



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113880612 A

(43) 申请公布日 2022.01.04

(21) 申请号 202111243933.X

A01C 21/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.10.25

A01C 1/00 (2006.01)

(71) 申请人 中国农业大学烟台研究院

地址 264003 山东省烟台市高新区滨海中路2006号

(72) 发明人 曲威 吕冬伟 宋丽芬 杨守军

(74) 专利代理机构 烟台上禾知识产权代理事务所(普通合伙) 37234

代理人 齐素立

(51) Int. Cl.

C05F 11/00 (2006.01)

C05F 17/20 (2020.01)

C05F 17/40 (2020.01)

C05F 17/50 (2020.01)

C05G 5/20 (2020.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种制备海藻生物有机液肥的方法及海藻生物有机液肥与应用

(57) 摘要

本发明公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,包括以下步骤:(1)海藻预处理:将海藻原料粉碎,加水制成海藻浆液;(2)复合酶剂酶解反应:加入复合酶剂,酶解pH 4-8,酶解温度40-75℃,添加量为海藻浆液的1-6%,酶解时间为2-25小时,得海藻酶解液;(3)混合微生物菌剂发酵:取步骤(2)海藻酶解液,加入混合微生物菌剂,发酵时间0-72小时,接种量0.1-0.6%,装瓶量20-60mL/100mL,发酵温度35-60℃,初始pH5.5-7.5。本发明还提供了由上述方法制备的海藻生物有机液肥及其应用。本发明提高了海藻中营养物质的利用率,充分保留海藻中有效活性成分,不会引入化学物质,提高了海藻液肥的品质及施肥效果。

1. 一种制备海藻生物有机液肥的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 海藻预处理:将海藻原料粉碎,加水制成海藻浆液;

(2) 复合酶剂酶解反应:取步骤(1)的所述海藻浆液,加入复合酶剂,酶解条件为酶解pH 4-8,酶解温度为40-75℃,按重量百分数,所述复合酶剂添加量为所述海藻浆液的1-6%,酶解时间为2-25小时,得到海藻酶解液;

(3) 混合微生物菌剂发酵:取步骤(2)的所述海藻酶解液,加入混合微生物菌剂进行发酵,发酵时间为0-72小时,按重量百分数,所述混合微生物菌剂的接种量为所述海藻酶解液的0.1-0.6%,所述混合微生物菌剂的装瓶量为20-60mL/100mL,发酵温度为35-60℃,发酵初始pH为5.5-7.5。

2. 如权利要求1所述的制备海藻生物有机液肥的方法,其特征在于,所述复合酶剂包括纤维素水解酶、果胶酶、木瓜蛋白酶、氧化还原酶、裂解酶、木聚糖酶,所述混合微生物菌剂包括地衣芽孢杆菌、啤酒酵母菌、绿色木霉菌。

3. 如权利要求2所述的制备海藻生物有机液肥的方法,其特征在于,所述复合酶剂为纤维素水解酶3-3.5g/L,果胶酶1-1.5g/L,木瓜蛋白酶0.8-8g/L,氧化还原酶0.5-1g/L,裂解酶1-2.5g/L,木聚糖酶2-2.5g/L;

所述混合微生物菌剂为地衣芽孢杆菌1~2g/L,啤酒酵母菌0.6~1.2g/L,绿色木霉菌1~1.5g/L。

4. 如权利要求1所述的制备海藻生物有机液肥的方法,其特征在于,所述海藻为烟威海域自然生长的海带加工后下脚料、浒苔或马尾藻。

5. 如权利要求1所述的制备海藻生物有机液肥的方法,其特征在于,步骤(1)中,将海藻原料粉碎至100-200目。

6. 如权利要求1所述的制备海藻生物有机液肥的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 海藻预处理:将海藻原料粉碎,加水制成海藻浆液;

(2) 复合酶剂酶解反应:取步骤(1)的所述海藻浆液,加入复合酶剂,酶解条件为酶解pH 6.5,酶解温度为60℃,按重量百分数,所述复合酶剂添加量为所述海藻浆液的4%,酶解时间为6小时,得到海藻酶解液;

(3) 混合微生物菌剂发酵:取步骤(2)的所述海藻酶解液,加入混合微生物菌剂进行发酵,发酵时间为36小时,按重量百分数,所述混合微生物菌剂的接种量为所述海藻酶解液的0.3%,所述混合微生物菌剂的装瓶量为40mL/100mL,发酵温度为45℃,发酵初始pH为6.5。

7. 一种利用权利要求1-6中任一项所述的制备海藻生物有机液肥的方法制得的海藻生物有机液肥。

8. 一种权利要求7所述海藻生物有机液肥在农业种植领域的应用。

9. 如权利要求8所述的应用,其特征在于,使用时,所述海藻生物有机液肥用水稀释200-1000倍后进行浸种、育苗、喷洒叶面或灌溉。

一种制备海藻生物有机液肥的方法及海藻生物有机液肥与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及肥料制造领域,特别涉及一种制备海藻生物有机液肥的方法及海藻生物有机液肥与应用。

背景技术

[0002] 我国拥有1.8万公里的海岸线,水产资源丰富,自古以来,中国人就开始采捞和利用海藻。海藻不仅可以食用而且由于海藻中富含N、P、K、Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、I等大中微量元素和海藻酸、海藻多糖、多酚化合物、萜类化合物、甜菜碱、多胺、植物生长调节物质(细胞分裂素、生长素、细胞激动素、脱落酸和赤霉素)、高度不饱和脂肪酸等生物活性物质,在功能食品、海洋药物和动物饲料等很多领域中有巨大应用潜力。

[0003] 海藻液肥(Seaweed Liquid Fertilizer)是采用特殊生产工艺使大型海藻细胞壁破碎,释放细胞内容物而形成的液体肥料,是一种新型无公害的绿色肥料。可用于生产海藻肥的主要是褐藻类,包括海带、马尾藻、巨藻、泡叶藻等。利用海藻肥作用于农作物和蔬菜的研究较多,施用海藻肥后可以提高种子发芽率、提高农作物的产量和品质,提高农作物抗逆性和抗病虫害等作用。

[0004] 目前海藻液肥常用酸法、碱法或酸碱混合法进行制备,这些方法常需要在强酸碱及高温条件下进行,会对海藻细胞内生物源活性物质造成破坏,并且残留的化学物质量高,不容易去除,影响海藻液肥的品质及施肥效果。近几年来随着生物技术的广泛应用,生物酶解法成为海藻液肥的制备工艺之一。海藻由于其细胞壁的复杂结构和特殊韧性是阻碍海藻细胞内活性物质释放的关键因素。如何高效提取利用海藻中的营养物质,并保证在加工过程中各种活性物质不被破坏是海藻肥料生产加工领域的瓶颈。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于解决现有技术中的海藻液肥制备方法导致残留化学物质量高,不容易去除,且影响海藻液肥的品质及施肥效果,以及海藻中的营养物质利用率低、加工过程中活性物质被破坏的技术问题。本发明提供了一种制备海藻生物有机液肥的方法及海藻生物有机液肥与应用,可提高海藻中的营养物质利用率、使海藻细胞内容物充分释放,充分保留海藻中的有效活性成分,且不会引入化学物质,大大提高海藻液肥的品质及施肥效果。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明的实施方式公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,包括以下步骤:

[0007] (1) 海藻预处理:将海藻原料粉碎,加水制成海藻浆液;

[0008] (2) 复合酶剂酶解反应:取步骤(1)的所述海藻浆液,加入复合酶剂,酶解条件为酶解pH 4-8,酶解温度为40-75℃,按重量百分数,所述复合酶剂添加量为所述海藻浆液的1-6%,酶解时间为2-25小时,得到海藻酶解液;

[0009] (3) 混合微生物菌剂发酵:取步骤(2)的所述海藻酶解液,加入混合微生物菌剂进

行发酵,发酵时间为0-72小时,按重量百分数,所述混合微生物菌剂的接种量为所述海藻酶解液的0.1-0.6%,所述混合微生物菌剂的装瓶量为20-60mL/100mL,发酵温度为35-60℃,发酵初始pH为5.5-7.5。

[0010] 根据本发明的另一具体实施方式,本发明的实施方式公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,复合酶剂包括纤维素水解酶、果胶酶、木瓜蛋白酶、氧化还原酶、裂解酶、木聚糖酶,混合微生物菌剂包括地衣芽孢杆菌、啤酒酵母菌、绿色木霉菌。

[0011] 根据本发明的另一具体实施方式,本发明的实施方式公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,复合酶剂为纤维素水解酶3-3.5g/L,果胶酶1-1.5g/L,木瓜蛋白酶0.8-8g/L,氧化还原酶0.5-1g/L,裂解酶1-2.5g/L,木聚糖酶2-2.5g/L;

[0012] 所述混合微生物菌剂为地衣芽孢杆菌1~2g/L,啤酒酵母菌0.6~1.2g/L,绿色木霉菌1~1.5g/L。

[0013] 根据本发明的另一具体实施方式,本发明的实施方式公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,海藻为烟威海域自然生长的海带加工后下脚料、浒苔或马尾藻。

[0014] 根据本发明的另一具体实施方式,本发明的实施方式公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,步骤(1)中,将海藻原料粉碎至100-200目。

[0015] 根据本发明的另一具体实施方式,本发明的实施方式公开了一种制备海藻生物有机液肥的方法,包括以下步骤:

[0016] (1) 海藻预处理:将海藻原料粉碎,加水制成海藻浆液;

[0017] (2) 复合酶剂酶解反应:取步骤(1)的所述海藻浆液,加入复合酶剂,酶解条件为酶解pH 6.5,酶解温度为60℃,按重量百分数,所述复合酶剂添加量为所述海藻浆液的4%,酶解时间为6小时,得到海藻酶解液;

[0018] (3) 混合微生物菌剂发酵:取步骤(2)的所述海藻酶解液,加入混合微生物菌剂进行发酵,发酵时间为36小时,按重量百分数,所述混合微生物菌剂的接种量为所述海藻酶解液的0.3%,所述混合微生物菌剂的装瓶量为40mL/100mL,发酵温度为45℃,发酵初始pH为6.5。

[0019] 本发明的实施方式还公开了一种由上述制备海藻生物有机液肥的方法制得的海藻生物有机液肥。

[0020] 本发明的实施方式还公开了上述海藻生物有机液肥在农业种植领域的应用。

[0021] 根据本发明的另一具体实施方式,本发明的实施方式公开了一种海藻生物有机液肥在农业种植领域的应用,使用时,海藻生物有机液肥用水稀释200-1000倍后进行浸种、育苗、喷洒叶面或灌溉。

[0022] 与现有技术相比,本发明具有如下技术效果:

[0023] 提高了海藻中的营养物质利用率、使海藻细胞内容物充分释放,充分保留海藻中的有效活性成分,且不会引入化学物质,大大提高海藻液肥的品质及施肥效果。

具体实施方式

[0024] 以下由特定的具体实施例说明本发明的实施方式,本领域技术人员可由本说明书所揭示的内容轻易地了解本发明的其他优点及功效。虽然本发明的描述将结合较佳实施例一起介绍,但这并不代表此发明的特征仅限于该实施方式。恰恰相反,结合实施方式作发明

介绍的目的是为了覆盖基于本发明的权利要求而有可能延伸出的其它选择或改造。为了提供对本发明的深度了解,以下描述中将包含许多具体的细节。本发明也可以不使用这些细节实施。此外,为了避免混乱或模糊本发明的重点,有些具体细节将在描述中被省略。需要说明的是,在不冲突的情况下,本发明中的实施例及实施例中的特征可以相互组合。

[0025] 本发明各实施例中所涉及的海藻为烟威海域自然生长的海带加工后下脚料、浒苔和马尾藻;本发明实施例中所用的凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子均购于烟台市种子站;本发明海藻原料粉碎利用超速海藻粉碎机进行,所述超速海藻粉碎机为申请人自主研发的、发明专利CN201810852035.6中的干海带粉碎机。

[0026] 本发明中酶解液中海藻酸含量测定采用分光光度法。

[0027] 一、复合酶剂酶解反应实施例

[0028] 实施例1

[0029] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0030] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10(W/V)与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0031] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量3%的复合酶(3mL),加入稀盐酸调整pH值为6,控制酶解温度为60℃、酶解时间为6h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为30.189mg/mL;

[0032] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0033] 实施例2

[0034] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0035] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10(W/V)与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0036] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量4%的复合酶(4mL),加入稀盐酸调整pH值为6,控制酶解温度为65℃、酶解时间为8h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为38.142mg/mL;

[0037] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0038] 实施例3

[0039] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0040] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10(W/V)与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0041] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量5%的复合酶(5mL),加入稀盐酸调整pH值为6,控制酶解温度为70℃、酶解时间为10h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为36.415mg/mL;

[0042] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0043] 实施例4

[0044] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0045] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10(W/V)与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0046] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量5%的复合酶(5mL),加入稀盐酸调整pH

值为6.5,控制酶解温度为60℃、酶解时间为8h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为40.125mg/mL;

[0047] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0048] 实施例5

[0049] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0050] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10 (W/V) 与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0051] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量3%的复合酶(3mL),加入稀盐酸调整pH值为6.5,控制酶解温度为65℃、酶解时间为10h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为37.014mg/mL;

[0052] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0053] 实施例6

[0054] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0055] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10 (W/V) 与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0056] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量4%的复合酶(4mL),加入稀盐酸调整pH值为6.5,控制酶解温度为70℃、酶解时间为6h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为32.287mg/mL;

[0057] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0058] 实施例7

[0059] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0060] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10 (W/V) 与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0061] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量4%的复合酶(4mL),加入稀盐酸调整pH值为7,控制酶解温度为60℃、酶解时间为10h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为32.017mg/mL;

[0062] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0063] 实施例8

[0064] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0065] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10 (W/V) 与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0066] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量5%的复合酶(5mL),加入稀盐酸调整pH值为7,控制酶解温度为65℃、酶解时间为6h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为36.178mg/mL;

[0067] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0068] 实施例9

[0069] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0070] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10 (W/V) 与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0071] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量3%的复合酶(3mL),加入稀盐酸调整pH值为7,控制酶解温度为70℃、酶解时间为8h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为38.237mg/mL;

[0072] (3) 混合微生物菌剂发酵。

[0073] 二、混合微生物菌剂发酵实施例

[0074] 实施例10

[0075] 一种制备海藻生物有机液肥的方法,具体制备步骤如下:

[0076] (1) 新鲜海藻洗净风干后,利用超速海藻粉碎机进行粉碎至100~200目,按照1:10(W/V)与蒸馏水混合,充分搅拌均匀,制成海藻匀浆;

[0077] (2) 取海藻匀浆100mL,加入海藻浆液重量5%的复合酶(5mL),加入稀盐酸调整pH值为6.5,控制酶解温度为60℃、酶解时间为8h,搅拌酶解,反应结束后,取上清液测定海藻酸含量,测得的海藻酸含量为40.125mg/mL;

[0078] (3) 海藻酶解液调节pH至7.0左右,121℃高压蒸汽湿热灭菌20min,加入海藻酶解液重量0.3%的混合微生物菌剂进行发酵,发酵装瓶量为40mL/100mL、发酵温度为45℃、发酵初始pH为6.5进行混合微生物菌剂发酵,发酵结束后测定发酵液中海藻酸含量为26.354mg/mL。

[0079] 三、海藻生物有机液肥应用例

[0080] 应用例1

[0081] 将制得的海藻生物有机液肥稀释200倍,分别对凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子进行浸泡处理,每个种子均浸种12h,浸种后用纯净水冲洗3次,将种子均匀置于铺有双层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置50粒蔬菜种子,每个处理3个平行,并用纱布覆盖在种子上,置于光照培养箱中于25℃条件下培养,每天喷施纯净水保持湿润,培养期间观察并记录蔬菜种子的萌发情况,并计算种子发芽率,该海藻生物有机液肥稀释液对种子萌发率的影响如表1所示。

[0082] 应用例2

[0083] 将制得的海藻生物有机液肥稀释400倍,分别对凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子进行浸泡处理,每个种子均浸种12h,浸种后用纯净水冲洗3次,将种子均匀置于铺有双层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置50粒蔬菜种子,每个处理3个平行,并用纱布覆盖在种子上,置于光照培养箱中于25℃条件下培养,每天喷施纯净水保持湿润,培养期间观察并记录蔬菜种子的萌发情况,并计算种子发芽率,该海藻生物有机液肥稀释液对种子萌发率的影响如表1所示。

[0084] 应用例3

[0085] 将制得的海藻生物有机液肥稀释600倍,分别对凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子进行浸泡处理,每个种子均浸种12h,浸种后用纯净水冲洗3次,将种子均匀置于铺有双层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置50粒蔬菜种子,每个处理3个平行,并用纱布覆盖在种子上,置于光照培养箱中于25℃条件下培养,每天喷施纯净水保持湿润,培养期间观察并记录蔬菜种子的萌发情况,并计算种子发芽率,该海藻生物有机液肥稀释液对种子萌发率的影响如表1所示。

[0086] 应用例4

[0087] 将制得的海藻生物有机液肥稀释800倍,分别对凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子进行浸泡处理,每个种子均浸种12h,浸种后用纯净水冲洗3次,将种子均匀置于铺有双层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置50粒蔬菜种子,每个处理3个平行,并用纱布覆盖在种子上,置于光照培养箱中于25℃条件下培养,每天喷施纯净水保持湿润,培养期间观察并记录蔬菜种子的萌发情况,并计算种子发芽率,该海藻生物有机液肥稀释液对种子萌发率的影响如表1所示。

[0088] 应用例5

[0089] 将制得的海藻生物有机液肥稀释1000倍,分别对凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子进行浸泡处理,每个种子均浸种12h,浸种后用纯净水冲洗3次,将种子均匀置于铺有双层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置50粒蔬菜种子,每个处理3个平行,并用纱布覆盖在种子上,置于光照培养箱中于25℃条件下培养,每天喷施纯净水保持湿润,培养期间观察并记录蔬菜种子的萌发情况,并计算种子发芽率,该海藻生物有机液肥稀释液对种子萌发率的影响如表1所示。

[0090] 对比例

[0091] 采用清水分别对凯特98绿芯黄瓜、四月慢油菜和精品206番茄种子进行浸泡处理,每个种子均浸种12h,浸种后用纯净水冲洗3次,将种子均匀置于铺有双层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置50粒蔬菜种子,每个处理3个平行,并用纱布覆盖在种子上,置于光照培养箱中于25℃条件下培养,每天喷施纯净水保持湿润,培养期间观察并记录蔬菜种子的萌发情况,并计算种子发芽率,该海藻生物有机液肥稀释液对种子萌发率的影响如表1所示。

[0092] 表1不同海藻生物有机液肥稀释液及清水对蔬菜种子发芽率的影响(%)

	清水处理 (对比例)	海藻液肥不同稀释倍数处理组				
		200 倍	400 倍	600 倍	800 倍	1000 倍
[0093] 凯特 98 绿芯黄瓜	73.48	87.45	93.24	96.25	86.75	80.15
四月慢油菜	82.45	90.41	96.45	98.75	91.24	87.45
精品 206 番茄	81.25	89.87	93.21	97.45	92.12	84.53

[0094] 由表1可以看出,与对比例相比,各稀释倍数的海藻液肥对三种蔬菜种子均具有促进种子萌发的效果,主要是由于海藻肥中含有多种天然活性物质以及海藻经破壁后细胞内的小分子生物活性物质释放,对种子的萌发起到促进作用。其中600倍稀释的发酵海藻液肥最适和用于种子发芽。

[0095] 本发明中以海带、浒苔和马尾藻等为原料,利用复合酶进行酶解,对酶解pH、酶解温度、酶添加量和酶解反应时间进行研究,获得复合酶酶解海藻的最佳工艺条件:酶解pH为6.5,酶解温度为60℃,酶添加量为4%,酶解时间为6h。利用微生物菌剂对海藻酶解液进一步发酵,通过发酵工艺优化,获得最佳发酵工艺条件为:发酵时间为36h、微生物菌剂接种量为0.3%、发酵装瓶量为40mL/100mL、发酵温度为45℃、发酵初始pH为6.5。经600倍稀释的海藻液肥能显著促进三种蔬菜种子的萌发,萌发率分别提高了30.99%、19.77%和19.94%。

[0096] 酶解pH会影响蛋白酶的稳定性、蛋白酶分子与酶解底物的结合情况以及对蛋白酶各解离基团的影响,从而影响酶解反应效率;对于蛋白酶来说,酶解温度过低蛋白酶的活性

较低,但是酶解温度过高会导致蛋白酶的活性部分或完全丧失,因此,适合的酶解反应温度有利于海藻水解;在酶解反应体系中,蛋白酶添加量过少时,底物海藻不能完全被酶解,因此效果较差;当蛋白酶添加过多时,所有的底物海藻均已被酶解,同时酶解产物也会抑制蛋白酶的活性;实施例10的海藻酸含量数据表明微生物菌剂可以利用酶解液中的海藻酸,通过发酵可以降解为小分子物质。

[0097] 利用天然海藻为原料生产海藻液肥,主要的制备难点在于既要有效降解海藻中大分子物质,又要最大程度的保留海藻中的营养元素和生物活性物质。目前,国内制备海藻肥的工艺主要采用物理法破碎、化学法提取等,通常会破坏海藻中有效活性成分,严重影响肥效。利用生物法制备海藻肥是现代化工业生产的最有效工艺之一。本研究中采用复合酶解耦合微生物发酵技术,有效解决海藻破壁问题,使海藻细胞内容物充分释放,并保留了海藻中有效生物活性成分。

[0098] 虽然通过参照本发明的某些优选实施方式,已经对本发明进行了描述,但本领域的普通技术人员应该明白,以上内容是结合具体的实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。本领域技术人员可以在形式上和细节上对其作各种改变,包括做出若干简单推演或替换,而不偏离本发明的精神和范围。