

发酵时间与温度对沼液氨基酸含量的影响

商常发，王立克，陈巧妙，张素芝，黄春兰，柳卫国

(安徽科技学院，安徽 凤阳 233100)

摘要：为了研究发酵时间与温度对沼气生产设备中沼液氨基酸含量的影响，探讨饲用沼液的最佳取样点及取样条件，使沼气能源环境工程与养殖业生产更好地结合起来。试验从利蒲发酵罐、湿式低压气柜、预沉淀池、一体化氧化沟4个设备中采集沼液，分别按2个独立的程序采样。采样时间：在当天(0 d)、7 d、14 d、21 d、28 d各采样一次；每一样品进行4次重复试验。用茚三酮法分别测定不同样品中的氨基酸含量。试验结果表明：各样液中氨基酸含量随发酵时间的延长而增加，饲用沼液的取样时间应于发酵14 d以后，取样点以预沉淀池为宜。

关键词：氨基酸；沼液；时间；温度

中图分类号：S188 文献标识码：B 文章编号：0529-5130(2009)11-0042-03

沼气发酵料液中的可溶性物质大部分存在于沼液中，主要是一些有机物和各种离子^[1]。经研究发现沼液中不仅含有丰富的氮(0.03%~0.08%)、磷(0.02%~0.07%)、钾(0.05%~1.40%)等大量的营养元素和钙、铜、铁、锌、锰等微量元素，还含有丰富的氨基酸、B族维生素等。沼液中的氨基酸有赖氨酸、色氨酸、蛋氨酸等，大部分是动物生长所必需的氨基酸^[2]。目前，沼液作为新型的饲料添加剂被应用，但有关规模化沼气生产设备中氨基酸含量的研究，迄今未见报道。本文旨在研究发酵时间与温度对沼气生产的4个设备中沼液氨基酸含量的影响，探讨饲用沼液的最佳取样点及取样条件，使沼气能源环境工程与饲料生产更好地结合起来。

1 材料与方法

1.1 沼液原料

本次试验采用的原料主要为新鲜蛋鸡粪，全部采集于安徽科技学院畜牧科技园。所喂饲料主要为玉米和豆饼，新鲜鸡粪经粗略过滤除去较大的杂物和颗粒后即用于试验。

收稿日期：2009-02-16；修回日期：2009-09-10

基金项目：安徽省教育厅自然科学基金(2006KJ052A)。

作者简介：商常发(1950-)，男，教授，学士。

表1 鸡粪的营养成分(占干物质)^[3]

类别	粗蛋白质	粗脂肪	粗纤维	粗灰分	无氮浸出物	钙	磷
肉鸡	31.3	3.3	16.8	15.0	33.6	2.4	1.8
笼养蛋鸡	28.0	2.0	12.7	28.0	29.3	8.8	2.5

1.2 原料采集

1.2.1 工艺流程

安徽科技学院畜牧科技园沼气能源环境工程项目的液体工艺流程：塘水→集料池→水解池→增温定量池→泵房→发酵罐→湿式低压气柜→调节池→预沉淀池→吹脱池→一体化氧化沟→消毒池→污泥干化池。

沼气能源环境工程的主要设备为利蒲发酵罐、湿式低压气柜、预沉淀池、一体化氧化沟。工艺流程包括前处理系统、厌氧消化系统、沼气输配及利用系统。其中厌氧消化系统的作用是在一定的温度、一定的发酵时间内将前处理系统输送的料液通过甲烷细菌的分解进行消化，同时生成甲烷——沼气。厌氧发酵有3种产物：沼气由发酵罐顶部的输气管道通入湿式低压气柜的贮气罐中，随后经过气水分离器、脱硫塔、水封阻火器，即可输送到用户家中；沼液由发酵罐的液流管输入湿式低压气柜，经过调节池、预沉淀池、吹脱池、一体化氧化沟，将某些有毒物质挥发掉，去掉部分沼渣及固体物沉淀，即可净化成符合排

- [2] 梁远东，吴宝媚，覃春丽，等. 日粮营养水平对地方品种鸡生长发育的影响[J]. 中国饲料，2003，(17): 14-16.
- [3] 欧阳克蕙，王文君，林树茂，等. 不同营养水平对崇仁麻鸡不同阶段生产性能和胴体化学组成的影响[J]. 中国畜牧杂志，2004，40(3): 27-29.
- [4] Jorgensen H, Zhao X Q, Kundsen K E, et al. The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal, digestibility and energy metabolism in broiler chickens [J]. Br J Nutr, 1996, 75: 379-395.
- [5] 王金全，蔡辉益，刘国华，等. 木聚糖酶与肉仔鸡小麦日粮代谢能之间当量关系的研究[J]. 中国饲料，2004，(9): 11-15.

- [6] 何丽霞，呙于明，赵剑，等. 木聚糖酶对肉仔鸡饲料代谢能的影响[J]. 中国农业大学学报，2006，11(6): 49-54.
- [7] 康相涛，田亚东，竹学军. 5~8周龄固始鸡能量和蛋白质需要量的研究[J]. 中国畜牧杂志，2002，38(5): 3-6.
- [8] 王进波，潘翔，刘建新. 纤维对单胃动物消化生理功能的影响[J]. 中国饲料，2000，(18): 22-24.
- [9] 蒋桂韬，戴求仲，胡艳. 日粮纤维水平对湘黄鸡胴体品质和内脏器官相对重量的影响[J]. 湖南饲料，2005，(5): 26-28.
- [10] 沈晓君，孙婉萍，王玲. 通脉降脂口服液对高胆固醇血症鹌鹑血脂及D-二聚体水平的影响[J]. 中国临床康复，2005，35(9): 5888-5889.

放标准的水；沼渣排入污泥干化池中。同时在室内设有专门的控制室，可调节各设备的工作状态。

1.2.2 试验设计

本试验分别从利蒲发酵罐、湿式低压气柜、预沉淀池和一体化氧化沟 4 处采集沼液，每一处分 4 点采样。采样时先用水瓢轻轻拨去液面的漂浮物，防止样品中混入大块物质，影响实验室测定。

试验分采样时间和采样温度 2 个独立的程序进行。采样时间：在当天 (0 d)、7 d、14 d、21 d、28 d 各采样 1 次。采样温度：对利蒲发酵罐而言，在 22 °C、24 °C、26 °C、28 °C、30 °C 各采样 1 次，其温度可由控制室的设备上直接读出；对另外 3 个露天发酵设备而言，在 19 ~ 23 °C 范围内分 18.1 ~ 19.0 °C、19.1 ~ 20.0 °C、20.1 ~ 21.0 °C、21.1 ~ 22.0 °C、22.1 ~ 23.0 °C 5 个区间采样，其温度可由温度计测量读出。将采好的样品装入标有相应编号的集料桶中，带回实验室进行测定。

1.3 苛三酮法测定氨基酸含量^[3]

1.3.1 标准曲线的绘制

精确吸取氨基酸标准液 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5… (相当于 0, 100, 200, 300, 400, 500 μg·氨基酸)，分置于数个 25 mL 的容量瓶中，加水补充至容积各为 4.0 mL，然后加入苛三酮和缓冲液各 1 mL，摇匀，置水浴中加热 15 min，取出，迅速冷却至室温，加水至刻度，摇匀，静置 15 min 后，在 570 nm 波长下测定光密度，绘制标准曲线 (图 1)。

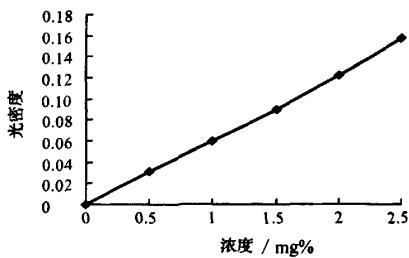


图 1 氨基酸标准曲线

1.3.2 样品测定

移取澄清样品溶液 2 mL，按标准曲线制作步骤操作，测定光密度，并扣除样液的空白值后，从标准曲线上查得氨基酸微克数，按下式计算样品中的氨基酸含量：

$$\text{氨基酸总量 (mg/100 g)} = C / (W \times 1000) \times 100,$$

式中：C—从标准曲线上查得的氨基酸的量 (μg)；

W—测定的样品溶液相当于样品的量 (g)。

1.3.3 所用试剂及主要设备

所用试剂为：苛三酮 (AR)，氯化亚锡 (AR)，甘氨酸 (AR)，磷酸二氢钾 (AR)，和磷酸二氢钠 (AR) 等；主要设备为：BT224 型半自动生化分析仪 (意大利 BIOTECNICA INSTRUMENTS 公司生产)。

1.4 数据处理

所得数据用 Microsoft Excel 2000 进行处理，分别用均数 (\bar{x}) 做出折线图。

2 结果

2.1 发酵时间对沼液氨基酸含量的影响

由图 2 可见，各组样液 (除一体化氧化沟外) 中的氨基酸含量随时间的延长而增加。其中 0 ~ 14 d 为快速上升期，14 d 后为缓慢上升期。一体化氧化沟的氨基酸含量是 4 种样品中最低的，曲线靠近横轴，是 4 条曲线中变化幅度最小的。

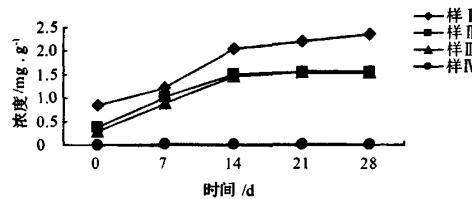


图 2 发酵时间对沼液氨基酸含量的影响

2.2 发酵温度对沼液氨基酸含量的影响

2.2.1 发酵温度对利蒲发酵罐中沼液氨基酸含量的影响

由图 3 中可见，随着温度从 22 °C 上升到 30 °C，利蒲罐中沼液的氨基酸含量逐渐增加，分别从 0.864, 1.182, 1.885, 2.049 mg/g 增加到 2.154 mg/g，上升的幅度很大，整个曲线只在 24 °C 时出现 1 个明显的转折点，26 °C 以后仍在上升，但上升的幅度比较平缓。

2.2.2 发酵温度对露天发酵设备中沼液氨基酸含量的影响

由图 4 可见，湿式低压气柜、预沉淀池和一体化氧化沟中的氨基酸含量随温度的上升变化很小。湿式低压气柜、预沉淀池中的氨基酸含量分别变动于 1.000 mg/g 左右；一体化氧化沟中的氨基酸含量是三者中最低的，曲线始终在横轴附近徘徊。温度的变化基本不影响 3 种样液的氨基酸含量。

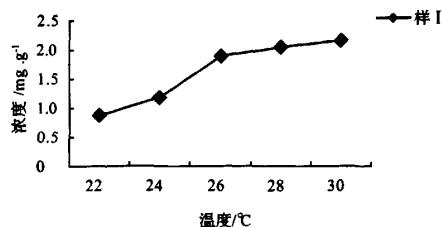


图3 发酵温度对利蒲发酵罐中沼液氨基酸含量的影响

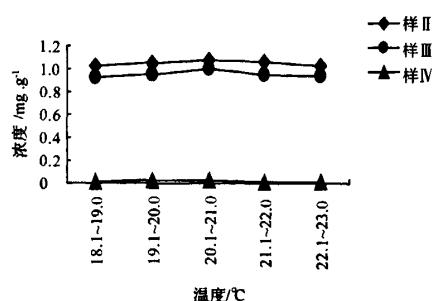


图4 发酵温度对露天发酵设备中沼液氨基酸含量的影响

3 讨论

3.1 发酵时间对利蒲罐中沼液氨基酸含量的影响

进入利蒲发酵罐中的原料，其中的氨基酸有2个来源：一是由于禽类的消化道较一般动物的短，机体摄入的氨基酸未被完全吸收利用，就随家畜粪便排出体外。各种家畜粪便中的氨基酸含量不同，其中粪便中游离的氨基酸总量以鸡粪最高（2.4%），奶牛粪次之（0.98%），羊粪最低（0.15%）^[4]；二是粪便中的微生物发酵其他有机质生成氨基酸。鲜鸡粪中除了含有各种有机质、矿物质外，还有正常的微生物菌群，如大肠杆菌、葡萄球菌、芽孢杆菌、双歧杆菌、类杆菌、乳杆菌、消化杆菌、弯曲杆菌等。因而，起始阶段的氨基酸含量并非为零，而是如图2中利蒲发酵罐曲线所示在纵轴上有一段截距。随着发酵时间的延长，沼气发酵原料中的有机质在微生物菌群的协同作用下，不断地被分解利用，其中游离氨基酸的浓度越来越高，产生的游离氨基酸有少部分被微生物自身利用来合成菌体蛋白，以维持其正常的生命活动。但氨基酸的产生量远远大于其消耗量（图2）。由此说明，利蒲发酵罐中氨基酸的含量随发酵时间的延长而增加，其最佳发酵时间为14 d以后。

3.2 发酵时间对露天发酵设备中沼液氨基酸含量的影响

湿式低压气柜中的沼液是由发酵罐中的沼液泵入湿式低压气柜中形成的，其中的氨基酸主要是利蒲发

酵罐带入的氨基酸，小部分是由于泵入的沼液中可能带来原有发酵罐中少数的兼性厌氧型细菌及空气中的部分好氧性细菌的进入，对湿式低压气柜中沼液残余的有机质进行进一步的降解所得到的游离氨基酸。由于从利蒲发酵罐这个封闭的厌氧环境进入到湿式低压气柜这个开放有氧的室外露天装置中，光照、空气、湿度等诸多外界因素必然影响其中的氨基酸含量，氨基酸挥发速度大大加快，光照等因素引起氨基酸空间结构的破坏，使得损失的氨基酸的总量增大，同时又有一部分氨基酸被微生物消耗，所以相比利蒲发酵罐而言，湿式低压气柜中的氨基酸含量要低一点。但是随着时间的延长，利蒲发酵罐中产生的氨基酸量是不断上升的。因此，如图2湿式低压气柜曲线所示，在外界因素影响基本一致的情况下，湿式低压气柜中的氨基酸含量随时间的延长也在增加，并于14 d以后接近峰值。

湿式低压气柜和预沉淀池沼液氨基酸含量的变化主要受到排入其中的沼液所含的氨基酸量的影响，因此两者氨基酸含量的变化与上述湿式低压气柜分析的情况类似，随着时间的延长两者的氨基酸含量均在增加。但值得注意的是，仔细观察图2中湿式低压气柜和预沉淀池的曲线，在28 d时2条曲线几乎相交。这有重要的意义，意味着预沉淀池的氨基酸含量随天数增加的幅度较湿式低压气柜的要大，有可能在28 d后达到甚至超过湿式低压气柜的氨基酸水平。加之预沉淀池已经过调节水解池输氧脱毒，由此初步认为，饲用沼液的取样时间应于发酵14 d以后，取样点以预沉淀池为宜。

各样液中氨基酸含量随发酵时间的延长而增加，饲用沼液的取样时间应于发酵14 d以后，取样点以预沉淀池为宜。

致谢：在采样与分析过程中，得到陈会良、李元胜、谷业理、赵瑞海、牛潺、朱玉洁和廖为霞等帮助与指导！

参考文献：

- [1] 郭元旭. 陇东农村沼气开发与综合利用研究 [D]. 杨凌：西北农林科技大学，2004.
- [2] 吴祥集. 沼气、沼液在养殖业中的应用 [J]. 贵州农业科学，2006, 34(4): 116-118.
- [3] 黄伟坤. 食品检验与分析 [M]. 北京：中国轻工业出版社，1997: 58-60.
- [4] 王新谋. 家畜粪便学 [M]. 上海：上海交通大学出版社，1997: 131-132.

发酵时间与温度对沼液氨基酸含量的影响

作者: 商常发, 王立克, 陈巧妙, 张素芝, 黄春兰, 柳卫国
作者单位: 安徽科技学院, 安徽, 凤阳, 233100
刊名: 畜牧与兽医 [ISTIC PKU]
英文刊名: ANIMAL HUSBANDRY & VETERINARY MEDICINE
年, 卷(期): 2009, 41(11)
被引用次数: 2次

参考文献(4条)

1. 郭元旭 陇东农村沼气开发与综合利用研究 2004
2. 吴祥集 沼气、沼液在养殖业中的应用 [期刊论文]-贵州农业科学 2006(04)
3. 黄伟坤 食品检验与分析 1997
4. 王新谋 家畜粪便学 1997

本文读者也读过(10条)

1. 尚斌, 陶秀萍, 陈永杏, 董红敏, 黄宏坤. SHANG Bin, TAO Xiu-ping, CHEN Yong-xing, DONG Hong-min, HUANG Hong-kun 牛场沼液对几种蔬菜病原菌抑制作用的研究 [期刊论文]-农业环境科学学报 2011, 30(4)
2. 王月霞, 符建荣, 王强, 汪建妹, 马军伟, 姜丽娜. WANG Yue-xia, FU Jian-rong, WANG Qiang, WANG Jian-mei, MA Jun-wei, JIANG Li-na 沼液农田消解利用对辣椒产量、品质及土壤肥力的影响 [期刊论文]-浙江农业学报 2010, 22(6)
3. 刘银秀, 曹群芳, 王志荣, 朱新富, 方炳南 沼液对雪里蕻的肥效试验 [期刊论文]-中国沼气 2010, 28(4)
4. 吴祥集, WU Xiang-ji 沼气、沼液在养殖业中的应用 [期刊论文]-贵州农业科学 2006, 34(4)
5. 冯慧芳, 薛延丰, 石志琦, 严少华, FENG Hui-fang, XUE Yan-feng, SHI Zhi-qi, YAN Shao-hua 水葫芦沼液对青菜抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响 [期刊论文]-江苏农业学报 2011, 27(2)
6. 宋成芳, 单胜道, 张妙仙, 虞方伯, SONG Cheng-fang, SHAN Sheng-dao, ZHANG Miao-xian, YU Fang-bo 畜禽养殖废弃物沼液的膜过滤浓缩试验研究 [期刊论文]-中国给水排水 2011, 27(3)
7. 彭智平, 李文英, 杨少海, 黄继川, 于俊红, 杨林香, 林志军, Peng Zhiping, Li Wenying, Yang Shaohai, Huang Jichuan, Yu Junhong, Yang Linxiang, Lin Zhijun 微生物菌剂处理猪场沼液效果研究 [期刊论文]-中国农学通报 2011, 27(1)
8. 李文英, 彭智平, 杨少海, 吴雪娜, 林志军, 杨林香, LI Wen-ying, PENG Zhi-ping, YANG Shao-hai, WU Xue-na, LIN Zhi-jun, YANG Lin-xiang 不同菌剂组合处理猪场沼液试验效果评价 [期刊论文]-广东农业科学 2010, 37(11)
9. 王永翠, 曹社会, 初雷, 路阳, 张冯峰, 侯金星, WANG Yongcui, CAO Shehui, CHU Lei, LU Yang, ZHANG Fengfeng, HOU Jinxing 沼液与氮肥不同配比对青贮玉米干物质积累量和土壤肥力指标的影响 [期刊论文]-西北农业学报 2010, 19(9)
10. 杨鹿金 生猪养殖存在的问题与对策 [期刊论文]-中国畜禽种业 2010, 6(2)

引证文献(2条)

1. 尚斌, 陈永杏, 陶秀萍, 董红敏, 黄宏坤 猪场沼液对蔬菜病原菌的抑制作用 [期刊论文]-生态学报 2011(9)
2. 尚斌, 陈永杏, 陶秀萍, 董红敏, 黄宏坤 猪场沼液对蔬菜病原菌的抑制作用 [期刊论文]-生态学报 2011(9)