



周亚文, 张宇航, 沈玉君, 等. 初始含水率对人粪污好氧堆肥腐熟及微生物群落结构变化的影响[J]. 环境工程学报, 2022, 16(12): 4108-4120. [ZHOU Yawen, ZHANG Yuhang, SHEN Yujun, et al. Effect of the initial moisture content on the maturity extent and the microbial community structure of the aerobic compost with human excrement[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(12): 4108-4120.]

初始含水率对人粪污好氧堆肥腐熟及微生物群落结构变化的影响

周亚文^{1,3}, 张宇航^{1,2}, 沈玉君^{1,3}, 丁京涛^{1,3}, 范盛远^{1,3}, 贾懿曼^{1,3}, 王惠惠^{1,3,✉}, 程琼仪^{1,3}, 李丹阳^{1,3}, 张爱琴^{1,3}

1. 农业农村部规划设计研究院农村能源与环保研究所, 北京 100125; 2. 河北农业大学资源与环境科学学院, 保定 071001; 3. 农业农村部农村厕所与污水治理技术重点实验室, 北京 100125

摘要 为探究人粪污好氧堆肥最佳工艺参数, 探究初始含水率对人粪污好氧堆肥腐熟及微生物群落结构变化的影响。以人粪污为原料, 玉米秸秆为调理剂, 设置初始含水率 55% (MC55)、60% (MC60) 和 65% (MC65) 3 个处理组, 在 60 L 的密闭发酵罐中堆肥 30 d。结果表明, 在不同初始含水率条件下, 堆肥产品均可达到腐熟标准, 堆肥产物没有作物毒性 ($GI > 80\%$)。MC60 和 MC65 处理堆肥产物均已达到无害化卫生标准, MC55 处理堆肥产物未达到无害化卫生标准, 其粪大肠菌群数依然高于 $10^2 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 。3 组处理中, 细菌丰度均高于真菌, MC65 有助于提高堆肥过程中细菌丰富度与多样性, 但 MC60 可提高真菌多样性。3 组处理间主要细菌门和真菌门组成一致, MC65 处理增加了腐熟期拟杆菌门和担子菌门的相对丰度。升温期和高温期 3 个处理优势细菌属具有明显差异; 腐熟期 MC60 和 MC65 处理细菌属组成具有相似性, MC55 和 MC65 处理真菌属随时间的变化具有相似性。MC65 处理增加了高温期 *Bacillus* 和 *Meyerozyma* 的相对丰度, 增加了腐熟期 *uncultured_bacterium* 和 *Coprinopsis* 的相对丰度。MC 对真菌演替的影响大于细菌, 随着堆肥的进行, MC 对微生物群落结构的影响逐渐减小。MC65 处理高温期持续时间最长, 堆肥产物粪大肠菌群数最低, 增加了腐熟期木质素降解菌的相对丰度, 是人粪污好氧堆肥最佳初始含水率。本研究结果可为优化人粪污好氧堆肥工艺参数提供参考。

关键词 含水率; 人粪污; 好氧堆肥; 微生物群落结构

人粪污无害化处理对于疾病预防控制和农村人居环境整治具有重要意义。我国将推进人粪污无害化处理和资源化利用作为乡村振兴和美丽乡村战略的重要实施策略^[1]。人粪污中含有大量有机物和营养元素^[2], 每人每年产生的粪污中约含 5.7 kg 氮、0.6 kg 磷和 1.2 kg 钾^[3], 并且没有重金属污染的风险, 可有效替代化肥^[4]。我国自古一直有将人粪污堆沤还田农用的习惯, 除了用作肥料, 还可作为土壤改良剂, 补充腐殖质^[5]。但人粪污中含有大量病原体和大分子有机物质, 为了避免粪口传播, 在施入农田前必须充分腐熟以降低肠道疾病感染风险^[6]。人粪污堆肥经过充分腐熟, 可杀灭其中的病原菌以及寄生虫卵, 形成含有高有机质以及氮磷钾等营养元素的农家肥, 但若堆肥腐熟不充分, 人粪污农用则会导致病原体的传播, 造成二次污染。

收稿日期: 2022-07-08; 录用日期: 2022-11-09

基金项目: 农业农村部规划设计研究院自主研发项目 (SP202103, SH202108), 联合国儿童基金会环境卫生特别项目

第一作者: 周亚文 (1993—), 女, 硕士, 1321729277@qq.com; ✉通信作者: 王惠惠 (1983—), 女, 博士, 高级工程师, whh9876@163.com

不同地区不同的生活及如厕习惯, 导致人粪污含水率差异较大^[7-8], 在堆肥过程中物料含水率会影响堆体的氧气运输量, 还可以调节发酵温度、物料孔隙率以及微生物活性等^[9], 是影响堆肥进程及有机质降解率的主要因素^[10]。一般认为, 堆肥适宜的含水率是 55%~65%^[11], 较低的含水率不利于微生物生长繁殖, 易导致堆肥产品未腐熟等问题。较高的含水率会使物料产生团聚, 不利于通风, 产生局部厌氧, 延长堆肥周期。不同物料好氧堆肥的最佳含水率也存在差异。ZAVALA 等^[12]认为, 人粪污和木屑共堆肥含水率大于 64% 会产生厌氧降解。而 PETRICA 等^[13]研究表明, 禽粪和麦秸联合堆肥时的最佳初始含水率为 69%。此外, GUO 等^[9]通过正交实验研究通风量、C/N 和含水率对猪粪和玉米秸秆堆肥影响时发现, 65%、70% 和 75% 的初始含水率间无显著性差异。

好氧堆肥过程是在不同微生物参与的条件下完成的, 含水率会影响微生物生理和代谢活动所需的溶解性营养物质的运输, 进而影响微生物生命活动^[9]。LI 等^[14]在研究不同表面活性剂对牛粪和甘蔗渣堆肥有机质降解和微生物群落功能特性影响时发现, 含水率是影响堆肥初期细菌群落结构的主要环境因子, 并且在整个堆肥过程中, 其对细菌群落的影响仅次于纤维素。GUO 等^[15]以锯末和玉米芯为主要堆肥原料的研究也证实含水率是堆肥初期影响细菌群落的主要因素, 他们还发现含水率与真菌群落的相关性大于其他环境因子。GE 等^[16]在研究初始含水率和 pH 对牛粪与麦秸共堆肥影响时发现, 总氮、pH 和含水率对堆体中真菌和细菌群落演替均有显著影响, 但含水率对微生物群落差异的贡献度低于总氮和 pH。因此, 堆肥物料不同, 含水率对堆肥过程中微生物群落的影响也不尽相同。

目前, 初始含水率对好氧堆肥腐熟及微生物群落结构影响的研究多以畜禽粪污为原料, 以人粪污为原料的研究鲜见报道。本研究借鉴畜禽粪污堆肥工艺研究结果, 以人粪污为原料, 选择含水率作为好氧堆肥关键影响因子, 从堆肥物料的基本理化性质、养分质量分数、无害化效果 3 方面对堆肥产品进行评价, 并进行微生物群落结构变化分析, 探究初始含水率对人粪污好氧堆肥腐熟及微生物群落结构的影响, 了解初始含水率对人粪污堆肥进程的影响, 为优化人粪污好氧堆肥工艺参数提供参考, 促进人粪污无害化处理和资源化利用。

1 材料与方法

1.1 实验材料与装置

本研究使用的人粪污取自北京市顺义区某农村旱厕, 调理剂为 2 cm 长的玉米秸秆。原料性质见表 1。本研究中使用的堆肥发酵装置参考文献[17], 该装置有效容积为 60 L, 由发酵罐罐体、通风控制系统、温度监测系统、空气泵等部分组成, 可实时记录堆体温度, 控制堆体通风量。罐体顶部设有 1 个通风口, 侧面设有上、中、下 3 个取样口(图 1)。

1.2 实验设计

以人粪污为原料, 选择初始含水率为关键影响因子, 设置含水率(MC, Moisture Content)为 55% (MC55)、60% (MC60) 和 65% (MC65) 3 个处理组, 开展实验。用玉米秸秆调节含水率与碳氮比(C/N), 实验设计如表 2 所示。曝气方式采用间隔曝气, 隔 45 min 曝气 5 min, 曝气量为 $0.7 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[16], 实验周期为 30 d。

表 1 原料性质

Table 1 Characteristics of raw materials

原料	含水率/%	pH	TC/%	TN/%	C/N	沙门氏菌	蛔虫卵死亡率/%
人粪污	89.69	7.39	43.69	3.48	12.55	未检出	100
玉米秸秆	5.47	7.1	45.02	1.53	29.42	-	-

注: “-”代表未检测。

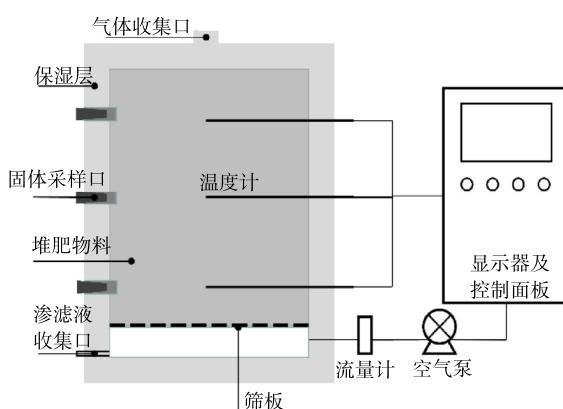


图 1 堆肥反应器示意图

Fig. 1 Sketch map of composting reactor

待堆体温度降至室温时进行翻堆。每2 d采集1次样本，每次在堆体的上、中、下均匀采样共500 g，并分为3部分，一部分储存在4℃冰箱用于测定MC、pH值、电导率(EC, Electrical Conductivity)、种子发芽指数(GI, Germination Index)；一部分晾干后用于测定总碳(TC, Total Carbon)、总氮(TN, Total Nitrogen)、总磷(TP, Total phosphorus)、总钾(TK, Total potassium)；另一部分储存在-80℃超低温冰箱用于粪大肠菌群数和微生物群落结构检测，取升温期、高温期和腐熟期-80℃保存样品进行微生物群落结构测定。

1.3 测定指标

堆体温度由发酵罐自带的PT100温度探头测定，每天上午9点，下午3点进行记录。MC、pH值、EC、GI测定方法参考文献[18]，TC、TN质量分数用元素分析仪(Flash-2000，美国赛默飞世尔科技公司)测定，TP、TK质量分数用电感耦合等离子体原子发射光谱仪(Agilent 7800，美国安捷伦科技有限公司)测定，粪大肠菌群数按照GB/T 19524.1-2004《肥料中粪大肠菌群的测定》^[19]的方法测定。样品DNA提取及PCR扩增参照文献[20]的描述，委托第三方实验室在其Miseq平台进行16s rRNA和ITS深度测序。

2 结果与讨论

2.1 堆肥腐熟性质

1) 基本理化性质。温度是反应堆肥过程的一个直观参数。3个处理组温度变化如图2所示。各处理温度变化趋势相似，均出现2个高温期(>50℃)，但每个高温期最高温度与维持时间有明显不同。堆肥初期，3个处理组温度均迅速攀升，在第2 d达到第一个高温期，MC55、MC60和MC65处理组高温期分别持续1、2和5 d，最高温度分别为54.0、67.2和67.1℃。这表明，较高的含水率更加适合堆肥初期微生物的生长繁殖，有助于人粪便好氧堆肥启动。随后堆体温度开始下降，降至室温后进行了翻堆，MC55和MC60处理第8天翻堆，MC65处理第14 d翻堆。由于翻堆增加了物料与氧气的接触面积^[10]，进一步优化了微生物的生存环境^[21]，各处理翻堆后迎来第二个高温期，MC55、MC60和MC65处理组第2个高温期分别持续4、1和0 d，最高温度分别为61.0、50.1和35.9℃。MC55处理的温度变化与HASHEMI等^[7]的研究存在差异，这可能是由于堆体含水率较低，不适合微生物生长繁殖。由于前期大部分有机质已被降解，MC60和MC65处理第2个高温期持续时间均较短。堆肥后期，随着可降解有机物质的不断消耗，微生物活性逐渐减弱，堆体

表2 不同处理组实验设计方案

Table 2 Experimental design schemes for different treatments

编号	人粪污/kg	玉米秸秆/kg	MC/%
MC55	14	10	55
MC60	14	7.5	60
MC65	14	5.8	65

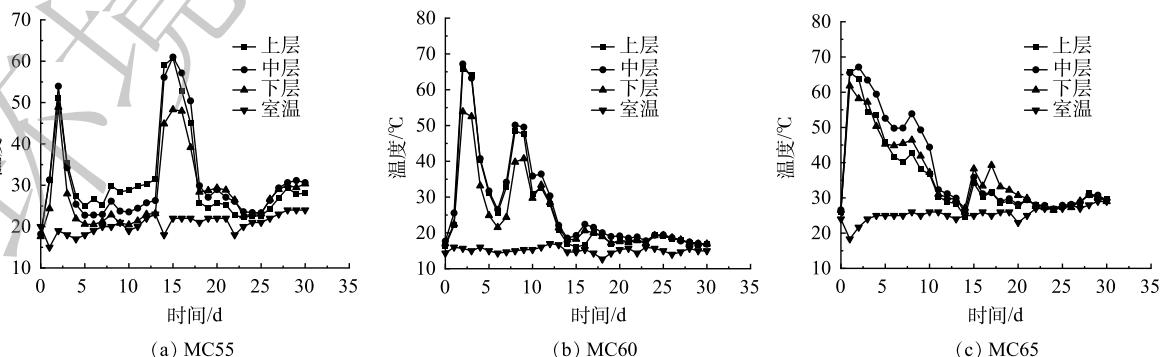


图2 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程温度变化的影响

Fig. 2 Changes of temperature during human excrement composting with different initial moisture content

温度逐渐降低至室温。整体而言, 各处理高温期均大于 2 d, 均已达到《粪便无害化卫生要求》(GB 7959-2012) [22], MC65 处理高温期持续时间最长, 表明初始含水率 65% 更适合微生物的新陈代谢, 有机质降解更充分 [10]。

水分不仅参与微生物的生长繁殖, 还影响着堆肥效果和理化性质的变化 [23]。3 个处理堆肥过程中 MC 变化如图 3 所示。3 个处理组的 MC 均呈波动下降最终趋于稳定的趋势。3 个处理在翻堆后 MC 均有所升高, 由于在翻堆时观察到堆体表层有大约 1 cm 厚的物料明显比其他物料更加潮湿, 因此推测 MC 的升高是翻堆造成的。MC65 处理 MC 在前 12 d 下降幅度较大, 这是因为该处理第 1 个高温期持续时间最长, 蒸发带走了大量水分。由于 MC55 处理第 2 个高温期持续时间较长, 其含水率在翻堆后才表现出明显下降。堆肥结束时, 3 个处理堆体 MC 均在 45% 左右, MC55、MC60 和 MC65 处理组含水率较初始时分别下降了 11.64%、12.9% 和 18.91%。

堆肥过程中微生物生长的最佳 pH 是 6.7~9.0 [24]。不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程 pH 变化如图 4 所示。3 个处理组 pH 值在升温期和高温期有明显不同, MC55 处理 pH 值呈先下降后波动上升的趋势, 而 MC60 和 MC65 处理 pH 值呈先升高后降低的趋势。产生这种差异的原因可能是堆肥初期 MC55 处理可被微生物利用的有机物质量分数高于其他处理, 微生物分解有机物产生有机酸的速率高于含氮有机物分解产生铵态氮 (ammonium nitrogen, AN) 的速率, 造成了有机酸积累 [25], 而 MC60 和 MC65 处理由于温度较高, 加速了有机酸的分解和挥发, 导致了 pH 的升高 [26]。因为 MC65 处理高温期较长, NH₃ 挥发较多, 导致了 MC65 处理 pH 下降速率高于 MC60 处理 [26]。堆肥后期, 随着温度的下降, 硝化作用增强, 3 个处理 pH 也出现不同程度的下降 [16]。在堆肥反应结束时, 3 个处理的 pH 无显著性差异 ($p>0.05$)。

EC 是反应堆体盐分的指标, 与堆肥样品浸提液中离子总浓度呈正相关。不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程 EC 变化如图 5 所示。

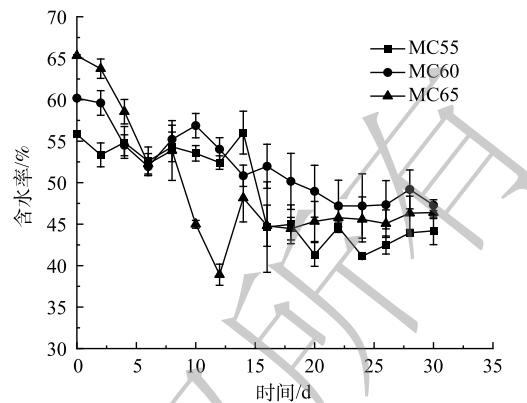


图 3 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程含水率变化的影响

Fig. 3 Changes of moisture during human excrement composting with different initial moisture content

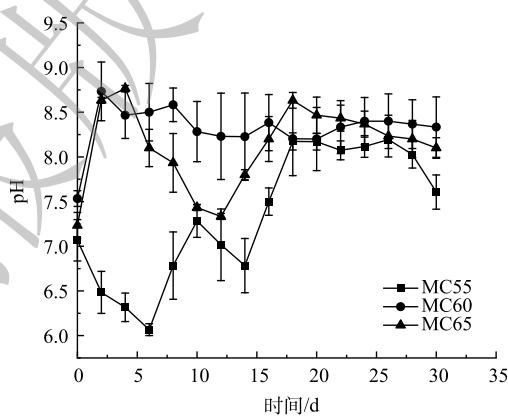


图 4 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程 pH 变化的影响

Fig. 4 Changes of pH during human excrement composting with different initial moisture content

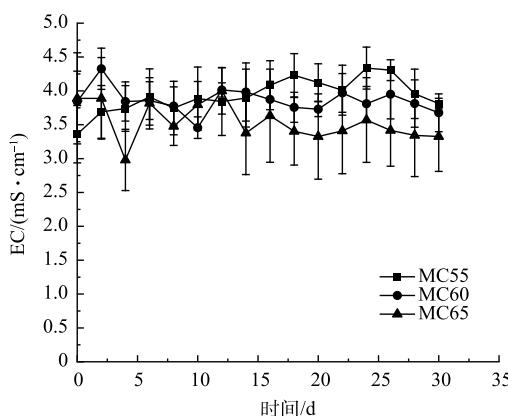


图 5 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程 EC 变化的影响

Fig. 5 Changes of EC during human excrement composting with different initial moisture content

MC55 和 MC60 处理 EC 均呈先升高后降低，最终趋于稳定的趋势。由于微生物将有机物分解为小分子物质，堆体的离子浓度升高，造成堆肥初期 EC 值升高。随着 NH_4^+ 以 NH_3 形式挥发和腐殖质的形成，EC 值逐渐降低^[27]。由于 MC65 处理堆肥初期高温加速了 NH_3 挥发^[10]，EC 值呈现降低趋势，随着温度下降， NH_3 挥发减少，微生物的分解作用依然存在，EC 值逐渐升高，并趋于稳定。堆肥结束时，3 个处理组间 EC 值无显著差异 ($p>0.05$)，MC55、MC60 和 MC65 处理组的 EC 值分别为 3.81 、 3.68 和 $3.33 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ，均低于 $4 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ，作为肥料施入土壤不会对作物及土壤产生不利影响^[28]。

2) 养分质量分数变化。不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程 TP、TK 变化如图 6 所示。3 个处理组 TP、TK 质量分数随着堆肥反应的进行均呈增长趋势。这是因为，堆肥过程是微生物不断分解有机物的过程，随着有机物的降解，物料会产生浓缩效应^[29]。李英凯等^[30]的研究也得到了同样的结论。堆肥结束时，MC55、MC60 和 MC65 处理组 TP 质量分数较初始时分别增长了 44.18% 、 55.71% 和 51.33% ，TK 质量分数分别增长了 44.88% 、 74.87% 和 69.37% 。堆肥结束时，3 个处理组 TP 质量分数无显著性差异 ($p>0.05$)，MC60 处理 TK 质量分数显著高于其他 2 个处理组 ($p<0.01$)，MC55 和 MC65 处理组 TK 质量分数无显著性差异。

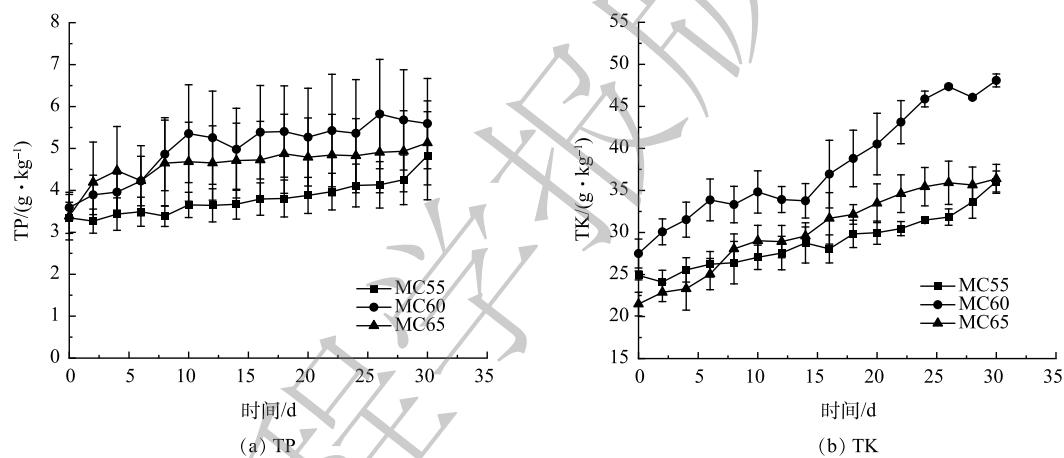


图 6 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程 TP、TK 变化的影响

Fig. 6 Changes of TP and TK during human excrement composting with different initial moisture content

不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程 TC、TN 变化如图 7 所示。由于前 4 d 微生物活性较高，有机质降解速度快，造成反应初期 TC 质量分数大幅下降。随着反应的进行，在堆肥后期，可被降

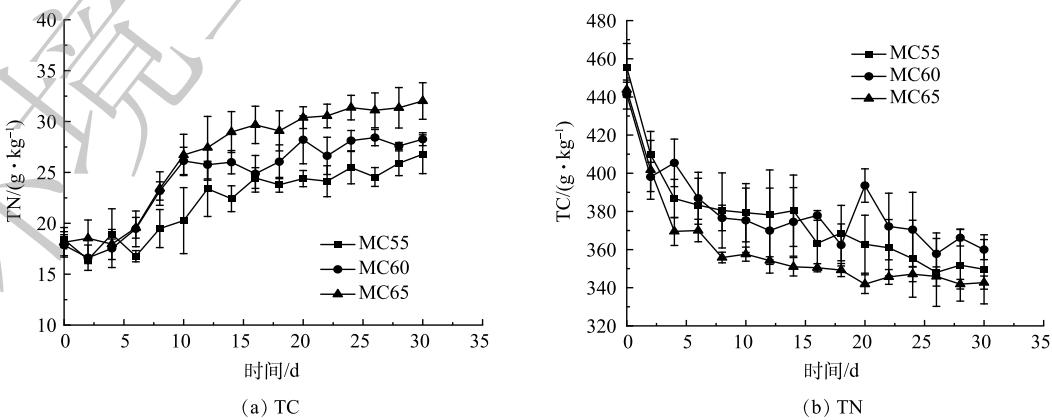


图 7 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程 TC、TN 变化的影响

Fig. 7 Changes of TC and TN during human excrement composting with different initial moisture content

解的有机物不断减少, 微生物活性逐渐下降, TC质量分数下降幅度减缓, 在腐熟期TC质量分数趋于稳定。堆肥结束时, MC55、MC60和MC65处理组TC质量分数较初始时分别下降了21.51%、18.42%和22.79%。这与袁京等^[31]的研究结果一致。随着反应的进行, TN质量分数呈先上升后趋于稳定的趋势, 反应结束时, 3个处理组间TN质量分数无显著性差异($p>0.05$)。在玉米秸秆堆肥^[32]和蔬菜废弃物堆肥^[29]的研究中都得到了这样的结果, 这些研究认为这是物料浓缩效应造成的。另有研究结果表明, 堆肥过程会造成氮损失, 且初始含水率在60%~65%时, TN损失相对较高^[31], 而本研究中随着初始含水率的增加, TN增长量也在增加。产生这种异同情况的原因需在以后的研究中进一步分析。

3) 无害化效果。GI是反应堆肥腐熟度和作物毒性的指标^[9]。不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程GI变化如图8所示。初始时, 3个处理组GI均低于30%, 且初始MC越低, GI越低, 表明未经发酵的人粪污具有较高的作物毒性。堆肥初期MC55处理GI缓慢上升, MC60和MC65处理GI升速较快。第4 d时MC60处理GI已经高于80%, 达到无害化要求^[10]。这表明, MC60更有助于堆肥对人粪污作物毒性的削减, 进而提高堆肥腐熟效率^[9]。在堆肥结束时, MC55、MC60和MC65处理组GI分别为115.52%、80.05%和92.14%, 均达到《畜禽粪便堆肥技术规范》(NY/T 3442-2019)^[33]的要求。

粪大肠菌群是体现堆肥产物无害化程度的重要指标。3个处理组粪大肠菌群随时间变化

趋势如图9所示。MC55处理粪大肠菌群呈先减少后增加又减少, 从第18 d又大幅增长的趋势, 堆肥结束时, 粪大肠菌群数约为808 MPN·g⁻¹; MC60处理粪大肠菌群呈先减少后波动增长, 最后又减少的趋势, 第30 d粪大肠菌群数降为93 MPN·g⁻¹; MC65处理粪大肠菌群数呈先下降后增长, 再下降再增长, 最终趋于稳定的趋势, 但最高未超过40 MPN·g⁻¹。这表明, MC55和MC60处理降温期堆料适合粪大肠菌群生长, 可能是由于粪大肠菌群是耐热菌, 可在37~47 °C的环境中生存^[34]。在堆肥结束时, MC60和MC65处理均已达到无害化卫生要求^[22], 而MC55处理未达到无害化卫生要求, 且大肠菌群数高于初始时。SADEGHI等^[35]的研究也发现堆肥腐熟期粪大肠菌群再生的现

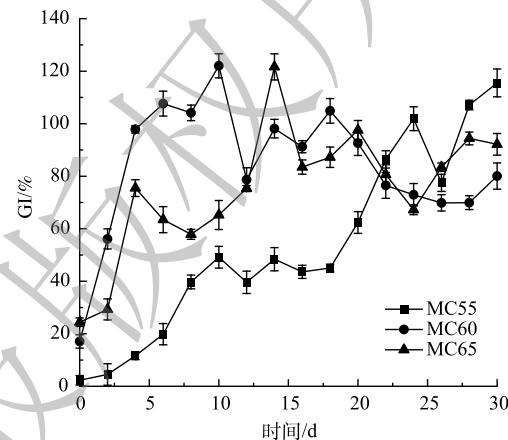


图8 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程GI变化的影响

Fig. 8 Changes of GI during human excrement composting with different initial moisture content

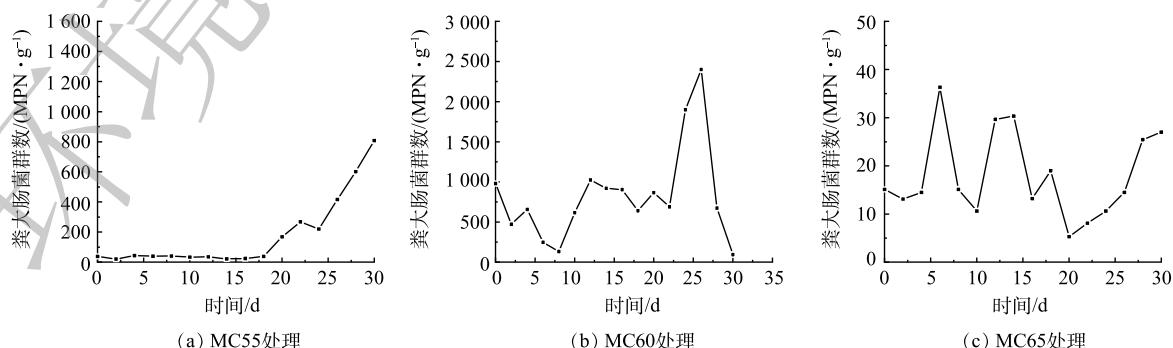


图9 不同初始含水率对人粪污好氧堆肥过程粪大肠菌群数变化的影响

Fig. 9 Changes of the number of fecal coliform during human excrement composting with different initial moisture content

象，他们认为这是高温期持续时间较短造成的。

2.2 微生物群落结构

1) 覆盖度和OTU聚类。本实验9个样本共检测出524 316个优质细菌序列，1 085 401个优质真菌序列。经uparse聚类后，共产生1 357个细菌operational taxonomic units(OTUs)和1 189个真菌OTUs，经过抽平处理剩余1 336个细菌OTUs和1 150个真菌OTUs。细菌和真菌分别观察到23和9门，46和35纲，130和92目，227和171科，456和274属。这表明，在人粪污与玉米秸秆堆肥过程中，细菌丰度明显高于真菌丰度。GUO等^[15]的研究也得到了这样的结论，他们用桃木屑堆肥，共发现了1 538和383个细菌和真菌OTUs。

用稀释性曲线展现测序数据量合理性及各样本物种数量。如图10所示，各样本稀释性曲线都趋于平稳，表明更多的数据量只会产生少量的新OTUs，说明样本测序数据量合理。如图10(a)所示，MC60与MC65处理高温期细菌OTUs低于升温期和腐熟期。其中，MC60处理在腐熟期的细菌多样性高于升温期，而MC65处理腐熟期的细菌多样性低于升温期。这表明，在高温期细菌多样性减少，随着温度的下降，细菌多样性又有所增加，且MC60处理腐熟期样品细菌多样性高于升温期。MC55处理的OTUs数目随堆肥反应的进行呈下降趋势，表明随着反应的进行该处理细菌多样性逐渐降低。如图10(b)所示，随着堆肥的进行，MC55和MC65处理真菌OTUs数目逐渐减小，表明这2个处理真菌数量多样性随着反应的进行依次降低。MC60处理OTUs数目先增加后减少，表明在堆肥高温期其真菌多样性最高。WEI等^[32]认为，堆肥过程OTUs的波动是堆体环境条件引起的。

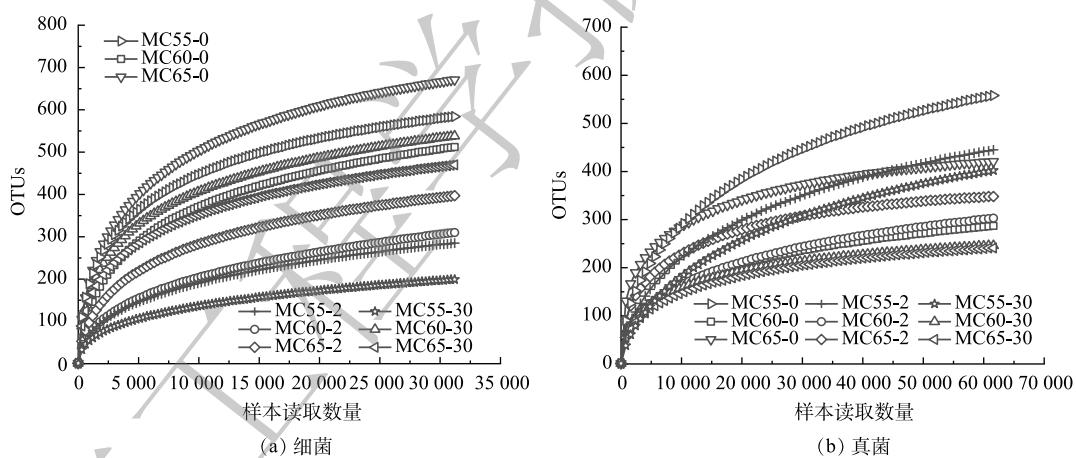


图10 不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程不同阶段稀释性曲线

Fig. 10 Rarefaction curve at the different phases of composting process with different initial moisture content

2) 门和属水平上物种组成。堆体中优势细菌相对丰度如图11(a)~图11(b)所示。从门水平上看(图11(a))，几个样本细菌主要由厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门组成，这4个菌门是公认的堆肥过程的主要细菌菌门^[36]，它们都参与纤维素和木质素的降解^[15]。各样本间各细菌菌门相对丰度存在较大差异。在升温期，变形菌门是MC55处理优势菌门；厚壁菌门是MC60和MC65处理优势菌门。到高温期，MC55处理优势菌门演替为厚壁菌门；MC60处理优势菌门演替为变形菌门；MC65处理优势菌门仍为厚壁菌门，其相对丰度有所增加。厚壁菌门演替为优势菌门是由于其可形成耐热的内生孢子^[37]，具有较强的热可塑性^[38]。到腐熟期，MC55处理优势菌门仍为厚壁菌门；MC60和MC65处理优势菌门为变形菌门，同时，拟杆菌门相对丰度有所增加，MC65处理拟杆菌门相对丰度高于MC60处理。由于拟杆菌门是堆肥过程中木质纤维素的主要分解

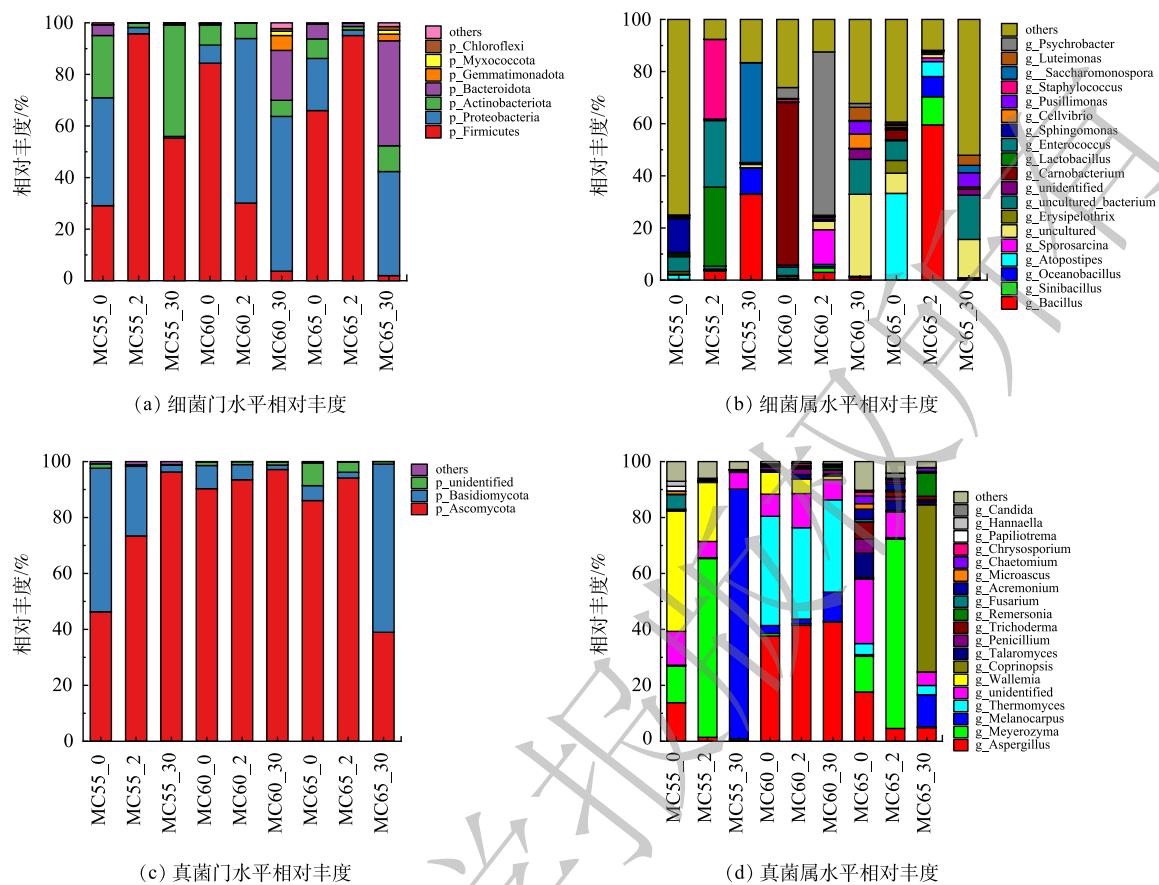


图 11 不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程不同阶段细菌和真菌门、属水平相对丰度

Fig. 11 Relative abundances of phylum and genus of bacteria and fungi at different phases of human excrement composting with different initial moisture content

者^[39], 因此, 较高的含水率加速了腐熟期木质纤维素的分解。在属水平上(图 11 (b)), 3 个处理不同时期样本间差异很大, 这可能是由于堆肥初始时堆体间细菌相对丰度就存在很大差异^[40]。在高温期, MC55 处理优势菌属为乳酸菌 (*Lactobacillus*)、葡萄球菌 (*Staphylococcus*) 和肠球菌 (*Enterococcus*), 这 3 类菌属主要分解糖类并广泛存在于肠道中^[41]; MC60 处理优势菌属由 *Carnobacterium* 演替为 *Psychrobacter*, *Psychrobacter* 能产生参与腐殖化过程的过氧化氢酶^[42], 表明 MC60 处理在堆肥第 2 d 已经开始腐殖化进程; MC65 处理优势菌属由 *Atopostipes* 演替为 *Bacillus*, *Bacillus* 可降解纤维素和有害物质^[16]。在腐熟期, *Saccharomonospora* 和 *Bacillus* 成为 MC55 处理的优势菌属, 2 者均可降低腐熟产物的作物毒性^[16], 这与 MC55 处理 GI 在腐熟期才达到无害化要求相吻合; MC60 和 MC65 处理优势菌属均为 *uncultured* 和 *uncultured_bictureum*, 结合温度和无害化指标变化, 推测 *uncultured* 和 *uncultured_bictureum* 可能是表征堆肥腐熟的菌属。由 3 个处理不同时期优势菌属变化可以发现, 高温期 MC60 和 MC65 优势菌属不同, 并且分别以腐殖化和无害化进程为主, 但在腐熟期 2 个处理微生物群落结构具有相似性。整个堆肥过程中, MC55 处理优势菌属均不同于另外 2 个处理, 且无害化进程主要发生在腐熟期。

真菌门和属水平相对丰度如图 11(c)~图 11(d) 所示, 在门水平上(图 11(c)), 不同处理不同时期的优势真菌门都是子囊菌门和担子菌门, 这与 GUO 等^[15]的研究结果一致。随着堆肥的进行, MC55 和 MC60 处理子囊菌门相对丰度逐渐增加, MC65 处理在高温期子囊菌门相对丰度也有所升高, 这可能是因为子囊菌门和担子菌门都可以分泌多种纤维素和半纤维素降解酶^[43-44], 但

Basidiomycota 对高温敏感，而 Ascomycota 能很好的适应温度和营养胁迫^[15]。担子菌门演替为 MC65 处理腐熟期优势菌门，这可能是因为腐熟期以木质素等难降解有机物的降解主要发生在腐熟期^[45]，担子菌门在木质素降解中起着关键作用^[46]。在属水平上(图 11(d))，MC60 处理各时期真菌相对丰度变化不大，其中曲霉(*Aspergillus*)相对丰度逐渐升高(从 37.63 到 42.67%)，*Thermomyces*(从 39.05% 到 32.98%)相对丰度逐渐下降。*Aspergillus* 和 *Thermomyces* 都能分解半纤维素^[16]，*Aspergillus* 可以加速堆肥进程，缩短腐熟期^[47]。HERNÁNDEZ-LARA 等^[40]也认为曲霉是腐熟期的优势真菌。在高温期，MC55 和 MC65 处理优势菌属均为 *Meyerozyma*，*Meyerozyma* 的菌株能分泌多种大分子有机物降解酶^[48]，并且与富里酸的形成有关^[49]。这表明，MC55 和 MC65 处理在高温期有大量富里酸合成。在腐熟期，*Melanocarpus* 成为 MC55 处理优势菌属；同时，在 MC60 和 MC65 处理中也观察到 *Melanocarpus* 相对丰度的增加。*Melanocarpus* 可以产生纤维素酶和木聚糖酶，参与富里酸、胡敏素的降解和胡敏酸的形成^[49]。因此，MC55 处理在第 30 d 仍处于腐殖化进程。在腐熟期，MC65 处理 *Coprinopsis* 相对丰度最高，车悦驰^[50]在西藏地区污泥堆肥的研究中也发现 *Coprinopsis* 在堆肥腐熟期成为优势菌属，但其原因还需进一步研究。

3) 微生物丰富度和群落多样性。Chao1 指数是菌种丰富度指数，Shannon 指数是用来估算样品中微生物多样性指数之一。不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程不同阶段细菌和真菌 Chao1 和 Shannon 指数如表 3 所示。MC55 处理细菌和真菌的微生物丰富度与群落多样性都逐渐减少。MC60 处理高温期细菌 Chao1 和 Shannon 指数低于另外 2 个时期。这表明，高温期细菌数量与种类都逐渐减少，随着温度的降低细菌数量逐渐恢复至初始水平，细菌群落多样性较堆肥初期还有所增加。随着反应的进行，MC60 处理真菌丰富度逐渐减少，但真菌物种均匀度在高温期增加后又随着温度的降低而减小。MC65 处理细菌丰富度和多样性变化与 MC60 处理相同，但真菌丰富度与均匀度都逐渐降低。GE 等^[16]在研究初始含水率和 pH 对牛粪

堆肥过程微生物演替的影响时，也发现从高温期到腐熟期细菌多样性逐渐降低。总体来讲，MC65 处理细菌丰富度高于其他处理，细菌多样性高于 MC60 处理，但升温期细菌多样性低于 MC55 处理。MC65 处理真菌丰富度与 MC60 处理相当，低于 MC55 处理，真菌多样性低于 MC60 处理，高于 MC55 处理。这表明，MC65 有助于提高堆肥过程中细菌丰富度与多样性，但 MC60 可提高真菌多样性。

4) 群落结构分析。主坐标分析(PCoA)可以了解不同处理间微生物群落差异性。PC1 和 PC2 共解释了 39.52% 的细菌差异性和 60.48% 的真菌差异性(图 12)。如图 12(a)所示，3 个处理不同时期样本细菌群落结构均有明显分离，表明堆肥时间对细菌分布有显著影响，DU 等^[51]也得到了这样的结论。MC55 和 MC65 处理在反应初期样本群落结构差异较小，与 MC60 处理在第二坐标轴上存在较大差异。MC60 和 MC65 处理在高温期和腐熟期细菌群落结构具有相似性，而与 MC55 处理细菌群落有明显的分离。这表明，MC60 和 MC65 处理细菌群落演替具有相似性，都与 MC55 处理细菌群落演替存在明显差异。如图 12(b)所示，MC55 和 MC65 处理不同时期样本真菌群落变化相

表 3 不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程不同阶段细菌和真菌 Chao1 和 Shannon 指数

Table 3 Bacteria and fungi Chao1 and Shannonindex at different phases of human excrement composting with different initial moisture content

样品编号	细菌		真菌	
	Chao1	Shannon	Chao1	Shannon
MC55-0	676.51	6.71	698.1	4.78
MC55-2	399.49	3.39	566.77	2.67
MC55-30	264.36	3.39	513.8	1.06
MC60-0	637.00	3.51	382.69	3.89
MC60-2	450.14	3.02	371.06	4.26
MC60-30	621.63	5.88	274.28	4.04
MC65-0	769.51	6.16	453.28	6.08
MC65-2	508.12	4.36	365.94	2.99
MC65-30	602.15	6.13	272.94	2.78

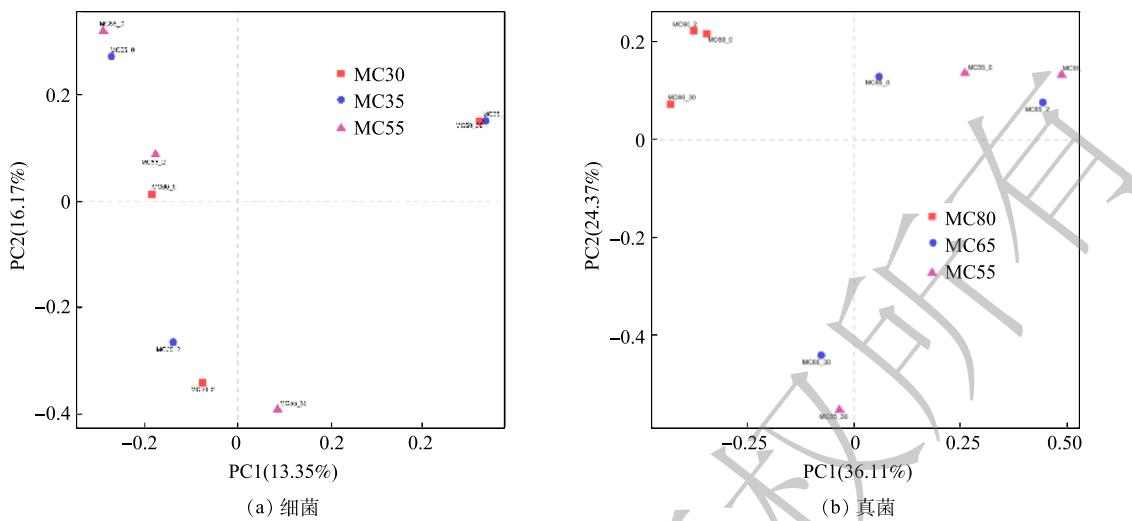


图 12 不同初始含水率人粪污好氧堆肥过程不同阶段细菌和真菌主坐标分析 PCoA

Fig. 12 Principal coordinate analysis (PCoA) of bacteria and fungi at different phases of human excrement composting with different initial moisture content

似, 升温期和高温期真菌群落结构在第一坐标轴上有明显的分离, 腐熟期真菌群落与堆肥初期和高温期均有明显的分离。MC60 处理不同时期样本间真菌群落差异性较小, 且与 MC55 和 MC65 处理有明显的分离。这表明, MC55 和 MC65 处理真菌群落随时间的变化具有相似性, 但与 MC60 存在较大差异。

5) 冗余分析 RDA。堆肥是微生物活动的过程, 环境因子对微生物群落结构有很大影响。采用 RDA 分析方法, 分析了环境因子 (MC、TC、TN、TK、TP、pH、EC、C/N、AN) 对人粪污堆肥系统中相对丰度前 20 的细菌属和真菌属的影响。如图 13 所示, RDA1 和 RDA2 共解释了细菌群落结构和环境因子总变异的 63.61%, RDA1 和 RDA2 共解释了真菌群落结构和环境因子总变异的 68.86%。RDA 图中箭头的长度表示环境因子与样本分布的相关程度^[40]。C/N 是引起堆体中细菌群落变化的关键因素, C/N 和 MC 是引起堆体中真菌群落变化的关键因素, 此外, 在引起细菌群落变化的环境因子中, C/N 和 MC 具有很高的正相关性。这可能是因为, C、N 是微生物代谢的主要营养物质^[52], 而 MC 是可溶性营养物质运输的载体^[9]。随着堆肥的进行, MC 对的微生物群落结构的

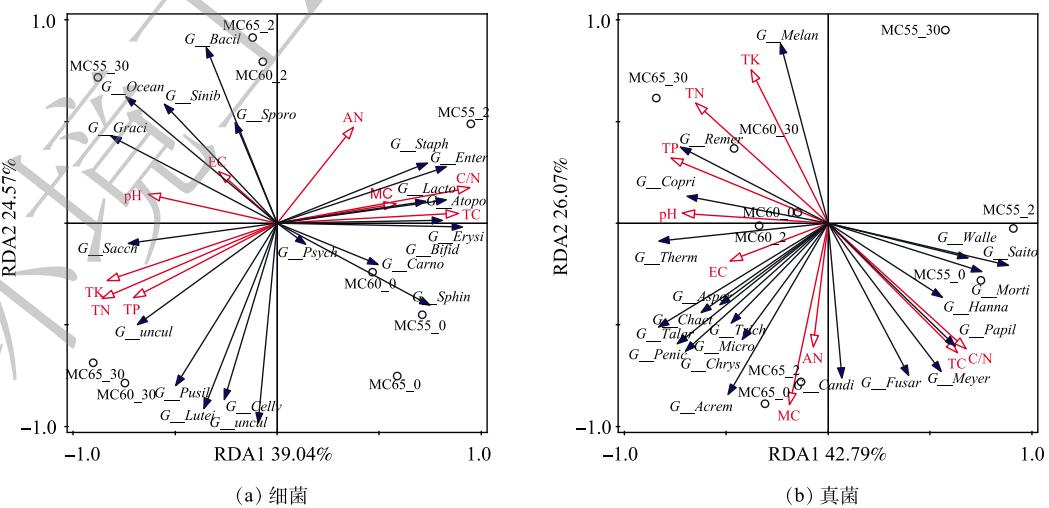


图 13 环境因子与细菌、真菌间的冗余分析 (RDA)

Fig. 13 Redundancy Analysis (RDA) between Environmental Factors and Bacteria and Fungi

影响逐渐减小。这表明，MC对微生物群落结构的影响主要发生在堆肥初期。这与LI等^[14]的研究结果一致。

3 结论

1) MC55、MC60和MC65处理，经30 d好氧堆肥，堆肥产品均可达到腐熟标准，堆肥产物没有作物毒性(GI>80%)。3个处理组堆体高温期(>50 °C)持续天数为2~5 d，MC65处理高温持续时间最长。堆肥结束时，MC60和MC65处理堆肥产物均达到无害化卫生标准，MC55处理堆肥产物未达到无害化卫生标准。

2) 3个处理组细菌丰度均高于真菌。MC65处理有助于提高堆肥过程中细菌丰富度与多样性，但MC60处理可提高真菌多样性。MC65处理增加了腐熟期拟杆菌门、担子菌门和与腐熟相关的菌属的相对丰度，加速了木质纤维素的降解及堆肥腐熟进程。MC对微生物群落结构的影响主要发生在堆肥初期。

3) 综合考虑堆肥物料的基本理化性质、养分质量分数和无害化效果3方面因素，人粪污和玉米秸秆联合好氧堆肥的最佳初始含水率为65%。

参考文献

- [1] 王仁, 宏曹昆.《乡村振兴战略规划(2018—2022年)》专栏[EB/OL].[2021-11-22]. <http://politics.people.com.cn/n1/2018/0927/c1001-30315372.html>.
- [2] YADAV K D, TARE V, AHAMMED M M. Vermicomposting of source-separated human faeces for nutrient recycling[J]. *Waste Management*, 2010, 30(1): 50-56.
- [3] CHENG S K, LI Z F, UDDIN S M N, et al. Toilet revolution in China[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 216: 347-356.
- [4] SHRESTHA D, SRIVASTAVA A, SHAKYA S M, et al. Use of compost supplemented human urine in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) production[J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 153: 8-12.
- [5] COFIE O, KONE D, ROTHENBERGER S, et al. Co-composting of faecal sludge and organic solid waste for agriculture: Process dynamics[J]. *Water Research*, 2009, 43(18): 4665-4675.
- [6] VINNERNÄS B. Comparison of composting, storage and urea treatment for sanitising of faecal matter and manure[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(17): 3317-3321.
- [7] HASHEMI S, BOUDAGHPOUR S, HAN M. Evaluation of different natural additives effects on the composting process of source separated feces in resource-oriented sanitation systems[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 185: 109667.
- [8] LU J W, ZHANG J R, ZHU Z B, et al. Simultaneous production of biocrude oil and recovery of nutrients and metals from human feces via hydrothermal liquefaction[J]. *Energy Conversion and Management*, 2017, 134: 340-346.
- [9] GUO R, LI G X, JIANG T, et al. Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 112: 171-178.
- [10] 李丹阳, 马若男, 元传仁, 等. 含水率对羊粪堆肥腐熟度及污染气体排放的影响[J]. *农业工程学报*, 2020, 36(20): 254-262.
- [11] 李季, 彭生平. 堆肥工程实用手册[J]. 第二版. 化学工业出版社, 2011: 30-31.
- [12] ZAVALA M A L, FUNAMIZU N. Effect of Moisture Content on the Composting Process In a Biotoilet System[J]. *Compost Science & Utilization*, 2005, 13(3): 208-216.
- [13] PETRIC I, ŠESTAN A, ŠESTAN I. Influence of initial moisture content on the composting of poultry manure with wheat straw[J]. *Biosystems Engineering*, 2009, 104(1): 125-134.
- [14] LI G, ZHU Q H, NIU Q Q, et al. The degradation of organic matter coupled with the functional characteristics of microbial community during composting with different surfactants[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 321: 124446.
- [15] GUO Y X, CHEN Q J, QIN Y, et al. Succession of the microbial communities and function prediction during short-term peach sawdust-based composting[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 332: 125079.
- [16] GE M S, SHEN Y J, DING J T, et al. New insight into the impact of moisture content and pH on dissolved organic matter and microbial dynamics during cattle manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 344: 126236.
- [17] SHEN Y J, ZHAO L X, MENG H B, et al. Effect of aeration rate, moisture content and composting period on availability of copper and lead during pig manure composting[J]. *Waste Management & Research*, 2016, 34(6): 578-583.
- [18] GE M S, ZHOU H B, SHEN Y J, et al. Effect of aeration rates on enzymatic activity and bacterial community succession during cattle manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 304: 122928.

- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准话管理委员会.肥料中粪大肠菌群的测定:GB/T 19524.1-2004 [S].北京:中国国家标准出版社,2004.
- [20] GAO Y, LI H Y, YANG B, et al. The preliminary evaluation of differential characteristics and factor evaluation of the microbial structure of rural household toilet excrement in China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(32): 43842-43852.
- [21] LIU H T, GUO H N, GUO X X, et al. Probing changes in humus chemical characteristics in response to biochar addition and varying bulking agents during composting: A holistic multi-evidence-based approach[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 300: 113736.
- [22] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会.粪便无害化卫生要求:GB 7959-2012 [S].北京:中国标准出版社,2013.
- [23] SHEN D S, YANG Y Q, HUANG H L, et al. Water state changes during the composting of kitchen waste[J]. *Waste Management*, 2015, 38: 381-387.
- [24] BERNAL M P, ALBURQUERQUE J A, MORAL R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(22): 5444-5453.
- [25] KONG W L, SUN B, ZHANG J Y, et al. Metagenomic analysis revealed the succession of microbiota and metabolic function in corn cob composting for preparation of cultivation medium for Pleurotus ostreatus[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306: 123156.
- [26] 李相儒.农村易腐垃圾生物干化与腐熟工艺初探[D].杭州:浙江大学,2019.
- [27] 咸冰,李恕艳,李国学.风干预处理对堆肥腐熟度及臭气排放量的影响[J].农业工程学报,2016, 32(S2): 247-253.
- [28] GARCÍA C, HERNÁNDEZ T, COSTA F. Study on water extract of sewage sludge composts[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2012, 37(3): 399-408.
- [29] 刘文杰,王黎明,沈玉君,等.碳氮比对蔬菜废弃物好氧发酵腐熟度及臭气排放的影响[J].*环境工程*,2020, 38(6): 233-239.
- [30] 李英凯,李佳丽,孙溪悦,等.添加牛粪和园林废弃物对污泥蚯蚓堆肥的影响[J].*环境工程学报*,2020, 14(1): 197-208.
- [31] 袁京,刘燕,唐若兰,等.畜禽粪便堆肥过程中碳氮损失及温室气体排放综述[J].*农业环境科学学报*,2021, 40(11): 2428-2438.
- [32] WEI H W, WANG L H, HASSAN M, et al. Succession of the functional microbial communities and the metabolic functions in maize straw composting process[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 256: 333-341.
- [33] 中华人民共和国农业农村部.畜禽粪便堆肥技术规范:NY/T 3442-2019 [S].北京:中国农业出版社,2019.
- [34] SHAHEDUZZAMAN M, RAHMAN M S, NUR I T. Influence of temperature on the growth of fecal coliform[J]. *Stamford Journal of Microbiology*, 2016, 6(1): 463-477.
- [35] SADEGHI S, NIKAEEN M, MOHAMMADI F, et al. Microbial characteristics of municipal solid waste compost: Occupational and public health risks from surface applied compost[J]. *Waste Management*, 2022, 144: 98-105.
- [36] CHANG H Q, ZHU X H, WU J, et al. Dynamics of microbial diversity during the composting of agricultural straw[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2021, 20(5): 1121-1136.
- [37] ZHOU G X, XU X F, QIU X W, et al. Biochar influences the succession of microbial communities and the metabolic functions during rice straw composting with pig manure[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 272: 10-18.
- [38] MORENO J, LÓPEZ-GONZÁLEZ J A, ARCOS-NIEVAS M A, et al. Revisiting the succession of microbial populations throughout composting: A matter of thermotolerance[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 773: 145587.
- [39] WANG S P, WANG L, SUN Z Y, et al. Biochar addition reduces nitrogen loss and accelerates composting process by affecting the core microbial community during distilled grain waste composting[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 337: 125492.
- [40] HERNÁNDEZ-LARA A, ROS M, CUARTERO J, et al. Bacterial and fungal community dynamics during different stages of agro-industrial waste composting and its relationship with compost suppressiveness[J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 805: 150330.
- [41] HUANG R J, WU F, ZHOU Q, et al. Lactobacillus and intestinal diseases: Mechanisms of action and clinical applications[J]. *Microbiological Research*, 2022, 260: 127019.
- [42] GARCÍA-LÓPEZ M, SANTOS J A, OTERO A, et al. Psychrobacter//BATT C A, TORTORELLO M L[J]. Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition). Oxford:Academic Press, 2014: 261-268.
- [43] MENG Q X, YANG W, MEN M Q, et al. Microbial Community Succession and Response to Environmental Variables During Cow Manure and Corn Straw Composting[J]. *Frontiers in microbiology*, 2019, 10: 529.
- [44] LE G O, V B, H B, et al. The microbial signature of aerosols produced during the thermophilic phase of composting[J]. *Journal of applied microbiology*, 2010, 108(1): 325-340.
- [45] 马闯,扈斌,刘福勇,等.有机废弃物好氧堆肥过程中微生物及酶活性变化状况综述[J].*环境工程*,2019, 37(9): 159-164.
- [46] LIU T, KUMAR AWASTHI M, JIAO M N, et al. Changes of fungal diversity in fine coal gasification slag amendment pig manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 325: 124703.
- [47] AWASTHI S K, DUAN Y M, LIU T, et al. Sequential presence of heavy metal resistant fungal communities influenced by biochar amendment in the poultry manure composting process[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 291: 125947.
- [48] VALSALAN R, MATHEW D. Draft genome of Meyerozyma guilliermondii strain vkal: a yeast strain with composting potential[J]. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 2020, 18(1): 54.
- [49] ZHANG W M, YU C X, WANG X J, et al. Additives improved

- saprotrophic fungi for formation of humic acids in chicken manure and corn stover mix composting[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 346: 126626.
- [50] 车锐驰. 西藏高原污泥好氧堆肥资源化特性与潜力研究[D]. 拉萨: 西藏大学, 2020.
- [51] DU J J, ZHANG Y Y, QU M X, et al. Effects of biochar on the (责任编辑: 金曙光)
- microbial activity and community structure during sewage sludge composting[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 272: 171-179.
- [52] QIAO C, PENTON C R, LIU C, et al. Patterns of fungal community succession triggered by C/N ratios during composting[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401: 123344.

Effect of the initial moisture content on the maturity extent and the microbial community structure of the aerobic compost with human excrement

ZHOU Yawen^{1,3}, ZHANG Yuhang^{1,2}, SHEN Yujun^{1,3}, DING Jingtao^{1,3}, FAN Shengyuan^{1,3}, JIA Yiman^{1,3}, WANG Huihui^{1,3,*}, CHENG Qiongyi^{1,3}, LI Danyang^{1,3}, ZHANG Aiqin^{1,3}

1. Institute of Energy and Environmental Protection, Academy of Agricultural Planning and Engineering, Beijing 100125, China; 2. College of Resources and Environment Science, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China; 3. Key Laboratory of Rural Toilet and Sewage Treatment Technology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs P. R. China, Beijing 100125, China
*Corresponding author, E-mail: whh9876@163.com

Abstract In order to study the optimal process parameter of the aerobic composting with the human excrement, the effect of the initial moisture content (MC) on the maturity extent of the aerobic composting and the microbial community structure of the human excrement were studied. Adopting the human excrement as the raw material and the corn straw as conditioner, three treatment groups were set up with initial moisture content of 55% (MC55), 60% (MC60) and 65% (MC65), respectively. The experiment was conducted in three 60 L closed fermenters with composting for 30 days. The results showed that the compost products could fulfill the maturity standard and had no crop toxicity ($GI > 80\%$) with different initial moisture contents. The compost products of MC60 and MC65 had satisfied the non-hazardous sanitary standard, while the compost products of MC55 could not, with the fecal coliforms which was higher than $10^2 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$. The bacterial abundances were higher than those of fungi in all three treatments, which indicated that the treatment of MC65 could improve the richness and the diversity of the bacteria during the composting process, but MC60 could increase the diversity of the fungi. The compositions of the major bacterial phyla and fungal phyla were consistent among the three treatments. The treatment of MC65 increased the relative abundance of the Bacteroidetes and Basidiomycetes during the mature phase. The dominant bacterial genera among the three treatments were significantly different during the heating and the thermophilic phases. The bacterial genus was similar between MC60 and MC65 during the mature phase, and the variations of fungal genera during the compost period were similar for MC55 and MC65. The treatment of MC65 improved the relative abundances of *Bacillus* and *Meyerozyma* during the thermophilic phase, as well as *uncultured_bictureum* and *Coprinopsis* during the mature phase. The effect degree of MC on the fungal succession was greater than that of the bacteria, and the effect of MC on microbial community structure gradually decreased throughout the composting process. For compost products, MC65 has the longest thermophilic phase and the lowest number of fecal coliforms, and the relative abundance of lignin-degrading bacteria was increased in the mature phase, which illustrated that it was the best initial moisture content for the aerobic compost with human excrement. This research can provide the reference for optimizing the technological parameters for aerobic compost with human excrement and promote the resource utilization of human excrement.

Keywords moisture content; human excrement; aerobic composting; microbial community structure