

鸡粪与油菜秸秆高温堆肥中营养元素变化的研究

兰时乐, 曹杏芝, 戴小阳, 胡超, 李立恒, 谢达平

(湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要:以鸡粪和油菜秸秆为原料,采用人工好氧翻堆方式进行高温堆肥试验,研究堆肥制作过程中养分的变化规律。结果表明,堆肥过程中pH值在堆肥前期上升而后期下降;氨态氮、硝态氮、总氮相对含量在堆肥前期下降,后期上升;有效磷在堆肥前期略上升而后期略下降;总钾量呈不断上升趋势;腐植酸总量随发酵时间延长而下降。鸡粪和油菜秸秆堆肥时间在30 d左右为宜。

关键词:鸡粪;油菜秸秆;堆肥;营养元素;发芽指数

中图分类号:S141.4 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)03-0564-06

The Changes of Nutrition Elements During the Composting Chicken Manure and Rape Straw Under Higher Temperature

LAN Shi-le, CAO Xing-zhi, DAI Xiao-yang, HU Chao, LI Li-heng, XIE Da-ping

(College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: 6.5×10⁸ t livestock dejection and 17.3×10⁸ t agricultural straw are respectively produced per year in China. Their pollution are serious to our circumstance. If these waster are converted to organic manure, it would be a cardinal way for decreasing its pollution. The mixture of chicken manure and rape straw were composted using self-manufacture produce microorganism for fermentation. The horticultural organic manure could be produced. During the composting process, the different proportion of the chicken manure and rape straw were used, supplementing water up to 55% moisture content, adding 0.8% inoculation, then stirring up to homogenize. Finally, the compound were piled with the cover of flax texture for keeping temperature. At first third day, the artificial turning piles were carried out for supplementing fresh air. Afterwards, this step were likely done every two days. During fermentation, the pH value was increased at first period and decreased latter period. The NH₄⁺-N、NO₃⁻-N and total N decreased at first period, but increased at latter period. Available P increased at first period and decreased at latter period, while total K increased continuously. The total content of the humic acid decreased with prolongation of fermentation time. The higher temperature over 50 °C were spontaneously kept about 13 days. In the piles, the quantity of E. coli flora and roundworm ovum were decreased below horticultural stanted. The sprout index of radish seed approached to more than 91.84% in the spired test with organic manure production. It is about 30 d for appropriate composting time when composting with chicken manure and rape straw.

Keywords: chicken manure; rape straw; compost; nutrition element; germination index

农作物秸秆是数量巨大且可再生的有机质资源,全球年产量约为20亿t以上。近年来,随着养殖业的规模化、集约化和农业生产的发展,我国畜禽粪便和农作物秸秆的年产量分别为17.3亿t和6.5亿t^[1]。由于处理方法不当,造成环境的污染越来越严重,大量的有机质资源也未得到有效的利用。动物粪便和作物秸秆都是良好的有机肥源,但未经腐熟的新鲜粪便

和秸秆直接施入农田,有机物的分解会影响作物根系的呼吸作用,不利于作物的发芽和生长,同时秸秆和粪便中含有的病原菌会污染地表和地下水以及造成农作物病害的循环发生。利用微生物发酵技术处理大量的农业生产废弃物,可实现其无害化和农肥化的目的。

国外对作物秸秆堆肥的研究较为系统^[2-5],国内研究禽畜粪便堆肥较多^[6-10],但利用秸秆尤其是油菜秸秆作堆肥的研究较少。据测定,油菜秸秆中含有丰富的氮、磷、钾和有机质,目前的利用主要是直接还田和焚烧,不仅浪费了有机质资源,同时也污染了环境。本

收稿日期:2008-04-28

作者简介:兰时乐(1968—),男,副教授,主要从事微生物资源开发与利用研究。E-mail:hulanshl@126.com

通讯联系人:谢达平

文利用鸡粪和油菜秸秆为主要原料进行有机肥的堆制发酵,研究了堆制过程中温度、pH值及养分的变化规律,并测定了堆肥发酵过程中蛔虫卵和粪大肠菌群的变化规律,以期为油菜秸秆堆肥的工业化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

油菜秸秆:取自湖南华容县,晒干,粉碎,呈烟丝状。

鸡粪:由湖南省畜牧兽医研究所提供。

发酵剂:由作者自行研制。粉末状固体,具豆豉香味,内含多种喜温芽孢杆菌,活菌数 $>10^{10}$ 个·g⁻¹。

表1 堆肥原料的主要成分

Table 1 Components of raw materials used in composting

项目	含水率/%	总氮/g·kg ⁻¹	总磷/g·kg ⁻¹	总钾/g·kg ⁻¹	有机质/g·kg ⁻¹
油菜秸秆	4.75	24.35	14.20	26.11	902.70
鸡粪	12.22	65.24	62.64	34.93	497.61

1.2 试验方法

1.2.1 堆肥试验方法

试验共设4个处理,各处理堆肥量为1t,物料配比见表2。按表2将原料混合均匀,以洁净自来水调节物料水分含量为55%,加入0.8%(以干物料质量计)的发酵剂,进一步搅拌均匀后,堆成高1.0m、宽0.6m,长2.0m的条垛。各组堆肥均用麻布袋覆盖保温。每处理设3次重复。

表2 堆肥试验方案

Table 2 The design of the composting experiment

试验号	鸡粪:油菜秸秆	养分含量/g·kg ⁻¹			
		有机质	总氮	总磷	总钾
处理1	30:70	780.13	37.62	27.91	28.12
处理2	40:60	738.56	39.87	32.47	28.94
处理3	50:50	691.89	40.13	37.63	29.93
处理4	60:40	654.78	47.59	44.09	30.87

1.2.2 通风方式

采用人工翻堆的方式补充堆内新鲜空气。自堆制开始至第3d进行第1次翻堆,以后每隔2d翻堆1次。

1.3 采样及测定

1.3.1 取样

在堆肥的四周及中心设5个取样点,取样高度为

堆高的1/2处,每样点取500g堆肥,混合后烘干制成均样待测。自制堆24h后开始取样,以后每隔2d取样1次。

1.3.2 温度测定

堆制24h后每日测堆肥温度2次(上午8:00,晚上20:00),同时测定环境温度、湿度。

1.3.3 化学指标的测定

按照文献[11]提供的方法进行pH值、总氮、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、有效磷、总钾、腐植酸等指标的测定。

1.3.4 蛔虫卵死亡率的测定

参照GB/T 19524.2—2004^[12]提供的方法检测。

1.3.5 粪大肠菌群的测定

参照GB/T 19524.1—2004^[13]提供的方法检测。

1.3.6 种子发芽指数(GI)测定

挑选籽粒饱满、大小一致的本地萝卜种子,先用蒸馏水把种子冲洗干净,将种子用蒸馏水浸种4h后取吸水纸吸干种子表面的水分。取一定重量的烘干堆肥样品,用蒸馏水按料水比=1:5浸提24h后过滤即得浸提液。吸取10.0mL浸提液加到铺有3层滤纸的15cm的培养皿中,每培养皿中均匀放入50粒萝卜种子,以蒸馏水为对照,每堆肥样品重复3次。在28℃恒温培养箱中培养72h,测定种子发芽率和根长。按以下的公式计算种子的发芽指数^[14]。

发芽指数(GI)=(处理的发芽率×处理的平均根长)/(空白的发芽率×空白的平均根长)×100%

2 结果与分析

2.1 堆温的变化

不同堆肥处理温度的变化见图1。由图1可知,不同配比堆肥物料的温度在发酵第7d达到50℃以上。处理3和处理4堆温持续在50℃以上高温段的时间为12~13d,最高堆温可达近70℃,符合堆肥无害化标准^[15]。处理1和处理2堆肥升温相对较慢,高温期持续时间较短,在4d左右,这可能与配比中鸡粪的比例有关。鸡粪中含有较多的可降解的有机物,而油菜秸秆的主要成分是纤维素、半纤维素和部分木质素,降解能力较差,导致油菜秸秆含量高的处理前期升温慢,且高温期持续时间短。在发酵第15d后,堆肥温度开始下降,进行了翻堆,此后处理3和处理4的堆温一直维持在50℃~65℃之间,发酵第30d后堆温逐步下降,并维持在45℃左右;而处理1和处理2的堆温一直呈下降趋势,直至与室温接近,同时发现堆肥中油菜秸秆含量越高,通气状况越好。

2.2 pH值的变化

堆肥pH值的变化主要和堆肥中铵态氮的量有关。由图2可知,在堆肥的发酵初期,微生物生长过程中分解鸡粪中的蛋白质等有机物质生成氨态氮,促使pH值上升,鸡粪含量越高的处理,pH值上升的幅度越大。在发酵前期,处理3和处理4的pH值比处理1和处理2的pH值上升快;随着发酵的进行,有机物质被分解,氨态氮在硝化细菌的作用下转化成硝态氮,pH值随发酵时间的延长而下降,最后稳定在6.0~7.0之间。4种处理的堆肥pH值的变化趋势基本一致。

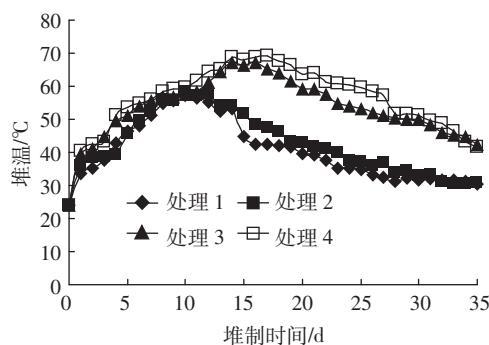


图1 堆肥过程中温度的变化

Figure 1 Changes of pile temperature during the composting process

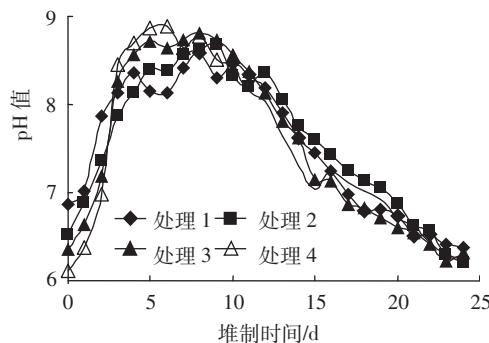


图2 堆肥过程中pH值的变化

Figure 2 pH changes of piles during the composting process

2.3 总氮、氨态氮、硝态氮含量的变化

堆肥发酵前期,有机物在微生物的作用下不断地以CO₂、NH₃等形式挥发掉,导致发酵前期总氮相对含量下降。随着堆肥发酵的进行,总氮逐渐上升并趋于稳定,发酵终了处理1、处理2、处理3和处理4的总氮相对含量分别比发酵前增加3.46%、5.78%、15.21%和20.16%。主要是因为随着发酵的进行,总干物质的下降幅度要大于总氮下降幅度,最终导致总氮相对含量的增加。结果见表3。

堆肥过程中氨态氮在发酵前期呈下降趋势,主要

表3 堆肥过程中总氮的变化(%)

Table 3 The variation of TN during the composting process (%)

处理	堆制时间/d							
	0	5	10	15	20	25	30	35
处理1	3.76	3.44	3.12	3.57	3.74	3.72	3.85	3.89
处理2	3.98	3.75	3.26	3.69	3.92	4.05	4.12	4.21
处理3	4.01	3.87	3.21	3.75	4.15	4.38	4.47	4.62
处理4	4.76	4.35	3.74	4.21	4.67	4.93	5.29	5.72

原因是堆肥中一些可溶性氮化合物被微生物直接利用,加上发酵前期堆肥本身处于碱性环境,由蛋白质分解产生的NH₄⁺-N部分以NH₃形式被挥发以及微生物的同化利用,导致前期的氨态氮迅速下降。随着发酵的进行,堆肥的pH值下降,油菜秸秆和鸡粪中难被降解物质进一步被降解,产生一些含氮化合物的中间产物,导致NH₄⁺-N在发酵的中后期回升。发酵结束后,各处理的氨态氮含量分别增加21.8%、27.5%、31.5%和2.60%。结果见图3。

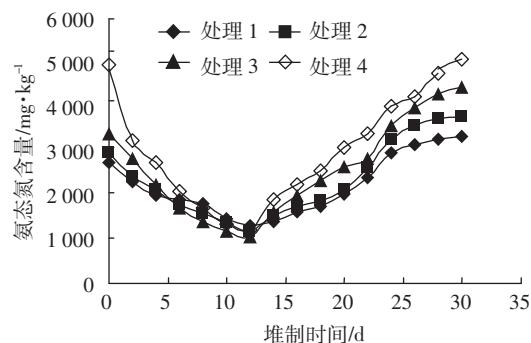


图3 堆肥过程中氨态氮的变化

Figure 3 NH₄⁺-N changes of piles during the composting process

水溶性NO₃⁻-N的含量在整个发酵过程中的趋势为高温期下降,降温期和稳定期上升,主要是由于高温期抑制了硝化细菌的活动而使硝态氮含量下降。堆制15 d后期,堆温和pH值下降,硝化细菌活性增强,物料中硝态氮含量逐渐增加。从图4可以看出,处理3和处理4硝态氮含量较低,而处理1和处理2相对较高,主要原因因为油菜秸秆含量高时,有利于发酵过程中气体的交换和氨态氮的转化。因此,堆肥发酵过程中翻堆以确保良好的通气条件可以防止堆肥氮素的损失。

2.4 有效磷、总钾含量的变化

堆肥中有效磷在发酵前期有所增加,但发酵中后期下降较多。由于堆肥中磷素不存在分解挥发的问题,引起磷素变化的原因主要有两方面:一方面是由于有机质被分解成CO₂等气体逸出而造成堆肥绝对

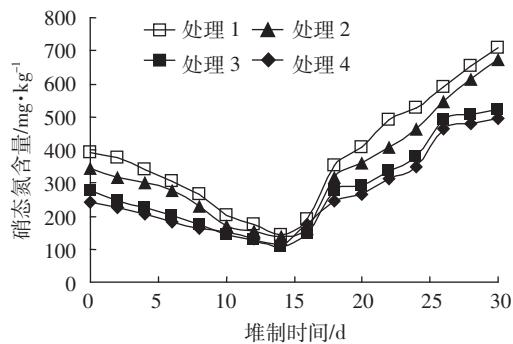


图4 堆制过程中硝态氮的变化

Figure 4 NO₃-N changes of piles during the composting process

含量的减少,所以相对含量增加;另一方面由于发酵中后期微生物的同化固定,造成有效磷含量下降。处理1、处理2、处理3和处理4有效磷含量较处理前分别下降30.19%、40.85%、44.83%和29.90%。结果见图5。

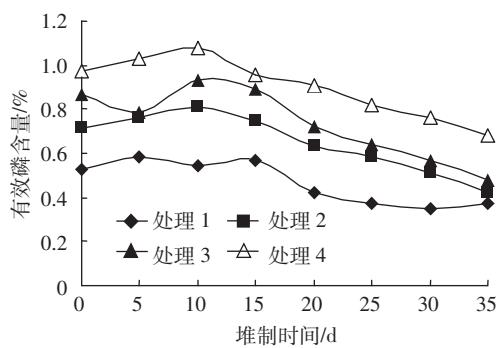


图5 堆制过程中有效磷含量的变化

Figure 5 Changes of available P during the composting process

总钾含量变化测定结果见表4。从表4可以看出,总钾含量在堆肥过程中呈上升趋势。堆肥总钾的含量由开始时的28.12、28.94、29.93和30.87 g·kg⁻¹,分别增加到31.65、32.67、34.89和36.28 g·kg⁻¹,增加率分别为12.55%、12.89%、16.57%和17.53%。堆肥过程中,钾素和磷素同样不存在挥发的问题,导致堆肥中总钾素增加的原因是由于微生物的强烈分解作用

表4 堆肥过程中总钾含量的变化(g·kg⁻¹)Table 4 Changes of total K during composting(g·kg⁻¹)

处理	堆制时间/d							
	0	5	10	15	20	25	30	35
处理1	28.12	28.41	28.68	29.47	30.55	30.92	31.23	31.65
处理2	28.94	29.25	29.51	29.84	31.04	31.85	32.18	32.67
处理3	29.93	30.18	30.87	31.58	32.69	34.46	34.71	34.89
处理4	30.87	31.93	32.09	33.73	34.94	35.67	35.93	36.28

注:数据为3次重复的平均值。

将有机质分解成CO₂及氨等气体逸出,可使堆肥的体积和重量减少1/3~1/2^[16],故钾素的相对含量增加。

2.5 腐植酸的变化

腐殖质是影响土壤生态、团粒结构、土壤肥力和植物生长的重要因素,所以堆肥中腐植酸含量及组成是堆肥肥效的重要指标,同时腐植酸组成也是堆肥腐熟指标之一^[17]。从图6可以看出,腐植酸总量在发酵过程中呈下降趋势,处理1、处理2、处理3和处理4比发酵前分别减少52.1%、57.7%、23.7%和16.5%。发酵初期,堆肥中腐植酸下降较快,到高温期和降温期,腐植酸的绝对量增加。发酵结束后,处理4的腐植酸含量最高,处理3次之,说明堆肥中鸡粪含量越高,越有利于腐植酸的形成。

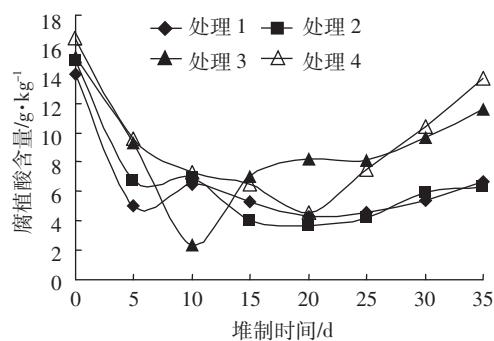


图6 堆制过程中腐植酸的变化

Figure 6 Humic acid changes of pile during the composting process

2.6 不同处理堆肥对萝卜种子发芽指数的影响

堆肥腐熟度是评价堆肥质量的重要指标之一,未经腐熟的堆肥中含有对植物具有毒性的小分子有机物、NH₃、挥发性脂肪酸和酚酸等^[18-19]。因此,堆肥腐熟度可以通过堆肥产品浸提液对种子发芽指数的高低进行评价。试验结果见表5。

由表5可以看出,不同的堆肥处理的发芽指数呈现出明显的差异,处理1、处理2、处理3和处理4的发芽指数分别为63.94%、79.71%、91.34%和118.42%。一般情况下,当发芽指数达到80%时,可以认为堆肥已经腐熟^[20]。本试验采用的是对环境毒性物质比较敏

表5 不同堆肥处理水浸提液对种子的发芽指数

Table 5 GI of water extract liquid of compost with different composting treatments

测定指标	CK	处理1	处理2	处理3	处理4
发芽率/%	86.66	74.00	82.00	87.33	96.00
平均根长/cm	2.03	1.52	1.71	1.84	2.17
发芽指数/%		63.94	79.71	91.34	118.42

感的本地萝卜种子,为安全起见,以发芽指数为80%作为堆肥腐熟的评价指标。处理3和处理4在发酵30 d已达到腐熟,处理2基本腐熟,而处理1还存在一定的毒性物质,未达到腐熟要求,说明堆肥中鸡粪含量越高,堆肥越易腐熟。

2.7 类大肠菌群和蛔虫卵的变化

测定结果见表6、表7。如表6所示,随着发酵时间的延长,堆肥中类大肠菌群的数量逐步下降,在堆制第15 d大肠菌群数量下降最为明显,说明堆肥的高温期是杀灭大肠菌群的主要时期。处理3和处理4在堆制15 d时,大肠菌群数量已分别降至每克堆肥干料 4.0×10^2 和 3.9×10^1 ,符合堆肥无害化标准^[14],处理1和处理2在高温期大肠菌群数量虽呈下降趋势,但由于高温期短,特别是堆制后期温度较低(30℃左右),适合大肠菌群的生长繁殖,其数量分别上升到 1.1×10^4 和 8.0×10^3 ,不符合堆肥无害化。因此,控制堆肥堆制后期温度在40℃以上,有利于堆肥的无害化和堆肥的腐熟。

从表7可以看出,4个处理在发酵15 d后蛔虫死亡率都达到堆肥无害化标准。

表7 不同发酵时期蛔虫卵死亡率的变化(%)

Table 7 Changes of roundworm ovum mortality rate at different stage(%)

处理	发酵时间/d					
	0	5	10	15	20	25
处理1	0	25.1	75.6	97.3	98.2	97.8
处理2	0	31.3	79.5	99.5	99.5	99.1
处理3	0	62.3	87.2	100.0	100.0	100.0
处理4	0	67.4	88.7	100.0	100.0	100.0

3 结论

(1)堆肥制作中,堆温呈现明显的高温期、降温期和稳定期3个阶段。随着鸡粪含量的增加,高温期越长,处理3和处理4堆温持续在50℃以上高温段的时间为12~13 d,最高堆温可达近70℃,符合堆肥无

害化标准。

(2)鸡粪与油菜秸秆堆肥处理中,氨态氮和硝态氮的变化趋势是堆制前期下降后期上升;总氮相对含量增加;有效磷前期略上升而后期下降,处理1、处理2、处理3和处理4有效磷含量较处理前分别下降30.19%、40.85%、44.83%和29.90%;堆肥总钾呈上升趋势,增加率分别为12.55%、12.89%、16.57%和17.53%;腐植酸的绝对量增加。

(3)从反映发酵后堆肥产品质量的发芽指数可以看出,不同的原料配比之间的发芽指数差异明显。处理3和处理4的发芽指数分别为91.34%和118.42%,达到堆肥腐熟的要求,处理2基本达到腐熟。

参考文献:

- [1] 李庆康,吴雷,刘海琴,等.我国集约化畜禽养殖场粪便处理利用现状及展望[J].农业环境保护,2000,19(4):251~254.
LI Qing-kang, WU Lei, LIU Hai-qin, et al. The status and outlook of treatment on excreta from intensive animal farming in China[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2000, 19(4):251~254.
- [2] 吴坤,张世敏,朱显峰.木质素生物降解研究进展[J].河南农业大学学报,2000,34(4):349~354.
WU Kun, ZHANG Shi-min, ZHU Xian-feng. Recent research advances on the lignin biodegradation[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2000, 34(4):349~354.
- [3] Amner W, McCarthy A J, Edwards C. Quantitative assessment of factors affects the recovery of indigenous and released thermophilic bacteria from compost[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1988, 54(12):3107~3112.
- [4] Juteau P, Larocque R, et al. Analysis of the relative abundance of different types of bacteria capable of toluene degradation in a compost[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1999, 65(6):863~868.
- [5] Libmond S, Savoie J M. Degradation of wheat straw by amicrobial community stimulation by a polysaccharidase complex[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1993, 59(4):567~574.
- [6] 黄懿梅,苟春林,来航线,等.两种添加剂对猪粪玉米秸秆堆肥氮素转化和堆肥质量的影响[J].干旱地区农业研究,2005,23(6):112~118.
HUANG Yi-mei, GOU Chun-lin, LAI Hang-xian, et al. Influence of

表6 不同发酵时期堆肥粪大肠菌群数(个·g⁻¹)

Table 6 Quantity of coliform flora at different stage(ind·g⁻¹)

处理	发酵时间/d							
	0	5	10	15	20	25	30	35
处理1	6.5×10^8	6.7×10^6	5.4×10^7	3.0×10^3	1.3×10^3	1.2×10^3	1.2×10^4	1.1×10^4
处理2	7.1×10^8	5.3×10^8	1.5×10^7	1.7×10^3	2.3×10^2	1.3×10^3	1.2×10^3	8.0×10^3
处理3	9.3×10^8	4.1×10^8	3.7×10^6	4.0×10^2	2.7×10^1	2.3×10^1	1.4×10^1	4.6×10^1
处理4	9.7×10^9	7.1×10^8	5.2×10^5	3.9×10^2	0.6×10^1	1.1×10^1	0.9×10^1	0.7×10^1

- two amendments on the nitrogen changing and compost quality in the composting of pig manure and corn straw[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2005, 23(6):112-118.
- [7] 范艳敏. 酵素菌农作物秸秆堆肥制作技术[J]. 农村新技术, 2004(3): 7-8.
- FAN Yan-min. Manufacture technology of crops stalk compost by ferment fungus[J]. *New Technology in Rural Areas*, 2004(3):7-8.
- [8] Sakai K, Yokota A et al. Purification and characterization of three thermostable endochitinases of a noble *Bacillus* strain, MH-1, isolated from chitin-containing compost[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1998, 64(9):3397-3402.
- [9] 王 洋, 齐晓宁, 王其存, 等. 施用秸秆腐肥对黑土农田养分及玉米产量的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(4):132-134.
- WANG Yang, QI Xiao-ning, WANG Qi-cun. Influences of applying stalk compost on the nutrient of field soil and corn yield of black soil[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2004, 12(4):132-134.
- [10] 宿庆瑞. 玉米秸秆肥对土壤肥力及作物产量的影响[J]. 黑龙江农业科学, 1998(3):214-218.
- SU Qing-rui. Influence of soil fertility and crop output on maize straw stem fertilizer[J]. *Heilongjiang Agricultural Science*, 1998(3):214-218.
- [11] 中国土壤学会农业化学专业委员会编. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京:科学出版社, 1989.
- Chinese Soil Academic Society Agrochemistry Specialized Committee Arranges. Soil agrochemistry routine analysis method[M]. Beijing:Science Press, 1989.
- [12] GB/T 19524. 2—2004, 肥料中蛔虫卵死亡率的测定[S].
GB/T 19524. 2—2004, Determination of mortality of ascarid egg in fertilizer[S].
- [13] GB/T 19524.1—2004, 肥料中粪大肠菌群的测定[S].
GB/T 19524.1—2004, Determination of coliform flora in fertilizer[S].
- [14] 李谦盛. 芦苇末基质的应用基础研究及园艺基质质量标准的探讨[D]. 南京农业大学, 2003, 28-34.
- LI Qian-sheng. The study on application basics of reed residue substrate and discussion on the quality standard of horticultural substrate[D]. Nanjing Agricultural University, 2003. 28-34.
- [15] GB/T 7959-87, 粪便无害化卫生标准[S].
GB/T 7959—87, Sanitary standard for the non-hazardous treatment of night soil[S].
- [16] 李国学, 张福锁. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- LI Guo-xue, ZHANG Fu-suo. The solid waste compost and compound-organic fertilizer[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.
- [17] 邓良伟, 谭小琴, 李 建, 等. 利用秸秆堆肥过程处理猪场废水的研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6):255-259.
- DENG Liang-wei, TAN Xiao-qin, LI Jian, et al. Treatment and reuse of piggery wastewater by composting process of straw [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2004, 20 (6):255-259.
- [18] KRCHMANN H, W DEN P. Separately collected organic household wastes[J]. *Swedish J Agric Res*, 1994, 24:3-12.
- [19] WOGN MH. Phytotoxicity of refuse compost during the process of maturation[J]. *Environ Poll(Series A)*, 1985, 37:159-174.
- [20] Tiquia S M, Tam N F, Hodgkiss I J. Effect of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter[J]. *Environ Pollut*, 1996, 93: 249-256.