

(12) 发明专利申请

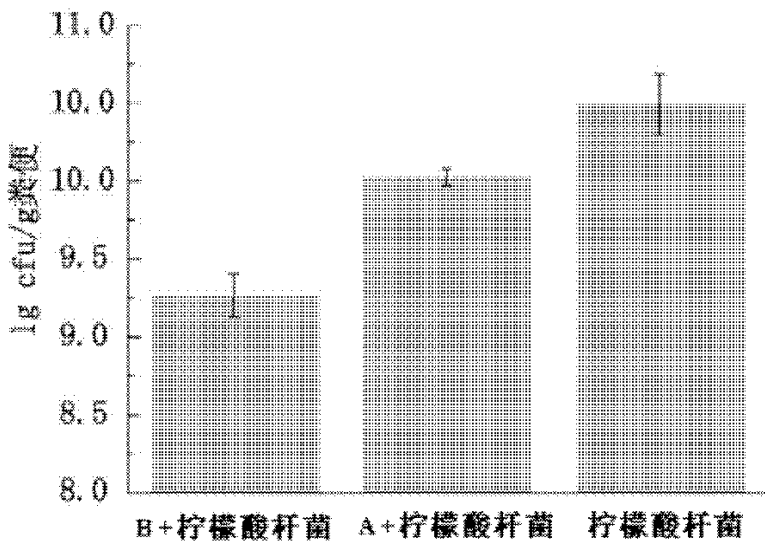
(10) 申请公布号 CN 102178047 A
(43) 申请公布日 2011. 09. 14

(21) 申请号 201110052384. 8
(22) 申请日 2011. 03. 04
(71) 申请人 广东天浩生物工程股份有限公司
地址 519080 广东省珠海市高新区软件园路
1 号生产加工中心 2 号楼五层 2、4 单元
(72) 发明人 张捷 董清风 郑文官 刘文娟
陈健聪 唐翱
(74) 专利代理机构 广州三环专利代理有限公司
44202
代理人 郝传鑫 潘中毅
(51) Int. Cl.
A23K 1/16 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54) 发明名称
一种微生态制剂及其制备方法

(57) 摘要
本发明提供了一种微生态制剂及其制备方法。本发明微生态制剂由嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合组成。本发明提供的微生态制剂, 具有以下有益效果 : 菌种组合和配比合理, 能缓解动物肠道炎症, 调节免疫, 并且显著提高动物生长性能, 可用于制备饲料添加剂和乳制品等保健类产品。



1. 一种微生态制剂,其特征在于,由嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合组成。
2. 如权利要求 1 所述的微生态制剂,其特征在于,进一步包括寡糖类物质,所述寡糖类物质选自菊糖、大豆低聚糖和低聚异麦芽糖中的一种或几种。
3. 如权利要求 2 所述的微生态制剂,其特征在于,所述寡糖类物质在微生态制剂中所占的质量分数为 10 ~ 30%。
4. 如权利要求 1 ~ 3 中任一权利要求所述的微生态制剂,其特征在于,所述微生态制剂为液体剂型或固体粉剂型。
5. 如权利要求 4 所述的微生态制剂,其特征在于,所述固体粉剂型包括成型辅料,所述成型辅料选自麦芽糊精、玉米淀粉、蔗糖和葡萄糖中的一种或几种。
6. 如权利要求 5 所述的微生态制剂,其特征在于,所述固体粉剂型进一步包括包被剂,所述包被剂选自海藻酸钠、CaCl₂、卡拉胶、大豆分离蛋白、亚麻油、棉籽油、菜籽油、大豆色拉油、葵花籽油和玉米油中的一种或几种。
7. 一种微生态制剂的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:取液体发酵后的嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合菌种,制成微生态制剂。
8. 如权利要求 7 所述的制备方法,其特征在于,所述混合菌种之后进一步包括加入寡糖类物质,混合均匀,所述寡糖类物质选自菊糖、大豆低聚糖和低聚异麦芽糖中的一种或几种。
9. 如权利要求 8 所述的制备方法,其特征在于,所述寡糖类物质在微生态制剂中所占的质量分数为 10 ~ 30%。
10. 如权利要求 6 ~ 9 中任一权利要求所述的制备方法,其特征在于,进一步加入成型辅料和 / 或包被剂,所述成型辅料选自麦芽糊精、玉米淀粉、蔗糖和葡萄糖中的一种或几种,所述包被剂选自海藻酸钠、CaCl₂、卡拉胶、大豆分离蛋白、亚麻油、棉籽油、菜籽油、大豆色拉油、葵花籽油和玉米油中的一种或几种。

一种微生物制剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及发酵工程领域,尤其涉及一种微生物制剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 微生物制剂是指可以直接饲喂动物并通过调节动物肠道微生物平衡达到预防疾病、促进动物生长和提高饲料利用率的活性微生物或其培养物,种类有:益生菌(含有活菌并用于动物的生物制剂或活菌制剂)和合生元(含有益生菌和益生质的混合物)。

[0003] 微生物制剂在应用中是否有效与使用的菌种、活菌含量等有关。作为微生物制剂的菌种是否优良,往往被忽视,并不是所选的菌种都能产生理想的生态效应,因此菌种的来源和筛选十分重要。

[0004] 美国(FDA)规定了40多种菌都可以作为微生物制剂的选用菌种,我国农业部正式批准生产的菌株主要有蜡样芽胞杆菌、枯草杆菌、乳酸杆菌、粪链球菌、噬菌蛭弧菌和酵母菌等。规定的这些菌种只能提示给人们可以用或准许用,但对其应用效果尚有诸多影响因素。另外,复合菌剂中各菌种的组合及配比都要经严格的科学实验,即使药性相同,用量不同,也会得出不同的效果。

[0005] 乳酸菌通常泛指能够利用碳水化合物进行发酵后产生大量乳酸的细菌。乳酸菌在自然界和人畜消化系统中广泛存在,目前发现200多种,其中绝大部分都存在于人体及动物的肠道,是机体必不可少且具有重要生理功能的菌群。它的数量与营养因素有关。在农业饲喂方面,具体表现在乳酸菌微生物制剂中乳酸菌菌种组合和配比的不同会影响动物肠道内乳酸菌的含量,从而影响动物的生长性能。因此,开发配比合理并能显著提高动物生长性能的乳酸菌类微生物制剂具有重要意义。

发明内容

[0006] 为解决上述问题,本发明旨在提供一种菌种组合和配比合理并能显著提高动物生长性能的微生物制剂及其制备方法。该微生物制剂为乳酸菌类微生物制剂。

[0007] 第一方面,本发明提供了一种微生物制剂,由嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为1:1:1混合组成。

[0008] 嗜酸乳杆菌属于乳杆菌属,是革兰氏阳性杆菌,主要存在小肠中,调整肠道菌群平衡,抑制肠道不良微生物的增殖。嗜酸乳杆菌能分泌抗生物素类物质(嗜酸乳菌素(acidolin)、嗜酸杆菌素(acidophilin)、乳酸菌素(laetocidon)),对肠道致病菌产生拮抗作用。

[0009] 干酪乳杆菌属于乳杆菌属,是革兰氏阳性菌,兼性异型发酵乳糖,能够耐受有机体的防御机制,其中包括口腔中的酶、胃液中低PH值和小肠的胆汁酸等。干酪乳杆菌进入体内后可以在肠道内大量存活,起到调节肠内菌群平衡、促进消化吸收等作用。同时,干酪乳杆菌具有高效降血压、降胆固醇,促进细胞分裂,产生抗体免疫,增强免疫及预防癌症和抑制肿瘤生长等功能,以及具有缓解乳糖不耐症、过敏等益生保健作用。

[0010] 植物乳杆菌属于乳杆菌属,是革兰氏阳性菌,常存在于发酵的蔬菜和果汁中,具有维持肠道内菌群平衡、提高机体免疫力和促进营养物质吸收等多种功能。

[0011] 上述三种乳酸菌均属于益生菌,它们之间相辅相成,配比合理,相比其它按其它比例配比的乳酸菌微生态制剂,在提高仔猪生长性能方面具有更为显著的功效。

[0012] 本发明微生态制剂可进一步包括益生质。优选地,本发明益生质为寡糖类物质。寡糖类物质在消化道前段不被消化和吸收,在肠道内被肠道微生物发酵,能够选择性地促进上述乳酸菌的生长和代谢能力,因此寡糖类物质的加入与上述乳酸菌类微生态制剂并存能够起到协同作用。益生菌和益生质并存的混合物被称为合生元。优选地,寡糖类物质在微生态制剂中所占的质量分数为 10 ~ 30%。

[0013] 更优选地,寡糖类物质选自菊糖、大豆低聚糖和低聚异麦芽糖中的一种或几种。其中,菊糖又名菊粉,是蔬菜膳食纤维,来源于菊芋、菊苣、大丽花根等植物,是一种功能性多糖果聚糖,也是目前发现的最易溶解的膳食纤维。

[0014] 按上述方法直接将嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌混合,以及加入寡糖类物质后得到的微生态制剂均为液体剂型。

[0015] 优选地,本发明微生态制剂还可以为固体粉剂型,即进一步包括成型辅料。成型辅料可选自麦芽糊精、玉米淀粉、蔗糖和葡萄糖中的一种或几种。

[0016] 以及优选地,本发明微生态制剂还可进一步包括包被剂。包被剂可选自海藻酸钠、CaCl₂、卡拉胶、大豆分离蛋白、亚麻油、棉籽油、菜籽油、大豆色拉油、葵花籽油和玉米油中的一种或几种。

[0017] 不管是成型辅料(保护性载体)还是包被剂,都不参与微生态制剂的活性作用,只是起到保护、定型和固态化的作用,其含量不限。

[0018] 第二方面,本发明提供了一种微生态制剂的制备方法,包括以下步骤:取液体发酵后的嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合,制成微生态制剂。

[0019] 上述微生态制剂可进一步添加不同功能和不同配比的辅料以得到不同的效果。

[0020] 优选地,进一步加入寡糖类物质,混合均匀。优选地,寡糖类物质在微生态制剂中所占的质量分数为 10 ~ 30%。更优选地,寡糖类物质选自菊糖、大豆低聚糖和低聚异麦芽糖中的一种或几种。

[0021] 按上述方法直接将嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌混合,以及加入寡糖类物质得到的微生态制剂为液体剂型。

[0022] 优选地,本发明可进一步加入成型辅料,真空干燥后制得微生态制剂固体粉状剂型,所述成型辅料选自麦芽糊精、玉米淀粉、蔗糖和葡萄糖中的一种或几种。

[0023] 也优选地,本发明还可进一步加入包被剂,制得微生态制剂固体粉剂型胶囊,所述包被剂选自海藻酸钠、CaCl₂、卡拉胶、大豆分离蛋白、亚麻油、棉籽油、菜籽油、大豆色拉油、葵花籽油和玉米油中的一种或几种。

[0024] 本发明提供的微生态制剂,具有以下有益效果:菌种组合和配比合理,能缓解动物体(如仔猪)肠道炎症,调节免疫,并且显著提高动物生长性能,可用于制备饲料添加剂和乳制品等保健类产品。

附图说明

[0025] 图 1 为小鼠粪便中鼠类柠檬酸杆菌菌数计数结果对照图；

[0026] 图 2 为小鼠结肠组织组织学检测结果对照图,其中,图 (1) 显示正常状态下的小鼠结肠组织,图 (2) 显示接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织,图 (3) 显示预接种益生菌再接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织,图 (4) 显示预接种益生质再接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织,图 (5) 显示预接种合生元后再接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织；

[0027] 图 3 为小鼠结肠组织和肠系膜淋巴结中的细胞因子检测结果对照图,其中,图 (1) 显示柠檬酸杆菌抗原刺激 MLN 细胞产生的白介素-10,图 (2) 显示与仅接种柠檬酸杆菌的小鼠相比,预接种了合生元和益生菌组小鼠 $\text{TNF-}\alpha$ 降低的倍数。

具体实施方式

[0028] 以下所述是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也视为本发明的保护范围。

[0029] 实施例一:益生菌的制备

[0030] 一种微生态制剂的制备方法,包括以下步骤:取液体发酵后的嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合,制成微生态制剂。嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌购自广东省微生物菌种保藏中心(嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*),编号为 GIM 1.208 = AS1.2686;植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*),编号为 GIM 1.140 = AS1.3;干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*),编号为 GIM 1.325 = ATCC7469),培养基配方参照产品说明书,按照液体补料分批发酵方法进行液体发酵。

[0031] 实施例二:合生元的制备

[0032] 一种微生态制剂的制备方法,包括以下步骤:取液体发酵后的嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合,加入菊糖混合均匀,制成微生态制剂,菊糖在微生态制剂中所占的质量分数为 30%。

[0033] 实施例三:

[0034] 一种微生态制剂的制备方法,包括以下步骤:取液体发酵后的嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合,制成微生态制剂,按微生态制剂质量的 10% 加入寡糖,混合均匀,取 50mL 合生元混合物,加入 5g 玉米淀粉,加 20℃ 的环境条件下震荡吸附 0.66h 小时,真空冷冻干燥,制得微生态制剂固体粉状剂型。

[0035] 实施例四:

[0036] 一种微生态制剂的制备方法,包括以下步骤:取液体发酵后的嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和植物乳杆菌按活菌数比为 1 : 1 : 1 混合,制成微生态制剂,按微生态制剂质量的 20% 加入寡糖,混合均匀。取 50mL 合生元混合物,加入 5g 玉米淀粉,加 20℃ 的环境条件下震荡吸附 0.66h 小时,再加入浓度为 2% 的海藻酸钠溶液中,搅拌 0.5h 至乳状液,挤入浓度为 2% 的氯化钙溶液中固化形成胶囊,真空冷冻干燥,制得微生态固体粉状剂型胶囊。

[0037] 效果实施例

[0038] 一、对小鼠肠道中致病菌的抑制作用

[0039] 分别取上述实施例一和实施例四中制备得到的微生态制剂作为样品 A(益生菌

组)和样品B(合生元组),待用。

[0040] 将新生小鼠分为四组,一组作为阴性对照;一组阳性对照;一组每两周接种一次样品A,持续四周;一组每两周接种一次样品B,同样持续四周。小鼠生长至第六周,对除阴性对照外的小鼠都进行鼠类柠檬酸杆菌的接种。接种后计数四组小鼠粪便中鼠类柠檬酸杆菌菌数,结果如图1所示。图1为小鼠粪便中鼠类柠檬酸杆菌菌数计数结果对照图。结果表明:预接种样品A和样品B的小鼠粪便中的柠檬酸杆菌菌数低于对照组,说明接种有本发明益生菌的小鼠以及接种有合生元的小鼠相比肠道中的致病菌数量较少。

[0041] 二、对小鼠肠道炎症的缓解功能

[0042] 如效果实施例一中所述,对柠檬酸杆菌接种7d后的小鼠结肠组织进行组织学检测。结果如图2所示。图2为小鼠结肠组织组织学检测结果对照图,其中,图(1)显示正常状态下的小鼠结肠组织,图(2)显示接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织,图(3)显示预接种样品A再接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织,图(4)显示预接种益生质菊糖再接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织,图(5)显示预接种样品B后再接种柠檬酸杆菌的小鼠结肠组织。结果表明:使用样品A和样品B预接种后,小鼠的肠道炎症能够有效缓解,样品B的效果更佳,说明本发明益生菌和合生元均能有效缓解小鼠的肠道炎症,其中尤以合生元的作用效果为甚。

[0043] 三、调节小鼠免疫力的检测

[0044] 如效果实施例二中所述,用ELISA方法对7d后小鼠结肠组织和肠系膜淋巴结中的细胞因子进行检测。结果如图3所示。图3为小鼠结肠组织和肠系膜淋巴结中的细胞因子检测结果对照图,其中,图(1)显示柠檬酸杆菌抗原刺激MLN细胞产生的白介素-10,图(2)显示与仅接种柠檬酸杆菌的小鼠相比,预接种了样品B和样品A的小鼠TNF- α 降低的倍数。结果表明:实验组中的白介素-10较对照组明显更高,说明样品A和样品B对白介素-10有增强作用;所有组的TNF- α 都呈下降趋势,但样品B组下降倍数最小,说明本发明益生菌和合生元能够提高小鼠的免疫能力,其中尤以合生元的效果为甚。

[0045] 四、对仔猪生长性能的影响

[0046] 配制以下微生态制剂,分别为以下活菌数配比:

[0047] 标号1(嗜酸乳杆菌:干酪乳杆菌:植物乳杆菌=1:1:1,总活菌数为 $5.1 \times 10^8/\text{ml}$);

[0048] 标号2(嗜酸乳杆菌:干酪乳杆菌:植物乳杆菌=1:1:3,总活菌数为 $6.7 \times 10^8/\text{ml}$);

[0049] 标号3(嗜酸乳杆菌:干酪乳杆菌:植物乳杆菌=2:1:1,总活菌数为 $4.3 \times 10^8/\text{ml}$);

[0050] 标号4(嗜酸乳杆菌:干酪乳杆菌:植物乳杆菌=1:3:1,总活菌数为 $5.5 \times 10^8/\text{ml}$)).将上述复合微生态制剂制成饲料添加剂。

[0051] 选取同一批次的断奶仔猪(12~21日龄哺乳仔猪)150头,将仔猪分组,其中一组作为对照;其余分4组以0.05~0.15%添加量加入复合微生态制剂。每组设3个重复,每个重复10头仔猪,饲喂方法是每天分别于上午8:00及下午15:00饲喂两次,仔猪自由采食。试验期间观察仔猪健康状况,采食情况及仔猪腹泻头次、眼角分泌物。饲养期间记录健康状况及发病、死亡情况。饲喂12天后统一进行称重,计算日增重,料肉比及腹泻率。对照组饲料中不添加乳酸菌,试验组饲料中添加0.1%乳酸菌复合制剂。结果如表1所示。

[0052] 表 1. 使用不同配比的微生态制剂时仔猪生长情况对比表
[0053]

组别	平均采食量 (g/头.天)	日增重 (g/天)	料肉比	腹泻头次	腹泻率 (%)
1	297.18	243.58 ± 0.41	1.16 ± 0.46	8	3.42 ± 1.11
2	274.06	186.75 ± 0.69	1.43 ± 0.36	13	5.56 ± 0.6
3	214.14	157.07 ± 0.63	1.36 ± 0.46	11	5.56 ± 1.46
4	263.64	220.45 ± 0.53	1.20 ± 0.43	14	10.61 ± 1.21
对照组	220.23	162.63 ± 0.53	1.34 ± 0.22	24	12.12 ± 0.98

[0054] 注 :表中数据为平均值 ± 标准误 (X±SE)
[0055] 结果表明 :标号 1 的实验组,相对其他实验组来说,生长性能及健康状况得到了最大程度的提高,说明本发明微生态制剂能够显著提高仔猪生长性能。

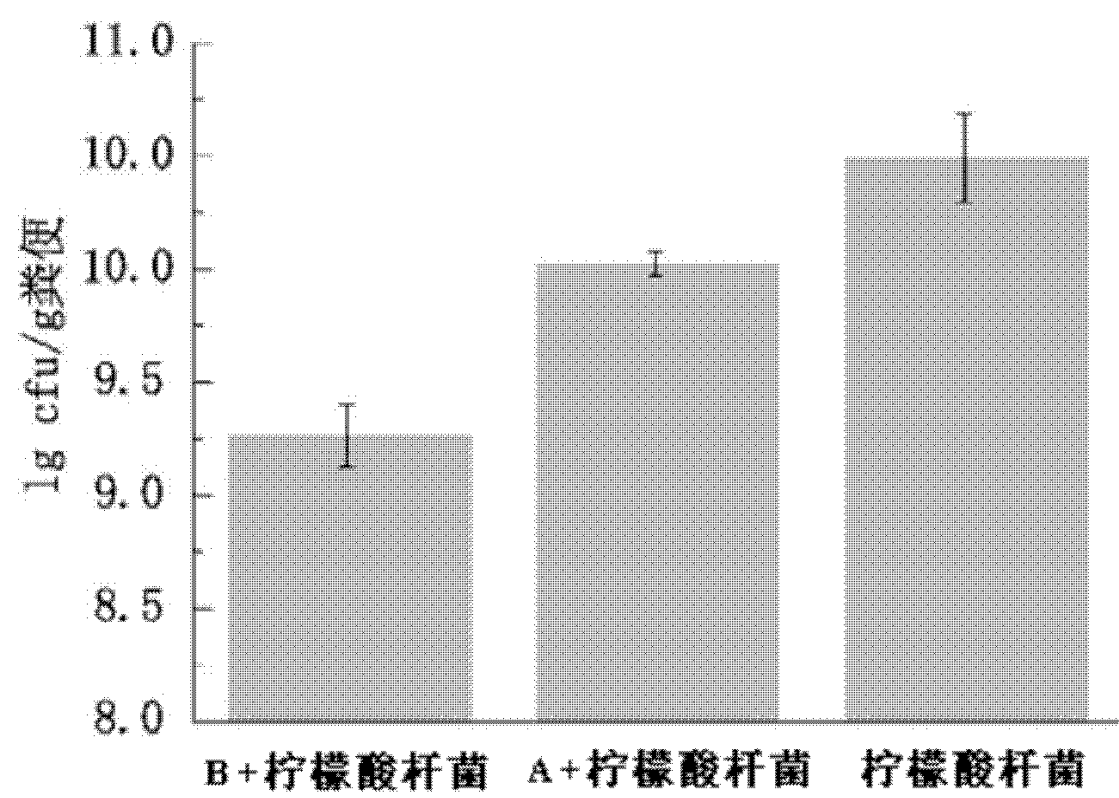


图 1

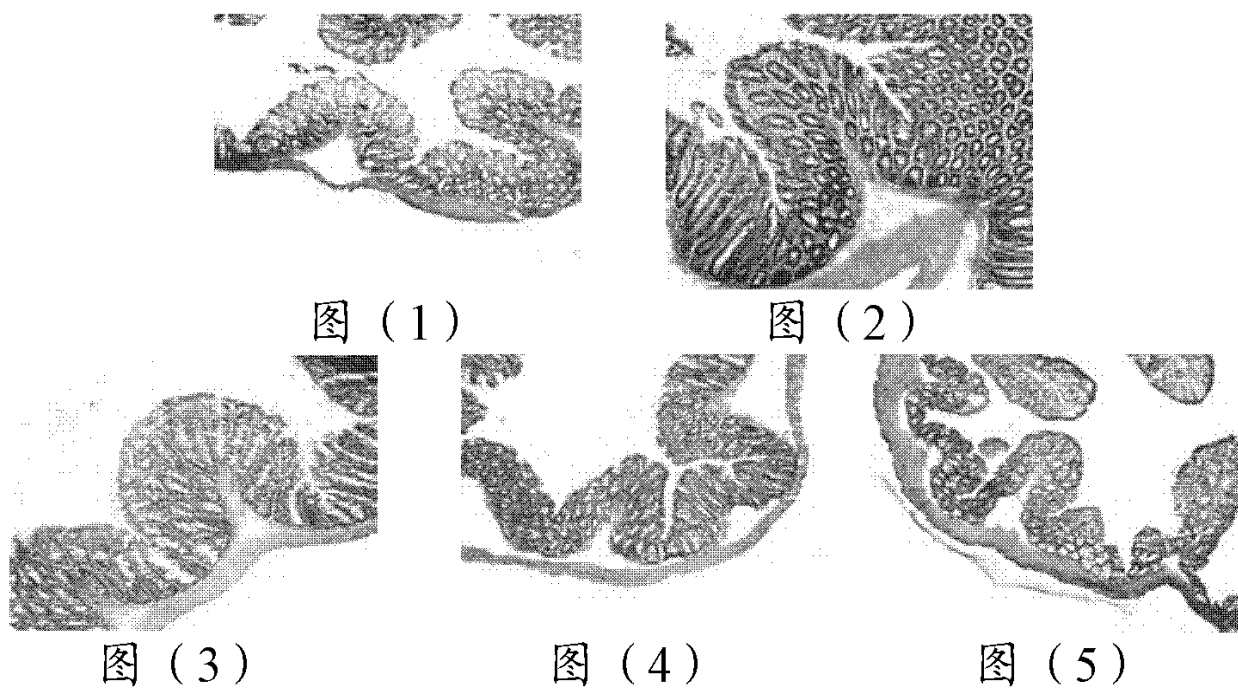
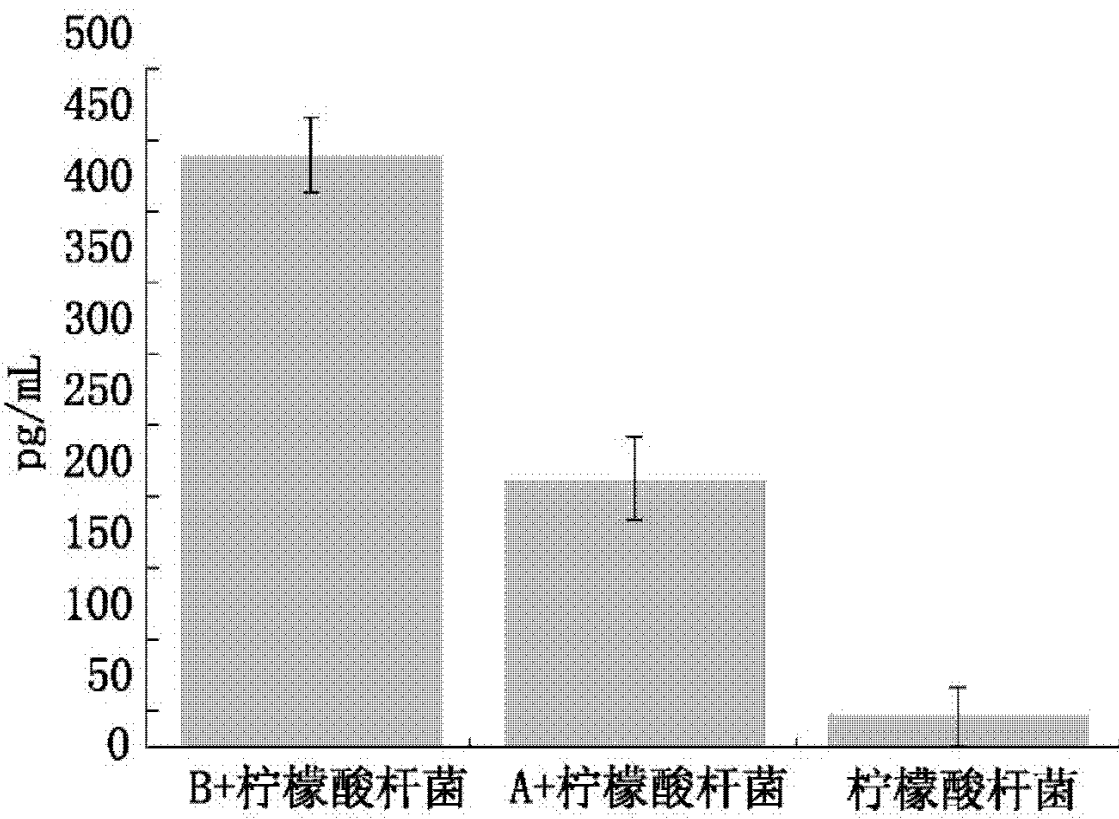
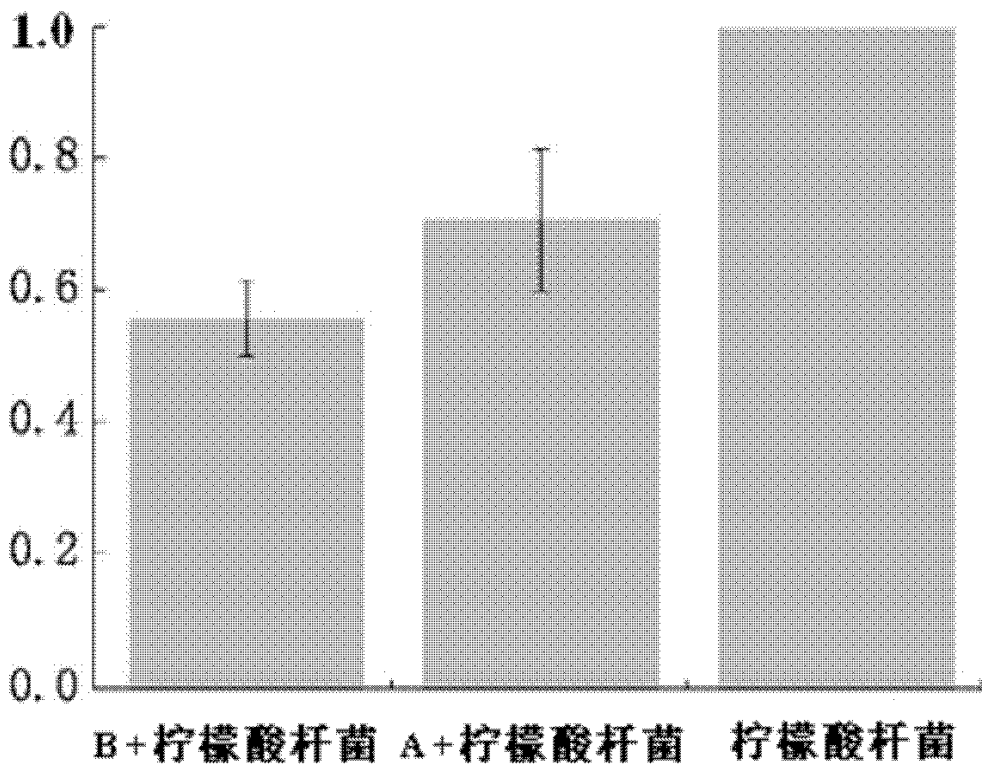


图 2



(1)



(2)

图 3