

嗜热脂肪土芽孢杆菌 CHB1 固体发酵工艺

陈济琛¹, 任香芸^{1,2}, 蔡海松¹, 林新坚¹

(1.福建省农业科学院土壤肥料研究所, 福建 福州 350013; 2.福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福建 福州 350003)

摘要:以菌量为指标,以麸皮、豆粕为基本发酵原料,通过单因素试验与正交试验,对嗜热脂肪土芽孢杆菌 CHB1 固体发酵培养基与培养条件进行优化。结果表明,CHB1 最佳固体发酵工艺为:250 mL 三角瓶中装麸皮 11.3 g,豆粕 3.7 g, pH8.0 磷酸缓冲液润湿混匀,含水量 50%,接种量 15%(V/m),55 ℃,培养 24 h,菌量达 8.12×10^8 CFU·g⁻¹,比优化前提高 8 倍以上。通过对 CHB1 固体发酵工艺的优化,可实现 CHB1 高密度培养,降低 CHB1 生产成本,提高其在堆肥化中的作用效果。

关键词:嗜热脂肪土芽孢杆菌 CHB1; 固体发酵; 菌量; 工艺优化

中图分类号:S182 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2478-06

Solid Fermentation Technique of *Geobacillus stearothermophilus* CHB1

CHEN Ji-chen¹, REN Xiang-yun^{1,2}, CAI Hai-song¹, LIN Xin-jian¹

(1.Soil and Fertilizer Institute, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013, China; 2.Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003, China)

Abstract: Using cell biomass as the index, wheat bran and soybean meal as the main fermentation materials, via through unifactor tests and orthogonal experiment, the optimization of solid fermentation medium and conditions of *Geobacillus stearothermophilus* CHB1 were studied. The optimal fermentation technique should be: wheat bran 11.3 g and soybean meal 3.7 g in each 250 mL flask, which was mixed with 50% initial moisture content by phosphate buffer(pH8.0), 15% inoculum (V/m) and incubated at 55 ℃ for 24 h. The biomass was up to 8.12×10^8 CFU·g⁻¹. It was found that the biomass resulted from the newly formulated medium was eight times greater than that from the standard fermentation medium. In a word, the optimized technique could reduce the cost of CHB1 production, increase CHB1 biomass and help to improve the efficiency application of CHB1 in composting process.

Keywords: *Geobacillus stearothermophilus* CHB1; solid fermentation; biomass; technology optimization

近年来,随着畜禽养殖业的快速发展,大量畜禽粪便污染已严重影响到人类赖以生存的自然环境。堆肥化作为一种保持良好环境效应的产物,具有生物处理的可持续性和废弃物资源的循环利用等特征,已成为处理有机固体废弃物的有效方法之一^[1]。其中,添加有益微生物菌剂的堆肥更是近年来研究的热点。但由于当前堆肥工艺的经济性,堆肥产品的应用尚存在一定的问题,限制了堆肥技术的推广应用。另一方面,国内外对畜禽粪便好氧堆肥的研究主要集中在堆肥

原料配制、堆肥腐熟指标、堆肥过程控制及生物化学变化特征、生物有机肥肥效等发酵工艺及应用效果方面^[2-6],虽取得了一定的成果,但对堆肥微生物菌群结构和功能菌株在堆肥中的作用机理等研究较少^[7-8],影响了堆肥菌剂的有效利用。因此系统深入地研究发酵菌剂中各种微生物的生理生化特性,优化发酵工艺参数,实现高密度培养,不仅可以降低成本,为提高有机固体废弃物的生物处理效率和堆肥质量提供理论依据;还可以促进发酵菌剂的商品化进程,为其推广普及奠定基础。

嗜热脂肪土芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)CHB1, 为作者所在实验室从鸡舍旁边土壤中分离得到并经中科院微生物所鉴定,初步研究表明该菌属高温菌,具有较全的酶系,在有机固体废弃物

收稿日期:2008-01-17

基金项目:福建省发改委资助项目(闽计高技[2003]37);福建省科技厅重点项目(2006I0009)

作者简介:陈济琛(1964—),男,研究员,主要从事农业微生物与食用菌研究。E-mail:chenjichen2001@163.com

的堆肥化处理中能有效促进堆肥温度,缩短腐熟时间,因而是研制有机物料促腐剂的良好菌种。作者在前期试验中对 CHB1 液体发酵工艺进行了优化,取得了良好的效果,菌量比优化前提高 100 倍以上^[9]。但由于液体发酵培养基成分主要为牛肉膏与大豆蛋白胨等,使得菌剂生产成本较高,限制了微生物菌剂的研制与推广。而固体发酵所用原料多为农副产品加工副产物,来源丰富,价格低廉,具有投资少、技术要求较低^[10]等特点。本文以 CHB1 为出发菌株,对 CHB1 固体发酵技术进行了研究,以求简化生产工艺,提高菌体细胞数量,降低菌剂生产成本。

1 试验材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源

嗜热脂肪土芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)CHB1,由福建省农业科学院土壤肥料研究所微生物室筛选保存,并经中科院微生物所鉴定。

1.1.2 固体发酵原料

豆粕与麸皮:由福建省华龙饲料有限公司提供。

1.1.3 培养基

活化培养基:牛肉膏 0.3%,蔗糖 0.2%,大豆蛋白胨 1.0%,NaCl 0.2%,琼脂 2%,pH7.5。

平板计数培养基:牛肉膏 0.5%,蔗糖 0.5%,大豆蛋白胨 0.5%,蛋白胨 0.5%,NaCl 0.2%,琼脂 2%,pH7.5。

液体发酵优化培养基:牛肉膏 0.5%,大豆蛋白胨 0.9%,NaCl 0.2%, K_2HPO_4 0.1%, KH_2PO_4 0.075%,pH7.5。

固体发酵基础培养基:天然麸皮 16 g,超纯水 16 mL。

1.2 方法

1.2.1 菌量测定方法

参照文献[11]取 2 g 发酵料,用 50 mL 无菌水浸泡,摇床振荡 2 h;取 1 mL 菌悬液,用平板计数法测其菌量。计算式:

$$\text{菌量}(\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}) = (A \times 50) / B$$

式中: A 为 1 mL 菌悬液中的菌量, $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$; B 为取料量,g;50 为加入无菌水的量,mL。

1.2.2 菌种制备

将斜面活化的 CHB1 菌种接种于液体发酵优化培养基中,于适宜条件下培养 18 h,备用。

1.2.3 磷酸缓冲液的配制^[12](pH7.5)

称取磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)6.02 g 和磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)0.5 g,加水溶解并定容至 1 000 mL,pH 计校正。

1.2.4 CHB1 固体发酵培养基的筛选

1.2.4.1 物料配比试验

以不同配比麸皮和豆粕代替固体发酵基础培养基中的发酵料,用磷酸缓冲液润湿物料,灭菌接种后于 60 ℃培养 24 h,测定培养料中的菌量,用 SPSS 软件作数据差异性分析,确定麸皮与豆粕的适宜用量。

1.2.4.2 物料目数试验

保持麸皮与豆粕配比为 10 g:6 g,将不同目数的麸皮和豆粕配制成发酵料,磷酸缓冲液润湿,灭菌接种后于 60 ℃培养 24 h,测定培养料中的菌量,SPSS 软件作数据差异性分析,考察物料细度对 CHB1 生长的影响。

1.2.5 CHB1 固体发酵条件初步优化

用未过筛的麸皮与豆粕作基本发酵料,保持其配比为 10 g:6 g,分别进行以下试验。

1.2.5.1 发酵温度

将发酵料用磷酸缓冲液润湿,灭菌接种后分别于 50、55、60、65 ℃下培养 24 h,测定发酵料中的菌量,通过 SPSS 软件对所得数据进行差异显著性分析,考察温度对 CHB1 固体发酵的影响。

1.2.5.2 发酵物料含水量

将发酵料用磷酸缓冲液润湿,使培养基含水量分别为 40%、50%、60%、70%、80%,灭菌接种后于 55 ℃恒温培养 24 h,测定发酵料中的菌量并通过 SPSS 软件进行数据分析,确定适宜的含水量。

1.2.5.3 磷酸盐对 CHB1 固体发酵的影响

用浓度为 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 配制 pH 分别为 7.5、8.0、8.5、9.0 的磷酸缓冲液代替超纯水(pH7.5)润湿物料,使培养基含水量为 50%,灭菌接种后,55 ℃恒温培养 24 h,测定发酵料中的菌量,SPSS 软件进行数据分析,确定 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的适宜配比。

1.2.5.4 装料量对 CHB1 固体发酵的影响

250 mL 三角瓶中分别装发酵料 15、30、45、60 g,用 pH8.0 磷酸缓冲液润湿物料,培养基含水量为 50%,灭菌接种后 55 ℃培养 24 h,测定发酵料中的菌量,SPSS 软件进行数据分析,确定适宜的装料量。

1.2.5.5 接种量对 CHB1 固体发酵的影响

采用浓度为 $8.0 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 CHB1 菌悬液做菌种,向发酵物料中接入不同体积的菌悬液,使接

种量分别为 5%、10%、15%、20%,55 ℃恒温培养 24 h,测定发酵料中的菌体生物量,SPSS 软件进行数据分析,确定适宜的接种量。

1.2.5.6 发酵周期的确定

在固体发酵过程中每隔 4 h 取 3 个平行样,按 1.2.1 做活菌量检测。以时间为横坐标,菌量的对数为纵坐标,制作生长曲线,分析 CHB1 在固体发酵料中的生长特性,确定固体发酵获得 CHB1 高生物量的培养时间。

1.2.6 正交试验优化 CHB1 固体发酵工艺

在上述单因素试验的基础上,以菌体生物量为指标,以物料配比、温度、含水量、磷酸盐、装料量和接种量为考察对象,选择 $L_8(2^7)$ 型正交表进行正交试验。测定各处理下的菌体生物量,并对数据进行极差与方差分析,确定适宜 CHB1 固体发酵的最佳工艺条件。

2 结果和分析

2.1 物料对比对 CHB1 固体发酵的影响

麸皮与豆粕质量的变化对 CHB1 的生长有显著差异(表 1)。单纯用麸皮或豆粕作发酵料,CHB1 在麸皮中生长量较大;随着麸皮含量减少和豆粕含量增大,C/N 值逐渐升高,CHB1 菌量先上升后下降,当麸皮和豆粕的含量分别为 10 和 6 g 时,即 C/N 值为

表 1 物料对比对 CHB1 固体发酵生长量的影响
Table 1 Effect of material proportion on the biomass of CHB1 in solid fermentation

物料配比 Material proportion/g	C/N	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels	
			α=0.05	α=0.01
16+0	3.76	8.09±0.095	c	A
14+2	3.78	8.14±0.010	abc	A
12+4	3.81	8.27±0.105	ab	A
10+6	3.86	8.31±0.096	a	A
8+8	3.90	8.10±0.100	bc	A
6+10	3.95	7.86±0.119	d	B
4+12	4.03	7.50±0.146	e	C
2+14	4.10	7.34±0.055	e	C
0+16	4.20	7.39±0.076	e	C

注:物料配比中,“+”前为麸皮质量,“+”后为豆粕质量。C/N 为每个物料配比下,麸皮与豆粕中总 C 与总 N 的比值。显著值 $P<0.05$ 差异显著,用小写字母表示, $P<0.01$ 差异极显著,用大写字母表示,下同。

Note:For the material proportion,before the “+”was wheat bran and after the “+”was soybean meal . C/N was the ratio of total carbon in wheat bran to total nitrogen in soybean meal. $P<0.05$:significant difference, expressed by small letter; $P<0.01$:very significant difference,expressed by capital letter,the same blow.

3.86 时,菌数最多,达 2.10×10^8 CFU·g⁻¹。说明 CHB1 的生长需要两者合理搭配,为菌体生长提供充足的碳氮源。

2.2 CHB1 固体发酵物料适宜细度

CHB1 在不同细度发酵料中的生长情况(表 2),物料细度明显影响 CHB1 的生长。CHB1 在未过筛的发酵料中生长最好,菌量达 4.02×10^8 CFU·g⁻¹;随物料细度增大,培养基通透性逐渐降低,溶氧减少,不利于菌体的生长,使得菌量逐渐下降。说明物料细度对培养基溶氧的影响大于菌体对培养基营养成分吸收的影响。从菌量及发酵成本考虑,宜选择未过筛的麸皮与豆粕作为发酵料。

表 2 物料细度对 CHB1 固体发酵菌量的影响
Table 2 Effect of material fineness on the biomass of CHB1 in solid fermentation

物料细度/目 Matarial fineness/mess	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels	
		α=0.05	α=0.01
CK	8.60±0.03	a	A
18	8.36±0.08	b	B
40	8.27±0.05	b	B
60	7.98±0.11	c	C

2.3 温度对 CHB1 固体发酵的影响

温度对微生物的生长繁殖和代谢活动都有很大的影响,只有在最适生长温度范围内,其生长速率才能达到最高。如表 3,不同温度对 CHB1 生长的影响差异极显著。CHB1 在 50 ℃ 下生长较差;随温度升高菌量开始上升,55 ℃时菌量最大为 2.29×10^8 CFU·g⁻¹;温度继续升高菌量迅速下降,说明 CHB1 固体发酵的最适温度为 55 ℃。

2.4 含水量对 CHB1 固体发酵的影响

在固体发酵中,培养基含水量对 CHB1 的生长有很大影响(见表 4)。水分过低,原料淀粉糊化差,培养

表 3 温度对 CHB1 固体发酵菌量的影响
Table 3 Effect of temperature on the biomass of CHB1 in solid fermentation

温度 Temperature/℃	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels	
		α=0.05	α=0.01
50	7.57±0.04	c	C
55	8.26±0.06	a	A
60	7.90±0.02	b	B
65	7.10±0.08	d	D

表 4 培养基含水量对 CHB1 固体发酵菌量的影响				
Table 4 Effect of moisture content on the biomass of CHB1 in solid fermentation				
含水量 Moisture content/%	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels		
		α=0.05	α=0.01	
40	7.38±0.021	c	C	
50	8.42±0.007	a	A	
60	8.23±0.035	b	B	
70	7.43±0.042	c	C	
80	6.38±0.035	d	D	

基发干,不利于营养物质传递和胞内物质(如酶等)分泌到基质中,影响营养物质的吸收^[13];水分过多,物料灭菌后易发粘,透气性差,影响菌体生长所需的氧气供应。50%含水量最适宜 CHB1 生长,菌量达 2.60×10⁸ CFU·g⁻¹。

2.5 磷酸缓冲液对 CHB1 固体发酵的影响

本试验以超纯水为对照,测定 CHB1 在不同 pH 磷酸缓冲液中的生长量(表 5),磷酸盐缓冲液对 CHB1 生长有显著影响。缓冲液 pH 在 7.5~8.5 之间,菌量变化较大;pH 为 8.0,即 Na₂HPO₄ 与 NaH₂PO₄ 加量分别为 95 与 5 mL 时,菌量最大为 5.70×10⁸ CFU·g⁻¹。分析表 5 数据还可知,分别用 pH7.5 的超纯水和磷酸缓冲液润湿物料,后者菌量较大,说明磷酸缓冲液对发酵物料 pH 有一定的缓冲作用,同时磷酸盐也是参与微生物细胞壁组成的重要成分,有利于微生物的生长。

2.6 装料量对 CHB1 固体发酵的影响

CHB1 在不同装料量下的发酵结果,如表 6。装料量过少,菌体生长所需要的营养物质会相对不足,水分在高温下也比较容易蒸发干,不利于细菌生长;装

表 5 磷酸盐对 CHB1 固体发酵菌量的影响				
Table 5 Effect of phosphate on the biomass of CHB1 in solid fermentation				
磷酸盐加量 Phosphate/mL	磷酸缓冲液 pH Phosphate pH value	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels	
			α=0.05	α=0.01
CK	7.5	8.45±0.020	c	C
84+16	7.5	8.57±0.012	b	B
95+5	8.0	8.76±0.006	a	A
98+2	8.5	8.59±0.035	b	B
100+0	9.0	8.18±0.080	d	D

注:磷酸盐加量中,“+”前表示 Na₂HPO₄·12H₂O 加量,“+”后表示 NaH₂PO₄·2H₂O 加量。

Note:In the amount of phosphate,value before “+”was Na₂HPO₄·12H₂O,after“+”was NaH₂PO₄·2H₂O.

表 6 装料量对 CHB1 固体发酵的影响				
Table 6 Effect of substratum volume on the biomass of CHB1 in solid fermentation				
装料量 Substratum volume/g	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels		
		α=0.05	α=0.01	
15	8.67±0.078	a	A	
30	8.82±0.035	a	A	
45	7.91±0.035	b	B	
60	7.24±0.056	c	C	

料量在 15~30 g 之间时,CHB1 生长量差异较小,且菌量较大;随着装量增大,物料透性降低,影响氧气的供应,菌量下降明显;根据生长量确定最适装料量为 30 g/250 mL 三角瓶。

2.7 接种量对 CHB1 固体发酵的影响

接种量的大小明显影响菌体生长延滞期。接种量大,延滞期短,生长较快;反之则长。由表 7 可见,CHB1 接种量在 10%~15%效果较好,且对菌体生长差异性不大,从试验成本考虑,宜选择 10%接种量。

表 7 接种量对 CHB1 固体发酵的影响				
Table 7 Effect of inoculum percentage on the biomass of CHB1 in solid fermentation				
接种量(V/m) Inoculum percentage	lg(菌量/CFU·g ⁻¹) lg(Biomass/CFU·g ⁻¹)	差异显著性 Significance levels		
		α=0.05	α=0.01	
5	7.20±0.134	c	C	
10	8.60±0.028	a	A	
15	8.77±0.050	a	A	
20	7.98±0.021	b	B	

2.8 CHB1 固体发酵周期

CHB1 固体发酵生长曲线如图 1,0~4 h 处于生长延滞期;4~20 h 处于对数生长期;20~32 h 处于生长稳定期;32 h 后进入生长衰亡期。根据细菌生长的一般规律,在稳定期活菌数达到最大,并保持相对稳定,同时培养物的生化稳定性较好。活菌数是堆肥菌剂的主要质量指标,选择发酵时间为 24 h,保证发酵产物最大活菌数。

2.9 正交试验优化 CHB1 固体发酵工艺

试验对影响 CHB1 固体发酵生长量较大的 6 个因素,即物料配比、温度、含水量、磷酸盐、装料量和接种量进行的正交试验优化。具体的因素水平表与试验方案及结果分析见表 8、表 9 与表 10。

直观分析得出实际最佳组合为:A₁B₁C₁D₂E₂F₂,对

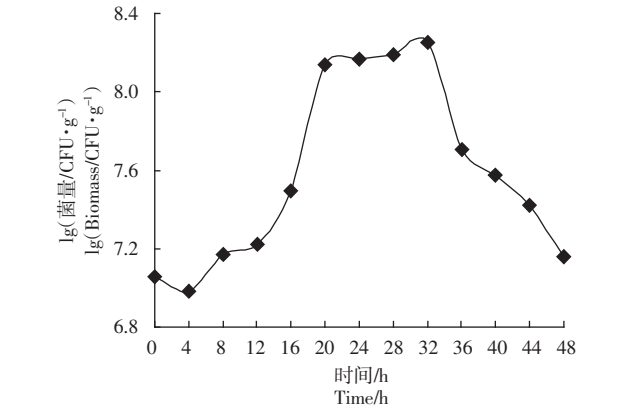


图 1 CHB1 固体发酵生长曲线

Figure 1 Growth curve of CHB1 in solid fermentation

表 8 L₈(2⁷)正交试验因素水平表

Table 8 L₈(2⁷)orthogonal experiment factors

水平	因素					
	物料配比 (A)	温度/℃ (B)	含水量/% (C)	磷酸盐 (D)	装料量/g (E)	接种量/% (F)
1	3:1	55	50	7.5	15	10
2	5:3	60	60	8.0	30	15

注:物料配比,指麸皮与豆粕的质量比;磷酸盐的量以 pH 表示。
Note:Material proportion was the ratio of weight of wheat bran to soybean meal; the amount of phosphate buffer was expressed by pH value.

试验数据进行极差分析,结果(表 9)表明,各因素对 CHB1 固体发酵影响的主次顺序为:物料配比>温度>装料量>接种量>含水量>磷酸盐,理论最佳组合为 A₁B₁C₂D₂E₂F₂。方差分析(表 10)表明,物料配比与温度对 CHB1 固体发酵生长量的影响显著,达 0.05 水平;装料量、接种量、含水量和磷酸盐对 CHB1 生长量影响较显著,达 0.10 水平。以菌量为指标对两组合进行

表 10 正交试验结果方差分析

Table 10 Analysis of variance for the experiment result with orthogonal design

方差来源	偏差平方和	自由度	方差	F 值	F _α	显著性
物料配比	0.777 9	1	0.777 9	722.3	F _{0.05} (1,1)=161.4	*
温度	0.692 2	1	0.692 2	642.7		*
含水量	0.073 8	1	0.073 8	68.50	F _{0.10} (1,1)=39.1	**
磷酸盐	0.042 5	1	0.042 5	39.50		**
装料量	0.150 2	1	0.150 2	139.5		**
接种量	0.134 2	1	0.134 2	124.6		**
误差 e	0.001 1	1	0.001 1			
总和	1.872 0	7				

注:* 表示影响显著,** 表示影响比较显著。
Note:* significant difference,** relatively remarkable.

试验验证,最后确定最佳组合为:A₁B₁C₂D₂E₂F₂,即,麸皮:豆粕=11.3:3.7(即 3:1),温度 55 ℃,含水量 50%,磷酸盐 pH8.0,装料量 30 g,接种量 15%,在此条件下菌量达 8.12×10⁸ CFU·g⁻¹。

3 小结和讨论

(1)本研究结果显示,CHB1 在麸皮、豆粕等发酵物料中生长良好,最高菌量可达 8.12×10⁸ CFU·g⁻¹,比优化前提高 8 倍以上,与液体发酵菌量相当。而麸皮、豆粕等都是廉价的农副产品,配料简单,采用的设备也较液体发酵简单,生产成本大大低于液体发酵。此外,固体发酵还具有产酶量高、环境污染小等优点^[14],适宜用于 CHB1 的工厂化生产。

(2)优化得到的固体发酵条件中,基本发酵物料麸皮与豆粕均用天然产品,省去了过筛的麻烦;但物料需经高温灭菌处理,整个培养过程保持无杂菌状态,这会加大生产成本和工作量。因此有必要试验用

表 9 正交试验设计和极差分析

Table 9 Orthogonal experiment design and the range analysis

试验号	物料配比	温度/℃	含水量/%	磷酸盐	装料量/g	接种量/%	e	lg 菌量/(CFU·g ⁻¹)
1	1(3:1)	1(55)	1(50)	1(7.5)	1(15)	1(10)	1	8.15
2	1(3:1)	1(55)	1(50)	2(8.0)	2(30)	2(15)	2	8.81
3	1(3:1)	2(60)	2(60)	1(7.5)	1(15)	2(15)	2	7.99
4	1(3:1)	2(60)	2(60)	2(8.0)	2(30)	1(10)	1	8.18
5	2(5:3)	1(55)	2(60)	1(7.5)	2(30)	1(10)	2	7.97
6	2(5:3)	1(55)	2(60)	2(8.0)	1(15)	2(15)	1	8.13
7	2(5:3)	2(60)	1(50)	1(7.5)	2(30)	2(15)	1	7.47
8	2(5:3)	2(60)	1(50)	2(8.0)	1(15)	1(10)	2	7.06
K ₁	33.13	33.06	31.50	31.60	31.34	31.37	31.93	T=63.77
K ₂	30.64	30.71	32.27	32.18	32.44	32.41	31.84	
R	2.49	2.35	0.77	0.58	1.10	1.04	0.09	

未灭菌或不同灭菌时间的发酵物料培养 CHB1, 以进一步降低生产成本, 减小工作量。

(3) 由于固体发酵中三角瓶小试和工业化生产之间的条件控制有较大差异, 在工业化生产过程中很难达到小试的效果^[15], 如何改进生产中的发酵设备及发酵条件, 使之达到小试的效果是今后迫切需要解决的问题。

参考文献:

- [1] Zhu N, Deng C, Xiong Y, et al. Performance characteristics of three aeration systems in the swine manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2004, 95(3): 319–326.
- [2] 韩 涛, 任连海, 张相铎, 等. 初始环境温度对餐厨垃圾好氧堆肥过程的影响[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(9): 1458–1462.
HAN T, REN L H, ZHANG X F, et al. Impact of initial temperature on aerobic composting for the restaurant garbage[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(9): 1458–1462.
- [3] 张 锐, 韩鲁佳. 好氧堆肥反应器系统在废弃物处理中的应用[J]. *农机化研究*, 2006, 10: 172–178.
ZHANG Rui, HAN Lu-jia. Large-scale aerobic composting reactor systems and its application in residues treatment[J]. *Agricultural Mechanization Research*, 2006, 10: 172–178.
- [4] 王伟伟, 陶 磅, 冷 平, 等. 柿渣与牛粪混合高温堆肥效应研究[J]. *中国农业大学学报*, 2006, 11(4): 55–59.
WANG Jing-wei, TAO Bang, LENG Ping, et al. Effect of high temperature co-composting using persimmon wine stillage and cattle manure[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2006, 11(4): 55–59.
- [5] 朴仁哲, 姜 成, 金玉姬. 微生物菌群对鸡粪堆肥微生物相变化的影响[J]. *延边大学农学报*, 2005, 27(3): 175–178.
PIAO Ren-zhe, JIANG Cheng, JIN Yu-ji. Effects of microbial community on the microbes changes of composing chicken manure[J]. *Journal of Agricultural Science Yanbian University*, 2005, 27(3): 175–178.
- [6] 刘 军, 陈向东, 彭珍荣. 分离嗜热脂肪芽孢杆菌单个菌落的方法[J]. *微生物学通报*, 1998, 25(5): 302–303.
LIU Jun, CHEN Xiang-dong, PENG Zhen-rong. Isolation method of *Bacillus stearothermophilus* single colony[J]. *Microbiology*, 1998, 25(5): 302–303.
- [7] 谷春涛, 彭爱铭, 萨仁娜, 等. 地衣芽孢杆菌 TS-01 发酵培养基的优

化[J]. *饲料工业*, 2003, 24(8): 19–20.

- GU Chun-tao, PENG Ai-ming, SA Ren-na, et al. Optimization of fermentation media for *Bacillus licheniformis* TS-01 [J]. *Feed Industry*, 2003, 24(8): 19–20.
- [8] 殷培杰, 孙军德, 石星群, 等. 微生物菌剂在鸡粪有机肥料堆制发酵中的应用[J]. *微生物学志*, 2004, 24(6): 43–46.
YIN Pei-jie, SUN Jun-de, SHI Xing-qun, et al. Application of microbial preparation on compost of chicken droppings[J]. *Microbiology*, 2004, 24(6): 43–46.
- [9] 任香芸, 陈济琛, 蔡海松, 等. 嗜热脂肪土芽孢杆菌 CHB1 生长特性与培养条件研究[J]. *生物技术*, 2007, 17(2): 65–68.
REN Xiang-yun, CHEN Ji-chen, CAI Hai-song, et al. Study on the growth characteristics and culture conditions of *Geobacillus stearothermophilus* CHB1[J]. *Biotechnology*, 2007, 17(2): 65–68.
- [10] 方 苹, 韦 苹, 范伟平, 等. 苏云金杆菌固体发酵工艺研究[J]. *南京工业大学学报*, 2002, 24(6): 84–87.
FANG Ping, WEI Ping, FAN Wei-ping, et al. Study on solid fermentation process of *Bacillus Thuringiensis* [J]. *Journal of Nanjing University of Technology*, 2002, 24(6): 84–87.
- [11] 潘红春, 刘 红, 刘洪波. 活菌制剂 HL-08 菌的固体发酵培养[J]. *中国饲料*, 1996, 5: 40–41.
PAN Hong-chun, LIU Hong, LIU Hong-bo. Solid fermentation of biogen HL-08 strain[J]. *China Feed*, 1996, 5: 40–41.
- [12] 王秀奇, 秦淑媛, 高天慧, 等. 基础生物化学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 276–278.
WANG Xiu-qi, QIN Shu-yuan, GAO Tian-hui, et al. Basic biochemistry experimentation[M]. Beijing: High Education Press, 2000. 276–278.
- [13] Fikret Uyar, Zubeyde Baysal. Production and optimization of process-*Bacillus sp.* under solid state fermentation[J]. *Process Biochemistry*, 2003, 38(8): 1165–1171.
- [14] 魏铁麒, 奚新伟, 毕建文, 等. 固体发酵法生产 α -淀粉酶的研究[J]. *生物技术*, 1997, 7(6): 27–29.
WEI Tie-qi, XI Xin-wei, BI Jian-wen, et al. Production of α -amylase using solid state fermentation[J]. *Biotechnology*, 1997, 7(6): 27–29.
- [15] 张志焱, 徐海燕, 杨军方. 枯草芽孢杆菌固体发酵培养基的优化[J]. *饲料博览*, 2005, 9: 34–36.
ZHANG Zhi-yan, XU Hai-yan, YANG Jun-fang. Study on the optimization of *Bacillus subtilis* by solid state fermentation [J]. *Feed Review*, 2005, 9: 34–36.