

微生物生态制剂及其应用

王秋菊 崔一喆 著

WEISHENGTAI ZHIJI JIJI YINGYONG



化学工业出版社

微生物制剂及其应用

王秋菊 崔一喆 著



化学工业出版社

· 北京 ·

本书在综述当前国内外微生态制剂最新进展的基础上,详细介绍了微生态制剂的主要种类和各自特点,动物微生态制剂在畜牧业生产上的研究与应用,重点介绍了微生态制剂中乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌和复合菌制剂在畜牧生产上的应用。全书内容翔实、丰富,注重理论联系实际,具有较强的理论性、实践性和实用性。

本书可供广大动物生产者 and 农村生产户参考,也可供各高等院校相关专业师生阅读。

图书在版编目(CIP)数据

微生态制剂及其应用/王秋菊,崔一喆著. —北京:
化学工业出版社, 2014. 8
ISBN 978-7-122-20925-2

I. ①微… II. ①王…②崔… III. ①微生物生态学-制剂-应用-研究 IV. ①R37②R945

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 125620 号

责任编辑:刘军 张艳
责任校对:徐贞珍

文字编辑:谢蓉蓉
装帧设计:王晓宇

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)
印 装:北京云浩印刷有限责任公司

710mm×1000mm 1/16 印张11½ 字数211千字 2014年8月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 48.00 元

版权所有 违者必究

前言

Foreword

动物微生态制剂是生物制品中的一种,根据动物微生态学基本原理研制,可用于调节动物机体微生态平衡。它是通过增强机体对肠道内有害微生物的抑制或通过增强非特异性免疫功能来预防疾病、促进动物生长或提高饲料转化率的一类饲料添加剂。目前,人们越来越重视动物食品中抗生素和化学药物的残留问题,动物微生态制剂由于其自身的优点在畜牧生产上发挥了重要的作用。笔者在广泛收集、分析和归纳近年来国内外微生态制剂研究方面的文献资料的基础上,重点结合自己多年参与的试验研究与研究成果,撰写了本书。

本书共分5章,第一章为微生态制剂概述,详细、系统地介绍了微生态制剂研究背景和现状,以及益生菌主要种类和各自的特点,并介绍了微生态制剂的作用及影响使用效果的因素;第二章内容主要是介绍乳酸菌制剂在畜牧业生产上的应用概况及其应用效果研究报告;第三章内容主要是介绍酵母菌制剂在畜牧业生产上的应用概况及其应用效果研究报告;第四章内容主要是介绍芽孢杆菌制剂在畜牧业生产上的应用概况及其在畜禽和水产养殖上的应用效果;第五章内容主要是介绍复合菌制剂在畜牧业生产上的应用概况及其在禽及反刍动物上的应用研究报告。其中第一章、第三章和第四章由黑龙江八一农垦大学王秋菊撰写;第二章和第五章由黑龙江八一农垦大学崔一喆撰写。本书内容科学实用,语言严谨规范,组织结构清晰,反映了动物微生态制剂的国内外研究动态和在生产上应用现状。本书可作为动物生产者使用饲料微生态制剂的参考书籍,也可供各高等院校相关专业师生参考阅读。

因笔者水平有限,书中若存在不妥之处,敬请读者斧正!

王秋菊
2014年5月

目录

Contents

Chapter 一

第一章 微生态制剂概述	1
第一节 动物微生态制剂的产生背景及研究现状	1
一、微生态制剂产生背景	1
二、动物微生态制剂研究现状	2
第二节 微生态制剂常见菌类	2
一、乳酸菌	3
二、芽孢杆菌	8
三、酵母菌	13
四、双歧杆菌	17
五、光合细菌	21
第三节 微生态制剂在动物生产上的作用	23
一、调节动物消化道的微生态环境，维持肠道菌群平衡	24
二、维持消化功能，促进动物生长	25
三、协助消化吸收，提高饲料利用率	26
四、增强动物免疫系统功能	26
五、提高生产繁殖和疾病抵抗能力	27
六、促进对氮的利用，减轻畜禽粪便污染	28
七、提高生产性能，改善畜禽产品商品性能	29
第四节 影响微生态制剂饲用效果的因素	29
一、微生态制剂的质量	30
二、动物方面的影响	31
三、饲料方面的影响	32
四、微生态制剂菌种选择条件	33
参考文献	34

Chapter 二

第二章 乳酸菌制剂的应用	38
第一节 乳酸菌制剂的生产工艺和作用机制	38
一、乳酸菌制剂的生产工艺	38
二、乳酸菌的作用机制	39
第二节 乳酸菌制剂在动物生产上的应用	42
一、乳酸菌的应用概况	42
二、乳酸菌在动物营养中的应用	43
三、乳酸菌在减轻畜禽粪便污染中的作用	44
第三节 乳酸菌在鸡生产上的应用研究	46
一、格氏乳杆菌制剂在雏鸡生产中的应用研究	46
二、不同乳酸菌制剂对肉仔鸡生长性能、盲肠菌群和免疫 功能的影响	54
参考文献	76

Chapter 三

第三章 酵母菌制剂的应用	82
第一节 酵母菌制剂的生产工艺和作用机制	82
一、酵母培养物及其特点	82
二、酵母培养物与活细胞酵母	82
三、酵母培养物的一般生产工艺	84
四、酵母培养物的作用机制	84
第二节 酵母培养物在动物生产中的应用概况	85
一、酵母培养物在反刍动物生产中的应用	85
二、酵母培养物在养猪生产中的应用	87
三、酵母培养物在家禽生产中的应用	87
四、酵母培养物在其他方面的应用	87
第三节 酵母菌在反刍动物上的应用研究	88
一、不同发酵工艺酵母培养物对模拟瘤胃发酵的影响	88
二、酵母培养物对断奶期犊牛生长性能和血液生化 指标的影响	98
参考文献	107

Chapter 四

第四章 芽孢杆菌制剂的应用	111
第一节 芽孢杆菌制剂的作用机制	111
一、芽孢杆菌在禽和单胃动物上的作用机制	111

二、芽孢杆菌在反刍动物上的作用机制	112
第二节 芽孢杆菌在畜禽生产中的应用效果	112
一、芽孢杆菌在家禽生产中的应用效果	112
二、芽孢杆菌在猪生产中的应用效果	114
三、芽孢杆菌在反刍动物生产中的应用效果	114
第三节 芽孢杆菌在水产动物生产中的应用效果	115
一、芽孢杆菌对养殖池水质的调节	115
二、芽孢杆菌对鱼虾生长性能的影响	117
三、芽孢杆菌对鱼虾肠道菌群及消化酶活性的影响	118
四、芽孢杆菌对鱼虾免疫力的影响	118
五、芽孢杆菌对鱼虾其他方面的作用	119
第四节 芽孢杆菌制剂在其他产业的应用	120
一、芽孢杆菌在工业上的应用	120
二、芽孢杆菌在农业上的应用	121
三、芽孢杆菌在医药上的应用	124
四、芽孢杆菌在生物学理论研究上的应用	124
参考文献	125

Chapter 五

第五章 复合微生态制剂的应用	130
第一节 复合微生态制剂概述	130
一、动物微生态理论	130
二、微生态制剂的作用机制	131
三、微生态制剂在研究开发过程中存在的问题	133
第二节 复合微生态制剂在鹅生产上的应用	134
一、雏鹅的复合益生菌固体发酵制剂应用研究	134
二、复合菌制剂对杂交仔鹅应用效果的研究	143
第三节 复合微生态制剂在牛生产上的应用	153
一、复合微生物菌剂处理玉米秸秆瘤胃降解率及其对育 成牛体重影响的研究	153
二、复合益生菌制剂对奶牛瘤胃体外发酵特性及生产 性能的影响	158
参考文献	173

第一章

微生物制剂概述

第一节 动物微生物制剂的产生 背景及研究现状

一、微生物制剂产生背景

自 1929 年英国的 Fleming 发现抗生素以来，抗生素给人类的生产、生活带来了巨大变化。然而，由于抗生素的耐药性、二重感染、残留性等特性，2006 年欧盟各国已全面禁止抗生素作为动物饲料添加剂应用。相继其他国家也在限制抗生素的使用，所以寻找其替代物是首要问题。微生物制剂作为一种新型的生物制剂是较理想的替代品。

微生物学（microecology）最早由德国学者 Voeber Rusch 于 1977 年提出，它是研究正常微生物与其宿主内环境相互依赖和制约的生态科学。微生物学的发展同时带动动物微生物制剂也发展起来。微生物制剂又称为微生物调节剂，Fuller（1989）将动物微生物制剂定义为：它是一种可通过改善肠道菌群平衡而对动物施加以有利影响的活微生物饲料添加剂。动物微生物制剂是生物制品中的一种，根据动物微生物学基本原理研制，可用于调节动物机体微生物生态平衡。它是通过增强机体对肠道内有害微生物的抑制或通过增强非特异性免疫功能来预防疾病、促进动物生长或提高饲料转化率的一类饲料添加剂。

随着畜牧业的发展和畜禽饲养密度的增加，各种畜禽疾病的发生越来越频繁，很多养殖业者采取在饲料中添加抗生素的措施来预防和控制畜禽发病。然

而，大量利用抗生素在动物防病治病方面发挥重要作用的同时，也给畜禽生产和人类带来负面影响。长期使用抗生素会使动物机体产生耐药性，肠道菌群失调，同时逐渐侵犯机体免疫系统，使动物免疫力下降。为了寻找抗生素的替代品，一种无毒、无抗药性、无残留、无副作用的绿色饲料添加剂，既能提高动物各方面性能又不能给人类的生活带来负效应的动物微生态制剂逐渐引人注目。20 世纪 70 年代美国率先使用动物微生态制剂，80 年代动物微生态制剂开始在世界范围内普及，并逐渐被世人所认可。

二、动物微生态制剂研究现状

目前，人们越来越重视动物食品中抗生素和化学药物的残留问题。动物微生态制剂由于其自身等优点在畜牧生产上发挥了重要的作用。我国动物微生态制剂的研制技术已较成熟且应用广泛，产品主要有何明清教授研制的芽孢杆菌类制剂、大连医学院研制的促菌生、南京农业大学研制的促康生、松江制药厂生产的 DM423 菌粉、黑龙江兽医科学研究所研制生产的痢康粉剂、北京营养研究所生产的增菌素、杭州商学院的乳酸菌复合剂（李雅林等，2000）、武汉大学研制的“特强力”、吉林农业大学研制的 JF518 益生菌、吉林省农业科学院研制的 931 生物活菌添加剂及中国兽药监察所、山东大学微生物所、郑州粮食学院、新疆生物土壤研究所等单位研制开发的类似产品等，都在逐步试验推广应用（郭芳彬，1996）。日本研制的 EM 制剂（有效微生物群）含有 5 种 10 属几十大类微生物群落，对养殖与种植业等领域的效果影响显著。美国生产益生菌的公司竞争激烈，已达 80 多家（王旭明，2000）。

第二节 微生态制剂常见菌类

目前，国际上将微生态制剂按其组成为三大类，即益生菌、益生元及合生元。益生菌（probiotics）又称为益生菌，是一种或多种以适当剂量进入机体肠道后可提高机体生长性能和健康水平的活菌制剂。益生元（prebiotics）又称化学益生菌，是一种或多种进入机体肠道后可增强肠道有益菌活性或被有益菌选择性吸收利用，提高机体健康水平和生长性能，而不能被机体内酶系和肠道有害菌利用的化学物质。益生元主要包括寡糖、木糖、半乳糖和可溶性纤维等碳水化合物，可以在自然界的水果和蔬菜中获取。合生元（synbiotics）是将益生菌和益生元以一定比例混合制成的生物制剂。合生元可发挥益生菌活性，也可增强益生菌活性，使益生菌的作用更显著。最初合生元主要应用于疾病的防治，现在合生元的摄入也可以调节肠道内新陈代谢活动、维持肠道内生物结构，因此合生元又

称为多功能食品或饲料补充剂。

本书介绍的微生态制剂主要是益生菌，即益生菌。

目前，大约有 20 个属的微生物用作益生菌，包括乳杆菌属、芽孢杆菌属和酵母菌属等。美国食品药品监督管理局和美国饲料管理协会 1989 年公布了 43 种可用于饲料的安全菌株，其中乳酸菌 28 种（包括乳杆菌 12 种、双歧杆菌 6 种、链球菌 6 种、片球菌 3 种、明珠球菌 1 种），芽孢杆菌 5 种，拟杆菌 4 种，曲霉 2 种，酵母菌 2 种等。中国农业部 1996 年公布了 6 种益生菌：乳酸杆菌、粪肠球菌、双歧杆菌、酵母菌、DM423 蜡样芽孢杆菌、SA38 蜡样芽孢杆菌可用于生物兽药的生产，又于 1999 年公布了干酪乳杆菌、植物乳杆菌、粪链球菌、乳链球菌、啤酒酵母、产朊假丝酵母、沼泽红假单胞菌等 12 个菌种可直接饲喂动物，用于益生菌剂的生产（石波，2005）。

动物微生态制剂常见益生菌种类大致有以下几类。

一、乳酸菌

1. 乳酸菌介绍

乳酸菌广泛存在于人、畜、禽的肠道，许多食品、物料，以及少数临床样品中。乳酸菌能提高食品的营养价值，改善食品风味，提高食品的保藏性和附加值。近年来乳酸菌的特殊生理活性和营养功能，正日益引起人们的重视。大量研究表明，乳酸菌能够调节机体胃肠道正常菌群，保持微生态平衡，提高食物消化率和生物价，降低血清胆固醇，控制机体内毒素，抑制肠道内腐败菌生长繁殖和腐败产物的产生，制造营养物质，刺激组织发育，从而对机体的营养状态、生理功能、细胞感染、药物效应、毒性反应、免疫反应、肿瘤发生、衰老过程和突然的应急反应等产生作用。由此可见，乳酸菌的生理功能与机体的生命活动息息相关。

2. 乳酸菌种类及生理特性

(1) 乳酸菌分类

乳酸菌（lactic acid bacteria, LAB）是指一类以糖为原料的，消耗葡萄糖 50% 以上，产生乳酸、革兰阳性反应，不形成芽孢，不运动或极少运动的过氧化氢酶阴性的细菌。乳酸菌在自然界中的种类很多，分布极广。目前自然界已发现的这类菌在细菌分类学上划分包括乳杆菌（*lactobacillus*）、乳球菌（*lactococcus*）至少有 18 个属，共有 200 多种。除极少数外，其中绝大部分都是人体内必不可少的，且具有重要生理功能的菌群，广泛存在于人体的肠道中。一些乳酸菌是人和动物的胃肠道和雌性动物生殖道的共生菌，可以促进人和动物的健康。此外，

乳酸菌作为重要的益生菌 (probiotic) 已广泛地用于医药、食品和饲料等行业中, 被公认为是安全的食品级微生物。

乳酸菌包括乳酸杆菌属、肉食杆菌属、双歧杆菌属、链球菌属、肠球菌属、乳球菌属、明串珠球菌属、片球菌属、气球菌属、奇异菌属、漫游球菌属、利斯特菌属、芽孢乳杆菌属、芽孢杆菌属中的少数种、环丝菌属、丹毒丝菌属、孪生菌属和糖球菌属等。乳酸菌主要归属于乳链球菌及乳酸杆菌两大家族, 乳酸杆菌与人体保健有着密切的关系, 有 44 个种, 连同亚种共 51 个种。

(2) 乳酸菌的生理特性

乳酸菌均归类于乳酸菌科。这些细菌在形态上差异颇大, 既有长杆状或短杆状的, 又有圆形的; 所有种类都是革兰阳性菌, 不形成芽孢, 也不会运动 (或少运动)。乳酸菌是一种兼性厌氧菌, 适合在氧含量低或无氧的环境下生长。不耐高温, 但耐酸, 在 pH 值为 3.0~4.5 时仍可生长, 对胃中的酸性环境有一定的耐受性。乳酸菌对营养要求比较严格, 培养过程中除了需要适量的水、碳源、氮源和无机盐外, 乳酸菌的生长还需要辅助因子, 它们大多需要某些维生素 (维生素 B₂、维生素 B₁、泛酸、烟酸、叶酸、生物素)、氨基酸、嘌呤和嘧啶, 且乳酸菌具有大部分微生物所没有的利用乳糖的能力, 生殖方式为裂殖。乳酸菌是专性发酵菌, 都能发酵一定的糖类, 产生乳酸 (分同型和异型乳酸发酵), 它们分解蛋白质和脂肪的能力微弱。

3. 乳酸菌的益生功能

乳酸菌作为重要的益生菌, 其功能是多方面的, 主要表现在提高营养物质利用率, 预防和治疗疾病, 综合调节机体的免疫功能等方面。

(1) 具有营养功能

乳酸菌能分解食物中的蛋白质、碳水化合物, 合成维生素, 对脂肪也有微弱的分解能力, 能显著提高食物的消化率和生物效价, 促进消化吸收。食物中的大分子蛋白质在乳酸菌酶的作用下, 部分降解为小分子肽和游离氨基酸, 利于胃肠消化吸收。乳酸菌菌体蛋白质还能增加发酵乳的蛋白质含量。乳酸菌可将乳糖分解成葡萄糖和半乳糖, 葡萄糖经发酵作用转变为乳酸等小分子化合物, 有助于儿童脑组织和神经系统的发育。乳酸菌具有磷酸蛋白酶, 能将酪蛋白分解成微细的奶酪脂肪肽和氨基酸等, 从而提高蛋白质的消化吸收率。乳酸菌发酵可以使部分脂肪少量降解, 易于消化并能增加乳中游离脂肪酸、挥发性脂肪酸的含量。乳酸菌在代谢过程中消耗部分维生素, 同时也合成叶酸等 B 族维生素。乳酸菌发酵后产生的有机酸可提高钙、磷、铁等元素的利用率, 促进铁和维生素 D 的吸收。

(2) 促进营养物质的吸收

乳酸菌在体内可产生各种消化酶, 有助于食物消化, 也可降解饲料中的某些

抗营养因子，提高饲料转化率。双歧杆菌可使仔猪肠道内的蔗糖酶、乳糖酶、三肽酶的活性提高。

乳酸菌通过发酵，利用消化道内未消化的碳水化合物，在小肠中产生短链脂肪酸；进入大肠后，被大肠黏膜吸收，为宿主提供可利用的能量贮备。此外，乳酸菌能对锌元素也表现出较强的吸附能力，如肠膜样明串珠菌（*Leuconostoc mesenteroides*）在 pH 5.0、32℃、24h 后，对锌的吸附率达到 27.1mg/g，这有助于减少锌元素在体内的损失。但乳酸菌对锌的吸附程度存在菌种特异性，因此，筛选对锌具有高黏附能力的乳酸菌也具有一定现实意义。

（3）抑制病原菌，改善胃肠道功能

乳酸菌代谢可以产生有机酸、双乙酰、过氧化氢和细菌素等多种代谢产物，可以抑制食品中的腐败菌和病原菌。乳酸菌对一些腐败菌和低温细菌有较好的抑制作用。乳酸菌在体内发酵乳糖，产生大量的有机酸，使肠内处于酸性环境，能够抑制病原菌和有害人体健康的细菌的繁殖，从而起到预防感染、维持肠内菌群平衡的作用。乳酸菌及其代谢产物能够促进宿主消化酶的分泌和肠道的蠕动，促进食物的消化吸收并预防便秘的发生。对于致病菌，如痢疾杆菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌、弯曲杆菌、葡萄球菌等有抑制作用。嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌产生的 H_2O_2 ，可抑制革兰阴性菌、过氧化氢酶阳性细菌、大肠杆菌类和沙门菌属等致病菌的生长。某些乳杆菌产生的胞外糖苷酶，可降解肠黏膜上皮细胞的复杂多糖，由于这些糖是致病菌素的潜在受体，所以通过酶的作用，将其分解，阻止致病菌毒素对上皮细胞的黏附。不少乳酸菌产生类似细菌素的细小蛋白质或肽类，对葡萄球菌、梭状芽孢杆菌，以及沙门菌和志贺菌有抑制作用。

（4）预防和治疗疾病

乳酸菌定植在胃肠道、泌尿系统、生殖系统或黏膜部位且无病原性，是人和动物体内的益生菌，对维持机体微生态平衡有着重要的作用，并在某些病症的预防和治疗过程中发挥着重要的作用，其中包括缓解乳糖不耐受症，增加肠道有益菌和抑制病原菌，降低胆固醇，降血压，抑制肠癌的发生，治疗痢疾，改善老年人习惯性便秘，抑制妇女生殖道炎症以及抑制代谢性应激损伤、氧化和饥饿损伤等。虽然也有人认为乳酸菌的治疗作用可能被放大，但越来越多的实验数据还是支持乳酸菌能够预防和治疗某些疾病。当然，在未来一段时间内仍需要做大量的科学研究以证实乳酸菌对疾病的预防和治疗作用。

（5）增强机体免疫力

乳酸菌进入动物体内，除产生细菌素以外，还可以刺激宿主产生防御素。防御素是一种抗菌肽，可以由许多细胞产生，如小肠隐窝的潘氏细胞和肠上皮细

胞。同时,乳酸菌可以增强外周血 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的活性,增强机体的细胞免疫和体液免疫功能。

乳酸菌能够增强免疫力,主要表现在以下方面。

① 影响非特异性免疫应答。增强单核吞噬细胞(单核细胞和巨噬细胞)多形核白细胞的活力,刺激活性氧和单核因子的分泌。

② 刺激特异性免疫应答。如加强黏膜表面和血清中 IgA、IgM、IgG 的水平,促进 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖,加强机体的免疫力。乳酸菌菌体抗原及代谢物通过刺激肠黏膜淋巴结,既可激发免疫活性细胞,产生特异性抗体和致敏淋巴细胞,调节机体的免疫应答,还可以激活巨噬细胞,加强和促进其吞噬作用。乳酸杆菌一方面能明显激活巨噬细胞的吞噬作用,另一方面由于它能在肠道中定植,相当于天然自动免疫。加之它们还能刺激腹膜巨噬细胞、产生干扰素、促进细胞分裂、产生抗体及细胞免疫等,所以能增强机体的非特异性和特异性免疫反应,提高机体的抗病能力。

4. 乳酸菌的生物学特性

乳酸杆菌制剂的应用历史最早,制剂种类最多,相对效果最好。乳酸菌制剂是一种含有活乳酸菌的制剂,这类制剂在厌氧或兼性厌氧条件下生存,有较强的耐酸能力。乳酸杆菌是健康动物肠道中极为重要的生理菌群之一,该菌无毒、无害、无副作用,能促进免疫细胞组织和器官的生长发育,提高免疫功能。乳酸杆菌对肠道中的厌氧菌群有扶植作用,而对需氧菌群的生长则起限制作用,有助于宿主调整肠道正常菌群彼此之间的相互关系,维持微生态环境平衡。能作为动物微生态制剂的乳酸菌种类很多,目前主要有嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、保加利亚杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii*)、纤维二糖乳杆菌(*Lactobacillus cellobiosus*)、高加索乳杆菌(*Lactobacillus caucasicus*)、莱氏乳杆菌(*Lactobacillus leichmanni*)短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)、唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius*)、粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)和酸酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)等。

乳酸菌具有一些特殊的生活特点。一方面,乳酸菌具有强产酸抗酸能力,例如在一些含糖丰富的食物制作过程中,虽然其他很多的菌类也能生长,但因乳酸菌不断地产生乳酸,可使得环境变酸而杀死多种不耐酸的细菌。另一方面,大部分乳酸菌具有很强的抗盐性,能够在 5% 以上 NaCl 浓度的环境中生存。例如在某些腌制品中,其他不抗盐的有害菌不能生存而独有乳酸菌能正常生长,可增加食物的风味。值得一提的,常见的乳酸菌都不具有细胞色素氧化酶,所以很少会使硝酸盐还原为亚硝酸盐,因而各种乳制品、腌制品中因乳酸菌代谢产生亚硝酸

盐的可能性极小,这对于保护人体健康是非常有利的。乳酸菌也不具有氨基酸脱羧酶,不产生胺类物质,也不产生吲哚和 H_2S ,因而乳酸菌不会使食物发生腐败及产生异味。

乳期动物的饲料中乳酸杆菌属是动物(特别是家禽)肠道的正常定居者。由于它能产生具有代谢活性的抑菌产物,从而对致病性大肠杆菌、沙门菌等病原菌的生长具有很好的抑制作用,进而维护肠道微生态的动态平衡。同时,乳酸杆菌和其代谢产物中含有较高的超氧化物歧化酶,能消除氧自由基的不利作用,增强体液免疫和细胞免疫。乳酸菌的缺点是耐热性差,在 $65\sim 75^\circ\text{C}$ 条件下会死亡。

5. 乳酸菌的安全性

早在数个世纪以前的古希腊和埃及,人们普遍认为微生物在肠道会对机体产生负面影响,当时内科医生常常用去除结肠的方法来消除所谓“有害菌”对机体的影响,这一观点一直持续到19世纪。直到20世纪初,俄国学者 Metchnikoff 提出相反的论点,认为乳酸菌能对机体产生有利影响,成为益生菌理论的创始人,为以后大量使用乳酸菌发酵物奠定了基础(郝生宏等,2004)。

安全性是对益生性乳酸菌的基本要求。虽然目前的益生性乳酸菌基本上是从动物肠道、粪便或发酵食品中筛选,但也不能完全保证其安全性。乳杆菌和双歧杆菌,这两个属一直被认为是安全的,关于它们的有害报道很少。乳杆菌和双歧杆菌基本上不认为是潜在致病菌,它们引起菌血症的频率是很低的;乳杆菌是 $0.1\%\sim 0.24\%$ (Gasser, 1994),双歧杆菌则没有统计数据,因为它们包含的血流感染更少(Hata, 1998)。

随着科学的不断发展,对益生菌的安全性认识也在发生变化。最近的报道已经发现,有些菌株如乳酸杆菌肠球菌和双歧杆菌等经常能从许多感染的病变组织中分离出来,而某些乳酸菌更已被证明为条件致病菌,因此,重新对乳酸菌进行安全性评价显得尤为重要。

乳酸菌安全性评价从试验项目上分类,一般包括病原性、毒性、代谢活性及菌株内在特性检测;从受试对象上分类,一般通过体外研究、动物试验和人临床研究来评价菌株的安全性。我国目前对益生性乳酸菌的毒力检测,主要采用的是健康成年昆明种小鼠的腹腔注射法和经口灌胃法。乳杆菌天生对许多抗生素具有抗性(Charteris, 1998),在大多数情况下这种特性是不能转移的。对这些携带非转移耐药性基因的乳杆菌(如干酪乳杆菌和鼠李糖乳杆菌)不必考虑其安全性。但也有极少数的乳杆菌菌株的耐药性基因是由质粒编码的,这些耐药性基因可以在系统发育中的远缘细菌间转移,因此携带可以转移耐药性基因的菌株不能作为动物的益生菌(田亚东,2007)。

二、芽孢杆菌

1. 芽孢杆菌的研究历史

早在 1835 年, Ehrenberg 就发现并命名了枯草芽孢杆菌 (*Vibrio subtilis*)。1872 年, 德国植物学家 Cohn 建立了第一个细菌分类系统, 根据细菌的形态特征命名了芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 并将枯草芽孢杆菌重命名为 *Bacillus subtilis*。起初芽孢杆菌属的种类很少, 随着研究方法技术的改进发展, 越来越多的种被发现, 尤其是 20 世纪 70 年代的分子分类法和 80 年代的化学分类法的应用, 种的鉴定数量增多, 分类地位确定的也越来越准确。从 2004 年 5 月至 2007 年 5 月共发现芽孢杆菌属的新种有 49 个。不同的文献来源, 由于收集统计的时间、范围、内容、分类体系等的差异, 所收集的芽孢杆菌种名数量不同。有的分类系统名录将芽孢杆菌分为一个属, 如 2005 年核准种名目录 (Approved Lists) 收集的芽孢杆菌种名有 175 个, 2006 年 NCBI 数据库上收集的芽孢杆菌种名有 182 个, 2006 年德国菌种保存中心种名目录 (DSMZ) 收集的芽孢杆菌种名有 187 个; 有的分类系统将芽孢杆菌分为 20 多个属, 如 2004 年出版的《伯杰氏细菌系统学手册: 原核生物分类纲要》(第 9 版) 将芽孢杆菌类细菌分为 35 个属, 记述了芽孢杆菌属及其近缘属在内的芽孢杆菌共 409 种, 其中有 91 个种是同物异名。

2. 芽孢杆菌生物学特征

(1) 形态特征

芽孢杆菌, 菌体杆状, 直或近直, $(0.3 \sim 2.2) \mu\text{m} \times (2.1 \sim 7.0) \mu\text{m}$; 多数运动; 鞭毛典型侧生; 形成抗热内生孢子; 严格好氧或兼性厌氧。芽孢杆菌属的建立就是根据形态特征确立的, 开始发现的种由于实验条件的限制都是仅以形态特征进行分类。Gibson 和 Gorden 依据芽孢的形状 (卵形或球形) 以及它们在菌体或芽孢囊中的位置, 提出芽孢形态分类方法。

(2) 生理特性

芽孢杆菌是好氧菌, 在一定条件下产生芽孢, 由于芽孢的特殊结构使芽孢杆菌耐酸、耐碱、耐高温和耐挤压。在肠道酸性环境中具有高度的稳定性, 能分泌较强活性的蛋白酶及淀粉酶, 促进饲料营养物质的消化。芽孢杆菌在动物肠道微生物群落中数量较少, 但优点很多。目前生产中应用的芽孢杆菌主要有枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、东洋芽孢杆菌 (*Bacillus toyoi*)、环状芽孢杆菌 (*Bacillus circulans*) 和短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 等。

与常用的乳酸菌等益生菌相比, 芽孢杆菌具有以下优点和特点。

① 具有耐高温、耐酸碱、耐压等特点，能够耐受颗粒饲料加工的影响。

② 在贮藏过程中以孢子形式存在，不消耗饲料的营养成分，可以保持饲料的质量。

③ 进入肠道后，在肠道内迅速复活，复活率接近 100%。

④ 能够产生蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶以及多种氨基酸。

⑤ 可以消耗大量的氧，维持肠道厌氧环境，抑制致病菌的生长，维持肠道正常生态平衡。

⑥ 具有平衡和稳定乳酸杆菌的作用（林小伟，1994；李桂杰，2000）。

3. 饲用芽孢杆菌的分类

芽孢杆菌菌种是微生物饲料添加剂产品质量和应用效果的关键，因此长期以来，各国都在寻求自己的菌源。作为微生物饲料添加剂，其应具备以下几个条件。

① 所选用的微生物，通常是来源于家畜体内的有益微生物。因为来源于家畜体内的微生物经人工培养、繁殖，制成添加剂后，很容易在家畜体内定植、繁殖。

② 所选用的微生物，繁殖率要高，这样才能迅速占据消化道，以抑制其病原微生物的侵入和定植。

③ 所选用的微生物，还应具有较强的产酸能力，这样利于消化道对营养物质的消化吸收，提高饲料的转化率。

④ 所选用的微生物应具有较强的生命力及耐受性，在生产添加剂的过程中，不至于失去活性而丧失功效。

⑤ 所选用的微生物应是非病原性的，因此必须确定出菌株的安全性，并且对该菌种可能的代谢产物进行系统研究。到 1989 年，美国食品药品监督管理局和美国饲料协会不定期发表可以用在畜禽生产中的芽孢杆菌菌种。

据统计，国内外用于畜禽生产的芽孢杆菌种类有枯草芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、缓慢芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、坚强芽孢杆菌、东洋芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、芽孢乳杆菌和丁酸梭菌等。

4. 饲用芽孢杆菌的生理功能

(1) 调节动物肠道菌群平衡

① 维持厌氧环境，竞争排斥致病性微生物 Nurmi 和 Rantala (1973) 最早提出竞争排斥法则，即在刚孵出的雏鸡中口服厌氧菌培养物，使小鸡肠道维持厌氧环境，尽早建立起正常的微生物菌群，使其有序定植于黏膜皮肤等的表面或细

胞间形成的生物膜样结构上,构成机体的防御屏障,或和病原菌竞争营养物质和黏附受体(Elme等,1996;Fuller等,1997),竞争排斥好氧致病性微生物,从而影响过路菌或致病菌的定植、占位、生长和繁殖。好氧的芽孢杆菌等进入动物胃肠道后生长繁殖,消耗肠道内的氧气,使局部环境的氧分子浓度降低,造成厌氧环境,利于厌氧菌等有益微生物的定植和生长,排斥好氧病原菌的繁殖,维持胃肠道菌群的平衡。王晓霞等(2006)研究表明,在肉鸡日粮中添加0.1%枯草芽孢杆菌,能选择性增加肉鸡盲肠中的乳酸杆菌等有益菌群的数量,减少大肠杆菌和沙门菌等有害菌的数量。苏勇等(2006)也证明,在仔猪断奶前,空肠和结肠食糜中乳酸菌和大肠杆菌的数量较稳定,断奶后仔猪空肠和结肠食糜中乳酸菌和大肠杆菌的数量均明显下降,与对照组相比芽孢乳杆菌S1能提高断奶后仔猪空肠和结肠食糜中乳酸杆菌与大肠杆菌的数量。另有研究表明(陈兵等,2003),纳豆芽孢杆菌能使肠道厌氧菌群中的双歧杆菌、乳酸杆菌、梭菌和拟杆菌数均有不同程度的增多,肠杆菌、肠球菌等需氧菌群数量则明显减少,能有效调整大白鼠肠道菌群数量的变化,起到维持肠道微生物平衡的作用。

② 产生代谢物杀灭致病性微生物 在肠道中生长繁殖的同时会产生一些生理活性代谢产物如细菌素、有机酸、过氧化氢等,能抑制和杀死肠道病原菌,从而调节和维持动物消化道微生物区系的平衡。淳泽(1994)的研究表明,芽孢杆菌对猪大肠杆菌、猪霍乱沙门菌、鸡大肠杆菌、鸡白痢沙门菌都有拮抗作用,芽孢杆菌能产生脂肪酸,但产量极微,不足以抑制致病菌的生长。芽孢杆菌培养物滤液经硫酸沉淀,柱色谱分离纯化,初步证明拮抗作用是由于产生蛋白质类拮抗物质。H. Sugita等(1998)报道从斑鳍鲷肠道分离出的芽孢杆菌能产生一种抑制嗜盐弧菌的抗生素,显著抑制鱼体肠道嗜盐弧菌的生长繁殖。

(2) 增强动物营养代谢功能

芽孢杆菌在动物肠道内生长繁殖的同时,还能产生多种营养物质,如维生素、氨基酸、促生长因子等促进动物机体的物质代谢。Savage(1977)估计在动物盲肠中的微生物可为动物提供维生素需要量的25%~30%。凝结芽孢杆菌、芽孢乳杆菌等菌株能产生乳酸,可提高动物对钙、磷、铁的利用,促进维生素D的吸收,同时芽孢杆菌还可以有效增殖肠道内的双歧杆菌和乳酸杆菌等产酸菌,改善胃肠道环境,促进钙、磷、铁等微量元素的利用和维生素D的吸收,另外增殖的双歧杆菌和乳酸杆菌等产酸菌还能自身合成或促进合成多种B族维生素(Ichikawa等,1999);双歧杆菌还能通过抑制某些维生素分解菌来保障维生素的供应,如它能抑制分解维生素B₁的解硫胺素芽孢杆菌的生长,调节维生素B₁的供应,从而增强动物体内的营养代谢功能。