



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101760431 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 06

(21) 申请号 201010033723. 3

(22) 申请日 2010. 01. 05

(73) 专利权人 北京市农林科学院

地址 100097 北京市海淀区曙光花园中路9号

(72) 发明人 王海宏 潘裕华 刘华贵 耿爱莲
张剑 初芹 肖银花

(74) 专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有限公司 11129

代理人 张涛

(56) 对比文件

CN 1568747 A, 2005. 01. 26, 说明书第2页第20行-第3页第1行, 第3页第3-16行.

CN 101544960 A, 2009. 09. 30, 具体实施方式.

CN 1568747 A, 2005. 01. 26, 说明书第2页第20行-第3页第1行, 第3页第3-16行.

CN 101124937 A, 2008. 02. 20, 全文.

王桂田等. 生物发酵饲料的配制及喂猪的方法. 《农技服务》. 2004, 第5卷

审查员 刘红霞

(51) Int. Cl.

C12N 1/20(2006. 01)

C12N 1/18(2006. 01)

A23K 10/18(2016. 01)

A01K 1/015(2006. 01)

A61L 9/01(2006. 01)

C12R 1/125(2006. 01)

C12R 1/07(2006. 01)

C12R 1/01(2006. 01)

C12R 1/865(2006. 01)

A61L 101/52(2006. 01)

权利要求书1页 说明书10页

(54) 发明名称

一种复合微生物发酵剂及其应用

(57) 摘要

本发明“一种复合微生物发酵剂及其应用”, 属于有益微生物制剂的低成本化应用。一种复合微生物发酵剂, 其中的活性微生物包括酵母菌、枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)、纳豆芽孢杆菌(Bacillus natto) 和乳酸菌, 所述酵母菌为酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae), 所述乳酸菌为乳酸球菌(Lactococcus lactis)。可用于畜禽养殖床、饲料添加剂等方面, 其特点在于降低了用户在发酵剂上的成本投入, 且效果稳定。

CN 101760431 B

1. 一种复合微生物发酵剂, 其中的活性微生物包括酵母菌、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、纳豆芽孢杆菌 (*Bacillus natto*) 和乳酸菌, 所述酵母菌为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 所述乳酸菌为乳酸球菌 (*Lactococcus lactis*), 所述酵母菌为在液体培养基中按体积比 0.01% 接入酵母原菌, 33℃~34℃ 下培养 10~15 小时制得菌液;

所述枯草芽孢杆菌为在液体培养基中按 1% 接种二级扩大培养的枯草芽孢杆菌菌种液, 31℃~32℃ 下, 培养 30~35 小时所得的菌液;

所述纳豆芽孢杆菌为在液体培养基中按 1% 接种二级扩大培养的纳豆芽孢杆菌菌种液, 31℃~32℃ 下, 培养 30~35 小时所得的菌液;

所述乳酸菌为在液体培养基中按 1% 接入二级扩大培养的乳酸菌菌种液, 36℃~37℃ 下, 静止培养 30~40 小时所得的菌液, 所述酵母菌、枯草芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、乳酸菌四种菌液按体积比 3:3:3:1 混合。

2. 权利要求 1 所述的复合微生物发酵剂在畜禽养殖生产中的应用, 其特征在于先对所述复合微生物发酵剂进行扩繁得到扩繁菌剂, 所述扩繁步骤如下:

(1) 将红糖与水按重量份比 1:10 混合并搅拌至充分溶解, 冷却到 34~36℃;

(2) 加入所述复合微生物发酵剂 1 份, 充分搅拌, 置于 30~35℃ 环境中, 每 4~8 小时搅拌一次, 培养 45~50 个小时。

3. 根据权利要求 2 所述的应用, 指用于畜禽饮水, 其特征在于使用的前 10 天, 在饮水中按 1% 加入扩繁菌剂, 第 10 天后可加入量为 0.3~0.5%。

4. 根据权利要求 2 所述的应用, 指所述扩繁菌剂按 0.5% 加入全价料中, 所述加入指与全价料拌匀或喷施在全价料表面。

5. 根据权利要求 2 所述的应用, 指所述扩繁菌剂按 0.1% 稀释, 喷施在畜禽的养殖环境中进行消毒。

6. 根据权利要求 2 所述的应用, 指按照饲料:水:扩繁菌剂:红糖 = 100:60:1:1 的体积比拌匀, 装入密封袋中避光发酵 5~7 天得到发酵饲料, 按喂料量的 10% 将所述发酵饲料加入到全价料中, 拌匀饲喂畜禽。

7. 根据权利要求 2 所述的应用, 指制作发酵床垫料, 所述扩繁菌剂与垫料原料的质量体积比 1kg:5M³, 所述垫料原料和菌剂常温混合发酵, 至垫料原料堆内部温度升到 35℃ 以上后用于畜禽饲养, 所述菌剂为扩繁菌剂与水混合成, 所述菌剂占垫料重量的 30~40%。

8. 根据权利要求 7 所述的应用, 所述混合发酵指先在圈底铺 20 厘米厚的稻壳、玉米芯粉或 / 和轧短玉米秸秆, 喷洒菌剂, 再铺 10 公分的锯末、稻壳或 / 和花生壳, 喷菌剂, 以此循环铺至 80 厘米厚, 最后铺 10 厘米厚的锯末, 表面喷菌剂, 然后覆盖麻袋或编织袋, 待垫料下 30 公分温度升到 35℃ 以上即可。

一种复合微生物发酵剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及有益微生物发酵剂在畜禽养殖领域的应用,特别是一种复合微生物发酵剂及其应用。

技术背景

[0002] 微生物技术被广泛应用于畜禽健康养殖领域,采用微生态工程原理,筛选出适合不同畜禽需要有益微生物菌株,经过复配等工艺,制成微生态制剂,加入饮水或饲料中,起到抗病增产、除臭和改善肉质的作用。目前,复合微生物制剂被广泛应用于猪、牛、兔、狗、鸡、鸭、鹅、鸽、鱼、鳖、虾等几乎一切畜禽养殖。

[0003] 对于复合微生物在畜禽养殖上所起的作用可归类如下几点:(1)增加畜禽营养,提高饲料利用率,提高生长速度。(2)明显增强畜禽免疫能力和抗病性,提高成活率。(3)改善肉的品质,提高产品质量。(4)增强母畜的繁殖机能。(5)可以清除粪尿恶臭,净化生态环境,无环境污染。

[0004] 随着养殖规模和养殖数量的迅速增加,规模化养殖所带来的环境污染、养殖场环境恶化、疾病频发以及对动物福利的严重伤害等问题,困扰着广大养殖企业。微生态制剂在抗病、改善净化养殖环境方面的功效得到了特别关注。近年来兴起的发酵床养殖技术就是微生态技术在养殖业的一个非常巧妙的应用。

[0005] 微生态发酵床养猪技术的原理是运用特殊微生物通过发酵锯末等原料制成微生物发酵垫料,以一定厚度铺在猪圈里,猪在整个生长阶段都生活在这种发酵菌床上,其排泄物被菌床中的微生物迅速降解、消化,可以使猪舍内没有臭味,不用水冲洗圈舍,不造成环境污染,节约资源。猪舍中的有益微生物环境,抑制有害菌的繁殖,增强猪的免疫力,减少防疫用药,增加成活率和出栏率,达到提高产品品质和养殖效益的目的。养殖过程中的垫料和粪便直接生成高品质有机肥,变废为宝,增加收益。

[0006] 目前这一养殖模式,在世界各国均得到越来越多的重视,各地的农业生产专家和科研工作者正投入大量的工作,研究开发适于本国本地区的微生态养猪模式,经过初步的推广应用,均已取得一定的成功,受到养猪界的高度赞扬。虽然这一模式现在还处在发展初期,并且还在不断发展和完善当中,但它的经济性、环保性已充分显现。

[0007] 微生态发酵床养殖技术由于其节能、减排、环保、安全、福利等优势,被政府及养殖户广泛认可,但由于相关配套技术不到位,投入品价格过高增加应用成本等因素,极大的限制了发酵床养殖技术的推广应用。目前生态发酵床养殖技术专用发酵剂商品化产品众多,价格均偏高,每平方米垫料增加的发酵剂成本达到30-60元不等,而且产品质量参差不齐,应用效果也常常存在不稳定的现象,严重影响发酵床养殖的应用效果和推广应用进程。

发明内容

[0008] 根据上述领域的缺陷,本发明提供一种复合微生物发酵剂及其应用,该发酵剂由四种有益微生物菌液组配而成,可用于畜禽养殖床、饲料添加剂等方面,其特点在于降低了

用户在发酵剂上的成本投入,且效果稳定。

[0009] 一种复合微生物发酵剂,其中的活性微生物包括酵母菌、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、纳豆芽孢杆菌 (*Bacillus natto*) 和乳酸菌,所述酵母菌为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*),所述乳酸菌为乳酸球菌 (*Lactococcus lactis*)。

[0010] 所述酵母菌为在液体培养基中按体积比 0.01% 接入酵母原菌,33℃~34℃ 下培养 10~15 小时制得菌液;

[0011] 所述枯草芽孢杆菌为在液体培养基中按 1% 接种二级扩大培养的枯草芽孢杆菌菌种液,31℃~32℃ 下,培养 30~35 小时所得的菌液;

[0012] 所述纳豆芽孢杆菌为在液体培养基中按 1% 接种二级扩大培养的纳豆芽孢杆菌菌种液,31℃~32℃ 下,培养 30~35 小时所得的菌液;

[0013] 所述乳酸菌为在液体培养基中按 1% 接入二级扩大培养的乳酸菌菌种液,36℃~37℃ 下,静止培养 30~40 小时所得的菌液。

[0014] 所述酵母菌、枯草芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、乳酸菌四种菌的菌液按体积比 3:3:3:1 混合。

[0015] 所述复合微生物发酵剂在畜禽养殖生产中的应用,其特征就在于先对上述复合微生物发酵剂进行扩繁得到扩繁菌剂,所述扩繁步骤如下:

[0016] (1) 将红糖与水按重量份比 1:10 混合并搅拌至充分溶解,冷却到 34~36℃;

[0017] (2) 加入上述复合微生态发酵剂 1 份,充分搅拌。置于 30~35℃ 环境中,每 4~8 小时搅拌一次,培养 45~50 个小时。

[0018] 所述应用指用于畜禽饮水,其特征就在于使用的前 10 天,在饮水中按 1% 加入扩繁菌剂,第 10 天后可加入量为 0.3~0.5%。

[0019] 所述应用指所述扩繁菌剂按 0.5% 添加到全价饲料中,所述添加指与全价料拌匀或喷施在全价料表面。

[0020] 所述应用指扩繁菌剂按 0.1% 稀释,喷施在畜禽作为消毒液进行畜禽的养殖环境进行消毒。

[0021] 所述应用指制作发酵饲料,按照饲料:水:扩繁菌剂:红糖=100:60:1:1 的体积比拌匀,装入密封袋中避光发酵 5-7 天得到所述发酵饲料,按喂料量的 10% 将发酵饲料加入到全价料中,拌匀饲喂畜禽。

[0022] 所述应用指制作发酵床垫料,所述扩繁菌剂与垫料的质量体积比 1kg:5M³,所述垫料和菌剂常温混合发酵,至垫料内部温度升到 35℃ 以上后用于畜禽饲养,所述菌剂为扩繁菌剂与水混合成,所述菌剂占垫料重量的 30~40%。

[0023] 所述混合发酵先在圈底铺 20 厘米厚的稻壳、玉米芯粉或 / 和轧短玉米秸秆,喷洒菌剂,再铺 10 公分的锯末、稻壳或 / 和花生壳,喷菌剂,以此循环铺至 80 厘米深,最后一层铺 10 厘米锯末,表面喷菌剂,然后覆盖麻袋或编织袋,待垫料下 30 公分温度升到 35℃ 以上即可。

[0024] 本发明提供的一种复合微生物发酵剂,为畜禽养殖提供了一种实用,高效的发酵剂,是四种有益菌的混合菌液,本发明通过对比优选实验,选择了好氧发酵抗逆性强的纳豆芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌:

[0025] 纳豆芽孢杆菌具有耐酸、耐热特性的有益菌,在胃酸下四小时存活率为 100%,同

时具有强力的病原菌抑制能力,是各种益菌当中,对环境耐受力最好,且可以直达小肠的菌种之一,口服后可改变动物肠道菌丛生态,帮助消化道机能正常化,以使排便顺畅,维持体内生理平衡的作用;可以产酸,调节肠道菌群,增强动物细胞免疫反应;并能生成多种蛋白酶特别是碱性蛋白酶、糖化酶、脂肪酶、淀粉酶,降解植物性饲料中某些复杂的碳水化合物,从而提高饲料的转化率。

[0026] 枯草芽孢杆菌,能耐氧化、耐挤压耐高温,能长期耐 60℃ 高温,在 120℃ 温度下能存活 20 分钟、耐酸碱,在酸性胃环境中能保持活性,可以耐唾液和胆汁的攻击,是饲料微生物中可 100% 直达大小肠的活菌;能短期内繁殖成高含菌量的优势种群,促进有益厌氧微生物的繁殖,抑制有害细菌(大肠杆菌、沙门氏杆菌)的生长;在快速繁殖过程中,产生大量多种维生素、有机酸、氨基酸、蛋白酶特别是碱性蛋白酶、糖化酶、脂肪酶、淀粉酶,能降解植物性饲料中复杂的有机物,从而促进消化吸收,提高饲料利用率,防止动物消化不良,出现“饲料便”等状况发生;除臭驱蝇,减少污染,控制细菌性疾病,能减少粪便中氮、磷、钙的排泄量,减少粪便臭味及有害气体排放,表现为动物粪便臭味逐步减轻,减少饲料蛋白质分解为氨气浪费,从而起到清洁环境污染的作用。

[0027] 考虑到本发明的复合微生物发酵剂的兼用性、对动物的益生作用以及用于发酵床时维持垫料的酸碱度的因素,本发明加入了乳酸球菌和酿酒酵母进行配伍共生。乳酸球菌是动物体内的常在菌,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,降解亚硝氨、氨、吲哚、粪臭素等有害物质,维持肠道中正常的生态平衡,活菌体内和代谢产物中含有较高的 SOD,能增强体液免疫和细胞免疫,乳酸乳球菌产生的 Nisin 对链球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌中的一些种、梭菌及其他乳酸菌有抑制作用,对维持发酵垫料的酸碱度,促进动物生长方面效果优于其他乳酸菌。本发明所选酿酒酵母能很好地与乳酸球菌共生,配伍后对畜舍除臭和对动物的益生效果更明显,可以抑制治病性大肠杆菌 K88、K99 和 987P,可以代谢产生免疫刺激剂,为动物提供了外援性消化道微生态调节剂,提高动物对疾病的抵抗力。

[0028] 同时本产品所含菌种均属于农业部规定的可以应用到畜牧养殖领域的菌种,功能定位明确,针对性强,应用简单,既可作为发酵床专用发酵剂,又可以应用于饲料添加,经过对比试验及生产性观察试验,本产品用于发酵床分解效率高,用于饲料添加剂对动物生产改善明显,提高动物抵抗力,显著降低发病率,应用效果稳定。

[0029] 本发明还提供了一种能降低畜禽养殖中复合微生物应用成本的发酵剂,其特点在于,其中各种原料菌均为扩繁代数较低的菌液,例如本发明的发酵剂中,酵母菌采用第一代扩繁母菌菌液,其他三种菌均采用第三代以内的扩繁菌液,且严格控制各种原料菌发酵时间和温度,这样做的目的在于使发酵剂中的细菌具有较稳定的增殖活力,因为微生物在多次扩繁或扩繁时间太长之后,再以其为母菌扩繁得到的生产用菌剂,其活性及性质都不难以保持高效稳定;而本发明提供的是发酵剂中的微生物最多扩繁过两次,用户可以买少量的本发明的发酵剂自行进行发酵扩繁得到大量的可直接使用且效果保证的复合微生物发酵剂,而所用的培养液成本低廉,这样养殖户花在微生物发酵剂上的成本几乎可以忽略不计。

[0030] 本发明的优选实施例中,提供了复合微生物发酵剂中各种原料菌的优选的发酵时间和温度,本发明发明人通过一系列的对比试验,还得出在上述其优选的发酵时间和温

度下的得到各种原料菌液的最优混合比例为酵母菌：枯草芽孢杆菌：纳豆芽孢杆菌：乳酸菌四种菌液按体积比 3 : 3 : 3 : 1, 在这个比例下, 能够最大程度地发挥各种菌之间的协同作用, 使本发明的复合微生物发酵剂的兼顾了解效率, 用于饲料添加剂对动物生产改善最显, 提高动物抵抗力、显著降低发病率, 应用效果稳定等优点。

[0031] 本发明还提供上述复合微生物发酵剂在畜禽养殖发明的应用方法, 简明、经济、与本发明的发酵剂配套使用, 能为广大养殖户在保证养殖产品质量的前提下极大限度地降低养殖成本。

[0032] 本发明还进一步提供了本发明的复合微生物发酵剂在畜禽养殖各方面的应用时的方法, 但本发明的发酵剂的应用不限于这些方法。

具体实施方式

[0033] 本发明采用的微生物菌种及其来源：

[0034] 酿酒酵母原菌 (*Saccharomyces cerevisiae* CICC31011 四川省食品发酵工业研究设计院)。

[0035] 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* CICC10036 第一轻工业部发酵工业科学研究所分离)

[0036] 纳豆芽孢杆菌菌株 (*Bacillus natto* CICC20132 上海市工业微生物研究所 (B167))

[0037] 乳酸球菌 (*Lactococcus lactis* CICC22861 乳品科学教育部重点实验室分离 (4.0610))

[0038] 以上四个菌株, 本实验均有保存, 自申请日起 20 年可向公众发放, 作为研究使用。

[0039] 实施例 1

[0040] (一) 菌种的培养

[0041] 1. 酵母菌培养方法

[0042] 培养液的配制：酵母膏 0.5%，蛋白胨 0.5%，葡萄糖 0.5%，生产罐中, 加温至 90℃, 在 90℃ 以上保持 2 小时。然后冷却至 33℃ 左右。接入 0.01% 酿酒酵母原菌 (*Saccharomyces cerevisiae* CICC 31011 四川省食品发酵工业研究设计院)。

[0043] 培养条件：33℃~34℃ 下, 搅拌培养 12 小时。

[0044] 生产出的酵母菌液放入 4℃ 冷藏待用。

[0045] 2. 枯草芽孢杆菌培养方法

[0046] 2.1 菌种的培养

[0047] 2.1.1 培养液的配制

[0048] 平板固体培养基：牛肉膏 0.5%，酵母膏 0.5%，葡萄糖 0.5%，蛋白胨 1%，NaCl 0.5%，琼脂 2%，加蒸馏水或无离子水稀释, PH7.2。

[0049] 液体培养基：大豆蛋白胨 2%，蔗糖 2%，磷酸氢二钠 0.2%，磷酸二氢钠 0.1%，硫酸锰 0.05%，氯化钠 0.2%，加蒸馏水或无离子水稀释, 放入三角瓶中, 121℃ 高压灭菌 20 分钟。然后自然冷却至 30℃ 左右。

[0050] 2.1.2 菌种的扩大培养

[0051] 平板固体一级扩大培养：在无菌条件下, 取一小块冻干菌种 (*Bacillus subtilis*

CICC 10036 第一轻工业部发酵工业科学研究所分离)用 0.5ml 灭菌蒸馏水或无离子水稀释溶解,然后把其均匀涂布在固体培养基上,放入 31℃~32℃ 恒温箱中至 48 小时以上。在无菌条件下,把一级培养的菌种用灭菌蒸馏水或无离子水冲洗放入无菌容器中待用。

[0052] 液体二级扩大培养:在无菌条件下,把一级培养的菌液按 0.5% 接入液体培养基中,31℃~32℃ 下,180~200rpm 培养 33 小时。

[0053] 2.2 生产用枯草芽孢杆菌液的方法

[0054] 2.2.1 培养液的配制 5% 豆粕,蔗糖 2%,玉米面 0.5%,氯化钠 0.2%,磷酸氢二钠 0.2%,磷酸二氢钠 0.1,硫酸锰 0.05%。用胶体磨把上述物质磨至小于 80 目颗粒,放入生产罐中,加温至 90℃,在 90℃ 以上保持 2 小时,然后冷却至 31℃ 左右。

[0055] 2.2.2 接种量 往生产罐中接入 1% 二级扩大培养菌种液。

[0056] 2.2.3 培养条件 31℃~32℃ 下,搅拌培养 33 小时。

[0057] 生产出的芽孢杆菌液放入 4℃ 冷藏待用。

[0058] 3. 纳豆芽孢杆菌的培养方法

[0059] 纳豆芽孢杆菌菌株 (*Bacillus natto* CICC20132 上海市工业微生物研究所 (B167)) 纳豆芽孢杆菌的培养基:牛肉膏 0.5%,酵母膏 0.5%,葡萄糖 0.5%,蛋白胨 1%,NaCl 0.5%,PH7.2

[0060] 纳豆芽孢杆菌的培养方法同枯草芽孢杆菌的生产程序。

[0061] 4. 乳酸球菌扩大培养方法

[0062] 4.1 菌种的培养

[0063] 4.1.1 培养液的配制

[0064] 平板固体培养基:酪蛋白胨 1%,牛肉提取物 1%,酵母提取物 0.5%,葡萄糖 0.5%,乙酸钠 0.5%,柠檬酸二氢 0.2%,K₂HPO₄ 0.2%,MgSO₄·7H₂O 0.02%,MnSO₄·H₂O 0.05%,琼脂 15% 克,PH6.8。

[0065] 液体培养基:酪蛋白胨 1%,牛肉提取物 1%,酵母提取物 0.5%,葡萄糖 0.5%,乙酸钠 0.5%,柠檬酸二氢 0.2%,K₂HPO₄ 0.2%,MgSO₄·7H₂O 0.02%,MnSO₄·H₂O 0.05%,PH6.8。加蒸馏水或无离子水稀释,放入可密封的瓶中,121℃ 高压灭菌 20 分钟。然后自然冷却至 36℃ 左右。

[0066] 4.1.2 菌种的扩大培养

[0067] 平板固体一级扩大培养在无菌条件下,取一小块冻干菌种 (*Lactococcus lactis* CICC 22861 乳品科学教育部重点实验室分离 (4.0610)) 用 0.5ml 灭菌蒸馏水或无离子水稀释溶解,然后把其均匀涂布在固体培养基上,放入 36℃~37℃ 无氧恒温箱中至 36 小时。在无菌条件下,把一级培养的菌种用灭菌蒸馏水或无离子水冲洗放入无菌容器中待用。

[0068] 液体二级扩大培养在无菌条件下,把一级培养的菌液按 1% 接入液体培养基中,把容器封口,36℃~37℃ 下,厌氧培养 36 小时。

[0069] 4.2 生产用乳酸菌液的方法

[0070] 4.2.1 培养液的配制 胰蛋白胨 1%,酵母提取物 0.5%,葡萄糖 0.5%,乙酸钠 0.5%,柠檬酸二氢 0.2%,K₂HPO₄ 0.2%,MgSO₄·7H₂O 0.02%,MnSO₄·H₂O 0.05%,PH6.8。放入生产罐中,加温至 90℃,在 90℃ 以上保持 2 小时,然后冷却至 36℃ 左右。

[0071] 4.2.2 接种量 往生产罐中接入 1% 二级扩大培养菌种液。

- [0072] 4.2.3 培养条件 36℃~37℃下,静止培养 36 小时
- [0073] 生产出的芽孢杆菌液放入 4℃冷藏待用。
- [0074] 实施例 2 组配复合微生物发酵剂
- [0075] 步骤 1. 把实施例 1 中制得的菌液按如下体积比例混合:
- [0076] 枯草芽孢杆菌:纳豆芽孢杆菌:酵母菌:乳酸菌=3:3:3:1 比例混合,按照万分之一体积质量比加入稳定剂,分装封口,在避光条件下保存。
- [0077] 稳定剂为磷酸二氢钠:磷酸氢二钠按质量比 2:1 混合配制而得。
- [0078] 步骤 2. 产品检测
- [0079] 酵母菌活菌数 $\geq 10^8$
- [0080] 枯草芽孢杆菌活菌数 $\geq 10^7$
- [0081] 纳豆芽孢杆菌活菌数 $\geq 10^7$
- [0082] 乳酸菌活菌数 $\geq 10^7$
- [0083] 实施例 3、复合微生物发酵剂的应用
- [0084] 步骤 1 扩繁
- [0085] 1. 取 10 公斤以上的容器,如水缸、塑料桶、不锈钢桶均可,要清洗干净,不要有任何油腻、化学物质残留。
- [0086] 2. 将 1 公斤红糖倒入 10 公斤水中,搅拌至充分溶解并煮沸,然后自然冷却到 35℃左右,加入实施例 2 制得的复合微生物发酵剂 1 公斤,充分搅拌后,自然培养。
- [0087] 3. 培养过程中,环境温度保持在 30~35℃,每 4~8 小时搅拌一次,48 小时后就成为微生态制剂。
- [0088] 4. 培养好的菌液搅拌后,可用小矿泉水瓶舀出一瓶静置观察,扩繁效果较好的菌液,数小时后会在瓶底出现一薄层白色沉淀物。
- [0089] (二) 注意事项
- [0090] 1. 培养过程中,容器口最好用纸或纱布盖上扎紧,不要一直敞口,以减少其它杂菌污染。
- [0091] 2. 气温低,培养时间要加长,如果环境温度低于 22℃,菌种停止生长。
- [0092] 3. 微生态制剂原液或扩大培养的菌剂在保存和培养过程中要避免阳光照射,因阳光中的紫外线会杀死益生菌。
- [0093] 4. 培养好的菌剂最好在 3~7 天内用完,如暂用不完,应密封低温保存,保存期不要超过 30 天,如出现恶臭不要使用。用户可根据自己的养殖需要来确定培养数量,尽量不要长时间保存。
- [0094] 5. 微生态制剂原液只能扩大培养一次,不可多代次扩繁,以免影响使用效果。
- [0095] (三) 使用方法
- [0096] 扩大培养的菌剂可用于猪、鸡的生态养殖。使用前,要充分摇匀。
- [0097] 在使用益生菌的过程中,饲料和饮水不要添加任何抗生素,如果出现病畜,要单独隔离治疗。若需全群用药,暂时停止使用益生菌,直至停药。
- [0098] 1. 饮水:初次使用,前 10 天饮水加量 1%,10 天后可维持在 0.3~0.5%。
- [0099] 2. 拌料:菌液按 0.5%加入全价料中,拌匀饲喂,当天喂,当天拌。也可用稀释液直接料面喷施。

[0100] 3. 喷雾 :按 0.1% 稀释,作为消毒液进行鸡舍带畜消毒,可起到降尘和净化环境的作用。

[0101] 4. 制作发酵饲料 :按照饲料 :水 :菌液 :红糖 = 100 : 60 : 1 : 1 的比例将所有的原料拌匀,装入密封袋中,置于避光温暖的地方发酵 5-7 天,开袋观物料清爽,无霉变,有酒香味表明发酵成功。按喂料量的 10% 加入到全价料中,拌匀饲喂。发酵饲料开封后尽快用完,冬季不超过两天,夏季不超过 1 天。

[0102] 5. 用于发酵床垫料 : 1 公斤扩繁后的菌液可以制作 5 立方的垫料,不用额外添加玉米面、麦麸或者红糖等辅料。制作方法如下 :采用简单平铺法,先在圈底铺 20 公分的稻壳或玉米芯粉或轧短玉米秸秆,喷洒菌液和水,其上再铺 10 公分的锯末或稻壳或花生壳,喷水和菌液,并做适当搅拌,使水分均匀。以此类推直到铺满圈体,80 公分深,最后一层铺锯末 10 公分,其上喷水和菌液,搅拌使水分分布均匀,其上覆盖麻袋或编织袋。3-7 天后垫料下 30 公分温度升到 35℃ 以上就可以进猪饲养。注 :扩繁菌剂加上喷的水的总重量为垫料重量的 30%~40%。

[0103] 6 以上用法可单独使用,也可以组合使用。

[0104] 长期使用益生菌,可以达到增强免疫力,抑制细菌性疾病的发生,减少死淘,改善养殖环境,降低畜舍恶臭,并通过减少养殖用药,达到提高肉质品质和安全的目的,从而提高养殖效益。

[0105] 实施例 4 应用实例及效果比较

[0106] 1 材料与amp;方法

[0107] 选用棉杆粉、锯末、稻壳为主要原料进行配比,制作发酵床养猪垫料

[0108] 菌剂 :选取市面销售较好的发酵床专用菌剂 2 种,标识为菌剂 1 号 (主要菌种组成为 :乳酸杆菌、芽孢杆菌、酵母菌、光合菌)、菌剂 2 号 (主要成分为 :酵母菌、乳酸菌、光合菌、放线菌、霉菌),与本发明实施例 2 制得的复合微生物发酵剂经实施例 3 的方法扩繁后得到的微生物制剂 (3 号菌剂) 进行对比研究。

[0109] 三种菌剂的使用比例及方法同实施例 3<使用方法>5 所描述的方法。

[0110] 试验动物 :大长、长白二元杂交猪 107 头,平均体重 68 公斤,饲养期 30 天

[0111] 试验设计 :需要 6 个猪栏,菌种的评价试验采用完全随机设计,3 种菌剂 ×2 个重复,共六个圈舍。

[0112] 分组见下表 1 :

[0113]

编号	1#	2#	3#	4#	5#	6#
猪头数	10	10	10	10	10	15
菌剂	1	1	2	2	3	3

[0114] 2 动物饲养与垫料管理要求

[0115] 自由落料食槽,自由采食,按栏计录每日供料量。自动饮水器自由饮水。每头试验猪均要做好耳号标记,单只称重。饲料营养水平一致,免疫程序相同。

[0116] 3 测定指标

[0117] 生产性能指标:日增重、日耗料、料重比

[0118] 发酵垫料床运行状况:

[0119] 温度测定:每周分别测定发酵床表面和深度 10cm、30cm、50cm 的温度,每圈选取 5 个点;同时测定圈舍内外温度、湿度。

[0120] 垫料含水量:与碳氮比的样品同时采集,采用国标法《饲料中水分的测定方法》检测垫料中的水分含量。

[0121] 细菌总数:与碳氮比的样品同时采集,采用血球板计数法测定活菌总数 pH 值

[0122] 4 数据分析

[0123] 采用 spss10.0 统计分析软件,对试验采集的数据进行统计处理。

[0124] 5 研究结果及分析

[0125] 5.1 垫料床生产性能研究测定

[0126] 试验数据显示,不同菌剂制作的垫料床对育肥猪的生产性能影响存在明显差异,研究所选 3 种商品菌剂,其中 3 号菌剂具有较好的生产性能,其日增重和日耗料以及料重比指标均明显优于其它两种菌,见表 2。料重比分别比 1 号和 2 号菌降低 14.2% 和 9.0%。

[0127] 表 2 使用不同发酵剂制作的发酵床对猪生产性能的影响

	初始重	平均日增重	平均日耗料	料重比
[0128] 菌 1	69.6±11.8	0.67±0.24	30.49	4.71
菌 2	60.4±7.65	0.68±0.22	34.65	4.44
菌 3	65.2±9.92	0.70±0.26	35.62	4.04

[0129] 5.2 垫料运行过程中活菌总数的变化规律

[0130] 对养殖过程中各种垫料中活菌总数的变化规律进行了跟踪测定,测定方法是血球板计数。

[0131] 取样方法:在每个栏舍内按照 5 点采样的原则采集样品,直接取 0-15 厘米表层充分混匀后,按照四分法,取 1 份装袋,用于指标的测定。

[0132] 数据分析显,见表 3,垫料中总菌数随着饲养时间的延长呈现逐渐增加的趋势,平均每周每克垫料增加 1.5-2.5 亿活菌。

[0133] 表 3 不同发酵剂制作的垫料中活菌总数随时间变化测定值(亿/克)

[0134]

时间(天)	28	35	42	49	56	63	69	76	83	90
不同菌种										
菌 1	4.00	6.25	8.30	5.40	6.05	9.90	7.20	22.65	12.90	13.75
菌 2	6.55	5.95	5.60	9.75	8.90	7.20	11.00	26.40	13.20	12.05
菌 3	7.35	10.05	12.00	12.4	13.35	17.30	15.20	31.90	26.20	14.45

[0135] 数据显示:不同菌剂制作的垫料活菌总数的变化规律基本一致,但菌数存在差异,菌剂 3 垫料活菌含量明显高于菌剂 2 和 1,菌剂 2 活菌数最低。说明不同菌剂存在差异,菌

剂 3 活性更强,繁殖力抗逆性均明显由于另外两种菌剂。

[0136] 后期活菌总数的巨大波动是因为测定方法不同导致的试验误差,非垫料床实际情况。5.3 垫料养殖过程中垫料床温度的变化规律

[0137] 表 4 不同菌种制作的垫料床各位置各深度垫料温度平均值(°C)

[0138]

时间(天)	0	7	31	38	45	51	58	60	62	64	68	73	80	87	94
菌剂 1	63.0	60.0	52.8	55.1	55.1	54.7	56.7	55.9	54.0	57.5	55.1	54.0	52.4	51.5	50.2
菌剂 2	63.0	55.0	50.9	50.8	47.5	53.4	54.3	52.8	55.6	54.0	52.2	52.1	49.8	47.7	48.1
菌剂 3	55.0	56.5	54.1	55.0	52.2	55.4	55.5	54.7	56.2	57.6	54.3	54.7	51.6	50.9	51.7

[0139] 不同菌剂的垫料床遵循相同变化规律,1# 和 3# 菌剂床温度测定值基本一致,而 2 号菌剂床温明显偏低,全期平均偏低 2.7 度。说明不同菌剂制作垫料床确有差异。垫料床的温度积温反映其中微生物繁殖繁殖的活跃程度,床温较高的发酵床对猪粪便的酵解能力较高,这与垫料中总菌数的测定结果相符。说明本发明菌剂的活跃程度较高,粪便酵解能力较强。

[0140] 5.4 垫料应用过程中 pH 值的变化

[0141] 试验对垫料养殖过程中垫料 pH 值的变化进行了跟踪监测,每周取样,样品中称取 1.0 克,置于 100ml 烧杯中,加 40ml 去离子水。浸渍 30min 后用 Thermo Orion 酸度计测定溶液 pH 值。结果如下:

[0142] 表 5 不同菌剂制作的发酵床 pH 变化

时间(天)	0	63	69	76	83	90
菌剂 1	7.90	8.70	8.82	8.55	8.71	8.60
菌剂 2	7.90	8.26	8.82	8.71	8.97	8.64
菌剂 3	7.90	8.74	8.71	8.55	8.85	8.48

[0144] 垫料的 pH 值反映垫料中的酸碱性,酸性过高过低均不利于垫料中细菌的繁殖和生长,不同的菌种组合可能在垫料中形成较好的共生自稳态,维持较适宜的酸碱性,保证自身的正常生长和繁殖。

[0145] 从表 5 中的数据显示,排除测定或取样误差,60 天左右 3 种菌剂的 pH 没有明显差异,但随着饲养时间的延长,2 号菌剂 pH 明显高于 3 号菌和 1 号菌,反应出 2 号菌的酵解能力不如 3 号菌。

[0146] 5.5 垫料应用过程中水分含量的变化

[0147] 垫料的含水量很大程度上决定着垫料床应用的成功与否,含水量太低,不仅会导致菌剂活性降低,而且大量的粉尘会增加猪罹患呼吸道疾病。而水分过高,又会细菌繁殖受到严重抑制,床面承载能力迅速降低,最终导致垫料床全面溃败。因此确切了解发酵床运行的适宜含水量,对于床面的养护至关重要。

[0148] 表 6 不同菌种的垫料床水分变化(%)

	时间 (天)	0	35	43	63	69	76	83	90
[0149]	菌剂 1	60.00	48.97	50.34	43.17	42.71	40.74	37.53	30.36
	菌剂 2	60.00	44.64	45.17	47.11	43.75	42.47	41.99	47.25
	菌剂 3	61.50	46.05	53.14	42.98	43.75	44.16	39.49	33.00

[0150] 研究发现,垫料床制作初期含水量 60%左右,随着饲养时间的延长,垫料中的水分不断蒸发,含水量逐渐下降,4-5 周以后,含水量基本维持在 40% -50%,猪的粪尿水分与发酵床蒸发水分达到了基本平衡,床面状况较好。

[0151] 不同菌剂对垫料的含水量存在一定的影响,在同样的饲养密度下,2 号菌组有一个圈出现水分升高,说明垫料的承载力明显下降,处于崩溃的边缘,而 1 号菌和 3 号菌水分比较适宜,没有死床的风险。

[0152] 结论

[0153] 通过试验研究表明,采用本发明研制的复合微生物发酵剂,不仅可以显著提高猪的生产性能,而且可以维持发酵床垫料正常的发酵状态,保证粪尿的高效酵解,降低垫料的养护和使用成本。这在生产应用上具有十分重要的意义。