



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116254194 B

(45) 授权公告日 2023. 11. 21

(21) 申请号 202211650547.7 *C12P 1/04* (2006.01)
(22) 申请日 2022.12.21 *C12P 39/00* (2006.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号 *A23K 10/12* (2016.01)
申请公布号 CN 116254194 A *A23K 10/30* (2016.01)
(43) 申请公布日 2023.06.13 *A23K 10/37* (2016.01)
(83) 生物保藏信息 *A23K 10/38* (2016.01)
CGMCC No.18912 2019.11.07 *A23K 20/158* (2016.01)
CGMCC No.18914 2019.11.07 *A23K 10/26* (2016.01)
CGMCC No.18915 2019.11.07 *A23K 20/105* (2016.01)
(73) 专利权人 天津博菲德科技有限公司 *A23K 20/26* (2016.01)
地址 301906 天津市蓟州区上仓工业园仓 *C12R 1/125* (2006.01)
兴街16号 *C12R 1/25* (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
(72) 发明人 邓雪娟 徐田田 王腾飞 王春雨
彭翔 蔡辉益
(74) 专利代理机构 北京蕙识同联专利代理事务
所(特殊普通合伙) 11966
专利代理师 刘晔
(51) Int. Cl.
C12N 1/20 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 111466481 A, 2020.07.31
CN 114468124 A, 2022.05.13
CN 115176922 A, 2022.10.14
CN 105146202 A, 2015.12.16

审查员 邵文博

权利要求书1页 说明书13页

(54) 发明名称

复合微生物发酵南瓜的生产方法及其应用

(57) 摘要

本申请提供一种枯草芽孢杆菌及其应用,具体是将南瓜与复合微生物菌株相结合,利用复合微生物菌株的发酵作用改善南瓜的理化性质,增加其营养保健价值,填补国内外发酵型南瓜饲料的空白,为开发南瓜产品和提高其产品附加值提供数据支持。将发酵南瓜的生产方法制备的发酵饲料作为日粮伴侣饲喂蛋鸡,以显著改善蛋鸡生产性能和蛋鸡蛋品质,提高蛋黄的颜色、光泽及蛋黄富集叶黄素,增强蛋鸡抗氧化能力,起到强化鸡蛋营养的作用。

1. 一种复合微生物发酵南瓜的生产方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤1制备发酵底物,所述发酵底物的原料由以下质量百分比组份组成:南瓜20-30%,玉米25-45%,豆粕10-20%,DDGS15-25%,豆油0.8-1.5%,贝壳粉4-8%,胆碱0.2%,磷酸氢钙0.8-1.2%,食盐0.2-0.5%,粉碎待用;

步骤2制备复合微生物菌液,混合均匀备用,其中复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,其菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌=2:4:4;

步骤3接种发酵,按发酵底物的0.5-1%(w/w)的量加入复合微生物菌液,混合均匀;发酵温度为25-31℃,水分含量28-40%,发酵时间为4-6天,得到复合微生物发酵南瓜饲料;

所述枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)BFC190103,保藏编号为CGMCC No.18912,所述植物乳杆菌(*Lactobacillus Plantarum*)BFC190204,保藏编号为CGMCC No.18915;所述屎肠球菌(*Enterococcus Faecium*)BFC190203,保藏编号为CGMCC No.18914。

2. 如权利要求1的生产方法,其特征在于,所述南瓜包括南瓜皮,南瓜蒂,南瓜瓢,南瓜籽中的一种或多种。

3. 一种由权利要求1-2之一所述的生产方法生产的蛋鸡饲料。

4. 如权利要求3的蛋鸡饲料的使用方法,其特征在于:按普通配合饲料总质量的5-25%替换为权利要求3的蛋鸡饲料,直接进行投喂。

5. 如权利要求4的使用方法,其特征在于,还包括将叶黄素与步骤3制备的发酵南瓜饲料在避光、室温下进行混合后使用,所述叶黄素的含量为40mg/kg或60mg/kg或80mg/kg或100mg/kg。

复合微生物发酵南瓜的生产方法及其应用

技术领域

[0001] 本申请属于生物技术领域,具体是复合微生物发酵南瓜的生产方法及其应用。

背景技术

[0002] 随着经济发展和人民生活水平的提高,我国畜禽养殖行业迅猛发展,国内饲料产业对玉米、豆粕的需求急剧飙升,价格大幅度上涨,导致企业成本大幅提高,但畜产品的价格却处于下行或者低迷状态。因此充分挖掘利用现有的饲料资源,降低饲料中玉米、豆粕占比已经成为保障原料有效供给和粮食安全的关键。

[0003] 南瓜是一种葫芦科蔓性植物,在我国广泛种植,是我国重要的“菜粮兼用”经济作物,根据袁晶等(2021)报道南瓜内部果肉金黄色,营养物质丰富,富含 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和叶黄素,同时也富含B族维生素(叶酸、核黄素、烟酸、硫胺素和泛酸)和维生素E(α -生育酚)、多糖、果胶等其他营养物质。但是由于传统加工方式落后,产品附加值较低,制约了南瓜产品的发展。目前发酵饲料因富含活的有益微生物和生物活性代谢产物在缓解饲料资源紧张、人畜争粮、畜产品生产成本低等问题发挥了巨大潜力。将南瓜与复合微生物菌株相结合,利用复合微生物菌株的发酵作用改善南瓜的理化性质,增加其营养保健价值,填补国内外发酵型南瓜饲料的空白,为开发南瓜产品和提高其产品附加值提供数据支持。

[0004] 随着社会水平提高,消费者对于食品要求也越来越高,不仅要吃得好,还要吃的健康。叶黄素是一种类胡萝卜素,具有增强机体免疫功能、提高机体抗氧化能力、减少癌症的发生和发展、降低心血管疾病发病率、保护视觉等生物功能。但是人体与动物体内不能合成叶黄素,只能从食物或饲料中获得。高值化后的发酵南瓜饲料复合叶黄素饲喂蛋鸡后生产的功能性鸡蛋不仅具有普通土鸡蛋所具备的营养价值,还具有抗氧化、抗衰老、提高免疫力、保护眼睛、促进眼睛和大脑发育、预防心脑血管疾病及缓解眼部疲劳等诸多功能。

发明内容

[0005] 本申请旨在提供一种枯草芽孢杆菌及其联合发酵南瓜的生产方法,作为日粮伴侣饲喂蛋鸡,以显著改善蛋鸡生产性能和蛋鸡蛋品质,提高蛋黄的颜色、光泽及蛋黄富集叶黄素,增强蛋鸡抗氧化能力,起到强化鸡蛋营养的作用。

[0006] 为达到以上技术目的,本申请提供了以下技术方案:

[0007] 本申请提供一种枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)BFC190103,保藏编号为CGMCCNo.18912,以及所述枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)BFC190103在抑制大肠埃希氏菌以及产气荚膜梭菌中的应用。

[0008] 本申请还提供一种枯草芽孢杆菌的复合微生物发酵南瓜的生产方法,包括以下步骤:

[0009] 步骤1制备发酵底物,所述发酵底物包括南瓜,将其粉碎待用;

[0010] 步骤2制备复合微生物菌液,混合均匀,备用,其中,复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,其中菌种份数比为:枯

草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌 = (1-5) : (1-7) : (1-8) ;

[0011] 步骤3接种发酵,按发酵底物的0.5-1%的量加入复合微生物菌液w/w,混合均匀;发酵温度为25-31℃,水分含量28-40%,发酵时间为4-6天,得到复合微生物发酵南瓜。

[0012] 进一步的,所述发酵底物具体包括南瓜20-30%,玉米25-45%,豆粕10-20%,DDGS15-25%,豆油0.8-1.5%,贝壳粉4-8%,胆碱0.2%,磷酸氢钙0.8-1.2%,食盐0.2-0.5%,各组份百分比为100%。

[0013] 进一步的,所述南瓜包括南瓜皮,南瓜蒂,南瓜瓢,南瓜籽中的一种或多种。

[0014] 进一步的,所述步骤2的菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌 = (2-5) : (3-7) : (3-8),优选2:4:4。

[0015] 进一步的,所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus Plantarum*) BFC190204,保藏编号为CGMCC No.18915;所述屎肠球菌 (*Enterococcus Faecium*) BFC190203,保藏编号为CGMCCNo.18914;

[0016] 所述枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) BFC190103的活菌数 $\geq 2.0 \times 10^9$ cfu/g,优选为 $\geq 4.0 \times 10^9$ cfu/g。

[0017] 所述屎肠球菌 (*Enterococcus Faecium*) BFC190203的活菌数 $\geq 1.0 \times 10^9$ cfu/g,优选为 $\geq 2.0 \times 10^9$ cfu/g。

[0018] 所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus Plantarum*) BFC190204的活菌数 $\geq 2.0 \times 10^9$ cfu/g,优选为 $\geq 6.0 \times 10^9$ cfu/g。

[0019] 本申请还提供一种含枯草芽孢杆菌的复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料。

[0020] 进一步的,按普通配合饲料总质量的5-25%替换为上述一种包含所述的枯草芽孢杆菌的复合微生物发酵南瓜的生产方法生产的蛋鸡饲料,直接进行投喂。

[0021] 进一步的,还包括将叶黄素与步骤3制备的发酵饲料在避光、室温下进行混合后使用,所述叶黄素(河北晨光生物科技集团股份有限公司,总叶黄素含量2%)的含量分别为40mg/kg或60mg/kg或80mg/kg或100mg/kg。

[0022] 本申请的有益效果是:

[0023] 1.本申请提供一种枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) BFC190103,以及发现了它的利用价值,尤其是该枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) BFC190103在抑制大肠埃希氏菌以及产气荚膜梭菌中的应用。

[0024] 2.本申请通过筛选,得到一种枯草芽孢杆菌组成的复合微生物菌液,利用复合微生物菌株的发酵作用改善南瓜的理化性质,增加其营养保健价值,填补国内外发酵型南瓜饲料的空白,为开发南瓜产品和提高其产品附加值提供数据支持。

[0025] 3.本申请提供了一种营养强化鸡蛋的生物发酵南瓜蛋鸡饲料产品,能够改善蛋鸡生产性能,提高抗氧化能力、减少炎症因子和凋亡因子的表达,增强免疫性能,加深蛋黄颜色。

[0026] 4.本申请提供的生物发酵南瓜蛋鸡饲料中添加叶黄素可以显著增强机体免疫力,能够改善蛋鸡生产性能,提高抗氧化能力、减少炎症因子和癌症因子的表达,天然的着色作用可改善蛋鸡蛋品质,促进蛋黄富集叶黄素,强化鸡蛋营养,提高产品的营养价值。

[0027] 5.复合微生物发酵南瓜可以通过改善肠道健康,进而增强肠道的消化功能,促进饲料中营养物质的吸收,提高饲料利用效率,减少了饲料中能量的浪费,同时蛋鸡排出的粪

便中有害气体也减少,使蛋鸡在生长期维持健康的生长水平,保持高的生产性能,还改善了养殖环境。

[0028] 6.本申请的发酵工艺可使得发酵南瓜蛋鸡饲料中粗蛋白提高,粗脂肪含量降低,且经过本申请的发酵工艺发酵南瓜蛋鸡饲料,蛋氨酸含量提高了8.15%,组氨酸含量提高了9.24%,丙氨酸含量提高了7.23%;水解氨基酸方面:赖氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸和脯氨酸均有不同程度的升高。

[0029] 7.本申请试验中,随着复合微生物发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平的提高,蛋鸡产蛋率和平均蛋重呈升高趋势,而平均日采食量和料蛋比呈下降趋势。蛋鸡蛋黄颜色、哈夫单位和蛋形指数呈升高趋势。这说明复合微生物发酵南瓜饲料改善了蛋鸡蛋品质。此外,随着发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平的提高,蛋鸡血清中TG、TC和LDL-C呈下降趋势,HDL-C呈升高趋势,卵磷脂呈升高趋势。通过摄食本申请的复合微生物发酵南瓜饲料影响了蛋鸡脂质代谢,促进了胆固醇的逆向转运过程。因此产的蛋所含胆固醇较低,可以用来满足人们的特殊需求。

[0030] 8.本申请试验中,我们进一步研究了在发酵南瓜饲料中叶黄素,结果显示蛋鸡平均蛋重、蛋黄颜色、哈夫单位、蛋形指数呈升高趋势,而料蛋比呈下降趋势。在发酵南瓜饲料中添加不同水平叶黄素可以改善蛋鸡蛋品质。随着发酵南瓜饲料中叶黄素添加量的增加,结果显示蛋鸡血清SOD、GSH-PX呈上升趋势,而MDA含量呈降低趋势。在发酵南瓜饲料中添加不同水平叶黄素可以提高蛋鸡抗氧化能力。

[0031] 9.本申请试验中,我们进一步研究了复合菌的组合及配伍,采用本申请的复合微生物发酵的效果更优,其平均产蛋率和料蛋比的效果要比单一使用一种发酵菌株或任意两种菌株的效果都好,说明本申请的复合菌具有协同效果。

[0032] 保藏说明

[0033] 中文名:枯草芽孢杆菌

[0034] 拉丁名:*Bacillus subtilis*

[0035] 菌株编号:BFC190103

[0036] 保藏机构:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心

[0037] 保藏机构简称:CGMCC

[0038] 地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号

[0039] 保藏日期:2019年11月7日

[0040] 保藏中心登记入册编号:CGMCC No.18912。

[0041] 中文名:屎肠球菌

[0042] 拉丁名:*Enterococcus Faecium*

[0043] 菌株编号:BFC190203

[0044] 保藏机构:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心

[0045] 保藏机构简称:CGMCC

[0046] 地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号

[0047] 保藏日期:2019年11月7日

[0048] 保藏中心登记入册编号:CGMCC No.18914。

[0049] 中文名:植物乳杆菌

- [0050] 拉丁名:Lactobacillus Plantarum
[0051] 菌株编号:BFC190204
[0052] 保藏机构:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心
[0053] 保藏机构简称:CGMCC
[0054] 地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号
[0055] 保藏日期:2019年11月7日
[0056] 保藏中心登记入册编号:CGMCC No.18915。

具体实施方式

- [0057] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的详述。
- [0058] 以下实施例的公开,是便于对本申请的理解,并非对本申请加以限定,本领域的专业技术人员可以根据应用的目的对工艺参数进行适当的优化和调整,特别需要申明的是,在本领域技术人员看来,所有类似的修改和替换都是显而易见的,均视同在本申请包含的范围内,本申请的方法及应用均在实例中进行了描述,相关人员完全可以在不脱离本申请内容、主旨和范围的前提下对所述的方法和应用进行调整或适当的替换,以此来实现本申请的应用。
- [0059] 以下实施例的复合微生物菌液中,复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,所述枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) BFC190103的活菌数为 $\geq 4.0 \times 10^9$ cfu/g。所述屎肠球菌 (*Enterococcus Faecium*) BFC190203的活菌数为 $\geq 2.0 \times 10^9$ cfu/g。所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus Plantarum*) BFC190204的活菌数优选为 $\geq 6.0 \times 10^9$ cfu/g。
- [0060] 实施例1一株枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) BFC190103,保藏编号为CGMCCNo.18912。
- [0061] 试验一枯草芽孢杆菌BFC190103菌种分离、筛选及鉴定
- [0062] 1 材料与方法
- [0063] 1.1 样品来源
- [0064] 天津市蓟县上仓镇土壤及附近农田。
- [0065] 1.2培养基
- [0066] LB培养基:胰蛋白胨1.0%,酵母提取物0.5%,NaCl 1.0%,琼脂1.5%,pH7.0。
- [0067] MRS培养基:蛋白胨10.0g,牛肉粉5.0g,酵母粉4.0g,葡萄糖20.0g,吐温80 1.0mL, $K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 2.0g,醋酸钠 $\cdot 3H_2O$ 5.0g,柠檬酸三铵2.0g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.05g,琼脂粉15.0g,pH 6.2。将上述成分加入到1000mL蒸馏水中,加热溶解,调节pH,分装后121℃高压灭菌15min~20min。
- [0068] 1.3菌株筛选
- [0069] 枯草芽孢杆菌筛选方法:样品稀释至 10^{-7} 后,80℃处理10min,取100uL涂布LB培养基平板上,37℃培养1-2d,观察菌落形态和镜检后,分离纯化。
- [0070] 1.4菌株鉴定
- [0071] 1.4.1形态学、生理生化特征
- [0072] 枯草芽孢杆菌形态学、生理生化特征鉴定:伯杰细菌鉴定手册

[0073] 1.4.2分子生物学鉴定

[0074] 以菌株总DNA为模板,利用细菌的16S rDNA或真菌18S rDNA通用引物进行PCR,产物经琼脂糖凝胶电泳分析,产物送北京天一辉远生物科技有限公司进行DNA测序。进入NCBI主页,应用BLAST程序与数据库中的已有细菌16S rDNA序列或真菌18S rDNA序列进行相似性比较分析。利用ClustalX1.83进行匹配比对,然后用MEGA5.05软件构建系统发育树。

[0075] 1.5枯草芽孢杆菌BFC190103菌种性质评价

[0076] 1.5.1耐温试验

[0077] 将90mL、0.9%生理盐水稀释液分装至250mL试剂瓶,121℃灭菌30min,冷却,称取10gBFC190103于稀释液中,75、80、85℃水浴锅中处理5、7.5、10min,置于冷水中冷却。冷却结束进行梯度稀释,选择2-3个适宜稀释度,取1mL稀释液至培养皿中,及时将营养琼脂(灭菌冷却至45-55℃)培养基倾注于培养皿中,旋转平板至充分摇匀,待琼脂凝固后37℃培养24h,计算存活率。

[0078] $\text{存活率} = \text{处理后活菌数} / \text{未处理活菌数} \times 100\%$

[0079] 表1枯草芽孢杆菌BFC190103对高温的耐受性

项目	温度/℃	存活率/%		
		5min	7.5min	10min
[0080]	75	91.43	84.32	73.21
BFC190103	80	87.65	76.31	60.34
	85	77.78	62.46	52.18

[0081] 由表1可知,随处理温度的升高及处理时间的延长,BFC190103的活菌数量均呈下降趋势。75℃时,存活率最高为91.43%,处理10min,存活率73.21%;85℃时,存活率为77.78%,处理10min,存活率52.18%。

[0082] 1.5.2耐酸碱试验

[0083] 将90mL、0.9%生理盐水稀释液分装至250mL试剂瓶,使用1mol/L的HCl和NaOH溶液将稀释液的pH值调至2、3、4、5、6、7、8、9,空白对照组pH值为6.8。稀释液高压灭菌30min,称取BFC190103 10g至各pH值的试剂瓶,37℃水浴处理2h。处理结束后进行梯度稀释,选择2-3个适宜稀释度,取1mL稀释液至培养皿中,及时将营养琼脂(灭菌冷却至45-55℃)培养基倾注于培养皿中,旋转平板至充分摇匀,待琼脂凝固后37℃培养24h,计算存活率。

[0084] 表2枯草芽孢杆菌BFC190103对pH值的耐受性(%)

项目	pH 值							
	2	3	4	5	6	7	8	9
[0085] BFC190103	84.54	89.24	90.84	93.12	96.21	96.89	94.21	90.02

[0086] 由表2可知,pH值2-7范围,随pH值降低,BFC190103的存活率呈下降趋势。pH值为7-9,随pH值增加,存活率呈下降趋势。

[0087] 1.5.3耐胃液、耐肠液、耐胆盐试验

[0088] 分别取pH值为2.5、3.0、3.5的盐酸溶液100mL于三角瓶中,121℃灭菌20min,冷却至50℃以下,加入1%的胃蛋白酶,混匀。称取BFC190103 10g于不同pH值的90mL胃液中,37℃处理4h,处理结束后进行梯度稀释,选择2-3个适宜稀释度,取1mL稀释液至培养皿中,及时将营养琼脂(灭菌冷却至45-55℃)培养基倾注于培养皿中,旋转平板至充分摇匀,待琼脂凝固,37℃培养24h,计算存活率。

[0089] 取100mL、0.68% KH_2PO_4 溶液,121℃灭菌20min,冷却至30℃,加入1%胰蛋白酶,混匀。称取BFC190103 10g于90mL肠液中,37℃处理4h,处理结束进行梯度稀释,选择2-3个适宜稀释度,取1mL稀释液至培养皿中,及时将营养琼脂(灭菌冷却至45-55℃)培养基倾注于培养皿中,旋转平板至充分摇匀,待琼脂凝固后37℃培养24h,计算存活率。

[0090] 取不同枯草芽孢杆菌10g分别加入至含有0、0.3%胆盐溶液90mL中,混匀,37℃水浴处理4h,处理结束进行梯度稀释,选择2-3个适宜稀释度,取1mL稀释液至培养皿中,及时将营养琼脂(灭菌冷却至45-55℃)培养基倾注于培养皿中,旋转平板至充分摇匀,待琼脂凝固,37℃培养24h,计算存活率。

[0091] 表3枯草芽孢杆菌BFC190103在体外模拟胃肠道环境中的耐受性(%)

项目	胃液 pH 值			肠液	0.3%胆盐
	2.5	3	3.5		
BFC190103	89.35	95.21	95.89	72.13	68.45

[0093] 由表3可知,BFC190103在体外条件下,对胃液、肠液及胆盐的耐受能力各不相同。pH值为2.5、3.0、3.5的胃液条件下处理4h,存活率分别为89.35%、95.21%、95.89%;经肠液处理4h后,存活率为72.13%;在0.3%胆盐条件下处理4h,存活率为68.45%。

[0094] 1.5.4对致病菌的抑制试验

[0095] 取灭菌营养琼脂,温度降至50℃左右时倒平板,每个平皿约15mL。待琼脂凝固,将灭菌后的牛津杯置于营养琼脂平板中,每个平板放置3个牛津杯。分别取大肠埃希氏菌、产气荚膜梭菌0.1mL(10^8 CFU/mL)加至已灭菌100mL的营养琼脂中(冷却至约50℃),摇匀。待琼脂凝固,取出牛津杯,标记为孔1、孔2和孔3。BFC190103使用生理盐水稀释10倍。孔1中加入灭菌生理盐水100 μ L为对照组,将BFC190103发酵液100 μ L加入孔2和孔3中,3个重复,4℃放置1h,置于37℃培养24h。使用游标卡尺量抑菌圈大小,计算相对抑菌率:

[0096] 相对抑制率(%) = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 对照菌落直径 \times 100。

[0097] 表4枯草芽孢杆菌BFC190103对致病菌的抑制作用

项目	抑菌圈直径/mm		相对抑制率/%	
	大肠埃希氏菌	产气荚膜梭菌	大肠埃希氏菌	产气荚膜梭菌
BFC190103	12.35	33.75	78.53	82.41

[0099] 由表4可知,枯草芽孢杆菌BFC190103对大肠埃希氏菌、产气荚膜梭菌的抑菌效果较好。

[0100] 实施例2

[0101] 一种复合菌发酵南瓜的生产方法制备得到的蛋鸡饲料,包括以下步骤:

[0102] 步骤1制备发酵底物,粉碎待用;所述发酵底物具体包括南瓜25%,玉米35%,豆粕16%,DDGS18%,豆油1.2%,贝壳粉3%,胆碱0.2%,磷酸氢钙1.2%,食盐0.4%;

[0103] 步骤2制备复合微生物菌液,混合均匀,备用,其中,复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,其中菌种份数比为:

[0104] 枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌=2:4:4;

[0105] 步骤3接种发酵,按发酵底物的0.5%的量加入复合微生物菌液w/w,混合均匀;发酵温度为28℃,水分含量37%,发酵时间为6天,得到复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料。

[0106] 试验二发酵工艺对发酵南瓜蛋鸡饲料营养成分的影响

[0107] 比较发酵南瓜蛋鸡饲料前后的营养成分的影响,重复3次取平均值。粗蛋白:根据GB/T6432-2018(饲料中粗蛋白的测定凯氏定氮法)规定的方法实施;粗脂肪:根据GB/T6433-2006(饲料中粗脂肪的测定)规定的方法实施;氨基酸:根据GB/T18246-2019(饲料中氨基酸的测定)规定的方法实施。

[0108] 表5发酵工艺对发酵南瓜蛋鸡饲料营养成分的影响

	粗蛋白	粗脂肪	天冬氨酸 ASP%	谷氨酸 GLU%	丝氨酸 SER%	组氨酸 HIS%	甘氨酸 GLY%	苏氨酸 THR%	精氨酸 ARG
发酵前	15.2 38	4.010	1.263	2.798	0.704	0.367	0.623	0.566	0.797
发酵后	16.8 74	3.677	1.386	3.064	0.765	0.401	0.679	0.613	0.902
[0109] 丙氨酸 ALA%	脯氨酸	酪氨酸 TYR%	缬氨酸 VAL%	蛋氨酸 MET%	苯丙氨酸 PHE%	异亮氨酸 ILE%	亮氨酸 LEU%	赖氨酸 LYS%	氨基酸 总和
0.840	0.86 5	0.422	0.694	0.186	0.682	0.611	1.280	0.658	13.355
0.901	0.92 7	0.457	0.754	0.201	0.747	0.661	1.375	0.720	14.553

[0110] 试验结果:

[0111] 发酵工艺对发酵南瓜蛋鸡饲料的营养的影响如表5所示,本申请的发酵工艺可使发酵南瓜蛋鸡饲料中粗蛋白提高,粗脂肪含量降低,其中,粗蛋白含量提高10.74%,粗脂肪含量降低8.3%。

[0112] 发酵前后氨基酸营养水平变化较大,经过本申请的发酵工艺发酵南瓜蛋鸡饲料,表中各种氨基酸均有不同程度升高,蛋氨酸含量提高了8.15%,组氨酸含量提高了9.24%,丙氨酸含量提高了7.23%;水解氨基酸方面:赖氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸和脯氨酸均有不同程度的升高。

[0113] 实施例3

[0114] 一种复合菌发酵南瓜的生产方法,包括以下步骤:

[0115] 步骤1制备发酵底物,粉碎待用;所述发酵底物具体包括南瓜25%,玉米35%,豆粕16%,DDGS18%,豆油1.2%,贝壳粉3%,胆碱0.2%,磷酸氢钙1.2%,食盐0.4%;

[0116] 步骤2制备复合微生物菌液,混合均匀,备用,其中,复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,其中菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌=2:4:4;

[0117] 步骤3接种发酵,按发酵底物的0.5%的量加入复合微生物菌液w/w,混合均匀;发酵温度为28℃,水分含量37%,发酵时间为6天,得到复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料;

[0118] 步骤4按普通配合饲料总质量的0,5,10,15,20,25%替换为步骤3的复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料,直接进行投喂。

[0119] 试验三发酵饲料对蛋鸡产蛋性能的影响

[0120] 2021年4月,将此批复合微生物发酵南瓜蛋鸡饲料在天津蓟县养殖基地进行试验。采用玉米豆粕型日粮为基础饲粮作为对照组,试验组是采用发酵南瓜蛋鸡饲料在玉米豆粕基础日粮基础上分别替代5-25%。用上述获得的饲料按照常规投喂方式饲喂产蛋高峰期海兰灰蛋鸡。预试期30天,正试期120天,玉米豆粕基础日粮组成及营养水平见表6。

[0121] 表6玉米豆粕基础日粮组成及营养水平(%干物质)

[0122]	项目	玉米豆粕型基础日粮
--------	----	-----------

玉米	62.5
豆粕	25.0
豆油	1.0
贝壳粉	9.5
胆碱	0.1
磷酸氢钙	1
食盐	0.4
预混料	0.5

[0123] 所述预混料每千克饲粮提供:VA 8750IU,VD3 2250IU,VE 20IU,VB1 2.5mg,VB2 6.25mg,VB6 3.75mg,D-泛酸11.25mg,叶酸0.3mg,VB1212ug,Cu 5mg,I 0.35mg,Fe 80mg,Se 0.3mg,Mn 55mg,Zn 55mg,氯化胆碱450mg。

[0124] 以重复为单位,每天记录产蛋数、蛋重、耗料量,计算平均日产蛋率、平均日采食量、料蛋比、平均蛋重。

[0125] 平均产蛋率 = (产蛋总数/蛋鸡总数) × 100%

[0126] 平均蛋重 = (产蛋蛋总重/产蛋总数) × 100%

[0127] 平均日采食量 = 总耗料量 / (总蛋鸡数 × 试验天数) × 100%

[0128] 料蛋比 = (耗料总重/产蛋总重) × 100%

[0129] 试验结束,每组随机收集30枚鸡蛋,采用日立Robotmation EMT-5 200多功能蛋品质测试分析仪测定哈夫单位、蛋黄颜色。使用游标卡尺测定并计算蛋形指数。

[0130] 试验结束,每个重复随机抽取3只鸡,颈静脉无菌采血,制备血清。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,测定血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量。

[0131] 每重复随机抽取3枚鸡蛋,分离蛋黄,将新鲜蛋黄用玻璃棒搅匀,取1mL于离心管中-20℃保存备用。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒测定蛋黄中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)的含量。ELISA试剂盒购自上海优选生物科技有限公司。

[0132] 试验结果:

[0133] 表7发酵南瓜饲料对蛋鸡生产性能的影响

项目	发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平 (%)					
	0	5	10	15	20	25
[0134] 平均日采食量/g	120.42	119.86	118.25	115.22	112.12	109.89
产蛋率/%	85.2	85.64	86.46	88.72	90.13	92.96
平均蛋重/g	62.32	63.21	63.64	64.02	67.56	69.81
料蛋比	2.33	2.24	2.18	2.06	1.98	1.85

[0135] 如表7所示,随着复合微生物发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平的增加,蛋鸡产蛋率和平均蛋重呈升高趋势,而平均日采食量和料蛋比呈下降趋势。

[0136] 表8发酵南瓜饲料对蛋鸡蛋品质的影响

项目	发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平 (%)					
	0	5	10	15	20	25
[0137] 蛋黄颜色	6.84	6.88	7.06	7.32	7.76	8.52
哈夫单位	74.02	74.98	78.78	80.98	83.21	85.18
蛋形指数	1.26	1.26	1.27	1.27	1.28	1.30

[0138] 如表8所示,随着发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平的增加,蛋鸡蛋黄颜色、哈夫单位和蛋形指数呈升高趋势。这说明复合微生物发酵南瓜饲料改善了蛋鸡蛋品质。

[0139] 表9发酵南瓜饲料对蛋鸡血清生化指标的影响

项目	发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平 (%)						
	0	5	10	15	20	25	
[0140] 甘油三酯 TG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	5.25	5.04	4.36	4.06	3.96	3.51	
总胆固醇 TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	24.68	22.46	21.25	20.69	19.88	19.2	
低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.54	1.48	1.36	1.21	1.10	1.05	
高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.06	1.10	1.26	1.30	1.48	1.55	

[0141] 如表9所示,随着发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平的增加,蛋鸡血清中TG、TC和LDL-C呈下降趋势,HDL-C呈升高趋势。这说明通过摄食复合微生物发酵南瓜饲料影响了蛋鸡脂质代谢,促进了胆固醇的逆向转运过程。因此产的蛋所含胆固醇较低,可以用来满足人们的特殊需求。

[0142] 表10发酵南瓜饲料对鸡蛋蛋黄生化指标的影响

项目	发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平 (%)					
	0	5	10	15	20	25
[0143] 甘油三酯 TG/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	118.21	117.24	116.54	110.21	108.56	106.46
总胆固醇 TC/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	11.76	10.77	10.65	10.46	10.02	9.89
卵磷脂/%	9.76	9.84	9.18	9.25	9.64	9.98

[0144] 如表10所示,随着发酵南瓜蛋鸡饲料替代水平的增加,蛋鸡蛋黄中TG和TC呈下降趋势,而卵磷脂呈升高趋势。这说明是复合微生物发酵南瓜饲料进入肠道改变了肠道微生物区系,建立了菌群优势,产生乙酸和丙酸等有益代谢产物,从而抑制胆固醇的生成,促进了胆固醇的消化吸收,改善了脂类代谢。

[0145] 实施例3

[0146] 一种复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料的使用方法,包括以下步骤:

[0147] 步骤1制备发酵底物,粉碎待用;所述发酵底物具体包括南瓜25%,玉米35%,豆粕16%,DDGS18%,豆油1.2%,贝壳粉3%,胆碱0.2%,磷酸氢钙1.2%,食盐0.4%;

[0148] 步骤2制备复合微生物菌液,混合均匀,备用,其中,复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,其中菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌=2:4:4;

[0149] 步骤3接种发酵,按发酵底物的0.5%的量加入复合微生物菌液w/w,混合均匀;发酵温度为28℃,水分含量37%,发酵时间为6天,得到复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料;

[0150] 步骤4将叶黄素与上一步制备的发酵饲料在避光、室温下进行混合后使用,所述叶黄素(河北晨光生物科技集团股份有限公司,总叶黄素含量2%)的含量分别为0mg/kg、

40mg/kg、60mg/kg、80mg/kg、100mg/kg。

[0151] 步骤4按普通配合饲料总质量的25%替换为步骤3的复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料,直接进行投喂。

[0152] 试验四发酵南瓜饲料在配合饲料中的添加使用试验

[0153] 2021年11月,将此批复合微生物发酵南瓜蛋鸡饲料在天津蓟县养殖基地进行试验。采用复合微生物发酵南瓜饲料替代25%玉米豆粕型基础日粮作为对照组,试验组是对照组基础上分别添加含量为0mg/kg、40mg/kg、60mg/kg、80mg/kg、100mg/kg。叶黄素(河北晨光生物科技集团股份有限公司,总叶黄素含量2%)。用上述获得的饲料按照常规投喂方式饲喂产蛋高峰期海兰灰蛋鸡。预试期30天,正试期120天。

[0154] 以重复为单位,每天记录产蛋数、蛋重、耗料量,计算料蛋比、平均蛋重。

[0155] 平均蛋重 = (产蛋蛋总重/产蛋总数) × 100%

[0156] 料蛋比 = (耗料总重/产蛋总重) × 100%

[0157] 试验结束,每组随机收集30枚鸡蛋,采用日立Robotmation EMT-5 200多功能蛋品质测试分析仪测定哈夫单位、蛋黄颜色。使用游标卡尺测定并计算蛋形指数。

[0158] 试验结束,每个重复随机抽取3只鸡,颈静脉无菌采血,制备血清。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,测定血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

[0159] 表11发酵南瓜饲料中添加不同水平叶黄素对蛋鸡蛋品质的影响

项目	叶黄素添加水平 (g/t)				
	0	40	60	80	100
平均蛋重	69.92	70.16	71.24	73.02	75.46
[0160] 料蛋比	1.84	1.8	1.78	1.72	1.7
蛋黄颜色	8.52	8.59	8.62	8.74	8.98
哈夫单位	85.16	85.97	86.02	88.47	89.98
蛋形指数	1.3	1.3	1.29	1.3	1.31

[0161] 如表11所示,随着发酵南瓜饲料中叶黄素添加量的增加,结果显示蛋鸡平均蛋重、蛋黄颜色、哈夫单位、蛋形指数呈升高趋势,而料蛋比呈下降趋势。这说明在发酵南瓜饲料中添加不同水平叶黄素可以改善蛋鸡蛋品质。

[0162] 表12发酵南瓜饲料中添加不同水平叶黄素对蛋鸡血清生化指标的影响

项目	叶黄素添加水平 (g/t)				
	0	40	60	80	100
[0163] 超氧化物歧化酶 SOD/U·mL ⁻¹	390.6	418.42	446.42	486.28	525.42
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX/mmol·mL ⁻¹	2.56	3.23	3.64	3.86	3.98
丙二醛 MDA/nmol·mL ⁻¹	6.89	6.46	6.02	5.82	4.68

[0164] 如表12所示,随着发酵南瓜饲料中叶黄素添加量的增加,结果显示蛋鸡血清SOD、GSH-PX呈上升趋势,而MDA含量呈降低趋势。这说明在发酵南瓜饲料中添加不同水平叶黄素可以提高蛋鸡抗氧化能力。

[0165] 实施例4

[0166] 一种复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料的使用方法,包括以下步骤:

[0167] 步骤1制备发酵底物,粉碎待用;所述发酵底物具体包括南瓜25%,玉米35%,豆粕16%,DDGS18%,豆油1.2%,贝壳粉3%,胆碱0.2%,磷酸氢钙1.2%,食盐0.4%;

[0168] 步骤2制备复合微生物菌液,混合均匀,备用,其中,复合微生物菌液为枯草芽孢杆菌BFC190103、屎肠球菌BFC190203、植物乳杆菌BFC190204的混合液,其中菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌=2:4:4;

[0169] 步骤3接种发酵,按发酵底物的0.5%的量加入复合微生物菌液w/w,混合均匀;发酵温度为28℃,水分含量37%,发酵时间为6天,得到复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料;将叶黄素与步骤3复合微生物发酵后的南瓜饲料混合,替代25%玉米豆粕型基础日粮,所述叶黄素(总叶黄素含量2%)的含量为60mg/kg。

[0170] 步骤4按普通配合饲料总质量的25%替换为步骤3的复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料,直接进行投喂。

[0171] 试验五发酵南瓜饲料中添加发酵/不发酵叶黄素对蛋鸡的影响

[0172] 2022年4月,将此批复合微生物发酵南瓜及叶黄素蛋鸡饲料在天津蓟县养殖基地进行试验。对照组是复合微生物发酵南瓜饲料后添加叶黄素替代25%玉米豆粕型基础日粮,试验组是复合微生物发酵南瓜及叶黄素蛋鸡饲料替代25%玉米豆粕型基础日粮。用上述获得的饲料按照常规投喂方式饲喂产蛋高峰期海兰灰蛋鸡。预试期30天,正试期120天。

[0173] 饲料中叶黄素含量采用饲料中叶黄素的测定高效液相色谱法(GB/T 23187-2008)检测。

[0174] 试验结束,每个重复随机抽取3只鸡取其肝脏-80℃冻存。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,测定肝脏中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

[0175] 炎症因子白细胞介素1 β (IL-1 β)和白细胞介素6(IL-6),凋亡因子淋巴瘤-2(Bcl-2)和天冬氨酸半胱氨酸酶-3(Caspase-3)表达量采用Real-time PCR方法检测。

[0176] 表13叶黄素发酵前后含量

项目	叶黄素(mg/kg)
[0177] 对照组	54.5
试验组	43.6

[0178] 如表13所示,对照组是在发酵南瓜蛋鸡饲料发酵之后添加叶黄素,试验组是在南瓜饲料中添加叶黄素后一起发酵,结果显示试验组饲料中叶黄素含量比对照组低很多,这说明叶黄素在发酵过程中会造成不小的消耗,因此叶黄素在发酵后添加比较好。

[0179] 表14发酵南瓜饲料中添加发酵/不发酵叶黄素对蛋鸡肝脏抗氧化、炎症、凋亡因子指标的影响

组别	超氧化物歧化酶 SOD/U \times mL ⁻¹	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX/mmol \times mL ⁻¹	丙二醛 MDA/nmol \times mL ⁻¹	白细胞介素 1 β IL-1 β	白细胞介素 6 IL-6	淋巴瘤-2 Bcl-2	天冬氨酸半胱氨酸酶-3 Caspase-3
[0180] 对照组	423.6	3.31	6.38	0.23	0.1	0.36	0.43
试验组	383.7	2.89	6.64	0.13	0.17	0.47	0.52

[0181] 如表14所示,与对照组相比,试验组蛋鸡SOD和GSH-PX活性降低,丙二醛含量增加,促炎因子IL-1 β 下调,抗炎因子IL-6上调,凋亡因子Bcl-2和Caspase-3表达量增加。这说明叶黄素在南瓜饲料发酵之后添加可以增加蛋鸡的免疫能力和降低凋亡基因的表达。

[0182] 实施例5

[0183] 一种复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料,包括,发酵底物、复合微生物菌液;所述发酵底物的原料质量百分比组份组成:南瓜25%,玉米35%,豆粕16%,DDGS18%,豆油1%,贝壳粉3%,胆碱0.2%,磷酸氢钙1%,食盐0.3%,预混料0.5%;所述预混料每千克饲料提供:VA8750IU,VD₃ 2250IU,VE 20IU,VB₁ 2.5mg,VB₂ 6.25mg,VB₆ 3.75mg,D-泛酸11.25mg,叶酸0.3mg,VB₁₂ 12 μ g,Cu 5mg,I 0.35mg,Fe 80mg,Se 0.3mg,Mn 55mg,Zn 55mg,氯化胆碱450mg;所述复合微生物菌液包括枯草芽孢杆菌、屎肠球菌和植物乳杆菌的组合;其中,菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌菌种份数比为4:6:5,接种量0.8%。

[0184] 实施例6

[0185] 一种复合微生物发酵南瓜的蛋鸡饲料,包括,发酵底物、复合微生物菌液;所述发酵底物的原料质量百分比组份组成:南瓜25%,玉米35%,豆粕16%,DDGS18%,豆油1%,贝壳粉3%,胆碱0.2%,磷酸氢钙1%,食盐0.3%,预混料0.5%;所述预混料每千克饲料提供:VA8750IU,VD₃ 2250IU,VE 20IU,VB₁ 2.5mg,VB₂ 6.25mg,VB₆ 3.75mg,D-泛酸11.25mg,叶酸0.3mg,VB₁₂ 12 μ g,Cu 5mg,I 0.35mg,Fe 80mg,Se 0.3mg,Mn 55mg,Zn 55mg,氯化胆碱450mg;所述复合微生物菌液包括枯草芽孢杆菌、屎肠球菌和植物乳杆菌的组合;其中,菌种份数比为:枯草芽孢杆菌:屎肠球菌:植物乳杆菌菌种份数比为4:6:5,接种量0.8%。

[0186] 此外,还加入每kg发酵饲料混合物中加入60mg的叶黄素(河北晨光生物科技集团股份有限公司,总叶黄素含量2%)。

[0187] 试验六不同发酵参数的筛选对发酵南瓜饲料的影响

[0188] 2021年4月,将此批复合微生物发酵南瓜蛋鸡饲料在天津蓟县养殖基地进行试验。采用玉米豆粕型日粮为基础饲料作为对照组,试验组是采用发酵南瓜蛋鸡饲料在玉米豆粕基础日粮基础上分别替代25%。用上述获得的饲料按照常规投喂方式饲喂产蛋高峰期海兰灰蛋鸡。

[0189] 设置不同发酵试验发酵南瓜饲料底物,因素1:乳杆菌BFC190204:屎肠球菌BFC190203:酿酒酵母BFC1603份数配比,因素2:接种量,因素3:发酵温度,因素4:发酵时间,预试期30天,正试期120天,每试验组10个重复,每个重复100只鸡,以平均产蛋率%、料蛋比作为评价指标。

[0190] 表15不同发酵参数的筛选对发酵南瓜饲料的影响

试验号	菌种份数比	接种量%	发酵温度 ℃	发酵 时间 d	平均产 蛋率%	料蛋比
[0191] 试验例 1	2: 4: 4	0.5	28	6	92.96	1.85
试验例 2	4: 6: 5	0.5	28	6	90.23	1.93
试验例 3	1: 1: 1	0.5	28	6	89.01	2.03

[0192]	试验例 4	2: 4: 4	0.8	28	6	92.89	1.84
	试验例 5	2: 4: 4	0.5	30	6	85.33	2.39
	试验例 6	2: 4: 4	0.5	28	8	86.04	1.93
	对照例 1	仅用枯草芽孢杆菌 BFC190103	0.5	28	6	78.45	2.87
	对照例 2	仅用尿肠球菌 BFC190203	0.5	28	6	74.23	2.83
	对照例 3	仅用植物乳杆菌 BFC190204	0.5	28	6	76.30	2.68
	对照例 4	枯草芽孢杆菌 BFC190103; 尿肠球菌 BFC190203	0.5	28	6	79.05	2.35
	对照例 5	枯草芽孢杆菌 BFC190103; 植物乳杆菌 BFC190204	0.5	28	6	81.24	2.09
	对照例 6	尿肠球菌 BFC190203; 植物乳杆菌 BFC190204	0.5	28	6	82.30	2.18
	对照例 7	枯草芽孢杆菌 BFC190103; 尿肠球菌 BFC190203; 植物乳杆菌 BFC1602=2: 4: 4	0.5	28	6	91.37	1.88

[0193] 试验结果:

[0194] 最佳发酵工艺参数是:复合微生物菌液配比为枯草芽孢杆菌BFC190103、尿肠球菌BFC190203和植物乳杆菌BFC190204的菌种份数比为:2:4:4;按发酵底物的0.5%的量加入复合微生物菌液(w/w),混合均匀;发酵温度为28℃,水分含量37.5%,发酵时间为6天,得到复合微生物发酵南瓜饲料。以普通配合饲料的25%的量替换该蛋鸡饲料饲喂后的平均产蛋率最高,料蛋比最低。

[0195] 通过对照例1-6使用本申请单一发酵菌株或任意两种菌株发酵南瓜蛋鸡饲料,我们看出,本申请的复合菌发酵的效果更优,其平均产蛋率和料蛋比的效果都要比单一使用一种发酵菌株或任意两种菌株的效果都好,说明本申请的复合菌具有协同效果。

[0196] 通过对照使用本课题组其他植物乳杆菌菌株BFC1602与枯草芽孢杆菌BFC190103:尿肠球菌BFC190203配比,得出其组合没有本申请的发酵菌株组合发酵南瓜蛋鸡饲料,再以普通配合饲料的25%的量替换该蛋鸡饲料饲喂后的平均产蛋率高,料蛋比低。

[0197] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本发明的原理和精神的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型,本发明的范围由所附权利要求及其等同物限定。