



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105154345 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 16

(21) 申请号 201510584756. X

(22) 申请日 2015. 09. 15

(71) 申请人 江苏锦宇环境工程有限公司

地址 213164 江苏省常州市江苏宜兴市高
 镇高滕西街

(72) 发明人 李锦宇 林大伟 张帆

(51) Int. Cl.

C12N 1/16(2006. 01)

A23K 1/00(2006. 01)

C12R 1/72(2006. 01)

C12R 1/46(2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂
的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,属于动物饲料加工技术领域。本发明以克鲁斯假丝酵母菌、产阮假丝酵母菌和嗜热链球菌为菌种进行活化培养,以葡萄糖等为原料,加入亚硒酸钠,通过菌种发酵将其转化为有机硒,在发酵的过程中附带产生甘油等物质,最后加入玉米粉作为吸附载体,浓缩后即得一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。实例证明,本发明所制得的益生菌不仅与反刍饲料结合率高,无毒无害,而且富含大量的甘油和有机硒,使得反刍动物吸收能力增强。

1. 一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,其特征在于具体制备步骤为:

(1)将保存在4~6℃下的克鲁斯假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在30~40℃下培养24~30h,之后重复转接3~5次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将克鲁斯假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,放入恒温摇床培养箱,在30~35℃下以100~150r/min的转速恒温培养24~30h得到种子液1;

(2)将产阮假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在28~30℃下培养30~36h,之后重复转接3~5次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在28~38℃下恒温培养18~24h得到种子液2;

(3)将嗜热链球菌菌株,接种于固体活化培养基中,在38~42℃下培养36~48h,之后重复转接3~5次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在35~40℃下恒温培养24~30h得到种子液3;

(4)向发酵罐中加入400~500g葡萄糖、300~400g酵母浸膏、60~70g蛋白胨、30~40g硫酸铵和30~40g硫酸氢二钾,再加入20~30L蒸馏水,用磁力搅拌机在100~200r/min的转速搅拌10~15min,之后在100~115℃下高压蒸汽灭菌5~10min,冷却至室温;

(5)向上述冷却后的发酵罐中加入400~500mL含硒量为0.5~0.6mg/mL的亚硒酸钠溶液、100~150mL种子液1、200~300mL种子液2和700~800mL种子液3,再用磁力搅拌机以100~200r/min的转速搅拌15~20min后密封罐口,罐内减压至40~50kPa,在30~40℃下恒温发酵30~36h后得到发酵液;

(6)取300~400mL上述发酵液放入1000mL烧杯中,加入200~300g玉米粉,放置在超声振荡器上振荡均匀,再放入浓缩罐,罐内减压至900~1000Pa,进行浓缩处理,得到的浓缩液即一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。

2. 根据权利要求1所述的一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,其特征在于:所述的固体活化培养基由20~30g葡萄糖、2~4g尿素、4~5g酵母浸膏、20~30g琼脂和900~1000mL蒸馏水组成。

3. 根据权利要求1所述的一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,其特征在于:所述的种子培养基由200~250g葡萄糖、2~5g尿素、4~6g酵母浸膏、20~30g琼脂和1000~1200mL蒸馏水组成。

4. 根据权利要求1所述的一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,其特征在于:所述的克鲁斯假丝酵母株代号是CICC 1722,嗜热链球菌代号为AS 1. 2471,产阮假丝酵母菌株代号为AS 2. 1180。

一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法

技术领域

[0001] 本发明公开了一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,属于动物饲料加工技术领域。

背景技术

[0002] 益生菌是一类对宿主有益的活性微生物,是定植于人体肠道、生殖系统内,能产生确切健康功效从而改善宿主微生态平衡、发挥有益作用的活性有益微生物的总称。人体、动物体内有益的细菌或真菌主要有:酪酸梭菌、乳酸菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、放线菌、酵母菌等。目前世界上研究的功能最强大的产品主要是以上各类微生物组成的复合活性益生菌,其广泛应用于生物工程、工农业、食品安全以及生命健康领域。

[0003] 益生菌在工业、农业、医药、食品、饲料等与人类生活密切相关的重要领域中应用价值很高,在改善动物体内微生态环境、增加免疫力、预防疾病、促进生长以及改善养殖环境等方面产生巨大的经济效应和社会效应。

[0004] 反刍动物直接吸收利用葡萄糖的能力非常有限,且母畜在围产期经历妊娠、分娩、开始泌乳等一系列剧烈的生理变化,极易导致能量代谢障碍。甘油可以作为生糖物质添加到反刍动物的日粮中,能调节血液代谢,提高泌乳性能,增高血糖,降低血液中的BHBA和NEFA的含量,降低尿中的酮体含量,进而调节能量平衡。硒是一种动物所必须的微量元素,其最主要的功能是抗氧化作用。围产期反刍动物体内活性氧的产生大大超过了正常水平,硒能参与机体的抗氧化防御系统。当年广泛使用的补硒方法是在日粮中添加亚硒酸钠,但是却存在结合率比较低,毒性大,污染大,因此以及被限量使用。

发明内容

[0005] 本发明主要解决的技术问题:针对目前反刍动物自身直接吸收利用葡萄糖的能力非常有限,而硒是动物所必须的微量元素,但是目前补硒方法是在日粮中添加亚硒酸钠,导致结合率低,毒性大,污染严重的问题,提供了一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂的制备方法,该方法以克鲁斯假丝酵母菌、产阮假丝酵母菌和嗜热链球菌为菌种进行活化培养,以葡萄糖等为原料,加入亚硒酸钠,通过菌种发酵将其转化为有机硒,在发酵的过程中附带产生甘油等物质,最后加入玉米粉作为吸附载体,浓缩后即得一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。本发明所制得的益生菌不仅与反刍饲料结合率高,无毒无害,而且富含大量的甘油和有机硒,使得反刍动物吸收能力增强。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明所采用的技术方案是:

(1)将保存在4~6℃下的克鲁斯假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在30~40℃下培养24~30h,之后重复转接3~5次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将克鲁斯假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,放入恒温摇床培养箱,在30~35℃下以100~150r/min的转速恒温培养24~30h得到种子液1;

(2)将产阮假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在28~30℃下培养30~36h,之后

重复转接 3 ~ 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 28 ~ 38℃ 下恒温培养 18 ~ 24h 得到种子液 2;

(3)将嗜热链球菌菌株,接种于固体活化培养基中,在 38 ~ 42℃ 下培养 36 ~ 48h,之后重复转接 3 ~ 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 35 ~ 40℃ 下恒温培养 24 ~ 30h 得到种子液 3;

(4)向发酵罐中加入 400 ~ 500g 葡萄糖、300 ~ 400g 酵母浸膏、60 ~ 70g 蛋白胨、30 ~ 40g 硫酸铵和 30 ~ 40g 硫酸氢二钾,再加入 20 ~ 30L 蒸馏水,用磁力搅拌机在 100 ~ 200r/min 的转速搅拌 10 ~ 15min,之后在 100 ~ 115℃ 下高压蒸汽灭菌 5 ~ 10min,冷却至室温;

(5)向上述冷却后的发酵罐中加入 400 ~ 500mL 含硒量为 0.5 ~ 0.6mg/mL 的亚硒酸钠溶液、100 ~ 150mL 种子液 1、200 ~ 300mL 种子液 2 和 700 ~ 800mL 种子液 3,再用磁力搅拌机以 100 ~ 200r/min 的转速搅拌 15 ~ 20min 后密封罐口,罐内减压至 40 ~ 50kPa,在 30 ~ 40℃ 下恒温发酵 30 ~ 36h 后得到发酵液;

(6)取 300 ~ 400mL 上述发酵液放入 1000mL 烧杯中,加入 200 ~ 300g 玉米粉,放置在超声振荡器上振荡均匀,再放入浓缩罐,罐内减压至 900 ~ 1000Pa,进行浓缩处理,得到的浓缩液即一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。

[0007] 所述的固体活化培养基由 20 ~ 30g 葡萄糖、2 ~ 4g 尿素、4 ~ 5g 酵母浸膏、20 ~ 30g 琼脂和 900 ~ 1000mL 蒸馏水组成。

[0008] 所述的种子培养基由 200 ~ 250g 葡萄糖、2 ~ 5g 尿素、4 ~ 6g 酵母浸膏、20 ~ 30g 琼脂和 1000 ~ 1200mL 蒸馏水组成。

[0009] 所述的克鲁斯假丝酵母株代号是 CICC 1722,嗜热链球菌代号为 AS 1. 2471,产阮假丝酵母菌株代号为 AS 2. 1180。

[0010] 本发明的应用方法是:将本发明所制得的反刍动物饲料复合益生菌浓缩液加入水稀释 100 倍,然后在每 100 ~ 300g 反刍动物饲料中添加 5 ~ 15mL 稀释后的益生菌液,搅拌均匀,放入动物食物盆中,10 ~ 20 天,可以明显感觉反刍动物免疫力提高,体重生长迅速,活泼健康。

[0011] 本发明的有益效果是:

(1) 将本发明所制得益生菌添加到反刍动物食用的饲料中,富含甘油和有机硒,使得反刍动物吸收能力增强;

(2) 益生菌与反刍动物饲料结合,导致结合率提高,且无任何毒性,对于环境没有任何污染问题。

具体实施方式

[0012] 首先将保存在 4 ~ 6℃ 下的克鲁斯假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在 30 ~ 40℃ 下培养 24 ~ 30h,之后重复转接 3 ~ 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将克鲁斯假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,放入恒温摇床培养箱,在 30 ~ 35℃ 下以 100 ~ 150r/min 的转速恒温培养 24 ~ 30h 得到种子液 1;然后将产阮假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在 28 ~ 30℃ 下培养 30 ~ 36h,之后重复转接 3 ~ 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 28 ~ 38℃ 下恒温培养 18 ~ 24h 得到种子液 2;随后将嗜热链球菌菌株,接种于固体活化培养基中,在 38 ~ 42℃

下培养 36 ~ 48h, 之后重复转接 3 ~ 5 次, 以便菌株活力得到恢复, 活化完成后, 将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中, 在 35 ~ 40℃ 下恒温培养 24 ~ 30h 得到种子液 3; 之后向发酵罐中加入 400 ~ 500g 葡萄糖、300 ~ 400g 酵母浸膏、60 ~ 70g 蛋白胨、30 ~ 40g 硫酸铵和 30 ~ 40g 硫酸氢二钾, 再加入 20 ~ 30L 蒸馏水, 用磁力搅拌机在 100 ~ 200r/min 的转速搅拌 10 ~ 15min, 之后在 100 ~ 115℃ 下高压蒸汽灭菌 5 ~ 10min, 冷却至室温; 接下来向上述冷却后的发酵罐中加入 400 ~ 500mL 含硒量为 0.5 ~ 0.6mg/mL 的亚硒酸钠溶液、100 ~ 150mL 种子液 1、200 ~ 300mL 种子液 2 和 700 ~ 800mL 种子液 3, 再用磁力搅拌机以 100 ~ 200r/min 的转速搅拌 15 ~ 20min 后密封罐口, 罐内减压至 40 ~ 50kPa, 在 30 ~ 40℃ 下恒温发酵 30 ~ 36h 后得到发酵液;

最后取 300 ~ 400mL 上述发酵液放入 1000mL 烧杯中, 加入 200 ~ 300g 玉米粉, 放置在超声振荡器上振荡均匀, 再放入浓缩罐, 罐内减压至 900 ~ 1000Pa, 进行浓缩处理, 得到的浓缩液即一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。

[0013] 所述的固体活化培养基由 20 ~ 30g 葡萄糖、2 ~ 4g 尿素、4 ~ 5g 酵母浸膏、20 ~ 30g 琼脂和 900 ~ 1000mL 蒸馏水组成。

[0014] 所述的种子培养基由 200 ~ 250g 葡萄糖、2 ~ 5g 尿素、4 ~ 6g 酵母浸膏、20 ~ 30g 琼脂和 1000 ~ 1200mL 蒸馏水组成。

[0015] 所述的克鲁斯假丝酵母株代号是 CICC 1722, 嗜热链球菌代号为 AS 1. 2471, 产阮假丝酵母菌株代号为 AS 2. 1180。

[0016] 实例 1

首先将保存在 4℃ 下的克鲁斯假丝酵母株, 接种于固体活化培养基中, 在 30℃ 下培养 24h, 之后重复转接 3 次, 以便菌株活力得到恢复, 活化完成后, 将克鲁斯假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中, 放入恒温摇床培养箱, 在 30℃ 下以 100r/min 的转速恒温培养 24h 得到种子液 1; 然后将产阮假丝酵母株, 接种于固体活化培养基中, 在 28℃ 下培养 30h, 之后重复转接 3 次, 以便菌株活力得到恢复, 活化完成后, 将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中, 在 28℃ 下恒温培养 18h 得到种子液 2; 随后将嗜热链球菌菌株, 接种于固体活化培养基中, 在 38℃ 下培养 36h, 之后重复转接 3 次, 以便菌株活力得到恢复, 活化完成后, 将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中, 在 35℃ 下恒温培养 24h 得到种子液 3; 之后向发酵罐中加入 400g 葡萄糖、300g 酵母浸膏、60g 蛋白胨、30g 硫酸铵和 30g 硫酸氢二钾, 再加入 20L 蒸馏水, 用磁力搅拌机在 100r/min 的转速搅拌 10min, 之后在 100℃ 下高压蒸汽灭菌 5min, 冷却至室温; 接下来向上述冷却后的发酵罐中加入 400mL 含硒量为 0.5mg/mL 的亚硒酸钠溶液、100mL 种子液 1、200mL 种子液 2 和 700mL 种子液 3, 再用磁力搅拌机以 100r/min 的转速搅拌 15min 后密封罐口, 罐内减压至 40kPa, 在 30℃ 下恒温发酵 30h 后得到发酵液; 最后取 300mL 上述发酵液放入 1000mL 烧杯中, 加入 200g 玉米粉, 放置在超声振荡器上振荡均匀, 再放入浓缩罐, 罐内减压至 900Pa, 进行浓缩处理, 得到的浓缩液即一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。

[0017] 本实例方法独特新颖, 使用时将本发明所制得的反刍动物饲料复合益生菌浓缩液加入水稀释 100 倍, 然后在每 100g 反刍动物饲料中添加 5mL 稀释后的益生菌液, 搅拌均匀, 放入动物食物盆中, 10 天后可以明显感觉反刍动物免疫力提高, 体重生长迅速, 活泼健康。

[0018] 实例 2

首先将保存在 5℃ 下的克鲁斯假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在 35℃ 下培养 26h,之后重复转接 4 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将克鲁斯假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,放入恒温摇床培养箱,在 33℃ 下以 130r/min 的转速恒温培养 26h 得到种子液 1;然后将产阮假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在 29℃ 下培养 33h,之后重复转接 4 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 35℃ 下恒温培养 22h 得到种子液 2;随后将嗜热链球菌菌株,接种于固体活化培养基中,在 40℃ 下培养 42h,之后重复转接 4 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 38℃ 下恒温培养 26h 得到种子液 3;之后向发酵罐中加入 450g 葡萄糖、350g 酵母浸膏、65g 蛋白胨、35g 硫酸铵和 35g 硫酸氢二钾,再加入 25L 蒸馏水,用磁力搅拌机在 150r/min 的转速搅拌 13min,之后在 105℃ 下高压蒸汽灭菌 7min,冷却至室温;接下来向上述冷却后的发酵罐中加入 450mL 含硒量为 0.55mg/mL 的亚硒酸钠溶液、130mL 种子液 1、250mL 种子液 2 和 750mL 种子液 3,再用磁力搅拌机以 150r/min 的转速搅拌 18min 后密封罐口,罐内减压至 45kPa,在 35℃ 下恒温发酵 33h 后得到发酵液;最后取 350mL 上述发酵液放入 1000mL 烧杯中,加入 250g 玉米粉,放置在超声振荡器上振荡均匀,再放入浓缩罐,罐内减压至 950Pa,进行浓缩处理,得到的浓缩液即一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。

[0019] 本实例方法独特新颖,使用时将本发明所制得的反刍动物饲料复合益生菌浓缩液加入水稀释 80 倍,然后在每 200g 反刍动物饲料中添加 10mL 稀释后的益生菌液,搅拌均匀,放入动物食物盆中,15 天后可以明显感觉反刍动物免疫力提高,体重生长迅速,活泼健康。

[0020] 实例 3

首先将保存在 6℃ 下的克鲁斯假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在 40℃ 下培养 30h,之后重复转接 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将克鲁斯假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,放入恒温摇床培养箱,在 35℃ 下以 150r/min 的转速恒温培养 30h 得到种子液 1;然后将产阮假丝酵母株,接种于固体活化培养基中,在 30℃ 下培养 36h,之后重复转接 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 38℃ 下恒温培养 24h 得到种子液 2;随后将嗜热链球菌菌株,接种于固体活化培养基中,在 42℃ 下培养 48h,之后重复转接 5 次,以便菌株活力得到恢复,活化完成后,将产阮假丝酵母菌斜面接种于种子培养基中,在 40℃ 下恒温培养 30h 得到种子液 3;之后向发酵罐中加入 500g 葡萄糖、400g 酵母浸膏、70g 蛋白胨、40g 硫酸铵和 40g 硫酸氢二钾,再加入 30L 蒸馏水,用磁力搅拌机在 200r/min 的转速搅拌 15min,之后在 115℃ 下高压蒸汽灭菌 10min,冷却至室温;接下来向上述冷却后的发酵罐中加入 500mL 含硒量为 0.6mg/mL 的亚硒酸钠溶液、150mL 种子液 1、300mL 种子液 2 和 800mL 种子液 3,再用磁力搅拌机以 200r/min 的转速搅拌 20min 后密封罐口,罐内减压至 50kPa,在 40℃ 下恒温发酵 36h 后得到发酵液;最后取 400mL 上述发酵液放入 1000mL 烧杯中,加入 300g 玉米粉,放置在超声振荡器上振荡均匀,再放入浓缩罐,罐内减压至 1000Pa,进行浓缩处理,得到的浓缩液即一种添加到反刍动物饲料中复合益生菌制剂。

[0021] 本实例方法独特新颖,使用时将本发明所制得的反刍动物饲料复合益生菌浓缩液加入水稀释 60 倍,然后在每 300g 反刍动物饲料中添加 15mL 稀释后的益生菌液,搅拌均匀,放入动物食物盆中,20 天后可以明显感觉反刍动物免疫力提高,体重生长迅速,活泼健康。