

doi: 103969/j.issn.0490-6756.2016.11.032

# 三种益生菌对罗曼粉壳鸡蛋品质的影响

龙爱琳<sup>1</sup>, 刘 伦<sup>2</sup>, 刘 嘉<sup>1</sup>, 杜正达<sup>2</sup>, 杨丽琴<sup>1</sup>, 邓 杰<sup>2</sup>,  
王 彦<sup>1</sup>, 尹华东<sup>1</sup>, 朱 庆<sup>1</sup>, 李天杰<sup>1</sup>, 赵小玲<sup>1</sup>

(1. 四川农业大学动物科技学院, 温江 611130; 2. 四川农业大学动物医学院, 温江 611130)

**摘 要:** 为探究三种草科鸡源益生菌(枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌)对鸡蛋品质的影响. 选用1日龄480羽罗曼粉壳蛋鸡, 随机分为4组, 每组3个重复, 每个重复40只鸡, 对照组(CP)饲喂基础饲料, 试验组在基础饲料的基础上分别添加枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, LP)和戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*, PP), 活菌数大于 $10^7$  CFU/g. 220日龄测定600枚鸡蛋的蛋品质: 与对照组相比, 饲料中添加植物乳杆菌(LP)能加深蛋黄颜色2.91% ( $P < 0.05$ ). 戊糖片球菌(PP)与对照组相比, 蛋黄颜色加深了1.68% ( $P < 0.05$ ). BS组与对照组相比, 平均蛋黄重增加了4.09% ( $P < 0.05$ ); 蛋壳平均厚度增加了9.64% ( $P < 0.05$ ); 蛋重增加了3.22% ( $P < 0.05$ ). 在改善蛋品质整体效果上, 枯草芽孢杆菌优于植物乳杆菌, 植物乳杆菌优于戊糖片球菌, 而益生菌对蛋黄胆固醇的影响并不稳定. 本试验为微生态制剂在蛋鸡生产上的应用与推广提供了科学依据.

**关键词:** 蛋品质; 枯草芽孢杆菌; 植物乳杆菌; 戊糖片球菌; 罗曼粉壳蛋鸡

**中图分类号:** Q493.99      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0490-6756(2016)06-1375-04

## Effect of three dietary supplementations of probiotic bacteria on egg quality and egg cholesterol concentrations of Lehmann Pink layers

LONG Ai-Lin<sup>1</sup>, LIU Lun<sup>2</sup>, LIU Jia<sup>1</sup>, DU Zheng-Da<sup>2</sup>, YANG Li-Qin<sup>1</sup>,  
DENG Jie<sup>2</sup>, WANG Yan, YIN Hua-Dong, ZHU Qing<sup>1</sup>, LI Tian-Jie<sup>1</sup>, ZHAO Xiao-Ling<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science & Technology, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China;

2. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the impact of Caoke chicken probiotics (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*) on egg quality. Four hundred and eighty new-born chicks of Lohmann Pink layers were randomly divided into 4 groups with 3 replicats. The control group was fed the basic diet (CP). And the experimental groups were added (*Bacillus subtilis*, BS), (*Lactobacillus plantarum*, LP), and (*Pediococcus pentosaceus*, PP), respectively. The average amount of bacteria was no less than  $10^7$  CFU per day. The eggs quality analysis of 600 eggs of Two hundred and twenty-day-old Lohmann Pink layers breed hens demonstrated as followed: Compared with the control group, There was a significant increase the yolk color of group LP at 2.91% ( $P < 0.05$ ), and of group PP, the increase was 1.68% ( $P < 0.05$ ). The average weight of the yolk of BS was higher than CP by 4.09% ( $P < 0.05$ ), the average shell thickness thicker by 9.64% ( $P < 0.05$ ), and the egg weight of

收稿日期: 2015-09-14

基金项目: 大学生创新性实验项目(201410626025); 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-41-K06)

作者简介: 龙爱琳(1992-), 女, 四川安县人, 在读本科, 主修动物科学. E-mail: 18227552557@163.com

通讯作者: 赵小玲. E-mail: zhaoxiaoling04@163.com

BS than CP 3.22 % higher ( $P < 0.05$ ). All analysis showed that egg quality traits are significantly affected by three different groups of probiotics. *Bacilli subtilize* (BS) performs better than *Lactobacillus plantarum* (LP), and *Lactobacillus plantarum* (LP) performs better than *Pediococcus pentosaceus* (PP). But all the three supplementation had no significant effect on cholesterol concentrations of eggs. This study provided basic information for putting the probiotic into allocation of egg production.

**Keywords:** Egg quality; *Bacillus subtilis*; *Lactobacillus plantarum*; *Pediococcus pentosaceus*; Lohmann Pink layer

## 1 引言

鸡蛋具有很高的营养价值,是人们主要的动物蛋白消费品.蛋品质是蛋鸡生产性能的重要指标,如何改善鸡蛋蛋品质已经成为当今的一个热门话题.益生菌作为一种新型绿色添加剂,是通过改善微生态平衡而对动物产生有益影响,并且是可以直接饲喂的微生物饲料添加剂,具有无残留、无抗药性、不污染环境、提高动物生长性能等优点. Bruno 等学者的研究报道表明,益生菌能够改善蛋鸡的生产性能、提高蛋品质、增加抗病能力<sup>[1]</sup>.目前市场上占有率较高的益生菌产品主要是乳酸菌类和枯草芽孢杆菌类.本试验所选取的植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌和戊糖片球菌是由四川农业大学从草科鸡盲肠中得到的鸡源性益生菌,都属于国家农业部《饲料添加剂品种目录(2013)》规定的可饲用益生菌.

刚孵出的小鸡肠道几乎是无菌的,在孵出第一天小鸡胃肠道内也没有检测出微生物,直到第三天在胃肠道检测出了粪链球菌和大肠杆菌类<sup>[2]</sup>,大概在 30 日龄才基本完成其微生态的建立.前人的研究主要都是在 20 周龄左右才进行益生菌的添加,而本研究从出雏开始,在基础饲粮中分别添加枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌,益生菌的添加一直持续到产蛋高峰,探索三种草科鸡源益生菌的早期定植对罗曼粉壳蛋鸡蛋品质的影响.

## 2 材料和方法

### 2.1 试验材料

2.1.1 菌种 枯草芽孢杆菌、戊糖片球菌和植物乳杆菌,均由四川农业大学遗传育种研究所家禽课题组筛选并制备.枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) SCS4562 菌株,编号为:CGMCC NO. 6565;戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*) SCS4560 菌株,编号为:CGMCC NO. 6566,均保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心.植物乳杆菌

(*Lactobacillus plantarum*)保存于四川农业大学微生物重点实验室.

2.1.2 试验动物 480 羽 1d 的罗曼粉壳蛋鸡,在四川农业大学家禽饲养场饲养,随机分为 4 组,每组 3 个重复,每个重复 40 只鸡,对照组(CP)饲喂基础饲粮,试验组分别添加枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌,从 1 d 一直持续到 220 d,保证饲料中活菌数大于  $10^7$  CFU/g.饲养管理按《罗曼粉壳蛋鸡商品代饲养管理技术规程》执行.

2.1.3 主要试剂 葡萄糖、氯化钠、牛肉膏、蛋白胨、氢氧化钠 0.6%、MRS 肉汤、吐温(80°)等;去离子水、石油醚(沸点 30-60°C)、无水乙醇、冰乙酸、50%氢氧化钾溶液、25%氯化钾溶液、磷硫铁试剂、胆固醇标准储液、胆固醇标准溶液.

### 2.2 试验方法

2.2.1 养菌 取保存的植物乳酸菌和戊糖片球菌菌种接种于 MRS 固体培养基,枯草芽孢杆菌菌种接种于 LB 固体培养基,37°C 厌氧培养 24h,活化后放入 4°C 冰箱保存备用.挑取单菌落接入对应的已灭菌的 10mL 一级培养液中,37°C 恒温静置培养 24h,再以体积分数 2%接入已灭菌的二级培养液,置于 120r/min 摇床中培养 48h 后将制剂以 PBS 重悬,菌液浓度为  $10^7$  CFU 灌入 250mL 喷壶,保存于 4°C 冰箱备用.为确保益生菌的浓度,定期取 1mL 培养物进行等梯度稀释,以平板计数法进行发酵液活菌数测定(CFU/mL),一级种子液浓度为  $10^8$  CFU,二级种子液浓度为  $10^9$  CFU.

2.2.2 鸡蛋内外部品质测定 在 220 日龄连续收集对照组和试验组 3d 的鸡蛋,每组随机抽取 50 个作为试验蛋.蛋黄颜色、蛋白高度、哈氏单位采用 EMT 5200 测定;蛋壳强度用蛋壳强度测定仪;蛋壳颜色用光电反射式色度仪;蛋形指数用游标卡尺;蛋重和蛋黄重用电子称;蛋壳厚度用蛋壳厚度测量仪.

2.2.3 蛋黄胆固醇提取 采用直接皂化-比色法<sup>[3]</sup>.样本量同上.

## 2.3 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件的 one-way ANOVA 程序进行单因素方差分析,以 Dunnett 法进行多重比较, $P < 0.05$  为差异显著,结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。

## 3 结果

### 3.1 蛋品质常规指标

三种益生菌对鸡蛋品质的影响分析结果见表 1。试验所添加的益生菌对蛋黄颜色、蛋黄重、蛋重、蛋壳平均厚度、蛋形指数和蛋白高度都有显著性影响( $P < 0.05$ )。

与对照组相比,LP 组的蛋黄颜色加深,提高

2.91% ( $P < 0.05$ )。此外,LP 组比 BS 组增加了 2.68% ( $P < 0.05$ );与对照组相比,BS 组平均蛋黄重增加了 4.09% ( $P < 0.05$ ),其中 BS 组优于 LP 组和 PP 组,分别增加了 3.03%、2.64% ( $P < 0.05$ )。BS 与对照组相比,蛋重增加了 3.22% ( $P < 0.05$ ),其他两组则差异不显著,其中 BS 组优于 LP 组和 PP 组,分别增加了 2.85%、2.92% ( $P < 0.05$ )。与对照组进行蛋壳平均厚度比较,BS 组增加 9.64% ( $P < 0.05$ )。此外,BS 组优于其他两组,分别增加了 7.57%、7.54% ( $P < 0.05$ );试验三个组的蛋形指数与对照组相比都显著性降低,分别降低了 2.53%、1.27%、1.27% ( $P < 0.05$ )。

表 1 三种益生菌对鸡蛋品质的影响

Tab. 1 Effect of each probiotic bacteria on egg quality in laying hens

项目	对照组	LP 组	PP 组	BS 组	P 值
蛋黄重(g)	14.91 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	15.05 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	15.11 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	15.52 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	0.001**
蛋重(g)	55.01 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	55.16 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	55.12 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	56.78 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	0.000**
蛋白高度(mm)	8.93 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	8.05 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>	8.25 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	8.43 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	0.027*
哈氏单位	92.30 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	90.80 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	91.82 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	92.42 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	0.059
蛋黄颜色	8.94 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	9.20 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	9.09 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	8.96 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.000**
平均蛋壳颜色	45.55 $\pm$ 0.30	44.82 $\pm$ 0.23	45.64 $\pm$ 0.32	45.63 $\pm$ 0.41	0.253
蛋壳平均厚度(mm)	29.05 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	29.44 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	29.45 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	31.85 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	0.000**
蛋壳强度(kg/cm <sup>2</sup> )	4.20 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	4.20 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	4.04 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	4.10 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.055
蛋形指数	0.79 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.77 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.78 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.78 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.000**

注:同行数据肩标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),相同或无字母表示差异不显著( $P > 0.05$ )。

### 3.2 蛋品质理化指标—胆固醇含量

600 个鸡蛋的胆固醇数据显示:戊糖片球菌、植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌和对照组相比,胆固醇含量都不显著( $P > 0.05$ ),具体含量如下:CP 组的胆固醇含量为 13.93 $\pm$ 0.19(mg);PP 组 14.12 $\pm$ 0.21(mg);BS 组 13.98 $\pm$ 0.19(mg);LP 组 13.96 $\pm$ 0.21(mg)。

## 4 讨论

### 4.1 蛋黄颜色、蛋壳颜色

蛋黄颜色是蛋品质中一项重要评价指标,消费者更偏向于接受深黄色的蛋黄。蛋黄颜色取决于蛋黄中类胡萝卜素的种类和沉积量。本研究结果显示益生菌对蛋黄颜色具有显著影响,其中 LP 组蛋黄颜色明显加深。益生菌可以改善宿主肠道生态进而改善动物的健康与生产性能<sup>[4]</sup>,植物乳杆菌造成的其肠道产类胡萝卜素菌的种类与含量及类胡萝卜素的沉积效率的具体机制有关。其中枯草芽孢杆

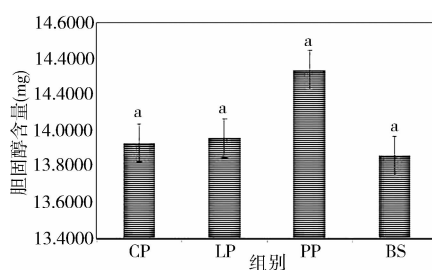


图 1 三种益生菌对鸡蛋中胆固醇含量的影响

Fig. 1 Effect of each probiotic bacteria on Cholesterol concentrations in eggs

注:对照组 CP:基础饲料;试验组 LP:枯草芽孢杆菌,PP:戊糖片球菌,BS:植物乳杆菌。柱形图上的竖线表示标准误。

菌在促进机体生长、改善宿主肠道微生态环境以及提高饲料利用与吸收等益生作用上有着广泛报道<sup>[5]</sup>。但是在本试验中,BS 对蛋黄颜色的影响较 LP、PP 益生菌而言,并不显著。本试验还得出从草科鸡盲肠中获得的三种益生菌对罗曼粉壳鸡蛋蛋壳颜色无显著影响。

## 4.2 蛋重、蛋黄重

BS 组的蛋重和蛋黄重极显著大于其他三组,与李福彬的研究结果相符,其研究表明增重效果影响因素可能是芽孢菌种类差异并可能呈剂量依赖性<sup>[6]</sup>. 而从草科鸡盲肠得到的鸡源性 LP 和 PP 是否具有提高平均蛋重和蛋黄重的功效还需进行浓度梯度试验.

## 4.3 蛋形指数、蛋壳强度、蛋壳厚度

蛋形指数与品种、产蛋日龄、饲养环境等因素有关,主要影响蛋的孵化,本试验所投喂的三种益生菌对蛋形指数作用明显,其均值在 0.77~0.79 之间,与张克英研究中蛋形指数范围基本相符<sup>[7]</sup>.

蛋壳强度是反映蛋品抗破损、蛋壳致密坚固性的重要指标,它与蛋壳厚度、蛋壳的多孔性、蛋壳膜的厚度、蛋壳的矿物质含量和蛋白基质关系密切. 钙含量是影响蛋壳强度的重要因素<sup>[8]</sup>. 在本试验中,与对照组相比,BS 组使平均蛋壳显著性变厚,PP 组使蛋壳强度显著降低,本结果与 Zhao 结果基本相符<sup>[9]</sup>.

## 4.4 哈氏单位、蛋白高度

蛋白高度和哈氏单位是反映蛋新鲜度的重要指标,有报道地衣芽孢杆菌使蛋白高度和哈氏单位显著性降低<sup>[6]</sup>,鲍延娥的研究显示添加不同水平的肠粪球菌会显著降低试验第 8 周蛋白高度和哈氏单位<sup>[10]</sup>. 本试验中 LP 组蛋白高度和哈氏单位都显著降低,与以往的研究相符. 另外两个试验组无显著变化,故在生产实践中对益生菌的添加应有一定选择性.

## 4.5 胆固醇含量

各益生菌处理组与对照组相比,蛋黄胆固醇含量变化都不具有统计学意义( $P>0.05$ ). 而张剑锋的研究表明合生元的使用可以降低蛋黄中胆固醇水平,其深入研究表明合生元可以调控 HMGR 和 VLDLR 基因的表达<sup>[11]</sup>,这两个基因处于胆固醇代谢通路,可分别影响其合成和沉积<sup>[12]</sup>,这一研究与 Zhang 研究鸡的血清胆固醇含量变化基本一致<sup>[13]</sup>,并有 Liu 的研究表明,植物乳杆菌可以极显著降低蛋黄中胆固醇的含量,有效减少宿主对食物中胆固醇的摄取<sup>[14]</sup>. 本试验结果与以上研究不符,或许是合生元优于单一益生菌作用,并且张剑锋与 Zhang 的研究是对产蛋后期进行的合生元或益生菌的饲喂,本试验自出雏日便开始进行益生菌的投喂,可能使得宿主对益生菌的调控产生了其他代偿机制,同时鸡的品种、品系、年龄和调节机制差异性

等因素均可影响鸡蛋中胆固醇的含量.

致谢:本论文在试验过程中有四川农业大学李岩强、王国庆、黄俊和杜洁明同学参与了试验鸡的饲喂和益生菌的培养工作,在此一并致谢!

## 参考文献:

- [1] Scaldaferrri F, Gerardi V, Lopetuso L R, *et al.* Gut Microbial Flora, Prebiotics, and Probiotics in IBD: Their Current Usage and Utility [J]. Biomed Research International, 2013, 02: 307.
- [2] 王丽凤, 张家超, 马晨, 等. 鸡肠道微生物研究进展 [J]. 动物营养学报, 2013, 25: 494.
- [3] 何春玫. 直接皂化-比色法测定鸡蛋黄中胆固醇含量 [J]. 广东农业科学, 2011, 09: 110.
- [4] Oakley B B, Lillehoj H S, Kogut M H, *et al.* The chicken gastrointestinal microbiome [J]. Fems Microbiology Letters, 2014, 360: 100.
- [5] 潘康成, 陈正礼, 崔恒敏, 等. 利用 ERIC-PCR 和 PCR-DGGE 技术分析喂服枯草芽孢杆菌肉鸡肠道菌群的多样性 [J]. 动物营养学报, 2010, 22: 985.
- [6] 邓文. 地衣芽孢杆菌缓解蛋鸡热应激的效果及机理研究 [D]. 中国农业科学院, 2011.
- [7] 惠明弟, 贾刚, 范斌, 等. 罗曼蛋鸡对菜籽粕代谢能和氨基酸利用率的评定 [J]. 动物营养学报, 2014, 04: 893.
- [8] 章玲玲, 李琦章, 姜涛, 等. 鸡蛋壳有机成分与蛋壳质量关系的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2013, 02: 228.
- [9] Zhao P Y, Baek H Y, Kim I H. Effects of bacteriophage supplementation on egg performance, egg quality, excreta microflora, and moisture content in laying hens [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2012, 25: 1015.
- [10] 鲍延娥. 粪肠球菌益生特性的评价研究 [D]. 西北农林科技大学, 2013.
- [11] 张剑峰. 牛磺酸、低聚木糖和益生菌对蛋鸡生产及胆固醇沉积的影响 [D]. 南京农业大学, 2011.
- [12] 柳童斐, 宋保亮. 胆固醇合成途径的负反馈调控机制 [J]. 中国细胞生物学学报, 2013, 04: 401.
- [13] Zhang Z F, Kim I H. Effects of probiotic supplementation in different energy and nutrient density diets on performance, egg quality, excreta microflora, excreta noxious gas emission, and serum cholesterol concentrations in laying hens [J]. Journal of Animal Science, 2013, 91: 4781.
- [14] Hanlu L, Chenjie Y, Yi J, *et al.* Ability of lactic acid bacteria isolated from mink to remove cholesterol: in vitro and in vivo studies [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2013, 59: 563.