



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105994941 A

(43)申请公布日 2016.10.12

(21)申请号 201610349400.2

A23K 20/26(2016.01)

(22)申请日 2016.05.24

A23K 50/30(2016.01)

(71)申请人 浙江伊杰斯生物科技有限公司

地址 322299 浙江省金华市浦江县亚太大道677号

(72)发明人 潘宏涛 卢亚萍

(74)专利代理机构 苏州慧通知识产权代理事务所(普通合伙) 32239

代理人 丁秀华

(51)Int.Cl.

A23K 10/12(2016.01)

A23K 10/37(2016.01)

A23K 20/142(2016.01)

A23K 20/147(2016.01)

A23K 20/174(2016.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种微生物发酵制备的无抗饲料

(57)摘要

本发明涉及由配合料加入复合菌液经固态发酵制成的无抗饲料,其中复合菌液由副干酪乳杆菌菌液1-3重量份、米曲霉菌液1-3重量份和产朊假丝酵母菌液1-3重量份混合制成。与普通猪用饲料相比,本发明的无抗饲料配伍合理,疗效显著,能够显著降低猪腹泻率,实验证明对改善猪腹泻有特效;由于饲料中无西药抗生素成分,因此本发明的饲料无毒副作用,无耐药性,无污染。

1. 一种微生物发酵制备的无抗饲料,由配合料加入复合菌液经固态发酵制成,其特征在于,其中复合菌液由副干酪乳杆菌菌液1-3重量份、米曲霉菌液1-3重量份和产朊假丝酵母菌液1-3重量份混合制成。

2. 根据权利要求1所述的无抗饲料,其特征在于,所述复合菌液由副干酪乳杆菌菌液2重量份、米曲霉菌液1重量份和产朊假丝酵母菌液2重量份复配制成。

3. 根据权利要求1所述的无抗饲料,其特征在于,所述配合料包括豆粕、玉米蛋白粉、菜籽粕、花生粕、磷酸氢钙和食盐等。

4. 根据权利要求3所述的无抗饲料,其特征在于,所述配合料还包括赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸等。

5. 根据权利要求3所述的无抗饲料,其特征在于,所述配合料还包括维生素A、维生素C、维生素E和维生素B₁₂等。

6. 根据权利要求1所述的无抗饲料,其特征在于,所述配合料由豆粕50重量份、玉米蛋白粉20重量份、菜籽粕10重量份、花生粕5重量份、磷酸氢钙5重量份、食盐5重量份、赖氨酸1重量份、蛋氨酸1重量份、苏氨酸1重量份、维生素A 0.5重量份、维生素C 0.5重量份、维生素E 0.5重量份和维生素B₁₂ 0.5重量份混合均匀制成。

7. 根据权利要求1所述的无抗饲料,其特征在于,所述配合料与复合菌液的重量比为(90-95):(10-5)。

8. 根据权利要求7所述的无抗饲料,其特征在于,所述配合料与复合菌液的重量比为95:5。

一种微生物发酵制备的无抗饲料

技术领域

[0001] 本发明涉及饲料领域,具体涉及一种家畜无抗饲料及其应用。

背景技术

[0002] 20世纪中期以来,在饲料中添加抗生素对预防动物疾病、促进动物生长、提高饲料报酬、提高畜禽产品产量等方面发挥了积极的作用。随着抗生素作为饲料添加剂的广泛应用,其种种弊端也随着被人们所认识,比如导致动物胃肠道正常菌群失调,产生耐药性等。抗生素的长期使用导致其在动物生产中的肉、蛋产品中大量残留,这些残留对人体具有毒性,致畸性,致癌性,致突变性。不仅畜产品的质量降低,残毒对环境造成破坏,对作为动物产品消费者的人类的健康构成威胁,同时也构成了畜产品出口的贸易逆差,给畜产品的出口创汇带来了困难,在很大程度上影响着养殖业自身的经济效益。寻找绿色环保型抗生素替代物,减轻抗生素对畜禽生产带来的负面影响成为各国畜牧业迫切需要解决的问题。

[0003] 益生菌制剂具有无毒副作用、无耐药性、无残留以及效果显著、成本低等诸多优点,能有效补充消化道内的有益微生物,杀灭有害微生物尤其是大肠杆菌等病原菌,改善消化道菌群平衡,迅速提高机体抗病、代谢及饲料的吸收能力,从而起到防治消化道疾病和促进生长的双重效果。益生菌制剂以其独特的作用方式,天然的组成成份,明显的作用效果,成为了理想的抗生素替代品。

[0004] 益生菌制剂是指在微生态平衡理论、微生态失调理论、微生态营养理论和微生态防治理论指导下,经过严格选育和驯化,由生物工程和微生态工程制备的,能通过动物体胃酸、胆汁酸、胰液等屏障而存活,最后在消化道定植并繁殖,调整宿主体内微生态失调,保持微生态平衡,提高宿主健康水平或增进健康状态的益生菌及其代谢产物和生长刺激物质的制品。

[0005] 可以作为益生菌制剂的微生物必须满足以下几条标准:(1)首先不能产生任何毒素,即无毒、无害、安全无副作用;(2)对胃酸、胃蛋白酶、胰蛋白酶及胆汁的消化作用表现出一定的抵抗力,从而可在消化道内存活;(3)可以粘附于消化道粘膜,永久或暂时性地定植于胃肠道;(4)有利于促进宿主体内菌群平衡或预防生态失调,对宿主健康有一定的促进作用;(5)其产品按合理剂量饲喂时能具有临床有效性;(6)产品制备及储存期间能保持较高的活性及较长的稳定性;(7)可以在多种宿主体内存活。最后这条标准可能最难达到,尽管大多数物种有相对稳定的肠道内微生物群落,但每个物种又有自己独特的细菌群落。而且,一些因素,如压力或者抗生素治疗都可以改变肠道内微生物区系,引起占次主导优势的种群甚至病原菌成为主导优势菌。因此,选择菌株适应综合考虑,尽可能选择满足更多以上条件的菌株。

[0006] 很多益生菌是从原有的肠道细菌中发现出来的,并被证实对一些胃肠道疾病具有临床功效。除了在临床作用和成分不同外,益生菌他们作用的机制各不相同。由于益生菌制剂能够在数量或种类上补充肠道内所缺乏的正常微生物,可以调整或维持肠道内微生态平衡,增强免疫功能,促进营养物质的消化吸收,从而达到无病防病,有病治病,提高饲料转化

率和畜禽生产性能的作用。迄今关于饲料微生物添加剂的研究报道结果差异很大,在理论上也有种种解释。通过对益生菌制剂在畜牧业上的研究所积累的经验,现将益生菌制剂的作用机制概括如下:

[0007] 1、维持肠道微生态平衡:在动物胃肠道存在大量的微生物菌群,并保持相对平衡稳定状态。其中有些菌群对动物的生长发育和抵抗疾病具有重要意义。正常情况下,动物肠道内优势种群为厌氧菌,占99%以上,其中包括乳酸杆菌、双歧杆菌、消化杆菌和优杆菌等,而需氧菌及兼性厌氧菌仅占1%。这些菌群一旦失去了平衡,则使动物的消化道技能发生紊乱,生产性能下降,病原性微生物会大量繁殖导致动物发病,此时使用益生菌制剂能有效的补充有益菌的数量,抑制致病菌群的生长繁殖,调整恢复肠道的菌群平衡。动物机体维持肠道微生态平衡的机制有以下两个方面:(1)定植抗力:动物胃肠道的原籍种群能抑制其他外来微生物在肠道中定植,这就是定植抗力,也叫竞争排斥。(2)产生抑菌物质:例如乳杆菌能产生细菌素、类细菌素和其它具有抑菌作用的代谢物。细菌素是细菌代谢过程中合成并分泌到环境中的一类对亲缘关系较近的菌种有抑制作用的蛋白类抑菌物质。大多数已知的细菌素只对相同革兰氏染色的细菌有抑菌作用,但随着研究深入,发现许多细菌素作用范围很广。

[0008] 2、生物夺氧:益生菌中的有益需氧菌在动物肠道内生长繁殖过程中,消耗环境内的氧气,可降低局部氧分子的浓度,利于正常菌群专性厌氧菌的定植和生长繁殖使肠道微生态平衡恢复正常,达到防治疾病目的。研究结果显示下痢仔猪连续3天口服蜡样芽孢杆菌后,肠内厌氧菌中双歧杆菌、乳酸杆菌显著增加,而大肠杆菌、沙门氏菌显著减少。猪饲喂地衣芽孢杆菌后,肠道菌群中厌氧菌增多,而需氧菌及兼性厌氧菌特别是大肠杆菌显著减少。

[0009] 3、生物拮抗作用:益生菌制剂中的有益菌在体内对病原微生物有拮抗作用,即定植抗力。这种定植抗力是因为体内微生物与致病菌竞争肠道上皮的吸附位点而产生的。如果这些吸附位点被较多的有益微生物所占据,病原微生物就会被排斥,而随粪便排出体外。研究报道指出用芽孢杆菌饲喂雏鸡后发现其对雏鸡肠内大肠杆菌和沙门氏菌有极显著拮抗作用。在体外试管培养试验中,乳杆菌微生态制剂对致病性鸡白痢沙门氏菌具有很强的生物拮抗。

[0010] 4、增强机体的免疫功能:某些益生菌制剂是良好的免疫激活剂,因为其本身就是非特异性免疫调节因子,能刺激机体免疫系统产生干扰素,提高免疫球蛋白的浓度和巨噬细胞的活性,使动物的体液免疫和细胞免疫水平提高,益生菌制剂对动物免疫力的提高主要表现在以下几个方面:(1)增强巨噬细胞的活性有研究结果显示乳酸菌能显著增强巨噬细胞活性。乳酪乳杆菌能提高巨噬细胞对李斯特菌的吞噬活性;另有研究表明,酵母提取物可加强多种巨噬细胞的反应;(2)对免疫器官、抗体产生水平、细胞因子产生的影响;(3)对特异性免疫应答的激活和增强作用。

[0011] 5、合成消化酶,促进营养物质的消化吸收:益生菌制剂中的有益微生物可产生水解酶、消化酶等,有利于降解饲料中的蛋白质、脂肪等复杂的碳水化合物,提高饲料转化率。米曲霉、黑曲霉等曲霉菌能产生纤维素酶,有利于动物对纤维素的消化、吸收和利用。黑曲霉还能产生淀粉酶、蛋白酶、果胶酶。某些酵母菌有富集微量元素的作用,使之由无机态形式变成动物易消化吸收的有机态形式。用芽孢杆菌和乳酸杆菌等产酸型益生菌饲喂动物后,动物小肠粘膜皱褶增多,续毛加长,粘膜腺窝加深,小肠吸收面积增大,从而提高增重率

和饲料的利用率。枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌除具有较强的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性外,同时还具有降解植物饲料中某些复杂碳水化合物的酶,如果胶酶、葡聚糖酶、纤维素酶等,其中很多酶是哺乳动物和禽类本身不能产生的酶类。

[0012] 6、改善肠道内环境,减少氨、胺等有害物质的产生:氨、胺、吲哚、硫化氢等物质对动物肠道粘膜细胞有明显的毒害作用。乳酸菌等在肠道生长繁殖能产生有机酸、细菌素等抑制物质,可抑制肠内大肠杆菌等腐败细菌的生长,降低脲酶的活性,进而减少蛋白质向氨、胺等有害物质的转化,使肠内氨的浓度降低,并减少向外界排泄,改善了畜禽的生活环境。

[0013] 国际上正式将益生菌制剂分为益生菌、益生元及合生元。益生菌即狭义的益生菌制剂,是指对宿主无害,能起到改善宿主肠道菌群生态平衡作用的活菌制剂及其代谢产物。目前应用于人体的益生菌有乳酸菌、双歧杆菌、肠球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、丁酸梭菌和酵母等。益生元是指不能被宿主消化吸收却又能够选择性地促进宿主肠道内原有的一种或几种有益菌生长繁殖的物质,通过提高有益菌的数量,抑制有害细菌生长,从而达到调整肠道菌群,达到肠道微生态平衡,促进机体健康的目的。比如双歧因子,寡糖类物质或称低聚糖等。还有我国的某些中草药,如人参、党参、黄芪等或茶叶提取物亦能起到益生元的作用。合生元是指制剂中包含有益生素和益生元两部分的制剂。此类制品理论上是兼具以上二者的成分和特性的合剂,但此定义极少被采纳。

[0014] 国内外将益生菌大体上可以分成三类,第一类为一般厌氧即耐氧的乳杆菌属,如嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌等;第二类为严格厌氧的双歧杆菌属,如长双歧杆菌、短双歧杆菌等;第三类为兼性厌氧球菌,如粪肠球菌、乳肠球菌等。此外,还有一些酵母菌与酶亦可归入益生菌的范畴。常用于饲料中的益生菌包括乳酸菌、芽孢杆菌和酵母菌等。

[0015] 乳酸菌是对一群能利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的革兰氏阳性细菌的通称。乳酸菌被定义为:细胞为杆状或球状,革兰氏染色阳性,不产生过氧化氢酶,消耗葡萄糖且50%以上产生乳酸,不形成内孢子,无运动性,或仅少数有运动性。其在动物体内通过生物拮抗、降低pH值,阻止和抑制致病菌的侵入和定植、降解氨、吲哚、粪臭素等有害物质,维持肠道中正常的生态平衡,增强体液免疫和细胞免疫。乳酸菌可用于哺乳和断乳期动物的饲料中。自然界中乳酸菌分布广泛,不仅存在与人和动物的肠道及其他器官内,同时还存在与食品、饲料、土壤、植物根际、河水湖泊中。乳酸菌在工业、农业、食品和医疗保健等与人类密切相关的领域中都有很高的应用价值,可用于益生菌制剂、乳酸、青贮接种剂、乳酸发酵食品(如发酵乳制品、发酵蔬菜、发酵肉制品等)、细菌素、化妆品保湿剂等的生产。目前应用的乳酸菌主要是来源于乳酸杆菌属、乳酸链球菌属和双歧杆菌属的近30种的微生物。我国农业部允许用作饲料添加剂的乳酸菌有:干酪乳杆菌、植物乳杆菌、粪链球菌、屎链球菌、乳酸片球菌、嗜酸乳杆菌、乳链球菌等7种。

[0016] 芽孢杆菌是用于益生菌的肠道的过路菌,不能定植于肠道中。它好氧,无害,能产生芽孢耐酸碱,耐高温和挤压,在肠道酸性环境中具有高度的稳定性,促进有益菌的生长,拮抗肠道内有害菌,增强机体免疫力,提高抗病能力;能分泌较强活性的蛋白酶及淀粉酶,可明显提高动物生长速度促进饲料营养物质的消化。目前报道较多的菌种有枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌及东洋芽孢杆菌等有益菌种类。

[0017] 用于益生菌制剂的酵母菌一种是活性酵母制剂,一种是酵母培养物。酵母细胞富

含蛋白质、核酸、维生素和多种酶,具有增强动物免疫力,改善饲料适口性,促进动物对饲料的消化吸收能力等功能,并可提高动物对磷的利用率;其培养物营养丰富,富含B族维生素、矿物质、消化酶、促生长因子和较齐全的氨基酸。酵母及其培养物的应用年代已久,现已广泛应用于各种动物的养殖中,目前农业部允许用于益生菌的酵母菌有酿酒酵母、啤酒酵母等。

[0018] 目前,将副干酪乳杆菌、米曲霉和产朊假丝酵母复配作为猪无抗饲料添加剂的应用尚未见报道。

发明内容

[0019] 本发明所要解决的技术问题是提供一种能有效改善猪腹泻,且无毒副作用,无污染,无耐药性的猪用无抗饲料。

[0020] 本发明解决上述问题所采用的技术方案是,提供一种微生物发酵制备的无抗饲料,由配合料加入复合菌液固态发酵制成,其中复合菌液由副干酪乳杆菌菌液1-3重量份、米曲霉菌液1-3重量份和产朊假丝酵母菌液1-3重量份混合制成。

[0021] 优选的,所述复合菌液由副干酪乳杆菌菌液2重量份、米曲霉菌液1重量份和产朊假丝酵母菌液2重量份复配制成。

[0022] 更优选的,单位重量份的所述三种菌液中活菌数相同。

[0023] 优选的,所述配合料包括豆粕、玉米蛋白粉、菜籽粕、花生粕、磷酸氢钙和食盐等。

[0024] 更优选的,所述配合料还包括赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸等。

[0025] 更优选的,所述配合料还包括维生素A、维生素C、维生素E和维生素B₁₂等。

[0026] 最优选的,所述配合料由豆粕50重量份、玉米蛋白粉20重量份、菜籽粕10重量份、花生粕5重量份、磷酸氢钙5重量份、食盐5重量份、赖氨酸1重量份、蛋氨酸1重量份、苏氨酸1重量份、维生素A 0.5重量份、维生素C 0.5重量份、维生素E 0.5重量份和维生素B₁₂ 0.5重量份混合均匀制成。

[0027] 优选的,所述配合料与复合菌液的重量比为(90-95):(10-5)。

[0028] 更优选的,所述配合料与复合菌液的重量比为95:5。

[0029] 本发明具有积极有益的效果:

[0030] 令人惊奇的是,经过反复多次试验,本发明意外发现将副干酪乳杆菌菌液、米曲霉菌液和产朊假丝酵母菌液复配后经固态发酵获得的无抗饲料对于防治猪腹泻具有增效的效果,配合其他活性成分使用效果更佳。

[0031] 与普通猪用饲料相比,本发明的无抗饲料配伍合理,疗效显著,能够显著降低猪腹泻率,实验证明对改善猪腹泻有特效;由于饲料中无西药抗生素成分,因此本发明的饲料无毒副作用,无耐药性,无污染。

具体实施方式

[0032] 下面结合实施例对本发明作更进一步的说明,但本发明的实施方式不限于此。下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0033] 实施例1、副干酪乳杆菌菌液的制备

[0034] 将副干酪乳杆菌(菌株号GMNL-33)接种至装有MRS培养基的厌氧管中,37℃恒温厌

氧培养48h,得到副干酪乳杆菌菌液。

[0035] 所述MRS培养基为:蛋白胨10.0g/L、牛肉膏8.0g/L、酵母膏4.0g/L、葡萄糖20.0g/L、吐温80 1ml/L、磷酸氢二钾2.0g/L、三水乙酸钠5.0g/L、柠檬酸三铵2.0g/L、七水硫酸镁0.2g/L、硫酸锰0.05g/L,pH为6.2-6.6。

[0036] 实施例2、米曲霉菌液的制备

[0037] 将米曲霉菌(菌株号CICC40188)接种至Czapek's琼脂培养基上,28℃培养72h,再接种到Czapek's液体培养基中,28℃恒温培养72h,得到米曲霉菌液。

[0038] 所述Czapek's琼脂培养基为:蔗糖3%、硝酸钠0.3%、七水合硫酸镁0.05%、氯化钾0.05%、四水合硫酸亚铁0.001%、磷酸氢二钾0.1%、琼脂1.5%,pH值6.0-6.5。不加琼脂即为Czapek's液体培养基。

[0039] 实施例3、产朊假丝酵母菌液的制备

[0040] 将产朊假丝酵母(菌株号ATCC22023)接种到麦芽汁琼脂培养基上,28℃培养72h,再接种到麦芽汁液体培养基中,28℃恒温培养72h,得到产朊假丝酵母菌液。

[0041] 所述麦芽汁琼脂培养基为:麦芽汁为5-6波美度,pH值为6.5,加入2g/100ml琼脂即得。不加琼脂即为麦芽汁液体培养基。

[0042] 实施例4、配合料的制备

[0043] 取豆粕50重量份、玉米蛋白粉20重量份、菜籽粕10重量份、花生粕5重量份、磷酸氢钙5重量份、食盐5重量份、赖氨酸1重量份、蛋氨酸1重量份、苏氨酸1重量份、维生素A 0.5重量份、维生素C 0.5重量份、维生素E 0.5重量份和维生素B₁₂ 0.5重量份混合均匀即得配合料。

[0044] 实施例5、无抗饲料的制备(A1-A6)

[0045] 将实施例1制备得到的副干酪乳杆菌菌液低温浓缩至菌液中活菌数约为10⁸个/g,按照5%的接种量加入到实施例4制备得到的配合料中,在35℃条件下固态发酵7d,即得对照无抗饲料A1。

[0046] 将实施例2制备得到的米曲霉菌液低温浓缩至菌液中活菌数约为10⁸个/g,按照5%的接种量加入到实施例4制备得到的配合料中,在35℃条件下固态发酵7d,即得对照无抗饲料A2。

[0047] 将实施例3制备得到的产朊假丝酵母菌液低温浓缩至菌液中活菌数约为10⁸个/g,按照5%的接种量加入到实施例4制备得到的配合料中,在35℃条件下固态发酵7d,即得对照无抗饲料A3。

[0048] 将实施例1-3制备得到的副干酪乳杆菌菌液、米曲霉菌液和产朊假丝酵母菌液低温浓缩至三种菌液中活菌数均约为10⁸个/g,再以2:2:1的重量比混合制成复合菌液,按照5%的接种量加入到实施例4制备得到的配合料中,在35℃条件下固态发酵7d,即得本发明无抗饲料A4。

[0049] 将实施例1-3制备得到的副干酪乳杆菌菌液、米曲霉菌液和产朊假丝酵母菌液低温浓缩至三种菌液中活菌数均约为10⁸个/g,再以1:2:2的重量比混合制成复合菌液,按照5%的接种量加入到实施例4制备得到的配合料中,在35℃条件下固态发酵7d,即得本发明无抗饲料A5。

[0050] 将实施例1-3制备得到的副干酪乳杆菌菌液、米曲霉菌液和产朊假丝酵母菌液低

温浓缩至三种菌液中活菌数均约为 10^8 个/g,再以2:1:2的重量比混合制成复合菌液,按照5%的接种量加入到实施例4制备得到的配合料中,在35℃条件下固态发酵7d,即得本发明无抗饲料A6。

[0051] 试验例1、本发明无抗饲料在防治猪腹泻中的应用

[0052] 为验证本发明的应用效果,本发明的饲料添加剂在健康、体重相近的仔猪中进行试验。将猪分为实验组(A1-A6)和对照组,每组各为50只。其中,实验组的日粮为实施例5制备得到的无抗饲料A1-A6,对照组的日粮为实施例4制备的相同重量的配合料,各组猪每日投喂3次,试验期内自由采食,同时提供充足的饮水,其他各项日常管理措施按照养殖场的常规管理进行,定期进行免疫和驱虫,30天后检测粪便中的大肠杆菌数量,同时统计试验期内实验组和对照组中猪的发病情况,计算各组的猪腹泻率(见表1)。

[0053] 表1

[0054]

	大肠杆菌数(10^7 个/g)	腹泻率
对照组	5.87	24%
实验组A1	3.16	16%
实验组A2	3.08	16%
实验组A3	3.59	18%
实验组A4	2.44	12%
实验组A5	2.13	10%
实验组A6	1.07	4%

[0055] 由试验例1的对比实验可以看出,本发明的无抗饲料能显著降低仔猪体内大肠杆菌数量,减少仔猪感染疾病的机会,降低仔猪发病率和腹泻率。在试验过程中还发现饲喂本发明无抗饲料的仔猪精神状态明显好于对照组,食欲旺盛,皮毛光滑色泽好。此外,在菌液总量保持不变的情况下,由副干酪乳杆菌菌液、米曲霉菌液和产朊假丝酵母菌液复配制成的复合菌液制得的无抗饲料的抗猪腹泻效果明显优于单一菌液,其中副干酪乳杆菌菌液、米曲霉菌液和产朊假丝酵母菌液以2:1:2的重量比混合后制成的无抗饲料防治仔猪腹泻的效果最为突出,将仔猪腹泻率降低至4%,产生了难以预期的优异效果。