

秸秆腐解菌剂发酵工艺的优化研究

迟 畅¹, 马 巍^{1*}, 穆 楠^{1*}, 李阳阳¹, 唐月异², 张新悦³

(1. 吉林省农业科学院(中国农业科技东北创新中心), 长春 130033; 2. 山东省花生研究所, 山东 青岛 266100; 3. 吉林省吉冠肥业有限公司, 吉林 辽源 136200)

摘要: 为了优化腐解菌剂(枯草芽孢杆菌和酿酒酵母菌)发酵工艺, 提高菌剂活性, 采用单因素和正交试验方法研究了发酵培养基组成、培养条件及发酵罐小试生产的优化方案。结果表明, 腐解菌剂最佳发酵培养基: 葡萄糖 10 g/L、胰蛋白胨 5 g/L、麦芽糖 2 g/L、酵母浸粉 5 g/L、NaCl 4.0 g/L、KH₂PO₄ 1.0 g/L、MgSO₄·7H₂O 0.3 g/L、FeCl₃ 0.01 g/L、CaCl₂ 0.1 g/L; 最佳培养条件: 初始 pH 值 7.0, 培养温度 30 °C, 转速 180 r/min, 菌落数达 7.57×10⁹ CFU/mL; 发酵罐小试生产培养条件: 搅拌速度 180 r/min、通风量 0.8~1.0 vvm、接种量 2%, 菌落数为 13.82×10⁹ CFU/mL, 符合农业微生物菌剂含量要求。

关键词: 腐解菌剂; 菌落数; 发酵工艺; 工艺优化

中图分类号: S144.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2026)01-0068-07

Optimization of Fermentation Process for Straw Decomposing Inoculant

CHI Chang¹, MA Wei^{1*}, MU Nan^{1*}, LI Yangyang¹, TANG Yueyi², ZHANG Xinyue³

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences(Northeast Agricultural Research Center of China), Changchun 130033; 2. Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100; 3. Jilin Jiguan Fertilizer Industry Co., Ltd., Liaoyuan 136200, China)

Abstract: In order to optimize the fermentation process of straw decomposing inoculants(*Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae*) and improve the inoculant activity, single-factor and orthogonal experimental methods were used to explore the optimization schemes for fermentation medium composition, culture conditions, and small-scale production of fermentation tanks. The results showed that the optimal fermentation medium for the straw decomposing inoculant was composed of glucose(10 g/L), tryptone(5 g/L), maltose(2 g/L), yeast extract powder(5 g/L), NaCl(4.0 g/L), KH₂PO₄(1.0 g/L), MgSO₄·7H₂O(0.3 g/L), FeCl₃(0.01 g/L), and CaCl₂(0.1 g/L). The optimal culture conditions were: initial pH 7.0, culture temperature of 30 °C, rotation speed of 180 r/min, under which the colony count reached 7.57×10⁹ CFU/mL. For the small-scale production in fermentation tanks, the optimal culture conditions were: stirring speed of 180 r/min, ventilation rate of 0.8-1.0 vvm, and inoculation amount of 2%, with the colony count reaching 13.82×10⁹ CFU/mL, which meets the content requirements of agricultural microbial inoculants. This study provides a theoretical basis for the industrial production of straw decomposing inoculants

Key words: Decomposing inoculant; Colony count; Fermentation process; Process optimization

随着农业废弃物资源化利用需求的增长, 微生物菌剂在农业、环保和食品工业中具有广泛应用价值。腐解菌剂, 作为一种由特定微生物(枯草

芽孢杆菌和酿酒酵母菌)组成的生物制剂, 能够加速有机废弃物的分解过程, 从而提高资源利用率。枯草芽孢杆菌具有较强的蛋白酶和淀粉酶分泌能力^[1], 能够分解秸秆中的蛋白质和淀粉类物质, 为其他微生物的生长提供营养物质。酿酒酵母菌则能利用秸秆降解产生的糖类物质合成菌体蛋白, 提高发酵产物的营养价值^[2]。活菌密度(菌落数)是腐解菌剂增效的关键指标, 而发酵过程中的培养基组成和培养条件直接影响微生物活性和工业化生产可行性^[3-7]。因此, 本研究采用递进优

收稿日期: 2025-09-02

基金项目: 国家重点研发计划资助(2023YFD1501100); 吉林省重点研发项目(20220203104SF)

作者简介: 迟 畅(1986-), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事农业微生物研究。

通信作者: 马 巍, E-mail: 897678@qq.com

穆 楠, E-mail: 17885008@qq.com

化方法,依次对发酵培养基组成、培养条件及发酵罐小试参数进行筛选与验证。通过单因素试验初步确定关键变量的较优范围,再利用正交试验解析多因素交互作用并确定最优组合,为微生物制剂生产提供经济、高效的工艺框架。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

腐解菌剂:来源于吉林省农业科学院农业资源与环境研究所,由枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)组成,各菌株混合比例为1:2(体积比),菌落数 $>2 \times 10^9$ CFU/mL。初始培养基:葡萄糖 10.0 g/L,蛋白胨 5.0 g/L, NaCl 4.0 g/L, KH_2PO_4 1.0 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g/L, FeCl_3 0.01 g/L, CaCl_2 0.1 g/L。培养基在 121 °C、0.1 MPa 下灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 发酵培养基组成优化

采用单因素试验:设置不同的碳源(淀粉、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖)、氮源(酵母浸粉、硫酸铵、尿素、胰蛋白胨、牛肉膏)等量替换初始培养基中的相应成分,每个处理3次重复。腐解菌剂接种量2%(体积分数),转速 180 r/min、28 °C条件下培养 2 d。参照李元芳^[6]的方法测定菌落数,含量要求参照有机物料腐熟剂产品的技术指标^[9],单因素试验均基于前一试验的较优结果进行递进优化。

正交试验:根据单因素试验结果,以菌落数为考核指标,胰蛋白胨(A)、麦芽糖(B)、葡萄糖(C)和酵母浸粉(D)不同添加量为考核因素,采用四因素三水平 $[\text{L}_9(3^4)]$ 的正交试验设计(表1),确定最佳碳氮源浓度。

表1 发酵培养基组成正交试验因素与水平 g/L
Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment for fermentation medium composition optimization

因素 Factor	水平 Level		
	1	2	3
A 胰蛋白胨	1	5	10
B 麦芽糖	1	2	3
C 葡萄糖	5	10	15
D 酵母浸粉	3	4	5

1.2.2 发酵培养基培养条件优化

采用单因素试验:使用优化后的培养基作为

发酵培养基,以接种量2%,初始pH值7.0、发酵温度28 °C、转速180 r/min为初始培养条件。研究发酵温度(20、25、30、35、40 °C)、初始pH值(5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)、转速(120、140、160、180、200 r/min)、培养时间(1、1.5、2、2.5、3 d)及接种量(0.5%、1%、2%、3%、4%)对菌落数的影响,每个处理3次重复,测定方法同1.2.1。

正交试验:根据单因素试验结果,对腐解菌剂发酵培养过程中的初始pH值(A)、培养温度(B)、转速(C)及接种量(D)进行四因素三水平 $[\text{L}_9(3^4)]$ 的正交试验设计(表2),以菌落数为考核指标,确定发酵的最佳培养条件。

表2 培养条件正交试验因素与水平
Table 2 Factors and levels of the orthogonal experiment on culture conditions

水平 Level	因素 Factor			
	A 初始 pH 值	B 培养温度/°C Fermentation temperature	C 转速/ $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ Rotations speed	D 接种量/% Inoculum size
	pH Value	temperature	speed	size
1	5.0	27	160	1
2	6.0	30	180	2
3	7.0	33	200	3

1.2.3 发酵罐小试生产工艺优化

将发酵培养基倒入发酵罐5 L中,装液量为发酵罐体积70%,121 °C灭菌30 min,冷却至发酵温度后,将腐解菌剂接种到发酵罐中,30 °C培养2 d。选择对发酵罐生产中影响较大的3个因素:搅拌速度(A)、通风量(B)和接种量(C)为考核因素,以菌落数为考核指标,进行三因素三水平 $[\text{L}_9(3^3)]$ 正交试验设计(表3),进一步优化腐解菌剂扩大培养的发酵条件。

表3 发酵罐小试生产正交试验因素与水平
Table 3 Factors and levels of the orthogonal experiment for pilot-scale production in fermenter

水平 Level	因素 Factor		
	A 搅拌速度/ $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$	B 通风量/ vvm	C 接种量/ %
	Stirring speed	Ventilation rate	Inoculum size
1	160	0.8	1
2	180	1.0	2
3	200	1.2	3

1.3 数据统计

采用 Excel 2010 软件对数据进行计算与绘图, SPSS 22.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 发酵培养基组成优化

2.1.1 最佳碳氮源筛选

在碳源的筛选上(图1), 添加葡萄糖和麦芽糖

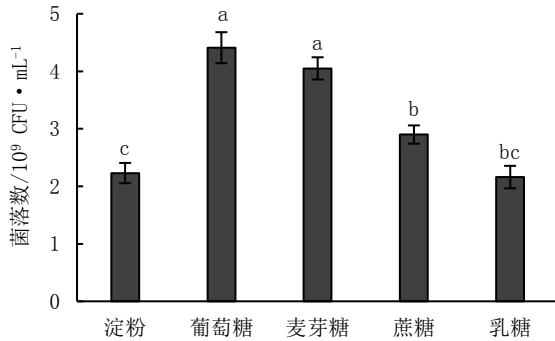
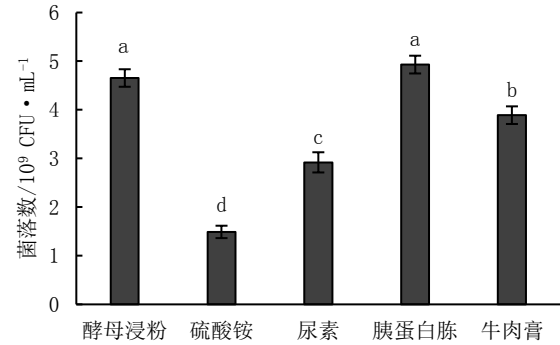


图1 不同碳源对菌落数的影响

Fig. 1 Effect of Different Carbon Sources on Colony Count

更有利于腐解菌剂菌种的繁殖, 其中, 以葡萄糖为碳源的处理菌落数最高, 达 4.41×10^9 CFU/mL, 其次是蔗糖为碳源的处理, 而淀粉因分子量较大导致菌落数最低, 为 1.14×10^9 CFU/mL。在氮源的



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$), the same below.

图2 不同氮源对菌落数的影响

Fig. 2 Effect of different nitrogen sources on colony count

筛选上(图2), 胰蛋白胨和酵母浸粉为氮源时腐解剂菌落数均显著高于其他处理, 其中胰蛋白胨菌落数最高, 为 4.93×10^9 CFU/mL, 比牛肉膏、尿素和硫酸铵为氮源的处理分别提高 26.74%、68.84% 和 230.87%。

2.1.2 发酵培养基组成正交试验结果

培养基组成是菌体生长的基础, 通过正交试验结果表明(表4), 胰蛋白胨因素所对应的极差 R 值最大, 是影响菌落数的主导因素, 其次为葡萄糖、麦芽糖和酵母浸粉。各因素根据 k 值确定最

表4 发酵培养基组成正交试验结果

Table 4 Results of orthogonal test for fermentation medium composition

编号 No.	A 胰蛋白胨/g · L ⁻¹ Tryptone	B 麦芽糖/g · L ⁻¹ Maltose	C 葡萄糖/g · L ⁻¹ Glucose	D 酵母浸粉/g · L ⁻¹ Yeast extract powder	菌落数/ 10^9 CFU · mL ⁻¹ Colony count
T1	1.00	1.00	5.00	3.00	0.93
T2	1.00	2.00	10.00	4.00	3.38
T3	1.00	3.00	15.00	5.00	2.59
T4	5.00	1.00	10.00	5.00	6.33
T5	5.00	2.00	15.00	3.00	6.58
T6	5.00	3.00	5.00	4.00	1.34
T7	10.00	1.00	15.00	4.00	4.19
T8	10.00	2.00	5.00	5.00	5.16
T9	10.00	3.00	10.00	3.00	4.59
K1	6.90	11.45	7.43	12.10	
K2	14.25	15.12	14.30	8.91	
K3	13.94	8.52	13.36	14.08	
k1	2.30	3.82	2.48	4.03	
k2	4.75	5.04	4.77	2.97	
k3	4.65	2.84	4.45	4.69	
R	2.45	2.20	2.29	1.72	

优水平组合为 $A_2B_2C_2D_3$, 该组合未在 9 组试验中出现, 通过实际试验验证, 组合 $A_2B_2C_2D_3$ 的菌落数为 7.43×10^9 CFU/mL, 显著高于 T5 (6.58×10^9 CFU/mL) 菌落数。因此, 选择组合 $A_2B_2C_2D_3$ 为最佳培养基组成, 即: 胰蛋白胨 (5 g/L)、麦芽糖 (2 g/L)、葡萄糖 (10 g/L)、酵母浸粉 (5 g/L)。

2.2 发酵培养基培养条件优化

2.2.1 最佳发酵温度的筛选

发酵温度对腐解菌剂菌落数的影响结果见图 3。随着温度升高, 菌落数量呈先升后降的趋势。其中, 30 °C 时菌落数最高, 达 6.96×10^9 CFU/mL。在低于或高于此温度时, 生长均受到抑制, 尤其是在 40 °C 的高温环境下, 抑制效果最为明显, 因此选择 30 °C 为最佳发酵温度。

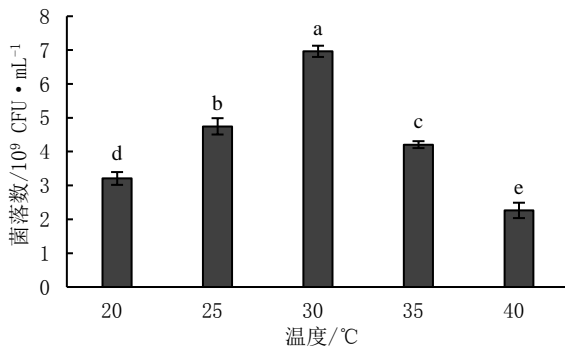


图3 温度对菌落数的影响

Fig. 3 Effect of temperature on colony count

2.2.2 最佳初始 pH 值的筛选

初始 pH 值对菌落数的影响结果见图 4。当 pH 值 5.0 时, 菌落数约 4.91×10^9 CFU/mL, 表明强酸性环境抑制了微生物酶活性和营养吸收。随着 pH 值升高, 菌落数显著增加, pH 值 7.0 时菌落数达到峰值, 为 6.90×10^9 CFU/mL, pH 值 < 6.0 或 pH 值 > 8.0 时菌落数显著下降。这种趋势与微生物生长的最适 pH 值范围一致: 枯草芽孢杆菌和酿酒酵母菌的胞内酶在 pH 值 6.0~7.0 活性最高, 而极端 pH 值会导致细胞膜损伤和代谢失衡, 因此最佳 pH 值为 6.0~7.0。

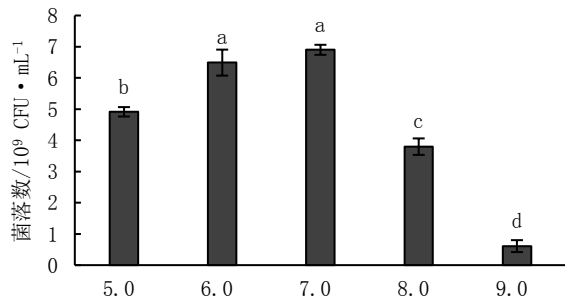


图4 初始 pH 对菌落数的影响

Fig. 4 Effect of initial pH on colony count

2.2.3 最佳转速的筛选

图 5 显示了转速与菌落数的关系。转速影响氧气传递和营养混合, 对枯草芽孢杆菌的生长至关重要。菌落数随转速增加而上升, 在 180 r/min 时达到最大值, 菌落数为 6.84×10^9 CFU/mL, 高于此转速时, 菌落数略有下降, 可能由于高剪切力损伤了细胞。这一结果与初始试验条件 (180 r/min) 相符, 因此选择 180 r/min 为最佳转速。

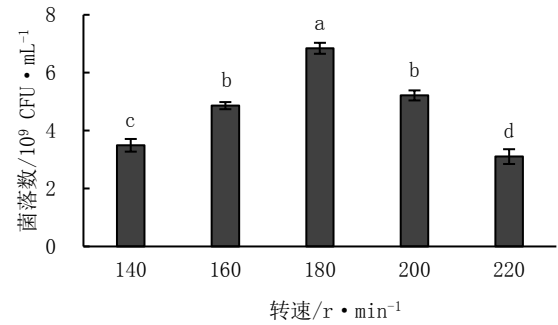


图5 转速对菌落数的影响

Fig. 5 Effect of rotation speed on colony count

2.2.4 最佳发酵时间的筛选

发酵时间试验考察了培养时间对菌落数的影响 (图 6)。菌落数在培养初期 (1~1.5 d) 快速上升, 在 2 d 时达到峰值, 菌落数为 6.73×10^9 CFU/mL, 延长至 2.5 d 或 3 d 后, 菌落数趋于稳定或轻微下降, 表明进入平台期或衰亡期。这反映了微生物生长的典型对数期特征, 最优时间 2 d 确保了高活菌数而不浪费资源。

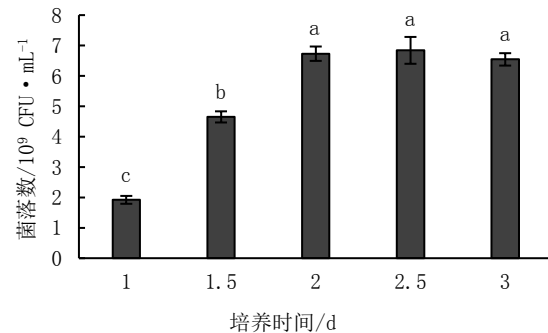


图6 发酵时间对菌落数的影响

Fig. 6 Effect of fermentation time on colony count

2.2.5 最佳接种量的筛选

接种量决定了初始菌体密度, 影响发酵效率和竞争抑制。由图 7 可知, 菌落数在接种量 2% 时显著最高, 菌落数为 6.99×10^9 CFU/mL, 当接种量 0.5% 和 1% 时, 由于起始菌群不足, 导致菌落数较低。当接种量高于 2% 时, 营养竞争或代谢副产物积累致使菌落数下降, 因此, 选择接种量 2% 为

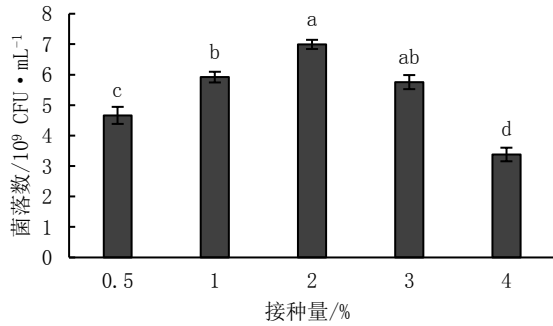


图7 接种量对菌落数的影响

Fig. 7 Effect of inoculum size on colony count

最佳接种量,为后续小试生产提供了基础。

2.2.6 培养条件正交试验结果

环境参数直接影响微生物酶活性和代谢平衡。由表5结果可知,初始pH值是影响菌落数量的最关键因素,其极差值(3.08)显著高于其他培养条件。各因素对菌落数的影响程度从主到次依次为:初始pH值>培养温度>转速>接种量。最佳培养条件组合为初始pH值7.0、培养温度30℃、转速180 r/min、接种量2%(即A₃B₂C₂D₂组合),与单因素结论一致。该组合通过多次重复试验,菌落数进一步提升至7.57×10⁹ CFU/mL,显著高于试验中

表5 培养条件正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal test on culture conditions

编号 No.	A 初始pH值 pH	B 培养温度/℃ Temperature	C 转速/r·min ⁻¹ Speed	D 接种量/% Inoculum size	菌落数/10 ⁹ CFU·mL ⁻¹ Colony count
T1	5.00	27.00	160.00	1.00	2.64
T2	5.00	30.00	200.00	2.00	4.62
T3	5.00	33.00	180.00	3.00	3.94
T4	6.00	27.00	200.00	3.00	5.73
T5	6.00	30.00	180.00	1.00	6.93
T6	6.00	33.00	160.00	2.00	6.19
T7	7.00	27.00	180.00	2.00	7.04
T8	7.00	30.00	160.00	3.00	6.87
T9	7.00	33.00	200.00	1.00	6.52
K1	11.20	15.41	15.70	16.09	
K2	18.85	18.42	17.91	17.85	
K3	20.43	16.65	16.87	16.54	
k1	3.73	5.14	5.23	5.36	
k2	6.28	6.14	5.97	5.95	
k3	6.81	5.55	5.62	5.51	
R	3.08	1.00	0.74	0.59	

T7 菌落数(7.04×10⁹ CFU/mL),证实了这一参数组合的有效性,因此选择组合A₃B₂C₂D₂为发酵培养基最佳培养条件。

2.3 发酵罐小试生产工艺结果

规模化生产需考虑工程参数,表6正交试验

显示,搅拌速度是影响菌落数量的最显著因素($R=5.82$),其次为接种量和通风量,表明搅拌速度对菌体生长起主导作用。各因素影响的主次顺序为:搅拌速度($R=5.82$)>接种量($R=2.48$)>通风量($R=2.24$)。通过 k 值比较得出,最优培养条件组合为

表6 发酵罐小试培养正交试验结果

Table 6 Results of orthogonal test for fermentation tank pilot cultivation

编号 No.	A 搅拌速度/r·min ⁻¹ Stirring speed	B 通风量/vvm Ventilation rate	C 接种量/% Inoculum size	菌落数/10 ⁹ CFU·mL ⁻¹ Colony count
T1	160.00	0.80	1.00	2.70
T2	160.00	1.00	2.00	4.83
T3	160.00	1.20	3.00	6.03
T4	180.00	0.80	2.00	13.70

续表 6

Table 6 Continued

编号 No.	A 搅拌速度/ $r \cdot \text{min}^{-1}$ Stirring speed	B 通风量/vvm Ventilation rate	C 接种量/% Inoculum size	菌落数/ $10^9 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ Colony count
T5	180.00	1.00	3.00	11.40
T6	180.00	1.20	1.00	5.93
T7	200.00	0.80	3.00	7.53
T8	200.00	1.00	1.00	9.67
T9	200.00	1.20	2.00	7.20
K1	13.56	23.93	18.30	
K2	31.03	25.90	25.73	
K3	24.40	19.16	24.96	
K1	4.52	7.98	6.10	
K2	10.34	8.63	8.58	
K3	8.13	6.39	8.32	
R	5.82	2.24	2.48	

$A_2B_2C_2$ 。该组合虽未在试验中直接出现,但通过实际试验验证,组合 $A_2B_2C_2$ 菌落数为 $13.82 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$,与试验中最高菌落数 T4 无显著差异。因此,选择发酵罐小试生产工艺为:搅拌速度 180 r/min 、通风量 $0.8 \sim 1.0 \text{ vvm}$ 、接种量 2%。

3 讨论与结论

在培养基组成的优化研究中,葡萄糖与麦芽糖构成的复合碳源体系展现出显著的协同效应。葡萄糖作为一种单糖,能被枯草芽孢杆菌和酿酒酵母菌^[10-11]直接、快速吸收利用,为发酵初期菌种的快速生长繁殖和能量代谢提供强大的动力;而麦芽糖作为二糖,经过枯草芽孢杆菌分泌的 α -淀粉酶等酶系分解为葡萄糖持续为菌种补充碳源,形成互补代谢链,避免了单一碳源的代谢抑制,从而支撑了菌体生长中后期的代谢需求。在单因素碳源试验中,葡萄糖效果最佳($4.41 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$),麦芽糖亦表现出良好支持能力。正交试验最终优选的组合($A_2B_2C_2D_3$)包含这两种碳源,使菌落数进一步提升至 $7.43 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$,显著高于任何单一碳源效果,该机制与谢心瑶等^[12]提出的供能理论一致。此外,复合碳源可能更全面激活菌体代谢网络,促进淀粉酶、蛋白酶等关键胞外酶的合成,直接增强腐解菌剂功能。发酵培养基中胰蛋白胨富含多肽和氨基酸,显著促进菌体增殖,该发现与王亮等^[13]在马克斯克鲁维酵母研究中提出的 YPD 培养基(含胰蛋白胨)增效结论一致,为腐解菌剂高效发酵提供了理化基础。

培养环境参数的优化进一步提升了菌群活性。本研究通过正交试验确定 pH 值 7.0、温度 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、转速 180 r/min 、接种量 2% ($A_2B_2C_2D_2$) 为最优培养条件,菌落数为 $7.57 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$ 。中性 pH 值环境有助于维持枯草芽孢杆菌蛋白酶的活性结构^[14],同时也能保障酵母菌胞内醇脱氢酶稳定性。有研究显示,当 pH 值低于 6.0 时,酶的活性会下降 60%^[15]。 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 的培养温度既能激活枯草芽孢杆菌的耐热蛋白酶^[16],也能促进酵母菌的低温代谢效率,规避了高温导致菌体自溶的风险,具有良好的工艺经济性。摇床转速设为 180 r/min 则有效平衡了氧气传输与机械剪切力之间的关系,为兼性厌氧的酵母菌与好氧的芽孢杆菌创造了共生微环境,这与 Xia 等^[17]提出的"动态溶氧调控"理论形成呼应。

在发酵罐小试生产的优化中,搅拌速度被明确认定为影响菌落数量的最显著、最主导的因素。首先,枯草芽孢杆菌作为严格好氧菌,其高速增长需要大量氧气,搅拌能够将通入的空气破碎成细小气泡,显著增大气液接触面积,从而提高溶氧速率(OTR),满足菌体对数生长期的耗氧需求——溶氧不足会严重抑制菌种生长甚至导致发酵失败;其次,搅拌使培养基中的碳源、氮源及无机盐等营养组分均匀分布,避免局部营养过剩或匮乏,确保所有菌种都能有效获取养分;第三,搅拌不仅使菌种均匀悬浮防止沉淀,还促使发酵体系温度均匀分布,避免局部过热损伤菌种。摇瓶培养已初步显示转速 180 r/min 时菌落数最高。

在发酵罐规模放大后,传质效率下降成为限制菌种生长的主要矛盾,而搅拌速度直接决定此矛盾的解决程度。正交试验数据明确证明,相比单纯增加接种量或通风量,优化搅拌速度对提升菌落数的效果最为显著。本研究将最佳搅拌速度确定为180 r/min,通风量为0.8~1.0 vvm,在此条件下菌落数高达 13.82×10^9 CFU/mL。该转速既满足枯草芽孢杆菌的高耗氧需求,又避免了过高转速(如200 r/min)对酵母菌的抑制(菌落数下降31.03%),这一发现修正了传统工艺过度强调接种量的认知^[18],为工业化放大生产提供了至关重要的工程依据。

参考文献:

- [1] 刘杭,李笑,谢苗苗,等.混菌发酵玉米豆粕型饲料最佳菌种配比研究[J].安徽科技学院学报,2021,35(1):25-29.
LIU H, LI X, XIE M M, et al. Screening of best strain ratio of Corn-soybean meal feed fermented by mixed strains[J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 2021, 35(1):25-29. (in Chinese)
- [2] 邹峰余,贾冰玉,郑华,等.固态发酵改善棉籽粕品质的研究[J].水生生物学报,2024,48(3):405-412.
ZOU F Y, JIA B Y, ZHENG H, et al. Improvement of quality in cottonseed meal based on Solid-State fermentation[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2024, 48(3): 405-412. (in Chinese)
- [3] 李善仁,林新坚,蔡海松,等.混菌发酵豆粕制备大豆肽的研究[J].中国粮油学报,2009,24(12):52-56.
LI S R, LIN X J, CAI H S, et al. Preparing soybean peptides from soybean meal by mixed strain fermentation[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2009, 24(12): 52-56. (in Chinese)
- [4] 庞震鹏,李永平,朱教宁,等.温度对牛粪与番茄秸秆厌氧发酵产气的影响[J].山西农业科学,2018,46(8):1338-1343.
PANG Z P, LI Y P, ZHU J N, et al. Effects of different temperatures on biogas production from anaerobic fermentation of cow manure and tomato straw[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2018, 46(8): 1338-1343. (in Chinese)
- [5] 张欣宇.复合益生菌微生态添加剂的培养条件优化及功效评价[D].长春:吉林大学,2015.
- [6] 王伟.混合发酵海棠果益生菌产品的研究[D].济南:齐鲁工业大学,2016.
- [7] 陈树河,陈秋,常云胜,等.复合益生菌在水产养殖中的作用机制研究进展[J].河南农业科学,2016,45(4):12-18.
CHEN S H, CHEN Q, CHANG Y S, et al. Research advance on application mechanisms of multispecies probiotic in aquaculture [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2016, 45(4): 12-18. (in Chinese)
- [8] 李元芳.有效活菌数的测定方法、允许差与判定[J].土壤肥料,1997(4):43-44.
LI Y F. Determination method, allowable deviation and judgment of effective viable cell count[J]. Soils and Fertilizers, 1997 (4):43-44. (in Chinese)
- [9] GB 20287-2006,农用微生物菌剂[S].北京:中国标准出版社,2006.
- [10] 陆娟娟,李太元,张扬,等.生孢噬纤维菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌混合发酵稻草特性的研究[J].饲料广角,2010(4):47-49.
LU J J, LI T Y, ZHANG Y, et al. Study on the characteristics of rice straw fermented by a mixture of spore forming bacteria, yeast, and *Bacillus subtilis*[J]. Feed China, 2010(4): 47-49. (in Chinese)
- [11] 刘向敏,齐景伟,安晓萍,等.枯草芽孢杆菌与酵母菌混合发酵奶牛精饲料的研究[J].农业与饲料工业,2016(4):51-54.
LIU X M, QI J W, AN X P, et al. Production of cow concentrated feed by mixed fermentation of *Bacillus subtilis* and yeast [J]. Cereal and Feed Industry, 2016, 4: 51-54. (in Chinese)
- [12] 谢心瑶,刘晨,柴迎楠,等.酵母菌高密度发酵的研究进展[J].中国饲料,2025(19):21-28,39.
XIE X Y, LIU C, CHAI Y N, et al. Research progress on high-density fermentation of yeast[J]. China Feed, 2025(19): 21-28, 39. (in Chinese)
- [13] 王亮,胡曼,王江月,等.马克斯克鲁维酵母高密度发酵条件的优化研究[J].食品工业科技,2017,38(17):111-118.
WANG L, HU M, WANG J Y, et al. Optimization of high-density fermentation conditions for Max Kluwei yeast[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(17): 111-118. (in Chinese)
- [14] 朱薇玲,石豪,李金华,等.芽孢杆菌 B_{15} 胞外蛋白酶和淀粉酶的酶学性质研究[J].中国酿造,2021,31(9):118-121.
ZHU W L, SHI H, LI J H, et al. Enzymatic properties of extracellular protease and amylase from *Bacillus* sp. B_{15} [J]. China Brewing, 2021, 31(9): 118-121. (in Chinese)
- [15] PIETRO B, EVA B, MARTA G. Psychrophilic yeasts from worldwide glacial habitats: diversity, adaptation strategies and biotechnological potential[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 82(2): 217-241.
- [16] 白晓凯,李艳娇,金英海,等.酵母菌发酵有机米糠富锗的条件优化[J].饲料工业,2016,37(2):47-50.
BAI X K, LI Y J, JIN Y H, et al. Optimization of germanium accumulation conditions by yeast to ferment the organic rice bran [J]. Siliao Gongye, 2016, 37(2): 47-50. (in Chinese)
- [17] XIA B, ZOU H, LI L, et al. Screening and fermentation medium optimization of a strain favorable to rice-fish coculture[J]. Front Microbiol, 2022(13): 1054797.
- [18] NI H J, LYU S Y, SHENG Y T, et al. Optimization of fermentation conditions and medium compositions for the production of chrysoerythrin by a marine-derived strain *Streptomyces* sp. 891 [J]. Prep Biochem Biotechnol, 2021, 51: 998-1003.

(责任编辑:朴红梅)