

## 一种固态发酵小麦麸饲料及其制备方法和应用

### 技术领域

本发明属于饲料制备技术领域，具体涉及一种固态发酵小麦麸饲料及其制备方法和应用。

### 背景技术

近年来，随着人口数量不断增加，耕地面积不断减少，导致饲料原料缺乏的情况愈发严重，其严重制约了我国畜牧行业的发展。目前我国饲料约占粮食总产量的 35%，预计到 2020 和 2030 年，这一比重将分别达到 45 和 50%。但每年粮食预期的增量只有 1% 左右，饲料粮食的缺口在所难免。因此，提高我国现有饲料资源的利用率是缓解这一矛盾的关键环节。小麦麸是制粉工业的主要副产品，我国年产小麦 1 亿 t 左右，主要用于加工面粉，小麦麸约占制粉加工量的 20%，因此，我国年产小麦麸 2000 万 t 左右，资源非常丰富且价格低廉。小麦麸中除了含有大量的粗纤维之外，还含有丰富的粗蛋白、粗脂肪、矿物质及维生素等物质，其中粗蛋白含量为 12.3-18.7%、粗脂肪含量为 3.9-5%、粗纤维含量为 5-12%、钙含量为 0.1-0.11%、总磷含量为 0.92-0.93%。因此，对小麦麸进行固态发酵，使其纤维素含量降低同时提高粗蛋白质含量一方面，可以提高其自身营养价值，另一方面，可增加其在饲料中的应用率和添加比例，以达到降低饲料成本和缓解“人畜争粮”现状的目的。

国内外学者对固态发酵小麦麸进行了大量的研究，主要有以下方法：将小麦麸直接干燥后做饲料原料或纤维性饲料；将小麦麸经过发酵后做蛋白饲料或膨化后做膨化麸皮饲料。将小麦麸直接干燥或发酵后作为动物饲料，由于未发酵小麦麸的粗纤维含量高，粗蛋白质含量低，总体营养价值偏低，导致其在饲

料中的利用率和添加量偏低，进而影响其在动物生产中的应用。小麦麸中粗纤维含量较高，加之动物体内缺乏降解纤维素的酶类，无法依靠自身降解纤维素，动物采食后养分消化率下降，进而影响其在养殖业的发展，因而粗纤维被认为是饲料中的抗营养因子。目前发酵小麦麸多采用单一菌株进行发酵，这种发酵小麦麸能够大幅度地提高其蛋白质尤其是可溶性蛋白质的含量，但对纤维素等难降解物质分解效果较差，无法有效降解小麦麸，限制了其在畜牧业中的应用。

### 发明内容

针对现有技术存在的问题，本发明提供一种固态发酵小麦麸饲料及其制备方法和应用。本发明的技术方案为：

第一个方面，本发明提供一种固态发酵小麦麸饲料，包括以下重量份的原料：小麦麸 1-3 份、营养液 1.2-3.2 份、黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液 0.15-0.45 份、热带假丝酵母菌悬液 0.05-0.15 份。

优选的，所述固态发酵小麦麸饲料，包括以下重量份的原料：小麦麸 1 份、营养液 1.2 份、黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液 0.15 份、热带假丝酵母菌悬液 0.05 份。

进一步的，所述营养液的组成为：每 1L 蒸馏水中含有 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g、 $\text{CaCl}_2$  0.6g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g、 $\text{ZnSO}_4$  0.5g、 $\text{MnSO}_4$  0.5g、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g。

进一步的，所述黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌培养液的组成为：每 1L 蒸馏水中含有黑曲霉菌(H)菌悬液 1mL、绿色木霉菌(L)菌悬液 1mL、粗糙链孢霉菌(C)菌悬液 1mL、葡萄糖 10g、可溶性淀粉 15g、蛋白胨 0.75g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.5g、 $\text{MgSO}_4$  0.75g。

优选的，所述复合菌培养液菌种孢子数为  $1 \times 10^6$  CFU/mL。

## 说明书

进一步的，所述热带假丝酵母菌培养液的组成为：每 1L 蒸馏水中含有热带假丝酵母菌悬液 1mL、蛋白胨 5g、葡萄糖 10g、酵母粉 3g、麦芽提取物 3g。

优选的，所述热带假丝酵母菌培养液中孢子数为  $1 \times 10^6$  CFU/mL。

第二个方面，本发明提供上述固态发酵小麦麸饲料的制备方法，包括以下步骤：

步骤 1，配制综合 PDA 培养基和麦芽汁琼脂培养基；

步骤 2，将黑曲霉菌、绿色木霉菌和粗糙链孢霉菌分别接种至综合 PDA 培养基进行活化，以及将热带假丝酵母菌(J)接种于麦芽汁琼脂培养基进行活化；活化后分别使用无菌水冲洗平板上的菌丝或孢子，即得单菌株菌悬液；

步骤 3，将黑曲霉菌(H)、绿色木霉菌(L)和粗糙链孢霉菌(C)的单菌株菌悬液分别接种于液体培养基一中继续培养，将热带假丝酵母菌菌悬液接种于液体培养基二中培养，分别得到黑曲霉菌(H)、绿色木霉菌(L)、粗糙链孢霉菌(C)以及热带假丝酵母菌(J)的菌悬液，最后将黑曲霉菌、绿色木霉菌、粗糙链孢霉菌三种菌株的菌悬液混合成黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液；

步骤 4，将灭菌小麦麸、营养液、黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液和热带假丝酵母菌悬液配料，先将黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液和营养液混匀，再加入到灭菌小麦麸中混合均匀，得到混合发酵料；

步骤 5，将混合发酵料进行一次发酵，发酵结束后加入热带假丝酵母菌悬液进行二次发酵，然后烘干既得。

进一步的，所述步骤 1 中综合 PDA 培养基的配制方法为：取 200g 新鲜土豆，洗净去皮切成小块，加水 1000mL 煮沸 25min；纱布过滤，得到土豆渗滤液，滤液加水补至 1000mL，得到质量体积比为 20%的马铃薯汁 1L，和葡萄糖 20g、

## 说明书

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  3g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5g、维生素 B1 8mg、琼脂 20g 混匀后加热溶解，溶解后于 121℃ 灭菌 30min，灭菌完毕后取出保温 50-60℃，静置冷却固化既得。

进一步的，所述步骤 1 中麦芽汁琼脂培养基的配制方法为：按质量分别称取以下组分：蛋白胨 5g、葡萄糖 10g、酵母粉 3g、麦芽提取物 3g、琼脂 20g，称量完成后加入 1L 蒸馏水混匀，使用 pH-3C 型号的 pH 测定仪（上海精密科学仪器有限公司，上海）测定原始 pH 值，并使用 1mol/L NaOH 调节 pH 至 6.2，加热溶解，溶解后于 121℃ 灭菌 30min，灭菌完毕后取出保温 50-60℃，静置冷却固化既得。

进一步的，所述液体培养基一的组成为：每 1L 蒸馏水中含有葡萄糖 10g、可溶性淀粉 15g、蛋白胨 0.75g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.5g、 $\text{MgSO}_4$  0.75g。

进一步的，所述液体培养基二的组成为：每 1L 蒸馏水中含有蛋白胨 5g、葡萄糖 10g、酵母粉 3g、麦芽提取物 3g。

优选的，所述步骤 3 中培养的条件为：于 28℃ 恒温 160~170 r/min 振荡培养，待其孢子数量达到  $1 \times 10^6$  CFU/mL 后停止震荡。

优选的，所述步骤 4 中小麦麸灭菌的条件为：121℃ 灭菌 30min。

优选的，所述步骤 5 中一次发酵的条件为：先于 27℃ 发酵 2d，并且在 0h 时搅拌 1 次，之后每隔 12h 搅拌 1 次。

优选的，所述步骤 5 中二次发酵的条件为：于 27℃ 发酵 1d。

进一步的，所述步骤 5 中烘干温度为 60~70℃。

第三个方面，本发明提供上述固态发酵小麦麸饲料及其制备方法在饲喂 28 日龄断奶仔猪中的应用。

本发明的有益效果体现在以下 3 点：

- 1) 本发明所选产纤维素酶的菌株分别为粗糙链孢霉菌、黑曲霉菌、绿色木霉菌，

## 说明书

三种霉菌均属真菌界，外观均呈丝状，菌丝上布满大量孢子，生长过程中可产生较丰富的纤维素酶、果胶酶、淀粉酶等酶类，有利于降解小麦麸中纤维素等不易被动物所利用的成分；与此同时，本发明所选热带假丝酵母菌可在发酵后期，利用发酵产物还原糖快速繁殖，同时产生大量的菌体蛋白；通过三种霉菌的协同作用，可有效降解饲料中的纤维素含量，使纤维素含量由 9.42%降低至 7.11%；添加热带假丝酵母菌后，粗蛋白含量由 15.00%增加至 20.77%。既有效降解了小麦麸中纤维素含量，也增加了粗蛋白的含量，进而提高其在饲料中的应用价值，从而为个人和企业带来可观的经济效益。

- 2) 本发明与传统的利用单一菌株或添加酶制剂进行发酵相比，复合菌株通过协同作用能够产生数量更多的胞外酶（纤维素酶）。
- 3) 本发明可有效降低断奶仔猪腹泻率，降低断奶仔猪患病风险。
- 4) 本发明适用于大型养殖场、饲料厂的配套项目加以推广。

### 具体实施方式

本发明实施例采用的黑曲霉菌(H)、绿色木霉菌(L)和热带假丝酵母菌(J)购自广东省微生物菌种保藏中心（菌种 GDM 编号分别为 3.576、3.141、2.6）。

本发明实施例采用的粗糙链孢霉菌(C)、普通酵母菌、枯草芽孢杆菌购自北纳创联生物科技有限公司(菌种编号分别为 BNCC 336675、BNCC 142268、BNCC 185324)。

本发明实施例采用的小麦麸指饲料原料小小麦麸，购置于西安航城面粉有限公司。

在本发明的描述中，需要说明的是，实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售购买获得的常规产品。

下面结合具体的实施例对本发明做进一步详细说明，所述是对本发明的解释而不是限定。

## 实施例 1

### 最适降解纤维素的发酵菌株组合的筛选

本发明共选取3种菌株（黑曲霉菌(H)、绿色木霉菌(L)、粗糙链孢霉菌(C)）。共有7种组合，它们分别为H、L、C、HL、HC、LC、HLC，每种组合按照正交设计表接种于固态培养基对小麦麸进行发酵，选取接种量、料水比、发酵时间、发酵温度为发酵因素，每个因素设置3个水平，采用 $L_9(3^4)$ 正交表（表2）进行四因素三水平的正交发酵试验，共9个组，每组3个重复。正交试验设计见表1。

表1 正交试验设计

水平	A 接种量(0%)	B 料水比(W/V)	C 发酵时间 (d)	D 发酵温度(℃)
1	4	1:0.8	2	26
2	5	1:1	3	27
3	6	1:1.2	4	28

注:A 表示接种量（0%），B 表示料水比（W/V），C 表示发酵时间（d），D 表示发酵温度（℃）。

表 2  $L_9(3^4)$ 交互作用表

试验号	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

注:A 表示接种量（0%），B 表示料水比（W/V），C 表示发酵时间（d），D 表示发酵温度（℃），大写字母对应数字表示试验水平。

按照上述实验设计将所得发酵产物放置于-80℃保存并测定其纤维素酶活，随后分别在单菌落、双菌落、三菌落组合中挑选出纤维素酶活由高至低前三位

# 说 明 书

测定其纤维素含量。

各菌株及菌株组合对发酵小麦麸纤维素酶活影响如表 3~6 所示。

表 3 黑曲霉菌固态发酵小麦麸对纤维素酶活的影响

试验号	A	B	C	D	酶活(U/mL)
1	1	1	1	1	85.53
2	1	2	2	2	70.48
3	1	3	3	3	89.30
4	2	1	2	3	94.79
5	2	2	3	1	83.35
6	2	3	1	2	69.37
7	3	1	3	2	96.90
8	3	2	1	3	99.82
9	3	3	2	1	102.79
K1	245.30	277.22	254.72	271.66	
K2	247.51	253.65	268.05	236.75	
K3	299.50	261.44	269.54	283.91	
R	54.19	23.56	14.83	47.16	

注：A表示接种量，B表示料水比，C表示发酵时间，D表示发酵温度；K表示任意列上试验号为i（i=1、2、3）时所对应的试验结果之和；R为任意列K值的极差，大写字母对应数字表示试验水平，表4和5相同。

表 4 绿色木霉菌固态发酵小麦麸对纤维素酶活的影响

试验号	A	B	C	D	酶活(U/mL)
1	1	1	1	1	77.26
2	1	2	2	2	61.58
3	1	3	3	3	48.52
4	2	1	2	3	65.44
5	2	2	3	1	56.03
6	2	3	1	2	62.78
7	3	1	3	2	59.03
8	3	2	1	3	46.40
9	3	3	2	1	46.87
K1	187.36	201.72	186.44	180.16	
K2	184.25	164.01	173.88	183.39	
K3	152.29	158.17	163.58	160.36	
R	35.07	43.55	22.86	23.03	

表5 粗壮链孢霉固态发酵小麦麸对纤维素酶活的影响

# 说 明 书

试验号	A	B	C	D	酶活(U/mL)
1	1	1	1	1	47.85
2	1	2	2	2	41.44
3	1	3	3	3	40.20
4	2	1	2	3	50.02
5	2	2	3	1	41.58
6	2	3	1	2	25.01
7	3	1	3	2	59.13
8	3	2	1	3	45.20
9	3	3	2	1	35.00
K1	129.50	157.00	118.07	124.42	
K2	116.60	128.22	126.46	125.59	
K3	139.33	100.21	140.91	135.42	
R	22.73	56.79	22.85	11.00	

表 6 不同菌株组合固态发酵小麦麸对纤维含量的影响

	纤维素酶活,U/mL	粗纤维 (%)	中性洗涤纤维 (%)	酸性洗涤纤维 (%)
小麦麸	14.86±0.78a	10.82±0.15d	40.87±1.55a	29.84±0.20a
发酵小麦麸				
H7	96.90±9.38ef	10.39±0.56cd	36.25±0.44abcd	21.74±0.42de
H8	99.82±2.38ef	9.48±0.29ab	32.55±2.08d	21.18±0.54d
H9	102.78±0.93f	9.47±0.14ab	36.15±0.59cbd	22.97±0.48cde
HL2	77.19±6.02bc	9.73±0.64abc	39.28±4.20abc	24.94±3.64bcd
HL4	86.35±6.95cd	9.41±0.59ab	36.57±3.17abcd	24.39±1.92bcde
HL7	91.88±1.00de	9.34±0.08a	35.36±1.91cd	22.65±0.63cde
HLC1	76.28±4.67b	10.16±0.29bcd	40.40±2.73ab	25.59±2.41bc
HLC6	81.99±3.00bc	10.11±0.20bcd	37.84±1.67abc	25.01±0.30bcd
HLC8	86.43±5.69cd	10.10±0.26bcd	39.74±2.03abc	27.37±2.26ab
P 值	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.01

注:H 为黑曲霉菌, HL 为黑曲霉菌、绿色木霉菌组合, HLC 为黑曲霉菌、绿色木霉菌、粗糙链孢霉菌组合; H7、H8、H9 分别表示黑曲霉菌交互作用试验号(如表 2 所示), 下同; 数值为三个重复的平均值计算; 同列数据肩标无字母表示差异不显著( $P>0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 下同。

试验结果表明, 与小麦麸组相比, 发酵小麦麸纤维素酶活性显著提高( $P<0.05$ ), 其中单菌落组中H9发酵模式下(黑曲霉菌)纤维素酶活性最高(102.78 U/mL), 其次是H8(99.82 U/mL); H9与H8中粗纤维(Crude Fiber, CF)含量



## 说明书

有所降低，但未达统计学差异显著水平。此外，与小麦麸组相比，H9和H8中性洗涤纤维(Neutral Detergent Fiber, NDF)、酸性洗涤纤维(Acid Detergent Fiber, ADF)含量均显著降低，其中H8中NDF和ADF含量最低(32.55%和21.88%)。与小麦麸组相比，双菌落组(HL)纤维素酶活性升高( $P<0.05$ )，其中HL7酶活性最高(91.88 U/mL)，此外，HL7中CF、NDF和ADF含量显著降低( $P<0.05$ )，含量分别为(9.34%、35.36%和22.65%)；三菌落组合(HLC)中纤维素酶活性均显著升高( $P<0.05$ )，其中HLC8酶活性最高(86.43 U/mL)，其次是HLC6(81.99 U/mL)，HLC6中NDF含量最低(37.84%)，与小麦麸组相比降低了3.03%；HLC6中ADF含量显著降低( $P<0.05$ )，其含量为25.01%，与小麦麸组相比降低了4.83%。综上所述，拟选H8、HL7、HLC6菌种组合模式作为后续添加酵母菌的固态发酵模式。

### 实施例 2

#### 最适产菌体蛋白的发酵菌株组合的筛选

将上述纤维素酶活位居前三的组合，按照实施例 1 的试验条件对小麦麸重新发酵，于发酵结束后立即加入热带假丝酵母菌悬液并混匀，同时按照相同的试验条件发酵 1d，所得发酵产物中粗蛋白含量最高，粗纤维含量最低组合，即为最适发酵组合。

所述酵母菌悬液添加量、粗蛋白质、粗纤维等含量变化如表 7 所示。

表 7 固态发酵小麦麸前后粗蛋白质和粗纤维含量变化

项目	酵母添加量 (%)	粗蛋白 (%)	粗纤维 (%)	中性洗涤纤维 (%)	酸性洗涤纤维 (%)
未发酵小麦麸	-	15.00±0.40a	9.42±0.16b	41.25±1.33b	29.05±1.05b
发酵小麦麸					
H8+J	6	17.91±2.17ab	8.64±0.64ab	38.34±1.08ab	22.18±0.65a
HL7+J	6	16.33±3.01ab	9.14±0.48ab	39.59±0.45ab	20.96±0.36a
HLC6 + J	5	20.77±0.32b	7.11±1.56a	36.67±1.93a	21.84±1.42a
P 值	-	0.06	0.11	0.04	$P<0.01$

## 说明书

注：“-”表示未添加或无。

由表 7 可知，与未发酵小麦麸相比，(HLC+J)6 菌种组合模式下粗蛋白质含量显著增加（5.77%），粗蛋白质含量最高（20.77%）。粗纤维和中性洗涤纤维含量下降显著，其中粗纤维含量下降了 2.31%，中性洗涤纤维下降了 4.58%。此外，三组酸性洗涤纤维含量均显著降低，其中(HL+J)7 显著降低了 8.09%，(HLC+J)6 显著降低了 7.21%。综上，拟选(HLC+J)6 作为固态发酵小麦麸的最佳菌种组合。

对比例 1

选取并按照上述实施例 1 中 HLC6 的试验条件重新发酵，HLCJ6 处理在发酵前加入热带假丝酵母菌悬液直接发酵 3 天，HLC6+普通酵母菌组和 HLC6+枯草芽孢杆菌组在发酵后分别加入普通酵母菌悬液、枯草芽孢杆菌悬液并混匀，同时按照相同的试验条件发酵 1d；上述比对实施例 1 所得发酵产物粗蛋白质、粗纤维等成分的含量变化如表 8 所示。

表 8 各组处理中粗蛋白质及粗纤维含量变化

项目	添加量 (%)	粗蛋白质 (%)	粗纤维 (%)	中性洗涤纤维 (%)	酸性洗涤纤维 (%)
HLC6+J	5	20.77±0.32c	7.11±0.00a	36.37±0.05a	22.18±0.05a
HLCJ6	-	18.32±0.01b	7.53±0.08b	37.44±0.10b	24.33±0.07b
HLC6+普通酵母菌	5	18.29±0.12b	7.69±0.03b	37.32±0.09b	24.39±0.12b
HLC6+枯草芽孢杆菌	5	15.69±0.12a	8.04±0.02c	37.48±0.04b	24.72±0.08c
P 值		P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

注：“-”表示未添加或无；“HLC6+J”表示复合菌悬液发酵 2d+热带假丝酵母菌悬液发酵 1d；“HLCJ6”表示（复合菌悬液+热带假丝酵母菌悬液）直接发酵 3d；“（HLC6+普通酵母菌）和（HLC6+枯草芽孢杆菌）”分别表示复合菌悬液发酵 2d+普通酵母菌 1d，复合菌悬液发酵 2d+枯草芽孢杆菌 1d。

由表 8 可知，与 HLC6+J 组相比，HLCJ6、HLC6+普通酵母菌和 HLC6+枯草芽孢杆菌粗蛋白质含量均极显著下降（ $P<0.001$ ），CF、NDF 和 ADF 含量均极显著升高（ $P<0.001$ ）；与 HLCJ6 组相比，HLC6+枯草芽孢杆菌组粗蛋白质含量极显著下降（ $P<0.001$ ），CF、NDF 和 ADF 均极显著升高（ $P<0.001$ ）。综上，

本试验条件下，选取热带假丝酵母菌作为主要产粗蛋白质菌株。

### 实施例 3

在挑选出菌种组合（HLC6+J）后，本实施例提供一种固态发酵小麦麸饲料，该饲料的组成为：小麦麸 1 份、营养液 1.2 份、黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌培养液 0.15 份、热带假丝酵母菌悬液 0.05 份，其中，所述营养液的组成为：每 1L 蒸馏水中含有 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g、 $\text{CaCl}_2$  0.6g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g、 $\text{ZnSO}_4$  0.5g、 $\text{MnSO}_4$  0.5g、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5g。所述黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合培养液的组成为：每 1L 蒸馏水中含有黑曲霉菌悬液 1mL、绿色木霉菌悬液 1mL、粗糙链孢霉菌悬液 1mL、葡萄糖 10g、可溶性淀粉 15g、蛋白胨 0.75g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.5g、 $\text{MgSO}_4$  0.75g。所述复合菌培养液孢子数为  $1 \times 10^6$  CFU/mL。所述热带假丝酵母菌培养液的组成为：每 1L 蒸馏水中含有热带假丝酵母菌悬液 1mL、蛋白胨 5g、葡萄糖 10g、酵母粉 3g、麦芽提取物 3g。所述热带假丝酵母菌培养液中孢子数为  $1 \times 10^6$  CFU/mL。

该固态发酵小麦麸饲料的制备方法，包括以下步骤：

步骤 1，配制综合 PDA 培养基和麦芽汁琼脂培养基；其中综合 PDA 培养基的配制方法为：取 200g 土豆，洗净去皮切成小块，加水 1L 煮沸 25min；纱布过滤，得到土豆渗滤液，滤液加水补至 1000mL，得到质量体积比为 20%的马铃薯汁 1L，和葡萄糖 20g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5g、维生素 B1 8mg、琼脂 20g 混匀后加热溶解，溶解后于 121℃灭菌 30min，灭菌完毕后取出保温 50-60℃，每个培养皿倒入 15-20mL 培养基，静置冷却固化既得。麦芽汁琼脂培养基的配制方法为：按质量分别称取以下组分：蛋白胨 5g、葡萄糖 10g、酵母粉 3g、麦芽提取物 3g、琼脂 20g，称量完成后加入 1L 蒸馏水混匀，使用 pHS-3C 型号的 pH 测定仪（上海精密科学仪器有限公司，上海）测定原始 pH 值，并使用 1mol/L NaOH 调节 pH 至 6.2，加热溶解，溶解后于 121℃灭菌 30min，灭菌完毕后取出

## 说明书

---

保温 50-60℃，每个培养皿倒入 15-20mL 培养基，静置冷却固化既得。

步骤 2，将黑曲霉菌、绿色木霉菌和粗糙链孢霉菌分别接种至综合 PDA 培养基进行活化，以及将热带假丝酵母菌接种于麦芽汁琼脂培养基进行活化；活化后分别使用无菌水冲洗平板上的菌丝或孢子，即得单菌株菌悬液一。

步骤 3，将黑曲霉菌、绿色木霉菌和粗糙链孢霉菌的单菌株菌悬液分别接种于液体培养基一中于 28℃ 恒温 160~170 r/min 振荡培养，待其孢子数量达到  $1 \times 10^6$  CFU/mL 后停止震荡，分别得到黑曲霉菌、绿色木霉菌、粗糙链孢霉菌单菌株悬液二，再将以上三种单菌悬液混匀，得到黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液；并将热带假丝酵母菌菌悬液接种于液体培养基二中于 28℃ 恒温 160~170 r/min 振荡培养，待其孢子数量达到  $1 \times 10^6$  CFU/mL 后停止震荡，得到热带假丝酵母菌悬液；其中，所述液体培养基一的组成为：每 1L 蒸馏水中含有葡萄糖 10g、可溶性淀粉 15g、蛋白胨 0.75g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.5g、 $\text{MgSO}_4$  0.75g。所述液体培养基二的组成为：每 1L 蒸馏水中含有蛋白胨 5g、葡萄糖 10g、酵母粉 3g、麦芽提取物 3g。

步骤 4，将小麦麸于 121℃ 灭菌 30min，先将黑曲霉菌-绿色木霉菌-粗糙链孢霉菌的复合菌悬液和营养液混匀，再加入到灭菌小麦麸中混合均匀，得到混合发酵料。

步骤 5，将混合发酵料进行一次发酵，一次发酵的条件为：先于 27℃ 发酵 2d，并且在 0h 时搅拌 1 次，之后每隔 12h 搅拌 1 次。发酵结束后加入步骤 3 得到的热带假丝酵母菌的培养液进行二次发酵，二次发酵的条件为：于 27℃ 发酵 1d，然后于 60-70℃ 烘干既得。

小麦麸发酵前后的营养成分变化情况

测定本实施例获得的发酵小麦麸饲料以及小麦麸中粗蛋白、粗纤维、中性

## 说明书

洗涤纤维、酸性洗涤纤维、干物质、总能的含量。

粗蛋白的测定：采用 GB/T 6432-2018 测定粗蛋白的含量

粗纤维的测定：采用 GB/T 6434-2006 测定粗纤维的含量。

中性洗涤纤维的测定：采用 GB/T 20806-2006 测定中性洗涤纤维的含量。

酸性洗涤纤维的测定：采样 NY/T 1459-2007 测定酸性洗涤纤维的含量。

表 9 本实施例获得的发酵小麦麸饲料以及小麦麸营养成分表

项目	小麦麸	发酵小麦麸
干物质 (%)	88.87	94.37
粗蛋白质 (%)	15.00	20.77
能量 (cal/kg)	4225.27	4275.96
粗纤维 (%)	9.42	7.11
中性洗涤纤维 (%)	41.25	36.67
酸性洗涤纤维 (%)	29.05	21.84

注：数值均为三个重复的平均值计算；

本实施例获得的发酵小麦麸饲料以及小麦麸营养成分如表 9 所示，与小麦麸相比，发酵小麦麸干物质、粗蛋白、总能含量均升高，其中干物质增加了 5.5%，粗蛋白质增加了 5.77%，总能增加了 50.69cal/Kg。粗纤维、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量均下降，粗纤维含量下降了 2.31%，中性洗涤纤维含量下降了 4.58%，酸性洗涤纤维含量下降了 7.21%。综上所述，利用复合菌株固态发酵小麦麸有助于提高粗蛋白质含量，降低 CF、NDF、ADF 含量，达到了改善其小麦麸营养价值的目的。

### 实施例 4

将实施例 3 制备的发酵小麦麸饲料进行真菌毒素含量检测

真菌毒素含量标准参照 GB 13078-2017，检测方法参照酶联免疫法，检测结果如表 10 所述。

表 10 小麦麸发酵前后真菌毒素含量对比情况

组别	小麦麸	发酵小麦麸	限量	判断
----	-----	-------	----	----

## 说明书

黄曲霉毒素,ug/kg	2.05	1.27	≤30.0	合格
赭曲霉毒素,ug/kg	10.80	7.36	≤100.0	合格
玉米赤霉烯酮,mg/kg	0.03	0.03	≤1.0	合格
呕吐毒素,mg/kg	3.00	3.10	≤5.0	合格
T-2 毒素,mg/kg	0.01	0.00	≤0.5	合格
伏马毒素(B1+B2),mg/kg	0.00	0.02	≤60.0	合格

注：数值为三个重复的平均值计算；实测浓度小于限量为合格。

### 实施例 5

本发明的无抗发酵麦麸饲料对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响

#### 1. 试验管理

动物试验在四川农业大学动物试验基地进行。饲养试验开始前，首先对仔猪舍（包括工具）进行彻底冲洗、熏蒸、消毒和通风。仔猪试验期间自由采食和饮水，每天在 08:00、14:00 和 20:00 进行饲喂。少喂勤添，保证自由采食。饲养温度控制在 24℃ 左右，湿度保持在 65% 左右。试验初、末期对猪只进行空腹称重并记录，每天记录采食量，每天早晚两次观察仔猪粪便情况，记录每个处理腹泻仔猪头次。最后以每个处理仔猪发生腹泻的头次数除以该处理总的饲养数(该处理仔猪头数×饲养天数)，计算腹泻率（当腹泻评分为 2 或以上，认为仔猪发生腹泻），试验过程未使用任何药物和抗生素。预试验 5-7 天，正式试验期为 40 天。

腹泻率=试验期腹泻仔猪头次 / (试验仔猪头数×试验天数)×100%。

#### 2. 试验设计

选取 21 头初始体重为(7.2±0.5)kg 的 28 日龄健康雄性断奶杜洛克×长白×约克仔猪，采用单因子试验设计，按照体重无差异原则随机分为 3 个处理，每个处理 7 个重复，每个重复 1 头猪，单笼饲养。对照组饲喂基础日粮，不额外添加纤维。处理 I 在基础日粮中添加 8% 普通小麦麸饲料；处理 II 在基础日粮中添

## 说 明 书

加 8% 实施例 3 制备的发酵小麦麸。参照 NRC (2012) 和中国猪饲养标准配制玉米-豆粕型饲料，小麦麸营养水平参照前期试验测定结果，其他原料的营养水平参照中国饲料营养标准 (2010)。试验设计与处理见表 11。

表 11 断奶仔猪饲养试验分组及饲料类型

分组	饲料
对照组	基础日粮
处理 I	基础日粮+8% 普通小麦麸
处理 II	基础日粮+8% 发酵小麦麸

### 3. 试验日粮

表 12 日粮组成及营养水平 (风干基础)

项目	对照组	处理组	
		小麦麸	发酵小麦麸
成分, %			
膨化玉米, (CP 7.8%)	37.19	29.99	29.99
去皮大豆粕, (CP 47.9%)	20.55	20.55	20.55
玉米淀粉	18.00	18.00	18.00
鱼粉, (CP 60.2%)	4.50	4.50	4.50
大豆浓缩蛋白, (CP 62.92%)	4.30	3.00	2.00
乳清粉	5.50	5.50	5.50
蔗糖	4.00	4.00	4.00
葡萄糖	3.00	3.50	4.50
豆油	0.20	0.20	0.20
小麦麸	—	8.00	—
发酵小麦麸	—	—	8.00
氯化钠	0.30	0.30	0.30
赖氨酸盐酸盐, (78%)	0.40	0.40	0.40
DL-蛋氨酸	0.15	0.15	0.15
苏氨酸, (98.5%)	0.14	0.14	0.14
色氨酸, (98.0%)	0.03	0.03	0.03
石粉	0.60	0.60	0.60
磷酸氢钙	0.80	0.80	0.80
氯化胆碱	0.10	0.10	0.10
维生素预混料 <sup>1</sup>	0.04	0.04	0.04
矿物元素预混料 <sup>2</sup>	0.20	0.20	0.20
合计	100	100	100

## 说 明 书

营养水平			
DE, (Mcal/kg)	3.53	3.58	3.58
CP, (%)	18.92	18.66	18.62
Ca, (%)	1.00	0.99	0.79
TP, (%)	0.63	0.60	0.55
AP, (%)	0.43	0.42	0.40
D-lys	1.44	1.26	1.31
D-Met	0.45	0.58	0.42
D-Met+D-Cys	0.66	0.77	0.66
D-Thr	0.86	0.79	0.79
D-Trp	0.28	0.29	0.20
CF	1.95	2.56	2.34
NDF	5.49	8.08	7.61
ADF	2.66	4.71	3.99

- 1) 维生素预混料为每千克日粮提供: Vitamin A 30000000 IU, Vitamin D3 10000000 IU, Vitamin E 80000 IU, Vitamin K3 10000 mg, Vitamin B1 10000 mg, Vitamin B2 25000 mg, Vitamin B6 12000 mg, Vitamin B12 120 mg, D-泛酸 50000 mg, 叶酸 5000 mg, D-生物素 biotin 500 mg。
- 2) 7-25 kg阶段矿物质预混料可为每千克日粮提供: 350mg Fe ( $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), 41.67mg Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), 292.78mg Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 66.20 mg Mn ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), 8.31 mg I (KI), 30.61mg Se ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ), 1209.55mg  $\text{CaCO}_3$ 。
- 3) 营养水平中消化能、粗蛋白、粗纤维、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、钙、有效磷、赖氨酸、蛋氨酸均为计算值。

### 4.试验结果

由表 13 可知, 与对照相比, 小麦麸组与发酵小麦麸组断奶仔猪平均日增重分别增加了 8.78 和 6.36g。与对照组和小麦麸组相比, 发酵小麦麸组猪腹泻率分别降低了 3.25%和 0.93%。上述结果说明发酵小麦麸饲料不仅可以促进仔猪生长, 还可以较大程度降低仔猪腹泻率, 保证仔猪肠道健康。

表 13 发酵小麦麸对断奶仔猪生长性能的影响

项目	对照组	小麦麸	发酵小麦麸
----	-----	-----	-------



## 说明书

平均初始重 (Kg)	7.18±0.14	7.16±0.15	7.18±0.14
平均末重 (Kg)	24.34±0.80	24.65±0.95	24.43±0.75
ADFI (g)	704.01±19.25	693.50±24.97	709.92±23.06
ADG (g)	428.85±18.78	437.63±25.54	435.21±17.25
F/G	1.58±0.13	1.60±0.02	1.63±0.00
腹泻率 (%)	8.25±2.18	5.93±2.12	5.00±1.88

注：数据以平均数±标准误表示。ADFI：平均日采食量；ADG：平均日增重；F/G：料重比

以一个万头猪场（年出栏肥猪 10000 头）为例，现有商品配合料一般为玉米-豆粕型，按发酵小麦麸替代 8% 玉米（成本为 2000 元/吨）计算，本发明的发酵小麦麸成本为 1100 元/吨，每头猪从断奶到出栏平均约耗料 370 kg，按玉米添加量平均为 60%，则每头猪节约饲料成本 16 元，一个万头猪场每年至少节约饲料成本 16 万元；此外，使用本发明的发酵小麦麸饲料后明显降低仔猪腹泻率，可以预测其能提高仔猪抗病力，节约用药成本或降低仔猪死淘率，潜在经济和社会效益巨大。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。