

## 乳酸菌对不同起始糖浓度甘蔗渣发酵品质的影响

柳洪良<sup>1,2</sup> 具红光<sup>1</sup> 全炳武<sup>1</sup> 吴明根<sup>1\*</sup> 杨洪岩<sup>2</sup> 崔宗均<sup>2</sup>

(1. 延边大学 农学院, 吉林 龙井 133400; 2. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193)

**摘要** 为有效利用废弃甘蔗渣,以微生物发酵来加快其转化,将甘蔗渣的起始含糖质量分数设置为2%、3%、4%、5%、6%和7%,以接种乳酸菌复合系LBC-8作为接菌组,接种灭菌培养基作为对照组,研究了不同起始含糖质量分数的甘蔗渣在这2种情况下发酵参数的变化及微生物多样性。结果表明:在整个发酵过程中接菌组pH较对照组下降更明显,在发酵20d后,起始糖质量分数越高的处理,pH越低,最低为3.3;接菌组在糖质量分数为5%以上时产乳酸明显,气味酸香,质地松软,感官品质较好;含糖质量分数为5%时可溶性糖、粗蛋白、粗纤维和粗灰分质量分数分别为1.93%、2.26%、41.10%和4.43%。而对照组产丁酸明显,产乳酸较少,发酵品质较差。变性梯度凝胶电泳结果显示:接种组在起始含糖5%以上时乳酸菌优势条带较多,而对照组各质量分数的乳酸菌条带都较少。综合以上结果分析得出:当甘蔗渣起始含糖达到5%以上时,接种乳酸菌复合系LBC-8对甘蔗渣进行发酵,可以获得较好发酵品质的饲料。

**关键词** 甘蔗渣; 乳酸菌; 发酵品质; 变性梯度凝胶电泳

中图分类号 S 816.3

文章编号 1007-4333(2011)02-0089-08

文献标志码 A

## Effects of lactic acid bacteria on fermentation characteristics of bagasse with different soluble sugar concentrations

LIU Hong-liang<sup>1,2</sup>, JU Hong-guang<sup>1</sup>, QUAN Bing-wu<sup>1</sup>, WU Ming-gen<sup>1\*</sup>,  
YANG Hong-yan<sup>2</sup>, CUI Zong-Jun<sup>2</sup>

(1. College of Agronomy, Yanbian University, Longjing 133400, China;

2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract** It aimed to utilize bagasse and fasten its conversion into feed through bagasse fermentation. Sucrose was used to adjust the initial water-soluble carbohydrate content (WSC) to 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, and 7% (w). And a lactic acid bacteria community LBC-8 was inoculated into the bagasse as the inoculation group. The treatments with only the sterile MRS broth were used as the control group. During the fermentation, bio-chemical parameters and microbial diversities were analyzed. The result showed that after 20 d fermentation, the pH values of the inoculation group were lower than that of the control group, and the trends of pH falling were related to the initial WSC content, the lowermost pH value of the inoculation group was 3.3. There were significant lactic acid produced and better appearance quality when initial WSC content was above 5% in the inoculated group. The WSC, crude protein, crude fiber, crude ash contents were 1.93%, 2.26%, 41.1% and 4.43% separately when the WSC content was 5% after 20 d fermentation. From the patterns of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), after inoculation, the bacteria of LBC-8 rapidly became the advantageous species in the inoculated group when initial WSC content was above 5%. In the contrast, the advantageous bands were less in the control group. Comprehensive results showed that the bagasse fermented feed with good fermentation quality was obtained when the lactic acid bacteria community LBC-8 was inoculated into the bagasse with initial WSC content of above 5%.

**Key words** bagasse; lactic acid bacteria; fermentation quality; DGGE

收稿日期: 2010-06-12

基金项目: 国家公益性行业科研专项(200803033-B0502); 国家“十一五”支撑计划项目(2007BAD89B07)

第一作者: 柳洪良, 硕士研究生, E-mail: lhl.2007.201@163.com

通讯作者: 吴明根, 教授, 主要从事生物质资源利用研究, E-mail: 5minggen@163.com

随着人民生活水平的不断改善,对畜产品的需求也在不断提高,而目前饲料的主要原料为粮食,造成了人畜争粮矛盾的日益突出。

甘蔗渣是制糖工业的主要副产品,我国海南、广东、广西、福建和云南都是重要的产糖省份,每个糖厂都库存着大量的甘蔗渣,这是一笔非常集中而又数量较多的资源。甘蔗渣的主要成分为粗纤维,并含有残留的糖分,经过适当的处理,可提供高达20%的反刍动物食粮<sup>[1]</sup>,将甘蔗渣作为家畜饲料进行开发和利用,可充分有效地利用废弃资源。然而,长期以来,这些资源或被作为燃料烧掉或被直接废弃,并未得到合理的开发和利用<sup>[2-3]</sup>。

甘蔗渣中由于粗纤维含量高,质地粗糙,直接饲喂适口性差,如何改善其适口性,提高其饲用价值就成为研究中必须面对的问题。笔者曾通过乳酸菌复合系发酵农作物秸秆,明显改善了秸秆作为饲料的适口性<sup>[4-6]</sup>。

乳酸菌制剂被认为具有安全、对环境无污染、对农机具无腐蚀、并且价格低廉的优点<sup>[7-8]</sup>。接种乳酸菌于作物秸秆中可使其乳酸菌迅猛繁殖,产生大量乳酸,使pH迅速降低,上述研究为甘蔗渣饲料转化过程中适口性的提高提供了解决方案。微生物发酵的另一个关键因子是可溶性糖。可溶性糖足量的情况下,微生物发酵糖产乳酸、乙醇和甘油等风味物质,使得饲料的发酵品质明显改善,适口性显著提高;若可溶性糖量不足,则产生丁酸等严重降低发酵品质的物质,最终导致发酵失败<sup>[8]</sup>。

目前,如何通过添加及调整发酵过程中的关键因子微生物及可溶性糖获得高品质的甘蔗渣饲料的报道很少,成为亟待解决的问题。本试验研究了起始含糖质量分数不同的甘蔗渣在接种与不接种2种情况下发酵参数的变化及微生物多样性,旨在获得使甘蔗渣发酵的可溶性糖添加阈值,使甘蔗渣成功发酵并降低其制作成本,为甘蔗渣向饲料转化提供重要的理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

菌种及其培养:菌种选用本实验室从秸秆发酵饲料中筛选的乳酸菌复合系LBC-8,该复合系主要由发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、植物乳杆菌(*L. plantarum*)、*L. Pantheris*(未命名菌)、干

酪乳杆菌(*L. casei*)和巴氏醋酸杆菌(*Acetobacter pasteurianus*)组成。上述5种菌的组成比例为30.17%、35.81%、10.26%、5.64%和18.12%。菌种用MRS培养液(1L中含蛋白胨10g、牛肉膏10g、酵母粉5g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>2g、柠檬酸二铵2g、乙酸钠5g、蔗糖10g、葡萄糖5g、糖蜜2mL、吐温801mL、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O0.58g和MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O0.25g,pH调至6.2~6.4,115℃灭菌20min)厌氧静置培养(30℃),24h后供接种。

甘蔗渣:广西制糖厂制糖后产生的蔗渣。

### 1.2 试验设计

本试验分为试验组和对照组,分别向2组风干的甘蔗渣中加纯水至含水率为70%;加入蔗糖,使其含糖质量分数分别达到2%、3%、4%、5%、6%和7%。将培养好的乳酸菌复合菌系LBC-8按总重的5%(质量分数)接种于试验组的糖各质量分数处理中,均匀搅拌后,装满于100mL的螺口瓶密封,35℃发酵。对照组糖各质量分数处理加等量培养基取代乳酸菌复合菌系LBC-8,其他条件一致。观察2组处理的发酵效果的不同以及各糖质量分数处理的差别。分别于发酵后的第5、10和20天各取3次重复待测定。

### 1.3 外观品质及pH测定

打开发酵瓶盖,记录色泽、手感和气味。再从发酵瓶中部取发酵料0.5g置于4.5mL无菌水中,振荡后静置20min,取汁液0.2mL滴于HORIBA微量pH计(model B2212, HORIBA, Japan)测定。

### 1.4 挥发性发酵产物测定

取发酵物1g,加2mL纯水,充分振荡静置后挤汁液过0.22μm的滤膜,用气质联机(GC-MS, modelQP. 5050, Shimadzu, Japan)测定其挥发性组分。分析柱为CP-Chirasil-Dex CB型毛细管柱(25m×0.25mm);柱箱温度程序为50℃2min后以5℃/min速度升至100℃,再以15℃/min速度升至190℃,保持2min,共18min;汽化温度190℃;检测器温度230℃;检测器电压1.5kV;载气为氦气64kPa;流量30mL/min;进样方式为分流,分流比1/22,进样量为1μL。

### 1.5 化学成分测定

发酵后样品经60℃、48h烘干以后粉碎,过40目筛用于化学成分的测定。可溶性糖(water-soluble carbohydrates, WSC)的测定采用蒽酮比色

法<sup>[9]</sup>,粗蛋白的测定用凯氏定氮法,粗纤维的测定用酸碱洗涤法,具体的方法均按照文献<sup>[10]</sup>中所介绍的步骤进行。

## 1.6 DNA 的提取

DNA 的提取参考文献<sup>[11]</sup>。

## 1.7 PCR-DGGE 及 DGGE 条带序列分析

PCR: 选用引物 357F-GC (GC clamp-5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3',其中 GC-clamp 序列为 5'-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGCGGGGGCACGGGGG-3') 和 517R (5'-GTGCCAGC(A/C)GCCGCGG-3')<sup>[12]</sup>来扩增细菌 16S rDNA V3 区域,供 DGGE 分析。PCR 反应体系为(50  $\mu$ L):模板 DNA 10 ng,10 $\times$ PCR Buffer 5  $\mu$ L,25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 3  $\mu$ L,2 mmol/L dNTP 混合液 4  $\mu$ L,45  $\mu$ mol/L 357F-GC 和 517R 各 0.5  $\mu$ L,5 U/ $\mu$ L Ampli Taq Gold 0.2  $\mu$ L。PCR 反应条件,95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,93  $^{\circ}$ C 变性 1 min,52  $^{\circ}$ C 退火 45 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min 30 s,共 29 个循环,最后在 72  $^{\circ}$ C 下延伸 6 min。PCR 产物用 2 mg/mL 的琼脂糖凝胶电泳检测。

变性梯度凝胶电泳(DGGE):采用 DCode<sup>TM</sup> 系统(Bio-Rad,Laboratories,Hercules,CA,USA)。聚丙烯酰胺梯度胶质量分数为 6%~12%,电泳缓冲液为 0.5 $\times$ TAE (20 mmol/L Tris-HCl pH 8.3,10 mmol/L acetic acid,0.5 mmol/L EDTA),变性剂梯度为 20%~60%(w)[100%的变性剂组成为尿素 7 mol/L,甲酰胺 40%(体积分数)],于恒定电压 200 V 和 61  $^{\circ}$ C 下电泳 5 h,SYBRGreen I(Molecular Probes,Eugene,Ore)染色 30 min,紫外凝胶成像系

统分析结果<sup>[12]</sup>。从 DGGE 胶中回收的 DNA 条带,在相同反应条件下再次扩增,扩增产物经 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN) 纯化,并检测为单个条带后用于测序<sup>[13]</sup>。测序反应使用 ABIPRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems),在 ABI 3130xl 测序仪(Applied Biosystems Japan)上测序,操作过程按 Applied Biosystems 公司操作说明书进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵物的 pH 变化和外观品质的测定

甘蔗渣接种 LBC-8 发酵后 pH 变化如图 1。发酵 5 d 后,接种的不同起始糖质量分数甘蔗渣 pH 均由原材料的 5.7 降至 4.5 以下,并表现出起始糖质量分数越高 pH 下降幅度越大的趋势;未接种的对照组也表现出这种起始糖质量分数高 pH 下降快的规律,但在第 5 天时只有起始糖质量分数为 6% 和 7% 2 个处理 pH 下降到 4.5 以下;从接菌组与对照组的 pH 变化情况可以看出,在同一起始糖质量分数下,接菌组的 pH 要明显低于对照组的 pH,这表明接种 LBC-8 后甘蔗渣饲料的 pH 下降较同一条件下不接菌的对照组更为迅速,并且从 pH 下降曲线上来看下降到同一水平时接菌组的起始糖质量分数要更低;第 20 天时对照组和接菌组各浓度的 pH 都能保持稳定,但接菌组整体 pH 要明显低于对照组,接菌组中起始糖质量分数 7% 时,pH 达到 3.3,为所有处理中的最低值。在微生物饲料发酵过程中 pH 迅速下降可抑制杂菌的繁殖,减少养分损失,抑制丁酸等产生而保持饲料品质<sup>[14]</sup>。在本试验

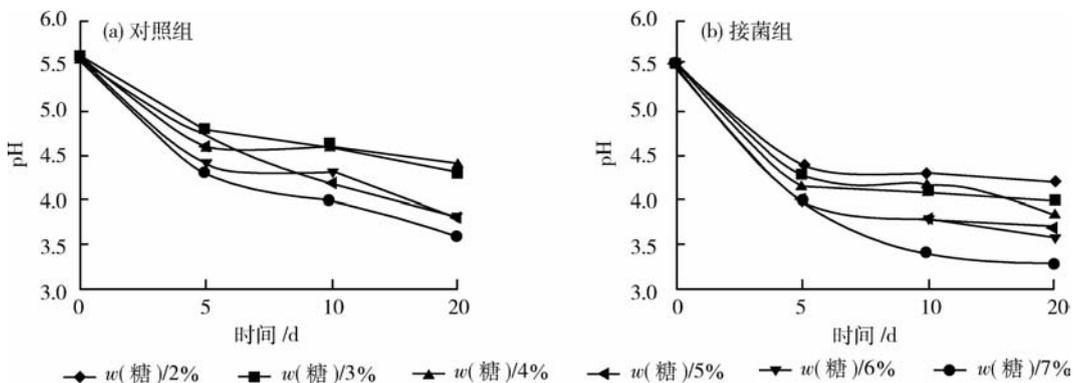


图 1 不同起始糖质量分数甘蔗渣发酵过程中的 pH 动态变化

Fig.1 Changes in pH of bagasse with different WSC concentrations during the fermentation

中,接菌并加相对高浓度糖的处理 pH 下降更为迅速,客观上保证了获得高品质的甘蔗渣饲料。

甘蔗渣经过 20 d 的发酵后,接菌组和对照组感官品质上存在明显差异(表 1)。对照组各个起始糖质量分数处理均有不同程度的霉变,发酵品质较差,并且表现出起始糖质量分数越高霉变量越大,当起始糖质量分数达到 7% 时,发酵 20 d 时有 2/3 发生

霉变,这对于饲料发酵来说是很大的损失,起始糖质量分数越高,营养物质越多,在抑菌性不强的发酵环境中为腐败菌的滋生提供了营养源,使其大量繁殖,从而影响了饲料的发酵品质;此外,接菌组颜色发黄发亮,质地较松软且微有粘稠感,发出酸甜香味;相反,对照组颜色发暗,质地较硬,并发出刺激性气味。

表 1 甘蔗渣发酵 20 d 后的感官品质分析

Table 1 Evaluation of sensory quality after 20 d fermentation of bagasse

处理*	甘蔗渣外观、味道、质地	霉变程度
对照(2)	颜色较暗,无酸香味,质地松散	上部 1/3 霉变
接菌(2)	颜色较暗,刺激性气味,质地较松散	无霉变
对照(3)	颜色较暗,无酸香味,质地松散	上部 1/3 霉变
接菌(3)	颜色金黄,轻微酸香味,质地松软	无霉变
对照(4)	颜色较暗,刺激性气味,质地松散	上部 1/3 霉变
接菌(4)	颜色金黄,轻微酸香味,质地松软	无霉变
对照(5)	颜色较暗,刺激性气味,质地较松软	上部 1/2 霉变
接菌(5)	颜色金黄,酸香味,质地松软	无霉变
对照(6)	颜色金黄,轻微香味,质地松软	上部 1/2 霉变
接菌(6)	颜色金黄,酸香味,质地松软	无霉变
对照(7)	颜色金黄,轻微香味,质地松软	上部 2/3 霉变
接菌(7)	颜色金黄,酸香味,质地松软	无霉变

注: \* 括号内为糖质量分数。下表同。

## 2.2 挥发性成分分析

用 GC-MS 测定挥发性物质(表 2, 图 2), 结果表明: 接种 LBC-8 的甘蔗渣在发酵过程中产生的主

表 2 不同糖质量分数甘蔗渣发酵 20 d 后产乳酸量分析(基于干物质基础)

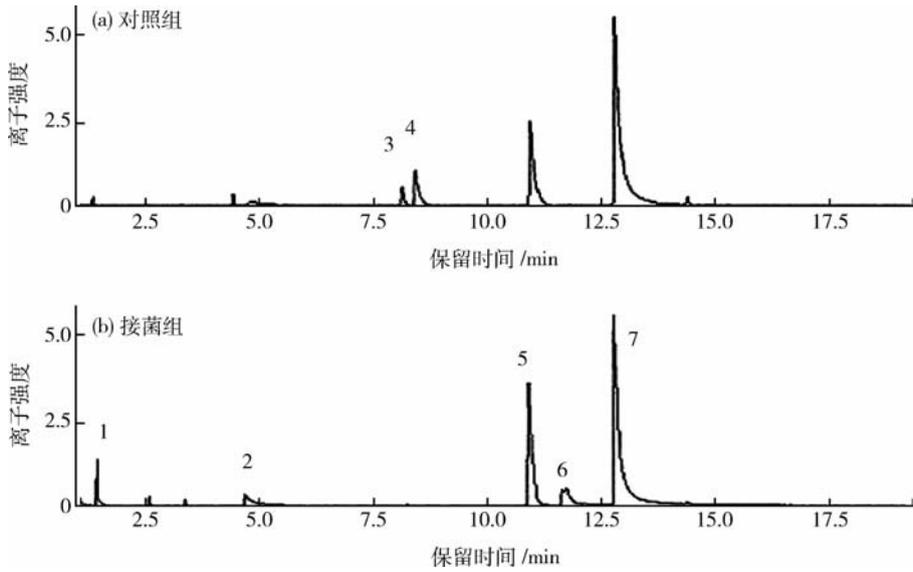
Table 2 Lactic acid analyses of the fermented bagasse after 20 days(DM basis)

w(糖)/%	产乳酸量/(g/kg)		增减率/%
	对照组	接种组	
2	2.67	5.97	+123.60
3	2.78	7.35	+164.39
4	2.76	7.25	+162.68
5	5.03	19.32	+284.10
6	4.66	20.21	+333.69
7	5.87	22.26	+279.22

要物质为乙醇、乙酸、甘油、乳酸及乙酸乙酯。发酵产物的种类是影响发酵饲料品质的重要因素<sup>[15]</sup>, 在甘蔗渣发酵饲料中, 乙酸及乳酸的产生是改变甘蔗渣味道的主要物质, 使其具有酸香气味, 提高了饲料的适口性, 也是甘蔗渣饲料发酵过程中 pH 下降的主要原因。这与文献<sup>[16]</sup>中接种乳酸菌复合系的水稻秸秆的发酵产物有相似之处。在本研究中, 当起始糖质量分数为 5% 以上时产乳酸较为明显; 对照组的乳酸产量较少, 主要产物为乙醇、乙酸乙酯、甘油、丙酸和丁酸, 丁酸是影响饲料发酵品质的主要原因, 使饲料味道变差, 适口性下降。

## 2.3 可溶性糖的变化情况

可溶性糖是甘蔗渣发酵过程中重要的营养物质来源, 检测可溶性糖的变化可以反映出甘蔗渣内部发酵环境中微生物对糖的利用情况, 从而间接表明微生物的生长状况。图 3 显示了接菌组及对照组在整个发酵过程中的可溶性糖动态。从图中可以看出,



1 为乙醇;2 为乙酸;3 为丙酸;4 为丁酸;5 为乙酸乙酯;6 为乳酸;7 为甘油。

图 2 甘蔗渣发酵 20 d 后 GC-MS 测定的发酵产物图谱

Fig. 2 GC-MS spectrometry maps of volatile products of the bagasse after 20 d fermentation

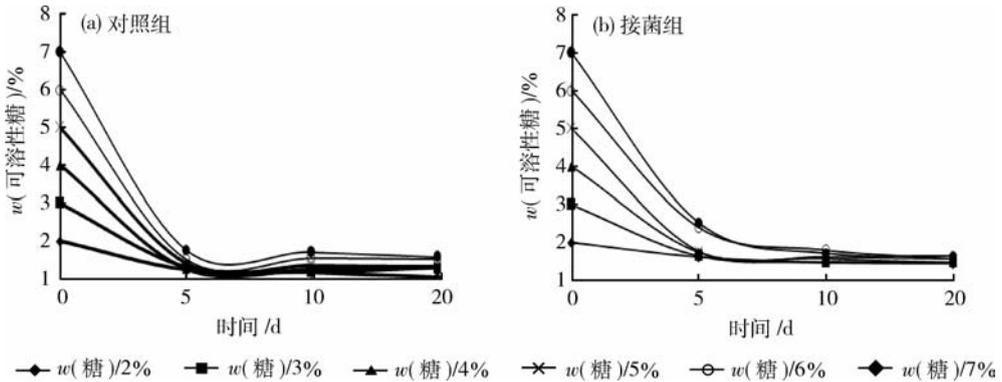


图 3 不同起始糖浓度甘蔗渣接菌与对照组的可溶性糖的变化

Fig. 3 Changes in WSC with different initial WSC concentrations of bagasse between the inoculated and the control groups

接菌组在第 5 天时不同的起始糖浓度处理的可溶性糖含量均显著下降,起始糖质量分数越高下降越明显,之后在 20 d 时基本都下降到 2% 以下,这说明了接种后乳酸菌复合系迅速利用可溶性糖,快速繁殖,使得甘蔗渣中的糖含量迅速下降。而对照组也表现出相同的趋势,即起始糖浓度越高,下降趋势越明显,其最低值较接种组更低,这可能是对照组发酵后期产丁酸等腐败微生物未完全受到抑制,继续利用可

溶性糖产丁酸,致使发酵饲料品质降低的主要原因。

### 2.4 化学成分分析

20 d 后对一些主要成分进行分析,结果如表 3。从粗蛋白的含量可以看出,接菌组 5% 以上的粗蛋白含量相对于对照组要高,但总量依然较少。粗纤维含量依然较高,接菌组与对照组差异不明显,说明该复合系在不同可溶性糖质量分数(2%~7%)之下对粗纤维的降解不明显。

表3 各糖质量分数甘蔗渣接种及对照 20 d 后化学成分分析(基于干物质基础)

Table 3 Chemical analyses of different sugar concentrations of bagasse between the inoculated and the control groups after 20 days (DM basis)

处 理	w/%			处 理	w/%		
	粗蛋白	粗纤维	粗灰分		粗蛋白	粗纤维	粗灰分
对照(2)	2.16	42.8	4.28	对照(5)	2.09	43.2	4.22
接菌(2)	2.18	42.6	4.24	接菌(5)	2.26	41.1	4.43
对照(3)	2.11	42.3	4.34	对照(6)	2.09	41.8	4.32
接菌(3)	2.23	42.5	4.36	接菌(6)	2.26	40.8	4.39
对照(4)	2.13	42.5	4.19	对照(7)	2.07	41.2	4.33
接菌(4)	2.21	42.1	4.23	接菌(7)	2.25	40.9	4.42

## 2.5 发酵过程中微生物菌群变化

对甘蔗渣发酵过程中微生物菌群变化进行了

PCR-DGGE 分析,如图 4 和表 4 所示。从图中看出,接种组与对照组中的微生物构成具有明显的不同

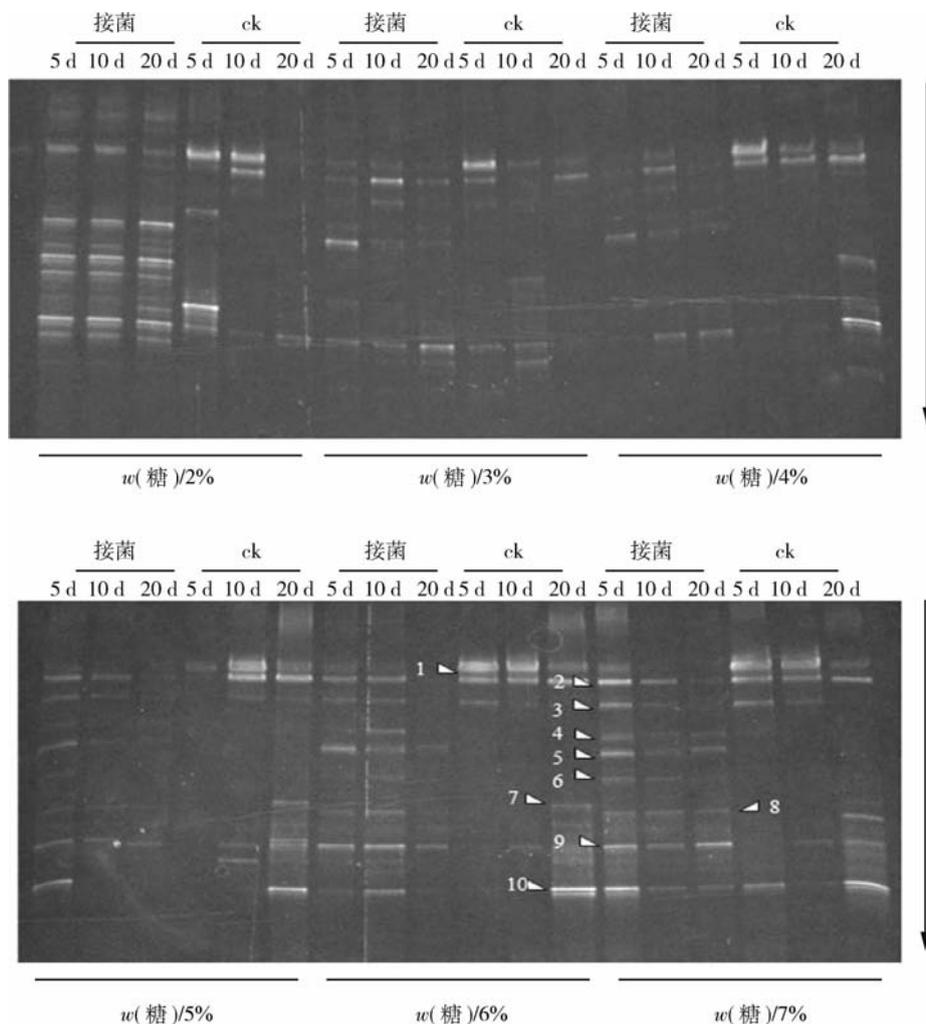


图4 不同起始糖质量分数接种与对照甘蔗渣中微生物菌系变化的 PCR-DGGE 图谱

Fig. 4 DGGE profiles of the bagasse between the control and the inoculated groups with different WSC concentrations after 20 d fermentation

同。将 DGGE 图谱中的条带回收测序,经 BLAST 数据库比对,发现在接菌组的主要条带为条带 2(*L. plantarum*),条带 3(*L. fermentum*),条带 4(*L. brevis*),条带 5(*L. pantheris*),条带 6(*L. buchneri*),条带 8(*L. sp.*),条带 9(*L. casei*),条带 10(*A. pasteurianus*);而在对照组中较少出现复合系中的条带,主要以条带 1(*Weissella cibaria*),条带 2(*L. plantarum*),条带 10(*A. pasteurianus*)为主。在对照组起始糖质量分数 5%、6%和 7%的处理中在发酵的第 20 天出现了条带 7(*Clostridium sp.*),这一条带在接菌组的各个起始糖质量分数处理中都没有出现;从图中还可以看出,条带的多少及强弱在不同起始糖质量分数处理中存在明显的差异,含糖量较低的处理条带较少,而浓度相对较高的处理条带较多;在起始糖质量分数 5%接菌处理中,整个 20 d 的发酵过程中,*L. fermentum*、*L. pantheri*、*L. casei* 和 *A. pasteurianus* 占绝对优势,而这 4 种菌株均为添加的复合系 LBC-8 中的主要组成菌。可见添加 LBC-8 后,复合系中的菌群能够稳定的在发酵体系中存在和生长,这与文献[17]有相似之处,并且能在相当长的时间内保持这种优势,从而保证了甘蔗渣的发酵饲料品质。

表 4 图 4 中各条带的近缘菌株

Table 4 Identities of PCR-DGGE bands in Fig. 4

条带	近缘种名称	登录号	相似率/%
1	<i>Weissella cibaria</i>	AB510757	100
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	EU931246	100
3	<i>L. fermentum</i>	EU559594	96
4	<i>L. brevis</i>	AY974809	96
5	<i>L. pantheris</i>	AB362679	96
6	<i>L. buchneri</i>	GQ421851	93
7	<i>Clostridium sp.</i>	AY188848	99
8	<i>L. sp.</i>	AB289275	94
9	<i>L. casei</i>	GQ289396	96
10	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	AP011170	97

### 3 讨论

本试验将乳酸菌复合系 LBC-8 接种起始可溶性糖质量分数分别为 2%、3%、4%、5%、6%和 7%的甘蔗渣后,与未接种的相同糖梯度对照相比,表现

出较为明显的效果。首先能使发酵料的 pH 迅速下降,并表现出起始糖质量分数越高 pH 越低的趋势,而未接种的对照组也表现出类似的趋势,但下降程度不及相同糖质量分数的接菌组。有资料显示,当 pH 低于 5 以下时异型发酵菌的生长被抑制,而同型发酵菌的数量开始增加<sup>[18]</sup>。同型发酵菌会将糖有效地转化为乳酸,使发酵料酸化,pH 降低,从而抑制了其他有害菌的生长<sup>[19]</sup>。本研究中,接种组和对照组的最终 pH 均下降到 5.0 以下,说明各处理的有害菌均受到了不同程度的抑制。接种处理的 pH 较对照组低也说明接菌组的杂菌受抑制的更为明显,这从 DGGE 图谱监测中也得到了印证。

从化学成分分析来看,接菌组的粗蛋白含量要高于对照组,但绝对含量上差异不是很明显,粗纤维以及粗灰分等方面的差异亦不明显,这也显示了在接菌组与对照组之间以及不同的糖质量分数之间,几种化学成分的变化不大;而接种组与对照组的不同糖质量分数甘蔗渣在 pH、发酵产物(如乳酸)以及外观品质和味道等方面有着较为明显变化和差异,这说明乳酸菌复合系接种甘蔗渣后对一些化学成分的变化影响不大,这也是以后将要重点改善的方面,从而得到更有营养更适合牲畜食用的饲料。

从接种发酵后菌群变化的 PCR-DGGE 图谱(图 4)及其条带的近缘菌株(表 4)可见,接种处理主要有 *L. plantarum*(条带 2)、*L. fermentum*(条带 3)、*L. pantheris*(条带 5)、*L. casei*(条带 9)和 *A. pasteurianus*(条带 10)等几种菌的条带,并在不同起始糖质量分数中存在差异,含糖量较低的处理条带较少,而浓度相对较高的处理条带较多,而对照组含有复合系中的菌群较少,说明 LBC-8 接种到甘蔗渣后,其中的主要菌株很快成为发酵体系的主要菌群。

### 4 结论

1)向甘蔗渣中接种乳酸菌复合系 LBC-8 加快了发酵物 pH 的下降,增加了乳酸等可明显提高饲料适口性物质的产生,同时甘蔗渣作为饲料的感官品质得到了较为明显的改善,酸香气味明显。

2)复合菌系 LBC-8 接种后可在发酵物中稳定生长,保证了发酵饲料的品质。

3)综合接种组与对照组不同起始糖质量分数处理的试验结果,证明甘蔗渣在起始可溶性糖质量分数 5%以上时接种乳酸菌复合系 LBC-8 易获得高品质的发酵饲料。

## 参 考 文 献

- [1] 梁冲,谭京梅,孙可伟. 甘蔗渣的综合利用现状及展望[J]. 中国资源综合利用,2003(5):28
- [2] 张远平. 发展蔗渣牛饲料的研究[J]. 广东轻工职业技术学院学报,2003,2(2):21
- [3] 聂艳丽,刘永国,李娅,等. 甘蔗渣资源利用现状及开发前景[J]. 林业经济,2007(5):61
- [4] Gao Li-juan, Yang Hong-yan, Wang Xiao-fen, et al. Ricestraw fermentation using lactic acid bacteria [J]. Bioresouce Technology,2008,99(8):2742-2748
- [5] Weinberg Z G, Muck R E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage[J]. FEM S M Icrobiol Rev,1996,19:53-68
- [6] 王小芬,高丽娟,杨洪岩,等. 苜蓿青贮过程中乳酸菌复合系 A12 的接种效果及菌群的追踪[J]. 农业工程学报,2007,23(1):217-222
- [7] 王小芬,高丽娟,杨洪岩,等. 苜蓿青贮用乳酸菌复合系 A12 的组成多样性[J]. 微生物学报,2006,46(5):676-772
- [8] Yang H Y, Wang X F, Liu J B, et al. Effects of water-soluble carbohydrate content on silage fermentation of wheat straw [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering 2006, 101(3): 232-237
- [9] Thomas T A. An automated procedure for the determination of soluble carbo-hydrates in herbage[J]. J Sci Food Agric,1977, 28 :639-642
- [10] 朱燕,夏玉宇. 饲料品质检验[M]. 北京:化学工业出版社,2003:10-30
- [11] Zhu H, Qu F, Zhu L H. Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride[J]. Nucleic Acids Res,1993,21:5278-5280
- [12] Wang X F, Haruta S, Cui Z J, et al. Diversity of a stable enrichment culture which is useful for silage inoculant and its succession in alfalfa silage[J]. FEMS Microbiol Ecol,2006, 57: 106-115
- [13] Sekiguchi H, Watanabe M, Nakahara T, et al. Succession of bacterial community structure along the Changjiang river determined by denaturing gradient gel electrophoresis and clone library analysis[J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68: 5142-5150
- [14] 刘建新. 青贮饲料的合理调制与质量评定标准[J]. 饲料工业, 1999,20(3):4-7
- [15] Baytok E, Muruz H. The effects of formic acid or formic acid plus molasses additives on the fermentation quality and DM and ADF de2 gradabilities of grass silage[J]. Turk J Vet Anim Sci,2003,27:425-431
- [16] 高丽娟,王小芬,杨洪岩,等. 乳酸菌复合系 SFC-2 处理水稻秸秆的效果[J]. 环境科学,2007,28(6):1394-1396
- [17] 马静静,王小芬,高丽娟,等. 秸秆发酵中乳酸菌复合系 SFC-2 对杂菌的抑制作用[J]. 微生物学报,2008,48(7):879-886
- [18] Cai Y, Benno Y, Ogawa M, et al. Influence of *Lactobacillus* spp. from an inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. From forage crops on silage fermentation [J]. Appl Environ Microbiol,1998,64:2982-2987
- [19] Ennahar S, Cai Y, Fujita Y. Phylogenetic diversity of lactic acid bacteria associated with paddy rice silage as determined by 16S Ribosomal DNA analysis[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69:444-451

(责任编辑: 苏燕)