



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113773987 B

(45) 授权公告日 2023.07.21

(21) 申请号 202110988354.1

(22) 申请日 2021.08.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113773987 A

(43) 申请公布日 2021.12.10

(73) 专利权人 郑州轻工业大学
地址 450000 河南省郑州市高新技术产业
开发区科学大道136号

(72) 发明人 马闯 金凯 郑国砥 杜君
张肖静 张宏忠 赵继红 陈笑语

(74) 专利代理机构 北京慕达星云知识产权代理
事务所(特殊普通合伙)
11465
专利代理师 崔自京

(51) Int.Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 1/14 (2006.01)

C12N 1/12 (2006.01)

C05F 17/20 (2020.01)

C05F 17/80 (2020.01)

C12R 1/125 (2006.01)

C12R 1/09 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

C12R 1/23 (2006.01)

C12R 1/05 (2006.01)

C12R 1/68 (2006.01)

C12R 1/885 (2006.01)

C12R 1/645 (2006.01)

C12R 1/89 (2006.01)

审查员 蔡玉品

权利要求书2页 说明书9页

(54) 发明名称

一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物
菌剂及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种提高有机废弃物好氧发
酵效率的生物菌剂,包括以下原料:嗜热脉芽孢
杆菌40-60份、嗜热栖热菌40-60份、嗜热乳酸杆
菌40-60份、枯草芽孢杆菌20-30份、枯草芽孢杆
菌枯草亚种菌20-30份、产碱杆菌10-20份、环状
芽孢杆菌10-20份、烟曲霉菌10-20份、绿木霉5-
15份、白地霉5-15份、白腐菌3-10份、褐腐菌3-10
份、绿藻1-5份和蓝藻1-5份;制备方法:(1)称取
各原料;(2)菌种活化;(3)混合菌种的复配;(4)
一级种子液的制备;(5)生物菌剂的制备。本发明
生物菌剂能够减少堆肥过程中臭气的生成和散
发,减少氮素等营养物质的流失,从而提高有机
废弃物的好氧发酵效率。

1. 一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,其特征在于,由以下重量份的原料组成:嗜热脉芽孢杆菌40-60份、嗜热栖热菌40-60份、嗜热乳酸杆菌40-60份、枯草芽孢杆菌20-30份、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌20-30份、产碱杆菌10-20份、环状芽孢杆菌10-20份、烟曲霉菌10-20份、绿木霉5-15份、白地霉5-15份、白腐菌3-10份、褐腐菌3-10份、绿藻1-5份和蓝藻1-5份;

所述嗜热脉芽孢杆菌的保藏编号为:CGMCC NO.5818;

所述嗜热栖热菌的保藏编号为:CGMCC No.6186;

所述枯草芽孢杆菌的保藏编号为:CGMCC No.3038;

所述枯草芽孢杆菌枯草亚种菌的保藏编号为:CGMCC No.1.3358;

所述产碱杆菌的保藏编号为:CCTCC NO:M2020477;

所述环状芽孢杆菌的保藏编号为:CCTCC NO:M2020475;

所述烟曲霉菌的保藏编号为:CGMCC No.17195。

2. 根据权利要求1所述的一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,其特征在于,由以下重量份的原料组成:嗜热脉芽孢杆菌45-55份、嗜热栖热菌45-55份、嗜热乳酸杆菌45-55份、枯草芽孢杆菌22-28份、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌22-28份、产碱杆菌12-18份、环状芽孢杆菌12-18份、烟曲霉菌12-18份、绿木霉8-12份、白地霉8-12份、白腐菌4-9份、褐腐菌4-9份、绿藻2-4份和蓝藻2-4份。

3. 根据权利要求2所述的一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,其特征在于,由以下重量份的原料组成:嗜热脉芽孢杆菌50份、嗜热栖热菌50份、嗜热乳酸杆菌50份、枯草芽孢杆菌25份、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌25份、产碱杆菌15份、环状芽孢杆菌15份、烟曲霉菌15份、绿木霉10份、白地霉10份、白腐菌6份、褐腐菌6份、绿藻3份和蓝藻3份。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,其特征在于,所述生物菌剂的总有效活菌数 $\geq 1 \times 10^{10}$ CFU/g。

5. 一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,其特征在于,具体包括以下步骤:

(1) 称取各原料

按权利要求1-4任一项所述生物菌剂的重份数称取各菌株;

(2) 菌种活化

将各菌株分别接种于固体培养基,50-55℃培养16-20h,然后挑取单菌落接到斜面培养基,50-55℃培养16-20h,用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液,接种液的活菌量均大于 1×10^{10} CFU/g;

所述固体培养基和所述斜面培养基的组成均为:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠5g,酵母粉2g,琼脂20g,加水定容至1L,调节pH为7.2;

(3) 混合菌种的复配

将各菌株的接种液混合,得到复配接种液;

(4) 一级种子液的制备

按照体积比5%-10%的接种量向固体培养基中接入复配接种液,在摇床转速180-220rpm,50-55℃培养16-20h,得到一级种子液;

(5) 生物菌剂的制备:

按照体积比0.5%-2%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液,通气量为6-8m³/h,搅拌速度为180-220rpm,50-55℃培养16-20h,待液体菌剂中的活菌量大于1×10¹⁰CFU/g时,即得所述生物菌剂;

所述发酵培养基的组成为:红糖15g/L,硫酸铵1.0g/L,蛋白胨3g/L,酵母粉2g/L,氯化钠5g/L,加水定容至1L,调节pH为7.2。

一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物菌剂技术领域,更具体的说是涉及一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 有机废弃物是指人们在生产活动中产生的丧失原有利用价值或虽未丧失利用价值但被抛弃或放弃的固态或液态的有机类物品和物质,包括农业有机废物(主要包括农作物秸秆藤蔓、畜禽粪便和水产废弃物等)、工业有机废物(主要包括高浓度有机废水、有机废渣等)、市政有机垃圾(主要包括园林绿化废弃物、市政污泥、屠宰厂动物内含物、餐厨垃圾等)三大类。随着我国经济的快速发展和人们生活水平的不断提高,有机废弃物呈现以下特点:第一,有机废弃物种类多,产生量大;第二,有机废弃物价值低,处理成本高,利用率低;第三,有机废弃物含有大量的致病菌,可以传播疾病,堆积过程中污染物产生高浓度渗滤液,给城乡生态安全带来严重隐患,一些地区出现了水体富营养化、土壤酸化及重金属污染等问题。

[0003] 我国是世界上最大的有机废弃物生产国。据统计,我国2016年城市生活垃圾产生量约2亿吨,其中餐厨垃圾约9000万吨,城市污泥产生量约3500万吨,此外还有较大数量的沼渣、工业废弃物、肉食品加工废弃物、病死畜禽等。据测算,这些有机废弃物所含的氮磷钾养分总量达到7000万吨以上,高于每年国产化肥养分总量,有机碳相当于10亿吨标准煤,约为我国能耗总量的1/4,蛋白质等养分相当于1000万t饲料,占饲料产量的1/10,全产业链潜在产值可达1500亿元以上。面对潜力巨大的废弃物资源,我国整体利用率偏低:市政有机垃圾大部分处于“混合倾倒、混合清运、混合掩埋”状态,且传统的填埋、焚烧等处理方式约占95%;畜禽粪污综合利用率仅为60%;秸秆资源量多、面广,综合利用情况因秸秆种类和种植地区而不同,最高利用率约80%。我国有机废弃物资源化利用空间大,但已有的资源化利用技术存在减量化利用不彻底、资源化利用不完全的问题。

[0004] 目前,在有机废弃物利用中,堆肥是无害化处理的重要途径。其中,好氧堆肥是在通气条件好和氧气充足的条件下,好氧菌对废物进行吸收、氧化以及分解的过程。好氧微生物通过自身的生命活动,把一部分被吸收的有机物氧化成简单的无机物,同时释放出可供微生物生长活动所需的能量,而另一部分有机物则被合成新的细胞质,使微生物不断生长繁殖,产生出更多生物体。通常,好氧堆肥的堆温较高,一般宜在55-60℃时较好,所以好氧堆肥也称高温堆肥。高温堆肥可以最大限度地杀灭病原菌,稳定有机质,但同时存在,有机质的降解速度慢,堆肥所需天数长,发酵效率低等问题,制约了有机废弃物好氧发酵处理技术的发展。

[0005] 因此,如何提高有机废弃物好氧发酵效率是本领域技术人员亟需解决的问题。

发明内容

[0006] 有鉴于此,本发明的目的在于提供一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂

及其制备方法,以解决现有技术中的不足。

[0007] 为了实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0008] 一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,包括以下重量份的原料:嗜热脉芽孢杆菌40-60份、嗜热栖热菌40-60份、嗜热乳酸杆菌40-60份、枯草芽孢杆菌20-30份、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌20-30份、产碱杆菌10-20份、环状芽孢杆菌10-20份、烟曲霉菌10-20份、绿木霉5-15份、白地霉5-15份、白腐菌3-10份、褐腐菌3-10份、绿藻1-5份和蓝藻1-5份;

[0009] 优选为:嗜热脉芽孢杆菌45-55份、嗜热栖热菌45-55份、嗜热乳酸杆菌45-55份、枯草芽孢杆菌22-28份、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌22-28份、产碱杆菌12-18份、环状芽孢杆菌12-18份、烟曲霉菌12-18份、绿木霉8-12份、白地霉8-12份、白腐菌4-9份、褐腐菌4-9份、绿藻2-4份和蓝藻2-4份;

[0010] 更优选为:嗜热脉芽孢杆菌50份、嗜热栖热菌50份、嗜热乳酸杆菌50份、枯草芽孢杆菌25份、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌25份、产碱杆菌15份、环状芽孢杆菌15份、烟曲霉菌15份、绿木霉10份、白地霉10份、白腐菌6份、褐腐菌6份、绿藻3份和蓝藻3份。

[0011] 进一步,上述嗜热脉芽孢杆菌的保藏编号为:CGMCC NO.5818,保藏时间为:2012年2月29日,保藏单位为:中国微生物保藏管理委员会普通微生物中心;保藏地址为:中国北京朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所。该菌是从高热油井水样中分离,以原油为唯一碳源的情况下60℃反复驯化培养五个轮次(每轮次为一周)而获得的。

[0012] 嗜热栖热菌是从高温期污泥堆肥中,经高温富集、分离纯化得到嗜热栖热菌 *Thermus thermophilus* UTM802菌株,于2012年6月4日保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,保藏编号为:CGMCC No.6186。

[0013] 嗜热乳酸杆菌的分离与筛选:取火山口土壤作为菌种,采用牛肉膏蛋白胨培养基,采用稀释平板法分离不同的微生物,65℃培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的微生物,经鉴定,为现有的嗜热乳酸杆菌(*Lactobacillus thermophilus*)。

[0014] 进一步,上述枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)Bs-03是从山东省林业科学研究院实验苗圃土壤中采用土壤稀释分离法分离获得到的,已于2009年04月23日保藏于中国微生物保藏管理委员会普通微生物中心,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,保藏编号为:CGMCC No.3038。

[0015] 枯草芽孢杆菌枯草亚种菌的保藏编号为:CGMCC No.1.3358,保藏单位为:中国微生物保藏管理委员会普通微生物中心;保藏地址为:中国北京朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所。

[0016] 进一步,上述产碱杆菌的保藏编号为:CCTCC NO:M2020477,保藏单位为:中国典型培养物保藏中心(武汉大学保藏中心),保藏地址为:湖北省武汉市武汉大学校内。

[0017] 环状芽孢杆菌的保藏编号为:CCTCC NO:M2020475,保藏单位为:中国典型培养物保藏中心(武汉大学保藏中心),保藏地址为:湖北省武汉市武汉大学校内。

[0018] 进一步,上述烟曲霉菌 *Aspergillus fumigatus* F7,于2019年03月21日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,保藏编号为:CGMCC No.17195。

[0019] 进一步,上述绿木霉和白地霉为纤维素降解菌,分离与筛选:取森林土壤作为菌

种,采用纤维素刚果红培养基,采用稀释平板法分离不同的微生物,32℃培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的两种微生物,经鉴定,分别为现有的绿木霉(*Trichoderma virens*)和白地霉(*Geotrichum candidum*)。

[0020] 进一步,上述白腐菌和褐腐菌为木质素降解菌,分离与筛选:取造纸黑液污泥作为菌种,以秸秆粉末作唯一碳源,配制无机盐培养基,采用稀释平板法分离不同的微生物,32℃培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的两种微生物,经鉴定,分别为现有的白腐菌(White rot fungus)和褐腐菌(Brown rot fungus)。

[0021] 进一步,上述绿藻和蓝藻为光合藻类,分离与筛选:以水体富营养化后的水体中取水样作为菌种,以营养盐培养基,稀释平板法分离光合藻类,30℃光照培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的两种微生物,经鉴定,分别为现有的绿藻(*Prochloron*)和蓝藻(*Cyanobacteria*)。

[0022] 进一步,上述物菌剂的总有效活菌数 $\geq 1 \times 10^{10}$ CFU/g。

[0023] 一种提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,具体包括以下步骤:

[0024] (1)称取各原料

[0025] 按上述生物菌剂的重量份数称取各菌株;

[0026] (2)菌种活化

[0027] 将各菌株分别接种于固体培养基,50-55℃培养16-20h,然后挑取单菌落接到斜面培养基,50-55℃培养16-20h,用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液,接种液的活菌量均大于 1×10^{10} CFU/g;

[0028] (3)混合菌种的复配

[0029] 将各菌株的接种液混合,得到复配接种液;

[0030] (4)一级种子液的制备

[0031] 按照体积比5%-10%的接种量向固体培养基中接入复配接种液,在摇床转速180-220rpm,50-55℃培养16-20h,得到一级种子液;

[0032] (5)生物菌剂的制备:

[0033] 按照体积比0.5%-2%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液,通气量为6-8m³/h,搅拌速度为180-220rpm,50-55℃培养16-20h,待液体菌剂中的活菌量大于 1×10^{10} CFU/g时,即得生物菌剂。

[0034] 进一步,上述步骤(2)中,固体培养基和斜面培养基的组成均为:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠5g,酵母粉2g,琼脂20g,加水定容至1L,调节pH为7.2;步骤(5)中,发酵培养基的组成为:红糖15g/L,硫酸铵1.0g/L,蛋白胨3g/L,酵母粉2g/L,氯化钠5g/L,加水定容至1L,调节pH为7.2。

[0035] 经由上述的技术方案可知,与现有技术相比,本发明的有益效果如下:

[0036] 1、本发明提供的嗜热脉芽孢杆菌、嗜热栖热菌和嗜热乳酸杆菌在堆肥达到60-80℃的高温环境中均生长良好,具有稳定的降解性能,能快速降解有机物质,加快堆肥进程,同时可避免接种剂中的活性微生物在高温发酵期失活,具有性能稳定、使用方便的特点。

[0037] 2、本发明提供的枯草芽孢杆菌能够产生类细胞分裂素和植物生长激素,枯草芽孢杆菌枯草亚种能够产生纤维素酶和半纤维素酶,不仅能快速降解有机质,分解土壤中被固定的磷和钾,而且能产生刺激植物生长的类细胞分裂素和生长激素。

[0038] 3、本发明提供的产碱杆菌和环状芽孢杆菌可以大幅加速堆肥中有机质的降解,提高堆肥的腐熟程度,缩短堆肥时间,增加了成熟堆肥的营养成分。

[0039] 4、本发明提供的烟曲霉菌可在低温条件下启动好氧堆肥并加快纤维素降解。

[0040] 5、本发明提供的绿木霉、白地霉、白腐菌、褐腐菌、绿藻和蓝藻能够加速原料有机物的生物降解,减少堆肥过程中臭气的生成和散发,减少氮素等营养物质的流失。

[0041] 6、本发明提供的生物菌剂可促进有机废弃物好氧堆肥化进程,缩短堆肥周期,提高堆肥腐熟度,并且能够加速有机废弃物的生物降解,减少堆肥过程中臭气的生成和散发,减少氮素等营养物质的流失,从而提高有机废弃物的好氧发酵效率。

具体实施方式

[0042] 下面对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0043] 以下实施例1-5中:

[0044] 1、嗜热脉芽孢杆菌的保藏编号为:CGMCC NO.5818,保藏时间为:2012年2月29日,保藏单位为:中国微生物保藏管理委员会普通微生物中心;保藏地址为:中国北京朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所。该菌是从高热油井水样中分离,以原油为唯一碳源的情况下60℃反复驯化培养五个轮次(每轮次为一周)而获得的。

[0045] 2、嗜热栖热菌是从高温期污泥堆肥中,经高温富集、分离纯化得到嗜热栖热菌 *Thermus thermophilus* UTM802菌株,于2012年6月4日保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,保藏编号为:CGMCC No.6186。

[0046] 3、嗜热乳酸杆菌的分离与筛选:取火山口土壤作为菌种,采用牛肉膏蛋白胨培养基,采用稀释平板法分离不同的微生物,65℃培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的微生物,经鉴定,为现有的嗜热乳酸杆菌(*Lactobacillus thermophilus*)。

[0047] 4、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)Bs-03是从山东省林业科学研究院实验苗圃土壤中采用土壤稀释分离法分离获得的,已于2009年04月23日保藏于中国微生物保藏管理委员会普通微生物中心,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,保藏编号为:CGMCC No.3038。

[0048] 5、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌的保藏编号为:CGMCC No.1.3358,保藏单位为:中国微生物保藏管理委员会普通微生物中心;保藏地址为:中国北京朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所。

[0049] 6、产碱杆菌的保藏编号为:CCTCC NO:M2020477,保藏单位为:中国典型培养物保藏中心(武汉大学保藏中心),保藏地址为:湖北省武汉市武汉大学校内。

[0050] 7、环状芽孢杆菌的保藏编号为:CCTCC NO:M2020475,保藏单位为:中国典型培养物保藏中心(武汉大学保藏中心),保藏地址为:湖北省武汉市武汉大学校内。

[0051] 8、烟曲霉菌 *Aspergillus fumigatus* F7,于2019年03月21日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微

生物研究所,保藏编号为:CGMCC No.17195。

[0052] 9、绿木霉和白地霉为纤维素降解菌,分离与筛选:取森林土壤作为菌种,采用纤维素刚果红培养基,采用稀释平板法分离不同的微生物,32℃培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的两种微生物,经鉴定,分别为现有的绿木霉(*Trichoderma virens*)和白地霉(*Geotrichum candidum*)。

[0053] 10、白腐菌和褐腐菌为木质素降解菌,分离与筛选:取造纸黑液污泥作为菌种,以秸秆粉末作唯一碳源,配制无机盐培养基,采用稀释平板法分离不同的微生物,32℃培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的两种微生物,经鉴定,分别为现有的白腐菌(*White rot fungus*)和褐腐菌(*Brown rot fungus*)。

[0054] 11、绿藻和蓝藻为光合藻类,分离与筛选:以水体富养化后的水体中取水样作为菌种,以营养盐培养基,稀释平板法分离光合藻类,30℃光照培养,并通过生长量测定,筛选出生长量最大的两种微生物,经鉴定,分别为现有的绿藻(*Prochloron*)和蓝藻(*Cyanobacteria*)。

[0055] 实施例1

[0056] 提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,包括以下重量的原料:嗜热脲芽孢杆菌50g、嗜热栖热菌50g、嗜热乳酸杆菌50g、枯草芽孢杆菌25g、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌25g、产碱杆菌15g、环状芽孢杆菌15g、烟曲霉菌15g、绿木霉10g、白地霉10g、白腐菌6g、褐腐菌6g、绿藻3g和蓝藻3g,总有效活菌数 $\geq 1 \times 10^{10}$ CFU/g。

[0057] 上述提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,具体包括以下步骤:

[0058] (1)称取各原料

[0059] 按上述生物菌剂的重量份数称取各菌株;

[0060] (2)菌种活化

[0061] 将各菌株分别接种于固体培养基,52℃培养18h,然后挑取单菌落接到斜面培养基,52℃培养18h,用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液,接种液的活菌量均大于 1×10^{10} CFU/g;

[0062] 其中,固体培养基和斜面培养基的组成均为:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠5g,酵母粉2g,琼脂20g,加水定容至1L,调节pH为7.2;

[0063] (3)混合菌种的复配

[0064] 将各菌株的接种液混合,得到复配接种液;

[0065] (4)一级种子液的制备

[0066] 按照体积比8%的接种量向固体培养基中接入复配接种液,在摇床转速200rpm,52℃培养18h,得到一级种子液;

[0067] (5)生物菌剂的制备:

[0068] 按照体积比1%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液,通气量为 $8\text{m}^3/\text{h}$,搅拌速度为200rpm,52℃培养18h,待液体菌剂中的活菌量大于 1×10^{10} CFU/g时,即得生物菌剂;

[0069] 其中,发酵培养基的组成为:红糖15g/L,硫酸铵1.0g/L,蛋白胨3g/L,酵母粉2g/L,氯化钠5g/L,加水定容至1L,调节pH为7.2。

[0070] 实施例2

[0071] 提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,包括以下重量的原料:嗜热脲芽孢杆

菌40g、嗜热栖热菌40g、嗜热乳酸杆菌40g、枯草芽孢杆菌20g、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌20g、产碱杆菌10g、环状芽孢杆菌10g、烟曲霉菌10g、绿木霉5g、白地霉5g、白腐菌3g、褐腐菌3g、绿藻1g和蓝藻1g,总有效活菌数 $\geq 1 \times 10^{10}$ CFU/g。

[0072] 上述提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,具体包括以下步骤:

[0073] (1)称取各原料

[0074] 按上述生物菌剂的重量份数称取各菌株;

[0075] (2)菌种活化

[0076] 将各菌株分别接种于固体培养基,50℃培养16h,然后挑取单菌落接到斜面培养基,50℃培养16h,用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液,接种液的活菌量均大于 1×10^{10} CFU/g;

[0077] 其中,固体培养基和斜面培养基的组成均为:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠5g,酵母粉2g,琼脂20g,加水定容至1L,调节pH为7.2;

[0078] (3)混合菌种的复配

[0079] 将各菌株的接种液混合,得到复配接种液;

[0080] (4)一级种子液的制备

[0081] 按照体积比5%的接种量向固体培养基中接入复配接种液,在摇床转速1800rpm,50℃培养16h,得到一级种子液;

[0082] (5)生物菌剂的制备:

[0083] 按照体积比0.5%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液,通气量为 $6\text{m}^3/\text{h}$,搅拌速度为180rpm,50℃培养16h,待液体菌剂中的活菌量大于 1×10^{10} CFU/g时,即得生物菌剂;

[0084] 其中,发酵培养基的组成为:红糖15g/L,硫酸铵1.0g/L,蛋白胨3g/L,酵母粉2g/L,氯化钠5g/L,加水定容至1L,调节pH为7.2。

[0085] 实施例3

[0086] 提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,包括以下重量的原料:嗜热脲芽孢杆菌45g、嗜热栖热菌55g、嗜热乳酸杆菌45g、枯草芽孢杆菌28g、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌22g、产碱杆菌18g、环状芽孢杆菌12g、烟曲霉菌18g、绿木霉8g、白地霉12g、白腐菌4g、褐腐菌9g、绿藻2g和蓝藻4g,总有效活菌数 $\geq 1 \times 10^{10}$ CFU/g。

[0087] 上述提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,具体包括以下步骤:

[0088] (1)称取各原料

[0089] 按上述生物菌剂的重量份数称取各菌株;

[0090] (2)菌种活化

[0091] 将各菌株分别接种于固体培养基,50℃培养20h,然后挑取单菌落接到斜面培养基,50℃培养20h,用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液,接种液的活菌量均大于 1×10^{10} CFU/g;

[0092] 其中,固体培养基和斜面培养基的组成均为:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠5g,酵母粉2g,琼脂20g,加水定容至1L,调节pH为7.2;

[0093] (3)混合菌种的复配

[0094] 将各菌株的接种液混合,得到复配接种液;

[0095] (4)一级种子液的制备

[0096] 按照体积比6%的接种量向固体培养基中接入复配接种液,在摇床转速180rpm,50℃培养20h,得到一级种子液;

[0097] (5)生物菌剂的制备:

[0098] 按照体积比1%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液,通气量为6m³/h,搅拌速度为180rpm,50℃培养20h,待液体菌剂中的活菌量大于1×10¹⁰CFU/g时,即得生物菌剂;

[0099] 其中,发酵培养基的组成为:红糖15g/L,硫酸铵1.0g/L,蛋白胨3g/L,酵母粉2g/L,氯化钠5g/L,加水定容至1L,调节pH为7.2。

[0100] 实施例4

[0101] 提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,包括以下重量的原料:嗜热脉芽孢杆菌45g、嗜热栖热菌55g、嗜热乳酸杆菌45g、枯草芽孢杆菌28g、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌22g、产碱杆菌18g、环状芽孢杆菌12g、烟曲霉菌18g、绿木霉8g、白地霉12g、白腐菌4g、褐腐菌9g、绿藻2g和蓝藻4g,总有效活菌数≥1×10¹⁰CFU/g。

[0102] 上述提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,具体包括以下步骤:

[0103] (1)称取各原料

[0104] 按上述生物菌剂的重份数称取各菌株;

[0105] (2)菌种活化

[0106] 将各菌株分别接种于固体培养基,55℃培养16h,然后挑取单菌落接到斜面培养基,55℃培养16h,用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液,接种液的活菌量均大于1×10¹⁰CFU/g;

[0107] 其中,固体培养基和斜面培养基的组成均为:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠5g,酵母粉2g,琼脂20g,加水定容至1L,调节pH为7.2;

[0108] (3)混合菌种的复配

[0109] 将各菌株的接种液混合,得到复配接种液;

[0110] (4)一级种子液的制备

[0111] 按照体积比10%的接种量向固体培养基中接入复配接种液,在摇床转速220rpm,55℃培养16h,得到一级种子液;

[0112] (5)生物菌剂的制备:

[0113] 按照体积比2%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液,通气量为8m³/h,搅拌速度为220rpm,55℃培养16h,待液体菌剂中的活菌量大于1×10¹⁰CFU/g时,即得生物菌剂;

[0114] 其中,发酵培养基的组成为:红糖15g/L,硫酸铵1.0g/L,蛋白胨3g/L,酵母粉2g/L,氯化钠5g/L,加水定容至1L,调节pH为7.2。

[0115] 实施例5

[0116] 提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂,包括以下重量的原料:嗜热脉芽孢杆菌60g、嗜热栖热菌60g、嗜热乳酸杆菌60g、枯草芽孢杆菌30g、枯草芽孢杆菌枯草亚种菌30g、产碱杆菌20g、环状芽孢杆菌20g、烟曲霉菌20g、绿木霉15g、白地霉15g、白腐菌10g、褐腐菌10g、绿藻5g和蓝藻5g,总有效活菌数≥1×10¹⁰CFU/g。

[0117] 上述提高有机废弃物好氧发酵效率的生物菌剂的制备方法,具体包括以下步骤:

[0118] (1)称取各原料

[0119] 按上述生物菌剂的重量份数称取各菌株；

[0120] (2) 菌种活化

[0121] 将各菌株分别接种于固体培养基，55℃培养20h，然后挑取单菌落接到斜面培养基，55℃培养20h，用无菌水洗下培养基表面菌体作为接种液，接种液的活菌量均大于 1×10^{10} CFU/g；

[0122] 其中，固体培养基和斜面培养基的组成均为：蛋白胨10g，牛肉膏5g，氯化钠5g，酵母粉2g，琼脂20g，加水定容至1L，调节pH为7.2；

[0123] (3) 混合菌种的复配

[0124] 将各菌株的接种液混合，得到复配接种液；

[0125] (4) 一级种子液的制备

[0126] 按照体积比10%的接种量向固体培养基中接入复配接种液，在摇床转速220rpm，55℃培养20h，得到一级种子液；

[0127] (5) 生物菌剂的制备：

[0128] 按照体积比2%的接种量向发酵培养基中接入一级种子液，通气量为 $8\text{m}^3/\text{h}$ ，搅拌速度为220rpm，55℃培养20h，待液体菌剂中的活菌量大于 1×10^{10} CFU/g时，即得生物菌剂；

[0129] 其中，发酵培养基的组成为：红糖15g/L，硫酸铵1.0g/L，蛋白胨3g/L，酵母粉2g/L，氯化钠5g/L，加水定容至1L，调节pH为7.2。

[0130] 性能测试

[0131] 各取实施例1-5制得的生物菌剂，以猪粪和麦秸为堆肥原料，分别添加进行静态堆强制通风好氧发酵堆肥实验，以不加菌剂的堆体为对照。其中，堆肥的步骤为：(1) 首先将葡萄糖加水溶解，再加入实施例1-5制得的生物菌剂充分搅匀，然后将稀释液均匀泼洒在猪粪和麦秸的混合物(预先充分混合)上，并充分翻搅(用搅拌机)均匀。(2) 物料水分应控制在50%-60%，C/N比调节到30:1，pH值呈中性，物料粒径在10-30mm。堆肥时，物料堆成条状进行发酵。堆高不超过80cm，底部宽约500-800cm，长度不限。如果C/N值高，通过添加少量尿素来进行调节，如果C/N值低，通过添加少量葡萄糖进行调节。物料的pH值可用碱石灰或1%的醋酸来进行调节。

[0132] 1、好氧发酵效率

[0133] 分别由计算机自动检测堆体温度变化情况，结果如表1所示。

[0134] 表1实施例1-5制得的生物有机肥堆体温度变化情况

项目	实施 例 1	实施 例 2	实施 例 3	实施 例 4	实施 例 5	对照组
升温速率 (°C/ 天)	53	55	56	56	54	14
[0135] 达到的最高温 度 (°C)	63.5	64.2	65.4	64.2	63.9	54.3
≥50°C高温持 续天数 (天)	10	10	11	12	12	8
总堆肥天数 (天)	13	12	13	13	14	28

[0136] 由表1可知,添加实施例1-5生物菌剂可以显著提高升温速率、最高温度和高温持续时间,进而明显缩短堆肥天数,显著提高好氧发酵效率。

[0137] 2、堆肥腐熟后,各取由实施例1-5制得的堆肥产品,同时以不添加生物菌剂的堆肥作为对照组,分别按照NY 884-2012《生物有机肥》测定各项技术指标。测定结果如表2所示。

[0138] 表2实施例1-5制得的生物有机肥技术指标测定结果

项目	技术指标	实施例1	实施例2	实施例3	实施例4	实施例5	对照组
有效活菌数 (CFU/g), 亿/g	≥ 0.20	108	102	104	103	102	0.01
[0139] 有机质 (以干基计), %	≥ 40.0	56.8	54.9	55.2	54.8	56.1	23.5
水分, %	≤ 30.0	12.8	13.2	12.9	13.5	12.8	38.2
pH	5.5-8.5	7.5	7.2	7.6	7.8	7.4	5.8
粪大肠菌数, 个/g	≤ 100	12	18	16	13	15	322
蛔虫卵死亡率, %	≥ 95	99.6	98.9	99.2	98.6	99.4	45.8

[0140] 由表2可知,与对照组相比,由本发明实施例1-5生物菌剂制得的生物有机肥的各项技术指标均符合NY 884-2012《生物有机肥》的相关规定。其中,实施例1为最佳实施例。

[0141] 以上试验说明,本发明提供的生物菌剂可促进有机废弃物好氧堆肥化进程,缩短堆肥周期,提高堆肥腐熟度,并且能够加速有机废弃物的生物降解,提高升温速率和高温持续时间,从而提高有机废弃物的好氧发酵效率。

[0142] 对所公开的实施例的上述说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。