

# 多菌种协同发酵啤酒糟渣和苹果渣 生产蛋白饲料的研究

■ 王晓力<sup>1</sup> 王帆<sup>2</sup> 孙尚琛<sup>2</sup> 王永刚<sup>2</sup> 李想<sup>2</sup> 王春梅<sup>1</sup> 朱新强<sup>1</sup> 孙启忠<sup>3</sup>

(1.中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所,甘肃兰州 730050;2.兰州理工大学生命科学与工程学院,甘肃兰州 730050;3.中国农业科学院草原研究所,内蒙古呼和浩特 010010)

**摘要:**以苹果渣和啤酒糟为发酵基质,利用里氏木霉、黑曲霉、产朊假丝酵母为发酵菌种,采用单因素3验和正交试验对固态发酵工艺进行了优化,并对发酵饲料品质进行了评定,利用扫描电子显微镜技术探究了微生物在固态发酵中的作用。结果表明,最佳的基质配比为1:1,3种微生物配比为1:1:1,接种量为8%,含水量、发酵温度和时间分别为60%,35℃和48h,在此条件下,发酵后饲料中粗蛋白含量提高34.52%,酸性和中性纤维素含量分别降低22.93%和9.08%。饲料品质良好,无结块,伴有淡淡的酸香味和苹果醇香味。尼龙袋瘘管羊瘤胃消化试验表明,72h后粗蛋白、酸性和中性纤维素消化率分别为79.78%、51.96%和39.88%。扫描电镜结果显示微生物在发酵过程中破坏了饲料结晶区表面结构,纤维素分子无定形区消失,大量酵母细胞分布在饲料表面,汲取养分生长繁殖成为高蛋白饲料。

**关键词:**苹果渣;啤酒糟;固态发酵;蛋白饲料;扫描电镜

**doi:**10.13302/j.cnki.fi.2016.03.007

**中图分类号:**S816.6+1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1001-991X(2016)03-0032-07

## Study on production of protein feedstuff from apple pomace and brewer's grains by cooperation of different microbial strains

Wang Xiaoli, Wang Fan, Sun Shangchen, Wang Yonggang, Li Xiang, Wang Chunmei,  
Zhu Xinqiang, Sun Qizhong

**Abstract:** Optimization the solid-state fermentation process was studied by single factor experiment and orthogonal experiment using apple pomace and brewer's grains as fermentation substrate, and *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger* and *Candida utilis* as for fermentation strains. As well as, evaluation of the fermented feedstuff quality and exploration the role of microorganisms in solid-state fermentation using scanning electron microscopy were investigated. The results showed that the proportion of fermentation substrate and three microorganisms were 1:1 and 1:1:1 respectively, inoculum amount was 8%, the water content, fermentation temperature and time was 60%, 35℃ and 48h. Under optimized conditions, the protein content was increased 34.52%, while the acidic and neutral cellulose content were decreased 22.93% and 9.08% respectively. The feedstuff with a fantastic quality and no agglomerate was accompanied by mild acid and apple aroma. The degradability of crude protein,

acidic and neutral cellulose in feedstuff using the nylon-bag method in the sheep rumen were 79.78%, 51.96% and 39.88% respectively that 72h after. Scanning electron microscopy results indicated that the microbes in the fermentation process destroyed the surface structure of feedstuff, amorphous area of cellulose molecules dispersed, and a large number of yeast cells distributed in the surface of the feedstuff to absorb nu-

作者简介:王晓力,副研究员,主要从事畜牧方面的研究工作。

通讯作者:孙启忠,研究员。

收稿日期:2015-08-08

基金项目:公益性行业(农业)科研专项子课题:工业副产品的优化利用技术与示范项目资助[201203042]和甘肃省自然科学基金[1310RJYA022]

trients growing to feedstuff with high protein content.

**Key words:** apple pomace; brewer's grains; protein feed; digestibility; scanning electron microscopy

糟渣类饲料主要是指农副产品加工的废弃物以及工业下脚料中可以作为饲料资源的部分,包括工业副产品酒糟、醋糟、果渣、薯渣等,产量非常大<sup>[1-3]</sup>。据不完全统计,我国年产醋糟 150~175 万吨、苹果渣 120~150 万吨、酒糟产量 3 076.8 万吨<sup>[4]</sup>。但因这类资源含水量高,易腐败变质,含抗营养因子,粗纤维含量高而不被广泛利用,造成了环境污染和资源的极大浪费。随着我国畜牧业的快速发展,饲料原料的供给成为制约我国畜牧业健康、持续发展的瓶颈。据全国饲料工业办公室估算,到 2020 年,我国仅蛋白质饲料缺口就达到 4 800 万吨<sup>[4]</sup>。因此如何对糟渣类资源进行深加工和开发利用成为缓解饲料资源供应不足、治理环境污染的研究焦点之一。

针对糟渣类饲料资源含水量高,营养不均衡,抗营养因子等特点,涌现出很多饲料开发技术,如青贮、微贮、氨贮和黄贮等<sup>[5-6]</sup>。其中微生物发酵技术成为提升饲料品质的主要技术手段之一,能有效降低糟渣类物质的纤维素含量,改善饲料动物适口性,提高蛋白质含量及可消化吸收性能。目前关于酒糟和苹果渣发酵生产蛋白饲料的报道很多<sup>[7,13]</sup>,主要是采用高产纤维素酶和蛋白的微生物进行协同发酵来改善饲料品质,获得高蛋白饲料。但是关于酒糟和苹果渣联合作为发酵基质进行固态发酵的研究甚少,本研究参考张吉鹏所报道的《饲料间的组合效应及其在配方设计中的应用》一文<sup>[14]</sup>,基于前期对酒糟和苹果渣基本营养成分测定的基础上,探究了以啤酒糟和苹果渣为发酵原料,黑曲霉、里氏木霉和产阮假丝酵母为发酵菌株的固态发酵生产蛋白饲料工艺参数,为苹果渣和酒糟的饲用化提供一条切实可行的技术方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验原料

啤酒糟(兰州黄河嘉酿啤酒有限公司)、醋糟(兰州小二黑食品有限公司)、苹果渣(天水长城果汁集团有限公司)。

#### 1.1.2 供试菌株

黑曲霉孢子粉(孢子含量 $\geq 150$ 亿/g,沂源康源生物科技有限公司)、里氏木霉(纤维素酶 $\geq 30\ 000$  U/g)、产阮假丝酵母粉(酵母菌数 $\geq 30.0$ 亿/g),购自武汉东

康源科技有限公司。

### 1.1.3 培养基

① PDA 斜面培养基:马铃薯 200 g,去皮,切成小块,加水煮沸至软而不烂,用纱布过滤,加琼脂 20 g,融化过滤后加葡萄糖 20 g,磷酸二氢钾 2 g,蛋白胨 1 g,硫酸镁 1 g,硫酸胺 1 g,补水至 1 000 ml,pH 值调至 7.2~7.4,分装在 4 个 500 ml 的锥形瓶中,121 °C 灭菌 20 min,冷却待用。

② PDA 种子液培养基:与配制上述 PDA 斜面培养基的方法相同,但不加琼脂。

## 1.2 试剂与仪器

试剂:浓硫酸、浓盐酸、氢氧化钠、石油醚、丙酮、硼酸、甲基红、溴甲酚绿等均为分析纯,购自天津市富宇精细化工有限公司。

仪器:数显鼓风干燥箱(GZX-9240MBZ,上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、数显电热培养箱(HPX-9162MBE,上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、真空泵(SHB-III A,郑州长城科工贸有限公司)、灭菌锅(DSX-280B,宁波甬安医疗器械制造有限公司)、电子分析天平(AB104-N,梅特勒-托利多仪器有限公司)、博兰特无菌操作台(苏州博兰特实验室系统工程有限公司)、紫外可见分光光度计(Cary50,美国瓦里安)等。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 固态发酵工艺流程

以啤酒糟、苹果渣和醋糟为发酵基质,接种活化后扩大培养的黑曲霉、里氏木霉和产阮假丝酵母 3 种菌悬液(活菌/孢子数 $\geq 10^9$ ),用无菌玻璃棒在洁净工作台上搅拌均匀,用 pH 值 6.0 磷酸盐缓冲液调节发酵基质水分含量,分装 100 g 于 500 ml 三角瓶中,在不同的发酵条件下发酵。发酵结束后,将发酵产物在 60 °C 下干燥,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量。

### 1.3.2 单因素发酵试验

#### 1.3.2.1 固态发酵复合菌种组合的确定

以啤酒糟、苹果渣和醋糟(m:m:m=1:1:1)为发酵基质,分别将活化后扩大培养的黑曲霉、里氏木霉和产阮假丝酵母 3 种菌悬液(活菌/孢子数 $\geq 10^9$ )以单独或不同组合方式,按 6% 的接种量(v:m)接到发酵基质上,用无菌玻璃棒在洁净工作台上搅拌均

匀,用pH值6.0磷酸盐缓冲液调节发酵基质水分含量为60%,分装100 g于500 ml三角瓶中,在30℃条件下发酵5 d,发酵结束后,将发酵产物在60℃下干燥,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量,确定最佳的发酵菌种组合。

#### 1.3.2.2 固态发酵基质配比的确定

分别改变啤酒糟、苹果渣和醋糟的配比,接种发酵菌株参照1.3.2.1节方法进行发酵,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量,确定最佳的发酵基质组分配比。

#### 1.3.2.3 初始水分含量的确定

分别改变初始发酵基质含水量,接种发酵菌株参照1.3.2.1节方法进行发酵,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量,确定最佳的初始含水量。

#### 1.3.2.4 发酵时间的确定

分别改变发酵时间,接种发酵菌株参照1.3.2.1节方法进行发酵,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量,确定最佳的发酵时间。

#### 1.3.2.5 发酵温度的确定

分别改变发酵温度,接种发酵菌株参照1.3.2.1节方法进行发酵,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量,确定最佳的发酵时间。

#### 1.3.2.6 接种量的确定

分别改变接种量,接种发酵菌株参照1.3.2.1节方法进行发酵,测定粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量,确定最佳的接种量。

### 1.3.3 正交试验

在单因素试验基础上,以发酵时间、温度和接种量为因素,采用 $L_9(3^4)$ 表做正交试验,以发酵饲料中粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素质量分数作为评价指标,正交试验因素与水平见表1。

表1 因素水平

水平	因素		
	A 时间(h)	B 水分含量(%)	C 温度(℃)
1	48	55	25
2	60	60	30
3	72	65	35

#### 1.3.4 分析方法

① 微生物计数:采用血球计数板法对黑曲霉、里氏木霉孢子和产朊假丝酵母细胞进行计数。

② 饲料基本成分测定:粗蛋白(CP)含量采用GB/T6432-1994方法测定;粗纤维含量采用GB/T6434-1994酸碱洗涤法测定;粗脂肪(EE)含量采用索

氏提取法测定;灰分(Ash)测定采用GB/T6438-1992中的灰化法;酸性洗涤纤维(ADF)含量参照NY/T1459-2007方法测定;中性洗涤纤维素(NDF)含量参照GB/T20806-2006方法测定。

#### 1.3.5 体外消化试验

饲料经65℃干燥后,粉碎过2.5 mm筛孔,选取3只体重为(35±1.5) kg的24月龄安装有永久性瘤胃瘘管的成年肉用公羊,精粗比为4:6,按1.3倍维持水平饲养(肉羊NRC 2007)。试验动物按该品种动物常规程序饲养管理,分圈饲养,槽饲喂,每天饲喂2次,自由饮水。测定前至少预饲15 d。以尼龙袋法(in situ)测定饲料在瘤胃中消化6、12、24、36、48和72 h后粗蛋白(CP)、酸性洗涤纤维(ADF)和中性洗涤纤维(NDF)的降解率,本试验在中国农业科学院草原研究所进行。

#### 1.3.6 扫描电镜结构表征

采用离子溅射镀膜法制备发酵原料前后电镜测试样品,置于扫描电镜的样品室中扫描分析,调节加速电压20 kV,放大100~1 000倍,用随机工作站进行拍摄,观察饲料表面的形态。

#### 1.3.7 发酵饲料质量评价

感官评定:根据发酵饲料的气味、色泽及质地评定饲料发酵状况的优劣。

营养成分测定:参照国家标准方法分别测定粗蛋白质(CP)、中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)含量等。

#### 1.3.8 统计学分析

数据平行测定3次,结果由平均值±SD值表示,用Excel 2007完成;采用SPSS 17.0(SPSS Inc., Chicago)进行方差分析和显著性分析( $P<0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵原料营养成分分析

参照国家标准测定方法分别对啤酒糟、醋糟和苹果渣基本成分进行测定,结果见表2。3种原料中主要成分是蛋白质和纤维素,其中啤酒糟中的蛋白质含量最高,可能是含有一定量的酵母等微生物菌体蛋白。此外,基质中含有大量的非水溶性纤维素类,也正是大量的非水溶性膳食纤维影响了各饲料原料的适口性。因此采用微生物发酵法通过降解基质中的纤维素类,不仅可以改善饲料原料的口感,还可以产生很多对动物消化吸收有利的代谢产物。

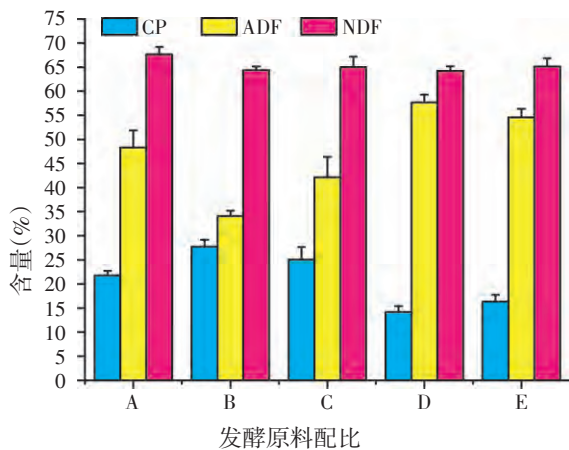
### 2.2 单因素试验结果

#### 2.2.1 发酵基质复合比例的确定

表2 发酵原料基本营养成分测定结果(以干基计%)

原料	DM	CP	EE	CF	ASH	NDF	ADF	Ca
啤酒糟	90.33±2.08	23.7±2.35	5.17±1.10	17.17±1.82	4.02±0.2	38.47±1.36	23.1±1.3	0.33±0.03
醋糟	88.23±3.65	11.53±4.62	6.19±0.88	33.48±2.02	4.43±0.28	38.5±1.65	23.8±1.75	0.35±0.09
苹果渣	88.87±4.61	7.73±1.67	3.05±0.74	26.6±1.08	4.77±0.15	53.87±2.05	62.54±3.18	0.583±0.02

本试验选择里氏木霉、黑曲霉和产阮假丝酵母为发酵菌株(1:1:1),为了保证微生物在发酵前期过程中能良好生长,本试验选择以可溶性固形物含量较高的啤酒糟和苹果渣为发酵主要原料,辅以醋糟进行不同配比组合的固态发酵试验,发酵产物粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素测定结果如图1。从图1可以看出,B种组合在相同条件下发酵后的蛋白含量高达27.89%,明显高于其他原料复配组合,而且酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维的含量也明显低于其他组,因此选取B组合作为固态发酵的基质组合。



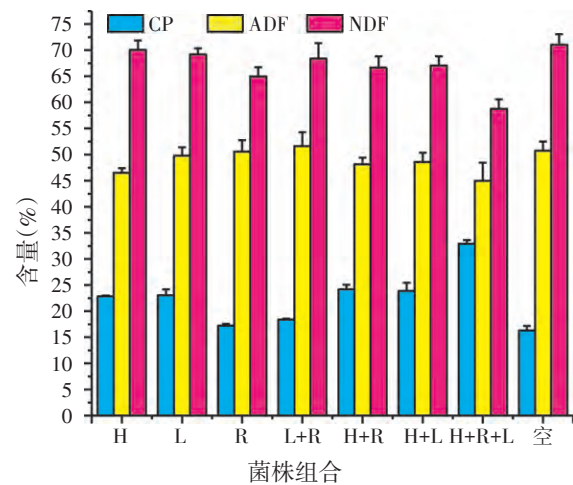
注:A代表醋糟:啤酒糟:苹果渣=2:2:1;B代表啤酒糟:苹果渣=4:1;C代表醋糟:啤酒糟:苹果渣=1:3:1;D代表醋糟:苹果渣=4:1;E代表醋糟:啤酒糟:苹果渣=3:1:1。

图1 不同基质配比发酵后蛋白质、酸性和中性洗涤纤维含量

## 2.2.2 发酵菌株的选择

糟渣类物质主要的组成特点是纤维素含量较高,适口性差,不利于动物消化吸收,本试验选择黑曲霉、里氏木霉和产阮假丝酵母为发酵菌株,目的是使微生物体内的各种酶系协同作用,从而改善饲料的适口性,降低纤维素含量,提高蛋白质含量。以啤酒糟和苹果渣(m:m=1:1)为发酵基质,参照1.3.2.1节方法将3种菌种以单独或不同比例组合方式接种,发酵结束后测定饲料中粗蛋白、酸性纤维素和中性纤维素含量,结果见图2。从图2可以看出,不同的菌种组合利用糟渣类物质的效率不同,与空白对照组相比,采用单菌发酵后的粗蛋白含量提高了20%~35%,而将两

种菌两两组合之后,粗蛋白含量提高了30%~50%左右,3种菌同时混合后进行发酵,结果粗蛋白的含量提高了34.29%左右,所以本次试验中最佳的菌种组合是3种发酵菌种按照1:1:1混合,从而可以保证粗蛋白的含量达到最大。因此选择里氏木霉、黑曲霉和产阮假丝酵母三菌混合(1:1:1)作为发酵菌种。



注:L代表里氏木霉;H代表黑曲霉;R代表产阮假丝酵母菌。

图2 不同菌种组合对发酵后饲料蛋白质、酸性和中性洗涤纤维含量的影响

## 2.2.3 初始水分含量的确定

微生物在发酵过程中需要有适宜的水分。发酵底物环境中的水分直接影响微生物的生长情况,随着含水量的增加,提高了反应体系的水活度,这不仅有利于菌体对营养物质的输送,也增加了菌株代谢产酶量的增加。参照1.3.2.1节方法分别进行初始基质水分含量为50%、55%、60%、65%和70%的发酵试验,粗蛋白、纤维素测定结果如图3。初始含水量为60%时,所得到的饲料中粗蛋白的含量最高,中性洗涤纤维素含量最小,酸性洗涤纤维素含量较小。因此确定发酵初始基质含水量为60%。

## 2.2.4 发酵时间的确定

以啤酒糟和苹果渣(m:m=1:1)为发酵基质,里氏木霉、黑曲霉和产阮假丝酵母为发酵菌株(1:1:1),参照1.3.2.1节方法分别进行24、36、48、60 h和72 h发酵试验,发酵结束后饲料中粗蛋白、酸性纤维素和中

性纤维素含量测定结果见图4,从图中可以看出当发酵时间为48 h时,所得到的饲料中粗蛋白的含量最高,发酵时间对饲料中蛋白含量的增加影响是48 h>36 h>60 h>72 h>24 h,纤维素含量降低,说明随着发酵时间的增加,微生物能够利用基质中不溶性纤维素进行繁殖和代谢,蛋白质含量逐渐增加。

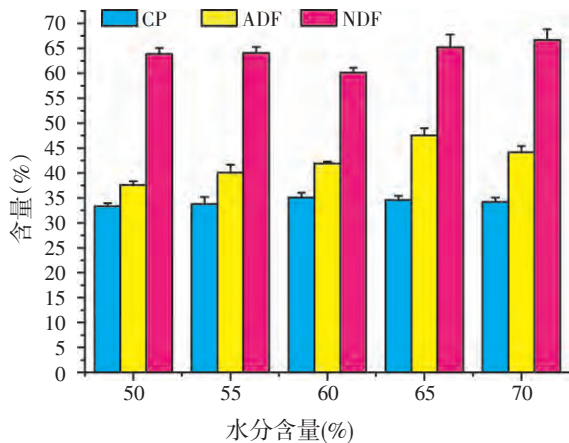


图3 初始含水量对发酵饲料蛋白质、酸性和中性洗涤纤维含量的影响

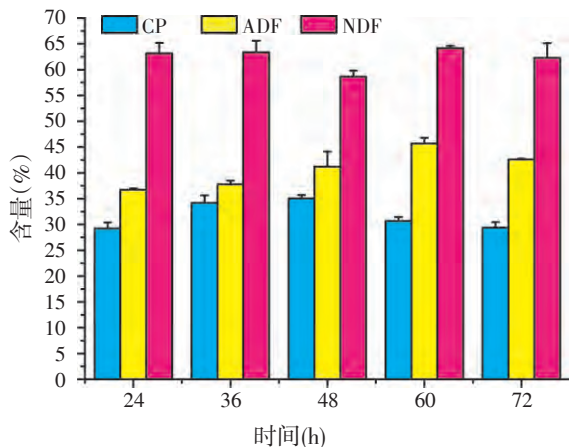


图4 发酵时间对发酵饲料蛋白质、酸性和中性洗涤纤维含量的影响

### 2.2.5 发酵温度的确定

温度是影响微生物生长和代谢活动的主要因素之一,由于本次发酵菌株都属于真菌,因此分别在25、27.5、30、32.5℃和35℃5个温度下进行发酵,其他发酵参数同1.3.2.1节。发酵结束后,饲料中蛋白质、中性纤维素和酸性纤维素含量如图5,可以看出,在30℃下饲料中蛋白质含量最高,酸性纤维素和中性纤维素含量最低,初步确定发酵温度为30℃,既满足微生物生长代谢,也满足发酵代谢中产生的各种酶类所需要的最适宜酶解温度。

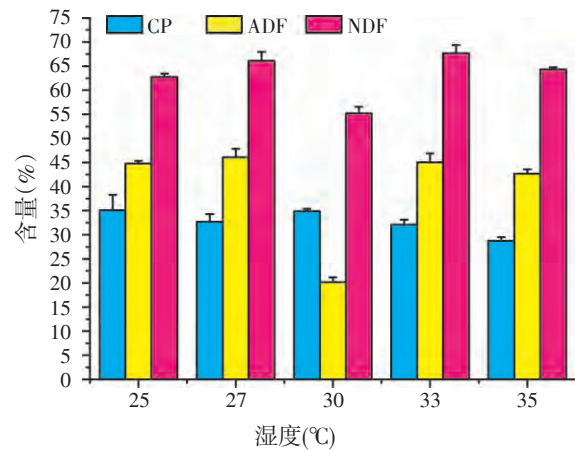


图5 发酵温度对发酵饲料蛋白质、酸性和中性洗涤纤维含量的影响

### 2.2.6 接种量的确定

接种量大小直接影响发酵过程中微生物的生长和代谢调控,接种量太小,微生物生长缓慢,发酵周期变长,接种量太大,会造成基质温度上升过快,局部温度过高,发酵过程不易控制。本研究分别采用接种量(体积分数)2%、4%、6%、8%、10%和12%,6个接种量接种发酵48 h,发酵产物中粗蛋白、中性纤维素和酸性纤维素含量见图6,从图中可以看出接种量在8%时饲料中粗蛋白含量最大,纤维素含量与其他接种量发酵条件下差异性不大。究其原因可能是在为微生物的生长是按照指数增长,后期发酵过程中微生物数量的差异性较小,因此发酵过程中利用纤维素的能力相当,各条件下纤维素变化不大。

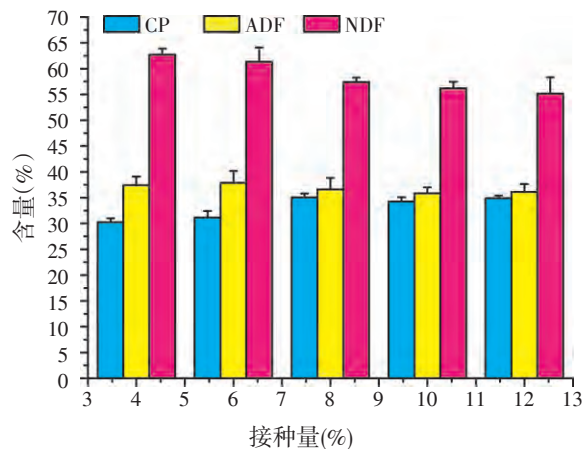
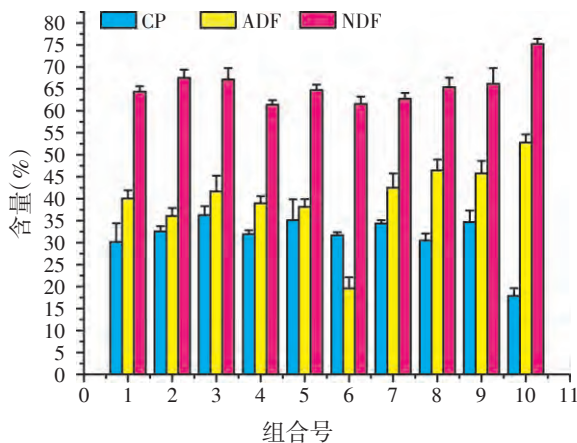


图6 接种量对发酵饲料蛋白质、酸性和中性洗涤纤维含量的影响

### 2.3 正交试验

基于上述单因素试验结果,本次试验选择以啤酒

糟和苹果渣(m:m=1:1)为发酵基质,里氏木霉、黑曲霉和产阮假丝酵母为发酵菌株(1:1:1),接种量为8%为基础发酵条件,分别研究发酵时间(A)、水分含量(B)和发酵温度(C)3种因素对发酵饲料蛋白质、酸性洗涤纤维素和中性洗涤纤维素含量的影响,按照表1进行正交试验,蛋白质、酸性洗涤纤维素和中性洗涤纤维素含量结果见图7,从图7可以看出各发酵组与对照组相比,蛋白质含量都有较大程度的增加,纤维素含量都降低,其中组合3蛋白质含量最高,但是酸性洗涤纤维素含量组合6最低,中性洗涤纤维素含量组合4最低。因此,以蛋白质含量为评价指标,正交试验结果见表3。由表3可知,发酵基质初始含水率、发酵温度和发酵时间等因素对发酵产品蛋白质含量的影响程度为:发酵温度>发酵时间>发酵基质初始含水率。而且发酵最优条件为A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>。即:发酵时间为48 h,发酵基质初始含水率60%,发酵温度为35℃。在此发酵条件下进一步对该组合进行验证试验,经测定发酵后饲料中粗蛋白含量达37.49%,因此确定本组合为最佳发酵工艺条件。



注:1、2、3、4、5、6、7、8、9代表正交试验组合,10代表空白对照。

图7 固态发酵正交试验发酵后蛋白、酸性和中性洗涤纤维含量百分数

#### 2.4 体外消化试验

以尼龙袋法分别测定微生物发酵饲料在肉羊瘤胃中消化6、12、24、36、48 h和72 h 6个时间点CP、ADF和NDF的消化率,以发酵基质啤酒糟和苹果渣(m:m=1:1)为对照组,平行测定3次,结果见表4。从表中可以看出CP、ADF和NDF相对对照组消化率显著增加。由此说明,微生物发酵过程中能够利用发酵基质中的可溶性碳源进行生长代谢,产生一系列水解酶,如本试验中采用的黑曲霉、里氏木霉能够分泌纤维素酶,进而使得基质中的部分纤维素进行水解利

用,破坏了基质中纤维素无定形晶体结构,从而提高了在肉羊瘤胃中的消化性能。

表3 正交试验直观分析

试验号	时间(A)(h)	水分含量(B)(%)	温度(C)(%)	蛋白质(%)
1	48	55	25	30.86±1.36
2	48	60	30	32.41±2.08
3	48	65	35	36.22±1.64
4	60	55	30	32.61±2.96
5	60	60	35	35.11±1.88
6	60	65	25	32.03±1.21
7	72	55	35	34.45±1.64
8	72	60	25	31.99±2.68
9	72	65	30	34.09±1.58
K1	33.16	33.25	33.51	
K2	32.64	33.17	34.11	
K3	31.62	33.04	35.26	
k1	11.05	11.08	11.17	
k2	10.88	11.06	11.37	
k3	10.54	11.01	11.75	
R	1.54	0.21	1.75	

#### 2.5 发酵前后饲料表面形态结构表征

为了进一步分析微生物在发酵过程中对发酵基质的作用机理,采用扫描电子显微镜对发酵前后饲料表面形态结构进行了观察,结果如图8a(发酵前)和图8b(发酵后)。由图8a可知,发酵前原料基质中木质纤维结构排列紧凑,纤维素聚集态结构清晰,结构致密有,纤维素结晶区和无定形区交错结合,沿链长方向纤维素聚集成微细纤维状态。经微生物发酵作用后,由图8b可以看出,发酵基质表面形貌变得粗糙,纤维素分子无定形区消失,结晶区表面结构被破坏。由此可见,微生物发酵技术对于提高纤维质原料的饲用化具有重要的作用。此外在纤维素降解过程中产生的可溶性碳源有作为微生物生长良好的培养基,如图8c,大量的酵母细胞附着在发酵基质表面,出芽繁殖现象明显,进一步说明酵母菌体蛋白是饲料总蛋白含量提高的主要原因之一。

#### 2.6 发酵饲料营养价值评定

啤酒糟和苹果渣发酵基质按照正交试验优化条件发酵48 h后,微生物生长较好,饲料表面和内部由微生物菌丝体粘连在一起,干燥后手感松散,无结块,发黄,伴有淡淡的酸香味和苹果醇香味。综合理化指标测定结果表明,发酵饲料pH值为5.6,粗蛋白质含量37.49%,中性纤维素含量和酸性纤维素含量分别为65.05%和38.81%。结合瘦管羊饲料消化试验测定结果表明,蛋白质消化率为79.86%,中性和酸性纤维素消化率为39.78%和46.27%。综合发酵饲料的质量评定标准感官评定、化学评定和消化性能评定结果得出,以黑曲霉、里氏木霉和产阮假丝酵母为混合发酵

表4 发酵饲料CP、ADF和NDF在羊瘤胃中的消化率(%)

指标	处理	时间点					
		6 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h
CP	对照	18.21±0.23	28.45±1.43	32.27±1.32	45.34±0.64	46.57±1.35	49.23±1.83
	饲料	30.45±1.45	43.67±1.26	57.54±0.86	79.3±1.37	79.86±0.79	79.78±0.73
ADF	对照	21.38±0.92	24.32±0.28	30.26±0.84	37.84±0.42	41.08±1.06	42.24±0.66
	饲料	26.26±1.06	32.26±1.52	34.85±0.68	39.82±1.54	44.82±0.82	51.96±0.68
NDF	对照	19.22±0.44	23.66±1.32	26.77±0.81	30.68±0.66	34.25±1.32	35.46±0.32
	饲料	22.28±1.06	26.28±0.68	32.33±0.32	34.62±1.26	38.42±0.76	39.88±0.65

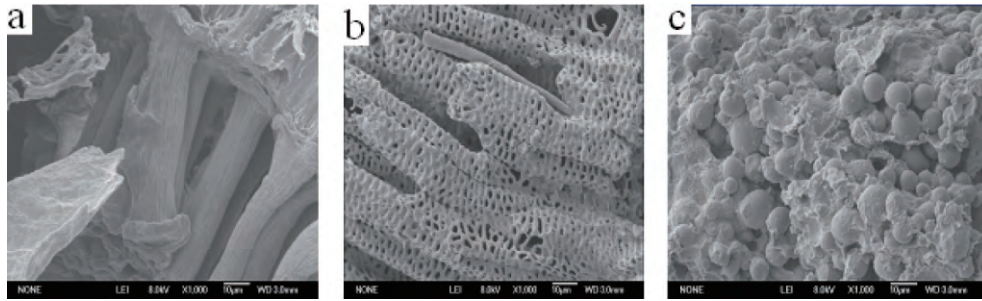


图8 发酵前后饲料表面形态结构表征

菌剂,不仅可以酶解大分子纤维素,改善啤酒糟和苹果渣发酵基质动物饲用的适口性,而且通过微生物生长和代谢过程产生大量的菌体蛋白,将无机氮源转化成能够被动物消化利用的蛋白质类。

### 3 结论

本试验以啤酒糟和苹果渣复合基质为主要原料,利用黑曲霉、里氏木霉和产阮假丝酵母混合菌株对发酵基质进行协同处理,对其最适菌种配伍、原料配比和发酵工艺参数进行了优化,并以瘦管羊为模型,采用尼龙袋法测定了发酵饲料的消化性能,对发酵饲料进行了营养价值评定,结合扫描电子显微镜技术对发酵基质发酵前后结构进行了表征,进一步揭示了微生物在发酵过程中对纤维素降解作用和利用发酵基质进行生长代谢产生高蛋白菌体饲料的本质。

① 以啤酒糟和苹果渣(m:m=1:1)为发酵基质,接种8%的里氏木霉、黑曲霉和产阮假丝酵母(1:1:1)混合发酵菌剂,调整初始含水率为60%,在35℃下发酵48h。相较发酵基质,发酵后饲料中粗蛋白含量从27.87%提高到37.49%,酸性洗涤纤维含量从50.36%降低到38.81%,中性洗涤纤维从71.55%降低到65.05%。

② 发酵饲料的品质评定结果表明,发酵饲料表面有白色微生物菌丝生长,干燥后手感松散,无结块,发黄,伴有淡淡的酸香味和苹果醇香味。结合瘦管羊尼龙袋消化试验结果显示发酵后极大改善了饲料的纤维化,提升了饲料品质,动物适口性得到了有效改善。

③ 扫描电子显微镜技术扫描结果表明,微生物发

酵技术在改善糟渣类物质结构,高效利用糟渣类物质生产菌体蛋白饲料方面具有很大的优势和应用前景。

### 参考文献

- [1] 赵芸君,刘娜娜,王培基,等.我国利用糟渣类资源生产蛋白饲料的研究进展[J].草食家畜,2009,04:51-54.
- [2] 钟荣珍,房义.糟渣类饲料的开发现状和在动物生产中的应用[J].饲料工业,2010,01:44-48.
- [3] 黄浩,徐萍,申跃宇,等.糟渣类副产品饲料在奶牛日粮中的应用[J].饲料研究,2010,08:60-63.
- [4] 崔耀明,董晓芳,佟建明.我国食品及制造业糟渣类饲料资源的应用[J].动物营养学报,2014,26(7):1728-1737
- [5] 刘策,曹清明,刁其玉,等.固态发酵技术在糟渣类副产品的应用研究进展[J].粮食与饲料工业,2013,12:42-45.
- [6] 雷恒,王慧丽,郝薇,等.利用物理化学参数评价糟渣类副产品的饲料特性[J].饲料工业,2014,07:20-25.
- [7] 程辉,孟凡智,李发生,等.酒糟菌体蛋白饲料的生产工艺及其饲喂效果研究[J].饲料研究,2001,08:7-8.
- [8] 陈学林,李浩,张余盛.酒糟菌体蛋白饲料的开发与研究[J].饲料研究,1994,10:7-9.
- [9] 余有贵,曾传广,贺建华.白酒糟开发蛋白质饲料的研究进展[J].中国饲料,2007,01:12-15.
- [10] 庄童琳,李虎,郭凤霞,等.黑曲霉固态混菌发酵苹果渣生产多酶生物饲料[J].食品工业科技,2010,12:171-175.
- [11] 李义海,黄坤勇.苹果渣的营养成分及在饲料中的应用[J].饲料与畜牧,2011,02:35-37.
- [12] 王来娣,邵丹.苹果渣作为饲料资源的开发与利用[J].中国饲料,2012,03:43-45.
- [13] 陈建军,曹香林,雷梦云,等.苹果渣发酵生产蛋白饲料及鲤鱼离体消化研究[J].饲料研究,2013,01:70-74.
- [14] 张吉鹏.饲料间的组合效应及其在配方设计中的应用[J].草业科学,2009,12:113-117.

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)