

ICS 65.120
CCS B 46

DB50

重 庆 市 地 方 标 准

DB50/T 1147—2021

猪用液态发酵饲料生产技术规程

2021—11—01 发布

2022—02—01 实施

重庆市市场监督管理局 发布



前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由重庆市农业农村委员会提出并归口。

本文件起草单位：重庆市畜牧科学院、生物饲料开发国家工程研究中心。

本文件主要起草人员：刘志云、钟晓霞、官小凤、周晓容、杨飞云、姚焰础、黄健、黄金秀、王琪、刘世杰、邓雪娟。





猪用液态发酵饲料生产技术规程

1 范围

本文件规定了猪用液态发酵饲料生产中涉及的原料选择、生产环境、主要设备、工艺流程、存储和使用等要求。

本文件适用于猪用液态发酵饲料的生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 3095 环境空气质量标准
- GB/T 10468 水果和蔬菜产品pH值的测定方法
- GB 13078 饲料卫生标准
- NY/T 1444 微生物饲料添加剂技术通则
- NY/T 5027 无公害食品畜禽饮用水水质
- 《饲料原料目录》（农业农村部公告第 459 号）
- 《饲料添加剂品种目录（2013）》（农业农村部公告第 459 号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

液态发酵饲料 fermented liquid feed

使用《饲料添加剂品种目录（2013）》允许使用的微生物菌种，通过发酵工程技术对符合《饲料原料目录》的饲料原料进行发酵所得到的总水分不低于 70%的饲料。

4 原料选择

4.1 饲料原料

发酵所用的饲料原料应符合《饲料原料目录》和GB13078的规定。主要包括玉米、大麦、豆粕、麦麸等为代表的大宗饲料原料；以土豆皮、豆渣、柑橘渣、酒糟等为代表的地源性饲料原料。

4.2 添加剂

宜选用抑制杂菌增殖，促进发酵菌快速生长的添加剂。

4.3 发酵菌种

应符合《饲料添加剂品种目录（2013）》和NY/T 1444的规定。发酵菌种宜选用乳酸菌，其有效活菌数不低于 10^8 CFU/g。

5 生产环境

5.1 空气

发酵车间的空气应符合GB 3095中4.2的规定。

5.2 水

应符合NY/T 5027的规定。

5.3 车间

包含但不限于：

- 1) 相对隔离的发酵菌种培养室；
- 2) 饲料原料库；
- 3) 液态发酵设备间；
- 4) 检验室

6 主要设备

包含但不限于：

- 1) 粉碎设备；
- 2) 搅拌混合设备；
- 3) 液体发酵设备；
- 4) 消毒或灭菌设备；
- 5) 菌种培养设备

7 工艺流程

7.1 操作流程

见图1。

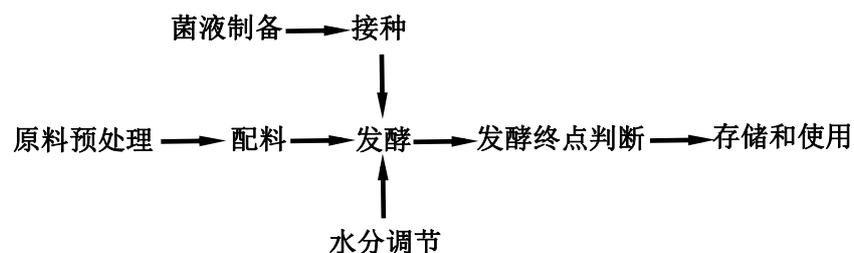


图1 工艺流程图

7.2 饲料原料预处理

玉米、大麦、豆粕、麦麸等大宗饲料原料宜进行400 μm ~1500 μm 的粉碎。

土豆皮、豆渣、柑橘渣、酒糟等地源性饲料原料根据原料特性进行筛分、粉碎、酶解或加热等预处理，使之处于易发酵状态。

7.3 配料

按照饲料配方需求，先将预处理后的饲料原料投入发酵容器中，再投入添加剂混合均匀。

7.4 发酵

7.4.1 发酵菌液制备

商用干粉状发酵剂宜活化后使用；非商用发酵剂宜活化、扩繁后使用。

7.4.2 接种

将制备好的发酵菌液或菌粉与发酵原料混合均匀，置于发酵容器中密封，混合后活菌数宜 $\geq 10^5$ CFU/mL。

7.4.3 水分调节

根据原料特性调节加水量，混合后总含水量宜高于70%。

7.4.4 发酵温度

一般物料温度控制在15 $^{\circ}\text{C}$ ~40 $^{\circ}\text{C}$ 。

7.4.5 发酵时间

发酵时间一般为24h~72h。

7.4.6 发酵方式

兼性厌氧或厌氧液态发酵。

7.4.7 发酵终点判断

发酵终点的判定宜同时满足下列条件：

- 1) 外观色泽一致；
- 2) 发酵酸香味，无异味；
- 3) pH在3.7~4.5之间，检测方法按照GB/T 10468规定执行；
- 4) 乳酸菌活菌数 $\geq 1 \times 10^7$ CFU/mL，检测方法按照附录A的规定执行。

8 存储和使用

制备好的液态发酵饲料，密封存储。使用前应注意调制，确保营养均衡，然后进入饲喂端。

附录 A
(规范性)
乳酸菌计数

A.1 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外，其他设备和材料如下：

- 1) 恒温培养箱： $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ；
- 2) 冰箱： $2^{\circ}\text{C} \sim 5^{\circ}\text{C}$ ；
- 3) 均质器及无菌均质袋、均质杯或灭菌乳钵；
- 4) 天平：感量 0.01g ；
- 5) 无菌试管： $18\text{mm} \times 180\text{mm}$ 、 $15\text{mm} \times 100\text{mm}$ ；
- 6) 无菌吸管： 1mL （具 0.01mL 刻度）、 10mL （具 0.1mL 刻度）或微量移液器及吸头；
- 7) 无菌锥形瓶： 500mL 、 250mL 。

A.2 试剂

所用试剂包含但不限于：

- 1) 氯化钠：分析纯；
- 2) 磷酸氢二钾（七水）：分析纯；
- 3) 醋酸钠（三水）：分析纯；
- 4) 柠檬酸三铵：分析纯；
- 5) 硫酸镁（七水）：分析纯；
- 6) 硫酸锰（四水）：分析纯；
- 7) 琼脂粉；
- 8) 牛肉粉；
- 9) 酵母粉；
- 10) 葡萄糖；
- 11) 吐温80。

A.3 溶液及培养基的制备

A.3.1 生理盐水的制备

称取氯化钠 9g 加入到 1000mL 蒸馏水中，加热溶解，分装后 121°C 高压灭菌 $15\text{min} \sim 20\text{min}$ 。

A.3.2 MRS培养基的制备

A.3.2.1 称取蛋白胨 10.0g 、牛肉粉 5.0g 、酵母粉 4.0g 、葡萄糖 20.0g 、吐温 801.0mL 、磷酸氢二钾 2.0g 、醋酸钠 5.0g 、柠檬酸三铵 2.0g 、硫酸镁 0.2g 、硫酸锰 0.05g 、琼脂粉 15.0g 。

A.3.2.2 将上述成分加入到 1000mL 蒸馏水中，加热溶解，调节 pH 至 6.2 ± 0.2 ，分装后 121°C 高压灭菌 $15\text{min} \sim 20\text{min}$ 。

A.4 操作步骤

A. 4.1 样品匀液的制备

液态发酵饲料样品应先将其充分混匀后，以无菌吸管吸取样品 25mL 放入装有 225mL 生理盐水的无菌锥形瓶（瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠）中，充分振摇，制成 1 : 10 的样品匀液。

A. 4.2 稀释

A. 4.2.1 用 1mL 无菌吸管或微量移液器吸取 1 : 10 样品匀液 1mL，沿管壁缓慢注于装有 9mL 生理盐水的无菌试管中（注意吸管尖端不要触及稀释液），振摇试管或换用 1 支无菌吸管反复吹打使其混合均匀，制成 1 : 100 的样品匀液。

A. 4.2.2 另取 1mL 无菌吸管或微量移液器吸头，按上述操作顺序，做 10 倍递增样品匀液，每递增稀释一次，即换用 1 次 1mL 灭菌吸管或吸头。

A. 4.3 乳酸菌计数

根据待检样品活菌总数的估计，选择 2 个~3 个连续的适宜稀释度，每个稀释度吸取 1mL 样品匀液于灭菌平皿内，每个稀释度做两个平皿。稀释液移入平皿后，将冷却至 48℃ 的 MRS 琼脂培养基倾注入平皿 15mL，转动平皿使混合均匀。36℃ ± 1℃ 厌氧培养 72h ± 2h。从样品稀释到平板倾注要求在 15min 内完成。

A. 4.4 菌落计数

A. 4.4.1 菌落数以菌落形成单位（colony-forming units, CFU）表示。每个稀释度的菌落数应采用两个平板的平均数。可用肉眼观察，必要时用放大镜或菌落计数器，记录稀释倍数和相应的菌落数量。

A. 4.4.2 选取菌落数在 30CFU~300CFU 之间、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于 30CFU 的平板记录具体菌落数，大于 300CFU 的可记录为多不可计。每个稀释度的菌落数应采用两个平板的平均数。

A. 4.4.3 其中一个平板有较大片状菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数，若片状菌落不到平板的一半，而其余一半中菌落分布又很均匀，即可计算半个平板后乘以 2，代表一个平板菌落数。

A. 4.4.4 当平板上出现菌落间无明显界线的链状生长时，则将每条单链作为一个菌落计数。

A. 5 结果表述

A. 5.1 若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内，计算两个平板菌落数的平均值，再将平均值乘以相应稀释倍数，作为每克或每毫升中菌落总数结果。

A. 5.2 若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时，按下列公式计算：

式中：

——样品中菌落数；

——平板（含适宜范围菌落数的平板）菌落数之和；

——稀释度（低稀释倍数）平板个数；

——第二稀释度（高稀释倍数）平板个数；

——稀释因子（第一稀释度）。

A. 5.3 若所有稀释度的平板上菌落数均大于 300CFU，则对稀释度最高的平板进行计数，其他平板可

A. 5.4 记录为多不可计，结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。

A. 5.5 若所有稀释度的平板菌落数均小于 30CFU，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

A. 5. 6 若所有稀释度（包括液体样品原液）平板均无菌落生长，则以小于 1 乘以最低稀释倍数计算。

A. 5. 7 若所有稀释度的平板菌落数均不在 30CFU~300CFU 之间,其中一部分小于 30CFU 或大于 300CFU 时，则以最接近 30CFU 或 300CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

