006) 回用于农业 ^[24] Standards of reclaimed water quality (SL368-2006) used for agriculture ^[24]	—	—	≤10 个·mL ⁻¹	—	—
《畜禽养殖业污染物排放标准》 (GB18596-2001), 畜禽养殖业废 渣无害化环境标准 ^[25] Discharge standard of pollutants for livestock and poultry breeding (GB18596 - 2001), environmental standards for harmless livestock and poultry breeding residues ^[25]	—	—	≤100 个·mL ⁻¹	—	死亡率 ≥95% Mortality ≥95%
《农田灌溉水质标准》(GB5084- 2005), 农田灌溉用水水质基本控 制项目标准值 ^[26] Standards for irrigation water quality (GB5084 - 2005), basic control objective value of irrigation water quality ^[26]	—	—	≤40 个·mL ⁻¹	—	≤2 个·L ⁻¹
《沼肥》(NY/T 2596-2014) ^[27] Anaerobic digested fertilizer (NY/T 2596-2014) ^[27]	—	—	≤100 个·mL ⁻¹	—	死亡率 ≥95% Mortality ≥95%

注:“—”表示未规定相应的指标值。

Note: “—” mean the corresponding indicator is not specified.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自北京市顺义区某沼气服务站沼气工程厌氧发酵夏季出水,沼液温度 35±1 ℃,为维持沼液中病原微生物的稳定性,提高检测结果

的准确性,沼液当天取样,取回实验室后通过添加去离子水将总固体含量(total solid, TS)分别调节至 2%、4%、6%,该过程中未添加任何试剂,然后置于 4 ℃冰箱中保存直至使用,以减少温度对样品的影响,6 h 内完成试验并检测。服务站沼气工程连续运行,每隔 15 d 左右取用沼液一次,故各批次试验沼液水质存在一定差异。试验用沼液



水质指标见表 2,可见,本研究猪场厌氧发酵沼液大肠菌群数平均为 $(1.02 \times 10^5 \pm 3.99 \times 10^4)$ CFU · mL⁻¹、粪大肠菌群数平均为 $(9.90 \times 10^4 \pm 6.11 \times 10^4)$ MPN · mL⁻¹,沙门氏菌未检出 $(25 \text{ g})^{-1}$,蛔虫卵未检出 $(10 \text{ L})^{-1}$ 。由于沙门氏菌和蛔虫卵未检出,故本研究中沼液热处理消毒效果只考察大肠菌群和粪大肠菌群两种病原微生物指标。

表 2 试验沼液水质特性指标

Table 2 Characteristics of biogas slurry used in experiments

指标 Index	结果 Result
总固体含量 TS/%	4.92±0.92
pH	7.60±0.04
总氮 TN/(mg · L ⁻¹)	1 143.3±20.82
氨氮 NH ₄ ⁺ -N/(mg · L ⁻¹)	816.7±41.63
化学需氧量 COD/(mg · L ⁻¹)	1 533.3±64.29
大肠菌群 Coliform bacteria/(CFU · mL ⁻¹)	$1.02 \times 10^5 \pm 3.99 \times 10^4$
粪大肠菌群 Fecal coliform/(MPN · mL ⁻¹)	$9.90 \times 10^4 \pm 6.11 \times 10^4$
沙门氏菌 Salmonella/(25 g) ⁻¹	未检出 No detected
蛔虫卵 Ascaris egg/(10 L) ⁻¹	未检出 No detected

1.2 试验装置

试验装置由水浴锅与 500 mL 烧杯组成热处理消毒装置,通过水浴加热控制试验沼液在不同加热温度和不同加热时间下进行热处理消毒。其中水浴锅采用 BioprocessXT 5018 GP 精密高温恒温水浴锅(瑞典碧普公司),外形尺寸为 480 mm×

280 mm×200 mm(长×宽×高),功率为 1 500 W,温控范围及调温精度为 10~90 ℃和±0.05 ℃,温度控制系统选用高精度传感器和集成元件,性能稳定。

1.3 试验设计

1.3.1 预试验 首先进行总固体含量为 4% 的猪场沼液热处理消毒预试验,设置加热温度为 50、60、70、80 ℃,从 35 ℃升温至设定试验温度后持续加热,使 4 个设定温度沼液维持 15、30、45、60 min,以测定不同温度、维持不同恒温时间的杀菌效果。预试验结果如表 3 所示。50 ℃维持 60 min 的沼液中大肠菌群数为 $(2.65 \times 10^4 \pm 6.36 \times 10^3)$ CFU · mL⁻¹,粪大肠菌群数为 $(2.90 \times 10^4 \pm 2.83 \times 10^3)$ MPN · mL⁻¹,无法达到《再生水水质标准》(SL368-2006)再生水回用于农业(以下简称“农业回用水标准”)中病原微生物杀灭要求。刚刚升温至 60 ℃时,沼液中大肠菌群数为 (10 ± 1.41) CFU · mL⁻¹,粪大肠菌群数为 (15.65 ± 8.98) MPN · mL⁻¹,如果不保持一定时间,也无法达到农业回用水标准要求;60 ℃维持 30 min 的沼液中大肠菌群数小于 1 CFU · mL⁻¹、粪大肠菌群数小于 0.03 MPN · mL⁻¹,可满足农业回用水标准要求。升温至 70 或 80 ℃时,经加热处理后沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量均可满足农业回用水标准要求。

表 3 不同加热温度、不同恒温时间处理后沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量变化

Table 3 Changes of coliform bacteria and fecal coliform quantities in biogas slurry under different temperatures at different holding times

设定温度 Temperature		大肠菌群 Coliform bacteria/(CFU · mL ⁻¹)				粪大肠菌群 Fecal coliform/(MPN · mL ⁻¹)			
		50 ℃	60 ℃	70 ℃	80 ℃	50 ℃	60 ℃	70 ℃	80 ℃
升温过程 Heating time		84 000	10	<1	<1	63 000	15.65	<0.03	<0.03
	15	53 000	2.5	<1	<1	45 000	<0.03	<0.03	<0.03
恒温时间 Holding time/min	30	46 000	<1	<1	<1	37 000	<0.03	<0.03	<0.03
	45	31 000	<1	<1	<1	29 000	<0.03	<0.03	<0.03
	60	26 500	<1	<1	<1	29 000	<0.03	<0.03	<0.03

1.3.2 加热温度对沼液中病原微生物杀灭效果试验 沼液 TS 含量为 4%,从 35 ℃升温至设定试验温度,设置加热温度分别为 52.5、55、57.5、60 ℃,进行猪场沼液热处理试验,各处理 3 次重复。

1.3.3 加热时间对沼液中病原微生物杀灭效果试验 沼液 TS 含量为 4%,加热温度分别为 52.5、55、57.5、60 ℃,设置加热时间分别为从 35 ℃升温至设定试验温度所用时间、维持 15 min、维持 30 min,进行猪场沼液热处理试验,各处理 3 次



重复。

1.3.4 沼液总固体对沼液中病原微生物杀灭效果试验 沼液从 35 ℃ 升温至设定试验温度,加热温度分别为 52.5、55、57.5、60 ℃,设置沼液 TS 含量分别为 2%、4%、6%,进行猪场沼液热处理试验,各处理 3 次重复。

1.4 测定指标及方法

试验过程中,每个样品取 300 mL 试验沼液倒入容量 500 mL 的烧杯,并置于已在指定加热温度维持恒温的水浴锅中,水浴锅内水液面应高于烧杯中沼液液面。用玻璃棒搅拌加热中的沼液以确保沼液均匀受热,同时用温度计测量烧杯中沼液温度,当沼液温度达到水浴锅温度开始计算加热时间。每种处理条件下样品完成热处理消毒后,取 100 mL 倒入采样瓶,当天进行检测。沼液基本理化指标在农业农村部畜牧环境与设施设备质检中心实验室自测,其中 TS 采用烘干称质量法^[28]测定,pH 采用 FiveGo F2-Standard 便携式 pH 计(METTLER TOLEDO Company, CH)测定, TN、 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 COD 分别采用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法、水杨酸-次氯酸钠分光光度法和重铬酸钾法^[29-31]测定,测试仪器为 HACH COD Reactor Model DR 6000(HACH Company, USA)。沼液微生物指标在中国食品发酵工业研究院分子生物学评价实验室进行,其中大肠菌群、粪大肠菌群分别依据食品安全国家标准食品微生物学检验(第二法)《大肠菌群平板计数法》(GB 4789.3-

2016)^[32]、《粪大肠菌群计数法》(GB 4789.39-2013)^[33]测定。

1.5 数据分析

采用 STST 程序对数据进行方差分析,该程序根据《田间试验和统计方法》^[34]中提供的方法编制,统计分析各因素对热处理消毒效果的影响以及各因素间的交互作用。

2 结果与分析

2.1 加热温度对沼液中病原微生物杀灭效果的影响

不同加热温度条件下沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量结果(图 1)显示,随着加热温度的升高,沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量呈逐渐降低趋势。沼液由 35 ℃ 开始加热升温,分别升温至 52.5、55 ℃ 时,沼液中大肠菌群数分别为 $(64\ 333.33 \pm 49\ 810.31)$ 和 $(40\ 500.00 \pm 13\ 457.34)$ $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、粪大肠菌群数分别为 $(61\ 166.67 \pm 51\ 289.05)$ 和 $(41\ 933.33 \pm 40\ 063.83)$ $\text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$,无法满足农业回用水标准要求;升温至 57.5 ℃ 时,沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量迅速减少,大肠菌群数为 (316.67 ± 166.57) $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$,粪大肠菌群数为 (480.00 ± 234.52) $\text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$,仍无法满足农业回用水标准要求;升温至 60 ℃,沼液中大肠菌群数为 (8.67 ± 15.95) $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$,粪大肠菌群数为 $(7.50 \pm$

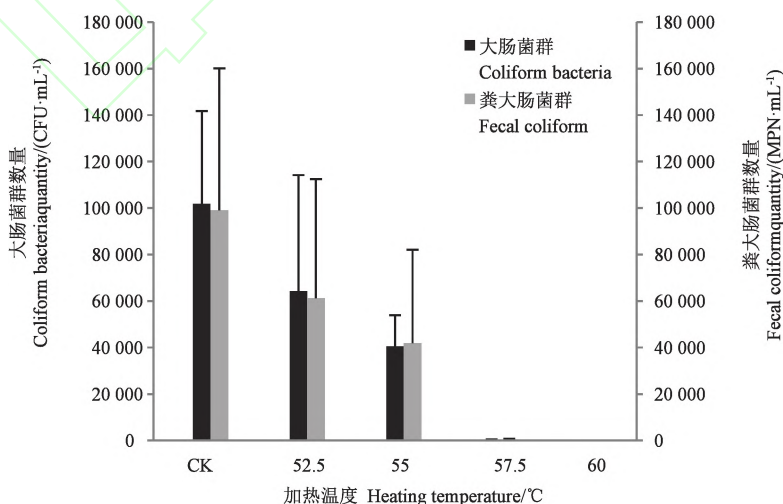


图 1 不同加热温度下沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量变化

Fig.1 Changes of coliform bacteria and fecal coliform quantities in biogas slurry under different heating temperatures



7.87) $\text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$, 可满足农业回用水标准要求。加热温度对沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量影响的显著性分析结果见表 4, 可见, 加热

温度因素对沼液热处理的消毒效果有极显著影响 ($P < 0.01$), 是沼液热处理消毒的重要影响因素。

表 4 加热温度对沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量的影响

Table 4 Influence of heating temperature on the quantities of coliform bacteria and fecal coliform in biogas slurry

加热温度 Heating temperature/ $^{\circ}\text{C}$	大肠菌群 Coliform bacteria /($\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$)	差异显著性 Significance of difference		粪大肠菌群 Fecal coliform /($\text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$)	差异显著性 Significance of difference	
		5%	1%		5%	1%
52.5	64 333.33	a	A	61 166.67	a	A
55	40 500.00	a	A	41 933.33	a	A
57.5	316.67	b	B	480.00	b	B
60	8.67	b	B	7.50	b	B

注: 同列中不同小、大写字母分别表示在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水平差异具有统计学意义。

Note: Different small or capital letters in the same column indicate significant difference at the level of $P < 0.05$ or $P < 0.01$, respectively.

2.2 加热时间对沼液中病原微生物杀灭效果的影响

不同加热时间沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量结果(图 2)显示,同一加热温度条件下,随着加热时间的增加,沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量呈逐渐降低趋势,当加热温度在 57.5°C 及其以下时,较长的加热时间仍无法满足农业回用水标准要求。 52.5°C 维持 30 min 的沼液中大肠菌群数为 $(14\ 000 \pm 6\ 603.03) \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 粪大肠菌群数为 $(9\ 116.67 \pm 3\ 479.32) \text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$; 55°C 维持 30 min 的沼液中大肠菌群数为 $(2\ 418.33 \pm 1\ 772.57) \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 粪大肠菌群数为 $(3\ 688.33 \pm 3\ 148.72) \text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$; 57.5°C 维持 30 min 的沼液中大肠菌群数为 (144.17 ± 85.70)

$\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 粪大肠菌群数为 $(220.50 \pm 114.39) \text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。升温至 60°C , 沼液中大肠菌群数为 $(8.67 \pm 15.95) \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 粪大肠菌群数为 $(7.50 \pm 7.87) \text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$, 达到农业回用水标准要求; 60°C 维持 15 min, 沼液中大肠菌群数小于 $1 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、粪大肠菌群数小于 $0.03 \text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$; 60°C 维持 30 min, 沼液中大肠菌群数和粪大肠菌群数无明显变化。加热时间对沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量影响的显著性分析结果见表 5, 加热时间因素对沼液热处理消毒效果有极显著影响 ($P < 0.01$), 是沼液热处理消毒的重要影响因素。综上, 60°C 维持 15 min 为猪场沼液热处理的最佳消毒条件。

表 5 加热时间对沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量的影响

Table 5 Influence of heating time on the quantities of coliform bacteria and fecal coliform in biogas slurry

加热时间 Heating time /min	大肠菌群 Coliform bacteria /($\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$)	差异显著性 Significance of difference		粪大肠菌群 Fecal coliform /($\text{MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$)	差异显著性 Significance of difference	
		5%	1%		5%	1%
升温 Heating	26 289.67	a	A	25 896.88	a	A
15	11 097.92	b	B	8 094.25	b	B
30	4 140.63	c	B	3 256.38	b	B

注: 同列中不同小、大写字母分别表示在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水平差异具有统计学意义。

Note: Different small or capital letters in the same column indicate significant difference at the level of $P < 0.05$ or $P < 0.01$, respectively.

2.3 沼液总固体含量对沼液中病原微生物杀灭效果的影响

TS 含量为 2%、4%、6% 的沼液升温至不同设定试验温度条件下沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量结果如表 6 所示, 不同 TS 含量的沼液样品升温至不同设定试验温度, 沼液中大肠菌群和粪大

肠菌群数量随沼液 TS 含量的升高呈上升趋势。通过沼液 TS 含量对沼液中大肠菌群、粪大肠菌群数量影响的显著性分析结果显示, 沼液 TS 含量因素对沼液热处理消毒效果无显著影响 ($P > 0.05$)。但在数据分析过程中发现, 沼液 TS 含量对热处理消毒过程中沼液升温速度存在极显著影响 ($P <$

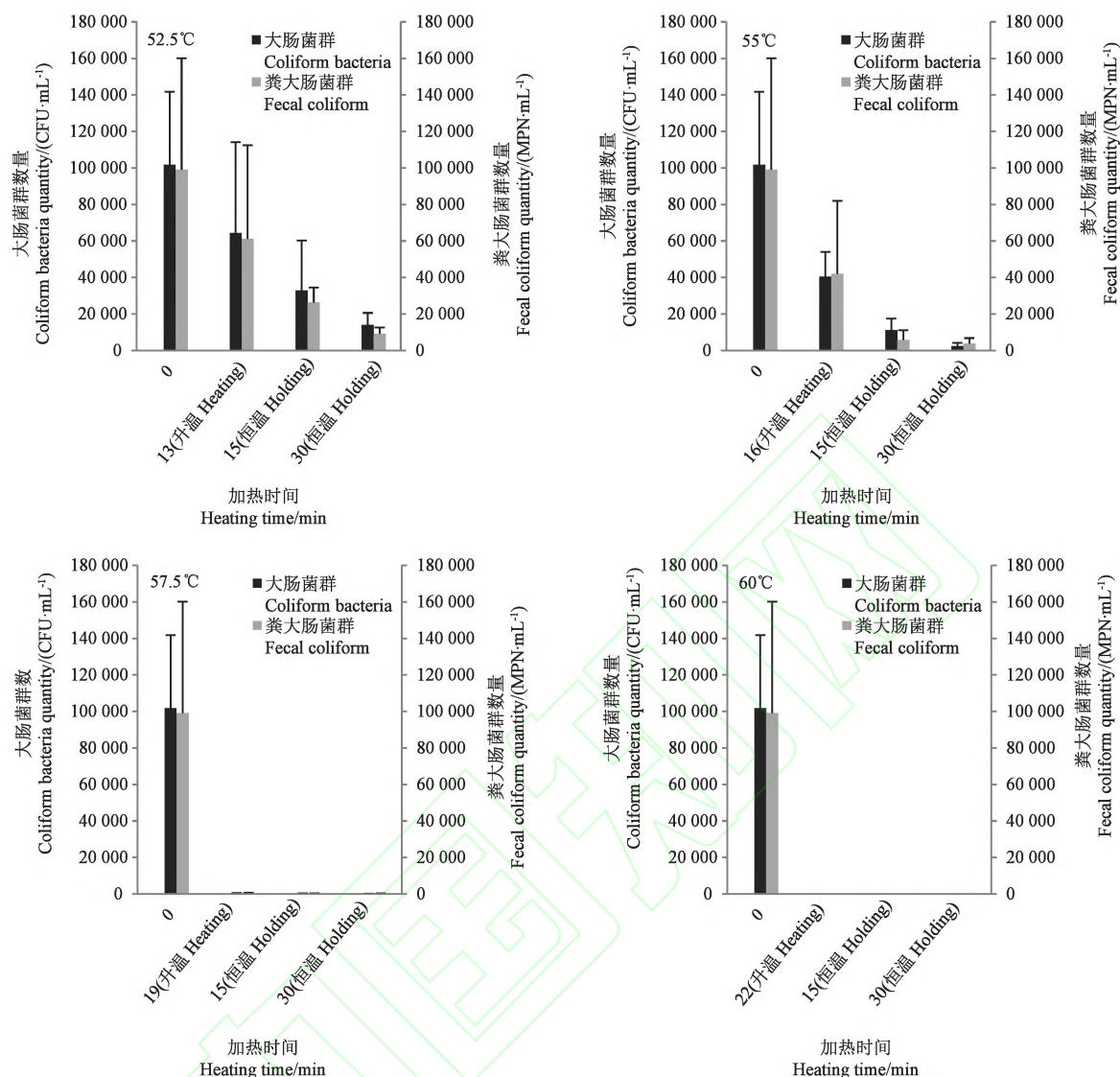


图2 不同加热温度下不同加热时间的沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量变化
Fig.2 Changes of coliform bacteria and fecal coliform quantity in biogas slurry at different heating time under different temperatures

0.01)(表7)。不同TS含量的沼液从35℃升温至不同设定试验温度所耗时间结果(图3)显示,试验所用300 mL TS含量为2%、4%、6%的沼液样品在维持60℃的恒温水浴锅中从35℃升温至60℃分别需要 (17.7 ± 0.58) 、 (22.3 ± 0.58) 、和 (28 ± 1) min。可见,不同TS含量的沼液样品从35℃升温至相同温度所需时间不同。由此可推断,在相同设定试验温度条件下,沼液TS含量越大,升温速度越慢,所需加热时间越长,能耗越高。

3 讨论

国内现有的猪场沼气工程多为中温发酵,35~38℃的发酵条件难以将料液中病原微生物完全杀灭。本研究中,猪场沼气工程厌氧发酵沼液中的大肠菌群数为 $(1.02 \times 10^5 \pm 3.99 \times 10^4)$ CFU·mL⁻¹、粪大肠菌群数为 $(9.90 \times 10^4 \pm 6.11 \times 10^4)$ MPN·mL⁻¹,存在较大的生物学风险。采用热处理消毒技术,当加热温度达到60℃,维持15 min时,沼液病原微生物指标检测结果为大肠菌群数



表 6 不同加热温度下不同总固体含量的沼液中大肠菌群和粪大肠菌群数量

Table 6 The quantities of coliform bacteria and fecal coliform in biogas slurry with different total solid content under different heating temperatures

加热温度 Heating temperature/℃	总固体含量 Total solid content/%	大肠菌群数量 Coliform bacteria quantity/(CFU · mL ⁻¹)	粪大肠菌群数量 Fecal coliform quantity/(MPN · mL ⁻¹)
52.5	2	40 000±24 041.63 a	29 000±19 798.99 a
	4	51 000±26 870.06 ab	58 000±49 497.47 a
	6	102 000±82 024.39 b	96 500±75 660.43 a
55	2	35 500±17 677.82 a	16 650±10 394.47 a
	4	41 500±12 020.82 a	51 150±59 184.84 a
	6	44 500±12 020.82 a	58 000±49 497.47 a
57.5	2	330±226.27 a	430±0.00 a
	4	375±219.20 a	580±494.97 a
	6	245±148.49 a	430±0.00 a
60	2	0.5±0.71 a	3.5±0.71 a
	4	5.5±7.78 a	5±4.24 a
	6	20±28.28 a	14±12.73 a

注: 同列中不同小写字母表示同一加热温度间差异在 $P<0.05$ 水平上具有统计学意义。

Note: Different small letters of the same heating temperature in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level.

表 7 总固体含量对沼液升温时间的影响

Table 7 Influence of total solid content of biogas slurry on its heating time

总固体浓度 Total solid content/%	升温时间 Heating time/min	差异显著性 Significance of difference	
		5%	1%
2	14.417	a	A
4	17.5	b	B
6	21.917	c	B

注: 同列中不同小、大写字母分别表示在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 水平差异具有统计学意义。

Note: Different small or capital letters in the same column indicate significant difference at the level of $P<0.05$ or $P<0.01$, respectively.

小于 $1 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、粪大肠菌群数小于 $0.03 \text{ MPN} \cdot \text{mL}^{-1}$, 满足《再生水水质标准》(SL368-2006)再生水回用于农业病原微生物杀灭要求。与欧盟 70°C 条件下维持 60 min 的热处理消毒标准相比,在保证消毒效果的前提下,降低了能耗。

从热处理温度角度分析,本研究发现,当热处理温度达到 60°C 可以对大肠菌群、粪大肠菌群起到有效杀灭作用。Neyens 和 Baeyens^[35]指出,当温度高于 60°C ,微生物的细胞即可被破坏。且有研究表明不同温度下细胞被破坏的部位不同:在 $45\sim65^\circ\text{C}$ 时,细胞膜破裂, rRNA 被破坏; $50\sim70^\circ\text{C}$ 时, DNA 被破坏; 在 $65\sim90^\circ\text{C}$ 时,细胞壁被破坏; $70\sim95^\circ\text{C}$,蛋白质变性^[36]。因此,当病原微生物考察对象为大肠菌群和粪大肠菌群时, 60°C 的

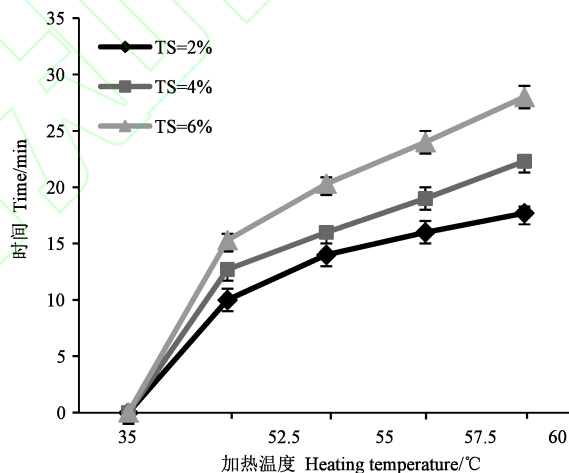


图 3 总固体含量对沼液升温速度的影响

Fig.3 Influence of total solid content of biogas slurry on its heating rate

热处理温度可以满足杀灭要求。从热处理时间角度分析,与欧盟动物副产物法规(EC 1774/2002) 70°C 维持 60 min 的热处理消毒标准相比, 60°C 维持 15 min 的热处理时间较短。分析试验过程可知,沼液从厌氧发酵出料温度加热至 60°C 的升温时间没有计算在内,故本研究实际的沼液热处理时间为升温时间与恒温时间(15 min)之和,而沼液升温时间与热处理沼液的体积以及 TS 含量存在直接关系,沼液体积和 TS 含量越大,所需升温时间越长。本研究中 TS 含量为 2%、4%、6%的



沼液 60 ℃ 热处理消毒的升温时间分别为 17.7、22.3 和 28 min, 因此实际持续加热时间为 32.7、37.3 和 45 min。

参 考 文 献

- [1] 王坤, 刘慧英, 马宗虎, 等. 规模猪场能源生态型和能源环保型粪污处理模式温室气体减排量评估[J]. 可再生能源, 2009, 27(4): 61-66, 71.
WANG K, LIU H Y, MA Z H, *et al.*. Assessment of greenhouse gas emission reductions of ecological energy type and environmental protection energy type waste treatment system in large-scale pig farms [J]. *Renew. Energ. Resour.*, 2009, 27(4): 61-66, 71.
- [2] 林聪. 规模化养猪场沼气工程应用技术[J]. 猪业科学, 2007, 24(9): 32-34.
LIN C. The applied methane project technology of a large pig farm [J]. *Swine Sci.*, 2007, 24(9): 32-34.
- [3] 张军民. 中国畜牧业环境污染现状及应对措施[J]. 中国农业科技导报, 2003, 5(5): 71-74.
ZHANG J M. The contamination of animal industry environment and its way out [J]. *J. Agric. Sci. Technol.*, 2003, 5(5): 71-74.
- [4] 李同, 董红敏, 陶秀萍. 畜禽养殖污水消毒技术研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(2): 137-143.
LI T, DONG H M, TAO X P. Research progress on disinfection technology of wastewater from animal production [J]. *J. Agric. Sci. Technol.*, 2013, 15(2): 137-143.
- [5] MACAULEY J J, QIANG Z, ADAMS C D, *et al.*. Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone [J]. *Water Res.*, 2006, 40(10): 2017-2026.
- [6] MAMANE H, COLORNI A, BAR I, *et al.*. The use of an open channel, low pressure UV reactor for water treatment in low head recirculating aquaculture systems (LH-RAS) [J]. *Aquacult. Engin.*, 2010, 42(3): 103-111.
- [7] 郑荣进, 向坤, 朱松明. 紫外线对水产养殖循环水的杀菌效果[J]. 农业工程学报, 2011, 27(11): 257-262.
ZHENG R J, XIANG K, ZHU S M. Bacterial inactivation effect of UV in aquaculture recirculating water [J]. *Trans. CSAE*, 2011, 27(11): 257-262.
- [8] 李同, 董红敏, 陶秀萍. 猪场沼液絮凝上清液的紫外线杀菌效果[J]. 农业工程学报, 2014, 30(6): 165-171.
LI T, DONG H M, TAO X P. Disinfection effects of ultraviolet on supernatants of flocculated digestate from swine farm [J]. *Trans. CSAE*, 2014, 30(6): 165-171.
- [9] 穆钰, 耿如林, 矫健, 等. 臭氧灭菌技术处理猪场沼液粪大肠菌群的应用研究[J]. 中国沼气, 2015, 33(2): 31-35.
MU Y, GENG R L, JIAO J, *et al.*. Ozone sterilization technology treating fecal coliform in biogas slurry [J]. *China Biogas*, 2015, 33(2): 31-35.
- [10] 乔怡娜. 二氧化氯杀菌机理及其对城市污水杀菌消毒应用研究[D]. 太原: 中北大学, 硕士学位论文, 2008.
QIAO Y N. The research of disinfection on mechanics and its sterilization disinfection on application of chlorine dioxide on urban sewage [D]. Taiyuan: North University of China, Master Dissertation, 2008.
- [11] 谢燕华. 电解法用于畜禽场粪污杀菌的试验研究[D]. 北京: 中国农业大学, 硕士学位论文, 2006.
XIE Y H. Study on the electrolysis disinfection in residues of livestock [D]. Beijing: China Agricultural University, Master Dissertation, 2006.
- [12] 靳昕, 李子富, 张小刚, 等. 超声波对城市污水处理厂出水消毒的研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(4): 690-694.
JIN X, LI Z F, ZHANG X G, *et al.*. Research on disinfection of WWTPs effluents by ultrasound [J]. *Chin. J. Environ. Engin.*, 2009, 3(4): 690-694.
- [13] SAHLSTRÖM L, BAGGE E, EMMOTH E, *et al.*. A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants [J]. *Bioresour. Technol.*, 2008, 99(16): 7859-7865.
- [14] 环境保护部. 环境保护产品技术要求 紫外线消毒装置: HJ 2522-2012 [S]. 北京: 中华人民共和国国家环境保护标准, 2012.
- [15] BARBEAU B, RAYMOND D, CHANDRA M, *et al.*. Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters [J]. *Water Res.*, 2005, 39(10): 2024-2033.
- [16] 蒋以元, 柯真山, 张昱, 等. 城市污水再生利用中的消毒问题研究[J]. 环境工程学报, 2008, 2(1): 16-18.
JIANG Y Y, KE Z S, ZHANG Y, *et al.*. Study on disinfection problems in municipal wastewater reclamation treatment process [J]. *Chin. J. Environ. Engin.*, 2008, 2(1): 16-18.
- [17] CHANG C Y, HSIEH Y H, HSU S S, *et al.*. The formation of disinfection by-products in water treated with chlorine dioxide [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2000, 79(1): 89-102.
- [18] 朱世华. 强酸性水的制备及其在消毒上的应用[J]. 中国消毒学杂志, 1998, 15(3): 179-181.
ZHU S H. The production of the strongly acidic electrolyzed water and its application to the disinfection [J]. *Chin. J. Disinf.*, 1998, 15(3): 179-181.
- [19] 靳慧霞, 董滨, 孙颖, 等. 超声协同紫外灭活大肠杆菌实验研究[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(11): 28-33, 48.
JIN H X, DONG B, SUN Y, *et al.*. Synergistic efficiency of *E. coli* inactivation under US and UV [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2010, 33(11): 28-33, 48.
- [20] EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Regulation of the European parliament and of the council of 3 October 2002 laying down health rules concerning animal by-products not intended for human consumption: (EC) No 1774/2002 [S]. Brussels, Belgium: European Parliament and the Council of the European Union, 2002.
- [21] WATANABE H, KITAMURA T, OCHI S, *et al.*. Inactivation of pathogenic bacteria under mesophilic and thermophilic conditions [J]. *Water Sci. Technol.*, 1997, 36(6-7): 25-32.
- [22] COULTRY J, WALSH E, MCDONNELL K P. Energy and economic implications of anaerobic digestion pasteurisation regulations in Ireland [J]. *Energy*, 2013, 60(7): 125-128.
- [23] TURNER C, BURTON C H. The inactivation of viruses in pig slurries: a review [J]. *Bioresour. Technol.*, 1997, 61(1): 9



- 20.
- [24] 中华人民共和国水利部. 再生水水质标准: SL 368-2006 [S]. 北京: 中华人民共和国水利行业标准, 2006.
- [25] 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局. 畜禽养殖业污染物排放标准: GB 18596-2001 [S]. 北京: 中华人民共和国国家标准, 2001.
- [26] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 农田灌溉水质标准: GB 5084-2005 [S]. 北京: 中华人民共和国国家标准, 2005.
- [27] 中华人民共和国农业部. 沼肥: NY/T 2596-2014 [S]. 北京: 中华人民共和国农业行业标准, 2014.
- [28] 林聪, 周孟津, 张榕林. 养殖场沼气工程实用技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 7-15.
- LIN C, ZHOU M J, ZHANG R L. Biogas engineering practical technique for breeding farm [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010: 7-15.
- [29] 环境保护部. 水质 总氮的测定 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法: HJ 636-2012 [S]. 北京: 中华人民共和国国家环境保护标准, 2012.
- [30] 环境保护部. 水质 氨氮的测定 水杨酸分光光度法: HJ 536-2009 [S]. 北京: 中华人民共和国国家环境保护标准, 2009.
- [31] 环境保护部. 水质 化学需氧量的测定 重铬酸盐法: HJ 828-2017 [S]. 北京: 中华人民共和国国家环境保护标准, 2017.
- [32] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数: GB 4789.3-2016 [S]. 北京: 中华人民共和国国家标准, 2016.
- [33] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 粪大肠菌群计数: GB 4789.39-2013 [S]. 北京: 中华人民共和国国家标准, 2013.
- [34] 南京农业大学. 田间试验和统计方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1979.
- [35] NEYENS E, BAEYENS J. A review of thermal sludge pre-treatment processes to improve dewaterability [J]. J. Hazard. Mater., 2003, 98(1-3): 51-67.
- [36] 汪群慧, 刘建丽, 艾恒雨, 等. 提高污泥厌氧消化效率的溶胞预处理技术 [J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2005(5): 614-618.
- WANG Q H, LIU J L, AI H Y, *et al.*. Cell-lysing pretreatment technology for improving anaerobic digestion efficiency [J]. J. Nat. Sci. Heilongjiang Univ., 2005(5): 614-618.

(责任编辑: 李爱花)