

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A23K 1/06 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810219499. X

[43] 公开日 2009 年 4 月 22 日

[11] 公开号 CN 101411389A

[22] 申请日 2008.11.28
[21] 申请号 200810219499. X
[71] 申请人 华南理工大学
地址 510640 广东省广州市天河区五山路 381 号
[72] 发明人 吴 晖 唐语谦 余以刚 李晓凤 刘冬梅

[74] 专利代理机构 广州粤高专利代理有限公司
代理人 何淑珍

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 1 页

[54] 发明名称
混合菌群微生物制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法

[57] 摘要
本发明公开了混合菌群微生物制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法。采用产朊假丝酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌通过高密度发酵，使产朊假丝酵母活菌数为 4.0×10^8 CFU/g 以上，枯草芽孢杆菌活菌数为 3.8×10^8 CFU/g 以上，鼠李糖乳杆菌活菌数为 3.0×10^8 CFU/g 以上；该制剂直接与生产酒精后的玉米残渣或其他霉菌污染的有毒饲料按 5 ~ 10g/kg 比例拌料，喷洒无菌水保持混合料的湿度 40% 以上，30 ~ 35℃ 反应 2 ~ 10h，45 ~ 50℃ 烘干后，可降解玉米酒精残渣或其他有毒饲料中的 ZEA，脱毒率达到 94% 以上，使玉米酒精残渣或其他有毒饲料成为安全的动物饲料。

1、混合菌群微生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法，其特征在于包括如下步骤：

(1) 混合菌群的微生态制剂：采用产朊假丝酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌，通过高密度发酵、离心处理和添加复配后载体制成一种混合菌群的微生态制剂；其中产朊假丝酵母活菌数为 4.0×10^8 CFU/g 以上，枯草芽孢杆菌活菌数为 3.8×10^8 CFU/g 以上，鼠李糖乳杆菌活菌数为 3.0×10^8 CFU/g 以上；

(2) 饲料的制备：将混合菌群的微生态制剂拌料到生产酒精后的玉米残渣中，每公斤生产酒精后的玉米残渣添加 5~10g 混合菌群的微生态制剂，喷洒无菌水保持混合料的湿度在 40% 以上，30~35℃ 反应 5~10 h，45~50℃ 烘干 2 h 以上，使玉米酒精残渣脱毒成为安全的饲料。

2、根据权利要求 1 所述的混合菌群微生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法，其特征在于：所述的高密度发酵包括如下步骤：

a、用平板活化酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌 1~3 天；

b、挑取单菌落接种于液体种子培养基中，28~37℃，220~250 r/min 振摇培养过夜，得到种液；

c、取种液按 5~10% 的接种量接入液体富集培养基中，28~37℃，250 r/min 振摇培养过夜，得到富集培养液；

d、将所制备的富集培养液按照 5~10% 的接种量接入发酵罐，产朊假丝酵母和枯草芽孢杆菌采用连续发酵，发酵温度控制在 28~37℃，鼠李糖乳杆菌采用补料分批发酵，发酵温度控制 30~37℃；发酵培养基初始葡萄糖浓度为 30~60 g/L，预先配制葡萄糖溶液用于补料；补料结束时，保证发酵过程总糖浓度为 40~120 g/L。

3、根据权利要求 1 所述的混合菌群微生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法，其特征在于：所述的离心处理的转速为 3000~5000 r/min。

4、根据权利要求 1 所述的混合菌群微生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法，其特征在于：所述的载体为沸石粉和 CaCO_3 复配载体，沸石粉的重量百分比为 25~75%， CaCO_3 的重量百分比为 25~75%。

混合菌群微生物生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法

技术领域

本发明涉及一种生产饲料的方法，特别是涉及混合菌群微生物生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法。

背景技术

饲料和食品霉变是全世界普遍存在的问题，据联合国粮农组织（FAO）2002年资料，全世界每年约有25%的农作物粮食被霉菌毒素污染，而我国平均每年由于霉变所引起的饲料损失占总产量的10%以上，最主要的霉变来源于镰刀菌产生的一种雌激素类真菌毒素——玉米赤霉烯酮（zearalenone, ZEA）。从各地饲料厂抽样检测发现，玉米、蛋白质饲料和配合饲料中ZEA检出率达100%，平均浓度为104.99 $\mu\text{g/kg}$ ，超标严重。

目前，霉菌毒素的脱毒技术主要采取物理脱毒法（加热、紫外线照射、有机粘土，活性炭，甘露低聚糖等）和化学脱毒法（酸碱处理，氮化处理，有机溶剂等）。

中国发明专利CN99101577.0公开了一种菜籽饼发酵脱毒新方法，将菜籽饼同发酵剂（淀粉类副产品或三七糠或玉米粉或麸皮等）按一定比例搅拌均匀，在常温20℃以上，置于发酵池（防漏防渗）内加水，水面溢出料面5厘米左右，发酵脱毒，从而得到优质饲料。

物理脱毒法主要通过吸附剂吸附去除霉菌毒素，脱毒量有限，而且加入的吸附剂大部分不能被动物消化吸收，存在吸附饲料中营养物质的不利影响。通过化学试剂的作用去除霉菌毒素，适用于玉米等籽实类大颗粒霉变饲料的处理，但费时费工，不适合大量霉变饲料的脱毒，而且对营养成分造成极大的破坏，导致处理后对健康危害的不确定性，并带来环境污染。

奥地利 Biomin GmbH 公司从一种念珠菌属微生物中筛选出来的毛孢子菌(嗜)霉菌毒素 (*Trichosporon mycotoxinivorans*)通过生物学转化效应可降解赭曲霉毒素和 ZEA。

许多微生物对真菌具有拮抗作用，例如食品级的枯草芽孢杆菌和乳酸菌可通过代谢产生有机酸或产生一些蛋白质类似物如环肽、几丁质酶等抑制真菌生长。饲料中添加枯草芽孢杆菌可发酵产淀粉酶和蛋白酶，有助于在动物肠道内直接分解、消化饲料营养成分，改善消化道食糜。而添加乳酸菌可赋予产品优良的感官性质，提升发酵饲料的安全性。

发明内容

本发明的目的在于克服现有技术的缺点，提供一种可去除玉米酒精残渣中 ZEA 毒素达94%以上的混合菌群微生物生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法。

本发明的技术方案如下：

混合菌群微生态制剂脱毒玉米酒精残渣生产饲料的方法，包括如下步骤：

(1) 混合菌群的微生态制剂：采用产朊假丝酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌，通过高密度发酵、离心处理和添加复配后载体制成一种混合菌群的微生态制剂；其中产朊假丝酵母活菌数为 4.0×10^8 CFU/g 以上，枯草芽孢杆菌活菌数为 3.8×10^8 CFU/g 以上，鼠李糖乳杆菌活菌数为 3.0×10^8 CFU/g 以上；

(2) 饲料的制备：将混合菌群的微生态制剂拌料到生产酒精后的玉米残渣中，每公斤生产酒精后的玉米残渣添加 5~10g 混合菌群的微生态制剂，喷洒无菌水保持混合料的湿度在 40% 以上，30~35℃ 反应 5~10 h，45~50℃ 烘干 2 h 以上，使玉米酒精残渣脱毒成为安全的饲料。

所述的高密度发酵包括如下步骤：

- a、用平板活化酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌 1~3 天；
- b、挑取单菌落接种于液体种子培养基中，28~37℃，220~250 r/min 振摇培养过夜，得到种液；
- c、取种液按 5~10% 的接种量接入液体富集培养基中，28~37℃，250 r/min 振摇培养过夜，得到富集培养液；
- d、将所制备的富集培养液按照 5~10% 的接种量接入发酵罐，产朊假丝酵母和枯草芽孢杆菌采用连续发酵，发酵温度控制在 28~37℃，鼠李糖乳杆菌采用补料分批发酵，发酵温度控制 30~37℃；发酵培养基初始葡萄糖浓度为 30~60 g/L，预先配制葡萄糖溶液用于补料；补料结束时，保证发酵过程总糖浓度为 40~120 g/L。

所述的离心处理的转速为 3000~5000 r/min。

所述的载体为沸石粉和 CaCO_3 复配载体，沸石粉的重量百分比为 25~75%， CaCO_3 的重量百分比为 25~75%，采用滚筒式搅拌器混合均匀。

本发明采用产朊假丝酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌作为混合菌群的主要成分，通过高密度发酵使酵母细胞浓度达到 30 g/L 以上，当菌体添加量达到 2.0×10^7 CFU/mL 时，可在 1h 内完全降解 1 mg/L ZEA。本发明中产朊假丝酵母、枯草芽孢杆菌和鼠李糖乳杆菌可从中国工业微生物菌种保藏中心购买，通过高密度发酵培养，可制成混合菌群微生态制剂，将其处理玉米酒精残渣，不但可高效降解玉米赤霉烯酮毒素，而且添加枯草芽孢杆菌有助于在动物肠道内直接分解、消化饲料营养成分，改善消化道食糜；添加乳酸菌可赋予饲料优良的感官性质，增强动物肠道抵抗力，预防和治疗腹泻，调节微生态平衡，提升发酵饲料的安全性。

本发明具有以下有益效果：

采用该混合菌群微生态制剂与玉米酒精残渣或其他有毒饲料直接拌料,可去除 ZEA 毒素达 94%以上。同时,由于添加了具有益生作用的乳杆菌和枯草芽孢杆菌,可促进动物对饲料的消化,提高增强动物肠道抵抗力,预防和治疗腹泻,调节微生态平衡,使玉米酒精残渣或其他有毒饲料成为安全的饲料,并实现了工业残渣的高值化利用。

附图说明

图 1 是实施例 2 的混合菌群微生态制剂降解 ZEA 效率曲线图。

具体实施方式

为更好理解本发明,下面结合实施例对本发明做进一步地详细说明,但是本发明要求保护的范围并不局限于实施例表示的范围。

实施例 1

1. 将保藏的产朊假丝酵母 *Candida utilis* CLY01 (购于广东省微生物研究所菌种保藏中心, GIM2.9)、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* H008 (购于广东省微生物研究所菌种保藏中心, GIM1.135) 和鼠李糖乳杆菌 *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* 6013 (购于中国工业微生物菌种保藏中心, 6013) 分别用麦芽汁固体琼脂培养基(购于广州环凯微生物有限公司)、LB 固体培养基(胰蛋白胨 10 g/L, 酵母抽提物 5 g/L, NaCl 10 g/L, 琼脂 20 g/L, pH 7.0)和乳杆菌固体培养基(葡萄糖 20 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 牛肉膏 10 g/L, 酵母粉 5 g/L, 乙酸钠 2 g/L, 柠檬酸铵 2 g/L, 吐温 80 1 mL /L, MgSO₄ · 7H₂O 0.2 g/L, K₂HPO₄ 2 g/L, MnSO₄ · H₂O 0.05 g/L, pH 6.5)各自活化培养 1 天。
2. 挑取单菌落接种于试管中的 10 mL 种子培养基(种子培养基与活化培养基成份相同, 不含琼脂)中,产朊假丝酵母 CLY01 在 28℃培养,枯草芽孢杆菌 H008 和鼠李糖乳杆菌 6013 在 37℃培养, 220 r/min 振摇培养过夜, 得到种子培养液。
3. 取种液 5 mL 接入 100 mL 液体富集培养基(富集培养基与活化培养基成份相同, 不含琼脂)中, 28~37℃, 220 r/min 振摇培养过夜, 得到富集培养液。
4. 将富集培养液按照约 5%的接种量接入发酵罐, 产朊假丝酵母 CLY01 和枯草芽孢杆菌 H008 采用连续发酵, 发酵温度分别控制在 28℃和 37℃, 鼠李糖乳杆菌 6013 采用补料分批发酵, 发酵温度控制 37℃。发酵培养基初始葡萄糖浓度为 30 g/L, 预先配制 500 g/L 葡萄糖溶液用于补料。补料结束时, 检测发酵过程总糖浓度为 118.6 g/L。
5. 经高密度发酵后检测酵母细胞浓度和降解 ZEA 效率, 当每升发酵液中干酵母量达到 30 g 以上, 而且添加 2.0×10^7 CFU/mL 菌体可在 1h 内完全降解 1 mg/L ZEA 时停止发酵; 枯草

芽孢杆菌在菌体浓度达到 8.08×10^9 CFU/mL 以上时停止发酵；鼠李糖乳杆菌在菌体浓度达到 6.50×10^8 CFU/mL 以上时停止发酵，收菌。

6. 将产朊假丝酵母 CLY01、枯草芽孢杆菌 H008 和鼠李糖乳杆菌 6013 三菌发酵液混合，4000 r/min 离心处理 5 min，最终菌泥中的活菌得率为 84.6%，其中产朊假丝酵母的含量约 2.43×10^9 CFU/g，枯草芽孢杆菌约为 2.29×10^9 CFU/g，鼠李糖乳杆菌约为 1.84×10^9 CFU/g。
7. 将载体（沸石粉和 CaCO_3 的质量百分比例为 2:1）复配后，与湿菌体以 2:1 的比例混合，产品经 55°C 干燥 2 h，含水量为 1.96%，得到混合菌群微生态制剂，其中三菌的活菌数检测如下：产朊假丝酵母约为 4.05×10^8 CFU/g，枯草芽孢杆菌约为 3.82×10^8 CFU/g，鼠李糖乳杆菌约为 3.05×10^8 CFU/g。
8. 取玉米酒精残渣样品 1 kg 粉碎，取样用 10 mL 无菌水浸泡 2 h，离心取上清液，用 ELISA 检测 ZEA 含量，计算玉米残渣样品的 ZEA 含量为 $83.96 \mu\text{g/kg}$ 。
9. 取混合菌群微生态制剂 5 g 与粉碎的玉米酒精残渣拌料并混合均匀，喷洒无菌水保持混合残渣的湿度在 40%，用搅拌机 30 r/min 均速搅拌， 30°C 反应 5 h， 45°C 烘干 2 h，取样检测其残留 ZEA 含量为 $2.96 \mu\text{g/kg}$ ，脱毒率为 96.5%，使玉米酒精残渣成为安全的动物饲料。

实施例 2

检测混合菌群微生态制剂在液体样品中降解 ZEA 的效率。取标准品 ZEA 配制成含量为 $5.23 \mu\text{g/mL}$ 的溶液 10 mL，取 0.5 g 实施例 1 步骤 7 所制成的混合菌群微生态制剂加入使反应体系中酵母菌浓度约为 2.0×10^7 CFU/mL，同时取未加入微生态制剂的 ZEA 溶液作为对照。反应条件： 30°C ，200 r/min，振荡 5 h，分别在 0.5 h，1 h，1.5 h，3 h，5 h 取样，经 5000 r/min 条件下离心 20 min，取上清液用 ELISA 检测其 ZEA 含量，将不同时间所测的实验组和对照组的 ZEA 含量作图，如图 1 所示，可清楚的看到在加入混合菌群微生态制剂反应 0~1 h 时，体系中大部分的 ZEA 被高效降解，反应 1~5 h 时，ZEA 降解速率减缓。在反应 1 h 后，实验组 ZEA 含量为 $0.26 \mu\text{g/mL}$ ，脱毒率为 95.1%。

实施例 3

取玉米酒精残渣样品 1 kg 粉碎，取样用 10 mL 无菌水浸泡 2 h，离心取上清液，用 ELISA 检测 ZEA 含量，计算配合饲料样品的 ZEA 含量约为 $107.15 \mu\text{g/kg}$ ，将粉碎的饲料样品与 10 g 实施例 1 步骤 7 所制成的混合菌群微生态制剂拌料并混合均匀，喷洒无菌水保持混合物的湿度在 40% 以上，用搅拌机 30 r/min 均速搅拌， 30°C 反应 10 h， 50°C 烘干，取样品检测其残留 ZEA 含量为 $6.43 \mu\text{g/kg}$ ，脱毒率为 94.0%。

实施例 4

取霉菌污染的蛋白质饲料样品 1 kg 粉碎，取样用 10 mL 无菌水浸泡 2 h，离心取上清液，用 ELISA 检测 ZEA 含量，计算蛋白质饲料样品的 ZEA 含量约为 110.0 $\mu\text{g/kg}$ ，将粉碎的饲料样品与 10 g 实施例 1 步骤 7 所制成的混合菌群微生态制剂拌料并混合均匀，喷洒无菌水保持混合物的湿度在 40% 以上，用搅拌机 30 r/min 均速搅拌，30℃ 反应 7 h，50℃ 烘干，取样品检测其残留 ZEA 含量为 5.67 $\mu\text{g/kg}$ ，脱毒率为 94.8%。

实施例 5

1. 将保藏的产朊假丝酵母 *Candida utilis* CLY01（购于广东省微生物研究所菌种保藏中心，GIM2.9）、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* H008（购于广东省微生物研究所菌种保藏中心，GIM1.135）和鼠李糖乳杆菌 *Lactobacillus casei* subsp. *raharmanosus* 6013（购于中国工业微生物菌种保藏中心，6013）分别用麦芽汁固体琼脂培养基（购于广州环凯微生物有限公司）、LB 固体培养基（胰蛋白胨 10 g/L，酵母抽提物 5 g/L，NaCl 10 g/L，琼脂 20 g/L，pH 7.0）和乳杆菌固体培养基（葡萄糖 20 g/L，蛋白胨 10 g/L，牛肉膏 10 g/L，酵母粉 5 g/L，乙酸钠 2 g/L，柠檬酸铵 2 g/L，吐温 80 1 mL/L， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L， K_2HPO_4 2 g/L， $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L，pH 6.5）各自活化培养 2 天。
2. 挑取单菌落接种于试管中的 10 mL 种子培养基（种子培养基与活化培养基成份相同，不含琼脂）中，产朊假丝酵母 CLY01 在 28℃ 培养，枯草芽孢杆菌 H008 和鼠李糖乳杆菌 6013 在 35℃ 培养，230 r/min 振摇培养过夜，得到种子培养液。
3. 取种液 7 mL 接入 100 mL 液体富集培养基（富集培养基与活化培养基成份相同，不含琼脂）中，28~35℃，230 r/min 振摇培养过夜，得到富集培养液。
4. 将富集培养液按照约 7% 的接种量接入发酵罐，产朊假丝酵母 CLY01 和枯草芽孢杆菌 H008 采用连续发酵，发酵温度分别控制在 28℃ 和 35℃，鼠李糖乳杆菌 6013 采用补料分批发酵，发酵温度控制 35℃。发酵培养基初始葡萄糖浓度为 30 g/L，预先配制 500 g/L 葡萄糖溶液用于补料。补料结束时，检测发酵过程总糖浓度为 111.4 g/L。
5. 经高密度发酵后检测酵母细胞浓度和降解 ZEA 效率，当每升发酵液中干酵母量达到 30 g 以上，而且添加 2.0×10^7 CFU/mL 菌体可在 1h 内完全降解 1 mg/L ZEA 时停止发酵；枯草芽孢杆菌在菌体浓度达到 8.08×10^9 CFU/mL 以上时停止发酵；鼠李糖乳杆菌在菌体浓度达到 6.50×10^8 CFU/mL 以上时停止发酵，收菌。
6. 将产朊假丝酵母 CLY01、枯草芽孢杆菌 H008 和鼠李糖乳杆菌 6013 三菌发酵液混合，3000 r/min 离心处理 5 min，最终菌泥中的活菌得率为 89.3%，其中产朊假丝酵母的含量约

- 2.47×10⁹ CFU/g, 枯草芽孢杆菌约为 2.29×10⁹ CFU/g, 鼠李糖乳杆菌约为 1.97×10⁹ CFU/g。
7. 将载体（沸石粉和 CaCO₃ 的质量百分比例为 2:1）复配后，与湿菌体以 2:1 的比例混合，产品经 55℃干燥 2 h，含水量为 1.92%，得到混合菌群微生态制剂，其中三菌的活菌数检测如下：产朊假丝酵母约为 4.12×10⁸ CFU/g，枯草芽孢杆菌约为 3.81×10⁸ CFU/g，鼠李糖乳杆菌约为 3.28×10⁸ CFU/g。
 8. 取玉米酒精残渣样品 1 kg 粉碎，取样用 10 mL 无菌水浸泡 2 h，离心取上清液，用 ELISA 检测 ZEA 含量，计算玉米残渣样品的 ZEA 含量为 101.53 μg/kg。
 9. 取混合菌群微生态制剂 7 g 与粉碎的玉米酒精残渣拌料并混合均匀，喷洒无菌水保持混合残渣的湿度在 40%，用搅拌机 30 r/min 均速搅拌，35℃反应 7 h，48℃烘干 2 h，取样检测其残留 ZEA 含量为 4.55 μg/kg，脱毒率为 95.52%，使玉米酒精残渣成为安全的动物饲料。

实施例 6

1. 将保藏的产朊假丝酵母 *Candida utilis* CLY01（购于广东省微生物研究所菌种保藏中心，GIM2.9）、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* H008（购于广东省微生物研究所菌种保藏中心，GIM1.135）和鼠李糖乳杆菌 *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* 6013（购于中国工业微生物菌种保藏中心，6013）分别用麦芽汁固体琼脂培养基（购于广州环凯微生物有限公司）、LB 固体培养基（胰蛋白胨 10 g/L，酵母抽提物 5 g/L，NaCl 10 g/L，琼脂 20 g/L，pH 7.0）和乳杆菌固体培养基（葡萄糖 20 g/L，蛋白胨 10 g/L，牛肉膏 10 g/L，酵母粉 5 g/L，乙酸钠 2 g/L，柠檬酸铵 2 g/L，吐温 80 1 mL/L，MgSO₄·7H₂O 0.2 g/L，K₂HPO₄ 2 g/L，MnSO₄·H₂O 0.05 g/L，pH 6.5）各自活化培养 3 天。
2. 挑取单菌落接种于试管中的 10 mL 种子培养基（种子培养基与活化培养基成份相同，不含琼脂）中，产朊假丝酵母 CLY01 在 30℃培养，枯草芽孢杆菌 H008 和鼠李糖乳杆菌 6013 在 35℃培养，250 r/min 振摇培养过夜，得到种子培养液。
3. 取种液 10 mL 接入 100 mL 液体富集培养基（富集培养基与活化培养基成份相同，不含琼脂）中，30~35℃，250 r/min 振摇培养过夜，得到富集培养液。
4. 将富集培养液按照约 10%的接种量接入发酵罐，产朊假丝酵母 CLY01 和枯草芽孢杆菌 H008 采用连续发酵，发酵温度分别控制在 30℃和 35℃，鼠李糖乳杆菌 6013 采用补料分批发酵，发酵温度控制 35℃。发酵培养基初始葡萄糖浓度为 30 g/L，预先配制 500 g/L 葡萄糖溶液用于补料。补料结束时，检测发酵过程总糖浓度为 107.3 g/L。
5. 经高密度发酵后检测酵母细胞浓度和降解 ZEA 效率，当每升发酵液中干酵母量达到 30 g

以上, 而且添加 2.0×10^7 CFU/mL 菌体可在 1h 内完全降解 1 mg/L ZEA 时停止发酵; 枯草芽孢杆菌在菌体浓度达到 8.08×10^9 CFU/mL 以上时停止发酵; 鼠李糖乳杆菌在菌体浓度达到 6.50×10^8 CFU/mL 以上时停止发酵, 收菌。

6. 将产朊假丝酵母 CLY01、枯草芽孢杆菌 H008 和鼠李糖乳杆菌 6013 三菌发酵液混合, 5000 r/min 离心处理 5 min, 最终菌泥中的活菌得率为 86.8%, 其中产朊假丝酵母的含量约 2.53×10^9 CFU/g, 枯草芽孢杆菌约为 2.32×10^9 CFU/g, 鼠李糖乳杆菌约为 2.04×10^9 CFU/g。
7. 将载体 (沸石粉和 CaCO_3 的质量百分比例为 2:1) 复配后, 与湿菌体以 2:1 的比例混合, 产品经 55℃ 干燥 2 h, 含水量为 1.91%, 得到混合菌群微生态制剂, 其中三菌的活菌数检测如下: 产朊假丝酵母约为 4.22×10^8 CFU/g, 枯草芽孢杆菌约为 3.87×10^8 CFU/g, 鼠李糖乳杆菌约为 3.40×10^8 CFU/g。
8. 取玉米酒精残渣样品 1 kg 粉碎, 取样用 10 mL 无菌水浸泡 2 h, 离心取上清液, 用 ELISA 检测 ZEA 含量, 计算玉米残渣样品的 ZEA 含量为 104.28 $\mu\text{g/kg}$ 。
9. 取混合菌群微生态制剂 10 g 与粉碎的玉米酒精残渣拌料并混合均匀, 喷洒无菌水保持混合残渣的湿度在 40%, 用搅拌机 30 r/min 均速搅拌, 35℃ 反应 10 h, 50℃ 烘干 2 h, 取样检测其残留 ZEA 含量为 3.07 $\mu\text{g/kg}$, 脱毒率为 97.01%, 使玉米酒精残渣成为安全的动物饲料。

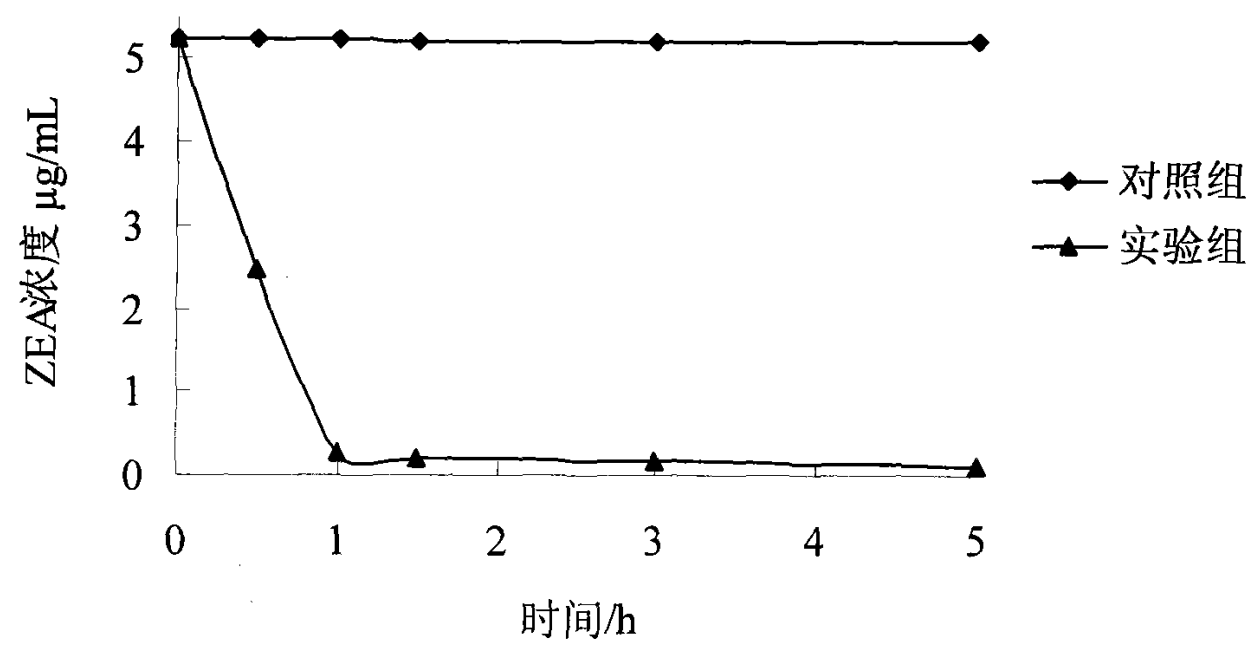


图 1