

酶促生产高活性生物有机肥的方法

技术领域

本发明涉及生物发酵技术领域，具体涉及酶促生产高活性生物有机肥的方法。

背景技术

生物有机肥是指特定功能微生物与主要以动植物残体(如畜禽粪便、农作物秸秆等)为来源并经无害化处理、腐熟的有机物料复合而成的一类兼具微生物肥料和有机肥效应的肥料。其特点是在优质的有机肥(腐熟后)中，再添加(二次添加)功能微生物。生物有机肥的主要作用包括提高作物产量，改善作物品质；提高土壤肥力，改善土壤微生物生态系统；减少植物病虫害的发生。生物有机肥的执行标准是 NY884-2012，其核心指标是有效活菌数 ≥ 0.20 亿 cfu /g。现有的技术方案多采用槽式堆置发酵法。

现有技术方案主要存在以下问题：

1. 发酵基质受限。使用的菌剂及工艺主要是针对畜禽粪便、农作物秸秆和农业有机废弃物等来设计的，不能有效处理胶原蛋白、角蛋白等构象复杂的高分子蛋白。

2. 功能微生物作用缓慢。二次添加的功能微生物多为芽孢或孢子等休眠体，由于以异养菌为主，所以在施用到土壤中后，活化比较困难，导致其作用相当缓慢。

3. 成本较高。通常采用直投微生物菌剂来生产生物有机肥，因此购买菌剂的成本及时间负担都比较重，以年产一万吨生物有机肥为例，仅菌剂就需要 150 万元左右。

发明内容

为解决现有技术方案存在的问题，本发明提供一种酶促生产高活

性生物有机肥的方法，所述方法包括以下步骤：

(1)废弃蛋白物预处理：向废弃蛋白物中添加蛋白酶，得到发酵物料；

(2)发酵菌种活化：将枯草芽孢杆菌、乳酸菌以及木霉菌分别活化后合并，合并后有效活菌数 ≥ 0.40 亿 cfu/g；

(3)发酵：将所述发酵物料与活化后的菌种混合，发酵，温度在 40°C 以下时，二次加菌。

作为本发明的一种具体实施方案，所述废弃蛋白物是指碎牛皮、牛毛、牛蹄甲、废弃肉渣、角质等含有胶原蛋白、角蛋白等构象复杂的高分子蛋白的物质。可对废弃蛋白物进行切割、粉碎处理。

作为本发明的一种具体实施方案，在步骤(1)中，在添加蛋白酶前，还加入发酵基质；所述发酵基质为以下中的一种或多种：食用菌糠、米糠、谷糠、花生麸、黄豆粕、甘蔗秸秆粉和蘑菇渣等，优选食用菌糠、米糠、花生麸和黄豆粕中的一种或多种；

优选地，所述废弃蛋白物与所述发酵基质的质量比为 1:(1~3)，优选为 1:(1.2~2.5)，进一步优选为 1:(1.5~2)，更优选为 1:2。

作为本发明的一种具体实施方案，所述蛋白酶为碱性蛋白酶。

作为本发明的一种具体实施方案，在步骤(1)中，所述蛋白酶的加入量为所述废弃蛋白物质量的 0.08%~0.15%，优选为 0.10%~0.12%，更优选为 0.10%；优选地，在加入蛋白酶的同时，还可以添加干肠衣粉，所述干肠衣粉的加入量为所述废弃蛋白物质量的 3%~6%，优选为 5%。

作为本发明的一种具体实施方案，在步骤(1)中，在添加蛋白酶前，将废弃蛋白物加碱煮沸；优选地，所述碱的质量浓度为 0.03%~0.08%，优选为 0.05%~0.08%，更优选为 0.05%；进一步优选地，煮沸时间为 25~40 分钟，优选为 30~35 分钟，更优选为 30 分钟。优选地，在添加蛋白酶前，将废弃蛋白物经高温转鼓做初级溶解，然

后加碱煮沸。

作为本发明的一种具体实施方案,所述发酵物料的碳氮质量比为20~30:1,优选为25~28:1,更优选为25:1。

作为本发明的一种具体实施方案,可通过物料或发酵基质的搭配来控制水分,以更好的调节菌种发酵所需要的碳氮比,优选地,发酵物料的水分含量为58%~68%,优选为60%~65%。

作为本发明的一种具体实施方案,在步骤(2)中,将枯草芽孢杆菌用NB培养液增殖,将乳酸菌用MRS培养液增殖,然后分别加入到麸皮与豆粕的组合物中进行扩培活化;将木霉菌加入到麸皮与豆粕的组合物中进行活化。

在发酵菌种活化的步骤中,将枯草芽孢杆菌、乳酸菌分别用培养液增殖,然后分别加入到麸皮与豆粕的组合物中进行扩培活化,这样采用液固二相发酵法来活化菌种,可以起到事半功倍的效果。

作为本发明的一种具体实施方案,麸皮与豆粕的组合物的含水量为50%~70%,麸皮与豆粕的质量比为(8~10):1。

作为本发明的一种具体实施方案,在步骤(3)的二次加菌中,可以加入枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌和光合细菌等中的一种或多种;优选地,枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌可分别经过NB培养液活化后添加,光合细菌可直接喷洒;更优选地,将以上各菌株均经过活化后添加。

在第二次加菌时,再次加入部分已活化的有益微生物使得肥料的生物活性迅速又持久。

本发明所用的NB培养液和MRS培养液为本领域通常使用的培养液,均可市售获得。

本发明的另一个目的是提供由上述方法生产得到的高活性生物有机肥。

本发明的技术方案中,采用酶和微生物共同作用,即采用酶促生

物技术，有效地降解了包括胶原蛋白、角蛋白等构象复杂的高分子蛋白。

本发明的技术方案中，对蛋白废弃物原料进行酶解预处理，同时添加已活化的微生物菌种，缩短了发酵时间，提高了发酵效率。

本发明至少具有以下有益效果之一：

1. 活性高。有效活菌数可达 0.40 亿 cfu/g，远高于 NY884-2012 标准基本要求的 0.20 亿 cfu/g。
2. 肥效好。有效活菌的营养体和休眠体混合组成，施入土壤后，营养体可即时发挥作用，而休眠体可在后续长效发挥作用。
3. 成本低。采用酶促生物技术，节约发酵时间 10 天左右，同时采用活化菌种，可节约一半以上的商品菌剂成本。
4. 生产环境友好。发酵过程中添加乳酸菌、光合细菌等，可有效降解氨氮及硫化氢，对环境友好。

附图说明

图 1 为本发明的酶促生物技术生产高活性生物有机肥的方法的流程图。

具体实施方式

下面通过实施例对本发明作进一步说明，应该理解的是，本发明实施例所述制备方法仅仅是用于说明本发明，而不是本发明的限制，在本发明的构思前提下对本发明制备方法的简单改进都属于本发明要求保护的范围。

以下实施例的流程图参见图 1。

实施例 1

以日处理 20 吨废弃蛋白物生产高活性生物有机肥为例：

1. 废弃蛋白物预处理：将 20 吨废弃蛋白物(碎牛皮、牛毛、牛蹄甲)切割、粉碎到 1cm~2cm，置于塑料罐中，加 0.05% NaOH 碱液煮沸 30 分钟，然后与 30 吨食用菌糠、10 吨米糠混和，添加 20 千克碱

性蛋白酶。

2. 调整水分：用食用菌糠将预处理后物料的水分调整到 60%，得到发酵物料，该发酵物料中的碳氮比为 25:1。

3. 发酵菌种活化：取枯草芽孢杆菌、乳酸菌菌种各 10 克，分别用 5000 毫升 NB 培养液和 MRS 培养液增殖，然后再分别添加到 50 千克含水量为 60%的麸皮:豆粕(9:1)中扩培，得到 100 千克活化的菌种；取木霉菌 1 千克加到 20 千克含水量为 60%的麸皮:豆粕(9:1)中活化；将活化后的菌种合并，有效活菌数 ≥ 0.40 亿 cfu/g。

4. 建堆发酵：将发酵物料与活化后的菌种混合，搅拌均匀，建堆，平堆高度 1.2 米，宽度 2.5 米，适时翻抛，使温度不超过 70℃，7 天后温度开始缓慢下降，待温度降低到 40℃左右，二次加菌，枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌经过 NB 培养液活化后添加，光合细菌直接喷洒。

5. 腐熟后加工。低温干燥(低于 40℃)至含水量 $\leq 30\%$ ，粉碎，检验合格后即可计量分装。最终可获得高活性生物有机肥 50 吨。

实施例 2

以日处理 25 吨废弃蛋白物生产高活性生物有机肥为例：

1. 废弃蛋白物预处理：将 25 吨废弃蛋白物(碎牛皮、牛毛、牛蹄甲)切割、粉碎到 2cm，置于塑料罐中，加 0.06% NaOH 碱液煮沸 35 分钟，然后与 30 吨食用菌糠、7.5 吨谷糠混和，添加 30 千克碱性蛋白酶。

2. 调整水分：用谷糠将预处理后物料的水分调整到 65%，得到发酵物料，该发酵物料中的碳氮比为 23:1。

3. 发酵菌种活化：取枯草芽孢杆菌、乳酸菌菌种各 12 克，分别用 5000 毫升 NB 培养液和 MRS 培养液增殖，然后再分别添加到 50 千克含水量为 65%的麸皮:豆粕(8:1)中扩培，得到 100 千克活化的菌种；取木霉菌 1.2 千克加到 20 千克含水量为 65%的麸皮:豆粕(8:1)中

活化；将活化后的菌种合并，有效活菌数 ≥ 0.42 亿 cfu/g。

4. 建堆发酵：将发酵物料与活化后的菌种混合，搅拌均匀，建堆，平堆高度 1.5 米，宽度 2.5 米，适时翻抛，使温度不超过 70℃，7 天后温度开始缓慢下降，待温度降低到 40℃左右，二次加菌，枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌经过 NB 培养液活化后添加，光合细菌直接喷洒。

5. 腐熟后加工。低温干燥(低于 40℃)至含水量 $\leq 30\%$ ，粉碎，检验合格后即可计量分装。最终可获得高活性生物有机肥 55 吨。

实施例 3

以日处理 15 吨废弃蛋白物生产高活性生物有机肥为例：

1. 废弃蛋白物预处理：将 15 吨废弃蛋白物(碎牛皮、牛毛、牛蹄甲)切割、粉碎到 1cm，置于塑料罐中，加 0.03% NaOH 碱液煮沸 30 分钟，然后与 10 吨谷糠、8 吨蘑菇渣混和，添加 12 千克碱性蛋白酶。

2. 调整水分：用食用菌糠将预处理后物料的水分调整到 58%，得到发酵物料，该发酵物料中的碳氮比为 28:1。

3. 发酵菌种活化：取枯草芽孢杆菌、乳酸菌菌种各 10 克，分别用 5000 毫升 NB 培养液和 MRS 培养液增殖，然后再分别添加到 50 千克含水量为 50%的麸皮:豆粕(10:1)中扩培，得到 100 千克活化的菌种；取木霉菌 1 千克加到 20 千克含水量为 50%的麸皮:豆粕(10:1)中活化；将活化后的菌种合并，有效活菌数 ≥ 0.40 亿 cfu/g。

4. 建堆发酵：将发酵物料与活化后的菌种混合，搅拌均匀，建堆，平堆高度 1.2 米，宽度 2.5 米，适时翻抛，使温度不超过 70℃，7 天后温度开始缓慢下降，待温度降低到 40℃左右，二次加菌，枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌经过 NB 培养液活化后添加，光合细菌直接喷洒。

5. 腐熟后加工。低温干燥(低于 40℃)至含水量 $\leq 30\%$ ，粉碎，检验合格后即可计量分装。最终可获得高活性生物有机肥 28 吨。

实施例 4

以日处理 30 吨废弃蛋白物生产高活性生物有机肥为例：

1. 废弃蛋白物预处理：将 30 吨废弃蛋白物(碎牛皮、牛毛、牛蹄甲)切割、粉碎到 2cm，置于塑料罐中，加 0.08% NaOH 碱液煮沸 40 分钟，然后与 40 吨食用菌糠、20 吨米糠混和，添加 45 千克碱性蛋白酶。

2. 调整水分：用食用菌糠将预处理后物料的水分调整到 68%，得到发酵物料，该发酵物料中的碳氮比为 20:1。

3. 发酵菌种活化：取枯草芽孢杆菌、乳酸菌菌种各 15 克，分别用 5000 毫升 NB 培养液和 MRS 培养液增殖，然后再分别添加到 50 千克含水量为 60%的麸皮:豆粕(9:1)中扩培，得到 100 千克活化的菌种；取木霉菌 1.5 千克加到 20 千克含水量为 60%的麸皮:豆粕(9:1)中活化；将活化后的菌种合并，有效活菌数 ≥ 0.45 亿 cfu/g。

4. 建堆发酵：将发酵物料与活化后的菌种混合，搅拌均匀，建堆，平堆高度 1.5 米，宽度 3 米，适时翻抛，使温度不超过 70℃，7 天后温度开始缓慢下降，待温度降低到 40℃左右，二次加菌，枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌经过 NB 培养液活化后添加，光合细菌直接喷洒。

5. 腐熟后加工。低温干燥(低于 40℃)至含水量 $\leq 30\%$ ，粉碎，检验合格后即可计量分装。最终可获得高活性生物有机肥 80 吨。

实施例 5

以日处理 20 吨废弃蛋白物生产高活性生物有机肥为例，与实施例 1 同法操作，不同之处在于步骤（1）按如下操作：将 20 吨废弃蛋白物(牛毛、牛蹄甲、废弃肉渣)切割、粉碎到 1cm~2cm，置于高温转鼓中进行初级溶解，加 0.05% NaOH 碱液煮沸 30 分钟，然后与 30 吨食用菌糠、10 吨米糠混和，添加 20 千克碱性蛋白酶和 1 吨干肠衣粉，调节 pH 不高于 8.5。

实验例 1

用农家有机肥在萝卜上进行试验，施用肥量 500 公斤/亩。萝卜产量为 5000 公斤/亩。

用本申请实施例 1 的有机肥在萝卜上进行试验，施用肥量 350 公斤/亩。萝卜产量达 5000 公斤/亩以上，质量与重量都优于农家有机肥。

实验例 2

用农家有机肥在白菜上进行试验，施用肥量 400 公斤/亩。白菜产量为 2500 公斤/亩。

用本申请实施例 2 的有机肥在白菜上进行试验，施用肥量 300 公斤/亩。白菜产量达 3500 公斤/亩，质量与重量优于农家有机肥。

实验例 3

用农家有机肥在韭菜上进行试验，施用肥量 500 公斤/亩。韭菜产量为 3500 公斤/亩。

用本申请实施例 3 的有机肥在韭菜上进行试验，施用肥量为 400 公斤/亩。韭菜产量达 4500 公斤/亩，质量与重量均优于农家有机肥。

实验例 4

用农家有机肥在空心菜上进行试验，施用肥量 500 公斤/亩。空心菜产量为 3500 公斤/亩。

用本申请实施例 4 的有机肥在空心菜上进行试验，施用肥量为 400 公斤/亩。空心菜产量达 4500 公斤/亩，质量与重量均优于农家有机肥。

实验例 5

用农家有机肥在冬瓜上进行试验，施用肥量 500 公斤/亩。冬瓜产量 5000 公斤/亩。

用本申请实施例 5 的有机肥在冬瓜上进行试验，施用肥量 400 公斤/亩。冬瓜产量 5000 公斤/亩以上，质量与重量均优于农家有机肥。

以上试验结果汇总于表 1 中。

表 1. 本申请的有机肥与农家有机肥的对比试验结果

品种	农家有机肥		本申请的有机肥	
	肥料用量 (kg/亩)	产量 (kg/亩)	肥料用量 (kg/亩)	产量 (kg/亩)
萝卜	500	5000	350	5500
白菜	400	2500	300	3500
韭菜	500	3500	400	4500
空心菜	500	3500	400	4500
冬瓜	500	5000	400	5500

由表 1 的结果可知, 本申请的有机肥与农家有机肥相比, 施用肥量每亩节省 20%-30%, 亩产量提高了 10%-40%。这对于农业生产而言, 节约了成本, 提高了产量, 具有非常可观的经济效益。

以上详细描述了本发明的优选实施方式, 但是, 本发明并不限于上述实施方式中的具体细节, 在本发明的技术构思范围内, 可以对本发明的技术方案进行多种简单变型, 这些简单变型均属于本发明的保护范围。

另外需要说明的是, 在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征, 在不矛盾的情况下, 可以通过任何合适的方式进行组合, 为了避免不必要的重复, 本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

此外, 本发明的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合, 只要其不违背本发明的思想, 其同样应当视为本发明所公开的内容。

权 利 要 求 书

1. 酶促生产高活性生物有机肥的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

(1)废弃蛋白物预处理：向废弃蛋白物中添加蛋白酶，得到发酵物料；

(2)发酵菌种活化：将枯草芽孢杆菌、乳酸菌以及木霉菌分别活化后合并，合并后有效活菌数 ≥ 0.40 亿 cfu/g；

(3)发酵：将所述发酵物料与活化后的菌种混合，发酵，温度在 40°C 以下时，二次加菌。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，在步骤(1)中，在添加蛋白酶前，还加入发酵基质；所述发酵基质为以下中的一种或多种：食用菌糠、米糠、谷糠、花生麸、黄豆粕、甘蔗秸秆粉和蘑菇渣；优选食用菌糠、米糠、花生麸和黄豆粕中的一种或多种；

优选地，所述废弃蛋白物与所述发酵基质的质量比为 1:(1~3)；更优选为 1:(1.2~2.5)。

3. 根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述蛋白酶为碱性蛋白酶。

4. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其特征在于，在步骤(1)中，所述蛋白酶的加入量为所述废弃蛋白物质量的 0.08%~0.15%，优选为 0.10%~0.12%。

5. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其特征在于，在步骤(1)中，在添加蛋白酶前，将废弃蛋白物加碱煮沸；优选地，所述碱的质量浓度为 0.03%~0.08%，更优选为 0.05%~0.08%；进一步优选地，煮沸时间为 25~40 分钟，更优选为 30~35 分钟。

6. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其特征在于，所述发酵物料的碳氮质量比为 20~30:1，优选为 25~28:1，更优选为 25:1；进一步优选地，所述发酵物料的水分含量为 58%~68%，更优选为

60%~65%。

7. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其特征在于，在步骤(2)中，将枯草芽孢杆菌用 NB 培养液增殖，将乳酸菌用 MRS 培养液增殖，然后分别加入到麸皮与豆粕的组合物中进行扩培活化；将木霉菌加入到麸皮与豆粕的组合物中进行活化。

8. 根据权利要求 7 所述的方法，其特征在于，麸皮与豆粕的组合物的含水量为 50%~70%，麸皮与豆粕的质量比为(8~10):1。

9. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其特征在于，在步骤(3)的二次加菌中，加入枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌、弗氏裂霉菌和光合细菌中的一种或多种；优选地，枯草芽孢菌、胶冻芽孢菌、解淀粉芽孢菌和弗氏裂霉菌分别经过 NB 培养液活化后添加，光合细菌直接喷洒。

10. 权利要求 1~9 中任一项所述的方法生产得到的高活性生物有机肥。