(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 102220262 A (43)申请公布日 2011.10.19

(21)申请号 201110110752.X

(22)申请日 2011.04.29

(71) 申请人 哈尔滨恩瑞科技发展有限公司 地址 150001 黑龙江省哈尔滨市南岗区铁岭 街 21 号 801 室

 $C12R \ 1/10 (2006.01)$

C12R 1/11 (2006.01)

C12R 1/07(2006.01)

 $C12R \ 1/545 (2006.01)$

C12R 1/01 (2006.01)

(72) 发明人 王金晶

(51) Int. CI.

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 1/16 (2006.01)

CO2F 3/34 (2006. 01)

A23K 1/16 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

C12R 1/74 (2006.01)

 $C12R \ 1/72 (2006.01)$

C12R 1/645 (2006.01)

C12R 1/125 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

一种复合微生态制剂及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种复合微生态制剂及其制备方法,含有片球菌含量为20~35%、芽孢杆菌含量为15~30%、酵母菌含量为25~40%、放线菌含量为5~20%,活菌总数50亿以上,掺入保护剂及吸附剂后可包装为液态、固态或粉末态。本专利生产的微生态菌剂,活菌浓度均高、产品中残留的主要发酵营养成份少,保质期长、使用效果显著及长效性等优点。制剂中所含微生物繁殖能力强,易形成有益的优势菌,可调整动物体内在营养、免疫、生长刺激、生物拮抗等方面发挥着重要作用的微生态平衡,增强其微生态的自我调节能力,防治并减少疾病的发生,提高宿主健康水平,可广泛应用作各类饲料添加剂、饲料改良剂、水体改良剂、土壤改良剂。

- 1. 一种复合微生态制剂,其特征在于含有片球菌、芽孢杆菌、酵母菌及放线菌。
- 2. 权利要求 1 所述的微生态制剂,其特征在于片球菌含量为 20-35%、芽孢杆菌含量为 15-30%、酵母菌含量为 25-40%、放线菌含量为 5-20%,活菌总数 50 亿以上。
- 3. 权利要求 1 所述的微生态制剂,其特征在于所述酵母菌是啤酒酵母、热带假丝酵母、德克酵母、产朊假丝酵母的一种或全部或部分组合;芽孢杆菌是枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌的一种或全部或部分组合;放线菌可以是灰色链霉菌、棘孢小单胞菌、绛红小单胞菌的一种或全部或部分组合;片球菌为啤酒片球菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌的一种或全部或部分组合。
- 4. 权利要求1所述的微生态制剂,其特征在于还含有保护剂,保护剂为无机盐混合物、低聚糖、木糖醇、甘露醇、甘油、脱脂乳中的一种或两种以上的混合物。
- 5. 权利要求1所述的微生态制剂,其特征在于还含有保护剂及吸附剂,保护剂为无机 盐混合物、低聚糖、木糖醇、甘露醇、甘油、脱脂乳中的一种或两种以上的混合物;吸附剂为 沸石粉、硅藻土、草木灰的一种或两种以上的混合物。
 - 6. 权利要求 1-5 任一所述的微生态制剂,其特征在于其形态为液态、固态或粉末态。
- 7. 制备权利要求 1 所述微生态制剂的方法, 其特征在于将片球菌 20-35 份、芽孢杆菌 15-30 份、酵母菌 25-40 份及放线菌 5-20 份与保护剂混匀, 控制活菌总数在 50 亿以上。
- 8. 权利要求 7 所述的方法, 其特征在于将片球菌 20-35 份、芽孢杆菌 15-30 份、酵母菌 25-40 份及放线菌 5-20 份与保护剂、吸附剂充分混匀后, 低温干燥, 控制活菌总数在 50 亿以上。
- 9. 权利要求 8 所述的方法, 其特征在于所述保护剂用量为 0.5-5 份, 吸附剂用量为 5-20 份。
 - 10. 权利要求1所述微生态制剂在水体净化或养殖行业中的应用。

一种复合微生态制剂及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及养殖水体用净水剂及其制备方法,尤其是一种微生态生物净水剂。

背景技术

[0002] "养鱼先养水",水质好坏是水产养殖成败的关键。近年来,随着水产养殖集约化、规模化生产的发展,养殖环境有日趋恶化,水产养殖业面临着一系列严重的问题:水质恶化、爆发性疾病频发、有害藻类繁生、化学药物滥用、水产品安全性下降等等,其中水质恶化是所有问题中最根本的问题,极大地抑制了水产养殖产量的增长和水产贸易的发展。水质因子对养殖成败和产量的影响十分显著。一般情况下,水体在有益菌的作用下,氦循环处于一种稳定的状态,水中氦氮及亚硝态氮维持正常水平。正是由于水质的恶化,引起了水产动物疾病的频繁爆发,进而加剧抗生素等化学药物滥用,最终导致水产品安全性下降。如2004年对虾中磺胺等化学药物的残留问题,美国和日本通过绿色技术壁垒同时限制我国对虾产品的出口,致使对虾价格直线下降,给虾农造成了极大的经济损失,水产品的安全性问题已成为影响我国水产品质量、效益与市场竞争力的关键问题!因此,如何改善和修复水质,进而提高水产品品质和养殖效益,是当前水产养殖业迫切需要解决的问题。

[0003] 抗生素作为饲料添加剂的应用开始于20世纪40年代,在抑制病原微生物的繁殖,减少其代谢毒素对动物的毒害作用等方面都起到了积极的作用。但长期使用抗生素,特别是滥用抗生素,其种种弊端也逐渐显露出来。如导致动物胃肠道正常菌群失调,对动物机体免疫力产生不良影响,产生耐药性和药物残留等副作用,给养殖动物和作为产品消费者的人类的健康都带来了潜在危害。因此,欧盟、美国等许多国家和地区相继从立法上限制了抗生素在水产养殖上的使用。开发安全、优质、营养的无公害绿色水产品已成为当今社会的共识。

[0004] 微生态制剂是在微生态学理论的指导下,调整生态失调保持微生态平衡,提高环境中宿主健康水平或增进健康状态的生理性活菌制品(微生物)及其代谢产物以及促进这些生理菌群生长繁殖的物质制品。对水环境治理而言,微生态制剂具有无毒、无副作用、无残留和不产生抗药性等特点,能够有效改善养殖生态环境,调节水体质量、消除氨氮等污染、增强养殖对象的免疫力,在健康水产养殖中发挥十分重要的作用。用微生态制剂进行水产养殖动物病害的防治是近年发展起来的一种新方法,具有无毒、无副作用、无残留的优点。微生态制剂是基于微生态平衡理论、微生态营养理论及微生态防治理论而发展起来的微生物产品,它对动物疾病的防治是一种主动形式的防治。但是现有的大多数微生物产品都是好氧产品,在使用的同时必须要配合增氧产品的使用,否则会引起缺氧现象的产生。且现有的微生物产品中菌种一般比较单一,不能很好地发挥不同菌种间的协同作用。众多研究表明,当向水体添加有益微生物,通过大量繁殖成为优势种群可抑制有害病菌的生长,同时通过有益微生物的新陈代谢,可降低水中过剩的营养物质和其他有害物质,对去除水体中的氨态氮、有机质、降低 BOD、COD 和增加溶解氧等方面有明显的调节作用,同时也调节水体的 pH值,促进底泥中氮磷的释放,以促进浮游生物的生长。

[0005] 近年来,微生态制剂正广泛应用到养殖的各个环节,越来越受到人们的关注和认可。当前,在养殖水体水质净化领域,已应用于生产的菌种有十多种,多为从国外进口或应用于畜禽的菌种。微生态制剂已成为杀菌剂、消毒剂的替代环保型产品。但是,我国微生态制剂研究应用开始较晚,现在的产品主要是单一菌种的微生态制剂。这种制剂施用效果单一,在生产上难以替代抗生素。由于水产养殖环境复杂多变,目前市场上的微生态制剂存在产品性状不稳定,有效活菌数少,使用效果不理想等问题。另外产品的保质期较短,以及缺乏规范的使用技术等,制约了微生态制剂在水产养殖业的推广应用。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是提供一种用于净化水质的复合微生态制剂,含有片球菌、芽孢杆菌、酵母菌及放线菌。

[0007] 酵母菌是啤酒酵母、热带假丝酵母、德克酵母、产朊假丝酵母的一种或全部或部分组合;芽孢杆菌是枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌的一种或全部或部分组合;放线菌可以是灰色链霉菌、棘孢小单胞菌、绛红小单胞菌的一种或全部或部分组合;片球菌为啤酒片球菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌呢的一种或全部或部分组合。

[0008] 所述微生态制剂活菌总数 50 亿以上,其中片球菌含量为 20-35%、芽孢杆菌含量为 15-30%、酵母菌含量为 25-40%、放线菌含量为 5-20%。

[0009] 所述微生态制剂还含有保护剂,为低聚糖、木糖醇、甘露醇、甘油、脱脂乳中的一种或两种以上的混合物。

[0010] 所述微生态制剂还含有吸附剂,为沸石粉、硅藻土、草木灰的一种或两种以上的混合物。

[0011] 所述微生态制剂形态为液态、固态或粉末态。

[0012] 本发明要解决的另一个技术问题是提供一种制备所述微生态制剂的方法。

[0013] 酵母菌的培养:将出发菌株按斜面、液体种子、液体发酵的顺序培养,培养基为常规 YPD 酵母培养基;培养条件为 25-35℃通风培养 36-72 小时,活菌数≥ 50 亿个/mL。

[0014] 芽孢杆菌的培养:将出发菌株按斜面、液体种子、液体发酵的顺序培养,培养基常规营养琼脂培养基或肉汤培养基;培养条件为25-40℃培养36-48小时,活菌数≥100亿个/mL。

[0015] 放线菌的培养:将出发菌株按斜面、液体种子、液体发酵的顺序培养,培养基为常规察式培养基;培养条件为 25-40℃通风培养 36-72 小时,活菌数≥ 50 亿个/mL。

[0016] 片球菌的培养:将出发菌株按斜面、液体种子、液体发酵的顺序培养,培养基为改良 MRS 培养基基础;培养条件为 25-35℃通风培养 36-72 小时,活菌数≥ 50 亿个/mL。

[0017] 液体微生态制剂的制备:将上述制备的各类益生菌按照片球菌 20-35 份、芽孢杆菌 15-30 份、酵母菌 25-40 份及放线菌 5-20 份与保护剂混匀,保护剂用量为 0.5-5 份,控制活菌总数在 50 亿/mL 以上,密封装袋。

[0018] 粉末微生态制剂的制备:将上述制备的各类益生菌按照片球菌 20-35 份、芽孢杆菌 15-30 份、酵母菌 25-40 份及放线菌 5-20 份与保护剂、吸附剂充分混匀,保护剂用量为 0.5-5 份,吸附剂用量为 5-20 份,低温干燥真空包装,控制活菌总数在 50 亿/mL 以上。

[0019] 本专利生产的微生态菌剂,活菌浓度均高、产品中残留的主要发酵营养成份少,保

质期长、使用效果显著及长效性等优点。制剂中所含微生物繁殖能力强,易形成有益的优势菌,可用作各类饲料添加剂、饲料改良剂、水体改良剂、土壤改良剂。通过制剂中有益菌群来调整动物体内在营养、免疫、生长刺激、生物拮抗等方面发挥着重要作用的微生态平衡,抑制致病菌的生长,促进动物自身有益微生物的生长,增强其微生态的自我调节能力,防治并减少疾病的发生,提高宿主健康水平;在水产养殖中应用的微生态制剂,还能通过对水体有害物质的分解、病原菌的抑制及水体有益菌群的培育,来改善水质,维持水体生态平衡。该产品在水产中用于养殖水体的水质净化,淡、海水养殖全过程均可使用。每亩(水深1米)首次施放1斤,以后根据水质污染程度的轻重,每20-30天施放0.5-1公斤。可以长时间保持水质状况良好。环保方面,根据水质污染程度的轻重,施加不同的用量。

具体实施方式

[0020] 实例 1 复合微生态制剂的制备

乳酸片球菌、啤酒酵母、枯草芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养。将上述制备的各类益生菌按照片球菌20份、芽孢杆菌30份、酵母菌25份及放线菌20份与低聚麦芽糖5份充分混匀,控制活菌总数在50亿/mL以上,密封装袋。

[0021] 实例 2 复合微生态制剂的制备

啤酒片球菌、啤酒酵母、敌意芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养。 将上述制备的各类益生菌按照片球菌 35份、芽孢杆菌 15份、酵母菌 40份及放线菌 9.5份与木糖醇 0.5份充分混匀,控制活菌总数在 50亿/mL以上,密封装袋。

[0022] 实例 3 复合微生态制剂的制备

乳酸片球菌、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌、棘孢小单胞菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养。将上述制备的各类益生菌按照片球菌30份、芽孢杆菌20份、酵母菌40份及放线菌5份与甘露醇5份充分混匀,控制活菌总数在50亿/mL以上,密封装袋。

[0023] 实例 4 复合微生态制剂的制备

啤酒片球菌、德克酵母、解淀粉芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养。将上述制备的各类益生菌按照片球菌22份、芽孢杆菌28份、酵母菌35份及放线菌14份与脱脂乳1份充分混匀,控制活菌总数在50亿/mL以上,密封装袋。

[0024] 实例 5 复合微生态制剂的制备

乳酸片球菌、啤酒酵母、枯草芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养。将上述制备的各类益生菌按照片球菌30份、芽孢杆菌20份、酵母菌25份及放线菌20份与保护剂混匀,甘油5份充分混匀,控制活菌总数在50亿/mL以上,密封装袋。

[0025] 实例 6 复合微生态制剂的制备

乳酸片球菌、啤酒酵母、枯草芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养,滤膜过滤浓缩获得干菌体。将上述

制备的各类益生菌按照片球菌 20 份、芽孢杆菌 30 份、酵母菌 25 份及放线菌 15 份与低聚麦芽糖 5 份、沸石粉 5 份充分混匀,控制活菌总数在 50 亿 /g 以上,低温干燥,真空密封装袋。 [0026] 实例 7 复合微生态制剂的制备

啤酒片球菌、啤酒酵母、敌意芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养,滤膜过滤浓缩获得干菌体。将上述制备的各类益生菌按照片球菌30份、芽孢杆菌15份、酵母菌25份及放线菌9.5份与木糖醇0.5份、草木灰20份充分混匀,控制活菌总数在50亿/g以上,低温干燥,真空密封装袋。

[0027] 实例 8 复合微生态制剂的制备

乳酸片球菌、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌、棘孢小单胞菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到1500L发酵罐进行液体发酵培养,滤膜过滤浓缩获得干菌体。将上述制备的各类益生菌按照片球菌25份、芽孢杆菌20份、酵母菌40份及放线菌5份与甘露醇5份、硅藻土20份充分混匀,控制活菌总数在50亿/g以上,低温干燥,真空密封装袋。

[0028] 实例 9 复合微生态制剂的制备

啤酒片球菌、德克酵母、解淀粉芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到 1500L 发酵罐进行液体发酵培养,滤膜过滤浓缩获得干菌体。 将上述制备的各类益生菌按照片球菌 22 份、芽孢杆菌 22 份、酵母菌 35 份及放线菌 14 份与脱脂乳 1 份、草木灰 6 份充分混匀,控制活菌总数在 50 亿/g 以上,低温干燥,真空密封装袋。

[0029] 实例 10 复合微生态制剂的制备

乳酸片球菌、啤酒酵母、枯草芽孢杆菌、灰色链霉菌分别按上述相应的培养基及培养条件,分别扩大到 1500L 发酵罐进行液体发酵培养,滤膜过滤浓缩获得干菌体。 将上述制备的各类益生菌按照片球菌 30 份、芽孢杆菌 20 份、酵母菌 25 份及放线菌 15 份与保护剂混匀,甘油 5 份、沸石粉 5 份充分混匀,控制活菌总数在 50 亿/g 以上,低温干燥,真空密封装袋。

[0030] 实施例 11 复合微生态制剂的活性分析:

取复合微生态制剂 1 克,进行常规活菌计数。结果表明各种菌活菌均在 50 亿个 / 克以上,明显优于目前市售的同类产品,并且一年后的存活率在 80%以上。

[0031] 实例 12 应用试验

使用 1 立方米水池 3 个,取太湖底黑臭污泥,在缸中铺置 8cm。试验用水取自无锡境内太湖水,每缸水加至高 50cm,静置 24 小时后试验,试验组使用实施例 7 中所制备的微生态菌剂,按 4 ~ 5g/M² 使用,对照组为某品牌类似产品,空白组使用无菌水替代微生态制剂。每天取样测定水体中氨氮、亚硝酸盐、硫化氢、硫化氢、COD、溶氧含量及水体 PH。水质理化指标采用澳克力全自动在线水质分析仪智能型水质分析仪进行测定。试验周期为 7 天,数据记录如下表 1。

[0032] 表 1 试验水体检测表

2.77 2.77 3.77 4.77 4.77 4.77 4.77 4.77 4.77	M M	亚砷酸盐	M/C#	DO	COD	PH
	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	
空白组	0.75	0.25	0.12	543	3.04	892
试验组	0.48	0.18	0.08	9.23	5.67	8 27
riwg	0.56	0.19	0.10	7.98	7.12	8.32

从表 1 结果可看出,本发明试验的微生态制剂有明显的改善水质的作用,各项指标均优于对照的市售某品牌同类商品,与空白对照相比,体现出本微生态制剂特殊功能。

[0033] 实施例 13 应用实验

采用本发明实施例 1 制备的微生态制剂,在浙江玉环某对虾养殖场,放养密度为7000 尾/亩,按照 40~50mL/亩或者 40~50g/亩(每2个星期一次),选择位置临近,大小均为 1 亩,水深 0.8-1 米的池塘,进行微生态制剂喷洒试验。从幼虾下塘开始,每 10 天取样测定水体中氨氮、亚硝酸盐、硫化氢、硫化氢、COD、溶氧含量及水体 PH。水质理化指标采用澳克力全自动在线水质分析仪智能型水质分析仪进行测定。试验周期为 60 天,2 个池塘养殖管理条件完全一致,整个养殖过程不用其它任何药物。

[0034] 结果分析:

氨氮含量的比较:对照组的氨氮高于试验组,整个试验期间试验组氨氮的均值为 0.46mg/L,而对照组为 0.85mg/L,两组差异显著 (P < 0.05)。对照组的波动幅度较大(标准差为 0.72),且氨氮含量有上升趋势,而试验组的波动幅度相对较小(标准差为 0.34),表明该微生态制剂可以使水中的氨氮维持在一个相对稳定的状态。

[0035] 亚硝酸盐含量的比较:试验组平均亚硝酸盐含量为 0.045mg/L,明显低于对照组 0.11mg/L,差异极显著 (P < 0.01)。说明该微生态制剂可极显著降低水中亚硝酸盐的含量。 [0036] 硫化氢含量的比较:对照组的硫化氢含量高于试验组,且波动幅度较大。整个过程中试验组硫化氢的平均含量为 0.06mg/L,而对照组为 0.12mg/L,差异显著 (P < 0.05)。表明微生态制剂对降低水中的硫化氢起到显著作用。

[0037] COD 含量比较:对照组 COD 含量明显高于试验组,整个过程中试验组 COD 平均值为 6.54mg/L,对照组 COD 平均值为 8.56mg/L。表明微生态制剂对降低水体的耗氧量。

[0038] DO 含量比较:对照组 DO 含量明显低于试验组,整个过程中试验组 DO 平均值为8.33mg/L,对照组 COD 平均值为6.74mg/L。表明微生态制剂有利于水体溶氧的稳定。

[0039] PH 值比较:PH 是反应水体质量的一个重要指标,水产养殖业的最佳 PH 范围为7.8-8.6之间,使用微生态制剂的试验组,其 PH 稳定在此范围内,而对照组 PH 有上升的趋势,突波 8.6。

[0040] 本试验采用的微生态制剂,可有效降低氨氮、硫化氢、亚硝酸盐等有害物质含量,提高并维持溶氧量,有效净化水质,改善养殖水体环境。

[0041] 实施例 13 应用实验

采用本发明实施例 4 制备的微生态制剂按 2% (重量百分比)添加入生猪养殖饲料,在 浙江某生猪养殖场,进行喂养试验,周期为 3 个月。试验组生猪体重明显高于对照组,有效 的提高生猪抗病能力。

[0042] 实施例 13 应用实验

采用本发明实施例 8 制备的微生态制剂按 2.5% (重量百分比)添加入肉鸡养殖饲料,

在浙江某家禽养殖场,进行喂养试验,周期为2个月。试验组生猪体重明显高于对照组,有效的提高肉鸡抗病能力。

[0043] 以上显示了和描述了本发明的基本原理和主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中的描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下,本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内,本发明要求保护范围内所附的权利要求书及其等效物界定。