

# 畜禽液态复合益生菌肠泰素的研制与应用

蒋长苗<sup>1</sup>, 吕李明<sup>2</sup>, 丁建华<sup>3</sup>, 吴代圣<sup>4</sup>, 潘国家<sup>4</sup>

(1. 安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036; 2. 安徽省合肥天泰牧业技术有限公司, 安徽合肥 230031; 3. 安徽省霍邱县畜牧兽医站, 安徽霍邱 237400; 4. 安徽省定远县藕塘镇畜牧兽医站, 安徽定远 233200)

**摘要** [目的] 研究畜禽液态复合益生菌肠泰素的制备与应用。[方法] 采用混合同步发酵工艺进行试验。[结果] 结果表明, 制备的液态复合益生菌肠泰素, 乳酸含量达 2.1 mg/ml, 蛋白酶活力达 565 IU/ml, 淀粉酶活力达 673 IU/ml, 益生菌总数达  $1.22 \times 10^9$  个/ml, 保质期达 12 个月。添加肠泰素 2% 饲喂, 猪和肉鸡增重分别提高 6.1% 和 5.5%, 防治仔猪白痢和雏鸡白痢的有效率分别为 96.6% 和 94.5%。[结论] 畜禽液态复合益生菌肠泰素各项技术指标达到行业标准, 对畜禽具有显著的增重、防治腹泻和降低粪臭等效果。

**关键词** 复合益生菌; 肠泰素; 液态发酵; 增重; 腹泻; 粪臭

中图分类号 S859.79 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)03-01105-03

## Preparation and Utilization of the Fluid Synthetic Probiotics Changtaisu for Livestock and Poultry

JIANG Chang-miao et al (College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the preparation and utilization of the fluid synthetic probiotics Changtaisu for livestock and poultry. [Method] Mixed and synchronous fermentation was used to do the test. [Result] The results showed that the lactic acid content of the fluid synthetic probiotics liquid was 2.1 mg/ml, the protease activity was 565 IU/ml, the amylase activity was 673 IU/ml and the total live probiotics was more than  $1.22 \times 10^9$  /ml. Its effective time was 12 months. The results of animal feeding experiment showed that the weight of pigs and chickens increased by 6.1% and 5.5% respectively when the basal diet supplemented by Changtaisu at 2% was used to feed them. The results of veterinary clinic experiment indicated that the effective rate of Changtaisu curing white scour of piglets and pullorum disease was diseased 96.6% and 94.5% respectively. [Conclusion] The technique indications of Changtaisu comply with the industry standard. It is very effective in gaining weight, controlling diarrhea and decreasing odor.

**Key words** Synthetic probiotics; Changtaisu; Fluid fermentation; Gaining weight; Diarrhea; Odor

目前, 益生菌已广泛应用于动物生产中, 且使用的产品基本上是粉散剂。为了提高产品质量, 规范生产程序, 降低综合成本, 拓展应用范围, 笔者运用微生物学、微生物生态学和生物工艺学原理与方法, 研制了畜禽液态复合益生菌肠泰素, 同时, 在畜禽增重、腹泻防治和降低粪臭方面进行了应用效果试验<sup>[1-4]</sup>。

## 1 材料与方 法

**1.1 菌种** 枯草杆菌、嗜酸乳杆菌和酿酒酵母, 由安徽农业大学动物科技学院微生物室提供。

**1.2 试验动物** 健康青年猪和 1 日龄肉鸡由安徽省定远县藕塘镇某养殖小区提供; 自然感染的白痢仔猪和白痢雏鸡由安徽省霍邱县兽医站门诊部提供; 大白鼠由安徽中医学院动物房提供。

## 1.3 种子液的制备

**1.3.1 枯草杆菌种子液的制备。** 牛肉汤培养基 接种枯草杆菌菌种 40 需氧培养 18~24 h 检测活菌含量达 20 亿个/ml 以上, 可留作种子液备用。

**1.3.2 嗜酸乳杆菌种子液的制备。** 脱脂鲜奶培养基 接种嗜酸乳杆菌菌种 38 厌氧培养 18~24 h 检测活菌含量达 20 亿个/ml 以上, 可留作种子液备用。

**1.3.3 酿酒酵母种子液的制备。** 麦芽汁培养基 接种酿酒酵母菌种 32 需氧培养 12~16 h 检测活菌含量达 20 亿个/ml 以上, 可留作种子液备用。

**1.4 益生菌混合发酵液的制备** 5% 麦芽汁 1 000 ml + 蛋白胨 10 g + 葡萄糖 10 g + 脱脂奶粉 20 g + 氯化钠 5 g 煮沸溶解过滤, 调 pH 值至 7.6 倒入发酵罐中(占罐体积 50%), 高压灭菌 冷却至 40℃, 按底物 2% 的量接种枯草杆菌种子液

40℃ 鼓泡通气培养 18 h 添加嗜酸乳杆菌种子液培养基至罐体积 70%, 按底物 2% 的量接种嗜酸乳杆菌种子液 38℃ 厌氧培养 18 h(1 h 搅拌 1 次) 添加酿酒酵母种子液培养基至罐体积 90%, 按底物 2% 的量接种酿酒酵母种子液 32℃ 鼓泡通气培养 16 h(压力过高可放气减压) 粗制复合益生菌发酵液 检验合格后过滤 肠泰素成品<sup>[3,5-7]</sup>。

**1.5 动物增重试验** 将试验猪和鸡随机分成试验和对照 2 组, 各组数目相等, 公母比例一致, 平均体重差异不显著( $P > 0.05$ )。试验组按基础日粮 2% 加入肠泰素, 对照组只饲喂基础日粮, 2 组基础日粮营养水平相同, 饲料按 1.0:1.5 比例用温水调制成半湿状饲喂<sup>[8-9]</sup>。

**1.6 动物腹泻防治试验** 选择自然感染的白痢仔猪和白痢雏鸡, 病猪每头饲喂肠泰素 10 ml, 病鸡每只饲喂肠泰素 2 ml, 1 d 2 次, 连喂 2 d, 停喂后 12 h 内腹泻停止, 记为有效<sup>[5,10]</sup>。

## 1.7 测定内容与方 法

**1.7.1 感官指标测定。** 色泽、性状和杂质测定采用直观法; 气味测定采用直嗅法。

**1.7.2 益生菌指标测定。** 采用国内外学者介绍的活菌测定方法<sup>[11-12]</sup>。

**1.7.3 生化指标测定。** pH 值测定采用酸度计法; 乳酸含量测定采用 Barker 和 Sumner 氏比色法<sup>[13]</sup>; 蛋白酶和淀粉酶活力测定分别采用福林-酚试剂法和碘-淀粉比色法<sup>[14]</sup>。

**1.7.4 卫生指标测定。** 大肠杆菌和沙门氏杆菌分别采用伊红美兰琼脂和 S.S 琼脂培养法测定<sup>[15]</sup>。

**1.7.5 安全检验。** 用肠泰素饲喂大白鼠 6 只, 每只口服 2 ml, 1 d 2 次, 连喂 5 d, 观察 10 d。

**1.7.6 12 个月保质期各项指标测定。** 在室温避光条件下存放 12 个月进行活菌总数、pH 值、乳酸含量、酶活力测定及外观变化观察。

**1.7.7 粪臭测定。** 采用闻嗅法。

**作者简介** 蒋长苗(1957-), 男, 安徽怀宁人, 硕士, 副教授, 从事兽医微生物学和免疫学的教学与研究工作。

收稿日期 2008-11-03

表1 肠泰素益生菌含量测定结果

Table 1 Determination result of Changtaisu probiotics content

菌种 Strain	亿个/ml			
	第1批 First batch	第2批 Second batch	第3批 Third batch	平均值 Mean
枯草杆菌 Bacillus subtilis	3.5	3.9	4.0	3.8
嗜酸乳杆菌 Lactobacillus acidophilus	4.4	4.9	5.1	4.8
酿酒酵母 Saccharomyces cerevisiae	3.3	3.8	3.7	3.6
总数 Total	11.2	12.6	12.8	12.2

## 2 结果与分析

**2.1 感官指标测定结果** 该试验制备的3批肠泰素均为淡黄色、半透明、无絮状物和芳香味混悬液体。

**2.2 益生菌含量测定结果** 该试验制备的3批肠泰素中益生菌活菌总数测定结果见表1。

**2.3 生化指标测定结果** 该试验制备的3批肠泰素pH值、乳酸含量、蛋白酶活力和淀粉酶活力测定结果见表2。

表2 肠泰素生化指标测定结果

Table 2 Determination result of biochemical index of Changtaisu

批次 Batch	pH值 pH value	乳酸含量 ng/ml Lactic acid content	蛋白酶活力 U/ml Protease activity	淀粉酶活力 U/ml Amylase activity
第1批 First batch	4.9	1.90	555	670
第2批 Second batch	4.5	2.20	560	665
第3批 Third batch	5.1	2.30	580	685
平均值 Mean	4.8	2.13	565	673

表4 猪40d 饲养增重试验结果

Table 4 Result of the porcine gain test after feed for 40 d

组别 Group	头数 Heads	始均重 kg/头 Initial average weight	末均重 kg/头 Final average weight	均增重 kg/头 Average weight gain	总增重 kg Total weight gain	总耗料 kg Total feed consumption	料重比 Feed weight ratio
试验组 Treat group	50	38.95	65.43	26.48	1324.0	4170	3.15 1
对照组 Control group	50	38.56	63.51	24.95	1247.5	4170	3.34 1

表5 肉鸡56d 饲养增重试验结果

Table 5 Result of the broiler gain test after feed for 56 d

组别 Group	只数 Heads	死亡数 Death number	成活率 Survival rate %	鸡数量 Chicken number	平均体重 kg Average body weight	平均耗料 kg Average feed consumption	料重比 Feed weight ratio
试验组 Treat group	200	5	97.5	195	2.49	5.25	2.11 1
对照组 Control group	200	10	95.0	190	2.38	5.31	2.23 1

**2.9 粪臭测定结果** 对用肠泰素进行增重试验的猪和肉鸡的粪便臭味检测,其试验组猪和鸡粪便有淡淡酸味,臭味显著降低,而对照组粪便仍有正常臭味。

## 3 结论与讨论

(1) 目前,国内生产的动物益生菌产品基本上是粉散剂,

**2.4 卫生指标测定结果** 该试验制备的3批肠泰素中均未检出大肠杆菌和沙门氏杆菌。

**2.5 安全检验结果** 用肠泰素饲喂的大白鼠,无任何异常症状,剖检各脏器无任何病理变化。

**2.6 12个月保质期各项指标测定结果** 该试验制备的3批肠泰素在室温避光条件下,经12个月存放检验,其颜色和气味均无明显变化,pH值和乳酸含量略有上升,消化酶活力和益生菌总数略有下降。各项技术指标测定结果见表3。

表3 肠泰素存放12个月各项指标测定结果

Table 3 Determination result of each index of Changtaisu after storage for 12 months

批次 Batch	pH值 pH value	乳酸含量 ng/ml Lactic acid content	蛋白酶活力 U/ml Protease activity	淀粉酶活力 U/ml Amylase activity	益生菌总数 亿个/ml Total number of probiotics
第1批 First batch	5.0	2.10	540	655	10.5
第2批 Second batch	4.6	2.30	545	650	12.0
第3批 Third batch	5.2	2.40	560	675	11.7
平均值 Mean	4.9	2.25	548	660	11.4

**2.7 增重试验结果** 在基础日粮中添加2%肠泰素饲喂猪和肉鸡,分别作40、56d试验,其增重、料耗和料重比等试验结果见表4、5。经方差分析可知,无论是猪还是鸡,试验组和对照组在体重上的差异均极显著( $P < 0.01$ )。

**2.8 动物腹泻防治试验结果** 用肠泰素水剂饲喂自然发生的白痢仔猪240头,康复232头,有效率为96.6%;用肠泰素水剂饲喂自然发生的白痢雏鸡730只,康复690只,有效率为94.5%。

该试验采用液态混合发酵工艺制备的肠泰素,填补了国内空白。分析可知,肠泰素理化性状、活菌含量、消化酶活力、卫生标准和保质期等技术指标均达到行业相关规定,从而保证了产品质量和实际应用效果<sup>[2]</sup>。

(2) 枯草杆菌、嗜酸乳杆菌、酿酒酵母3种益生菌组合巧

妙,生长环境相互协同,生产省工、省时、节能。在同一发酵罐中各菌含量能达到3亿~4亿个/ml;乳酸和消化酶含量能达到较高水平<sup>[3,5-6]</sup>。

(3) 液态复合益生菌肠泰素生产工艺比粉散剂简单,无需烘干粉碎,生产周期短,有效成分损耗少,霉菌和腐败菌污染机会小,生产成本降低,产品质量易于控制,操作程序便于规范<sup>[2,5]</sup>。

(4) 在基础日料中添加2%的肠泰素水剂饲喂猪和肉鸡,增重效果显著。猪饲喂40 d和肉鸡饲喂56 d增重极显著高于基础日粮对照组( $P < 0.01$ )。其中,添加饲喂肠泰素水剂的猪重量提高了6.1%,增重1 kg减少饲料0.19 kg;添加饲喂肠泰素水剂的肉鸡重量提高了5.5%,增重1 kg减少饲料0.12 kg。这表明肠泰素水剂具有显著降低饲料消耗和提高动物增重作用。其机理在于肠泰素中益生菌能产生大量的蛋白酶、淀粉酶、维生素和有机酸,从而增强了动物胃肠道生理功能,提高了动物对饲料的转化力和利用率<sup>[5,8-9]</sup>。

(5) 对自然感染的白痢仔猪和白痢雏鸡连续2 d饲喂肠泰素水剂,能有效控制下痢,对仔猪白痢和雏鸡白痢防制有效率分别为96.6%和94.5%。微生物学理论认为,动物细菌性和应激性下痢与肠道菌群紊乱有密切关系。仔猪白痢和雏鸡白痢分别由大肠杆菌和沙门氏杆菌引起,它们均属条件致病菌,在正常情况下,虽栖居肠道但不发病,一旦肠道微生态环境破坏(如气候突变,饲料变更等)就会突然大量繁殖,导致动物腹泻。肠泰素之所以对仔猪白痢和雏鸡白痢有很好的防治作用,其机制在于肠泰素中益生菌在肠道中能迅速大量繁殖,产生对条件致病菌有抑制作用的物质如有机酸、细菌素、乙醇等,并以绝对优势争夺条件致病菌所需要的养分、氧气和空间,从而竞争排斥了条件致病菌,达到调整肠道

菌群的目的<sup>[1,5,8,10]</sup>。

(6) 益生菌虽属动物肠道过路菌,但在一定时间内能大量繁殖而抑制动物肠道腐败菌生长,吸附、中和和分解动物肠道毒性物质,抑制氨和胺的合成,从而降低粪便臭味<sup>[2,10]</sup>。

(7) 肠泰素作为液态饲料级微生物添加剂,已经农业部批准获得文号生产,并以感官指标、益生菌指标、生化指标和卫生指标等为依据制定了产品地方质量标准和质检规程,产品无任何毒副作用,为健康养殖和生产无公害畜禽提供了物质基础<sup>[1-2]</sup>。

#### 参考文献

- [1] 何明清. 动物微生物学 M. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [2] 蔡辉益. 饲用微生物添加剂研究与应用进展 J. 饲料工业, 1993, 14(4): 9-10.
- [3] 俞俊棠. 生物工艺学 M. 上海: 华东工学院出版社, 1992.
- [4] 无锡轻工学院. 微生物学 M. 北京: 轻工业出版社, 1998.
- [5] 蒋长苗, 刘旭光, 丁建平, 等. 微生态血粉研制与应用 J. 中国微生物学杂志, 1999, 11(4): 233-235.
- [6] 陆文清, 李德发, 武玉波, 等. 液态发酵饲用酶制剂的研究与生产 J. 饲料研究, 2000, 24(11): 1-4.
- [7] 伦世仪. 生化工程 M. 北京: 轻工业出版社, 1992.
- [8] 何明清, 吴林. 猪微生物饲料添加剂(8701)对生长育肥猪抗病增重及提高饲料利用率研究 J. 中国微生物学杂志, 1990, 2(4): 43-45.
- [9] 刘旭光, 丁建平. 饲用复合微生物添加剂对肉鸡增重的影响 J. 饲料研究, 1996, 19(4): 8-9.
- [10] 蒋长苗, 鲍传和, 马元山. 鸡白痢发生的微生物学机理的研究 J. 安徽农业大学学报, 1992, 19(4): 339-344.
- [11] 大连医学院正常菌群实验室. 正常菌群检查方法 Z. 全国正常菌群学术讨论会专辑, 1982.
- [12] 光冈知足. 肠内菌の世界 M. 日本东京: 丛文出版社, 1980.
- [13] BARKER S B, SUMMERSON W H. The colorimetric determination of lactic acid in biological materials J. J Biol Chem, 1941, 138: 535-554.
- [14] 周景祥, 王佳平, 余涛. 蛋白酶和淀粉酶活性检测方法探讨 J. 中国饲料, 2001, 25(11): 8-12.
- [15] 国家质量技术监督局. 食品卫生检验方法: 微生物学部分 M. 北京: 中国标准出版社, 1985.

更和谐、人文气息更浓厚,为学校发展做出了巨大贡献。

#### 参考文献

- [1] 沈关龙. 校园绿地的功能和特点 J. 南通职业大学学报, 2002(3): 102-104.
- [2] 江东洲. 相思湖畔正见朱槿飞花——广西民族大学党委书记梁颖谈治学建设 N. 科技日报, 2007-08-18(006).
- [3] 广西民族学院后勤服务中心. 绿化美化校园, 优化育人环境 J. 中国高校后勤研究, 2001(1): 66-67.
- [4] 陆广潮. 城市公共绿地养护推行市场化管理的探讨 J. 广东园林, 2007(3): 65-67.

(上接第1083页)

作用。建立校园绿地养护管理机构有利于明确管理人员的职责和分工;充分调动师生员工参与绿地管理,使绿地建设更具人性化和生机;严格执行与有效监督机制,有助于绿地地域文化特色的延续发展;而量化养护,则使绿地管理更易操作和经济有效,这是将来绿地养护管理的发展方向之一。有效的绿地养护管理,已使广西民族大学变得更美丽、环境