



菲迪技术论坛

禽用微生态制剂的研究和应用现状

吴毅芳 周常义 苏国成 苏文金

集美大学生物工程学院

1 微生态制剂

微生态制剂是根据微生物生态学的微生态平衡、微生态失调、微生态营养和微生态防制等理论,利用正常生物菌群成员或其促进物质制成的能够调整机体微生态平衡的物质。广义上的微生态制剂按组成成分的不同分为益生素、益生元和合生元三大类。益生素是指有利于宿主肠道微生物平衡的活菌食品或饲料添加剂。目前用作饲料添加剂的微生物主要有乳酸菌、芽孢杆菌、酵母菌、放线菌和光合细菌等几大类。益生元是指能选择性的刺激宿主动物消化道内有益菌的生长或产生对动物有利的营养物质或消化饲料中的不可消化成分的有效物质,包括低聚糖、微藻、双歧因子及天然植物等。目前,饲料中研究较多的益生元主要是低聚糖、酸化剂、中草药和糖萜素等几大类。合生元即为益生菌和益生元以一定比例混合的产物,具有二者的协同促进作用。狭义的微生态制剂多指益生素,由于禽用微生态制剂的研究考虑经济实用等因素,也多集中于益生素方面的研究,这是由于益生素的保健功能更具兼容性,既能一定程度上达到有益生元的作用效果又有自身的微生物生态学效应的特性。

2 微生态制剂的作用机制

2.1 补充有益菌群,维持动物肠道菌群平衡

正常情况下,动物在消化道内有特定量的有益微生物来维持消化道内的菌群平衡,促进动物生长和饲料的消化与吸收,但在环境和饲料投放等应激时会造成消化道内微生物区系紊乱,病原菌大量繁殖,引起动物消化机能失调,生长受阻。通过饲喂

微生态制剂,可使肠道有益菌在较短时间内恢复其种群优势,同时活菌制剂通过降低肠内酸度进而产生醇、过氧化氢和溶菌酶等抗菌物质,消耗大量氧气、与病原菌竞争营养素及通过占据小肠上皮位点等方式抑制有害菌生长。

2.2 提高饲料转化率、合成营养物质及促进生长

益生菌在动物肠道内生长繁殖,为机体提供多种消化酶(纤维素酶、蛋白酶和脂肪酶等)、B族维生素、氨基酸及未明促生长因子等营养物质,提高了胃蛋白酶的活性,促进胰液和胆汁的分泌,有利于机体对饲料的消化吸收,促进动物生长。同时,乳酸菌等产酸益生菌,能提高机体对钙、磷和铁等元素的吸收率。

2.3 刺激免疫系统,提高机体免疫力

微生态制剂是良好的免疫激活剂,低剂量的持续刺激能有效地提高干扰素和巨嗜细胞的活性,通过促进B细胞产生抗体和提高巨噬细胞活性等刺激免疫力和提高抗病能力。益生菌的细胞壁上存在着肽聚糖等,可刺激肠道免疫细胞,增加局部免疫抗体,增强机体抗病力。

2.4 净化肠道内环境,改善养殖场环境卫生

益生菌可减少氨和其他腐败产物的生成,中和大肠杆菌内毒素等毒性物质,形成消化道内膜性有益菌群屏障,同时排出的粪便中还含有大量的活性菌体,可利用剩余的氨,降低粪便臭味,改善舍内空气质量,减少机体应激和环境污染。

3 鸡用微生态制剂的常规菌种

目前,我国批准的可作为饲料添加剂的菌种有以下16种:干酪乳酸菌、植物乳杆菌、粪链球菌、屎链球菌、乳酸片球菌、枯草芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、嗜酸乳杆菌、乳链球菌、酿酒酵母、产朊假

收稿日期:2010-06-29

基金项目:福建省科技重点项目编号:200810022

通信作者:苏国成

丝酵母、沼泽红假单胞菌、地衣芽孢杆菌、保加利亚乳杆菌、乳酸肠球菌和戊糖片球菌等。以上菌株都可制备成制剂直接饲喂动物。

郝永任研制开发了以酪酸菌、乳酸菌和酵母菌复合的酪酸菌制剂,该制剂对预防和治疗鸡肠道细菌性疾病具有明显效果,同时提高肉鸡生产性能,使其增质量提高 8.28%,料肉比下降 5.77%。王东明在 AA 仔鸡饲料中添加 0.3% 酵母培养物,在 28 日龄,试验组盲肠内容物 pH 极显著低于对照组。封晔制备了含蜡样芽孢杆菌的复合酶制剂,当益生菌饲喂量达到 2 亿个/kg 时,鸡白痢治愈率高达 90%。王劲松和刘艳分别制成嗜酸乳杆菌和产阮假丝酵母复合菌制剂及粪肠球菌制剂,通过试验均表现制剂具有提高动物生长性能和免疫力的功能。

微生态制剂的菌种来源一般有 3 种方式:1) 从动物肠道中分离纯化出益生菌,对其进行鉴定后按照常规的发酵方式进行培养加工;2) 直接从市售的益生菌制品中(优酸乳饮料等)对益生菌进行分离鉴定,挑取所需要的益生菌进行扩大培养;3) 从菌种保藏中心或相关企业购买菌种进行培养。微生态制剂属于食品级,由于目前转基因食品对于动物机体可能产生的影响尚未有定论,故一般采用未经过人工诱变的益生菌进行加工,以确保其食用安全性。

4 微生态制剂的研制及生态学效应的研究

4.1 微生态制剂的研制方法

目前鸡用的微生态制剂多属于活菌制剂,以活菌数含量作为生产工艺的优劣评价指标,主要生产流程为:菌种筛选与培养→种子罐培养→发酵罐发酵培养→发酵液后处理→加入载体和保护剂→干燥→粉碎→过筛→成品包装→质检→微生态制剂成品。益生菌的培养方式分为单独培养和混合培养,液体发酵和固体发酵。制备复合菌剂时,在菌株生长条件允许的情况下可以采取混合培养,以节约空间和资源提高效益。固体发酵设备投入较少,技术要求较低,并且活菌质量浓度高,耐保存,但较易染菌;液体发酵设备价格昂贵,技术要求较高,更适合工业化规模生产。固体发酵形式除了应用于制剂制备过程,也可在制剂的使用过程采用,通过将含有益生菌的制剂作为种子拌入饲料中进行二次

固体发酵后饲喂,除了能增加益生菌数,还能通过发酵提高饲料中更有利于机体消化吸收的有效营养成分。

菌株筛选一般考虑 3 方面:1) 是否产孢子,细菌的孢子具有很强的抵御外界不良环境的能力,易于加工、保存期长及存活率高;2) 是否为动物消化道的固有菌,许多细菌具有宿主的特异性,动物机体对外界入侵的非共生微生物具有排斥反应;3) 是否产酸,产酸细菌所造成的酸性环境既可抑制病原菌生长,又有利于动物机体对营养物质的消化吸收,提高饲料利用率。

获得生产性能稳定的纯菌株后可采用多种方法提高菌体发酵密度,如:优化培养基(优化碳氮源、选择优化培养、液体发酵或固体发酵、调节发酵液的溶氧和 pH 等)、优化培养条件(培养温度、摇床转速、转接量和转接菌龄等)和优化培养方式(菌体游离培养或固定化培养和单独培养或混合培养等)等。在优化发酵条件的过程中,可通过一些统计学软件(SPSS 和 SASS)进行各项结果的分析比较,包括活菌数、发酵液的残糖、发酵液的蛋白含量和菌体蛋白含量等指标。活菌数通过 OD 值反应,结合活菌数与 OD 值的关系曲线进行推算;残糖采用 DNS 法、高效液相色谱法(HPLC)、苯酚硫酸法和碘量法等进行检测;发酵液蛋白含量的检测有考马斯亮蓝法、双缩脲法、水杨酸比色法、凯氏定氮法和福林-酚法等。

发酵密度达到预期指标后可对发酵液进行后处理。为了避免发酵液中的代谢产物对食用动物造成的不良反应,一般离心发酵液后弃上清,用灭菌氯化钠注射液洗涤菌体,洗涤后的菌体或结合保护剂或直接进行冷冻干燥或喷雾干燥,制成粉末或颗粒。由于是活菌干燥,所以需要对菌体保护剂和干燥工艺等进行优化,以益生菌的存活率作为评价指标对干燥过程的关键因素进行优化和调控。存活率的检测主要是通过活菌平板计数法实现。

在制剂的制作过程中,除了控制终产品中益生菌的活菌数,还必须控制制剂中有害菌的滋长,制剂中可能存在的有害菌主要包括,霉菌、大肠杆菌和沙门菌等,这些有害菌均需参照国标中的先关检测方法进行检测,并进一步将其数量控制在相关国标允许的标准范围内。

优质的微生态制剂应具有以下标准：1) 制剂所含的活菌量每毫升至少要达到 0.1 亿~100 亿个/g。2) 菌株应是稳定、安全和可靠的。3) 菌株能在肠道中定殖并繁殖，并具有抗酸、抗胆盐和抗环境变异的能力。4) 制剂应具有提高生产率和抗病的有益作用，能够长期储存，并且性能稳定。

4.2 微生态制剂生态学效应的研究方法

微生物生态学中的生态学效益狭义上指微生态制剂对饲喂动物生长性能的影响，主要包括提高肠道对饲料的吸收率、维持肠道菌群平衡、提高机体免疫功能及改善养殖环境和养殖动物体内的氮代谢等。

观察饲料吸收率，一方面可通过料肉比这个最为直接的数据来反应，所谓料肉比，就是平均耗料量与平均增质量的比值。即通过一定时间的饲喂后，通过增质量和耗料量的比值计算各个组的料肉比，通过软件分析，比较各组数据间的差异性，从而确定微生态制剂的添加对料肉比的影响。另一方面可通过观察试验动物肠道中消化酶类（脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶等）酶活特性的改变来验证制剂的有效性，将各组酶活数据经过统计软件分析其差异显著性后即可判断制剂的有效性。动物试验中采取的饲喂方式是将微生态制剂与饲料搅拌饲喂，或微生态制剂溶入饮用水中，或二者同时进行，对照组饲喂正常日粮和饮用水。但通常这样的饲喂形式一般是适合于研究禽畜，目前微生态制剂也被广泛应用于水产养殖，在研究其对水产动物的影响时考虑到微生态制剂投入水中质量浓度降低的问题，也可采用饲喂前经过微生态制剂灌胃的活食。这个喂食方式可被借鉴到以活食为辅食的饲养动物研究中。

料肉比及酶活变化情况只能大致反应出各个试验组间消化率的增减趋势，但若要进行定量对比，一般是比较各个试验组养分表现代谢率。养分表现代谢率主要的指标有干物质、粗蛋白、有机物、钙和磷等，参照杨胜的方法，比较饲料中和干燥粪便中的相对含量，计算出蛋鸡日粮中干物质、粗蛋白、有机物、钙和磷的消化率。

微生态制剂对肠道菌群平衡的影响，主要是观察饲喂微生态制剂后肠道中大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌、消化球菌、肠球菌、梭菌、芽孢杆菌和沙门菌等的数量变化。最为常用的比较传统的方法是在喂食前后取下肠道的一部分内容物定量称质量

后进行梯度稀释并涂布于选择培养基上。选择培养基主要是用于选择性富集大肠杆菌、双歧杆菌、乳酸菌和芽孢杆菌等。以上方法较为传统，但很多实验室在处理肠道时往往很难达到无菌水平，以至于影响试验结果。比较方便的方法是通过定期采集每个试验组的粪便，将其稀释后根据平板计数法，在选择性培养基中对各种菌落数进行比较，通常这种方法一般是比较各个试验组中大肠杆菌和芽孢杆菌含量的变化，菌落数有所减少的试验组说明该种菌在肠道的竞争性环境中处于不利位置，相反则说明其在肠道中取得了优势地位。这种统计方法较为粗略，但也能反应肠道中微生物菌群的变化情况。随着分子生物学技术的发展，Northern Blot、半定量 RT-PCR、荧光定量 PCR 和基因芯片等技术也应用于菌群数量的鉴定。荧光定量 PCR 在学术界和临床诊断都被广泛采用，该技术能较真实反应基因的表达水平，实时监控 PCR 扩增，数据处理自动化和数字化。

微生态制剂对于机体免疫力的影响，主要采用以下几种方法进行观察：1) 最直接的是比较各试验组的出栏率和腹泻率，所谓出栏率是指禽畜出栏的数量与初期畜禽数量的比值，若机体免疫力提高则出栏率就较高，腹泻率则相对较低；2) 在比较出栏率和腹泻率的基础上，还可以比较各试验组动物体内免疫器官的质量，通常情况下免疫器官的质量和机体免疫力成正比；3) 另外，机体免疫力与机体抗疲劳程度成正相关，有些实验室通过运动性试验对微生态制剂提高机体免疫力效果进行验证，如：负重游泳试验，通过检测其运动持续时间、肝糖原和血乳酸等指标进行观察；4) 以上 3 种是较为粗放的检测手段，一些条件设备比较好的研究机构可以做一些更为细化和精确的观察，如：采用免疫荧光法检测肠道黏膜、支气管、乳腺及血清中的 IgA、CD4⁺ 和 CD8⁺ 淋巴细胞；也可以通过一些酶促反应来检测血液中溶菌酶活性的改变。除了对机体非特异性免疫能力方面进行检测，也可用对机体的特异性免疫进行试验，如：利用酶联免疫吸附测定法观察微生态制剂的特异性免疫的影响等。

以上均是观察微生态制剂生态学效应的一般考虑指标，另外针对不同益生菌组成的微生态制剂及不同的试验动物，观察指标会有一些相应的变动，如：有些益生菌对于改善养殖环境的作用突出，则

需要通过对圈舍的氨气质量浓度等指标进行检测来验证；再者，由于大部分试验都是通过料肉比的数据间接反应出微生态制剂对于肠道消化酶活力，如果条件允许，也可以对这些指标进行细化的深入研究。

5 微生态制剂在国内养鸡业的应用

现在家禽集约化养殖过程中，由于饲养密度过大、免疫、过冷、过热、惊吓、换料、噪音及圈舍的卫生状况太差等，均会使鸡的消化道微生态平衡失调，使鸡的免疫力和生产性能下降，饲喂微生态制剂，可解决这些问题。雷万钧等和霍妍明通过饲喂不同剂量的微生态制剂证实微生态制剂调节能够调节鸡肠道主要微生物菌群，试验组肠道中乳酸杆菌数量明显多于未饲喂微生态制剂的对照组，而大肠菌群数则前者少于后者。李春丽等，易力和戴晋军发现，对比未添加微生态制剂的对照组，微生态制剂能够显著提高雏鸡增质量和饲料利用率，降低饲养成本，减少抗生素的使用和鸡的发病率，减少抗生素的残留和耐药菌株产生的可能性，使产品符合绿色安全的要求。成连贵和崔淑贞通过对饲养动物饲喂微生态制剂后发现，饲喂组的免疫器官和免疫指标，如：血液 IgG 水平、淋巴细胞转化率、疫苗抗体效价和法氏囊指数等都显著高于未饲喂组。李海英和薛德林试验表明：在蛋鸡日粮中添加益生菌，可以显著提高产蛋鸡的产蛋率和平均蛋质量，降低料蛋比。李海英和戴晋军证实，饲喂益生菌能降低粪中氨气和硫化氢的释放量。

6 微生态制剂应用中存在的问题

对于微生态制剂成品活菌含量低、不耐胃酸和胆盐等问题，一般将活菌进行微胶囊包埋后进行喷雾或低温冷冻干燥，既保证了活菌量，又能有效缓解微生态制剂在胃肠中失活的问题。目前，微生态制剂在耐抗生素方面的研究还未取得突破性进展，解决这一矛盾比较常用的方法首先是选择不在抗生素抑菌范围内安全的益生菌进行饲喂，并且最好是在使用抗生素前或之后的 24 h 进行饲喂。但是，抗生素和微生态制剂在一定程度上具有协同作用，在给禽使用微生态制剂时，先用抗生素清理肠道，为益生菌定植和繁殖清楚障碍，然后再饲喂微生态制剂，这样能起到事半功倍的效果。

在微生态制剂的使用过程中，首先是要注意选择适宜的益生菌，不同的产品有不同的功效，要选

择与自己的养殖品种适宜的制剂；其次是注意使用的剂量、质量浓度及饲喂时间，最好从新生时期就开始使用，以保证有益菌群优先定植，从而改善肠道菌群，促进采食，增强抗病能力，提高生长速度和成活率。但另一方面，若鸡场预支有限，可以考虑在饲养过程中的适当时间使用，如：病后康复期，各种应激因素前后等时间段内进行饲喂，可以节约养殖成本。另外，要提高鸡场饲养管理条件，能使有益菌株在肠道中有较高的生长率，保证其营养及助消化功能稳定有效地发挥，并且有益于鸡的生长发育；最后还要留意微生态制剂的保存方法，一般保存于低温、干燥且 pH 为 6~7 的条件下，若保存不当，则制剂中活菌数量减少直接影响到使用效果和经济效益。

7 微生态制剂的应用前景

微生态制剂作为一类新型绿色环保的饲料添加剂，无毒、无害、无残留且无污染，它在饲料中的应用为食品安全开辟了美好的前景。微生态制剂的出现，使养殖中的治疗手段从抗生素主打的化学时代进入了微观生物世界的新领域。鉴于目前益生菌在治疗方面的不足，可以开发相关具有治疗效果的益生元与益生菌协同作用。但目前对于微生态制剂作用机制的研究远落后于应用，基础理论方面的研究还不足，包括其使用过程中是否会有耐药因子传递给肠道中其他细菌而造成耐药因子扩散等安全问题还未有明确结论，这些都影响和限制了微生态制剂的开发与应用。但是微生态制剂的菌种品质和成品质量将随着分子生物学的发展、微胶囊及干燥工艺等相关新技术的应用有待进一步的提高。

参考文献

- [1] 吴健. 微生态制剂代替抗生素对肉用仔鸡生产性能影响的研究. 中国家禽, 2009, 31(11):55-56.
- [2] 万国福. 微生态制剂及其在养鸡业中的应用. 生物学教学, 2009, 34(1):6-8.
- [3] 李春丽, 贾晓慧, 惠参军, 等. 不同方式添加微生态制剂对雏鸡增质量的影响. 饲料研究, 2009(6):54-55.

通信地址：福建厦门集美大学生物工程学院灿英楼 315 室 361021

禽用微生态制剂的研究和应用现状

作者: [吴毅芳](#), [周常义](#), [苏国成](#), [苏文金](#)
作者单位: [集美大学生物工程学院](#)
刊名: [饲料研究](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [FEED RESEARCH](#)
年, 卷(期): 2010(10)

参考文献(3条)

1. [李春丽](#); [贾晓慧](#); [惠参军](#) 不同方式添加微生态制剂对雏鸡增质量的影响[期刊论文]-[饲料研究](#) 2009(06)
2. [万国福](#) 微生态制剂及其在养鸡业中的应用[期刊论文]-[生物学教学](#) 2009(01)
3. [吴健](#) 微生态制剂代替抗生素对肉用仔鸡生产性能影响的研究[期刊论文]-[中国国家禽](#) 2009(11)

本文读者也读过(10条)

1. [张日俊](#). [Zhang Ri jun](#) 微生态制剂的质量鉴别与选择、检测指标和标准[期刊论文]-[饲料工业](#)2010, 31(20)
2. [王文娟](#). [孙冬岩](#). [孙笑非](#) 微生态制剂对动物免疫营养的作用研究[期刊论文]-[饲料研究](#)2011(1)
3. [孙方伟](#). [吴向华](#) 微生态制剂的浓缩[期刊论文]-[湖北农机化](#)2010(3)
4. [温俊](#). [孙笑非](#) 微生态制剂的优势及在使用中的误区[期刊论文]-[饲料研究](#)2010(5)
5. [朱元招](#) 微生态制剂的应用现状及发展趋势[期刊论文]-[饲料研究](#)2008(8)
6. [李霞](#). [欧茂均](#). [金深逊](#) 微生态制剂在畜禽养殖生产中的应用[期刊论文]-[贵州畜牧兽医](#)2011, 35(1)
7. [孙鸣](#) 食品安全与微生态制剂的发展[期刊论文]-[饲料研究](#)2008(12)
8. [温俊](#). [孙冬岩](#). [孙笑非](#) 肠道菌群的重要性及微生态制剂对肠道的调节作用[期刊论文]-[饲料研究](#)2010(2)
9. 微生态制剂在畜牧业中的应用/微生态制剂在动物生产中的应用/微生态技术应用方向探索[期刊论文]-[北方牧业](#) 2010(18)
10. [雷万钧](#). [冀喆君](#). [冯焱](#). [LEI Wan-jun](#). [JI Zhe-jun](#). [FENG Yan](#) 微生态制剂对肉仔鸡盲肠菌群变化的影响研究[期刊论文]-[山西农业大学学报\(自然科学版\)](#) 2009, 29(2)

引证文献(1条)

1. [张华玲](#). [谭周进](#). [蔡光先](#). [蔡莹](#) 肠道菌群失调调控技术研究进展[期刊论文]-[中国微生态学杂志](#) 2011(11)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_slyj201010004.aspx