

陈昌胜, 董心仪, 李轶, 等. 一种犬用复合益生菌膏剂的稳定性、安全性和适口性评价 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (7): 139-143.

CHEN C S, DONG X Y, LI Y, et al. Evaluation of stability, safety and palatability of a compound probiotic cream for dogs [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (7): 139-143.

一种犬用复合益生菌膏剂的稳定性、安全性和适口性评价

陈昌胜¹, 董心仪^{1,2}, 李轶³, 杨科岳¹, 蒋微¹, 蒋乐凡¹, 陈兴祥^{1*}

(1. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095;

2. 浙江省永康市畜牧农机发展中心, 浙江 永康 321300;

3. 南京派特美生科技有限公司, 江苏 南京 210095)

摘要: 旨在评价一种犬用复合益生菌膏剂的稳定性、安全性和适口性。将复合益生菌膏剂于4℃和常温干燥处保存,并于第0、7、14、21、28、35、42、49和56天分别取样,测定该复合益生菌膏剂的活菌数、pH值以及外观、色泽、质地等指标,评价该犬用复合益生菌膏剂的稳定性;通过给兔连续饲喂复合益生菌膏剂,测定兔的体况以及血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(CREA)等生化指标,评估复合益生菌膏剂的安全性;通过双盆试验来测定犬对食物的可接受性或偏好,评价该犬用复合益生菌膏剂的适口性。结果:在4℃保存的复合益生菌膏剂在56d时仍有较高的活菌数(1.0×10^8 CFU/g),感官评定指标良好,pH值变化较小,表明该复合益生菌膏剂具有较强的稳定性;口服复合益生菌膏剂后健康兔体况正常、肝肾功能指标正常,表明该复合益生菌膏剂具有较高的安全性;添加了复合益生菌膏剂的犬粮,其适口性和耐力性显著高于未添加复合益生菌膏剂的犬粮。综上,该复合益生菌膏剂具有较强的稳定性,较高的安全性,且适口性良好。

关键词: 复合益生菌膏剂; 稳定性; 安全性; 适口性

中图分类号: S829.2 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)07-0139-05

Evaluation of stability, safety and palatability of a compound probiotic cream for dogs

CHEN Changsheng¹, DONG Xinyi^{1,2}, LI Yi³, YANG Keyue¹, JIANG Wei¹, JIANG Lefan¹, CHEN Xingxiang^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Yongkang Animal Husbandry and Agricultural Machinery Development Center, Zhejiang Province, Yongkang 321300, China;

3. Nanjing Petmed Technology Co., Ltd., Nanjing 210095, China

Abstract: This experiment was conducted to evaluate the stability, safety and palatability of a compound probiotic cream for dogs. The compound probiotic paste was stored at 4℃ and room temperature, respectively, in a dry place; and samples were taken on the 0th, 7th, 14th, 21st, 28th, 35th, 42nd, 49th, and 56th d, respectively, to determine the number of viable bacteria, pH, and related indexes such as the appearance, color, and texture of the compound probiotic paste, in order to evaluate the stability of this compound probiotic paste for canine use. Next, the safety of the compound probiotic cream was evaluated by continuously feeding the compound probiotic cream to the rabbits and by measuring the body condition and serum biochemical indexes (ALT, AST, BUN, CREA) of the rabbits. Finally, the palatability of the compound probiotic cream was evaluated by a double-pot test to determine the acceptability or preference of the dog for the food. The results showed that the compound probiotic paste stored at 4℃ still had a high viable bacterial count (1.0×10^8 CFU/g), good sensory evaluation indexes, with a little change in pH value at 56 d, indicating that the compound probiotic paste had strong stability; because the healthy rabbits' body condition was normal, and their liver and kidney function indexes were normal after oral intake of the compound probiotic paste; which indicated that the compound probiotic paste had a high degree of safety. And, the palatability and tolerance of the dog food with the compound probiotic paste was significantly higher than that of the dog food without the compound probiotic paste. The above comprehensive

收稿日期: 2024-12-28; 修回日期: 2025-05-04

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD1800302); 上海福贝宠物用品股份有限公司合作课题(FB202309)

第一作者: 陈昌胜, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 陈兴祥, 教授, 主要研究方向为小动物疾病防治, E-mail: cxx@njau.edu.cn.

evaluation proved that this compound probiotic cream has strong stability, high safety and excellent palatability.

Keywords: compound probiotic paste; stability; security; palatability

益生菌是一种能够改善肠道微生物平衡、促进宿主健康的微生物,对机体具有多种生理作用,如平衡肠道菌群,有效改善腹泻;分泌消化酶,促进机体消化食物和营养成分;增强肠道功能,提升免疫机能和免疫系统;产生多种营养物质,包括叶酸、维生素B、维生素K等多种维生素以及氨基酸、脂肪酸、抗氧化剂等;预防肿瘤和治疗疾病等^[1-3]。近年来,益生菌制剂的应用越来越广泛,宠物食品公司开始将益生菌制剂添加到宠物日粮中。益生菌制剂的剂型主要为胶囊、片剂、口服液、粉剂等,不仅不同剂型的益生菌制剂在稳定性和适口性方面具有各自不同的特点,而且其中使用的益生菌菌株的特性也必须以个案方式进行评估^[4]。因而在考察一种益生菌制剂是否合格时,其稳定性、安全性和适口性的评价是必不可少的环节。本试验旨在评估一种自研犬用复合益生菌膏剂的稳定性、安全性和适口性,以期为该复合益生菌膏剂研制和临床应用提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

复合益生菌制剂,自制,主要成分有:产维生素B12的乳酸菌、粪肠球菌、酿酒酵母;羊奶粉、低聚果糖、洋车前子壳粉、鸡肝粉、山梨酸钾、黄原胶、去离子水等;MRS琼脂培养基,自制;丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)测定试剂盒、尿素氮(BUN)测定试剂盒、肌酐(CREA)测定试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验动物

健康新西兰兔9只,体重(2±0.25)kg;由南京青龙山动物场提供,9只健康比格犬,体重(10±0.5)kg。由南京农业大学教学动物医院提供,适应性饲养7d,自由饮水采食。

1.3 复合益生菌膏剂的保存稳定性评估

1.3.1 样品处理

复合益生菌膏剂于4℃冰箱和25℃常温阴凉干燥处保存56d,在0、7、14、21、28、35、42、49和56d分别取样进行评价。

1.3.2 pH值测定

参照GB 5009.237—2016《食品安全国家标准食品pH值》测定。取1g复合益生菌膏剂与等量蒸馏水于室温下180 r/min震荡混匀10 min。用校正后的

pH计测量待测样品pH值,重复测定3次。

1.3.3 活菌计数

参照GB 4789.35—2023《乳酸菌检验方法》进行菌落总数测定。取复合益生菌膏剂样品1g,加入无菌玻璃珠3~5颗,无菌水10 mL,室温下振荡混匀10 min,梯度稀释至 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 和 10^{-8} 。用移液器吸取100 μL稀释后的待测样品,均匀涂布在MRS固体琼脂平板,放入37℃恒温培养箱中培养48 h。乳酸菌数量(CFU/g)=每个平板平均菌落数×稀释倍数×100。

1.4 复合益生菌膏剂的安全性评估

1.4.1 试验兔分组及处理

将9只兔随机均分为3组,分别为空白对照组(Control)、低剂量益生菌膏剂组(Pas-L)和高剂量益生菌膏剂组(Pas-H)。空白对照组每日饲喂正常兔粮;低剂量和高剂量益生菌膏剂组除饲喂正常兔粮外,每日分别补充1.25和2.5 g/kg益生菌膏剂,持续饲喂14 d。

1.4.2 试验兔血液样本采集及处理

分别在试验第0、7、14天进行血液采集。每只试验兔耳缘静脉采集血样1 mL,将血液样本静置2 h,待血液凝固后,4℃条件下,3 000 r/min离心10 min,分离血清,于-80℃冻存备用。

1.4.3 试验兔血清肝肾指标测定

使用试剂盒测定试验兔血清样本中ALT、AST、BUN和CREA的含量,评估复合益生菌膏剂对兔肝脏、肾脏功能的影响。

1.5 复合益生菌膏剂的适口性评估

试验进行5 d,每日上午提供食物时采用双盆。A盆为100 g犬粮,B盆为95 g犬粮混合5 g复合益生菌膏剂,混合均匀。每日依次给9只犬提供食物,观察犬摄食情况,记录2种食物中哪一种最被接近和先被摄食。将食盆与犬一起放置15 min,或直到其中一个碗被完全吃完,记录2个食盆中的摄食量并计算出总摄食量以确定摄食比例。试验阶段交换左右盆以减少犬对方向的偏好误差。动物饲养严格按照《实验动物护理和使用指南》相关要求执行。

1.6 数据统计分析

试验所有数据均采用SPSS进行统计分析,GraphPad Prism绘图,采用单因素方差分析显著性,结果用“平均值±标准差”表示, $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 复合益生菌膏剂 pH 值变化

复合益生菌膏剂于 4 °C 冰箱和常温阴凉干燥处保存 56 d, 在 0、7、14、21、28、35、42、49 和 56 d 时分别取样, 对复合益生菌膏剂 pH 值进行测定。结果如图 1 所示, 在 56 d 的保存期内, 4 °C 和 25 °C 常温保存的复合益生菌膏剂 pH 值分别从 6.0 下降到 4.67 和 4.33, 4 °C 保存的复合益生菌膏剂 pH 值变化较小。结果表明, 在 4 °C 保存的复合益生菌膏剂的 pH 值具有更好的稳定性。

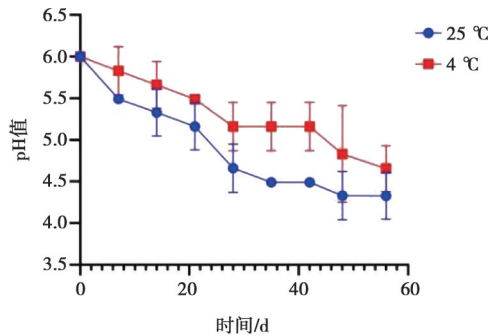


图 1 pH 值变化曲线

2.2 复合益生菌膏剂活菌数变化

于 0、7、14、21、28、35、42、49 和 56 d 分别取样, 对其每克复合益生菌膏剂中活菌数进行计数, 以时间为横坐标, 每克中活菌数的对数值为纵坐标, 绘制活菌数变化曲线。结果如图 2 所示, 25 °C 常温保存的复合益生菌膏剂每克中含有的活菌数下降较快, 在 56 d 时活菌数为 1.0×10^6 CFU/g; 4 °C 保存的

复合益生菌膏剂每克中含有的活菌数始终呈缓慢下降状态, 在 56 d 时仍有较高的活菌数含量 (1.0×10^8 CFU/g)。结果表明, 在 4 °C 保存的复合益生菌膏剂的活菌数具有更好的稳定性。

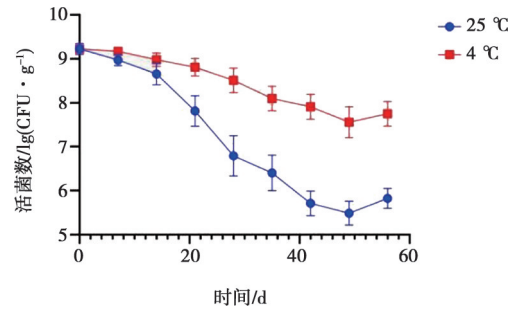


图 2 活菌数变化曲线

2.3 对试验兔体况的影响

在试验观察期间, 口服低剂量、高剂量益生菌膏剂组与空白对照组相比, 试验兔饮食、饮水和体态状况均正常, 未出现腹泻、软便等现象, 表明口服益生菌膏剂不会对健康兔体况产生影响。

2.4 复合益生菌膏剂对试验兔血清肝肾指标的影响

结果如图 3 所示, 在试验进行的第 0、7、14 天内, 空白对照组、低剂量复合益生菌膏剂组和高剂量复合益生菌膏剂组的试验兔 ($n=3$) 血清中 ALT、AST、BUN、CREA 含量并无显著差异 ($P>0.05$), 且上述所有指标均在正常范围内。该结果表明, 口服复合益生菌膏剂对健康兔的肝肾功能指标未发现影响。

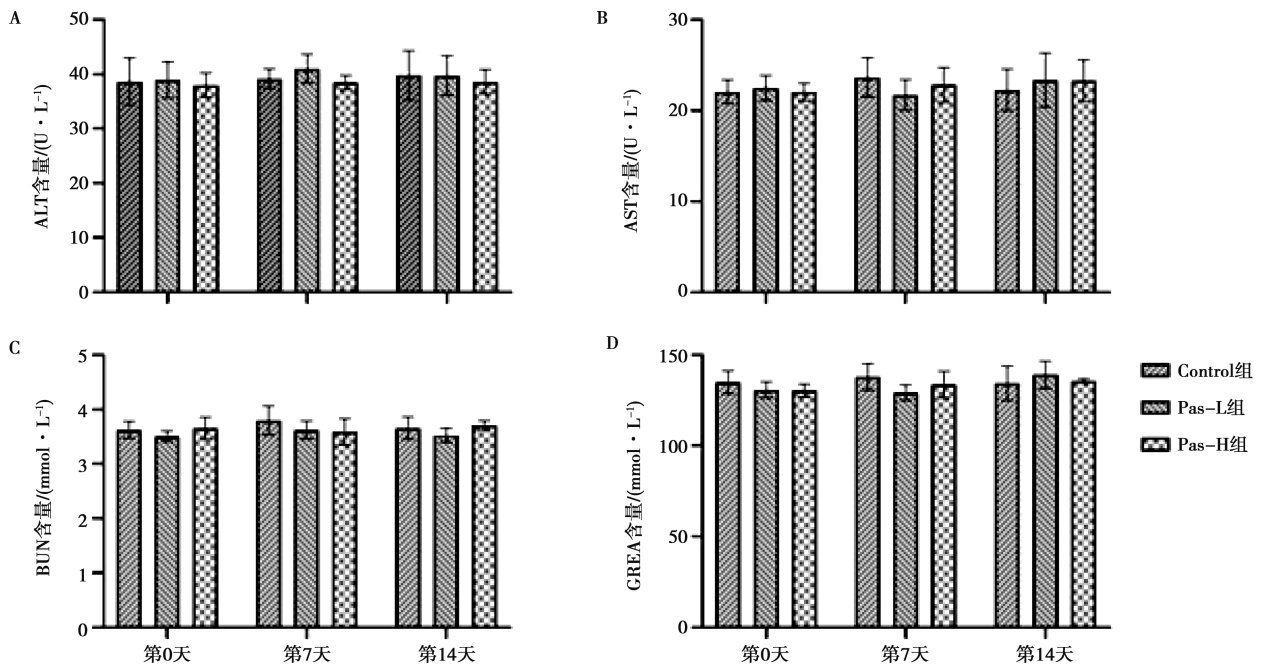
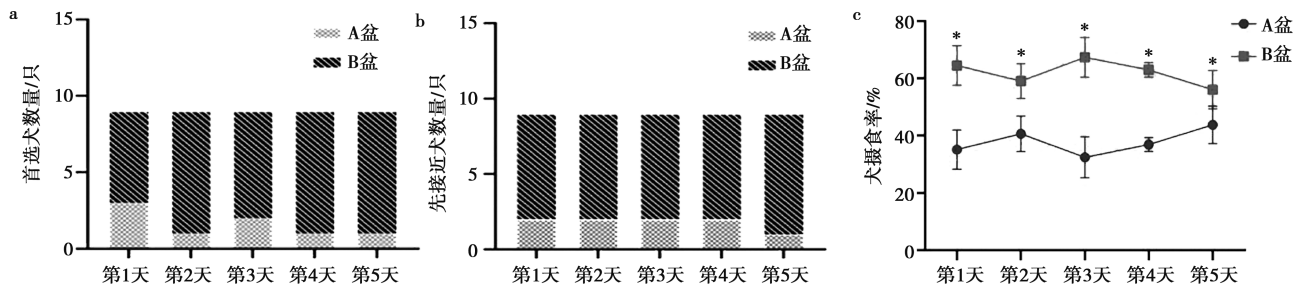


图 3 复合益生菌膏剂对兔血清中 ALT、AST、BUN 和 CREA 含量的影响

2.5 犬每日摄食情况

记录每日双盆测试过程中犬 ($n=9$) 的摄食情况, 包括首选数量、先接近数量, 以及双盆中的分别摄食量和摄食量总量, 计算出摄食率。试验过程中, 试验犬每日摄食情况以及身体状况、精神状态均正

常。结果如图 4 所示, 犬对混合复合益生菌膏剂犬粮的摄食率显著高于普通犬粮 ($P<0.05$), 表明试验犬对混合有复合益生菌膏剂的犬粮更为偏好, 且在 5 d 内偏好表现基本一致, 说明复合益生菌膏剂具有较高的适口性和耐口性。



注: *表示 $P<0.05$ 。

- a. 首选数量 (犬先摄食某种食物的数量); b. 先接近数量 (犬先嗅闻某种食物的数量);
c. 摄食率 (试喂粮的摄食量除以两种摄食量的总和)。

图 4 犬对复合益生菌膏剂的第一口选择情况

3 讨论

近年来, 益生菌制剂应用越来越广泛, 已有大量研究证明益生菌对调整动物肠道菌群、促进宿主健康具有显著效果^[5-6]。Mountzouris 等^[7]发现, 益生菌可以改变有益微生物和有害微生物的数量, 建立更有益于宿主的微生物种群。益生菌通过调整肠道微生物平衡, 对治疗动物的肠道疾病有良好的效果。例如: 通过与病原菌竞争营养和附着位点, 或产生某些抗菌物质, 抑制有害菌的生长; 刺激肠道上皮细胞分泌黏液, 增强物理屏障, 调节紧密连接蛋白, 维持肠道屏障完整性^[8]; 调节免疫系统, 激活免疫细胞并调节细胞因子, 影响促炎 (如白介素 6、 α 肿瘤坏死因子) 和抗炎 (如白介素 10) 细胞因子的平衡; 产生多种营养物质, 如维生素 B、维生素 K 等多种维生素, 短链脂肪酸, 抗氧化物等^[2,9]。

目前大多数关于益生菌宠物食品的研究主要集中在菌株类型, 益生菌剂型主要包括胶囊、片剂、口服液、冻干剂等^[10]。液态益生菌制剂易失活, 大多需要在低温条件下保存; 固态益生菌制剂溶解性差, 制备冻干需要加入防冻剂来防止益生菌因低温失活, 生产成本高且大多剂型适口性均不佳^[11]。市场要求益生菌制品有较长的保质期, 但储存温度、时间和湿度都会影响益生菌的活性, 因此益生菌制品的稳定性至关重要。本试验对复合益生菌膏剂的保存稳定性评估结果表明, 复合益生菌膏剂具有较好的保存稳定性, 在 25 °C 常温和 4 °C 保存 56 d 均有较高的活菌水平。

尤其是 4 °C 保存的复合益生菌膏剂表现出了较强的保存稳定性, 保存 56 d 后活菌数仍达到 1.0×10^8 CFU/g, 色泽、气味、质地、pH 值变化小, 方便长期储存和使用, 保证了复合益生菌膏剂的效果。

益生菌制品的安全性也是宠物主人关注的重点, 而益生菌安全性评估具有菌株特异性, 需要根据具体情况对应用的益生菌菌株进行安全性评估^[12]。本试验对复合益生菌膏剂的安全性评估结果表明, 口服低剂量和高剂量复合益生菌膏剂的兔各项指标均正常, 复合益生菌膏剂对兔肝脏、肾脏功能无影响, 具有良好的安全性。

对于宠物来说, 复合益生菌膏剂的适口性尤为重要, 高适口性意味着宠物可以自愿从食盆或主人的手中摄食。本试验对复合益生菌膏剂的适口性评估结果表明, 试验犬对混合有复合益生菌膏剂的犬粮更为偏好, 在 5 d 内偏好表现基本一致, 说明复合益生菌膏剂对犬具有较高的适口性和耐口性。

参考文献:

- [1] CREMON C, BARBARO M R, VENTURA M, et al. Pre- and probiotic overview [J]. Current Opinion in Pharmacology, 2018, 43: 87-92.
- [2] CHUGH B, KAMAL-ELDIN A. Bioactive compounds produced by probiotics in food products [J]. Current Opinion in Food Science, 2020, 32: 76-82.
- [3] WATSON P, THOMAS D, HOGGARD A, et al. Investigating the palatability of lamb and beef components used in the production of

- pet food for cats [J]. *Animals*, 2020, 10 (4): 558.
- [4] SNYDMAN D R. The safety of probiotics [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2008, 46 (2): 104-111.
- [5] ANEE I J, ALAM S, BEGUM R A, et al. The role of probiotics on animal health and nutrition [J]. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 2021, 82: 1-16.
- [6] MARKOWIAK P, ŚLIŹEWSKA K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition [J]. *Gut Pathogens*, 2018, 10 (1): 1-20.
- [7] MOUNTZOURIS K C, BALASKAS C, XANTHAKOS I, et al. Effects of a multi-species probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with *Salmonella enteritidis* [J]. *British Poultry Science*, 2009, 50 (4): 467-478.
- [8] ANDERSON R C, COOKSON A L, MCNABB W C, et al. *Lactobacillus plantarum* DSM 2648 is a potential probiotic that enhances intestinal barrier function [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, 309 (2): 184-192.
- [9] MOZZI F, RAYA R R, VIGNOLO G M. *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications* [M]. 2nd Edition. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2015: 279-296.
- [10] RIVERA-ESPINOZA Y, GALLARDO-NAVARRO Y. Non-dairy probiotic products [J]. *Food Microbiology*, 2010, 27 (1): 1-11.
- [11] ARCHACKA M, CELIŃSKA E, BIALAS W. Techno-economic analysis for probiotics preparation production using optimized corn flour medium and spray-drying protective blends [J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2020, 123: 354-366.
- [12] PRADHAN D, MALLAPPA R H, GROVER S. Comprehensive approaches for assessing the safety of probiotic bacteria [J]. *Food Control*, 2020, 108: 106872.

· 信息 ·

《畜牧与兽医》入选《2024中国农林核心期刊目录》A类期刊

2024年，“中国农林核心期刊”评价遴选持续以期刊发展核心指标的定量评价与学科专家定性评价为综合评价依据。在此基础上对我国853种中、英文农林领域期刊进行了全面梳理和科学分类评价，共遴选出中文期刊280种、英文期刊34种，共计13类314种，其中A类247种，B类67种。《畜牧与兽医》入选《2024中国农林核心期刊目录》A类期刊。

