

微生物制剂存放期内菌群活性检测

李建华<sup>1</sup>, 赵银丽<sup>2</sup>, 李国喜<sup>1</sup>, 刘忠虎<sup>1</sup>, 崔淑贞<sup>1</sup>  
(1. 河南农业大学牧医工程学院, 河南郑州 450002; 2. 河南工业大学生物工程学院, 河南郑州 450053)

**摘要** [目的]了解微生物制剂存放期内菌群的变化规律。[方法]采用活菌平板计数法,测定存放0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60 d的自制微生物制剂的菌群活性,对保存6个月的微生物制剂进行活化处理并比较效果。[结果]自制微生物制剂存放10 d内随着天数的增加,菌落总数先增加后减少,可稳定在 $2.25 \times 10^{10}$ 个/ml水平,存放30 d时菌落总数为 $1.98 \times 10^{10}$ 个/ml,降低了12%,60 d时为 $8 \times 10^8$ 个/ml,但不影响应用效果。5%的红糖水活化处理后的微生物制剂菌落总量达 $7.4 \times 10^7$ 个/ml,比未经活化的提高了23%,提高了利用效果。[结论]保质期内的微生物制剂活菌数量相对稳定,存放期在10 d内的微生物制剂的使用效果最好。  
**关键词** 微生物制剂; 活性检测; 平板计数; 活化处理  
**中图分类号** Q936 **文献标识码** A **文章编号** 0517- 6611(2008)06- 02184- 01

**Detection on the Activities of Bacterial Colonies in Micro ecological Agent during Store Period**  
**LI Jian-hua et al** (College of Animal Husbandry and Veterinary Engineering, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002)  
**Abstract** [Objective] The pupose was to know about the change law of bacterial colonies in micro ecological agent during store period. [Method] The plate counting method of live bacteria was used to determine the bacterial colony activities in self-made micro ecological agents stored for 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 and 60 d and the micro ecological agents stored for 6 months were treated for activation and their activated effects were compared. [Result] In the store period of 10 d, along with the increment of days, the total bacterial colony number increased first and then decreased in self-made micro ecological agents and could be stable at the level of  $2.25 \times 10^{10}$ /ml. The total bacterial colony number was  $1.98 \times 10^{10}$ /ml, reducing 12% while storing for 30 d and was  $8 \times 10^8$ /ml while storing for 60 d without influence on the application effect. The total bacterial colony quantity in micro ecological agents activated with 5% brown sugar solution was  $7.4 \times 10^7$ /ml, increased 23% in comparison with that without activation and the utilization effect was enhanced. [Conclusion] The live bacterial quantities in micro ecological agents in shelf life were relatively stable and the application effects of micro ecological agents in the store period of 10 d were best.  
**Key words** Micro ecological agent; Activity detection; Plate counting; Activation treatment

微生物制剂作为绿色饲料添加剂,因对动物营养、环境改善所起的显著作用越来越被人们所重视,并以其无毒副作用、无耐药性、无残留、效果显著等特点逐渐得到广大养殖业者的首肯<sup>[1-2]</sup>。但在实际生产中,微生物制剂的应用效果受多种因素的制约,使菌群大量失活,活菌浓度降低,造成应用效果低下<sup>[3]</sup>。因此,掌握了解微生物制剂存放期内菌群浓度的变化规律,对于合理利用微生物制剂具有实际指导意义。笔者以活菌平板计数法对一种微生物制剂保存期内活菌浓度做了连续检测,并对保存期较长的制剂进行了活化处理比较其效果,旨在了解微生物制剂保存期内菌群变动规律。

1 材料与方法

1.1 试验材料 ①微生物制剂。自行研发,含乳酸杆菌、酵母菌等有益菌株。②试剂。蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、葡萄糖、氯化钠、氢氧化钠、琼脂、红糖等。

1.2 试验方法

1.2.1 存放期内菌群浓度的检测。采用活菌平板计数法<sup>[4]</sup>,分别对存放期为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60 d的微生物制剂的活性进行检测,以平均菌落数表示菌群活性。

1.2.2 微生物制剂的活化处理及活性检测。采用活菌平板计数法<sup>[4]</sup>。取存放6个月的微生物制剂1 ml,加入等量5%的灭菌红糖水,放入37℃生化培养箱培养3 h。以生理盐水作平行处理(CK)。

2 结果与分析

2.1 存放期内菌群活性变化 由表1、图1可见,微生物制

剂存放10 d内随着天数的增加,菌落总数经历从增长到减少的变化,并最终稳定在 $(2.0 \sim 2.5) \times 10^{10}$ 个/ml范围内。保存期1 d时活菌总数较新制产品(0 d)少,但随即达到繁殖高峰期,第3天达到 $4.65 \times 10^{10}$ 个/ml最高值,随后逐渐下降趋向稳定于 $10^{10}$ 个/ml水平上。此时制剂中活菌数量与菌液环境相和谐,不再发生过度繁殖或过度死亡。生产应用中对微生物制剂中活菌数量一般要求3亿个以上,且活力要强,应用要早,因此使用存放期在10 d内的制剂是最好的。

微生物制剂存放30 d时其菌落总数比稳定期时降低了12%,存放60 d仍为 $8 \times 10^8$ 个/ml,这也符合一般微生物制剂活菌数量随着存放期的延长呈减少趋势的规律。但其活菌总数仍远高于3亿个以上,因此不会影响应用效果。

表1 各存放期内菌落总数统计  
Table 1 The statistics of total number of colony in store period

存放天数 d Days for storage	菌落总数 $\times 10^{10}$ 个/ml Total number of colony	存放天数 d Days for storage	菌落总数 $\times 10^{10}$ 个/ml Total number of colony	存放天数 d Days for storage	菌落总数 $\times 10^{10}$ 个/ml Total number of colony
0	2.52	6	2.78	20	2.07
1	0.97	7	2.60	30	1.98
2	4.65	8	2.61	40	1.35
3	4.30	9	2.30	50	0.54
4	3.98	10	2.25	60	0.08
5	2.96				

2.2 微生物制剂的活化处理效果 对保存6个月的微生物制剂加等量5%的红糖水,经3 h的活化处理,菌落总量达 $7.4 \times 10^7$ 个/ml,而未经活化的菌落总数仅 $6.0 \times 10^7$ 个/ml,相比经活化的微生物制剂活菌总数提高了23%。

酶转速150 r/min, 起始pH值7.5, 进行实验得到图7。

同时从以上各图中还可以发现, 在发酵到第4天以后, 蔗糖的转化率基本维持不变, 所以从节约成本的角度考虑, 笔者选择发酵时间为4 d, 即96 h。

表 2 正交实验结果  
Table 2 The results of orthogonal test

项目 Items	A 温度 Temperature	B 转速 Rotation speed	C 接种量 Inoculating rate	D pH 值 pH value	蔗糖转化率/% Conversion rate of sucrose
实验 1 Test 1	1	1	1	1	46.35
实验 2 Test 2	1	2	2	2	51.26
实验 3 Test 3	1	3	3	3	48.92
实验 4 Test 4	2	1	2	3	53.12
实验 5 Test 5	2	2	3	1	54.26
实验 6 Test 6	2	3	1	2	52.16
实验 7 Test 7	3	1	3	2	49.35
实验 8 Test 8	3	2	1	3	52.64
实验 9 Test 9	3	3	2	1	49.98
均值 1 Mean 1	48.843	49.607	50.383	50.197	
均值 2 Mean 2	53.180	52.720	51.453	50.923	
均值 3 Mean 3	50.657	50.353	50.843	51.560	
极差 Range	4.337	3.113	1.070	1.363	
优化条件 Optimum condition	A <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	

实验测得最大蔗糖转化率为 70.0%。

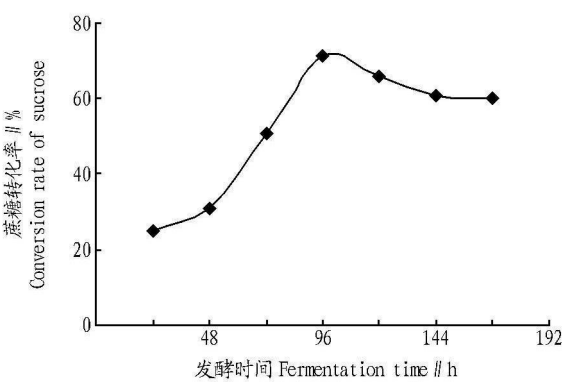


图 7 最佳条件发酵曲线

Fig 7 The fermentation curve under optimal condition

参考文献

[1] 杨海燕. 水溶性膳食纤维改性聚葡萄糖的性质与用途[J]. 中国食品工业, 1999(2): 7- 9.

[2] 万茵, 黄绍华. 聚葡萄糖的制取、性质及在食品中的功能[J]. 食品研究与开发, 2000(5): 30- 34.

[3] 李艳, 陈学武. 右旋糖酐的生产及应用[J]. 山西食品工业, 1998( 3): 36- 37.

[4] 杨光. 聚葡萄糖的结构、性质、生理功能及其分析方法[J]. 中国食品用化学品, 1999(2): 8- 9.

[5] 孙力军, 吴吉明. 肠膜明串珠菌的分离与鉴定[J]. 安徽农业技术师范学院学报, 2000, 14( 4): 22- 23.

[6] 葛崇涛, 田星, 高莉莉. 肠膜明串珠菌生长特性研究[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(7): 9- 11.

[7] AKIHIKEYAN R S K, RAKSHIT S K, BARADARAJAN A. Optimization of batch fermentation conditions for dextran production[J]. Bioprocess Engineering, 1996(15): 247- 251.

(上接第 2184 页)

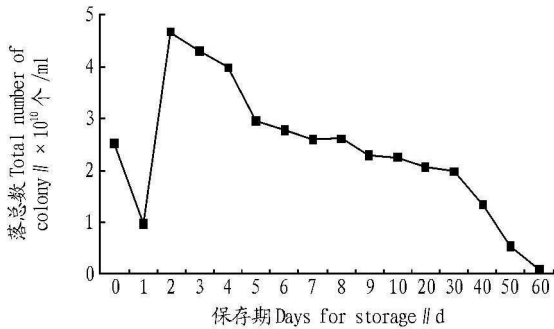


图 1 各保存期内菌群活性变化

Fig 1 Changes of colony activity in each store period

3 结论与讨论

微生态制剂作为活菌制剂, 它所含的活菌总数是影响使用效果的最主要因素, 菌活力强、数量大, 才能有效改善主体内外的生态环境。蔡辉益<sup>[5]</sup>指出, 益生菌一般要求  $3 \times 10^8$  个活菌/g, 每 1 天要达到  $10^8 \sim 10^9$  个菌体的菌量才能有效。瑞

典规定乳酸杆菌制剂的活菌数要达到  $2 \times 10^{10}$  个/g。我国在正式批准生产的益生菌中规定: 芽孢杆菌含量  $\geq 5 \times 10^8$  个/g。该试验结果表明, 保质期内活菌数量相对稳定, 40 d 内仍高达  $10^{10}$  个/ml 水平, 2 个月后虽有下降但仍有较高活性。但长期保存, 根据菌群增殖规律和营养的消耗, 菌群数量将进一步降低, 最终影响使用效果。所以, 对长期保存的微生态制剂, 在使用前最好进行活化处理, 添加红糖等营养物质, 使菌群在适宜的环境条件下迅速繁殖, 达到对数生长期, 可有效增加活菌总数, 提高利用效果。

参考文献

[1] 李焕发. 微生态制剂在断奶仔猪饲料中应用前景研究[J]. 饲料工业, 2001(3): 18- 21.

[2] 沈永恕, 曹广芝. 动物微生态制剂在畜禽胃肠道疾病预防与治疗中的应用[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2003(4): 16- 18.

[3] 邵建军, 朱瑞良. 微生态制剂的作用及应用中应注意的问题[J]. 四川畜牧兽医, 2003, 30(9): 45- 46.

[4] 欧守抒. 畜牧微生物学[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1994: 76- 78.

[5] 蔡辉益, 霍启光. 饲用微生物添加剂研究与应用进展[J]. 饲料工业, 1993( 4): 7- 8.