

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 785 058**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)
C05F 17/00 (2010.01)
C05G 5/00 (2010.01)
A01G 31/00 (2008.01)
C05F 3/00 (2006.01)
C05F 11/10 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
A01G 22/00 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2009 PCT/JP2009/062870**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.04.2010 WO10041503**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2009 E 09819040 (8)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 2333046**

54 Título: **Método para la producción de material de siembra para microorganismos optimizado como catalizador para una realización de mineralización paralela compleja**

30 Prioridad:

09.10.2008 JP 2008262390

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.10.2020

73 Titular/es:

**NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD
RESEARCH ORGANIZATION (100.0%)
3-1-1 Kannondai
Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8517, JP**

72 Inventor/es:

SHINOHARA MAKOTO

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 785 058 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la producción de material de siembra para microorganismos optimizado como catalizador para una realización de mineralización paralela compleja

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método para producir un inóculo de microorganismos optimizado como un catalizador para una mineralización múltiple en paralelo.

10 La presente invención se refiere también a un método para producir un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos usando el inóculo.

15 **Antecedentes de la técnica**

En los últimos años, en todo el planeta se han activado movimientos para reducir el uso de fertilizantes químicos y promover el uso de fertilizantes orgánicos desde el punto de vista que una sociedad de reciclaje debe establecer.

20 También en 'cultivos hidropónicos' sin uso de suelo, que se usan de forma creciente en la producción de, por ejemplo, hortalizas tales como tomates y flores y plantas ornamentales, han aumentado las expectativas del uso de fertilizantes orgánicos.

25 Sin embargo, la utilización de fertilizantes orgánicos en cultivos hidropónicos ha sido hasta ahora imposible. Esto se debe a que la adición directa de un material orgánico a una solución nutriente genera un metabolito intermediario perjudicial, que daña la raíz de la planta. Por lo tanto, solo se han usado hasta ahora fertilizantes químicos en cultivos hidropónicos.

30 Muchos investigadores han considerado que se requiere una tecnología para mineralizar un material orgánico por adelantado para conseguir un material fácilmente absorbido por una planta que utilice el fertilizante orgánico en cultivos hidropónicos.

La tecnología para mineralizar un material orgánico incluye una tecnología de tratamiento de aguas residuales que utiliza microorganismos (por ejemplo, véase la bibliografía de patentes 1).

35 Sin embargo, la tecnología no es adecuada para recoger nitrógeno nitrato y no coincide con el propósito de usar un fertilizante que contenga nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos ya que la tecnología implica una desnitrificación (una reacción para reducir el nitrógeno nitrato para liberar el nitrógeno como nitrógeno gas).

40 En vista de lo anterior, el "método de mineralización múltiple en paralelo" descrito en cada una de la bibliografía de patentes 2 y la bibliografía no de patentes 2 se ha inventado como una tecnología capaz de recoger nitrógeno nitrato (como un ion nitrato) a partir de un material orgánico que se va a utilizar como nutrientes inorgánicos.

45 La tecnología es un método muy reproducible para degradar nitrógeno orgánico suprimiendo a la vez la desnitrificación, y recogiendo un ion nitrato que es nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos. La tecnología se usa para llevar a cabo simultáneamente la amonificación y la nitrificación en la misma solución de reacción usando la proliferación secuencial de microorganismos capaces de realizar la degradación de un material orgánico (amonificación) y la generación de un ion nitrato (nitrificación) en el mismo sistema de reacción. La reacción puede suprimir la desnitrificación a diferencia del tratamiento de la tecnología de tratamiento de aguas residuales o similar.

50 El uso de la tecnología del método de mineralización múltiple en paralelo permite el uso de fertilizantes orgánicos en cultivos hidropónicos mediante adición directa, y además, la aplicación de la tecnología permite la mineralización de un material orgánico en nitrógeno nitrato para producir nutrientes inorgánicos (por ejemplo, véanse las bibliografías no de patentes 1 y 2).

55 La invención divulgada en la bibliografía de patentes 2 atrae la atención como una tecnología para realizar cultivos hidropónicos usando un fertilizante orgánico y para realizar la producción de nutrientes inorgánicos tales como nitrógeno nitrato utilizando recursos orgánicos como materias primas. Por lo tanto, la tecnología es muy esperada por los agricultores y las industrias de fitomejoramiento que están interesadas en la tecnología como novedosa tecnología hidropónica, las empresas que planean el reciclaje de recursos orgánicos y similares.

60 Sin embargo, en los métodos anteriormente mencionados divulgados en la bibliografía de patentes 2, no hay más remedio que usar una "fuente de microorganismos de origen natural" tal como suelo o agua de lagos y pantanos como la fuente de microorganismos.

65 La fuente de microorganismos no está optimizada para la mineralización múltiple en paralelo y, por tanto, el método de mineralización múltiple en paralelo convencional tiene los siguientes problemas que han de mejorarse en el uso

práctico.

Es decir, el primer problema es un periodo de tiempo largo para completar las reacciones. Esto se debe a que es necesario esperar la proliferación secuencial de microorganismos capaces de realizar una reacción de amonificación y microorganismos que pueden realizar una reacción de nitrificación ya que se deja que las reacciones avancen desde la reacción de amonificación a la reacción de nitrificación ya que "la fuente de microorganismos de origen natural (tal como suelo o agua de lagos y pantanos)" no está optimizada para la mineralización múltiple en paralelo.

De manera específica, el tiempo para completar las reacciones es aproximadamente de dos semanas o más, lo que puede producir un problema tal como perder el momento de siembra adecuado para las plántulas en cultivos hidropónicos.

A continuación, el segundo problema es la imposibilidad de añadir un material orgánico en gran cantidad de una vez. Como se ha mencionado anteriormente, la "fuente de microorganismos de origen natural" no está optimizada para la mineralización múltiple en paralelo y, por tanto, los microorganismos nitrificantes contenidos en la misma (microorganismos capaces de realizar la nitrificación) tienen una baja tolerancia a los componentes orgánicos y se destruyen por exposición a una gran cantidad de componentes orgánicos. Por lo tanto, cuando se añade material orgánico en una gran cantidad en un momento del 'proceso de cultivo', no se puede recoger el nitrógeno nitrato ya que no se deja proseguir la reacción de nitrificación.

De manera específica, el límite superior de la cantidad del material orgánico añadido es aproximadamente de 2 g por adición por l de agua (solución) del sistema de reacción. Por lo tanto, para recoger una alta concentración de nitrógeno nitrato, es necesario añadir el material orgánico en varios lotes (preferentemente, diariamente), y por tanto, el procedimiento se vuelve engorroso.

Después, el tercer problema es la gran cantidad de la fuente de microorganismos añadida.

El problema aparece porque la fuente de microorganismos de origen natural anteriormente mencionada no es una (ecosistema de microorganismos) que esté optimizada para la mineralización múltiple en paralelo y, por tanto, los microorganismos nitrificantes tienen una tolerancia muy baja a los componentes orgánicos y es inevitable que las bacterias nitrificantes se dañen por la exposición a los componentes orgánicos, y la cantidad de la fuente de microorganismos añadida debe necesitar ajustarse en consideración a la pérdida de microorganismos por los daños.

De manera específica, es necesario añadir suelo en una cantidad de aproximadamente 5 g o más por l de agua (solución) del sistema de reacción. Si la cantidad es 5 g o menos, existe riesgo de que el nitrógeno nitrato no se pueda recoger ya que los microorganismos nitrificantes se destruyen por la exposición a los componentes orgánicos.

Además, la adición de una gran cantidad de la fuente de microorganismos es problemática en el campo de los cultivos hidropónicos. En el campo de los cultivos hidropónicos, se usan toneladas de soluciones nutrientes y, por tanto, tiene que añadirse unos pocos kilos de suelo a las soluciones nutrientes. Sin embargo, si se añade el suelo en dicha cantidad, se produce a menudo un problema de obstrucción en la ruta de flujo por partículas de suelo.

Además, si se añade el suelo en dicha cantidad, los agregados del suelo crecen haciendo que el sistema se vuelva anaerobio en muchos casos. Por lo tanto, los microorganismos desnitrificantes que favorecen un entorno anaerobio (microorganismos capaces de realizar la desnitrificación) pueden proliferar para perder nitrógeno nitrato como nitrógeno gas. Además, los microorganismos anaerobios secretan un componente indeseable (fitotóxico) para las plantas, que inhibe el crecimiento de las plantas.

La bibliografía de patentes 3 divulga un método de nitrificación de fluidos y en particular fluidos para oxidar amoníaco y nitritos para producir nitratos. Se divulga un proceso microbiológico para la nitrificación de un fluido que comprende pasar el fluido que se va a nitrificar a través de una biomasa inmovilizada que comprende nitrificar bacterias, como una biopelícula que crece sobre partículas porosas tales como coque. El documento divulga por tanto una tecnología para eliminar el amoníaco tóxico, etc., de fluidos usando bacterias nitrificantes.

La bibliografía de patentes 4, divulga un material biológico carbonizado que comprende microbios colonizadores que incluyen Nitrosomonas y Nitrobacter etc., en carbón activo, así como un método para tratar contaminantes ambientales tales como amoníaco y nitrato contenidos en suelos contaminados y agua utilizando el material.

La bibliografía de patentes 5 divulga un filtro útil para la purificación de agua que comprende partículas de zeolita que absorben amoníaco y material plástico espumado adecuado para las bacterias nitrificantes hospedadoras, y divulga que el filtro se puede usar como un medio de crecimiento de plantas. El documento se refiere por tanto a una tecnología para el tratamiento de eliminación de amoníaco que utiliza bacterias nitrificantes.

Por lo tanto, se requiere el desarrollo de una tecnología que reduzca significativamente la cantidad de la fuente de microorganismos añadida.

En consecuencia, se ha deseado desarrollar un método para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir de un material orgánico llevando a cabo la mineralización múltiple en paralelo a un nivel adecuado para el uso práctico de una manera eficaz, para resolver así los tres problemas anteriormente mencionados.

- 5 [Bibliografía de patentes 1] JP 2001-300583 A
 [Bibliografía de patentes 2] JP 2007-119260 A
 [Bibliografía de patentes 3] US 6,572,773 B1
 [Bibliografía de patentes 4] GB 2 431 926 A
 [Bibliografía de patentes 5] GB 2 181 424 A
 10 [Bibliografía no de patentes 1] Research Journal, 2008, 31 (1), págs. 44-46
 [Bibliografía no de patentes 2] "Hydroponics using organic fertilizer", Agriculture and horticulture, Vol. 81, págs. 753-764 (2006)

Divulgación de la invención

15 Problema que ha de resolver la invención

Para resolver los problemas anteriormente mencionados, un objetivo de la presente invención es proporcionar un método que puede reducir drásticamente el tiempo para completar una reacción para mineralizar un material orgánico a nitrógeno nitrato y puede añadir una gran cantidad de un material orgánico de una vez en una mineralización múltiple en paralelo para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir del material orgánico, dando como resultado una generación eficaz de nitrógeno nitrato a una alta concentración y una drástica reducción de la cantidad de la fuente de microorganismos añadida.

25 Medios para resolver los problemas

El inventor de la presente invención ha descubierto que el uso de un 'inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para una mineralización múltiple en paralelo' como fuente de microorganismos puede reducir drásticamente el tiempo para completar una reacción para mineralizar un material orgánico en nitrógeno nitrato y puede añadir una gran cantidad de un material orgánico de una vez a la mineralización múltiple en paralelo para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir del material orgánico, dando como resultado una generación eficaz de nitrógeno nitrato a una alta concentración y una drástica reducción de la cantidad de la fuente de microorganismos añadida.

35 Debe señalarse que las fuentes de microorganismos conocidas que contienen microorganismos capaces de realizar la amonificación y microorganismos capaces de realizar la nitrificación incluyen inóculos para cría de peces tropicales (para la filtración del agua de cría) y de los fangos activados procedentes de la depuración de aguas residuales.

40 Sin embargo, muchos de los inóculos para la cría de peces tropicales contienen microorganismos capaces de realizar desnitrificación (microorganismos desnitrificantes) ya que los inóculos están destinados originalmente a controlar un entorno para el crecimiento de los peces y se usan principalmente para eliminar el nitrógeno. Los microorganismos pierden el nitrógeno nitrato y, por tanto, no se ha proporcionado un inóculo capaz de generar una alta concentración de nitrógeno nitrato.

45 Además, se pretende principalmente que los fangos activados procedentes de las plantas de depuración de aguas residuales fomenten la desnitrificación y, por tanto, los fangos activados contienen muchos microorganismos capaces de realizar la desnitrificación (microorganismos desnitrificantes).

50 Por lo tanto, los inóculos no son "microorganismos optimizados como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

La presente invención se ha completado sobre la base de esos hallazgos.

55 Es decir, un primer aspecto de la presente invención es un método para producir un inóculo que tiene la siguiente característica (F);

(F) una característica tal que el inóculo mantiene su función como inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo cuando el inóculo se calienta de 50 a 80 °C, en el que la mineralización múltiple en paralelo es una reacción para llevar a cabo sucesivamente la degradación de un material orgánico a nitrógeno amonio y la nitrificación del nitrógeno amonio a nitrógeno nitrato en el mismo sistema de reacción así como una reacción para generar nitrógeno nitrato degradando el nitrógeno orgánico contenido en el material orgánico a nitrógeno amonio y a continuación llevar a cabo la nitrificación del nitrógeno amonio a través de la nitrificación por degradación del material orgánico; comprendiendo el método:

65 introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo, añadir la siguiente fuente de microorganismos (B) que contiene microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo;

(B) al menos una fuente de microorganismos seleccionada entre el grupo que consiste en suelo, compost, fangos activados, y agua recogida de la naturaleza;
 en el que los microorganismos se seleccionan entre microorganismos capaces de realizar la amonificación y microorganismos capaces de realizar la nitrificación;

5 manteniendo un entorno en agua que satisfaga todas las condiciones siguientes (C1) a (C4), cultivando de esta forma los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo;

(C1) una condición de temperatura del agua de 15 a 37 °C;

(C2) una condición de mantener una condición aerobia mediante aireación, agitación o aireación y agitación:

10 (C3) una condición de añadir el siguiente material orgánico (D) en una cantidad de 0,01 a 2 g en términos de peso seco por l de agua durante 1 a 14 días;

(D) al menos un material orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en un fertilizante soluble a base de pescado, licor de maíz fermentado, torta de aceite, harina de pescado, leche, torta de soja, torta de levadura, torta de sake, torta de sochu, y basura en bruto; y

15 (C4) una condición de detener la adición del material orgánico cuando la concentración de ion nitrato generado en el agua alcanza de 10 a 50 mg/l;

formar una biopelícula sobre la siguiente superficie sólida (E) que está en contacto con el agua y recoger a continuación la biopelícula;

20 (E) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente y una superficie inferior del recipiente;

y utilizar la biopelícula recogida como inóculo de los microorganismos optimizados como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

25 Un segundo aspecto de la presente invención es el método de producir un inóculo de acuerdo con el primer aspecto, en el que uno o más de los siguientes materiales (A1) a (A3) está sumergido en el recipiente;

(A1) un soporte sólido que comprende carbón activo de bambú, carbón activo, perlita, arena de playa, vermiculita, cerámica, zeolita, vidrio, lana de roca, uretano, nailon o una resina de melamina;

30 (A2) un objeto similar a una placa que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería; y

(A3) una estructura de tipo columna que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería, y la biopelícula se forma sobre la siguiente superficie sólida (E-1);

35 (E-1) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente, una superficie inferior del recipiente, una superficie del soporte sólido, una superficie de un objeto similar a una placa, y una superficie de la estructura de tipo columna.

Un tercer aspecto de la invención es un método para producir un inóculo que tiene la siguiente característica (F);

40 (F) una característica tal que el inóculo mantiene su función como inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo cuando el inóculo se calienta de 50 a 80 °C, comprendiendo el método:

introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo, añadir un inóculo obtenido mediante el método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 1 como fuente de microorganismos;

45 mantener un entorno en agua para satisfacer todas las siguientes condiciones (C1), (C2), (C3-2), y (C4), cultivando de esta forma los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo;

(C1) una condición de temperatura del agua de 15 a 37 °C;

(C2) una condición de mantener una condición aerobia mediante aireación, agitación o aireación y agitación:

50 (C3-2) una condición de añadir el siguiente material orgánico (D) en una cantidad de 0,01 a 10 g en términos de peso seco por l de agua durante 1 a 14 días;

(D) al menos un material orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en un fertilizante soluble a base de pescado, licor de maíz fermentado, torta de aceite, harina de pescado, leche, torta de soja, torta de levadura, torta de sake, torta de sochu, y basura en bruto; y

55 (C4) una condición de detener la adición del material orgánico cuando la concentración de ion nitrato generado en el agua alcanza de 10 a 50 mg/l;

formar una biopelícula sobre la siguiente superficie sólida (E) que está en contacto con el agua y recoger a continuación la biopelícula;

60 (E) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente y una superficie inferior del recipiente;

y utilizar la biopelícula recogida como inóculo de los microorganismos optimizados como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

65 Un cuarto aspecto de la invención es un método para producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 3, en el que uno o más de los siguientes materiales (A1) a (A3) está sumergido en el recipiente;

- (A1) un soporte sólido que comprende carbón activo de bambú, carbón activo, perlita, arena de playa, vermiculita, cerámica, zeolita, vidrio, lana de roca, uretano, nailon o una resina de melamina;
 (A2) un objeto similar a una placa que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería; y (A3) una estructura de tipo columna que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería, y la biopelícula se forma sobre la siguiente superficie sólida (E-1);
 5 (E-1) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente, una superficie inferior del recipiente, una superficie del soporte sólido, una superficie de un objeto similar a una placa, y una superficie de la estructura de tipo columna.
- 10 Un quinto aspecto de la invención se refiere al método de producir un inóculo de acuerdo con el primer aspecto, en el que se recoge la biopelícula descartando un sobrenadante de una solución de cultivo obtenido después de cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y a continuación recoger la biopelícula formada sobre la superficie sólida.
- 15 Un sexto aspecto de la invención se refiere al método de producir un inóculo de acuerdo con el primer aspecto, que comprende llevar a cabo un tratamiento de secado después de recoger la biopelícula. El séptimo aspecto de la invención se refiere al método de producir un inóculo de acuerdo con el segundo aspecto, en el que se recoge la biopelícula descartando un sobrenadante de una solución de cultivo obtenido después de cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y a continuación recoger la biopelícula
 20 formada sobre la superficie sólida.
- Un octavo aspecto de la invención se refiere al método de producir un inóculo de acuerdo con el cuarto aspecto, que comprende llevar a cabo un tratamiento de secado después de recoger la biopelícula.
- 25 Un noveno aspecto de la invención se refiere a un inóculo que se obtiene mediante el método de producir un inóculo de acuerdo con uno cualquiera de los aspectos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, que tiene las siguientes características (F) y (G);
- 30 (F) una característica tal que el inóculo mantiene su función como inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo cuando el inóculo se calienta de 50 a 80 °C; y
 (G) una característica tal que una composición de microorganismos está optimizada como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.
- Un décimo aspecto de la invención se refiere a un método para producir un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos, comprendiendo el método:
 35 introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo y añadir el inóculo de acuerdo con la reivindicación 9;
 permitir que avance una mineralización múltiple en paralelo en el agua manteniendo un entorno en el agua que satisfaga todas las condiciones siguientes (C1), (C2), y (C3-3);
 40 (C1) una condición de temperatura del agua de 15 a 37 °C;
 (C2) una condición de mantener una condición aerobia mediante aireación, agitación o aireación y agitación;
 y
 45 (C3-3) una condición de añadir un material orgánico en una cantidad de 20 g o menos en términos de peso en seco por l de agua;
- proporcionar una solución de reacción que contiene un ion nitrato a una concentración de 100 mg/l o más;
 y utilizar la solución de reacción resultante como un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos.
 50
- Un undécimo aspecto de la invención se refiere al método de producir un fertilizante de acuerdo con el décimo aspecto, en el que el inóculo se añade en una cantidad de 0,01 g o más por l de agua.
- 55 Un duodécimo aspecto de la invención se refiere a un método de cultivar una planta, que comprende añadir un fertilizante que contiene un material orgánico directamente en la solución de reacción para llevar a cabo cultivos hidropónicos en la solución de reacción obtenida de acuerdo con la reivindicación 10.

Efectos de la invención

- 60 De acuerdo con la presente invención, es posible proporcionar el 'inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para una mineralización múltiple en paralelo'.
- 65 De acuerdo con la presente invención, es posible reducir drásticamente el tiempo para completar una reacción para mineralizar un material orgánico a nitrógeno nitrato y puede añadir una gran cantidad de un material orgánico de una vez en la mineralización múltiple en paralelo para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir del

material orgánico, dando como resultado una generación eficaz de nitrógeno nitrato a una alta concentración y una drástica reducción de la cantidad de la fuente de microorganismos añadida.

5 Además, de acuerdo con la presente invención, es posible degradar rápidamente los recursos orgánicos o los residuos alimentarios que contienen una gran cantidad de nitrógeno para convertir los recursos o los residuos en fertilizantes inorgánicos que contienen nitrógeno nitrato.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

10 La presente invención se refiere a un método para producir un inóculo de microorganismos optimizado como un catalizador para una mineralización múltiple en paralelo en la mineralización múltiple en paralelo para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir de un material orgánico.

15 La presente invención se refiere también a un método para producir un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos usando el inóculo.

20 Debe señalarse que las FIGS. 1(a) a 1(c) son diagramas que ilustran realizaciones del método de producir un inóculo de microorganismos optimizado como un catalizador para una mineralización múltiple en paralelo de la presente invención.

25 De manera específica, La FIG. 1(a) es un diagrama que ilustra una realización del método que utiliza un 'material de origen natural (tal como suelo)' como la fuente del inóculo de los microorganismos. Además, La FIG. 1(b) es un diagrama que ilustra una realización del método que utiliza 'el inóculo de la presente invención' como la fuente del inóculo de los microorganismos. Además, La FIG. 1(c) es un diagrama que ilustra una realización del método que utiliza una 'biopelícula que permanece en un recipiente (superficie sólida)' como la fuente del inóculo de los microorganismos.

30 En la presente invención, el inóculo de microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo, que se define como en la reivindicación 1, se produce mediante: introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo, inocular microorganismos como se define en la reivindicación 1 capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo del anterior, y manteniendo un entorno en agua para satisfacer la condición (C1) a (C4) definida en la reivindicación 1 que permite que la mineralización múltiple en paralelo avance en el agua, cultivar de esta forma los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo; y formar una biopelícula (estructura de comunidad microbiana) sobre una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente y una superficie inferior del recipiente que entra en contacto con el agua, y utilizar a continuación la biopelícula recogida como un inóculo de los microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

40 La primera etapa en la producción del inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo de la presente invención es una etapa de 'introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo, añadir una fuente de microorganismos (B) definida en la reivindicación 1 que contiene microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo para mineralizar un material orgánico para generar nitrógeno nitrato, y mantener un entorno en agua que satisfaga todas las condiciones (C1) a (C4) definidas en la reivindicación 1 cultivando de esta forma microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo' (etapa de cultivo).

50 Debe señalarse que en la etapa de cultivo, el entorno que permite el avance de la mineralización múltiple en paralelo se puede mantener 'tras inocular los microorganismos' o se puede mantener 'tras inocular los microorganismos en agua en un estado en que se mantenga el entorno que permite que continúe la mineralización múltiple en paralelo'.

Se puede utilizar cualquier recipiente como "un recipiente que puede almacenar agua en el mismo" en esta etapa siempre que el recipiente pueda almacenar agua en el mismo.

55 Los ejemplos del recipiente incluyen: recipientes que pueden almacenar una cantidad relativamente grande de agua en los mismos, tales como un depósito de agua, un recipiente, un cubo, un tanque, un depósito de almacenamiento de agua, una bañera, y una piscina; y recipientes que pueden almacenar una cantidad relativamente pequeña de agua en los mismos, tales como un matraz, un vaso de precipitados, y un tubo de ensayo.

60 De manera específica, se puede usar el recipiente, depósito o matraz. Por otra parte, en el caso de producción a gran escala o uso industrial real, se puede usar el depósito de almacenamiento de agua o una piscina.

65 Debe señalarse que, más preferentemente, el recipiente es deseablemente uno que tenga una estructura donde el área de la superficie sólida del recipiente que entra en contacto con el agua es grande con respecto al volumen y donde existen pocas partes en las que la corriente de agua difícilmente produzca condiciones anaerobias.

Además, el área donde se forma la biopelícula de microorganismos puede aumentarse colocando un soporte sólido

donde los microorganismos se adhieran fácilmente en el recipiente (sumergiendo el soporte en agua del recipiente).

De manera específica, se puede usar un soporte sólido tal como carbón activo de bambú, carbón activo, perlita, arena de playa, vermiculita, cerámica, zeolita, vidrio, lana de roca, uretano, nailon o una resina de melamina.

5 Además, el área donde se forma la biopelícula de los microorganismos puede aumentarse sumergiendo un objeto sumergido tal como una placa (un objeto similar a una placa) o una estructura de tipo columna en el recipiente (sumergiendo el objeto cuando el agua se introduce en el mismo). El objeto sumergido tiene deseablemente una estructura que se desprende y se retira del agua. De manera específica, se puede usar como objeto sumergido, un
10 objeto fabricado de vidrio, acrílico, plástico, cerámica, arcilla, etc., que no se pudra y corroa en el agua.

Como el agua usada en esta etapa, se puede usar agua de grifo, agua destilada, agua pura destilada, agua de pozo, agua de río, agua de lagos agua de mar, etc.

15 La cantidad del agua no está particularmente limitada siempre que el agua sea al menos 50 veces el peso seco del material orgánico que se va a añadir. Para obtener el inóculo en una cantidad adecuada, específicamente, se introduce el agua en el recipiente en una cantidad de 0,001 a 10.000 l, preferentemente 0,01 a 1000 l.

20 En la presente invención, la "mineralización múltiple en paralelo" es una reacción que genera nitrógeno nitrato mineralizando un material orgánico e implica llevar a cabo satisfactoriamente la degradación de un material orgánico a nitrógeno amonio (amonificación) y la nitrificación de nitrógeno amonio a nitrógeno nitrato (nitrificación) en el mismo sistema de reacción.

25 De manera específica, la reacción se refiere a una reacción para generar nitrógeno nitrato degradando nitrógeno orgánico contenido en el material orgánico a nitrógeno amonio, y a continuación llevar a cabo la nitrificación (oxidación) del nitrógeno amonio mediante nitrificación durante la degradación del material orgánico.

30 Debe señalarse que, en la presente invención, el nitrógeno nitrato generado mineralizando el material orgánico incluye un ion nitrato y una sal de nitrato, pero específicamente se refiere a un ion nitrato.

35 Los "microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo" que se van a "inocular" en esta etapa de cultivo incluyen microorganismos capaces de realizar la amonificación y microorganismos capaces de realizar la nitrificación, y pueden ser unos que pueden llevar a cabo la mineralización múltiple en paralelo cuando se cultivan en el entorno predeterminado mencionado a continuación.

40 Debe señalarse que los microorganismos que forman los microorganismos descritos anteriormente se seleccionan entre microorganismos capaces de realizar la amonificación tales como protozoos, bacterias, hongos, y cualesquiera otros microorganismos amonificantes; y microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes) tales como microorganismos que oxidan el amonio (o microorganismos productores de nitritos) que pertenecen al género *Nitrosomonas*, el género *Nitrosococcus*, y el género *Nitrosospira* (incluyendo el género *Nitrosolobus* y el género *Nitrosovibrio*) y los microorganismos oxidantes de nitrito (o microorganismos productores de nitrato) que pertenecen al género *Nitrobacter* y al género *Nitrospira*.

45 La fuente del inóculo de los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo en esta etapa es específicamente un "material de origen natural" seleccionado entre el grupo que consiste en suelo, compost incluyendo compost de corteza, fangos activados o agua recogida de la naturaleza (específicamente, agua de lagos y pantanos, agua de una fuente, agua de pozo, agua de río, agua de mar, etc.).

50 Sin embargo, las fuentes del inóculo de origen natural no están necesariamente optimizadas como un catalizador para una mineralización múltiple en paralelo. Por lo tanto, cuando se utilizan utilizar los materiales anteriormente mencionados como las fuentes del inóculo, para cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo, específicamente, esto lleva al menos 10 días, usualmente 15 a 20 días hasta completar todas las etapas de la producción del inóculo de la presente invención cuando la cantidad de material orgánico añadido sea 1 g o menos por l de agua y la temperatura de reacción sea de 25 °C.

55 Por lo tanto, el "inóculo de microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo" obtenido en la presente invención se inocula preferentemente como la fuente del inóculo de los microorganismos en esta etapa.

60 Como se ha mencionado en detalle a continuación, el "inóculo" es un material obtenido al recoger la biopelícula (estructura de la comunidad microbiana) formada sobre la superficie sólida después de la etapa de cultivo o un material recogido de tal manera que el material contenga la biopelícula.

65 Cuando se añade el inóculo como la fuente del inóculo de los microorganismos en esta etapa, se puede completar rápidamente la etapa de cultivo. De manera específica, todas las etapas de la producción del inóculo de la presente invención pueden completarse en casi 8 días, usualmente 4 a 8 días cuando la cantidad de un material orgánico

añadida sea 1 g o menos por l de agua y la temperatura de reacción sea 25 °C.

Es decir, el periodo de tiempo que se tarda en completar todas las etapas en la producción del inóculo de la presente invención puede reducirse casi a la mitad y puede potenciarse drásticamente la eficacia de producción aumentando los tiempos de funcionamiento.

Debe señalarse que la biopelícula que permanece en el recipiente (superficie sólida) tras la recogida de la biopelícula puede utilizarse como la fuente del inóculo en esta etapa de cultivo ya que tiene las mismas funciones que las del "inóculo".

En la producción real, antes de que se obtenga el "inóculo" de la presente invención, el "material de origen natural" anteriormente mencionado se selecciona del grupo que consiste en suelo, compost de corteza o agua recogida de la naturaleza, se usa deseablemente como la fuente del inóculo de los microorganismos en esta etapa, y tras obtener el inóculo de la presente invención, el "inóculo" se usa deseablemente desde el punto de vista de la eficacia, como se ha mencionado anteriormente.

En la inoculación de los microorganismos en esta etapa de cultivo, la cantidad de la fuente del inóculo añadida no está particularmente limitada, pero cuando se añade el "material de origen natural" seleccionado entre el grupo que consiste en suelo, compost de corteza o agua recogida de la naturaleza, se necesita añadir una gran cantidad de la fuente del inóculo al agua introducida en el recipiente.

De manera específica, en el caso de usar suelo o compost de corteza, se añade la fuente del inóculo en una cantidad de 1 a 10 g con respecto a 1 l de agua introducida en el recipiente, y en el caso de usar agua recogida de la naturaleza, se añade la fuente del inóculo sustituyendo 100 a 1000 ml de 1 l del agua introducida en el recipiente con el agua recogida de la naturaleza (de tal manera que el agua recogida de la naturaleza representa del 10 al 100 % del volumen total).

Por otro lado, cuando el "inóculo" de la presente invención se añade a la fuente del inóculo, la cantidad del inóculo añadida puede reducirse drásticamente, y se puede añadir el inóculo en una cantidad de 0,005 a 1 g en términos de peso en seco por l de agua introducida en el recipiente.

De manera específica, En el caso de usar células microbianas secas, pueden añadirse 0,05 a 1 g del inóculo por l de agua introducida en el recipiente y en el caso de usar células microbianas húmedas, 0,05 a 10 g del inóculo pueden añadirse por l de agua introducida en el recipiente. Por otra parte, cuando se añade una mezcla de la biopelícula y el sobrenadante de una solución de cultivo, se puede añadir la fuente del inóculo sustituyendo 1 a 500 ml de 1 l del agua introducida en el recipiente con la mezcla de tal manera que la mezcla represente del 1 al 50 % del volumen total).

Debe señalarse que, cuando la biopelícula permanece en el recipiente (superficie sólida) tras la recogida de la biopelícula se usó como la fuente del inóculo, 0,005 a 1 g (en términos de peso en seco) de la biopelícula pueden añadirse con 1 l de agua en el recipiente para preparar agua inoculada con los microorganismos.

En esta etapa de cultivo, el "entorno que permite que avance la mineralización múltiple en paralelo en el agua" se refiere específicamente a un entorno que satisface las condiciones (C1) a (C4) de la reivindicación 1 donde se mantiene una condición aerobia en el agua, se añade un material orgánico al agua, y además, el agua se mantiene a una temperatura del agua de 15 a 37 °C.

Cuando se mantiene dicho entorno, se pueden cultivar los microorganismos capaces de realizar la mineralización múltiple en paralelo.

En esta etapa de cultivo, cuando se "mantiene una condición aerobia" en el agua, se puede aumentar la concentración del oxígeno disuelto en el agua para crear una condición adecuada para la actividad de los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo.

Por otra parte, los microorganismos capaces de realizar una desnitrificación (microorganismos desnitrificantes) se activan en condiciones anaerobias y, por tanto, el entorno anteriormente mencionado se mantiene para suprimir la proliferación de los microorganismos capaces de realizar la desnitrificación.

Un método de mantener una condición aerobia en el agua incluye la aireación, la agitación o la aireación y agitación. Preferentemente, se emplea la aireación o la agitación.

En esta etapa de cultivo, la "temperatura del agua" adecuada para dejar avanzar la mineralización múltiple en paralelo es una adecuada para hacer crecer los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo. De manera específica, la temperatura del agua se mantiene de 15 a 37 °C, más preferentemente de 20 a 37 °C, lo más preferente aproximadamente 25 °C.

Debe señalarse que, cuando la temperatura sea inferior a 15 °C, no se prefiere la temperatura ya que se retrasa la proliferación de microorganismos lo que requiere un periodo largo de tiempo para el cultivo. Por otra parte, cuando la temperatura sea superior a 37 °C, no se prefiere la temperatura ya que parte de los microorganismos necesarios para permitir la mineralización múltiple en paralelo pueden quedar destruidos.

5 En esta etapa de cultivo, el "material orgánico" que se va a añadir al agua puede ser un material orgánico (D) como se define y se usa en la reivindicación 1. Sin embargo, un material orgánico rico en nitrógeno que tiene una relación de contenido de carbono a nitrógeno, una relación C/N, de 11 o menos, preferentemente de 10 o menos se usa deseablemente ya que puede potenciarse la eficacia de recogida de nitrógeno nitrato.

10 El material orgánico contiene deseablemente una proteína, un producto de degradación de la proteína, y un aminoácido en grandes cantidades. De manera específica, al menos un material orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en un fertilizante soluble a base de pescado, licor de maíz fermentado, torta de aceite, harina de pescado, leche, torta de soja, torta de levadura, torta de sake, torta de sochu, y basura en bruto se usa como el al menos un material orgánico. Debe señalarse que se trata de residuos obtenidos en un proceso de producción de alimentos, y son deseables en términos de estar exentos de cualquier componente que tenga toxicidad.

15 Además, de estos, es más deseable utilizar fertilizante soluble a base de pescado, licor de maíz fermentado o torta de aceite. Un ejemplo específico de un fertilizante soluble a base de pescado es un fertilizante soluble a base de bonito. Además, el licor de maíz fermentado es, por ejemplo, licor de maíz fermentado (CSL: licor de maíz fermentado, obtenido como un subproducto durante la producción de almidón de maíz). Además, un ejemplo de torta de aceite es torta de aceite de colza.

20 Debe señalarse que el material orgánico se puede usar en forma líquida o en forma de polvo, pero el fertilizante soluble a base de bonito y el licor de maíz fermentado son particularmente deseable ya que son líquidos y se dispersan uniformemente en el agua.

25 En esta etapa de cultivo, el método de "añadir el material orgánico" al agua varía dependiendo del tipo de la fuente del inóculo de los microorganismos.

30 Es decir, cuando una "fuente de microorganismos de origen natural" seleccionada entre el grupo que consiste en suelo, compost de corteza o agua natural se añade como la fuente del inóculo, para prevenir la destrucción de microorganismos nitrificantes contenidos en la fuente de microorganismos mediante exposición al material orgánico, es necesario añadir 'gradualmente' el material orgánico en una cantidad de 0,01 a 2 g (en términos de peso seco), preferentemente 0,05 a 1 g (en términos de peso seco) por l de agua durante 1 a 14 días, preferentemente durante 1 a 7 días, más preferentemente diariamente. Por ejemplo, en el caso de usar torta de aceite de colza, se puede añadir el material orgánico en una cantidad de 0,01 a 2 g.

35 Cuando el material orgánico está en forma líquida, el valor de la cantidad en términos de peso seco puede estar en el intervalo. Por ejemplo, se puede añadir el fertilizante soluble a base de bonito en una cantidad de 0,01 a 2 g en términos de peso líquido (0,007 a 1,4 g en términos de peso seco), mientras que se puede añadir licor de maíz fermentado puede añadirse en una cantidad de 0,01 a 2 g en términos de peso líquido (0,005 a 1 g en términos de peso seco).

40 Además, cuando el "inóculo" de la presente invención se añade a la fuente del inóculo, el material orgánico se puede añadir 'de una vez' en una cantidad de hasta 10 g por l de agua ya que los microorganismos nitrificantes contenidos en la fuente del inóculo tienen una resistencia aumentada a la exposición a componentes orgánicos.

45 De manera específica, el inóculo se añade de manera deseable 'en el primer día del cultivo' en una cantidad de 0,01 a 10 g (en términos de peso seco), preferentemente 0,05 a 5 g (en términos de peso seco) por l del agua. Por ejemplo, se puede añadir torta de aceite de colza en una cantidad de 0,01 a 10 g.

50 Además, Cuando el material orgánico está en forma líquida, el valor de la cantidad en términos de peso seco puede estar en el intervalo. Por ejemplo, se puede añadir el fertilizante soluble a base de bonito en una cantidad de 0,01 a 10 g en términos de peso líquido (0,007 a 7 g en términos de peso seco); mientras que se puede añadir licor de maíz fermentado puede añadirse en una cantidad de 0,01 a 10 g en términos de peso líquido (0,005 a 5 g en términos de peso seco).

55 En esta etapa de cultivo, el "tiempo hasta el cultivo" de los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo es el tiempo hasta que el aumento en la concentración de un ion nitrato en la solución de cultivo alcanza 10 a 50 mg/l.

60 Debe señalarse que, cuando la cantidad del material orgánico añadido es de 1 g o menos por l de agua, la temperatura de reacción es de 25 °C y la "fuente de microorganismos de origen natural" seleccionada entre el grupo que consiste en suelo, compost de corteza o agua natural se añade como la fuente del inóculo, el número de días para el cultivo en el entorno anteriormente mencionado (cultivo hasta que el aumento en la concentración de un ion

65

nitrito en la solución de cultivo alcanza 10 a 50 mg/l) es específicamente de 10 días como mínimo, usualmente 15 a 20 días.

5 Por otro lado, cuando la cantidad del material orgánico añadido es de 1 g o menos por l de agua, la temperatura de reacción es de 25 °C, y se añade el "inóculo" de la presente invención, el número de días es de 8 días como máximo, usualmente 4 a 8 días.

10 En esta etapa de cultivo, cuando se cultivan los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo, los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo se cultivan suprimiendo a la vez la proliferación de microorganismos capaces de realizar una desnitrificación en la biopelícula formada.

15 La "desnitrificación" es un fenómeno donde el nitrógeno nitrato se reduce a, por ejemplo, nitrógeno gas u óxido nitroso gas por los microorganismos capaces de realizar una desnitrificación (microorganismos desnitrificantes), disminuyendo por tanto el nitrógeno nitrato. La reacción tiende a inducirse cuando las siguientes dos condiciones se producen simultáneamente: una condición donde existe un componente orgánico que sirve como fuente de energía para los microorganismos desnitrificantes; y una condición donde se genera nitrógeno nitrato que sirve como donante de oxígeno para los microorganismos desnitrificantes.

20 Por lo tanto, en la presente invención, los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo se cultivan, aunque suprimiendo la proliferación de los microorganismos capaces de realizar una desnitrificación (microorganismos desnitrificantes) deteniendo la adición del material orgánico antes o inmediatamente después de que comience a generarse en el agua nitrógeno nitrato.

25 De manera específica, cuando (antes o inmediatamente después) la concentración de nitrógeno nitrato generada en el agua alcanza 10 a 50 mg/l, preferentemente 10 a 30 mg/l en términos de un ion nitrato, se detiene la adición del material orgánico.

30 Debe señalarse que los microorganismos capaces de realizar una desnitrificación (microorganismos desnitrificantes) se vuelven activos bajo una condición anaerobia y, por tanto, se mantiene una condición aerobia en el agua.

La etapa del cultivo anteriormente mencionada se lleva a cabo para formar la biopelícula de los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo sobre la superficie sólida que entra en contacto con el agua, y a continuación se lleva a cabo una etapa de recoger la biopelícula (etapa de recogida).

35 Aquí, la "superficie sólida" que entra en contacto con el agua se refiere específicamente a: una superficie de la pared o una superficie inferior del recipiente; la superficie de un soporte sólido sumergido en agua separadamente del recipiente; o la superficie de una placa sumergida en agua separadamente del recipiente.

40 Debe señalarse que, desde el punto de vista de la eficacia de funcionamiento de la recogida de la biopelícula, cuando la superficie sólida donde se forma la biopelícula de los microorganismos sea la superficie de la pared y/o la superficie inferior del recipiente, la superficie sólida tiene deseablemente una estructura en la que la corriente del agua no queda estancada frecuentemente, mientras que cuando la superficie sólida sea el soporte sólido o la placa sumergida en agua, la superficie sólida tiene deseablemente una estructura que se desprende y se retira del agua.

45 En esta etapa, la "recogida de la biopelícula" se refiere a la recogida de la biopelícula formada sobre el soporte sólido o la recogida de un material que contiene la biopelícula.

50 De manera específica, existen los siguientes casos: (1) se descarta el sobrenadante de la solución de cultivo obtenida tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo, y a continuación se recoge la biopelícula formada sobre la superficie sólida; y (2) se recoge una mezcla de la biopelícula formada sobre la superficie sólida y el sobrenadante de la solución de cultivo obtenido tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo. Debe señalarse que la FIG. 2 (c) es un diagrama que ilustra una realización del método de recoger la biopelícula en la presente invención.

55 El método (1) implica descartar el sobrenadante de la solución de cultivo y recoger la biopelícula formada sobre la superficie sólida.

60 En este caso, el sobrenadante de la solución de cultivo puede descartarse desde una salida de drenaje, decantación (un método de descartar el sobrenadante inclinando el recipiente), aspiración, secado evaporativo o similar. El sobrenadante de la solución de cultivo se descarta deseablemente mediante descarga desde una salida de drenaje, decantación o aspiración ya que se puede simplificar una estructura y se puede facilitar un tratamiento.

65 Tras descartar el sobrenadante de la solución de cultivo, específicamente, la biopelícula puede recogerse y recopilarse rascando la superficie del recipiente o la superficie del soporte sólido sumergido o el objeto inmerso. La biopelícula recogida de esta manera se recoge como "células de microorganismos húmedas". Por otra parte, se puede recoger el propio soporte al que se ha adherido la biopelícula como células de microorganismos húmedas de

la presente invención.

El método (2) implica mezclar la biopelícula formada sobre la superficie sólida y el sobrenadante de la solución de cultivo obtenido tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y a continuación recoger la "mezcla".

En este caso, específicamente, el mezclado de la biopelícula formada sobre la superficie sólida y el sobrenadante de la solución de cultivo obtenido puede llevarse a cabo: mezclando la biopelícula formada físicamente desprendida rascando la biopelícula utilizando un cepillo, un rascador o similar, y el sobrenadante del pocillo de la solución de cultivo; mezclando la biopelícula desprendida por la corriente de agua y el sobrenadante; y mezclando la biopelícula desprendida haciendo vibrar todo el recipiente y el sobrenadante.

Además, en la mezcla, la cantidad del sobrenadante de la solución de cultivo es preferentemente de aproximadamente 0,5 a 100 ml por g de la biopelícula.

La "biopelícula" formada en la etapa de cultivo anteriormente mencionada contiene los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo a una alta concentración y contiene los microorganismos capaces de realizar la amonificación y los microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes) a una alta concentración. En particular, la biopelícula es adecuada para recoger los microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes), que colonizan sobre la superficie sólida.

Debe señalarse que el "sobrenadante de la solución de cultivo" obtenido tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo contiene los microorganismos capaces de realizar la amonificación de los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo, pero contiene pocos microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes).

Por lo tanto, "solo el sobrenadante de la solución de cultivo" tiene muy poca actividad hacia la reacción de nitrificación y no es adecuado como inóculo de los microorganismos capaz de llevar a cabo una mineralización múltiple en paralelo.

Es decir, en la presente invención, como en el método (1) o (2) anteriormente mencionado, la biopelícula recogida formada sobre la superficie sólida o el material recogido que contiene la biopelícula se puede usar como el "inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo".

Debe señalarse que, a la vista de la preservación del inóculo o los problemas en el transporte, se emplea deseablemente un método que implique el uso de la biopelícula recogida por el método (1) ya que el volumen o el peso puede reducirse fácilmente.

Por otra parte, cuando la preservación o el transporte no está particularmente considerado, el método (2) que implica mezclar la biopelícula y el sobrenadante de la solución de cultivo es deseable ya que el funcionamiento del método es el más fácil.

La biopelícula recogida por el método (1) o (2) anteriormente mencionado se puede usar como el "inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo" de la presente invención, y además, la biopelícula recogida puede recogerse como las "células microbianas húmedas" obtenidas eliminando el exceso de agua por centrifugación o filtración. Debe señalarse que, en este tratamiento, la centrifugación y la filtración pueden llevarse a cabo en combinación.

En este tratamiento, se puede llevar a cabo la centrifugación a dicha velocidad de centrifugación que proporciona microorganismos si estrés (2000 a 20.000xg). Por otra parte, se puede llevar a cabo la filtración filtrando la biopelícula húmeda o la mezcla de la biopelícula y el sobrenadante de la solución de cultivo usando un papel de filtro, paño o similar.

Debe señalarse que, en este tratamiento, la biopelícula se recoge deseablemente como células microbianas húmedas con un contenido de agua del 90 % o menos.

En esta etapa de recogida, se puede llevar a cabo un tratamiento de secado para recoger el inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo en la forma de 'células microbianas secas'.

Cuando esta etapa de recogida se realiza según el método (1) anteriormente mencionado, se puede llevar a cabo el tratamiento de secado tras descartar el sobrenadante de la solución de cultivo. De manera específica, tras descartar el sobrenadante de la solución de cultivo, la biopelícula formada que se adhiere a la superficie sólida puede someterse al tratamiento de secado. Como alternativa, el tratamiento de secado puede llevarse a cabo tras la recogida de la biopelícula húmeda formada.

Además, cuando esta etapa de recogida se lleva a cabo mediante el método (1) o (2) anteriormente mencionado y a continuación, el exceso de agua se elimina mediante centrifugación o filtración, las células microbianas húmedas pueden recogerse y someterse al tratamiento de secado, para obtener por tanto células microbianas secas.

5 El tratamiento de secado puede llevarse a cabo mediante secado al aire, tratamiento con calor seco, secado a presión reducida, etc. De manera específica, se puede llevar a cabo el tratamiento de secado secando las células microbianas húmedas con aire durante aproximadamente 1 hora hasta durante la noche (aproximadamente 6 a 14 horas), preferentemente aproximadamente durante la noche (aproximadamente 6 a 14 horas) bajo una condición de temperatura ambiente (15 a 37 °C).

10 Debe señalarse que, en este tratamiento de secado, se prefiere obtener células microbianas secas con un contenido de agua del 20 % o menos.

15 El "inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo" de la presente invención se puede producir mediante las etapas anteriormente mencionadas.

20 El inóculo puede producirse en la forma de las células microbianas húmedas, células microbianas secas (células de microorganismos después del tratamiento de secado), un líquido (mezcla de la biopelícula y del sobrenadante de la solución de cultivo), un soporte sólido al cual se une la biopelícula, etc.

Desde el punto de vista de la preservación o distribución (para transportar o preservar el inóculo en otro lugar), la resistencia al calor del inóculo seco o la disminución en la dosis del inóculo y la mejora de la eficacia de funcionamiento, el inóculo se produce preferentemente en la forma de las "células microbianas secas".

25 Por otra parte, Cuando la mineralización múltiple en paralelo se deja proseguir de nuevo en el mismo lugar, el inóculo se produce preferentemente en forma de "células microbianas húmedas" o "líquido" ya que la etapa de producir el inóculo es sencilla.

30 El inóculo de la presente invención tiene una composición de microorganismos que incluye los microorganismos capaces de realizar la amonificación y los microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes), y la cantidad de los microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes) de diez mil a cien millones de células por g del inóculo obtenido.

35 Cuando los microorganismos capaces de realizar la amonificación no cooperan con los microorganismos capaces de realizar la nitrificación sin el proceso de la mineralización múltiple en paralelo en el inóculo de la presente invención no se prefiere ya que los microorganismos capaces de realizar la nitrificación quedan fácilmente destruidos por la exposición a una gran cantidad de componentes orgánicos perdiendo la capacidad de nitrificación, lo que da como resultado un fallo en el avance de la mineralización múltiple en paralelo.

40 Es decir, en el inóculo de la presente invención, la capacidad de nitrificación de los microorganismos capaces de realizar la nitrificación se mantiene incluso en presencia de los componentes orgánicos ya que los microorganismos capaces de realizar la amonificación y los microorganismos capaces de realizar la nitrificación cooperan e interactúan entre sí.

45 El inóculo de la presente invención es uno que mantiene la función como el inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo incluso tras el calentamiento de 50 a 80 °C, preferentemente de 50 a 60 °C, más preferentemente de 50 °C. Por otra parte, el tiempo que resiste el calentamiento es aproximadamente 0,1 a 12 horas, preferentemente aproximadamente 30 minutos.

50 La resistencia al calor es eficaz para evitar la desactivación por una supuesta alta temperatura en un camión o un almacén durante el transporte o preservación del inóculo.

55 El inóculo de la presente invención puede usarse como la 'fuente de microorganismos' de los "microorganismos optimizada como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo" en la generación de nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos procedentes del material orgánico utilizando los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo.

60 En la presente invención, específicamente, un "fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos se puede producir" 'generando nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir del material orgánico que utiliza los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo'.

65 En la presente invención, la producción de un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nitratos inorgánicos (etapa de producción del fertilizante) se lleva a cabo mediante: introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo y añadiendo al anterior 'el inóculo' de la presente invención; dejar que la mineralización múltiple en paralelo avance en el agua manteniendo dicho "entorno de tal manera que se añada un material orgánico en una cantidad de 20 g o menos en términos de peso seco por l de agua, el agua se mantiene a una temperatura

del agua de 15 a 37 °C, y se mantiene aeróbicamente "mediante aireación, agitación o aireación y agitación, lo que permite que la mineralización múltiple en paralelo avance en el agua; proporcionando una solución de reacción que contiene 100 mg/l o más de un ion nitrato; y utilizar la solución de reacción resultante como un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos.

5 Debe señalarse que, en esta etapa de producción del fertilizante, el entorno que permite que avance la mineralización múltiple en paralelo puede mantenerse 'tras añadir el inóculo' o 'tras añadir el inóculo al agua en un en el que el entorno permite que se mantenga la progresión de la mineralización múltiple en paralelo'.

10 Se puede utilizar cualquier recipiente como "un recipiente que puede almacenar agua en el mismo" en esta etapa siempre que el recipiente pueda almacenar agua en el mismo y tenga una estructura tal que el oxígeno disuelto sea fácil de distribuir de manera uniforme.

15 Los ejemplos del recipiente incluyen: recipientes que pueden almacenar una cantidad relativamente grande de agua en los mismos, tales como un depósito de agua, un recipiente, un cubo, un tanque, un depósito de almacenamiento de agua, una bañera, y una piscina; y recipientes que pueden almacenar una cantidad relativamente pequeña de agua en los mismos, tales como un matraz, un vaso de precipitados, y un tubo de ensayo.

20 De manera específica, se puede usar el recipiente, depósito o matraz. Por otra parte, en el caso de producción a gran escala o uso industrial real, se puede usar el depósito de almacenamiento de agua o una piscina.

Como el agua usada en esta etapa, se puede usar agua de grifo, agua destilada, agua destilada pura, agua de pozo, agua de río, agua de lagos, agua de mar, etc.

25 La cantidad del agua no está particularmente limitada siempre que el agua sea al menos 50 veces el peso seco del material orgánico que se va a añadir. Para obtener un fertilizante en una cantidad adecuada, específicamente, se introduce el agua en su interior en una cantidad de 0,001 a 10.000 l, preferentemente 0,01 a 1000 l.

30 En esta etapa de producción del fertilizante, la cantidad del inóculo de la presente invención que se va a añadir como la 'fuente del microorganismo' es de 0,01 g o más, preferentemente 0,2 g o más por l del agua introducida en el recipiente. Cuando se añade el inóculo en una cantidad de solo menos de 0,2 g, puede retrasarse el tiempo hasta completar la mineralización múltiple en paralelo, lo que no es preferido.

35 Debe señalarse que, en un método convencional, es decir, cuando el compost de la corteza o similar se añade como la fuente de microorganismos, es necesario añadir la fuente de microorganismos en una cantidad de aproximadamente 5 g o más por l de agua.

40 Es decir, la cantidad de la fuente de microorganismos que se va a añadir puede reducirse drásticamente a aproximadamente un quinto, preferentemente de forma aproximada a un vigésimo quinto de la cantidad del método convencional utilizando el inóculo de la presente invención como la fuente del microorganismo.

45 En esta etapa de producción del fertilizante, para mantener el entorno que permite que avance la mineralización múltiple en paralelo, es necesario 'mantener el entorno donde se añade el material orgánico, el agua se mantiene a una temperatura del agua de 15 a 37 °C, y se mantiene aeróbicamente'.

50 Si se mantiene dicho entorno, es posible que proliferen los microorganismos optimizados como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo en el agua con el fin de permitir que avance rápidamente la mineralización múltiple en paralelo, y para generar adicionalmente nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos "sin ser acompañados por la desnitrificación".

En esta etapa de producción del fertilizante, cuando se "mantiene una condición aerobia" en el agua, se puede aumentar la concentración del oxígeno disuelto en el agua para crear una condición adecuada para la actividad de los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo.

55 Por otra parte, los microorganismos capaces de realizar una desnitrificación (microorganismos desnitrificantes) se activan en condiciones anaerobias y, por tanto, el entorno anteriormente mencionado es adecuado para suprimir proliferación de los microorganismos capaces de realizar la desnitrificación.

60 Un método de mantener una condición aerobia en el agua incluye la aireación, agitación, y aireación y agitación. Preferentemente, se emplea la aireación o la agitación.

65 En esta etapa de producción del fertilizante, la "temperatura del agua" adecuada para dejar avanzar la mineralización múltiple en paralelo es una adecuada para hacer crecer los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo. De manera específica, la temperatura del agua se mantiene de 15 a 37 °C, preferentemente de 20 a 37 °C, más preferentemente aproximadamente 25 °C.

Debe señalarse que, cuando la temperatura sea inferior a 15 °C, no se prefiere la temperatura ya que se retrasa la proliferación de microorganismos lo que requiere un periodo largo de tiempo para la reacción. Por otra parte, cuando la temperatura sea superior a 37 °C, no se prefiere la temperatura ya que parte de los microorganismos necesarios para permitir la mineralización múltiple en paralelo pueden quedar destruidos.

5 La "adición del material orgánico" al agua en esta etapa de producción del fertilizante puede llevarse a cabo añadiendo el material orgánico en una gran cantidad de una vez ya que el inóculo se ha optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

10 De manera específica, se añade el material orgánico de una vez en una cantidad de 20 g o menos, preferentemente 10 g o menos (en términos de peso seco) por l de agua.

Debe señalarse que, en esta etapa, se puede añadir el material orgánico antes de iniciar la reacción o puede añadirse de nuevo tras iniciar la reacción.

15 Debe señalarse que el material orgánico puede añadirse en la forma de líquido o en la forma de polvo.

20 De manera específica, cuando el material orgánico está en la forma de líquido, se puede añadir el fertilizante soluble a base de bonito en una cantidad de 0,1 a 10 g (peso líquido: (0,07 a 7 g en términos de peso seco)), se puede añadir licor de maíz fermentado en una cantidad de 0,1 a 10 g (peso líquido: (0,05 a 5 g en términos de peso seco)), o se puede añadir torta de aceite de colza en una cantidad de 0,1 a 10 g.

25 Debe señalarse que, en un método convencional, es decir, cuando el compost de la corteza o similar se añade como la fuente de microorganismos, se puede añadir la fuente de microorganismos en una cantidad de solo aproximadamente 2 g o menos por l de agua de una vez.

30 Cuando se añada un material diferente que el inóculo como la 'fuente de microorganismos', cuando se añade el material orgánico en una cantidad de más de 2 g por l de agua, los microorganismos nitrificantes contenidos en el mismo son destruidos por la exposición a una gran cantidad del componente orgánico para perder la capacidad de nitrificación, lo que da como resultado un fallo en el avance de la mineralización múltiple en paralelo. Por lo tanto, las fuentes de microorganismos diferentes que las del inóculo de la presente invención no son los microorganismos adecuados para la mineralización múltiple en paralelo.

35 Es decir, cuando se usa el inóculo de la presente invención como la fuente de microorganismos, la cantidad del material orgánico que se puede añadir de una vez puede añadirse hasta aproximadamente diez veces, preferentemente aproximadamente cinco veces las del método convencional.

40 En esta etapa de producción del fertilizante, se obtiene una solución de cultivo que contiene nitrógeno nitrato a una concentración de 100 mg/l o más, preferentemente 200 mg/l o más en términos de un ion nitrato se obtienen en 8 días, preferentemente 4 a 8 días del comienzo del cultivo.

45 Además, para obtener una solución de cultivo con una concentración de ion nitrato de 400 mg/l, el tiempo desde el inicio de la reacción 'hasta la finalización de la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato' es de 10 días o menos, preferentemente de 8 días o menos, más preferentemente de 4 días a 8 días.

Debe señalarse que "hasta la finalización de la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato" se refiere al tiempo que transcurre "hasta que la concentración de nitrógeno nitrato generada alcanza un pico".

50 Debe señalarse que, en un método convencional, es decir, cuando el compost de la corteza o similar se añade como la 'fuente de microorganismos', el tiempo desde el inicio de la reacción "hasta la finalización de la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato" es de 10 días como mínimo, usualmente de 15 días o más.

55 Es decir, cuando se usa el inóculo de la presente invención como la 'fuente de microorganismos', se puede llevar a cabo la degradación a una velocidad de aproximadamente dos veces o más la del método convencional y por tanto, es posible 'reducir drásticamente el tiempo de reacción' hasta la finalización de la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato.

60 En esta etapa de producción del fertilizante, una solución de reacción que contiene nitrógeno nitrato a una "alta concentración" de 100 mg/l o más, preferentemente 200 mg/l o más, más preferentemente 400 mg/l o más en términos de un ion nitrato se obtienen 'eficazmente'. La solución de reacción puede recogerse para producir un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos.

65 Debe señalarse que como el fertilizante producido, la solución de reacción obtenida en la etapa anteriormente mencionada puede usarse como una solución madre sin tratamiento adicional, o la solución de reacción puede diluirse dos veces a diez veces o mezclarse con un fertilizante químico para producir un fertilizante líquido. Además, la solución de reacción puede procesarse en un concentrado, un polvo sólido o un comprimido sólido mediante

secado.

5 El fertilizante contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos, obtenido en esta etapa de producción del fertilizante, se puede usar como un fertilizante para cultivar cualquier planta incluyendo hortalizas, frutas, flores y plantas ornamentales, plantas de follaje, etc.

10 En particular, el fertilizante se puede usar de forma adecuada para cultivar: vegetales de hojas tales como col china, komatsuna, lechuga o espinacas; hortalizas de fruto a partir de las cuales se cosechan los frutos, tales como tomates; árboles frutales; árboles; o flores y plantas ornamentales. Más particularmente, el fertilizante puede usarse de forma adecuada para cultivar col china o komatsuna.

Debe señalarse que el fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos puede utilizarse para el cultivo de plantas en general tales como cultivos hidropónicos o cultivos que utilizan suelo.

15 Además, en la presente invención, es posible 'llevar a cabo cultivos hidropónicos añadiendo directamente un fertilizante que contenga un material orgánico', que ha sido difícil de conseguir mediante un método convencional, suministrando 'la solución de reacción' obtenida en la etapa de producción del fertilizante a una solución nutriente para los cultivos hidropónicos.

20 De manera específica, se puede llevar a cabo la adición directa del fertilizante que contiene el material orgánico a la solución nutriente llevando a cabo directamente la etapa anteriormente mencionada, es decir, la producción de un fertilizante, en la solución nutriente para los cultivos hidropónicos.

25 Por otra parte, si el recipiente (tanque de reacción) para la etapa de producción del fertilizante se usa como un aparato para los cultivos hidropónicos, se pueden llevar a cabo los cultivos hidropónicos añadiendo directamente el fertilizante que contiene el material orgánico.

30 Debe señalarse que, en el método de los cultivos hidropónicos, cuando el compost de corteza convencional o similar se usa como la 'fuente de microorganismos' para construir un ecosistema de microorganismos en la solución nutriente, aunque es necesario añadir la fuente de microorganismos en una cantidad de aproximadamente 5 g o más por l, se puede añadir el material orgánico en una cantidad de sol aproximadamente 2 g por l de una vez, y esto tarda usualmente de 15 a 20 días o más en completar la reacción (debido a lleva un tiempo en establecer el ecosistema de microorganismos en la solución nutriente).

35 Por otro lado, cuando se añade el inóculo de la presente invención como la 'fuente de microorganismos', es posible reducir la cantidad de la 'fuente de microorganismos' añadida hasta aproximadamente un quinto, preferentemente, aproximadamente un vigésimo quinto de la cantidad del método convencional, para añadir casi 10 g del material orgánico de una vez, y reducirse casi a la mitad el número de días para completar la reacción (8 días o menos, preferentemente 4 a 8 días).

40 El método de los cultivos hidropónicos se puede usar para cultivar cualquier plante incluyendo hortalizas, frutas, flores y plantas ornamentales, plantas de follaje, etc.

45 En particular, el método se puede usar de forma adecuada para cultivar: vegetales de hojas tales como col china, komatsuna, lechuga o espinacas; hortalizas de fruto a partir de las cuales se cosechan los frutos, tales como tomates; árboles frutales; árboles; o flores y plantas ornamentales. Más particularmente, el método puede usarse de forma adecuada para cultivar col china o komatsuna.

50 Ejemplos

A partir de ahora en el presente documento, La presente invención se describe con más detalle por medio de ejemplos.

55 Ejemplo 1 (Producción de inóculo: formación y recogida de la biopelícula)

Como la etapa de producir el inóculo de los microorganismos optimizada como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo, los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo se 'cultivaron' para formar una biopelícula, y la biopelícula se 'recogió' (etapa de cultivo y etapa de recogida).

60 se colocaron 10 l de agua en un recipiente Wagner (fabricado por Fujiwara Scientific Company Co., Ltd.), y compost de corteza (nombre del producto Golden Bark, fabricado por Shimizu Port Lumber Industry Co-operative Association) se añadió al anterior en una cantidad de 5 g por l de agua.

65 Se añadió fertilizante soluble a base de bonito (subproducto procedente de una factoría de bonito seco) en una cantidad de aproximadamente 1 g por l de agua (añadido gradualmente) diariamente, y se cultivaron los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo durante dos semanas a una

temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia en la mezcla mediante aireación usando una bomba de aire. Tras el cultivo, se observó una formación de una biopelícula sobre la pared del recipiente. Después, el sobrenadante de la solución de cultivo obtenida se eliminó mediante decantación y se descartó.

5 A continuación, la biopelícula formada sobre la pared del recipiente se secó al aire durante la noche y se recogió mediante rascado de la biopelícula usando una espátula manual, para obtener por tanto células microbianas secas (Producto 1-1 de la presente invención).

10 La FIG. 1(a) es un diagrama esquemático que ilustra el método de formación y recogida de la biopelícula en este ejemplo. Además, Las FIGS. 2 son imágenes fotográficas que muestran el proceso de formar y recoger la biopelícula en este ejemplo.

15 Además, después que se eliminó el sobrenadante de la solución de cultivo y se descartó mediante decantación en la etapa anteriormente mencionada, la biopelícula formada sobre la pared del recipiente se rasgó utilizando un cepillo sin secar al aire y se mezcló con el sobrenadante de la solución de cultivo, y se recogió y se centrifugó la mezcla para eliminar el agua en exceso, para obtener por tanto células microbianas húmedas como precipitados (Producto 1-2 de la presente invención).

20 Ejemplo 2 (Cantidad de inóculo añadida y tiempo de reacción)

La biopelícula formada en el proceso de la mineralización múltiple en paralelo tanto si se puede usar la biopelícula como si no como una novedosa fuente de microorganismos para la mineralización múltiple en paralelo.

25 50 ml de agua destilada pura se colocaron en un matraz (volumen de 200 ml), y las células microbianas secas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-1 de la presente invención) se añadieron como la fuente de microorganismos en una cantidad de 0,2 g, 0,4 g o 1,0 g por l de agua.

30 Se añadió fertilizante soluble a base de bonito (subproducto procedente de una factoría de bonito seco) en una cantidad de 1 g por l de agua, y la mezcla se dejó reaccionar durante 16 días a una temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia en la mezcla agitando a 120 rpm.

35 Debe señalarse que se llevó a cabo simultáneamente un experimento de control añadiendo compost de corteza (nombre del producto Golden Bark, fabricado por Shimizu Port Lumber Industry Co-operative Association) como la fuente de microorganismos en una cantidad de 5 g por l de agua para llevar a cabo una reacción. La FIG. 3 ilustra los resultados.

40 Los resultados revelan que, cuando se añadieron las células microbianas secas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-1 de la presente invención) como la fuente de microorganismos, el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato (tiempo hasta que la concentración de nitrato alcanzó el pico) fue de 6 a 8 días.

45 Por otro lado, en el caso del experimento de control, donde se añadió el compost de corteza como la fuente de microorganismos, se encontró que el tiempo de reacción era de 13 días.

50 Por lo tanto, cuando se añadieron las células microbianas secas obtenidas en el Ejemplo 1 como la fuente de microorganismos, se puede reducir el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material en nitrógeno nitrato para reducir casi a la mitad el número de días requerido en el caso de la adición del compost de corteza como la fuente de microorganismos.

55 Debe señalarse que, en el caso del método convencional, es decir, en el caso de usar una fuente de microorganismos no optimizada para la mineralización múltiple en paralelo tal como compost de suelo o corteza, es necesario añadir una gran cantidad de la fuente de microorganismos ya que los microorganismos nitrificantes contenidos en la fuente de microorganismos son sensibles a la exposición al componente orgánico y pueden destruirse bajo una condición donde se añade una cantidad relativamente grande del material orgánico (si se añade una cantidad pequeña de la fuente de microorganismos, los microorganismos nitrificantes se destruyen para inhibir la nitrificación). De manera específica, cuando se añade el material orgánico en una cantidad de 1 g por l de agua, es necesario añadir la fuente de microorganismos en una cantidad de aproximadamente 5 g por l de agua. Sin embargo, Si se añade en exceso la fuente de microorganismos (de manera específica, cuando el suelo o similar se

60 añade en una cantidad de más de 10 g por l de agua), la propia fuente de microorganismos se convierte en agregados para hacer la mezcla anaerobia, lo que promueve la proliferación de los microorganismos desnitrificantes.

65 Sin embargo, este ejemplo muestra que, cuando se añade la biopelícula formada en el proceso de la mineralización múltiple en paralelo como la fuente de microorganismos, se puede llevar a cabo la mineralización múltiple en paralelo sin ninguna dificultad incluso si la cantidad de la biopelícula añadida es de 0.2 g por l de agua y se puede reducir el tiempo para completar la reacción en comparación con el caso donde se añade una fuente de

microorganismos convencional (en el caso de usar el Producto 1-1 de la presente invención, el tiempo se redujo de 14 días a 8 días).

5 Es decir, se encontró que es posible reducir la cantidad de la fuente de microorganismos añadida a aproximadamente un 4 % de la de un método convencional y reducir el tiempo de reacción casi a la mitad.

Los resultados revelan que las células microbianas secas como Producto 1-1 de la presente invención pueden usarse como el "inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo".

10 Ejemplo 3 (Adición de una gran cantidad de material orgánico)

Se llevó a cabo un experimento para examinar si se puede añadir o no "una gran cantidad del material orgánico de una vez" en el caso de usar la biopelícula formada en el proceso de la mineralización múltiple en paralelo como la fuente de microorganismos.

20 50 ml de agua destilada pura se colocaron en un matraz (volumen de 200 ml), y las células microbianas húmedas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-2 de la presente invención) se añadieron como la fuente de microorganismos en una cantidad de 5 g por l de agua.

Se añadió fertilizante soluble a base de bonito (subproducto procedente de una factoría de bonito seco) en una cantidad de '10 g por l de agua', y la mezcla se dejó reaccionar durante 14 días a una temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia en la mezcla agitando a 120 rpm.

25 Debe señalarse que se llevó a cabo simultáneamente un experimento de control añadiendo compost de corteza (nombre del producto Golden Bark, fabricado por Shimizu Port Lumber Industry Co-operative Association) como la fuente de microorganismos en una cantidad de 5 g por l de agua para llevar a cabo una reacción. Las FIGS. 4 ilustran los resultados.

30 Los resultados revelan que, cuando se añadieron las células microbianas húmedas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-2 de la presente invención) como la fuente de microorganismos, los microorganismos optimizados como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo proliferaron sin ninguna dificultad para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir del material orgánico incluso si se añadió fertilizante soluble a base de bonito (subproducto procedente de una factoría de bonito seco) en una cantidad de '10 g por l de agua' (adición del material orgánico en una gran cantidad).

40 Por otro lado, en el caso de un experimento de control donde se añadió compost de corteza como la fuente de microorganismos, se confirmó la generación de amonio, pero no se detectó la generación de un ion nitrato (nitrógeno nitrato). Esto muestra que, en el experimento de control, la reacción se detuvo en el momento de la finalización de la amonificación, y no se llevó a cabo la reacción de nitrificación (la mineralización múltiple en paralelo no prosiguió hasta que se obtuvo un producto final).

45 Debe señalarse que, en el caso del método convencional, es decir, en el caso de usar suelo o compost de corteza, que no se optimizó para la mineralización múltiple en paralelo, como la fuente de microorganismos, la cantidad del material orgánico que se puede añadir es hasta 'aproximadamente 2 g por l de agua' incluso si se aumenta la cantidad de la fuente de microorganismos añadida.

50 Sin embargo, este ejemplo muestra que, cuando se añade la biopelícula formada en el proceso de la mineralización múltiple en paralelo como la fuente de microorganismos, la mineralización múltiple en paralelo se llevó a cabo sin ninguna dificultad para generar nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos a partir del material orgánico incluso si se añade una gran cantidad del material orgánico (la cantidad es aproximadamente cinco veces que en el caso del método convencional).

55 Ejemplo 4 (mineralización múltiple en paralelo mediante células microbianas húmedas y velocidad de reacción de la misma)

Se llevó a cabo un experimento para examinar la velocidad de mineralización múltiple en paralelo en el caso de usar 'células microbianas húmedas' de la biopelícula formada en el proceso de mineralización múltiple en paralelo como la fuente de microorganismos.

60 50 ml de agua destilada pura se colocaron en un matraz (volumen de 200 ml), y las células microbianas húmedas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-2 de la presente invención) se añadieron como la fuente de microorganismos en una cantidad de 5 g por l de agua.

65 Se añadió fertilizante soluble a base de bonito (subproducto procedente de una factoría de bonito seco) en una cantidad de 1 g por l de agua, y la mezcla se dejó reaccionar durante 16 días a una temperatura del agua de 25 °C a

la vez que se mantuvo una condición aerobia en la mezcla agitando a 120 rpm.

Debe señalarse que se llevó a cabo simultáneamente un experimento de control añadiendo compost de corteza (nombre del producto Golden Bark, fabricado por Shimizu Port Lumber Industry Co-operative Association) como la fuente de microorganismos en una cantidad de 5 g por l de agua para llevar a cabo una reacción. La FIG. 5 ilustra los resultados.

Los resultados revelan que, cuando se añadieron las células microbianas húmedas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-2 de la presente invención) como la fuente de microorganismos, el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato (tiempo hasta que la concentración del ion nitrato alcanzó el pico) fue de 4 días.

Por otro lado, en el caso del experimento de control, donde se añadió el compost de corteza como la fuente de microorganismos, se encontró que el tiempo de reacción era de 11 días.

Por lo tanto, los resultados de este ejemplos revelan que, cuando se añade la biopelícula optimizada para la mineralización múltiple en paralelo como la fuente de microorganismos en la forma de "células microbianas húmedas", se puede reducir el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato hasta aproximadamente un tercio del número de días requerido en el caso de utilizar una fuente de microorganismos no optimizada para la mineralización múltiple en paralelo, tal como compost de corteza.

Ejemplo comparativo 1 (El sobrenadante de la solución de cultivo no es adecuado como inóculo)

Se llevó a cabo un examen para examinar si se puede llevar a cabo o no la mineralización múltiple en paralelo utilizando el 'sobrenadante de la solución de cultivo' obtenido tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo como la fuente de microorganismos.

En primer lugar, se cultivaron los microorganismos capaces de realizar la mineralización múltiple en paralelo de la misma manera que en el Ejemplo 1 que se añadió el CSL (nombre de producto "Yuki-no-Ekichi", fabricado por Sakata Seed Corporation) como el material orgánico en una cantidad de 1 g por l de agua. Después, el sobrenadante de la solución de cultivo obtenido tras el cultivo se recogió suavemente utilizando una pipeta (Producto comparativo 1).

A continuación, se prepararon seis matraces que tenían añadido a lo anterior 0,5 g de soportes sólidos, es decir, carbón activo de bambú, perlita, arena de playa, compost de corteza, y suelo de vivero (Nae-ichiban) y sin soporte sólido, respectivamente, y se añadieron 50 ml de agua destilada, seguido por esterilización en autoclave.

Después, se añadieron 0,5 ml (10 ml por l de agua) del sobrenadante anteriormente mencionado tras el cultivo (Producto comparativo 1) como la fuente de microorganismos a los matraces respectivos.

se añadió CSL (nombre de producto "Yuki-no-Ekichi", fabricado por Sakata Seed Corporation) en una cantidad de 0,5 g (10 g por l de agua), y la mezcla se dejó reaccionar durante 17 días a una temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia en la mezcla agitando a 120 rpm. La FIG. 6 ilustra los resultados.

Como resultado, aunque que los soportes sólidos, sobre los cuales los microorganismos capaces de realizar la nitrificación (organismos nitrificantes) se consideró que se adherían fácilmente, se añadieron, solo se llevó a cabo la amonificación en todos los matraces, y no se confirmó la generación de un ion nitrato (nitrógeno nitrato).

Esto sugiere que los pocos microorganismos capaces de realizar la nitrificación (microorganismos nitrificantes) se suspendieron en el sobrenadante de la solución de cultivo obtenida tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo, y se consideró a los microorganismos como destruidos debido a la exposición al componente orgánico añadido, incluso si el sobrenadante contenía los microorganismos, la cantidad de los microorganismos fue muy pequeña.

Por lo tanto, se encontró que el sobrenadante de la solución de cultivo obtenida tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo era inadecuado como el inóculo de los microorganismos capaz de catalizar la mineralización múltiple en paralelo.

Ejemplo 5 (Método de utilizar la mezcla de sobrenadante de la solución de cultivo tras el cultivo y la biopelícula como inóculo, y tipo de material orgánico en la producción de inóculo)

Una 'mezcla' obtenida mezclando el sobrenadante de la solución de cultivo obtenido tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y la biopelícula formada se utilizó como la fuente de microorganismos para llevar a cabo la mineralización múltiple en paralelo. Por otra parte, al mismo tiempo, se llevó a cabo un experimento para examinar sí o no, cuando se dejó proseguir la mineralización múltiple en paralelo añadiendo un 'material orgánico diferente del fertilizante soluble a base de bonito', el inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo fue capaz de producirse

del mismo modo que en el caso de utilizar fertilizante soluble a base de bonito.

5 En primer lugar, se cultivaron los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo del mismo modo que en el Ejemplo 1 excepto que la torta de aceite de colza (fabricada por Rinoru Oil Mills Co., Ltd.) se añadió en una cantidad de aproximadamente 1 g por l de agua como el material orgánico. Después, la biopelícula formada sobre la pared se despegó físicamente mediante rascado usando un cepillo y se mezcló bien con el sobrenadante de la solución de cultivo, y se recogió la mezcla (Producto 5 de la presente invención).

10 A continuación, se colocaron 9 l de agua en un recipiente Wagner (fabricado por Fujiwara Scientific Company Co., Ltd.), y 1 l de la mezcla (Producto 5 de la presente invención) obtenido en las etapas anteriormente mencionadas (etapa de cultivo y etapa de recogida) se añadieron al anterior como la fuente de microorganismos.

15 Se añadió polvo de torta de aceite de colza (fabricada por Rinoru Oil Mills Co., Ltd.) en una cantidad de 10 g (1 g por l de agua), y la mezcla se dejó reaccionar durante 10 días a una temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia en la mezcla por aireación usando una bomba de aire. La FIG. 7 ilustra los resultados.

20 Los resultados revelan que, cuando se añadió la mezcla anteriormente mencionada (Producto 5 de la presente invención) como la fuente de microorganismos, el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato (tiempo hasta que la concentración del ion nitrato alcanzó el pico) fue de 6 días. Por otra parte, se generó un ion nitrato a una concentración de 350 mg/l en la solución de reacción tras la finalización de la reacción.

25 Esto sugiere que la mezcla del sobrenadante de la solución de cultivo obtenida tras el cultivo y la biopelícula formada puede utilizarse como el "inóculo optimizado como la fuente de microorganismos capaces de catalizar la mineralización múltiple en paralelo".

30 Además, los resultados muestran que l biopelícula obtenida utilizando un material diferente que el fertilizante soluble a base de bonito se puede usar también como el inóculo.

Ejemplo 6 (Filtración de la mezcla del sobrenadante de la solución de cultivo tras el cultivo y la biopelícula)

35 Las células microbianas húmedas obtenidas filtrando la mezcla de la biopelícula formada tras cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y el sobrenadante de la solución de cultivo obtenido se usaron como la fuente de microorganismos para llevar a cabo la mineralización múltiple en paralelo.

40 En primer lugar, los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo se cultivaron del mismo modo como en el Ejemplo 1. Después, la biopelícula formada sobre la pared se despegó físicamente rascando usando un cepillo y se mezcló bien con el sobrenadante de la solución de cultivo, y 400 ml de la mezcla se filtraron usando papel de filtro (fabricado por Toyo Roshi Kaisha, Ltd.), seguido por secado con aire, para obtener por tanto 0,15 g de células microbianas secas (Producto 7 de la presente invención).

45 A continuación, las células microbianas secas (Producto 7 de la presente invención) se suspendieron en 200 ml de agua destilada pura, y 50 ml de la suspensión (que contienen células de microorganismos húmedos en una cantidad de 37,5 mg por l de agua) se colocaron en un matraz.

50 Se añadió fertilizante soluble a base de bonito (fabricado por Makurazaki Fisheries Cooperative Associations) en una cantidad de 0,05 g (1 g por l de agua), y la mezcla se dejó reaccionar durante 6 días a una temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia se mantuvo en la mezcla agitando a 120 rpm. La FIG. 8 ilustra los resultados.

55 Como resultado, cuando las células microbianas secas (Producto 7 de la presente invención) obtenidas filtrando la mezcla del sobrenadante de la solución de cultivo y la biopelícula en las etapas anteriormente mencionadas se añadieron como la fuente de microorganismos, se observó la generación de un ion nitrato (nitrógeno nitrato) 6 días después del inicio de la reacción.

60 Esto sugiere que las células microbianas secas obtenidas filtrando la mezcla del sobrenadante de la solución de cultivo y la biopelícula se puede usar como el 'inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo'.

Ejemplo 7 (Resistencia al calor del inóculo)

65 Se llevó a cabo un experimento para examinar el grado del efecto de un 'tratamiento térmico' sobre la actividad del inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

100 mg de cada una de las células microbianas secas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-1 de la presente invención) se dejaron reposar a las temperaturas respectivas incluyendo la temperatura normal (aproximadamente 25 °C), 50 °C, y 80 °C durante 30 minutos.

5 A continuación, se colocaron 30 ml de agua destilada pura en matraces (volumen de 200 ml), y 30 mg (1 g por l de agua) de cada una de las células microbianas secas tras el tratamiento térmico anteriormente mencionado se añadieron al anterior como la fuente de microorganismos.

10 Se añadió fertilizante soluble a base de bonito (fabricado por Makurazaki Fisheries Cooperative Associations) en una cantidad de 0,03 g (1 g por l de agua), y la mezcla se dejó reaccionar durante 15 días a una temperatura del agua de 25 °C a la vez que se mantuvo una condición aerobia se mantuvo en la mezcla agitando a 120 rpm.

15 Debe señalarse que, como un experimento de control, un experimento para llevar a cabo una reacción añadiendo 30 mg (1 g por l de agua) de compost de corteza (nombre de producto Golden Bark, fabricado por Shimizu Port Lumber Industry Cooperative Association) como la fuente de microorganismos se llevó a cabo al mismo tiempo. La FIG. 9 ilustra los resultados.

20 Los resultados revelan que, en el caso de adición de las células microbianas secas sometidas al tratamiento térmico a 50 °C durante 30 minutos como la fuente de microorganismos, el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato (tiempo hasta que la concentración del ion nitrato alcanzó el pico) fue de 5 días.

25 Por lo tanto, las células microbianas secas sometidas al tratamiento térmico a 50 °C durante 30 minutos mantuvieron completamente su función como el 'inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo' en comparación con los microorganismos que se dejaron reposar a temperatura normal (aproximadamente 25 °C).

30 Por otro lado, los resultados revelan que, en el caso de adición de las células microbianas secas sometidas al tratamiento térmico a 80 °C durante 30 minutos como la fuente de microorganismos, el tiempo de reacción hasta completar la mineralización del material orgánico en nitrógeno nitrato (tiempo hasta que la concentración del ion nitrato alcanzó el pico) fue de 9 días, que fue casi el mismo que en el caso de usar compost de corteza como la fuente de microorganismos.

35 Los resultados anteriormente mencionados revelan que las células de microorganismos secas sometidas al tratamiento térmico a 50 °C durante 30 minutos tenían una resistencia al calor sin afectar la función como el inóculo de los microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

40 Por otra parte, se encontró que, incluso en el caso del tratamiento térmico a 80 °C durante 30 minutos, la cantidad de un ion nitrato (nitrógeno nitrato) generada tras la finalización de la reacción fue tal alta como la generada en el caso de los microorganismos que se dejaron reposar a una temperatura normal (aproximadamente 25 °C), y el valor comercial como el inóculo no se redujo exponiendo temporalmente los microorganismos a una alta temperatura de 80 °C.

45 Debe señalarse que, en el caso de usar compost de corteza como la fuente de microorganismos, la cantidad de nitrógeno nitrato generada tras la finalización de la reacción era probablemente pequeña ya que el compost de corteza contenía una gran cantidad de componentes orgánicos en comparación con las células microbianas secas obtenidas en el Ejemplo 1 (Producto 1-1 de la presente invención), y se consumió un ion nitrato por los microorganismos usando los componentes, dando como resultado una disminución de la concentración del ion nitrato que se va a recoger.

50

Aplicabilidad industrial

55 El inóculo de la presente invención es valioso como una tecnología para resolver el problema de una baja eficacia de funcionamiento (el tiempo de reacción es aproximadamente de dos semanas, la cantidad de la fuente de microorganismos inoculada es grande (aproximadamente 5 g por l), y el límite superior de la cantidad del material orgánico añadido de una vez es aproximadamente de 2 g) en cultivos hidropónicos prácticos utilizando un fertilizante orgánico, que tiene una atracción creciente en los últimos años. Si se usa el inóculo proporcionado por la presente invención, es posible reducir el tiempo de reacción a la mitad o menos, para disminuir la cantidad de la fuente de microorganismos inoculada al 4 %, y para aumentar la cantidad del material orgánico añadido en cinco veces, dando como resultado una drástica mejora de la eficacia de funcionamiento.

60

65 En la actualidad, los cultivos hidropónicos que utilizan fertilizantes orgánicos tienen una atención creciente, y los agricultores que prueban los cultivos hidropónicos aumentan rápidamente. Se espera que gran parte de los cultivos hidropónicos, que continúan expandiéndose a 150 ha en Japón o 4000 ha en los Países Bajos, sean sustituidos con cultivos hidropónicos que utilizan un fertilizante orgánico. El inóculo proporcionado por la presente invención contribuye mucho como tecnología para apoyar las actividades de producción de los agricultores y, por tanto, se

espera que se usen ampliamente, y la escala en el mercado sea muy grande. El inóculo de la presente invención puede aplicarse no solo a los cultivos hidropónicos sino también a cultivos acuosos para presentar como jardinería en habitaciones o jardinería en azoteas, y la comerciabilidad no está limitada a campos agrícolas.

- 5 Además, la presente invención puede aplicarse a una tecnología para producir un fertilizante inorgánico utilizando un residuo orgánico como una materia prima. La escala de mercado de la industria de reciclado de residuos se espera que se expanda 2,5 billones de yenes, y la presente invención tiene una aplicabilidad industrial muy grande como una tecnología para reciclar rápida y eficazmente una gran cantidad de recurso orgánicos en nutrientes inorgánicos.
- 10 Además, de acuerdo con la presente invención, es posible producir un novedoso inóculo utilizando el inóculo de la presente invención. El número de días para la producción es la mitad que en el caso de la mineralización múltiple en paralelo convencional y, por tanto, llega a ser posible producir una gran cantidad del inóculo rápidamente. Como se ha mencionado anteriormente, las necesidades del inóculo se espera que sean grandes ya que la comerciabilidad del propio inóculo es amplia, y la comerciabilidad de las condiciones de una tecnología para producir una gran
- 15 cantidad del inóculo se espera que sea grande.

Breve descripción de los dibujos

- 20 [FIGS. 1] Las FIGS. 1(a) a 1(c) son diagramas que ilustran realizaciones del método de producir el inóculo de microorganismos optimizado como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo de la presente invención. Además, La FIG. 1(a) es una vista esquemática que ilustra el método de formación y recogida de la biopelícula en el Ejemplo 1.
- 25 [FIGS. 2] La FIG. 2(a) es una vista esquemática que ilustra una realización de la formación de la biopelícula sobre el soporte sólido en la presente invención. Además, La FIG. 2(b) es una imagen fotográfica que muestra el proceso para formar y recoger la biopelícula en el Ejemplo 1. Además, La FIG. 2(c) es una vista esquemática que ilustra una realización del método de recoger la biopelícula en la presente invención.
- [FIG. 3] Un gráfico que muestra los resultados de la medición de la concentración de un ion nitrato en el Ejemplo 2.
- 30 [FIG. 4] Unos gráficos que muestran los resultados de la medición de las concentraciones de un ion nitrato, un ion nitrito, y amonio en el Ejemplo 3.
- [FIG. 5] Un gráfico que muestra los resultados de la medición de la concentración de un ion nitrato en el Ejemplo 4.
- [FIG. 6] Un gráfico que muestra los resultados de la medición de las concentraciones de un ion nitrato y amonio en el Ejemplo comparativo 1.
- 35 [FIG. 7] Un gráfico que muestra los resultados de la medición de la concentración de un ion nitrato en el Ejemplo 5.
- [FIG. 8] Un gráfico que muestra los resultados de la medición de la concentración de un ion nitrato en el Ejemplo 6.
- 40 [FIG. 9] Un gráfico que muestra los resultados de la medición de la concentración de un ion nitrato en el Ejemplo 7.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir un inóculo que tiene las siguientes características (F);

(F) una característica tal que el inóculo mantiene su función como inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo cuando el inóculo se calienta a entre 50 y 80 °C, en donde la mineralización múltiple en paralelo es una reacción para llevar a cabo sucesivamente la degradación de un material orgánico a nitrógeno amonio y la nitrificación del nitrógeno amonio a nitrógeno nitrato en el mismo sistema de reacción así como una reacción para generar nitrógeno nitrato degradando el nitrógeno orgánico contenido en el material orgánico a nitrógeno amonio y a continuación llevar a cabo la nitrificación del nitrógeno amonio a través de la nitrificación por degradación del material orgánico; comprendiendo el método:

introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo, añadir la siguiente fuente de microorganismos (B) que contiene microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo; (B) al menos una fuente de microorganismos seleccionada entre el grupo que consiste en suelo, compost, fangos activados y agua recogida de la naturaleza;

en donde los microorganismos se seleccionan entre microorganismos capaces de realizar la amonificación y microorganismos capaces de realizar la nitrificación;

mantener un entorno en agua que satisfaga todas las condiciones siguientes (C1) a (C4), cultivando de esta forma los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo;

(C1) una condición de temperatura del agua de 15 a 37 °C;

(C2) una condición de mantener una condición aerobia mediante aireación, agitación o aireación y agitación;

(C3) una condición de añadir el siguiente material orgánico (D) en una cantidad de 0,01 a 2 g en términos de peso seco por l de agua durante 1 a 14 días;

(D) al menos un material orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en un fertilizante soluble a base de pescado, licor de maíz fermentado, torta de aceite, harina de pescado, leche, torta de soja, torta de levadura, torta de sake, torta de sochu y basura en bruto; y

(C4) una condición de detener la adición del material orgánico cuando la concentración de un ion nitrato generada en el agua alcanza de 10 a 50 mg/l;

formar una biopelícula sobre la siguiente superficie sólida (E) que entra en contacto con el agua y a continuación recoger la biopelícula;

(E) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente y una superficie inferior del recipiente;

y utilizar la biopelícula recogida como inóculo de los microorganismos optimizados como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

2. El método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que uno o más de los siguientes materiales (A1) a (A3) están sumergidos en el recipiente;

(A1) un soporte sólido que comprende carbón activo de bambú, carbón activo, perlita, arena de playa, vermiculita, cerámica, zeolita, vidrio, lana de roca, uretano, nailon o una resina de melamina;

(A2) un objeto similar a una placa que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería; y

(A3) una estructura de tipo columna que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería y la biopelícula se forma sobre la siguiente superficie sólida (E-1);

(E-1) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente, una superficie inferior del recipiente, una superficie del soporte sólido, una superficie de un objeto similar a una placa y una superficie de la estructura de tipo columna.

3. Un método para producir un inóculo que tiene las siguientes características (F);

(F) una característica tal que el inóculo mantiene su función como inóculo de microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo cuando el inóculo se calienta a entre 50 y 80 °C, comprendiendo el método:

introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo, añadir un inóculo obtenido mediante el método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 1 como fuente de microorganismos;

mantener un entorno en agua para satisfacer todas las siguientes condiciones (C1), (C2), (C3-2) y (C4), cultivando de esta forma los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo;

(C1) una condición de temperatura del agua de 15 a 37 °C;

(C2) una condición de mantener una condición aerobia mediante aireación, agitación o aireación y agitación;

(C3-2) una condición de añadir el siguiente material orgánico (D) en una cantidad de 0,01 a 10 g en términos de peso seco por l de agua durante 1 a 14 días;

(D) al menos un material orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en un fertilizante soluble a base de pescado, licor de maíz fermentado, torta de aceite, harina de pescado, leche, torta de soja, torta de levadura, torta de sake, torta de sochu y basura en bruto; y (C4) una condición de detener la adición del

material orgánico cuando una concentración de un ion nitrato generada en el agua alcanza de 10 a 50 mg/l;

formar una biopelícula sobre la siguiente superficie sólida (E) que está en contacto con el agua y recoger a continuación la biopelícula;

5 (E) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente y una superficie inferior del recipiente;
y utilizar la biopelícula recogida como inóculo de los microorganismos optimizados como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

10 4. El método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 3, en el que uno o más de los siguientes materiales (A1) a (A3) está sumergido en el recipiente;

(A1) un soporte sólido que comprende carbón activo de bambú, carbón activo, perlita, arena de playa, vermiculita, cerámica, zeolita, vidrio, lana de roca, uretano, nailon o una resina de melamina;

15 (A2) un objeto similar a una placa que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería; y

(A3) una estructura de tipo columna que comprende vidrio, acrílico, plástico, cerámica o alfarería, y la biopelícula se forma sobre la siguiente superficie sólida (E-1);

20 (E-1) al menos una superficie sólida seleccionada entre el grupo que consiste en una superficie de la pared del recipiente, una superficie inferior del recipiente, una superficie del soporte sólido, una superficie de un objeto similar a una placa y una superficie de la estructura de tipo columna.

5. El método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se recoge la biopelícula descartando un sobrenadante de una solución de cultivo obtenido después de cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y a continuación recoger la biopelícula formada sobre la superficie sólida.

6. El método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende llevar a cabo un tratamiento de secado después de recoger la biopelícula.

30 7. El método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 2, en el que se recoge la biopelícula descartando un sobrenadante de una solución de cultivo obtenido después de cultivar los microorganismos capaces de realizar una mineralización múltiple en paralelo y a continuación recoger la biopelícula formada sobre la superficie sólida.

35 8. El método de producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 4, que comprende llevar a cabo un tratamiento de secado después de recoger la biopelícula.

9. Un inóculo que se obtiene mediante el método de producir un inóculo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, que tiene las siguientes características (F) y (G);

40 (F) una característica tal que el inóculo mantiene su función como inóculo de los microorganismos optimizado como catalizador para la mineralización múltiple en paralelo cuando el inóculo se calienta a entre 50 y 80 °C; y
(G) una característica tal que una composición de microorganismos está optimizada como un catalizador para la mineralización múltiple en paralelo.

45 10. Un método para producir un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos, comprendiendo el método:

50 introducir agua en un recipiente que puede almacenar agua en el mismo y añadir el inóculo de acuerdo con la reivindicación 9;

permitir que una mineralización múltiple en paralelo tenga lugar en el agua manteniendo un entorno en el agua que satisfaga todas las condiciones siguientes (C1), (C2) y (C3-3);

(C1) una condición de temperatura del agua de 15 a 37 °C;

55 (C2) una condición de mantener una condición aerobia mediante aireación, agitación o aireación y agitación;
y

(C3-3) una condición de añadir un material orgánico en una cantidad de 20 g o menos en términos de peso en seco por l de agua;

60 proporcionar una solución de reacción que contiene un ion nitrato a una concentración de 100 mg/l o más;
y utilizar la solución de reacción resultante como un fertilizante que contiene nitrógeno nitrato como nutrientes inorgánicos.

65 11. El método para producir un inóculo de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el inóculo se añade en una cantidad de 0,01 g o más por l de agua.

12. Un método para cultivar una planta, que comprende añadir un fertilizante que contiene un material orgánico directamente en la solución de reacción para llevar a cabo cultivos hidropónicos en la solución de reacción obtenida de acuerdo con la reivindicación 10.

FIG. 1

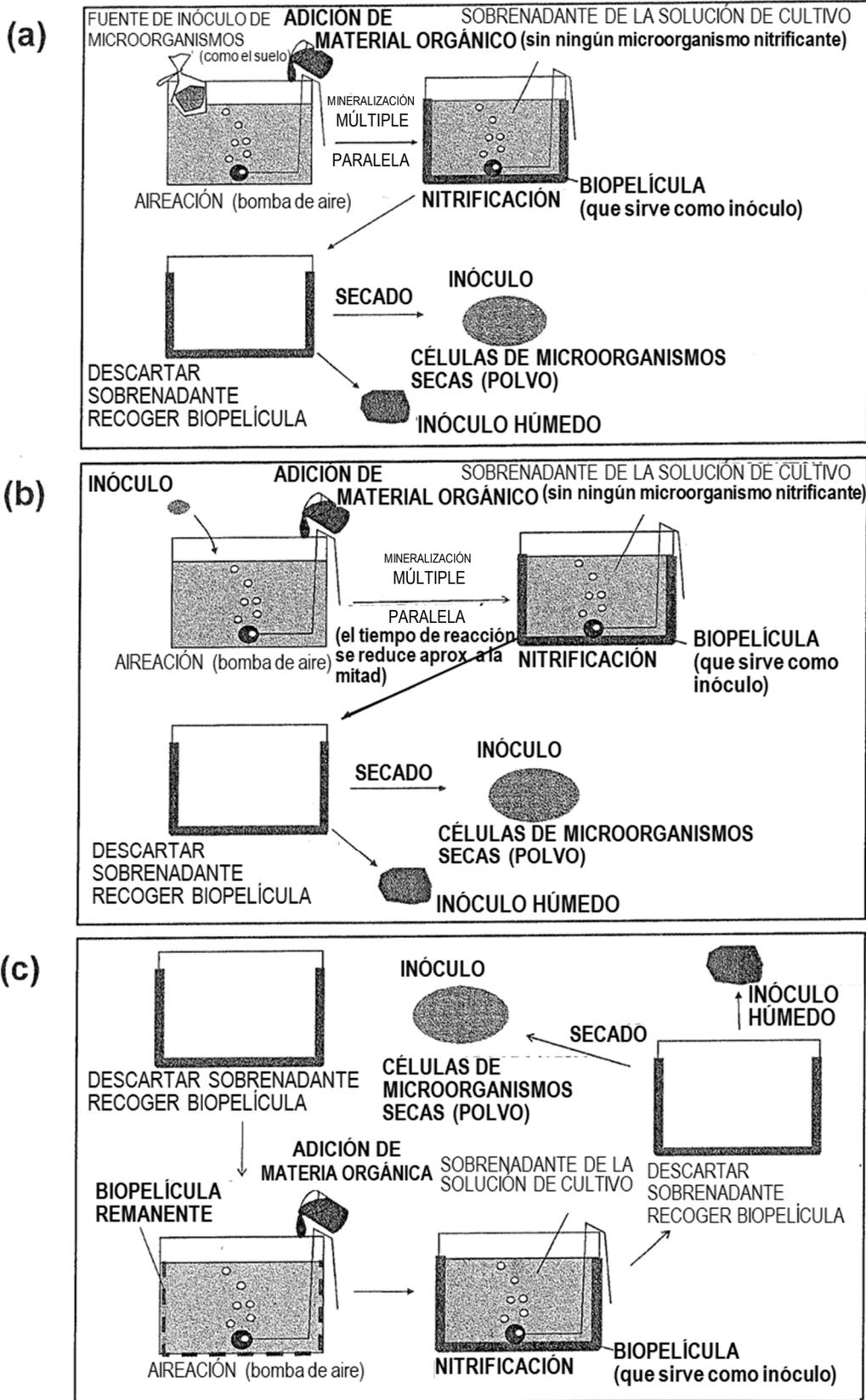


FIG. 2

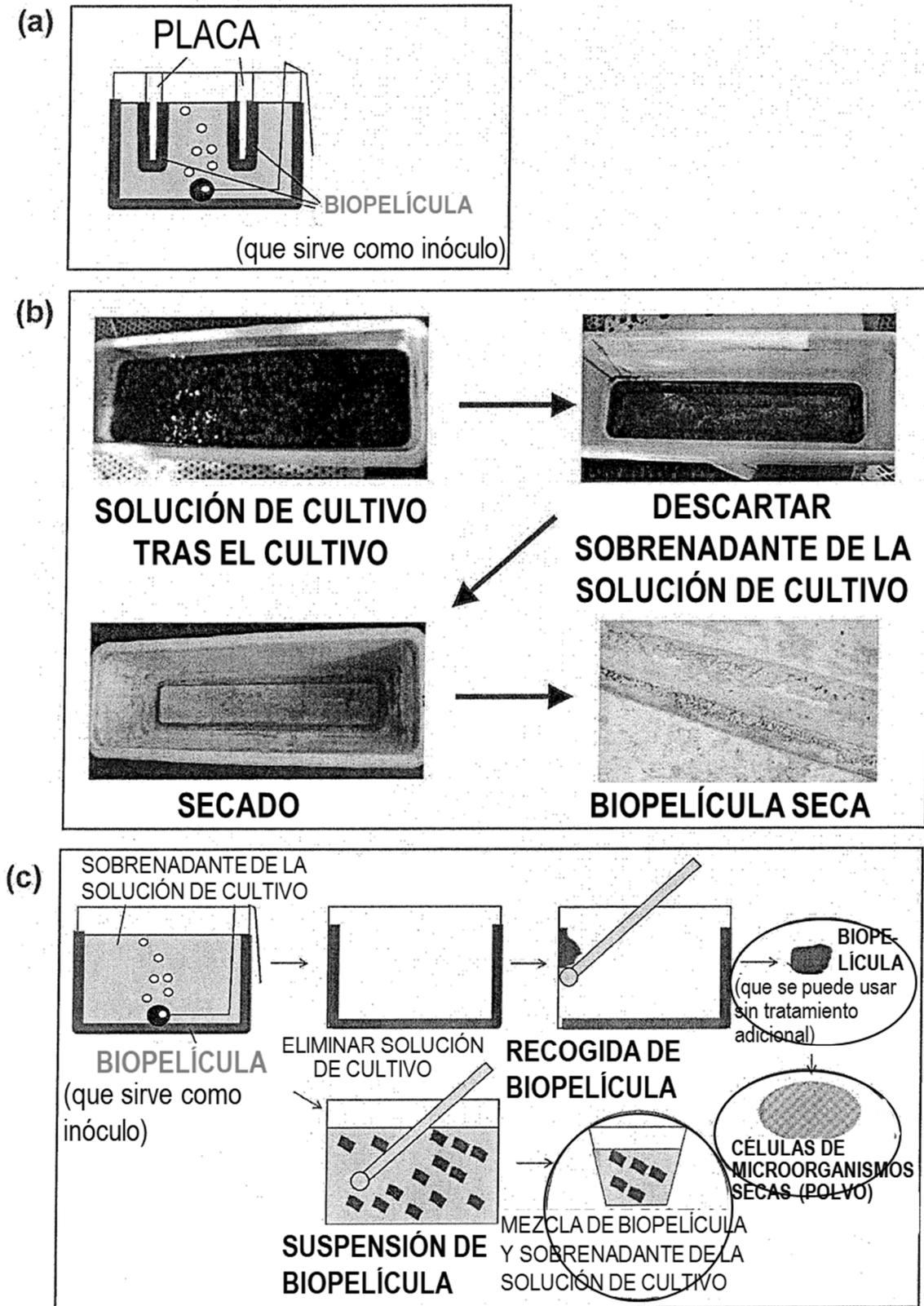


FIG. 3

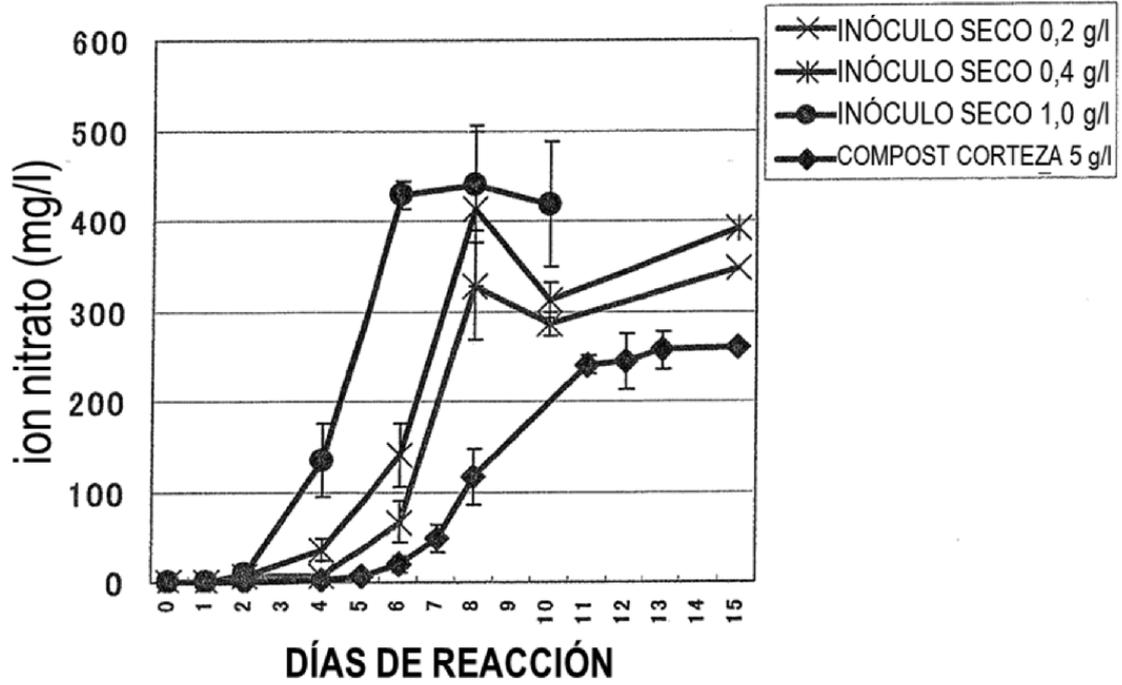


FIG. 4

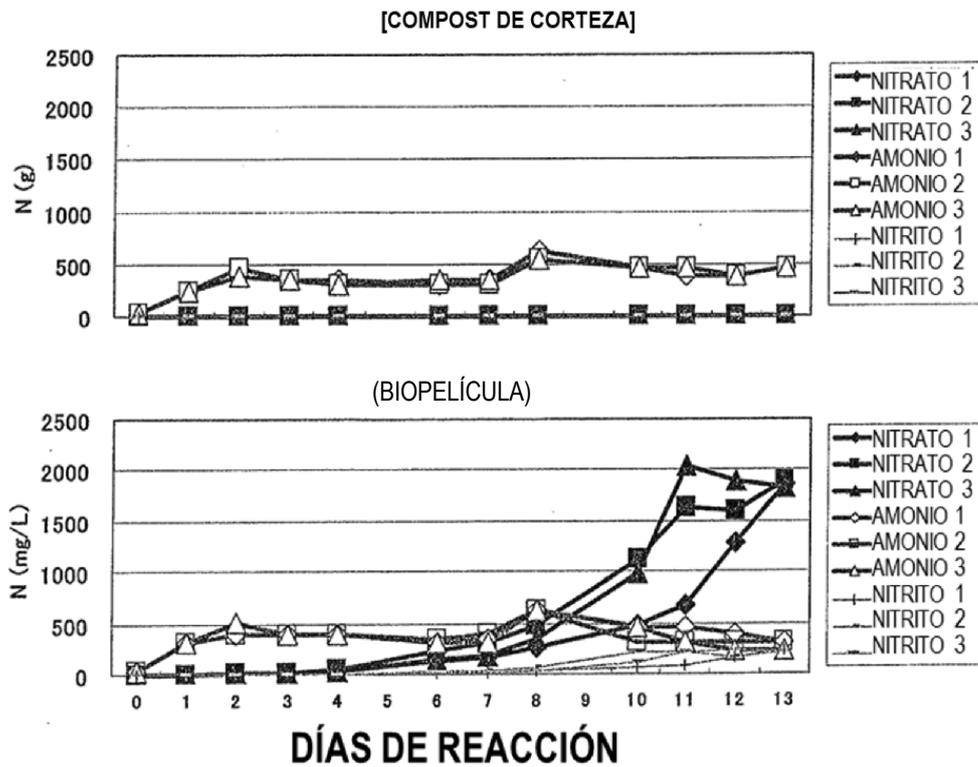


FIG. 5

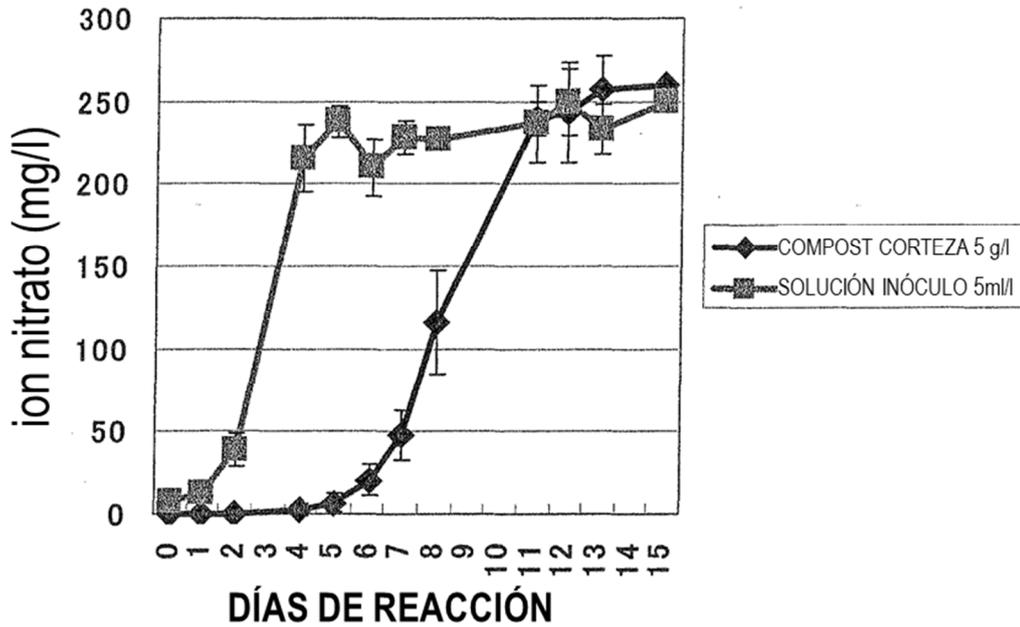


FIG. 6

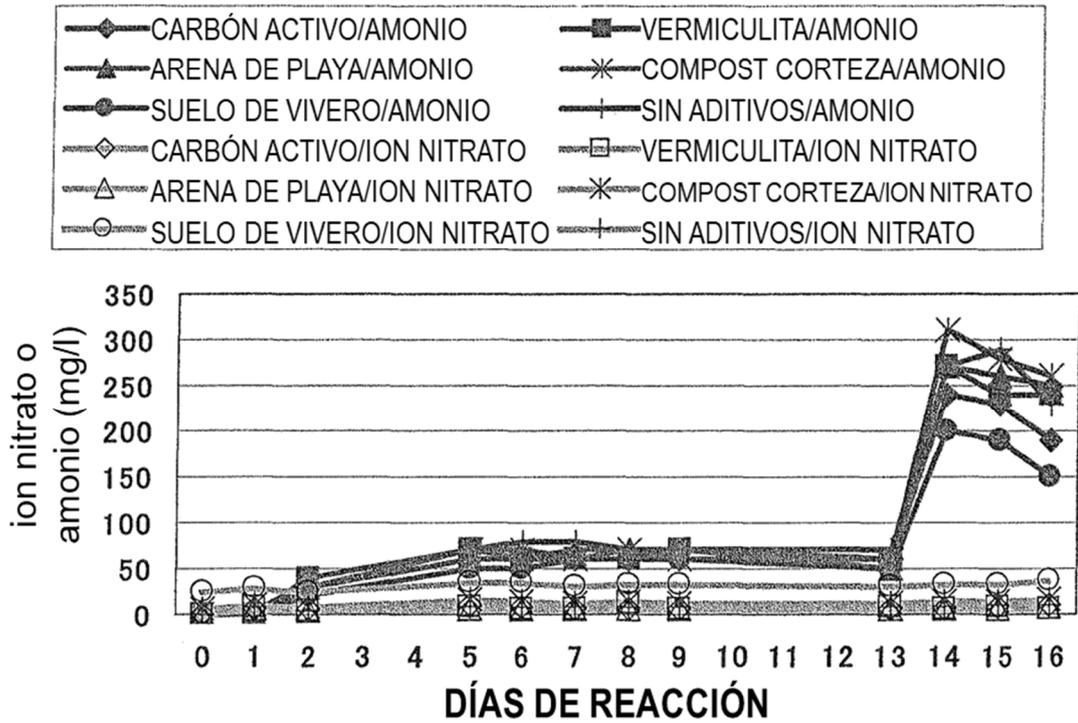


FIG. 7

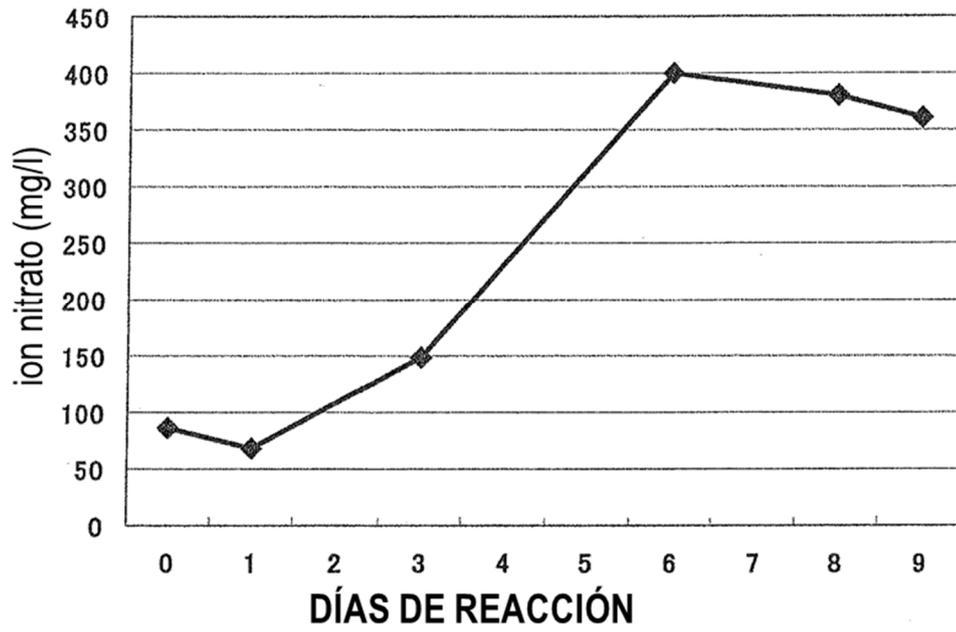


FIG. 8

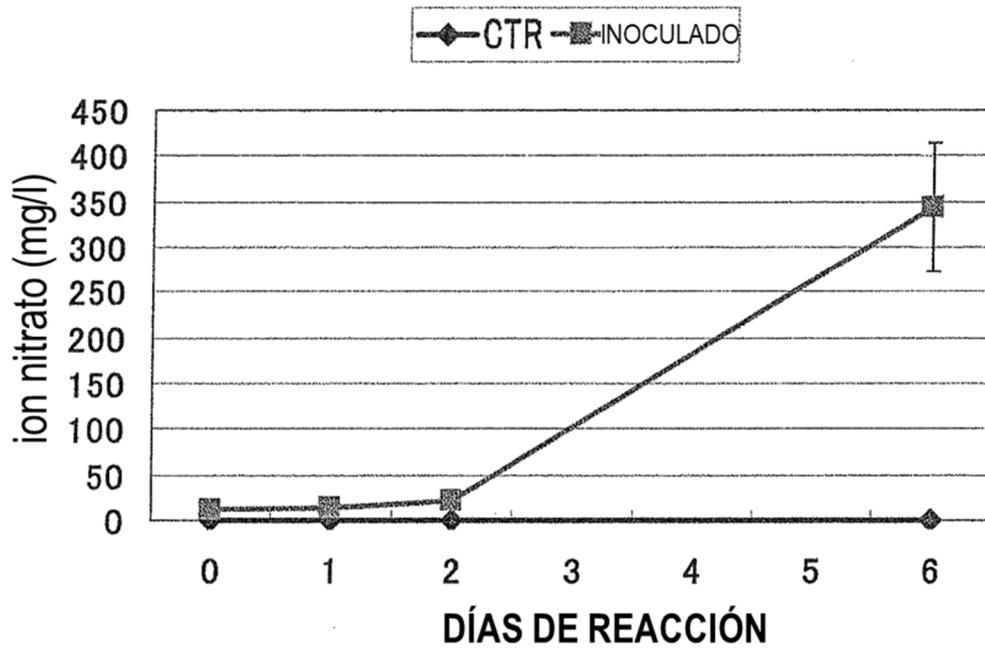


FIG. 9

