

关于家庭垃圾中温堆肥时猪蛔虫卵、指标性细菌和鼠伤寒沙门菌噬菌体 28B 生存的研究

Annika Holmqvist^{1,2} and Thor Axel Stenstrom¹

¹Swedish Institute for Infectious Disease Control

SE-171 82 SOLNA

Sweden

²Dalarna University College

SE-781 88 BORLÄNGE

Sweden

引言

有机垃圾（如家庭垃圾和人排泄物）含有的植物养分和有机物质对农业具有相当价值。当循环利用有机垃圾时，为了避免肠道和其它疾病，以及植物病原体的扩散，卫生质量显得十分重要。垃圾传播的疾病有各种不同的可能途径，比如，收集和处理垃圾时传播，通过肥料或土壤调节剂等最终产品传播，通过农作物、食草动物或者带菌动物（比如老鼠、鸟类等）传播。

当处理有机垃圾时，其数量减少，养分矿物化，这样更易于植物吸收。处理有机垃圾有不同的方法，比如厌氧消化和堆肥。处理的方法很大程度上影响病原体的生存或者死亡。温度是最重要的因素，但是 pH 值和生物竞争同样影响其死亡率。垃圾处理必须力求杀死或者减少病原体数量。

堆肥过程

堆肥是处理有机垃圾的一个方法。它有几个卫生优势，如使温度提高，促使 pH 值改变和生物活动增强而引起竞争。

为了得到一个生物学上的活性堆肥，需要加入大量能形成良好的结构的物质以确保氧气供给。能量大的物质（如厨房垃圾），比能量小的（如粪便物质）可以形成更高的温度。因此，厨房垃圾可以成为使厕所垃圾更好进行堆肥的补充添料。为了提高温度，需要一定数量的物质。典型情况是，在堆肥过程的最初阶段，温度上升缓慢且不稳定（中温阶段）（Beck-Friis et al.2001）。然后，温度可能快速上升（适温阶段），堆肥过程开始，直至温度渐渐下降（成熟阶段）。

pH 值的水平取决于堆肥物质的种类。由于厌氧微生物生境中脂肪酸的产出，厨房垃圾的 pH 值较低（Beck-Friis et al.2001）。排泄物更偏向于中性。在堆肥过程中，由于铵的释放，pH 值被提高，通常直到一个高 pH 值才终止。为了避免有机垃圾中氮的巨大流失，最好在厕所中选出含氮丰富的尿，而只将粪便物质和厨房垃圾堆肥。

较低或是较高的 pH 值，都可以促进病原体生物的死亡。

指标性有机物

粪便细菌，如大肠菌、大肠埃希氏菌和粪便链球菌，都在肠内大量存在。他们通常被用来确定水和垃圾产品的质量（Bendixen 1999）。粪便链球菌在这三者中显示出最强的温度抵抗性。但是，因为与其它存活的病原体细菌和病毒的存活有不相容，对此已提出了疑问。在有利的条件下，指标性细菌也可能重新生长。

在有机物中，对病毒的分析通常困难重重且代价昂贵。相反，噬菌体可以用作为指标。在许多方面，它们和其它病毒类似，而分析起来却更容易更经济。鼠伤寒沙门菌噬菌体 28B 被发现是一种有抵抗力的耐热噬菌体（Eller 1995）。其它被用来作为指标的噬菌体是大肠杆菌噬菌体和脆弱类杆菌噬菌体（Lasobras 1999）。

在肠虫类寄生虫中，发现猪蛔虫对环境因素具有很强的抵抗力（Feachem et al. 1983，

Lewis-Jones 1991)。猪蛔虫感染猪群，和感染人类的蛔虫十分相似。通常在以卵作为卫生指标加入堆肥时使用猪蛔虫。

堆肥物质的卫生化

为了决定堆肥过程中病原体减少的效用，必须分析这些物质。由于缺少分析方法，十分昂贵的分析代价、或者密度在检测极限以下（但仍对人有严重威胁）都使人们很难发现许多病原体。因此，研究了天然的或者人为加入的指标性生物体的失活情况。这需要在不同温度、不同 pH 值水平和不同种类的原材料条件下进行。

目的

在这项研究中，我们的目的是比较城市家庭垃圾中温堆肥中一些常见的或者较少使用的指标性生物体的生存状态。选择的温度范围是考虑较多的问题，因为堆肥一般达不到更高的温度，特别是小范围堆肥。本试验是不同温度、采用不同指标性生物体条件下的一系列堆肥实验的一部分。

材料和方法

城市家庭垃圾和草混合，植入大肠埃希氏菌(ATCC 25922)、粪肠球菌(ATCC 29212) 和鼠伤寒沙门菌噬菌体 28B。在研究起初时，大肠埃希氏菌的浓度是 2×10^7 cfu/克干物质(干重状态下每克群体组成单位)，粪肠球菌是 $3 \cdot 10^6$ cfu/克干物质，鼠伤寒沙门菌噬菌体 28B 是 $2 \cdot 10^8$ pfu/克干物质（血小板组成单位）。猪蛔虫卵被装在尼龙袋里，细菌和真菌可以透过，然后将它加入堆肥。将堆肥物质分为 4 个平行试验组，每组分别为 1 升，另一组为对照组。每组堆肥（包括对照组堆肥）中加入装有蛔虫卵的十个尼龙袋，每次取样时取出两个袋子。四个试验组置于一个隔离且通风的箱子里，在室温下储存。采用 2 种对照。对照堆肥保持在 4°C。指标性生物体以同样的温度储存在适当的介质中。

几乎每天要拌合堆肥。在实验阶段，测量温度和 pH 值。在 31 天的实验期内定期按照标准方法对样本进行分析。取样后，蛔虫卵以 25°C 温度保存，直至长成幼虫。3 周后，从每袋中数出 300 个卵并计算其孵化成幼虫的比例。

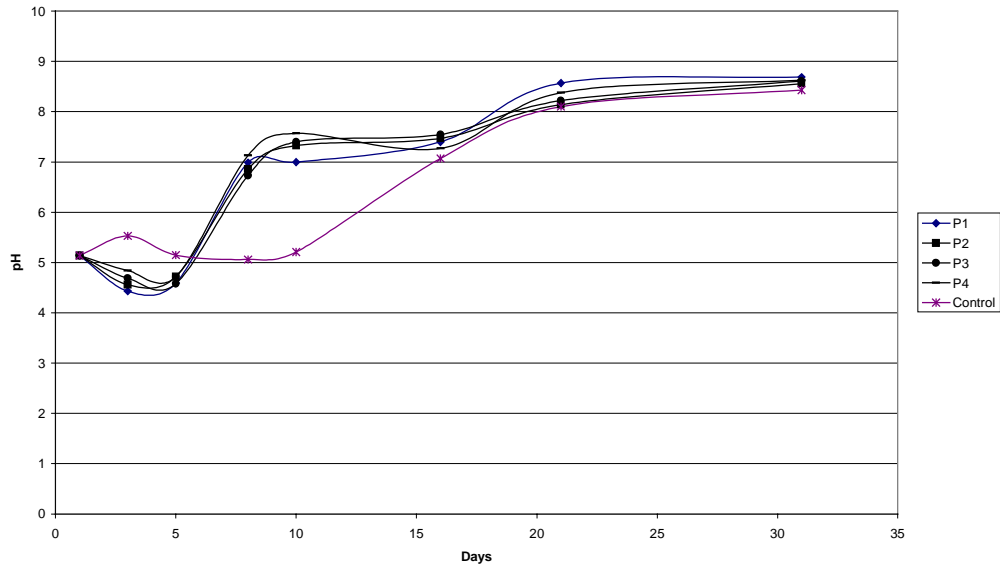
结果

温度

实验的头 5 天内，温度从 25°C 上升到 29°C；之后，温度处于 29°C 和 30°C 之间。

pH 值

开始时，pH 值水平较低，约 4.5(见图 1)。第 5 天到第 8 天期间，迅速到达中性值。第 10 天到第 16 天期间，pH 值稳定在 7.3，然后慢慢上升到最后的 8.6。在对照堆肥中，pH 值在较长时间内保持酸性。到第 10 天，它才慢慢开始上升，直到 8.4。



图一：家庭垃圾中温堆肥时 pH 值随时间变化。

指标性细菌的存活

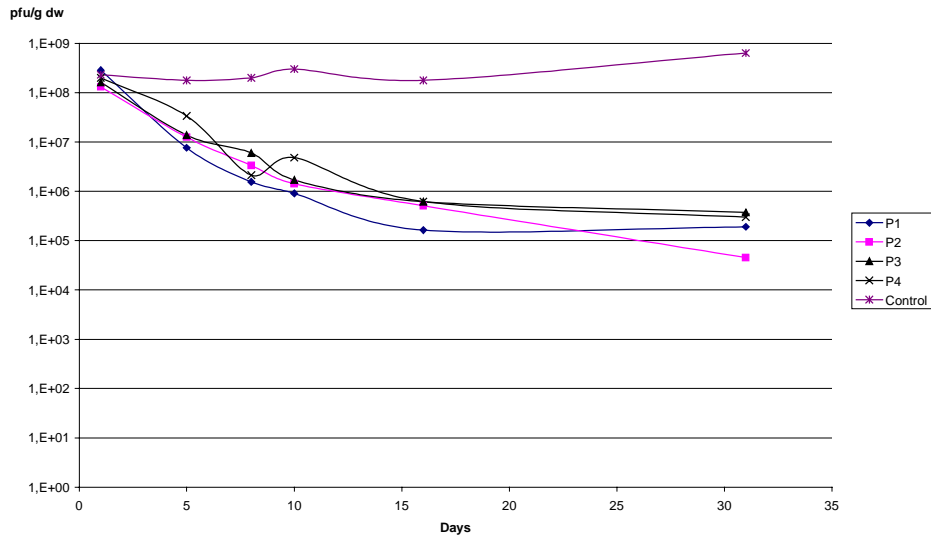
粪便指标性细菌在堆肥中只存活了非常短的一段时间。在最初的 3 天里，大肠埃希氏菌减少了 $6 - \log_{10}$ ，粪肠球菌减少 $5 - \log_{10}$ 。5 天后，大肠埃希氏菌和粪肠球菌都到达了检测极限以下。在参照堆肥中，最初的 5 天内，大肠埃希氏菌和粪肠球菌的数量的减少小于 1 个 \log_{10} 。

鼠伤寒沙门菌噬菌体 28B 的存活

在最初的 8 天里，噬菌体减少了 2 个 \log_{10} （见图二），这种减少与堆肥的酸性阶段正好相符。在剩下的 23 天里，减少了 1 个 \log_{10} 。在对照堆肥和对照介质中，沙门氏菌噬菌体的数量没有减少。

猪蛔虫卵的存活

实验开始时，猪蛔虫卵的存活率是 91%。31 天后，存活率还是高达 70%。在参照堆肥中，存活率较低，31 天后是 61%。保存在 4°C 溶液中的猪蛔虫卵的存活率没有减少。



图二：家庭垃圾中温堆肥时鼠伤寒沙门菌噬菌体 28B 的减少。

讨论

堆肥时有可能造成厌氧微生物环境，从而产生脂肪酸。这些环境可能会对不同的微生物有害。噬菌体大部分在堆肥的酸性阶段减少。在对照堆肥中猪蛔虫卵的存活率较低，是因为其处于低 pH 值环境中的时间较长。细菌指标在开始阶段就迅速死亡。看来，在开始阶段的低 pH 值和加入的指标性生物体的数量减少之间有相关性。

值得注意的是，在中温条件下，十分常用的指标性细菌仅在几天后就死亡了。这些结果对采用这些指标性生物体来确定堆肥卫生质量的可靠性提出了疑问。虽然指标性细菌确实减少了，但是更具抵抗力的其它病原体，比如肠道病毒和寄生蠕虫卵可能存活。如果有机垃圾要施用到农田里，那就必须有一个安全方法去控制堆肥的卫生质量。

因此，必须更细致地评估抵抗力更强的指标性生物体。在中温条件下，可以同时使用噬菌体和蛔虫卵。在适温堆肥阶段，噬菌体可能更好，因为蛔虫卵在温度超过 45°C 时会迅速死亡 (Feachem *et al.* 1983)。另外噬菌体还有几个优点。比如易于分析、对人类来说属于非病原性细菌。

参考资料

Beck-Friis B, Sm 鏢 s S, J 鰵 sson H and Kirchmann H. 2001. Gaseous emissions of carbon dioxide, ammonia, nitrous oxide from organic household waste in a compost reactor under different temperature regimes. *J. Agricultural Engineering Research*, doi 10.1006/jaer.2000.0662.

Bendixen HJ. 1999. Hygienic safety - results of scientific investigations in Denmark (Sanitation requirements in Danish biogas plants). In: Hygienic and environmental aspects of anaerobic digestion: Legislation and experiences in Europe. IEA workshop, Stuttgart-Hohenheim, Mars 1999. pp 27-47.

Eller G. 1995. Liquid composting of raw wastewater, mixed with biodegradable waste. Persistence of selected pathogens and indicator organisms. Dissertation submitted for diploma in

Biotechnology at the Institute for Sanitary Engineering, Technical University of Brunswick.

Feachem RG, Bradley DJ, Garelick H and Duncan Mara DD. 1983. Sanitation and Disease: health aspects of excreta and wastewater management. John Wiley & Sons. 501 p.

Lasobras J, Dellunde J, Jofre J and Lucena F. 1999. Occurrence and levels of phages proposed as surrogate indicators of enteric viruses in different types of sludges. *J. Appl. Microbiol.* 86:4:723-29.

Lewis-Jones R. and Winkler M. 1991. Sludge Parasites and Other Pathogens. Ellis Horwood Limited, Chichester, England.