

优良生防枯草芽孢杆菌 CY1 固态发酵 研制生物有机肥工艺参数优化

李彬涛, 韦小敏, 来航线, 李玉龙, 王旭东

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 枯草芽孢杆菌 CY1 是一株广谱性的根际促生菌, 为促进农业废弃物的资源化利用, 提高固态发酵生产生物有机肥过程中枯草芽孢杆菌 CY1 的扩繁能力, 研究采用猪粪堆肥为原料, 麸皮、豆粕、玉米粉为辅料进行固态发酵研制新型生物有机肥, 以有效活菌数为参考指标, 确定原料、辅料最佳配比及接种量。选用 Plackett-Burman 试验设计对影响发酵的 8 个因素进行效应评价, 筛选出具有显著效应的 3 个因素: 初始 pH、发酵温度及含水量。用最陡爬坡试验逼近最大响应区域, 通过响应面分析法确定最优发酵工艺参数。结果表明, 固态发酵条件为初始 pH 7.51、 KH_2PO_4 含量 0.75%、 MgSO_4 含量 0.15%、 MnSO_4 含量 0.15%、发酵温度 36.10°C、葡萄糖含量 6.00%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 含量 0.75%、含水量 26.33%, 此时固态发酵产物有效活菌数最大, 达到 4.57×10^{10} CFU · g⁻¹。该研究为利用农业废弃物采用合适的原料配比及工艺条件生产低成本高质量的生物有机肥提供了新途径。

关键词: 枯草芽孢杆菌; 固态发酵; 生物有机肥; 响应面分析

中图分类号: S141.4 文献标志码: A

Optimization of bio-organic fertilizer production by *Bacillus subtilis* CY1 solid-state fermentation

LI Bintao, WEI Xiaomin, LAI Hangxian, LI Yulong, WANG Xudong

(College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shannxi 712100, China)

Abstract: *Bacillus subtilis* CY1 is a plant broad-spectrum rhizosphere bacterium. To promote the resource utilization of agricultural waste and improve the propagation capacity of *Bacillus subtilis* CY1 in the production of bio-organic fertilizer by solid fermentation, this study developed a new bio-organic fertilizer by solid fermentation using pig manure compost as raw material and bran, soybean meal and corn meal as auxiliary materials. The optimal ratio of raw materials and excipients and inoculation amount were determined with the number of viable bacteria as reference index. Plackett-burman experiment design was used to evaluate the effects of eight factors on fermentation, and three factors — initial pH, fermentation temperature and water content with significant effects were selected. The steepest climbing test was used to approximate the maximum response area, and response surface analysis was used to determine the optimal fermentation parameters. The results showed that the solid-state fermentation conditions were as follows: initial pH 7.51, KH_2PO_4 content 0.75%, MgSO_4 content 0.15%, MnSO_4 content 0.15%, fermentation temperature 36.10°C, glucose content 6.00%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ content 0.75%, water content 26.33%. At this time, the number of viable bacteria in solid fermentation products reached the maximum, reaching 4.57×10^{10} CFU · g⁻¹. This study provides a new way to produce low-cost and high-quality bio-organic fertilizer by using agricultural waste in appropriate raw material ratio and technological conditions.

Keywords: *Bacillus subtilis*; solid state fermentation; bio-organic fertilizer; response surface analysis

固态发酵具有能耗低、环境污染少等优点, 能使微生物保持原始的自然生长状态, 有利于发酵代

谢产物的积累^[1]。伴随着新型功能菌株的筛选鉴定及作用机制的研究, 枯草芽孢杆菌以其自身绿色

环保且作用效果良好的独特优势被广泛研究推广^[2]。枯草芽孢杆菌 CY1 (*Bacillus subtilis* CY1) 能够通过分泌胞外酶等促进植物根系生长的物质, 提高植物利用养分的能力, 对番茄植株生长具有促进作用, 同时可以通过提高植物体内防御酶活性增强植物对病原入侵的抵抗能力, 兼具生物防治及促生效果^[6], 可被用作固态发酵的接种剂制备功能型生物有机肥^[3]。然而, 目前生物有机肥的生产主要采用有益微生物与有机肥混合的方式进行, 存在功能菌存活率低、产品质量不达标等问题, 造成功能菌的浪费以及生产成本的增加^[4]。2019 年全国微生物肥料质量检测结果显示, 约 78% 的微生物肥料因产品有效活菌数含量较低而不合格。菌种能否在基质中存活取决于其生长环境, 与碳氮比、pH、含水量及生长因子密切相关^[5], 然而目前此方面缺乏系统研究。因此, 如何通过工艺参数优化实现功能益生菌的扩繁至关重要。

本研究通过固态发酵试验, 选取前期经过筛选鉴定得到的一株生防效果较好的枯草芽孢杆菌 CY1 为固态发酵功能菌剂^[6], 结合原料成本及产品质量, 以腐熟猪粪堆肥为发酵原料, 麸皮、豆粕、玉米粉为发酵辅料, 有效活菌数为观测评价指标, 采用 Plackett-Burman 设计、最陡爬坡法及响应面分析, 优化固态发酵工艺条件, 为固态发酵制备生物有机肥提供了基础数据, 对我国北方地区粮油副产物的综合利用和资源开发具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株: 生防枯草芽孢杆菌 CY1, 由西北农林科技大学资源环境学院资源环境微生物实验室分离、鉴定、保藏。

发酵原料: 腐熟猪粪基质, pH 8.21, 含水量 11.74%, 有机质含量 $254.71 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总氮含量 $13.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

发酵辅料: 麸皮、豆粕、玉米粉, 购置于陕西省杨凌农业高新产业示范区农贸市场。其中, 麸皮 pH

9.30, 含水量 1.32%, 有机质含量 $407.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总氮含量 $27.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 豆粕 pH 4.95, 含水量 1.95%, 有机质含量 $448.80 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总氮含量 $81.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 米粉 pH 8.79, 含水量 2.12%, 有机质含量 $404.26 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总氮含量 $55.37 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

种子培养基 (LA 液体培养基): 蛋白胨 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 氯化钠 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 牛肉膏 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.2, 121°C 灭菌 30 min。

固体活化培养基 (LA 固体培养基): 在 LA 液体培养基中加入 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉。

1.2 试验设计

1.2.1 单因素试验 选取发酵辅料配比、原料辅料配比、接种量 3 个因素进行固态发酵试验。辅料配比设置 14 : 1 : 5、15 : 1 : 4、16 : 1 : 3、17 : 1 : 2、18 : 1 : 1 共 5 个水平, 原料辅料配比设置 7 : 3、8 : 2、9 : 1 共 3 个水平, 接种量设置 1%、5%、10%、15% ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$) 共 4 个水平, 每个处理 3 个重复。调节初始含水量为 30%, 在 37°C 条件下培养 7 d, 分别取第 3 天及第 7 天样测定 CY1 有效活菌数。

1.2.2 Plackett-Burman 试验 根据前期单因素试验结果, 采用 PB 试验设计 (A: 初始 pH; B: KH_2PO_4 含量; C: MgSO_4 含量; D: 空列项; E: MnSO_4 含量; F: 发酵温度; G: 空列项; H: 葡萄糖含量; I: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 含量; J: 空列项; K: 含水量), 选取 8 个影响活菌数的主要因素, 每个因素取高、低 2 个水平, 其余 3 个因素为虚拟变量, 用于误差估计 (表 1)^[7]。

1.2.3 最陡爬坡试验 根据 Plackett-Burman 试验及方差分析结果, 筛选主要影响因素设计爬坡方向和步长, 确定最陡上升路径^[8]。以活菌数为评价指标, 确定最大响应区域, 其余不显著因素取中间值。

1.2.4 响应面 (RSM) 试验 根据最陡爬坡试验结果, 采用 Box-benhnken 试验设计, 显著因素的零水平取上述得到的中心点数值, 高水平和低水平分别高于或低于零水平 1 个实际步长^[9]。以初始 pH、发酵温度以及含水量为自变量, 枯草芽孢杆菌活菌数量为响应值进行三因素三水平的响应面试验, 并对结果进行验证。

表 1 Plackett-Burman 试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of Plackett-Burman experiment design

发酵水平 Fermentation level	发酵因素 Fermentation factor							
	初始 pH Initial pH(A)	KH_2PO_4 含量 KH_2PO_4 content(B)/%	MgSO_4 含量 MgSO_4 content(C)/%	MnSO_4 含量 MnSO_4 content(E)/%	发酵温度 Fermentation temperature (F)/ $^\circ\text{C}$	葡萄糖 含量 Glucose content (H)/%	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 含量 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ content(I)/%	含水量 Water content (K)/%
-1	5	0.5	0.1	0.1	30	4	0.5	20
1	9	1.0	0.2	0.2	40	8	1.0	30

1.3 研究方法

1.3.1 种子液的制备 将菌株 CY1 在固体活化培养基平板上于 37℃ 培养箱中活化 36 h, 挑取单菌落接种于种子培养基, 37℃、180 r · min⁻¹ 培养 20 h 作为种子液, 有效活菌数约为 1.0 × 10⁸ CFU · mL⁻¹。

1.3.2 活菌计数方法 称取 5 g 发酵原料于含有 45 mL 无菌水的三角瓶中, 加入适量小玻璃珠, 30℃、180 r · min⁻¹ 振荡 30 min, 制得 1 : 10 稀释液。吸取 1 mL 稀释液注入含有 9 mL 无菌水的离心管中, 振荡混匀, 得到 1 : 100 稀释液。依次类推制成不同梯度 10 倍递增稀释液。采用涂布法进行接种, 37℃ 恒温培养箱中培养 36 h 后取出计有效活菌数 (CFU · g⁻¹, 干重)^[10-11]。

1.4 数据处理

每个处理重复 3 次, 结果取其平均值表示。采用 SPSS 20.0 进行方差分析, 采用 Design Expert 9.0.2 软件进行 Plackett-Burman 试验及响应曲面设计试验设计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素条件下有效活菌数的变化特征

根据发酵辅料碳氮比, 设置 5 个麸皮、豆粕、玉米粉配比水平进行单因素试验 (图 1A)。第 3 天时, 各配比之间没有显著性差异。第 7 天时, 随着麸皮添加量的增大, 有效活菌数先增加后下降, 主要原因是麸皮具有更高的孔隙度, 为微生物的生长繁殖提供充足的氧气, 当辅料配比达到 15 : 1 : 4 这个阈值时, 碳源作为主要的影响因素, 粒径较小的玉米粉更有利于微生物的分解利用。因此, 确定发酵辅料的配比为 15 : 1 : 4。

以腐熟猪粪为发酵原料, 麸皮、豆粕、玉米粉为

发酵辅料, 通过单因素试验获得最佳原料、辅料配比 (图 1B)。第 3 天时, 不同处理间存在显著性差异, 随着原料添加量的增加, 有效活菌数逐渐下降。第 7 天时, 原料 : 辅料为 8 : 2 的条件下活菌数达到 7.8 × 10⁹ CFU · g⁻¹, 显著高于其他处理。因此, 确定发酵原料辅料配比为 8 : 2。

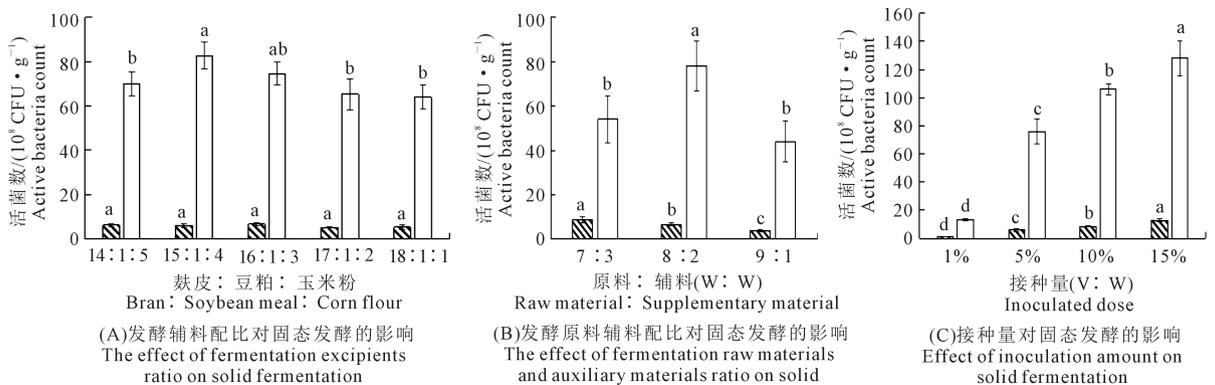
接种量作为发酵的重要因素直接影响着发酵产物的有效活菌数 (图 1C)。处理间在第 3 天和第 7 天均存在显著性差异, 有效活菌数随着接种量的增加而增加。与第 3 天相比, 第 7 天的有效活菌数在 1%、5%、10% 和 15% 的接种量下分别提高了 10.88、12.10、11.42 倍及 9.05 倍。然而, 更大的接种量意味着更高昂的生产成本, 因此, 确定固态发酵初始接种量为 5%。

2.2 有效活菌数关键影响因素的确定

如表 2、表 3 Plackett-Burman 试验结果及方差分析所示, KH₂PO₄ 含量、MgSO₄ 含量、MnSO₄ 含量、发酵温度、葡萄糖含量及含水量对有效活菌数的影响效应值为正; 初始 pH 及 (NH₄)₂SO₄ 含量对有效活菌数的影响效应值为负。主效应 $P = 0.0453$ ($P < 0.05$)、 R^2 为 0.9621, 表明该回归模型显著, PB 试验设计因素在所选取的水平范围内对发酵产物有效活菌数的影响较显著, 其中, 初始 pH、发酵温度、含水量可信度大于 95% ($P < 0.05$), 是影响有效活菌数的显著因素。

2.3 有效活菌数对关键影响因素的响应及模型的构建

根据 Plackett-Burman 试验结果, 对初始 pH、发酵温度、含水量 3 个显著因素进行最陡爬坡试验, 其余因素取中间值 (表 4)。结果表明, 初始 pH 为 7.5、发酵温度为 36℃、含水量为 26% 时有效活菌数最大, 达到 3.91 × 10¹⁰ CFU · g⁻¹。



▨ The 3rd day of culture □ The 7th day of culture

注: 小写字母表示在同一时间下不同处理的差异显著性 ($P < 0.05$)。

Note: Lower case letters indicate the significant difference between treatments at the same time ($P < 0.05$).

图 1 固态发酵单因素试验结果

Fig.1 Single factor test results of solid fermentation

表 2 Plackett-Burman 试验结果

Table 2 Results of Plackett-Burman experiment design

处理 Treatment	A	B	C	(D)	E	F	(G)	H	I	(J)	K	活菌数 Active bacteria count /(10^{10} CFU · g ⁻¹)
1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	2.03g
2	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1.57h
3	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1	2.00g
4	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	2.88d
5	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	1	3.32c
6	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	2.34f
7	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1.51i
8	1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	2.39f
9	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	2.77e
10	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	3.78a
11	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	3.53b
12	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	2.72e

注: D、G、J 为虚拟变量, 用于误差估计; 小写字母表示在同一时间下不同处理的差异显著性 ($P < 0.05$)。

Notes: D, G and J are dummy variables used for error estimation; Lower case letters indicate the significant difference between treatments at the same time ($P < 0.05$).

表 3 Plackett-Burman 试验方差分析

Table 3 Results of variance analysis of Plackett-Burman experiment

因素 Factor	低水平 (-1) Low level	高水平 (+1) High level	效应值 Effect size	系数 Coefficient	P
A 初始 pH Initial pH	5.0	9.0	-0.5900	-0.2950	0.0335
B KH ₂ PO ₄ 含量 KH ₂ PO ₄ content	0.5	1.0	0.2133	0.1067	0.2701
C MgSO ₄ 含量 MgSO ₄ content	0.1	0.2	0.4300	0.2150	0.0726
E MnSO ₄ 含量 MnSO ₄ content	0.1	0.2	0.4733	0.2367	0.0580
F 发酵温度 Fermentation temperature	30.0	40.0	0.7067	0.3533	0.0209
H 葡萄糖含量 Glucose content	4.0	8.0	0.4367	0.2183	0.0701
I (NH ₄) ₂ SO ₄ 含量 (NH ₄) ₂ SO ₄ content	0.5	1.0	-0.1833	-0.0917	0.3302
K 含水量 Water content	20.0	30.0	0.6133	0.3067	0.0303

注: 该模型 $P = 0.0453$, $R^2 = 0.9621$ 。

Notes: The model $P = 0.0453$, $R^2 = 0.9621$.

表 4 最陡爬坡试验设计与结果

Table 4 Results of steepest ascent test

序号 Serial number	初始 pH Initial pH	发酵温度 Fermentation temperature/°C	含水量 Water content/%	活菌数 Active bacteria count /(10^{10} CFU · g ⁻¹)
1	8.5	32	22	2.76
2	8.0	34	24	3.28
3	7.5	36	26	3.91
4	7.0	38	28	3.03
5	6.5	40	30	2.49

根据最陡爬坡试验确定的中心点, 以初始 pH (A)、发酵温度 (B)、含水量 (C) 为自变量, 活菌数 (Y) 为响应值, 采用 Box-benhnken 中心组合设计试验 (表 5), 通过方差分析统计检验确定最优组合 (表 6)。经过回归拟合后, 得到回归方程:

$$Y = 4.66 + 0.0637A + 0.1375B + 0.2012C + 0.1625AB - 0.2500AC - 0.3325BC - 1.09A^2 - 0.8885B^2 - 0.5610C^2$$

各因素对有效活菌数 (Y) 影响的顺序为含水量 > 发酵温度 > 初始 pH。由表 6 可得, 方程模型回归拟合显著 ($P < 0.001$), 失拟项不显著 ($P > 0.05$), 其

中,一次项 C 显著、二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 极显著、交互项 BC 显著。该二次多项回归方程决定系数 R^2 为 0.9681,表明自变量与因变量具有较强的线性关系,该方程较好地描述了各因素与响应值之间的真实关系,可用于确定固态发酵最佳工艺条件。

2.4 响应面分析

由图 2 可得,有效活菌数随着初始 pH、发酵温度及含水量的增大均呈现先增大后减少的趋势,该响应曲面存在最优范围。当固态发酵条件为初始 pH 7.507、发酵温度 36.097℃、含水量 26.325% 时,有效活菌数检出量最大,预测值为 4.682×10^{10} CFU \cdot g $^{-1}$ 。在初始 pH 7.51、发酵温度 36.10℃、含水量 26.33% 的最佳发酵条件调整值下实际菌体数量为 4.57×10^{10} CFU \cdot g $^{-1}$,实测值与预测值接近。此外,响应值与预测值的相对误差为 2.45%,在可允许误差 5% 的范围之内,证实了该模型的有效性。因此,该响应模型对于固态发酵条件优化可行,此试验方法具有较高的准确性,通过该方法,可获得具有较高有效活菌数的固态发酵产物。

表 5 Box-benhnken 试验结果

Table 5 Results of Box-benhnken experiment design

处理 Treatment	试验因素 Experimental factor						活菌数 Active bacteria count /(10^{10} CFU \cdot g $^{-1}$)
	编码值 Coded value			实际值 Actual value			
	A	B	C	A	B/℃	C/%	
1	-1	-1	0	7.0	34	26	2.64f
2	1	-1	0	8.0	34	26	2.48gh
3	-1	1	0	7.0	38	26	2.57fgh
4	1	1	0	8.0	38	26	3.06e
5	-1	0	-1	7.0	36	24	2.44h
6	1	0	-1	8.0	36	24	3.03e
7	-1	0	1	7.0	36	28	3.50d
8	1	0	1	8.0	36	28	3.09e
9	0	-1	-1	7.5	34	24	2.61fg
10	0	1	-1	7.5	38	24	3.57d
11	0	-1	1	7.5	34	28	3.52d
12	0	1	1	7.5	38	28	3.15e
13	0	0	0	7.5	36	26	4.92a
14	0	0	0	7.5	36	26	4.16c
15	0	0	0	7.5	36	26	4.72b
16	0	0	0	7.5	36	26	4.78b
17	0	0	0	7.5	36	26	4.73b

表 6 Box-benhnken 试验方差分析

Table 6 The results of variance analysis of Box-benhnken experiment

方差来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	Prob>F	显著性 Significance
模型 Model	11.9500	9	1.3300	Prob>F	0.0002	*
A	0.0325	1	0.0325	0.5781	0.4719	
B	0.1512	1	0.1512	2.6900	0.1450	
C	0.3240	1	0.3240	5.7600	0.0475	
AB	0.1056	1	0.1056	1.8800	0.2129	
AC	0.2500	1	0.2500	4.4400	0.0730	
BC	0.4422	1	0.4422	7.8600	0.0264	
A ²	4.9700	1	4.9700	88.2900	< 0.0001	
B ²	3.3200	1	3.3200	59.1000	0.0001	
C ²	1.3300	1	1.3300	23.5600	0.0018	
残差 Residual	0.3937	7	0.0562			
失拟项 Lack of fit	0.0532	3	0.0177	0.2084	0.8858	ns
纯误差 Pure error	0.3405	4	0.0851			
总和 Total	12.3500	16				

注: * 表示差异显著, ns 表示无显著差异。

Note: * indicates significant difference, ns indicates no significant difference.

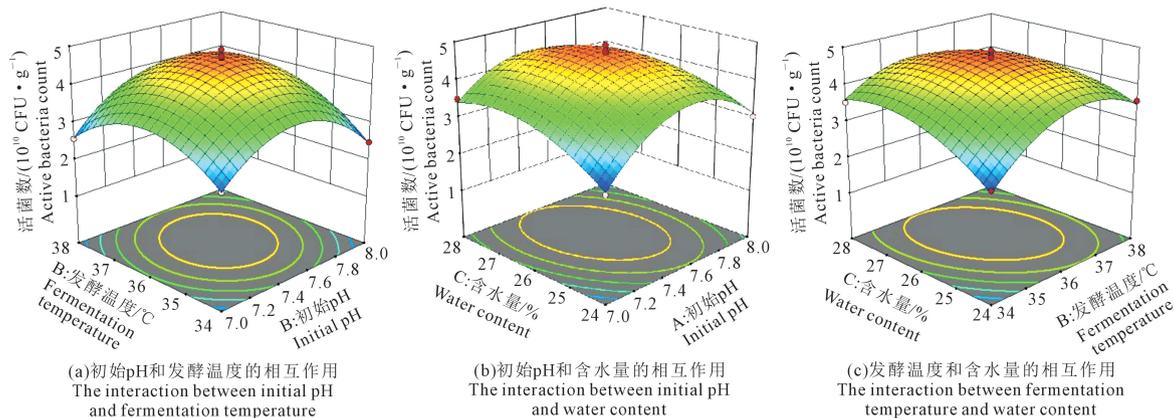


图 2 初始 pH、发酵温度、含水量交互影响有效活菌数的响应面

Fig.2 Initial pH, fermentation temperature and water content interacted on the response surface of effective viable bacteria count

3 讨 论

近年来随着枯草芽孢杆菌功能的研究,其作为广谱性的优良菌种得到越来越广泛的应用^[12],常常被当作有益微生物添加剂制备生物有机肥^[13-14]。孙一凡等^[6]研究发现枯草芽孢杆菌 CY1 具有促进番茄生长、增强植株抗病性的能力,是一株良好的生防菌种。本研究在此基础上,以该生防枯草芽孢杆菌 CY1 为接种菌剂,通过固态发酵工艺优化,旨在研制出一种具有生防作用的新型生物有机肥。

采用固态发酵的方法,在经过腐熟的有机物料中加入功能菌制备生物有机肥可有效减小土著杂菌对功能菌的影响^[15]。碳氮比是影响固态发酵的一个关键因素,碳氮比过高时微生物由于氮不足生长会受到限制,碳氮比过低时发酵过程容易产生氨,过量的氨会抑制微生物的生长。本研究结果表明发酵原料、辅料质量比为 8 : 2,其中辅料麸皮、豆粕、玉米粉的质量比为 15 : 1 : 4 时有效活菌数含量最大。根据原料基础理化性质,该条件下碳氮比约为 19。大量研究对有机物料高温堆肥的条件进行了探讨,并得到了与之相似的结论,认为碳氮比为 20~30^[16]、pH 为 5.5~8.0^[17]时有利于微生物菌剂促进有机物料的分解,提高堆肥腐熟度。因此,该营养条件有利于发酵功能菌的扩繁及生物有机肥有效活菌数的提高。接种量是影响固态发酵的另一个关键参数,接种量大可以有效提高菌体的繁殖速度,然而过大的接种量会造成菌种资源的浪费,接种量太小则会使发酵周期延长,增大污染风险。因此,探索并且掌握适宜的接种量是保证发酵效果的关键因素。本研究发现,固态发酵初始接种量为 5%时菌种的扩繁效率最高,且发酵产物有效活菌数含量较高、成本较低。

本研究中 PB 试验结果表明温度、pH、含水量显著影响固态发酵产品质量;主要是由于在微生物的生长过程中,蛋白质的合成酶、细胞的活性以及代谢产物的合成对温度敏感^[18]。此外,不同微生物本身的固有特性不同,生长发育对环境 pH 的要求也不同。本研究与前人的研究结果一致,即细菌在中性条件下生长较好^[19]。黄小琴等^[20]研究表明,麸皮、豆粕等比例混合为最佳发酵基质,添加 5%蔗糖及 5%酵母粉,在 pH 值 7.5、发酵温度 32℃下枯草芽孢杆菌 Bs2004 菌株固态发酵产物含菌量达到 9.62×10^9 CFU · g⁻¹。本研究通过工艺条件优化后,在初始 pH 7.51、发酵温度 36.10℃、含水量 26.33%时,有效活菌数可达到 4.57×10^{10} CFU · g⁻¹。

4 结 论

本研究在单因素试验的基础上,采用响应面分析的方法优化固态发酵工艺,优化后的最佳工艺参数为:初始 pH 7.51、KH₂PO₄ 含量 0.75%、MgSO₄ 含量 0.15%、MnSO₄ 含量 0.15%、发酵温度 36.10℃、葡萄糖含量 6.00%、(NH₄)₂SO₄ 含量 0.75%、含水量 26.33%,此时固态发酵产物有效活菌数最大,为 4.57×10^{10} CFU · g⁻¹。该结果为提高粮油加工副产物麸皮、豆粕、玉米粉的附加值,制备高效、廉价的枯草芽孢杆菌生物有机肥提供参考依据。

参 考 文 献:

- [1] 陈洪章,徐建. 现代固态发酵原理及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 37-39.
CHEN H Z, XU J. Principle and application of modern solid state fermentation[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 37-39.
- [2] HAFEZ M, POPOV A I, RASHAD M. Integrated use of bio-organic fertilizers for enhancing soil fertility - plant nutrition, germination status and initial growth of corn (*Zea mays* L.)[J]. Environmental Technology & Innovation, 2021, 21: 101329.
- [3] 顾欣,孙权,王锐,等. 菌肥与有机肥配施对拱棚西瓜土壤的改良效果[J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(3): 219-225.
GU X, SUN Q, WANG R, et al. Effect of combined application of fungal and organic fertilizer on watermelon soil improvement in arch shed[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2017, 35(3): 219-225.
- [4] 刘军领,关文玲,王旭东. 不同类型添加材料在新型肥料生产中的应用[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(6): 210-213.
LIU J L, GUAN W L, WANG X D. Application of amendments for manufacturing new types of fertilizer[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2005, 23(6): 210-213.
- [5] RAM Y, DELLUS-GUR E, BIBI M, et al. Predicting microbial growth in a mixed culture from growth curve data[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(29): 14698-14707.
- [6] 孙一凡,冯朝阳,冯冰聪,等. 2株优良芽孢杆菌的筛选鉴定及促生特性[J]. 西北农业学报, 2021, 30(1): 132-142.
SUN Y F, FENG C Y, FENG B C, et al. Screening and identification of two *Bacillus* sp. and their growth promotion characteristics[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2021, 30(1): 132-142.
- [7] 朱惠斌,钱诚,白丽珍,等. 基于 Plackett-Burman 试验设计与响应面法优化玉米秸秆离散元模型[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(12): 221-231.
ZHU H B, QIAN C, BAI L Z, et al. Optimization of discrete element model of corn stalk based on Plackett-Burman design and response surface methodology [J]. Journal of China Agricultural University, 2021, 26(12): 221-231.
- [8] MONTGOMERY D C. Design and analysis of experiments[M]. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1991: 50-60.