

文章编号:1673-1689(2008)04-0122-07

多菌种混合发酵生脉饮药渣生产蛋白 饲料工艺条件优化

秦 岭, 王向东^{*1}, 潘朝智¹, 刘冬梅¹, 董福顺¹, 谭显东²

(1. 四川大学 建筑与环境学院, 四川 成都 610065; 2. 成都信息工程学院环境工程系, 四川 成都 610225)

摘 要: 以生脉饮药渣为原料, 利用康宁木霉(Tk)、产黄纤维单胞菌(Cf)、产阮假丝酵母(Cu)和黑曲霉(An)多菌种混合发酵生产蛋白饲料。通过单因素和正交试验对发酵条件进行优化, 试验结果表明: 先接种 20% 的 Tk+Cf(比例 2:1), 发酵 2 d 后再接种 20% 的 Cu+An(比例 1:1), 在 (NH₄)₂SO₄ 添加量为 5 g/dL、初始 pH 值为 6、料水比为 1:2、温度为 30 ℃ 的条件下发酵 5 d, 其发酵产物中真蛋白质量分数增加 86.96%, 粗纤维质量分数降低 20.09%。

关键词: 多菌种; 生脉饮药渣; 混合发酵; 蛋白饲料; 工艺条件优化

中图分类号: TQ 920.1

文献标识码: A

Optimization of Process Conditions of Shengmai Yin Residues to Produce Protein Feed by Multi-strains

QIN Ling¹, WANG Xiang-dong^{*1}, PAN Chao-zhi¹,
LIU Dong-mei¹, DONG Fu-shun¹, TAN Xian-dong²

(1. College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2. Department of Environmental Engineering, Chengdu University of Information Technology, Chengdu 610225, China)

Abstract: In this study, protein feed production from shengmai yin residues through the mixed fermentation by multi-strains which included *Trichoderma koningii* (Tk), *Cellulomonas flavigena* (Cf), *Candida utilis* (Cu) and *Aspergillus niger* (An). The fermentation conditions were optimized by single factor and orthogonal experiment. The result showed that, during the first 2 days, inoculating Tk+Cf of volume 20% (proportion 2:1) and then inoculating Cu+An in volume 20% (proportion 1:1) after 2 days. 5% (NH₄)₂SO₄, initial pH 6, the ratio of material to water was 1:2, temperature 30 ℃ and fermentation time was 5 d. It was found that the real protein content increased by 86.96%, crude fiber decreased by 20.09% compared with that of the control.

Key words: multi-strains; shengmai yin residues; mixed fermentation; protein feed; optimization of process conditions

收稿日期: 2007-10-11.

作者简介: 秦岭(1982-), 男, 四川西昌人, 环境工程专业硕士研究生.

通讯作者: 王向东(1955-), 女, 四川自贡人, 副教授, 主要从事环境生物工程方面的研究. Email: wxd55@tom.com

近年来,随着我国中药制药业的飞速发展和生产能力的逐步提高,中药材提取有效成分后产生的中药渣固体废物也不断增多。据统计,我国的中药制药企业每年将产生数千万吨的中药渣,并且90%以上的生产厂家均将中药渣作为废料垃圾处理^[1]。然而中药渣中仍含有大量粗纤维、粗脂肪、粗蛋白、淀粉及微量元素等有效成分^[2],采用堆放、填埋或焚烧等方法进行处理,既是对可利用资源的浪费,还可能对环境造成污染。目前关于中药渣的综合利用已经有很多报导,包括用中药渣栽培食用菌、造纸和生产絮凝剂等,其中用中药渣栽培食用菌的研究开展得比较多,并且已经取得了一定的成果^[3],但是,这些方法对中药渣的处理有限,并且存在产生二次污染或难以推广等问题。

另一方面,随着养殖业的迅速发展,我国蛋白饲料短缺严重,需从国外进口鱼粉等蛋白饲料以满足国内需求,蛋白饲料不足已成为阻碍我国养殖业发展的重要因素^[4],近年来猪肉价格急剧上涨也与饲料价格上涨导致养殖成本提高有直接联系。作者研究利用纤维素降解多菌种组合,以中药渣为原料进行固态发酵生产蛋白饲料,对其影响因素进行了考察,并对工艺条件进行了优化。

1 材料与amp;方法

1.1 中药渣

试验所用中药渣为广汉市某制药厂产生脉饮后残留的药渣。将中药渣干燥后粉碎至80目备用。中药渣的成分有麦冬、五味子、党参、山楂,其真蛋白质量分数为9.47%,粗纤维质量分数为30.53%,还原糖质量分数为1.86%。

1.2 菌种

康宁木霉(*Trichoderma koningii*)、绿色木霉(*Trichoderma viride*)、黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)、产黄纤维单胞菌(*Cellulomonas flavigena*)、产阮假丝酵母(*Candida utilis*)均购自中国普通微生物菌种保藏中心。黑曲霉(*Aspergillus niger*)为作者所在实验室保存。

1.3 培养基

1.3.1 种子培养基

1)马铃薯培养基(PDA)^[5]:用于绿色木霉、康宁木霉、黄孢原毛平革菌、黑曲霉的培养。

2)麦芽汁培养基^[5]:用于酵母菌的培养。

3)产黄纤维单胞菌种子培养基:纤维素粉5g, NaNO₃ 1g, NaHPO₄ · 7H₂O 1.18g, KH₂PO₄ 0.9g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5g, KCl 0.5g, 酵母膏0.5g,

蒸馏水1000mL, pH 7.0, 0.1MPa 灭菌30min 备用,用于产黄纤维单胞菌的培养。

1.3.2 中药渣降解菌筛选培养基 在250mL三角瓶中加入2.5g药渣, KH₂PO₄ 0.25g, K₂HPO₄ 0.2g, MgSO₄ 0.025g, CaCl₂ 0.05g, NaCl 0.025g, (NH₄)₂SO₄ 2.0g, 50mL蒸馏水, 调节pH值, 0.1MPa 灭菌30min 后备用。以下简称为1号培养基。

1.3.3 中药渣固态发酵培养基 药渣10g, KH₂PO₄ 0.05g, K₂HPO₄ 0.04g, MgSO₄ 0.005g, CaCl₂ 0.01g, NaCl 0.005g, 根据试验要求添加(NH₄)₂SO₄、调节料水比和pH值, 0.1MPa 灭菌30min 后备用。以下简称为2号培养基。

1.4 试验方法

1.4.1 中药渣降解菌的筛选 将康宁木霉、绿色木霉、黄孢原毛平革菌和产黄纤维单胞菌分别在种子培养基上活化3代后制成种子液, 将单一菌种和按相同比例混合的多菌种组合分别接种到1号培养基中(接种总体积为5mL种子液), 在30℃条件下, 于160r/min 摇床上培养5d后, 将残渣过滤烘干, 称其恒重, 同时测定残渣中粗纤维含量。根据药渣失重率和粗纤维降解率进行中药渣降解菌的筛选。

1.4.2 生脉饮药渣固态发酵条件优化 分别考察了氮源添加量、初始pH值、料水比、菌种接种比例、接种量、发酵周期对多菌种组合发酵药渣效果的影响。在考察某一单因素时, 其它因素水平为: 氮源添加量4g/dL、初始pH 5、料水比1:2、菌种接种比例1:1、接种体积分数20%、发酵周期5d。

将试验用菌种在种子培养基上活化3代后, 制成种子液(孢子浓度为10⁷个/mL, 细菌菌体浓度为10⁸个/mL), 根据试验要求的接种量, 将其接种至2号培养基, 在30℃恒温恒湿培养箱中发酵一定时间后取样, 于60~70℃烘干, 测定发酵产物中真蛋白和粗纤维含量。每个条件做两个平行样, 结果为其平均值。

根据单因素试验结果选取初始pH值、接种比、接种量、氮源添加量这4个因素, 通过正交试验进行发酵条件优化。

1.5 分析方法

1.5.1 真蛋白的测定 依照GB6432-86^[6]进行。取样品2~3g 加体积分数75%的乙醇40mL 提取1h, 充分搅拌, 于4000r/min 下离心10min, 弃去上清液, 沉淀于60~70℃烘干, 再进行蛋白质质量分数测定。

1.5.2 粗纤维的测定 依照 GB6434-86^[6]进行。

2 结果与讨论

2.1 中药渣降解菌的筛选

康宁木霉、绿色木霉、黄孢原毛平革菌、产黄纤维单胞菌多种菌种组合对中药渣的降解能力见表1。

表1 不同纤维素降解菌的降解能力比较

Tab.1 Comparison with the different cellulose-decomposing microorganisms

试验菌种	药渣减重率/%	粗纤维降解率/%
Tk	29.52	16.98
Pc	19.04	6.27
Tv	18.70	8.78
Cf	18.50	8.12
Tk+Pc	32.04	19.25
Tk+Cf	31.68	20.02
Pc+Cf	18.84	4.85
Tk+Tv	29.20	15.54
Cf+Tv	19.10	12.55
Pc+Tv	22.42	12.18
Tk+Tv+Pc	29.52	14.75
Tk+Tv+Cf	30.24	16.47
Tv+Pc+Cf	20.18	4.44
Tk+Pc+Cf	29.92	16.95
Tk+Tv+Pc+Cf	27.88	12.61

注:表中Tk为康宁木霉,Tv为绿色木霉,Pc为黄孢原毛平革菌,Cf为产黄纤维单胞菌

由表1可以看出,2种或3种菌混合后对药渣的分解能力大多优于单菌,其中康宁木霉与黄孢原毛平革菌混合菌(Tk+Pc)和康宁木霉与产黄纤维单胞菌混合菌(Tk+Cf)对药渣的分解能力高于其他菌种。由此表明,这两种混合菌中,菌体之间通过各自的代谢活动彼此产生有利影响,由于不同菌种合成的纤维素降解酶种类是有差异的,菌种混合培养有利于形成完整酶系,进而增强纤维素降解能力^[8-9]。一些多菌种混合后分解能力较低,甚至低于单菌,说明这些菌种之间可能存在着拮抗等有害关系,某些菌种的生长代谢会对其他菌种产生抑制,从而影响整个多菌种组合的发酵效果。根据试验结果,选择康宁木霉与产黄纤维单胞菌混合菌(Tk+Cf)进行生脉饮药渣固态发酵。

2.2 Tk+Cf混合菌固态发酵生脉饮药渣条件优化

2.2.1 氮源添加量对发酵效果的影响 氮源是微生物合成细胞物质以及含氮代谢产物的原料。作为固态发酵的氮源物质,常用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4NO_3 和尿素等。前期试验结果表明, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 对发酵效果有较明显的改善作用,因此

作者选择 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为外加氮源。

试验结果表明, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 添加量对发酵产物中真蛋白和粗纤维的含量有明显影响。当 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 添加量小于4 g/dL时,发酵产物中真蛋白增长率和粗纤维降解率都随着氮源的增加而上升;在 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 添加量为4 g/dL时,真蛋白质量分数达到16.47%,增长率为73.96%,粗纤维质量分数25.13%,降解率为17.69%;但当氮源添加量大于4%时,真蛋白含量仍有增长,而粗纤维降解率却略有下降,这说明此时菌体仍有生长,使菌体蛋白增多,而粗纤维的降解作用却减弱,见图1。这可能是由于较高质量浓度的氮源会对微生物分泌纤维素酶产生抑制作用或是对纤维素酶的活性产生不利影响。因此,在生脉饮药渣固态发酵过程中, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 添加量应控制在4~5 g/dL范围内。

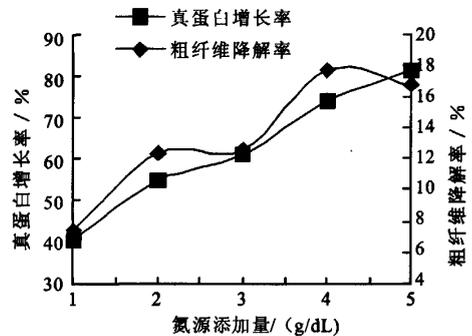


图1 氮源添加量对发酵效果的影响

Fig.1 Effect of nitrogen source on the content of protein and crude fiber

2.2.2 初始pH值对发酵效果的影响 环境pH值的改变会影响细胞膜的电荷状态,引起膜的渗透性发生改变,进而影响营养物质的吸收。另外,环境pH值改变,也会影响微生物合成酶的种类^[10]。因此pH值对微生物生长代谢和整个发酵过程起着极其关键的作用,结果见图2。

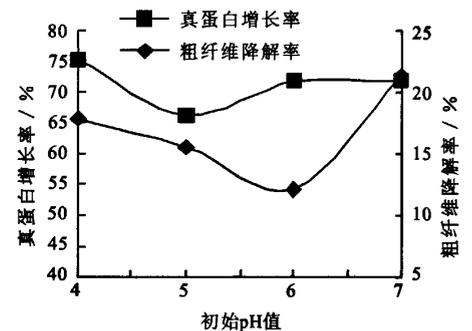


图2 初始pH值对发酵效果的影响

Fig.2 Effect of initial pH value on the content of protein and crude fiber

由图 2 可以看出,当初始 pH 值低于 5 时,真蛋白增长率较高,而当初始 pH 值高于 5 时,真蛋白质量分数有所降低;在初始 pH 值为 4~6 时,粗纤维降解率随着 pH 值的升高而降低,当初始 pH 值为 7 时,粗纤维降解率再次提高。根据前期对单菌种进行的试验可知,在试验所用的固态发酵培养基中,康宁木霉的较适宜生长代谢条件为 pH 4~5,因此在较低的 pH 值条件下,有利于康宁木霉的菌体生长和产酶;产黄纤维单胞菌较适宜生长代谢条件为 pH 6~7,较高的 pH 值有利于产黄纤维单胞菌的生长,并对粗纤维的降解起主要作用,但是与霉菌相比,细菌的菌体蛋白质质量分数较低,所以此时真蛋白质量分数有所下降。当初始 pH 值为 7 时,真蛋白质量分数达到 16.25%,增长率为 71.73%;粗纤维质量分数 24.02%,降解率为 21.33%。综合真蛋白和粗纤维的转化效果,生脉饮药渣固态发酵的初始 pH 值应控制在 6~7 的范围内。

2.2.3 料水比对发酵效果的影响 固态发酵过程中,适宜的含水率能使药渣颗粒达到较好的疏松程度,有利于空气进入,增加氧传递,促进微生物生长和产酶,同时也有利于营养物质的输送和酶的转移,从而改善发酵效果,因此料水比是影响微生物生长繁殖的一个重要因素。

由试验结果可以看出,当料水比为 1:1~1:2 时,真蛋白增长率达到 69.58%~72.06%,粗纤维降解率达到 16.10%~18.44%。当料水比高于 1:2 时,对发酵会产生不利影响,因为在高含水量条件下药渣容易产生粘黏现象,透气性差,抑制菌体的生长代谢。在生脉饮药渣固态发酵过程中,料水比应控制在 1:1.5~1:2 范围内,见图 3。

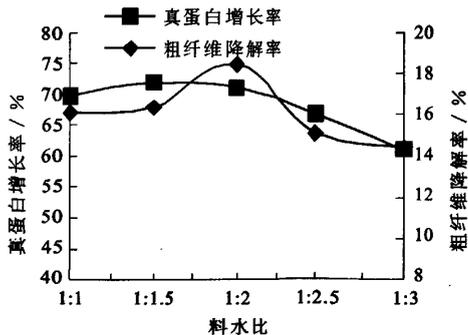


图 3 料水比对发酵效果的影响

Fig. 3 Effect of the ratio of material to water on the content of protein and crude fiber

2.2.4 接种比例(Tk:Cf)对发酵效果的影响 纤维素的降解是由多种功能不同但又互补的纤维素酶共同作用进行的,同时不同菌种合成的纤维素降

解酶种类不同,因此改变不同菌种的比例,可以调节不同纤维素酶的含量,使其达到较适宜配比,进而提高发酵效果。

由试验结果可以看出,接种比例为 3:1~1:1 时,真蛋白质量分数为 16.29%~16.43%,增长率为 72.09%~73.58%,粗纤维质量分数为 24.56%~25.48%,降解率达到 16.55%~19.56%。当康宁木霉的接种比例大于产黄纤维单胞菌时,真蛋白增长率和粗纤维降解率较高,这是由于在康宁木霉接种比例较高时,康宁木霉在发酵体系中快速增长并占优势,对纤维素的降解起主要作用,而产黄纤维单胞菌在发酵体系中处于辅助地位,对中药渣中纤维素的降解和菌体蛋白质的合成具有促进作用。在生脉饮药渣固态发酵过程中,接种比例应控制在 3:1~1:1 范围内,见图 4。

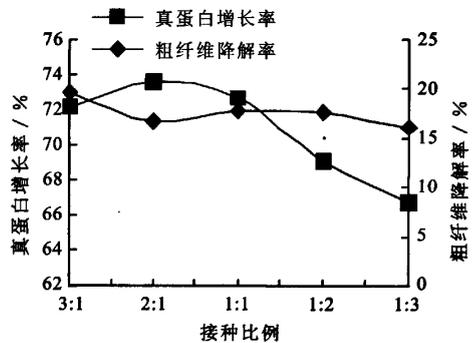


图 4 接种比例对发酵效果的影响

Fig. 4 Effect of inoculate proportion on the content of protein and crude fiber

2.2.5 接种量对发酵效果的影响 接种量的大小会影响菌种在固态发酵培养基中从停滞期进入对数生长期所需的时间,从而影响整个发酵进程。根据接种比例单因素试验结果,接种量试验的接种比例取 3:1,结果见图 5。

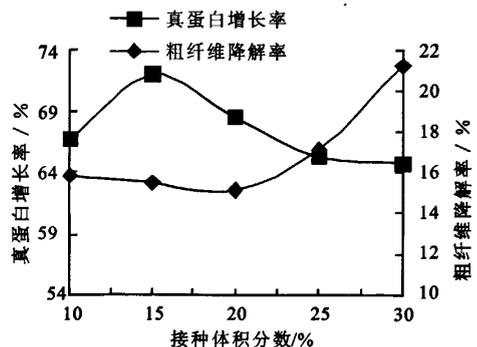


图 5 接种量对发酵效果的影响

Fig. 5 Effect of inoculate volume on the content of protein and crude fiber

由图5可以看出,接种体积分数为10%~15%时,真蛋白增长率为66.60%~72.01%,接种量大于15%时,真蛋白有所下降。这是由于接种量过高,发酵前期菌体快速增长,导致发酵后期营养不足而使菌体产生自溶,使真蛋白含量下降;而接种量大于20%时,粗纤维降解率有所提高,说明发酵前期菌种迅速生长,产酶能力较强,对纤维素的降解也较充分。综合考虑,生脉饮药渣固态发酵的接种量应控制在15%~25%的范围内。

2.2.6 发酵周期对发酵效果的影响 发酵周期会影响发酵产物中蛋白质含量。发酵周期过短,菌体不能充分生长,导致发酵产物中蛋白质含量较低;发酵周期过长,生产成本增加,且容易滋生杂菌^[11]。根据接种比例单因素试验结果,发酵周期试验的接种比例取3:1,试验结果见图6。

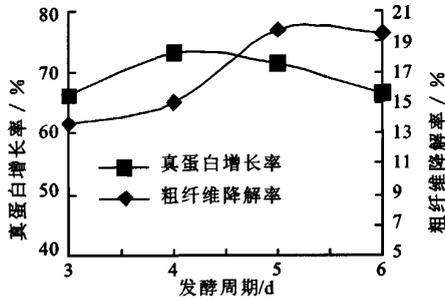


图6 发酵周期对发酵效果的影响

Fig. 6 Effect of fermentation period on the content of protein and crude fiber

由图6可以看出,发酵周期为4d时,真蛋白质量分数较高,达到16.37%,增长率72.98%。当发酵周期超过4d时,真蛋白质量分数出现下降趋势。这可能是由于发酵时间过长,发酵基质中的营养物质缺乏,菌体进行内源呼吸,消耗了部分菌体蛋白。粗纤维含量在第5天达到24.51%,降解率19.73%,发酵6d时粗纤维含量与发酵5d相比变化不大,说明发酵周期超过5d后菌种活性降低,降解纤维素的能力减弱。因此,生脉饮药渣固态发酵的发酵周期应控制在4~5d。

2.2.7 正交试验结果及分析 根据上述试验结果,选择对发酵效果影响较大的因素以及这些因素的适宜范围进行生脉饮中药渣固态发酵条件优化。根据L₉(3⁴)正交表进行正交试验设计,因素水平表见表2。

表2 正交试验因素和水平
Tab. 2 Levels of factors in orthogonal test

水平	因素			
	A 初始 pH 值	B 接种 比	C 接种 体积分数/%	D (NH ₄) ₂ SO ₄ 质量浓度/(g/dL)
1	5	1:1	15	3
2	6	2:1	20	4
3	7	3:1	25	5

其他条件为:发酵温度30℃,料水比1:2,发酵周期5d。

对发酵条件进行优化和正交试验结果进行双指标分析和综合评分^[12],结果见表3。

表3 正交试验结果及结果分析

Tab. 3 The results of orthogonal test and the analysis

试验号	A 初始 pH 值	B 接种比	C 接种 体积分数	D (NH ₄) ₂ SO ₄ 质量浓度	真蛋白 质量浓度/ (g/dL)	粗纤维 质量浓度/ (g/dL)	综合 评分
1	1	1	1	1	14.51	25.54	10.04
2	1	2	2	2	15.58	23.82	12.83
3	1	3	3	3	15.60	24.60	12.07
4	2	1	2	3	15.78	24.25	12.60
5	2	2	3	1	14.75	24.99	10.83
6	2	3	1	2	15.51	24.53	12.05
7	3	1	3	2	15.41	25.35	11.13
8	3	2	1	3	16.51	25.04	12.54
9	3	3	2	1	14.17	24.92	10.32
K ₁	34.93	33.76	34.62	31.18	总分 104.36		
K ₂	35.47	36.19	35.74	36.00			
K ₃	33.98	34.43	34.02	37.20			
k ₁	11.64	11.25	11.54	10.39	总平均分: 104.36/9=11.60		
k ₂	11.82	12.06	11.91	12.00			
k ₃	11.33	11.48	11.34	12.40			
R	0.50	0.81	0.57	2.01			

极差分析结果表明,各因素对发酵效果影响程度的大小依次为:(NH₄)₂SO₄质量分数>接种比>接种量>初始pH值。由此表明,(NH₄)₂SO₄质量分数对生脉饮中药渣固态发酵的影响最大,这是由于(NH₄)₂SO₄质量分数的大小直接影响着菌体的生长和酶的合成。初始pH值对发酵效果的影响较小,说明混合菌对发酵体系pH值适应能力较强,同时由于中药渣具有一定的缓冲能力,也降低了pH值变化对发酵效果的影响。

根据正交试验结果分析,Tk+Cf混合菌种发酵中药渣的优化条件为A₂B₂C₂D₃,即初始pH值为6、接种比2:1、接种体积分数20%、(NH₄)₂SO₄质量分数5g/dL。而正交试验中综合评分最高的是2号试验,其发酵条件为A₁B₂C₂D₂。A₂B₂C₂D₃与A₁B₂C₂D₂的初始pH值和(NH₄)₂SO₄质量分数有差别,试验结果对比见表4。

表4 优化条件试验结果比较

Tab. 4 The comparison of different experiment results

试验编号	发酵条件	真蛋白质量分数/%	真蛋白增长率/%	粗纤维质量浓度/(g/dL)	粗纤维降解率/%
1	A ₂ B ₂ C ₂ D ₃	16.33	72.51	24.42	20.01
2	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂	15.58	64.60	23.82	21.98

由表4可以看出,A₂B₂C₂D₃条件下试验的真蛋白增长率高于2号试验,粗纤维降解率稍低于2号试验,考虑到A₂B₂C₂D₃条件下的实验结果与2号试验相比,真蛋白仍有较大提高,而粗纤维降解率差异不明显,故将A₂B₂C₂D₃即初始pH值为6、接种比2:1、接种体积分数20%、(NH₄)₂SO₄质量分数5g/dL作为生脉饮药渣固态发酵的最优工艺条件。

2.3 Tk+Cf与菌体蛋白高产菌混合发酵效果

由于利用Tk+Cf混合菌种固体发酵后中药渣中的真蛋白质量分数仍然偏低,为了进一步提高发酵产物的真蛋白质量分数,在Tk+Cf发酵一段时

间后接种菌体蛋白质含量较高的产朊假丝酵母(Cu)和黑曲霉(An)。在Tk+Cf最优发酵工艺条件下,Tk+Cf混合菌种发酵2d后,接种Cu+An(接种比例为1:1),继续发酵3d,结果见表5。

表5 加入Cu+An与未加Cu+An的发酵结果比较

Tab. 5 The comparison of fermentation results between inoculate Cu+An and not inoculate Cu+An

试验菌种	真蛋白质量分数/%	真蛋白增长率/%	粗纤维质量浓度/(g/dL)	粗纤维降解率/%
Tk+Cf	16.33	72.51	24.42	20.01
Tk+Cf和Cu+An	17.70	86.96	24.40	20.09

由表5看出,与Tk+Cf混合菌种发酵相比,加入Cu+An后,发酵产物中真蛋白质量分数提高了8.39%。说明Cu+An的加入,有利于对Tk+Cf混合菌种降解纤维素产生的糖类进行利用,从而提高了真蛋白质量分数。

3 结 语

作者以生脉饮药渣为原料,利用筛选出的纤维素降解多菌种组合进行固态发酵,有效地提高了中药渣中的真蛋白质量分数,对粗纤维也有一定的降解效果。相关研究结果表明,中药渣经微生物固态发酵后,其氨基酸含量也有较大提高^[13],可见利用混合菌种固态发酵中药渣生产蛋白饲料,实现中药渣的资源化利用是可行的。

Tk+Cf固态发酵生脉饮药渣的优化条件为:(NH₄)₂SO₄添加量5g/dL、初始pH值为6、料水比1:2、接种比2:1、接种体积分数20%、发酵周期5d,温度30℃。在此条件下,发酵产物中真蛋白含量达到16.33%,增长了72.51%,粗纤维含量24.42%,降解率达到20.01%。先接种Tk+Cf发酵2d后,再接种Cu+An混合发酵,发酵产物中真蛋白质量分数达到17.70%,增长率86.96%,粗纤维含量24.40%,降解率达到20.09%。

参考文献(References):

- [1] 杨威. 黄芩药渣固态发酵生产单细胞蛋白[J]. 哈尔滨商业大学学报:自然科学版, 2006, 22(5): 14-17.
YANG Wei. Production of single-cell protein with *Scutellaaria baicalensis* residue by solid fermentation[J]. *Journal of Harbin University of Commerce: Natural Sciences Edition*, 2006, 22(5): 14-17. (in Chinese)
- [2] 刘萍, 张海英. 试论中药药渣的合理利用[J]. 新疆中医药, 2002, 20(6): 49.
LIU Ping, Zhang Hai-ying. Comments on the rational utilization of herb-medicine residues[J]. *Xinjiang Chinese Medicine*,

- 2002,20(6):49. (in Chinese)
- [3] 陈缤,贾天柱. 中药渣的综合利用[J]. 中成药,2005,27(10):1203-1205.
CHEN Bin, JIA Tian-zhu. Comprehensive utilization of herb-medicine residues[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2005,27(10):1203-1205. (in Chinese)
- [4] 李建雷. 我国饲料蛋白原料供应概况及发展趋势[J]. 中国畜牧杂志,2006,42(4):32-36.
LI Jian-lei. Supply survey and developmental trend of protein feed in China[J]. *China Animal Husbandry Magazine*, 2006,42(4):32-36. (in Chinese)
- [5] 范秀容,李广武,沈萍. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1989:262.
- [6] 中国饲料工业办公室. 饲料标准资料汇编[M]. 北京:中国标准出版社,1991:254-285.
- [7] 王建华,梁金钟,王宇,等. 利用酒糟固态发酵多维多酶高赖氨酸饲料的研究[J]. 酿酒,1999,131(2):93-99.
WANG Jian-hua, LIANG Jin-zhong, WANG Yu, et al. Study on multi-dimensional multienzyme feed production of vinasse by solid state fermentation[J]. *Liquor Making*, 1999, 131(2):93-99. (in Chinese)
- [8] 张蔚文. 混合菌培养在生物降解中的意义[J]. 环境科学与技术,1993(1):16-20.
ZHANG Wei-wen. The significance of mixed culture bacteria in biodegradation[J]. *Environmental Science And Technology*, 1993(1):16-20. (in Chinese)
- [9] 张晓伦,刘旭,饶泽昌. 高效纤维素分解菌混合培养及其降解能力[J]. 南昌大学学报:理科版,2005,29(5):500-502.
ZHANG Xiao-lun, LIU Xu, RAO Ze-chang. The mixed culturing and ability of cellulolytic microbes[J]. *Journal of Nanchang University: Natural Science*, 2005,29(5):500-502. (in Chinese)
- [10] 曹军卫,马辉文. 微生物工程[M]. 北京:科学出版社,2002:96-97.
- [11] 司翔宇,葛蕾,李志西. 苹果渣固态发酵生产饲料蛋白的研究[J]. 饲料研究,2005(3):35-37.
SI Xiang-yu, GE Lei, LI Zhi-xi. Study on solid state fermentation of protein-feed using apple pomace[J]. *Feed Research*, 2005(3):35-37. (in Chinese)
- [12] 白新桂. 数据分析与试验优化设计[M]. 北京:清华大学出版社,1986:160-167.
- [13] 王兵,王向东,秦岭,等. 中药渣固态发酵生产蛋白饲料[J]. 食品与生物技术学报,2007,26(4):77-82.
WANG Bing, WANG Xiang-dong, QIN Ling, et al. Study on the protein feedstuff from herb-medicine residues by solid-state fermentation[J]. *Journal of Feed Science And Biotechnology*, 2007,26(4):77-82. (in Chinese)

(责任编辑:李春丽)