

# T/GXAF

团 体 标 准

T/GXAF 0014—2023

## 含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥生产 技术规程

Technical code of practice for the production of bio-organic fertilizer  
containing *Bacillus velezensis*

2023 - 06 - 28 发布

2023 - 07 - 01 实施

广西肥料协会 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西多得乐生物科技有限公司提出。

本文件由广西肥料协会归口。

本文件起草单位：广西多得乐生物科技有限公司、广西鼎乐生物科技有限公司、广西鼎好实验室仪器设备有限公司、广西植保科技有限公司、广西启迪农林发展有限公司、广西桂农联农业发展有限公司、广西鸿生源环保股份有限公司。

本文件主要起草人：江朝明、姜明国、杨齐、陆富海、黄斌良、蓝呈、邓桂平、覃鹏志、吴科谋、黄品忠、韦子安、陈斌艳、盘来生、陈伟雄、班大金、廖君、卢一叶、陆章权、李辉宁。

# 含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥生产技术规程

## 1 范围

本文件界定了含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥生产涉及的术语和定义，规定了生产条件、原料、生产工艺流程等技术要求，给出了菌种发酵、有机料腐熟、混合等阶段的操作指示。

本文件适用于含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥的生产。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 3095 环境空气质量标准

GB 5749 生活饮用水卫生标准

NY/T 525 有机肥料

NY/T 798—2015 复合微生物肥料

NY 884—2012 生物有机肥

NY/T 1109 微生物肥料生物安全通用技术准则

HJ 1088 排污单位自行监测技术指南 磷肥、钾肥、复混肥料、有机肥料和微生物肥料

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**生物有机肥** Bio-organic fertilizer

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。

[来源：NY 884—2012]

### 3.2

**贝莱斯芽孢杆菌** *Bacillus velezensis*

是一种新命名的生防菌，已被确定为解淀粉芽孢杆菌的后期异型体，该菌属厚壁菌门，芽孢杆菌目，芽孢杆菌科，芽孢杆菌属，是一类产芽孢的革兰氏阳性细菌，具有抗菌谱广、生长迅速、易分离培养、抗逆性强和生物安全性高等优点。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DO: 溶氧度 (Dissolved Oxygen)。

OD<sub>660</sub>: 在660nm波长下的光密度 (optical density)。

## 5 生产条件

### 5.1 生产环境

5.1.1 生产厂区不应建立在城市和城镇居民区、生活饮用水源保护区、风景名胜区、自然保护区，以及国家或地方法律、法规要求需要特殊保护的区域。

5.1.2 生产厂区环境的空气质量应符合 GB 3095 中二类区的规定，生产用水应符合 GB 5749 的要求。生产企业在生产运行期间，应按照 HJ 1088 的要求对其水、气污染物，噪声及对周边环境质量进行监测

并达到相关技术要求。

## 5.2 生产场地

生产场地包括原料存放区、有机物腐熟区、菌种培养区、混合区、成品存放区。各区域隔离分区，防止交叉污染；原料存放区应防火、防雨、防水、防潮；成品存放区应干燥、通风、防晒、防破裂、防雨淋。

## 5.3 仪器设备

包括但不限于超净台、灭菌锅、摇床培养箱、生化培养箱、种子罐、发酵罐、空气压缩机、菌液储存罐、蒸汽发生器、翻堆机、搅拌机、分光光度计、生物显微镜。

## 6 原料要求

### 6.1 菌种

贝莱斯芽孢杆菌菌种来源明确，菌株安全性应符合NY/T 1109的规定。

### 6.2 腐熟有机料

腐熟有机料应符合NY/T 525的规定。

### 6.3 培养基原料

6.3.1 蛋白胨：生化试剂，氮含量 $\geq 7\%$ 。

6.3.2 琼脂：生化试剂，含量 $\geq 99\%$ 。

6.3.3 酵母提取物：生化试剂，氮含量 $\geq 5\%$ 。

6.3.4 葡萄糖：工业级，含量 $\geq 95\%$ 。

6.3.5 氯化钠：化学纯， $\rho = 2.165 \text{ g/cm}^3$ ，含量 $\geq 99.5\%$ 。

6.3.6 磷酸二氢钾：化学纯， $\rho = 2.338 \text{ g/cm}^3$ ，含量 $\geq 99\%$ 。

6.3.7 七水硫酸镁：化学纯， $\rho = 1.68 \text{ g/cm}^3$ ，含量 $\geq 99.5\%$ 。

6.3.8 碳酸钙：化学纯， $\rho = 2.93 \text{ g/cm}^3$ ，含量 $\geq 98\%$ 。

## 7 生产工艺流程

含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥的生产工艺流程见图1。

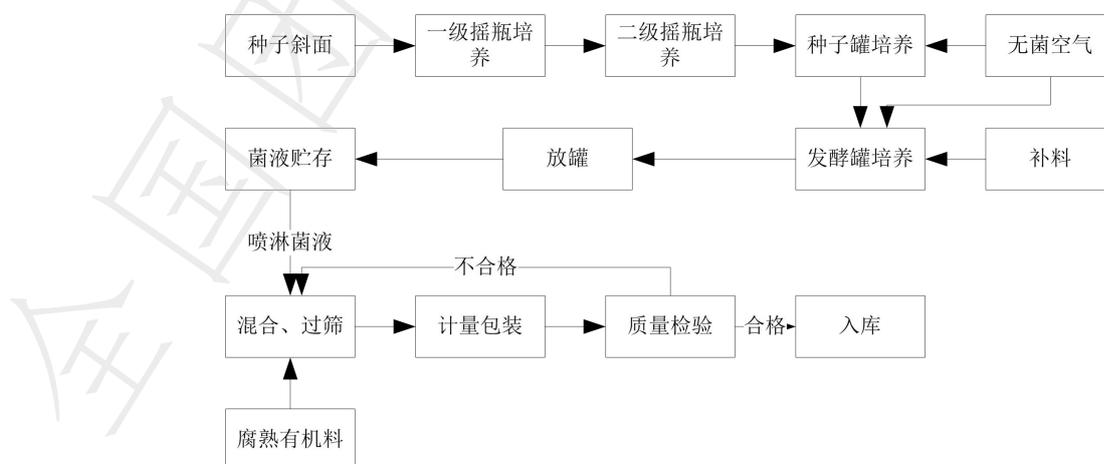


图1 含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥生产工艺流程

## 8 生产方法

## 8.1 贝莱斯芽孢杆菌培养

### 8.1.1 种子斜面

培养基经灭菌，冷却后待用。种子斜面在37℃下培养24 h~48 h，放于冰箱4℃保藏待用。培养基配方参见附录A。

### 8.1.2 一级摇瓶培养

培养基经灭菌，冷却后待用。在无菌条件下用接种环从种子斜面挑取一环菌苔到一级摇瓶培养基，在37℃下培养12 h~24 h， $OD_{660} \geq 1.0$ 。培养基配方参见附录A。

### 8.1.3 二级摇瓶培养

培养基经灭菌，冷却后待用。在无菌条件下将一级种子接到二级摇瓶培养基，接种量3%~5%，在37℃下培养10 h~24 h， $OD_{660} \geq 1.5$ 。培养基配方参见附录A。

### 8.1.4 种子罐培养

培养基经灭菌，经冷却，调pH 6.5~7.5后待用。在无菌操作条件下将二级种子接入种子罐培养，接种量3%~5%，通过调节转速、空气流量、罐压确保 $DO \geq 50\%$ ，取样检测 $OD_{660} \geq 5.0$ ，可移种到发酵罐。培养基配方参见附录A。

### 8.1.5 发酵罐培养

8.1.5.1 培养基经灭菌，经冷却，调pH 6.5~7.5后待用，培养基配方参见附录A；

8.1.5.2 种子液移进发酵罐，接种量3%~5%，温度 $37 \pm 5$ ℃，当pH下降至6.5以下，开始补碱，将pH控制在6.5~7.5；

8.1.5.3 通过调节转速、空气流量、罐压确保 $DO \geq 50\%$ ；

8.1.5.4 当罐内泡沫上升即将逃料时，进行消泡处理。

### 8.1.6 补料

培养4 h后开始取样检测糖盐度及 $OD_{660}$ ，当糖盐度下降至小于1.5%时，通过补加浓度为35%~45%的葡萄糖溶液，使糖盐度维持在1.5%~2.5%。

### 8.1.7 放罐

当 $OD_{660}$ 不再增加，检测芽孢率 $\geq 80\%$ 时，放罐，培养结束。

### 8.1.8 菌液贮存

菌液经检测有效活菌数后置于贮存罐保存待用。

## 8.2 混合

根据菌液的有效活菌数，通过混合装置将腐熟有机料与菌液混合并过筛。

### 8.2.1 计量包装

含贝莱斯芽孢杆菌生物有机肥应按包装的产品规格要求进行计量，包装及标识应符合NY/T 798—2015中7.1~7.2的规定。

### 8.2.2 质量检验

按NY 884规定的抽样方法及试验方法对肥料样品进行抽样检验，肥料应符合NY 884的规定，检测合格后入库；检测不合格则返回8.2步骤重新混合生产。

附 录 A  
(资料性)  
培养基配方

培养基配方参见表A.1。

表 A.1 培养基配方

培养基类型	配方
种子斜面培养基	蛋白胨10 g, 酵母提取物5 g, 氯化钠10 g, 琼脂20 g, 加水至1 L。
一级摇瓶培养基	蛋白胨10 g, 酵母提取物5 g, 氯化钠10 g, 加水至1 L。
二级摇瓶培养基	葡萄糖1.0%, 酵母提取物0.5%, 磷酸二氢钾0.02%, 七水硫酸镁0.01%, 加水至100%。
种子罐培养基	葡萄糖1.0%, 酵母膏0.5%, 磷酸二氢钾0.02%, 七水硫酸镁0.01%, 消泡剂0.03%, 加水至100%。
发酵罐培养基	葡萄糖2.0%, 酵母膏1.0%, 磷酸二氢钾0.05%, 七水硫酸镁0.02%, 碳酸钙0.005%, 消泡剂0.03%, 加水至100%。
注：消泡剂可选聚醚类、有机硅类产品。	