

权 利 要 求 书

1. 一种水产用复合微生态制剂，其特征在于，按照重量百分比由以下组分构成：侧孢芽孢杆菌菌液 30%~40%，干酪乳杆菌菌液 30%~40%，地衣芽孢杆菌菌液 20%~30%，以上重量百分比总量为 100%~~。~~；

~~2. 根据权利要求 1 所述的水产用复合微生态制剂，其特征在于，~~所述侧孢芽孢杆菌菌液通过以下方法制备得到：将 4℃ 保存的侧孢芽孢杆菌活化，在 30~35℃ 摇瓶中用胰蛋白胨大豆培养基培养 24 小时；对活化后的侧孢芽孢杆菌进行一级液体扩大培养，接种量为 10%~20%；对一级液体扩大培养后的侧孢芽孢杆菌进行二级液体扩大培养，接种量 10%~20%；制备得到侧孢芽孢杆菌菌液；

所述地衣芽孢杆菌菌液通过以下方法制备得到：将 4℃ 保存的地衣芽孢杆菌活化，在 30~35℃ 摇瓶中用胰蛋白胨大豆培养基培养 24 小时；对活化后的地衣芽孢杆菌进行一级液体扩大培养，接种量为 10%~20%；对一级液体扩大培养后的地衣芽孢杆菌进行二级液体扩大培养，接种量 10%~20%；制备得到地衣芽孢杆菌菌液；

其中，胰蛋白胨大豆培养基的配方如下(g/L)：胰蛋白胨 17.0，大豆蛋白胨 3.0，氯化钠 5.0，磷酸氢二钾 2.5，葡萄糖 2.5，pH7.1~7.5，121℃ 高压灭菌 15 分钟。

~~3. 根据权利要求 1 所述的水产用复合微生态制剂，其特征在于，所述~~的干酪乳杆菌菌液通过以下方法制备得到：将 4℃ 保存的地衣芽孢杆菌活化，在 28~30℃ 摇瓶中用常规 MRS 培养基培养 48 小时；对活化后的干酪乳杆菌进行一级液体扩大培养，接种量为 10%~20%；对一级液体扩大培养后的干酪乳杆菌进行二级液体扩大培养，接种量 10%~20%；制备得到干酪乳杆菌菌液；常规 MRS 培养基的配方如下(g/L)：蛋白胨 10.0，牛肉粉 8.0，酵母粉 4.0，葡萄糖 20.0，磷酸氢二钾 2.0，柠檬酸氢二铵 2.0，乙酸钠 5.0，硫酸镁 0.2，硫酸锰 0.04，吐温 80 1.0，pH5.5~5.9，118℃ 高压灭菌 15 分钟。

~~4. 一种水产用复合微生态制剂的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：~~

步骤 1、制备侧孢芽孢杆菌菌液：

步骤 2、制备地衣芽孢杆菌菌液：

步骤 3、制备干酪乳杆菌菌液：

步骤 4、按照重量百分比称量以下组分：侧孢芽孢杆菌菌液 30% ~ 40%，
干酪乳杆菌菌液 30% ~ 40%，地衣芽孢杆菌菌液 20% ~ 30%，以上重量百分比总量为 100%；

步骤 5、将称量好的侧孢芽孢杆菌菌液、干酪乳杆菌菌液和地衣芽孢杆菌菌液进行混合，制备得到水产用复合微生态制剂。

5. 根据权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 1 中的侧孢芽孢杆菌菌液通过以下方法制备得到：

步骤 1.1、将 4℃ 保存的侧孢芽孢杆菌活化，在摇瓶中用胰蛋白胨大豆培养基培养；

步骤 1.2、对活化后的侧孢芽孢杆菌进行一级液体扩大培养；

步骤 1.3、对一级液体扩大培养后的侧孢芽孢杆菌进行二级液体扩大培养；制备得到侧孢芽孢杆菌菌液。

6. 根据权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 2 中的地衣芽孢杆菌菌液通过以下方法制备得到：

步骤 2.1、将 4℃ 保存的地衣芽孢杆菌活化，在摇瓶中用胰蛋白胨大豆培养基培养；

步骤 2.2、对活化后的地衣芽孢杆菌进行一级液体扩大培养，

步骤 2.3、对一级液体扩大培养后的地衣芽孢杆菌进行二级液体扩大培养；制备得到地衣芽孢杆菌菌液。

7. 根据权利要求 5 或 6 所述的制备方法，其特征在于，胰蛋白胨大豆培养基的配方如下(g/L)：胰蛋白胨 17.0，大豆蛋白胨 3.0，氯化钠 5.0，磷酸氢二钾 2.5，葡萄糖 2.5，pH7.1 ~ 7.5，121℃ 高压灭菌 15 分钟。

8. 根据权利要求 5 或 6 所述的制备方法，其特征在于，步骤 2.1 中的培养时间为 24 小时，培养温度为 30 ~ 35℃；步骤 2.2 中的接种量为 10% ~

20%；步骤 2.3 中的接种量为 10%~20%。

96. 根据权利要求 42 所述的制备方法，其特征在于，所述的干酪乳杆菌菌液通过以下方法制备得到：

步骤 3.1、将 4℃ 保存的地衣芽孢杆菌活化，在 28~30℃ 摇瓶中用常规 MRS 培养基培养 48 小时；

步骤 3.2、对活化后的干酪乳杆菌进行一级液体扩大培养，接种量为 10%~20%；

步骤 3.3、对一级液体扩大培养后的干酪乳杆菌进行二级液体扩大培养，接种量 10%~20%；制备得到干酪乳杆菌菌液。

107. 根据权利要求 95 所述的制备方法，其特征在于，常规 MRS 培养基的配方如下(g/L)：蛋白胨 10.0，牛肉粉 8.0，酵母粉 4.0，葡萄糖 20.0，磷酸氢二钾 2.0，柠檬酸氢二铵 2.0，乙酸钠 5.0，硫酸镁 0.2，硫酸锰 0.04，吐温 80 1.0，pH5.5~5.9，118℃ 高压灭菌 15 分钟。