

堆肥和粪稀的卫生检验方法

中国医学科学院卫生研究所
环境卫生研究室 编

人民卫生出版社

堆肥和粪稀的卫生检验方法

人 民 卫 生 出 版 社

前 言

在毛主席革命路线指引下，经过无产阶级文化大革命和批林批孔运动，工农业生产蓬勃发展，卫生革命逐步深入。

农村卫生“两管”、“五改”是农业学大寨的一项内容，是贯彻“预防为主”方针的根本措施，是农村卫生革命的重要组成部分。

当前，全国人民在毛主席革命路线指引下，以阶级斗争为纲，坚持党的基本路线，认真学习无产阶级专政的理论，掀起农业学大寨的高潮，农村卫生“两管”、“五改”也在发展。为适应“两管”、“五改”中粪便无害化处理的需要，根据卫生部1974年举办的南、北方“两管”、“五改”经验交流学习班的建议，我们吸取各地经验，把现有的高温堆肥和粪稀的卫生检验方法资料加以整理，编写了这本小册子，供各地参考。其中血吸虫卵和钩虫卵的检验方法是上海寄生虫病研究所提供的资料。在编写中，还得到山东省土壤肥料研究所和广东省卫生防疫站的热情支持与帮助，特此一并致谢。

我们的思想水平不高，实践经验不足，加上时间仓促，本书一定会有不少缺点和错误，欢迎读者批评指正，以便今后加以修改补充。

编 者

1975. 9.

目 录

搞好农村粪便卫生管理工作的重要意义	1
评价粪便无害化效果的卫生指标	3
堆肥和粪稀的卫生检验方法	6
一、污物处理场所的苍蝇孳生情况观察法	6
(一) 现场观察	6
(二) 实验室观察	8
二、堆肥、粪稀中大肠杆菌检验法	9
(一) 样品采集及混悬液制备	9
(二) 接种	10
(三) 堆肥中的肠道致病菌埋藏实验	11
三、蠕虫卵检查法	21
(一) 堆肥中蛔虫卵检查	21
(二) 粪稀中蛔虫卵检查	28
(三) 粪稀中钩虫卵检查	34
(四) 粪稀中血吸虫卵检查	37
四、堆肥的理化性质与肥分测定法	40
(一) 堆肥样品的采集	40
(二) 堆肥分析样品的实验室调制	41
(三) 分析项目	41
1. 堆肥水分含量测定	41
2. 堆肥温度测定	43
3. 堆肥烧灼减重测定	44
4. 堆肥全氮测定	46
5. 堆肥速效氮测定	50
6. 堆肥全磷测定	52
甲、钼蓝比色	52

乙、鉬黃比色·····	54
7. 堆肥全鉀測定·····	55
五、糞稀理化性質與肥分測定法·····	59
(一) 糞稀樣品的採集·····	60
(二) 糞稀分析樣品的實驗室調制·····	61
(三) 分析項目·····	62
1. 糞稀容重測定·····	62
2. 糞稀沉淀容積測定·····	62
3. 糞稀溫度測定·····	63
4. 糞稀 pH 值的測定·····	64
5. 糞稀水分含量測定·····	64
6. 糞稀中總固體物質測定·····	65
7. 糞稀中總固體物質燒灼減重測定·····	65
8. 糞稀中氨氮的測定·····	67
9. 糞稀中全氮測定·····	69
10. 糞稀中全磷測定·····	70
11. 糞稀中全鉀測定·····	70
附 錄·····	71
一、評價糞便無害化效果的衛生指標參考資料·····	71
二、為蠕蟲卵檢驗用濾膜的制作方法·····	72
三、洪氏蟲卵計數法簡易查對表·····	73
四、各種堆肥材料的碳氮比率·····	74
五、害虫、病菌、病毒的致死溫度與所需時間·····	74
六、人、畜、家禽糞便排泄量及肥分含量·····	76
(一) 人糞尿·····	76
(二) 牲畜糞尿·····	77
(三) 家禽糞·····	78
(四) 秸杆·····	79
主要參考資料·····	80

搞好农村粪便卫生管理

工作的重要意义

毛主席说：“为什么人的问题，是一个根本的问题，原则的问题。”我国农村人口占全国总人口的百分之八十以上，坚定不移地“把医疗卫生工作的重点放到农村去”，这是卫生革命的大方向。管水、管粪是农村环境卫生的两个关键问题，水、粪管理好不好，同农民的健康和农业的增产有密切的关系。人畜粪便是肥分很高而广泛使用的重要有机肥料，必须充分利用于农业生产；但是，另一方面，粪便中又往往含有肠道病原菌、寄生虫卵和病毒。把粪便管理好，就能够增积肥料，多打粮食；防止污染，保护环境；杀菌灭卵，除害灭病。粪管工作是爱国卫生运动的重要内容，也是贯彻预防为主方针的体现。做好粪管工作，有利于农业生产，有利于改善农村环境卫生，从根本上降低发病率，促进合作医疗的巩固和发展，提高人民健康水平。更重要的是做好农村卫生工作，对于促进农业学大寨运动，缩小城乡差别，巩固无产阶级专政，加速建设社会主义新农村，具有极其重要的意义。人畜粪便如果管理不好，处理不当，不仅损失肥分、污染环境、孳生蚊蝇，而且往往传播下列多种传染病和寄生虫病：

- 1) 细菌性疾病：细菌性痢疾、伤寒、副伤寒等；
- 2) 病毒性疾病：病毒性肝炎、脊髓灰质炎等；
- 3) 蠕虫性疾病：血吸虫病、钩虫病、蛔虫病、鞭虫病、肝吸虫病、肺吸虫病和绦虫病等；

4) 原虫性疾病：阿米巴痢疾、肠梨形鞭毛虫病、肠滴虫病等；

在这里还要特别提出的是人、畜共同都可感染的疾病，如血吸虫病，是一种既害人又害畜的寄生虫病。为了消灭血吸虫病就必须消灭家畜血吸虫病，因为家畜，特别是耕牛，接触疫水的机会多，生病的也多。耕牛拉屎量大，而且到处拉，很容易传播。又如猪囊虫是人绦虫的幼虫，人绦虫是猪囊虫的成虫，猪囊虫病与人绦虫病，互为因果，循环感染。因此，必须管理好人粪和猪粪，做到人有厕所猪有圈，厕所猪圈要分开，粪便要高温发酵处理，消灭囊虫来源，切断人绦虫、猪囊虫在人、猪之间循环感染的途径。

此外，牲畜和家禽粪便等是使厩肥感染杂草种子的来源。所有杂草种子不能完全在牲畜的胃肠中消化，大部分的杂草种子随着粪便排泄出来。向土壤中施入新鲜的不腐熟的厩肥，实际上就等于播种了大量的杂草种子。杂草生长在农田中，夺取土壤养分，影响作物生长发育，造成作物的产量降低。用秸秆等混掺人、畜粪便进行高温堆肥，不仅是提高土壤肥力，建设高产稳产“海绵田”的重要措施，同时由于堆肥的生物热达 $60\sim 70^{\circ}\text{C}$ ，能杀灭人、畜粪便中病菌、虫卵和蝇蛆，对预防人、畜疾病和消灭秸秆中、肥料里的农业病虫害以及“烧死”杂草种子等都有其特殊作用。

评价粪便无害化效果的卫生指标

目前我国各地采用的粪便无害化处理方法有高温堆肥法、沼气发酵处理法、三格化粪池处理法、密封贮存法和化学药物处理法等。这些处理方法的原理都不是单纯的一种作用，而往往是多种因素综合作用的结果。评价粪便无害化处理的效果，通常采用两类指标。

一、肥料质量：

1) 从外观上来看，凡是腐熟好的堆肥，外观上多呈暗褐色、松软、无臭，其中有机物已碎裂可搓成泥状。

2) 还可测定其中总氮、速效氮、磷和钾的含量，处理效果好的，速效氮有所增加，总氮和磷、钾不应过多减少。三格化粪池的使用粪液和沼气肥，速效氮含量是高的，正如贫下中农所说的：“看起来象清水，用起来象氨水”。

3) 有时也可进行田间对比试验，观察作物生长情况和增产程度来评价肥料质量。

二、卫生指标：选择卫生指标应注意代表性、特异性、检验技术简易，并对除害灭病有实际指导意义。下面介绍评价粪便无害化效果的几项常用的卫生指标：

1) 苍蝇孳生情况的观察 苍蝇是传播多种疾病的病媒昆虫，是四害之一。把粪便管理好并进行无害化处理是控制和消灭苍蝇的治本措施。因此，苍蝇的孳生情况是衡量垃圾、粪便处理场所管理水平高低和处理效果好坏的重要卫生昆虫学指标。一般是观察成蝇密度、蝇蛆死亡率和蝇蛹羽化率。

此外，在粪稀处理时，还应加强卫生管理，以控制蚊子

的孳生。

2) 大肠杆菌菌值 系指检出一个大肠杆菌所需样品最小的数量(克或毫升), 大肠杆菌菌值越高, 表明大肠杆菌数量越少, 无害化处理效果也越好。选择大肠杆菌作为卫生指标, 是因为粪便中病原微生物(如伤寒、痢疾杆菌等)比非病原微生物要少得多, 要从大量的粪便中直接检出致病菌来实际上是很困难的。

研究证明, 肠道中基本上有三类细菌: ①大肠杆菌及其变种; ②肠球菌; ③产芽胞的厌氧菌。检查这些细菌的方法虽然都不复杂, 但是大肠杆菌数量最多, 而且比肠道致病菌在外界同一条件下的生存期限要长, 它既具有肠道致病菌的特性, 又便于检查。因此, 以大肠杆菌作为卫生细菌学指标较为理想。评价粪便无害化处理效果时, 通常用大肠杆菌菌值表示, 为应用方便起见, 有时把大肠杆菌菌值用负指数来表示(如大肠杆菌菌值为 $0.01 \sim 0.1$ 即 $10^{-2} \sim 10^{-1}$, 大肠杆菌菌值为 0.04 即 4×10^{-2} 等等)。

为了确切地评定粪便无害化处理效果, 必须重视现场的调查研究。在必要情况下还可采用致病菌试验样品埋入堆肥或粪稀池的方法, 以观察致病菌的生存期限。但应注意整个试验过程必须由工作人员亲自严加管理。

3) 蛔虫卵死亡率 粪便中的寄生虫卵很多, 一般以蛔虫卵作为卫生蠕虫学指标, 因为粪便中普遍含有大量蛔虫卵, 同时蛔虫卵比血吸虫卵、钩虫卵等具有更强的生活能力, 蛔虫卵的死亡可以证实其他虫卵已经更早死亡。实际应用该项指标时, 不仅要计算蛔虫卵的数量, 更重要的是鉴别蛔虫卵的死活, 通常每个样品观察的蛔虫卵数应为 $100 \sim 200$ 个, 最后计算出蛔虫卵死亡率。

蛔虫卵虽然是代表蠕虫卵生活力最合理的指标，但在我国南方地区评价粪便无害化处理效果时，除了以蛔虫卵作为常规指标外，还应增加血吸虫卵、钩虫卵作为观察指标。有的粪便处理方法，主要是使虫卵沉淀下来，而不一定能杀灭全部虫卵，在这种情况下可用虫卵沉降率(或去除率)来作为评价指标。而含有大量活虫卵的沉渣则要求另外处理。

4) 堆肥温度 是衡量堆肥卫生效果的一项简易有效的指标。堆肥分解腐熟过程中、病菌、虫卵的死亡固然是多种因素综合作用的结果，而其主要因素还是高温。应用该项指标时必须同时考虑两个基本因素——温度和时间，两者是可以相互影响的，即增高温度可以缩短时间，而延长时间可以降低对温度的要求。为了能确切地反映堆温状况，以利于卫生评价，通常要用最高堆温、平均堆温、50~55℃以上的高温持续天数来说明，同时记录气温作为参考，堆温状况的数据资料，可绘成堆温曲线图，以了解堆温变化动态。

在粪稀处理时，测量池内粪温也有重要意义，如在夏季，温度高，粪便分解腐熟快，无害化期限就短。关于沼气发酵则也有中温消化(30~35℃)和高温消化(50~55℃)之分，目前我国广大农村推广应用的小型沼气池属于中温消化一类，而青岛市等地也有一些高温消化的沼气池。

对于堆肥和粪稀来说，水份和pH都是基本的指标，堆肥材料的碳氮比率、粪稀中的游离氨浓度也是重要的指标。此外，根据不同的粪便处理方法和不同的研究目的，可以有针对性的增加或减少某些观察项目。

堆肥和粪稀的卫生检验方法

一、污物处理场所的苍蝇孳生情况观察法

苍蝇孳生情况的观察应以现场为主，必要时还要采集样品，进行实验室观察。兹将一般可用的方法介绍如下：

(一) 现场观察

1. 蝇蛆的观察

堆肥：观察堆肥表层（0~30 厘米）和通气孔处有无蝇蛆，必要时计算其数量。

粪稀：在 25 平方厘米的表面观察蝇蛆的数量，未发现蝇蛆为无，10 条以下为少，10 条以上为多，蝇蛆几乎覆盖观察的粪稀的表面为很多。

2. 蝇蛹的观察 在肥堆表层及肥堆、粪稀池周围的土壤中挖蛹，并计算每公斤样品中的蝇蛹数量。

3. 成蝇密度的调查 一般是在不同的场所设置捕蝇笼，以腐鱼作饵进行诱捕，取回的蝇笼，喷以 10% 666 悬液，使笼内的蝇类在短期内死亡，也有的是用氯仿毒死，然后将捕到的蝇数，按一定时间和面积计算密度并可进行蝇种鉴定。

附苍蝇幼虫饲养缸、羽化设备饲养笼以及捕蝇笼的形式和构造(图 1、2、3、4)。

饲养笼：在 35 × 35 × 35 厘米的粗铁丝架上缚以纱布笼，纱布笼的大小为 33 × 33 × 33 厘米（一立方市尺），纱布最好用尼龙纱制造，笼底用粗布，在纱布笼的一面，中心开一个长 1 尺直径 6 寸的布袖，以便把羽化槽移放在饲养笼内（图



图1 幼虫饲养缸

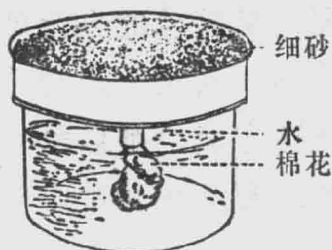


图2 羽化槽

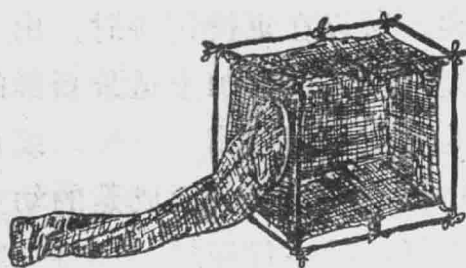


图3 饲养笼

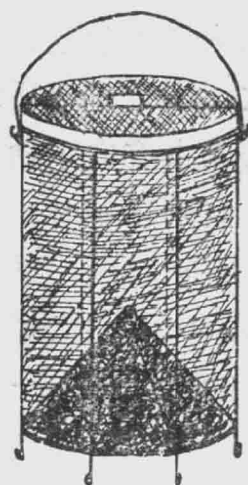


图4 捕蝇笼

3)。

捕蝇笼：一般多用竹条或铁丝纱制成圆筒形，其大小为高9市寸，直径6寸，或高1尺，直径7寸的架子，周围围以铁丝纱或冷布(做窗纱用的)。笼的上口盖以铁丝纱盖或绑以纱布，下口封以铁丝纱或纱布制成小端向上的喇叭形口或倒漏斗状口，其上端的小口径，应小于1厘米，以只能通过一

只苍蝇为度。笼的下端具1寸高的脚，使笼子放在地上时，和地面有一定的距离，以便放置腥臭的食饵(图4)。

(二) 实验室观察

1. 蝇类幼虫生活力的鉴别 要知道样品中蝇类幼虫死活情况，最简单的办法就是看它会不会活动，会活动的无疑就是活的。其次，是把采到的幼虫加以饲养，看它是否会化蛹，在这方面，可以参考一般在实验室内饲养家蝇的基本方法。把蝇卵放在瓦盆或玻缸作成的饲养缸内，缸内放定量的饲料饲养。

龄期：第一龄幼虫生长发育大约要20小时左右，第二龄幼虫约为24小时，第三龄幼虫约需3天。因此，放在饲养缸内的采回的幼虫，顶多5天即将化蛹，一般1~2天更换饲料一次，不过也要看幼虫数量的多少，决定更换饲料的次数。因为幼虫有向下钻的习性，吃饲料也是由上向下一层层向下吃，直到化蛹时，又反回向上爬。所以在更换饲料时，由上至下将陈旧的，结块而变质的饲料除去，再加上适量新鲜的饲料，而且在化蛹之前，饲料的湿度掌握得稍干一些，或在饲料的表层撒上一层干麸皮。这样，有利于活而成熟的幼虫在表层较干的麸皮内化蛹。继化蛹之后进行选蛹，即将饲料及蛹全部倒入温水(27℃)中冲洗，利用饲料下沉而蛹漂在水面的现象，用铜纱制成的瓢捞出蝇蛹。待晾干后进行计数或作蝇种鉴定。

注意事项：

(1) 在饲养幼虫时，饲料缸要加盖，以免幼虫乱爬。缸口可盖以纱罩，并把它系紧。如果饲料内温度过高或湿度过大，而饲养缸上的纱罩又盖的不紧，则幼虫会爬到缸外去。不要用纱布加盖，因为幼虫的钻孔能力极强，会从纱布孔中爬

(2) 幼虫有背光性,因此饲养缸最好放在避光的地方。

(3) 更换出来的饲料要用开水浸泡,以防其中夹杂的幼虫散布繁殖,影响卫生。

2. 蝇蛹羽化的方法 如从现场挖回带土的蝇蛹,可在水槽上放置二层不同网眼的筛子,上下重叠,先将含有蝇蛹的土壤放在上层,用温水冲洗,并用镊子或玻棒弄碎上层筛里的土块,使大型碎渣遗留在上层,再摇动下层筛,即可露出蝇蛹及其他大小类似的碎渣,随后在温水中将蝇蛹浮起,再以铁丝网收集,晾干后放在培养皿中,如少许细沙及数滴水,保持一定的湿度,再放在事先准备好的铁丝网罩或纱布笼中,放置在室温里或 30℃ 孵箱中,让它孵出成蝇。

一般蛹期羽化的时间为 5 天,所以样品中的活蝇蛹在 5 天之内就会孵出成蝇。另外,亦可按饲养家蝇的方法,把蛹放入特制的羽化槽中,就是用一特制的铁皮漏斗,漏斗孔中塞一棉花条,漏斗内放一层细沙,沙上放置准备羽化的蝇蛹,棉花条的下端放在带水的培养皿内,使细沙保持湿润(如图 2)。

二、堆肥、粪稀中大肠杆菌检验法

(一) 样品采集及混悬液制备

样品的采集和混悬液制备,是堆肥、粪稀微生物检验的重要步骤。要求样品应具有代表性,并认真进行样品处理和正确的制备混悬液,才能保证检验结果的准确性。

1. 样品采集:堆肥样品的采集一般是在堆肥前用无菌小鏟采集搅拌均匀的堆料,以 3~5 个单个样品混合后制成一个平均样品约 500 克,置无菌广口瓶内供检验。对已堆制好

的堆肥，则根据需要，从堆肥的表层（30 厘米以内）和中层（深 50 厘米以上）分别采集三点制成一个表层和中层平均样品 500 克供检（一般以中层样品作为卫生评价的主要依据，并以一部分表层或底层样品作为补充）。

关于粪稀样品的采集，应考虑到不同的粪稀处理方法。对于一般的贮粪池采样，可用灭菌采样器（手提斗式）采集池内不同的 3~5 点 25 厘米深处的粪稀，而三格化粪池样品应在第三格采集中层的使用粪液，沼气池样品应在出料口采集，样品量约 300 毫升，置无菌广口瓶内供检验，同时应采集新鲜粪稀样品作为对照。

2. 混悬液制备：将堆肥样品置于灭菌瓷盘内，去其砖瓦块，并剪碎尚未腐烂的有机物，充分混匀称取 10 克样品，放于无菌的 250 毫升带玻璃珠的三角瓶内，加无菌自来水 90 毫升，使成 1:10 的混悬液；

对于粪稀样品则用内径 0.6 厘米带刻度及橡皮头吸管，吸取混摇均匀的粪稀液 10 毫升，加入到 250 毫升带玻璃珠的三角瓶内，加灭菌自来水 90 毫升，使成 1:10 稀释液，混摇 3~5 分钟，使附在有机物及杂质上的细菌充分离开，静置 1~2 分钟进行接种。

（二）接种

根据样品污染的程度，决定其稀释度，为了避免所接种的不同稀释度样品的发酵管均呈阳性或阴性反应，要考虑到所接种的试管有效稀释度。

1. 样品稀释由 1:10 混悬液吸取 10 毫升，加入到盛有 90 毫升灭菌自来水（或 0.85% 盐水）中混匀成为 1:100，再由 1:100 稀释液中吸取 1 毫升，加入到盛有 9 毫升灭菌自来水中混匀即成为 1:1,000，再按上述方法连续 10 倍稀释，制

成 1:10,000、1:100,000、1:1,000,000。

2. 由稀释度高的开始,顺序吸取稀释液 1 毫升,分别加入到盛有 10 毫升 12 烷基硫酸钠龙胆紫带小倒管的发酵管内,置 43°C 恒温水浴箱,培养 24 小时(见图 5)。

3. 将产酸产气的发酵管接种于硷性品红亚硫酸钠琼脂培养基上,然后放入 37°C 恒温培养箱内,培养 24 小时,挑选典型菌落(带金属光泽菌落)和非典型菌落(紫红色),进行固紫(革兰氏)染色,镜检,如为固紫阴性无芽胞短杆菌,即证实有大肠杆菌存在。

4. 根据发酵的阳性管数查表 1~6,得出大肠杆菌菌值,再乘以 $\frac{1}{g}$,即为样品的大肠杆菌菌值(克)。

(三) 堆肥中的肠道致病菌埋藏实验

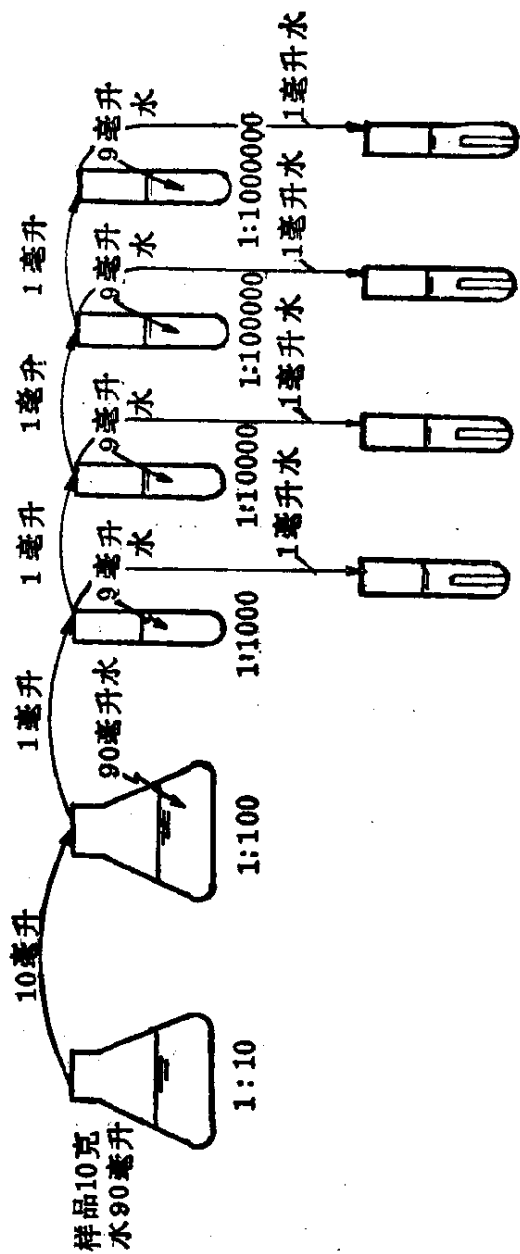
样品制备:

1. 以无菌手续采取新鲜材料约 1,000 克,置于无菌瓷盘内,去其砖瓦石块等物并剪碎有机物,然后充分混匀,称取 20 克,放于无菌容器内。

2. 致病菌液的配制:将已知典型福氏痢疾杆菌或伤寒杆菌的 16 小时肉汤培养物,按含菌量 10^6 /克土加入上述备好的 20 克堆肥中,充分搅拌后置于埋藏样品盒的内层盒中,外层填满堆肥(见图 6-1 及 6-2)。

3. 根据实验的需要,决定采样时间,如进行致病菌与大肠杆菌对比观察,可由埋藏实验外层盒内取样检验大肠杆菌,方法同上述大肠杆菌检查方法。

4. 致病菌检验:从埋藏内层盒中,以无菌手续称取 1 克样品放于盛有 10 毫升增菌液的试管中,充分摇匀使成 1:10 稀释液,取此液 0.5 毫升、0.2 毫升和 0.1 毫升分别涂 S. S. 琼脂平皿,37°C 培养 24 小时后计算致病菌数量,同时



12羟基丁酸钠龙胆紫发酵管

图 5 样品稀释和接种示意图