

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103805583 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 21

(21) 申请号 201310738348. 6

A23K 1/14 (2006. 01)

(22) 申请日 2013. 12. 27

(83) 生物保藏信息

CCTCC NO :M 2013538 2013. 11. 03

(71) 申请人 湖南鸿鹰生物科技有限公司

地址 415400 湖南省常德市津市市嘉山工业
新区

(72) 发明人 李洪兵 李海清 胡永明 向左东
杨中秋

(51) Int. Cl.

C12N 9/42 (2006. 01)

C12N 9/26 (2006. 01)

C12N 9/24 (2006. 01)

A23K 1/165 (2006. 01)

权利要求书3页 说明书6页

(54) 发明名称

一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶及其制
备方法

(57) 摘要

本发明涉及含有 β -葡聚糖酶的一种小麦日
粮酶及其制备方法，属于饲料酶制剂领域。所述
小麦日粮酶由以下重量份数的酶制剂组成：木聚
糖酶 100-140 份，纤维素酶 8-12 份， β -葡聚糖
酶 15-20 份，中温 α -淀粉酶 6-10 份，中草药粉剂
0.5-2 份。其中其中 β -葡聚糖酶产自地衣芽孢
杆菌 (*Bacillus licheniformis*) β -10-25，保藏
编号 CCTCC NO :M2013538，制备方法如下：斜面菌
种活化培养获得液体种子；发酵阶段采用低温培
养基补入和分批接种相结合的方法；发酵液经过
滤、浓缩、精滤、干燥得获得热稳定性好的 β -葡
聚糖酶。所得复合酶能提高饲料转化率，降低饲料
成本。

1. 一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,由以下重量份数的组分组成:木聚糖酶 100-140 份,纤维素酶 8-12 份, β -葡聚糖酶 15-20 份,中温 α -淀粉酶 6-10 份,中草药粉剂 0.5-2 份;

所述 β -葡聚糖酶由地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) β -10-25 经生物发酵制的,所述菌株保藏编号为 CCTCC NO:M2013538。

2. 如权利要求 1 所述一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,其特征在于,所述中草药粉剂的制备方法如下:

称取黄芪 20-30 份;党参 10-18 份;柴胡 10-15 份;麦冬 10-15 份;分别将上述中草药粉碎至粒径为 2 毫米以下,然后于容器中均匀混合并添加 3-6 倍重量的水,控制温度 70℃~90℃ 保持 2~4h,然后降温至 45-60℃,加入混合酶制剂进行酶解,用乳酸调节 pH 值为 5.5-6.8,酶解 2-4h,最后添加混合物料 0.5-3 倍重量乙醇和丙醇的混合物,110W 功率下超声萃取 0.5~1.5h,过滤;滤液真空浓缩后冷冻干燥获得中草药粉剂。

3. 如权利要求 2 所述的一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,其特征在于,混合酶制剂组成如下: β -葡萄糖苷酶 10-15 份,木聚糖酶 15-20 份,戊聚糖酶 15-20 份,普鲁兰酶 20-30 份, β -淀粉酶 10-15 份,果胶酶 10-15 份,酸性蛋白酶 10-15 份,木瓜蛋白酶 5-10 份,葡萄糖氧化酶 5-10 份,酸性磷酸酶 5-10 份。

4. 如权利要求 1 所述一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,其特征在于, β -葡聚糖酶的制备方法,包括如下步骤:

地衣芽孢杆菌 β -10-25 经斜面菌种活化培养后进行一、二、三级液体种子和种子罐培养;将一级种子罐发酵液以 3% 接种量接入含有 3L 发酵培养基的发酵罐中,培养温度 35-45℃,搅拌速度 200-300r/min,通风量(V/V) 1:1-3,培养时间 10-15h;然后将 1L 经过 121℃ 灭菌 20min,温度为 10℃ 的发酵培养基补入发酵罐,待温度升至 35-45℃ 时恒温培养 15-20h;此时,将一级种子罐发酵液以 2% 接种量追加接入发酵罐,恒温培养 10-15h;继续将 1L 经过 121℃ 灭菌 20min,温度为 10℃ 的发酵培养基补入发酵罐,待温度升至 35-45℃ 时恒温培养 10-15h;

发酵液经过滤、浓缩、精滤、干燥得 β -葡聚糖酶。

5. 如权利要求 4 所述的一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,其特征在于,所述种子培养的组成为:酵母粉 0.5%,蛋白胨 1%,可溶性淀粉 1%,NaCl 1%,pH 4.5-7.0;

所述发酵培养基组成为:麦麸 75g,玉米粉 55g,米糠 25g,豆饼粉 20g, β -葡聚糖 2g,中草药剂粉 40g,海藻糖 35g,酵母粉 6g,玉米浆 3g,硫酸铵 2g,磷酸氢二钾 2g,磷酸二氢钾 2g,柠檬酸钠 3g,消泡剂 0.5g,纯净水 1000mL, pH 值 4.5-7.0,121℃ 灭菌 20min;

所述发酵培养基的调配方法为:按比例准确称取原料,将原料中的纯净水、玉米粉、豆饼粉投入配料罐中,调节 PH 值 3-7,加入中温淀粉酶(3u/g 玉米粉)与高温淀粉酶(30u/g 玉米粉),同时边搅拌边升温至 70℃ 保温 15-30min,然后缓慢升温至 90℃ 保温 15-30min 进行液化,最后加入其它原料,搅拌均匀, pH 3-7。

6. 一种制备如权利要求 1 所述的含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶的方法,包括如下步骤:

按照原料组成将木聚糖酶,纤维素酶, β -葡聚糖酶,中温 α -淀粉酶,中草药粉剂混合均匀即可;

所述木聚糖酶,纤维素酶,中温 α -淀粉酶为湖南鸿鹰祥生物工程股份有限公司产品;所述中草药粉剂的制备方法如下:

称取黄芪 20-30 份;党参 10-18 份;柴胡 10-15 份;麦冬 10-15 份;分别将上述中草药粉碎至粒径为 2 毫米以下,然后于容器中均匀混合并添加 3-6 倍重量的水,控制温度 70℃~90℃ 保持 2~4h,然后降温至 45-60℃,加入混合酶制剂进行酶解,用乳酸调节 pH 值为 5.5-6.8,酶解 2-4h,最后添加混合物料 0.5-3 倍重量乙醇和丙醇的混合物,110W 功率下超声萃取 0.5~1.5h,过滤;滤液真空浓缩后冷冻干燥获得中草药粉剂;

所述混合酶添加量为混合物料总重量的 5-10%;

所述混合酶的重量份数组成为: β -葡萄糖苷酶 10-15 份,木聚糖酶 15-20 份,戊聚糖酶 15-20 份,普鲁兰酶 20-30 份, β -淀粉酶 10-15 份,果胶酶 10-15 份,酸性蛋白酶 10-15 份,木瓜蛋白酶 5-10 份,葡萄糖氧化酶 5-10 份,酸性磷酸酶 5-10 份;

所述乙醇和丙醇的质量比例为 1:1-1.5;

所述 β -葡聚糖酶制备方法如下:

(1) 种子培养

将地衣芽孢杆菌 β -10-25 斜面菌种经三级摇瓶发酵剂一级种子罐发酵;

所述种子培养的培养基为:酵母粉 0.5%,蛋白胨 1%,可溶性淀粉 1%,NaCl 1%,pH 4.5-7.0,121-123℃灭菌 30-40min;

(2) 发酵罐发酵

将一级种子罐发酵液以 3% 接种量接入含有 3L 发酵培养基的发酵罐中,培养温度 35-45℃,搅拌速度 200-300r/min,通风量(V/V) 1:1-3,培养时间 10-15h;然后将 1L 经过 121℃灭菌 20min,温度为 10℃的发酵培养基补入发酵罐,待温度升至 35-45℃时恒温培养 15-20h;此时,将一级种子罐发酵液以 2% 接种量追加接入发酵罐,恒温培养 10-15h;继续将 1L 经过 121℃灭菌 20min,温度为 10℃的发酵培养基补入发酵罐,待温度升至 35-45℃时恒温培养 10-15h;

所述发酵培养基组成为:麦麸 75g,玉米粉 55g,米糠 25g,豆饼粉 20g, β -葡聚糖 2g,中草药剂粉 40g,海藻糖 35g,酵母粉 6g,玉米浆 3g,硫酸铵 2g,磷酸氢二钾 2g,磷酸二氢钾 2g,柠檬酸钠 3g,消泡剂 0.5g,纯净水 1000mL, pH 值 4.5-7.0,121℃灭菌 20min;

所述发酵培养基的调配方法为:按比例准确称取原料,将原料中的纯净水、玉米粉、豆饼粉投入配料罐中,调节 PH 值 3-7,加入中温淀粉酶(3u/g 玉米粉)与高温淀粉酶(30u/g 玉米粉),同时边搅拌边升温至 70℃保温 15-30min,然后缓慢升温至 90℃保温 15-30min 进行液化,最后加入其它原料,搅拌均匀,调初始 PH 3-7,121-123℃灭菌 30-40min 备用;

溶解氧控制:通过调整搅拌转速及通风量,控制溶解氧 15-30%;

pH 控制:通过补氨水或稀磷酸,控制发酵过程中 pH 值保持在 3-7;

补料控制:当发酵液中的还原糖含量降至 3mg/ml-8mg/ml 时,开始添加补料培养基,补料量以维持发酵液还原糖含量为 2mg/ml-5mg/ml;

放罐标准:60-80% 菌体衰老自溶,酶活力增长缓慢;

(3) 发酵液经过滤、浓缩、精滤、干燥得 β -葡聚糖酶。

7. 如权利要求 1 所述的一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,其特征在于:由以下重量份数的组分组成:木聚糖酶 120 份,纤维素酶 10 份, β -葡聚糖酶 18 份,中温 α -淀粉酶

8份，中草药粉剂1份。

8. 如权利要求1所述的一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶在动物饲养中的应用。

一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于酶制剂技术领域,具体涉及一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶及其制备方法。

背景技术

[0002] 随着近代酶技术及生物技术的发展,高效能生物活性物质——酶制剂已能大规模地工业化生产,并被应用于饲料工业中,许多实验和实际应用结果都表明,饲用酶制剂作为一种饲料添加剂能有效地提高饲料的利用率、促进动物生长和防治动物疾病的发生,与抗生素和激素类物质相比,具有卓越的安全性,引起了全球范围内饲料行业的高度重视。

[0003] 饲料酶制剂是为了提高动物对饲料的消化、利用或改善动物体内的代谢效能而加入饲料中的酶类物质。目前可以在饲料中添加的酶制剂包括淀粉酶、 α -半乳糖苷酶、纤维素酶、 β -葡聚糖酶、葡萄糖氧化酶、脂肪酶、麦芽糖酶、甘露聚糖酶、果胶酶、植酸酶、蛋白酶、角蛋白酶、木聚糖酶等。由于饲料原料结构的复杂性,目前饲料工业生产中更多使用的是复合酶制剂。小麦日粮酶是一种新型的饲料添加剂,在国外其应用始于 20 世纪 70 年代,而我国的饲料工业在 20 世纪 90 年代才开展酶制剂的应用。因此,加大对饲料酶制剂的研究对于我国的养殖业发展具有非常重要的意义。

[0004] 饲用酶种类繁多,在畜禽生产中均取得了相当好的效果。前苏联科学家在早期断奶仔猪日粮中添加淀粉糊精酶,使得日增重提高 14.6%,碳水化合物消化率提高 77.2%。据美国有关资料报道,Collier 在早期断奶仔猪日粮中补充酶制剂(含蛋白酶、淀粉酶、葡聚糖酶),结果实验组比对照组日增重提高了 25%,饲料转化率提高了 15.5%。西德学者曾多次进行育肥猪添加复合酶制剂的实验研究,在以大麦为主的日粮中,添加 0.1% 的复合酶制剂,结果为:实验组比对照组生长速度提高 5.1%,饲料利用率提高 4.1%。可见,酶制剂能显著提高畜禽对饲料的消化吸收,促进生长,降低饲料成本,并且作为一种绿色饲料添加剂,它的使用具有安全性,有利于畜牧业生产走上经济节约型的发展道路。

[0005] 长期以来,人们习惯以玉米作为能量饲料,但随着养殖业发展对玉米需求量加大和国际市场上玉米行情的变化,造成玉米采购难和价格上扬,尤其在非玉米主产区,玉米的短缺成为限制当地畜牧业发展的重要因素。而在非玉米主产区往往小麦的来源较广,其价格也较为稳定,而且在小麦收获季节,其价格和玉米相比往往具有一定的优势,特别是随着我国小麦产量的逐渐增大,以及 WTO 的加入,进口小麦涌入带来的冲击,使得小麦价格呈下降趋势。同时,畜牧业发展迅速,饲料用量不断增大,制造淀粉和赖氨酸也消耗掉大量的玉米,以前主要用作能量饲料的玉米价格不断上涨,小麦以其种植面积广、产量高、价格低等优点成为替代玉米的首选。

[0006] 目前,粮食的短缺是困扰我国饲料工业发展的主要因素。因此,要选择有利于节约粮食资源的畜牧业发展道路,提高饲料利用率,充分利用有限的粮食资源获得尽可能多的畜产品。 β -葡聚糖酶等酶制剂的使用,能有效的解决这个问题,但目前在生产、实验中的实际应用的酶制剂酶活力大多较低,因此也成为改善饲用酶应用现状的瓶颈之一。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种多酶种复配的含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶及其制备方法。

[0008] 本发明的目的可以通过以下技术方案来实现：

[0009] 一种含有 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶，由以下重量份数的组分组成：中草药粉剂 0.5-2 份，木聚糖酶 100-140 份，纤维素酶 8-12 份， β -葡聚糖酶 15-20 份，中温 α -淀粉酶 6-10 份。

[0010] 所述木聚糖酶、纤维素酶和中温 α -淀粉酶均为湖南鸿鹰翔生物工程股份有限公司产品；

[0011] 所述中草药粉剂的制备方法如下：

[0012] 称取黄芪 20-30 份；党参 10-18 份；柴胡 10-15 份；麦冬 10-15 份；分别将上述中草药粉碎至粒径为 2 毫米以下，然后于容器中均匀混合并添加 3-6 倍重量的水，控制温度 70℃~90℃保持 2~4h，然后降温至 45-60℃，加入混合酶制剂进行酶解，用乳酸调节 pH 值为 5.5-6.8，酶解 2-4h，最后添加混合物料 0.5-3 倍重量乙醇和丙醇的混合物，110W 功率下超声萃取 0.5~1.5h，过滤；滤液真空浓缩后冷冻干燥获得中草药粉剂；

[0013] 所述混合酶添加量为混合物料总重量的 5-10%；

[0014] 所述混合酶的重量份数组成为： β -葡萄糖苷酶 10-15 份，木聚糖酶 15-20 份，戊聚糖酶 15-20 份，普鲁兰酶 20-30 份， β -淀粉酶 10-15 份，果胶酶 10-15 份，酸性蛋白酶 10-15 份，木瓜蛋白酶 5-10 份，葡萄糖氧化酶 5-10 份，酸性磷酸酶 5-10 份；

[0015] 所述乙醇和丙醇的质量比例为 1:1-1.5。

[0016] 所述 β -葡聚糖酶制备方法如下：

[0017] (1) 种子培养

[0018] 将地衣芽孢杆菌斜面菌种经三级摇瓶发酵及一级种子罐发酵；

[0019] 所述种子培养的培养基为：酵母粉 0.5%，蛋白胨 1%，可溶性淀粉 1%，NaCl 1%，pH 4.5-7.0，121-123℃灭菌 30-40min。

[0020] (2) 发酵罐发酵

[0021] 将一级种子罐发酵液以 3% 接种量接入含有 3L 发酵培养基的发酵罐中，培养温度 35-45℃，搅拌速度 200-300r/min，通风量 (V/V) 1:1-3，培养时间 10-15h；然后将 1L 经过 121℃灭菌 20min，温度为 10℃的发酵培养基补入发酵罐，待温度升至 35-45℃时恒温培养 15-20h；此时，将一级种子罐发酵液以 2% 接种量追加接入发酵罐，恒温培养 10-15h；继续将 1L 经过 121℃灭菌 20min，温度为 10℃的发酵培养基补入发酵罐，待温度升至 35-45℃时恒温培养 10-15h；

[0022] 所述发酵培养基组成为：麦麸 75g，玉米粉 55g，米糠 25g，豆饼粉 20g， β -葡聚糖 2g，中草药剂粉 40g，海藻糖 35g，酵母粉 6g，玉米浆 3g，硫酸铵 2g，磷酸氢二钾 2g，磷酸二氢钾 2g，柠檬酸钠 3g，消泡剂 0.5g，纯净水 1000mL，pH 值 4.5-7.0，121℃灭菌 20min；

[0023] 所述发酵培养基的调配方法为：按比例准确称取原料，将原料中的纯净水、玉米粉、豆饼粉投入配料罐中，调节 PH 值 3-7，加入中温淀粉酶 (3u/g 玉米粉) 与高温淀粉酶 (30u/g 玉米粉)，同时边搅拌边升温至 70℃保温 15-30min，然后缓慢升温至 90℃保温

15-30min 进行液化,最后加入其它原料,搅拌均匀, pH3-7, 121-123℃灭菌 30-40min 备用。

[0024] 溶解氧控制:通过调整搅拌转速及通风量,控制溶解氧 15-30%;

[0025] PH 控制:通过补氨水或稀磷酸,控制发酵过程中 pH 值保持在 3-7;

[0026] 补料控制:当发酵液中的还原糖含量降至 3mg/ml-8mg/ml 时,开始添加补料培养基,补料量以维持发酵液还原糖含量为 2mg/ml-5mg/ml;

[0027] 放罐标准:60-80% 菌体衰老自溶,酶活力增长缓慢。

[0028] (3) 发酵液经过滤、浓缩、精滤、干燥得 β -葡聚糖酶。

[0029] 所述地衣芽孢杆菌具体为地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) β -10-25。该菌株已于 2013 年 11 月 3 日保藏于中国典型培养物保藏中心(简称 CCTCC, 地址为:湖北省武汉市武昌区珞珈山武汉大学生命科学学院), 保藏号为 CCTCC NO :M2013538。

[0030] 该菌株特点如下:

[0031] 所述菌株在固体平板上菌落为白色,边缘不整齐,表面干燥不透明,镜检为革兰氏阳性细菌,细胞形态呈短杆状,芽孢中生,椭圆形,不膨大。

[0032] 所述菌株生理生化特征:V-P 试验(+),淀粉水解(+),酪素水解(+),明胶水解(+),硝酸盐还原(+),吲哚试验(-),利用柠檬酸盐(+),硝酸还原(+),甘露醇(+),木糖(+).

[0033] 优选的,一种小麦日粮酶由如下重量份数原料组成:木聚糖酶 120 份,纤维素酶 10 份, β -葡聚糖酶 18 份,中温淀粉酶 8 份,中草药粉剂 1 份。

[0034] 所述小麦日粮酶适用于饲料加工厂和养殖场自配饲料,使用时应与饲料中的其它原料混合均匀。建议每吨全价料添加量为 80-150g(饲料中小麦用量低于 30%,添加量为 80-100g/t,小麦用量超过 30%,添加量为 100-150g/t)。

[0035] 有益效果:

[0036] 1、本发明所使用的 β -葡聚糖酶酶活力高达 8000-10000u/ml, 是原始菌株的 2.5 倍;在 50-70℃条件下具有较高酶活,最适反应温度为 65℃;适用反应 pH 值范围为 5.0;在室温下保存 6 个月后酶活损失小于 25%,4℃保存 12 个月后酶活损失小于 20%。比现有的 β -葡聚糖酶酶活力高,酶作用最适 pH 值范围宽泛,热稳定性及储存稳定性均较高,特别适合反应温度高、液化工艺与糖化工艺并存的工业化需求。

[0037] 2、本发明所使用的 β -葡聚糖酶具有良好的热稳定性,在 60℃条件下保存 1h 后仍能保持 80% 以上酶活,70℃条件下保存 10min 后保持 20% 以上酶活。

[0038] 3、相较于添加有普通 β -葡聚糖酶的小麦日粮酶,在同样的用量下本发明对 β -葡聚糖的酶解率更高,从而提高饲料转化率,降低饲料成本。

[0039] 4、本发明中添加了中草药粉剂,其具有天然抗菌和增强免疫力的作用,可以有效的提高畜禽动物的抗应激能力、免疫功能以及抗病防御机能。另外,中草药粉剂中添加了具有抗热应激原作用的黄芩、柴胡,使得本发明产品具有更好的稳定性和保存活性,较没有添加中草药粉剂的产品在长时间高温条件下的保存活性提高了 15%。

具体实施方式

[0040] 实施例 1 中草药粉剂的制备方法

[0041] 一种中草药粉剂的制备方法如下:

[0042] 称取黄芪 25 份 ; 党参 15 份 ; 柴胡 12 份 ; 麦冬 12 份 ; 分别将上述中草药粉碎至粒径为 2 毫米以下 , 然后于容器中均匀混合并添加 5 倍重量的水 , 控制温度 80℃ 保持 3h , 然后降温至 50℃ , 加入混合酶制剂进行酶解 , 用乳酸调节 pH 值为 6 , 酶解 3h , 最后添加混合物料 2 倍重量乙醇和丙醇的混合物 , 11W 超声萃取 1h , 过滤 ; 滤液真空浓缩后冷冻干燥获得中草药粉剂。

[0043] 所述混合酶添加量为混合物料总重量的 8%。

[0044] 所述混合酶的重量份数组成为 : β -葡萄糖苷酶 12 份 , 木聚糖酶 18 份 , 戊聚糖酶 18 份 , 普鲁兰酶 25 份 , β -淀粉酶 18 份 , 果胶酶 12 份 , 酸性蛋白酶 12 份 , 木瓜蛋白酶 8 份 , 葡萄糖氧化酶 8 份 , 酸性磷酸酶 8 份。

[0045] 所述乙醇和丙醇的质量比例为 1:1.2。

[0046] 实施例 2 一种 β -葡聚糖酶的制备方法

[0047] 一种 β -葡聚糖酶的制备方法 , 包括如下步骤 :

[0048] (1) 液体种子扩大培养

[0049] ①一级种子培养 : 将活化后的斜面菌种 2 环接入 500 毫升摇瓶中 , 培养基装量 100 毫升 , 旋转式摇床 180 转 / 分 , 培养温度 40℃ , 培养时间 10h ;

[0050] ②二级种子培养 : 将一级种子按照 10% 的接种量接入 500 毫升二级种子摇瓶中 , 培养条件与一级种子相同 ;

[0051] ③三级种子培养 : 将二级种子以 10% 接种量接入 5000 毫升三级种子摇瓶中 , 培养基装量 1000 毫升 , 旋转式摇床 100 转 / 分 , 培养温度 40℃ , 培养时间 12h ;

[0052] ④一级种子罐培养 : 将三级种子以 10% 接种量接入总容积为 150L 的一级种子罐 , 发酵培养基装量 100L , 培养温度 41℃ , 搅拌速度 300rpm , 通风量 (V/V) 1:1.5 , 罐压 0.05Mpa , 培养时间 15h ;

[0053] 所述种子培养基重量组成为 : 酵母粉 0.5% , 蛋白胨 1% , 可溶性淀粉 1% , NaCl 1% pH5.5 , 121℃ 灭菌 35min.

[0054] (2) 发酵罐发酵

[0055] 将一级种子罐发酵液以 3% 接种量接入含有 3L 发酵培养基的发酵罐中 , 培养温度 37℃ , 搅拌速度 250r/min , 通风量 (V/V) 1:1-3 , 培养时间 12h ; 然后将 1L 经过 121℃ 灭菌 20min , 温度为 10℃ 的发酵培养基补入发酵罐 , 待温度升至 37℃ 时恒温培养 18h ; 此时 , 将一级种子罐发酵液以 2% 接种量追加接入发酵罐 , 恒温培养 12h ; 继续将 1L 经过 121℃ 灭菌 20min , 温度为 10℃ 的发酵培养基补入发酵罐 , 待温度升至 37℃ 时恒温培养 12h ;

[0056] 所述发酵培养基组成为 : 麦麸 75g , 玉米粉 55g , 米糠 25g , 豆饼粉 20g , β -葡聚糖 2g , 中草药剂粉 40g , 海藻糖 35g , 酵母粉 6g , 玉米浆 3g , 硫酸铵 2g , 磷酸氢二钾 2g , 磷酸二氢钾 2g , 柠檬酸钠 3g , 消泡剂 0.5g , 纯净水 1000mL , pH 值 5.5 , 121℃ 灭菌 20min ;

[0057] 所述发酵培养基的调配方法为 : 按比例准确称取原料 , 将原料中的纯净水、玉米粉、豆饼粉投入配料罐中 , 调节 PH 值 5.5 , 加入中温淀粉酶 (3u/g 玉米粉) 与高温淀粉酶 (30u/g 玉米粉) , 同时边搅拌边升温至 70℃ 保温 20min , 然后缓慢升温至 90℃ 保温 20min 进行液化 , 最后加入其它原料 , 搅拌均匀 , pH5.5 , 121℃ 灭菌 35min 备用。

[0058] 所述中草药粉剂的制备方法同实施例 1.

[0059] (3) 发酵液经过滤、浓缩、精滤、干燥得 β -葡聚糖酶。

- [0060] 经上述制备方法得到的 β -葡聚糖酶液体酶活力为 10000u/ml。
- [0061] 实施例 3 一种饲用复合酶制剂的制备方法
- [0062] 一种小麦日粮酶,由以下重量份数的酶制剂组成:
- [0063] 木聚糖酶 120 份,纤维素酶 10 份, β -葡聚糖酶 18 份,中温 α -淀粉酶 8 份,中草药粉剂 1 份。
- [0064] 取产自湖南鸿鹰翔生物工程股份有限公司的木聚糖酶 120 份,纤维素酶 10 份,中温 α -淀粉酶 8 份,以及实施例 1 所得的中草药粉剂 1 份,实施例 2 所得的 β -葡聚糖酶 18 份于 25℃ 条件下在混合机中搅拌均匀,搅拌时间为 5 分钟。搅拌均匀装箱后于常温或冷室中保存。
- [0065] 实施例 4 一种饲用复合酶制剂的制备方法
- [0066] 一种小麦日粮酶,由以下重量份数的酶制剂组成:
- [0067] 木聚糖酶 100 份,纤维素酶 8 份, β -葡聚糖酶 20 份,中温 α -淀粉酶 10 份,中草药粉剂 0.5 份。
- [0068] 按上述重量份数取产自湖南鸿鹰翔生物工程股份有限公司的木聚糖酶,纤维素酶,中温 α -淀粉酶,以及实施例 1 所得的中草药粉剂,实施例 2 所得的 β -葡聚糖酶于 25℃ 条件下在混合机中搅拌均匀,搅拌时间为 5 分钟。搅拌均匀装箱后于常温或冷室中保存。
- [0069] 实施例 5 一种饲用复合酶制剂的制备方法
- [0070] 一种小麦日粮酶,由以下重量份数的酶制剂组成:
- [0071] 木聚糖酶 140 份,纤维素酶 12 份, β -葡聚糖酶 15 份,中温 α -淀粉酶 6 份,中草药粉剂 2 份。
- [0072] 按上述重量份数取产自湖南鸿鹰翔生物工程股份有限公司的木聚糖酶,纤维素酶,中温 α -淀粉酶,以及实施例 1 所得的中草药粉剂,实施例 2 所得的 β -葡聚糖酶于 25℃ 条件下在混合机中搅拌均匀,搅拌时间为 5 分钟。搅拌均匀装箱后于常温或冷室中保存。
- [0073] 实施例 6 效果对比实验
- [0074] 选取 120 头育肥前期猪,按体重、血统及性别无差异分为实验组和对照组,每组 3 个重复,每个重复 20 头猪。实验期为 28 天,实验组每吨饲料添加本实施例 3 所述复合酶制剂 120g,对照组不添加复合酶制剂,于试验期的始末日早晨空腹称重,计算日增重和料肉比,并给毛色进行打分。实验结果如下表所示:
- [0075]

	对照组	试验组
平均日增重 (g/d)	655.20	703.15
饲料 / 增重	2.45	2.21
毛色打分(10 分制)	5.5	8.5

- [0076]
- [0077] 实施例 5 效果对比
- [0078] 选取 120 头育肥前期猪,按体重、血统及性别无差异分为实验组和对照组,每组 3 个重复,每个重复 20 头猪。实验期为 28 天,实验组和对照组每吨饲料均添加复合酶制剂

120g, 实验组所用复合酶制剂为实施例 3 所述复合酶制剂, 对照组所用复合酶制剂是将实施例 3 中所添加的 β -葡聚糖酶替换为市售 β -葡聚糖酶, 于试验期的始末日早晨空腹称重, 计算日增重和料肉比, 并给毛色进行打分。实验结果如下表所示:

[0079]

	对照组	试验组
平均日增重 (g/d)	675.26	703.15
饲料 / 增重	2.37	2.21
毛色打分(10 分制)	6.5	8.5

[0080] 实施例 7 中草药粉剂对酶保存活性的影响

[0081] 以实施例 2 中所述的制备方法获得的小麦日粮酶为样品 1, 以去除实施例 2 中所有的中草药粉剂的制备方法获得的小麦日粮酶为样品 2, 比较两种样品的保存活性。在 45°C 下保存上述样品 18h, 之后测定酶活, 结果表明: 样品 1 的残余酶活在 75% 以上, 样品 2 的残余酶活保持在 60% 左右。