

会员登录

用户名:   
密码:   
验证码:  6148

登陆 注册

相关文章

- 发酵豆粕在水产饲料中的应用...
- 哺乳动物斯钙素-1的研究
- 微生物制剂降低胆固醇研究进...
- 饲料企业库存系统的系统动力...
- 糊化素的生物学效应及应用前...
- 类胡萝卜素在水产饲料中的应...
- 瘤胃微生物来源的纤维降解酶...
- 中草药植物内生菌产生抗生素...
- 蒸汽压片玉米加工工艺及其对...
- 乳酸菌的耐酸性机制

合作伙伴



评定益生乳杆菌在断奶仔猪饲料中应用潜力的标准

作者:范 硕 王士稳 罗云波

期号:2007年第14期

猪的胃肠道内具有高密度的微生物菌群,从胃中的7-9 logCFU/ml到小肠末端的9 logCFU/ml,结肠可达10-11 logCFU/ml。进行微生物种属鉴定,主要的属包括乳杆菌、链球菌、片球菌、梭菌及双歧菌等,其中乳杆菌的益生功能及较多数量使其成为最重要的一类菌种。现已从猪的粪便、小肠、盲肠和直肠内分离得到不同浓度的麦汁乳杆菌、肠乳杆菌、卷曲乳杆菌、植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、胃乳杆菌等。在仔猪饲料中具有应用潜力的益生菌株的筛选标准包括:①分离于合适的菌群栖息地;②益生菌株的安全性;③体外菌种鉴定;④菌种适应性;⑤在混合菌种中的高水平繁殖率;⑥在宿主中的存活力和定植力;⑦产生抑制病原菌的物质。综合考虑益生菌在动物体内的生存环境以及饲料的加工工艺,本文详细介绍评定益生乳杆菌在断奶仔猪饲料中应用潜力的几个重要指标以及指标的测定方法,以便于今后的科学研究更好地发现并鉴定出优良的应用于饲料工业的益生乳酸菌菌株。

1 菌株对于高酸度pH值的适应性测定

待测菌株在MRS液体培养基中30℃或37℃过夜培养;以1%的接种量接种于新鲜MRS培养基中恒温静止培养18h;在4℃下5 000×g离心10 min,菌体沉淀用磷酸盐缓冲液PBS(10 mM 磷酸二氢钠、10 mM磷酸氢二钠、130 mM氯化钠,pH值7.2)洗涤1次;菌体悬浮于PBS,溶液浓度为10 logCFU/ml,调pH值分别为1.0、2.0、3.0、4.0和5.0,培养1、2、4 h;将培养后的菌液梯度稀释至合适浓度,菌液均匀涂抹于MRS固体平板上,计算细胞的存活率x logCFU/ml(0<x<10)。试验重复两次,每一个数据都是基于3次观察所得数据的平均值。

根据每种菌株在各个pH值条件下的存活时间比较菌株之间的差异,选择耐酸的优良菌株。

2 菌株的抗热性测定

待测菌株于MRS液体培养基中30℃或37℃静止培养18 h浓缩菌液,将5 ml沉淀的菌液重悬于0.5 ml MRS培养基中,浓度为10 logCFU/ml;将菌液转移至毛细玻璃管内,70℃热击10 s,而后10℃冷却5 min,菌液涂板于MRS固体平板上。重复3次计算平均的菌株细胞存活率。

菌株的抗热性也经常通过将乳杆菌与猪饲料混合后来测定:稳定期收获的细胞用pH值7.0、浓度50 mM的磷酸钾缓冲液洗涤2次,细胞沉淀重悬于双蒸水中至OD620nm为0.2,浓度约9 logCFU/ml;菌液以10%接种于5 g猪饲料将0.5 g混合物转移入毛细玻璃管内,70℃热击10 s,然后10℃冷却5 min,菌液涂板于MRS固体平板上。根据菌株热击后的细胞存活率x logCFU/ml(0<x<10)由高到低来筛选抗热性菌株。

3 菌株对胃肠道模拟液的适应性测定

胃模拟液的制备:125 mM NaCl、7 mM KCl、45 mM NaHCO3、3 g/l 胃蛋白酶(来源于猪的胃粘膜)。

肠模拟液的制备:0.1%胰液素(来源于猪的胰腺)、0.15%牛胆汁盐,调pH值8.0。

胃模拟液的适应性测定:收获稳定期的待测菌株细胞,8 000×g离心10 min,菌体沉淀用生理盐水洗涤;重悬于50 ml胃模拟液,菌株细胞浓度约10 logCFU/ml pH值分别调至2.0、3.0和8.037℃严格厌氧培养,并轻微震荡培养以模拟胃的蠕动分别取培养0、90 min和180 min的菌液涂板计算菌株细胞存活率x logCFU/ml(0<x<10)。

肠模拟液的适应性测定:收获在胃模拟液中培养180 min的菌株细胞,重悬于肠模拟液;悬浮液置于37℃严格厌氧培养;分别取培养0、90、180 min的菌液涂板计算菌株细胞存活率x logCFU/ml(0<x<10)。

经过胃肠道模拟液后,一般菌株的细胞存活率都会有所下降,但只要在一个可接受的范围内即可。细胞存活率越高,菌株经过猪胃肠道消化后到达小肠和结肠的数目就会越多。加入保护剂或者将细胞制备成高密度可繁殖细胞形式,或者加入抗菌代谢物质,都可以增大菌株细胞的存活率。饲料本身就是菌种的一种保护剂。

4 菌株的抑菌性测定

分别测定细胞和无细胞的上清培养液的抑菌活性,来鉴定细胞还是细胞代谢产物具有抑制病原菌活性。无细胞的上清培养液制备:待测菌株培养于MRS培养基中,收获后使用8 000×g离心10 min,无细胞的上清液可直接用于检测试验或对上清液用1 M NaOH调pH值至6.5-7.0,再用0.5 mg/ml过氧化氢酶处理。细胞液制备通过使用菌株对胃肠道模拟液抗性的试验方法得到。

作为指示菌的病原菌一般选择大肠杆菌 K12、鼠伤寒沙门氏菌ATCC 6994、猪痢疾短螺旋体ATCC 27164、产气荚膜梭菌Type A strain 22G、葡萄球菌ATCC 25923等。对于不同的指示菌采用指定的培养基,如pH值7.0的LB培养基用于大肠杆菌 K12和鼠伤寒沙门氏菌ATCC 6994等。指示菌均匀涂板于相应的固体平板,浓度达4 logCFU/ml。在固体平板上放置直径为5 mm的牛津杯,其中加入经过胃肠道模拟液处理的细胞液,或无细胞的上清培养液。平板置于4℃放置4 h,以利于抗菌物质的充分扩散。37℃厌氧培养24 h后计算抑菌圈的大小,以氯霉素作为阳性对照。

5 菌株的抗生素抗性测定

待测菌株的抗生素抗性采用药敏纸片法测定。待测菌株稀释至合适浓度后均匀涂于MRS固体平板,将含有一定浓度各种抗生素的药敏纸片置于平板中央,30℃或37℃培养24 h,测量产生的抑菌圈的直径,从而判断待测菌株对某种抗生素敏感还是具有抗性。常用此方法来检测的抗生素包括氨基青霉素、万古霉素、氯霉素、四环素、链霉素、新霉素、卡那霉素等。

6 菌株的抗冻性测定

待测菌株在冻结培养物中的生存能力在冻结前、后都进行测定。将装有待测菌液的螺帽玻璃管在室温条件下每周解冻1次,随后将菌液用PBS溶液进行梯度稀释,涂板检测细胞存活率。

总之,益生乳杆菌应用于饲料中的一个最重要的条件就是菌株在通过动物消化道过程中具有较高的存活率。待测菌株如果能够适应体内的胃肠道液体,具有天然的肠道定植能力而成为优势菌群,并且具有抑制病原菌特性,以及在饲料的加工贮藏中仍能够保持较高的存活率,这样的菌株将具有很大的开发潜力。

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

...评论...

发表

江苏正昌集团有限公司  
JIANGSU ZHENGCHANG GROUP CO., LTD.

安徽中嘉博特乳业有限公司  
ANHUI ZHONGJIA BOTELUO CO., LTD.

评论

\*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽 ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址:沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编:110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告:E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部:(024)86391926(传真) 编辑二部:(024)86391925(传真) 网络部、发行部:(024)86391237 总编室:(024)86391923(传真)