



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106173225 A

(43)申请公布日 2016.12.07

(21)申请号 201610530574.9

(22)申请日 2016.07.06

(71)申请人 盐城工学院

地址 224051 江苏省盐城市希望大道中路1号

(72)发明人 仇明 吕富 张明明 乔幅
齐志涛 张琪 王梦茹

(74)专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权
代理有限公司 23211

代理人 耿晓岳

(51)Int.Cl.

A23K 10/30(2016.01)

A23K 10/37(2016.01)

A23K 10/12(2016.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

一种固态发酵植物性蛋白饲料制备蛋白饲料添加剂的方法

(57)摘要

本发明公开了一种固态发酵植物性蛋白饲料制备蛋白饲料添加剂的方法,属于饲料技术领域。本发明采用益生菌剂对复合原料进行固态发酵,发酵工艺简单,投资小,成本低,发酵产品感官品质良好,粗蛋白、可溶性蛋白、氨基酸含量有不同程度提高,含有较高活性的淀粉酶和蛋白酶,并含有一定的活体菌数,达到生产优质醇香饲料效果。发酵后多肽含量达到19%以上,粗蛋白增加了10.02%,粗脂肪、粗灰分分别下降了35.36%和27.29%。

1. 一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,以植物性蛋白饲料为底物,所述固态发酵是以复合益生菌剂作为发酵菌种,所述复合益生菌剂为菌液,按质量比计含有:枯草芽孢杆菌27.8%、丁酸梭菌49.7%、酿酒酵母菌5%、植物乳杆菌17.5%;其中,枯草芽孢杆菌菌液浓度为 1×10^8 cfu/mL,丁酸梭菌菌液浓度为 1.2×10^8 cfu/mL,酿酒酵母菌液浓度为 2.5×10^7 cfu/mL,植物乳杆菌菌液浓度为 9×10^7 cfu/mL;所述植物性蛋白饲料是以菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉等植物性原料复配得到;所述固态发酵是将灭菌后的植物性蛋白饲料的含水量调整为18~21%,按植物性蛋白饲料干重的11.5~13.3%接种复合益生菌剂,搅拌均匀后,装入无菌平底铝箔自封袋,32~34℃条件下发酵63~67小时。

2. 根据权利要求1所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,将菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉分别晒干,粉碎过60目筛后,按豆粕粉35份、棉粕粉20份、菜粕粉10份、小麦粉35的质量比例混合得到植物性蛋白饲料。

3. 根据权利要求1所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,所述固态发酵是将灭菌后的植物性蛋白饲料的含水量调整为18.45%,按植物性蛋白饲料干重的11.75%接种复合益生菌剂,搅拌均匀后,装入无菌平底铝箔自封袋,34℃条件下发酵63小时。

4. 根据权利要求1-3任一所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,发酵产物经40℃温度下烘干12左右小时,控制水份在12-13%,用饲料粉碎机粉碎,过60目筛,制得蛋白饲料添加剂。

5. 根据权利要求1-3任一所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,包括以下步骤:

- (1)对枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌、丁酸梭菌、酿酒酵母菌进行活化、扩大培养;
- (2)对菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉等植物性原料进行粉碎、配料、混合,调质,紫外灭菌;
- (3)采用复合益生菌剂进行固态发酵,制备蛋白饲料添加剂成品。

6. 根据权利要求1所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,所述枯草芽孢杆菌菌液的制备是以营养肉汁培养枯草芽孢杆菌至浓度为 1×10^8 cfu/mL。

7. 根据权利要求1所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,所述丁酸梭菌菌液的制备是以生孢梭菌培养基培养丁酸梭菌至浓度为 1.2×10^8 cfu/mL。

8. 根据权利要求1所述的一种固态发酵制备蛋白饲料添加剂的方法,其特征在于,所述酿酒酵母菌液的制备是以麦芽汁培养酿酒酵母至浓度为 2.5×10^7 cfu/mL;所述植物乳杆菌菌液的制备是以MRS培养基培养植物乳杆菌至浓度为 9×10^7 cfu/mL。

9. 根据权利要求1-8任一所述方法制备得到的蛋白饲料添加剂。

10. 含有权利要求9所述的蛋白饲料添加剂的鱼饲料。

一种固态发酵植物性蛋白饲料制备蛋白饲料添加剂的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种固态发酵植物性蛋白饲料制备蛋白饲料添加剂的方法,属于饲料技术领域。

背景技术

[0002] 目前饲料生产主要是在优化饲料配方的基础上,将饲料添加剂、蛋白质饲料原料和能量饲料原料按一定比例配混而成的不同料型饲料,其本质上是饲料原料的选择及其优化组合,而忽略了饲料原料的处理技术。与此同时,饲料资源缺乏,人畜共粮的矛盾日趋突出,蛋白源不足,以及随着欧盟在饲料中全面禁止使用抗生素,为保证畜牧、水产业的健康发展,世界各地都在研究、开发的新饲料资源和新的饲料加工技术。微生物饲料发酵技术作为新型饲料资源的开发和加工方法,可提供生态健康型饲料。微生物发酵饲料的原料可以是秸秆类、饼粕类、废渣及工农业生产中的下脚料或饲料原料,拓宽了饲料原料的来源。

[0003] 微生物发酵法按基质含水量可分为液态微生物发酵与固态微生物发酵两种,相对前者,后者培养基含水量低,发酵过程中几乎不产生废水,即固态发酵法是微生物在没有或基本没有游离水的固态基质上的发酵方式方法。组合菌种固态发酵法是将多种特定有益微生物接种到复合蛋白饲料中,通过微生物发酵来调制、加工、生产优质植物源性蛋白饲料的方法。这种饲料加工方法是利用微生物在一定条件下的生长、繁殖与新陈代谢,分解复合蛋白饲料中的大分子有机物为易消化吸收的小分子物质,特别是将复合饲料中的蛋白降解为可溶性蛋白和小分子多肽的混合物,起到饲料机械难以达到的深度加工生产饲料的作用;同时,在发酵过程中,微生物还能利用或降解复合蛋白饲料中的抗营养因子,一定程度上消除复合蛋白饲料中植物蛋白的抗原性;积累有用的菌体、酶与中间代谢产物,改善饲料品质,提高动物摄食率,提高现有常规饲料的营养价值及其利用率。

[0004] 目前,微生物发酵常用的菌种主要是乳酸菌、芽孢杆菌、酵母、黑曲霉等,多为单菌种发酵,且大都是液态发酵,发酵工艺设备复杂,投资大,成本高。

发明内容

[0005] 本发明提供一种固态发酵植物性蛋白饲料制备蛋白饲料添加剂的方法。

[0006] 所述固态发酵是以复合益生菌剂作为发酵菌种,所述复合益生菌剂为菌液,按体积比计含有:枯草芽孢杆菌菌液27.8%、丁酸梭菌菌液49.7%、酿酒酵母菌液5%、植物乳杆菌菌液17.5%;其中,枯草芽孢杆菌菌液浓度为 1×10^8 cfu/mL,丁酸梭菌菌液浓度为 1.2×10^8 cfu/mL,酿酒酵母菌液浓度为 2.5×10^7 cfu/mL,植物乳杆菌菌液浓度为 9×10^7 cfu/mL。

[0007] 所述固态发酵是以菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉等植物性原料复配得到的植物性蛋白饲料作为原料。

[0008] 所述固态发酵是将灭菌后的植物性蛋白饲料的含水量调整为18~21%,按植物性蛋白饲料干重的11.5~13.3%接种复合益生菌剂,搅拌均匀后,装入无菌平底铝箔自封袋,

32~34℃条件下发酵63~67小时。

[0009] 在本发明的一种实施方式中,将菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉分别晒干,粉碎过60目筛后,按豆粕粉35份、棉粕粉20份、菜粕粉10份、小麦粉35的质量比例混合得到植物性蛋白饲料。

[0010] 在本发明的一种实施方式中,所述固态发酵是将灭菌后的植物性蛋白饲料的含水量调整为18.45%,按植物性蛋白饲料干重的11.75%接种复合益生菌剂,搅拌均匀后,装入无菌平底铝箔自封袋,34℃条件下发酵63小时。

[0011] 在本发明的一种实施方式中,所述枯草芽孢杆菌菌液的制备是以营养肉汁培养枯草芽孢杆菌至浓度为 1×10^8 cfu/mL。

[0012] 在本发明的一种实施方式中,所述丁酸梭菌菌液的制备是以生孢梭菌培养基培养丁酸梭菌至浓度为 1.2×10^8 cfu/mL。

[0013] 在本发明的一种实施方式中,所述酿酒酵母菌液的制备是以麦芽汁培养酿酒酵母至浓度为 2.5×10^7 cfu/mL。

[0014] 在本发明的一种实施方式中,所述植物乳杆菌菌液的制备是以MRS培养基培养植物乳杆菌至浓度为 9×10^7 cfu/mL。

[0015] 在本发明的一种实施方式中,发酵产物经40℃温度下烘干12左右小时,控制水份在12-13%,用饲料粉碎机粉碎,过60目筛,制得蛋白饲料添加剂。

[0016] 在本发明的一种实施方式中,所述方法包括以下步骤:

[0017] (1)对枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌、丁酸梭菌、酿酒酵母菌进行活化、扩大培养;

[0018] (2)对菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉等植物性原料进行粉碎、配料、混合,调质,紫外灭菌;

[0019] (3)采用复合益生菌剂进行固态发酵,制备蛋白饲料添加剂成品。

[0020] 本发明的优点在于采用益生菌剂对复合原料进行固态发酵,发酵工艺简单,投资小,成本低,发酵产品感观品质良好,粗蛋白、可溶性蛋白、氨基酸含量有不同程度提高,含有较高活性的淀粉酶和蛋白酶,并含有一定的活体菌数,达到生产优质酵香饲料效果。发酵后多肽含量达到19%以上,粗蛋白增加了10.02%,粗脂肪、粗灰分分别下降了35.36%和27.29%。

附图说明

[0021] 图1四种菌种生长曲线

具体实施方式

[0022] 枯草芽孢杆菌(发酵生产中性蛋白酶),购自中国工业微生物菌种保藏管理中心,菌株保藏编号为CICC21095;植物乳杆菌,购自中国工业微生物菌种保藏管理中心,菌株保藏编号为CICC21794;酿酒酵母,购自中国工业微生物菌种保藏管理中心,菌株保藏编号为CICC1023;丁酸梭菌,购于广东微生物菌种保藏中心,菌株保藏编号为GIM1.676。

[0023] 采用微量凯氏定氮法(GB50095-2010)测定粗蛋白含量。

[0024] 参照国标方法(QB/T 2653-2004)测定多肽含量。准确称取发酵后样品2.000g,加入8mL的0.2mol/L的Tris-HCl缓冲液(pH8.0),4000r/min离心15min,取上清液,凯氏定氮法

测定发酵产物中酸溶性蛋白质的含量;三氯乙酸沉淀蛋白后用茚三酮显色法测定发酵产物中游离氨基酸的含量。

[0025] 多肽/% = 酸溶性蛋白质/% - 游离氨基酸/%。

[0026] 蛋白降解率 = 多肽含量/粗蛋白含量/%

[0027] 实施例1菌种的活化培养

[0028] (一)活化、种子液培养基

[0029] 将各菌种接种于各自的斜面培养上,用于菌种复苏活化,并将活化后的斜面培养物挑取一环,无菌条件下接种到各自的种子液体培养基中,用于固态发酵复合蛋白饲料。

[0030] 1. 枯草芽孢杆菌培养基

[0031] 枯草芽孢杆菌的培养基名称为营养肉汁琼脂,种子液体培养基不加琼脂。

[0032] 培养基成分:营养培养基,蛋白胨5.0g,牛肉浸取物3.0g,NaCl 5.0g,MnSO₄·H₂O 5mg,蒸馏水1L,pH7.0,琼脂15.0g。

[0033] 2. 植物乳杆菌培养基

[0034] 植物乳杆菌的培养基名称是MRS培养基,种子液体培养基不加琼脂。

[0035] 培养基成分:酪胨10.0g,牛肉膏10.0g,酵母粉4.0g,葡萄糖5.0g,硫酸镁0.02g,乙酸钠5.0g,柠檬酸二铵2.0g,磷酸氢二钾2.0g,硫酸锰0.05g,CaCO₃2.0g,吐温801.0g,蒸馏水1L,pH6.8。

[0036] 3. 丁酸梭菌培养基

[0037] 丁酸梭菌的培养基名称为生孢梭菌培养基,种子液体培养基不加琼脂。

[0038] 培养基成分:胰蛋白胨10g,牛肉膏10g,葡萄糖5g,NaCl 5.0g,酵母膏3g,乙酸钠3g,可溶性淀粉1.0g,L-半胱氨酸盐酸盐0.5g,MgSO₄·H₂O 1.0g,(NH₄)₂SO₄2.0g,CaCO₃2.0g,FeSO₄·7H₂O 0.001g,MnCl₂·7H₂O 0.001g,琼脂20.0g,蒸馏水1000ml,pH6.8。

[0039] 4. 酿酒酵母培养基

[0040] 酿酒酵母的培养基名称是麦芽汁琼脂培养基,种子液体培养基不加琼脂。

[0041] 培养基成分:5°Be麦芽汁1.0L,琼脂15.0g,自然pH。

[0042] (二)菌种活化、种子液制备

[0043] 1. 菌种活化及生长规律曲线绘制

[0044] 按照菌种冻干管说明书,在无菌环境下打开安培瓶,取出部分菌粉,用50uL无菌水溶解后,无菌操作接种到相应的斜面培养基上,37℃恒温培养24小时,活化菌种。用接种环挑取一环斜面培养物,转接到相应的30mL液体培养基上(150mL的三角瓶),在温度37℃,转速为120rpm,回旋气浴振荡器中恒温培养。采用比浊法,以各自培养基为对照,每隔2小时观测培养液的吸光度OD值,连续观测36小时左右,绘制各菌种生长量与时间关系的生长曲线(见图1),掌握各菌种生长规律,便于菌种扩大培养,制备种子液制备。

[0045] 从图1中可以看出,4种菌在36小时的培养时间内都经历了典型的微生物生长曲线4个时期中前3个时期,即迟缓期、对数期和稳定期;枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌分别在培养到大约14和28小时后进入衰亡期,而酿酒酵母和丁酸梭菌经历对数生长期后,分别在14和20小时进入稳定期的缓慢生长阶段,在监测的36小时内并没有明显衰亡迹象。酿酒酵母和丁酸梭菌生长的特性有利于较长时间的固态发酵。微生物在对数期具有生长速率最快、代谢旺盛、酶系活跃、活细菌数和总细菌数大致接近、细胞的化学组成等形态和理化性质基本

一致的特点。从图中1可以看出,4种菌进入快速生长期的吸光度OD值约为0.2左右,吸光度约为1.4-1.6时快速生长期结束,但进入对数期所需培养时间不同,且维持快速生长期的时间长短不一。比浊法中,通过测定培养液吸光度OD值来判断培养中微生物的菌体数量,用以调节固态发酵中接菌量。

[0046] 后续实施例中选取培养的吸光度OD值为0.8时培养的4种菌液用于固态发酵。用平板计数法测得培养液中活菌数量,枯草芽孢杆菌为 1×10^8 cfu/mL,丁酸梭菌为 1.2×10^8 cfu/mL,酿酒酵母为 2.5×10^7 cfu/mL,植物乳杆菌为 9×10^7 cfu/mL。4菌种的菌液百分比总和为100%。

[0047] 2.各菌种的种子液制备

[0048] 将活化好的菌种,用接种环挑取一环斜面培养物,转接到相应的100mL液体培养基上,在温度37℃,转速为120rpm,回旋气浴振荡器中恒温培养,参照各菌种培养时间与吸光度OD值之间的关系的生长量规律(图1),收集各菌种的吸光度OD值为0.8的处于活跃生长期菌液,冷藏备用。

[0049] 实施例2复合蛋白饲料添加剂原料配料、混合、灭菌

[0050] 复合饲料蛋白由菜粕、豆粕、棉粕、小麦粉原料构成。其中菜粕、豆粕、棉粕购于盐城天邦饲料科技有限公司,菜粕中粗蛋白含量为37%,豆粕中粗蛋白含量为46%,棉粕中粗蛋白含量为46%,小麦粉购于某农贸市场,测得粗蛋白含量为12%。将饲料原料晒干,粉碎过60目筛。按豆粕粉35份、棉粕粉20份、菜粕粉10份、小麦粉35比例混合,置于单人双面净化工作台(SW-CJ-1F型,紫外灯管功率15w,灯管距离台面30cm)紫外灭菌30分钟,做为益生菌剂固态发酵的底物,用来发酵制备复合蛋白饲料添加剂。

[0051] 实施例3 4种单菌分别对复合饲料蛋白进行固态发酵

[0052] 试验组在无菌条件下,称取灭菌后的上述复合原料20克,分别按复合原料干重的10%接种制备好的4种单菌种菌液,用灭菌自来水来调节饲料含水量到18%,每组重复3次,共12组。对照组为不接任何菌组,其它操作方法同试验组。在无菌三角瓶中搅拌均匀后,装入无菌平底铝箔自封袋(大小为13cm×18cm×22丝)中,pH值为自来水本来的酸碱度,37℃恒温发酵48小时,取样测定,以发酵复合饲料蛋白产物中粗蛋白、多肽含量为指标,衡量4种菌种对发酵复合饲料蛋白添加剂品质的影响。

[0053] 测定结果列于表1中。

[0054] 表1.4种菌对发酵底物中粗蛋白、多肽含量的影响(干物质) $\bar{x} \pm S.E., n=3$

[0055]

接菌量	粗蛋白含量(%)	多肽含量(%)	蛋白降解率
对照	39.21±1.71 ^b	1.81±0.35 ^c	4.62
酿酒酵母	43.04±1.45 ^a	9.27±0.86 ^b	21.54
丁酸梭菌	44.01±0.58 ^a	11.36±0.59 ^a	25.81
植物乳杆菌	42.54±1.17 ^{ab}	10.62±0.76 ^{ab}	24.96
枯草芽孢杆菌	43.76±1.08 ^a	11.43±0.47 ^a	26.12

[0056] 由表1可知,在粗蛋白方面,与对照相比,经丁酸梭菌发酵后粗蛋白含量提高幅度最大,显著($P < 0.05$)提高了12.24%,植物乳杆菌提高幅度最小,只提高了8.49%,差异不

显著($P>0.05$)。这4种菌在有氧或无氧的发酵过程中,一方面,微生物主要消耗了复合饲料中部分糖类或脂类物质,维持自身的生长代谢;另一方面,在植物性的原料中,糖类物质丰富,微生物在物质代谢过程中,可以利用糖代谢过程中的酮酸碳骨架及代谢过程中产生的氨,把糖类物质转换成氨基酸、蛋白类的物质。发酵产物中粗蛋白含量提高的原因可能是这两方面原因导致的。在多肽含量方面,4种菌发酵后,多肽含量显著提高了4.12-5.31倍($P<0.05$),说明这4种菌在生长代谢过程中利用自身的酶来降解复合饲料中蛋白质,从而提高发酵产物中多肽含量。从表1中,可以看出,枯草芽孢杆菌和丁酸梭菌多肽含量分别提高了5.31和5.28倍,两者没有明显差异($P>0.05$),在发酵过程中可降解25%以上的蛋白,从而提高了饲料多肽的含量,提高了饲料的品质。

[0057] 实施例4 4菌种混合比例对发酵结果的影响

[0058] 考察4菌种混合起来作为发酵用菌种时,枯草芽孢杆菌、丁酸梭菌、酿酒酵母和植物乳杆菌4种菌的混合比例对多肽含量的影响。按复合蛋白饲料干重的10%接种复合益生菌菌液,用灭菌自来水来调节饲料含水量为18%,在无菌三角瓶中搅拌均匀后,装入无菌平底铝箔自封袋(13cm×18cm×22丝)中,在自来水天然pH值条件下,37℃恒温发酵48小时后,测定各菌种组合发酵后的多肽含量(结果见表2)。

[0059] 表2混菌中的各菌液体积百分比及固态发酵后多肽含量(%)

A 枯草芽孢杆菌 (%)	B 丁酸梭菌 (%)	C 酿酒酵母 (%)	D 植物乳杆菌 (%)	多肽含量
30.00	50.00	10.00	10.00	16.30
27.89	48.61	5.00	18.50	15.95
30.00	50.00	6.90	13.10	16.43
30.00	40.00	10.00	20.00	10.02
30.00	50.00	6.90	13.10	16.46
30.00	40.00	10.00	20.00	10.40
30.00	43.25	6.75	20.00	12.57
20.00	50.00	10.00	20.00	15.56
27.89	48.61	5.00	18.50	16.10
28.01	48.73	7.45	15.81	15.85
29.74	46.04	6.75	17.47	13.95
30.00	50.00	10.00	10.00	16.78
25.43	45.10	9.47	20.00	13.40
25.86	47.27	6.87	20.00	14.87
28.77	48.09	10.00	13.14	15.55
20.00	50.00	10.00	20.00	15.65
30.00	45.22	9.49	15.28	13.34
25.30	50.00	9.46	15.25	15.93
26.76	46.47	10.00	16.77	14.15
22.97	50.00	7.03	20.00	15.74

[0061] 表2中列出了按枯草芽孢杆菌、丁酸梭菌、酿酒酵母菌和植物乳杆菌不同混和体积比例固态发酵多肽含量的结果。

[0062] 进一步调整菌种混合菌液中各菌液体积比例为:枯草芽孢杆菌为27.8%、丁酸梭

菌为49.7%、酿酒酵母菌为5%、植物乳杆菌17.5%，在这种比例下复合益生菌固态发酵后多肽含量最高为16.916%。

[0063] 实施例5 固态发酵条件对发酵结果的影响

[0064] 当温度范围为25-45℃，饲料底物水分含量为16-22%，接菌量为6-16%（按饲料干重），发酵时间为40-80小时，复合饲料蛋白固态发酵后多肽含量的结果见表3。

[0065] 表3复合益生菌发酵条件与固态发酵后多肽含量(%)

[0066]

试验号	温度(℃)	水分(%)	接菌量(%)	发酵时间(h)	多肽含量(%)
1	35	19	11	100	16.86
2	45	22	16	40	12.99
3	35	19	11	20	15.06
4	45	16	16	80	13.45
5	35	25	11	60	17.14
6	45	22	6	40	12.29
7	25	16	16	40	13.81
8	25	16	6	40	13.43
9	35	19	11	60	19.21
10	35	19	11	60	19.20
11	25	22	6	80	15.87
12	35	13	11	60	15.49
13	25	22	6	40	14.82
14	35	19	11	60	19.18
15	35	19	11	60	19.18
16	45	22	6	80	13.21
17	45	16	16	40	12.65
18	45	22	16	80	13.75
19	15	19	11	60	10.18
20	35	19	1	60	14.44
21	25	16	6	80	14.59
22	45	16	6	80	12.95
23	35	19	11	60	19.20
24	25	22	16	80	15.99
25	35	19	21	60	15.31
26	45	16	6	40	11.92
27	35	19	11	60	19.19
28	25	22	16	40	15.24
29	55	19	11	60	6.37
30	25	16	16	80	14.68

[0067] 进一步选择6种方案进行试验，每种方案3次平行试验，结果取平均值，发酵后多肽含量结果列于表中(表4)。由表4可知，试验组5发酵后的多肽含量显著高于其它组。由此推断，复合益生菌最佳发酵条件为设置温度为34℃，水分为18.45%，接菌总量为11.75%（按饲料干重），发酵时间为63小时。

[0068] 表4复合益生菌不同固态发酵条件对多肽含量影响

试验组	发酵条件				发酵后多肽含量 (%)	
	温度 (°C)	水分 (%)	接菌量 (%)	发酵时间 (h)		
[0069]	1	32.4	19.44	12.36	67.05	19.30±0.08 ^b
	2	32.1	18.72	11.90	62.89	19.28±0.06 ^b
	3	33.8	20.75	13.05	64.36	19.27±0.15 ^{bc}
	4	33.0	19.99	9.85	59.08	19.24±0.21 ^{bc}
	5	34.0	18.45	11.75	63.00	19.51±0.03 ^a
	6	33.0	20.83	13.24	65.75	19.18±0.12 ^c

[0070] 实施例6 复合蛋白饲料添加剂的制备

[0071] 将实施例5复合益生菌最佳发酵条件下得到的发酵产物经40℃温度下烘干12小时左右,控制水份在12-13%,用饲料粉碎机粉碎,过60目筛,制得复合蛋白饲料添加剂成品。

[0072] 1.复合益生菌固态发酵对复合蛋白饲料添加剂品质的影响

[0073] (1)固态发酵

[0074] 取无菌的复合原料分为2份做为试验组,按饲料干重的0%、11.75%的两种接菌量,在无菌条件下接入复合益生菌,用灭菌自来水来调节饲料含水量为18.45%,每组重复3次。

[0075] 在无菌物三角瓶中搅拌均匀后,装入大小为13cm×18cm×22丝的无菌平底铝箔自封袋中。自来水自然pH值,34℃恒温发酵63小时,取样测定各项指标。

[0076] (2)取样测定各项指标结果

[0077] 复合益生菌固态发酵对复合蛋白的常规营养成分影响结果见表5。经过益生菌剂固态发酵,复合原料中成分发生了不同程度的变化。期中,粗蛋白增加了10.02%,粗脂肪、粗灰分分别下降了35.36%和27.29%。

[0078] 表5益生菌剂发酵对复合原料常规组成成分的影响(干物质)

	接菌量	粗蛋白 (%)	粗脂肪 (%)	粗灰分 (%)	钙 (%)	磷 (%)
[0079]	0	39.32	5.43	7.33	0.72	1.04
	11.75%	43.26	3.51	5.33	0.73	0.96

[0080] 益生菌剂固态发酵对复合蛋白饲料中的含酶活性影响的结果见表6。由表6可知,复合蛋白饲料中淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶都显著高于不加益生菌剂的对照组,说明在发酵过程中,益生菌剂分泌并积累大量酶,有利于原料中大分子物质的降解,改善饲料品质,提高饲料的营养价值。

[0081] 表6益生菌剂发酵对复合蛋白饲料含酶活性的影响(干物质)

	接菌量	淀粉酶(U/g)	蛋白酶(U/g)	脂肪酶(U/g)
[0082]	0	38.27	0.09	0.61
	11.75%	442.07	295.02	14.41

[0083] 复合益生菌固态发酵对复合蛋白饲料pH值、活菌数、干物质回收率影响的结果见表7。从表7中看出,在发酵过程中益生菌剂消耗饲料中小部分营养成分来维持生长、繁殖,干物质回收率降低。从表7还可以看出,益生菌剂固态发酵pH值降低,改变了饲料的风味,同

时,积累了大量的菌体,促进动物采食,有效抑制有害微生物的生长,利于饲料的保存。

[0084] 表7益生菌剂发酵对饲料pH值、活菌数、干物质回收率的影响

	接菌量	pH 值	活菌数($\times 10^8$ cfu/g)	干物质回收率(%)
[0085]	0	6.37	0	99.93
	11.75%	4.84	25.24	98.19

[0086] 益生菌剂固态发酵对复合蛋白饲料感观品质影响的结果见表8。由表8可知,固态发酵改变了饲料的色泽,从原有的淡黄色到茶褐色,改变了气味和饲料组织状态。改善了饲料的感观品质。

[0087] 表8益生菌剂接种量对发酵饲料感观品质的影响

	接菌量	色泽	气味	组织状态、质地
[0088]	0	黄色	饲料本味	松软、颗粒清晰
	11.75%	淡褐色	醇香味	松软、颗粒不清晰

[0089] 虽然本发明已以较佳实施例公开如上,但其并非用以限定本发明,任何熟悉此技术的人,在不脱离本发明的精神和范围内,都可做各种的改动与修饰,因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

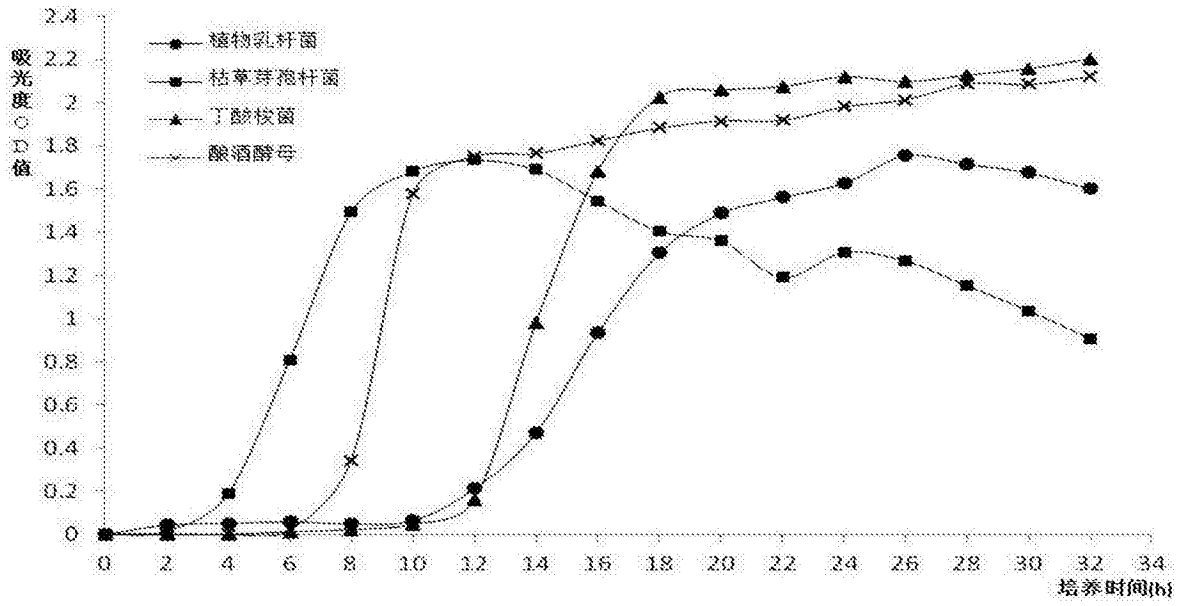


图1