

# 说明书

## 一种太子参微生态制剂及其制备方法与应用

### 技术领域

本发明涉及大黄鱼饲料添加剂，尤其是涉及一种太子参微生态制剂及其制备方法与应用。

### 背景技术

随着大黄鱼养殖规模的扩大、养殖密度的增加及主要以鲜杂鱼为饵料使其病害频发、生长缓慢等问题日益突出，传统方法用抗生素和化学药物防治鱼病存在抗药性、毒副作用，严重危害养殖动物及人体的安全与健康。因此，开发并利用能促进养殖水产动物生长、增强抗病能力的环保型饲料添加剂是水产养殖业面临的新的挑战。

太子参具有纯天然、无药残、无抗药性和毒副作用小等特点，可以作为饲料添加剂应用于大黄鱼养殖中，但太子参为植物源性药材，其有效成分较为复杂且多存在于细胞的胞浆中，植物细胞壁结构致密的纤维素、半纤维素等组成，中药活性成分难以被提取，吸收利用率低，效果不理想而造成资源浪费。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种太子参微生态制剂及其制备方法与应用。

为了解决现有技术存在的问题，本发明采用的技术方案是：

第一个方面，本发明提供一种太子参微生态制剂的制备方法，包括以下步骤：

(1) 制备太子参根须提取物：

将太子参块根洗净风干，研磨成粉，过 50-70 目筛后末置圆底底烧瓶中，加 75-85% 乙醇，水浴  $90 \pm 1^\circ\text{C}$  回流提取 2-4h，趁热过滤，残渣用  $95 \pm 1^\circ\text{C}$  超纯水浸提 3-5h 后过滤，两次滤液混合、浓缩，去除水分，得到太子参提取液，保存于  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  冰箱中备用；

(2) 将太子参根须提取物经益生菌摇床发酵培养 23-25h 制成太子参微生态制剂，置于  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  冰箱备用。

本步骤太子参根须提取物采用上述特定的方法进行提取后，有利于太子参多糖、皂甙等营养成分和活性物质的析出，再与益生菌摇床发酵培养这一步骤相结合，才可以最大程度发挥太子参的营养和药用价值，从而促进生长。发明人经过多次实验发现，如果将太子参的提取方法改成水提法，并不能显著提高大黄鱼生长性能。

进一步地，所述太子参根须提取物的浓度为 35-45mg/mL，优选为 40mg/mL。如果太子参根须提取物的浓度小于 35mg/mL，无法提高太子参多糖、皂甙等营养成分和活性物质的析出，如果太子参根须提取物的浓度大于 45mg/mL，其效果并没有随着浓度的增加而产

## 说明书

生明显变化。

进一步地，益生菌接种量为 4-6%，优选为 5%。

进一步地，所述益生菌为产朊假丝酵母、枯草芽孢杆菌或植物乳酸菌。

进一步地，所述产朊假丝酵母在  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ，190-210r/min 条件下培养。

发明人经过大量实验发现，步骤（1）制备的太子参提取物与产朊假丝酵母只有在  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ，190-210r/min 条件下培养，效果是最好的，太子参多糖、皂甙等营养成分和活性物质的析出能达到最多。

进一步地，所述枯草芽孢杆菌和植物乳酸菌在  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ，170-190r/min 条件下培养。

发明人经过大量实验发现，步骤（1）制备的太子参提取物在用枯草芽孢杆菌或植物乳酸菌进行摇床发酵时，只有在  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ，170-190r/min 条件下培养，才能获得最好的效果，太子参多糖、皂甙等营养成分和活性物质的析出能达到最多。

第二个方面，本发明提供一种太子参微生态制剂，采用上述第一个方面所述的制备方法制备而成。

第三个方面，本发明提供上述第二个方面所述的太子参微生态制剂在大黄鱼饲料添加剂上的应用。

第四个方面，本发明提供一种大黄鱼饲料，包括上述第二个方面所述的太子参微生态制剂。

进一步地，所述太子参微生态制剂的添加量是饲料质量的 0.4-0.6%。

本发明所具有的优点和有益效果是：

本发明太子参微生态制剂中特定的益生菌与太子参提取液按照特定方法特定比例组配后，两者可以起到协同增效的作用，可以提高太子参多糖、皂甙等营养成分和活性物质的析出，有利于加快大黄鱼的吸收，最大程度发挥太子参的营养和药用价值，从而促进生长；还可以产生多种消化酶类和抑菌物质<sup>错误!未找到引用源。</sup>，可提高消化道内消化酶的生物活性，促使大黄鱼可以更好地消化和吸收胃肠道中的营养物质，提高饲料利用率，并提高抗病能力，从而提高大黄鱼成活率，并且具有显著提高大黄鱼生长性能的作用。

### 附图说明

图 1 为太子参微生态制剂对大黄鱼成活率的影响；图 1 中不同字母表示显著性差异显著（ $P < 0.05$ ）

图 2 为太子参微生态制剂对大黄鱼生长性能的影响；图 2 中不同字母表示显著性差异显著（ $P < 0.05$ ）；图中：A 为体重绝对增加率；B 为绝对增长率；

图 3 为太子参微生态制剂对大黄鱼血清抗氧化酶活性的影响；图 3 中不同字母表示

## 说明书

显著性差异显著 ( $P < 0.05$ )；图中 A 为血清 SOD 活性，B 为血清 CAT 活性，C 为血清 GSH-Px 活性；

图 4 为太子参微生态制剂对大黄鱼非特异性免疫酶活性的影响；图 4 中不同字母表示显著性差异显著 ( $P < 0.05$ )，图中 A 为血清 ACP 活性，B 为血清 AKP 活性，C 为血清 LZM 活性。

### 具体实施方式

下面将结合本申请实施例中的附图，对本申请实施例中的技术方案进行清楚地描述，显然，所描述的实施例是本申请一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本申请中的实施例，本领域普通技术人员获得的所有其他实施例，都属于本申请保护的范围。

下述实施例中的实验方法，如无特殊说明，均为常规方法，按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。下述实施例中所用的材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

#### 实施例 1

本实施例提供一种太子参微生态制剂，其制备方法，包括以下步骤：

(1) 制备太子参提取液：

①将太子参块根洗净风干，研磨成粉，过 60 目筛，得到太子参块根粉末；

②将 100g 太子参块根粉末置于圆底烧瓶中，加入体积浓度为 80%乙醇溶液，加入量为 10 倍重量体积比，水浴 90℃回流提取 3h；

③趁热过滤，残渣用约 10 倍重量体积比的 95℃超纯水浸提 4h 后过滤；

④两次滤液混合、浓缩，去除水分，得到浓度为 40mg/mL 的太子参提取液，保存于 4℃冰箱中备用。

⑤将太子参提取液经产朊假丝酵母菌在 30℃，200r/min 条件下摇床发酵培养 24h 制成太子参微生态制剂，置于 4℃冰箱备用。其中产朊假丝酵母菌接种量为 5%。

#### 实施例 2

本实施例提供一种太子参微生态制剂，本实施例与实施例 1 的区别仅仅在于，步骤⑤中太子参提取液是经枯草芽孢杆菌在 37℃，180r/min 条件下摇床发酵培养 24h 制成太子参微生态制剂，其余均同实施例 1。

#### 实施例 3

本实施例提供一种太子参微生态制剂，本实施例与实施例 1 的区别仅仅在于，步骤⑤中太子参提取液是经植物乳酸菌在 37℃，180r/min 条件下摇床发酵培养 24h 制成太子参微生态制剂，其余均同实施例 1。

# 说明书

## 对比例 1

本对比例提供一种太子参微生态制剂，本对比例与实施例 1 的区别仅仅在于，缺少步骤⑤，其余均同实施例 1。

## 实验例 1

### 1 试验材料

#### 1.1 试验用鱼

大黄鱼购置于宁德市鼎诚水产有限公司，选取体形完整、健康、活力好，平均体长 $(7.87 \pm 0.68)$  cm、体质量 $(7.77 \pm 1.99)$  g 的幼鱼。

1.2 采用实施例 1 所述的方法分别制备经产朊假丝酵母菌、枯草芽孢杆菌、植物乳酸菌发酵的太子参微生态制剂。

#### 1.3 试验饲料的制备

人工配合饲料为市售“海马”牌大黄鱼饲料，营养成分为：粗脂肪 $\geq 6.0$ ，粗蛋白 $\geq 45.0$ ，赖氨酸 $\geq 2.8$ ，粗灰分 $\leq 14.0$ ，粗纤维 $\leq 5.0$ ，钙约为 $1.0 \sim 3.0$ ，总磷 $\geq 1.0$ ，氯化钠约为 $0.5 \sim 3.0$ ，水分 $\leq 10.0$ 。通过喷洒的方式在饲料中添加饲料质量 $0.5\%$ 的太子参饲料添加剂，并置于 $4^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

### 2 试验试剂及仪器

#### 2.1 试验试剂

主要试验试剂表 1 所示：

表 1 试验所需试剂

主要试剂	生产厂家	等级
0.9%氯化钠盐水	—	福州科美生物科技有限公司
总超氧化物歧化酶（SOD）测定试剂盒	A001-3-2	南京建成生物工程研究所
过氧化氢酶（CAT）测定试剂盒	A007-1-1	南京建成生物工程研究所
谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）测定试剂盒	A006-1-1	南京建成生物工程研究所
酸性磷酸酶（ACP）测定试剂盒	A060-1-1	南京建成生物工程研究所
碱性磷酸酶（ALP/AKP）测定试剂盒	A059-1-1	南京建成生物工程研究所
溶菌酶（LZM）测定试剂盒	A050-1-1	南京建成生物工程研究所

#### 2.2 试验仪器

主要试验仪器表 2 所示：

## 说明书

表 2-2 主要试验仪器

主要仪器	型号	生产厂家
紫外可见分光光度计	T6 新世纪	北京普析通用仪器有限责任公司
电子天平	SQP (0.001)	赛多利斯科学仪器(北京)有限公司
多功能超纯水系统	Unique-S20	厦门锐思捷水纯化技术有限公司
高速冷冻离心机	SIGMA3-16KL	德国 SIGMA
电子天平	YP6102 (0.01)	上海上天精密仪器有限公司
高压灭菌器	YXQ-LS-70A	上海博迅医疗生物仪器有限公司
摇床	RDY-YC2	北京荣阳经典科技有限公司
电热恒温水浴锅	HWS-24	上海一恒科学仪器科学仪器有限公司
多功能酶标仪	3020	赛默飞世尔科技公司
超净工作台	SW-CJ-2FD	苏州安泰空气技术有限公司

### 2.3 试验设计及养殖管理

#### 2.3.1 试验设计

试验在宁德师范学院循环水养殖系统 1.5T 的桶里进行, 以在饲料中添加饲料质量 0.5% 的曝气淡水 (I 组) 为空白对照组, 添加饲料质量 0.5% 的对比例 1 制备的太子参根须提取物 (浓度为 40mg/mL) (II 组) 为太子参对照组, 设置在饲料中添加饲料质量 0.5% 实施例 1 制备的太子参微生态制剂 (III 组)、实施例 2 制备的太子参微生态制剂 (IV 组)、实施例 3 制备的太子参微生态制剂 (V 组) 为试验组, 每组各 120 尾, 设置 3 组平行试验, 养殖周期为 60d。

#### 2.3.2 养殖管理

投喂:

于每日 8:30 及 17:00 早晚定时投喂, 每次饲喂饵料为鱼体体质量的 1%~2%, 并根据大黄鱼具体摄食情况酌情调整。

养殖水环境及日常管理:

采用循环水养殖系统养殖大黄鱼, 养殖水体溶氧量大于 5.0mg/L、pH 控制在 7.9~8.2 之间、水温保持在 25.5~29℃ 之间, 氨氮保持在 0.2mg/L 以下。每日清污 2 次, 换水 1 次, 换水量为 50~80%, 及时捞取死鱼, 并做好养殖记录。

### 2.4 试验方法

#### 2.4.1 生物学测定

## 说明书

试验结束后，停止投喂饲料 1d，从每组中随机抽取 30 尾，测量（精度 0.01 cm）体长和称量（精度 0.01g）体质量、内脏重和肝脏重。各参数计算公式如下：

成活率（%）=  $N_t/N_0 \times 100\%$ ；

体重绝重绝对增加（g/d）=  $(M_2 - M_1) / (T_2 - T_1)$ ；

绝对增长率（cm/d）=  $(L_2 - L_1) / (T_2 - T_1)$ ；

式中： $N_t$ 为终末鱼尾数； $N_0$ 为初始鱼尾数； $M$ 为体质量（g）； $L$ 为体长（cm）； $M_1$ 、 $M_2$ 和  $L_1$ 、 $L_2$ 分别为时间  $T_1$ 、 $T_2$ 时的体质量（g）和体长（cm）。

### 2.4.2 血清酶活指标测定

血清的采集：

取样前停止投喂饲料 1d，从每个平行组随机挑选 3 尾试验鱼，以 1ml 注射器无菌注射器采集尾静脉血样，采集的静脉血于 4℃ 静置过夜后，次日在 4 000 r/min、4℃ 离心 10 min，取上清液冻存于 -80℃ 冰箱，用于血清酶活指标测定。

血清酶活的测定：

血清超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）、酸性磷酸酶（ACP）、碱性磷酸酶（AKP）、溶菌酶（LZM）活性按照南京建成生物工程研究所研制试剂盒中的方法、步骤和计算方式进行。

### 2.4.3 数据统计及分析

试验数据采用平均值±标准差实验数据采用平均值±标准差（mean±SD）表示，采用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差（ANOVA）及 Duncan 多重比较分析，Origin 2022 软件绘制柱状图，以  $p < 0.05$  作为差异显著标准。

## 3 结果

### 3.1 对成活率的影响

如图 1 所示，经过 60d 的养殖，试验组 V 的大黄鱼养殖成活率最高，为  $(93.33 \pm 1.73)\%$ ，显著高于其他各组（ $P < 0.05$ ）；试验组 IV、V 的大黄鱼养殖成活率均显著高于对照组（ $P < 0.05$ ），分别比对照 I 组高 11.67%、16.67%，比对照组 II 高 2.50%、7.50%；试验组 III 养殖成活率为  $(84.17 \pm 2.33)\%$ ，较对照组 I 高 7.50%，具有显著性差异（ $P < 0.05$ ），比对照组 II 低 1.67%，差异不显著（ $P > 0.05$ ）。

### 3.2 对生长性能的影响

如图 2A 所示，经过 60d 的养殖，对照组 I 体重绝对增加率最小，为  $(0.68 \pm 0.09)$  g/d，试验组 V 体重绝对增加率最大，为  $(0.91 \pm 0.14)$  g/d，且显著大于对照组（ $P < 0.05$ ）；

## 说明书

试验组IV体重绝对增加率大于对照组，但差异不显著（ $P>0.05$ ）；试验组III体重绝对增加率比对照组 I 大  $0.0467\text{g/d}$ ，较对照组 II 小  $0.0083\text{g/d}$ ，差异不显著（ $P>0.05$ ）。

如图 2B 所示，经过 60d 的养殖，试验组的大黄鱼绝对增长率均大于对照组，其中试验组IV、V 绝对增长率最大，分别为  $(0.13\pm0.13)\text{cm/d}$ 、 $(0.13\pm0.02)\text{cm/d}$ ，试验组之间差异不显著（ $P>0.05$ ）；与对照组 I 相比，试验组III、IV、V 绝对增长率分别增加  $0.027\text{g/d}$ 、 $0.036\text{g/d}$ 、 $0.0302\text{g/d}$ ，差异显著（ $P<0.05$ ）；与对照组 II 相比，试验组III、IV、V 绝对增长率分别增加  $0.0156\text{g/d}$ 、 $0.0247\text{g/d}$ 、 $0.01875\text{g/d}$ ，仅试验组IV与对照组 II 之间存在显著性差异（ $P<0.05$ ），其他两组试验组与对照组 II 之间差异不显著（ $P>0.05$ ）。

### 3.3 对血清抗氧化酶活的影响

如图 3A 所示，经过 60d 的养殖，试验组III大黄鱼血清 SOD 活性最高，为  $(354.35\pm1.92)\text{U/mL}$ ，但与对照组之间差异不显著（ $P>0.05$ ），比试验组 V 高  $14.04\text{U/mL}$ ，差异显著（ $P<0.05$ ），较试验组IV高  $13.24\text{U/mL}$ ，差异不显著（ $P>0.05$ ）；试验组IV血清 SOD 活性高于对照组 II，小于对照组 I，但差异不显著（ $P>0.05$ ）；试验组IV血清 SOD 活性低于对照组，但差异不显著（ $P>0.05$ ）。

如图 3B 所示，经过 60d 的养殖，在大黄鱼血清 CAT 活性中，各试验组均显著低于对照组（ $P<0.05$ ），试验组 V 最低，为  $(208.50\pm13.97)\text{U/mL}$ ，对照组 II 血清 CAT 活性最大，为  $(306.88\pm16.05)\text{U/mL}$  且高于对照组 I，但差异不显著（ $P>0.05$ ）。

如图 3C 所示，经过 60d 的养殖，在大黄鱼血清 GSH-PX 活性中，试验组IV活性最大，为  $(1148.57.46\pm91.87)\text{U/mL}$ ；显著高于对照组 II（ $P<0.05$ ），与对照组 I 差异不显著（ $P>0.05$ ）；试验组III、V 显著低于对照 I 组（ $P<0.05$ ），与对照组 II 相比，试验组III血清 GSH-PX 活性高于对照组 II，但差异不显著（ $P>0.05$ ），试验组 V 活性低于试验组 II，差异显著（ $P<0.05$ ）。

### 4 对血清非特异性免疫酶活的影响

如图 4A 所示，经过 60d 养殖后，试验III组大黄鱼血清 ACP 活性  $(254.27\pm60.34)\text{U/L}$  高于对照组，较对照 I 组高  $37.40\text{U/L}$ ，差异不显著（ $P>0.05$ ），较对照 II 组高  $70.75\text{U/L}$ ，差异显著（ $P<0.05$ ），并且显著高于试验组IV、V（ $P<0.05$ ）；试验组IV、V 血清 ACP 活性低于对照组，其中试验组IV与对照组差异不显著（ $P>0.05$ ），试验组 V 血清 ACP 活性最低，为  $(139.55\pm13.03)\text{U/L}$ ，显著低于对照组 I（ $P<0.05$ ），但较对照组 II 差异不显著（ $P>0.05$ ）。

如图 4B 所示，经过 60d 的养殖，对照 II 组大黄鱼血清 AKP 活性最高，为  $(30.87\pm6.18)\text{U/L}$ ，试验 V 组活性最低，为  $(26.00\pm3.82)\text{U/L}$ ；试验组III、IV血清 AKP 活性

## 说明书

略高于对照组 I，试验组 V 低于对照组 I，但差异均不显著 ( $P>0.05$ )；与对照组 II 相比，试验组均低于对照组 II，但差异不显著 ( $P>0.05$ )，各组间血清 AKP 活性均差异不显著 ( $P>0.05$ )。

如图 4C 所示，经过 60d 的养殖，试验组大黄鱼血清 LZM 活性均高于对照组，试验组 III 血清 LZM 活性最高，为  $(309.49 \pm 48.76)$  U/mL，较对照组 I 增加 2.07U/mL，较对照组 II 增加 1.67U/mL，差异显著 ( $P<0.05$ )；试验组 IV 与对照组差异不显著 ( $P>0.05$ )；试验组 V 血清 LZM 活性显著高于对照组 I ( $P<0.05$ )，与对照组 II 差异不显著 ( $P>0.05$ )。

通过实验例 1 可知：

1、本试验养殖 60d 后，本发明实施例 1-3 制备的太子参微生态制剂具有显著提高大黄鱼的生长性能的作用，并且效果好于太子参提取液组，这是由于特定种类的益生菌与太子参按照特定方法特定比例组配后，可以起到协同增效的作用，进而提高太子参多糖、皂甙等营养成分和活性物质的析出，有利于加快大黄鱼的吸收，促进生长；还可以产生多种消化酶类和抑菌物质<sup>错误!未找到引用源。</sup>，提高消化道内消化酶的生物活性，促使大黄鱼更好地消化和吸收胃肠道中的营养物质，提高饲料利用率，并提高抗病能力，从而使得提高大黄鱼成活率。

2、在本试验中仅经产朊假丝酵母菌发酵而来的太子参微生态制剂组可提高血清中 SOD 活性，但差异不显著 ( $P>0.05$ )；各试验组的血清 CAT 酶活均显著低于对照组 ( $P<0.05$ )，说明养殖时间会影响大黄鱼血清 SOD、CAT 活性。

仅经枯草芽孢杆菌发酵而来的太子参微生态制剂血清 GSH-Px 活性高于对照组 ( $P<0.05$ )，较空白对照组差异不显著 ( $P>0.05$ )，较太子参组差异显著 ( $P<0.05$ )，这可能跟养殖时间长短、试验动物、中药种类及益生菌种类不同有关系。

3、在本研究中，饲料中添加经产朊假丝酵母菌发酵而来的太子参微生态制剂能够显著提大黄鱼血清 ACP、LZM 活性 ( $P<0.05$ )，且经发酵后效果更好，而对血清 AKP 活性的影响无显著性 ( $P>0.05$ )，这说明在饲料中按照特定比例特定方法添加经产朊假丝酵母菌发酵而来的太子参微生态制剂能显著改善大黄鱼的非特异性免疫性能，从而增强鱼体免疫力。从实验例 1 可知，太子参提取液组大黄鱼 LZM 活性高于空白对照组，且经产朊假丝酵母菌发酵而来的太子参微生态制剂能够极显著提大黄鱼血清 ACP、LZM 活性 ( $P<0.01$ )，可能是因为益生菌可以刺激鱼体的非特异性免疫系统，增强机体抵御疾病的能力。

本次试验探究太子参微生态制剂添加到饲料中对大黄鱼成活率、生长、血液免疫的影响，试验证明：经植物乳酸菌发酵的太子参微生态制剂对提高大黄鱼的成活率、生长性能效果最好，成活率为  $(93.33 \pm 1.73)\%$ 、体重绝对增加率为  $(0.91 \pm 0.14)$  g/d、绝



## 说明书

---

对增长率为 $(0.13 \pm 0.02)$  cm/d, 均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。通过清酶活测定, 各实施例组对大黄鱼血清抗氧化酶活的影响并不显著 ( $P > 0.05$ )；经产朊假丝酵母菌发酵的太子参微生态制剂对大黄鱼的非特异性免疫具有促进效果, 血清 ACP 活性为 $(254.27 \pm 60.34)$  U/L, 显著高于对照 II 组 ( $P < 0.05$ )，但较对照 I 组差异不显著 ( $P > 0.05$ )；血清 AKP 活性为 $(29.02 \pm 3.29)$  U/L, 与对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ )；血清 LZM 活性为 $(309.49 \pm 48.76)$  U/mL, 显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。

上面结合附图对本申请的实施例进行了描述, 但是本申请并不局限于上述的具体实施方式, 上述的具体实施方式仅仅是示意性的, 而不是限制性的, 本领域的普通技术人员在本申请的启示下, 在不脱离本申请宗旨和权利要求所保护的范围情况下, 还可做出很多形式, 均属于本申请的保护之内。