

生物饲料及其替代和减少抗生素使用技术研究进展

李爱科 王薇薇 王永伟 何贝贝

(国家粮食和物资储备局科学研究院,粮食品质营养研究所,北京 100037)

摘要: 农业农村部第 194 号公告于 2020 年正式实施,标志着药物饲料添加剂将有序退出,也为我国饲料和养殖行业带来了新的机遇和挑战。生物饲料包括发酵饲料、酶解饲料、菌酶协同发酵饲料和微生物饲料添加剂,因其具有提高动物饲料利用效率、提高饲料适口性、维持肠道菌群平衡、产生有益代谢产物等突出作用,进一步凸显了生物饲料在饲料替代和减少抗生素使用中的重要作用,极大推动了我国养殖饲料企业的战略转型发展。本文结合本研究团队的研究方向和技术优势,并总结国内外研究现状,重点从发酵饲料和微生物饲料添加剂 2 个方面综述生物饲料及其在畜禽饲料中替代和减少抗生素使用技术的研究进展,以期为我国生物饲料的生产和应用提供理论依据。

关键词: 生物饲料;发酵饲料;微生物饲料添加剂;替代抗生素

中图分类号: S815.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2020)10-4793-14

根据 2018 年 3 月实施的团体标准《生物饲料产品分类》(T/CSWSL 001—2018)定义,生物饲料是以国家相关法规允许使用的饲料原料和饲料添加剂为对象,通过发酵工程、酶工程、蛋白质工程和基因工程等生物工程技术开发的饲料产品的总称,包括发酵饲料、酶解饲料、菌酶协同发酵饲料和微生物饲料添加剂。从基于专利文献计量的生物饲料技术领域态势分析,全球生物饲料技术的发展先后经历了 1962—2004 年的摸索起步阶段、2005—2009 年的快速发展阶段和 2010 年以后的爆发式增长阶段^[1]。从国际上来看,欧盟、日本、韩国、美国等的限制或禁用抗生素政策促进了生物饲料的飞速发展。我国自 2010 年以后在国家多项政策的驱动下生物饲料也得到了快速发展。2009 年,国务院办公厅发布《关于印发促进生物产业加快发展若干政策的通知》,明确指出要在生物农业领域大力发展生物饲料及其添加剂。2011 年,我国农业农村部发布了《饲料工业发展第十二个五年规划》,指出了生物饲料的发展道路,

助力我国生物饲料的爆发式增长。2018 年 7 月,我国农业农村部《农业绿色发展技术导则(2018—2030)》中将“发酵饲料应用技术”等作为重点研发任务。2020 年实施的我国农业农村部公告第 194 号,发布了药物饲料添加剂退出计划和相关管理政策,进一步凸显了生物饲料在“饲料无抗”时代的重要作用,极大推动了我国养殖饲料企业的战略转型发展。本文结合国内外研究现状,重点从发酵饲料、酶解饲料和微生物饲料添加剂等方面进行综述,以期为我国生物饲料生产和应用提供理论依据。

1 发酵饲料及其替代和减少抗生素使用技术进展

1.1 发酵原料与工艺研究进展

发酵饲料是指使用国家相关法规[《饲料原料目录(2013)》和《饲料添加剂品种目录(2013)》等]允许使用的饲料原料和微生物,通过发酵工程技术生产的含有微生物或其代谢产物的单一饲料

收稿日期:2020-08-06

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZX1924,ZX1907,ZX1925)

作者简介:李爱科(1963—),男,湖南长沙人,研究员,博士,主要从事动物营养与饲料资源开发利用研究。E-mail: lak@ags.ac.cn

和混合饲料。近年来,我国畜牧业发展迅速,优质饲料资源短缺,“人畜争粮”矛盾日益显现。因此,畜牧业从业者开始尝试利用农业生产和农产品加工副产物、废弃物等,经过发酵处理成为新的饲料资源,主要包括粮食加工副产品,如豆粕、棉籽粕、菜籽粕等蛋白质含量的原料,以及鲜糟渣、果渣、水果皮、各类农作物秸秆等能量饲料和粗饲料等^[2]。这些饲料原料经发酵处理后,可有效增加营养价值,降低饲料原料中畜禽难以利用的粗纤维和抗营养因子或真菌毒素等,在替代豆粕、鱼粉等优质、高价饲料原料和减少饲用抗生素使用方面有广阔的应用前景^[3-5]。本文仅就发酵菜籽粕、发酵棉籽粕、发酵花生粕和发酵玉米淀粉加工副产物等主要原料为例,综述其发酵工艺研究进展。

1.1.1.1 发酵菜籽粕

吴正可等^[6]以硫甙降解率为因变量,以菜籽粕中硫甙为唯一碳源,从发酵青贮与土壤混合液中筛选出1株能够高效降解硫甙的嗜酸乳杆菌,利用该嗜酸乳杆菌,与枯草芽孢杆菌、酿酒酵母配伍,对菜籽粕进行混菌发酵;结果表明,混菌发酵后的菜籽粕硫甙含量由37.48 $\mu\text{mol/g}$ 降低到25.96 $\mu\text{mol/g}$,降解率为30.73%;另外,粗蛋白质含量提高了18%,多肽含量提高了2倍;混菌发酵后的菜籽粕呈黄褐色蓬松状,有浓郁的酸香味,总酸含量由1.01%提高到3.91%。李莉娜等^[7]研究表明,枯草芽孢杆菌、酿酒酵母混菌发酵菜籽粕的效果显著优于单菌发酵;混菌组合中,枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、粪链球菌、黑曲霉4菌种的组合最优,其发酵后菜籽粕中有益活菌总数为 4.35×10^7 CFU/g,真蛋白、氨基酸含量和多肽得率分别为45.69%、331.48 mg/g和18.31%,硫甙含量为10.32 $\mu\text{mol/g}$,单宁含量为5.61 $\mu\text{g/g}$,提高了菜籽粕作为饲料蛋白质的品质。吴正可等^[8]研究确定了混菌固态发酵菜籽粕最佳发酵工艺为:发酵温度33 $^{\circ}\text{C}$,料水比1:1,发酵时间84 h,接种量6%,其中混菌组合方式为嗜酸乳杆菌:枯草芽孢杆菌:酿酒酵母=1:3:2;在该工艺条件下,发酵菜籽粕硫甙降解率为48.79%,总酸增加率为499.65%,多肽增加率为148.37%,总变化率为131.36%。管维等^[9]研究表明,纳豆杆菌、侧胞杆菌、凝结芽孢杆菌、枯草杆菌去除菜籽粕中抗营养因子的效果比较明显,最佳条件为:发酵时间5 d,发酵温度35 $^{\circ}\text{C}$,接种量6%,发酵pH 6.5;在此条件下,植

酸、纤维素、单宁的降解率最高,分别达93.74%、36.59%和14.75%。

1.1.1.2 发酵棉籽粕

亓秀晔等^[10]筛选出了可高效降解棉籽粕中游离棉酚的酵母菌 BLCC4-0327 和可改善发酵风味的乳酸菌 BLCC2-0092,并对筛选出的酵母菌和乳酸菌复配发酵进行了初步研究;结果表明,经30 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧发酵,最佳的复配发酵菌种组合为酵母菌 BLCC4-0327:乳酸菌 BLCC2-0092=1:1,与对照组相比,试验组各发酵阶段发酵棉籽粕的 pH 均显著降低,发酵24 h时 pH 降至5.73,酸溶蛋白含量(14.61%)显著提高;发酵48 h时酸溶蛋白质量分数达到17.61%,游离棉酚含量(70.99%)显著降低;这说明酵母菌 BLCC4-0327 与乳酸菌 BLCC2-0092 复配发酵可有效降低发酵棉籽粕中的游离棉酚含量并改善其营养品质。罗远琴等^[11]研究了利用枯草芽孢杆菌、酿酒酵母及二者复合菌发酵棉籽粕的营养成分变化,结果表明,枯草芽孢杆菌单菌发酵可显著提高发酵棉籽粕中干物质、粗蛋白质、酸溶蛋白质、总游离氨基酸、酸溶蛋白质及棉籽肽的含量,且小分子多肽和游离氨基酸含量升高;但是发酵产品硬度较大,有较浓郁的枯草腐败味。枯草芽孢杆菌和酿酒酵母复合发酵显著提高了棉籽粕中干物质、酸溶蛋白质、总游离氨基酸、棉籽肽、粗灰分、钙和磷的含量,降低了粗脂肪和酸性洗涤纤维含量,发酵产物有浓郁的酒香味,明显提高了其适口性;根据此研究结果,以发酵棉籽粕适口性为评判指标,复合菌发酵优于枯草芽孢杆菌和酿酒酵母单独发酵;而以发酵棉籽粕营养价值为评判指标,枯草芽孢杆菌单菌发酵优于复合菌和酿酒酵母单菌发酵。

1.1.1.3 发酵花生粕

姜晓阳等^[12]以纳豆激酶的活性和 γ -氨基丁酸的含量为评价指标,确定了采用纳豆芽孢杆菌和红曲霉混合菌株固态发酵花生粕的最佳工艺,其参数为:温度31 $^{\circ}\text{C}$,发酵46 h,料液比1.0:0.4,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)2:1,接种量6%;在此条件下测定纳豆激酶的活性为844.56 U/g, γ -氨基丁酸含量为105.25 mg/g,对羟自由基和1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH·)的清除率分别为68.46%和76.98%,测定铁还原力的吸光度值为0.481。

张源洁等^[13]以纳豆杆菌发酵花生粕产物对

DPPH·的清除率为指标,确定了采用川秀纳豆杆菌单菌固态发酵花生粕的最佳发酵工艺参数为:温度 37 ℃,发酵 48.7 h,发酵底物花生粕:大豆粕:麸皮=7.0:1.5:1.5,接种量 0.3%,料液比 10:3;在此条件下发酵,上清液 10 倍稀释液对花生粕 DPPH·清除率达 85%。

1.1.4 发酵玉米淀粉加工副产物

张会等^[14]以玉米胚芽粕为原料,经米曲霉固态发酵后,提取玉米胚芽蛋白,以玉米胚芽蛋白中的可溶性蛋白质含量为指标,确定最佳发酵工艺条件为:发酵时间 6 h,接种量 7.2×10^8 CFU/g,料液比 1.0:2.5。在此发酵条件下,玉米胚芽蛋白中可溶性蛋白质含量为 82.7%;经该工艺发酵提取的玉米胚芽蛋白,其表面疏水性、游离巯基含量分别增加了 10.3 和 1.5 $\mu\text{mol/g}$;同时,氨基酸总量和疏水性氨基酸总量分别提高了 12.49% 和 6.29%, DPPH·清除率和还原力的抗氧化指标也有所提高。江成英等^[15]研究了以种曲为发酵剂,进行玉米黄粉饲料固态发酵,确定优化工艺条件为:物料比(黄粉:麸皮)7:3,料水比 1:1.4,发酵时间 108 h,发酵温度 33 ℃,种曲接种量 5%;以此工艺条件下生产的发酵玉米黄粉饲料中,可溶性蛋白质含量为 13.67%。典姣姣等^[16]对混菌固态发酵喷浆玉米皮制备蛋白质饲料的工艺进行探讨,通过响应面分析得到适宜发酵条件为:初始水分含量 75%,接种量 15%,发酵温度 32 ℃,pH 6.0,发酵时间 72 h;在此条件下,产物中粗蛋白质含量为 23.79%,提高了 8.29%。

1.2 发酵饼粕的饲用价值评定

许多研究表明,固态发酵可显著降低饼粕中的抗营养因子含量,同时,提高畜禽对饲料原料的养分(能量、蛋白质和氨基酸等)消化率和利用率,有效改善其饲用价值。周晓容等^[17]采用全收粪尿法评定了固态发酵菜籽粕在生长育肥猪上的营养价值,结果表明,发酵菜籽粕混合物发酵后,较发酵前 pH 下降了 1.68,而粗蛋白质、酸溶性蛋白质和粗脂肪的含量分别提高了 1.91%、44.40% 和 24.27%;对抗营养因子异硫氰酸酯和噁唑烷硫酮的降解率高达 92.20% 和 100.00%,单宁和植酸的含量分别降低了 35.81% 和 24.22%;另外,发酵菜籽粕干物质表观消化率、消化能、氮表观(真)消化率和氮表观(真)利用率分别为 75.28%、13.84 MJ/kg、70.89% (72.84%) 和 68.12%

(71.12%),均显著高于菜籽粕;发酵菜籽粕的钙、磷和粗灰分表观消化率与菜籽粕相比差异不显著。帖余等^[18]研究表明,用类食品乳杆菌(*Lactobacillus paralimentarius*)和黑曲霉混合后,结合两步法处理菜籽粕,与菜籽粕和利用类食品乳杆菌单菌发酵后的发酵菜籽粕相比,其总酸含量分别提高了 641% 和 161%,酸溶蛋白质和氨基酸态氮含量分别提高了 19% 和 1%,硫苷含量降低了 45%,营养价值显著提高。

1.3 发酵饲料在替代豆粕和鱼粉上的应用

1.3.1 发酵豆粕的应用

党文庆等^[19]研究了饲料中添加 5%、10%、15% 的发酵豆粕对 36 日龄“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪的影响,结果表明,发酵豆粕可显著降低仔猪料重比,显著提高营养物质消化率,降低大肠杆菌和沙门氏菌的数量;当发酵豆粕添加量为 10% 时,饲喂效果最佳。吴莉芳等^[20]研究了发酵豆粕替代 16.5%、33.0%、49.5%、66.0% 的鱼粉对洛氏鲷血液主要生化指标的影响,结果表明,发酵豆粕替代鱼粉比例为 49.5% 和 66.0% 时,显著增加了血清尿素氮含量,显著降低了血清白蛋白含量,显著降低了后肠蛋白酶活性,显著升高了血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性;因此,在洛氏鲷配合饲料中,发酵豆粕替代鱼粉比例小于 49.5% 时,对其血液生化指标、蛋白酶活性及蛋白质代谢无不良影响。

1.3.2 发酵菜籽粕的应用

Hu 等^[21]研究表明,在肉鸡饲料中添加 9.41% 发酵菜籽粕可显著提高血清中超氧化物歧化酶活性,有降低丙二醛含量的趋势。刘长松等^[22]用菜籽粕和发酵菜籽粕分别替代基础饲料中 12% 的豆粕,结果发现,发酵菜籽粕组肉鸡的生长性能优于菜籽粕组;然而,与菜籽粕组相比,发酵菜籽粕组的饲养成本降低,价肉比(饲料单价×料重比)降低了 0.2 元/kg。陈小连等^[23]研究了嗜酸乳杆菌、枯草芽孢杆菌和酿酒酵母混菌发酵的菜籽粕对 28~49 日龄白羽公番鸭的生长性能及血清生化、激素和抗氧化指标的影响,对照组和试验组分别饲喂含 8% 普通菜籽粕和 8% 发酵菜籽粕的基础饲料,结果表明,发酵菜籽粕可提高番鸭的生长性能,而对血清生化和激素指标无显著影响。陈小连等^[24]研究饲料添加 12%、16% 和 20% 的发酵菜籽粕等氮代替基础饲料中的豆粕对白羽公番鸭生长性能

和血液指标的影响,以平均日增重、血液生化指标、抗氧化性能等为评价指标,认为饲料中适当添加发酵菜籽粕替代豆粕不会影响番鸭的生长性能,其中添加16%的发酵菜籽粕效果较好。

邓卉等^[25]用发酵菜籽粕等氮替代2.5%、5.0%和7.5%基础饲料中的豆粕,研究其在“杜×长×大”三元杂交生长猪生长中的作用,以平均日增重、平均日采食量、料重比及血清超氧化物歧化酶(SOD)活性、总抗氧化能力(T-AOC)和免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)和白细胞介素-2(IL-2)含量等为考察指标,认为等氮替代7.5%豆粕效果最佳。孙佩佩等^[26]研究了8%、12%和16%发酵菜籽粕等氮替代基础饲料中豆粕对生长猪生长性能及血清生化、抗氧化和免疫指标的影响,结果表明,发酵菜籽粕可在一定程度上改善生长猪的生长性能,降低血清中三碘甲状腺原氨酸(T_3)、四碘甲状腺原氨酸(T_4)和总胆固醇的含量,提高抗氧化能力。彭双等^[27]研究了黑曲霉发酵的菜籽粕对生长猪生长性能和养分表观消化率的影响,分别用10%的菜籽粕和发酵菜籽粕替代对照组饲料中的豆粕,结果表明,发酵菜籽粕组平均日增重和料重比显著优于菜籽粕组,但与对照无显著差异;对照组干物质、粗蛋白质、钙和磷的表观消化率显著高于菜籽粕组,但与发酵菜籽粕组相比无显著差异。

郑杰等^[28]用发酵菜籽粕等氮替代贵州黑山羊羔羊精料饲料中16%的豆粕,结果表明,在“放牧+补饲”条件下,以发酵菜籽粕等氮替代精料饲料中50%豆粕效果最好,能够提高贵州黑山羊羔羊机体IgG、干扰素- γ (INF- γ)、生长激素(GH)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、 T_3 、 T_4 含量,增强免疫功能,促进生长。

1.3.3 发酵棉籽粕的应用

孙焕林^[29]研究了枯草芽孢杆菌发酵棉籽粕对黄羽肉鸡生长性能、免疫性能和肉品质的影响,结果发现,饲料中添加2%、5%、8%的发酵棉籽粕,与玉米-豆粕型基础饲料相比,粗蛋白质、钙、磷的表观消化率明显提高,8%发酵棉籽粕组的以上各营养物质代谢率最高;5%发酵棉籽粕组的平均日增重和8%发酵棉籽粕组的饲料报酬最高;8%发酵棉籽粕组的肉鸡屠宰率最高。王朝阳等^[30]研究了饲料中添加2%、5%和8%的枯草芽孢杆菌发酵棉籽粕对黄羽肉鸡屠宰性能及肉品质的影响,结果

表明,各试验组肉鸡屠宰率、半净膛率、全净膛率、胸肌率、腿肌率和肌肉pH_{45 min}均显著高于对照组(饲喂玉米-豆粕-棉籽粕饲料),8%发酵棉籽粕组肉鸡屠宰率最高;各试验组肉鸡胸肌脂肪含量提高,5%和8%发酵棉籽粕组显著高于对照组;各试验组腿肌脂肪含量均显著高于对照组;由此得出,饲料中添加2%~8%枯草芽孢杆菌发酵棉籽粕能不同程度提高黄羽肉鸡屠宰率、全净膛率、半净膛率等屠宰性能,并且随发酵棉籽粕添加量的提高,屠宰性能和肉品质的提高效果越好。Wang等^[31]研究表明,肉鸡前期饲料中添加8.9%、后期饲料中添加7.5%的发酵棉籽粕替代豆粕对生长性能无显著影响,但是前期饲料中添加17.9%、后期饲料中添加15.1%的发酵棉籽粕对肉鸡生长性能产生一定负面影响。魏莲清等^[32]研究发现,在饲料中添加6%发酵棉籽粕可显著降低白羽肉鸡血清葡萄糖、甘油三酯和总胆固醇含量,并降低了42日龄肉鸡皮下脂肪厚度。此外,发酵棉籽粕调节脂代谢的作用效果与发酵棉籽粕添加量有关,因为发酵棉籽粕可调节脂肪氧化和脂蛋白酯酶等脂肪合成相关基因表达^[33]。罗远琴等^[34]研究了富含棉籽肽的发酵棉籽粕(枯草芽孢杆菌和扣囊复膜酵母混菌发酵)对爱拔益加(AA)肉鸡生长性能和免疫功能的影响,对照组添加6%棉籽粕,试验组分别添加4%、6%、8%富含棉籽肽的发酵棉籽粕,结果表明,肉鸡饲料中添加一定比例的富含棉籽肽的发酵棉籽粕可在一定程度上提高肉鸡的生长性能、免疫器官指数、巨噬细胞吞噬指数和免疫性能,其中6%添加组(饲料棉籽肽含量12.20 g/kg)效果最优,而8%添加组(饲料棉籽肽含量16.27 g/kg)对肉鸡免疫性能有一定抑制作用。魏莲清等^[35]研究了饲料中添加3%、6%和9%用热带假丝酵母发酵制得的发酵棉籽粕对白羽肉鸡蛋白质代谢的影响,发现其可通过提高肉鸡养分表观消化率和表观代谢能,增加蛋白质代谢相关酶活性和激素含量,促进机体的蛋白质沉积,且6%添加量效果最优,生长前期添加效果优于生长后期。

1.3.4 其他发酵杂粕等的应用

李百安等^[36]研究了花生粕和发酵花生粕替代基础饲料中鱼粉对罗非鱼生长性能、肌肉常规成分、氨基酸组成和消化道蛋白酶活性的影响,结果表明,在鱼粉含量为6%的罗非鱼饲料中,用花生粕替代1/3鱼粉且发酵花生粕替代2/3鱼粉时,罗

非鱼的增重率、饲料系数、肠蛋白酶活性无显著变化;用花生粕替代 1/3 鱼粉且发酵花生粕替代全部鱼粉时,对罗非鱼胃蛋白酶活性无显著影响;以花生粕、发酵花生粕替代不同比例鱼粉后,对罗非鱼肌肉水分、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和总氨基酸含量均无显著影响;在该试验条件下,花生粕和发酵花生粕可分别替代鱼粉用量的 1/3 和 2/3。宋鹏等^[37]研究了 5%、10% 和 15% 发酵芝麻粕(替代 11.8%、23.5% 和 35.1% 菜籽粕蛋白)对草鱼生长性能、肠道形态和微生物及小肽转运相关基因表达的影响,结果表明,使用发酵芝麻粕替代草鱼饲料中 11.8%~23.5% 的菜籽粕蛋白时,鱼体的生长性能和饲料利用率均有上升趋势,同时可改善草鱼的肠道形态结构,优化肠道菌群组成,并上调肠道中小肽转运相关基因的表达。

李冰等^[38]研究获得棕榈仁渣最佳发酵工艺,在此工艺条件下,发酵产物的含水量及粗蛋白质、粗脂肪、粗纤维、粗灰分、钙和磷含量分别为 16.20%、7.20%、7.61%、26.20%、5.20%、0.38% 和 0.26%,总菌落数为 9.0×10^7 CFU/g;将此发酵产物替代部分传统粗饲料中的玉米秸秆饲喂肉牛,肉牛健康状况良好,饲料消化吸收利用率高,育肥效果显著。

易春霞等^[39]研究了以玉米黄粉和玉米胚芽粕为底物的发酵饲料替代 10% 基础饲料对大午金凤蛋鸡生长性能、蛋品质和抗氧化能力的影响,结果表明,发酵饲料可溶性蛋白含量由发酵前的 42.06 mg/g 增加到 118.32 mg/g,总必需氨基酸含量增加了 25.76%;与对照组相比,试验组前期平均产蛋率显著增加,破损蛋率显著降低,血清丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性显著降低;试验组后期平均产蛋率增加了 3.85%,蛋白高度和哈氏单位均显著提高,蛋壳厚度显著下降,血清 CAT、SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性均显著增加。综上所述,蛋鸡饲料中添加 10% 发酵饲料,提高了大午金凤蛋鸡生长性能和蛋品质,并达到了改善血清和肝脏抗氧化指标的效果。

1.4 发酵饲料在替代抗生素上的应用

随着人们生活水平的提高,消费者对畜产品品质的要求更加严格,安全、绿色、无抗、好吃等成为产品品质的新考核指标。许多研究表明,发酵

饲料按一定比例添加到动物饲料中,可保证饲料原料的绿色安全,同时提高肉品质,起到与抗生素类似作用,是较好的可替代抗生素使用的新型饲料^[40]。但发酵饲料在饲用抗生素替代上的研究相对较少且不深入,仅吕航等^[41]综述了发酵饲料在猪生产上的替抗研究以及相关机理。

刘志云等^[42]研究发现,与未发酵组相比,乳酸菌和地衣芽孢杆菌混合发酵的玉米-豆粕型全价固体料可显著提高生长猪的平均日增重和饲料转化效率,与抗生素组(40 mg/kg 杆菌肽锌)相比,生长性能无显著差异。这表明发酵后的全价料具有减少或替代饲用抗生素使用的能力。王玉田等^[43]研究了用屎肠球菌、枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和酵母菌等复合益生菌发酵玉米-豆粕为主的复合发酵饲料对“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪生产性能、腹泻率和血液指标的影响,结果表明,用 5% 或 10% 的发酵饲料分别替代 30 或 60 mg/kg 金霉素,断奶仔猪的平均日增重均显著高于对照组,腹泻率和血清尿素氮含量均显著低于对照组;可见 2 组效果均好于对照组,而且用 10% 的发酵饲料替代 60 mg/kg 金霉素组效果最佳。刘江英等^[44]研究了玉米、麸皮、豆粕复合发酵饲料对肉鸡抗沙门氏菌感染的影响,设计了对照组、基础饲料+10% 未发酵饲料组、抗生素组(20 mg/kg 硫酸黏杆菌素)和发酵组(分别用 5%、10% 发酵饲料替代基础饲料中的未发酵饲料),结果表明,沙门氏菌感染导致肉鸡血清促炎因子[白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、D-乳酸(D-LA)含量显著上升,Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号通路中的关键信号分子[TLR4、髓样分化因子 88(MyD88)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)、核因子- κ B(NF- κ B)]基因表达显著上调,而抗生素组及 5%、10% 发酵组相关指标均有不同程度地改善,说明多菌种联合发酵饲料能够通过抑制由沙门氏菌感染导致的 TLR4-MyD88-TRAF6-NF- κ B 信号通路的激活,降低促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 基因表达,从而减缓沙门氏菌感染导致的炎症反应和肠道屏障受损,其效果接近 20 mg/kg 硫酸黏杆菌素。李玉侠等^[45]研究了生物发酵饲料在断奶仔猪上的应用效果,对照组为玉米-豆粕型基础饲料,发酵饲料组添加 20% 发酵饲料,抗生素组添加 20 mg/kg 恩

拉霉素,结果表明,发酵饲料组猪的平均日增重和粗蛋白质表观消化率显著高于对照组,料重比和腹泻率低于对照组;发酵饲料组血清尿素氮含量显著高于对照组,血清中 IgG、免疫球蛋白 M (IgM)、球蛋白含量显著高于对照组,表明发酵饲料在一定程度上可以增强猪的分解代谢能力,提高猪的免疫能力。

2 微生物饲料添加剂及其替代和减少抗生素使用技术进展

2.1 微生物饲料添加剂的定义和分类

微生物饲料添加剂也称饲用益生菌、微生态饲料添加剂,是用已知的有益微生物经培养、发酵、干燥等特殊工艺制成的对动物安全有益的活菌制剂。微生物饲料添加剂中活的微生物菌体进入动物肠道后可改善微生态平衡,在其生长、繁殖过程中产生消化酶或其他酶、维生素、多肽、氨基酸、脂肪酸、未知因子等,从而达到益生目的^[46]。随着微生物领域研究的快速发展和微生态制剂制备工艺的进步,目前可用于饲用益生菌的微生物种类已有多,主要包括乳酸菌、芽孢杆菌、酵母菌、放线菌和光和细菌等几大类。美国食品药品监督管理局(FDA)和美国饲料管理协会(AAFCO)于1989年公布了42种“可直接饲喂的益生菌菌种”,其中30种属于乳酸菌。我国农业部第2045号公告颁布的《饲料添加剂品种目录(2013)》中,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。此外,在国内外还陆续有新的菌种在饲料中研究和应用,如丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)、芽孢乳杆菌(*Lactobacillus sporogens*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)等。

按照剂型,饲用益生菌分为水溶液剂型和固体剂型。其中,前者易利用水溶液中的营养物质继续生长代谢,因此,菌体处于不稳定状态,保存期较短;后者是在添加保护剂和载体等前提下,利用低温热风、冷冻等干燥手段,将活的菌体进行慢速干燥,使其处于稳定的干燥休眠状态,再利用可饲用的物质作为填充物混合均匀,制成较为稳定的粉剂或颗粒型微生物饲料添加剂。按照菌种组成,饲用益生菌划分为单一型微生态制剂和复合型微生态制剂;前者是以单独菌种为主要成分,辅以淀粉、无机盐等载体,发挥单一菌体的生理活性;后者是由同一或不同菌株益生菌及其代谢产

物和生长促进物质组成,协同发挥生理作用。

2.2 饲用益生菌优良菌株安全性和有效性的评价技术

目前,益生菌菌株的评价主要包括安全性和有效性2个方面,而安全性和有效性评价又分为体内和体外的评价。国内外对于饲用微生物的安全性和有效性的评价技术体系还不健全,所用指标及评价方法很不一致,对于不同指标的可靠性和评价技术缺乏深入系统的研究,评价技术没有统一的标准。此外,从实际应用出发,如何选择科学的评价技术指标并建立评价技术规程仍是国内外有待研究的课题。比如,如何科学建立各项体内和体外评价指标的递进关系问题,以及如何确立体外评价和体内评价的对应关系问题等。研究解决这些问题是建立科学和行之有效的评价技术规程的关键,也是促进益生菌行业持续发展的基础。

综合近20年来益生菌益生评价的研究报道,及欧洲食品安全委员会(EFSA)、欧洲动物营养科学委员会(SCAN)、欧洲委员会(EU)和联合国粮农组织和世界卫生组织(FAO/WHO)等关于益生菌益生评价的规程和指南性文件,目前已报道的体外安全性评价指标,包括溶血性^[47]、胆汁盐水解酶活性^[48]、毒力因子^[49]、抗生素抗性^[47,50]、产有毒代谢产物^[51]、对胃黏膜蛋白的分解能力^[52]、血小板凝集^[53]、明胶液化^[54]、尿素降解^[55]等。已报道的体外有效性评价指标,包括耐酸^[56]、耐胆盐^[57]、耐人工胃肠液^[58]、黏附特性^[59]、抑制有害菌活性^[60]、抗病毒活性^[61]、细胞表面特性^[62]、免疫调节^[63]、抗癌和抗诱变特性^[56]、生物膜的形成^[64]、蛋白水解酶和纤维素酶等活性^[64]和产胞外多糖^[65]等。对这些指标的检测意义、检测方法和生产实际中可以满足的检测条件进行详细分析,笔者认为体外安全性评价指标中,溶血性、毒力因子、抗生素抗性和产有毒代谢产物等4个指标适合形成标准化、可操作的评价指标;体外有效性评价指标中,耐人工胃肠液、黏附性、抑菌活性等3个指标适合形成标准化、可操作的评价指标。

我国农业农村部于2015年10月颁布实施了国家标准化指导性技术文件《饲料原料和饲料添加剂畜禽靶动物有效性评价试验技术指南》(GB/Z 31813—2015)。然而,国内外针对饲用益生菌体内有效性评价的相关体系与标准较少。通过大

量文献调研,目前研究者对饲用微生物的体内有效性评价指标主要有:生长性能^[66-68]、蛋鸡生产性能^[69-70]、腹泻率^[71]、对各肠段及粪便 pH 与微生物菌群的影响^[72-74]、对血液生化指标的影响^[66]、对免疫能力的影响^[66,75]、对小肠绒毛发育和养分吸收的影响^[68,76]、抗病原菌感染^[77]、对肉品质的影响^[78-79]和对蛋品质的影响^[70]等。

2.3 益生菌在替代抗生素上的应用

2.3.1 益生菌在猪饲料中替代抗生素的应用研究

益生菌被认为在提高断奶仔猪生长性能和肠道健康的机制方面发挥着重要作用^[80],但益生菌作为抗生素替代物在断奶仔猪饲料中应用效果的研究结果不尽相同。例如,部分研究表明,饲料中添加乳酸菌或酵母培养物可显著提高断奶仔猪的肠道健康、生长性能、干物质消化率等^[81],减少仔猪断奶腹泻^[82];但也有研究表明饲料中添加益生菌对断奶仔猪的生长性能无显著影响^[83]。这可能与各项研究中所添加益生菌的种类、添加剂量以及动物的饲养环境不同有关。此外,有研究显示,与断奶前添加植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)相比,仔猪断奶期间添加植物乳杆菌可显著提高仔猪回肠食糜中乳酸含量和结肠中丁酸产生菌数量,说明饲料中益生菌的添加时间对于其在养猪生产中的应用效果也具有重要的影响^[82]。不同益生菌菌株对断奶仔猪消化道产生的影响也不同,羊角菌或发酵益生菌产品作为饲料添加剂对断奶仔猪的生长性能、消化率和肠道健康具有有益的影响^[81]。丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)和芽孢杆菌为基础的益生菌,可调节断奶仔猪结肠微生物群落,增强生长性能和回肠完整性,改善肠道细胞凋亡,改变微生物-内脏-脑轴相关的神经递质和免疫应答^[83]。使用乳杆菌添加到饲料中可以减轻轮状病毒和大肠杆菌引起的断奶腹泻,可能是通过增强免疫介导的保护机制^[84]。

益生菌在母猪生产中同样有着不可忽视的作用,在妊娠母猪饲料中添加益生菌,可显著增加母猪采食量,提高仔猪断奶重和仔猪存活率,改善母猪便秘^[85-86]。此外,将屎肠球菌添加在母猪及仔猪饲料中,可减少致病菌在仔猪肠道中的定植,减少大肠杆菌感染,从而降低仔猪腹泻的发生。

在生长育肥猪的饲料中添加益生菌(乳酸菌、酵母菌和芽孢杆菌等)可以对养分消化率产生积极的影响,在一定程度上提高平均日采食量、平均

日增重和饲料转化率^[87],促进育肥猪更加快速健康地发育、生长,提高增重速度^[88]。另外,也有报道称,益生菌可提高肥育猪的抗氧化应激能力和免疫性能,提高胴体品质^[89],减少粪便氨气和总硫醇排放量^[90]。生产中在饲料中添加益生菌在改善料重比的同时降低饲料成本,增加经济收益^[87]。

2.3.2 益生菌在家禽饲料中替代抗生素的应用研究

近年来由于减少家禽产品中抗生素的残留和耐药性产生的需要,绿色、安全、环保的益生菌逐渐在家禽养殖业得到了广泛的应用。多种益生菌,如罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)、唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius*)、酵母菌和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)可显著提高肉鸡的体重和饲料转化效率,降低死亡率^[91]。但也有部分研究显示添加益生菌对肉鸡生长性能无显著影响^[92-93]。益生菌对家禽的益生效应与益生菌的添加剂量有关,且较高剂量益生菌组并不能总获得最佳的生产性能^[94]。饲料中添加益生菌可显著提高肉鸡的生长性能和免疫器官指数,降低血脂和胆固醇水平。值得注意的是,应依据不同益生菌对不同品种、性别和生长阶段肉鸡调控优势的不同,对益生菌进行合理复配,并对组合模式进行适当优化^[95]。不同的益生菌组合、不同添加量、有效菌含量、肉鸡的日龄等均会造成使用效果的不同,对益生菌的稳定性有一定的威胁^[96]。饲养肉鸡的环境温度和湿度会对益生菌的增重效果造成影响,同时益生菌也可以缓解环境造成的应激^[97]。

根据肉鸡品种、益生菌的效果、环境的不同,益生菌对肉鸡的影响也不同,因此肉鸡在不同饲养阶段使用益生菌效果也不尽相同。一般来说,在幼鸡饲料中使用益生菌可以起到很好的免疫效果^[97],益生菌对幼鸡的促生长作用较好^[98],益生菌可在新孵出的肉鸡的肠道中以一种禁止沙门氏菌定植的方式形成^[99]。益生菌的添加和饲喂方式对其益生作用也会产生影响,例如,有研究分别将乳酸菌制剂经饮水添加或拌料发酵后饲喂肉鸡,结果显示,乳酸菌拌料发酵组肉鸡生长性能和免疫功能高于乳酸菌饮水添加组,且雏鸡盲肠乳酸杆菌数量显著增加,盲肠内容物中氨浓度显著降低^[100]。在蛋鸡饲料中添加益生菌,同样有利于蛋鸡的生产性能。如粪链球菌可以提高蛋重和蛋白的质量。混合干酪乳杆菌和嗜酸乳杆菌可以提高

饲料转化率^[97]。枯草芽孢杆菌对蛋鸡生产性能、肠道形态、免疫功能均有改善作用^[101]。

2.3.3 益生菌在反刍动物饲料中替代抗生素的应用研究

新生反刍动物的胃肠道是无菌的,出生后受环境以及饲料影响,幼龄反刍动物肠道菌群呈高度动态变化,此时由于肠道微生态系统极不稳定,容易导致病原微生物定植,引起呼吸道疾病、腹泻等^[102]。幼龄反刍动物饲料中添加生态制剂可帮助其建立和维持正常的胃肠道微生态系统,促进消化器官发育,提高饲料消化率,从而减轻营养性腹泻。益生菌在幼龄反刍动物瘤胃中可代谢产生乙酸、丙酸、二氧化碳和过氧化氢等代谢产物,不仅可降低瘤胃 pH,还可作为糖异生的前体物质供能,对幼龄反刍动物的生长和健康具有重要影响^[103]。由于反刍动物瘤胃菌群组成的多样性和复杂性,实际生产中应更多地考虑添加复合益生菌来发挥生态制剂更大的作用效果。复合益生菌在使用过程中也需考虑益生菌间的相互协同或拮抗作用,优化不同益生菌之间的配比,从而达到最佳的使用效果,弥补单一菌剂的作用缺陷^[104]。不同复合益生菌对不同动物产生的效果不同,如由植物乳杆菌、酵母菌组成的复合益生菌可提高舍饲山羊血清中免疫球蛋白含量,改善抗氧化功能,并具有提高其育肥性能的趋势^[105]。适量添加复合益生菌对绵羊瘤胃发酵具有一定的促进作用,能够提高绵羊干物质降解率和产气量,促进氨氮产生,同时使 pH 保持在正常范围内^[106]。奶牛饲料中添加复合益生菌可改善瘤胃发酵环境,提高瘤胃内纤维素酶活性。饲料中添加寡糖和复合益生菌可提高育成牛生长性能、免疫功能和抗氧化性能,同时可以降低氨气的排放,净化养殖环境^[107]。

2.3.4 益生菌在水产动物饲料中替代抗生素的应用研究

益生菌在水产动物养殖中具有净化水质、预防疾病和促进水产动物生长等作用,由于其安全、环保、无抗性,是抗生素的理想替代品,具有重要的研究价值和广阔的应用前景。其作用机理主要包括:首先,益生菌可通过氧化、硝化、反硝化、硫化、解硫和固氮作用,降低水体中氨氮、亚硝氮和硫化氢等有害物质的含量,同时,也可降解水产动物排泄物、残余的饵料以及动植物残骸等,进而起

到改善养殖水质的作用^[108];其次,对环境适应能力较强的益生菌在水体中可大量增殖,进入水产动物肠道后可通过与病原菌竞争附着位点,从而起到抑制病原菌生长和维持肠道微生态平衡的作用^[109];再者,益生菌与肠道中的免疫系统互动,可提高淋巴细胞和吞噬细胞活性,增强水产动物免疫和抗病力^[110];最后,益生菌也可通过影响水产动物肠道通透性和肠道神经系统等,调控宿主脂肪组织代谢和沉积,从而达到增重增产的效果^[111]。

水产养殖中常用益生菌类型主要有沼泽红假单胞菌(*Rhodospseudomonas palustris*)、枯草芽孢杆菌、酵母菌和乳酸菌等。沼泽红假单胞菌是光合细菌的一种代表菌,在厌氧光照或好氧黑暗环境中,可利用有机物、硫化物、氨氮等进行光合作用;其对水体中氨氮物质的降解能力较强,但在水产养殖中无法单独分解饵料、排泄物、浮游生物残体等大分子有机物^[112]。沼泽红假单胞菌体内富含蛋白质、多种维生素和辅酶 Q 等生理活性物质,将其添加到鱼饵料中可显著增加鱼类消化吸收、免疫功能和生长性能。枯草芽孢杆菌具有耐高温、耐酸碱、耐防腐剂等抗逆特性,在粉状制剂加工过程中具有易存活和便于储藏的特点^[113]。此外,枯草芽孢杆菌具有分泌蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等多种酶类的功能,且可分泌脂肽类、肽类和磷脂类等多种抑菌物质,不仅可抑制真菌、细菌和病原体的生长,从而维持其肠道微生态健康和平衡,还可提高水生动物的饲料利用效率^[114]。枯草芽孢杆菌能够降解和直接利用水体中的硝酸盐与亚硝酸盐,具有改善水质的作用。然而,需要注意的是,当饲料含水量较高时,易造成枯草芽孢杆菌孢子的萌发,从而导致菌种失活。乳酸菌是健康人体、动物肠道存在的主要优势菌群,对机体的免疫系统、应激反应、营养状态等具有重要调控作用^[115]。乳酸菌可在水生动物肠道内大量繁殖,降低肠道环境 pH,从而抑制大肠杆菌、沙门氏菌等有害菌在肠道内的定植和生长。酵母菌是一种以芽殖为主的专性或兼性厌氧型真菌,酵母菌富含蛋白质、核酸、B 族维生素、矿物质等多种营养物质,不仅可提高水产动物的消化率,还有助于促进动物肠道有益菌的增殖,起到抗菌消炎、抗肿瘤、抗病毒等作用。

2.3.5 益生菌作为抗生素替代品的注意事项

在使用益生菌作为抗生素替代物应用到动物饲料中时,首先,需注意对使用菌株的益生作用和效果进行系统评价,包括在普通饲养环境和生理特征下,同时也应注意评价在极端和应激条件下益生菌的使用效果。其次,不同益生菌调节肠道菌群组成和肠道健康以及机体免疫功能的机制仍需深入研究,有助于更精准和定向的选择特定益生菌或益生菌组合,提高益生菌对动物的益生作用^[116]。再者,不同品种的动物,或同一品种不同阶段,甚至同一品种不同个体之间,其对益生菌的响应可能不同;多种益生菌复合,包括同一种属的不同益生菌菌株或不同种属的益生菌的组合,可能更好地发挥其益生作用^[117]。最后,益生菌饲喂的方式也会对其使用效果产生影响,例如一些益生菌株更适宜添加到干料中饲喂给动物,因为其较难抗衡饲料生产过程中各种化学和物理条件的变化。

3 小结与展望

当前,我国生物饲料产业虽有一定的市场布局,但较大比例的技术尚处在高校及科研院所的实验室研发阶段,我国必须重视发展“产-学-研-用”结合路线,将科研和产业无缝结合。今后我国需要构建国内生物饲料学术体系,研究生物饲料生物学效价评价指标,建立发酵饲料基础营养和抗营养指标数据库,深入研究发酵饲料优势和作用机理,制定相关产品标准规范产品质量,开展生物饲料质量安全实施动态预警监测,指导和推动产业健康和可持续发展。未来发酵饲料和微生物饲料添加剂将在饲料禁抗、养殖减抗和动物高效高品质饲养等方面发挥重要作用。

参考文献:

[1] 王阳,郑春晓,李海英,等.基于专利文献计量的生物饲料技术领域态势分析[J].生物工程学报,2020,36(2):241-249.

[2] 王永伟,宋丹,李爱科,等.发酵饲料资源开发及应用技术研究进展[J].中国饲料,2019(11):75-80.

[3] 张秀林,魏小兵,欧长波,等.益生菌发酵饲料对仔猪生长和免疫功能影响的研究进展[J].中国畜牧兽医,2017,44(2):476-481.

[4] 贺腾飞,龙沈飞,朴香淑.生物饲料在肉鸡和猪生产中的应用[J].动物营养学报,2019,31(7):2988-

2998.

[5] 邓雪娟,于继英,刘晶晶,等.我国生物发酵饲料研究与应用进展[J].动物营养学报,2019,31(5):1981-1989.

[6] 吴正可,刘国华,蔡辉益,等.硫甙脱毒菌株的筛选及其发酵菜籽粕的效果[J].动物营养学报,2018,30(1):313-320.

[7] 李莉娜,张林鑫,张凯凯,等.菜籽粕固体发酵及其理化性质的研究[J].饲料工业,2019,40(13):43-48.

[8] 吴正可,刘国华,李阳,等.混菌固态发酵菜籽粕工艺优化[J].中国农业科学,2019,52(24):4603-4612.

[9] 管维,兰时乐,詹逸舒,等.复合微生物固态发酵菜籽饼粕对抗营养因子去除条件的研究[J].安徽农业科学,2020,48(2):189-191,196.

[10] 亓秀晔,谢全喜,于佳民,等.高效降解棉籽粕中游离棉酚菌株的筛选及复配发酵方式的优化[J].中国粮油学报,2019,34(1):99-106.

[11] 罗远琴,胡倩,芦岩,等.枯草芽孢杆菌、酿酒酵母及其复合菌发酵棉粕营养成分变化的研究[J].中国畜牧兽医,2020,47(2):452-459.

[12] 姜晓阳,胡迎芬,郑靖义,等.混菌固态发酵花生粕的工艺优化[J].食品工业科技,2019,40(22):120-124.

[13] 张源洁,胡迎芬,马爱国,等.纳豆杆菌固态发酵花生粕的工艺条件研究[J].中国油脂,2017,42(3):99-102.

[14] 张会,任健.米曲霉固态发酵玉米胚芽粕对蛋白质理化性质及抗氧化性的影响[J].中国油脂,2019,44(6):128-132.

[15] 江成英,刘晓兰,王松.固态发酵玉米黄粉饲料工艺的研究[J].中国饲料,2020(11):27-30.

[16] 典姣姣,黄亮,董贞,等.喷浆玉米皮混菌固态发酵饲料的研究[J].饲料研究,2016(8):51-54.

[17] 周晓容,孙佩佩,刘志云,等.发酵菜籽粕在生长育肥猪上的营养价值评定[J].畜牧兽医学报,2020,51(3):524-533.

[18] 帖余,肖宇婷,刘军,等.高产酸菌株的筛选、鉴定及其混菌发酵对菜籽粕营养价值的影响[J].食品工业科技,2020,41(10):146-150,156.

[19] 党文庆,梁兴龙,何敏,等.不同含量发酵豆粕对断奶仔猪生产性能、养分表观消化率、粪便微生物的影响[J].山西农业科学,2020,48(6):986-990.

[20] 吴莉芳,周锴,闫磊,等.发酵豆粕替代鱼粉对洛氏鳕血清主要生化指标、蛋白酶活力及蛋白质代谢的影响[J].吉林农业大学学报,2020,42(1):90-95.

[21] HU Y N, WANG Y W, LI A K, et al. Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum

- biochemical parameters and intestinal morphology in broilers [J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2016, 27(2):182-193.
- [22] 刘长松,潘忠礼,何荣海,等.混菌固态发酵菜粕对肉仔鸡生长性能、血清生化指标及免疫功能的影响[J].*中国家禽*, 2015, 37(24):24-27.
- [23] 陈小连,占今舜,黄江南,等.发酵菜籽粕对28~49日龄白羽公番鸭生长性能及血清生化、激素和抗氧化指标的影响[J].*动物营养学报*, 2019, 31(9):4044-4051.
- [24] 陈小连,占今舜,曾艳兵,等.发酵菜籽粕对番鸭生长性能和血液指标的影响[J].*草业科学*, 2020, 37(3):566-573.
- [25] 邓卉,屈东,邹成义,等.发酵菜籽粕对生长猪生长性能、机体抗氧化及免疫功能的影响[J].*西南农业学报*, 2017, 30(7):1662-1666.
- [26] 孙佩佩,周晓容,宋代军,等.发酵菜籽粕替代豆粕饲喂生长猪对其生长性能、血清生化指标、抗氧化能力和免疫功能的影响[J].*动物营养学报*, 2019, 31(2):874-882.
- [27] 彭双,向倩,宋金秋.发酵菜籽粕对生长猪营养物质消化率、生长性能及血清参数的影响[J].*中国饲料*, 2020(8):116-120.
- [28] 郑杰,张林鑫,张凯凯,等.发酵菜籽粕对贵州黑山羊羔羊生长性能及免疫功能的影响[J].*贵州畜牧兽医*, 2019, 43(5):1-5.
- [29] 孙焕林.枯草芽孢杆菌发酵棉粕对黄羽肉鸡生产性能、免疫性能和肉品质的影响研究[D].硕士学位论文.石河子:石河子大学, 2015.
- [30] 王朝阳,孙焕林,冯江鑫,等.枯草芽孢杆菌发酵棉粕对黄羽肉鸡屠宰性能和肉品质的影响[J].*黑龙江畜牧兽医*, 2016(15):102-104.
- [31] WANG Y W, DENG Q Q, SONG D, et al. Effects of fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters, immune functions, antioxidative abilities, and cecal microflora in broilers [J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2017, 28(4):725-738.
- [32] 魏莲清,牛俊丽,赵官正,等.添加不同水平的发酵棉粕对科宝肉鸡生长性能、屠宰性能和血清生化指标的影响[J].*中国畜牧兽医*, 2019, 46(7):1953-1961.
- [33] NIU J L, ZHANG J, WEI L Q, et al. Effect of fermented cottonseed meal on the lipid-related indices and serum metabolic profiles in broiler chickens [J]. *Animals*, 2019, 9(11):930.
- [34] 罗远琴,芦岩,牛俊丽,等.富含棉籽肽发酵棉粕对AA肉鸡生长性能和免疫功能的影响[J].*中国畜牧兽医*, 2020, 47(5):1395-1403.
- [35] 魏莲清,牛俊丽,罗远琴,等.热带假丝酵母发酵棉粕对白羽肉鸡蛋白质代谢的影响[J].*动物营养学报*, 2020, 32(1):169-179.
- [36] 李百安,冷向军,李小勤,等.罗非鱼饲料中花生粕和发酵花生粕替代鱼粉的效果研究[J].*大连海洋大学学报*, 2016, 31(1):50-57.
- [37] 宋鹏,曹申平,唐建洲,等.饲料中发酵芝麻粕替代菜粕对草鱼生长性能、肠道形态和微生物及小肽转运相关基因表达的影响[J].*水生生物学报*, 2019, 43(6):1147-1154.
- [38] 李冰,贾鸿震,皮尔·穆罕默德·阿卜杜勒,等.啤酒酵母和乳酸菌发酵棕榈粕渣饲料制备工艺的响应面优化[J].*中国油脂*, 2020, 45(3):126-134.
- [39] 易春霞,刘晓兰,王燕,等.发酵饲料对大午金凤蛋鸡生产性能、蛋品质和抗氧化能力的影响[J].*饲料工业*, 2020, 41(11):46-51.
- [40] 崔艺燕,马现永,陈卫东,等.发酵饲料工艺技术及在养猪生产中的应用研究进展[J].*广东农业科学*, 2016, 43(5):145-151.
- [41] 吕航,黄晓灵,申远航,等.发酵饲料在猪生产上的替抗研究进展[J].*中国饲料*, 2019(23):91-94, 98.
- [42] 刘志云,钟晓霞,谢跃伟,等.发酵玉米-豆粕型全价饲料对生长猪生长性能、粪便臭味物质和菌群区系的影响[J].*畜牧兽医学报*, 2018, 49(6):1169-1177.
- [43] 王玉田,郑瑞峰,李富伟,等.发酵饲料替代抗生素对断奶仔猪生产性能和血液指标的影响[J].*当代畜禽养殖业*, 2018(1):3-5.
- [44] 刘江英,朱建津,蒋蓉,等.多菌种联合发酵饲料对肉鸡抗沙门氏菌感染能力的影响[J].*浙江农业学报*, 2019, 31(2):229-234.
- [45] 李玉侠,舒丹平,张晓杰,等.发酵饲料替代抗生素在断奶仔猪日粮中的应用[J].*饲料博览*, 2018(1):17-20, 24.
- [46] 张日俊.现代饲料生物技术与应用[M].北京:化学工业出版社, 2009.
- [47] FAO/WHO. Joint FAO/WHO Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food [R]. London, Ontario, Canada: FAO, WHO, 2002.
- [48] VANKERCKHOVEN V, HUYS G, VANCANNEYT M, et al. Biosafety assessment of probiotics used for human consumption: recommendations from the EU-PROSAFE project [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2008, 19(2):102-114.

- [49] 张立伟,石玉祥,张永英,等.鸡源大肠杆菌毒力基因检测及分子流行特征[J/OL].微生物学报,2020.(2020-04-28).<https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?doi=10.13343/j.cnki.wsxb.20200044>.
- [50] EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP).Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance[J].EFSA Journal,2012,10(6):2740.
- [51] 缪璐欢,杜静芳,白凤翎,等.代谢组学在发酵食品有毒代谢产物分析中的研究进展[J].食品工业科技,2016,37(5):388-393.
- [52] GORK A S,USUI N,CERIATI E,et al.The effect of mucin on bacterial translocation in I-407 fetal and Caco-2 adult enterocyte cultured cell lines[J].Pediatric Surgery International,1999,15(3/4):155-159.
- [53] BURKE N,FLOOD K,MUELLERS S,et al.Reduced spontaneous platelet aggregation: a novel risk factor for adverse pregnancy outcome[J].European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology,2016,199:132-136.
- [54] ISENBERG H D. Clinical microbiology procedure handbook [M]. 2nd ed. Washington, D. C.: ASM Press,2004.
- [55] 杨广明,查小红,田亚平.一种氨基甲酸乙酯与尿素降解酶产生菌的鉴定及酶学特性[J].食品与生物技术学报,2015,34(1):7-14.
- [56] LEITE A M O,MIGUEL M A L,PEIXOTO R S,et al.Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains[J].Journal of Dairy Science,2015,98(6):3622-3632.
- [57] ANANDHARAJ M,SIVASANKARI B,SANTHANAKARUPPU R,et al.Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing *Lactobacillus* and *Weissella* strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh[J].Research in Microbiology,2015,166(5):428-439.
- [58] 赵鑫君,杨志鹏,张晶晶,等.乳杆菌菌株的体外益生效果评价及研究[J].齐鲁工业大学学报,2019,33(2):32-36.
- [59] 张汝京,胡亚凡,海丹,等.具有抑制肠道致病菌和黏附 Caco-2 细胞作用的益生性乳酸菌的筛选及鉴定[J].食品工业科技,2019,40(20):133-139,153.
- [60] 陈娟.微囊化植物乳杆菌的抗逆性研究及在断奶仔猪中的应用[D].硕士学位论文.武汉:武汉轻工大学,2016.
- [61] LEE D K,PARK J E,KIM M J,et al.Probiotic bacteria, *B. longum* and *L. acidophilus* inhibit infection by rotavirus *in vitro* and decrease the duration of diarrhea in pediatric patients[J].Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology,2015,39(2):237-244.
- [62] SOLIERI L,BIANCHI A,MOTTOLESE G,et al.Tailoring the probiotic potential of non-starter *Lactobacillus* strains from ripened Parmigiano Reggiano cheese by *in vitro* screening and principal component analysis[J].Food Microbiology,2014,38:240-249.
- [63] WU H J,SUN L B,LI C B,et al.Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*) [J].Fish & Shellfish Immunology,2014,41(2):156-162.
- [64] LARSEN N,THORSEN L,KPIKPI E N,et al.Characterization of *Bacillus* spp.strains for use as probiotic additives in pig feed [J].Applied Microbiology and Biotechnology,2014,98(3):1105-1118.
- [65] JUNIOR W L G D A,DA SILVA FERRARI Í,DE SOUZA J V,et al.Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk[J].Food Control,2015,53:96-103.
- [66] 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.
- [67] 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.
- [68] HANCZAKOWSKA E,ŚWIATKIEWICZ M,NATONEK-WIŚNIEWSKA M,et al.Medium chain fatty acids (MCFA) and/or probiotic *Enterococcus faecium* as a feed supplement for piglets[J].Livestock Science,2016,192:1-7.
- [69] 郑春芳,于桂阳.日粮中添加地衣芽孢杆菌对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响[J].家禽科学,2016(5):7-10.
- [70] 刘松,董晓芳,佟建明,等.饲料添加粪肠球菌对蛋鸡生产性能、蛋品质、脂质代谢和肠道微生物数量的影响[J].动物营养学报,2017,29(1):202-213.
- [71] DOWARAH R,VERMA A K,AGARWAL N,et al.Effect of swine based probiotic on performance, diarrhoea scores, intestinal microbiota and gut health of

- grower-finisher crossbred pigs[J]. *Livestock Science*, 2017, 195: 74–79.
- [72] 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.
- [73] HE Y Y, MAO C X, WEN H, et al. Influence of ad libitum feeding of piglets with *Bacillus subtilis* fermented liquid feed on gut flora, luminal contents and health[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 44553.
- [74] LI P H, NIU Q, WEI Q T, et al. Microbial shifts in the porcine distal gut in response to diets supplemented with *Enterococcus faecalis* as alternatives to antibiotics[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41395.
- [75] TANG J W, SUN H, YAO X H, et al. Effects of replacement of soybean meal by fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters and immune function of yellow-feathered broilers[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2012, 25(3): 393.
- [76] 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.
- [77] CHEN H S, VELAYUDHAN D E, LI A K, et al. Growth performance, gastrointestinal microbial activity, and immunological response of piglets receiving microencapsulated *Enterococcus faecalis* CG1.0007 and enzyme complex after an oral challenge with *Escherichia coli* (K88)[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2016, 96(4): 609–618.
- [78] 胥彩玉. 饲粮中添加粪肠球菌对肉仔鸡生产性能、肉品质和血浆代谢组的影响[D]. 硕士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学, 2015.
- [79] 呼红梅, 林松, 武英, 等. 饲粮添加益生菌对猪生长性能和肉品质的影响[J]. *养猪*, 2017(2): 50–53.
- [80] BROUSSEAU J P, TALBOT G, BEAUDOIN F, et al. Effects of probiotics *Pediococcus acidilactici* strain MA18/5M and *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *bouardii* 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.
- [81] JEONG Y D, KO H S, HOSSEINDOUST A, et al. Effects of dietary lactose levels and supplementation of probiotics on growth performance in weanling pigs[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(Suppl. 2): 42–43.
- [82] 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*, 2018, 29(1): 84–94.
- [83] CAO G T, TAO F, HU Y H, et al. Positive effects of a *Clostridium butyricum*-based compound probiotic on growth performance, immune responses, intestinal morphology, hypothalamic neurotransmitters, and colonic microbiota in weaned piglets[J]. *Food & Function*, 2019, 10(5): 2926–2934.
- [84] KANMANI P, ALBARRACIN L, KOBAYASHI H, et al. Genomic characterization of *Lactobacillus delbrueckii* TUA4408L and evaluation of the antiviral activities of its extracellular polysaccharides in porcine intestinal epithelial cells[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 2178.
- [85] 刘树栋, 安文亭, 陈宝江, 等. 益生菌对母猪生产性能的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(6): 50–51.
- [86] 王伦学, 黄鑫, 郭武, 等. 复合益生菌对母猪繁殖性能的调节作用[J]. *养殖与饲料*, 2018(2): 4–5.
- [87] 陈勇辉. 复合益生菌在生长肥育猪无抗养殖中的应用研究[J]. *畜禽业*, 2020, 31(3): 1–2.
- [88] 李爱倩. 益生菌猪发酵剂发微生物酵饲料饲喂断奶仔猪和育肥猪的效果研究[J]. *兽医导刊*, 2017(12): 250.
- [89] 林建和, 张娟, 陈张华. 芽孢杆菌对育肥猪生长性能和肉品质的影响[J]. *中国饲料*, 2019(16): 55–59.
- [90] LAN R X, KIM I H. Effects of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* complex on growth performance and faecal noxious gas emissions in growing-finishing pigs[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(4): 1554–1560.
- [91] TORRES-RODRIGUEZ A, DONOGHUE A M, DONOGHUE D J, et al. Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with a *Lactobacillus* spp.-based probiotic[J]. *Poultry Science*, 2007, 86(3): 444–446.
- [92] KARAOGLU M, DURDAG H. The influence of dietary probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation and different slaughter age on the performance, slaughter and carcass properties of broilers[J]. *International Journal of Poultry Science*, 2005, 4(5): 309–316.
- [93] LEE K W, LEE S H, LILLEHOJ H S, et al. Effects of

- direct-fed microbials on growth performance, gut morphology, and immune characteristics in broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2010, 89(2): 203-216.
- [94] HUANG M K, CHOI Y J, HOUDE R, et al. Effects of lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2004, 83(5): 788-795.
- [95] 伏春燕, 张燕, 姚启蒙, 等. 益生菌对肉鸡生产性能和免疫机能的影响[J]. *山东农业科学*, 2020, 52(2): 111-116.
- [96] 李万军, 田玉民, 张志刚. 益生菌及有机酸复合制剂对大骨鸡生产性能、免疫及肉品质的影响[J]. *饲料研究*, 2019, 42(7): 43-46.
- [97] 苗永建. 益生菌在养鸡生产中的应用[J]. *今日畜牧兽医*, 2019, 35(11): 67.
- [98] YEO J, KIM K I. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks[J]. *Poultry Science*, 2020, 76(2): 381-385.
- [99] SCHNEITZ C, KOIVUNEN E, TUUNAINEN P, et al. The effects of a competitive exclusion product and two probiotics on *Salmonella* colonization and nutrient digestibility in broiler chickens[J]. *Journal of Applied Poultry Research*, 2016, 25(3): 396-406.
- [100] 李路胜, 周响艳, 冯定远. 乳酸菌对麻羽肉鸡生长和免疫机能的影响研究[J]. *饲料工业*, 2006(20): 39-41.
- [101] 李玲茜, 惠俊楠, 吴旻, 等. 海洋红酵母菌和枯草芽孢杆菌对蛋雏鸡生长性能、肠道形态和免疫功能的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2020, 56(3): 88-94.
- [102] UYENO Y, SEKIGUCHI Y, KAMAGATA Y. rRNA-based analysis to monitor succession of faecal bacterial communities in Holstein calves[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, 51(5): 570-577.
- [103] BAHARI M. A review on the consumption of probiotics in feeding young ruminants[J]. *Approaches in Poultry, Dairy & Veterinary Sciences*, 2017, 1(2): APDV.000508.
- [104] GAO T L, SHEN S J, PAN X L, et al. Effect of probiotics on the growth performance and serum biochemical parameters of beef cattle[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2018, 50(9): 29-32.
- [105] 彭涛, 郭贝贝, 张水印, 等. 复合益生菌制剂对舍饲山羊育肥性能和血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2020, 32(1): 440-446.
- [106] 李常瑞, 冀国珍, 谢明欣, 等. 不同精粗比底物条件下复合益生菌液添加量对蒙古绵羊瘤胃发酵体系的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017(19): 52-56.
- [107] 梁金逢, 文信旺, 周晓晴, 等. TMR 日粮添加寡糖和复合益生菌对育成牛生长性能、免疫功能及抗氧化功能的影响[J]. *饲料工业*, 2019, 40(15): 41-44.
- [108] 罗杰, 李锋, 刘皓, 等. 2 种复合微生态制剂对大海马幼鱼生长存活及水质影响[J]. *水产养殖*, 2018, 39(1): 1-7.
- [109] 邵林, 李璟, 乐露, 等. 枯草芽孢杆菌和沼泽红假单胞菌对鲫鱼免疫机能的影响及其代谢产物的抑菌活性研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018(20): 176-178.
- [110] 刘龙镇, 田相利, 王明阳, 等. 不同复合微生态制剂添加方式对凡纳滨对虾生长、非特异性免疫及抗病力的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 48(12): 23-31.
- [111] 王清芳, 杨英, 周志敏, 等. 不同益生菌对草鱼生产性能的影响[J]. *养殖与饲料*, 2016(5): 44-46.
- [112] 文刚, 汪彬, 刘标, 等. 沼泽红假单胞菌 R-3 去除水体中氨氮的特性研究[J]. *湖南农业科学*, 2017(6): 49-51.
- [113] 王思念, 刘春艳, 乔亚琼, 等. 枯草芽孢杆菌在动物饲料营养中的应用研究进展[J]. *饲料与畜牧*, 2018(7): 56-59.
- [114] 杨晓燕, 王钰鑫, 叶伟伟, 等. 枯草芽孢杆菌对几种植物病原真菌的抑菌活性[J]. *工业微生物*, 2018, 48(6): 32-38.
- [115] 高鹏飞, 张善亭, 赵树平, 等. 乳酸菌在水产养殖业中的应用[J]. *家畜生态学报*, 2014, 35(7): 82-86.
- [116] 钟晓霞, 黄健, 刘志云, 等. 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪生长性能及肠道形态结构、挥发性脂肪酸含量和菌群结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 32(7): 3099-3108.
- [117] GÁLINA D, ANSONSKA L, VALDOVSKA A. Effect of probiotics and herbal products on intestinal histomorphological and immunological development in piglets[J]. *Veterinary Medicine International*, 2020, 2020: 3461768..

Research Progress of Biological Feed and Its Use Technology in Substitution and Reduction of Antibiotics

LI Aike WANG Weiwei WANG Yongwei HE Beibei

(*Institute of Grain Quality and Nutrition Research, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China*)

Abstract: The No.194 announcement of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs has been formally implemented in 2020, representing the orderly withdrawal of drug feed additives, which brings new opportunities and challenges to the feed and breeding industry. Biological feed includes fermented feed, enzymolysis feed, fermented feed with bacteria and enzymes and microbial feed additives. Biological feed plays an important role in improving the feed utilization efficiency of animal, improving the feed palatability, maintaining the balance of intestinal flora and producing beneficial metabolites, this further highlights the important role of biological feed in feed antibiotics substitution and reduction, and greatly promotes the strategic transformation and development of breeding and feed enterprises. In this paper, combining with the area of expertise of our research team and the current status of relative researches at home and abroad, we summarized the research and development of biological feed and its use technology in substitution and reduction of antibiotics in animal feed, and mainly from the two aspects, focused on two aspects of fermented feed and microbial feed additive, so as to provide theoretical basis for the production and application of biological feed in China. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(10):4793-4806]

Key words: biological feed; fermented feed; microbial feed additive; alternative antibiotics