



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103027187 A

(43) 申请公布日 2013.04.10

(21) 申请号 201310001625.5

(22) 申请日 2013.01.05

(71) 申请人 北京嘉博文生物科技有限公司

地址 100085 北京市海淀区上地信息路 12
号中关村发展大厦三层 E 区 301 室

(72) 发明人 黄谦 于家伊

(51) Int. Cl.

A23K 1/00 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 16 页

(54) 发明名称

抗应激发酵蛋白饲料及其生产方法

(57) 摘要

本发明提供了一种抗应激发酵蛋白饲料,由植物源性蛋白原料、陆生动物源性蛋白原料、海洋动物源性蛋白原料,通过接种复合菌种,进行高温、中温两阶段发酵制成。本发明蛋白饲料中的大分子物质被消化分解为小分子物质,营养成分中应激源减少,同时增加了染料木素、谷胱甘肽及氨基葡萄糖等抗应激活性因子,增强了所饲动物的免疫力,并表现良好的抗应激能力。本发明还提供了抗应激发酵蛋白饲料的生产方法,采用多种源性蛋白原料,及特有的配方、合适的配比,通过特殊的二次发酵工艺进行混菌发酵,得到功能性高、抗应激效果好、经济性强的饲料产品。

1. 一种抗应激发酵蛋白饲料,其特征在于由植物源性蛋白原料 35-90%、陆生动物源性蛋白原料 3-20%、海洋动物源性蛋白原料 2-60%,通过接种复合菌种,进行高温、中温两阶段发酵制成,所述的饲料中,染料木素的含量为 51-204 mg/kg,谷胱甘肽的含量为 34-430 mg/kg,氨基葡萄糖的含量为 20-146 mg/kg。

2. 根据权利要求 1 的抗应激蛋白饲料,其中使用肠膜蛋白粉作为陆生动物源性蛋白原料,鱼粉和 / 或虾壳粉作为海洋动物源性蛋白原料,豆粕、棉粕和菜粕作为植物源性蛋白。

3. 根据权利要求 2 的抗应激蛋白饲料,其中作为植物源性蛋白原料的豆粕、棉粕和菜粕,它们在饲料原料中的比例是豆粕 20-80%,棉粕 3-40%,菜粕 3-40%。

4. 根据权利要求 1 或 2 的抗应激蛋白饲料,其中在发酵阶段,首先接种枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*),在 55-65℃ 条件下高温好氧发酵 6-24 小时,然后在培养基温度降低到 40-50℃ 时,再接种酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*),在 30-50℃ 条件下,进行中温兼性厌氧发酵 24-72 小时。

5. 根据权利要求 4 的抗应激蛋白饲料,其中高温好氧发酵阶段中,枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌按活菌数比例:(0.25-2.5):1 分别接种或者混合成一次接种的混合菌种,并且发酵菌种的接种量按每公斤原料物料比例添加 12.5-35g 的该混合菌种。

6. 根据权利要求 4 或 5 的抗应激蛋白饲料,其中中温兼性厌氧发酵阶段中,酵母和乳酸菌按活菌数比例(1-5):1 混合成二次接种的混合菌种,并且发酵菌种的接种量按每公斤物料添加 20-60g 的该混合菌种。

7. 根据权利要求 1-6 任一项的抗应激蛋白饲料,其中将发酵好的物料浓缩,使水分减少至物料含水率在 12% 或更低。

8. 一种抗应激发酵蛋白饲料的生产方法,其特征在于包括:将植物源性蛋白原料、陆生动物源性蛋白原料、海洋动物源性蛋白原料,按植物源性蛋白原料 35-90%、陆生动物源性蛋白原料 3-20%、海洋动物源性蛋白原料 2-60% 的比例混合;接种高温发酵复合菌种进行一次发酵;接种中温发酵复合菌种进行二次发酵;使所得的饲料中,染料木素的含量为 51-204 mg/kg,谷胱甘肽的含量为 34-430 mg/kg,氨基葡萄糖的含量为 20-146 mg/kg。

9. 根据权利要求 8 的抗应激蛋白饲料生产方法,其中使用肠膜蛋白粉作为陆生动物源性蛋白原料,鱼粉和 / 或虾壳粉作为海洋动物源性蛋白原料,豆粕、棉粕和菜粕作为植物源性蛋白。

10. 根据权利要求 9 的抗应激蛋白饲料生产方法,其中作为植物源性蛋白原料的豆粕、棉粕和菜粕,它们在饲料原料中的比例是豆粕 20-80%,棉粕 3-40%,菜粕 3-40%。

11. 根据权利要求 8 或 9 的抗应激蛋白饲料生产方法,其中在发酵阶段,首先接种枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*),在 55-65℃ 条件下高温好氧发酵 6-24 小时,然后在培养基温度降低到 40-50℃ 时,再接种酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*),在 30-50℃ 条件下,进行中温兼性厌氧发酵 24-72 小时。

12. 根据权利要求 11 的抗应激蛋白饲料生产方法,其中高温好氧发酵阶段中,枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌按活菌数比例:(0.25-2.5):1 混合成一次接种的混合菌种,并且发酵菌种的接种量按每公斤原料物料比例添加 12.5-35g 的该混合菌种。

13. 根据权利要求 11 或 12 的抗应激蛋白饲料生产方法,其中中温兼性厌氧发酵阶段中,酵母和乳酸菌按活菌数比例(1-5):1 混合成二次接种的混合菌种,并且发酵菌种的接种量按每公斤物料添加 20-60g 的该混合菌种。

14. 根据权利要求 8-13 任一项的抗应激蛋白饲料生产方法,其中将发酵好的物料浓缩,使水分减少至物料含水率在 12% 或更低。

15. 权利要求 1 或 2 的蛋白饲料在配制水产饲料或畜禽饲料中的用途。

抗应激发酵蛋白饲料及其生产方法

[0001]

技术领域

[0002] 本发明涉及一种多元蛋白原料配方及通过二次发酵工艺生产的抗应激发酵蛋白浓缩饲料。

[0003]

背景技术

[0004] 经过近二十年的实践,集约化和工业化养殖已成为水产、畜禽养殖的主要模式。这一模式在给养殖业带来了革命性变化的同时,也严重暴露出背后存在着这一体系所无法克服的问题——动物应激综合征,它已成为障碍养殖业发展最活跃的因素。

[0005] 1936年加拿大病理生理学家 Selye 提出应激学说,应激是机体受外界和内在环境中存在的生物、物理和化学等因子过度刺激后,随即产生的一系列非特异性全身适应性反应。这些不同程度的应激反应,不但能直接影响动物的正常生长发育,而且严重的可导致机体免疫力下降,诱发患病甚至死亡。

[0006] 应激反应的发生首先是由于受到各种应激源的刺激。动物养殖生长过程中,经常遭受接种疫苗,使用药物、搬迁、酷热、气候突变等应激。由应激导致才采食量下降、氨基酸、维生素、电解质吸收减少,且体内合成能力下降,引起营养、生理、代谢的一系列的变化。应激给畜禽生产造成的损失不容忽视。随着动物生产规模化和产业化,养殖集约化程度越来越高,动物遭受到越来越多的应激,造成应激过度,即动物机体受到长时间或高强度的应激源刺激时,就会产生严重的不利影响,从而危害机体。由此引起的应激常导致动物机体内分解代谢增强,合成代谢降低,表现为生长停滞、体重下降、饲料转化率降低、产品质量下降、机体免疫力降低,在生产中越来越影响到动物的生产成绩(杨玉凤等, 抗应激添加剂在畜禽生产上的应用。今日畜牧兽医,2006年08期)。

[0007] 早期对应激的发生机制的研究主要集中在神经和内分泌系统,后来发现应激还与机体免疫系统密切相关。强烈的应激刺激可导致神经、内分泌失调,免疫功能障碍,总体表现为 T、B 淋巴细胞、NK 细胞等免疫细胞的数量减少,增殖活性减低,特异和非特异性免疫反应能力减弱,免疫调节因子(IL - 2、IFN 等)产生减少(Tracy BH, Sheldon C. Stress and immunity in humans : a meta analytic review. Psychosomatic Medicine, 1993, 55: 364 - 379.)。在应激反应的初期主要表现为下丘脑 - 垂体 - 肾上腺皮质轴系(HPA axis)及交感神经 - 肾上腺髓质系统的兴奋,糖皮质激素分泌增高,而免疫功能失调是神经和内分泌反应的直接结果,中后期则表现为应激障碍,免疫功能低下(Eskandari F, Sternberg EM. Neural immune interactions in health and disease. Ann N Y Acad Sci, 2002, 966: 20 - 27.)。不同类型的应激对免疫功能的影响可能有一定差异,但对免疫功能的影响以细胞免疫反应为主,表现为 T 淋巴细胞数量减少,增殖活性降低,免疫调节和杀伤能力下降。体液免疫反应相对复杂,与应激源种类、强度、持

续时间等有关，比如在热应激的早中期阶段，B 淋巴细胞抗体产生增多，而后则表现为细胞活性下降，抗体产生抑制(靳杭红等，生理和心理应激反应对免疫功能的影响及保护措施。中华现代护理学杂志,2007 (4),7 :591-594)。

[0008] 所以,应激是通过增高血浆皮质醇、降低吞噬细胞功能及抑制抗体反应来影响动物免疫功能的。另外,应激使体内自由基增加,进一步影响体内维生素E 的含量,降低了机体的抗病能力(李留安等,运输应激对动物机体功能影响的研究进展。黑龙江畜牧兽医,科技版,2010,9 :40-41)。机体免疫力下降、抗病力减弱,易造成传染病和流行病的流行。所以说应激是万病之源。

[0009] 目前对应激发生的防治尽管方法很多,但对缓解或控制应激的措施尚不十分完善。所以要取得良好的抗应激效果,应尽可能弄清应激源,采取综合性措施(加强饲养管理、合理配制日粮、使用无毒副作用的抗应激剂等),才能取得满意的效果(杨玉凤等,抗应激添加剂在畜禽生产上的应用。今日畜牧兽医,2006 年 08 期)。

[0010] 抗应激因子是指具有缓解、防治由应激源引起的应激综合症的物质,抗应激的作用机理也各有不同,概括起来,主要有几个方面:①调节中枢神经系统,起安定镇静、降低应激敏感性作用。如通过营养如色氨酸、酪氨酸、牛磺酸、5-OH 色胺,中草药如柴胡等影响下丘脑肾上腺皮质激素释放激素分泌;调低代谢速度,防止代谢过度对机体的损伤。②抗氧化、清除活性氧自由基、调节由应激导致的自由基代谢紊乱,是许多抗应激添加剂发挥作用的主要方式,如 VC、VE、谷胱甘肽、虾青素等);③调节机体各种物质代谢,调节由应激导致的机体代谢异常;④提高机体免疫力,增强抗病能力。

[0011] 下面重点介绍几种与本发明相关的,能提高机体免疫能力,具有抗氧化、清除氧自由基作用的抗应激因子。

[0012] 谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的含有巯基的天然三肽,作为真核细胞内普遍存在的小分子抗氧化剂,在机体内的氧自由基消除上起关键作用。

[0013] 谷胱甘肽易与某些药物、毒素(如自由基、碘乙酸、芥子气,铅、汞、砷等重金属)等结合,具有抗氧化作用和整合解毒作用。在生物体内对于维持机体适宜的氧化还原环境起着至关重要的作用(Izawa S, et al. Oxidative stress response in yeast: effect of glutathione on adaptation to hydrogen peroxide stress in *Saccharomyces cerevisiae*. FEBS Lett. 1995, Jul, 10: 368(1):73-6.;朱选等,饲料中添加谷胱甘肽对草鱼组织中谷胱甘肽沉积和抗氧化能力的影响。中国水产科学,2008,01 :160-166)。研究表明, GSH 可提高水产动物的抗氧化能力和消化酶活性,激发机体免疫力,提高抗应激能力,从而促进机体生长(Zambohino Infante J. et al; Partial substitution of diand tripeptides for native proteins in sea bass diets improve *dicentrarchus labras* larval development. J Nutr., 1997 Apr;127(4):608-14;刘晓华等,饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化指标和脂质过氧化物含量的影响。水产学报,2007,02 :235-240;赵红霞等,饲料中添加谷胱甘肽对草鱼生长、生理指标和抗病力的影响。中国水产科学,2007,04 :678-683;曹俊明等,饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾非特异性免疫因子和相关酶活性的影响。华中农业大学学报,2007 年 04 期 528-532)。

[0014] 大豆异黄酮属异黄酮类植物雌激素,主要存在于豆科植物中,其主要成分为染料

木素、大豆昔元和大豆黄素，具有抗氧化、调节机体免疫系统及内分泌系统等多种生物学功能，在畜牧、水产养殖业中有着极其广泛的用途，其应用前景非常广阔。(张蕊；大豆异黄酮的特性及其应用研究进展，动物营养学报，2011年11期1884-1890。)

大豆异黄酮可以促进动物生长(王琨等，半胱胺、大豆异黄酮、 β -葡聚糖对美洲鳗幼鳗生长的影响。福建农业科技，2008，06：75-77；米海峰等，饲料中大豆异黄酮和大豆皂甙对牙鲆肝脏和肠道蛋白质消化酶活性和基因表达的影响。中国海洋大学学报(自然科学版)，2011，41(12)：40-45)，增强机体免疫力(黄桂菊等，大豆异黄酮对鱼类免疫增强作用的初步研究。南方水产，2005，02：35-40)，提高消化酶活性，且通过提高体内的抗氧化活性和ACP活性而增强鱼体的抗应激能力(叶继丹等，大豆黄素对美洲鳗生长及肝、肠组织中几种代谢酶活性的影响。集美大学学报(自然科学版)，2008，13(1)：1-6)。同时，大豆异黄酮还具有增强免疫功能的作用。研究表明大豆异黄酮能明显刺激小鼠的脾淋巴细胞增值、转化作用，促进小鼠迟发型变态反应作用，提高小鼠抗体生成细胞数和血清溶血素水平，促进小鼠单核-巨噬细胞廓清作用，增强小鼠的单核-腹腔巨噬细胞吞噬能力，提高小鼠NK细胞活性。(韩彦彬等；大豆异黄酮对小鼠免疫功能影响的研究，中国卫生检验杂志，2010(05)：1046-1048+1058)。

[0015] 染料木素为大豆内主要异黄酮成分，因此，可以通过检测染料木素的含量来代表蛋白浓缩料中大豆异黄酮相关的抗应激生物活性因子的含量。已证明能提高畜禽动物免疫系统的发育，增强机体免疫功能(谢振兴等；异黄酮染料木素对蛋鸡外周血T淋巴细胞转化力的影响，动物生理生化学分会第八次学术会议暨全国反刍动物营养生理生化第三次学术研讨会，2004年，长春；王洋等，大豆异黄酮片对肉仔公鸡免疫功能的影响，中国农学通报，2009年20期35-37；金光明等，大豆异黄酮对鸭小肠黏膜内淋巴细胞分布的影响，安徽科技学院学报，2011年02期69-72；Yaghoubi SM, Ghorbani GR, Rahmani HR, Nikkha A. Growth, weaning performance and blood indicators of humoral immunity in Holstein calves fed supplemental flavonoids. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2008 Aug;92(4):456-62. Epub 2007 Sep 14.);染料木素还具有抑菌和抗氧化性等生理活性(王海涛等，染料木素的抑菌活性及其机制的研究，营养学报，2008，30(4)：403-406；谢明杰等，大豆异黄酮的抑菌作用，大豆科学，2004，23：101-105)。

[0016] 抑菌作用可以减少病原微生物应激源；抗氧化活性可以清除活性氧自由基，调节由应激导致的自由基代谢紊乱；免疫功能的提高也增强对疾病的抵抗作用。所以染料木素(大豆异黄酮)是一类能提高机体免疫能力，具有抗氧化功能的抗应激因子。

[0017] 虾壳、肠膜蛋白中富含几丁质(又称甲壳质、甲壳素)，通过N-脱乙酰基作用，可降解为壳聚糖，化学名称为聚葡萄糖胺(1-4)-2-氨基-B-D葡萄糖。可以通过检测氨基葡萄糖的含量来代表蛋白浓缩料中壳聚糖类的抗应激因子的含量。

[0018] 壳聚糖作为饲料添加剂对动物具有促生长效果，并能够提高水产动物的抗病、免疫功能，表现良好的抗应激功能(刘兴国等，低分子壳聚糖对罗非鱼肝组织抗氧化能力和肝脂含量影响的研究。海洋渔业，2004，26(4)：291-294；沈锦玉等，免疫增强剂对中华绒螯蟹免疫功能的影响，浙江农业学报，2004，16(1)：25-29；胡品虎，稀土甲壳素在河蟹养殖中的应用。水产养殖，1999，05：13-14；李明春等，羧甲基壳聚糖抗应激损伤的作用。实用医药杂志，2008，25(02)：221；陈云波等，壳聚糖对异育银鲫生长及抗菌能力的影响。上海水产

大学学报,2006,15(2):243-246;王红权等,壳聚糖对草鱼生长及肌肉营养成分的影响。湖南农业大学学报(自然科学版),2008,34(5):576-578)。壳聚糖和氨基葡萄糖具有抑菌和抗氧化作用(韩宝芹等,羧甲基壳聚糖、盐酸氨基葡萄糖及N-乙酰氨基葡萄糖对大鼠胰岛细胞生长及胰岛素分泌量的影响,中国生物医学工程学,2004,02:187-191;张兰杰等,D-氨基葡萄糖盐酸盐的制备及抗氧化特性的研究,食品科学,2007,28(04):103-105),能减少应激并调节由应激导致的氧自由基代谢紊乱。氨基葡萄糖对特异性细胞免疫功能和体液免疫功能以及非特异性免疫功能均有明显的促进作用,能够增强小鼠免疫功能(付辰炜等,氨基葡萄糖对小鼠免疫功能的影响,营养学报,Acta Nutrimenta Sinica,2007年01期51-53+57)。氨基葡萄糖及其衍生物还具有自由基清除能力,还原力,金属络合能力以及对羟自由基诱导的生物大分子如脂类、脱氧核糖和蛋白质的氧化性损伤的保护作用(杨艳;壳寡糖,氨基葡萄糖及其衍生物的抗氧化功能研究,中国海洋大学,生物化学,2005,博士论文)。氨基葡萄糖能提高机体免疫能力,具有抗氧化、清除氧自由基作用,是很有应用前景的抗应激因子。

[0019] 抗菌肽(Antimicrobial peptides)是生物体免疫系统产生的一类抵抗外界病原体感染的小分子肽类生物活性物质。抗菌肽可以提高鱼类(王四新等,抗菌肽对草鱼生长性能的影响,饲料研究,2011,04:29-31;王四新等,抗菌肽对鲤鱼生长性能的影响,饲料研究,2012,05:64-65+73)、对虾(王广军等,抗菌蛋白在南美白对虾养殖中的应用试验,饲料工业,2005,08:33-34)和河蟹(王一娟等,抗菌肽对河蟹生长、免疫及抗氧化能力的影响,江苏农业科学,2011,02:340-343)、以及禽类(王秀青等;抗菌肽CecropinB对鸡生长发育及免疫功能的影响,宁夏医科大学学报,2010年01期39-41+46;李丽;抗菌肽Abaecin制备及其对肉鸡生长及免疫影响的研究,内蒙古农业大学,动物营养与饲料科学,2010,博士论文;王静;抗菌肽对肉鸡生产性能和免疫功能的影响研究,山东农业大学,动物营养与饲料科学,2007,硕士论文)的日增重和饲料转化率,调节免疫机能,减少应激。

[0020] CN 102293351A公开了一种用于花鲢养殖的生物饲料,将豆粕、花生粕、棉粕、菜粕进行混合,在混合料中加入枯草芽孢杆菌进行搅拌和发酵;CN 102524535A公开了一种饲用动植物复合低聚肽添加剂,以豆粕、菜粕、棉粕、玉米蛋白粉或酒糟等植物蛋白质原料和鱼粉、鱼、虾、蟹或水产品的加工下脚料等动物蛋白质原料,经接入乳酸菌、酵母菌和芽孢杆菌固态发酵制成;CN102669483A公开了一种混合植物蛋白鱼饲料,包括以下原料发酵制成:菜粕和棉粕的混合物、枯草芽孢杆菌发酵液、粪肠球菌发酵液、黑曲霉发酵液、酿酒酵母发酵液和无机盐;CN102334601A公开了一种蛋鸡饲料,利用乳酸菌和酿酒酵母对瓜尔豆粕进行发酵;CN102178092A公开了一种禽类饲料,首先利用复合菌液发酵豆粕、棉粕、酒糟蛋白饲料制得发酵蛋白饲料,后将发酵蛋白饲料和玉米混合制得;CN102178093A公开了一种猪饲料,以豆粕、棉粕、酒糟蛋白饲料和玉米为原料,接入酵母菌、乳酸菌和枯草芽孢杆菌进行发酵而成;CN102715341A公开了一种鸡、猪和牛的饲料,以生产酒精的湿渣、豆粕和棉粕为原料,经复合微生物菌群发酵,包括:乳酸菌群、酵母菌群、放线菌群、丝状菌群等;CN102100302A公开了一种畜禽饲料,由枯草芽孢杆菌发酵饼粕和麸皮而成;CN102488084A公开了一种畜禽饲料,以秸秆、饼粕、糠麸和玉米面为原料,加入少量硫酸铵和尿素,用1%石灰水调pH至5.5—6.5,接种白地霉菌、乳酸菌、地衣芽孢杆菌混合发酵制成;CN101449739公开了一种微生态发酵蛋白饲料及其制备方法,将豆粕和蚕蛹以枯草

芽孢杆菌、酿酒酵母、乳酸杆菌和少孢根霉混菌固态发酵制成；CN102246884A 公开了一种蛋鸡蛋白饲料，利用枯草芽孢杆菌和保加利亚乳杆菌等混菌固态发酵而成。但这些现有技术均没有利用多元配方和采用二次发酵工艺生产，并且所生产的饲料没有涉及具有抗应激的效果。

[0021]

发明内容

[0022] 本发明采用多种源性蛋白原料，及特有的配方、合适的配比，通过特殊的二次发酵工艺进行混菌发酵，得到功能性高、抗应激效果好、经济性强的蛋白饲料产品。

[0023] 本发明的蛋白饲料采用植物源性蛋白原料 35-90%、陆生动物源性蛋白原料 3-20%、海洋动物源性蛋白原料 2-60%，接种复合菌种，进行高温、中温两阶段发酵制成。

[0024] 本发明还提供一种本发明蛋白饲料的生产方法，包括：将植物源性蛋白原料、陆生动物源性蛋白原料、海洋动物源性蛋白原料按比例混合；接种高温发酵复合菌种进行一次发酵；接种中温发酵复合菌种进行二次发酵。

[0025] 本发明还涉及本发明的蛋白饲料在配制水产或畜禽饲料中的用途。

[0026] 本发明的蛋白饲料，通过微生物发酵，使不同来源、不同组成的蛋白，与微生物源性菌体蛋白一起，形成营养成分的平衡，更利于动物快速生长的全面营养需求。

[0027] 为方便本发明蛋白原料的选择，提高本发明饲料的碳氮比值，本发明优选采用肠膜蛋白粉作为陆生动物源性蛋白原料，鱼粉和 / 或虾壳粉作为海洋动物源性蛋白原料，豆粕、棉粕和菜粕作为植物源性蛋白。这些原料均属于我国 2012 年 6 月农业部发布的 1773 号公告“饲料原料目录范围”中。

[0028] 本发明中，可以同时使用豆粕、棉粕和菜粕作为植物源性蛋白原料，它们在饲料原料中的比例可以是豆粕 20-80%，棉粕 3-40%，菜粕 3-40%。豆粕除了具有氨基酸平衡、适口性好等特点外，还含有大豆异黄酮，具有提高动物免疫力，抗应激作用。大豆异黄酮的主要活性成分是染料木素(genistein)、大豆素(daidzein)和黄豆黄素(glycitein)。通过二次发酵工艺，将豆粕中的大豆异黄酮转化为染料木素等，从而具有抑菌、抗氧化活性，并能提高机体免疫能力，抗应激功能。

[0029] 研究表明，过高的蛋白质本身就是应激源(陈平洁等，水产养殖中的拥挤胁迫和操作胁迫，饲料工业，2007，28(22)：18-21)。通过二次发酵工艺，而蛋白质降解的中间产物小肽具有参与动物机体免疫系统的调节作用，促进机体的抗应激能力。而且抗菌活性的小肽能抑制和杀灭动物体内的病原微生物、维持鱼苗的身体健康，提高成活率(孙克年，水产养殖动物抗应激饲料添加剂，内陆水产，2004，10：45-46)。随着蛋白质消化吸收及代谢规律研究的不断深入，发现部分小肽可穿过动物肠壁屏障被吸收进入循环系统(林煌映，小肽吸收机制研究进展，畜牧市场，2005，08：76-78)。与氨基酸相比，小肽更利于促进动物的消化吸收和生长发育，增强抗病能力，可提高饲料利用率。将饼粕类中的大分子蛋白质降解成小分子短肽，与具有相同氨基酸组成的蛋白质相比，具有促进动物生长性能，增强机体免疫力，促进微量元素吸收、促进肠道黏膜结构和功能发育等生物学作用(陈培赛等，小肽的动物营养研究，养殖与饲料，2008(4)：95-97)。

[0030] 而虾壳、肠膜蛋白中富含几丁质(又称甲壳质、甲壳素)，通过二次发酵工艺，可降

解为壳聚糖及氨基葡萄糖。这些代谢中间产物与微生物分泌的谷胱甘肽、抗菌肽和活性肽类一起,使本发明生产的发酵蛋白浓缩料不仅增强所饲动物的免疫力,而且表现良好的抗应激功能。

[0031] 肠膜蛋白粉是采用猪小肠组织作为原料,经过生物酶水解、附着和烘干制成,其实一种动物源性饲料蛋白质,富含短链肽和平衡的氨基酸;增强动物特别是幼小动物的生产性能和健康水平;以短链肽形式存在的氨基酸和自由氨基酸具有较高的生物活性。

[0032] 作为海洋动物源性蛋白原料,鱼粉和虾壳粉可以择一使用,也可以同时使用。如果同时使用鱼粉和虾壳粉,它们之间比例可以是任意比例混配。

[0033] 本发明中,发酵菌种优选选用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus lincheniformis*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)。这四种菌均属于我国农业部2008年12月发布的第1126号公告“饲料添加剂品种目录”中。通过复合菌种的二次发酵后,产生多肽、活性多糖、氨基酸,维生素、酶类等中间代谢产物和抗应激营养元素,及大豆异黄酮和染料木素、谷胱甘肽、壳聚糖及氨基葡萄糖、以及抗菌肽等抗应激活性因子。不仅增强所饲动物的免疫力,也表现良好的抗应激力。

[0034] 在一个优选的实施方案中,在发酵阶段,首先接种枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus lincheniformis*),在55-65℃条件下高温好氧发酵6-24小时,然后在培养基温度降低到40-50℃时,再接种酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*),在30-50℃条件下,进行中温兼性厌氧发酵24-72小时。

[0035] 枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌是能够产生芽孢的好氧菌,能耐受高温、高压和酸碱,生命力强。枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌能够产生维生素B1、B2、B6等B族维生素、VC、蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等酶以及多种代谢产物,对饲料的降解消化吸收和动物的营养代谢起到促进作用(李永凯等,益生菌发酵饲料研究及应用现状,畜牧与兽医,2009,03:90-93);同时枯草和地衣芽孢杆菌能分泌多种抗菌物质,目前研究证实,枯草芽孢杆菌能够产生40多种抗菌物质,如subtilin, subtilosin A, TasA和sublancin等抗菌蛋白和多肽(胡瑞萍等,枯草芽孢杆菌BSD-2一种抗菌肽的分离纯化与鉴定,华北农学报,2011,06:201-206)。孙颖锋等(芽孢杆菌抗菌肽对对虾养殖环境中镰孢菌的抑菌效应,广东农业科学,2011,18:95-97)报道,芽孢杆菌抗菌肽对对虾养殖环境中镰孢菌的抑菌效应,从而改善水体环境,减少应激源。

[0036] 酵母菌体中含有非常丰富的蛋白质、B族维生素、脂肪、糖、酶等多种营养成分。大量的应用研究试验证明,酵母在提高动物免疫力、提高动物生产性能和减少应激等方面均起作用。酵母的促生长作用和抗应激作用可能与其所含丰富的游离氨基酸、核苷酸、 β -葡聚糖、甘露聚糖等有关。许多研究表明,将酵母碎片添加到饲料中显著提高了动物免疫力、抗菌防病能力和抗应激能力(陈昌福,免疫多糖(酵母细胞壁)对受免异育银鲫免疫应答的调节作用。淡水渔业,2004,4:55-57;陈国凤等,酵母膏对异育银鲫生长和抗应激能力的影响,饲料工业,2009,18:22-25),因为酵母碎片中富含 β -葡聚糖(刘栋辉等, β -葡聚糖和维生素C对斑节对虾生长和抗病力的效果。中山大学学报(自然科学版),2002,04:59-62;Sahoo PK.等, The effect of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda*

vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). *Fish Shellfish Immunol.* 2002 Jan;12(1):1-16)、甲壳素(庄承纪等,壳多糖对罗氏沼虾苗、斑节对虾苗的生长和防菌抗病作用的研究。湛江海洋大学学报,1998,18(3):30-34;刘恒等,免疫多糖对南美白对虾作用的研究。海洋与湖沼,1998,29(3):113-118)和核苷(张一平等,酵母核苷酸对团头鲂生长性能、抗氧化功能和抗病力的影响。动物营养学报,2012,Vol. (3):583-590)等。有明显抗应激功能的谷胱甘肽也一般用酵母菌发酵法生产(贾学杰等,复合诱变和抗性筛选高产谷胱甘肽酵母菌株,中国医药工业杂志,2005,10:604-607;贾建萍等,谷胱甘肽高产菌株的选育,微生物学通报,2003,04:24-29)。所以本发明二次发酵选择酵母为主要菌种之一。

[0037] 乳酸菌是应用最早、最广泛的益生菌,是目前世界公认安全的食品级微生物,研究发现其代谢产物和活菌液对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌都有很强的抑菌效果,随着 pH 值的降低抑菌作用逐渐变强,活菌体内和代谢产物中含有较高的超氧化物歧化酶(SOD),能增强动物免疫(李晓晖,饲用微生物的种类和主要作用,饲料工业,2002,02:30-32)。乳酸菌抗菌肽 Nisin 是世界公认安全的天然食品防腐剂;以 Pediocin 为代表的 Class II a 类抗菌肽具有抑菌谱广、稳定性高、分散性好、安全高效等优点倍受关注(易华西等,乳酸菌细菌素抗菌潜力挖掘研究进展,中国食品添加剂,2010,01:73-76)。

[0038] 在本发明中,菌种可单独地按常规方法从低温保存的菌种中挑取菌种划线接种到固体平板培养基,于合适条件下培养,待长出菌落,再接种于液体培养基进行振荡培养;然后高温复合菌枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌分别进行固体发酵培养,控制发酵条件使其充分产酶,培养物可以马上作为菌种使用,也可以烘干保存,最长达一年时间。可以按比例(0.25-2.5):1 分别接种进行一次发酵,或将培养物按活菌数比例混合后再进行接种发酵。

[0039] 而酵母和乳酸菌菌种则分别接种于适合的液体培养基中进行发酵,由于乳酸菌培养物不易保存,一般马上使用,在进行二次发酵前可以将两种菌按活菌数比例(1-5):1 二次接种。

[0040] 发酵之后,获得的蛋白饲料可以直接使用。也可以将上述发酵好的物料进行浓缩,使水分减少至物料含水率在 12% 或更低,再对物料进行筛分、计量。

[0041] 本发明的方法可以通过本领域常用的方法和常规的设备来实现。在一个具体的实施方式中,本发明的方法可以使用申请号为 200920108353.8 发明名称为《有机垃圾生化处理机》的中国发明专利中公开的设备来实施。该整套设备共由五部分构成:热风循环系统、搅拌系统、排风和集尘系统、补氧系统、自动提升喂料系统、及电控系统。整个电控系统在程序控制下,对发酵内的温度、压力、补氧量、循环风温度、排风温度等,按特定的工艺流程,进行有效调节,使得物料在预设的时间内,自动完成发酵干燥和冷却的全过程。

[0042] 利用该专利中记载的生化处理机可以完成本发明的整个发酵过程,发酵的工艺参数控制可以使用计算机自动化控制体系,提供完全合适的好氧和兼性厌氧发酵条件,保证蛋白饲料产品技术指标具有一致性、稳定性和可重复性。

[0043] 本发明将结合这个具体的实施方案,对本发明的抗应激发酵蛋白浓缩饲料多元配方、二次发酵工艺及其生产方法具体过程进行进一步描述:

(1)原材料处理:将豆粕、棉粕、菜粕和肠膜蛋白粉以及鱼粉和/或虾壳粉过磅计量,按

比例混合后装入有机垃圾生化处理机。

[0044] (2) 一次接种 : 高温发酵复合菌种枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌分别进行固体发酵培养, 按活菌数比例 : (0.25-2.5) : 1 混合成一次接种的混合菌种。

[0045] 将制备好的混合菌种与原料混合。

[0046] 然后, 加水调节物料含水率至 45-60%, 调水是使形成更加适宜微生物快速激活的生长环境。

[0047] 菌种的接种量可以是本领域技术人员根据常规知识和所需发酵程度测定得到的。

[0048] 按每公斤原料物料比例添加 12.5-35g 混合菌种, 使得每克物料含复合菌活菌数 $1.5-2.0 \times 10^7$ 。

[0049] (3) 一次发酵 : 启动生化处理机, 将待发酵物料搅拌均匀; 然后启动自动程序, 对发酵物料的温度、循环风的温度、排风的温度和发酵干燥室内的压力的有效控制, 使物料达到 55-65°C; 保持恒温, 发酵 6-24 小时。期间循环风机不断将新鲜空气送入处理机发酵池中, 同时设备以一定的转速 (例如 10-20 转 / 分钟) 搅拌物料。使微生物得到充足的氧气, 达到适合枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌生长、繁殖要求。同时, 处理机发酵池内的菌体大量繁殖, 并合成所需的各种酶, 降解大分子有机质, 转化为小分子蛋白、多肽和代谢寡糖; 同时物料在发酵过程中的高温能杀灭原料中的有害微生物, 并降除某些抗营养因子或改变其结构以利于微生物的分解。

[0050] (4) 二次接种 : 完成一次发酵后, 当物料温度降低到 40°C -50°C 时, 接种酵母和乳酸菌菌种液体培养物, 按活菌数比例 (1-5):1 混合, 每公斤物料添加 20-60g 混合菌种, 使得每克物料含复合菌活菌数 $1.5-2.0 \times 10^7$ 。这是由酵母和乳酸菌生长温度决定的, 同时二次接种应用液体菌种, 可以使菌种快速进入二次发酵, 也对高温发酵后物料水分含量进行补充, 使其稳定在 45-60%。

[0051] (5) 二次发酵 : 通过调整生化处理机的计算机自动化控制体系, 对发酵内的温度、压力、补氧量、循环风温度、排风温度等, 按特定的工艺流程, 进行有效调节, 使物料达到 30-50°C; 保持恒温, 发酵 24-72 小时。使大量有生物活性的中间代谢产物如维生素、葡聚糖、壳聚糖、染料木素、谷胱甘肽、氨基葡萄糖、抗菌肽等能形成, 从而使发酵蛋白饲料产品具有非常强的抗应激效果。

[0052] (6) 后加工 : 发酵之后, 获得的发酵蛋白饲料可以直接使用。为方便以产品形成存在, 优选将上述发酵好的物料浓缩, 使水分减少至物料含水率在 12% 或更低, 再对物料进行筛分、计量。

[0053] 本发明的蛋白饲料产品, 经检测得到其技术指标如下表所示 :

表 1 产品主要营养成分

检测项目	技术指标
粗蛋白, %	40-60
粗纤维, %	3-11
粗灰分, %	6-14
粗脂肪, %	1-9
水分, %	5-12

表 2 产品主要功能性物质

检测项目	技术指标
染料木素, mg/kg	51-204

谷胱甘肽, mg/kg	34-430
氨基葡萄糖, mg/kg	20-146

除含上表所示营养成分和功能性物质外,本发明的 BGB 抗应激发酵蛋白浓缩饲料的钙含量 0.2-3.5%、磷含量 0.4-1.5%,盐 0.15-4%,酸溶蛋白含量 4-20%,挥发性盐基氮 15-150mg/100g 等。通过特殊的多元配方和二次发酵工艺,使 BGB 抗应激发酵蛋白浓缩饲料营养更加平衡、品质更良好;同时含有多种价格昂贵的抗应激添加剂;复合抗应激作用使抗应激效果更明显,但价格比加入抗应激添加剂的蛋白浓缩料低,更受消费者欢迎。

[0054] 本发明生产的蛋白浓缩饲料产品很大程度降低了植物蛋白中的抗营养物质如胰蛋白酶抑制剂、脲酶、血凝素等,抗营养因子降除率 50%-90% 以上,有效消除了蛋白抗原性,减少应激源和抗应激反应,有利于动物的生长发育和肠道的吸收利用。

[0055] 表 3 抗营养因子的降除效果(%)

抗营养因子	降除率(%)
胰蛋白酶抑制剂	≥ 60
11S 大豆球蛋白	≥ 75
7S β-伴球蛋白	≥ 75
寡糖	≥ 70
植酸	≥ 25
棉酚	≥ 60
硫代葡萄糖苷	≥ 60

本发明的抗应激发酵蛋白浓缩料采用多元原料配方及二次发酵工艺,富含微生物二次发酵过程中产生的中间代谢产物,如活性多糖、谷胱甘肽、抗菌肽、酶、维生素、氨基葡萄糖等,表现良好的抗应激效果。染料木素、谷胱甘肽、壳聚糖及氨基葡萄糖、以及抗菌肽等抗应激活性因子总量达到 105-780 mg/kg。从而使 BGB 发酵蛋白饲料不需额外添加昂贵的抗应激添加剂,不仅价格便宜,又能增强所饲动物的免疫力,并表现良好的抗应激能力。

[0056] 本发明生产的抗应激发酵蛋白浓缩料采用多元原料配方及二次发酵工艺,除了产生染料木素、谷胱甘肽、壳聚糖及氨基葡萄糖、以及抗菌肽等抗应激活性因子外,同时将原料中复杂的大分子物质被消化分解为小分子物质,有毒有害物质被去除,营养成分中应激源减少,同时增加了多肽、活性多糖、氨基酸,维生素、酶类等中间代谢产物和易被吸收利用的营养元素,在水产配合饲料中,能 3% 等量替代直火鱼粉,或 4% 替代 3% 蒸汽鱼粉和 1% 次粉,具有浓缩料的特点。并可以降低 50 元/吨以上的配合饲料成本,且不影响生产性能。

[0057]

下面通过实验来证明本发明饲料的效果。

[0058] 1 试验动物:中华绒螯蟹

1.1 试验设计:

选取 6 口环境相似的池塘,每个塘口 10 亩,每亩放养 600 只蟹苗;设 2 个处理组(对照组、水产饲料产品处理组),每组 3 个重复。饲喂方式为定点定时定量投饵,自由采食。试验组配合饲料中本发明饲料产品添加量为 30%。

[0059] 1.2 指标测定和方法:

1.2.1 生产性能指标:采食速度、平均采食量、平均增重、平均规格、成活率、亩产量、亩效益;

1.2.2 养殖环境:溶氧、氨氮、亚硝酸盐、总氮、总磷;

1.2.3 肉质指标:氨基酸按照 GB/T 5009.124-2003 执行;挥发性物质等采用 GC-14C 气相色谱仪检测。

[0060] 1.3 试验结果:

本发明生产的水产饲料产品,在河蟹配合饲料中添加 30% 时,河蟹采食速度加快 13%,饲料消化率提高 5%,河蟹增重提高 8%,平均规格提高 13.46%,成活率提高 16.53%,水体总氮、氨氮降低约 15%,溶氧提高 11%,养殖亩产量提高 11.06%,亩效益提高 44.8%,具有良好的经济效果。此外,水中溶氧整体高,亚硝酸盐降低 72%、氨氮降低 17.96%、总氮降低 22.06%,总磷降低 9.78%,养殖环境明显改善。而且,饲喂含有本发明水产饲料的河蟹饲料,雄蟹肝胰脏中总水解氨基酸含量提高 10%,总游氨基酸高 26.83%,整蟹中酯类物质高达 13.53%,脂肪酸类物质高达 4.05%,具有独特的风味特征。

[0061]

2 试验动物:AA 肉鸡

2.1 试验设计:

将 1000 只 AA 肉仔鸡随机分为 5 个处理组(普通玉米组、金霉素处理组、低剂量畜禽饲料组、中剂量畜禽饲料组、高剂量畜禽饲料组),每组 8 个重复,每个重复 25 只肉鸡,公母混养,自由采食。

[0062] 0-21 日龄时,畜禽饲料用量为 1-5% 添加,22-42 日龄时,畜禽饲料用量为 5-15% 添加。

[0063] 2.2 指标测定和方法:

2.2.1 生产性能指标:平均增重、平均采食量、饲料转化率、死亡率;

2.2.2 养殖环境:鸭舍内每周日下午 2 点左右 H_2S 、 NH_3 、 CO_2 的浓度;

2.2.3 肉质指标:pH0 和 pH24 (0 与 24 代表距屠宰的时间差),蒸煮损失和剪切力,氨基酸按照 GB/T 5009.124-2003 执行;挥发性物质等采用 GC-14C 气相色谱仪检测。

[0064] 2.3 试验结果:

本发明生产的饲料产品,在 0-21 日龄 AA 肉仔鸡配合饲料中添加 1% 时,与空白组相比,添加 1% 组肉仔鸡平均日增重 28.4g,平均日采食量 45.5g,分别比空白对照组高 14.5%,1.1%,料肉比 1.68,比空白对照组低 6.5%;在 22-42 日龄 AA 肉中大鸡配合饲料中,添加 5% 组肉仔鸡平均日增重 72.1g,平均日采食量 147.6g,分别比空白对照组高 4.3%,4.7%,料肉比 2.06,比空白对照组低 1.1%;产品具有较高的体增重和采食量,较好的饲料转化率。本发明饲料产品在网上肉鸡养殖中,舍内氨氮含量 5-20mg/kg,粉尘含量, 5-20mg/m³,养殖环境明显改善。本发明饲料产品,在华都肉鸡饲料中 5% 添加,44d 肉仔鸡胸肉游离谷氨酸的含量 0.24g/100g(干重),比对照组高 4.34%;腿肉游离氨基酸的含量 0.35g/100g(干重),比对照组高 12.9%;胸肉肌苷酸含量 2027.95 μ g/g(鲜重),比对照组高 8.93%;腿肉肌苷酸含量 980.6 μ g/g(鲜重),比对照组高 13.07%;肉鸡脂肪酸组成中 14 项不饱和脂肪酸的含量高于对照组,明显提高肉品的鲜味。

[0065]

3 试验动物:海兰褐产蛋鸡

3.1 试验设计:

将 600 只海兰褐产蛋鸡随机分为 5 个处理组(对照组、5% 畜禽饲料组、10% 畜禽饲料组、

15% 畜禽饲料组、20% 畜禽饲料组), 每组 6 个重复, 每个重复 20 只蛋鸡。饲用方式为自由采食, 饮水。

[0066] 3.2 指标测定和方法:

3.2.1 生产性能指标: 产蛋率、平均蛋重、平均日采食量、死淘率、料蛋比;

3.2.2 蛋质指标: 蛋壳强度、蛋壳厚度、哈夫单位、蛋形指数, 采用蛋品质系列仪 (SONOVA 公司), 蛋黄颜色采用罗氏比色扇 (瑞士罗氏公司)。挥发性物质等采用 GC-14C 气相色谱仪检测。

[0067] 3.3 试验结果:

本发明生产的饲料产品, 在海兰褐产蛋鸡配合饲料中添加 10%, 进行 60 天饲养试验时, 与空白组相比, 能改善蛋黄着色, 鸡蛋胆固醇含量 3.87mg/g, 比普通鸡蛋低 43.08%, 鸡蛋黄的亚油酸、亚麻酸、卵磷脂含量是普通鸡蛋的两倍以上; 添加 5%, 鸡蛋哈夫单位平均值为 76.44%, 比对照组提高 4.34%。

[0068]

4 试验动物: 樱桃谷鸭

4.1 试验设计:

将 4500 只樱桃谷肉鸭随机分为 3 个处理组 (对照组、等盐替换玉米处理组、等营养指标替换玉米处理组), 每组 5 个重复, 每个重复 300 只肉鸭。饲用方式为自由采食。其中, 试验一组与试验二组畜禽饲料用量为 0-14 日龄添加 5%, 14-32 日龄畜禽饲料添加 8%。

[0069] 4.2 指标测定和方法:

4.2.1 生产性能指标: 平均增重、平均采食量、料肉比、死淘率;

4.2.2 养殖环境: 鸭舍内每周日下午 2 点左右 H_2S 、 NH_3 、 CO_2 的浓度。

[0070] 4.3 试验结果:

本发明生产的饲料产品, 在樱桃谷肉鸭配合饲料中添加 5%, 进行 32 天饲养试验时, 日增重 70.0g, 比空白组高 2.7%, 死淘率 0.47%, 比对照组低 48.9%, 舍内氨气浓度 7.3-10.7 mg/m^3 , 比同一时点对照组氨气浓度低 10.8-14.4%, 养殖环境明显改善。

[0071]

5 试验动物: 北京黑猪

5.1 试验设计:

将 60 头 51.7kg 左右的北京黑猪随机分为 2 个处理组 (对照组、生物玉米处理组), 每组 3 个重复, 每个重复 10 头猪。饲用方式为自由采食和饮水。其中, 试验组畜禽饲料添加 8%。

[0072] 5.2 指标测定和方法:

5.2.1 生产性能指标: 平均日增重、采食量、料肉比;

5.2.2 养殖环境: 猪舍内每周日下午 2 点左右 H_2S 、 NH_3 、 CO_2 的浓度。

[0073] 5.2.3 肉质检测: 氨基酸按照 GB/T 5009.124-2003 执行; 挥发性物质等采用 GC-14C 气相色谱仪检测。

[0074] 5.3 试验结果:

本发明生产的饲料产品, 在 55-110kg 体重大猪饲料中 3% 添加, 日增重 857.14g, 比对照组高 4.04%, 猪舍氨气含量 $< 20 mg/m^3$, 硫化氢含量 $< 10 mg/m^3$, 养殖环境明显改善, 试验组猪腿肉、里脊肉中游离谷氨酸的含量分别为 0.0452g/100g, 0.0786g/100g, 分别比对照组

高 13.5%, 13.7%, 在挥发性物质检测中, 试验组猪肉中含有对照组没有的乙酸己酯、乙酸辛酯等, 试验组猪肉具有独特的鲜柔口感和风味。

[0075]

具体实施方式

[0076] 下面结合实施例, 对本发明的具体实施方式作进一步详细描述。以下实施例用于说明本发明, 但不用来限制本发明的范围。

[0077] 以下实施例的饲料都既适用畜禽, 也适用水产。

[0078]

实施例 1

按下述方法生产本发明的发酵蛋白饲料:

1) 原料: 豆粕, 棉粕, 菜粕, 虾壳粉, 肠膜蛋白粉。

[0079] 2) 一次接种菌种(高温发酵复合菌种): 由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌的活菌数比例: 2.5:1 混合制成的固体芽孢杆菌菌剂。

[0080] 3) 一次发酵: 将菌种与原料混合均匀, 调节物料含水率至 50-60%, 其中:

原料名称	配比(%)	配料(kg)
豆粕	20	28
虾壳粉	2	2.8
棉粕	29.5	41.3
菜粕	40	56
肠膜蛋白粉	5	7
高温发酵复合菌种	3.5	4.9
小计:	100	140

发酵时间: 6 小时;

发酵温度: 55-65℃。

[0081] 4) 二次接种菌种(中温发酵复合菌种): 由酿酒酵母和乳酸片球菌(液体)的活菌数比例: 1:1 混合制成的酵母乳酸菌剂。接种量 2%。

[0082] 5) 二次发酵:

发酵时间: 72 小时;

发酵温度: 30-45℃。

[0083]

实施例 2

1) 一次发酵: 将菌种与原料混合均匀, 调节物料含水率至 50-60%, 其中:

一次接种菌种(高温发酵复合菌种): 由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌的活菌数比例: 2.0:1 混合制成的固体芽孢杆菌菌剂。

[0084]

原料名称	配比(%)	配料(kg)
豆粕	20	28
肠膜蛋白粉	3	4.2
鱼粉	3.5	4.9
棉粕	40	56
菜粕	30	42
高温发酵复合菌种	3.5	4.9

小计：	100	140
-----	-----	-----

发酵时间：12 小时；

发酵温度：55-65℃。

[0085] 2) 二次接种菌种(中温发酵复合菌种):由酿酒酵母和乳酸片球菌(液体)的活菌数比例：2:1 混合制成的酵母乳酸菌剂。接种量 3%。

[0086] 3) 二次发酵：

发酵时间：48 小时；

发酵温度：40-45℃。

[0087]

实施例 3

1) 一次发酵:将菌种与原料混合均匀,调节物料含水率至 50-55%,其中：

一次接种菌种(高温发酵复合菌种):由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌的活菌数比例：1.5:1 混合制成的固体芽孢杆菌菌剂。

[0088]

原料名称	配比(%)	配料(kg)
豆粕	55	77
肠膜蛋白粉	5	7
虾壳粉	5	7
棉粕	16	22.4
菜粕	16.5	23.1
高温发酵复合菌种	2.5	3.5
小计：	100	140

发酵时间：18 小时；

发酵温度：55-65℃。

[0089] 2) 二次接种菌种(中温发酵复合菌种):由酿酒酵母(固体)和乳酸片球菌(液体)的活菌数比例：3:1 混合制成的酵母乳酸菌剂。接种量 3%。

[0090] 3) 二次发酵：

发酵时间：36 小时；

发酵温度：40-50℃。

[0091]

实施例 4

1) 一次发酵:将菌种与原料混合均匀,调节物料含水率至 45-50%,其中：

一次接种菌种(高温发酵复合菌种):由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌的活菌数比例：1:1 混合制成的固体芽孢杆菌菌剂。

[0092]

原料名称	配比(%)	配料(kg)
豆粕	80	112
肠膜蛋白粉	7	9.8
虾壳粉	2	2.8
鱼粉	3.5	4.9
棉粕	3	4.2
菜粕	3	4.2
高温发酵复合菌种	1.5	2.1

小计：	100	140
-----	-----	-----

发酵时间：20 小时；

发酵温度：55-65℃。

[0093] 2) 二次接种菌种(中温发酵复合菌种):由酿酒酵母和乳酸片球菌(液体)的活菌数比例:4:1 混合制成的酵母乳酸菌剂。接种量 4%。

[0094] 3) 二次发酵：

发酵时间：48 小时；

发酵温度：35-45℃。

[0095]

实施例 5

1) 一次发酵:将菌种与原料混合均匀,调节物料含水率至 45-50%,其中：

一次接种菌种(高温发酵复合菌种):由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌的活菌数比例:0.5:1 混合制成的固体芽孢杆菌菌剂。

[0096]

原料名称	配比(%)	配料(kg)
豆粕	67	93.8
肠膜蛋白粉	20	28
虾壳粉	2	2.8
鱼粉	3.5	4.9
棉粕	3	4.2
菜粕	3	4.2
高温发酵复合菌种	1.5	2.1
小计：	100	140

发酵时间：8 小时；

发酵温度：55-60℃。

[0097] 2) 二次接种菌种(中温发酵复合菌种):由酿酒酵母和乳酸片球菌(液体)的活菌数比例:4:1 混合制成的酵母乳酸菌剂。接种量 5%。

[0098] 3) 二次发酵：

发酵时间：36 小时；

发酵温度：35-45℃。

[0099]

实施例 6

1) 一次发酵:将菌种与原料混合均匀,调节物料含水率至 45-50%,其中：

一次接种菌种(高温发酵复合菌种):由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌的活菌数比例:0.25:1 混合制成的固体芽孢杆菌菌剂。

[0100]

原料名称	配比(%)	配料(kg)
豆粕	20	28
肠膜蛋白粉	5	7
鱼粉	60	84
棉粕	7	9.8
菜粕	6.75	9.45
高温发酵复合菌种	1.25	1.75

小计：	100	140
-----	-----	-----

发酵时间 :6 小时；

发酵温度 :55-60℃。

[0101] 2) 二次接种菌种(中温复合发酵菌种):由酿酒酵母和乳酸片球菌(液体)的活菌数比例 :5 :1 混合制成的酵母乳酸菌剂。接种量 6%。

[0102] 3) 二次发酵：

发酵时间 :24 小时；

发酵温度 :30-40℃。

[0103]

实施例 7

将实施例 1-6 所得的蛋白饲料产品在 59-80℃下烘干,使水分减少至物料含水率低于 12%,对所得的发酵蛋白浓缩饲料进行技术指标检测。各项技术指标的检测标准分别为：

(1) 常规饲料营养指标检测标准为中国标准出版社 2010 年 1 月 1 日出版发行的《中国农业标准汇编 :饲料检测方法卷》。

[0104] GB/T 6432-1994 饲料中粗蛋白测定方法

GB/T 6433-2006 饲料中粗脂肪的测定

GB/T 6434-2006 饲料中粗纤维的含量测定过滤法

GB/T 6435-2006 饲料中水分和其他挥发性物质含量的测定

GB/T 6436-2002 饲料中钙的测定

GB/T 6437-2002 饲料中总磷的测定分光光度法

GB/T 6438-2007 饲料中粗灰分的测定

GB/T 6439-2007 饲料中水溶性氯化物的测定

(2) 酸溶蛋白检测标准采用中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 中国国家标准化管理委员会 2008 年 11 月发布,中国标准出版社 2009 年 1 月出版实施的《GB/T 22492-2008 大豆肽粉》。

[0105] (3) 染料木素检测方法 :苏菊等,《生物技术》,2005, 15 (4) :54-56

(4) 谷胱甘肽检测方法 :朱亚玲等,《食品科学》,2011, 32 (06) :251-255

(5) 氨基葡萄糖检测方法 : 邹巧根等,《药物生物技术》,2008, 15 (1) :59-63。

[0106] 检测结果如下表所示：

表 4 发酵蛋白浓缩饲料主要营养和功能性因子检测

营养指标与功能因子	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
粗蛋白, %	40.75	44.45	45.95	48.18	50.45	61.85
粗纤维, %	9.65	8.97	6.8	4.98	4.46	3.4
粗灰分, %	7.8	6.57	8.1	7.18	8.61	9.5
粗脂肪, %	1.95	1.98	1.8	1.58	2.49	8.0
水分, %	10.92	10.65	10.23	9.8	10.5	10.13
谷胱甘肽, mg/kg	34	102	136	204	272	430
染料木素, mg/kg	61	57	109	204	171	51
氨基葡萄糖, mg/kg	39	20	66	60	146	33

由以上实施例可以看出,经本发明生产的发酵蛋白饲料产品蛋白含量高,营养丰富,染料木素等功能性因子含量高,适用于水产、畜禽养殖及水产、畜禽饲料配制。同时,本发明生

产的发酵蛋白浓缩饲料中的大分子物质被消化分解为小分子物质，营养成分中应激源减少，同时增加了染料木素、谷胱甘肽及氨基葡萄糖等抗应激活性因子，增强了所饲动物的免疫力，并表现良好的抗应激能力。按照本发明方法进行了多批次处理，均获得了以上基本类似的结果。

[0107] 本发明中涉及的 % 如无特殊说明外，均指的是重量百分比。

[0108] 以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明技术原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。