

## 酸解羽毛粉代替蛋白胨研制新型细菌培养基

曹亮亮 王康 马婧 赵建树 文春燕 李荣\* 沈其荣

(南京农业大学 资源与环境科学学院 国家有机肥类肥料工程技术研究中心 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心 江苏 南京 210095)

**摘要:**【目的】从工厂下脚料——酸解羽毛粉氨基酸含量高且种类丰富出发, 开发出低成本新型细菌培养基, 以期资源化该类废弃物。【方法】将酸解羽毛粉代替常用细菌培养基(LB 培养基)中的蛋白胨, 进行细菌液体发酵试验, 比浊法在波长 600 nm 处比色测定菌液的吸光值, 可培养计数法监测细菌数量。【结果】以 LB 培养基为对照, 酸解羽毛粉完全代替蛋白胨液体发酵供试菌株时, 菌株的生物量与对照无显著性差异或显著高于对照。培养模式菌株大肠杆菌和枯草芽孢杆菌 24 h 后, 与对照相比, 生物量分别增加了 21.59% 和 27.83%。菌株生长曲线表明, 生长初期, 菌株在新型培养基中生长稍延迟, 但含酸解羽毛粉培养基能延长枯草芽孢杆菌的对数生长期, 并且两菌株到达稳定期时的生物量均高于对照。可培养计数法结果同样表明, 含酸解羽毛粉培养基所培养活菌数量与对照(LB 培养基)相比, 差异不显著。【结论】用酸解羽毛粉代替 LB 培养基中蛋白胨进行细菌培养是可行的, 可以大大降低生产成本。

**关键词:** 酸解羽毛粉, 蛋白胨, 细菌培养基, 废弃物资源化

## Using hydrolyzed feather powder to replace tryptone for producing a novel bacterial medium

CAO Liang-Liang WANG Kang MA Jing ZHAO Jian-Shu WEN Chun-Yan  
LI Rong\* SHEN Qi-Rong

(National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** [Objective] In this study, since hydrolyzed feather powder is a kind of good nitrogen-containing material rich in a wide variety of amino acids, it is used to replace the tryptone, a common component in Luria-Bertani medium for cultivating bacteria, thus to develop a novel bacterial culture medium and recycle the waste resource. [Methods] Absorbance at 600 nm of the fermentation broths detected by turbidimetry and culture-dependent method were used to analyze the effect of media on cell growth. [Results] Compared to the LB medium, no significant difference or

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41101231); 农业部 948 项目(No. 2011-G27); 国家 863 计划项目(No. 2013AA100802); 江苏省科技支撑计划(农业)项目(No. BE2012377); 江苏省博士后科学基金项目(No. 1102079C)

\*通讯作者: Tel: 86-25-84396104; ✉: lirong@njau.edu.cn

收稿日期: 2014-01-19; 接受日期: 2014-04-14; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-04-17

more abundance in the growth of the tested bacteria was observed when peptone was completely replaced by hydrolyzed feather powder and the biomass of type strains (*Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*) tested, increased by 21.59% and 27.83%, respectively. Results of bacteria-growth curves showed that a bit delay at the initial phase and an extended logarithmic phase of the tested strains were observed in the novel medium. However, the biomasses of the strains tested at stable phase in the novel medium were higher than those in the control. Meanwhile, results from culture-dependent method also showed that no significant differences for the number of type strains were observed between the two media. **[Conclusion]** In conclusion, the hydrolyzed feather powder was able to replace tryptone to create a novel low-cost but high-quality medium.

**Keywords:** Hydrolyzed feather powder, Tryptone, Bacterial medium, Waste resource recovery

羽毛是以角蛋白为主的动物性蛋白质,其粗蛋白含量在 80%以上,并且富含各种必需氨基酸<sup>[1]</sup>。对羽毛的开发研究,在国外已有 50 多年的历史,世界各地特别是工业化国家已建立起各种规模的羽毛粉加工业。日本年产羽毛粉蛋白质 16 万 t,美国 1969 年羽毛蛋白质的使用量就达 18 万 t<sup>[2]</sup>。我国从 20 世纪 80 年代左右开始重视羽毛废弃物的资源化利用,但大都只是经过简单处理制成羽毛粉后直接出口,换汇率很低。目前,羽毛粉主要用于动物饲料、饲料添加剂和肥料等,利用率和利用价值都不高,未得到高效资源化利用<sup>[3]</sup>。

目前处理羽毛的方法有:高温高压水解法,化学处理法和蛋白酶法等。高温高压水解法是目前大多数企业采用的方法,其缺点是产品质量不够稳定,氨基酸消化率低,易导致蛋白变性等;蛋白酶法降解羽毛不会使蛋白变性,能提高氨基酸含量,但目前技术不够成熟,不能大规模生产羽毛粉;化学处理法包括酸解和碱解,主要用于饲料工业和氨基酸工业,能得到较高的氨基酸转化率,并且大量研究表明硫酸水解工艺是最佳生产工艺<sup>[3-5]</sup>。以羽毛角蛋白为原料酸解提取特定氨基酸后,剩余母液仍含有丰富的营养,若将其丢弃将造成资源浪费,同时对环境产生污染。目前对其利用主要有制成饲料添

加剂、制取氨基酸微肥等,对其利用的附加值不高<sup>[6]</sup>。

LB 培养基被广泛用来培养细菌,其由酵母粉、蛋白胨和氯化钠组成<sup>[7]</sup>。但其中蛋白胨成本较高,如果能将廉价的羽毛粉下脚料用来代替高成本的蛋白胨进行细菌培养,不仅能高效利用羽毛粉资源,为羽毛粉的资源化利用开辟一条全新的途径,同时为大幅降低工厂化大规模液体发酵成本提供可能,为企业带来更大的利润空间。本研究选用的羽毛粉为经过硫酸水解,提取目标氨基酸(目标氨基酸为脯氨酸、甘氨酸和亮氨酸中的一种或多种)后,经过干燥制成的粉状下脚料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 酸解羽毛粉:**酸解羽毛粉由新沂市汉菱生物工程公司提供,为羽毛酸水解提取目标氨基酸后,经过干燥制成的粉状下脚料,目标氨基酸为脯氨酸、甘氨酸和亮氨酸中的一种或多种,酸解羽毛粉基本理化性质见表 1。蛋白胨、酵母粉、氯化钠(分析纯)为实验室常用试剂。

**1.1.2 菌株来源:**菌株 SQR9 和 NJN-6 由本实验室分离获得并保存,其余 8 株菌由农业部农业环境微生物重点开放实验室提供,所有菌株基本性质见表 2。

表 1 酸解羽毛粉基本理化性质

Table 1 Physical-chemical properties of acid hydrolyzed feather powder

含水量 Water content (%)	pH	电导率 EC (ms/cm)	全氮 Total N (g/kg)	碳氮比 C/N (%)
6.67±0.05	3.64±0.02	49.3±0.12	179.10±1.31	1.20±0.02

表 2 菌株编号及其基本性质  
Table 2 Number and basic properties of the tested strain

菌株编号 Strain number	属 Genus	功能 Function	革兰氏阴/阳性 Gram bacteria (negative/positive)
D-2 <sup>[8]</sup>	<i>Pigmentiphaga</i> sp.	啮虫脘降解菌	阴性
AM70 <sup>[9]</sup>	伯克霍尔德氏菌属	阿维菌素降解菌	阴性
Sc1-2 <sup>[10]</sup>	节杆菌属	有机磷农药降解菌	阳性
KT2240 <sup>[11]</sup>	恶臭假单胞菌	模式菌株	阴性
Lgij-3 <sup>[12]</sup>	副球菌	降解乐果	阴性
TPD-1 <sup>[13]</sup>	戴尔福特菌属	降解三唑磷	阴性
168	枯草芽孢杆菌	模式菌株	阳性
SQR9 <sup>[14]</sup>	解淀粉芽孢杆菌	黄瓜枯萎病拮抗菌	阳性
NJN-6 <sup>[15]</sup>	解淀粉芽孢杆菌	香蕉枯萎病拮抗菌	阳性
DH5α λpir	埃希氏菌属	模式菌株	阴性

## 1.2 羽毛粉游离氨基酸的测定

羽毛粉游离氨基酸的测定选用 0.1 mol/L 盐酸提取测定法<sup>[16]</sup>。5 g 羽毛粉用 25 mL 盐酸溶解,浸提 20 min 后过滤,将滤液定容至 100 mL。取 0.1 mL 滤液过 0.45 μm 滤膜后上机测样。测定选用氨基酸自动分析仪 Biochrom 30。

## 1.3 羽毛粉代替酵母粉或蛋白胨的选定

实验室常用的 LB 培养基中,作为有机营养源的物质有酵母粉和蛋白胨两种。羽毛粉含氮量高,可以为微生物的繁殖提供丰富的有机营养。为确定羽毛粉代替哪种物质更适于发酵,分别将酵母粉、蛋白胨和羽毛粉 3 种材料作为唯一有机源与无机盐氯化钠制成培养基,菌株选择模式菌株大肠杆菌 DH5α λpir,比浊法比较 3 种有机营养材料对菌株生物量的影响。有机营养的添加量设 5 个梯度处理,分别为 2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 g/L。所配成的液体培养基 pH 统一调至 7.0。

## 1.4 羽毛粉培养基调节 pH 前后对大肠杆菌增殖的影响

由于酸解羽毛粉 pH 较低,用羽毛粉代替蛋白胨制成的细菌培养基 pH 比 LB 培养基 pH 低,为

明确培养基的 pH 对细菌增殖的影响,选择模式菌株大肠杆菌 DH5α λpir 进行生物量的测定。具体步骤如下:

根据 LB 培养基配方(蛋白胨 10 g/L,酵母粉 5 g/L,氯化钠 10 g/L,pH 7.0)<sup>[7]</sup>,将培养基中的蛋白胨用羽毛粉代替,代替量依次为:0、10%、25%、50%、75%、100%,每个处理设 3 个重复。设置对照组(pH 自然,具体 pH 值见表 3)和试验组(统一将 pH 调至 7.0),比较 pH 对细菌增殖的影响。

挑取大肠杆菌单菌落接入 LB 培养基中,30 °C、170 r/min 过夜培养约 12 h 得到种子液,按照 1% (体积比,下同)的接种量将种子液转接至培养基中,30 °C、170 r/min 培养 24 h。

依次将试验培养液稀释 10 倍,分别用稀释 10 倍的未经过培养的液体培养基调零,在波长 600 nm 处比色测定菌液的吸光值。

## 1.5 羽毛粉代替蛋白胨培养细菌的研究

为验证羽毛粉代替蛋白胨制成的培养基能否有效培养细菌,选择枯草芽孢杆菌和大肠杆菌两株模式菌株,3 株革兰氏阳性菌和 5 株革兰氏阴性菌进行液体培养,比浊法在波长 600 nm 处比色

表3 羽毛粉不同代替量细菌培养基的自然 pH  
Table 3 pH value of bacterial media replaced by different amounts of feather powder

代替量 Percentage of substitution (%)	0	10	25	50	75	100
pH	7.22±0.01	7.13±0.06	6.99±0	6.76±0.06	6.59±0.01	6.22±0

测定菌液的吸光值。设置处理如下：CK (LB 培养基)、羽毛粉代替量 10%、25%、50%、75%、100% 共 6 个处理，培养基 pH 统一调至 7.0，250 mL 三角瓶装 50 mL 试验培养基，每个处理 3 个重复。种子液经 30 °C、170 r/min 培养 18 h 后按照 1% 接种量接至三角瓶中，30 °C、170 r/min 培养 24 h 后将培养液稀释 10 倍后测吸光值<sup>[17]</sup>。

### 1.6 羽毛粉新型培养基对菌株生长过程的影响

为验证羽毛粉新型培养基是否会对细菌生长过程产生影响，选择 2 株模式菌株枯草芽孢杆菌和大肠杆菌为试验对象，以 LB 培养基为对照，新型培养基标为 HF，监测菌株在两种培养基培养条件下的生长曲线。具体操作步骤：挑取单菌落接入 LB 培养基中，30 °C、170 r/min 培养过夜(约 10 h)制成种子液，按 1% 的比例将种子液转接至装有液体培养基的 250 mL 三角瓶中，每三角瓶 50 mL 培养基，30 °C、170 r/min 条件下培养；分别在 2、4、6、8、10、12、14、16、24、28 h 取出试管，在波长 600 nm 处比色测定菌液的吸光值，每个处理 3 个重复，根据吸光值制作生长曲线<sup>[18]</sup>。

### 1.7 数据分析

采用 Excel 2010 进行数据处理，用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 羽毛粉游离氨基酸

酸解羽毛粉常见游离氨基酸含量见表 4，结果表明，酸解羽毛粉游离氨基酸总量达 40.28%，且种类丰富，在常见的 16 种游离氨基酸中，仅不含或含少量脯氨酸和组氨酸。由此可推断：酸解羽毛粉预计可以为微生物的生长提供足够的氨基酸物质。

表4 酸解羽毛粉中各游离氨基酸含量  
Table 4 The contents of each free amino acids in the hydrolyzed feather powder

游离氨基酸 Free amino acid	含量 Content (g/100 g)
天冬氨酸 Asp	4.872 37
苏氨酸 Thr	2.775 31
丝氨酸 Ser	6.286 42
谷氨酸 Glu	4.786 94
脯氨酸 Pro	0
丙氨酸 Ala	6.468 97
半胱氨酸 Cys	0.782 93
缬氨酸 Val	3.508 45
蛋氨酸 Met	0.284 61
异亮氨酸 Ile	1.054 58
亮氨酸 Leu	2.663 39
酪氨酸 Tyr	0.426 22
苯丙氨酸 Phe	2.416 77
组氨酸 His	0
赖氨酸 Lys	0.826 26
精氨酸 Arg	3.130 70
总计 Total	40.283 92

### 2.2 羽毛粉代替酵母粉或蛋白胨的选定

三种材料分别作为唯一有机源调节 pH 后，培养大肠杆菌的 OD 值见表 5，结果表明：酵母粉对大肠杆菌生长的影响最大，酵母粉的不同含量能显著改变大肠杆菌的生物量。蛋白胨和酸解羽毛粉对大肠杆菌生长的影响较小且类似，在材料添加量均较低条件下，大肠杆菌对酸解羽毛粉的利用高于蛋白胨，当添加量高于 10 g/L，生物量的增加量与含量的增加不成正比。

### 2.3 羽毛粉培养基调节pH前后对大肠杆菌增殖的影响

调节pH前、后培养基中大肠杆菌生物量  $OD_{600}$  值见表 6。对照组为培养基 pH 自然, 试验组为统一将 pH 调至 7.0。随着培养基中羽毛粉代替量的增加, 培养基 pH 降低, 当羽毛粉代替量达到 25% 时, 培养基 pH 小于 7.0。随着羽毛粉代替量的增加, 大肠杆菌的生物量呈上升趋势。比较对照组和试验组发现, 当羽毛粉的代替量小于 75% 时, 调节 pH 至中性对大肠杆菌生物量几乎没有影响; 当羽毛粉的代替量为 100% 时, 试验组中大肠杆菌生物量略低于对照组中。综上: 羽毛粉代替蛋白胨培养大肠杆菌是可行的, 不调节 pH 至中性不会降低菌株的生物量。为排除 pH 影响, 在后续试验中仍将所有 pH 统一调至中性。

### 2.4 羽毛粉代替蛋白胨培养模式菌株大肠杆菌和枯草芽孢杆菌

羽毛粉不同代替量对大肠杆菌菌液吸光值的影响如图 1A 所示, 结果表明: 添加羽毛粉处理的

菌液吸光值均高于对照 LB 培养基, 其中羽毛粉代替量为 10%、75% 和 100% 的 3 个处理的吸光值显著高于对照, 并且代替量为 100% 处理的吸光值显著高于其他所有处理, 与对照相比, 大肠杆菌的生物量增加了 21.59%。最终表明, 羽毛粉代替蛋白胨进行大肠杆菌的培养是可行的, 并且 100% 代替量为效果最佳。

羽毛粉不同代替量对枯草芽孢杆菌菌液吸光值的影响如图 1B 所示, 结果表明: 羽毛粉代替量在 50%–100%, 处理间差异不显著, 但均显著高于对照; 羽毛粉代替量为 10%、25% 两个处理的菌液吸光值与 CK 的吸光值差异不显著, 说明羽毛粉可以代替蛋白胨进行枯草芽孢杆菌的培养, 羽毛粉的代替量大于 50% 时对枯草芽孢杆菌的增殖具有促进作用, 羽毛粉代替量为 100% 时枯草芽孢杆菌的生物量比对照增加了 27.83%。最终表明, 羽毛粉代替蛋白胨进行枯草芽孢杆菌的培养是可行的, 并且代替量为 50%–100% 效果最佳。

表 5 三种氮源材料对大肠杆菌生长的影响

Table 5 Effects of three different nitrogen sources on the growth of *Escherichia coli* DH5 $\alpha$   $\lambda$ pir

添加量 Addition (g/L)	大肠杆菌生物量 The growth of <i>E. coli</i> ( $OD_{600}$ )		
	酵母粉 Yeast powder	蛋白胨 Tryptone	酸解羽毛粉 Acid hydrolyzed feather powder
2.5	1.17±0.04e	0.29±0.01d	0.60±0.04c
5.0	2.34±0.08d	0.57±0.04c	0.76±0.03b
10.0	3.48±0.07c	0.94±0.02b	0.76±0.04b
15.0	4.01±0.10b	1.26±0.06a	0.87±0.03a
20.0	4.62±0.40a	1.32±0.09a	0.93±0.06a

注: 同列数据后不同字母表示在  $P<0.05$  水平差异显著(下同)。

Note: Different letters following values within a column mean significant difference at  $P<0.05$  level. The same as follows.

表 6 调节 pH 对培养基中大肠杆菌生物量的影响

Table 6 Effects of pH on the growth of *Escherichia coli* DH5 $\alpha$   $\lambda$ pir

代替量 Percentage of substitution (%)	0	10	25	50	75	100
对照组 Control	1.43±0.03	1.80±0.03	2.01±0.08	2.02±0.11	1.81±0.02	2.16±0.24
试验组 Test	1.41±0.07	1.71±0.04	2.06±0.04	2.00±0.17	1.96±0.14	1.87±0.01

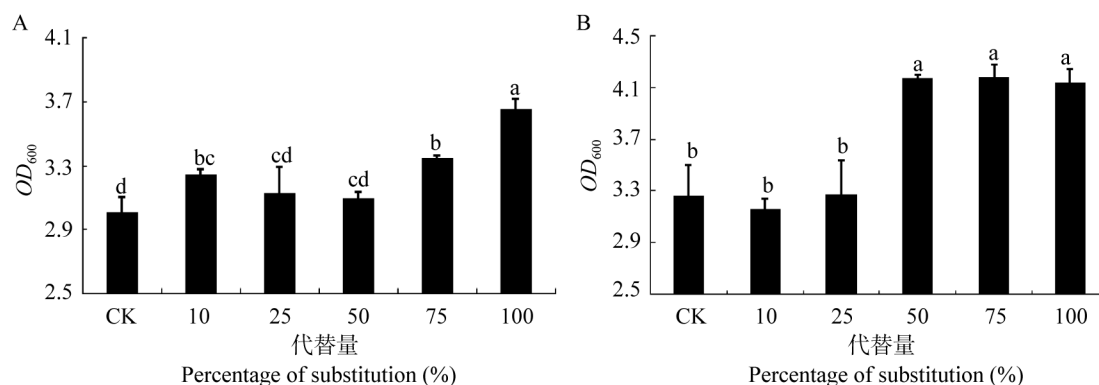


图 1 酸解羽毛粉不同代替量对模式细菌增殖的影响

Figure 1 Effects of different amounts of hydrolyzed feather powder on bacterial growth

注：A：大肠杆菌；B：枯草芽孢杆菌。图中不同字母表示在  $P < 0.05$  水平差异显著(下同)。

Note: A: *Escherichia coli* DH5α  $\lambda$ pir; B: *Bacillus subtilis* 168. Different letters mean significant difference at  $P < 0.05$  level. The same as follows.

## 2.5 羽毛粉代替蛋白胨培养其他革兰氏阳性、阴性细菌

羽毛粉代替蛋白胨培养其他 3 株革兰氏阳性菌菌液的吸光值见表 7，结果表明：含羽毛粉培养基所培养菌液的吸光值几乎均高于对照，除菌株 SQR9 外，随着羽毛粉代替量的增加，菌液的 OD<sub>600</sub>

值均在上升，表明羽毛粉对革兰氏阳性细菌的生长具有促进作用，另外当羽毛粉的代替量为 100% 时，菌液的吸光值显著高于对照，据此选择羽毛粉代替量为 100% 为革兰氏阳性细菌新型培养基配方。

羽毛粉代替蛋白胨培养其他 5 株革兰氏阴性菌菌液的吸光值见表 8，结果表明：羽毛粉作为一

表 7 羽毛粉不同代替量培养基对革兰氏阳性菌株生长的影响

Table 7 Effects of different amount of hydrolyzed feather powder on the growth of gram-positive bacteria

替代量 Percentage of substitution (%)	SQR9	Sc1-2	NJN-6
0	5.78±0.08b	3.20±0.04d	2.96±0.44d
10	6.11±0.09a	3.47±0.21c	3.44±0.24cd
25	6.30±0.07a	3.45±0.04c	3.41±0.28cd
50	6.30±0.01a	3.84±0.10b	3.94±0.02bc
75	5.70±0.01b	3.87±0.04b	4.10±0.05ab
100	5.62±0.01b	4.08±0.06a	4.54±0.22a

表 8 羽毛粉不同代替量培养基对革兰氏阴性菌株生长的影响

Table 8 Effects of different amount of hydrolyzed feather powder on the growth of gram-negative bacteria

替代量 Percentage of substitution (%)	KT2440	AM74	LY	GC	D-2
0	3.23±0.05e	7.76±0.04b	4.92±0.23ab	2.81±0.06b	0.53±0.00d
10	3.54±0.03d	7.75±0.08b	4.62±0.02b	2.37±0.00c	0.59±0.01c
25	3.73±0.05c	7.84±0.06b	4.87±0.71ab	2.10±0.08d	0.66±0.01b
50	4.22±0.05b	7.53±0.04c	5.06±0.06ab	1.64±0.03e	0.65±0.03b
75	4.58±0.13a	7.42±0.06c	5.33±0.14a	2.33±0.16c	0.73±0.02a
100	4.67±0.20a	8.08±0.08a	5.37±0.12a	3.47±0.09a	0.71±0.05a

种较理想的氮源物质,代替蛋白胨进行阴性细菌的培养是完全可行的,羽毛粉对大部分菌株的生长具有促进作用。另外,5株革兰氏阴性菌培养结果都表明:羽毛粉代替量在100%时,菌液的 $OD_{600}$ 值显著高于对照,所以同样选择羽毛粉100%代替量为革兰氏阴性细菌新型培养基配方。

## 2.6 羽毛粉新型培养基对菌株生长过程的影响

LB培养基和羽毛粉新型培养基培养大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的生长曲线如图2所示。大肠杆菌生长曲线结果表明(图2A、C):在两种培养基中,大肠杆菌的生长趋势基本一致,两者到达稳定期的时间基本相同。在生长前期,菌株在羽毛粉新型培养基中的生长比在LB培养基中稍延迟,12h后,大肠杆菌在羽毛粉新型培养基中的生物量超过LB

培养基,且差异延续至衰亡期。活菌计数结果表明:大肠杆菌在两种培养基中的生长情况基本相同,两者之间无显著性差异。表明,酸解羽毛粉对大肠杆菌的生长没有抑制作用。

枯草芽孢杆菌生长曲线结果表明(图2B、D):在生长前期,菌株在羽毛粉新型培养基中的生长比在LB培养基中迟缓,培养14h后,枯草芽孢杆菌在羽毛粉新型培养基中的生物量超过LB培养基,进入稳定期后,其生物量显著高于在LB培养基中的生物量。活菌计数结果表明:在对数生长期和稳定期,枯草芽孢杆菌在两种培养基中的数量均没有显著差异。

结果表明:羽毛粉对两模式菌株的生长没有抑制作用,并且能增加菌株在稳定期时的生物量。

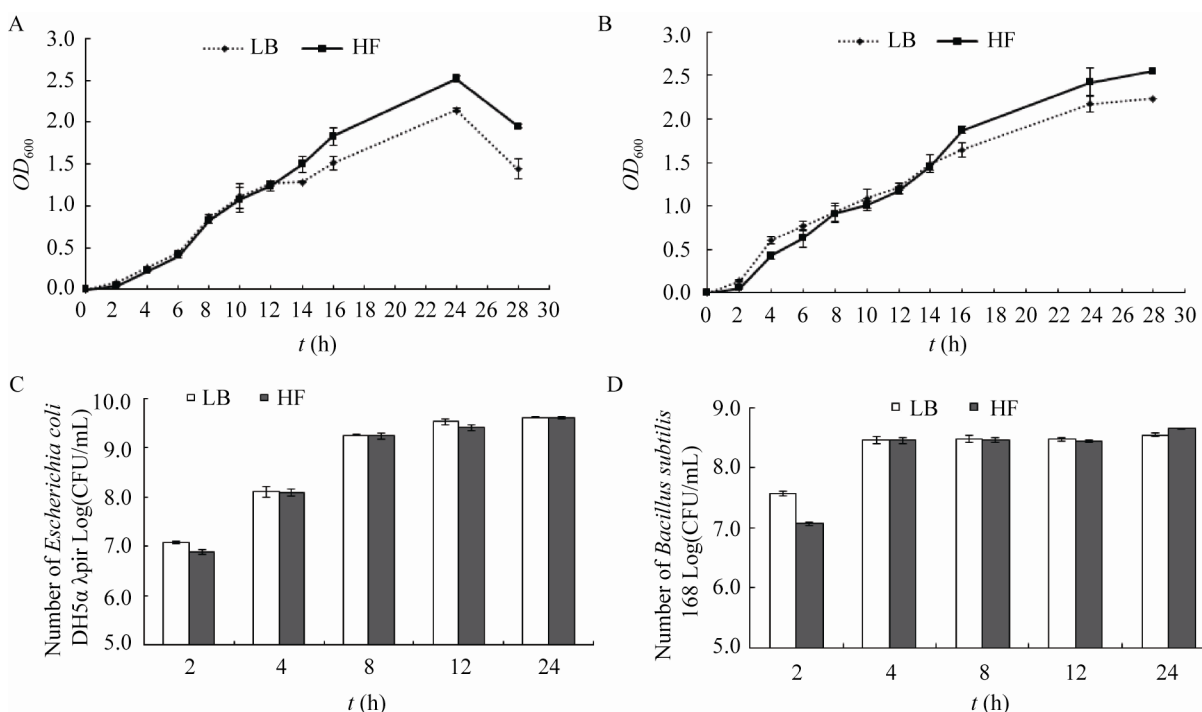


图2 新型细菌培养基对模式菌株生长的影响

Figure 2 Effects of the novel bacterial medium on the bacterial growth

注:A:大肠杆菌 $OD_{600}$ ;B:枯草芽孢杆菌 $OD_{600}$ ;C:大肠杆菌活菌数量;D:枯草芽孢杆菌活菌数量。

Note: A: *Escherichia coli* DH5α λpir ( $OD_{600}$ ); B: *Bacillus subtilis* 168 ( $OD_{600}$ ); C: Number of *Escherichia coli* DH5α λpir; D: Number of *Bacillus subtilis* 168.

### 3 结论与讨论

酸解羽毛粉完全代替蛋白胨制成的新型细菌培养基,培养模式菌株大肠杆菌和枯草芽孢杆菌,其生物量比对照(LB培养基)分别增加了21.59%和27.83%;两模式菌株的生长曲线结果表明,到达稳定期时,两菌株在新型培养基中的生物量均高于LB培养基。但在生长前期,菌株在羽毛粉新型培养基中的生长比在LB培养基中迟缓,推测可能是因为该菌株在生长初期能较快利用蛋白胨进行增殖,当细菌数量达到一定数量级时,对羽毛粉的利用能力增强,所以后期羽毛粉新型培养基中细菌生物量高于LB培养基。

不同代替量的酸解羽毛粉培养基培养其他革兰氏阴性菌、阳性菌结果同样表明,酸解羽毛粉能为微生物的生长提供足够的营养,能够完全代替蛋白胨培养细菌,并且酸解羽毛粉对细菌的增殖具有一定的促进作用。

目前对于优化特定菌株发酵培养基的研究较多,周礼等<sup>[19]</sup>为一株絮凝剂产生菌选择更适宜的碳、氮源而对LB培养基进行优化,关雄等<sup>[20]</sup>为一株苏云金芽孢杆菌发酵培养基进行优化研究,而对于细菌最常用的LB培养基本身的研究较少。酵母粉和蛋白胨作为LB培养基中的碳源和氮源能为大部分微生物提供足够营养,这两种材料常常作为提供碳氮源的首选材料。但是将研究阶段使用的这两种试剂扩大到工业化生产,成本较高,蛋白胨37 000元/t<sup>[21]</sup>,所以工业化生产中常常用大豆饼粉、玉米蛋白等代替<sup>[19,21]</sup>,但是微生物发酵效果往往会降低。由本试验结果可知, LB培养基中酵母粉对微生物生物量的影响远远大于蛋白胨,利用羽毛粉代替蛋白胨,研制成的新型培养基在降低成本的同时,不会对生物量产生较大影响。

另一方面,畜禽养殖业产生了大量的羽毛废弃物,受开发成本等限制,用于生产饲料的羽毛只占到总量的10%~20%<sup>[3]</sup>。羽毛厌氧发酵制成有机肥<sup>[22]</sup>,将羽毛制成石油、重金属等污染物吸附剂<sup>[23-24]</sup>,从

羽毛中提取高分子蛋白、氨基酸<sup>[6]</sup>等工艺都只能部分利用羽毛,仍有大量的羽毛未能被合理利用,尤其是部分氨基酸企业,提取目标氨基酸后会形成大量的下脚料,若不能处理好这些下脚料将形成再次污染。本试验从提取氨基酸后的酸解羽毛粉出发,用其代替常用培养基中蛋白胨进行细菌发酵,以期资源化该下脚料,开发出低成本新型细菌培养基,能够高附加值地利用羽毛粉,减少污染,为资源化利用羽毛粉开辟了一条全新的途径;另一方面酸解羽毛粉成本较低,且容易获得,能为大规模培养微生物降低成本,为企业提高经济效益。

### 参考文献

- [1] 吕世明, 谭艾娟. 木瓜蛋白酶水解羽毛蛋白的最佳作用条件探索[J]. 贵州畜牧兽医, 2001, 25(3): 1-2.
- [2] 孙君社, 刘清培. 羽毛蛋白粉高效利用研究[J]. 农业工程学报, 2001, 17(3): 125-129.
- [3] 周小霞, 胥江河, 李明川, 等. 废弃羽毛资源化利用研究进展[J]. 重庆工商大学学报, 2008, 25(3): 270-273.
- [4] 刘玉芬, 仇德勇, 徐伟, 等. 羽毛粉加工工艺与开发[J]. 畜牧与饲料科学, 2010, 31(1): 87-88.
- [5] 张大雷, 单安山. 羽毛粉蛋白饲料的开发及其在畜牧生产中的应用[J]. 饲料工业, 2003, 24(9): 49-51.
- [6] 庄媛, 周美华, 赵晓祥. 羽毛角蛋白的提取及其应用进展[J]. 环境科学与技术, 2013, 36(3): 65-69.
- [7] 范秀容, 沈萍, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 67-72.
- [8] Yang HX, Wang X, Zheng J, et al. Biodegradation of acetamiprid by *Pigmentiphaga* sp. D-2 and the degradation pathway[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2013, 85: 95-102.
- [9] 李荣, 管晓进, 陈荣宗, 等. 阿维菌素降解菌株 AW70 的分离鉴定及降解特性研究[J]. 土壤, 2009, 41(4): 607-611.
- [10] Li R, Guo XQ, Chen K, et al. Isolation of an isocarboxymethyl-degrading strain of *Arthrobacter* sp. scl-2 and identification of the degradation pathway[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 19(11): 1439-1446.
- [11] Li R, Wang GL, Shen B, et al. Random transposon vectors pUTTns for the markerless integration of exogenous genes into gram-negative eubacteria chromosomes[J]. Journal of Microbiological Methods, 2009, 79(2): 220-226.
- [12] Li R, Zheng JW, Wang R, et al. Biochemical degradation pathway of dimethoate by *Paracoccus* sp. Lgjj-3 isolated



- from treatment wastewater[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2010, 64(1): 51-57.
- [13] Yang CL, Li R, Song Y, et al. Identification of the biochemical degradation pathway of triazophos and its intermediate in *Diaphorobacter* sp. TPD-1[J]. Current Microbiology, 2011, 62(4): 1294-1301.
- [14] Weng J, Wang Y, Li J, et al. Enhanced root colonization and biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by *abrB* gene disruption[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2013, 97(19): 8823-8830.
- [15] Yuan J, Raza W, Shen QR, et al. Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*[J]. Applied and Environment Microbiology, 2012, 78(16): 5942-5944.
- [16] 国家质量技术监督局. GB/T18246-2000 粮食与作物饲料[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- [17] 毛建萍, 张雨清, 沈卫德. 以丝胶蛋白为细菌培养基主要成分的研究[J]. 研究与技术, 2003(11): 25-36.
- [18] 陶令霞, 夏铁骑, 常慧萍. 两种测定固氮菌 NT06菌株生长曲线方法的比较[J]. 生物学杂志, 2007, 24(5): 57-58.
- [19] 周礼, 张永奎, 陈晓, 等. 一种高效微生物絮凝剂产生菌的筛选及培养基优化[J]. 环境科学学报, 2006, 26(4): 584-588.
- [20] 关雄, 陈锦权, 黄志鹏, 等. 苏云金芽孢杆菌培养基优化及间歇发酵[J]. 生物工程学报, 1998, 14(1): 75-80.
- [21] 唐芳, 谭天伟, 王芳. L-天冬氨酸转化菌发酵条件的优化[J]. 北京化工大学学报, 2003, 30(5): 21-24.
- [22] Forgács G, Alinezhad S, Mirabdollah A, et al. Biological treatment of chicken feather waste for improved biogas production[J]. Environmental Sciences, 2011, 23(10): 1747-1753.
- [23] 杨崇岭, 关丽涛, 赵耀明, 等. 羽毛的化学改性及其对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(1): 344-349.
- [24] Janssens E, Dauwe T, Bervoets L, et al. Heavy metals and selenium in feathers of great tits (*parus major*) along a pollution[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2001, 20(12): 2815-2820.



## 稿件书写规范

### 高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目,是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目,也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟,一方面为高校微生物学教师提供一个发表论文的平台,同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表,是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告,特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线,撰写的稿件内容必须要有新意、要实用,不是泛泛地叙述教学设计与过程,而是确实有感而发,是教学工作中的创新体会,或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性,做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进,注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中,只有这样才能真正起到教与学的互动,促进高校生物学教学的发展,更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时,为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台,本栏目还开辟了“名课讲堂”版块,邀约相关生命科学领域,如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点,推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文,为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习平台,促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿!欢迎对本栏目多提宝贵意见!