

# 乳酸菌和纤维素酶对全株玉米青贮发酵品质和微生物菌落的影响

兴丽<sup>1</sup> 韩鲁佳<sup>1</sup> 刘贤<sup>1</sup> 蔡义民<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学工学院,北京 100083; 2. 日本畜产草地研究所,栃木县那须郡 329 - 2793)

**摘要** 为探讨生物性添加剂对青贮饲料发酵品质及微生物菌落变化的影响,以乳熟期全株玉米为试验材料,分别添加乳酸菌或和纤维素酶制剂进行青贮。试验用 30 cm ×20 cm 聚乙烯袋,抽成真空后,室温下青贮 60 d。结果表明,各处理对青贮料的乳酸和乙酸含量均无显著影响( $P>0.05$ ),但使丙酸质量分数分别下降 100%,35.48%和 100%,各处理组中均不含丁酸,同时 pH 均在 4.0 以下,达到了优质青贮饲料的标准。添加乳酸菌后 ADF 和 CF 的质量分数分别下降 1.85%和 2.09%。纤维素酶的添加使 ADF 和 NDF 的质量分数分别下降 6.09%和 5.28%;混合处理组中 ADF 质量分数下降 4.49%,ADL 质量分数下降 8.51%,与对照组相比差异均显著( $P<0.05$ )。纤维素酶与混合处理组均使氨态氮与总氮质量比下降 18.8%。除乳酸菌处理组外,其他处理并没有提高乳酸菌数量,但大幅度减少了有害微生物数量。青贮过程中添加微生物制剂能明显改善青贮饲料的发酵品质。

**关键词** 全株玉米;青贮;乳酸菌;纤维素酶;微生物菌落;发酵品质

中图分类号 S 816.53

文章编号 1007-4333(2004)05-0038-04

文献标识码 A

## Effects of lactobacillus and cellulase on the fermentation characteristics and microorganism of whole-plant corn silage

Xing Li<sup>1</sup>, Han Lujia<sup>1</sup>, Liu Xian<sup>1</sup>, Cai Yimin<sup>2</sup>

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. National Institute of Livestock and Grassland Science, Nishinasuno, Tochigi, 329 - 2793, Japan)

**Abstract** In order to ensure the better conservation of whole-plant corn silage, the effect of microbial additives on the fermentation quality and microbial changes of silage was studied. Whole-plant corn at milk-matured stage was chopped into approximately 1~4 cm and mixed completely with lactobacillus FG No. 1 (0.01 g/kg), enzyme ENZ (0.033 g/kg), lactobacillus and enzyme FG No. 1 (0.01 g/kg) + ENZ (0.033 g/kg) from Snow Brand Seed Co. of Japan. Immediately after treatment, amounts (100 g) of treated material were packed into styrofoam bags which were vacuumed and then stored in laboratory at ambient temperature for 60 days. Results showed that all of the additives had no effects on contents of lactic acid and acetic acid ( $P>0.05$ ), but decreased the content of formic acid ( $P<0.01$ ) 100%, 35.48% and 100% respectively. There was no butyric acid in the silage. At the same time, the pH value of all silages was bellow 4.0 and up to the standard of excellent silage. Addition of lactobacillus reduced the ration of ADF to 1.85%, CF to 2.09%. Enzyme treatment decreased ADF content by 6.09%, NDF content by 5.28%. The contents of ADF and ADL decreased by 4.49% and 8.51% in the FG No. 1 + ENZ additive-treated silages compared with controlled silage. The treatment of silage with ENZ or FG No. 1 + ENZ decreased m (VBN)/m (TN) 18.8%. Only FG No. 1 treatment improved the amounts of lactobacillus. Others treatments reduced harmful microorganisms significantly. The results showed that the silage quality was improved obviously with the addition of microbial additives during the ensilage.

**Key words** whole-plant corn; silage; lactobacillus; cellulase; microorganism; fermentation characteristics

收稿日期: 2004-05-26

基金项目: “十五”国家科技攻关计划课题“2002BA514A-11”;中日国际合作项目“青贮饲料营养价值改进技术研究”

作者简介: 兴丽,硕士研究生;韩鲁佳,教授,博士生导师,主要从事生物质资源开发利用与环境的研究。

含水率较高的作物青贮时容易腐烂,造成营养价值的大量损失,为了减少这种损失,目前乳酸菌和酶制剂作为添加剂在青贮料中的应用越来越受到人们的关注。作物青贮时,原料表面乳酸菌的数量有限,同时混有不良菌种,要使乳酸菌尽快繁殖,每克原料必须有  $10^5$  个以上的乳酸菌<sup>[1]</sup>,因此添加同型乳酸菌(植物乳酸杆菌、啤酒片球菌、粪链球菌、干酪乳酸杆菌等)可人为增加乳酸菌数量、迅速降低青贮料的 pH,为乳酸发酵提供适宜条件。秸秆类作物的纤维含量很高,添加纤维素酶能起到破坏秸秆细胞壁,改善有机质消化率的作用,同时可使细胞内容物流出,增加发酵糖含量,为乳酸发酵提供充足底物。

目前,国内外针对生物添加剂对改善青贮饲料发酵品质的研究越来越多,许多国家开发成功的青贮专用添加剂已作为商品投入市场,由于这种添加剂受环境影响较大,所以导致一些研究结果有所差异<sup>[2~4]</sup>。本试验旨在研究乳酸菌制剂/和纤维素酶制剂对全株玉米青贮饲料发酵品质的改善和对微生物菌落的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

原料,中国农业大学昌平实验农场栽培的全株玉米(中原单 32),于乳熟期刈割,调制成青贮饲料,原料营养成分含量见表 1。乳酸菌和纤维素酶添加剂均为日本 Snow Brand Seed 公司生产的粉状剂,其中乳酸菌制剂每克含  $10^5$  菌落形成单位,纤维素酶制剂为青贮专用添加剂。

表 1 全株玉米各营养成分的质量分数

Table 1 Chemical composition of fresh material

g · (100 g) <sup>-1</sup>						
干物质*	粗蛋白**	酸性洗涤纤维**	中性洗涤纤维**	酸性洗涤木质素**	粗纤维**	灰分**
20.00	10.03	33.08	53.85	3.18	23.84	6.08

注: \*FM, \*\*DM。

### 1.2 试验设计

试验设对照、乳酸菌、纤维素酶、乳酸菌 + 纤维素酶 4 个处理组,随机区组设计,每个处理 3 次重复。

### 1.3 青贮调制

原料揉切至 1 ~ 4 cm 后,与添加物混合均匀,按

100 g/袋装入 30 cm × 20 cm 聚乙烯塑料袋中,真空密封,贮存于室温条件下,60 d 后开封供分析测定。其中新鲜原料中乳酸菌的添加量为 0.01 g/kg,纤维素酶添加量 0.033 g/kg,混合处理组添加剂添加量与单独处理组的分别相同。添加剂以固体形式直接加入。

### 1.4 测定项目及方法

1) pH。开封后取 10 g 青贮饲料放入聚乙烯塑料袋中加 90 g 去离子水,5 下浸泡 24 h,过滤后用 pH 电极测试表测定 pH。

2) 营养成分。干物质(DM)含量用烘箱干燥法测定,75 下烘 48 h;粗灰分(Ash)、粗蛋白(CP)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)、酸性洗涤木质素(ADL)以及粗纤维(CF)含量均按常规分析方法<sup>[5]</sup>进行测定。

3) 有机酸和氨态氮含量。有机酸含量采用 GL-C610H 型高效液相色谱仪测定,测定条件为:流动相为 0.2% (质量分数)的磷酸溶液;流速 1 mL · min<sup>-1</sup>,柱温 48 °C,检测波长为 210 nm;氨态氮含量用蒸馏法测定。

4) 微生物菌落测定。青贮饲料微生物测定在无菌工作台进行,青贮结束时将贮藏袋开封,四分法混合均匀后取出 10 g 青贮料,装入盛有 90 mL 质量分数为 0.85% 的灭菌生理盐水的塑料袋中,充分搅拌后将此溶液稀释 10 ~ 10<sup>5</sup> 倍,乳酸菌用 MRS 培养基,丝状菌和酵母菌用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(Potato dextrose agar),一般细菌用普通琼脂培养基(Nutrient agar),30 下培养 24 ~ 48 h,用平板培养法进行菌数计测,表示单位为每 g 饲料中所含的菌数。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理青贮玉米的感官评定

各组青贮料在色泽、气味、颜色和质地上差异不大,均呈褐黄色,酸香味、质地松软不粘手,无霉变,感官评定均属于优质青贮料。

### 2.2 不同处理对青贮饲料的 pH 和有机酸含量的影响

青贮料的 pH 和有机酸含量见表 2。优质青贮料的 pH 一般为 3.4 ~ 3.8<sup>[6]</sup>,本试验各组 pH 均在 3.6 左右,符合优质青贮饲料的标准,处理组与对照组间均无显著差异。

表2 青贮全株玉米的pH和有机酸质量分数

Table 2 pH value and organic acid contents of whole-plant corn

处理	pH	有机酸/(g·(100g) <sup>-1</sup> )					
		乳酸	乙酸	丙酸	丁酸	乳酸/总酸	乳酸/乙酸
对照	3.59	4.03	1.20	0.62	0.00	68.9	3.35
乳酸菌	3.61	4.20	1.62	0.00	0.00	72.2	2.63
纤维素酶	3.55	4.33	1.58	0.40	0.00	73.3	2.70
乳酸菌+纤维素酶	3.56	3.08	1.16	0.00	0.00	72.6	2.70

以有机酸含量评定青贮饲料质量的标准来看,本试验中各组均为优质青贮料。与对照相比乳酸菌、纤维素酶和乳酸菌+纤维素酶各处理组乳酸与乙酸的比值均有所下降,分别下降了21.5%、19.4%和19.4%,证明在整个发酵过程中以同型发酵为主。一般认为,乳酸菌的添加可为发酵过程提供有效活菌种,促进发酵,进而提高乳酸含量;纤维素酶可破坏青贮料细胞壁使其内容物流出,为乳酸发酵提供充足底物;乳酸菌和纤维素酶混合处理组与对照相比无显著差异( $P > 0.05$ ),说明原料底物充足,乳酸菌和酶制剂的添加在乳酸含量的增加上并没有起到很大的作用。有实验证明有些乳酸菌和酶制剂之间存在一定的拮抗作用<sup>[7]</sup>,本试验混合处理组中乳酸含量没有大幅度提高,总有机酸的含量却有所下降,可能与此有关。

### 2.3 不同处理对青贮饲料营养成分的影响

各试验组青贮饲料的营养成分见表3。与对照相比乳酸菌、纤维素酶、乳酸菌+纤维素酶各处理组青贮料的DM、CP和Ash含量均无显著差异( $P > 0.05$ ),乳酸菌处理组的DM含量最高,比对照组提高了4.7%,纤维素酶处理组的CP含量最高,比对照提高了5.0%。各处理组的NDF、ADF和CF与对照组相比均有下降趋势,且以纤维素酶处理组最为显著:如ADF( $P < 0.01$ )和NDF( $P < 0.05$ ),这说明纤维分解酶所含的植物细胞壁降解酶起到了对玉米秸秆纤维降解的作用。乳酸菌+纤维素酶处理组与对照组相比ADL下降最多为8.5%( $P < 0.01$ ),其作用机理可能为,玉米秸细胞壁中半纤维素与木质素间的连接键被切断,木质素部分溶解。

氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)与总氮的质量比反映了青贮饲料中蛋白质和氨基酸分解的程度,该值越大说明氨基酸和蛋白质分解越多,意味着青贮饲料质量不佳。乳酸菌处理组中氨态氮与总氮质量比与对照组差异不显著,而纤维素酶和乳酸菌+纤维素酶处理组中

氨态氮与总氮质量比均下降了18.8%( $P < 0.01$ ),差异显著。说明青贮饲料中蛋白质分解减少,营养物质得到了较好的保存。

表3 青贮全株玉米营养成分的质量分数

Table 3 Chemical composition of whole-plant corn silage %

营养成分	对照	乳酸菌	纤维 素酶	乳酸菌+ 纤维素酶
干物质(DM)*	17.0	17.8	16.5	16.4
粗蛋白质(CP)*	10.1	10.1	10.6	9.9
中性洗涤纤维(NDF)*	60.8	57.5	57.1	57.3
酸性洗涤纤维(ADF)*	37.9	37.2	35.9	36.2
酸性洗涤木质素(ADL)*	4.7	5.4	5.0	4.3
粗纤维(CF)*	28.7	28.1	25.0	25.1
粗灰分(Ash)*	6.5	6.8	7.0	6.9
$m(\text{氨态氮})/m(\text{总氮})^{**}$	1.6	1.7	1.3	1.3

注:\*DM,\*\*由浸提液测得。

一般来讲含水率较高的作物不易青贮成功,但从以上数据可以看出,该原料即使不添加任何添加剂其发酵品质也比较好,说明该原料的可溶性碳水化合物(WSC)含量较高,发酵底物较充足;另外由于本试验是在实验室条件下进行的,且青贮装置的密封性较好,所以原料的营养价值损失较少,这也是在不加任何添加剂的情况下就可获得较优质青贮饲料的原因之一。

### 2.4 青贮饲料微生物菌落的变化

开封后青贮饲料中的微生物菌落数量见表4。与对照相比,除乳酸菌处理组乳酸菌数最高外,纤维素酶和乳酸菌+纤维素酶处理组均低于对照。乳酸菌处理组酵母菌数量高于对照的原因有待进一步研究。纤维素酶和乳酸菌+纤维素酶处理组均大幅度降低了酵母菌和丝状菌含量。对于一般细菌,乳酸菌和/或纤维素酶均使其数量大幅度减少。

表4 青贮饲料(FM)中的微生物菌落数

Table 4 The number of microorganism in the silage(FM)

cfu · g<sup>-1</sup>

指标	对照		乳酸菌		纤维素酶		乳酸菌 + 纤维素酶	
	0 d	60 d	0 d	60 d	0 d	60 d	0 d	60 d
乳酸菌	1.00 × 10 <sup>5</sup>	2.65 × 10 <sup>6</sup>	1.00 × 10 <sup>5</sup>	2.90 × 10 <sup>6</sup>	1.00 × 10 <sup>5</sup>	3.50 × 10 <sup>5</sup>	1.00 × 10 <sup>5</sup>	1.65 × 10 <sup>6</sup>
酵母菌	6.00 × 10 <sup>7</sup>	0.80 × 10 <sup>5</sup>	6.00 × 10 <sup>7</sup>	1.00 × 10 <sup>6</sup>	6.00 × 10 <sup>7</sup>	4.40 × 10 <sup>4</sup>	6.00 × 10 <sup>7</sup>	3.50 × 10 <sup>4</sup>
丝状菌	6.50 × 10 <sup>7</sup>	1.20 × 10 <sup>5</sup>	6.50 × 10 <sup>7</sup>	1.15 × 10 <sup>5</sup>	6.50 × 10 <sup>7</sup>	8.35 × 10 <sup>4</sup>	6.50 × 10 <sup>7</sup>	6.25 × 10 <sup>4</sup>
一般细菌	2.35 × 10 <sup>8</sup>	7.57 × 10 <sup>7</sup>	2.35 × 10 <sup>8</sup>	1.175 × 10 <sup>5</sup>	2.35 × 10 <sup>8</sup>	1.135 × 10 <sup>5</sup>	2.35 × 10 <sup>8</sup>	7.20 × 10 <sup>4</sup>

### 3 结论

1) 乳酸菌的添加降低了细胞壁成分,同时使青贮饲料发酵过程中的有益微生物急剧增加,不仅抑制了酪酸菌的繁殖,而且阻止了其他不良菌的繁殖,使青贮饲料的发酵品质得到了明显的改善。

2) 纤维素酶的添加既降低了细胞壁成分,也降低了氨态氮与总氮的质量比,同时为乳酸发酵提供了充足的发酵底物,减少了分解蛋白的有害微生物。

3) 乳酸菌和纤维素酶混合处理对降解细胞壁成分有显著作用,同时降低了氨态氮和有害微生物的含量,但没有提高乳酸含量,说明两者的混合使用并不能达到理论上期待的结果。除可能存在一定的拮抗作用外,主要是原料本身的发酵底物充足。

### 参 考 文 献

[1] 田允波. 生物性青贮添加剂[J]. 饲料知识,1996(7):

25 ~ 26

- [2] 郭金双,赵广永. 添加乳酸菌对大麦青贮品质及中、酸性洗涤纤维的瘤胃降解率的影响[J]. 中国畜牧杂志,1999,35(4):27 ~ 28
- [3] 王建兵,韩继福,高宏伟,等. 微生物接种剂和酶制剂对玉米秸秆发酵品质的影响[J]. 内蒙古畜牧科学,2001,22(2):4 ~ 7
- [4] Sheperd A C, Kung L J R. An enzyme additive for corn silage: effects on silage composition and animal performance[J]. J Dairy Sci,1996,(79):1767 ~ 1773
- [5] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1999. 23 ~ 25
- [6] 刘建新,杨振海,叶均安,等. 青贮饲料的合理调制与质量评定标准[J]. 饲料工业,1999,20(4):3 ~ 5
- [7] Stokes M R, Chen J. Effects of enzyme and bacteria treatments on the fermentation and composition of corn stover silage[J]. J Anim Sci,1992,70(Supple. 1):191