

饲用乳酸菌制剂的开发利用研究进展

周航 王薇薇 王丽 李爱科*

(国家粮食与物资储备局科学研究院粮食品质营养研究所,北京 100037)

摘要: 随着消费者对食品安全的诉求越来越强烈,我国饲料业的“禁抗”呼声越来越盛,因此,寻找“安全、绿色、环保”的饲用抗生素替代产品已成为学者和业界聚焦的研究方向。饲用乳酸菌制剂是一类可以直接喂动物的安全、高效的饲料添加剂,其可以通过调节动物肠道微生态平衡、抑制有害菌的定植、降低消化道 pH 等作用,达到提高动物免疫能力、促进生长和提高饲料利用率等效果。然而,乳酸菌有抗逆性差的特点,导致其在畜禽生产中应用效果不稳定。因此,如何提高饲用乳酸菌制剂的抗逆性,使其更好地发挥饲用效果,也是目前饲用乳酸菌制备工艺研究的热点。此外,饲用乳酸菌的安全性问题也开始引起学者和从业者的重视,避免耐药菌株和携带有致病菌株的使用,建立相应的规范与标准,也是行业亟需解决的问题。针对当前乳酸菌制剂的关注热点,本文综述了饲用乳酸菌制剂的抗逆性和安全性研究及其在动物生产中应用的最新研究进展。

关键词: 饲用抗生素;乳酸菌制剂;抗逆性;应用

中图分类号: S816

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2019)05-2012-10

在过去的几十年里,抗生素作为一种高效的饲料添加剂,具有提高动物生产性能、预防和治疗疾病等功效,普遍应用于畜牧生产中。然而,饲用抗生素的长期使用,会破坏动物体内微生态平衡、降低免疫机能。长期使用抗生素还容易产生耐药性菌株,导致抗生素用量不断加大。随之而来的是抗生素在畜禽体内的残留问题,严重危害人类的健康。欧盟、韩国、日本等许多国家禁止使用抗生素作为生长促进剂。我国农业农村部在 2018 年中国饲料发展论坛上表示,药物饲料添加剂将在 2020 年全部退出。《兽用抗菌药使用减量化行动试点工作方案(2018—2021 年)》建议,在 2021 年形成一批可复制、可操作性强的兽用抗菌药使用减量化模式,推动建立兽用抗菌药使用减量化管理机制。因此,寻找“安全、绿色、环保”的饲用抗生素替代产品已成为学者和业界聚焦的研究方

向。其中,饲用乳酸菌制剂被认为是最有效的抗生素替代产品之一。

乳酸菌是一类能利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的革兰氏阳性细菌的通称^[1]。乳酸菌可在动物肠道内定植,形成肠道屏障,竞争性排斥肠道内源性 & 外源性潜在致病菌黏附、定植^[2];同时,乳酸菌还能分泌细菌素、有机酸和过氧化氢等活性代谢产物,抑制病原菌的生长,提高免疫力;部分乳酸菌还可以分泌特定的消化酶,提高营养物质的消化率。我国农业农村部公布允许使用的微生物饲料添加剂有 34 种,其中 22 种属于乳酸菌。美国食品药品监督管理局(FDA)批准饲料中可以使用的微生物有 42 种,其中 30 种属于乳酸菌。可见乳酸菌在微生态制剂中的重要性。本文综述了饲用乳酸菌的抗逆性、安全性及其在动物生产上的应用最新研究进展。

收稿日期:2018-10-22

基金项目:国家重点研发计划课题(2017YFD0500505);北京市家禽产业创新团队(BAIC04-2018);国家重点研发计划(2018YFD0501401)

作者简介:周航(1989—),男,广西柳州人,助理研究员,硕士,主要从事微生态制剂和饲料资源开发利用研究。E-mail: zh@chinagrains.org

*通信作者:李爱科,研究员,博士生导师,E-mail: lak@chinagrains.org

1 乳酸菌抗逆性研究

乳酸菌制剂在饲料行业中的应用仍存在许多问题,如运输、存储过程中的不良环境,饲料制粒加工过程中的高温、高湿、高压,动物胃肠道的胃酸、胆盐等。这些问题造成了饲用乳酸菌产品普遍具有稳定性差和耐受性差的特点,因此,乳酸菌抗逆性研究一直以来都是国内外研究热点。

1.1 胃液、肠液抗逆性

乳酸菌在进入肠道前要经历约 2 h 的低 pH (2.0~3.0) 胃酸环境和十二指肠内的高浓度胆盐 (0.03%~0.30%) 环境。大部分细菌在低 pH 或高盐作用下膜蛋白被解离,细菌的细胞膜遭到破坏而死亡。研究表明,利用不同的保护材料将乳酸菌制成微胶囊或通过包埋、包衣等技术,可有效提高乳酸菌抗胃液、肠液能力。表 1 列出了不同的包被技术对乳酸菌胃液、肠液抗逆性的提高效果。

表 1 不同包被技术对乳酸菌胃液、肠液抗逆性的提高效果

Table 1 Improving effects of different encapsulation techniques on resistance of lactic acid bacteria to gastric and intestinal fluids

项目 Items	菌种 Strains	包被材料 Encapsulated materials	效果 Effects	参考文献 References
微胶囊 Microcapsule	双歧杆菌	海藻酸钠	在 pH 4.5 下保持结构稳定,在 pH 7.5 下完全释放	Holkem 等 ^[3]
微胶囊 Microcapsule	粪肠球菌	海藻酸钠	模拟胃液处理 30 和 180 min 后,存活率分别提高了 51.80% 和 46.73%;模拟肠液处理 180 min 后,存活率提高了 21.16%	张琳 ^[4]
微胶囊 Microcapsule	植物乳杆菌	海藻酸钠-壳聚糖	在人工胃液和肠液中存活率显著提高;具有良好的控释效果;在低温条件下具有更好的储藏效果	王森等 ^[5]
微胶囊 Microcapsule	乳酸菌	海藻酸钠-绿豆粉、海藻酸钠-鹰嘴豆粉	在模拟胃肠液中均具有更高的存活率	Jamilah 等 ^[6]
微胶囊 Microcapsule	干酪乳杆菌	海藻酸钠、浓缩乳清蛋白	在模拟人工胃液中处理 3 h,存活率提高;人工肠液中处理 60 min,有效活菌数也基本保持不变	张国芳等 ^[7]
双层包埋 Dual coated	干酪乳杆菌、植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、乳酸乳杆菌、嗜热链球菌、长双歧杆菌	蛋白质、多糖	提高常温条件下的货架期,通过肠道时的存活率;胃酸环境下保持稳定,在肠道中缓慢释放	Min 等 ^[8] 、Kim 等 ^[9]
流化床制粒包衣 Fluidized bed pelletizing coating	屎肠球菌、粪肠球菌、植物乳杆菌等	蔗糖、乳清粉、聚丙烯酸树脂等	模拟肠液中的活菌存活率能达到 87% 以上	韩伟等 ^[10]

1.2 抗高温能力

乳酸菌对高温耐受性的研究相对较少,一般认为乳酸菌适宜温度为 30~40 ℃。董佩佩等^[11]观察了不同培养温度对 5 株乳酸菌(2 株植物乳杆菌、干酪乳杆菌、粪肠球菌和鼠李糖乳杆菌)活性的影响,发现 40 ℃ 培养时细菌活性即开始降低。然而,部分家畜饲料需要进行制粒,制粒温度高达 60~90 ℃,所以饲用乳酸菌制剂需要有一定的耐高温能力。葛春雨等^[12]分别采用普通调质制粒(OT, 75 ℃、30 s)和大料高温调制低温制粒(ET,

85 ℃ 调质,加入包被乳酸菌后 60 ℃ 制粒 30 s) 2 种工艺进行包被乳酸菌制粒研究,结果表明 ET 工艺与 OT 工艺相比显著提高了饲料中包被乳酸菌的存活率,存活率高达 86%~96%。在实验室工艺研究条件下,制粒条件很难实现,一些研究人员会用高温水浴的方式评价乳酸菌的耐高温能力。曲磊等^[13]处理了 1 株植物乳杆菌菌液,发现 50 ℃ 水浴 15 min,有效活菌数量降低 50%,60 和 70 ℃ 水浴 5 min,几乎无菌生长。宋献艺等^[14]用从猪粪中分离出的 1 株德氏乳杆菌和 2 株粪肠球菌进行高

温耐受试验,将活化好的菌悬液分别放到 80 ℃ 水浴 30 和 60 min,结果显示,德氏乳杆菌在 30 min 时存活率小于 1.0%;2 株粪肠球菌在 30 min 时,其存活率均为 15.0%左右,在 60 min 时存活率均小于 1.0%。

1.3 保质期

饲料添加剂在饲料中添加量一般仅为 0.1%~1.0%^[15],而为使乳酸菌能起到较好的益生作用,一般要求乳酸菌产品在饲料中的活菌数不低于 10⁶ CFU/g^[16]。但乳酸菌极易受到温度影响,常温

保存时,活性明显下降。目前延长乳酸菌制剂保质期的方法有:真空冷冻干燥技术、微胶囊技术、真空包装和充氮气包装^[17]。通过常规保质期测定和加速试验保质期测定方法可以有效检测乳酸菌产品保质期。但市场上常见的乳酸菌添加剂仍要求冷藏或冷冻保存,几乎没有常温可存放的乳酸菌制剂。鉴于饲料厂原料储存条件的限制,如何延长饲用乳酸菌制剂的保存期成为急需解决的热点问题。表 2 列出了不同技术方法对延长乳酸菌保质期的效果。

表 2 不同技术方法对延长乳酸菌保质期的效果

Table 2 Effects of different techniques on prolonging shelf life of lactic acid bacteria

项目 Items	技术方法 Techniques	效果 Effects	参考文献 References
嗜酸乳杆菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	喷雾干燥微胶囊	4 ℃ 贮藏 3 个月后活菌数下降 1 个数量级	饶甜甜等 ^[18]
植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i>	直投式冻干粉	4 ℃ 条件下存储 8 个月,活菌数保持在 1×10 ¹¹ CFU/g 以上	刘继业 ^[19]
乳酸菌 Lactic acid bacteria	微胶囊	在 4 和 -20 ℃ 储藏 1 年后活菌存活率分别为 19.3% 和 92.6%	黄皓等 ^[20]
复合乳酸菌 Compound lactobacillus	乳酸菌复合发酵剂	25 ℃ 贮藏 1 年,其活菌存活率 10% 以上	宗绪岩等 ^[21]
复合乳酸菌 Compound lactobacillus	合生元(青香蕉淀粉和乳酸菌)	活菌数的下降速率比直接冻干的菌粉更为缓慢	周中凯等 ^[16]
嗜酸乳杆菌、粪肠球菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	复配保护剂	菌液置 25 ℃ 条件下保藏 60 d,存活率 90% 以上	王岩等 ^[22]
长双歧杆菌 <i>Bifidobacterium longum</i>	海藻酸钠、乳清蛋为壁材的冻干微胶囊	恒温加速试验测定,可在室温条件下贮藏 75 d	杨凯舟等 ^[23]
干酪乳杆菌 <i>Lactobacillus casei</i>	菌泥用转谷氨酰胺酶包埋	菌粉在 25 ℃ 储藏 120 d 活菌数下降 1 个数量级,活菌数达 1×10 ¹⁰ CFU/g 以上	郭建林 ^[24]

凝结芽孢杆菌被称为“乳酸菌芽孢”,产芽孢率和产乳酸率都很高,在 90 ℃ 仍有较好的耐热性。其冻干粉在常温和 4 ℃ 冷冻条件下保藏 1 个月存活率相差不大,可以在常温下进行保藏^[25]。但由于其不在饲料添加剂品种目录中,并不能得到实际应用。

目前提高乳酸菌保质期的研究还处于探索阶段,市场缺乏能常温保存的乳酸菌制剂,如何提高乳酸菌制剂的耐受温度成为其开发利用的关键。一方面,从种质资源入手,寻找耐高温新的乳酸菌来源,并通过筛选驯化出耐高温的优势菌;另一方面,通过对培养基和培养条件的优化及各种保护

工艺的手段,提高乳酸菌产品对温度的耐受,达到可以在常温环境下长时间储存的目的。

2 饲用乳酸菌在动物生产中的应用

2.1 乳酸菌在猪生产中的应用

乳酸菌具有提高母猪及其后代仔猪的生长性能和免疫机能、调节肠道微生态、降低腹泻率等功效。而且在母猪饲料中添加乳酸菌类益生菌不仅能缓解自身代谢紊乱,还可能通过改变母猪妊娠期肠道菌群与初乳的组成而影响新生仔猪的被动免疫与肠道菌群组成结构,促进仔猪肠道健康^[26]。仔猪早期断奶是现代化养猪生产中提高母猪生长

性能的重要方法之一,但仔猪不可避免地会出现腹泻、免疫功能降低等一系列问题。利用饲用乳酸菌饲喂哺乳及断奶仔猪被认为是缓解仔猪断奶

应激的有效手段。乳酸菌在猪生产中的应用效果见表 3。

表 3 乳酸菌在猪生产中的应用效果

Table 3 Application effects of lactic acid bacteria in pig production

项目 Items	添加量 Additive amount	试验动物 Experimental animal	应用效果 Application effects	参考文献 References
植物乳杆菌、 戊糖片球菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Pediococcus pentosus</i>	2.5×10^{11} CFU/d	母猪、断奶仔猪	能改善母猪生长性能、健康状况、血清抗氧化指标、粪便微生物数量;提高仔猪生长性能	楚青惠 ^[27]
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	2×10^9 CFU/kg	母猪、 断奶仔猪	提高母猪的采食量,发情率提高了 24%,仔猪窝重提高了 17%;仔猪的腹泻率和生长性能均有所改善,提高断奶仔猪小肠绒毛高度,抑制肌膜层变薄	Hayakawa 等 ^[28]
乳酸片球菌 <i>Pediococcus acidilactici</i>	5×10^9 CFU/kg	母猪、 断奶仔猪	降低断奶仔猪回肠微生物多样性,促进厚壁菌门形成	Brousseau 等 ^[29]
植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i>	1×10^{10} CFU/kg	断奶仔猪	提高仔猪的平均日增重和采食量;提高血浆中免疫球蛋白 A 和免疫球蛋白 G 的含量,并且增加结肠中的乳酸菌数量	Wang 等 ^[30]
干酪乳杆菌、粪肠球菌 <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	—	仔猪	提高平均日增重,提高胃、十二指肠和结肠中的蛋白酶活性,增加空肠绒毛长度和转化生长因子- β 在空肠中的表达水平,同时降低空肠肿瘤坏死因子- α 的表达水平	Liu 等 ^[31]

乳酸菌能提高仔猪生长性能类似报道^[32-34]还有很多。此外,乳酸菌还能改变仔猪肠道微生态,抑制病原菌的定植,提高仔猪免疫机能。Liu 等^[31]给仔猪口服干酪乳杆菌和粪肠球菌,胃、十二指肠和结肠中的蛋白酶活性增加,血浆中的免疫球蛋白 A 含量显著高于其他组;复合制剂显著增加了空肠绒毛长度和转化生长因子- β 在空肠中的表达水平,同时降低了空肠肿瘤坏死因子- α 的表达水平。有研究表明,屎肠球菌在宿主体内定植可以与沙门氏菌竞争性的争夺位点^[35]。Andrej ěáková 等^[36]研究发现,给被致病菌感染的哺乳仔猪和断奶仔猪饲喂植物乳杆菌、发酵乳杆菌可以显著降低仔猪血清、组织中乳酸脱氢酶的溢出水平;这 2 种乳酸菌与亚麻籽配伍使用,可以提高仔猪的免疫机能和空肠黏膜的完整性。Yu 等^[37]研究发现,在鼠伤寒沙门菌攻毒的断奶仔猪模型中,

通过饲喂鼠李糖乳杆菌可以加速沙门菌在早期感染阶段的清除,并且遏制由沙门氏菌引起的过度炎症反应。

2.2 乳酸菌在家禽生产中的应用

研究表明,乳酸菌可以提高肉禽的生长性能及机体的免疫力。乳酸菌在家禽生产中的应用效果见表 4。

大量的研究都有效证明了乳酸菌能提高肉鸡生长性能和免疫机能^[47-51]。此外,乳酸菌还可以改变家禽肠道微生物的组成,抑制有害菌的定植,保证动物肠道的完整性。Mañes-Lázaro 等^[52]研究发现,约氏乳杆菌 FI9785 能显著改变肉鸡肠道微生物组成。Yang 等^[53]研究表明,饲喂火鸡雏鸡屎肠球菌和乳酸片球菌可以有效抑制肠道中鼠伤寒沙门氏菌的定植。Carter 等^[54]研究发现,在肉鸡饲料中添加唾液乳杆菌和屎肠球菌均能显著降低

肉鸡肠道中致病菌的定植,且 2 种乳酸菌复合使用效果更佳。

表 4 乳酸菌在家禽生产中的应用效果

Table 4 Application effects of lactic acid bacteria in poultry production

项目 Items	添加量 Additive amount	试验动物 Experimental animal	应用效果 Application effects	参考文献 References
植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i>	2×10^9 CFU/kg	肉鸡	平均日增重和饲料转化率显著提高;盲肠食糜中大肠杆菌总数降低,乳酸菌总数提高;回肠和盲肠中短链脂肪酸含量提高	Peng 等 ^[38]
嗜酸乳杆菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^9 CFU/kg	肉鸡	提高 21 和 42 日龄肉鸡平均日增重和饲料转化率	Forte 等 ^[39]
鼠李糖乳杆菌、 屎肠球菌 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	2×10^{11} CFU/kg	肉鸡	提高肉鸡平均体重、平均日增重、胴体重、粗蛋白质表观消化率和饲料转化率	Chen 等 ^[40]
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^9 CFU/kg	肉鸡	提高肉鸡的平均日增重,降低料重比	Zhang 等 ^[41]
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^{11} CFU/kg	肉鸡	料重比降低;血清总抗氧化能力提高了 45.73%,血清免疫球蛋白 G 含量增加 16.04%,血清免疫球蛋白 M 含量增加 23.86%	陈娟等 ^[42]
格氏乳球菌 <i>Lactococcus garvieae</i>	3×10^{11} CFU/kg	肉鸡	降低肉鸡腹泻率、死亡率和料重比,提高肉鸡平均体重;盲肠中大肠杆菌群数量降低,乳酸菌和双歧杆菌总数提高;血清中免疫球蛋白含量也有所提高	Zhang 等 ^[43]
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^{10} CFU/kg	肉鸡	提高肉鸡生长性能和免疫功能,并且可以改善盲肠微生物群落,调整肉鸡的健康状况	Zhang 等 ^[44]
嗜酸乳杆菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	0.1%	蛋鸡	提高蛋鸡肠道中乳酸菌和双歧杆菌数量,降低大肠杆菌、葡萄球菌、梭菌数量;显著提高蛋鸡血液抵御病原菌的能力	Forte 等 ^[45]
屎肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>	0.01%	蛋鸡	提高蛋鸡产蛋率、蛋壳厚度和营养物质消化率,显著降低粪便中大肠杆菌数量	Park 等 ^[46]

还有研究表明,部分乳酸菌具有真菌毒素生物脱毒的功能。Liu 等^[55]在黄曲霉毒素 B₁ 攻毒肉鸡饲料中添加 3×10^{10} CFU/kg 的由嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌和屎肠球菌等比例组成的复合乳酸菌,与对照组相比,复合乳酸菌组肉鸡肝脏、肾脏、血清、回肠食糜以及粪便中的黄曲霉毒素 B₁ 残留,在 14 日龄时,分别降低了 121.5%、80.6%、

43.7%、47.0%和 26.5%;在 35 日龄时,分别降低了 40.6%、60.2%、131.7%、37.9%和 32.9%。

2.3 乳酸菌在反刍动物生产中的应用

Kenney 等^[56]饲喂肉牛嗜酸乳杆菌和屎肠球菌 (1×10^9 CFU/d),可以提高平均日增重;瘤胃发酵特性也随之改变,其中乙酸比例升高,平均 pH 高于对照组。Cull 等^[57]研究表明,肉牛饲喂嗜酸

乳杆菌(1×10^6 CFU/d),可以提高增重,降低料重比。Zhang 等^[58]在犊牛的基础饲料中每天定量添加植物乳杆菌,结果表明植物乳杆菌可以改善犊牛的生长性能和营养物质消化率并且可以减轻断奶应激。

添加一定量的乳酸菌可以防治奶牛隐性乳房炎,降低发病率。Souza 等^[59]探索了干酪乳酸杆菌在金黄色葡萄球菌感染期间调节牛乳腺上皮细胞的先天免疫应答的能力,研究表明,干酪乳杆菌 BL23 在金黄色葡萄球菌刺激的奶牛乳腺上皮细胞上显示出抗炎特性。Genís 等^[60]给产犊前 3 周的奶牛在阴道内注射 2 次乳酸菌后,与未作处理的奶牛相比,阴道治疗使子宫炎患病率降低至 58%,这说明乳酸菌在一定程度上可以防治奶牛隐形乳房炎,降低发病率。

2.4 乳酸菌在水产养殖中的应用

近年来,水产养殖在畜牧业中占有很大的比例,乳酸菌因其特有的生物学价值也被广泛应用于水产养殖。Sun 等^[61]在鱼饲料中添加一定量的乳酸乳球菌 HNL12 来饲喂驼背石斑鱼,结果表明乳酸乳球菌 HNL12 可有效增强驼背石斑鱼的生长性能、免疫应答和抗病性。Sha 等^[62]研究表明屎肠球菌 NRW-2 可以改善虾的生长性能和免疫反应,可作为虾饲料中的有效成分应用于实践。Yu 等^[63]以罗非鱼为试验动物,证实了植物乳杆菌 CCFM639 可以显著提高罗非鱼的饲料利用率、生长性能以及抗氧化能力;提出了植物乳杆菌 CCFM639 可能是一种新型的鱼类膳食补充剂,可以提高生长性能,防止铝污染引起的水产养殖和食品安全问题。可见,在水产养殖中,乳酸菌是一种不可缺少的有益菌群。

3 饲用乳酸菌的安全性评价研究

益生菌在食品中应用的安全性问题已获得广泛的关注。然而,动物饲料中益生菌应用的安全性问题却一直以来被大家忽视,我们并不能排除饲用益生菌进入人类食物链的可能性。尽管应用于饲料中的益生菌种属通常被认为是安全的,但是仍然需要一些预防措施,以保护动物、人和环境免受不安全菌株的威胁。欧盟食品安全协会(EFSA)的安全性合格认定(QPS)列表中也列出了经鉴定安全的 35 个乳酸菌种。然而,在易感人群中发现有乳酸菌可穿越肠道黏膜屏障,并导致菌血

症和心肌炎症^[64],但是这种情况发生率极低(小于百万分之一)。屎肠球菌是目前动物饲料中较为常用的饲用乳酸菌之一。但是,大量研究发现,屎肠球菌的某些菌株是条件性致病菌,可在一些临床传染病病人体内被发现,且某些菌株对万古霉素或者氨基青霉素具有一定耐药性。屎肠球菌具有 2 个亚种,可以通过多位点序列分型(MLST)技术区分,即通过核心基因的序列比对、致病基因 IS16 的有无、以及是否具有对氨基青霉素的抗性来判定。亚种 B 多是从健康个体的粪便中分离出的,对氨基青霉素具有一定耐受性;而另一亚种 A 多是从具有氨基青霉素抗性的临床病人粪便中分离。EFSA 于 2012 年发布了一则屎肠球菌用于动物饲料中的安全性评价准则^[65]。该指南能够对屎肠球菌的安全菌株和可能容易引起人类感染的菌株进行区分。准则中规定,当屎肠球菌菌株对氨基青霉素的最小抑菌浓度大于 2 mg/L 或含有 3 种遗传标记基因(*IS16*、*esp*、*hylEfm*)任意其一时,均不得作为饲料添加剂使用。

4 小结与展望

饲用乳酸菌制剂可以提高动物的生产性能和机体免疫力,治疗和预防相关疾病,改善健康状况等功效,目前已广泛应用于畜牧生产。但饲用乳酸菌在使用过程中仍存在稳定性差、抗逆性差和安全性等问题,因此在产品开发上需要开发和研究全新的技术,让乳酸菌制剂发挥其最大的功效。作为最有效的抗生素替代品之一,有关饲用乳酸菌制剂的研发和应用仍然是备受关注。同时,为了达到完全替代抗生素的效果,乳酸菌制剂与其他替抗产品的配合使用方案也将成为未来研究的重点。

参考文献:

- [1] GOSALBES M J, ESTEBAN C D, GALÁN J L, et al. Integrative food-grade expression system based on the lactose regulon of *Lactobacillus casei* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66 (11): 4822 - 4828.
- [2] 谯仕彦, 侯成立, 曾祥芳. 乳酸菌对猪肠道屏障功能的调节作用及其机制 [J]. 动物营养学报, 2014, 26 (10): 3052 - 3063.
- [3] HOLKEM A T, RADDATZ G C, BARIN J S, et al. Production of microcapsules containing *Bifidobacteri-*

- um BB-12 by emulsification/internal gelation [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 76: 216-221.
- [4] 张琳.微囊化益生菌的体外特性及动物应用效果评价[D].博士学位论文.哈尔滨:东北农业大学,2016.
- [5] 王森,高东升,李焘,等.海藻酸钠-壳聚糖双层微胶囊包埋乳酸菌及其特性研究[J].饲料研究,2015(5):55-58.
- [6] JAMILAH I, PRIYANI N, NATALIA S L. Viability of lactic acid bacteria coated as synbiotic during storage and gastro-intestinal simulation [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2018, 130(1):012014.
- [7] 张国芳,王婷婷,刘丽波,等.内源乳化学法制备干酪乳杆菌微胶囊[J].中国乳品工业,2017,45(3):15-20.
- [8] MIN K C, CHUNG M J, JIN E K, et al. Comparison of dual coated (Duolac™) and uncoated lactic acid bacteria from potential probiotics[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2011, 25(3):2489-2493.
- [9] KIM H S, KAMARA B J, GOOD I C, et al. Method for the preparation of stabile microencapsulated lactic acid bacteria[J]. Journal of Industrial Microbiology, 1988, 3(4):253-257.
- [10] 韩伟,张晓琳,王大为,等.一种饲用高活性乳酸菌固态制剂及其制备方法:中国,103392911A[P].2013-11-20.
- [11] 董佩佩,辛国芹,汪祥燕,等.一株植物乳杆菌贮存过程中耐热保护剂的筛选[J].广东饲料,2018,27(6):25-27.
- [12] 葛春雨,李军国,段海涛,等.饲料加工工艺和复合微生态制剂对肉鸡生长性能和免疫功能的影响[J].动物营养学报,2018,30(9):3681-3692.
- [13] 曲磊,康元环,孙武文,等.一株鱼源植物乳杆菌的部分生物学特性研究[J].黑龙江畜牧兽医,2018(5):181-184.
- [14] 宋献艺,张凯,周胜花.猪源益生菌对胃肠道环境、高温的耐受性以及体外抑菌效果研究[J].黑龙江畜牧兽医,2018(13):160-162.
- [15] 吴万庆.微生物饲料添加剂的应用[J].水禽世界,2015(1):38-39.
- [16] 周中凯,王俊轩,李莹.青香蕉淀粉对乳酸菌在冻干和贮存过程中活性的保护效果[J].食品科学,2016,37(15):144-148.
- [17] 刘丽.一株潜在有益菌的生物学特性及菌剂的保质期研究[D].硕士学位论文.广州:华南理工大学,2014:9-12.
- [18] 饶甜甜,刘志彬,张雯,等.高稳定性乳酸菌饲料制剂生产工艺及其应用效果的研究[J].粮食与饲料工业,2016,12(12):47-51.
- [19] 刘继业.直投式乳酸菌发酵剂制备技术的研究及其应用[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2017:22-43.
- [20] 黄皓,胡珊,梁卫驱,等.乳酸菌微胶囊制剂的功能性与稳定性研究[J].中国食品添加剂,2016(4):90-93.
- [21] 宗绪岩,叶光斌,白彬阳,等.乳酸菌复合发酵剂贮藏保质期预测研究[J].宁夏师范学院学报,2018,39(4):42-45.
- [22] 王岩,侯美如,刘宇,等.益生菌保护剂的筛选与优化[J].黑龙江畜牧兽医,2016(9):208-211.
- [23] 杨凯舟,刘云,杨立芳,等.长双歧杆菌 BBMN68 微胶囊的制备及其应用性评价[J].食品科学,2015,36(9):71-77.
- [24] 郭建林.益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 包埋稳定性研究[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2014:14-20.
- [25] 徐文斌.乳酸菌芽孢的发酵、保藏条件研究及其合生素在肉鸡饲料中的应用[D].硕士学位论文.长春:吉林大学,2012:28-40.
- [26] 计伟,谢春艳,赵艳平,等.乳酸菌的生物学功能及其在母猪和仔猪生产中的应用[J].动物营养学报,2018,30(11):4320-4326.
- [27] 楚青惠.不同剂量乳酸菌对母猪和仔猪生产性能、血清生化指标以及粪便微生物的影响[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2014.
- [28] HAYAKAWA T, MASUDA T, KUROSAWA D, et al. Dietary administration of probiotics to sows and/or their neonates improves the reproductive performance, incidence of post-weaning diarrhea and histopathological parameters in the intestine of weaned piglets [J]. Animal Science Journal, 2016, 87(12):1501-1510.
- [29] BROUSSEAU J P, TALBOT G, BEAUDOIN F, et al. Effects of probiotics *Pediococcus acidilactici* strain MA18/5M and *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii* strain SB-CNCM I-1079 on fecal and intestinal microbiota of nursing and weanling piglets [J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(11):5313-5326.
- [30] WANG W W, CHEN J, ZHOU H, et al. Effects of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* and fructooligosaccharide on growth performance, blood immune parameters, and intestinal morphology in weaned piglets [J]. Food and Agricultural Immunology, 2017, 29

- (1):84-94.
- [31] LIU C Q, ZHU Q, CHANG J, et al. Effects of *Lactobacillus casei* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function and gut microbiota of suckling piglets [J]. Archives of Animal Nutrition, 2017, 71(2):120-133.
- [32] LOJANICA M, MANOJLOVIĆ M, JEREMIĆ D, et al. The effects of probiotic *Enterococcus faecium* DSM 7134 in the weaned pigs nutrition [J]. Biotechnology in Animal Husbandry, 2010, 26(1/2):57-64.
- [33] 张双翔, 胡兴义, 冯旭芳, 等. 乳酸菌、酵母菌和枯草芽孢杆菌组合对哺乳仔猪生长性能、免疫器官指数和血液生理生化指标的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(5):171-173.
- [34] LIU H, ZHANG J, ZHANG S H, et al. Oral administration of *Lactobacillus fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2014, 62(4):860-866.
- [35] SZAB I, WIELER L H, TEDIN K, et al. Influence of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* DT104 infection in a porcine animal infection model [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(9):2621-2628.
- [36] ANDREJ ČÁKOVÁ Z, SOPKOVÁ D, VLČKOVÁ R, et al. Synbiotics suppress the release of lactate dehydrogenase, promote non-specific immunity and integrity of jejunum mucosa in piglets [J]. Animal Science Journal, 2016, 87(9):1157-1166.
- [37] YU J, ZHU Y H, YANG G Y, et al. Anti-inflammatory capacity of *Lactobacillus rhamnosus* GG in monophasic variant *Salmonella* infected piglets is correlated with impeding NLRP6-mediated host inflammatory responses [J]. Veterinary Microbiology, 2017, 210:91-100.
- [38] PENG Q, ZENG X F, ZHU J L, et al. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* B₁ on growth performance, intestinal microbiota, and short chain fatty acid profiles in broiler chickens [J]. Poultry Science, 2016, 95(4):893-900.
- [39] FORTE C, MANUALI E, ABBATE Y, et al. Dietary *Lactobacillus acidophilus* positively influences growth performance, gut morphology, and gut microbiology in rurally reared chickens [J]. Poultry Science, 2017, 97(3):930-936.
- [40] CHEN F, GAO S S, ZHU L Q, et al. Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* CF supplementation on growth, meat quality, and microenvironment in specific pathogen-free chickens [J]. Poultry Science, 2018, 97(1):118-123.
- [41] ZHANG L, LI J, YUN T T, et al. Effects of pre-encapsulated and pro-encapsulated *Enterococcus faecalis* on growth performance, blood characteristics, and cecal microflora in broiler chickens [J]. Poultry Science, 2015, 94(11):2821-2830.
- [42] 陈娟, 侯义江, 宋丹, 等. 微囊化粪肠球菌和酵母菌对育成期河北柴鸡生长和血清指标的影响 [J]. 饲料工业, 2016, 37(14):32-36.
- [43] ZHANG T, XIE J, ZHANG M, et al. Effect of a potential probiotics *Lactococcus garvieae* B301 on the growth performance, immune parameters and caecum microflora of broiler chickens [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2016, 100(3):413-421.
- [44] ZHANG L, LI J, YUN T T, et al. Evaluation of pilot-scale microencapsulation of probiotics and product effect on broilers [J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(10):4796-4807.
- [45] FORTE C, ACUTI G, MANUALI E, et al. Effects of two different probiotics on microflora, morphology, and morphometry of gut in organic laying hens [J]. Poultry Science, 2016, 95(11):2528-2535.
- [46] PARK J W, JEONG J S, LEE S I, et al. Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens [J]. Poultry Science, 2016, 95(12):2829-2835.
- [47] SONG D, WANG Y W, HOU Y J, et al. The effects of dietary supplementation of microencapsulated *Enterococcus faecalis* and the extract of *Camellia oleifera* seed on growth performance, immune functions, and serum biochemical parameters in broiler chickens [J]. Journal of Animal Science, 2016, 94(8):3271-3277.
- [48] BLAJMAN J E, OLIVERO C A, FUSARI M L, et al. Impact of lyophilized *Lactobacillus salivarius* DSPV 001P administration on growth performance, microbial translocation, and gastrointestinal microbiota of broilers reared under low ambient temperature [J]. Research in Veterinary Science, 2017, 114:388-394.
- [49] WANG S, PENG Q, JIA H M, et al. Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with *Lactobacillus plantarum* B₁ [J]. Poultry Science, 2017, 96(8):2576-2586.

- [50] FENG J C, WANG L H, ZHOU L X, et al. Using *in vitro* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria for selection of probiotics against *Salmonella* infection in broiler chicks [J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0147630.
- [51] LAN R X, LEE S I, KIM I H. Effects of *Enterococcus faecium* SLB 120 on growth performance, blood parameters, relative organ weight, breast muscle meat quality, excreta microbiota shedding, and noxious gas emission in broilers [J]. Poultry Science, 2017, 95(9): 3246–3253.
- [52] MAÑES-LÁZARO R, VAN DIEMEN P M, PIN C, et al. Administration of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 to chickens affects colonisation by *Campylobacter jejuni* and the intestinal microbiota [J]. British Poultry Science, 2017, 58(4): 373–381.
- [53] YANG Y, LATORRE J D, KHATRI B, et al. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria candidates for intestinal epithelial permeability and *Salmonella typhimurium* colonization in neonatal turkey poults [J]. Poultry Science, 2018, 97(2): 515–521.
- [54] CARTER A, ADAMS M, LA RAGIONE R M, et al. Colonisation of poultry by *Salmonella Enteritidis* S1400 is reduced by combined administration of *Lactobacillus salivarius* 59 and *Enterococcus faecium* PXN-33 [J]. Veterinary Microbiology, 2017, 199: 100–107.
- [55] LIU N, DING K, WANG J Q, et al. Detoxification, metabolism, and glutathione pathway activity of aflatoxin B1 by dietary lactic acid bacteria in broiler chickens [J]. Journal of Animal Science, 2017, 95(10): 4399–4406.
- [56] KENNEY N M, VANZANT E S, HARMON D L, et al. Direct-fed microbials containing lactate-producing bacteria influence ruminal fermentation but not lactate utilization in steers fed a high-concentrate diet [J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(5): 2336–2348.
- [57] CULL C A, RENTER D G, BELLO N M, et al. Performance and carcass characteristics of commercial feedlot cattle from a study of vaccine and direct-fed microbial effects on *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding [J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(6): 3144–3151.
- [58] ZHANG R, ZHOU M, TU Y, et al. Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2016, 100(1): 33–38.
- [59] SOUZA R F S, RAULT L, SEYFFERT N, et al. *Lactobacillus casei* BL23 modulates the innate immune response in *Staphylococcus aureus*-stimulated bovine mammary epithelial cells [J]. Beneficial Microbes, 2018; 1–12, doi:10.3920/BM2018.0010.
- [60] GENÍS S, CERRI R L A, BACH A, et al. Pre-calving intravaginal administration of lactic acid bacteria reduces metritis prevalence and regulates blood neutrophil gene expression after calving in dairy cattle [J]. Frontiers in Veterinary Science, 2018, 5: 135.
- [61] SUN Y, HE M W, CAO Z J, et al. Effects of dietary administration of *Lactococcus lactis* HNL12 on growth, innate immune response, and disease resistance of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) [J]. Fish & Shellfish Immunol, 2018, 82: 296–303.
- [62] SHA Y J, WANG L, LIU M, et al. Effects of lactic acid bacteria and the corresponding supernatant on the survival, growth performance, immune response and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2016, 452: 28–36.
- [63] YU L L, ZHAI Q X, ZHU J M, et al. Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation enhances growth performance and alleviates aluminum toxicity in tilapia [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 143: 307–314.
- [64] SOLEMAN N, LAFERL H, KNEIFEL W, et al. How safe is safe? - a case of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* endocarditis and discussion of the safety of lactic acid bacteria [J]. Scandinavian Journal of Infectious Disease, 2003, 35(10): 759–762.
- [65] EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Guidance on the safety assessment of *Enterococcus faecium* in animal nutrition [J]. EFSA Journal, 2012, 10(5): 2682.

Research Progress in Development and Application of Feed Lactic Acid Bacteria Preparations

ZHOU Hang WANG Weiwei WANG Li LI Aike*

(Institution of Grain Quality and Nutrition, Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037, China)

Abstract: With the increasingly strong appeal of consumers for food safety, the “anti-prohibition” voice of China’s feed industry is becoming more and more popular. Therefore, the search for “safe, green and environmentally friendly” feed antibiotic replacement products has become the research direction focused by scholars and the industry. Feed lactic acid bacteria (LAB) preparation is a kind of safe and efficient feed additive that can be directly fed to animals. It can improve animal immunity, growth and feed utilization rate by regulating animal intestinal microecological balance, inhibiting the colonization of harmful bacteria and reducing the pH of digestive tract. However, LAB has the characteristic of poor stress resistance, which leads to its unstable application effect in livestock and poultry production. Therefore, how to improve the stress resistance of feed LAB preparation, so that it can give better play to the feeding effect, is also the focus of current research on the preparation technology of feed LAB. In addition, the safety of feed LAB has also begun to attract the attention of scholars and practitioners. It is also an urgent problem for the industry to avoid the use of drug-resistant strains and strains carrying pathogenic genes and establish corresponding norms and standards. In view of the current focus of LAB preparations, this paper reviewed the research progress on the stress resistance and safety of feed LAB preparations and their application in animal production. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(5):2012-2021]

Key words: feed antibiotic; lactic acid bacteria preparation; tolerance; application