(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 107173522 A
(43)申请公布日 2017.09.19

(21)申请号 201610132136.7

(22)申请日 2016.03.09

(83)生物保藏信息
CGMCC No. 11747 2015.11.26

(71)申请人 北京大伟嘉生物技术股份有限公司
地址 100085 北京市海淀区上地三街9号D座D803室

(72)发明人 乔琳 姚宏明 高长斌 刘蕊 冯媛媛

(51)Int.Cl.
A23K 10/12(2016.01)
A23K 50/60(2016.01)
A23K 50/30(2016.01)
A01K 67/02(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种益生菌发酵饲料及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明属于畜禽饲料领域，涉及到一种益生菌发酵饲料及其制备方法和应用。具体方法是，将枯草芽孢杆菌、屎肠球菌、植物乳杆菌和酿酒酵母菌4种益生菌分别单独发酵后，按照1~3:1~3:1~3:1~3的比例混合制成混合益生菌发酵液。将混合益生菌发酵液与全价饲料按照3.5~5.0:10的比例混合拌匀后，在25-40℃条件下密闭发酵24-30 h，制成发酵饲料。发酵饲料总活菌数可达1.21×1010 CFU/g，pH最低可降至4.2。制好的发酵饲料可以直接或者以5-10%的比例添加至日粮中饲喂断奶仔猪和育肥猪。与普通全价料相比，使用本发明所述的发酵饲料，猪的料肉比和腹泻率均显著降低；粪便中大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌等条件致病菌的数量大幅下降。

CN 107173522 A

1.一种益生菌发酵饲料，其特征在于，由混合益生菌活菌及其代谢产物和无抗生素的发酵全价饲料组成，全价料的活菌数最高可达1.21×10^{10} CFU/g，含水量为35%-50%，pH为4.2-4.8。

2.根据权利要求1所述的益生菌发酵饲料，其特征在于，所述的混合益生菌包括枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744、屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746、植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747和酿酒酵母WJ-113。

3.一种益生菌发酵饲料的制备方法，其特征在于，制备方法包括：混合益生菌发酵液的制备和益生菌发酵饲料的制备。

4.根据权利要求3所述的制备方法，其特征在于，所述的混合益生菌发酵液的制备方法为：

1)枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744：LB培养基，30-40 ℃，160-180 rpm，培养12-18 h；LB培养基配方如下：Tryptone 10 g/L，Yeast extract 5 g/L，氯化钠10 g/L，pH7.2，121 ℃灭菌20 min；

2)屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746：屎肠球菌发酵培养基，35-42 ℃，静置培养8-12 h；屎肠球菌发酵培养基如下：蔗糖14-21 g/L，蛋白胨14-21 g/L，柠檬酸三铵1-3 g/L，三水合乙酸钠3-7 g/L，七水合硫酸镁0.1-0.4 g/L，一水合硫酸锰0.02-0.07 g/L，三水合磷酸氢二钾1-3 g/L，吐温-80 1-3 g/L，pH 8.0，121 ℃灭菌20 min；

3)植物乳杆菌植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747：植物乳杆菌发酵培养基，30-40 ℃，静置培养16-20 h；植物乳杆菌发酵培养基配方如下：麦芽糊精15-25 g/L、玉米浆粉30-40 g/L，三水合乙酸钠2-5 g/L，三水合磷酸氢二钾2-4 g/L，柠檬酸铵1-4 g/L，七水合硫酸镁0.2-1 g/L，一水合硫酸锰0.05-0.2 g/L、吐温80 0.5-2 g/L，pH 6.5，121 ℃灭菌20 min；

4)酿酒酵母菌WJ-113：YPD培养基，28-32 ℃，190-220 rpm，培养18-20 h；YPD培养基配方如下：蛋白胨20 g/L，酵母粉10 g/L，葡萄糖20 g/L，自然pH，115 ℃灭菌20 min； 5)将分别培养的枯草芽孢杆菌、屎肠球菌、植物乳杆菌植物乳杆菌、酿酒酵母菌四种菌液按照1~3：1~3：1~3：1~3的比例充分混合，制成混合益生菌发酵液。

5.根据权利要求3所述的制备方法，其特征在于，益生菌发酵饲料的制备步骤如下：将全价料放入干净的容器中，加入混合益生菌发酵液，二者的质量比例为菌液：全价料=3.5~5.0：10，最终的含水量为35%-50%，搅拌混匀，盖盖，密封，发酵时环境温度为25-40 ℃，发酵时间为24-30 h；发酵后的全价料的活菌数最高可达1.21×10^{10} CFU/g，pH为4.2-4.8。

6.一种益生菌发酵饲料的应用，其特征为，所述发酵饲料为新型的无抗绿色饲料，制好的发酵饲料可直接饲喂或者以5-10%的比例添加至日粮中饲喂断奶仔猪和育肥猪。

一种益生菌发酵饲料及其制备方法和应用

[0001] 技术领域：

本发明属于畜禽饲料领域，涉及一种益生菌发酵饲料及其制备方法和应用。

[0002] 背景技术：

随着我国畜禽养殖业的快速发展以及人们对于生活品质要求的不断提升，畜禽产品的品质越来越多地受到关注，而饲料的品质直接决定着畜禽产品的品质。近年来，欧美发达国家大力推广发酵饲料在养殖中的应用，我国也有部分养殖场开始认可和接受使用发酵饲料代替传统饲料。

[0003] 简而言之，发酵饲料是传统饲料经过益生菌发酵后的产品。相比传统饲料，发酵饲料具有明显的优势：益生菌可以利用饲料中的蛋白质、脂肪和多糖等大分子，将其降解成更利于动物吸收的小分子物质，提高了营养物质的利用率；芽孢杆菌发酵产生的细菌素能够抑制有害细菌的生长；乳酸菌发酵产生有机酸除了有抑菌作用外，还能提高饲料的适口性；酵母菌发酵过程中产生大量蛋白质和维生素，给动物提供更为充足的营养。由于发酵饲料具有以上传统饲料不具备的优点，在未来的养殖业中有巨大的应用前景。

[0004] 发明内容：

(一)发明目的：

本发明的目的是提供一种益生菌发酵饲料及其制备方法和应用，制备的发酵饲料适口性好，有助于提高猪的采食量和饲料利用率，增强猪的抗病能力，促进猪的生长和健康。

[0005] (二)技术方案：

本发明的目的通过如下方案获得实现：

1.本发明提供了一种益生菌发酵饲料，由混合益生菌活菌及其代谢产物和无抗生素的发酵全价饲料组成，含水量为35%-50%，发酵饲料的活菌数最高可达1.21×10^{10} CFU/g，pH为4.2-4.8；上述混合益生菌包括枯草芽孢杆菌WEI-2(CGMCC No.7744)、屎肠球菌WEI-10(CGMCC No.7746)、植物乳杆菌WEI-70(CGMCC No.11747)和酿酒酵母WJ-113。

[0006] 其中枯草芽孢杆菌WEI-2(CGMCC No.7744)记载在申请号为201310719942.0的专利申请文件中；屎肠球菌WEI-10(CGMCC No.7746)记载在申请号为201310719899.8的专利申请文件中；饲用植物乳菌植物乳杆菌 Lactobacillus plantarum已于2015年11月26日送中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏，编号为CGMCC No. 11747，保藏地址：北京市朝阳区北辰西路1号院 中科院微生物研究所邮编：100101 电话：86-10-64807596；酿酒酵母为按照申请号为200510010940.X的专利申请文件公开的方法进行分离筛选得到，并命名为酿酒酵母WJ-113。

[0007] 2. 本发明提供了一种益生菌发酵饲料的制备方法，制备方法包括：混合益生菌发酵液的制备和益生菌发酵饲料的制备，分别按以下步骤进行：

(1)益生菌的培养。

[0008] 采用各菌株分别发酵培养的方法：

①枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744：LB培养基，30-40 ℃，160-180 rpm，培养12-18 h。LB培养基配方如下：Tryptone 10 g/L，Yeast extract 5 g/L，氯化钠10 g/L，pH7.2，121

℃灭菌20 min。

[0009] ②屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746:屎肠球菌发酵培养基,35-42 ℃,静置培养8-12 h。屎肠球菌发酵培养基如下:蔗糖14-21 g/L,蛋白胨14-21 g/L,柠檬酸三铵1-3 g/L,三水合乙酸钠3-7 g/L,七水合硫酸镁0.1-0.4 g/L,一水合硫酸锰0.02-0.07 g/L,三水合磷酸氢二钾1-3 g/L,吐温-80 1-3 g/L,pH 8.0,121 ℃灭菌20 min。

[0010] ③植物乳杆菌WEI-70(CGMCC No.11747):植物乳杆菌发酵培养基,30-40 ℃,静置培养16-20 h。植物乳杆菌发酵培养基配方如下:麦芽糊精15-25 g/L、玉米浆粉30-40 g/L,三水合乙酸钠2-5 g/L,三水合磷酸氢二钾2-4 g/L,柠檬酸铵1-4 g/L,七水合硫酸镁0.2-1 g/L,一水合硫酸锰0.05-0.2 g/L、吐温80 0.5-2 g/L,pH 6.5,121 ℃灭菌20 min。

[0011] ④酿酒酵母菌WJ-113:YPD培养基,28-32 ℃,190-220 rpm,培养18-20 h。YPD培养基配方如下:蛋白胨20 g/L,酵母粉10 g/L,葡萄糖20 g/L,自然pH。,115 ℃灭菌20 min。

[0012] (2)混合菌发酵液的制备。

[0013] 将分别培养的四种菌液按照(1-3):(1-3):(1-3):(1-3)的比例充分混合,制成混合益生菌发酵液。

[0014] (3)益生菌发酵饲料的制备。

[0015] 将无抗生素的全价料放入干净的容器中,加入混合益生菌发酵液,二者的比例为菌液:全价料=(3.5-5.0):10,最终的含水量为35%-45%,搅拌混匀。盖盖,密封。发酵时环境温度为25-40 ℃,发酵时间为24-30 h。发酵后的全价料的活菌数最高可达1.21×10^{10} CFU/g,含水量为35%-50%,pH为4.2-4.8,有浓郁的醇香味。

[0016] (4)益生菌发酵饲料的应用。

[0017] 制好的发酵饲料可用于直接饲喂或者以5-10%的比例添加至日粮中饲喂断奶仔猪和育肥猪。发酵饲料的适口性好,营养丰富,饲喂后猪的采食量增加,料肉比显著下降,肠道菌群得到显著改善,腹泻率降低,健康水平提高。

[0018] (三)意义:

本发明提供的一种益生菌发酵饲料,是全价料经过4种益生菌混合发酵制成,有效活菌数高,适口性好,适用于各个生长阶段的猪,尤其适用断奶仔猪和育肥猪,能够显著降低料肉比,降低腹泻率,改善肠道菌群。本发明提供的发酵工艺,周期短,对设备依赖性低,适用于各种规模的猪场,利于推广。

[0019] 具体实施方式:

以下实例是为了更好地解释本发明,但本发明绝不仅限于以下实例所述的范围。

[0020] 实验案例一、用于发酵饲料的益生菌的培养:

本发明中用于发酵饲料的4种益生菌采用分别培养的方法,具体如下:

①枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744:从新鲜活化的枯草芽孢杆菌斜面上接种至LB培养基,37 ℃,180 rpm,培养16 h,活菌数可达9.8×10^{8} CFU/mL。LB培养基配方如下:Tryptone 10 g/L,Yeast extract 5 g/L,氯化钠10 g/L,pH7.2, 121 ℃灭菌20 min。

[0021] ②屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746:从新鲜活化的屎肠球菌斜面上接种至屎肠球菌发酵培养基,40 ℃,静置培养10 h,活菌数可达2.31×10^{9} CFU/mL。屎肠球菌发酵培养基如下:蔗糖14-21 g/L,蛋白胨14-21 g/L,柠檬酸三铵1-3 g/L,三水合乙酸钠3-7 g/L,七水合硫酸镁0.1-0.4 g/L,一水合硫酸锰0.02-0.07 g/L,三水合磷酸氢二钾1-3 g/L,吐温-80

1-3 g/L,pH 8.0,121 ℃灭菌20 min。

[0022] ③植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747:从新鲜活化的植物乳杆菌斜面上接种至植物乳杆菌发酵培养基,37 ℃,静置培养18 h, 活菌数可达2.12×10^{9} CFU/mL。植物乳杆菌发酵培养基配方如下:麦芽糊精15-25 g/L、玉米浆粉30-40 g/L,三水合乙酸钠2-5 g/L,三水合磷酸氢二钾2-4 g/L,柠檬酸铵1-4 g/L,七水合硫酸镁0.2-1 g/L,一水合硫酸锰0.05-0.2 g/L、吐温80 0.5-2 g/L,pH 6.5,121 ℃灭菌20 min。

[0023] ④酿酒酵母菌WJ-113:从新鲜活化的酿酒酵母斜面上接种至YPD培养基,30 ℃,200 rpm,培养20 h, 活菌数可达3.60×10^{8} CFU/mL。YPD培养基配方如下:蛋白胨20 g/L,酵母粉10 g/L,葡萄糖20 g/L,自然pH, 115 ℃灭菌20 min。

[0024] 实验案例二、益生菌发酵饲料的制备:

将培养好的枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744、屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746、植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747和酿酒酵母菌WJ-113培养液按1:1:1:1的比例混合均匀,制成混合益生菌发酵液。

[0025] 将培养好的枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744、屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746、植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747和酿酒酵母菌WJ-113培养液按2:1:2:1的比例混合均匀,制成混合益生菌发酵液。

[0026] 将培养好的枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744、屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746、植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747和酿酒酵母菌WJ-113培养液按3:2:2:3的比例混合均匀,制成混合益生菌发酵液。

[0027] 将培养好的枯草芽孢杆菌WEI-2 CGMCC No.7744、屎肠球菌WEI-10 CGMCC No.7746、植物乳杆菌WEI-70 CGMCC No.11747和酿酒酵母菌WJ-113培养液按1:2:3:2的比例混合均匀,制成混合益生菌发酵液。

[0028] 称取一定量的无抗生素的全价饲料,装入干净的容器中,加入混合益生菌发酵液,全价饲料与发酵液的质量比例为10:3.5~5.0,充分搅拌混合,塑料布封口,37 ℃发酵24 h。发酵结束后检测发酵饲料的含水量为39.2%;细菌总数为1.03×10^{10} CFU/g,pH为4.4。

[0029] 实验案例三、益生菌发酵饲料对断奶仔猪肠道菌群和生长性能的影响。

[0030] 选取体重相近的54头28日龄的断奶仔猪,随机分为2组,每组3个重复,每个重复6头猪,公母各半。第一组为对照组(C),饲喂无抗生素的断奶仔猪全价料;第二组为益生菌发酵饲料组(FF),饲喂经4种益生菌发酵的无抗断奶仔猪全价料。

[0031] 断奶仔猪用无抗生素的全价料预饲七天后,按上述分组分别饲喂不同日粮开始正式实验。实验期共1个月,全程自由采食饮水。实验开始及结束分别采集粪便样品,检测粪便中的大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的菌落数;计算统计料肉比和腹泻率。

[0032] 菌落计数采用梯度稀释后涂布于选择性培养基的方法,大肠杆菌选择性培养剂为麦康凯琼脂,沙门氏菌选择性培养基为SS琼脂,金黄色葡萄球菌选择性培养基为高盐甘露醇琼脂。

[0033] 饲喂实验结果表明,益生菌发酵饲料组的料肉比和腹泻率均显著低于对照组(表1)。在肠道条件致病菌群的检测中,对照组的肠道条件致病菌在饲喂前后基本无变化;饲喂益生菌发酵饲料的猪粪便中的条件致病菌比饲喂之前下降了15倍(表 2)。

[0034] 表 1. 益生菌发酵饲料对断奶仔猪生长性能的影响

	C组	FF组
料肉比	2.01 ± 0.21^{a}	1.40 ± 0.34^{b}
腹泻率（%）	14.05 ± 0.82^{a}	4.28 ± 0.42^{b}

表 2．益生菌发酵饲料对断奶仔猪肠道条件致病菌的影响

	C组活菌数（CFU/g）		FF组活菌数（CFU/g）	
	饲喂前	饲喂后	饲喂前	饲喂后
大肠杆菌	3.62×10^{7}	4.00×10^{7}	4.00×10^{7}	7.20×10^{6}
沙门氏菌	1.26×10^{6}	1.53×10^{6}	1.07×10^{6}	5.40×10^{4}
金黄色葡萄球菌	8.54×10^{7}	7.60×10^{7}	7.90×10^{7}	8.12×10^{3}

实验案例四、益生菌发酵饲料对育肥猪肠道菌群和生长性能的影响。

[0035] 选取体重相近的54头平均体重63.10±0.13 kg的育肥猪，随机分为2组，每组3个重复，每个重复6头猪，公母各半。第一组为对照组(C)，饲喂无抗生素的全价料；第二组为益生菌发酵饲料组(FF)，饲喂经4种益生菌发酵的无抗全价料。

[0036] 育肥猪用无抗生素的全价料预饲七天后，按上述分组分别饲喂不同日粮开始正式实验。实验期共1个月，全程自由采食饮水。实验开始及结束分别采集粪便样品，检测粪便中的大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的菌落数；计算统计料肉比和腹泻率。

[0037] 菌落计数采用梯度稀释后涂布于选择性培养基的方法，大肠杆菌选择性培养剂为麦康凯琼脂，沙门氏菌选择性培养基为SS琼脂，金黄色葡萄球菌选择性培养基为高盐甘露醇琼脂。

[0038] 饲喂实验结果表明，益生菌发酵饲料组的料肉比显著低于对照组，益生菌发酵饲料组的腹泻率显著低于对照组(表 3)。在肠道条件致病菌群的检测中，对照组的肠道条件致病菌在饲喂前后基本无变化；饲喂益生菌发酵饲料的猪粪便中的条件致病菌比饲喂之前下降了18倍(表 4)。

[0039] 表 3．益生菌发酵饲料对育肥猪生长性能的影响

	C组	FF组
料肉比	3.56 ± 0.01^{a}	3.21 ± 0.04^{b}
腹泻率（%）	2.10 ± 0.02^{a}	1.13 ± 0.02^{b}

表 4．益生菌发酵饲料对育肥猪肠道条件致病菌的影响

	C组活菌数（CFU/g）		FF组活菌数（CFU/g）	
	饲喂前	饲喂后	饲喂前	饲喂后
大肠杆菌	4.83×10^{7}	5.21×10^{7}	4.66×10^{7}	8.62×10^{6}
沙门氏菌	4.33×10^{6}	4.12×10^{6}	3.92×10^{6}	6.92×10^{4}
金黄色葡萄球菌	1.54×10^{8}	9.80×10^{7}	1.34×10^{8}	1.51×10^{6}

实验案例五、益生菌发酵饲料按10%添加量与基础日粮混合后对断奶仔猪肠道菌群和生长性能的影响。

[0040] 选取体重相近的54头28日龄的断奶仔猪，随机分为2组，每组3个重复，每个重复6头猪，公母各半。第一组为对照组(C)，饲喂无抗生素的断奶仔猪全价料；第二组为益生菌发酵饲料组(FF)，将4种益生菌发酵的无抗断奶仔猪全价料按照10%的添加量与断奶仔猪的基础日粮混合后饲喂断奶仔猪。

[0041] 断奶仔猪用无抗生素的全价料预饲七天后，按上述分组分别饲喂不同日粮开始正式实验。实验期共1个月，全程自由采食饮水。实验开始及结束分别采集粪便样品，检测粪便中的大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的菌落数；计算统计料肉比和腹泻率。

[0042] 菌落计数采用梯度稀释后涂布于选择性培养基的方法，大肠杆菌选择性培养剂为麦康凯琼脂，沙门氏菌选择性培养基为SS琼脂，金黄色葡萄球菌选择性培养基为高盐甘露醇琼脂。

[0043] 饲喂实验结果表明，益生菌发酵饲料组的料肉比和腹泻率均显著低于对照组(表5)。在肠道条件致病菌群的检测中，对照组的肠道条件致病菌在饲喂前后基本无变化；饲喂益生菌发酵饲料的猪粪便中的条件致病菌比饲喂之前下降了10倍(表 6)。

[0044] 表 5. 益生菌发酵饲料(10%添加)对断奶仔猪生长性能的影响

	C组	FF组
料肉比	2.08 ± 0.17^{a}	1.54 ± 0.12^{b}
腹泻率(%)	13.66 ± 0.47^{a}	4.65 ± 0.34^{b}

表 6. 益生菌发酵饲料(10%添加)对断奶仔猪肠道条件致病菌的影响

	C组活菌数（CFU/g）		FF组活菌数（CFU/g）	
	饲喂前	饲喂后	饲喂前	饲喂后
大肠杆菌	4.02×10^{7}	4.11×10^{7}	4.11×10^{7}	9.15×10^{6}
沙门氏菌	1.45×10^{6}	1.48×10^{6}	1.51×10^{6}	8.79×10^{4}
金黄色葡萄球菌	6.02×10^{7}	8.10×10^{7}	6.78×10^{7}	1.02×10^{6}

实验案例六、益生菌发酵饲料按10%添加量与基础日粮混合后对育肥猪肠道菌群和生长性能的影响。

[0045] 选取体重相近的54头平均体重63.10±0.13 kg的育肥猪，随机分为2组，每组3个重复，每个重复6头猪，公母各半。第一组为对照组(C)，饲喂无抗生素的全价料；第二组为益生菌发酵饲料组(FF)，将4种益生菌发酵的无抗育肥猪全价料按照10%的添加量与育肥猪基础日粮混合后饲喂育肥猪。

[0046] 育肥猪用无抗生素的全价料预饲七天后，按上述分组分别饲喂不同日粮开始正式实验。实验期共1个月，全程自由采食饮水。实验开始及结束分别采集粪便样品，检测粪便中的大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的菌落数；计算统计料肉比和腹泻率。

[0047] 菌落计数采用梯度稀释后涂布于选择性培养基的方法，大肠杆菌选择性培养剂为麦康凯琼脂，沙门氏菌选择性培养基为SS琼脂，金黄色葡萄球菌选择性培养基为高盐甘露

醇琼脂。

[0048] 饲喂实验结果表明，益生菌发酵饲料组的料肉比显著低于对照组，两组的腹泻率无显著差异(表7)。在肠道条件致病菌群的检测中，对照组的肠道条件致病菌在饲喂前后基本无变化；饲喂益生菌发酵饲料的猪粪便中的条件致病菌比饲喂之前下降了19倍(表8)。

[0049] 表 7. 益生菌发酵饲料(10%添加)对育肥猪生长性能的影响

	C组	FF组
料肉比	3.52 ± 0.03^{a}	3.23 ± 0.01^{b}
腹泻率(%)	2.10 ± 0.02^{a}	2.09 ± 0.03^{a}

表 8. 益生菌发酵饲料(10%添加)对育肥猪肠道条件致病菌的影响

	C组活菌数（CFU/g）		FF组活菌数（CFU/g）	
	饲喂前	饲喂后	饲喂前	饲喂后
大肠杆菌	5.01×10^{7}	5.10×10^{7}	4.93×10^{7}	8.77×10^{6}
沙门氏菌	3.98×10^{6}	4.01×10^{6}	3.98×10^{6}	6.86×10^{4}
金黄色葡萄球菌	1.42×10^{8}	9.12×10^{7}	1.47×10^{8}	1.97×10^{6}