

张庆华,赵新海,钟丽娟,等. 秸秆发酵剂生产工艺稳定性研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(11):244-246.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.064

# 秸秆发酵剂生产工艺稳定性研究

张庆华,赵新海,钟丽娟,关艳丽

(辽宁省微生物科学研究院,辽宁朝阳 122000)

**摘要:**对秸秆发酵剂生产工艺稳定性进行了研究,包括液体种子质量控制、低成本配方的研究、杂菌控制方法研究及生产终点的快速判定方法研究等。试验结果表明,当光密度( $D_{660\text{ nm}}$ )在 0.2~0.8 时,其大小与菌数成正比;加入 20% 的肥土的培养效果最好,目的菌数为  $150 \times 10^8$  个/g,杂菌数为  $13 \times 10^8$  个/g,杂菌率为 8.7%;加入抑菌剂亚硫酸钠效果较好,菌数达到  $250 \times 10^8$  个/g,是对照菌数的 1.92 倍,杂菌率为 12.0%,比对照低 8.8 百分点。放线菌在固体发酵中用于控制染菌方面未能获得良好效果,有待于进一步深入探讨。

**关键词:**秸秆发酵剂;生产工艺;稳定性

**中图分类号:** S188+.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)11-0244-02

秸秆发酵剂已广泛用于设施农业中,促进农作物秸秆的快速腐熟,将纤维素大分子转变成适合植物吸收的小分子化合物,提高转化利用率,肥沃土壤;成功解决了冬春季地温低、土传病害严重、二氧化碳浓度不足、土壤板结等制约设施农业冬季生产的主要难题,降低了化肥和农药的使用量,提高了农产品质量和品质,实现了秸秆循环利用<sup>[1]</sup>。随着秸秆发酵剂产品的大量上市,市场竞争日趋激烈,只有价格低、质量稳定的产品才能站稳市场<sup>[2]</sup>。本试验对秸秆发酵剂生产工艺稳定性进行了研究,包括液体种子质量控制、低成本配方的研究、杂菌控制方法研究及生产终点的快速判定方法研究等<sup>[3]</sup>,为秸秆发酵剂大生产的工艺稳定性提供可靠的方法及理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

试验菌种包括地衣芽孢杆菌、C5、D8、C9、Y6-1、I3、D8-1、BF2、D8+、BF6、BF3、F5、AH、AM、5406、4.1086、11371。

### 1.2 培养基

细菌液体培养基:蛋白胨 2.0%,葡萄糖 0.5%,氯化钠 0.5%,磷酸二氢钾 0.06%,pH 值 7.0~7.2。

拮抗试验培养基:蛋白胨 1.0%,酵母膏 1%,葡萄糖 0.6%,磷酸氢二钾 0.2%,硫酸镁 0.02%,琼脂 1.6%,pH 值 7.0~7.2。

固体培养用基础培养基:稻壳 10%,玉米面 60%,豆粕 10%,麸皮 20%,生石灰 0.7%。

### 1.3 共生放线菌的筛选<sup>[4]</sup>

采用移块法和划线法 2 种方法。

### 1.4 抑菌剂的选择<sup>[5]</sup>

将浓度为 0.2% 的抑菌剂溶液做成药敏片,根据药敏片

对生产菌抑制情况选择抑菌剂。

## 2 结果与讨论

### 2.1 液体种子质量控制

通过测量种子培养过程中不同时间的光密度和菌数,找出光密度和菌数的线性关系范围,通过测量发酵液的光密度即可快速判定发酵终点。试验结果表明,当光密度( $D_{660\text{ nm}}$ )在 0.2~0.8 时,其大小与菌数成正比(图 1)。

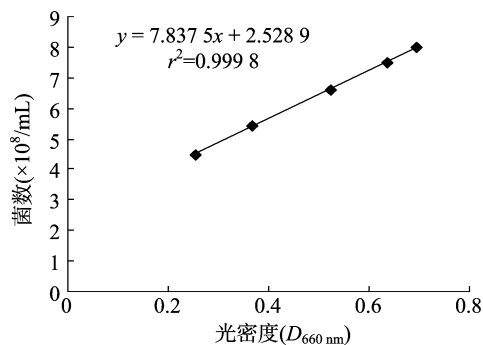


图1 光密度与菌数的关系曲线

### 2.2 无机盐对提高菌数的影响

营养盐是微生物生长的主要营养要素之一,对菌数的提高起着至关重要的作用。

表 1 结果显示,营养盐对本秸秆生产菌固体培养的菌数影响不大,加入硫酸铵的效果最好,菌数提高了 26.9%,添加尿素效果则次之,菌数提高了 15.2%。

表 1 无机盐对固体培养菌数的影响

配方	菌数( $\times 10^8$ 个/g)
1(对照 1)	223
2(对照 2)	227
3(无机盐 1)	283
4(无机盐 2)	213
5(无机盐 3)	257

注:无机盐 1:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 无机盐 2:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 无机盐 3:  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 。

收稿日期:2016-06-22

基金项目:辽宁省科技攻关项目(编号:2009301005)。

作者简介:张庆华(1965—),女,辽宁朝阳人,研究员,主要从事微生物菌种选育及发酵技术研究。E-mail:zhang\_qinghua@126.com。

2.3 草炭、肥土等原料对菌数的影响

在秸秆发酵剂的生产过程中,原料成本约占总生产成本的 1/3,所以控制原料成本也是生产的关键步骤。本试验主要考查草炭、肥土 2 种原料在大生产中应用的可行性。

表 2 结果表明,配方 5 的培养效果最好。目的菌的菌数

为  $150 \times 10^8$  个/g,杂菌数为  $13 \times 10^8$  个/g,杂菌率(杂菌率 = 杂菌数/目的菌菌数  $\times 100\%$ )为 8.7%。在此配方中未加入稻壳,加入 20% 的肥土,此配方杂菌率低、菌数较高,有待进行重复试验得出结论,为大生产提供可靠依据。

表 2 不同配方的菌数及染菌率

配方	原料组成(%)						目的菌菌数 ( $\times 10^8$ 个/g)	杂菌数 ( $\times 10^8$ 个/g)	杂菌率 (%)
	草炭	肥土	稻壳	玉米面	豆粕	麸皮			
1	0	0	10	60	10	20	130	27	20.8
2	45	50	0	0	5	0	77	223	74.3
3	45	0	0	50	5	0	83	110	57.0
4	20	70	10	0	0	0	160	50	31.3
5	0	20	0	45	10	25	150	13	8.7
6	0	30	15	30	0	25	40	133	76.9

2.4 抑菌剂在固体发酵中的应用研究

防腐剂选择山梨酸钾、亚硫酸钠、对羟基苯甲酸甲酯和四霉素等 4 种,采用纸片法进行防腐剂对目的菌的抑制作用分

析<sup>[6-7]</sup>,只有四霉素对生产菌有抑制作用,所以本试验选择山梨酸钾、亚硫酸钠、对羟基苯甲酸甲酯作为固体发酵的抑菌剂。加入抑菌剂后的菌种生长情况见表 3。

表 3 加入抑菌剂后的菌种生长情况

防腐剂	原料组成(%)						目的菌菌数 ( $\times 10^8$ 个/g)	杂菌数 ( $\times 10^8$ 个/g)	杂菌率 (%)
	草炭	肥土	稻壳	玉米面	豆粕	麸皮			
CK	0	0	10	60	10	20	130	27	20.8
山梨酸钾	0	0	10	60	10	20	87	40	46.0
亚硫酸钠	0	0	10	60	10	20	250	30	12.0
对羟基苯甲酸甲酯	0	0	10	60	10	20	163	67	41.1

表 3 结果表明,亚硫酸钠效果较好,目的菌菌数达到  $250 \times 10^8$  个/g,是对照菌数的 1.92 倍,杂菌率为 12.0%,比对照低 8.8 百分点。

2.5 放线菌在固体发酵中用于控制染菌的可行性研究

采用琼脂移块法和划线法 2 种方法进行了共生放线菌的筛选。在 16 株供试放线菌中,菌种 C9、Y6-1、I3、5406、D8 等 5 株菌种可以和生产菌共生,BF3、11371 和 C5 对生产菌有强烈的抑制作用,D8-1、BF2、D8+、BF6、F5、AH、AM、4.1086 对生产菌有抑制作用。本试验选择 5406 和 C5 作为放线菌的试验菌(图 2、图 3)。加入放线菌后生产菌的生长情况见表 4。

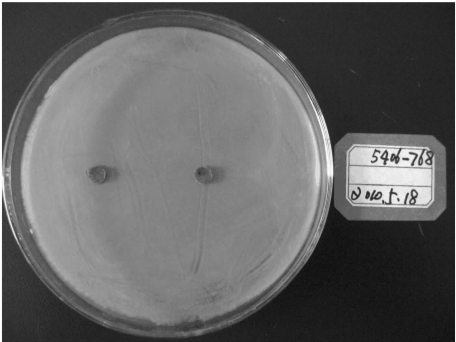


图3 5406与生产菌的共生关系

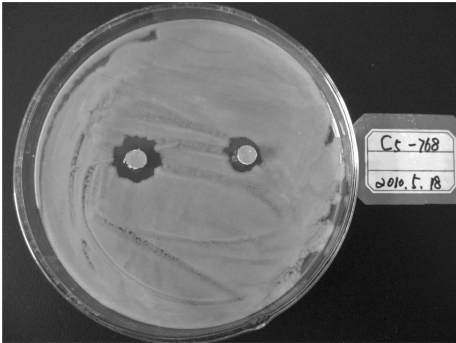


图2 C5与生产菌的共生关系

表 4 结果表明,在生产菌固体培养过程中,放线菌与生产菌共培养效果不好,对生产菌有抑制作用,菌数不到  $10 \times 10^8$  个/g,对照菌数为  $130 \times 10^8$  个/g。

2.6 生产终点的快速判定方法研究

通过多批次反复试验确定,从观察物料的颜色、测量物料的 pH 值和闻物料的气味等 3 个方面可快速判定生产终点。正常的发酵参数:物料颜色呈灰黑色;pH 值  $>7$ ;物料气味呈碱味。

3 结论与讨论

在培养基中不加稻壳,加入 20% 的肥土时,培养效果最好,其目的菌的菌数为  $150 \times 10^8$  个/g,杂菌数为  $13 \times 10^8$  个/g,

表 4 加入放线菌后生产菌的生长情况

放线菌	原料组成(%)						目的菌菌数 ( $\times 10^8$ 个/g)	杂菌数 ( $\times 10^8$ 个/g)	杂菌率 (%)
	草炭	肥土	稻壳	玉米面	豆粕	麸皮			
5406	0	0	10	60	10	20	7.7	54	87.5
C5	0	0	10	60	10	20	1.0	89	98.9
CK	0	0	10	60	10	20	130	27	20.8

王桂君,许振文,路倩倩. 生物炭对沙化土壤理化性质及作物幼苗的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(11):246-248.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.065

# 生物炭对沙化土壤理化性质及作物幼苗的影响

王桂君<sup>1,2</sup>, 许振文<sup>1</sup>, 路倩倩<sup>1</sup>

(1. 长春师范大学城市与环境科学学院, 吉林长春 130032; 2. 东北师范大学生命科学学院, 吉林长春 130024)

**摘要:**设置 9 个生物炭施加比例,通过盆栽试验测定生物炭对吉林省西部沙化土壤性质及 2 种作物幼苗生长的影响。结果表明,随着生物炭施加量的增加,土壤的电导率、pH 值、有机质含量及营养元素含量均有所增加,对沙土壤性状改良有一定效果。一定量的生物炭对作物幼苗生物量的积累以及组织含水量产生促进作用,但是生物炭施加比例过高时反而会对幼苗生长产生抑制。与播种前相比,作物收获后土壤中的速效营养成分含量有所下降,而播种前后对土壤有机质含量的影响效应不明显。

**关键词:**生物炭;沙化土壤;理化性质;生长指标

**中图分类号:** S156.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)11-0246-03

土地沙化是人类面临的世界性环境问题,制约了当地经济、农业以及生态环境的可持续发展,土壤中如果施加相应的改良剂,可能会减少表土由于风蚀和水分蒸发引起的土壤破坏和侵蚀<sup>[1]</sup>。南美亚马逊盆地“黑土”(Terra preta)至今仍为全球最肥沃的土壤之一,这种土壤是南美洲土著人用木炭等作为改良剂对当地高风化淋溶土壤改良的结果。改良过程最初是通过生物炭与生物废弃物(粪便和骨头等食余)混合的产物,经微生物转化,形成类似生物炭-有机肥的基质<sup>[2-3]</sup>。有研究者认为,“复制”这种黑土的改良技术可以作为提高农业产量和土壤修复的一个新途径<sup>[2]</sup>。生物炭是由生物质材料高温裂解的含黑炭的产物<sup>[4]</sup>,施加到土壤中可以增加土壤的水分保持与供应能力,从而增加沙化和酸性土壤的持水量<sup>[5-6]</sup>。生物炭的比表面积是沙土的上千倍,这表明生物炭

可以作为土壤改良剂施加到沙化土壤中,提高保水保肥能力。有研究表明,在干旱胁迫下,施加生物炭后可以通过增加作物水分吸收而提高作物产量<sup>[1,7]</sup>,一定比例的秸秆生物炭可以提高不同土壤(特别是沙化土壤)的持水量。同时,生物炭可以改善土壤理化性质,提高土壤团聚体稳定性,降低土壤强度以及容重等<sup>[8-11]</sup>。本研究通过设置不同生物炭施加比例进行盆栽试验,探讨生物炭作为改良剂施加到沙化土壤中,对其性质以及作物幼苗生长的影响,为沙化土壤的合理利用提供理论和实践基础。

## 1 材料与方法

供试土壤取自吉林省西部大安地区,此区域为风沙土;供试作物种子为绿豆和谷子;所用生物炭从沈阳农业大学生物炭研究所获得。将风干后的土壤、生物炭分别过 1 mm 筛备用。设置 9 个生物炭施加比例,分别为 0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%,以不加生物炭的处理为对照,土壤与生物炭混合均匀,每个处理重复 3 次。每盆放置同等质量的混合土,浇等量的蒸馏水,挑选籽粒饱满的种子,用 75% 的乙醇表面消毒洗净,催芽后播种,每盆(直径 15 cm)均匀播种 10 粒种子,每个处理重复 3 次。植物生长 3 周后收获,测

收稿日期:2015-11-20

基金项目:国家自然科学基金(编号:31200419);吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目(编号:2015-366);长春师范大学科研创新团队项目(编号:T2013-3);国家级大学生创新创业训练计划(编号:201510205036)。

作者简介:王桂君(1979—),女,吉林白山人,硕士,副教授,主要从事环境生态学及土壤修复相关研究。E-mail:melan2002@163.com。

杂菌率为 8.7%。此配方染菌率低、菌数较高,有待进行重复试验得出结论,为大生产提供可靠依据。

在固体发酵过程中,抑菌剂的加入,得到了较理想的效果,亚硫酸钠效果较好,菌数达到  $250 \times 10^8$  个/g,是对照菌数的 1.92 倍,杂菌率为 12.0%,比对照低 8.8 百分点。但还需补充抑菌剂对杂菌的抑菌试验,从而验证抑菌剂的抗杂菌效果。

放线菌在固体发酵中用于控制染菌方面未能获得良好效果,是否因为共生菌的筛选方法不适合,有待于进一步深入探讨。在以后的研究中,可探讨低温菌在固态发酵中的抗杂菌作用的可行性。

## 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,2004:141-155.

[2] 万素英,李琳,王慧君. 食品防腐与食品防腐剂[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998:38-120.

[3] 高凤菊,陈惠,吴琦. 产纤维素酶芽孢杆菌 C-36 的分离筛选及其鉴定[J]. 四川农业大学学报,2006,24(2):175-177.

[4] 李晶,杨谦,赵丽华,等. 生防枯草芽孢杆菌 1329 菌株抗菌物质的初步研究[J]. 中国生物工程杂志,2008,28(2):59-65.

[5] 李永刚,宋兴舜,赵雪莹,等. 生防枯草芽孢杆菌 L1 特性的初步研究[J]. 植物保护,2008,34(1):57-61.

[6] 刘焕利,潘小玫,张学君,等. 产抗菌蛋白芽孢杆菌的筛选及抗菌蛋白性质[J]. 中国生物防治,1995,11(4):160-164.

[7] 郝华昆,贾洁,韩俊华,等. 产抗菌蛋白芽孢杆菌 R21-4 的鉴定及其抗菌谱研究[J]. 食品与发酵工业,2006,32(10):54-58.