

引用格式:

李成舰, 蒋雪, 杨大盛, 谭支良, 汤少勋, 黄春花. 混菌发酵对杏鲍菇菌糠营养成分及其体外瘤胃发酵的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(4): 443–448.

LI C J, JIANG X, YANG D S, TAN Z L, TANG S X, HUANG C H. Effect of mixed culture fermentation on nutritional components and in vitro rumen fermentation of *Pleurotus eryngii* residue[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2020, 46(4): 443–448.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



混菌发酵对杏鲍菇菌糠营养成分及其体外瘤胃发酵的影响

李成舰^{1,2,3,4,5}, 蒋雪³, 杨大盛³, 谭支良³, 汤少勋^{3*}, 黄春花^{1,2}

(1.邵阳学院药学院, 湖南 邵阳 422000; 2.湘西南中药开发利用湖南省工程研究中心, 湖南 邵阳 422000; 3.中国科学院亚热带农业生态研究所, 湖南 长沙 410125; 4.湖南环境生物职业技术学院医药技术学院, 湖南 衡阳 421005; 5.永州职业技术学院药学院, 湖南 永州 425100)

摘要:为提高杏鲍菇菌糠的饲用营养品质,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计,将长枝木霉(5×10^3 、 5×10^4 、 5×10^5 cfu/g)、枯草芽孢杆菌(5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 cfu/g)、酿酒酵母(5×10^6 、 5×10^7 、 5×10^8 cfu/g)和杰丁毕赤酵母(5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 cfu/g)进行组合接种到杏鲍菇菌糠中,分别记为a、b、c、d、e、f、g、h、i,以不加菌为对照组,密封发酵144 h,检测发酵菌糠的各营养指标;然后以该发酵菌糠为底物,体外模拟瘤胃发酵48 h,检测菌糠的瘤胃发酵特征指标。结果表明:与对照组相比,混菌发酵显著增加了a、c、d、f、g、h、i组的粗蛋白质量分数和a、b、c、d、f、h组的粗脂肪质量分数;显著减少了d组的中性洗涤纤维质量分数和a、d组的酸性洗涤纤维质量分数;4种微生物对混菌发酵都有一定的影响,其中枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、杰丁毕赤酵母的影响显著;混菌发酵对杏鲍菇菌糠的瘤胃发酵特征指标无显著影响;菌种最优组合配方为长枝木霉菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、杰丁毕赤酵母分别为 5×10^4 、 5×10^5 、 5×10^7 、 5×10^7 cfu/g。

关键词: 杏鲍菇菌糠; 混菌发酵; 营养成分; 山羊瘤胃液发酵

中图分类号: S816.6 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2020)04-0443-06

Effect of mixed culture fermentation on nutritional components and in vitro rumen fermentation of *Pleurotus eryngii* residue

LI Chengjian^{1,2,3,4,5}, JIANG Xue³, YANG Dasheng³, TAN Zhiliang³, TANG Shaoxun^{3*}, HUANG Chunhua^{1,2}

(1.School of Pharmacy, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China; 2.Southwest Hunan Research Center of Engineering for Development and Utilization of Traditional Chinese Medicine, Shaoyang, Hunan 422000, China; 3.Institute of Subtropical Agriculture, the Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 4.College of Medicine & Technology, Hunan Polytechnic of Environment and Biology, Hengyang, Hunan 421005, China; 5.Department of Pharmacy, Yongzhou Vocational Technical College, Yongzhou, Hunan 425100, China)

Abstract: Mixed culture fermentation were used in this experiment to investigate new methods for improving the quality of nutrition of *Pleurotus eryngii* residue as a feed. A $L_9(3^4)$ orthogonal design was used for this experiment: *Trichoderma longicornis*(5×10^3 , 5×10^4 , 5×10^5 cfu/g), *Bacillus subtilis*(5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 cfu/g), *Saccharomyces cerevisiae*(5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 cfu/g), and *Pichia jadinii*(5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 cfu/g) were inoculated into the *Pleurotus eryngii* residue, recorded as a, b, c, d, e, f, g, h, and i, respectively; and a control group(without microorganisms). The indicators of

收稿日期: 2020-04-13

修回日期: 2020-06-15

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0501604); 湖南省科技重大专项(2017NK1020); 湖南省教育厅科学研究项目(12C1060); 永州市科技创新指导性计划项目(2018ZD59)

作者简介: 李成舰(1974—), 男, 湖南衡阳人, 博士, 副主任药师, 主要从事药用植物功能成分研究, 413874272@qq.com; *通信作者, 汤少勋, 博士, 副研究员, 主要从事反刍动物营养研究, sxtang@isa.ac.cn

nutrients in the *Pleurotus eryngii* residue were detected after 144 hours' continuous fermentation in an anaerobic environment; then followed by a simulated rumen fermentation in vitro for 48 hours before the indexes collected. The result of the experiments had shown that, compared to the control group, the mixed culture fermentation increased significantly the crude protein mass fractions of the a, c, d, f, g, h, i treatment groups and the crude fat mass fractions of the a, b, c, d, f, h treatment groups; and reduced significantly the neutral detergent fiber mass fractions of the d treatment group and the acid detergent fiber mass fractions of the a, d treatment groups. The four microorganisms all played roles to affect the effects in the process, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia jadinii* played significant roles especially. The mixed culture fermentation did not affect significantly the rumen fermentation of *Pleurotus eryngii* residue. According to the analysis, the optimum treatment was that the inoculation levels of *Trichoderma longicornis*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia jadinii* were 5×10^4 , 5×10^5 , 5×10^7 , 5×10^7 cfu/g, respectively.

Keywords: *Pleurotus eryngii* residue; mixed culture fermentation; nutritional components; goat's rumen fluid fermentation

杏鲍菇菌糠是杏鲍菇子实体采收后废弃的固体培养基,以棉籽壳、木屑、稻草、玉米芯等为主要原料。食用菌子实体采收后,菌糠中还残留了菌类代谢产物、次生产物及栽培料分解代谢残留物、未形成子实体的菌丝残体等,这些残留物中含有丰富的蛋白质、氨基酸、矿质元素等营养物质^[1-2]。目前,菌糠主要堆积为肥料或焚烧,不仅浪费资源,且污染环境;另一方面,随着草食动物产业的持续发展,对粗饲料的需求也日益增长;因此,开发食用菌菌糠饲料不仅具有良好的生态效应,还能扩大粗纤维饲料的来源,促进食用菌产业的可持续发展^[3]。

预试验结果表明:杏鲍菇菌糠中的粗蛋白质质量分数达 13.61%,具有很好的饲用潜力;但中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维质量分数分别达 63.45%、48.47%,导致其饲用性能较差,影响动物对营养物质的消化和吸收;因此,降低纤维素是杏鲍菇菌糠饲料化的关键要素。

目前,采用微生物发酵降解菌糠中的纤维素应用广泛^[4-7]。长枝木霉能产生多种生物活性的酶,在饲料产业中常用来酶解粗饲料^[8]。枯草芽孢杆菌能产生多种酶,促进纤维素、淀粉等营养素水解为糖类,常用于含有较多纤维素的饲料原料发酵^[9-10]。杨荣玲等^[11]采用枯草芽孢杆菌、酿酒酵母菌、乳酸杆菌以 3 2 1 的接种量比例混合接种到双孢菇菌糠中固态发酵,粗蛋白质质量分数由原来的 12.74% 增加到 22.05%,粗脂肪质量分数由原来的 8.88% 增加到 11.14%。徐洪等^[12]用灵芝菌与酿酒酵母分 2 阶段发酵杏鲍菇菌糠,产物中蛋白和粗多糖质量分数分别提高了 68.54% 和 132.12%,酿酒酵母在发酵过程中产生浓郁的酒香味,可以改善菌糠的适口性。杰

丁毕赤酵母可利用纤维素水解液等生成蛋白质,提升饲料产品的营养价值,是生产饲料用单细胞蛋白的优良菌种^[13]。

已有发酵菌糠作为饲料的少量报道^[14-15],但大多限于发酵工艺条件等方面的研究。菌糠作为饲料在养殖场也还只是尝试应用,大多数只是将菌糠作为原料的部分替代品;而作为反刍动物饲料的杏鲍菇菌糠的混菌发酵研究尚且少见。根据已有文献资料^[8-10,13,16]、前期研究基础^[5-7]、菌种使用说明及预试验结果,本研究中,选择长枝木霉、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、杰丁毕赤酵母作为混菌发酵的菌种,将这 4 种微生物接种到杏鲍菇菌糠中,探索这些菌种混合发酵菌糠时对菌糠营养成分的影响,及混菌发酵后的菌糠再进行体外模拟瘤胃发酵的特征,优选混菌发酵杏鲍菇菌糠的菌种配方,旨在为杏鲍菇菌糠作为反刍动物饲料的推广应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 杏鲍菇菌糠

鲜杏鲍菇菌糠由湖南某公司提供,含水量 56%,其干物质原料棉籽壳、木屑、稻草、玉米芯、麸皮、玉米粉、轻质碳酸钙、石膏粉、豆粕、其他成分的质量分数分别为 20%、20%、8%、18%、18%、4%、2%、1%、8%、1%。

1.1.2 菌种

长枝木霉(CICC R 40852)、枯草芽孢杆菌(CICC R 1421)、酿酒酵母(CICC 10090)、杰丁毕赤酵母(CICC 1320)均购自中国工业微生物菌种保藏

管理中心。按照菌种使用说明书和菌种培养通用要求,配制 4 种菌种的培养基(马铃薯葡萄糖琼脂培养基、麦芽汁琼脂培养基、麦芽汁琼脂培养基、营养肉汤培养基),活化菌种并培养增殖;平板计数后,分别用双蒸水将微生物稀释为试验所需的浓度梯度,置于三角瓶中备用。

1.1.3 供体动物

参照杨大盛等^[7]的研究,选用 3 头成年去势、体况良好并装有永久性瘤胃瘘管的浏阳黑山羊作为瘤胃液供体动物。

1.1.4 主要仪器设备

气相色谱仪(7890A, Agilent);高效液相色谱仪(1260, Agilent);索氏抽提仪(Sox 402, 桂宁(上海)实验器材有限公司);全自动纤维仪(Gerhardt FT-12, 中国格哈特分析仪器有限公司);高速氨基酸分析仪(L-8900, 上海天美科学仪器有限公司);pH 计(REX, PHS-3C, 上海仪器设备厂)。

1.2 试验设计

1.2.1 混菌发酵

试验于 2017 年 3 月到 2018 年 12 月在中国科学院亚热带农业生态研究所完成。选择长枝木霉浓度(A)、枯草芽孢杆菌浓度(B)、酿酒酵母浓度(C)、杰丁毕赤酵母浓度(D)进行 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 的正交试验,9 组分别记为 a、b、c、d、e、f、g、h、i,因素水平列于表 1。另设对照组(不加菌种,其余处理过程相同,CK)。共 10 组,每组重复 4 次。取新鲜杏鲍菇菌糠 96 g,按照表 1 中浓度的 100 倍分别加入 4 种菌液各 1 mL,充分搅拌混合均匀,配制成 100 g 含水 60%的发酵体系;置于 30 °C 恒温箱中密封静态持续发酵 144 h。发酵完成后,检测干物质(DM)、粗蛋白(CP)、粗脂肪(CF)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)及氨基酸(AA)质量分数。

表 1 正交试验因素与水平

| Table 1 The orthogonal factor and level cfu/g | | | | |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 水平 | 长枝木霉 浓度(A) | 枯草芽孢杆菌 浓度(B) | 酿酒酵母 浓度(C) | 杰丁毕赤酵母 浓度(D) |
| 1 | 5×10^3 | 5×10^5 | 5×10^6 | 5×10^5 |
| 2 | 5×10^4 | 5×10^6 | 5×10^7 | 5×10^6 |
| 3 | 5×10^5 | 5×10^7 | 5×10^8 | 5×10^7 |

1.2.2 体外模拟瘤胃发酵

参照杨大盛等^[7]的方法进行体外模拟瘤胃发酵。将混菌发酵完成后的产物取出,于 65 °C 烘干,并分别粉碎过孔径 0.425 mm 的筛网,预留部分用于常规营养成分指标测定,再精确称取 0.6 g 作为发酵底物,并置于 150 mL 发酵瓶中。将配制好的 2.4 L 人工瘤胃缓冲液(含 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 NaHCO_3 、 NH_4HCO_3 分别为 8.168 4、3.516、0.340 8、19.92、2.28 g,于试验当天再加入 0.33 mL/L 的 0.1% 刃天青)置于恒温磁力搅拌器上加热,使其温度保持在 39.5 °C,通入二氧化碳并保持厌氧环境 2 h 以上。通过瘤胃瘘管采集晨饲前山羊的新鲜瘤胃液于保温杯中,用 6 层纱布迅速过滤;量取 600 mL 滤液,加入到准备好的 2.4 L 人工瘤胃缓冲液中,恒温 39.5 °C 下搅拌混合均匀。取 60 mL 混合溶液,加入到已预热的发酵瓶(含发酵底物 0.6 g)中,于恒温 39.5 °C 的振荡水浴锅(振荡频率 50 r/min)中,体外模拟瘤胃厌氧持续发酵 48 h。发酵完成后,检测 pH 值、干物质消失率、氨态氮及挥发性脂肪酸(VFA)浓度。

1.3 指标测定方法

参照文献^[17]中的常规测定方法检测营养成分指标。采用烘干法测定 DM 质量分数;采用凯氏定氮法测定 CP 质量分数;采用索氏抽提法测定 CF 质量分数;利用全自动纤维测定仪(滤袋法)测定 NDF、ADF 质量分数;利用高速氨基酸分析仪(样品预处理参照 GB/T18246—2000)测定氨基酸质量分数,并计算总氨基酸(TAA)、必需氨基酸(EAA)、非必需氨基酸(NEAA)质量分数及必需氨基酸与非必需氨基酸的质量分数比(EAA/NEAA)。

参照杨大盛等^[7]的方法检测瘤胃发酵特征指标。体外模拟瘤胃发酵后,用 pH 计测定发酵瓶中发酵液的 pH;发酵液经纱布抽滤后,滤渣在 105 °C 烘箱中烘 8 h,测定干物质质量分数,并计算干物质消失率;取 2 mL 发酵液离心 10 min (12 000 r/min, 4 °C),再取 1 mL 上清液,加入 0.1 mL 25% 偏磷酸固定,静置 15 min 后于 -20 °C 保存,用于测定 VFA 和氨态氮浓度。采用比色法^[18]测定氨态氮

浓度；参照 WANG 等^[19]的方法测定 VFA 浓度，并计算总挥发性脂肪酸浓度及乙酸和丙酸的浓度比(以下简称乙丙比)。

1.4 数据处理

利用 Excel 2013 整理试验数据，采用多指标试验全概率评分法^[20]进行数据处理，分别对 2 个发酵阶段的试验指标进行加权综合评分，得到 2 个总的综合评分值 $P_{总1}$ 和 $P_{总2}$ ；运用 SPSS 18.0 进行极差分析和方差分析，组间差异有统计学意义时，用 Duncan 法进行多重比较检验。

表 2 混菌发酵处理的杏鲍菇菌糠中营养成分的质量分数

| 组别 | CP | NDF | DM | CF | ADF | TAA | EAA | NEAA | EAA/NEAA |
|----|----------------|---------------|------------|---------------|-----------------|----------------|-----------|-----------|----------------|
| CK | (13.99±1.52)c | (62.21±0.67)b | 96.83±2.47 | (1.36±0.26)c | (47.34±0.77)c | (9.87±0.60)a | 3.67±0.02 | 5.18±0.04 | (0.708±0.005)a |
| a | (14.70±0.85)ab | (59.20±1.52)b | 96.85±1.92 | (1.73±0.17)ab | (43.51±0.84)ab | (9.63±1.35)ab | 3.45±0.07 | 5.15±0.07 | (0.670±0.005)b |
| b | (14.30±2.36)bc | (60.96±1.04)b | 96.94±0.83 | (1.97±0.18)ab | (45.63±4.34)abc | (9.28±0.34)abc | 3.30±0.07 | 5.02±0.08 | (0.656±0.005)b |
| c | (14.46±1.31)ab | (62.27±0.95)b | 96.87±0.37 | (1.89±0.14)ab | (48.97±1.62)c | (9.45±0.66)abc | 3.36±0.15 | 5.11±0.15 | (0.656±0.010)b |
| d | (14.74±1.84)ab | (53.89±0.46)a | 96.94±0.37 | (2.22±0.28)a | (43.03±1.42)a | (9.50±0.55)abc | 3.41±0.18 | 5.11±0.03 | (0.668±0.002)b |
| e | (13.97±1.66)bc | (59.79±0.58)b | 97.10±2.20 | (1.50±0.03)bc | (48.41±1.40)c | (8.93±0.17)c | 3.16±0.08 | 4.83±0.08 | (0.655±0.008)b |
| f | (14.49±1.37)ab | (59.93±1.03)b | 97.27±0.93 | (1.74±0.25)ab | (49.58±0.92)c | (9.58±0.18)abc | 3.48±0.12 | 5.14±0.08 | (0.677±0.019)b |
| g | (14.51±0.89)ab | (61.05±1.21)b | 96.88±1.99 | (1.34±0.23)c | (47.58±1.08)c | (9.77±0.12)a | 3.48±0.03 | 5.31±0.08 | (0.657±0.005)b |
| h | (14.86±1.20)a | (59.41±0.79)b | 97.13±0.34 | (2.03±0.14)ab | (45.72±0.99)abc | (9.62±0.26)ab | 3.43±0.08 | 5.22±0.16 | (0.657±0.005)b |
| i | (14.49±1.78)ab | (60.21±1.13)b | 96.85±1.80 | (1.40±0.45)bc | (46.96±0.85)abc | (8.96±0.35)bc | 3.21±0.17 | 4.88±0.15 | (0.657±0.022)b |

同列数据后不同字母示组间差异显著($P < 0.05$)。

2.1.2 混菌发酵菌种配方的优选

由表 3 可知，以 $P_{总1}$ 作为评价指标， R 表明 B、C、D、A 对杏鲍菇菌糠发酵的影响依次降低； k 表

表 3 正交试验混菌发酵处理的杏鲍菇菌糠各营养成分含量的综合评分及其分析结果

| 组别 | A | B | C | D | $P_{总1}$ |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------|
| a | 5×10^3 | 5×10^5 | 5×10^6 | 5×10^5 | 0.143 3 |
| b | 5×10^3 | 5×10^6 | 5×10^7 | 5×10^6 | 0.107 6 |
| c | 5×10^3 | 5×10^7 | 5×10^8 | 5×10^7 | 0.072 0 |
| d | 5×10^4 | 5×10^5 | 5×10^7 | 5×10^7 | 0.187 6 |
| e | 5×10^4 | 5×10^6 | 5×10^8 | 5×10^5 | 0.092 3 |
| f | 5×10^4 | 5×10^7 | 5×10^6 | 5×10^6 | 0.086 2 |
| g | 5×10^5 | 5×10^5 | 5×10^8 | 5×10^6 | 0.089 6 |
| h | 5×10^5 | 5×10^6 | 5×10^6 | 5×10^7 | 0.121 4 |
| i | 5×10^5 | 5×10^7 | 5×10^7 | 5×10^5 | 0.100 0 |
| k_1 | 0.322 9 | 0.420 5 | 0.350 9 | 0.335 6 | |
| k_2 | 0.366 2 | 0.321 4 | 0.395 2 | 0.283 4 | |
| k_3 | 0.310 9 | 0.258 2 | 0.253 8 | 0.381 0 | |
| R | 0.055 2 | 0.162 3 | 0.141 4 | 0.097 6 | |

2 结果与分析

2.1 混菌发酵对杏鲍菇菌糠营养成分的影响及菌种配方的优化组合

2.1.1 混菌发酵对杏鲍菇菌糠营养成分的影响

由表 2 可知，与 CK 相比，混菌发酵 a、c、d、f、g、h、i 组的 CP 质量分数显著增加；d 处理组的 NDF 质量分数显著减少；a、b、c、d、f、h 组的 CF 质量分数显著增加；a、d 组的 ADF 质量分数显著减少；e、i 组的 TAA 显著减少；所有处理组的 EAA/NEAA 显著减少。

明最优组合为 $A_2B_1C_2D_3$ 。由表 4 可知，B($P=0.004$)与 C($P=0.005$)在杏鲍菇菌糠混菌发酵中具有极显著意义；D 具有显著意义($P=0.021$)；A 具有一定程度的影响($P=0.062$)。

表 4 杏鲍菇菌糠混菌发酵正交试验的方差分析

| 变异来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F | P |
|------|------------------------|-----|------------------------|-------|-------|
| A | 1.404×10^{-3} | 2 | 7.020×10^{-4} | 3.088 | 0.062 |
| B | 3.196×10^{-3} | 2 | 1.598×10^{-3} | 7.027 | 0.004 |
| C | 2.954×10^{-3} | 2 | 1.477×10^{-3} | 6.495 | 0.005 |
| D | 2.027×10^{-3} | 2 | 1.013×10^{-3} | 4.457 | 0.021 |
| 误差 | 6.139×10^{-3} | 27 | 2.274×10^{-4} | | |
| 总计 | 0.460 | 36 | | | |

2.2 混菌发酵对体外模拟瘤胃发酵的影响

由表 5 可知，在体外模拟瘤胃发酵试验中，干物质消失率、氨态氮、总挥发性脂肪酸浓度、乙丙比、pH 值在各组间的差异均无统计学意义。

表 5 杏鲍菇菌糠模拟瘤胃发酵的特征指标浓度

Table 5 The contentsrations of the simulated rumen fermentation characteristics indexes of *Pleurotus eryngii* residue treated by the mixed culture fermentation

| 组别 | 干物质消失率/(g·kg ⁻¹) | 氮氮/(mg·L ⁻¹) | 总挥发性脂肪酸/(mmol·L ⁻¹) | 乙丙比 | pH | <i>P</i> 值 |
|----|------------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------|-----------|------------|
| CK | 298.29±11.39 | 225.73±7.22 | 24.62±0.13 | 3.29±0.31 | 6.91±0.01 | 0.113 7 |
| a | 302.43±61.34 | 231.68±7.04 | 28.28±1.78 | 3.35±0.04 | 6.96±0.07 | 0.107 2 |
| b | 284.83±15.66 | 234.22±9.03 | 24.66±0.03 | 3.25±0.15 | 6.93±0.05 | 0.111 9 |
| c | 276.18±17.05 | 221.19±14.96 | 26.16±1.66 | 3.12±0.07 | 6.95±0.06 | 0.109 9 |
| d | 254.18±78.00 | 225.69±13.07 | 28.05±1.26 | 3.15±0.18 | 6.95±0.06 | 0.118 6 |
| e | 270.93±25.98 | 213.81±17.03 | 26.22±2.54 | 3.19±0.08 | 7.01±0.08 | 0.108 5 |
| f | 281.71±20.35 | 230.38±9.72 | 28.85±1.43 | 3.19±0.09 | 6.92±0.07 | 0.114 2 |
| g | 254.51±27.26 | 224.66±13.97 | 25.76±3.32 | 3.08±0.19 | 7.03±0.08 | 0.105 9 |
| h | 287.69±6.49 | 221.66±15.37 | 25.94±2.40 | 3.09±0.12 | 6.99±0.06 | 0.111 7 |
| i | 289.01±24.86 | 221.11±1.83 | 27.00±2.55 | 2.86±0.22 | 6.99±0.08 | 0.112 0 |

3 结论与讨论

杨荣玲等^[11]的研究结果显示,混菌发酵后的双孢菇菌糠的粗蛋白质量分数由原来的 12.74% 增加到 22.05%, 其发酵产品烘干后即可用于饲料原料; 李佳腾等^[21]的研究结果表明,混菌发酵可增加粗蛋白和粗脂肪的质量分数; 陆亚珍等^[22]研究表明,发酵后杏鲍菇菌糠的粗蛋白质量分数达 13.41%, 可替代 50% 常规饲料作羊的日粮。本研究中,混菌发酵能显著增加大多数处理组的粗蛋白(b、e 除外)和粗脂肪(e、g、i 除外)的质量分数,显著降低 d 组的中性洗涤纤维质量分数和 a、d 组的酸性洗涤纤维质量分数,这与前人的研究结果基本一致^[11,21-22]。其原因一方面可能是微生物在发酵过程中迅速增殖,菌体蛋白增多; 另一方面可能是杰丁毕赤酵母等微生物利用纤维素水解产生的糖类合成成人畜可食用的蛋白质^[13]和脂肪^[21]。

本研究中,混菌发酵显著减少了 e、i 组中总氨基酸质量分数和所有处理组的 EAA/NEAA, 这与李佳腾等^[21]的研究结果(混菌发酵增加杏鲍菇菌糠中氨基酸的质量分数)不同。本研究结果显示,混菌发酵显著增加了除 b、e 外的其他处理组中粗蛋白的质量分数,故推测其原因可能是微生物利用这些氨基酸合成蛋白质所致。

微生物分解饲料蛋白质等营养物质,产生乙酸、丙酸等挥发性脂肪酸成分,为微生物生长和宿主动物提供所需的养分和能量; 合成的菌体蛋白是反刍动物所需的各种氨基酸的主要来源^[13]。本研究中,混菌发酵对体外模拟瘤胃发酵特征各项指标均未有显著影响; 乙丙比为 2.86~3.36, 表明产生乙酸的比例较高。李佳腾等^[21]的研究结果显示,体外瘤胃发酵产生了较多的乳酸,导致 pH 值、挥发性脂肪酸等都小于对照组。本研究与前人的研究结果不同,其原因可能是菌种中未包含乳酸菌所致。

本研究体外模拟瘤胃发酵试验结果表明,所有组间差异均无统计学意义,表明混菌发酵对杏鲍菇菌糠体外模拟瘤胃发酵特征无显著影响,因此,菌种最优组合配方应由前一阶段试验的结果决定。纤维素质量分数过高,影响反刍动物对营养的消化吸收,降低原料中纤维素质量分数是杏鲍菇菌糠饲料化的决定性因素。本研究混菌发酵试验结果表明, d 组的中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的质量分数都最低,粗脂肪质量分数最高,粗蛋白的质量分数略次于 h 组,各个指标的综合评分最高; 混菌发酵正交试验结果表明,最优组合为 A₂B₁C₂D₃, 也正好是 d 组; 因此,确定混菌发酵最优组合的菌种配方为长枝木霉菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、杰丁毕赤酵母分别为 5×10⁴、5×10⁵、5×10⁷、5×10⁷ cfu/g。

参考文献:

- [1] 班雯婷, 陈瑞荣, 康佩姿, 等. 食用菌菌糠饲料研究概述[J]. 轻工科技, 2015, 31(8): 21-23.
BAN W T, CHEN R R, KANG P Z, et al. Overview of study on feed of edible fungi substrates[J]. Light Industry Science and Technology, 2015, 31(8): 21-23.
- [2] 李志涛, 林冬梅. 菌糠发酵饲料开发应用研究[J]. 畜牧与兽医, 2015, 47(9): 119-121.
LI Z T, LIN D M. Study on the development and application of substrates fermentation feed[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 47(9): 119-121.
- [3] 赵晓丽, 陈智毅, 刘学铭. 菌糠的高效利用研究进展[J]. 中国食用菌, 2012, 31(2): 1-3.
ZHAO X L, CHEN Z Y, LIU X M. Research process on the efficient utilization of edible fungi substrates[J]. Edible Fungi of China, 2012, 31(2): 1-3.
- [4] 邹知明, 游纯波, 苏和奇. 微生态制剂发酵平菇菌糠饲养家兔的研究[J]. 饲料研究, 2013(4): 12-15.
ZOU Z M, YOU C B, SU H Q. Study of probiotics fermentation on *Pleurotus ostreatus* substrates on the breeding of rabbits[J]. Feed Research, 2013(4): 12-15.
- [5] 文江南, 张秀敏, 王敏, 等. 平菇处理小麦和水稻秸秆对纤维成分和体外瘤胃发酵特征的影响[J]. 动物营

- 养学报, 2019, 31(2): 892-899.
WEN J N, ZHANG X M, WANG M, et al. Effects of *Pleurotus ostreatus* treatment of wheat and rice straw on fiber composition and in vitro rumen fermentation characteristics[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(2): 892-899.
- [6] 王祚, 周传社, 汤少勋, 等. 两种酵母对奶牛瘤胃体外发酵特性的影响[J]. 农业现代化研究, 2014, 35(2): 218-224.
WANG Z, ZHOU C S, TANG S X, et al. Effects of two sources of active yeast on in vitro fermentation characteristics in dairy cows[J]. Research of Agricultural Modernization, 2014, 35(2): 218-224.
- [7] 杨大盛, 汪水平, 韩雪峰, 等. 乳酸菌和烷基多糖苷对玉米秸秆黄贮品质及其体外发酵特性影响研究[J]. 草业学报, 2019, 28(5): 109-120.
YANG D S, WANG S P, HAN X F, et al. Effects of lactic acid bacteria and alkyl polyglycoside on yellow corn stover silage quality and fermentation in vitro[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(5): 109-120.
- [8] 任颢珂, 陈莉, 卢红梅, 等. 多菌种混合固态发酵秸秆的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(7): 130-134.
REN X K, CHEN L, LU H M, et al. Study on the solid state fermentation of straw with multiple strains[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(7): 130-134.
- [9] 张少骅. 枯草芽孢杆菌液体发酵条件优化及其在玉米种植上的应用研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2019.
ZHANG S H. Optimization of liquid fermentation conditions of *Bacillus subtilis* and its application in corn planting[D]. Linfen, China: Shanxi Normal University, 2019.
- [10] 吴小平. 食用菌致病木霉的鉴定、致病机理及防治研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
WU X P. Identification, pathogenic mechanism and control of *Trichoderma* spp. isolated from edible fungi[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008.
- [11] 杨荣玲, 王一倩, 赵祥杰, 等. 微生物发酵对双孢菇菌糠品质的影响研究[J]. 淮阴工学院学报, 2017, 26(5): 41-45.
YANG R L, WANG Y Q, ZHAO X J, et al. Influence of microorganism fermentation on quality of spent mushroom compost of *Agaricus bisporus*[J]. Journal of Huaiyin Institute of Technology, 2017, 26(5): 41-45.
- [12] 徐溟, 王红莲, 周群兰, 等. 微生物分步发酵法制备功能性高蛋白菌糠饲料的研究[J]. 饲料工业, 2015, 36(10): 47-52.
XU H, WANG H L, ZHOU Q L, et al. Studies on the preparation of functional and high protein feeds from mushroom bran by the stepwise fermentation[J]. Feed Industry, 2015, 36(10): 47-52.
- [13] 侯进. 酿酒酵母辅酶工程——辅酶扰动对木糖或葡萄糖代谢流的影响的研究[D]. 济南: 山东大学, 2009.
HOU J. Cofactor engineering in *Saccharomyces cerevisiae*: impact of redox cofactor perturbations on glucose or xylose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*[D]. Jinan: Shandong University, 2009.
- [14] 敬红文, 桑断疾, 陈宝江, 等. 阿魏菇菌糠饲料用于绵羊育肥、山羊维持的饲养试验[J]. 草食家畜, 2011(3): 39-41.
JING H W, SANG D J, CHEN B J, et al. An experiment about feeding sheep and goats with fungi culture matter of *Pleurotus ferulae*[J]. Grass-Feeding Livestock, 2011(3): 39-41.
- [15] 刘多才. 菌糠饲料在奶牛养殖中的应用研究[J]. 饲料工业, 2011, 32(7): 52-53.
LIU D C. Study of substrates feed on the application in dairy cattle feeding[J]. Feed Industry, 2011, 32(7): 52-53.
- [16] 钱潘攀, 李红波, 赵岩岩, 等. 双效型酵母细胞壁提取物及其对黄曲霉毒素B1吸附特性研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 25-29.
QIAN P P, LI H B, ZHAO Y Y, et al. Double function yeast cell-wall extract and its capability of adsorbing aflatoxin B1[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(15): 25-29.
- [17] 陈桂银. 饲料分析与检测[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008.
CHEN G Y. Feed Analysis and Detection[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2008.
- [18] 郭冬生, 彭小兰. 日粮组合效应对瘤胃发酵参数的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2011, 37(4): 419-424.
GUO D S, PENG X L. Associative effects of ruminant mixed feeds on the fermentation of rumen[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2011, 37(4): 419-424.
- [19] WANG M, SUN X Z, JANSSEN P H, et al. Responses of methane production and fermentation pathways to the increased dissolved hydrogen concentration generated by eight substrates in in vitro ruminal cultures[J]. Animal Feed Science and Technology, 2014, 194: 1-11.
- [20] 牛晓静, 张文鑫, 段晓颖, 等. 多指标全概率评分法优选参芪益气胶囊醇提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(18): 26-29.
NIU X J, ZHANG W X, DUAN X Y, et al. Optimization of extraction process of Shenqi Yiqi capsules by multi-index test breakdown formula evaluation[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2014, 20(18): 26-29.
- [21] 李佳腾, 杨凡提, 王世康, 等. 混菌发酵杏鲍菇菌糠饲用品质与安全性分析[J]. 家畜生态学报, 2019, 40(6): 26-32.
LI J T, YANG F T, WANG S K, et al. Analysis of feeding quality and safety of mixed microorganism fermentation of *Pleurotus eryngii* spent mushroom substrate[J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2019, 40(6): 26-32.
- [22] 陆亚珍, 王恒昌, 申远航, 等. 杏鲍菇菌糠的营养价值评价及其在羊日粮中的应用效果[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(3): 117-118.
LU Y Z, WANG H C, SHEN Y H, et al. Nutritional value evaluation of *Pleurotus eryngii* bran and its application effects in the diet of goat and sheep[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(3): 117-118.

责任编辑: 邹慧玲

英文编辑: 柳正