



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104222674 B

(45) 授权公告日 2016.06.08

(21) 申请号 201410514568.5

(22) 申请日 2014.09.30

(73) 专利权人 青岛嘉瑞生物技术有限公司

地址 266071 山东省青岛市市南区仙游路  
16号1324室

(72) 发明人 董书阁 侯文燕 董静静 侯文杰  
段智岗 肖龙虻

(51) Int. Cl.

A23K 50/80(2016.01)

A23K 10/30(2016.01)

A23K 10/10(2016.01)

A23K 20/00(2016.01)

审查员 张皓

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种斑点叉尾鲷用中草药免疫增强剂的制备方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种斑点叉尾鲷用发酵型中草药免疫增强剂,具有预防、保健、治疗和调节免疫等多种功效,是替代抗生素药物的理想、绿色、环保、安全、新型饲料添加剂。该发酵中草药饲料添加剂由复方中草药通过“中草药超声波辅助浸提+多菌种好氧发酵和厌氧发酵相结合二步发酵”工艺制得,具有中草药和益生菌的双重优点,可以高效调理斑点叉尾鲷肠道健康,标本兼治,固本培元,保持肠道微生态平衡和最佳免疫状态,提高营养物质的消化吸收率,提高斑点叉尾鲷机体免疫力,提高养殖收益,降低养殖风险,替代抗生素使用,对斑点叉尾鲷无不良影响,使用安全,不存在药物残留和耐药性等问题,有着广阔的市场前景。

1. 一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂的制备方法,其特征在於具体包括以下的步骤:

(1)复方中草药的制备:按照淮山药12~18份、韭菜子8~12份、葛根8~12份、三七6~10份、鱼腥草3~5份、王不留行6~10份、甘草6~8份、黄芪3~5份、绞股蓝6~10份、连翘6~10份、穿心莲6~10份、蒲公英5~7份、鳖甲3~5份比例准确称量中草药,将其粉碎至40~60目,混合均匀,制得复方中草药;

(2)超声波辅助浸提:向复方中草药粉剂中加入质量比5~10倍的水,在超声波辅助作用下,100℃条件下回流浸提20~30min,超声功率400w,频率25kHz;

(3)发酵液制备:向浸提后的中草药浸提液中加入浸提液质量比3.0~5.0%葡萄糖、2.0~3.0%酵母膏、0.3~0.5%磷酸二氢钾、0.02%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.01%CaCl<sub>2</sub>,pH调至7.0~7.2;

(4)好氧发酵:选用液体发酵罐,装液量体积比为60~70%,接种地衣芽孢杆菌和产朊假丝酵母,接种量体积比分别为2~4%、5~8%,控制发酵温度28~37℃,转速150~300rpm,通气量10~20L/min;在此发酵条件下发酵12~24h;

(5)厌氧发酵:好氧发酵结束后,接种保加利亚乳杆菌和两歧双歧杆菌,接种量体积比均为2~4%,发酵温度28~37℃,控温厌氧发酵12~24h;

(6)发酵后处理:发酵完成后将发酵液体用1.2~2倍体积比的麸皮吸附,在40~60℃鼓风干燥机中干燥,水分控制在8~10%;

(7)粉碎:将干燥后的产品用粉碎机60目过筛粉碎,即得斑点叉尾鮰用发酵型中草药免疫增强剂。

## 一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂的制备方法及应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂的制备方法,属于饲料添加剂领域。

### 背景技术

[0002] 水产品被人们日常饮食中越来越占据重要的份额,为了满足不断增长的水产品的需求,解决因水产养殖规模不断扩大和生长周期缩减而导致的生理机能紊乱、疾病频发成为水产养殖的重点问题,也是水产饲料产业发展的关键。在此背景下,抗生素类饲料添加剂受到热捧,被广泛应用于饲料业中,在一定程度上促进了水产养殖业的发展,但是抗生素带来的高残留、高污染和抗药性等问题愈发的严重。当前社会,食品安全事故频发,人们在满足温饱的同时也更加注重饮食健康,绿色健康的水产品备受关注。中草药饲料添加剂符合绿色水产养殖业发展要求,消除了人们对其饲喂出水产产品的安全顾虑,值得大力推广应用。但当前中药饲料添加剂的研究水平较低,制作工艺简单粗糙,产品科技含量较低,质量不够稳定,诸如此类问题严重制约着中药饲料添加的推广应用。微生物发酵中药是对传统中药加工技术的改革和创新,具有诸多特点和优势。将此技术引入中药饲料添加剂的研究,可使其科技含量大幅提升,效果更加显著,质量更加稳定,效益更加明显,可以显著提高机体免疫力,增强水产动物抵抗疾病的水平,对于解决当前水产养殖业中水产动物的多种问题有着重要的应用价值。利用微生物发酵技术来加工中草药,可使其主要活性物质多糖的含量显著提高,这对于注重养殖成本的水产养殖业显得尤为重要。

[0003] 斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*),原产于美洲,又称沟鲶,具有生长快、适温范围广、抗病力强等特点,其摄食颗粒饲料,饵料系数低,适于集约化和规模化养殖。斑点叉尾鮰肉质细嫩、味鲜美、富含蛋白质和不饱和脂肪酸,深受美国、欧盟等国消费者的喜爱,但由于其本土产量低,大部分需求量依靠进口,因而我国规模化养殖斑点叉尾鮰的前景被看好。近些年来,由于高密度水产养殖业的迅速发展,导致疾病频发,消毒剂和抗生素的广泛使用,不仅引起动物的内源性感染或二重感染,而且导致动物出现抗药性及免疫功能下降。随着研究的深入,一种新型的绿色添加剂—免疫增强剂得到广泛研究。免疫增强剂,主要是作用于非特异性免疫因子来达到防病、抗病目的。虽然其不在鱼体内产生免疫记忆,但能够在短时期内显著提高机体的抗病能力。因此,日益受到国际养殖业的重视,成为水产保护学领域研究的热点。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于根据现有技术中存在的上述不足,考虑中草药具有的抗菌、抗病毒、提高机体免疫力和改善动物生长性能的作用,可减少抗生素大量使用造成的养殖业污染,且原料来源广,价格低廉,是一种绿色、环保、高效的饲料添加剂,研制开发一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂。

[0005] 本发明上述目的是通过以下技术方案予以实现的:

[0006] 一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,其特征在于复方中草药由以下质量比的中草药组成:淮山药12~18份、韭菜子8~12份、葛根8~12份、三七6~10份、鱼腥草3~5份、王不留行6~10份、甘草6~8份、黄芪3~5份、绞股蓝6~10份、连翘6~10份、穿心莲6~10份、蒲公英5~7份、鳖甲3~5份。

[0007] 本发明提供一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,所选发酵剂为由地衣芽孢杆菌、产朊假丝酵母、保加利亚乳杆菌和两歧双歧杆菌组成的复合发酵剂,其中地衣芽孢杆菌、保加利亚乳杆菌、两歧双歧杆菌的接种量为2~4%、产朊假丝酵母接种量为5~8%。

[0008] 本发明提供一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂的制备方法,具体包括以下的步骤:

[0009] (1)复方中草药的制备:按照上述配方准确称量中草药,将其粉碎至40~60目,混合均匀,制得复方中草药;

[0010] (2)超声波辅助浸提:向复方中草药粉剂中加入质量比5~10倍的水,在超声波辅助作用下,100℃条件下回流浸提20~30min,超声功率400w,频率25kHz;

[0011] (3)发酵液制备:向浸提后的中草药浸提液中加入浸提液质量比3.0~5.0%葡萄糖、2.0~3.0%酵母膏、0.3~0.5%磷酸二氢钾、0.02%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.01%CaCl<sub>2</sub>,pH调至7.0~7.2;

[0012] (4)好氧发酵:选用液体发酵罐,装液量为60~70%(体积比),接种地衣芽孢杆菌和产朊假丝酵母,接种量分别为2~4%、5~8%(体积比),控制发酵温度28~37℃,转速150~300rpm,通气量10~20L/min;在此发酵条件下发酵12~24h;

[0013] (5)厌氧发酵:好氧发酵结束后,接种保加利亚乳杆菌和两歧双歧杆菌,接种量均为2~4%(体积比),发酵温度28~37℃,控温厌氧发酵12~24h;

[0014] (6)发酵后处理:发酵完成后将发酵液体用1.2~2倍体积比的麸皮吸附,在40~60℃鼓风干燥机中干燥,水分控制在8~10%;

[0015] (7)粉碎:将干燥后的产品用粉碎机60目过筛粉碎,即得斑点叉尾鮰用发酵型中草药免疫增强剂。

[0016] 本发明提供一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,具有预防、保健、治疗和调节免疫等多种功效,是替代抗生素药物的理想、绿色、环保、安全、新型饲料添加剂。该发明发酵中草药饲料添加剂一是可以高效调理斑点叉尾鮰肠道健康,标本兼治,固本培元,保持肠道微生态平衡和最佳免疫状态,提高营养物质的消化吸收率,提高动物机体免疫力;二是可抑制和阻止病原大肠菌、梭状芽孢杆菌、沙门氏菌等有害菌的发生,增加肠道益生菌,维持健康的肠道菌群;三是增强免疫作用,通过刺激肠道内免疫系细胞,增加局部抗体的形成,增加巨噬细胞活性;四是发酵中草药饲料添加剂进入肠内抵制有害菌,降低恶臭及有害成分形成,使排出的粪便消除恶臭,在保护养殖环境的同时提高斑点叉尾鮰肉质品质。

[0017] 本发明提供一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,所述斑点叉尾鮰用发酵型中草药免疫增强剂产品在水产饲料全价料中使用的质量比例为0.1~0.5%;或所述的饲料添加剂在预混料、浓缩料以全价料中所需的比例添加使用。

[0018] 本发明提供一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,其优势在于:一是在发酵中草药饲料添加剂制备过程中采用了“中草药超声波辅助浸提+多菌种好氧发酵和厌氧发酵相结合二步发酵”的生产工艺,与现有的中草药饲料添加剂产品相比作用效果更显著;二是发

醇中草药饲料添加剂具有中草药和益生菌的双重优点,可以高效调理斑点叉尾鮰肠道健康,标本兼治,固本培元,保持肠道微生态平衡和最佳免疫状态,提高营养物质的消化吸收率,提高动物机体免疫力,提高养殖收益,降低养殖风险;三是该产品可替代抗生素使用,对斑点叉尾鮰无不良影响,使用安全,不存在药物残留和耐药性等问题,有着广阔的市场前景。

### 具体实施方式

[0019] 实施例1:

[0020] 一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,具体制备步骤如下:

[0021] (1)称量:按照如下配方准确称量中草药:淮山药12份、韭菜子12份、葛根8份、三七10份、鱼腥草3份、王不留行10份、甘草6份、黄芪5份、绞股蓝6份、连翘10份、穿心莲6份、蒲公英7份、鳖甲3份;

[0022] (2)复方中草药的制备:将称量后的中草药粉碎至40~60目,混合均匀,制得复方中草药;

[0023] (3)超声波辅助浸提:向复方中草药粉剂中加入质量比5倍的水,在超声波辅助作用下,100℃条件下回流浸提20~30min,超声功率400w,频率25kHz;

[0024] (4)发酵液制备:向浸提后的中草药浸提液中加入浸提液质量比3.0%葡萄糖、3.0%酵母膏、0.3%磷酸二氢钾、0.02%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.01%CaCl<sub>2</sub>,pH调至7.0~7.2;

[0025] (5)好氧发酵:选用液体发酵罐,装液量为60~70%(体积比),接种地衣芽孢杆菌和产朊假丝酵母,接种量分别为2%、8%(体积比),控制发酵温度28~37℃,转速150~300rpm,通气量10~20L/min;在此发酵条件下发酵12h;

[0026] (6)厌氧发酵:好氧发酵结束后,接种保加利亚乳杆菌和两歧双歧杆菌,接种量分别为2%、4%(体积比),发酵温度28~37℃,控温厌氧发酵24h;

[0027] (7)发酵后处理:发酵完成后将发酵液体用1.2倍体积比的麸皮吸附,在40~60℃鼓风干燥机中干燥,水分控制在8~10%;

[0028] (8)粉碎:将干燥后的产品用粉碎机60目过筛粉碎,即得斑点叉尾鮰用发酵型中草药免疫增强剂。

[0029] 实施例2:

[0030] 一种斑点叉尾鮰用中草药免疫增强剂,具体制备步骤如下:

[0031] (1)称量:按照如下配方准确称量中草药:淮山药18份、韭菜子8份、葛根12份、三七6份、鱼腥草5份、王不留行6份、甘草8份、黄芪3份、绞股蓝10份、连翘6份、穿心莲10份、蒲公英5份、鳖甲5份;

[0032] (2)复方中草药的制备:将称量后的中草药粉碎至40~60目,混合均匀,制得复方中草药;

[0033] (3)超声波辅助浸提:向复方中草药粉剂中加入质量比10倍的水,在超声波辅助作用下,100℃条件下回流浸提20~30min,超声功率400w,频率25kHz;

[0034] (4)发酵液制备:向浸提后的中草药浸提液中加入浸提液质量比5.0%葡萄糖、2.0%酵母膏、0.5%磷酸二氢钾、0.02%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.01%CaCl<sub>2</sub>,pH调至7.0~7.2;

[0035] (5)好氧发酵:选用液体发酵罐,装液量为60~70%(体积比),接种地衣芽孢杆菌和

产朊假丝酵母,接种量分别为4%、5%(体积比),控制发酵温度28~37℃,转速150~300rpm,通气量10~20L/min;在此发酵条件下发酵24h;

[0036] (6)厌氧发酵:好氧发酵结束后,接种保加利亚乳杆菌和两歧双歧杆菌,接种量分别为4%、2%(体积比),发酵温度28~37℃,控温厌氧发酵12h;

[0037] (7)发酵后处理:发酵完成后将发酵液体用2倍体积比的麸皮吸附,在40~60℃鼓风干燥机中干燥,水分控制在8~10%;

[0038] (8)粉碎:将干燥后的产品用粉碎机60目过筛粉碎,即得斑点叉尾鲷用发酵型中草药免疫增强剂。

[0039] 实施例3:

[0040] 一种斑点叉尾鲷用中草药免疫增强剂,具体制备步骤如下:

[0041] (1)称量:按照如下配方准确称量中草药:淮山药15份、韭菜子10份、葛根10份、三七8份、鱼腥草4份、王不留行8份、甘草7份、黄芪4份、绞股蓝8份、连翘8份、穿心莲8份、蒲公英6份、鳖甲4份;

[0042] (2)复方中草药的制备:将称量后的中草药粉碎至40~60目,混合均匀,制得复方中草药;

[0043] (3)超声波辅助浸提:向复方中草药粉剂中加入质量比7.5倍的水,在超声波辅助作用下,100℃条件下回流浸提20~30min,超声功率400w,频率25kHz;

[0044] (4)发酵液制备:向浸提后的中草药浸提液中加入浸提液质量比4.0%葡萄糖、2.5%酵母膏、0.4%磷酸二氢钾、0.02%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.01%CaCl<sub>2</sub>,pH调至7.0~7.2;

[0045] (5)好氧发酵:选用液体发酵罐,装液量为60~70%(体积比),接种地衣芽孢杆菌和产朊假丝酵母,接种量分别为3%、6.5%(体积比),控制发酵温度28~37℃,转速150~300rpm,通气量10~20L/min;在此发酵条件下发酵18h;

[0046] (6)厌氧发酵:好氧发酵结束后,接种保加利亚乳杆菌和两歧双歧杆菌,接种量均为3%(体积比),发酵温度28~37℃,控温厌氧发酵18h;

[0047] (7)发酵后处理:发酵完成后将发酵液体用1.6倍体积比的麸皮吸附,在40~60℃鼓风干燥机中干燥,水分控制在8~10%;

[0048] (8)粉碎:将干燥后的产品用粉碎机60目过筛粉碎,即得斑点叉尾鲷用发酵型中草药免疫增强剂。

[0049] 通过实验验证本发明产品的免疫增强功效,试验结果如下:

组别	头臂指数 (%)	脾脏指数 (%)	吞噬率 (%)	吞噬指数
对照组	0.53 ± 0.15	0.096 ± 0.021	79.82 ± 2.71	3.87 ± 0.31
实施例1	0.63 ± 0.16	0.109 ± 0.023	84.28 ± 3.10	4.01 ± 0.66
[0050] 实施例2	0.62 ± 0.17	0.101 ± 0.027	83.98 ± 3.47	3.98 ± 0.58
实施例3	0.65 ± 0.14	0.111 ± 0.019	85.77 ± 3.05	4.06 ± 0.10
与本发明不同中草药配比试验组	0.57 ± 0.18	0.098 ± 0.019	81.76 ± 3.88	3.74 ± 0.38
中草药直接浸提组	0.52 ± 0.13	0.092 ± 0.022	86.25 ± 2.95	3.73 ± 0.41

[0051] 以上实施例仅用于说明本发明的技术方案,而非对其进行限制;尽管参照前述实施例对被发明进行了详细的说明,但对于本领域的普通技术人员来说,依然可以对前述实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换;而对这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明所要求保护的技术方案的精神和范围。