



文章栏目：“工业废水处理及资源化”暨环境水质学国家重点实验室30周年纪念
专辑（二）

DOI 10.12030/j.cjee.202006179 中图分类号 X703.1 文献标识码 A

刘浩, 李瑞, 包丽君, 等. 马铃薯淀粉废水资源化制备 *Paenibacillus polymyxa* 农用菌剂[J]. 环境工程学报, 2020, 14(9): 2406-2415.

LIU Hao, LI Rui, BAO Lijun, et al. Production of *Paenibacillus polymyxa* biofertilizer using potato starch wastewater for vegetable cultivation[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(9): 2406-2415.

马铃薯淀粉废水资源化制备 *Paenibacillus polymyxa* 农用菌剂

刘浩^{1,2,3}, 李瑞^{2,3,4}, 包丽君^{2,3,4}, 王分分^{2,3,5}, 张旭坡^{2,3,5}, 曲东¹, 白志辉^{2,3,4,*}

1. 西北农林科技大学资源环境学院, 杨凌 712100

2. 中国科学院生态环境研究中心, 环境水质学国家重点实验室, 北京 100085

3. 中国科学院生态环境研究中心, 环境生物技术重点实验室, 北京 100085

4. 中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049

5. 河北科技大学环境科学与工程学院, 石家庄 050018

第一作者: 刘浩(1988—), 男, 博士研究生。研究方向: 微生物肥料。E-mail: lh880330@qq.com

*通信作者: 白志辉(1971—), 男, 博士, 研究员。研究方向: 环境生物技术。E-mail: zhbai@rcees.ac.cn

摘要 马铃薯淀粉废水中含有高浓度的淀粉、蛋白质等有机物。利用马铃薯淀粉废水培养植物促生菌, 是实现其资源化利用的方法。采用单因素方法结合中心复合设计(CCD)的方法, 对废水体积分数(浓度)、培养温度、初始 pH 这 3 个因素进行研究, 优化马铃薯淀粉废水培养 *Paenibacillus polymyxa* EBL06 菌株的适宜生长条件。实验得到马铃薯淀粉废水培养 *P. polymyxa* 的最佳条件: 废水 COD 为 $13.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 初始 pH 为 7.17, 培养温度为 $31.4 \text{ }^\circ\text{C}$ 。该条件下, 培养 21 h 后, 微生物活菌数为 $6.2 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$, 与模型预测结果基本一致, 可以达到《农用微生物菌剂国家标准》(GB 20287-2006)。为了验证该菌剂的应用效果, 进行了蔬菜种植实验。结果表明: *P. polymyxa* 菌剂能有效提高小白菜的产量与品质, 作物鲜重、干重、株高, 以及维生素 C 含量分别提高了 68.6%、13.7%、5.6%、41.3%; 相比于只施用化肥的组, 菌剂同尿素的混施能提高氮肥的利用效率, 小白菜植株中维生素含量提高了 25.3%、硝酸盐含量减少了 15.3%。以上研究结果可为马铃薯淀粉废水的资源化利用, 以及 *P. polymyxa* 菌剂的应用推广提供参考。

关键词 马铃薯淀粉废水; *Paenibacillus polymyxa*; 植物促生菌; 中心复合设计(CCD); 微生物肥料

Paenibacillus polymyxa 是一类宿主广泛的植物促生菌(plant growth-promoting bacteria, PGPB)。由于它能分泌酶、植物激素、多肽类抗生素、功能蛋白等多种植物生理活性物质^[1], 对多种植物真菌、细菌等引起的植物病害具有较好的防治效果^[2]、兼有生物农药和微生物肥料双重作用, 且对人或动植物无致病性, 所以被广泛地用于促进作物生产。很多国家和组织将其认证为可用于农业生产并商业化的微生物^[3-4]。*P. polymyxa* EBL-06 菌株能在植物的叶际和根际定殖, 对多种病原菌都有拮抗作用, 并且能促进植物生长。XU 等^[5]通过生产 *P. polymyxa* 微生物肥料实现了红薯淀粉废水的

收稿日期: 2020-06-29; 录用日期: 2020-07-28

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2018ZX07110); 国家重点研发计划项目(2016YFC0501400)

资源化，探索出一种可行的高浓度有机废水资源化及生物肥料生产方法；该方法生产的微生物肥料有效提升了茶树的产量及茶叶的品质。

马铃薯淀粉废水是指在生产马铃薯淀粉的过程中产生的废液。每产出1 t马铃薯淀粉，就会排出20 t相关废水^[6]。马铃薯淀粉废水中含有大量淀粉、蛋白质、纤维素等有机物^[7]，属于无毒高浓度有机废水。其中，蛋白质含量为2~8 g·L⁻¹，COD为6~30 g·L⁻¹^[8]，SS为8.5~10 g·L⁻¹。废水具有高泡沫、高浓度、高浊度的“三高”特点^[9]。营养丰富的马铃薯淀粉非常适合作为微生物肥料开发材料^[10]。因此，将其用于微生物肥料的开发，既能减少环境污染、减轻废水处理压力，又可实现资源的再利用^[11-13]。席淑淇等^[14]利用马铃薯淀粉废水培养光合细菌生产胡萝卜素，废水COD减小了70%以上。田雅婕^[15]和黄峻榕等^[16]发现，通过培养微生物，可以有效回收马铃薯淀粉废水中的蛋白质，降低废水COD。关晓欢^[17]用马铃薯淀粉废水培养解淀粉芽孢杆菌，在初始pH为7.00~7.50、摇瓶机转速200 r·min⁻¹、温度为36 ℃的条件下培养24 h后，微生物活菌数为2.2×10⁹ cfu·mL⁻¹。

本研究筛选出马铃薯淀粉废水培养解淀粉芽孢杆菌的最佳条件，利用马铃薯淀粉废水培养*P. polymyxa*，实现了废水的资源化，并通过盆栽实验研究*P. polymyxa*菌肥对蔬菜生长及品质的影响，验证了*P. polymyxa*作为菌肥使用效果，以期为马铃薯淀粉废水的资源化利用，以及*P. polymyxa*的应用推广提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验原料

选用同课题组GU等^[18]筛选自小麦叶际的*P. polymyxa* (EBL-06)作为菌株来源。使用的培养基为LB培养基。*P. polymyxa*发酵液活菌含量为6.5×10⁹ cfu·mL⁻¹。马铃薯淀粉废水为取自某马铃薯淀粉加工厂的新鲜高浓度废液。该废液的主要理化指标：pH为5.10，COD为26.7 g·L⁻¹，SS为24.7 g·L⁻¹，EC值为3.32 mS·cm⁻¹，TN为2.15 g·L⁻¹，TP为0.57 g·L⁻¹，总钾1.06 g·L⁻¹。选用小白菜“热抗605”作为盆栽实验作物，使用直径22 cm、高18 cm的塑料花盆进行盆栽实验。

1.2 实验方法

种子液制备：在斜面上刮取一环菌落，利用四区划线法在LB固体培养基上培养单菌落；从固体培养基上挑取单菌落接种于LB液态培养基中；35 ℃下在转速为180 r·min⁻¹的摇床中培养16 h，即微生物对数生长期。活菌数的测定：使用稀释平板涂布法确定活菌数量。COD的测定：依据HJ/T 399-2007，使用消解分光光度法测量。硝酸盐和维生素C含量的测定：使用紫外分光光度法测定，分别在紫外区波长219 nm处和波长265 nm处测量硝酸盐和维生素含量。

1.3 单因素实验

常规生产情况下，影响发酵结果的主要影响因素有：发酵温度、过程pH、通气量、培养时间、种子液接种量、发酵底物的浓度和营养组成等。实验选取废水浓度、发酵体系的初始pH和培养温度3个指标作为活菌数的影响因子，进行单因素初步优化^[19-20]。

取新鲜的高浓度马铃薯淀粉废水(COD为26.7 g·L⁻¹)，加水稀释后废水体积分数为60%(即0.60 L废水加上0.40 L超纯水制备)；制备5组不同pH梯度的马铃薯废水(各50 mL)，调节pH分别为5.00、6.00、7.00、8.00、9.00；115 ℃的高温下蒸汽灭菌20 min，然后自然降温到室温，并接种2%的*P. polymyxa*种子液；在恒温30 ℃、转速180 r·min⁻¹的摇床中培养24 h；最后测量各梯度的微生物活菌数。

制备体积分数为60%的马铃薯淀粉废水50 mL共5组，调节pH至8.00；115 ℃的高温下蒸汽灭菌20 min，自然降温后按2%接种量接种*P. polymyxa*种子液；以180 r·min⁻¹的转速，分别在24、28、32、36、40 ℃温度下进行摇床培养；24 h后测量各梯度的微生物活菌数。

制备5组浓度梯度的马铃薯淀粉废水各50 mL, 废水体积分数分别为20%、40%、60%、80%、100%; 调节pH至8.00, 在115 ℃的高温下蒸汽灭菌20 min; 自然降温后按接种2%的*P. polymyxa*种子液; 最后在恒温30 ℃、转速180 r·min⁻¹的摇床中培养24 h, 测量各梯度的微生物活菌数。

1.4 中心复合实验设计

利用Design Expert 8.0软件中的中心复合设计实验^[21-22], 依据单因素实验结果, 设计pH、废水体积分数、稀释度这3个影响因子的层次及范围, 最终确定5个设计层次, 共20组实验处理。表1为各组的处理详细信息。

表1 中心复合设计处理选项及结果
Table 1 Central composite design arrangements and responses

序号	pH		温度		废水体积分数		活菌数(10 ⁹ cfu·mL ⁻¹)	
	实际值	设计层次	实际值/℃	设计层次	实际值/%	设计层次	实际值	预测值
1	7	0	40	1.682	50	0	4.9	4.52
2	5.81	-1	36.76	1	73.78	1	2.61	2.98
3	7	0	32	0	50	0	6.25	6.27
4	8.19	1	27.24	-1	73.78	1	4.36	3.95
5	7	0	32	0	50	0	6.56	6.27
6	5.81	-1	27.24	-1	26.21	-1	2.46	2.61
7	8.19	1	27.24	-1	26.21	-1	3.99	3.59
8	7	0	32	0	50	0	6.27	6.27
9	7	0	32	0	10	-1.682	2.37	2.25
10	7	-1.682	32	0	50	0	2.33	1.79
11	7	0	24	-1.682	50	0	4.46	4.87
12	5.81	-1	36.76	1	26.22	-1	2.37	2.76
13	7	0	32	0	50	0	6.34	6.27
14	5.81	-1	27.24	-1	73.78	1	2.32	2.27
15	7	0	32	0	50	0	5.8	6.27
16	7	0	32	0	90	1.682	2.61	2.74
17	7	0	32	0	50	0	6.39	6.27
18	9	1.682	32	0	50	0	2.41	2.96
19	8.19	1	36.76	1	26.22	-1	2.45	2.47
20	8.19	1	36.76	1	73.78	1	3.57	3.39

1.5 盆栽实验设计

将采集的土壤干燥过筛, 随后将处理好的土壤分成42份, 每份3.5 kg, 分别装入盆栽花盆中。盆栽实验根据施肥不同分为7组处理: 1) CK组, 水500 mL; 2) S组, 稀释25倍的马铃薯淀粉废水500 mL(相当于0.09 g 尿素); 3) C组, 化肥常规施肥(每盆0.54 g 尿素, 相当于田间每亩投加30 kg 尿素, 水500 mL); 4) C+M组, 常规施肥(每盆0.30 g 尿素)+稀释50倍发酵液500 mL(相当于0.05 g 尿素); 5) C+SM组, 常规施肥(每盆0.3 g 尿素)+灭菌发酵液稀释50倍500 mL(相当于0.05 g 尿素); 6) H组, 发酵液稀释25倍500 mL(相当于0.09 g 尿素); 7) M组, 发酵液稀释50倍500 mL(相当于0.05 g 尿素); 8) L组, 发酵液稀释100倍500 mL(相当于0.02 g 尿素)。每个处理均有6个平行, 每个平行中栽种5株实验作物。实验于8月下旬种植, 10月上旬收获。

2 结果与讨论

2.1 不同单因素对马铃薯淀粉废水中菌体生长的影响

图1~图3为单因素实验结果。在废水体积分数为40%、60%时，马铃薯淀粉废水中活菌数较高，分别为 6.0×10^9 cfu·mL⁻¹和 6.2×10^9 cfu·mL⁻¹，二者无明显差异。因此，初步认为菌体生长的最佳废水体积分数为50%。初始pH和培养温度的单因素实验中，在初始pH为7和培养温度为32℃的条件下，马铃薯淀粉废水中活菌数达到了较高水平，分别为 6.1×10^9 cfu·mL⁻¹和 6.3×10^9 cfu·mL⁻¹。综合以上3组单因素实验结果，初步认为马铃薯淀粉培养

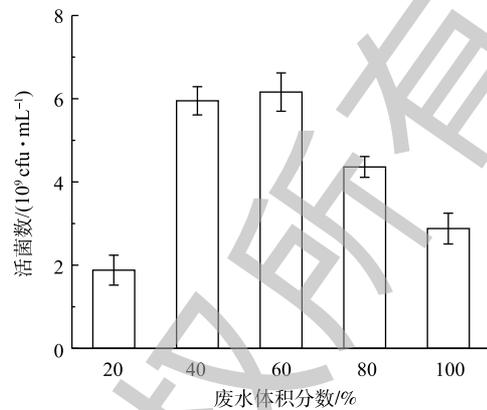


图1 废水含量对*P. polymyxa*生长的影响
Fig. 1 Effect of wastewater content on production of *P. polymyxa*

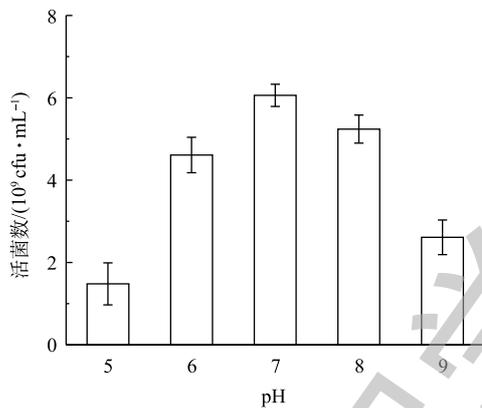


图2 初始pH对*P. polymyxa*生长的影响
Fig. 2 Effect of initial pH value of media on production of *P. polymyxa*

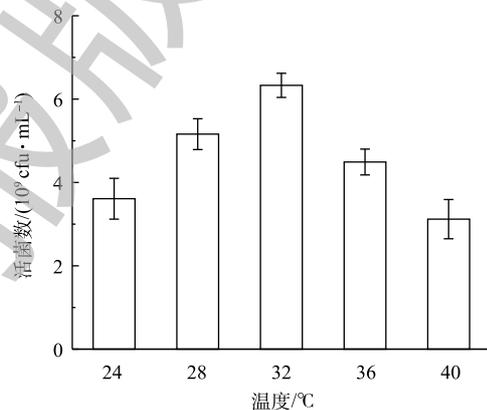


图3 不同温度对*P. polymyxa*生长的影响
Fig. 3 Effect of different temperature on production of *P. polymyxa*

*P. polymyxa*的最佳条件为：废水体积分数50%；初始pH为7.00；培养温度为32℃。

2.2 中心复合实验结果与分析

在单因素实验结果基础上，通过Design Expert 8.0建立二阶响应曲面模型，以活菌数为因变量(Y)，以pH(X_1)、温度(X_2)、废水体积分数(X_3)为自变量，建立二阶响应曲面方程，得到回归模型(式(1))。

$$Y = 6.27 + 0.35X_1 - 0.10X_2 + 0.15X_3 - 0.31X_1X_2 + 0.17X_1X_3 + 0.14X_2X_3 - 1.37X_1^2 - 0.56X_2^2 - 1.33X_3^2 \quad (1)$$

式中：Y为活菌数，是因变量， 10^9 cfu·mL⁻¹； X_1 、 X_2 、 X_3 分别为自变量pH、温度、废水体积分数。

由式(1)可确定最佳工艺条件：废水体积分数为51.4%，pH为7.17，培养温度31.4℃。预测出最大培养菌数为 6.30×10^9 cfu·mL⁻¹。

中心复合实验得到的响应面及等高线见图4。其中，图4(a)和图4(b)为废水体积分数及pH交互作用对菌体发酵效果的影响，表明当温度值固定时(32℃)，响应面存在峰值；此时的废水体积分数为50%，pH为7.00，活菌数为 6.3×10^9 cfu·mL⁻¹。图4(c)和图4(d)为废水体积分数及温度交互作用对菌体发酵效果的影响，表明当pH固定时(7.00)，响应面存在峰值，此时的废水体积分数为50%，培养温度为32℃，活菌数峰值为 6.3×10^9 cfu·mL⁻¹。图4(e)和图4(f)为温度及pH交互作用对

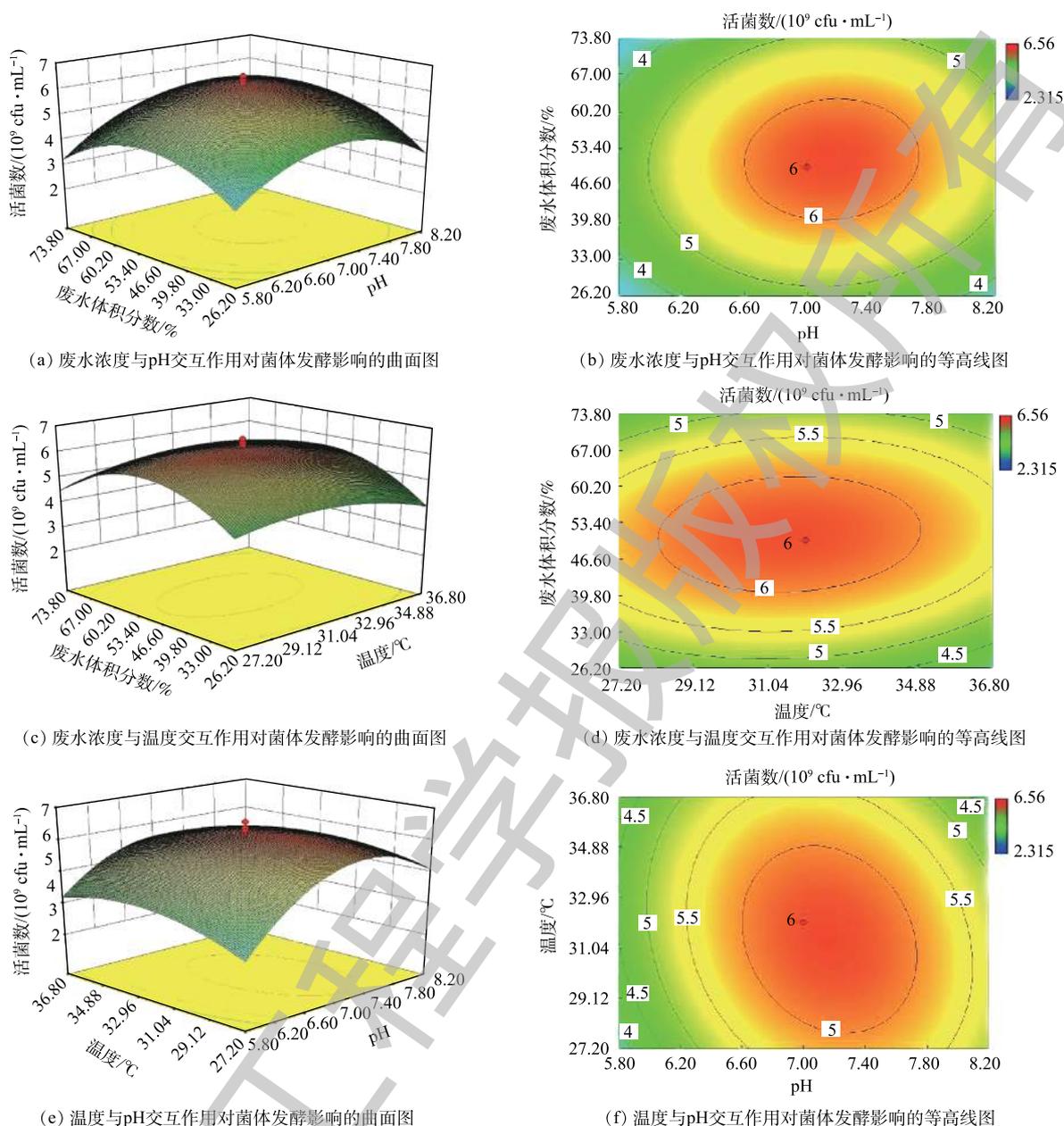


图4 各因素对菌体活菌数响应面图及等高线

Fig. 4 Response surface and contour plot showing influence on living cell value

菌体发酵效果的影响,表明当废水体积分数固定时(50%),响应面存在峰值,此时温度为32℃,pH为7.00,活菌数为 6.3×10^9 cfu·mL⁻¹。图4中各组等值线均为椭圆形,表明两两因素间交互作用对菌体发酵存在明显影响。中心复合实验结果接近回归模型预测的最佳条件和活菌数数量。

中心复合实验设计所建立的模型差异性分析结果见表2。该数学模型 $P=0.0001 < 0.01$,故可判断活菌数与pH(X_1)、温度(X_2)、废水体积分数(X_3)这3个因子的回归方程关系为极显著。根据数学模型的回归方程决定系数 $R^2=0.9645$,表明该模型可以解释96.45%响应值的变化,回归方程拟合结果良好。失拟项 $P=0.0531 > 0.05$,失拟关系不显著,表明建立的数学模型拟合过程中出现异常误差比例小,所得模型可信度高。此外,数学模型的变异系数 $CV=10.9% < 15%$; R^2_{Adj} 与 R^2_{Pred} 差值为0.165,差值 < 0.2 ,这2项结果说明了建立的响应面模型具有较高的可信度与精密度。

表 2 *P. polymyxa* 中心设计预测数据差异性分析Table 2 Analysis of variance for the predictive equation for production of *P. polymyxa* biomass

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p值	显著性
模型	52.72	9	5.86	30.22	<0.000 1	显著
(A) pH	1.65	1	1.65	8.52	0.015 3	不显著
(B)温度	0.15	1	0.15	0.75	0.405 3	不显著
(C)稀释度	0.29	1	0.29	1.49	0.249 6	不显著
AB	0.80	1	0.80	4.15	0.069 1	不显著
AC	0.24	1	0.24	1.26	0.288 7	不显著
BC	0.16	1	0.16	0.83	0.383 4	不显著
A ²	27.20	1	27.20	140.38	<0.000 1	不显著
B ²	4.46	1	4.46	23.02	0.000 7	不显著
C ²	25.55	1	25.55	131.84	<0.000 1	显著
残差	1.94	10	0.19			
矢拟	1.61	5	0.32	4.89	0.053 1	不显著
误差	0.33	5	0.07			
总和	54.65	19				

注: 变异系数(CV)=10.9%; 决定系数 $R^2=0.964 5$; 调整确定系数 $R^2=0.932 6$; 预测确定系数 $R^2=0.767 2$ 。

2.3 生长曲线的测定及 COD 和初始 pH 随时间变化曲线

为验证中心复合实验所预测的菌体最佳发酵条件及发酵菌体过程中对 COD 的去除效果, 在预测的最佳发酵条件下, 测得菌体发酵的生长曲线及 COD 的变化曲线。最佳发酵条件为, 马铃薯废水体积分数为 51.4%(COD=13.7 g·L⁻¹), pH 调节为 7.17, 培养温度为 31.4 °C, 灭菌后接种 2% *P. polymyxa* 种子液, 放入 180 r·min⁻¹ 摇床培养。取样间隔为 3 h, 分别测定样品中活菌数及吸光度。图 5 为测量得到马铃薯淀粉废水培养 *P. polymyxa* 的生长曲线。通过生长曲线的测定, 可得出 3~6 h 为培养 *P. polymyxa* 的生长延迟期; 6~21 h 为培养 *P. polymyxa* 的生长对数期; 在 21~24 h 为 *P. polymyxa* 繁殖稳定期, 测定的活菌数峰值为 6.18×10⁹ cfu·mL⁻¹, 基本符合预测值。图 6 为 *P. polymyxa* 培养过程中马铃薯淀粉废水的 COD 和 pH 变化, 废水中 COD 随着培养的进行逐渐减少。培养 27 h 后, COD 从最初的 13.7 g·L⁻¹ 降至 5.1 g·L⁻¹, 说明能较好地去除粉马铃薯淀粉中的

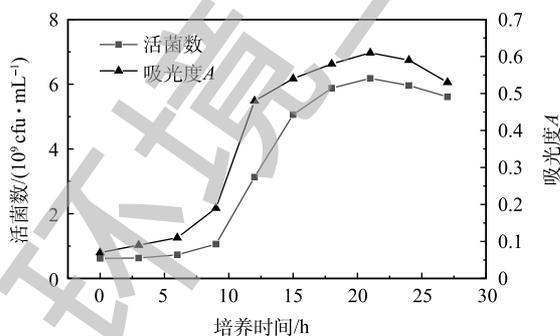
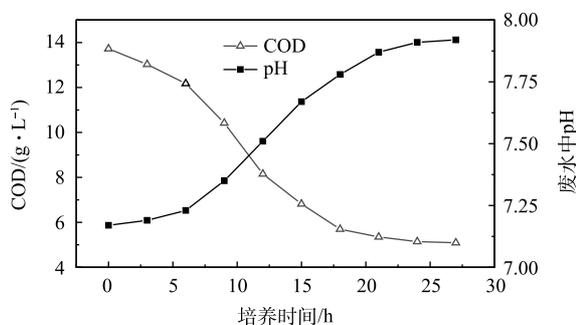
图 5 最佳条件下 *P. polymyxa* 生长曲线Fig. 5 Growth curve of *P. polymyxa* under the best fermentation conditions

图 6 COD 和 pH 随时间变化曲线

Fig. 6 Time variation curves of pH and COD

COD(去除率为62.8%)。废水pH随着培养的进行而逐渐上升,在培养24h后,pH升至7.91,反应体系呈弱碱性。

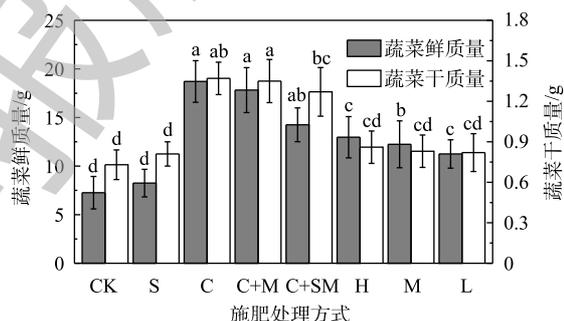
2.4 *P. polymyxa* 菌剂对蔬菜生长与品质的影响

1) *P. polymyxa* 菌剂对蔬菜鲜质量、干质量及株高的影响。*P. polymyxa* 菌剂对蔬菜鲜质量、干质量及株高的影响:图7与图8分别为不同施肥处理对蔬菜质量和株高的影响。各处理组的蔬菜鲜质量明显高于CK。在相同施氮水平下,相比于空白组,*P. polymyxa* 菌剂与尿素减量混施(C+M)处理组蔬菜鲜质量增长了145.5%;相比于CK组,尿素组(C)的蔬菜鲜质量增长了157.7%。两者结果相近,说明菌剂也能代替一部分肥料促进植物生长,即表明微生物菌肥替代部分化肥是切实可行的。相比于CK组,只施用菌剂的处理(H、M和L)蔬菜鲜质量增幅分别为78.7%、68.6%、55.0%。这可能是由于生物菌肥没有提供足够的氮元素来满足植物生长及合成蛋白质的需要^[23],导致单独使用*P. polymyxa* 菌肥的增产相较于尿素做肥料时效果较差。相比于CK组,灭活的菌肥处理组(C+SM)蔬菜鲜质量增幅为96.3%,增产效果相较于C+M处理组较差。这可能是由于菌肥中的*P. polymyxa* 在生长过程中分泌植酸酶等植物生长物质,促进了植物的生长^[24]。

与对照组CK相比,处理组C、C+M、C+SM均能明显提高蔬菜的质量,增幅分别为87.7%、84.9%、74.0%,处理组H、M、L的增幅分别为17.8%、13.7%、12.3%。因此,微生物菌肥同化肥混用能有效提高植物的质量,单独施用微生物菌肥对植物质量增产有限。在蔬菜株高上,施用化肥的3个处理组C、C+M和C+SM间无明显差距,只施用微生物菌肥的3个处理组H、M、L的植物株高明显低于施用化肥组,故认为施用化肥可有效提高蔬菜株高。

2) *P. polymyxa* 菌肥对蔬菜硝酸盐含量的影响。图9为不同处理组中蔬菜硝酸盐的含量,表明仅施用化肥处理组(C)蔬菜的硝酸盐积累量最高,为 $1.74 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。这说明施加氮肥会造成蔬菜中氮素明显增加。在相同施氮水平下,C+M处理组蔬菜硝酸盐含量为 $1.47 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,相比于只施加尿素的处理组C,蔬菜内硝酸盐积累降低了15.3%。*P. polymyxa* 在生长过程中会消耗氮素产生氨基酸、酯类等物质^[25]。由于植物在利用土壤中的氨基酸这一过程中会消耗较少的能量,所以植物会优先吸收土壤中氨基酸。*P. polymyxa* 将土壤中氮素消耗转变为氨基酸,既能减少蔬菜中硝酸盐的积累,又能提高蔬菜的产量^[26-27]。这可能是微生物菌肥降低蔬菜硝酸盐积累的原因。

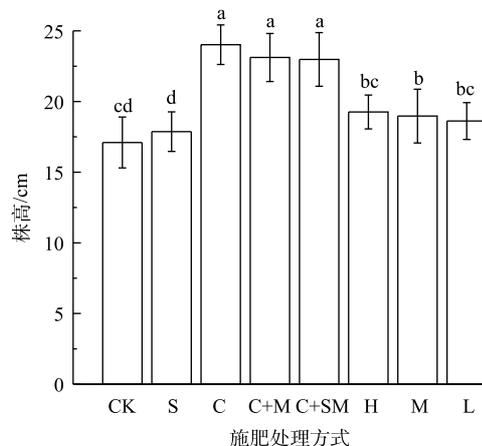
3) *P. polymyxa* 菌肥对蔬菜维生素C含量的影响。维生素C是蔬菜品质的重要评估指标。分析蔬菜中维生素C的含量,有助于鉴定微生物菌肥对蔬菜品质的影响^[28]。图10为不同处理组中蔬菜维生素C的含量,施用微生物菌肥处理组(H)蔬菜维生素含量最高。相比于空白



注:不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

图7 不同处理对蔬菜质量的影响

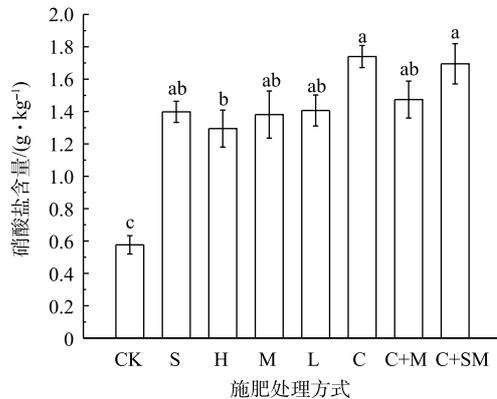
Fig. 7 Effect of different treatments on weight of vegetables



注:不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

图8 不同处理对蔬菜株高的影响

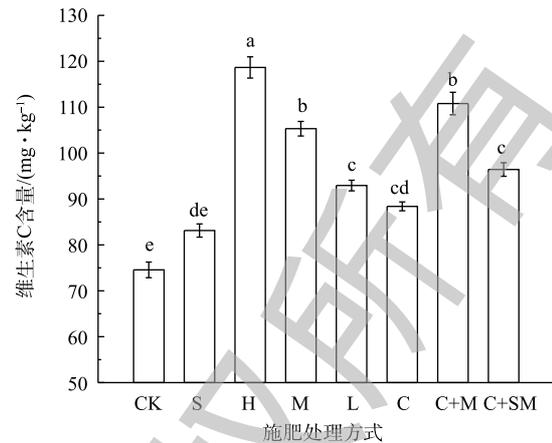
Fig. 8 Effect of different treatments on plant height of vegetables



注:不同字母表示有显著性差异($P<0.05$)。

图9 不同处理对蔬菜硝酸盐含量的影响

Fig. 9 Effect of different treatments on nitrate content of vegetables



注:不同字母表示有显著性差异($P<0.05$)。

图10 不同处理对蔬菜维生素C含量的影响

Fig. 10 Effect of different treatments on vitamin C content of vegetables

处理组 CK, 蔬菜中维生素 C 的含量增加了 59.1%; 相比于只施用尿素的组 C, 蔬菜中的维生素 C 含量增加了 34.2%。施用化肥能提高蔬菜的产量, 但无法有效提高蔬菜品质, 而微生物菌肥在提高蔬菜品质上有明显的优势。

3 结论

1) 通过响应曲面法得到的马铃薯废水的最佳培养条件为: 废水含量 51.4%, 初始 pH 7.17, 培养温度 31.4 °C。在该条件下培养 21 h 后, 微生物活菌数为 6.2×10^9 cfu·mL⁻¹, 基本吻合模型预测结果, 产品满足国标要求。

2) 盆栽实验结果表明, 菌剂产品能有效提高蔬菜的产量与品质。与空白组相比, 蔬菜的鲜重、干重、株高, 以及维生素 C 含量分别提高了 68.6%、13.7%、5.6%、41.3%。菌剂与尿素混施的效果最佳。相同氮量情况下, 小白菜中维生素含量较纯尿素处理提高了 25.3%, 硝酸盐含量降低了 15.3%。

3) 利用马铃薯淀粉废水生产微生物菌剂的方法是可行的。菌剂既能保障作物产量, 又能提升作物的品质。本研究可为马铃薯淀粉废水的处理与资源化利用, 以及 *P. polymyxa* 菌剂的应用推广提供参考。

参考文献

- [1] EASTMAN A W, HEINRICH D E, YUAN Z C. Comparative and genetic analysis of the four sequenced *Paenibacillus polymyxa* genomes reveals a diverse metabolism and conservation of genes relevant to plant-growth promotion and competitiveness[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 851.
- [2] 陈雪丽, 王光华, 金剑, 等. 多粘类芽孢杆菌BRF-1和枯草芽孢杆菌BRF-2对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果[J]. *中国生态农业学报*, 2008, 16(2): 446-450.
- [3] BENT E, BREUIL C, ENEBAK S, et al. Surface colonization of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia* [Dougl. Engelm.]) roots by *Pseudomonas fluorescens* and *Paenibacillus polymyxa* under gnotobiotic conditions[J]. *Plant and Soil*, 2002, 241(2): 187-196.

- [4] 杨少波, 刘训理. 多粘类芽孢杆菌及其产生的生物活性物质研究进展[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(10): 1621-1625.
- [5] XU S, BAI Z, JIN B, et al. Bioconversion of wastewater from sweet potato starch production to *Paenibacillus polymyxa* biofertilizer for tea plants[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4(1): 4131.
- [6] 张煜欣, 刘慧燕, 方海田, 等. 马铃薯淀粉加工的副产物及资源化利用现状[J]. *中国果菜*, 2020, 40(1): 46-52.
- [7] 李芳蓉, 贺莉萍, 王英, 等. 马铃薯淀粉生产废水资源化处理及综合利用[J]. *粮食与饲料工业*, 2018, 12(6): 31-37.
- [8] 张泽俊, 苏春元, 刘期成. 马铃薯淀粉厂工艺废水的综合处理及利用研究[J]. *食品科学*, 2004, 25(Z1): 134-137.
- [9] WU D. Recycle technology for waste residue in potato starch processing: A review[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2016, 31: 108-112.
- [10] 颜东方, 俞建民. 马铃薯淀粉废水生产微生物絮凝剂菌株筛选及其营养条件优化[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(3): 198-206.
- [11] NITSCHKE M, PASTORE G M. Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97(2): 336-341.
- [12] 范海延, 梁胜贤, 王栋, 等. 利用甘薯淀粉生产废水培养侧孢短芽孢杆菌的研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2015, 46(3): 352-356.
- [13] 沈连峰, 王谦, 高俊红, 等. 淀粉废水处理技术研究进展[J]. *河南农业大学学报*, 2006, 40(4): 440-444.
- [14] 席淑淇, 成玮, 刘培富. 利用废水生产光合细菌提取天然色素的研究[J]. *污染防治技术*, 1997, 10(2): 65-67.
- [15] 田雅婕. 酵母发酵马铃薯淀粉加工废水生产SCP的试验研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2017.
- [16] 黄峻榕, 高洁, 龚频, 等. 马铃薯淀粉废水中蛋白质回收方法的研究进展[J]. *食品科技*, 2012, 37(2): 89-92.
- [17] 关晓欢. 柠檬酸废水和马铃薯淀粉废水资源化培养解淀粉芽孢杆菌及其应用[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2013.
- [18] GU L, BAI Z, JIN B, et al. Production of a newly isolated *Paenibacillus polymyxa* biocontrol agent using monosodium glutamate wastewater and potato wastewater[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, 22(9): 1407-1412.
- [19] 洪鹏, 安国栋, 胡美英, 等. 解淀粉芽孢杆菌HF-01发酵条件优化[J]. *中国生物防治学报*, 2013, 29(4): 569-578.
- [20] 李亚娜, 林永成, 余志刚. 响应面分析法优化羊栖菜多糖的提取工艺[J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2004, 32(11): 28-32.
- [21] DALCIN M G, PIRETE M, LEMOS D A, et al. Evaluation of hexavalent chromium removal in a continuous biological filter with the use of central composite design (CCD)[J]. *Journal of Environmental Management*, 2011, 92(4): 1165-1173.
- [22] 陈子爱, 邓良伟, 贺莉. 硫氮比对废水脱氮与沼气脱硫耦联功能菌的影响[J]. *环境科学*, 2011, 32(5): 1394-1401.
- [23] XIAOHUI F A N, ZHANG S, XIAODAN M O, et al. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria and N source on plant growth and N and P uptake by tomato grown on calcareous soils[J]. *Pedosphere*, 2017, 27(6): 1027-1036.
- [24] 陈敏洁, 姜晓茹, 李亚飞, 等. 多粘类芽孢杆菌与化肥不同配施处理对生菜生长和品质的影响[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 47(3): 92-98.
- [25] 宿燕明, 彭霞薇, 吕欣, 等. 多粘类芽孢杆菌对油菜中硝酸盐含量的影响[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(12): 144-148.
- [26] 郭开秀, 姚春霞, 陈亦, 等. 上海市秋季蔬菜硝酸盐含量及风险摄入评估[J]. *环境科学*, 2011, 32(4): 1177-1181.

[27] 孙赫阳, 万忠梅, 刘德燕, 等. 有机肥与无机肥配施对潮土N₂O排放的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(3): 1474-1481.

[28] 王冰清, 尹能文, 郑棉海, 等. 化肥减量配施有机肥对蔬菜产量和品质的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(1): 242-247.

(本文编辑: 靳炜, 郑晓梅)

Production of *Paenibacillus polymyxa* biofertilizer using potato starch wastewater for vegetable cultivation

LIU Hao^{1,2,3}, LI Rui^{2,3,4}, BAO Lijun^{2,3,4}, WANG Fenfen^{2,3,5}, ZHANG Xupo^{2,3,5}, QU Dong¹, BAI Zhihui^{2,3,4,*}

1. College of Resource and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

2. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

3. Key Laboratory of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

4. College of Environment & Resources, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

5. College of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China

*Corresponding author, E-mail: zhai@rcees.ac.cn

Abstract Potato starch wastewater contains high concentration of starch, protein and other organic matter. Using potato starch wastewater to cultivate plant growth-promoting bacteria is a method to realize its resource utilization. The growth conditions of *Paenibacillus polymyxa* EBL06 strain cultured in potato starch wastewater were optimized using a combined single-factor and central composite design (CCD) approach, in which three key factors, i.e., wastewater volume fraction (concentration), culture temperature and initial pH, were focused. In this context, the optimum conditions for the culture of *P. polymyxa* obtained from the experiment were as follows: COD concentration 13.7 g·L⁻¹, initial pH 7.17, culture temperature 31.4 °C. Under this condition, the number of living bacteria was 6.2×10⁹ cfu·mL⁻¹, which was consistent with the CCD predictions, and satisfying the national standard of agricultural microbial agents (GB 20287-2006). To verify the application effect of the microbial agent, the experiment of vegetable planting was then carried out. The results showed that the *P. polymyxa* biofertilizer could significantly increase the yield and quality of pakchoi; its fresh weight, dry weight, plant height and vitamin C content increased by 68.6%, 13.7%, 5.6% and 41.3%, respectively; compared with the fertilization of chemical fertilizer only, the mixed fertilization of *P. polymyxa* biofertilizer and urea fertilizer could improve the nitrogen utilization efficiency, and resulted in an increment in the content of vitamin in pakchoi plant by nearly 25.3%, and meanwhile, contributed to a decrease in the content of nitrate decreased by 15.3%. Overall, this study provides a meaningful reference for the resource utilization of potato starch wastewater, as well as the application and popularization of *P. polymyxa*.

Keywords potato starch wastewater; *Paenibacillus polymyxa*; plant growth-promoting bacteria; central composite design (CCD); biofertilizer