



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108018043 A

(43)申请公布日 2018.05.11

(21)申请号 201711353812.4

C12R 1/145(2006.01)

(22)申请日 2017.12.15

C12R 1/25(2006.01)

(71)申请人 厦门昶科生物工程有限公司

地址 361000 福建省厦门市火炬高新区火炬园光业楼西310A室

(72)发明人 姜宗然 郑杰民 吴少坤 黄标武

(74)专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569

代理人 刘奇

(51)Int.Cl.

C09K 17/14(2006.01)

A01N 63/00(2006.01)

A01N 63/02(2006.01)

A01P 21/00(2006.01)

C12N 1/20(2006.01)

C09K 101/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种丁酸梭菌复合菌剂的制备方法及丁酸梭菌复合菌剂

(57)摘要

本发明提供了一种丁酸梭菌复合菌剂的制备方法及丁酸梭菌复合菌剂,属于微生物菌及技术领域,所述方法包括以下步骤:1)以润湿豆粕为基质厌氧发酵丁酸梭菌获得丁酸梭菌发酵产物;2)将所述丁酸梭菌发酵产物、NB液体培养基与植物乳杆菌混合进行混合发酵获得丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物;3)将所述的丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物、芽孢杆菌和营养液混合获得丁酸梭菌复合菌剂。所述方法制备获得的丁酸梭菌复合菌剂有效成分含量高,能够有效的促进微生物生长和分解有机质,从而改善土壤环境,起到保护植物和促进植物生长。

1. 一种丁酸梭菌复合菌剂的制备方法,包括以下步骤:
 - 1) 以润湿豆粕为基质接种丁酸梭菌进行厌氧发酵,获得丁酸梭菌发酵产物;
 - 2) 将所述丁酸梭菌发酵产物、NB液体培养基与植物乳杆菌混合进行混合发酵,获得丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物;
 - 3) 将所述的丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物、芽孢杆菌和营养液混合,获得丁酸梭菌复合菌剂。
2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤1)中所述的润湿豆粕的含水量为8~12wt%。
3. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于,步骤1)中所述厌氧发酵中,所述丁酸梭菌的接种体积为润湿豆粕质量的12~16%。
4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤1)中所述厌氧发酵的时间为20~28h;所述厌氧发酵的温度为28~32℃。
5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤2)中所述植物乳杆菌与丁酸梭菌发酵产物中丁酸梭菌的活菌数的比例为1:(0.8~1.2)。
6. 根据权利要求1或5所述的制备方法,其特征在于,步骤2)中所述NB液体培养基的体积为丁酸梭菌发酵产物体积的9~12倍。
7. 根据权利要求6所述的制备方法,其特征在于,步骤2)中所述混合发酵的温度为33~39℃;所述混合发酵的时间为22~26h。
8. 根据权利要求6所述的制备方法,其特征在于,步骤3)中所述的丁酸梭菌复合菌剂中芽孢杆菌的体积百分含量为4.5~5.5%。
9. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤3)所述的丁酸梭菌复合菌剂中营养液的体积百分含量为45~55%。
10. 权利要求1~8任意一项所述的制备方法制备获得的丁酸梭菌复合菌剂,其特征在于,所述丁酸梭菌复合菌剂中丁酸梭菌和植物乳杆菌的活菌数独立的为 $(10.5\sim 11) \times 10^7$ CFU/g。

一种丁酸梭菌复合菌剂的制备方法及丁酸梭菌复合菌剂

技术领域

[0001] 本发明属于微生物菌剂技术领域,具体涉及一种丁酸梭菌复合菌剂制备方法及丁酸梭菌复合菌剂。

背景技术

[0002] 丁酸梭菌存在于土壤、树叶、人和动物肠道中,属于有益菌,具有维持肠道微生物平衡、提高免疫力、抗癌、产生营养物质等功能。植物乳杆菌属于乳酸菌中的一种,植物乳杆菌能大量的产酸,使水中的PH值稳定不升高,而且其产出的酸性物质能降解重金属。芽孢杆菌,细菌的一科,能形成芽孢(内生孢子)的杆菌或球菌,对外界有害因子抵抗力强,分布广,存在于土壤、水、空气以及动物肠道等处。

[0003] 土壤中的腐殖质是有机物经微生物分解转化形成的胶体物质,一般为黑色或暗棕色,是土壤有机质的主要组成部分。现有技术中有采用丁酸梭菌复合菌剂促进土壤中微生物生长和分解有机质,从而改善土壤环境,起到保护植物和促进植物生长的作用。然而目前市面丁酸梭菌复合菌产品参差不齐,价格高和效果不稳定。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明的目的在于提供一种高效、低成本的丁酸梭菌复合菌剂的制备方法及丁酸梭菌复合菌剂,所述丁酸梭菌能够稳定的促进微生物生长和分解有机质,从而改善土壤环境,起到保护植物和促进植物生长。

[0005] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:一种丁酸梭菌复合菌剂的制备方法,包括以下步骤:1)以润湿豆粕为基质接种丁酸梭菌进行厌氧发酵,获得丁酸梭菌发酵产物;2)将所述丁酸梭菌发酵产物、NB液体培养基与植物乳杆菌混合进行混合发酵,获得丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物;3)将所述的丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物、芽孢杆菌和营养液混合,获得丁酸梭菌复合菌剂。

[0006] 优选的,步骤1)中所述的润湿豆粕的含水量为8~12wt%。

[0007] 优选的,步骤1)中所述厌氧发酵接种的丁酸梭菌的体积为润湿豆粕质量的12~16%。

[0008] 优选的,步骤1)中所述厌氧发酵丁酸梭菌的时间为20~28h;所述厌氧发酵丁酸梭菌的温度为28~32℃。

[0009] 优选的,步骤2)中所述植物乳杆菌与丁酸梭菌发酵产物中丁酸梭菌的活菌数的比例为1:(0.8~1.2)。

[0010] 优选的,步骤2)中所述NB液体培养基的体积为丁酸梭菌发酵产物的9~12倍。

[0011] 优选的,步骤2)中所述混合发酵的温度为33~39℃;所述混合发酵的时间为22~26h。

[0012] 优选的,步骤3)中所述的丁酸梭菌复合菌剂中芽孢杆菌的体积百分含量为4.5~5.5%。

[0013] 优选的,所述步骤3)所述所述的丁酸梭菌复合菌剂中营养液的体积百分含量为45~55%。

[0014] 本发明还提供了上述制备方法制备获得的丁酸梭菌复合菌剂,所述丁酸梭菌复合菌剂中丁酸梭菌和植物乳杆菌的活菌数独立的为 $(10.5\sim 11)\times 10^7$ CFU/g。

[0015] 本发明的有益效果:本发明提供的丁酸梭菌复合菌剂的制备方法,操作步骤减单,原料豆粕成本低廉;厌氧发酵丁酸梭菌后将丁酸梭菌发酵产物与植物乳杆菌混合进行混合发酵,丁酸梭菌与植物乳杆菌共生,互相促进生长,丁酸梭菌活菌数增加70%,植物乳杆菌活菌数增加58%;所述方法制备获得的丁酸梭菌复合菌剂有效成分含量高,各个有效菌能够作为优势菌稳定的存在于自然环境下的土壤中,能够稳定有效的促进微生物生长和分解有机质,从而改善土壤环境,起到保护植物和促进植物生长。

具体实施方式

[0016] 本发明提供了一种丁酸梭菌复合菌剂的制备方法,包括以下步骤:1)以润湿豆粕为基质厌氧发酵丁酸梭菌获得丁酸梭菌发酵产物;2)将所述丁酸梭菌发酵产物、NB液体培养基与植物乳杆菌混合进行混合发酵获得丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物;3)将所述的丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物、芽孢杆菌和营养液混合获得丁酸梭菌复合菌剂。

[0017] 在本发明中,以润湿豆粕为基质,接种丁酸梭菌进行厌氧发酵,获得丁酸梭菌发酵产物。在本发明中,所述润湿豆粕的含水量优选的为8~12wt%,更优选的为9~11wt%,最优选的为10wt%。在本发明中所述润湿豆粕优选的通过将干燥豆粕与水混合获得,所述混合方式优选的将相应量的水喷施到干燥豆粕中。本发明对所述干燥豆粕的来源没有特殊限定,采用市售的干燥豆粕即可。

[0018] 本发明中,所述厌氧发酵接种的丁酸梭菌的体积优选的为润湿豆粕质量的12~16%,更优选的为13~15%,最优选的为14%。在本发明中所述接种的丁酸梭菌优选的采用厦门昶科生物工程有限公司生产的丁酸梭菌菌粉活化后的菌液。

[0019] 本发明在将丁酸梭菌接种于润湿豆粕后,开始所述厌氧发酵丁酸梭菌;本发明中所述厌氧发酵丁酸梭菌的方式优选的为静置厌氧发酵,所述厌氧发酵丁酸梭菌的时间优选的为20~28h,更优选的为22~26h,最优选的为24h;本发明中所述厌氧发酵丁酸梭菌的温度优选的为28~32℃,更优选的为30℃。本发明中所述丁酸梭菌可以促进微生物分解有机物,形成腐殖质,从而达到改善土壤的效果,促进植物对营养物质的吸收和生长。

[0020] 本发明在获得丁酸梭菌发酵产物后,将所述丁酸梭菌发酵产物、NB液体培养基与植物乳杆菌混合进行混合发酵获得丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物。在本发明中,所述NB液体培养基采用本领域常规的NB液体培养基即可,具体的可采用市售的NB液体培养基。在本发明中所述植物乳杆菌与丁酸梭菌发酵产物中丁酸梭菌的活菌数的比例优选的为1:(0.8~1.2),更优选的为1:1;所述NB液体培养基的体积优选的为所述丁酸梭菌发酵产物的9~12倍,更优选的为10倍。

[0021] 在本发明中所述混合发酵的方式优选的为震荡发酵,所述震荡发酵优选的采用摇床进行;本发明对所述摇床没有特殊限定,采用本领域常规的摇床即可;本发明中所述混合发酵的温度优选的为33~39℃,更优选的为34~38℃,最优选的为35~37℃;所述混合发酵中摇床的转速优选的为150~250rpm,更优选的为180rpm,所述混合发酵的时间优选的为22

~26h,更优选的为24h。本发明中所述植物乳杆菌能大量的产酸,可维持pH值稳定不升高,而且其产出的酸性物质能降解重金属;所述混合发酵的作用是将所述丁酸梭菌和植物乳杆菌混合培养,二者共生,促进彼此繁殖,提高发酵产物中两种菌的活菌数。

[0022] 本发明在获得丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物后,将所述丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物、芽孢杆菌和营养液混合获得丁酸梭菌复合菌剂。在本发明中,优选的先将所述丁酸梭菌-植物乳杆菌发酵产物与芽孢杆菌混合获得混合菌液后,在将所述混合菌液与营养液混合获得丁酸梭菌复合菌剂。在本发明中所述芽孢杆菌优选的采用市售的芽孢杆菌;所述的丁酸梭菌复合菌剂中芽孢杆菌的体积百分含量优选的为4.5~5.5%,更优选的为5%。本发明中所述芽孢杆菌具有保护土壤、促进有机质的分解、产生丰富的代谢物和抑制有害菌等作用,从而起到对植物的生长和保护的作用。

[0023] 本发明中所述营养液优选的为植物生长营养液,更优选的为市售的Aron-Hoagland营养液;本发明中所述的丁酸梭菌复合菌剂中营养液的体积百分含量优选的为45~55%,更优选的为50%。

[0024] 本发明还提供了上述制备方法制备获得的丁酸梭菌复合菌剂,所述丁酸梭菌复合菌剂中丁酸梭菌和植物乳杆菌的活菌数独立的为 $(10.5\sim 11)\times 10^7$ CFU/g。本发明中所述丁酸梭菌复合菌剂制备方法简单、便捷;成本低、有效成分含量高;可促进土壤中微生物生长和分解有机质,从而改善土壤环境,起到保护植物和促进植物生长的作用。

[0025] 本发明所述的丁酸梭菌复合菌剂可作为土壤改良剂应用于土壤改良中,在自然环境下的土壤中,能够稳定有效的促进微生物生长和分解有机质,从而改善土壤环境,起到保护植物和促进植物生长。

[0026] 下面结合实施例对本发明提供的一种丁酸梭菌复合菌剂制备方法及丁酸梭菌复合菌剂进行详细的说明,但是不能把它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0027] 实施例1

[0028] (1)取10g豆粕用1ml的水润湿,向其中添加1.4ml的丁酸梭菌菌种(来自于厦门昶科生物工程有限公司生产的丁酸梭菌菌粉,活化后的菌液)进行静置厌氧发酵,发酵温度30℃,时间24h。发酵后的发酵产物中丁酸梭菌的活菌数为 10.8×10^7 CFU/g。

[0029] (2)发酵后的全部发酵产物加入到100ml NB液体培养基(100ml水加入1.5gNB)中,并添加植物乳杆菌,添加量为 10.8×10^7 CFU/g,置于35℃摇床混合发酵24h,转速为180rpm;混合发酵后丁酸梭菌和植物乳杆菌的活菌数分别增加70%和58%。

[0030] (3)将培养后的菌液,加入体积5%的芽孢杆菌,制得复合菌液。

[0031] (4)按1:1的体积比,将复合菌液和Aron-Hoagland营养液混合,即得丁酸梭菌复合菌剂。

[0032] 实施例2

[0033] (1)取15g豆粕用1.2ml的水润湿,向其中添加2.1ml的丁酸梭菌菌种(来自于厦门昶科生物工程有限公司生产的丁酸梭菌菌粉,活化后的菌液)进行静置厌氧发酵,发酵温度30℃,时间26h。发酵后的发酵产物中丁酸梭菌的活菌数为 10.6×10^7 CFU/g。

[0034] (2)发酵后的全部发酵产物加入到100mlNB液体培养基(100ml水加入1.5gNB)中,并添加植物乳杆菌,添加量为 10.8×10^7 CFU/g,置于37℃摇床混合发酵22h,转速为180rpm;混合发酵后丁酸梭菌和植物乳杆菌的活菌数分别增加68%和60%。

[0035] (3) 将培养后的菌液,加入体积5%的芽孢杆菌,制得复合菌液。

[0036] (4) 按1:1的体积比,将复合菌液和Aron-Hoagland营养液混合,即得丁酸梭菌复合菌剂。

[0037] 实施例3

[0038] (1) 取9g豆粕用1ml的水润湿,向其中添加1.4ml的丁酸梭菌菌种(来自于厦门昶科生物工程有限公司生产的丁酸梭菌菌粉,活化后的菌液)进行静置厌氧发酵,发酵温度30℃,时间22h。发酵后的发酵产物中丁酸梭菌的活菌数为 10.8×10^7 CFU/g。

[0039] (2) 发酵后的全部发酵产物加入到100mlNB液体培养基(100ml水加入1.5gNB)中,并添加植物乳杆菌,添加量为 10.8×10^7 CFU/g,置于36℃摇床混合发酵26h,转速为200rpm;混合发酵后丁酸梭菌和植物乳杆菌的活菌数分别增加71%和59%。

[0040] (3) 将培养后的菌液,加入体积5%的芽孢杆菌,制得复合菌液。

[0041] (4) 按1:1的体积比,将复合菌液和Aron-Hoagland营养液混合,即得丁酸梭菌复合菌剂。

[0042] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。